

GOVP1199801755

제3차년도
최종보고서

655.84
L2937
v.3

고추냉이의 재배체계 확립 및 고품질생산

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

연구기관

전북대학교 농과대학

농림부

제 출 문

농 립 부 장관 귀하

본 보고서를 “고추냉이의 재배체계 확립 및 고품질 생산” 과제의
최종보고서로 제출합니다.

1997. 12. 26.

주관연구기관명 : 전 북 대 학 교

총괄연구책임자	:	은	중	선
연구원	:	신	동	화
"	:	김	형	무
"	:	고	정	애
"	:	김	영	선
"	:	김	미	중
"	:	김	명	준

여 백

요 약 문

I. 제 목

고추냉이의 재배체계 확립 및 고품질 생산

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 잎과 葉柄, 꽃봉오리 등을 절임하여 食用하는 고급 香辛菜蔬로 각광을 받고 있으며 주로 日本에서 소비되고 있는데 우리나라에서도 생선에 관한 料理가 날로 증가됨에 따라 그 소비가 해마다 急加되고 있는 추세이다.

2. 國內에서는 1920년경 日本人에 의하여 울릉도에서 재배된 고추냉이의 1種(*Wasabia koreana*)이 알려졌으나 해방과 더불어 재배가 중단되어 아직 재배체계가 확립되어 있지 못한 실정이다. 우리 나라에서 경제적으로 재배되고 있는 고추냉이는 모두 日本에서 육성된 品種이고 도입된 種數도 “달마” 등 2~3종에 불과하며, 國內에서 食用하고 있는 와사비粉末은 香味가 비슷한 서양와사비(*Armoracia rusticana*)를 중국과 Canada에서 輸入, 加工한 것으로서 본 연구의 고추냉이와는 屬과 種名이 전혀 다른 식물이며 주요 성분 및 효능에 큰 차이가 있고 가격도 현저하게 낮은 것이다.

3. 본 연구대상 作物인 고추냉이는 식욕부진, 防腐防止, 殺菌效果가 우수할 뿐 아니라 解毒, 清血作用이 있다고 알려져 왔으며 최근 日本대학 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 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 우리 나라에서는 덕유산의 무주 구천동계곡, 강원도 평창 등 아직 한정된 山村지역에서 극소수의 農家에 의하여만 시험재배되고 있을 뿐이고 品質도 아주 열악한 실정이다.

6. 우리 나라에서는 아직 신품종 육성은 물론 採種體系가 확립되어 있지 않아 현재는 대부분의 종자를 日本에서 수입, 재배하고 있는 실정인데(種子 1kg당 100,000円) 최근 재배를 희망하는 農家가 늘어남에 따라 무주군 농촌지도소에서는 自殖種子를 농가에서 수집, 육묘하여 種苗를 보급하고자 하고 있으나 식물의 특성상 內婚弱勢現象이 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 뿌리썩음병, 연부병, 운부병, 노균병 등 각종 병해가 심하여 상품성과 식품적 가치를 크게 저하 시키고 있다.

8. 전라북도 무주군 덕유산계곡의 30餘 재배농가에서 상당량이 시험재배로 생산되고 있으며 전국 제일의 대규모 재배단지를 형성하여 1995년에는 고추냉이 영농조합으로 법인체를 설립, 등록하였으나 유통, 판매체계가 확립되지 않아 큰 타격을 받고 있

으며 年 2회 수확하고 있는 생산품의 적절한 저장 및 加工體系가 전혀 개발되어 있지 않아 病害문제와 더불어 농촌지도소의 기술지도 및 농가의 재배상 가장 큰 애로사항으로 지적되고 있다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

제 1 절 우량종묘의 다량생산체계 확립

1. 急速多量増殖 체계 확립

가. 受精된 未熟胚를 개화 후 일정기간별로 채취하여 胚發生에 적합한 배양적기와 生長調節劑의 효과를 조사하고 體細胞胚의 발아 및 체세포배 유래의 多芽体를 분할한 후 분할묘에서 多芽体 유도, 뿌리발생에 적합한 성장조절제의 조성을 조사한다.

나. 優良形質을 보유하고 있는 고추냉이의 頂端分裂組織, 根莖腋芽 및 花莖節을 배양하여 캘러스, shoot 및 뿌리발생에 미치는 성장조절제의 효과를 조사하고 다아체 誘導에 적합한 배지조성과 多芽体에서 幼苗를 분할하여 器內苗의 증식에 적합한 배양 조건을 조사한다.

2. 器內苗의 순화체계 확립

가. 器內種苗의 생산단가를 낮추기 위하여 馴化率을 재고시키고자 器內 환경조절이 가능한 membrane filter를 부착하여 透明化된 幼苗를 선별, 배양한 후 기내의 가스 교환과 습도조절에 의한 기내순화과정에서 透明化 苗 억제효과를 조사한다.

나. 2% sucrose가 첨가된 뿌리유도배지에서 光量을 $25\sim75\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 로 달리 처리한 후 배양용기에 membrane filter를 부착하여 membrane filter와 고추냉이의 기

내묘 생육에 적합한 적정광량을 조사하기 위하여 배양묘의 本葉數, 多芽體의 分化數, 뿌리발생 등 生長量 증가에 미치는 효과를 조사한다.

다. Pot에 이식전 뿌리발생배지(0.01 mg/L IBA)에 배양한 幼苗의 기내순화과정을 조사하기 위하여 membrane filter를 부착한 혼합영양배양과 未附着한 종속영양배양, sucrose를 첨가하지 않은 배지에 membrane filter를 附着한 광독립영양배양과 미부착한 대조구에서 배양묘의 本葉數, 多芽體 分化, 뿌리발생 등 生長量 증가에 미치는 효과를 조사한다.

3. 배양묘의 無病株 검정 및 재배시험

가. 정단분열조직의 크기별로 배양한 培養苗의 罹病性 여부를 指標植物, ELISA 방법을 이용하여 검정, 조사한다.

나. 無病苗를 포장에 栽植하여 생육특성을 조사한다.

4. 交雜 F₁계통의 選拔 및 재배시험

耐病 및 根莖의 특성이 우수한 우량계통의 선발을 위해 국내의 울릉종과 달마종 고추냉이와의 개체간 交雜種子를 얻고 未熟胚를 배양, 증식하여 標高 450m의 포장에 재식한 후 우량 개체를 선발한다.

제 2 절 주요 病害 및 방제체계 확립

1. 우리 나라에서 발생되고 있는 고추냉이 病害를 수집하여 정확한 병원체를 분리하고 病原體의 형태적 특징과 병원성 및 病害의 종류를 밝히며 분리된 곰팡이, 박테리아, 바이러스 등의 병원균을 同定한다. 또한 고추냉이 주요 재배지역인 전북 무주 지방에서 발생하는 바이러스병의 同定과 그 바이러스의 정확한 계통조사 및 감염상황에 대해서 조사한다.

2. 墨入病의 전염경로를 밝혀 묵입병의 방제에 활용하고자 한다.
3. 묵입병과 根莖 腐敗病의 방제에 필요한 藥劑를 선발하여 일반 재배농가에서 실질적으로 안전한 고추냉이의 재배 및 高品質 생산을 하고자 한다.

제 3 절 재배법 개선 및 지대별 작형개발

1. 고추냉이 재배지의 土壤分析, 溫度 등 환경적 특성 등을 조사하고 파종기와 정식기, 實生묘와 분주묘, 재식밀도, 遮光 등을 달리하여 생육, 병해, 수량 등 제 특성을 조사하여 재배법 개선으로 고품질 생산체계를 확립한다.
2. 온도와 遮光에 의한 光量이 성장과 병해발생에 미치는 영향을 조사하여 고추냉이 재배에 적합한 환경적 특성을 밝힌다.
3. 高品質의 고추냉이를 생산하기 위해 고추냉이 재배지의 標高(300, 450, 600m)에 따른 지대별 生育, 病害의 발생 등을 조사하여 재배가능 표고 및 지대별 작형을 개발하여 高品質의 생산체계를 확립한다.

제 4 절 장기 저장방법 및 부산물 이용방법 개발

1. 저장기간 중 고추냉이 특유의 成分 保存을 위한 最適條件을 구명하고, 현지 수확시기 및 저장조건에 따른 성분 및 품질특성을 확인하고자 한다. 또한 適期에 수확한 다음 신선한 상태로 일정기간동안의 저장을 위한 包裝 및 流通條件을 조사한다.
2. 等外品을 비롯한 부산물을 이용하여 기호성 있는 절임식품 및 香辛料를 제조하는 기술을 개발코자 하며 等外品의 특수성분 확인으로 이의 이용방법을 다각적으로 제시하고자 한다.

IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

제 1 절 우량종묘의 다량생산체계 확립

1. 급속다량증식 체계확립

종자를 과중하여 발아된 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.

未熟胚培養에서 體細胞胚 발생에 적합한 배양시기는 開花 후 36-45일이 경과된 초기자엽기의 未熟胚였으며, 1/2 Murashige & Skoog배지에 2.0 mg/L IAA를 첨가한 구에서 體細胞胚 발생이 가장 양호하였고, 이 體細胞胚는 0.2~2.0 kinetin과 BA단용배지에서 shoot가 분화되어 배양 30일후에는 多芽체로 증식되었으며 0.01mg/L IBA배지에서 뿌리가 발생되어 種苗로 활용할 수 있었다.

頂端分裂組織을 培養한 結果, 多芽体(multiple shoot)의 分化는 0.2~1.0 mg/L BA 혹은 kinetin첨가구에서 가장 양호하였고, 다아체는 다시 分割하여 0.2 mg/L BA 혹은 kinetin첨가배지에 2개월 마다 繼代培養하면서 다아체를 再誘導하였고, 기내묘를 유지·증식시킨 후 種苗로 활용하고자 하는 경우 뿌리발생배지인 0.01 mg/L IBA배지에 30~60일간 배양한 후 pot에 이식, 馴化시켜 포장에 재식할 수 있었다. 본 실험결과 多芽体誘導에 의한 급속 다량증식이 가능하여 1개의 정단분열조직은 1년간 배양하면 약 6,300여개체의 培養種苗로 증식될 수 있었다.

花莖節의 腋芽를 배양하여 정단분열조직과 같은 방법으로 多芽体の 유도를 통한 多量増殖 효과를 도출하였다.

일본에서 구입하여 온 根莖에서 정단분열조직과 액아를 절취하여 배양한 결과 국

내 재배종과 같은 증식효과를 얻었으며 일정기간 순화기간을 거쳐 현재 포장에 재식되어 생육중에 있는데 고추냉이 재배 종주국인 일본이 우수한 품종의 국외전파를 적극 차단하고 있는 실정에서 일본에서 시판하고 있는 우량한 根莖을 구입하여 온다면 본 연구결과를 적용한 組織培養方法으로 언제든지 다수의 培養苗를 획득할 수 있다는 결론을 얻은 바 유용하게 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

또한 培養器內 幼苗로 增殖시키고자 장기간 계속적으로 多芽體를 증식하는 과정에서 cytokinin류가 체내에 축적되어 뿌리발생이 저해되었다. 따라서 分割苗 증식에 요구되는 BA의 농도는 가급적 저농도로 유지하여 분할묘에서 다아체로 너무 빠르게 생육된 결과 배양기내 식물체의 密度가 높아져 비정상식물체로 되는 것을 방지할 뿐만 아니라 뿌리발생에 저해되지 않도록 器內苗의 維持, 증식과정이 중요하다는 결과를 얻었다.

이와 같이 器內 건전묘 육성과 多芽體 誘導를 통하여 급속 다량증식시키는 일련의 체계가 본 연구를 통하여 확립되었고 農家에서 필요로 하는 器內 種苗의 생산은 본 배양법으로 얼마든지 가능하다는 결론을 얻었다.

2. 기내묘의 순화체계 확립

器內苗의 透明化現象과 순화과정중 枯死率이 높아 건전하고 값싼 조직배양 종묘의 생산에 문제가 되고 있는 바 배양기내의 환경을 조절하는 방법으로 최근 사용되고 있는 membrane filter를 이용하여 고추냉이 培養苗의 순화체계를 확립하였다. Membrane filter를 배양기에 부착하거나 미부착하여 多芽體 유도과정에서 발생하는 투명화현상묘의 억제효과, 뿌리발생 및 生長量을 조사하였고, 뿌리발생배지에 sucrose를 첨가하지 않고 membrane filter의 부착효과를 조사한 결과 器內環境은 식물체의 생장에 있어서 중요한 역할을 하였다.

즉 pot에 이식하기 전 本葉 4~5매의 分割苗를 sucrose를 첨가하지 않고 0.01

mg/L IBA만을 첨가한 뿌리발생배지에 membrane filter를 부착하여 배양한 구에서 健全苗木가 육성되었으며 培養中 多芽體 유도에 의한 증식효과도 나타났다. 이것은 영양원으로서 탄소원을 배지에 첨가한 sucrose에 의존해야 했던 밀폐용기의 경우 기내 CO₂ 결핍, 高濕度, 에틸렌 高濃度 등으로 뿌리발생 및 生育이 극히 저해되었으나 membrane filter를 부착한 경우 배양용기내의 가스교환으로 광합성에 의한 自家獨立 營養이 가능해져 sucrose가 없는 상태에서도 건실한 생육을 유도한 결과를 얻었다.

優良種苗木의 다량생산체계에 있어서 배양종묘 생산에 소요되는 비용을 반드시 고려해야 할 문제의 하나인 바 본 연구의 순화체계를 활용, 培養苗木의 環境스트레스에 의한 결점을 방지하여 健全種苗木를 다량생산하고 枯死率을 저하시키면 기내 배양묘의 단가를 낮추고 실용화할 수 있었다.

3. 배양묘의 무병주 검정 및 재배시험

담배, 명아주 등 指標植物에 의한 罹病性의 조기검정이 가능하였고 항혈청법에 의한 바이러스검정에서 재배포장의 식물체(12%)와 정단분열조직의 培養苗木(3.3%)간의 罹病度에 차이가 나타나 조직배양에 의한 無病株生産 및 罹病率을 감소시킬 수 있다는 기존의 培養效果가 인정되었다.

조직배양 유래의 器內 분주묘를 pot에 이식하여 20℃의 성장상에서 3개월간 순화 과정을 거친 후 450m 재배포장에 재식하여 實生苗木 및 分株苗木와의 생육조사를 실시한 결과 器內 無病種苗木가 가장 양호한 성장반응을 보였는 바 분주묘 재배에 따른 罹病性을 막을 수 있어 기내묘가 현지 재배농가에서 優良種苗木로 충분히 이용 가능하였다.

4. 교잡 F₁계통의 선발 및 재배시험

耐暑性이 강한 울릉종과 달마종간의 交雜種 F₁개체를 未熟胚培養하여 체세포배를

다수 육성하였고 器內發芽시킨 후 기내에서 1개의 교잡종을 분할묘로 다량 증식시켜 450m 재배포장에 재식하여 현재 생육중에 있다. 본 실험으로 우량한 개체를 선발하고 우량종의 정단분열조직, 미숙배, 花莖節 등을 이용하여 개체증식을 시킨다면 우량 개체의 선발과 함께 다량증식에 효율적이라고 판단된다.

제 2 절 주요 병해 및 방제체계 확립

農家 포장에서 수집된 고추냉이로부터 병원균을 分類, 同定하였고, 환경조건에 대한 실험이 이루어졌다. 고추냉이 근경에서의 박테리아 밀도는 *Erwinia* 54.1%, *Xanthomonas* 21.1%, *Pseudomonas* 17.2%, *Corynebacterium* 6.8%로 분리되었다. 연 부병은 *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae*로 동정되고 6월~8월에 최대로 발생하였으며 포장에서의 발병률은 30.6%였다.

墨入病의 병원균은 *Phoma wasabiae*로 동정되었으며 이 균은 유관속부에 퍼져 유관속 조직을 괴사시키며 잎과 엽병에 흑색의 병징을 형성하였고 포장에서의 발병률은 30.2%였다. 온도가 상승하는 4월부터 발병하기 시작하여 5월~6월에 증가하며 10월 까지 지속되었다. 고추냉이에 모자익병징을 나타내는 이병주로부터 고추냉이모자익바이러스를 분류 동정하였다. 指標植物의 반응과 바이러스 입자를 전자현미경으로 검정한 결과 담배와 명아주에 斑點을 나타냈고 대부분이 300nm, 桿狀形態이며 TMV로 同定되었다. 고추냉이의 TMV의 발생은 무주지역에서 1차년도 8%이며, 2차년도 22%로 증가하였다. ELISA법에 의해 TMV계통의 감염을 조사하였는 바 TMV-W와 TMV-C계통의 혼합감염이 많았고 TMV-P계통의 감염은 적었고 고추냉이 모자익바이러스는 TMV-W系統이었다.

고추냉이 묵입병의 전염경로는 종자와 잎, 葉柄 및 根莖에 감염되어 전염되었다. 수집된 종자로부터 묵입병균의 保菌率은 3~12%였으며 묵입병균에 감염된 종자는 묘 판에서 모잘록병을 일으켰다. 잎에 칩입한 병원균은 葉脈, 葉柄을 통하여 근경의 유

관속을 침해하였고 뿌리의 유관속을 통하여 葉柄에 감염되어 罹病된 잎과 엽병은 枯死되었다.

고추냉이의 墨入病과 腐敗病의 방제에 우수한 약제를 선별하기 위하여 실험한 결과 묵입병 방제를 위해서는 Benomyl수화제 1,000배액 처리가 실내실험과 포장실험에서 가장 효과적이었다. Benomyl수화제의 처리는 약제 무처리에 비하여 79.2%의 방제가를 나타냈다. 근경부패병의 방제를 위한 약제로써 Oxolinic acid수화제 처리는 약제 무처리에 비하여 75.9%의 防除價를 나타냈다.

제 3 절 재배법 개선 및 지대별 작형개발

파종기와 정식기를 달리한 시험에서는 11월에 파종하여 2월에 정식한 포장이 묘는 작았지만 생육이 제일 왕성하였고 5월에 파종한 포장이 발아율도 저조하고 정식 후 생육도 좋지 않았다. 初期生育 및 수량에 있어서 분주묘가 실생묘보다 22% 높은 수량을 보였으나 고온기의 병해에 대하여는 약했다. 생육에 있어서는 2월에서 5월까지 성장하였고 6월부터 8월까지의 夏枯現象으로 초장 및 生體重이 작아졌으며 다시 9월에서 12월까지 재생육하다가 겨울동안에 추위로 잎이 枯死하는 등 위축되었다.

재식거리는 20×20cm에서 栽植株數가 많아 30×30cm보다 지상부의 수량은 많았으나 밀식되어 연부병이 많고 根莖의 크기가 작았다. 상품성이 높은 根莖은 30×30cm구에서 많이 수확되었고 加工用 및 단기재배에서는 20×20cm구가 收量을 높일 수 있었다.

溫度 및 光量이 고추냉이의 지상부 및 지하부 성장과 주요 병해발생에 미치는 영향을 조사하기 위하여 온도와 遮光條件을 달리하여 실험을 수행하였던 바 유묘정식 180일후의 초장은 생육온도에 따라 차이가 현저히 인정되어 17℃구에서 가장 좋은 결과를 나타냈다. 軟腐病과 墨入病의 발병률은 온도가 증가할수록 증가되었으나 遮光量이 많은 75% 遮光處理한 곳이 고추냉이의 무게, 근경의 길이가 가장 좋았고 25%

차광처리한 구에서는 75%구 보다 연부병과 목입병의 발생이 많았다.

표고별 온도조사에서 夏節期에는 최고온도가 25℃이상 高溫이 계속되었던 바 온도를 낮추기 위해서는 75% 遮光網을 설치하고 通風이 잘 되도록 해야 하며 冬節期에는 최저온도가 0℃이하로 저하되었는 바 반드시 2중턴넬과 보온덮개를 사용하여 식물체가 凍害를 받지 않고 계속하여 성장하도록 保溫 혹은 加溫施設이 필요하였다.

토양은 砂質壤土이고 고추냉이 생육에 적합한 弱酸性반응이었고 유기물과 질소, 가용성 인산의 함량은 표준범위이었으며 CEC와 Ca, K의 함량은 낮았고 Mg성분은 비교적 높은 수준으로 평가되었다.

표고별 병해조사에서 軟腐病의 경우 標高 300m에서는 6월~8월의 기온이 높은 시기에 가장 많이 발생하였는데 10월까지 조사결과 300m지대에서는 45.4%로 나타났는데 반해 450m와 600m에서는 각각 26.5%와 24.8%로 나타나 가장 심하였다. 墨入病은 450m와 600m에서 분주묘의 경우 각각 43.3%와 46.7%를 나타내어 실생묘가 36.7%를 나타낸 것에 비해 약 10%정도 더 발생되었으며 300m의 경우에는 실생묘가 43.2%, 분주묘가 46.7%를 나타내어 심한 발병을 보였다.

收量은 300m지역은 고추냉이 근경의 상품성이 가장 不良하여 재배에 적합하지 않았고 450~600m지역에서 상품성이 높은 根莖이 생산되어 재배적지로 평가되었다.

제 5 절 장기 저장방법 및 부산물 이용방법 개발

고추냉이 栽培適地로 지목되고 있는 무주지역에서 생산되는 고추냉이를 중심으로 根莖의 이용 상황, 잎, 줄기, 뿌리 등 副産物의 이용 방안 그리고 根莖을 소비지까지 수송하기 위한 단기 저장방법을 고안키 위한 연구와 실험방향을 설정하기 위하여 현재 유통되는 고추냉이의 수요처 조사, 가공공장 그리고 일본에서 유통되고 있는 부산물을 이용한 가공제품을 蒐集, 평가하였다.

수확시기에 따라 품질의 차이는 심하며 특히 여름철 제품의 경우 高溫에 의하여

變色の 속도가 빨랐다. 국내 고추냉이의 수요처는 호텔, 고급 일식요리점 등 이었고 관련 호텔을 방문 조사한 결과 국산 고추냉이의 경우 收率과 品質에서 일본제품에 비하여 열등하였으나 저온유통체계를 확립하고 가격의 경쟁력이 있다면 수요와 판매의 확대는 가능하였다.

일본에서 생산되는 고추냉이 부산물 가공품들은 상당 부분이 淸酒 酒粕에 절임한 장아찌류로서 우리의 口味에 적응시키기 위해서는 상당한 변형이 필요한 것으로 평가되었으며 꽃대를 이용한 초절임 제품은 우리의 食性에도 맞을 것으로 보았다.

低溫 단기간 流通을 위해서는 아이스박스에 드라이아이스를 넣어 宅配制度를 도입해야 하는데 드라이아이스 15kg을 사용하는 경우 35,400cm³의 용량의 용기에 수송하면 약 49시간까지 -62℃를 유지, 수요처까지 충분히 수송 가능하였다. 이때 동결된 제품을 日食 전문가에게 평가시킨 결과 품질상의 문제는 없었다.

고추냉이 매운 맛의 주요 성분인 allyl isochiocyanate의 함량은 108.4mg/100g이었으며 저장방법에 따라 그 함량은 변하였다. 常溫貯藏의 경우 매운 맛 성분함량 기준 生體는 4일, 5℃에서는 5일 이상, -20℃는 14일 이상, -40℃에서는 25일 이상이었다. 마쇄품의 경우 生體보다 저장기간이 짧아졌으며 常溫의 경우 1일, 5℃에서는 5일 이내, -20℃ 및 -40℃에서는 5~7일 정도에 머물렀다.

고추냉이 副産物인 잎, 줄기, 잔뿌리의 이용 가능성을 실험한 결과, 잎은 쌈용 및 깻잎과 동일한 처리로 각종 절임제품을 만들 수 있었고 그 품질은 깻잎 사용 제품에 비하여 차별성을 줄 수 있었다. 줄기는 샐러드용 등 제한적으로 生體를 이용할 수 있을 뿐이었다. 잔뿌리는 상당한 매운 맛과 風味를 가지고 있으나 특이하게도 磨碎 후 독특한 色素가 나타나지 않고 매운 맛도 급속히 감소하여 마쇄품보다는 잔뿌리 그 자체로 절임하는 방법을 향후 실험해야 할 것으로 생각된다.

제 6 절 활용에 대한 건의

1. 본 연구에서 고추냉이의 조직배양법을 통하여 확립한 無病株의 생산과 優良種 苗의 다량증식방법으로 1개의 정단분열조직에서 1년에 6,300여개의 器內 苗를 생산할 수 있었다. 우리 나라에서는 육종사업이 되지 않고 있으며 일본에서도 고추냉이의 우량한 新品種을 市販하고 있지 않고 篤農家에서 자가채종하면서 우량품종의 해외 반출을 절대 금지하고 있는 현실에서 현지에서는 신선한 고추냉이 根莖을 판매하고 있는 바 우량한 根莖을 구입하여 오고 본 연구의 조직배양체계를 활용하여 급속 다량증식이 가능하였다. 따라서 정부기관이나 지방자치단체, 혹은 산업계나 영농조합법인에서 우량한 器內種 苗를 다량생산 보급함으로써 재배면적을 확대하고 高品質의 고추냉이를 생산하여 山村農家의 소득증대에 기여하는 방안이 요구된다.

2. 조직배양에 의하여 증식되고 있는 대부분의 기내묘는 기내의 불량환경에 의하여 묘의 소질이 열악하고 순화율이 낮아 종묘의 생산비가 고가로 되어 실용화하는데 애로가 많은 바 본 연구에서와 같이 배양용기에 membrane filter를 부착하여 건전 기내묘를 육성하고 馴化率을 높여 종묘의 생산 단가를 대폭 낮출 수 있으므로 본 연구 결과는 고추냉이 뿐 아니라 다른 식물의 기내종묘 생산에 실용적 활용이 요구된다.

3. 고추냉이 재배농가의 애로사항 중의 하나는 정확한 病害의 진단과 방제체계의 확립인 바 본 연구에서 밝혀진 주요 병해의 분류 및 동정과 약제에 의한 防除體系는 농가에서 직접 활용하여 高品質의 고추냉이 생산에 적용될 수 있으므로 농가의 지도 자료로 활용되어야 한다.

4. 우리 나라의 고추냉이 재배는 아직 적정 재배법과 작형이 개발되어 있지 않은 바 본 연구의 栽植密度, 표고별 재배적지, 온도와 遮光 등이 생육 및 病害發生에 미치는 영향에 대한 연구결과는 고품질의 고추냉이 생산에 活用될 수 있으므로 지도대책이 요구된다.

5. 고추냉이의 貯藏, 가공체계가 확립되어 있지 않아 신선한 고추냉이 根莖의 주년

공급이 곤란한 바 본 연구의 저장 및 輸送體系로 고품질을 유지할 수 있고 副産物은 가공 및 調理하여 농가소득을 증진하는데 활용할 지도대책이 요구된다.

6. 종합적으로 본 연구결과는 고추냉이의 優良種苗 생산과 재배 및 이용에 적용되어 재배농가의 현장애로 문제에 적극 대처할 수 있다고 생각되는 바 대 農民 선진농업기술교육과 농촌지도사업 및 研究資料로 활용할 대책이 요구된다.

SUMMARY

Subtitle I : Establishment of the Production System of High Quality Seedlings 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, cotyledon, immature zygotic embryo, apical meristem, and node of flower stalk in *Wasabia japonica* were cultured on modified Murashige and Skoog's medium supplemented with different concentration of auxins and cytokinins. In order to establish of acclimatization system in vitro plantlets, shoots were cultured on rooting medium(MS medium with 0.01 mg/L IBA) with 2% sucrose under different PPF(photosynthetic photon flux density) in vessels added cap with or without membrane filter or without sucrose in vessels added with or without membrane filter. After the in vitro plantlets were acclimated for 60 days in 20°C growth chamber, seedlings were cultivated in experimental field of 450m altitude. Also, after the crossing seeds of the cultivar 'Ulreung'(♀) × 'Dalma'(♂) were harvested, immature embryos were cultured on modified MS medium 1.0 mg/L IAA or without growth regulators.

1. Establishment of rapid mass propagation system

(1) Callus formation by hypocotyl and cotyledon culture

① Hypocotyl and cotyledon were formed callus and roots without shoot formation on medium with the combinations of NAA and BA or IAA and

cytokinins.

② Cotyledon and hypocotyl cultured on medium containing 2,4-D and kinetin did not form callus or root at all.

(2) Somatic embryogenesis and plantlet regeneration by immature zygotic embryo culture

① The stages of zygotic embryos were classified into torpedo shape (stage I) and cotyledonary stage(stage II, stage III). Most of somatic embryos were produced directly from cotyledon tissue of zygotic embryos after 15 days of culture. But hypocotyl and radicle of immature embryo did not form callus or somatic embryos at all.

② The early cotyledonary zygotic embryos were more productive than the torpedo stage or late cotyledonary ones on somatic embryogenesis and they were also produced greater numbers of somatic embryos. In early cotyledonary stage, the highest overall embryogenesis percentage were achieved on modified Murashige & Skoog's(half strength of NH_4NO_3 and KNO_3) with 2.0 mg/L IAA(83.3%).

③ The shoot formation from somatic embryos was the best on medium with 0.2~2.0 mg/L BA or kinetin and plantlets regenerated from somatic embryos had phenotypically normal leaves and roots.

④ When the shoots lacking roots were separated individually, they were put in medium for multiple shoots and root formation, rooting and root growth were the best on medium with 0.01 mg/L IBA and multiple shoots were

produced on medium with BA.

⑤ But the combinations of BA and 0.01 mg/L IBA seemed to have nothing to do with rooting. The combination of BA with 0.01 mg/L IBA produced a smaller percentage of rooting per divided plantlet and the number of multiple shoot was lower. However, although the number of multiple shoot was reduced, the medium with 0.01 mg/L IBA alone was necessary to form the root from shoots.

⑥ BA treatment was effective on proliferation and growth of tissue-cultured shoots but BA at 1.0 mg/L concentration was inhibitory the root formation.

(3) Plantlet regeneration by apical meristem culture

① Apical meristems cultured on MS medium with IAA or NAA alone weren't effective on multiple shoot formation but caused rapid callus and root formation. After 60 days of culture, these explants developed multiple buds and shoots together with calli but at low frequency. However, the hard, compact irregularly shaped calli induced on 2,4-D did not form shoot.

② Whereas the cytokinins alone failed to induce any callus and root but were capable of inducing shoot differentiation after 4 weeks of culture. After 60 days of culture, many of these shoots developed as multiple shoots.

③ Of the cytokinins BA and kinetin were more efficient than zeatin. Thus, the best results for multiple shoot formation were obtained using kinetin or BA at 0.2~1.0 mg/L.

④ The combinations of auxins and cytokinins were more efficient for the

induction of callus and induced as much as 100% callus formation, the calli showed the formation of a number of roots. The effect of cytokinins for shoot multiplication was decreased when it was supplemented with auxins.

⑤ Rooting and root growth were the most effective on MS medium with 0.01 mg/L IBA, after rooting, the regenerated plants were washed and transferred to pots containing sterilized soil.

⑥ When in vitro plantlets maintained on medium with BA for 60 days were excised and subcultured on 0.01 mg/L IBA for rooting, the best percentage of root formation was obtained from the shoots cultured on 0.2 mg/L BA within 30~60 days.

⑦ After apical meristem explants were cultured for 90 days in first inoculation, multiple shoots with 7~17 shoots/explant were obtained. Divided plantlets into small parts from multiple shoot gave rise to 3~4 well-developed shoots with 4~5 true leaves every 2 months. As above result, it was enable to obtain about 6300 divided plantlets per one explant in a year.

(4) Plant regeneration by node of flower stalk

① The experiments described in this paper were undertaken to investigate sterilization methods and the effect of growth regulators on plantlet regeneration system suitable for micropropagation in the node culture of flower stalk of wasabi. The highest survival rate of explants was obtained by a 8~9 min. immersion in 7% calcium hypochlorite solution.

② Cultivar 'Dalma', fifty cultured explants were survived only 26.0~50.0% of them, cultivar 'Ulreung', 46.7~76.7% of thirty explants were survived. After 20 days of culture, the axillary bud of node gradually developed into

shoots and growth of the shoots increased on medium with NAA plus BA.

③ The node of flower stalk cultured on medium with 1.0 mg/L kinetin was produced the greatest frequency of shoots(81.8%) per explant in cultivar 'Ulreung'. Shoots isolated from node were cultured on medium with cytokinins alone. At 0.2~1.0 mg/L BA or kinetin, 100% of shoots formed multiple shoot and the number of multiple shoot per shoot subcultured was four or five after 60 days of culture.

④ Well-developed shoots of the two cultivars that were not rooted on cytokinins medium were excised and cultured on MS medium containing 0.01 mg/L IBA. Roots emerged from shoots within 15~30 days. After rooting, the plantlets were transferred to soil.

2. Establishment of acclimatization system of in vitro plantlets

① The sequential subcultures of in vitro plantlets were highly affected by vitrification and the capacity for multiple shoot formation was very weak from the vitrified plant materials.

② In order to improve the quality of in vitro plantlets, the experiments were carried out using in a culture vessels capped with membrane filter(MF). When vitrified young shoots were cultured on MS medium with 0.2 mg/L BA in vessels with MF or without MF for 60 days, vitrified shoot didn't appear in vessels with MF. In contrast, shoots grown without MF were vitrified at 65% of shoots.

③ The stomatal shape of vitrified leaves was circular and inflated, whereas normal leaves acclimatized in vessel with membrane filter had ovate shaped stomata.

④ Also, in order to investigate the effect of membrane filter on sucrose-free, the hardened shoots were cultured on media containing 0.01 mg/L IBA in vessels with(photoautotrophic culture) or without(control) membrane filter. Sucrose was necessary for the survival of in vitro plantlets in vessel without membrane filter. After 20 days of culture, shoots in vessels without membrane filter in the sucrose-free treatment turned yellow and were dead. But shoots in vessels with membrane filter in the sucrose-free treatment were alive and produced a lot of roots.

⑤ When shoots were cultured on MS medium with 2% sucrose in vessels with(photomixotrophic culture) or without(heterotrophic culture) membrane filter, the growth of plantlets was the best in photomixotrophic culture.

3. The cultivation of disease-free seedlings in field

After the acclimatization of in vitro plantlets for 2 months in 20°C growth chamber, seedlings, divided seedling, and disease-free stock were cultivated in experimental field of 450m altitude. The leaf number, plant growth, axillary bud proliferation after 130 days of planting were increased in disease-free stock in the comparison with seedling and divided seedling.

4. The crossing of the cultivar 'Ulreung' and 'Dalma'

The immature zygotic embryos of F₁ seeds were obtained by reciprocal crosses between the cultivars('Ulreung'×'Dalma') and they were cultured on modified MS medium with 1.0 mg/L IAA or without growth regulators. After 25 days of culture, most of F₁ seeds formed somatic embryos or were

germinated normally. Somatic embryos were produced directly from cotyledon tissue of F₁ zygotic embryo. After the germination of F₁ zygotic embryo, plantlets are subcultured on MS medium with cytokinins for shoot multiplication. After rooting, the F₁ plants were cultivated in field.

Subtitle II : The Major Diseases of Wasabi in Korea and its Control Effects of Chemicals on Diseases of Wasabi

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 conditions were investigated at the growth chamber and fields. Also, these experiments were carried out to examine the control effects of chemicals on diseases and transmittion of black leg and soft rot on wasabi. Chemicals were tested for the activity against black leg and bacterial rhizome rot disease.

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 black leg of wasabi was identified to *Phoma wasabiae*. The fungus spreaded into the vascular system causing necrosis petioles. The infection ratio was 30.2% percentage in the fields. The infection was occured 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~August. The infection ratio was 30.6% in the fields.

④ The wasabi showing mosaic symptom were collected and confirmed that the causal agent was tobacco mosaic virus. The virus particles showed rod shape with sized 300nm by means of dipping methods in electron microscope. Infection rate of TMV at Muju area was 8% in first cultivaton year, but, it was 22% in second year. Infection ratio of both with TMV-W strain and TMV-C strain was high, while the TMV-P strain was low in the infection.

⑤ 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% in the nursery beds.

⑥ The pathogen of black leg disease was transmited by seed, leaf, petiole and rhizome. The percentage of diseased seeds from different seed lots was 3~12%. Infected seeds were causal organism of damping-off at seedling stage. The pathogen, *Phoma wasabiae*, of infected leaves invade root through the leaf vein and vascular bundle of petiole and rhizome. The pathogen of infected root invade petiole and leaf through the vascular bundle and development of disease was late cormpared with infected leaf. The leaf and petiole wither and die at the late stage of disease.

⑦ Benomyl was the most effective against black leg disease in laboratory tests and treatment of chemicals on wasabi plant. Protective value of benomyl was 79.2% compared to control.

⑧ Oxolinic acid was the most effective against bacterial rhizome rot disease in laboratory tests and treatment of chemicals on wasabi plant. Protective value of oxolinic acid was 75.9% compared to control.

Subtitle III : Improvement of Cultivation Method and Cropping System

This experiments were carried out to obtain basic informations on the improvement of cultivation method and cropping system. In improvement of cultivation method, different sowing and planting date were conducted to year-round culture. Also, the growth characteristics, damage by disease, and rhizome yield were examined in different planting density(20×20cm, 25×25cm, 30×30cm) or in cropping system classified 300m, 450m, and 600m altitude. In order to find out the effect of temperature and shading on the growth and major disease infection, experiments were at growth chamber condition and field.

① Seedlings sown on Nov. 25 were more suitable rather than those sown on May 25 in plant growth after planting.

② In early growth of early stage and rhizome yield, divided seedlings were showed the high percentage than seedlings but they were infected on various diseases of wasabi by high temperature injury.

③ Planting density showed high possitive correlation with rhizome length and weight, the infection of soft rot was lower in 30×30cm than in 20×20cm.

④ The plant height and the growth of leaf and rhizome were obviously reduced with the increase of temperature, in which the optimum temperature for the plant growth was estimated to be 17℃.

⑤ 75% shading net in the treatment of light intensity was favorable to the

growth of rhizome, rhizome weight and whole plant weight.

⑥ Infection ratio of black leg and soft rot was 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.

⑦ The emergence of soft rot were showed the highest frequency(45.4%) on 300m altitude in June~August, plants cultivated in 450m and 600m altitude were infected 26.5%, 24.8%, respectively.

⑧ Plants cultivated in 450m or 600m altitude was higher on the commercial value of rhizome than those cultured in 300m.

⑨ When the size of rhizome were clasiffied large and middle in 450m altitude after 18 months of planting, the percentage of large rhizome having 40g and over in weight showed about 50% of the total rhizome yield.

Subtitle IV : 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, petiole and root. The tested wasabi was harvested on March and on October 1995 at Muju 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, allyl isothiocyanate, kept constant level at frozen product at -60°C , and -20°C for 20 days. Chilled wasabi had less stability. Mashed product was much unstable than fresh one.

⑦ By-product of wasabi, leaf, petiole 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.

여 백

CONTENTS

Chapter I . Introduction

Section 1. Purpose and category of study	-----	33
Section 2. Necessity of study	-----	35

Chapter II . Establishment of the production system of high quality seedlings in wasabi

Section 1. Introduction	-----	38
Section 2. Materials and Methods	-----	39
Section 3. Results and Discussion	-----	45
Section 4. Summary	-----	108
Section 5. References	-----	114

Chapter III . The Major diseases of wasabi in Korea and its control effects of chemicals on diseases of wasabi

Section 1. Introduction	-----	117
Section 2. Materials and Methods	-----	119
Section 3. Results and Discussion	-----	125
Section 4. Summary	-----	159
Section 5. References	-----	160

Chapter IV. Improvement of cultivation method
and cropping system

Section 1. Introduction	-----	165
Section 2. Materials and Methods	-----	166
Section 3. Results and Discussion	-----	170
Section 4. Summary	-----	192
Section 5. References	-----	194

Chapter V. Longterm preservation of wasabi and
its by-product processing

Section 1. Introduction	-----	196
Section 2. Materials and Methods	-----	197
Section 3. Results and Discussion	-----	201
Section 4. Summary	-----	213
Section 5. References	-----	215

목 차

제 1 장 서 론

제 1 절 연구개발의 목적과 범위	33
제 2 절 연구의 필요성	35

제 2 장 우량종묘의 대량생산체계확립 분야

제 1 절 서 론	38
제 2 절 재료 및 방법	39
제 3 절 결과 및 고찰	45
제 4 절 결 론	108
제 5 절 참고문헌	114

제 3 장 주요 병해 및 방제체계확립 분야

제 1 절 서 론	117
제 2 절 재료 및 방법	119
제 3 절 결과 및 고찰	125
제 4 절 결 론	159
제 5 절 참고문헌	160

제 4 장 재배법 개선 및 지대별 작형개발 분야

제 1 절 서 론	165
제 2 절 재료 및 방법	166
제 3 절 결과 및 고찰	170

제 4 절 결 론	-----	192
제 5 절 참고문헌	-----	194

제 5 장 장기저장방법 및 부산물 이용방법개발 분야

제 1 절 서 론	-----	196
제 2 절 재료 및 방법	-----	197
제 3 절 결과 및 고찰	-----	201
제 4 절 결 론	-----	213
제 5 절 참고문헌	-----	215

제 1 장 서 론

제 1 절 연구개발의 목적과 범위

1. 고추냉이(*Wasabia japonica*, 日名: 와사비)는 십자화과에 속하는 숙근성 다년생 초본식물로서 반음지성이며 여름이 시원하고 겨울이 온화한 일본과 대만의 특정지역에서 주로 재배되고 있다. 고추냉이에는 sinigrin, allylisothiocyanate, buthylisothiocyanate, vitamin C 등을 함유하고 있기 때문에 식욕촉진, 부패방지, 살균효과가 우수할 뿐아니라 해독, 발한, 이뇨 및 청혈 작용이 있는 고급 향신채소로써 그 수요가 증가하고 있다. 시중에서 판매되고 있는 와사비粉末과 연와사비는 고추냉이와 쯤이 비슷한 西洋와사비(*Armoracia rusticana*)를 캐나다, 中國 등지에서 수입, 가공한 것으로써 본 연구의 고추냉이와는 植物種이 전혀 다르며 주요 성분 및 효능에도 큰 차이가 있고 가격도 현저하게 낮은 것이다.

2. 국내에서는 1920년경 일본인에 의하여 울릉도에서 재배하였지만 해방과 더불어 중단되었으며 1970년대 작물시험장에서 시험재배되었으나 경제성이 맞지 않아 중단되었다. 1980년대 이후 급격한 경제성장과 더불어 소득이 높아지고 식문화가 향상됨에 따라 생선회 등 일식요리가 일반화되어 고추냉이가 필수적인 향신채소로 등장하게 되어 1980년 후반에 전북 무주지방에서 재일교포에 의해 시험재배되고 농가에 보급되어 본격적으로 재배된 계기가 되었다. 현재 전북 무주군과 진안군에서 1996년 전국의 재배면적(5ha) 중 약 60%가 집중 재배되고 있으며 금릉, 울릉도, 평창 등 산촌농가의 고소득작물로 중요도가 고조되고 있고 재배면적이 매년 증가되고 있다. 그러나 재배법이 까다롭고 특정한 환경조건이 요구되어 품질 및 수량은 일본에 비하여 상당히 열악하기 때문에 수요량의 대부분을 고가에 수입하여 오고 있는 실정이다.

3. 우리 나라에서는 신품종육성 및 채종체계가 확립되어 있지 않아 소요되는 종자

의 전량을 매년 일본에서 고가에 수입하여 재배하였으나 최근에는 농가에서 자가채종하는 방법으로 소량의 종자를 확보하고 있으며 고소득작물로 알려져 타 지역에서 매년 무주군의 채종농가에 종자분양을 의뢰하여 오고 있으나

4. 고추냉이의 주요 품종은 대부분이 일대교잡종이므로 종자번식으로는 형질이 다른 개체가 다수 발생되어 우량형질을 유지하기 어렵고 우량형질이 선발되어도 영양번식으로는 증식률이 저조하여 연간 20주내외의 개체밖에 증식되지 않기 때문에 선발 후 증식에도 많은 시간이 소요되는 문제점이 있다. 따라서 영양번식방법으로는 급증하는 소비량을 충족시키지 못할 뿐 아니라 罹病株가 많고 생산단가가 높아 저렴한 가격으로의 보급이 어려운 실정이다

4. 고추냉이에 발생되기 쉬운 바이러스병, 墨入病, 軟腐病 등이 영양번식한 모주로 부터 증식개체에 쉽게 전염될 수 있기 때문에 재배상 애로가 많으므로 조직배양에 의한 무병주 육성 및 우량영양계의 다량증식체계의 확립이 요구된다. 최근에는 이런 문제점을 보완하기 위해 조직배양기술을 이용한 다량증식방법의 연구가 일본에서는 소개되어 있으나 우리 나라에서는 이에 대한 연구가 미흡하여 아직 체계가 확립되어 있지 않다.

5. 고추냉이의 기내 급속증식에 있어서 문제가 되고 있는 노력과 경비를 절감하여 생산단가를 낮추고 보급효과를 증진시키기 위한 순화체계 또한 시급히 해결하여야 할 문제점으로 지적되고 있다.

6. 우리 나라의 재배환경에 따른 병해의 분류 및 동정과 방제체계가 확립되어 있지 않아 재배농가의 현장애로로 지적되고 있다.

7. 고추냉이의 수확후 원거리 수송에 따른 품질의 저하 및 주년공급을 위한 저장 방법과 우리 나라 국민의 식성에 맞는 부산물의 가공, 이용에 관한 연구가 전혀 개발되어 있지 않다.

8. 따라서 우량형질을 보유하고 있는 고추냉이의 조직배양으로 다아체유도에 적합한 생장조절제의 종류와 농도를 구명하고 분할묘의 다량증식 및 뿌리발생에 적합한

배지와 조직배양묘의 생산체계를 확립하고, 무병주의 생산과 기내 배양묘의 환경적응력을 증진시키기 위한 순화묘를 생산하며, 우량계통의 선발을 위해 교배 및 F₁세대를 육성하고, 병해의 분류 및 동정과 방제체계 확립, 고품질 생산을 위한 고추냉이의 재배지대별 표고에 따른 작형개발시험의 적정성 여부 및 특정환경 조건과 재배체계의 확립, 저장 및 가공방법의 개발 등을 목적으로 본 연구가 이루어 졌다.

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 생산단가를 저하하여 조직배양종묘의 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 主産地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. 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.

라. 病害問題는 현재 일본의 병해연구를 참고하여 대처하고 있으나 우리 나라의

재배환경 및 재배방법에 차이가 커서 방제체계에 문제가 야기되고 있으므로 우리나라에서 發病되고 있는 병해의 분류, 동정과 우리나라에 알맞는 病害防除體系가 확립되어야 한다.

마. 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 우리 나라 국민의 식성에 맞는 고유의 절임식품으로 가공체계를 확립하여야 한다.

2. 경제적 측면

가. 매년 재배되는 종자의 소량을 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, 매년 약 10kg을 栽培農家에서 輸入하였음).

나. 국내 재배에서 가장 문제가 되는 병해는 墨入病, 軟腐病, 바이러스병 등으로 수량 및 상품가치를 크게 저하시켜 수출제한요인이 되며 제값을 받지 못하는 현상으로문제를 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 있

는데 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 수입개방에 대응한 附加價値 높은 대체작물로 개발하여 山村農家의 소득을 증대할 수 있다.

3. 사회적 측면

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

나. 일본이 原産地이고 일본인의 食性에 맞아 품질 좋은 고추냉이를 일본에서만 獨占 생산한다는 개념에서 탈피하여 우량종묘의 생산, 병해방제, 재배법 개선과 저장, 가공기술 등을 확립하여 전북지방의 特産品으로 개발함으로써 오히려 한국에서 생산된 高品質의 고추냉이를 일본 鹿兒島縣 등에 수출하는 것은 고추냉이 생산의 宗主國인 일본의 사회적 위상에 미치는 바 크다.

