

## 옻나무 종자의 기내 발아에 의한 무균묘 육성

두홍수, 이호림<sup>1)</sup>, 권태호<sup>2)</sup>, 양문식<sup>2)</sup>

전북대학교 농업과학기술연구소, <sup>1)</sup>전북대학교 대학원, <sup>2)</sup>전북대학교 생물과학부

## Development of Aspceptic Seedling by *In Vitro* Germination in Lacquer Tree Seed

Hong-Soo Doo, Hu-Lin Li<sup>1)</sup>, Tae-Ho Kwon<sup>2)</sup> and Moon-Sik Yang<sup>2)</sup>

The Institute of Agricultural Science & Technology, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea

<sup>1)</sup>Dept. of Agronomy, Graduate School, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea

<sup>2)</sup>Faculty of Biological Science, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea

### ABSTRACT

Lacquer tree can be proliferated by root or stem cutting, and seed. In case of proliferation by seed, however, the germination rate is very low. Thus, the present study was carried out to obtain aspceptic lacquer plant *in vitro* from seed because natural tissue culture was highly defiled by unknown fungi and bacteria. First seed grading on distilled water was 50.7% and second seed grading was 20.8% after 98% sulfuric acid treatment for 2 hours. Removal of inner seed coat was higher with 32.4% than non-removal of outer seed coat and removal outer seed coat in rooting rate. In germination rate according to pre-treatment, growth regulators were not effective at all, but sulfuric acid was effective a little with 3%. Removal outer seed coat was increased about 4%, that germinated about 10% in MS medium supplemented with 1.0mg/L BA and 0.05mg/L NAA, 1.0mg/L BA. Lacquer tree seeds germinated after 10 days in MS medium, and aspceptic seedling of lacquer tree were obtained after 3 weeks *in vitro*. Germination rate, however, was lower about 10%.

**Key words :** lacquer tree, seed grading, germination, growth regulators, sulfuric acid, aspceptic seedling *in vitro*

### 서언

옻은 한국, 일본 및 중국에서 오랜 기간동안 천연 도료로 많이 이용되었고, 일본에서는 옻을 이용한 칠의 개발을 현재까지 계속하고 있는데 년간 약 300

~500 톤까지 사용하고 있다. 우리나라에서는 년간 약 4톤 정도를 생산하고 있으나 사용량에 미치지 못하는 것으로 보고되고 있다(Jung 등, 1990). 옻나무는 우리나라 기후풍토에 적당하여 거의 전역에 분포하고 있으며, 집단 재배되고 있는 지역은 과거에 비하여 점차 감소하고 있는데 현재는 원주, 함양, 옥천,

Corresponding author: 양문식, 우.561-756, 전북 전주시 덕진구 덕진동 1가 664-14, 전북대학교 자연과학대학 생물과학부, FAX:0652-270-4312, E-mail: mskyang@moak.chonbuk.ac.kr

남원 등지에서 재배되고 있다(鄭, 1976).

옻나무는 신라시대부터 재배하기 시작하여 그 후 우리 나라 전역에 걸쳐서 식재 되었으나 조선시대에 이르러 남별한 결과 점차 그 수가 줄어 조선시대 말기에는 현저한 감소를 초래하였다(金, 1973). 옻나무의 묘목생산은 분근하거나 실생번식을 통하여 이루어지고 있는데, 분근은 실생번식에 비하여 수령은 짧지만 성숙이 빠르며, 자주(雌株)만 선택할 수 있으므로 납(蠟)을 채취하기 위해서는 이 방법을 이용한다. 이에 비하여 실생번식은 성숙은 늦지만 수액, 즉 옻을 따기 위해서는 이 방법을 택하는데, 묘목을 대량으로 생산하기 위해서는 실생법이 적합하다. 그러나 옻나무의 종자는 충실한 종자가 적고 수량성의 차가 심하기 때문에 효율적인 증식법이 필요하다. 또한 종자의 휴면으로 인한 묘목의 획득에도 많은 어려움이 따르고 있다.

