

최 중
연구보고서

채소종자의 건열처리 기술 개발

Development of Dry Heat Treatment Technique for Vegetable Seeds

- 세부과제 1. 건열처리에 따른 종자활력 저하와 건열처리 원인구명 및 대책 수립
- 세부과제 2. 건열처리 종자의 수명평가 및 수명연장 처리기술의 개발
- 협동과제 2. 오이녹반모자이크 바이러스의 열처리에 의한 변이검출법 개발
- 협동과제 3. 효율적인 CGMMV 생검법 개발 및 항체를 이용한 다량진단
- 협동과제 4. 바이러스 무병종자의 양산체계 확립

경희대학교

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “채소종자의 진열처리기술의 개발에 관한 과제”의 최종보고서로 제출합니다.

2003년 8월 7일

<p>주관연구기관명 : 경희대학교 총괄연구책임자 : 이 정 명 세부연구책임자 : 최 근 원 연구원 : 김 성 은 연구원 : 최 성 민 연구원 : 방 혜 진 연구원 : 배 은 정 연구원 : 박 수 연 연구원 : 김 진 석 연구원 : 배 진 주 연구원 : 이 승 희 연구원 : 홍 지 영 협동연구기관명 : 서울대학교 협동연구책임자 : 김 국 형 연구원 : 권 상 욱 연구원 : 권 선 정 연구원 : 김 상 민 협동연구기관명 : 원예연구소 협동연구책임자 : 최 용 문 연구원 : 최 국 선 연구원 : 김 재 현 연구원 : 원 명 하 연구원 : 김 현 미</p>	<p>협동연구기관명 : 세미니스코리아 협동연구책임자 : 윤 진 영 연구원 : 남 상 현 연구원 : 양 동 훈 연구원 : 송 기 환 연구원 : 유 광 진 연구원 : 이 승 호 연구원 : 진 민 수 연구원 : 고 성 영 연구원 : 서 영 기 연구원 : 남 궁 만 연구원 : 김 흥 모 연구원 : 나 용 준 연구원 : 허 승 무</p>
--	---

요 약 문

I. 제 목

“채소종자의 건열처리 기술 개발”

II. 연구개발 목적 및 필요성

1. 연구개발 목적(Objectives of Research)

종자 전염하는 다양한 병균의 불활성화에 가장 효과적이고 안정하게 대체할 수 있는 첨단기술인 종자의 건열처리(乾熱處理; dry-heat treatment) 기술을 주요 채소 작물인 가지과 채소 (고추, 토마토, 가지 등), 박과 채소(수박, 호박, 오이, 참외 및 멜론, 박, 흑종호박 등), 배추과 채소 (배추, 양배추 및 양배추 류, 무 등)의 종자에 적용하여 위해(危害)한 농약처리가 없는 완전한 친환경적인 고품질의 채소종자의 양산 기술을 개발하고자 한다. 특히 방제 약제나 치유방법이 전혀 없는 종자전염 바이러스의 불활성화를 가장 중요한 목적으로 하는데 이는 바이러스의 고열에 대한 불안정성을 이용하는 것이다. 아울러 바이러스의 불활성화 여부를 신속-정밀 진단할 수 있는 진단기술을 개발하여 궁극적으로는 다양한 종자전염 병균 중에서 최소의 오염만을 보유하는 친환경적인 종자를 양산하여 국내 보급은 물론 종자 수출에도 기여코자 함을 주 목적으로 하였다.

2. 연구개발의 필요성(Importance of Research)

종자전염하는 병들의 세계적인 확산 및 피해 급증에 따라서 종자전염 병원체에 대한 근본적인 대책 수립이 시급한 과제로 부상되었다. 그 대표적인 예가 1997년 중국에서 채종된 수박 대목용 박 종자에 감염된 오이녹반모자이크바이러스(cucumber green mottle mosaic virus; CGMMV)가 국내 수박단지에 큰 피해를 끼쳐 농가보상액만도 50억원 이상에 달하는 막대한 피해가 발생한 이후에도 CGMMV 및 유사 바이러스의 피해는 계속 국내 및 해외 채종현장에서 발생하고 있는 실정이다. 상기 문제시된 CGMMV 바이러스는 국내에서 뿐만 아니라 중국, 이스라엘을 포함한 아시아 국가에서 유럽 각국에 이르기 까지 광범위하게 발생하여 세계적으로 문제시되고 있는 병으로 각국마다 대책 수립에 부심하고 있다. 한국은 오랜 기간 동안 채소종자의

수출국가로 인정을 받았으나 최근에는 채종에 소요되는 막대한 노동력 등의 문제로 해외채종이 급증하고 수입량도 또한 급증하고 있는 실정이다. 아울러 국내 굴지의 종묘회사로 인정되었던 흥농, 중앙, 서울종묘 등이 IMF를 전후하여 세계적인 다국적 회사인 Seminis (흥농 및 중앙 인수)와 Norvatis (서울 종묘 인수, 후에 Syngenta로 합병)로 인수되면서 국내 채소종자의 국제경쟁력이 일부 강화되기는 하였지만 수출량에서는 커다란 증가를 보지 못하고 있는 실정이다. 이러한 개방화 시대에서의 국제경쟁력 제고는 우수한 품종의 확보에 추가하여 종자의 고품질화로 성취할 수 있다.

다양한 종자전염 병원균 중에서 비교적 그 구제가 용이한 진균류(眞菌類, fungus)에 대하여는 오랜 기간의 연구와 충분한 보고 및 치료 가능 농약 등이 개발되어 있지만 바이러스나 세균성 병에 대하여는 효과적인 약제가 없을 뿐만 아니라 이들 병원균들의 검출방법 또는 발생원인의 구명마저도 까다로워 연구가 많이 진전되지 않았었다. 그러나 최근에는 virus 병을 포함한 대부분의 병을 효과적으로 진단하는 기술들이 개발되면서 다양한 질병들의 근본적인 원인들이 상세히 보고 되고 이에 따라 종자 전염하는 병에 대한 관심도 급증하게 되었다. 즉 재배농민의 수준에서도 다양한 질병의 종류 및 발병원인 파악이 용이하여 지고 있고, 더 넓게는 국제간의 종자 교역 시 검역과정에서 종자전염병원균들이 쉽고 정확하게 진단됨으로서 이에 따라 검역 기준과 수출 장벽도 높아 가면서 새로운 경쟁시대로 돌입하고 있다. 더구나 종자의 고품질화와 채소류의 육묘기술 향상에 따라 재배농민들의 종자소요 절대량은 오히려 급감하면서 고품질화의 필요성은 과거 어느 때 보다 절실한 시점에 와 있다.

현행의 대부분의 채종된 종자에 대한 소독은 농약을 이용하는 것이며 다양한 농약들의 종류와 처리방법 등이 개발되어 활용되고 있다. 그러나 종자 전염하는 바이러스나 일부 세균에 대한 농약은 전무한 상태이어서 무병종자의 생산 및 이용만이 유일한 방법으로 권장되고 있는 실정이었으나 현재의 채종 및 유통 구조상 이는 거의 불가능에 가까운 시점에 도달하였다. 채소종자의 건열처리는 종자에 위해성 농약을 첨가하지 않으면서도, 그리고 종자를 액체 등에 침지하지 않으면서도 이미 채종된 종자에 대하여 효과적으로 적용할 수 있는 기술이기 때문에 현재까지의 어느 방법보다도 안정적이고 효과적인 첨단기술로 인정되고 있지만, 처리방법이 매우 까다롭고 다양한 관련 요인의 이해와 이에 대한 대책 수립이 병행되지 않는 한 일반에서 적용하기에는 많은 문제점이 수반되고 있다.

III. 연구내용 및 범위

1. 연구내용

1) **채소종자의 안정적인 건열처리 기술 개발**.....건열처리의 작물별 상한온도를 포함하여 온도 지속기간, 온도 상승 및 하강방법, 건열처리 횟수, 건열처리 후의 저장기간 등에 관한 처리기술에 추가하여 처리되는 종자의 상태나 활력 등에 관하여 종합적으로 취급한다.

2) **건열처리된 종자의 활력 증진 기술 개발**.....건열처리된 종자의 보편적인 반응은 발아세가 낮아진다는 점으로 비록 이것이 최종발아율이나 건묘육성율과는 관계가 없을지라도 발아세를 제고하는 기술이 연관되어 연구되어야 하므로 이를 포함하였다.

3) **건열처리된 종자의 장기안전 저장기술 개발**.....건열처리되는 종자는 극단적인 스트레스를 받아 수명이 매우 단축되어 당년에 반드시 사용한다고 하는데 이것이 과연 그러한지, 아니면 처리 후에 장기간(예 2-3년간)의 저장이 가능한지의 여부를 검증하고 그 방법을 개발하고자 하였다.

4) **종자 및 식물체에서의 바이러스 감염 여부의 신속 및 다량 진단 기술 개발**.....현재 보편적으로 사용하고 있는 ELISA를 더 저렴한 가격으로 실시할 수 있도록 항체의 대량생산을 서두르고, 한편으로는 ELISA 보다 더욱 간편하고 신속하게 검증할 수 있는 RIPA를 개발하여 보급하도록 한다.

5) **건열처리 여부 및 바이러스 불활성화 여부의 신속-정밀 진단기술의 개발**.....적합하게 건열처리가 수행되었는지의 여부 및 건열처리된 종자 내에 있는 바이러스가 완전하게 불활성화되었는지의 검증을 아래의 두 가지 방법으로 연구한다.

첫째 생물검정을 이용하는 방법으로 가장 신뢰성이 있기는 하나 시간과 노력 등이 과다하게 투입되어 많은 표본의 신속-검정은 거의 불가능하다는 단점이 있다. 그러나 생물검정 방법에 따라서 어느 정도 실용화에 접근할 수 있다면 최선의 방법이기도 하므로 다양한 지표식물 및 접종-진단기술을 종합적으로 접근한다.

둘째는 열처리에 의해 유발되는 heat-shock protein을 주요 대상으로 하는데, 적합하게 건열처리를 받은 종자 내에서만 특이하게 검출되는 (또는 검출되지 않는) 단백질을 동정하는 기술을 개발하여 이를 진단기술로 실용화 하고자 한다.

6) **무병종자의 양산 기술 개발**.....상기 개발된 기술들을 종합적으로 적용하여 국내 및 해외 채종종자에서의 CGMMV 및 기타 몇 가지 주요 병해에 대한 완전무병종자의 양산 및 보급에 기여하여 안전재배 및 수출증대에 기여하고자 한다.

2. 연구범위

1) **대상작물**.....가지과 채소에서는 고추, 토마토, 가지 등을 포함하고, 배추, 무 등의 배추과 채소에 추가하여 박과채소에서는 대목용 박(*Lagenaria siceraria*)을 위시하여 호박, 수박, 오이, 참외 및 멜론, 그리고 흑종호박까지를 포함한다.

- 2) 건열처리방법 및 내용.....위에서 언급된 내용에 추가하여 건열처리 전용(專用) 기기 또는 장치를 기계전문제작회사에 의뢰하여(고려기기) 제작하게 함으로서 안정적 처리가 즉각 가능하도록 한다.
- 3) 진단 및 검증.....육안으로 판정하는 것에 추가하여 ELISA, 전자현미경, RIPA, 및 RT-PCR을 이용한 신속 정밀 진단방법을 개발하도록 한다.
- 4) 종자생산.....무병종자의 양산이 가능토록 하는데 최우선을 둔다.
- 5) 제배, 탈중, 선중, 저장 및 종자처리기술.....무병종자 및 치유건전종자의 양산과 고품질화가 가능하도록 모든 세부적인 기술을 개발하여 적용토록 한다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

배추과 채소종자와 가지과 채소종자는 신규 제작된 건열처리 전용장치를 이용하여 건열처리 시에는 표준건열처리(상한온도 75 °C)의 적용으로 안전하게 처리가 가능하게 되었다. 그러나 코팅종자나 특수농약 등이 처리된 종자에서는 상당한 건열피해가 발생할 수 있음도 확인되었다. 박 종자는 극단적으로 건열처리에 민감하게 반응하는 몇 품종을 제외하면 대부분의 박 종자의 건열처리도 표준건열처리 적용이 가능하였다.

다양한 요인들이 건열처리 반응성과 관계가 있는 것으로 판명되었는데 종자의 성숙도 및 충실도, 과실성숙기 및 종자저장시의 온도, 건열처리전의 종자수분함량 등의 요인이 매우 중요하게 작용하였다. 건열처리 직후에 많이 나타나는 피해증상 즉 발아세 감소, 발아속도 지연, 최종발아율 저하, 비정상적인 유묘 등은 처리종자를 4 주 간 이상 후처리하면 현저히 감소되었다.

건열처리 반응성은 작물의 종류, 품종, 그리고 동일 품종 내에서도 종자집단(seed lots)에 따라서도 극단적인 영향을 받음이 밝혀졌는데 특히 이러한 현상은 건열처리에 민감하게 반응하는 호박류에서 두드러지게 나타났다. 동일한 품종 내에서는 두터운 종피가 건열처리 저항성과 관련이 있는 것으로 나타났다. 다양한 건열피해 증상은 신규 개발된 건열처리 전용기기를 사용하므로써 현저히 저하되었다.

호박류를 제외한 대부분의 채소류 종자는 표준건열처리 적용으로 용이하게 처리가 가능하였다. 그러나 호박에 대하여는 건열처리시의 상한온도를 72 °C 이하로 하는

것이 건열처리에 따른 피해를 최소화하는데 중요하였다. 호박류를 제외한 대부분의 종자에서 만일에 반드시 필요하다면 재건열처리도 가능성이 입증되었지만 1회 이상의 재건열처리는 심한 건열 피해 증상을 유발할 수 있기 때문에 권장되지 않는다.

건열처리된 종자의 발아적온은 무처리 종자보다 다소 높은 것이 입증되었다. 건열처리 후의 일정 기간 저장은 필수적인 것으로 판단되었다. 충실종자는 타원형 박과 채소의 과실 내에서는 꽃자리 부위의 자방 내에 대부분 분포되어 있으므로 탈중 시기에 대한 적절한 배려는 선종의 생력화에 기여할 수 있음이 밝혀졌다.

농약처리가 된 종자나 코팅종자의 건열처리는 종자발아에 영향을 미칠 수 있으므로 가급적 하지 않는 것이 좋다, 그러나 농약의 종류나 처리방법에 따라서는 건열처리에 영향을 주지 않는 것도 상당히 있었다. 코팅종자의 건열처리는 건열처리 과정 중 종자로부터의 수분증산에 영향을 끼쳐 심한 피해를 유발하므로 프라이밍된 종자와 마찬가지로 건열처리를 실시하지 않도록 한다.

종자 프라이밍 처리는 건열처리된 종자의 느린 발아속도 또는 낮은 발아세를 회복시키는데 결정적으로 중요하였다. 프라이밍 처리는 종피가 두터워 발아가 매우 까다로운 씨 없는 수박의 건열처리된 종자의 발아촉진에도 효과적이었다.

건열처리된 종자는 건조제와 함께 밀봉 저장하면 손쉽게 1년 이상의 장기저장도 가능하였다. 노화촉진처리는 건열처리된 종자의 활력과 잠재수명을 단 시일 내에 효과적으로 진단할 수 있는 효과적인 방법임이 입증되었다. 건열처리된 대목종자에서 육성된 대목은 단근접목을 하더라도 모두 정상적인 발근능력을 보였다.

건열처리가 확실하게 적용되었는지의 여부를 분자생물학적인 방법으로 진단하는 방법이 개발되었다. 열처리에 의해 분절된 바이러스의 특정 부위와 특수하게 반응하는 primer를 개발하였고 이 primer를 이용한 RT-PCR로 적정 열처리의 적용 여부 또는 종자 내 바이러스의 완전불활성화 여부를 신속-정밀하게 판정할 수 있게 되었다.

CGMMV의 다양한 생물검정방법에 관한 일련의 연구에서 *Nicotiana benthamina*를 이용한 생물검정이 가장 신속하고 효과적인 것으로 판정되어 이를 공식 생검 방법으로 추천하였으며 오이나 명아주를 이용한 생물검정도 재배환경 등에 따라 적절하게 이용이 가능한 것으로 판단되었다.

72 °C의 상한온도에서 처리된 박 종자에서도 CGMMV가 완전하게 불활성화된 것으로 나타났으며 이의 확인은 생물검정과 전자현미경 검정으로 가능하였다.

특수 제작된 건열처리 전용장치는 대부분의 채소종자의 안정적 건열처리에 효과적이었다. 처리된 종자에서 건열처리 피해증상도 거의 없었으며 생물검정이나 추후 ELISA 에서도 모두 완전하게 처리되었음을 보여 주었다. 종자 전염하는 *Fusarium* 의 불활성화에는 CGMMV에 비해 다소 높은 온도와 처리지속기간이 소요되었으며 이에 관해서는 추후 연구가 필요하다.

2. 활용에 대한 건의

본 연구결과는 현재 식물검역소에서 실시하고 있는 검역업무와 관련되어 일부 구체적 실용화 과정을 거쳐 검역-통관-건열처리적용 여부-진단-규제 등의 관정에 즉각적으로 활용될 수 있도록 한다. 아울러 대다수의 종묘회사의 생산직 및 연구직, 그리고 영업직 종사자들에게도 널리 홍보하여 무병종자의 대량 생산 및 해외 수출을 포함한 국내외 유통에도 바로 활용이 되도록 할 예정이다. 상당한 내용이 또한 재배 농민의 차원에서도 바로 활용할 수 있는 것들이 있으므로 이러한 것은 홍보물 등의 제작이 가능하다면 즉각 제작하여 홍보 및 재배에 이용되도록 한다. 본 연구를 통해 개발된 기술은 국제 특허를 얻어서 (2건 이상) 전 세계적인 활용도 가능하도록 조치할 예정이다.

I. TITLE

"Development of Dry Heat Treatment Technology for Vegetable Seeds"

II. Objective and Importance

1. Objectives

The current research aims to develop technology of dry heat treatment of selected vegetable seeds to inactivate some seed-borne viruses and other pathogens in order to produce virus-free and environment-friendly seeds of vegetables belonging to families of cruciferae (Chinese cabbage, cabbages, radish, etc.), cucurbitaceae (gourds, watermelon, squash, cucumber, melons, figleaf gourd, etc.), and solanaceae (peppers, tomatoes, and eggplants). The primary objective of this research is to inactivate the seed-borne virus, mostly tobamovirus, utilizing the unstable nature of viruses against high temperatures. Efficient methods of detecting cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) in seeds and plants and the economical production of virus detecting kits will be investigated. In addition to the evaluation and recommendation of efficient bioassays for confirmation, novel molecular biological detection methods for the confirmation of virus inactivation using RT-PCR will also be pursued. Mass production of healthy seeds for domestic uses as well as for export will be the ultimate goal of this research.

2. Importance

In concomitant with the rapid spread and increasing threat of seed-borne diseases, urgent needs for some fundamental countermeasure are recognized worldwide in recent years. For example, the phenomenal spread of cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV), caused by CGMMV-infected rootstock seeds produced overseas and imported later, resulted in enormous damage in watermelon growing areas all over the Korean Peninsular. This disease, once seriously outbreaked, still continues to break over the years at sporadic sites in Korea as well as in the major seed producing areas in China. Severe outbreaks of this disease were also reported in other parts of the world including Asia (Israel, China, Turkey) and Europe (The Netherlands, Spain), thus causing significant damage over the world.

Republic of Korea has been an important exporting country of vegetable seeds, but bulk of the seeds are now produced overseas and total amount of import has been substantially increasing in recent years. In spite of the recent operation of multinational seed companies such as Seminis

and Syngenta in Korea, vegetable seed export failed to show marked increase as expected.

Significant upgrade of seed quality in addition to the breeding and maintenance of excellent cultivars and germplasm is regarded as the active means of increasing competitiveness in the international seed market. Effective control measures including suitable fungicides have been developed and well established for most of the seed-borne fungal diseases. However, less progress has been achieved for bacterial and virus diseases mainly because of the difficulties in dealing with detection and precise identification of the diseases involved and availability of efficient agrochemicals. Recent advances in detection and identification methods made it possible to diagnose various diseases almost instantly and very accurately. Nowadays, even the growers can identify many of the symptoms and possible means of disease infection. International seed trade also became more competitive since the seeds have to go through the customs with more prerequisites. The needs for higher-quality vegetable seeds are getting higher than ever before while the total quantities of vegetable seeds used by the growers are significantly decreasing.

Current measures for seed disinfection are conducted mostly by applying chemicals to the seeds. However, little or no effective chemicals have been developed for diseases caused by viruses and/or certain bacteria. Therefore, use of pathogen-free or virus-free seeds has been the only practical way of preventing the outbreak of serious diseases in many cases.

This research aims to develop dry heat treatment methods for high-quality vegetable seeds, free of active virus, as well as environment-friendly vegetable seeds. The dry heat treatment method has been proven to be highly effective for inactivation of some seed-borne virus and diseases, but it also needs extensive research for practical application since so many factors are known to be involved with seed vigor and disease inactivation.

III. CONTENTS

A. Research

1. Development of Stable Dry Heat (DH) Treatment Methods for Vegetable Seeds.....Parameters for investigation include the maximum high temperature limits for each vegetable and cultivar, duration at selected maximum temperature, possibility of repeated DH treatment, temperature raising and lowering procedures, storage of DH treated seeds including post treatment conditioning, and priming technology for DH treated seeds.

2. Development of Seed Priming Technology for DH Treated Seeds.....To increase germination vigor commonly found in DH treated seeds, thus becoming problematic in many cases.

3. Development of Long-Term Storage Technology for DH Treated Seeds.....To develop possible way of storing the DH treated seeds over the years rather than using these in the same year.

4. Development of Efficient CGMMV Diagnosis Measure in Seeds and Plants.....To provide economical as well as more practical means of CGMMV diagnosis by ELISA and RIPA.

5. Development of Methods for CGMMV Inactivation in DH Treated Seeds.

1) Bioassays.....Efficient biological assay method will be sought and recommended based upon series of experiments using different indicator plants and inoculation methods.

2) Development of Mass Production of Virus-free Seeds.....To provide virus free seeds or virus-inactivated seeds to domestic markets as well as for export in large quantities.

2. Research

1) Kind of Crops

A. Solanaceous family.....Peppers, tomatoes, eggplants, and others.

B. Cucurbitaceous family.....Gourds, watermelon, cucumber, melons, squashes, figleaf gourd, and others.

C. Brassica family.....Chinese cabbages, cabbages, radishes, and others.

2) Methods of DH Treatment

- Manufacture of apparatus specifically designed for DH treatment in addition to the various parameters included form investigation listed above.

3) Diagnosis and Identification

- In addition to the visual identification method, detection methods such as ELISA, EM, RIPA and RT-PCR will be included.

4) Mass Production of Virus-Free Seeds and Virus-Inactivated Seeds.

5) Seed Processing Technology for Various Vegetable Seeds showing Abnormalities caused by DH Treatment.

IV. RESULTS

Seeds of Brassica crops could be safely treated with standard dry heat treatment (75 °C for 72 hours) without any noticeable adverse effects. Similarly, seeds of solanaceous crops could be safely treated unless the seeds were primed previously or film-coated prior to dry heat treatment. Most of the gourd seeds, except those from a few sensitive cultivars, could be safely treated, but

slight decreases in seed germination vigor, but not the final germination rate, were usually resulted by DH treatment.

Many factors were found to be associated with the DH-induced phytotoxicity symptoms such as reduced germination vigor, slow germination, decrease in final germination, abnormal cotyledons and seedlings, and other symptoms. Seed maturity, environmental factors during fruit ripening and seed storage, duration after seed harvest to DH treatment, seed moisture contents prior to seed treatment. The phytotoxicity symptoms found in the seedlings grown from the seeds sown immediately after the DH treatment were considerably reduced by conditioning them for about 4 weeks after the DH treatment.

Seeds having thick seed coat were found to be more stable to those seeds with thin seed coat. Considerable differences in DH treatment sensitivity were found in kind of crops, cultivars, and even in the seed lots of the same cultivar. Use of newly manufactured DH treatment chamber, specifically developed for DH treatment only, was found to reduce the phytotoxicity symptoms significantly.

Most of the seeds, except seeds of most squash cultivars and a few gourd cultivars, could be safely treated with standard DH treatment. DH treatments at 72C or lower is recommended for squash seeds since some of the squash cultivars show extensive phytotoxicity, possibly due to the thin seed coat and high sensitivity.

Repeated DH treatment was found to be possible for most seeds except most squash seeds, but could not be treated more than twice in most cases.

Optimum temperature for seed germination was found to be higher in DH treated seeds as compared to the intact seeds. After-ripening of the fruit harvested for seed collection was vital for seed vigor enhancement. Styler half of the fruit contained greater proportion of normal seeds as compared to the other portion. Seed thickness was found to be a useful parameter for selection of high-quality seeds in squash.

DH treatment of seeds already treated with fungicides or film-coated after the fungicide treatment was found to be detrimental for normal seed germination, even though there are many exceptions depending upon the kind of fungicides and kinds and methods of application. DH

treatment of film-coated seeds is not recommended since it can result in significant phytotoxicity, possibly by improper desiccation of seed during the initial stages of DH treatment.

Seed priming, mostly solid matrix priming (SMP), was found to be highly effective in promoting early seed germination and increasing the germination vigor. SMP was also highly effective for enhancing early germination of seeds of triploid watermelon .

Seeds treated with dry heat could be safely stored for a longer period, for example 1 year or longer, if stored in air-tight storage containers with suitable moisture absorbents. Accelerated aging was found to be a powerful tool for estimating seed vigor and storage capability. DH treatment had no influence on the rooting capability of rootstock used for grafting after root excision to increase grafting efficiency.

Nobel detection method of confirming the application of satisfactory dry heat treatment was developed using RT-PCR technique with specifically developed primer binding specifically with the broken ends of the tobamovirus. This method is very rapid and reliable as compared to bioassays and also could be directly used for rapid confirmation for standard DH treatment.

Various biological assays were compared for the confirmation of the presence of CGMMV in seeds, intact or DH treated. Young seedlings of *Nicotiana benthamiana* gave rapid and reliable results as compared to other bioassays and therefore this method is recommended for one of the official bioassay systems for CGMMV. Other bioassays such as cucumber and *Chenopodium amaranticolor* were also proven to be suitable in some cases where growing structures and micro-environmental conditions are favorable for rapid symptom appearance.

Gourd seeds treated with DH at maximum temperature of 72 °C rather than 77 °C also showed complete inactivation of heavily infected CGMMV. The inactivation was confirmed by several methods, bioassay of seed extract, bioassay of young tissue of indicator plant inoculated with seed extract, and electron microscope.

DH treatment of seeds using the newly manufacture apparatus specifically designed for DH treatment was proven to be very reliable and effective for most of the seeds. Little no phytotoxicity was observed in seedlings grown from the DH treated seeds and both the direct bioassay of seed extract (30,000 seeds) on cucumber and ELISA test of the young leaves of

indicator plants collected later from the inoculated plant has shown that the CGMMV has been completely inactivated. Inactivation seed-borne *Fusarium* appeared to require slightly higher temperatures and longer duration as compared to CGMMV and thus need further investigation.

V. APPLICATION OF RESEARCH RESULTS

Major results obtained through this research can be directly and immediately used for inspection, confirmation, and proper judgment for vegetable seeds produced overseas and imported through the custom. The major results and achievements will also be introduced to the industrial people engaged in production, research, and distribution of vegetable seeds throughout the nation. Some of the results obtained through this research can also directly used by the growers, especially plug seedling growers and proper means of technology transfer such as publications will be necessary. Some of the techniques developed through this research will be protected by patent so that worldwide use of this technique developed in Korea can be used for safe production of vegetables over the world.

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 2 장 국내외 기술개발현황

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 7 장 참고문헌

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 종자처리 및 건열처리기술의 종류 및 방법

과학의 발전과 함께 과거에 매우 어려웠던 각종 종자전염 병균의 동정 및 이를 불활성화하는 기술은 날로 현대화되고 있고 첨단화되고 있다. 특히 이러한 기술은 해외채종이 확대되고 국제간의 종자교류가 확대됨에 따라 다양한 위해(危害) 병균의 무차별 난입 등에 대한 국가간의 절박하고 절대적인 기술로 정착되고 있다. 그러나 검역기술에 비하면 첨단 종자처리 기술은 특히 민간기업이 대부분 주관하고 있는 채소종자의 처리기술은 회사자체의 성패와도 직결된 절대적인 대외비에 속하는 기술이어서 개발이 되었다고 하더라도 이를 직접 이용하지 못하고 있는 경우가 대부분이다. 종자처리도 다양한 목적으로 행하지만 본 연구와 직접적인 관계가 있는 수확후의 종자에 대한 종자전염성 병균에 대한 종자처리는 크게 나누어 화학적 처리인 약제 또는 농약처리와 물리적 처리인 온도처리로 대분할 수 있다.

화학적 처리는 주로 유기살균제를 이용하여 침지처리, 도말처리(塗抹處理, slurry method), 분의법(粉衣法, powder mix), 급속습적법(急速濕積法, quick wet method)을 사용하고 있다. 종자소독용 농약으로는 비타지람(카보람 분제), 호마이(지오람 분제), 벤레이트티(베노람 수화제), 호마이+금나락(지오람 수화제), 스포탁(프로라츠 유제), 트리후민(리프졸 유제) 등이 국내에 등록되어 이용되고 있고(농약공업협회 2003 농약사용지침서) 외국에서는 더욱 다양한 농약 특히 트리아졸계 농약이 종자처리용으로 등록되어 사용되고 있다(Thomson, T. T. 109. Agricultural Chemicals. Book III. Miscellaneous Agricultural Chemicals. Thomson Publications, USA).

물리적인 처리로는 온도처리가 주를 이루는데 주로 온탕침법(溫湯浸法, hot-water treatment)이 주를 이루고 있으며 냉수침법, 냉수온탕침법, 광선조사(자외선, 적외선, X선 등)가 주로 곡류를 중심으로 이용되고 있다 (강병화 등, 1999).

그러나 채소류에서는 건열처리(乾熱處理: dry heat treatment)가 더 일반화되어 있다.

일반 다른 처리에 비해서 건열처리가 부가가치가 높은 채소류의 고가 종자에 더 많이 이용되고 있는 이유는 종피에 있는 병균뿐만 아니라 종자내부에 있는 병균까지도 완전하게 제거가 가능하고 아울러 종자를 적실 필요가 없어서 처리 후에도 쉽게 일정기간 저장이 용이하다는 이점이 있다.

상기 물리적 및 화학적 처리 외에도 오염종자를 기계적으로 선별해서 제거하는 기계적 처리나 *Bacillus* 나 *Tricoderma*와 같은 길항세균을 종자에 처리하여주는 방법 등도 있고 이외에도 일정기간 저장, 발효채종, 훈증처리 등도 일부 적용될 수 있

다 (강병화 등, 1999; 이병일 등 2000).

제 2 절 건열처리의 의미 및 장단점

채소종자의 건열처리(乾熱處理 ; dry heat treatment)는 종자에 높은 열을 가함으로써 열에 불안정한 바이러스(virus)를 포함하여 다양한 종자전염병균을 사멸 또는 불활성화(不活性化) 시키는 기술이다. 채소종자의 건열처리는 종자선진국인 일본을 중심으로 구체화되고 실용화되어서 그 직접적인 예로 국내에 수입되는 일본종자의 예를 들어보면 박과채소의 종자는 100% 건열처리가 된 것이며 가지과 채소 등에서도 토마토-가지-고추 등의 대목 종자를 중심으로 접수의 종자까지도 건열처리되어 판매되고 있다.

작물의 종자에 대한 열처리 또는 온도처리는 아주 오래 전부터 실용화되어 왔는데 그 대표적인 예가 온탕처리(溫湯處理)로서 종자를 40~50℃의 온탕에 10~40분간 침지하거나 혹은 침지하였다가 다시 냉수에 처리함으로써 종자전염하는 다양한 병균(무혹반병, 배추속의 흑반병, 근후병, 흑반성세균병, 흑부병; 상추와 셀러리의 반점병이나 연부병, 토마토의 잎곰팡이병, 박과채소류의 *Fusarium* 등을 불활성화 시키는 방법 등이다. 그러나 온탕처리는 종자를 파종하기 직전에 처리하여야 하므로 실제 재배자의 입장에서는 가능하지만 종자를 생산하여 저장-판매하는 종자회사의 입장에서는 거의 불가능한데 그 이유는 일단 흡습한 종자를 재건조하기도 어려울 뿐만 아니라 재건조를 하여 저장하거나 유통시킬 경우 종자활력이 저하되는 등의 부작용이 따르고 있기 때문이다. 또한 몇몇 가지의 종자처리용 살균제가 시판되어 있기는 하나 이들 살균제는 종자전염하는 병균 중 일부에만 작용을 하므로 그 이용이 매우 제한적이다.

종자의 건열처리는 75℃의 고온에 종자를 노출시켜 건조한 상태로 처리하는 기술로서 열처리 기간 중 특히 초기에 종자의 수분함량을 4% 이하로 낮추고 온도를 서서히 올려주어야 건열처리에 다른 피해를 최소화할 수 있다.

건열처리는 최근에는 다양한 종자들의 종자전염병균 멸균용으로 이용되고는 있지만 초기에는 주로 오이녹반모자이크바이러스(cucumber green mottle mosaic virus ; CGMMV)의 불활성화 처리로 일본에서 이용되기 시작하였다. CGMMV는 담배 모자이크 바이러스(tobacco mosaic virus, TMV)와 같은 종류의 바이러스로서 (tobamovirus) 종자전염을 하며 잔류기간이 대단히 길고 다양한 작물에서 그 피해가 크게 나타나는 바이러스이다 (Agrios 1999). 우리나라에서의 발생은 오래 전부터인 것으로 보고되고 CGMMV의 strain에 따라서 작물에 대한 반응이나 발생이 매우 다른 것으로 보고된 바 있다 (김기청, 1999. 박과 작물 병의 진단과 방제이론, 전남대

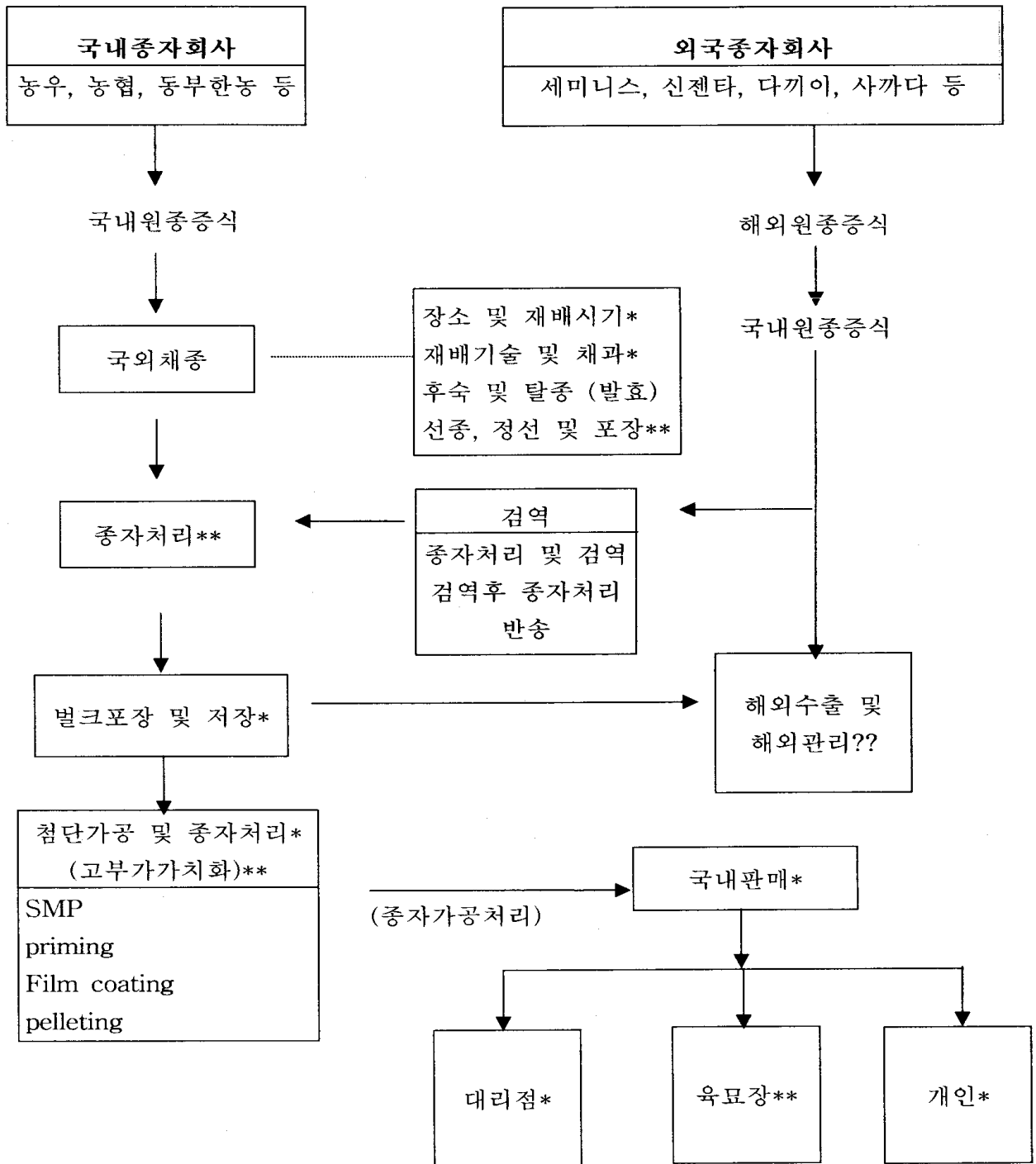


그림 A-1. 채소종자의 생산 - 공급 - 검역 - 유통 및 육묘체계.
 (* 표는 (종자)감염이 증가될 수 있는 단계, ** 표는 감소가능단계)

출판부, 702 pages). 한국에서 본격적으로 문제시되기 시작한 것은 1999년 중국에서 채종된 오염된 박 종자에 접목한 수박에서 대발생이 보고된 이후 계속 우리나라 박과채소류의 재배지역에서 매년 발생이 보고 되면서 큰 피해를 미치고 있다. 따라서 정부에서도 CGMMV를 규제대상병으로 지정하고 모든 수입되는 박과채소류의 종자에 대해 엄격한 검역 및 규제를 실시하고 있다.

채소종자의 건열처리는 이론상으로는 매우 용이한 듯하지만 대단히 어렵고 다양한 요인이 그 성패에 영향을 미쳐서 세계 굴지기업인 일본 다끼이 종묘에서도 건열처리 기술개발에 20년 이상이 소요되었다고 하며, 실제 본 연구팀에서 앞서에서의 일부 연구에서 밝힌바 있듯이(이정명, 1999) 작물의 종류나 품종, 기타 다양한 요인의 영향을 크게 받는 것으로 알려져 있다 (小室康雄, 1973. 誠文堂 新光社. 300 pages; 蔬菜種子生産協議會, 1978. 野菜の 採種技術). 462 pages.)

표 A-1 에는 건열처리의 장단점을 보이고 있는데 가장 큰 문제점의 하나는 극심한 온도 stress를 주어 종자에 붙어있는 다양한 병원균이나 virus를 죽이는 과정에서 종자 자체도 많은 stress를 받아서 그 피해가 종자발아 및 유묘(幼苗)의 생육에 큰 영향을 미칠 수 있기 때문이다.

표 A-1. 건열처리에 따른 장점 및 단점의 비교

장 점	단 점
1. 종자내부에 있는 대상 바이러스 및 병원균들을 완벽하게 제거할 수 있다.	1. 처리용기계의 성능 및 작동방법에 따라 종자발아 및 유묘생장에 영향을 줄 수 있다.
2. 종자를 적시지 않고 처리하므로 재건조할 필요가 없다.	2. 개인용으로 사용하기에는 건열처리용기계가 고가이다.
3. 다양한 virus나 세균, 진균 등에 적용할 수 있다(<i>Fusarium</i> 등, <i>Alternaria</i> 등).	3. 종자의 수명이 감소될 수 있다.
4. 차후 대부분의 타작물에도 그 적용이 확대될 것이 확실하다.	4. 모든 병원균 및 모든 바이러스가 불활성화되는 것은 아니다.
5. 본처리 및 후처리의 적절한 적용에 의해 건열처리 종자의 장기저장이 가능하다.	5. 작물의 종류나 품종, 그리고 종자의 상태에 따라 피해가 크게 나타날 수 있다.
6. 맹독성 농약의 사용이 전무하므로 처리-취급이 안전하고 친환경 작물의 생산에도 필수적이다.	6. 처리시작에서 완료까지 시일이 오래 걸린다(5일 이상).

제 3 절 병균의 검열 및 확인

규제검역대상이 된 CGMMV(KGMMV와 ZGMMV)에 관하여는 해외 채종되어 반입되는 모든 종자에 대하여 식물검역이 시행되고 있고 실제로 상당비율의 해외채종종자에서 CGMMV 등에 대한 양성반응이 나타나서 통관이 보류되어 반송되고 있는 실정이다. 이러한 사정은 대부분의 종자를 해외채종종자에 의존하고 있는 국내 채소종자업계의 입장에서는 생사와 관련된 심각한 문제로까지 발전되게 되었다. 그 이유는 CGMMV가 다양한 수단으로 전염되는 것이 확인되어(접촉전염, 종자전염, 토양전염 및 기타) 채종과정에서 CGMMV의 무병종자의 채종이 사실상 매우 어렵기 때문이다(그림 A-1 참조).

CGMMV의 검역 확인과정은 종자를 마쇄하여 그 즙액을 ELISA로 검정하는 것으로 그 반응이 확실하고 단시일 내에 끝나므로 검정방법에 대하여는 하등의 문제점이 없으나 다만 검역시의 sample size나 sampling method에 따른 문제점은 일부 발생이 가능하다. 현재로서는 통관이 가능한 조건을 0%로 잡고 있기 때문에 이에 따른 민간업계의 애로점이 고조되고 있는 실정이고 종자수급에도 일부 차질을 빚고 있다. 일본의 경우 박과채소의 종자는 100% 건열처리되어 판매되므로 설사 일본에서 수입되는 종자에서 CGMMV 양성반응이 나온다고 하더라도 활성바이러스가 있다고 단정할 수 없는 문제점이 있는데 이 또한 차후 상당한 문제점으로 작용하게 될 요인이라고 본다.

ELISA는 CGMMV 등에 특이반응을 보이는 항체를 이용하므로 대단히 정확하고 신속하다. 그러나 ELISA 검정의 가장 큰 맹점중의 하나는 ELISA의 양성반응은 CGMMV 오염종자에서만 양성반응이 발현되는 것이 아니고 적합한 방법으로 건열처리가 실시되어 실제로 활성 CGMMV가 전무하다고 판정되는 종자도 ELISA에 양성반응을 보인다는 점이다.

따라서 예를 들어 해외 채종되어 적합한 방법으로 건열처리 되어서 국내에 반입하려던 종자에서조차 국립식물검역소의 ELISA 검정방법에서 양성으로 판정되어 통관에 보류될 수도 있게 될 것으로 예상되고 있어서 차후 혼동이 초래될 것으로 우려되고 있는 실정이다.

아울러 종자반응에서 양성반응을 보였다고 하더라도 실제 유식물에서 CGMMV 증상이 발현되는 비율은 매우 낮은 것으로 예상되고 있다. 따라서 기 건열처리된 종자에서의 활성 CGMMV 실제 오염종자에서 마쇄즙을 생물검정 대상작물인 오이(*Cucumis sativus*)나 담배(*Nicotiana benthamiana*)에 접종하여서 그 반응을 보는 것이 조사개체수나 실제 양성반응을 보이는 개체율을 감안할 때 생물검정은 사실상 불가능한 것으로 추정되고 있어서 이에 대한 대안이나 대책 수립이 시급한 실정이다.

제 4 절 건열처리와 타처리와의 혼용처리

실제로 수많은 종류의 병균이 종자전염을 하므로 건열처리 하나만으로 기존의 물리·화학적인 처리를 완전 대체할 수는 없다. 아울러 최근에는 프라이밍(priming)이나 펠렛팅(pelleting), 그리고 다양한 길항세균의 이용 등이 확대되면서 건열처리를 마친 종자에 대하여도 이들 첨단 종자처리기술의 혼용 또는 병용이 필수적이라고 판단되고 있다.

또한 세관에서의 검역이나 현재 해외 채종 현장에서의 선적과정에서도 최소한의 살균제 첨가는 보편적으로 실시되고 있으며, 종자의 탈종 및 정선과정에서도 다양한 화학물질이 사용되는 경우가 증가하고 있어 차후 건열처리와 타처리와의 혼용처리가 확대될 것으로 예상된다. 따라서 이러한 처리에 대한 가능성을 검토하는 것도 중요한 과제로 판단되고 있다.

제 5 절 건열처리의 차후 이용 가능성

건열처리에 따른 문제점이 있는 것도 사실이지만 다양한 장점 때문에 건열처리는 차후 고부가가치를 채소류 종자 외에도 다른 작물의 종자에까지 확대·실시될 것으로 예상된다. 특히 국제간의 종자교류가 확대되면서 이와 함께 심각한 병해충이 유입되어 심한 경제적인 피해를 입을 수 있고 특히 이병종자를 수출하게 되는 경우 물론 종자수출국이라는 현 위상에도 큰 문제가 발생할 것으로 예견된다. 흔히 농약으로 구제가 불가능하거나 매우 힘든 바이러스나 세균병은 종자나 식물체에 감염되었을 때 결정적인 약점이 열에 약하다는 특성이 있어서 과수류에서는 심지어 35~40℃의 고온에서도 바이러스를 불활성화 시키고 있는 예를 흔히 볼 수 있다(Hartmann 등, 2002). CGMMV는 종자·즙액·토양전염되며 물리적으로 안정화되어 있어 전염력이 강하며 농작업시 접촉전염에 의하여 확산이 된다. 특히 종자전염은 1차 전염원으로 작용하기 때문에 종자소독이 필수적이다. 종자소독후 종자에 바이러스의 존재유무 및 활성여부를 조사하여야 하는데 이를 위하여 항체진단법 및 효율적인 생물검정법 개선 및 개발은 꼭 수행되어야 할 사항으로 이 과제는 이러한 목적을 달성하기 위하여 수행되었다.

따라서 채소류에서 박과, 가지과, 배추과 채소종자에만 국한될 것이 아니고, 또한 그 규제대상 병명에서도 CGMMV나 KGMMV 또는 ZGMMV에 국한된 것이 아니고 현재 전세계적으로 위협을 주고 있는 수박의 과실부패병(bacterial fruit blotch of watermelon)이나 상추류의 바이러스, 기타 다양한 종자전염병균의 불활성화 수단으

로 그 이용이 급증하게 될 것이 확실시되는바 이에 대한 가능한 모든 사전 대책 수립이나 건열처리상의 기술적인 문제점에 대한 적극적이고도 과학적인 해결책이 시급히 마련되어야 할 것이다. 채소종자의 건열처리기술개발이라는 연구과제명을 가지고 있는 본 연구의 주요 과제 개요는 건열처리의 실용화 기술도출에 최우선을 두었고 아울러 검정이 불가능하거나 많은 시설, 장비, 그리고 시간이 소요되는 생물검정을 효과적으로 대체할 수 있는 첨단분석방법을 개발하고 확인하여 우량종자의 양산은 물론 수출확대에도 적극 기여하고자 하였다.

제 2 장 국내외 기술 개발 현황

제 1 절 국내의 기술개발 현황

이 연구가 시작될 당시(2000년) 국내의 기술개발현황은 전무한 것이나 다름없었다. 이 등의 연구보고서와(이, 1999) 같이 연구결과에 준해 학회에 발표한 몇몇의 논문이 전부일뿐 대부분 불확실한 일본 서적에 기술된 아주 간단한 내용이 전부였다.

이러한 가운데 본 연구과제와 같은 시기에 중소기업 과제로 선정되어 2년차 연구로 진행된 농특세연구(정용봉 외, 2002, Tobamovirus 무독화를 위한 다기능 건열처리기기 개발, p. 100)에서 “다기능 건열처리기기”가 개발되고 이 기계가 또한 일반 종묘 회사에 공급되거나 기존의 기계를 보완하게 되면서 최소한 수박대목으로 가장 보편적으로 이용되고 있는 박(*Lagenaria siceraria*) 종자에 대한 건열처리 기술과 기계가 국내에 보급되고 해외채종현장에도 근간 설치될 정도로까지 발전되었다 (2003년 8월 현재). 그러나 건열처리는 박종자에만 실시하는 것이 아니고 모든 박과 채소(수박, 호박, 참외, 멜론, 오이, 박, 동아 등)를 포함하여 가지과 채소(고추, 가지, 토마토), 배추과 채소(무, 배추, 양배추 등) 외에 다양한 작물에 적용되고 있어서 다양한 채소작물에서의 체계적인 검증은 거의 실시된 바 없다.