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 농민의식을 高揚할 수 있으며 재배면적이 확대되어 유망한 대체작물의 개발성과에도 기여하는 바 크다.

제 2 장 우량종묘의 다량생산체계확립 분야

제 1 절 서 론

고추냉이의 주요 품종은 대부분 一代交雜種이므로 종자번식으로는 형질이 다른 개체가 다수 발생되어 우량형질을 유지하기 어렵고 우량형질이 선발되어도 영양번식으로는 増殖率이 저조하여 연간 20주내외의 개체가 증식되기 때문에 선발 후 증식에도 많은 시간이 소요되는 문제점이 있어 영양번식방법으로는 급증하는 種苗의 소비량을 충족시키지 못할 뿐아니라 生産單價가 높아 저렴한 가격으로의 보급이 어려운 실정이다. 또한 고추냉이에 발생되기 쉬운 墨入病, 바이러스병 등이 母株로부터 증식개체에 쉽게 전염될 수 있어 조직배양에 의한 無病株 육성 및 우량영양계의 다량증식체계의 확립이 요구되고 있다.

無病株 육성과 器內分株에 의한 다량증식의 방법으로 莖頂組織이나 花莖節의 腋芽를 배양하는 조직배양법이 보고되었다(細木 등, 1986; 松本과 山本, 1987). 고추냉이의 다량증식에 있어서 문제가 되고 있는 노력과 경비를 절감하여 생산단가를 낮추고 증식효과를 높이기 위한 수단으로 최근에는 器內 다량증식을 위해 성숙종자의 子葉이나 미숙종자의 子葉, 未熟胚, 胚軸, 葯 등을 배양하여 캘러스와 體細胞胚가 발생되었다고 보고(細木와 山田, 1933; 松本와 山本, 1987; 殷 등, 1995)되었다. 그러나 미숙종자의 未熟胚와 같이 置床切片體의 특정부위에서만 반응을 보이는 점과 체세포배로부터 식물체를 재분화시키는 과정에서 드는 노력은 器內 급속증식에 있어서 해결해야 할 문제점으로 지적되고 있다.

따라서 본 실험에서는 조직배양법에 의한 고추냉이 우량종묘의 急速多量増殖체계를 확립하기 위하여 우량형질을 보유하고 있는 고추냉이의 子葉과 下胚軸, 未熟胚, 頂端分裂組織, 根莖 및 花莖節의 腋芽 등을 배양하여 체세포배발생 및 多芽体유도에 적

합한 기본배지 및 성장조절제의 종류와 농도를 구명하였고, 分割苗의 다량증식 및 뿌리발생에 적합한 배지를 선정하여 조직배양묘의 생산체계를 확립하고자 하였다. 한편 기내 培養苗의 발근 및 외부 환경적응력을 증진시키기 위한 馴化苗를 생산하기 위해 器內의 가스교환, 습도조절 등 기내 환경조절이 가능한 membrane filter의 부착여부에 따른 생육상태를 조사하였고, 器內에서 발아 육성한 實生苗와 培養苗를 포장에 이식하여 포장적응력에 대한 배양묘의 생육조사와 정단분열조직 유래 기내묘의 virus 이병정도를 검정하였다.

또한 根莖이 우수한 개체의 선발을 위해 재배품종 '달마'를 울릉도 고추냉이와의 개체간 교잡에서 얻어진 F₁개체의 미숙배를 배양하여 多芽体로 유도하고 種苗를 육성하여 생육조사를 실시하였다.

제 2 절 재 료 및 방 법

1. 器內 急速多量増殖 체계 확립

가. 子葉과 下胚軸培養에 미치는 성장조절제의 효과

(1) 자엽배양에서 성장조절제의 효과

고추냉이의 種子를 pot에 파종한 후 자엽이 약 0.5cm²이하의 것을 선별하여 사용하였고, 배지는 Murashige & Skoog(MS, 1962)기본배지에서 NH₄NO₃와 KNO₃의 농도를 1/2로 감량한 배지에 生長調節劑는 auxin류와 cytokinin류를 혼용첨가하였으며 20g/L sucrose를 첨가하고 pH 5.8이 되도록 조정한 후 gelrite 0.2%를 첨가하여 사용하였다. 치상재료의 殺菌은 70% 에탄올에 4~5초간 침지한 후 7% calcium hypochlorite수용액에 10분간 消毒하고 멸균수로 4~5회 수세한 다음 치상하였으며, 20±1℃에서 暗培養한 후 켈러스발생과 뿌리발생률을 조사하였다.

(2) 下胚軸배양에서 성장조절제의 효과

사용된 배지는 <실험 가-(1)>과 동일하며 幼苗의 하배축을 0.5cm 크기로 절취하여 치상하였고 배양 후 캘러스 및 뿌리발생률을 조사하였다.

나. 未熟胚배양에 의한 體細胞胚 발생 및 식물체 再分化

(1) 미숙배의 배양적기와 auxin류의 효과

재료는 전북 무주군 설천면 해발 약 450m내외의 개인농장에서 분양받은 고추냉이 품종 “達磨”의 種苗를 전북대학교 온실에 재배하여 개화 후 25~55일이 경과된 상태의 미숙한 꼬투리를 채취하여 <실험 가-(1)>과 같은 방법으로 소독한 후 미숙종자로부터 未熟胚를 꺼내 발육단계별로 구분하여 치상하였다(Table 2-1). 배지는 <실험 가-(1)>과 같은 개량 MS배지에 0.2~2.0 mg/L씩 IAA, 2,4-D, NAA를 단용처리하였으며 배양조건은 20±1℃에서 암배양하였고 배양 50일 후 캘러스 및 胚發生에 미치는 미숙배의 培養適期和 auxin류의 효과를 조사하였다.

Table 2-1. Classification of immature embryo stage.

Stage	Embryo size (mm)	Days after anthesis	State of immature embryo
I	3.0 - 4.0	25 - 35	Torpedo shape
II	4.1 - 5.0	36 - 45	Early cotyledon
III	5.1 - 7.0	46 - 55	Late cotyledon

(2) Auxin류와 BA혼용처리 효과

魚雷型 및 초기자엽기의 미숙배를 배양재료로 하여 재료의 살균, 배지 및 배양조건은 <실험 나-(1)>과 동일한 방법으로 미숙종자로부터 미숙배를 꺼내어 치상한 후 캘러스 및 배발생에 미치는 auxin류와 BA의 혼용처리 효과를 배양 50일후에 조사하

였다.

(3) 體細胞胚 발아에 미치는 cytokinin류의 효과

발생된 체세포배를 체세포배塊 상태로 MS배지에 cytokinin류를 0.2~2.0 mg/L씩 단용처리한 배지에 계대배양하여 20±1℃로 조정된 성장상에서 2,000 lux 형광등 조명 하에서 명배양하였고 발아된 체세포배는 분리하여 cytokinin류와 GA₃가 첨가된 배지에 계대배양한 후 최초 배양조직에서 발생된 체세포배 덩어리상태에서의 정상적인 체세포배 발육을 위한 체세포배의 분리시기, 체세포배의 발아와 식물체재분화에 적합한 cytokinin류의 효과를 배양 30일후에 조사하였다.

(4) 多芽體 분화 및 뿌리발생에 미치는 BA와 IBA의 효과

多芽體(multiple shoot)에서 본엽 3~4매정도 분화된 shoot를 분할하여 실험재료로 이용하였으며 분할묘에서 기내묘의 유지 증식을 위해 多芽體分化 및 뿌리발생에 미치는 BA와 IBA의 효과를 조사하였다.

다. 정단분열조직의 배양체계 확립

(1) Auxin류 단용처리 효과

MS기본배지에 IAA, NAA 및 2,4-D를 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 및 3.0 mg/L로 각각 처리하여 置床한 후 캘러스, shoot 및 뿌리발생에 미치는 auxin류의 효과를 조사하였다.

(2) Cytokinin류 단용처리 효과

MS기본배지에 BA, kinetin 및 zeatin을 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 및 3.0 mg/L로 각각 단용 처리하여 치상한 후 캘러스, shoot 및 뿌리발생에 미치는 cytokinin류의 효과를 조사하였다.

(3) Auxin류와 cytokinin류의 혼용처리효과

MS基本培地에 2,4-D, NAA 및 IAA를 각각 1.0 mg/L씩 고정하고 BA와 kinetin을 0.2, 0.5, 1.0 및 2.0 mg/L 처리하였고 2,4-D와 kinetin, NAA와 BA, IAA와 BA를 혼

용처리하여 켈러스, shoot 및 뿌리발생에 미치는 auxin류와 cytokinin류의 혼용처리 효과를 조사하였다.

(4) Shoot로부터 뿌리발생에 미치는 IAA와 IBA의 효과

IAA, IBA를 각각 0.01~2.0 mg/L 첨가한 후 분할묘로부터 뿌리발생효과를 조사하였다.

(5) BA농도별로 증식된 shoot에서 뿌리발생 효과

0.2~1.0 mg/L BA 처리구에서 60일간 多芽體를 증식 후 뿌리발생배지(0.01 mg/L IBA)에 繼代培養한 후 뿌리발생률을 조사하였다.

(6) 1개체의 分割苗에서 2회 계대배양 후 증식된 多芽體 數

頂端分裂組織 1개체를 배양한 후 분화된 다아체에서 분할한 묘를 shoot 증식배지(0.2 mg/L BA 단용처리)에 계대배양한 후 증식된 多芽體의 수를 조사하였다.

(7) 일본산 고추냉이의 정단분열조직 및 근경액아 배양

일본의 주산단지인 靜岡縣에서 시판하고 있는 고추냉이(품종 未詳)를 구입하여 정단분열조직 및 근경의 액아를 상기한 <실험 다-(2)>와 동일한 방법으로 BA와 kinetin단용배지에 배양하여 증식효과를 조사하였다.

라. 花莖節 腋芽培養에 의한 多芽體 分化

(1) 소독방법 구명실험

전북대학교 실험포장에 재식되어 있는 고추냉이 2품종(달마, 울릉)의 화경절을 채취하여 실험재료로 사용하였다. 채취한 재료는 흐르는 물에 씻은 후 소독방법을 조사하기 위하여 腋芽가 부착된 마디별로 절취하여 10% Lax, 1~2% sodium hypochlorite 그리고 7% calcium hypochlorite에 tween 20을 2~3방울이 포함된 용액에 다양한 시간으로 浸漬한 후 증류수로 3~4회 수세하여 1.0 mg/L BA가 혼합된 MS배지에서 배양한 후 오염률을 조사하였다. 培地는 3% sucrose를 첨가한 다음

pH 5.8이 되도록 조정하였으며 0.2% gelrite를 첨가한 후 액아가 부착된 화경절을 배양하여 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 항온기에서 명배양하였다.

(2) 액아생장에 적합한 성장조절제의 효과

腋芽가 부착된 화경절은 1cm 길이로 절취하였으며 오염률이 가장 적은 소독방법을 이용하여 <실험 라-(1)>과 같은 MS기본배지에 auxin과 cytokinin을 첨가하여 액아생장과 증식에 적당한 生長調節劑의 효과를 조사하였다.

(3) 분리한 액아에서 多芽體 증식

화경절에서 生長된 액아만을 분리하여 <실험 라-(1)>과 같은 MS기본배지에 cytokinin을 첨가하여 다아체 증식에 적당한 성장조절제의 효과를 조사하였다. 분화된 다아체는 분할하여 0.01 mg/L IBA배지에 繼代培養하여 뿌리발생을 유도하였다.

2. 器內苗의 馴化體系確立

가. 透明化 苗 방지에 미치는 membrane filter의 효과

본엽 2~3매의 투명화된 유묘를 0.2 mg/L BA첨가배지에서 배양기내에 membrane filter를 부착 또는 未附着한 후 透明化 여부 및 증식속도를 조사하였다.

나. PPFd처리별 membrane filter의 효과

PPFD를 25, 50, $75 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 등으로 구분한 배양상에서 membrane filter(MF) 부착여부에 따른 식물체의 성장량을 조사하였다.

기공 및 공변세포의 관찰은 MF부착 또는 미부착한 배양기에서 생육된 잎을 1cm^2 로 절단하여 2% glutaraldehyde가 포함된 0.1M cacodylate buffer(pH 7.2)에 前固定시켜 완충액으로 3회이상 수세한 다음 2% osmium tetroxide액에 後固定하여 완충액으로 다시 수세하였다. 이를 연속 농도의 EtOH에 탈수시킨 후 isoamyl acetate액으로 치환시켜 critical point drying방식으로 건조시켰다. 건조시킨 표본을 鎊으로 sputter coating하여 SEM(Model: JSM-5410LV)으로 관찰하였다.

다. Sucrose濃도와 membrane filter의 효과

2% sucrose 배지에 membrane filter를 부착한 경우(混合營養培養)와 미부착한 경우(從屬營養培養), sucrose무첨가배지에 membrane filter를 부착한 경우(光獨立營養培養)와 未附着한 경우(대조구) 등으로 구분하여 $75\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PPF에서 pot에 이식하기 전의 식물체를 배양한 후 식물체의 生長量 및 뿌리발생률을 조사하였다.

3. 培養苗의 無病株 검정 및 재배시험

가. 無病株 검정

기내 배양묘의 virus 이병정도를 검정하기 위해 指標植物(*Nicotiana glutinosa*, *Chenopodium amaranticolor*)과 DAS-ELISA검정법으로 확인하였다.

나. 無病種苗 재배시험

전북 무주군 안성면 해발 450m 포장에서 實生苗, 分株苗 및 기내 無病苗를 정식한 후 圃場適應力을 관찰하기 위해 재배일수별로 생육특성을 조사하였다.

4. 交雜 F₁계통의 재배 및 선발시험

가. 交雜試驗

優良個體의 선발을 목적으로 유리온실내에 생육중인 재배종 달마와 울릉종에서 생육이 왕성한 식물체를 선별하여 자가수분 및 種間의 交雜率을 조사하였다.

나. 교잡종의 未熟胚培養에 의한 체세포배 발생 및 發芽率

교잡종자는 授粉 60일 후 미숙배 상태에서 수확하여 器內에서 배양하여 체세포배 발생 및 발아율을 조사하였다.

다. 교잡종자의 발아 후 식물체 증식

器內 발아된 交雜種의 미숙배를 cytokinin류가 단용처리된 배지에 배양하여 多芽체를 유도하였으며 分割苗는 0.01 mg/L IBA배지에서 뿌리를 발생시켰고 馴化處理 후 포장에 栽植하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 急速 多量增殖體系 確立

가. 子葉과 下胚軸培養에서 生長조절제의 효과

(1) 子葉배양에서 生長조절제의 효과

(가) Auxin류와 cytokinin류의 혼용처리

Auxin류와 cytokinin류를 혼용처리하여 배양한 결과(Table 2-2), 2,4-D와 kinetin 혼용처리의 경우 배양 초기인 20일후에 미숙자엽의 葉緣部에서 전체적으로 캘러스가 발생하기 시작하였으나 배양 60일후에는 발생된 캘러스가 더 이상의 增殖을 보이지 않았고 切片은 점점 갈변되었고 캘러스의 양상은 시일이 경과할수록 불량한 상태로 변화하였는데 배양 120일후에 모든 처리구에서 처음에 증식이 시작되던 캘러스는 모두 갈변되었다.

NAA와 BA혼용처리의 경우 농도가 높아질수록 子葉이 신장되면서 캘러스 발생이 시작되었으나 시일이 경과되면서 역시 증식은 되지 않았지만 2,4-D와 kinetin의 혼용처리에 비해 절편은 녹색을 유지하면서 양호한 상태를 보였고 배양 120일후에는 뿌리가 형성되었다.

Table 2-2. The effect of the combination of auxins and cytokinins in cotyledon culture of *Wasabia japonica* after 120 days of culture.

Growth regulators				No. of explants cultured	Days after culture			
2,4-D	Kinetin	NAA	BA		20	60	120	
					Calli formed (%)	Calli formed (%)	Calli formed (%)	Root formed (%)
(mg/L)								
0	0			20	0	0	0	0
0.2	0.5			64	100	79.7	0	0
0.5	0.5			20	75.0	50.0	0	0
0.5	1.0			18	94.4	72.2	0	0
0.5	2.0			39	89.7	51.3	0	0
1.0	0.5			54	98.1	74.1	0	0
1.0	1.0			39	71.8	71.8	0	0
1.0	2.0			36	50.0	28.9	0	0
		0.2	0.5	21	4.8	0	0	0
		0.5	0.5	28	35.7	14.3	28.6	14.3
		0.5	1.0	20	25.0	0	0	0
		0.5	2.0	16	0	0	0	0
		1.0	0.5	28	57.1	10.7	17.9	7.1
		1.0	1.0	31	38.7	12.9	0	0
		1.0	2.0	36	80.6	69.4	0	0

(나) IAA와 cytokinin류의 혼용처리

IAA와 cytokinin류를 혼용처리하여 배양한 결과(Table 2-3), IAA와 kinetin혼용처리의 경우 대부분의 절편이 치상 당시의 모습을 보였는데 캘러스발생은 초기 배양상태에서도 상당히 불량한 편이었으며 0.5 mg/L IAA와 2.0 mg/L kinetin혼용처리구에

서 배양 20일후에 뿌리발생은 관찰되었으나 캘러스의 增殖은 배양 120일후에도 관찰되지 않았다.

IAA와 BA混用處理區는 子葉이 비교적 길게 신장된 경우가 많았고 절단면에서 캘러스가 발생되기 시작하였으나 왕성한 증식을 보이지 않은 것은 다른 처리구와 마찬가지로 뿌리발생은 다른 處理區에 비해 약간 늦은 배양 60일후에 신장되었다.

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

(2) 하배축배양에서 성장조절제의 효과

(가) Auxin류와 cytokinin류의 混用處理

Auxin류와 cytokinin류를 혼용처리한 결과(Table 2-4), 2,4-D와 kinetin혼용처리구의 경우 배양 30일후부터 캘러스가 절단면에서 약간 유도되기 시작하였으나 배양 100일 후 조사 결과 더 이상의 增殖을 보이지 않았다. 몇개의 절편에서 발생된 캘러스 역시 까맣게 변한 후 그 위에 담황색의 캘러스가 다시 발생되었으나 배양기일이 경과되면서 더 이상 증식되지는 않았으며 일부 切片을 제외한 대부분의 절편은 모두 까맣게 되어서 배양기간중 절편상태는 다른 처리구와 비교하여 가장 저조하였고 배양 100일후까지 뿌리발생은 없었다.

NAA와 BA혼용처리구의 경우 배양 30일 후 절편체가 부푼상태로 캘러스가 분화되는 것을 관찰하였으나 뿌리발생은 없었다. 절편은 주로 흰색이었으며 절단면 뿐 아니라 전체 조직이 캘러스화하여 가장 양호한 캘러스발생률을 나타내었고 배양 100일후에는 뿌리분화도 왕성하였다. 0.5 mg/L NAA와 1.0 mg/L BA혼용처리구에서는 100%의 캘러스발생률을 보였으나 증식은 비교적 느린 편이었다.

Table 2-3. The effect of the combination of IAA and cytokinins in cotyledon culture of *Wasabia japonica* after 120 days of culture.

Growth regulators				No. of explants cultured	Days after culture					
					20		60		120	
IAA	Kinetin	BA	Zeatin		Calli formed (%)	Root formed (%)	Calli formed (%)	Root formed (%)	Calli formed (%)	Root formed (%)
(mg/L)										
0.2	0.5			35	0	0	0	0	0	0
0.5	0.5			39	0	0	0	0	0	0
0.5	1.0			40	12.5	0	10.0	2.5	0	2.5
0.5	2.0			39	30.8	7.7	0	7.7	0	7.7
1.0	0.5			19	21.1	0	10.5	0	0	0
1.0	1.0			20	10.0	0	0	0	0	0
1.0	2.0			20	0	0	0	0	0	0
0.2		0.5		20	0	0	5.0	0	0	5.0
0.5		0.5		15	20.0	0	33.3	0	0	0
0.5		1.0		19	52.6	0	0	0	0	0
0.5		2.0		31	35.5	0	0	0	0	0
1.0		0.5		63	25.4	0	0	1.6	0	1.6
1.0		1.0		47	70.2	0	27.7	4.3	0	4.3
1.0		2.0		44	18.2	0	2.3	0	0	2.3
0.2			0.2	24	0	4.2	0	4.2	0	4.2
0.5			0.2	26	23.1	7.7	0	7.7	0	7.7
0.5			0.5	38	2.6	0	0	0	0	2.6
0.5			1.0	70	41.4	0	0	0	0	1.4
0.5			2.0	56	12.5	0	0	0	0	1.8
1.0			0.2	32	31.3	6.3	0	9.4	0	9.4
1.0			0.5	30	16.7	6.7	3.3	6.7	3.3	10.0
1.0			1.0	20	25.0	0	0	0	0	0
1.0			2.0	28	25.0	0	0	7.1	0	7.1

Table 2-4. The effect of the combination of auxins and cytokinins in hypocotyl culture of *Wasabia japonica* after 100 days of culture.

Growth regulators(mg/L)				No. of explants cultured	Calli formed (%)	Root formed (%)
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	75.0	5.0
		0.5	0.5	20	75.0	15.0
		0.5	1.0	17	100	11.8
		0.5	2.0	25	84.0	28.0
		1.0	0.5	21	57.1	19.0
		1.0	1.0	20	50.0	10.0
		1.0	2.0	27	88.9	3.7

(나) IAA와 cytokinin류의 혼용처리

IAA와 cytokinin류를 혼용처리한 결과(Table 2-5), IAA와 kinetin혼용처리의 경우 배양 30일후부터 대부분 캘러스화되었고 뿌리는 절편에서 직접 발생되거나 캘러스가 유도된 후 발생하는 것을 관찰하였다. 배양 100일후에는 전 조직이 캘러스화하여 절편의 상태가 양호하였는데 1.0 mg/L IAA와 1.0 mg/L kinetin처리구에서 캘러스 및 뿌리발생이 가장 양호하였다. IAA와 BA혼용처리의 경우 배양 30일 후 대부분 절편이 부풀었고 캘러스발생 및 뿌리분화가 동시에 이루어졌으며, 배양 100일후의 절편조

Table 2-5. The effect of the combination of IAA and cytokinins in hypocotyl culture of *Wasabia japonica* after 100 days of culture.

Growth regulators				No. of explant cultured	Calli formed (%)	Calli formed (%)
IAA	Kinetin	BA	Zeatin			
			(mg/L)			
0.2	0.5			26	11.5	11.5
0.5	0.5			23	47.8	13.0
0.5	1.0			28	42.9	3.6
0.5	2.0			20	90.0	10.0
1.0	0.5			15	73.3	26.7
1.0	1.0			15	100	60.0
1.0	2.0			23	39.1	8.7
0.2		0.5		20	90.0	0
0.5		0.5		30	36.7	10.0
0.5		1.0		25	52.0	8.0
0.5		2.0		25	32.0	4.0
1.0		0.5		28	71.4	14.3
1.0		1.0		23	73.9	8.7
1.0		2.0		30	96.7	90.0
0.2			0.2	20	65.0	10.0
0.5			0.2	20	15.0	0
0.5			0.5	20	0	0
0.5			1.0	26	7.7	0
0.5			2.0	25	88.0	0
1.0			0.2	27	33.3	0
1.0			0.5	25	24.0	0
1.0			1.0	28	39.3	7.1
1.0			2.0	27	11.1	3.7

직은 양호한 상태로 캘러스증식 가능성이 있었으며 뿌리도 왕성히 분화되었는데 1.0 mg/L IAA와 2.0 mg/L BA혼용처리구에서 캘러스 및 뿌리발생률이 가장 좋았다.

IAA와 zeatin혼용처리의 경우 培養初期 30일경에는 대부분의 절편에서 캘러스가 발생하기 시작되었으나 배양 100일 후 조사에서는 증식이 멈춘 상태로 캘러스발생률은 저조하였으며 뿌리 역시 배양초기에는 관찰되지 않았고 培養 100일후에도 다른 처리구에 비하여 낮은 편이었다.

나. 未熟胚培養에 의한 體細胞胚 발생 및 식물체 再分化

(1) 未熟胚의 배양적기와 auxin류의 효과

개화 후 25~55일사이의 未熟種子에서 魚雷型, 초기 子葉期 및 後期 자엽기상태의 未熟胚(Table 2-1)를 꺼내 auxin종류별로 농도를 달리하여 배양하였다(Table 2-6).

개화 후 25~35일 경과된 어뢰형 상태의 미숙배배양에서 IAA첨가배지의 경우 배양 20일후부터 魚雷型 상태의 미숙배가 약간 신장된 후 자엽으로부터 직접 體細胞胚가 발생되기 시작하여 배양 30일후에 일부 발생된 胚는 이미 자엽화된 상태로 성장하였다. 1.0~2.0 mg/L IAA처리구의 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 子葉으로부터 직접 배발생이 50%가 이루어져 가장 양호하였으며(Photo. 2-1a), 2,4-D나 NAA 보다 IAA가 직접 배발생에는 효과적으로 나타났다.

2,4-D처리구는 어린 子葉에서 직접 배발생이 이루어지기도 하였으나 배양 15일후부터 주로 미숙배의 자엽에서 캘러스가 발생되기 시작하였는데 직접 胚發生이 배양 20일후부터 分化된 것에 비하면 그 시기가 약간 늦은 배양 40일경에 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.

Table 2-6. The effect of developmental stage of immature embryo on modified MS medium supplemented with auxins in immature embryo culture of *Wasabia japonica* after 50 days of culture.

Auxins conc. (mg/L)	Torpedo stage			Early cotyledonary stage			Late cotyledonary stage			
	IE ^a	Calli formed (%)	Embryos formed (%)	IE	Calli formed (%)	Embryos formed (%)	IE	Calli formed (%)	Embryos formed (%)	
0	24	0	37.5	24	12.5	58.3	20	5.0	34.8	
IAA	0.2	12	0	50.0	12	25.0	33.3	18	11.1	44.7
	1.0	24	4.2	16.7	24	29.2	75.0	20	5.0	13.8
	2.0	13	15.9	23.1	12	25.0	83.3	24	37.5	45.8
2,4-D	0.2	12	25.0	41.7	28	17.9	53.6	12	33.3	33.3
	1.0	25	36.0	36.0	12	58.3	58.3	12	58.3	58.3
	2.0	12	41.7	41.7	13	61.5	61.5	12	58.3	33.3
NAA	0.2	11	36.4	36.4	13	100	46.2	11	100	27.3
	1.0	12	25.0	25.0	12	100	16.7	12	58.3	0
	2.0	11	63.7	0	13	46.2	0	12	91.7	8.3

^a IE, No. of immature embryo cultured.

NAA단용구의 경우 캘러스誘導는 가장 효과적이었는데 캘러스로부터 體細胞胚 형성은 2,4-D에 비하면 저조하였다. 0.2 mg/L처리구에서만 子葉으로부터 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.

개화 후 36~45일이 경과된 초기자엽기의 미숙배배양은 IAA단용처리의 경우 배양 15일후부터 자엽으로부터 캘러스가 발생되거나 직접 배발생이 이루어졌는데 어뢰형

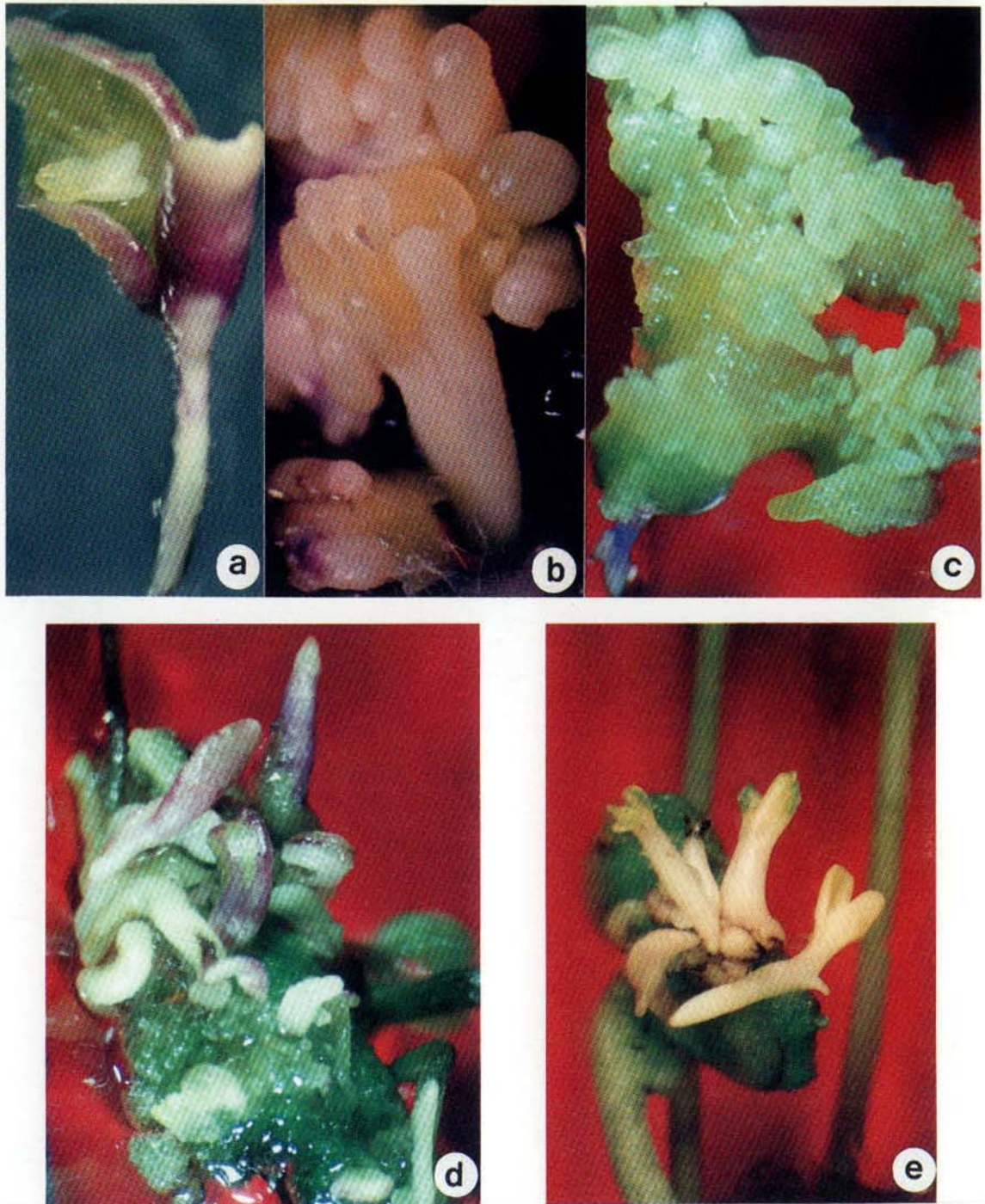


Photo. 2-1. Somatic embryogenesis by immature zygotic embryo culture. a: Somatic embryo formed directly from cotyledon tissue, b: Somatic embryo cluster c: Somatic embryogenesis from callus, d, e: The germination of somatic embryos on primary tissue after 10 days(d) and 30 days(e) of subculture.

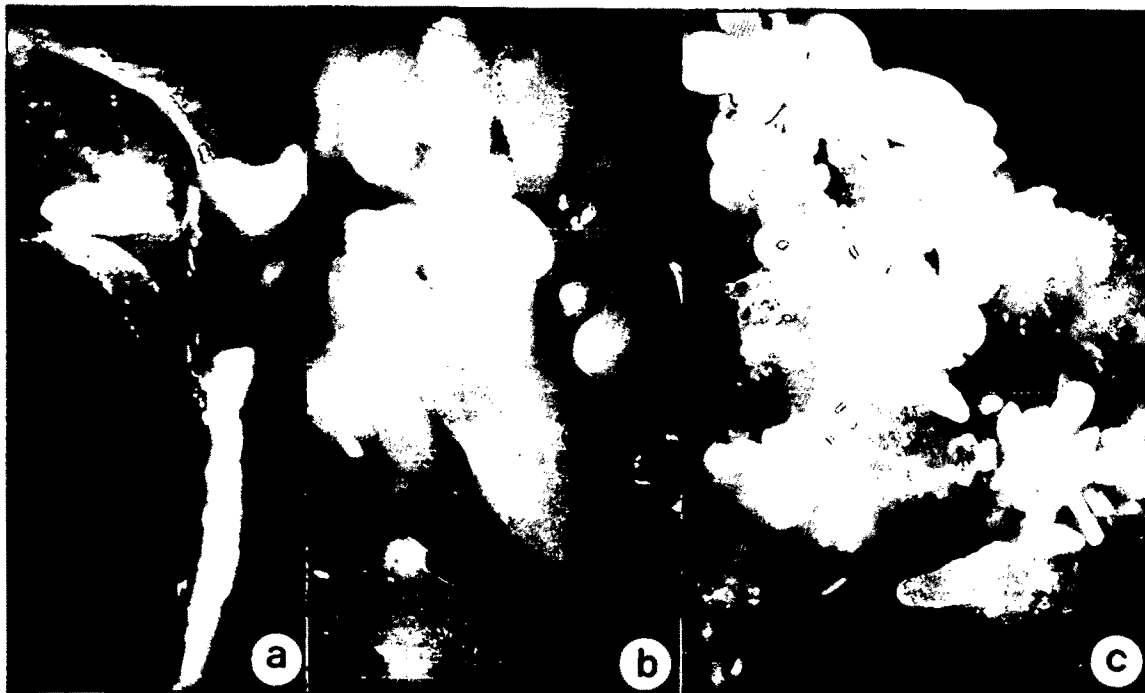


Photo. 2-1. Somatic embryogenesis by immature zygotic embryo culture. a: Somatic embryo formed directly from cotyledon tissue, b: Somatic embryo cluster c: Somatic embryogenesis from callus, d, e: The germination of somatic embryos on primary tissue after 10 days(d) and 30 days(e) of subculture.

여 백

미숙배에 비해 배양당시의 未熟胚가 발아하여 신장된 가운데 배발생이 이루어졌고 배 발생 속도도 비교적 빨랐으며 배양 30일경에는 2.0 mg/L의 경우 1개의 未熟胚의 자엽조직은 백색의 소돌기로 가득하여 가장 良好한 결과를 보였으며(Photo. 2-1b) 生長調節劑가 첨가되지 않은 처리구에서도 양호한 배발생을 보였다.

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

NAA처리구에서는 0.2~1.0 mg/L에서 캘러스발생이 100%를 보였는데 배양당시의 상태에서 조직이 약간 비대된 후 전체가 캘러스화 되면서 배양기간이 경과될수록 유도된 캘러스는 점차 검게 변한 후 그 위에 胚가 분화되었다. 그러나 NAA처리구에서 배양 당시의 未熟胚가 발아되어 신장된 경우는 없었고 2.0 mg/L에서는 체세포배발생이 전혀 관찰되지 않았다.

개화 후 46~55일 경과된 後期 자엽기의 未熟胚培養은 배양당시의 未熟胚는 자엽 크기가 성숙종자의 자엽과 비슷한 상태로 성숙된 상태였는데 체세포배는 初期 자엽기의 未熟胚培養과 마찬가지로 자엽표면에서 자엽전체를 덮는 것과 같이 발생되었다. 또한 배양기일이 경과되면서 일부 발생된 體細胞胚는 그 표면에 다시 胚가 형성되어 하나씩 분리하기 어려운 상태로 영켜버리는 경우도 있었다. IAA첨가구의 경우 대부분 자엽조직에서 직접 배발생이 이루어졌고 배양한 미숙배의 일부는 배양 2주일후부터 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 자엽기 미숙배배양에서는 1.0 mg/L IAA처리구에서 배발생률이 양호하였는데 본 재료에서는 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 未熟胚보다 성숙한 未熟胚일수록 더욱 신장되는 경향이였다. 2,4-D처리구의 경우 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 誘導되었는데 발생한 캘러스는 지속적인 증식을 보이지 않았으며 1개의 미숙배로부터 발생된 體細胞胚의 數도 1~2개 정도에 불과하여 가장 저조하였다.

(2) Auxin류와 BA혼용처리 효과

어뢰형 및 초기자엽기의 未熟胚를 auxin류와 BA를 혼용처리 후 배양한 결과 (Table 2-7) 캘러스 發生이 전 처리구에서 양호하였는데 특히 2.0 mg/L IAA와 1.0 mg/L BA혼용처리구에서는 캘러스로부터 66.7%의 체세포배발생률을 나타내어 가장 좋은 결과를 보였다(Photo. 2-1c). 그러나 子葉組織으로부터 직접 배발생은 IAA단용처리구에 비해 현저하게 낮은 편으로 직접 胚發生에 있어 IAA와 BA의 혼용처리는 BA가 배발생에 저해적으로 나타났다.

2,4-D와 BA를 혼용처리한 결과, 2,4-D와 BA가 0.2 mg/L씩 혼용첨가된 구에서 23.5%의 직접 胚發生이 이루어졌고 나머지 처리구에서는 전혀 발생되지 않거나 저조하였다. 캘러스발생은 1.0 mg/L 2,4-D에 0.2, 1.0 mg/L BA混用處理區에서 58.3%를 보여 단용처리보다 양호하였으나 캘러스로부터 체세포배발생은 배양조직에서 1~2개 정도에서만 발생되어 역시 배발생은 저조하였다. 또한 전 처리구가 배양 당시의 어뢰형 상태로 아무런 변화를 보이지 않고 머물러 있었다.

NAA와 BA혼용처리에서는 1.0 mg/L씩 NAA와 BA가 혼용처리된 경우 캘러스유도율이 100%였으며 캘러스로부터 체세포배발생은 58.3%를 보여 가장 양호한 결과를 보였다. 그러나 배양기일이 경과되면서 배양체가 갈변된 후 枯死하는 경우가 많았는데 이것은 너무 어린 미숙배를 배양한 결과라고 생각된다.

자엽기 미숙배를 IAA와 BA가 혼용처리된 배지에 배양한 결과(Table 2-7) 어뢰형

Table 2-7. The effect of the combination auxins and BA in immature embryo culture of *Wasabia japonica* after 50 days of culture.

Auxins	BA	Torpedo stage			Early cotyledonary stage			
		IE ^a	Calli formed (%)	Embryos formed (%)	IE	Calli formed (%)	Embryos formed (%)	
	(mg/L)							
IAA	0.2	0.2	13	69.2	38.5	42	52.4	19.0
	0.2	1.0	12	75.0	50.0	50	50.0	18.0
	0.2	2.0	12	100	25.0	57	71.9	47.4
	1.0	0.2	12	41.7	41.7	50	32.0	32.0
	1.0	1.0	14	71.4	21.4	44	13.6	13.6
	1.0	2.0	12	58.3	33.3	36	86.1	30.6
	2.0	0.2	16	62.5	18.8	48	93.6	52.1
	2.0	1.0	12	100	66.7	50	56.0	42.0
	2.0	2.0	12	100	58.3	52	48.1	21.2
2,4-D	0.2	0.2	17	41.2	23.5	70	100	18.6
	0.2	1.0	12	50.0	0	49	87.8	34.7
	0.2	2.0	13	46.2	0	26	100	53.8
	1.0	0.2	12	58.3	0	36	97.2	0
	1.0	1.0	12	58.3	0	72	76.4	0
	1.0	2.0	12	16.7	0	76	48.7	0
	2.0	0.2	12	16.7	8.3	63	69.8	0
	2.0	1.0	12	16.7	8.3	51	70.6	11.7
	2.0	2.0	11	27.3	0	78	51.3	5.1
NAA	0.2	0.2	12	50.0	0	35	100	17.1
	0.2	1.0	11	0	0	65	72.3	4.6
	0.2	2.0	12	33.3	8.3	47	87.2	8.5
	1.0	0.2	12	75.0	33.3	60	98.3	11.7
	1.0	1.0	12	100	58.3	64	100	6.3
	1.0	2.0	12	33.3	8.3	60	88.3	0
	2.0	0.2	12	33.3	0	65	92.3	3.1
	2.0	1.0	12	66.7	0	44	63.6	11.4
	2.0	2.0	12	66.7	8.3	67	88.1	9.0

^a IE, No. of immature embryo cultured.

미숙배배양에서와 같이 캘러스발생이 양호하였으며 2.0 mg/L IAA와 0.2 mg/L BA 혼용처리구에서 캘러스를 경유한 胚發生이 52.1%로 가장 양호하였다. 2,4-D와 BA 혼용처리구의 경우 대부분 未熟胚가 발아, 신장하지 않고 배양당시의 상태에서 캘러스화되었는데 0.2 mg/L 2,4-D와 2.0 mg/L BA 혼용처리구에서 캘러스발생은 100%였으며 주로 캘러스가 유도된 후 배발생이 이루어졌다. NAA와 BA의 混用處理區는 캘러스발생은 대단히 양호하였지만 胚發生은 극히 저조한 결과를 보였다. 그러나 배양된 미숙배가 길게 신장되는 것은 IAA와 BA의 혼용처리와 비슷하였다.

(3) 體細胞胚의 發芽에 미치는 cytokinin류의 효과

(가) 체세포배 clump 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 발생한 체세포배의 수에 비해 정상적인 식물체 획득은 비교적 적은 편이었다. 본 실험에서는 이러한 문제점을 해결하기 위한 수단으로 最初培地에서 배양조직 절편에 분화된 백색소돌기의 體細胞胚 덩어리를 분화배지에 계대배양하므로써 정상적인 식물체 재분화에 적당한 체세포배의 분리시기와 cytokinin류의 효과를 조사하였다(Table 2-8). 미숙배의 子葉에서 직접 분화된 체세포배 덩어리를 최초 배양일로부터 50일후에 소돌기 상태로 cytokinin류 단용배지에 繼代培養한 후 암상태에서 발생한 체세포배괴는 明狀態에서 점차 녹색화되었고 생육이 빠르게 진전되었다. 이들 체세포배는 대부분의 처리구에서 배양 10일후부터 발아하기 시작하여 배축이 신장되었으며 특히 2.0 mg/L kinetin 처리구에서는 자엽이 전개되기도 하여(Photo. 2-1d, e) 일부 auxin 배지에서 계속 배양중인 體細胞胚와 비교했을 때 훨씬 발아속도가 빨랐다.

배양조직으로부터 백색 소돌기상태의 체세포배만을 분리하려고 시도했으나 대부분 2次胚 형성으로 뒤엉킨 상태여서 오히려 상처를 줄 우려가 있었는데 본 실험결과 體

細胞胚塊상태에서 발아된 자엽기의 체세포배만을 선발할 수 있다는 점이 효과적이었
다.

Table 2-8. The effect of cytokinins on germination of somatic embryos derived from immature embryo culture of *Wasabia japonica* after 30 days of culture.

Cytokinins	Conc. (mg/L)	No. of SE clump ^b cultured	No. of SE ^a germinated	SE producing shoot(%)	SE producing root(%)
	0	10	12	0	0
Kinetin	0.2	20	16	12.5	0
	1.0	20	14	21.4	0
	2.0	20	23	52.2	13.1
BA	0.2	20	16	18.8	6.3
	1.0	20	16	18.8	0
	2.0	20	15	20.0	0
Zeatin	0.2	20	11	9.1	18.2
	1.0	20	18	33.3	11.1
	2.0	20	13	0	30.8

^a SE, somatic embryos.

^b Somatic embryo clump excised in 5×5mm size.

(나) 子葉期の 체세포배로부터 shoot 및 뿌리발생

발생된 體細胞胚塊로부터 자엽이 전개된 상태의 體細胞胚를 하나씩 분리한 후 (Photo. 2-2a) cytokinin류 단용 및 GA₃가 처리된 배지에 배양하였다(Table 2-9). 본 실험의 경우 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 子葉이 전개된 상태의 체

세포배는 계대배양 10일후에 자엽의 葉柄과 胚軸이 신장하여 빠른 생육상태를 보였으며 특히 kinetin과 BA의 경우 전 처리구에서 100% shoot분화율을 나타냈는데(Photo. 2-2b) 배양 30일후에는 1개의 體細胞胚로부터 1~3개의 多芽體로 분화되기도 하여 가장 양호하였다. 2.0 mg/L zeatin의 경우 분화된 shoot에서 뿌리형성이 양호한 편이었는데 1개의 植物體로부터 shoot와 뿌리발생이 같이 이루어져 완전한 식물체 재분화율이 가장 좋았으며(Photo. 2-2c) 일부 뿌리는 肥大根을 형성하기도 하였다(Photo. 2-2d). GA₃처리구의 경우 shoot분화 및 뿌리형성이 비교적 저조한 편으로 분화된 shoot는 뿌리형성 없이 幼根의 상태로 머물러 있었고 분화된 shoot도 多芽體 shoot로 생육되지 않았다.

Table 2-9. The effect of cytokinins and GA₃ on multiple shoots differentiation of somatic embryos derived from immature embryo culture of *Wasabia japonica* after 30 days of culture.

Growth regulators	Conc. (mg/L)	No. of SE ^a subcultured	SE producing shoots(%)	SE producing root(%)
	0	15		
Kinetin	0.2	15	100	40.0
	1.0	15	100	33.3
	2.0	15	100	20.0
BA	0.2	15	100	53.3
	1.0	15	100	13.3
	2.0	15	100	26.7
Zeatin	0.2	15	66.7	53.3
	1.0	15	46.7	53.3
	2.0	15	86.7	86.7
GA ₃	0.2	15	33.3	13.3
	1.0	15	66.7	20.0
	2.0	15	40.0	0

^a SE, Somatic embryo

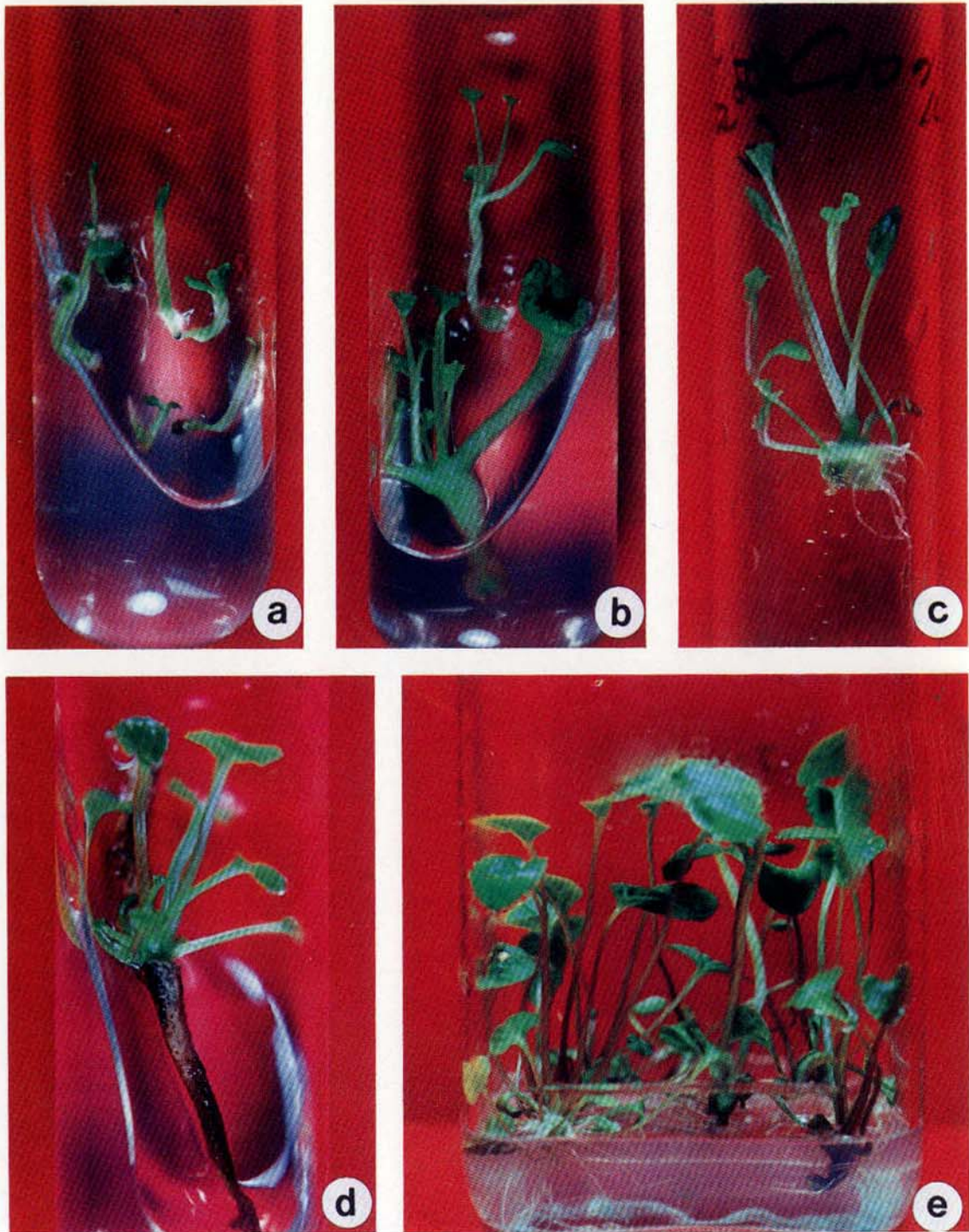


Photo. 2-2. The germination of somatic embryo and plantlet regeneration. a: The elongation of cotyledon and hypocotyl of somatic embryos isolated, b: Shoot formation on medium with 0.2 mg/L BA, c, d: Root formation from shoot, e: Root formation and plantlet regeneration from divided plantlet on MS medium with 0.01 mg/L IBA after 30 days of culture.

