

# 범부채의 기내증식에 미치는 식물생장조절물질 및 무기염류농도의 효과

송원섭, 김효순  
순천대학교 농과대학 원예학과

## Effect of Plant Growth Regulators and Medium Salt Strength on *In Vitro* Propagation of *Belamcanda chinensis* DC.

Won Seob Song and Hyo Soon Kim  
Department of Horticulture, College of Agriculture, Suncheon National University 540-742, Republic of Korea

### ABSTRACT

The effects of plant growth regulators on callus formation and organogenesis in shoot tip explant of *Belamcanda chinensis* were examined. Shoot tip explants cultured on full salt strength of MT (Murashige and Tucker) medium containing 2, 4-D 1.0 or 2.0mg/l were vigorously formed callus. Full salt strength of MT medium and 1/2 MT medium supplemented with zeatin 1.0mg/l were more effective than that with combination treatments of 2, 4-D on the formation of shoots from calli. When shoots regenerated from shoot tips were transplanted into 1/2 MT medium added with 1.0mg/l, 41% of shoots formed roots.

**Key word** : organogenesis, *Belamcanda chinensis*, MT medium

### 서 언

붓꽃과에 속하는 범부채(*Belamcanda chinensis*)는 근경이 발달한 다년생 초본 식물로 줄기는 약 1m정도 길게 자라는데 줄기에서 2줄로 나온 잎은 끝이 칼모양처럼 뾰족하고 줄기 끝에 황적색 바탕에 붉은 반점이 있는 꽃이 6월 말경부터 8월초까지 핀다. 꽃잎은 6장이며 수술은 3개이고 자방은 3실이며 열매는 삭과이다. 자생지는 인도북부, 중국, 일본, 한국등이며 산대도(山大刀), 마호선자(馬虎扇子), 산포선(山蒲扇), 우전(芋田), 금호접(金蝴蝶) 등으로 불리워지기도 하는데(김, 1996) 한방에서는 약제로 사간(射干)이라 부르고 있다. 범부채의 근경에는 Iridin, Tectoridin, Belamcandin 등의 성분을 함유하고 있어 거담(去痰), 소

염(消炎), 진해(鎮咳), 편도선염(扁桃腺炎), 진통(鎮痛) 등의 약제로 널리 이용되고 있다. 또한 범부채는 꽃이 아름다워 절화, 화단, 분식용으로 이용될 수 있다.

이와 같이 화훼 및 약용적 가치가 있는 범부채는 자연상태에서 열매는 잘 맺으나 성숙된 열매는 너무 단단하여 자연조건에서의 발아율은 매우 떨어져 번식에 많은 어려움이 따르며 자연조건에서는 주로 근경에 의하여 번식되고 있다.

이러한 원인들로 인하여 우수한 형질을 가진 자생 식물 자원의 재배화와 보급화가 어려운 실정이다. 따라서, 이러한 문제점들을 해결하기 위하여 증식체계의 확립이 요구되어지고 있다. 최근에는 그 방법의 일환으로 인공번식 방법이 많이 개발되고 있다(백등, 1996).

송 등(1995)은 실제로 야생식물인 개상사화, 상사화, 백양꽃의 미숙배주로부터 식물체를 재생시키었으며 할미꽃(송, 1994), 딸기(이 등, 1992), 도라지(고 등, 1993), 용담(성 등, 1993)과 장미(송, 1995)에서도 식물체를 재분화시켰다.

따라서, 본 실험에서는 범부채의 성장점으로부터 식물체를 재분화시킴으로써 단기간 내에 무병식물체를 대량 증식시킬 수 있는 체계를 확립하고자 성장점을 배양하여 약간의 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

### 재료 및 방법

1. 켈러스 유기에 미치는 식물성장조절물질과 무기물의 효과

공시재료는 농촌진흥청 작물시험장에 재식되어 있는 범부채의 종자를 채취한 후 휴면기간을 거쳐

온실에서 발아시켰다.