따라서 본 연구가 종료된 2003년 8월 현재 타 작물에 대한 건열처리보고는 한 두 가지 품종을 가지고 실시한 이 등(1999)의 보고와 서(1999, 종자생산의 이론과 실제, 청목문화사, p. 382)가 전부라고 하여도 과언이 아니다.

그러나 대부분의 종묘업자들 간에는 박 종자 외의 박과 채소에서 건열처리의 실시에 따른 많은 종자 피해 사례가 줄곧 보고되고 있고 따라서 건열처리 피해를 최소화하기 위하여 건열처리의 기본 상한온도(上限溫度)인 75℃를 적용하지 않고 72℃나 심지어는 70℃까지 건열처리시의 고온한계를 낮추고 있다는 전언도 있어 자칫하면 건열처리된 종자에서도 바이러스가 재발할 수 있다는 강한 우려감마저 나돌고 있으나 이에 관한 체계적인 연구나 해법이 전무한 실정인바 시급한 연구요청이 현재까

지도 지속되고 있는 실정이다.

제 2 절 국외의 기술개발 현황

고부가가치를 지닌 채소류의 종자 건열처리는 일본에서 집중적으로 실시되고 있다. 즉, 일본이 우리나라에 수출하고 있는 종자를 국내에서 구입하여 보면 박과 채소는 100%, 모든 토마토 대목종자, 기타 상당한 종자가 건열처리가 완료되어 국내에 보급되고 있다.

앞에서도 언급되었지만 이 기술의 장점이나 이 기술의 적용에 따른 실익이 잘 알려진 후에도 이 기술이 시판용 채소작물의 종자에 안정적으로 적용되기까지는 세계적 종자회사인 다끼이 종묘에서도 20년 이상이 소요되었다고 한다. 이것은 개발한 회사 자체가 실익을 최대한으로 챙기기 위한 고유의 기술로 판단하여 철저한 비공개 원칙을 고수하고 있기 때문이기도 하지만 무엇보다 건열처리 그 자체가 심도 있게 연구하고 파악하지 않으면 대단히 위험하고 불안정한 처리방법이란 것이라는 인식이 일부 선진국의 보고서 등을 통해서 알려지고 있기 때문이다. 그러나 최근 다양한 병원균의 동정기술이 속속 개발되고 이에 대한 위해(危害) 해외 병원균의 효과적인 규제 대책의 수립이 전세계적으로 확산됨에 따라서 효과적인 처리에 대한 관심과 이용이 급증하고 있는 시점에 와 있다. 즉, 채소종자로는 세계적으로 가장 큰 회사인 Seminis사에서도 건열처리가 보편화되고 있고, Syngenta에서도 역시 한국과 해외채종 현지에서의 건열처리시설의 조기건립을 추진하고 있는 것이 그 좋은 예라고 할 수 있으므로 한국에서 출발한 첨단 종자처리 기술이 세계화되는 시점에 와 있다고 판단된다.

최용문- 국내외 기술 개발 현황(추가)

80%이상 CGMMV에 오염된 종자에서 실질적인 종자전염율은 3% 이하로 나타났지만 전염력이 강하여 재배지역에서 수확기에 100% 감염율을 나타낸 포장도 있다.(98 원예연 보고서) 선진국에서는 종자 전염 바이러스에 대해서는 판매용 봉지에 『종자소독 실시』 등으로 표기하여 판매하고 있으나 국내에서는 표기가 시도되는 초기단계이다. 세계적 종자회사에서는 회사 자체에서 종자소독기술을 개발하여 사용되고 있으나 외부에 공개를 하지 않은 상태이다.

바이러스 진단방법에는 ELISA 등 항혈청 검정, RT-PCR 등 유전자 진단 및 전자현미경 검정 등이 있으나 바이러스의 활성 여부는 지표식물 등 생물검정이 필수적이다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구개발 수행 내용

세부과제 1. 건열처리에 따른 종자활력 저하와 건열처리 원인구명 및 대책수립 (이정명)

세부과제 2. 건열처리 종자의 수명평가 및 수명연장 처리기술의 개발(최근원 → 이정명)

1. 채소작물의 종류 및 건열처리 조건에 따른 반응

(1) 작물의 종류 및 품종에 따른 건열처리효과

본 연구에서는 박과채소종자에 대한 연구보고가 일부 있으므로(정용봉 등, 2002) 우선 가지과와 배추과에 속하는 다양한 작물의 종자를 수집하여서 각각에 대하여 표준 건열처리(35-50-75°C)를 실시하고 3일의 평형기간, 30일 정도의 후처리기간 (post-treatment storage) 을 가진 후 각각 germination paper(Anchor paper)와 cell tray에 파종하여 발아 및 유묘활력을 평가하였다.

공시된 작물 및 품종을 보면 고추는 종자저장기간이 5년 이내이면서 발아율 50% 이상을 유지하고 있는 청양, 녹광, 부강고추 등 67개 품종, 배추도 같은 기준으로 노랑봄, 삼진, 고랭지여름 등 9 품종, 무는 백광무, 초봄알타리, 백자무 등 11 품종, 그리고 토마토 5 품종, 양배추 2 품종, 가지 2 품종을 각각 공시하였다.

(2) 고추 품종에 따른 건열처리 및 후처리 효과

상기 실험과는 별도의 실험으로 갖 채종된 몇몇 인기 고추 품종을 종묘회사로부터 인수받아 실험을 행하였다. 공시품종들의 종자는 ‘금상’을 제외하고는 모두 건열처리 되지 않은 종자이었는데 회사에 따라 종자전염 바이러스인 CGMMV 등을 제거하기 위하여 일부 제3인산소다 (10% Na₃PO₄)로 처리된 종자도 포함되어 있었다. 다만 ‘금상’은 살균제인 thioram 처리와 아울러 두텁게 film coating이 되어 있는 종자이어서 건열처리에는 부적합하였지만 코팅된 종자에서의 건열처리반응을 연구하기 위하여 함께 표준건열처리를 가하여 실험하였다. 파종은 thermogradient table을 이용한 발아실험과 Anchor paper를 이용한 실험과 아울러 일부는 cell tray에 파종하여 각각 그 결과를 취합하였다.

(3) 박과 채소류에서의 건열처리 반응

박과 채소류에의 건열처리는 기존의 국내 연구보고가 다소 있으므로 이를 참고로 하되 수박 대목인 박 종자에만 국한하지 않고(정용봉 등, 2002) 폭을 넓혀 모든 박과 채소 종자를 주요 대상으로 하여 수집한 종자로 실험하였다. 실험방법은 대체로 앞의 1-(1)에서 기술된 바와 같다.

2. 건열처리 조건에 따른 박 품종의 반응성

기존의 보고에서(이 등, 1999; 정 등, 2002) 박과채소 중 박 종자에 대한 다양한 처리가 실시되었는데 본 보고서에서 그 주요 내용을 보면 종자건열처리에 다소 상이한 반응을 보이는 ‘FR King II’ (안정적), ‘Partner’ (보통), ‘Power’ (민감), ‘FR Gold’ (민감)의 4 품종을 이용하여 아래의 내용에 대한 집중적 연구가 선행된 바 있다.

건열처리에서는 처리기간 중 적절한 환기를 필수로 하고 온도 상승조건은 35°C에서 24 시간, 50°C에서 24 시간의 선행처리과정을 거쳐서 최종적으로 75°C에서 72 시간으로 하되 온도가 변하는 시점에서의 온도상승 방법을 달리하여 건열처리를 실시한 후 각각 0, 30, 60일간 후처리하여 발아실험 및 유묘활력을 검정하였다. 최종조사시의 특성은 발아세, 발아율, 하배축장, 하배축경, 자엽장, 자엽폭 및 생체중을 중점적으로 조사하였다 (표 2-1 참고).

3. 건열처리 상한온도에 따른 박 품종간 반응성

건열처리 상한온도에 따라서는 75°C의 고정 상한온도 대신에 60, 65, 70, 75, 80, 85°C의 6개 상한온도를 설정하여 각각 72 시간씩 건열처리를 실시하고 0, 30, 60일간의

후처리를 거친 후 발아실험 및 유묘활력을 평가하였다. 상한온도에 도달하기 전까지의 온도상승조건은 상기 2에서와 동일하였다.

4. 건열처리 지속기간에 따르는 종자처리 반응성

상한온도를 표준처리인 75℃로 고정하고 이 상한온도에서의 지속기간을 각각 1, 3, 5, 7 일간 처리하였다. 이에 대한 실험 근거는 cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV)는 쉽게 불활성화되지만 역시 종자전염하는 만할병(蔓割病, *Fusarium oxysporum*)의 병균은 그 종류에 따라 7일까지 처리해야 불활성화 되는 일부 보고에 근거하여 설정하였다(小室, 1973). 처리후의 발아실험 및 유묘활력은 전술한 바와 같다.

5. 건열처리 횟수에 따른 반응

박과채소의 종자는 대부분이 해외 채종되어 반입되는데 경우에 따라서는 해외에서 이미 건열처리되어 반입이 될 수도 있다. 이 경우에도 ELISA 반응은 CGMMV에 감염되었던 종자는 건열처리를 하더라도 그 반응성이 대부분 바이러스가 아직 있는 것으로 나타나기 때문에(陽性反應, positive response) 현재의 검역방법으로는 효과적인 검정이 불가능하여지게 된다.

문제는 일본에서 수입되어 한국의 수박대목으로 사용되고 있는 박 대목 종자 또는 박과 채소류나 가지과 채소류 종자에서도 마찬가지이다. 즉, 일본에서의 수입종자는 전량이 일본에서 건열처리되어 반입되는데 일본도 역시 우리나라와 같이 해외채종의존도가 높기 때문에 위에서 지적된 바와 같은 사례를 쉽게 예상할 수 있어 커다란 혼동을 초래할 우려가 있다.

아울러 경우에 따라서는 적절한 방법으로 건열처리를 하였다고 주장하는 seed lots도 건열피해를 최소화하기 위해서 건열처리의 상한온도를 75℃가 아닌 70℃나 또는 그 이하의 온도로 처리하여 CGMMV의 완전한 불활성화가 이루어지지 않은 상태로 검역에 임할 수도 있다.

이에 대한 대책으로는 75℃에서 건열처리가 되었다는 완벽한 증거를 제시하는 방법 외에는 '재건열처리'가 제시될 수 있다. 즉, 일단 건열처리 되었다고 주장하는 종자라도 CGMMV 검역에서 양성반응이 나오게 되면 그 정도 등을 감안하여 쌍방의 합의하에 재건열처리가 가능하다면 이러한 문제점을 완벽하게 해결할 수 있기 때문이다.

따라서 본 실험에서는 역시 종자건열처리에 다소 상이한 반응을 보이는 'FR King

II' (안정적), 'Partner' (보통), 'Power' (민감), 'FR Gold' (민감)의 4 품종을 이용하여 75℃의 상한 온도에서 각각 0, 1, 2, 3 회를 처리한 후 이들 종자의 발아 및 유묘활력을 평가하였다.

6. 호박에서의 건열처리 반응성 연구

호박류에는 동양계호박 (*Cucurbita moschata*), 서양계호박 (*Cucurbita maxima*), 피포계호박(*Cucurbita pepo*) 외에도 흑종호박 (*Cucurbita ficifolia*)과 대목으로 가장 중요하게 사용되는 신토좌호박 (*Cucurbita maxima*와 *Cucurbita moschata* 간의 중간 잡종)을 공시하여 다양한 실험을 하였다. 특히 호박류에 중점을 두고 실험을 한 이유는 첫째, 수입되는 호박종자류에서도 다양한 tobamovirus가 검역당국에 의해 검출되고 있으며 (CGMMV?, KGMMV, ZGMMV), 국내에서의 피해가 보고되고 있고 특히 건열처리 피해가 매우 심하게 발생하는 것으로 알려져 있기 때문이었다.

다양한 호박(대목 및 재배품종)이 육성-공급이 되고 있으므로 종묘회사의 적극적인 협조를 얻어 다양한 호박류의 종자를 입수하여서 건열처리를 실시하였다. 다만 75℃의 표준건열처리조건을 적용할 경우 과도한 건열피해 증상이 나타나기 쉽다는 예비실험 결과에 근거를 두고 건열처리시의 온도를 69℃, 72℃ 그리고 75℃의 3 상한온도에서 처리를 하고 3일간의 자연흡습과 0, 30, 60일간의 후처리기간을 거친 후 각각 72공 cell tray에 3반복으로 파종하여 묘출현을 및 유묘활력을 평가하였다. 이에서 얻은 결과에 기초를 두고 현존하는 호박류를 건열처리 반응성에 근거하여 구분하고자 하였다 (표 6-1 및 표 6-2 참조).

7. 과령, 후숙, 탈종방법에 따른 박 및 호박종자의 건열처리 반응

(1) 호박류

동일 품종에서도 종자의 상태(예: 충실도 등)에 따라서 건열처리에 따른 피해 발생이 박 종자에서도 나타나지만 특히 호박에서 더욱 심한 것으로 알려져 있다. 따라서 호박종자 건열처리 시에 나타나는 건열처리 자체의 피해 정도를 최소화하기 위하여 협동연구기관인 Seminis사와 농우바이오(주), 그리고 Syngenta 종묘의 협조를 받아 다양한 과실 및 종자를 분양 받아서 실험하였다. 호박에서도 다양한 품종을 공시하여(표 7-1 참조) 미숙과(착과후 40일 정도 경과), 적숙과(55일 경과), 완숙과(70일 이상 경과)로 각각 구분하여 탈종하되, 이 때 수확된 과실의 실온에서의 후숙기간을 0, 10, 20일로 구분하여 적용하여서 후숙의 효과도 아울러 검정하였다.

또한 동일한 과실 내에서도 과실의 상태(착과후 경과일수, 후숙기간, 과실의 크기, 수확시기)에 따라서 종자의 크기나 충실도 등에 차이가 크게 나타나고 있어서 호박에서의 채과 부위를 과병부착부위에서 꽃자리부위까지의 자방 내부를 4등분 또는 2등분 하여(그림 A-1) 부위별로 탈종-수세-비중선하여 충실종자(물에 가라앉는 것) 및 비충실종자(뜨는 종자)로 구분하여 충실한 종자만을 골라 특성을 조사한 뒤 기타 건열처리 및 발아실험에 이용하였다 (그림 A-2).

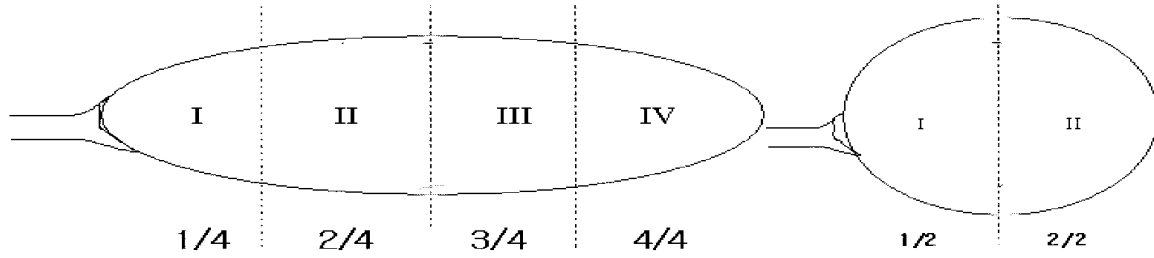


그림 A-1. 호박류의 종자채종을 위한 과실의 절단 부위 및 명칭.

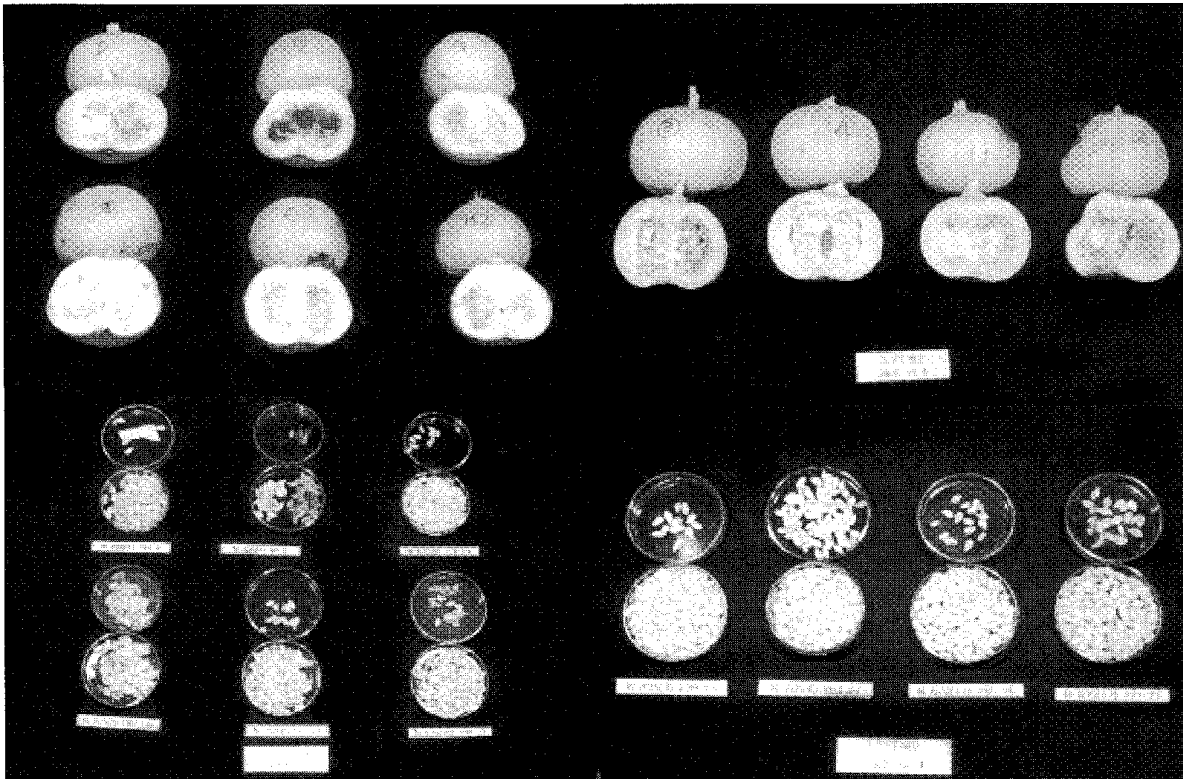


그림 A-2. 꽃호박류의 과실크기 및 부위별 채종량의 비교(상: 채종한 과실의 외형, 하: 채종된 충실종자수(상: 1/2 부위, 하: 2/2 부위)).

(2) 박 종류

박에서는 3 품종을 공시하여 착과 후 경과일수에 기준을 두고 미숙, 적숙, 완숙과로 분류 채과하여 이들로부터 탈종된 종자의 특성을 조사함과 아울러 건열처리 여부에 따른 반응을 72공 셀트레이에 과종하여 묘 출현율(발아율), 하배축장, 건묘율 등을 조사하였다.

8. 종자의 형태적 특성과 건열처리 반응 및 선종기술 제안

본 연구를 통해서나 또는 이미 앞서의 여러 실험을 통하여 종자의 충실도가 좋은 것이 종자활력이 높고 건열처리에도 강한 것으로 나타났다(유은하, 2001). 그러나 작물의 종류나 종자의 상태에 따라서 이 반응성은 다소 달라질 수 있었다. 따라서 본 연구는 건열피해가 거의 보이지 않은 박 종자와 심하게 나타나는 호박종자간의 종자의 형태적인 비교를 행하였다.

또한 건열피해가 동일 품종이라도 극심한 차이를 보이는 호박종자에 대하여는 종자의 다양한 특성을 비교-분석함과 동시에 종자를 부분박피(brushing 또는 부분절피)하거나 완전 박피하여 건열처리를 가함으로써 상대적으로 종자의 보호작용을 하는 종피의 역할에 관하여 실험을 실시하였다.

호박류에서는 일차적 선종은 탈종-조제 시에 수선(水選) 또는 비중선에 의하는 것이지만 이후의 종자에서도 극단적인 차이가 나타나고 있어서 이에 대한 체계적인 원인구명 및 차후 첨단기계를 이용한 충실종자의 선종기술을 도출하고자 하였다. 즉, 2002년 중국의 지역별로 채종된 신도좌 호박(신젠타)의 seed lots을 입수하여서 입수한 22개 seed lot 모두 75℃ 상한 온도에서 72 시간 건열처리하여 그 반응을 분석하였다. 아울러 일부 표본에서는 종자를 크기별로 세분화되 우선 육안으로 크기별로 大, 中, 小로 분류한 후 이들 종자에 대하여 종자별로 중량, 길이, 폭, 두께, 종피중량, 배중량, 배 중량비율을 조사하였다. 이 기본 data를 분석하여 충실종자의 선종에 기준이 되는 parameter를 제시하였다.

9. 다양한 종자처리가 건열처리에 미치는 영향

해외채종비율이 급증하고 있는 국내 채소종자는 수입, 통관 시에 위해병균의 감염 등의 우려로 소량의 살균제 등을 처리하는 것이 상례(?)로 되어 있고, 설사 통관 시에 처리하지 않더라도 국내 반입 후에 종묘사마다 다양하게 처리하여 저장되기도 한다. 흔히 사용되는 물질은 치람(thiram ; 종자처리용 액상 수화제)이지만 경우에 따

라서 다양한 농약들이 다양한 형태로 이용되고 있다(지오람 또는 호마이 ; Captan 또는 오소싸이드 등).

아울러 경우에 따라서는 프라이밍된 종자나 film coating된 종자에 대하여 건열처리를 부가하게 될 수도 있고 이 연구가 진행되는 과정 중에서 실제로 이에 따른 종묘회사 측의 피해사례가 전언되고 있어서 본 연구가 추가되었다.

본 연구에서는 고추를 위시한 다양한 종자를 입수하여 실험하되, 가급적 여러 가지 방법으로 농약처리가 이미 가해진 것이나 프라이밍 처리된 종자 등을 입수하여 표준 건열처리 방법에 준하여 건열처리를 실시하였다. 처리된 종자는 처리기기에서 1일, 실온에서 3일을 자연 흡습시킨 후 각각 0, 30, 60일간 후처리하여 실내실험 및 하우스 내 셀트레이에 파종하여 검사하였다. 다양한 실험으로 구성되어 있으므로 그 주요 내용들은 편의상 각각의 실험결과와 함께 기술하였다.

10. 건열처리 후 장기저장중의 종자활력변화

모든 박과채소를 대상으로 하였다. 즉 박에서는 타 연구과제와 관련되어 (이정명, 1999) 이미 건열처리되어 2~3년간 종자실(10℃, 30% RH)에서 장기저장되었던 모든 종자에 대하여 포괄적으로 발아 및 유묘의 생육을 조사함으로써 장기저장 및 수명평가를 실시하였다. 박 이외에도 호박, 흑종호박, 오이, 참외, 멜론, 수박 등의 종자를 국내 종묘회사에 의뢰하여 무처리 종자를 입수하여 각각 다양하게 건열처리하여 실험하였다.

처리온도도 다양하게 적용되기는 하였으나 본 보고서에서는 편의상 75℃의 상한온도에서 3일간 처리된 표준건열처리 조건을 적용하여 얻어진 결과만을 중점적으로 수록하였다.

또 다른 장기 저장으로는 다양하게 처리된 종자를 Seminis Seeds의 안성 SKOC(Seminis Korea Operation Center)의 포장용기 및 방법을 이용하여 소포장으로 각각 포장한 후(그림 A-3) 이들 종자를 4℃, 15℃, 25℃ 내외의 각각 다른 온도조건 하에서 장기간 저장을 하면서 일정 시일 경과 후마다 소포장분을 꺼내어 다양한 발아실험 및 기타 실험에 이용하였다.



그림 A-3. 시판되는 종자와 동일한 소포장으로 밀봉 포장되어 장기 저장되면서 이용되었던 다양한 포장용기내 처리종자들.

11. 노화촉진처리를 이용한 종자의 활력 평가

노화촉진처리(老化促進處理 ; artificial aging treatment, AA처리)란 종자를 이상적인 저장조건과는 정반대의 환경조건에 처하게 함으로서 정상적인 저장환경 하에서는 몇 년-몇 십년이 소요될 수도 있는 종자활력 또는 저장능력의 변화를 신속하게 추정하는 처리를 의미한다. 따라서 온도는 40-45℃로 조절하고 상대습도는 포화상태인 100%로 조절된 밀폐 용기 내에 종자를 노출시키면 종자 활력이 급격하게 감소하는데 대개 이러한 처리장치내에서의 24 시간(1일) 저장은 실온에서의 이상적인 저장 1년과도 유사하게 비유될 수 있다. 따라서 그림 A-4에서와 같은 소형처리용기에 종자를 넣고 용기의 가장자리는 흡습한 종이로 벽에 밀착시켜 균일하게 용기 내 상대습도를 100%가 되도록 하여 밀봉한 뒤 이를 다시 비닐로 감싸서 2중 밀봉이 되게 한 후 항온기에 넣어서 처리하였다. 처리가 종료되면 종자를 꺼내 실험대위에 넣어놓아 48 시간 이상 종자 내 수분함량이 외부와 평형이 되도록 한 뒤 과중하여 실험하거나, 아니면 다시 silica gel과 함께 밀봉하여 저장하면서 실험에 이용하였다.



그림 A-4. 노화촉진처리(100% RH)에 사용된 처리장치.

12. 건묘율 제고를 위한 종자 처리기술 개발

(1) 건열처리된 종자의 수분흡수 특성

일반적으로 건열처리된 종자는 최종발아율에서는 무처리 종자와 같거나 유사하다. 그러나 발아세 또는 초기발아율이 낮게 나타나는 공통점을 지니고 있다. 이러한 현상은 발아세의 온도조건이 적온이 아닌 다소 저온인 경우에 특히 두드러지게 나타난다. 따라서 이러한 초기발아율 저하 원인이 발아 초기단계의 종자의 수분흡수 특성과 밀접한 관계가 있을 것으로 추정되어 실험을 실시하게 되었다. 다양하게 처리된 종자를 수분포화상태로 유지되는 chamber 내에 넣고 최적의 발아환경을 제공하면서 종자중량의 변화를 측정함으로써 경시적인 수분흡수량을 조사하고 이를 종자 중량에 대한 상대적인 백분율로 표시하였다.

(2) 종자발아의 온도감응성 분석

건열처리된 종자는 무처리종자에 비해 가공할만한 heat-stress를 받아서 종자내의 효소활력이라든지 생리대사과정에 변화를 받을 수 있다. 이러한 것은 직접-간접으로 종자활력에도 영향을 미칠 것으로 판단되나 일반적인 방법으로는 종자활력을 비교분석하는데 문제점이 많다. 종자활력을 평가하는데 가장 보편적으로 쓰이는 방법으로는 저온발아검사와 인공노화촉진 처리가 손꼽힌다.

따라서 본 연구에서는 생리대사를 평가할 목적으로 다양한 온도 setting이 가능한 다온도발아상(多溫度發芽床; thermogradient table: TGT)을 이용하여서 다양한 작물

의 건열처리된 종자와 무처리 종자, 그리고 경우에 따라서는 건열처리 후 SMP(solid matrix priming) 처리된 종자를 각각 공시하여 그 활력을 비교하였다.

인공노화촉진처리(人工老化促進處理 ; artificial aging treatment, AA 처리) 시에는 종자를 100% RH, 40-45℃의 밀폐 용기에 넣어서 각각 0~6일간 노화촉진처리를 한 후 다시 실내에서 음건한 후 파종하여 그 특성을 비교하였다. 일반적으로 AA 처리 환경에서의 1일은 이상적인 실온저장 조건에서의 1년에 해당되는 효과를 나타내어서 종자활력은 물론 종자 잠재수명의 조기진단에 가장 결정적인 수단으로 알려져 있다 (이정명 등, 1999).

(3) 건열처리된 종자의 SMP 처리

건열처리에 의해 극단적인 stress를 받은 종자는 무처리 종자에 비해 종자활력이나 종자수명 등이 단축되는 것이 상례이다. 특히 이러한 것은 파종시의 발아환경이 다소 부적합한 조건 즉, 예를 들어 적온보다 낮은 온도조건이나 과습조건 등에서 심하게 나타나서 발아세에 특히 영향을 미치기 쉽다. 대목용으로 쓰이는 박이나 신토좌 호박 등은 접목 시에 일정한 크기에 도달한 묘(정상묘)만 접목에 이용되고 대부분의 육묘엽자는 나머지는 폐기하는 것이 보통이어서 보편적으로 폐기율이 매우 높게 나타난다. 따라서 본 연구에서는 건열처리에 의해 발아세가 낮아지는 종자들에 대하여 Solid Matrix Priming (SMP) 처리를 하고 SMP 처리후 바로 수세하여 파종하거나, 아니면 수세(水洗) 후 재건조하여 일정기간 저장하였다가 파종하여 발아세 제고 및 정상묘 획득율을 높이고자 하였다.

건열처리에 의해서 대표적으로 나타나는 발아세 감소효과를 최소화하여 보고자 다양한 프라이밍 기술 중 대립 종자의 프라이밍에 적합하다고 알려진 solid matrix priming(SMP)을 적용하여 실험하였다. 재료로는 microcel E (MCE)를 주로 이용하였는데(송지은, 1998) 종자:MCE:수분의 비율을 10:1:4에서 10:1:6의 비율 내에서 작물의 종류 및 종자특성에 따라 다소간 다르게 조정하여 이용하였다. 처리는 비닐백에 이들 혼합물을 넣고 잘 섞은 후 밀봉하여 25℃ 암 상태에서 72 시간 처리 후 종자를 꺼내어 표면의 처리물질을 수세하여 제거한 후 음건하여 파종하거나 일정 기간 저장 후 이용하였다. SMP 처리의 장점은 처리 후 건조저장을 하여도 그 효과가 최소 6개월 이상 쉽게 유지되어 실용적일 뿐만 아니라 효과 그 자체도 널리 인정되고 있다. 다만, 처리 시에 종피 등에 있는 병균의 확산 등을 방지하고자 물에 captan을 0.1%로 용해하여 이용하였다.

처리가 끝난 후에는 MCE를 제거하기 위하여 수세하였으며 수세 후 바로 파종하거나, 일정기간 저장 후에 발아실험에 이용하였다. 발아조사는 TGT를 이용하거나

아니면 Anchor paper를 이용하여 검정하였고 유묘특성은 온실에서 72공 셀트레이에 파종하여 각각 평가하였다.

(4) SMP 처리시의 GA₃ 혼용효과

SMP 처리효과를 극대화하여 정상묘 획득율을 가일층 제고하기 위하여 SMP 처리시에 증류수 대신에 전술한 바 있는 Captan 0.1%에 추가하여 gibberellic acid(GA₃) 25 및 50 mg · L⁻¹의 농도로 하여 밀봉한 후 처리하였으며 이후의 과정은 전술한 바와 같이 하였다. 공시작물로는 박에서 건열처리에 대한 반응성이 상이하게 나타나는 'FR King II', 'Partner', 'Power', 'FR Gold'를 이용하였다.

13. 대목종자의 건열처리가 단근접목묘의 발근에 미치는 영향

건열처리된 종자는 발아세가 다소 낮고 묘의 상태에서도 무처리에 비해 녹색이 다소 진하고 하배축이 짧고 굵으며 단단하게 자라는 특성이 있다. 박과채소에서는 접목이 필수적이어서 수박, 참외, 하우스오이 등은 대부분 접목묘를 사용하고 있다. 접목방법에서는 호접, 삽접, 합접 등이 있는데(Lee and Oda, 2003, Lee, 2003) 최근에는 합접이 가장 많이 이용되고 있으며 또한 작업을 용이하게 하기 위하여 단근합접(斷根合接 ; splice grafting)을 실시하고 이 합접묘를 50공(또는 32공) 셀트레이에 유기상토를 넣고 삽목하여 접목묘로 육성하는 방법이 공정육묘 업자들 간에 가장 보편적으로 이용되고 있다. 따라서 접목묘의 조기 발근(發根 ; rooting)이 균일접목묘 생산 및 육묘기간 단축에 결정적으로 중요한 요인이 되기도 한다. 허나 일부 육묘업자들 간에서는 건열처리를 하면 발근이 늦어진다는 표현을 하는 경우도 있어 이에 대한 확실한 결과를 얻어 육묘업자들에게 전달하고자 실험을 실시하였다.

무처리종자 및 건열처리된 박종자를 72공 셀트레이에 파종한 후 일반적으로 접목에 적합한 크기에 도달하였을 때(제 1 본엽이 나타나오기 시작) 자엽하단 5 cm 부위를 절단하여 접목한 후 다시 삽목하여 실험하였다. 이 때 발근습성을 더 한층 쉽게 이해하기 위하여 삽목되는 부위(대목의 하배축 절단면)에 발근촉진물질인 Rootone 등을 처리하여 비교하기도 하였다. 삽목 후 3일 및 7일 경과된 유묘를 sampling하여 발근정도 및 묘 생육정도를 각각 비교하였다.

14. 종자의 열처리와 ELISA 반응성

건열처리에 의해서 CGMMV에 대한 ELISA 반응성이 없어지지 않는으나 처리방법

및 정도에 따라서 ELISA 반응성에 상당한 영향을 미칠 수 있을 것으로 판단되어 이에 대한 시급한 연구가 요청되게 되었다. 따라서 본 연구에서는 우선 100% CGMMV에 오염된 종자를 협동연구기관인 Seminis에 의뢰하여 대량생산-확보한 후 이들 종자에 대한 열처리 방법으로 건열처리와 습열처리를 각각 비교하고 건열처리의 상한온도와 상한온도에서의 지속시간을 각각 달리하여 처리하여 ELISA 검정을 실시하였다.

<<기타 참고사항>>

종자 건열처리 전용기기가 3년차 연구기간 중 2년이 지난 후에야 개발이 완료되어 사실상 3차연도에서만 목표로 하였던 안전 건열처리가 이루어 졌으며 1년차나 2년차의 연구에서는 소형기기를 사용하였기 때문에 아무래도 이상적인 처리가 이루어지지 못하였음을 부기합니다. 아래는 종자건열처리 전용장치로 고려기기에서 제작한 소형 기기입니다 (그림 A-5).



그림 A-5. 종자 건열처리 전용 건열처리장치 (고려기기 제작).

좌: 소형기기 전체 모양. 우: 내부용 선반.

제 1 절 연구개발결과

세부과제 1. 건열처리에 따른 종자활력 저하와 건열처리 원인구명 및 대책수립 (이정명)

세부과제 2. 건열처리 종자의 수명평가 및 수명연장 처리기술의 개발(최근원 → 이정명)

1. 채소작물의 종류 및 건열처리 조건에 따른 반응

(1) 작물의 종류 및 품종에 따른 건열처리 효과

다양한 채소작물의 종자를 건열처리하여 무처리 종자와 발아를 비교한 결과는 표 1-1에 보이고 있다. 먼저 고추종자는 67 품종을 수집하여 표준건열처리방법인 75℃ 상한온도로 처리하고 72공 셀트레이에 과중하여 묘 출현율 및 유묘의 초기생육까지도 비교하였다. 다만 이때 공시된 종자는 저장기간(생산연도)보다는 오래 된 종자라도 실험실내의 이상적인 조건 하에서의 발아실험에서 50% 이상의 발아율을 보인 것만을 선별하여 실험하였다. 일반적으로 대부분의 공시품종에서 건열처리에 따른 발아율 (또는 묘 출현율)에서 무처리 종자에 비하여 차이를 보이지 않았다. 그러나 생산연도나 실험실 발아율이 낮았던 종자에서는 건열처리에 따른 피해가 확실하게 나타나는 것도 있었다. 특히 무건열 원상종자의 발아율 사전 검정에서 80% 이하로 나타나는 상당수의 종자에서는 건열처리에 따른 초기발아율의 저하 정도가 현저하게 높게 나타났으며 발아율이 60% 이하인 것들에서는 심한 발아율 감소 정도를 보였다. 따라서 건열처리를 실시하는 경우 저장기간이 오래되지 않은 충실한 고추종자는 건열처리가 용이하지만 종자활력이 현저히 낮거나 아니면 저장기간이 오래 된 종자들에 대하여는 처리 시에 상당한 주의를 요하는 것으로 밝혀지고 있다.

공시된 대부분의 종자는 포장지에는 명시되지 않은 경우가 대부분이지만 종자내의 바이러스를 제거할 목적으로 제3인산소다(Na_3PO_4)를 처리하는데 주로 큰 종묘회사에서 통상적으로 실시하고 있는 CGMMV 등에 대한 보편적인 방제책이기는 하지만 다음의 몇 가지의 결정적 단점이 있어서 타 방법으로 대체되는 것이 권장된다.

즉, 첫째 건열처리에 비해서 종자 내 바이러스가 완벽하게 불활성화되지 않는다는

점인데 제3인산소다의 처리는 주로 종피, 특히 종피 외부에 있는 바이러스를 일부 파괴하거나 불활성화시키면서 동시에 세척하는 효과가 주이므로 상당수의 바이러스가 처리 후에도 잔존할 수 있다는 점이다. 둘째는 처리 시 10% 용액에 1 시간 침지 처리하는 것이 일반적인데 채종 과정에서 일관적으로 처리하지 못하고 현 처리체계에서와 같이 위탁채종농가들로부터 일단 구매된 종자들을 차후에 일괄적으로 처리하다 보면 잘 건조된 종자를 다시 물에 침종하였다가 재건조하여야 하는 번거로움이 있어 소요되는 장비, 비용, 노력 등이 만만치 않을 것이라는 점이다. 셋째 처리되는 10% Na_3PO_4 용액의 처리문제인데 현재와 같이(?) 처리용액을 별도의 정화 과정 없이 하수구로 흘려 버린다면 심각한 수질오염의 문제점이 될 수도 있다는 점이다. 따라서 고추종자에서 제3인산소다를 처리하는 주된 이유가 가장 심한 virus인 tobamovirus 또는 CGMMV를 제거하려는 것이라면 건열처리로 가는 것이 합리적이고 오히려 더 경제적으로 판단된다.

같은 가지과 채소인 토마토에서는 별도의 실험을 통하여 다른 시기에 실험하였는데 75°C 상한온도처리에서도 전혀 어떠한 악영향도 나타나지 않아서 건열처리가 매우 용이하였다 (결과 생략). 다만 고추에서와는 달리 저장기간이 2년 이내인 충실한 종자만을 공시한 것도 건열 피해가 나타나지 않은 원인으로 추정되지만 이에 관하여는 추후의 정밀실험이 필요할 것으로 판단된다.

가지는 원래 종자발아가 매우 까다로운 작물이어서(이정명, 2003) 무처리 종자에서 조차도 발아율이 70-80% 정도로 다소 낮았으나 건열처리에 따르는 발아세 감소는 그다지 현저하지 않았다.

배추류에서는 9 품종이 공시되었는데 건열처리가 된 종자들에서도 모든 품종에서 90% 이상의 발아세 및 95% 이상의 최종발아율을 각각 보여서 건열처리 피해가 전혀 나타나지 않았고, 양배추에도 마찬가지로 피해가 없었다 (표 1-1B).

무에서는 11개 품종이 공시되었는데 배추나 양배추에서와 같이 건열처리에 따른 발아세나 발아율의 감소는 없었다.

이와는 별개의 실험으로 상추, 결구상추, 쪽갓, 시금치 등의 종자들도 건열처리 되었는데 종자충실도만 좋으면 모두 무건열처리 종자와 유사한 종자발아 및 초기생육을 보여서 안전하게 건열처리를 적용할 수 있음이 입증되었다.

표 1-1A. 건열처리에 따른 다양한 종자의 발아 양상.

작물-품종	종자 회사	생산 년도	셀트레이 파종시 발아율 (%)				
			실내검정*	건열처리종자		무처리종자	
				파종후7일	파종후14일	파종후7일	파종후14일
녹광 고추-A	홍농	2002	80.00	98.61	100.00	90.00	96.00
청양 고추-A	중양	2002	80.00	97.22	100.00	90.00	96.00
부강 고추	홍농	2003	80.00	97.22	98.61	100.00	100.00
부춘 고추	홍농	2002	80.00	81.94	91.67	88.00	98.00
왕대박 고추	중양	2002	80.00	93.06	94.44	82.00	92.00
포정천 고추	노마티스	2000	-	83.33	94.44	72.00	94.00
건장 고추	농진	1994	92.00	87.50	93.06	54.00	80.00
시골하우스 풋고추	농진	1994	44.00	70.83	80.56	50.00	74.00
장성 고추	농진	1994	10.00	4.17	26.39	4.00	36.00
장터 고추	농진	1993	82.00	36.11	75.00	86.00	98.00
효자 건고추	농진	1994	24.00	4.17	19.44	48.00	86.00
만석꾼 고추	농협	2000	-	83.33	90.28	92.00	96.00
김치 고추	동원	1994	98.00	91.67	94.44	90.00	94.00
신홍 고추-A	태우	995	88.00	76.39	80.56	78.00	96.00
신홍 고추-B	원시육성	1993	56.00	68.06	81.94	58.00	84.00
왕초 고추	청원	1994	66.00	9.72	43.06	30.00	60.00
홍실 고추	태우	1993	50.00	9.72	56.94	54.00	82.00
대장 고추	평화	1994	78.00	11.11	38.89	14.00	42.00
왕대박 고추	중양	2002	80.00	84.72	90.28	86.00	92.00
청양 고추-C	중양	2000	80.00	88.89	95.83	88.00	96.00
금봉 고추	홍농	1994	86.00	73.61	84.72	80.00	94.00
삼성초 고추	홍농	2003	80.00	94.44	94.44	98.00	100.00
다보탑 고추-A	홍농	2002	80.00	95.83	97.22	96.00	98.00
강산 고추	농우	1995	76.00	18.06	63.89	38.00	80.00
농우조생	농우	1994	74.00	61.11	69.44	66.00	76.00
신바람 고추	농우	1996	58.00	36.11	76.39	50.00	82.00
왕창따 고추	고농	2000	-	65.28	86.11	90.00	100.00
우등생 고추	농우	1996	72.00	36.11	72.22	82.00	92.00
전천후 고추	농우	1994	80.00	55.56	81.94	78.00	94.00
진성파리 고추	농우	1994	58.00	86.11	93.06	50.00	90.00
청옥 고추	농우	1993	96.00	63.89	81.94	72.00	96.00
태양 건고추	농우	1994	86.00	73.61	81.94	92.00	96.00
한강 고추	농우	1994	70.00	62.50	88.89	88.00	100.00
한마음 고추-A	농우	1994	90.00	58.33	88.89	80.00	94.00
국보 고추	세미니스	2003	-	97.22	95.83	100.00	100.00
다보탑 고추-B	세미니스	2003	-	95.83	98.61	96.00	100.00
온세상 고추	세미니스	2003	-	59.72	86.11	72.00	90.00
청양 고추-B	세미니스	2003	-	77.78	84.72	84.00	98.00
Wonder Hot	세미니스	2003	-	98.61	98.61	96.00	100.00
거성 고추	서울	1996	82.00	29.17	75.00	44.00	80.00
동방 고추	서울	1996	92.00	23.61	69.44	68.00	86.00
불티나 고추	서울	1994	94.00	81.94	88.89	96.00	98.00
신홍 고추-C	서울	1994	100.00	44.44	63.89	86.00	96.00
실파리 풋고추	서울	1994	96.00	51.39	65.28	80.00	92.00
다복 건고추-A	홍농	1995	66.00	0.00	58.33	40.00	80.00
만남 고추	홍농	1997	94.00	12.50	40.28	82.00	94.00

표 1-1B. 건열처리에 따른 다양한 종자의 발아양상(계속).

작물-품종	종자회사	생산년도	셀트레이 과중시 발아율 (%)				
			실내검정*	건열처리종자		무처리종자	
				과중후7일	과중후14일	과중후7일	과중후14일
부드리 풋고추	홍농	1993	82.00	10.42	47.22	64.00	94.00
새마을 금장 3호	홍농	1994	94.00	38.89	59.72	80.00	96.00
오륜 고추-A	서울	1994	0.00	0.00	62.50	56.00	94.00
이천년 고추	서울	1994	80.00	33.33	65.28	60.00	86.00
장호 고추	서울	1994	28.00	19.44	68.06	90.00	100.00
적토마 고추	서울	1997	94.00	81.94	95.83	78.00	94.00
청홍 고추	서울	1994	92.00	58.33	76.39	86.00	96.00
조광 고추	홍농	1995	90.00	41.67	70.83	80.00	92.00
추대홍고추	홍농	1994	78.00	65.28	86.11	86.00	96.00
풍촌 고추	홍농	1996	78.00	26.39	65.28	54.00	90.00
홍산호 고추	홍농	1994	56.00	38.89	56.94	28.00	58.00
금지계 고추	한농	1993	60.00	18.75	61.11	46.00	92.00
만산홍 고추	한농	1993	90.00	22.22	81.94	50.00	76.00
부자 고추	동부	2000	-	73.61	93.06	64.00	92.00
종가집 고추	한농	1998	82.00	56.94	80.56	60.00	98.00
금탑 고추	홍농	1996	80.00	22.22	83.33	8.00	82.00
파리 풋고추	홍농	1992	38.00	10.42	55.56	12.00	62.00
마니마	농우	2000	90.00	72.22	91.67	78.00	94.00
다북맛 고추	홍농	2000	80.00	41.67	80.56	88.00	96.00
금탑 고추	홍농	1996	80.00	15.28	79.17	74.00	94.00
오륜 고추-B	서울	1994	96.00	48.61	77.78	50.00	82.00
신혹산호 가지	홍농	2002	-	75.00	81.94	40.00	74.00
염려장 가지	중앙	2002	-	62.50	79.17	64.00	88.00
백광무	홍농	2001	-	98.61	98.61	96.00	96.00
속성대형봄무	홍농	2001	-	97.22	98.61	90.00	90.00
청운무	홍농	2001	-	95.83	97.22	100.00	100.00
백자무	홍농	2001	-	95.83	97.22	94.00	94.00
태백무	홍농	2001	-	93.06	94.44	82.00	82.00
신진분알타리	홍농	2001	-	93.06	93.06	96.00	96.00
초봄알타리	중앙	2001	-	97.22	98.61	90.00	90.00
도령알타리	홍농	2001	-	98.61	98.61	100.00	100.00
청다북열무	홍농	2001	-	98.61	98.61	94.00	94.00
춘향이열무	홍농	2001	-	93.06	97.22	100.00	100.00
신급단이열무	중앙	2001	--	94.44	95.83	98.00	98.00
노랑봄 배추	홍농	2002	-	98.61	98.61	98.00	98.00
고냉지여름 배추	홍농	2002	-	97.22	98.61	94.00	94.00
강력여름 배추	홍농	2002	-	98.61	98.61	94.00	94.00
노랑관동 배추	홍농	2002	-	94.44	95.83	96.00	96.00
불암3호 배추	홍농	2002	-	93.06	93.06	100.00	100.00
삼진 배추	중앙	2002	-	97.22	97.22	94.00	94.00
풋배추	중앙	2002	-	90.28	91.67	92.00	92.00
인동숙음 배추	홍농	2002	-	100.00	100.00	96.00	96.00
삼복엇갈이 배추	홍농	2002	-	100.00	100.00	100.00	100.00
대월 양배추	홍농	2002	-	91.67	91.67	90.00	90.00
레드선 양배추	홍농	2002	-	69.44	70.83	100.00	100.00

(2) 고추 품종에 따른 건열처리 및 후처리 효과

일부 박과채소 종자의 건열처리 시 처리 후 즉시 파종하면 건열피해가 심하게 나타나는 예가 많으나 건열처리 후 일정 기간 이상을 저장하게 되면 (후처리) 종자발아 시에 나타나는 각종 증상 (발아세 저하 및 이상발육묘 등)을 현저히 줄일 수 있음이 확인된 바 있다 (이정명, 1999).

실제로 고추 품종에서 35-50-75 °C로 건열처리한 후 각각 0, 30, 60 일간 후처리하여 파종한 종자들의 발아를 보면 (표 1-2), 먼저 건열처리는 상당수의 고추품종의 초기 종자발아에 크게 영향을 미치지 않았다. 다만 'Perfecto', '대장경', 'Kodian Hot'에서는 초기발아율에서 10% 전후의 감소를 보이기도 하였다. 그러나 '금상'에서는 초기발아율이 급격히 감소하였는데 이 원인은 '금상'이 특별히 건열처리에 민감한 반응을 보였던 결과라기보다는 '금상'의 종자는 건열처리 전에 이미 상당량의 억제처리(Thioram)와 아울러 film coating이 되어 있는 종자이었기 때문으로 판단된다.

