

제1차년도
연차보고서

고추냉이의 고품질생산 및 가공체계확립

High Quality Production and Establishment of
Processing System in *Wasabia japonica*

전북대학교 농과대학

농림수산부



제 출 문

농림수산부 장관 귀하

본 보고서를 “고추냉이의 고품질생산 및 가공체계확립” 과제의
연차보고서로 제출합니다.

1995. 12 . .

주관연구기관명 : 전 북 대 학 교
총괄연구책임자 : 은 종 선
연 구 원 : 김 형 무
“ : 신 동 화
“ : 고 정 애
“ : 김 영 선
“ : 김 환 조
“ : 진 성 용
“ : 박 희 용

요 약 문

I. 제 목

고추냉이의 고품질생산 및 가공체계확립

II. 연구개발의 목적 및 중요성

1. 고추냉이(*Wasabia japonica*, 日名; 와사비)는 日本이 원산지로서 생선회, 초밥, 국수 등에 곁들여 먹는 香辛料로서, 또는 葉肉과 葉柄 등을 식초절임하여 食用하는 고급채소로 각광을 받고 있으며 주로 일본에서 소비되고 있는데 우리나라에서도 생선에 관한 料理가 날로 증가됨에 따라 그 소비가 해마다 急增하고 있다.

2. 우리나라 울릉도에도 自生하고 있는 고추냉이의 1種이 알려졌으나 개발되지 못한 실정이다. 우리나라에서 경제적으로 재배되고 있는 고추냉이는 모두 일본에서 육성된 품종이고 도입된 種數도 “달마” 등 1 - 2종에 불과하며 國內에서 食用하고 있는 와사비粉末은 서양와사비(*Armoracia rusticana*)를 중국과 Canada에서 輸入, 加工한 것으로서 본 연구의 고추냉이와는 屬과 種이 전혀 다르며 주요 성분 및 효능에 큰 차이가 있고 가격도 현저하게 낮은 것이다.

3. 본 연구의 고추냉이는 옛부터 살충, 살균, 防腐效果가 있다고 알려져 왔으며 최근 일본대학 櫻井英敏 교수팀(1990)이 isothiocyanate성분을 검출하였는데

이것은 血液凝固를 방지하는 성분으로 抗血小板作用을 하여 성인병 예방에 특효가 있다고 보고한 바 있어 건강식품으로서 관심이 高潮되고 있다.

4. 전라북도는 일본의 鹿兒島縣과 자매결연을 맺고 수년전부터 경제, 문화, 사회 및 학술적 교류를 통하여 兩國의 友誼를 高揚시키고 있는데 금년 5월 11일의 交流協議會에서는 兩國의 地域生産品交流를 위한 합의로 전라북도는 백합과 장미 그리고 일본 南端인 鹿兒島縣에서는 생산되지 않는 사과, 배, 인삼 그리고 本 研究材料인 고추냉이와 기타 加工食品을 민간청과유통회를 통하여 交易하기로 합의한 바 있어서 유망 수출작목으로 개발할 가치가 크다.

5. 그러나 고추냉이는 여름이 시원하고 겨울이 온화한 기후에서 잘 生育되는 半陰地性 다년생식물로 栽培適地 선정과 관리에 어려움이 많아서 우리나라에서는 덕유산의 무주 구천동계곡 등 아직 한정된 지역에서 극소수의 독농가에 의하여만 시험재배되고 있을 뿐 이고 品質도 아주 열악한 실정이다.

6. 우리나라에서는 아직 신품종 육성은 물론 採種體系가 확립되어 있지 않아 현재는 소요되는 종자의 全量을 日本에서 수입, 재배하고 있는 실정이며 (種子 1kg당 100,000円) 금년에는 처음으로 무주군 농촌지도소에서 自殖種子를 농가에서 수집, 육묘하여 種苗를 보급하고자 하고 있으나 식물의 특성상 內婚弱勢가 심하기 때문에 形質分離가 예상되어 상품적 가치 등 경제성 여부는 아직 미지수이다.

7. 고추냉이는 다른 영양번식성 작물과 같이 바이러스병과 維管束系로 침입하여 상품가치를 크게 저하시키는 墨入病이 재배상 크게 문제시 되고 있는데 이것은 모두 分株繁殖에 의하여 전염되고 있다. 또한 연부병, 윤부병, 균핵병, 노균병, 흰가루병, 근류병 등 각종 병해가 심하여 상품성 및 식품적 가치를 크게 저하 시키고 있다.

8. 전라북도 무주군 덕유산계곡의 30餘 재배농가에서 상당량이 시험재배로 생산되고 있으며 전국 제일의 대규모 재배단지로서 금년에는 고추냉이 영농조

합으로 법인체를 설립, 등록하였으나 유통, 판매체계가 확립되지 않아 큰 타격을 받고 있으며 1년 2회 수확하고 있는 생산품의 적절한 저장 및 加工體系가 전혀 개발되어 있지 않아 前項의 病害문제와 더불어 농촌지도소의 기술지도 및 농가의 재배상 가장 큰 애로사항으로 지적되고 있다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

제 1 절 고추냉이의 급속 대량증식체계 확립

1. 幼胚培養 및 子葉과 下胚軸배양에 의한 캘러스 誘導 및 體細胞胚 발생과 幼植物體 분화에 적합한 배지 및 배양조건을 구명하여 급속대량 증식 및 순화체계를 확립한다.

2. 우량종묘의 성장점조직에서 多芽體를 유도하는 培地 및 培養條件을 구명하여 대량증식 및 순화체계를 확립한다.

제 2 절 고추냉이에 발생하는 주요 병해 연구

1. 국내에서 재배되고 있는 고추냉이에 발생되고 있는 病害의 종류와 병원성 등을 정확히 밝히고 곰팡이성, 박테리아성, 바이러스성 등의 문제성이 있는 병해를 구명코저 한다.

2. 계절적 병해의 발생소장을 조사하여 어느 시기, 어떤 환경에서 병해가 많이 발생하는가를 구명코저 한다.

3. 환경조사로 溫度, 濕度, 地溫, 光 등을 조사 하여 환경이 發病에 미치는 영

향을 조사코저 한다.

제 3 절 장기 저장방법 및 부산물 이용방법 개발

1. 저장기간 중 고추냉이 특유의 成分 保存을 위한 最適條件을 구명한다.
2. 현지 수확시기 및 저장조건에 따른 성분 및 품질특성을 확인하고자 한다
3. 적기에 수확한 다음 신선한 상태로 일정기간 저장을 위한 包裝 및 流通條件을 조사한다.
4. 등의품을 비롯한 부산물을 이용하여 기호성 있는 절임식품 및 香辛料를 제조하는 기술을 개발코자 하며 等外品の 특수성분 확인으로 이의 이용방법을 다각적으로 제시하고자 한다.

IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

제 1 절 고추냉이의 급속 대량증식체계 확립

고추냉이의 器內 급속 다량증식체계를 확립하기 위한 기초자료를 얻기 위하여 器內에서의 종자발아, 子葉, 下胚軸, 未熟胚 및 성장점조직을 배양하여 절편 부위별로 성장조절제의 종류와 농도에 따른 캘러스, 體細胞胚 발생, shoot분화 및 식물체재분화에 적합한 器內 배양조건을 구명하였다.

1. 종자의 器內 발아

종피를 제거하지 않은 미숙종자와 성숙종자 및 種皮를 제거한 미숙종자를

배양한 후 발아율을 조사한 결과, 종피를 제거하지 않은 경우 자엽기 상태의 미숙종자에서 46.9%의 발아율을 나타내 가장 양호하였다. 종피를 제거한 후 미숙배를 꺼내 배양한 경우 어뢰형 미숙배보다 자엽기 未熟胚의 발아율이 훨씬 양호하였다. 그러나 습윤저장된 상태의 성숙종자는 전혀 발아하지 않았다.

2. 자엽 및 하배축배양

종자를 파종하여 발아된 幼苗의 子葉과 下胚軸을 배양한 결과, 성장조절제의 종류에 따라 캘러스 및 뿌리만 발생되었으며 발생한 캘러스는 배양기일이 경과되면서 더 이상의 증식을 보이지 않았고 캘러스로부터 shoot분화는 전혀 없었던 점에서 배양조직으로는 부적합하였다.

3. 미숙배배양

가. 캘러스 및 체세포배발생은 未熟胚의 하배축이나 幼根에서는 전혀 관찰되지 않았으며 배양 15일 후에 자엽조직에서 직접 발생하거나 캘러스가 유도된 후 캘러스로부터 체세포배가 형성되었다.

나. 어뢰형 미숙배배양에서 자엽조직에서 직접 體細胞胚 발생은 0.2 mg/L IAA처리구의 경우 50%였으며 2.0 mg/L IAA와 1.0 mg/L BA 혼용처리구의 경우 캘러스로부터 胚發生이 91.7%로 가장 양호하였다.

다. 초기자엽기 미숙배의 경우 개화 후 36-45일 경과된 미숙배 배양에서 직접 배발생은 2.0 mg/L IAA에서 83.3%였으며 성장조절제 무처리구는 87.5%를 보였다.

라. Sucrose가 첨가되지 않은 경우 胚發生은 전혀 관찰되지 않았는데 2% 첨가된 대조구에서 배발생이 대단히 양호하였던 것과 비교하면 sucrose는 胚發生에 필수적인 것으로 나타났다.

마. 배양온도의 효과는 20℃의 배양조건에서 발생한 胚의 생육이 왕성하였

다.

바. 未熟胚의 자엽에 분화된 體細胞胚塊는 2.0 mg/L kinetin 처리구에서 체세포배가 자엽기 상태로 분화되어 정상적인 발아에 가장 효과적이었다.

사. 분리된 자엽기의 체세포배는 kinetin과 BA 처리구에서 shoot 분화가 비교적 양호하였고 배양 30일 후에는 1개의 체세포배로부터 1-3개의 多芽體로 성장되었으며 2.0 mg/L zeatin의 경우 분화된 shoot에서 幼根으로부터 뿌리가 가장 많이 발생되었다.

아. Shoot로부터 뿌리분화는 0.01 mg/L IAA 처리구에서 뿌리분화율 및 생장이 왕성하였으며 발생한 體細胞胚를 완전한 식물체로 생육시키기 위해서는 뿌리분화 배지에서 생육시켜 多芽體를 유도하는 것이 효과적이었다.

4. 성장점배양

가. 성장점조직을 배양한 결과 BA와 kinetin 단용처리구의 경우 캘러스는 전혀 발생되지 않았고 배양 5일 후부터 腋芽가 신장하기 시작하여 배양 90일 후에는 shoot가 증식되어 1개의 성장점으로부터 3-5개의 多芽體가 분화되었다.

나. BA 및 kinetin을 IAA와 혼용처리한 결과 모든 처리구에서 절단면으로부터 캘러스가 유도되면서 배양당시 부착된 엽원기도 신장되어 腋芽가 발생된 후 shoot 증식이 이루어졌으며 유도된 캘러스는 증식없이 녹색의 단단한 상태로 머물렀다.

다. 발생한 多芽體를 액아를 붙여 분할한 후 계대배양한 결과 배양 2주 후부터 뿌리가 형성되기 시작하였고 0.01 mg/L IBA의 처리구가 가장 효과적이었다.

라. 뿌리형성 후 shoot의 생육은 훨씬 왕성하여 배양 60일 후에는 다시 1개의 shoot로부터 2-3개의 多芽體를 분할할 수 있어 다량 급속증식에 효과가 뚜렷하였다.

제 2 절 고추냉이에 발생하는 주요 병해 연구

고추냉이 圃場에서 병해의 연구와 주요 병해발생 및 생장에 미치는 환경의 영향을 밝혔다. 수집된 고추냉이로부터 병원균을 분류 동정하였고, 환경조건에 대한 실험이 생장상과 포장에서 이루어졌다.

1. 고추냉이 根莖에서 박테리아 밀도는 *Erwinia* 54.1%, *Xanthomonas* 21.1%, *Pseudomonas* 17.2%, *Corynebacterium* 6.8%로 분리되었다.

2. 고추냉이 墨入病의 병원균은 *Phoma wasabiae*로 동정되었다. 이 균은 유관속부에 퍼져 유관속 조직을 괴사시키며 잎과 엽병에 흑색의 병징을 형성하였다. 포장에서 발병율은 30.2%였다. 온도가 상승하는 4월부터 발병하기 시작하여 5-6월에 증가하며 10월까지 지속되었다. 고추냉이의 연부병은 *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae*로 동정되었다. 이 병은 葉柄이 침윤 및 검은 색으로 되며 잎, 뿌리 및 근경이 황화 또는 죽었다. 연부병은 6월, 7월 및 8월에 최대로 발생하였다. 포장에서 발병률은 30.6%였다. 묘판에서 발병하는 모잘록병은 *Rhizoctonia solani*로 동정되었다. 묘판에서 종자의 발아율이 떨어지고 모잘록병징을 나타냈으며 이병률은 10%였다.

3. 17℃를 기준으로 이보다 온도가 높거나 낮을 때 고추냉이의 초장, 엽병 및 근경이 감소되었다. 75%의 遮光處理가 고추냉이의 무게, 근경의 길이에서 가장 좋았다.

제 3 절 장기 저장방법 및 부산물 이용방법 개발

고추냉이 재배 적지로 지목되고 있는 무주 지역에서 생산되는 고추냉이를 중심으로 근경의 이용 상황, 잎, 줄기, 뿌리등 부산물의 이용 방안 그리고 근경을

소비지까지 수송하기 위한 단기 저장 방법을 고안키 위하여 관련되는 실험을 실시하였다. 또한 실험방향을 설정키 위하여 현재 유통되는 고추냉이의 수요처 조사, 가공공장 그리고 일본에서 유통되는 부산물 이용 가공 제품을 수집 평가하였다.

1. 생산 농민의 애로는 고추냉이 수확후 변색으로 인한 상품적 가치 상실이었고 이를 방지키 위한 처리 방법 개발을 희망하였다. 특히 계절에 따라 품질의 차이는 심하며 특히 여름철 제품의 경우 고온에 의하여 변색의 속도가 빨랐다. 또한 부산물의 용도 개발이 크게 관심의 대상이었다.

2. 국내 고추냉이 수요처는 호텔 등이었고 관련 호텔을 방문 조사한 결과 국산 고추냉이의 경우 수율과 품질에서 일본제품에 비하여 열등하다는 판단이었고 가격의 경쟁력이 있다면 수요 확대는 가능한 것으로 사료되었고 일본에서 수입되는 고추냉이를 관찰한 결과 우리 제품도 저온 유통 방법으로 소비지까지 수송 한다면 판로를 확대 할 수 있는 가능성이 있었다.

3. 요식업체의 국내산 고추냉이 품질 판단 결과에 근거하면 충분한 경쟁력이 있는 것으로 보며 가격의 조정과 이를 요식업체에 고추냉이를 공급하기 위한 효과적 유통 체계의 확립이 필요하였다.

4. 현재 유통되고 있는 분말 혹은 튜브 포장 와사비 제품은 중국산 겨자무우를 바탕으로 겨자와 색소를 첨가 제조하는 것으로 고추냉이와는 다른 제품이나 가격면에서 상당한 경쟁력이 있고 소비자의 기호를 주도하고 있다고 여겨지고 있다.

5. 일본에서 생산되는 고추냉이 부산물 가공품들은 상당 부분이 청주 주박에 절인 장아찌류로서 우리의 구미에 적응시키기 위해서는 상당한 변형이 필요한 것으로 보았으며 꽃대를 이용한 초절임 제품은 우리의 식성에도 맞을 것으로 보았다.

6. 저온 단기간 유통을 위해서는 아이스박스에 드라이 아이스를 넣어 택배제

도를 도입할 수 있을 것이다. 드라이 아이스 15Kg을 사용하는 경우 35,400cm³의 용량의 용기에 수송하면 49시간까지 -62℃를 유지, 수요처까지 충분히 수송 가능하였다. 이때 동결된 제품을 일식 전문가에게 평가시킨 결과 품질상에 문제는 없었다.

7. 생체 동결 및 마쇄동결시 매운맛의 주요 성분인 allyl isochiocyanate의 함량은 25 μ g/10g 정도로 저장온도에 따라 달랐다. 이 결과를 근거로 동결 및 마쇄저장이 가능함을 알 수 있었다.

8. 고추냉이 부산물인 잎, 줄기, 잔뿌리의 이용 가능성을 실험한 결과, 잎은 깻잎과 동일한 처리로 각종 절임 제품을 만들 수 있고 그 품질은 깻잎 사용 제품에 비하여 차별성을 줄 수 있었다. 줄기는 샐러드용등 제한적으로 생체를 이용할 수 있을 뿐이었다. 잔뿌리는 상당한 매운맛과 풍미를 가지고 있으나 특이하게도 마쇄후 독특한 색소가 발견되지 않고 매운맛도 급속히 감소하여 마쇄품 보다는 잔뿌리 그 자체로 절임 하는 방법을 향후 실험해야 할 것으로 사료된다.

SUMMARY

Subtitle 1 : Establishment of rapid mass propagation system in Wasabi

These experiments were carried out to examine the effect of explant sources and plant growth regulators on callus induction, shoot formation, somatic embryogenesis and plant regeneration. Hypocotyl explant, cotyledon, immature zygotic embryo and shoot tip of *Wasabia japonica* were cultured on modified Murashige and Skoog's medium supplemented with different concentration of auxins and cytokinins.

1. Hypocotyl explant and cotyledon were formed callus and roots without shoot formation on medium with the combinations of NAA and BA or IAA and cytokinins. Cotyledon and hypocotyl cultured on medium containing 2,4-D and kinetin did not form callus or root at all.

2. In immature zygotic embryo cultures, the stages of zygotic embryos were classified into torpedo shape, early and mature cotyledonary stage. Most of somatic embryos produced directly from cotyledon tissue of immature embryos after 15 days of culture.

3. But hypocotyl and radicle of immature embryo did not form callus or somatic embryos at all. The media supplemented with IAA or without plant growth regulators were the most effective on direct somatic embryogenesis from cotyledon tissue of immature embryo.

4. Callus induction was the most effective on media with 2.0 mg/L IAA and 1.0 mg/L BA, especially, the callus gave rise to numerous somatic

embryos on medium with 2.0 mg/L 2,4-D at early cotyledon stage culture after 40 days of culture.

5. Multiple shoots were the best on medium with 2.0 mg/L kinetin and 0.1 mg/L IAA and plantlets regenerated from somatic embryos had phenotypically normal leaves and roots.

6. In shoot tip cultures, shoot multiplication was regenerated directly without an intervening callus phase from shoot tips on medium with cytokinins alone. BA and kinetin at 0.2-2.0 mg/L each induced shoot bud in 100% of the explant and most of shoots were proliferated multiple shoots which were able to obtain divided plantlets. The highest number of true leaves was produced with 2.0 mg/L kinetin.

7. The combinations of cytokinins (BA, kinetin) and IAA were effective in inducing callus at the base of the shoot tips but there weren't shoot formation from callus and callus proliferation.

8. The treatment of zeatin supplemented with 0.1 mg/L IAA was more effective for shoot multiplication without callus induction. The efficacy of BA or kinetin for shoot multiplication was not improved when it was supplemented with IAA. Regenerated shoots were rooted on MS medium with IAA or IBA, the best results for rooting were on medium with 0.01 mg/L IBA.

Subtitle 2 : Studies on the major diseases of Wasabi in Korea

In order to investigate the diseases in the fields and find out the

environmental factors on the growth and major diseases infection of wasabi. The pathogens were isolated and identified from collected wasabi from growing fields, and environmental condition were investigated at the growth chamber and fields.

1. The major bacterial populations of the wasabi rhizome were *Erwinia* spp. (54.1%), *Xanthomonas* spp. (21.1%), *Pseudomonas* spp. (17.2%) and *Corynebacterium* spp. (6.8%).

2. The causal pathogen of blackleg of wasabi was identified to *Phoma wasabiae*. The fungus spreaded into the vascular system causing necrosis of vascular tissue and made the symptom of black spots in leaves and petioles. The infection ratio was 30.2 percentage in the fields. The infection was occurred in April when temperature rise, increased in May and June, and persisted until October.

3. The causal pathogen of soft rot was identified to *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae*. The bacterium caused petioles to blacken and dark spots and leaves, roots and rhizomes were turned to yellow and finally die. The greatest damage by them was occurred in June, July and August. The infection ratio was 30.6 percentage in the fields. The causal pathogen of damping-off in nursery beds was *Rhizoctonia solani*. In nursery beds, seed germination was reduced and it caused damping-off of seedlings. The infection ratio was 10 percentage in the nursery beds.

4. The plant height and the growth of petiole and rhizome were obviously reduced with the increase of temperature, in which the optimum temperature for the plant growth was estimated to be 17°C. 75 percentage shading net in the treatment of light intensity was favorable to the growth

of main rhizome, rhizome weight and whole plant weight. Infection ratio of blackleg and soft rot were increased with the increase of temperature which was base at 17°C, however their infection ratios were decreased with the increase of shading conditions which were summit at 75 percentage.

Subtitle 3 : Longterm preservation of Wasabi and its by-product processing

This experiment was performed for setting-up the proper preservation conditions of Wasabi for short term and the acceptable utilization method of by-product of Wasabi product, like as, leaf, stem and root. The test Wasabi was harvested on March and on October 1995 at Mooju area where are fit for Wasabi cultivation. And consumer survey on domestic and imported Wasabi from Japan was conducted including manufacturer investigation. The final consumer product with Wasabi by-product was also reviewed.

1. Wasabi growers hoped to develop the proper preservation method for distribution to consumers and prevention of discolouration after harvest during summer season. The by-product from Wasabi should be utilized into value added product.

2. Korean Wasabi was inferior to Japanese Wasabi evaluated by the head cook of hotel restaurant but it seems that there is a possibility to competitive in price. The proper distribution system should be introduced for better quality.

3. Present Wasabi product, powdered or paste in tube, are not real

Wasabi but prepared by horse radish imported from China. The imitated product are commonly consumed at restaurants or by housewives.

4. Japanese by-product processing commodities are mainly pickled in rice wine cake. The product should be modified for fitting Korean diet.

5. For short term preservation of wasabi, ice box(styropol) with dry ice can successfully be used. One pack of dry ice (15 kg) kept -62°C for 49 hours in the container (35,400 cm^3). The frozen wasabi has no difference with fresh one following expert evaluation.

6. The main taste component of wasabi, ally isothiocyanate, kept constant level at frozen product at -60°C , and -20 for 20days. Chilled Wasabi had less stability. Mashed product was much unstable than fresh one.

7. By-product of Wasabi, leaf, stem and root, can be processed into pickled product combined with soybean sauce, fermented hot pepper paste, and other condiment. The processed product had unique flavor and taste. The pickled product processed into retort pouch food for long term and ambient distribution.

목 차

| | |
|-----------------------------|-----|
| 제 1 장 서 론 | |
| 제 1 절 연구개발의 목적과 범위 | 18 |
| 제 2 절 연구의 필요성 | 20 |
| 제 2 장 고추냉이의 급속 대량증식체계 확립 | |
| 제 1 절 서 론 | 23 |
| 제 2 절 재료 및 방법 | 24 |
| 제 3 절 결과 및 고찰 | 28 |
| 제 4 절 결 론 | 63 |
| 제 5 절 참고문헌 | 65 |
| 제 3 장 고추냉이에 발생하는 주요 병해 연구 | |
| 제 1 절 서 론 | 67 |
| 제 2 절 재료 및 방법 | 68 |
| 제 3 절 결과 및 고찰 | 71 |
| 제 4 절 결 론 | 93 |
| 제 5 절 참고문헌 | 94 |
| 제 4 장 장기 저장방법 및 부산물 이용방법 개발 | |
| 제 1 절 서 론 | 98 |
| 제 2 절 재료 및 방법 | 100 |
| 제 3 절 결과 및 고찰 | 104 |
| 제 4 절 결 론 | 119 |
| 제 5 절 참고문헌 | 121 |

CONTENTS

| | |
|---|-----|
| Chapter 1. Introduction | |
| Section 1. Purpose and category of study | 18 |
| Section 2. Necessity of study | 20 |
| Chapter 2. Establishment of rapid mass propagation system in Wasabi | |
| Section 1. Introduction | 23 |
| Section 2. Materials and Methods | 24 |
| Section 3. Results and Discussion | 28 |
| Section 4. Summary | 63 |
| Section 5. References | 65 |
| Chapter 3. Studies on the major diseases of Wasabi in Korea | |
| Section 1. Introduction | 67 |
| Section 2. Materials and Methods | 68 |
| Section 3. Results and Discussion | 71 |
| Section 4. Summary | 93 |
| Section 5. References | 94 |
| Chapter 4. Longterm preservation of Wasabi and its by-product processing | |
| Section 1. Introduction | 98 |
| Section 2. Materials and Methods | 100 |
| Section 3. Results and Discussion | 104 |
| Section 4. Summary | 119 |
| Section 5. References | 121 |

제 1 장 서 론

제 1 절 연구개발의 목적과 범위

1. 고추냉이(*Wasabia japonica*, 日名; 와사비)는 日本이 원산지로서 생선회, 초밥, 국수 등에 곁들여 먹는 香辛料로서, 또는 葉肉과 葉柄 등을 식초절임하여 食用하는 고급채소로 각광을 받고 있으며 주로 일본에서 소비되고 있는데 우리나라에서도 생선에 관한 料理가 날로 증가됨에 따라 그 소비가 해마다 急增하고 있다.

2. 우리나라 울릉도에도 自生하고 있는 고추냉이의 1種이 알려졌으나 개발되지 못한 실정이다. 우리나라에서 경제적으로 재배되고 있는 고추냉이는 모두 일본에서 육성된 품종이고 도입된 種數도 “달마” 등 1 - 2종에 불과하며 國內에서 食用하고 있는 와사비粉末은 서양와사비(*Armoracia rusticana*)를 중국과 Canada에서 輸入, 加工한 것으로서 본 연구의 고추냉이와는 屬과 種이 전혀 다르며 주요 성분 및 효능에 큰 차이가 있고 가격도 현저하게 낮은 것이다.

3. 본 연구의 고추냉이는 옛부터 살충, 살균, 防腐效果가 있다고 알려져 왔으며 최근 일본대학 櫻井英敏 교수팀(1990)이 isothiocyanate성분을 검출하였는데 이것은 血液凝固를 방지하는 성분으로 抗血小板作用을 하여 성인병 예방에 특효가 있다고 보고한 바 있어 건강식품으로서 관심이 高潮되고 있다.

4. 전라북도는 일본의 鹿兒島縣과 자매결연을 맺고 수년전부터 경제, 문화, 사회 및 학술적 교류를 통하여 兩國의 友誼를 高揚시키고 있는데 금년 5월 11일의 交流協議會에서는 兩國의 地域生産品交流를 위한 합의로 전라북도는 백합과 장미 그리고 일본 南端인 鹿兒島縣에서는 생산되지 않는 사과, 배, 인삼 그리고 本 研究材料인 고추냉이와 기타 加工食品을 민간청과유통회를 통하여 交

易하기로 합의한 바 있어서 유망 수출작목으로 개발할 가치가 크다.

5. 그러나 고추냉이는 여름이 시원하고 겨울이 온화한 기후에서 잘 生育되는 半陰地性 다년생식물로 栽培適地 선정과 관리에 어려움이 많아서 우리나라에서는 덕유산의 무주 구천동계곡 등 아직 한정된 지역에서 극소수의 독농가에 의하여만 시험재배되고 있을 뿐이다.

6. 우리나라에서는 아직 신품종 육성은 물론 採種體系가 확립되어 있지 않아 현재는 소요되는 종자의 全量을 日本에서 수입, 재배하고 있는 실정이며 (種子 1kg당 100,000円) 금년에는 처음으로 무주군 농촌지도소에서 自殖種子를 농가에서 수집, 육묘하여 種苗를 보급하고자 하고 있으나 식물의 특성상 內婚弱勢가 심하기 때문에 形質分離가 예상되어 상품적 가치 등 경제성 여부는 아직 미지수이다.

7. 고추냉이는 다른 영양번식성 작물과 같이 바이러스병과 維管束系로 침입하여 상품가치를 크게 저하시키는 墨入病이 재배상 크게 문제시 되고 있는데 이것은 모두 分株繁殖에 의하여 전염되고 있다. 또한 연부병, 윤부병, 균핵병, 노균병, 흰가루병, 근류병 등 각종 병해가 심하여 상품성 및 식품적 가치를 크게 저하 시키고 있다.

8. 전라북도 무주군 덕유산계곡의 30餘 재배농가에서 상당량이 시험재배로 생산되고 있으며 전국 제일의 대규모 재배단지로서 금년에는 고추냉이 영농조합으로 법인체를 설립, 등록하였으나 유통, 판매체계가 확립되지 않아 큰 타격을 받고 있으며 1년 2회 수확하고 있는 생산품의 적절한 저장 및 加工體系가 전혀 개발되어 있지 않아 前項의 病害문제와 더불어 농촌지도소의 기술지도 및 농가의 재배상 가장 큰 애로사항으로 지적되고 있다.

제 2 절 연구의 필요성

1. 기술적 측면

가. 최근 우리나라에서도 고추냉이의 연구개발 및 栽培法 확립에 대한 요구가 높아지고 있는 바 시급히 우량종자의 채종체계의 확립과 더불어 조직배양에 의한 急速, 大量増殖體系 및 培養器內의 환경개선으로 器內에서 馴化하는 체계를 확립하고 種苗 1株의 생산 단가를 저하하여 조직배양묘의 실용적 재배 등 深度있는 연구가 이루어져야 한다.

