

황칠나무의 경정배양에 의한 기내번식

최성규 · 윤경원

순천대학교 자연과학대학 한약자원학과

In vitro Propagation using Shoot Tip Culture in Gold Tree [*Dendropanax morbifera* L_{EV}.]

Seongkyu Choi and KyeongWon Yun

Department of Oriental Medicine Resources, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea.

ABSTRACT : In order to establish a *in vitro* propagation system for gold tree [*Dendropanax morbifera* L_{EV}], the effects of auxins and cytokinins on shoot multiplication and rooting were investigated. Germination rate was the best in MS medium. The fresh weight and number of shoot were the best on the medium containing 0.1 or 1.0 mg/l BAP and 0.5 or 1.0 mg/l NAA. Shoots were successfully rooted in MS medium with 1.0 mg/l NAA. Roots were easily formed by the addition of auxins, especially 0.1 or 1.0 mg/l BAP.

Keywords : *Dendropanax morbifera* L_{EV}, auxin, cytokinin, multiplication, shoot, root

황칠나무(*Dendropanax morbifera* L_{EV})는 두릅나무과에 속하는 상록활엽 교목으로 겨울에도 낙엽이 지지 않는 수종으로 우리나라의 남부 해안지역과 제주도에서 자생한다(Choi, 1996). 황칠나무는 수피(樹皮)에 상처를 주면 황색의 진(津)이 나오는데 이것을 황칠(黃漆)이라고 하며 가구에 칠한다. 황칠은 목공예 표면도장용칠의 하나로서 옷칠은 검은색 도료인데 비해 황칠은 황색으로 금빛을 띠고 있으면서도 투명하여 바탕의 나뭇결을 생생하게 보여주는 특징이 있다. 황칠나무는 학명에서 보는 바와 같이 목본(Dendro) 전능약(全能藥: panax)이라는 의미가 있고, 황칠액의 주성분은 정유성분으로 수액은 도료로 이용하고 수지는 거품습과 활혈에 특효가 있다는 보고가 있다(산림청, 1993).

이와 같이 활용가치가 높은 우리 나라의 주요 특산식물인 황칠나무에 관한 연구는 산림청 임업연구원 남부임업시험장에서 1990년부터 황칠나무의 자생지를 중심으로 유전자원을 수집하여 산칠량이 많이 생산되는 개체를 선발하려는 연구가 추진된 바 있다(산림청, 1993). 또한 황칠나무에 관한 연구는 전라남도 고유농수산물품 세계화 대상품목에 선정되어 광주·

전남발전연구원(1995)과 전남농업기술원 완도난지시험장(1995)에서 재배 및 번식에 관한 시험을 Choi(1996)가 중심이 되어 일부 시행되어 왔다. 그러나 아직 조직배양에 관한 연구는 우리 나라에서는 거의 보고가 되어 있지 않은 실정이다.

목본식물에 대한 조직배양은 대량증식 및 유전자원의 보존뿐만 아니라 기내 돌연변이 유도, 유전자전환 등 육종적인 면에서의 활용가능성이 높다.

따라서 본 연구는 선발된 우량개체군의 집단채종시 우량개체간의 교잡에 의하여 형성된 종자를 증식하기 위한 수단으로 본시험을 수행하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 배양조건

황칠나무의 자생지에서 우량개체군의 집단채배 채종지에서 선발된 우량개체간의 교잡에 의해서 형성된 종자를 30일 동안 저온(5°C)저장 한 후 20°C의 온수에 8시간 침종하였다. 침종 후 95%의 에탄올에 1분간, 그리고 차아염소산(sodium hypochlorite) 2% 용액에 15분간 표면 소독 후 멸균수로 충분히 수세한 다음 배지에 파종하여 발아 시켰다.

배양조건으로 온도는 25±2°C로 유지하였으며, 형광등(32 μmol · m⁻² · s⁻¹)으로 16시간 조명하였다.