즉 film coating 물질이 초기 건열처리 단계에서 효율적인 건조과정을 방해하여 습열처리와 같은 효과를 내므로써 그 피해증상이 증가하였거나, 아니면 동시에 처리된 종자처리제가 가열에 따른 화학반응을 보여 종자발아에 억제적으로 작용한 것으로 판단된다. 고추 종자의 경시적 발아율을 그림 1-1에서 보면 'Hot Chilli'와 '금탑'은 발아세가 매우 높아 건열처리 및 후처리기간의 장단에 관계없이 파종 후 4일 이내에 대부분 발아를 완료하였다. 이에 비하여 '대장경'이나 'Kodian Hot' 등은 파종 후 7-8일 까지 지속적인 발아를 보였고 'Perfecto'는 파종 후 10일까지도 지속적으로 발아가 진행되어 발아하는 각각 상이한 특성을 보여주었다. 건열처리를 행하지 않은 종자에서조차 나타나는 이러한 반응은 차후 다양한 종자 priming을 적용하는 경우 중요한 고려사항이 될 수 있음을 아울러 지적하여 주고 있다. 건열처리는 이러한 품종 특유의 종자발아양상에는 의미있는 영향을 미치지 않았다. 그러나 최종발아율 조사에서는 건열처리 여부 및 후처리기간에 따른 유의차가 인정되지 않았다.

최종조사 시에는 생체중을 포함한 유묘의 다양한 특성들도 조사되었는데 최종발아율(표 1-3)에서와 마찬가지로 정상묘의 비율에서는 건열처리 여부 및 정상묘의 비율에서는 각각의 처리 간에 유의성이 인정되지 않아서 영향을 받지 않았음을 확인할 수 있었다 (표 1-4).

표 1-2. 건열처리 및 처리후 저장기간에 따른 고추종자의 초기발아율.

품 종	건열처리 후 저장기간	실험실 발아실험		평 균
		살레	발아용지	
Perfecto	무처리	60.01 a ^x	83.47 a	71.73 a
	0 일	45.83 a	90.33 a	68.08 a
	30 일	56.70 a	62.87 b	59.78 a
	60 일	37.01 a	85.03 a	61.07 a
	평균	49.91 B ^w	80.43 A	
Hot Chilli	무처리	99.31 b	99.90 a	99.61 a
	0 일	100.00 a	99.63 a	99.82 a
	30 일	100.00 a	100.00 a	100.00 a
	60 일	100.00 a	100.00 a	100.00 a
	평균	99.82 A	99.88 A	
금 탑	무처리	99.86 a	99.47 a	99.66 a
	0 일	99.60 a	100.00 a	99.80 a
	30 일	99.60 a	97.53 ab	98.57 ab
	60 일	99.17 a	96.33 b	97.75 b
	평균	99.56 A	98.33 B	
부 촌	무처리	97.64 a	97.07 a	97.34 a
	0 일	92.53 ab	97.67 a	95.10 a
	30 일	87.10 b	92.53 b	89.82 b
	60 일	92.93 ab	99.60 a	96.27 a
	평균	92.55 B	96.72 A	
GM-235	무처리	98.76 a	97.93 b	98.33 a
	0 일	96.27 a	99.33 a	97.80 a
	30 일	98.37 a	100.00 a	99.18 a
	60 일	95.83 a	100.00 a	97.92 a
	평균	97.31 B	99.32 A	
대 장 경	무처리	88.06 a	96.67 a	92.36 a
	0 일	73.37 a	94.80 a	84.08 b
	30 일	78.37 a	92.53 a	85.45 ab
	60 일	76.70 a	96.30 a	86.50 ab
	평균	79.12 B	95.08 A	
금 상	무처리	87.64 a	93.30 a	90.47 a
	0 일	38.37 b	86.10 a	62.23 b
	30 일	23.77 b	61.27 b	42.52 c
	60 일	34.20 b	85.87 a	59.03 b
	평균	45.99 B	81.63 A	
Kodian Hot	무처리	98.05 a	99.30 a	98.67 a
	0 일	70.90 b	100.00 a	85.45 b
	30 일	84.60 ab	99.17 a	90.23 ab
	60 일	80.47 ab	95.87 b	89.82 ab
	평균	83.50 B	98.58 A	

DMRT: 소문자: 저장기간 평균치간, 대문자: 발아방법간 5% 수준 비교임.

표 1-3. 건열처리 및 처리후 저장기간에 따른 고추종자의 최종발아율.

품 종	건열처리 후 저장기간	실험실 발아실험		평 균
		살레	발아용지	
Perfecto	무처리	94.88 a ^x	95.57 a	95.22 a
	0 일	95.43 a	100.00 a	97.72 a
	30 일	97.97 a	100.00 a	98.58 a
	60 일	87.97 b	99.20 a	93.98 a
	평균	94.06 B	98.69 A	
Hot Chilli	무처리	99.59 a	99.72 a	99.66 a
	0 일	100.00 a	98.33 a	99.17 a
	30 일	100.00 a	100.00 a	100.00 a
	60 일	100.00 a	97.93 a	98.97 a
	평균	99.90 Aw	99.00 A	
금 탑	무처리	100.00 a	98.69 ab	99.30 ab
	0 일	100.00 a	100.00 a	100.00 a
	30 일	100.00 a	99.60 a	99.80 a
	60 일	100.00 a	96.70 b	98.35 b
	평균	100.00 A	98.73 B	
부 촌	무처리	99.30 a	99.29 a	99.30 a
	0 일	98.37 a	99.33 a	98.85 a
	30 일	93.37 a	97.13 b	95.25 b
	60 일	98.77 a	100.00 a	99.38 a
	평균	97.45 A	98.94 A	
GM-235	무처리	99.86 a	99.57 a	99.71 a
	0 일	100.00 a	100.00 a	100.00 a
	30 일	100.00 a	100.00 a	100.00 a
	60 일	100.00 a	100.00 a	100.00 a
	평균	99.97 A	99.89 A	
대장경	무처리	97.50 a	99.46 a	98.48 a
	0 일	99.20 a	97.23 a	98.22 a
	30 일	96.27 a	98.37 a	97.32 a
	60 일	95.87 a	97.93 a	96.90 a
	평균	97.21 A	98.25 A	
금 성	무처리	95.14 a	96.07 a	95.61 a
	0 일	94.60 a	98.57 a	96.58 a
	30 일	87.93 a	85.00 b	86.47 b
	60 일	91.70 a	96.70 a	94.20 a
	평균	92.34 A	94.09 A	
Kodian Hot	무처리	99.58 a	99.57 a	99.58 a
	0 일	100.00 a	100.00 a	100.00 a
	30 일	99.60 a	100.00 a	99.80 a
	60 일	99.60 a	100.00 a	99.80 a
	평균	99.70 A	99.89 A	

DMRT: 소문자: 저장기간 평균치간, 대문자: 발아방법간 5% 수준 비교임.

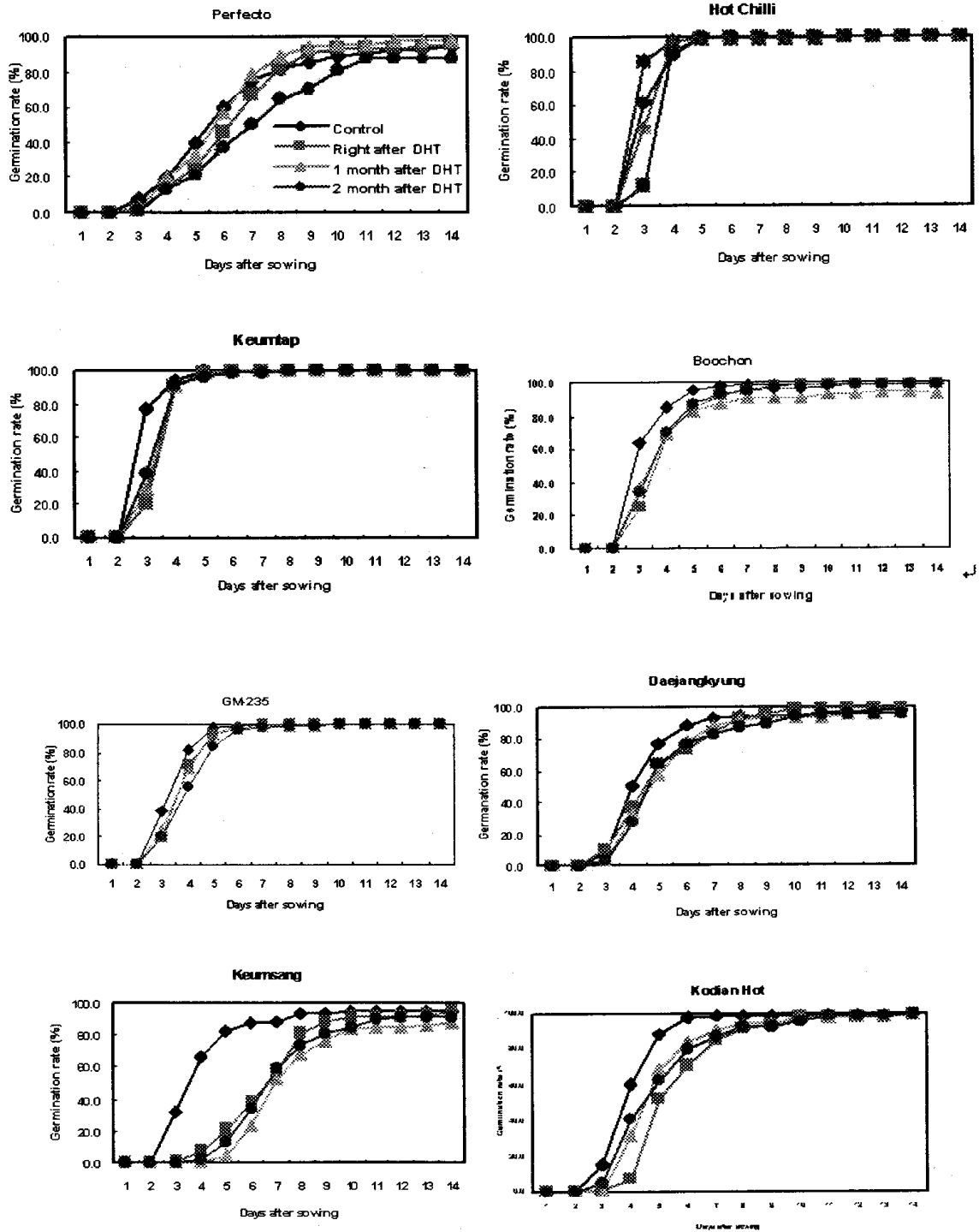


그림 1-1. 건열처리 및 처리후 저장기간에 따른 고추종자의 경시적 발아.



그림 1-2. 품종 및 건열처리 후 후처리기간에 따른 고추종자의 발아 양상.

발아실험방법에 따라서는 국내규정인 살레를 이용한 실험과 국제규정인 roll paper (Anchor paper)를 이용하여 각각 발아실험을 행하였는데 파종 후 14일에 조사된 최종발아율에서는 발아실험방법에 따른 유의차가 인정되지 않았으나 파종 후 6일에 조사된 초기발아율에서는 품종, 건열처리 여부 및 발아실험방법 등에 따른 차이가 다양하게 인정되었다 (표 1-2와 표 1-3).

즉, 상당수의 품종에서 (Perfecto, 금상, 대장경, Kodian Hot) 초기발아율이 살레에서 보다 Anchor paper에서 현저히 높았다. 아울러 건열처리에 따른 발아세의 저하가 현저하였던 ‘금상’에서조차도 Anchor paper를 이용하여 발아실험을 하는 경우 발아세에서의 유의차가 인정되지 않았다. 이러한 결과는 정밀하고 과학적인 발아실험을 통해서 종자의 발아특성을 상세히 파악하는 것이 대단히 중요함을 제시하여 준다. 이 실험결과는 또한 발아실험법이 아닌 일반적인 방법으로 평가하거나 실제에 임하였을 경우 본 실험에서의 결과보다도 더 심한 건열처리에 따른 발아세 지연현상도 충분히 가능한 것을 아울러 확실하게 지적하여 주고 있어서 건열처리된 종자일수록 초기발아환경의 최적화에 유념하여야 한다는 것도 지적하여 주고 있다.

(3) 박과채소 종자의 건열처리 반응

박과채소의 작물 및 품종에 따른 건열처리 1차연도에서의 결과의 일부는 표 1-5에 보이고 있다. 공시작물은 호박, 박, 수박, 오이, 흑종호박이었는데 공시된 오이 2 품종에서는 건열처리에 따른 피해가 전혀 없었고 건묘율에도 영향을 미치지 않았다. 수박에서도 공시된 '삼복꿀' 수박이나 '대보' 수박에서 모두 초기출현율은 다소 지연되어 최종조사시 생체중에서는 다소 낮아지는 경향을 보이기는 하였으나 건묘율은 영향을 받지 않았다. 이에 비하여 박과 흑종호박에서는 오이나 수박에 비하여는 건열처리에 따르는 초기출현율 저하 및 건묘율의 감소가 인정되었다. 박과 채소에서의 가장 큰 건열처리 피해는 호박류에서 발생하였다. 즉 공시 4 품종중 '사계절' 호박은 건열처리에 가장 강하여 초기출현율에서는 무처리 종자에 비해 차이가 없었고 자엽장에서도 유의차가 없었다. 그러나 하배축장이 현저히 짧아지고 묘 생체중도 감소하고 건묘율에서도 무처리묘에 비하여 절반 정도로 낮아졌다. 그러나 나머지 3 호박 품종들에서는 건열처리에 의해서 초기출현율부터 현저히 낮아지고 건묘율에서는 대부분의 유효발아는 하더라도 비정상적인 발아를 보여서 0%를 보이면서 극단적인 피해를 보였다.

이러한 결과는 건열처리 그 자체가 본 연구 1차 및 2차연도에 사용된 소형건조기(비전과학)를 이용한 처리여서 환기나 온도상승, 조절, 그리고 처리실내의 부위별 온도차 등이 고려되지 않은 처리여서 상당한 처리상의 문제점이 있기는 하였다. 그러나 공시된 수박이나 오이 종자들도 모두 같은 기기 내에서 동일한 방법으로 같이 처리되었으며 이들 종자에서는 호박종자에서와 같은 건열피해 현상이 미미하였으므로 박 종자가 특별히 건열처리에 약하고 극도로 민감하게 반응한다는 것은 확실하였다.

이상의 결과들을 다시 요약한다면 건열처리에 따른 피해가 통상적인 박 종자의 건열처리 시에서보다 매우 높게 나타난 이유는 물론 호박이 예민하기 때문이라는 점 외에도 대형기기를 사용하지 않고 소형건조기를 사용한 까닭에 발생이 가능하였던 일정한 온도와 환기조절의 어려움, 위치별 편차 조절장치 미비, 습도조절장치 결여, 건열처리 완료 후의 온도급강하에 대한 대책 미비, 그리고 건열처리 종료 후 바로 파종한 점들을 들 수 있다. 이 중에서 특히 마지막 항목인 후처리 과정의 생략이 가장 주요한 요인의 하나로 파악된다. 왜냐하면 건열처리 후 30일간의 후처리 기간을 가진 후 파종한 종자들에서는 모든 작물 및 품종에서 그 피해나 발아지연현상이 상당히 감소되었기 때문이다 (결과 생략). 아울러 표 1-5에서 보이는 이러한 극단적인 결과는 하나의 단편적이고 예외적인 결과에 불과하고 이후 건열처리 전문기기장치의 이용으로 그 피해는 매우 미미한 정도로 나타나게 되었음을 부기하고자 한다.

표 1-5. 건열처리가 몇몇 박과채소의 묘 출현율 및 유묘에 미친 영향 (1차실험).

작물 및 품종	출현율(%)		하배축장(cm)		자엽장(cm)		묘생체중(g)		건묘지수(%)	
	정상	건열	정상	건열	정상	건열	정상	건열	정상	건열
호박										
사계절	77.7	79.3	3.42	2.41	3.42	3.58	15.48	11.79	59.7	25.0
불암꽃	86.3	58.3	3.86	2.61	3.86	3.95	15.85	9.95	55.7	0.0
신토좌	94.7	2.7	8.59	0.00	8.59	0.00	21.54	11.07	72.3	0.0
금토좌	98.7	9.7	5.58	0.00	5.58	0.00	13.21	5.09	9.0	0.0
수박										
삼복꿀	84.0	39.3	4.54	3.98	3.55	3.52	15.93	11.08	98.0	93.0
대감	76.0	54.7	4.20	3.83	5.51	3.16	17.30	13.80	98.0	88.0
박										
강력	62.5	48.6	3.62	2.74	4.59	4.01	16.43	15.80	44.4	38.9
FR King II	56.3	30.6	3.33	3.39	4.28	4.56	15.57	13.34	47.2	29.2
오이										
은성백다다기	100.0	95.8	8.32	7.78	5.24	5.52	20.04	20.53	97.1	95.4
겨울청장	95.8	97.2	6.05	5.47	4.51	4.58	17.81	16.80	96.3	92.5
흑종호박	88.9	87.5	2.67	1.97	5.62	4.47	24.19	22.98	36.1	22.2

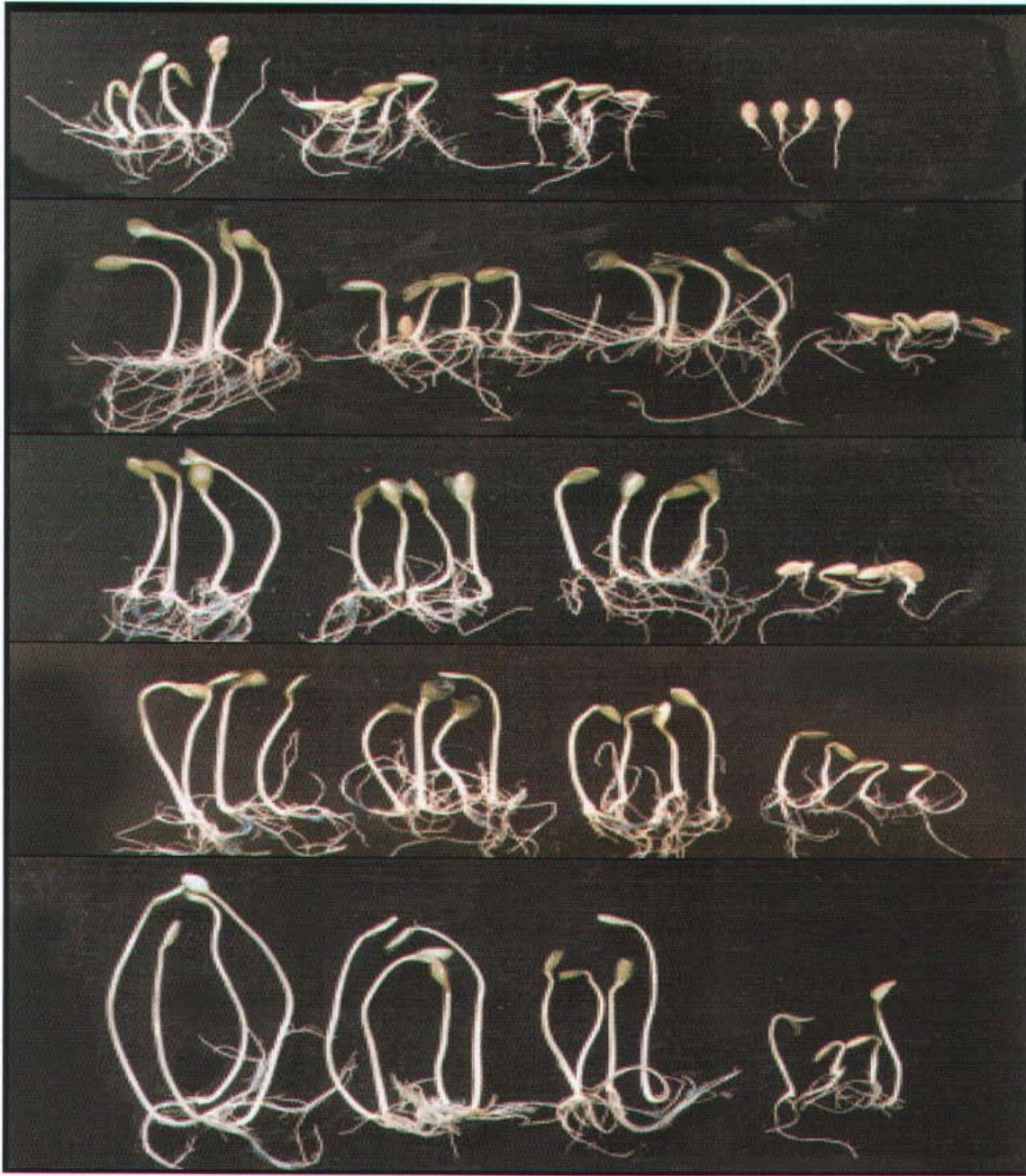


그림 1-3. 건열처리온도 및 발아온도에 따른 남강쥬키니 호박 종자발아 및 유묘 형태. 좌로부터 무처리, 69°C, 72°C, 75°C. 상으로부터 발아온도 20°C, 22°C, 24°C, 26°C, 28°C.

2. 건열처리 조건에 따른 박 품종의 반응성

비록 소형건열처리기기이기는 하지만 건열처리 시의 기본온도조건은 35℃ 24 시간, 50℃ 24 시간 75℃ 72 시간으로 같게 하되 온도상승조건 등 처리방법들을 다소 달리하여 실험한 결과는 표 2-1의 건묘율에서 보이고 있다. 일반적으로 건열처리 피해를 거의 보이지 않는 품종으로 분류되는 'FR King II'나 '강세' 품종에서는 건열처리에 따른 피해도 거의 없었을 뿐만 아니라 건열처리 방법에 따른 차이도 거의 보이지 않았다. 이에 비해 건열처리에 민감하게 반응하여 그 피해를 쉽게 보이는 품종으로 분류되는 '강력참박'과 'FR Gold'에서는 건열처리 피해가 역시 심하게 나타나고 있었으며 처리방법에 따른 차이도 역시 심하게 나타났다.

표 2-1. 건열처리 조건에 따른 박 5품종의 건묘율 생산율(단위 %).

건열처리	강력	FR King II	강세	FR Gold	파트너	평균
T-1(무처리)	55.6	70.8	66.7	55.6	73.6	64.4
T-2(즉시 반출)	26.4	72.2	61.1	26.4	52.8	47.8
T-3(24시간 방치)*	38.9	66.7	58.3	34.7	52.8	50.3
T-4(단계적 상승)**	29.2	66.9	68.1	12.5	40.3	43.4
평균	37.5	69.2	63.5	32.3	54.9	

*건열처리가 끝나더라도 장치안에 그대로 방치하여 24 시간 경과 후 반출.

**건열기내 온도상승을 (예 55℃에서 75℃로) 30분간에 걸쳐 서서히 상승함.

이 실험의 결과는 소형기기를 이용하여 실험적으로 또는 소량만 건열처리하는 경우에도 건열처리가 종료되더라도 종자를 바로 꺼내지 않고 기기내에 그대로 24 시간 정도 방치하여 종자 품온의 서서한 하강을 유도하고, 아울러 점진적인 재흡수 과정을 다소나마 가질 수 있도록 유도하는 것이 매우 중요함을 지적하여 주고 있다. 이상의 결과는 1차년도에 취합된 것이어서 이 결과에 근거를 두고 건열처리 전용기기가 개발되기에 이르렀고 (정용봉 등, 2002), 2차년도 후반기 이후에는 새로 개발된 건열처리 전용기기를 이용하여 대부분의 건열처리를 실시하였다. 따라서 3차년도에서는 호박종자를 제외한 대부분의 채소종자의 건열처리가 안정적으로 진행되기에 이르렀다. 그러나 이러한 결과들은 충실하고 활력이 높은 종자를 건열처리하는 경우에 적용되는 표현이고 새로운 건열처리 장치를 이용하더라도 다양한 다른 요인들에 의해 건열처리 피해 발생이 지속적으로 나타날 수 있으며 이를 위한 원인구명과 대책 수립, 그리고 CGMMV 오염종자에 대한 정책적인 대책 등은 본 보고서의 후미에 요약되어 있다.

CGMMV를 인공적으로 접종하여 채종한 100% CGMMV 감염종자를 채종 농가별로 구분하여 각각 건열처리를 행하고 이들의 종자발아특성 및 유묘의 생육상태 등을 비교한 결과 그림 2-1에서와 같이 채종농가에 따른 차이도 상당히 크게 나타났다. 이러한 차이는 건열처리 하지 않은 종자나 건열처리를 실시한 종자에서도 고르게 나타나고 있어서 채종방법에 따라서도 발아세가 상당한 영향을 받을 수 있음을 보여주었다.



그림 2-1. 심한 CGMMV 감염종자의 건열처리 전후의 종자발아 양상.

3. 건열처리 상한온도에 따른 박 품종간 반응성

건열처리의 온도상승조건은 35 ℃ 24 시간, 50 ℃ 24 시간, 그리고 상한온도에서 72 시간 등으로 고정하되 상한온도를 60, 65, 70, 75, 80 ℃의 5개 온도로 구분하여 처리하고 처리 후 후처리기간을 각각 0, 30, 60 일로 하여 실험한 결과는 표 3-1에 요약되어 있다.

먼저 발아율에서는 60-80 °C 사이에서 일단 건열처리가 실시되면 다소 낮아지는 경향이었는데 그 정도는 품종에 따라 상이하였다. 즉 'FR King II'(FRK)는 건열처리 여부나 상한온도의 영향을 거의 받지 않은 반면 'FR Gold'나 'Power'는 상당한 영향을 받았는데 이러한 결과는 앞에서의 결과와 동일하였다 (이정명 등, 1999).

그러나 건열처리 온도가 75 °C나 80 °C로 높아지더라도 70 °C에 비해서 발아율 등이 더 이상 낮아지지 않고 오히려 일부에서는 다소 증가하는 경향을 보였는데 이러한 경향은 모든 공시품종에서 유사하게 나타났다.

박은 수박대목으로 대부분 사용되고 있는데 접목 시 실제로 접목에 이용될 수 있는 정상묘율(正常苗率)은 발아율의 변화와 거의 동일한 변화양상을 보였다. 건열처리는 정상묘율을 일반적으로 낮추기는 하였지만 건열처리 상한온도에 따른 비례적인 변화는 보이지 않았다.

품종간 반응에서도 대체로 발아율에서와 같은 결과를 보여서 'FR King II'는 거의 영향을 받지 않았는데 비하여 'FR Gold'나 '강력참박'은 역시 크게 영향을 받았다.

건열처리 후 후처리기간을 각각 30일과 60일로 설정하여 이후 동일한 발아실험 및 유표생육을 비교한 결과는 대체적으로 표 3-1에서의 결과와 큰 차이를 보이지 않았다 (결과 생략, 그림 1-3 참조).

4. 건열처리 지속기간에 따르는 종자처리 반응성

건열처리의 상한온도를 75°C로 고정하고 상한온도에서의 처리기간을 표준 처리 3일 대신 1, 3, 5, 및 7일로 처리하여 얻어 진 결과는 표 4-1, 4-2, 그리고 4-3에 보이고 있다. 종자 파종은 건열처리 직후와 45일 경과 후에 각각 파종하여 실험하였고 발아실험은 온도발아상(多溫度發芽床, thermogradient table)을 이용하여 실험함과 동시에 온실조건 하에서는 72공 셀트레이에 각각 파종하여 실험하였는데 그 주요 결과는 그림 4-1에도 요약되어 있다.

건열처리에 안정된 반응을 보이는 'FR King II'에서는 건열처리 지속기간의 장단에 따른 차이를 인정할 수 없었다. 그러나 여타의 품종들에서는 건열처리기간이 길어질수록 발아속도가 현저히 늦어졌는데 특히 건열처리기간 1일이나 3일에 비하여 5-7일 처리에서 현저히 지연되었다. 건열처리에 민감한 반응을 보이는 'FG Gold'에서는 무처리나 건열 1-3일의 처리는 처리간에 유의차가 인정되지 않았으나 5-7일 처리에서는 발아속도가 현저히 지연되었을 뿐만 아니라 최종발아율에서조차도 30% 이상의 차이를 보였다.

표 3-1. 건열처리 상한온도에 따른 박 4품종의 종자발아 및 정상묘율.

처리		발 아 율 (%)				
상한온도	FRK	FRG	파트너	강력	평균	
무처리	95.8 a	84.7 a	66.7 a	76.4 a	80.90	
60	89.4ab	80.6ab	60.6ab	75.0 a	76.40	
65	86.1 b	74.7 b	56.9 b	67.3ab	71.25	
70	88.9ab	75.0 b	48.6 c	47.8 c	65.08	
75	95.8 a	70.8 b	59.7ab	47.2 c	68.38	
80	94.4 a	75.0 b	51.4bc	59.7 b	70.13	
	91.73	76.80	57.32	62.23	72.02	
		정 상 묘 율 (%)				
상한온도	FRK	FRG	파트너	강력	평균	
무처리	88.9 a	80.6 a	65.5 a	63.9 a	74.7	
60	76.7 b	66.7bc	58.1 b	48.6 b	62.5	
65	76.4 b	60.8bc	48.6 c	48.6 b	58.6	
70	80.6 b	58.3bc	41.7 d	36.4bc	54.3	
75	83.9ab	56.9 c	48.6 c	33.3 c	55.7	
80	81.4ab	58.3bc	40.3 d	32.8 c	53.2	
	81.32	63.60	50.47	43.93	59.83	

*FRK: FR King II, FRG: FR Gold, respectively. DMRT separation at 5%.

표 4-1. 박 4품종 종자의 건열처리 지속기간에 따른 종자 발아.

품종명	건열처리기간 (일/75 ℃)	건열처리 직후 파종 (2002. 2.18-3. 4.)		건열처리 45일 후 파종 (2002. 4. 6. - 4. 20)	
		초기발아율(%)	최종발아율(%)	초기발아율(%)	최종발아율(%)
		파종후7일	파종후14일	파종후7일	파종후14일
FR King II	0	16.7 a	97.2 a	26.3 a	86.1 a
	1	11.7 a	93.1 a	33.3 a	98.6 a
	3	2.8 b	100.0 a	15.3ab	95.8 a
	5	1.4 b	93.1 a	8.3 b	88.9 a
	7	0.0 b	95.8 a	0.0 b	84.7 a
FR Gold	0	8.3 a	83.3 a	20.8ab	80.6 a
	1	5.6 a	83.3 a	29.2 a	77.8 a
	3	1.4 a	79.2 a	12.5 b	58.3 b
	5	0.0 a	58.3 b	0.0 b	54.2bc
	7	0.0 a	54.2 b	0.0 b	44.7 c
강력참박	0	28.7 a	94.4 a	37.5 a	86.1 a
	1	12.5 b	80.6 b	20.8 b	79.2 a
	3	1.4 c	81.9 b	20.8 b	77.8 a
	5	0.0 c	75.0 b	4.2 c	75.0 a
	7	0.0 c	76.4 b	0.0 c	50.0 b
파트너	0	12.5 a	84.7 a	15.3 a	54.2 a
	1	1.4 b	68.1 b	12.5 a	51.4 a
	3	1.4 b	55.6 b	0.0 b	40.3 b
	5	0.0 b	33.3 c	0.0 b	48.6ab
	7	0.0 b	29.2 c	0.0 b	34.7 b

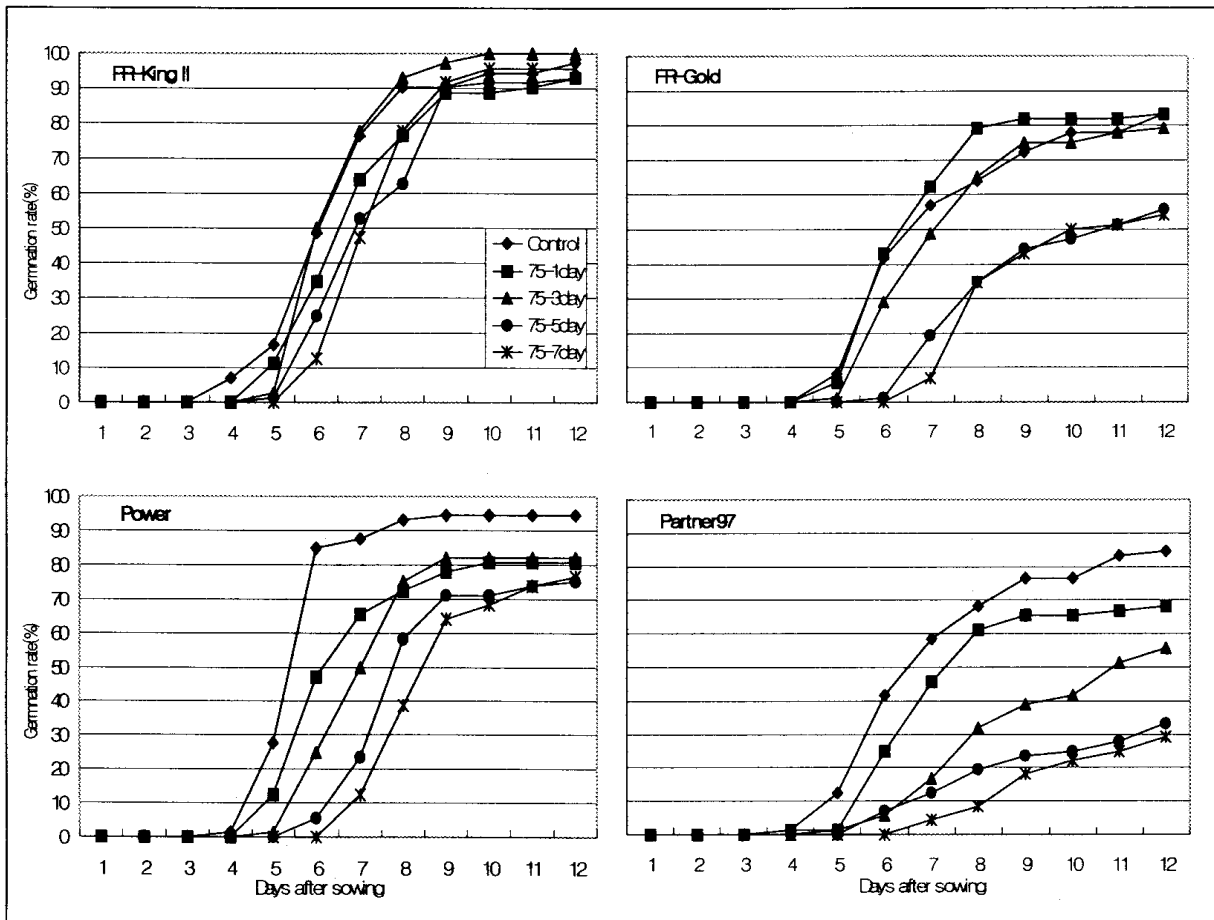


그림 4-1. 건열처리 기간 중 75 °C 고온지속일수에 따른 박 4 품종의 종자발아.

5. 건열처리 횟수에 따르는 반응

일단 건열처리가 된 종자라고 하더라도 다시 건열처리를 가하게 되는 경우 최종발아율에는 큰 영향을 미치지 않았다 (그림 5-1). 그러나 'FR Gold', '강력', '파트너' 등에서는 건열처리 2회까지는 1회 처리와 큰 차이를 보이지는 않았으나 3회 처리 시에는 최종발아율에서 10-30% 정도의 감소가 초래되어 문제가 있었다. 그러나 공시된 박 4 품종 모두에서 1회 처리와 2회 처리간에는 발아세에서만 약간의 차이가 있었을 뿐 최종발아율에서는 모두 유의차를 보이지 않았다 (표 5-1).

따라서 일단 건열처리를 받았다고 하더라도 1회의 재건열처리는 박 종자의 경우 충분히 가능한 것으로 결론을 지을 수 있었다. 그러나 재건열처리를 건열처리에 민감하게 반응하는 호박 등에도 적용될 수 있을지의 여부는 검토된 바 없으며, 박과는 다른 반응을 보일 것이 예상된다. 건묘율과 유묘특성도 조사되었는데 발아율에서 나타난 결과와 대체적으로 유사하여 상세한 설명은 생략하였다 (표 5-2, 표 5-3).

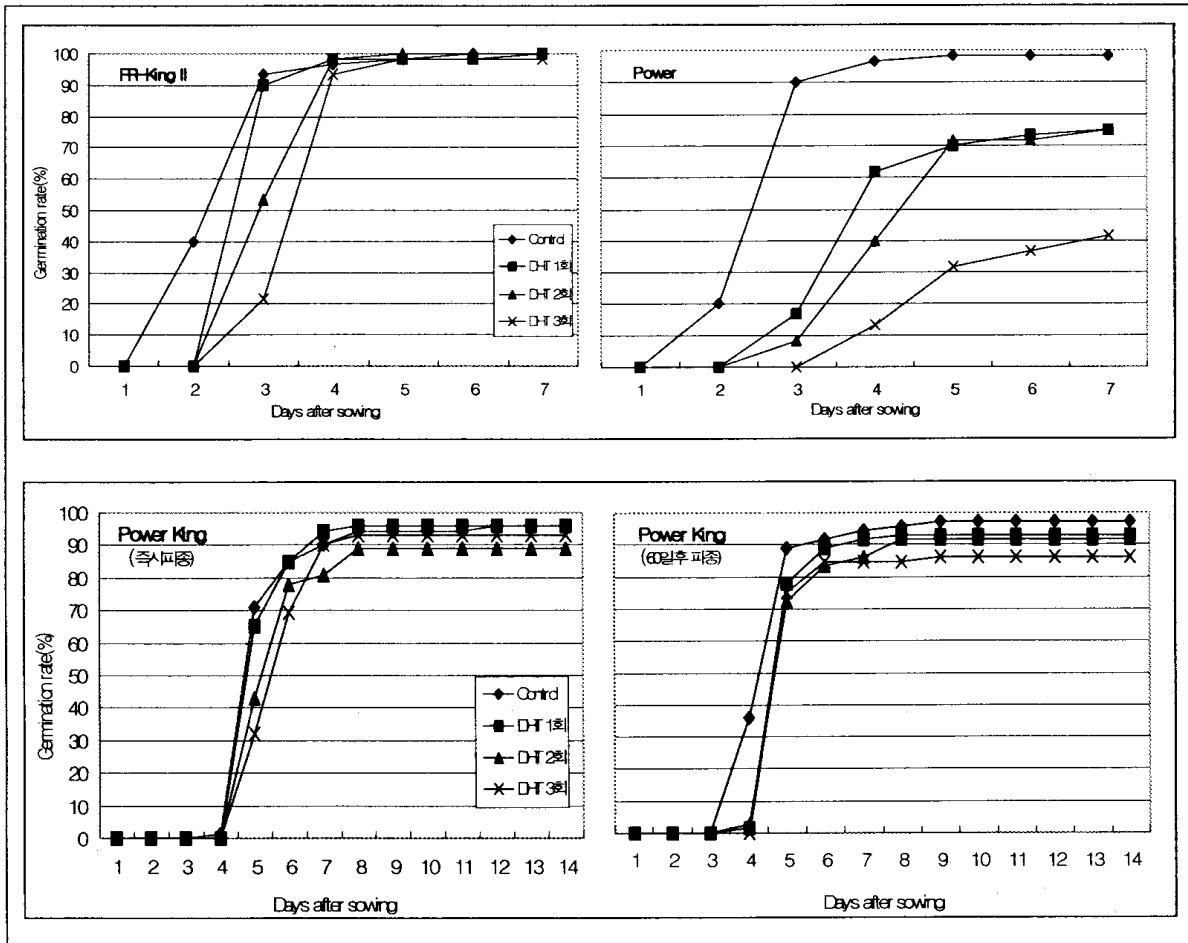


그림 5-1. 건열처리횟수에 따른 박 4 품종의 종자 발아. 건열처리 후 바로 파종하거나 (상좌우 및 하좌) 60일 후처리를 거친 후에(하우) 파종함.

표 5-1. 건열처리 횟수에 따른 박 품종간의 발아율(%) 변화.

품종명	건열처리 횟수	건열처리 후 경과일수(일)			
		0	14	28	60
초기발아율(%)					
FR King II	무처리	93.55 aB	96.50 aA	98.34 aA	95.00 aA
	1회건열처리	98.34 aA	90.00 aA	93.35 aA	91.65 aA
	2회건열처리	53.35 bB	85.00 aA	93.35 aA	76.65aAB
	3회건열처리	21.50 cB	70.00 bA	60.00 bA	55.00 bA
FR Gold	무처리	68.35 aD	90.00 aA	87.50 aB	75.00 aC
	1회건열처리	38.35 bA	65.00 bA	65.00 bA	65.00 bA
	2회건열처리	10.00 cB	58.35 cA	56.65 bA	46.65 cA
	3회건열처리	0.00 cD	26.65 dB	33.35 cA	16.65 cC
강력	무처리	90.00 aB	98.35 aA	98.35 aA	100.00 aA
	1회건열처리	16.50 bB	56.65 bA	68.35 bA	61.65 bA
	2회건열처리	8.35 cC	56.35 bA	53.35 cA	33.35 cB
	3회건열처리	0.00 cA	5.00 cA	10.00 dA	6.65 dA
Partner	무처리	86.65 aA	93.65 aA	78.35 aA	93.65 aA
	1회건열처리	23.35 bB	82.50 aA	71.65 aA	76.65 bA
	2회건열처리	5.00 bC	66.55 aA	41.50 bB	46.65 cB
	3회건열처리	0.00 bA	46.65 aA	17.50 cA	10.00 dA
최종발아율(%)					
FR King II	무처리	100.00 aA	100.00 aA	100.00 aA	95.00 aA
	1회건열처리	100.00 aA	98.35 aA	100.00 aA	95.00 aA
	2회건열처리	100.00 aA	100.00 aA	100.00 aA	98.35 aA
	3회건열처리	100.00 aA	100.00 aA	96.65 aA	96.65 aA
FR Gold	무처리	86.65 aA	90.00 aA	92.75 aA	85.00 aA
	1회건열처리	88.35 aA	81.65abAB	78.35 aB	86.65aAB
	2회건열처리	80.00 aA	85.00abB	83.35 aA	76.65 aA
	3회건열처리	71.65 aA	71.65 bA	75.00 aA	73.65 aA
강력	무처리	98.35 aA	100.00 aA	98.35abA	100.00 aA
	1회건열처리	75.00 bB	91.65 aA	93.65 bA	88.35abA
	2회건열처리	75.00 bB	88.35 aA	88.35 bA	83.35aAB
	3회건열처리	41.65 cB	61.65baB	75.00 cA	68.35 cA
Partner	무처리	96.65 aA	95.00 aA	90.00 aA	96.65 aA
	1회건열처리	90.00 aA	90.00 aA	85.00 aA	93.35abA
	2회건열처리	86.55aAB	91.65 aA	77.50 aB	86.75bAB
	3회건열처리	85.00 aA	80.00 aA	77.75 aA	88.35 ba

DMRT 소문자: 동일품종내 건열처리횟수간 비교, 대문자: 경과일수간 비교. 각각 5% 수준임.

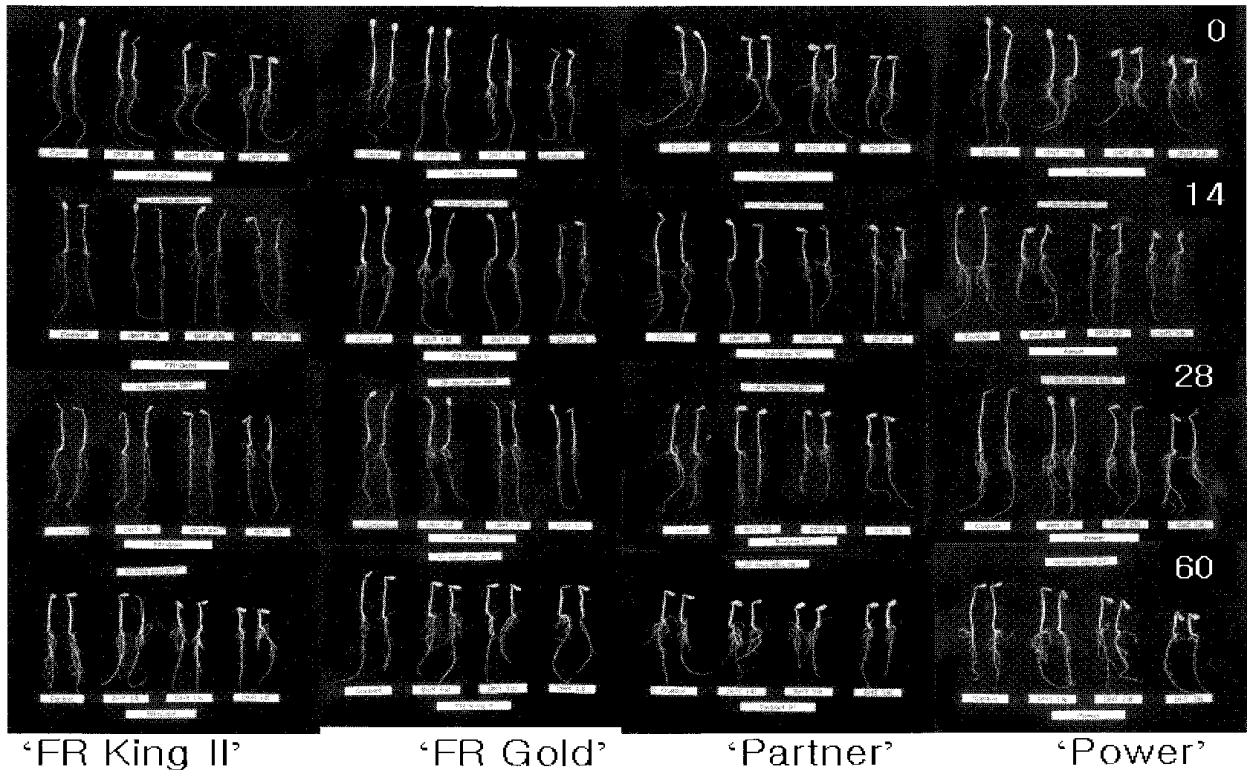


그림 5-1. 건열처리 횟수에 따른 박 종자에서 발달한 유묘 생육.

모든 품종에서 건열처리 횟수가 증가할수록 하배축장이 짧아지고 특히 3회 처리에서는 기형묘 발생이 급증하였음. *각각의 사진마다 좌측에서부터 0, 1, 2, 3회 처리임.

*윗 행부터 건열처리 후 저장기간이 각각 0, 14, 28, 60일임.

6. 호박류에서의 건열처리 반응성 연구

시판되는 호박류 26 품종을 수집하여 69, 72, 75 °C의 상한온도에서 72 시간 건열처리하고 이들 종자를 다운도발아상(多溫度發芽床)을 이용하여 다양한 발아온도수준에서 발아실험을 실시한 결과는 표 6-1, 6-2, 그리고 그림 6-1에 보이고 있다. 먼저 상한온도를 각각 69 °C, 72 °C 및 75 °C로 건열처리를 실시하여 실험한 결과를 보면 품종에 따라서 건열처리 반응성에 큰 차이가 있었는데 비교적 저온조건 하에서의 초기발아율에 근거하여 분석하여 보면 공시된 26 품종들 중에서 ‘불암얼룩꽃호박’ 등 11개 품종은 건열처리에도 불구하고 발아세에 거의 영향을 받지 않은 것으로 나타났다.

이에 비해 ‘소양호박’, ‘황토좌호박’ 등 7개 품종은 75 °C의 건열처리에서 발아세에서만 현저히 낮아지는 피해 정도를 보인 반면 ‘담록꽃호박’ 등 8개 품종은 상당히 큰

피해 정도를 보였다. 건열처리 온도조건에만 근거하여 분석한다면 75 °C 상한온도에서는 많은 품종들이 건열피해를 보였던 반면 72 °C 상한온도에서는 불과 4-5 품종에서만 확실한 건열처리 피해를 보였다. 다만 품종에 따라서는 69 °C의 상한온도에서조차 확실한 건열피해를 나타내는 ‘담록꽃호박’, ‘진광쥬키니’ 같은 품종도 있었다.