종자가 발아하여 싹초가 5~10cm 정도 자랐을 때, 싹초를 채취하여 성장점이 있는 부분을 2cm 정도로 자른 다음 tween 20액 0.1%의 농도에 sodium hypochlorite 1% 용액을 혼합시킨 용액에 10분간 침적시켜 표면을 살균한 후 멸균수로 거품이 나오지 않을 때까지 수차례 수세한 다음 95% ethanol에서 1초간 침적시킨 후 멸균수로 곧바로 세척하여 무균대의 해부 현미경하에서 싹초정단을 0.3~0.5cm 크기로 채취하여 배지에 치상하였다. 이 때 사용된 배지는 MT 배지와 1/2 MT 배지(표1)이었으며 여기에 첨가된 식물성장 조절물질은 2, 4-D 0.01~5.0mg/l 와 BAP 0.1, 1.0mg/l 이었고 농도별로 단용 또는 혼용 첨가되었다.

각 배지에 30g/l sucrose, 7g/l agar을 첨가하였으며 pH는 고압살균전에 5.7로 조절되었다.

배양조건은 형광등을 광원으로 하여 2, 000Lux ~ 2, 500Lux로 1일 16시간 일장과 23~25℃ 조건에서

Table 1. Modified Murashige & Tucker's medium

Elements	Conc. (mg / l )	
	MT	1/2 MT
Macro elements		
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	825
KNO <sub>3</sub>	1900	950
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	440	220
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	370	185
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	85
Na <sub>2</sub> EDTA	37.3	18.65
Micro elements		
MnSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	22.3	22.3
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	8.6	8.6
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.2	6.2
KI	0.83	0.83
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.25	0.25
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.025	0.025
CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.025	0.025
Vitamins		
Thiamine - HCl	10.0	10.0
Nicotinic acid	5.0	5.0
Pyridoxine - HCl	10.0	10.0
Other		
Iso- inositol	100	100
Glycine	2.0	2.0

명배양하였다.

배양 후 8주동안 신초정단으로부터 캘러스 형성 과정을 관찰, 조사하였다.

2. 캘러스로부터 신초 재분화에 미치는 식물생장 조절물질과 무기물의 효과

캘러스의 생체중이 400~800mg 되는 신선한 캘러스를 선별하여 캘러스로부터 신초재분화에 미치는 무기물의 첨가량과 식물생장조절물질의 첨가농도를 규명하기 위하여 MT 배지와 1/2 MT 배지를 사용하였다. 식물생장조절물질은 zeatin 0.1~4.0mg/l와 2, 4-D 0.1, 1.0mg/l은 단용 및 혼용하였다.

배양조건은 실험 1과 동일하였으며 배양 후 1주 간격으로 캘러스로부터 식물체 분화율 및 상태를 관찰, 조사하였다.

3. 신초로부터 뿌리 발생에 미치는 식물생장조절 물질과 무기물의 효과

실험 2에서 선별된 3~5cm 크기의 신초로부터 뿌리 발생에 미치는 식물생장조절물질과 무기물의 효과를 규명하기 위하여 MT 배지와 1/2 MT 배지를 이용하였으며 식물생장조절물질은 NAA 0.1 ~ 3.0mg/l 와 zeatin 0.1, 1.0mg/l을 단용 및 혼용하였다.

배양조건은 실험 1과 동일하였으며 1주일 간격으로

Table 2. Effect of different concentrations of 2, 4-D, BAP and different MT medium on callus induction from shoot tip in *Belamcanda chinesis* DC.

Salt strength of medium	PGR <sup>z</sup> (mg/l)	% of Callus formation			Decline of shoot tip
		2	4	8 weeks	
Full MT	Control (without PGR)	0	0	5	95
	0.01 2, 4-D	10	32	50	50
	0.1 2, 4-D	18	40	63	37
	1.0 2, 4-D	35	54	70	30
	2.0 2, 4-D	33	55	76	24
	5.0 2, 4-D	8	20	39	61
	1.0 2, 4-D + 0.1 BAP	19	41	63	37
	1.0 BAP	12	33	51	49
	2.0 2, 4-D + 0.1 BAP	28	50	68	32
1.0 BAP	6	19	43	57	
1/2 MT	Control (without PGR)	0	0	10	90
	0.01 2, 4-D	14	31	50	50
	0.1 2, 4-D	11	33	55	45
	1.0 2, 4-D	21	45	68	32
	2.0 2, 4-D	18	40	62	38
	5.0 2, 4-D	0	10	28	72
	1.0 2, 4-D+ 0.1 BAP	14	30	54	46
	1.0 BAP	0	15	37	63
	2.0 2, 4-D+ 0.1 BAP	0	23	43	57
1.0 BAP	0	8	30	70	