종자 휴면의 원인은 종자내에 어떠한 촉진물질과 억제물질이 모종의 균형관계로서 일어나는 것이라 추정되고 있으나(Khan, 1966b, 1967, 1968a, 1969; Sondheimer 등, 1968; Wareing, 1965), 이 억제물질이 많은 식물에서 abscisin 유사물질(abscisin-like substance)인 것으로 알려져 있다(Khan 등, 1971; Sondheimer 등, 1968). 종자의 휴면을 타파하기 위한 방법으로써 저온충적처리(Hamilton과 Carpenter, 1975; Paul 등, 1973), 수세처리(Furutani 등, 1985), GA류나 cytokinin류와 같은 생장조절물질(Watkins 와 Cantliffe, 1983; Khan과 Ungar, 1986) 그리고 에틸렌 유기화합물들(Geneve, 1991)에 의한 침지처리가 보고되었는데, 특히 종자의 발아촉진 호르몬으로써 cytokinin과 gibberellin(GA)이 여러 작물에서 그 유효성이 밝혀졌으며(Khan, 1966b, 1967, 1968b, 1969, 1971; Khan 등, 1971), 메탄올로 전처리하면 흡수속도가 증가하는데 이는 알콜에 의한 종피의 연화현상으로 추정된다(Hsu 등, 1983).

목본식물의 조직 및 기관을 시험관내에서 배양하여 이로부터 기관분화를 유도 시킴으로써 단시일 내에 많은 재생 식물체를 얻어낼 수 있고 이의 실용화 전망이 더욱 밝아지고 있다(Haissig, 1965; Jacquiot, 1964; Konar와 Nagmani, 1974; Soh와 Cho, 1973;

Wolter, 1968). 그러나 옻나무의 조직을 자연상태에서 채취할 경우 곰팡이와균에 의한 오염이 심하여 무균상태의 기내배양에 문제점이 제기되었다. 따라서 본 연구는 옻나무 묘목대량증식법의 하나로 조직배양 방법을 이용하여 기내 유식물체를 다량으로 증식함으로써 옻나무 증식의 효율성을 높이기 위한 실험의 전단계로써 기내 무균묘를 얻고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

본 실험에 공시한 옻나무(*Rhus verniciflua* Stokes) 종자는 전라북도 산림환경연구소에서 1998년 가을에 수확한 종자를 분양 받아 사용하였는데, 과피(果皮)와 과육(果肉)을 분리하여 4°C 냉장고에 저장하였다. 본 실험에서는 그 중에서 자엽의 일부분만이라도 갈변한 종자는 제외시시켰으며 유백색을 띠고 충실하다고 생각되는 종자만을 사용하였다.

종자의 살균은 70% ethyl alcohol로 1분, 2% sodium hypochlorite에 15분간 살균하고 멸균수로 4~5회 수세하여 시험관내 배지에 치상하였다. 배지는 MS(Murashige와 Skoog, 1962) 기본배지를 사용하였으며, agar를 첨가하기 전에 pH를 5.8로 조정한 후 고압멸균(121°C, 1.2 기압)하였고, 배양은 25±1°C, 1,200 lux 연속 형광하에서 실시하였다.

과피와 과육을 분리한 종자를 비선(비중 1.0)하여 충실한 종자를 1차로 선종하고 sulfuric acid에 2시간 교반한 후 2차로 비선하여 충실한 종자의 선종율(選種率)을 조사하였다. 선종율은 전체 종자에 대한 선종종자의 비율로써 나타내었다.

2차 선종을 마친 종자를 3일간 흡수·팽창시킨 후 외종피를 제거하지 않은 종자, 외종피를 제거한 종자 그리고 내종피를 제거한 종자를 상기의 방법으로 살균한 후 MS 기본배지에 치상하여 발아율을 조사하였다. 발아율은 전체 종자에 대한 별근 종자의 비율로써 나타내었다.

종자의 발아에 미치는 생장조절물질의 영향을 알아보기 위하여 생장조절물질을 처리하여 배양하였다. 2차 선종을 마친 종자를 GA<sub>3</sub>, kinetin의 농도를 0, 500 및 1,000 ppm 용액에 24시간 침지처리 하였고

sulfuric acid는 2시간동안 교반한 후 흐르는 물에 2시간 동안 수세하여 종자에 잔류하는 생장조절물질과 sulfuric acid를 최소화한 후 MS 기본배지에 치상하여 배양하였다.

초기배양 및 신초의 신장에 미치는 생장조절물질을 알아보기 위하여 MS 기본배지에 생장조절물질을 BA 1.0mg/L + NAA 0.05mg/L, BA 1.0mg/L 그리고 IBA 0.2 mg/L + NAA 0.2mg/L를 첨가한 배지에 외종피를 제거한 종자를 치상하여 배양하였다. 종자의 외종피는 1차 선종이 끝난 종자를 sulfuric acid 용액에 2시간 교반하고 흐르는 물에 2시간 수세한 후 3시간 증류수에 침지시켜 종피를 연화시킨 후 제거하였다.