나. 고추냉이 우량품종은 대부분 일대교잡종이므로 관행의 종자번식으로는 교잡종의 우량한 특성을 유지할 수 없고 우량한 영양번식용 품종을 母株로 하여 번식하였을 때 高品質을 생산할 수 있는 일본의 主產地에서는 거의 종자번식용 품종을 사용하고 있지 않고 있으므로 조직배양에 의한 무병주육성 및 優良營養系의 재배로 高品質, 多收性 목표에 부응한 체계확립이 요구된다.

다. 屬과 種이 다른 서양와사비는 不定芽의 발생이 용이하므로 조직배양에 의한 영리적 생산이 시도되고 있으나 일본와사비는 不定芽의 발생이 곤란하기 때문에 分枝促進에 의한 증식방법의 개발이 요구되고 있다.

라. 優良系統이 선발되더라도 그 이후 營養繁殖에 의한 증식속도가 느려서 연간 1株에서 10數本の 分枝株를 얻을 수 있을 뿐이다. 따라서 此後 고추냉이의 재배가 일반화되면 종자수급체계는 물론이고 영양번식에 의한 良質多收穫體系를 확립하여야만 하는 필요성은 절대적인 과제이다.

마. 病害問題는 현재 일본의 병해연구를 참고하여 대처하고 있으나 우리나라의 재배환경 및 방법에 차이가 커서 방제체계에 문제가 야기되고 있으므로 우리나라에서 發病되고 있는 병해의 분류, 동정과 우리나라에 알맞는 病害防除體系 및 耐病性 品種의 선발기술이 확립되어야 한다.

바. 일시에 다량의 고추냉이가 수확되어 판매되지 못하고 있는 현 실정에서 고추냉이의 독특한 香辛成分이 저하되지 않는 적절한 저장방법의 기술개발이 시급하다. 고추냉이에 함유된 성분중 glucothiosinolate가 自酵素인 myrosinase에 의하여 isothiocyanate가 되어 이 성분이 독특한 향신물질로 작용되므로 最適期에 수확하여 함유성분이 最高値에 달하였을 때 적절한 방법으로 마쇄하여 유효성분의 함량을 최고화하여야 하는 기술적 문제가 중요하므로 상품성이 없는 等外品(30 - 40%)에 대하여 적절한 가공방법과 포장방법이 개발되어야 한다. 한편 부산물인 잎은 우리나라 고유의 절임식품으로 가공체계를 확립하여야 한다.

2.. 경제적 측면

가. 매년 재배되는 종자의 全量을 일본에서 수입하여 재배하지 않으면 안되는 생산체계에서 優良種子 및 種苗의 자체생산체계를 확립함으로써 막대한 外貨의 손실을 막을 수 있다 (종자 1kg에 日貨 10만円이며 '93년 무주군 농촌지도소 및 栽培農家에서 10kg이상 輸入하였음).

나. 국내 재배에서 가장 문제가 되는 墨入病, 연부병, 바이러스병 등으로 수량 및 상품가치를 크게 저하하여 수출제한요인이 되며 제값을 받지 못하는 문제를 해결한다.

다. 저장방법의 개발로 신선한 고추냉이를 周年供給하는 체계를 확립하고 副産物 및 等外品을 폐기처분하고 있는데 가공기술의 개발로 생산농가의 소득향상에 기여한다.

라. 對日 輸出作物로서 그리고 일부 소량은 서울의 일류 고급호텔에 공급하고 있는데 물량이 절대부족한 현실에서 고추냉이의 재배면적을 확대하고자 하는 茂朱郡 農村指導所의 중점지도사업에 반영하도록 하고, 농가에서는 高品質

의 優秀農産物을 低廉하게 다수확할 수 있는 기반을 조성함으로써 농산물 수입 개방에 대응한 附加價値 높은 대체작물로 개발하여 山村農家의 소득을 증대할 수 있다 ('94년 5월 하순경 수확되는 고추냉이는 kg당 根莖 1개의 무게가 30-40g인 것은 1,000円, 40-60g은 2,000円, 60g이상인 것은 3,000円에 契約되었으나 통관상 제한요인 및 수량부족으로 이루어지고 있지 않으며 금년 11 - 12월에 수확되는 것은 (주)대봉에서 일본으로 수출할 계획임).

3. 사회적 측면

가. 국내 생산품의 품질을 향상하여 일본에서의 수입을 막고, 가격의 優位와 포장개선 등으로 高品質의 진짜 고추냉이를 생산, 국민 식생활에 제공함으로써 食文化 향상에 기여한다.

나. 일본이 原産地이고 일본인의 食性에 맞아 품질 좋은 생산품을 일본에서만 獨占 생산한다는 개념에서 탈피하여 品種改良, 병해방제 등 재배법 개선과 저장, 가공기술을 확립하여 전북지방의 特産品으로 개발함으로써 오히려 한국에서 高品質의 고추냉이를 일본 鹿兒島縣 등에 低廉하게 수출하는 것은 고추냉이 생산의 宗主國인 일본의 사회적 위상에 미치는 바 크다고 본다.

다. 전라북도 山間奧地의 한정된 지역에서만 생산된 良質의 고추냉이가 先進 日本에 수출되고 있음은 農産物輸入開放에 따라 위축된 농민의를 高揚할 수 있으며 재배면적이 확대되어 유망한 대체작물의 개발성과에도 기여하는 바 크다고 생각된다.

제 2 장 고추냉이의 급속 대량증식체계 확립

제 1 절 서 론

고추냉이의 주요 품종은 유전적으로 잡종상태이어서 종자번식의 경우 균일한 형질을 가진 種苗를 육성하기가 어렵기 때문에 증식방법은 주로 分株에 의한 영양번식이 이용되고 있는데 그 증식율이 극히 저조하고 육성된 신품종을 보급하는 데는 장기간이 소요되는 문제점을 안고 있다. 영양번식성 식물의 증식법인 조직배양기술에 의한 대량증식법이 고추냉이에서도 莖頂이나 花莖의 액아를 배양하여 발생된 shoot를 시험관내에서 분할, 증식하므로써 개발되었는데 (細木 等, 1986; 松本와 山本, 1987) 이 방법은 계속적으로 분할, 증식시키는 과정에서 많은 노력이 소요되고 種苗의 생산비용이 高價라는 문제점을 안고 있다.

최근 식물체 재분화를 위한 좀더 효율적인 器內 다량증식방법으로 식물체의 조직절편에서 體細胞胚를 유도하고 식물체를 재분화시킴으로서 많은 노력과 費用을 절감하고 있는데 고추냉이의 경우 성숙종자의 子葉이나 미숙종자의 子葉 및 胚軸, 未熟胚, 藥 등을 배양하여 캘러스 및 체세포배가 발생되었다는 실험결과가 보고되었다 (細木와 山田, 1993; 松本와 山本, 1987). 본 실험에서는 고추냉이의 조직배양을 이용한 다량 급속증식체계를 확립하기 위하여 기내 종자발아 조건에 관한 실험을 수행하였으며 자엽과 하배축을 배양하여 다량증식의 배양재료로서 적합여부를 관찰하였다. 또한 未熟胚를 성숙시기별로 배양하여 캘러스, 체세포배발생 및 식물체재분화에 효과적인 성장조절제의 종류 및 농도와 배양적기를 조사하였고 생장점을 배양하여 다아체(多芽體, multiple shoot)의 증식 및 식물체재분화에 미치는 성장조절제의 효과를 조사하였다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 종자의 器內 발아

가. 미숙종자 및 성숙종자의 발아율

고추냉이의 개화 후 25-55일 사이의 미숙종자를 성숙시기별로 구분하여 채취한 후 사용하였으며, 성숙종자는 10℃에서 60일이상 저온습윤저장중 이미 종피가 해리상태에 있는 종자를 사용하여 器內에서의 발아율을 조사하였다. 배지는 MS (Murashige and Skoog, 1962)기본배지에 0.2 mg/L씩 IAA와 BA를 혼용처리한 후 20 g/L sucrose를 첨가하고 pH 5.8이 되도록 조정하였으며 agar 0.8%를 첨가한 후 121℃의 고압멸균기에서 15분간 멸균하여 사용하였다. 치상재료의 살균은 미숙종자의 경우 꼬투리 상태로 70% 에탄올에 4-5초간 침지한 후 7% calcium hypochlorite 수용액에 10분간 소독하고 멸균수로 4-5회 수세한 다음 꼬투리를 제거한 후 미숙종자를 치상하였으며, 모래와 습윤저장된 성숙종자는 증류수로 수회 씻은 후 미숙종자와 같은 방법으로 소독하여 치상하였고 20±1℃에서 암배양한 50일후 器內에서의 발아율을 조사하였다.

나. 미숙종자의 발육단계별 발아율

<실험 1-가>의 방법으로 미숙종자를 채취 및 소독하였으며 종피를 제거한 후 0.2-2.0 mg/L IAA를 단용 및 BA를 혼용처리한 배지에 치상 후 미숙배의 발육단계별로 기내에서의 발아율을 조사하였다.

2. 자엽과 하배축배양에서 성장조절제의 효과

가. 자엽배양에서 성장조절제의 효과

고추냉이의 종자를 포트에 파종한 후 자엽이 약 0.5cm^2 이하의 것을 선별하여 사용하였고, 배지는 MS기본배지에서 NH_4NO_3 와 KNO_3 의 농도를 1/2로 감량한 배지에 성장조절제는 auxin류와 cytokinin류를 혼용첨가하였으며 20g/L sucrose를 첨가하고 pH 5.8이 되도록 조정한 후 gelrite 0.2%를 첨가하여 사용하였다. 치상재료의 소독방법은 <실험 1-가>와 동일하며, $20\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 암배양한 후 캘러스발생과 뿌리분화율을 조사하였다.

나. 하배측배양에서 성장조절제의 효과

사용된 배지는 <실험 2-가>와 동일하며 幼苗의 하배측을 0.5cm 크기로 절취하여 사용하였고 배양 후 캘러스 및 뿌리분화율을 조사하였다.

3. 미숙배배양에 의한 체세포배 발생 및 식물체 재분화

가. 미숙배의 배양적기와 auxin류의 효과

재료는 전북 무주군 설천면 해발 약 450m 내외의 개인농장에서 분양받은 고추냉이 품종 “달마”의 묘를 전북대학교 온실에 재배하여 개화 후 25-55일이 경과된 상태의 미숙한 꼬투리를 채취하여 <실험 1-가>와 같은 방법으로 소독한 후 미숙종자로부터 미숙배를 꺼내 발육단계별로 구분하여 치상하였다 (표 2-1). 배지는 <실험 2-가>와 같은 개량 MS배지에 0.2-2.0 mg/L씩 IAA, 2,4-D, NAA를 단용처리하였으며 배양조건은 $20\pm 1^\circ\text{C}$ 에서 암배양하였고 배양 50일후 캘러스 및 胚發生에 미치는 미숙배의 배양적기와 auxin류의 효과를 조사하였다.

표 2-1. 발육단계별 미숙배의 구분

| 발육단계 | 미숙배의 길이 | 개화 후 일수 | 미숙배의 상태 |
|------|---------------|---------|---------|
| I | 3.0 - 4.0(mm) | 25 - 35 | 어뢰형 |
| II | 4.0 - 5.0 | 36 - 45 | 초기 자엽기 |
| III | 5.0 - 7.0 | 46 - 55 | 성숙 자엽기 |

나. Auxin류와 BA 혼용처리 및 sucrose 효과

개화 후 36-55일이 경과된 상태의 미숙한 꼬투리를 채취하여 재료의 살균, 배지 및 배양조건은 <실험 3-가>와 동일한 방법으로 미숙종자로부터 자엽기 상태의 미숙배를 꺼내어 치상한 후 캘러스 및 배발생에 미치는 auxin류와 BA의 혼용처리 효과를 조사하였고, 0-8% sucrose를 단용처리하거나 1.0 mg/L IAA와 혼용처리한 후 sucrose의 효과를 배양 50일 후에 조사하였다.

다. 배양온도 차이에 따른 배발생 효과

배양에 이용한 치상재료 및 배지는 <실험 3-가>와 동일한 방법으로 하였고 성장조절제는 IAA와 BA를 혼용조합하여 치상한 후 배의 발생 및 생육상태에 미치는 배양온도(20℃, 25℃)의 효과를 배양 50일 후에 조사하였다.

라. 體細胞胚로부터 식물체 재분화에 미치는 cytokinin류의 효과

발생된 체세포배를 MS배지에 kinetin, BA, zeatin, GA₃를 0.2-2.0 mg/L씩 단용처리한 배지에 계대배양하여 20±1℃로 조정된 성장상에서 2,000 lux 형광등 조명하에서 명배양한 후 최초 배양조직에서 발생된 체세포배 덩어리 상태에서의 정상적인 체세포배 발육을 위한 체세포배의 분리시기, 체세포배의 발아와 식물체재분화에 적합한 cytokinin류의 효과를 배양 30일 후에 조사하였다.

마. 뿌리형성 및 多芽體 분화에 미치는 IAA와 IBA의 효과

Cytokinin류가 첨가된 배지에 계대배양하여 발아, 성숙된 체세포배는 shoot 생장은 왕성하였으나 뿌리는 대개 배발생 당시의 幼根狀態로 머문채 더 이상의 발육을 보이지 않았는데 본 실험에서는 뿌리형성을 목적으로 shoot가 분화된 식물체를 선별하여 MS배지에 0.01-2.0 mg/L씩 IAA와 IBA를 단용처리한 후 계대배양하여 20±1℃로 조정된 성장상의 2,000 lux 형광등 조명하에서 명배양한 후 뿌리 및 多芽體 분화율을 조사하였다.

4. 성장점배양에 의한 캘러스 유도 및 다아체 분화

가. Cytokinin류 단용처리 효과

재료는 전라북도 무주군 농촌지도소 고추냉이 채종포에서 1994년 6월에 채종한 종자를 분양받아 10℃ 저온저장고에서 습윤저장중 유근발달이 양호한 발아묘를 포트에 이식한 후 18±2℃, 4000 lux 저온배양기내에서 본엽이 4-5매 생육한 실생묘의 엽원기 1매를 부착한 성장점을 0.3 mm 크기로 절취하여 사용하였다. 재료의 조제는 本葉과 뿌리를 제거한 후 70% 에탄올에 10여초간 표면 살균하고 7% calcium hypochlorite 수용액에 10분간 침지한 후 멸균수로 3~4회 수세하였다. 배지는 MS(Murashige and Skoog, 1962)기본배지에 cytokinin류 (BA, kinetin)를 단용처리한 후 3% sucrose를 첨가하고 pH 5.8이 되도록 조정한 후 0.2% gelrite를 첨가한 배지에 성장점을 치상하여 20±1℃ 항온기에서 암배양한 후 shoot 및 뿌리형성률을 배양 90일 후에 조사하였고 shoot가 분화된 후에는 명배양하였다.

나. Cytokinin류와 0.1 mg/L IAA 혼용처리 효과

치상재료 및 배지의 조제방법은 <실험 4-가>와 동일하며 cytokinin류 (BA,

kinetin)와 0.2-2.0 mg/L IAA를 혼용처리한 후 캘러스 유도율, 뿌리형성률 및 다아체 분화율을 배양 90일 후에 조사하였다.

다. Shoot로부터 뿌리 및 다아체분화

분화된 다아체 식물에 액아를 붙여 분할한 후 MS배지에 0.01-2.0 mg/L IAA와 IBA를 단용첨가한 후 다아체로부터 분리한 분할묘를 계대배양하여 배양 60일 후에 뿌리분화 및 액아증식을 조사하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 종자의 器內 발아

가. 미숙종자 및 성숙종자의 발아율

미숙종자는 개화 후 25-35일이 경과된 어뢰형 상태와 개화 36-55일 사이의 자엽기 상태의 것을, 성숙종자는 채종 후 60일간 저온습윤저장된 것을 배양하였다 (표 2-2). 이때 미숙종자는 종피를 제거하지 않은 상태였으며 성숙종자는 습윤저장중 종피가 어느정도 부풀 상태였는데 미숙배중 어뢰형상태의 것은 발아율이 4.7%였으며 자엽기 미숙배는 46.9%로 자엽기 미숙종자가 훨씬 양호하였다. 그러나 성숙종자는 배양 50일까지 발아상태를 전혀 관찰하지 못했다.

나. 미숙종자의 발육단계별 발아율

개화 후 25-55일이 경과된 미숙종자를 채취하여 어뢰형상태와 자엽기의 미숙배를 꺼내 배양한 결과 (표 2-3) 배양 30일이 경과된 후부터 발아하기 시작

표 2-2. 성숙시기별 미숙종자의 기내 발아율

(배양 50일 후)

| 생장조절제(mg/L) | | 치상 개체수 | 발아율 | 미숙종자내의 미숙배 상태 |
|-------------|-----|-----------|----------|------------------|
| IAA | BA | | | |
| 0.2 | 0.2 | 106 | 5(4.7) | 어뢰형 미숙배 |
| 0.2 | 0.2 | 160 | 75(46.9) | 자엽기 미숙배 |
| 0.2 | 0.2 | 200 | 0 | 성숙종자 |

() : %

하였는데 IAA와 BA가 0.2 mg/L씩 혼용처리된 배지에서 50%로 가장 양호하였다. Auxin 단용처리에서도 발아는 관찰되었으나 주로 0.2 mg/L IAA와 BA 혼용처리에서 발아율이 양호하였다. 그러나 어뢰형상태의 미숙배는 발아 후 배양기간이 경과되어도 정상적인 식물체가 생육되는 것은 관찰하기 어려웠다.

개화 36-55일 후의 미숙종자에서 꺼낸 미숙배는 자엽단계의 상태였는데 쏠 처리구에서 배양 7일 후부터 자엽 및 배축이 길게 신장하여 배양 50일 후에는 2-3개의 본엽 분화도 관찰되었으며 0.2 mg/L IAA와 1.0 mg/L BA 혼용처리구에서 86%를 보여 가장 양호하였다. IAA 단용처리나 IAA와 BA 혼용처리가 발아율에는 큰 차이를 보이지 않았는데 발아에 있어 BA의 영향은 적은 것으로 나타났다.

표 2-3. 종피를 제거한 미숙종자의 발아율

(배양 50일 후)

| 생장조절제(mg/L) | | 어뢰형 미숙종자 | | 자엽기 미숙종자 | |
|-------------|-----|----------|----------|----------|----------|
| IAA | BA | 치상수 | 발아율 | 치상수 | 발아율 |
| 0 | 0 | 48 | 8(16.7) | 65 | 32(49.2) |
| 0.2 | 0 | 36 | 15(41.7) | 48 | 31(64.6) |
| 0.2 | 0.2 | 36 | 18(50.0) | 44 | 32(72.7) |
| 0.2 | 1.0 | 36 | 12(33.3) | 50 | 43(86.0) |
| 0.2 | 2.0 | 36 | 15(41.7) | 57 | 33(57.9) |
| 1.0 | 0 | 48 | 8(16.7) | 53 | 33(62.3) |
| 1.0 | 0.2 | 36 | 8(22.2) | 50 | 37(74.0) |
| 1.0 | 1.0 | 48 | 0 | 44 | 18(40.9) |
| 1.0 | 2.0 | 40 | 0 | 36 | 20(55.6) |
| 2.0 | 0 | 39 | 6(15.4) | 36 | 15(41.7) |
| 2.0 | 0.2 | 32 | 0 | 48 | 28(58.3) |
| 2.0 | 1.0 | 42 | 0 | 50 | 28(56.0) |
| 2.0 | 2.0 | 42 | 0 | 52 | 29(55.8) |

() : %

2. 자엽과 하배축배양에서 생장조절제의 효과

가. 자엽배양에서 생장조절제의 효과

(1) Auxin류와 cytokinin류의 혼용처리

Auxin류와 cytokinin류를 혼용처리한 후 배양한 결과 (표 2-4), 2,4-D와

kinetin 혼용처리의 경우 배양 초기인 20일 후에 미숙자엽의 葉緣部에서 전체적으로 캘러스가 발생하기 시작하였으나 배양 60일 후에는 발생된 캘러스가 더 이상의 증식을 보이지 않았고 절편은 점점 까맣게 되어 처음 증식 가능성이 있었던 캘러스의 양상은 시일이 경과할수록 불량한 상태로 변하였는데 배양 120일 후에 모든 처리구에서 처음에 시작되던 캘러스는 모두 까맣게 되어버렸다.

표 2-4. 자엽배양에서 auxin류와 cytokinin류의 혼용처리 효과

| 생장조절제(mg/L) | | | | 치상수 | 20일 후 | 60일 후 | 120일 후 | |
|-------------|---------|-----|-----|-----|----------|----------|---------|---------|
| 2,4-D | Kinetin | NAA | BA | | 캘러스 | 캘러스 | 캘러스 | 뿌리형성률 |
| 0 | 0 | | | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0.2 | 0.5 | | | 64 | 64(100) | 51(79.7) | 0 | 0 |
| 0.5 | 0.5 | | | 20 | 15(75.0) | 10(50.0) | 0 | 0 |
| 0.5 | 1.0 | | | 18 | 17(94.4) | 13(72.2) | 0 | 0 |
| 0.5 | 2.0 | | | 39 | 35(89.7) | 20(51.3) | 0 | 0 |
| 1.0 | 0.5 | | | 54 | 53(98.1) | 40(74.1) | 0 | 0 |
| 1.0 | 1.0 | | | 39 | 28(71.8) | 28(71.8) | 0 | 0 |
| 1.0 | 2.0 | | | 36 | 18(50.0) | 11(28.9) | 0 | 0 |
| | | 0.2 | 0.5 | 21 | 1(4.8) | 0 | 0 | 0 |
| | | 0.5 | 0.5 | 28 | 10(35.7) | 4(14.3) | 8(28.6) | 4(14.3) |
| | | 0.5 | 1.0 | 20 | 5(25.0) | 0 | 0 | 0 |
| | | 0.5 | 2.0 | 16 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 1.0 | 0.5 | 28 | 16(57.1) | 3(10.7) | 5(17.9) | 2(7.1) |
| | | 1.0 | 1.0 | 31 | 12(38.7) | 4(12.9) | 0 | 0 |
| | | 1.0 | 2.0 | 36 | 29(80.6) | 25(69.4) | 0 | 0 |

() : %

NAA와 BA 혼용처리의 경우 농도가 높아질수록 자엽이 신장되면서 캘러스 발생이 시작되었으나 시일이 경과되면서 역시 증식은 되지 않았지만 2,4-D와 kinetin의 혼용처리에 비해 절편은 녹색을 유지하면서 양호한 상태를 보였고 배양 120일 후에는 뿌리가 형성되었다.

(2) IAA와 cytokinin류의 혼용처리

IAA와 cytokinin류를 혼용처리하여 배양한 결과 (표 2-5), IAA와 kinetin 혼용처리의 경우 대부분의 절편이 치상 당시의 모습을 보였는데 캘러스발생은 초기 배양상태에서도 상당히 불량한 편이었으며 0.5 mg/L IAA와 2.0 mg/L kinetin 혼용처리구에서 배양 20일 후에 뿌리분화가 관찰되었으나 배양 120일 후에 캘러스의 증식은 관찰되지 않았다.

IAA와 BA 혼용처리구는 子葉이 비교적 길게 신장된 경우가 많았고 절단면에서 캘러스가 발생되기 시작하였으나 왕성한 증식을 보이지 않는 것은 다른 처리구와 마찬가지로 뿌리분화는 다른 처리구에 비해 약간 늦은 배양 60일 후에 발생되었다.

IAA와 zeatin 혼용처리구의 경우 葉柄을 절단한 부위가 길게 신장되었고 초기에 절단면에서 캘러스가 발생하기 시작하였을 뿐 시일이 경과하면서 멈추었으며 배양 120일 후에는 전처리구에서 뿌리분화가 관찰되었다.

나. 하배축배양에서 성장조절제의 효과

(1) Auxin류와 cytokinin류의 혼용처리

Auxin류와 cytokinin류를 혼용처리한 결과 (표 2-6), 2,4-D와 kinetin 혼용처리구의 경우 배양 30일 후부터 캘러스가 절단면에서 약간 유도되기 시작하였으나 배양 100일 후 조사 결과 더 이상의 증식을 보이지 않았다. 몇개의 절편에서 발생된 캘러스 역시 까맣게 변한 후 그 위에 황색의 캘러스가 다시 발생

표 2-5. 자엽배양에서 IAA와 cytokinin류의 혼용처리효과

| 생장조절제(mg/L) | | | | 20일 후 | | 60일 후 | | 120일 후 | |
|-------------|---------|-----|--------|-------|----------|--------|----------|--------|--------|
| IAA | Kinetin | BA | Zeatin | 치상수 | | 캘러스 | 뿌리 | 캘러스 | 뿌리 |
| | | | | 캘러스 | 뿌리 | | | | |
| 0.2 | 0.5 | | | 35 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0.5 | 0.5 | | | 39 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0.5 | 1.0 | | | 40 | 5(12.5) | 0 | 4(10.0) | 1(2.5) | 0 |
| 0.5 | 2.0 | | | 39 | 12(30.8) | 3(7.7) | 0 | 3(7.7) | 0 |
| 1.0 | 0.5 | | | 19 | 4(21.1) | 0 | 2(10.5) | 0 | 0 |
| 1.0 | 1.0 | | | 20 | 2(10.0) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1.0 | 2.0 | | | 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0.2 | | 0.5 | | 20 | 0 | 0 | 1(5.0) | 0 | 1(5.0) |
| 0.5 | | 0.5 | | 15 | 3(20.0) | 0 | 5(33.3) | 0 | 0 |
| 0.5 | | 1.0 | | 19 | 10(52.6) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0.5 | | 2.0 | | 31 | 11(35.5) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1.0 | | 0.5 | | 63 | 16(25.4) | 0 | 0 | 1(1.6) | 0 |
| 1.0 | | 1.0 | | 47 | 33(70.2) | 0 | 13(27.7) | 2(4.3) | 0 |
| 1.0 | | 2.0 | | 44 | 8(18.2) | 0 | 1(2.3) | 0 | 1(2.3) |
| 0.2 | | | 0.2 | 24 | 0 | 1(4.2) | 0 | 1(4.2) | 0 |
| 0.5 | | | 0.2 | 26 | 6(23.1) | 2(7.7) | 0 | 2(7.7) | 0 |
| 0.5 | | | 0.5 | 38 | 1(2.6) | 0 | 0 | 0 | 1(2.6) |
| 0.5 | | | 1.0 | 70 | 29(41.4) | 0 | 0 | 0 | 1(1.4) |
| 0.5 | | | 2.0 | 56 | 7(12.5) | 0 | 0 | 0 | 1(1.8) |
| 1.0 | | | 0.2 | 32 | 10(31.3) | 2(6.3) | 0 | 3(9.4) | 0 |
| 1.0 | | | 0.5 | 30 | 5(16.7) | 2(6.7) | 1 | 2(6.7) | 1(3.3) |
| 1.0 | | | 1.0 | 20 | 5(25.0) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1.0 | | | 2.0 | 28 | 7(25.0) | 0 | 0 | 2(7.1) | 0 |

() : %

되었으나 배양기일이 경과되면서 더이상 증식 되지는 않았으며 일부 절편을 제외한 대부분의 절편은 모두 까맣게 되어서 배양기간중 절편상태는 다른 처리구와 비교하여 가장 저조하였고 배양 100일 후까지 뿌리형성은 없었다.

NAA와 BA혼용처리구의 경우 배양 30일 후 절편체가 부푼상태로 캘러스가 분화되는 것을 관찰하였으나 뿌리분화는 없었다. 절편은 주로 흰색이었으며 절단면 뿐 아니라 전체 조직에서 캘러스화하여 가장 양호한 캘러스 발생률을 나타내었고 배양 100일 후에는 뿌리분화도 왕성하였다. 0.5 mg/L NAA와 1.0 mg/L BA 혼용처리구에서 100%의 캘러스 발생률을 보였으나 증식은 비교적 느린 편이었다.

(2) IAA와 cytokinin류의 혼용처리

IAA와 cytokinin류를 혼용처리한 결과 (표 2-7), IAA와 kinetin 혼용처리의 경우 배양 30일 후부터 대부분 캘러스화되었고 뿌리는 절편에서 직접 분화되거나 캘러스가 발생된 후 분화되는 것을 관찰하였다. 배양 100일 후에는 전 조직이 캘러스화하여 절편의 상태가 양호하였는데 1.0 mg/L IAA와 1.0 mg/L kinetin 처리구에서 캘러스 및 뿌리발생이 가장 양호하였다. IAA와 BA 혼용처리의 경우 배양 30일 후 대부분 절편이 부풀었고 캘러스발생 및 뿌리분화가 동시에 이루어졌으며 배양 100일 후 절편은 양호한 상태로 캘러스 증식 가능성이 있었으며 뿌리도 왕성히 분화되었는데 1.0 mg/L IAA와 2.0 mg/L BA 혼용처리구에서 캘러스 및 뿌리발생률이 가장 좋았다. IAA와 zeatin 혼용처리의 경우 배양초기 30일경에는 대부분의 절편에서 캘러스가 시작되었으나 배양 100일 후 조사에서는 증식이 멈춘 상태로 캘러스 발생률은 저조하였으며 뿌리 역시 배양초기에는 관찰되지 않았고 배양 100일 후에도 다른 처리구에 비하여 낮은 편이었다.