배지의 종류

황칠나무 종자의 기내 무균 발아에 적합한 기본배지를 구명하기 위하여 MS(Murashige and Skoog 1962)배지, 1/2MS배지 그리고 B⁵(Gamborg *et al.* 1968)배지에 sucrose 3%, agar 0.7%, PH 5.8로 하여 종자를 파종한 후 40일간 5일 간격으로 8회 발아율을 조사하였다.

기내증식 및 생장

신초의 기내증식과 생장에 미치는 식물생장조절제의 효과를 구명하기 위해 사이토키닌(cytokinin) 계통인 BAP(6-benzyl

¹Corresponding author: (Phone) +82-61-750-3663 (E-mail) skchoi@sunchon.ac.kr

<Received September 4, 2001>

amino purine)와 kinetin(6-furfurylamino purine)을 각각 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 mg/l씩 첨가한 MS고체배지에 종자무균과중에서 생산된 유식물체(plantlet)의 경정을 1 cm크기로 채취하여 치상하였다. 치상 후 30일간 배양한 다음 생존율, 신초수, 최대 신초길이, 신초중 등을 조사하였다.

또한 사이토키닌 농도 실험결과 BAP처리에서 신초의 증식에 대한 효과가 인정되었으므로 옥옥신(auxin)과 BAP조합처리가 신초의 생장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 NAA 0.1, 0.5, 1.0, 10.0 mg/l과 BAP 0.1, 1.0 mg/l를 각각 조합 처리하여 40일간 배양한 다음 생장정도인 생체중을 조사하였다.

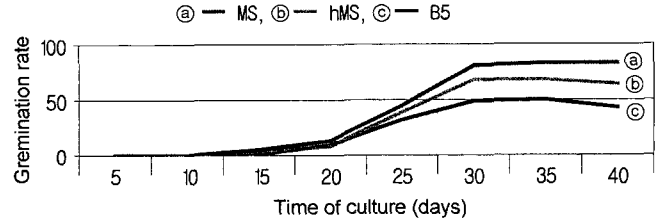
기내발근

계대배양에 의하여 기내증식된 신초 중에서 길이 1.5 cm 이상인 것을 공시재료로 사용하였다. 기내발근에 적당한 옥옥신의 종류와 농도를 구명하기 위하여 NAA(1-naphthyl acetic acid)와 IAA(3-indole-acetic acid) 그리고 IBA(3-indolebutyric acid)를 각각 0.1, 0.5, 1.0, 10.0 mg/l을 MS고체배지에 단용 처리하여 배양 40일 후 생존율과 발근정도(근수, 근장, 근경 등)를 조사하였다.

결과 및 고찰

발아배지의 종류

황칠나무 종자를 기내(器內 : *in vitro*)에서 무균 과중 할 때 배지 종류별 발아율을 조사한 결과, MS기본배지가 1/2MS배지와 B5배지보다 발아율이 높은 경향이였으며, 과중 30일 후 발아율이 83%에 달하였다. 따라서 MS기본배지가 황칠나무의 종자무균배양에 가장 적당한 배지로 생각된다. 대부분 기내대량생산을 위한 식물재료를 확보하기 위하여 종자무균배양시 MS기본배지를 이용하고 있으며, 최근 Lan *et al.*(2000)은 Buffalo gourd와 Common milkweed의 종자무균배양을 위하여 MS기본배지를 이용하여 유식물체를 대량생산한 바 있다.



*MS: MS medium, hMS: 1/2MS medium, B5: B5 medium
Fig. 1. Effect of three media on germination of gold tree [*Dendropanax morbifera* L_{EV.}]

기내신초의 증식에 미치는 영향

신초의 기내증식과 생장에 미치는 식물생장조정제의 효과를 구명하기 위해 사이토키닌을 첨가한 MS고체배지에 유식물체(plantlet)의 경정을 치상한 후 40일간 배양한 다음 신초수, 최대 신초길이, 신초중 그리고 생존율 등을 조사하였다(Table 1).

