

## 목초액 및 코코넛액이 석곡(*Dendrobium moniliforme*)의 유묘 증식과 기내 개화에 미치는 영향

지선옥\* · 조동훈<sup>1</sup>

중부대학교 생명공학과, <sup>1</sup>경북대학교 원예학과

Received July 18, 2005 / Accepted September 20, 2005

**The Effect of Pyroligneous Liquor and Coconut Water on Plantlet Multiplication and in Vitro Flowering of *Dendrobium moniliforme*.** Sun Ok Jee\* and Dong Hoon Cho<sup>1</sup>. Department of Biotechnology, Joongbu University, Chungnam 312-702, Korea, <sup>1</sup>Department of Horticulture, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea – This experiment was carried out to clarify the effect of pyroligneous liquor and coconut water on plantlet multiplication and in vitro flowering of *Dendrobium moniliforme*. Plantlet growth and multiplication was good in 1.0 ml/L pyroligneous liquor treatment which was added to the basal media of 3 g/L hyponex and 4 g/L peptone (H<sub>3</sub>P<sub>4</sub>) containing 0.1 mg/L NAA and 1.0 mg/L kinetin. In the treatment of 30 ml/L coconut water showed good results on plantlet growth and multiplication. In vitro flowering showed highest rate in the treatment of 1.0 ml/L pyroligneous liquor and 30 ml/L coconut water which were added to the basal media of H<sub>3</sub>P<sub>4</sub> containing 0.1 mg/L NAA and 1.0 mg/L kinetin.

**Key words** – *Dendrobium moniliforme*, in vitro flowering, pyroligneous liquor, coconut water, plantlet multiplication

석곡은 바위나 나무줄기에 붙어서 자라는 착생란으로 중국, 일본, 한국 등에 자생한다. 우리나라에서는 제주도 와 남부해안 지방에서 주로 생육하나 경북 일부지역에서도 자생하는 것으로 알려져 있다. 석곡은 백색이나 담홍색의 꽃이 5~6월 경 개화하며, 관상가치가 상당히 높아 관상용으로 재배되기도 하며, 뿌리를 제외한 식물체 모든 부위가 건위, 강장제 등의 약제로도 사용된다[14].

석곡은 관상가치가 높아 수요가 꾸준히 증가하고 있으나 자연산 채취에 의한 공급에는 한계가 있는 것이 사실이다. 이와 같은 공급의 한계를 극복하고, 인위적인 석곡의 증식을 꾀하기 위하여 Chung 등(1981)은 석곡 종자의 무균배양을 통하여 유묘의 획득 및 유묘 생육에 관한 연구를 실시하였으며, Lee와 Lee (1993)는 자생석곡의 기내삽목 후 발근을 통한 개체의 증식 및 각 개체의 생육에 관한 연구를 실시하였다. 하지만 국내에서는 조직배양 방법을 통한 석곡의 종자파종, 유묘증식, 기내개화 유도 체계의 확립 등에 관한 연구는 매우 희소하거나 전무한 상태여서 이에 대한 체계적 연구가 시급한 상황이다.

목초액은 식물의 세포내에서 생성된 일종의 세포액으로 나무나 식물을 열분해하면 세포액이 기체화되어 밖으로 나오게 되는데 이것을 냉각시켜 정지하면 연갈색의 투명한 액이 분리된다[20]. 일본에서는 농업 및 환경 정화분야에서 목초액의 활용성에 대한 연구가 수행되어 토양살균, 축산분뇨의 탈취, 작물의 해충기피, 퇴비 발효촉진, 식물생장 및 뿌리

생육효과를 지니고 있음이 밝혀져 있다[5,18,22]. 국내에서는 농업분야에 미량요소 복합비료로서 허가되어 비료 사용 목적 이외에도 농약의 보조재료, 토양살균, 가축사료 첨가제 등으로 활용되고 있으나 [7,10,15], 기내 배양에 목초액을 사용한 예는 거의 없는 실정이다.