표 2-6. 하배축배양에서 auxin류와 cytokinin류의 혼용처리 효과

(배양 100일 후)

| 생장조절제(mg/L) | | | | 치상수 | 캘러스형성률 | 뿌리형성률 |
|-------------|---------|-----|-----|-----|----------|---------|
| 2,4-D | Kinetin | NAA | BA | | | |
| 0 | 0 | | | 20 | 0 | 0 |
| 0.2 | 0.5 | | | 20 | 0 | 0 |
| 0.5 | 0.5 | | | 20 | 0 | 0 |
| 0.5 | 1.0 | | | 20 | 0 | 0 |
| 0.5 | 2.0 | | | 20 | 0 | 0 |
| 1.0 | 0.5 | | | 20 | 0 | 0 |
| 1.0 | 1.0 | | | 20 | 0 | 0 |
| 1.0 | 2.0 | | | 20 | 0 | 0 |
| | | 0.2 | 0.5 | 20 | 15(75.0) | 1(5.0) |
| | | 0.5 | 0.5 | 20 | 15(75.0) | 3(15.0) |
| | | 0.5 | 1.0 | 17 | 17(100) | 2(11.8) |
| | | 0.5 | 2.0 | 25 | 21(84.0) | 7(28.0) |
| | | 1.0 | 0.5 | 21 | 12(57.1) | 4(19.0) |
| | | 1.0 | 1.0 | 20 | 10(50.0) | 2(10.0) |
| | | 1.0 | 2.0 | 27 | 24(88.9) | 1(3.7) |

() : %

표 2-7. 하배축배양에서 IAA와 cytokinin류의 혼용처리 효과

(배양 100일 후)

| 생장조절제(mg/L) | | | | 치상수 | 캘러스형성률 | 뿌리형성률 |
|-------------|---------|-----|--------|-----|----------|----------|
| IAA | Kinetin | BA | Zeatin | | | |
| 0.2 | 0.5 | | | 26 | 3(11.5) | 3(11.5) |
| 0.5 | 0.5 | | | 23 | 11(47.8) | 3(13.0) |
| 0.5 | 1.0 | | | 28 | 12(42.9) | 1(3.6) |
| 0.5 | 2.0 | | | 20 | 18(90.0) | 2(10.0) |
| 1.0 | 0.5 | | | 15 | 11(73.3) | 4(26.7) |
| 1.0 | 1.0 | | | 15 | 15(100) | 9(60.0) |
| 1.0 | 2.0 | | | 23 | 9(39.1) | 2(8.7) |
| 0.2 | | 0.5 | | 20 | 18(90.0) | 0 |
| 0.5 | | 0.5 | | 30 | 11(36.7) | 3(10.0) |
| 0.5 | | 1.0 | | 25 | 13(52.0) | 2(8.0) |
| 0.5 | | 2.0 | | 25 | 8(32.0) | 1(4.0) |
| 1.0 | | 0.5 | | 28 | 20(71.4) | 4(14.3) |
| 1.0 | | 1.0 | | 23 | 17(73.9) | 2(8.7) |
| 1.0 | | 2.0 | | 30 | 29(96.7) | 27(90.0) |
| 0.2 | | | 0.2 | 20 | 13(65.0) | 2(10.0) |
| 0.5 | | | 0.2 | 20 | 3(15.0) | 0 |
| 0.5 | | | 0.5 | 20 | 0 | 0 |
| 0.5 | | | 1.0 | 26 | 2(7.7) | 0 |
| 0.5 | | | 2.0 | 25 | 22(88.0) | 0 |
| 1.0 | | | 0.2 | 27 | 9(33.3) | 0 |
| 1.0 | | | 0.5 | 25 | 6(24.0) | 0 |
| 1.0 | | | 1.0 | 28 | 11(39.3) | 2(7.1) |
| 1.0 | | | 2.0 | 27 | 3(11.1) | 1(3.7) |

() : %

3. 미숙배배양에 의한 체세포배 발생 및 식물체 재분화

가. 未熟胚의 배양적기와 auxin류의 효과

(1) 어뢰형 미숙배 배양

개화 후 25-35일 사이의 미숙종자에서 어뢰형상태의 未熟胚를 꺼내 auxin 종류별로 농도를 달리하여 배양하였다 (표 2-8). IAA 첨가배지의 경우 배양 20일 후부터 어뢰형상태의 미숙배가 약간 신장된 후 자엽으로부터 직접 體細胞胚가 발생되기 시작하여 배양 30일 후에 일부 발생된 胚는 이미 자엽화된 상태로 성장하였다. 1.0-2.0 mg/L IAA 처리구의 경우 몇 개체에서 캘러스가 유도된 후 胚가 분화되는 것을 관찰하였으나 대부분 발생된 胚는 자엽에서 직접 형성되었으며, 배양기간이 경과되면서 배양당시의 미숙배가 器內에서 발아, 신장한 경우에는 캘러스 및 배의 발생은 관찰되지 않았다. 0.2 mg/L IAA에서 자엽으로부터 직접 배발생이 50% 형성되어 가장 양호하였으며 (사진 2-1a) 2,4-D나 NAA 보다 IAA가 직접 배발생에는 효과적으로 나타났다.

2,4-D처리구는 어린 子葉에서 직접 배발생이 이루어지기도 하였으나 배양 15일 후부터 주로 미숙배의 자엽에서 캘러스가 발생되기 시작하였는데 직접 배발생이 배양 20일 후부터 분화된 것에 비하면 그 시기가 약간 늦은 배양 40일 경에 분화되기 시작하였다. 2,4-D처리구는 캘러스로부터 體細胞胚 형성에 있어서 다른 처리구보다 현저하게 효과적이었으며 배양기간이 경과될수록 胚發生率이 양호하게 나타났다.

NAA단용구의 경우 캘러스 유도는 가장 효과적이었는데 캘러스로부터 체세포배 형성은 2,4-D에 비하면 저조하였다. 0.2 mg/L처리구에서만 자엽으로부터 직접 배발생이 이루어졌고 나머지 처리구에서는 전혀 반응이 없었으며 대부분 배양 당시의 미숙배 상태로 머물러 있거나 갈변한 후 枯死하는 경우도 관찰되어 가장 저조한 결과를 보였다.

표 2-8. 어뢰형 미숙배배양에서 배발생에 미치는 auxin류의 효과
(배양 50일 후)

| 생장조절제(mg/L) | | | 치상수 | 캘러스 발생률 | 캘러스에서 배발생률 | 직접 형성된 배발생률 |
|-------------|-------|-----|-----|------------|---------------|----------------|
| IAA | 2,4-D | NAA | | | | |
| 0 | | | 24 | 0 | 0 | 9(37.5) |
| 0.2 | | | 12 | 0 | 0 | 6(50.0) |
| 1.0 | | | 24 | 1(4.2) | 1(4.2) | 4(16.7) |
| 2.0 | | | 13 | 2(15.9) | 2(15.9) | 3(23.1) |
| | 0.2 | | 12 | 3(25.0) | 3(25.0) | 5(41.7) |
| | 1.0 | | 25 | 9(36.0) | 9(36.0) | 9(36.0) |
| | 2.0 | | 12 | 5(41.7) | 5(41.7) | 3(25.0) |
| | | 0.2 | 11 | 4(36.4) | 4(36.4) | 3(27.3) |
| | | 1.0 | 12 | 6(50.0) | 3(25.0) | 0 |
| | | 2.0 | 11 | 7(63.7) | 0 | 0 |

() : %

(2) 초기 자엽기의 미숙배배양

개화 후 36-45일이 경과된 미숙종자를 채취하여 子葉化된 미숙배를 꺼내 auxin류의 농도를 달리하여 배양하였다 (표 2-9). IAA단용처리의 경우 배양 15일 후부터 자엽으로부터 캘러스가 발생되거나 직접 배발생이 이루어졌는데 어뢰형 미숙배에 비해 배양당시의 未熟胚가 발아하여 신장된 가운데 배발생이 이루어졌고 배발생 속도도 비교적 빨랐으며 배양 30일 경에는 1.0-2.0 mg/L의 경우 1개의 미숙배의 자엽조직은 백색의 소돌기로 가득하여 가장 양호한 결과를 보였다. 그러나 생장조절제가 첨가되지 않은 처리구에서도 직접 배발생률은 더 높은 87.5%를 나타내 초기 자엽기 상태의 미숙배 배양중 가장 좋은 결과였다 (사진 2-1b).

표 2-9. 초기 자엽기 미숙배배양에서 배발생에 미치는 auxin류의 효과
(배양 50일 후)

| 생장조절제(mg/L) | | | 치상수 | 캘러스 발생률 | 캘러스에서 배발생률 | 직접 형성된 배발생률 |
|-------------|-------|-----|-----|------------|---------------|----------------|
| IAA | 2,4-D | NAA | | | | |
| 0 | | | 24 | 3(12.5) | 2(8.4) | 21(87.5) |
| 0.2 | | | 12 | 3(25.0) | 1(8.3) | 4(33.3) |
| 1.0 | | | 24 | 7(29.2) | 6(33.3) | 18(75.0) |
| 2.0 | | | 12 | 3(25.0) | 3(25.0) | 10(83.3) |
| | 0.2 | | 28 | 5(17.9) | 5(17.9) | 15(53.6) |
| | 1.0 | | 12 | 7(58.3) | 7(58.3) | 5(41.7) |
| | 2.0 | | 13 | 8(61.5) | 8(61.5) | 6(46.2) |
| | | 0.2 | 13 | 13(100) | 6(46.2) | 6(46.2) |
| | | 1.0 | 12 | 12(100) | 2(16.7) | 1(8.3) |
| | | 2.0 | 13 | 6(46.2) | 0 | 0 |

() : %

2,4-D의 경우 IAA처리구에 비해 未熟胚가 발아되어 신장하는 것은 비교적 적었으며 주로 미숙배 자엽에서 캘러스 및 胚가 발생되었는데, 0.2 mg/L 처리구에서는 자엽으로부터 직접 胚發生率이 양호한 편이었고 1.0-2.0 mg/L 처리구에서는 캘러스를 경유하여 배가 발생되거나 직접 胚發生되는 경우가 비슷한 상태로 나타나 체세포배 발생에 비교적 효과적이었다.

NAA처리구에서는 0.2-1.0 mg/L에서 캘러스발생이 100%를 보였는데 배양 당시의 상태에서 조직이 약간 비대된 후 전체가 캘러스화 되면서 배양기간이 경과될수록 유도된 캘러스는 점차 검게 변한 후 그 위에 鐘모양의 胚가 분화되었는데 이것은 다른 처리구에서 분화된 體細胞胚와는 약간 다른 모양이었다.

그러나 NAA 처리구에서 배양 당시의 미숙배가 발아되어 신장된 경우는 없었고 2.0 mg/L에서는 체세포배 발생이 전혀 관찰되지 않았다.

(3) 성숙자엽기의 미숙배배양

개화 후 46-55일 경과된 미숙종자를 채취하여 子葉이 성숙한 미숙배를 꺼내 auxin류의 농도를 달리하여 배양하였다 (표 2-10). 배양당시의 未熟胚는 자엽 크기가 성숙종자의 자엽과 비슷한 상태로 성숙된 상태였는데 체세포배는 초기 자엽기의 미숙배배양과 마찬가지로 자엽표면에서 자엽전체를 덮는 것같이 발생되었다. 또한 배양기일이 경과되면서 일부 발생된 체세포배는 그 표면에 다시 胚가 형성되어 하나씩 분리하기 어려운 상태로 엉켜버리는 경우도 있었다. IAA첨가구의 경우 대부분 자엽조직에서 직접 배발생이 이루어졌고 배양한 미숙배의 일부는 배양 2주일 후부터 下胚軸이 길게 신장하고 子葉이 비대되었다.

下胚軸이나 뿌리부분에서는 어뢰형 및 초기자엽기와 마찬가지로 캘러스 및 배발생은 전혀 이루어지지 않았다. 초기 미숙배배양에서 1.0 mg/L IAA 처리구에서 배발생률이 양호하였는데 본 실험에서는 오히려 가장 저조하였고 0.2, 2.0 mg/L IAA에서는 비슷한 결과를 보였다. 그러나 주로 배양초기에 발아하여 길게 신장된 미숙배의 경우에는 胚發生이 관찰되지 않았는데 어린 미숙배보다 성숙한 미숙배일수록 더욱 신장되는 경향이였다. 2,4-D처리구의 경우 역시 발아되어 신장된 식물체가 많이 관찰되었으며 캘러스發生率 및 캘러스로부터 체세포배발생은 1.0 mg/L에서 가장 좋았고 직접 배발생도 비교적 양호하였다.

NAA처리구에서는 미숙배가 발아하여 신장된 것은 관찰되지 않았고 대부분 배양 당시의 상태에서 캘러스가 유도되었는데 발생된 캘러스는 지속적인 증식을 보이지 않았으며 1개의 미숙배로부터 발생된 體細胞胚의 數도 1-2개 정도에 불과하여 가장 저조하였다.

표 2-10. 성숙자엽기 미숙배배양에서 배발생에 미치는 auxin의 효과
(배양 50일 후)

| 생장조절제(mg/L) | | | 치상수 | 캘러스 발생률 | 캘러스에서 배발생률 | 직접 형성된 배발생률 |
|-------------|-------|-----|-----|------------|---------------|----------------|
| IAA | 2,4-D | NAA | | | | |
| 0 | | | 92 | 4(4.3) | 0 | 32(34.8) |
| 0.2 | | | 36 | 3(7.9) | 3(7.9) | 17(44.7) |
| 1.0 | | | 29 | 1(3.4) | 0 | 4(13.8) |
| 2.0 | | | 24 | 9(37.5) | 3(12.5) | 11(45.8) |
| | 0.2 | | 12 | 4(33.3) | 4(33.3) | 2(16.6) |
| | 1.0 | | 12 | 7(58.3) | 7(58.3) | 5(41.7) |
| | 2.0 | | 12 | 7(58.3) | 3(25.0) | 4(33.3) |
| | | 0.2 | 11 | 11(100) | 3(27.3) | 2(18.2) |
| | | 1.0 | 12 | 7(58.3) | 0 | 0 |
| | | 2.0 | 12 | 11(91.7) | 1(8.3) | 0 |

() : %

나. Auxin류와 BA 혼용처리 및 sucrose 효과

(1) 어뢰형 미숙배배양에서 auxin류와 BA 혼용처리 효과

어뢰형 미숙배를 IAA와 BA를 혼용처리 후 배양한 결과 (표 2-11) IAA 단용처리구에 비하여 (표 2-8) 캘러스 발생이 전 처리구에서 양호하였는데 특히 2.0 mg/L IAA와 1.0 mg/L BA 혼용처리구에서는 캘러스로부터 91.7%의 체세포배 발생률을 나타내 가장 좋은 결과를 보였다 (사진 2-1c). 그러나 자엽조직으로부터 직접 배발생은 IAA 단용처리구에 비해 현저하게 낮은 편이었고 오히려 성장조절제 무처리구에서 37.5%의 체세포배 발생률을 보여 직접 胚發生에 있어 IAA와 BA의 혼용처리는 BA가 배발생에 저해적으로 나타났다.

표 2-11. 어뢰형 미숙배배양에서 auxin류와 BA 혼용처리 효과
(배양 50일 후)

| 생장조절제(mg/L) | | | | 치상수 | 캘러스 발생률 | 캘러스에서 배발생률 | 직접 형성된 배발생률 |
|-------------|-------|-----|-----|-----|------------|---------------|----------------|
| IAA | 2,4-D | NAA | BA | | | | |
| 0 | | | 0 | 24 | 0 | 0 | 9(37.5) |
| 0.2 | | | 0.2 | 13 | 9(69.2) | 2(15.4) | 3(23.1) |
| 0.2 | | | 1.0 | 12 | 9(75.0) | 5(41.7) | 1(8.3) |
| 0.2 | | | 2.0 | 12 | 12(100) | 2(16.7) | 1(8.3) |
| 1.0 | | | 0.2 | 12 | 5(41.7) | 5(41.7) | 0 |
| 1.0 | | | 1.0 | 14 | 10(71.4) | 1(7.1) | 2(14.3) |
| 1.0 | | | 2.0 | 12 | 7(58.3) | 0 | 4(33.3) |
| 2.0 | | | 0.2 | 16 | 10(62.5) | 3(18.8) | 0 |
| 2.0 | | | 1.0 | 12 | 12(100) | 11(91.7) | 1(8.3) |
| 2.0 | | | 2.0 | 12 | 12(100) | 5(41.7) | 2(16.7) |
| | 0.2 | | 0.2 | 17 | 7(41.2) | 2(11.8) | 2(11.8) |
| | 0.2 | | 1.0 | 12 | 6(50.0) | 0 | 0 |
| | 0.2 | | 2.0 | 13 | 6(46.2) | 0 | 0 |
| | 1.0 | | 0.2 | 12 | 7(58.3) | 0 | 0 |
| | 1.0 | | 1.0 | 12 | 7(58.3) | 0 | 0 |
| | 1.0 | | 2.0 | 12 | 2(16.7) | 0 | 0 |
| | 2.0 | | 0.2 | 12 | 2(16.7) | 1(8.3) | 0 |
| | 2.0 | | 1.0 | 12 | 2(16.7) | 1(8.3) | 0 |
| | 2.0 | | 2.0 | 11 | 3(27.3) | 0 | 0 |
| | | 0.2 | 0.2 | 12 | 6(50.0) | 0 | 0 |
| | | 0.2 | 1.0 | 11 | 0 | 0 | 0 |
| | | 0.2 | 2.0 | 12 | 4(33.3) | 1(8.3) | 0 |
| | | 1.0 | 0.2 | 12 | 9(75.0) | 2(16.7) | 2(16.7) |
| | | 1.0 | 1.0 | 12 | 12(100) | 11(91.7) | 0 |
| | | 1.0 | 2.0 | 12 | 4(33.3) | 1(8.3) | 0 |
| | | 2.0 | 0.2 | 12 | 4(33.3) | 0 | 0 |
| | | 2.0 | 1.0 | 12 | 8(66.7) | 0 | 0 |
| | | 2.0 | 2.0 | 12 | 6(66.7) | 1(8.3) | 0 |

() : %

2,4-D와 BA를 혼용처리한 결과, 2,4-D와 BA가 0.2 mg/L씩 혼용첨가된 구에서만 11.8%의 직접 배발생이 이루어졌고 나머지 처리구에서는 전혀 발생되지 않았다. 캘러스 발생은 1.0 mg/L 2,4-D에 0.2, 1.0 mg/L BA 혼용처리구에서 58.3%를 보여 단용처리보다 양호하였으나 캘러스로부터 체세포배발생은 배양조직에서 1-2개 정도에서만 발생되어 역시 배발생은 저조하였다. 또한 전처리구가 배양당시의 어뢰형 상태로 아무런 변화를 보이지 않고 머물러 있었으며 IAA 처리구에 비해 발아, 신장하는 것은 관찰되지 않았다. 1.0 mg/L씩 NAA와 BA가 혼용처리된 경우 캘러스유도율이 100%였으며 캘러스로부터 체세포배발생은 91.7%를 보여 가장 양호한 결과를 보였다. 그러나 배양기일이 경과되면서 배양체가 갈변한 후 枯死하는 경우가 많았는데 이것은 너무 어린 미숙배를 배양한 때문이라고 본다.

(2) 자엽기 미숙배배양에서 auxin류와 BA 혼용처리 효과

자엽기 미숙배를 IAA와 BA가 혼용처리된 배지에 배양한 결과 (표 2-12) 어뢰형 미숙배배양에서와 같이 캘러스 발생이 양호하였으며 2.0 mg/L IAA와 0.2 mg/L BA 혼용처리구에서 캘러스를 경유한 胚發生이 39.6%로 가장 양호하였고 치상한 미숙배는 길게 발아되어 신장하였는데 캘러스 경유 및 직접 배발생률을 합할 경우에는 2.0 mg/L IAA와 0.2 mg/L BA 혼용처리구가 가장 좋았다. 2,4-D와 BA 혼용처리구의 경우 대부분 未熟胚가 발아, 신장하지 않고 배양당시의 상태에서 캘러스화 되었는데 0.2 mg/L 2,4-D와 2.0 mg/L BA 혼용처리구에서 캘러스발생은 100%였으며 캘러스 경유 배발생이 전 처리구 중 가장 높았으나 未熟胚의 자엽조직에서 직접 배발생률은 대단히 낮았다. NAA와 BA의 혼용처리구는 캘러스발생은 대단히 양호하였지만 胚發生은 극히 저조한 결과를 보였다. 그러나 배양된 미숙배가 길게 신장되는 것은 IAA와 BA의 혼용처리와 비슷하였다.

표 2-12. 자엽기 미숙배배양에서 auxin류와 BA 혼용처리의 효과
(배양 50일 후)

| 생장조절제(mg/L) | | | | 치상수 | 캘러스 발생률 | 캘러스에서 배발생률 | 직접 형성된 배발생률 |
|-------------|-------|-----|-----|-----|------------|---------------|----------------|
| IAA | 2,4-D | NAA | BA | | | | |
| 0 | | | 0 | 133 | 27(20.3) | 0 | 17(12.8) |
| 0.2 | | | 0.2 | 42 | 22(52.4) | 1(2.4) | 7(16.7) |
| 0.2 | | | 1.0 | 50 | 25(50.0) | 1(2.0) | 8(16.0) |
| 0.2 | | | 2.0 | 57 | 41(71.9) | 20(35.1) | 7(12.3) |
| 1.0 | | | 0.2 | 50 | 16(32.0) | 10(20.0) | 6(12.0) |
| 1.0 | | | 1.0 | 44 | 6(13.6) | 0 | 6(13.6) |
| 1.0 | | | 2.0 | 36 | 31(86.1) | 6(16.7) | 5(13.9) |
| 2.0 | | | 0.2 | 48 | 45(93.6) | 19(39.6) | 6(12.5) |
| 2.0 | | | 1.0 | 50 | 28(56.0) | 11(22.0) | 10(20.0) |
| 2.0 | | | 2.0 | 52 | 25(48.1) | 6(11.5) | 5(9.6) |
| | 0.2 | | 0.2 | 70 | 70(100) | 8(11.4) | 5(7.1) |
| | 0.2 | | 1.0 | 49 | 43(87.8) | 14(28.6) | 3(6.1) |
| | 0.2 | | 2.0 | 26 | 26(100) | 14(53.8) | 0 |
| | 1.0 | | 0.2 | 36 | 35(97.2) | 0 | 0 |
| | 1.0 | | 1.0 | 72 | 55(76.4) | 0 | 0 |
| | 1.0 | | 2.0 | 76 | 37(48.7) | 0 | 0 |
| | 2.0 | | 0.2 | 63 | 44(69.8) | 0 | 0 |
| | 2.0 | | 1.0 | 51 | 36(70.6) | 5(9.8) | 1(2.0) |
| | 2.0 | | 2.0 | 78 | 40(51.3) | 1(1.3) | 3(3.8) |
| | | 0.2 | 0.2 | 35 | 35(100) | 1(2.9) | 5(14.3) |
| | | 0.2 | 1.0 | 65 | 47(72.3) | 0 | 3(4.6) |
| | | 0.2 | 2.0 | 47 | 41(87.2) | 0 | 4(8.5) |
| | | 1.0 | 0.2 | 60 | 59(98.3) | 2(4.0) | 5(8.3) |
| | | 1.0 | 1.0 | 64 | 64(100) | 2(3.1) | 2(3.1) |
| | | 1.0 | 2.0 | 60 | 53(88.3) | 0 | 0 |
| | | 2.0 | 0.2 | 65 | 60(92.3) | 1(1.5) | 1(1.5) |
| | | 2.0 | 1.0 | 44 | 28(63.6) | 1(2.3) | 4(9.1) |
| | | 2.0 | 2.0 | 67 | 59(88.1) | 0 | 6(9.0) |

() : %

(3) 자엽기 미숙배배양에서 sucrose 單用 및 1.0 mg/L IAA 혼용처리 효과
 배발생에 미치는 sucrose의 효과를 조사한 결과 (표 2-13), sucrose가 첨가
 되지 않은 경우 배발생은 전혀 관찰되지 않았는데 2% 첨가된 대조구에서 배발
 생이 비교적 양호하였던 것과 비교하면 sucrose는 胚發生에 필수적인 것으로
 나타났다. 4% 단용구의 경우 발생된 몇개체의 胚를 제외하고 형성된 배는 캘
 러스화되는 경향이었으며 8%로 농도가 높아질수록 배발생은 저조하였다.

1.0 mg/L IAA 혼용처리구에서는 sucrose가 첨가된 경우 모든 처리구에서
 배발생이 관찰되었는데 그중에서 4%가 가장 효과적이었다. 그러나 sucrose가
 첨가되지 않은 상태에서 IAA가 첨가된 경우 배발생은 전혀 이루어지지 않아
 胚發生에 적정농도의 sucrose는 필수적으로 나타났다.

표 2-13. 자엽기 미숙배 배양에서 sucrose 처리효과

(배양 50일 후)

| 생장조절제(mg/L) | | 치상수 | 캘러스 발생률 | 캘러스에서 배발생률 | 직접 형성된 배발생률 |
|-------------|-----------|-----|------------|---------------|----------------|
| Sucrose(%) | IAA(mg/L) | | | | |
| 0 | | 16 | 0 | 0 | 0 |
| 2(대조구) | | 53 | 14(25.9) | 1(7.1) | 23(43.4) |
| 4 | | 75 | 14(18.7) | 12(16.0) | 16(21.3) |
| 6 | | 42 | 0 | 4(9.5) | 6(14.3) |
| 8 | | 35 | 0 | 0 | 2(5.7) |
| 0 | 1.0 | 63 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 1.0 | 56 | 6(10.7) | 4(7.1) | 41(73.2) |
| 4 | 1.0 | 59 | 8(13.6) | 22(37.3) | 13(22.0) |
| 6 | 1.0 | 41 | 2(4.9) | 2(4.9) | 7(17.1) |
| 8 | 1.0 | 24 | 2(8.3) | 3(12.5) | 0 |

() : %

다. 배양온도 (20℃, 25℃) 차이에 따른 배발생 효과

배양온도에 따른 배발생 효과를 조사한 결과 (표 2-14), 20 및 25℃에서의 배발생 양상은 온도의 영향보다 성장조절제의 조성에 따라 영향을 받았는데 IAA와 BA가 1.0 mg/L씩 처리된 구에서 胚發生이 양호하였다. 그러나 발생된 胚의 생육상태를 배양 30일 후에 조사한 결과 20℃에서 배의 생육상태는 정상적이었으나 25℃에서 발생된 배는 대부분 비정상적인 胚의 발아상태를 나타냈으며 배양기일이 경과됨에 따라 고사하는 경향으로 20℃가 발생된 體細胞胚의 생육에 적합하였다.

표 2-14. 배양온도차이에 따른 배발생 효과

(배양 50일 후)

| 성장조절제(mg/L) | | 20℃ | | | 25℃ | | |
|-------------|-----|-----|----------|----------|-----|----------|----------|
| IAA | BA | 치상수 | 캘러스 | 배발생 | 치상수 | 캘러스 | 배발생 |
| 0 | 0 | 121 | 23(19.0) | 15(12.4) | 16 | 2(12.5) | 6(37.5) |
| 0.2 | 0.2 | 28 | 8(28.6) | 1(3.6) | 16 | 4(25.0) | 8(50.0) |
| 0.2 | 1.0 | 36 | 16(42.1) | 6(21.1) | 16 | 0 | 10(62.5) |
| 0.2 | 2.0 | 45 | 29(64.4) | 11(24.4) | 16 | 0 | 3(18.8) |
| 1.0 | 0.2 | 38 | 11(28.9) | 10(26.3) | 16 | 10(62.5) | 5(31.3) |
| 1.0 | 1.0 | 31 | 6(19.4) | 5(16.1) | 16 | 10(62.5) | 1(6.3) |
| 1.0 | 2.0 | 24 | 22(91.7) | 9(37.5) | 12 | 2(16.7) | 1(8.3) |
| 2.0 | 0.2 | 24 | 21(87.5) | 15(62.5) | 15 | 2(13.3) | 0 |
| 2.0 | 1.0 | 36 | 16(44.4) | 10(26.3) | 16 | 2(12.5) | 3(18.8) |
| 2.0 | 2.0 | 42 | 15(35.7) | 3(7.1) | 18 | 0 | 1(5.6) |

() : %

라. 체세포배의 발아 및 식물체재분화에 미치는 cytokinin류의 효과

(1) 체세포배 상태에서 체세포배의 발아

고추냉이의 未熟胚를 배양하여 子葉에서 형성되는 체세포배의 수는 셀 수 없을 정도로 많았으나 소돌기 상태로 誘導된 체세포배는 최초배지에서 제대로 정상적인 발육을 하지 않았고 대부분이 서로 뒤엉켜버려 발생된 체세포배의 수에 비해 정상적인 식물체 획득은 비교적 적은 편이었다. 본 실험에서는 이러한 문제점을 해결하기 위한 수단으로 최초배지에서 배양조직 절편에 분화된 백색소돌기의 體細胞胚 덩어리를 분화배지에 계대배양하므로써 정상적인 식물체 재분화에 적당한 체세포배의 분리시기와 cytokinin류의 효과를 조사하였다 (표 2-15). 미숙배의 子葉에서 직접 분화된 체세포배 덩어리를 최초 배양일로부터 50일 후에 소돌기 상태로 cytokinin류 단용배지에 繼代培養한 후 암상태에서 발생된 체세포배괴는 명상태에서 점차 녹색화되었고 생육이 빠르게 진전되었다 (사진 2-1d). 이들 체세포배는 대부분의 처리구에서 배양 10일 후부터 자엽기의 체세포배로 발달하기 시작하고 배축이 신장되었으며 특히 2.0 mg/L kinetin 처리구에서는 자엽이 전개되기도 하여 (사진 2-1e) 일부 auxin 배지에서 계속 배양중인 체세포배와 비교했을 때 훨씬 발아속도가 빨랐다.