그러나 종자발아온도를 고온으로 설정하였을 때에는 건열처리된 종자라도 초기발아율에서의 수치가 대부분 무건열처리에 비하여 유의차가 인정되지 않을 정도로 근사한 값을 보였고 ‘담록꽃호박’과 ‘진광쥬키니’ 2 품종에서만 다소 낮아지는 경향을 보일 정도이었다. 따라서 건열처리된 종자를 파종하게 되는 경우 종자발아상의 온도를 정상보다도 다소 높게 유지하는 것이 상대적으로 정상묘의 비율을 높이는데 효과적임을 보여주었다. 이러한 결과는 최야 시에도 물론 일반적으로 적용하고 있는 온도보다 다소 높게 유지하는 것이 유리할 것임을 아울러 시준하여 준다.

표 6-1 . 건열처리 유무 및 건열처리 후 저장기간이 호박품종군의 상대적 저온조건 하에서의 초기발아에 미치는 영향(발아온도: 20.0°C).

종명	품종	건열처리 직후 파종				건열처리 60일후 파종			
		무처리	건열처리			무처리	건열처리		
			69°C	72°C	75°C		69°C	72°C	75°C
동양계	불암열룩꽃	20	20	0	10	20	70	60	50
	다보도 꽃	40	30	50	20	100	90	100	70
	단맛땃돌	60	20	30	10	90	80	80	60
	소양호박	80	10	0	0	60	20	60	0
	담록꽃	30	10	0	0	40	10	10	10
	중앙애호박	60	0	0	0	90	20	10	0
	춘원조생꽃	100	100	100	90	70	90	90	0
	불암조생꽃	80	70	100	90	100	50	40	0
	반짝이	0	0	10	0	40	0	40	0
피포계	노랑쥬키니	50	60	80	20	100	90	90	100
	불암하우스	30	50	20	10	70	90	60	80
	남강쥬키니	100	20	20	0	60	20	10	0
	Star Zone	0	20	10	0	90	20	30	10
	멋진호박	90	60	60	30	90	70	100	90
	HNX 97498	20	0	0	0	70	30	30	30
	가락하우스쥬.	90	50	40	10	100	80	80	50
	Golden Gate	90	100	100	90	70	30	60	0
	Rondo	100	100	100	100	100	50	70	30
	Star Line	100	100	100	90	100	100	70	50
	진광쥬키니	100	70	70	20	30	0	0	0
홍농쥬키니	80	10	20	0	100	50	100	50	
서양계	중앙밤호박	0	0	0	0	40	40	40	70
	흑피단	90	100	90	60	40	20	80	0
	양천밤호박	0	10	0	0	50	10	40	40
잡종군	신토좌	70	0	20	10	70	70	70	10
	황토좌	0	0	0	0	20	10	0	0

표 6-2. 건열처리 유무, 건열처리후 저장기간, 발아온도가 호박품종군의 상대적 증온 조건 하에서의 초기발아에 미치는 영향(발아온도: 23.8℃).

종명	품종	건열처리 직후파종				건열처리 60일후 파종			
		무처리	건열처리			무처리	건열처리		
			69℃	72℃	75℃		69℃	72℃	75℃
동양계	불암얼룩풋	100	80	30	40	100	100	100	90
	다보도 풋	90	40	80	60	100	80	90	90
	단맛맷돌	90	60	70	30	100	90	80	60
	소양호박	70	10	10	0	100	100	90	70
	담록풋	80	10	10	10	90	70	60	30
	중앙애호박	20	20	0	0	90	90	90	10
	춘원조생풋	100	90	100	60	100	80	100	90
	불암조생풋	90	90	90	100	100	100	100	80
	반짜이	30	0	0	10	70	50	60	40
	평 균	74	44	43	34	94	84	85	62
피포계	노랑쥬키니	100	80	80	70	100	90	90	90
	불암하우스	90	70	90	20	90	90	90	90
	남강쥬키니	100	80	50	0	90	30	80	10
	Star Zone	60	80	0	0	100	100	100	60
	멋진호박	90	70	90	80	90	90	80	80
	HNX 97498	30	0	10	10	80	50	40	40
	가락하우스쥬.	70	90	40	70	100	90	100	90
	Golden Gate	80	100	100	70	90	80	70	40
	Rondo	100	100	100	100	100	100	100	50
	Star Line	100	100	90	100	100	100	90	80
	진광쥬키니	90	50	80	60	60	30	40	0
	홍농쥬키니	90	50	80	10	100	80	80	90
	평 균	83	72	67	49	91	77	80	60
서양계	중앙밤호박	80	30	20	10	100	100	100	60
	흑피단	70	90	90	100	90	90	100	70
	양천밤호박	0	10	20	40	100	100	100	100
	평 균	50	43	43	50	96	96	100	76
잡종군	신토좌	60	20	90	10	90	80	80	90
	황토좌	20	10	0	0	50	30	0	20
	평 균	40	15	45	5	70	55	40	55

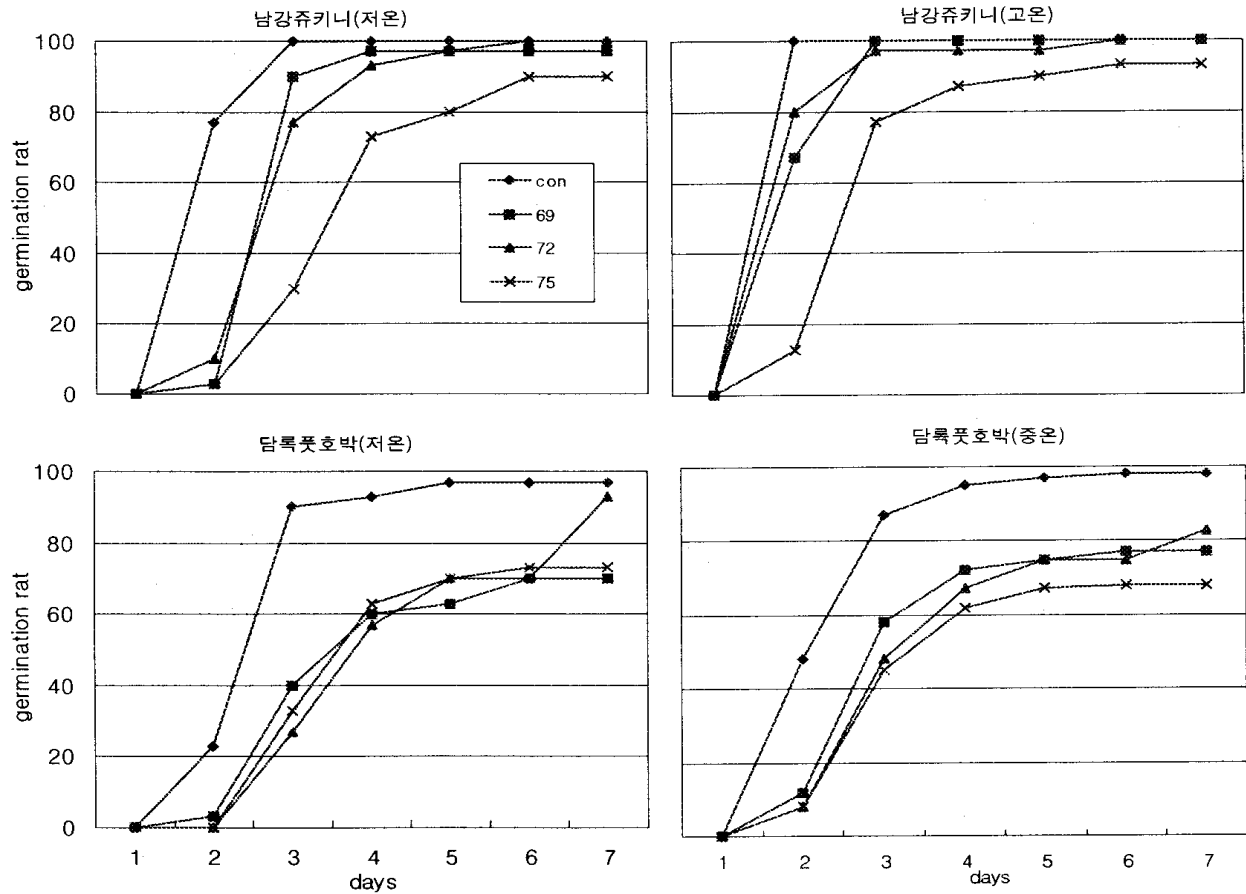


그림 6-1. 건열처리 상한온도에 따르는 상이한 온도조건에서의 호박 종자발아.

건열처리된 호박종자들의 경시적 발아율은 그림 6-1에 보이고 있는데 대부분의 품종에서 건열처리된 종자라고 하더라도 최종발아율에서는 처리간의 유의차를 보이지 않았고, 건열처리되어 발아세와 초기발아율이 지연되는 경우가 있지만 최종발아율에서는 큰 차이가 없이 접근하고 있었다. 그러나 ‘담록풋호박’이나 ‘진광호박’ 같은 품종들은 최종발아율에서도 역시 건열처리된 것에서 현저히 낮게 나타났다.

전술한 바 있듯이 수박, 오이, 박 등에 비하여 호박에서 품종 등에 따른 차이가 매우 크게 나타나고 있는 것이 단순한 품종의 특성이라기보다는 종자의 충실도 등 다양한 요인들과 관련되어 있을 것으로 추정되어 수집된 종자를 일차적으로는 일정량의 표본에서 다시 육안으로 종자 크기에 따라 대립, 중립, 소립 종자로 각각 구분하여 이들 종자들의 특성을 각각 조사한 후 별도로 건열처리를 가하였는데 그 결과를 보면 먼저 품종별로 구분된 종자 특성에서 대립종자가 소립종자에 비해 50-100% 정도 더 무거웠으며 종피 비율에서는 대립종자일수록 더 높게 나타나는 경향이었다 (자료 생략). 이들 종자들에서의 건열처리효과를 보면 (그림 생략), 발아율에서의 차이가

크게 나타나는 품종들에서의 발아 상태를 살펴 볼 때 대개의 경우 건열처리된 소립 종자의 발아가 극히 지연되는 현상이 공통적으로 나타나고 있어 충실한 종자의 선종이 건열피해를 최소화할 수 있는 효과적인 대책의 하나임이 밝혀졌다. 그러나 채종 후 일정 기간이 경과된 신토좌 호박류의 최종건열처리는 표 6-3에서와 같이 완전 안정적이었다. 건열처리된 종자의 초기발아율에 있어서 무처리보다 현저히 낮은 seed lots이 있기는 하였지만 최종발아율이나 묘 생체중에서는 모두 정상수준으로 회복되었다.

표 6-3. '골드' 신토좌 호박의 seed lots에 따른 건열처리 반응(최종 실험).

신토좌종자표본	초기발아율(%)		최종발아율(%)		묘생체중(g)	
	무처리	건열	무처리	건열	무처리	건열
골드 92-91	95.83	86.11	97.22	98.61	6.44	6.27
골드 101-99-100	98.61	100.00	100.00	100.00	6.34	6.43
골드 100-99-101	80.56	81.94	100.00	98.61	6.15	6.38
골드 95	97.22	95.83	98.61	98.61	5.69	5.95
골드 99-100-101	100.00	76.39	100.00	97.22	6.54	6.46
골드토좌 82-79	98.61	100.00	98.61	100.00	6.50	6.83
골드 56-55	98.61	98.61	100.00	98.61	6.28	6.07
골드 79-82	100.00	97.22	100.00	98.61	6.44	6.62
골드 91-92	94.44	94.44	98.61	97.22	6.13	6.65
골드 55-56	100.00	94.44	100.00	100.00	6.23	6.09
골드 76	90.28	48.61	95.83	95.83	6.08	6.49
골드 147	98.61	98.61	100.00	98.61	6.52	6.23
골드 97	87.50	80.56	98.61	100.00	6.21	6.27
골드 117	100.00	77.78	100.00	97.22	6.26	6.66
골드 74	98.61	98.61	98.61	100.00	6.18	6.30
골드 140	97.22	83.33	97.22	100.00	5.76	5.66
골드 66	98.61	100.00	98.61	100.00	5.95	6.19
골드 132	98.61	86.11	98.61	95.83	6.14	5.84
골드 64	86.11	94.44	100.00	98.61	5.90	6.04
골드 88	83.33	97.22	100.00	97.22	5.62	5.60
골드 119	98.61	81.94	98.61	98.61	6.60	6.47
골드 138	100.00	98.61	100.00	100.00	6.60	6.50
평균	95.52	89.58	99.05	98.61	6.21	6.27

*채종후 6개월 이상 실온에서 보관되었던 종자임.

7. 과령, 후숙, 탈종방법에 따른 박 및 호박 종자의 건열처리 반응

(1) 박의 과실 성숙정도 및 후숙기간에 따르는 건열처리 반응성

종자의 충실도가 건열처리 피해발생정도와 관련이 있음은 이미 지적된 바 있다 (유은하, 2000; 이정명 등, 1999). 본 실험에서는 다양한 종자 특성 및 탈종방법에 따른 종자의 건열처리 반응성을 비교하였다. 먼저 과실의 과령과 후숙여부 및 정도에 따르는 효과를 'FR King II', '강력참박', 그리고 '원앙참박'에서 착과일을 기준하여 과실의 성숙정도별로 미숙과, 적숙과, 완숙과, 그리고 경우에 따라서는 과숙과(발효과)로 구분하고 이들 과실에서 탈종된 종자들의 특성은 표 7-1에 보이고 있다.

먼저 탈종된 박 종자에서의 결과를 보면 종자중량은 대체로 립당 100-150 mg 정도로 타 박과채소의 종자에 비하면 무거운 편이고 미숙과 탈종 종자보다는 적숙과나 완숙과 탈종 종자가 무거웠으며, 품종에 따라서는 '강력참박'(Power)의 종자가 가장 중량이 무거웠다.

전체종자에서 종피가 차지하는 비율을 보면 미숙과에서는 강력참박 미숙종자가 43.8%로 가장 낮았고 적숙이나 완숙과에 있어서도 종피 비율은 50% 이하로 낮았다. 이에 비해 'FR King II'나 대부분의 타 품종들의 종자에서는 50%를 약간 상회하는 결과를 보였다. 과실의 숙도에 따라서는 '강력참박'이나 '원앙참박#1', '농우 N.16' 등에서는 완숙과에서 종피비율이 약간 높았음에 비하여 'FR King II'나 '동부한농' 등에서는 오히려 그 반대로 나타나서 과실의 숙도에 따라서 종피비율이 품종에 따라 일정하지 않음을 보여 주었다. 다만 배(배+자엽)의 절대중량에서는 종자중량과 정비례하여 변화하였다.

표 7-1. 다양한 박 품종의 과실 성숙도에 따른 종자 특성.

박품종명	과실성숙도	종자중(mg)	배중량(mg)	중피중량(mg)	중피율(%)
강력참박	미숙	144	81	63	43.8
	적숙	169	91	78	46.2
	완숙	175	92	83	47.3
FR King I	미숙	126	56	69	55.4
	적숙	133	69	64	47.9
	완숙	141	71	70	49.6
원앙참박#1	미숙	100	47	53	52.8
	적숙	135	66	69	50.9
	완숙	165	68	97	58.8
동부한농 A	미숙	83	42	42	50.0
	적숙	103	58	46	44.2
	완숙	109	56	53	48.4
농우 No. 6	미숙	111	55	56	50.2
	적숙	121	60	61	50.4
	완숙	140	66	74	52.7
농우 No. 28	미숙	104	49	55	52.6
	적숙	112	55	58	51.3
	완숙	121	60	61	50.2
농우 No. 16	미숙	103	49	54	52.4
	적숙	114	50	63	55.8
	완숙	118	52	66	55.7

이상에서의 종자들에 대하여 품종별-과실숙도별 채종종자의 건열처리 반응성은 표 7-2에 보이고 있다.

Data는 72공 셀트레이에 파종하고 파종 후 10일째의 묘 출현율로 나타내었는데 먼저 품종에 따른 변화를 보면 'FR King II'의 출현율이 가장 높았고 다음이 '원앙', '강력'의 순이었다.

표 7-2. 박 품종의 과실숙기 및 건열처리가 묘출현율(%)에 미치는 영향.

품종	후처리기간	미숙과		적숙과		완숙과	
		무처리	건열처리	무처리	건열처리	무처리	건열처리
FR King II	7일	33.33	16.67	41.67	29.17	86.94	75.00
	60일	88.89	69.44	70.83	69.44	70.83	65.28
원앙참박	7일	10.23	6.90	57.64	40.28	66.81	52.78
	60일	55.56	51.39	83.33	33.33	86.11	62.70
강력참박	7일	7.87	12.50	30.83	29.17	16.67	23.61
	60일	9.72	11.11	61.46	42.13	90.97	82.64

건열처리는 묘의 조기출현율에 큰 영향을 미쳤다. 건열처리된 대부분의 종자로 부터의 묘 출현율은 무처리구의 출현율에 비하여 현저히 저하되었다. 이러한 건열처리에 따른 묘 출현율의 차이는 완숙과 탈종종자에서는 거의 인정할 수 없었으나 미숙과 채종종자들에서는 건열처리 여부에 크게 상관없이 묘 출현율이 현저히 낮았을 뿐만 아니라 건열처리에 따른 출현율의 지연도 또한 두드러지게 나타났다. 따라서 본 실험의 결과를 요약한다면 완숙과의 채종이 묘 출현율이나 정상묘 육성을 제고에 결정적으로 중요할 뿐 만 아니라 건열처리에 따른 출현속도의 지연이나 건열피해의 경감(data 생략)에도 매우 효과적임을 보여 주었다.

(2) 호박에서의 반응

이상에서와 같이 박에서는 비교적 간단한 결론이 유도되었으나 건열처리 피해가 심하게 나타나는 호박에서는 그 반응이나 해석이 매우 복잡하였다. 다양한 과령을 가진 호박의 채종과를 종묘회사 육종연구소에서 입수하여 25℃ 암상태에서 0, 10, 20 일간의 후숙기간을 경과시킨 후 탈종하였는데 이때 호박의 과령이나 후숙 여부 외에도 과실의 부위에 따라서도 각각 구분하여 탈종하였으며 추후 종자특성을 별도로 조사하고, 이들 종자들에 대하여 건열처리 반응성을 아울러 조사하였다.

주요 결과들을 간략하게 요약하여 보면 (표 7-3 및 표 7-4) 미숙과에서 채종된 종자는 과실의 크기에 관계없이 건열처리에 의해 초기출현율에서 20-30%의 감소를 보인 반면 후숙된 황숙과에서 채종된 종자는 건열처리에 따른 초기출현율의 감소도 상대적으로 적었다. 호박의 탈종부위별 종자의 건열처리 반응성에서는 주목할만한 차이가 인정되지 않았다.

표 7-3. 농우조생꽃호박의 과실 크기, 속도, 및 건열처리 여부에 따른 종자발아 (파종 후 10일에 조사된 묘 초기출현율, %).

과실부위*	쥬키니		꽃호박		애호박	
	무처리	건열처리	무처리	건열처리	무처리	건열처리
상 1/4	92.0	100.0	67.0	78.0	--	--
중 2/4	100.0	95.0	100.0	100.0	85.0	44.0
중 3/4	99.0	100.0	89.0	94.0	100.0	98.0
하 4/4	97.0	100.0	99.0	100.0	98.0	91.0

DMRT 5%: 과실크기별

표 7-4. 호박의 품종 및 과실부위별 탈종종자의 건열처리에 따른 최종발아율(%).

과실크기	녹숙과 (미숙과)		황숙과 (적숙과)		황숙과 후숙	
	무처리	건열처리	무처리	건열처리	무처리	건열처리
대과	66.7 b	27.8 c	69.4 b	41.7 b	97.2 a	83.3 a
중과	62.5 b	45.8 b	75.0ab	58.3 a	83.3 b	72.2 b
소과	86.1 a	58.3 a	77.8 a	41.7 b	88.3ab	55.6 c

8. 종자의 형태적 특성과 건열처리 반응성 및 선종기술 제안

완숙과를 충분히 후숙하여 종자의 충실도(배의 중량)를 높이는 것은 매우 효과적인 방법이며 충실도가 높은 종자를 채종하는 방법에는 후숙, 재배기간, 재배장소 및 시기, 관리기술 등 여러 가지가 있으나 위탁 채종을 하여 구매된 종자에는 크기, 중량, 속도, 충실도 등이 각각 다른 다양한 종자가 혼입되겠지만 이에 관한 상세한 data는 아직 없다. 표 8-1은 26 품종의 호박종자에서 육안으로 간략하게 대립, 중립, 소립 종자들을 모집단에서 각각 20% 전후로 선종하여 그 특성을 비교한 것이다. 대체로 종자중량에서는 소립종자에 비하여 대립종자의 중량이 약 25-122%까지 더 무거워서 평균적으로도 약 58%의 중량차가 있었다. 그러나 선종하는 방법에 따라서는 이보다도 훨씬 더 큰 차이도 충분히 인정될 수 있었다.

종자 전체중량에서 종피가 차지하는 중량비율(종피율)은 애호박류에서 22-28%, 쥬키니 계통에서의 15-25%에 비해 중간잡종인 신토좌계는 31% 정도의 비교적 높은 수치를 보였으며 황토좌계는 20% 내외의 종피율을 보였다. 이에 비해서 밤호박 계통에서는 모두 40% 이상의 높은 종피율을 보여서 박 종자에서와 유사한 높은 종피율을 보였다. 건열처리 피해가 심하게 나타나는 호박류에서 충실한 종자를 효과적으로 재선별할 수 있다면 건열피해의 최소화도 매우 용이할 것으로 판단되어 다양하게 채종된 종자에서 더 정밀한 기술 및 이론의 활용이 중요시된다.

표 8-1. 다양한 호박 품종군 및 품종에 따른 종자크기별 특성.

품종군	품종		길이 (mm)	폭 (mm)	두께 (mm)	무게		
						전체(g)	종피제거(g)	종피율(%)
<i>C. moschata</i>	불암얼룩꽃	대	15.43	7.69	2.26	0.11	0.08	27.27
		중	14.66	7.28	2.47	0.11	0.08	27.27
		소	12.80	6.81	2.17	0.08	0.06	25.00
		M	14.30	7.26	2.30	0.10	0.07	26.52
	다보도꽃	대	16.46	9.79	3.07	0.21	0.16	23.81
		중	15.23	9.08	3.10	0.18	0.14	22.22
		소	13.74	8.66	3.19	0.16	0.13	18.75
		M	15.14	9.18	3.12	0.18	0.14	21.59
	단맛멧돌	대	17.29	8.13	2.90	0.15	0.12	20.00
		중	15.98	7.60	2.57	0.12	0.10	16.67
		소	15.47	7.35	2.59	0.11	0.09	18.18
		M	16.25	7.69	2.69	0.13	0.10	18.28
	소양호박	대	13.30	7.83	2.50	0.11	0.08	27.27
		중	12.40	7.13	2.55	0.10	0.06	38.78
		소	11.08	6.52	2.34	0.07	0.05	28.57
		M	12.26	7.16	2.46	0.09	0.06	31.54
	담록꽃	대	15.85	8.72	3.43	0.20	0.15	25.00
		중	14.90	8.23	3.28	0.17	0.13	23.53
		소	13.04	7.03	3.15	0.12	0.09	25.00
		M	14.60	7.99	3.29	0.16	0.12	24.51
	중양애호박	대	14.38	8.63	2.86	0.14	0.11	21.43
		중	13.77	7.79	2.67	0.11	0.08	27.27
		소	12.15	7.07	2.67	0.09	0.07	22.22
		M	13.43	7.83	2.73	0.11	0.09	23.64
	춘원조생꽃	대	16.47	8.01	3.03	0.16	0.12	25.00
		중	15.66	7.53	2.93	0.14	0.10	28.57
		소	14.18	6.97	2.69	0.11	0.08	27.27
		M	15.44	7.50	2.88	0.14	0.10	26.95
	불암조생꽃	대	18.25	9.11	3.25	0.22	0.17	22.73
		중	16.87	8.52	3.26	0.20	0.16	20.00
		소	14.55	7.35	2.93	0.13	0.11	15.38
		M	16.56	8.33	3.15	0.18	0.15	19.37
	반짝이	대	18.68	9.86	2.31	0.18	0.13	27.78
		중	17.42	8.90	2.20	0.15	0.11	26.67
		소	15.42	8.21	1.94	0.11	0.08	27.27
		M	17.17	8.99	2.15	0.15	0.11	27.24

표 8-1. 다양한 호박 품종군 및 품종에 따른 종자크기별 특성(계속).

품종군	품종		길이 (mm)	폭 (mm)	두께 (mm)	무게		
						전체(g)	종피제거(g)	종피율(%)
<i>C. pepo</i>	노랑쥬키니	대	14.61	9.31	2.54	0.15	0.12	20.00
		중	14.32	8.25	2.58	0.14	0.11	21.43
		소	12.58	7.64	2.38	0.10	0.08	20.00
		M	13.84	8.40	2.50	0.13	0.10	20.48
	불암하우스	대	15.21	9.23	3.44	0.21	0.18	14.29
		중	14.38	8.49	3.13	0.17	0.14	17.65
		소	12.56	7.66	2.83	0.12	0.10	16.67
		M	14.05	8.46	3.13	0.17	0.14	16.20
	남강쥬키니1	대	14.92	8.98	2.60	0.16	0.13	18.75
		중	14.21	7.99	2.41	0.12	0.09	25.00
		소	12.65	7.44	2.54	0.10	0.08	20.00
		M	13.93	8.14	2.52	0.13	0.10	21.25
남강쥬키니2	대	15.21	8.98	2.79	0.17	0.13	23.53	
	중	14.47	8.45	2.74	0.15	0.11	26.67	
	소	12.87	7.83	2.59	0.12	0.09	25.00	
	M	14.18	8.42	2.71	0.15	0.11	25.07	
Star Zone	대	13.63	9.15	2.42	0.15	0.12	20.00	
	중	13.14	9.03	2.45	0.14	0.12	14.29	
	소	12.40	8.19	2.41	0.12	0.10	16.67	
	M	13.06	8.79	2.43	0.14	0.11	16.98	
멋진호박	대	14.34	8.60	2.70	0.16	0.12	25.00	
	중	13.80	8.04	2.43	0.13	0.10	23.08	
	소	12.23	7.34	2.37	0.10	0.08	20.00	
	M	13.46	7.99	2.50	0.13	0.10	22.69	
가락하우스 쥬키니	대	14.70	8.69	2.95	0.17	0.14	17.65	
	중	14.30	8.34	2.97	0.16	0.13	18.75	
	소	12.33	7.50	2.67	0.11	0.09	18.18	
	M	13.78	8.18	2.86	0.15	0.12	18.19	
Golden Gate	대	15.28	8.97	3.15	0.19	0.15	21.05	
	중	14.22	8.12	3.07	0.15	0.12	20.00	
	소	12.56	7.61	2.81	0.11	0.09	18.18	
	M	14.02	8.23	3.01	0.15	0.12	19.74	
Rondo	대	17.17	9.73	2.77	0.20	0.14	30.00	
	중	15.44	8.97	2.71	0.16	0.12	25.00	
	소	14.04	8.02	2.35	0.11	0.09	18.18	
	M	15.55	8.91	2.61	0.16	0.12	24.39	

표 8-2. 신젠타 ‘골드토좌’호박의 종자특성의 비교.

전체 중량 (mg)	배중량 (mg)	종피중 (mg)	배/전체 (%)	종피/전체 (%)	종자길이 (mm)	종자폭 (mm)	종자두께 (mm)
207.5	152.5	55.03	73.48	26.52	17.5	9.3	4.34
180.9	127.9	52.96	70.73	29.27	18.0	9.0	3.50
235.8	165.1	70.66	70.03	29.97	18.5	9.8	4.44
221.8	151.5	70.28	68.31	31.69	18.0	10.0	3.86
218.1	156.1	61.98	71.58	28.42	18.8	9.5	3.74
206.7	139.1	67.63	67.28	32.72	18.0	10.1	4.03
239.2	181.2	57.99	75.76	24.24	18.3	10.5	3.74
152.4	101.1	51.32	66.33	33.67	18.1	10.0	2.72
171.0	116.1	54.87	67.91	32.09	17.9	9.3	3.45
152.3	109.9	42.47	72.12	27.88	17.2	8.8	2.93
206.1	148.5	57.56	72.07	27.93	16.5	10.5	3.36
171.3	119.6	51.66	69.84	30.16	17.1	8.9	3.60
149.3	102.6	46.73	68.71	31.29	18.7	8.9	2.96
162.3	107.2	55.17	66.02	33.98	18.6	9.8	3.11
179.2	122.0	57.24	68.06	31.94	18.2	9.0	3.65
161.0	116.0	45.03	72.03	27.97	17.5	9.0	2.99
185.1	133.0	52.06	71.87	28.13	17.8	9.1	3.51
200.9	146.5	54.46	72.89	27.11	18.0	9.0	3.85
170.3	123.2	47.11	72.34	27.66	17.0	8.9	3.53
165.3	115.8	49.50	70.06	29.94	17.7	8.9	3.57
136.5	96.2	40.32	70.47	29.53	17.6	9.2	3.06
192.6	141.8	50.72	73.66	26.34	17.4	9.5	3.62
165.0	116.7	48.30	70.72	29.28	16.1	9.2	3.40
179.7	132.8	46.96	73.87	26.13	17.7	8.9	3.66
131.9	88.4	43.48	67.02	32.98	17.5	9.0	2.95
130.2	95.0	35.21	72.96	27.04	17.1	8.5	2.97
164.9	120.3	44.61	72.95	27.05	17.0	9.5	3.24
115.9	82.9	32.98	71.54	28.46	17.0	8.0	2.73
137.7	94.1	43.66	68.30	31.70	16.6	9.0	3.24
147.9	111.3	36.54	75.29	24.71	16.8	8.5	3.13
130.6	97.3	33.32	74.49	25.51	14.5	8.4	3.04
125.4	93.1	32.27	74.26	25.74	16.0	7.8	3.20
125.9	90.3	35.60	71.73	28.27	16.0	8.0	2.91
123.5	92.9	30.59	75.23	24.77	16.5	9.0	2.60
96.9	67.4	29.53	69.53	30.47	14.0	8.8	2.35

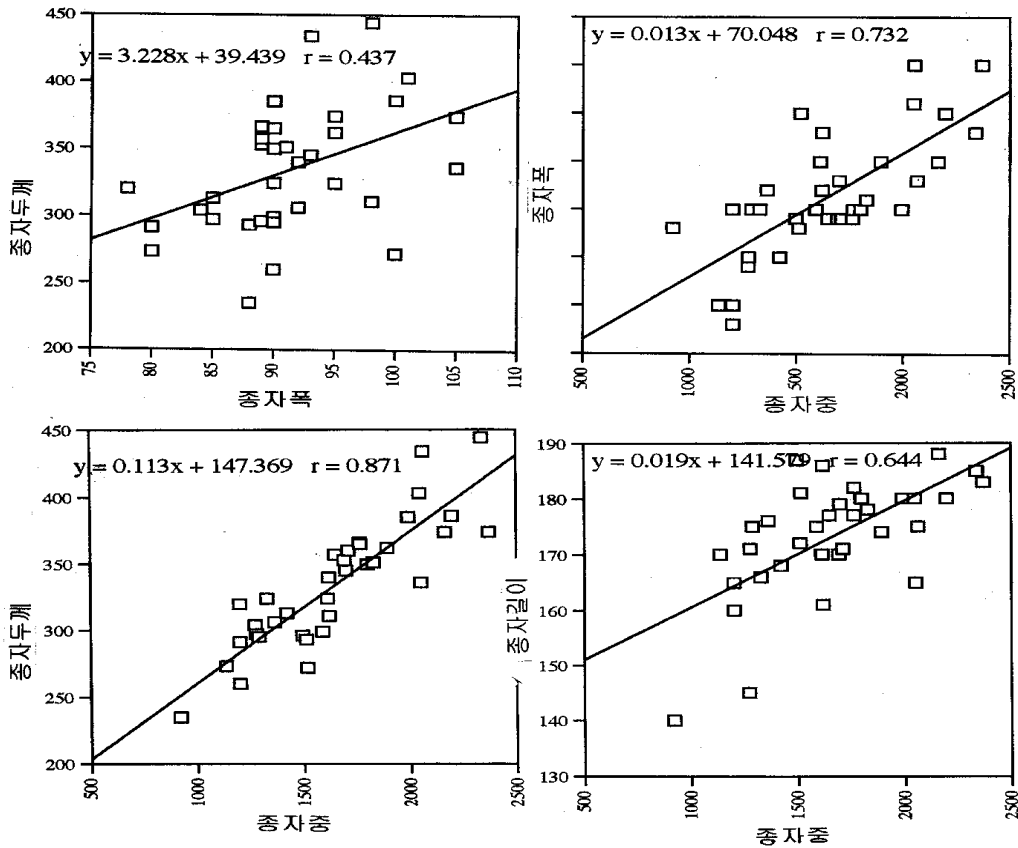


그림 8-1. 신젠타 ‘골드토좌’ 호박 종자 특성간의 상관관계 분석.

9. 다양한 종자처리가 건열처리 반응성에 미치는 영향.

앞의 보고에서 고추종자의 건열처리 시 대부분의 종자는 전혀 하등의 건열 피해가 없이 처리되었으나 살균제가 처리되고 필름코팅이 된 ‘금상’종자는 상당한 피해를 보인 것이 지적된바 있다. 아울러 다른 작물에서도 유사한 문제점들이 발생하면서 이에 관하여 여러 종묘회사들로부터 문의들이 들어오고 있어서 이에 관하여 구체적으로 연구를 진행하였다.

먼저 종자발아가 대단히 까다로운 씨없는 수박(3배체)을 포함한 수박에서의 실험 결과를 보면 (그림 9-1, 표 9-1) 건열처리만 하였을 경우에는 파종 후 4일에 조사한 발아세나 파종 후 7일에 조사된 발아율에서는 비교적 저온인 20 °C, 22 °C, 24 °C에서도 각각 무건열처리 종자에 비해 큰 차이를 보이지 않았으나 종자처리제인 thiram 을 처리한 후에 건열처리를 하게 되면 발아세가 매우 낮아졌는데 이러한 발아세 감소현상은 특히 20 °C와 22 °C의 저온조건하에서 두드러지게 나타났다. 그러나 발아

온도를 24 ℃로 높였을 때에는 (Thermogradient Table을 이용한 발아실험) 발아세의 감소폭이 두드러지게 작아져서 무처리구에 비하여 유의차를 보이지 않았다.

그러나 thiram 처리와 건열처리가 동시에 가해진 처리라고 하여도 종자프라이밍 기술인 solid matrix priming을 하여 발아시키면 거의 완벽하게 무처리 종자의 수준으로 회복시킬 수 있어서 20 ℃의 저온조건에서조차도 무건열 처리구에 비하여 유의차를 보이지 않았다.

과중 후 7일에 조사된 발아율에서는 thiram처리와 건열처리를 실시하고 20 ℃에서 발아시킨 것에서만 88%로 무처리구의 96%보다 낮았으나 그 밖의 온도조건에서는 무처리구에 비하여 유의차를 보이지 않았다.

또 다른 실험으로 '명가왕' 수박과 'Festival' 수박 2 품종을 공시하여 20-33 ℃의 10개 온도조건에서 각각 발아실험을 실시한 결과 상기 '명가왕' 수박에서 얻어진 결과와 큰 차이가 없고 또한 24 ℃ 이상의 고온 또는 발아적온조건 하에서는 대부분 정상발아를 보여서 이 보고서에서는 생략하였다.



그림 9-1. Thermogradient table을 이용한 수박종자의 발아실험 전경.

좌: TGT 발아전경: 좌측 고온(32℃) vs. 우측 저온 (20℃). 우: 수박의 SMP 효과: 위쪽:고온, 아래쪽: 저온, 배치는 좌로부터 SMP 처리종자-무처리종자-처리-무처리-처리-무처리의 순서임.

표 9-1. 명가왕 수박종자의 발아에 미치는 다양한 종자처리 효과.

*Syngenta 종묘의 3배체 수박종자로 SMP 처리는 종자 : Microcel E : H₂O의 비율을 10:1:5로 조절하여 25 °C 암상태에서 72 시간 처리 후 수세하여 음건함.

발아온도	종자처리	발아세(4일)%	발아율(7일)%
20 °C	무처리	84.0 a	96.0 a
	Solid Matrix Priming(SMP)	98.0 a	97.0 a
	Dry Heat Treatment(DH)	94.0 a	97.0 a
	DH+SMP	90.0 a	100.0 a
	Thiram+DH	54.0 b	88.0 a
	Thiram+DH+SMP	93.0 a	96.0 a
22 °C	무처리	95.0 a	96.0 a
	Solid Matrix Priming(SMP)	96.0 a	100.0 a
	Dry Heat Treatment(DH)	98.0 a	100.0 a
	DH+SMP	100.0 a	100.0 a
	Thiram+DH	71.0 b	92.0 a
	Thiram+DH+SMP	92.0 a	92.0 a
24 °C	무처리	98.0 a	100.0 a
	Solid Matrix Priming(SMP)	99.0 a	100.0 a
	Dry Heat Treatment(DH)	92.0 a	100.0 a
	DH+SMP	96.0 a	100.0 a
	Thiram+DH	90.0 a	96.0 a
	Thiram+DH+SMP	100.0 a	100.0 a

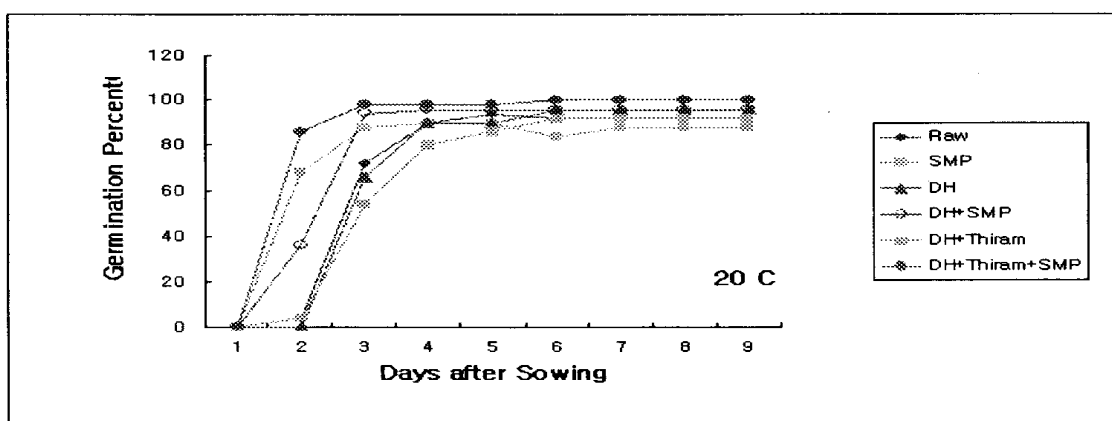


그림 9-2. 수박종자의 저온조건에서의 경시적 발아율(20°C).

해외에서 채종된 종자가 국내에 반입되기 위해서나 아니면 채종된 종자들간의 병균의 추가전염을 최소화하기 위해서 상품 포장 이전에도 살균제가 흔히 처리된다. 앞에서 일부 살균제가 처리된 종자의 건열처리는 건열처리 피해를 증가시킬 수 있음이 보고된 바 있다. 따라서 이러한 문제점을 타 종자에도 확인하기 위하여 수박을 포함한 타작물의 종자에 별개의 실험을 실시한 결과는 표 9-2, 9-3, 9-4에 각각 보이고 있다. 먼저 박 종자에서 온도조건별 발아를 보면 ‘파트너’에서는 저온인 20 °C에서는 발아가 매우 낮았고 건열처리에 의해서도 발아세가 현저히 낮아졌다. 그러나 살균제인 benomyl 처리와 건열처리를 병행하였을 때에는 공시된 ‘파트너’ 및 ‘강력’ 2 품종에서 모두 건열처리에 비해서 추가적으로 발아세가 저하되지는 않았다. 발아율에 있어서는 발아세와는 달리 건열처리에 따른 감소폭도 매우 낮아지는 경향이었으며 이러한 경향은 저온발아조건인 20 °C와 22 °C에서만 나타났을 뿐 24 °C 이상에서는 처리간의 유의차를 인정할 수 없었다.

표 9-2. 종자처리제의 첨가 및 건열처리가 상이한 온도조건에서 박 종자의 발아에 미치는 영향.

품종명	종자처리	초기발아율(%)					최종발아율(%)				
		20	23	25	28	31	20	23	25	28	31
파트너	무처리	13.3ab	70.0a	73.3a	93.3a	90.0a	86.7a	80.0a	73.3a	93.3a	93.3a
	0.4% Benomyl	20.0a	60.0a	80.0a	90.0a	90.0a	73.3a	73.3a	86.7a	90.0a	96.7a
	건열(DH)	3.3b	70.0a	86.7a	73.3a	86.0a	73.3a	76.7a	86.7a	73.3a	90.0a
	Benomyl +DH	3.3b	63.3a	70.0a	76.6a	96.0a	63.3a	66.7a	76.7a	86.7a	90.0a
	Mean	10.0	60.8	77.5	83.3	90.8	74.2	74.2	80.8	85.8	92.5
PR 박	무처리	33.3a	50.0ab	60.0a	66.7ab	46.7a	60.0a	60.0a	66.7a	66.7ab	53.3a
	0.4% Benomyl	26.7a	56.7a	60.0a	73.3a	56.7a	60.0a	60.0a	60.0a	73.3a	56.7a
	건열(DH)	23.3a	30.0ab	36.7a	63.3ab	50.0a	40.0a	40.0ab	40.0a	66.7ab	55.0a
	Benomyl +DH	20.0a	23.3b	46.7a	43.3b	63.3a	56.7a	26.7b	53.3a	46.7b	63.3a
	평균	25.8	40.0	50.8	61.7	50.0	54.17	46.7	55.0	63.3	50.8

호박류에서는 '적토좌' 호박과 '농우애호박'을 공시하였는데 건열처리에 따른 저온 조건에서의 발아세 감소가 현저하였으나 benomyl의 첨가여부는 건열처리 반응성에 영향을 미치지 못하였다. 그러나 '농우애호박'에서는 건열처리에 따른 종자의 발아세 감소도 전무하였고, 저온에서도 대부분 정상적인 발아를 보였다.

표 9-3. 종자처리제의 첨가 및 건열처리가 다양한 온조조건에서 호박의 발아에 미치는 영향.

호박품종명	종자처리	초기발아율(%)					최종발아율(%)				
		20	23	25	28	31	20	23	25	28	31
적토좌	무처리	90.0a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a
	0.4 Benomyl	93.3a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a
	DH	40.0b	100a	100a	100a	100a	96.7a	100a	100a	100a	100a
	Benomyl +DH	33.3b	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a
	Mean	64.2	100	100	100	100	99.2	100	100	100	100
농우애	무처리	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a
	0.4 Benomyl	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a
	DH	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a
	Benomyl +DH	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a
	평균	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

고추에서는 '마니따', '태양', 그리고 'FR'을 공시하였는데 '마니따'에서만 건열처리에 따른 초기발아가 다소 지연되는 경향을 보였으며 benomyl의 첨가 여부는 건열처리 효과에 어떠한 상가적인 영향도 미치지 않았다. '마니따'의 최종발아율에서는 처리간의 유의차가 전혀 인정되지 않았다.

'TR' 고추에서도 대체적으로 '마니따'에서와 같이 건열처리에 의해서만 저온 하에서의 초기발아율이 낮아짐을 확인하였다. 그러나 '태양'에서는 건열처리 피해 등의 처리에 따르는 유의차가 없이 모든 공시조건에서 거의 완벽하게 발아하였다(표 9-4).

표 9-4. 종자처리제의 첨가 및 건열처리가 다양한 온도에서 고추 종자의 발아에 미치는 영향.

품종	종자처리	초기발아율(%)					최종발아율(%)				
		20	23	25	28	31	20	23	25	28	31
마 니 따	무처리	11.7a	58.3a	86.6a	98.3a	100a	96.7a	100a	98.3a	98.3a	100a
	0.4 Benomyl	10.0a	65.0a	90.0a	98.3a	96.6a	96.7a	98.3a	98.3a	100a	100a
	DH	0.0b	13.3ab	63.3b	81.6b	93.3a	85.0a	93.3a	96.7a	95.0a	96.7a
	Benomyl +DH	0.0b	8.3b	65.0b	95.0a	95.0a	91.7a	96.7a	95.0a	96.7a	98.3a
	Mean	5.4	36.3	76.3	93.3	95.0	92.5	97.1	97.1	97.5	98.8
태 양	무처리	0.0a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a
	0.4 Benomyl	0.0a	93.3a	98.3a	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a
	DH	0.0a	100a	100a	96.7a	100a	100a	100a	100a	98.3a	100a
	Benomyl +DH	0.0a	100a	100a	100a	96.7a	100a	100a	100a	100a	100a
	Mean	0.0	98.3	99.6	99.2	99.2	100	100	100	100	100
T R 고 추	무처리	43.3ab	96.7a	100a	98.3a	100a	100a	100a	100a	98.3a	100a
	0.4 Benomyl	53.3a	96.7a	100a	100a	98.3a	100a	98.3a	100a	100a	98.3a
	DH	15.0c	96.7a	98.3a	100a	98.3a	96.7a	100a	100a	100a	100a
	Benomyl +DH	25.0bc	93.3a	100a	98.3a	98.3a	100a	100a	100a	100a	98.3a
	Mean	34.2	95.8	99.6	99.2	98.8	99.2	99.6	100	98.8	99.2

수박에서는 '신금로'와 '금천'을 공시하였는데 건열처리 여부나 또는 benomyl의 첨가 여부에 따른 발아율의 감소는 어떤 품종에서도 인정되지 않았고 모두 정상적으로

발아하여 건열처리는 물론 혼입약제의 피해를 가장 적게 받는 것으로 나타났다 (표 9-5).

표 9-5. 종자처리제의 첨가 및 건열처리가 TGT에서 수박종자의 발아에 미치는 영향.

품종명	종자처리	초기발아율(%)					최종발아율(%)				
		22	23	25	28	31	20	23	25	28	31
신금로 수박	무처리	90.0a	100.0a	98.3a	98.3a	98.3a	93.3a	100.0a	100.0a	98.3a	100.0a
	0.4 Benomyl	91.7a	98.3a	100.0a	93.3b	96.6a	93.3a	98.3a	100.0a	95.0b	96.7a
	DH	95.0a	95.0a	100.0a	100.0a	100.0a	98.3a	95.0a	100.0a	100.0a	100.0a
	Benomyl +DH	93.3a	100.0a	98.3a	100.0a	96.6a	96.7a	100.0a	98.3a	100.0a	96.7a
평균		92.5	98.3	99.2	97.9	97.9	95.4	98.3	99.6	98.3	98.3
금천수 박	무처리	90.0a	100.0a	100.0a	98.3a	98.3a	90.0a	100.0a	100.0a	98.3a	98.3a
	0.4 Benomyl	95.0a	90.0b	98.3a	100.0a	100.0a	95.0a	90.0b	98.3a	100.0a	100.0a
	DH	90.0a	100.0a	95.0a	93.3b	93.3b	90.0a	100.0a	95.0a	98.3a	98.3a
	Benomyl +DH	90.0a	100.0a	98.3a	100.0a	100.0a	90.0a	100.0a	98.3a	100.0a	100.0a
평균		91.25	97.50	97.9	97.9	99.2	91.3	97.5	97.9	97.9	99.2

이상의 4작물에서의 건열처리 및 약제처리에 따른 결과들을 종합하여 보면 적정량의 살균제(benomyl 또는 thiram)를 사전에 첨가하여 건열처리를 하더라도 건열처리 효과 이외의 다른 영향은 없는 것으로 확인되었다. 그러나 다량을 살균제 첨가나, 또는 특별한 종류의 기타 농약, 살균제 처리 이후에 film coating 등의 처리가 된 종자들에서는 건열피해를 악화시킬 수도 있음이 또한 밝혀진바 있다.

유사한 또 하나의 예가 3배체 수박의 종자발아와 관련된 연구이다. 3배체 종자 구조 중 종피는 모계인 4배체에서 유래되어 매우 크고 두툼한 반면 배(배+자엽)는 $4n \times 2n$ 인 관계로 오히려 정상수박인 2배체보다도 그 발달이 미약한 경우가 많다 (Duval 등, 1992; Grange 등, 2003). 따라서 3배체 수박의 종자발아는 무처리 종자라고 할지라도 매우 까다로워서 재배농가에 따라서 50% 미만의 발아율을 보이는 사례가 종종 발생하고 있다.

따라서 상기 실험들에 대한 진일보한 연구로 씨없는 수박의 종자인 ‘씨제로’ 수박을 생산회사인 Syngenta 종묘로부터 입수하여 이에 관한 일련의 연구를 진행하였다.