여 백

(4) 多芽體 분화 및 뿌리발생에 미치는 BA와 IBA의 효과

고추냉이의 器內苗를 실제 농가에서 種苗로 이용하기 위해서는 우선 유전자원으로서의 기내 보존 및 증식과정이 필수적이다. 미숙배 유래의 shoot를 다아체로 증식시킨 다음 다아체가 본엽 3~4매씩 분화된 shoot로 성장되었을 때 多芽體로부터 1개씩 shoot를 분할하여 분할묘로 이용하였다.

분리된 分割苗는 0.2~1.0 mg/L BA 단용, 0.01 mg/L IBA 단용 및 BA와 0.01 mg/L IBA를 혼용첨가한 배지에 계대배양하여 분할묘로부터 多芽體와 뿌리발생 양상을 조사하였다(Table 2-10).

Table 2-10. Multiple shoot and root formation from in vitro plantlets on medium with BA or IBA alone and with the combination of BA and 0.01 mg/L IBA.

Growth regulators		No. of shoots cultured	No. of multiple shoot produced	Shoots forming root(%)
BA	IBA			
	(mg/L)			
0.2		24	4.1	37.5
0.5		24	3.9	8.3
1.0		24	4.0	0
0.2	0.01	24	3.3	12.5
0.5	0.01	24	3.0	4.2
1.0	0.01	24	3.5	4.2
	0.01	36	1.7	86.1

실험결과 BA단용처리구는 농도에 관계없이 多芽體로 증식되어 배양 30~60일 사이에 1개의 분할묘당 가장 적은 것은 3개의 다아체로 증식되었고 많게는 7~8개의 다아체로 增殖되어 배양 60일후에 0.2~1.0 mg/L BA처리구에서 1개의 分割苗當 평균 4개

의 분할묘를 증식시킬 수 있었으며 繼代培養 횟수는 분할묘 배양 후 30~60일사이가 적당하였다. 배양 60일후가 넘은 경우 식물체가 성장됨에 따라 배양용기의 내부공간이 좁아져 묘의 상태는 불량해지고 투명화현상도 나타나기 시작하였다.

또한 BA단용처리에서 뿌리가 발생되기도 하여 0.2~0.5 mg/L의 저농도에서 약간 관찰되었는데 1.0 mg/L처리구는 전혀 발생되지 않아 BA농도와 뿌리발생과의 상관관계를 알 수 있었으며 0.2~1.0 mg/L BA와 0.01 mg/L IBA를 혼용처리하여 다아체 및 뿌리를 동시에 發生시키기 위한 실험을 수행하였으나 BA단용처리구보다 다아체수는 분할묘당 3.3개로 오히려 줄어들었고 뿌리발생도 0.2 mg/L BA에서 24개체중 3개체에서만 뿌리발생이 관찰되었고 나머지 처리구는 각각 1개체에서 培養 60일후까지 0.5cm에 불과한 뿌리가 발생되었다.

0.01 mg/L IBA단용처리의 경우 배양 15일경부터 뿌리발생이 시작되어 대부분 배양 30~40일경에 發生된 뿌리가 성장되면서 뿌리발생과 동시에 잎과 엽병이 경화되기 시작하였으며 5cm이상의 왕성한 뿌리생장을 보였는데 器內苗를 분할하여 종묘로 이용할 경우 分割苗에서 뿌리발생에 적합하였다(Photo. 2-2e).

그러나 IBA단용처리에서 분할묘가 다아체로 증식되지는 않고 배양당시의 shoot가 뿌리발생과 함께 신장되는 경향이었는데 이 실험결과에서 유전자원으로서 고추냉이의 기내묘를 이용하기 위해서는 shoot증식과 뿌리발생 培地를 구분하여 배양함으로서 기내에서 種苗의 배양체계를 확립할 수 있었다.

다. 頂端分裂組織培養에 의한 植物體 再分化

(1) Auxin류 단용처리 효과

정단분열조직을 auxin류 단용처리구에 배양한 결과(Table 2-11), IAA단용구의 경우 암배양 상태에서 배양 1주일후에 농도에 관계없이 유백색의 유연한 캘러스가 증식되었고 培養 30일후에는 뿌리가 발생된 후 모든 치상체에서 shoot가 분화되어 가장 양호하였으나 IAA가 2.0 mg/L이상 처리되었을 경우 캘러스로부터 뿌리의 發生速度

가 늦고 shoot의 분화율도 저조하였다.

NAA단용처리시 IAA처리와 비슷한 경향으로 캘러스가 발생한 다음 배양 30일경 뿌리가 먼저 발생되고 shoot가 분화되었으며 배양 60일경에는 0.2 mg/L처리구에서 5~7개의 본엽이 분화되어 auxin처리구에서 가장 양호한 반응을 보였다. NAA 역시 1.0 mg/L이상 처리구에서는 캘러스로부터 shoot의 분화도 늦었으며 투명화현상이 관찰되기도 하여 고농도의 처리는 부적합하였다.

Table 2-11. Morphogenetic responses of apical meristem explants to various auxins treatments in *Wasabia japonica* after 60 days of culture.

IAA	Auxins		No. of explants cultured	Explants forming callus(%)	Explants forming shoot(%)	Explants forming root(%)
	NAA	2,4-D				
		(mg/L)				
0			11	0	63.6	81.8
0.2			15	100	46.7	100
0.5			12	100	50.0	100
1.0			18	100	61.1	100
2.0			13	100	53.8	92.3
3.0			9	100	33.3	88.9
	0.2		12	100	66.7	91.7
	0.5		16	100	37.5	75.0
	1.0		10	100	20.0	60.0
	2.0		8	100	0	37.5
	3.0		15	100	0	100
		0.2	15	100	0	66.7
		0.5	15	100	0	86.7
		1.0	15	100	0	73.3
		2.0	15	100	0	40.0
		3.0	15	100	0	60.0

2,4-D단용처리의 경우 단단한 농황색의 캘러스가 배양 14일후에 發生되기 시작하여 培養 70일이 경과되었을 때 약간의 캘러스가 증식되었으나 2.0 및 3.0 mg/L 2,4-D의 고농도처리에서는 캘러스의 發生과 증식이 억제되는 경향이였으며 배양 140일이 경과된 후에도 캘러스조직의 세포들은 단단한 상태로 膨大만 되어 있을 뿐 shoot분화는 전혀 관찰할 수 없었다.

(2) Cytokinin류 단용처리 효과

頂端分裂組織을 BA, kinetin과 zeatin을 농도별로 단용처리하여 배양한 결과(Table 2-12) 모든 처리구에서 배양 10일경부터 치상체의 기부면이 비대되면서 캘러스발생없이 shoot가 분화되기 시작하였고 배양 20~30일경에는 처리별 농도에 따라 本葉이 분화되기 시작하였는데 0.2~1.0 mg/L BA처리구의 경우 대부분 1개의 정단분열조직에서 2~4개의 shoot가 분화되었다. 이들 shoot는 배양 40일경에 분화된 shoot의 기부에서 계속적으로 액아가 분화되어 다아체로 증식되었으며 특히 0.2~1.0 mg/L BA처리구에서는 배양 60일 후 다수의 多芽體가 분화되어 1개의 절편에서 10개 내외의 분할묘를 얻을 수 있어 본 處理에서 가장 양호하였다(Photo. 2-3a).

Kinetin단용처리의 경우 BA처리와 비슷한 경향이였으며 모든 처리농도에서 다아체가 分化되었지만 2.0, 3.0 mg/L kinetin처리구에서 發生된 shoot는 배양기간이 경과되면서 투명화현상이 보였으나 0.2~1.0 mg/L kinetin처리로 繼代培養한 후에 發生되는 액아는 정상적이었다.

Zeatin단용처리의 경우 배양 10일이 경과되면서 shoot가 신장하기 시작하였고 역시 0.2~1.0 mg/L처리에서 shoot분화가 良好하였으며 모든 처리구에서 뿌리발생은 관찰되지 않았다.

Table 2-12. Morphogenetic responses of apical meristem explants to various cytokinins treatments in *Wasabia japonica* after 60 days of culture.

Cytokinins			No. of explants cultured	Explants forming shoot(%)	Explants forming root(%)	No. of multiple shoot per explant
BA	Kin.	Zeatin				
		(mg/L)				
0.2			14	100	0	++
0.5			16	100	0	+++
1.0			13	100	15.4	+++
2.0			8	100	12.5	+++
3.0			7	100	0	++
	0.2		20	100	5.0	+++
	0.5		17	100	11.8	+++
	1.0		17	100	0	+++
	2.0		14	100	0	++
	3.0		18	100	11.1	+
		0.2	14	100	0	+++
		0.5	13	100	0	++
		1.0	13	100	0	+++
		2.0	16	100	0	++
		3.0	15	100	0	+

+, 1~3; ++, 4~6; +++, 7~10.

(3) Auxin류와 cytokinin류의 혼용처리 효과

頂端分裂組織培養에 있어서 auxin류와 cytokinin류를 혼용처리하였을 때(Table 2-13) 배양 1주일후부터 치상체는 비대하기 시작하였고 처리구에 따라 증식되는 캘러스양상이 달랐는데 2,4-D와 kinetin혼용처리의 경우 담황색의 단단한 캘러스가, NAA

와 BA혼용처리의 경우 유백색의 유연한 캘러스가 발생되었으며 캘러스상태는 2,4-D와 kinetin混用處理 보다 NAA와 BA혼용처리가 캘러스의 增殖이 양호하였고 배양 50일후에 shoot 및 뿌리가 발생되었으나 저조한 반응이었다. 1.0 mg/L IAA와 0.2 mg/L BA혼용처리는 30일경에 shoot원기가, 1.0 mg/L IAA와 2.0 mg/L BA의 혼용처리에서는 캘러스에서 뿌리와 shoot가 동시에 발생되었고 培養 60일경에는 2~3개의 shoot가 2~3cm정도로 成長하였으며 배양 120일이 경과된 후에 비로소 本葉 4~5매 정도로 증식되었지만 모든 혼용처리는 cytokinin單用處理에 비해 shoot분화가 不良하였다.

Table 2-13. Morphogenetic responses of apical meristem explants to various cytokinins treatments in *wasabia japonica* after 60 days of culture.

Growth regulators(mg/L)		No. of explants cultured	Explants forming callus(%)	Explants forming shoot(%)	Explants forming root(%)		
Auxins	Cytokinins						
2,4-D	1.0	Kin.	0.2	10	100	0	0
	1.0		0.5	10	100	0	0
	1.0		1.0	8	100	0	0
	1.0		2.0	8	100	0	0
NAA	1.0	BA	0.2	14	100	0	14.3
	1.0		0.5	16	100	6.3	0
	1.0		1.0	11	100	18.2	27.3
	1.0		2.0	13	100	15.4	0
IAA	1.0	BA	0.2	10	100	10.0	10.0
	1.0		0.5	14	100	14.3	0
	1.0		1.0	13	100	15.4	0
	1.0		2.0	9	100	11.1	11.1

(4) Shoot로부터 뿌리발생에 미치는 IAA와 IBA의 효과

발생된 多芽体에 腋芽를 붙여 분할한 후(Photo. 2-3b) 뿌리발생 및 증식을 목적으로 繼代培養한 결과 배양 14일후부터 뿌리가 형성되기 시작하였는데 배양 30일까지 성장조절제의 종류와 농도에 따라 큰 차이를 보였으며 배양 30일이후 shoot로부터 새롭게 발생하는 뿌리는 관찰되지 않고 이미 발생한 뿌리가 성장되는 정도에만 차이를 보였다.

배양 60일 후 조사결과(Table 2-14) IAA의 경우 2.0 mg/L에서 61.1%로 가장 양호하였으나 IBA의 경우 0.01 mg/L처리구에서 100%의 뿌리발생률을 보여 shoot에서 뿌리발생은 0.01 mg/L IBA에서 가장 효과적으로 나타났다(Photo. 2-3c). 그러나 shoot에서 뿌리형성은 100%였으나 순화시킬 정도로 발생한 뿌리가 왕성하게 생육하지는 않았다. 배양 60일이후에서 120일까지 같은 배지인 0.01 mg/L IBA에 3~4개정

Table 2-14. The effects of IAA and IBA on root formation from shoots after 60 days of culture.

Growth regulators		No. of shoots subcultured	Shoots forming root(%)
IAA	IBA		
	(mg/L)		
0		12	16.7
0.01		18	22.2
0.1		20	30.0
1.0		20	30.0
2.0		18	61.1
	0.01	18	100
	0.1	17	76.5
	1.0	18	16.7
	2.0	17	17.6

도 뿌리가 형성된 식물체를 계속 계대배양했을 때 뿌리발생 및 증식이 더 이상 진행되지 않았는데 이것은 shoot 증식 과정에서 cytokinin의 체내축적과도 관계가 있다고 본다.

뿌리가 발생한 후 뿌리증식이 계속적으로 진행되는 경우는 식물체의 생장은 더욱 활발히 이루어져 pot이식이 가능할 정도로 생육되었다(Photo. 2-3d, e). 그러나 약간의 뿌리만 발생한 후 뿌리생장이 저조한 경우 shoot에서 腋芽가 증식되지 못하고 식물체의 줄기는 경화되었으며 이런 경우 pot에 이식된 식물체는 별로 생육이 좋지 않았다.

(5) BA농도별로 증식된 shoot에서 뿌리발생 효과

고추냉이의 器內苗를 種苗로서 이용하기 위해서는 分割, 増殖되어 뿌리발생 배지에 계대배양하기 전까지는 기내에서 다아체로의 증식만을 위한 계속적인 작업이 약 2개월마다 한번씩 BA단용처리된 배지에 계대배양해야 한다. 이와 같이 分割苗増殖에 필수적인 BA처리에서 농도별로 60일간 배양한 후 0.01 mg/L IBA처리에서 계대배양하여 뿌리발생에 미치는 shoot증식과정에서의 BA적정농도를 구명하기 위하여 실험을 시행하였다(Table 2-15). Shoot증식에 있어서 BA농도는 큰 차이가 없었으나 BA단용구에서 배양기일이 경과되면서 뿌리가 발생되기도 하였는데 그 비율은 BA농도가 낮을수록 뿌리발생률은 높은 것으로 나타났다.

BA의 농도별 처리구에서 60일동안 증식된 분할묘의 뿌리발생 양상은 1.0 mg/L 처리구에서 증식된 묘의 경우 뿌리발생이 가장 저조하였고 본 실험의 가장 저농도인 0.2 mg/L 처리구에서 증식된 묘가 뿌리발생률이 가장 높았으며 다음이 0.5 mg/L 처리구에서 증식된 묘의 뿌리발생이 양호하여 고농도의 BA는 뿌리발생에 저해적인 결과를 얻었다.

이상의 결과에서 shoot증식에 사용되는 BA의 농도가 낮을수록 뿌리배지에서의 뿌리발생률이 良好하였던바 shoot가 증식되는 최저농도의 BA와 뿌리발생이 양호한 배지의 조합이 중요하였다.

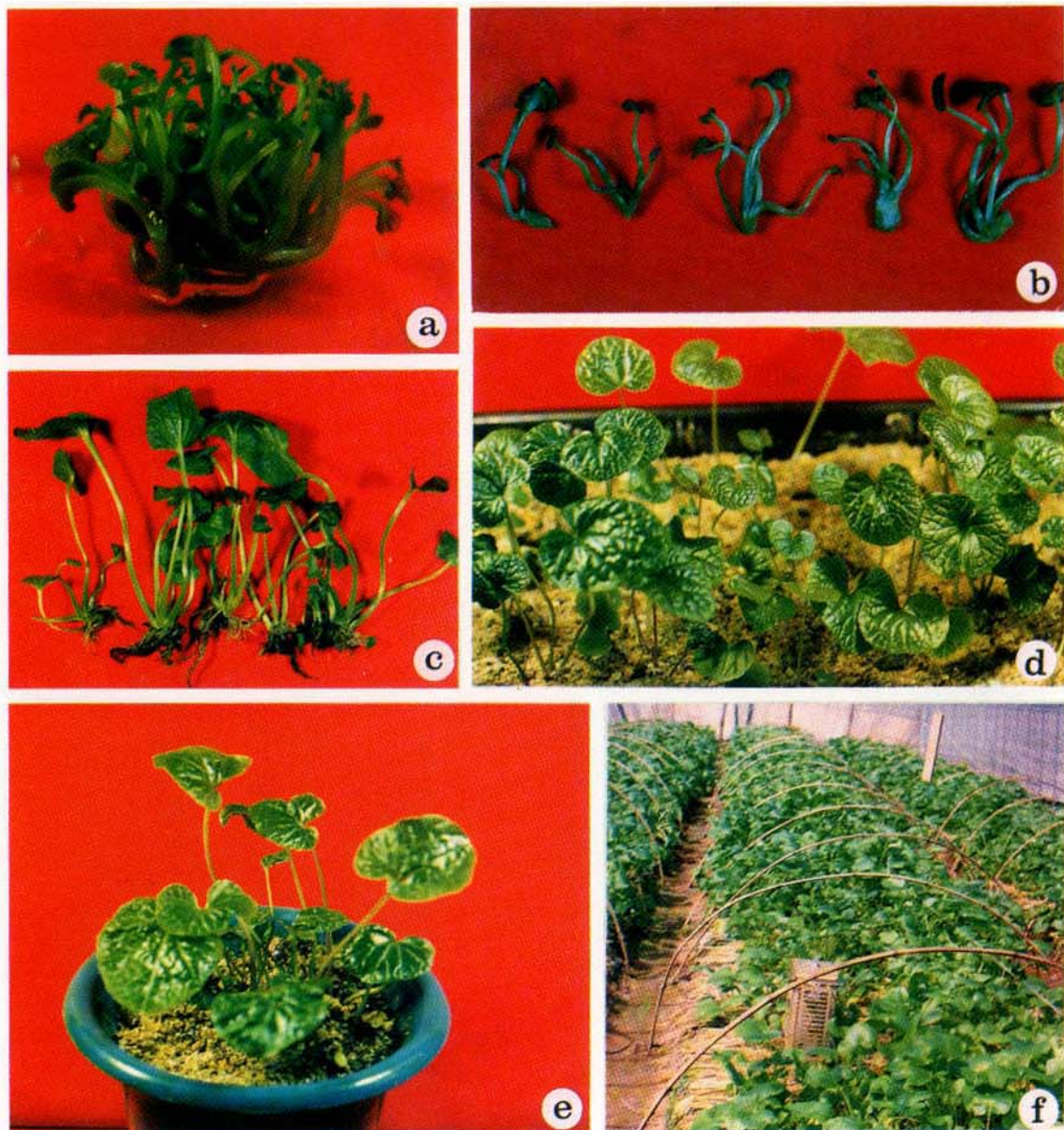


Photo. 2-3. Plant regeneration by apical meristem culture. a: Multiple shoot formation on MS medium 1.0 mg/L BA after 90 days of culture, b: Plantlets excised from multiple shoot, c: Root formation and plantlet regeneration from in vitro plantlets derived from apical meristem, d, e: Plantlets transplanted in sand for acclimatization, f: Plants growing in field of 450m altitude.

여 백

Table 2-15. The influence of BA concentration on root formation from shoot proliferated on medium with BA for 60 days (after 60 days of subculture on 0.01 mg/L IBA).

BA conc. (mg/L)	No. of shoot cultured (%)	Shoots forming root (%)
0.2	18	83.3
0.5	18	72.2
1.0	18	22.2

(6) 1개의 分割苗에서 2회 계대배양한 후 증식된 多芽体 數

정단분열조직 1개체의 explant에서 초대배양 90일후와 초대배양에서 증식된 多芽体를 분할하여 60일간격으로 2회 계대배양하여 1개의 explant에서 7개월후에 증식된 分割苗 수를 조사하기 위하여 0.2 mg/L BA첨가배지에 배양하였으며 頂端分裂組織 7개체에서 조사되었다(Table 2-16).

初代培養 90일후에 절편당 분할할 수 있는 shoot수는 7~17, 평균 11.4개로 explant에서 multiple shoot수의 增殖이 상당히 빠르게 진척되었다. 이들 multiple shoot에서 1개의 식물체로 성장할 수 있는 묘로 분할하여 1차 계대배양 60일후에는 1개의 explant당 19~38개까지 분할묘를 생산할 수 있었는데 이때 계대배양한 1개의 분할묘당 shoot수는 약 2.0~3.3개였다. 이것은 cytokinin 단용처리구에서 얻은 분할묘의 수보다 훨씬 적었는데 cytokinin 단용처리구는 分割苗에서의 액아가 있는 shoot를 본엽 1~2매인 경우도 포함한 숫자로 1개의 분할묘당 약 4개정도인 반면에 본 실험에서는 실제 성장할 수 있는 분할묘의 수만을 실험에 사용하였기 때문에 1개의 분할묘의 수는 2~3개의 腋芽가 포함된 경우이다.

역시 2차 계대배양에서도 마찬가지로 1개의 분할묘당 약 2.1~4.0개의 증식을 보였으며 1개의 explant당 2차 繼代培養 후에는 약 50~109개로 증식되었다.

Table 2-16. The number of in vitro plantlets proliferated on medium with 0.2 mg/L BA after the 2nd subculture per one apical meristem explant.

The number of Each plantlet cultured	No. of multiple shoot proliferated after subculture		
	After the primary culture	1st subculture	2nd subculture
1	7	23 (3.3) ^a	50 (2.2)
2	8	19 (2.4)	57 (3.0)
3	6	20 (3.3)	79 (4.0)
4	11	27 (2.5)	58 (2.1)
5	12	24 (2.0)	54 (2.3)
6	17	38 (2.2)	109 (2.9)
7	17	38 (2.2)	80 (2.1)
Average	11.4	26.9(2.6)	69.6(2.7)

^a No. of divided plantlet per multiple shoot.

이와 같이 고추냉이 기내묘의 증식은 정단분열조직을 培養材料로 이용할 경우 1년간 생산해낼 수 있는 종묘의 수는 정단분열조직 1개의 절편을 배양하여 90일까지의 초대배양은 다아체를 증식하는 기간으로 위 실험결과 7개체의 평균이 11.4개였다. 1개의 절편체에서 계대배양 2개월후 약 4개의 다아체로 증식된다면 계대배양이후부터 1년간 2개월마다 1개의 분할묘가 4배로 증식되어 계산적으로 약 6,300여개체를 획득할 수 있다.

(7) 日本産 고추냉이의 정단분열조직 및 根莖 腋芽培養

실험에 사용된 재료는 일본에서 직접 구입하여온 것으로 근경을 수확한 후 뿌리는 있으나 엽병이 절단된 상태였는데 <실험 다-(2)>에서 얻어진 결과를 토대로 cytokinin 단용배지에 정단분열조직 및 근경의 액아를 배양하였다.

BA와 kinein을 0.5, 1.0, 2.0 mg/L씩 단용처리하여 배양한 결과 모든 처리구에서

캘러스발생없이 배양 10일경부터 치상당시에 부착된 액아는 팽대하기 시작하였고 배양 20일경에 잎이 전개되어 배양 30일후에는 shoot의 분화가 왕성하였다. 배양 50일후에는 일부 처리구에서 1개의 치상체로부터 3~4개의 다아체가 형성되었고 배양 90일후에는 4~5매의 本葉이 발생되어 왕성하게 생육되었다. 이들 多芽体는 분할하여 0.2 mg/L BA처리구에서 分割苗로부터 계속적인 다아체를 유도하여 증식시킬 수 있었으며, 일부는 0.01 mg/L IBA배지에서 뿌리를 발생시킨 후 성장상 20℃에서 2개월간 순화 후 포장에 정식할 수 있었다. 일본에서는 우수한 品種의 해외반출을 적극 차단하고 있는 실정이므로 시판하고 있는 우량한 근경을 구입하여 오고 본 연구결과를 활용한 組織培養法을 적용하면 얼마든지 증식할 수 있다는 결론을 얻었다.

라. 花莖節 腋芽培養에 의한 多芽体 分化

(1) 소독방법 구명실험

화경절 액아배양에 있어서 가장 심각한 문제는 치상체의 汚染이었다. 따라서 본 실험을 수행하기에 앞서 花莖節의 오염을 방지할 소독방법의 구명이 절실히 요구되어 소독액의 종류, 처리시간과 방법 등을 달리하여 소독하였는데(Table 2-17), 모든 처리는 소독액에 침지하기전 화경절의 액아부분을 흐르는 물에 깨끗이 씻는 전처리과정을 거친 다음 소독액에 처리하였다.

Lax나 sodium hypochlorite처리의 경우 조직이 藥害를 입지 않았으나 전체가 오염되었고, 7% calcium hypochlorite처리의 경우 前處理 후 70% 에탄올에 4초간 표면살균하거나 또는 전처리 후 표면을 알콜솜으로 일일이 닦아낸 다음 70% 에탄올에 1분간 처리하여 7% calcium hypochlorite에 10~12분간 처리하였을 때 다른 처리에 비해 오염은 덜되었으나 대부분 조직이 심한 약해를 입어 고사되었고 그중 약해를 입지 않고 생존하는 개체수는 극히 적었다. 그러나 전처리 후 알콜솜으로 닦아내고 70% 에탄올에 1분간 침지한 다음 7% calcium hypochlorite 수용액에 twin 20 1~2방울을 떨

Table 2-17. The chemical injury rate, pollution rate and survival rate of explants on various disinfectant treatments in the axillary bud culture of flower stalk of wasabi after days of culture.

Disinfectant	Pretreatment ^a	Conc. (%)	Time (min.)	No. of explants cultured	No. of explants survived	No. of explants polluted	No. of explants with chemical injury
Lax	1min.	10	5	50	0	50	0
Sodium	1min.	1	10	50	0	50	0
Sodium	1min.	1	12	50	0	50	0
Sodium	1min.	2	10	50	0	50	0
Sodium	1min.	2	12	50	0	50	0
Calcium	4sec.	7	5	50	0	50	0
Calcium	4sec.	7	7	50	0	40	10
Calcium	4sec.	7	8	50	4	20	26
Calcium	1min.	7	8	50	25	15	10
Calcium	1min.	7	9	50	20	15	15
Calcium	1min.	7	10	50	10	15	25
Calcium	1min.	7	12	50	5	10	35

^a Pretreatment time immersed in 70% ethanol before sterilization.

어뜨린 후 8~9분간 처리하여 멸균수로 6~7회 씻은 경우 생존률이 가장 양호하였고 오염률도 약간 줄어드는 경향이였다.

(2) 액아생장에 적합한 생장조절제의 효과

(가) Auxin류와 cytokinin류 혼용처리 효과

葉柄과 花莖組織 사이에 분화되어 있는 마디의 액아를 생장시키기 위하여 달마종과 울릉종의 두 품종에서 액아부분을 약 1cm 길이로 절취하여 위의 소독방법 究明實

驗에서 가장 생존률이 높았던 방법으로 花莖節을 소독하였고 auxin류와 cytokinin류를 혼용처리하여 배양하였다(Table 2-18).

Table 2-18. The growth rate of axillary bud on MS medium supplemented with the combinations of auxins and cytokinins in the axillary bud culture of flower stalk of wasabi after 50 days of culture.

Growth regulators		'Dalma'			'Ulreung'		
Auxin	Cytokinins (mg/L)	No. of explants survived ^a	Axillary bud ^b growth (%)	Explants ^c polluted (%)	No. of explants survived ^d	Axillary bud ^b growth (%)	Explants ^c polluted (%)
2,4-D Kin.							
1.0	0.5	15(30.0) ^e	46.7	70.0	22(73.3) ^a	50.0	26.7
1.0	1.0	22(44.0)	50.0	56.0	19(36.3)	63.2	36.7
NAA BA							
1.0	0.5	25(50.0)	68.0	50.0	15(50.0)	80.0	50.0
1.0	1.0	19(38.0)	73.7	64.0	14(46.7)	64.3	53.3
IAA BA							
1.0	0.5	17(34.0)	47.1	66.0	17(56.7)	64.7	43.3
1.0	1.0	13(26.0)	38.5	74.0	23(76.7)	65.2	23.3

^a Data based on 50 explants per treatment. ^b The axillary bud growth per explants survived. ^c Pollution frequency per explants cultured. ^d Data based on 30 explants per treatment. ^e Parentheses indicate percentage to number of somatic embryo subcultured.

배양 5일후부터 치상절편에서 汚染이 나타나기 시작하였는데 배양 15일까지 달마종의 경우 처리구당 置床切片 50개체중 50~74%가 오염되었다. 배양 15일이후에는 더 이상의 오염은 보이지 않았으나 치상절편의 生存率이 가장 높은 경우 50%였고 가장 낮은 경우 26.0%였는데 이때 치상절편이 생존되었어도 일부는 약해를 입은 상태에서 화경절의 액아생장을 위한 실험에는 많은 재료가 소모되었다.

그러나 울릉종의 경우 처리구당 30개체를 배양하여 23.3~53.3%의 오염률을 보여 달마종에 비해 오염률이 훨씬 낮게 나타났고 생존률이 최하 46.7%에서 최고 76.7%였는데 같은 消毒方法에서도 결과에는 많은 차이를 보였다.

화경절과 엽병의 기부에는 배양당시 액아가 이미 분화되어 있는 상태였는데 이들 액아를 효과적으로 성장시키기 위해서는 적절한 生長調節劑의 처리가 요구되었다. Auxin류와 cytokinin류의 혼용처리에서 성장조절제의 종류와 농도에 따라 반응에 차이를 보였는데 2,4-D와 kinetin혼용처리의 경우 배양 25일후에야 액아가 성장되기 시작하여 培養 50일후에는 2~3개의 shoot만 분화되어 1.0 mg/L씩 混用處理區에서 생존개체중 달마종은 50%, 울릉종은 63.2%까지 액아생장률을 보였으나 화경절에 부착되어 있는 상태에서 腋芽 성장속도는 대단히 더디었다.

NAA와 BA혼용처리구에서 액아생장률 및 성장속도가 가장 양호하였는데 달마종은 1.0 mg/L씩 혼용처리된 구에서 73.7%, 울릉종은 1.0 mg/L NAA와 0.5 mg/L BA 혼용처리구에서 80.0%를 보였다. 배양 20일경부터 발생된 shoot는 빠른 생육을 보여 배양 50일후에는 花莖節이 부착되어 있는 상태의 절편에서 4~5개의 shoot로 분화되어 정상적인 생육을 보였으나 배양기간이 길어지면서 일부의 절편에서는 배지에 접한 부분이 캘러스화되면서 점차 성장된 액아도 캘러스화되어 畸形植物體로 되는 경우도 있었는데 NAA와 BA혼용처리에서 너무 긴 기간동안 같은 배지에 두는 것은 효과적이지 못하였다.

IAA와 BA혼용처리 역시 액아생장률은 2,4-D와 kinetin혼용처리와 비슷하였는데 이때 배지에 접한 화경절단 부위가 일부 검게 변해져 치상절편의 상태가 불량한 경우가 있었으나 腋芽生長은 배양 20일경부터 시작되었으며, 울릉종의 경우 1.0 mg/L씩 첨가된 구에서 65.2%의 生長率을 보였고 4~5개의 shoot가 발생되어 비교적 양호한 결과였다.

(나) cytokinin류 단용처리 효과

BA와 kinetin을 각각 0.5, 1.0, 2.0 mg/L씩 添加한 후 50일간 배양한 다음 액아생장률을 조사한 결과(Table 2-19) cytokinin단용처리가 화경절 액아생장에서 auxin류와 cytokinin류의 混用處理區보다 약간 빠른 편으로 BA처리구의 경우 1.0 mg/L에서 달마종과 울릉종 모두 배양 15일경부터 액아가 성장하여 培養 30일경에는 3~4매의 본엽이 分化되었고 배양 50일후에는 多芽體로 증식되었다.

Table 2-19. The growth rate of axillary bud on MS medium supplemented with cytokinins in the axillary bud culture of flower stalk of wasabi after 50 days of culture.

Cytokinins		'Dalma'			'Ulreung'		
BA	Kinetin (mg/L)	No. of ^d explants survived	Axillary bud ^b growth (%)	Explants ^c polluted (%)	No. of ^d explants survived	Axillary bud ^b growth (%)	Explants ^c polluted (%)
	0.5	23(46.0) ^e	73.9	54.0	16(53.3) ^e	50.0	46.7
	1.0	20(40.0)	75.0	60.0	19(63.3)	78.9	36.7
	2.0	22(44.0)	63.6	56.0	20(66.7)	45.0	33.3
	0.5	18(36.0)	77.8	64.0	14(46.7)	57.1	53.3
	1.0	20(40.0)	55.0	60.0	22(73.3)	81.8	26.7
	2.0	26(52.0)	57.7	48.0	16(53.3)	75.0	46.7

^a Data based on 50 explants per treatment. ^b The axillary bud growth per explants survived. ^c Pollution frequency per explants cultured. ^d Data based on 30 explants per treatment. ^e Parentheses indicate percentage to number of somatic embryo subcultured.

Kinetin처리에서도 BA와 같은 결과를 보였는데 달마종의 경우 0.5 mg/L처리구에서 77.8%, 울릉종의 경우 1.0 mg/L처리구에서 81.8%를 보여 가장 좋은 腋芽生長率을 나타냈으며 화경절이 부착된 상태에서 shoot분화는 빠르게 이루어져 일부 절편에서는 2~3개의 다아체로 분화되기도 하였다.

이와 같이 cytokinin류 단용처리에서 花莖節을 배양한 경우 절편이 캘러스화되는 경우는 없었으며 액아생장속도도 비교적 빠른 편이어서 일단 성장되기 시작한 腋芽는 빠르게 多芽体로 증식되었다. 그러나 auxin류와 cytokinin류의 혼용처리 및 cytokinin류 단용처리에서 배양기간 50일이 경과되어도 腋芽가 성장되지 않은 경우도 다수 발생되었는데 이것은 生長調節劑의 종류에 따라 치상당시 분화된 액아를 성장시키는데 어느 정도 영향을 주었으나 그 보다 배양당시의 腋芽의 分化狀態에 따라 성장되는 腋芽와 성장되지 않는 腋芽로 구분되는 경향이었고 성장조절제는 액아 生長速度에 크게 영향하는 것으로 나타났다.

(3) 분리한 腋芽에서 多芽体 増殖

花莖節의 액아가 어느정도 성장하여 본엽 3~4매 정도일 때 多芽体로 증식시키고 자 화경조직에서 액아만 분리하여 増殖培地에 계대배양하였다(Table 2-20). 증식배

Table 2-20. Shoot multiplication from axillary bud isolated on MS medium with cytokinins after 60 days of subculture.

Cytokinins		'Dalma'		'Ulreung'	
BA	Kinetin (mg/L)	Explants with multiple shoot (%)	Multiple shoot formation per explants	Explants with multiple shoot (%)	Multiple shoot formation per explants
		100	+	100	++
		100	+	100	++
		100	++	100	++
	0.2	100	+	100	++
	0.5	100	++	100	+
	1.0	100	++	100	++

^a Data based on 10 axillary buds per treatment.

+, 1~3; ++, 4~5 plantlets

지는 화경절 初代培養에서 shoot의 생육이 왕성했던 cytokinin단용배지를 사용하였는데 계대배양 7일후부터 생육은 급속히 빨라졌으며 배양 30일 후 2~3개의 다아체로 분화되었고 繼代培養된 액아는 진 처리구에서 100% 다아체를 형성하여 BA, kinetin 모두 농도에 관계없이 腋芽増殖에 효과적이었다.

다만 배양 60일후까지 계대배양된 액아에서 증식된 다아체의 수에는 약간의 차이를 보여 적은 경우 분리된 1개의 액아에서 1~3개의 多芽체를 형성하였고 대부분 4~5개의 다아체로 증식되었는데 이들을 분할하여 30일간격으로 계속 계대배양한 경우 分割苗當 3-4개의 多芽체가 증식되었다.

본 실험에서 화경절의 액아를 배양하여 일단 腋芽가 성장한 다음에는 정단분열조직과 같은 경로의 増殖過程을 거쳤는데 배지 및 배양조건만 갖추어 준다면 분화된 shoot는 다아체를 형성하고 이들을 분할하여 다시 다아체로 증식시키는 과정을 반복하여 1개의 花莖節 액아에서도 대량증식 효과를 얻을 수 있었다. 또한 이들 분할된 묘는 2~3개의 다아체로 증식된 상태에서 0.01 mg/L IBA培地에 계대배양하였을 때 배양 15일후에 뿌리가 발생되어 완전한 植物體로 재분화시킬 수 있었으며 이들 식물체는 실내환경에서 모래에 약 2주간 馴化시킨 후 토양에 이식하여 정상적인 식물체로 생육되었다.

2. 器內苗의 순화체계 확립

가. 투명화 묘 방지에 미치는 membrane filter의 효과

고추냉이의 경우도 密閉된 용기내에서 장기간 多芽체로 증식하는 과정에서 상당수 투명화 묘가 발생되어 계속적인 分割苗 증식에서 계대배양 횟수가 길어질수록 투명화 묘가 나타나는 경우가 많아 건전하게 성장하지 못하였다.

정상적인 분할묘를 증식시키고자 membrane filter부착에 따른 다아체 발생속도 및 기내건전묘 유도·증식과정에서 묘의 상태를 조사하기 위하여 투명화현상을 보인 식

물체에서 엽병길이 약 2cm, 본엽 3~4매의 분할묘를 선별하여 배양하였다(Table 2-21).

Table 2-21. The effect of membrane filter on the production of normal in vitro plantlets on MS medium with 0.2 mg/L BA after 60 days of culture.

Treatment ^a	No. of shoots cultured	No. of multiple shoot	Shoot vitrified(%)	Fresh weight	Dry weight
				(g plantlet ⁻¹)	
MF+	20	3.55±0.19	0	1.57±0.1	0.16±0.01
MF-	20	2.35±0.29	65.0	1.42±0.1	0.11±0.01

^a MF+, with membrane filter; MF-, without membrane filter.

MF처리(MF+)와 무처리한 배양기내(MF-)에서 60일간 배양한 결과 다아체수는 MF+의 경우 3.6개였으며, MF-의 경우 2.4개로 MF+처리구가 多芽体數가 많았다. 또한 투명화현상은 MF-처리구에서만 65.0%나 나타났는데 이것은 투명화현상을 보인 묘만을 선별하여 배양했기 때문에 membrane filter를 부착하지 않은 배양기내에서도 약 35%정도는 계대배양한 후 새로 증식된 shoot는 투명화되지 않았다고 볼 수 있다. 그러나 일단 투명화된 묘를 MF+ 처리된 培養器內에서 배양할 경우 투명화는 전혀 발생되지 않았고 실제 다아체수도 투명화되지 않은 건전묘를 분할 증식할 때와 같은 약 3.6개를 증식시킬 수 있었다. 이와 같이 培養容器的 membrane filter부착에 따라 투명화 苗의 회복이 가능하였고 장기간 배양기내에서 보존할 경우에도 배양기내의 가스교환은 건전묘 육성을 위해 중요하다고 본다.

이와 같이 시험관내에서 優良種苗를 생산하는 과정에서 많은 식물체에서 잎이나 줄기에 투명화현상이 생기거나 형태적으로 비정상개체가 출현하여 생장이 저해되므로서 배양종묘대를 낮추고 다량증식하는데 큰 문제점으로 지적되고 있다.

한편, MF+에서 성장한 정상식물체의 잎과 MF-처리구에서 생육된 투명화된 잎을

채취하여 SEM을 통해 기공을 관찰한 결과, 기공의 크기와 모양에서 정상개체와 비정상개체를 구분할 수 있었다.

MF-에서 生育된 잎의 경우 氣孔이나 葉肉 등에 이상을 보여 기공이 둥글고 팽창되어 있었다. 기공의 크기도 정상식물체에 비하여 대부분 컸으며 밀폐된 용기내에서 수분공급의 과잉으로 기공은 열려져 突出된 상태였고 epicuticular 밀랍구조물은 발달되지 않아 표면이 매끄러운 상태였다(Photo. 2-4a). 반면에 MF+처리구의 경우 기공 모양은 정상적인 타원형으로 氣孔 개폐작용을 하고 있고, 기공이 투명화 잎에 비해 더 작았으며 표면은 체내 수분조절을 위해 밀랍구조물의 조직이 치밀하여 membrane filter의 부착에 따라 가스교환이 되고 光獨立營養狀態가 되어 건전식물체로 육성됨이 관찰되었다(Photo. 2-4b).

이것은 MF-처리구에서는 기내의 가스교환이 이루어지지 않아 상대습도가 높아져 透明化가 되므로서 葉肉組織, 表皮細胞, 氣孔 등에 이상을 일으키게 되어 투명화되고 결국 대량생산에 큰 장애요인이 되고 있음을 알 수 있었다.

나. PPFD 처리별 membrane filter의 효과

고추냉이의 정단분열조직 유래의 分割苗를 기내에서 유지·증식한 후 종묘로 이용하기 위한 幼苗는 0.01 mg/L IBA가 첨가된 배지에서 약 30~60일간 배양하여 뿌리발생을 유도해야 하는데 이때 배양기간중에 묘의 상태가 양호해야 pot에 옮긴 후 건전묘 육성이 가능하다.

Shoot에서 뿌리발생은 分割苗의 상태에 따라 뿌리배지에 계대배양한 후 약 10~20일경에 뿌리발생이 대부분 이루어지지만 일부 뿌리발생이 부적당한 不良苗의 경우 배양 60일이 경과하여도 전혀 뿌리가 발생되지 않거나 1cm정도 크기에서 3~4개정도만 발생하는 경우도 있었다.

본 실험에서는 pot에 이식하기 직전의 기내유묘를 뿌리발생뿐만 아니라 건전묘로 생육시키기 위하여 MS배지에 2% sucrose, 0.01 mg/L IBA를 첨가한 뿌리발생배지를

MF를 부착(혼합영양배양)하거나 미부착(종속영양배양)한 후, PPFD를 25, 50, 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 로 구분한 광도에서 분할묘를 계대배양하여 혼합영양과 종속영양배양상태에서 기내 健全苗 육성에 적합한 광도와 MF부착 효과를 성장한 식물체의 본엽수, 엽병길이, 엽면적 및 뿌리발생률에 대하여 조사하였고(Fig. 2-1), 생체중, 건물중 및 함유율을 조사하였다(Table 2-22).

배양당시의 유묘는 종자 發芽苗가 아니고 기내에서 성장한 묘이기 때문에 실험재료로 일정한 크기를 선정하는데 약간 어려움이 있었고, 本葉數가 6~7매정도 분화되고 뿌리발생에 적합한 정도로 生育된 분할묘를 임의로 선별하여 사용하였다.

從屬營養培養에서 25, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구는 본엽수가 각각 13.8개, 11.5개로 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구가 15.5개인 것에 비해 적은 것은 다아체 증식이 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구에서 비교적 많이 발생되었기 때문이고, 엽병장은 25, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 가 6.0, 5.7cm를 나타내 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구에서 4.6cm와 비교할 때 상당히 도장되었음을

Table 2-22. Fresh and dry weights, and water content on three levels of photosynthetic photon flux densities(25, 50, and 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) in cap with or without membrane filter.

PPFD ^a ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)		Fresh weight (g)	Dry weight (mg)	Water content (%)
		(plantlet ⁻¹)		
25	MF-	3.6 ± 0.7	244.8	93.2
	MF+	4.5 ± 0.6	356.8	92.1
50	MF-	2.5 ± 0.2	260.0	89.5
	MF+	1.7 ± 0.3	174.0	89.7
75	MF-	2.7 ± 0.3	258.7	90.3
	MF+	3.1 ± 0.6	336.8	89.1

^a MF+, cap with membrane filter; MF-, cap without membrane filter.
Mean ± S.E.

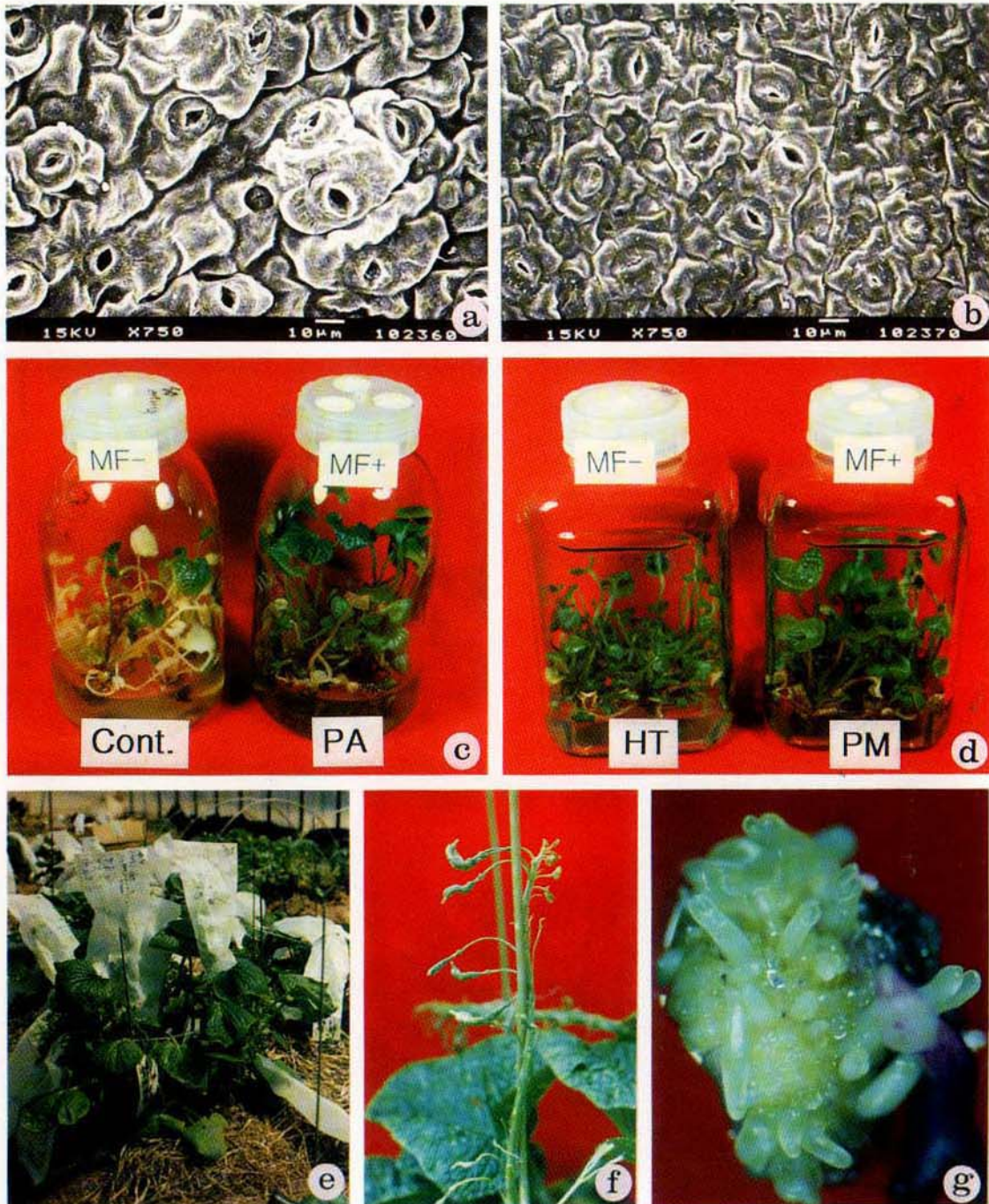


Photo. 2-4. The effect of membrane filter(MF) on rooting medium(a, b, c, and d) and the crossing of 'Ulreung'(♀) and 'Dalma'(♂)(e, f, and g). a: Abnormal stomata of vitrified leaf in vessel without MF(a) and normal stomata of non-vitrified leaf(b) in vessel with MF, c: Cont.(sucrose-free medium in vessels without MF, PA, Photoautotrophic(sucrose-free medium in vessels with MF), d: HT, Heterotrophic(2% sucrose medium in vessels without MF), PM, Photomixotrophic culture(2% sucrose medium in vessels with MF), e, f: The mother plant(e) and F₁ seed pod(f) after pollination, g: Somatic embryogenesis by F₁ zygotic embryo culture.