기내 개화는 국내에서는 1990년대 중반 이후 관심이 높아져 연구가 진행되고 있으나, 기내개화를 유기하는 체계화된 방법이 아직도 확립되어 있지 않다. 국내에서는 인삼의 기내 개화[13]에 관한 연구가 대표적이며, 국외에서 Britto 등(2003)은 *Ceropegia bulbosa* Roxb. var. *bulbosa*의 기내 절간 배양 시 기내 개화에 관한 연구를 실시하였고, 사탕수수[21], 멸종위기의 식물인 *Leptinella nana*[2] 등에서 기내 개화의 유기에 관한 많은 연구가 진행 중에 있다.

본 연구는 석곡의 수요에 대응하고, 우량묘의 기내증식 체계 확립을 위하여 기내 종자파종 방법에 의해 획득된 석곡 유묘를 이용하여 배지 내 목초액 및 코코넛액의 첨가가 석곡 유묘의 증식과 기내개화에 미치는 영향을 알고자 실시하였다.

### 재료 및 방법

본 연구에 이용된 식물재료는 석곡 종자를 hyponex 3 g/L 와 peptone 4 g/L (H<sub>3</sub>P<sub>4</sub>)에 사과즙 30 g/L, 감자 20 g/L, kinetin 1.0 mg/L, sucrose 30 g/L, plant agar 7 g/L가 첨가된 배지에 기내 파종하여 얻은 유묘(초장: 6.2±1.4cm)를 이용하였다. 배양을 위해 NAA 0.1 mg/L와 kinetin 1.0 mg/L가 첨가된 H<sub>3</sub>P<sub>4</sub> 배지에 sucrose 30 g/L, plant agar 7 g/L를 첨가하고 pH 5.2로 조절하였으며 목초액(거성바이오, 한국)은

\*Corresponding author

Tel : +82-41-750-6713, Fax : +82-41-750-6380

E-mail : sojee@joongbu.ac.kr

0.01, 0.1, 0.5, 1.0 ml/L를 첨가하였고, 코코넛액은 10, 20, 30 ml/L를 각각 첨가하였다.

배양은 100 ml 삼각플라스크에 3개체 씩 5반복으로 하였으며, 광주기는 명기 16시간, 암기 8시간으로 하였고, 주광색 형광등을 광원으로 하여 광도는 2,000 Lux로 하였으며, 배양 온도는 24±1℃로 하였다. 유묘 증식 및 기내개화에 대한 조사는 배양 16주 후 실시하였다.

**결과 및 고찰**

목초액이 석곡 유묘의 기내 성장에서 유묘의 증식 및 기내 개화에 미치는 영향(Table 1, Fig. 1)을 보면, 신초의 수는 0.1과 1.0ml/L 첨가구에서 가장 많았으며, 엽수는 전체적으로 비슷하였고, 엽장은 0.1 ml/L 첨가구에서 가장 길었으며, 엽폭은 0.5 ml/L 첨가구에서 가장 넓었으나 전체적으로 유의한 차이는 없었다. 근수는 처리 간에 큰 차이를 나타내지 않았으나 무첨가구에서 가장 많아 목초액 처리가 뿌리의 발생에는 억제적인 것으로 생각되었다. 근장은 1.0 ml/L 첨가구에서 가장 길었으며, 절간장은 처리간에 큰 차이는 없었으나 대조구에 비하여 상당히 길었고, 생체중은 0.5 ml/L 첨가구에서 가장 무거웠다. 기내 개화율은 무첨가구 및 0.01 ml/L 첨가구에서는 개화하지 않았고, 0.1과 0.5 ml/L 첨가구에서 6.7%가 개화하였으며, 1.0 ml/L 첨가구에서는 전체 개체 중 20%가 개화하였다.

