

635.93391
L293 C

최 종
연구보고서

등굴레의 多量栽培 體系確立과
附加價値 向上을 위한 技術開發

Seedling Production of *Polygonatum odoratum*
and its Rhizome Processing Development for
Large-Scale Cultivation and Higher Profit

연 구 기 관
경 상 대 학 교

농 림 부



제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “**등굴레의 多量栽培 體系確立과 附加價値 向上을 위한 技術開發**”의 최종 보고서로 제출합니다.

2000. 5. 10.

주관연구기관명 : 경상대학교

총괄연구책임자 : 강 진 호

연 구 원 : 한 경 수

연 구 원 : 장 계 현

연 구 원 : 박 정 민

협동연구기관명 : 창원대학교

협동연구책임자 : 신 동 수

연 구 원 : 주 우 홍

연 구 원 : 신 동 복

요 약 문

I. 제 목

등굴레의 多量栽培 體系確立과 附加價値 向上을 위한 技術開發

II. 연구개발의 목적 및 중요성

등굴레는 우리 나라 국민이 예로부터 다용도로 애용하여오고 있는 것으로 현재는 승냥과 같은 고유한 향과 더불어 성인병을 예방할 수 있는 여러 가지 기능성 물질을 함유하고 있는 것으로 알려지면서 소비량이 급격히 증가하고 있다. 따라서 이러한 소비증가로 인하여 가공원료의 안정적 확보와 품질향상을 위한 기술개발이 필연적으로 수반되어 이를 해결이 우선적으로 이루어져야 할 것이다.

가공원료를 안정적으로 확보하기 위하여는 재배면적을 확대한 다량재배로 해결될 수 있으나 지금까지의 재배방식은 지하경을 종근으로 이용하여 왔기 때문에 가공에서의 지하경 확보와 경합적인 관계에 있을 뿐만 아니라 농촌노동력의 고령화, 자생자원의 고갈 등으로 종근 또는 가공을 위한 수급물량이 아주 제한되어 있는 실정이다. 이러한 여건에서는 농민이 부담할 정도로 종근가격이 낮지 않아 재배면적은 특정 작목반을 중심으로 완만히 증가되고 있다. 이와 더불어 지하경을 종근으로 이용할 경우 정식당년 지하경의 휴면으로 인하여 파생되는 경제적 손실이 아주 큰 것 또한 문제점으로 지적되고 있다. 따라서 지하경을 종근으로 이용하여 재배할 경우에 오는 문제점을 극복함과 동시에 종근의 가격을 완화하기 위한 방법으로서 경지에서 재배되는 등굴레에 다량으로 형성되는 종자를 이용한 다량 육묘가 대안으로 제안되고 있다.

한편 예로부터 한방에서는 등굴레차를 장기간 음용할 경우 머리털이 빠지는 것으로 알려져 왔는데 이는 가공기술이 발달되지 못하여 품질이 낮은 것이 원인으로 분석되고 있다. 특히 차의 가공공정이 향미성분과 농도를 지배하는 것으로 알려져 있어 가공기술을 개발하여 품질을 증진시킴으로서 부가가치의 극대화할 수 있을 것이다. 한편 등굴레차에는 당

노 또는 고혈압 등 최근 성인병으로 문제가 되고 질병에 효능이 있는 기능성 성분을 다량으로 함유하고 있는 것으로 보고되면서 이들 기능성 성분에 대한 연구가 가공공정을 통하여 어떻게 변화되고 있는가에 대한 연구가 시도되고 있다. 그러나 시설 및 가공설비의 발달로 짜고 말리는 제조공정이 복잡하여지고 있으나 이러한 공정에 따른 품질을 좌우하는 향미와 기능성 성분에 대한 추적은 미미한 실정이다.

이러한 여건하에서 본 과제가 추구하는 최종 연구목적은 등굴레의 다량재배를 유도하기 위하여 종자를 이용한 다량육묘와 가공방법에 따른 기능성 물질과 향미성분의 변화를 추적하여 품질을 향상시킬 수 있는 가공기술을 개발함으로써 농가소득 뿐만 아니라 가공과정에서 부가가치를 향상시키는데 있다. 이러한 최종목적을 달성하기 위한 세부적인 시험 목적으로서 종자를 이용한 다량육묘에서는 ① 발아 및 소주아 형성율을 높이기 위한 방법의 설정, ② 상배축의 휴면을 효율적으로 타파하기 위한 방법을 강구하며, ③ 상배축 휴면 타파 이후의 유묘출현율을 높이기 위한 순화체계를 확보하기 위한 최적 관리방법 모색, ④ 이들과 관련된 기초연구를 통하여 종자를 이용한 다량육묘의 효율적으로 수행할 수 있는 모형화를 도출하며, 가공 기술개발에서는 ⑤ 등굴레차에 포함된 기능성 및 향미성분을 탐색, ⑥ 첨가제를 이용하여 등굴레차의 기호도를 증진시킬 수 있는 방법을 모색하는데 있다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

상기 연구목적에서 언급된 바와 같이 등굴레의 다량재배를 유도하기 위하여 종자를 이용한 다량육묘와 가공방법에 따른 기능성 물질과 향미성분의 변화를 추적하여 등굴레차의 품질을 향상시킬 수 있는 가공기술을 개발함으로써 재배와 가공분야 모두 부가가치 향상시킬 수 있는 결과를 도출하는데 연구의 범위와 내용을 한정하였다. 연구의 효율화를 위하여 등굴레의 종자를 이용한 다량육묘 방법을 설정하는 것과 가공공정에서 품질을 향상시킬 수 있는 기술개발을 분리하여 추진하였다. 따라서 본과제의 연구의 범위와 내용을 간략히 요약하면 다음과 같다.

1. 다량재배를 위한 다량유묘 기술개발

가. 다량유묘 기술개발

- 1) 발아 및 소주아 형성을 향상방안
- 2) 효율적 상배축 휴면타파 방법설정
- 3) 유묘출현을 향상방안

나. 배와 지하경의 성장형태 구명

- 1) 발아중 배의 형태 변화
- 2) 유묘 성장단계별 내·외부형태 변화
- 3) 유묘지하경의 분지형태 구명

다. 다량재배 기초체계확립

- 1) 묘령에 따른 유묘의 성장
- 2) 우수유묘방법별 성장비교
- 3) 최적 종자번식을 통한 유묘와 지하경 정식시 성장비교

2. 부가가치 향상을 위한 가공 기술개발

가. 기능성 및 향미 성분의 분석과 탐색

나. 기능성 물질의 분리 및 동정

다. 등굴레에 함유되어있는 중금속 추출 및 제거 공정 개발

라. 기능 성분의 화학구조 결정 : 화합물 1과 화합물 2

마. 등굴레 추출물(n-BuOH층)의 생리활성측정

바. 첨가제를 이용한 기호도 증진

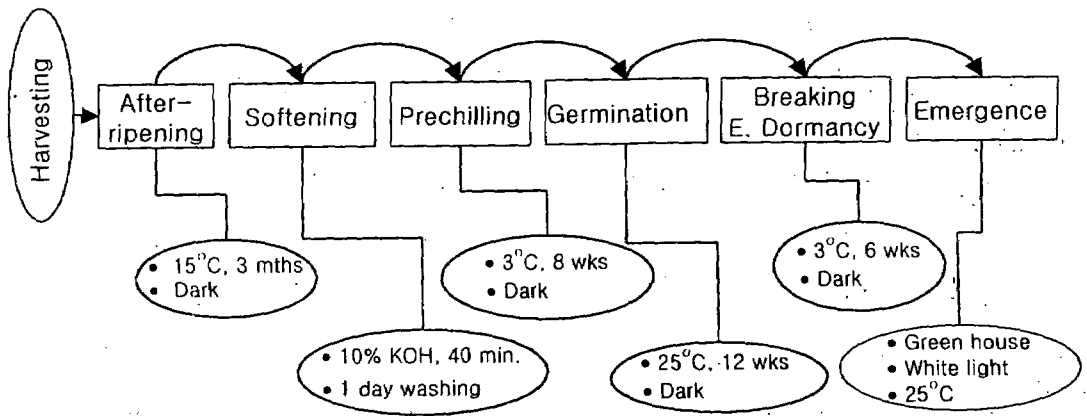
사. 시제품 제작

IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발결과

박과 멜론의 발아, 유묘출현과 균일도를 향상시키기 위하여 광을 이용한 파종전 종자의 처리기술을 개발하고자 실시한 일련의 시험으로부터 얻은 결과를 요약하면 다음과 같다.

가. 다량재배를 위한 다량육묘 기술개발에 관한 연구에서는 여러 가지 연구결과가 도출되었다. ① 연구결과의 핵심적인 내용은 종자를 이용한 다량육묘의 모형이 아래와 같이 도출되었다. 등굴레 종자를 이용한 다량육묘 체계는 육묘기간과 육묘효율을 고려할 때 관리상태가 양호한 채종포에서 종자를 채종하여 15°C에서 적어도 3개월간 후숙시킨다. 후숙시킨 종자를 10% KOH에 40분간 종피연화를 시킨 후에 3°C에 4~12주간 저온처리를 가하여



<등굴레의 파종전 종자처리, 상배축 휴면타파 및 유묘출현까지의 처리모형>

보수력이 좋은 상토에 파종하여야 한다. 발아 후에 소주아가 형성되고 소주아 정단에 상배축이 도출하면 상배축의 휴면타파를 위한 6~8주간의 저온처리가 가하여져야한다. 이상의 상배축 휴면타파까지의 모든 처리가 끝난 것을 포장에 전개시켜야 하는데 되도록 자연광을 차광하지 않는 상태로 수분과 양분을 적절히 공급하면 우량묘를 생산할 수 있을 것으로 위의 모형과 같은 절차로 요약된다. ② 종자의 발아과정을 조사하였던 바 소주아, 뿌리 및 상배축의 시원체가 발아전 종자에 존재하고 있었으며, 이들 시원체는 배축의 하부가 신

장함으로서 종자 외부로 돌출하여 각기관으로 분화되는 형태를 취하였다. ③ 상배축 휴면 타과를 위한 저온처리 후에 적어도 25℃ 내외의 온도와 차광이 일어나지 않도록 관리하여야 할 뿐만 아니라 양액을 공급하는 것이 강건묘를 생산하기 위한 조건으로 분석되었다.

나. 부가가치 향상을 위한 가공 기술개발에 관한 연구에서는 ① 1차 쥘 등굴레의 향미 성분을 GC-MS로 분석한 결과 52종의 향미 성분을 동정하였으며, 80℃에서 볶을 경우 120℃에서 볶은 것보다 많은 수의 향미성분이 발현되었다. 가공 전에 비하여 31개종의 향미 성분이 약한 블로 가공할 때에 새롭게 일어났다. ② 등굴레속에는 구리가 0.32 ppm, 아연이 0.27 ppm이 함유되어 있었으며, NaCl, MgCl₂, CaCl₂, 그리고 KCl을 첨가하여 3시간 쥘 결과 중금속이 제거되었다. 구리는 MgCl₂을 첨가하여 쥘 경우 많이 제거되었고, 아연은 CaCl₂을 첨가하여 쥘 경우가 가장 많이 제거되었다. ③ 메탄을 추출액에 methanol 추출물 : H₂O : methanol : 추출용매 = 10 : 9 : 1 : 10의 비율로 섞은 후에 헥산, 클로로포름, n-부탄을 순으로 각각 추출하여 추출물을 얻었다. Hexane 분획에는 3가지의 물질이, chroloform 분획에는 2가지의 물질이, butanol 분획에서는 7가지의 물질이 확인되었으며, 이 중에서 3가지 물질이 분리 가능하였다. 그리고 물 분획에는 3가지의 물질이 존재함이 확인되었다. ④ 분리한 화합물 I의 구조는 9,12-(9E,12E)-octadecadienoic acid로 화학구조를 결정하였으며, 화합물 II의 구조는 2-hydroxy-3-(9,12-(9E,12E)-octadecadienoyloxy) propanoic acid로 화학구조를 결정하였다. ⑤ n-Butanol 층의 등굴레 추출물을 농축하여 얻은 시료에 대한 동물실험을 통하여, 혈당강하효과 (P<0.05), 혈장 지질 (총 콜레스테롤과 중성지질, P<0.01) 저하효과가 나타남을 확인하였으며, 또한, 콜레스테롤 생합성을 억제함과 동시에 항산화 기능을 향상시켜 혈장 지질농도를 현저히 저하시키는 결과를 얻었다. ⑥ 등굴레차에 키토산을 첨가했을 때의 기호도는 키토산의 첨가 양이 많을수록 기호도가 감소하는 것으로 나타났으며, 두층 잎 분말과 녹차 잎 분말을 0.5%에 해당되는 첨가제를 넣었을 때와 등굴레차에 첨가제를 넣지 않았을 때의 기호도가 비슷하게 좋은 것으로 나타났다.

2. 연구개발 활용에 대한 건의

본 과제에서 도출된 기술은 많은 분야에 이용 및 응용될 수 있을 것이다. 그러나 크게는 아래분야에 바로 적용될 수 있을 것으로 평가된다.

가. 재배농가 및 작목반: 현재 등굴레의 재배농가는 지하경을 종근으로 이용하고 있다. 지하경을 종근으로 이용할 경우 재배를 위한 정식비용이 과다하게 소요될 뿐만 아니라 정식당년 휴면으로 인한 경제적 손실로 지하경을 재배하는 방식으로부터 종자를 이용한 육묘로 이러한 문제점을 극복하는데 활용할 수 있을 것이다. 먼저 개별농가가 상기에서 제시된 육묘모형으로 제각각 종자를 처리한 후 육묘하는 것도 하나의 방법일 수는 있다. 그러나 작목반을 중심으로 동시에 다량의 종자를 처리모형대로 처리하여 다량육묘를 시도하는 것이 육묘과정의 번거러움을 줄이고, 시설활용도를 높임으로서 궁극적으로는 생산단가를 줄일 수 있는 가장 합리적인 방법일 것이다.

나. 시험연구기관: 현재까지 등굴레의 육종은 여러 지역에 자생하고 있는 종들을 수집한 후 우량개체를 선발하는 방법에 주로 의존하여 왔다. 이러한 원인은 교배하여 수확한 종자를 발아시킬 수 있는 방법이 설정되어 있지 않아 종자로부터 후대를 확보하는 것이 불가능한데서 기인되었다. 그러므로 본 과제를 통하여 도출된 처리모형을 이용한다면 교배하여 수확된 종자로부터 후대인 유묘를 안정적으로 생산할 수 있기 때문에 교배육종을 통하여 우량 등굴레 품종을 육성하는데 바로 적용할 수 있다.

다. 등굴레차 가공회사: 볶음 온도와 찌는 과정에서의 첨가물에 따라 등굴레에 포함되어 있는 중금속을 제거할 수 있는 결과는 등굴레차의 생산공정에 바로 적용할 수 있는 결과이다. 한편 키토산, 올리고당, 녹차, 두충차 등을 등굴레차를 서로 혼합할 경우 등굴레 고유의 맛을 잃어버려 오히려 상품성을 저해하는 것으로 나타났기 때문에 등굴레의 제조공정에 품질향상에 모든 노력을 집중시켜야 하는 것으로 귀착되어 생산회사에서 혼합차보다는 순수한 등굴레차의 가공에 집중하여야 한다.

라. 제약회사: 두 가지 물질이 분리·동정되었으며, 추출물을 이용하여 동물실험을 수행한

결과 콜레스테롤 생합성을 억제함과 동시에 항산화 기능을 향상시켜 혈장 지질농도를 현저히 저하시키고 혈당을 억제하는 효과가 있다는 시험결론은 등굴레의 추출물을 캡슐화하여 당뇨병자들의 보조치료제로서 가능성을 탐색하는데 활용될 수 있을 것이다.

SUMMARY

Seedling production system development from Solomon's seal (*Polygonatum odoratum*) seeds for large-scale cultivation: Its large-scale cultivation of the seal has problems of the higher cost of traditional rhizome transplanting and its dormancy of the first cropping season to set the seedling planting system through the seed propagation as an alternative method of the rhizome transplanting. Its seed propagation, however, takes 2 years to develop normal seedlings and the seedlings produced with its seeds are very weak. The problems mentioned have to be overcome if the seed propagation system becomes successful. This former part of the study, therefore, was carried out to determine proper presowing seed treatment, system development of the epicotyl breaking dormancy and of seedling production after the breaking dormancy to enhance and shorten the efficiency and the period of its seedling production. Almost the experiments were done with an commercial bed soil, Tosile after the best results of the former was determined with petri dishes. The results were as follows.

In the presowing seed treatments, the germination and bulbil formation was elevated by the after-ripening seed treatment although influencing the seed quality. The primed seeds did not showed higher germination and bulbil formation in the bed soil, but in the petri dish the former rate was inclined at 50 mM of KNO_3 or $Ca(NO_3)_2$ having the greater bulbil formation rate. The rates were enhanced by the prechilling of 8 to 12 weeks. The prechilling was desirable to be impelled before the seed-coat softening treatment, in which reducing the prechilling period under 4 weeks was possible. GA_3 treatment done at the end of the above prechilling showed the adverse effect and the combining treatment of seed-coat softening and GA_3 also did the similar result.

For the system development of epicotyl breaking dormancy, germinating seedlings

treated 4 or 8 days done twice or 4 times every 2-days, respectively, and chilling treatments at 3°C were enforced for 4, 6, 8 or 12 weeks. 3 or 6 weeks later, rate of cotyledonary sheath rupture immediately after GA₃ treatment was greater in its 8-day treatment than in 4-day although its effect disappeared later. However, any epicotyl treated with GA₃ solution did not elongate so that new seedlings were not emerged over the bed soil. That resulted from not breaking the epicotyl dormancy because GA₃ did not rupture all of the cotyledonary sheath consisted of several sheets and aftermath did not reach it. The GA₃ treatment for bulk seed-propagation, therefore, was impractical method. On the contrary, the chilling treatment was able to be applied to the seed-propagation because of getting the cotyledonary sheath rupture and the epicotyl elongation. Seedling emergence and its growth after chilling treatment was influenced by chilling period although required at least over 6 weeks for their higher rates. only chilling treatment on the whole is applied for large-scale seedling production using a bed soil,

In the seedling production experiments after breaking the dormancy, seedling emergence and growth after the chilling declined in lower temperature and light intensity, 15°C and 55% of glass greenhouse, to raise weak seedlings. Supplying nutrient solution after the chilling increased the lengths of bulbil and root and the number of roots although did not affect the seedling emergence. Two-year seedlings had greater seedling emergence and growth related characters such as emergence rate, bulbil length, shoot number, leaf area compared to one-year ones.

In external and internal morphological characters, the external seed shape was hard seed-coat and orthotropous ovule with linear type embryo stretching to the center of seed. Germination proceeded through the several steps; the lower part of seed embryo having the primordia of bulbil and roots first grew before the bulbil and roots was

developed from the primordia. The lower part of embryo was enlarged toward the endosperm of seed as soon as seed germinated. Then epicotyl was formed on the apex of bulbil. The epicotyl was elongated after at least 6-week chilling treatment for breaking its dormancy and the first leaf shape was affected by light intensity given during seedling emergence. The bulbil was the first organ of the rhizome used as tea or herb medicine and the second-year bulbil formed above the first-year one was larger than the latter meaning accelerating its growth.

Processing development of Solomon's seal for increasing added value: For the first steamed rhizomes, 52 kinds of flavor compounds were characterized by GC-MS. The more flavor compounds were characterized in condition at 80°C than rhizomes were panbroiled at 120°C. After processing at 80°C, 31 kinds of flavor compounds were obtained than processing at 120°C.

Copper (0.32 ppm) and zinc (0.27 ppm) were contained in rhizomes. After the rhizomes was steamed for 3 hrs with additive salts (NaCl, MgCl₂, CaCl₂, KCl), copper and zinc were removed. When MgCl₂ was used as additive salt, copper was well removed in case of using MgCl₂, zinc was removed in CaCl₂ condition.

15 kinds compound which have functional effects were isolated from rhizomes : 3 in hexane layer, 2 in CHCl₃, 7 in nBuOH layer, and 3 in H₂O layer. The chemical structure of two compounds were identified by spectroscopic methods (¹H-NMR, ¹³C-NMR, DEPT, COSY, HMQC, HMBC). The chemical structure of compound I was identified as 9,12-(9*E*,12*E*)-octadecadienoic acid, compound II was 2-hydroxy-3-(9,12-(9*E*,12*E*)-octadecadienoyloxy) propanoic acid.

The biological experiment were additionally carried out to investigate the hypoglycemic effect of rhizomes subfraction from nBuOH extract; 1) Effects of lovastatin and rhizomes extract on plasma total cholesterol and triglyceride

concentrations in rabbits fed high cholesterol diet, 2) effects of supplementation of lovastatin and rhizomes extract on the activities of hepatic HMG-CoA reductase and ACAT in rabbits fed high-cholesterol (0.5%) diet, and 3) effects of supplementation of lovastatin and rhizomes extract on the activities of hepatic superoxide dismutase, catalase and glutathion peroxidase in rabbits fed high-cholesterol (0.5%) diet. The extracts decreased the activity of all the enzymes to result in lower plasma total cholesterol and triglyceride concentrations.

Finally 0.5, 1, 2, 3, 4, 5% (v/v) of each chitinic acid or oligomeric sugar was added into the seal tea to investigate the sensory evaluation. The result was obtained; the more it was added, the more value of sensory evaluation was decreased. In the case that 0.5 to 5% of each Doo-chung tea or green tea was also added in the seal tea, the same questionnaire results were obtained.

CONTENTS

SUMMARY	9
Chapter 1. Introduction	
Section 1. Justification for research	15
Section 2. Research objectives	20
Section 3. Scopes and contents of research	21
Chapter 2. Seedling production system development from Solomon's seal seeds for large-scale cultivation	
Section 1. Introduction	23
Section 2. Materials and Methods	29
Section 3. Results	37
Section 4. Discussion	89
Section 5. Summary	95
Section 6. References	98
Chapter 3. Processing development of Solomon's seal for increasing added value	
Section 1. Introduction	103
Section 2. Materials and Methods	108
Section 3. Results and Discussion	112
Section 4. Summary	159
Section 5. References	164

목 차

요 약 문	2
SUMMARY	9
제 1장 서 론	
제 1절 연구개발의 필요성	15
제 2절 연구의 목적	20
제 3절 연구의 범위와 내용	21
제 2장 다량재배를 위한 다량육묘 기술개발	
제 1절 서 언	23
제 2절 재료 및 방법	29
제 3절 결과 및 고찰	37
제 4절 종합고찰	89
제 5절 결과요약	95
제 6절 인용문헌	98
제 3장 부가가치 향상을 위한 가공 기술개발	
제 1절 서 언	103
제 2절 재료 및 방법	108
제 3절 결과 및 고찰	112
제 4절 결과요약	159
제 5절 인용문헌	164

제 1장 서 론

제 1절 연구개발의 필요성

등굴레는 우리 나라에 자생하는 등굴레속의 14종중 하나로 등굴레속의 지하경을 채취한 후 건조한 것을 玉竹이라 하여 우리 조상들이 차 또는 생약재로, 春窮期에는 지하경을 생체로 취반하여 끼니 대용의 구황작물로 이용되기도 하였다. 또한 등굴레차는 송늡과 같은 특이한 고유 향을 가지고 있고 혈당 및 혈압강하의 효과가 있는 것으로 알려지면서 차 겸용 건강식품으로서 소비가 급속히 증가하게 되었다 (이연숙, 1994; 임숙지 등, 1995). 이러한 등굴레차의 소비증가는 농가에서는 소량으로 가공하던 방식으로부터 다량을 가공하는 기업화로 전환하게 하였다. 따라서 소량으로 가공하던 시기에는 산야에서 자생하고 있는 것을 채취하여 가공원료로 충당하는 것이 가능하였다. 그러나 기업화되면서 가공물량은 상대적으로 많아진 반면, 산업화로 인한 농촌노동력의 감소와 고령화로 인하여 자연산 수집이 감소한 결과로 가공원료의 수급이 불안정한 상태로 바뀌게 되었다.

이러한 원인으로 인하여 가공부위인 등굴레 지하경의 단가가 상승함으로서 소득작물로서 등굴레의 개발이 가능하다는 판단 아래 일부 가공공장에서는 가공물량을 안정적으로 확보하기 위한 방편으로 넓은 면적에 계약재배를 유도하기 시작하였다. 그러나 등굴레는 3~5년 정도 재배되어야 경제성이 있기 때문에 (이세균, 1991) 일부 공장에서는 충분한 가공물량을 확보하지 못하여 공장 가동에 어려움을 겪고 있기도 하며, 그중 일부는 부족한 물량을 값싼 수입 중국산으로 대체하고 있는 실정이다. 이러한 부족분을 수입품으로 대체함으로서 등굴레의 소득작목화를 시도하고 있는 재배농가의 소득과 재배의욕을 감소시키고 있다. 그러나 중국산은 품질이 낮아 일본 또는 미국의 수입업자들이 우리 나라 등굴레 가공공장에 수출을 의뢰하고 있어서 우리의 대처 여하에 따라 등굴레는 소득작물 또는 수출전략 농산물로서의 개발이 가능성 있다고 할 수 있다. 따라서 자연산 채취 과정에서 유입되고 있는 죽대 등의 지하경 혼입을 방지함과 동시에 고품질의 등굴레차를 생산하기 위한 등굴레 재배와 가공에 대한 기술개발과 생산단가를 낮추어 가격경쟁력을 갖출 수 있는

방안이 총체적으로 강구되어야 할 것이다.

특히 가공원료가 자연산으로부터 경작된 지하경으로 대체됨으로서 농가소득의 증대, 우수한 품질의 등굴레 지하경을 확보함으로써 양질 등굴레차의 생산 가능, 가공물량을 가공 공장에 안정적으로 공급할 수 있어 공장가동의 지속적인 유지가능, 다량재배 체계에서 파생될 수 있는 지하경의 단가하락으로 인한 기업이윤의 극대화, 경작으로 인한 자연산의 채취를 줄임으로서 유전자원 및 자연생태계의 보호 뿐만 아니라 아래와 같이 중산간지의 유희농지를 효율적으로 이용할 수 있어 이로 인한 여러 가지 이점을 취할 수 있을 것으로 판단된다.

우리 나라는 현재 농업구조의 변화로 전국의 휴경답은 기하 급수적으로 증가되어 본과제의 연구가 시작된 96년도에는 약 33,000 ha에 이르는 것으로 집계되었다. 특히 산지 쌀값 상승으로 정부는 미곡증산을 위하여 대리경작을 제안하고 있으나 현재의 여건이 휴경답을 이용한 미곡생산에는 한계가 있다고 할 수 있다. 이러한 휴경답은 방치된 상태에서 황무지로 전락되고 이를 다시 田畠으로 용도를 전환하는 것은 대단히 어렵기 때문에 휴경답을 효율적으로 유지하면서 일정 소득 이상을 올릴 수 있는 농지이용 방법이 적극 모색되어야 할 것이며, 특히 中山間地의 谷間休耕畝를 논으로 유지하면서 농가소득을 보장하는 소득작물의 개발이 시급한 상황이다. 이러한 용도에 부합되는 작물이 등굴레라고 할 수 있으며 아울러 일부 농민들은 과수원의 초생작물로서 間作栽培를 시도하고 있어서 다량옥묘에 이은 재배체계만 확립될 수 있다면 유희농지를 적절히 활용할 수 있는 작물로서의 개발 가능성은 크다고 할 수 있다.

등굴레는 고소득 작물로 인식되고 재배중 관리가 용이하여 영농비가 적게 든다는 장점을 갖고 있음에도 불구하고 재배면적의 완만하게 증가하는 이유는 종근으로 이용되는 지하경이 300평당 재식밀도에 따라 60~180여만 원이 투입되기 때문에 농가수익을 고려한 적정면적을 경작하는데 필요한 자금을 조달할 수 있는 능력을 가진 농민이 적으며, 이러한 종근 구입비의 조달이 가능하여도 3~5년간 재배하여야 경제성이 있기 때문에 이를 지탱할 능력이 있는 농민은 더욱 적은 형편에 있다. 더불어 등굴레를 재배하여오던 기존의 방

식인 지하경을 이용하여 재배할 경우 정식 당년에는 지하경이 대부분 휴면함으로서 오는 경제적 손실을 극복하기 어려운 문제점을 갖고 있다. 따라서 등굴레를 농가 소득작목로서 개발하기 위하여는 지하경의 단가를 낮추어 종근 구입에 투자되는 금액을 낮추어야 할 뿐만 아니라 정식된 지하경의 휴면을 극복할 수 있어야 할 것이다.

지하경을 종근으로 이용하여 등굴레를 재배할 경우 나타나는 이상의 문제점을 극복하고자 재배시 다량으로 맺히는 종자를 이용한 육묘가 대안으로 제시되고 있다. 종자번식을 통하여 생산된 유묘를 이용하여 등굴레를 재배할 경우 종근비를 대폭적으로 절감할 수 있고, 정식당년에 나타나는 지하경의 휴면을 방지할 수 있다는 이점 때문에 기존의 지하경을 이용한 재배보다는 다량재배를 유도할 수 있고 이로 인한 여러 가지 경제적 이득을 누릴 수 있을 것으로 예상된다. 그러나 등굴레 종자를 이용하여 다량육묘를 가능하게 하기 위하여는 발아와 유묘출현에 2년간 소요되는 육묘기간을 식량작물처럼 1년 이내로 단축시켜야 가능할 것이다. 따라서 육묘기간을 대폭 단축하기 위하여는 ① 발아 및 소주아 형성, ② 상배축 휴면타파, ③ 상배축 휴면타파 후의 유묘 출현의 3단계로 구분되는 기간을 모두 또는 각각의 단계를 단축할 수 있어야 가능할 것이다. 이러한 육묘기간의 단축 가능성은 이미 연구를 통하여 그 방법이 학계에 보고된 바 있으며 본 연구는 이를 더욱 효율화하는데 집중되어야 할 것이다.

따라서 등굴레 종자를 이용한 육묘의 효율화는 이상의 각단계별 관리방법과 밀접한 관련이 있다. 그러나 이는 ① 채종상태, ② 파종전 종자처리 방법, ③ 보습과 관련이 있는 배양토 선정, ④ 상배축 휴면타파 방법, ⑤ 유묘출현을 촉진할 수 있는 관리방법과 이렇게 육묘된 유묘가 ⑥ 환경변이가 심한 노지에 바로 전개될 수 있으며, ⑦ 육묘효율을 높일 수 있는 기초연구가 선행되어야 가능할 것이다. 따라서 지하경을 이용한 등굴레 재배에서 야기되는 문제점을 극복하기 위한 대안으로서 제시되고 있는 종자번식이 이러한 각단계별로 나타나는 문제점을 극복하여 효율화를 기할 수 있다면 종근의 원활한 수급 뿐만 아니라 경제적인 파급효과 또한 클 것이다.

등굴레차의 경쟁력 확보는 다량번식을 통한 다량재배로 가공원료의 단가를 낮춤으로서

가능하다고 할 수 있으나 가공을 통한 품질의 향상도 하나의 방법이라 할 수 있다. 등굴레는 한방과 민간요법에서 滋養 및 強壯의 목적으로 많이 이용되는데 주로 허약체질, 영양불량, 폐결핵으로 인한 기침, 당뇨로 인한 止渴 등에 적용되고 있다 (이언숙, 1994; 임숙자 등, 1995). 등굴레를 포함한 등굴레속 식물에는 점액질이 풍부하고 전분, 당분 등 탄수화물, 각종 아미노산, fatty acids, 그리고 알카로이드 계통으로 혈당강하의 효과가 있는 δ -adrenalin, diosgenin과 mucose polysaccharide, myristic acid, hecogenin, β -sitosterol, stigmasterol, polygoaquinone 등이 함유되어 있고 이들이 약리효과를 나타내는 성분으로 밝혀져 있다 (Kim 등, 1980; 이언숙, 1994; 임숙자 등, 1995; Namba, 1980; Tomada 등, 1973). 이러한 기능성 및 향미 성분이 등굴레에 어느 정도 존재하고 있는가에 관하여는 체계적인 시험이 이루어지지 않고 있어서 이에 대한 연구가 선행되어야 할 것이다.

등굴레차의 가공공정은 地下莖을 증기를 이용하여 찌고 말리는 과정을 되풀이하며 이러한 과정은 회사별로 차이가 있다고 할지라도 많게는 이러한 과정을 4번 되풀이한 후 절단 또는 분말을 만들어 판매하는 것으로 알려져 있다. 이러한 등굴레 지하경의 가공과정 또는 가공방법에 따른 성분 또는 품질의 변화에 대한 체계적인 연구결과는 보고된 바 없으나 다른 차의 경우 분말을 만들기 위한 볶음방법에 따라서 성분 및 품질은 상당히 영향을 받는 것으로 알려져 있다 (안철우, 1986; 김만배 등, 1996). 따라서 찌는 정도와 볶음방법별 성분의 변화도 탐색되어야 최적의 가공방법이 설정될 수 있을 것이다.

한편 등굴레차의 가공에서 기호도를 높이기 위하여 손쉽게 적용할 수 있는 것은 첨가제의 혼합이라 할 수 있다. 식품에 이용되고 있는 방법 중에서 최근에 건강식품으로 유행되고 있는 키토산 또는 올리고당을 포함한 일방성분을 첨가하는 것이고 (김용범, 1991; 박관화, 1992), 한편으로는 분말을 이용하기 때문에 서부 경남에서 많이 재배되고 있는 두충 또는 차 잎을 첨가하는 방법이라 할 수 있다 (김용범, 1991; 이철호, 1994). 이러한 첨가제를 혼합한 시제품 생산은 현재까지 보고된 바 없고 더불어 이에 대한 품질 및 기호성에 대한 평가도 전혀 없는 실정이어서 이 부분의 연구도 아울러 선행되어야 할 것이다.

다량육묘를 통한 등굴레의 다량재배를 유도하고 기호도를 높이기 위한 일련의 방법이

설정된다면 등굴레차 가공공장이 안고 있는 문제점은 점진적으로 해결될 수 있을 것이며, 특히 최근 재배면적이 급격히 증가하고 있는 등굴레 재배농가의 소득증대와 아울러 가공공장도 부가가치를 더욱 높일 수 있을 것이다. 따라서 다량육묘로 다량재배 체계를 확립하고 가공 기술개발을 통하여 최근 급격히 재배 및 소비가 증가하고 있는 등굴레 지하경의 안정적 생산과 가공공정상의 품질을 향상시키기 위한 연구개발의 필요성을 요약하면 다음과 같다.

1. 기술적 측면

- 가. 등굴레의 종자를 이용한 다량육묘 체계를 확립함으로써 다량재배
- 나. '2-year seed'의 인공육묘에 이은 순화체계 확립
- 다. 등굴레의 종자번식을 위한 처리의 모형화
- 라. 등굴레에 포함된 기능성 물질의 탐색 및 분리

2. 경제·산업적 측면

- 가. 다량육묘를 통한 다량재배 유도로 농가소득 증대
- 나. 농한기 유휴 노동력의 활용으로 농외소득 증대
- 다. 다량육묘를 통한 영농비 절감과 재배단가의 하향으로 재배농가 및 기업이윤 극대화
- 라. 최적의 가공방법 설정과 식품첨가제의 활용으로 부가가치 향상

3. 사회·문화적 측면

- 가. 자연산 등굴레의 다량채집으로부터 유전자원의 보호 및 토양유실 경감
- 나. 고품질의 국내산 등굴레차의 생산·공급으로 인한 국민건강 증진

제 2절 연구의 목적

등골레차는 우리 나라 국민이 애용하고 있는 전통차 중에서 녹차 다음으로 판매량이 많으며 승능과 같은 고유한 향으로 인하여 소비량은 점진적으로 증가할 것으로 예상되고 있다. 이러한 변화에 편승하여 등골레를 경지에 재배하기 시작하면서 일부 지역에서는 작목반을 구성하여 다량재배를 시도하고 있고, 농가에서 소량으로 가공하던 방식에서 현대화된 시설을 갖춘 가공공장이 설립되면서 다량을 가공하는 형태로 나아가고 있다.

이러한 다량재배와 다량가공에서 과생되는 종근의 확보와 이에 경합적인 관계에 있는 가공물량의 확보가 국내 여건상 수급이 어려워 지하경의 가격이 재배농가가 부담할 정도로 싼 가격은 아닌 것으로 평가되고 있다. 따라서 종근의 공급가격을 낮춤으로서 다량재배를 유도하여 가공물량의 원활히 확보하기 위하여는 가공과 관련되는 지하경을 정식하는 재배양식을 바꾸어 종자번식을 통하여 생산된 유묘를 이용하는 것도 대안이 될 수 있을 것이다. 한편 원료확보를 위한 문제점을 극복할 방법을 강구함과 아울러 현재 시판되고 있는 등골레차는 다량가공의 역사가 일천하여 차로서의 품질이 낮은 문제점을 안고 있어 이를 극복하여야 필요성이 제기되고 있으며 일부 업체를 중심으로 등골레 재배와 차의 품질을 높이기 위한 가공기술을 개발하는데 주력하고 있는 실정이다.

이러한 여건에서 본 과제가 추구하는 최종 연구목적은 등골레의 다량재배를 유도하기 위하여 종자를 이용한 다량육묘와 가공방법에 따른 기능성 물질과 향미성분의 변화를 추적하여 품질을 향상시킬 수 있는 가공기술을 개발하여 농가소득과 부가가치를 향상시키는 데 있다. 이러한 최종목적을 달성하기 위한 세부적인 시험목적으로서 종자를 이용한 다량육묘에서는 ① 발아 및 소주아 형성율을 높이기 위한 방법의 설정, ② 상배축의 휴면을 효율적으로 타파하기 위한 방법을 강구하며, ③ 상배축 휴면타파 이후의 유묘출현율을 높이기 위한 순화체계를 확보하기 위한 최적 관리방법 모색, ④ 이들과 관련된 기초연구를 통하여 종자를 이용한 다량육묘의 효율적으로 수행할 수 있는 모형화를 도출하며, 가공 기술 개발에서는 ⑤ 등골레차에 포함된 기능성 및 향미성분을 탐색, ⑥ 첨가제를 이용하여 등골레차의 기호도를 증진시킬 수 있는 방법을 모색하는데 있다.

제 3절 연구의 범위와 내용

상기 연구의 필요성과 연구목적에서 언급한 바와 같이 등굴레의 다량재배를 유도하기 위하여 종자를 이용한 다량육묘와 가공방법에 따른 기능성 물질과 향미성분의 변화를 추적하여 등굴레차의 품질을 향상시킬 수 있도록 가공기술을 개발하여 등굴레 재배와 가공 분야에서 부가가치 향상시킬 수 있는 결과를 도출하는데 연구의 범위와 내용을 한정하였다. 연구의 효율화를 위하여 등굴레의 종자를 이용한 다량육묘 방법을 설정하는 것과 가공 공정에서 품질을 향상시킬 수 있는 기술개발을 분리하여 추진하였다. 따라서 본과제의 연구의 범위와 내용을 간략히 요약하면 다음과 같으며 보다 구체적인 내용은 각장의 '재료 및 방법'에 서술되어 있다.

1. 다량재배를 위한 다량육묘 기술개발

가. 다량육묘 기술개발

- 1) 발아 및 소주아 형성을 향상방안
- 2) 효율적 상배축 휴면타파 방법설정
- 3) 육묘출현을 향상방안

나. 배와 지하경의 성장형태 구명

- 1) 발아중 배의 형태 변화
- 2) 육묘 성장단계별 내·외부형태 변화
- 3) 육묘지하경의 분지형태 구명

다. 다량재배 기초체계확립

- 1) 묘령에 따른 육묘의 성장
- 2) 우수 육묘방법별 성장비교
- 3) 최적 종자번식을 통한 육묘와 지하경 정식시 성장비교

2. 부가가치 향상을 위한 가공 기술개발

가. 기능성 및 향미성분의 분석과 탐색

나. 기능성 물질의 분리 및 동정

다. 등굴레에 함유되어있는 중금속 추출 및 제거 공정 개발

라. 기능 성분의 화학구조 결정 : 화합물 1과 화합물 2

마. 등굴레 추출물(n-BuOH층)의 생리활성측정

바. 첨가제를 이용한 기호도 증진

사. 시제품 제작

제 2장 다량재배를 위한 다량육묘 기술개발

제 1절 서 언

등굴레 (*Polygonatum odoratum* Druce)는 백합과 등굴레속에 속하는 다년생초본으로 세계적으로는 한국, 중국, 일본 등지에 분포하고 있으며, 한국에서는 15종이 자생하고 있는 것으로 알려져 있다 (김창민, 1998; 김태정, 1996; 이창복, 1989). 등굴레는 지하경을 이용하여 건조된 지하경을 玉竹이라 하여 예로부터 차, 약용 및 춘궁기의 구황작물로 주로 이용하여 왔다. 그러나 최근에는 송늬과 같은 구수한 고유의 향을 가지고 있을 뿐만 아니라 혈당 및 혈압강하의 효과가 있는 것으로 알려지면서 차와 건강식품 겸용으로 소비가 급속히 증가되고 있다. 따라서 소비 증가로 인하여 농가에서 소량으로 가공하던 방식에서 벗어나 다량가공과 고부가가치를 창출하는 기업화로 형태가 전환되고 있다.

등굴레 지하경은 생약재, 차, 춘궁기에는 구황작물로 주로 이용되어 왔고 현재는 과수원의 피복작물과 지상부는 꽃꽂이 소재로 이용되고 있다. 한방에서는 건조한 지하경을 玉竹이라하여 滋養, 强壯, 허약증상, 영양불량, 기침, 지갈 등에 주로 사용하여 왔으나 (Brill, 1994), 최근에는 혈당강하 효과가 밝혀지면서 (이언숙, 1994; 임숙자, 1995a,b) 차와 건강식품을 겸하는 형태로 대부분 소비되고 있다. 따라서 급격한 소비증가로 인하여 지하경의 가공도 잘게 잘라 건조하던 형태에서 여러 번 증기에 찌고 말리는 과정을 반복한 후 미세한 분말로 마쇄한 것을 이용에 편리하도록 포장하는 형태로 나아가고 있다.

이러한 등굴레차는 우리 나라의 전통차 중에서 녹차 다음으로 많이 판매되고 있다. 등굴레가 차로서 다량소비됨에 따라 이에 상응하는 가공원료가 필요하게 되었다. 현재까지는 등굴레차의 가공원료인 지하경의 수급은 산야에 자생하고 있는 것을 채취하여 충당되어 왔다. 그러나 농촌노동력의 고령화, 자원고갈 등으로 자연산 매입단가가 상승함으로서 휴경지 또는 생산성이 떨어지는 한계농지를 이용하여 인위적으로 재배가 이루어지게 된 후 일부지역에서는 작목반을 조직하여 다량재배를 시도하고 있다.

등굴레의 다량재배는 가공부위인 지하경을 분리하여 정식하는 방법 (구관효, 1994a,b; 구

관효, 1996a; 최인석, 1996; 최재식, 1996; 하종길, 1993)으로 재배가 이루어지고 있다. 지하경을 정식 하여 재배하면 정식부터 수확기까지의 기간을 단축할 수 있을 것으로 기대되나 지하경 구입비의 과다와 정식된 지하경의 휴면 등 여러 가지 문제점을 안고 있어서 재배농가의 가격경쟁력과 수익성 향상을 위하여는 이러한 문제점이 해결되어야 할 것으로 기대된다 (Atwater, 1980; 왕철생, 1991; 이세균, 1991). 이러한 문제점을 극복하기 위한 대안으로서 종자를 이용한 다량육묘 체계를 구축하기 위한 방법이 제시되고 있다 (강진호 등, 1997a).

자연상태와는 달리 인위적으로 등굴레를 경지에 인공재배할 경우 종자가 다량으로 형성되기 때문에 종자의 수급은 가능하다고 할 수 있다. 따라서 이렇게 다량으로 형성되는 종자를 이용하여 육묘할 경우 파생되는 문제점을 극복하여야만 종자번식이 가능할 것이다. 종자번식이 안고 있는 문제점은 등굴레 종자는 발아중 상배축 휴면으로 인하여 낙종 후 유묘출현까지 약 18개월이 소요되기 때문에 ① 육묘기간을 대폭 단축할 수 있는 방법이 설정되어야 하며, ② 이를 위하여는 효율적인 상배축 휴면타파 방법이 설정되어야 하고(陳瑛, 1987b), 육묘효율을 높이기 위한 방법으로서 ③ 상배축 휴면타파 전 발아 및 소주아 형성을 향상시켜야 하며(강진호, 1996, 1997a), ④ 상배축 휴면타파 후 유묘출현과 생장을 증대할 수 있는 처리방법이 강구되어야 할 것이다.

등굴레의 육묘효율을 증대시키기 위하여 맨 먼저 부딪히는 발아 및 소주아 형성을 높일 수 있는 방안이 설정된다하여도 종자번식을 통한 등굴레의 다량재배가 가능하기 위하여는 발아중에 일어나는 상배축휴면을 효율적으로 타파하여 육묘기간을 단축하고 육묘효율을 향상시켜야할 것이다 (강진호 등, 1996, 1997 a, b) 현재까지 등굴레의 상배축 휴면타파에 관한 연구로는 Wareing 등 (1981)은 자연상태에서는 발아에서부터 유묘출현까지 약 18개월이 소요되며, 원인은 小珠芽의 정단에 돌기되는 상배축의 휴면으로서 낙종 이듬해 겨울철의 저온으로 타파되기 때문이라고 하였다. 한편 陳瑛 (1987a)은 이러한 등굴레의 상배축 휴면은 0~5℃에서 30일 이상 처리하면 휴면타파가 효율적으로 이루어진다는 진일보된 결과를 보고하였다. 그러나 강 등(1997b)은 저온처리 기간을 최소 4주에서 12주로 연

장할수록 상배축 휴면타파 비율이 증가된다고 보고하였다. 따라서 인위적인 저온처리로 발아중인 등글래의 상배축 휴면을 타파할 수 있을지라도 저온처리 기간에 따라 유묘가 출현되는 비율이 영향을 받는다고 할 수 있다.

인위적인 저온처리를 통하여 상배축휴면을 타파할 수 있다 하더라도 10월 낙종에서부터 이듬해 5월까지 적어도 7개월 내에 유묘출현이 가능하도록 하기 위하여는 상배축 휴면타파 기간을 더욱 단축할 수 있는 처리방법이 모색되어야 할 것이다. 강 등(1997b)은 petri dish를 이용하여 저온 대체효과가 있는 GA_3 0.1~1.0 mM에 4~8일간 처리한 결과 상배축 휴면이 타파된다고 하여 장기간을 요하는 저온처리를 대체할 수 있다는 가능성을 제시한 바 있다. 따라서 이러한 소용기를 GA_3 를 이용한 시험의 결과가 상토를 이용한 다량생산 체계에서도 적용이 가능함과 아울러 상배축 휴면타파를 위한 처리기간이 상대적으로 긴 저온처리를 대체할 수 있는가가 검토되어야 할 것이다.

육묘기간과 관련이 있는 상배축의 휴면타파와 더불어 육묘효율과 관련이 있는 발아와 소주아 형성을 향상시키기 위하여는 상배축 휴면타파 처리 이전인 발아과정에서의 환경조건을 최적으로 유지하고 파종 전 적절한 종자처리를 통하여 가능할 것이다. 등글래 종자는 硬實로서 암발아성이며 파종 후 12주까지는 발아가 지속적으로 증가되는 것으로 알려져 있다 (강진호 등, 1996). 그러나 발아온도에 관하여 陳瑛 (1987a)은 14~16℃라고 한 반면, 강 등(1996)은 15℃에서는 발아 후 소주아는 형성되나 상배축과 뿌리가 돌기 또는 신장되지 않는 반면, 25℃에서는 정상형태로 발달되기 때문에 25℃가 발아적온이라고 하여 상반된 결과가 보고한 바 있다. 발아 및 小珠芽 형성단계에서의 환경조건중 온도에 관하여는 추가 시험이 이루어져야 할 것이다.

발아 및 소주아 형성을 높이기 위한 파종 전 종자처리는 다양하다고 할 수 있으나 현재까지의 연구결과는 후숙, 종피연화, 저온, GA_3 처리로 요약되고 있다. 후숙처리가 발아에 미치는 영향으로 陳瑛 (1987a)은 25℃에서 186일로 처리기간을 증가하면 발아 및 소주아 형성이 조장된다고 하였으나 강 등(1997a)은 후숙온도가 35℃에서 15℃로 낮아질수록, 처리기간이 7개월로 길어질수록 발아 및 소주아 형성율은 증가된다고 하여 후숙온도에 대하

여는 陳瑛(1987a)과 다른 결과를 보고하였다. 한편 강 등(1996)은 온탕침종과 황산처리에 비하여 KOH를 이용한 종피연화 처리가 효과적이며 10% KOH에 40분 처리를 가하는 것이 가장 바람직하다고 하였다. 더불어 파종 전 4~16주의 저온처리를 가할 경우 8~12주의 종피연화 처리가 효과적이며, GA₃ 처리는 0.01 mM에 5일간 처리할 경우 가장 양호한 결과를 보인 것으로 집약되고 있다(강진호 등, 1996, 1997a). 그러나 이상의 결과는 단순히 후숙, 종피연화, 저온, GA₃ 처리만 가하거나 petri dish를 이용한 시험 결과로서 이들을 상호조합하여 상토를 이용한 시험이 실시된 바 없어 다량육묘를 위한 상토배지에서 발아 및 소주아 형성을 증대시키기 위하여는 이들 요인을 상호 연계하여 복합적으로 처리할 필요가 있을 것이다 (Baskin 등, 1998a,b,c; Bewley 등, 1994; Chong, 1995; Robert, 1979; vanDer Woude, 1980; Vincent, 1979).

등굴레의 종자를 이용한 다량육묘에서 발아 및 소주아 형성을, 효과적인 상배축 휴면타파방법이 설정된다하여도 상배축이 신장하여 자엽이 지상으로 전개되는 육묘출현 과정은 상배축 휴면타파중 또는 후속적으로 주어지는 환경요인의 영향을 받는 것으로 알려져 있다 (Baskin 등, 1998a,b,c; Hartman 등, 1997a). 앞에서 언급된 바와 같이 상배축 휴면타파를 위한 저온처리시에는 암상태로 유지되는 것이 용이하다고 할 수 있으나 상배축 휴면타파 후에는 白色光을 조사하여야 상배축이 신장되어 육묘가 출현되며 적정온도는 25℃로 알려져 있다 (강진호, 1996; 陳瑛, 1987b). 한편 발아 후에 출현되는 육묘는 생육장과같이 상대적으로 광도가 낮은 곳에서는 도장되고 단자엽과같이 출현되는 잎이 커지는 경향을 보는 것으로 알려져 있다 (Hartman 등, 1997a). 따라서 저온처리를 통하여 인위적으로 상배축 휴면타파를 실시한 후 환경변이가 심한 포장에 바로 전개시킬 경우 광도 뿐만 아니라 온도도 육묘의 형태 나아가 성장에도 현저한 영향을 미칠 것으로 예측된다.

상배축 휴면타파 후 온도 등 제환경요인이 적절할 경우 인위적으로 공급되는 양액이 육묘의 출현 및 성장에 영향을 현저한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다 (Hartman 등, 1997b). 특히 등굴레의 종자번식 기간은 일반작물에 비하여 현저히 길 뿐만 아니라 상배축 휴면타파를 위한 저온처리를 효율적으로 가하기 위하여 상토가 들어있는 제한된 용기 내

에 과중하여야 하기 때문에 양액공급의 영향을 크게 받을 것으로 예측된다 (Hartman 등, 1997a). 그러나 이러한 양액공급은 공급량과 주기에 따라 영향을 받을 수 있다고 하나 적절한 처리가 이루어진다면 유묘출현과 생장을 조장할 수 있는 단기효과를 기대할 수 있을 뿐만 아니라 최종 수량도 증가시키는 장기효과도 기대할 수 있는 것으로 알려져 있어 (Dufault, 1998) 등굴레에서도 유묘출현과정에서의 양액공급이 출현과 성장에도 영향을 미칠 것으로 예측되나 이에 대한 연구는 전무한 실정이다.

등굴레 종자의 발아와 종자로부터 발달되는 유묘의 성장특성이 구명되어야 등굴레의 종자를 이용한 육묘가 가능하게 될 수 있을 것이다. 등굴레 종자는 hilum과 주공이 반대편에 위치하고 있는 직생배주이며 배는 linear type로 배유의 중앙으로 벗어있는 형태를 취하고 있는 것으로 보고되고 있다 (Atwater, 1980; 류영섭, 1997). 그러나 발아는 배의 하부, 즉 하배축이 신장함으로서 배의 상부가 종피 밖으로 돌출된 후 일정기간 신장하면 지하경의 최초 조직인 소주아와 뿌리로 발달된다. 상배축은 발육중인. 소주아의 정단에 형성되는 것으로 알려져 있으나 효율적 휴면타파 및 다량육묘를 위한 소주아, 뿌리 및 상배축의 발달 과정 또는 내부구조에 관한 보고는 거의 없는 실정이다. 따라서 지하경 번식을 대체할 수 있는 종자를 이용한 다량육묘가 성공하기 위하여는 이를 효율화할 수 있는 종자발아, 소주아 형성 및 상배축 휴면타파 전후의 형태 또는 내부 조직의 변화를 체계화할 필요성이 있다 (Baskin 등, 1998b,c). 따라서 육안 또는 현미경 등 최신 기자재를 이용한 체계적인 조사가 뒤따라야 할 것이다.

한편 종자를 이용하여 육묘된 유묘와 기존의 등굴레 재배 방식인 지하경을 이용한 재배는 등굴레의 성장형태가 다를 것으로 예상된다. 지하경을 이용한 재배에서 정식기 지하경은 종자번식을 통하여 확보된 유묘보다도 지하경이 상대적으로 크기 때문에 정식 이후의 생장은 빠를 것으로 예상될 수 있으나 이들의 성장형태를 상호비교한 자료는 많지 않다. 따라서 지하경을 정식한 것과 종자번식을 통하여 육묘된 유묘를 정식한 것의 성장형태를 자료화하기 위하여는 상호비교가 가능한 시험이 수행되어야 할 것이다.