<sup>z</sup>PGR : plant growth regulator

로 뿌리 발생상태를 관찰, 조사하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 켈러스 유기에 미치는 식물생장조절물질과 무기물의 효과

범부채의 신초정단을 채취하여 무기물의 첨가량을 달리한 MT와 1/2MT배지에 식물생장조절물질의 종류와 농도를 달리한 배지에 치상한 다음 켈러스 형성율을 조사하였다.

배양 7일경부터 치상한 신초정단이 팽대해지기 시작하여 배양 2주째부터 절단면을 따라 켈러스가 유기되기 시작하였다. 특히 MT 배지에 2, 4-D를 1.0mg/l, 2.0mg/l를 첨가시킨 구에서 이러한 현상이 잘 나타났다.

켈러스 형성은 무기물의 첨가량과 식물생장조절물질의 조합에 따라 뚜렷한 차이를 나타내었다.

배양 8주 후 신초정단에서 발생한 켈러스 형성율은 표 2와 같다.

MT 배지에 배양하였을 때 식물생장조절물질 무첨가구에서의 켈러스 형성은 매우 저조하였으며 2, 4-D 첨가구에서는 1.0mg/l와 2.0mg/l 첨가구에서 각각 70%, 76%의 비교적 양호한 켈러스 형성율을 보인 반면 0.01mg/l와 5.0mg/l 첨가구에서는 켈러스 형성율이 떨어졌다. 특히 2, 4-D의 첨가농도가 높을수록 켈러스 형성율은 떨어졌다.

2, 4-D와 BAP의 혼합첨가구의 경우 켈러스 형성율은 2, 4-D 1.0mg/l와 BAP 0.1mg/l 혼합첨가시 68%로 나타났으며, 2, 4-D에 BAP를 1.0mg/l 첨가시킨 구에서는 0.1mg/l BAP를 첨가시킨 구보다 켈러스 형성율이 저조하였다. 하지만 MT배지에서의 켈러스 형성율은 BAP와 2, 4-D를 혼합첨가시킨 경우보다 2, 4-D를 단독첨가시킨 배지에서 켈러스 형성율이 더 좋았다.

무기물의 첨가량을 1/2로 줄인 MT 배지에서의 켈러스 형성율은 MT배지에서와 비슷한 경향을 나타내었다. 즉, 2, 4-D를 각각 1.0, 2.0mg/l 단독 첨가시킨 구에서 68, 62%로 양호한 반응을 보인 반면 2, 4-D의 첨가 농도가 높을수록 혹은 BAP와 혼합 첨가시킴수록 켈러스 형성율은 떨어졌다.

전체적으로 볼 때 1/2 MT배지에서보다 MT배지에서 켈러스 형성율이 좋았으며 BAP와 혼합첨가는 켈

러스 형성에 효과적이지 못하였다. 오 등(1991)은 양앵두의 신초정단 배양에서 MT 배지보다 1/2 MT 배지에서 켈러스 유기가 양호하였다고 하였다. 이러한 결과들로 미루어 볼 때 식물의 종류에 따라서 켈러스 형성에 무기물의 첨가량이 달라질 수 있다고 생각된다.

조직배양에서 켈러스 유기에는 2, 4-D, NAA와 같은 auxin류가 단독으로 쓰이는 경우가 대부분이지만 경우에 따라서는 BAP, kinetin, zeatin과 같은 cytokinin류가 혼합되어 이용되고 있는데(김과 김, 1995; 유 등, 1991; 성 등, 1993) 식물생장조절물질 무첨가배지에서 켈러스 유기가 아주 저조한 결과를 나타낸 것을 보면 범부채의 켈러스 유기는 식물생장조절물질과 밀접한 관계가 있는 것으로 사료된다.

