

## 붉나무충영의 배양조직에서 생육 및 tannin 축적에 미치는 indole-3-acetic acid의 역할

소 상 섭\* · 許 明 子<sup>1</sup> · 오 인 숙

전북대학교 생물과학부, <sup>1</sup>연변대학 농학원 농학계

### A Role of Indole-3-acetic Acid on the Growth and the Accumulation of Tannin in Callus Induced from Galls of the Sumac

Sang-Sup So\*, Xu Mingzi<sup>1</sup> and In-Suk Oh

Faculty of Biological Sciences, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea  
<sup>1</sup>Agricultural College of Yanbian University, Longjing, Jilin 133400, China

**Abstract** - These studies were carried out to examine the developmental process of galls caused by aphids in *Rhus javanica* and the effects of indole-3-acetic acid (IAA) and  $\alpha$ -naphthalene acetic acid (NAA) on the tannin accumulation in the callus induced from that galls. The results are follows.

The development of fist-shaped galls has begun at the beginning of June earlier than the case of finger-shaped galls, and also, the growth of fist-shaped galls has last to September longer than the period of finger-shaped galls. These results indicate that the life cycle and feeding activity of the aphids inhabited in fist-shaped galls were longer and more active than the case of the aphids inhabited in finger-shaped galls. Tannin contents of fist-shaped galls revealed about 60~70% of total dry weights during the whole growth periods, however, the contents in finger-shaped galls were under 10% at the maximum value. These facts mean that finger-shaped galls seem to be as a habitat of aphids rather than as a major source of tannin such as fist-shaped galls. The growth of callus induced from fist-shaped galls was the most effective in the plot of 10<sup>-5</sup> mole IAA, but the tannin accumulation in callus growth was not even caused in any plots of IAA treatments as wells as in any NAA plots. These results considered that the tannin accumulation in fist-shaped galls may be caused only in specific relation between host plant and life cycle of aphids.

**Key words** : Aphid, Fist-shaped gall, Finger-shaped gall, Tannin, IAA

### 서 론

붉나무에서 형성되는 오배자충영은 하나의 천연자원으로서 생산량의 대소는 자연환경조건의 지배를 많이

받게된다. 약제 등으로서 농가소득의 큰 몫을 차지하는 중국의 경우는 1960년대부터 오배자의 생산관리를 증가시키기 위한 증식법을 연구하였으며 이후 절강농업대학 및 농업과학연구원 등에서는 오배자를 비롯한 식물 충영의 연구가 지속적으로 이어져 오고 있다(Tang 1976; Zhang and Zhong 1983).

실제 식물체에서 충영을 형성하는 곤충은 대단히 다

\* Corresponding author: Sang-Sup So, Tel. 063-270-2786  
Fax. 063-270-3361, E-mail. sso@moak.chonbuk.ac.kr

양해서 지금까지 알려진 것만도 13,000여종 이상으로 이는 지구상 곤충계의 2% 정도의 숫자이다. 식물에서도 조류를 제외한 거의 모든 육상식물에서 층형형성을 관찰할 수 있다. 농업 또는 임업적인 측면에서 층형에 대한 인식은 해충에 의해 형성된 gall의 인식에서부터 공업용 재료나 약재 등의 산업적인 이용측면까지 다양하다 (Shorthous and Rohfritsch 1992).