입수된 종자는 건열처리는 되지 않았으나 이미 solid matrix priming 처리가 되어 있었고 추가적으로 0.3% Thiram 처리와 함께 film coating 까지 완료된 시판 종자를

이용하였다. 이들 종자는 건열처리 시 그 상한온도를 70, 75, 80 °C로 각각 조절하여 표준 건열처리방법에 준하여 72 시간을 처리하고 처리 후 실내 조건에서 3일간 자연 흡습을 시킨 후 실리카겔과 함께 밀봉하며 저장하면서 필요에 따라 이들을 꺼내어 실험하였다.

과중은 초기에는 온실에서 72공 cell tray에 종자 1립씩 직파하여 3반복으로 실험하였는데 이 직파 재배시의 종자발아 또는 유묘출현율이 극히 낮아서(대부분 40% 이하) 다시 실험실에서 국제 종자발아검사 규정기준인 주름종이(pleated papers)를 이용하여 25 °C 항온기에서 발아한 결과와 비교하였는데 그 결과는 표 9-6에 보이고 있다.

먼저 공시품종중에서 3배체 수박인 '씨제로', '흑광', '대감'의 발아율은 건열처리가 되지 않은 무처리 종자라도 20-30%의 출현율을 보였다. 그러나 종자 건열처리는 고온이었던 80 °C 처리를 제외하고는 묘 출현율에 현저한 영향은 미치지 않았다. 이에 비해 같이 공시된 정상수박인 '삼복꿀'수박이나 '감로'수박의 경우에는 무처리의 경우나 또는 70 °C, 75 °C의 건열처리시에도 모두 80% 이상의 출현율을 보였고, 처리간의 차이도 미미하였다. 아울러 최종조사시 정상묘율에서도 가장 고온처리이었던 80 °C 처리구만 제외하면 80% 내외의 정상묘율을 보여서 3배체 수박과는 대단히 대조적인 결과를 보여 주었다.

3배체 수박의 종자발아를 더 면밀하게 파악하고자 국제발아실험법을 적용하여 (AOAS, 1993) 실험한 결과 실내실험수치이기는 하지만 무처리 종자 (SMP+Film-coated)가 97.1%의 높은 발아율을 보였고 건열처리된 종자도 70 °C 상한온도에서는 91.7%, 표준건열처리인 75 °C 상한온도에서는 81.9%의 발아율을 보여 주었다. 그러나 상한온도를 80 °C로 하여 처리하였을 경우는 72.2%로 낮아져서 역시 일반종자에 비하여 프라이밍이나 코팅된 종자는 건열처리에 의하여 정상적인 종자발아가 영향을 받음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 앞의 실험에서 '금상'고추종자의 경우에도 확인된 바 있다 (표 9-6).

표 9-6. 수박 품종 및 건열처리 여부에 따른 종자발아 및 정상묘율

품종명	재배환경	발 아 율 (%)				정 상 묘 율 (%)			
		무건열	70℃	75℃	80℃	무건열	70℃	75℃	80℃
씨제로A*		16.7	16.7	12.5	4.2	4.2	4.0	4.2	2.8
씨제로B*		30.6	8.3	1.4	6.9	8.3	2.4	1.4	2.8
평균		23.7	12.5	7.0	5.6	6.3	3.2	2.8	2.8
흑광*		셀트레이직과	-**	20.8	15.3	4.2	-**	8.3	8.3
대감*		19.4	27.8	20.8	2.7	8.3	11.1	9.7	5.6
감로		81.9	86.1	81.9	68.1	77.8	83.3	77.8	63.9
삼복꿀		91.7	91.7	83.3	69.4	91.7	93.3	92.8	68.1
씨제로A*	실험실 과종 pleated paper	97.1	91.7	81.9	72.2	-**	-**	-**	-**

*3배체 수박의 종자임. **과종되지 않았음.

그러나 한편으로는 이미 SMP가 완료되었거나 또는 살균제를 포함한 film coating 이 된 종자, 또는 이 두 가지가 복합적으로 처리 완료된 종자라고 할 지라도 필요에 따라서는 건열처리도 적용할 수 있음이 아울러 입증되었다. 다만 이 경우 건열처리 된 종자들에 대하여는 일반 종자에 비하여 다소 높은 최적온도를 유지하여야 함은 물론이고 다소간의 발아율 저하는 당연한 것으로 받아들여야만 할 것이다. 특히 SMP 처리과정은 최야 처리와 유사하여 처리기간 중 (25 ℃에서 72 시간) 약성병균 의 2차 전염이 이루어지기 쉬운 조건이므로 건열처리나 차후의 살균제의 처리로 이 에 대한 대비를 하는 것이 필요하다고 판단된다. 종피처리로는 대개의 경우는 농 약이 이용되거나 화학물질이 이용되거나 박과채소류 특히 종자발아가 어려운 안동오 이, 수세미, 씨없는 수박들의 종자들은 특히 종피가 두터워서 기계적인 박피를 행하 는 경우도 많은데 일례로 종피의 일부분을 절제하거나, 염산이나 황산 등을 이용하 여 녹이거나, 종피표면에 ㄴ자 조각도로 홈을 파주거나 하는 방법들이 상업적으로 사용되고 있다(김성환 등, 1988). 종피가 부분 절제되는 경우 종자 내외로의 수분 및 산소의 통과가 매우 용이하게되어 종자발아는 대부분 촉진되지만 이렇듯 종피 일부 가 소멸되거나 불완전한 종자들은 반대로 건열처리 시 쉽게 극한적인 온도 및 함수 율의 변화를 겪게 되어 발아율이 크게 저하될 수 있다.

따라서 본 실험은 일부 박과 채소종자를 대상으로 건열처리 이전의 종피의 부분절 제(손톱깍기 이용, partial removal; PR) 또는 완전박피(complete removal, CR)가 건 열처리를 받으면 어떠한 반응을 보이는 지에 관하여 연구하였다. 그 결과를 표 9-7 에서 보면, 먼저 '파트너' 박 종자에서는 건열처리에 의해서 종자 발아가 지연 및 저하되고 유묘 생육도 현저히 저하되었다.

종자가 부분적으로 또는 완전 제거된 종자를 건열처리하는 경우 종자발아는 더 낮아졌으며 유묘의 생육은 대부분 비정상적으로 나타났다.

그러나 역시 건열처리에 민감하게 반응하는 '강력'참박에서의 결과는 종피의 부분 제거 후의 건열처리는 완전제거 후의 건열처리보다 발아율 저하정도가 현저히 적어서 비록 종자 외부와 완전차단역할을 하지는 못하더라도 종피가 건열피해를 완화시키는 효과를 일부 지니고 있음이 확인되었다. 아울러 채종과정 중 종피에 피해가 갈 수 있는 처리 등도 건열처리 반응성과 관련하여 면밀하게 재검토할 필요가 있다.

표 9-7. 종피 제거 및 건열처리가 박 종자의 발아 및 유묘 특성에 미치는 영향.

*PR: 부분제거, CR: 전체 제거.

품종 및 처리	발아율(%)	하배축장(cm)	하배축경(mm)	자엽장(cm)	생체중(g)
파트너박					
무처리	89.0 a	12.63 a	3.69 a	6.33 a	2.47 a
건열처리	40.0 a	6.40 b	3.48 a	5.83ab	1.96 b
PR*+건열	22.0 b	6.17 b	3.49 a	5.40 b	1.80 b
CR*+건열	36.0bc	0.70 c	2.30 b	3.27 c	1.03 c
강력참박					
무처리	83.0 a	11.83 a	3.85 a	7.10 a	3.35 a
건열처리	85.0 a	9.37 b	3.74 a	6.63 b	3.03 b
PR+건열	76.0 a	6.70 c	3.67 a	5.87 c	2.16 c
CR+건열	14.0 b	0.47 d	2.52 b	4.10 d	0.59 d
신토좌호박					
무처리	99.0 a	12.12 a	4.23 a	4.79 a	4.79 a
건열처리	86.0 b	8.16 b	4.30 a	4.08ab	4.08ab
PR+건열	96.0 a	9.55 b	4.17 a	4.30 a	4.30 a
CR+건열	68.0 c	8.17 b	4.14 a	3.02 b	3.02 b
쥬키니호박					
무처리	99.0 a	7.37 a	4.45 a	5.18 a	5.18 a
건열처리	97.0 a	6.56bc	4.27 a	4.53 a	4.53 a
PR+건열	43.0 c	4.77 c	4.37 a	3.83 b	3.83 b
CR+건열	67.0 b	4.93 c	4.18 a	3.28 b	3.28 b

DMRT 처리: 동일 품종내 처리간 비교 5%.

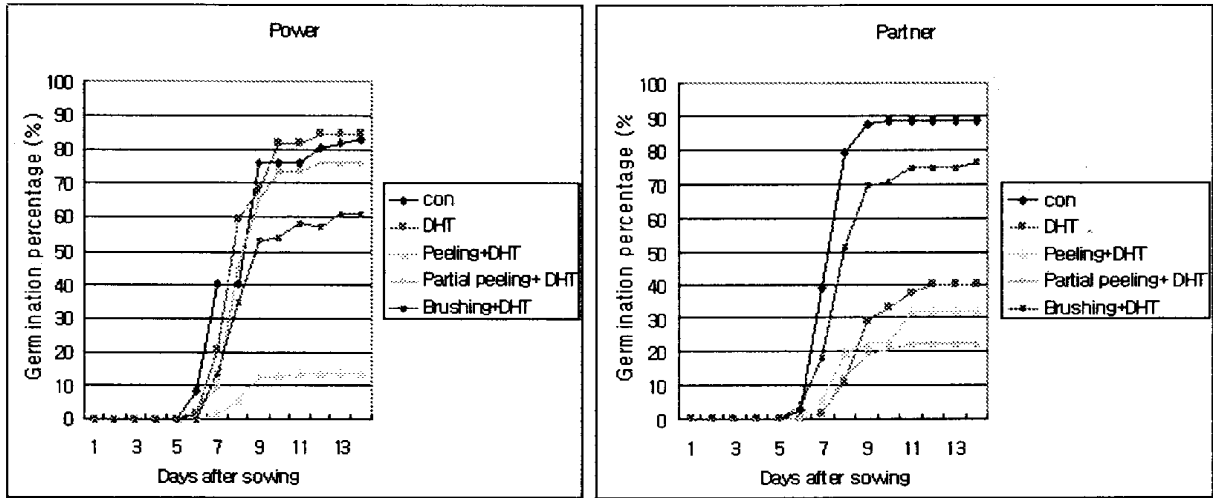


그림 9-3. 종피 부분제거 처리 등에 따른 Thermogradient Table 에서의 박 종자의 경시적 발아의 변화.

10. 건열처리 후 장기저장중의 종자활력 변화

먼저 일단 건열처리를 받은 후 종자보관실(15 °C 전후 및 상대습도 35%)에 장기간 저장되었던 다양한 박과채소류의 종자를 모두 이용하여 일단 발아실험을 하였다. 이들 종자들은 전 실험연구에서 사용되었던 종자로 대개는 건열처리 후 최소한 2년 이상이 경과된 종자들로서 일반 상식적으로는 거의 발아력을 상실하였을 것으로 추정되는 종자들이었다. 즉 일반적으로 건열처리를 받게 되면 극한적인 스트레스를 받고 종자 양분도 상당히 변화되거나 소멸되어서 일단 건열처리된 종자는 반드시 “당해 년도에 사용하여야 하고 저장을 하면 안 된다” 는 것이 통념이었기 때문이다. 더구나 이들 종자들이 비록 습도조건은 대부분의 종자가 silica gel과 함께 밀봉 저장하였기 때문에 잘 조절이 되었지만 저장온도가 15 °C 전후의 상대적으로 다소 높은 온도이어서 상당한 활력 감소를 예상하였기 때문이었다. 이에서 얻어 진 결과들은 표 10-1에 보이고 있다.

표 10-1. 건열처리후 장기저장된 박과채소류 종자의 발아율 및 건묘율.

작물 및 품종명	종자상태	발아율 (%)	건묘율 (%)	작물 및 품종명	종자 상태	발아율 (%)	건묘율 (%)
겨울나기오이 A	미코팅	97.1	81.9	Partner참박A	망저장	95.8	84.7
겨울나기오이 B	코팅	100.0	88.9	Partner참박B	망저장	33.3	33.3
겨울살이청장 A	미코팅	97.1	84.7	Partner참박C	망저장	37.5	34.7
겨울살이청장 B	망저장	94.6	79.2	Partner참박D	97인도산	79.2	66.7
겨울살이	코팅	94.6	68.1	Partner참박D	97인도산	86.3	77.8
은성백다다기오이A	망저장	91.7	80.6	Partner참박E	97인도산	79.2	68.1
은성백다다기오이B	망저장	97.1	86.1	Partner참박F	일반	87.5	75.0
신흑진주오이A	망저장1	95.8	79.2	서울참박	망저장	79.2	61.1
신흑진주오이B	망저장2	98.8	70.8	농우참박A	'97	87.5	76.4
금성수박	망저장	82.1	68.1	농우참박B	망저장	20.8	13.9
대감수박	망저장	97.1	77.8	내병FR용자	망저장	38.8	26.4
				ST-6882*	PC-N1	65.4	40.3
				ST-7585*	B-N3	86.3	75.0
강력참박 A	1997	95.8	514.4	ST-7582	망저장	97.1	80.6
강력참박 B	A	90.4	40.3	ST-6582	망저장	94.6	63.9
강력참박 C	망A	95.8	56.9	FR-1000	망저장	76.3	63.9
강력참박D	망B	90.4	48.6	-	-	-	-
FR King IIA	상동	36.3	33.3	-	-	-	-
FR King IIB	"	100.0	81.9	-	-	-	-
FR King IIC	"	98.8	80.6	-	-	-	-
FR King IID	"	100.0	73.6	-	-	-	-

과종: 2000. 10. 26.; 최종조사: 2000. 11.18.

일반적으로 건열처리된 종자는 극도의 스트레스를 받아서 종자활력이 급감하고 수명이 단축되는 것으로 알려져 있다. 따라서 건열처리 되고 난 후 최소 2년 이상부터 3-4년에 이르기까지 실온에서 보관되었던 종자들이어서 발아율이 매우 낮을 것으로 예상하였으나 표에서의 결과를 보면 오이는 공시품종 9 품종이 모두 90% 이상의 발아율을 보임과 동시에 건묘육성율에서도 68.1-88.9%에 이르기까지 매우 높게 나타나고 있었다.

수박에서는 '금성'수박과 '대감'수박이 공시되었는데 두 품종 모두 건열처리 후 2년 이상 경과된 종자이었는데도 불구하고 각각 82.1%와 97.1%의 발아율을 보여 주었을 뿐만 아니라 건묘육성율에서도 68.1%와 77.8%를 보여서 상당히 높은 활력이 계속 유지되어 왔음을 보여 주었다.

따라서 오이나 수박에서는 일단 건열처리가 된 종자라고 하더라도 상당 기간 저장

하였다가 사용하더라도 큰 지장이 없음을 보여 주었다.

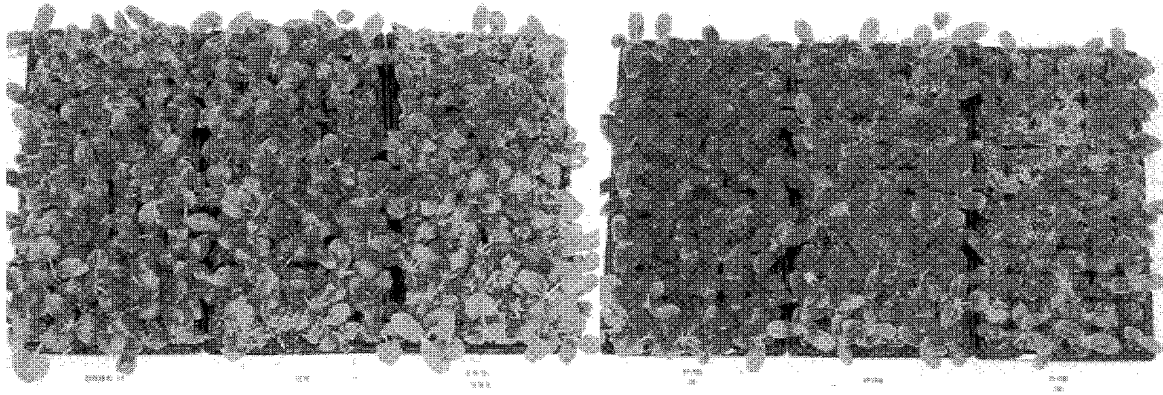


그림 10-1. 건열처리 후 장기저장된 박종자의 발아 상태. 2년 이상 경과되어도 정상 발아를 보이는 종자도 다수이었음.

이에 비해서 박 종자는 품종 및 채종년도 그리고 처리종류(각각의 seed lots, A, B, C..)에 따라 크게 영향을 받았다. 이들 종자들도 건열처리 후 2년 이상 실온에서 보관한 것들이 대부분이었는데 24개의 공시품종 및 seed lot 중에서 90% 이상의 발아율을 유지하고 있는 것이 9 품종, 80% 이상의 발아율을 보이는 것이 10 품종으로 19 품종 즉 전체의 80% 이상이 80% 이상의 발아율을 유지하고 있었다. 그러나 일부 박 종자에서는 (5 품종) 40% 이하의 발아율을 보이고 있는 것들도 발견되기에 이르러 역시 건열처리된 박 종자의 수명은 무건열처리 종자에 비하여 상당히 단축되는 것을 확인할 수 있었다.

즉 결론적으로 건열처리가 되더라도 저장조건만 적합하다면 1-2년 정도의 저장은 비교적 용이함을 보여 주었는데 수박이나 오이에 비하여 박 종자는 상대적으로 건열처리 후 수명단축효과가 높은 편이어서 박 종자의 경우는 건조하게 저장을 하더라도 1년 이상의 장기저장은 피하는 것이 권장되고 있다. 호박의 경우는 품종에 따라 극단적으로 예민한 것에서 상당히 안정된 것으로 매우 다양하게 반응하므로 장기저장 전후에 다양한 방법으로 종자활력을 일단 검정한 후에 건열처리 종자의 장기저장 여부 및 그 기간을 설정하는 것이 필요하다고 판단되었다.

건열처리 후 장기저장중의 종자활력의 변화 여부를 더욱 구체적으로 연구하기 위하여 CGMMV에 감염된 'Power King' 박 종자를 입수하여 표준건열처리를 실시하고 이들 종자를 일반 종묘회사의 포장재료를 이용하여 일반 시중에서 판매되는 소포장의 형태로 (그림 10-2) 각각 밀봉 포장한 후 실온(20-30 ℃), 중온(15 ℃ 전후) 및 저온(4 ℃)에서 각각 장기 저장을 하였다. 장기저장의 목적은 2 가지이었는데 첫째 이유는 건열처리 직후에 종자를 바로 파종하게 되면 건열처리에 따르는 상당한 피해가 유묘에 나타나는 경우가 많아서 건열처리에 이은 후처리로서의 중요성이 있기

때문이고, 둘째로는 일단 소포장이 된 상태로 밀봉하여 저온저장 또는 상온저장을 할 때 종자활력의 변화를 보기 위함이었다. 저장기간 중 매 60 일 간격으로 종자표본을 꺼내어 개봉한 후 이들 종자를 실험실내에서는 Anchor Paper를 이용하여 25℃ 암상태에서 발아실험을 행하였으며 온실 조건에서는 72공 셀트레이에 바로커 상토를 넣고 직파하여 주기적인 묘 출현율과 차후 유묘의 특성을 각각 조사하였는데 이상에서의 결과는 표 10-2와 10-3에 각각 보이고 있다.

먼저 밀봉방법에 따라서는 Can에 밀봉하거나 은박지비닐에 밀봉하거나 간에 뚜렷한 차이는 발견할 수 없었다. 밀봉저장 시작 또는 건열처리 이후의 저장기간에 따르는 효과를 보면 건열처리 이후의 저장기간이 길어질수록 노화촉진처리에 따른 발아율 감소폭에서 차이가 없거나 또는 둔화되는 경향이였다. 이러한 결과는 일반적으로 예상하던 것과는 정반대의 결과이었는데 일반적으로 건열처리된 종자는 극도의 stress를 받아 종자수명이 극도로 단축된다고 알려졌으나 본 실험의 결과로는 오히려 그 반대로 나타나고 있었다. 따라서 건열처리된 종자라도 장기저장이 가능하며 오히려 건열처리 후 바로 파종하거나 이용하는 것보다는 일정 기간 저장을 하였다가 이용하는 것이 건열피해 자체를 현저히 감소시킬 수 있을 뿐 아니라 발아율 향상 및 건묘율 향상을 얻을 수 있음이 증명되었다.

실험실에서의 이러한 결과와 대비하기 위하여 온실에서 72공 셀트레이에 파종하여 실험한 결과를 보면 먼저 묘 출현율에서는 (표 10-3) 건열처리된 종자가 무처리 종자에 비해서 대체적으로 낮았으나 그 차이는 항상 현저하지는 않았다. 아울러 중저온 저장기간이 길어질수록 건묘율도 일관성있게 높아지는 경향으로 밝혀져서 앞에서 언급된 실험실에서의 결과와 일치되었다.

표 10-2. 건열처리후의 장기저장 일수가 소포장상태의 'Power King' 박 종자의 초기발아율에 미치는 영향.

저장조건	처리 및 포장	저장기간 (일)				
		30일	60일	90일	120일	240일
무처리	무처리	96.7	100.0	100.0	100.0	98.3
	건열	98.3	98.3	96.7	98.3	98.3
	Mean	97.5	99.2	98.4	99.2	98.3
상온	Can	98.3	98.3	96.7	98.3	100.0
	Foil	100.0	100.0	96.7	98.3	100.0
	DHT+Can	96.7	100.0	100.0	100.0	96.7
	DHT+Foil	98.3	100.0	96.7	100.0	100.0
	Mean	98.3	99.6	97.5	99.2	99.2
중온	Can	96.7	98.3	95.0	100.0	100.0
	Foil	98.3	100.0	93.3	98.3	98.3
	DHT+Can	93.3	96.7	100.0	100.0	95.0
	DHT+Foil	96.7	96.7	95.0	95.0	100.0
	Mean	96.3	97.9	95.8	98.3	98.3
저온	Can	98.3	100.0	98.3	98.3	100.0
	Foil	96.7	100.0	96.7	100.0	96.7
	DHT+Can	96.7	98.3	95.0	95.0	98.3
	DHT+Foil	93.3	100.0	96.7	95.0	100.0
	Mean	96.3	99.6	96.7	97.1	98.8
Mean		97.0	99.0	96.9	98.3	98.7

표 10-3. 건열처리후의 장기저장을수가 소포장상태의 'Power King' 박 종자의 정상묘율에 미치는 영향.

저장조건	처리 및 포장	30일	60일	90일	120일	240일
무처리	무처리	83.3	94.4	94.4	91.7	95.8
	건열	75.0	87.5	88.9	91.7	86.1
	Mean	79.2	91.00	91.7	91.7	91.0
상온	Can	81.9	97.2	91.7	90.3	95.8
	Foil	86.1	95.8	86.1	94.4	88.9
	DHT+Can	66.7	90.3	86.1	65.3	80.6
	DHT+Foil	86.1	94.4	91.7	76.4	93.1
	Mean	80.2	94.4	88.9	81.6	89.6
중온	Can	88.9	95.8	94.4	95.8	97.2
	Foil	84.7	97.2	94.4	87.5	94.4
	DHT+Can	77.8	94.4	88.9	90.3	97.2
	DHT+Foil	83.3	84.7	84.7	91.7	87.5
	Mean	83.7	93.0	90.6	91.3	94.1
저온	Can	86.1	97.2	93.1	90.3	90.3
	Foil	84.7	95.8	87.5	87.5	90.3
	DHT+Can	77.8	86.1	80.6	77.8	84.7
	DHT+Foil	69.4	91.7	83.3	79.2	95.8
	Mean	79.5	92.7	86.1	83.7	90.3
Mean	80.8	93.0	89.0	86.4	91.3	

11. 노화촉진처리를 이용한 종자의 활력 평가

본 연구에서는 건열처리된 종자와 무건열처리종자를 같이 고온다습조건(45 °C, 100% RH)에 노출시켜서 일정한 기간동안 노화촉진처리(老化促進處理, accelerated aging treatment 또는 AA)를 가하여서 간접적으로 그 잠재수명이나 활력을 검정하였는데 이 결과는 표 11-1(수박: 삼복꿀+대감), 11-2(박: 강력+FR King II)에 보이고 있다. 먼저 수박에서는 ‘삼복꿀’수박에서 초기출현율은 건열처리만으로도 상당히 지연되었고 노화촉진처리가 2일에서 6일로 길어 질수록 역시 초기출현율이 급격히 감소하여서 6일처리에서는 무건열처리종자에서는 절반 수준으로, 그리고 건열처리종자에서는 0%로 떨어졌다. 이러한 낮은 출현율은 앞서에서의 보고 내용과는 다소 상이한 결과인데 이 원인은 이 실험에서의 건열처리는 소형 건조기(국내 비전과학제품)를 이용한 처리이어서 여기에서 부적합한 온습도의 급격한 변화에 대한 종자 자체의 적응성 때문인 것으로 분석되고 있으며 따라서 건열처리 전용 대용량 장치를 이용한 처리에서는 발생하지 않는 결과로 판단되고 있다.

과종 후 10일에 조사된 초기출현율에 비해서 과종후 17일에 조사된 출현율에서는 건열처리가 된 종자를 2일간 노화촉진처리하더라도 60% 이상의 묘 출현율을 보임으로서 부득이한 사정으로 건열처리된 종자를 저장하는 경우 2년 정도의 저장은 역시 가능함을 보여 주었다. 즉 이러한 경우는 종자를 cell tray에 직파하기 보다는 SMP 처리하여 과종하거나 아니면 대량 과종의 경우에는 incubator 등에 최아처리를 하여 최아된 종자만을 선별적으로 과종하면 과종 시에 다소 노동력이 더 소요되기는 하겠지만 100% 균일한 묘를 얻는다는 더 효과적이어서 대규모 육묘장에서 사용할 수 있는 적극적인 방법의 하나로 밝혀지고 있다.

대체로 건열처리된 종자는 발아세는 낮더라도 최종발아율에서는 큰 차이를 보이지 않는 것이 일반적인 현상이다. 본 실험에서도 정상묘율을 보면 비록 초기발아율에서 다소간 지연되었다고 하더라도 무건열처리, 노화촉진처리의 98%에 비해서 노화촉진처리가 6일간이나 지속되어도 건열처리종자에서 77.33%의 높은 정상묘율을 보여서 수박종자가 건열처리되어도 장명종자임을 여실히 증명하여 주었다. 대체적으로 노화촉진처리시의 1일 처리는 실온에서의 저장가능기간 1년 정도와 같은 결과를 보임으로 상품성이 가능한 종자의 발아율을 80%로 잡는다면 실온저장에서도 5년 이상의 저장이 가능하다는 결론을 내릴 수 있었다. 건열처리만 하였을 경우 정상묘율이 88%로서 무건열처리의 98%에 비해서 다소 낮아지는 경향이였다. 또한 건열처리 종자에 노화촉진처리를 적용하였을 경우 4일 노화촉진처리에서 59.33, 그리고 6일 노화촉진처리에서는 38.67%로 급격히 낮아졌다. 이상은 ‘삼복꿀’ 수박에서 얻어진 결과로만 설명된 것이지만 ‘대감’수박의 종자에서도 대동소이한 결과가 정리되었다 (표 11-1).

표 11-1. 건열 및 노화촉진처리가 장기저장된 “Power King” 박종자의 유묘출현율에 미치는 영향.

저장 조건	처리 및 포장	30일			60일			90일			180일			240일		
		0	AA2	AA4	0	AA2	AA4	0	AA2	AA4	0	AA2	AA4	0	AA2	AA4
무처리	무처리	96.7	86.7	65.0	100.0	96.7	90.0	100.0	86.7	90.0	100.0	91.7	73.3	98.3	100.0	85.0
	건열	98.3	81.7	36.7	98.3	96.7	81.7	96.7	86.7	93.3	98.3	100.0	88.9	98.3	93.3	88.3
	Mean	97.5	84.2	50.9	99.2	96.7	85.9	98.4	86.7	91.7	99.2	95.9	81.1	98.3	96.7	86.7
상온	Can	98.3	95.0	38.3	98.3	91.7	91.7	96.7	88.3	83.3	98.3	100.0	91.7	100.0	98.3	96.7
	Foil	100.0	93.3	61.7	100.0	93.3	91.7	96.7	95.0	88.3	98.3	95.0	91.7	100.0	91.7	96.7
	DHT+Can	96.7	71.7	33.3	100.0	78.3	80.0	100.0	85.0	65.0	100.0	86.7	78.3	96.7	95.0	86.7
	DHT+Foil	98.3	75.0	18.3	100.0	86.7	71.7	96.7	83.3	75.0	100.0	93.3	65.0	100.0	91.7	76.7
	Mean	98.3	83.8	37.9	99.6	87.5	83.8	97.5	87.9	77.9	99.2	93.8	81.7	99.2	94.2	89.2
중온	Can	96.7	96.7	78.3	98.3	96.7	88.3	95.0	88.3	90.0	100.0	95.0	85.0	100.0	93.3	80.0
	Foil	98.3	93.3	78.3	100.0	90.0	83.3	93.3	91.7	83.3	98.3	96.7	88.3	98.3	100.0	91.7
	DHT+Can	93.3	88.3	60.0	96.7	88.3	75.0	100.0	80.0	75.0	100.0	88.3	71.7	95.0	90.0	80.0
	DHT+Foil	96.7	81.7	61.7	96.7	86.7	90.0	95.0	83.3	71.7	95.0	83.3	71.7	100.0	93.3	80.0
	Mean	96.3	90.0	69.6	97.9	90.4	84.2	95.8	85.8	80.0	98.3	90.8	79.2	98.3	94.2	82.9
저온	Can	98.3	90.0	53.3	100.0	95.0	93.3	98.3	93.3	81.7	98.3	98.3	95.0	100.0	91.7	95.0
	Foil	96.7	91.7	85.0	100.0	93.3	88.3	96.7	98.3	86.7	100.0	96.7	90.0	96.7	95.0	96.7
	DHT+Can	96.7	75.0	50.0	98.3	86.7	85.0	95.0	75.0	68.3	95.0	90.0	55.0	98.3	100.0	85.0
	DHT+Foil	93.3	76.7	58.3	100.0	96.7	78.3	96.7	80.0	70.0	95.0	88.3	76.7	100.0	95.0	78.3
	Mean	96.3	83.4	61.7	99.6	92.9	86.2	96.7	86.7	76.7	97.1	93.3	79.2	98.8	95.4	88.8
Mean	97.0	85.5	55.6	99.0	91.2	84.9	96.9	86.8	80.1	98.3	93.1	80.2	98.7	94.9	86.9	

박 종자에서는 '강력'참박과 'FR King II'를 공시하여 실험하였는데 건열처리에 민감한 반응을 보이는 '강력'참박에서는 건열처리 자체의 심한 피해를 받아서 파종 후 17일에 조사된 묘 출현율에서 무처리의 83.33%에 비해서 건열처리는 70.83%로 13% 정도 낮아졌으며 건열처리 강하다고 알려진 'FR King II'에서도 100%에서 93.06%로 7% 정도 낮아졌다. 그러나 이들 종자에 노화촉진처리를 적용할 경우 무건열처리 종자는 '강력'참박의 경우 6일 처리에서도 8.89%의 출현율이 유지되었고 'FR King II'의 경우는 6일 처리에서 91.67%의 높은 출현율이 나타난 반면 건열처리 후 노화촉진처리를 가하면 불과 2일의 노화촉진처리만으로도 묘 출현율이 0%로 급격하게 낮아짐을 확인할 수 있었다. 따라서 건열처리된 박 종자는 재배자나 농민의 수준에서는 저장을 피하여야 하며 종자전문업체에서도 종자활력을 면밀하게 평가한 후 저장 여부 및 기간을 결정하는 것이 특히 중요하다고 판단되었다.



Plate I-51. ◡금토좌◡호박◡종자-무처리.

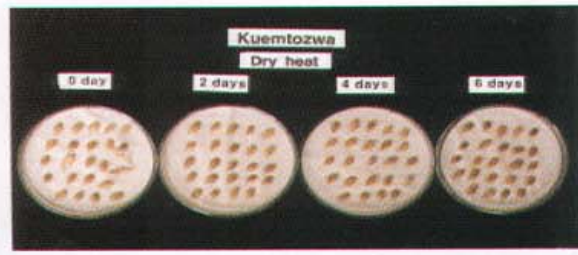


Plate I-52. ◡금토좌◡호박◡종자-건열처리.



Plate II-15. ◡겨울청장◡-무처리.



Plate II-16. ◡겨울청장◡-건열처리.



Plate II-17. ◡불암조생쪽◡-무처리.



Plate II-18. ◡불암사계절◡-건열처리.



그림 11-3A. 다양한 박과채소 종자의 건열처리 및 노화촉진처리에 따른 발아 양상.



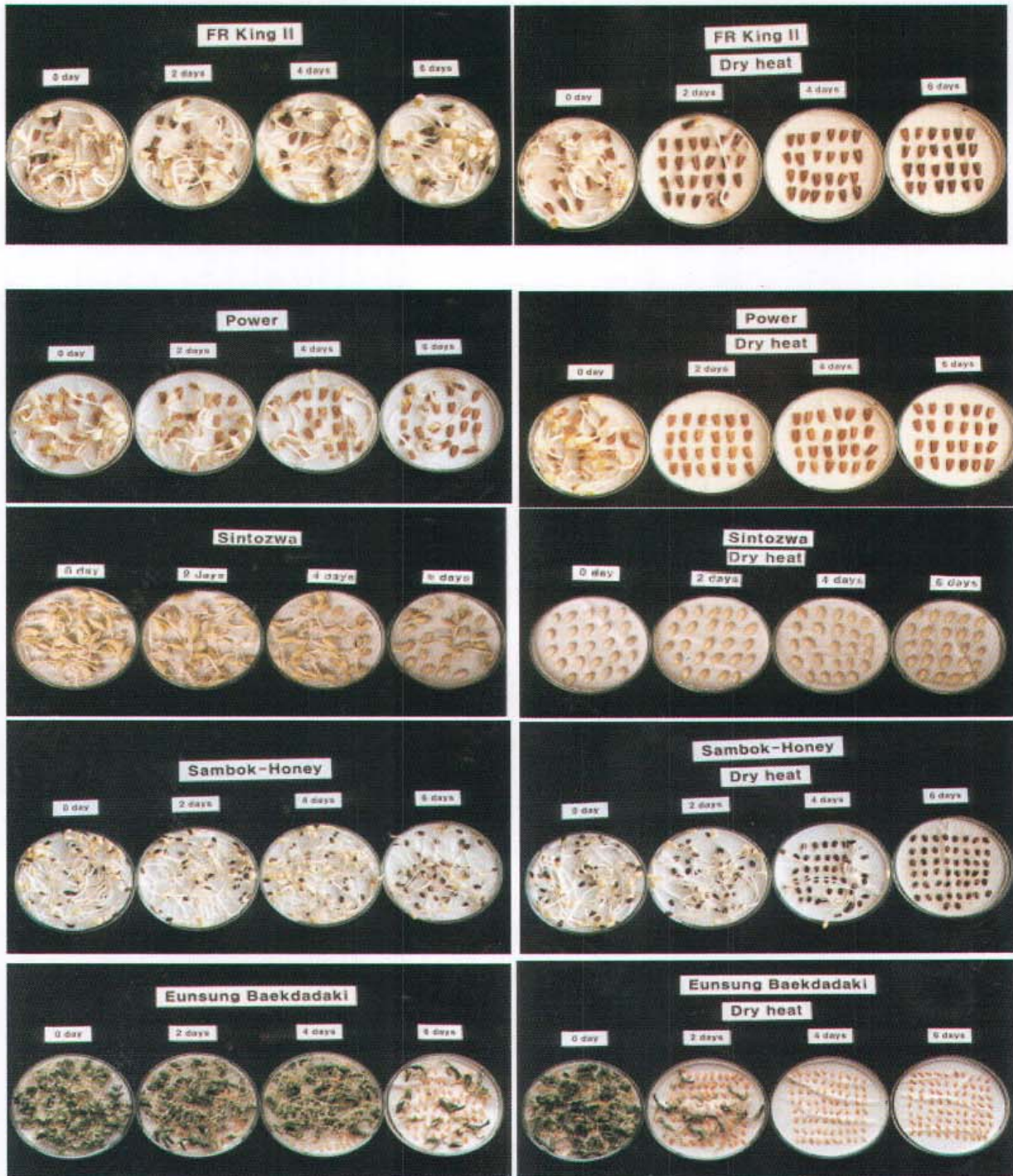


그림 11-3B. 다양한 박과채소 종자의 건열처리에 따른 발아 양상 (계속).

12. 건조율 제고를 위한 종자처리기술 개발

건열처리된 종자나 또는 종자발아에 문제가 있는 종자들(예: 3배체수박 종자, 휴면종자 등)에 대하여 본 연구에서는 다양한 종자처리기술 중 대립종자(大粒種子)에 적용하는 것이 적합하다고 알려진 solid matrix priming을 적용하였다. Solid matrix priming의 재료로는 시판되는 물질 중 Microcel E를 이용하였으며 그 방법으로는 종자 : microcel E : 물의 비율을 10 : 1 : 4에서 10:1:6의 비율까지 작물의 종류 및 품종에 따라 예비실험을 통하여 밝혀진 비율을 선별적으로 적용하여 처리하였다. 이때, 물에는 0.1% captan을 처리기간 중 종자의 부패나 2차 오염의 방지를 위하여 사용하였으며 처리 종류에 따라서 triazole 계 농약이나 gibberellin (GA₃)를 필요에 따라 적정량 용해시켜서 이용하였다. 상기 혼합된 내용물은 비닐봉지에 넣고 잘 섞은 후 밀봉하여 25 ℃의 암조건에서 72 시간 처리하였으며 처리후 물로 세척하여 microcel E를 제거하고 음건하여 저장하였다가 필요에 따라 소량씩 표본을 취하여 실험에 이용하였다.

먼저 박 4품종에서의 결과를 요약하면 (표 12-1) 건열처리 종자에서는 건열처리온도가 높이면 발아세가 특히 낮아졌는데 SMP 처리는 이러한 낮아진 발아세를 회복시키는데 매우 효과적이었다. SMP 처리에 의한 발아세 증진효과는 모든 품종에서 두드러지게 인정되었지만 특히 'FR-1000'과 'FR-OK'에서 더 현저하였다. 종자발아가 50%에 도달하기까지의 소요일수(T50)를 보면 발아세와 같이 SMP 처리에 의해서 현저히 단축되었는데 특히 'FR-1000'에서 보면 건열처리만 된 종자에서는 8.0일인데 비하여 SMP 처리된 종자들에서는 (10:1:5 비율) 4일 이하까지로 낮아 졌다. SMP 처리효과는 10:1:4의 비율보다는 10:1:5의 조합에서 다소 더 높은 경향이었으나 유의차는 없었다. SMP 처리 시 물 대신에 gibberellin 5 mg · L⁻¹ 으로 처리할 경우 품종 또는 처리에 따라서 다소 영향을 받는 경향은 있었으나 일관성 있는 결과는 얻어지지 않아서 gibberellin의 처리는 차후 박 종자의 SMP 처리용으로는 권장할 수 없었다.

호박종자에서도 건열처리에 따라 유발된 극심한 발아불량 현상을 SMP 처리에 의하여 획기적으로 극복할 수 있었는데 (그림 12-1 참조, data 생략) 종자의 크기와는 큰 관계없이 고르게 그 효과를 인정할 수 있었다.

표 12-1. 박 품종별 종자 건열처리 및 종자처리에 따르는 종자발아 및 유묘생육.

Cultivars	처리.	발아율			발아세			T50		
		무처리	건열	평균	무처리	건열	평균	무처리	건열	평균
FR-1000	T-1	83.3	66.7	75.0	1.4	22.2	11.8	10.0	7.3	8.7
	T-2	91.7	87.5	89.6	87.5	75.0	81.3	4.0	5.0	4.5
	T-3	86.1	86.1	86.1	80.6	79.2	79.9	4.0	4.3	4.2
	T-4	83.3	84.7	84.0	77.8	83.3	80.6	3.3	4.0	3.7
	T-5	94.4	91.7	93.1	94.4	87.5	91.0	3.0	4.0	3.5
	mean	87.8	83.3		68.3	69.4		4.9	4.9	
FR-OK	T-1	81.9	58.3	70.1	0.0	0.0	0.0	8.0	9.7	8.9
	T-2	76.4	62.5	69.5	33.3	5.6	19.5	6.7	7.3	7.0
	T-3	72.2	70.8	71.5	23.6	18.1	20.9	7.3	7.0	7.2
	T-4	84.7	63.9	74.3	40.3	22.2	31.3	6.7	7.3	7.0
	T-5	81.9	77.8	79.9	58.3	19.4	38.9	5.7	7.0	6.4
	mean	79.4	66.7		31.1	13.1		6.9	7.7	
Power	T-1	72.2	72.2	72.2	22.2	38.9	30.6	8.0	6.7	7.4
	T-2	72.2	72.2	72.2	30.6	45.8	38.2	6.7	6.0	6.4
	T-3	86.1	68.1	77.1	68.1	54.2	61.2	4.7	5.3	5.0
	T-4	45.8	72.2	59.0	23.6	52.8	38.2	5.3	5.7	5.5
	T-5	58.3	83.3	70.8	34.7	61.1	47.9	6.1	5.3	5.7
	mean	66.9	73.6		35.8	50.6		6.2	5.8	
FR-Gold	T-1	68.1	69.4	68.8	23.6	18.1	20.9	7.7	7.0	7.4
	T-2	69.4	63.9	66.7	47.2	43.1	45.2	5.0	5.3	5.2
	T-3	76.4	68.1	72.3	48.6	33.3	41.0	6.0	6.3	6.2
	T-4	65.3	56.9	61.1	45.8	31.9	38.9	4.7	6.3	5.5
	T-5	70.8	68.1	69.5	51.4	45.8	48.6	5.0	6.0	5.5
	mean	70.0	65.3		43.3	34.4		5.7	6.2	
overall mean		76.0	72.2		44.6	41.9		5.9	6.2	

*T-1 : 무처리; T-2 : Seed : Microcel E : Water= 10 : 1 : 4;

T-3 : 10 : 1 : 4 (GA3 5ppm); T-4 : 10 : 1 : 5; T-5 : 10 : 1 : 5 (GA3 5ppm).



그림 12-1. 건열처리 및 SMP 처리에 따른 진광쥬키니 호박 종자발아.
 상 : 대립종자, 중 : 중립종자, 하 : 소립종자
 좌로부터 건열처리(대조구), 10:1:4 SMP+재건조, 10:1:4
 SMP+즉시파종, 10:1:5 SMP+재건조, 10:1:5 SMP+즉시파종.

13. 대목종자의 건열처리가 단근접목묘의 발근력에 미치는 영향

대목 종자를 건열처리하면 흔히 나타나는 현상으로 발아세가 낮아지고 하배축이 짧아지면서 자엽의 크기도 다소 감소하고 자엽색에서 농녹색이 다소 짙어지는 등의 형태적인 변화가 수반되는 경우가 흔히 있다. 유묘의 이러한 형태적 또는 유묘 특성상의 차이가 단근접목(斷根接木)을 한 접목묘의 발근에 어떠한 영향을 미칠지에 관하여 일련의 실험을 실시하였는데 그 결과는 표 13-1과 표 13-2에 각각 보이고 있다.

먼저 합접묘의 발근을 보면 접목 후 2일부터 발근이 시작되는데 접목 후 3일과 5일 후에 각각 발근수를 조사한 결과를 보면 (표 13-1) 먼저 품종에 따라 매우 상이한 격차를 보였다. 즉 '파트너'에서는 건열처리에 의해 대목묘로부터의 발근수가 현저히 감소하였던 반면 'FR King II'에서는 오히려 다소 증가하였다. 발근촉진제인 Rootone의 처리는 '파트너'에서는 무건열처리와 건열처리에서 모두 현저히 발근수를 증가시켰는데 두 가지의 접목방법에서 공히 효과적이었다.

표 13-1. 종자건열처리 및 발근제 처리가 박 대목의 발근에 미치는 영향.

접목방법	발근제 처리여부	파트너 참박			FR King II			평균
		무처리	건열처리	평균	무처리	건열처리	평균	
삼목 3일후의 발근수								
합접묘	무처리	3.2	16.6	2.4	1.3	2.1	1.7	2.1
	처리	5.6	6.5	6.1	5.9	6.9	64.4	6.2
삽접묘	무처리	6.0	4.1	5.1	1.0	4.5	3.2	4.1
	처리	6.2	10.9	8.6	4.2	10.0	7.1	7.8
삼목 5일후의 발근수								
합접묘	무처리	6.7	7.4	7.1	9.0	7.4	8.2	7.6
	처리	15.3	11.0	13.2	18.5	22.2	20.4	16.8
삽접묘	무처리	12.5	10.3	11.4	9.0	11.1	10.1	10.7
	처리	21.1	21.1	21.1	17.8	28.3	23.1	22.1
삼목 3일후의 최장근장(mm)								
합접묘	무처리	4.3	3.3	3.8	7.3	3.3	5.3	4.6
	처리	3.7	3.7	3.7	6.3	6.7	6.5	5.1
삽접묘	무처리	4.7	12.0	8.4	8.3	6.3	7.3	7.8
	처리	3.3	10.7	7.0	3.0	6.3	4.7	5.8
삼목 5일후의 최장근장(mm)								
합접묘	무처리	29.0	26.0	27.5	13.0	16.7	14.9	21.2
	처리	32.7	26.7	29.7	25.3	35.3	30.3	30.0
삽접묘	무처리	33.7	32.7	33.2	21.3	30.3	25.8	29.5
	처리	34.7	42.3	38.5	33.3	34.3	33.8	36.2

이에 비해 'FR King II'에서는 건열처리시 발근수의 감소는 없었지만 Rootone의 처리에 의해서 2배 이상의 발근수를 보여서 'Partner'에서와 유사한 발근촉진효과를 보였다 (그림 13-1).

삼목 5일 후에 조사된 발근수는 삼목 3일 후의 발근수보다 2배 정도 증가하였다.

그러나 그 경향은 3일 후의 발근수와 큰 차이는 없었다.

최장근장(最長根長)도 조사되었는데 일반적으로 건열처리에 따라서는 어느 품종에서나 최장근장의 차이는 인정되지 않았다. 접목방법에 따라서는 삽접묘가 합접묘보다 상당히 긴 최장근장을 보였다. 발근촉진제 처리는 삽목 후 3일에 조사된 최장근장에서는 처리에 따른 현저한 차이는 인정되지 않았으며 접목 후 5일에 조사된 최장근장에서도 약간의 증가현상만 보였을 뿐 발근수에서와 같은 현저한 증가는 보이지 않았다. 따라서 접목묘의 삽목시 발근촉진제의 처리는 유묘의 발근을 현저히 촉진시키므로 발근의 조만(早晚)이 접목묘 육성율이나 균일묘 제고에 중요하게 작용하는 환경조건 하에서는 발근촉진제의 처리가 적극 권장될 수 있다. 다만 채소묘는 식용하지 않는 화훼묘 등과는 달리 모두 식용으로 이용되고 과채류(果菜類)에서는 신선한 과실을 식용으로 하므로 허가된 발근제를 사용하고 또한 그 잔류효과를 검정한 후에야만 정식으로 사용이 가능하다는 전제조건이 있다.



그림 13-1. 건열처리 여부 및 발근촉진제 처리가 유묘 생육 및 발근에 미치는 영향. 이 품종에서는 ('FR King II') 건열처리 여부에 따르는 발근력의 차이는 없었으나 발근촉진제의 처리는 발근을 현저히 촉진.

14. 종자의 열처리와 ELISA 반응성

CGMMV의 검출은 대부분 ELISA로 행하여 진다. ELISA 방법은 작업이 간편하고 신속하며 종자 1립을 사용하더라도 그 감염 여부를 정확히 판별할 수 있다는 장점이 있어 비단 CGMMV에만이 아니고 수많은 virus 및 기타 물질의 검증이나 분석에 많이 사용되고 있다. 그러나 ELISA의 가장 큰 문제점중의 하나는 오염된 종자를 건열처리를 하더라도 virus가 완전히 소멸되는 것이 아니고 일부 파괴되면서 그 증식 기능만이 소멸되는 것이다. 따라서 CGMMV에 감염된 종자를 정상적으로 건열처리하여 바이러스가 완벽하게 불활성화되었다고 하더라도 ELISA 검정에서는 그대로 감염되어 있는 것으로 나타난다는 점이다.