Cheema(1989)는 포푸라의 잎배양에서 배발생 켈러스 유기에 2, 4-D의 단독첨가가 효과적이라 하였다. 그러나 김 등(1996)은 금강초롱꽃의 무균발아된 식물체의 엽, 엽병 및 경단 조직을 MS기본배지에 식물생장조절물질의 종류와 농도를 달리하여 치상하였던 바 2, 4-D 2.0mg/l와 BAP 0.2mg/l를 혼합처리한 구에서 켈러스 형성이 양호하였다고 보고하였으며, Rubos와 Pryke(1984)는 사과 경단 배양에서 켈러스 유기는 auxin류와 cytokinin류를 혼합처리하였을 때 효과가 좋다고 하였다. 따라서 켈러스 유기효과는 식물의 종류에 따라서 요구되는 식물생장조절물질의 종류와 양이 다르다고 여겨진다.

### 2. 켈러스로부터 신초재분화에 미치는 식물생장조절물질과 무기물의 효과

실험 1에서 획득된 생체중이 400~800mg되는 신선한 켈러스를 선별하여 켈러스로부터 신초 재분화율을 조사하였다(표 3).

MT배지의 경우, 배양 3주째가 되면서 켈러스로부터 신초가 발생되기 시작하여 배양 8주되었을 때 식물생장조절물질 무첨가구에서는 신초형성율이 극히 저조하였으며 zeatin 첨가구에서는 1.0mg/l 첨가구에서 50%로 중간정도의 신초 형성율을 보인 반면 나머지 처리구에서는 신초 형성율이 저조한 반응을 보였다. 2, 4-D와 혼합첨가구에서도 zeatin 단독첨가구보다 신초 형성율이 낮았다.

1/2 MT 배지의 경우에는 MT 배지의 경우와 마찬가지로

Table 3. Effect of different concentrations of Zeatin, 2, 4-D and MT medium on shoot initiation from callus induced from shoot tip in *Belamcanda chinensis* DC.

Salt strength of medium	PGR <sup>2</sup> (mg/l)	% of shoot formation			Shoot length(cm) 8 weeks
		2	4	8 weeks	
Full MT	Control (without PGR)	0	0	3	2.5
	0.1 Zeatin	0	13	40	3.9
	1.0 Zeatin	0	16	53	4.8
	2.0 Zeatin	0	15	47	4.0
	4.0 Zeatin	0	6	31	3.1
	0.1 Zeatin + 0.1 2, 4-D	0	9	41	3.5
	1.0 2, 4-D	0	3	29	1.9
	1.0 Zeatin + 0.1 2, 4-D	0	15	49	3.8
	1.0 2, 4-D	0	5	30	2.7
1/2 MT	Control (without PGR)	0	5	20	2.0
	0.1 Zeatin	0	25	50	4.1
	1.0 Zeatin	0	27	62	4.5
	2.0 Zeatin	0	20	50	3.5
	4.0 Zeatin	0	14	45	3.0
	0.1 Zeatin + 0.1 2, 4-D	0	21	51	3.0
	1.0 2, 4-D	0	4	30	2.2
	1.0 Zeatin + 0.1 2, 4-D	0	9	42	2.7
	1.0 2, 4-D	0	0	21	2.0

<sup>2</sup>PGR : plant growth regulator

가지로 식물생장조절물질 무첨가구에서의 신초 형성은 매우 저조한 반응을 보였지만 zeatin 1.0mg/l 첨가구에서는 62%로 비교적 양호한 신초 발생효과를 나타내었다. 하지만 4.0mg/l 첨가구에서는 신초 발생율이 45%로 저조한 것을 보면 신초 발생에는 zeatin의 첨가가 효과적이지만 그 첨가 농도가 2.0mg/l 이상이 되면 비효과적이란 것을 알 수 있었다. 2, 4-D와의 혼합첨가도 MT 배지의 경우처럼 zeatin 단독 첨가보다 비효과적이었다.