따라서 등굴레의 재배면적을 확대하여 경쟁력을 높이기 위하여는 종자를 이용한 육묘체

계가 반드시 확립되어야 할 것이다. 종자를 이용한 다량육묘 체계를 구축하기 위하여는 이미 학계에 보고된 자료(陳瑛, 1987a,b; 강진호 등, 1996, 1997a,b)를 기초로 육묘효율을 높이기 위한 기초 및 응용시험이 병행되어 진행되어야 할 것이다. 따라서 본 소과제가 지향하는 다량재배를 위한 다량육묘 기술을 개발하기 위하여 ① 과종전에 종자에 가할 수 있는 처리가 등굴레의 발아 및 소주아 형성에 미치는 영향을 추적하여 최적 종자처리 방법을 확립하고, ② 육묘기간을 18개월에서 적어도 7개월 이내로 단축하기 위하여는 합리적인 상배축 휴면 타파방법이 설정하며, ③ 상배축 휴면타파 후 적절한 환경을 유지하거나 관리할 수 있는 방법을 강구하며, ④ 효율적인 처리방법을 설정하기 위하여 발아에서 육묘출현 이후 일정기간 동안 형태 및 내부 조직의 변화를 추적하는 방향으로 세부목표를 설정하여 본 소과제를 실시하였다.

제 2절 재료 및 방법

본 소과제는 1996년 10월부터 2000년 4월까지 경상대학교 부속시험농장 및 농학과 공예·작물학 실험실에 각각 설치되어 있는 종자발아상, 저온처리용 냉장고 및 항온항습실을 이용하여 실시되었으며 연구의 공통사항은 다음과 같다. 먼저 시험에 이용된 공시종자는 경남농업기술원 함양약초시험장, 경남 산청군 산청읍과 의령군 칠곡면에 소재하고 있는 재배농가에서 채종한 종자를 기존의 연구결과에서 보고 (강진호 등, 1997a)한 방법으로 15℃에서 3개월간 후숙처리한 후 냉장고에 보관하였다.

발아시험은 petri dish와 상토를 이용한 시험으로 구분하였는데 petri dish를 이용한 시험은 먼저 105℃에 4일간 살균된 모래를 넣은 직경 9 cm의 petri dish에 처리된 종자를 100립씩 3반복으로 파종하여 25℃ 항온에서 발아시험을 수행하였으며, 상토시험은 이러한 petri dish의 시험결과의 최적조건을 근거로 수행하였다. 더불어 상토시험은 plastic 상자 (47 cm x 37 cm x 8 cm)에 본 연구의 초기단계에서 수행된 최적 상토선발 시험에서 도출된 '토실이' 상토를 4 cm 정도 채워 처리된 종자를 파종한 후 2 cm로 복토하고는 3일에 한번씩 관수하는 형태로 발아시험을 수행하였다. 발아시험중의 광조건은 상배축 휴면타과 처리가 이루어지기 전까지는 암상태에서, 상배축 휴면타과 처리 이후의 유묘출현기에서는 白色光을 조명하였다. 온도에 대한 반응을 추적하고자 온도를 달리 처리하거나 포장 또는 초자온실에서 수행된 시험을 제외하고는 25℃ 항온으로 시험온도를 고정하여 수행하였다. 기타 시험 수행은 AOSA (1981) 및 ISTA rule (1985)에 준하여 실시하였다.

상배축의 휴면타과는 경남농업기술원 함양약초시험장에서 채종한 동굴레 종자를 전보 (강진호 등, 1996, 1997a)와 같이 15℃ 항온에서 3개월간 후숙시킨 것을 10% KOH에 40분간 종피를 연화시키고는 3℃에서 8주간 저온처리를 가하여 위에서 언급한 것과 동일한 plastic 상자에 파종하였다. 파종된 종자를 25℃ 항온의 암상태에서 12주간 발아시킨 후 상배축 휴면타과 처리를 가하는데 필요한 공시재료로 이용하였다. 그 다음 상배축 휴면타과 처리를 가한 후의 관리로서 온도는 25℃ 항온으로, 광도는 $4.9 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 로 조절된 생육상에서 3일마다 한번씩 관수하는 형태로 시험을 수행하였으며, 기타 관리는 전보 (강진호

등, 1996)에 준하여 실시하였다.

상배측 휴면타과 이후 유묘출현을 향상방안, 배와 지하경의 성장형태 구명 또는 다량재배 기초체계확립에 이용된 공시재료는 상기 상배측의 휴면타과와 동일하게 처리한 후 상배측의 휴면을 타과시키기 위하여 6~8주간의 저온처리를 가하였다. 상배측 휴면타과를 위한 처리 후에는 온도를 25℃ 항온으로 고정된 생육장에서 일부 시험이 수행되었으나, 온도가 조절되지 않는 초자온실에서도 원활히 출현 및 성장된다는 시험결과를 얻은 이후부터는 생육장과 비교하여 온도와 수분의 변이가 비교적 큰 초자온실에서 시험을 수행하였다. 기타 관리 역시 전보 (강진호 등, 1996, 1997b)에 준하여 실시하였다.

배와 지하경의 성장형태를 구명하기 위한 종자와 유묘의 외부형태 또는 내부조직의 절단면을 입체현미경 (SMZ-2T, Nikon) 또는 광학현미경 (Eclipse E600, Nikon)을 이용하여 촬영하였다. 시료의 절단은 microtome (Microm HM 325, Carl Zeiss)을 이용하였으며, 시료를 착색하여 촬영한 절차는 먼저 45%의 acetic acid 100 ml에 carmine 1 g을 넣어 가열·교반시킨 후 냉각된 용액을 여과지로 보관병에 여과하는 방법으로 carmine 용액을 조제하였으며, 동굴레 종자 또는 발아중인 유묘를 carmine 용액에 1.5~2일간 침지하여 착색시킨 다음 증류수로 0.5~1시간 탈색시켜 현미경으로 촬영하였다.

본 소과제에서의 조사방법 및 조사항목으로는 상토시험을 효율적으로 수행하기 위하여 먼저 petri dish를 이용한 최적 처리조건에서는 종자로부터 胚軸이 1 mm 이상 돌출한 것을 발아개체로 小珠芽 및 地下莖이 완전히 형성된 것을 소주아 형성개체로 하여 이들의 비율을 환산·분석하였다. 최적 처리조건이 설정된 후 상토를 이용한 시험에서는 發芽數, 小珠芽 및 地下莖 形成數, 子葉鞘 破裂數, 上胚軸 伸長 個體數, 小珠芽長, 根長 및 根數 등을 파종 후 6주, 12주 또는 상배측 휴면타과를 위한 저온처리가 끝난 직후 또는 일정 간격으로 조사를 실시하였으며, 상배측 휴면타과를 위한 처리기간간의 차이에서 오는 조사형질의 변이는 처리시 발아율을 기준으로 환산·표시하였다. 기타 각항목의 처리내용과 시험수행에 서의 특이사항은 다음과 같다.

1. 다량육묘 기술개발

가. 발아 및 소주아 형성을 향상방안

1) 최적상토 선발: 배양토의 종류에 따른 발아, 소주아 형성 및 육묘 생산의 변화를 알고자 수분을 장기간 균일하게 유지할 것으로 기대되는 peat moss, 훈탄 등을 ① 75% peat moss + 24% perlite + 1% vermiculite; ② 50% 훈탄 + 25% peat moss + 24% perlite + 1% vermiculite; ③ 25% 훈탄 + 50% peat moss + 24% perlite + 1% vermiculite로 혼합된 3개처리와 '토실이' 상토를 對照區로 하여 시험을 실시한 후 6주와 12주에 발아, 소주아 형성을 조사하였다.

2) 종자의 층실도: 종자의 품질이 육묘효율에 미치는 영향을 조사하고자 관리가 아주 양호한 경남농업기술원 함양약초시험장 전시포에서 채종한 종자와 경남 의령군 정곡면 소재 농가에서 재배중인 등글레 중에서 가장 불량한 것과 중간 정도에 해당되는 종자를 공시하여 발아시험을 수행하였다.

3) 후숙: 채종 후 15℃에서 3개월 이상의 후숙이 이루어져야 발아 및 소주아 형성이 촉진된다는 petri dish를 이용한 시험결과 (류영섭, 1997)가 상토를 이용한 다량육묘에서도 적용가능한가를 검증하고자 토실이 상토를 이용하여 후숙처리를 하지 않은 종자와 15℃에 3개월간 후숙시킨 종자로 구분·처리한 후 처리된 종자 모두를 3℃에 8주간 저온처리하여 발아시험을 수행하였다.

4) Priming 처리: 본 항목은 종자발아에 효과가 있는 여타 시험과 같이 (Andreoli 등, 1993; Frett 등, 1991; Haigh 등, 1987; Sachs, 1977) priming 효과를 구명하고자 두 개의 시험이 수행되었으며, priming 제로서 많이 이용되고 있는 KNO_3 와 $Ca(NO_3)_2$ 를 이용하여 농도를 無處理, 50, 150 및 300 mM로, 처리기간을 對照區 無處理, 1주 및 2주로 분리·처리한 후 발아온도를 25℃로 고정하여 petri dish에서 3반복으로 시험을 수행하였다. Petri dish를 이용하여 도출된 결과가 상토를 이용한 다량육묘에서도 발아 및 소주아 형성을 높일 수 있는가를 검토하고자 對照區 無處理와 KNO_3 와 $Ca(NO_3)_2$ 를 50 mM에 1주간 priming한 후 토실이 상토에 파종하여 시험을 수행하였다.

5) 저온처리: 과종전의 종자처리로서 효과가 있는 것으로 알려진 저온처리 (Chong 등, 1995)가 등굴레 종자의 발아에 미치는 영향을 파악하고자 침지된 종자를 4, 8, 12, 16주간 3°C 저온처리를 가한 후 발아온도를 25°C 항온으로 고정하여 토실이 상토로 발아시험을 수행하였다.

6) 종피연화 및 GA₃ 처리: 非休眠種子의 발아를 가속화할 뿐만 아니라 종자의 휴면타파에 효과가 있는 것으로 알려진 GA₃ 처리가 등굴레의 종자발아에도 효과가 있는 것으로 알려져 있을 뿐만 아니라 종피연화 처리의 효과가 있는 것으로 나타나 (강진호 등, 1996) 10% KOH에 40분간 종피연화 처리를 가한 후 GA₃ 1.0 mM에 8일간 처리를 가하거나, 가하지 않은 無處理를 상호조합하여 25°C 항온에서 토실이 상토를 이용하여 발아시험을 수행하였다.

7) 종피연화 및 저온처리: 종피연화 및 저온처리 (강진호 등, 1996)가 발아 및 소주아 형성율을 향상시킬 수 있는가를 검토하기 위하여 종자를 10% KOH 용액에 40분간 침지하거나 침지하지 않은 종피연화 處理有無, 종피연화 처리 후 3°C에 8주간 저온처리를 가하거나 가하지 않은 저온처리 有無 및 對照區 無處理를 상호조합하여 상토를 이용하여 발아시험을 수행하였다.

8) 저온처리 前後의 종피연화 처리: 상기시험의 결과에서 종피연화 후 8주간의 저온처리를 가할 경우 발아 및 소주아 형성율이 향상되는 결과로 나타나 8주간의 저온처리 전에 종피연화를 실시할 경우와 저온처리 후에 종피연화를 실시할 경우 발아 및 소주아 형성에 차이가 있는가를 검토하고자 對照區 無處理와 10% KOH 용액에 40분간 침지하기 전 또는 후에 저온처리를 실시한 후 상토에서 발아시험을 수행하였다.

9) Seddlot 효과: 시험수행과정에서 시험항목별 발아 및 소주아 형성율에 차이가 있어서 채종 지역간 차이를 검증하고자 재배관리가 상대적으로 가장 양호한 경남농업기술원 함양 약초시험장에서 채종한 종자와 상업적 재배를 시도하고 있는 산청군 산청읍에 위치한 산청식품의 재배포장에서 채종한 종자와 관리가 조방적으로 이루어지는 의령군 칠곡면의 농가포장에서 채종한 종자를 10% KOH에 40분간 종피연화 처리를 가하거나 가하지 않은 무

처리와 3℃에 8주간 저온처리를 가하거나 가하지 않은 무처리를 상호조합 처리한 후 발아 시험을 수행하였다.

10) 종피연화와 저온 복합처리 후 GA₃ 처리: 상기 시험에서 등골레 종자의 발아 및 소주아 형성은 종피연화를 실시한 후 저온처리를 가하는 것이 가장 양호한 결과를 보였으며 한편으로는 GA₃ 처리에 의하여 조장되는 것으로 나타나 (강진호 등, 1996) 無處理 또는 10% KOH에 40분간 종피연화에 이어 8주의 저온처리를 가한 후 GA₃ 1.0 mM에 8일간 침지하거나, 침지하지 않은 GA₃ 처리 有無를 상호조합하여 처리한 후 상토를 이용하여 발아 시험을 수행하였다.

11) 종피연화 처리 후 저온처리 기간에 따른 차이: 상기 시험의 결과 종피연화 후에 저온처리를 가하는 것이 등골레 종자의 발아 및 소주아 형성을 조장하는 것으로 나타났으나 육묘기간의 단축 가능성을 검토하고자 종피연화 후의 저온처리 기간을 10% KOH에 40분간의 종피연화처리 후에 바로 파종하거나 4주 또는 8주의 저온처리를 가한 다음 상토에 파종하여 발아시험을 수행한 후 발아 및 소주아 형성율을 비교·분석하였다.

나. 효율적 상배축 휴면타파 방법설정

1) Gibberellin (GA₃) 처리: 상배축 휴면타파 기간을 단축하기 위하여 petri dish에서 수행된 GA₃ 처리의 최적결과가 다량육묘에서도 적용될 수 있는가를 검토하고자 토실이 상토 1,530 cm³에서 파종 후 12주간 발아를 거쳐 소주아에 상배축이 형성된 개체를 함유한 plastic 상자 (47 cm x 37 cm x 8 cm)에 GA₃ 1.0 mM 용액 70 ml를 2일 간격으로 2회 (4일) 또는 4회 (8일) 관주하여 상배축의 휴면타파를 유도하였으며 처리 직후, 3주 또는 6주에 출현 및 성장과 관련된 형질을 조사하였다.

2) 저온처리: 상배축 휴면타파에 대한 저온처리의 효과를 구명하기 위하여 상기 GA₃ 처리와 같이 육묘된 것을 3℃ 저온의 암상태에서 4주, 6주, 8주, 12주간 처리를 가한 후 포장에 전개시킨 당일, 3주 또는 6주 후에 출현과 성장과 관련된 형질을 조사하였다.

다. 유묘출현을 향상방안

후숙처리된 종자를 종합고찰의 그림 14와 같이 상배측 휴면타과를 위하여 저온처리가 끝난 유묘를 다음과 같이 처리를 가하였다. 기타 관리방법은 다량육묘 기술개발에서 언급된 방법에 준하여 실시하였다.

1) 온도: 등굴래의 상배측 휴면타과와 이후의 생장에 관한 상기 시험과 타시험의 결과(강진호 등, 1997b)는 온도, 광도 등 환경요인들이 정교하게 조절되는 생육장에서 시험이 수행된 결과로서 이러한 시험결과가 환경변이가 심한 포장에 순화과정 없이 바로 적용될 수 있는가를 검토하고자 휴면타과가 이루어진 개체를 對照區 초자온실, 15℃ 또는 25℃로 온도를 달리 처리한 직후, 6주 및 12주에 유묘의 출현과 생장에 관련된 형질을 조사하였다.

2) 광도: 광도가 일정하게 조절되는 생육장과 광도가 비교적 강한 포장간에 유묘 출현과 생장에 차이가 있는가를 검토하기 위하여 휴면타과가 이루어진 개체를 자연광을 직접 받는 초자온실의 대조구 무차광 100% ($8.60 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$), 차광막을 이용하여 無遮光의 80% ($6.96 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)와 55% ($4.90 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$)로 차광을 실시한 직후, 6주 및 12주에 유묘의 출현과 생장에 관련된 형질을 조사하였다

3) 양액공급: 상기 저온처리 과정을 통하여 육묘된 유묘를 저온처리가 끝남과 동시에 증류수만 공급하는 對照區와 실험실에서 아래와 같이 조제된 액비를 상자당 400 ml를 1주 1회 6주간 공급하면서 저온처리 직후, 양액공급이 끝나는 6주 및 12주에 유묘의 출현과 생장에 관련된 형질을 조사하였다. 액비 조제는 증류수 1 ℓ에 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 708 mg, $\text{MgSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 246 mg, KNO_3 505 mg, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 230 mg, H_3BO_3 1.24 mg, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.124 mg, Fe-EDTA 4 mg, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2.2 mg, H_2MoO_4 0.08 mg, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.15 mg 을 희석하였으며, 소형의 물조리개를 이용하여 관주하였다.

2. 배와 지하경의 성장형태 구명

종자, 발아중인 개체 또는 성장중인 유묘의 외부형태 또는 내부조직은 앞서 설명한 바와

같이 수행하였으며, 기타 시험수행과정에서 특이 사항은 아래와 같다.

가. 발아중 배의 형태 변화: 경남농업기술원 함양약초시험장에서 채종한 후 정선한 종자의 seedlot로부터 무작위로 종자를 취하여 종자의 외부 및 내부 형태의 변화를 측정하는데 이용하였다. 종자의 외부 크기는 100립씩 10반복으로, 종자를 2등분한 후 측정된 배의 크기는 20립씩 5반복으로 측정하였다. 후숙중인 배의 종자는 후숙처리로 발아 및 소주아 형성율이 증가된다는 보고 (강진호 등, 1997a)로부터 후숙중에 배의 크기가 변화하는 것을 구명하고자 후숙온도를 15, 25, 35℃로, 처리기간을 1, 3, 5, 7개월로 구분·처리한 후 종자를 절단하여 입체현미경으로 내부를 촬영하는 방법으로 배의 변화를 관찰하였다.

나. 유묘의 성장단계별 내·외부 형태 변화: 발아중인 종자의 내부구조는 petri dish에 건열소독된 모래를 채운 후에 파종하여 발아된 종자를 시험재료로 이용하거나, 상기와 동일한 크기의 plastic 상자에 토질이 상토를 채운 후에 일정한 간격으로 파종을 실시하고는 동시에 물로 씻어 유묘의 성장단계별 형태를 위한 재료로 이용하거나, 또는 절단하여 상기와 같이 carmine으로 착색하여 현미경 촬영을 위한 재료로 이용하였다. 한편 유묘의 외부형태 촬영은 아래에 제시된 그림 14와 같이 상배측 휴면을 위한 저온처리가 끝난 후 온도와 광도가 상대적으로 약한 생육장에서의 유묘의 출현형태와 자연상태에서 모기장으로 20% 정도 차광을 시키거나 시키지 않고 6주간 육묘한 후 유묘 및 엽의 기공을 촬영하였다. 묘령에 따른 형태의 변화를 관찰하고자 1차로 아래의 그림 14와 같이 육묘되어 단자엽이 형성된 유묘와 종자가 발아하여 단자엽이 형성된 유묘를 4주간 인위적으로 3℃의 저온처리를 가하여 경엽을 지움과 동시에 휴면을 타파시켜 새로운 엽이 출현하여 약 6주 성장된 유묘를 시험재료로 이용하였다.

다. 유묘 지하경의 분지형태 구명: 지하경이 분지되는 모습은 앞의 2개 항목과 중복되기 때문에 앞의 결과로 외부형태의 특성이 설명될 수 있으며, 추가하여 소주아, 뿌리 및 상배측의 형태를 성장 단계별로 조직을 절단하여 앞서 서술한 바와 같이 carmine으로 착색하여 광학현미경으로 확대·촬영하였다.

3. 다량재배 기초체계 확립

본 항목을 수행하기 위한 공시재료는 아래의 그림 14와 같이 저온처리가 끝나 출현중인 개체 또는 출현된 유묘가 완전히 단자엽을 갖춘 것을 이용하였으며, 기타 시험수행과정에서 특이 사항은 아래와 같다.

가. 苗齡에 따른 유묘의 성장: 저온처리 횟수에 따른 지하경의 신장형태를 비교하기 위하여 소주아가 형성된 개체를 1회 저온처리하여 유묘로 출현시킨 것을 1년차로, 1년차 유묘를 3℃에서 인위적으로 6주간 저온처리를 가하여 휴면을 유도한 후 다시 상온에 전개시켜 상배축을 출현시킨 것을 2년차로 하여 연차별 유묘의 지하경 및 성장형태를 관찰하였고, 유묘 지하경의 성장형태가 연차간에 차이가 있는지를 구명하기 위하여 각 연차간의 성장관련 형질들을 각각 저온처리한 후 15주에 조사하였다

나. 우수 육묘방법별 비교: 앞에서 논의된 다량육묘 기술개발의 유묘출현을 향상방안 시험항목에서 온도는 저온인 15℃에서 유묘출현 또는 생장이 둔화되어 유묘출현기를 예상하여 파종하여야 하는 것으로 결론이 유도되었으나 차광과 양액공급은 처리가 비교적 용이하다고 할 수 있다. 특히 등굴레의 종자를 이용한 육묘는 장기간 지속되기 때문에 육묘과정에서 적절한 양분공급이 이루어져야 양질묘를 생산할 수 있는 것으로 예측되고 상기 시험에서 80%로 광도를 줄이는 것이 엽면적을 증대시켜 유묘의 형태를 변화시키는 시험결과로부터 對照區 無遮光과 80%로 차광, 증류수만 공급하는 對照區와 상기 양액공급의 시험항목과 같이 양액공급 처리를 상호조합하여 상배축 휴면타파를 위한 6주간의 저온처리 직후, 6주 및 12주에 유묘의 출현과 성장에 관련된 형질을 조사하였다.

다. 최적 종자번식을 통한 유묘와 지하경 정식시 성장비교: 본 시험에 이용된 유묘는 아래의 그림 14와 같이 상배축 휴면타파를 위한 저온처리가 끝난 후 유묘가 출현하는 과정에서 차광되지 않는 초자온실에 전개하여 육묘된 것과 경남농촌진흥원 함양약초시험장에서 분양 받은 지하경을 종근으로 식재하여 12주 후에 이들의 성장을 비교·분석하였다.

제 3절 결과 및 고찰

1. 다량유묘 기술개발

가. 발아 및 소주아 형성을 향상방안

1) 최적상토 선발

배양토의 종류에 따른 발아, 소주아 형성 및 유묘 생산의 변화를 알고자 수분을 장기간 균일하게 유지할 것으로 기대되는 peat moss, 훈탄 등을 ① 75% peat moss + 24% perlite + 1% vermiculite; ② 50% 훈탄 + 25% peat moss + 24% perlite + 1% vermiculite; ③ 25% 훈탄 + 50% peat moss + 24% perlite + 1% vermiculite)과 같이 조합하고 '토실이' 상토를 對照區로 하여 발아온도 25℃에서 시험을 수행한 결과는 그림 1과 같다. 파종 후 6주

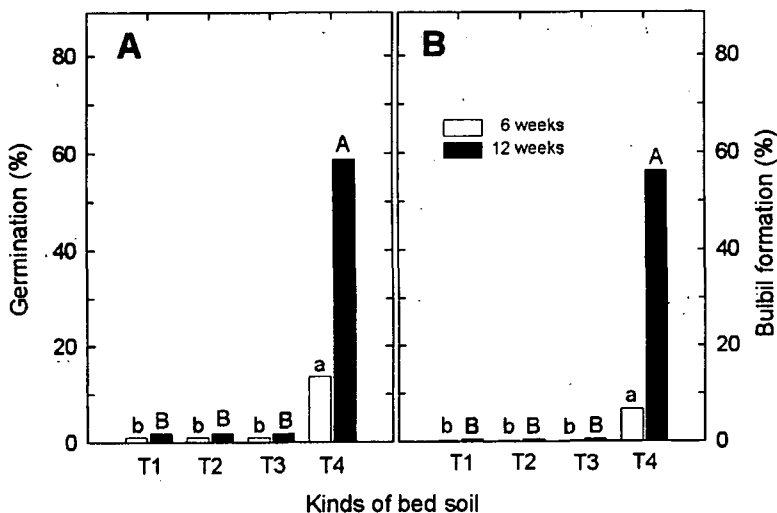


Fig. 1. Seed germination (A) and bulbil formation (B) of *P. odoratum* on 6 or 12 weeks after sowing affected by of bed soil. Letters in the X-axis indicate T1, 75% peat moss + 24% perlite+ 1% vermiculite; T2, 50% burnt chaff + 25% peat moss + 24% perlite + 1% vermiculite; T3, 25% burnt chaff + 50% peat moss + 24% perlite + 1% vermiculite and T4, Tosile. Experiment was done at darkness and 25℃ constant temperature. Within the same character the bars having the different letter are significantly different at LSD.05.

및 12주에서의 발아율 또는 소주아 및 지하경 형성 정도는 '토실이' 상토를 이용한 對照區 보다는 peat moss, 훈탄 등을 주재료로 perlite 및 vermiculite 등을 보조재료로 상토를 혼합한 처리에서 아주 낮은 것으로 나타났다. 발아에 이어 소주아 및 지하경이 형성되는 기간이 장기간이라 할 수 있는 4개월 이상 소요되는 과정에서 등굴레 종자가 거의 전부 부패되는 것을 관찰할 수 있었는데 이러한 원인은 훈탄 등에 포함된 염기성 물질의 영향에 의한 것으로 예측되었다. 따라서 상업용 '토실이' 상토를 시중에서 구입하여 본 과제를 수행하거나 다량육묘에 이용하는 것이 바람직할 것으로 사료된다.

2) 종자의 충실도

등굴레 종자는 일반작물과 달리 공공기관에서 분양되거나 상업적으로 유통되고 있지 않아 재배자가 직접 채종하여 사용하여야 하기 때문에 채종종자의 품질이 발아, 나아가 육묘효율에도 영향을 미칠 것으로 예상되어 종자의 품질에 지대한 영향을 미치는 채종포의 관리상태가 발아 및 소주아 형성에 미치는 영향을 조사한 것은 표 1과 같다.

Table 1. Effect of seedlot and presowing treatment on germination and bulbil formation of *Polygonatum odoratum* seeds at 6 weeks after sowing¹⁾

Collection site	Germination						Bulbil formation					
	1 ²⁾	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
	%											
Hamyang [†]	0.0	0.8	6.1	31.4	57.6	62.3	0.0	0.0	0.4	7.9	26.1	59.7
Uiryung 1	0.0	0.5	4.1	18.9	36.3	53.8	0.0	0.0	0.2	3.2	12.5	36.1
Uiryung 2	0.0	0.3	2.4	10.6	21.1	32.0	0.0	0.0	0.1	2.5	8.1	25.2
LSD.05	0.0	ns	2.9	7.6	9.8	10.3	0.0	0.0	ns	2.5	4.7	9.1

¹⁾ Seeds were treated with 10% KOH for 40 minutes before prechilled at 3°C for 8 weeks.

²⁾ Weeks after sowing

[†] Seed quality from Hamyang, Uiryung 1 or Uiryung 2 was good, medium or poor, respectively.

파종 후 6주까지 조사된 발아율과 소주아 형성율은 파종 2주 후부터 상대적으로 관리상태가 가장 양호한 경남농업기술원 함양약초시험장 전시포에서 채종한 종자가 가장 높은 반면, 경남 의령군 재배농가에서 채취한 종자의 충실도에서 가장 불량한 의령 2에서 가장 낮았다. 그러므로 등굴레의 종자를 이용하여 육묘할 경우 종자는 관리가 아주 양호한 재배지에서 채종하여 사용하여야 할 것이다.

3) 후숙처리

채종 후 15℃에서 3개월간 후숙시킨 종자와 후숙시키지 않은 종자를 상토를 이용하여 발아시험을 수행한 결과 파종 후 6주와 12주에서의 발아관련형질을 조사한 것은 표 2와 같다. 파종 후 6주와 12주 모두 발아 및 소주아 형성율은 후숙처리되지 않은 종자에 비하여 후숙처리된 종자에서 높았다. 그러나 소주아 및 뿌리 길이는 파종 6주후에는 후숙된 종자에서 길었으나 12주로 발아기간이 증가하면 후숙처리 有無간에 차이가 없었으며 근수도 동일한 경향을 보였다 (표 2). 따라서 이러한 경향은 기존의 보고 (강진호 등, 1997a; 류영섭, 1997)와 동일한 것으로 나타나 등굴레 종자의 발아와 소주아 형성율을 높이고 양질의 幼苗를 생산하기 위하여는 등굴레 종자의 후숙처리는 반드시 이루어져야 할 것이다.

Table 2. Effect of after-ripening (AP) treatment on seed germination and seedling morphology of *P. odoratum* at 6 or 12 weeks after sowing

Treatments	Germination		Bulbil formation		Bulbil length		Root length		Root number	
	6 ¹	2	6	12	6	12	6	12	6	12
	%				cm plant ⁻¹		no plant ⁻¹			
None	52.3	66.7	69.4	96.0	0.37	0.70	2.70	4.10	1.33	3.67
AP ²	63.0	78.0	71.9	96.5	0.57	0.77	3.33	4.83	1.33	4.33
LSD.05	3.7	7.0	0.9	1.7	0.13	ns	0.53	ns	ns	ns

¹ Weeks after sowing.

² Treated at 15℃ for 3 months.

4) Priming 처리

동굴레 종자발아에 priming의 효과가 있는가를 구명하고자 priming 제, priming 농도와 처리기간으로 구분하여 발아시험을 수행한 결과는 그림 1과 같다. KNO_3 또는 $Ca(NO_3)_2$

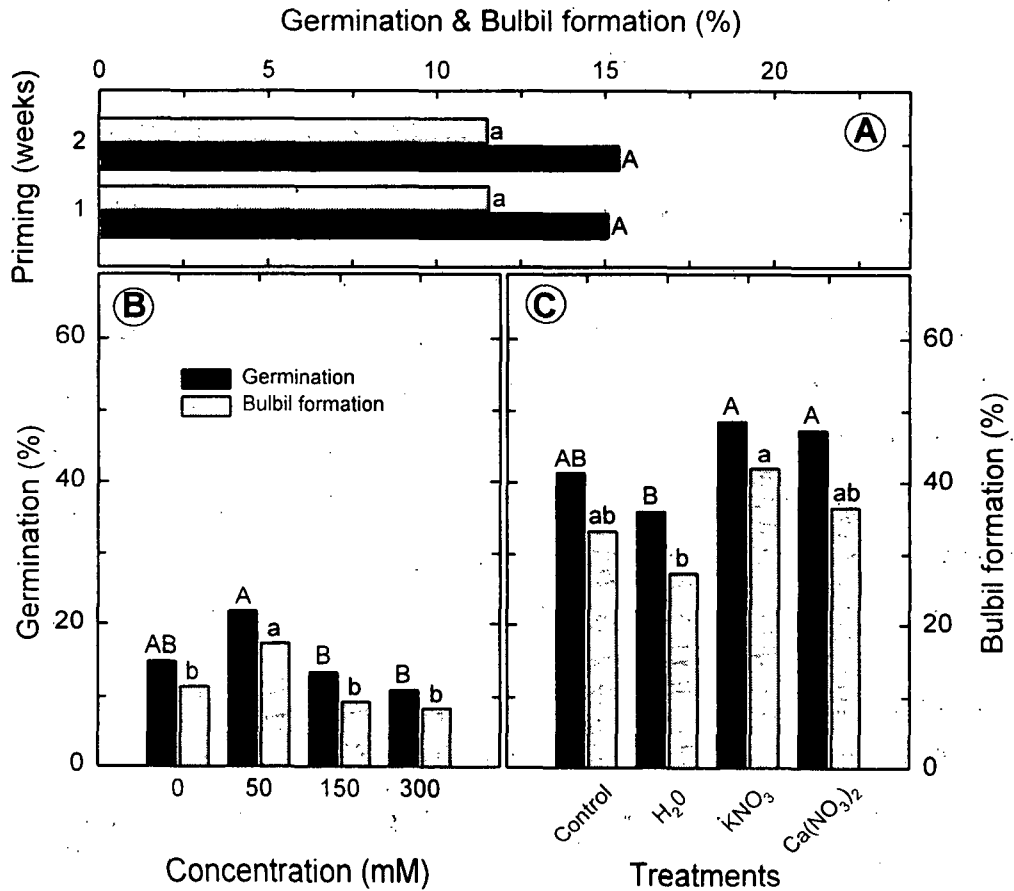


Fig. 2. Seed germination and bulbil formation of *Polygonatum odoratum* on the 12 weeks after sowing as affected by priming period (A), concentration of potassium nitrate and calcium nitrate (B), or no imbibition (Control), water imbibition and materials primed by 50 mM for 2 weeks before sowing. Experiment was done at darkness and 25°C constant temperature. Within the same character the bars having the different letter are significantly different at LSD.05.

를 이용한 priming시 1주와 2주의 처리기간은 발아와 소주아 형성에 영향을 미치지 않는 것으로 분석되었다 (그림 2 A). 그러나 발아와 소주아 형성은 KNO_3 또는 $Ca(NO_3)_2$ 50 mM로 priming할 경우 가장 양호하였고 (그림 2 B), 종자를 물에 전혀 침지하지 않거나 2주간 침지한 것에 비하여 KNO_3 또는 $Ca(NO_3)_2$ 로 priming할 경우 발아율은 향상되었던 반면, 小珠芽 形成은 KNO_3 처리에서만 증가하는 것으로 나타났다 (그림 2 C).

Petri dish에서 행한 이상의 시험결과가 다량육묘에도 적용될 수 있는가를 검증하기 위하여 KNO_3 또는 $Ca(NO_3)_2$ 50 mM에 1주간 처리하거나 처리를 가하지 않은 對照區 無處理로 구분·처리한 후 토실이 상토를 이용하여 발아시험을 수행한 결과는 그림 3과 같다. Petri dish로 행한 시험결과 (그림 2 B, C)와는 달리 처리를 가하지 않은 無處理에 비하여 오히려 priming 처리로 발아와 소주아 형성은 억제되는 것으로 나타났다. 따라서 petri dish로 행한 상기 결과를 다량육묘에 적용하는 것은 바람직하지 않다고 할 수 있다 (그림 3).

5) 저온처리

저온처리 기간이 발아정도에 미치는 효과를 구명하고자 3°C에 4, 8, 12, 16주로 저온처리 기간을 달리하여 치상 후 2주부터 12주까지 발아율을 조사한 것은 그림 3과 같다. 파종 전 저온처리를 12주 가할 경우 파종 6주후부터 발아율이 가장 양호하였으나 파종 후 10주 경부터는 8주의 저온처리와는 차이가 없는 것으로 조사되었다. 한편 소주아 형성율은 저온처리 기간이 상대적으로 짧거나 긴 4주와 16주 처리에서는 파종 후 9주 이후부터는 증가가 둔화되어 낮은 경향을 보였던 반면, 12주 저온처리에서 가장 높다고 하나 8주 처리와는 차이가 없는 것으로 분석되었다. 따라서 파종 전 저온처리는 8~12주가 적정 처리기간이라고 판단되었다.

6) 종피연화 및 GA_3 처리

등골래 종자는 硬實로서 KOH로 종피를 연화시키거나 GA_3 용액에 침지하여 파종하면 발아 및 소주아 형성이 조장된다는 시험결과 (강진호 등, 1996; 류영섭, 1997)로부터 이들

을 단독처리하거나 혼용처리할 경우 처리효과를 구명하고자 전혀 처리를 가하지 않은 無處理 對照區 (Control), 10% KOH에 40분간 종피연화하거나, GA₃ 1.0 mM에 8일간 침지하거나, KOH를 이용하여 종피연화 처리를 가한 후 GA₃를 처리하여 발아시험을 수행한 결과 파종 후 12주에서의 발아율과 소주아 형성율은 그림 5와 같다.

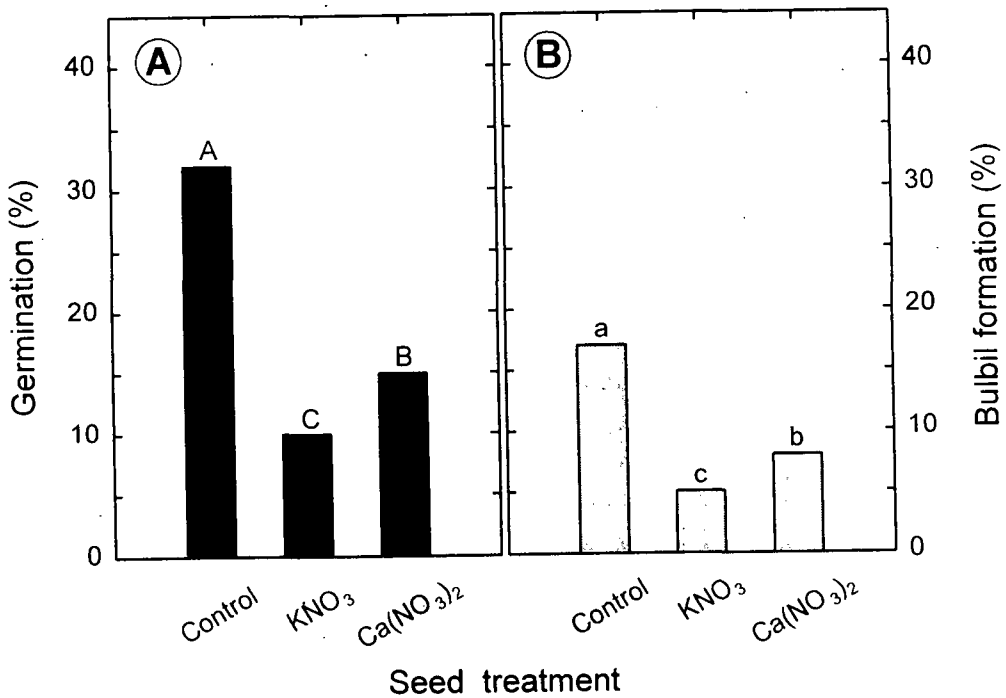


Fig. 3. Seed germination (A) and bulbil formation (B) of *P. odoratum* on the 12 weeks after sowing as affected by control of water imbibition and priming materials treated by 50 mM before sowing. Experiment was done at darkness and 25°C constant temperature and Tosile as bed soil. Within the same character the bars having the different letter are significantly different at LSD.05.

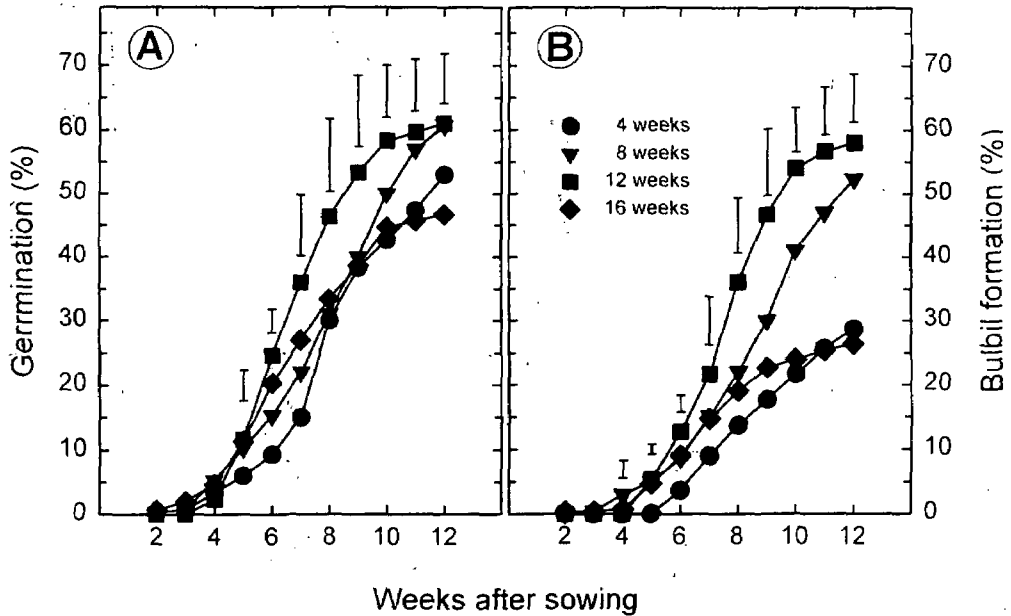


Fig. 4. Seed germination and bulbil formation of *P. odoratum* on the 12 weeks after sowing as affected by prechilling periods. Experiment was done at darkness and 25°C constant temperature. Within the same character the bars having the different letter are significantly.

KOH를 이용한 종피연화의 단독처리가 무처리, GA₃ 단독처리 또는 종피연화 처리후 GA₃ 처리를 조합한 혼용처리에 비하여 발아와 소주아 형성율이 높은 것으로 조사되었다. 종피연화와 GA₃의 혼용처리는 저온처리의 대체효과가 있는 GA₃ 단독처리에 비하여 오히려 처리효과가 적은 것으로 나타나 단용처리로서는 효과가 있는 것으로 보고 (강진호 등, 1996; 류영섭, 1997)된 종피연화와 GA₃의 혼용처리는 효과적인 등굴레 종자처리라고는 할 수 없었다.

7) 종피연화 및 저온처리

상기시험 항목과 마찬가지로 등굴레의 발아 및 소주아 형성에 효과가 있는 것으로 알

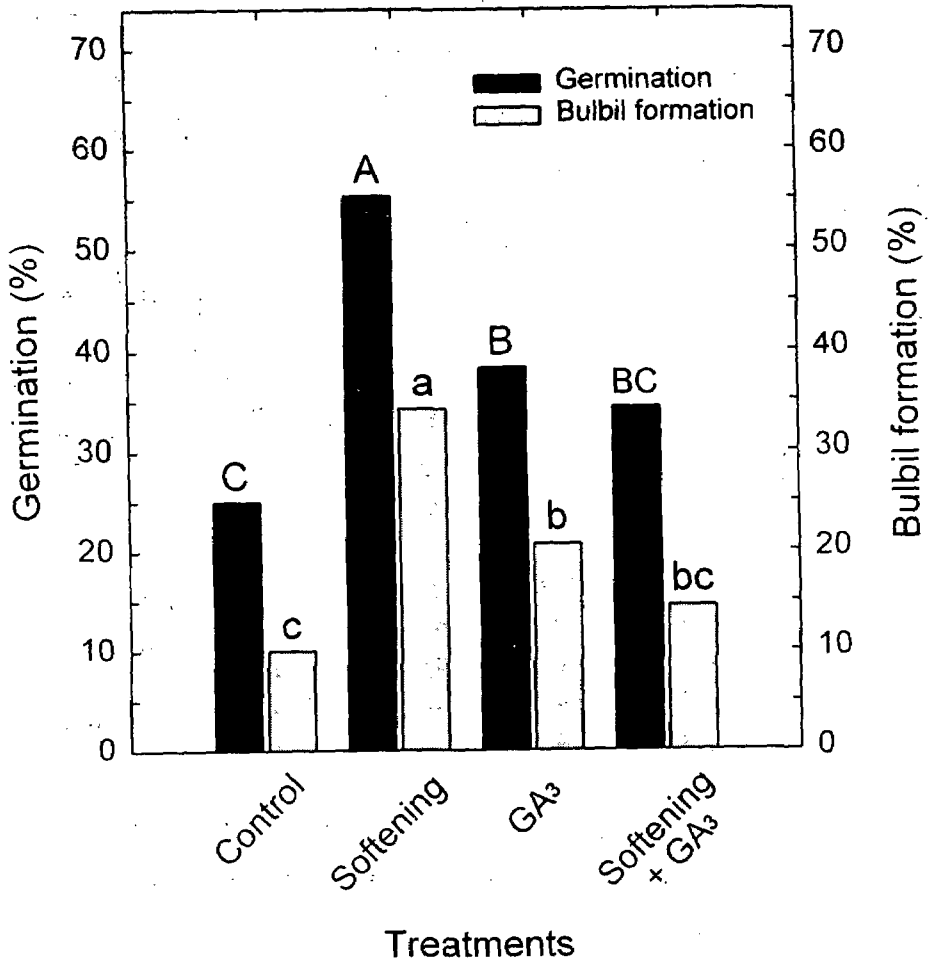


Fig. 5. Seed germination and bulbil formation rate of *Polygonatum odoratum* on the 12 weeks after sowing as affected by seed-coat softening by KOH, GA₃ and their combining treatments. KOH and GA₃ were treated by 10% for 40 minutes and 1.0 mM for 8 days, respectively. Experiment was done at darkness and 25°C. Within the same character the bars having the different letter are significantly different at LSD.05.

려진 (강진호 등, 1996) 종피연화와 저온처리의 혼용처리 효과를 구명하고자 등골래 종자

를 10% KOH 용액에 40분간 침지하거나 침지하지 않은 종피연화 처리유무와 종피연화 처리 후 3℃에 8주간 저온처리를 가하거나 가하지 않은 저온처리 有無로 구분하여 종피연화에 이은 저온을 가하는 방법으로 처리를 가한 후 발아시험을 수행한 결과 파종 후 6주와 12주에서 발아관련 형질의 요인별 처리평균은 표 3과 같다.

Table 3. Effect of seed-coat softening and prechilling on seed germination and seedling morphology of *P. odoratum* at 6 or 12 weeks after sowing

Parameters	Germination		Bulbil formation		Bulbil length		Root length		Root number	
	6 [†]	2	6	12	6	12	6	12	6	12
	%				cm plant ⁻¹				no plant ⁻¹	
Softening (S)										
None	56.0	61.8	88.5	95.3	0.51	1.08	3.48	4.93	1.83	4.50
KOH	60.8	70.5	77.9	97.0	0.60	1.28	3.85	5.22	2.00	4.67
LSD.05	3.7	2.5	8.0	ns	0.07	0.09	ns	0.27	ns	ns
Prechilling (weeks; P)										
0	41.3	47.8	87.9	94.8	0.45	1.10	3.42	4.90	1.83	4.33
8	75.5	84.5	78.6	97.4	0.67	1.26	3.92	5.25	2.00	4.83
LSD.05	3.7	2.5	8.0	ns	0.07	0.09	ns	0.27	ns	ns
S x P	ns	**	ns	ns	**	*	ns	ns	ns	ns

[†] Weeks after sowing.

ns, *, ** Nonsignificant or significant at 0.05 and 0.01 probability, respectively.

발아율과 小珠芽長은 파종 후 6주와 12주 모두 종피연화 처리를 가하는 것이 처리를 가하지 않은 무처리에 비하여 증가되었거나 길어졌던 반면, 근수는 처리간 차이가 없었다. 根長은 파종 후 6주에서는 차이가 없었으나 12주에서는 종피연화 처리로 길어지는 경향을 보였다. 종피연화 처리에 이은 8주간의 저온처리 효과도 종피연화 처리와 동일한 경향을 보였다. 따라서 종피연화 처리에 이은 저온처리로 등골레 종자의 발아를 향상시킬 수 있을 뿐만 아니라 상대적으로 강건한 苗를 생산할 수 있을 것으로 기대되어 이에 대한 검토가

있어야 할 것으로 보인다.

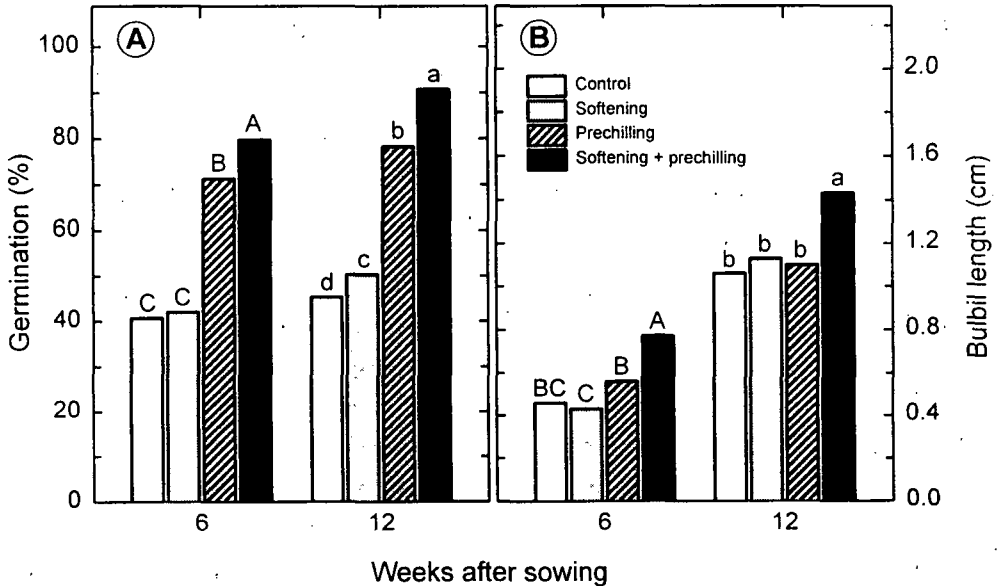


Fig. 6. Seed germination (A) and bulbil length (B) of *P. odoratum* on 6 or 12 weeks after sowing as affected by seed-coat softening (10% KOH, 40 min.), prechilling (3°C, 8weeks) and seed-coat softening before prechilling treatments. Bars with the same letter are not significantly different at LSD.05.

종피연화와 저온처리간에 상호작용이 있는 것으로 분석된 발아율과 소주아장 (표 3)의 처리수준별 변화는 그림 6과 같다. 발아율은 조사일 모두 종피연화 처리 후 저온처리를 가한 것에서 가장 높고, 저온 단독처리, 종피연화 단독처리와 무처리 순으로 감소하였다. 한편 小珠芽長은 파종 후 6주에서는 발아율과 유사한 경향이었으나 파종 후 12주에서는 종피연화 처리 후 저온처리를 가할 경우 가장 길었으나 타처리는 동일한 것으로 조사되었다.

8) 저온처리 전후의 종피연화 처리

상기 발아시험의 결과에서 가장 양호한 처리 조합인 종피연화와 저온처리의 처리방법이 발아 및 소주아 형성에 미치는 영향을 구명하고자 종피연화와 저온처리의 처리순서를

치환하여 발아시험을 수행한 결과는 표 4와 같다. 발아율은 조사일 모두 對照區 無處理에 비하여 종피연화 처리를 저온처리 전에 가할 경우 증가되었던 반면, 종피연화 처리를 저온처리 후에 가할 경우 감소되었다. 소주아 형성율은 파종 후 6주에서 무처리에 비하여 종피

Table 4. Effect of seed-coat softening treated before or after prechilling on seed germination and seedling morphology of *P. odoratum* at 6 or 12 weeks after sowing

Treatments	Germination		Bulbil formation		Bulbil length		Root length		Root number	
	6 ^J	2	6	12	6	12	6	12	6	12
	%				cm plant ⁻¹		no plant ⁻¹			
Control	34.0	52.8	51.5	95.1	0.60	1.20	4.53	4.82	1.00	5.00
Before ^J	45.0	81.3	82.8	97.3	1.03	1.50	5.08	5.20	2.00	6.25
After ^T	22.8	35.3	75.8	89.0	1.00	1.60	5.00	5.25	1.75	4.50
LSD.05	3.9	8.4	14.4	5.7	0.11	0.13	0.25	0.25	0.46	1.03

^J Weeks after sowing.

^{J, T} Seed-coat softening treatment (10% KOH, 40 min.) was done before or after prechilling (3°C, 8 weeks), respectively.

연화와 저온처리를 가한 것에서 높았으나 파종 후 12주에서 종피연화를 저온처리 후에 가하는 것이 전에 가하거나 無處理보다 낮은 것으로 나타났다. 小珠芽長과 根長은 무처리에 비하여 종피연화와 저온처리할 경우 증가되었으나 根數는 발아 및 소주아 형성율과 마찬가지로 저온처리 전에 종피연화를 실시할 경우 많은 경향을 보였다. 이상의 결과로 볼 때 종피연화 후의 저온처리는 발아 및 소주아 형성을 조장하여 가장 양호한 처리방법이라 할 수 있으나 저온처리 후 종피연화 처리는 오히려 처리효과를 반감하는 것으로 나타나 처리 조합에 따라 육묘효율은 커다란 차이를 보이기 때문에 적절한 종자처리 방법이 무엇보다 중요하다고 할 수 있을 것이다.

9) Seedlot 효과

저장조건이나 성숙정도 등의 seedlot에 따라서 종자발아는 다른 결과를 보이는데, 그 중 시호종자는 등숙기간이 50일 이하일 경우 발아가 거의 이루어지지 않으며, 60일과 70일에서의 발아율은 각각 70%와 80%로 등숙기간에 따라 많은 차이를 보이며 (정해곤 등, 1994), 이러한 시호의 발아율 변화는 胚乳는 형성되나 胚가 없는 無胚種子가 주요한 원인이라 한다 (Lee 등, 1996). 등굴레에 있어서도 이러한 小集團의 차이에 따라 발아율에 변화가 있는지를 살펴보고자 경남농업기술원 함양약초시험장, 경남 산청군 산청읍 및 의령군 칠곡면의 농가포장에서 채종한 종자를 10% KOH에 40분간 실시한 종피연화 처리와 3℃에 8주간 실시한 저온처리를 무처리와 상호조합하여 처리한 후 발아시험을 수행하였다. 시험 결과 평균발아율을 표 5에, 처리요인들간에 상호작용이 있어서 전체 요인에 대한 발아율 변화를 그림 7로 도시하였다. 각요인별 평균발아율은 관리상태가 가장 양호한 함양약초시험장에서 채종한 종자의 발아율이 가장 높고, 다음으로 관리 상태가 양호한 산청군 산청읍의 재배농가에서 채종한 종자, 관리상태가 가장 나쁜 의령군 칠곡면 재배 농가에서 채종한 종자 순으로 감소하여 채종포의 관리 상태에 따라 발아율이 영향을 받는 것으로 나타났다. 종피연화 또는 저온처리를 할 경우 하지 않은 무처리에 비하여 발아가 시작된 파종 후 3주부터 평균발아율이 높았다. 한편 小珠芽 形成率도 평균발아율과 유사한 경향으로서 채종포에 따라 다르며, 종피연화 또는 저온처리로 향상되는 경향이었다 (표 5).

각처리수준별 발아율은 채종지가 다른 3개종자 모두 종피연화 처리후에 저온처리를 가하는 것이 가장 양호하였으며, 특히 관리상태가 가장 양호한 함양약초시험장에서 채종한 종자는 종피연화와 저온을 혼용처리할 경우 파종 6주 후에 거의 모두가 발아하였다. 그러나 종피연화와 저온처리 사이에는 채종상태에 따라 발아에는 일정한 경향이 없었다. 한편 소주야 형성율도 발아와 유사한 경향을 보였다 (그림 7).

따라서 발아와 小珠芽 形成은 채종상태에 따라 다르기 때문에 다량육묘의 효율화를 위하여는 재배관리가 양호한 곳에서 채종 하여야 할 것으로 판단된다. 또한 채종지 뿐만 아니라 채종시기, 채종상태, 정선 및 저장상태에 따른 발아율도 크게 다를 것으로 예상되며

아직까지 이러한 연구가 진행되지 못하여 정보가 전무한 상태이다. 따라서 앞으로 이에 대한 연구가 진행되어 등골레에 있어서 포장관리 채종상태 및 채종시기 등을 결정할 수 있다면 종자번식체계를 확립하고 발아율을 높이는데 기여를 하여 육묘효율을 크게 높일 수 있을 것으로 기대된다.