일반적으로 황칠나무의 신초 발생을 위해서 사이토키닌은 필수적인 것으로 생각된다. 특히 사이토키닌 중에서도 BAP처리가 kinetine 처리보다 신초의 발생에 효과가 있었다. 신초의 발생과정을 살펴보면 치상한 경정이 다소 성장하면서 기부가 확대되고 확대된 기부에 눈이 형성되는 것을 관찰 할 수가 있었다. 이 중에서 BAP 1.0 mg/l 처리가 신초수 3.2개로 가장 많이 발생되었다. Sugiura *et al.*(1986)은 목본식물인 감나무(Hiratenenasi)에서 신초의 발생을 위해서 BAP의 효과를 인정한 바 있다. 신초의 생장에 있어서도 BAP 1.0 mg/l 처리가 가장 효과적으로 신초의 길이는 5.1 mm이고, 신초중은 25 mg이나 되었다. Ryu *et al.*(2000)은 감나무의 경정배양에서 BAP 첨가는 치상한 경정이 성장하면서 기부에 수개의 눈이 형성되는데 형성된 눈은 길이 신장보다는 앞이 먼저 분화되어 로제트(rosette)형으로 된다고 보고하였으나 황칠나무에서는 로제트형은 발생되지 않았다. 생존율은 BAP나 Kinetin의 처리간에 별 차이 없이 80%이상 생존하였으나 농도가 약간 높은 5.0 mg/l처리에서 낮아지는 경향이였다. 한편 이와 같은 이유

Table 1. Effects of cytokinins on the proliferation and growth of shoots from shoot tip culture of gold tree [*Dendropanax morbifera*] after 40 days in culture.

Type of cytokinins	Concentrations (mg/l)	No. of shoots	Shoot length (mm)	Shoot fresh weight (mg)	Survival rate (%)
Control		1.0c [†]	1.8b	7c	81
BAP	0.1	1.7b	4.5a	22a	86
	0.5	2.8a	4.7a	23a	89
	1.0	3.2a	5.1a	25a	88
	5.0	2.0b	4.2a	20ab	71
Kinetin	0.1	1.4bc	4.3a	14b	84
	0.5	2.0b	4.2a	19ab	88
	1.0	2.8a	4.8a	20ab	84
	5.0	1.9b	4.1a	18ab	65

[†]Mean separation within column by Duncan's multiple range test, 5% level of significance.

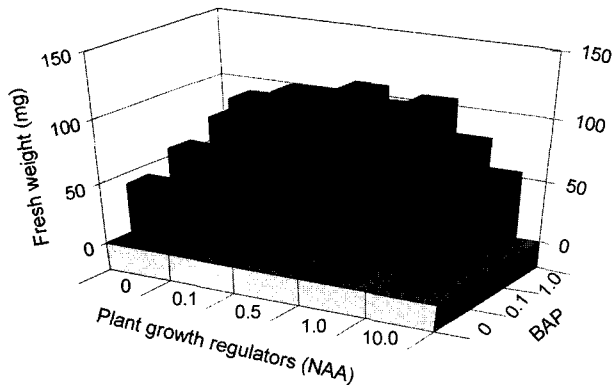


Fig. 2. Effect of plant growth regulators on fresh weight of shoots from shoot tip culture of gold tree [*Dendropanax morbifera* L_{EV.}].

는 식물의 형태 형성적인 특성 차이에서 기인 된 것으로 생각 되어 계속 검토가 요구된다.

오옥신(auxin)과 사이토키닌 조합처리가 신초의 생장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 NAA(0.1, 0.5, 1.0, 10.0 mg/l)와 BAP(0.1, 1.0 mg/l)를 각각 조합 처리하여 40일간 배양한 다음 유식물체의 생체중을 조사한 결과, BAP 0.1 mg/l과 NAA 0.5~1.0 mg/l첨가에서 120 mg으로 가장 효과가 있었다(Fig. 2).