배양조직으로부터 백색 소돌기 상태의 체세포배만을 분리하려고 시도했으나 대부분 2次胚 형성으로 뒤엉킨 상태여서 오히려 상처를 줄 우려가 있었는데 본 실험 결과 體細胞胚塊 상태에서 발아된 자엽기의 체세포배만을 선발할 수 있다는 점이 효과적이었다.

(2) 자엽기의 체세포배로부터 shoot 및 뿌리분화에 미치는 cytokinin류의 효과

발생된 체세포배괴로부터 자엽이 전개된 상태의 體細胞胚를 하나씩 분리한 후 (사진 2-2a) cytokinin류 단용배지에 배양하였다 (표 2-16). 본 실험의 경

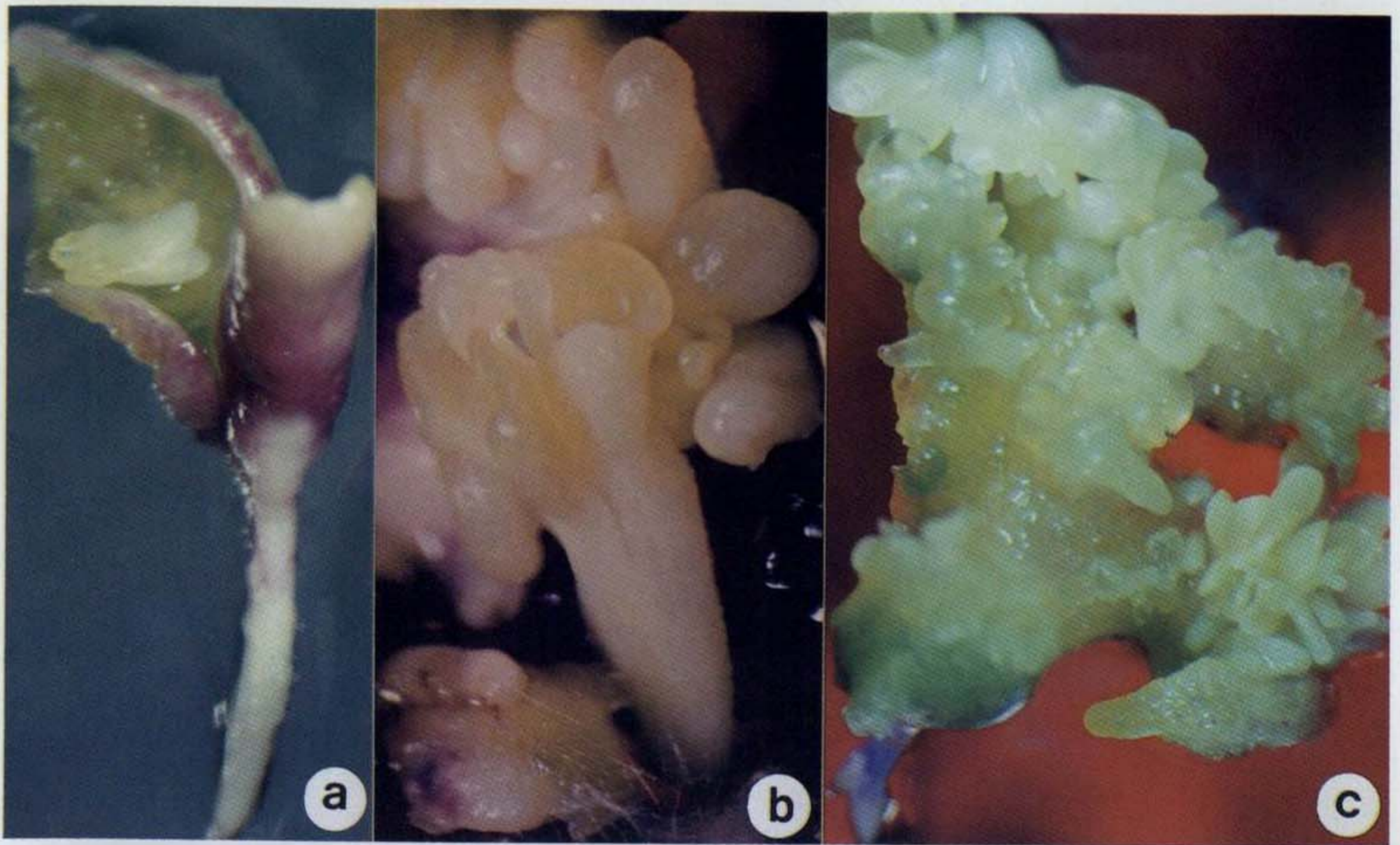


사진 2-1. a; 미숙배의 자엽조직에서 직접 발생한 체세포배, b; 미숙배의 자엽조직에서 직접 형성된 체세포배피, c; 미숙배의 자엽조직에서 형성된 캘러스로부터 발생한 다수의 체세포배, d; 체세포배의 발아, e; 체세포배의 하배축 및 자엽의 신장

여 백

표 2-15. 체세포배의 발아에 미치는 cytokinin류의 효과

(배양 30일 후)

| 생장조절제 (mg/L) | 배양된 시험관 수 | 발아된 체세포배의 수 | 신초분화된 체세포배의 수 | 뿌리형성된 체세포배의 수 |
|-----------------|--------------|----------------|------------------|------------------|
| 0 | 10 | 12 | 0 | 0 |
| Kinetin | 0.2 | 10 | 16 | 2(12.5) |
| | 1.0 | 10 | 14 | 3(21.4) |
| | 2.0 | 10 | 23 | 12(52.2) |
| BA | 0.2 | 10 | 16 | 3(18.8) |
| | 1.0 | 10 | 16 | 3(18.8) |
| | 2.0 | 10 | 15 | 3(20.0) |
| Zeatin | 0.2 | 10 | 11 | 1(9.1) |
| | 1.0 | 10 | 18 | 6(33.3) |
| | 2.0 | 10 | 13 | 0 |
| GA ₃ | 0.2 | 10 | 11 | 0 |
| | 1.0 | 10 | 16 | 1(6.3) |
| | 2.0 | 10 | 20 | 1(5.0) |

() : %

우 정상적인 식물체재분화가 목적이었으나 비대되거나 투명화된 자엽을 가진 體細胞胚도 구별하지 않고 배양하였는데 본엽은 모두 정상적으로 분화되었다. 모든 처리구에서 shoot분화는 대부분 양호하였는데 배양당시 자엽이 전개된 상태의 체세포배는 계대배양 10일 후에 자엽의 葉柄과 胚軸이 신장하여 빠른 생육상태를 보였으며 특히 kinetin과 BA의 경우 전 처리구에서 100% shoot 분화율을 나타냈는데 (사진 2-2b) 배양 30일 후에는 1개의 체세포배로부터 1-3개의

多芽體로 분화되기도 하여 가장 양호하였다. 2.0 mg/L zeatin의 경우 분화된 shoot에서 뿌리형성이 양호한 편이었는데 1개의 식물체로부터 shoot와 뿌리분화가 같이 이루어져 완전한 식물체 재분화율이 가장 좋았으며 (사진 2-2c) 일부 뿌리는 肥大根을 형성하기도 하였다 (사진 2-2d). GA₃처리구의 경우 shoot 분화 및 뿌리 형성이 비교적 저조한 편으로 분화된 shoot는 뿌리형성 없이 幼根의 상태로 머물러 있었고 분화된 shoot도 多芽體 shoot로 생육되지 않았다.

표 2-16. 미숙배 유래의 체세포배로부터 싹초 및 뿌리분화

(배양 30일 후)

| 생장조절제 (mg/L) | 배양된 체세포배의 수 | 싹초가 분화된 체세포배의 수 | 뿌리가 형성된 체세포배의 수 |
|-----------------|----------------|--------------------|--------------------|
| Kinetin | 0 | 15 | 2(13.3) |
| | 0.2 | 15 | 15(100) |
| | 1.0 | 15 | 15(100) |
| | 2.0 | 15 | 15(100) |
| BA | 0.2 | 15 | 15(100) |
| | 1.0 | 15 | 15(100) |
| | 2.0 | 15 | 15(100) |
| Zeatin | 0.2 | 15 | 10(66.7) |
| | 1.0 | 15 | 7(46.7) |
| | 2.0 | 15 | 15(100) |
| GA ₃ | 0.2 | 15 | 5(33.3) |
| | 1.0 | 15 | 10(66.7) |
| | 2.0 | 15 | 6(40.0) |

() : %

다. 뿌리형성 및 多芽體 분화에 미치는 IAA와 IBA의 효과

발생된 체세포배는 발아 후 shoot분화는 비교적 양호하였으나 뿌리는 幼根 상태로 머물러 있었는데 이런 상태의 식물체를 선별하거나 다아체로 분화된 경우에는 액아를 붙여 분할한 후 뿌리분화 및 증식을 목적으로 계대배양한 결과 (표 2-17) 배양 20일 후부터 뿌리가 형성되기 시작하였다. 뿌리가 형성된 shoot는 성장도 빨랐고 1개의 식물체로부터 다시 1-3개의 多芽體를 분리할 수 있을 정도로 생육이 왕성하였다.

표 2-17. Shoot로부터 뿌리형성과 다아체 증식에 있어 IAA와 IBA의 효과
(배양 50일 후)

| 생장조절제(mg/L) | | 배양된 shoot의 수 | 뿌리형성된 shoot의 수 | 다아체로 증식된 shoot의 수 |
|-------------|------|--------------|----------------|-------------------|
| IAA | IBA | | | |
| 0 | | 18 | 5(27.8) | 10(55.6) |
| 0.01 | | 36 | 26(72.2) | 27(75.0) |
| 0.1 | | 36 | 20(55.6) | 32(88.9) |
| 1.0 | | 28 | 6(21.4) | 25(89.3) |
| 2.0 | | 23 | 5(21.3) | 17(73.9) |
| | 0.01 | 35 | 18(51.4) | 29(82.9) |
| | 0.1 | 30 | 15(50.0) | 22(73.3) |
| | 1.0 | 35 | 3(8.6) | 22(62.9) |
| | 2.0 | 40 | 12(30.0) | 20(50.0) |

() : %

배양 50일 후까지 0.01, 0.1 mg/L IAA 처리구에서 뿌리분화율 및 생장이 왕성하였고 0.01, 0.1 mg/L IBA 처리구도 좋은 반응이었으나 특히 0.01 mg/L

IAA 처리구에서 72.2%의 뿌리형성률을 보여 가장 양호하였다 (사진 2-2e). 그러나 배양 50일 이후에는 이미 발생한 뿌리가 증식되기는 하였으나 식물체의 생육상태에 따라 일부는 幼根의 상태에서 더이상의 진전을 보이지 않았다. 그러나 본 실험 결과 발생한 체세포배를 완전한 식물체로 재분화시키기 위해서는 적절한 뿌리분화 배지에서 생육시켜 多芽體를 유도하는 것이 효과적이었다.

잡종성이 강한 고추냉이 품종은 채종을 계속할 경우 형질이 분리되어 우량한 모본은 분주묘로 영양번식을 유지해야 되는데 영양번식을 계속 반복하면 식물체의 생육이나 根莖의 비대가 나빠지는 퇴화현상이 나타난다 (伊奈, 1995). 이것은 virus, 墨入病 등의 각종 병해에 의한 것으로 우량한 형질을 가진 개체를 개발할 경우 그 증식과정에서 퇴화현상을 일으키기 때문에 分株苗에 의한 품종유지는 어려운 실정이다.

또한 分割에 의한 증식법을 이용하면 단기간에 다수의 種苗를 얻을 수 있지만 많은 노력이 소모되어 좀더 효율적인 증식법의 개발이 요구되는데 그 한 방법으로서 體細胞胚를 형성시켜 식물체를 재분화시킨 후 우량개체를 선발하여 단기간에 증식하므로써 육종면에서도 어느 정도 가능성이 기대되고 있다. 그러나 고추냉이의 식물절편체를 器內培養할 경우 배양체의 종류에 따라 캘러스, shoot분화 및 체세포배가 발생하는 양상이 다른데 이전의 실험에서 子葉, 下胚軸, 葉身 등을 배양하였던 바 어느 조직에서나 캘러스는 유도되었지만 캘러스가 증식되어 캘러스로부터 shoot 분화가 이루어지거나 체세포배가 발생하는 경우는 관찰되지 않았다. 이와 같이 고추냉이의 조직배양에서 절편체의 부위에 따라 성장조절제의 종류와 농도는 그 반응에 많은 차이를 보이는데 미숙배를 배양하면 캘러스 및 체세포배가 발생한다는 실험보고는 많다. 春木 等(1988)은 미숙배를 개량 MS배지에 0.1 mg/L BA와 1.0 mg/L 2,4-D 혼용첨가구에서 배양하여 캘러스를 유도한 후 성장조절제 무처리의 액체배지에서 진탕배양하여 체세포배를 발생시켰으며, 春木와 山田(1993)는 미숙배 배양에서 체세포배 발생



사진 2-2. a; 계대배양한 체세포배의 자엽전개 및 뿌리발달, b; 발아된 체세포배의 shoot생장, c; 발아된 체세포배의 shoot생장 및 뿌리발달, d; 뿌리가 비대된 소식물체, e; 체세포배에서 형성된 완전한 식물체의 다량증식

여 백

은 0.1 mg/L BA와 1.0 mg/L IAA 혼용처리가 가장 좋았으나 MS, 개량 MS 및 B₅의 기본배지에 BA를 첨가할 경우 무처리구보다 체세포배발생은 오히려 적어 BA가 배발생에 저해적이라고 하였는데 본 실험에서도 같은 결과를 보였다. 또한 未熟胚를 어뢰형배와 자엽기의 미숙배로 구분하여 배양할 경우 어뢰형배는 성장조절제 무처리구에서, 자엽기의 미숙배는 1.0 mg/L IAA 첨가구에서 체세포배발생이 가장 양호하다고 하였는데 (Eun 등, 1995) 고추냉이를 조직 배양할 경우 절편부위에 따라 성장조절제의 종류와 농도는 반응양상에 많은 차이를 보이는 것으로 나타났다.

末松 等(1987)도 고추냉이 자엽배양에서 성장조절제 무처리구, auxin, cytokinin이 첨가된 배지에서 체세포배 발생을 보고하였는데 본 실험에서도 미숙배를 어뢰형과 자엽기의 미숙배로 구분하여 auxin 단용처리와 BA를 혼용처리한 후 배양한 결과 IAA단용처리에서는 주로 직접 배발생이 이루어졌고 IAA와 BA를 혼용처리할 경우 배양조직이 캘러스화되는 것을 관찰하였다. 2,4-D와 NAA처리구에서는 캘러스가 발생된 후 캘러스를 경유한 후 胚가 분화되는 경향이었으나 캘러스가 증식 유지되지 않는 고추냉이의 식물체내에 함유되어 있는 젤상의 물질이 캘러스 증식을 억제하는 경향이였다.

春木 等(1988)은 고추냉이의 저장종자의 자엽, 미숙종자의 자엽 및 배축, 미숙배, 葉柄, 葉身, 뿌리 등을 배양하였을 경우 종자자엽, 미숙종자의 자엽, 미숙배에서만 체세포배가 발생되었고 그중 미숙종자와 미숙배에서는 공시개체수 대부분이 체세포배가 형성되어 배발생률이 가장 높았다고 하였다. 그러나 미숙배 유래의 체세포배를 성장조절제가 없는 배지에 이식하였을 때 이들 체세포배는 전체가 비대하고 암갈색으로 되어 생육을 정지하였다고 하였는데 본 실험에서도 미숙배의 자엽에서 발생된 체세포배의 수는 셀 수 없을 정도였으나 정상적으로 식물체로 분화되는 것은 그다지 많지 않았다. 그러나 미숙배 유래의 일부 체세포배는 정상적인 발아과정을 거치고 계대배양 2주일 후부터 배축이

신장하고 자엽이 전개되어 배양 1개월 정도 지나면 본엽이 발생하여 정상적인 식물체가 분화되었다고 했는데 (春木와 山田, 1993), 본 실험 결과 체세포배로부터 자엽이 전개된 것은 cytokinin류와 0.1 mg/L IAA 혼용배지에 배양했을 때 정상적인 식물체 재분화가 가능하였고 배양기간 동안 자엽이 비대되거나 투명화가 된 것들도 本葉은 정상적으로 분화되었다. 그러나 고추냉이의 미숙배 배양에서 체세포배 발생은 어려움이 없으나 체세포배에서 정상 식물체로 분화시키는 과정이 남은 연구과제라고 생각된다.

고추냉이는 대부분 고정된 품종이 아니고 포장에서 선발된 개체는 대부분 hetero상태이기 때문에 그 차세대인 미숙배는 母本과 다른 유전자조성을 갖게 되므로 미숙배나 미숙종자의 자엽에서 발생된 胚는 그 자체만으로는 큰 의미가 부여될 수 없다. 그러나 병해에 저항성이 있는 실생번식이 가능한 품종이 선발된다면 이러한 품종의 미숙배를 배양하여 이미 체계화된 체세포배 증식법을 이용하여 일반 농가에도 필요할 때 원하는 만큼의 種苗를 제공할 수 있다는 점에서 胚發生에 관한 연구는 계속되어야 한다고 생각한다.

4. 생장점배양에 의한 캘러스 및 多芽體 분화

가. Cytokinin류 단용처리 효과

BA와 kinetin을 단용처리하여 배양한 결과 (표 2-18) 모든 처리구에서 배양 5일 후부터 부착된 엽원기가 비대되기 시작하였고 배양 20일 후에는 엽병 기부에서 액아가 분화된 후 4매의 shoot를 가진 식물체로 성장하였다. 그러나 생장조절제 무처리구에서는 엽원기가 비대된 상태로 액아신장은 관찰되지 않아 배양 초기부터 생장조절제의 영향은 큰 차이를 보였으며 BA와 kinetin 처리구 모두 캘러스는 전혀 발생되지 않았다.

배양 40일 후 분화된 본엽수는 BA보다 kinetin이 약간 많았는데 생장조절제

무처리구의 경우 배양 당시 부착된 엽원기가 약간 신장된 후 멈춘 상태를 보인 것에 비해 1.0, 2.0 mg/L kinetin 처리구는 4-5개 정도로 분화되었으며 0.2, 1.0 mg/L BA처리구의 경우 본엽이 약 2-3개 분화되었고 shoot 길이는 약 3-4cm 정도로 신장되었다.

분화된 shoot는 생장조절제의 종류와 농도에 따라 생장에 차이를 보였는데 2.0 mg/L kinetin 처리구에서 액아증식이 가장 활발히 이루어져 평균 8.2개의 본엽이 분화되었고 몇 개의 절편에서는 18-20개의 본엽을 가진 식물체로 생육되었으며 5-8.5cm의 크기로 신장되었다. 이와 같이 분화된 shoot의 엽병기부에서 계속적인 액아가 증식되면서 배양 90일 후에는 1개의 생장점으로부터 다수의 多芽體로 증식되어 3-5개의 分割苗를 얻을 수 있었다. Shoot로부터 뿌리형성은 BA, kinetin 모두 1.0 mg/L 이상의 처리구에서는 발생되지 않았고 0.2 mg/L에서만 관찰되었는데 몇개의 뿌리만 발생되었을 뿐 생육이 진전되지는 않아 BA와 kinetin 단용처리의 경우 완전한 식물체를 분화시킬 수는 없었다.

표 2-18. 생장점배양에서 BA와 kinetin의 단용처리 효과

(배양 90일 후)

| 생장조절제(mg/L) | | 치상수 | Shoot 분화율 | 뿌리 형성률 | 다아체 분화율 | 분화된 본엽수 |
|-------------|---------|-----|--------------|-----------|------------|------------|
| BA | Kinetin | | | | | |
| 0 | | 12 | 12(100) | 6(50.0) | 5(41.7) | 1.6 |
| 0.2 | | 12 | 12(100) | 6(50.0) | 10(83.3) | 6.3 |
| 1.0 | | 12 | 12(100) | 0 | 11(91.7) | 7.7 |
| 2.0 | | 12 | 12(100) | 0 | 12(100) | 4.9 |
| | 0.2 | 12 | 12(100) | 9(75.0) | 12(100) | 5.5 |
| | 1.0 | 12 | 12(100) | 0 | 11(91.7) | 6.8 |
| | 2.0 | 12 | 12(100) | 0 | 12(100) | 8.2 |

() : %

나. Cytokinin류와 0.1 mg/L IAA 혼용처리 효과

BA 및 kinetin을 IAA와 혼용처리한 결과 (표 2-19), cytokinin 단용처리에 서 캘러스 유도가 전혀 없었던 것에 비해 IAA가 혼용처리됨에 따라 배양 10일 후부터 전처리구에서 절단면으로부터 캘러스가 발생되면서 배양당시 부착된 엽 원기가 계속 신장되어 腋芽가 분화된 후 shoot증식이 이루어졌다.

표 2-19. 생장점배양에서 BA 및 kinetin과 IAA 혼용처리 효과
(배양 90일 후)

| 생장조절제(mg/L) | | | 치상수 | 캘러스 형성률 | Shoot 분화율 | 뿌리 형성률 | 다아체 분화율 | 분화된 본엽수 |
|-------------|---------|-----|-----|------------|--------------|-----------|------------|------------|
| BA | Kinetin | IAA | | | | | | |
| 0.2 | | 0.2 | 12 | 9(75.0) | 11(91.7) | 8(66.7) | 10(83.3) | 3.8 |
| 0.2 | | 1.0 | 12 | 10(83.3) | 11(91.7) | 9(75.0) | 11(91.7) | 1.8 |
| 0.2 | | 2.0 | 12 | 12(100) | 11(91.7) | 10(83.3) | 2(16.7) | 1.5 |
| 1.0 | | 0.2 | 12 | 9(75.0) | 12(100) | 0 | 10(83.3) | 2.4 |
| 1.0 | | 1.0 | 12 | 11(91.7) | 12(100) | 0 | 3(25.0) | 1.9 |
| 1.0 | | 2.0 | 12 | 12(100) | 11(91.7) | 3(25.0) | 10(83.3) | 4.0 |
| 2.0 | | 0.2 | 12 | 7(58.3) | 11(91.7) | 0 | 4(33.3) | 2.5 |
| 2.0 | | 1.0 | 12 | 12(100) | 12(100) | 0 | 4(33.3) | 3.2 |
| 2.0 | | 2.0 | 12 | 12(100) | 11(91.7) | 0 | 4(33.3) | 1.7 |
| | 0.2 | 0.2 | 12 | 8(66.7) | 11(91.7) | 11(91.7) | 6(50.0) | 2.5 |
| | 0.2 | 1.0 | 12 | 10(83.3) | 7(58.3) | 8(66.7) | 7(58.3) | 1.8 |
| | 0.2 | 2.0 | 12 | 10(83.3) | 9(75.0) | 10(83.3) | 4(33.3) | 1.0 |
| | 1.0 | 0.2 | 12 | 10(83.3) | 12(100) | 0 | 8(66.7) | 5.1 |
| | 1.0 | 1.0 | 12 | 12(100) | 10(83.3) | 9(75.0) | 7(58.3) | 1.5 |
| | 1.0 | 2.0 | 12 | 12(100) | 10(83.3) | 11(91.7) | 0 | 1.0 |
| | 2.0 | 0.2 | 12 | 9(75.0) | 12(100) | 0 | 9(75.0) | 5.2 |
| | 2.0 | 1.0 | 12 | 10(83.3) | 12(100) | 8(66.7) | 11(91.7) | 4.8 |
| | 2.0 | 2.0 | 12 | 12(100) | 8(66.7) | 9(75.0) | 7(58.3) | 1.0 |

() : %

또한 발생한 캘러스는 어느정도 증식된 후 더 이상 증식없이 굳어진 상태였는데 암배양에서 연황색의 캘러스를 명배양으로 옮겼을 때 녹색의 단단한 상태로 머물렀고 대부분 식물에서 生長點培養을 하면 캘러스 유도배지에서 캘러스가 발생한 후 캘러스로부터 shoot cluster가 분화되는 것이 일반적인데 고추냉이의 경우 캘러스로부터 shoot분화는 관찰되지 않았다.

배양 40일 후에는 분화된 shoot로부터 뿌리도 발생하였으나 cytokinin의 단용처리구에 비해 shoot의 증식이 약간 저조하였으며 성장조절제의 종류와 농도 및 배양절편의 생리상태에 따라 배양당시 부착된 엽원기가 葉柄없이 廣葉化된 채로 더 이상의 shoot가 증식되지 않은 경우도 많았으며 일부 분화된 shoot가 배양기일이 경과되면서 투명화현상을 보이기도 하였다.

배양 90일 후 多芽體로 분화된 shoot로부터 3-5개의 분할묘를 얻을 수 있었는데 0.2, 1.0 mg/L BA와 IAA 혼용처리구에서 분화된 shoot로부터 액아가 비교적 많이 발생되어 양호하였고 kinetin은 2.0 mg/L에서 약간 좋은 결과였으나 농도에 큰 차이를 보이지는 않았다. 절편당 다아체의 증식율이 높은 경우에도 shoot의 생장이 느려 본엽은 적게 분화되는 경우도 있어 다아체의 수와 본엽의 수가 비례하지는 않았으며 cytokinin 단용처리에 비해 shoot 생장은 훨씬 저조하였다.

다. Shoot로부터 뿌리 및 多芽體 분화

발생된 多芽體를 액아를 붙여 분할한 후 뿌리분화 및 증식을 목적으로 계대 배양한 결과 (표 2-20) 배양 14일 후부터 뿌리가 형성되기 시작하였는데 배양 30일까지 성장조절제의 종류와 농도에 따라 큰 차이를 보였으며 배양 30일 이후 shoot로부터 새롭게 발생하는 뿌리는 관찰되지 않고 이미 발생한 뿌리가 생육되는 정도에만 차이를 보였다.

배양 60일후 조사한 결과, IAA의 경우 2.0 mg/L에서 61.1%로 가장 양호하

였으나 IBA의 경우 0.01 mg/L 처리구에서 100%의 뿌리형성률을 보여 가장 효과적이었으며 뿌리가 분화된 후 액아증식은 더욱 활발히 이루어져 1개의 분할묘로부터 다시 2-3개 정도의 多芽體를 증식시킬 수가 있었다.

Cytokinin류의 단용 및 IAA와 혼용처리의 경우 발생된 shoot가 배양 90일이 경과되면서 일부가 투명화현상을 보였는데 본 실험 결과 투명화현상은 없었으며 분화된 잎의 모양은 모두 정상적으로 생육되어 완전한 식물체로 재분화시킬 수 있었다.

표 2-20. Shoot로부터 뿌리 및 다아체분화에 미치는 IAA와 IBA의 효과
(배양 60일 후)

| 생장조절제(mg/L) | | Shoot 수 | 뿌리형성률 | 다아체분화율 |
|-------------|------|---------|----------|----------|
| IAA | IBA | | | |
| 0 | | 12 | 2(16.7) | 0 |
| 0.01 | | 18 | 4(22.2) | 4(22.2) |
| 0.1 | | 20 | 6(30.0) | 12(60.0) |
| 1.0 | | 20 | 6(30.0) | 15(75.0) |
| 2.0 | | 18 | 11(61.1) | 14(77.8) |
| | 0.01 | 18 | 18(100) | 10(55.6) |
| | 0.1 | 17 | 13(76.5) | 4(23.5) |
| | 1.0 | 18 | 3(16.7) | 13(72.2) |
| | 2.0 | 17 | 3(17.6) | 15(88.2) |

() : %

고추냉이의 경우 대량증식을 목적으로 경정배양에서 얻어진 幼植物體를 頂芽와 뿌리를 절취하고 남은 부분을 증식배지에 이식하여 유식물의 엽병기부에 있는 액아를 신장시킨 후 그것을 분할, 발근시키는 증식체계가 행해지고 있다

(大塚, 1988; 山田, 1992). 이때 사용되는 배지와 성장조절제의 종류와 농도에 따라 shoot분화, 캘러스 형성 및 뿌리발생이 촉진 또는 억제되는데 細木 等 (1986)은 1-2 mm 크기로 절취된 莖頂組織을 MS배지의 주요 염류와 鐵류, RN 배지의 미량요소와 비타민을 첨가한 배지에 莖頂의 생장과 분지촉진을 위하여 0.1 ppm BA를 첨가한 배지에 치상하여 배양 후 111일째에 3분할의 크기로 증식되었고 분할된 개체는 다시 35일째에 3-4분할되는 크기로 성장한다고 하였다.

또한 일본 静岡農試(1984)에서는 경정조직을 이용하여 고추냉이에 발생하는 virus, 각종 병해가 감염되지 않은 식물체를 육성하고 대량증식을 목적으로 경정배양의 배지조건에 대하여 실험을 실시했던 바 엽원기 2-3매를 포함한 莖頂組織을 0.5mm의 크기로 잘라 MS배지와 MS배지에 2.0 mg/L IAA를 첨가하여 배양했을 때 60-80%의 경엽분화개체를 얻었다고 하였고 특히 IAA가 첨가된 구에서는 發根이 빠르고 생육도 양호하여 치상 후 3개월에는 이식가능한 개체를 얻었다고 하였다. 이것은 본 실험에서 cytokinin류에 IAA를 혼용첨가했을 경우 분화된 shoot로부터 뿌리형성은 비교적 양호하였던 것과 같은 결과였다.