여 백

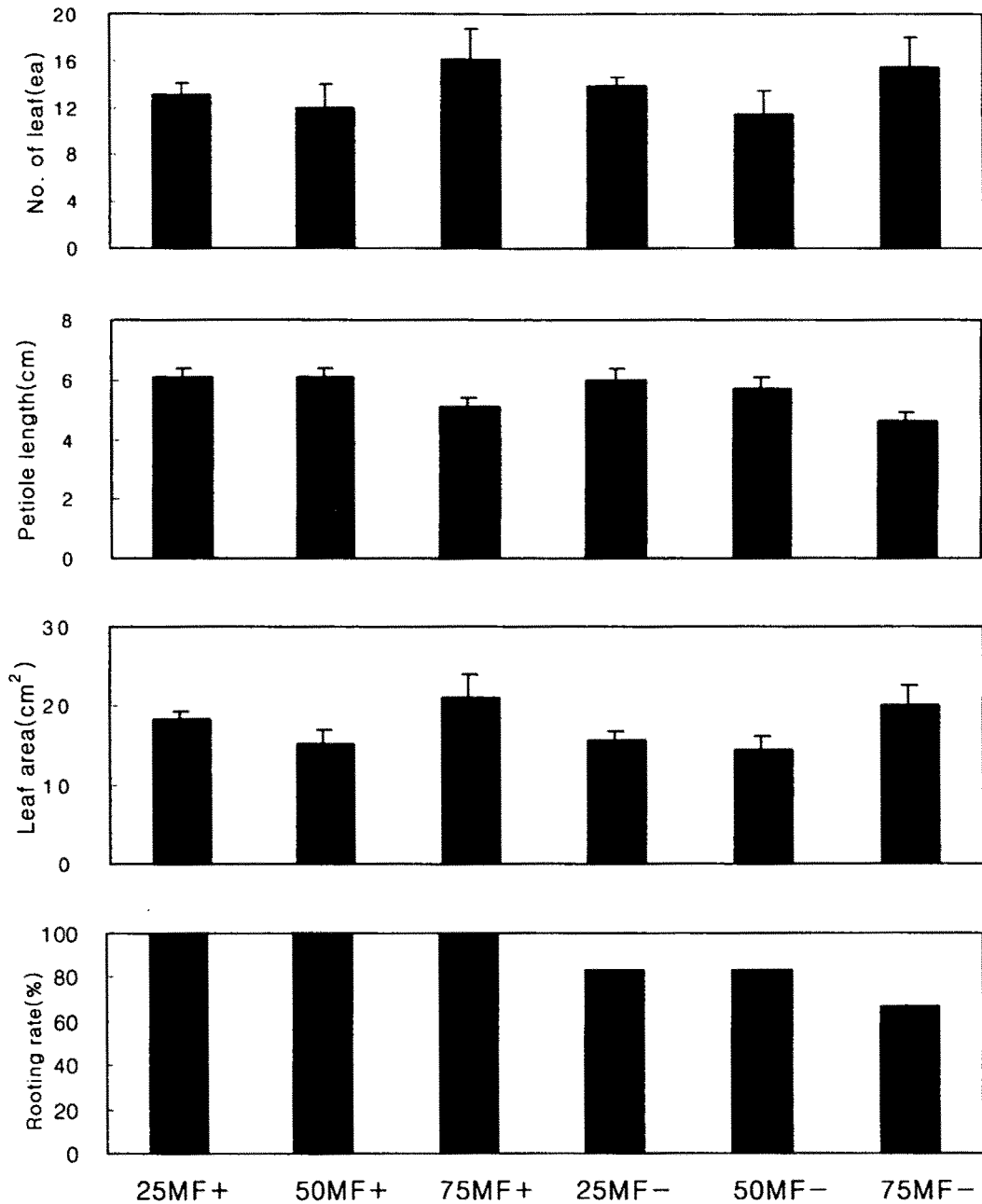


Fig 2-1. Number of leaves, petiole length, leaf area and rooting rate on three levels of photosynthetic photon flux densities(25, 50 and 75 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) the in cap with or without membrane filter. MF+, cap with membrane filter. MF-, cap without membrane filter.

알 수 있었다. 또한 葉面積은 25, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구가 15.5, 14.5 cm^2 이고 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 가 20.1 cm^2 로 엽면적은 크게 증가되어 저광도에서의 종속영양배지에서 생육은 고광도에 비해 저조한 결과를 보였다. 發根率은 25, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구에서 83.3%, 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구에서 66.6%로 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구에서 약간 낮았지만 이것은 뿌리배지에 繼代培養하기 前 苗의 상태에 따라 다를 것으로 예상되어 종속영양상태의 광도에 따른 발근률은 큰 의미가 없다고 본다. 그러나 혼합영양배양에서 발근률이 모두 100%를 나타내 뿌리발생에는 membrane filter 부착이 효과적이었다.

生體重과 乾物重의 비교에서 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구는 생체중이 3.6g, 50과 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 는 각각 2.5, 2.7g을 나타내어 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구가 약간 높았으나 乾物重은 50, 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구에서 더 높아 저광도에서의 함수율이 높게 나타났다.

한편, 혼합영양배양의 경우 本葉數는 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구에서 16.1개였고 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구는 12개로 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구가 배양당시보다 多芽體增殖이 약간 높았으며, 葉柄長은 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구에서 가장 낮았다. 그러나 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구에서 종속영양배양의 葉面積이 15.5 cm^2 였던 것에 비하여 혼합영양배양에서는 18.4 cm^2 로 약간 커져서 membrane filter의 영향을 보였으나 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구의 경우 從屬營養과 거의 같은 크기를 나타냈다.

종속영양 및 혼합영양배양에서 생체중과 건물중을 비교한 결과 종속영양배양의 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구가 각각 3.6g, 244mg인 것에 반해 혼합영양배양의 경우 4.5g, 356.8 mg으로 membrane filter가 부착된 混合營養培養에서 식물체내 함수율은 92.1%, 종속영양배양에서 93.2%를 보여 혼합영양배양에서 약간 낮았다. 그러나 고광도인 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구에서는 含水率에 큰 차이를 보이지 않았으며, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구에서 혼합영양배양의 경우 생체중 및 건물중이 다른 처리구에 비하여 적게 나타났다.

다. Sucrose 농도와 membrane filter의 효과

고추냉이의 器內苗를 이용할 때 pot에 이식하기전 마지막 단계인 shoot로부터 뿌

리발생 및 健全苗를 생산하여 식물체 생장에 필요한 뿌리발생배지(2% sucrose, 0.01 mg/L IBA)에서 배양기에 membrane filter(MF)를 부착하거나(혼합영양) 미부착(종속 영양)하고, 또한 健全苗를 생산하여 培養種苗의 생산비를 줄이고 배지내의 미생물 오염률을 낮추고자 sucrose무처리구에서 뿌리발생배지인 0.01 mg/L IBA만을 첨가한 후 membrane filter를 부착한 경우(광독립영양배양)와 미부착한 경우(대조구)로 분류한 후 성장한 식물체의 本葉數, 엽병길이, 엽면적 및 발근률을 조사하였고(Fig. 2-2), 生體重, 乾物重 및 含水率을 조사하였다(Table 2-23).

Table 2-23. Fresh and dry weights, and water content on type of cap or basal composition and carbon source in the media.

Symbol ^a	Fresh weight (g)	Dry weight (mg)	Survival rate (%)	
			(plantlet ⁻¹)	
Control	1.5±0.2	90±0.1	50.0	94.0
PA	2.0±0.5	258±0.1	100	87.1
PM	3.2±0.6	430±0.1	100	86.6
HT	3.1±1.0	360±0.1	100	88.4

^a Control(Sucrose-free medium in vessels without membrane filter).
 PA, Photoautotrophic(Sucrose-free medium in vessels with membrane filter).
 PM, Photomixotrophic(2% sucrose medium in vessels with membrane filter).
 HT, Heterotrophic(2% sucrose medium in vessels without membrane filter).

배양에 이용된 식물체는 본엽 4~5매정도의 shoot를 선별하여 실험재료로 이용하였고 배양 60일 후에 식물체의 성장정도 및 뿌리발생률을 조사하였던 바(Photo. 2-4c, d), sucrose無添加區에서 처리 30일이후에 membrane filter 미부착구(MF-)인 대조구와 부착구인 광독립영양배양의 경우 뿌리발생 및 성장량에 큰 차이가 나타나기 시작하였다. 30일까지는 뿌리발생이 광독립영양에서 20%, 대조구에서는 발생되지 않았고

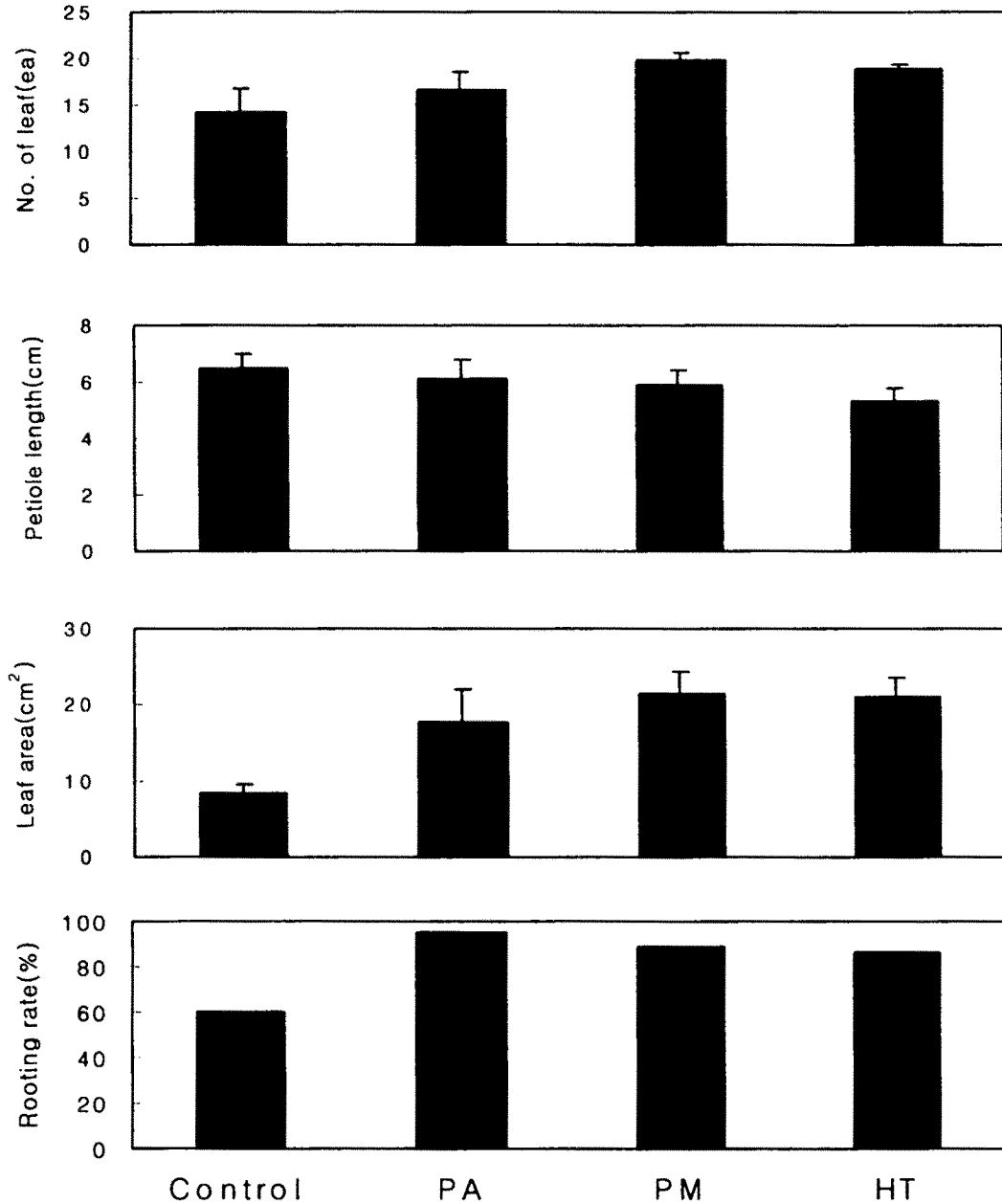


Fig 2-2. Number of leaves, petiole length, leaf area and rooting rate on type of cap or basal composition and carbon source in the media Control, Sucrose-free medium in vessels without membrane filter. PA, Photoautotrophic(Sucrose-free medium in vessels with membrane filter) PM, Photoautotrophic(2% sucrose medium in vessels with membrane filter). HT, Heterotrophic(2% sucrose medium in vessels without membrane filter).

배양 60일후에는 각각 95, 60%의 뿌리발생률을 보였다. 뿌리생장에는 光獨立營養의 경우 배지부분이 뿌리로 가득찰 정도로 뿌리가 증식되었으나 대조구의 경우는 겨우 3cm정도 밖에 신장되지 않아 sucrose무처리에서도 MF를 부착할 경우 뿌리발생률 및 성장량에는 문제가 없는 것으로 나타났다. 또한 葉面積의 경우 대조구가 8.4cm², 광 독립영양배양이 17.8cm²로 약 2배이상 성장되어 큰 차이를 보였으며, 함수량도 광 독립영양배양은 87.1%, 대조구는 94%를 나타내 뚜렷한 차이를 보였다.

배양 30일까지는 잎의 황변화현상이 거의 차이를 보이지 않았으나 배양 60일 후에는 MF-의 경우 50%정도만 생존되었고 배양기일이 경과되면서 대부분 완전히 고사되었다.

2% sucrose가 첨가된 뿌리발생배지에 MF를 부착한 혼합영양의 경우가 종래의 배양법인 MF 未附着한 경우보다 식물체 생육에 좋은 영향을 끼쳤다. 배양 15~30일까지는 뿌리가 발생하는 기간으로 MF부착여부가 뿌리발생속도 및 발생률에는 큰 영향을 보이지는 않았다. 고추냉이의 shoot를 뿌리발생배지에 繼代培養하면 약 40일경에는 대부분 뿌리가 발생되었고 이 기간까지 뿌리가 발생되지 않은 경우에는 대부분 배양기간이 더 지나도 뿌리발생은 되지 않는 편이었다. 뿌리발생 후 약 30일간 기내에서 묘를 硬化시켰는데 본 실험결과 MF부착구에서 뿌리발생 이후에 성장속도가 훨씬 빠르게 진행되었다.

MF부착구의 경우 multiple shoot수는 2.2개, 미부착구는 1.2개로 미부착구에서 배양당시에서 shoot증식이 거의 이루어지지 않은 것에 비해 附着區의 경우 배양당시보다 약 2배의 shoot가 증식된 것이 큰 차이였다. 또한 含水量이 혼합영양배양에서 86.6%, 종속영양배양에서 88.4%로 MF부착구에서 함수량은 낮게 나타났으며, 잎의 상태는 배양기간이 경과될수록 진한 녹색을 띠어 미부착구의 연녹색에 비해 광독립영양 배양에 의한 배양기내에서의 순화기간 중 건전묘 육성이 관찰되었다. 이와같이 sucrose무처리와 2%처리구에서 2% sucrose첨가구가 전체적으로 식물체의 생육이 양호하였으며 그중에서 sucrose 2%, MF가 부착된 혼합영양배양에서 식물체는 가장 양호한 성장을 보였다.

이들 培養器內에서 각각 순화된 식물체를 배양 60일후에 꺼내 멸균된 모래상에 심고 20℃로 조정된 순화실에서 약 30일간 순화하는 과정에서 MF부착구가 미부착구의 묘보다 활착률 및 성장속도에 현저하게 양호한 결과로 보아 pot에 이식전 배양기내의 환경조건에 따라 양질의 健全苗育成이 가능하다고 본다.

3. 培養苗의 무병주 검정 및 재배시험

가. 배양묘의 無病株 검정

器內 배양묘의 virus이병정도를 검정하기 위해 指標植物(*Nicotiana glutinosa*, *Chenopodium amaranticolor*)과 DAS-ELISA검정법으로 확인하였다. 지표식물에 의한 검정에서 *N. glutinosa*에서는 국부반점을, *C. amaranticolor*에서는 작은 반점, 고추냉이에서는 모자익반점을 형성하였다(제3장 Photo 3-4 참조). DAS-ELISA검정에서는 노지재배 식물체에서 TMV, CMV, PMV, WMV가 약 12% 罹病되었음이 확인되었고 頂端分裂組織을 배양한 식물체에서는 TMV만이 약 3.3% 罹病되었다.

나. 무병종묘 재배시험

器內 種苗의 재배지 적응력 시험을 위해 실내에서 종자를 발아시킨 후 育成한 실생묘, 실생묘에서 증식된 식물체의 分株苗 및 정단분열조직 유래의 기내묘를 20℃ 실내 生長실에서 약 60일간 순화과정을 거친 후 본엽 4~5매 정도의 식물체를 선별하였다.

실생묘의 경우 전년도에 수확한 종자를 10℃ 냉장고에 저장한 후 生長시킨 묘로서 발아 후 本葉 4~5매 전개 후 재배포장에 이식하였으며, 實生苗와 分株苗는 같은 잡종상태의 종자에서 유래한 종묘이고 배양묘는 정단분열조직유래의 無病苗이다. 재배 적응력 시험은 무주군 안성면 표고 450m의 고추냉이 栽培圃場에 3월 25일 정식한 후 정식 2개월후부터 약 1개월 간격으로 조사하였다(Table 2-24).

Table 2-24. Growth increment of seedling, division seedling, and disease-free stock in experimental field cultivation of 450m altitude.

The kind of seedlings	Days after planting	No. of leaf	No. of multiple shoot	Leaf width (cm)	Leaf length (cm)	Petiole length (cm)
Seedling	60	5.3±0.5	2.4±0.4	9.8±0.5	7.7±0.3	11.9±0.5
	90	11.8±1.5	3.0±0.8	10.7±0.5	7.6±0.4	11.2±0.5
	130	10.6±2.1	6.0±1.0	7.2±0.6	5.7±0.4	10.3±0.8
Divided seedling	60	4.8±1.8	1.2±0.2	6.2±0.5	5.0±0.4	8.0±0.6
	90	5.6±0.9	1.3±0.2	7.2±0.5	5.9±0.4	9.1±0.6
	130	6.4±0.8	2.0±0.5	8.9±0.7	7.2±0.5	10.0±1.0
Disease-free stock	60	9.3±1.6	2.3±0.3	10.9±0.5	8.3±0.5	13.6±0.6
	90	18.4±3.4	4.9±1.3	10.2±0.7	8.4±0.6	12.9±0.6
	130	23.7±4.0	9.3±1.5	10.0±0.9	7.1±0.4	11.9±0.7

정식 30일까지는 모든 실험의 식물체가 실내의 생장실에서 생육된 상태에서 재배 포장으로 이식되어 토양에 적응하는 시기로서 정식당시의 식물체의 상태에서 크게 생육하지 못하였다. 즉 葉數에 있어 모든 실험구가 정식 당시 본엽이 4~5매였던 것과 비교하면 오히려 葉數가 줄어든 상태였고 액아발생은 없었으며, 엽폭과 葉長도 거의 성장되지 못하였다.

그러나 정식 2개월 후 조사(5월 25일)에서 액아의 수를 비교할 때 分株苗는 배양 120일후까지 2.0개로 액아증식이 가장 저조하였으며 실생묘와 배양묘는 각각 2.4, 2.3개로 거의 비슷하였으나, 정식 3개월(6월 25일)과 4개월(7월 25일)후에는 실생묘의 경우 3.0, 6.0개로 증식되었고 배양묘는 4.9, 9.3개로 증식되어 재배지 적응에 있어서 배양묘가 가장 왕성한 결과를 보였다(Photo. 2-3f).

본 실험의 경우 기내 培養苗의 재배지 적응력에 관한 실험으로 정식후 4개월간의

생육과정만 조사하였는데 정식 3개월이후는 6월하순으로 그후 7월 하순인 정식 4개월까지의 엽폭과 엽장이 3개월이전보다 더 줄어든 것으로 나타난 실험결과는 고추냉이의 생리적 특성인 여름철 고온의 生育障碍를 받아 정식당시의 부착된 잎은 3개월까지 생육되었으나 맨 가장자리의 잎은 고사되었기 때문이었다.

培養苗의 경우 식물체 1본당 엽수 23.7개, 액아수 9.3개, 葉柄길이 11.9로 3개월 이후에도 실생묘나 분주묘에 비해 생육에 지장을 덜 받은 것으로 나타났으며, 식물체 1본당 實生苗가 4개월까지 엽수 10.6개, 액아수 6.0개, 엽병길이 10.3cm였고 分株苗는 각각 6.4개, 2.0개, 10.0cm로 이것들과 배양묘를 비교하였을 때 배양묘가 가장 왕성하게 생육되었음을 알 수 있었다. 이것은 실생묘나 분주묘는 잡종상태의 묘로 생육이 균일하지 않은 점에 비하여 배양묘는 정단분열조직배양에 의한 무병 건전묘로서 비교적 균일한 생육을 보여 기내에서 育成된 種苗의 포장에서의 적응은 큰 문제가 없었으며 종묘로서 無病苗의 이용은 생산량의 증대가 기대되었다.

4. 交雜 F₁계통의 재배 및 선발시험

가. 交雜試驗

優良個體를 선발할 목적으로 유리온실내에서 생육중인 울릉종의 自殖과 달마종과의 他殖率을 조사하였다(Table 2-25). 울릉종은 꽃가루가 적어 花粉親으로 사용하기는 부적합하였기 때문에 母本으로 하고 달마종 중 생육이 왕성한 것을 선별하여 化분친으로 사용하였다. 모본 및 化분친으로 선발된 식물체는 각 化境줄기마다 봉지를 씌운 후 自家授粉은 개화 당일 주두에 수분하였고 타가수분은 母本을 개화 1일전 除雄한 후 수분하였는데(Photo. 2-4e), 수분 60일 후 울릉도산의 自殖率은 3개의 식물체가 60.0-85.4%, 他殖率은 울릉-1(♀) × 달마-1(♂)에서 약 70.1%를 보여 가장 양호하였는데 다른 식물체에서도 타가수분 후 50%이상의 交雜種을 얻을 수 있었다.

Table 2-25. The rate of seed setting of the cultivar 'Ulreung' self-pollinated and 'Ulreung' × 'Dalma'.

♀	×	♂	No. of flowers pollinated	Seed setting (%)	No. of flowers pollinated	Seed setting (%)
'Ulreung'-1			41	85.4		
'Ulreung'-1	×	'Dalma'-1			134	70.1
'Ulreung'-2			39	60.0		
'Ulreung'-2	×	'Dalma'-1			116	60.3
'Ulreung'-3			39	74.5		
'Ulreung'-3	×	'Dalma'-2			118	50.8

나. 교잡종의 미숙배배양에 의한 체세포배 발생 및 발아율

울릉도산을 모본으로 하고 재배종 달마를 화분친으로 하여 개체간 교잡을 실시한 후 50~60일이 경과되었을 때 수정된 교잡종자를 採種하여(Photo. 2-4f) 체세포배와 유식물체를 유도하기 위해 NH_4NO_3 와 KNO_3 를 1/2로 감량한 MS배지와 1.0 mg/L IAA를 첨가한 배지에 未熟胚를 배양한 결과(Table 2-26) 성장조절제를 첨가하지 않은 배지에서는 배양 2주일후부터 발아가 시작되어 정상적인 식물체 성장률이 1.0 mg/L IAA를 혼용첨가한 경우보다 다수 관찰되었다.

1.0 mg/L IAA첨가구에서는 培養 1주일후부터 배지면에 접한 未熟子葉이 팽대하기 시작하여 배양 20일경에는 자엽 및 배축에서 캘러스를 통하거나 또는 조직표면에서 직접 뿌리가 발생되었으며 배양 25일이 경과되었을 때 자엽의 기부와 배축의 중앙부위에서 캘러스 발생없이 體細胞胚가 직접 발생되었다(Photo. 2-4g).

모든 처리구가 生長調節劑 무처리구에서 체세포배발생보다 발아율이 더 높았으며 1.0 mg/L IAA첨가구에서는 체세포배발생률이 약간 증가하였는데 交雜種子의 미숙배

를 器內에서 다량증식시키기 위하여는 체세포배발생 혹은 발아의 목적에 따라 성장조절제의 조성을 달리하는 것이 중요하다고 본다.

체세포배발생을 유도할 경우 체세포배의 발아율이 그다지 높지 않기 때문에 식물체까지 재분화되려면 오히려 많은 기간이 소요된다. 그러나 발아 후 직접 식물체를 다아체로 유도한 후 分割苗로 증식하는 것도 체세포배와 같은 유전형질을 보유하고 있기 때문에 단기간에 교잡종의 再分化 식물체의 획득이 가능하였다.

Table 2-26. The rate of germination and somatic embryogenesis in immature zygotic embryos culture of F₁ of 'Ulreung' × 'Dalma'.

♀	×	♂	Medium	No. of explants cultured	Explants forming embryos (%)	Explants germinating (%)
'Ulreung'-1	×	'Dalma'-1	1/2 MS	45	24.4	51.1
			1/2 MS+IAA ^a	45	46.6	42.2
'Ulreung'-2	×	'Dalma'-1	1/2 MS	32	25.0	53.1
			1/2 MS+IAA	32	53.1	31.3
'Ulreung'-3	×	'Dalma'-2	1/2 MS	25	56.0	64.0
			1/2 MS+IAA	25	64.0	56.0

^a IAA, 1.0 mg/L IAA.

다. 교잡종자의 발아후 식물체 증식

울릉도산과 달마종간의 交雜種 미숙배를 배양하여 2주일후부터 발아된 유식물체에서 다아체를 분화시키기 위해 BA와 kinetin을 단용처리한 MS기본배지에 15일간 계대배양한 결과(Table 2-27) 성장조절제가 첨가되지 않은 대조구의 경우 대부분 뿌리는 발생되지만 다아체의 분화는 저조하였다. 그러나 BA나 kinetin이 첨가된 경우 모든 처리구에서 뿌리발생 및 다아체가 다수 발생되어 植物體 분화에 BA와 kinetin의 효과가 뚜렷하였다.

배양 50일 후 繼代培養한 식물체 대부분이 다아체로 증식되어 4.0~7.4개의 분할묘 획득이 가능하였고 특히 1.0 mg/L BA 첨가구에서 가장 양호하였다. 분할묘는 0.01 mg/L IBA 처리구에 계대배양하여 뿌리를 발생시켰으며, 살균된 모래에 옮겨 심은 후 2,000Lux의 光과 20℃로 조절된 순화실에서 순화과정을 거친 후 표고 450m의 무주군 안성면 栽培圃場에 정식하여 기내에서 육성된 묘의 재배적지에서의 적응력을 관찰하였는데 정식 1개월까지는 생장이 거의 없었고 定植 2~4개월사이에 腋芽 2~3개로 증식된 식물체로 성장되었다.

Table 2-27. The effect of cytokinins on multiple shoot formation from seedling of F₁ immature zygotic embryo germinated after crossing of 'Ulreung'-1 and 'Dalma'-1.

Cytokinins (mg/L)		Immature embryos cultured	IE ^a forming multiple shoot (%)	No. of divided plantlets
BA	Kinetin			
0		17	0	0
0.2		19	100	6.2
0.5		25	88.0	4.0
1.0		22	100	7.4
	0.2	17	88.2	4.5
	0.5	25	100	4.8
	1.0	21	100	5.9

^a IE, immature embryo.

현재 재배되고 있는 교잡종 개체는 포장에 재배되고 있는데 16개월이 지난 1998년 봄부터 수확이 가능하여 아직 근경의 특성을 조사하지 못하였는데 생육에 다양한 변이성을 보이고 있는 바 우량개체의 선발이 기대되고 있다.

고추냉이의 식물절편체를 器內培養할 경우 배양체의 종류에 따라 캘러스, shoot분화 및 체세포배가 발생하는 양상이 다른데 子葉, 下胚軸, 葉身 등을 배양하였던 바 어

는 조직에서나 캘러스는 유도되었지만 캘러스가 증식되어 캘러스로부터 shoot분화가 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-D혼용 첨가구에서 배양하여 캘러스를 유도한 후 성장조절제 무처리의 액체배지에서 진탕배양하여 체세포배를 발생시켰으며, 春木와 山田(1993)는 미숙배배양에서 체세포배 발생은 0.1 mg/L BA와 1.0 mg/L IAA혼용처리가 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 어뢰형胚와 자엽기의 미숙배로 구분하여 배양할 경우 어뢰형胚는 성장조절제 무처리구에서, 자엽기의 미숙배는 1.0 mg/L IAA첨가구에서 체세포배발생이 가장 양호하다고 하였는데(殷 등, 1995) 고추냉이를 조직배양할 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 體細胞胚 발생을 보고하였는데, 본 실험에서도 미숙배를 어뢰형과 자엽기의 미숙배로 구분하여 auxin단용처리와 BA를 혼용처리한 후 배양한 결과 IAA 단용처리에서는 주로 직접 胚發生이 이루어졌고 IAA와 BA를 혼용처리할 경우 배양 조직이 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 gel狀의 물질이 캘러스증식을 억제하는 경향이 있었다.

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 胚發生率이 가장 높았다고 하였다. 그러나 미숙배 유래의 體細胞胚를 생장 조절제가 없는 배지에 이식하였을 때 이들 체세포배는 전체가 비대하고 암갈색으로 되어 생육을 정지하였다고 하였는데 본 실험에서도 미숙배의 子葉에서 발생된 체세포배의 수는 셀 수 없을 정도였으나 정상적으로 식물체로 분화되는 것은 그다지 많지 않았다. 그러나 未熟胚 유래의 일부 체세포배는 정상적인 발아과정을 거치고 계대배양 2주일후부터 胚軸이 신장하고 자엽이 전개되어 배양 1개월 정도 지나면 本葉이 발생하여 정상적인 식물체가 분화되었다고 하였는데(春木와 山田, 1993), 본 실험 결과 體細胞胚로부터 자엽이 전개된 것은 cytokinin류와 0.1 mg/L IAA혼용배지에 배양했을 때 정상적인 식물체 재분화가 가능하였고 배양기간 동안 子葉이 비대되거나 투명화가 된 것들도 本葉은 정상적으로 분화되었다.

또한 정단분열조직배양에서 소요되는 많은 노력을 절감하고 묘의 생산비용도 낮추려는 시도로 고추냉이의 미숙배를 배양하여 자엽에서 직접 體細胞胚를 발생시키거나 캘러스를 통하여 다수의 胚를 형성시켜 식물체를 재분화시키는 방법도 조직배양묘의 생산에 한 부분이 되고 있는데, 殷 등(1995, 1996)은 고추냉이의 미숙배를 발육시기별로 구분하여 生長調節劑의 종류와 처리농도에 따른 배발생 및 체세포배로부터 식물체 재분화에 적합한 미숙배의 배양시기를 구명하는 실험을 행한 결과 자엽기의 미숙배의 경우 1.0 mg/L IAA 및 생장조절제 무처리구에서 많은 체세포배가 발생되었으나 발생된 배가 모두 정상적인 식물체로 分化되지는 않았고 배로부터 정상적인 식물체를 대량으로 再分化시키는 데는 많은 문제점이 있었다. 이와 같이 고추냉이의 미숙배 배양에서 체세포배 발생은 어려움이 없으나 다량으로 발생한 體細胞胚를 정상 식물체로 얼마만큼 분화시킬 수 있는지가 중요한 일이라고 생각한다.

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 증식과정

에서 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.

본 실험의 '울릉종'과 '달마종'의 두 품종을 온실에서 생육이 왕성한 식물체를 선별하여 '울릉종'을 모본으로 하고 '달마종'을 부분으로 하여 교배를 한 결과 교잡률과 결실률이 상당히 良好하였다. 일단 결실된 종자는 수분 60일후에 미숙종자의 상태로 채취하여 기내에서 식물체로 급속 증식시키기 위하여 앞서 실행한 체세포배를 유도하기 위하여 未熟胚를 배양하였다. 이 결과 체세포배발생 또는 器內에서 발아된 미숙배를 다아체로 유도할 경우 1개의 미숙종자에서 발아 후 7개의 다아체가 분화되었고 계속적인 분할묘를 배양하여 기내에서 식물체 再分化까지는 6개월 정도면 가능하였다.

고추냉이는 대부분 고정된 품종이 아니고 포장에서 선발된 개체는 대부분 hetero 상태이기 때문에 그 次世代인 미숙배는 母本과 다른 유전자조성을 갖게되므로 미숙배나 미숙종자의 자엽에서 발생된 胚는 그 자체만으로는 큰 의미가 부여될 수 없다. 그러나 病害에 저항성이 있는 실생번식이 가능한 품종이 선발된다면 이러한 품종의 미숙배를 배양하여 이미 체계화된 체세포배 증식법을 이용하여 1개의 미숙종자에서 다수의 식물체 증식이 가능하고 배발생이 억제되는 未熟胚는 기내에서 발아시킨 후 다아체 증식배지에 계대배양하여 단기일내에 다수의 분주묘 획득이 가능하여 발아억제성 종자의 문제점을 해결할 수 있다. 또한 일반 농가에서 필요할 때 원하는 만큼의 種苗를 제공할 수 있고 정단분열조직배양은 모본은 버리게 되는데 미숙배배양의 경우 모본은 계속 생육시킬 수 있다는 점도 하나의 잇점이라고 생각한다.

고추냉이 대량증식에 많이 이용되고 있는 莖頂培養에서 얻어진 유식물체를 정아와 뿌리를 절취하고 남은 부분을 증식배지에 이식하여 유식물의 엽병기부에 있는 액아를

신장시킨 후 그것을 분할, 발근시키는 증식체계가 행해지고 있다(大塚, 1988; 山田와 春木, 1992). 이때 사용되는 배지와 성장조절제의 종류와 농도에 따라 shoot분화, 캘러스 형성 및 뿌리발생이 촉진 또는 억제되는데 細木 등(1986)은 1~2 mm 크기로 절취된 莖頂組織을 MS배지의 주요 염류와 含鐵類, RN배지의 미량요소와 비타민을 첨가한 배지에 경정의 성장과 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 靜岡農試(1984)에서는 경정조직을 이용하여 고추냉이에 발생하는 virus 등 각종 병해가 감염되지 않은 식물체를 육성하고 대량증식을 목적으로 경정배양의 배지조건에 대하여 실험을 실시했던 바 엽원기 2-3매를 포함한 경정조직을 0.5mm의 크기로 잘라 MS배지와 MS배지에 2.0 mg/L IAA를 첨가하여 배양했을 때 60~80%의 경엽분화개체를 얻었다고 하였고 특히 IAA가 첨가된 구에서는 발근이 빠르고 생육도 양호하여 치상 후 3개월에는 이식가능한 개체를 얻었다고 하였다.

경정배양에 이용되는 성장조절제는 莖葉分화를 위해서 cytokinin단용배지를 사용하거나 cytokinin에 auxin을 첨가하여 뿌리발생을 촉진시키는데 MS배지에 0.2 mg/L IAA와 1~2 mg/L BA를 혼용처리하여 배양한 후 3개월째에 4~5본의 腋芽生長을 촉진시키고 이들 莖葉을 분할하여 같은 배지에 계속 계대배양하면 그 이후부터는 2개월째에 약 5배정도로 증식되어 이론적으로 연간 약 3,000본의 莖葉을 증식시킬 수가 있다고 하였다. 이때 뿌리형성은 현저히 낮았고 1.0 mg/L 이상 농도의 BA를 첨가한 경우에는 전혀 뿌리가 발생하지 않았다고 하였다(靜岡農試, 1985).

본 실험결과 BA와 kinetin을 단용처리한 경우 shoot 분화는 모든 처리구에서 거의 100%였으나 뿌리형성은 BA, kinetin 모두 0.2 mg/L처리구에서만 발생되었고 1.0, 2.0 mg/L처리구에서는 전혀 발생되지 않아 같은 결과를 보였다.

고추냉이의 頂端分裂組織培養에서 shoot분화는 cytokinin단용처리가 auxin과의 혼용처리보다 훨씬 양호하였지만 뿌리형성이 0.2 mg/L BA나 kinetin의 저농도에서만

약간 발생되어 shoot와 뿌리를 동시에 유도시키는데 cytokinin단용은 부적합하였고, auxin과의 혼용처리는 캘러스와 뿌리가 발생되었으나 multiple shoot분화 및 shoot생장은 저조하여 shoot로부터 뿌리를 발생시킬 수 있는 生長調節劑의 종류와 농도를 구명하는 것이 필수적이었다.

大塚(1988)는 1.0 mg/L이상 농도의 BA가 첨가된 배지에서 발생한 shoot를 1본씩 분할하여 뿌리발생을 촉진하기 위하여 IAA와 NAA가 1.0~2.0 mg/L 첨가된 배지에 이식하였을 때 몇 개체에서만 뿌리가 발생되었다고 하였는데 이것은 3개월이상 cytokinin이 첨가된 배지에서 배양하는 동안 조직내에 cytokinin이 축적되어 그 결과 분할, 이식 후에도 발근을 억제하기 때문이라고 하였다. 따라서 분화된 shoot로부터 뿌리를 발생시키려면 1.0 mg/L이하의 cytokinin농도에서 배양하여 shoot를 분화시키는 것이 효과적이라고 하였는데 본 실험 결과 0.2 mg/L BA와 kinetin처리구에서 발생한 뿌리는 배양기일이 경과되어도 별로 뿌리생육이 왕성하지는 않았다.

일부 식물체의 莖頂培養에서 cytokinin류는 캘러스 유도없이 주로 직접 shoot분화가 이루어지는 경우가 많은데 녹두의 성장점배양에서 기본배지(MS 염류+B5 vitamins)에 BA, kinetin, zeatin $5 \times 10^{-6} M$ 이 각각 첨가되었을 때 절편체 100%에서 multiple shoot가 분화되었지만 BA에 NAA와 IAA 등의 auxin을 첨가하면 shoot증식이 저해적이었다고 하였다(Gulati와 Jaiwal, 1992). 이것은 본 실험에서도 비슷한 결과로 cytokinin단용배지에서 multiple shoots분화율은 훨씬 높았고 cytokinin에 auxin이 혼용처리된 경우 대부분 캘러스가 유도된 후 shoot와 뿌리가 발생되었는데 shoot생육은 cytokinin단용배지에 비해 훨씬 저조하였다.

이와 같이 고추냉이의 정단분열조직을 배양할 경우 shoot증식에는 cytokinin 단용배지가 적합하였으나 캘러스 증식 및 캘러스로부터 shoot분화는 이루어지지 않았다. 본 실험에서 고추냉이의 기내묘 생산을 목적으로 營養繁殖器官을 배양재료로 하여 다양한 生長調節劑를 첨가한 후 절편체별로 반응양상을 조사하였다. 이때 사용된 절편조직에 따라 성장조절제의 종류와 효과는 큰 차이를 보였으며 반응양상도 전혀 달라

있, 엽병, 배축 등을 배양하였으나 모든 조직에서 약간의 캘러스만 유도되었고 체세포 배나 shoot의 분화는 없었으며, 미숙배배양은 주로 體細胞胚가 발생되었고 정단분열 조직배양은 직접 shoot 분화가 이루어졌는데 어떤 조직에서나 캘러스 증식은 관찰되지 않았다. 또한 약배양에서는 수백개중 단 몇 개체에서 胚가 발생된 후 식물체로 재분화되었으나 육중면에서 이용하기엔 그 반응이 너무 저조하였다.

조직배양을 이용하여 고추냉이를 다량증식시키기 위하여 여러 조직이 배양재료로 이용되어 왔는데 그중 정단분열조직이나 화경절의 액아를 배양한 후 발생된 shoot를 시험관내에서 分割하는 대량증식법이 개발되어 배양 30일사이에 2~3배의 증식이 가능하다고 하였고(堀, 1986; 細木 등, 1986; 松本과 山本, 1987), 山田과 春木(1992)도 경정배양을 통하여 대량증식 뿐만 아니라 우량계통의 무병묘도 공급되고 있다고 하였는데 일본의 경우 조직배양묘가 실제 농가에 이용되어 종묘번식의 한 수단이 되고 있다.

이와 같이 고추냉이를 기내에서 증식시키는 방법에서 培養組織에 따라 또는 생장 조절제의 종류와 농도에 따라서 그 반응에 큰 차이를 보여 무병묘 육성과 다량증식을 목적으로 한 莖頂培養에서 배지조성은 실험결과에 많은 영향을 미치고 있다. 즉, 엽원기 2-3매를 포함한 경정조직을 약 0.5mm로 적출하여 MS배지에 2.0 mg/L IAA를 첨가하여 배양한 결과 60~80%의 莖葉分化 개체를 얻을 수 있었고, IAA가 첨가된 경우 뿌리발생 및 생육이 양호하여 치상 3개월 후에는 이식가능한 개체를 생산할 수 있다고 하였다(静岡農試, 1984). 殷 등(1997)도 정단분열조직배양에서 cytokinin류 단용 처리에서는 뿌리발생이 거의 없이 주로 shoot만 형성되었으나 cytokinin류에 IAA를 첨가했을 경우 대부분 캘러스가 유도되고 뿌리가 形成되어 뿌리발생에는 IAA첨가가 효과적이었지만 shoot분화 및 생육은 더딘 편으로 분할묘 증식에는 그다지 효과적이지 못하였다.

그러나 고추냉이 組織培養에서 다량의 체세포배를 발생시키려면 주로 未熟胚를 배양재료로 이용하는데 이와 같이 배양조직에 따라 체세포배나 shoot가 발생하는 양상

이 달랐는데 두가지 모두 장단점이 있었다. 즉 培養組織에서 직접 多芽體를 유도할 경우 우량계통의 형질을 그대로 유지할 수 있었으나 분할증식하는데 많은 기간이 소요되었고, 未熟胚로부터 체세포배를 경유한 식물체의 경우 배양 15~30일 사이에 1개체의 미숙배에서 다수의 체세포배가 발생되면 繼代培養하여 식물체로 재분화되는데 약 60여일이 소요되어 일시에 多數의 식물체를 얻는 것이 가능하였다. 그러나 종자는 잡종성이 강하여 우량계통이라고 볼 수 없다는 문제점이 있었지만 우량한 품종이 선발된 경우 未熟胚培養은 무병묘의 다량증식도 상당히 효과적이라고 본다.

배양에 의한 종묘의 급속생산체계에 있어서 유묘의 성장촉진 기술에는 培養苗 생산에 드는 비용도 고려해야 할 문제인데 일반적으로 소식물체를 배양묘까지 성장시키려면 많은 기간을 필요로 하고 배양기간 중에는 미생물오염에 의한 배양묘의 손실이 엄청나다. 또한 培養苗를 정식묘로 순화하는데 다시 많은 기간을 필요로 하고 순화기간중에 배양묘의 대부분이 고사하는 경우가 많아 배양묘는 일반적으로 환경스트레스에 약하다. 배양묘의 생산비 절감 및 증식, 성장, 순화단계에 이르는 장기간 소요되는 배양묘를 定植苗로 이용하는 기간을 단축하기 위해서는 배양기간중에 健全苗를 육성하여 순화단계에서의 고사율을 저하시킬 필요가 있다.

또한 고추냉이의 기내묘를 실제 농가에 보급하기 위해서는 기내에서 우량종묘 생산이 필수적인데 정단분열조직을 배양하여 얻어진 다아체에서 분할묘로 3차 증식하는 과정에서 다수의 투명화된 식물체가 발생되었다. 이것은 장기간 유전자원으로 기내에서 種苗를 유지 增殖해야 할 경우 큰 문제점이 아닐 수 없다. 투명화현상은 처음 explant에서 shoot로 증식되는 기간과 1차 계대배양기간에는 거의 발생되지 않았지만 2차, 3차 계대배양 횟수가 계속되면서 투명화묘의 출현이 많아졌는데 일단 투명화묘는 더 이상의 증식을 보이지 않았고 종묘로서의 가치가 없었다.

종래법에 의한 배양기내의 환경은 弱光, 高濕度, CO₂농도가 낮기 때문에 증식배양한 식물체는 환경스트레스에 약한 원인이 된다. 환경스트레스에 약한 배양묘의 순화과정에서 높은 생존률을 얻으려면 순화기간동안에 성장촉진이 되도록 증식배양단계에

서 환경스트레스에 강하고 광합성 능력이 높은 식물체로 馴化하는 과정이 중요하다 (古在, 1992).

배양기내의 배양소식물체는 光상태의 배양조건에서 광합성이 이루어져 성장하게 되는데 밀폐된 보통의 배양기내의 CO₂ 농도가 낮기 때문에 식물체의 순광합성속도는 낮아지는데(富士原 등, 1987), 배양실내에서 CO₂시용을 행하거나 明期에 있는 배양기내의 CO₂농도를 높이면 배양식물의 光合成 및 생장이 촉진되어 많은 식물에서 광독립영양생장이 가능하다는 보고가 있다(古在 등, 1987;Kozai et al, 1990).

中山 등(1991)은 감자의 器內小植物體에서 1매의 잎이 포함된 마디를 배양하여 배양초기의 순광합성속도를 조사하였는데, 배양기를 자연환기하거나 강제환기하여 500-2500 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ CO₂농도에서 3% sucrose 또는 sucrose무처리된 MS배지에 배양 후, 배지중의 당의 유무가 식물체의 순광합성속도에 미치는 영향을 조사하였던 바 어떤 CO₂농도에 대해서도 배양기를 강제환기한 경우는 自然換氣한 경우보다 식물체의 순광합성속도는 높았고 식물체의 초기건물중 증가는 sucrose를 첨가한 배지에서 높았다고 하였다.