이러한 사실을 확인하면서 그 정도를 세밀하게 파악하기 위하여 먼저 CGMMV를 인위적으로 감염시켜서 100% 감염된 종자를 다량 확보하고 이들 종자를 이용하여 다양하게 건열처리 및 습열처리(濕熱處理)를 적용하였다. 건열처리는 해당온도에서 각각 72 시간이 경과되도록 처리하였으며 습열처리는 온도센서가 부착된 온탕에 망사로 싸인 종자를 침지하여 24 시간 처리한 후 각각 그 반응을 비교하였다. ELISA 검정방법은 종자 1립씩을 갈아서 추출액을 ELISA plates에 넣고 그 반응을 검정하였다(Kim & Lee, 2001).

다양한 농가에서 채종된 100% 오염종자를 이용하여 실험하였으나 그 중 일부 결과를 표 14-1에 보이고 있다.

즉 건열처리 온도에 따라서는 100 °C로 올려서 처리를 하더라도 OD 값이 blank 0.148의 1.5배 수준인 0.222 이하로 낮아지는 것은 없었다. 따라서 건열처리 시 상한 온도를 100 °C로 하더라도 상한온도에서 상당기간 경과하지 않으면 ELISA 값에 유의있는 영향을 주지 못함이 확인되었다. 이에 비하여 습열처리의 경우에는 60 °C에서 처리되더라도 ELISA 반응성에서 OD 값이 positive에서 negative로 낮아졌다. 따라서 열처리에 의해 CGMMV의 반응성이 소멸되는 것은 사실이지만 습열처리만 효과적이고 건열처리, 특히 상한온도를 75 °C로 하는 표준건열처리는 ELISA 반응성에 하등의 영향을 미치지 못함이 확인되었다.

표 14-1. 열처리에 따른 박 종자의 ELISA 반응성.

처리여부 및 농가	건열 또는 습열처리온도 (°C)							Blank
	무처리	50	60	70	80	90	100	
건열처리								
김기봉	0.323	0.291	0.299	0.297	0.285	0.283	0.259	0.148
정진영	0.390	0.379	0.365	0.258	0.242	0.257	0.269	0.165
평 균	0.367	0.335	0.332	0.278	0.264	0.270	0.264	0.157
습열처리								
김기봉	0.371	0.365	0.214	0.175	0.178	0.181	0.152	0.135
정진영	0.274	0.272	0.271	0.197	0.165	0.164	0.171	0.144
평 균	0.323	0.319	0.243	0.186	0.172	0.173	0.162	0.140

협동과제 2 (서울대학교) : 오이녹반모자이크 바이러스의 열처리에 의한 변이검출법 개발

4. 연구수행 방법

15. 종자 열처리에 의한 오이 녹반모자이크 바이러스의 변이조사(1년차)

우선적으로 열처리된 종자(바이러스에 感染된 종자와 건전 종자)를 이용하여 total RNA를 추출하였다. 이때 기존의 보고된 CGMMV의 염기서열 정보를 이용하여 primer를 만들어 추출된 total RNA로부터 특정유전자를 PCR 방법으로 증폭하고 증폭된 DNA 절편들은 pCR2.1 vector에 삽입, 분리(cloning) 한 후 열처리에 의해서 도입되는 변이를 바이러스의 염기서열 조사에 의해 파악하였다.

16. 종자 열처리에 의해 새로 발현되거나 생성되는 종자유전자 조사(1년차)

열처리된 종자와 미처리된 종자를 이용하여 genomic DNA를 추출하고 Heat stress consensus element(HSE)의 synthetic oligonucleotide primer를 이용하여 종자의 열처리로 인해 종자에서 발현되는 유전자의 DNA를 증폭하였다. 증폭된 DNA 절편들을 제 1차 연도 과제와 같이 pCR2.1 vector(Invitrogen tk 제품)에 삽입, 분리(cloning)하여 염기서열을 확인(sequencing)하였다.

17. 열처리 유발 종자 유전자 변이검정(2년차)

열처리된 종자와 미처리된 종자를 이용하여 genomic DNA를 추출한 후 Differential display 방법에 의해 열처리에 의해 변화되는 기주 유전자를 선별하고 클로닝하였다.

18. 열처리 유발 바이러스 변이검정(2년차)

1년차 연구에서 추측된 바이러스의 열처리에 의한 변이부분을 특이적인 프라이머를 이용하여 RT-PCR에 의해 지속적인 연구를 수행하고 각 열처리된 종자에서 순화된 바이러스를 전자현미경을 이용하여 관찰하여 바이러스의 형태적인 변화를 관찰하였다.

19. 변이탐색과 실용화 연구(3년차)

2년차 연구에서 확인된 바이러스의 열처리에 의한 분절현상을 특이적인 프라이머를 이용하여 RT-PCR에 의해 계놈상에서 특히 분절되기 쉬운 부분과 상대적으로 열에 대해 저항력이 있는 부분을 확인하였다.

20. 변이를 이용한 조기 신속검정기술 개발(3년차)

계놈의 분절부분에 결합하는 특이 프라이머들을 제작하고 이들 제작된 프라이머를 이용하여 열처리한 종자에서 추출한 전체 RNA를 이용하여 RT-PCR을 수행하였다. 이때 증폭되는 DNA 절편을 확인하여 열처리하지 않은 대조구의 결과와 비교분석하여 바이러스 계놈의 분절여부를 확인하였으며 생물 검정에 의해 실제로 바이러스가 불활성화 되었는지를 확인하였다.

5. 연구수행 내용 및 결과

15. 종자 열처리에 의한 오이 녹반모자이크 바이러스의 변이조사(1년차)

(1) 주관과제 (경희대학교) 연구팀에서 분양받은 열처리된 종자 (바이러스에 감염된 종자와 건전 종자) 를 이용하여 total RNA를 추출하였다. (사진 15-1 및 표 15-1 참고).

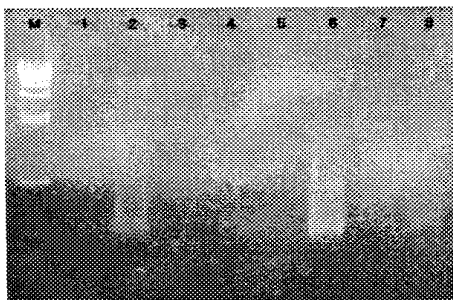


그림 15-11. 분양받은 박 종자에서 추출한 total RNA; (표 2) 참조

<표15-1. (그림 1)에 나타난 total RNA의 종류 >

M	DNA molecular size marker; λ HindIII
1	FR King II-control, RLC lysis buffer
2	FR King II-건열처리, RLC lysis buffer
3	강력 참박-control, RLC lysis buffer
4	강력 참박- 건열처리, RLC lysis buffer
5	FR King II-control, RLT lysis buffer
6	FR King II-건열처리, RLT lysis buffer
7	강력 참박-control, RLT lysis buffer
8	강력 참박- 건열처리, RLT lysis buffer

주; FR king II이 감염종자이며, 강력참박이 건전종자

Qiagen 사의 RNeasy® Plant Mini Kit를 이용하여 종자의 total RNA를 추출하였다. RNeasy® Plant Mini Kit에 들어있는 두 종류의 lysate buffer를 이용하여 각

각의 lysis buffer에서 얻어지는 total RNA의 질을 비교함과 동시에 total RNA를 추출하였다.

이어서 기존의 보고된 오이 녹반 모자이크 바이러스의 염기서열 정보를 이용하여 primer를 만들어 추출된 각 시료의 total RNA로부터 바이러스의 특정유전자를 PCR 방법으로 증폭하였다.

< 표 15-2. (그림 15-2)의 RT- PCR 증폭산물의 종류 >

M	DNA molecular size marker; λ HindIII
1	CGMMV 5' 위치로부터의 첫번째 1kb 크기
2	CGMMV 5' 위치로부터의 두번째 1kb 크기
3	CGMMV 5' 위치로부터의 세번째 1kb 크기
4	CGMMV 5' 위치로부터의 네번째 1kb 크기
5	CGMMV 5' 위치로부터의 다섯번째 1kb 크기
6	CGMMV 5' 위치로부터의 여섯번째 1kb 크기

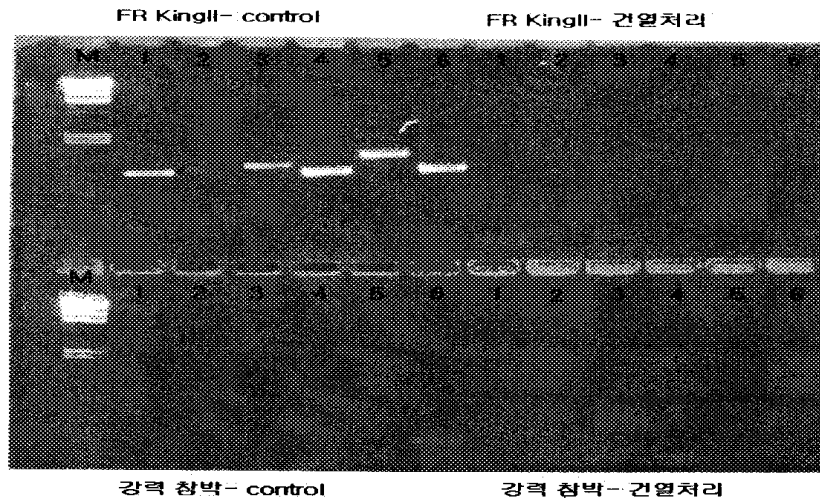


그림 15-2. 종자에서 추출한 total RNA의 RT- PCR 결과; (표 15-2) 참조

RNeasy® Plant Mini Kit를 이용하여 얻은 total RNA를 재료로 Reverse

transcriptase를 이용하여 CGMMV의 cDNA를 합성하였다. CGMMV의 cDNA로 PCR을 수행하여 위와 같은 증폭산물을 얻었다.

상기에 이어 증폭된 DNA 절편들은 pCR2.1 vector (Invitrogen사 제품)에 삽입, 분리 (cloning) 하였다.

상기 과정을 수행하기 위해 다음과 같이 CGMMV의 subcloning을 행하였다. 열처리에 의해 변이되지 않은 CGMMV의 염기서열을 밝히고, 열 처리에 의한 염기서열의 변이와 비교하기 위해 이를 *E. coli*에 형질 도입하였다. (그림 15-3. 참조)

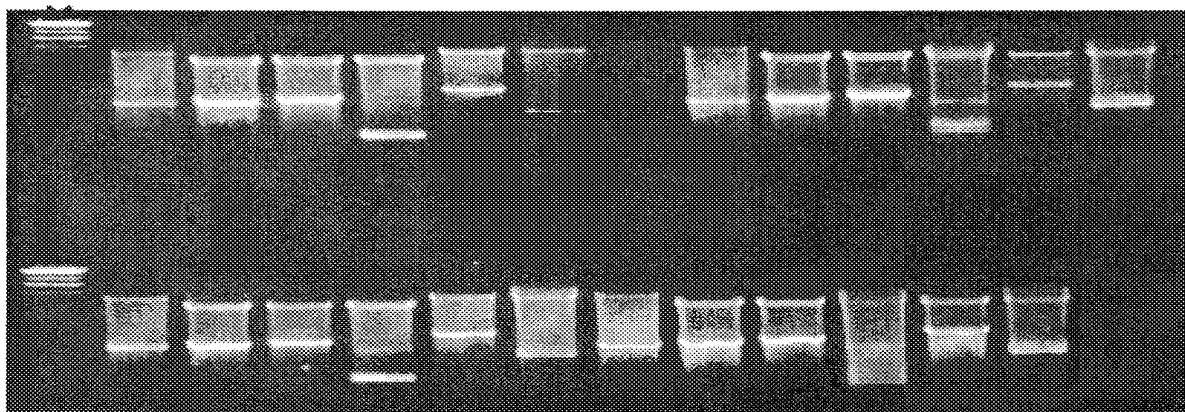


그림 15-3. CGMMV subclone plasmid의 enzyme digestion; (표 15-2) 참조

또한 열처리에 의한 효과를 파악하기 위하여 무처리 CGMMV의 sequence를 위의 방법으로 밝혀내었다. 만들어진 subclone들을 재료로, BigDye Terminator cycle sequencing ready reaction kit와 automatic DNA sequencer(PE, 377모델)를 사용하여 무처리 바이러스의 염기서열을 밝혔다.

16. 열처리에 의한 오이 녹반 모자이크 바이러스의 변이부위 파악

종자 열처리 조건이 바이러스에 미치는 영향을 파악하기 위해 순화된 바이러스를 종자 열처리 조건으로 열처리한 후 RT-PCR을 수행하여 나타나는 패턴을 각각의 열처리 조건 및 열처리하지 않은 순화한 바이러스와 비교 분석하였다.

(1) 열처리에 의한 바이러스 변성의 파악

열처리한 바이러스에서 RNA를 TRIZOL®(Gibco BRL)로 추출하여 RNA의 변성정도를 확인하였다.(그림 16-1)

표 16-1. 그림 16-1의 RNA 종류>

M	maker:λHindIII
1	PTN=4: WM 건열처리
2	PTN=4: WM 습열처리
3	PTN=4: 참외 건열처리
4	PTN=4: 참외 습열처리
5	PTN=5: WM 건열처리
6	PTN=5: WM 습열처리
7	PTN=5: 참외 건열처리
8	PTN=5: 참외 습열처리

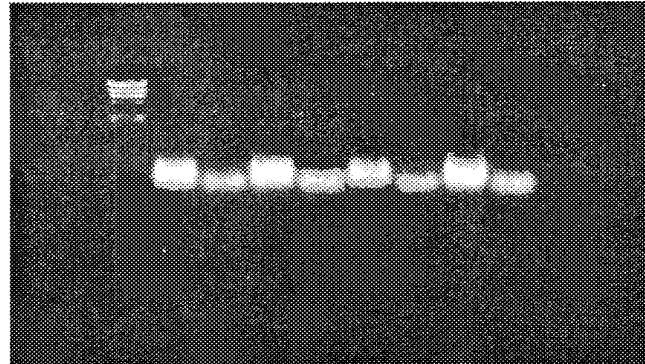


그림 16-1. 열처리한 CGMMV에서 추출한 RNA

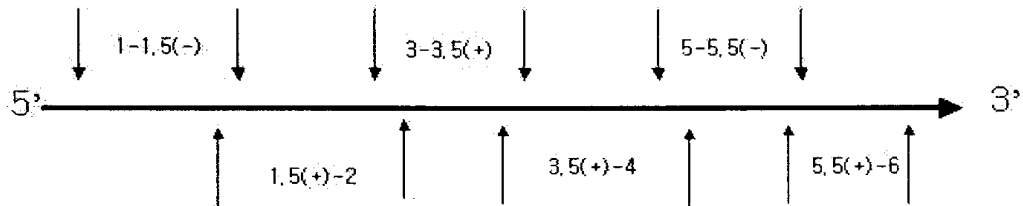


그림 16-2. Primer 의 작용위치 모식도

표 16-2. 사용한 primer 조합.

Reverse primer	Forward primer					
1.5(-)	1(+)					
2(-)	1.5(+)	1(+)				
3.5(-)	3(+)	1.5(+)	1(+)			
4(-)	3.5(+)	3(+)	1.5(+)	1(+)		
5.5(-)	5(+)	3.5(+)	3(+)	1.5(+)	1(+)	
6(-)	5.5(+)	5(+)	3.5(+)	3(+)	1.5(+)	1(+)

(2) RT-PCR 기법을 이용한 변성부위의 파악 : RT-PCR을 수행하여, 열처리에 의해 손상을 받은 바이러스 부분을 예측하였다.

(3) 미처리 바이러스와 (72℃, 2일)조건의 열처리 바이러스 비교

열처리를 하지 않은 시료와 비교하여 열처리를 한 종자에서 분리된 전체 RNA를 이용하여 상기 명시된 프라이머들을 (표 16-3) 이용하여 RT-PCR을 수행한 시료에서는 예상된 산물이 합성되지 않았고 (그림 16-3) 상당히 작은 크기의 DNA가 합성됨을 알 수 있었다. 이상의 결과는 열처리에 의해 바이러스의 특정 부분이 손상됨을 나타낸다.

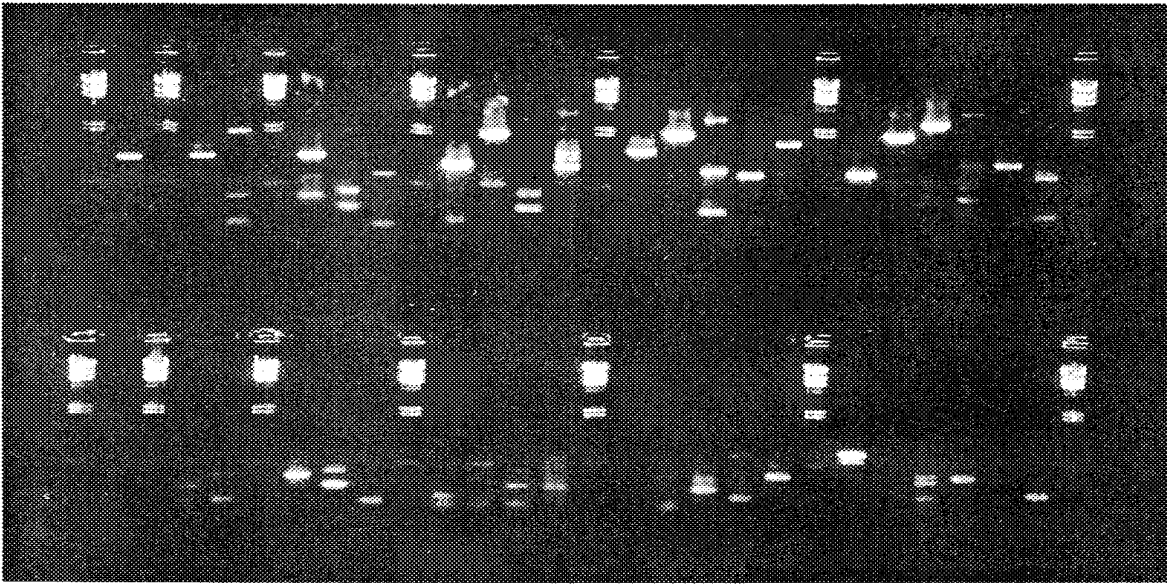


그림 16-3. 미처리 바이러스(상단)와 열처리 바이러스(하단) RT-PCR양상 비교

(4) 바이러스 변이부위의 예측 : 4가지 열처리 조건의 바이러스를 각각 위와 같은 RT-PCR로 확인하여 열에 의해 손상 받은 바이러스의 위치를 예측하였다. 각각의 RT-PCR 양상으로 예측할 때, 바이러스는 열처리에 의해 5' 끝에서 3kb-4kb 정도 떨어진 위치에서 손상 받는다는 것을 예측할 수 있다.

(5) CGMMV의 바이러스 RNA의 게놈상의 변이를 염기서열 분석에 의해 진행하기 위해서는 국내에 존재하는 CGMMV의 strain이 어떤 것인지를 확인할 필요가 있었다. 따라서 본 연구팀에서는 국내 수박과 참외에서 분리된 CGMMV의 두 분리주를 대상으로 전체 게놈 염기서열 분석을 시도하였고 현재까지 수박과 참외 균주의 RNA-dependent RNA polymerase 부분을 판독하였고 이상의 결과를 대상으로 기존에 보고된 strain들의 아미노산 서열을 비교하였다. 국내 분리주는 CGMMV의 W와

SH strain과 상당히 근접하게 연관되어 있음을 알 수 있었다.

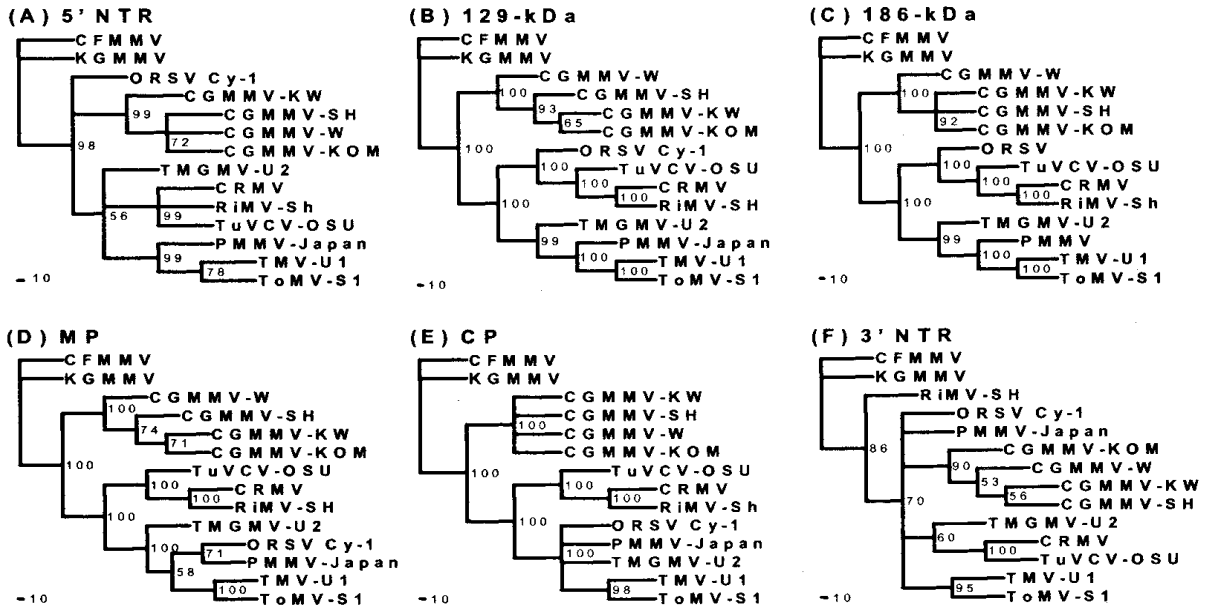


그림 16-4. CGMMV 분리주와 기존에 보고된 다른 CGMMV strain 및 Tobamovirus에 속한 바이러스들의 RNA-dependent RNA polymerase의 아미노산 서열들의 유사성 결과. Clustal-W의 방법에 의해 유사성을 측정하였고 그들의 진화 연관관계를 표시하였음.

17. 종자 열처리 유발 단백질의 변이 검정

주관과제 (경희대학교) 연구팀에서 분양받은 열처리된 종자 (바이러스에 감염된 종자와 건전 종자)를 이용하여 total RNA를 추출하였다. (종자 열처리에 의한 오이 녹반 모자이크 바이러스의 변이조사 부분 참조). 이어서 오이 녹반 모자이크 바이러스의 증식 기주로 사용한 박과 작물에서 이미 보고된 열처리 유발 단백질의 염기서열 정보를 이용하여 primer를 만들어 추출된 각 시료의 total RNA로부터 열처리 유발 단백질의 특정유전자를 PCR 방법으로 증폭하였다.

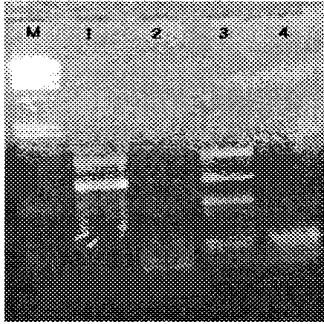


표 17-1. (그림 17-1)에 나타난 RT- PCR의 증폭 산물>

M	DNA molecular size marker; λ HindIII
1	FR King II -control
2	FR King II -건열처리
3	강력 참박- control
4	강력 참박- 건열처리

그림 17-1. 종자에서 추출한 total RNA의 RT-PCR결과;(표17-1) 참조

RNeasy[®] Plant Mini Kit를 이용하여 얻은 total RNA를 이용하여 RT-PCR을 수행하여 증폭산물을 얻었다. 증폭된 절편은, 기존의 열처리 유발 단백질의 염기서열을 기준으로 하여 대략 700 bp 정도의 크기로 증폭되도록 primer를 제작하였으며, 따라서 위의 (그림 17-1)에 나타난 약 700 bp 크기의 DNA 증폭산물은 열처리 발현 유전자의 증폭산물이라 추정 가능하였다.

18. 열처리 유발 종자 유전자 변이검정 (2년차)

1년차 연구에 의해 증폭된 Heat shock protein(HSP)의 유전자 탐색을 거쳐 열처리한 종자의 RNA 확보는 열처리한 종자를 받아시켜 확보한 어린 식물체(2엽-3엽)에서 total RNA를 Trizol[®]로 추출하였다.

Heat shock protein(HSP)의 유전자 증폭 및 cloning은 기보고된 대개의 HSP와 유사성을 갖는 염기부위에 맞춰 primer를 제작한 후, 이를 가지고 DNA를 제거한 total RNA에 적용하여 RT-PCR을 수행하여 증폭산물을 확인하였다.

HSP의 확인 및 분석은 증폭된 PCR 산물을 TA cloning방법으로 cloning한 후 이를 염기서열 분석하여 얻어진 결과를, 아래의 Differential display 방법을 통해 얻어진 결과와 비교 분석하여 열처리에 의해 종자에서 발현되는 HSP의 발현 양상을 파악하였다.

Differential display 방법에 의해 열처리에 의해 변화되는 기주 유전자 탐색방법으로 열처리한 종자와 열처리하지 않은 종자에서 total RNA를 확보하였다. 열처리

에 의해 변화하는 기주 유전자를 탐색하기 위해 열처리한 종자와 열처리하지 않은 종자를 파종하여 어린 싹을 확보하였다. 이를 가지고 Trizol[®]을 이용하여 식물체의 total RNA를 추출하였다(그림 18-1).

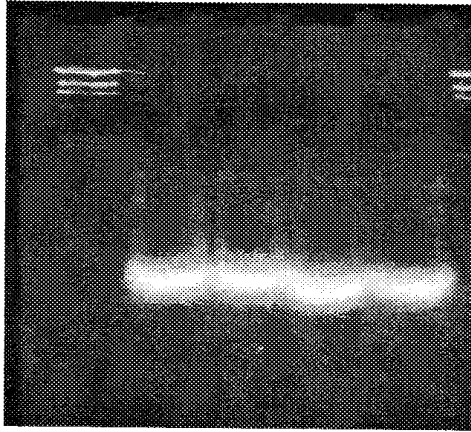


그림 18-1. 종자에서 추출한 전체 RNA.

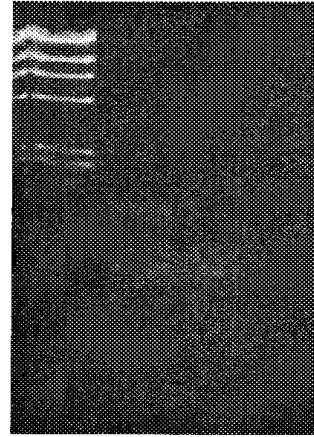


그림 18-2. 비열처리/열처리 종자에서 발아한 식물체의 mRNA.

열처리에 의해 변화되는 기주유전자를 탐색하기 위해 기주유전자의 mRNA만을 선별하였다. Oligotex[™] mRNA mini kit를 이용하여 종자의 total RNA에서 mRNA만을 선별하였다(그림 18-2).

위에서 얻어진 mRNA로, 열처리에 의해 기주에서 발현되는 유전자의 변화를 확인하기 위해 cDNA subtraction 방법을 사용하였는데 즉 Clontech社에서 나온 PCR-Select[™] cDNA Substraction Kit를 이용하여 유전자 발현 차이를 확인하기 위해 Differential display방법을 통해 얻은 산물을 TA 벡터에 cloning하였다.(그림 18-3과 18-4).

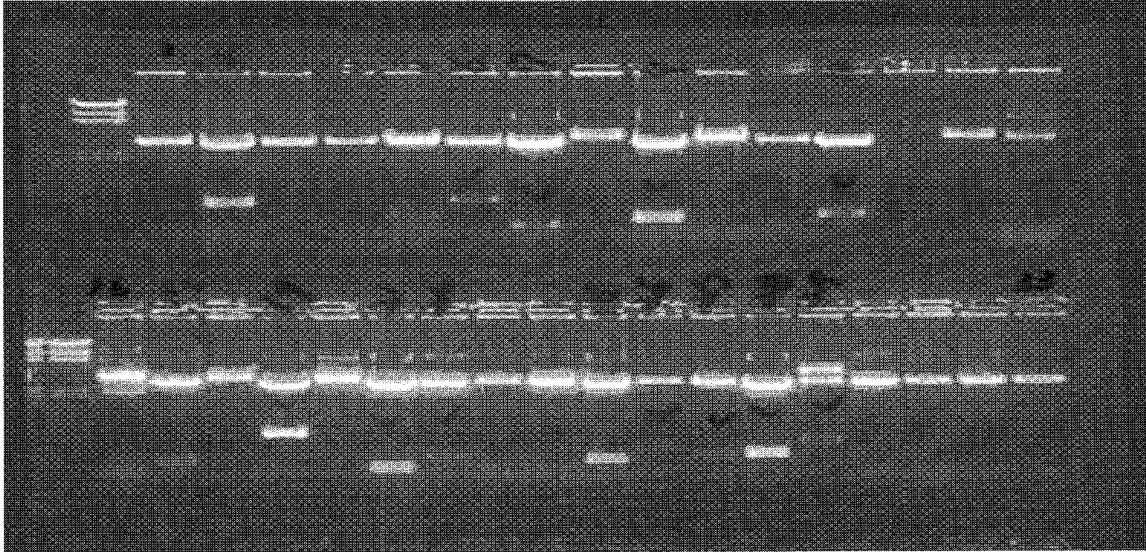


그림 18-3. 비열처리 subtraction 산물의 cloning.

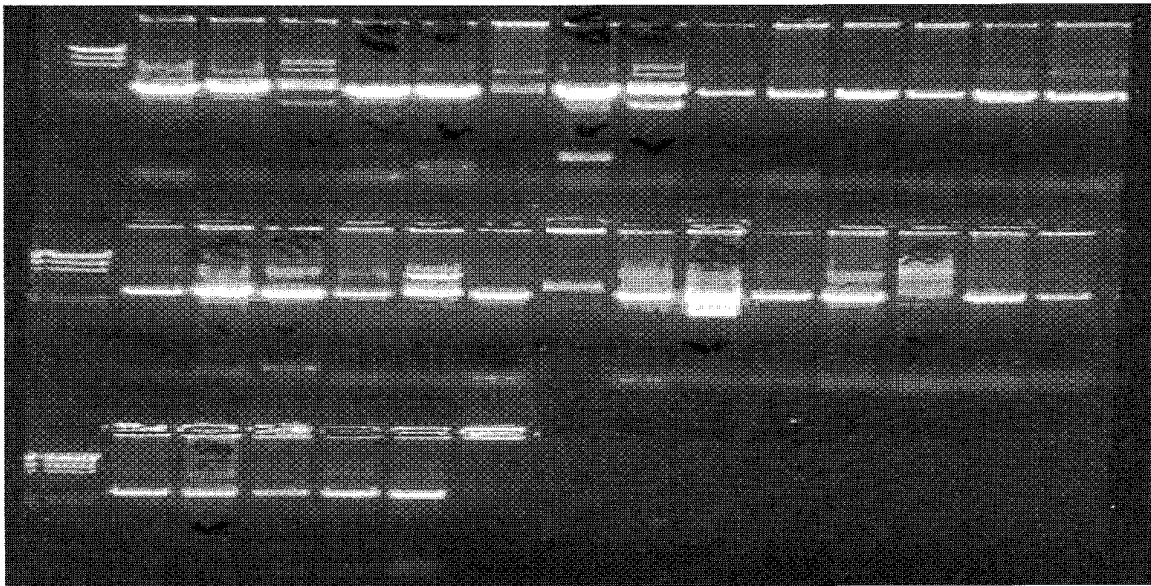


그림 18-4 열처리 subtraction 산물의 cloning.

19. 열처리 유발 바이러스의 변이 검정

주관과제 (경희대학교) 연구팀 및 Seminis Korea에서 분양받은, 서로 다른 온도 조건으로 열처리된 바이러스 감염종자에서 바이러스를 순화하여 이를 확인하였다. 바이러스 감염 종자를 1:2 비율(w:v)의 인산완충용액에 침종시킨 후 밤새 교반기로 교반한 후 얻어진 용액을 가지고 Tomabovirus group 바이러스의 일반적인 순화방법을 행하여 열처리에 의해 변이가 일어난 CGMMV를 확보하였다(그림 19-1).

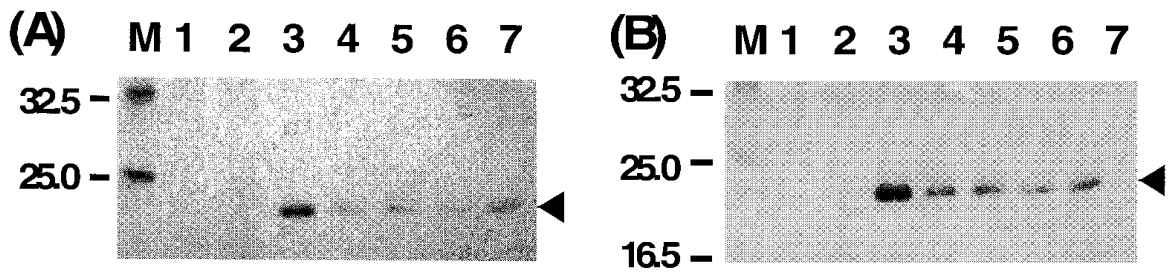


그림 19-1. 서로 다른 열처리조건의 감염종자에서 순화하여 확보한 CGMMV를 PAGE로 분리한 후 Coomashi blue로 staining한 결과(A)와 Immunoblot(B).

이어서 열처리 후 확보한 CGMMV의 투과전자현미경 관찰방법으로는 확보한 CGMMV를 grid상에서 negative staining 방법으로 PTA염색을 한 후 이를 투과전자현미경으로 관찰하였다(그림 19-2).

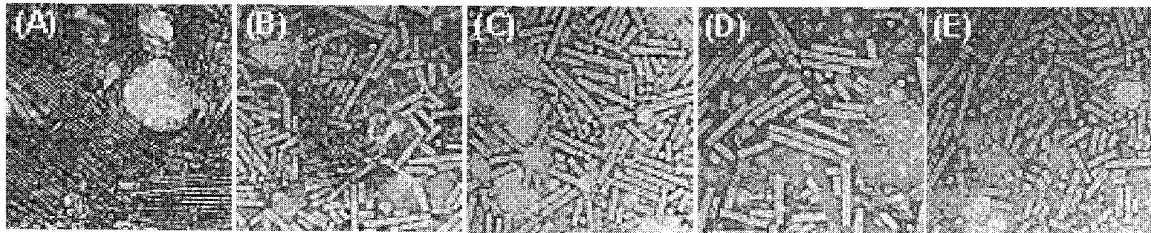


그림 19-2. 열처리된 바이러스의 전자현미경 관찰 (77500배 확대 사진). A, CGMMV purified from non-heat treated seeds; B, CGMMV purified from PTN=2 treated seeds; C, CGMMV purified from PTN=3 treated seeds; D, CGMMV purified from PTN=4 treated seeds; E, CGMMV purified from PTN=5 treated seeds

변이결과 고찰방법으로는 온도 조건이 높아짐에 따라 CGMMV에 변이가 일어나 입자가 잘려지는 현상이 더욱 뚜렷해지며 열처리 온도가 상승함에 따라 잘린

CGMMV 입자 크기가 더욱 작아짐을 확인하였다.

20. 변이탐색과 실용화 연구(3년차)

열처리에 의해 분절된 게놈부위 확인에 이용된 프라이머(그림 20-1)를 이용하여 RT-PCR에 의해 게놈상에서 특히 분절되기 쉬운 부분과 상대적으로 열에 대해 저항력이 있는 부분을 확인하였다.

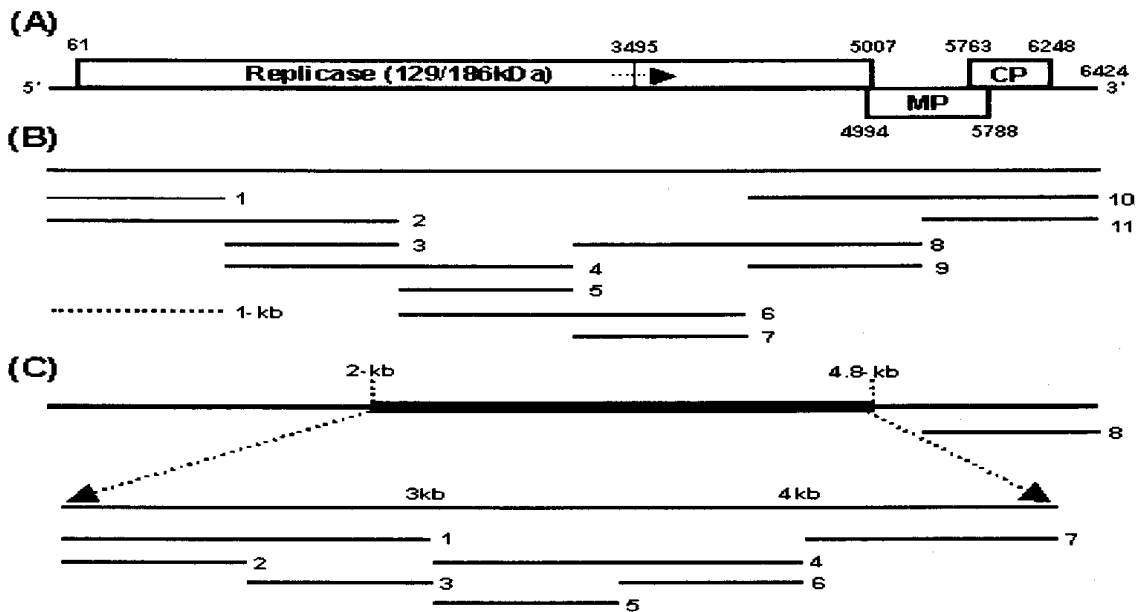


그림 20-1. 분절된 바이러스의 게놈을 확인하기 위하여 사용한 프라이머들의 위치.

21. 변이를 이용한 조기 신속검정기술 개발

게놈의 분절부분에 결합하는 특이 프라이머들을 제작하였다 (표 21-1).

표 21-1. CGMMV의 게놈 전체에 걸쳐서 RT-PCR과 primer extension 실험을 수행하는데 이용된 프라이머들의 염기서열 및 위치.

Primer name	Sequence	Position	Sense	Purpose
prCG1(+)	5'-TGGCAAACATTAATGAA-3'	62-78	+	
prCG1(-)	5'-CAACACCTTGCGCTTCGC-3'	1123-1140	-	
prCG2(+)	5'-TTAGGTTGGTCAGAGCAGAT-3'	986-1005	+	
prCG2(-)	5'-CGACAACGGTAAGACAGC-3'	2101-2118	-	
prCG3(+)	5'-TGTCCTGAAATGGCGA-3'	1982-1999	+	
prCG3(-)	5'-CAACTCRGGCCTCAGAATAC-3'	3155-3174	-	for 2 & 1kb
prCG4(+)	5'-CGCTACTACTAGTCCGGT-3'	3099-3116	+	size
prCG4(-)	5'-GCAAGGCCGGATATTCAGAC-3'	4107-4126	-	fragments
prCG5(+)	5'-TCTTTTGTAGGGACGAG-3'	3901-3918	+	
prCG5(-)	5'-GCATATAGTTCCTCTGCAA-3'	5301-5320	-	
prCG6(+)	5'-TTT CTG GTG TAT GGA ACG TA-3'	5223-5242	+	
prCG6(-)	5'-CTC GAA ACT AAG CTT TCG-3'	6238-6255	-	
prCG2780	5'-ACAGGTGACTTGTGCAGG-3'	2763-2780	-	for 1 & 0.5kb
prCG2543	5'-GCTGTCTGTTCCGAGACC-3'	2543-2561	+	size
prCG3760	5'-TACGCAAACGGGGATC-3'	3744-3760	-	fragments,
prCG3600	5'-GGAGTTCTACGATAGATG-3'	3576-3593	+	primer
prCG4815	5'-AACATGCTCATACCCTAC-3'	4798-4815	-	extension

제작된 프라이머를 이용하여 열처리한 종자에서 추출한 전체 RNA를 이용하여 RT-PCR을 수행하고 증폭되는 DNA 절편을 확인하여 열처리하지 않은 대조구의 결과와 비교분석하여 바이러스 게놈의 분절 여부를 확인하였다(그림 21-1). 분절되는 게놈의 부분은 클로닝과 염기서열 분석에 의해 확인하였고 또한 특이 프라이머들을 이용한 primer extension assay로도 확인하였다. 그림 21-2에 나타난 것처럼 CGMMV의 게놈부분 중 말단부분은 특히 열처리에 의해서도 분절되지 않는 것으로 확인되고 일반적으로 이용하는 외피단백질 부분은 모든 열처리 조건에서도 분절되지 않는 것으로 확인되었다. 이상의 결과에 의해 외피단백질 부분만을 특이적으로 증폭하는 RT-PCR 프라이머는 바이러스의 불활성화를 파악하는 프라이머로서는 적합하지 않고 게놈의 중간에 위치한 몇 부분이 특히 열처리에 민감하게 분절되었다.

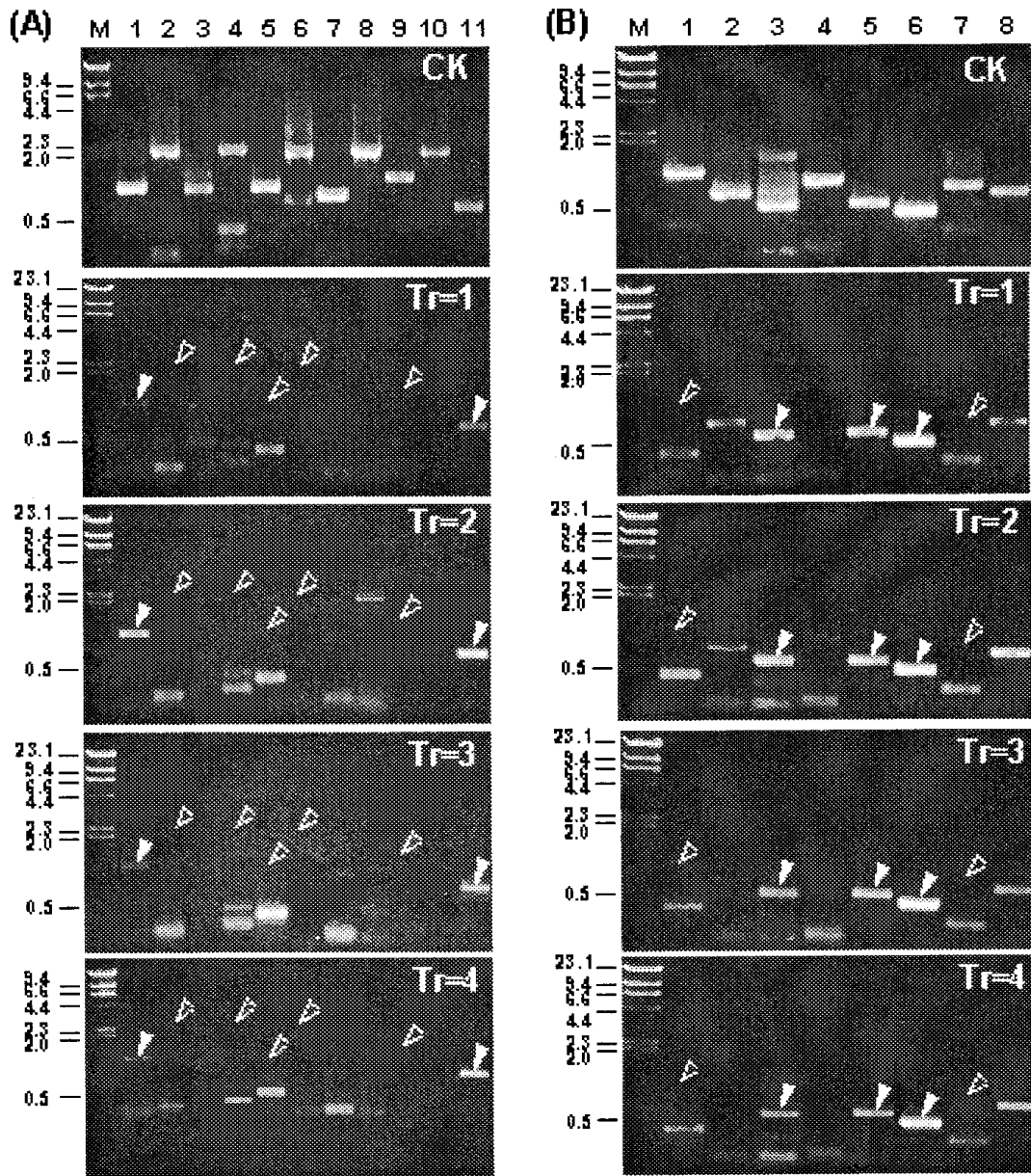


그림 21-2. 제작된 특이프라이머들을 이용하여 바이러스의 불활성 정도를 RT-PCR기법에 의해 확인한 결과. open arrow heads와 closed arrow heads 은 각각 열처리에 민감한 부분과 상대적으로 강한 부분을 나타냄.

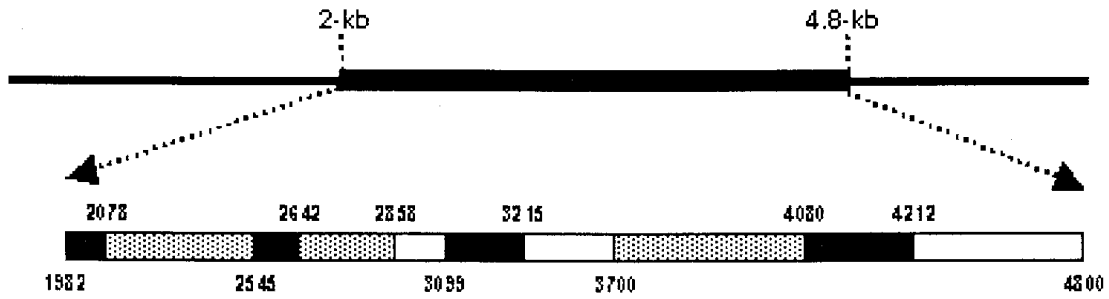


그림 21-3. 열처리에 민감한 CGMMV 게놈의 2-4.8 kb 부분.

생물 검정에 의해 실제로 바이러스가 불활성화 되었는지를 확인한 결과 특이 프라이머들을 이용하여 RT-PCR을 수행하였을 때 DNA 절편이 증폭되지 않은 시료들은 *N. benthamiana*에 접종하여도 아무런 병징을 유발하지 않았다. 이상의 결과는 특이 프라이머를 이용한 RT-PCR기법이 생물검정에 의한 바이러스의 불활성화 여부를 파악하는 실험을 대체할 수 있다는 것을 나타낸다.

협동과제 2. CGMMV생검법 개발 및 항체를 이용한 다량진단(원예연구소 최용문)

제3장 연구개발 수행 내용 및 결과

22. 감수성 식물선발 및 병징 발현 표현 일수

CGMMV의 생물적 특성을 조사하기 위해 수박에서 분리한 CGMMV를 *Nicotiana benthamiana*에 증식하여 접종원으로 사용하였다. 지표식물은 *Chenopodium amaranticolor*, *Chenopodium quinoa*, *N. tabacum* cv. Xanthinc, *N. tabacum* cv. Samsun NN, *N. tabacum* cv. Ky-57, *N. benthamiana*, *Cucumis sativus*, *Datura stramonium*, *Petunia hybrida*와 *Gomphrena globosa* 등 6속 10종으로, 즙액접종 후 접종된 식물의 병징발현을 조사하였다. 그 결과, *N. benthamiana* 마쇄액을 접종원으로 사용하여 6속 10종의 지표식물에서 기주 범위를 조사하였다. CGMMV-W는 *C. amaranticolor*, *N. tabacum* cv. Xanthinc, *N. tabacum* cv. Samsun NN과 *N. tabacum* cv. Ky-57는 접종엽에서 국부괴사 반점을 형성하였으며, *N. benthamiana*와 *Cucumis sativus*에서는 전신감염의 모자이크 증상을 나타냈으나 *C. quinoa*, *Datura stramonium*, *Petunia hybrida*, *Gomphrena globosa*에는 감염되지 않았다(표 22-1).