이와 같이 莖頂培養에 이용되는 성장조절제는 경엽분화를 위해서 cytokinin 단용배지를 사용하거나 cytokinin에 auxin을 첨가하여 뿌리분화를 촉진하는데 MS배지에 0.2 mg/L IAA와 1-2 mg/L BA를 혼용처리하여 배양한 후 3개월째에 4-5분의 액아신장을 촉진시킨 후 이들 莖葉을 분할하여 같은 배지에 계속 계대배양하면 이후부터는 2개월째에 약 5배정도로 증식되어 이론적으로 연간 약 3,000本の 莖葉을 증식시킬 수가 있다고 하였는데 이때 뿌리형성은 현저히 낮았고 1.0 mg/L 이상 농도의 BA를 첨가한 경우에는 전혀 뿌리가 발생하지 않았다고 하였다 (静岡農試, 1985). 본 실험결과 BA와 kinetin을 단용처리한 경우 shoot 분화는 모든 처리구에서 거의 100%였으나 뿌리 형성은 BA, kinetin 모두 0.2 mg/L 처리구에서만 발생되었고 1.0, 2.0 mg/L 처리구에서는

전혀 발생되지 않아 같은 결과를 보였는데 shoot multiplication에는 cytokinin 단용배지가 적합하였으나 캘러스 증식 및 캘러스로부터 shoot 분화는 이루어지지 않았는데 이전에 수행된 바 있는 실험에서 성숙자엽, 葉柄, 葉身 등을 배양 재료로 하여 일부 캘러스유도는 관찰되었지만 캘러스로부터 shoot분화는 전혀 관찰되지 않았던 점에서 볼 때 고추냉이의 캘러스 증식에 관한 계속적인 실험이 수행될 필요가 있다고 본다.

제 4 절 결 론

본 실험은 고추냉이의 器內 급속 다량증식체계를 확립하기 위한 기초자료를 얻기 위하여 器內에서의 종자발아, 子葉, 下胚軸, 未熟胚 및 성장점조직을 배양하여 절편부위별로 성장조절제의 종류와 농도에 따른 캘러스, 體細胞胚 발생, shoot분화 및 식물체재분화에 적합한 器內 배양조건을 구명하였다.

1. 종자의 器內 발아

種皮를 제거하지 않은 미숙종자와 성숙종자 및 종피를 제거한 미숙종자를 배양한 후 발아율을 조사한 결과, 종피를 제거하지 않은 경우 자엽기 상태의 미숙종자에서 46.9%의 발아율을 나타내 가장 양호하였다. 종피를 제거한 후 미숙배를 꺼내 배양한 경우 어뢰형 미숙배보다 자엽기 미숙배의 발아율이 훨씬 양호하였다. 그러나 습윤저장된 상태의 성숙종자는 전혀 발아하지 않았다.

2. 자엽 및 하배축배양

종자를 파종하여 발아된 幼苗의 子葉과 下胚軸을 배양한 결과, 성장조절제의 종류에 따라 캘러스 및 뿌리만 발생되었으며 발생한 캘러스는 배양기일이 경과되면서 더 이상의 증식을 보이지 않았고 캘러스로부터 shoot분화는 전혀

없었던 점에서 배양조직으로는 부적합하였다.

3. 미숙배배양

가. 캘러스 및 체세포배발생은 未熟胚의 하배축이나 幼根에서는 전혀 관찰되지 않았으며 배양 15일 후에 자엽조직에서 직접 발생하거나 캘러스가 유도된 후 캘러스로부터 體細胞胚가 형성되었다.

나. 어뢰형 미숙배배양에서 자엽조직에서 직접 체세포배 발생은 0.2 mg/L IAA처리구의 경우 50%였으며 2.0 mg/L IAA와 1.0 mg/L BA 혼용처리구의 경우 캘러스로부터 胚發生이 91.7%로 가장 양호하였다.

다. 초기자엽기 미숙배의 경우 개화 후 36-45일 경과된 미숙배 배양에서 직접 배발생은 2.0 mg/L IAA에서 83.3%였으며 성장조절제 무처리구는 87.5%를 보였다.

라. Sucrose가 첨가되지 않은 경우 배발생은 전혀 관찰되지 않았는데 2% 첨가된 대조구에서 배발생이 대단히 양호하였던 것과 비교하면 sucrose는 胚發生에 필수적인 것으로 나타났다.

마. 배양온도의 효과는 20℃의 배양조건에서 발생된 胚의 생육이 왕성하였다.

바. 미숙배의 자엽에 분화된 體細胞胚塊는 2.0 mg/L kinetin 처리구에서 체세포배가 자엽기 상태로 분화되어 정상적인 발아에 가장 효과적이었다.

사. 분리된 자엽기의 체세포배는 kinetin과 BA 처리구에서 shoot 분화가 비교적 양호하였고 배양 30일 후에는 1개의 체세포배로부터 1-3개의 多芽體로 성장되었으며 2.0 mg/L zeatin의 경우 분화된 shoot에서 幼根으로부터 뿌리가 가장 많이 발생되었다.

아. Shoot로부터 뿌리분화는 0.01 mg/L IAA 처리구에서 뿌리분화율 및 생장이 왕성하였으며 발생된 체세포배를 완전한 식물체로 생육시키기 위해서는 뿌리분화 배지에서 생육시켜 多芽體를 유도하는 것이 효과적이었다.

4. 생장점배양

가. 생장점조직을 배양한 결과 BA와 kinetin 단용처리구의 경우 캘러스는 전혀 발생되지 않았고 배양 5일 후부터 腋芽가 신장하기 시작하여 배양 90일 후에는 shoot가 증식되어 1개의 생장점으로부터 3-5개의 多芽體가 분화되었다.

나. BA 및 kinetin을 IAA와 혼용처리한 결과 모든 처리구에서 절단면으로부터 캘러스가 유도되면서 배양당시 부착된 엽원기도 신장되어 액아가 발생된 후 shoot 증식이 이루어졌으며 유도된 캘러스는 증식없이 녹색의 단단한 상태로 머물렀다.

다. 발생한 多芽體를 액아를 붙여 분할한 후 계대배양한 결과 배양 2주 후부터 뿌리가 형성되기 시작하였고 0.01 mg/L IBA의 처리구가 가장 효과적이었다.

라. 뿌리형성 후 shoot의 생육은 훨씬 왕성하여 배양 60일 후에는 다시 1개의 shoot로부터 2-3개의 多芽體를 분할할 수 있어 다량 급속증식에 효과가 뚜렷하였다.

제 5 절 참고문헌

1. Eun JS, Ko JA, Kim YS, Kim MJ (1995) Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature zygotic embryo culture of *Wasabia japonica* Matsum. Kor J. Plant Tissue Cult 22(4):207-211
2. 春木和久, 山田員人, 松本敏一 (1988) 組織培養によるワサビの不定胚形成と植物體再生. 近畿中國農研 75:66-70
3. 春木和久, 山田員人 (1993) 不定胚培養系によるワサビのクローン増殖. 島根農試研報. 27:19-40

4. 細木高志, 角田和美, 浜田守彦, 瀬尾光廣 (1986) ワサビの組織培養による増殖. 農業および園藝 61(8):995-996.
5. 細木高志, 白石一剛, 岩井元康, 稻葉久仁雄 (1988) ワサビの組織培養苗の増殖 - 増殖能力の維持と耐暑性 系統の選抜 -. 農業および園藝 63(5):653-654
6. 伊奈健宏 (1995) ワサビの育種. 農業および園藝 70(1):47-49.
7. 松本 理, 山本雄慈 (1987) ワサビの花莖及び根莖組織の培養による試験管内大量増殖. 近畿中國農研 73:22-27
8. 静岡農試資料 第 1657号 (1984) 試験研究成果の概要集(昭 58年度後期):5
9. 静岡農試資料 第 1687号 (1985) 試験研究成果の概要集(昭 59年度後期):112
10. Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15:473-479
11. 大塚壽夫 (1988) ワサビの増殖法. 農業および園藝 63(1):185-189
12. 末松信彦, 本間義之, 戸田幹彦 (1987) ワサビ子葉からの不定胚形成. 日本園藝學會研究發表要旨 昭 63 秋季 p.740
13. 山田貞人, 春木和久 (1992) ワサビの莖頂培養による大量増殖法. 島根農試研報 26:85-95.

제 3 장 고추냉이에 발생하는 주요 병해

제 1 절 서 론

고추냉이(*Wasabia japonica* Matsum.)는 십자화과에 속하는 숙근성 다년생 초본식물로서 sinigrin, allyl isothiocyanate, buthyl isothiocyanate, vitamin C 등을 함유하고 있기 때문에 식욕촉진, 부패방지, 살균효과가 우수할 뿐만 아니라 해독, 발한, 이뇨 및 청혈작용이 있어 일본, 대만 및 한국에서 주로 재배되고 있고 기타 이스라엘, 뉴질랜드, 브라질, 태국 등지에서도 식품 및 가공원료로 사용되고 있는 고급 향신료 작물이다 (Catherine 등, 1993; 邱, 1974). 고추냉이의 생태적 특성은 일반작물과 다른 특이한 환경이 요구되는데, 재배환경조건은 서늘한 온도와 강한 광선을 받지않는 반음지에서 주로 재배되며, 水濼과 水量的의 연중 변화가 적은 지역에서만 물고추냉이의 재배가 가능하고 생식용 根莖의 생산을 목적으로 재배할 경우 18개월 이상의 생육기간이 요구된다.

고추냉이의 주산지인 일본의 靜岡縣, 長野縣, 島根縣, 鳥取縣, 東京都, 山利縣으로 전국 재배면적이 600 ha이며, 우리나라의 재배역사는 1920년경 일본인에 의하여 울릉도에서 재배가 시작되었으나 극히 적은 면적에서 소규모로 재배되고 있다. 우리나라의 고추냉이 재배는 재배환경의 조건이 다르고 생리생태, 재배기술 및 병해에 관한 연구가 미흡하여 재배상 많은 어려움이 있다. 최근 일본과 대만에서의 고추냉이 재배는 고산의 수목 남벌에 의한 산림환경 파괴의 2차적인 피해에 대한 정부의 규제, 특정지역의 재배 선호에 의한 연작피해 및 사회·경제적 변화로 인하여 재배면적이 감소되어 감에 따라 재배 환경조건이 유사한 우리나라에서도 재배적지가 모색되고 있던 중 전북 무주지방의 일부 농가에서 소규모로 재배되고 있다. 국민소득의 증가와 식생활의 변화로 인하

여 고추냉이의 국내 수요가 점차 증가되고 있어 그 수요를 충족하기 위하여 고추냉이 재배면적이 증가추세에 있으나 품질 및 수량은 일본에 비하여 상당히 떨어지기 때문에 수요량의 대부분을 고가에 수입하고 있는 실정이다. 이러한 원인은 고추냉이의 작부방식 및 재배기술의 부족도 있지만 적합한 환경조건과 병해에 대한 연구가 미흡한 것도 하나의 원인으로 생각된다.

고추냉이에 발생되고 있는 병해는 *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae*에 의한 연부병 (Goto와 Matsumoto, 1987)과 *Phoma wasabiae*에 의한 묵입병 (橫木, 1936)으로 피해를 가장 많이 받고 있으며, 기타 바이러스병 (小室, 1973), 윤부병 (松本 等, 1985), 노균병 (日本植物病理學會, 1980), 균핵병 (日本植物病理學會, 1980) 및 흰가루병 (奧 等, 1993) 등이 보고되고 있으나 우리 나라에서 이들 병해에 대한 연구는 아직까지 보고된 바가 없다.

본 연구는 앞으로 국내의 재배면적이 확대될 전망을 예지하고 우리나라에 발생되고 있는 병해를 수집하여 정확한 병원체를 분리하고 병원체의 형태적 특징과 병원성 및 병해의 종류를 밝히고자 분리된 곰팡이, 박테리아, 바이러스 등의 병원균을 동정하였다. 또한 계절적 병해의 발생소장을 조사하여 발생시기, 발병환경등을 구명하고자 온도 및 광량이 병해의 발생에 미치는 영향을 연구 조사하였다.

제 2 절 재 료 및 방 법

본 연구는 전북지방에서 재배되고 있는 고추냉이 포장을 대상으로 자연조건에서 발생되고 있는 병해조사 포장과 실험목적에 따라 설계된 실험포장을 중심으로 실험을 실시하였다.

1. 공시식물 재배

우리 나라에서 주로 많이 재배되고 있는 고추냉이 (*Wasabia japonica* Matsum. var. *Dalma*)를 공시식물로 사용하였다. 이병주 채집과 병해발생 조사는 일반 관행 재배포장에서 실시하였다. 종자는 휴면타파를 위하여 종피를 완전히 제거하고, 이를 다시 멸균증류수에 6시간 동안 침지한 다음 페트리디쉬에 습윤된 여과지를 깔고 종자를 치상하였으며, 발아온도는 18℃로 조절하여 묘상에 파종하였다. 모든 고추냉이 재배는 밭재배로 일반 관행대로 재배관리하였다. 실험에 사용된 공시식물은 1994년 9월에 파종한 묘를 1995년 3월에 본 포장에 이식하였다.

2. 병원균 분리 및 동정

병원균 분리는 박테리아 병징과 곰팡이 병징을 육안적으로 대별하여 구분하였으며, 곰팡이의 분리 및 동정은 병징이 뚜렷한 이병주를 1시간 동안 수돗물에 수세 한 후 1% 차아염소산소오다액에 10분간 침지소독 후 멸균수로 수세하고 표면에 있는 습기를 여과지로 흡습, 제거하였다. 조직을 2×2 mm의 크기로 무균적으로 절편하여 streptomycin 100 ppm이 첨가된 1.5% water agar에 치상한 후 생장 균사의 선단을 취하여 PDA배지에 옮겨 순수배양하면서 균의 형태와 생리적 특성 및 병원성 등을 참고하여 분리, 동정하였다.

박테리아의 분리, 동정은 이병된 고추냉이의 根莖 표면을 70% 알콜로 표면 소독한 후 병이 진전되고 있는 병환부와 건전부위를 3×3×1 mm의 크기로 절취하여 마쇄한 즙액을 루프를 이용하여 YP agar배지에 도말하여 25℃에 배양하면서 성장한 단 코로니를 Schaad (1980)의 방법에 따라 NGA, YDC, KB배지를 이용하여 각 배지에서 성장하는 코로니의 특성에 따라 屬을 구분하고, 각 屬이하의 분류는 병원성, 형태적 및 생리적인 특징에 따라 동정하였다. 편모염색은 Shirata와 Goto (1981)의 방법을 참고하였다.

3. 병원성

목입병의 병원성 검정은 잎과 根莖을 대상으로 근경과 잎을 1% 차아염소산 소오다액에 10분간 표면 소독 후 증류수로 수세한 다음 병원성 검정 실험재료로 각각 사용하였다. 접종원은 목입병원균을 PDA배지 (9cm 페트리디쉬)에서 10일간 배양한 후 균총에 10 ml의 증류수를 첨가하여 희석한 포자액을 사용하였다. 접종후 식물체 관리는 20℃의 온도에서 포화습도상태로 24시간 보관한 후 노지에서 재배하면서 균접종 15일 후에 병원성을 조사하였다. 根莖의 병원성 검정은 0.3 cm 굵기의 근경을 절단하여 접종액에 침지접종법으로, 잎은 접종액을 잎 표면에 떨어뜨린 후 곤충핀을 이용한 상이접종법으로 병원성을 조사하였다. 대조구로는 증류수를 사용하였다.

연부병의 병원성 검정은 Goto와 Matsumoto (1986 a, b)의 방법을 참고하여, 분리균주를 yeast extract peptone 액체배지에서 24시간 회전 배양한 후 세포수를 1 ml에 10^6 세포로 조절하여 접종원으로 사용하였다. 고추냉이 근경을 침지접종법과 근경 절편의 표면에 상이접종하는 방법으로 병원성을 검정하였으며 접종한 후의 관리는 목입병과 같은 조건으로 하였다.

4. 이병율

전북지방에서 재배되고 있는 발재배 고추냉이에서의 주요 병해 이병율을 1995년 4월부터 1995년 11월까지 조사하였다.

이병율 조사장소는 평야지인 전주와 익산, 고냉지인 무주군 설천면 (해발 500 M)과 무주군 무풍면 (해발 700 M)을 중심으로 조사하였다. 조사대상 병해는 지상부의 잎, 엽병에 발생하는 목입병, 바이러스병, 노균병, 흰가루병, 묘입고병을 대상으로 하였고, 지하부는 연부병, 균핵병, 윤부병, 근류병 등을 대상으로 조사하였다. 이병율은 전체 調査株數 대비 罹病株數로 산출하였다. 일반적으로 1개 장소당 3반복 50주씩을 조사하였다.

5. 병해 발생 생태

고추냉이에 발생하는 주요 병해와 발생생태에 미치는 온도와 광요인이 병해에 미치는 영향을 조사하였다. 온도처리 실험은 10, 17 및 23°C 처리구로 구분한 다음 광량을 0.34×10^3 microensterins M^2/sec 로 조절하여 생육 전기간을 생장상에서 재배관리 하였으며, 차광처리 실험은 판매용 흑색차광막을 사용하여 25, 50 및 75% 차광수준으로 구분하였고 실외에서 재배 관리한 다음 9월 15일 고추냉이의 생육상황과 주요 병해의 발생을 조사하였다. 시험구배치는 완전임의배치 3반복으로 하였으며 조사항목은 초장, 엽병·지하경의 길이와 무게, 식물체의 전체 생체중 등을 조사하였다. 온도와 光量이 고추냉이에 발병하는 주요 병해에 미치는 영향을 구명하기 위하여 병원성 검정에서 표시한 바와 같이 잎과 근경에 접종하여 묵입병과 연부병의 발병을 조사하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 병원균 분리

고추냉이 根莖에서 부패병징을 나타내는 罹病株를 수집하여 주요 박테리아를 분리한 결과는 표 3-1과 같다. 전체적으로 *Erwinia*속 54.6%, *Pseudomonas*속 17.2%, *Xanthomonas*속 21.1%, *Corynebacterium*속 6.8%의 비율로 분리되었으며 그중 연부병의 병원체인 *Erwinia*속이 54.6%로 가장 높은 밀도를 나타냈다. 계절적으로는 고온기인 8월에 *Erwinia*속이 전체 균중 70.3%의 높은 밀도를 보였고 *Pseudomonas*속은 고온기인 8월보다는 6월과 10월에 다소 높은 밀도를 보였다. 기타 부생성이 높은 *Xanthomonas*속은 21.1%, *Corynebacterium*속은 6.8%의 밀도를 나타냈다. Goto와 Matsumoto (1986 a,

b)는 고추냉이의 근경에 발생하는 병원균의 조사에서 계절에 따라 분리되는 병원균의 종류와 밀도에서 차이가 있음을 보고하고 *Erwinia*속은 주로 고온기인 여름철에 많이 분리되었고 *Pseudomonas*속은 기온이 낮은 겨울철에 높은 밀도로 분리되었다고 하였다. 또한 근경에 부패병징을 나타내는 罹病株는 부생성 박테리아와 묵입병의 병원균인 *Phoma wasabiae*도 혼합되어 많이 분리되었다고 하였다. 이와 같은 보고는 본 실험에서 나타난 결과에서도 같은 경향으로, 여름철에는 *Erwinia*속이 많이 분리되었고 겨울철에는 *Pseudomonas*속이 많이 분리된 결과와 같으며 기타 *Xanthomonas*속과 혼합 분리되는 경향도 일치하였다. 본 실험 결과와 타 보고를 종합하여 볼 때 고추냉이의 근경에 부패병징을 나타내는 주요 요인은 *Erwinia*屬이며 기타 *Pseudomonas*屬도 많은 관련이 있는 것으로 생각된다.

표 3-1. 고추냉이 근경에서 주요 박테리아의 분리

| 屬 | 4월 | 6월 | 8월 | 10월 | 계 |
|------------------------|----------|----------|----------|----------|-----------|
| <i>Erwinia</i> | 22(50.0) | 23(46.0) | 38(70.3) | 28(50.9) | 111(54.6) |
| <i>Pseudomonas</i> | 5(11.3) | 14(28.0) | 4(7.4) | 12(21.8) | 35(17.2) |
| <i>Xanthomonas</i> | 12(27.2) | 8(16.0) | 10(18.5) | 13(23.6) | 43(21.1) |
| <i>Corynebacterium</i> | 5(11.3) | 5(10.0) | 2(3.7) | 2(3.6) | 14(6.8) |
| 계 | 44 | 50 | 54 | 55 | 203 |

() : %

2. 병원균의 분류 및 동정

우리 나라 고추냉이 재배포장에서 높은 발병율과 피해가 많은 병해로, 연부

병은 *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae*, 목입병은 *Phoma wasabiae*, 모잘록 병은 *Rhizoctonia solani*로 각각 분류 동정되었다.

가. 목입병

墨入病은 잎, 엽병, 근경에 많은 피해를 주며, 고추냉이의 수량에는 큰 영향을 미치지 않으나 고추냉이의 상품적 가치를 떨어뜨리는 병해로 지상부와 지하부에서 제일 문제가 되는 병의 하나이다.

① 병징 : 잎, 엽병 및 근경에 병징을 나타내며 잎에는 처음에 암갈색의 작은 반점을 형성하였으며 병이 진전되면 1 cm 정도의 원형 또는 타원형의 병반을 형성하고, 오래되면 병반에 흑색 소립 병자각을 형성하였다. 또 오래된 잎의 병반은 중앙부분이 파괴되어 구멍이 생기는 것도 있으며 여러 개의 병반이 융합하여 큰 병반을 만드는 것도 있었다. 잎에 많은 병반이 형성되면 잎이 고사되기도 하는데 일반적으로 어린 잎보다는 오래된 잎에 병반이 형성되는 것이 많았다 (사진 3-1a). 엽병에는 암갈색의 작은 반점이 형성되어 점차 위쪽과 아래쪽으로 확대되면서 길쭉한 병반을 형성하였는데 엽병에 병반이 형성되면 잎과 엽병이 약해지고 오래되면 대부분 병반 부위가 구불어져 전체적으로 잎과 엽병이 고사되었다. 이러한 경우 엽병의 유관속에 형성된 흑색의 병징은 근경의 유관속까지 연결되는 것이 특징이었다 (사진 3-1b). 근경에는 처음에 근경의 표피나 상처 부위에 흑색의 반점을 형성하였고 병이 진전되면 병반이 서로 연결되어 큰 병반을 형성하기도 하였다. 표피에 발병된 병반중 병의 진전이 중지된 경우에는 흑색의 병반이 유관속까지 연결되지 않고 흑색의 병반이 근경의 표면에 독립적으로 형성되었다 (사진 3-1c). 심하게 발병된 것은 분주묘의 유관속까지 병징이 나타나는 것도 있었으며罹病된 근경을 횡단하여 절단하여 보면 유관속에 흑색의 윤문상 병징을 형성하였다. 병이 많이 진전되지 않은 경우 외견상으로는 근경이 건전한 것 같지만 근경을 잘라보면 흑색으로 변하

여 상품적 가치를 떨어뜨려 피해를 보였다 (사진 3-1d). 우리 나라 고추냉이 재배지에 전국적으로 발병되고 있는 墨入病은 이와같은 피해증상으로 인하여 고추냉이의 생육에 영향을 주기도 하지만 묵입병의 발생으로 인하여 근경이 흑변하여 근경이 상품적 가치를 떨어뜨리고 가격을 저하시키는 주된 원인이 된다.

② 병원균의 형태 : 병반이 오래되면 많은 수의 흑색 소립형태의 병자각을 형성하였다. 병자각은 주로 잎과 엽병에 형성하며 처음에는 암갈색이나 오래 되면 흑색으로 변하였다. 병자각은 구형 또는 편구형으로 윗부분에 구멍이 있고 여러 개 (3-4)의 층으로 된 각벽의 구조를 하고 있으며 60-180 x 50-140 μm 의 크기였다 (사진 3-1f). 병포자는 무색으로 2.5-6.0 x 1.2-2.5 μm 의 크기의 단타원형이었으며 하나의 단세포에는 보통 2개의 둥근 내용물이 있는 것이 특징이었다. 세포의 어느 한쪽에서 발아관이 나타나나 중앙에서 발아하기도 하였고 병포자경은 무색의 원통형이며 선단에 병포자를 형성하였다 (사진 3-1e). 또 균사의 일부분은 후막포자를 형성하는 것도 있었다. 양배추 뿌리썩음병균인 *P. ligan*, *P. wasabiae*와 우리 나라의 고추냉이에서 분리한 병원균의 형태와 크기를 비교한 결과는 표 3-2와 같다. 병자각의 형태는 *P. ligan*, *P. wasabiae*

표 3-2. 묵입병균의 형태 및 크기

| 구 분 | 병 자 각 | | 병 포 자(μm) | |
|--------------------|---------|-----------------------|------------------------|------|
| | 형태 | 크기(μm) | 장경 | 단경 |
| <i>P. ligan</i> | 구형, 편구형 | 150-195 x 135-270 | 2.60 | 1.67 |
| <i>P. wasabiae</i> | 구형, 편구형 | 67.2-175 x 56.0-145 | 3.88 | 1.55 |
| 분리균 | 구형, 편구형 | 60.6-180.0 x 50.0-140 | 4.01 | 1.59 |

분리균주 모두 구형 내지 편구형으로 형태적 특징은 같았고 병자각의 크기는 *P. wasabiae*와 분리균주가 *P. ligan*보다 작았다. 병포자의 크기는 *P. ligan*이 병포자의 장경에서 다소 작았다.

③ 병원성 : 병원성 검정은 잎과 근경을 대상으로 하였다. 고추냉이 잎에 접종한 결과 고추냉이에서는 5일 후 접종부위가 흑색반점을 형성하였고 15일 후에는 병반이 1.5 cm 정도 확대되었다. 근경에서는 5일 후 접종부위가 흑변하였고 15일 후에는 유관속 부위가 1 cm 깊이로 확대되어 병반을 형성하였다. 그러나 대조구인 증류수 접종구에서는 전혀 이상을 발견할 수 없었다. 배추에서는 잎에 접종한 결과 5일 후 접종부위가 갈색으로 변하고 15일 후에는 침윤 상태로 되어 건전부위와 구별되었다. 근경에서는 접종 5일 후 접종부위가 갈변하였고 15일 후에는 1 cm 정도로 표면이 갈변되었다. 그러나 대조구인 증류수 접종구에서는 아무런 변화를 보이지 않았다. 이상의 결과를 볼 때 고추냉이에서 분리한 균주에서는 대조구인 증류수 접종구에 비하여 병원성이 강하였고 배추에서는 잎에 침윤상태와 근경의 표면이 갈변하였으나 고추냉이에서는 5일 후 접종부위가 흑색으로 변하였고 15일 후에는 점점 확대되어 1.5 cm의 병반이 형성되었다. 이와 같이 고추냉이와 배추에서 병원성에 차이가 있음을 알 수 있었다.