그러나 아직도 생물관련 전 분야에 광범위하게 연구되지는 않고 있으나 관련학자들에 의하여 부분적인 세부연구가 진행되어온 바 있다. 예컨대 숙주식물은 어떤 식물이며 어떻게 분포하는가 (Forrest 1987), 면충이 어떻게 식물체로 감염되는가 (Evert *et al.* 1973; Kimmins and Tjallingii 1985) 등의 연구가 다각도로 검토되어 왔다. 그러나 대개의 이들 연구는 숙주식물이 갖는 생리, 생화학적 측면보다는 곤충학적 견지에서 검토되는 경향을 보임으로서 층형학은 식물분야와는 거리가 있는 것으로 인식되어 왔으며 숙주식물에 대한 연구는 오히려 식물분야의 학자들에 의해서 보다는 일부 곤충학자들에 의한 생리생화학적 관계가 밝혀진 바 있다. 즉 Schaller (1968a)는 auxin이 면충의 타액에 존재하면서 이것이 숙주식물에 영향을 주면서 층형형성의 요인 된다고 주장하였으며 또한 그는 (Schaller 1968b) amino산류도 층형형성 요인일 것으로 추정하여 숙주식물 뿌리에 amino산을 처리하기도 하였다. 식물 성장조절제에 관한 층형유도설은 cytokinin류 및 gibberellin에서 각각 Ohkawa (1974) and Byers *et al.* (1976)에 의하여 실험된 바도 있으나 아직도 이들 물질이 층형유도 또는 형성과 연관되어 있는지는 불확실하다.

층형에 관한 이 같은 연구배경과 관련하여 본 연구에서 실험재료로 한 오배자는 전통약재로서 또는 공업용 tannin등의 주요원료로 이용되는데 특히 의학상으로는 중독, 화상 및 피부염 등의 특효약으로서, 공업상으로는 염료제조제, 접합제, 방사성원소제조시의 침전제 기타 비행기 연료의 안정제 등으로 이용되는데, 이 같은 용도는 오배자의 주성분인 tannin 성분과 연관된 것으로서 (Stecher 1972; Hotta *et al.* 1989), 본 연구 또한 층형의 생육시기별 tannin 축적을 조사하고 동시에 층형으로부터 유도된 배양세포를 이용하여 IAA 등의 식물성장조절제와 tannin 축적과의 관계를 조사코자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료 및 면충

실험재료는 붉나무 (*Rhus javanica* L.)의 잎과 여기에

서 형성된 오배자층형(주먹형)과 꽃오배자층형(손가락형)으로 하였으며, 채집은 1999년에서 2000년에 걸쳐 성숙시기별로 전북 완주군 고덕산 일대와 임실군 성수산 일대에서 실시하였으며, 동시에 2000년 8월에 중국 연변일대의 야산에서 채집된 것에도 비교 분석하였다. 또한 오배자층형 및 꽃오배자층형에서 서식하는 면충은 각 층형을 수거 절개하여 관찰 확인하였다.

## 2. 층형의 성장

오배자층형 및 꽃오배자층형이 형성되는 6월과 9월에 걸쳐 각 층형을 초기성숙기 (initiation), 생장기 (growth) 및 성숙기 (maturation)로 구분하여 폭의 크기를 성숙도로 하였다.

## 3. Callus 유도 및 IAA (indole-3-acetic acid)의 처리

층형 초기 생육기의 어린 오배자로부터 면충의 간모 (fundatrix)를 완전히 제거시킨 조직절편을 MS 배지 (Murashige and Skoog 1962)에 치상하여 callus를 유도시키고 이어 수차 계대배양 한 것을 실험재료로 하였다. IAA의 농도는 MS배지의 2, 4-D (2, 4-dichlorophenoxy acetic acid) 기본농도인  $10^{-5}$  mole을 기준으로 하여  $10^{-9}$ ,  $10^{-7}$  및  $10^{-3}$  mole로 처리하였으며, 이후 tannin 합성과 식물성장물질과의 관계를 비교하기 위해 같은 농도 구배의 NAA ( $\alpha$ -naphthalene acetic acid) 실험구도 설정하였다.