## 결과 및 고찰

옻나무의 종자를 비중 1.0으로 선종한 결과 1차 선종은 평균 50.7%의 선종율을 보였고, 98% 농유산에 2시간 교반처리 후 2차로 선종한 결과 선종율은 20.8%였는데, 전체 처리수에 대한 최종 선종율은 평균 10.6%로 나타났다(표 1). 이 결과로 볼 때 옻나무 종자의 충실도는 매우 저조한 것으로 생각된다.

**Table 1.** Seed grading ratio of lacquer tree

Repeat treatment	Total seed (No.)	First seed grading	Second seed grading	Third seed grading
	No. (%)	No. (%)	%	
1	1,072	521(48.6)	92(17.7)	8.6
2	854	442(51.8)	93(21.0)	12.3
3	603	312(51.7)	74(23.7)	12.3
Mean	843	425(50.7)	86(20.8)	10.6

2차 선종 후 3일간 흡수·팽창시킨 종자들의 발아율은 표 2에 나타내었다. 치상후 배양중에 오염이 심하게 나타났는데, 외종피를 제거하지 않은 종자에 비하여 외종피 또는 내종피를 제거한 종자들의 오염율이 매우 높았다. 이는 종피의 제거작업 중에 오염될 가능성이 높기 때문인 것으로 생각된다. 발근율은 외종피를 함유한 종자(5.4%) 보다는 외종피를 제거하거나(18.3%) 내종피를 제거한 종자(32.4%)가 높았는데, 이는 종근이 견고한 외종피에 의해 발근에 장해를 받아 일어나는 것으로 생각된다.

종자로써 번식하는 식물의 종자 휴면은 종자의 내부적 요인과 외부적 요인에 의해 발생하는데, 내부적 요인에는 종피와 배의 구조적·화학적 원인이 있으며, 외부적 요인으로는 광, 온도, 수분 등을 들 수 있다. 또한 두 가지 요인이 복합적으로 작용하는 중복 휴면 등으로 설명되는데(權 등, 1978), 종자의 발아율을 향상시키기 위해서는 이러한 요인들을 알맞게 조절함으로써 가능하다(Kelly 등, 1992; Mayer와 Shain, 1974). 외부적 요인이 충분조건임에도 종자의 발아지연은 내부적 요인인 휴면이 가장 큰 원인이겠지만 종피의 견고함에 의하여 발아율이 낮은 것들이 있는데(崔 등, 1991), 옻나무 종자가 이러한 경우에 해당되는 것으로 생각된다.

자엽의 전개 이후 본엽의 형성은 외종피를 제거한 종자에서만 6.5%정도 나타났을 뿐 외종피를 포함하거나 내종피를 제거한 종자에서는 정상적인 본엽의 출현을 관찰 할 수 없었다. 특히 외종피를 제거하지 않은 종자의 자엽은 외종피로부터 나오지 못한 채 갈변하여 고사할 뿐 정상적인 무균묘를 획득할 수 없었다. 외종피를 제거한 후 약 2~3시간이 경과하면 내종피 내의 자엽이 녹색을 발현하는 것을 관찰 할 수 있었는데, 그러한 종자는 대부분이 정상적

**Table 2.** Germination rate of lacquer tree seeds by removal of the seed coat

Removal of seed coat	Treatment No.	Contamination No. (%)	Radicle No. (%)	True leaf No. (%)	Germination rate (%)
Non	92	17(18.5)	5( 5.4)	0(0.0)	0.0
Outer	93	64(68.8)	17(18.3)	6(6.5)	6.5
Inner	74	53(71.6)	24(32.4)	0(0.0)	0.0

으로 발아하였다. 외종피를 제거한 후 치상하였을 경우에는 발아율이 6.5%인 반면, 외종피를 제거하지 않은 종자와 내종피를 제거한 종자는 정상적인 발아를 보이지 않았는데, 이러한 이유는 외종피를 제거하지 않을 경우 외종피에 의해 종근과 자엽이 정상적인 발아를 할 수 없고, 내종피를 제거한 종자는 살균과정에서 자엽이 스트레스를 받아 정상적인 발아생리를 할 수 없었던 것으로 추정된다.