Table 5. Effect of seedlot and presowing treatment on germination and bulbil formation of *Polygonatum odoratum* seeds at 6 weeks after sowing

Parameters	Germination						Bulbil formation					
	1 ^J	2	3	4	5	6	1 ^J	2	3	4	5	6
	%											
Seedlot (L)												
Hamyang	0.0	0.6	5.3	28.5	52.8	67.4	0.0	0.0	0.3	7.3	24.0	57.6
Sancheong	0.0	0.3	3.2	16.8	33.0	50.3	0.0	0.0	0.2	2.8	11.0	34.5
Uiryung	0.0	0.1	1.6	9.9	20.0	30.8	0.0	0.0	0.1	1.7	7.2	23.9
LSD.05	0.0	ns	2.5	5.7	7.8	8.4	0.0	0.0	ns	2.3	4.4	7.8
Softening (S) ^J												
None	0.0	0.2	1.8	13.4	27.8	42.4	0.0	0.0	0.2	2.2	10.9	31.8
KOH	0.0	0.4	4.8	23.3	42.7	56.6	0.0	0.0	0.2	5.7	17.2	45.5
LSD.05	0.0	ns	2.0	4.6	6.3	6.91	0.0	0.0	ns	1.9	3.6	6.4
Prechilling (weeks; P) [†]												
0	0.0	0.2	1.4	9.2	24.8	40.9	0.0	0.0	0.1	1.7	7.6	31.7
8	0.0	0.5	5.2	27.6	45.8	58.1	0.0	0.0	0.2	6.2	20.5	45.7
LSD.05	0.0	ns	2.0	4.6	6.3	6.9	0.0	0.0	ns	1.9	3.6	6.4
L x S	-	ns	ns	**	ns	ns	-	-	ns	**	ns	ns
L x P	-	ns	ns	**	**	**	-	-	ns	**	**	**
S x P	-	**	*	**	**	**	-	-	ns	**	**	**
L x S x P	-	*	ns	*	ns	ns	-	-	ns	*	ns	ns

^J Weeks after sowing.

^J Seed-coat softening was treated with 10% KOH for 40 minutes.

[†] prechilling was done at 3°C for 8 weeks.

ns, *, ** Nonsignificant or significant at 0.05 and 0.01 probability, respectively.

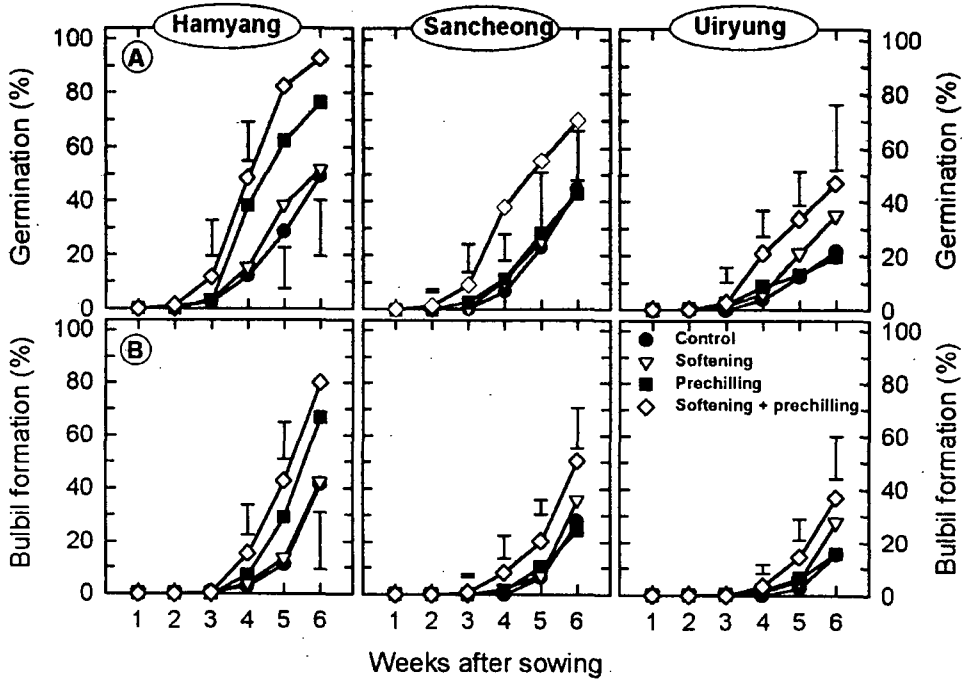


Fig. 7. Seed germination (A), bulbil formation (B) of *P. odoratum* on 6 weeks after sowing as affected by local collected variety and presowing treatments. Germination test was done with petri dishes after seed-coat softening (10% KOH, 40 min.), prechilling (3°C, 8 weeks) and the softening before prechilling. Vertical bars indicate the significant difference at LSD.05 between the treatments within the same week after sowing.

10) 종피연화와 저온복합처리 후 GA₃ 처리

둥글레의 발아 및 小珠芽 形成은 상기시험의 결과와 같이 종피연화 후 저온처리를 가하거나, GA₃ 처리에 의하여 조장되는 것으로 보고 (강진호 등, 1996)되고 있어서 10% KOH에 40분간 종피연화 처리를 가한 후 8주의 저온처리를 가하거나 가하지 않은 종피연화 및 저온처리 유무, 종피연화 및 저온처리 후 GA₃ 1.0 mM에 8일간 침지하거나 침지하지 않은 GA₃ 처리 유무를 상호조합하여 처리한 후 상토를 이용하여 발아시험을 수행한 결

과는 표 6과 같다.

Table 6. Effect of seed-coat softening plus prechilling and GA₃ treatment on seed germination and bulbil formation of *P. odoratum* at 6 or 12 weeks after sowing

Treatment	Germination		Bulbil formation		Bulbil length		Root length		Root number	
	6 [↓]	2	6	12	6	12	6	12	6	12
	%				cm plant ⁻¹		no plant ⁻¹			
Softening (S)										
None	67.0	71.8	67.2	85.8	0.44	1.05	3.30	4.85	1.20	4.50
KOH + Prechilling [↓]	76.2	81.7	70.3	85.9	0.62	1.15	3.70	4.80	1.67	4.83
LSD.05	2.0	1.6	ns	ns	0.13	ns	0.29	ns	ns	ns
GA ₃ (1.0 mM; G)										
0	74.4	82.2	76.6	97.4	0.56	1.18	3.52	4.90	1.40	4.50
8	70.0	71.3	62.5	74.3	0.52	1.02	3.52	4.75	1.50	4.83
LSD.05	2.0	1.6	5.5	1.5	ns	ns	ns	ns	ns	ns
S x G	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	**	*	ns

[↓] Weeks after sowing.

[↓] Softening treatment (10% KOH, 40 min.) was done before prechilling (3°C, 8 weeks).

ns, *, ** Nonsignificant or significant at 0.05 and 0.01 probability, respectively.

발아율은 조사일 모두 無處理에 비하여 종피연화 후 저온처리로 향상되었으나, 파종 12주 후에 조사된 小珠芽 形成率, 小珠芽長, 根長, 根數에는 無處理와 종피연화 후 저온처리간에 차이가 없었다. 그러나 종피연화 후 저온처리 말미에 가하여지는 8일간의 GA₃ 처리는 조사일 모두 발아 및 小珠芽 形成율을 감소시키는 것으로 나타났다. 이상의 결과는 petri dish로 행한 GA₃ 단독처리 효과 (류영섭, 1997)와는 상반된 결과로서 GA₃ 처리 전에 가하여진 종피연화, 저온 및 GA₃ 처리의 상호작용의 결과로 해석된다. 따라서 상토를 이용한 등굴레의 다량육묘에서 발아와 소주아 형성을 높이기 위하여는 종피연화 후 저온처리

를 결합한 혼용처리가 가장 양호한 처리방법이라 할 수 있으며 이들 처리가 유묘출현에 미치는 영향에 대하여는 추가 시험이 요청된다.

11) 종피연화 처리 후 저온처리 기간에 따른 차이

상기시험 '종피연화 전후의 저온처리'에서 도출된 최적결과인 종피연화 후의 저온처리 방법에서 등굴레 육묘기간을 단축하기 위하여는 장기간 소요되는 저온처리 기간을 단축할 수 있는 가에 대한 정보를 얻고자 종피연화 후 저온처리 기간에 따른 발아, 小珠芽 形成과 발아 관련형질을 조사한 결과는 표 7과 같다.

발아율, 小珠芽 形成率과 根長은 파종 후 시간의 경과에 관계없이 종피연화 후 저온처리를 가하지 않은 無處理에 비하여 4주 또는 8주의 저온처리를 가한 것에서 양호한 결과를 보였으나 4주와 8주의 저온처리 기간 사이에는 차이가 없었다. 그러나 小珠芽長과 根數는 파종 6주 후에는 저온처리를 가한 것에서 대체로 높은 경향을 보였으나 발아기간이 상대적으로 긴 12주에서는 처리기간간에는 차이가 없어 처리효과가 소멸되는 것으로 나타났다. 이러한 시험결과는 등굴레의 다량육묘에 소요되는 기간을 4주정도 단축할 수 있을 것으로 기대되기 때문에 이에 대한 유묘출현율의 변화를 검토할 필요가 있을 것이다.

등굴레의 다량육묘 체계를 구축하기 위한 이상의 몇 가지 종자처리에 따른 발아 및 小珠芽 形成에 관한 시험결과를 요약하면 발아 및 소주아 형성은 파종전에 손쉽게 종자에 가할 수 있는 후숙, 저온, 종피연화, GA₃의 단독처리로도 향상되나 이들을 체계적으로 조합하여 처리하는 것이 효과적이었다. 발아와 小珠芽 形成率은 종피연화 후에 저온처리를 가하는 방법이 가장 양호한 처리 조합으로 비교·분석되었고 나아가 저온처리 기간을 4주까지 줄일 수 있는 것으로 조사되어 장기간 소요되는 육묘기간을 더욱 단축할 수 있을 것으로 기대된다.

발아 및 소주아 형성을 향상방안에 관한 이상의 시험결과는 발아 및 소주아 형성율은 종자의 품질에 따라 변화되어 채종포의 관리상태가 양호할수록 향상되며, 15℃에서 후숙기간이 연장될수록 향상되나 3개월 정도가 적절하며, 다음으로 10% KOH에 40분간 종피연화를 가한 후 1일간 흐르는 물에 세척한 후 3℃에서 약 8주간 저온처리를 가한 후 25℃의 암상태에서 12주정도 발아시키면 소주아가 형성된 개체를 효율적으로 확보할 수 있는 것

Table 7. Effect of prechilling periods after seed-coat softening treatment on germination and seedling morphology of *P. odoratum* at 6 and 12 weeks after sowing

Treatment	Germination		Bulbil formation		Bulbil length		Root length		Root number	
	6 ¹⁾	2	6	12	6	12	6	12	6	12
	%				cm plant ⁻¹		no plant ⁻¹			
0 Week ²⁾	33.3	55.3	51.2	90.9	0.53	1.33	1.83	4.47	1.00	5.33
4 Weeks	44.7	62.0	80.5	95.6	0.67	1.37	3.10	5.33	1.00	5.33
8 Weeks	50.7	67.7	77.3	98.5	0.60	0.37	3.43	5.60	1.67	5.67
LSD.05	9.0	4.8	15.5	4.7	0.09	ns	0.66	0.29	0.66	ms

¹⁾ Elapsed prechilling (3°C) periods after seed-coat softening treatment (10% KOH, 40 min.).

²⁾ Weeks after sowing.

으로 요약할 수 있다. 그러나 이상의 시험에서 종피연화와 저온의 처리순서를 바꾸면 발아 및 소주아 형성율이 현저히 감소되기 때문에 처리순서가 아주 중요하다고 할 수 있어 파종전 등굴레의 종자처리는 여러 가지 처리를 하나의 절차로 인지할 필요가 있다.

2. 효율적 상배축 휴면타파 방법설정

종자를 상토에 치상한 후 12주에 GA₃ 1.0 mM 70 ml를 2일 간격으로 4일 또는 8일간 관주한 직후, 3주 또는 6주 후에 조사한 유묘 출현 및 성장 관련 형질은 표 8과 같다. GA₃ 관주기간과 관주 후의 시간의 경과에 따른 발아율에는 차이가 없었다. 발아율을 고려하여 계산한 제형질 중에서 4일 또는 8일의 GA₃ 관주처리간에는 根長을 제외하고는 出現率, 小珠芽長, 上胚軸長에서는 차이가 없었다. GA₃ 관주처리 후 시간의 경과에 따라 小珠芽長, 根數와 根長이 증가되는 경향을 보였으나 출현과 관련된 상배축의 신장은 전혀 일어나지 않았다.

Table 8. Seedling emergence of *Polygonatum odoratum* and morphological characters as affected by GA₃ treatment period and elapsed time after GA₃ treatment¹.

Parameters	Germination	Emergence	Bulbil	Epicotyl	Root	
	rate	rate			Number	Length
	%		cm		plant ⁻¹	cm
GA ₃ treatment period (days; G)						
4	65.0	0.0	1.90	0.00	13.7	8.15
8	68.5	0.0	1.90	0.00	14.2	9.37
LSD.05	ns	ns	ns	ns	ns	0.65
Weeks after GA ₃ treatment (W)						
0	65.1	0.0	1.73	0.00	12.2	6.84
3	66.1	0.0	2.07	0.00	14.7	8.96
6	69.0	0.0	2.10	0.00	15.0	10.49
LSD.05	ns	ns	0.14	ns	1.6	0.89
G x W	ns	ns	ns	ns	ns	**

¹ GA₃ treatment was done at darkness and 3°C constant temperature.
ns, ** Nonsignificant or significant at 0.01 probability, respectively.

상배축 신장이 전혀 일어나지 않는 원인을 추적하기 위하여 자엽초 파열율과 상배축 신장율을 조사한 것은 그림 8과 같다. 자엽초 파열은 GA₃ 용액을 관주한 직후에는 4일과 8일간에는 차이가 있었으나 처리 후 3주와 6주에서는 차이가 없었다. 그러나 자엽초가 50% 정도 파열된다 하여도 상배축은 전혀 신장되지 않았다. 따라서 자엽초가 파열되더라도 상배축이 신장되지 않는 원인을 구명하기 위하여 상배축을 절단하여 내부구조를 관찰하였던 바 (사진 9) 생장점이 여러 겹의 자엽초로 싸여 있었다. 따라서 인위적인 GA₃ 처리로는 상배축의 휴면을 효율적으로 타파하기란 불가능할 뿐만 아니라 상배축 휴면타파 유무를 육안으로 관찰되는 자엽초의 파열정도를 판단하는 기준으로 삼는 것은 적절하지 않다고 할 수 있다. 등굴레의 상배축 휴면타파는 petri dish를 이용하여 GA₃ 용액에 소주아가 형성된 유묘를 침지할 경우 (강진호 등, 1997b) 상배축 휴면타파가 가능하였으나 상토를 이용한 다량육묘시 관주방식으로는 불가능하다고 할 수 있어서 다량육묘를 위하여는

적절한 상배축 휴면타파 방법이 강구되어야 할 것이다.

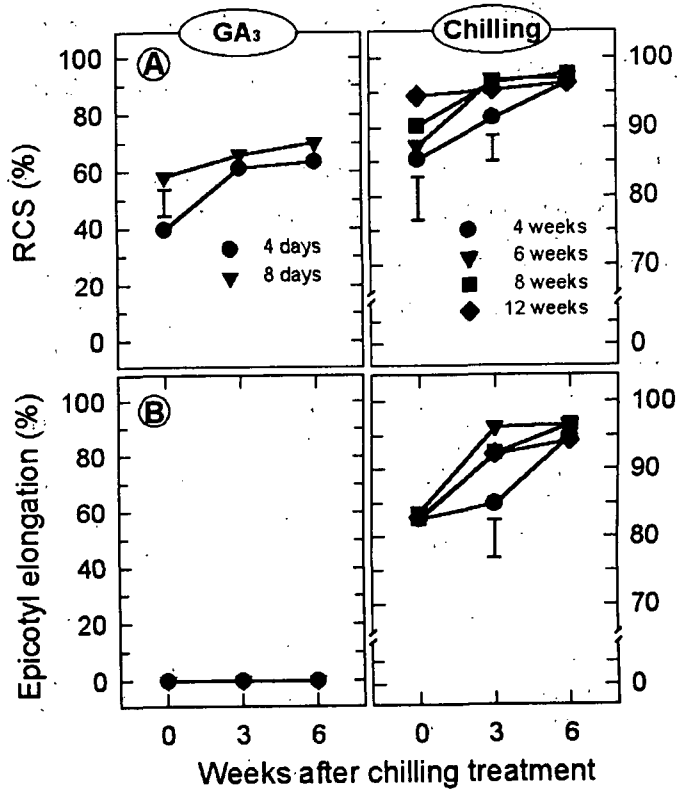


Fig. 8. Rupture of cotyledonary sheath (A) and epicotyl elongation (B) of *P. odoratum* seedlings as affected by periods of GA₃ or chilling treatment. White light was illuminated 12 hours a day under 25°C constant temperature. Vertical bars indicate significant difference between the same week at LSD.05.

한편, 저온처리 기간과 저온처리 후의 시간 경과에 따른 자엽초 파열율과 상배축 신장율은 그림 8과 같다. 저온처리에 의한 자엽초 파열율은 상배축 휴면타파를 위한 저온처리 후 3주까지는 저온처리 기간이 가장 짧은 4주에서 가장 낮았으며 상배축 신장율은 저온처

리 후 3주에서만 자엽초 파열율과 동일한 경향을 보였다. 상토를 이용한 다량육묘시 상배축 휴면타파를 위한 GA₃과 저온처리간을 비교하여 보면 GA₃ 처리의 자엽초 파열율은 저온처리에 비하여 다소 낮다고 할지라도 상배축의 신장이 이루어지지 않아 유묘가 출현되지 않는 것으로 나타났다. 따라서 petri dish에서 도출된 GA₃ 처리결과를 육묘기간의 단축이 요구되는 등굴레의 다량육묘에 적용하는 것은 불가능한 것으로 보인다.

Table 9. Seedling emergence of *P. odoratum* and its morphological characters as affected by chilling period and elapsed time after chilling[↓].

Parameters	Germination rate	RCS [♯]	Epicotyl elongation	Emergence rate	Bulbil length	Epicotyl length	Root	
							length	no. [†]
			%				cm	no.
Chilling treatment (weeks; C)								
4	63.2	92.7	87.6	14.6	1.17	0.94	5.02	5.00
6	67.2	92.4	90.9	25.8	1.25	1.65	5.17	5.44
8	68.4	93.0	90.7	26.4	1.25	1.67	5.14	5.55
12	71.4	95.5	89.9	30.5	1.30	1.67	5.23	5.66
LSD.05	3.3	2.3	2.6	1.0	0.08	0.14	ns	0.53
Weeks after chilling treatment (W)								
0	64.1	89.1	82.8	0.0	1.07	0.40	4.37	4.75
3	66.8	94.6	91.2	22.6	1.17	1.12	5.36	5.50
6	71.8	96.6	95.3	50.4	1.49	2.92	5.69	6.00
LSD.05	2.9	2.0	2.2	0.9	0.07	0.12	0.24	0.46
C x W	ns	**	*	**	ns	**	ns	ns

[↓] Chilling was treated at darkness and 3°C constant temperature.

[♯] Rupture of cotyledonary sheath.

[†] Numbers per plant.

ns, *, ** Nonsignificant or significant at 0.05 or 0.01 probability, respectively.

상배축 휴면을 타파하기 위한 방법으로서 저온처리와 저온처리 후의 시간경과에 따른 유묘의 반응을 조사한 것은 표 9와 같다. 저온처리 기간이 4주에서 12주로 증가함으로써 발아율이 증가되어, 처리시 발아율을 기준으로 환산한 결과 저온처리기간이 증가하면 根長

을 제외한 제형질이 증가하는 경향이였다. 특히 저온처리 기간이 4주에서 6주로 증가할수록 상배축 신장율, 출현율, 小珠芽長, 上胚軸長, 根數는 현저히 증가하는 경향을 보였다. 더불어 3주 또는 6주로 저온처리 후의 시간이 경과함으로서 조사형질 모두 증가되는 경향을 보였다.

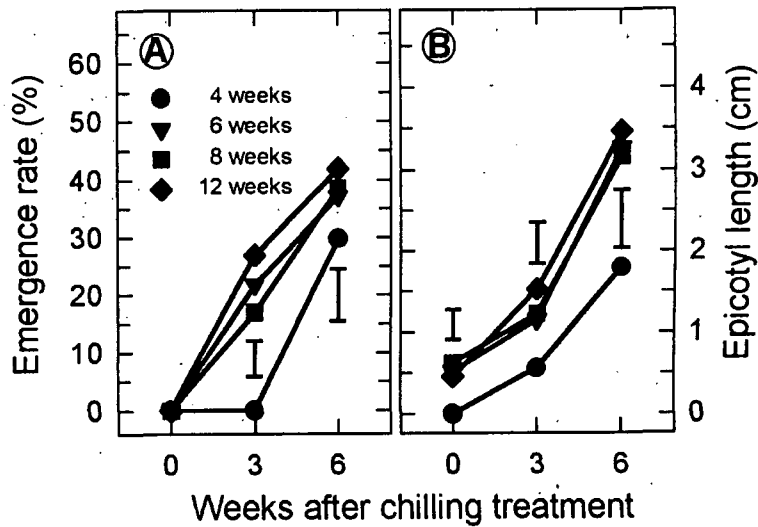


Fig. 9. Effect of chilling periods on emergence rate (A) and epicotyl length (B) of *P. odoratum* seedlings. White light was illuminated 12 hours a day under 25°C constant temperature. Vertical bars indicate significant difference between the same week -at LSD.05.

한편 저온처리 기간과 저온처리 후의 시간 경과에 따른 자엽초 파열율과 상배축 신장율은 그림 8과 같다. 저온처리에 의한 자엽초 파열율은 상배축 휴면타파를 위한 저온처리 후 3주까지는 저온처리 기간이 가장 짧은 4주에서 가장 낮았으며 상배축 신장율은 저온처리 후 3주에서만 자엽초 파열율과 동일한 경향을 보였다. 상토를 이용한 다량육묘시 상배축 휴면타파를 위한 GA₃과 저온처리기간을 비교하여 보면 GA₃ 처리의 자엽초 파열율은 저온처리에 비하여 다소 낮다고 할지라도 상배축의 신장이 이루어지지 않아 유묘가 출현되

지 않는 것으로 나타났다. 따라서 petri dish에서 도출된 GA₃ 처리결과를 육묘기간의 단축이 요구되는 등굴레의 다량육묘에 적용하는 것은 불가능한 것으로 보인다.

유묘출현율과 상배축장은 상배축 휴면타파를 위한 저온처리 기간과 저온처리 후의 경과시간간에 상호작용이 있어 (표 9) 이들 요인별 수준에 따른 변화는 그림 9와 같다. 유묘출현율은 저온처리 후 3주부터는 6~12주간의 처리간에는 차이가 없었으나 4주의 저온처리에서 낮았다. 그러나 상배축장은 오히려 저온처리 직후부터 유묘출현율과 유사한 결과로 나타났다. 따라서 4주와 6주 이상의 저온처리간에는 유묘 출현과 성장 관련 형질에 미치는 영향이 서로 다르다고 할 수 있었다.

이상의 상배축 휴면타파에 관한 저온 및 gibberellin 처리를 요약하면 GA₃ 처리시 子葉鞘破裂數는 처리 직후에는 4일보다 8일 처리에서 높았으나 시간이 경과할수록 처리효과가 소멸된 반면, 상배축 신장이 이루어지지 않아 출현 유묘가 전혀 없었다. 따라서 GA₃을 이용한 등굴레의 상배축 휴면타파는 실험실에서 소규모로 행할 경우는 가능하다고 할지라도 상토를 이용한 다량육묘에서는 적용이 불가능한 것으로 나타났다. 이러한 원인은 GA₃ 용액의 관주처리시 자엽초는 파열되나 상배축이 여러 겹의 자엽초로 싸여져 있기 때문에 GA₃ 용액에 노출되지 않은 결과로 해석된다. 한편 자엽초 파열과 상배축 신장이 원활히 이루어지는 저온처리는 다량육묘에 이용이 가능하다고 할 수 있다. 그러나 입묘 정도는 저온처리 기간에 의하여 영향을 받는 것으로 나타났는데 적어도 6주의 저온처리가 가하여져야 할 것으로 분석되었다.

3. 유묘출현율 향상방안

가. 온도의 영향

환경조건이 엄격히 조절되는 조건에서 발아 및 소주아가 형성되는 것으로 보고 (강진호 등, 1996)되고 있어서 순화체계를 확립할 필요가 있는가에 대한 정보를 얻고자 유묘의 출현중 발아 및 소주아가 형성된 유묘의 상배축 휴면타파 후 처리온도에 따른 유묘출현과 생장의 변화를 알고자 3℃에 6주간 상배축 휴면타파 처리 후 온도조건을 달리하여 시험을

실시하였으며 6주와 12주 후 유묘출현 관련형질은 표 10, 성장 관련형질은 표 11과 같다.

Table 10. Effect of temperature enforced after breaking epicotyl dormancy on the characters related to emergence of *Polygonatum odoratum* seedling

Parameters	Bulbil formation	RCS [†]	Epicotyl elongation	Seedling emergence
	%			
Temperature (°C; T)				
Control (greenhouse)	98.1	95.3	93.9	27.5
15	96.6	93.8	91.8	15.8
25	94.7	91.7	89.6	23.8
LSD.05	1.9	2.4	3.0	3.0
Weeks after chilling (W) [‡]				
0	90.9	83.7	80.5	0.0
6	98.5	98.2	96.4	29.9
12	100.0	98.9	98.4	37.2
LSD.05	1.9	2.4	3.0	3.0
T x W	**	**	*	**

[†] Rupture of cotyledonary sheath.

[‡] Breaking epicotyl dormancy was done at 3°C for 6 weeks.

ns, *, ** Nonsignificant or significant at 0.05 and 0.01 probability, respectively.

小珠芽 形成率, 子葉鞘 破裂數와 上胚軸 伸長率은 온도와 광도가 높은 초자온실의 대조구에서 가장 양호하였고, 15°C, 25°C 처리간 차이가 없었으며, 유묘출현율은 대조구에서 가장 높고 25°C, 15°C 순으로 감소하였다. 한편 온도 처리기간에 따른 변화로서 小珠芽 形成率, 子葉鞘 破裂數와 上胚軸 伸長率은 상배축 휴면타파 직후보다는 6주와 12주에서는 증가되나 6주와 12주간에는 차이가 없었던 반면, 유묘출현율은 상배축 휴면타파 후 시간이 경과할수록 증가하는 경향을 보였다. 따라서 상배축 휴면타파가 이루어진 개체의 유묘출현율을 높이기 위하여 25°C 이상에서 포장 또는 온실에 바로 전개시키는 것이 경영적 측면과 시험의 효율성을 고려할 경우 바람직한 방법이라 할 수 있을 것이다 (표 10).

한편 처리온도에 따른 생장 관련형질에서 根數는 上胚軸長과 유사한 반응을 보였으나, 小珠芽長과 개체당 엽면적은 유묘출현율과 마찬가지로 15℃에서 가장 저조한 결과를 보였다. 그러나 上胚軸長은 상배축 휴면타파를 위한 저온처리 후 시간이 6주, 12주로 증가함에 따라 생장 관련형질 모두 증가되는 것으로 나타났다 (표 11).

Table 11. Effect of temperature enforced after breaking epicotyl dormancy on the morphological characters of *Polygonatum odoratum* seedling

Parameters	Root		Bulbil length cm plant ⁻¹	Epicotyl length	Leaf area cm ² plant ⁻¹
	Number m plant ⁻¹	Length			
Temperature (°C; T)					
Control (greenhouse)	6.9	4.65	1.37	2.19	1.31
15	6.0	4.53	1.28	4.84	0.54
25	5.9	4.43	1.38	4.17	1.63
LSD.05	0.6	ns	0.07	0.13	0.10
Weeks after chilling (W) ¹					
0	5.2	4.27	1.14	0.79	0.00
6	5.9	4.56	1.37	5.14	1.62
12	7.7	4.80	1.49	5.28	1.87
LSD.05	0.6	0.27	0.08	0.13	0.10
T x W	**	ns	*	**	**

¹ breaking epicotyl dormancy was done at 3℃ for 6 weeks.

ns, *, ** Nonsignificant or significant at 0.05 and 0.01 probability, respectively.

유묘출현 관련형질 (표 10)과 생장 관련형질 (표 11) 모두 처리온도와 처리별 경과 시간 간에 상호작용이 있는 것으로 분석되어 이들 요인의 처리수준별 변화를 도시한 것은 그림 10과 같다. 子葉鞘 破裂率과 上胚軸 伸長率은 상배축 휴면타파 후 온도조건을 달리할 경우 6~12주 후에는 처리효과가 소멸되는 것으로 나타났다. 유묘출현율은 처리 후 6주 또는 12주 모두 온도와 光度가 상대적으로 양호한 초자온실의 대조구에서 가장 높고 15℃에서 가장 낮았던 반면, 상배축장은 오히려 15℃, 25℃, 초자온실의 대조구 순으로 감소하였다. 한

편 根數는 온도를 달리한 12주 후에 초자온실의 대조구가 가장 많았으며, 개체당 엽면적은 25℃, 초자온실의 對照區, 15℃ 순으로 감소하였다.

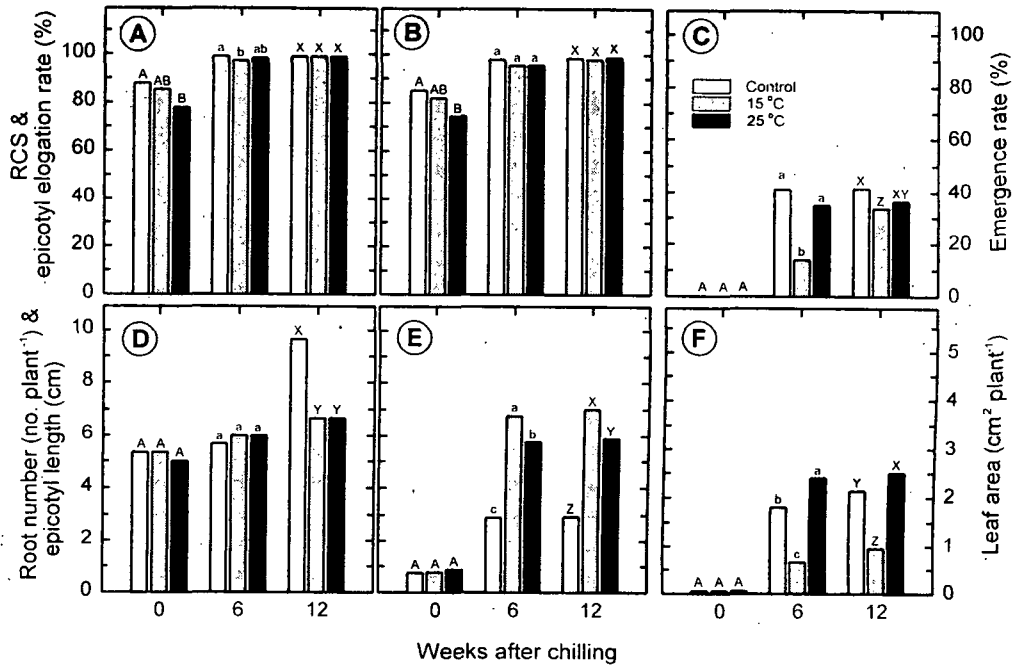


Fig. 10. Rupture of cotyledonary sheath (RCS, A), epicotyl elongation (B) and emergence rate (C), root number (D), epicotyl length (E) and leaf area (F) of *P. odoratum* affected by temperature and elapsed time after chilling (3°C, 6 weeks) treatment for breaking epicotyl dormancy. Bars with the same letter are not significantly different at LSD.05.

이상의 시험결과는 초자온실의 대조구와 25℃ 처리에서 유묘출현율과 개체당 엽면적이 양호한 것으로 나타나 종자번식시에는 온도가 25℃ 정도로 유지시키는 것이 바람직할 것으로 예상되나 온도조절을 위한 기계설비 등을 고려할 때 상배축 휴면타과 처리 후 바로 포장에 전개시키는 것이 유리한 육묘방법일 것이라고 판단되었다.

2) 광도의 영향

발아 후 소주아가 형성된 유묘의 상배축 휴면타과 후 광도에 따른 유묘 출현과 생장의 변화를 알고자 무차광 대조구, 차광막을 이용하여 대조구의 20%가 차광되는 무차광의 80%, 55%로 상배축 휴면타과 처리 후 광도를 달리하여 시험을 실시하였으며 광도처리 후 6주와 12주에서의 유묘출현과 관련된 형질은 표 12, 성장과 관련된 형질은 표 13과 같다. 유묘출현과 관련된 형질 중에서 小珠芽 形成率, 子葉鞘 破裂數와 上胚軸 伸長率은 무차광과 무차광의 80%에 비하여 55%에서 낮았으나 유묘출현율은 무차광에서 55%로 광도가 낮아질수록 감소하였다. 차광기간의 경과에 따른 반응으로서 小珠芽 形成率, 子葉鞘 破裂數, 上胚軸 伸長率과 幼苗出現率 모두 차광처리 직전에 비하여 처리가 이루어진 6주까지 현저히 증가하였으나 12주에서는 거의 증가되지 않는 것으로 조사되었다 (표 12).

Table 12. Effect of light intensity after breaking epicotyl dormancy on the characters related to emergence of *Polygonatum odoratum* seedling

Parameters	Bulbil formation	RCS	Epicotyl elongation	Seedling emergence
	%			
Light intensity (%; L)				
Control (100) ^J	96.6	94.3	93.2	29.8
80	97.8	94.6	93.7	26.8
55	93.9	91.5	89.3	23.4
LSD.05	1.5	2.5	3.0	2.5
Weeks after chilling (W) [†]				
0	89.7	83.1	80.1	0.0
6	98.8	98.1	97.2	39.2
12	99.8	98.1	97.2	98.8
LSD.05	1.5	2.5	3.0	2.5
L x W	**	*	*	*

^J Rupture of cotyledonary sheath.

^J Done in the growth chamber controlled as $8.6 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

[†] Chilling was done 6 weeks at 3°C for breaking epicotyl dormancy.

ns, *, ** Nonsignificant or significant at 0.05 and 0.01 probability, respectively.

한편 성장과 관련된 형질의 변화로서 根數는 무차광에 비하여 80% 및 55%의 광도 순으로 감소하는 것으로 경향이었으나, 個體當 根長과 小珠芽長은 광도차이에 따라 차이가 없었다. 그러나 개체당 上胚軸長과 葉面積은 무차광에 비하여 80%와 55%에서 길고 큰 것으로 조사되었다. 차광기간의 경과에 따른 반응도 유묘출현 관련형질과 같이 차광처리 직전에 비하여 처리가 이루어진 6주까지 현저히 증가하였으나 6주에서 12주까지는 거의 증가되지 않는 것으로 조사되었다 (표 13).

Table 13. Effect of light intensity after breaking epicotyl dormancy on the morphological characters of *Polygonatum odoratum* seedling

Parameters	Root		Bulbil length cm plant ⁻¹	Epicotyl length	Leaf area cm ² plant ⁻¹
	Number m plant ⁻¹	Length			
Light intensity (% L) ¹					
Control (100) ¹	6.8	4.58	1.42	2.59	1.14
80	6.4	4.57	1.47	3.24	1.50
55	5.8	4.31	1.37	3.52	1.51
LSD.05	0.5	ns	ns	0.18	0.08
Weeks after chilling (W) ²					
0	5.1	4.20	1.12	0.79	0.00
6	6.0	4.58	1.50	4.27	2.05
12	7.9	4.70	1.63	4.30	2.10
LSD.05	0.5	0.32	0.10	0.18	0.08
L x W	**	ns	ns	**	**

¹ Done in the growth chamber controlled as 8.6 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

² Chilling was done 6 weeks at 3°C for breaking epicotyl dormancy.

ns, ** Nonsignificant or significant at 0.01 probability, respectively.

자엽초 파열수, 상배축 신장율, 출현율, 개체당 근수, 상배축장과 엽면적은 상배축 휴면타파를 위한 저온처리 후 차광처리와 차광처리가 행하여진 경과시간간에 상호작용이 있어서 이들 요인의 처리수준별 변화를 도시한 것은 그림 11과 같다. 子葉鞘 破裂數와 上胚軸 伸

長率은 차광처리 후 6주와 12주 모두 차이가 없었던 반면, 유묘출현율은 무차광에서 무차광의 80%, 55%로 광도가 감소할수록 감소하는 경향을 보였다. 그러나 根數는 차광처리가 시작된 12주후에 유묘출현율과 같이 광도가 감소함으로써 감소되는 것으로 나타났다. 上胚軸長과 葉面積은 차광처리가 이루어진 6주후부터 상대적으로 광도가 높은 무차광에서 짧고 작은 것으로 나타났다.

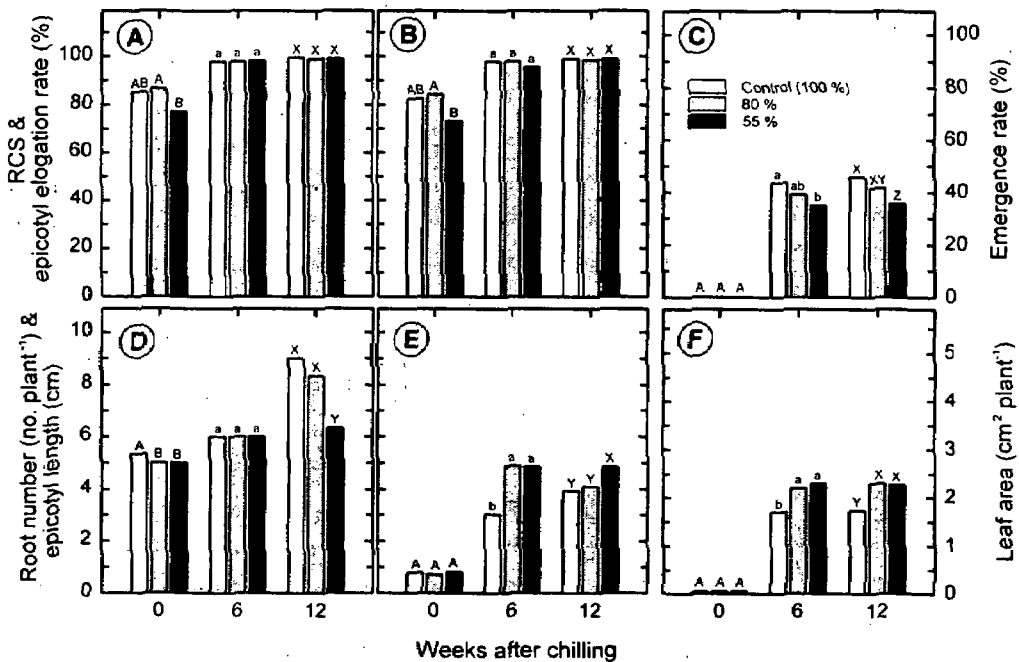


Fig. 11. Rupture of cotyledonary sheath (RCS, A), epicotyl elongation rate (B), emergence rate (C), root number (D), epicotyl length (E) and leaf area (F) of *P. odoratum* as affected by shading and elapsed time after chilling (3°C, 6 weeks) for breaking epicotyl dormancy. Bars with the same letter are not significantly different at LSD.05.

광도에 대한 이상의 결과를 요약하면 자연상태의 80% 이상의 광도에서는 子葉鞘 破裂率과 上胚軸 伸長率에는 영향을 미치지 않는다고 할지라도 차광이 많이 이루어질수록 유묘출현율과 根數가 감소되며 상배축이 길고 단자엽이 커진다고 할 수 있으며, 특히 상배축

휴면타과 후 6주 정도까지의 광도가 큰 영향을 미친다고 할 수 있다. 따라서 상배축 휴면 타과 후 생육장 등 광도가 약한 시설을 이용하는 것보다는 포장에 바로 전개시키는 것이 도장을 억제하여 강건한 묘를 생산할 수 있을 것으로 보인다.

3) 양액공급

본 소과제에서 도출된 시험의 결과로도 등굴레 종자를 처리하여 상토에 과중한 후 5~6개월이 경과하여야 유묘가 출현하고 동시에 단자엽이 전개됨으로서 유묘가 자가영양체가 되어 독립된 개체로 발전된다. 그러나 종자를 이용한 등굴레의 다량육묘시 장기간 소요되기 때문에 육묘중에 외부로부터 영양분을 공급하는 것이 유묘의 출현과 생장에 영향을 미칠 것으로 예측되어 상배축 휴면타과를 위한 저온처리가 끝날 때부터 양액을 공급하거나 공급하지 않은 경우 유묘출현율과 생장에 미치는 영향은 표 14와 같다. 상배축 휴면타과를 위한 저온처리 후에 양액을 공급함으로써 소주아를 길게 하고 뿌리의 발육을 촉진한 반면, 유묘출현율, 초장, 엽면적에는 영향이 없는 것으로 나타났다. 한편 시간의 경과와 함께 조사된 제형질은 양액의 공급과 상배축 휴면타과를 위한 저온처리 후의 시간경과와는 소주아장을 제외하고는 상호작용이 없는 것으로 분석되었다. 양액공급에 대한 처리효과가 미진한 이유는 상배축 휴면타과를 위한 저온처리의 종결과 함께 양액을 처리하였기 때문에 처리기간이 비교적 짧은 것에 기인된 것으로 보여 상대적으로 장기간 처리를 가할 경우 유묘의 생장을 조사할 필요가 있을 것이며, 특히 육묘과정에서 비교적 처리를 용이하게 할 수 있는 차광과 양액의 공급이 유묘의 생장과 형질에 미치는 영향도 추후 조사하여 종자번식을 통한 육묘에 필요한 자료로 활용할 수 있어야 할 것으로 사료된다.

상배축 휴면타과 후에 처리되는 광도, 온도 및 양액공급이 유묘의 출현율과 생장에 미치는 영향은 우선 상대적으로 조절이 어렵고, 특히 다량육묘에서 장기간 온도를 조절하는 것은 문제가 될 수 있으며, 특히 15℃의 저온에서 유묘의 출현과 생장이 억압되기 때문에 온도가 장애요인이 되지 않도록 유묘출현기를 계산하여 과중하면 자연조건을 효율적으로 이용하는 육묘가 가능하게 될 수 있을 것이다. 한편 광도는 차광에 의하여 일부 형질에서 감

소되어 육묘의 생장이 약간 억제된다고 할 수 있으나, 광도가 증가할수록 절간이 짧은 강건한 묘를 얻을 수 있기 때문에 자재비, 설비 등을 고려할 때 오히려 이득이 된다고 볼 수 있다. 더불어 양액공급도 예상보다는 효과가 적은 것으로 나타났으나 육묘가 장기간 이루어지기 때문에 양액을 조기에 공급하는 것이 바람직할 것이다. 그러므로 비교적 조절이 쉬운 차광을 통한 광도조절과 양액의 공급에 따른 육묘의 효율화는 추후 검토하여 보다 나은 상배축 휴면타파를 위한 저온처리 이후의 과정을 설정하여야 할 것이다.

Table 14. Seedling emergence of *Polygonatum odoratum* and its morphological characters as affected by nutrient supply and elapsed time after chilling for breaking epicotyl dormancy¹

Parameters	Emergence rate %	Bulbil length cm	Epicotyl length cm	Plant height cm plant ⁻¹	Root		Leaf area cm ² plant ⁻¹
					Length cm	Number	
Nutrient supply (N) ²							
None	40.8	1.54	2.72	3.89	4.77	6.11	1.21
Supplying	41.0	1.91	2.54	2.72	5.13	6.89	1.22
LSD.05	ns	0.15	0.11	ns	0.23	0.54	ns
Weeks after chilling (W)							
0	0	1.13	0.78	2.33	4.28	5.33	0.00
6	48.0	1.82	3.50	3.17	4.95	6.17	1.73
12	74.7	2.23	3.62	6.00	5.62	8.00	1.92
LSD.05	5.5	0.19	0.13	0.88	0.28	0.66	0.10
N x W	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns

¹ Shaded to 45% compared to no-shading, Control.

² Supplied 40 ml per liter of bed soil once a week.

ns, ** Nonsignificant or significant at 0.01 probability, respectively.

2. 배와 지하경의 성장형태 구명

가. 발아중 배의 형태변화

등굴레 종자의 외부와 내부 구조 및 크기는 그림 12와 같다. 종자의 외부 구조는 지상부와 지하부의 시원체를 함유하고 있는 배의 정단이 돌출 하는 珠孔과 臍가 반대편에 위치

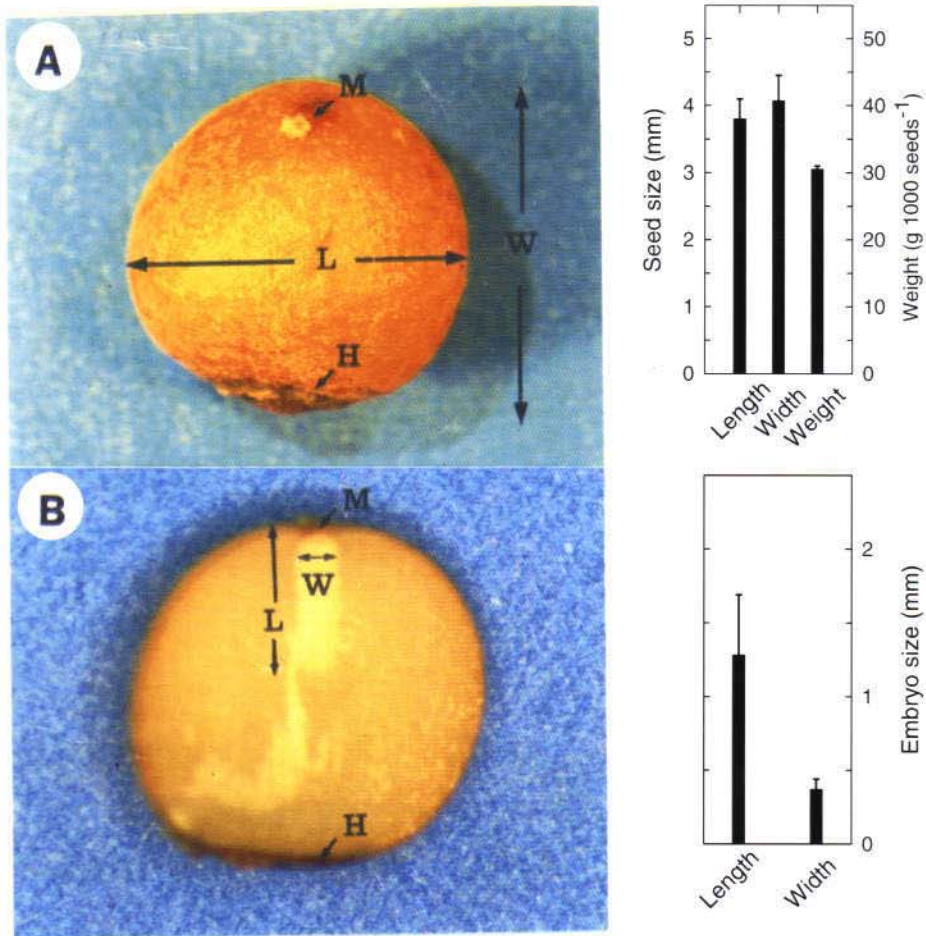


Fig. 12. External (A) or internal (B) and size of *P. odoratum* seed. Letters with arrow L, length of seed or embryo; W, width of seed or embryo; M, micropyle; H, hilum.

2. 배와 지하경의 성장형태 구명

가. 발아중 배의 형태변화

동굴레 종자의 외부와 내부 구조 및 크기는 그림 12와 같다. 종자의 외부 구조는 지상부와 지하부의 시원체를 함유하고 있는 배의 정단이 돌출 하는 珠孔과 臍가 반대편에 위치

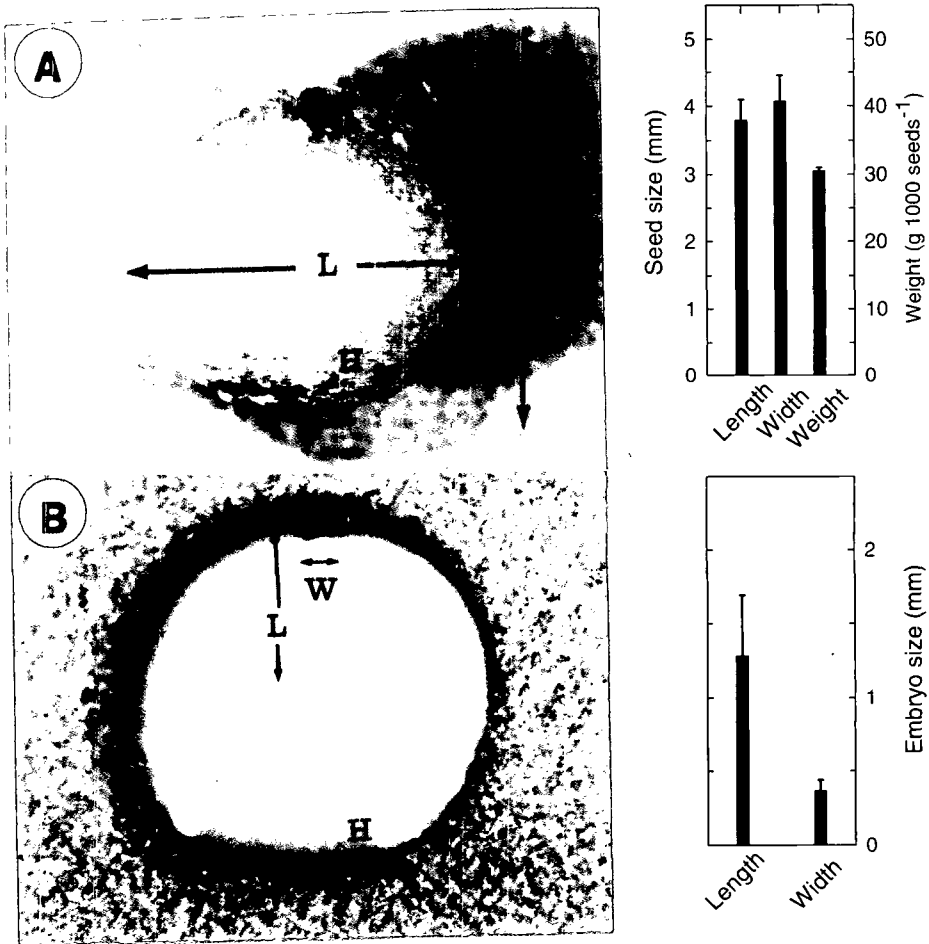


Fig. 12. External (A) or internal (B) and size of *P. odoratum* seed. Letters with arrow L, length of seed or embryo; W, width of seed or embryo; M, micropyle; H, hilum.

하고 있는 直生胚珠의 형태로 배열되어 있었으며, 종피는 硬實로서 주공부위에도 타부위와 마찬가지로 동일한 두께로 덮여있는 것으로 관찰되었다. 외형적인 크기는 珠孔과 臍 사이의 種長은 3.5 ± 0.24 mm, 種幅은 4.0 ± 0.32 mm, 천립중은 30.5 ± 0.51 g이었다. 종자의 내부 구조로서 배는 종자의 중앙을 향해 배열된 백합과의 전형적인 linear형으로서 (Atwater, 1980), 배의 길이는 1.3 ± 0.41 mm, 胚幅은 0.4 ± 0.07 mm로 조사되었다.

후숙온도를 35℃에서 15℃로 낮추고 저온처리 기간을 연장할수록 동굴레의 발아와 소주아 및 지하경 형성이 조장된다는 기존의 시험결과 (류영섭, 1997)와 본 과제의 선행된 연구결과로부터 후숙온도와 후숙기간에 따른 배의 형태변화를 추적한 것은 사진 1과 같다.

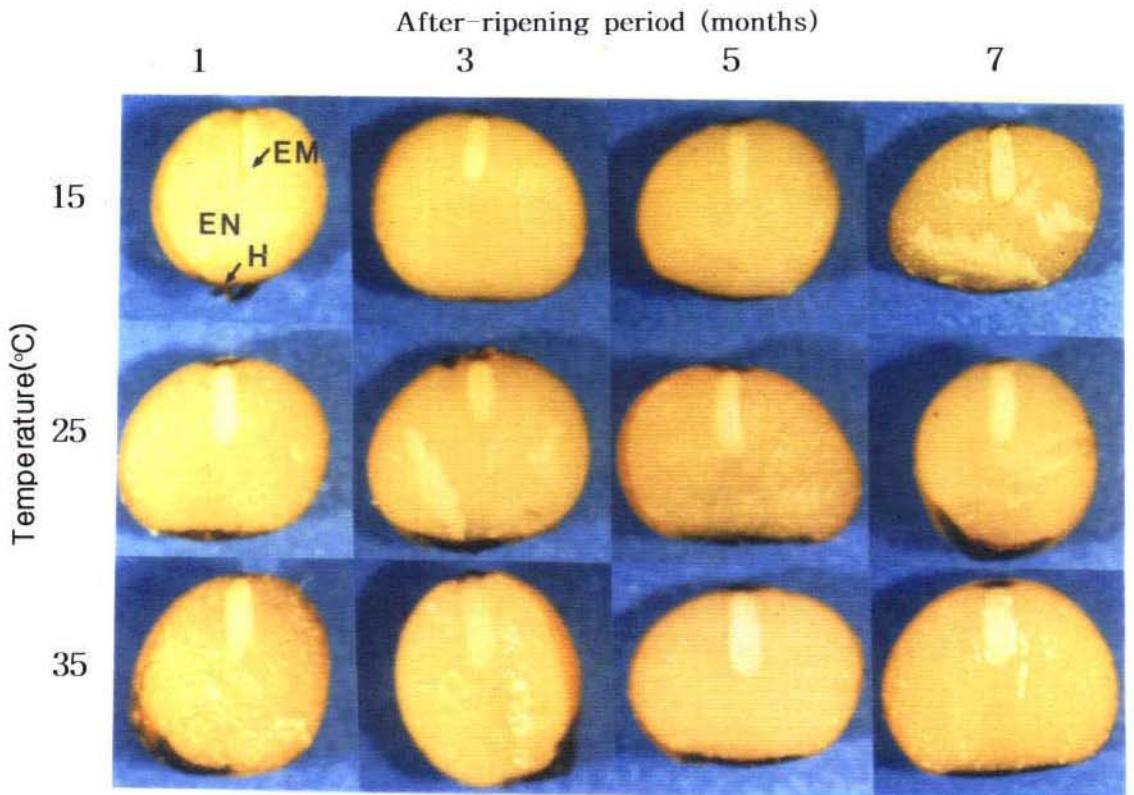


Photo. 1. Internal stereomicroscopic photographs of *P. odoratum* seeds forced with different after-ripening temperature and its treatment period. Letters mean H, hilum; EM, embryo; EN, endosperm.