종래의 배양기내의 소식물체는 광합성능력을 거의 갖고 있지 않기 때문에 소식물체에 필요한 炭素源으로서 배지내에 당의 첨가가 일반적으로 행해져 왔는데 최근 배양기내의 光強度나 CO₂농도를 높여줌에 따라 소식물체는 배양기외의 보통식물체와 같은 光合成速度를 나타낸다고 報告되었다(古在 등, 1989). 배양기내의 소식물체의 광합성이 촉진될 경우 배지중의 당을 첨가하지 않는 光獨立營養이 가능해졌는데 이 경우 소식물체의 생장은 CO₂농도(Kozai와 Iwanami, 1988; Kozai 등, 1988), 광강도(Kozai 등, 1988) 등의 영향을 받는다.

또한 林 등(1993)은 1매의 잎이 부착된 감자의 1절간을 sucrose 20g이 첨가된 MS 배지에 배양하여 明暗週期를 4가지로 구분한 광혼합영양배양에서 명암주기가 짧은 시험구일수록 건물중 및 생체중은 높았고, 明期 1시간과 暗期 0.5시간의 시험구에서는 shoot길이는 가장 작았고 葉部 건물중 및 엽면적은 최대로 되어 명암주기가 소식물체

의 생장 및 형태에 영향을 미친다고 하였다.

古在 등(1990)은 카네이션 소식물체의 뿌리를 자르고 잎 2매를 부착하여 배지종류, 광강도, 배양기 마개의 종류에 따라 광독립영양 및 혼합영양배양에서 식물체의 생장을 비교하였는데 식물체의 생체중은 sucrose가 없는 Enshi수경액 배지에서 높은 PPFD($210\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)와 air exchange 횟수가 많은 경우(6.2) 가장 높았고, 반면에 낮은 PPFD($70\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)와 air exchange 횟수가 적은 경우(0.3)에 가장 낮았다고 하여 PPFD처리에 따른 식물체의 생장에서 유의성을 인정하였다.

본 실험에서 25, 50, $75\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PPFD처리에 membrane filter를 부착한 혼합영양배양과 미부착한 從屬營養培養에서 식물체의 생장은 $75\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PPFD에서 엽면적, 엽수가 증가되었고 엽병길이는 25, $50\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PPFD 처리에서 신장된 것으로 나타났고, $75\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PPFD처리구에서 가장 짧아 식물체의 생장량은 주로 PPFD처리구에 따라 유의성이 인정되었고, 증속영양과 混合營養培養간에는 그다지 유의성은 인정되지 않았으나 뿌리발생률은 혼합영양배양에서 훨씬 양호하였다.

본 실험에서 고추냉이의 뿌리발생배지에 $75\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PPFD처리에서 sucrose를 2% 또는 무처리한 MS배지에 membrane filter를 부착하거나 미부착한 후 배양한 결과, sucrose무처리의 경우 membrane filter를 부착한 光獨立營養培養과 미부착한 대조구의 경우 초기 배양 15일부터 생육에 차이를 보였고 배양 30일 경에는 대조구의 식물체는 영양부족으로 점차 옅은 황색으로 변하였다.

이것은 종래의 번식방법에 사용한 배양기내는 相對濕度가 높기 때문에 보통 배양 식물의 蒸散速度가 낮아진다. 또한 영양원으로서 탄소원을 sucrose로 의존해야 했던 밀폐용기의 경우 탄소원의 영양결핍에 의해 뿌리발생 및 생육이 극히 저해되었으나 membrane filter를 부착한 경우 배양용기내의 가스교환으로 光合成에 의한 자가독립영양이 가능해져 sucrose없는 상태에서도 식물체의 생육은 양호하였다.

이와 같이 조직배양에 의한 大量増殖 및 순화체계를 확립하므로써 종묘로 공급하여 雜種性이 강한 고추냉이의 종자를 계속 채종하여 實生苗로 이용할 경우 발생하는

우량형질의 분리를 막을 수 있으며 또한 동일한 우수형질을 유지할 수 있고 우량한 계통의 종묘생산이 가능해져 고가로 수입하는 종자비용을 절감할 수 있으며 상품성이 저하되는 것을 막을 수 있다.

결국 器內苗 생산에 적합한 치상재료는 未熟胚, 정단분열조직, 화경절의 마디를 배양하는 것이 효과적이었는데 무병묘 생산을 위해서는 未熟胚, 정단분열조직을 배양하는 것이 효과적이겠지만 선발된 우량한 母本에서 영양번식의 일환으로 화경절의 마디를 배양하여 母本을 손상하지 않고 폐기처분되는 화경절의 마디를 이용하는 것도 다량증식 체계를 확립할 수 있는 좋은 방법이라고 생각한다.

우량한 품종을 선정한 후 花莖節 마디를 배양하여 액아성장 후 얻어진 식물체는 약 60일간 성장하면 4~5본의 다아체로 증식되는데 이들 多芽体에서 하나씩 분할한 묘를 다시 0.2~0.5 mg/L BA 또는 kinetin 단용배지에 계대배양하면 하나의 분할묘는 다시 多芽体로 증식이 가능하였다. 이들 幼苗는 種苗로 이용하려면 뿌리를 발생시켜야 된다. 필자 등이 이전의 분할묘로부터 뿌리발생 실험을 실시한 결과 0.01 mg/L IBA 처리구에서 뿌리발생 및 생육되는 기간은 약 30~60일이 소요되었고 일부 뿌리발생이 전혀 이루어지지 않는 경우는 장기간 배양병에서 생육되는 동안 투명화현상이 있거나 shoot 증식과정에서 1.0 mg/L BA 이상의 농도에서 장기간 배양된 경우 뿌리발생이 저해적이었다.

이와 같이 고추냉이의 경우 처음 배양재료에 따라 초기 반응양상은 달라도 일단 shoot가 증식된 후에는 多芽体에서 분할한 묘를 계속 증식하고 일정기간 계대배양해가면서 기내에서 묘를 증식시키는 체계는 모두 같은 경로를 거치게 된다. 이들 기내묘를 실제 종묘로 이용하려면 우선 기내 및 室內環境에서 유묘로 생육시켜 재배적지의 토양에 이식한 후 조직배양묘와 실생묘 및 분주묘와의 생육차이를 조사하여 조직배양묘의 種苗로서의 이용가치 여부에 대한 계속적인 실험이 수행되어야 하는데 본 실험의 정단분열조직유래의 기내묘를 20℃ 실내 성장실에서 약 2개월간 馴化過程을 거친 후 무주군 안성면 해발 450m의 재배지에 실생묘, 실생 분주묘 및 무병묘로 분리하

여 정식하였는데 무병묘의 생육이 가장 왕성하였고 기내묘의 재배적지에서의 생육에는 건전묘로 순화할 경우 큰 문제가 없었다.

본 실험에서 多量增殖體系를 이용하여 분화된 다아체의 분할능력 유지 검정시험결과 未熟胚培養에 의한 체세포배를 통한 다아체 증식, 1개의 정단분열조직이나 화경절의 액아에서 다아체증식에 관한 체계는 확립되었으며, 연간 생산해낼 수 있는 分割苗의 수와 器內에서의 발근기간, 순화기간 및 육묘기간이 조사되었으며 定植苗로 이용되는 생산체계가 가능하였다.

제 4 절 결 론

본 실험은 고추냉이의 優良種苗를 기내에서 다량급속증식체계를 확립하기 위하여 子葉과 下胚軸, 未熟胚, 頂端分裂組織, 根莖 및 花莖節의 腋芽 등을 배양하여 절편부위별로 성장조절제의 종류와 농도에 따른 캘러스, 體細胞胚 발생, shoot분화 및 식물체재분화에 적합한 器內 배양조건을 구명하였다.

또한 기내 健全苗를 생산하기 위한 실험으로 器內의 산소 및 탄산가스, 습도 등을 조절하는 membrane filter의 부착여부가 透明化 苗 방지효과, 기내 培養苗의 생육상태에 미치는 효과를 다양한 광조건하에서 조사하였고, 광독립영양, 혼합영양, 종속영양 배양법에 따른 식물체의 성장량을 조사하였다.

정단분열조직 培養苗의 무병주 검정 및 재배지에서의 적응력을 시험하기 위하여 해발 450m의 고추냉이 재배적지에 재식 후 생육상태를 조사하였으며 우량개체의 선발을 위한 재배종 '달마'와 '울릉종'의 교잡 후 F_1 未熟胚를 배양하여 체세포배를 유도하거나 식물체를 발아시켜 多芽體로 증식시키는 일련의 실험을 기내에서 실시하여 교잡후 F_1 개체의 식물체를 단기간에 再分化시켜 포장재배하였다.

1. 器內 急速多量増殖 體系 確立

가. 子葉과 下胚軸培養에 미치는 生長조절제의 효과

종자를 기내과종하여 발아된 幼苗의 子葉과 下胚軸을 배양한 결과, 生長조절제의 종류에 따라 캘러스 및 뿌리만 발생되었으며 發生된 캘러스는 배양기일이 경과되면서 더 이상의 증식을 보이지 않았고 캘러스로부터 shoot분화는 전혀 없었던 점에서 배양 조직으로는 부적합하였다.

나. 未熟胚培養에 의한 체세포배 발생 및 식물체 再分化

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

(2) 魚雷型 미숙배배양의 경우 자엽조직에서 직접 體細胞胚 발생은 0.2 mg/L IAA 처리구의 경우 50%였으며 초기 자엽기 未熟胚培養에서 직접 배발생은 2.0 mg/L IAA에서 83.3%로 가장 양호하였다.

(3) 분리된 子葉期의 체세포배는 kinetin과 BA처리구에서 shoot분화가 비교적 양호하였고 배양 30일후에는 1개의 체세포배로부터 1~3개의 多芽體로 生長되었으며 2.0 mg/L zeatin의 경우 분화된 shoot에서 幼根으로부터 뿌리가 가장 많이 발생되었다.

(4) 體細胞胚 유래의 분할묘를 0.2~1.0 mg/L BA, 0.01 mg/L IBA 단용 및 혼용배지에 배양하였을 때 BA단용배지는 多芽體 증식에, 0.01 mg/L IBA는 뿌리발생이 효과적이었으며, 混用培地는 주로 多芽體는 유도되었어도 뿌리발생은 저조하였다.

다. 정단분열조직의 배양체계 확립

(1) Auxin 단용처리에서 IAA와 NAA는 캘러스와 뿌리가 주로 발생되었고 培養 60일후에 캘러스와 함께 shoot가 분화되었으나 shoot 증식은 저조하였고, 2,4-D처리구는 유도된 캘러스에서 shoot분화는 관찰할 수 없었다.

(2) Auxin류과 cytokinin류 혼용처리는 100% 캘러스가 유도되었고 캘러스에서 다수의 뿌리발생이 있었으나 shoot분화는 저조하였다.

(3) Cytokinin류 단용처리는 캘러스발생없이 직접 shoot가 분화되어 다수의 다아체로 증식되었으며 0.2-1.0 mg/L kinetin 또는 BA처리구에서는 多芽体分화가 가장 양호하였다. 다아체는 다시 分割하여 0.2 mg/L BA 혹은 kinetin첨가배지에 2개월 마다 繼代培養하면서 다아체를 再誘導하였다.

(4) 계대배양한 shoot를 種苗로 활용하고자 하는 경우 뿌리발생배지인 0.01 mg/L IBA배지에 30~60일간 배양한 후 pot에 移植, 馴化시켜 포장에 栽植할 수 있었다.

(5) BA농도별로 增殖된 분할묘가 0.01 mg/L IBA배지에서 뿌리발생에 미치는 영향을 조사한 결과 0.2 mg/L BA 저농도에서 증식된 분할묘에서 뿌리발생이 가장 양호하였다.

(6) 初代培養 90일후에 분할할 수 있는 多芽体數는 절편당 7~17개 였으며 평균 11.4개로 1개의 切片에서 多芽体가 급속히 증식되었다. 이들 多芽体에서 1개의 식물체로 성장할 수 있는 묘로 分割하여 2개월간격으로 2차 계대배양 후에는 50~109개로 증식되어 배양 1년후에는 약 6,300여개로 증식할수 있어 多量增殖이 가능하였다.

라. 花莖節 腋芽培養에 의한 多芽体分화

(1) 화경절의 腋芽를 배양재료로 할 경우 알콜솜으로 닦아내고 70% 에탄올에 1분간 침지한 다음 7% calcium hypochlorite수용액에 twin 20을 1~2방울 떨어뜨려 8~9분 소독한 후 멸균수로 6~7회 수세하므로 汚染率을 줄이고 생존율을 높이는 소독방법을 구명하였다.

(2) 꽃눈이 분화되지 않은 花莖節을 선별하여 상기의 방법으로 소독하여 액아부분을 약 1cm 길이로 절취하여 cytokinin류의 단용처리와 auxin류와 cytokinin류를 혼용 처리한 배지에 培養한 결과 cytokinin단용처리에서 50일 후 4~5매의 shoot증식이 이루어졌다.

(3) 치상당시의 花莖組織에서 액아가 분화된 후 本葉이 3~4매 정도일 때 분화된

식물체를 화경조직에서 분리하여 BA와 kinetin단용배지에 繼代培養한 결과 배양 10여 일후부터 분리된 腋芽는 신장되기 시작하였고 배양기일이 경과함에 따라 多芽体로 증식되었으며 정단분열 조직배양에서와 같이 1.0 mg/L BA와 kinetin단용처리구에서 다아체의 증식이 양호하였다.

본 실험으로 근경의 頂端分裂組織이나 腋芽뿐 아니라 많은 재료를 용이하게 취할 수 있는 花莖節의 배양으로도 다량증식이 가능하였다.

2. 器內苗의 순화체계확립

가. 透明化苗 방지에 미치는 membrane filter(MF)의 효과

(1) 0.2 mg/L BA로 처리된 分割苗 증식배지에서 기내 건전묘 유지 증식에 membrane filter의 부착효과를 조사하기 위해 多芽体가 증식된 후에 투명화현상을 보인 식물체에서 葉柄길이 약 2cm, 本葉 3~4매의 분할묘를 선별하여 MF처리(MF+)와 무처리한(MF-) 배양기내에서 60일간 배양한 결과 분할묘수는 MF+의 경우 3.6개였으며, MF-의 경우 2.4개로 MF+처리구가 多芽体數가 많았다.

(2) 투명화 현상은 MF-에서 65.0% 나타났으나 MF+된 배양기내에서는 透明化는 전혀 발생되지 않았다.

(3) MF-에서 생육된 잎의 경우 氣孔이나 葉肉 등에 이상을 보여 기공이 둥글고 팽창되어 있었으며 정상식물체에 비하여 氣孔의 크기가 컸으며 밀폐된 용기내에서 수분공급의 과잉으로 氣孔은 열려있는 상태였고 epicuticular 밀랍구조물은 발달되지 않아 표면이 매끄러운 상태였다.

(4) MF+처리구의 경우 기공모양은 타원형으로 기공이 투명화잎에 비해 더 작았고 표면은 체내 수분조절을 위해 밀랍구조물의 조직이 치밀하여 membrane filter에 부착에 의한 가스교환으로 건전식물체의 육성이 관찰되었다.

나. PPF 처리별 membrane filter의 효과

(1) 종속영양배양의 경우 葉柄長은 25, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 가 6.0, 5.7cm를 나타내 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구의 4.6cm와 비교할 때 상당히 도장되었으며, 葉面積은 25, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구가 15.4, 14.5 cm^2 이고 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 가 20.1 cm^2 로 엽면적은 크게 증가되어 低光度에서의 종속영양배양에서의 생육은 高光度에 비해 저조한 결과를 보였다.

(2) 혼합영양배양의 경우 葉柄長은 광도에 따른 영향이 큰 편으로 종속영양과 큰 차이를 보이지 않았고 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구의 종속영양배양에서 葉面積이 15.5 cm^2 였던 것에 비해 혼합영양배양에서는 18.4 cm^2 로 약간 신장되어 membrane filter의 영향을 보였으나 75 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 처리구의 경우 종속영양과 거의 같은 크기를 나타냈다.

(3) 뿌리발생률은 membrane filter처리구에서 100%를 나타내어 미부착구보다 양호하였다.

다. Sucrose濃도와 membrane filter의 효과

(1) Pot에 이식전의 본엽 4-5매의 shoot를 sucrose 무처리구에서 뿌리발생 배지인 0.01 mg/L IBA만을 첨가한 후 membrane filter를 부착한 경우(光獨立營養)와 미부착한 경우(대조구)로 分類한 후 배양한 결과 광독립영양배양에서 모든 성장량이 양호하였다.

(2) Sucrose무처리구의 對照區는 배양 60일 후 50%만 생존되어 광독립영양배양에서 membrane filter에 의한 光合成 효과가 인정되었다.

(3) 從屬營養培養과 혼합영양배양의 경우 混合營養培養이 식물체의 성장량이 좋았으며 sucrose가 무처리된 상태의 MF+된 광독립영양배양과 비교할 때 혼합영양이 가장 양호한 결과를 보였다.

(4) Membrane filter가 부착된 光獨立營養과 혼합영양배양에서 含水率이 각각 87.1, 86.6%인 반면에 membrane filter 미부착구인 대조구와 종속영양배양은 각각 94.0, 88.4%를 나타내 membrane filter에 의한 健全苗의 육성이 관찰되었다.

3. 培養苗의 無病株 검정 및 재배시험

가. 無病株 檢定

器內 培養苗의 virus이병정도를 검정하기 위해 指標植物과 DAS-ELISA검정법으로 확인하였던 바 지표식물에 의한 검정에서 *Nicotiana glutinosa*에서는 국부반점을, *Chenopodium amaranticolor*에서는 작은 반점, 고추냉이에서는 모자익반점을 형성하였다. DAS-ELISA검정에서는 露地栽培 식물체에서 TMV, CMV, PMV, WMV가 약 12% 罹病되었음이 확인되었고 頂端分裂組織을 배양한 식물체에서는 TMV만이 약 3.3% 이병되었다.

나. 無病種苗 재배시험

정단분열조직 유래의 기내 無病苗의 재배지에서 적응력을 관찰하기 위하여 실생묘, 分株苗 및 無病苗로 구분하여 표고 450m의 시험포장에서 재배한 결과 무병묘가 식물체 1본당 9.3개의 腋芽生長을 보여 가장 양호하였다. 또한 기내묘를 재배적지에서 정식하여 재배하였을 때 정상적으로 생육되어 잠종상태의 實生苗에 비해 무병건전묘로서 식물체의 생장이 균일하였으며 種苗로서 이용이 가능하였다.

4. F₁계통의 재배 및 선발시험

가. 交雜試驗

울릉종의 白殖率은 3개의 식물체가 60.0-85.4%였으며 交雜率은 울릉-1(♀) × 달마-1(♂)에서 약 70%를 보여 가장 양호하였는데 다른 식물체에서도 50%이상의 交雜種을 얻을 수 있었다.

나. 交雜種의 미숙배배양에 의한 체세포배 발생 및 발아율

울릉종과 재배종 '달마'간의 교잡 후 未熟胚를 채취하여 배양한 결과 성장조절제를 첨가하지 않은 배지에서는 배양 2주일후부터 발아가 시작되어 정상적인 식물체로 성

장하거나 일부 체세포배가 발생하였고, 1.0 mg/L IAA첨가구에서는 배양 25일이 경과 되었을 때 子葉의 기부에서 體細胞胚가 직접 발생되었다.

다. 교잡종자의 발아후 식물체 증식

울릉종과 달마종의 未熟胚培養에 의해 발아된 幼植物體를 BA와 kinetin을 단용처리한 배지에 繼代培養한 결과 모든 처리구에서 다아체가 분화되었고 특히 1.0 mg/L BA처리구의 경우 7.4개의 분활묘 획득이 가능하였다. 이 交雜種은 1998년 봄 수확할 예정인 바 우량개체의 선발이 기대된다.

제 5 절 참 고 문 헌

1. 殷鍾旋, 高正愛, 金榮善, 金明準. 1995. 고추냉이의 未熟胚培養으로부터 體細胞胚 發生과 植物體再分化. 植物組織培養學會誌. 22(4):207-211.
2. 殷鍾旋, 高正愛, 金榮善. 1996. 고추냉이 未熟胚를 이용한 體細胞胚 발생 및 植物體 増殖. 韓育誌. 28(1):21-28.
3. 殷鍾旋 外 7人. 1995. 고추냉이의 高品質生産 및 加工體系確立. 농림수산부 연차보고서 p30-36.
4. 殷鍾旋, 高正愛, 金榮善, 金明準. 1997. 고추냉이의 정단분열조직배양에 의한 미세증식. 한국식물조직배양학회지 24(1):43-48.
5. Galati A., Jaiwal P. K. 1992. In vitro induction of multiple shoots and plant regeneration from shoot tips of mung bean(*Vigna radiata*(L.) Wilczek). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 29:199-205.
6. 富士原和宏, 古在豊樹, 渡部一郎. 1987. 植物組織培養器內環境の基礎的研究(3)培養小植物體を含む閉栓容器内の炭酸가스濃度測定と培養小植物體の純光合成速度の推定. 農業氣象. 43:21-30.

7. 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.
8. 林 眞紀夫, 古在豊樹, 館野 稔, 富士原和宏, 北宅善昭. 1993. 明暗週期が光混合營養培養条件下におけるバレイショ小植物體の生長および形態に及ぼす影響. 生物環境調節. 31(3):169-175.
9. 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.
10. 古在豊樹. 1992. 植物の光獨立營養培養における環境調節. 生物環境調節. 30(4):193-197.
11. 古在豊樹, 岩浪好恵, 富士原和宏. 1987. 組織培養苗の大量生産のための環境調節(1)炭酸ガス試用が増殖培養時におけるスターチス(*Limonium Hybrid*)の小植物體の生長及ぼす影響. 植物組織培養. 4:22-26.
12. 古在豊樹, 大木 浩, 富士原和宏. 1989. 培養器内シンビジウム小植物體の光合成特性. 園學雜 58(別冊2):538-539.
13. 古在豊樹, 久保田智恵利, 渡部一郎. 1990. 異なる培地基礎成分を用いて光獨立營養培養および混合營養培養したカーネーション小植物體の生長. 生物環境調節. 28(1):21-27.
14. Kozai, T., Iwanami, Y. 1988. Effects of CO₂ enrichment and sucrose concentration under high photon fluxes on plantlet growth of carnation(*Dianthus caryophyllus* L.) in tissue culture during the preparation stage. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 57:279-288.
15. Kozai, T., Koyama, Y., and Watanabe, I. 1988. Multiplication of potato plantlets in vitro with sugar-free medium under high photosynthetic photon flux. Acta Hort. 230:121-127.
16. Kozai, T., Oki, H., Hujiiwara, K. 1990. Photosynthetic characteristics of

- Cymbidium* plantlet in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 22: 205-211.
17. 中山 衛, 古在豊樹, 渡部桐繪. 1991. 培地中の糖の有無および培養器の換気方法が バレイシヨ外植體のCO₂濃度-純光合成速度特性に及ぼす影響. *植物組織培養*. 8(2):105-109.
 18. 堀 秀隆. 1986. ワサビ苗の試験管内大量増殖法. *植物バイオテクノロジー-現代化学増刊* 5:118-123.
 19. 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.
 20. 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.
 21. 伊奈健宏. 1995. ワサビの育種. *農業および園藝* 70(1):47-49.
 22. 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. *近畿中国農研* 73:22-27.
 23. Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-479.
 24. 大塚壽夫. 1988. ワサビの増殖法. *農業および園藝* 63(1):185-189.
 25. 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
 26. 静岡農試資料 第1657號. 1984. 試験研究成果の概要集(昭 58年度後期):5.
 27. 静岡農試資料 第1687號. 1985. 試験研究成果の概要集(昭 59年度後期):112.
 28. 山田員人, 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 주요 병해 및 방제체계확립 분야

제 1 절 서 론

작물의 재배에서 병해의 방제수단으로는 경종적인 방제와 농약을 사용하는 화학적인 방제가 있으며 이들 중 경종적인 방제법이 이상적이라고 할 수 있다. 그러나 현대 농업에서 약제의 사용은 병해를 방제하기 위한 수단으로 가장 간편하고 그 효과도 크다. 농약을 사용할 경우에는 약제살포의 시기 및 사용량을 지켜야 하며, 농약의 안전성이 평가된 후 작물에 사용해야만 한다. 특히 고추냉이와 같이 신선한 근경을 식용하는 채소에 약제를 사용하는 경우에는 다른 작물에 비하여 주의를 해야 한다(平松, 1987a, b).

고추냉이에 발생되고 있는 병해는 軟腐病(Goto와 Matsumoto, 1987)과 墨入病(横木, 1936)이 가장 많은 피해를 받고 있으며, 기타 바이러스병(小室, 1973), 윤부병(松本 등 1985), 露菌病(日本植物病理學會, 1980), 균핵병(日本植物病理學會, 1980) 및 흰가루병(奧 등, 1993) 등이 보고되고 있으나 우리 나라에서 이들 병해에 대한 연구는 아직까지 보고된 바가 없다. 우리 나라에서 고추냉이의 병해에 대한 연구는 김 등(1995a, b)에 의해서 묵입병의 동정과 환경에 따른 病害發生에 대한 연구보고가 있을 뿐 다른 분야에 비하여 대단히 미흡한 편이다.

우리 나라의 고추냉이재배에서 문제가 되는 병해는 墨入病과 腐敗病으로 알려져 있으며(김 등, 1995a, b, 1996) 일반 재배농가로부터 이들 병해에 대한 방제책이 요구되고 있는 실정이다. 墨入病은 4월부터 발병하기 시작하여 10월까지 계속되며 6, 7월 경이 발병 최성기이다. 묵입병은 주로 종자에 의한 전염과 영양번식을 하는 분주묘를 통해서 전염이 이루어진다. 우리나라에서의 묵입병의 발생은 약 30%로써 경미하

게 발병될 경우에도 근경의 조직이 검은 색으로 변해서 상품가치가 크게 떨어진다. 부패병의 발병은 연중 계속되며 특히 온도가 높은 여름철에 발병이 심한데 부패병은 병원성이 강해서 근경과 뿌리가 부패하여 죽는 것이 특징이다.

植物病害의 발병은 1차 전염원으로부터 월동 후 전염되기 시작하는데 병원체가 단순한 과정으로 기주로 식물의 내부에 생활하다가 다음 세대로 전염되는 경우와 병원체가 식물체의 内部 혹은 外部의 토양이나 공기중을 통해서 복잡한 전염경로를 통하여 다음 세대로 전염되는 경우가 있다. 특히 고추냉이의 재배는 다른 작물과 달리 18℃이하의 온도와 깨끗한 장소에서 생육하는 특성이 있으므로 病害의 傳染經路 및 방제법이 특이하다. 고추냉이의 묵입병은 주로 汚染된 종자(Maude 등, 1984, 1985)와 오염된 分株苗를 사용할 경우 발병되며(Maude, 1984) 또 柄孢子(多久田, 1975)에 의해서 잎, 엽병, 根莖의 상처(平松, 1987; 松本, 1985)를 통하여 감염되는 것으로 알려졌다. 고추냉이의 묵입병은 주로 잎에 반점을 형성하고 유관속이 검은 색으로 변하면서 결국 잎과 줄기가 고사되는 특징을 하고 있다. 이와 유사한 病으로는 뿌리의 유관속이 검게 변하는 株腐病(中野, 1991; 松本 등, 1985)과 *Rhizoctonia*屬 菌에 의해서 잎과 엽병에 검은 斑點을 형성하는 점은 거의 유사하다(尾添, 1971). 묵입병에 대한 연구는 주로 橫木(1936, 1952)에 의해서 광범위하게 많이 이루어졌으나 전염경로에 대한 연구는 적다.

본 연구는 앞으로 고추냉이의 국내 재배면적이 크게 확대될 전망을 예지하고 우리나라에 발생되고 있는 病害를 수집하여 정확한 병원체를 분리하고 病原體의 형태적 특징과 병원성 및 病害의 종류를 밝히고자 분리된 곰팡이, 박테리아, 바이러스 등의 병원균을 동정하였다. 또한 고추냉이 묵입병과 묵입병의 전염경로를 밝히고 부패병의 방제에 필요한 藥劑를 선별하고 일반 재배농가에서 실질적으로 사용하여 高品質의 고추냉이 재배에 활용하고자 실시하였다.

제 2 절 재 료 및 방 법

본 연구는 전북지방에서 재배되고 있는 고추냉이 圃場을 대상으로 자연조건에서 발생되고 있는 病害調査 포장과 실험목적에 따라 설계된 실험포장을 중심으로 실험을 실시하였다.

1. 공시식물 재배

우리 나라에서 주로 많이 재배되고 있는 고추냉이 품종 “달마”를 공시식물로 사용하였으며 罹病株 채집과 병해발생 조사는 일반 관행 재배포장에서 실시하였다. 종자는 휴면타과를 위하여 種皮를 완전히 제거하고, 이를 다시 멸균증류수에 6시간 동안 침지한 다음 페트리디쉬에 습윤된 여과지를 깔고 종자를 置床하였으며, 발아온도는 18°C로 조절하여 苗床에 파종하였다. 모든 고추냉이 재배는 밭재배로 일반 관행방법에 따라 재배 관리하였다. 바이러스의 指標植物 반응을 조사하기 위하여 *Nicotiana tabacum* var Bright Yellow, *N. glutinosa*, *Chenopodium amaranticolor* 등을 이용하였다. 지표식물은 멸균토양이 든 화분에서 발아시켜 생육한 4~5엽기에 바이러스를 접종하여 기주반응을 관찰하였다. 汁液接種은 고추냉이의 잎에 모자이크증상, 黃化萎縮症狀이 나타난 生體重 5g에 20배의 멸균증류수를 첨가하고 유발에서 마쇄한 즙액을 건전식물체 잎에 금강사를 살포하고 상이접종시켰다.

2. 병원균 分離 및 同定

병원균 분리는 박테리아 병징과 곰팡이 병징을 육안적으로 대별하여 구분하였으며, 곰팡이의 분리 및 동정은 病徵이 뚜렷한 罹病株를 1시간 동안 수돗물에 수세한 후 1% sodium hypochlorite 수용액에 10분간 침지소독 후 멸균수로 수세하고 표면에 있는 濕氣를 여과지로 흡습, 제거하였다. 조직을 2×2mm의 크기로 무균적으로 절편하여 streptomycin 100ppm이 첨가된 1.5% water agar에 치상한 후 성장 菌絲의 선단

을 취하여 PDA배지에 옮겨 순수배양하면서 균의 형태와 생리적 특성 및 병원성 등을 참고하여 분리, 동정하였다. 墨入病의 동정은 Maria dorenbosch(1970)의 분류방법과 Sutton(1980)의 분류방법에 따라 배지상에서의 배양적 특성, 柄子殼 및 柄胞子の 형태, 병원성, 病徵 등을 참고하여 동정하였다. PDA배지를 사용하여 15°C, 20°C, 25°C 및 30°C의 항온기에서 7일동안 배양한 상태의 菌絲 성장을 관찰하였다. 병포자는 2% glutaraldehyde와 1% osmium tetraoxide로 고정하였고 주사형 전자현미경으로 관찰하였다.

박테리아의 分離, 同定은 이병된 고추냉이의 根莖 표면을 70% EtOH로 표면 소독한 후 병이 진전되고 있는 병환부와 건전부위를 3×3×1mm의 크기로 절취하여 마쇄한 汁液을 루프를 이용하여 YP agar배지에 塗抹하여 25°C에 배양하면서 성장한 단코로니를 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

墨入病의 病原性 검정은 순수분리한 병원균의 병원성을 확인하기 위하여 오토밀한 천배지(OMA)에서 2주간 배양하여 얻어진 分生胞子를 살균증류수로 포자현탁액(10^6 胞子/mL)을 접종원으로 사용하였다. 고추냉이의 아래 잎을 선택하여 한 잎당 2~3mL의 포자현탁액을 噴霧接種하고, 葉柄에는 표피에 상처 접종으로 하였다. 接種 후 포화 상태로 1일간 보관한 후 20°C에서 15일까지 식물성장상에서 관리하면서 病原性을 확인하였다.

軟腐病의 병원성 검정은 Goto와 Matsumoto(1986a, b)의 방법을 참고하여, 분리균주를 yeast extract peptone 액체배지에서 24시간 회전배양한 후 세포수를 1mL에 10^6 세포로 조절하여 접종원으로 사용하였다. 고추냉이 근경을 침지접종법과 근경 절편

의 표면에 상이접종하는 방법으로 病原性を 검정하였으며 접종한 후의 관리는 묵입병과 같은 조건으로 하였다.

4. 전자현미경 검정

바이러스의 크기를 측정하기 위하여 dipping 방법으로 관찰하였다. 즉 모자이크 증상이나 黃化, 萎縮症狀이 나타나는 罹病 잎을 3mm 정도로 잘라 그 위에 2% phosphotungstic acid(PTA)를 한 방울 떨어뜨리고 잘게 마쇄하였다. Carbon보강처리된 formvar film이 입혀진 200 mesh의 grid에 3초간 침지한 후 여과지로 grid위의 여분의 PTA액을 흡습시킨 후 1분간 건조시킨 다음 전자현미경(Carl Zeiss EM10)으로 바이러스입자를 관찰하였다.

5. 血清學的 檢定

고추냉이의 잎에 요철, 모자이크, 萎縮現象이 나타나는 20개체를 대상으로 TMV-W, TMV-C, TMV-P 등 3계통의 감염유무를 조사하였다. 본 실험에 사용한 항혈청은 TMV-W는 일본농업연구센타 柏崎씨, TMV-C는 일본 北海道 농업연구소 後藤씨, TMV-P는 일본 식물검역소 高橋씨로부터 각각 분양받아 실험에 이용하였다. 항혈청 TMV-W, TMV-C, TMV-P의 力價는 각각 640배, conjugate의 力價는 1,200배였다.

효소항체결합검정법(ELISA)은 Clark와 Adams(1977)의 방법에 준하여 실시하였고, IgG의 정제는 항혈청으로부터 γ -globulin을 유안염색법으로 침전시킨 다음 DEAE cellulose JAMES를 활성화시킨(pH 7.0) 칼럼을 이용하여 정제하였다. 정제한 IgG은 OD₂₇₈ 1.50mg/mL로 조절한 다음 conjugate제조실험에 이용하였다. Conjugate製造는 정제한 IgG에 alkaline phosphate(Sigma製, type VII-S)를 결합시켜 만들었다. 이중항체 ELISA법은 microplate well(Greniner製, F- form, 96홀)에 IgG($\times 400$)를 37°C에서 4시간 흡착시킨 다음 인산완충액으로 세척하고 抗原인 바이러스에 걸린 식물체 조즙액을 4°C에서 24시간 반응시켰다. Conjugate는 800배로 희석하여 37°C에서 4시간

반응시킨 후 phosphatase substrate(Sigma製)를 처리하고 실온에서 30분~1시간 반응시켰다. 검정시료는 잎 0.1g에 0.1M 인산완충용액(PBS-T, 0.05% Tween 20) 40배(w/v)를 넣고 유발에서 마쇄한 조즙액을 항원으로 사용하였다. 반응액의 판정은 흡광도 405nm에서 microplate reader(BioRed Model 450)를 이용하여 측정하였다.

6. 圃場 發病率 조사

바이러스의 연차별 발병률을 조사하기 위해서 전북 무주지방에 1년차, 2년차 재배 포장을 설치하고 感染이 어느 정도 이루어지고 있는가를 조사하였다. 무주지방의 포장에서 무작위로 포장별 50주씩 감염률을 조사하였으며 罹病株를 채집, 동정하여 TMV의 분포를 조사하였다.

7. 대상 病害 및 藥劑

우리 나라에서 주로 많이 발병하고 피해가 심한 腐敗病과 墨入病을 대상으로 실험하였다. 최적 약제선발을 위하여 墨入病의 방제약제로는 benomyl, benomyl+thiram, captan, chlorothalonil, iprodione, mancozeb, thiophanate-methyl으로 하였고, 부패병은 kasugamycin, kasugamycin+copper oxychloride, oxolinic acid, prochloraz, streptomycin, thiophanate-methyl+streptomycin을 대상으로 하였다.

8. 室內 藥效試驗

墨入病과 腐敗病을 대상으로 각각의 적용약제를 선발하기 위하여 실내에서 약효를 조사하였다.

墨入病에 대한 우수약제 선발을 위하여 묵입병의 병반으로부터 분리한 균을 감자즙액한천배지(PDA)에서 일주일간 배양하여 공시균으로 사용하였다. 공시약제를 1,000배의 농도로 PDA배지에 첨가하여 60℃에서 混合 후 페트리디쉬에 분주하고, 공시균을 培養하면서 성장하는 菌絲의 길이를 측정하여 약효를 조사하였다. 25℃의 항

온기에서 배양하였으며 배양 10일 후 약제별로 성장한 균총길이를 약제를 처리하지 않은 菌과 비교하여 측정하였다.

腐敗病의 방제를 위한 약제를 선별하기 위하여 濾紙圓板法에 의해서 조사하였다. 먼저 King's B배지에 부패균을 분무접종 후 공시약제(1,000배의 용액)를 濾紙圓板(Difco제품 1/4인치)에 흡습시켜 배지 위에 치상하여 25°C incubater에서 배양하였다. 배양 5일 후 공시약제가 부패균의 성장저지대를 측정하여 약효를 조사하였다.

9. 墨入病 방제

墨入病의 방제약제를 선별하기 위하여 건전한 실생묘를 18°C의 조건에서 재배하면서 4~5엽기의 식물체를 실험에 사용하였다. 건조한 잎에 목입병균의 포자액(약 10개/400배 현미경 視野)을 분무접종하고 25°C에서 습실처리로 24시간 보존 후 18°C의 온실에 재배하면서 약해 및 약효를 조사하였다. 약제살포는 목입병의 발생 최성기인 5월 1일부터 10일간격으로 3회 살포하였으며 최종약제 살포 후 10일후에 약효를 조사하였다. 실험은 한 실험구당 10개 花盆으로 3반복 총 30개의 개체를 대상으로 하였다. 조사는 한 株당 아래 잎으로부터 3개 잎을 기준으로 하였으며 약효는 조사엽수에 대한 罹病葉數의 백분비로 산출하여 罹病葉率로 표시하였다. 약해조사는 약제를 살포한 후 잎에 나타나는 반점, 황화, 위조 및 생육상태를 육안으로 조사하였다.

방제가는 $\frac{\text{무방제구의 이병률} - \text{방제구의 이병률}}{\text{무방제구의 이병률}} \times 100$ 으로 계산하였다.

10. 腐敗病 방제

30×40cm의 대형 화분에 滅菌土壤을 넣고 건전한 실생묘를 10×10cm의 간격으로 이식하고 화분당 12株를 대상으로 3반복으로 하였다. 菌의 접종은 부패균을 nutrient broth배지에서 24시간 배양한 균을 OD 0.1로 조절한 후 멸균수에 10배 희석한 접종원에 고추냉의 뿌리를 3시간 침지하여 화분에 심었다. 약제처리는 침지접종후 다음 날 土壤 m²당 약제 3L를 토양관주하였다. 약해 및 약효는 70일 후 발병상황 및 약해

발생 유무를 조사하였다. 藥效는 조사주수에 대한 이병주수의 백분비로 산출하여 이 병률로 표시하였다. 藥害와 防除價는 墨入病과 같다.

11. 種子에 의한 傳染

우리 나라에서 주로 많이 재배되고 있는 고추냉이(달마종)의 종자를 농가 포장으로부터 수집하여 실험에 이용하였다. 種子로부터 목입병균의 검출은 5개 포장에서 1997년에 수확한 고추냉이 종자를 무작위로 취하여 실험에 사용하였다. 9cm 페트리 디쉬에 濾過紙 2매를 넣고 멸균증류수 3mL를 부어 습기가 포화상태로 되도록 조절하였다. 박테리아를 억제하기 위하여 스트렙토마이신 100ppm용액 1mL를 10개의 종자 위에 골고루 떨어뜨리고, 25℃의 incubater에 보관하면서 墨入病菌의 밀도를 조사하였다. 墨入病菌의 확인은 200배 현미경하에서 菌絲의 색과 分生胞子の 특징으로 조사하였고 McDonald와 Copeland의 Seed science and technology laboratory manual (1992)과 Watanabe의 Pictorial atlas of soil and seed fungi(1993)를 참고하였다. 총 500개의 종자로부터 病原菌의 감염여부를 조사하였다.

12. 잎, 葉柄에 의한 傳染

PDA배지에서 일주일간 배양한 菌을 접종원으로 사용하였으며 잎과 엽병에 접종시키고 전염경로를 조사하였다. 傳染經路는 육안적인 검사와 칼로 내부조직을 해부하여 관찰하였으며 病原菌의 존재가 의심스러운 경우에는 조직에서 病原菌을 분리, 확인한 후 판단하였다. 접종 후 식물체는 18℃의 溫室에 보관하면서 조사하였다.

13. 뿌리에 의한 傳染

건전한 實生苗의 뿌리에 浸漬接種 후 병의 전염경로를 조사하였다. 검사방법과 균의 확인 및 식물체의 관리는 잎, 葉柄에서와 같은 방법으로 하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 病原菌 分離

고추냉이 根莖에서 부패병징을 나타내는 權病株를 수집하여 주요 박테리아를 분리한 결과는 Table 3-1과 같다. 전체적으로 *Erwinia*屬 54.6%, *Pseudomonas*屬 17.2%, *Xanthomonas*屬 21.1%, *Corynebacterium*屬 6.8%의 비율로 분리되었으며 그중 연부병의 병원체인 *Erwinia*屬이 54.6%로 가장 높은 밀도를 나타냈다. 계절적으로는 고온기인 8월에 *Erwinia*屬이 전체 균중 70.3%의 높은 밀도를 보였고 *Pseudomonas*屬은 고온기인 8월보다는 6월과 10월에 다소 높은 밀도를 보였다. 기타 부생성이 높은 *Xanthomonas*屬은 21.1%, *Corynebacterium*屬은 6.8%의 밀도를 나타냈다. Goto와 Matsumoto(1986a, b)는 고추냉이의 근경에 발생하는 병원균의 조사에서 계절에 따라 분리되는 병원균의 종류와 밀도에서 차이가 있음을 보고하고 *Erwinia*屬은 주로 고온기인 여름철에 많이 분리되었고 *Pseudomonas*屬은 기온이 낮은 겨울철에 높은 밀도로 분리되었다고 하였다. 또한 근경에 부패병징을 나타내는 權病株는 부생성 박테리

Table 3-1. Isolation frequency of major bacterial genus from wasabi rhizomes^a.

Genus	Apr.	Jun.	Aug.	Oct.	Total(%)
<i>Erwinia</i> spp.	22(50.0)	23(46.0)	38(70.3)	28(50.9)	111(54.6)
<i>Pseudomonas</i> spp.	5(11.3)	14(28.0)	4(7.4)	12(21.8)	35(17.2)
<i>Xanthomonas</i> spp.	12(27.2)	8(16.0)	10(18.5)	13(23.6)	43(21.1)
<i>Corynebacterium</i> spp.	5(11.3)	5(10.0)	2(3.7)	2(3.6)	14(6.8)
Total	44	50	54	55	203

^a Each diseased rhizome was surface-disinfected with 70% ethanol, cutted 3×3×1mm, grinded with 1mL tissue grinder, and streaked a loopful macerate on YP agar and isolates were cultured and maintained on NGA, YDC and KB.

아와 墨入病의 병원균인 *Phoma wasabiae*도 혼합되어 많이 分離되었다고 하였다. 이와 같은 보고는 본 실험에서 나타난 결과에서도 같은 경향으로, 여름철에는 *Erwinia*屬이 많이 분리되었고 겨울철에는 *Pseudomonas*屬이 많이 分離된 결과와 같으며 기타 *Xanthomonas*屬과 혼합 분리되는 경향도 일치하였다. 본 실험 결과와 他 보고를 종합하여 볼 때 고추냉이의 根莖에 腐敗病徵을 나타내는 주요 요인은 *Erwinia*屬이며 기타 *Pseudomonas*屬도 많은 관련이 있는 것으로 생각된다.

2. 病原菌의 分類 및 同定

우리 나라 고추냉이 재배포장에서 높은 發病率과 피해가 많은 病害로, 軟腐病은 *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae*, 墨入病은 *Phoma wasabiae*, 모잘록병은 *Rhizoctonia solani*, 고추냉이 모자이크 바이러스는 TMV로 각각 분류, 동정되었다.

가. 墨入病

(1) 病徵

墨入病은 고추냉이의 잎, 葉柄, 根莖에 주로 발병하며, 잎에서는 처음 암갈색의 작은 斑點이 형성되어 병이 진전되면서 0.5~1cm 정도의 타원형 또는 부정형으로 확대되며 오래된 病斑에는 흑색소립 柄子殼을 형성하였다(Photo. 3-1a). 잎에 많은 병반이 형성되면 잎이 고사되기도 하며 일반적으로 어린 잎보다 오래된 잎에 병반이 형성되는 것이 많았다. 葉柄에는 암갈색의 작은 斑點이 형성되어 점차 위쪽과 아래쪽으로 확대되어 길쭉한 병반을 형성하며 잎과 엽병이 고사되었다(Photo. 3-1b). 根莖에서는 發病 초기 흑색의 斑點을 표피에 형성하였고 병이 진전되면 病斑이 서로 연결되어 큰 병반을 형성하기도 하였다(Photo. 3-1c). 表皮에 발병된 병반중 병의 진전이 중지된 경우에는 흑색의 病斑이 維管束까지 연결되지 않고 흑색의 병반이 根莖의 표면에 독립적으로 형성되었다. 심하게 발병되면 分株苗의 유관속까지 病徵이 나타나는 것도 있었으며 유관속에 흑색의 윤문상 병징을 형성하였다(Photo. 3-1d).



Photo. 3-1. Symptoms caused by *Phoma wasabiae* on leaves(a), petiole(b), rhizomes(c, d), e, f: Photomicrograph of *Phoma wasabiae* pycnosporangium(e, $\times 250$) and pycnidium(f, $\times 100$).

여 백

(2) 병원성 검정

분리한 균의 病原性을 검정한 결과 고추냉이 잎에서는 5일 후 접종부위가 흑색반점을 나타내기 시작하여 15일후에는 0.5cm의 타원형 또는 부정형으로 확대되었으며 오래된 병반에서는 검정색의 柄子殼을 병반위에 형성하였다. 根莖에서는 5일 후 접종부위가 흑변하였고 15일후에는 유관속 부위가 1cm 깊이로 확대되어 병반을 형성하였다. 그러나 배추에 接種한 결과 병원성이 없었다(Table 3-2).

Table 3-2. Pathogenicity of *Phoma wasabiae*.

Isolate\ Host	Wasabi		Chinese cabbage	
	Leaf	Rhizome	Leaf	Root
Isolate	+	+	-	-

+ : rot symptom, - : no symptom.

(3) 病原菌의 배양적 및 형태적 특성

OMA배지에서 菌絲의 생장은 보통 다른 균사의 생장보다 느렸으며 온도별로는 20°C에서 균사 생장이 가장 활발하여 배양 7일 균총의 직경이 12.27cm였으며, 25°C에서는 10.04cm, 15°C에서는 7.47cm, 30°C에서는 6.67cm로 균사 생장이 느려졌다(Table 3-3). 柄子殼의 형성은 20°C와 25°C에서 많았으며, 15°C와 30°C에서는 형성이 작았다. OMA배지상에서 균총은 백색, 유백색, 황색으로 주변으로 갈수록 유백색~황색을 띠었다. 培地 후면 균총 중앙부위는 회갈색으로 深部 쪽으로 갈수록 진한 色을 나타냈다. 초기에 균총 주변에서 약한 노란색을 띄다가 생장이 진행되면서 황갈색으로 변화하였다.