목초액의 국내 원예분야에 적용 사례를 보면 Yoo와 Kang

(2003)은 백합 ‘시베리아’와 ‘조지아’ 품종의 인편삽 시 목초액의 처리가 자구형성 및 증식에 미치는 영향에 대한 보고에서 식재 상태에 목초액을 처리하여 식재하였을 때 처리하지 않았을 때보다 자구 형성율, 자구 무게, 자구 직경 등이 증가하였다고 하였으며, Jee (1999)는 백합 ‘히노모토’ 품종의 기내 자구배양에서 목초액 처리가 자구의 비대에 미치는 영향에 대한 보고에서 상대적 저농도 처리에서는 자구의 비대가 양호하고, 지하부의 생장이 비교적 양호하였으며, 상대적 고농도 처리에서는 지상부의 생육이 월등히 양호하였다고 하였으며, Jee (2002)는 건란(*Cymbidium ensifolium*)의 근경 증식 및 신초 형성에 대한 연구에서 목초액 첨가 농도가 일정한 수준까지 증가할 때 근경의 증식도 향상되었고, 신초의 형성에는 전 농도에서 억제적인 것으로 보고하였다. 이상의 결과를 보면 목초액의 식물체에 대한 작용은 처리농도와 식물체의 종류에 따라서 큰 차이가 있는 것을 알 수 있었다. 본 연구의 결과를 보면 1.0 ml/L 첨가구에서 다른 처리에 비하여 발생한 신초의 수가 많았고, 엽장, 엽폭 등 지상부 성장 상태가 다른 처리에 비교하여 양호한 것을 알 수 있었으며, 지하부의 생장도 무첨가구에 비하여 상대적으로 양호하여 목초액의 첨가가 석곡에 있어서는 지상부 뿐만 아니라 지하부의 생육에도 긍정적 영향을 미치는 것으로 생각되었다. 뿐만 아니라 기내 개화율도 1.0 ml/L 첨가구에서 가장 높아서 목초액 처리가 기내 개화도 촉진하는 것으로 생각되었다.

코코넛액이 기내 배양한 석곡의 증식 및 기내 개화에 미치는 영향(Table 2, Fig. 2)을 보면 신초수 및 엽수는 코코넛

Table 1. The effect of pyroligneous liquor on plantlet multiplication of *Dendrobium moniliforme*

Treatment (ml/L)	No. of shoots	No. of leaves	Length of leaves (mm)	width of leaves (mm)	No. of roots	Length of roots (mm)	Length of node (mm)	Fresh weight (mg)	In vitro flowering (%)
0.0	4.6±1.7	3.4±0.5	9.96±3.92	4.12±0.65	13.1±2.7	36.81±6.76	10.96±3.10	6.41±2.19	0.00
0.01	3.6±1.3	3.4±0.5	10.26±5.51	3.76±0.77	10.3±2.6	32.21±10.31	12.01±1.90	7.01±2.83	0.00
0.1	5.4±0.5	3.6±0.9	16.94±4.32	5.36±0.51	12.4±2.7	46.96±7.04	14.74±3.98	8.04±1.01	6.70
0.5	3.6±1.1	3.6±0.9	14.16±1.77	5.02±0.76	10.3±1.6	43.94±11.08	13.64±3.50	12.42±5.94	6.70
1.0	6.8±1.5	3.4±0.5	14.42±2.81	4.26±0.94	12.1±2.9	47.22±13.55	13.51±4.48	6.81±1.79	20.00

<sup>2</sup>Figures were represented as mean value±standard deviation.