전처리에 따른 종자의 발아율을 알아보기 위하여 생장조절물질인  $GA_3$ 와 kinetin의 농도를 다르게 처리하고 sulfuric acid( $H_2SO_4$ )를 처리한 결과(표 3) 생장조절물질 처리에 의한 효과가 인정되지 않았으며, 각 처리별 유의수준도 인정되지 않았다. 이러한 결과를 보이는 원인으로서는 첫째 침지 시간이 짧은 점, 둘째 종피의 견고함에 의한 생장조절물질의 침투불가, 세 번째로는 앞선 실험과 마찬가지로 오염에 의한 정확한 데이터가 나오지 않는 점 등을 들 수 있겠다. 그러나 sulfuric acid를 처리했을 경우 발아율이 3%로써 생장조절물질처리보다는 약간 효과적인 것으로 나타났다. 그러나 전체적으로 발아율이 저조하여 종자로부터 유묘를 획득하는 데에는 효과적이

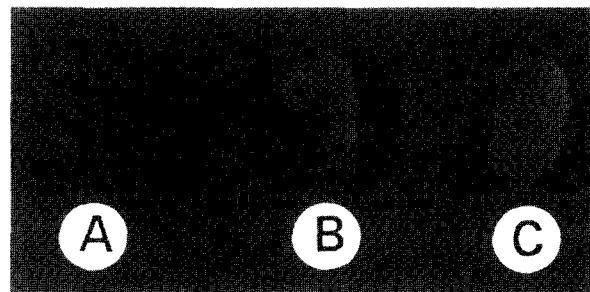
지 못했다. 다만 생장조절물질의 처리는 종자 내에 존재하는 호르몬과의 작용을 촉진시키는 반면, sulfuric acid처리는 종피의 견고함을 약화시키는 기계적인 역할을 하는 것으로 옻나무 종자의 휴면은 견고한 외종피에 의한 기계적인 휴면이 더 큰 것으로 생각된다. 한편 미숙배 등과 같은 불완전한 종자는 휴면타파와 관계없이 발아하지 않으므로 선종이 중요한 것으로 생각된다.

콩과 작물과 같이 종피가 두꺼운 종자의 경우 침지시 수분흡수속도는 종피에 의하여 좌우되는데 (Parrish와 Leopold, 1977), 옻나무종자의 발아에 있어서도 종피에 의한 휴면이 낮은 발아율을 보이는 원인으로 추정된다. 다만 내생호르몬에 의한 휴면일 가능성도 있고, 배의 발육부진으로 인한 낮은 발아일 가능성도 있으므로 이에 대한 구체적인 시험연구가 요구된다.

BA 1.0mg/L + NAA 0.05mg/L, BA 1.0mg/L 그리고 IBA 0.2mg/L + NAA 0.2mg/L의 생장조절물질을 첨가한 배지에 외종피를 제거한 종자(그림 1)를 치상하여 배양한 결과를 표 4에 나타내었다. 대체로 외종피를 제거하면 발아율은 약간 높게 나타났는데, 생

**Table 3.** Effects of  $GA_3$ , kinetin and sulfuric acid on germination in lacquer tree

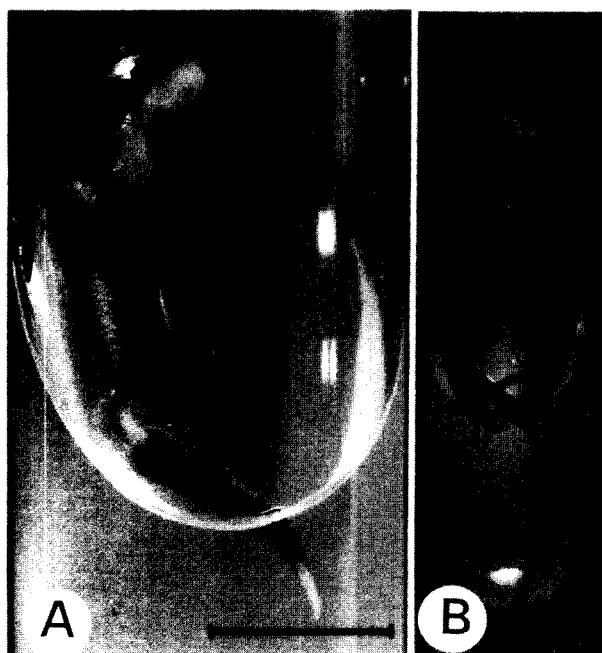
Pre-treatment materials (mg/L)	Contamination	Germination No. (%)
Control	17(17.0)	0(0.0)
$GA_3$	500	27(27.0)
	1,000	30(30.0)
Kinetin	500	26(26.0)
	1,000	27(27.0)
Sulfuric acid	33(33.0)	3(3.0)



**Fig. 1.** Lacquer tree seed. A:outer seed coat, B:inner seed coat, C:cotyledon and seminal root after removal of the 2(outer and inner) seed coats.