柄子殼은 흑갈색의 구형 또는 편구형이며 일반적으로 정단부에 1개의 돌기가 관찰되었으나 2개의 돌기를 가지고 있는 경우도 관찰되었고, 柄孢子는 격막이 없는 무색의 단세포로 부속사는 없고, 단타원형으로 보통 2개의 gutulate가 병포자의 양쪽에서

관찰되었다(Photo. 3-1e). 柄子殼의 크기는 44~120 × 28~170 μm 이었으며 병포자는 4.0~6.1 × 1.2~2.3 μm 의 크기였다(Table 3-4, Photo. 3-1f)).

Table 3-3. Effect of temperature to mycelial on oat meal media.

Day \ Temp	2		3		4		5		6		7	
	light	dark	light	dark	light	dark	light	dark	light	dark	light	dark
15°C	0.65	0.64	1.74	1.18	2.85	2.76	4.54	4.25	6.29	5.95	8.05	7.47
20°C	1.63	1.94	3.65	3.75	5.33	5.28	7.74	7.37	10.8	9.97	14.64	12.27
25°C	3.44	2.65	7.88	4.02	11.73	5.46	15.38	7.01	18.2	8.69	21.44	10.04
30°C	2.28	1.78	2.79	2.23	3.60	3.00	4.36	3.57	5.99	4.66	7.07	6.67

Table 3-4. Comparison on characteristics of pycnidium and pycnospore in *Phoma wasabiae*.

Isloates	Pycnidium		Pycnospore	
	Shape	Dimension (μm)	Length (μm)	Width (μm)
<i>P. lingam</i>	globose, suglobose	150~195 × 135~270	3.5~4.5	1.5
<i>P. wasabiae</i>	globose, suglobose	40~112 × 25.6~160	4.0~6.0	1.3~2.5
Strain	globose, suglobose	44~120 × 28~170	4.0~6.1	1.2~2.3

고추냉이의 잎과 葉柄 및 근경에 발병하는 묵입병은 병원성, 병원균의 배양적 성질 및 형태적 특징으로 보아 *Phoma wasabiae*로 동정되었다. 고추냉이 묵입병은 4월부터 발병하기 시작하여 10월까지 발생하는데 온도가 높은 평야지인 익산지방이 시기

적으로 빨리 발생한 경향이며, 평야지의 發生率이 32%인 것에 비하여 온도가 낮은 산간지역인 무주지방의 발병률은 28%로 나타났다. 계절적으로 평야지나 산간지역에서 4월부터 발병하기 시작하여 7월에 최고의 발병증가율을 보였다. 7월이후부터는 병해의 發病增加率이 감소되는 경향이고 온도가 낮은 9월이후는 급격히 發病이 적게 나타났다. 墨入病의 병해 발생에 대하여 太田과 中野(1992)는 조사 포장의 95%가 발병포장이었고 고추냉이의 栽培作型에 따라 발병에 차이가 있다고 하였다. 尾添等(1963)의 보고에 의하면 묵입병은 계절적으로 6월에 발병이 시작하여 10월까지 계속된다고 하였으며, 鈴木(1976)는 4월에 발병이 나타나기 시작하여 5~6월부터 발병률이 증가하며 고온기인 7~8월에는 발병이 억제되고 다시 10월부터 발병되기 시작한다고 報告하였다. 본 실험에서는 4월부터 발병이 관찰되기 시작하여 6~7월에 發生率이 높았고 전체 30%의 최고 發病率이 나타났는데 이와 같은 결과는 수치의 차이는 있지만 鈴木(1976)가 보고한 내용과 같은 경향을 보였다. 鈴木(1976)는 고온기인 7~8월경 발병률이 억제되고, 이후 기온이 내려감에 따라 병발생이 많아지는 것으로 보고하였는데, 본 조사에서는 7~8월경에 發病率이 감소하기 시작하여 계속적으로 병발생이 적게 나타나 鈴木(1976)가 보고한 것과는 다소 차이를 보였다.

본 菌의 배양적 특성은 구형 또는 편구형의 柄子殼을 형성하며 병자각의 정단부에 1~2개의 돌기를 형성하고 柄胞子는 단타원형으로 2개의 gutulate가 있는 것과 크기 등은 橫木(1936)가 보고한 *Phoma wasabiae*와 양배추 뿌리썩음병을 일으키는 *P. ligam*과 비슷하였다.

柄子殼의 형태는 양배추에서 분리한 *P. ligam*, 고추냉이에서 분리한 분리균주 모두 구형 내지 편구형으로 형태적 특징은 같았으며, 柄子殼의 크기는 본 실험에서 사용한 菌의 크기가 44~120×28~170 μ m로 橫木(1952)가 보고한 40~112×25.6~160 μ m와는 비슷한 크기를 보였으나 *P. ligam*의 150~195×135~270 μ m에 비하면 본 실험에서 分離菌株가 작은 편이었다.

柄胞子の 형태는 모두 單細胞·無色으로 2개의 gutulate를 형성하는 등의 동일한

특성을 보였으나, 본 실험에서 분리한 균주가 柄胞子의 장경에서 *P. lingam*에 비하여 다소 큰 편으로 横木(1936)와 Goto와 Matsumoto(1986)가 보고한 내용과 병자각과 병포자의 크기에 있어 거의 같았다.

病原性에서 본 실험에서 고추냉이에서 分離한 균을 고추냉이와 양배추에의 잎과 뿌리에 접종 실험한 결과 고추냉이에서는 잎과 根莖에 병원성이 있었으나 양배추의 잎과 근경에서는 병원성을 확인할 수 없었다.

이상에서와 같이 고추냉이의 잎과 엽병 그리고 뿌리에 발생하여 반점병과 뿌리썩음병의 원인이 되는 菌을 분리하여 배지상에서의 균의 특성, 형태적 특성, 病原性 등을 조사한 결과 *Phoma lingam*과 많은 유사점을 나타냈으나 *Phoma wasabiae*로 분류 동정한다.

나. 軟腐病

우리 나라 고추냉이 재배시 軟腐病은 根莖에 주로 발병되며 특히 온도가 20℃ 이상이 되고 물고추냉이의 경우 물이 부족하거나 폭풍우 등으로 인하여 깨끗하지 못한 물이 供給될 때 많이 발생되며 그 피해가 고추냉이 재배의 成敗를 가름할 정도로 문제시 되는 병해이다.

(1) 病徵

葉柄에 水浸狀의 병반이 생겨 점차 확대됨과 동시에 녹색으로 변하면서 연부병으로 발전한다. 발병 초기의 水浸狀의 병반이 병의 진전에 따라 급속히 확대되어 연화되는 증상을 보였다. 또 부패한 根莖은 악취를 내며, 병원균에 의해서 根莖 전체가 썩는 것도 있으나 완전히 썩지 않고 남은 조직에서 새로운 잎이 나오는 것도 있었다. 根莖의 조직이 썩으면서 아래 잎부터 黃化現象을 나타내고 말라 죽으며 결국 잎 전체가 죽었다(Photo. 3-2a, b).

(2) 病原菌

KB배지에서 배양 24시간 후 무색의 작은 콜로니를 형성하고, 세포의 크기는 0.5~

1.8 μ m이며, 2~15개의 주생편모가 있는 것이 특징이었다(Photo 3-2c). 病原菌의 생리적 성질은 Table 3-5와 같다. Gram陰性反應을 나타냈고, 5%의 NaCl 생장, 35℃에서 생장 및 KCN배지에서 生長 등에서 음성반응과 casein의 가수분해와 gelatin의 액화 현상 등에서 陽性反應을 나타내며, galactose, lactose, trehalose 및 citrate로부터 酸을 생성하는 특성이 있으나, maltose, melibiose, raffinose 및 inullin에서는 酸을 생성하지 않았다.

Table 3-5. Bacteriological characteristics of soft rot bacteria.

Characteristic	Isolates (n=10)	<i>E. carotovora</i> subsp. <i>wasabiae</i> ^a
Flagellum	Peritrichous	Peritrichous
Growth in 5% NaCl	±	-
Growth at 35 °C	-	-
Growth in KCN broth	±	-
Casein hydrolysis	+	+
Gelatin liquefaction	+	+
Acid production with:		
galactose	+	+
lactose	+	+
trehalose	+	+
citrate	+	+
maltose	-	-
melibiose	-	-
raffinose	-	-
inullin	-	-
Pathogenicity to wasabi	++	++
Pathogenicity to potato tuber	+	+

^a Details of *E. carotovora* subsp. *wasabiae* were as described in Goto and Matsumoto(1986).

^b Cells were incubated on 0.7% agar-containing nutrient agar plates and stained by the method of Shirata and Goto(1981).

(3) 病原性

고추냉이의 葉柄, 근경조직과 감자 塊莖에 병원성을 검정한 결과 Table 3-5에 표시된 바와 같다. 고추냉이의 葉柄과 根莖에서 접종부위가 24시간 후 무름증상을 나타냈으나 감자에서는 다소 약한 무름증상을 보였다.

軟腐病에 대한 연구는 1886년 고추냉이의 腐敗病의 병원균으로 *Bacillus alliaris*가 처음 보고되었다. 그 후 *B. carotovora*로 보고되었고 최근 Goto와 Matsumoto(1987)에 의하여 *E. carotovora* subsp. *wasabiae*로 불리우고 있다. Goto와 Matsumoto(1986b, 1987)는 고추냉이 根莖에서 분리한 박테리아를 4군으로 구분하고 병원성, 병징, 形態的 특징과 생리적 성질을 조사하여 고추냉이의 軟腐病을 일으키는 병원균을 *E. carotovora* subsp. *wasabiae*로 동정하였는데, 본 실험에서 분리한 균의 形態, 생리, 생화학적 특성 및 병원성에 있어서 같은 결과를 보였다. 세균학적 특성을 종합하여 볼 때 우리나라에서 재배하고 있는 고추냉이에서 軟腐病을 일으키는 세균은 *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae*로 동정되었다.

다. 모잘록병

종자를 과중하여 실생묘를 육성할 때 주로 발생하는 病害이다. 모잘록병은 주로 묘판에서 어린 식물의 줄기 및 地際部에 주로 발병하여 種苗生産에 많은 피해를 주는 병해이다.

(1) 病徵

어린묘의 줄기, 지제부가 水浸狀態로 되며 연화, 잘록해져 결국 묘가 도복되었다. 이 병은 식물체가 어릴 때 주로 발병되고 성장하여 줄기가 커지면서 병해의 발병도 작아졌다. 다른 식물의 모잘록병 병징과 같은 전형적인 病徵을 나타냈다(Photo. 3-2 d).

(2) 病原菌

菌絲는 多核性으로 하나의 세포에 6개정도의 핵을 갖고 있고, 균사의 폭은 비교적

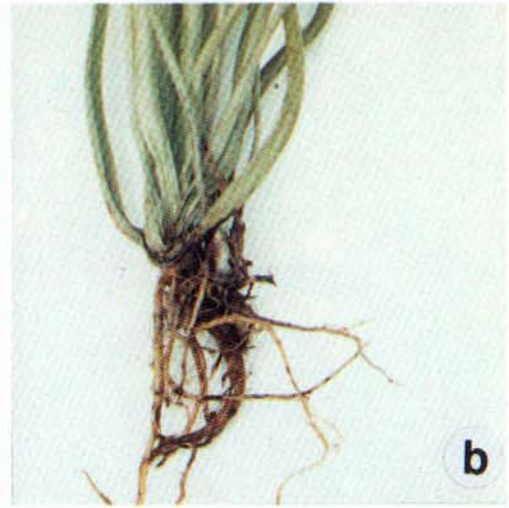


Photo. 3-2. a: The rhizome-rot symptoms produced in field, b: Bacterial rhizome-rot produced after inoculation in pot, c: Electron microscopic morphology of *E. cartovora* subsp. *wasabiae*($\times 10,000$), d: Symptoms of damping-off by *R. solani*.

여 백

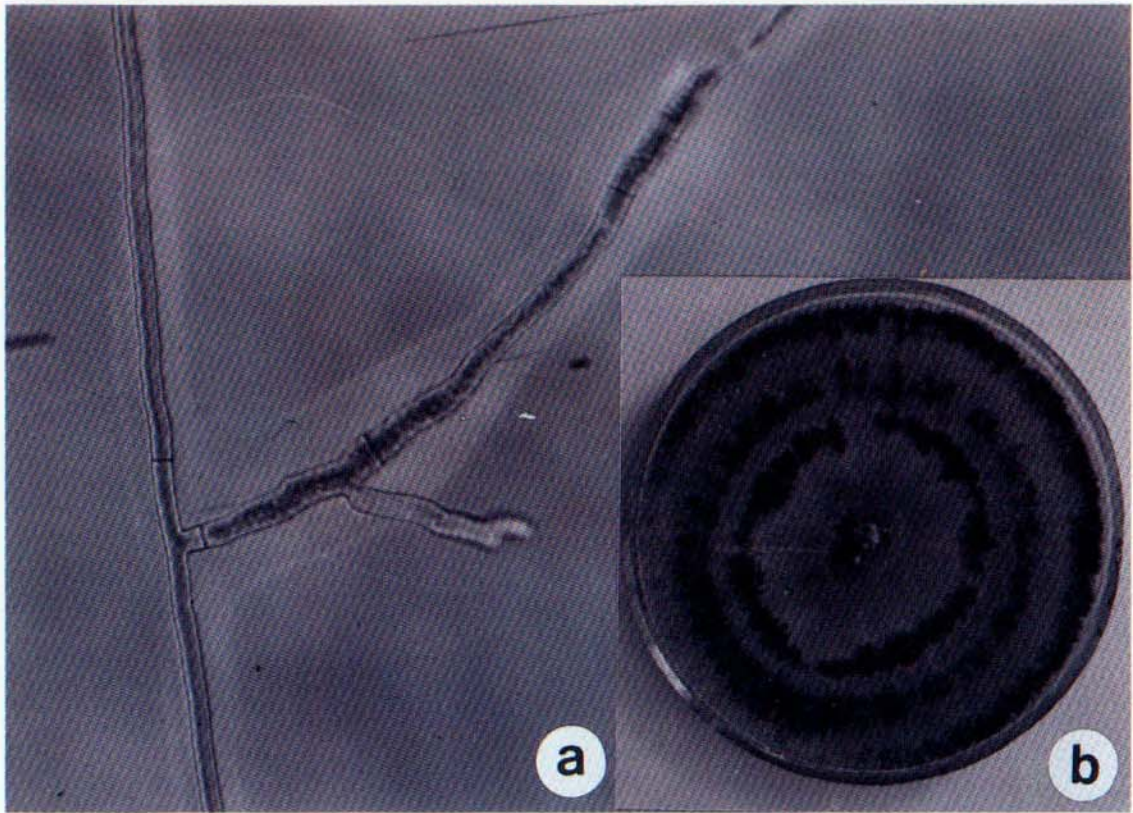


Photo. 3-3. a, b: Morphology of hypha(a) and cultural character of *R. solani*(b), c: Symptom of club root(left; diseased, right; health).

여 백

다른 곰팡이 보다 크며 10 μ m 정도였다(Photo 3-3a). PDA배지에서 균총의 특징은 뚜렷한 윤문을 형성하는 것이 특징이며 작은 菌核이 밀집되어 윤문을 형성하였다. 균총의 색은 적갈색이었다(Photo 3-3b).

(3) 病原性

고추냉이 종자와 어린 묘를 대상으로 병원성을 검정한 결과 罹病土壤에 종자를 파종할 경우 종자의 발아율이 떨어지고 발아한 묘에서도 모잘록병징이 많이 나타났으며 幼苗에 接種한 경우에도 모잘록 증상이 나타났다.

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

라. 바이러스病

(1) 病徵

TMV에 감염된 잎은 건전 잎에 비하여 전체적으로 萎縮되었다. 또한 모자이크 증상이 나타나며 잎이 두꺼워지고 葉脈의 간격은 좁았다(Photo. 3-4a). 새로 성장한 잎은 요철이 생기며 점차 생육이 약해져 퇴락 반문이 형성되면서 萎縮現象을 일으키는 것이 特徵이었다. 鈴木(1976)에 의하면 생육이 나쁘고 위축과 황화현상을 나타내는 고추냉이는 모두가 바이러스에 감염되었다고 하였으며, 小室과 栢原(1966)는 TMV에 감염된 잎은 요철이 생기며 생육이 약해진다고 보고하였다. 또 반문병징의 증상을 한 고추냉이 잎에서 TMV의 바이러스 입자가 관찰된다는 보고도 있다(1964). 이와 같은 보고들과 본 연구에서 관찰된 병징은 TMV의 전형적인 병징이었다.

(2) 指標植物 반응

고추냉이에서 분리한 TMV를 고추냉이, 담배식물인 *Nicotiana tabacum* var. Bright Yellow, *N. glutinosa*, 명아주인 *Chenopodium amaranticolor*에즙액접종한 결과 표 3-6과 같이 Bright Yellow와 *N. glutinosa*에서는 국부반점을, *Chenopodium*

*amaranticolor*에서는 작은 斑點, 고추냉이에서는 모자이크 병반을 형성하였다(Photo 3-4 b). 寄主植物의 반응에 대하여 小室과 枳原(1966)도 보고하였는데 고추냉이에 발생하는 TMV, TuMV 및 CMV의 구별이 *Nicotiana tabacum* var. Bright Yellow, *N. glutinosa*, *C. amaranticolor* 등에 나타나는 寄主反應에 따라 가능하다고 하였다.

Table 3-6. Reactions of indicator plants induced by TMV isolated from wasabi.

Indicator plant	Reaction
<i>Nicotiana glutinosa</i>	L
<i>N. tabacum</i> var. Bright yellow	L
<i>Chenopodium amaranticolor</i>	S
<i>Wasabia japonica</i>	M

L; local lesion S; small local lesion, M; mosaic symptom.

(3) 전자현미경 검경

罹病된 고추냉이 잎으로부터 바이러스입자를 Dip法에 의해서 추출하여 전자현미경 (Carl zeiss EM 10)으로 검정한 결과 絲狀形의 전형적인 바이러스입자가 관찰되었다. 바이러스입자는 300nm크기로 간상의 형태를 관찰할 수 있었다(Photo. 3-4c). 고추냉이에 발생하는 바이러스중 TuMV의 입자는 750nm이고 TMV의 입자는 300nm라고 보고한 결과(小室과 枳原, 1966)와 본 실험에서 관찰한 막대모양의 300nm 크기의 바이러스는 전형적인 TMV이었다.

(4) 血清學的 검정 및 TMV의 계통 조사

ELISA에 의한 TMV의 계통을 20개의 시료를 대상으로 조사한 결과는 Table 3-7과 같다. TMV계통간 血清反應은 반응의 차이는 있었으나 抗血清 TMV-W, TMV-C, TMV-P 모두 양성반응을 나타냈다(Table 3-5). 항혈청 TMV-W와 TMV-C 반응에서는 20개의 시료중 19개가 陽性反應을 보였으며, TMV-P에는 1개

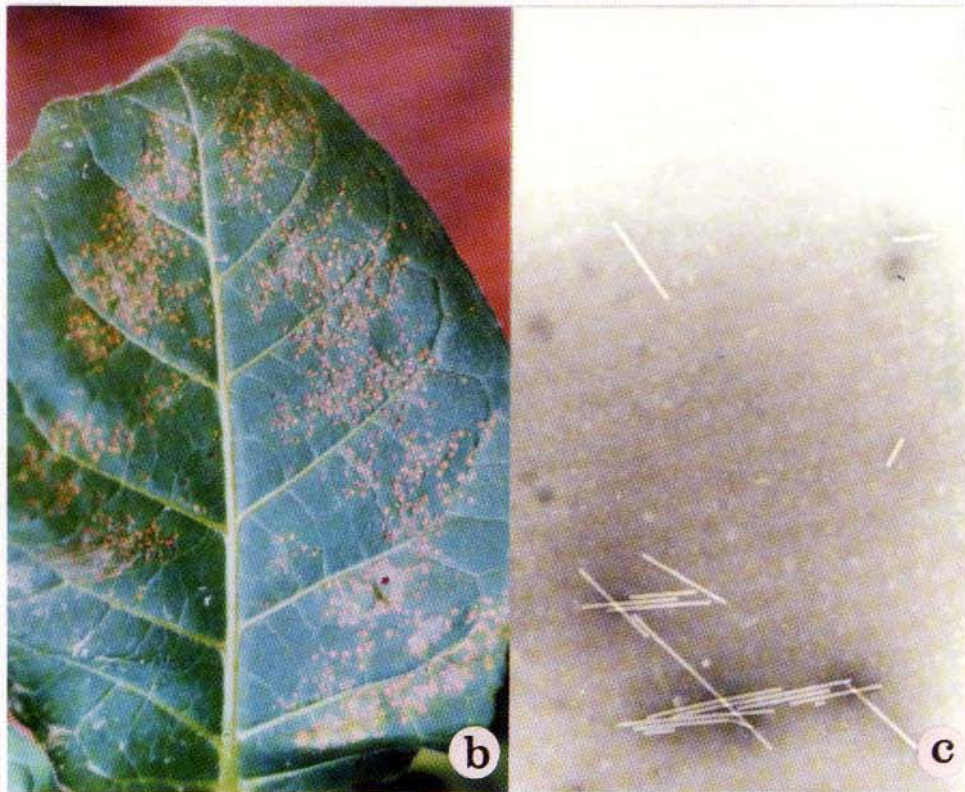


Photo. 3-4. a: Leaf of wasabi infected with TMV, b: Local lesions on *Nicotiana glutinosa* by sap inoculation with TMV, c: Particles of TMV by dipping method from infected virus in wasabi($\times 30,000$).

여 백

Table 3-7. Reaction by ELISA of virus infected sample with three TMV at Muju areas in Korea, 1995-1996.

Sample No.	Antiserum		
	TMV-W	TMV-C	TMV-P
1	1.147	0.340	0.130
2	1.124	0.210	0.110
3	1.217	0.209	0.106
4	0.467	0.911	0.096
5	1.201	0.201	0.105
6	1.224	0.307	0.105
7	0.140	0.101	0.100
8	0.248	0.254	0.152
9	1.080	0.248	0.233
10	0.960	0.215	0.108
11	0.987	0.305	0.100
12	1.040	0.306	0.095
13	1.134	0.212	0.102
14	0.963	0.411	0.093
15	1.273	0.412	0.110
16	0.820	0.717	0.119
17	1.110	0.612	0.109
18	0.770	0.313	0.120
19	1.072	0.347	0.113
20	1.174	0.414	0.120
21	0.127	0.109	0.114

*TMV-W; anti tobacco mosaic virus wasabi, TMV-C; anti tobacco mosaic virus crucifer, TMV-P; anti tobacco mosaic virus pepper, No. 21; health plant.

a: The indicator is ELISA-reader based.

시료에서만 양성반응을 나타냈다. TMV-W와 TMV-C는 혼합감염이 대부분이었고, TMV-P에 대해서는 1시료만 혼합감염을 보였다. 바이러스별로 보면 TMV-W가 TMV-C와 TMV-P 보다 강한 반응을 보이고 있어 우리나라 고추냉이에 발생하는 바이러스는 TMV-W가 가장 심한 것으로 조사되었다. 血清學的인 유연관계에 있어서도 TMV-W는 TMV-P보다 TMV-C에 유연관계가 높은 것으로 생각된다. 柏崎 등(1990)에 의하면 고추냉이에 발생하는 TMV계통을 5개 항혈청(TMV-W, TMV-C, TMV-P, TMV-OM, TMV-L)을 이용하여 血清學的인 유연관계를 비교하여 본 결과 항혈청 TMV-W 및 TMV-C에 강한 반응을 보였고, TMV-OM, TMV-L, TMV-P는 약한 反應을 보인다고 하였다. 본 실험결과는 이들 실험결과와 유사한 반응을 보인 것으로 나타났다. 따라서 본 조사지역에 발생한 바이러스병은 TMV-W계통이 주로 발생하는 것으로 판단된다. 또 河野 등(1993)에 의하면 TMV의 여러 계통을 고추냉이에 接種한 결과 TMV-W와 TMV-C는 全身感染을 일으키며 두 계통의 바이러스가 동시에 感染되어 증식될 가능성이 높다는 것을 의미한다. 최근 眞罔 등(1990)의 broad bean wilt virus의 보고가 있어 금후 자세한 고추냉이의 바이러스병에 대한 조사가 있어야 할 것으로 생각된다.

(5) 년차별 감염상황 조사

年次別 바이러스 감염을 조사하기 위하여 1년차 재배포장과 2년차 재배포장을 대상으로 感染을 조사한 결과는 Table 3-8과 같다. 채종한 種子를 파종하여 1995년과 1996년도 가을 50개체를 무작위로 채집하여 조사한 결과 1년차 재배 후 TMV의 감염은 8%, 2년차 재배한 경우에는 22%의 感染을 나타내고 있어 1년차보다 재배년수가 증가할수록 바이러스의 感染도 증가함을 보이고 있다(Table 3-8). 따라서 고추냉이의 안정적인 생산을 위해서는 無病毒株의 생산과 포장관리에 각별한 주의가 요구된다. 小室과 枡原(1966)은 바이러스 증상이 뚜렷한 고추냉이를 수집하여 바이러스를 조사한 결과 TMV에 의한 감염은 32%이라고 보고하여 본 실험과 거의 같은 결과를 나타냈다.

Table 3-8. Comparison of cultivation periods against tree TMVstrains antisera in the ELISA test.

Antibody	Cultivation period	
	1st year	2nd year
TMV-W	4/50 (8%)	11/50(22%)
TMV-C	2/50 (4%)	10/50(20%)
TMV-P	1/50 (2%)	2/50(4%)

3. 병해 發生生態

우리 나라의 고추냉이 발재배에서 피해가 많고, 주로 발생률이 높은 병해의 발생 생태에 대하여 조사한 결과는 다음과 같다.

가. 墨入病

잎, 엽병, 뿌리에 발생하는 묵입병은 표 3-9와 같이 지역간에 차이가 있으며 온도가 높은 평야지인 전주·익산지방이 시기적으로 빨리 발생한 경향이며, 최고 발생률이 32%인 것에 비하여 溫度가 낮은 산간지역인 무주지방의 발병률은 28%로 낮게 나타났다. 계절적으로 평야지나 산간지역에서 4월부터 발병하기 시작하여 7월에 최고의 發病增加率을 보였다. 7월 이후부터는 病害의 발병증가율이 감소되는 경향이고 온도가 낮은 9월 이후는 급격히 발병이 적게 나타났다.

묵입병 발병이 가장 높은 10월의 發生은 해발이 낮고 온도가 높은 평야지인 익산 지역에서 높은 발병률(32%)을 보였으며, 해발이 높고 고냉지인 무주지역의 설천에서는 28%, 무풍에서는 30.6%의 발병률을 보여 평야지에 비하여 다소 낮은 發病率을 보였다. 시기별 墨入病의 발병은 4월경 기온이 상승하면서 발병하기 시작하여 10월까지 계속 발병하였다. 발병초 4월에는 2.8%의 발병률을 보였으나 5월 1.8%, 6월

7.1%, 7월 10.9%의 발병증가율을 보여 6~7월에 병발생률이 급격히 증가하였으며, 고온·장마기인 8월 이후부터는 병발생률이 3.1%로 감소하는 경향을 보였다. 이와 같은 병발병은 기온이외에日照量과 관련이 있는 것으로 보이며, 온도가 낮아지기 시작하는 9월 이후부터는 병발병이 감소되어 9월 2.2%, 10월 2.3%의 발병률 증가를 보였다(Table 3-9).

墨入病의 병해 발생에 대하여 胡 등(1986)은 나무그늘에서 80%의 發病率을 나타내고, 太田와 中野(1992)는 조사포장의 95%가 발병포장이었고 그 중 발생주율은 32%이며 고추냉이의 栽培作型에 따라 발병에 차이가 있다고 하였다. 尾添 등(1972)의 보고에 의하면 묵입병은 계절적으로 6월에 발병이 시작하여 10월까지 계속된다고 하였으며, 松本 등(1977)은 5~6월부터 발병률이 증가하기 시작하여 高温期인 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 이와 같은 결과는 수치의 차이는 있지만 他 보고와 같은 경향을 보였다.

Table 3-9. Incidence of *Phoma wasabiae* in wasabi plants from different season.

Site	Apr.	May	June	July	Aug.	Sep.	Oct.
Iksan	3.3	6.0	14.0	25.3	28.0	30.0	32.0
Sulchun	2.6	4.6	10.6	20.0	23.3	27.3	28.0
Moopung	2.6	3.3	10.6	22.6	26.0	26.6	30.6
Aver.	2.8	4.6	11.7	22.6	25.7	27.9	30.2

나. 軟腐病

뿌리에 발생하는 軟腐病은 Table 3-10과 같이 4월부터 발병하기 시작하여 10월까지 계속되며 지역에 따라 차이가 있어 전주·익산지역이 38%, 무주지역이 27%로 평

야지인 전주·익산지역에서 높은 발생률을 보였으며 발생초기의 발병률도 산간지보다 높게 나타났다. 軟腐病은 4월부터 발병률이 증가하기 시작하여 고온기인 8월에 가장 높은 발병률을 나타내다가 온도가 낮아지는 9~10월부터는 연부병도 감소하는 경향이 었다.

太田와 中野(1992)는 물고추냉이의 연부병 발생률을 3%라고 하였으며 鈴木(1976)는 연부병 발생은 계절에 따라 차이가 있으며 6월 기온의 상승과 같이 증가하기 시작 하여 7~8월에 最大 발생기에 도달하며 9월부터는 減少하기 시작한다고 하였다. 본 실험에서도 上記한 보고와 같이 계절에 따라 차이가 있었으며 6~7월에 가장 높게 발 생하는 것은 他 보고와 일치하는 경향이였다.

Table 3-10. Seasonal occurrence of rhizome soft-rot disease.

Site	Apr.	May	June	July	Aug.	Sep.	Oct.
Conju, Iksan	3.3	8.0	14.6	24.0	29.3	35.3	38.0
Muju, Sulcheon	2.6	6.6	12.6	16.0	22.6	26.0	27.3
Muju, Mupung	2.6	6.0	8.6	13.3	21.3	23.3	26.6
Mean	2.2	6.8	11.9	17.7	24.4	28.2	30.6

다. 모잘록병

幼苗期에 地際部에 주로 발병되는 모잘록병의 발병률은 익산지역 11.7%, 무주지역 8.3%로 지역간에 다소 차가 있으며 平野地인 익산지역이 다소 높은 발병률을 나타냈 다. 전체적으로 10%의 묘가 모잘록병이 發病하여 가격이 비싼 고추냉이 종자를 묘 판의 種苗狀態에서 병해에 의한 피해를 보고 있다.

라. 기타 病害

우리 나라의 고추냉이 발재배에서 주로 많이 발생되고 있는 묵입병, 연부병, 모잘록병 외에 극히 적은 빈도로 무사마귀병에 의한 피해가 관찰되었으며 기생식물인 새삼의 피해도 관찰되므로 철저한 圃場管理가 요구된다(Photo 3-3c). 그러나 일본의 경우 고추냉이에 발생하는 많은 병해의 발생기록이 있으나 우리 나라에서 발병되는 병해는 적게 나타났다. 이것은 우리 나라와 일본의 지역간 생태적인 차이점으로 생각되며 日本의 고추냉이 재배는 오랜 기간의 재배로 인하여 토착화된 병해가 많이 발생하는 것에 비하여 우리 나라 고추냉이는 栽培歷史가 매우 짧기 때문에 적게 발병하는 것으로 생각된다.

4. 病害防除

가. 실내 약효시험

우리 나라의 고추냉이 재배에서 가장 문제되는 묵입병과 부패병을 대상으로 실내에서 藥效調査를 하였다. 시험에 사용된 약제는 Table 3-11 및 Table 3-12와 같다.

실내에서 묵입병의 방제 藥效를 시험한 결과는 Table 3-13과 같다. 약제중 benomyl이 가장 약효가 양호하였다. 다음으로는 benomyl+thiram과 mancozeb이 양호하였으며 菌絲의 성장도 억제하였다. 이런 시험 결과를 볼 때 베노밀이 묵입병 균에 대한 防除效果가 있을 것으로 생각된다(Photo 3-5a, b). 腐敗病의 방제를 위한 실내시험 결과는 Table 3-14와 같다. 약제중 oxolinic acid가 균에 대한 억제력이 가장 많았으며 다음으로는 streptomycin이 균의 억제력이 많았다. 이러한 시험결과를 볼 때 oxolinic acid가 부패병의 방제효과가 클 것으로 생각된다.

Table 3-11. List of chemicals used in the experiment on black leg.

Common name	Formulation(%)	Chemical name
Benomyl	50%	Methyl-1-(butylcarbamoyl)-benzimidazol-2-ylcarbamate
Benomyl + Thiram	20%	Methyl-1-(butylcarbamoyl)-benzimidazol-2-ylcarbamate
	20%	Tetramethythiuram disulfate
Captan	50%	1,2,3,6-tetrahydro-N-(trichloromethylthio)phthalimide
Chlorothalonil	75%	Tetrachloro isophthalo nitrile
Iprodione	50%	3-(3,5-Dichlorophenyl)-N-isopropyl-2,4-dioxo
	50%	Imidazolidine-1-carboxamide
Mancozeb	75%	A coordination product of zinc ion and manganese ethylene bis dithiocarbamate
Thiophanate methyl	70%	Dimethyl-4,4'-(O-phenylene)bis(3thioalophate)
Thiophate methyl + Thiram	50%	Dimethyl-4,4'-(O-phenylene)bis(3thioalophate)
	30%	Tetra methyl thiuran disulphide

Table 3-12. List of chemicals used in the experiment on soft rot.

Common name	Formulation (%)	Chemical name
Benomyl + Thiram	20%	Methyl-1-(butylcarbamoyl)-benzimidazol-2-ylcarbamate
	20%	Tetramethythyuram disulfate
Kasugamycin	2.3%	Hydrochloride hydrate of [5-amino-2-methyl-6-(2,3,4,5,6-pentahydroxycyclohexyloxy)tetrahydropyran-3-yl]amino- α -iminoacetic acid
Kasugamycin + Copper oxychloride	5.75%	Hydrochloride hydrate of [5-amino-2-methyl-6-(2,3,4,5,6-pentahydroxy cyclohexyloxy)tetrahydropyran-3-yl]amino- α -iminoacetic acid
Oxolinic acid	20%	5-Ethyl-5,8-dihydro-8-oxo[1,3]dioxido[4,5-g]quinoline-7-carboxylic acid
Prochloraz	25%	N-propyl-N-[2-(2,4,6-trichlorophenoxy)ethyl]-imidazol-1-carboximide
Streptomycin	20%	2,4-diquanidino-3,5,6-trihydroxycyclohexyl-5-deoxy-2-0-(2-deoxy-2-methylamino- α -L-glucopyranosyl)-3-C-formyl- β -L-lyxopentenofuranoside
Thiophanate methyl+ Streptomycin	50%	Dimethyl-4',4'-(O-phenylene)bis(3-thioallophate
	18.8%	2,4-diquanidino-3,5,6-trihydroxycyclohexyl-5-deoxy-2-0-(2-deoxy-2-methylamino- α -L-glucopyranosyl)-3-C-formyl- β -L-lyxopentenofuranoside

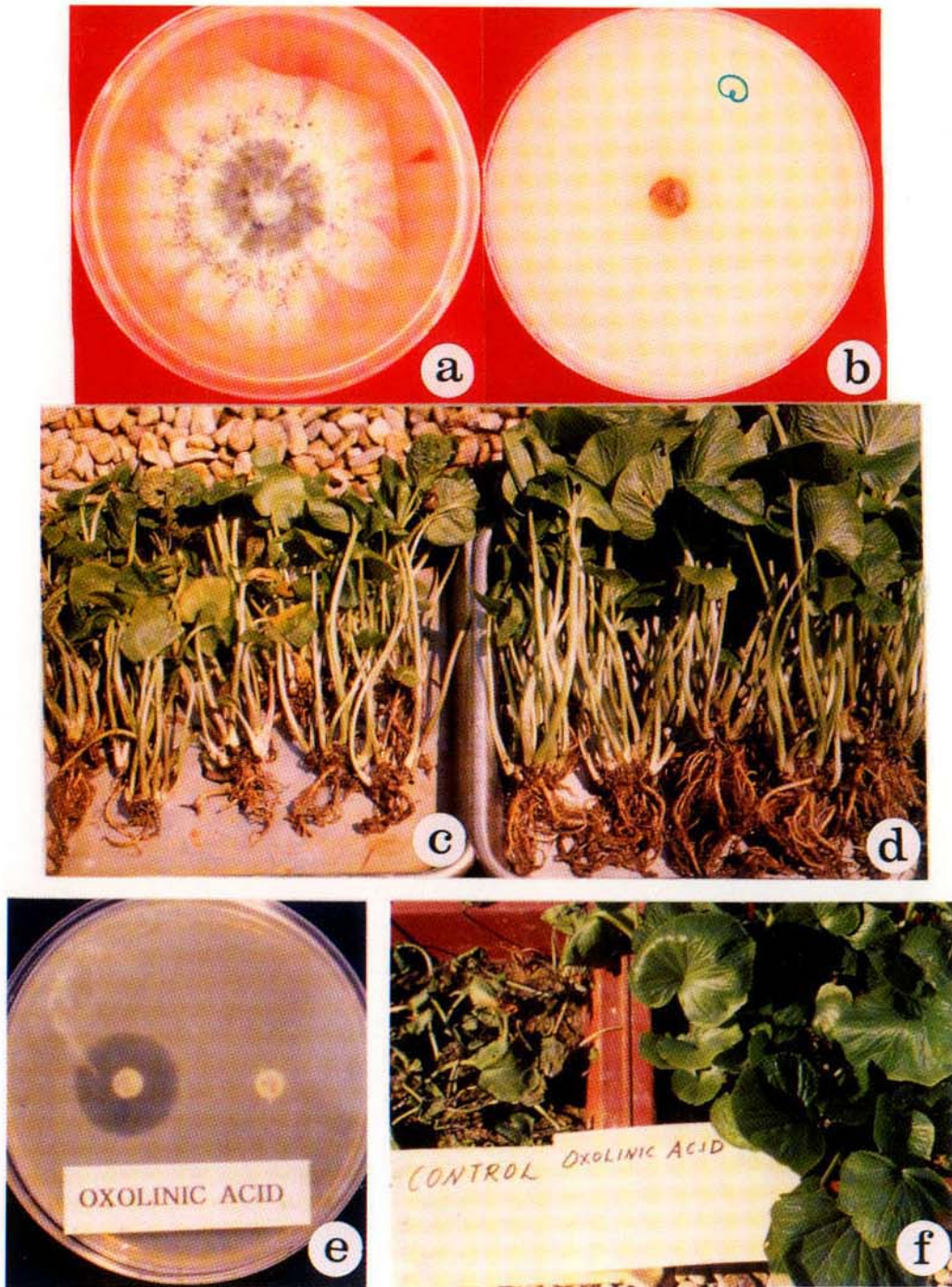


Photo. 3-5. a, b: Growth of mycelium on PDA(a) and inhibition of growth in benomyl 1,000 times(b). c: Bleck-leg disease developed in wasabi on fungicide non treatment(c) and health in benomyl treatment(d), e, f: Oxolinic acid inhibited of *E. cartovora* subsp. *wasabiae*(e) and the effect of oxolinic acid treatment in field(f, leaf; diseased, right; health).

여 백

Table 3-13. Effect of chemicals on mycelial growth of *Phoma wasabiae*.

Chemicals	Mycelial growth(cm)
Benomyl	0.9
Benomyl + Thiram	2.0
Captan	3.5
Chlorothalonil	2.5
Iprodione	2.3
Mancozeb	2.0
Thiophanate methyl	3.5
Control	9.0

Table 3-14. Effect of chemicals on inhibition of growth of *E. cartovora* subsp. *wasabiae*.

Chemicals	Inhibition (cm)
Control	0.00
Kasugamycin	1.20
Kasugamycin + Copper oxychloride	1.10
Oxolinic acid	2.62
Prochloraz	1.30
Streptomycin	1.56
Thiophanate methyl + Streptomycin	1.34

나. 墨入病 방제

약제의 살포에 의한 墨入病의 방제효과를 조사한 결과는 Table 3-15와 같다. 전체적으로 무방제구에서 발병률 80%에 비하여 藥劑를 살포한 방제구에서는 낮은 발병률을 나타내고 있다. 베노밀처리구에서의 발병률이 16.7%, 無防除區에 비하여 防除價가 79.2를 보여 다른 약제보다 뚜렷한 방제효과를 나타냈다. 이는 室內實驗에서 均의 生長沮止力이 강한 것과 같은 경향이였다(Photo. 3-5c, d).

Table 3-15. Effect of chemicals on black-leg in field.

Chemicals	Infection ratio ^c (%)	Protective value ^b	Chemical injury ^c
Benomyl	5/30 (16.7)	79.2	-
Benomyl + Thiram	11/30 (36.7)	54.1	-
Captan	12/30 (40.0)	50.0	-
Chlorothalonil	15/30 (50.0)	37.5	-
Iprodione	14/30 (46.7)	41.6	-
Mancozeb	13/30 (43.3)	45.9	-
Thiophanate methyl	12/30 (40.0)	50.0	-
Control	24/30 (80.0)	-	-

^a No. of diseased leaf/No. of checked leaf × 100.

^b Infection rate of non treatment - infection rate of non treatment.

^c Symptoms on leaf.

우리 나라에서 고추냉이에 대한 墨入病의 방제실험에서 벤레트, 다이센, 지네브 등을 포장에 撒布한 후 무방제구에서의 발병은 69%인데 비하여 약제를 살포한 방제구에서는 21%의 낮은 발병률을 나타내었다고 보고하였다(김과 서, 1993). 또 種子에 벤레이트, 베노람, 지오람 등의 약제처리로 입모울에서 무처리보다 효과적이라는 보고도 있다(김 등, 1993 ; 남 등, 1992). 横木(1952)은 墨入病 방제에 승홍처리가 효과적이라고 하였으나 현재는 사용이 금지된 약제이고, 尾添 등(1972a, b)은 베노밀의 살포시 형성된 病斑의 크기가 무방제구에 비하여 작았으며 무방제구에서 발병률 77.4%보다 처리구에서는 11%로 방제효과가 뚜렷하였음을 보고하였다. 또 묵입병의 방제 대책으로 健全種子와 묵입병에 이병되지 않은 分株苗의 사용을 권장하고 이병포장에서 採集한 종자는 벤레트 2,000배액에 12~24시간 침지후 파종하는 것이 墨入病을 방

제하는데 효과적이라고 하였다(Miyake 등, 1983).

고추냉이 墨入病에 대한 약제처리의 방제법이 확립되지 않았으나 본 실험결과 방제에 유효한 약제가 선발되었는데 베노밀수화제 효과가 높은 것으로 생각되며 藥劑 살포시기는 5월 중순에서 7월 중순이 좋은 것으로 생각된다.

다. 腐敗病 방제

土壤에 약제를 처리하여 부패병의 방제효과를 조사한 결과는 Table 3-16과 같다. 무방제구에서 69.4%의 부패병이 발생하였는데 방제구에서는 41%의 이하의 발생을 나타내어 약제살포구에서 방제효과가 있음을 보였다. Oxolinic acid의 처리구에서는 16.7%의 낮은 발병률로 약제처리시 우수한 防除效果를 나타내고 있다(Photo. 3-5e, f).

Table 3-16. Effect of chemicals on soft-rot in field.

Chemicals	Infection ratio ^a (%)	Protective value ^b	Chemical injury ^c
Control	25/36(69.4)	-	-
Kasugamycin	13/36(36.1)	48.0	-
Kasugamycin + Copper oxychloride	14/36(38.9)	43.9	-
Oxolinic acid	6/36(16.7)	75.9	-
Prochloraz	15/36(41.7)	39.9	-
Streptomycin	10/36(27.8)	59.9	-
Thiophanate methyl + Streptomycin	12/36(33.3)	52.0	-

^a No. of diseased leaf/No. of checked leaf × 100.

^b Infection rate of non treatment - infection rate of non treatment.

^c Syntoms on leaf.

우리 나라에서 고추냉이 부패병에 관한 약제처리에 대한 실험에서 벤레이트와 스트렙토마이신 등의 약제처리를 6월부터 9월까지 포장에 처리한 결과 부패병의 발생이 무방제구에서 84%의 발생을 보인것에 비하여 '처리구에서는 31%의 발병으로 약제처리의 효과를 보고하였다(김과 서, 1993). 또 松本 등(1985)은 토양에 접종한 실험결과 腐敗病의 발생은 접종 1개월 후 22%, 2개월 후 50% 발병한다고 보고하였다. 이것은 본 실험결과 대조구에서 48%의 발병률과는 相異하다. 腐敗病의 방제법으로는 건전묘와 저항성 품종을 사용하고 이식시 스트렙토마이신 처리가 효과적이라고 권장하고 있다(Miyake 등, 1983; 鈴木, 1976a, b).

이상의 보고를 종합하여 볼 때 본 실험결과 효과가 좋은 것으로 나타난 oxolinic acid를 토양에 灌注하거나 분주묘나 실생묘를 본포에 이식할 때 묘의 침지소독과 토양소독 등 광범위하게 종합적으로 처리하는 대책이 필요하다고 생각된다.

일본에서 고추냉이의 병해를 방제하기 위하여 부패병과 묵입병의 경우 주로 경종적인 방법을 권장하고 있으나 발병이 심할 경우나 土壤傳染性 병해를 방제키 위하여 약제처리에 의한 방제를 권장하고 있다(農文協, 1990). 병해의 피해를 줄일 수 있는 방법중 하나는 化學藥劑를 사용하여 병해를 방제하는 것으로 농약 처리후 식품에 잔류하는 농약의 식품안정성이 문제가 된다. 兪玉 등(1978)은 고추냉이를 가해하는 해충의 방제를 위하여 殺蟲劑를 처리한 4~5개월 후 고추냉이의 糞, 莖, 토양에 0.001~0.002ppm으로 아주 작은 량이 殘留한다고 보고하였다. 이와 같이 살균제처리시 고추냉이의 종자, 分株苗 및 토양에 처리하는 것은 농약의 피해가 적을 것으로 생각된다.

이상의 여러 보고를 참고할 때 약제에 의한 完全防除는 어렵고 약제사용과 위생적인 관리 및 耕種的인 방제를 종합적으로 병용하면 墨入病과 부패병의 발병을 낮출 수 있다고 판단된다.

5. 傳染經路

가. 종자에 의한 전염

1997년에 採種한 종자를 대상으로 목입병균의 感染을 조사한 결과는 표 3-17과 같다. 총 500개 종자를 대상으로 조사한 결과 전체 32개의 종자에서 목입병균이 검출되어 평균 6.4%에 해당되는 種子가 목입병균에 감염되어 있었다. 또 목입병에 감염된 종자를 播種할 경우 포장에서 다른 균과 함께 모잘록병을 일으켰고 罹病株로부터 목입병균을 확인할 수 있었다.

목입병은 橫木(1936)에 의해서 종자에 의한 전염이 확인된 후 목입병의 전염은 분주묘와 종자에 의해서 전염된다는 보고가 있다. 일부 포장에서 분주묘를 사용했을 때 墨入病의 발병률이 80%이상 발생하였고, 목입병이 많이 발생한 圃場에서 수확한 종자를 파종했을 경우 6.9~15.0% 발생하였다는 보고를 참고할 때 목입병의 전염은 종자에 의한 전염보다 분주묘에 의한 전염이 더 많이 발생한다는 것을 알 수 있다(鈴木, 1976). 본 실험에서 종자에 6.4%의 목입병균의 保毒과 다른 보고들을 종합할 때 목입병전염은 주로 이병된 분주묘와 감염된 종자에 의해서 전염되므로 영양번식의 분

Table 3-17. Detection of *Phoma wasabiae* in seeds.