하고 있는 直生胚珠의 형태로 배열되어 있었으며, 종피는 硬實로서 주공부위에도 타부위와 마찬가지로 동일한 두께로 덮여있는 것으로 관찰되었다. 외형적인 크기는 珠孔과 臍 사이의 種長은 3.5 ± 0.24 mm, 種幅은 4.0 ± 0.32 mm, 천립중은 30.5 ± 0.51 g이었다. 종자의 내부 구조로서 배는 종자의 중앙을 향해 배열된 백합과의 전형적인 linear형으로서 (Atwater, 1980), 배의 길이는 1.3 ± 0.41 mm, 胚幅은 0.4 ± 0.07 mm로 조사되었다.

후숙온도를 35°C에서 15°C로 낮추고 저온처리 기간을 연장할수록 등굴레의 발아와 소주아 및 지하경 형성이 조장된다는 기존의 시험결과 (류영섭, 1997)와 본 과제의 선행된 연구결과로부터 후숙온도와 후숙기간에 따른 배의 형태변화를 추적한 것은 사진 1과 같다.

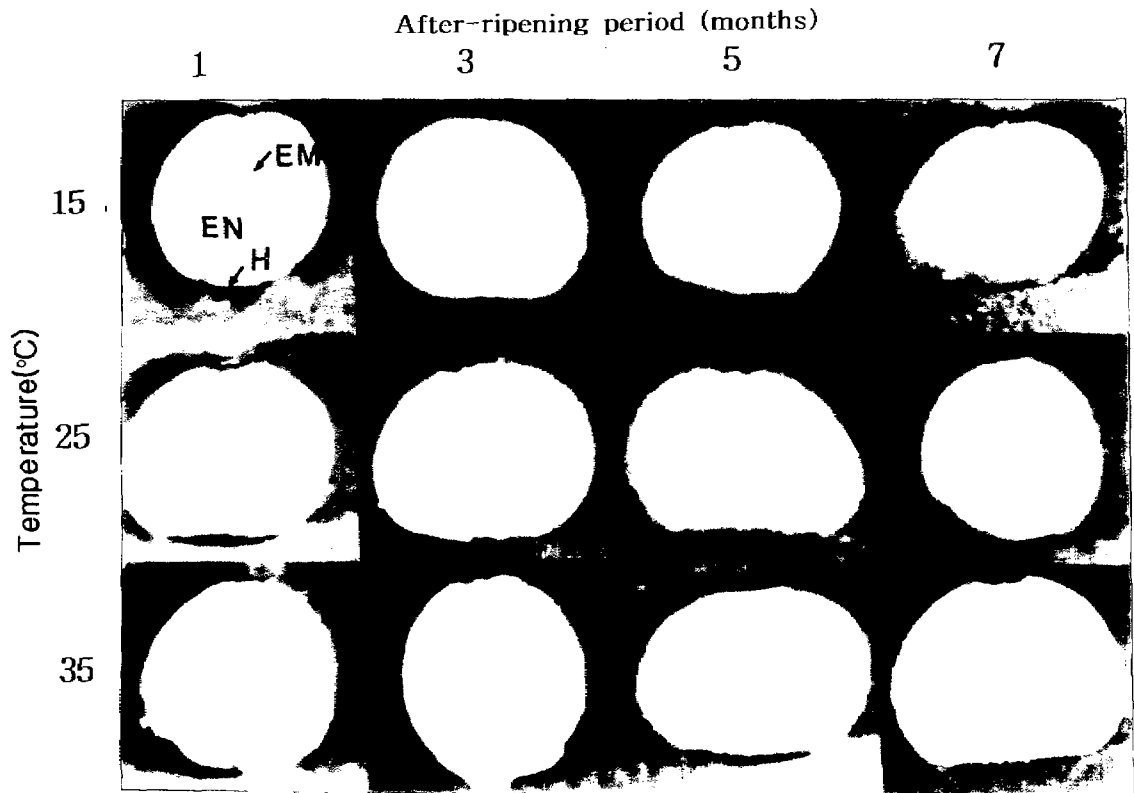


Photo. 1. Internal stereomicroscopic photographs of *P. odoratum* seeds forced with different after-ripening temperature and its treatment period. Letters mean H, hilum; EM, embryo; EN, endosperm.

종자정선 후에 인위적으로 가하여지는 후숙 온도와 기간에 따라 배가 길어지거나 직경이 전혀 증가하지 않는 것으로 관찰되었다. 따라서 발아에 이어 유묘출현까지 2년이 소요되는 둥굴레 종자는 미성숙배가 그 원인이 아니라 배 또는 종피에서 기인되는 것으로, 특히 관찰 가능한 외형적 변화보다는 관찰 불가능한 내부적인 문제로 인하여 발아가 부진하다고 할 수 있을 것이다 (사진 1).

둥굴레 종자는 발아시 사진 2와 같이 유근 또는 지상부 초엽이 먼저 돌출 하는 것이 아니라 배축이 신장된 후 小珠芽와 뿌리가 발달되는 특이한 과정으로 진행되는 것으로 알려져 있다 (강진호 등, 1996). 발아과정은 크게 배축이 종피를 뚫고 신장한 후에 지상부와

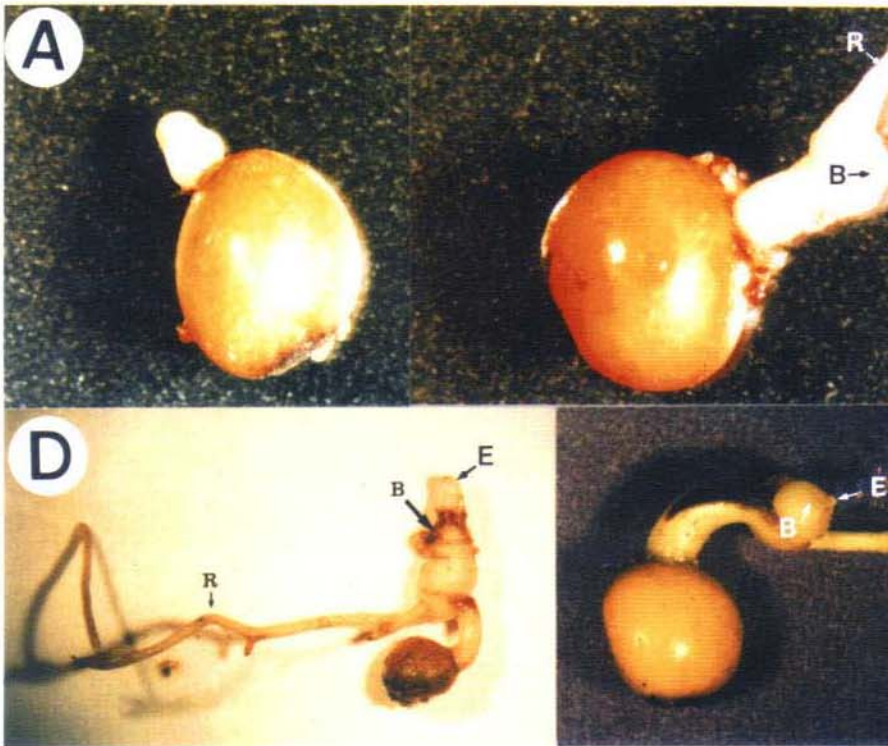


Photo. 2. Stereomicroscopic photographs of germinating *P. odoratum* seed. Letters having an arrow mean B, bubill; E, epicotyl; R, root.

종자정선 후에 인위적으로 가하여지는 후숙 온도와 기간에 따라 배가 길어지거나 직경이 전혀 증가하지 않는 것으로 관찰되었다. 따라서 발아에 이어 유묘출현까지 2년이 소요되는 동굴레 종자는 미성숙배가 그 원인이 아니라 배 또는 종피에서 기인되는 것으로, 특히 관찰 가능한 외형적 변화보다는 관찰 불가능한 내부적인 문제로 인하여 발아가 부진하다고 할 수 있을 것이다 (사진 1).

동굴레 종자는 발아시 사진 2와 같이 유근 또는 지상부 초엽이 먼저 돌출 하는 것이 아니라 배축이 신장된 후 小珠芽와 뿌리가 발달되는 특이한 과정으로 진행되는 것으로 알려져 있다 (강진호 등, 1996). 발아과정은 크게 배축이 종피를 뚫고 신장한 후에 지상부와

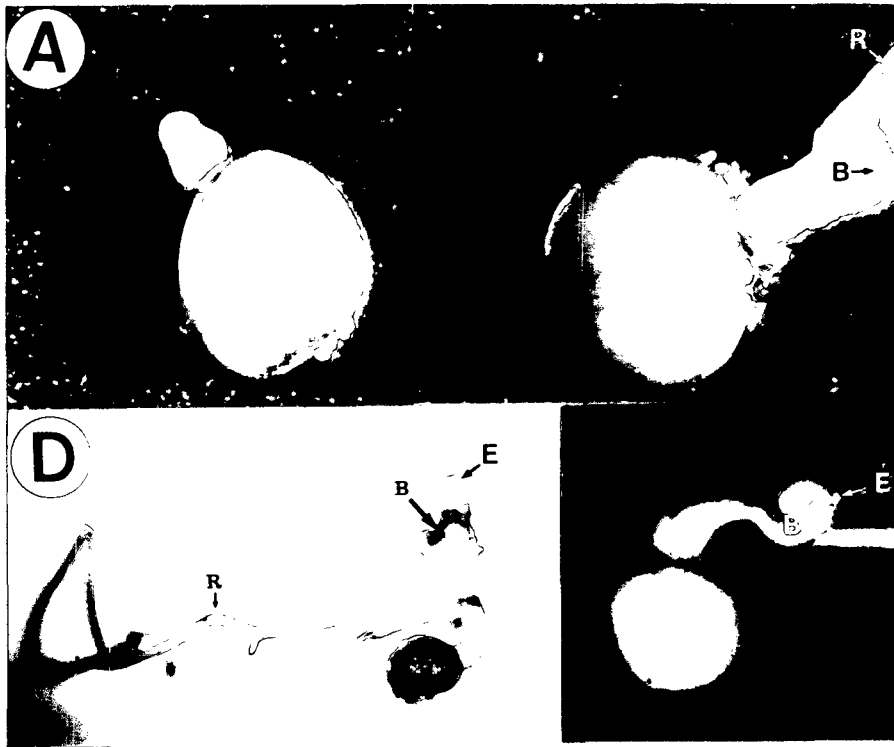


Photo. 2. Stereomicroscopic photographs of germinating *P. odoratum* seed. Letters having an arrow mean B, bubill; E, epicotyl; R, root.

지하경을 형성하는 소주아와 뿌리가 분화되는 형태라고 할 수 있다. 따라서 소주아와 뿌리를 형성하는 시원체가 배축에 존재하며 발아중 이들의 변화를 구명하기 위하여 발아 초기 단계에서 종자의 절단면을 입체현미경으로 관찰한 것은 사진 3과 같다. 배축이 신장되기 전 주공과 인접한 배 정단 부위에 小珠芽와 지하경의 시원체가 관찰되었고 (A), 배축이 신장되면서 두조직의 시원체가 배의 정단에서 약간 분리된 후 (B) 小珠芽가 형성되는 부분이 약간 부풀어올라 (C) 시간이 경과되면서 크기가 커진 후 小珠芽로부터 상배축과 뿌리가 돌기하는 단계로 진전되었다 (D). 따라서 발아전 종자의 배 정단 부분에 지상부와 차로서 가공되는 지하경을 형성하는 소주아와 뿌리의 시원체는 배의 하부가 신장되어 외부로

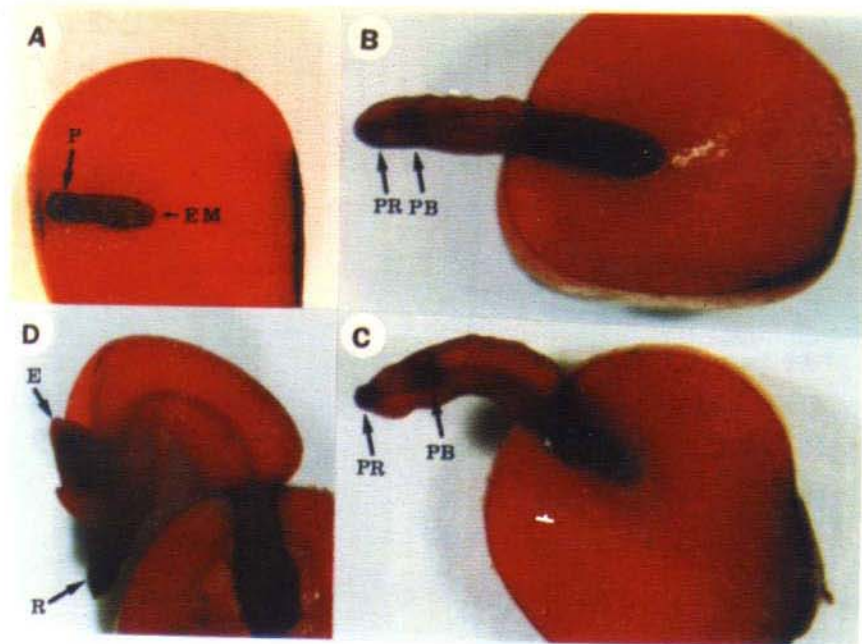


Photo. 3. Movement of bulbil and root primordia in germinating *P. odoratum* seed. Letters having an arrow mean E, epicotyl; EM, embryo; P, primordia of bulbil and root; PB, primordium of bulbil; PR, primordium of root; R, root.

지하경을 형성하는 소주아와 뿌리가 분화되는 형태라고 할 수 있다. 따라서 소주아와 뿌리를 형성하는 시원체가 배측에 존재하며 발아중 이들의 변화를 구명하기 위하여 발아 초기 단계에서 종자의 절단면을 입체현미경으로 관찰한 것은 사진 3과 같다. 배측이 신장되기 전 주공과 인접한 배 정단 부위에 小珠芽와 지하경의 시원체가 관찰되었고 (A), 배측이 신장되면서 두조직의 시원체가 배의 정단에서 약간 분리된 후 (B) 小珠芽가 형성되는 부분이 약간 부풀어올라 (C) 시간이 경과되면서 크기가 커진 후 小珠芽로부터 상배측과 뿌리가 돌기하는 단계로 진전되었다 (D). 따라서 발아전 종자의 배 정단 부분에 지상부와 차로서 가공되는 지하경을 형성하는 소주아와 뿌리의 시원체는 배의 하부가 신장되어 외부로

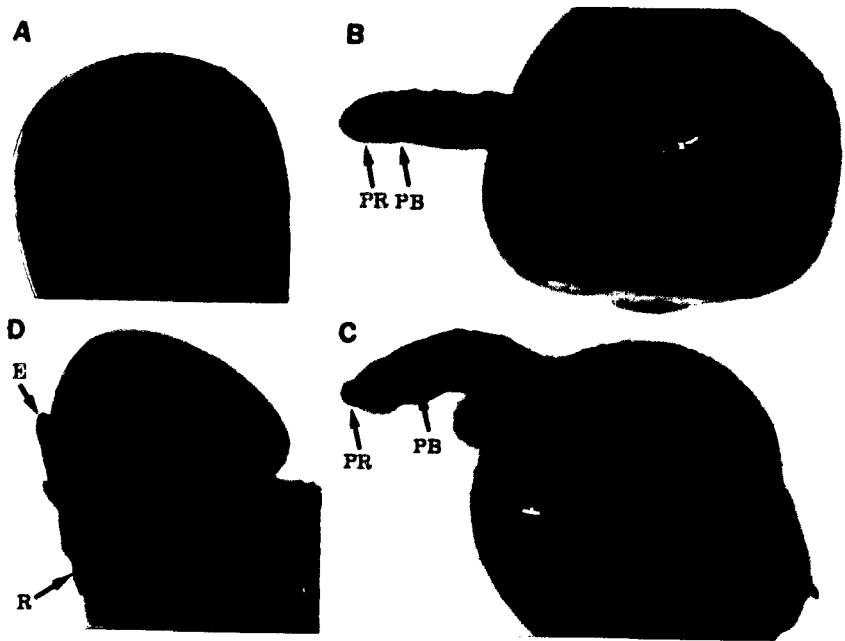


Photo. 3. Movement of bulbil and root primordia in germinating *P. odoratum* seed. Letters having an arrow mean E, epicotyl; EM, embryo; P, primordia of bulbil and root; PB, primordium of bulbil; PR, primordium of root; R, root.

외부로 노출된 후에야 분화가 시작되고, 이들이 독립된 조직으로 성장·발달하는 것으로 요약할 수 있을 것이다 (사진 3). 상기 소주아와 뿌리를 형성하는 시원체의 동태와 아울러 발아중인 종자내의 배와 배유의 형태가 시간이 경과함에 따라 변화는 정도는 그림 4와 같다. 종자 내의 배는 그림 12A와 같이 막대기 모양에서 胚軸이 신장함에 따라 배가 배유를 잠식하기 시작하여 (A, B) 시간이 경과하면서 계속 잠식한 후 배가 배유를 거의 잠식할 시기에는 종자가 발아중인 유묘에서 분리되었다 (C). 따라서 상기 시원체의 이동과 배와 배유의 변화로 볼 때 등굴레의 발아를 유근돌출 또는 유근신장이라는 표현은 적절치 못하며 (陳瑛, 1987b) 배축의 일부가 신장된 결과로 표현하여야 할 것이다.

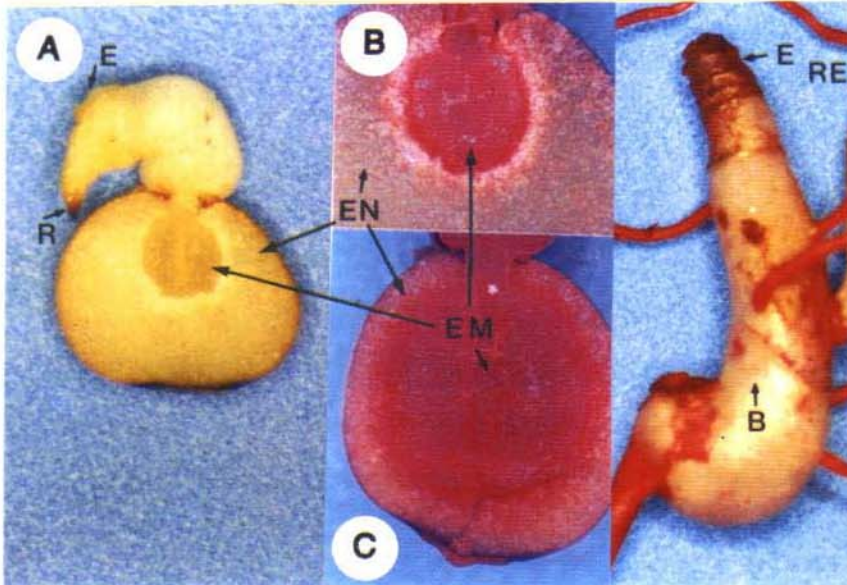


Photo. 4. Embryo enlargement (A, B, C) of germinating *P. odoratum* seed and re-emerging epicotyl from already formed bulbil (D). Letters mean B, bulbil; E, epicotyl; EM, embryo; EN, endosperm, R, root; RE, re-emerged epicotyl.

상배축 휴면으로 인하여 파종에서부터 유묘출현까지 약 18개월이 소요되는 등굴레 종자는 식량작물 또는 원예작물과는 달리 지상부의 줄기와 지하부의 뿌리가 종자에서

외부로 노출된 후에야 분화가 시작되고, 이들이 독립된 조직으로 성장·발달하는 것으로 요약할 수 있을 것이다 (사진 3). 상기 소주아와 뿌리를 형성하는 시원체의 동태와 아울러 발아중인 종자내의 배와 배유의 형태가 시간이 경과함에 따라 변화는 정도는 그림 4와 같다. 종자 내의 배는 그림 12A와 같이 막대기 모양에서 胚軸이 신장함에 따라 배가 배유를 잠식하기 시작하여 (A, B) 시간이 경과하면서 계속 잠식한 후 배가 배유를 거의 잠식할 시기에는 종자가 발아중인 유묘에서 분리되었다 (C). 따라서 상기 시원체의 이동과 배와 배유의 변화로 볼 때 등굴레의 발아를 유근돌출 또는 유근신장이라는 표현은 적절치 못하며 (陳瑛, 1987b) 배축의 일부가 신장된 결과로 표현하여야 할 것이다.

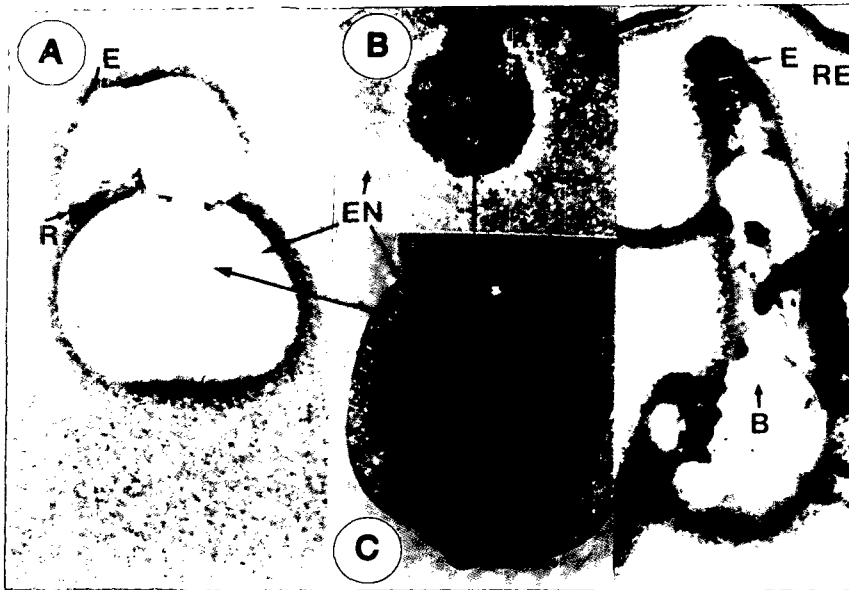


Photo. 4. Embryo enlargement (A, B, C) of germinating *P. odoratum* seed and re-emerging epicotyl from already formed bulbil (D). Letters mean B, bulbil; E, epicotyl; EM, embryo; EN, endosperm, R, root; RE, re-emerged epicotyl.

상배축 휴면으로 인하여 파종에서부터 유묘출현까지 약 18개월이 소요되는 등굴레 종자는 식량작물 또는 원예작물과는 달리 지상부의 줄기와 지하부의 뿌리가 종자에서

바로 돌출하는 것이 아니라 배의 윗부분에 발아전에 이미 형성된 소주아 및 뿌리의 시원체가 배측의 아랫부분이 신장함으로서 종피 밖으로 돌출 되어 발아가 이루어진다고 할 수 있다. 이런 과정을 통하여 종자 외부로 돌출된 소주아 및 뿌리의 시원체가 각각 육안으로 식별 가능한 형태로 발달되어 외형적으로는 유묘로서의 형태를 갖춘다고 할 수 있다. 그러나 유묘출현은 소주아의 정단에 형성되는 상배측의 휴면이 타파된 후 상배측이 신장함으로서 유묘가 지상으로 출현하고 단자엽이 전개되는 형태로 진행된다고 요약할 수 있을 것이다. 따라서 일반작물과는 달리 등굴레의 발아 및 유묘출현은 뿌리와 줄기가 종자에서 바로 형성되는 것이 아니라 이들의 시원체가 종자외부로 이동하여 각각의 기관으로 분화된 후 상배측 휴면이 타파되어야하는 특징을 가지고 있어 종자를 이용한 등굴레의 다량육묘의 효율화는 이러한 발아특성을 이해함으로써 제고될 수 있을 것이다.

나. 유묘 성장단계별 내·외부형태 변화

상기 시험의 결과와 같이 등굴레의 발아 초기단계에서 종자내의 조직변화는 일반식량작물과는 달리 대단히 특이한 형태로 진전되었다. 파종에서 출아 후에 육안으로 관찰이 가능한 단자엽이 전개되기까지의 과정은 사진 5와 같다. 종자를 상토에 파종한 후 (A) 6~12주가 경과하면 상기 사진 2, 3, 4의 과정을 거쳐 小珠芽와 뿌리가 형성되었으며 (B), 형성된 小珠芽로부터 상배측이 돌기되고 여러 개의 뿌리가 신장하기 시작하였다 (C). 小珠芽로부터 돌기된 상배측은 상기 '효율적 상배측 휴면타파 방법설정'에서 보고된 바와 같이 3℃에서 적어도 4주 이상의 저온처리가 가하여져야 휴면이 타파되어 신장되기 시작하였다 (D). 상배측이 휴면에서 타파되었더라도 지상으로 출현되지 않은 상태로부터 (D) 상배측이 신장하여 (E) 유묘가 지상으로 출현한 후 단자엽이 전개되고 (F) 저온처리 후 6주경에는 완전한 잎의 형태를 갖추었으며 (G), 시간이 경과되면서 형성되는 소주아의 윗부분에 작은 돌기가 발달되어 지하경의 모습을 갖추었다 (H). 한편 이들 유묘에 인위적으로 저온처리를 가하여 지상부의 경엽을 지우고 약 5주간 상배측의 휴면타파에 필요한 저온처리를 가한

후 6주정도 성장시킨 육묘 (I)는 상대적으로 초장도 길고 소주아, 즉 지하경도 큰 것으로 관찰되었다. 따라서 초기보다는 경엽이지는 횡수가 생장이 거듭될수록 지하경의 비대는 배가될 것으로 예상된다. 이상의 둥굴레 종자의 발아과정 중에서 A와 B 단계는 사진 2의 4 단계로 (강진호 등, 1996), C와 D는 3단계로 (강진호 등, 1997b)로 더욱 세분될 수 있어서 일반작물과는 달리 둥굴레의 발아는 아주 복잡한 과정을 거친다고 할 수 있다.



Photo. 5. Germinating characteristics of *P. odoratum* seed. A and B can be divided into the 4 steps of Photo. 2. and epicotyl dormancy must be broken at stage C to proceed the next stages.

한편 둥굴레는 상배축의 휴면타파가 이루어져야 포장 출현이 가능하기 때문에 육묘기간을 단축하기 위해서는 인위적으로 휴면을 타파할 필요가 있으나 (陳瑛, 1998b; Wareing 등, 1981) 본시험의 연구결과에서와 같이 다량육묘에서 상배축의 휴면타파는 GA3 처리로는 불가능하며 저온처리가 보다 효율적이어서 상배축의 휴면타파를 위하여 가하여진 저온

후 6주정도 성장시킨 유묘 (I)는 상대적으로 초장도 길고 소주아, 즉 지하경도 큰 것으로 관찰되었다. 따라서 초기보다는 경엽이지는 횡수가 생장이 거듭될수록 지하경의 비대는 배가될 것으로 예상된다. 이상의 등굴레 종자의 발아과정 중에서 A와 B 단계는 사진 2의 4 단계로 (강진호 등, 1996), C와 D는 3단계로 (강진호 등, 1997b)로 더욱 세분될 수 있어서 일반작물과는 달리 등굴레의 발아는 아주 복잡한 과정을 거친다고 할 수 있다.



A B C D E F G H I

Photo. 5. Germinating characteristics of *P. odoratum* seed. A and B can be divided into the 4 steps of Photo. 2. and epicotyl dormancy must be broken at stage C to proceed the next stages.

한편 등굴레는 상배축의 휴면타과가 이루어져야 포장 출현이 가능하기 때문에 육묘기간을 단축하기 위해서는 인위적으로 휴면을 타과할 필요가 있으나 (陳瑛, 1998b; Wareing 등, 1981) 본시험의 연구결과에서와 같이 다량육묘에서 상배축의 휴면타과는 GA₃ 처리로는 불가능하며 저온처리가 보다 효율적이어서 상배축의 휴면타과를 위하여 가하여진 저온

처리 6주후에 관찰한 유묘 출현과 형태는 사진 6과 같다. 소주아 및 뿌리가 형성된 개체는 저온처리를 통하여 휴면이 타파된 상배축이 신장함으로써 유묘가 출현되었으나 (A), 출현된 유묘의 단자엽은 외형적인 형태가 정상적이라 할지라도 심하게 도장되었다 (B). 이러한 시험이 생육장에서 이루어졌기 때문에 자연상태에 비하여 광도가 약한 것이 그 원인으로

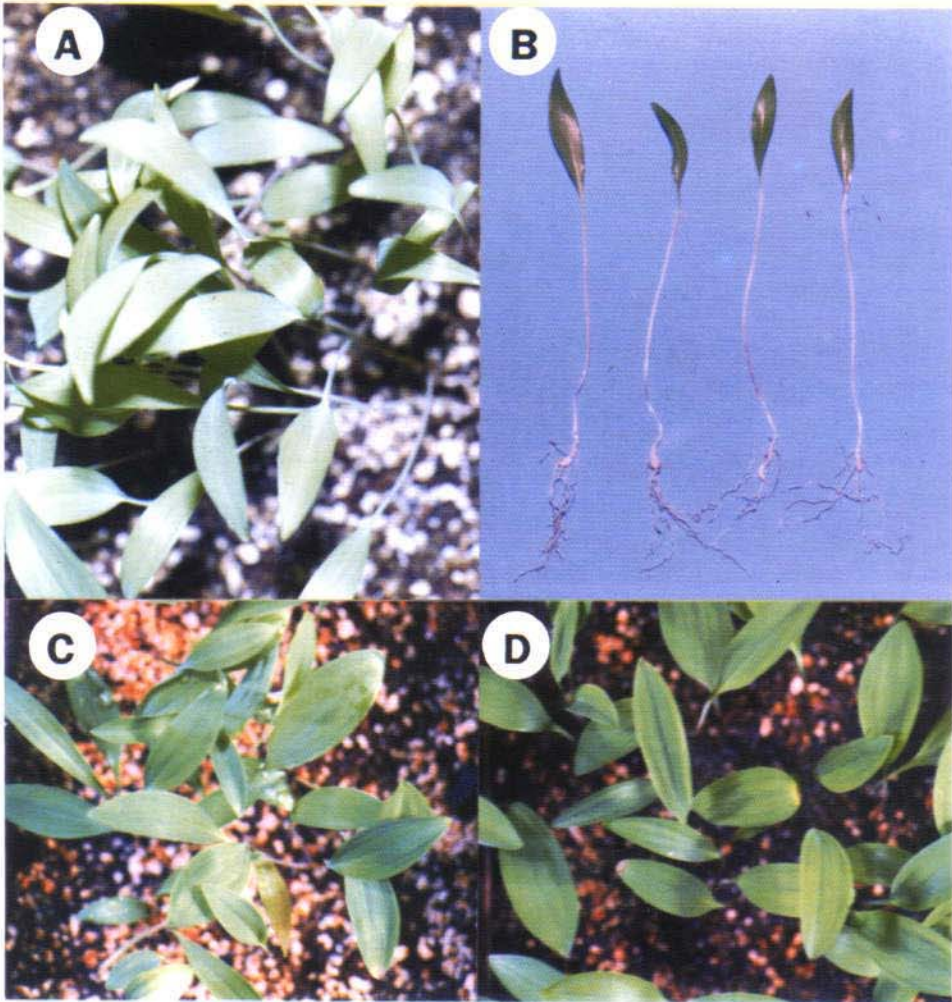


Photo. 6. Effect of 6-week chilling treatment (A, B) for breaking epicotyl dormancy and shading (C, D) after the chilling treatment on the morphology of *P. odoratum* seedlings. Shading was treated at the 65% light intensity of the no-shading for 6 weeks after the chilling treatment.

처리 6주후에 관찰한 유묘 출현과 형태는 사진 6과 같다. 소주아 및 뿌리가 형성된 개체는 저온처리를 통하여 휴면이 타파된 상배축이 신장함으로써 유묘가 출현되었으나 (A), 출현된 유묘의 단자엽은 외형적인 형태가 정상적이라 할지라도 심하게 도장되었다 (B). 이러한 시험이 생육장에서 이루어졌기 때문에 자연상태에 비하여 광도가 약한 것이 그 원인으로



Photo. 6. Effect of 6-week chilling treatment (A, B) for breaking epicotyl dormancy and shading (C, D) after the chilling treatment on the morphology of *P. odoratum* seedlings. Shading was treated at the 65% light intensity of the no-shading for 6 weeks after the chilling treatment.

추정되어 ($4.9 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 저온처리를 통한 상배측 휴면타과 후에 유묘가 출현할 때 처리되는 광도가 단자엽의 형태에 미치는 영향을 조사한 결과, 차광을 하지 않는 것이 (C) 약 65% 정도까지 차광을 한 것에 비하여 (D) 단자엽의 크기가 작고 엽육이 두터웠다. 따라서 유묘가 출현되는 과정에서 인위적으로 손쉽게 처리될 수 있는 광도를 증가시킴으로서 건강한 유묘를 생산할 수 있을 것으로 기대되나 이에 대하여는 추후 보다 세밀한 검토가 요망된다.

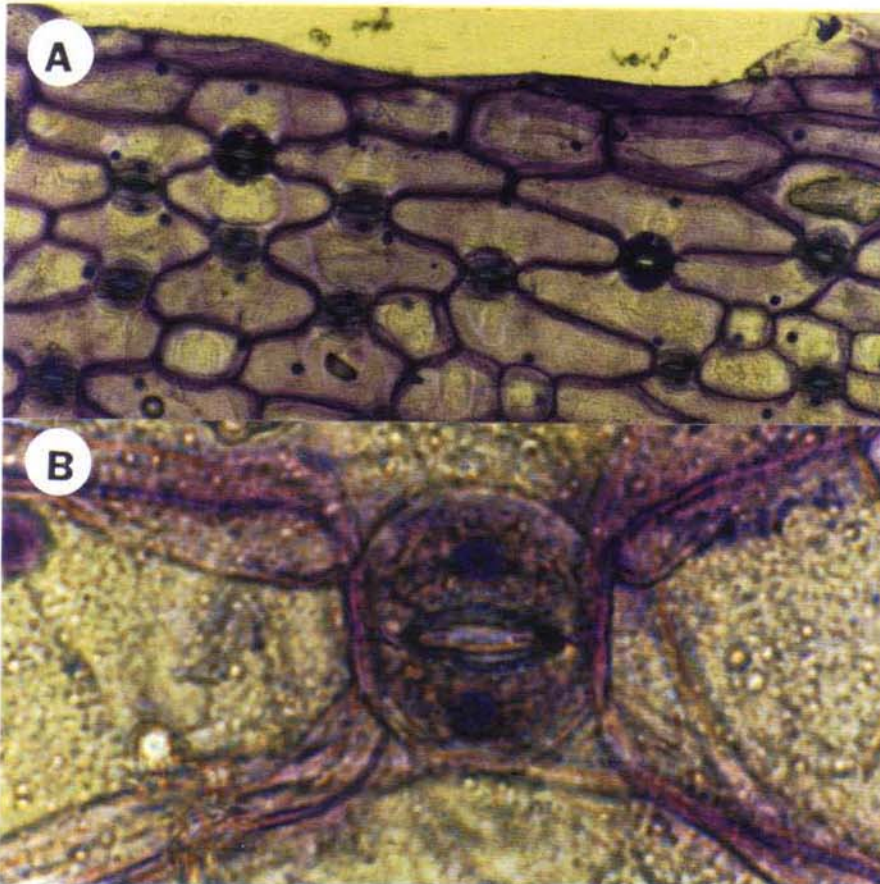


Photo. 7. Stomata distribution in lower leaf surface of *P. odoratum* seedling and amplified stomata and guard cells.

추정되어 ($4.9 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 저온처리를 통한 상배축 휴면타과 후에 유묘가 출현할 때 처리되는 광도가 단자엽의 형태에 미치는 영향을 조사한 결과, 차광을 하지 않는 것이 (C) 약 65% 정도까지 차광을 한 것에 비하여 (D) 단자엽의 크기가 작고 엽육이 두터웠다. 따라서 유묘가 출현되는 과정에서 인위적으로 손쉽게 처리될 수 있는 광도를 증가시킴으로서 건강한 유묘를 생산할 수 있을 것으로 기대되나 이에 대하여는 추후 보다 세밀한 검토가 요망된다.



Photo. 7. Stomata distribution in lower leaf surface of *P. odoratum* seedling and amplified stomata and guard cells.

이상의 저온처리를 통하여 상배축 휴면이 타파된 유묘에 형성된 단자엽의 기공분포와 형태를 관찰한 것은 사진 7과 같다. 둥굴레의 기공은 엽의 전면과 후면 모두 분포하고 있었으나, 빈도는 여타 식물에서와 마찬가지로 후면에서 높았으며, 기공의 형태는 kidney type으로 잎의 표면으로부터 심하게 함몰되지 않은 것으로 관찰되었다.

이상의 유묘 출현 특성으로부터 둥굴레의 이용 부위인 지하경의 형성 과정을 추적하기 위하여 사진 5의 단계 H와 같이 단자엽이 형성된 유묘를 6주간 저온처리를 가하여 인위적으로 경엽을 지운 후에 다시 25℃의 상온을 처리하는 과정을 두 번 반복하였을 경우 小珠芽와 뿌리의 형태변화를 조사한 것은 사진 4의 D와 같다. 小珠芽의 정단으로부터 최초로 신장되었던 상배축의 경엽은 저온처리로 인하여 없어지고 小珠芽의 마디로부터 새로운 지하경이 분지 되고 뿌리는 여러 개가 출현되는 것으로 나타났다. 한편 년차별 소주아의 생장을 비교한 것은 사진 8과 같다.

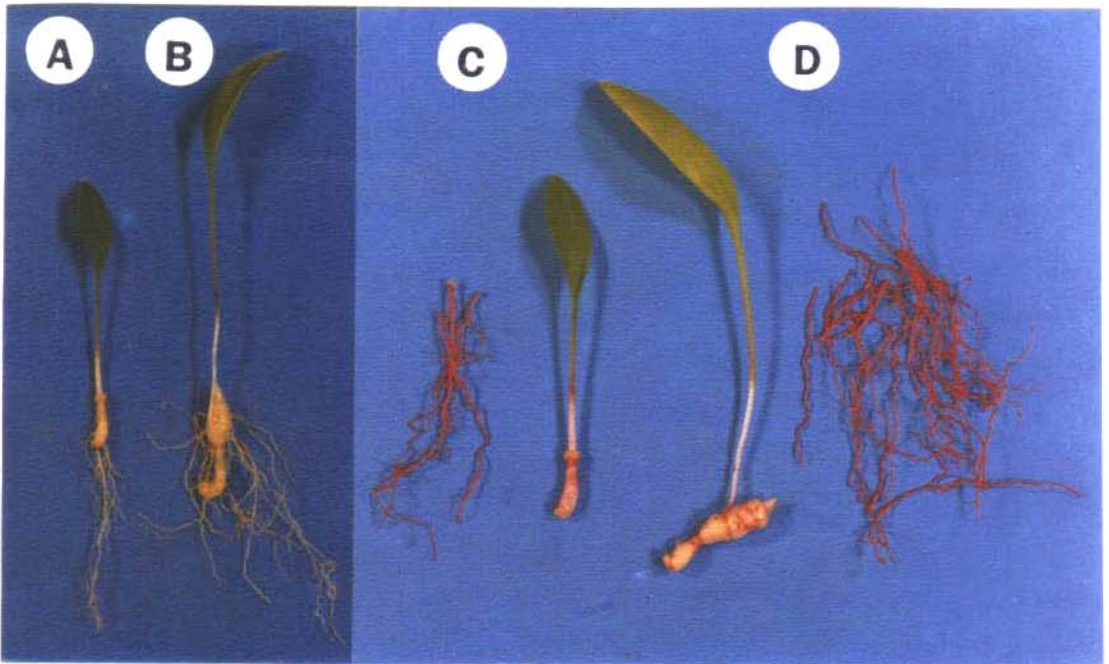


Photo. 8. Seedlings of *P. odoratum* directly formed from seed (A) and growing after forced the chilling to the seedling A (B).

이상의 저온처리를 통하여 상배축 휴면이 타파된 유묘에 형성된 단자엽의 기공분포와 형태를 관찰한 것은 사진 7과 같다. 등굴레의 기공은 엽의 전면과 후면 모두 분포하고 있었으나, 빈도는 여타 식물에서와 마찬가지로 후면에서 높았으며, 기공의 형태는 kidney type으로 잎의 표면으로부터 심하게 함몰되지 않은 것으로 관찰되었다.

이상의 유묘 출현 특성으로부터 등굴레의 이용 부위인 지하경의 형성 과정을 추적하기 위하여 사진 5의 단계 H와 같이 단자엽이 형성된 유묘를 6주간 저온처리를 가하여 인위적으로 경엽을 지운 후에 다시 25℃의 상온을 처리하는 과정을 두 번 반복하였을 경우 小珠芽와 뿌리의 형태변화를 조사한 것은 사진 4의 D와 같다. 小珠芽의 정단으로부터 최초로 신장되었던 상배축의 경엽은 저온처리로 인하여 없어지고 小珠芽의 마디로부터 새로운 지하경이 분지 되고 뿌리는 여러 개가 출현되는 것으로 나타났다. 한편 년차별 소주아의 생장을 비교한 것은 사진 8과 같다.

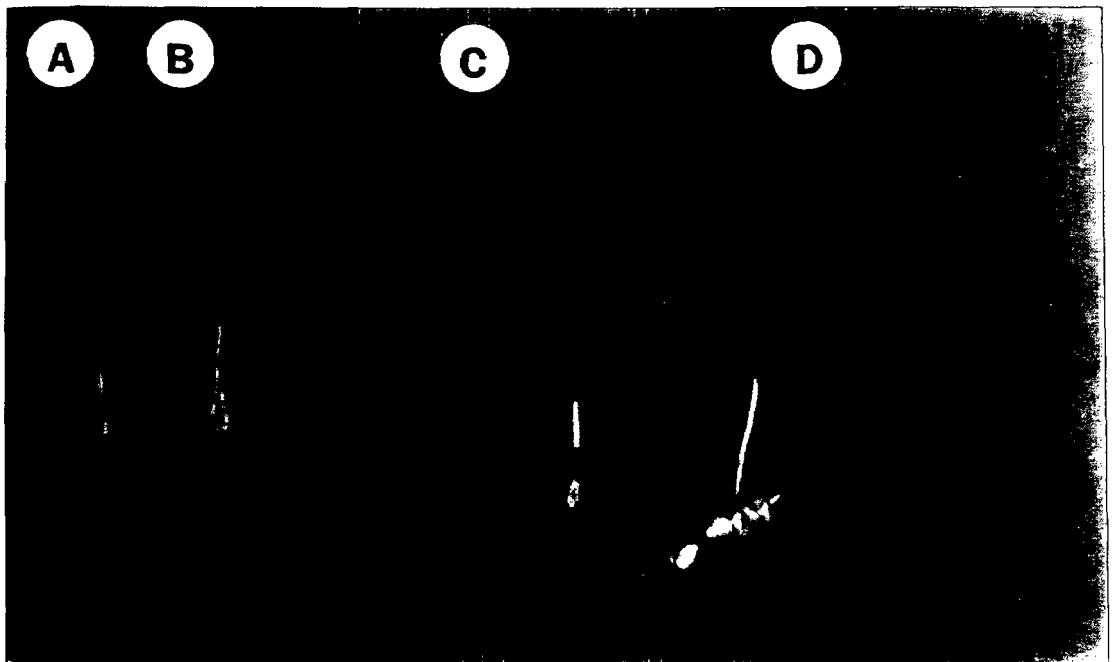


Photo. 8. Seedlings of *P. odoratum* directly formed from seed (A) and growing after forced the chilling to the seedling A (B).

종자 발아로부터 유묘가 출현하여 단자엽이 형성된 1년차 (A, C)를 인위적으로 저온처리를 가한 후 상배축의 휴면을 타파시켜 단자엽이 출현되도록 한 2년차 (B, D)는 1년차 (A, C)에 비하여 뿌리의 수가 많고 단자엽이 크며, 특히 소주아, 바꾸어 말하면 지하경이 큰 것으로 관찰되었다. 이러한 지하경은 1년차보다는 2년차에 형성된 부분이 훨씬 큰 것으로 나타나 생육이 진전될수록 지하경은 더욱 비대하여 질 것이라는 예상된다. 한편 지하경으로 지칭되는 부위는 小珠芽 자체가 생장을 거듭함으로써 형성되는 것이라 할 수 있으며 (강진호 등, 1996), 상기 시험의 결과에서 종자번식을 통한 소주아 및 뿌리의 시원체가 계속 발달하여 소주아를 형성한 후 이것이 결국 차로서 가공·이용되는 지하경으로 발달하기 때문에 陳瑛 (1998c)이 命名한 小珠芽는 지하경을 형성하는 최초의 조직이라 할 수 있었다.

다. 유묘지하경의 분지형태 구명

상기 시험의 결과 종자의 발아단계에서 소주아와 뿌리를 형성하는 시원체가 배축이 신장됨에 따라 종피 외부로 이동된 후 (사진 3) 소주아와 뿌리로 조직이 분화되기 시작하였으나 소주아의 정단에 형성된 상배축이 휴면으로부터 타파되지 않으면 상기 ‘상배축 휴면 타파 방법설정’ 시험결과에서와 같이 유묘로 발달되지 않는 것으로 나타났다. 그러나 petri dish와 같은 소용기를 이용한 시험에서는 효과가 있는 것으로 보고 (류영섭, 1997)된 GA₃ 처리에서 전혀 유묘출현이 이루어지지 않았다. 이러한 원인을 추적하고자 현미경을 이용하여 상배축의 절단면을 촬영한 것은 사진 9와 같다. 소주아의 형성이 완료된 직후의 상배축은 여러 겹의 자엽초로 싸여져 있었으나 (A), 상배축 휴면을 타파를 목적으로 저온처리를 가할 경우 자엽초가 단계적으로 파열되어 상배축이 외부로 노출되어 저온처리가 이루어지는 것으로 나타났다 (B). 이러한 현상은 이미 소주아, 즉 지하경으로부터 성장중인 개체의 눈을 확대한 사진에서도 저온처리를 가하지 않을 경우 자엽초가 파열되지 않아 GA₃ 처리 효과는 종자에서 바로 형성된 소주아의 정단에 돌기되는 상배축과 같아 휴면타파가 제대로 이루어지지 않는 것에 기인되었다.(C, D).

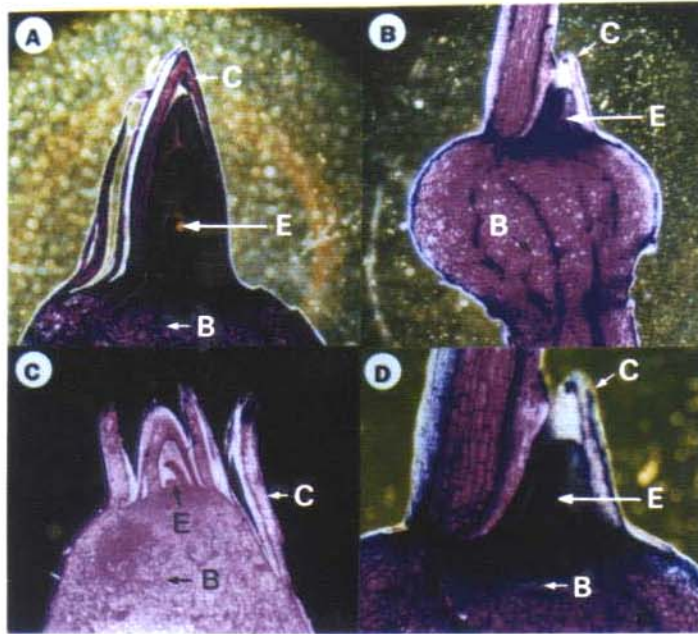


Photo. 9. Longitudinal shapes and their amplification of bulbil and epicotyl in *P. odoratum* seedlings developed from seed (A, C) and seedling (B, D). Letters mean B, bulbil; C, cotyledonary sheaths; E, epicotyl.

유묘지하경의 분지형태를 구명하고자 소주아와 뿌리의 시원체가 소주아 형성기까지 이동되는 현상을 더욱 확대하여 내부조직 분화를 관찰한 것은 사진 10과 같다. 종자 내에 존재하던 소주아 및 뿌리의 시원체는 배축이 신장함으로서 종자 밖으로 이동된 후 두 개의 조직으로 분화되었다 (사진 3). 발아전의 종자단계 (A, B)에서 상배축으로 발달하는 조직은 소주아가 형성되고 뿌리가 돌기되어 육안으로 구분이 가능하도록 성장된 단계에서는 더욱 뚜렷이 돌출 되었다 (C, D). 사진의 D 단계에서는 추후 발생하는 조직의 시원체가 존재할 것으로 예상하였으나 소주아, 뿌리 및 상배축으로 발달하는 시원체는 관찰되었던 (E) 반면, 뿌리의 정단에서는 사진 3 또는 사진 10의 D와 E에서 관찰되었던 소주아, 뿌리, 상배축의 시원체와 유사한 시원체는 관찰되지 않았다 (F). 따라서 등굴레의 발아는 특이한

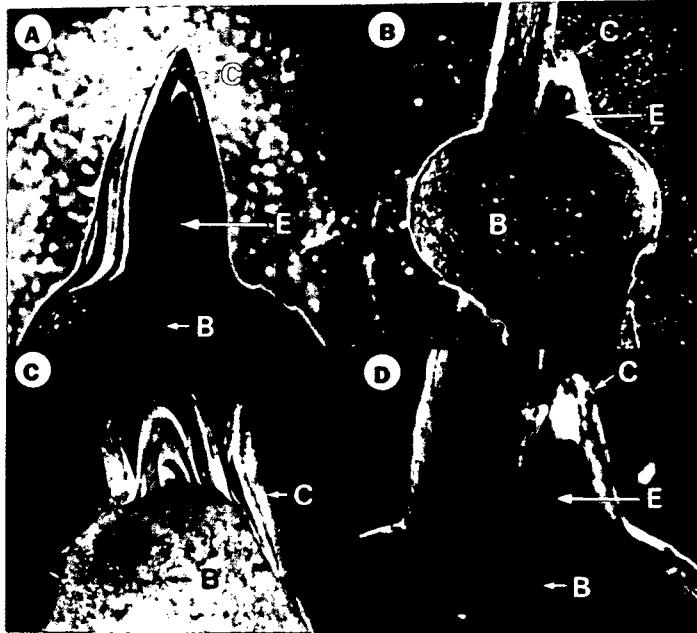


Photo. 9. Longitudinal shapes and their amplification of bulbil and epicotyl in *P. odoratum* seedlings developed from seed (A, C) and seedling (B, D). Letters mean B, bulbil; C, cotyledonary sheaths; E, epicotyl.

유묘지하경의 분지형태를 구명하고자 소주아와 뿌리의 시원체가 소주아 형성기까지 이동되는 현상을 더욱 확대하여 내부조직 분화를 관찰한 것은 사진 10과 같다. 종자 내에 존재하던 소주아 및 뿌리의 시원체는 배축이 신장함으로서 종자 밖으로 이동된 후 두 개의 조직으로 분화되었다 (사진 3). 발아전의 종자단계 (A, B)에서 상배축으로 발달하는 조직은 소주아가 형성되고 뿌리가 돌기되어 육안으로 구분이 가능하도록 성장된 단계에서는 더욱 뚜렷이 돌출 되었다 (C, D). 사진의 D 단계에서는 추후 발생하는 조직의 시원체가 존재할 것으로 예상하였으나 소주아, 뿌리 및 상배축으로 발달하는 시원체는 관찰되었던 (E) 반면, 뿌리의 정단에서는 사진 3 또는 사진 10의 D와 E에서 관찰되었던 소주아, 뿌리, 상배축의 시원체와 유사한 시원체는 관찰되지 않았다 (F). 따라서 둥굴레의 발아는 특이한

형태로 이루어질 뿐만 아니라 종자가 성숙하는 단계에서 이미 이들의 시원체가 형성되어 발아과정에서 더욱 발달된다고 할 수 있다.

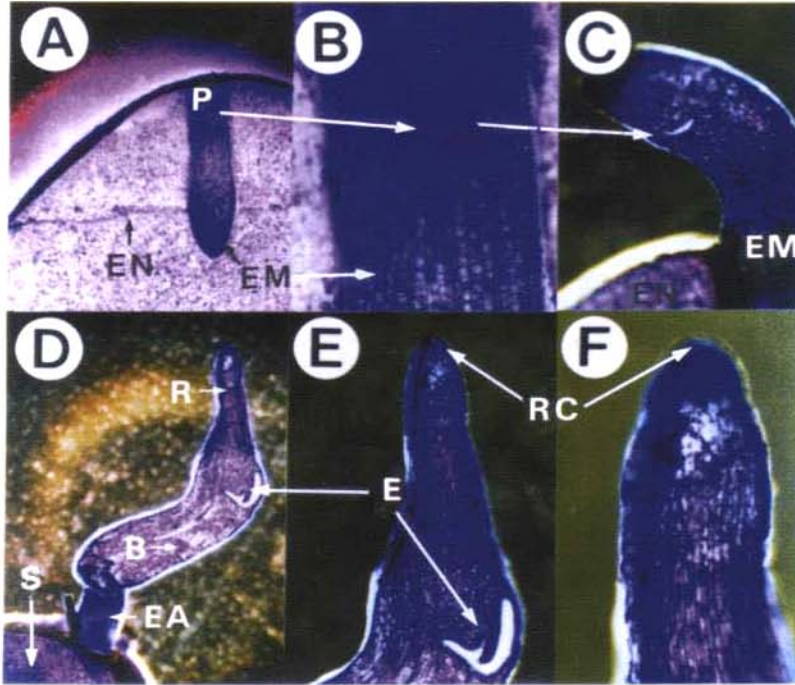


Photo. 10. Epicotyl and root development of *P. odoratum* seed and seedling. Their primordia were observed in seed (A, B), and growing embryonic axis (C), and the epicotyl was being developed in the stage of its bulbil and root formation (D, E, F). Letters mean B, bulbil; E, epicotyl; EA, embryonic axis; EM, embryo; EN, endosperm; P, primordia of bulbil and root; RC, root cap; S, seed.

발아중인 등굴레 종자와 유묘의 내부조직의 구조를 관찰하고자 절단면을 촬영한 것은 사진 11 및 12와 같다. 배축이 신장하여 소주아를 형성하는 단계에서는 배의 하부조직이 배유를 잠식하면서 분해된 영양분을 성장중인 소주아 또는 뿌리로 전류 시키는 조직이 발달

형태로 이루어질 뿐만 아니라 종자가 성숙하는 단계에서 이미 이들의 시원체가 형성되어 발아과정에서 더욱 발달된다고 할 수 있다.