**Table 4.** Effects of growth regulators on germination after removal of the outer and inner seed coat of lacquer tree

Growth regulators (mg/L)	Treatment No.	Contamination No. (%)	Rooting No. (%)	Germination No. (%)
BA 1.0      NAA 0.05	75	13(31.0)	0(0.0)	8(10.7)
BA 1.0      -	72	9(27.0)	0(0.0)	7( 9.7)
IBA 0.2      NAA 0.2	83	17(33.0)	0(0.0)	2( 2.4)



**Fig. 2.** *In vitro* germination of lacquer tree seed. A: normal germination at 10 days after inoculation, B: aspestic seedling at 3 weeks after inoculation. Bars are 10 mm length, respectively.

장조절물질을 첨가함으로써 약 4%정도 향상되었다. 특히 BA 1.0mg/L와 NAA 0.05mg/L의 혼용처리와 BA 1.0mg/L 단독처리가 10% 내외의 발아율을 보였다.

이러한 결과는 cytokinin류가 종자의 발아를 촉진시킨다는(Watkins와 Cantliffe, 1983; Khan, 1966a b, 1967, 1968a, 1969) 여러 보고들에서 증명되었다. 즉 종자 내에 존재하는 휴면물질인 abscisin 유사물질(abscisin-like substance)이 cytokinin류인 BA에 의해 균형관계가 파괴되어 종자의 발아를 촉진시키는 것으로 생각된다. 옻나무 종자 내에 존재하는 발아억제물질이 어느 물질인지는 구체적인 연구가 진행되어야 할 것이다.

이상의 실험결과들을 종합하여 기내에서 옻나무의 무균묘를 획득하였다. 배지에 치상한 후 약 10일 만에 정상적으로 발아하는 종자를 관찰할 수 있었고(그림 2A), 치상 후 약 3주만에 본엽이 출현한 정상적인 무균묘를 획득할 수 있었다(그림 2B). 그러나

발아율이 10% 내외에 불과하여 매우 저조하였는데, 발아율 향상을 위한 보다 구체적인 실험이 요구된다.

## 사사

본 연구는 1999년 한국과학기술 평가원 특정연구 개발사업 지원(I-01-04-A-011)에 의하여 수행한 과제임.

## 적요

옻나무 묘목대량증식법의 하나로 조직배양 방법을 이용하여 기내 유식물체를 다량으로 증식함으로써 옻나무 증식의 효율성을 높이기 위하여 기내 무균묘를 얻고자 실시하였다. 비중 1.0으로 선종한 결과 1차선종은 평균 50.7%의 선종율을 보였고, 98% sulfuric acid에 2시간 교반 후 2차로 선종한 결과 선종율은 20.8%였다. 발근율은 외종피를 함유한 종자(5.4%) 보다는 외종피를 제거하거나(18.3%) 내종피를 제거한 종자(32.4%)가 높았다. 전처리에 따른 종자의 발아율은 생장조절물질 처리에 의한 효과가 인정되지 않았으며, 각 처리별 유의수준도 인정되지 않았으나 sulfuric acid를 처리했을 경우 발아율이 3%로써 생장조절물질 처리보다는 약간 효과적인 것으로 나타났다. 외종피를 제거하면 발아율은 약간 높게 나타났는데, 생장조절물질을 첨가함으로써 약 4%정도 향상되었다. 특히 BA 1.0mg/L와 NAA 0.05mg/L의 혼용처리와 BA 1.0mg/L 단독처리가 10% 내외의 발아율을 보였다. 옻나무 종자는 배지에 치상한 후 약 10일 만에 정상적으로 발아하였고, 치상 후 약 3주만에 본엽이 출현한 정상적인 무균묘를 획득할 수 있었으나 발아율이 10% 내외에 불과하여 매우 저조하였다.