Seed lot	Checked seeds	Detected seeds	Detection ratio(%)
1	100	5	5.0
2	100	7	7.0
3	100	12	12.0
4	100	5	5.0
5	100	3	3.0
Mean	500	6.4	6.4

주묘를 사용하는 것보다 철저한 消毒으로 감염되지 않은 종자를 사용하여 생산된 實生苗를 사용하는 것이 좋을 것으로 생각된다.

나. 잎과 葉柄에 의한 傳染

잎과 엽병에 PDA배지에서 일주일 자란 균을 각각 접종하고 전염경로를 조사하였다. 잎에 病原菌을 접종한 후 대체적으로 엽육조직에서 3~5mm의 원형 또는 부정형의 병반을 형성하였다(Photo. 3-1a). 병반은 더 이상 확대되지 않고 엽맥으로 진전되었다. 그 후 병반은 葉柄 및 根莖의 維管束까지 계속적으로 확대되었다(Photo. 3-1c). 잎에 침입한 병원체는 잎에 원형의 병반을 형성하였고 엽맥, 엽병을 거쳐 근경의 유관속까지 전염되었다. 葉柄에서의 병반의 진전은 보통 하루에 $2 \pm 0.3\text{mm}$ 씩 진전되었다. 엽병에서의 병해진전은 외관상으로는 건전한 것 같이 보이지만 엽병을 잘라보면 維管束이 검은 색으로 感染된 것을 발견할 수 있었다. 維管束의 검은 병징은 나중에는 표면에 검은 색을 띠며 결국에는 고사하였다. 자연상태에서 묵입병은 주로 병반에 형성된 柄子殼에서 병포자가 공기나 물에 의해서 이동되며 잎과 엽병에 특히 상처의 부위를 통하여 쉽게 감염되어 發病된다는 보고가 있다(Catherine 등, 1993; 中野, 1991; 胡, 1984). 多久田와 廣尺(1975)는 柄子殼이 형성되는 기간에 대한 실험에서 잎, 엽병, 근경에 접종했을 경우 각각 달랐으며 잎에 접종했을 때 10일 후 柄子殼을 형성하였다고 보고하였다. 墨入病은 잎과 엽병에 접종할 경우 維管束을 통하여 진전되며 葉柄에 접종할 경우 잎에 접종했을 때보다 병이 빨리 진전된다는 보고가 있다(鈴木, 1976; 多久田 등, 1973).

다. 뿌리에 의한 傳染

뿌리에 墨入病菌을 접종하여 병해의 전염경로를 조사한 결과 병해의 진전이 잎이나 엽병에 접종했을 경우와는 반대로 뿌리의 유관속을 통하여 엽병으로 진행되었다. 자연상태에서 뿌리에 발병될 경우에는 육안적으로 病斑을 관찰하기가 어려우며 검은 색의 病斑이 지표면에 나타날 때까지 오랜 기간 소요되었다(Photo. 3-1d).

제 4 절 결 론

고추냉이 圃場에서 병해의 연구와 주요 病害發生 및 생장에 미치는 환경의 영향을 밝혔다. 수집된 고추냉이로부터 병원균을 분류 同定하였고, 환경조건에 대한 실험이 生長箱과 포장에서 이루어졌다.

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

1994년부터 1995년까지 전북지방에서의 墨入病 발생은 28~32%였다. 묵입병은 4월부터 발병하기 시작하여 10월까지 발병하였으며 발병 최성기는 6~7월경이었다. 우리 나라에서 재배되는 고추냉이의 墨入病 병반에서 *Phoma wasabiae*를 분리하였으며 이 균을 고추냉이에 접종한 결과 병원성이 있었다. 이 병은 잎에 검은 斑點을 나타내고 뿌리와 줄기의 導管部에 침입하여 검은 색깔로 변화시켜 상품의 품질을 크게 저하시켰다. 菌絲의 생장은 20℃에서 가장 양호하였고 균총은 처음에는 노란색을 띄다가 나중에는 황갈색으로 변하였다. 병자각의 형태는 흑갈색으로 구형 또는 편구형이고, 頂端에 1~2개의 돌기가 있었다. 크기는 $44\sim120 \times 28\sim170\mu\text{m}$ 였다. 柄孢子는 단포자로 무색이며 크기는 $4\sim6.1 \times 1.2\sim2.3\mu\text{m}$ 였다.

고추냉이의 軟腐病은 *Erwinia carotovora* subsp. *wasabiae*로 동정되었다. 이 병은 葉柄이 침윤, 검은 색으로 되며 잎, 뿌리 및 根莖이 黃化 또는 죽었다. 軟腐病은 6월~8월에 최대로 발생하였으며 포장에서의 발병률은 30.6%였다.

묘판에서 발병하는 모잘록병은 *Rhizoctonia solani*로 동정되었다. 묘판에서 종자의 발아율이 떨어지고 모잘록병징을 나타냈으며 罹病率은 10%였다.

고추냉이에 모자익병징을 나타내는 罹病株로부터 고추냉이 모자익바이러스를 분류 동정하였다. 고추냉이 모자익바이러스를 지표식물에 즙액접종한 결과 *Nicotiana tabacum* var. Bright Yellow와 *N. glutinosa*에는 국부 반점을, *Chenopodium amaranticolor*에는 작은 반점, 고추냉이에는 모자이크병반을 나타냈다. 바이러스粒子를

Dip법으로 試料를 제작하여 전자현미경으로 검경한 결과 대부분이 300nm, 桿狀形態의 입자가 관찰되었다. 고추냉이의 TMV의 발생은 무주지역에서 1차년도 8%이며, 2차년도 22%로 증가하였다. ELISA법에 의해 TMV계통의 감염이 조사되었다. TMV-W와 TMV-C계통의 混合感染이 많았고 TMV-P계통의 感染은 적었다. 본 실험결과 고추냉이 모자익바이러스는 TMV-W계통이었다.

고추냉이의 墨入病과 腐敗病의 방제를 위한 화학약제의 효과에서 목입병은 베노밀수화제 처리가 실내실험과 포장실험에서 가장 효과적이었고 베노밀수화제의 처리는 약제 무처리에 비하여 79.2%의 방제가를 나타냈다. 腐敗病의 방제를 위한 약제로는 oxolinic acid수화제 처리가 室內實驗, 포장실험에서 가장 효과적이었다. Oxolinic acid수화제 처리는 藥劑 무처리에 비하여 75.9%의 방제가를 나타냈다.

고추냉이 墨入病은 종자와 잎, 葉柄 및 根莖에 감염되어 전염되었다. 수집된 종자로부터 목입병균의 保菌率은 3~12%이었으며, 목입병균에 감염된 종자는 묘판에서 모잘록병을 일으켰다. 잎에 침입한 병원균은 葉脈, 葉柄, 根莖의 유관속부를 통하여 뿌리의 維管束을 침해하였다. 뿌리에 침입된 病原菌은 병해의 진전이 느리고 뿌리의 維管束을 통하여 葉柄을 침해하였고 이병된 잎과 葉柄은 枯死되었다.

제 5 절 참 고 문 헌

1. Catherine, I. C., T. A. Lumpkin, and L. R. Elbersen. 1993. The botany, uses and production of *Wasabia japonica*(Miq.) (Cruciferae) Matsum. Economic Botany 47 :113-135.
2. Clark, M. and Adams, A. N. 1977. Characteristic of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. J. Gen.

- Virol. 34:475-483.
3. 은종선외 6인 1995. 고추냉이 고품질생산 및 가공체계확립. 농림수산부연구보고서 pp.122.
 4. 平松禮治. 1987. ワサビ中の残留農薬分析妨害物質の除去法. 山口農試研報 30:95-100.
 5. 平松禮治. 1987. ワサビに施用したタイアジノン,エチルチオメトン粒剤のでの残留と安全使用. 山口農試研報 39:101-106.
 6. Goto, M. and K. Matsumoto. 1986a. Causal agents associated with the internal black rot syndrome of Japanese horse radish(*Eutrema wasabi* Maxim.). Ann. Phytopath. Soc. Japan 52:59-68.
 7. Goto, M. and K. Matsumoto. 1986b. Taxonomic study on soft rot bacteria isolated from diseased rhizomes and roots of wasabi(*Eutrema wasabi* Maxim.). Ann. Phytopath. Soc. Japan 52:69-77.
 8. 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.
 9. Kashiwazaki, S., Shimazu, K. and Tsuchizaki, T. 1990. Serological properties of wasabi strain of tobacco mosaic virus. Ann. Phytopath. Soc. 56: 257-260.
 10. 김형무. 1985. *Rhizoctonia solani* Kuhn의 균사융합균별 제 성질에 관한 연구. 전북대학교 대학원 박사학위논문. pp. 1-33.
 11. 김형무, 은종선, 나의식. 1995. 온도 및 차광이 고추냉이의 생장과 주요 병해발생에 미치는 영향. 생물생산시설환경 4:240-245.
 12. 김형무, 송완엽, 강미형, 소인영. 1996. 고추냉이 세균성 근경부패병의 발생 및 병원균의 분리 동정. 전북대학교 농대논문집 27:17-24.
 13. 김기재, 서동환. 1993. 고추냉이 병해충 발생추이 조사. 경북진흥원 시험연구보고

- 서 p. 210-218.
14. 김순곤, 남상식, 황창주. 1993. 고추냉이 종자채종 및 번식방법 구명. 전북진흥원 시험연구보고서. p. 175-188.
 15. 河野敏郎, 高橋義行, 千田茂樹, 高橋幸吉. 1993. TMV各系統の苗における増殖. 日植病報 59:331.
 16. 胡敏夫. 1984. 山癸栽培與管理. 臺灣省農業試驗所報告書 1-17.
 17. 胡敏夫. 1985. 山癸之特性與栽培法. 大學圖書出版社 42-53.
 18. 胡敏夫, 邱善美, 劉新裕. 1986. 不同環境對山癸生長與產量之影響. 中華農業研究 35: 292-299.
 19. 小室康雄. 1973. 野菜のウイルス. 誠文堂新光社. pp. 174-177.
 20. 小室康雄, 枳原比呂志. 1966. ワサビから分離されるウイルスの種類とその感染状況. 植物防疫 21:486-488
 21. 眞岡哲夫, 中野敬之, 柏崎 哲, 土崎常男. 1990. 静岡県のワサビから分離されたbroad bean wilt virus. 関東病虫研報 37:97-98.
 22. 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. 日本植物病理學會誌 43:86-87.
 23. 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 37:99-114.
 24. Maria Dorenbosch, M.J. 1970. Key to nine ubiquitous soil-borne *Phoma*-like fungi. *Persoonia* 6:1-14.
 25. Maude, R. B., Humpherson-Jones, F. M. and Shuring, A. G. 1984. Treatments to control *Phoma* and *Alternariae* infections of *Brassica* seeds. *Plant Pathology* 33 :525-535.
 26. Maude, R. B. and Bambridge, J. M. 1985. Effects of seed treatments and storage on the incidence of *Phoma batae* and the viability of infected red beet

- seeds. *Plant Pathology* 34:435-437.
27. McDonald, M. B. and Copeland L. O. 1992. *Seed science and technology laboratory manual*. Aditya Offset Press.
 28. Miyake, N., Okimura, Y., Fujie, I., Watanabe, K., Tatsuyama, K., Egawa, H. and Yamamoto, H. 1983. On the tests of culture of wasabi(*Wasabia japonica*). Shimane University Agricultural College Rural Development(Noson Kaihatsu) 12: 20-28.
 29. 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.
 30. 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.
 31. 남상식, 황창주, 김순곤, 김동원, 박건호. 1992. 고추냉이 재배법 개선 시험. 전북농촌진흥원 보고서. p.165-168.
 32. 農文協. 1990. 病害蟲防除資料編 4卷 野菜. p.349-351.
 33. 日本植物病理學會. 1980. 日本有用植物病名目錄. p.73-74.
 34. 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.
 35. Oshima, N., Ohashi, Y., Umekawa, M. 1974. Studies on some strains of tobacco mosaic virus pathogenic to Cruciferae plants 2. Host range. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 40:243-251.
 36. 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.
 37. 邱年永. 1974. 藥用植物栽培法. 大學圖書出版社 p. 9-97.
 38. 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發病経路について(豫報). *中國農業研究* 26:51-52.

39. 尾添 茂. 1971. ワサビ莖葉のスリップスによる黒斑被害と生育異常対策. 農業及び園藝 46:637-640.
40. 尾添 茂, 多久田達雄, 廣尺敬之. 1972. ワサビ葉に發生する墨入病に對する數種殺菌劑の防除効果. 中國農業研究 43:55-56.
41. 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. 中國農業研究 43:57-58.
42. 兒玉 行, 平松禮治, 古谷扶美技. 1978. ワサビクタアザミの防除と使用藥劑の殘留および流出. 山口農試研報 30:25-31.
43. Schaad, N.W. 1980. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. p. 1-72. American Phytopath. Society, St. Paul, Minn.
44. Shirata, A., and M. Goto. 1981. Bacterial flagella staining by modified Yamanaka method. Shokubutsu Boekisho Chosa Kenkyu Hokoko 35:323-325.
45. Sutton, B. C. 1980. The Coleomycetes. p. 378-392.
46. 鈴木春夫. 1976a. ワサビ主要病害の生態と防除. 植物防疫 30:374-378..
47. 鈴木春夫. 1976b. ワサビの病害 P. 451-459.
48. 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しての根莖, 根への病變移行と2,3條件. 日植病報 39:166-167.
49. 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.
50. Watanabe, T. 1993. Pictorial atlas of soil and seed fungi. Lewis Publishers.
51. 横木國臣. 1936. 山葵墨入病に就て. 日植病報 2:549-560.
52. 横木國臣. 1952. 山葵の病害に關する研究. 鳥根農試研報 1-70.

제 4 장 재배법 개선 및 지대별 작형개발 분야

제 1 절 서 론

고추냉이는 재배양식에 따라 물재배와 밭재배로 나눌 수 있으며 식물학상으로 같은 種에 속한다. 물재배는 풍부한 水量, 적절한 水質 400~500m의 標高, 地形은 산간 지방의 깊은 계곡, 傾斜度는 5~15% 등이 갖추어 지고 水溫과 水量의 연중 변화가 적은 지방에서만 재배가 가능하므로 재배적지가 한정되어 있으며 주로 생식용 根莖의 생산을 목적으로 18개월이상의 장기재배가 이루어지고 있다. 밭재배는 海拔이 높고 여름철 기온이 비교적 낮은 산간지대의 환경이 열악한 곳에서 재배되기 때문에 12개월내외의 단기간에 多肥栽培를 하고 있으며 주로 가공용 고추냉이를 생산할 목적으로 재배가 이루어지고 있다.

일본에서 밭고추냉이 재배지로는 옛부터 高山地帶의 밭, 뽕밭, 매실나무 밭, 감나무 밭 등이 이용되어 왔고 최근에는 황벽나무 숲, 삼나무 숲 등의 나무사이를 이용한 밭고추냉이 재배가 증가하고 있다. 그러나 우리 나라는 일본의 海洋性 氣候와 다른 대륙성 기후로 여름에는 기온이 높아 병해충 발생이 심하며 겨울에는 추위가 심하여 凍害로 枯死되는 등 고품질의 고추냉이 생산에 적합한 기후가 되지 못한다. 그리고 산간계곡의 물도 水量面에서 계절적 편차가 심할 뿐 아니라 水溫에서도 차이가 심해 물고추냉이를 재배하기는 상당한 어려움이 있으며 물고추냉이 栽培圃田을 만드는 데 많은 비용이 소요되므로 우리 나라에서는 品質은 낮지만 하우스를 이용한 밭고추냉이 재배가 일반화 되어 있다.

그러나 밭고추냉이는 물고추냉이 재배에서와 같이 물이 氣溫 등의 외계변화를 완화시키는 역할을 할 수 없으며 여름의 고온과 건조, 겨울의 寒害와 積雪 등의 영향을 직접 받기 때문에 물고추냉이에 비하여 생산이 지극히 불안정하다. 또한 고추냉이는

평탄한 곳 보다 北向이나 北東向 경사지로 일조시간이 비교적 짧은 地形이 좋으며 겨울은 따뜻하고 여름은 시원한 표고 400~600m의 장소가 적당하다. 표고가 600m 이상이 되면 여름의 기온은 낮아 분얼수가 적어지고 병해가 적게 발생하나 겨울에는 기온이 낮아 凍害를 입게되고 생육기간이 전반적으로 짧아진다.

우리 나라는 해양성 기후인 일본과 달리 최고기온과 최저기온의 차이가 심한 지리적 특성문제 뿐 아니라 아직 고추냉이에 대한 생리, 생태, 병해, 재배기술에 관하여 축적된 연구결과가 거의 없어 재배상 많은 어려움이 현장애로로 지적되고 있다.

따라서 본 시험은 단순화 되어 있는 고추냉이의 재배체계와 재배지대별 작형을 개발하고자 파종기와 정식기 및 재식거리를 달리하여 생육, 병해, 수량 등의 제 특성을 조사하였고 標高가 다른 3개 지역에 식재하여 생육상황과 환경에 따른 계절적인 병해 발생소장, 수량 등 제특성에 미치는 환경의 영향을 조사하였다.

제 2 절 재 료 및 방 법

1. 재배법개선

가. 파종 및 정식기 시험

(1) 파종기별 종묘의 소질조사

공시재료는 고추냉이 품종 '달마'를 일본 靜岡縣에서 도입하여 2년차와 3년차에 채종한 종자를 먼저 벤레이트-T로 3시간 소독한 후 종자와 모래를 각각 1 : 1의 비율로 혼합하여 5℃에서 저온처리한 후 발아시킨 종자를 년 4회(2월 25일, 5월 25일, 8월 25일, 11월 25일) 파종한 후 발아율과 90일간 육묘한 다음 생장량을 조사하였다.

재배에 이용한 공시시설은 단동형 비닐하우스(5.4×1.8×30m)에 播種床은 폭 1.2m,

높이 20cm의 이랑을 만들어 시기별로 파종하였고, 冬期에는 부직포를 이용하여 보온 하였으며 夏期에는 70% 차광망을 이용하여 차광하였다. 시설형태는 비가림 하우스 시설로서 폭 7m, 低側高 1.5m, 高側高 2.5m의 단동형 하우스를 사용하였다.

(2) 실생묘와 분주묘의 정식기별 생육조사

實生묘와 分株묘로 구분하여 정식하였는데 실생묘는 파종기를 달리하여 3개월간 육묘한 후 정식하였고, 분주묘는 농가포장에서 12개월 이상 생육한 母株에서 葉柄이 4~5개 정도 되는 일정한 크기의 묘를 購入, 25×25cm간격으로 栽植하였으며 栽植전 벤레이트-T에 3시간 침지한 후 定植期를 달리하여 재배하였고 생육상황을 조사하였다.

나. 재식거리 시험

(1) 재식거리별 생육상황

재식거리별 시험은 폭 120cm, 높이 20cm의 재배상에 20×20cm, 25×25cm, 30×30cm로 구분하여 3반복으로 정식하여 생육상황을 조사하였다.

시비량은 N-P-K=21-17-17을 10a당 基肥로 100kg, 추비는 50kg을 분시하였으며 퇴비 3,000kg을 기준으로 厩糞基肥로 施用하여 로타리 경운을 실시하였고 시험포장의 遮光을 위하여 5월에서 10월 중순까지 차광망을 하우스비닐 위에 씌웠다.

생육조사는 농촌진흥청 농사시험조사 기준에 의하여 시험구별로 10주씩 초장, 엽수, 분얼수를 반복당 3~4주를 3반복 조사하였다.

(2) 재식거리별 병해 발생조사

20×20cm, 25×25cm, 30×30cm 등으로 구분한 재식밀도에 따른 연부병 발생률을 5~10월까지 조사하였다.

2. 溫度 및 光量이 고추냉이의 生長과 病害發生에 미치는 영향

가. 온도의 영향

온도처리 실험은 10, 17 및 23℃ 처리구로 구분한 다음 광량을 0.34×10^3 microensterins $m^{-2}s^{-1}$ 로 조절하여 생육 전기간을 생장상에서 재배관리 한 후 초장, 엽병, 지하경의 길이와 무게, 생체중 등을 조사하였으며 溫度가 고추냉이에 발병하는 주요 병해에 미치는 영향을 구명하기 위하여 병원성 검정에서 표시한 바와 같이 잎과 根莖에 病原菌을 접종하여 묵입병과 연부병의 발병을 조사하였다.

나. 遮光處理 효과

차광처리 실험은 흑색차광망을 사용하여 25, 50 및 75% 차광수준으로 구분하였고 포장에서 재배 관리한 다음 9월 15일 고추냉이의 생육상황과 주요 병해의 발생을 조사하였다. 시험구배치는 완전임의배치 3반복으로 하였으며 초장, 엽병, 근경의 길이와 무게, 생체중 등을 조사하였다.

또한 光量이 고추냉이에 발병하는 주요 병해에 미치는 영향을 구명하기 위하여 < 실험 2-(1)>과 같은 방법으로 墨入病과 軟腐病의 발병을 조사하였다.

3. 재배지대별 작형개발

가. 표고별 氣溫 및 토양의 理·化學性 조사

표고 300m, 450m, 600m 등 3개지역에 각각 50평씩 재배한 후 표고별 기온의 최고, 최저기온을 조사하였으며 栽植 前後의 pH, 유기물함량과 무기물함량 등 토양의 理·化學的 특성을 분석하여 비교하였다.

나. 표고별 생육상황 조사

종자는 採種 직후 <실험 1-가>와 같이 소독, 저온처리한 후 '96년 2월 25일 파종하고 3개월간 육묘하여 크기가 같은 묘별로 선별하여 5월 25일 지대별 적응시험을 위하여 표고 300m, 450m, 600m 등 3개지역에 25×25cm간격으로 실생묘를 정식한 후 식물체의 草長, 葉數, 근경크기 및 수량을 조사하였다.

基肥와 追肥의 사용은 <실험 1-가>와 같고 여름철의 무더위를 피하기 위하여 50% 차광망을 비닐이 씌워져 있는 비닐하우스 위에 설치하였다. 여름철의 빗방울에 의한 병원균의 오염을 막기 위하여 차광효과는 약간 떨어지더라도 비닐을 벗기지 않고 그 위에 차광망을 씌웠다.

다. 罹病株率 조사

재배표고별 軟腐病과 墨入病의 발생률을 4월~7월까지 조사하였으며 생육조건은 <실험 3-나>와 같은 조건에서 실시하였다.

라. 標高 450m 재배에서 遮光에 따른 溫度의 변화

표고 450m에서 25%, 50% 및 75%의 차광망을 설치한 후 온도변화를 조사하였다.

마. 標高 450m에서 생산된 根莖의 성장량 조사

표고 450m 재배포장에서 정식 18개월후에 근경을 수확한 후 성장량을 조사하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 재배법개선

가. 파종 및 정식기 시험

(1) 파종기별 種苗의 소질 조사

고추냉이는 신선한 상태로 이용되기 때문에 周年供給體系를 확립하기 위해서는 年中 파종기를 달리하여 年中 수확이 가능한 주년재배가 확립되어야 한다. 본 실험에서는 고추냉이 種子를 2월 25일부터 3개월 간격으로 年 4회 파종하고 정식용 종묘로 사용하기 위하여 발아율과 90일간씩 육묘한 후 種苗의 성장량을 비교, 조사하였다 (Table 4-1).

Table 4-1. The germination rate, plant height, and leaf number of seed in different sowing season after 90 days of sowing.

Sowing date	Germination (%)	Plant height (cm)	No. of leaf (plant ⁻¹)	Grading	Seedling weight(g)
Feb. 25	87	18.6	6~7	Fine	12.7
May 25	71	13.7	4~5	Medium	10.8
Aug. 25	67	16.7	5~6	Medium	11.4
Nov. 25	84	9.5	3~5	Poor	7.4

2월에 파종한 구는 발아율이 87%로 가장 높았고 초장 18.6cm, 엽수 6~7매, 苗重 12.7g으로 가장 양호한 上級 苗로 건실하게 육묘 되었으나, 5월과 8월에 파종한 구에서는 발아가 불량하였고 육묘시 고온의 영향으로 고사주가 많이 발생하였으며 苗重도 10~11g으로 中級 苗에 해당하였다. 또한 11월에 파종한 구에서는 온도관리가 불충

분하여 발아가 약간 저조하였고 생육이 지연되어 초장이 9.5cm, 葉數 3~5매, 苗重 7.4g의 下級 苗로 분류되어 정식시 문제가 되었다.

(2) 實生苗와 分株苗의 정식기별 생육상황 조사

本圃에 고추냉이를 정식하기 위하여 폭 1.2m, 높이 20cm의 이랑을 만들어 파종 후 90일된 종묘와 분주묘를 정식한 후에 생육상황을 조사한 결과(Table 4-2), 5월 25일 정식한 묘는 재식 후 고온기를 맞아 軟腐病, 墨入病 등의 병해로 인한 枯死株가 많이 발생을 하였고 8월에 재식한 묘는 정식 후 1개월정도 植傷한 후 성장 하였으며 11월에 정식한 苗는 栽植 후 바로 동절기를 맞이하여 활착하는데 50일정도 소요되었다.

Table 4-2. Plant height, leaf number, rhizome size, and number of divided seedling in seedling and divided seedling after 18 months of planting.

Planting date	Kind of seedling ^a	Plant height (cm)	No. of leaf	Root		Rhizome		No. of divided seedling (plant ⁻¹)
				Length (cm)	Weight (g)	Length (cm)	Weight (g)	
May. 25	S	32.6	35.4	16.4	34.2	5.5	22.0	11
	D	35.4	28.5	13.7	44.4	6.0	34.7	10
Aug. 25	S	50.6	32.3	18.7	39.7	5.6	23.5	8
	D	34.7	30.4	15.5	30.5	4.9	21.4	6
Nov. 25	S	35.1	24.0	14.5	23.8	4.7	16.5	5
	D	33.2	23.2	12.2	28.5	4.6	20.2	12
Feb. 25	S	36.7	21.4	19.7	48.4	6.2	31.4	7
	D	37.6	18.8	16.3	38.0	5.5	28.7	7

^a S, seedling, D, divided seedling

2월에 재식한 묘는 苗素質은 좋지 않았으나 정식 후 생육온도가 적당하여 생장이 양호한 편이었다.

草長은 2월 정식한 實生苗와 分株苗에서 가장 길었고, 근경을 포함한 뿌리의 길이와 무게를 조사한 결과 역시 2월 실생묘의 경우 길이 19.7cm, 무게 48.4g으로 가장 양호하였고 11월 실생묘 및 분주묘가 무게에 있어서 23.8g과 28.5g으로 가장 저조하였다. 한편 5월 분주묘와 11월 분주묘를 비교할 때 길이가 각각 13.7cm, 12.2cm로 거의 비슷하였는데 무게에 있어 5월 분주묘는 44.4g, 11월 분주묘는 28.5g으로 많은 차이를 보여 5월 분주묘에서 근경비대가 더 좋았다고 할 수 있다.

뿌리를 제거한 후 근경의 길이와 무게를 조사하였을 때 대부분의 처리구가 뿌리를 포함한 길이에서 약 10~13cm가량 작은 숫치를 보인 것에 비하면 5월 분주묘의 경우 13.7cm정도가 뿌리의 길이이고 근경의 길이가 6.0cm를 보였는데 이것은 뿌리생육보다 근경의 비대가 잘 이루어졌다고 할 수 있다.

또한 뿌리를 포함한 근경의 무게가 48.4g으로 가장 좋았던 2월 실생묘의 경우 근경만의 무게는 31.4g이고, 5월 분주묘의 경우 뿌리와 根莖의 무게가 44.4g, 근경만의 무게는 34.7g을 나타내 根莖重이 가장 양호하여 역시 5월 분주묘의 경우 뿌리보다 근경의 성장량이 좋은 것으로 나타났다.

18개월 후의 식물체의 分株數를 개체당 조사한 결과 5월의 實生苗, 分株苗가 각각 11개와 10개로 양호하였으며 11월 분주묘가 12개로 가장 많았고 나머지는 6~7개였다.

정식시기별 병해발생 상황은 5월 25일 재식한 구는 재식 후 고온으로 인하여 軟腐病에 의한 枯死株가 많이 발생하였으며 8월 25일 재식한 경우도 늦더위로 인하여 연부병이 많이 발생하는 경향을 보였다. 묵입병은 실생묘 재식구 보다 분주묘에서 많이 발생되었는데 그 이유는 母株로부터 분주묘에 病原菌이 전염되었고 분주시 상처난 부위로 감염된 병원균에 의하여 이병률이 높은 것으로 생각된다

나. 栽植距離 시험

(1) 栽植距離별 생육상황

우량한 고추냉이 根莖을 생산하는 요인중 재식거리별 시험을 실시하기 위하여 20×20cm, 25×25cm, 30×30cm로 3처리구를 설정하고 3반복으로 정식 18개월 후에 草長, 葉數, 葉重 및 根莖重을 조사하였다(Table 4-3).

초장은 재식밀도 30×30cm에서 32.7cm로 가장 높게 나타나 포기사이가 넓은 경우 생육이 왕성하였고 葉數에 있어서도 식물체 개체당 32.5개로 20×20cm의 24.5개에 비하여 훨씬 양호하였다. 반면에 10a당 잎의 무게는 20×20cm에서 2,640kg였지만 30×30cm에서는 1,690kg으로 많은 차이를 보였는데 이것은 밀식재배한 경우 재식된 식물체 株數가 많았기 때문이라고 생각한다.

根莖의 무게는 30×30cm에서 상품성있는 근경무게가 40g이라고 기준할 때 40g이상 43.3% 생산되어 20×20cm, 25×25cm 처리구에서 각각 23%, 37.6%를 보인것과 비교하면 栽植密度에 따라 근경생산에 큰 영향을 보인다고 할 수 있다. 20×20cm의 재식밀도가 높은 경우 근경비대는 극히 저조하였기 때문에 商品性있는 근경생산을 위해 재식밀도는 재배체계에 있어 중요하였다.

따라서 高品質의 근경을 생산하기 위해서는 포기과 포기사이의 간격을 30×30cm

Table 4-3. The growth of plant by various planting distance after 18 months of planting.

Planting distance (cm)	Plant height (cm)	No. of leaf (plant ⁻¹)	Leaf weight (kg/10a)	Rhizome weight	
				Over 40g	Below 40g
20×20	29.5	24.5	2,640	23.0%	77.0%
25×25	29.5	28.7	2,154	37.6	62.4
30×30	32.7	32.5	1,690	43.3	56.7

로 넓게 재식하는 것이 상품성이 높은 高品質의 근경생산이 양호하였고 密植될수록
 엽중이 증가하므로 가공용 고추냉이 재배에서는 밀식을 실시하여 段步當 收量을 늘려
 주는 것이 유리할 것으로 생각된다.

(2) 재식거리별 病害 발생조사

재식거리에 따른 軟腐病 발생률을 實生苗와 分株苗로 구분하여 5월부터 10월까지
 조사한 결과(Table 4-4), 5월경부터 약간씩 발병하기 시작하였는데 전반적으로 實生
 苗에서 연부병 발생은 分株苗에 비해 낮았다. 그러나 실생묘의 경우에서도 20×20cm
 처리구와 다른 두 처리구와는 큰 차이를 보여 6월에 16.7%의 발병률을 보였고 매달
 10%씩 증가하는 추세로 10월에는 50%의 發病率을 보였다. 반면에 25×25cm와 30×
 30cm 처리구는 26.7%로 절반가량 적게 나타나 재식거리에 따른 연부병 발생상황은
 큰 차이를 보였다.

分株苗 역시 7월부터 차이를 보였는데 20×20cm 처리구에서 10월까지 56.3%를 보
 여 전처리구중 가장 심하였고 역시 30×30cm 처리구에서 가장 적게 나타났지만 실생

Table 4-4. The appearance of soft rot by various planting distance.

Planting distance (cm)	Kind of seedling	Month (%)					
		May	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.
20×20	S	3.3	16.7	26.7	36.7	46.7	50.0
	D	6.7	16.7	30.0	43.3	50.0	56.3
25×25	S	6.7	10.0	13.3	20.0	23.3	26.7
	D	6.7	16.7	26.7	30.0	40.0	43.3
30×30	S	6.7	10.0	13.3	20.0	26.6	26.7
	D	6.7	13.3	20.0	30.0	33.3	36.7

S, seedling, D, divided seedling

묘에 비해 연부병 발생률이 더 심하였다.

재식거리에 대한 병해발생은 30×30cm로 栽植한 구보다 20×20cm로 재식한 구가 고온시 通風이 잘되지 않아 연부병 발생이 많았고 根莖의 크기도 작았으며 30×30cm는 側枝가 20×20cm 보다 많이 발생 하였다.

2. 溫度 및 光量이 고추냉이 生長 및 病害發生에 미치는 영향

(1) 溫度의 영향

고추냉이의 生長에 미치는 온도의 영향은 Table 4-5와 같다. 유묘를 정식한 뒤 180일후 실험조사에서 온도효과는 23℃구보다 10℃구에서 생육이 비교적 양호하였으나 모든 주요 形質은 17℃구에서 가장 우월하였다. 초장은 생육온도에 따라 처리구 간 차이가 현저히 인정되었으나 17℃구에서 34.0cm로 가장 좋은 결과를 보였으며, 葉柄의 길이와 직경은 17℃구를 頂点으로 이보다 온도가 높거나 낮음에 따라 감소되는 경향을 보였으며 23℃구가 10℃구에 비하여 저조하였다. 根莖에 있어서 직경은 10℃

Table 4-5. Comparison of agronomic characteristics of different temperature and disease incidence of wasabi which grown under 0.34×10^3 microein-stems M^2/sec .

Temp. (°C)	Plant height (cm)	Plant size(cm)				Fresh weight of a wasabi plant(g)				Disease incidence (%)	
		Petiole		Rhizome		Leaf	Petiole	Rhizome	Rootlets	Black leg	Soft rot
		Diameter	Length	Diameter	Length						
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}	8.1b ^c	0.35 ^b	3.4 ^c	0.7 ^c	2.5 ^c	0.26 ^c	0.18 ^{bc}	73.3	86.7

* Duncan's multiple range test with columns at 5% level.

와 23℃구간에서는 유의차가 인정되지 않았으나 10℃구에서 비교적 양호하였고 17℃구에서 0.71cm로 가장 양호하였으며 길이는 각 처리구별로 유의차가 인정되었고 역시 17℃에서 6.5cm로 가장 길었다. 한 株當 고추냉이의 생체중을 비교한 경우에 있어서도 17℃구에서 기타 처리구에 비하여 葉重, 葉柄重, 根莖이 모두 가장 무거웠으며 10℃구가 23℃구보다 양호한 경향이였다.

온도가 높아짐에 따라서 墨入病과 軟腐病의 병해발생은 증가하였다. 묵입병의 경우 10℃, 17℃, 23℃처리구로 구분하여 병해발생을 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 病原菌의 최적 생육적온과 고추냉이의 재배시 고온조건에서 병해발생률과 상관관계가 있는 것으로 생각된다.

軟腐病 발생에 미치는 온도의 영향은 10℃, 17℃ 및 23℃구로 구분하여 병해발생을 조사한 결과 53.7%, 66.7%, 86.7%의 발병률을 나타냈다. 軟腐病 발생과 온도와의 관계는 墨入病과 같은 양상으로 온도가 상승함에 따라 병해의 발생도 많았다.

(2) 遮光處理 효과

遮光이 고추냉이의 생육과 주요 病害 발병률에 미치는 영향은 Table 4-6과 같다.

Table 4-6. Comparisons of agronomic characteristics and disease incidence of wasabi in different shading condition.

Shading ^z (%)	Plant height (cm)	Length of main rhizome (cm)	Diameter of main rhizome (cm)	Rhizome weight (g/pl.)	Whole plant weight (g/pl.)	No. of leaves/pl.	Disease incidence(%)	
							Black leg	Soft rot
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

^z Shading was controlled with dark polyethylene nets.

고추냉이의 생육은 遮光의 정도가 증가함에 따라 생육의 차이가 인정되었는데 초장의 경우 차광처리별 유의성이 인정되었으며 75% 차광시 草長과 根莖이 각각 31.3cm와 7.1cm로 가장 양호한 결과이었고 遮光의 정도가 낮아짐에 따라 성장량이 저조하였다. 根莖의 크기에 있어서 75% 차광구가 50%와 25% 차광구에 비하여 유의성이 인정되었으나 50%와 25% 차광구의 처리간에는 유의성이 인정되지 않았다. 根莖의 直徑과 무게에 있어서 75% 遮光區가 기타 처리구에 비하여 양호하였으며 전체 生體重은 75%, 50% 및 25% 차광구 처리구간에서는 유의차가 인정되었으며 75% 차광구에서 20.1g으로 차광의 효과가 월등히 높았다. 株當 葉數도 차광의 정도가 낮을수록 감소하는 경향이였다.

병해에 있어서는 自然光을 25%, 50%, 75% 차광처리한 실험구에서 차광이 많았던 75% 차광실험중 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. 墨入病과 軟腐病의 병원균을 접종한 후 병해 발병률을 조사한 결과 차광률의 증가에 따라 발병률이 감소하는 경향이었는데 墨入病의 경우 75% 차광구에서 63.3%의 發病率을 보였으며 軟腐病의 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 높았다.

3. 재배지대별 작형개발

가. 標高別 기온 및 토양의 理·化學性 조사

고추냉이 재배적지를 조사하기 위하여 耕作地 분포가 많은 지역에서 冬期の 극기온이 높고 夏期の 최고기온이 낮은 표고별(300m, 450m, 600m)로 3개소에 각기 50평씩 재배한 후 식물체 주변의 기온을 측정하였다(Table 4-7).

'96년 6월부터 '97년 9월까지 재배기간 중 매달 표고별 최고온도와 최저온도를 조

사하였는데, 冬節期の 최저와 夏節期の 최고기온의 차가 300m의 경우 23.3℃, 450m는 21.3℃, 600m는 19℃를 보였고, 各 표고별 夏節期 8월의 최고기온을 보면 300m는 29℃, 450m는 27.8℃, 600m는 27℃로 300m와 600m는 2℃차이를 보였으며, 동절기 1월의 최저기온은 300m가 -5.7℃, 450m가 -6.5℃, 600m는 -8.0℃를 나타내어 표고가 높을수록 1~2℃정도 차이를 보였다.

고추냉이의 생육온도는 6~20℃이고 최적온도는 8~18℃이며 생육정지는 0~6℃에서 영향을 받게 되는데, 겨울에는 -3℃이하로 내려가면 동해를 입게되고 여름철에는

Table 4-7. The change of air temperature in 300~600m altitude.

Month	Maximum air temp.(℃)			Minimum air temp.(℃)		
	300m	450m	600m	300m	450m	600m
'96 Jun.	22.7	21.4	20.2	17.8	16.9	16.0
Jul.	37.4	26.3	25.3	20.6	19.7	18.5
Aug.	29.0	27.8	27.0	22.0	19.8	18.7
Sep.	23.9	23.0	22.1	13.4	12.5	11.4
Oct.	19.2	18.0	16.8	5.3	5.6	4.7
Nov.	14.5	12.2	11.0	2.9	2.4	-1.4
Dec.	10.8	9.5	8.7	-2.4	-2.5	-4.8
'97 Jan.	6.6	5.8	3.8	-5.7	-6.5	-8.0
Feb.	12.0	10.4	9.1	-4.8	-5.9	-7.6
Mar.	18.3	17.2	16.0	-0.2	-0.7	-1.2
Apr.	25.1	23.5	12.4	5.4	3.8	3.3
May	21.0	18.4	18.5	10.5	9.7	9.3
Jun.	26.1	25.0	23.4	18.0	16.1	15.2
Jul.	27.0	26.3	25.3	20.2	18.6	17.3
Aug.	28.0	26.6	25.6	20.4	19.0	17.4
Sep.	24.5	23.2	21.8	14.0	12.5	11.0

25℃이상이 되면 연부병이 발생한다고 한다(星谷, 1996). 이것을 기준으로 볼 때 표고별 栽培地의 기온분포는 300m와 450m의 경우 5월~9월까지, 600m는 6~8월까지가 여름철 고온시에는 氣溫이 30℃를 훨씬 넘게되므로 고추냉이는 여름철 直射日光을 받을 경우 생육에 큰 타격을 받게 되므로 여름에는 최고온도가 25℃이상 고온에 처하지 않도록 통풍이 양호한 입지적 조건이 적합한 지역을 택하는 것이 중요하였다. 특히 밭재배의 경우 물재배보다도 피해가 큰 편이므로 본 재배지의 년중 기온분포를 감안할 때 여름에는 50%이상의 遮光網을 설치하고, 겨울철 最低氣溫의 경우 300m와 450m는 12~3월까지, 600m는 11~3월까지 0℃이하였는데 地帶가 높은 지역일수록 역시 동절기 凍害가 우려되므로 겨울에는 반드시 2중터널 및 보온덮개 등을 사용하여 最低 0℃이상이 되도록 기온을 높여 계속적으로 성장하도록 保溫 혹은 加溫施設이 요구되었다.

한편 標高別 재배시기에 따라 토양의 理·化學的 특성을 分析하였던 바(Table 4-8) 토양의 이·화학적 특성은 3개 지역 모두 砂質壤土이었고 pH가 標高別로 300, 450, 600m에서 시험재배전 5.8~6.1범위 이었는데 石灰를 시여하고 재배중인 '96년 9월 조사에서는 pH가 6.5~6.9이었으며 '97년 9월조사에서는 6.3~6.8로 재배기간이 지남에 따라 다소 낮아졌다. 재배포장이 熟田으로 되어 있어 pH에 큰 변화가 없었고 약산성~약알칼리성이면 재배에 적합한 보고와 비슷하였으며(足立, 1995) 유기물함량은 栽培前에는 1.7~2.2%로 비교적 낮았는데 퇴비사용으로 2.9~4.1%까지 높게 유지하고 있어 양호한 조건이었고 재배기간이 경과함에 따라 약간 감소되는 경향이였다.

총 질소량은 0.13~0.31% 범위이었고 가용성 磷酸의 함량은 표준범위에 있었고 CEC는 '96년과 '97년의 고추냉이의 재배중 分析値가 10.1~112.1의 범위에 아직 낮았다. 기타 K, Ca, Mg, Na成分에서 Ca과 K은 낮았으나 Mg성분은 비교적 높았고 Na 성분은 적정수준으로 평가되었다.

Table 4-8. The analysis of soil.

Altitude (m)	Date	pH	Organic matter (%)	Total N (%)	Available P (ppm)	CEC	Exchangeable cation(cmol/kg)			
							K	Ca	Mg	Na
300	'96. Mar.	6.0	1.8	0.13	195	10.8	0.2	1.9	1.1	0.1
	'96. Sep.	6.5	3.2	0.18	240	11.9	0.3	3.9	1.8	0.2
	'97. Sep.	6.3	2.6	0.19	220	11.2	0.2	2.2	1.3	0.1
450	'96. Mar.	6.1	2.2	0.20	235	10.4	0.3	2.3	1.2	0.1
	'96. Sep.	6.9	4.1	0.31	285	12.1	0.6	4.1	2.7	0.1
	'97. Sep.	6.8	3.2	0.27	243	11.0	0.4	3.3	1.5	0.1
600	'96. Mar.	5.8	1.7	0.21	218	9.8	0.1	1.7	1.0	0.1
	'96. Sep.	6.6	2.9	0.28	268	10.5	0.2	3.6	1.8	0.2
	'97. Sep.	6.4	2.3	0.23	246	10.1	0.2	2.5	1.2	0.1

나. 표고별 생육상황 조사

정식 18개월 후 표고별 생육상황을 조사한 결과(Table 4-9) 표고 300m에서는 기온이 높은 관계로 軟腐病 등 병해가 심하게 발생하여 생육상황이 극히 저조하였는데 초장이 28.1cm로 450m와 600m에서 각각 37.5cm, 38.8cm를 보인것에 비해 훨씬 작았으며 葉數에 있어서도 18.1개로 450m와 600m에서 각각 32.3, 33.2개인 것에 비하여 상당히 저조하였다. 그러나 450m와 600m는 600m에서 약간 높았으나 큰 차이를 보이지 않았다.

수확한 근경의 조사에서 표고가 높을수록 길이, 무게, 직경 등이 큰 것으로 나타났고 근경 역시 300m재배지에서는 다른 두 재배지와 비교할 때 길이에서 약 7cm 정도 작았으며 무게와 직경은 600m와의 비교에서는 거의 반절에 지나지 않았는데 이것은 고추냉이의 재배에서 가장 문제점인 내서성이 약하기 때문으로 낮은지대에서는 여름

철 고온의 피해가 표고가 높은 450m, 600m에 비해 훨씬 높았고 고추냉이의 경제적 재배가 불가능하였다.

같은 재배기간에서 표고에 따라 여름철 병해발생에 의한 피해가 300m에서 많이 발생하였기 때문에 생육의 저하로 당연히 근경비대를 기대하기는 어려웠다. 본 실험에서 450m와 600m에서 근경수량 및 크기가 거의 비슷하며 600m의 경우 겨울철 최저 기온이 -8℃까지 내려가기 때문에 여름철 재배보다 겨울철 한해에 대한 보온시설에 상당한 비용이 소요되는 문제점이 있었다.

450m지대에서도 商品性있는 고추냉이의 생산은 600m와 별로 차이를 보이지 않았기 때문에 모든 재배여건을 고려한다면 標高 450m지대가 재배에 적당하였는데 地形이나 土質 등 환경여건이 양호한 장소에서 재배되어야 함은 물론이다.

Table 4-9. The growth of plants in 300~600m altitude after 18 months of planting.

Altitude (m)	Plant height(cm)	No. of leaf	Rhizome(Plantlet ⁻¹)			Yield (kg/10a)
			Length (cm)	Weight (g)	Diameter (mm)	
300	28.1	18.1	3.4	15.4	12.6	150
450	37.5	32.3	10.5	38.5	23.4	276
600	38.8	33.2	10.8	38.7	22.2	285

다. 罹病株率 조사

고추냉이의 재배 표고별 軟腐病과 墨入病의 발생률을 實生苗와 分株苗로 구분하여 정식한 후에 4월부터 10월까지 조사한 결과 표고가 낮은 300m지역에서는 모든 병해의 발생이 가장 많은 경향을 보였는데, 軟腐病의 경우(Table 4-10) 표고 300m에서 실생묘는 45.4%가 발생하였으며, 600m에서는 24.8% 발생률을 보여 표고가 낮은 300m 지역이 기온이 높아 고온에서 발생하는 연부병이 특히 많이 발생하는 경향을 보였다.

450m이상에서는 차광과 통풍만 잘해주면 큰 차이를 보이지 않았으며 實生苗와 分株苗의 경우 분주묘가 다소 발생이 심하였는데 이것은 영양번식에 의한 높은 감염과 상처를 통한 感染으로 생각할 수 있다.

Table 4-10. The appearance of soft rot by various planting distance.

Altitude (m)	Kind of seedling ^a	Month (%)						
		Apr.	May	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Dec.
300	S	3.3	10.0	16.7	26.7	33.3	40.0	45.4
	D	6.7	10.0	16.7	30.0	43.3	46.7	50.0
450	S	3.3	6.7	10.0	13.3	20.0	23.3	26.7
	D	3.3	10.0	16.7	26.7	30.0	36.7	36.7
600	S	3.3	6.7	10.0	13.3	20.0	23.3	24.8
	D	3.3	10.0	13.3	20.0	30.0	33.3	36.7

^a S, seedling, D, divided seedling

목입병의 발생을 보면(Table 4-11) 4월부터 발생하여 기온상승기인 7월에 발병률이 제일 높았으며 그 후에는 증가속도가 완만하였고 10월까지 발병하는 것으로 조사되었는데 450m와 600m의 경우 분주묘에서 43.3%와 46.7%를 보인 반면에 실생묘에서는 모두 36.7% 발생률을 보여 약 10%정도 낮았으며 표고가 낮은 300m에서는 실생묘에서 43.2% 발생되어 다른 두 재배지에서 보다 약간 높았고 분주묘에서는 거의 같은 발병률을 보였다.