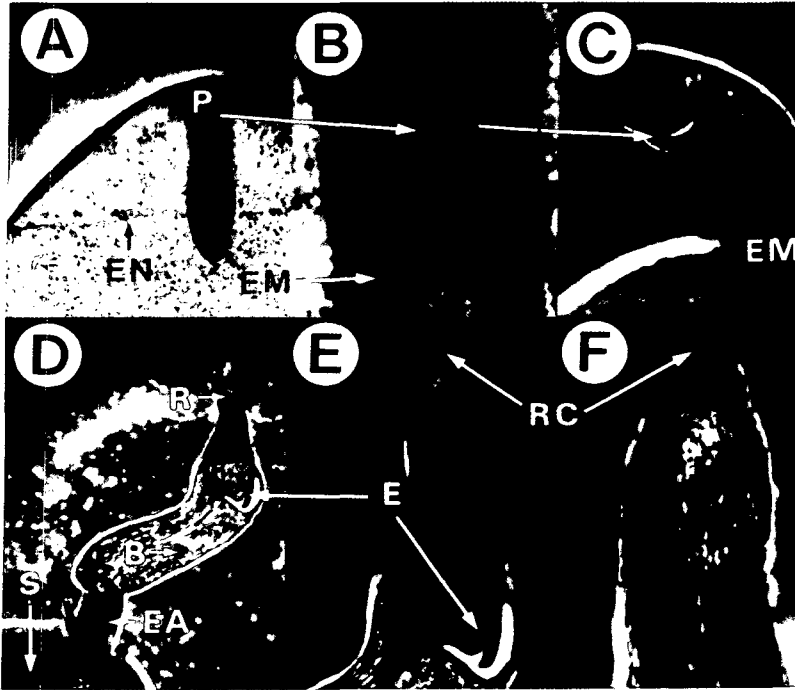


Photo. 10. Epicotyl and root development of *P. odoratum* seed and seedling. Their primordia were observed in seed (A, B), and growing embryonic axis (C), and the epicotyl was being developed in the stage of its bulbil and root formation (D, E, F). Letters mean B, bulbil; E, epicotyl; EA, embryonic axis; EM, embryo; EN, endosperm; P, primordia of bulbil and root; RC, root cap; S, seed.

발아중인 동굴레 종자와 유묘의 내부조직의 구조를 관찰하고자 절단면을 촬영한 것은 사진 11 및 12와 같다. 배축이 신장하여 소주아를 형성하는 단계에서는 배의 하부조직이 배유를 잠식하면서 분해된 영양분을 성장중인 소주아 또는 뿌리로 전류 시키는 조직이 발달

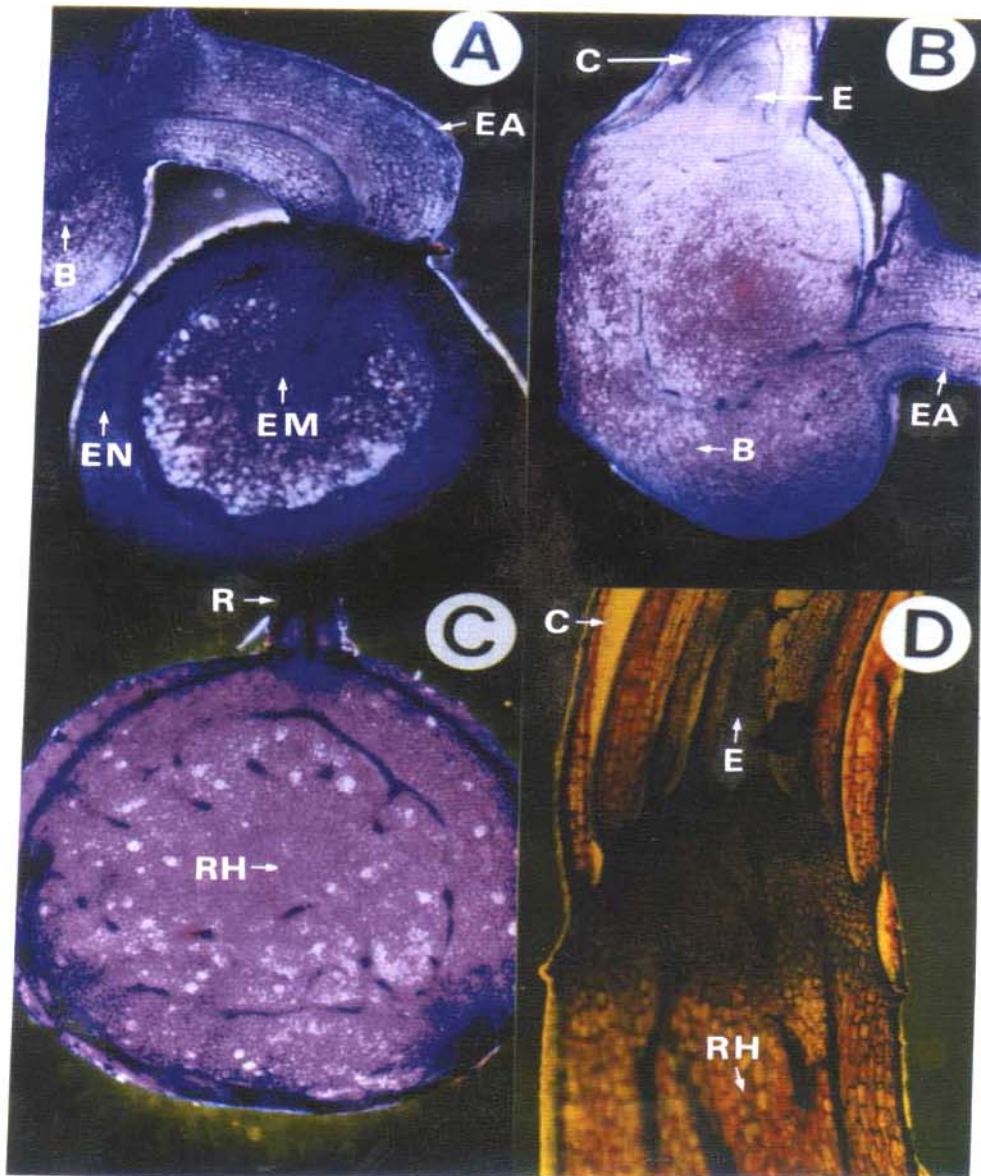


Photo. 11. Cross and longitudinal sections of germinating *P. odoratum* seed and seedling. Well-developed vascular bundles were observed in embryo (A), bulbil (B), and rhizome (C, D). Letters mean B, bulbil; C, cotyledonary sheaths; E, epicotyl; EA, embryonic axis; EM, embryo; EN, endosperm; RH, rhizome.

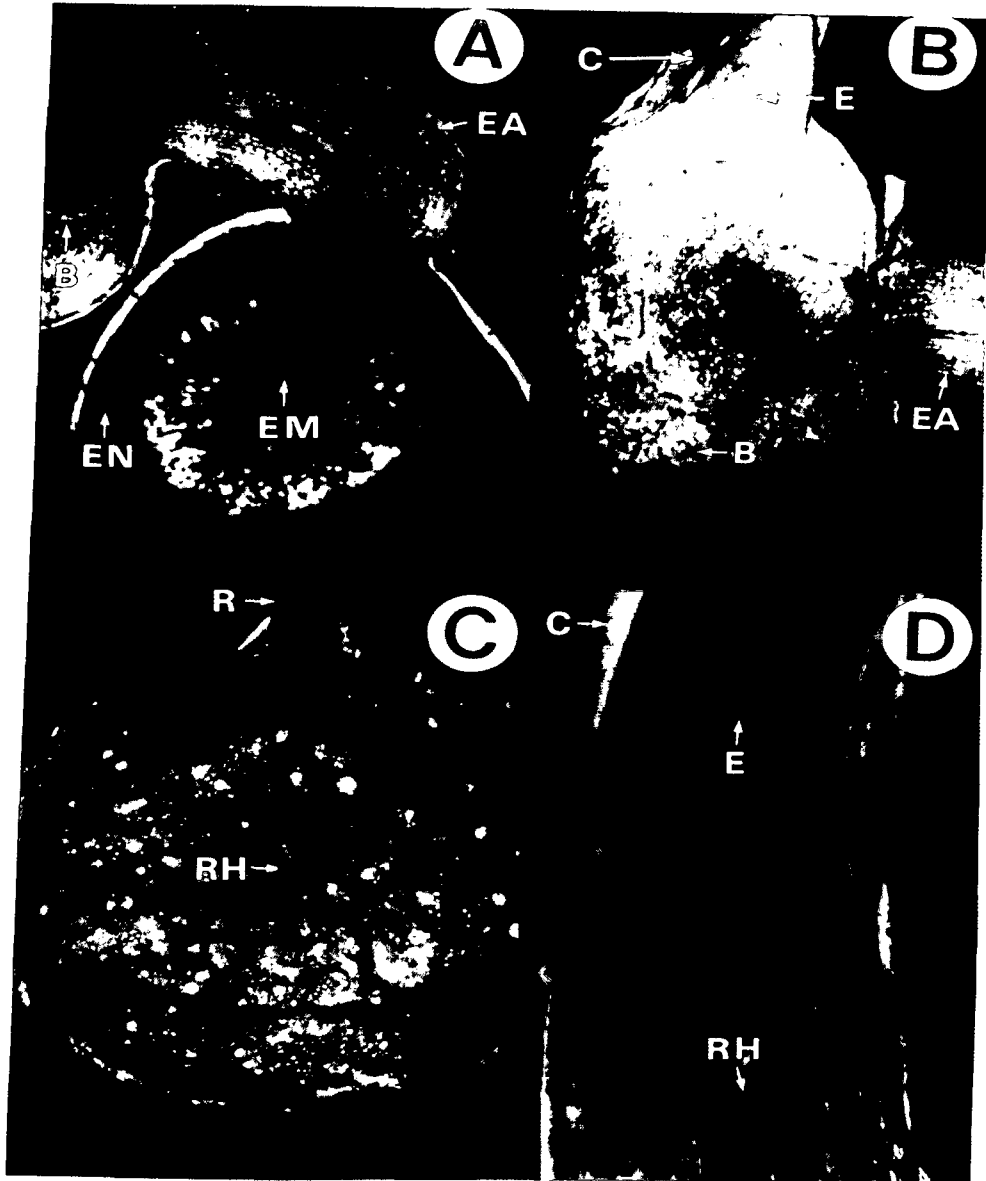


Photo. 11. Cross and longitudinal sections of germinating *P. odoratum* seed and seedling. Well-developed vascular bundles were observed in embryo (A), bulbil (B), and rhizome (C, D). Letters mean B, bulbil; C, cotyledonary sheaths; E, epicotyl; EA, embryonic axis; EM, embryo; EN, endosperm; RH, rhizome.

되어 지며 (사진 11 A), 특히 소주아의 정단에 여러 겹의 자엽초로 싸여진 상배축이 발달되는 단계에서는 종자의 배유로부터 분해되어 전류되는 양분을 이동시킬 수 있는 조직이 신장된 배축에 연결되어 있는 것이 종자 뿐만 아니라 소주아에서도 관찰되었다 (사진 11 B). 한편 사진 11 C와 같이 신장이 이루어진 소주아, 즉 최초의 지하경을 직각으로 절단한 단면은 표피와 중앙에는 통도조직이 잘 발달되어 있으며 이러한 통도조직은 자엽초로 싸여진 상배축까지 연결되어 있는 것이 관찰되어 유묘 단계에서도 물질의 흐름이 왕성함을 유추할 수 있었다 (사진 11 D).

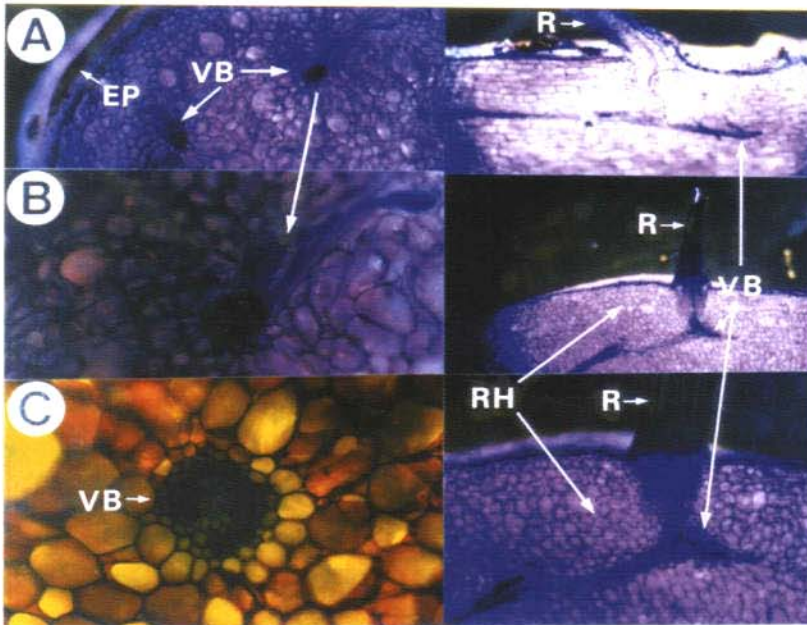


Photo. 12. Cross (A, B, C) and longitudinal sections (D, E, F) of developing *P. odoratum* seedling. The vascular bundles were well developed in internal developing rhizome and between root and rhizome. Letters mean EP, epidermis; R, root; VB, vascular bundles.

소주아로부터 발달되는 지하경의 내부와 뿌리사이의 통도조직을 관찰한 것은 사진 12와

되어 지며 (사진 11 A), 특히 소주아의 정단에 여러 겹의 자엽초로 싸여진 상배측이 발달되는 단계에서는 종자의 배유로부터 분해되어 전류되는 양분을 이동시킬 수 있는 조직이 신장된 배측에 연결되어 있는 것이 종자 뿐만 아니라 소주아에서도 관찰되었다 (사진 11 B). 한편 사진 11 C와 같이 신장이 이루어진 소주아, 즉 최초의 지하경을 직각으로 절단한 단면은 표피와 중앙에는 통도조직이 잘 발달되어 있으며 이러한 통도조직은 자엽초로 싸여진 상배측까지 연결되어 있는 것이 관찰되어 유묘 단계에서도 물질의 흐름이 왕성함을 유추할 수 있었다 (사진 11 D).

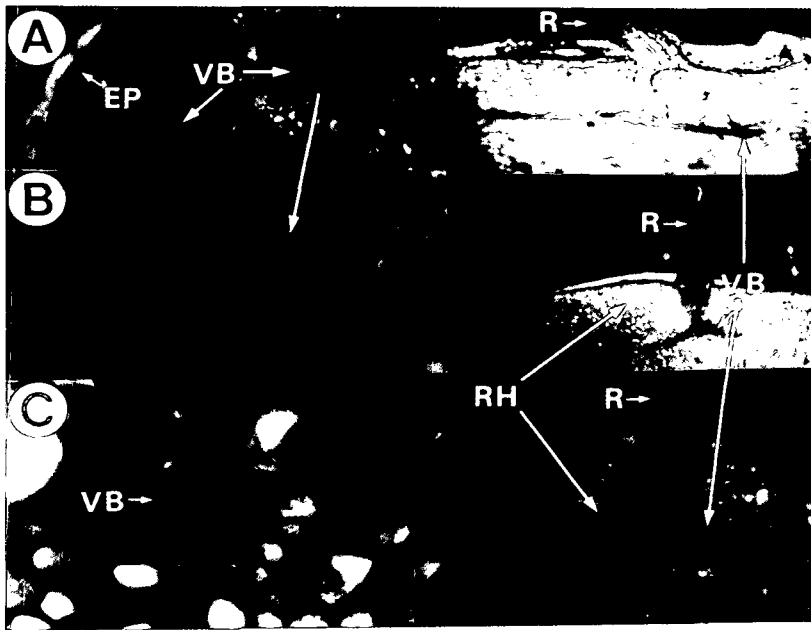


Photo. 12. Cross (A, B, C) and longitudinal sections (D, E, F) of developing *P. odoratum* seedling. The vascular bundles were well developed in internal developing rhizome and between root and rhizome. Letters mean EP, epidermis; R, root; VB, vascular bundles.

소주아로부터 발달되는 지하경의 내부와 뿌리사이의 통도조직을 관찰한 것은 사진 12와

같다. 사진 11 C와 같이 통도조직이 특정부분으로 치우쳐 있지 않고 전면에 골고루 분포하고 있었으며 이들을 확대하여 보면 (사진 12 A, B, C) 통도조직은 내부에 있는 세포보다 조밀한 세포들로 구성되어 있었다. 한편 소주아로부터 형성되는 뿌리도 사진 D, E, F와 같이 잘 발달된 통도조직으로 연결되어 있는 것으로 나타났다. 따라서 등굴레의 유묘가 발달되는 과정이 타종과 특별히 다른 것은 종자가 발아하는 단계에서는 배축의 정단에 위치하고 있는 소주아 및 뿌리의 시원체와 그 이후에 관찰이 되고 있는 상배축의 원기에 해당되는 조직이 배축의 하부가 신장된 후 발달되는 것으로 나타났으며 종자가 발아하는 단계에서 형성된 소주아가 지하경을 형성하는 최초의 조직으로써 그 이후에 발달되는 소주아, 즉 지하경은 시간이 경과될수록 발달이 더욱 확대하였다.

3. 다량재배 기초체계확립

가. 苗齡에 따른 유묘의 생장

상기 다량육묘 기술개발의 유묘출현을 향상방안에서 행하여졌던 시험항목은 상배축 휴면타파를 위한 저온처리 후 12주까지 단자엽이 출현되어 유묘가 자가영양체로서 기능을 할 때까지 각처리에 대한 반응을 조사한 것이다. 그러므로 단자엽이 형성된 1년차 유묘로부터 경엽이 지고 새로운 지상부가 형성되는 2년차 유묘로의 전환과정에서 일어나는 변화를 추적할 필요가 있다. 종자의 발아로부터 단자엽이 형성된 1년차 유묘에 인위적으로 저온을 가하여 휴면이 된 유묘를 만든 후 다시 정상적인 온도로 전환하여 지상부를 출현시킨 15주에 조사한 결과는 표 15와 16과 같다. 1년차와 2년차간에는 小珠芽, 즉 지하경의 정단에 형성된 子葉鞘 破裂率에는 차이가 없었던 반면, 2년차에서 상배축이 신장되는 정도와 그 결과 일어나는 지상부 출현율은 높은 것으로 나타났다 (표 15). 한편 1년차와 2년차 유묘의 형태적 차이로는 2년차에서 뿌리와 관련된 根數와 根長, 지하경인 小珠芽와 관련된 小珠芽長과 小珠芽直徑, 上胚軸長, 그리고 지상부 형질 중에서 草長과 葉面積이 증대되는 것으로 조사되었다 (표 16).

Table 15. Effect of repeated chilling to seedling with leaves on the characters related to emergence of *Polygonatum odoratum*

Parameters	Bulbil formation	RCS ¹	Epicotyl elongation	Seedling emergence
			%	
Chilling (no.) ²				
1	96.4	94.1	88.8	37.9
2	98.4	97.4	97.4	61.9
LSD.05	ns	ns	2.5	8.4

¹ Rupture of cotyledonary sheath.

² The second chilling was treated to the seedling with fully expanded leaves on 6 weeks after 1st chilling.

Table 16. Effect of repeated chilling to seedling with leaves on morphological characters of emerging *Polygonatum odoratum* seedling

Parameters	Root		Bulbil length	Bulbil width	Epicotyl length	Plant height	Leaf area
	Number	Length					
	no. plant ⁻¹	cm	cm	or cm ²	plant ⁻¹		
Chilling (no.) ¹							
1	7.0	3.97	1.47	0.26	2.93	6.77	1.83
2	26.0	6.90	3.00	0.56	6.93	13.40	3.50
LSD.05	1.6	0.88	0.72	0.03	0.99	0.43	0.33

¹ The second chilling was treated to the seedling with fully expanded leaves on 6 weeks after the first chilling.

따라서 종자를 파종하여 생산된 유묘를 다시 저온처리를 가하여 경엽을 지운 후에 지상부를 전개시키면 사진 13 A와 같이 정상적인 개체에 비하여 사진 13 B처럼 지하경이 크고 2개의 단자엽이 발달하는 경우도 있어서 저온처리를 반복하여 처리하는 것도 바람직하다고 할 수 있을 것이다. 그러나 이러한 처리는 1년차에서 상배축 휴면타파에 이어 유묘출현에 각각 최소한 6주, 총 12주가 소요되고, 2년차 묘로 전환하는데 적어도 6주가 소요되

어 전체적으로 18주의 기간이 경과되어야 한다. 따라서 1년차에 비하여 2년차 유묘가 양질이라 하더라도 이러한 처리는 많은 시설과 유지비를 필요로 하기 때문에 이를 둥굴레의 종자번식 체계에 도입하려면 경영분석 등에 관하여 검토가 있어야 할 것이다.

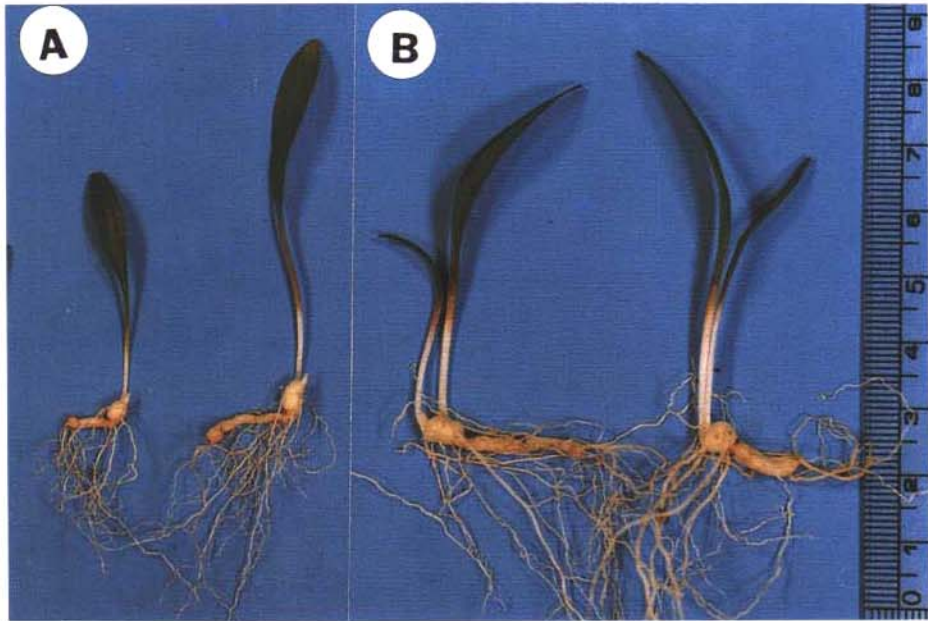


Photo. 13. Effect of repeated chilling on the growth of *P. odoratum* seedlings. A and B after normally produced from its seeds were given the chilling. A were grown normally but B were vigorously.

상배축 휴면타과를 위한 저온처리 후의 온도, 광도, 양액 처리 및 묘령에 따른 유묘 출현 및 생장에 관한 시험결과를 종합하여 요약하면 저온과 저광도에서 유묘의 출현과 생장은 저하되고 출현기의 인위적 양액공급으로 조장되었다. 따라서 상배축 휴면타과를 위한 저온처리 이후 자급이 소요되는 시설을 이용하여 유묘출현을 유도하는 것보다는 노지에 바로 전개시키는 것이 가능하다고 할 수 있으나, 15℃에서는 유묘 출현과 생장이 둔화되기 때문에 노지에 바로 전개시키는 것은 온도와 광도가 상대적으로 높은 6~9월에 제한하여 이용하여야 할 것이다. 한편 양액공급에 의하여 유묘생장이 촉진되기 때문에 처리가 비교적 간편한 액비를 노지 전개 후 일정간격으로 관주한다면 양질묘를 확보할 수 있을 것이다.

어 전체적으로 18주의 기간이 경과되어야 한다. 따라서 1년차에 비하여 2년차 유묘가 양질이라 하더라도 이러한 처리는 많은 시설과 유지비를 필요로 하기 때문에 이를 등굴레의 종자번식 체계에 도입하려면 경영분석 등에 관하여 검토가 있어야 할 것이다.

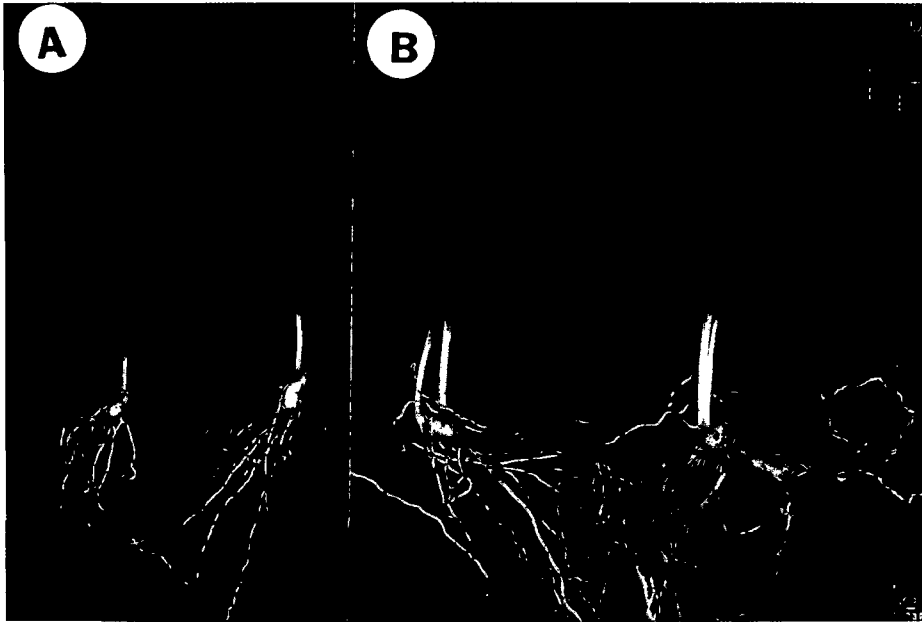


Photo. 13. Effect of repeated chilling on the growth of *P. odoratum* seedlings. A and B after normally produced from its seeds were given the chilling. A were grown normally but B were vigorously.

상배축 휴면타파를 위한 저온처리 후의 온도, 광도, 양액 처리 및 묘령에 따른 유묘 출현 및 생장에 관한 시험결과를 종합하여 요약하면 저온과 저광도에서 유묘의 출현과 생장은 저하되고 출현기의 인위적 양액공급으로 조장되었다. 따라서 상배축 휴면타파를 위한 저온처리 이후 자금이 소요되는 시설을 이용하여 유묘출현을 유도하는 것보다는 노지에 바로 전개시키는 것이 가능하다고 할 수 있으나, 15℃에서는 유묘 출현과 생장이 둔화되기 때문에 노지에 바로 전개시키는 것은 온도와 광도가 상대적으로 높은 6~9월에 제한하여 이용하여야 할 것이다. 한편 양액공급에 의하여 유묘생장이 촉진되기 때문에 처리가 비교적 간편한 액비를 노지 전개 후 일정간격으로 관주한다면 양질묘를 확보할 수 있을 것이다.

나. 우수 육묘방법별 생장비교

상기 육묘출현율 향상방안의 시험결과에서 온도 및 광도의 차이가 육묘출현과 생장에 영향을 미치는 것으로 나타났으나 온도는 계절적 요인에 지배되기 때문에 등굴레의 다량 육묘에서는 조절이 거의 불가능한 반면, 차광을 통한 광도의 조절과 양약공급은 처리가 아주

Table 17. Seedling emergence of *Polygonatum odoratum* and its morphological characters as affected by shading, supplying of nutrient solution and elapsed time after chilling for breaking epicotyl dormancy

Parameters	Emergence rate	Bulbil length	Epicotyl length	Root	
				Length	Number
	%		cm plant ⁻¹		no.
Shading (S) ^J					
None	36.9	1.73	2.63	4.95	6.50
Shading	27.9	1.82	2.62	4.84	6.56
LSD.05	2.6	ns	ns	ns	ns
Nutrient supply (N) ^J					
None	32.4	1.58	2.63	4.77	6.11
Supplying	32.5	1.96	2.63	5.02	6.94
LSD.05	ns	0.09	ns	0.19	0.48
Weeks after chilling (W)					
0	0	1.13	0.78	4.29	5.33
6	36.1	1.95	3.44	4.83	6.08
12	61.4	2.23	3.67	5.57	8.17
LSD.05	3.2	0.11	0.10	0.23	0.59
S x N	ns	ns	**	ns	ns
S x W	**	**	ns	ns	ns
N x W	ns	**	ns	ns	ns
S x N x W	ns	ns	ns	ns	ns

^J Shaded to 45% compared to no-shading, Control.

^J Supplied 40 ml per liter of bed soil once a week.

ns, ** Nonsignificant or significant at 0.01 probability, respectively.

용이하다고 할 수 있다. 이러한 이유로 상배축 휴면타과를 위한 저온처리 후의 유묘출현기에 가하여지는 광도, 즉 차광과 양분공급에 따른 유묘 출현과 생장에 미치는 영향을 파악하여 보다 우수한 육묘방법을 설정하고자 遮光과 無遮光, 양액을 공급하거나 하지 않는 양액공급의 有無로 처리를 구분하여 수행한 결과는 표 17과 같다. 유묘출현율은 차광에 비하여 무차광에서 높았으나, 小珠芽長, 上胚軸長, 根數와 根長에서는 차광 유무간에 차이가 없는 것으로 분석되었다. 한편 양액을 공급할 경우 幼苗出現과 上胚軸長은 증가시키지는 못할지라도 小珠芽長, 根數와 根長을 증가시키는 것으로 나타났다. 한편 차광과 양액공급을 가하는 시간이 6주, 12주로 연장될수록 이상의 형질 모두 증가되었다.

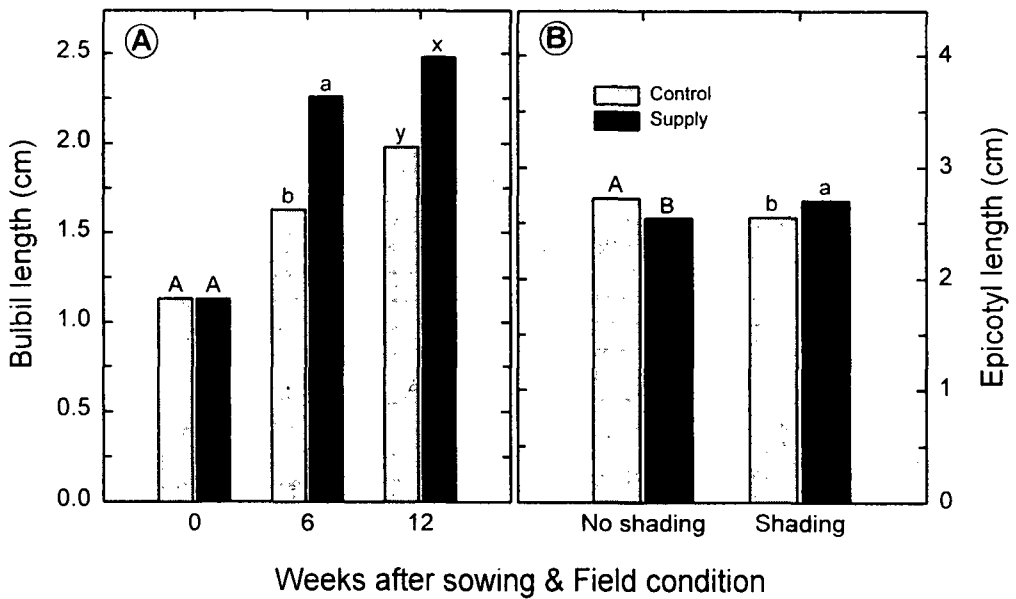


Fig. 13. Bulbil (A) and epicotyl (B) length of *P. odoratum* as affected by nutrient supplying and elapsed time after chilling or shading. Bars with the same letter are not significantly different at LSD.05.

상배축 휴면타과를 위한 저온처리 후에 가하여진 차광, 양액공급 또는 이들 처리가 지속된 시간간에 상호작용이 있는 (표 17) 小珠芽長과 上胚軸長의 처리요인의 수준별 변화는 그림 13과 같다. 小珠芽長은 저온처리 직후에는 차이가 없었으나 6주 및 12주후에는 양액

을 공급할 경우 길어졌다. 그러나 上胚軸長은 무차광시에는 양액공급시 짧아졌으나 이미 지적인 바와 마찬가지로 (사진 6) 차광할 경우 상배축장이 길어져서 도장묘가 생산되기 때문에 유묘출현기에 차광이 일어나지 않도록 주의하는 것이 바람직하나 대체적으로 종자를 이용한 등굴레의 다량육묘에서는 유묘출현기의 극히 저온을 제외하고는 생장에 미치는 영향이 적다고 할 수 있어 조방적으로 관리가 이루어지더라도 육묘는 쉽게 이루어질 수 있을 것으로 판단된다.

다. 최적 종자번식을 통한 유묘와 지하경 정식시 생장비교

이상의 시험결과로부터 종자를 이용하여 생산된 유묘와 지하경번식간의 생장을 비교 분석하는 것이 본 소과제에서 계획하였던 시험항목의 하나이다. 종자로 육묘된 유묘와 지하경을 정식 하여 재배중인 등굴레의 모습은 사진 14와 같다. 모든 유묘가 녹색을 띄고있고 왕성하게 자라는 모양은 유사하다고 할지라도 크기에는 엄청난 차이를 보였다.



Photo. 14. Growth of seedlings from *P. odoratum* seeds (A) and rhizomes (B). The A type seedlings were produced by the treatment procedure of Fig. 14 proposed below.

을 공급할 경우 길어졌다. 그러나 上胚軸長은 무차광시에는 양액공급시 짧아졌으나 이미 지적인 바와 마찬가지로 (사진 6) 차광할 경우 상배축장이 길어져서 도장묘가 생산되기 때문에 유묘출현기에 차광이 일어나지 않도록 주의하는 것이 바람직하나 대체적으로 종자를 이용한 등굴레의 다량육묘에서는 유묘출현기의 극히 저온을 제외하고는 생장에 미치는 영향이 적다고 할 수 있어 조방적으로 관리가 이루어지더라도 육묘는 쉽게 이루어질 수 있을 것으로 판단된다.

다. 최적 종자번식을 통한 유묘와 지하경 정식시 생장비교

이상의 시험결과로부터 종자를 이용하여 생산된 유묘와 지하경번식간의 생장을 비교 분석하는 것이 본 소과제에서 계획하였던 시험항목의 하나이다. 종자로 육묘된 유묘와 지하경을 정식 하여 재배중인 등굴레의 모습은 사진 14와 같다. 모든 유묘가 녹색을 띄고있고 왕성하게 자라는 모양은 유사하다고 할지라도 크기에는 엄청난 차이를 보였다.



Photo. 14. Growth of seedlings from *P. odoratum* seeds (A) and rhizomes (B). The A type seedlings were produced by the treatment procedure of Fig. 14 proposed below.

따라서 사진 A와 같이 종자번식을 통하여 확보된 유묘와 사진 B와 같이 지하경을 재식하여 성장하는 것을 단순비교하는 것은 의미가 없다고 할 수 있다. 따라서 본 소과제에서는 종자를 이용한 다량번식이 가능하며 종자번식에 관한 처리 모형이 도출한 것에 시험의 큰 의미를 부여하고자 한다.

제 4절 종합고찰

현재까지 등굴레 재배에서 이용되었던 지하경 정식의 여러 가지 문제점을 극복하기 위한 방법으로서 인위적으로 재배되고 있는 등굴레에 다량으로 형성되는 종자를 이용한 육묘방법이 제안되고 있다. 그러나 등굴레 종자는 발아과정중에 일어나는 상배축 휴면 때문에 자연상태에서는 육묘출현에 2년정도의 기간이 소요되는 문제점을 안고 있다. 종자를 이용한 육묘방법이 등굴레 재배에 도입되기 위하여는 육묘년한을 단축하고 다량육묘를 위한 육묘효율을 높이는 방법이 강구되어야 가능할 것이다. 따라서 종자를 이용한 다량육묘 체계에서 육묘년한을 단축시키기 위하여는 ① 상배축 휴면타파 전의 과정인 발아 및 소주아형성기, ② 상배축 휴면타파기, ③ 상배축 휴면타파 후의 육묘출현기의 3단계로 구분되는데 각단계를 단축할 수 있는 처리방법이 모색되어야 할 것이다. 이와 더불어 강건한 육묘를 생산하기 위하여는 앞에서 언급된 모든 단계에서 관리를 철저히 하여야 할 것이나 단자엽이 형성된 후 육묘의 관리방법이 묘소질에도 영향을 미칠 것으로 예상되기 때문에 이 시기에 육묘출현을 원활히 할 수 있는 순화체계의 확립과 아울러 적절한 관리방법도 설정되어야 육묘효율도 높일 수 있을 것이다.

먼저 발아 및 소주아의 형성은 파종 전 여러 가지 처리요인에 의하여 영향을 받는 것으로 보고되고 있다. 상배축 휴면타파 전까지의 최적 처리과정을 연역하면 15℃에 5개월 이상 후숙시킨 종자를 (강진호 등 1997a) 10% KOH에 40분간 종피연화를 실시하거나, 경제성을 고려하여 GA₃ 0.01 mM에 5일 처리한 후 파종하는 방법이 가장 양호한 결과로서 상배축 휴면타파를 위한 저온처리 전 적어도 12주까지는 발아상자를 그대로 유지시켜야 효율을 높일 수 있는 것으로 요약된다 (강진호 등, 1997; 강진호 등, 1997a). 기존의 이러한 시험 결과와 더불어 종자를 이용한 다량육묘 체계를 구축하기 위하여 상토로 수행된 본 연구결과에서도 후숙, 파종 전 8~10주간의 저온 또는 종피연화의 단순 처리효과가 있는 것으로 나타났다. 그러나 종피연화 처리 이외에는 처리기간이 긴 단점이 있고 발아 및 소주아형성율이 다소 낮은 결점이 문제점이라 할 수 있기 때문에 처리의 단순함에도 불구하고 파종전의 종자처리로서는 효율적인 방법이 아니라고 판단된다.

따라서 파종 전 종자처리로서 효과가 있다고 판단되는 이상의 처리들을 조합하는 방법을 시도한 결과 발아 및 소주아 형성은 종피연화와 GA₃ 처리를 조합할 경우 종피연화와 GA₃ 단독처리보다 감소되었다. 한편 종피연화와 저온의 혼합처리에서도 종피연화 후에 저온처리를 가할 경우 발아 및 소주아 형성이 현저히 증가되었으나 이들 처리를 역조합할 경우 無處理에 비하여 나쁜 결과를 보여 처리조합에 따라 현저히 영향을 받는다고 할 수 있었다. 따라서 단순처리를 통하여 발아 및 소주아 형성을 높이는 것보다 가능한 처리들을 체계적으로 조합하여야 더욱 발아 및 소주아 형성율을 증대시킬 수 있을 것으로 기대된다.

KOH를 이용한 종피연화 후 저온처리를 실시할 경우 발아 및 소주아 형성율을 증가시킬 수 있는 처리방법으로 판단되어 저온처리 말미에 단독처리로서는 효과가 있었던 GA₃ 처리를 가한 결과 오히려 GA₃ 단독처리보다 육묘효율이 낮은 것으로 분석되었다. 따라서 생산 현장에 이상의 처리조합을 적용시킬 경우 종피연화에 이은 저온처리 조합이 처리의 단순함으로 인하여 효과적일 것으로 예측된다. 그러나 이러한 처리조합에서는 저온처리 기간이 8주 이상으로 상대적으로 긴 것이 단점이라 할 수 있다. 따라서 저온처리 기간을 단축하고자 실시한 시험결과에서 발아 및 소주아 형성정도로 판단할 때 종피연화 이후에 저온처리를 4주까지 단축할 수 있을 것으로 조사되어서 육묘기간의 단축이 예상되나 종피연화 이후에 가하여지는 저온처리의 단축이 육묘출현율, 즉 육묘효율에 어떤 영향을 미치는가에 관하여는 본 연구와 연계하여 계속적인 검토가 이루어져야 할 것이다.

이상의 파종전 종자에 가하여지는 최적의 처리조합이 설정된다하여도 등굴레의 종자를 이용한 육묘효율은 종자의 품질, 즉 충실도가 발아에 현저한 영향을 미치는 것으로 나타났다. 야생으로 자생하는 등굴레 집단서식지에서는 종자가 거의 형성되지 않으나 관리상태가 양호한 포장은 종자도 많이 형성되고 종자를 싸고 있는 장과가 크고 충실하며, 과실당 4~5개의 종자가 함유되어 있고, 종자가 성숙되는 10월까지도 포장에서 녹색을 띠는 반면, 관리상태가 나쁜 곳은 종자를 함유하고 있는 장과가 작고 불량하며, 경엽이 일찍 지는 특성을 보였다. 이러한 특성과 아울러 채종포의 관리상태가 양호한 곳에서 채종한 종자는 발아 및 소주아 형성율이 높은 것으로 본시험의 결과에서 나타났다. 그러므로 상기에서 제시된

최적의 종자처리를 가하기 전에 양질의 종자를 확보하는 것이 종자를 이용한 육묘효율을 높이는 절대적인 과정이라 할 수 있다.

등굴레 종자의 채종이 가능한 10월부터 다음해 5월까지 육묘 가능기간으로 계산한다면 7~8개월이 가용기간이라 할 수 있다. 채종 후 15°C에서 3개월간 후숙을 가하고 발아 및 소주아 형성개체의 상배측 휴면타과에 6주의 저온처리 기간이 소요된다면 종피연화와 저온처리에 10주 정도의 시간이 주어질 수 있어 이러한 처리조합은 등굴레의 종자번식을 통한 육묘체계에 적용 가능하다고 할 수 있다. 따라서 등굴레의 종자번식에서는 처리가 10주 이내로 제한될 수 있는 처리조합에 국한되어야 할 것으로 예측되며, 저온처리기간이 12주 까지 연장될수록 발아 및 소주아 형성이 증가되기 때문에 이후의 연구는 종피연화 처리와 같이 종자처리로서 효과가 있는 연구에 집중되어야 할 것으로 판단된다.

등굴레 종자는 여타 식량작물과는 아주 다른 특이한 구조와 발아형태를 보이는 것으로 관찰되었다. 등굴레 종자는 경실로서 소주아, 뿌리 및 상배측의 시원체가 종자가 성숙된 단계에서 이미 배의 윗부분에 위치하고 있는 것이 관찰되었으며, 배의 아래쪽이 썩장함으로서 이러한 시원체를 포함하고 있는 윗부분이 종자 밖으로 나오며 이들 시원체가 발달되어 소주아, 뿌리 및 상배측으로 분화되었다. 따라서 종피연화 처리가 발아 및 소주아 형성에 차이가 있었던 것은 경실인 종피의 강도를 완화시켜 배측의 신장을 원활하게 하는 효과 때문인 것으로 예측된다. 한편 후숙과정중에 배의 크기에는 변화가 없었으나 종피연화 후에 저온처리로 발아 및 소주아의 형성이 촉진되는 것은 발아부진이 형태적 특성에 기인되기보다는 배에 함유된 발아억제물질 등 배휴면의 영향도 받는 것으로 해석할 수도 있다 (Baskin 등, 1998b,c). 따라서 등굴레 종자의 발아 및 소주아 형성율을 높이기 위하여는 경실의 완화와 배휴면을 극복할 수 있는 처리방법에 연구가 집중되어야 할 것으로 사료된다.

자연상태에서 낙종 후 육묘출현까지는 약 18개월이 소요되기 때문에 종자를 이용한 다량육묘가 가능하기 위하여는 이 기간을 대폭 단축하여야 할 것이다. 상배측 휴면타과 이전, 상배측 휴면타과기, 상배측 휴면타과 이후의 크게 3부분으로 육묘기간이 구분되기 때

문에 이중에서 가장 많은 시간이 소요되는 상배축 휴면타과 기간을 효율적으로 단축할 수 있는 방법이 설정되어야 종자를 이용한 육묘, 나아가 생산현장에 적용될 수 있을 것이다. 현재까지 최적의 상배축 휴면타과 방법을 설정하기 위하여 연구가 일부 진행되었다 (陳瑛, 1987a,b; 강진호 등, 1996, 1997b). 기존에 이용되던 저온처리는 처리기간이 길기 때문에 육묘기간의 단축과 효율을 높이기 위하여 저온 대체효과가 있는 GA_3 처리가 제안되어 시험이 이루어진 결과 petri dish에서는 처리효과가 있는 것으로 평가되었다 (강진호 등, 1996, 1997b). 이를 상배축 휴면타과에 소요되는 기간을 단축하고 육묘효율을 제고하여야 할 필요성이 있는 다량육묘에 적용이 가능한가를 검증하여 보고자 상토에 관주하는 형식으로 시행된 본시험에서 육묘가 전혀 출현되지 않아 다량육묘를 위한 상배축 휴면타과에 GA_3 처리를 도입하는 것은 불가능한 것으로 결론 지워졌다. 따라서 상배축 휴면타과를 위하여는 저온처리가 유일한 방법으로 6~8주간의 저온을 가하여야 어느 정도의 효율을 기할 수 있는 것으로 본시험과 타시험 결과로부터 결론에 도달하게 되어서 (강진호 등, 1997b) 육묘기간의 단축과 육묘효율의 향상을 위한 방법이 상배축 휴면타과를 위한 저온처리 전후에 가할 수 있는 처리 중에서 찾아야 할 것으로 판단된다.

지금까지 연구 결과로는 저온과 gibberellin 처리 모두 상배축의 휴면타과 효과가 있는 것으로 보고되고 있으나 (강진호 등, 1996, 1997b) 상토를 이용한 다량육묘에서 gibberellin 처리효과가 없었던 것은 처리방법과 발아중인 등굴레 육묘의 구조적 특성에 기인되는 것으로 분석되었다 (사진 9). 지금까지 gibberellin을 이용한 상배축 휴면타과는 발아중인 개체를 분리하여 petri dish와 같은 소용기에 처리할 경우 실험재료, 즉 발아중인 개체가 처리용액에 완전히 잠겨 처리강도가 상토를 이용할 경우보다는 강하기 때문에 나타난 결과로 해석된다. 한편 등굴레 소주아의 정단에 형성된 상배축은 여러 겹의 자엽초로 싸여져 있어 gibberellin을 처리하더라도 상배축과 바로 접촉할 수 없기 때문에 처리효과가 반감되거나, 전혀 효과를 기대할 수 없는 것으로 해석되었다. 그러나 이러한 문제점이 있더라도 gibberellin의 처리농도를 높이는 문제를 고려할 수 있으나 gibberellin은 값비싼 시약이기 때문에 다량육묘에서 처리농도를 증가시키는 것은 현실성이 떨어진다고 할 수밖에 없어

gibberellin 처리를 등굴레의 상배축 휴면타과에 적용하는 것은 최선의 방법이 아닌 것으로 평가되었다.

한편 상배축 휴면타과 이후의 온도가 유묘출현에 미치는 영향으로 본시험의 결과 15℃로 유지될 때 유묘출현과 생장이 둔화되는 것으로 나타났다. 육묘의 효율성을 높이기 위하여는 상배축 휴면타과를 위한 저온처리 후 바로 포장에 전개시키는 것이 바람직한 방법이다. 그러나 우리나라의 일중 평균온도가 20℃ 이상인 시기는 6월 초순부터 9월 중순으로 적어도 유묘출현에 필요한 기간을 6~8주로 예상하여 역산한다면 6월 초순부터 7월 하순까지 상배축 휴면타과를 위한 저온처리를 끝낸 후에 포장에 전개시킬 수 있는 기간이라 할 수 있다. 그러므로 유묘는 채종과 동시에 후숙처리하여 파종한다면 채종당년의 종자로도 이듬해 6~7월에 생산이 가능한 실정이다.

더불어 유묘출현기의 광도도 차광 또는 제한된 상태에서는 연약한 도장묘가 생산될 뿐만 아니라 출현율도 제한을 받는 결과를 본시험에서 얻었다. 따라서 유묘출현기의 온도와 광도를 고려할 경우 적어도 6월 초순부터 7월 하순까지 포장에 바로 전개시키는 것이 유묘출현과 생장, 유묘생산의 간편성, 생산비 등을 고려할 때 합리적 처리방법이라 할 수 있다. 따라서 종자를 상토에 파종하는 시기는 늦어도 3월 하순까지는 이루어져야 육묘효율을 높일 수 있을 것으로 예상된다.

이러한 종자번식 체계는 다량육묘를 위한 골격에 해당된다고 할 수 있다. 그러나 육묘효율을 높이고 양질묘를 생산할 수 있는 다양한 관리방법이 제시될 수 있으나 시비가 가장 손쉬운 방법중의 하나일 것이다. 본시험에서는 액비형태로 양액을 공급함으로써 양분의 축적기관인 소주아, 즉 지하경과 뿌리가 비대하여질 뿐만 아니라 苗齡이 늘어날수록 지하경과 뿌리 또한 비대하여지는 결과를 보였다. 따라서 상배축 휴면타과를 위한 저온처리 후에 시비를 가하는 것이 종자번식묘의 생장을 조장할 것으로 판단된다. 그러나 苗齡을 증대시켜 포장에 전개시키는 것은 온도와 광도가 조절되는 시설을 이용하여야 하기 때문에 현실성이 결여되어 있다고 판단되나 추후 현장에 접목이 가능한가에 대하여는 검토가 이루어져야 할 것이다.

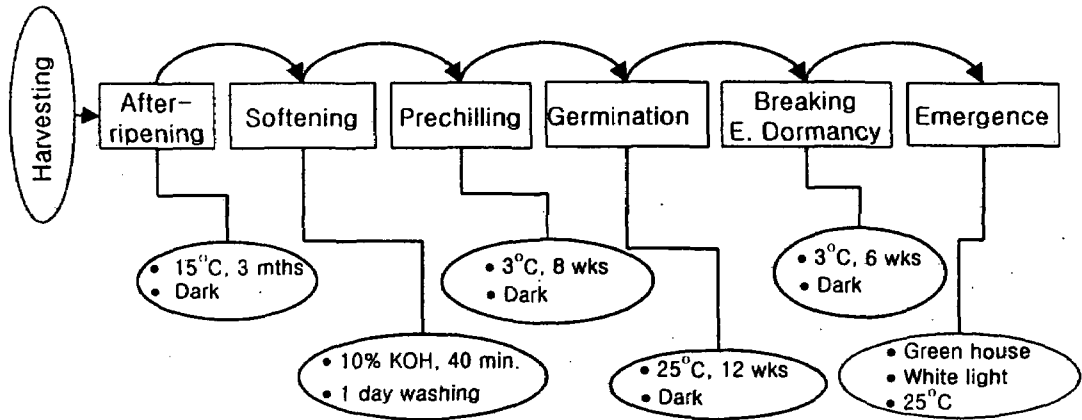


Fig. 14. Treatment procedure for the seedling production using *P. odoratum* seeds.

따라서 상기 본시험과 지금까지의 연구결과 (강진호 등, 1996, 1997a,b; 류영섭, 1997; Wareing 등, 1981)를 종합하여 등굴레 종자를 이용한 다량육묘 체계는 효율성을 고려할 때 관리상태가 양호한 종자를 채종하여 15°C에서 적어도 3개월간 후숙시킨 다음 10% KOH에 40분간 종피연화를 시킨 후에 3°C에 4~12주간 저온처리를 가하여 보수력이 좋은 상태에 파종하여야 한다. 발아 후에 소주아가 형성되고 소주아 정단에 상배축이 도출하면 상배축의 휴면타과를 위한 6~8주간의 저온처리가 가하여져야한다. 이상의 상배축 휴면타과까지의 모든 처리가 끝난 것을 포장에 전개시켜야 하는데 되도록 자연광을 차광하지 않는 상태로 수분과 양분을 적절히 공급하면 우량묘를 생산할 수 있을 것으로 보이며 그림 14와 같이 등굴레의 종자를 이용한 육묘과정을 요약할 수 있다.

제 5절 결과요약

등굴레의 다량재배를 유도하기 위한 다량육묘 기술개발에서의 최종 연구목표는 지하경을 종근으로 이용하고 있는 현재의 재배방식을 종자를 통한 다량육묘로 생산된 유묘로 대체하고자 종자번식에서 문제되는 육묘기간을 대폭 단축하고 육묘효율을 향상시키기 위한 것으로서 파종 전 종자처리를 통한 발아 및 소주아 형성율을 높일 수 있는 방법, 육묘기간을 대폭 단축할 수 있도록 상배축의 휴면을 효율적으로 타파할 수 있는 방법과 상배축 휴면 타파 이후 유묘출현과 생장을 향상시킬 수 있도록 하는 방법을 설정함과 아울러 이에 관한 기초시험으로서 배와 지하경의 성장형태와 다량재배를 위한 기초체계를 확립하기 위하여 여러 가지 시험을 수행하였다.

1. 다량육묘를 위한 기술개발을 위한 시험결과를 항목별로 요약하면 다음과 같다

가. 발아 및 소주아 형성을 향상방안을 위한 시험의 결과로는 ① 발아 및 소주아 형성은 채종포의 관리상태로 인한 종자의 충실도에 따라 받으며 채종 후에 가하여지는 후숙처리로 향상되었다. ② petri dish를 이용한 시험에서 발아율은 priming 물질과 관계없이 50 mM에서 향상되었으나 소주아 형성율은 KNO_3 에서 상대적으로 높았던 반면, 다량육묘를 위한 상토시험에서는 priming 효과가 없는 것으로 조사되었다. ③ 저온처리 기간에 따른 발아 및 소주아 형성은 8~12주 처리에서 양호하였고, 종피연화를 실시한 후 저온처리를 가하는 것이 가장 효과적이었으며 적어도 처리기간을 4주까지 단축할 수 있는 것으로 평가되었다. ④ 발아 및 소주아 형성에 효과적인 종피연화 이후의 저온처리는 저온처리 말미에 가하여지는 GA_3 처리로 효과가 반감되었으며 종피연화 이후의 저온처리 없이 바로 주어지는 GA_3 처리와의 조합에서도 이와 유사한 경향을 보였다.

나. 효율적 상배축 휴면타파 방법설정을 위한 시험의 결과로는 ① GA_3 처리시 子葉鞘 破裂數는 처리 직후에는 4일보다 8일 처리에서 높았으나 시간이 경과할수록 처리효과가 소멸되었고, 상배축도 신장되지 않음으로서 유묘가 전혀 출현되지 않았다. 상배축 휴면타파를 위하여 GA_3 를 이용할 경우 소규모의 처리에는 적용이 가능할지라도 상토를 이용한 다량육묘에서는 적용이 불가능한 것으로 나타났다. 이러한 원인은 GA_3 용액의 관주처리시

자엽초의 일부는 파열되거나 상배축이 여러 겹의 자엽초로 싸여져 있기 때문에 GA₃ 용액에 노출되지 않는 것에 기인되었다. ② 저온처리는 자엽초 파열, 상배축 신장에 이어 단자엽을 가진 정상적인 유묘로 발달하였다. 따라서 저온처리가 다량유묘에 적용 가능하며 입묘 효율을 고려할 경우 적어도 6주의 저온처리가 가하여져야 할 것으로 분석되었다.