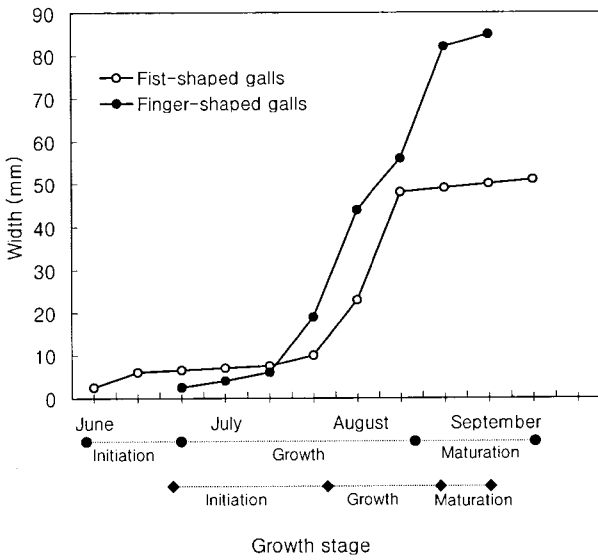
## 4. 붉나무 잎, 층형 및 callus의 tannin 함량

각 건조시료 1g에 40 ml 정도의 증류수를 넣고 가열 방냉시킨 후 여기에 증류수를 가하여 50 ml로 mass up 시켜 이를 여과하고 그 침출여액을 시험용액으로 한다. 시험용액 중 1 ml를 취하여 100 ml volumetric flask에 넣고 여기에 증류수 75 ml, Folin-Denis 시약 (증류수 750 ml에  $\text{Na}_2\text{WO}_4$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_4$  50 ml를 가해 섞은 후 1 L로 mass up) 5 ml, 탄산나트륨 포화용액 10 ml를 차례로 넣는다. 증류수로 mass up하고 교반 후 30분간 정지시킨 뒤 760 nm에서 비색 정량하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 층형의 성장과 형태