墨入病 역시 연부병과 마찬가지로 고추냉이의 근경에 발생하는 주요 병해로 근경이 비대되어도 목입병에 감염된 근경은 상품가치가 없기 때문에 발병이 많은 시기에 약제살포에 의한 방제대책이 요구되었다.

Table 4-11. The appearance of black leg disease by various in 300~600m altitude.

Altitude (m)	Kind of seedling ^a	Month (%)						
		Apr.	May	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Dec.
300	S	3.3	10.0	16.7	26.7	33.3	40.0	43.2
	D	6.7	10.0	20.0	30.0	40.0	43.3	46.7
450	S	3.3	6.7	16.7	26.7	30.7	33.3	36.7
	D	6.7	10.0	16.7	30.0	36.7	40.0	43.3
600	S	3.3	6.7	10.0	23.3	26.7	33.3	36.7
	D	6.7	10.0	16.7	30.0	36.7	40.0	46.7

^a S, seedling, D, divided seedling.

라. 標高 450m재배에서 遮光에 따른 溫度의 변화

고추냉이는 겨울철의 약한 광선 아래에서는 직사광선을 받아도 나쁜 영향은 없지만 여름철의 직사광선 아래에서는 광선이 나치게 강해서 잎이 타는 일소현상이 나타나며 생육이 저해되어 병을 일으키고 枯死하게 된다. 그러나 지나치게 약한日照 아래에서는 근경 비대가 떨어지고 缺株가 많아지게 된다. 그리고 광선이 많이 투과될수록 온도 상승요인이 되므로 이 시험에서는 5월 초순부터 10월 중순까지 遮光하였다가 10월하순에서 4월 말까지는 遮光網을 제거하였다.

Table 4-12에서 보는 바와 같이 25% 차광망 사용시는 1℃미만의 기온변화가 있었으나 75% 차광망을 사용하였을 때에는 2~3℃까지 차이가 있었다.

고추냉이의 생육온도는 8~15℃라고 하지만 실제 재배에서 20℃까지는 생육에 큰 지장은 없는 편이었다. 따라서 차광처리에서도 20℃이상이 되는 경우는 모든 처리구에서 7~8월이었는데 25%처리에서 7월과 8월에 각각 21.8%와 23.3%를 보였고 50%

Table 4-12. The change of temperature by shade culture in 450m altitude.

Shading (%)	Month(°C)					
	May	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.
25	15.4	19.9	21.8	23.3	17.1	11.6
50	14.5	19.0	21.5	22.7	16.6	11.0
75	13.8	18.0	20.2	21.0	15.4	10.5
Air temp.	16.0	20.6	22.5	24.0	17.7	12.5

처리는 21.5%와 22.7%를 보여 일반적으로 알려진 생육에 지장을 주는 온도를 나타내었으나 7~8월의 차광은 75%정도로 높여줄 때 생육적은 범위를 크게 벗어나지 않았다.

마. 標高 450m에서 생산된 根莖의 성장량 조사

分株苗의 표고별 시험에서(Photo. 4-1a, b) 식물체의 생장이 가장 양호한 표고 450m에서(Photo. 4-1c) 정식 18개월에 수확한 根莖을 상품화할 수 있는 크기로 분류하여 길이, 폭, 무게를 조사하였다(Table 4-13). 根莖의 길이나 직경에 있어서 大, 中, 小로 분류하였을 때 小의 경우는 상품화할 수 없는 것으로 근경의 비대가 거의 이루어지지 않은 상태였는데(Photo. 4-1e) 이 경우 葉柄과 잎, 빈약한 근경은 가공공장에서 대부분 소비가 이루어졌고 일부는 分株苗로 사용되었다.

본 조사에서는 大(Photo. 4-1d, f), 中으로 구분된 상품성 있는 근경만을 조사하였는데 大의 경우 길이는 가장 긴것이 15.0cm, 가장 작은 것이 9.6cm로 구분하여 약 11.2cm였고, 中の 크기는 9.0~7.0cm의 것으로 8.36cm였다.

직경의 경우 葉柄이 붙어있는 부분부터 상, 중, 하로 구분하여 조사한 결과 大의 경우 가운데 부분이 2.53cm로 윗부분 1.86cm, 아래부분 1.68cm에 비하여 크게 肥大되어 있었다. 반면에 中の 경우는 윗부분 1.64cm, 중간부분 1.87cm, 아래부분이 1.14cm로



Photo. 4-1. Plants growth and products after the planting. a, b: Divided seedlings(a) and planting method(b), c: Plants growing in field of 450 m altitude, d, e: Large(d) and small(e) rhizomes yielded after 18 months of planting in 450m altitude, f: Rhizomes merchandised.

여 백

Table 4-13. The size of rhizome in 450m altitude after 18 months of planting.

Rhizome size	Length(cm)	Diameter(cm)			Weight(g)
		Upper part	Middle part	Under part	
Large	11.21±0.51	1.86±0.09	2.53±0.11	1.68±0.14	46.8±2.84
Middle	8.36±0.36	1.64±0.07	1.87±0.09	1.14±0.06	24.9±2.49

거의 비슷한 크기를 보여 大의 경우와 비교할 때 상품성이 크게 저하되어 주로 가공용으로 출하되었다.

根莖의 무게에 있어서도 大의 경우 46.8g, 中의 경우 25.0g으로 약 20g이 차이가 났는데 표고 450m에서 수확한 근경중 약 50%정도는 大의 크기였고 나머지 50%는 中과 小의 크기였는데 본 실험의 발재배에서도 상품성있는 근경비대가 이루어져 고품질의 근경생산이 가능하였다.

고추냉이의 種子는 전형적인 발아억제 종자로서 발아촉진을 위하여 발아온도, 휴면타파 등에 관한 실험이 행해졌는데, 고추냉이 종자의 休眠의 원인은 주로 종피에 있는 발아억제물질이라고 하여 種皮를 완전히 제거하면 휴면이 깊은 시기에 도 전부 發芽되었다고 하였고, 가장 유효한 발아온도는, 休眠이 깊은 시기에서는 15℃이지만(山村 등, 1979) 휴면이 약하게 된 후에는 20℃가 평균발아일수가 적게 되기 때문에 良好하다고 하였다(中村와 Sathiyamoorthy, 1990a).

또한 고추냉이의 종자는 건조에 약하고 低溫濕潤貯藏을 행하여도 휴면이 낮아질 경우 萌芽의 출현이 문제가 되는데 萌芽抑制를 위해서 생장억제제를 첨가한 실험에서 PEG용액이 萌芽防止에 효과적이라고 하였다(中村와 Sathiyamoorthy, 1990b).

이와 같이 고추냉이 종자는 채종 후 파종시기까지 저장하는 방법에 따라 발아

을에 많은 영향을 미치게 되고, 건실한 育苗은 정식후에도 생육에 영향을 주기 때문에 재배법을 향상시키기 위한 한 방법으로 재배작형에 따라 파종시기를 달리 할 경우 발아율 및 본엽출현에 많은 영향을 주게된다.

김 등(1996)은 종자를 채종한 후 모래습윤층적저장 및 준고냉지(표고 500m)에 매몰저장 한 다음 파종시기를 달리하여 발아율 및 포장출현율을 조사하였는데 모래습윤저장시 8월 30일과 9월 15일 파종한 경우 發芽率 및 포장출현율이 낮았고 9월 30일부터 15일 간격으로 10월 30일 파종한 경우 90%이상이었으며 露天埋藏의 경우 9월 20일부터 이듬해 3월 중하순에 파종한 종자에서 발아율이 높았다고 하여 播種時期에 따른 발아율 및 圃場出現率에 영향이 있음을 보고하였다. 본 실험에서 파종기를 2월 25일, 5월 25일, 8월25일 및 11월 25일로 구분하여 90일간 육묘 후 파종기에 따른 발아율 및 묘의 소질여부를 조사하였는데 2월 25일 파종한 묘가 발아율 87%, 초장 18.6cm, 유묘의 무게는 12.7g을 나타내 가장 양호하였다.

고추냉이는 재배중 계속해서 수확, 출하가 가능하기 때문에 재배지의 자연환경조건에 따라 정식시기를 달리하므로써 생육 및 우량품질의 根莖生産에도 영향을 미치게 된다. 星谷(1996)는 고추냉이의 경우 정해진 정식시기는 없지만 여름철 고온인 8월은 생육정지기이기 때문에 이식후에 활착이 나쁘고 病害發生이 심하다고 하여 일반적으로 행하지 않는다고 하였고, 根莖의 비대를 포함한 신장기가 봄과 여름의 2회로서 이 시기는 새로운 뿌리의 발생도 많기 때문에 고추냉이의 이식시기는 봄과 가을이 좋다고 하였다. 봄에 정식하는 경우 생육은 약간 떨어지기 때문에 여름철 생육정지기까지 생육을 왕성하게 하여 根莖 비대가 되도록 하고 3월~5월까지 정식이 완료되어야 하며, 가을의 경우 9월~10월이 적당하고 늦어도 11월 중순에는 정식이 끝나야 한다고 하였다. 또한 가을에 정식하는 경우 활착이 빨라서 겨울의 깊은 추위가 오기 前 새로운 뿌리가 충분히 발생한 후 越冬하기 때문에 이른 봄부터 莖葉의 신장이 왕성하고 根莖의 비대가 촉진된다고 하였다.

고추냉이에 있어 根莖이 큰 것일수록 상품성이 인정되지만 근경이 비대되려면 적어도 18개월이상의 재배기간을 요하게 된다. 그러나 재배기간이 길면 길수록 軟腐病이나 墨入病이 발생되기 쉽기 때문에 비록 근경은 소형이더라도 재배기간을 가능한 단축하여 건전한 根莖을 생산할 경우 가격이 싸기 때문에 수요가 증대된다는 점에서 잇점도 있다(橫木, 1966).

그러나 재배기간은 단축되어도 여름철 생육정지기에 生育을 계속할 수 있도록 재배조건을 개발하므로써 根莖肥大를 시킬 수 있고, 실생묘의 경우 육묘기간을 단축하거나 정식시기를 달리하여 良質의 근경을 생산하는 것이 필요하다.

본 실험에서 정식시기를 달리하여 생육 및 病害發生率을 조사하였는데 5월 25일과 8월 25일 栽植한 경우 고온으로 인한 연부병 발생이 심하였고, 11월 식재묘는 겨울철 저온에 의한 생육저하로 활착기간이 상당기간 요구되어 植物體 생장이 느렸으며, 2월 25일 정식묘는 정식 후의 성장속도가 비교적 빠른편으로 여름철 고온의 장해를 덜 받는 것으로 나타났다.

胡 등(1986)에 의하면 고추냉이의 生育溫度는 8~20℃이고 최적온도는 15~18℃라 하였으며 25℃이상에서는 생육에 지장을 받고 冬季時 3℃에서 寒害를 입는다고 보고하였다. 또한 고추냉이의 외부환경 실험에서 臺灣의 고산지대(해발 1200m)를 중심으로 재배한 결과 夏季의 적온은 14℃였으며 冬季時에는 5℃에서 생육이 가장 旺盛하였다고 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.

溫도와 墨入病 발생관계에 대한 연구보고(胡, 1984; 太田와 中野, 1992; 多久田 등, 1973)가 다수 있으나 그 중 橫木(1952)는 묵입병과 온도와와의 실험결과 9℃에서부터 병원균이 식물체에 侵入하기 시작하여 25℃전후 온도에서 병의 발병과 病斑의 크기가 가장 크게 형성되었다고 보고하였으며, 온도에 따라 病害의 발생과 병반의 형성에 차

이가 있다고 하였다. 胡 등(1986)에 의하면 고산지역에서 묵입병의 발병률은 80%이었으며 줄기에 형성되는 병반의 크기도 1~8cm라고 보고하였다. 본 연구와 이들 보고와의 발병률 차이는 실험환경조건의 차로 인정되나 발병의推移는 개략적으로 같은 경향이였다.

鈴木(1976)는 연부병의 발생조건으로 18~19℃의 水溫에서 병해가 격발하며 온도와 연부병 발생과 밀접한 관계가 있다고 하였다. 또 鈴木(1976)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 발병률이 일치됨을 알 수 있었다. 또한 병원균의 침입이 묵입병의 경우 9℃부터 침입이 이루어지며 연부병도 물재배고추냉이의 경우 병원균 생육 최적온도인 28℃보다 낮은 20℃에서 격발되는데 병원체의 최적 생육온도 보다 낮은 온도에서 침입이 이루어지기 때문에 고추냉이의 생육에 알맞은 저온도에서 재배하여야 할 것으로 생각된다.

胡 等(1986)은 자연환경상태에서 인위적으로 차광처리를 한 실험결과 75~80% 차광이 고추냉이의 생육에 가장 적합한 생육조건이라 하였다. 본 연구책임자는 日本의 고추냉이 주산단지인 靜岡縣과 島根縣의 독농가를 직접 답사하였던 바 재배포장은 대부분 물재배지였으며 600m내외의 高山地帶에서 喬木性인 삼나무로 遮光되어 하루중 직사광선이 쬐이는 기간이 약 2시간에 불과한 곳에서 良質의 고추냉이가 생산되고 있음이 조사되었다. 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 생각된다.

鈴木(1976)는 연부병의 방제를 위하여는 특히 고온기에 50~80%의 차광으로 온도

를 낮추어주는 것이 효과적이라고 하였다. 이와 같은 결과로 보아 묵입병의 경우 강한 光度가 半陰地植物의 잎 조직에 자극을 주어 병원균이 용이하게 침입되어 발병하는 것으로 생각되며, 반면 軟腐病의 경우는 강한 光度로 인하여 온도가 증가함에 따라 병원균의 활성이 높아져 용이하게 조직을 침입하여 발병되는 것으로 생각된다. 따라서 고추냉이의 병해발생에 있어서 일사량과 온도조건이 病原菌의 발병, 생장에 직·간접적으로 영향을 미치는 주요 요인으로 작용하였다.

고추냉이는 생육조건이 까다롭기 때문에 자연적인 재배지는 극히 제한되어 있다. 표고는 온도에 미치는 간접적인 요소가 되고 적당한 온도조건이 되기 위해서는 해발 400~500m이 적당하고 800~1000m이상의 장소는 여름철 기온상승에는 문제가 없지만 겨울철 저온에 의한 凍害를 입게되는 문제가 있다.

일본에서는 1년반을 밭재배로 재배한 후 우량주를 선발하여 와사비漬에 이식하여 물재배로 수개월간 재배한 후 출하하는 방법도 고안하여 밭재배의 품질을 향상시키려는 일련의 시도를 한 바 있으나 역시 물재배에서의 품질만큼 향상되지는 않았다고 하였다(垂井, 1958). 또한 밭재배의 경우 물재배에 비하여 생산이 불안정하게 되기 때문에 재배지 선정에 많은 어려움이 따르는데 여름철 기온이 비교적 낮은 산간지대에서 평균기온이 23℃를 초과하지 않는 서늘한 장소로 표고 400m이상의 지대를 요구하게 된다(橫木와 上野, 1971). 이와 같이 밭재배는 물을 이용하지 않기 때문에 재배가 쉽다는 잇점이 있지만 물을 이용하지 않기 때문에 고온이나 저온, 건조 등의 영향을 받기 쉽게 되고 생산성이 불안정한 원인이 된다(梶谷, 1996).

또한 생산된 고추냉이 根莖의 크기는 해발 450m 재배지에서 근경중 40g이상의 상품성있는 개체가 가장 많이 생산되었는데, 李 등(1995)이 물재배와 밭재배에서 생산된 고추냉이 根莖의 크기별 조사에서 물재배는 6cm, 밭재배는 7cm 범위의 크기가 가장 많았고 根莖長이 9cm이상의 대형은 물재배에서 27.5%, 밭재배에서 13.2%였다고 하였으며 根莖重의 경우 40g이상은 조사개체수중 물재배의 경우 57%, 밭재배는 54.2%로 물재배가 약간 높았으나 밭재배도 크게 뒤떨어지지 않는 결과였다.

본 실험에서 표고 450m 밭재배의 경우 根莖長은 상품성있는 大形은 9.6~15.0cm 였고 조사개체의 평균 무게는 46.8g으로 根莖肥大는 양호한 편이었는데 우리 나라의 경우 일본과 같이 고추냉이 물재배조건이 형성되지 않은 상태에서 주로 밭재배에 의존하고 있는데 栽培適地를 선정하여 재배한다면 상품성있는 고추냉이 高品質生産은 충분히 가능하였다.

제 4 절 결 론

1. 재배법 개선

고추냉이 재배법의 개선을 위하여 播種期와 定植期를 달리하여 연중 재배시험을 실시하였고 優良 고추냉이 생산을 위하여 재식거리별 요인을 구명하기 위하여 재식거리별 시험을 실시하여 생육, 병해, 수량 등 제 특성을 조사 하였다.

가. 播種과 定植期를 달리한 시험에서는 11월에 파종한 구는 冬期の 추위로 種苗의 소질은 좋지 않았으나 2월에 정식한 후 곧이어 생육적온이 도래하여 생육이 가장 왕성하였고 5월에 파종한 구는 발아율도 저조하였고 정식후의 生育도 좋지 않았다.

나. 初期生育 및 수량에 있어서는 分株苗가 實生苗 보다 22% 높은 수량을 보였으나 高溫期の 병해에 대하여 약했다.

다. 栽植距離는 20×20cm가 평당 식재주수가' 많게 되어 30×30cm보다 지상부의 수량은 많았으나 고온기에 통풍이 잘 안되어 軟腐病 발생이 많았고 근경의 크기가 작았다. 재식간격이 30×30cm로 약간 넓게 심은 곳에서 상품성이 높은 根莖이 수확되었고 加工用 및 短期栽培를 하려면 20×20cm로 심는 것이 품질은 낮았지만 收量性이 높았다.

2. 溫度 및 光量이 고추냉이 生長 및 病害發生에 미치는 영향

가. 고추냉이의 生育에 미치는 온도의 영향은 生體重, 根莖重 등에서 17℃구가 10℃나 23℃구보다 양호하였고, 온도가 높을수록 墨入病과 軟腐病의 발병률이 높아 23℃구에서의 발병률은 각각 73.3%와 86.7%로 나타났다.

나. 遮光處理에서는 75% 차광구가 草長, 根莖重 등이 25%, 50%구보다 높았고 묵 입병과 軟腐病도 가장 낮게 발병되어 여름철의 高溫과 직사광선을 피하기 위하여 차광처리가 필수적이었다.

3. 지대별 작형개발

가. 生育에 있어서는 2월과 5월까지 生長하였고 6월부터 8월까지는 夏枯現象으로 초장 및 생체중이 작아졌으며 다시 9월에서 12월까지 재생육 하다가 겨울동안에 추위로 잎이 枯死하는 등 위축되었다.

나. 夏節期에는 최고온도가 25℃이상 高溫이 계속되었는 바 온도를 낮추기 위해서는 75% 遮光網을 설치하고 通風이 잘 되도록 해야 하며 冬節期에는 최저온도가 0℃ 이하로 저하되었는 바 반드시 2중텐넬과 보온덮개를 사용하여 식물체가 凍害를 받지 않고 계속하여 生長하도록 保溫 혹은 加溫施設이 필요하였다.

다. 토양은 砂質壤土이고 고추냉이 生育에 적합한 弱酸性반응이었고 유기물과 질소, 가용성 인산의 함량은 표준범위이었으며 CEC와 Ca, K의 함량은 낮았고 Mg성분은 비교적 높은 수준으로 평가되었다.

라. 표고별 병해조사에서 軟腐病의 경우 標高 300m에서는 6월~8월의 기온이 높은 시기에 가장 많이 발생하였는데 10월까지 조사결과 300m지대에서는 45.4%로 나타났는데 반해 450m와 600m에서는 각각 26.5%와 24.8%로 나타나 가장 심하였다.

마. 墨入病은 450m와 600m에서 분주묘의 경우 각각 43.3%와 46.7%를 나타내어 실생묘가 36.7%를 나타낸 것에 비해 약 10%정도 더 발생되었으며 300m의 경우에는 실생묘가 43.2%, 분주묘가 46.7%를 나타내어 심한 발병을 보였다.

라. 收量은 300m지역이 軟腐病, 墨入病 등의 장애로 인하여 생육이 저조하고 600m지역의 50%정도의 수량밖에 생산되지 않았으며 품질도 제일 좋지 않아 고추냉이 재배의 적지가 아니었으며, 450m와 600m에서는 큰 차이를 보이지 않았고 商品性이 높은 根莖이 생산되어 재배적지로 평가되었다.

제 5 절 참 고 문 헌

1. 足立昭三. 1988. ワサビ栽培. p13-21.
2. 星谷佳功. 1996. ワサビ栽培から加工, 賣り方まで. 農文協. p. 57.
3. 横木國臣, 上野良一, 1971. ワサビ山間地の有利な副業. p112
4. 이성우, 강철환, 이정일, 허익순, 이태호, 최인식. 1995. 고추냉이 재배조건에 따른 생육과 근경수량. 농업논문집. 37(1):110-116
2. 垂井昌明. 1958. ワサビの有利な栽培. 農業および園藝. 33(3):506-510.
5. 胡敏夫. 1984. 山葵栽培與管理. 臺灣省農業試驗所報告書 1-17.
6. 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.
7. 김순곤, 김동원, 황창주, 남상식. 1996. 고추냉이 種子의 休眠打破, 貯藏中 幼芽出現抑制 및 播種期에 관한 연구. 藥作誌. 4(1):64-76.
8. 中村俊一郎, Sathiyamoorthy, P. 1990a. ワサビ種子の發芽に關する研究. 園學雜 59(3):573-577.
9. 中村俊一郎, Sathiyamoorthy, P. 1990b. ワサビ種子の貯藏に關する研究. 園學雜 59(3):579-587.
10. 日本植物病理學會. 1980. 日本有用植物病名目錄. p.73-74.

11. 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. 關東東山病害蟲研會年報 39 : 113-115.
12. 邱年永. 1974. 藥用植物栽培法. 大學圖書出版社 p. 9-97.
13. 鈴木春夫. 1976a. ワサビ主要病害の生態と防除. 植物防疫 30:374-378..
14. 鈴木春夫. 1976b. ワサビの病害 p. 451-459.
15. 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しての根莖, 根への病變移行と2,3條件. 日植病報 39:166-167.
16. 山村眞次, 井田昭典, 栗原茂次. 1979. ワサビ實生繁殖に関する試験. 東京都農試報告. p. 7-15
17. 横木國臣. 1952. 山葵の病害に関する研究. 島根農試研報 1-70.
18. 横木國臣. 1966. ワサビ栽培上の問題點. 農業および園藝. 41(5):771-774.

제 5 장 장기저장방법 및 부산물 이용방법개발 분야

제 1 절 서 론

고추냉이는 根莖을 강판 등에 갈아서 즉석에서 이용하는 것으로 고추냉이 조직을 파괴하면 조직에 들어있는 sinigrin이라는 물질이 조직에 존재하는 myrosinase의 작용에 의해서 辛味를 내는 allyl isothiocyanate로 변하게 된다. 그의 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 酵素(Ohtsuru, 1979), 최종 산물(Etoh, 1990; Ina, 1989), 그리고 분리방법 등이 제시되고 있으며(Taniguchi, 1988) 함유된 澱粉의 특성도 조사하여 효소에 반응성, amylose의 함량 등을 밝혔다(Sugimoto, 1984). 고추냉이에 들어 있는 allyl isothiocyanate는 강력한 살균작용이 있다고 알려져 있으며(Hodge, 1974) 이를 이용하여 抗菌性 포장재를 만들어 식품의 鮮度 維持를 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 色素를 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 酒粕에 넣어 장아찌를 만들기도 한다.

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

전북 무주지역에서는 5개면, 22개 農家에서 4,400평을 耕作, 根莖 560kg, 줄기 36,000kg, 잎 12,000kg, 잔뿌리 6,000kg 정도를 수확하고 있다(무주군, 1995). 根莖은 요식업소에 판매되고 있으나 부산물인 줄기, 잎, 잔뿌리 등은 용도가 없어 거의 폐기 처분하고 있는 실정이다.

이 연구에서는 일단계로 우선 根莖을 수요처까지 수송하기 위한 단기간 저장방법을 검토하면서 고추냉이 특성에 관한 기초연구를 수행하였다. 아울러 사용되지 못하고 廢棄할 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 우리 나라에 적용 가능한 방법을 제시하였기에 보고 한다.

제 2 절 재 료 및 방 법

1. 加工, 貯藏用 材料

고추냉이는 무주군 설천면에 위치한 栽培 農家의 2년근을 3월과 9월에 채취하였고 이때 근경, 잎, 엽병, 잔뿌리 등을 별도로 분리, 가공실험용 원료로 하였다.

2. 原料 및 製品調査

가. 原料의 특성과 재배자 희망 연구내용조사

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

나. 需要處 조사

서울 所在 신라호텔(일식 주방장: 오윤섭) 및 전주 所在 일식집 미가도(주방장)를 현지 방문하여 고추냉이 需要 및 소비자의 趣向을 조사하였다.

다. 고추냉이 粉末 제조업체 조사

국내에서 다양한 제품을 생산하는 오뚜기 제유(충북 제천)를 방문, 粉末製品 생산 현황과 원료 조달방법을 조사하였다.

라. 일본 고추냉이 製品 蒐集, 調査

일본을 방문하는 사람편에 관련 제품의 수집을 의뢰, 이들을 評價하였다.

3. 고추냉이 凍結實驗

凍結媒體로는 dry ice를 이용하였고 동결용기는 400×295×300mm크기의 스티로폴 박스로 두께는 29mm이었다. 이 박스에 15kg의 드라이 아이스를 넣고 굵기가 각기 다른 고추냉이를 넣고 밀봉하였다. 동결온도는 온도 측정기(μ R180 Recorder, Yokogawa)를 이용하여 고추냉이 동체의 幾何學的 중심의 온도를 측정, 기록하였다. 凍結點은 최대 빙결점 형성대를 관찰, 기록하였다.

4. 고추냉이 貯藏實驗

가. 生體 貯藏

고추냉이 根莖을 상온, 5℃, -20℃, -40℃에 저장하면서 일정 시간 간격으로 試料

를 채취, allyl isothiocyanate와 관련 물질을 분석하였다.

나. 磨碎 貯藏

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

5. Allyl isothiocyanate와 관련 物質의 分析

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

가. Isothiocyanate류 化合物의 定量法

(1) 冷凍시킨 고추냉이 시료 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 加水分解시켰다.

(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 <Table 5-1>과 같은 조건으로 GC(HP 5890 Series II)로 분석하여 標準 피크를 얻었다.

Table 5-1. Operation condition of G.C. analysis.

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

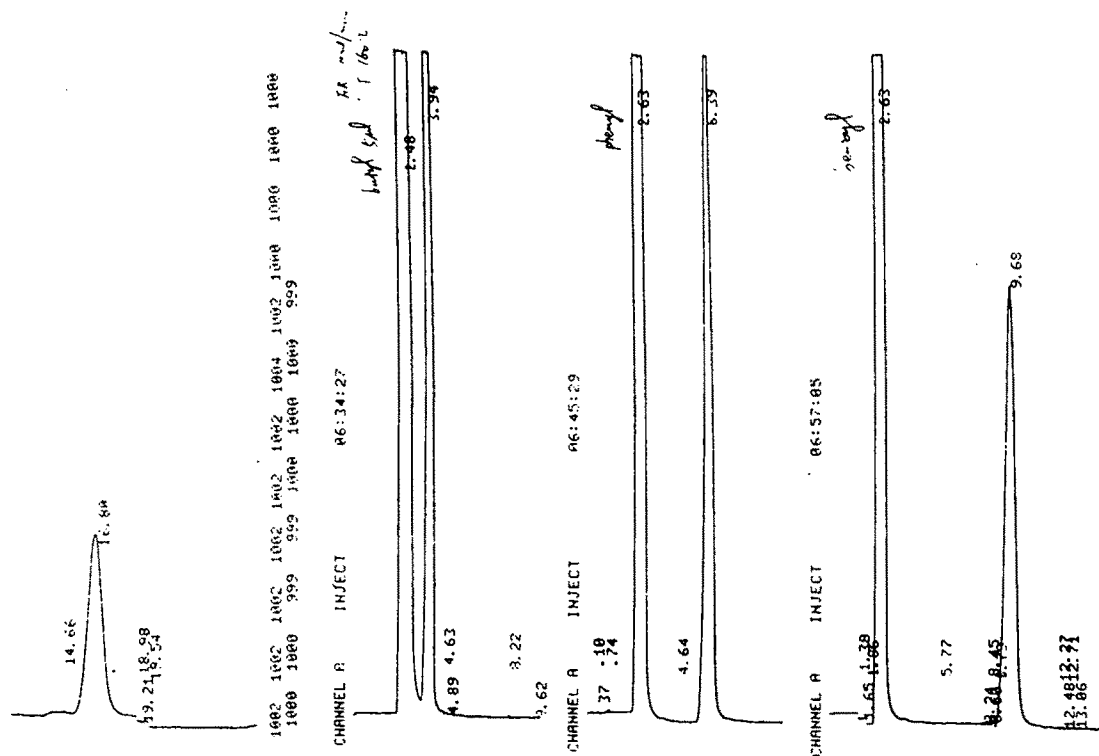


Fig. 5-1. G. C. chromatogram of isothiocyanate standard.

(4) <Fig. 5-1>은 標準品의 G.C. chromatogram으로 이를 기준으로 試料의 allyl isothiocyanate의 含量을 측정하였다.

6. 副産物 加工試驗

고추냉이 잎은 生體로 혹은 데친 후 각각 다른 양념으로 절임하여 일정 시간 숙성시킨 후 맛을 관찰하였다. 잔뿌리는 채취 후 바로 마쇄하여 평가하였고 일부는 냉장한 후 그 상태를 비교하였다.

제 3 절 결과 및 고찰

1. 原料 및 製品 調査 결과

가. 原料의 특성과 栽培農民 애로

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

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

(3) 低溫貯藏시 적절한 포장이 고안되지 않는 경우 건조에 의한 품질 劣化 및 조직의 軟化現象이 따르므로 이를 방지할 수단이 필요했다.

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

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

나. 需要處의 반응

(1) 유명 호텔 일식부 이용 실태

(가) 대상 호텔

신라호텔(일식 주방장 : 오운섭)

(나) 조사내용

○ 한국산 고추냉이의 문제점

- 뿌리가 작고 갈았을 때 收量이 적어서 실제 제공되는 量이 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 常溫 輸送(비행기편 이용)하며 호텔에 도착된다.

- 호텔에서 인수되면 젖은 수건으로 싸서 냉장실에 보관, 이 상태로 20일정도 변질없이 저장 가능하고 필요시에 갈아서 손님에게 제공하고 있다. 주방에서 갈아서 제공하므로 손님들은 고추냉이 생체는 볼 수 없다.

- 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, 磨碎凍結品(300g/pack), 분말제품(1kg 단위)이 이용되고 있으며

생체보다는 粉末製品의 사용량이 많은 실정이다.

- 실제 이용방법은 凍結製品 + 粉末(3 : 2)로 혼합 사용하고 있으며 生體는 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 할것이다.

○ 기타

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

(2) 料食業體의 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, 설택에서 차이가 없으므로 凍結品을 생체대용으로 사용할 수 있는 가능성을 제시 하였음.

- 냉장후 냉동품(상온 1주일 저장후 -20℃ 냉동)

매운 맛은 조금 덜하나 향은 차이가 없고 설택 및 조직에서 차이가 있다(조직이 부서져림). 이는 동결후 解凍過程과 常溫貯藏중 脫水에 기인한 것으로 생각된다.

다. 고추냉이 粉末 제조업체 現況

(1) 加工業體

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

(2) 原料

- 중국에서 겨자무우를 乾燥, 切片으로 수입하여 사용하고 있다.
- 중국에는 여러 適地에서 상당히 많은 畝이 생산되고 있으며 그 품질은 관리방법에 따라 다양하게 차이가 있다.

(3) 加工方法(겨자무우)

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

(4) 混合方法

겨자무우粉末에 겨자가루(脫脂)를 적절히 혼합하고 여기에 sorbitol을 추가하여 저장성을 부여하고 있으며 이 제품을 생고추냉이 代用品으로 상품화하고 있다.

(5) 의견

가장 간편하고 쉽게 이용할 수 있으며 고추냉이 특유의 매운 맛과 쫄을 가지나 生體를 갈아서 먹은 고추냉이의 풍미와는 현격한 차이가 있다. 그러나 가격과 이용 편의성의 입장에서 이 제품이 전 요식업소에 가장 많이 판매되고 있다.

라. 일본제품 蒐集 및 評價

- 일본시장에서 유통되고 있는 고추냉이 副産物의 活用製品을 수집하여 평가하였다.
- 제품은 크게 澱粕절임, 건조제품, 초절임으로 구분되었고 각각 독특한 특성을 가지

고 있으나 우리나라 사람에게 어울리는 제품은 제한되어 있었다.

· 花莖(꽃대)을 초절임한 제품은 매운 맛과 糖酸味가 우리 食性に 부합되는 것으로 보았으며 酒粕절임 등은 개량해야 할 것으로 판단되었다.

2. 고추냉이 凍結

가. 凍結時間

根莖의 동결후 품질은 동결하지 않은 제품과 관능검사결과 차이가 없어 凍結 유통의 가능성을 제시하고 있다(생선회 전문가 평가 결과에 의함). 이와 같은 결과에 따라 고추냉이 크기에 따라 凍結速度를 측정하였다. 이때 동결매체는 어느 곳에서나 쉽게 구입이 가능하며 수송이 가능한 드라이아이스를 이용하였다. 고추냉이의 凍結時間은 <Table 5-2>와 같다.

Table 5-2. Freezing time of *Wasabia japonica* by size.

Diameter(mm)	Freezing time(hr)	Freezing temp.	Remark
13	47	-83℃	Freezing point -1℃
14	48	-83℃	
15	50	-83℃	
18	54	-83℃	

<Table 5-2>에서 보면 고추냉이의 直徑이 클수록 동결되는데 소요되는 시간이 더 걸리나 직경 18mm의 경우 54분이 소요되었으며 이때 凍結室의 온도는 -83℃를 유지하고 있었다.

凍結點은 최대빙결점 형성대를 기준으로 산정한 결과 -1℃로 확인되었다. 이와

같이 동결된 고추냉이 몸체는 계속 온도가 떨어져 外氣溫度(-83℃)에 접근하고 있었다(Fig. 5-2).

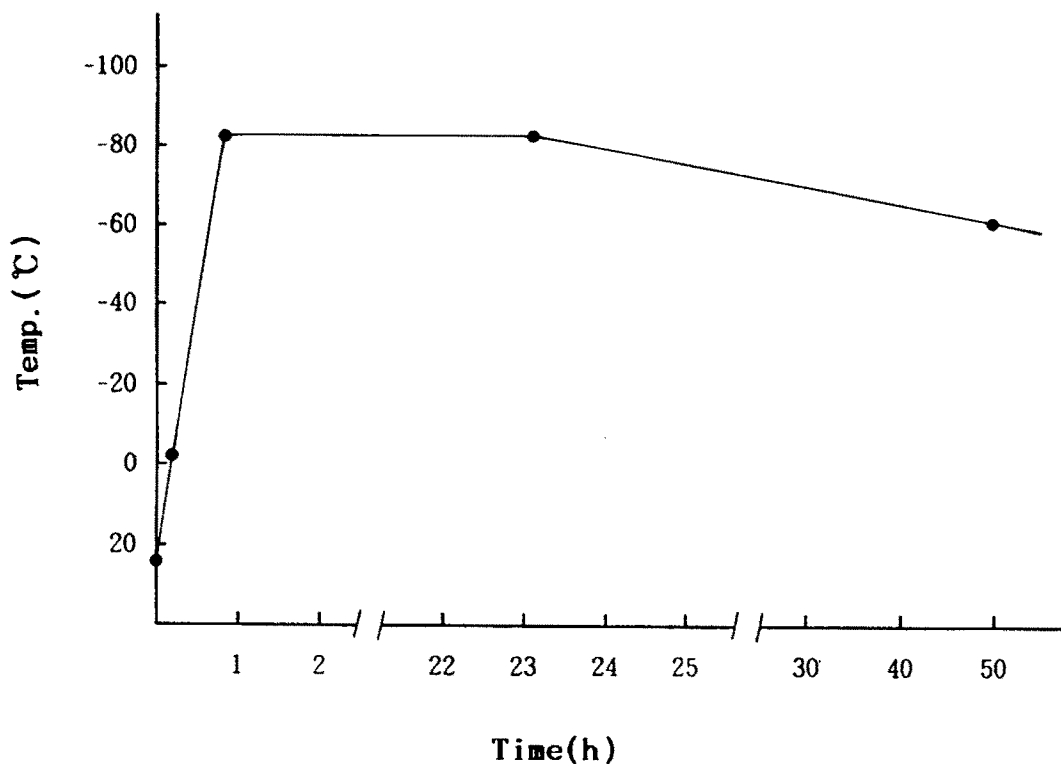


Fig. 5-2. Freezing curve of *Wasabia japonica*.

나. 凍結條件의 維持時間

(1) 凍結實驗은 동결상태에서 수송이 가능한 스티로폼 박스를 이용하였고 그 크기는 내경으로 400 × 295 × 300mm, 두께는 29mm로 이 용기의 용적은 35,400cm³로 15kg의 dry ice와 상당량의 실험용 고추냉이 根莖을 담을 수 있는 공간이 있었다.

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

(3) 이 결과를 기초로 할 때, 생산 현지에서 根莖을 保存容器에 넣고 dry ice로 온도를 강하시킨 후 소비지로 수송하는 경우 동결상태로 2일 이상은 충분히 유지할 수 있어 현재 활용가능한 宅配制度를 활용하면 별도의 유통체계없이 생산자와 소비자를 직접 연결할 수 있는 가능성이 있음을 확인 하였다.

다. 生體 및 磨碎 저장품 成分變化

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

Table 5-3. Isothiocyanate content of *Wasabia japonica* during storage at room temperature. Unit : mg/100 g

Attribute	Storage time (day)				
	0	1	2	4	6
Raw	108.4	109.9	-	108.4	99.8
Mashed	108.4	94.1	93.1	70.1	60.5

<Table 5-3>에서 보면 常溫貯藏 초기의 allyl isothiocyanate는 108.4mg/100g (생체 고추냉이)으로 시작했으나 生體는 저장 4일까지 큰 변화가 없었고 저장 6일째 매운 맛의 함량이 감소하고 있었다.

磨碎品의 경우 저장 1일에 매운 맛 성분의 상당량이 감소되고 있음을 볼 수 있으며 저장 6일째는 초기함량의 60%이하로 떨어짐을 보여주고 있다.

이 결과를 보면 生體貯藏의 경우 상당기간 매운 맛의 변화는 없으나 마쇄한 후에는 성분의 변화가 급격히 일어남을 알 수 있다.

저장중 변화는 온도에 밀접한 관계가 있을 것으로 보나 低溫貯藏을 시도한 결과는 <Table 5-4>, <Table 5-5> 및 <Table 5-6>과 같다.

Table 5-4. Isothiocyanate content of *Wasabia japonica* during storage at room temperature. Unit : mg/100 g

Attribute	Storage time (day)			
	0	2	5	14
Raw	108.4	-	108.1	88.4
Mashed	108.4	110.3	98.1	-

<Table 5-4>에서 보면 5℃에 저장한 경우 生體는 저장 14일후부터 ally isothiocyanate의 減少를 볼 수 있으나 마쇄한 경우는 저장 5일후부터 감소하여 생체품보다는 떨어지는 경향을 보이고 있다. 이를 常溫貯藏 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 巴 酵素의 반응속도가 온도와 관계가 있기 때문으로 판단된다.

Table 5-5. Isothiocyanate content of *Wasabia japonica* during storage at -20℃. Unit : mg/100 g

Attribute	Storage time (day)			
	0	4	7	14
Raw	108.4	-	110.6	109.8
Mashed	108.4	106.1	80.5	81.1

한편 저장온도를 더 낮춰 氷結点이하로 저장하는 경우 일반적으로 효소적 反應이나 화학반응이 지연되어 저장성도 향상되는 바 고추냉이의 경우도 비슷한 경향을 보이고 있다. 즉 -20℃에 저장하는 경우 (Table 5-5) 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.

저장온도를 더욱 낮춰서 -40℃로 저장하는 경우를 보면 <Table 5-6>과 같이 저장 25일까지 생체중 변화는 거의 없으나 마쇄품의 경우는 저장 10일부터 allyl isothiocyanate의 함량이 감소하기 시작하여 저장 25일에는 초기함량의 70%수준으로 떨어지고 있다

Table 5-6. Isothiocyanate content of *Wasabia japonica* during storage at -18℃.
Unit : mg/100g

Attribute	Storage time (day)			
	0	4	7	14
Raw	108.4	102.8	109.9	99.9
Mashed	108.4	77.8	72.1	71.1

이상 고추냉이를 生體 혹은 磨碎品으로 저장하는 경우 生體는 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℃에서는 5일 이내, -20℃ 및 -40℃에서는 5-7일 정도에서 매운 맛을 상당히 잃고 있었다.

冷凍貯藏중 allyl isothiocyanate의 감소는 揮發에 의한 것으로 추정된다.

3. 副産物을 이용한 加工製品

가. 잎을 이용한 제품

생잎을 절이거나 데쳐서 각종 양념을 다르게 배합하여 즉석 식용이 가능하게 제품을 만든 결과 이들은 대부분 깻잎 절임보다 독특한 향과 맛이 있었고 열처리에 의하여 비교적 안정한 色澤을 유지하는 것으로 평가되었다. 이들의 모양은 <Photo. 5-1 a~c>와 같다.

잎을 이용한 제품은 5종을 만들었고 低溫貯藏중 변화가 없어 절임류로 流通이 가능 할 것으로 판단되며 통조림 혹은 retort pouch 식품으로도 충분한 가능성이 있다. Retort 식품의 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 色彩의 변화가 인지되어 生體 이용방법이 더 바람직 할 것으로 생각된다. 고추냉이 잎과 줄기를 이용한 가공제품의 형태는 <Photo. 5-1d~f>에 비교하였다.

다. 줄기 및 잔뿌리를 이용한 샐러드 시험

줄기와 잔뿌리를 다른 채소류와 함께 혼합하여 샐러드를 제조한 경우 매운 맛과 고추냉이 특유의 香氣가 있었으나 매운맛이 너무 강하여 다른 채소류의 향미를 변화시키는 특성이 있어 혼합하는 양을 제한할 필요가 있고 생체의 조직과 맛을 조화시킬 수 있는 배합이 검토 되어야 할 것으로 본다.

라. 잔뿌리를 이용한 磨碎品

고추냉이는 근경보다는 잔뿌리의 양이 대단히 많으므로 이를 이용한 제품이 개발



생절임(간장, 꿀, 백청, 설탕, 술, 식초, 고추가루) **a**



절인후 찜것(간장, 물, 백청, 설탕, 술, 식초, 것) **b**



절인후 양념장(간장, 물, 백청, 설탕, 술, 식초) **c**



절인후 데친것(간장, 물, 백청, 설탕, 술, 식초) **d**



절임(된장, 양파즙, 물엿, 설탕, 술 : 끓인 것) **e**



절인후 김치담금 **f**

Photo. 5-1. a: Pickled raw leaves, b: Pickled and boiled leaves, c: Pickled and spiced leaves, d: Pickled and blanched stems, e: Pickled stems, f: Pickled and make kimchi.

여 백

되어야 할 것으로 본다. 잔뿌리에도 상당량의 香味成分이 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 절임 등 마쇄품이 아닌 형태로 검토해야 할 것으로 생각된다. 이들 제품은 마쇄품 보다는 생체를 酒粕에 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 副産物의 이용방안 그리고 근경을 소비처까지 수송하기 위한 短期 저장방법을 고안하기 위하여 관련되는 실험을 실시하였다. 아울러 실험방향을 설정하기 위하여 현재 유통되는 고추냉이의 수요처 조사, 가공공장 그리고 일본에서 유통되고 있는 부산물을 이용한 가공제품을 蒐集, 評價하였다.

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 變色의 속도가 빨랐다. 또한 副産物의 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 流通體系의 확립이 필요하였다.

4. 현재 유통되고 있는 粉末 혹은 튜브 포장 와사비 제품은 中國產 겨자무우를 바탕으로 겨자와 색소를 첨가 제조하는 것으로 고추냉이와는 다른 제품이나 가격면에서 상당한 경쟁력이 있고 소비자의 嗜好를 주도하고 있다고 여겨지고 있다.

5. 일본에서 생산되는 고추냉이 부산물 가공품들은 상당 부분이 淸酒 酒粕에 절임한 장아찌류로서 우리의 口味에 적응시키기 위해서는 상당한 변형이 필요한 것으로 보았으며 꽃대를 이용한 초절임 제품은 우리의 食性에도 맞을 것으로 보았다.

6. 低溫 短期間 유통을 위해서는 아이스박스에 드라이아이스를 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 수송 가능하였다. 이때 凍結된 제품을 일식 전문가에게 평가시킨 결과 품질상에 문제는 없었다.

7. 국내 생산 고추냉이 매운 맛 성분인 allyl isothiocyanate 함량은 108.4mg/100g 정도였으며 저장방법에 따라 그 含量은 변하였다. 常溫貯藏의 경우 매운 맛 성분함량 기준 生體는 4일, 5℃에서는 5일 이상, -20℃는 14일 이상, -40℃에서는 25일 이상이었다. 마쇄품의 경우 生體보다 저장기간이 짧아졌으며 常溫의 경우 1일, 5℃에서는 5일 이내, -20℃ 및 -40℃에서는 5-7일 정도에 머물렀다.

8. 고추냉이 副産物인 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 生體를 이용할 수 있을 뿐이었다. 잔뿌리는 상당한 매운 맛과 風味를 가지고 있으나 특이하게도 磨碎 후 독특한 色素가 발견되지 않고 매운 맛도 급속히 감소하여 마쇄품보다는 잔뿌리 그 자체로 절임하는 방법을 향후 실험해야 할 것으로 생각된다.

제 5 절 참 고 문 헌

1. Chadwick, C. I., T. A. Lumpkin and L. R. Elbersen(1993) The botany, uses and production of *Wasabia japonica*(MIQ.) (Cruciferae) Matsum. Economic Botany, 48(2):113.
2. Etoh, H., et al(1990) ω -Methylsulfinylalkyl isothiocyanates in Wasabi, *Wasabia japonica* Matsum. Agric. Biol. Chem., 54(6):1587
3. Follett, J. M.(1978) Production of *Wasabia japonica* in Japan. Comb, Proc. Intl. Plant Prop. Soc. 36:443.
4. 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.
5. 八藤眞(1995) ワサビと「わさび漬」. 食の科學, 204, 2月號, 87.
6. Hodge, W. H(1974) Wasabi, native condiment plant of Japan. Economic Botany, 28:118
7. Ina, K., et al(1989) ω -Methylthiocyanates in Wasabi. Agric, Biol. Chem., 53(2):537.
8. 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.
9. 이성우, 안병욱(1995) 고추냉이(와사비) 재배법. 농진회, p 7.
10. 무주군 농촌지도소(1995) 고추냉이 재배 현황.
11. Ohtsuru, M. and H. Kawatani(1979) Studies on the myosinase from *Wasabia japonica* Agric. Biol. Chem. 43(11):2249.
12. 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.
13. Taniguchi, M., R. Nomura, and M. Kamihara (1988) Effective utilization of horse radish and Wasabi by treatment with supercritical carbon dioxide. J. Ferment. Technol., 66(3):347-353.
14. 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