표 22-1. CGMMV 접종시 지표식물에서의 병징과 병징발현 소요일수

지 표 식 물	병 징	병징발현 소요일수
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	국부 괴사 반점(접종엽)	7 일
<i>Chenopodium quinoa</i>	-	-
<i>Nicotiana tabacum</i> cv. Xanthinc	국부 괴사 반점(접종엽)	5~7 일
<i>Nicotiana tabacum</i> cv. Samsun NN	국부 괴사 반점(접종엽)	5~7 일
<i>Nicotiana tabacum</i> cv. Ky-57	국부 괴사 반점(접종엽)	5~7 일
<i>Nicotiana benthamiana</i>	모자이크(전신감염)	7 일
<i>Cucumis sativus</i>	모자이크(전신감염)	10 일
<i>Datura stramonium</i>	-	-
<i>Petunia hybrida</i>	-	-
<i>Gomphrena globosa</i>	-	-

- CGMMV를 지표식물에 접종 후 28℃ 인공생장상에서 보존

바이러스 적정 발현 온도조건과 희석농도를 알아보기 위해 실험을 실시하였다. 접종원으로는 CGMMV가 증식된 *N. benthamiana*를 0.2 M 인산 완충용액(pH 7.2)에 마쇄한 후 즙액 접종하였다. 시험재료로는 *N. tabacum* cv. Ky-57, *N. benthamiana*, *C. amaranticolor*, *Citrullus lanatus* (금천), *Cucumis sativus* (백봉)를 사용하였다. 접종 식물체는 인공생장상(growth chamber)에서 15°C, 25°C, 37°C와 변온(18~40°C)의 조건으로 유지하면서 병징 발현을 관찰하였다. 바이러스 이병엽의 희석 농도별 실험은 실험 재료로 *C. amaranticolor*를 이용하였으며, 온도조건은 37°C로 접종 후 3일, 7일, 9일 및 11일에 국부괴저반점의 수를 산출하였다. 생육온도에 따른 시험은 37°C에서 3일 만에 병징 발현이 가장 빨랐으며, 25°C, 18~40°C, 15°C순으로 나타났다. 지표식물 별로는 *C. amaranticolor*이 모든 조건에서 반응이 가장 빠르고 육안으로 구분이 명확하였다. 37°C에서 3일, 25°C에서 9일 만에 국부괴저병반이 나타났다. 그리고 *N. tabacum* cv. Ky-57의 경우 37°C에서만 7일후 괴저 반점증상이 있었으며, *N. benthamiana*은 거의 대부분의 온도에서 접종 11일 후에 병징을 보였다(표 22-2). 오이는 15°C에서는 13일까지 병징이 나타나지 않았으며 25°C에서는 9일부터 병징을 나타내고 37°C에서는 고사하였다.

N. benthamiana 이병 조직을 마쇄하여 *C. amaranticolor*에 접종시 희석한계를 알기 위하여 시험을 실시한 결과 37°C 온도조건에서의 이병즙액 희석농도별 검정한계는 *C. amaranticolor*에서 10^{-4} 까지였으나(표 22-3), 28°C에서는 희석배수 10^{-6} 까지 검정 가능하였다. 이러한 원인에 대해서는 온도와 희석농도간의 상관관계를 좀더 조사하여야 할 것으로 사료된다. *N. benthamiana*에 접종시 희석배수 10^{-9} 까지 검정이 가능하였으며, 국부병반을 형성하는 *C. amaranticolor* 보다는 전신감염이 되는 *N. benthamiana*가 낮은 농도의 바이러스에 감염이 잘되는 것으로 나타났다(표 22-4). 이러한 결과로 전신감염 기주인 *N. benthamiana*가 바이러스 검정에 대하여 적합한 지표식물로 판단된다.

표 22-2. CGMMV 접종식물체의 생육온도에 따른 병징 발현 조사.

온도 (°C)	지표식물	접종 후 생육일 수					
		3일	5일	7일	9일	11일	13일
15°C	<i>N. tabacum</i> cv. Ky-57	-	-	-	-	-	-
	<i>N. bethamiana</i>	-	-	-	-	±	+
	<i>C. amaranticolor</i>	-	-	-	-	-	-
	<i>Citrullus lanatus</i> (금천)	-	-	-	-	-	-
	<i>Cucumis sativus</i> (백봉)	-	-	-	-	-	-
25°C	<i>N. tabacum</i> cv. Ky-57	-	-	-	-	-	-
	<i>N. bethamiana</i>	-	-	-	-	±	+
	<i>C. amaranticolor</i>	-	-	-	++	+++	낙엽
	<i>Citrullus lanatus</i> (금천)	-	-	-	-	-	-
	<i>Cucumis sativus</i> (백봉)	-	-	-	±	±	+
37°C	<i>N. tabacum</i> cv. Ky-57	-	-	±	+	+	+
	<i>N. bethamiana</i>	-	-	-	-	+	++
	<i>C. amaranticolor</i>	+	++	+++	+++	+++	고사
	<i>Citrullus lanatus</i> (금천)	-	-	-	-	±	±
	<i>Cucumis sativus</i> (백봉)	-	-	-	±	고사	고사
18°C ~ 40°C	<i>N. tabacum</i> cv. Ky-57	-	-	-	-	-	-
	<i>N. bethamiana</i>	-	-	-	-	±	+
	<i>C. amaranticolor</i>	-	-	-	-	-	+
40°C	<i>Citrullus lanatus</i> (금천)	-	-	-	-	-	+
	<i>Cucumis sativus</i> (백봉)	-	-	-	-	±	±

- +: 병징 발현, -: 무증상, ±: 부분적 증상 발현

표 22-3. *Chenopodium amaranticolor*에서 CGMMV 이병즙액의 희석농도별 국부감염 한계 조사.

희석농도	괴저 반점 수(반점 수/잎당)			
	4일 후	6일 후	8일 후	10일 후
10 ⁻¹	-	118	120	황화
10 ⁻³	-	85	110	황화
10 ⁻⁴	-	5	10	황화
10 ⁻⁵	-	-	-	-
10 ⁻⁶	-	-	-	-
10 ⁻⁷	-	-	-	-
10 ⁻⁸	-	-	-	-

- CGMMV 분리주명: ADW-8A, 접종 후 온도 조건: 37°C growth chamber에서 보존.

표 22-4. 생물검정을 위한 기주선발을 위하여 CGMMV 이병즙액의 희석농도별 국부감염 한계 조사.

검정 식물	이병즙액 희석 농도별 바이러스 감염 여부									
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>Nicotiana benthamiana</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

- CGMMV 분리주명: ADW-8A, 접종 후 온도 조건: 28°C growth chamber에서 보존

종자에 있는 바이러스의 활성여부를 효과적으로 판단할 목적으로 완충액 선발을 위하여 완충액의 종류와 pH, 농도별로 조사하였다.

CGMMV에 오염된 박 종자 10립을 1 lot로 하여 마쇄한 후 1립당 0.5 mL의 완충액을 넣고 4°C 항온기에서 1시간 진탕하였다. 이어서 4°C에서 overnight하여 접종원으로 이용하였다. 지표식물로는 국부병반 반응을 보이는 *Chenopodium amaranticolor*를 이용하였다. 그 결과 0.01M sodium phosphate, pH 7.0에서 23-36개의 국부병반을 형성하여 완충액으로 가장 적합함을 알 수 있었다(표 22-5).

표 22-5. CGMMV 오염 종자를 이용한 생물 검정 시 적정 완충액 선발.

완충액 처리	국부병반수(개)	
완충액 종류 (0.01M, pH 7.0)	멸균수	4~6
	Borate buffer	0~2
	Phosphate buffer	0~1
	Potassium phosphate buffer	2~5
	Sodium acetate buffer	0~1
	Sodium phosphate buffer	10~17
	Tris buffer	0~1
0.01M sodium phosphate pH별	pH 4	0~1
	pH 5	0~2
	pH 6	3~7
	pH 7	23~36
	pH 8	2~7
	pH 9	1~8
Sodium phosphate, pH 7.0 몰농도별	0.1 M	0~1
	0.05 M	0~1
	0.01 M	10~12
	0.001 M	5~7

- 생물검정 : *Chenopodium amaranticolor*에 3엽씩 접종하여 3주 후 국부병반조사

*Benthamiana*에 접종 시 생육 시기에 따른 병징을 조사하기 위하여 바이러스는 원예연구소 환경과 바이러스 연구실에 보관하고 있는 CGMMV-NW1A, NW2A, KCI-2의 세가지 strain을 사용하여 실험에 사용하였다. 기주식물은 *Nicotiana benthamiana*를 사용하여 3~4엽기, 5~6엽기, 7~8엽기, 9~10엽기, 12~14엽기로 5등급으로 구분하여 즙액접종을 실시하였다.

표 22-6. CGMMV 계통별, *Benthamiana* stage별 병징 발현일수.

	CGMMV-KC1-2 ^z			CGMMV-NW1A			CGMMV-NW2A		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
3~4 ^y	7 ^x	7	7	5	5	5	4	4	4
5~6	7	7	7	7	7	7	6	6	6
7~8	7	7	7	7	7	7	6	6	6
9~11	10	10	10	7	7	7	7	7	7
12~14	10	10	10	7	7	7	7	7	7

^zCGMMV strain

^y최초병징발현일수

^x식물체 엽기



CGMMV KC1-2



CGMMV NW1A



CGMMV NW2A

그림 22-1. CGMMV strain별 증상.

CGMMV 각 strain을 *N. benthamiana*에 접종하였을 때 NW1A, NW2A 두 가지 strain은 거의 동일한 시기에 병징이 관찰되었으며 KC1-2는 NW1A, NW2A보다 3일 후에 병징이 관찰되었다. 병징발현정도는 NW2A가 가장 심한 증상을 나타내었고 그 다음은 NW1A, KC1-2 순으로 병징 차이를 나타내었다. 병징 발현까지 소요일수는 *benthamiana* 식물체가 어릴수록 짧았으며 병징 또한 명확하여 구분이 쉬웠다. 그러나 고온기 등 환경에 따라서는 유사 병징이 나타날 수 있으므로 전자 현미경에 의한 재 확인 등이 필요하였다.

23. 바이러스 순수 정제 및 항체 생산

CGMMV에 감염된 박의 잎 및 ZGMMV에 감염된 호박의 잎 각각을 2-mercaptoethanol이 0.1% 첨가된 0.5 M 인산 완충액(pH 7.2)에 동량(1:1, v/w)을 넣고 마쇄하였다. 이 여과액을 저속 및 고속 원심분리로 바이러스를 부분 순화를 실시한 후 10~40% 설탕밀도구배(sucrose density gradient)에 치상하여 28,000 rpm에서 120 분동안 초원심분리하여 순수 순화된 바이러스를 정제하였다. 순화된 바이러스의 정량은 260 nm 흡광도 값을 사용하여 $E_{260nm}=3.0$ 으로 결정하였다. 220~300 nm에서의 자외선 흡수 패턴을 조사한 결과 전형적 핵단백질 흡수곡선을 나타내었다. 즉 260 nm에서 최고값 0.178을 보였으며, 249 nm에서 최저값 0.171이었으며, 260/280 값은 1.31 이었다. 순화바이러스를 전자현미경으로 관찰한 결과 전형적인 tobamovirus 형태인 약 300 nm의 막대 바이러스 입자를 보였다.

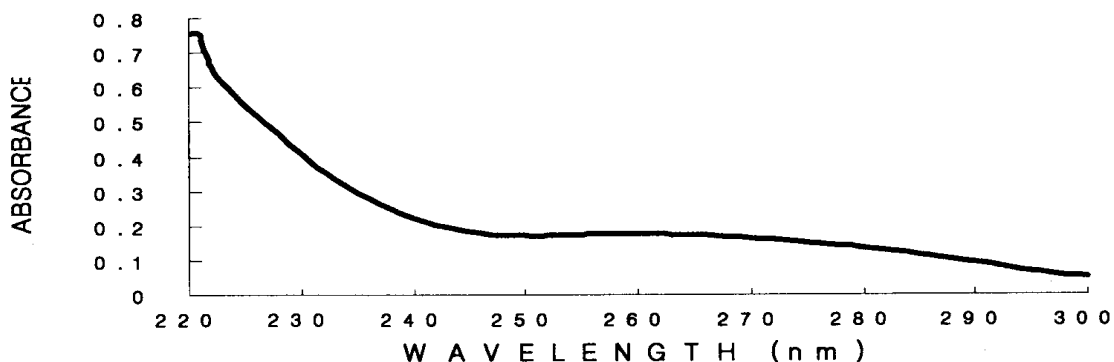


그림 23-2. 순화 CGMMV의 자외선 흡광도 곡선.

순화바이러스 CGMMV 및 ZGMMV 각각을 사용하여 다음과 같은 방법으로 항혈청을 생산하였다. 1회 사용한 순화바이러스는 $1\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 을 10일 간격으로 총 4회에 걸쳐 토끼에 근육 주사를 하였다. 1 회 주사 시 Freund's complete adjuvant와 순화 바이러스의 양을 1:1로 섞어 사용하였으며, 그 후에는 Freund's incomplete adjuvant를 동량으로 섞어 사용하였다. 채혈은 마지막 주사 2주 후 토끼정맥에서 실시하여 37°C에서 2 시간동안 처리하여 혈액을 응고시킨 다음 4°C에 24 시간 두었다. 이를 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 분리된 혈청은 0.02 % sodium azide를 첨가하여 동결건조후 -20°C에 보관하였다. 제조된 항혈청은 순화바이러스를 이용하여 한천겔 이중 확산법으로 역가를 조사하였다. 그 결과 역가는 CGMMV는 1/32, ZGMMV는 1/64로 나타났으며, 건전주 즙액과는 침강반응을 나타내지 않은 각각의 바이러스와 특이적 항혈청 30 mL를 생산하였다 (표 23-1).

표 23-1. CGMMV 및 ZGMMV 항혈청 생산 및 역가 검정.

바이러스	한천겔이중확산법에 의한 항혈청 역가 검정						
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
CGMMV	++	++	++	++	+	-	-
ZGMMV	++	++	++	++	+	+	-

- +: 침강반응의 강도, - : 무반응

24. 항체에 의한 진단 한계설정

1차 연도에서 생산된 CGMMV 항혈청에서 v-globulin을 1 mL 씩 순수 분리하여 -70°C에 보관하면서 필요시 사용하였다. v-globulin은 100배, 200배, 500배, 1000배로 희석하고, alkaline phosphatase로 부착하여 제작된 conjugate는 200배, 500배와 1000배로 각각 희석하여 ELISA 검정을 실시하였다. 그 결과 비특이적 반응은 없었으나, 이 실험에서 제작된 ELISA 키트의 효율적인 측면을 고려할 때 v-globulin과 conjugate는 500배로 희석하는 것이 가장 양호하였다(표 24-1). 이병즙액에서 CGMMV의 검출한계를 알아보기 위해서 완충액에 이병즙을 10, 10², 10³, 10⁴, 10⁵ 및 10⁶으로 희석하여 ELISA 흡광도를 조사하였다(자료는 제시하지 않음). 희석농도 10⁵까지 검정이 가능하였으나, 10배나 10²배 정도가 본 실험에 적당하였다.

표 24-1. CGMMV 진단용 ELISA 조건 설정.

Antibody 희석배수	Conjugate 희석배수에 따른 흡광도		
	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 즙액흡광도 : 0.214, CGMMV 이병 즙액희석배수 : 10배

박 종자 부위별 바이러스의 존재를 확인하기 위하여 CGMMV에 100% 오염된 박 종자의 외종피, 내종피 및 자엽(배 포함)으로 나누어 ELISA를 실시하였다. 외종피와 내종피에서는 CGMMV가 검정되었으나, 자엽에서는 CGMMV가 검출되지 않았다

(표 24-2)는데 이와 같은 결과는 기존의 보고와 동일하였다.

표 24-2. CGMMV 오염 박 종자 부위별 ELISA 검정시 흡광도 비교.

종 자 부 위	바이러스 검정 횟수			평 균 값
	I	II	III	
외 피	1.943 (+)	1.739 (+)	1.829 (+)	1.827 (+)
내 피	1.623 (+)	1.380 (+)	1.283 (+)	1.429 (+)
자엽(배)	0.156 (-)	0.157 (-)	0.159 (-)	0.157 (-)

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

CGMMV를 인위적으로 접종한 박 식물체에서 채종된 종자(Seminis Korea)에서 이 바이러스의 종자 오염율을 ELISA로 조사하였다. 9개 채종 농가 중 7 농가에서 100% 오염되어 있음이 확인되었고 나머지 2 농가에서는 90% 이상의 오염율을 보였고, 또한 이들 종자의 ELISA 흡광도 값은 매우 높게 나타났다 (표 24-3). 이들 종자 중 CGMMV에 100% 오염된 박 종자를 화분에 심어 실질적인 CGMMV의 박 종자의 전염율을 조사하였다. 발아 후 유식물체에서부터 계속 육안 관찰 및 본엽 4.~5엽기에 ELISA 검정 결과, 종자 144립 중 2립에서 이병 흡광도 값을 보였다. 따라서 100% 오염종자에서 실질적인 종자 전염률은 비교적 낮은 1.4%이었다 (표 24-4). 그러나 이 종자 전염은 CGMMV의 1차 전염원으로 주 역할을 하며, 재배지역에서 바이러스병의 확산은 이 1차 전염원으로부터 작업자의 손 및 도구 등에 접촉으로 인한 2차 전염으로 확산되어 재배 농가에 큰 피해를 주고 있는 것으로 사료된다.

표 24-3. CGMMV를 인위적으로 접종한 박에서 채종한 종자의 CGMMV 오염율.

채종농가	오염 종자/조사 종자	오염율(%)
K. B. H.	93 / 93	100%
K. J. H.	93 / 93	100%
P. S. S.	93 / 93	100%
L. Y. S.	93 / 93	100%
L. H. S.	85 / 85	100%
S. D. S.	90 / 93	96.77%
S. B. S.	86 / 93	92.47%
J. K. Y.	93 / 93	100%
H. J. S.	93 / 93	100%

표 24-4. CGMMV 오염 박종자의 종자 전염률.

CGMMV 오염종자률			CGMMV 전염종자률		
조사종자수	오염종자수	오염률(%)	조사종자수	전염종자수	전염률(%)
100	100	100	144	2	1.4

25. 종자내 바이러스 농도별 병징 발현.

CGMMV에 오염된 박종자에서 바이러스의 검출한계를 알아보려고 다음과 같은 방법으로 실시하였다. 생물검정은 *Nicotiana benthamiana*를 이용하였으며, 항혈청 검정은 본 연구실에서 제작된 ELISA 키트를 활용하여 검정을 실시하였다. CGMMV 오염종자와 건전종자를 일정 비율(w/w)로 섞어서 생물검정과 ELISA 검정의 한계치를 조사하였다. 그 결과 생물검정에서의 희석배수 한계는 1/64이었고, ELISA 검정에서는 생물검정 보다 2배 높은 1/128 희석배수까지 검정이 가능하였다. 이 때 생물검정에서 양성반응은 *N. benthamiana*에 모자이크 증상 발현 여부, ELISA 검정은 건전종자 흡광도 계수 0.2의 2배 이상 값을 양성반응으로 하였다 (표 25-1).

표 25-1. CGMMV 오염종자와 건전종자 희석배수에 따른 생물검정 및 ELISA 반응.

검정 방법	이 병 종 자 희 석 배 수(w/w) ^x									
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	
생물 검정 ^y	++	++	++	++	++	++	-	-	-	
ELISA ^z	0.915 (++)	0.947 (++)	0.783 (++)	0.773 (++)	0.577 (++)	0.527 (++)	0.488 (++)	0.353 (--)	0.292 (--)	

^x이병종자/건전종자비율 (w/w).

^y*Nicotiana benthamiana*에 접종, 감염(+), 무감염(-).

^zELISA 405 nm 흡광도 : (+) 양성반응, (-) 음성반응, 건전흡광도 : 0.2, 이병흡광도 : 0.4 이상.

CGMMV가 오염된 종자에서 바이러스의 검출한계를 조사하고자 순화된 바이러스의 일정량을 마쇄한 건전종자에 혼합하여 ELISA 검정결과는 표 25-2와 같다. 이때 대조로 사용된 완충액은 0.01M phosphate buffer였다. 그 결과, 완충액에 희석된 바이러스의 검출한계는 10 ng이었으나, 종자와 희석된 바이러스의 검출한계는 1 μ g이었

다. 이와 같이 종자와 희석된 바이러스의 검출한계가 낮은 것은 종자에 존재하는 전분 등에 의하여 항원항체 결합 반응 시 억제효과를 나타낸 것으로 생각되며, 이들 반응의 저해물질에 대한 제거방법에 대한 연구가 앞으로 이루어져야 할 것으로 판단된다.

표 25-2. 순화 CGMMV를 건전종자에 혼합한 후 바이러스 검출한계.

시 료	순화 바이러스 농도별 ELISA 흡광도 (405 nm) ^x					
	100 ug	10 ug	1 ug	100 ng	10 ng	1 ng
완충액+순화바이러스	3.63	3.01	2.05	0.96	0.32	0.09
건전종자+순화바이러스	2.95	2.56	1.22	0.20	0.11	0.02

^x 건전종자 1립을 0.5 mL 인산완충액으로 마쇄한 후, 200 uL에 각각의 순화 바이러스액을 적정하여 ELISA 검정, 건전종자 흡광도 0.14, 완충액 흡광도 : 0.08.

26. 소독처리된 종자의 각 진단방법별 검정효과

이병된 종자의 소독처리별 바이러스 소독효과 즉 불활화율을 보기 위하여 *benthamiana*를 이용한 생물검정에서 40% 바이러스 활성을 보인 FR-King II 종자를 10% 아인산 소다에 30분 침지한 후 수세하여 음건한 종자와 경희대에서 75℃에서 열처리한 종자를 1립씩 마쇄하여 *N. benthamiana* 식물체에 접종하여 발병율을 조사하였다. 조사결과 제3인산소다 처리 종자는 98립 중 1립이 바이러스 불활화가 부족하며 병징을 나타내었으며 열처리한 종자는 95주 접종에서 감염된 주가 없었다.

표 26-1. 종자 소독 방법별 바이러스 불활화 조사

구분	검정 종자수	감염된 종자수
제3인산소다	98	1
열처리	95	0

건열 처리된 종자의 소독 효과를 생물검으로 확인하기 위하여 건열 처리된 종자와 건열 처리하지 않은 종자를 2립을 1 반복으로 0.001M 인산완충액에 갈아서 카보란덤 600 mesh를 사용하여 *Nicotiana benthamiana*에 즙액 접종하였다(10반복 3처리).

표 26-2. 열처리 종자의 생물 검정에 의한 소독효과 조사.

종자회사	Variety	Control	DHT 72℃	DHT 75℃
뉴서울종묘	Power King	20% ^a	0%	0%
Seminis	FR-king II	40%	0%	0%
Seminis	FR-strong(L4)	0%	0%	0%

a : 발병을 조사는 EM으로 검경하였음.

접종실험을 한 결과(표 26-2) 무처리에서 발병율이 가장 높은 것은 Seminis의 FR-King II가 발병율 40%로 가장 높았으며 뉴서울종묘의 Power King은 낮은 발병율을 나타내었다. Seminis의 FR-strong(L4)은 검정 결과 무병종자임이 확인되었다. 또한 Seminis의 FR-King II는 무처리에서는 40% 감염율을 보였으나 DHT 72℃, DHT 75℃에서는 발병하지 않았다. 위 결과로 볼 때 열처리에 의하여 바이러스가 효과적으로 불활화 되었으며 72℃와 75℃에서는 처리간 차이를 나타내지 않았다.

27. 진단 Kit 다량 생산

위 연구에서 개발된 ELISA와 RIPA 진단키트를 생산하여 진단에 사용하고저 진단키트를 아래와 같이 생산하였으며 생산된 kit는 본 연구에 사용하였으며 일부는 농가에서 검정 의뢰된 이병주 진단에 사용하였고 주산단지의 농업기술센터에 실용화하기 위하여 무상으로 공급하여 CGMMV방제에 기여하였다. 진단키트는 현재까지 외국에서 고가로 수입되었으므로 ELISA는 수입 대체 효과가 있으며 RIPA Kit는 국내 보급 뿐만 아니라 생산 판매하는 회사가 없으므로 좀더 판매망과 포장을 개선하면 수출도 가능하리라 생각된다.

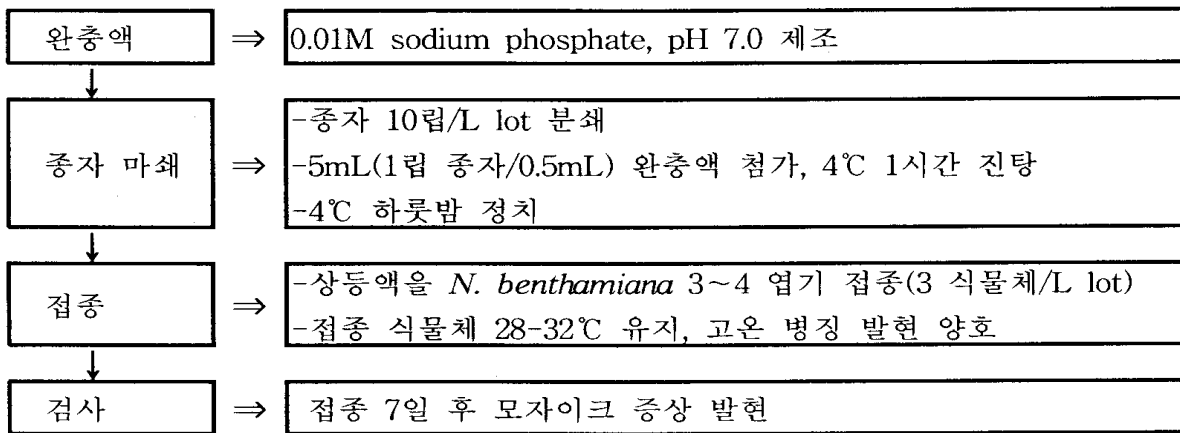
표 27-1. 진단키트 종류별 생산량(점)

키트종류	ELISA	RIPA
생산량	10,000	8,000

28. 중국 수박 재배 농가 CGMMV 발병 확인

1998년 중국에서 채종하여 수입된 박종자가 오염되어 우리나라에 CGMMV 피해가 전국적으로 확대된데 비하여 중국에서의 CGMMV의 발생 기록을 확인하기가 곤란하였다. 2001년에 국내 종자회사의 중국내 채종포 현황을 조사하기 위하여 출장 조사중 산둥성 유방지역의 서가 일반 농가에서 수박 2, 박 1 포장으로부터 수박과 박 이병주를 발견하고 채집하여 전자 현미경으로 검경 결과 3 포장 모두에서 tobamovirus 입자가 관찰되어 CGMMV 감염을 확인 할 수 있었다. 특히 한 포장에서는 40주 조사주 중 7주가 감염되었다. 이는 앞으로 중국측과 종자 분쟁 또는 식물 검역에 중요한 자료가 될 것이다.

연구과제명	채소 종자의 건열처리 기술 개발					
세부과제명	CGMMV 생검법 및 항체를 이용한 진단 (사업구분 : 농특)					
이전제목명	CGMMV 오염 종자의 열처리 후 생물 활성 검사 기술 개발					
구 분	분 야	작물보호	작목	박과	색 인 어	CGMMV, 검정
연구개발자	소속기관	원예연구소	성명	최용문 최국선	전화 및 e-mail 주소	031-290-6224 choigs@rda.go.kr



<기술이전>

1. 목 적

- 국내외 박과 채종 종자 및 열 소독 종자에서 CGMMV 활성 검사
- 안정 종자 보급으로 사회적 분쟁 해소 및 농업인 신뢰성 증대

2. 개발 기술 ('00~'01 원예연구소)

3. 기대효과

- 박과 작물류의 CGMMV 건전 종자 보급

4. 기술이전내역

- 기술이전 처 : 종묘 관련 회사 (무상이전)
- 내 용 : CGMMV 종자전염 방제를 열처리 박과종자에서 CGMMV 생물 활성 검사 기술

연구개발보고서 초록

○ 연구개발 목표 및 내용

CGMMV에 오염된 박과 작물의 종자를 생물검정 및 다량진단 할 수 있는 기술을 개발하여 식물검역과 종묘회사에 기술을 제공하고자함.

○ 연구결과

생물검정시 지표식물로써 *N. benthamiana*가 가장 유망시되며 접종시기는 3-4엽기 이후에 어릴수록 좋으며 접종된 식물의 보존온도는 28℃~32℃ 정도가 좋았다. 100% 이병된 종자의 종자전염율은 1.4% 이었다. ELISA 검정시 γ -globulin과 conjugate 희석 배수는 500 배가 적당하였다. 종자검정시 마쇄용 완충액은 0.01M pH7.0 인산완충액이 좋았으며 생물검정시 이병종자 혼입율이 1/64립 일 때까지 검정이 가능하였다. CGMMV의 ELISA 및 RIPA진단 kit 생산기술을 개발하고 대량 생산하여 사용하였으며 중국내 CGMMV의 발병을 확인하였다.

○ 연구성과 활용실적 및 계획

기술이전 : CGMMV 오염 종자의 열처리 후 생물 활성 검사기술 개발

실용화 : ELISA로 RIPA진단 kit 생산 및 보급

논문 : CGMMV 생물검정법의 조건 설정(식물병리학회지 게재 예정)

협동과제 3. 바이러스 무병종자의 양산체계 확립 (세미니스 코리아 윤진영)

4. 연구수행 방법

29. 작물별 및 품종별 이병정도의 파악

박, 수박 및 호박을 과중상(온도 25-30°C)에 과중하여 발아되면 발아율, 발아세, 떡잎 크기, 배축의 길이 등을 조사하고 떡잎이 활짝 전개되면 32공 프러그 트레이에 가식한다. 묘가 완전히 활착되면 떡잎에 박과 수박에는 CGMMV를 접종하고, 호박에 대해서는 ZGMMV를 접종하여 품종별 이병정도를 파악한다(표 29-A).

표 29-A. 시기별로 조사된 접종바이러스의 이병상태.

날짜	품목	구분	조사 접수	CG	KG	ZG	날짜	품목	구분	조사 접수	CG	KG	ZG
10/2	수박	과육	103	5	0	0	10/17	호박	종자	140	0	0	0
10/3	수박	과육	443	7	0	0	12/18	호박	과육	123	6	15	1
11/2	수박	과육	32	0	0	0							
12/11	수박	과육	83	0	0	0							
12/18	수박	과육	18	1	0	0		총계(호박)		263	6	15	1
		총계(수박)	679	13	0	0							

CG: CGMMV; KG: KGMMV, & ZG: ZGMMV.

30. 중국내의 채종포 답사 및 피해정도 파악

현재 국내에서 시판되는 박과류종자의 대부분은 중국에서 채종된다. 종자로 전염되는 병(CGMMV, ZGMMV, SqMV등)은 채종과정에서 감염되는 경우가 많다. 2001년 6월 9일부터 14일까지 세미니스 코리아의 중국내 일부의 박과류 종자생산 포장을 답사하였다. 요녕성 조양지역과 산둥성 창읍지역에서 채종하는 수박, 호박 및 박 포장을 답사하여 육안조사를 하였고(표 30-A) 일부의 샘플을 채집하여 박작물에 감염되는 바이러스(CMV, SqMV, PRSV, WMVII, CGMMV, ZGMMV)에 대해서 ELISA 검사를 실시하였다.

표 30-A. 중국내 국내 채종포 답사 내역

날짜	중국내 지역	국내 채종회사	작물
6월 7일-8일	요령성 영주	농우종묘	박과류
6월 9일	"	동부한농	"
6월10일-11일	요령성 조양	세미니스코리아	수박, 박, 호박
6월12일	산동성	"	농장작물 견학
6월13일	산동성	"	수박, 박, 호박

31. 채종 단계별 검정시스템 구축

수집된 도입종(수박: 점, 호박 238점)은 및 육성에 사용되는 식물체의 과육 및 종자에 대해서 ELISA 검사를 실시하였다. 이들의 Positive 및 Negative는 관행의 기준에 따라 실시하였다.

32. CGMMV에 감염된 종자생산

국내에서 100% 이병종자를 얻기 위해서 인위적으로 CGMMV를 접종하여 FR King II 종자를 위탁생산 하였다.

33. 건열처리에 의한 종자 소독방법의 개발

종자 건열처리기를 이용하여 표33-A과 같이 CGMMV에 이병된 FR King II 종자를 처리하였다. 이들의 종자 중 일부는 파종상에 파종하여 발아율 등을 조사하였고 일부의 종자는 1립씩 마쇄하여 인산완충액을 넣고 오이 떡잎에 접종하여 바이러스 활성 여부를 조사하였다.

표 33-A. 박 종자의 건열처리의 온도 및 시간

구분	설정온도(°C)	처리온도범위	시간	비고
Control	실온	-	-	-
PTN 2	73	73.3-75.3	71시간 50분	2001.1.11-2001.1.17
PTN 3	76	76.2-78.0	48시간	2001.1.17-2001.1.22
PTN 4	79	79.3-80.5	48시간	2001.1.22-2001.1.27
PTN 5	82	81.7-84.7	48시간	2001.2.6-2001.2.12
PTN 6	82	81.7-84.7	24시간	2001.4.25-2001.4.30
PTN 7	79	79.3-80.5	24시간	2001.4.30-2001.5.4
PTN 8	76	76.2-78.0	24시간	2001.5.4-2001.5.8
PTN 9	73	73.3-75.3	24시간	2001.5.8-2001.5.12

34. 채종단계별 검정시스템 구축(2차 및 3차 년도)

박과작물 육성가 종자의 잎 및 종자, 원종 생산용 식물체의 잎 및 종자, 시판용으로 생산한 종자에 대해서 2001년 8월부터 2002년 6월까지 종자전염 주요 바이러스에 대해서 ELISA방법으로 조사하였다.

3차 년도에는 박과작물에 대해서 육성가 종자, 원원종 및 원종으로 생산한 종자, 시판용으로 생산한 종자에 대해서 2002년 8월부터 2003년 7월까지 종자전염 주요 바이러스에 대해서 ELISA방법으로 조사하였다.

35. 종자소독법방법 구명(2차년도)

2차 년도에는, 1차 년도 성적을 토대로, 주로 용량이 큰 건열소독기를 이용하여 CGMMV에 감염된 FR King II 박 종자 20 kg에 대한 건열소독을 실시하였다. 건열소독된 종자 3만립에 대한 생물검정을 실시하였다. 즉 3립을 1 lot로 하여 10,000샘플을 만들어 마쇄한 다음 인산완충 용액을 1:10(W/V)비율로 넣어 4C에서 보관하면서 오이 떡잎에 카보랜덤을 뿌린 후 면봉으로 접종 2002년 6월 5일 접종하였다. 접종 후 2주 경과 후 오이 상업에 나타난 모자이크 증상 여부를 조사하였으며 또한 오이 어린잎 및 본엽 샘플을 10주의 식물체를 하나의 샘플로 하여 총1,020개의 샘플을 만들었다. 이 모든 샘플에 대해서 ELISA검사를 실시하였다.

36. CGMMV 전염경로 파악(2차 및 3차년도)

표 36-A과 같이 2000년 10월 26일과 2001년 11월 2일에 농자재(플러그 트레이, 접목용 클립, 비닐)에 CGMMV감염된 식물체의 즙액을 인위적으로 묻힌 다음, 온도 조절이 안되는 창고에 보관 중이다. 현재 보존기간에 따른 ELISA 검사를 실시하였다.

또한 생물검정을 실시하였다. 바이러스 free한 오이종자를 흥농바이오 1호 상토가 들어 있는 플러그트레이에 파종(2002년 5월 28일)하였다. CGMMV인위적으로 묻혀서 보관한 농자재(플러그 트레이, 접목용 클립, 비닐)를 2 mL 인산 완충용액으로 씻은 액을 접종원으로 사용하였다. 접종방법은 오이 떡잎에 카보랜덤을 뿌린 후 접종원을 면봉에 묻혀서 6월 3일에 접종하여 비닐하우스 내에 재배하였다.

2000년 10월 26일과 2001년 11월 2일에 농자재(플러그 트레이, 접목용 클립, 비닐)에 CGMMV감염된 식물체의 즙액을 인위적으로 묻힌 다음, 온도조절이 안되는 창고에 보관하면서 보존기간에 따른 ELISA 검사와 생물검정을 실시하였다. 생물검정은 오이를 사용하였다. 종자전염 바이러스가 없는 것으로 확인된 오이를 흥농바이오 1호 상토가 들어 있는 플러그트레이에 육묘하였다. CGMMV를 인위적으로 묻혀서 보관한 농자재(플러그 트레이, 접목용 클립, 비닐)를 2 mL 인산 완충용액으로 씻은 액을 접종원으로 사용하였다. 접종방법은 오이 떡잎에 카보랜덤을 뿌린 후 접종원을 면봉에 묻혀서 오이 떡잎에 접종하여 비닐하우스 내에 재배하였으며 오이 상엽에 나타난 바이러스 증상과 오이 상엽을 채취하여 ELISA 검사를 실시하여 최종적으로 바이러스 활력여부를 판정하였다.

3차년도에는 작은 용량의 건열소독기로 하는 건열소독 방법은 완료되었고, 이를 기초로 하여 대용량 건열소독기(2400리터)를 이용하여 건열처리를 실시하였다. 종자 전염성 병으로 알려진 박만할병에 대한 종자소독효과도 규명하며 종자 소독제의 처리 후 건열소독 효과에 대한 연구보고도 없는 관계로 이에 대한 성적을 얻고자 실시하였다.

인위적으로 박 만할병에 감염된 종자를 얻기 위해서 2001년 9월22일 완전히 익기 전의 박 종과에 구멍을 내고 PDA 배지에서 배양한 박 만할병균을 종과당 50 mL씩(균사, 분생포자 및 후막포자) 접종하였고, 2001년 10월 19일 종자를 조제하여 풍건한 다음 보관하였다. 이들 종자를 건열처리 온도는 73°C부터 86°C까지, 건열처리 기간은 2일부터 4일까지 다양하게 설정하여 건열처리를 실시하였다. 박 만할병균의 활성유무는 건열처리된 종자를 살균된 필터페이퍼가 충분히 적힐 정도의 살균수를 넣어 무균 사례에서 25°C에서 2일간 둔 다음 만할병 선택배지 건열처리된 종자를 치상하여 25-28°C에 보관하였다. 배지에 자란 균사와 포자모양을 관찰하여 만할병균 여부를 결정하였다.

37. 종자 감염 박 만할병 소독 방법 구명(2차년도)

인위적으로 박 만할병에 감염된 종자를 얻기 위해서 2001년 9월22일 완전히 익기전의 박 종과에 구멍을 내고 PDA배지에서 배양한 박 만할병균을 종과당 50 mL 씩(균사, 분생포자 및 후막포자) 접종하였고, 2001년 10월 19일 종자를 조제하여 풍건한 다음 보관하였다. 만할병 선택배지를 만들어 샬레에 넣은 후 만할병에 감염된 종자를 치상하여 25-28°C에 보관하였다. 배지에 자란 균사를 광학현미경으로 만할병균 여부를 조사하였다. 일부의 종자는 2002년 5월 28일 흥농바이오 1호 상토가 들어 있는 플러그트레이에 2002년 6월 13일 파종하였다. 발아하면서 발병되는 것을 조사할 예정이다.

3차년도에는 살균제 처리 후 건열처리한 종자의 바이러스 불활성화 여부를 확인하기 위해서 공시 재료는 2002년 세미나스 코리아에 분담된 과제인 CGMMV 감염 종자 생산의 일환으로 생산하여 보관하고 있던 FR King II 감염분 종자를 사용하였다. 경희대에 분양 후 남은 70 kg 의 종자를 공시 재료의 균일성을 위하여 별도로 채종된 세 농가의 종자를 혼합기에서 충분히 blending한 후 바이러스 감염을 확인하기 위해 ELISA로 감염을 및 감염 농도별 분포를 확인 한 후 소재로 확정 하였다. 소재의 바이러스 감염 확인을 위해 ELISA 방법을 사용 하였고 감염율과 감염정도를 확인하기 위해 개체별 100립을 검사 하였다. 먼저 각 1립을 원심분리 튜브에 넣고 extraction buffer를 1 mL를 넣은 후 4 °C에서 overnight 하였고 이를 ELISA 시료로 사용하였다.

생물검정은 대조구, 살균제+건열 처리구, 살균제 무처리+건열처리구 간의 바이러스 불활성화 유무 검사를 생물검정으로 표 37-1과 같이 수행 하였다. 공시 지표식물은 *Cucumis sativus*과 *Nicotiana benthamiana* 사용하였으며 4월 24일 접종하였고 5월 3일(9일), 5월 7일(13일), 5월 9일(15일째) 조사를 수행 하였다. 접종은 각 10 립을 하나의 샘플로 하여 마쇄 후 0.01M phosphate buffer (pH 7.4)를 1:5 비율로 넣고 4C에서 overnight 후 오이는 면봉으로 *Nicotiana benthamiana* 는 붓으로 접종을 실시 하였다. 접종 후 물로 가볍게 씻어 주었고 25-30C 실내 온실에서 유지 하였고 습도는 점보 가습기 두 대를 이용하여 RH 80% 이상을 유지 하였다. 최종 조사에서 *Cucumis sativus* 과 *Nicotiana benthamiana* 모두 모자의 증상 발현 유무로 바이러스 불활성화 유무를 조사 하였다. 대조구로 CGMMV 감염 잎을 homogenizer 로 갈아 *Cucumis sativus* 및 *Nicotiana benthamiana* 각 1주에 접종 하였다.

표 37-A. 살균제 처리 후 건열처리조건과 생물검정.

구 분	처 리 양	처 리 조 건	생물검정 (Bioassay)	
			<i>Cucumis sativus</i>	<i>N. benthamiana</i>
Control	10 kg	NT	200립(10립x20주)	200립(10립x20주)
Heat Treat	30 kg	73C, 3days	500립(10립x50주)	500립(10립x50주)
Heat treat + Fungicide	30 kg	73C, 3days+benoram 0.25%	500립(10립x50주)	500립(10립x50주)

38. 살균제 처리 후 건열 처리한 종자의 발아에 미치는 영향

공시 재료는 2002년 세미나스 코리아에 분담된 과제인 CGMMV 감염종자 생산의 일환으로 생산하여 보관하고 있던 FR KING II 세 농가의 감염분 종자 70 kg를 사용 하였다. 일단 공시 재료의 균일성을 위하여 별도 채종된 세 농가의 종자를 혼합기에서 충분히 혼합한 후 소재로 사용 하였다.

가) 건열처리

건열 처리는 2003년 4월 14일부터 4월 20일까지 세미나스 코리아에서 현재 사용하고 있는 건열 처리기를 이용하여 전처리 후 본 처리인 73C 에서 72 시간 건열 처리를 수행 하였다. 대조구는 10kg을 보존하여 사용하였고, 살균제+건열 처리구 30 kg을 베노람(ai = benomyl 20%, Thiram 20%) 0.25 % 소독 처리 후 건열처리 하였으며, 건열처리+살균제 무처리구 30 kg을 살균제 소독없이 바로 건열처리 하였다.

나) 페이퍼 타올 상 표준 발아

페이퍼 타올 상 발아실험은 25립을 1반복으로 총 4반복 100립 검사를 행하였고 5일을 발아세로 12일을 발아율로 조사하였다.

다) 토양 발아

토양 발아는 1,000립의 샘플 종자를 세미나스코리아 발아 팀이 실시하였다. 1,000립 종자에서 125 cell tray를 2 반복으로 하여 총 250 립을 파종하였고 상토는 세미나스 코리아 육묘 전용 상토인 바이오 상토 1호를 사용하였다. 실내 온실에서 9일, 11일, 14일째 조사하였고 14일을 최종 조사일로 하였다. 살균제의 영향을 세부적으로 조사하기 위해 모든 육묘를 개체별로 자엽 뒤틀림, 자엽 변색, 자엽장, 자엽폭, 하배축장, 생체중 등을 측정하였다. 대조구, 살균제+건열 처리구 및 살균제 무처리+건열 처리구 간의 육묘 출현율과 발아속도, 자엽 기형을 등에 대하여 조사 하였다.

5. 연구수행 결과(Seminis)

29. 작물별 및 품종별 이병정도의 파악

1차로 박과류에 대한 CGMMV에 대한 저항성 검정을 실시한 결과 박과 수박은 전부 이병성으로 나타났고 호박은 저항성으로 나타났다. Cow Leg는 WMVII, CMV, PRSV등 여러 가지 박과류에 오는 바이러스에 저항성으로 보고되었다. 그렇지만 CGMMV에 대한 언급이 없어 세미나스 조직을 통해 수집하여 본 실험에 사용하였다. 그렇지만 이 또한 CGMMV에 감수성으로 나타났다(표 29-1).

표 29-1. 박과류의 CGMMV 저항성 검정 실험(1).

품목	번호	품종명	공시주수	모자의증상 주수	ELISA Positive주수	
박	2	가찌도끼	8	6	8	
	75	FR스토파	8	8	8	
	89	내병FR10	8	5	8	
	119	렝시	8	1	8	
	122	Botswana	6	5	6	
	123	708334	6	6	6	
	125	Taiwan	6	4	6	
	126	Taiwan	5	1	6	
	127	PI271353	8	8	8	
	128	PI271353	8	0	8	
	129	중국1	8	6	8	
	130	중국2	8	8	8	
	196	Cow Leg	10	10	10	
	301	성주대목	8	0	8	
	302	신토좌모	8	0	8	
	호박	303	금토좌	8	0	0
		304	No.8	8	0	0
305		신토좌 BG	8	0	0	
306		신토좌	8	0	0	
308		남강쥬키니	8	0	0	
206		하나로	8	0	0	
수박	226	야생수박	8	8	8	



그림 29-1. CGMMV 접종 후 Cow Leg에 나타난 병징.

30. 중국내의 채종포 답사 및 피해정도 파악

중국 내의 흥농브랜드의 세미니스코리아의 채종포는 수박과 호박은 전부 망사재배를 하였기 때문에 바이러스 증상을 나타내는 식물체를 발견하기가 어려웠다. 요령성 조양지구에서 채종하는 수박의 경우 1점을 발견하여 채집하였다. 또한 산동성 창읍 지역에서도 거의 모든 식물체는 건전하였고 호박의 경우 2포기의 바이러스 유사 증상을 발견하여 채집하여 ELISA 검사를 실시하였다. 근처의 타 종묘회사 수박 포장과 농가의 수박 포장에서는 바이러스 증상을 띄는 식물체가 많이 발견되었다. 농가 포장의 박 또한 바이러스 증상을 나타내서 채집하여 ELISA검사를 수행하였다. 그 결과는 표 30-1과 같다.

표 30-1. 중국에서 채집된 박과류 샘플의 ELISA검사 결과

지역	작물	회사	CGMMV	ZGMMV	CMV	SqMV	WMVII	PRSV	MNSV
요령성	수박	세미니스코리아	-	-	-	-	+	-	-
산동성	호박	"	-	-	-	-	+	-	-
"	박	농가	+	-	-	-	+	-	-
"	수박	타회사	+	-	-	-	+	-	-
"	"	"	+	-	-	-	+	-	-
"	"	"	+	-	-	-	+	-	-

+ : ELISA 검정시 positive, - : ELISA 검정시 negative.

31. 채종 단계별 검정시스템 구축

신품종 육성을 하기 위해 국내외에서 수집된 수박(160 점) 및 호박(238 점) 소재들 중에서 CGMMV, KGMMV 및 ZGMMV의 감염여부를 확인하기 위해서, 이들의 과육과 수확한 종자들에 대해서 ELISA 검사 결과를 실시하였다. 수박은 총 839 점을 조사한 결과 13 점이 CGMMV 항혈청에 대해서 양성반응을 나타냈다. 이들 중에서는 대만 농우에서 도입된 3 점이 ELISA 검정 시 양성으로 나타났다. 이들에 대한 CGMMV 확인 여부 실험은 추후에 실시할 예정이다. 호박은 501 점을 조사한 결과 일부의 샘플에서 이들 바이러스의 항혈청에 대해서 양성반응으로 나타났다.

32. CGMMV에 감염된 종자생산

CGMMV에 이병된 종자 877kg를 생산하여 각 실험 담당자한테 실험재료로 사용하도록 분량을 마쳤음. 이 종자에 대해서 ELISA로 감염정도를 파악한 결과는 표 32-1과 같고 오이에 접종하여 ELISA로 확인한 결과 100% 감염된 것으로 확인됨.

표 32-1. FR King II 종자의 ELISA 의 O.D. 분포도.