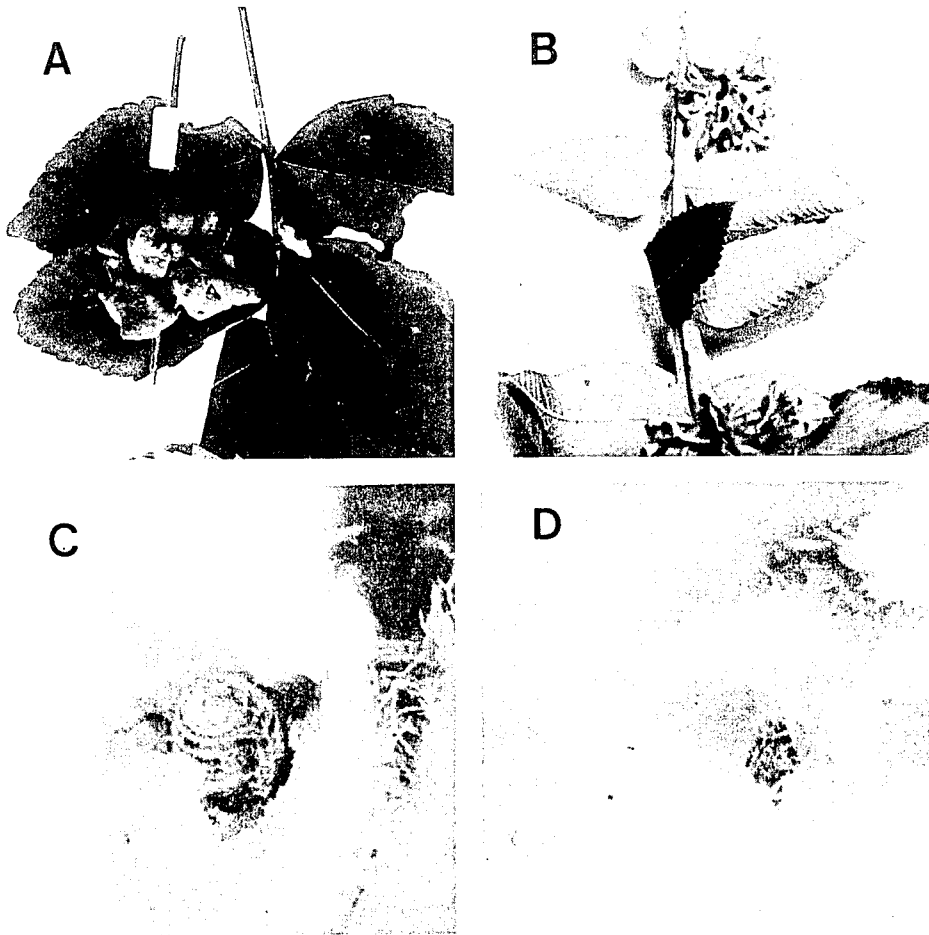
붉나무에서 형성된 층형의 시기별 생장은 Fig. 1과 같



**Fig. 1.** Growth of fist-shaped galls and finger-shaped galls formed on leaf of *Rhus javanica* L.

다. 오배자충영은 붉나무 복엽상에서 형성되기 시작하였으며 그시기는 6월 초순경이었고 이같은 초기생육은 10 mm 이하의 폭으로 지속되면서 7월 중순에서 8월 초까지 신장세를 나타냈는데 이 경우 충영의 폭은 40~50 mm에 이르게되며 형태 또한 Plate 1(A)에서와 같이 주먹형(fist-shape)을 갖추고 있다. 반면 꽃오배자충영의 경우는 붉나무 소엽부위의 잎자루에서 오배자충영 보다 비교적 늦은 6월 20일경에 형성되어 이후 7월초부터 급속한 신장세를 시작하여 8월 중순경에는 80 mm의 폭으로 발달하였는데 생육정지는 앞서 오배자 보다 빠른 8월 말경에 나타나고 있었다. 이 같은 결과는 오배자 충영면층의 섭식활동이 긴시간 지속되고 있으며 꽃오배자 충영면층은 좀더 이른 8월말경에 이 활동이 거의 끝나고 있음을 시사하였다. Plate 1(B)는 완전 성숙된 손가락형(finger-shape) 꽃오배자의 형태이다.

한편 충영내 면층은 Lee et al. (1993)의 결과에서 처럼 오배자 충영에는 오배자면층(*Schlechtendalia chinensis*)



**Plate 1.** Galls of maturation stage and aphids lived in the galls on *Rhus javanica* L. A : Fist-shaped galls, B : Finger-shaped galls, C : Instar of *Schlechtendalia chinensis*, D : Instar of *Nurdea yanoniella*.

이 꽃오배자 충영에는 꽃오배자 면충(*Nurudea yano-niella*) 만이 서식하고 있음을 확인할 수 있었다(Plate 1C, D).

## 2. 충영유도 callus 성장에 미치는 IAA 효과

오배자충영 조직으로 유도된 callus의 성장(Fig. 2A)은  $10^{-5}$  mole IAA 처리시 flask 당 72 mg으로 전체 시험구 중 최대치를 나타내어 같은 농도의 기존 2,4-D 처리시의 효과(Gamborg 1975; Oswald *et al.* 1977)와 일치됨을 나타내었다. 또한  $10^{-9}$  및  $10^{-3}$  mole의 농도에서는 거의 생육 정지 현상을 보임으로서 이 조직으로부터 유도된 callus의 생육은 IAA 농도에 대단히 민감하게 반응하고 있었으며 IAA 자체 또한 Schaller의 보고(1968a)에서처럼 충영유도 물질로서의 가능성을 추측케 하였다. 반면 대조처리한 같은 농도구의 NAA 실험구에서의 생육은  $10^{-7}$  mole 농도에서 배양초기의 2배 정도인 신선중당 40 mg에 불과함으로서 오배자충영 유래 callus는 식물생장조절제의 종류에 따라 서로 선택적으로 생육상을 나타내었다.

한편 꽃오배자 충영으로부터 유도된 callus의 성장(Fig. 2B) 또한 오배자 충영유도 callus의 성장과 같은 양상이었으나 최대 생육량을 나타낸  $10^{-5}$  mole IAA 농도에서 58 mg에 불과하였으며 NAA 처리시에도 callus의 양호한 성장 효과는 나타나지 않았다.