## 인용문헌

- 김영련. 1973. 옻의 채취법. 산림. p.89.  
崔鳳鎬, 洪丙憲, 姜光熙, 金鎮淇, 金碩鉉. 1991. 新制種子學. 鄭文社. 서울. pp190-199.

- 鄭寅杓. 1976. 옻나무 優良品種選拔에 關한 研究(第二報). 忠北大 論文集 8:109-113.
- 權雷澤, 鄭璇洙, 李相植. 1978. 林業種苗學. 進明文化社. 서울. p.540
- Furutani S.C., Zandstra B.H., Price H.C. 1985. Low temperature germination of celery seeds for fluid drilling. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116:85-88.
- Geneve R.L. 1991. Seed dormancy in Eastern redbud (*Cercis canadensis*). *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116:85-88.
- Haissig B.E. 1965. Organ formation in vitro as applicable to forest tree propagation. *Bot. Rev.* 31:607-626.
- Hamilton D.F., Carpenter P.L. 1975. Regulation of seed dormancy in *Elaeagnus umbellata* by endogenous growth substances. *Can. J. Bot.* 53:2303-2311.
- Hsu K.H., Kim C.J., Wilson L.A. 1983. Factors affecting water uptake of soybeans during soaking. *Cereal Chem.* 60:208-211.
- Jacquot C. 1964. The application of plant tissue culture to the study of several problems of tree physiology. *Ann. Sci. For.* 31:317-465.
- Jung D.K., Song H.K., Kim H. 1990. The characteristics of allelic materials from Korean lacquer tree sap -Preparative analysis of lacquer tree sap-. *Res. Rept. RDA(Agri. Institutional Cooperation)*. 33:675-682.
- Kelly K.M., Staden J., Bell, W.E. 1992. Seed coat structure and dormancy. *Plant Growth Regulation* 11:201-209.
- Khan A.A. 1966a. Breaking of dormancy in *Xanthium* seed by kinetin mediated light and DNA-dependent RNA synthesis. *Physiologia Plantarum* 19:869-874.
- Khan A.A. 1966b. Cytokinin : Permissive role in seed germination with other hormones. *Science* 171:873-879.
- Khan A.A. 1967. Antagonism between cytokinins and germination inhibitors. *Nature* 216:166-167.
- Khan A.A. 1968a. Cytokinin reversal of abscisic acid inhibition of growth and -amylase synthesis and growth in barley seeds. *Physiologia Plantarum* 21:1301-1307.
- Khan A.A. 1968b. Inhibition of gibberellic acid-induced germination by abscisic acid and reversal by cytokinins. *Plant Physiol.* 43:1463-1465.
- Khan A.A. 1969. Cytokinin-inhibitor antagonism in the hormonal control of -amylase synthesis and growth in barley seeds. *Physiologia Plantarum* 22:94-103.
- Khan A.A., Heit C.E., Waters E.C., Anojulu C.C., Anderson L. 1971. Discovery of a new role for cytokinins in seed dormancy and germination. *Search Agr. Cornell Univ.* pp1-12.
- Konar R.N., Nagmani R. 1974. Tissue culture as a method for vegetative propagation of forest trees. *New Zealand J. For. Sci.* 4:279-290.
- Mayer M.A., Shain Y. 1974. Control of seed germination. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25:167-193.
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473-497.
- Parrish D.J., Leopold A.C. 1977. Transient changes during soybean imbibition. *Plant Physiol.* 59:1111-1115.
- Paul K.B., Patel C.S., Biswas P.K. 1973. Changes in dedogenous growth regulators in loblolly pine seeds during the process of stratification and germination. *Physiologia Plantarum* 28:530-534.
- Soh W.Y., Cho D.Y. 1973. Control of organogenesis in tissue culture. *Kor. J. Plant Tissue Cult.* 1:23-29.
- Sondheimer E., Tzou D., Galson E. 1968. Abscisic acid level and seed dormancy. *Plant Physiol.* 43:1443-1446.
- Wareing P.F. 1965. Endogenous inhibitors in seed germination and dormancy. *Handb. Planzenphysiol.* 15(2):909-924.
- Watkins J.T., Cantliffe D.J. 1983. Hormonal control of pepper seed germination. *HortScience* 18:342-343.
- Wolter K.E. 1968. Root and shoot initiation in aspen callus cultures. *Nature* 219:349-350.

(접수일 1999. 1. 14)

(수리일 2000. 3. 7)