Lan *et al.*(2000)은 buffalo gourd를 기내에서 증식시키는 방법으로 BAP 1.0 mg/l과 IAA를 0.3~0.6 mg/l 첨가하는 것이 적합하다고 보고하였다. 본 시험에서도 황칠나무를 기내에

서 증식하기 위해서는 사이토키닌(BAP 0.1~1.0 mg/l)과 오옥신(NAA 0.5~1.0 mg/l)의 첨가농도를 적당량 혼용처리 할 경우 증식이 가능할 것으로 본다(Fig. 3A).

기내발근에 미치는 오옥신의 영향

기내에서 증식된 황칠나무의 신초 발근을 유도하기 위하여 MS배지에 NAA, IAA, IBA를 각각 0.1, 0.5, 1.0, 10.0 mg/l 첨가하여 40일 간 배양한 결과, 오옥신의 종류와 농도에 차이 없이 발근율이 71~95%로 양호한 경향이였다(Table 2). 근의 생장에 있어서 근장과 근수 그리고 근직경은 NAA첨가에서 가장 효과적이었으며 IAA첨가는 NAA와 IBA첨가에 비하여 생육이 약간 불량하였다. 따라서 NAA1.0 mg/l 첨가에서 근수 5.8개, 근장 24.7 mm, 근경 1.8 mm 로 생장이 가장 양호하였다(Table 2). 그러나 NAA10.0 mg/l첨가에서는 근의 비대가 촉진되어 근경이 2.7 mm로 비정상적인 굵은 형태의 뿌리가 발생하였다(Fig. 3B).

오옥신의 처리농도가 증가함에 따라 뿌리의 생장은 증가하는 경향이였으나 일반적으로 1.0 mg/l 첨가에서 정상적인 생장이 이루어졌다.

적 요

황칠나무의 선발된 우량개체군의 집단재배시 우량개체간의 교잡에 의해서 형성된 종자를 증식하기 위한 기내배양체계를 확립하기 위해서 기내 발아, 증식, 발근에 적합한 식물생장조절