장미의 캘러스 배양에서 캘러스로부터 신초분화는 1/2 MT 배지에 zeatin을 1.0mg/l 첨가시킨 배지에서 효과적이었던 보고(송, 1995)처럼 범부채의 캘러스로부터 신초형성은 1/2 MT 배지에 zeatin의 단독첨

가가 효과적이었다. 또한, 양하의 경정배양에 잎수와 신초 발생수는 cytokinin 농도가 auxin농도보다 높을 때 효과적이라는 보고(최와 서, 1993)와 동일한 결과를 나타내었다. 따라서 식물체의 종류나 배양부위에 따라 cytokinin과 auxin의 단독 및 혼합처리 효과가 상이함을 알 수 있었다.

### 3. 신초로부터 뿌리발생에 미치는 식물생장조절물질과 무기물의 효과

실험 2에서 얻어진 길이가 2~3cm정도인 건전한 신초를 선별하여 식물생장조절물질과 무기물의 첨가량을 각기 달리한 배지에 배양한 결과(표 4), MT배지의 경우 식물생장조절물질 무첨가구에서는 뿌리발

Table 4. Effect of different concentration of NAA, Zeatin, and MT medium on root initiation from shoots derived from callus induced from shoot tip in *Belamcanda chinensis* DC.

Salt strength of medium	PGR <sup>2</sup> (mg/ l)	% of root formation			
		2	4	Root length(cm) 8 weeks	
Full MT	Control (without PGR)	0	0	3	1.8
	0.1 NAA	0	8	15	2.7
	1.0 NAA	0	12	25	3.8
	3.0 NAA	0	8	10	2.3
	0.1 NAA + 0.1 Zeatin	0	9	13	3.8
	1.0 Zeatin	0	0	5	2.0
	1.0 NAA + 0.1 Zeatin	0	15	22	3.9
	1.0 Zeatin	0	3	8	2.3
1/2 MT	Control (without PGR)	0	0	9	2.5
	0.1 NAA	0	13	35	4.8
	1.0 NAA	3	20	41	5.4
	3.0 NAA	0	8	30	4.5
	0.1 NAA + 0.1 Zeatin	0	8	29	4.0
	1.0 Zeatin	0	0	10	2.3
	1.0 NAA + 0.1 Zeatin	0	12	33	3.7
	1.0 Zeatin	0	0	10	2.0

<sup>2</sup>PGR : plant growth regulator

생이 매우 저조한 반응을 보였다.

배양후 3주째가 경과되면서 신태에서 뿌리가 발생되기 시작하여 배양 8주째에는 NAA 단독 첨가구에서는 3~25%의 뿌리발생율을 나타내었으며 또한 NAA와 zeatin의 혼합첨가구에서도 5~22%의 뿌리발생율을 보였다. 그러나 3.0mg/l NAA 첨가구에서는 비정상적인 식물체가 분화되었다.

1/2 MT배지의 경우에는 NAA 단독 첨가구의 경우 MT배지와 비슷한 경향을 보였으며 zeatin과 혼합 첨가구에서도 10~33%의 뿌리발생 결과를 나타내었으며 정상적인 식물체가 분화되었다(그림 1).

또한 NAA를 0.1mg/l 첨가시킨 처리구에서는 신태 발생율과 뿌리발생율이 매우 좋았다(그림 2). 이러한 결과들은 용담의 줄기조직에서 식물체 재분화는 BA에 2, 4-D를 혼합첨가시켰을 때 효과적이라는 보고

와 비슷한 결과를 나타내었다(성 등, 1993). 또한, 산약의 기내배양에서 배지내 무기염의 농도가 낮을수록 발근 개체수가 촉진된다(이 등, 1993)는 연구결과에서처럼 범부채의 발근개체수가 많아지긴 했지만 범부채의 발근율에 있어서는 저조한 편이었다. 따라서, Kusey 등(1980)의 안개초의 기내발근에서 IBA의 첨가가 NAA 첨가보다 효과적이라는 보고처럼 범부채의 발근율을 향상시키기 위하여 앞으로 IBA의 첨가가 발근효과에 미치는 실험도 필요하리라 추측된다.

## 적 요

범부채(*Belamcanda chinensis*)의 신태정단을 배양 재료로하여 캘러스, 신태형성 및 뿌리분화에 미치는 식물생장조절물질 및 무기물의 첨가효과를 조사하였



Fig. 1. Normal plant regenerated from shoot tip cultured on 1/2 MT medium added with 1.0mg/l NAA and 0.1mg/l zeatin for 8 weeks.