목입병에 대하여 横木 (1936) 등의 보고가 있는 이후, 잎, 엽병 및 근경에 병징을 형성하며 잎이나 엽병에 형성된 병은 유관속을 통하여 근경에 전달되어 고추냉이의 전체기관에 발병한다는 보고 (尾添 等 1963. 多久田 等, 1973)와 목입병의 병반 형성에 미치는 요인 (多久田와 廣尺, 1975) 및 기타 병원균의 생리적 특성, 병원성 등에 대하여도 보고된 바 있다. 본 병원균은 *Sphaerioidaceae*와 *Phoma*속에 속하는 불완전균류이다. *Phoma*속균 중 십자화과를 기주식물로 병원성을 일으키는 균은 *P. ligan*으로 양배추뿌리썩음병이

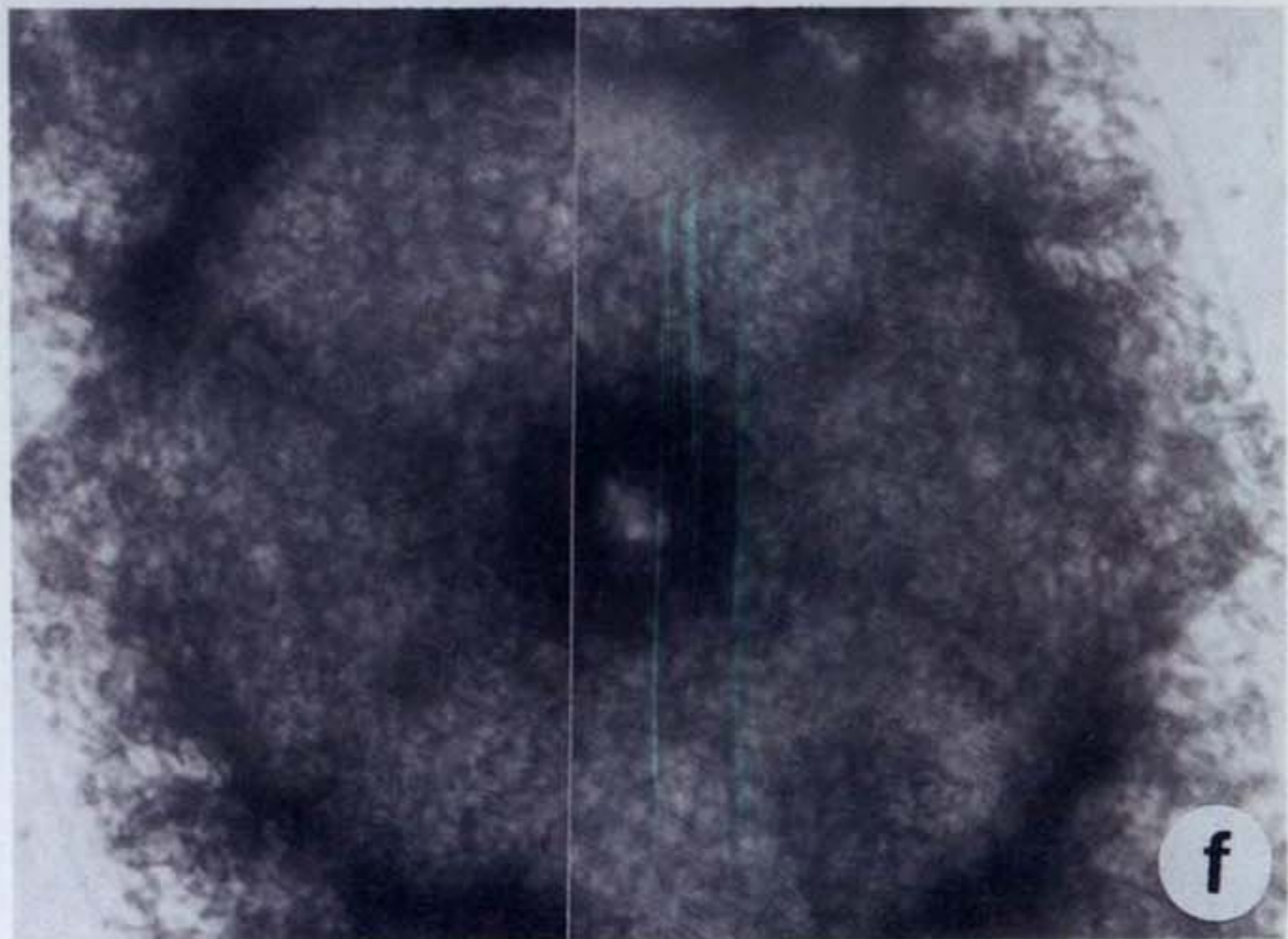
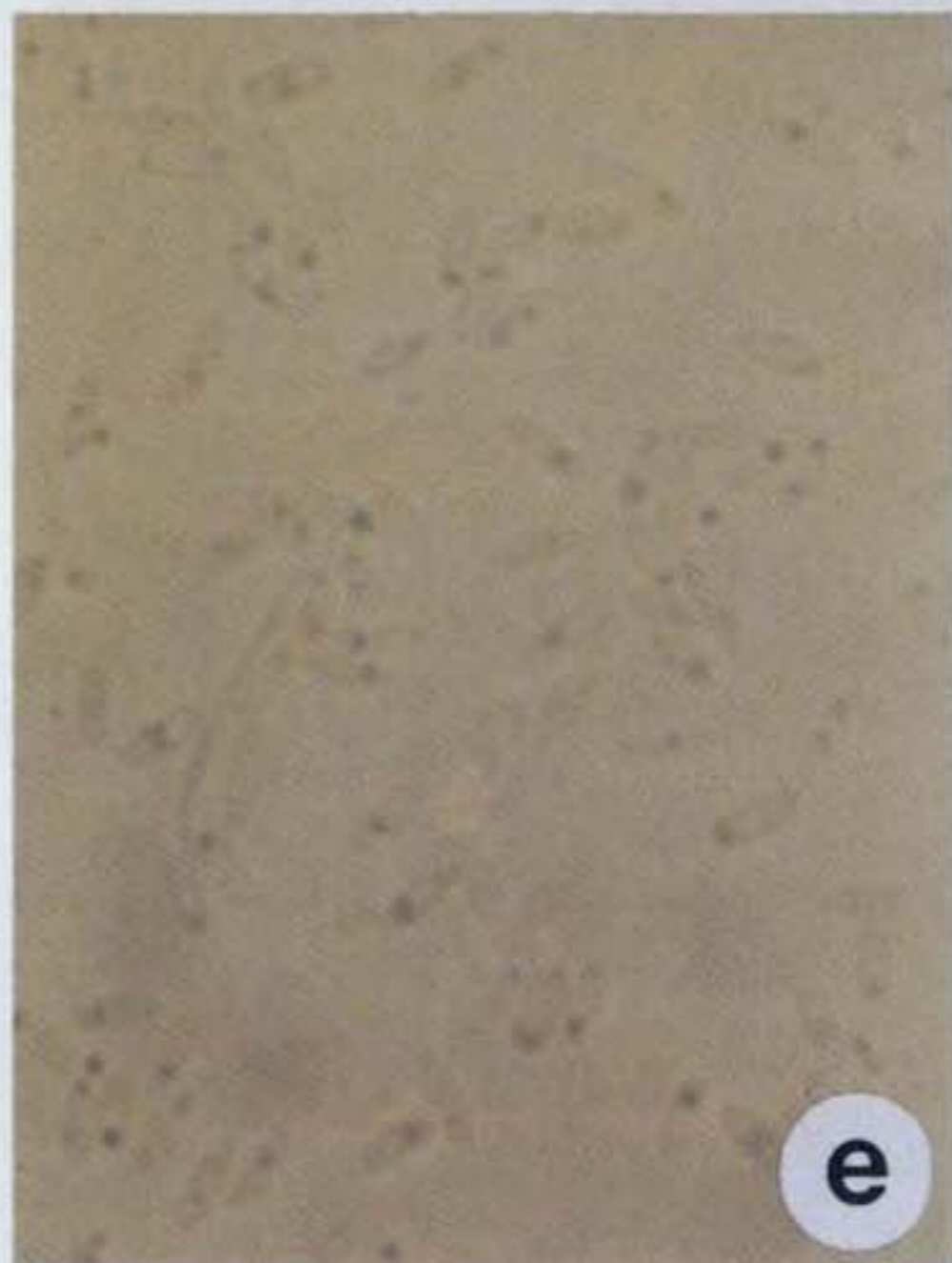


사진 3-1. a; 묵입병에 이병된 엽 병징, b; 묵입병에 이병된 엽병 병징, c; 묵입병에 이병된 근경의 유관속 및 흑점병징, d; 묵입병에 이병된 근경의 운문병징, e; 묵입병 병원균(*Phoma wasabiae*)의 병포자, f; 묵입병 병원균(*Phoma wasabiae*)의 병자각

여 백

우리 나라에는 한국식물보호학회 (1986)에서 보고된 바 있고 그의 *Phoma*속 균의 십자화과 기주로는 외국에서는 *Brassica campestris*, *B. oleracea*, *B. chinensis*, *B. napus var. napobrassica*, *B. napus var. oleifera*, *B. oleracea var. capitata*, *B. oleracea var. ramosa*, *B. rapa* 등이 기주식물로 보고 되었으나 (Sutton, 1980) 고추냉이에 발병한다는 보고는 없다. 横木 (1952)에 의하면 고추냉이에 기생하는 병원균을 *Phoma wasabiae*라고 하였는데 본 실험 결과에서 고추냉이에 발생하는 *Phoma*균을 분리하여 형태적 특징, 병원성을 조사한 결과와 横木 (1952) 및 기타 보고 등을 종합하여 볼 때 *Phoma wasabie*로 분류, 동정한다.

나. 연부병

우리 나라 고추냉이 재배시 연부병은 근경에 주로 발병되며 특히 온도가 20℃ 이상이 되고 물고추냉이의 경우 물이 부족하거나 폭풍우 등으로 인한 깨끗하지 못한 물이 공급될 때 많이 발생되며 그 피해가 고추냉이의 재배의 성패를 가름할 정도의 문제시 되는 병해이다.

① 병징 : 엽병에 수침상의 병반이 생겨 점차 확대됨과 동시에 녹색으로 변하면서 연부병으로 발전한다. 발병 초기의 수침상의 병반이 병의 진전에 따라 급속히 확대되어 연화되는 증상을 보였다. 또 부패한 근경은 악취를 내며, 병원균에 의해서 근경 전체가 썩는 것도 있으나 완전히 썩지 않고 남은 조직에서 새로운 잎이 나오는 것도 있었다. 근경의 조직이 썩으면서 아래 잎부터 황화 현상을 나타내고 말라 죽으며 결국 잎 전체가 죽었다 (사진 3-2a, 3-2b).

② 병원균 : KB배지에서 배양 24시간 후 무색의 작은 콜로니를 형성하며, 세포의 크기는 0.5~1.8 μm 이며, 2~15개의 주생편모가 있는 것이 특징이었다 (사진 3-2c). 병원균의 생리적 성질은 표 3-3과 같다. Gram음성반응을 나타냈고, 5%의 NaCl 생장, 35℃에서 생장 및 KCN배지에서 생장 등에서 음성반응

표 3-3. 연부병균의 특성

| 구 분 | 분리균주 (n=10) | <i>E. carotovora</i> subsp. <i>wasabiae</i> |
|--------------------|----------------|--|
| 편모 | 주생편모 | 주생편모 |
| 5% NaCl에서 성장 | +/- | - |
| 35C에서 성장 | - | - |
| KCN broth에서 성장 | +/- | - |
| Casein의 가수분해 | + | + |
| Gelatin의 용해 | + | + |
| PHB 축적 | - | - |
| Galactose에서 acid생성 | + | + |
| Lactose에서 acid생성 | + | + |
| Trehalose에서 acid생성 | + | + |
| Citrate에서 acid생성 | + | + |
| Maltose에서 acid생성 | - | - |
| Melibiose에서 acid생성 | - | - |
| Raffinose에서 acid생성 | - | - |
| Inullin에서 acid생성 | - | - |
| 고추냉이에서 병원성 | ++ | ++ |
| 감자괴경 절편에서 병원성 | + | + |

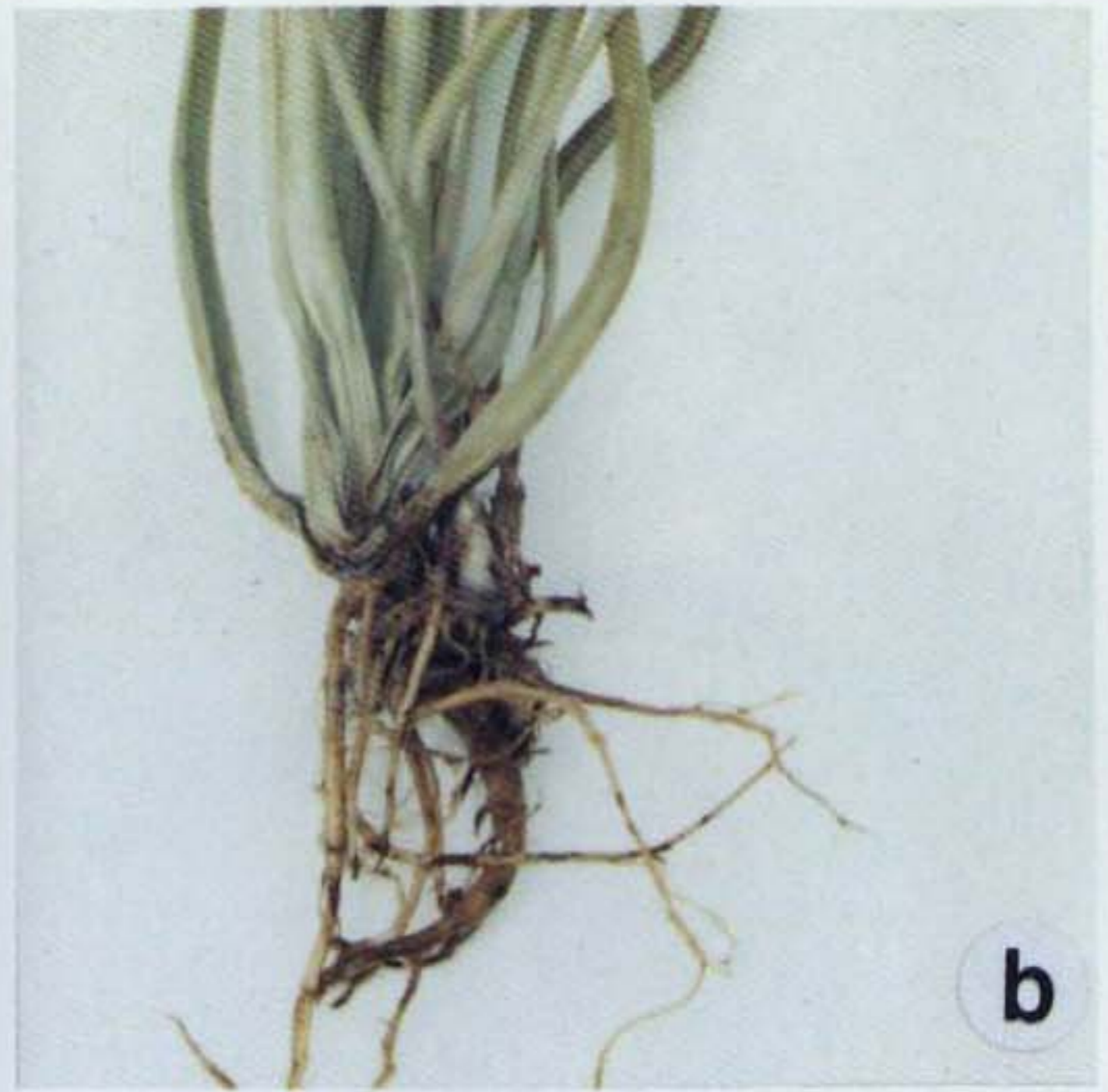


사진 3-2. a; 연부병 병징(포장), b; 연부병에 의한 근경 및 엽병 피해, c; 연부병 병원균 (*Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae*), d; 모잘록병 피해 (포장).

여 백

과 casein의 가수분해와 gelatin의 액화현상 등에서 양성반응을 나타내며, galactose, lactose, trehalose 및 citrate로부터 산을 생성하는 특성이 있으나, maltose, melibiose, raffinose 및 inullin에서는 산을 생성하지 않았다.

③ 병원성 : 고추냉이의 엽병, 근경 조직과 감자 괴경에 병원성을 검정한 결과 표 3에 표시된 바와 같다. 고추냉이의 엽병과 근경에서 접종부위가 24시간 후 무름증상을 나타냈으나 감자에서는 다소 약한 무름증상을 보였다.

연부병에 대한 연구는 1896년 고추냉이의 부패병의 병원균으로 *Bacillus alliaris* 가 처음 보고되었다. 그후 *B. carotovora*로 보고된 후 최근 Goto와 Matsumoto (1987)에 의하여 *E. c. subsp. wasabiae*로 불리우고 있다. Goto와 Matsumoto (1986b, 1987)는 고추냉이 근경에서 분리한 박테리아를 4군으로 구분하고 병원성, 병징, 형태적 특징과 생리적 성질을 조사하여 고추냉이의 연부병을 일으키는 병원균을 *E. c. subsp. wasabiae*로 동정하였는데, 본 실험에서 분리한 균의 형태, 생리, 생화학적 특성 및 병원성에 있어서 같은 결과를 보였다. 세균학적 특성을 종합하여 볼 때 우리나라에서 재배하고 있는 고추냉이에서 연부병을 일으키는 세균은 *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae*로 동정되었다.

다. 모잘록병

종자를 파종하여 실생묘를 육성할 때 주로 발생하는 병해이다. 모잘록병은 주로 묘판에서 어린식물의 줄기 및 지체부에 주로 발병하여 묘생산에 많은 피해를 주는 병해이다.

① 병징 : 어린묘의 줄기, 지체부가 수침상태로 되며 연화 잘록해져 결국 묘가 도복되었다. 이 병은 식물체가 어릴 때 주로 발병되고 성장하여 줄기가 커지면서 병해의 발병도 작아졌다. 다른 모잘록병의 병징과 같은 전형적인 병징을 나타냈다 (사진 3-2d).

② 병원균 : 균사는 다핵성으로 하나의 세포에 6개 정도의 핵을 갖고 있고, 균사의 폭은 비교적 다른 곰팡이 보다 크며 10 μm 정도였다 (사진 3-3a). PDA배지에서 균총의 특징은 뚜렷한 윤문을 형성하는 것이 특징이며 작은 균핵이 밀집되어 윤문을 형성하였다. 균총의 색은 적갈색이었다 (사진 3-3b).

③ 병원성 : 고추냉이 종자와 어린 묘를 대상으로 병원성을 검정한 결과 이 병토양에 종자를 파종할 경우 종자의 발아율이 떨어지고 발아한 묘에서도 모잘록병징이 많이 나타났으며 유묘에 접종한 경우에도 모잘록 증상이 나타났다.

이상의 본 실험 결과와 Baruch Sneh (1991) 및 김 (1985)이 보고한 *Rhizoctonia solani*에 관한 보고 등을 종합하여 볼 때 본 실험에서 분리한 균과 같은 특성을 갖고 있으므로 고추냉이 모잘록병을 일으키는 균은 *Rhizoctonia solani*로 동정되었다.

라. 기타 병해

고추냉이에 발병하는 기타 병해는 윤부병 (松本 等, 1985; 中野, 1991; 鈴木, 1976), 바이러스병 (Fletcher, 1989; 岸良 等, 1992; 小室, 1973), 흰가루병 (奥 等, 1993), 노균병(日本植物病理學會, 1980), 균핵병 (日本植物病理學會, 1980) 등이 외국에는 연구 보고되고 있으나 우리나라에서는 아직 발병되지 않았다.

3. 병해 발생생태

우리 나라 고추냉이 발재배에서 피해가 많고, 주로 발생율이 높은 병해의 발생생태와 온도 및 광량이 고추냉이의 생육 및 병해발생에 미치는 영향은 다음과 같다.

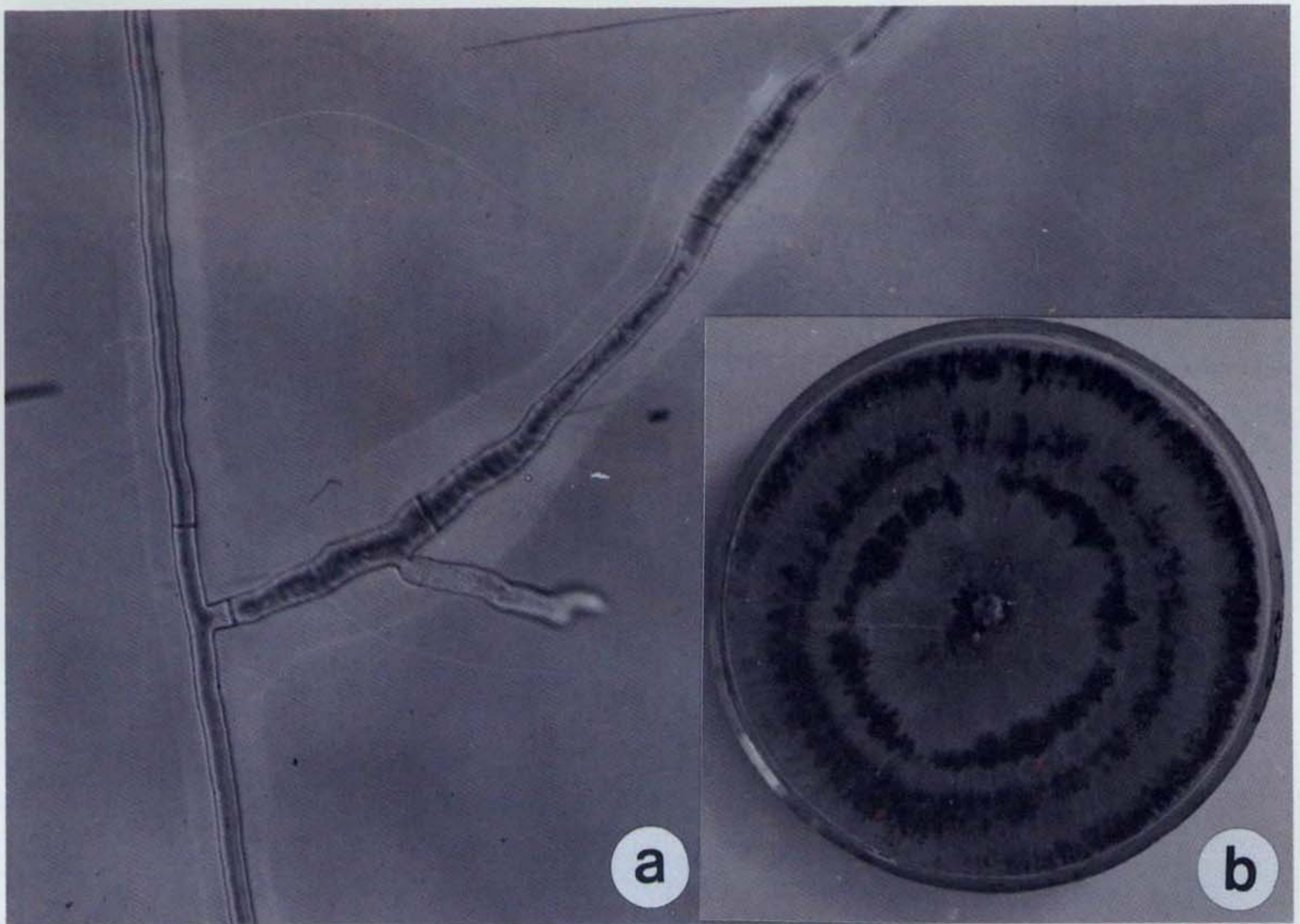


사진 3-3. a; 모잘록병 병원균(*Rhizoctonia solani*)의 균사, b; 모잘록병 병원균(*Rhizoctonia solani*)의 균총, c; 무사마귀병 이병주(左)와 건전주(右).

여 백

가. 묵입병

잎, 엽병, 뿌리에 발생하는 묵입병은 표 3-4와 같이 지역간에 차이가 있으며 온도가 높은 평야지인 전주·익산지방이 시기적으로 빨리 발생한 경향이며, 최고 발생률이 32%인 것에 비하여 온도가 낮은 산간지역인 무주지방의 발병률은 28%로 낮게 나타났다. 계절적으로 평야지나 산간지역에서 4월부터 발병하기 시작하여 7월에 최고의 발병증가율을 보였다. 7월 이후부터는 병해의 발병증가율이 감소되는 경향이고 온도가 낮은 9월 이후는 급격히 발병이 적게 나타났다. 묵입병의 병해 발생에 대하여 胡 等 (1986)은 나무그늘에서 80%의 발병률을 나타내고, 太田과 中野 (1992)는 조사포장의 95%가 발병포장이었고 그 중 발생주율은 32%이며 고추냉이의 재배작형에 따라 발병에 차이가 있다고 하였다. 尾添 等 (1972)의 보고에 의하면 묵입병은 계절적으로 6월에 발병이 시작하여 10월까지 계속된다고 하였으며 松本 等 (1977)은 5-6월부터 발병률이 증가하기 시작하여 고온기인 7-8월에는 발병이 억제되고 다시 10월부터 발병되기 시작하여 60%의 최대 발생률을 나타낸다고 보고하였다. 본 실험에서도 6-7월에 발생률이 높았고 전체 30%의 최고 발병률을 나타냈는데 이와같은 결과는 수치의 차이는 있지만 他 보고와 같은 경향을 보였다.

표 3-4. 묵입병 발병률(%)

| 장 소 | 4월 | 5월 | 6월 | 7월 | 8월 | 9월 | 10월 |
|-------|-----|-----|------|------|------|------|------|
| 전주·익산 | 3.3 | 6.0 | 14.0 | 25.3 | 28.0 | 30.0 | 32.0 |
| 무주 설천 | 2.6 | 4.6 | 10.6 | 20.0 | 23.3 | 27.3 | 28.0 |
| 무주 무풍 | 2.6 | 3.3 | 10.6 | 22.6 | 26.0 | 26.6 | 30.6 |
| 평 균 | 2.8 | 4.6 | 11.7 | 22.6 | 25.7 | 27.9 | 30.2 |

나. 연부병

뿌리에 발생하는 연부병은 표 3-5와 같이 4월부터 발병하기 시작하여 10월 까지 계속되며 지역에 따라 차이가 있어 전주·익산지역이 38%, 무주지역이 27%로 평야지인 전주·익산지역에서 높은 발생률을 보였으며 발생초기의 발병률도 산간지보다 높게 나타났다. 연부병은 4월부터 발병률이 증가하기 시작하여 고온기인 8월에 가장 높은 발병률을 나타내다가 온도가 낮아지는 9, 10월부터는 연부병도 감소하는 경향이였다.

太田과 中野 (1992)는 물고추냉이의 연부병 발생률을 3%라고 하였으며 鈴木等 (1976)은 연부병 발생은 계절에 따라 차이가 있으며 6월 기온의 상승과 같이 증가하기 시작하여 7-8월에 최대 발생기에 도달하며 9월부터는 감소하기 시작한다고 하였다. 본 실험에서도 上記한 보고와 같이 계절에 따라 차이가 있었으며 6-7월에 가장 높게 발생하는 것은 他 보고와 일치하는 경향이였다.

표 3-5. 연부병 발병율(%)

| 장 소 | 4월 | 5월 | 6월 | 7월 | 8월 | 9월 | 10월 |
|-------|-----|-----|------|------|------|------|------|
| 전주·익산 | 3.3 | 8.0 | 14.6 | 24.0 | 29.3 | 35.3 | 38.0 |
| 무주 설천 | 2.6 | 6.6 | 12.6 | 16.0 | 22.6 | 26.0 | 27.3 |
| 무주 무풍 | 2.6 | 6.0 | 8.6 | 13.3 | 21.3 | 23.3 | 26.6 |
| 평·균 | 2.2 | 6.8 | 11.9 | 17.7 | 24.4 | 28.2 | 30.6 |

다. 모잘록병

유묘기에 地際部에 주로 발병되는 모잘록병의 발병률은 익산지역 11.7%, 무주지역 8.3%로 지역간에 다소 차가 있으며 평야지인 익산지역이 다소 높은 발

병률을 나타냈다. 전체적으로 10%의 묘 모잘록병이 발병하여 가격이 비싼 고추냉이 종자를 묘판의 종묘상태에서 병해에 의한 피해를 보고 있다.

라. 기타 병해

우리 나라 고추냉이 발재배에서 주로 많이 발생되고 있는 묵입병, 연부병, 모잘록병 외에 극히 적은 빈도로 무사마귀병에 의한 피해가 관찰되며 기생식물인 새삼의 피해도 관찰되므로 철저한 포장관리가 요구된다 (사진 3-3c). 그러나 일본의 경우 고추냉이에 발생하는 많은 병해의 발생기록이 있으나 우리나라에서 발병되는 병해는 적게 나타났다. 이러한 이유로 일본은 주로 고추냉이 재배법이 물재배를 많이 하고 우리나라는 발재배를 많이 하는 경향으로 지역간 생태적인 차이점으로 생각되며 일본의 고추냉이 재배는 오랜 기간의 재배로 인하여 토착화된 병해가 많이 발생하는 것에 비하여 우리나라 고추냉이 재배는 재배역사가 매우 짧기 때문에 적게 발병하는 것으로 생각된다.

4. 溫度 및 光量이 고추냉이 생장 및 병해 발생에 미치는 영향

고추냉이의 생장에 미치는 온도의 영향은 표 3-6과 같다. 유묘를 정식한 뒤 180일 후 실험조사에서 온도효과는 23°C구보다 10°C구에서 생육이 비교적 양호하였으나 모든 주요 형질은 17°C구에서 가장 우월하였다. 초장은 생육온도에 따라 처리구간 차이가 현저히 인정되었으나 17°C구에서 34.0 cm로 가장 좋은 결과를 보였으며, 葉柄의 길이와 직경은 17°C구를 頂点으로 이보다 온도가 높거나 낮음에 따라 감소되는 경향을 보였으며 23°C구가 10°C구에 비하여 저조하였다. 地下莖에 있어서 직경은 10°C와 23°C구간에서는 유의차가 인정되지 않았으나 10°C구에서 비교적 양호하였고 17°C구에서 0.71 cm로 가장 양호하였으며 길이는 각 처리구별로 유의차가 인정되었고 역시 17°C에서 6.5 cm로 가장 길었다. 한 株당 고추냉이의 생체중을 비교한 경우에 있어서 17°C구에서

기타 처리구에 비하여 葉重, 葉柄重, 地下莖重, 地根重이 모두 가장 무거웠으며 10℃구가 23℃구보다 양호한 경향이였다. 胡 等 (1986)에 의하면 고추냉이의 생육온도는 8-20℃이고 최적온도는 15-18℃라 하였으며 25℃ 이상에서는 생육에 지장을 받고 冬季時 3℃에서 寒害를 입는다고 보고하였다. 胡 等 (1986)에 의하면 고추냉이의 외부환경 실험에서 대만의 고산지대 (해발 1200 M)를 중심으로 재배한 결과 夏季의 적온은 14℃였으며 冬季時에는 5℃에서 생육이 가장 왕성하였다고 보고하였는데 이는 본 연구 결과와 일치하였다. 따라서 온도 차이에 따른 고추냉이의 초장, 엽병 및 지하경의 직경과 길이, 생체중의 변화 경향을 볼 때 고추냉이의 생육적온은 17℃ 전후로 간주되며 이 수치는 일반 작물에 비하여 낮으나 추파용 십자화과 채소와 유사하였다.