구분(O.D값)	점수
0.225이하	0
0.226-0.450	6
0.451-0.675	15
0.676-0.900	23
0.901-1.125	21
1.126-1.350	19
1.351-1.575	6
1.576-1.800	0
1.800이상	0
합 계	90

* Negative control: 0.225. Positive control: 2.249

CGMMV에 이병된 FR King II 생산분은 이 과제 공동연구자들에게 연구시료로 표 32-2와 같이 분배하였다.

표 32-2. FR King II(CGMMV 감염분)종자의 분배.

구 분	종자량
고려기기 정인봉 사장	400 Kg
경희대 이정명 교수	302 "
검역소 고경일 과장	10"
원예연구소 최용문 과장	10"
홍농연구소 남상현 박사	40"
홍농 보유량	115"
합 계	877"

33. 건열처리에 의한 종자 소독방법의 개발

6월 30일 현재 각각의 건열처리 온도에 대한 종자 500립씩 1차로 오이에 접종한 상태이고 일부는 조사하였고 나머지는 7월 15일 썸 최종조사를 할 예정이다. 2차로 73와 76°C에 대한 종자 1,000 립에 대한 성적도 7월 20일 경에 최종조사가 완료되었다 (결과는 후미 기술).

표 33-1. 건열처리 온도처리와 종자내 바이러스 무병화 관계.

설정온도(C)	처리온도범위	시간	접수	ELISA 검정시 positive 접수
실온	-	-	500	500
73	73.3-75.3	72	"	0
76	76.2-78.0	48	"	7/15경 조사
79	79.3-80.5	48	"	"
82	81.7-84.7	48	"	"
82	81.7-84.7	24	"	"
79	79.3-80.5	24	"	"
76	76.2-78.0	24	"	"
73	73.3-75.3	24	"	"

건열처리는 초기의 종자발아율이 떨어지는 경향이 있다(그림 33-1). 종자에 있는 CGMMV가 불활성화 되지 않았다면 오이 떡잎에 접종 후 20일이 지나면 그림 33-3 와과 33-4 와 같은 모자이크 증상을 볼 수 있다.

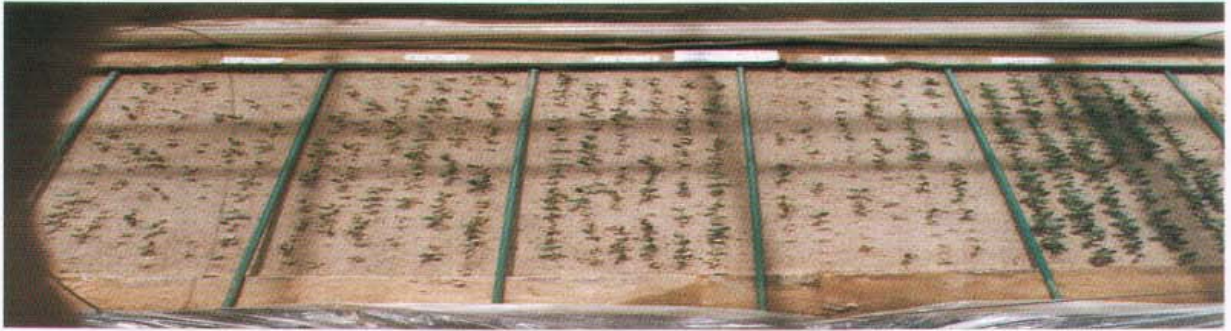


그림 33-1. 참박전열처리 종자의 발아
좌로부터 PTN5, PTN4, PTN3, PTN2, control임



그림 33-2. 오이 CGMMV 무접종 식물체.



그림 33-3. 오이 CGMMV 접종후 병징 발현 식물체.

34. 채종단계별 검정시스템 구축(3차년도)

채종단계별 종자전염 바이러스에 대한 조사한 결과는 표 34-1과 같다. 육성가 종자 및 원종 생산용 종자를 건열처리하여 재배하였으나 2001년도에도 검출된 원인은 토양, 농자재 등에 부착된 이병 잔재물에 의한 전염으로 생각된다.

표 34-1. 과채류 채종단계별 ELISA방법에 의한 종자전염바이러스 조사

품목	구분	샘플수	ELISA 검사시 positive 샘플 수			
			CGMMV	ZGMMV	KGMMV	SqMV
수박	육종가종자 및 원원종	891	5	0	0	0
	원 종	455	2	0	0	0
	생산종자(시판용)	303	28	0	0	0
박 (대목용)	육종가종자 및 원원종	513	24	1?	0	0
	원 종	-	-	-	-	-
	생산종자(시판용)	69	36	0	0	0
오이	육종가종자 및 원원종	686	0	0	0	0
	원 종	305	0	13	0	3
	생산종자(시판용)	121	34	0	0	0
참외	육종가종자 및 원원종	308	0	0	0	0
	원 종	242	3	8	86	0
	생산종자 (시판용)	56	13	0	0	0

* 생산종자(시판용): 수분 작업 전후 2회에 걸쳐 전 채종 포장의 모든 개체에 대하여 검사를 실시하여 이병주와 의심되는 개체를 도태 하였으며, 채종된 종자는 입고전 샘플검사를 하였는데, 이 때 감염이 확인되어 폐기 조치된 종자도 값이 포함된 수치임으로 상기 결과가 시판된 종자들의 감염 정도를 나타낸다고 할 수는 없으며, 국내 채종 종자의 감염율이 해외 채종보다 높은 것으로 나타났음.

3차년도 실험인 채종단계별 박과류 종자전염 바이러스에 대한 조사한 결과는 표 34-2와 같다. 육성가 종자, 원원종 및 원종 생산용 종자는 바이러스 존재 유무에 상관없이 모두 건열처리 하여 재배하였으나 2003년에도 CGMMV가 검출되었다. 이 바이러스의 검출원인은 토양, 농자재 등에 부착된 이병 잔재물에 의한 전염으로 생각된다. MNSV 및 SqMV에 대한 바이러스도 조사하였으나 조사 대상 모두 검출되지 않아 표에는 표시하지 않았다. 육성가 종자, 원원종 및 원종에서 CGMMV가 검출되지 않은 점은 FR King II 사건 후 수 년간에 걸친 종자의 건열소독 실시, 토양전염

을 회피하기 위한 윤작실시, 접촉전염이 잘되는 것을 방지하기 위한 위생관리 철저 그리고 외부 도입종에 대해서는 필히 종자전염 바이러스 유무를 확인 후 사용한 결과라고 생각된다.

표 34-2. 박과류 채종단계별 ELISA방법에 의한 종자전염바이러스 조사

구분	샘플수	CGMMV	KGMMV	CGMMV
		-모든 박과류	-모든 박과류	-모든 박과류
육종가 종자	871	0	0	0
원원종	166	0	0	0
원종	156	0	0	0
채종된 종자	2767	308	0	0

* 시판용 박과종자는 수분 작업 전후 2회에 걸쳐 전 채종 포장의 모든 개체에 대하여 검사를 실시하여 이병주와 의심되는 개체를 도태 하였으며, 채종된 종자는 입고 전 샘플검사를 하였는데, 이 때 감염이 확인되어 폐기 조치된 종자도 값이 포함된 수치임으로 상기 결과가 시판된 종자들의 감염 정도를 나타낸다고 할 수는 없다. 또한 채종된 종자에서 CGMMV 검출이 된 것은 아직도 채종포 선정 및 채종지도에 더욱 더 세심해야 된다는 것을 의미한다.

35. 종자소독법방법 구명(3차년도)

FR King II 대조구(건열처리 하지 않은 것)에서는 그림(생략)과 같이 CGMMV의 모자이크 증상이 발현되는 반면에 대 용량으로 건열처리된 3만립 접종구에는 전혀 모자이크 증상을 볼 수 없었다. 또한 CGMMV ELISA검사를 표35-1와 같이 실시하였으나 전부 음성(negative)으로 나타나 건열처리가 완벽하게 된 것을 알 수 있었다.

표 35-1. 건열처리한 FR King II 종자의 생물검정에 대한 CGMMV ELISA 결과

ELISA		Result	ELISA		Result
No of plate	O.D. Value*		No of plate	O.D. Value	
1	0.181	Negative	10	0.206	Negative
2	0.171	"	11	0.210	"
3	0.194	"	12	0.206	"
4	0.180	"	13	0.190	"
5	0.179	"	14	0.199	"
6	0.195	"	15	0.196	"
7	0.179	"	16	0.219	"
8	0.185	"	17	0.260**	"
9	0.190	"	-	-	-

* : The highest value at each ELISA plate.

2000년 10월 26일 CGMMV에 인위 감염시킨 종과를 마쇄하여 얻은 바이러스가 고농도로 함유한 즙액으로 접종한 접목용 클립, 연결 포트 및 비닐에서도 2002년 7월 18일(약 19개월 후)에도 ELISA검사시 대부분 양성반응을 나타냈다(표 35-2). 그러나 바이러스의 활력여부를 결정하는 생물검정의 결과에 접목용클립에서의 경우 93점을 검사한 결과 1점에서 양성으로 나타나 완전히 바이러스 불활성화 되지 않은 것을 알 수 있다. 2001년 11월 2일에 CGMMV에 감염된 잎에서 추출한 즙액을 묻힌 접목용 클립 및 비닐에 대한 ELISA검사를 실시한 결과 2002년 7월 18일(약 17개월 후)에 실시한 생물검정 실험에 의하면 거의 모든 조사 대상에서 바이러스가 활력을 지닌 것을 알 수 있다. 2003년 4월 15일(약 26개월)에 실시한 ELISA검사에서는 거의 모든 점수에서 양성반응으로 나타냈으나 생물검정에서는 모두 음성 반응을 나타내 약 26개월이 지나면 바이러스가 활성을 잃는 것으로 나타났다. 즉 상온에서 농자재에 묻어있는 CGMMV가 오랜 기간 활성을 지니고 있는 것으로 생각된다. 즉 박과류 재배에서 흔히 사용하는 농자재에서도 CGMMV가 전염될 수 있으므로 한 번 사용한 농자재는 탈지분유에 침지 후 사용하는 것이 안전하다고 생각된다.

표 35-2. 농자재에 묻어있는 CGMMV의 시간에 따른 바이러스 활력여부 조사.

접종일	접종원	재 료	(2002년 7월 18일)		(2003년 4월 15일)	
			양성반응수/조사주수		양성반응수/조사주수	
			ELISA 검사	생물검사	ELISA 검사	생물검사
2000년 10월26일	CGMMV에 감염된 종과를 마쇄한 즙액	접목용 클립	6/18	1/93	18/93	0/93
		연결 포트	16/18	0/93	-	-
		비닐	17/18	0/93	-	-
2001년 1월2일	CGMMV에 감염된 잎을 마쇄한 즙액	접목용 클립	18/18	91/93	93/93	0/93
		비닐	18/18	91/93	93/93	0/93

표 35-3. 농자재에 묻어있는 CGMMV의 시간에 따른 바이러스 활력여부 조사.

접종일	접종원	재 료	ELISA 검사		생물검정(오이에 접종)		
			샘플수	양성 반응수	접종한 샘플 수	모자이크 증상 주수	ELISA검사시 양성 반응수
2000년 10월26일	마쇄한 종과	접목용 클립	18	6	100	7월 5일 조사 예정	7월 5일 조사예정
		연결 포트	18	16	100	“	“
		비닐	18	17	100	“	“
2001년 1월2일	마쇄한 잎	접목용 클립	18	18	100	“	“
		비닐	18	18	100	“	“

36. 종자감염 박 만할병 소독방법 구명(3차년 대용량 장치 이용)

2000년 10월 26일 CGMMV에 감염된 종과의 마쇄 즙액으로 접종한 접목용 클립, 연결 포트 및 비닐에서도 2002년 5월17일(약 19개월 후)에도 ELISA검사시 대부분 양성반응을 나타냈다. 2001년 11월 2일에 CGMMV에 감염된 잎에서 추출한 즙액을 묻힌 접목용 클립 및 비닐에 대한 ELISA검사를 실시한 결과 조사 대상 모두에서 양성으로 나타났다(표 36-1).

3차년도 실험에서 박 만할병균으로 인위감염시킨 박 종자를 만할병균의 선택배지

에서 만할병균의 이병정도를 조사한 결과 모든 번호에서 100% 감염되었다. 선택배지에서 그림 36-1과 같이 만할병균이 자라고 있었다.



그림 36-1. 박에 감염된 만할병균의 균사가 만할병 선택배지에서 자라는 모습.

박만할병균을 인위감염시킨 박 종자가 파종되어 비닐하우스 내에 자라고 있으므로 7월 중으로는 만할병균이 감염되어 고사되는 주수를 조사할 수 있다. 일부의 종자는 현재 건열처리되어 박만할병 선택배지에서 박 만할병균의 소독여부를 조사하였다.

3차년도에서 박 만할병균으로 100% 인위감염시킨 박 종자를 여러 온도에서 건열 처리한 결과는 표 36-1과 같다. 일반적으로 박과작물의 종자를 72°C 3일간 건열처리 하는 데 이 경우는 박 만할병에는 효과가 없는 것으로 나타났다. 박 만할병균을 사멸시키기 위해서는 적어도 83°C 3일간 건열처리 해야 효과가 있는 것으로 나타났다 (그림36-1, 표 36-1). 즉 83°C 3일간 이상의 건열처리에서는 박만할병균이 사멸하여 균사가 성장되지 못하고 그 이하의 온도처리에서는 균사의 성장을 볼 수 있었다. 문헌에 따르면 75°C의 온도에서도 지속기간이 길어지면 사멸이 가능하다고 하므로 차후 다양한 고온한계온도에서의 지속기간을 달리하여 이를 구명할 필요성이 있다. (小室康雄, 1973).

표 36-1. 건열처리 방법에 따른 박 만할병 소독효과.

건열처리	발아율	박만할병균		건열처리	발아율	박만할병	
		검출종자수/조사 종자	종자			검출종자수/조사 종자수	종자수
대조구	36/80	80/80	종자	80C 2days	17/40	40/40	종자수
72C 3days	24/60	24/60	종자	80C 4days	24/60	60/60	종자수
75C 2days	21/60	21/60	종자	75C 2days +86C 3days	32/105	0/105	종자수
78C 2days	32/60	32/60	종자	83C 3days	37/100	0/100	종자수



그림 36-2. 선택배지에서의 박 만할병균의 검출 여부

박 만할병균이 못 자람(75C 2일간+86C 3일간 건열처리) 만할병균이 자람(대조구)

37. 살균제 처리 후 건열소독이 박 종자 바이러스 활성화에 미치는 영향

건열처리 전 FR KingII의 종자에 대해서 시료의 적합여부를 파악하기 위해서 종자 100립에 대해서 CGMMV 감염정도를 ELISA방법으로 검사한 결과가 표 37-1와 같다. 즉 CGMMV가 100% 감염된 종자인 것을 알 수 있었으며 실험결과 OD 값 0.5 1.5 대 사이에 67 % 정도의 종자가 분포 되어 있었고 그 이상의 감염정도를 나타낸 종자도 22% 정도 되어 소재로 사용되기에 적합한 종자임을 확인하였다.

표 37-1. FR King II 박 종자의 CGMMV의 감염율 및 감염 분포표.

ELISA O.D 값별 분포 수 (at 405 nm)							
	0.5 ≥ Neg	0.5 ≤ 1.0	1.0 ≤ 1.5	1.5 ≤ 2.0	2.0 ≤ 2.5	≥ 2.5	감염율
종자 수	11	32	35	16	6	0	100%

*. Positive cut off : > 0.188

CGMMV에 감염된 종자의 건열소독 여부는 필히 생물검정을 사용하여야 한다. 생물검정 결과는 표 37-2과 같다. 대조구에서는 전형적 바이러스 증상이 발현되었다 (그림 2). *N. benthamina* 에서는 접종후 8 일경부터 접종 상엽에 바이러스 증상이 관찰 되었고 오이는 접종 10일경부터 증상이 관찰 되었다. 시간이 경과함에 따라 *N.benthamina* 에서는 요철 현상이 뚜렷이 나타나며 전형적 바이러스 증상을 나타내었고 오이에서는 황색 반점이 짙히기 시작하여 점차적으로 모자의 증상으로 진전되었다. 바이러스 증상이 살균제 처리+건열 처리구, 살균제 무처리+건열 처리구에서는 총 100주의 접종에서 1주도 바이러스 증상이 발현되지 않아 건열 처리에 있어 살균제가 바이러스 불활화에는 영향을 주지 않는 것으로 확인 되었다.

표 37-2. CGMMV이병 박과 종자에 살균제처리후 건열처리가 바이러스 활력에 미치는 효과.

구분	접종 주수	바이러스 증상 개체수/접종주수	
		<i>N.benthamina</i>	<i>Cucumis sativas</i>
무처리 구	각 20 주	14/20 (70%)	10/20 (50%)
살균제 무처리 +건열	각 50 주	0/50 (0%)	0/50 (0%)
살균제 처리 + 건열	각 50 주	0/50 (0%)	0/50 (0)

(접종 후 15일째)



무처리구에서의 바이러스 증상

살균제처리 후 건열처리구의 건전한 모습

그림 37-1. *N.benthamiana*에서의 바이러스 증상 발현

38. 살균제 처리 후 건열처리한 종자의 발아에 미치는 영향

가) 페이퍼 타올 상 발아결과

최종 발아율에서는 대조구 88%, 살균제 무처리+건열소독구 94%, 살균제 처리+건열 소독구 90%로 대조구가 다소 떨어졌는데 이는 샘플 간 변수로 발생할 수 있는 것으로 간주할 수 있었다. 단, 발아세가 아주 중요한 차이를 나타내었는데 참박은 현재 모든 농가들이 최아 후 파종을 하는 관례에 비추어 일시에 발아되는 균일도가 가장 중요하다. 따라서 발아세가 품질을 결정짓는 관건인데 발아세에서 살균제 처리 후 건열 소독구가 발아세가 떨어짐을 나타 내었다. 대조구는 85.3 %, 살균제 무처리 +건열처리분은 80%, 살균제 처리+건열 처리분은 70%로 살균제를 처리한 구의 경우 대조구와 15.3%라는 수치가 벌어졌고 살균제 무처리 구와는 10% 차이가 벌어져 살균제 처리 후 건열소독구에 있어 살균제가 초기 발아세를 늦게 하는 작용이 있음을 확인할 수 있었다.

나) 토양발아

실제 농가에서 일어나는 조건으로 실시한 토양발아 실험은 매우 중요하다. 토양 발아실험의 결과는 표 38-1과 같다.

표 38-1. 박 종자의 살균제처리+건열처리가 토양발아에 미치는 영향

구분	조사 립수	발아율%(파종후조사기간)			자엽장 (cm)	자엽폭 (cm)	하배축 장 (cm)	기형율	정상묘 %
		9일	11일	14일					
대조구	210	59.5	79.5	79.5	4.41	2.54	4.27	8	75.7
건열처리	210	53.8	84.8	85.7	3.97	2.28	4.18	14	79.0
살균제처리 +건열처리	210	30.0	80.9	85.2	4.10	2.37	3.98	15	78.0

유묘 출현율은 발아되어 자엽이 벌어진 것은 발아로 간주하여 조사할 시 대조구는 9일째 59.5%로 가장 빠른 속도로 유묘가 출현 하였고, 건열 처리구는 53.8 %, 살균제+건열 처리구는 30% 로 페이퍼 타올상과 마찬가지로 토양에서도 살균제+건열 처리구가 초기에 유묘 출현율이 가장 낮았다.

기형율은 자엽의 심한 뒤틀림, 황화 증상을 나타내는 정도에 있어 대조구는 8개(3.8%), 건열 처리구는 14개(6.7%), 살균제+건열 처리구는 15개(7.1%)를 나타내어 살균제처리 후 건열 처리구가 3개 정도 기형율이 많았으나 살균제 무처리+건열 소독과 큰 차이를 나타내지는 않았으며 단지, 대조구와 건열 처리분간에 있어 기형율 차이가 확인 되었다.

정상묘율은 대조구는 75.7%, 건열 처리구는 79%, 살균제 처리+건열처리구는 78%로 최종 정상묘 획득율에 있어서는 살균제 처리 분이 영향을 주는 것으로 생각되지 않으며 상기 실험에 따르면 살균제 처리 분은 건열 소독 시 초기 발아세 및 초기 유묘 출현율을 늦게 하는데 작용함을 알 수 있었다.

살균제 처리 후 건열처리가 박 발아에 미치는 영향을 종합하면 다음과 같다.

1. 살균제를 처리 후 건열 소독 시 페이퍼 타올 표준 발아검사에서 살균제를 처리한 구가 초기 발아세가 가장 낮았다.
2. 토양 발아 검사에서도 살균제를 처리한 구가 초기 유묘 출현율이 가장 늦었다.
3. 최종 발아율과 최종 유묘 획득율은 큰 차이가 없었다.
4. 자엽 기형율은 살균제 무처리구보다 살균제 처리구가 약간 높았으나 큰 차이는 없었고 대조구와 나머지 두 건열 처리구의 비교에서는 건열 처리구에서 기형율이 높게나와 살균제 영향 이라기 보다는 건열 처리 자체만으로도 기형율이 높아짐을 확인 하였다.
5. 따라서, 종합하면 살균제 처리는 초기 발아세를 더디게 하는데 주로 작용 하는 것으로 보이며 최종 발아율 및 유묘 출현율에는 영향을 주는 것으로 생각되지 않는

다.

현재 대부분의 박 과가 해외 채종에 의존하고 있고 채종되어 들어오는 종자는 의무적으로 소독 처리되어 들어오는 점을 감안 한다면 건열 처리 전 반드시 살균제를 제거시킨 후 처리하거나 처리 후 Priming 등을 통한 발아 촉진 처리를 해 주어야 할 것으로 생각 된다. 이는 최아 후 파종을 관례로 하는 국내 재배 문화와 밀접한 연관이 있는데 초기 균일도가 중요하고 발아세가 중요한 반면 살균제 처리 후 건열 처리 시 초기 발아세 및 유묘 출현율이 떨어짐으로 불만 요인이 될 수 있기 때문이다.

종합결론 - 채소종자의 건열처리 기술 개발

총괄연구책임자 경희대학교 이정명

종자 및 생산물의 국제간의 교역물량이 급증하고 채소종자의 해외채종이 급증함에 따라 다양한 종자전염병이 세계적으로 확산되면서 이에 대한 대책 수립이 시급한 실정이다. 채소종자의 건열처리는 상당수의 바이러스를 포함한 세균 및 진균류에 의해 유발되는 종자전염병균의 제거에 효과적임이 입증되고 있으나 처리기술이 확고하게 개발되어 있지도 않고 처리 여부를 확증할 효과적인 방법도 아직은 없는 실정이다. 이러한 문제는 비단 수입과정에서 야기되는 검역 관련 문제뿐만 아니라 채소 종자의 수출에서도 차후 증대한 걸림돌이 될 것으로 예견되어 시급한 연구가 요청되었다. 본 보고서는 2000년부터 3년간에 걸쳐 채소종자의 건열처리에 관한 종합적이고 다양한 실험결과를 요약하여 작성하였으며 다양한 연구과제에서 도출된 많은 좋은 결론들을 여기에 함께 종합적으로 정리하고자 한다. 4개의 주요 연구과제로 구성되어 그 구분은 1과제-(결론 1)의 양식으로 정리하였다.

1-1. 다양한 채소작물 중 상당수의 종자전염병을 건열처리로 해결하기 위하여 배추과, 가지과, 그리고 박과 채소의 종자에 건열처리를 적용하였다. 배추과 채소작물에서는 배추, 양배추, 무의 다수 품종을 각각 처리하였는데 표준건열처리인 35°C 24 시간, 50°C 24 시간, 그리고 75°C 72 시간의 건열처리를 적용하여도 하등의 피해나 이상의 발생이 없이 안정적인 처리가 가능하였다.

1-2. 가지과 채소에서는 고추 30 품종을 포함하여 토마토, 가지의 여러 품종들의 종자를 처리하였는데 대부분의 종자에서 표준건열처리의 적용에 따른 피해나 발아율 감소 등의 현상은 나타나지 않았다. 그러나 채종 후 경과 연한이 오래 되어 활력이 저조한 종자나 프라이밍이 된 종자, 그리고 프라이밍 후 살균제 처리와 함께 film coating이 된 종자들에서는 건열처리에 의해 상당한 피해를 보이는 것도 있었다.

1-3. 박과 채소 중에서 수박 대목으로 가장 보편적으로 사용되는 박에서는 대부분의 품종에서 본 연구와 관련되어 새로이 개발된 장치(고려기기 제작품)를 이용한 건열처리에 안정적으로 반응하였다. 그러나 일부 소수 품종에서는 개량된 건열처리장치를 이용하더라도 건열처리에 따른 피해가 지속적으로 나타남이 확인되어 품종선택

의 중요성을 보여 주었다.

1-4. 박과 채소 중 수박, 참외, 오이 대목 등으로 다양하게 이용되는 신토좌 호박 및 이와 유사한 품종에서는 계통 및 seed lots(종자집단)에 따라서 그 피해 정도가 매우 다양하게 나타났다. 아울러 동일한 품종이라도 채종재배환경이나 탈종기술 등에 따라서 변이의 폭이 매우 심하게 나타났는데 대체로 다음에서와 같은 요인들이 피해 정도에 관여하고 있음이 확인되었다 (하기 1-5에서 1-8까지).

1-5. 착과 후 채과 및 탈종까지의 재배기간 중 재배장소 및 계절, 재배환경(기온 및 재배기술) 및 탈종기술에 따른 차이가 현저하게 나타났다. 일반적으로 완숙과에서 채종된 충실한 종자가 건열처리에 따른 피해를 적게 보였으나 예외적인 것들도 상당수 있었다.

1-6. 탈종-조제시의 종자의 선종 정도 및 저장조건이 건열처리 반응성에 크게 영향을 미치었는데 충실한 종자를 선종하는 것, 탈종에서 건열처리까지의 경과기간이 충분하게 주어 진 것, 건열처리 직전까지의 종자의 저장온도가 지나치게 낮지 않았던 것, 건열처리 직전의 종자수분함량을 낮게 유지한 것에서 그 피해 정도가 없거나 매우 낮으므로 이에 준하여 사전 대비가 필요하며 신규 개발장치인 건열처리전용기기를 이용하여 적절하게 처리하는 것이 중요하다.

1-7. 착과시기가 늦어져서 늦가을의 저온기에 수확된 과실에서 채종된 종자는 일반적으로 고온기에 수확 및 탈종된 종자에 비하여 건열피해가 심하게 나타났다.

1-8. 건열처리 직후에 종자를 파종하면 상당한 건열피해증상을 보이던 종자들도 건열처리 후 30일 이상 실온에서 저장하게 되면 이러한 피해 발생이 상당히 감소되는 것이 보통이었다. 따라서 시판용 종자는 건열처리 후 30일 이상의 평형 수분을 가진 후 판매하는 것이 합리적일 것으로 판단되었다.

1-9. 다양한 호박류 종자의 건열처리 반응성을 종합적으로 비교하면 밤호박이나 관상용호박 등 종피가 두터운 *C. maxima* 계통은 비교적 안정적으로 반응하는데 비해서 *C. moschata* 나 *C. pepo* 는 품종, 종자의 상태, 기타 조건에 따라 피해 발생 정도에 큰 차이를 보였다. 이들 민감하게 반응하는 품종들은 종자에서 종피가 차지하는 비율(종피율)이 상당히 낮은 편이었다. 다양한 공시품종 중 특히 심한 건열처리 피해를 보이는 품종들에는 담록뿔호박, 남강쭈키니, 진광쭈키니 등이 포함되어 있었

다. '신토좌' 호박에서는 종자의 상태에 따라 극단적인 차이를 보여 앞서 지적된 몇 가지 사항만이라도 준수한다면 안정적 건열처리가 용이하다고 판단되고 있다.

1-10. 건열처리에 따른 피해발생정도는 건열처리장치의 성능에 의해 극단적으로 영향을 받았다. 새로 개발된 건열처리 전용 장치를 이용하면 처리 시 발생하는 피해를 현저하게 감소할 수 있어 안정적인 처리가 용이하였다.

1-11. 건열처리 시 상한온도에 따라서는 박과 채소에서는 호박 류를 제외한 대부분의 작물에서 72°C 이하의 온도에서는 큰 피해 발생이 없이 안정적인 처리가 가능하였으며 배추과 채소와 수박, 오이, 참외, 멜론, 고추, 토마토 등에서는 80°C 상한온도에서도 거의 피해를 보이지 않았다. 그러나 호박에서는 69°C의 상한온도에서조차도 상당한 피해를 보이는 품종 및 seed lots이 상당수 있었다.

1-12. 건열처리 지속기간에 따라서는 상한온도를 75°C로 고정하였을 경우 품종에 따라서 7일간의 처리에서도 거의 피해를 보이지 않는 품종들이 있었음에 비하여 일부 품종에서는 3일 이상의 처리에서는 (5일 및 7일 처리) 발아세 및 최종발아율이 급감하는 것이 있었다. 대체적으로 3일 정도의 처리는 대부분의 품종들의 최종발아율에 큰 악영향을 미치지 않았다.

1-13. 건열처리횟수에서는 1회 처리나 2회 처리(중복처리)간에는 대부분의 품종에서 큰 차이를 보이지 않는 경우가 대부분이어서 상당수 품종들에서는 필요에 따라서 재건열처리가 용이함을 보여 주었다. 그러나 3회 처리 시에는 상당수의 작물 및 품종에서 큰 피해정도를 보였다.

1-14. 건열처리된 종자들의 발아적온은 무처리 종자보다 높았다. 고온조건에서 동일한 발아를 보였던 종자들도 저온조건에서는 건열처리된 종자의 발아세 및 최종발아율이 무처리종자에 비하여 현저하게 낮게 나타나는 것이 대부분이어서 과종상의 온도관리의 중요성을 부각시켜 주었다.

1-15. 박과 채소에서 완숙과 채과 및 후숙은 충실종자비율과 건열처리내성을 증가시키는데 필수적이었다. 아울러 완숙과를 채과하더라도 25°C 이상의 암 조건에서 2주 이상 후숙하는 것이 충실종자비율을 높이는데 효과적이었다.

1-16. 호박에서 숙과의 과형이 장타원형인 경우 충실종자는 꽃 자리 부위의 과실

부위에 대부분 분포하고 있었으며 과병부위에 위치한 자방에는 종자수도 적었으며 쪽정이 종자의 비율이 매우 높았다.

1-17. 종자의 선종시 최종 단계에서는 종자 두께가 두터운 것을 선종하는 것이 충실종자(종자중량이 무거운 종자)를 선종하는데 가장 유리한 parameter로 밝혀졌다.

1-18. 살균제 등이 처리된 종자를 건열처리하는 것은 살균제의 종류 및 처리량에 따라서 종자의 발아세를 감소시키고 건열피해도 증가시킬 수 있는 것으로 밝혀졌다. 그러나 살균제의 종류에 따라서는 적정량으로 처리된 종자를 건열처리하는 경우 이에 따른 피해가 거의 발생하지 않는 경우가 대부분이며 건열처리될 종자에 대한 살균제의 종류 선택 및 그 사용량에서 주의가 요청된다.

1-19. 살균제 등이 처리되고 이후 film coating이 된 종자를 건열처리하는 경우 그 피해는 매우 극심하게 나타났다. 따라서 film coating이 된 종자의 건열처리는 여하한 경우라도 실시하지 않도록 권장되고 있다.

1-20. 건열처리에 의해 발아세 감소 등을 보이는 박과채소류에서는 종자프라이밍(solid matrix priming; SMP)은 발아세 증진 및 건묘율 제고에 결정적으로 중요시되었다. SMP 처리시 종자:microcel E:물의 배합비율은 10:1:4에서 10:1:6의 범위가 적당하였다.

1-21. 종자발아가 특히 늦은 '씨 없는 (3배체) 수박' 종자의 경우 건열처리 후의 SMP 처리는 발아율 향상 및 정상묘율 제고에 매우 효과적이었다.

1-22. 건열처리된 종자를 시판종자에서와 동일한 소포장에 밀봉포장하고 4°C, 15°, 실온(22-26°C)에 장기저장하면서 종자의 활력을 검정한 결과 6 개월까지의 장기저장에서 어떠한 조건에 저장한 종자에서도 뚜렷한 종자활력의 저하를 확인할 수 없었다. 따라서 건열처리된 종자는 건조한 상태로 밀봉 저장하면 장기저장이 용이함을 확인할 수 있었다.

1-23. 노화촉진처리는 채소종자의 활력을 측정하는데 결정적으로 중요하였다. 노화촉진처리결과로 얻어진 건열처리에 따른 박과채소의 수명단축효과를 보면 역시 건열처리 피해가 심하게 나타나는 호박류에서 수명단축 정도도 상대적으로 심하게 나타났다.

1-24. 건열처리는 단근접목시의 대목의 발근력에 영향을 미치지 않았다. 단근접목시 대목의 절단부에 발근촉진제를 처리하여 삽목하면 발근이 현저히 촉진되었다.

1-25. CGMMV에 감염된 종자의 건열처리는 100°C까지 그 온도를 증가시키더라도 ELISA 반응성에 거의 영향을 미치지 못하였다. 그러나 감염종자의 습열처리(온탕침지처리)는 24 시간 침지 시 70°C의 온도에서도 그 반응성을 거의 소멸시켰다.

2-1. 수박과 참외에서 분리한 오이녹반모자이크 바이러스의 전체 게놈 염기서열을 확인하였고 다른 tobamovirus와 비교 분석하였다.

2-2. 종자의 열처리는 감염된 CGMMV 입자의 붕괴를 초래하였다. 열처리에 민감한 CGMMV genome의 부위는 중간 부위 2.0 ~ 4.8 kb에 위치한 부분으로 판명되었으며 가장자리 부위는 분절에 저항성이었다.

2-3. 게놈의 분절부분에 결합하는 특수 primer를 제작하였으며 이들 primer의 염기서열 및 위치를 판명하였다.

2-4. 특이한 primer를 이용하여 RT-PCR을 수행하였을 때 DNA 절편이 증폭되지 않은 시료들은 *N. benthamiana* 에 접종하여도 아무런 병징을 유발하지 않았다.

2-5. 열처리된 종자의 바이러스 불활성화를 특이 프라이머를 이용한 RT-PCR 기법에 의해 확인할 수 있었고 기존의 시간 및 노동 집약적인 생물검정을 대체할 수 있는 수단으로 이용 가능성을 확인하였다.

2-6. 이러한 결과가 전체 박과 채소나 가지과 채소들의 종자에 광범위하게 실용화되기 위하여는 차후의 세부적인 추가 연구가 요청된다.

3-1. CGMMV의 생물검정을 위해서 6속 10종의 지표식물에서 기주 범위를 조사한 결과 *Nicotiana benthamiana*, *Chenopodium amaranticolor*, *Cucumis sativus* 등 3속 6종에서 그 증상을 확인하였다.

3-2. 이들 접종 식물체의 생육온도에 따른 병징 발현을 조사한 결과 37°C의 고온에서는 *Chenopodium amaranticolor*가 접종 후 3일부터 가장 kffi 증상을 보였으며 25°C의 생육온도에서는 *Chenopodium amaranticolor*와 *Cucumis sativus*에서 9일만

에 그 증상을 확인할 수 있었다.

3-3. *Nicotiana benthamiana*의 이병조직의 마쇄액의 효과적인 희석한계를 조사한 결과 37°C에서는 *C. amaranticolor*에서는 10^{-4} 이었으나 25°C에서는 10^{-6} 이었으나 *N. benthamiana*에서는 10^{-9} 까지도 가능하여 전신감염기주인 *N. benthamiana*가 가장 예민한 것으로 판단되었고 추후 연구에 권장하고자 한다.

3-4. 그러나 명아주(*C. amaranticolor*)나 오이(*Cucumis sativus*) 생검도 나름대로의 장점이 있으므로 이들 방법들도 또한 구체적으로 개발될 필요성이 있다.

3-5. CGMMV strain 별 *N. benthamiana*에서의 병징발현일수를 보면 strain에 따른 차이는 있기는 하나 미미한 정도이었으며 접종시 식물체의 크기에 있어서는 본엽 전개 3매 정도의 유식물을 이용시 가장 확실하고 빠르게 나타났다.

3-6. CGMMV 대량진단을 위한 항체를 제작하기 위하여 토끼에 주사하여 얻은 항혈청을 역가조사를 마친 후 소포장으로 분리하여 보관하면서 차후 이들 항체를 이용하여 ELISA의 진단한계를 결정하였으며 추후 진단 kit의 대량생산에 이용하였다.

3-7. CGMMV에 감염된 박 종자의 부위별 virus의 분포를 검정한 결과 종피(외종피 및 내종피)에서만 virus가 검출되었으며 자엽(유아 포함)에서는 검출되지 않았다.

3-8. CGMMV에 100% 감염된 종자를 각각 무처리와 건열처리로 구분하여 그 효과를 확실하게 파악하기 위하여 전자현미경으로 검정한 결과 건열처리된 종자에서는 72°C에서 처리되더라도 전혀 증상이 나타나지 않아서 72°C의 건열처리로도 100% 불활성화가 가능하였다.

4-1. 박과채소에 발생하는 virus를 종류별로 다양한 작물 및 품종을 공시하여 ELISA 검증을 하였는데 이들 virus는 CMV, SqMV, PRSV, WMVII, CGMMV 및 ZGMMV이었다. CGMMV의 이병성에 관하여 ELISA 검정 결과 수박은 100% 이병성인 반면 공시된 호박류는 100% 저항성으로 나타났다.

4-2. 국내 종묘회사에서 위탁채종을 하는 중국의 채종현장을 답사하여 조사한 결과 채종 현장에서 재배하고 있는 식물체로부터 CGMMV 증상을 발견할 수 있었다.

4-3. 대용량 건열처리 장치를 이용하여 100% CGMMV에 감염된 박 종자를 공시하여 표준건열처리를 실시하고 이들 종자 30,000립의 추출물을 오이 떡잎에 접종하여 검정한 결과 모자이크 발현도 없었고 접종한 오이 본엽의 추출물에서도 ELISA 음성반응이 나와서 CGMMV가 완벽하게 제거되었음을 확인할 수 있었다.

4-4. 종자 전염을 하는 박 만할병(*Fusarium oxysporum*)에 미치는 건열처리 효과를 검정한 결과 관행처리에 의해서는 100% 불활화가 이루어지지 않았다. 따라서 건열처리 온도 및 기간 등을 달리한 차후의 세밀한 연구가 요청된다.

4-5. 살균제가 처리된 종자를 건열처리에서 대량처리로 확인한 결과 박에서는 살균제 처리 후 건열소독구에서 발아세가 15.3% (발아용지상에서) 및 23.8%(토양 mix)가 각각 저하되므로서 살균제 전처리가 건열처리 성패에 영향을 미칠 수 있음이 확인되었으며 이에 대한 시급한 대책수립이 요청되었다.

4-6. 확보된 원종에서 최종 단계인 탈종-정선에 이르기까지의 모든 단계에서 CGMMV 감염가능성(전염경로)을 파악하고 이에 따른 대책을 수립하였으며 이러한 대책은 실제로 채종 현장에서 바로 이용될 수 있도록 조치될 예정이다. 아울러 건열처리의 다양한 장점이 밝혀지게 되므로서 차후로는 모든 박과채소에 우선적으로 적용하고 추후 점진적으로 타 작물의 종자들에 도 확대-실시하는 체계를 도입할 예정이다.

2. 기대효과 및 활용방안

건열 소독 처리 종자 바이러스 활성 검사로 국가기관용 안전한 종자 소독 방법 자료 제공하고, 발생가능한 다양한 문제점의 최소화 방안을 제시한다. CGMMV 진단키트 개발로 채종 박 종자 다량 바이러스 진단에 활용생물검정방법을 생력화하고 효율화하는 기술을 확립하여 일반적인 검정시의 오차범위를 최소화한다. 건열처리된 종자에서도 나타나는 ELISA 양성반응의 문제점을 RT-PCR로 보완 내지는 대체하는 기술을 조기확립하여 실용화에 이르게 한다. 결론적으로 국가적인 대책을 수립하고 이를 조기 운영케 하므로써 적게는 채종의 안전화와 효율화를 도모하고 나아가서는 양질의 종자의 보급 및 수출 확대에 직접적으로 기여한다.

3. 참고문헌

- Agrios, G. N. 1999. Plant Pathology. Academic Press.
- Antignus, Y., M. Pearlsman, R. Ben-Yoseph, and S. Cohen. 1990. Occurrence of a variant of cucumber green mottle mosaic virus in Israel. *Phytoparasit, Isr. J. Plant Prot. Sci.* 18(1): 50-56.
- Celix, A., M. Luis-Arteagea, and E. Rodriguez-Cerezo. 1996. First report of cucumber green mottle mosaic tobamovirus infecting greenhouse grown cucumber in Spain. *Plant Dis.* 80(11): 1303.
- 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. and J. M. Lee. 2001. Effects of seed sterilization treatment on germination and seedling growth of bottle gourd (*Lagenaria siceraria*). *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 42(2): 131-136.
- Komuro, Y., H. Tochiara, R. Fukatsu, Y. Nagai, and S. Yoneyama. 1971. Cucumber green mottle mosaic virus (watermelon strain) in watermelon and its bearing on deterioration of watermelon fruit known as "konnyaku" disease. *Phytopathol. Soc. Jap. Ann.* 37(1): 34-42.
- Moore, E. C., Keil, D. and Coats, K. S. 1996. Thermal inactivation of bovine immunodeficiency virus. *Appl. Environ. Microbiol.* 62(11): 4280-4283.

- 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.
- Walkey, D. G. A. 1985. *Applied plant virology*. Heinemann, London.
- 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.
- Hollings, M., Y. Komuro, and H. Tochigara. 1975. Cucumber green mottle mosaic virus. *In "CMI/AAB Kescription of Plant Virus No. 154."* Wm. Culross and Son Ltd., Coupar Angus, Perthshire, Scotland.
- Hwang, S.J., H.J. Bang, J.Y. Hong, and J.M. Lee. 2001. Seed germination and seedling vigor of gourd (*Lagenaria siceraria*) as affected by dry heat treatment. ASHS-01-629.
- 이기운. 1997. 수박에 발생하는 오이녹반모자이크바이러스의 발생과 방제 대책. *식물병과 농업* 2(3) : 5-11.
- Choi, G. S. et al. 2001. Simultaneous detection of three tobamovirus in cucurbits by rapid immunofilter paper assay. *Plant Pathol J.* 17(2) : 106-109.
- Hollings, et al. 1975. Cucumber mosaic virus. *In CMI/AAB Description of Plant Virus No. 154.*
- 농림부 농산 51142-709 (1999. 11. 6.).
- 小室康雄. 1973. 野菜のウイルス. 誠文堂新光社.
- 이기운. 1997. 수박에서 발생하는 오이녹반모자이크바이러스의 발생과 방제 대책. *식물병과 농업* 3(2): 5-11.
- 이정명, 고관달, 양승균. 1999. 첨단가공 및 종자처리에 따른 박과채소종자의 활력극대화 및 우량접목묘 양산기술 개발에 관한 연구. 농림부 농특과제 최종연구보고서.
- Kim, S. H. 1991. Some characteristics of triploid watermelons. *Res. Coll., Inst. Food Develop. Kyung Hee Univ.*, 11:622-67.
- Lee, J. M. 2003. Advances oin vegetable grafting. *Chronica Hort.* 43(2):13-19.
- Lee, J. M. and M. Oda. 2003. Grafting of herbaceous vegetable and ornamental crops. *Hort. Rev.* 28:61-124.
- Grange, S. and D. I. Leskovar, L. E. Pikde and B. G. Cobb. 2003. Seedcoat structure and oxygen-enhanced environments affect germination of triploid

- watermelon. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 128(2): 253-259.
- Duval, J. and D. S. NeSmith. 1999. Treatment with hydrogen peroxide and seedcoat removal or clipping improve germination of 'Genesis' triploid watermelon. *HortScience* 35:85-86.
- Grange, S., D. I. Loskovar, L. M. Pike and B. G. Cobb. 2000. Excess moisture and seedcoat alternation influence germination of triploid watermelon. *HortScience* 35:1355-1356.
- Nerson, H., H. S. Paris, and Z. Karchi. 1985. Seed treatment for improved germination of tetraploid watermelon. *HortScience* 20:897-899.
- 유은하. 2001. 박 종자의 발달 및 발아율 향상. 서울대 박사학위논문. 102 p.
- Song, J. E.. 1997. Matriconditioning of gourd seeds with Microcel E. MS Thesis. Kyung Hee Univ. Suwon, Korea
- 정용봉. 2002. Tobamovirus 무독화를 위한 다기능 건열처리기기 개발. 농림부 농특 과제 최종보고서 100 pages.
- 이기운, 1997. 수박에서 발생하는 오이녹반모자이크바이러스의 발생과 방제 대책. *식물병과 농업* 3(2): 5-11.
- Abdulsamad, N. and A. Ari. 1993. The use of antibody-sensitized latex to detect cymbidium mosaic virus in orchids. *Pertankka Journal of Tropical Agricultural Science* 16(2): 157-160.
- Antignus, Y., M. Pearlsman, R. Ben-Yoseph, and S. Cohen. 1990. Occurrence of a variant of cucumber green mottle mosaic virus in Israel. *Phytoparasit, Isr. J. Plant Prot. Sci.* 18(1): 50-56.
- Celix, A., M. Luis-Arteagea, and E. Rodriguez-Cerezo. 1996. First report of cucumber green mottle mosaic tobamovirus infecting treengouse grown cucumber in Spain. *Plant Dis.* 80(11): 1303.
- Clark, M. F. and A. N. Adams. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34: 475-483.
- Hollings, M., Y. Komuro, and H. Tochigara. 1975. Cucumber green mottle mosaic virus. In "CMI/AAB Kescription of Plant Virus No. 154." Wm. Culross and Son Ltd., Coupar Angus, Perthshire, Scotland.
- Komuro, Y. 1971. Cucumber green mottle mosaic virus on cucumber and watermelon and melon necrotic spot virus on muskmelon. *J. Agr. Res. Quart.* 6(1): 41-45.
- Komuro, Y., H. Tochigara, R. Fukatsu, Y. Nagai, and S. Yoneyama. 1971.

Cucumber green mottle mosaic virus (watermelon strain) in watermelon and its bearing on deterioration of watermelon fruit known as "konnyaku" disease. *Phytopathol. Soc. Jap. Ann.* 37(1): 34-42.

관련연구 학회발표 내용

박수연, 김진석, 차덕희, 정승환, 진기상, 이정명. 2002. 건열처리 및 후처리기간이 호박종자의 발아 및 유묘 생육에 미치는 영향. 한국원예과학기술지 20: 59.

박수연, 김진석, 김지연, 박유진, 이보미, 이정명. 2002. Thermogradient table을 이용한 건열처리 호박종자의 활력평가. 한국원예과학기술지 20: 50.

배진주, 이정명. 2001. 오이종자의 건열 및 노화촉진처리가 활력에 미치는 영향. 원예과학기술지 19(Supplement 1): 54.

배진주, 이정명. 2001. 호박 종자의 건열 및 노화촉진처리가 활력에 미치는 영향. 원예과학기술지 19(Supplement 1): 54.

배진주, 이정명, 김두현. 2001. 수박 및 박 종자의 건열 및 노화촉진처리가 활력에 미치는 영향. 원예과학기술지 19(Supplement 1): 54.

최성민, 이지흠, 이정명. 2001. 종자속도에 따른 건열처리가 박 종자의 발아에 미치는 영향. 원예과학기술지 19(Supplement 1): 62.

황수정, 홍지영, 최영애, 이정명. 2001. 고추종자의 발아에 미치는 건열처리, 발아배지 및 저장효과. 원예과학기술지 19(Supplement 1): 64.

유은하, 박효근, 이정명. 2001. 시판 박 종자의 발아 불량 원인 구명. 원예과학기술지 19(Supplement 1): 78.

유은하, 박효근, 이정명. 2001. 박 종자의 성숙도에 따른 종자 처리의 효과. 원예과학기술지 19(Supplement 1): 78.

김국형-논문발표

1) S.-M. Kim, 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), in press.

2) S.-M. Kim, J.-M. Lee, K.-O. Yim, M.-H. Oh, J.-W. Park and K.-H. Kim. 2003. Complete nucleotide sequence of the genomic RNA of two isolates of *Cucumber green mottle mosaic virus* from Korea. *Mol. Cells* 16(3), in press.

김국형-학회발표

1) S.-M. Kim, S.-H. Nam, and K.-H. Kim. 2001. Destruction and inactivation of *Cucumber green mottle mosaic virus* by seed heat treatment. The 2001 KSPP Annual Meeting & International Conference. Kyongju, Korea.