## 3. 오배자 및 꽃오배자 충영의 tannin 함량

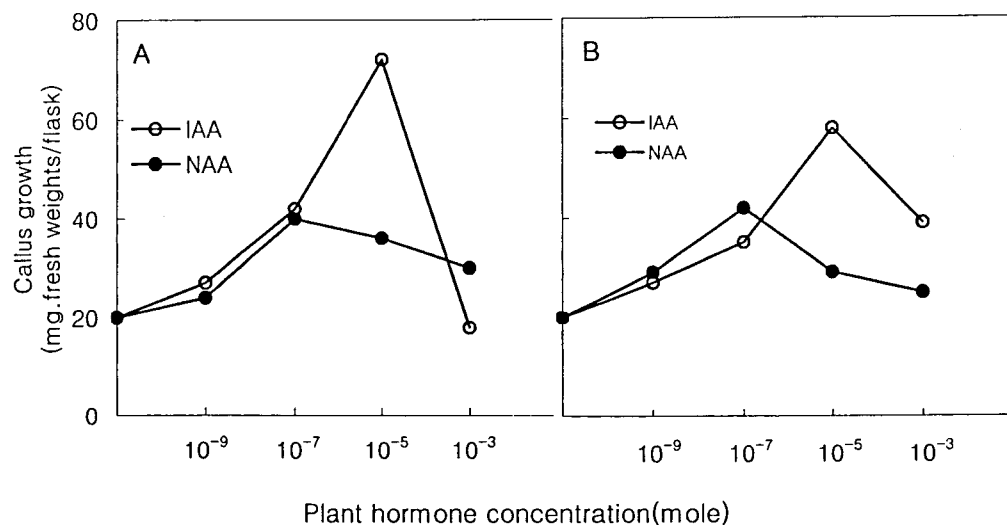
충영의 성숙관계에 따라 붉나무의 잎, 오배자 충영(주

먹형) 및 꽃오배자 충영(손가락형)의 tannin 함량 변화는 Table 1과 같다. 각 시료의 채집시기는 Fig. 1의 생육 단계에 따라 6월에서 9월에 걸쳐 실시하였다. 포에서와 같이 주먹형인 오배자충영의 tannin 함량은 충영형성 초기에 이미 건물중 gm 당 592.8 mg에서 성숙기에는 684.3 mg을 나타내고 있는데 이것은 전체 건물량의 70%에 이르는 높은 함유율로서 이 종류의 충영은 tannin 추출의 주된 원료임을 재확인(Stecher 1972; Hotta *et al.* 1989)할 수 있었다. 손가락형인 꽃오배자충영의 경우는 전 생장기간을 통하여 건물중 gm 당 80~90 mg 정도의 낮은량을 나타내었는데, 이러한 값은 30 mg 정도의 느티나무충영의 tannin 함량(So *et al.* 2000) 보다는 높게 나타나고 있지만 통상 tannin의 재료로는 이용될 수 없는 함량으로 인식되었으며 꽃오배

**Table 1.** Tannin contents on leaf, fist-shaped galls and finger-shaped galls formed on *Rhus javanica* L.

Tissue	Growth stage	Tannin contents
		mg/g. D. W.
Leaf	I	104.4±0.4
	G	106.5±0.2
	M	111.6±0.1
Fist-shaped galls	I	592.8±0.1
	G	654.7±0.2
	M	684.3±0.1
Finger-shaped galls	I	84.6±0.1
	G	92.5±0.4
	M	92.2±0.1

Data are means of three replications with SE. I, G and M mean initiation, growth and maturation, respectively.



**Fig. 2.** Maximum growth on various concentration of IAA and NAA in cultured callus from fist-shaped galls (A) and finger-shaped galls (B) of *Rhus javanica* L.

**Table 2.** Tannin contents on various concentration of IAA and NAA in maximum growth of callus derived from first-shaped galls formed on *Rhus javanica* L.

Plant hormone	Concentration	Tannin contents
	mole	mg/g. D. W.
Control	Pre inoculation	22.4±0.2
	10 <sup>-9</sup>	20.5±0.2
	10 <sup>-7</sup>	18.5±0.2
	10 <sup>-5</sup>	22.2±0.1
	10 <sup>-3</sup>	20.8±0.3
IAA	10 <sup>-9</sup>	21.7±0.1
	10 <sup>-7</sup>	20.5±0.2
	10 <sup>-5</sup>	21.1±0.2
	10 <sup>-3</sup>	18.4±0.1

Data are means of three replication with SE.