다. 유묘출현율 향상방안을 시험에서는 상배축 휴면타파를 위한 저온처리 후에 주어지는 온도, 광, 양액공급이 미치는 영향으로서 ① 고온보다는 15℃ 저온에서 출현율이 낮고 상배축이 길어 출현묘가 도장되는 경향을 보였다. ② 차광되지 않는 고광도의 자연광에서는 유묘출현율이 높고, 상배축의 신장을 억제하여 강건한 유묘로 발달되었다. ③ 양액공급은 유묘출현율에는 영향을 미치지 않았으나, 小珠芽長, 根長 및 根數를 증가시켰다.

2. 배와 지하경의 성장형태를 구명하기 위한 시험결과를 항목별로 요약하면 ① 등굴레 종자는 直生胚珠로서 硬實이었으며, 배는 linear 형으로 종자의 중앙에 배열하고 있었다. ② 배의 정단조직에 小珠芽와 뿌리의 始原體가 위치하고 있었으며, 배의 아래 부분이 신장하여 돌출하는 형태로 발아가 진행되었고, 배유의 저장양분은 성장하고 있는 배가 배유를 잠식하는 방법으로 이용되고 있었다. ③ 배가 돌출한 후 시간이 경과하면서 小珠芽와 뿌리가 발달하고, 小珠芽의 정단에 상배축이 돌기하였으며, 휴면이 타파된 후 상배축이 신장되어야 단자엽을 가진 유묘로 발달하는 복잡한 형태로 진행되었다. ④ 한편 재배 또는 가공에 이용되는 지하경은 小珠芽가 최초의 조직으로 小珠芽에 형성된 마디로부터 다음의 지하경이 분지되는 형태를 보였다. ⑤ 종자 또는 배축이 신장되는 단계부터 소주아, 뿌리 및 상배축의 시원체가 이동되는 것이 관찰되었으나 여타 조직의 시원체는 관찰되지 않았던 반면, 통도조직은 잘 분화되어 각기관으로 연결되어 있었다. ⑦ 출아 후 형성되는 단자엽과 초장은 출아 중의 광도에 크게 영향을 받았다.

3. 다량재배 기초체계확립을 위한 시험결과를 항목별로 요약하면 ① 1년차 유묘에 비하여 2년차 유묘는 上胚軸長과 출현율이 높고 小珠芽長 등 성장과 관련된 형질이 현저히 증가

되었다. ② 주기적으로 양액을 공급하면서 되도록 차광이 일어나지 않도록 육묘하는 것이 바람직한 것으로 나타났다. ③ 종자를 이용하여 생산된 유묘와 지하경을 종근으로 이용하여 재배된 식물체의 생장을 비교하는 것은 종자번식을 통하여 생산된 유묘가 아주 작기 때문에 상호 비교하는 것은 의미가 없는 것으로 파악되었다. 그러나 종자번식을 통하여 확보된 유묘는 크기를 제외하고는 외형적으로는 차이가 없었다.

제 6절 인용문헌

- Andreoli, C. and A.A. Khan. 1993. Improving papaya seedling emergence by matricconditioning and gibberellin treatment. *HortSci.* 28:708-709.
- AOSA. 1981. Rules for testing seeds. *In*. L.O. Copeland (ed.). *J. Seed Tech.* 6(2):1-125.
- Atwater, B.R. 1980. Germination, dormancy and morphology of the seeds of herbaceous ornamental plants. *Seed Sci. Tech.* 8:523-573.
- Baskin, C.C. and J.M. Baskin. 1998a. Types of seed dormancy. p. 27-47. *In* C.C. Baskin and J.M. Baskin (ed.). *Seeds: Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination.* Academic Press, 525 B Street, Suite 1900, San Diego, CA 92101-4495, USA.
- Baskin, C.C. and J.M. Baskin. 1998b. Germination ecology of seeds with morphophysiological dormancy. p. 87-100. *In* C.C. Baskin and J.M. Baskin (ed.). *Seeds: Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination.* Academic Press, 525 B Street, Suite 1900, San Diego, CA 92101-4495, USA.
- Baskin, C.C. and J.M. Baskin. 1998c. A geographical perspective on germination ecology: temperature and arctic zones. p. 331-458. *In* C.C. Baskin and J.M. Baskin (ed.). *Seeds: Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination.* Academic Press, 525 B Street, Suite 1900, San Diego, CA 92101-4495, USA.
- Bewley, J.D. and M. Black. 1994. Dormancy and the control of germination. p. 199-271. *In* J.D. Bewley and M. Black (eds.). *Seeds: Physiology of Development and Germination* (2nd ed.). Plenum Press, 233 Spring Street, New York, USA.
- Brill, W.S. 1994. Solomon's seal. p. 261-264. *In* S. Brill and E. Dean (eds.). *Identifying*

and Harvesting Edible and Medicinal Plants. Hearst Books, New York, USA.

Chong, C. and B.B. Bible. 1995. Germination and emergence. p. 85-146. *In* M. Pessaraki (ed.). Handbook of Plant and Crop Physiology. Marcel Dekker, Inc., 270 Madison Avenue, New York, NY 10016, USA.

Dufault, R.J. 1998. Vegetable transplant nutrition. HortTech. 8(4):515-523.

Frett, J.J. and W.G. Pill. 1991. A comparison of priming agents for tomato. HortSci. 26:1158-1159.

Haigh, A. M. and E. W. Barlow. 1987. Germination and priming of tomato, carrot, onion, and sorghum seeds in a range of osmotica. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 112(2):202-208.

Hartman, H.T., D.E. Kester, F.T. Davies, Jr., and R.L. Geneve. 1997a. Environmental factors. p. 40-104. *In* H.T Hartman, D.E. Kester, F.T. Davies, Jr., and R.L. Geneve (eds.). Plant Propagation: Principles and Practices (6th ed.). Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, NJ 07458, USA.

Hartman, H.T., D.E. Kester, F.T. Davies, Jr., and R.L. Geneve. 1997b. Techniques of propagation. p. 216-237. *In* H.T Hartman, D.E. Kester, F.T. Davies, Jr., and R.L. Geneve (eds.). Plant Propagation: Principles and Practices (6th ed.). Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, NJ 07458, USA.

ISTA. 1985. International rules for seed testing. International Seed Testing Association. Seed Sci. Tech. 13:299-355.

Lee, E.I, and S.H. Kim. 1996. Seed characteristics and accelerating method of germination in *Bupleurum falcatum*. Korean J. Crop Sci. 41(3):384-394.

Roberts, E.H. and S.K. Benjamin. 1979. The interactions of light, nitrate and alternating temperature on the germination of *Chenopodium album*, *Capsella bursapastoris* and *Poa annua* after chilling. *Seed Sci. Tech.* 7:379-392.

Sachs, M. 1977. Priming watermelon seeds for low temperature germination. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 102:175-178.

vanDer Woude, W.J. and V.K. Toole. 1980. Studies of the mechanism of enhancement of hytochromede-dependant lettuce seed germination by prechilling. *Plant Physiol.* 66:220-224.

Vincent, E.M. and E.H. Roberts. 1979. The influence of chilling, light and alternating temperature in promoting the germination of dormant seeds of common weed seeds. *Seed Sci. Tech.* 7:3-5.

Wareing, P.F. and I.D.J. Phillips. 1981. Dormancy. p. 259-280. *In* P.F. Wareing and I.D.J. Phillips (ed.). *Growth and Differentiation in Plants* (3rd ed.). Pergamon Press Ltd., Headington Hill Hall, Oxford OX3 0BW, England.

강진호, 류영섭, 김석현, 장계현, 김동길. 1996. 등굴레 휴면기작 및 상배축 휴면타파에 관한 연구. 몇가지 종자처리가 발아, 소주아형성 및 상배축신장에 미치는 영향. *농업논문집 ('95 산학협동편)* 38:157-169

강진호, 류영섭, 장계현, 1997a. 등굴레 휴면기작 및 상배축 휴면타파에 관한 연구. 1. 후숙, KOH 및 gibberellin 처리에 따른 발아 및 소주아 형성. *농업논문집 ('96 산학협동편)* 39: 31-37.

강진호, 류영섭, 박정민. 1997b. 등굴레 휴면기작 및 상배축 휴면타파에 관한 연구. 2. 저온 및 gibberellin 처리에 따른 상배축 휴면타파. *농업논문집 ('96 산학협동편)* 39: 39-45.

- 강진호, 류영섭, 최상욱. 1997c. 등골레 휴면기작 및 상배축 휴면타파에 관한 연구. 3. 상배축의 휴면에 관여하는 물질탐색. 농업논문집 ('96 산학협동편) 39: 47-51.
- 구관효. 1994a. 식·약용 자원 식물 개발. p. 7-19. 단기임산 신 소득원 개발에 관한 연구. 경남산림환경연구소 시험연구보고서.
- 구관효. 1994b. 특용수종(황벽, 매자, 화살나무) 증식 및 재배기술 개발. p. 34-51. 특용수종 재배시험. 경남산림환경연구소 시험연구보고서.
- 구관효, 임종택. 1996a. 특용수종 재배시험. p. 116-134. 특용수종 재배시험. 경남산림환경연구소 시험연구보고서.
- 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순. 1998. 옥죽. p. 4025-4033. 중약대사전. 도서출판 정담. 한국.
- 김태정. 1996. 한국의 자원식물 V. 서울대학교 출판부. p. 171-175.
- 류영섭. 1997. 등골레 종자의 발아특성과 상배축 휴면타파. 석사학위 논문. 경상대학교 대학원 농학과.
- 王鐵生 外 21人. 1991. 玉竹. p. 481-484. 中國藥用植物栽培學. 農業出版社. 北京. 中華人民共和國.
- 李世君, 范林. 1991. 中國藥用植物栽培學. p. 481-484. 農業出版社. 中華人民共和國.
- 이연숙. 1994. 등골레 (*Polygonatum odoratum*) BuOH 추출물의 재분획물이 당뇨 유발 흰쥐의 혈당수준에 미치는 영향. 석사 학위논문. 덕성여자대학교 대학원.
- 이창복. 1989. 대한식물도감. 향문사. 서울. 한국.

임숙자, 김수연, 이주원. 1995a. 한국산 야생식용식물이 당뇨유발 흰쥐의 혈당 및 간과 근육내 에너지원 구성에 미치는 영향. 한국영양학회지 28(7):585-594.

임숙자, 김계진. 1995b. 등굴레 (*Polygonatum odoratum*) 추출물의 당뇨 흰쥐에 대한 혈당 강화 효과. 한국영양학회지 28(8):727-736.

정해곤, 성낙술, 채제천. 1994. 시호의 종자조건, 등숙기간 및 저온층적처리가 발아에 미치는 영향. 한국약용작물학회지 2:(1) 32-37.

陳瑛. 1987a. 藥用植物種子の休眠. p. 34-40. 植物葯種子手冊. 人民衛生出版社. 中華人民共和國.

陳瑛. 1987b. 玉竹. p. 163-165. 植物葯種子手冊. 人民衛生出版社. 中華人民共和國.

최인식, 송인규, 이의두, 조진태, 최관순, 이상석, 김시동, 박성규, 정연명, 1996. 황정 종근 크기가 생육 및 수량에 미치는 영향. 한국자원식물학회지 9(1):23-30.

최재식, 임종택. 1996. 식·약용 자원식물 개발. p. 107-115. 단기산물 신소득원 개발에 관한 연구. 경남산림환경연구소 시험보고서.

하종길. 1993. 등굴레 증식 및 활용방안. p. 69-81. 야생 약초류를 이용한 차개발. 경남산림환경연구소 시험연구보고서.

제 3장 부가가치 향상을 위한 가공 기술개발

제 1절 서 언

등굴레 (*Polygonatum odoratum*)는 백합과에 속하는 다년생초본으로 전국 산야의 그늘이나 고산의 초원에서 흔히 자란다. 30~60 cm의 높이로 자라고 6~7월경에 녹색 꽃이 피며 8월에 종자가 익는다. 한방과 민간에서는 滋養 및 強壯의 목적으로 많이 이용되며, 여러 가지 허약증상, 영양불량, 폐결핵으로 인한 기침, 당뇨로 인한 止渴 등의 약재로 쓰인다. 또한 등굴레는 혈당강화 효과를 나타낸다. 인슐린 부족 시에 포도당이 에너지원으로 이용되지 못하고 혈중농도가 증가하게 되며, 근육 내의 단백질 및 지방세포가 분해되어 gluconogenesis를 통해 에너지원으로 대신 이용된다. 간장에서의 gluconogenesis의 증가로, 포도당의 신생과 단백질 분해가 증가하게 되고 지방세포의 분해증가도 야기되어 지방산과 glycerol의 유리가 일어난다. 지방산은 주요 에너지원이기는 하나 acetyl-coA의 생성을 야기하여 ketone-body의 과다 축적을 초래하고 유리된 지방산이 간장 내에서 중성지방으로 전환되기 때문에 합병증으로 지방간이 발생하기도 한다. 그러므로 정상적인 대사과정을 수행하기 위해 약품섭취나 인슐린 투여 등의 치료를 하게 된다. 최근에는 당뇨병의 치료를 위해 합성된 약물보다는 천연물에서의 약리 효과가 있는 물질을 탐색하는 연구가 이루어지고 있으며, 약 400여종의 야생식용식물이 당뇨병 치료에 효과가 있다고 보고된 바 있다 (Baily 등, 1989). 약용작물 또는 식용작물이 혈당강화에 효과를 나타내었다는 연구가 계속적으로 이루어지고 있으나, 과학적인 증거가 시작된 것은 최근의 일이며 그 대부분은 아직 약리 효능과 생리적 기전 및 유효성분 분석에 대해 임상 및 과학적으로 입증되지 못하고 있는 실정이며, 야생식용식물은 그 성분 및 약리 효과에 대하여 국내·외적으로 많은 관심이 집중되고 있고, 항암성 및 혈당강화 효능에 대하여 발표된 연구 논문이 다수 존재한다 (Akhtar 등 1984; Akhtar 등, 1985; Bailey 등 1989; Bajpai 등, 1991; Day 등, 1990; 함승시, 1988; Iyorra 등, 1988; Villar 등 1986). 이러한 관점에서 우리의 고유식품이며 전통적으로 질병치료에 이용되어 오던 야생식용식물의 효능에 대한 적극적이고 과학적인 연구가

요구되어진다.

씀바귀 (*Ixeris dentata* Nakai), 산복사 (*Prunus davidiana* Fr.) 및 갈대 (*Phragmites communis* Trin)의 methanol 추출물이 alloxan 당뇨 유발 흰쥐에서 유의적으로 혈당을 낮추었다고 보고하였으며 (Choi 등, 1990), streptozotocin 당뇨 유발 흰쥐에서 닭의장풀 (*Commelinae Herba*)의 H₂O 추출물과 methanol 추출물이 혈당강화효과를 보였다고 하였고 (Kim 등, 1991), 닭의장풀 추출물 투여로 alloxan에 의해 당뇨가 유발된 쥐에서 혈당치 증가의 유의적인 감소와 함께 간조직내 glucose-6-phosphate dehydrogenase의 활성도가 회복되었다고 하였다 (박수영 등, 1992). 그 외에도 두릅나무 (Lee 등, 1988; 김옥경, 1990) 및 원황정 (Lee 등, 1982)을 비롯하여 우리 나라에 자생하는 여러 가지 야생식용식물의 혈당강화 효과에 대한 연구가 이루어져 왔다.

최근 식생활의 개선으로 구미 각국 뿐만 아니라 현재 일본과 우리나라에서도 콜레스테롤에 의한 여러 가지 성인병이 가장 심각한 문제로 대두되고 있는 상황에 처하여 있으며 (임숙자 등, 1995) 각국에서는 이 문제를 해결하기 위하여 식이요법과 함께 사용될 각종 기능성 식품 및 고지혈증 치료제의 합성에 주력하고 있는 상황이다. 현재까지 개발된 고지혈증 치료제를 살펴보면 LDL-cholesterol을 혈중에서 20~35%까지 낮출 수 있는 cholestyramine과 cholestipol과 같은 콜레스테롤 유도체들과 콜레스테롤 생합성에 관여하는 HMG-CoA reductase (3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase)의 inhibitor인 Lovastatin (Havel 등, 1987), Simvastatin (Illingworth 등, 1987), Pravastatin (Kajinami 등, 1986) 등이 개발되어 시중에 판매되고 있다. 이들 약제들은 콜레스테롤 농도를 낮출 수 있는 장점은 가지고 있으나 심각한 side effect를 수반하고 있어서 이상적인 약물요법으로는 적합하지 못하다 (Illingworth 등, 1988). 그리고 또 nicotinic acid 등을 사용하여 간의 LDL이나 VLDL의 생합성을 저하시킴으로써 동맥경화와 같은 심질환의 발생빈도를 낮추려고 시도하고 있으나 이 또한 부작용이 심각하여 몇 개 국가에서는 사용을 금지하고 있는 형편이다. 45세 이상 고령층에 많은 심혈관질환의 주요 발병원인으로는 고혈압, 비만증, 고지혈증, 당뇨등이 지적되고 있으며, 미국에서만 보더라도 연간 90만명이 발병하여 그 중

15만명이 사망하는 것으로 알려져 있다. 심장순환기 질환은 전체 사망율의 30%를 차지하고 있으며, 이제는 한국도 그 추세를 따라가는 것으로 보고있다.

최근 건강식품의 관심 대상이 되고 있는 한국산 야생식용식물 중 민간에서 약용으로 오랫동안 사용되어온 둥굴레 식물은 16종 2변종의 18종류가 있으며 (이창복, 1995), 모두 식용, 관상용 및 약용으로 사용할 수 있고 (최영선, 1991) 과거에는 궁핍을 면할 수 있는 구황 식물이었다 (김희선 등, 1987). 최근 동물실험을 통해 혈당저하 효과가 인정된 연구보고들이 있으나(임숙자 등, 1995a,b) 고지혈증 개선효과에 관한 유의적인 결과는 보고되지 않았다. 고지혈증은 당뇨병병증의 하나로 이들 두 가지 형태의 질환을 동시에 개선 또는 치료할 수 있는 기능성 물질이 필요하다. 따라서 이들 콜레스테롤 저하 물질 등의 체내 작용기전에 수반되는 여러 부작용을 해소하기 위해 최근 새로운 작용기전을 가진 cholesterol lowering drug의 개발이 시도되고 있다. 그러나 둥굴레는 이미 오래 전부터 구황식물로 사용되어온 천연물질이므로 합성약재의 복용에서 나타나는 여러 가지 부작용은 나타나지 않을 것으로 판단된다.

최근 산업사회의 발달과 식생활 양상의 변화로 고지방 가공식품 및 육류소비가 보편화되면서 고지혈증, 동맥경화, 고혈압, 당뇨병과 같은 만성 성인병 환자가 점차 급증하고 있는 추세이다. 현재 서구에서 나타나는 심혈관 질환의 심각성은 이미 한국에도 그 현상이 나타나기 시작하고 있으며 이를 위한 식이요법과 병행한 기능성 식품의 개발이 시급히 요구된다. 식생활 환경이 풍부해짐에 따른 과다한 지방과 콜레스테롤의 섭취는 결국 세포의 요구를 충족시키고도 남게 되고 이는 곧 혈액 내로 떠돌다가 고지혈증을 야기시키며, 특히 콜레스테롤은 monocyte, macrophage 등과 함께 혈관내막에 흡착되어 거품세포(foam cell)로 전환되는 원인이 되고 이는 결국 동맥내벽을 두껍게 하여 혈류를 차단시킴으로써 심장마비 또는 동맥경화를 유발하게 된다 (Johan 등, 1990). 1984년 간행된 LRC-CPPT (the lipid research clinic program) 연구결과와 Helsinki Heart Study 결과 (Kannel 등, 1961)에 의하면 콜레스테롤의 섭취를 1% 줄일 경우 심혈관계 질환을 2% 줄일 수 있다고 알려져 있다.

한편 국내에서는 오래 전부터 생약성분 함유 약용식물을 이용한 민간요법이 발달되어 왔는데, 특히 동의보감과 같은 동양 의서에서는 경험적인 한약처방들이 많이 수록되어 있어 한의학에 많이 응용되고 있다. 이를 이용하여 최신의 분석기술 및 의료기술을 도입하면 약용식물로부터의 고기능성 물질의 탐색이 가능할 것으로 판단된다. 국내산 야생식용식물 중에서 등굴레는 혈당 강하작용에 의한 당뇨병세의 개선효과를 나타내는 것으로 보고되었다 (임숙자 등, 1995a,b).

등굴레 속 식물에는 점액질이 풍부하고, 전분, 당분 등의 탄수화물, 여러 가지 아미노산, 지방산, 그리고, 알카로이드 계통으로 혈당강하의 효과가 있는 δ -adrenalin, diosgenine과 mucose polysaccharide, myristic acid, hecogenine, β -sitostrol, stigmasterol, polygoaquinone 등이 함유되어 있고, 이들 화합물들이 약리 효과를 나타내는 성분으로 알려져 있다 (임숙자 등, 1995; Kim 등, 1980; Lee 등, 1982; Namba, 1980; Tomada 등, 1980; 이연숙, 1994). 하지만 정확한 향미성분의 체계적인 분석 및 등굴레에 함유되어있는 물질들을 체계적으로 분리하여 화합물의 구조를 결정한 연구들은 많이 이루어져 있지 않다. 따라서, 등굴레에 함유되어있는 여러 가지 기능성 및 향미 성분의 체계적인 분석과 화합물들을 분리하여 화학구조를 결정하는 연구를 수행하는 것이 필요할 것이다. 그리고, 이러한 연구가 선행될 때에, 등굴레의 부가가치를 높일 수 있을 것이며, 등굴레를 이용한 다양한 식품 등의 개발이 이루어질 것이며, 등굴레를 재배하고, 공급하는 농민들에게도 농가소득을 증대시킬 수 있을 것이다.

한편, 등굴레 차의 기호도 증진을 위한 가공방법을 개선하고, 가공 과정에서 등굴레에 포함되어 있는 중금속을 제거하는 공정을 개발하는 것이 필요하다. 중금속이 제거하는 공정으로 생산되는 등굴레 차에 대한 높은 신뢰도를 나타내게 될 것이다. 그리고, 등굴레에 대한 체계적인 연구와 더불어 등굴레 추출물에 대한 동물실험을 수행할 때에, 인체 내에서 어떠한 생리활성을 나타내는지 정확하게 알 수 있을 것이며, 아울러, 동물실험으로 얻어지는 자료를 이용하여 새로운 건강식품 및 건강보조식품으로 개발할 수 있을 것이다. 따라서, 이러한 연구가 선행될 때에, 등굴레의 부가가치를 높일 수 있을 것이며, 등굴레를 재배

하고, 공급하는 농민들에게도 농가소득을 증대시킬 수 있을 것이다.

이상에서 살펴 본 바와 같이 등굴레의 부가치 향상을 위한 연구를 다음의 6 가지 단계로 나누어 진행하고자 하였다. 첫 번째는 등굴레 속에 포함되어있는 기능성 및 향미 성분의 분석과 탐색하는 연구를 수행하고, 두 번째로, 등굴레 속에 중금속들이 존재하는지를 먼저 탐색하고, 탐색한 후에 등굴레에 함유되어있는 중금속 추출 및 제거 공정 개발을 수행하고자 한다. 그리고, 세 번째로, 등굴레 속에 포함되어있는 기능성 물질들을 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 분리하는 기능성 물질의 분리 및 동정에 대한 연구를 수행하고, 네 번째로, 등굴레에서 분리한 기능 성분의 화학구조를 결정하는 연구를 수행하였다. 다섯 번째로, 등굴레 추출물 중에서 n-BuOH층에서 추출되어 얻어지는 물질에 생리활성에 대한 연구를 동물실험을 통하여 수행하였다. 그리고, 마지막으로, 첨가제를 사용하여 등굴레 차의 기호도를 개선하는 연구를 수행하고자 하였으며, 얻어진 결과에 따라 시제품을 제작하고자 하였다.

제 2절 재료 및 방법

1. 기능성 및 향미 성분의 분석과 탐색

본 연구에서는 기능성 및 향미 성분의 분석과 탐색을 목표로 생체 또는 가공방법에 따른 기능성 및 향미 성분의 변화를 추적하는 연구를 수행하였다. 등굴레를 찢은 것, 볶은 것 (80℃, 120℃, 160℃에서 각각 1시간, 2시간, 3시간씩 볶음)을 3배량의 증류수와 함께 믹서기로 잘게 파쇄하고 파쇄한 시료를 2 l flask에 옮긴 후에, 다시 2배량의 증류수를 가하여 둥근 flask에 넣고 mantle로 가열하며 수증기 증류장치를 이용하여 2시간 증류하여 휘발성 향미성분을 ice water trap에 응축시켜 증류액을 얻은 후, 이 증류액을 diethyl ether를 가하여 분별깔대기로 ether를 제거시켜 향미성분 농축액을 얻었다. 이를 GC-MSD를 이용하여 분석하였다.

2. 등굴레에 함유되어있는 중금속 추출 및 제거 공정 개발

본 연구에서는 음용 수로서의 안전성을 확인하기 위해 등굴레 속에 함유되어 있는 주요 중금속인 Cu, Zn, Pd, Cr, Cd 등의 함량을 측정하고자 하였으며, 미량으로 함유되어 있는 중금속을 제거하는 가공기술을 개발하고자 하였다. 파쇄한 등굴레 뿌리 10 g을 volume flask에 넣은 후 5 ml의 질산을 넣어 반응시킨 후 수욕 상에서 가열 증발시켰다. 이어 증발시킨 것을 방지하여 질산 5 ml와 황산 (H₂SO₄) 5 ml을 넣고 가열 증발시켰다. 그 다음, 실온에서 냉각한 후 증류수 50 ml로 여과하고 여기에다 증류수를 넣어 100 ml로 만들어 前處理한 후 원자흡광 분광광도계 (Atom Absorbance Spectrophotometer; SHIMADZU)로 중금속을 측정하였다. 또한 찌는 과정에서 MgCl₂, NaCl, CaCl₂, KCl 등을 첨가하여 농도별로 측정하였다.

3. 기능성 물질의 분리 및 동정

시험재료인 등굴레는 (주) 산청식품에서 제공된 등굴레 40 kg (1회 짬)을 사용하였으며, 분석 시험의 수행방법은 다음과 같다. 분쇄기에 건조한 등굴레와 메탄올을 넣어 잘게 부순 후, 분쇄기에서 잘게 부순 등굴레-메탄올 용액을 48시간 동안 80℃ 수욕상에서 냉각기와

mechanical 교반기를 부착 (본 실험을 위하여 고안한 장치)하여 2회 반복·추출하였다. 추출용액을 거름장치 (감압여과 및 삼베주머니)로 여과하여 메탄올 층을 얻은 후 메탄올 층에 포함되어 있는 메탄올을 감압장치를 이용하여 제거하였다. 메탄올 추출액에 methanol 추출물 : H₂O : methanol : 추출용매 = 10 : 9 : 1 : 10의 비율로 섞은 후에 헥산, 클로로포름, n-부탄올 순으로 각각 추출하여 추출물을 얻었다.

4. 기능 성분의 화학구조 결정 : 화합물 I 과 화합물 II

본 실험에 이용된 시험재료인 등굴레는 (주)산청식품에서 제공된 등굴레 40 kg (1회 짬)을 사용하였다. 먼저 분쇄기에 건조한 황정과 methanol을 넣어 잘게 부순 후, 분쇄기에서 잘게 부순 등굴레-methanol 용액을 48시간 동안 80℃ 수욕 상에서 냉각기와 교반기를 부착하여 2회 반복·추출하였다. 추출용액을 거름장치로 여과하여 methanol 층을 얻은 후 methanol 층에 포함되어 있는 methanol을 감압장치를 이용하여 제거하였다. Methanol 추출액에 methanol 추출물 : H₂O : methanol : hexane(10 : 9 : 1 : 10, v/v)의 비율로 섞은 후 아래의 Fig. 1.과 같이 hexane, CHCl₃, n-buthanol 순으로 각각 추출하여 추출물을 얻었다. 각 용매에서 추출하여 얻어진 추출물을 전개용매에 따른 TLC의 R_f 값을 이용하여 분리하였으며, hexane 층의 추출물을 분리하여 화합물 I 과 II를 얻었다.

추출된 hexane층의 추출물을 hexane : ethyl acetate (2 : 1, 3 : 1, 9 : 1, v/v)인 전개용매를 사용하여 세 부분으로 나누어서 컬럼으로 분리하였다. 그 중에서 전개용매가 hexane : ethyl acetate = 2 : 1에서 R_f값이 0.73과 0.447에 나타난 두 물질을 분리하였고, hexane : ethyl acetate = 3 : 1에서는 R_f값이 0.514와 0.35에 나타난 두 물질을 분리하고, 마지막으로 hexane : ethyl acetate = 9 : 1인 전개용매에서 R_f값이 0.709, 0.595, 0.481에 나타난 세 물질을 분리하였다. 같은 방법으로 추출된 CHCl₃ 층에서도 hexane : ethyl acetate(2 : 1, 3 : 1, 9 : 1, v/v)인 전개용매를 사용하여 세 부분으로 나누어서 분리하였다. 전개용매 hexane : ethyl acetate = 2 : 1에서 R_f = 0.238에 나타난 물질을 분리하였고, hexane : ethyl acetate = 3 : 1에서는 R_f = 0.308에 나타난 물질을 분리하였다. 또한 hexane : ethyl acetate = 9 : 1에서는 R_f값이 0.436과 0.141에 나타난 두 물질을 분리하였다. 위의

추출된 hexane층에서 전개용매를 hexane : ethyl acetate = 3 : 1로 사용했을 때에 $R_f = 0.35$ 에 나타난 물질을 화합물 I로 분리하였고, hexane : ethylacetate = 9 : 1로 사용했을 때에 $R_f = 0.481$ 에 나타난 물질을 화합물 II로 분리하였다. 분리한 화합물들의 화학적인 구조를 분광적인 방법에 의해 결정하였다.

5. 등굴레 추출물(n-BuOH층)의 생리활성측정

(주)산청식품에서 제공된 등굴레 (1회 짬, 20 kg)를 MeOH 용매 하에서 80℃로 48시간동안 처리하여 추출한 추출물을 hexane과 chloroform 층을 거쳐서 n-butanol 층의 추출물을 농축하여 시료, 등굴레 I을 얻었으며, 다른 시료는 MeOH 용매 하에서 실온에서 처리하여 등굴레II의 시료를 얻었다. 얻어진 두 가지 시료, 등굴레 I 과 등굴레II의 생리 활성도를 측정하기 위하여 동물실험을 실시하였다. 시험에 사용된 동물은 생후 3주되는 24마리의 Sprague-Dawley 수컷 쥐를 대한동물실험센터 (충북 음성군)로부터 구입하여, 체중이 280 g에 달 할 때까지 Lab. chow pellet 식이로 사육한 후 Streptozotocin 주사에 의한 당뇨병도 실험을 통하여 당뇨병을 발병시켰다. 동물들은 항온 ($25 \pm 2^\circ\text{C}$)과 항습 ($50 \pm 5\%$), 그리고 자연조명의 일정 환경하의 동물실험에서 상동 실험식이에 의해 5주간 사육되었다. 모든 식이는 자유 식이로 먹게 하고 물은 매일 공급하여주면서 세균번식의 침입이 없도록 청결상태를 유지하였다. 사육기간이 완료된 다음날 아침 12시간 절식시킨 후 에테르로 동물들을 마취시키고 마취제인 Ketamine-HCl을 복강에 투여한 후 복부 대정맥 (inferior vena cava) 으로부터 혈액을 수집하였다. 수집된 피는 원심분리기로 4℃에서 3,000 rpm으로 15분 동안 원심분리 시켜 혈청을 분리하였다. 동물들의 간, 심장, 신장은 적출 후 생리식염수로 여러 번 행구어 표면의 피를 제거한 다음 중량을 측정하고는 -20°C 에서 보관하였다. 보관된 혈청은 단백질, 중성지질, 총 혈청콜레스테롤 등의 농도측정에 사용되었다. 혈당농도, 중성지방 농도, 그리고 총 콜레스테롤 농도는 효소법을 적용시킨 아산제약 Kit를 사용하여 측정하였다. 모든 자료는 SPSS package를 이용하여 처리하였다. 식이군간 비교는 student t-test를 실시하여 그 유의성을 검증하였다. 모든 측정치의 평균, 표준오차를 계산하였으며, 자료 각각에 대해 비모수적 콜모고로프 스미노프 검정으로 정규분포 여부를 검증하였다.

6. 첨가제를 이용한 기호도 증진

등굴레 차의 분말 1 g에 키토산과 올리고당을 각각 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%에 해당하는 양을 각각 첨가하여 등굴레 차의 기호도에 따른 관능시험을 수행하였다. 등굴레차는 본 연구에서 찾은 최적조건으로 볶은 후에 분말로 만들어 사용하였다. 관능시험은 5회로 반복해서 실시하였으며, 관능시험대상은 창원대학교 생물학과 학생을 대상으로 하였으며, 식사 전과 식사 후로 나누어서 실시하였다. 한편, 협력업체와 첨가비율에 대한 협의를 거쳐서 등굴레 차의 분말 1 g에 두층차 (현재 협력업체인 산청식품에서 가공하여 판매중인 제품 사용, 분말)과 녹차 (시중에서 구입하여 실험에 사용, 분말)을 각각 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%에 해당하는 양을 각각 첨가하여 등굴레 차의 기호도에 따른 관능시험을 수행하였다. 등굴레차는 본 연구에서 찾은 최적조건으로 볶은 후에 분말로 만들어 사용하였다. 관능시험은 5회로 반복해서 실시하였으며, 관능시험대상은 창원대학교 생물학과 학생을 대상으로 하였으며, 식사 전과 식사 후로 나누어서 현재까지 3회를 수행하였다. 관능 기호도는 구수한 맛, 페인트 냄새 (painty), 풋내 (green), 탄내 (burnt), 쓴맛 (bitter), 단맛 (sweet), 툇은 맛 (tart), 감칠 맛 (gamchil) 등으로 구분하였다.

제 3절 결과 및 고찰

1. 기능성 및 향미 성분의 분석과 탐색

본 연구에서는 기능성 및 향미 성분의 분석과 탐색을 목표로 생체 또는 가공방법에 따른 기능성 및 향미 성분의 변화를 추적하는 연구를 수행하였다. 향미 성분의 조사에서는 1차 찌 등글레의 주요 향미 성분이 1-(2-furyl)-ethanone, bis(2-ethyl)-1,2-benzene-dicarboxylic acid, hexadene, benzeneacetadehyde, benzoic acid 등으로 확인되었고, 가공(볶음) 과정 중에 aldehyde, ketone, furane, alcohol, alkane 등의 함량이 증가되며, sweet aroma에 관여하는 furane 유도체가 120℃ 이상에서는 급격히 감소하여 80℃의 약한 불로 볶는 것이 향미 성분의 변화에서 볼 때 최적의 조건임이 확인되었다.

가. 기능성 물질 추출 및 확인

본 실험에 사용한 등글레는 협력업체인 (주)산청식품에서 건조한 등글레와 생등글레를 분쇄기로 분리하여 가저와 분말로 만들었으며, methanol로 5시간동안 shaking하여 원심분리 하였다. 같은 방법으로 4회 반복 추출하고 모든 여액을 합한 다음에, 감압 농축하여 methanol추출물을 얻었다. Methanol 추출물은 극성에 따라 Hexane, Chloroform, Butanol의 순으로 분획하여 각 분획의 가용부와 남은 수층의 가용부를 얻었다. 각 분획은 감압 농축하여 추출물을 얻은 후에, 밀봉 냉장 보관하였다. 또한 10 mM p-nitrophenyl- α -D-glucosidase 0.1 ml에 70 mM인산 완충액 (pH6.8) 2.8 ml 가한후 0.1 ml 효소액을 가하고, 여기에 각각 MeOH 추출물, Hexane 추출물, CHCl₃ 추출물, BuOH 추출물 등을 가한 다음 반응시키고 0.25 M sodium carbonate 1.5ml로 반응 정지시킨 후에 400 nm 흡광도를 이용하여 측정하였다.

각종 유기용매에 의한 추출물의 분획은 hexane : ethylacetate (6:1 ; v:v)로 박층 크로마토그래피 (thin layer chromatography) 결과 hexane 분획에는 2 가지의 물질이, chroloform 분획에는 1 가지의 물질이, butanol 분획에서는 7 가지의 물질이, 그리고 물 분획에는 3 가지의 물질이 존재함이 확인되었다. 이들 추출물 분획의 α -glucosidase 저해효과의 분석에서는 control로서 α -glucosidase (10 unit) 0.1 ml에 기질(10 mM

p-nitrophenyl- α -D-glucoside) 0.1 ml와 70 mM 인산 완충액 (pH6.8) 2.8 ml을 첨가한 對照區를 사용하였다. 각종 추출물 분획의 glucosidase 제해부에는 각종 추출물의 분획을 효소 첨가 전에 첨가하여 control과 동일하게 기질 완충액을 첨가하여 측정하였다. 반응은 37°C에서 30분이 지난 후에, 400 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 각종 분획에 존재하는 물질 중에 hexane 1 ($R_f=0.13$, hexane : ethylacetate = 6 : 1), BuOH 7 ($R_f = 0.9$, hexane : ethylacetate = 6 : 1), Aqu. 1 ($R_f = 0.1$, hexane : ethylacetate = 6 : 1) 이 α -glucosidase를 저해함이 확인되어 이들이 등굴레에 존재하는 주요 기능성 물질임이 확인되었다.

나. 향미 성분의 추출 및 확인

등굴레를 찢은 것, 볶은 것 (80°C, 120°C, 160°C에서 각각 1시간, 2시간, 3시간씩 볶음)을 3배량의 증류수와 함께 믹서기로 잘게 파쇄하고 파쇄한 시료를 2 l flask에 옮긴 후에, 다시 2배량의 증류수를 가하여 둥근 flask에 넣고 mantle로 가열하며 수증기 증류장치를 이용하여 2시간 증류하여 휘발성 향미성분을 ice water trap에 응축시켜 증류액을 얻은 후, 이 증류액을 diethyl ether를 가하며 분별깔대기로 ether를 제거시켜 향미성분 농축액을 얻었다. 이를 GC-MSD를 이용하여 분석하였다.

수증기 증류법으로 미량의 향미 성분을 추출후 GC-MDS (HP5890GC + HP5970MSD)로 5% diphenyl & 95% dimethyl polysiloxane column을 사용하여 분석하였고 각 화합물의 동정은 Willey, REVE library를 이용하여 table 1과 같이 나타내었다.

GC-MS 분석 조건

Column	: 5% diphenyl & 95% dimethyl polysiloxane (0.2 mm × 25 m film thickness 0.2 μm)
Carrier gas	: He, 20 ml/min.
Split ratio	: 15 : 1
Temp. program & heated zones	: Initial temp. : 70℃ Initial time : 3 min. Rate : 2℃/min Final temp. : 200℃ Final time : 5 min.
Inj. porttemp.	: 270℃
Resulting voltage	: 1800

GC-MS로 분석한 결과 52종의 향미 성분을 동정하였으며, 몇 가지의 화합물은 동정이 되지 않았다. 80℃, 120℃에서 볶은 경우 보다 많은 수의 향미 성분이 발현됨이 확인되었다. 가공 전에 비해 31개종의 향미 성분이 약한 불로 가공할 때에 새롭게 얻어졌다. Furan계 화합물은 약한 불(80℃)에서 증가하기 시작하였고, 다른 향미 성분은 온도의 증가에 따라 상대적인 함량이 대체로 증가하였으나, 160℃에서는 대체로 감소하기 시작하였다. 보리, 땅콩, 커피 등 가열 식품의 구수한 향기의 주요 성분인 pyrazine 류는 확인되지 않아 냄새로서 이들과 식별되었다. Pyrrole 류는 커피의 향미 성분으로 등굴레 차의 주요성분으로도 가공 과정에서 생성되었다. Furan 류는 sweet aroma의 주요 성분으로 가공 과정에 증가하였으며, 가공 온도가 상승하면 감소하였다. 등굴레에서 동정된 aldehydes는 heptanal, nonanal 등이 있었으며 ketone류는 ethanone 등의 8종으로 확인되었다. 그리고 alcohol 류는 5종이 확인되었다 (Table 3). 볶음조건에 따른 향미 성분의 변화를 살펴보면 볶기 전의 향미 성분이 20종에 비해 80℃ 1시간에서는 52종, 120℃ 1시간에서는 47종, 160℃ 1시간에서는 33종이 확인되었다. 볶은 온도와 시간이 길어짐에 따라 많은 성분들이 새로 발현하였으며 상대적 함량이 증가되었다. 특히 (3H)-furanone과 1-furfuryl-2-formyl

pyrrole 등의 화합물이 현저하게 증가되었다. 그러므로 가공 조건에 따른 향미 성분의 변화의 측면에서 보면 약한 불 즉 80℃에서 가공 2~3시간의 볶는 조건이 현장에서는 가장 적합한 가공 조건으로 사료된다.

Table 1. Characterization of Flavor Compounds on *Polygonatum odoratum* by GC-MS.

Peak NO	Flavor compounds	ID	PEAK AREA									
			가공전	80-1	80-2	80-3	120-1	120-2	120-3	160-1	160-2	160-3
Aldehydes												
1	Heptanal	GC-MS	0	10090120	12030310	18890933	16000920	18010232	23212320	21200231	16020120	14021230
6	2-Furancarboxaldehyde		0	10023270	14232072	18077320	15720124	19012230	24012820	20123047	25181207	24189139
16	Nonanal		1587986	1687002	2021302	3952501	3052212	4053212	4272321	4532312	4723121	4912321
17	Z-2-nonenal		3208366	15028360	18123212	23036431	20123621	24032134	28123820	25012321	29128290	33829102
24	Trans-2,4-decadienal		0	1827320	2912170	4890055	2012710	3910070	5370152	4027701	4730023	4532230
Ketones												
2	Ethanone, 1-(2-furanyl)-		97474491	72821292	57122870	46078775	52178910	430212	257212	297212	231994	0
13	Ethanone, 1-(1H-pyrrol-2-yl)		0	1012192	1589150	23574609	21171207	117213	3740669	21872	231994	0
7	3-Methylcyclohex-3-en-1-one		0	728921	1001271	1803379	912719	1972812	827291	861219	431917	0
14	Ethyl cyclopentenolone		0	72382	1012836	7078817	1127812	8111273	72112313	503216	27821	0
19	Bicyclo[3.1.0]hex-3-en-2-one,		0	53279	1127919	7584399	1231721	7278297	3423217	872178	57629	0
31	2-Decanone		0	67291	1327927	7724909	1372132	7721291	4732172	632121	72723	0
31	2-Tridecanone		0	72172	1928212	7724909	1417892	8272191	4617212	532119	42731	0
36	4,4-Dimethyltricyclo[5.4.0.0.(1.8)]undec-5-en-9-one		0	32829	1827291	3855884	2019212	3277229	2119212	217291	52127	0
Furans												
8	Furan, 2-pentyl		4529716	4129121	3181297	2580736	2912817	273020	2080435	400166	212116	0.
12	2(3H)-Furanone		3249536	107281920	275287292	345387810	201281212	11281219	2080435	1581297	0	0
21	2,3-dihydro-Benzofuran			719212	1191277	2198378	1918127	27821	0	0	0	0

Table 1. Characterization of Flavor Compounds on *Polygonatum odoratum* by GC-MS.

Peak NO	Flavor compounds	ID	PEAK AREA									
			가공전	80-1	80-2	80-3	120-1	120-2	120-3	160-1	160-2	160-3
Alcohols												
15	1H-Indole	GC-MS	3397760	1598170	3589150	5135874	1519120	271298	16642953	0	0	0
23	4-vinyl-2-methoxy-phenol		0	1928111	7819759	14801969	8192122	0	0	0	0	0
29	3-tert-butyl-4Methoxyphenol		0	820456	1278267	3783539	1987212	0	0	0	0	0
59	1,4,9-Triazaphenoxathiin		0	1211257	5272121	9474455	4282192	7212223		0	0	0
90	Phenol		3238575	1287120	0	0	0	0	0	0	0	0
Alkanes												
20	Dodecane		6015680	6127282	5512729	5698878	1721127	251542	241276	360361	0	0
28	Tetradecane		6180320	7217213	9012372	9194315	2572115	251542	172127	169153	0	0
33	Hexadecane		2451338	2003460	3737612	5272347	5021312	5782932	7820110	169153	221593	0
40	Heptadecane		5930823	5336967	723922	91701008	632483	802118	782011	169153	311230	0
43	Eicosane		2387918	8408252	8708291	10762394	6324830	729448	6782278	169153	629552	0
44	Heneicosane		0	824718	1027212	3871716	987123	631708	2882772	276884	311230	0
51	Nonadecane		0	600346	673761	16469408	612382	738179	421721	169153	646839	0
68	Tricosane		0	600346	533696	32127319	632483	574466	372919	169153	311230	0
72	Docosane		0	600346	533696	15162808	632483	251542	102171	169153	311230	0
76	Nonacosane		0	383353	533696	4515235	632483	574466	272913	169153	311230	0
81	Tetracosane		3426931	840825	552320	0	806510	574466	782011	332125	629552	0
82	Pentacosane		0	824718	533696	0	806150	251542	782011	169153	311230	0
84	Hexacosane		0	889193	533696	0	806510	728179	0	216358	616879	0
85	Heptacosane		0	741664	533696	0	632483	574466	782011	332125	629552	0
86	Octacosane		0	647552	533696	0	806510	251542	0	276884	311230	0

Table 1. Characterization of Flavor Compounds on *Polygonatum odoratum* by GC-MS.

Peak NO	Flavor compounds	ID	PEAK AREA									
			가공전	80-1	80-2	80-3	120-1	120-2	120-3	160-1	160-2	160-3
Ethers												
22	methyl bornyl ether	GC-MS	0	1104121	3279219	5504912	1178179	37121	271297	0	0	0
Aromatics												
5	Benzaldehyde		1439877	1721292	2521329	4022832	0	0	0	0	0	0
11	Benzeneacetaldehyde		15565078	5729829	20133819	29534867	0	0	0	0	0	0
20	Benzene		0	215128	375297	23574609	0	294212	5778262	175051	318554	0
53	1,2-Benzenedicarboxylic acid, dibutyl ester		3473042	431067	1288938	5146412	0	738365	1795716	0	0	0
73	1,2-Benzenedicarboxylic acid, 3-nitro		0	1926426	57212573	166044119	19899636	29782321	1872862	0	0	0
83	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethyl-)		187909875	1926426	1288938	0	1989936	738365	1795716	0	340619	0
89	Benzoic acid		22691540	3219271	2229405	0	872236	271298	0	1215942	309850	0
Pyrroles												
3	2-acetyl-1-pyrroline		0	1212129	4275112	6479183	3212252	0	0	0	0	0
25	1-Furfuryl-2-formyl pyrrole		0	108121197	172123282	208912212	377283292	0	0	0	0	0
78	6-Aza-1,2,3,3a-tetrahydropyrr olo[1,2-a]q		0	285742	375297	0	412192	273020	0	400166	417410	0
Alkene												
27	trans-Caryophyllene		0	1072181	2197212	3363851	4232129	173192	0	0	0	0
30	Germacrene A		0	823929	2721291	4070099	4230012	107282	0	0	0	0
34	α -Chamigrene		0	532256	3121297	6576679	5293119	87291	0	0	0	0
41	Hexadene		30453140	10321275	5729336	3656221	10091218	251542	0	0	0	0
56	(-)-isosativene		3039366	5932133	27112789	89399386	38211922	0	0	0	0	0

2. 등굴레에 함유되어있는 중금속 추출 및 제거 공정 개발

본 연구에서는 음용 수로서의 안전성을 확인하기 위해 등굴레 속에 함유되어 있는 주요 중금속인 Cu, Zn, Pd, Cr, Cd 등의 함량을 측정하였으며, 미량으로 함유되어 있는 중금속을 제거하는 가공기술을 개발하고자 하였다. 음용 수로서의 안정성 조사에서는 NaCl, MgCl₂, CaCl₂, 그리고 KCl을 첨가하여 3시간 쪼낸 결과 중금속이 제거됨을 볼 수 있었고, 유해성분을 제거하는 과정 (찌는 과정)에서 NaCl, MgCl₂, CaCl₂, KCl 등을 첨가하면 중금속을 쉽게 제거할 수 있을 것으로 추정된다. 중금속을 측정한 결과 카드뮴, 크롬, 납 성분은 등굴레에 함유되어 있지는 않았으나, 구리는 0.32 ppm, 아연 0.27 ppm 함유되어 있었다. 중금속을 가장 쉽고 저렴한 조건으로 제거하고자 찌는 과정에서 MgCl₂, NaCl, CaCl₂, KCl 등을 첨가하여 중금속을 측정하였다. 구리는 MgCl₂을 첨가하여 쪼낸 경우 많이 제거되었고 아연은 CaCl₂을 첨가하여 쪼낸 경우가 가장 많이 제거되었다. 그 외에 NaCl, KCl을 첨가할 때에도 상당한 제거 효과를 보임이 확인되었다. 이상의 결과로 등굴레의 가공 과정에 필수적인 찌는 공정에서 MgCl₂, NaCl, CaCl₂, KCl등을 첨가하여 가공하면, 등굴레의 유해성분 (사람에게 설사를 일으킴)을 제거함과 동시에 중금속도 제거할 수 있는 것으로 판단된다. 음용 수로서의 안전성 확인하기 위해 중금속의 존재 여부를 측정하였으며, 측정결과 미량으로 존재하는 Cu 와 Zn을 제거하기 위해 NaCl, MgCl₂, KCl을 사용하여 미량의 중금속을 제거하는 가공기술을 개발하고자 하였다.

가. 처리내용 및 시험수행방법

파쇄한 등굴레 뿌리 10 g을 volume flask에 넣은 후 5 ml의 질산 (NH₃)을 넣어 반응시킨 후 수욕 상에서 가열 증발시켰다. 이어 증발시킨 것을 방치하여 질산 5 ml와 황산 (H₂SO₄) 5 ml을 넣고 가열 증발시켰다. 그 다음, 실온에서 냉각한 후 증류수 50 ml로 여과하고 여기에다 증류수를 넣어 100 ml로 만들어 前處理한 후 원자흡광 분광광도계 (Atom Absorbance Spectrophotometer; Shimadzu)로 중금속을 측정하였다. 또한 찌는 과정에서 MgCl₂, NaCl, CaCl₂, KCl 등을 첨가하여 농도별로 측정하였다. 시험 결과는 Fig. 1, 2, 3 및 4과 같다.

나. 중금속 제거 가공기술

중금속을 측정한 결과 카드뮴, 크롬, 납 성분은 등굴레에 함유되어 있지 않았으나, 구리는 0.32 ppm, 아연 0.27 ppm 함유되어 있었다. 중금속을 가장 쉽고 저렴한 조건으로 제거하고자 찌는 과정에서 $MgCl_2$, $NaCl$, $CaCl_2$, KCl 등을 첨가하여 중금속을 측정하였다. 구리는 $MgCl_2$ 을 첨가하여 찌는 경우 많이 제거되었고 아연은 $CaCl_2$ 을 첨가하여 찌는 경우가 가장 많이 제거되었다.

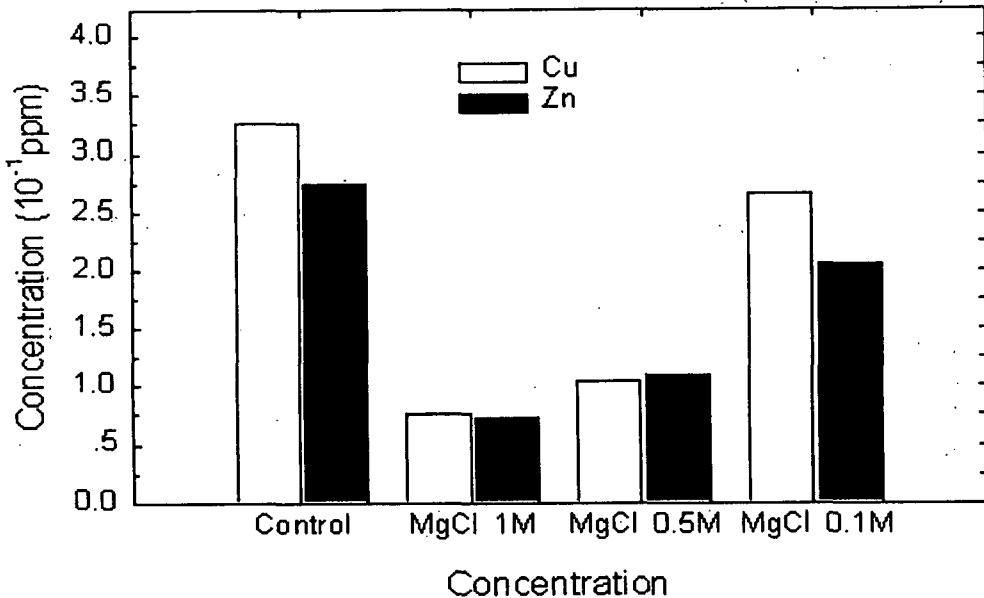


Fig. 1. Copper and zinc concentration as affected by supplement of $MgCl_2$ during steaming rhizomes of *P. odoratum*.