다. 캘러스 형성은 1/2 MT배지보다 MT배지에 2, 4-D를 1.0 혹은 2.0mg/l 첨가시킨 구에서 효과적이었으며, 신초형성은 MT배지나 1/2 MT배지에 zeatin을 1.0mg/l 첨가시킨 구에서 효과적이었다.

뿌리의 분화를 위하여 발근배지에 배양하였을 때 1/2 MT배지에 NAA를 1.0mg/l 첨가시킨 구에서 양호한 결과(41%)를 보였다.

### 인 용 문 헌

- 백운웅, 김광수, 황백. 1996. 병풀(*Centella asiatica*)의 정아배양을 통한 대량증식. 식조직배양학회지 23(4):235-238.
- Cheema, G.S. 1989. Somatic embryogenesis and plant regeneration from cell suspension and tissue cultures of mature himalayan poplar (*Populus ciliata*). Plant



Fig. 2. Multi-shoot plants regenerated from shoot cultured on 1/2 MT medium added with 0.1mg/l NAA for 8 weeks.

Cell Reports 8:124-127.

- 최성규, 서영남. 1993. 양하의 경정배양에 관한 연구. 藥作誌. 1(1):38-42.
- 김동철, 김종홍. 1995. 라벤더(*Lavandular angustifolia* Mill.)의 줄기절편체로부터 식물체의 기내기관형성. 순천대학교 농업과학연구 9:11-17.
- 김원배, 이은애, 최관순, 김병현, 김정간, 임학태. 1996. 금강초롱꽃(*Hanabusaya asiatica*)의 경단조직으로부터 식물체 재분화. 농촌진흥청 농업 논문집.
- 김태정. 1996. 한국의 자원식물. 서울대학교 출판부 p220
- 고정애, 김영선, 은종선. 1993. 도라지(*Platycodon grandiflorum*)의 화사배양에 의한 배발생 및 식물체 재분화. 식물조직배양학회지 20(5):283-287.
- Kusey WE, Hammer PA, Weiler TC. 1980. In vitro propagation of *Gypsophila paniculate* L. 'Bristol Fairy'.

- Horticulture. Science. 15:600-601
- 이윤모, 이영복, 나상복, 우인식, 노태홍. 1992. 딸기 有植物體의 재분화 및 생장에 미치는 온도, 염류 조성 및 PH영향. 植物組織培養學會誌 19(1):1-6.
- 이효승, 유수노, 이정일, 조재연. 1993. 산약의 器內培養에 미치는 培地 및 生長調節物質의 影響. 藥作誌. 1(1):28-37.
- 오성도, 송원섭, 유성오. 1991. 감과 양앵두(*Prunus avium* L.)의 기내증식에 관한 연구 I. 신초정단으로부터 식물에 직접 분화 및 callus로부터의 식물체 재분화. 한국원예학회지 32(3):355-367.
- Rubos, A.C. and J.A. Pryke. 1984. Morphogenesis in embryonic tissue culture of apple. J. Hort. Sci. 59:469-475.
- 유인수, 김원배, 김호일. 1991. 바나나(*Musa* sp.) 묘의 기내증식에 미치는 cytokinin 및 auxin류의 영향. 식물조직배양학회지 18(6):361-367.
- 성낙술, 박충현, 이승택, 김성민. 1993. 용담의 엽육 및 줄기培養에 의한 植物體 再分化和 増殖. 1(2):129-136.
- 송원섭. 1995. 장미의 callus 유기와 植物體 재분화. 順天大學校基礎科學 2:119-127.
- 송원섭. 1994. 켈리스 배양에 의한 질소원과 zeatin 이 할미꽃(*Pulsatilla koreana* Nakai)의 식물체 분화에 미치는 효과. 순천대학교 기초과학연구지 (5):157-164
- 송원섭, 이현정, 양승렬. 1995. 기내 배양에 의한 개상사화, 상사화, 백양꽃의 미숙배로부터 식물체 재생. 순천대학교 기초과학연구지(5):137-156

(접수일 : 1997년 2월 28일)