온도가 고추냉이 墨入病과 軟腐病의 발병에 미치는 영향은 표 3-6에 나타난 바와 같다. 온도가 높아짐에 따라서 묵입병과 연부병의 병해발생은 증가하였다. 묵입병의 경우 10℃, 17℃, 23℃처리구로 구분하여 병해 발생을 조사한 결과 각각 46.7%, 56.7%, 73.3%의 발병률을 보였다. 본 실험결과 발병률이 가장 높은 것은 23℃구로서 *Phoma wasabiae*의 생육 최적온도인 25℃와 일치하는 것으로서 이는 묵입병 병원균의 최적 생육적온과 고추냉이의 재배시 고온조건에서 병해발생률과 상관관계가 있는 것으로 생각된다. 溫도와 墨入病 발생관계에 대한 연구보고 (胡, 1984; 太田와 中野, 1992; 多久田 等, 1973)가 다수 있으나 그 중 橫木 (1952)는 묵입병과 온도와의 실험결과 9℃에서부터 병원균이 식물체에 침입하기 시작하여 25℃전후 온도에서 병의 발병과 병반의 크기가 가장 크게 형성되었다고 보고하였으며, 온도에 따라 병해의 발생과 병반의 형성에 차이가 있다고 하였다. 胡 等 (1986)에 의하면 고산지역에서 묵입병의 발병율은 80%이었으며 줄기에 형성되는 병반의 크기도 1-8 cm라 보고하였다. 본 연구와 이들 보고와의 발병률 차이는 실험환경조건의 차로 인정되나 발병의 추이는 개략적으로 같은 경향이였다. 軟腐病 발생에 미치는 온도의 영

향은 10℃, 17℃ 및 23℃구로 구분하여 병해발생을 조사한 결과 53.7%, 66.7%, 86.7%의 발병률을 나타냈다. 연부병 발생과 온도와의 관계는 묵입병과 같은 양상으로 온도가 상승함에 따라 병해의 발생도 많았다. 鈴木 (1976)는 연부병의 발생조건으로 18-19℃의 水溫에서 병해가 격발하며 온도와 연부병 발생과 밀접한 관계가 있다고 하였다. 또 鈴木 (1977)는 연부병의 발병은 기온이 28℃ 이상에서 격발하며 기온과 수온의 상승이 병해의 발병과 깊은 관계가 있다고 보고하고 20℃ 이상에서 발병이 많아진다고 하였다. 따라서 고추냉이 재배시 연부병을 방지하기 위해서는 생육기간 온도를 13-15℃로 유지하여야 한다고 생각된다 (鈴木, 1976). 이와 같은 결과를 종합하여 보면 묵입병과 연부병은 두 병원균의 최적 생육온도와 병해의 발병률은 일치됨을 알 수 있었다. 또한 병원균의 침입이 묵입병의 경우 9℃부터 침입이 이루어지며 연부병도 물재배 고추냉이의 경우 병원균 생육최적 온도인 28℃보다 낮은 20℃에서 격발되는데 병원체의 최적 생육온도 보다 낮은 온도에서 침입이 이루어지기 때문에 고추냉이의 생육에 알맞은 저온도에서 재배하여야 할 것으로 생각된다.

표 3-6. 溫度와 고추냉이 생장 및 주요 병해 발생의 비교

| 온도 (℃) | 초장 (cm) | 식물체크기 (cm) | | | | 생체중 (g) | | | | 발병율 (%) | |
|-----------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|--------------------|---------|------|
| | | 엽병 | | 근경 | | 엽 | 엽병 | 근경 | 근 | 묵입병 | 연부병 |
| | | 직경 | 길이 | 직경 | 길이 | | | | | | |
| 10 | 22.5 ^b | 0.41 ^b | 9.9 ^b | 0.49 ^b | 5.7 ^b | 1.4 ^b | 3.9 ^b | 0.48 ^b | 0.29 ^b | 46.7 | 53.7 |
| 17 | 34.0 ^a | 0.56 ^a | 15.4 ^a | 0.71 ^a | 6.5 ^a | 8.0 ^a | 10.2 ^a | 0.72 ^a | 0.56 ^a | 56.7 | 66.7 |
| 23 | 16.2 ^c | 0.32 ^{bc} | 8.1 ^{bc} | 0.35 ^b | 3.4 ^c | 0.7 ^c | 2.5 ^c | 0.26 ^c | 0.18 ^{bc} | 73.3 | 86.7 |

차광이 고추냉이의 생육과 주요 병해 발병률에 미치는 영향은 표 3-7과 같다. 고추냉이의 생육은 차광의 정도가 증가함에 따라 생육의 차이가 인정되었는데 초장의 경우 차광 처리별 유의성이 인정되었으며 75% 차광시 초장이 31.3 cm로 가장 긴 경향이었고 차광의 정도가 낮아짐에 따라 초장은 짧았다. 地下莖의 크기에 있어서 75%차광구가 50%와 25%차광구에 비하여 유의성이 인정되었으나 50%와 25%차광구의 처리간에는 유의성이 인정되지 않았다. 지하경의 직경과 무게에 있어서 75%차광구가 기타 처리구에 비하여 양호하였으며 전체 생체중은 75%, 50% 및 25%차광구 처리구간에서는 유의차가 인정되었으며 75%차광구에서 20.1 g으로 차광의 효과가 월등히 높았다. 株當 葉數도 차광의 정도가 낮을수록 감소하는 경향이였다. 胡 等 (1986)은 자연환경상태에서 인위적으로 차광처리를 한 실험결과 75-80%차광이 고추냉이의 생육에 가장 적합한 생육조건이라 하였다. 邱 (1974)에 의하면 열대지방의 고산지대에서 수목에 의한 차광이 裸地상태의 조건에 비하여 고추냉이의 생육이 저조하다고 하였는데 이것은 지리적·생태적 차이인 植生の 결과, 또는 수목과 고추냉이간의 타감작용 등에 의한 결과가 아닌가 생각되나 앞으로 이에 대한 기초연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

차광이 고추냉이의 병해발병에 미치는 영향은 표 3-7과 같다. 자연광을 25%, 50%, 75%차광처리한 실험구에서 차광이 많았던 75%차광 실험구에서 墨入病과 軟腐病의 발생이 모두 적었다. 묵입병은 25%, 50%, 75% 차광처리한 실험구에서 각각 80.8%, 70.0%, 63.3%, 연부병은 각각 83.3%, 76.7%, 66.7%의 발병을 보였다. 묵입병과 연부병의 병원균을 접종한 후 병해 발병률을 조사한 결과 차광률의 증가에 따라 발병률이 감소하는 경향이었는데 묵입병의 경우 75%차광구에서 63.3%의 발병률을 보였으며 연부병의 발병률은 66.7%였다. 그러나 遮光의 정도가 감소함에 따라 발병률이 급격히 증가하였는데 25%차광구에서 공시한 묵입병·연부병원균의 발병률은 각각 80.8%와 88.3%로 매우 높았

표 3-7. 遮光과 고추냉이 생장 및 주요 病害 발생의 비교

| 차광량 (%) | 초장 (cm) | 근 경 | | | 생체중 (g/pl.) | 엽수 | 발병율(%) | |
|------------|-------------------|------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-----------------|--------|------|
| | | 길이(cm) | 직경(cm) | 무게 (g/pl.) | | | 목입병 | 연부병 |
| 25 | 14.8 ^c | 4.6 ^b | 0.37 ^c | 0.44 ^c | 3.9 ^c | 5 ^c | 80.8 | 83.3 |
| 50 | 19.1 ^b | 5.0 ^b | 0.83 ^{ab} | 1.09 ^{ab} | 7.0 ^b | 7 ^{ab} | 70.0 | 76.7 |
| 75 | 31.3 ^a | 7.1 ^a | 1.02 ^a | 1.36 ^a | 20.1 ^a | 8 ^a | 63.3 | 66.7 |

다. 鈴木 (1976)은 연부병의 방제를 위하여는 특히 고온기에 50-80%의 차광으로 온도를 낮추어주는 것이 효과적이라고 하였다. 이와 같은 결과로 보아 목입병의 경우 강한 광도가 반음지식물의 잎 조직에 자극을 주어 병원균이 용이하게 침입되어 발병하는 것으로 생각되며, 반면 연부병의 경우는 강한 광도로 인하여 온도가 증가함에 따라 병원균의 활성이 높아져 용이하게 조직을 침입하여 발병되는 것으로 생각된다. 따라서 고추냉이의 병해발생에 있어서 일사량과 온도조건이 병원균의 발병, 생장에 직·간접적으로 영향을 미치는 주요 관건으로 생각되며 추후 이에 관한 기초연구가 이루어져야 할 것으로 본다.

고추냉이의 생육과 주요 病害 발병률에 미치는 온도의 영향은 표 3-6과 같다. 초장과 괴경의 길이는 생육온도에 따라 차이가 현저한데 17°C에서 34.0 cm로 가장 좋은 결과를 보였으며, 고온 (23°C) 보다 저온 (10°C) 에서 생육이 비교적 양호하였다. 지상부와 지하부의 生體重은 생육온도 17°C 실험구에서 각각 18.2와 1.30 g으로 기타 실험구에 비하여 온도의 효과가 높았다. 온도별 생육 중에 목입병과 연부병원균을 접종한 후 병해 발생률을 조사한 결과 10°C에서 가장 적게 발병하였고, 온도가 높아짐에 따라 공시한 병원균의 발병률은 증

가하였다.

遮光이 고추냉이의 생육과 주요 병해 발병률에 미치는 영향은 표 3-7과 같다. 고추냉이의 생육은 차광의 정도가 증가함에 따라 생육의 차이가 인정되었는데 75% (0.38×10^3 microensterins M^2/sec) 차광시 초장과 근경이 각각 31.3cm와 7.1 cm로서 가장 좋은 결과를 보였다. 지상부의 생체중은 차광율이 75% 실험구에서 19.1 g으로 기타 실험구에 비하여 차광의 효과가 높았으나 지하부의 경우 75%처리구와 50%처리구에 있어서 처리간 유의성이 인정되지 않았다. 차광정도별로 생육중인 고추냉이에 묵입병과 연부병원균을 접종한 후 병해 발생률을 조사한 결과 차광률의 증감에 관계없이 다양한 병해 발생률을 보였다. 50%차광시 공시한 묵입병과 연부병의 병해발생률 정도가 가장 낮았으며, 75%차광은 25%차광에 비하여 공시한 병원균의 발병률이 증가하는 경향이였다.

제 4 절 결 론

고추냉이 圃場에서 병해의 연구와 주요 병해발생 및 생장에 미치는 환경의 영향을 밝혔다. 수집된 고추냉이로부터 병원균을 분류 동정하였고, 환경조건에 대한 실험이 생장상과 포장에서 이루어졌다.

1. 고추냉이 根莖에서 박테리아 밀도는 *Erwinia* 54.1%, *Xanthomonas* 21.1%, *Pseudomonas* 17.2%, *Corynebacterium* 6.8%로 분리되었다..

2. 고추냉이 墨入病의 병원균은 *Phoma wasabiae*로 동정되었다. 이 菌은 유관속부에 퍼져 유관속 조직을 괴사시키며 잎과 엽병에 흑색의 병징을 형성하였다. 포장에서 발병율은 30.2%였다. 온도가 상승하는 4월부터 발병하기 시작

하여 5-6월에 증가하며 10월까지 지속되었다.

3. 고추냉이의 연부병은 *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae*로 동정되었다. 이 병은 葉柄이 침윤 및 검은 색으로 되며 잎, 뿌리 및 근경이 황화 또는 죽었다. 연부병은 6월, 7월 및 8월에 최대로 발생하였다. 포장에서 발병률은 30.6%였다.

4. 묘판에서 발병하는 모잘록병은 *Rhizoctonia solani*로 동정되었다. 묘판에서 종자의 발아율이 떨어지고 모잘록병징을 나타냈으며 이병률은 10%였다.

5. 17°C를 기준으로 이보다 온도가 높거나 낮을 때 고추냉이의 초장, 엽병 및 근경이 감소되었다. 75%의 遮光處理가 고추냉이의 무게, 근경의 길이에서 가장 좋았다.

제 5 절 참고문헌

1. Catherine, I. C., T. A. Lumpkin, and L. R. Elberson. (1993) The botany, uses and production of *Wasabia japonica*(Miq.) (Cruciferae) Matsum. Economic botany 47 : 113-135.
2. Baruch, S., L. Burpee, A. Ogoshi. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota. pp. 1-133.
3. Sutton, B. C. 1980. The Coelomycetes. pp. 378-392.
4. Fletcher, J. D. 1989. Additional hosts of alfalfa mosaic virus, cucumber mosaic virus, and tobacco mosaic virus in New Zealand. New Zealand J. of Crop and Horticultural Science 17 : 361-362.
5. 김형무. 1985. *Rhizoctonia solani* Kuhn의 균사융합군별 세 성질에 관한 연

- 구. 전북대학교 대학원 박사학위논문. pp.1-33.
6. 한국식물보호학회. 1986. 한국 식물.해충.잡초 명감. p. 33.
 7. Goto, M. and K. Matsumoto. 1986. Causal agents associated with the internal black rot syndrome of Japanese horse radish (*Eutrema wasabi* Maxim.). Ann. Phytopath. Soc. Japan 52 : 59-68.
 8. Goto, M. and K. Matsumoto. 1986. Taxonomic study on soft rot bacteria isolated from diseased rhizomes and roots of wasabi (*Eutrema wasabi* Maxim.). Ann. Phytopath. Soc. Japan 52 : 69-77.
 9. Goto, M. and K. Matsumoto. 1987. *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae* subsp. nov. isolated from diseased rhizomes and fibrous roots of Japanese horse radish (*Eutrema wasabi* Maxim.). Int. J. Syst. Bacteriol. 37 : 130-135.
 10. 胡敏夫. 1984. 山葵栽培與管理. 臺灣省農業試驗所報告書. pp. 1-17.
 11. 胡敏夫. 1985. 山葵之特性與栽培法. 大學圖書出版社. pp. 42-53.
 12. 胡敏夫, 邱善美, 劉新裕. 1986. 不同環境對山葵生長與產量之影響. 中華農業研究 35 : 292-299.
 13. 岸良日出男, 順賀睦男, 難波成任, 山下修一, 匠原監一郎, 土崎常男. 1992. ワサビ(*Eutrema wasabi* M.)より分離されたワサビ潜在ウイルス(wasabi latent virus). 關東東山病害蟲研究會年報 39 : 111-112.
 14. 小室康雄. 1973. 野菜のウイルス. 誠文堂新光社. pp. 174-177.
 15. 松本邦彦, 杉山正樹, 中田榮一郎. 1985. *Corynebacterium* sp.によるワサビ株腐病 (新稱). 山口農試研報 37:99-11.
 16. 中野敬之. 1991. ワサビ根莖の黒變維管束組織におけるワサビ墨入病菌と輪腐病菌の分布. 關東東山病害蟲研究會年報 38 : 135-137.
 17. 日本植物病理學會. 1980. 日本有用植物病名目錄. pp. 73-74.

18. 太田光輝, 中野敬之. 1992. ワサビ墨入病の發生實態及び發生消長. 關東東山病害蟲研究會年報 39 : 113-115.
19. 奥 商, 有江 麻美, 岸良日出男. 1993. ワサビうとんこ病(新稱). 日植病報 59 : 601-606.
20. 邱年永. 1974. 藥用植物栽培法. 大學圖書出版社. pp. 9-97.
21. 尾添 茂, 中尾達雄, 上野良一, 中川善紀. 1963. 實生ワサビ根莖部への墨入病の1發病経路について(豫報). 中國論業研究 26 : 51-52.
22. 尾添 茂, 多久田達雄, 廣尺敬之. 1972. ワサビ根莖および根の藥液浸が墨入病の伸展に及ぼす影響. 中國論業研究 43 : 57-58.
23. 尾添 茂. 1971. ワサビ莖葉のスリツフ^oスによる黒斑被害と生育異常對策. 農業及園藝 46:69-72.
24. Schaad, N.W. 1980. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. p. 1-72. American Phytopathological Society, St. Paul, Minn.
25. Shirata, A., and M. Goto. 1981. Bacterial flagella staining by modified Yamanaka method. Shokubutsu Boekisho Chosa Kenkyu Hokoko 35:323-325.
26. 鈴木春夫. 1976. ワサビ主要病害の生態と防除. 植物防疫 30 : 374-378.
27. 松本邦彦, 中田榮一郎, 杉山正樹. 1977. *Corynebacterium* sp.によるワサビの新病害について. 日本植物病理學會 43 : 86-87.
28. Yoshiyuki Takahashi and Kenichiro Shohara. 1990. Pratical detection of wasabi strain of tobacco mosaic virus by using cocktail monoclonal antibodies. Ann. Phytopath. Soc. Japan 56 : 621-627.
29. 多久田 達雄, 廣尺敬之. 1975. ワサビ墨入病菌病斑上における柄子殻形成について. 近畿中國農研 50 : 53-57.

30. 多久田 達雄, 尾添 茂, 廣尺敬之. 1973. ワサビ墨入病葉病斑から維管束への根莖, 根への病變移行と2, 3條件. 日植病報 39 : 166-167.
31. 横木國臣. 1936. 山葵墨入病に就て. 日植病報 2 : 549-560.
32. 横木國臣. 1952. 山葵の病害に関する研究. 島根縣 農業試験場報告書. pp.1-70.

제 4 장 장기저장 방법 및 부산물 이용방법 개발

제 1 절 서 론

고추냉이(*Wasabia japonica* Matsum.)는 일본이 원산지로 숙근성, 다년생 음식 식물로 일본어로는 와사비라 하며 독특한 辛味와 香을 가지고 있어 회, 초밥, 국수 등 일본인의 식생활에 널리 이용되는 고급 향신료이다(이·안, 1995). 고추냉이의 매운 맛은 주성분이 allyl isothiocyanate로 胃를 자극하여 소화를 돕고 魚毒을 제거한다고 알려져 왔다(八藤眞, 1995). 고추냉이와 유사한 식물들은 ① 물고추냉이(*Wasabia japonica* Matsum.)로 흐르는 얇은 물에서 자라며 ② 밭고추냉이는 식물 분류학상 물고추냉이와 같지만 재배지에 따라 구분되고 있으며 根莖의 색상, 육질 등에서 물고추냉이 보다 못하다. ③ 울릉도 자생고추냉이(*Wasabia koreana* Nakai)로 울릉도 습지에 군락을 이루고 있으며 자생 혹은 도입의 이론이 있다. ④ 나리고추냉이(*Wasabia tenuis* matsum)는 식물체 전체에 털이 없고 근경은 가늘고 짧다. ⑤ 에조고추냉이(*Cardamine yezoensis* Maxim)로 本州 북부에 자생하는 야생 잡초이며 ⑥ 겨자무우(*Armoracia rusticana* Gaertn)는 서양고추냉이(horse radish)라 부르며 直根이 굵은 특징이 있다(이, 1995). 보통 고추냉이라 하면 물고추냉이와 밭고추냉이를 일컫고 있으며 우리나라 시중에 분말 와사비류는 대부분 겨자무우 분말에 겨자를 혼합하여 着色한 것이 많다.

현재까지 고추냉이를 이용하는 방법은 根莖을 강판에 갈아서 즉석에서 이용하는 것으로 고추냉이 조직을 파괴하면 조직에 들어있는 sinigrin이라는 물질이

조직에 존재하는 myrosinase의 작용에 의해서 辛味를 내는 allyl isothiocyanate로 변하게 된다. 그외 辛味를 내는 물질로는 methyl isothiocyanate, ethyl isothiocyanate, iso-propyl isothiocyanate 등 상당히 많은 isothiocyanate 화합물들이 발견되고 있다. 이들 중 辛味에 결정적 역할을 하는 물질은 allyl isothiocyanate로 이 물질의 함량이 고추냉이의 매운 맛을 결정한다.

고추냉이 재배에 관한 많은 연구가 집중되어(Follett, 1978; Chadwick, 1993) 良質의 산물을 얻는데 도움을 주고 있으며 원인 성분에 대한 연구도 다양하게 시도되어 관련 효소(Ohtsuru, 1979), 최종 산물(Etoh, 1990; Ina, 1989), 그리고 분리 방법 등이 제시되고 있으며(Taniguchi, 1988) 함유된 전분의 특성도 조사하여 효소에 반응성, amylose의 함량 등을 밝혔다(Sugimoto, 1984). 고추냉이에 들어 있는 allyl isothiocyanate는 강력한 살균작용이 있다고 알려져 있으며(Hodge, 1974) 이를 이용하여 항균성 포장재를 만들어 식품의 선도 유지를 하려는 시도가 이루어지기도 하였다(山下, 1993).

고추냉이를 이용한 제품으로는 양질의 고추냉이를 즉석에서 갈아서 먹는 것을 제외하고 품질이 떨어지기는 하지만 고추냉이 줄기와 겨자무우, 겨자 그리고 색소를 넣어 튜브에 넣어 판매하기도 하며(Kojima, 1988) 잎과 엽병은 청주 염지액이나 간장에 절여 밥을 먹을 때 반찬으로 사용하고 있다(Haruki, 1987). 현재는 이렇게 만든 제품을 아이스크림, 포도주, 치즈, 샐러드 드레싱, 크래커 등에 이용하기도 한다. 그 외에 주박에 넣어 장아찌를 만들기도 한다.

우리나라에서 생산되는 고추냉이는 일본 것에 비하여 품질이 떨어진다고 알려져 있어 대규모 호텔에서는 일본산을 수입하여 쓰고 있는 실정이나 앞으로 재배방법의 개선, 품종개량을 통한 품질개량과 저장, 유통방법을 개발하면 우리 제품도 경쟁력을 갖출 수 있다고 본다.

현재 무주지역에서는 5개면, 22개 農家에서 4,400평을 耕作, 根莖 560kg, 줄기 36000kg, 잎 12,000kg, 잔뿌리 6,000kg 정도를 수확하고 있다(무주, 1995). 근경

은 요식업소에 판매되고 있으나 부산물인 줄기, 잎, 잔뿌리 등은 용도가 없어 거의 폐기처분하고 있는 실정이다.

이 연구에서는 장기 연구의 일단계로 우선 根莖을 수요처까지 수송하기 위한 단기간 저장방법을 검토하면서 고추냉이 특성에 관한 기초연구를 수행하였다. 아울러 사용되지 못하고 폐기할 잎, 줄기, 잔뿌리 등 부산물을 활용하여 부가가치가 높은 제품으로 상품화하기 위한 기초 연구를 위하여 잎, 줄기, 꽃대 등을 이용한 일본 제품을 수집 평가하고 이를 바탕으로 우리나라에 적용 가능한 방법을 제시하였기로 이에 보고 한다.

제 2 절 재 료 및 방 법

1. 가공저장용 재료

고추냉이는 무주군 설천면에 위치한 재배 농가의 2년근을 3월과 9월에 채취 하였고 이때 근경, 잎, 엽병, 잔뿌리 등을 별도로 분리, 가공실험용 원료로 하였다.

2. 원료 및 제품조사

가. 원료의 특성과 재배자 희망 연구내용조사

무주군 농촌지도소 및 재배농가, 영농조합 책임자를 면담하여 원료의 특성, 연구 희망사항을 정리하였고 이를 바탕으로 세부연구 계획을 보완하였다.

나. 수요처 조사

서울소재 신라호텔(일식 주방장: 오윤섭) 및 전주소재 일식집 미가도(주방장)를 현지 방문하여 고추냉이 수요 및 소비자의 취향을 조사하였다.

다. 고추냉이 분말 제조업체 조사

국내에서 다양한 제품을 생산하는 오뚜기 제유(충북 제천)를 방문, 분말제품 생산현황과 원료 조달방법을 조사하였다.

라. 일본 고추냉이 제품 수집, 조사

일본을 방문하는 사람편에 관련 제품 수집을 의뢰, 이들을 평가하였다.

3. 고추냉이 동결실험

동결매체로는 dryice를 이용하였고 동결용기는 400×295×300mm크기의 스티로폼 박스로 두께는 29mm이었다. 이 박스에 15kg의 드라이아이스를 넣고 굵기가 각기 다른 고추냉이를 넣고 밀봉하였다. 동결온도는 온도 측정기(μ R180 Recorder, YOKOGAWA)를 이용하여 고추냉이 동체의 기하학적 중심의 온도를 측정, 기록하였다. 동결점은 최대 빙결정 형성대를 관찰, 기록하였다.

4. 고추냉이 저장 시험

가. 생체 저장

고추냉이 근경을 상온, 5℃, -20℃, -40℃에 저장하면서 일정 시간간격으로 시료를 채취, allyl isothiocyanate와 관련 물질을 분석하였다.

나. 마쇄 저장시험

고추냉이 根莖을 강판에 갈아서 마쇄품을 얻고 이를 상온, 5℃, -20℃, -40℃에 저장하면서 일정 시간간격으로 시료를 채취, allyl isothiocyanate와 관련 물질을 분석하였다.

5. Allyl isothiocyanate와 관련 물질의 분석

고추냉이 중 매운 맛 성분은 주로 allyl isothiocyanate로 알려져 있으며 관련 물질로는 buthyl-, ethyl-, methyl- 등이 확인되고 있다. 이들 관련 물질을 분석한 방법은 다음과 같다.

가. Isothiocyanate류 화합물의 정량법

1) 냉동시킨 고추냉이 試料 약 80g을 플라스틱 강판에서 마쇄하여 삼각 플라스크에 넣고 원료량의 2배의 증류수를 가하여 밀봉한 후 室溫 暗所에서 때때로 흔들어 주면서 1시간 동안 방치하여 충분히 가수분해시켰다.

2) 가수분해후 diethyl ether 50ml를 추출 용매로 사용하여 SDE 장치 (Likens & Nikerson type simultaneous steam distillation and extraction apparatus)를 이용하여 휘발성 isothiocyanates를 1시간 동안 추출하였으며 이때 냉각수의 온도는 0℃를 유지하였다.

3) 추출 완료 후 무수황산나트륨으로 탈수시키고 질소기류하에서 용매를 제거하여 GC분석용 시료로 사용하였다. 이때 표준품은 Sigma社 제품을 사용하여 <표 4-1>과 같은 조건으로 GC (HP 5890 Series II)로 분석하여 표준 피크를 얻었다.

표 4-1. 가스크로마토그래피(GC) 분석조건

| | |
|----------------|--|
| Column | Silicone SE 30 (5%), 2mm × 2m, Stainless |
| Detector | FID |
| Column temp | 100°C 5분, 150°C (10°C/min) |
| Detector temp. | 250°C |
| Injector temp. | 230°C |
| Carrier gas | N ₂ (5.9 /min) |

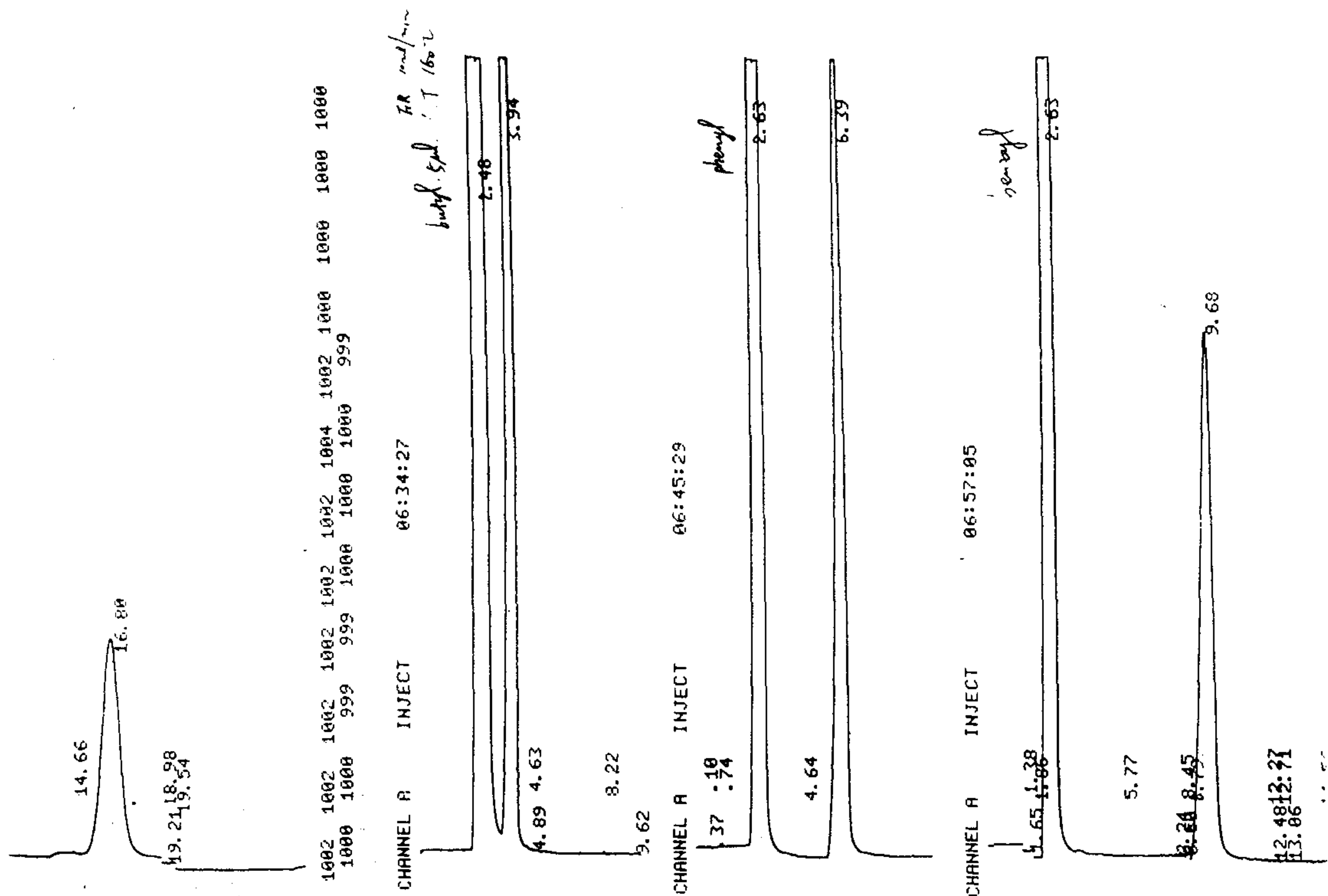


그림 4-1. Isothiocyanate류 표준물질의 G.C. chromatogram

4) <그림 4-1>은 표준품의 G.C. chromatogram으로 이를 기준으로 試料의 allyl isothiocyanate의 함량을 측정하였다.