그외 $NaCl$, KCl 도 첨가시 상당한 제거 효과를 보임이 확인되었다. 이상의 결과로 등굴레의 가공 과정에 필수적인 찌는 공정에서 $MgCl_2$, $NaCl$, $CaCl_2$, KCl 등을 첨가하여 찌면 등굴레의 유해성분 (사람에게 설사를 일으킴)을 제거함과 동시에 중금속도 제거할 수 있는 것으로 판단된다. 음용수의 안전성을 확인하기 위해 주요 중금속인 Cu, Zn, Cr, Cd 등의

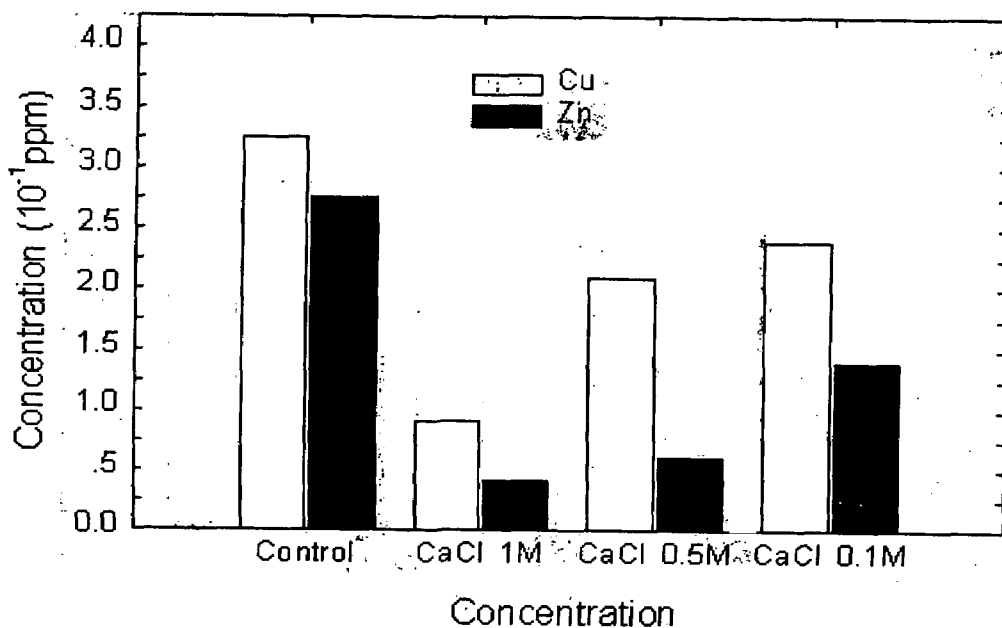


Fig. 2. Copper and zinc concentration as affected by supplement of CaCl_2 during steaming rhizomes of *P. odoratum*.

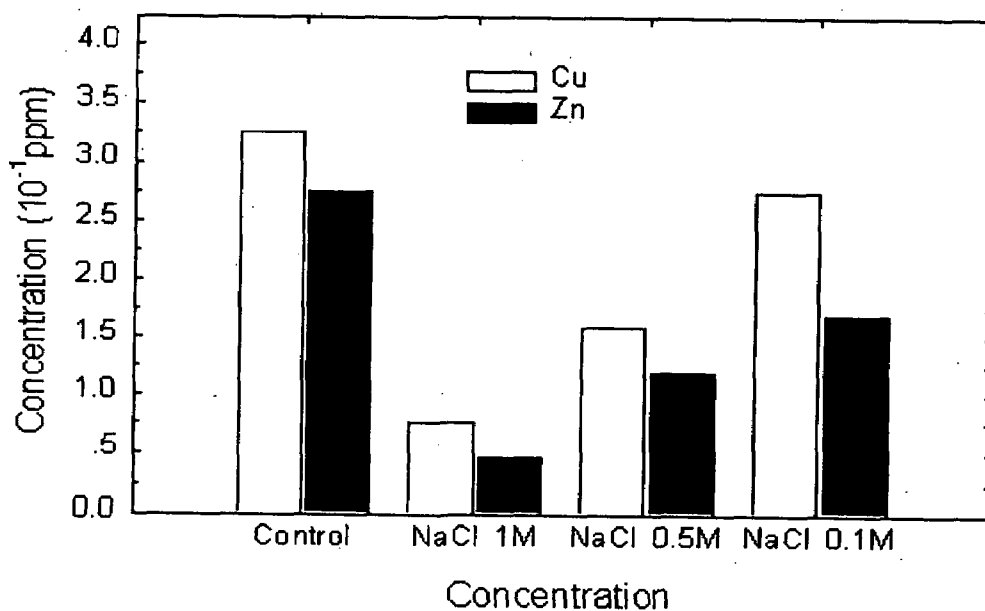


Fig. 3. Copper and zinc concentration as affected by supplement of NaCl during steaming rhizomes of *P. odoratum*.

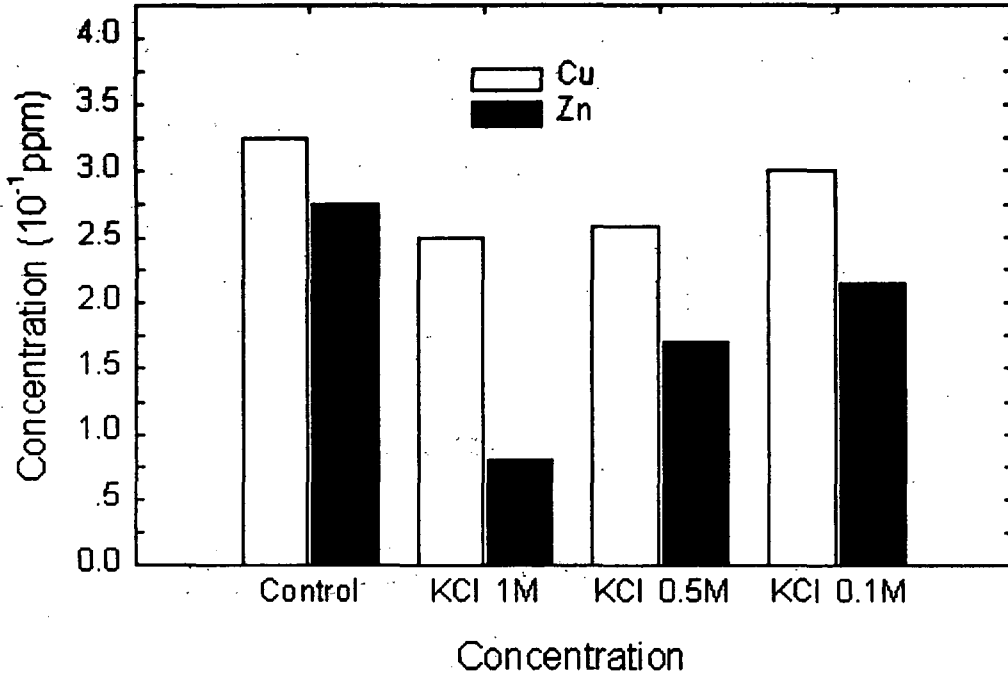


Fig. 4. Copper and zinc concentration as affected by supplement of KCl during steaming rhizomes of *P. odoratum*.

함량을 측정하였다. 측정결과 미량이 존재함이 확인된 Cu와 Zn을 제거하기 위해 NaCl, MgCl₂, KCl을 사용하여 제거 여부를 살펴보았으며, 중금속 제거를 위한 가공기술을 개발하였다.

3. 기능성 물질의 분리 및 동정

가. 시험수행방법 (전 항목 공통): 본 시험에 이용된 시험재료인 등굴레는 (주) 산청식품에서 제공된 등굴레 40 kg (1회 째)을 사용하였다.

나. 시험수행방법 (전 항목 공통): 분석 시험의 수행방법은 다음과 같다.

- 1) 분쇄기에 건조한 등굴레와 메탄올을 넣어 잘게 부순 후,
- 2) 분쇄기에서 잘게 부순 등굴레-메탄올 용액을 48시간 동안 80℃ 수욕상에서 뿔각기와 mechanical 교반기를 부착 (본실험을 위하여 고안한 장치)하여 2회 반복·추출하였다.
- 3) 추출용액을 거름장치 (감압여과 및 삼베주머니)로 여과하여 메탄올 층을 얻은 후 메탄올 층에 포함되어 있는 메탄올을 감압장치를 이용하여 제거하였다.
- 4) 메탄올 추출액에 methanol 추출물 : H₂O : methanol : 추출용매 = 10 : 9 : 1 :: 10의 비율로 섞은 후 아래의 <Fig. 5>과 같이 헥산, 클로로포름, n-부탄올 순으로 각각 추출하여 추출물을 얻었다.
- 5) 각 용매에서 추출하여 얻어진 추출물의 전개용매에 따른 TLC 결과와 같으며 R_f 값으로 표기된 성분은 분리가 가능할 것으로 예상된다.

가) 헥산 층

① 전개용매 ➔ Hexane : Ethylacetate = 5 : 1

R_f = 0.825, R_f = 0.685, R_f = 0.175

② 전개용매 ➔ Hexane : Ethylacetate = 9 : 1

R_f = 0.8, R_f = 0.575, R_f = 0.4, R_f = 0.0875

나) 클로로포름

① 전개용매 ➔ Hexane : Ethylacetate = 5 : 1

R_f = 0.81, R_f = 0.175

② 전개용매 ➔ Hexane : Ethylacetate = 9 : 1

R_f = 0.575, R_f = 0.175

다) n-부탄올 층

① 전개용매 → CHCl_3 : 메탄올 = 1 : 2

$R_f = 0.675, R_f = 0.475$

② 전개용매 → CHCl_3 : 메탄올 = 2 : 1

$R_f = 0.475, R_f = 0.35, R_f = 0.05$

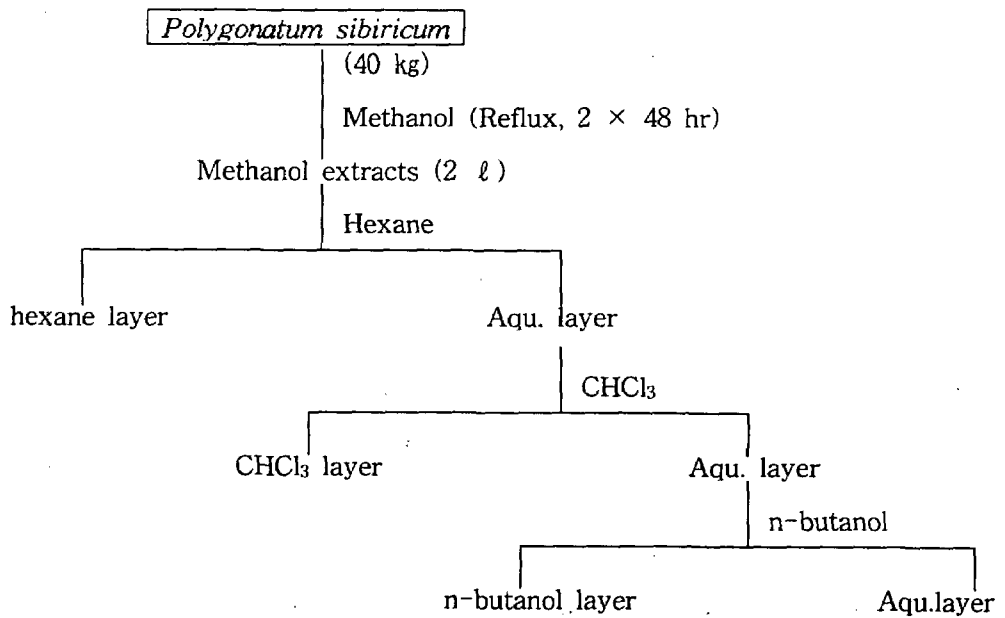


Fig. 5 Schematic Fractionation of methanolic extract from *P. odoratum*.

4. 기능 성분의 화학구조 결정 : 화합물 1과 화합물 2

본 실험에 이용된 시험재료인 등굴레는 (주)산청식품에서 제공된 등굴레 40 kg (1회 짬)을 사용하였다. 먼저 분쇄기에 건조한 등굴레와 methanol을 넣어 잘게 부순 후, 분쇄기에 잘게 부순 황정-methanol 용액을 48시간 동안 80℃ 수욕 상에서 냉각기와 교반기를 부착하여 2회 반복·추출하였다. 추출용액을 거름장치로 여과하여 methanol 층을 얻은 후 methanol 층에 포함되어 있는 methanol을 감압장치를 이용하여 제거하였다. Methanol 추출액에 methanol 추출물 : H₂O : methanol : hexane(10 : 9 : 1 : 10, v/v)의 비율로 섞은 후 아래의 Fig. 1.과 같이 hexane, CHCl₃, n-buthanol 순으로 각각 추출하여 추출물을 얻었다. 각 용매에서 추출하여 얻어진 추출물을 전개용매에 따른 TLC의 R_f 값을 이용하여 분리하였으며, hexane층의 추출물을 분리하여 화합물 I 과 II를 얻었다.

추출된 hexane층의 추출물을 hexane : ethyl acetate (2 : 1, 3 : 1, 9 : 1, v/v)인 전개용매를 사용하여 세 부분으로 나누어서 컬럼으로 분리하였다. 그 중에서 전개용매가 hexane : ethyl acetate = 2 : 1에서 R_f값이 0.73과 0.447에 나타난 두 물질을 분리하였고, hexane : ethyl acetate = 3 : 1에서는 R_f값이 0.514와 0.35에 나타난 두 물질을 분리하고, 마지막으로 hexane : ethyl acetate = 9 : 1인 전개용매에서 R_f값이 0.709, 0.595, 0.481에 나타난 세 물질을 분리하였다. 같은 방법으로 추출된 CHCl₃ 층에서도 hexane : ethyl acetate(2 : 1, 3 : 1, 19 : 1, v/v)인 전개용매를 사용하여 세 부분으로 나누어서 분리하였다. 전개용매 hexane : ethyl acetate = 2 : 1에서 R_f = 0.238에 나타난 물질을 분리하였고, hexane : ethyl acetate = 3 : 1 에서는 R_f = 0.308에 나타난 물질을 분리하였다. 또한 hexane : ethyl acetate = 19 : 1 에서는 R_f값이 0.436과 0.141에 나타난 두 물질을 분리하였다. 위의 추출된 hexane층에서 전개용매를 hexane : ethyl acetate = 3 : 1로 사용했을 때에 R_f = 0.35에 나타난 물질을 화합물 I로 분리하였고, hexane : ethylacetate = 9 : 1로 사용했을 때에 R_f = 0.481에 나타난 물질을 화합물 II로 분리하였다.

가. 화합물 I 의 구조확인

황정에서 분리한 화합물 I 을 ^1H -nmr, ^{13}C -nmr, DEPT135, COSY, HMQC, HMBC 스펙트럼 및 MS 스펙트럼으로 확인하여, 화합물 I 의 구조가 9,12-(9E,12E)-octadecadienoic acid 임을 알 수 있었다. 화합물 I 의 화학구조를 확인하는 단계는 다음과 같다.

1) ^1H -nmr 스펙트럼에 의한 구조분석

화학적인 구조를 확인하고자 하는 화합물 I 의 ^1H -nmr 스펙트럼에서, 작용기 (functional group)에 대한 화학적 이동 (chemical shift)를 고려해 보면 5.3 ppm의 peak는 olefinic proton signal (multiplet)이고, 1.3 ppm은 긴 methylene (CH_2) 사슬의 signal이며, 0.88 ppm은 긴 사슬의 terminal methane (CH_3)의 signal로 생각된다 (Fig. 6).

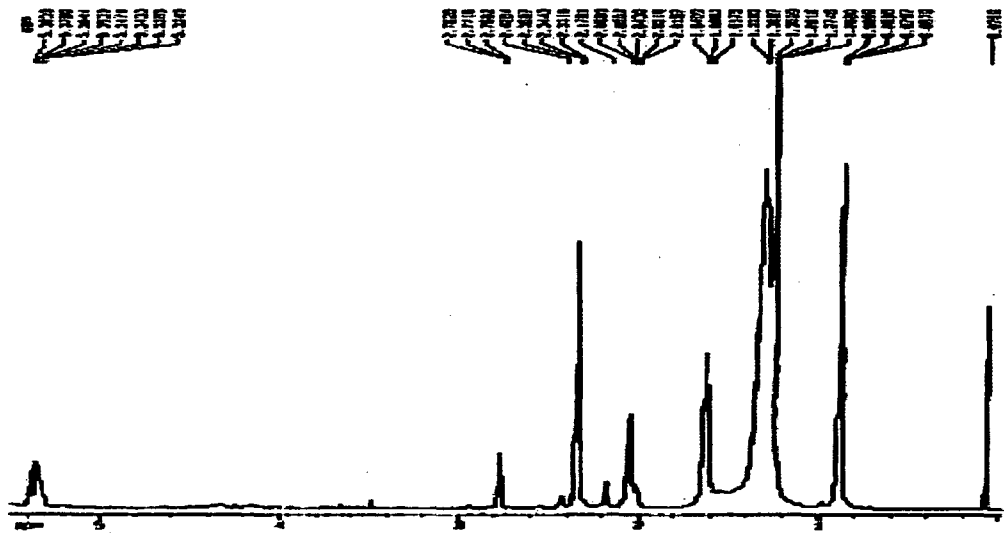


Fig. 6. ^1H -NMR spectrum of compound I extracted from rhizomes of *P. odoratum*.

2) ^{13}C -nmr 스펙트럼에 의한 구조분석

분리한 화합물에 대한 ^1H -nmr 스펙트럼을 통하여 이중결합을 가진 화합물이며, methylene (CH_2) 사슬이 길게 연결되어 있는 것으로 예상되므로, 이를 확인하기 위해서는

^{13}C -nmr 스펙트럼으로 탄소의 위치를 확인할 수 있다. Fig. 7 의 ^{13}C -nmr 스펙트럼에서 살펴보면, 179.9 ppm에서 나타나 있는 peak는 carbonyl carbon중에서 carboxylic acid, ester또는 amide의 carbon signal이고, ^1H -nmr으로부터 예상되었듯이 130 ppm 의 4개의 signal 들은 carbon carbon double bond (olefininc carbon) 즉, 이중결합의 carbon이 두개가 있음을 알 수 있다. 그리고 24.5~34.1 ppm의 multiple signal 들은 긴 methylene carbon 의 signal 들이 있음을 알 수 있다.

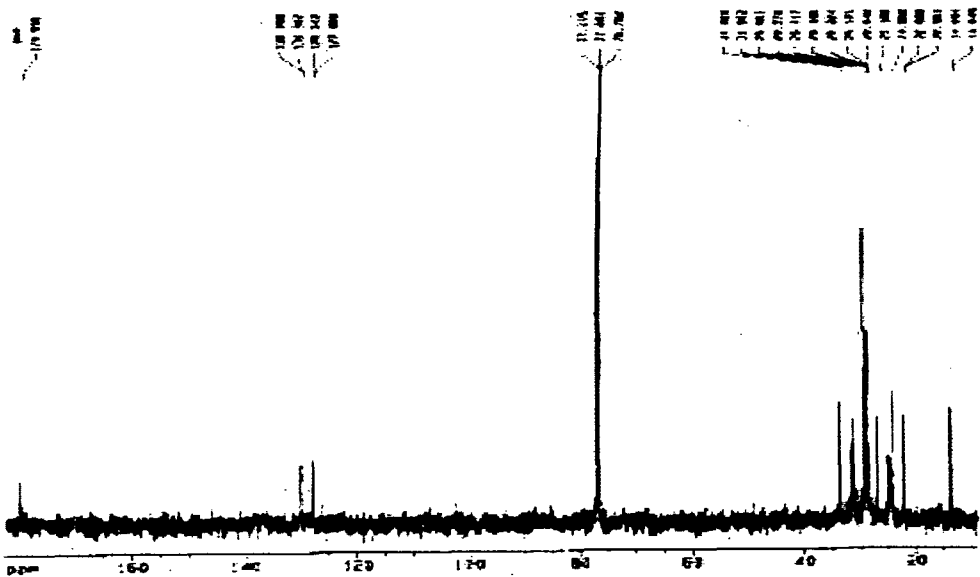


Fig. 7. ^{13}C -NMR spectrum of compound I extracted from rhizomes of *P. odoratum*

3) DEPT 135 스펙트럼에 의한 구조분석

^1H -nmr스펙트럼과 ^{13}C -nmr스펙트럼을 통하여 특징적인 proton들과 탄소를 확인할 수 있었다. 위의 두 가지의 스펙트럼으로 얻은 화합물 구조에 대한 정보 외에 ^{13}C -nmr 스펙트럼에서 얻은 탄소들이 각각 몇 개의 proton을 가지고 있는지를 확인하기 위해 DEPT

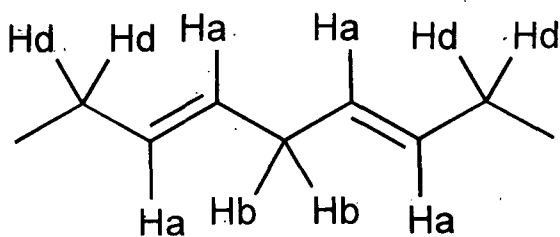
(Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) 스펙트럼을 찍어서 확인하였다. 이 DEPT 135 spectrum에서 보면, ^{13}C 에서 보여준 signal 들이 각각의 C원자가 몇 개의 H원자를 가지고 있는지를 확인할 수 있다. 즉 quaternary carbon (C), methyne (CH), methylene (CH_2), 그리고 methane (CH_3)의 탄소 signal 들을 DEPT 135°에서, CH_3 와 CH의 carbon signal은 위로(up), CH_2 signal 은 아래로(down) 나타나는 것을 확인할 수 있다. Fig. 8 에 의하면, 177.9 ppm에서 quaternary carbon (C) signal 은 사라져 보이지 않으며, 14 ppm 의 carbon signal 은 terminal CH_3 으로서 위로 (up) 나타나야 되는데 signal 이 작아 보이지 않는다. (아마도 phase를 할 때 제대로 맞추지 못한 것 같음. 한편 화합물 II의 스펙트럼에서는 잘 나타나 있음). 한편, 130 ppm에서는 methyne (CH)의 peak가 위(up)로 나타나 있는 것을 확인할 수 있으며, 24.5~34.1 ppm의 methylene (CH_2)의 peak들이 아래(down)로 나타나 있는 것을 확인할 수 있다.



Fig. 8. DEPT 135° spectrum of compound I extracted from rhizomes of *P. odoratum*.

4) COSY 스펙트럼에 의한 구조분석

확인하고자 하는 분자내의 H원자와 인접한 H원자의 상호작용을 COSY spectrum을 이용하여 확인하였다. Fig. 9의 COSY spectrum은 2차원 도표로 표시한 것으로 X축과 Y축의 대각선을 중심으로 서로 인접한 H 원자들 간의 상호작용을 일으킬 때 사각형의 모양으로 표시된다. 즉 5.35 ppm signal (a)은 2.78 ppm signal (b)과 사각형을 이루므로 5.35 ppm (a)에서 나타나는 H 원자들은 2.78 ppm (b)에서 나타나는 H 원자와 상호작용을 하는 것을 알 수 있으며, 또한 5.35 ppm (a)에서 나타나는 H원자들은 2.05 ppm signal (d)과도 사각형을 이루므로 5.35 ppm (a)에서 나타나는 H 원자들은 2.05 ppm (d)에서 나타나는 H 원자들과 상호작용을 하는 것을 알 수 있으므로, 이러한 data로부터 다음과 같은 화합물의 부분적인 구조를 유추할 수 있다.



한편, 2.35 ppm signal (c)은 1.65 ppm signal (e)과 사각형을 이루므로 서로 인접한 H 원자임을 알 수 있으며, 1.65 ppm (e)은 1.30 ppm signal (f)과 상호작용이 있음을 알 수 있다. 또한 1.30 ppm (f, 긴 사슬 signal)은 0.88 ppm (g)와 상호작용 하는 것을 보아 terminal CH₃ 임을 다시 한번 확인 할 수 있다.

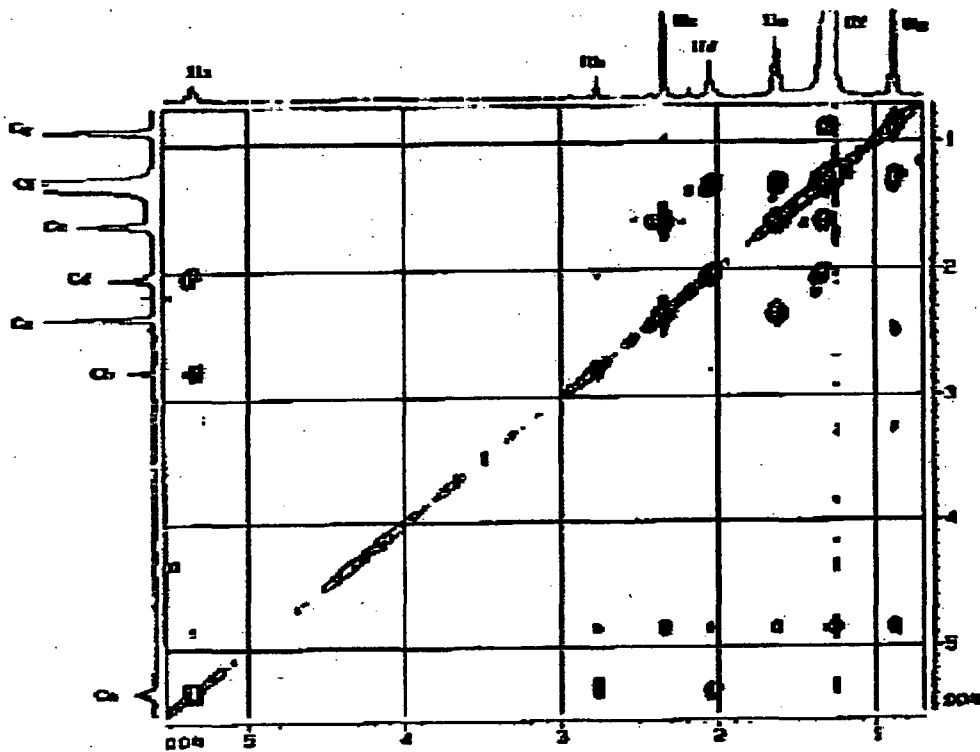


Fig. 9. COSY spectrum of compound I extracted from rhizomes of *P. odoratum*.

5) HMQC 스펙트럼에 의한 구조분석

확인하고자 하는 화합물의 분자 내 H 원자와 C 원자의 one-bond connection을 HMQC 스펙트럼으로 확인하였다 (Fig. 10, Fig. 11) HMQC의 스펙트럼에서는 각각의 탄소원자에 붙어있는 수소원자를 2차원 도표를 이용하여 나타내는데, X축은 H-spectrum을, Y축은 C-spectrum을 보여주고 H 와 C의 signal이 서로 교차하여 만나는 점을 통해서 서로 연결되어 있음을 알 수 있다.

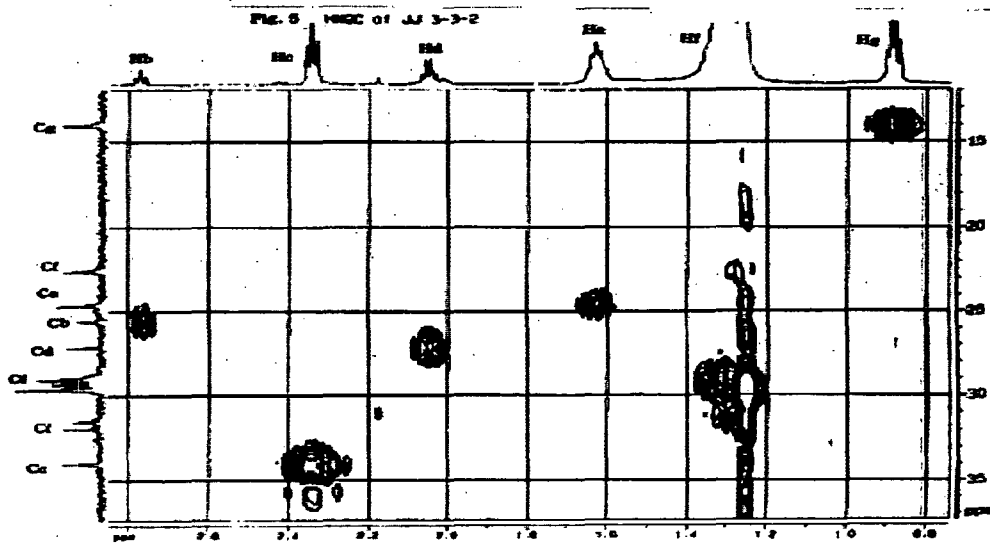


Fig. 10. HMQC spectrum of compound I extracted from rhizomes of *P.*

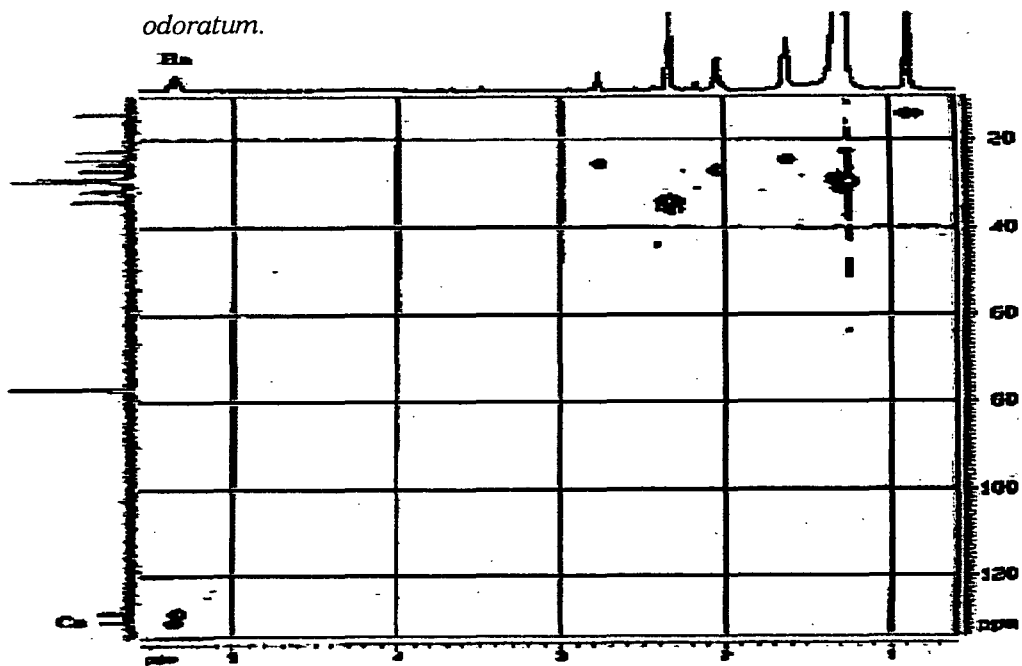


Fig. 11. HMQC spectrum of compound I extracted rhizomes of *P. odoratum.*

^1H -nmr과 ^{13}C -nmr, DEPT 135° 스펙트럼을 통하여 확인할 수 있었던 것처럼, olefinic proton 5.35 ppm signal (a)은 탄소의 130 ppm 과 연결되어 있으므로 4개의 탄소 signal 은 2개의 이중결합이 분자 내에 있음을 보여 준다. H의 0.88 ppm (g) 의 terminal CH_3 signal은 탄소의 14 ppm 과 연결되어 있으므로 terminal signal 임을 알 수 있다. 나머지 H-signal 들도 carbon signal 과 연결시켜서 H-C의 단일결합을 이루고 있음을 알 수 있으며, 각각의 탄소 signal에 H-signal 번호를 붙여서 C (a), C (b), C (c), C (d), C (e), C (f), C (g)로 확인 할 수 있다.

6) HMBC 스펙트럼에 의한 구조분석

확인하고자 하는 화합물의 분자 H와 C의 2 또는 3-bond를 HMBC 스펙트럼으로 확인하였다 (Fig. 12) HMBC의 2-차원 spectrum은 앞의 data로부터 얻은 부분적인 구조를 서로 연결시켜 정확한 분자의 구조를 확인 할 수 있는 방법이다. 먼저 2.3 ppm의 H-signal(c)은 179.9 ppm의 carbonyl carbon과 상호작용을 나타낸다 (X-Y축을 따라 내려가면 점으로 만난다).

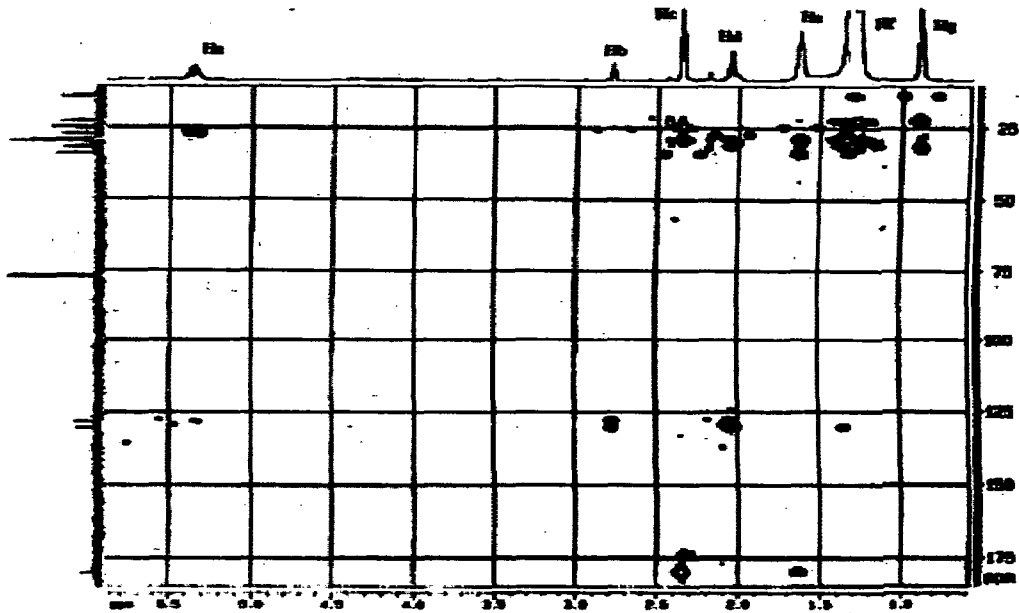
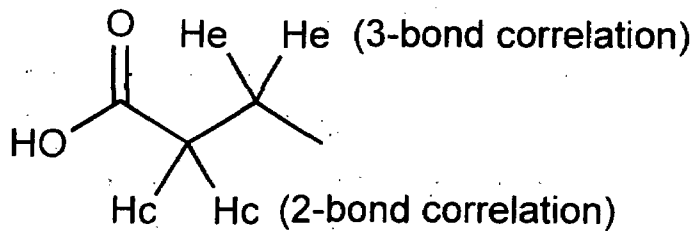
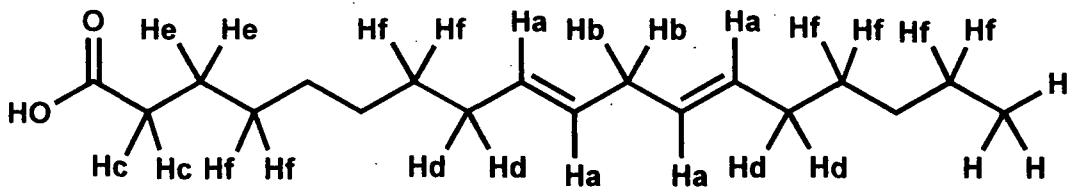


Fig. 12. HMBC spectrum of compound I extracted from rhizomes of *P. odoratum*.



또한 1.6 ppm 의 H-signal (e)도 역시 carbonyl carbon 과 상호작용이 있다. 따라서, 179.9 ppm의 carbonyl carbon은 2.3 ppm의 H-signal (c)과 1.6 ppm 의 H-signal (e)과의 상호작용으로 다음과 같은 부분적인 구조를 가지는 것으로 확인할 수 있다. 왜냐하면, Hc는 carbonyl carbon과 2-bond 상호작용을, He는 3-bond 상호작용을 하고 있으며, Hc가 He보다 downfield인 것은 α -위치인 Hc가 carbonyl group에 의하여 전자를 더 많이 끌려가기 때문에 나타나는 현상이다. 그러므로, 이 두 부분의 부분적인 구조는 fatty acid로서 연결되어 있음을 HMBC로 확인 할 수 있으며, Mass data (MW = 280)를 통해 지방산의 사슬의 숫자를 알 수 있으며, 화합물 I의 구조는 다음과 같으며 화합물명은 9,12-(9E,12E)-octadecadienoic acid임을 알 수 있다.



나. 화합물 II의 구조확인

등굴레에서 분리한 화합물 II의 구조를 ^1H -nmr, ^{13}C -nmr, DEPT 135, COSY, HMQC, HMBC 스펙트럼 및 MS 스펙트럼으로 확인하여, 화합물 II의 구조가 2-Hydroxy-3-(9,12-(9E,12E)-Octadecadienoxy) propanoic acid임을 알 수 있었다. 화합물 II의 화학구조를 확인하는 단계는 다음과 같다.

1) ^1H -nmr 스펙트럼에 의한 구조분석

화학적인 구조를 확인하고자하는 화합물 II의 ^1H -nmr 스펙트럼에서, 작용기 (functional group)에 대한 화학적 이동 (chemical shift)를 고려해 보면 1.3 ppm은 긴 methylene (CH_2) 사슬의 signal이며, 4.2 ppm 의 signal은 chemical shift로 보아 electron withdrawing group이 붙어있고, spine coupling (doublet, doublet, d,d)을 보아 주위에 CH

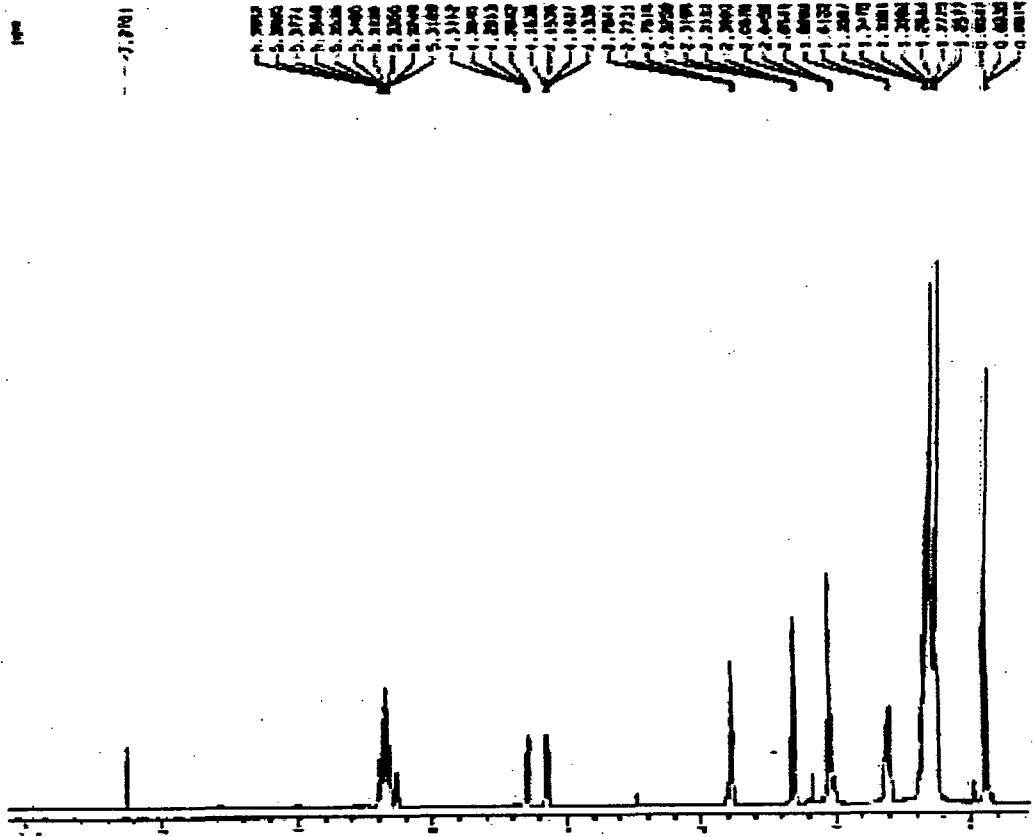


Fig. 13. ^1H -NMR spectrum of compound II extracted from rhizomes of *P. odoratum*.

가 있는 구조를 갖는다. 5.26 ppm의 작은 H-signal은 chemical shift로 보아 olefinic이거나, 아니면 더욱 강한 electron withdrawing group이 붙어있는 경우이다 (Fig. 13).

2) ^{13}C -nmr 스펙트럼에 의한 구조분석

분리한 화합물 II에 대한 ^1H -nmr 스펙트럼을 이중결합을 가진 화합물이며, methylene (CH_2) 사슬이 길게 연결되어 있는 것으로 예상되므로, 이를 확인하기 위해서는 ^{13}C -nmr

스펙트럼으로 탄소의 위치를 확인할 수 있다. Fig. 14의 ^{13}C -nmr 스펙트럼에서 살펴보면 173 ppm에서 나타나있는 peak는 2개의 carbonyl carbon로 carboxylic acid 또는 ester나 amide의 carbon signal이고, ^1H -nmr에서 예상되었듯이 130 ppm의 4개의 signal은 2개의 이중결합이 있음을 보여주며, 68.8 ppm 과 62.0 ppm 의 signal은 chemical shift로 보아 각각 5.26 ppm 과 4.2 ppm 의 H-signal에 전자를 끌어당기는 group이 붙어 있음을 알 수 있다. 그리고 24.5~34.1 ppm 의 multiple signal 들은 긴 methylene carbon 의 signal 들이 있음을 알 수 있다.

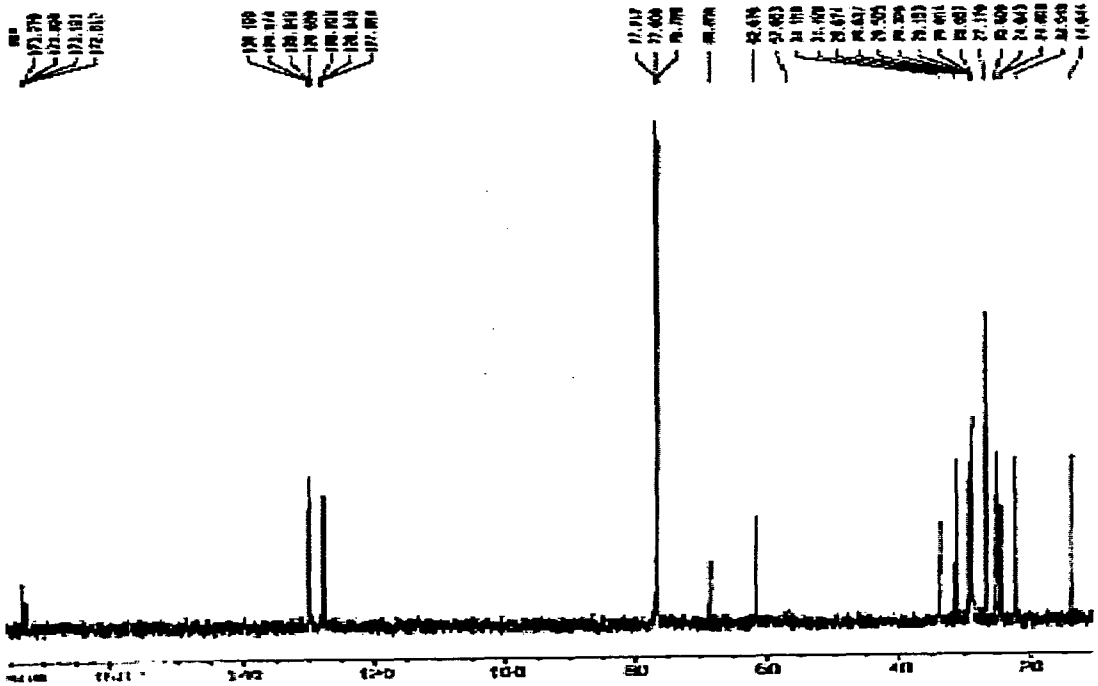


Fig. 14. ^{13}C -NMR spectrum of compound II extracted from rhizomes of *P. odoratum*.

3) DEPT 스펙트럼에 의한 구조분석

H-nmr 스펙트럼과 ^{13}C -nmr 스펙트럼을 통하여 특징적인 proton들과 탄소를 확인할 수 있었다. 위의 두 가지의 스펙트럼으로 얻은 화합물 구조에 대한 정보 외에 ^{13}C -nmr 스펙트럼에서 얻은 탄소들이 각각 몇 개의 proton을 가지고 있는지를 확인하기 위해 DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) 스펙트럼을 찍어서 확인하였다. 즉 quaternary carbon (C), methyne (CH), methylene (CH_2), 그리고 methane (CH_3)의 탄소 signal 들을 DEPT 135° 에서, CH_3 와 CH의 carbon signal은 위로 (up), CH_2 signal은 아래로 (down) 나타나는 것을 확인할 수 있다. DEPT 135° 스펙트럼 (Fig. 15)에서 보면, 177.9 ppm에서 quaternary carbon (C) signal 은 사라져 보이지 않으며, 14 ppm 의 carbon signal 은 terminal CH_3 로서 위 (up)로 나타나 있는 것을 확인할 수 있으며, 한편, 130

ppm과 68.8 ppm에서는 methyne (CH)의 peak가 위 (up)로 나타나 있는 것을 확인할 수 있으며, 24.5~34.1 ppm과 62.0 ppm은 methylene (CH₂)의 peak 들이 아래 (down)로 나타나 있는 것을 알 수 있으며, 이것은 앞에서 설명한 것을 확인할 수 있는 증거이다.

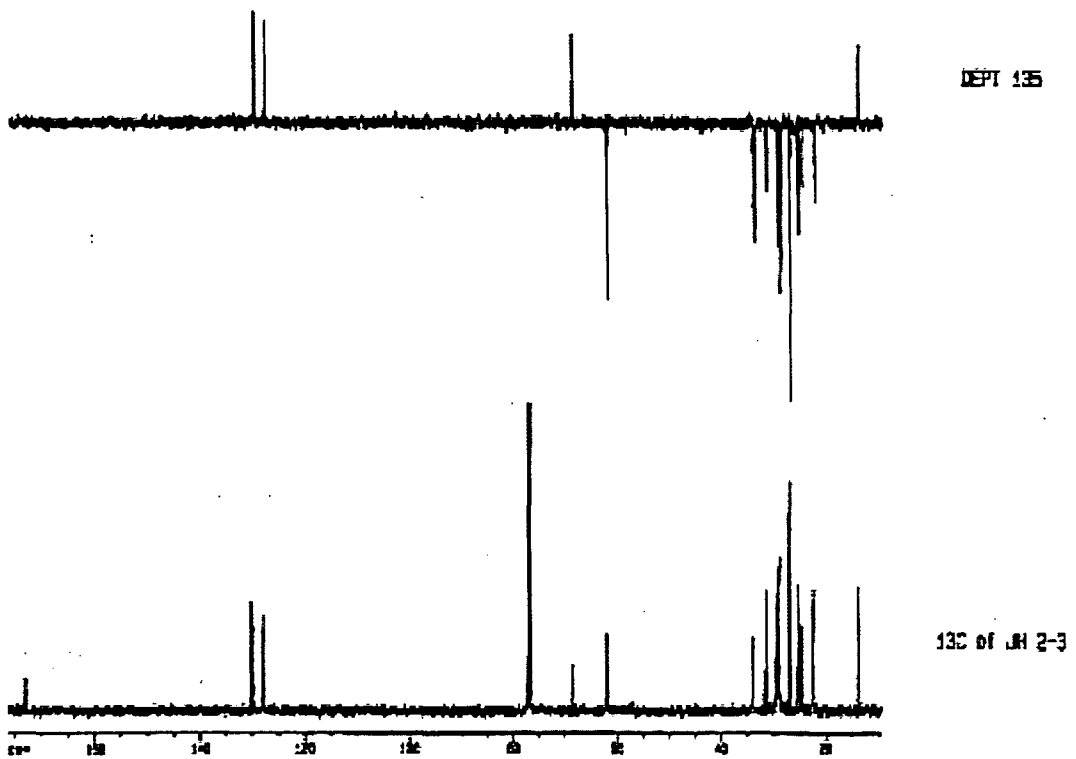
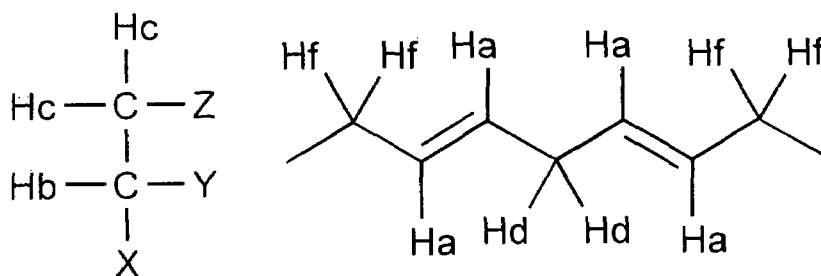


Fig. 15. DEPT 135° spectrum of compound II extracted from rhizomes of *P. odoratum*.

4) COSY 스펙트럼에 의한 구조분석

확인하고자 하는 분자내의 H 원자와 인접한 H 원자의 상호작용을 COSY spectrum을 이용하여 확인하였다. Fig. 16의 COSY spectrum은 2차원 도표로 표시한 것으로 X축과 Y

축의 대각선을 중심으로 서로 인접한 H 원자들 간의 상호작용을 일으킬 때 사각형의 모양으로 표시된다. 즉 5.35 ppm signal (a)은 2.78 ppm signal (d)과 사각형을 이루므로 5.35 ppm (a)에서 나타나는 H 원자들은 2.78 ppm (d)에서 나타나는 H 원자와 상호작용을 하는 것을 알 수 있으며, 또한 5.35 ppm (a)에서 나타나는 H 원자들은 2.05 ppm signal (f)과도 사각형을 이루므로 5.35 ppm (a)에서 나타나는 H 원자들은 2.05 ppm (f)에서 나타나는 H 원자들과 상호작용을 하는 것을 알 수 있다. 그리고 5.26 ppm (b)와 4.2 ppm (c)의 signal 이 사각형을 이루므로 5.26 ppm (b)에서 나타나는 H 원자들은 4.2 ppm (c)에서 나타나는 H 원자들과 상호작용을 하며 서로 인접한 수소원자임을 알 수 있다. 이러한 data로부터 다음과 같은 화합물의 부분적인 구조를 유추할 수 있다



X, Y, Z = electron withdrawing groups

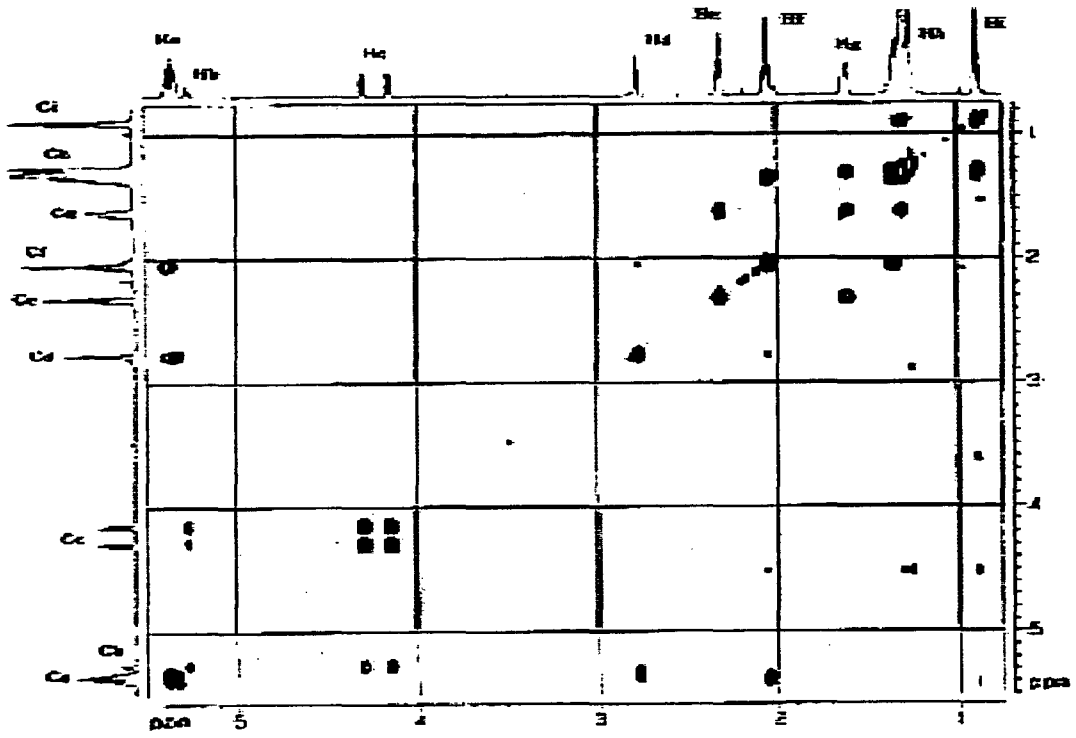


Fig. 16. COSY spectrum of compound II extracted from rhizomes of *P. odoratum*.

5) HMQC 스펙트럼에 의한 구조분석

확인하고자 하는 화합물의 분자내 H 원자와 C 원자의 one-bond connection을 HMQC 스펙트럼으로 확인하였다(Fig. 17). HMQC를 통해서 수소와 탄소원자들의 번호를 붙일 수 있으며 (즉 어떤 수소원자와 어떤 탄소원자가 서로 연결되어 있는지를 정확하게 알 수 있다) 앞에서 예견했던 것들을 확인할 수 있다. HMQC의 스펙트럼에서는 각각의 탄소원자에 붙어있는 수소원자를 2차원 도표를 이용하여 나타내는데, X축은 H-spectrum을, Y축은 C-spectrum을 보여주고 H와 C의 signal이 서로 교차하여 만나는 점을 통해서 서로 연결되어 있음을 알 수 있다. ^1H -nmr과 ^{13}C -nmr, DEPT 135° 스펙트럼을 통하여 확인할 수 있었던 것처럼, H의 5.35 ppm (a)은 C의 129 ppm (a)과 연결되어 있으며, H의 5.3 ppm (b)은 C의 68 ppm (b)과 연결되어 있으며, H의 4.15 ppm (c)은 C의 62 ppm (c)과 연결되

어 있음을 알 수 있으며, 각각의 C-signal에 H-signal 번호를 붙여서 C (a), C (b), C (c), C (d), C (e), C (f), C (g), C (h), C (i)로 확인할 수 있다.

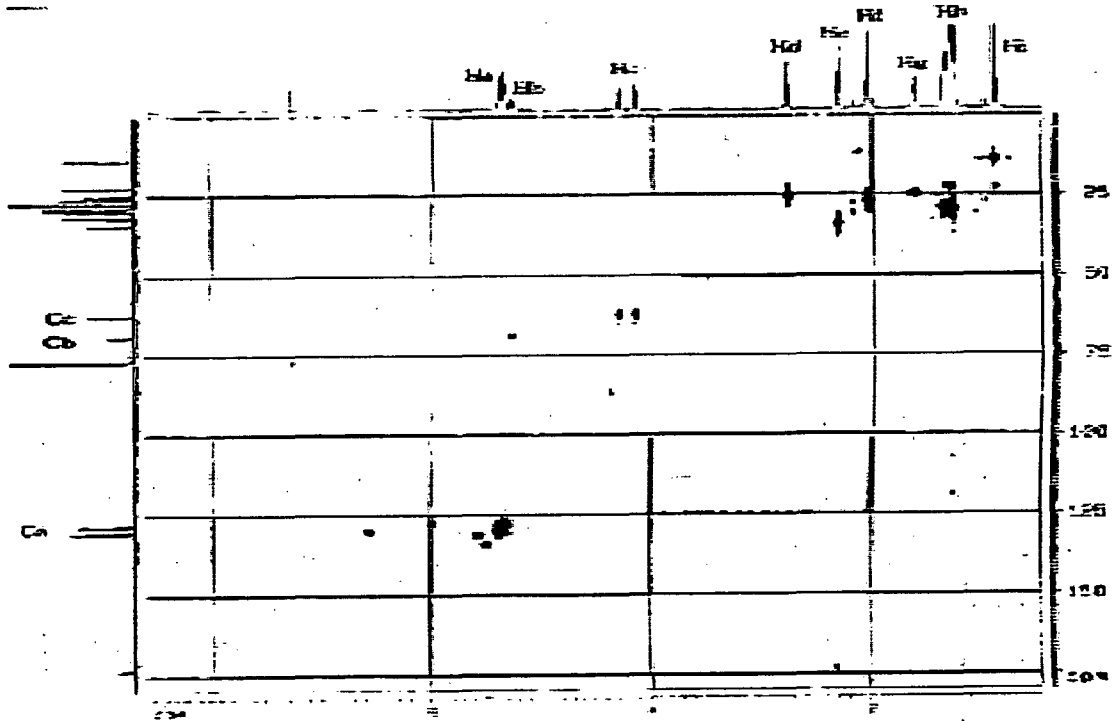


Fig. 17. HMBC spectrum of compound II extracted from rhizomes of *P. odoratum*.