자 증영은 단지 증영곤충의 서식지로서의 가치만이 추정되고 있다. 반면 오배자증영이 생성되고 있는 붉나무 잎의 tannin 함량은 건물중 gm 당 100~110 mg으로 오히려 꽃오배자 증영보다 높은 수치를 나타내었다.

#### 4. IAA 및 NAA 처리 callus의 tannin함량

Table 2는 앞서 Table 1의 결과에 따라 tannin함량이 가장 높은 오배자증영으로 유도된 callus로 하였으며 IAA 및 NAA의 각 농도별 tannin량의 측정은 callus 생육량이 최대치를 나타낸 것을 기준으로 하였다.

수차례 제대배양을 통하여 IAA 및 NAA를 처리하기 전의 tannin량(control)은 건물중 gm 당 22.4 mg에 불과하였는데, 이것은 실험과정에서 증영조직절편의 멸균소독에 사용되는 70% ethanol이 상당량의 tannin을 용출시키기 때문이며(Stecher 1972), 이후 식물 호르몬 처리 시 callus에 함유된 tannin량의 변화는 이 값을 기준으로 하여 비교하였다. 표의 결과에서 10<sup>-5</sup> mole IAA 농도에서 건물중 gm 당 22.2 mg으로 처리농도구 가운데 가장 높은 수치를 나타내고 있으나 이것은 대조구의 22.4 mg에 유사한 값으로서 IAA에 의한 tannin의 증가는 유발되지 않았다. 또한 10<sup>-9</sup>, 10<sup>-7</sup>, 및 10<sup>-3</sup> mole 처리구에서도 IAA에 대한 tannin 증가 현상은 확인할 수 없었으며 오히려 기준량이 감소되는 결과를 나타내었다. 이러한 현상은 NAA 처리구에서도 같은 양상으로 최저치 18.4 mg(10<sup>-3</sup> mole NAA 처리구)에서 최고 21.7 mg(10<sup>-9</sup> mole NAA 처리구)에 이르는 tannin 함량은 대조구의 양에도 미치지 못하는 수준이었다. 이 같은 결과는 비록 Scott (1970) and Miles *et al.* (1972)에 의하여 IAA 자체가 증영 유도 물질로서 확인되었다 할지라도, 증영에서 유도된 배

양세포에 식물생장물질을 처리하여 질소화합물(Dhingra 1981)이나 당성분(Bronner *et al.* 1977) 등이 증가하는 결과와 같이 본 실험에서 기대한 tannin류 등의 증가는 유발되지 않음을 확인할 수 있었다. 결국 본 실험의 붉나무 잎에서 생성되는 주먹형인 오배자 증영의 tannin 축적은 기주식물과 면충의 생활사가 연계된 특이관계에서만 가능한 것으로 사료되었다.

## 적 요

붉나무에서 면충에 의하여 형성되는 오배자 및 꽃오배자면충의 성장과정과 시기별로 축적되는 tannin 함량을 분석하고 동시에 이들 증영으로부터 유래된 배양 callus에 IAA등을 처리하여 생육 및 tannin 축적과의 관계를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

증영의 발달은 오배자가 꽃오배자 보다 이른 시기인 6월초에 시작되었고 완숙단계도 오배자가 9월초까지 지속됨으로서 오배자 면충은 꽃오배자 면충 보다 생활사가 길며 먹이 활동 또한 활발한 것으로 나타났다.

증영의 tannin 함량은 오배자의 경우 초기생육기부터 전 생육기간에 걸쳐 60~70%의 높은 함량을 나타냄으로서 tannin의 주된 원료로서의 가치를 확인할 수 있었다. 반면 꽃오배자는 건물당 최고 10% 정도에도 미치지 못하는 낮은 함량으로 이것은 단지 면충의 서식지로서의 역할만이 인식되었다.