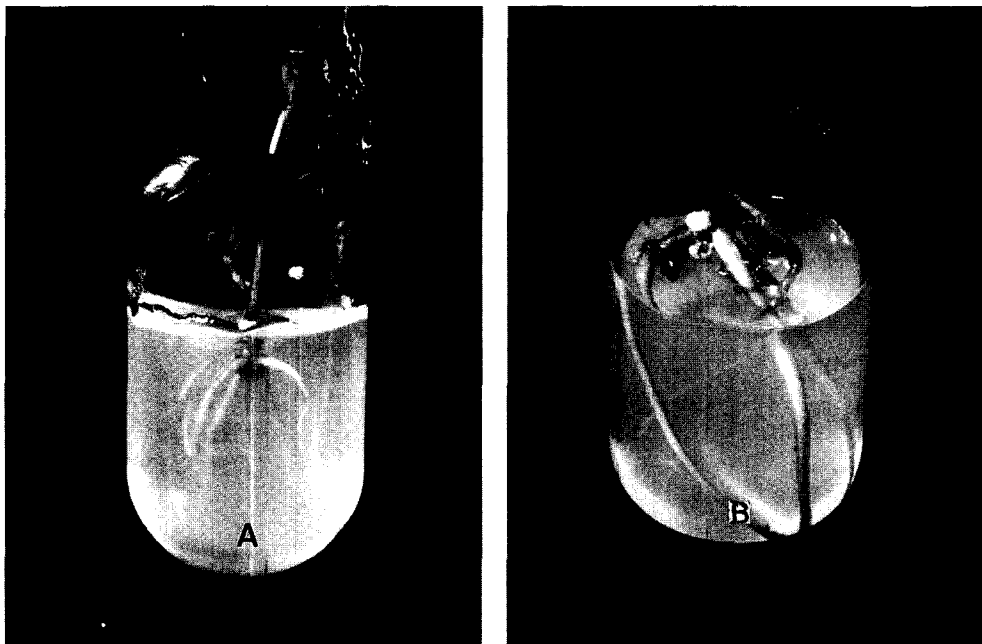


Fig. 3. *In vitro* propagation of gold tree [*Dendropanax morbifera* L_{EV.}]. (A) Root formation of shoots from shoot tip culture on the medium containing 0.1 mg/l BAP and 0.5 mg/l NAA; (B) Roots were hyperphy zumped from shoot tip when cultured on medium added with 10.0 mg/l NAA.

Table 2. Effects of auxins on the root formation and growth of *Dendropanax morbifera* after 40 days in culture.

Type of cytokinins	Concentrations (mg/l)	Rooting rate (%)	No. of root	Root length (mm)	Root diameter (mm)
NAA	0.1	78	3.0bc [†]	8.8c	0.7c
	0.5	92	4.1ab	14.8b	1.6b
	1.0	95	5.8a	24.7a	1.8b
	10.0	93	5.3a	22.1a	2.7a
IAA	0.1	71	1.9c	7.5c	0.6c
	0.5	88	2.4bc	12.7b	1.7b
	1.0	91	3.2b	19.1ab	1.9b
	10.0	92	2.6bc	15.2b	1.9b
IBA	0.1	73	2.0c	8.3c	0.8c
	0.5	87	2.9bc	13.4b	1.5b
	1.0	92	3.8b	20.8a	1.7b
	10.0	90	3.1b	17.1b	1.9b

[†]Mean separation within column by Duncan's multiple range test, 5% level of significance.

배를 구명하기 위하여 본 실험을 실시한 결과는 다음과 같다.

황칠나무 종자의 무균발아에 적합한 배지로는 MS(Murasinge Skoog)기본배지가 발아율이 높고 유식물체(plantlet)의 생장이 양호하여 알맞는 배지로 판단 된다.

기내에서 신초의 증식과 생육에 효과적인 식물생장조절제는 사이토키닌(BAP 0.1~1.0 mg/l)과 옥신(NAA 0.5~1.0 mg/l)의 혼용처리가 효과적이었다. 또한 기내의 발근은 옥신의 첨가에서 쉽게 유도되었으며, 그 중에서 NAA1.0 mg/l첨가에서 가장 양호하였다.

인용문헌

- Choi S. K. 1996. Growth characteristics and native environment of *Dendropanax morbifera* in Wando, Korea. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 4 : 1-6.
- Camborg O. I, Miller R. A. Ojima K. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp Cell Res.* 50 : 151-158.
- 전남농촌진흥원. 1995. 완도난지시험장 10년사. 완도난지시험장. p. 179.
- 광주·전남발전연구원. 1996. 고유농수산물품목 세계화 대상품목의 연구조사. 황칠나무편. 전라남도. pp. 19-80.
- Lan M. L., Lee S, Paek K. Y. 2000. Micropropagation of *Cucurbita foetidissima* and *Asclepias syriaca* through shoot tip culture of seeding. *Korean J. Plant Tissue Culture.* 27 : 63-69.
- Murashige T. Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant.* 15 : 473-477.
- Ryu J. A, Cho D. H, Song I. K, Park T. S, Choi K. B. 2000. Micropropagation of *Diospyros kaki* Thunb. by shoot tip culture. *Korean J. Plant Tissue Culture.* 27 : 51-55.
- 산림청. 1993. 황칠나무. 새로운 단기 임업소득. 산림청 임업연구원. pp. 5-76.
- Sugiura A, Tao R, Murayama H, Tomama T. 1986. in vitro propagation of Japanese persimmon. *Hort Sci.* 21 : 1205-1207.