6) HMBC 스펙트럼에 의한 구조분석

확인하고자 하는 화합물의 분자 H와 C의 2 또는 3-bond를 HMBC 스펙트럼으로 확인하였다 (Fig. 18). H-spectrum의 5.26 ppm (b) signal과 4.2 ppm (c) signal이 172.8 ppm의 carbonyl carbon의 signal과 상호작용(X-Y축을 따라 내려가면 점으로 만난다)을 하고 있으며, 2.3 ppm (e)과 1.6 ppm (g)의 H-signal 들도 173.2 ppm의 또 다른 carbonyl carbon signal과 상호작용을 하고 있음을 보여준다. 이것은 다음과 같은 구조임을 알 수 있다.

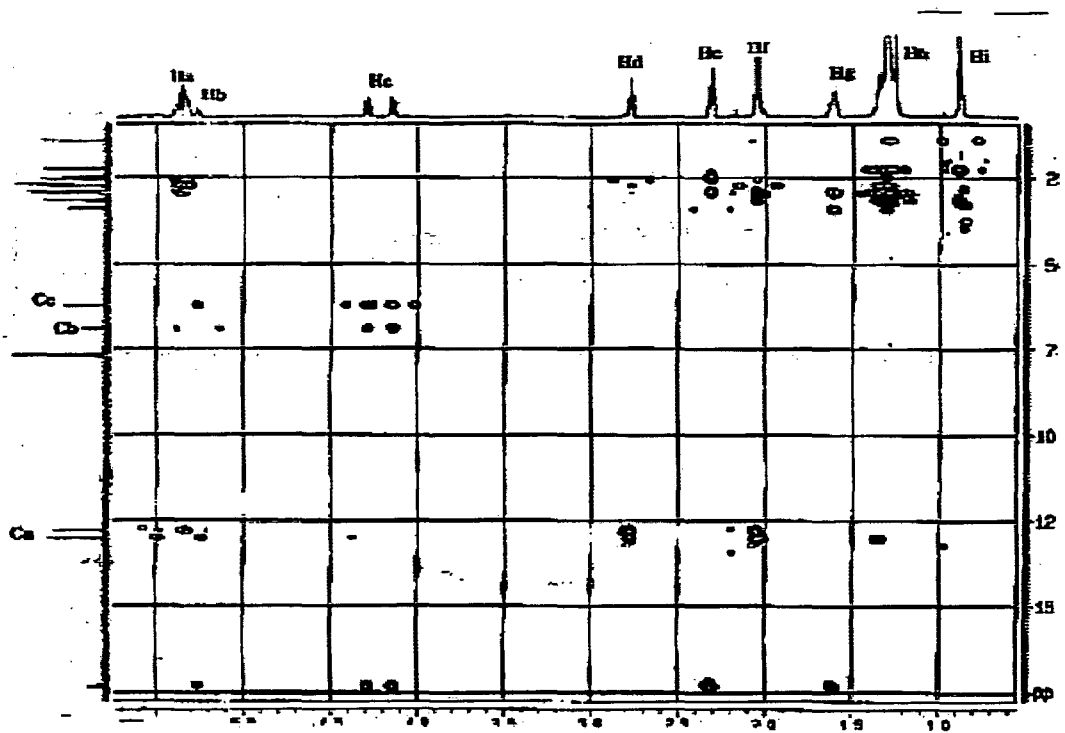
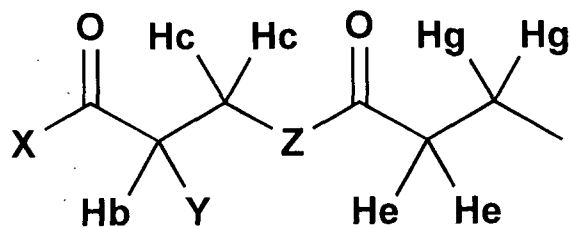
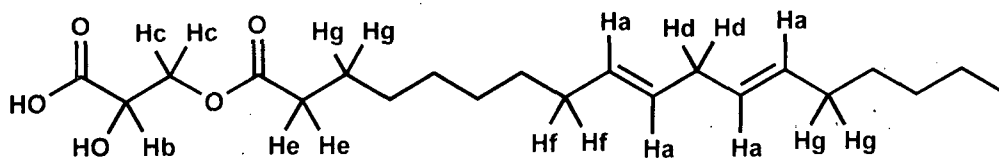


Fig. 18. HMBC spectrum of compound II extracted from rhizomes of *P. odoratum*.

여기서 carbonyl carbon의 chemical shift (172.8 ppm, 173.2 ppm)로 보아 carboxylic acid와 ester일 것으로 생각된다(X=OH, Z=O). 나머지 부분은 ^1H -nmr, ^{13}C -nmr, DEPT 135°, COSY 및 HMQC 스펙트럼으로 부분적인 구조를 알 수 있다. 그러므로 이 두 부분의 부분구조는 fatty acid로서 서로 연결되어짐을 HMBC로 확인할 수 있다.

그러므로, 이 두 부분의 부분적인 구조는 fatty acid로서 연결되어 있음을 HMBC로 확인할 수 있으며, Mass data (Mw = 430)를 통해 지방산의 사슬의 숫자를 알 수 있으며, 화합물의 구조는 다음과 같으며, 화합물 명은 2-hydroxy-3-(9,12-(9E,12E)-octadecadienoyloxy) propanoic acid임을 알 수 있다.



5. 등굴레 추출물(n-BuOH층)의 생리활성측정

가. 추출방법에 따른 기능성 물질의 생리활성측정 - 제 1차 동물실험

처리내용 및 시험수행방법: 등굴레를 사용하여 기능성 물질을 탐색 또는 분석하였다. 한편 (주)산청식품에서 제공된 등굴레(1회 짬, 20 Kg)을 MeOH용매 하에서 80℃로 48시간 동안 처리하여 추출한 추출물을 hexane과 chloroform 층을 거쳐서 n-butanol 층의 추출물을 농축하여 시료, 등굴레 I 을 얻었으며, 다른 시료는 MeOH용매 하에서 실온에서 처리하여 등굴레II의 시료를 얻었다. 얻어진 두 가지 시료, 등굴레 I 과 등굴레II의 생리 활성도를 측정하기 위해 동물실험을 실시하였다.

1) 동물실험

가) 실험동물과 식이 구성

시험에 사용된 동물은 생후 3주되는 24마리의 Sprague-Dawley 수컷 쥐를 대한동물실험센터(충북 음성군)로부터 구입하여, 체중이 280 g에 달 할 때까지 Lab. chow pellet 식이로 사육한 후 Streptozotocin 주사에 의한 당뇨유도실험을 통하여 당뇨병을 발병시켰다. Streptozotocin 주사 후 24시간째에 6시간 공복시킨 후 이들 동물의 꼬리정맥혈을 채취하여 고혈당 증세를 확인하였으며 난피법 (randomized block desing)에 의해 3군으로 나누었다. 이 3식이군은 Table 2.에 표시된 바와 같이 Control 대조구, 등굴레 I (Low 등굴레군), 등굴레 II (High 등굴레군)군으로 구성되었고 등굴레 I 군은 식이 등굴레 추출물을 0.6%로, 등굴레 II 군은 등굴레 추출물을 1% 수준으로 하였다. Control과 등굴레II군은 5주 동안, 등굴레 I 군은 3주 동안 급여하였으며 모든 식이는 기본식이 (basal diet, AIN-76 semipurified diet)를 기준으로 제조하였다.

나) 사육조건

동물들은 항온 (25±2℃)과 항습 (50±5%), 그리고 자연조명의 일정 환경하의 동물실험에서 상동 실험식이에 의해 5주간 사육되었다. 모든 식이는 자유 식이로 먹게 하고 물은 매일 공급해주면서 세균번식의 침입이 없도록 청결상태를 유지하였다.

다) 시료수집

사육기간이 완료된 다음날 아침 12시간 절식시킨 후 에테르로 동물들을 마취시키고 마취제인 Ketamine-HCl을 복강에 투여한 후 복부 대정맥 (inferior vena cava)으로부터 혈액을 수집하였다. 수집된 피는 원심분리기로 4℃에서 3,000 rpm으로 15분 동안 원심분리시켜 혈청을 분리하였다. 동물들의 간, 심장, 신장은 적출 후 생리식염수로 여러 번 헹구어 표면의 피를 제거한 다음 중량을 측정하고는 -20℃에서 보관하였다. 보관된 혈청은 단백질, 중성지방, 총 혈청콜레스테롤 등의 농도측정에 사용되었다.

라) 시료분석실험

혈당농도, 중성지방 농도, 그리고 총 콜레스테롤 농도는 효소법을 적용시킨 아산제약 kit를 사용하여 측정하였다.

마) 통계처리

모든 자료는 SPSS package를 이용하여 처리하였다. 식이군간 비교는 student t-test를 실시하여 그 유의성을 검증하였다. 모든 측정치의 평균, 표준오차를 계산하였으며, 자료 각 각에 대해 비모수적 콜모고로프 스미노프 검정으로 정규분포 여부를 검증하였다.

Table 2. Replenished diet composition replenished with rhizomes of *Polygonatum odoratum* used in the experiment[†]

Ingredients of Experimental diets	Control	<i>P. falcatum</i> I	<i>P. falcatum</i> II
Casein	20.0	20.0	20.0
D,L-Met	0.3	0.3	0.3
Sucrose	50.0	50.0	50.0
Corn starch	15.0	15.0	15.0
Fiber	5.0	5.0	5.0
Corn oil	5.0	5.0	5.0
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2
Mineral Mix AIN-76	3.5	3.5	3.5
Vitamin Mix AIN-76A	1.0	1.0	1.0
<i>P. falcatum</i> I [‡]	0.0	0.6	0.0
<i>P. falcatum</i> II [‡]	0.0	0.0	1.0

[‡] 80°C butanol extract (7 g yield from 1.5 kg raw material, 0.5%) which expressed no inhibition activity on α -glucosidase and separated 3 spots on TLC when developed in CHCl₃:CH₃OH(4:1, 2:1 or 1:2).

[‡] 25°C butanol extract (68.48 g yield from 15 kg raw material) which expressed an inhibition activity on α -glucosidase.

[†] Unit: wt/wt %.

Table 3. Effect of diet feeding replenished with rhizomes of *Polygonatum odoratum* on lipid concentration in blood sugar and plasma[†]

Group	Glucose	Total-C	TG
Control	720.50 ± 74.65 ^{a†}	77.58 ± 17.94 ^a	245.59 ± 144.32 ^a
<i>P. odoratum</i> I [‡]	527.50 ± 155.18 ^b	42.96 ± 11.90 ^b	43.48 ± 24.27 ^b
<i>P. odoratum</i> II [‡]	697.57 ± 132.57 ^a	81.79 ± 21.03 ^a	144.64 ± 116.52 ^{ab}

[†] Unit: mg/dl

[†] Numbers with different superscript are significantly different at p<0.05.

^{‡,‡} Refer to Table 1.

2) 제 1차 동물실험 결과

등굴레 (1회 째, 20 kg)를 MeOH용매 하에서 80°C로 48시간동안 처리하여 추출한 추출물을 hexane과 chloroform층을 거쳐서 n-butanol층의 추출물을 농축하여 얻은 시료, 등굴레 I은 혈당강하효과 ($P<0.05$), 혈장 지질(총 콜레스테롤과 중성지질, $P<0.01$) 저하효과가 유의적으로 나타났으며, 등굴레를 MeOH 용매 하에서 실온에서 처리하여 얻은 시료, 등굴레 II를 사용한 동물실험에서는 혈당 및 혈장지질 저하효과가 전혀 관찰되지 않았다. 따라서, 등굴레를 MeOH용매 하에서 80°C로 48시간동안 처리하여 n-butanol층에서 얻은 추출물이 혈당강하효과 ($P<0.05$), 혈장 지질 (총 콜레스테롤과 중성지질, $P<0.01$) 저하효과 등의 좋은 생리활성도를 유의적으로 나타냈다. 시험결과에 의하면, 등굴레 I은 대조구에 비하여 glucose, total cholesterol과 triacylglycerol이 낮은 반면, 반면 등굴레 II는 혈당 및 혈장지질 저하효과가 전혀 관찰되지 않았다. 이러한 효과는 농축정도에 따라 변할지라도 등굴레는 혈당강하와 혈장 지질, 즉 총 콜레스테롤과 중성지질을 저하시키는 효과가 있을 것으로 예상된다.

나. 등굴레 추출물(n-BuOH)의 생리활성측정- 제 2차 동물실험

본 실험실에서 최근 수행한 예비실험에서는 유기용매로 추출한 등굴레 기능성 물질을 당뇨쥐의 실험식에 0.6% 수준으로 첨가하여 2주간 급여한 결과 혈당저하 작용외 혈중지질 (콜레스테롤과 중성지질수준) 저하효과에도 탁월하게 작용하는 것으로 나타났다. 이 물질은 현재까지의 분석결과에서는 구조가 밝혀지지 않은 7가지 성분으로 이루어진 복합물질로 나타났으며 본 연구과제 수행을 통해 구체적인 각 성분의 화학구조를 규명할 계획이다. 이를 기초자료로 하여 본 연구과제에서는 등굴레로부터 분리된 기능성물질을 고콜레스테롤혈증과 동맥경화에 내성이 약한 토끼와 실험적 방법으로 고지혈증-당뇨병을 동시에 유도시킨 흰쥐의 식이에 보충하여 급여함으로써, 이들 기능성 물질이 실험동물의 동맥경화 예방효과와 고지혈증-당뇨질환에 대한 치료효과를 분석하고자 한다.

1) 동물사육 및 시료수집

3주령의 건강한 수컷토끼 (New Zealand White(NZW) Rabbit, BW 2.7~2.9 kg)를 대한 실험동물센터로(충북, 음성군)부터 구입하여 lab-chow 식이를 제공하면서 1주간 안정시킨 후 무작위로 4그룹으로 나누었다. 정상 군은 normal Lab- chow를, 콜레스테롤 대조군은 0.5% 콜레스테롤 식이, 그리고 lovastatin 및 동굴레군은 0.5% 콜레스테롤 식이에 lovastatin 및 동굴레 추출물을 각각 0.03% 및 0.15% 첨가하여 제조한 식이를 6주간 공급하였다. 동물들은 항온(20℃)과 항습(50%), 그리고 7:00부터 19:00까지의 light-cycle을 유지하는 동물실험실에 설치된 개개의 stainless cage 안에서 사육하였으며, 모든 식이와 식수들은 자유식(ad libitum)으로 먹게 한다. 체중은 매주 측정하였으며 식이 섭취량은 실험식이 기간 중 매일 측정하였다.

실험동물들은 15시간 절식 후 heparin 처리된 주사기로 heart puncture를 실시하여 혈액을 채취하고, 복부를 절개하여 각 장기조직을 수집하였다. 혈액은 3000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 혈장을 분리하고, 혈장 지질분석용으로 -20℃에 보관하였으며, 간 조직은 콜레스테롤 조절효소 및 항산화 효소 활성도 측정을 위해 액체질소에 보관하였다가 필요시 사용하였다.

2) Biochemical Analysis

(가) Plasma lipid determination

① Plasma Total Cholesterol

혈장 중에 있는 콜레스테롤은 cholesteryl ester와 free cholesterol의 형태로 존재하므로 두 형태를 모두 측정하기 위하여, cholesteryl ester를 cholesterol oxidase에 의해 지방산과 유리 콜레스테롤로 바꾼다. 이렇게 전환된 유리형 콜레스테롤과 혈장중의 유리 콜레스테롤을 cholesterol oxidase에 의해 Δ^4 -cholestenon으로 전환하여 peroxidase와 기질인 H₂O₂, 페놀 및 4-amino-antipyrine을 섞어서 적색으로 발색시켜 500 nm에서 흡광도를 측정하여 콜레스테롤 표준용액과 비교하여 정량하였다.

② Triglyceride

혈장 중에 있는 중성지질을 lipoprotein lipase를 이용하여 glycerol과 fatty acid로 분해시킨 후 glycerol을 glycerol kinase와 에너지원인 ATP를 첨가하여 반응시켜 L- α -phosphoglycerol로 변형시킨다. 여기에 glycerol-phospho-oxidase(GPO)를 첨가하여 반응시키면 H_2O_2 가 발생한다. 이에 peroxidase를 처리하여 발색시킨 후 550 nm에서 흡광도를 조사하여 글리세롤 표준과 비교하여 정량하였다.

나) Liver Microsomal HMG-CoA reductase & ACAT Assay

① Microsome 분리

간조직내의 HMG-CoA reductase 및 ACAT 활성도를 측정하기 위해 효소원으로 microsome을 분리하였으며, Hulcher 등이 실시한 분리방법을 약간 변형, 수정하였다. 간 2g을 0.1 M triethanolamine, 0.02 M ethylenediamine tetra-acetic acid (EDTA) (pH 7.4), 2 mM dithiothritol(DTT) 완충용액에 분쇄 후 $10,000\times g$ 와 $12,000\times g$ 에서 차례로 원심분리하여 세포찌꺼기를 제거하였다. 상층액을 취하여 $100,000\times g$ 에서 초원심분리한 후 상층액을 버리고 현탁 및 세척하여 다시 $100,000\times g$ 에서 초원심분리하였다. 다시 상층액을 버리고 침전물을 1 ml 완충액에 녹여 microsomal protein 량을 Bradford 방법을 이용하여 정량하였으며, 적당히 나누어 액체질소에 보관하였다가 필요시 녹여 사용하였다.

② HMG-CoA reductase activity

본 실험에서 실시한 방법은 Shapiro 등 (1974)이 실시한 방법을 수정 보완하여 실시하였다. 본 실험을 실시하기 전에 효소원의 양, 기질의 양, cofactor의 양, 그리고 반응 시간에 따른 활성도의 변화를 분석하였다. 이 분석에서 HMG-CoA reductase의 활성은 microsome과 NADPH를 같이 반응시킬 때 전반응 (preincubation) 시간과 본반응 (incubation)시간, 그리고 microsome 단백질의 농도에 의존성 (dependence)이 매우 강하여 NADPH를 포함한 반응은 전반응 시키지 않았을 때 활성도가 높으며, 반응 시간은 짧을수

록 활성도에 미치는 영향이 적어서 5~15분으로 실시하였다. Microsome 단백질은 1 mg이하에서, 특히 300 μg 이하에서, 그리고, cofactor의 양은 1~2 mM의 농도에서 활성도에 미치는 영향이 적다는 타보고와 일치함을 알 수 있었다 (Ness et al., 1987). Microsome 100 ~ 300 μg 을 NADPH 500 nmole 그리고 [14C]HMG-CoA 50 nmole (1,200 cpm or 2,400 cpm/nmole specific activity)과 혼합하여 전체 반응 양을 60 μl 로 하여 37 $^{\circ}\text{C}$ 항온 수조에서 15분간 반응후 1/5 volume (15 μl) 6 N HCl을 혼합하여 30분간 37 $^{\circ}\text{C}$ 항온 수조에서 반응시켰다. 이렇게 mevalonate를 lactone form으로 만든후 Silica Gel 60F254 TLC plate에 점적하여 전개시킨 후 mevalonate standard (lactone form)와 비교하여 Rf 값이 0.2 부근의 band를 잘라 Scintillation counting 하였다. 활성도는 1분 반응당 microsome 단백질이 1 mg이 생성하는 mevalonate의 양을 pmole로 나타내었다 (pmoles mevalonate formed/min incubation time/ μg microsomal proteins).

③ ACAT(acyl CoA:acyltransferase) activity

Erickson et. al과 Gillies 등 (1986)의 방법을 수정, 보완하여 본 실험에 적용하였다. Triton WR-1339에 녹인 cholesterol 6 μg (20 μl), 1 M K-phosphate (pH 7.4), 0.6 mM BSA 5 μl 와 50~100 μg microsome을 잘 섞은 후 물로 180 μl 가 되게 채운 후 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분간 전반응시킨다. [14C]Oleoyl-CoA (specific activity; 15,000 cpm/nmole) 5.62 nmole를 섞어 전체 volume이 200 μl 가 되게 한 후 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분간 반응시키고 500 μl 의 Isopropanol:Heptane (4:1) 용액, 300 μl 의 heptane 그리고 200 μl 의 0.1 M K-phosphate (pH 7.4)를 넣고 잘 섞은 후 실온에서 2분간 방치한다. 상등액 중 200 μl 를 취하여 Scintillation counting하여 나온 값을 2배 (보정인자)로 곱하여 활성도를 측정한다. 활성도의 계산은 HMG-CoA reductase의 활성도와 비슷하게 1 mg의 microsome 단백질이 1분간 생성하는 Cholesteryl Oleoate의 pmole 수 (pmoles Cholesteryl Oleoate formed/min/ μg microsomal protein)로 나타낸다 (Gillies 등, 1986).

다) Antioxidative Enzyme Assay

① Preparation of enzyme source

간조직 2 g을 취하여 10 ml의 0.25 M sucrose buffer를 가하고 homogenization 시킨 후 $600\times g$ 에서 10분간 원심분리하여 상층액을 취하고 $10,000\times g$ 에서 20분간 원심분리하여 mitochondria 분획을 얻고, 상층액은 다시 $105,000\times g$ 에서 1시간동안 초원심분리하여 cytosol 분획을 분리한다. Mitochondria 분획은 catalase 활성측정에, cytosol 분획은 GSH-Px 및 SOD 활성도 측정에 사용한다.

② Superoxide Dismutase (SOD) Assay

SOD 활성도는 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund의 방법 (1974)으로 측정한다. 즉, 50 mM Tris-HCl buffer 2.8 ml과 15 mM의 pyrogallol 0.1ml을 혼합하여 5°C에서 5분간 전반응시킨 후 시료 0.1 ml를 가하여 25°C에서 10분간 반응시키고, 1 N HCl 0.1 ml를 가하여 반응을 종료시킨 후 440 nm에서 흡광도 변화를 측정한다. 효소활성 단위는 효소액을 넣지 않고 반응시킨 15mM pyrogallol 용액의 자동산화를 50% 억제하는 단백질의 양으로 정한다.

③ Catalase Assay

Catalase 활성도는 Abei(1974)의 방법으로 측정한다. 즉, 50mM potassium phosphate buffer(pH 7.0) 2.89ml에 기질인 30mM H_2O_2 100 μ l를 넣어 25°C에서 5분간 반응시킨다. 여기에 시료 10 μ l를 가하여 25°C로 조절된 spectrophotometer를 이용하여 240nm에서 5분간 흡광도를 측정한다. H_2O_2 의 흡광도 변화와 H_2O_2 의 몰흡광계수로 H_2O_2 의 농도를 구한 다음 decreased H_2O_2 nmol/min/mg protein으로 효소활성도를 계산한다.

④ Glutathione Peroxidase (GSH-Px) Assay

GSH-Px 활성도는 Paglia와 Valentine의 방법 (1967)으로 산화형 glutathion이

glutathion reductase와 NADPH에 의하여 환원될 때 NADPH의 흡광도가 340 nm에서 감소하는 정도를 측정한다. 즉, 0.1 M Tris-HCl(pH 7.2) buffer 2.6 ml과 30 mM 환원형 glutathion 0.1 ml을 넣고 6 mM NADPH 용액 0.1 ml에 6.25 μ M H₂O₂를 넣은 뒤 25°C에서 5분간 전반응시키고, 여기에 0.1 ml의 시료를 혼합하여 25°C에서 5분간 반응시킨 후 340 nm에서 흡광도를 측정한다. 효소활성 단위는 1분간 1 nmol의 산화형 NADPH를 생성하는 효소의 양으로 나타낸다.

3) Statistical Analysis

본 실험에서 나온 모든 결과는 컴퓨터 통계 프로그램 중의 하나인 SPSS package program을 이용하고, 각 군간의 평균차이에 대한 유의성 검정을 위해 ANOVA를 실시한다. 다군간의 차이는 Duncan's multiple range test에 의해 $P < 0.05$ 이상의 수준에서 검정하며 그 결과를 standard deviation (S.D)과 함께 표시하여 나타낸다.

4) 제 2차 동물실험결과

가) 혈장 지질 정량

혈장 총 콜레스테롤 및 중성지방 농도는 Table 4.과 같다. 실험식이 전 혈장 총 콜레스테롤 농도는 군간 차이가 없었으며, 6주간 실험식이 후에는 콜레스테롤 대조군이 다른 군에 비해 가장 유의적으로 높은 수준을 나타내었다. 등굴레군의 경우 정상군에 비해서는 유의적으로 총 콜레스테롤 농도가 상승하였으나 콜레스테롤 대조군에 비해서는 유의적인 감소 (50% 감소)를 보였고, 특히 Lovastatin군은 정상군과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 고콜레스테롤 식이에 Lovastatin과 등굴레 추출물의 보충은 혈장 콜레스테롤의 상승을 상당히 억제하는 것으로 나타났다.

한편, 혈장 중성지방 농도를 측정한 결과, 실험식이 전후 모두에서 정상군과 비슷한 수준으로 나타나 고콜레스테롤 식이에 의한 중성지방 농도의 증가는 보이지 않았다.

Table 4. Effects of lovastatin and *Polygonatum* extract on plasma total cholesterol and triglyceride concentrations in rabbits fed high cholesterol diet.

Group	Total-cholesterol (mg/dl)		Triglyceride (mg/dl)	
	Before	After	Before	After
Cholesterol-free Control	68.48 ± 7.36 ^{NS}	77.53 ± 4.30 ^a	75.86 ± 4.19 ^{NS}	79.44 ± 2.05 ^{NS}
High-cholesterol (HC) control	63.31 ± 3.46	392.70 ± 33.5 ^{c***}	72.40 ± 3.60	87.04 ± 5.40
HC + Lovastatin	77.05 ± 8.39	121.09 ± 13.4 ^{ab*}	87.80 ± 3.56	84.25 ± 4.10
HC + <i>Polygonatum</i>	72.37 ± 6.64	190.49 ± 5.48 ^{b***}	85.04 ± 6.84	85.68 ± 6.52

나) 간조직 HMG-CoA reductase 및 ACAT 활성도

간의 콜레스테롤 항상성 유지에 관여하는 효소인 HMG-CoA reductase와 ACAT 활성도 비교는 Table 5와 같다. 간조직의 콜레스테롤 생합성 조절효소인 HMG-CoA reductase 활성도 비교에서, Lovastatin군이 가장 높은 활성을 보였고 등굴레군의 경우 가장 낮은 활성을 보여, 등굴레 추출물의 보충이 콜레스테롤 생합성 억제에 기여하는 것으로 나타났다. 한편 간조직에서 유리 콜레스테롤을 저장형태인 콜레스테릴 에스터로 전환시키는 효소인 ACAT 활성도 비교에서, 콜레스테롤 대조군이 다른 군에 비해 유의적으로 높은 활성을 보여, lovastatin 및 등굴레추출물이 ACAT 효소활성 억제효과가 있는 것으로 나타났다.

다) 간조직 항산화효소 활성도

간조직의 항산화 효소 활성도 측정결과는 Table 6와 같다. SOD 활성도 비교에서, lovastatin 및 등굴레군이 정상군 및 콜레스테롤 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. Catalase 활성도의 경우, 콜레스테롤 대조군만이 다른 군에 비해 유의적으로 낮았으며,

GSH-Px 활성도의 경우 정상군이 다른 세 군에 비해 유의적으로 높은 수준을 나타내었다. 따라서 lovastatin 및 등굴레 추출물 보충이 SOD 및 catalase 활성을 증가시켜 항산화기능을 향상시키는 것으로 나타났다.

Table 5. Effects of supplementation of lovastatin and *Polygonatum* extract on activities of hepatic HMG-CoA reductase and ACAT in rabbits fed high-cholesterol (0.5%) diet.

Group	HMG-CoA reductase (pmoles/mg protein/min)	ACAT (pmoles/mg protein/min)
Cholesterol-free Control	369.80 ± 28.37 ^b	179.51 ± 1.09 ^a
High-cholesterol (HC) control	315.09 ± 25.81 ^{ab}	251.64 ± 13.73 ^b
HC + Lovastatin	449.59 ± 8.97 ^c	149.64 ± 6.39 ^a
HC + <i>Polygonatum</i>	249.26 ± 14.98 ^a	148.31 ± 9.72 ^a

^{ab} means a significant difference between groups at p<0.05

따라서, 고콜레스테롤 식이에 민감하게 반응하는 동물인 토끼를 이용하여 등굴레 부탄을 추출물의 전반적인 지질대사 및 관련 유전자 발현에 미치는 영향을 검색한 결과, 0.5% 고콜레스테롤 식이에 등굴레 추출물을 급여한 토끼에서 혈장 총콜레스테롤 수준이 유의적으로 감소되었을 뿐만 아니라, 간의 HMG-CoA reductase 및 ACAT 활성 역시 유의적으로 감소되었으며, 간 조직에서 항산화효소인 SOD 및 catalase 활성을 유의적으로 증가시켰다. 따라서 등굴레 추출물은 콜레스테롤 생합성을 억제함과 동시에 항산화기능을 향상시켜 혈장 지질농도를 현저히 저하시키는 것으로 사료된다.

Table 6. Effects of supplementation of lovastatin and *Polygonatum* extract on activities of hepatic superoxide dismutase, catalase and glutathion peroxidase in rabbits fed high-cholesterol (0.5%) diet.

Group	SOD (Unit/mg protein)	Catalase (nmoles/mg protein/min)	GSH-Px (nmoles/mg protein/min)
Cholesterol-free Control	1.05 ± 0.5 ^a	5.79 ± 0.74 ^b	10.98 ± 0.23 ^b
High-cholesterol (HC) control	1.04 ± 0.19 ^a	4.11 ± 0.29 ^a	9.02 ± 0.15 ^a
HC + Lovastatin	1.34 ± 0.18 ^b	5.51 ± 0.14 ^b	9.55 ± 0.73 ^a
HC + <i>Polygonatum</i>	1.02 ± 0.37 ^b	5.66 ± 0.23 ^b	9.53 ± 0.99 ^a

^{ab} means a significant difference between groups at p<0.05

6. 첨가제를 이용한 기호도 증진

가. 키토산과 올리고당 첨가에 따른 기호도 조사

등굴레차 분말 1 g에 키토산과 올리고당을 각각 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%에 해당하는 양을 각각 첨가하여 등굴레 차의 기호도에 따른 관능시험을 수행하였다. 등굴레차는 본 연구에서 찾은 최적조건으로 볶은 후에 분말로 만들어 사용하였다. 관능시험은 5회로 반복해서 실시하였으며, 관능시험대상은 창원대학교 생물학과 학생을 대상으로 하였으며, 식사 전과 식사 후로 나누어서 실시하였다. 관능 기호도는 구수한 맛, 페인트 냄새 (painty), 풋내 (green), 탄내 (burnt), 쓴맛 (bitter), 단맛 (sweet), 떫은 맛 (tart), 감칠 맛 (gamchil) 등으로 구분하여 조사한 결과는 Table 7과 같다.

Table 7. Questionnaire results of sensory evaluation for *Polygonatum* tea and 12 samples with additives (0.5, 1, 2, 3, 4, 5% of Chitinic acid & Oligo sugar).

구분 ^a	구수한 맛	페인트 냄새 (painty)	뜻내 (green)	탄내 (burnt)	쓴맛 (bitter)	단맛 (sweet)	떫은 맛 (tart)	감칠 맛 (gamchil)	응답자 수	
대조군(등굴레 차)	12	0	0	6	1	2	0	0	21 ^b	
키토산	0.5%	10	0	1	5	1	2	1	1	21 ^b
	1%	9	1	2	5	1	1	2	1	22 ^b
	2%	9	1	2	4	0	1	2	1	20
	3%	9	1	3	3	1	0	2	1	20
첨가	4%	9	2	2	3	1	1	2	1	21 ^b
	5%	8	1	3	3	2	1	2	1	21 ^b
올리고당	0.5%	11	0	0	5	0	2	0	2	20
	1%	9	0	1	4	0	3	1	3	21 ^b
	2%	9	1	0	4	0	4	1	3	22 ^b
	3%	8	1	1	4	0	4	0	2	20
첨가	4%	7	0	1	4	0	5	1	2	20
	5%	7	1	0	4	0	7	0	2	21 ^b

a. 4회 실시한 후에 2회 이상 강하게 느껴지는 기호도를 표시하게 함.
b. 강하게 느껴지는 기호도를 1가지 이상 표시 함.

등굴레 차에 키토산을 첨가했을때의 기호도는 키토산의 첨가 양이 많을수록 기호도가 감소하는 것으로 나타나고 있다. 키토산과 올리고당을 각각 0.5% 첨가했을 때와 첨가제를 첨가하지 않았을 때가 가장 기호도가 좋은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 키토산 첨가와 올리고당 첨가가 등굴레 차의 향미 성분의 효과를 저하시켜서 고유한 등굴레 차의 맛을 감소시키는 것으로 추정할 수 있다.

나. 두충 및 녹차 잎의 첨가

협력업체와 첨가비율에 대한 협의를 거쳐서 등굴레차의 분말 1 g에 두충차 (현재 협력 업체인 산청식품에서 가공하여 판매중인 제품 사용, 분말)과 녹차(시중에서 구입하여 실험

에 사용, 분말)을 각각 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%에 해당하는 양을 각각 첨가하여 등골레 차의 기호도에 따른 관능시험을 앞의 '키토산과 올리고당 첨가에 따른 기호도 조사'에서 수행한 방법과 동일하게 조사한 결과는 Table 8에 나타내었다.

Table 8. Questionnaire results of sensory evaluation for *Polygonatum* tea and 12 samples with Additives (0.5, 1, 2, 3, 4, 5% of Doo-Chung tea & Green tea).

구분 ^a	구수한 맛	페인트 냄새 (painty)	꽃내 (green)	탄내 (burnt)	쓴맛 (bitter)	단맛 (sweet)	씹은 맛 (tart)	감칠 맛 (gamchil)	응답자 수		
대조군(등골레 차)	12	0	0	6	1	2	0	0	21 ^b		
두 층 차	0.5%	11	0	1	7	0	2	0	0	21 ^b	
	1%	10	0	0	6	0	2	1	1	20	
	2%	9	1	1	6	0	2	2	1	22 ^b	
	3%	9	0	1	6	1	1	2	0	20	
	4%	9	1	1	5	1	1	2	0	20	
첨 가	5%	9	1	1	5	1	1	2	1	21 ^b	
	녹 차	0.5%	10	1	1	6	0	2	0	0	20
		1%	10	1	1	5	0	2	0	1	20
		2%	9	1	2	5	0	2	1	0	20
	첨 가	3%	9	2	1	4	1	1	2	0	20
4%		9	2	2	4	1	1	1	0	20	
5%		8	1	2	4	2	1	2	1	21 ^b	

a. 4회 실시한 후에 2회 이상 강하게 느껴지는 기호도를 표시하게 함.
b. 강하게 느껴지는 기호도를 1가지 이상 표시 함.

두층 잎 분말과 녹차잎 분말을 각각 4%, 5% 넣었을 때는 두층 잎이나 녹차 잎에 들어 있는 탄닌 성분에 영향을 받아 기호도가 좋지 않은 것으로 나타났으며, 0.5%에 해당되는 첨가제를 넣었을 때와 등골레 차에 첨가제를 넣지 않았을 때의 기호도가 비슷하게 좋은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 두층차나 녹차의 향미 성분 등이 등골레의 향미 성분에

영향을 미치며, 특히 향미 성분에 영향을 미치는 성분이 탄닌 종류의 화합물인 것으로 추정되어진다.

7. 시제품 제작

본 연구에서는 등골레 차의 시제품 생산을 두 가지 측면에서 고려하였다. 첫 번째는 기존의 등골레 차에 첨가제(키토산, 올리고당, 두충 차, 녹차)에 따른 기호도 조사에 의해 시제품을 제작하고자 하였으며, 두 번째로는 중금속을 제거하는 가공기술을 개발하여 시제품을 제작하고자 하였다. 등골레 차에 첨가제(키토산, 올리고당, 두충 차, 녹차)에 따른 기호도 조사에 있어서, 기존의 등골레 차의 기호도와 첨가제를 0.5%를 첨가했을 때에 기호도가 거의 같은 것으로 조사되어, 본 연구에서 개발된 중금속 제거 가공기술에 의해 시제품을 제작하였다.

제 4절 결과요약

1. 기능성 및 향미 성분의 분석과 탐색

향미 성분의 조사에서는 1차 썬 등굴레를 시료로 사용하였으며, 주요 향미 성분으로서는 1-(2-furayl)-ethanone, bis(2-ethyl)-1,2-benzenedicarboxylic acid, hexadene, benzene-acetadehyde, benzoic acid 등으로 확인되었고, 가공 (볶음) 과정 중에 aldehyde, ketone, furane, alcohol, alkane 등의 함량이 증가되며, sweet aroma에 관여하는 furane 유도체가 120℃ 이상에서는 급격히 감소하여 80℃의 약한 불로 볶는 것이 향미 성분의 변화에서 볼 때 최적의 조건임이 확인되었다. GC-MS로 분석한 결과 52종의 향미 성분을 동정하였으며, 몇 가지의 화합물은 동정이 되지 않았다. 80℃, 120℃에서 볶은 경우 보다 많은 수의 향미 성분이 발현됨이 확인되었다. 가공 전에 비해 31개종의 향미 성분이 약한 불로 가공할 때에 새롭게 얻어졌다.

2. 등굴레에 함유되어있는 중금속 추출 및 제거 공정 개발

본 연구에서는 음용 수로서의 안전성을 확인하기 위해 등굴레 속에 함유되어 있는 주요 중금속인 Cu, Zn, Pd, Cr, Cd 등의 함량을 측정하였으며, 측정결과 미량으로 존재하는 Cu와 Zn이 미량으로 함유되어 있음을 확인하였다. 음용 수로서의 안정성 조사에서는 NaCl, MgCl₂, CaCl₂, 그리고 KCl을 첨가하여 3시간 썬 결과 중금속이 제거됨을 볼 수 있었고, 유해성분을 제거하는 과정 (찌는 과정)에서 NaCl, MgCl₂, CaCl₂, KCl 등을 첨가하였을 때에 중금속이 쉽게 제거됨을 알 수 있었다. 중금속을 측정한 결과 카드뮴, 크롬, 납 성분은 등굴레에 함유되어 있지는 않았으나, 구리는 0.32 ppm, 아연 0.27 ppm 함유되어 있었다. 중금속을 가장 쉽고 저렴한 조건으로 제거하고자 찌는 과정에서 MgCl₂, NaCl, CaCl₂, KCl 등을 첨가하여 중금속을 측정하였다. 구리는 MgCl₂을 첨가하여 썬 경우 많이 제거되었고 아연은 CaCl₂을 첨가하여 썬 경우가 가장 많이 제거되었다. 그 외에 NaCl, KCl을 첨가할 때에도 상당한 제거 효과를 보임이 확인되었다.

3. 기능성 물질의 분리 및 동정

분쇄기에 건조한 등굴레와 메탄올을 넣어 잘게 부순후, 분쇄기에서 잘게 부순 등굴레-메탄올 용액을 48시간 동안 80℃ 수욕 상에서 냉각기와 mechanical 교반기를 부착 (본 실험을 위하여 고안한 장치)하여 2회 반복·추출하였다. 추출용액을 거름장치 (감압여과 및 삼베주머니)로 여과하여 메탄올 층을 얻은 후 메탄올 층에 포함되어 있는 메탄올을 감압장치를 이용하여 제거하였다. 메탄올 추출액에 methanol 추출물 : H₂O : methanol : 추출용매 = 10 : 9 : 1 : 10의 비율로 섞은 후에 hexane, 클로로포름, n-부탄올 순으로 각각 추출하여 추출물을 얻었다. 각종 유기용매에 의한 추출물의 분획은 hexane : ethylacetate (6 : 1 ; v:v)로 박층 크로마토그래피 (thin layer chromatography)결과 hexane 분획에는 3 가지의 물질이, chloroform 분획에는 2가지의 물질이, butanol 분획에서는 7가지의 물질이 확인되었으며, 이 중에서 3가지 물질이 분리가능하였다. 그리고 물 분획에는 3가지의 물질이 존재함이 확인되었다.

4. 기능 성분의 화학구조 결정 : 화합물 1과 화합물 2

Methanol 추출액에 methanol 추출물 : H₂O : methanol : hexane (10 : 9 : 1 : 10, v/v)의 비율로 섞은 후 hexane, CHCl₃, n-buthanol 순으로 각각 추출하여 추출물을 얻었다. 각 용매에서 추출하여 얻어진 추출물을 전개용매에 따른 TLC의 R_f 값을 이용하여 분리하였으며, hexane층의 추출물을 분리하여 화합물 I 과 II를 얻었다.

추출된 hexane 층의 추출물을 hexane : ethyl acetate (2 : 1, 3 : 1, 9 : 1, v/v)인 전개용매를 사용하여 세 부분으로 나누어서 컬럼으로 분리하였다. 그 중에서 전개용매가 hexane : ethyl acetate = 2 : 1에서 R_f값이 0.73과 0.447에 나타난 두 물질을 분리하였고, hexane : ethyl acetate = 3 : 1에서는 R_f값이 0.514와 0.35에 나타난 두 물질을 분리하고, 마지막으로 hexane : ethyl acetate = 9 : 1인 전개용매에서 R_f값이 0.709, 0.595, 0.481에 나타난 세 물질을 분리하였다. 같은 방법으로 추출된 CHCl₃ 층에서도 hexane : ethyl acetate(2 : 1, 3 : 1, 19 : 1, v/v)인 전개용매를 사용하여 세 부분으로 나누어서 분리하였다. 전개용매 hexane : ethyl acetate = 2 : 1에서 R_f = 0.238에 나타난 물질을 분리하였고, hexane :

ethyl acetate = 3 : 1 에서는 $R_f = 0.308$ 에 나타난 물질을 분리하였다. 또한 hexane : ethyl acetate = 19 : 1 에서는 R_f 값이 0.436과 0.141에 나타난 두 물질을 분리하였다. 위의 추출된 hexane층에서 전개용매를 hexane : ethyl acetate = 3 : 1로 사용했을 때에 $R_f = 0.35$ 에 나타난 물질을 화합물 I로 분리하였고, hexane : ethylacetate = 9 : 1로 사용했을 때에 $R_f = 0.481$ 에 나타난 물질을 화합물 II로 분리하였다. 분리한 화합물들의 화학적인 구조를 분광적인 방법에 의해 결정하였다. 화합물 I의 구조는 9,12-(9E,12E)-octadecadienoic acid임을 알 수 있었으며, 화합물 II의 구조는 2-hydroxy-3-(9,12-(9E,12E)-octadecadienoxy) propanoic acid임을 알 수 있다.

5. 등굴레 추출물(n-BuOH층)의 생리활성측정

가. 제 1차 동물실험 결과

n-Butanol층의 추출물을 농축하여 얻은 시료, 등굴레 I은 혈당강하효과 ($P < 0.05$), 혈장 지질 (총 콜레스테롤과 중성지질, $P < 0.01$) 저하효과가 유의적으로 나타났으며, 등굴레를 MeOH 용매 하에서 실온에서 처리하여 얻은 시료, 등굴레 II를 사용한 동물실험에서는 혈당 및 혈장지질 저하효과가 전혀 관찰되지 않았다. 따라서, 등굴레를 MeOH 용매 하에서 80℃로 48시간동안 처리하여 n-butanol 층에서 얻은 추출물이 혈당강하효과 ($P < 0.05$), 혈장 지질 (총 콜레스테롤과 중성지질, $P < 0.01$) 저하효과 등의 좋은 생리활성도를 유의적으로 나타냈다.

나. 제 2차 동물실험결과

등굴레로부터 80℃에서 추출한 n-butanol 층에서 얻은 기능성물질을 고콜레스테롤혈증과 동맥경화에 내성이 약한 토끼와 실험적 방법으로 고지혈증-당뇨병을 동시 유도시킨 흰 쥐의 식이에 보충하여 급여함으로써, 이들 기능성 물질이 실험동물의 동맥경화 예방효과와 고지혈증-당뇨질환에 대한 치료효과를 분석하였다. 실험식이 전 혈장 총 콜레스테롤 농도는 군간 차이가 없었으며, 6주간 실험식이 후에는 콜레스테롤 대조군이 다른 군에 비해 가장 유의적으로 높은 수준을 나타내었다. 등굴레군의 경우 정상군에 비해서는 유의적으로 총 콜레스테롤 농도가 상승하였으나 콜레스테롤 대조군에 비해서는 유의적인 감소 (50%

감소)를 보였고, 특히 Lovastatin군은 정상군과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 고콜레스테롤 식이에 Lovastatin과 등굴레 추출물의 보충은 혈장 콜레스테롤의 상승을 상당히 억제하는 것으로 나타났다. 한편, 혈장 중성지방 농도를 측정된 결과, 실험식이 전후 모두에서 정상군과 비슷한 수준으로 나타나 고콜레스테롤 식이에 의한 중성지방 농도의 증가는 보이지 않았다. 간조직의 콜레스테롤 생합성 조절효소인 HMG-CoA reductase 활성도 비교에서, Lovastatin군이 가장 높은 활성을 보였고 등굴레군의 경우 가장 낮은 활성을 보여, 등굴레 추출물의 보충이 콜레스테롤 생합성 억제에 기여하는 것으로 나타났다. 한편 간조직에서 유리 콜레스테롤을 저장형태인 콜레스테릴 에스터로 전환시키는 효소인 ACAT 활성도 비교에서, 콜레스테롤 대조군이 다른 군에 비해 유의적으로 높은 활성을 보여, lovastatin 및 등굴레추출물이 ACAT 효소활성 억제효과가 있는 것으로 나타났다. SOD 활성도 비교에서, lovastatin 및 등굴레군이 정상군 및 콜레스테롤 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. Catalase 활성도의 경우, 콜레스테롤 대조군만이 다른 군에 비해 유의적으로 낮았으며, GSH-Px 활성도의 경우 정상군이 다른 세 군에 비해 유의적으로 높은 수준을 나타내었다. 따라서 lovastatin 및 등굴레 추출물 보충이 SOD 및 catalase 활성을 증가시켜 항산화기능을 향상시키는 것으로 나타났다.

고콜레스테롤 식이에 민감하게 반응하는 동물인 토끼를 이용하여 등굴레 부탄을 추출물의 전반적인 지질대사 및 관련 유전자 발현에 미치는 영향을 검색한 결과, 0.5% 고콜레스테롤 식이에 등굴레 추출물을 급여한 토끼에서 혈장 총콜레스테롤 수준이 유의적으로 감소되었을 뿐만 아니라, 간의 HMG-CoA reductase 및 ACAT 활성 역시 유의적으로 감소되었으며, 간조직에서 항산화효소인 SOD 및 catalase 활성을 유의적으로 증가시켰다. 따라서 등굴레 추출물은 콜레스테롤 생합성을 억제함과 동시에 항산화기능을 향상시켜 혈장 지질농도를 현저히 저하시키는 것으로 사료된다.

6. 첨가제를 이용한 기호도 증진

등굴레 차에 키토산을 첨가했을때의 기호도는 키토산의 첨가 양이 많을수록 기호도가 감소하는 것으로 나타나고 있다. 키토산과 올리고당을 각각 0.5% 첨가했을 때와 첨가제를

첨가하지 않았을 때가 가장 기호도가 좋은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 키토산 첨가와 올리고당 첨가가 등골레 차의 향미 성분의 효과를 저하시켜서 고유한 등골레 차의 맛을 감소시키는 것으로 추정할 수 있다. 한편, 두충 잎 분말과 녹차잎 분말을 각각 4%, 5% 넣었을 때는 두충 잎이나 녹차 잎에 들어있는 탄닌 성분에 영향을 받아 기호도가 좋지 않은 것으로 나타났으며, 0.5 %에 해당되는 첨가제를 넣었을 때와 등골레 차에 첨가제를 넣지 않았을 때의 기호도가 비슷하게 좋은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 두충차나 녹차의 향미 성분 등이 등골레의 향미 성분에 영향을 미치며, 특히 향미 성분에 영향을 미치는 성분이 탄닌 종류의 화합물인 것으로 추정되어진다.

제 5절 인용문헌

- Bailey CJ, Day C. 1989. Raditional plant medicines as treatments for diabetes. *Diabetic Care* 12:553-564.
- Akhtar MS, Kham QM, Khaliq T. 1984. Effect of *Euphobia prostrata* and *Fumaria parviflora* in normoglaemic and alloxan-treated hyperglycemic rabbits. *Planta Medica* 50(2):138-142.
- Villar A, Paya H, Hortiguela MD, Corte D. 1986. Tormentic acid, a new hypoglycemic agent from *Poterium ancistroides*. *Planta Medica* 52(1):43-45.
- Iyorra MD, Paya H. 1988. Hypoglycemic and insulin release effects of tormentic acid : a new hypoglycemic natural product. *Planta Medica* 55(4):282-286.
- Day C, Cartwright T, Provost J, Bailey CJ. 1990. Hypoglycemic effect of *Momordica charantia* extracts. *Planta Medica* 56:426-429.
- Bajpai MB, Asthana RK, Sharma NK, Chatterjee SK, Mukherjee SK. 1991. Hypoglycemic effect of swerchirin from the hexane fraction of *Swertia chirayita*. *Planta Medica* 57:102-104.
- Akhtar MS, Ali MR. 1985. Study of hypoglycemic activity of *Cuminum nigrum* seeds in normal and alloxan diabetic rabbits. *Planta Medica* 51:81-85.
- 함승시. 1988. 산채류 가열즙의 돌연변이 억제작용에 관한 연구. *J Kor. Chem. Soc.* 31(1):38-45.
- Choi JS, Chung HY, Han SY. 1990. A preliminary study on hypocholesterolemic and hypoglycemic activity of some medicinal plants. *Kor. J. Pharmacogn* 21(2):153-157.

- Kim TH, Yang KS Whang SH. 1991. Studies on hypocholesterolemic and hypoglycemic activity of *Commelinae* Herba extract on the normal and the streptozotocin-induced hypoglycemic rats. Thesis collection. *S. M. Pharmacogn Sci* 7 : 39-59.
- 박수영. 1992. Hypoglycemic effects of *Commelina communis* L. and characterization of glucose-6-phosphate dehydrogenase in rat liver. 석사학위 논문. 덕성여자대학교대학원.
- Lee MY, Lee JS, Sheo HJ. 1988. Effects of *Aralia elata* extract on experimentally alloxan induced diabetes in rabbits. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 17(1):57-61.
- 김옥경. 1990. 두릅나무 근피추출물의 혈당강하 효과. 박사학위논문. 서울여자대학교대학원.
- Lee YC, Won DH. 1982. Pharmacognostic studies on *Polygonatum sibiricum* Redoute. 성대논문집 31:185-198.
- Havel RJ, Hunninghake DB, Illingworth DR. 1987. *Ann. Internal Med.* 107:609-614.
- Illingworth DR, Bacon S. 1987. *American J. Cardiology* 60:33G-42G.
- Illingworth DR. 1988. *Drug* 36 (suppl.3):63-71.
- Kajinami K, Toshimura A, Watanabe A. 1986. Proc. IXth International Symposium on Drug Effecting Lipid Metabolism, Florence, Oct. 27.
- Johan F, Jan N, Anders H, Hans W, Hidlund M. 1990. Oxidized low-density lipoprotein induces differentiation and adhesion of human monocytes and the monocytes cell line U937. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87:904-908.

Goldstein JL, Brown MS. (1977) The low density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. Annual Review of Biochemistry 46:897-930.*

Kannel WB, Dawber TR, Kagan A, Revostski N, Strokes J. 1961. Factors of risk in the development of coronary heart disease-six year follow-up experience: the Framingham study. Ann. Intern. Med. 55:33-50.

김희선, 김숙희. 1987. 조선시대 기아 만성화와 구황식품 개발의 사회, 경제적 고찰. 한국 식문화학회지 2:82-91

이창복. 1995. 대한식물도감. 향문사

임숙자, 김수연, 이주원. 1995. 한국산 야생식용식물이 당뇨유발 흰쥐의 혈당 및 간과 근육 내 에너지원 조성에 미치는 효과. 한국영양학회지 28:585-594.

임숙자, 김계진. 1995. 등굴레 추출물의 당뇨유발 흰쥐에 대한 혈당강하효과. 한국영양학회지 28: 727-736.

최강원. 1988. 최근 우리나라에서의 질병변천, 한국영양학회지 21(3):139-145.

최영진. 1991. 산나물재배와 이용법. 오성출판사.

Kim, J.K. and Y.J. Lee. 1980 Pharmacognstical studies on the Rhizome of *Polygonatum Robustum* Nakai. Kor. J. Pharmacogn. 11(2):69-74.

Lee, Y.J. and D.H. Won. 1982. Pharmacognstical studies on *Polygonatum Sibiricum* Redoute. Bull SK Pharma Sci. 31:185-198.

Namba, T. 1980. Polygonati odorati Rhizoma. p. 64-66. The Encyclopedia of Wakan-Yaku (Traditional Sino-Japanese Medicines) with Color Pictures. V .I Hoiusha

Publishing Co. Ltd, Tsurumi, Tsurumi-ku, Osaka 538, Japan.

Tomada. and Satoh. 1973 Pharmacognstical studies on the rhizome of *Polygonatum Robustum* Nakai. Chem pharm bull 21:2511-2516. In J. K. Kim and Y.J. Lee (eds.). 1980. Kor. J. Phamacogn. 11(2):69-74.

이언숙. 1994. 등골래 (*Polygonatum odratum*) BuOH 추출물의 재분획물이 당뇨 유발 흰 쥐의 혈당수준에 미치는 영향. 덕성여자대학교대학원 석사 학위논문.