6. 부산물 가공시험

고추냉이 잎은 生體로 혹은 데친 후 각각 다른 양념으로 절임하여 일정 시간 숙성시킨 후 맛을 관찰하였다.

잔뿌리는 채취후 바로 마쇄하여 평가하였고 일부는 냉장한 후 그 상태를 비교하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 원료 및 제품조사 결과

가. 원료의 특성과 재배농민 애로

1) 고추냉이 생산지인 무주군 설천지역을 6차 방문하여 시기별 고추냉이의 특성을 조사한 결과 시기에 따라 품질의 차이가 있었고 특히 여름철에는 매운 맛은 있으나 종합적인 풍미가 떨어지므로 수확 시기가 고추냉이 품질에 크게 영향을 주고 있다.

2) 생산 농민의 판매에 따른 애로점은 外氣가 높은 경우 수확후 변색이 심하여 상품적 가치를 잃으므로 단기간이라 하더라도 생산지에서 소비처(업소)까지 수송중 품질 열화를 막는 방법을 요구하고 있었다. 여름에 생산되는 고추냉이는 품질은 좋지 않았으나 저온 저장시 품질 열화기간은 크게 연장시킬 수

있었다.

3) 저온 저장시 적절한 포장이 고안되지 않는 경우 건조에 의한 품질 열화 및 조직의 연화현상이 따르므로 이를 방지할 수단이 필요했다.

4) 줄기, 잎, 그리고 잔뿌리는 현재까지 폐기처분하고 있으나 맛과 조직을 검토해 본 결과 이용 가능성이 있다고 판단된다.

5) 현재 평당 수확량(무주지역)은 근경 0.14kg, 줄기 9kg, 잎 3kg, 잔뿌리 1.5kg으로 부산물이 根莖에 비하여 월등히 많다.

나. 수요처의 반응

1) 유명 호텔 일식부 이용 실태

가) 대상 호텔

신라호텔(일식 주방장 : 오윤섭)

나) 조사내용

○ 한국산 고추냉이의 문제점

- 뿌리가 작고 갈았을 때 수량이 적어서 실제 제공되는量が 적으므로 採算性에서 떨어진다.
- 매운 맛이 덜하며 고추냉이를 갈았을 때 가장 특징적인 성질인 끈적거림이 덜하여 상품적 가치가 떨어지는 편이다.

○ 일본제품의 수송

- 스티로폴 박스에 포장된 상태로 상온 수송(비행기편 이용)하며 호텔에 도착된다.
- 호텔에서 인수되면 젖은 수건으로 싸서 냉장실에 보관, 이 상태로 20일 정도 변질없이 저장 가능하고 필요시에 갈아서 손님에게 제공하고 있다. 주방에서 갈아서 제공하므로 손님들은 고추냉이 생채는 볼 수 없

다.

- 현재 유통하는 고추냉이는 일부 검은색으로 변한 부분이 있으나 살짝 잘라 내면 문제없고 실제 제품에도 영향을 주지 않는다.
- 크기가 한국산 보다 월등하여 收率 및 맛에서 우수한 편이다.
- 일본제품은 生體, 마쇄동결품(300g/pack), 분말제품(1kg 단위)이 이용되고 있으며 생체보다는 분말제품의 사용량이 많은 실정이다.
- 실제 이용방법은 동결제품 + 분말(3 : 2)로 혼합 사용하고 있으며 생체는 극히 제한된 美食家들에게 공급하고 있으며 요청하는 사람에게만 공급하고 있다.

○ 신라호텔 사용량

- 生體 2~3kg/월, 동결품 3kg/월, 분말 6kg/월으로 분말 제품과 혼합하여 사용한다.
- 生體는 주방에서 갈아서 제공하여 저가 저장품은 즉석에서 사용한다.

○ 가격(일본제품)

- 生體 12만원/kg으로 국내 제품(8만원/kg)보다 상당히 비싼 편이다. 이 가격의 차이가 국내 제품을 사용하도록 하는 유인제가 되어야 할 것이다.

○ 기타

- 잎, 줄기, 잔뿌리 등은 일부 시험적으로 절임해서 사용하나 본격적인 제품은 없는 실정이고 제품이 나오는 경우 긍정적으로 검토할 의사는 있다.

2) 요식업체의 의견

가) 요식업체

미가도(전주소재) 주방장

나) 凍結製品에 대한 의견

- 동결제품의 경우 생체와 비교하여 품질의 차이는 발견 할 수 없었다. 즉 매운 맛, 향, 색택에서 차이가 없으므로 동결품을 생체대용으로 사용 할 수 있는 가능성을 제시하였음.
- 냉장후 냉동품(상은 1주일 저장후 -20℃냉동)
매운 맛은 조금 덜하나 향은 차이가 없고 색택 및 조직에서 차이가 있다.(조직이 부서거림). 이는 동결후 해동과정과 상온 저장중 脫水에 기인한 것으로 생각된다.

다. 고추냉이 분말 제조업체 현황

1) 가공업체

오뚜기 제유(충북 제천 소재) : 오뚜기식품(주)의 자회사로 되어있으며 오뚜기상표로 판매되고 있다.

2) 원료

- 중국에서 겨자무우를 건조 절편으로 수입하여 사용하고 있다.
- 중국에는 여러 適地에서 상당히 많은 량이 생산되고있으며 그 품질은 관리 방법에 따라 다양하게 차이가 있다.

3) 가공방법(겨자무우)

- 원료 - 脫脂 - 脫皮 - 세척 - 脫水 - 細切 - 열풍건조(60℃) - 선별(대, 중,소) - 포장
- 현재는 포장된제품으로 수입하고 있으며 국내에서는 이를 분쇄하여 혼합하여 소비자 제품으로 생산하고 있다. 소비자제품은 분말 혹은 유연성

제품으로 튜부포장을 하고 있다.

4) 혼합방법

겨자무우 분말에 겨자가루(탈지)를 적절히 혼합하고 여기에 sorbitol을 추가하여 저장성을 부여하고 있으며 이 제품을 생고추냉이 대용품으로 상품화하고 있다.

5) 의견

가장 간편하고 쉽게 이용 할 수 있으며 고추냉이 특유의 매운 맛과 향을 가지나 生體를 갈아서 먹은 고추냉이의 風味와는 현격한 차이가 있다. 그러나 가격과 이용 편의성의 입장에서 이 제품이 전 요식업소에 가장 많이 판매 되고 있다.

라. 일본제품 수집 및 평가

- 일본시장에 유통되고 있는 고추냉이 부산물 활용 제품을 수집하여 평가하였다.
- 제품은 크게 주박절임, 건조제품, 초절임으로 구분되었고 각각 독특한 특성을 가지고 있으나 우리나라 사람에게 어울리는 제품은 제한되어 있었다.
- 花莖(꽃대)을 초절임한 제품은 매운 맛과 당산미가 우리 식성에 부합되는 것으로 보았으며 주박절임 등은 개량해야 할 것으로 판단되었다. 이들 제품의 구성과 모양을 보면 <사진 4-1>과 같다.

2. 고추냉이 동결

가. 동결시간

根莖의 동결후 품질은 동결하지 않은 제품과 관능검사결과 차이가 없어 동

결 유통의 가능성을 제시하고 있다(생선회 전문가 평가 결과에 의함). 이와 같은 결과에 따라 고추냉이 크기에 따라 동결속도를 측정하였다. 이때 동결매체는 어느 곳에서나 쉽게 구입이 가능하며 수송이 가능한 드라이 아이스를 이용하였다. 고추냉이의 동결시간은 <표 4-2>와 같다.

표 4-2. 고추냉이 크기별 동결시간.

| 직경(mm) | 동결시간(분) | 동결실 온도 | 비 고 |
|--------|---------|--------|---------|
| 13 | 47 | -83℃ | 동결점 -1℃ |
| 14 | 48 | -83℃ | |
| 15 | 50 | -83℃ | |
| 18 | 54 | -83℃ | |

<표 4-2>에서 보면 고추냉이의 직경이 클수록 동결되는데 소요되는 시간이 더 걸리나 직경 18mm의 경우 54분이 소요되었으며 이때 동결실의 온도는 -83℃를 유지하고 있었다.

동결점은 최대빙결정형성대를 기준으로 산정한 결과 -1℃로 확인되었다. 이와 같이 동결된 고추냉이 몸체는 계속 온도가 떨어져 外氣溫度(-83℃)에 접근하고 있었다(그림 4-2).



a 된장, 고추냉이(根), 미림, 아미노산



b 莖고추냉이, 장유, 설탕, sorbitol, 고추가루, 아미노산, sorbic acid K, 향료



c カリカリ菜, 酒粕, わさび, 설탕, 식염, 아미노산, 산미료, stevioside, 銅염록소, sorbic acid K, 향료



d 고추냉이, 참깨, 파래, 구운 김, 대두, 가다랭이포, 계란, 식염, 아미노산, 치자나무, 잇꽃, 향료, vitamin E



e 고추냉이, 酒粕, 大根, うり, 오이, 아미노산



f 고추냉이, 酒粕, 大根, うり, 오이, 아미노산

사진 4-1. a; 고추냉이 절임, b; 천연 고추냉이 엽병 100%, c; 珍味고추냉이 절임, d; 고추냉이 후리가게, e; 고추냉이 절임, f; 고추냉이와 야채절임.

여 백

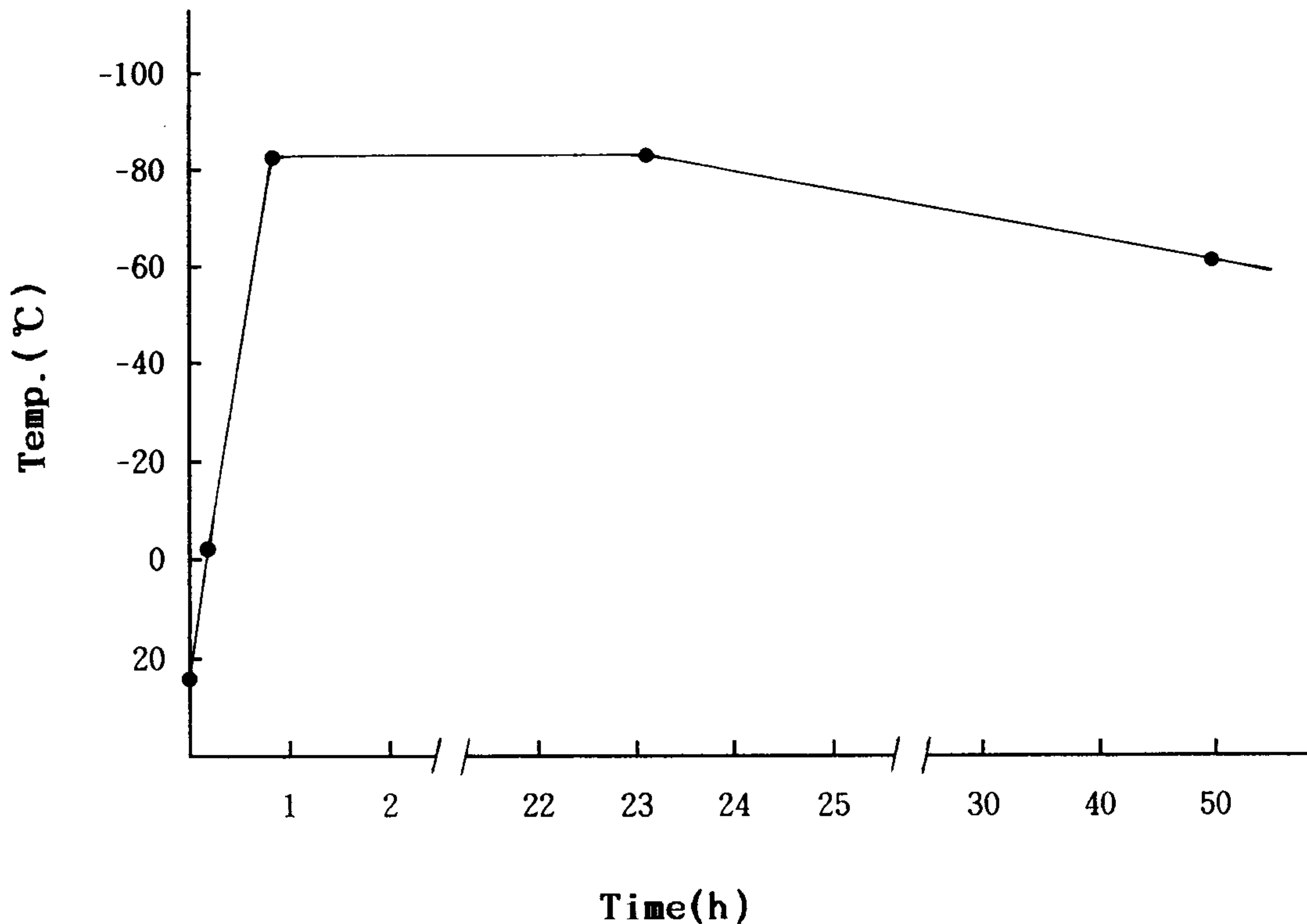


그림 4-2. 고추냉이 동결온도 곡선

나. 동결조건외 유지시간

1) 동결 실험은 동결상태에서 수송이 가능한 스티로폴 박스를 이용하였고 그 크기는 내경으로 400×295×300mm, 두께는 29mm로 이 용기의 용적은 35,400cm³로 15kg의 dry ice와 상당량의 실험용 고추냉이 근경을 담을 수 있는 공간이 있었다.

2) 上記 크기의 박스에 15kg의 dry ice와 시료를 넣고 밀폐후 온도 유지기간을 시험한 결과 dry ice의 온도인 -83°C를 유지하는 시간은 23시간이었고 49시간까지 -62°C를 유지하였고 동결점(-1°C)까지 상승하는데는 약 95시간이 소요되었다(그림 4-2).

3) 이 결과를 기초로 할 때, 생산 현지에서 근경을 보존용기에 넣고 dry ice 로 온도를 강하시킨 후 소비지로 수송하는 경우 동결상태로 2일 이상은 충분히 유지할 수 있어 현재 활용가능한 택배제도를 활용하면 별도의 유통체계없이 생산자와 소비자를 직접 연결할 수 있는 가능성이 있음을 확인 하였다.

다. 생체 및 마쇄 저장품 성분변화

- 생체 혹은 마쇄된 고추냉이를 상온, 5℃, -20℃, -40℃에 저장하면서 주요 매운 맛 성분인 allyl isothiocyanate의 함량을 분석, 정량하였다.
- 常溫 저장중 고추냉이의 allyl isothiocyanate의 함량변화를 조사한 결과는 <표 4-3>과 같다.

표 4-3. 상온저장 고추냉이의 저장중 allyl isothiocyanate 함량변화
(단위 : mg/100 g)

| 구 분 | 저장기간 (일) | | | | |
|-----|----------|-------|------|-------|------|
| | 0 | 1 | 2 | 4 | 6 |
| 생 체 | 108.4 | 109.9 | - | 108.4 | 99.8 |
| 마쇄품 | 108.4 | 94.1 | 93.1 | 70.1 | 60.5 |

<표 4-3>에서 보면 상온저장 초기의 ally isothiocyanate는 108.4mg/100 g (생체 고추냉이)으로 시작했으나 生體는 저장 4일까지 큰 변화가 없었고 저장 6일째 매운 맛의 함량이 감소하고 있었다.

마쇄품의 경우 저장 1일에 매운 맛 성분의 상당량이 감소되고 있음을 볼 수 있으며 저장 6일째는 초기함량의 60%이하로 떨어짐을 보여주고 있다. 이 결과를 보면 생체저장의 경우 상당기간 매운 맛의 변화는 없으나 마쇄한 후에는

성분의 변화가 급격히 일어남을 알 수 있다.

저장중 변화는 온도에 밀접한 관계가 있을 것으로 보나 저온저장을 시도한 결과는 <표 4-4>, <표 4-5> 및 <표 4-6>과 같다.

표 4-4. 5°C 저장 고추냉이 저장중 allyl isothiocyanate 함량변화
(단위 : mg/100 g)

| 구 분 | 저장기간 (일) | | | |
|-----|----------|-------|-------|------|
| | 0 | 2 | 5 | 14 |
| 생 체 | 108.4 | - | 108.1 | 88.4 |
| 마쇄품 | 108.4 | 110.3 | 98.1 | - |

<표 4-4>에서 보면 5°C에 저장한 경우 生體는 저장 14일후부터 allyl isothiocyanate의 감소를 볼 수 있으나 마쇄한 경우는 저장 5일후부터 감소하여 생체품보다는 떨어지는 경향을 보이고 있다. 이를 상온저장 결과와 비교해 보면 매운 맛 성분의 변화는 온도와 상당한 관계가 있음을 알 수 있다. 이와 같은 현상은 고추냉이 조직에 있는 sinigrin이 myrosinase에 의해서 allyl isothiocyanate로 변하는 효소적 반응인 마 酵素의 반응속도가 온도와 관계가 있기 때문으로 판단된다.

한편 저장온도를 더 낮춰 빙결점이하로 저장하는 경우 일반적으로 효소적 반응이나 화학반응이 지연되어 저장성도 향상되는 바 고추냉이의 경우도 비슷한 경향을 보이고 있다. 즉 -20°C에 저장하는 경우 (표 4-5) allyl isothiocyanate의 변화는 14일동안 거의 없었다. 그러나 마쇄품의 경우 저장 14일에 상당한 변화를 보이고 있는데 이는 이미 생성된 allyl isothiocyanate가 휘발에 의해서 감소하는 것으로 추정된다.

표 4-5. -20℃ 저장 고추냉이 저장중 allyl isochiocyanate 함량변화
(단위 : mg/100 g)

| 구 분 | 저장기간 (일) | | | |
|-----|----------|-------|-------|-------|
| | 0 | 4 | 7 | 14 |
| 생 체 | 108.4 | - | 110.6 | 109.8 |
| 마쇄품 | 108.4 | 106.1 | 80.5 | 81.1 |

저장온도를 더욱 낮춰서 -40℃로 저장하는 경우를 보면 <표 4-6>과 같이 저장 25일까지 生體重 변화는 거의 없으나 마쇄품의 경우는 저장 10일부터 allyl isothiocyanate의 함량이 감소하기 시작하여 저장 25일에는 초기함량의 70%수준으로 떨어지고 있다

표 4-6. -80℃ 저장 고추냉이 저장중 allyl isothiocyanate 함량변화
(단위 : mg/100 g)

| 구 분 | 저장기간 (일) | | | |
|-----|----------|-------|-------|------|
| | 0 | 10 | 14 | 25 |
| 생 체 | 108.4 | 102.8 | 109.9 | 99.9 |
| 마쇄품 | 108.4 | 77.2 | 72.1 | 71.1 |

이상 고추냉이를 생체 혹은 마쇄품으로 저장하는 경우 생체는 일반적으로 저장기간이 마쇄품보다 연장되어 상온에서는 4일, 5℃에서는 5일이상, -20℃에서는 14일이상, -40℃에서는 25일 정도 매운 맛의 변화없이 저장 가능 하였다.

한편 마쇄하여 저장하는 경우 저장기간이 비교적 짧아 상온에서는 1일, 5℃



사진 4-2. a; 고추냉이 잎의 생 절임, b; 잎을 절인 후 찢 것, c; 잎을 절인 후 양념한 것, d; 엽병을 절인 후 데친 것, e; 엽병을 절인 것, f; 엽병을 절인 후 김치 담금.

여 백

에서는 5일이내, -20°C 및 -40°C 에서는 5-7일 정도에서 매운 맛을 상당히 잃고 있었다.

냉동저장중 allyl isothiocyanate의 감소는 휘발에 의한 것으로 추정된다.

3. 부산물을 이용한 가공 제품

가. 잎을 이용한 제품

생잎을 절이거나 대처서 각종 양념을 다르게 배합하여 즉석 식용이 가능하게 제품을 만든 결과 이들은 대부분 깻잎 절임보다 독특한 향과 맛이 있었고 열처리에 의하여 비교적 안정한 색택을 유지하는 것으로 평가되었다. 이들의 모양은 <사진 4-2a~c>와 같다.

잎을 이용한 제품은 5종을 만들었고 저온 저장중 변화가 없어 절임류로 유통이 가능 할 것으로 판단되며 통조림 혹은 retort pouch 식품으로도 충분한 가능성이 있다. Retort식품의 경우 깻잎가공조건과 동일하게 가공이 가능하였다.

나. 줄기를 이용한 제품

고추냉이 줄기를 이용한 제품은 6종을 만들었으며 이들은 생절임, 데친 후 절임, 그리고 양념을 달리하여 제조하였다. 독특한 香味가 어느 정도 보존되고 있으며 조직도 유지시킬 수 있는 가능성이 있다고 판단되며 저장중 조직의 변화 및 색채의 변화가 인지되어 생체 이용방법이 더 바람직 할 것으로 생각된다. 고추냉이 잎과 줄기를 이용한 가공제품의 형태는 <사진 4-2d~f>에 비교하였다.

다. 줄기 및 잔뿌리를 이용한 샐러드 시험

줄기와 잔뿌리를 다른 채소류와 함께 혼합하여 샐러드를 제조한 경우 매운 맛과 고추냉이 특유의 향기가 있었으나 매운맛이 너무 강하여 다른 채소류의 향미를 변화시키는 특성이 있어 혼합하는量を 제한할 필요가 있고 生體의 조직과 맛을 조화시킬 수 있는 배합이 검토되어야 할 것으로 본다.

라. 잔뿌리를 이용한 마쇄품

고추냉이는 근경보다는 잔뿌리의 양이 대단히 많으므로 이를 이용한 제품이 개발되어야 할 것으로 본다. 잔뿌리에도 상당량의 향미성분이 존재하므로 이를 마쇄하여 저장성을 비교해 본 결과 근경에서 생성되는 녹색의 발현이 거의 없고 마쇄 직후 香味는 根莖과 유사하였으나 상온저장 5~6시간후 관능적으로 평가한 결과 매운 맛을 거의 상실하며 상품적 가치가 없어졌다. 따라서 잔뿌리의 용도는 절임등 마쇄품이 아닌 형태로 검토해야 할 것으로 생각된다. 이들 제품은 마쇄품 보다는 생체를 주박에 절이거나 다른 절임으로 만드는 방법을 더욱 검토할 필요가 있다고 판단된다.

제 4 절 결 론

고추냉이 재배적지로 지목되고 있는 무주지역에서 생산되는 고추냉이를 중심으로 根莖의 이용 상황, 잎, 줄기, 뿌리 등 부산물의 이용방안 그리고 근경을 소비처까지 수송하기 위한 단기 저장방법을 고안하기 위하여 관련되는 실험을 실시하였다. 아울러 실험방향을 설정하기 위하여 현재 유통되는 고추냉이의 수요처 조사, 가공공장 그리고 일본에서 유통되고 있는 부산물을 이용한 가공 제품을 수집, 평가하였다.

1. 생산 농민의 애로는 고추냉이 수확후 변색으로 인한 상품적 가치 상실이었고 이를 방지하기 위한 처리방법 개발을 희망하였다. 특히 계절에 따라 품질의 차이는 심하여 여름철 제품의 경우 고온에 의하여 변색의 속도가 빨랐다. 또한 부산물의 용도개발이 크게 관심의 대상이었다.

2. 국내 고추냉이 수요처는 호텔 등이었고 관련 호텔을 방문 조사한 결과 국산 고추냉이의 경우 收率과 품질에서 일본제품에 비하여 열등하다는 판단이었고 가격의 경쟁력이 있다면 수요 확대는 가능한 것으로 생각되었고 일본에서 수입되는 고추냉이를 관찰한 결과 우리 제품도 저온 유통방법으로 소비처까지 수송한다면 판로를 확대 할 수 있는 가능성이 있었다.

3. 요식업체의 국내산 고추냉이 품질 판단 결과에 근거하면 충분한 경쟁력이 있는 것으로 보며 가격의 조정과 이를 요식업체에 고추냉이를 공급하기 위한 효과적 유통체계의 확립이 필요하였다.

4. 현재 유통되고 있는 분말 혹은 튜브 포장 와사비 제품은 중국산 겨자무우를 바탕으로 겨자와 색소를 첨가 제조하는 것으로 고추냉이와는 다른 제품이나 가격면에서 상당한 경쟁력이 있고 소비자의 기호를 주도하고 있다고 여겨지고 있다.

5. 일본에서 생산되는 고추냉이 부산물 가공품들은 상당 부분이 청주 주박에 절임한 장아찌류로서 우리의 구미에 적응시키기 위해서는 상당한 변형이 필요한 것으로 보았으며 꽃대를 이용한 초절임 제품은 우리의 食性에도 맞을 것으로 보았다.

6. 저온 단기간 유통을 위해서는 아이스박스에 드라이 아이스를 넣어 宅配制度를 도입할 수 있을 것이다. 드라이아이스 15kg을 사용하는 경우 35,400cm³의 용량의 용기에 수송하면 49시간까지 -62℃를 유지, 수요처까지 충분히 수송가능하였다. 이때 동결된 제품을 일식 전문가에게 평가시킨 결과 품질상에 문제는 없었다.

7. 국내 생산 고추냉이 매운 맛 성분인 allyl isothiocyanate 함량은 108.4mg /100g (고추냉이) 정도였으며 저장방법에 따라 그 함량은 변하였다. 상온저장의 경우 매운 맛 성분함량 기준 생체는 4일, 5℃에서는 5일 이상, -20℃는 14일 이상, -40℃에서는 25일 이상 이었다. 마쇄품의 경우 생체보다 저장기간이 짧아졌으며 常溫의 경우 1일, 5℃에서는 5일 이내, -20℃ 및 -40℃에서는 5-7일 정도에 머물렀다.

8. 고추냉이 부산물인 잎, 줄기, 잔뿌리의 이용 가능성을 실험한 결과, 잎은 깻잎과 동일한 처리로 각종 절임 제품을 만들 수 있고 그 품질은 깻잎 사용 제품에 비하여 차별성을 줄 수 있었다. 줄기는 샐러드용 등 제한적으로 생체를 이용할 수 있을 뿐이었다. 잔뿌리는 상당한 매운 맛과 풍미를 가지고 있으나 특이하게도 마쇄후 독특한 색소가 발견되지 않고 매운 맛도 급속히 감소하여 마쇄품보다는 잔뿌리 그 자체로 절임하는 방법을 향후 실험해야 할 것으로 생각된다.

제 5 절 참고문헌

1. 이성우, 안병욱 (1995) 고추냉이(와사비) 재배법. 농진회, p 7.
2. 八藤眞 (1995) ワサビと「わさび漬」. 食の科學, 204, 2月號, 87.
3. Follett, J. M. (1978) Production of *Wasabia japonica* in Japan. Comb, Proc. Intl. Plant Prop. Soc. 36:443.
4. Chadwick, C. I., T. A. Lumpkin and L. R. Elberson (1993) The botany, uses and production of *Wasabia japonica*(MIQ.) (Cruciferae) Matsum. Economic Botany, 48(2):113.
5. Ohtsuru, M. and H. Kawatani (1979) Studies on the myosinase from

- Wasabia japonica*. Agric. Biol. Chem. **43**(11):2249.
6. Etoh, H., et al (1990) ω -Methylsulfanylalkyl isothiocyanates in Wasabi, *Wasabia japonica* Matsum. Agric. Biol. Chem., **54**(6):1587
 7. Ina, K., et al (1989) ω -Methylthiocyanates in Wasabi. Agric, Biol. Chem., **53**(2):537.
 8. Taniguchi, M. et al (1988) Effective utilization of horse radish and Wasabi by treatment with supercritical carbon dioxide. J. Ferment. Technol., **66**(3):347.
 9. Sugimoto, Y., et al (1984) Some properties of starches of Wasabi(*Eutrema wasabi* Maxim) and ginger(*Zingiber officinale* Rosc.). J. Home Econ. Jap. **35**(2):97.
 10. Hodge, W. H. (1974) Wasabi, native condiment plant of Japan. Economic Botany, **28**:118
 11. 山下公朗 (1993) ワサビ成分を利用した抗菌性包材による鮮度保持. 食品と科学, **35**(11):102.
 12. Kojima, K. Yanaga, H. Hamada, and N. Kashida (1988) Studies on the mixing ratios of wasabi and horse radish in the pastes. Journal of Japanese Society for Food Science and Technology, **35**:115.
 13. Haruki, K., Nakagawa, R. Ueno, and H. Kono. (1987) Cultivation of Japanese horse radish(*Wasabia japonica*) in a plastic house. Bulletin of Shimane Prestucture of Agricultural Experiment Station, **22**:37.
 14. 무주군 농촌지도소 (1995) 고추냉이 재배 현황.