증영 유래 배양 callus에서 IAA 10<sup>-5</sup> mole 농도는 생육 증가에 가장 효과적이었으나, IAA 처리에 의한 tannin 축적현상은 10<sup>-5</sup> mole 등 농도별 시험구에서도 유발되지 않았다. 또한 대조처리한 NAA 시험구에서도 tannin 축적은 확인되지 않았다. 결국 붉나무 오배자 증영의 tannin 축적현상은 기주식물과 면충의 생활사가 연계된 특이관계에서만 가능한 것으로 사료되었다.

## 사 사

본 연구는 2000년도 전북대학교지원 연구비에 의하여 수행되었음.

## 인 용 문 헌

- Bronner R. 1977. Contribution a l'etude histochemique des tissue nourriciers des zoocidies. Marcellia 40:1-34.  
Byers JA, JW Brewer and DW Denna. 1976. Plant growth hormones in pinyon insect galls. Marcellia 39:125-134.

- Dhingra S. 1981. Studies on some insect and mite induced plant galls of Rajasthan. Ph. D. Thesis Univ. Rajasthan India.
- Evert RF, W Esrich, SE Eichorn and ST Limbach. 1973. Observation on penetration of baryey leaves by aphid *Rhopalosiphum maidis* (Fitch). *Protoplastna* 77:95-100.
- Forrest J. 1987. Gallling aphids. pp. 341-353. In *Aphids; Their Biology, Natural Enemies and Control* Vol 4. Elsevier, Amsterdam.
- Gamborg OL. 1975. Callus and cell culture. pp. 1-10. In *Plant Tissue Culture Methods*, Natotional Research Council of Canada, Saskatoon.
- Hotta M, K Ogata, A Nitta, K Hosikawa, M Yanagi and K Yamazaki. 1989. *Rhus* L. Sumac. pp. 909-912. In *useful Plant of the World*. Heibonsha LTD, Publusers, Tokyo Japan.
- Kimmins FM and WF Tjallingii. 1985. Ultrstructure of sieve element penetration by aphid stylets during electrical recording. Thesis Agr. Univ. Wageningen. pp. 73-89.
- Lee WK, SY Seo and CY Hwang. 1993. Taxonomic study on pemphigidae (Aphidodidea; Homoptera) from Korea. *Korea J. Syst. Zool.* 9:237-249.
- Miles PW. 1972. The salica of Hemiptera. *Adv. Insect physiol.* 9:183-255.
- Murashige T and F Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Ohkawa M. 1974. Isolation of zeatin from larvae of *Dryocosmus Kuriphilus* Yasccmatsu. *Hortscience* 9: 458-459.
- Oswald TH, AE Smith and DV Phillips. 1977. Callus and plant regeneration from cell cultures of Ladino clover and soybean. *Physiol. Plant.* 38:129-134.
- Schaller G. 1968a. Biolchemische analyse des apriidenspeichels and seine bedeutung fur die galenbildung. *Zool. Jb. Physiol.* 74:54-87.
- Schaller G. 1968b. Untersuchungen zur erzeuguing kunstlicher planzengollen. *Marcellia* 35:131-153.
- Scott DR. 1970. Feeding of *Lygus* bugs (Hemiptera : Miridae) on developing carrot and bean seeds increased growth and yields of plant grown from that seed. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63:1604-1608.
- Shorthouse JD and O Rohfritsch. 1992. Biology of insect-induced galls. pp. 285. Oxford Univ. Press. Oxford.
- So SS, SY Kim and IS Oh. 2000. Plant physiological studies on galls formed from *Zelkava serrata*. *J. Sci. Edu. Chonbuk Nat. Univ.* 25:135-144.
- Stecher PG. 1972. Tannin acid. pp. 1012. In *the Merck Index : An Encyclopedia of Chemicals and Drugs*. Merck of Co., Inc. Rahway. U.S.A.
- Tang C. 1976. The chinese gallnuts, their multiplication and means for increasing production. *Acta. Ent. Sinica* 19:282-296.
- Zhang G and T Zhong. 1983. Economic insect fauna of China. Fasc. 25. pp. 387. Homoptera : Aphidinea, Part 1. Science Press, Beijing.

(Received 2 July 2001, accepted 10 November 2001)