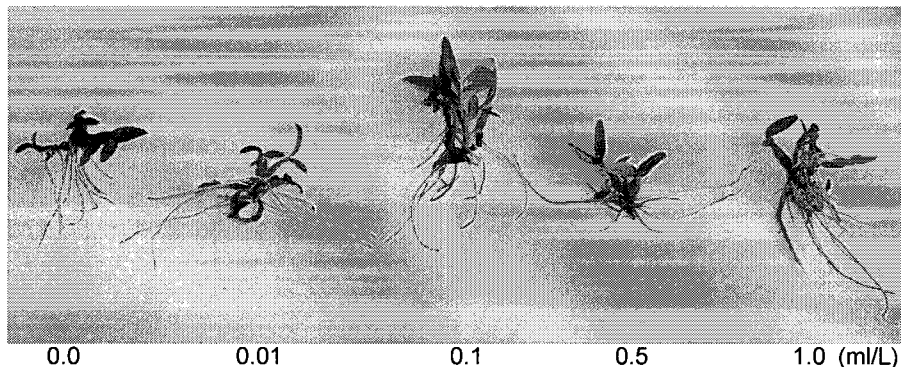


Fig. 1. The effect of pyroligneous liquor on plantlet multiplication of *Dendrobium moniliforme*.

Table 2. The effect of coconut water on plantlet multiplication of *Dendrobium moniliforme*

Treatment (ml/L)	No. of shoots	No. of leaves	Length of leaves (mm)	width of leaves (mm)	No. of roots	Length of roots (mm)	Length of node (mm)	Fresh weight (mg)	In vitro flowering (%)
0.0	4.6±1.7	3.4±0.5	9.96±3.92	4.12±0.65	13.1±2.7	36.81±6.76	10.96±3.10	6.41±2.19	0.00
10.0	4.1±1.2	2.8±0.4	9.62±3.62	4.34±0.45	10.1±2.5	49.22±5.40	12.06±5.70	8.2±4.07	6.70
20.0	4.2±1.3	3.2±0.4	11.98±5.72	4.23±0.86	11.2±2.1	47.61±9.75	9.86±3.32	11.2±3.69	6.70
30.0	4.0±0.0	3.4±0.5	13.26±2.23	4.26±0.46	11.1±2.1	53.42±7.23	9.21±3.27	12.8±2.92	20.00

<sup>2</sup>Figures were represented as mean value±standard deviation.

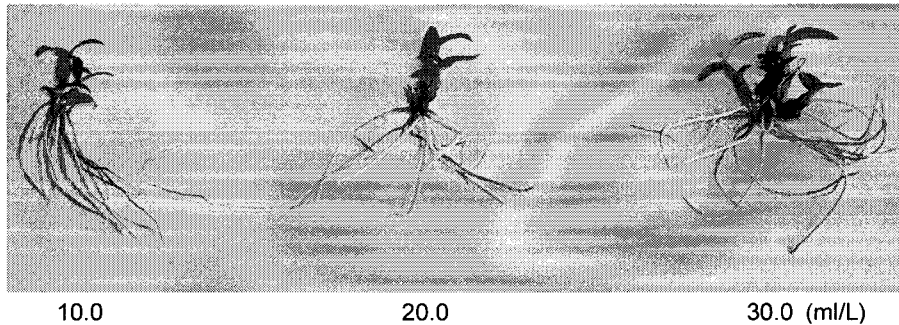


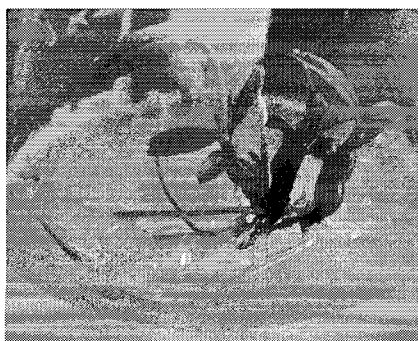
Fig. 2. The effect of coconut water on plantlet multiplication of *Dendrobium moniliforme*.

액 첨가에 관계없이 일정하였으며, 엽장은 30 ml/L 첨가구에서 월등히 길었으나 엽폭은 처리 간에 차이가 없었다. 근수는 무첨가구에 비하여 적었으며, 근장은 30 ml/L 첨가구에서 월등히 길었다. 절간장은 처리 농도가 낮았을 때 더 길었으며, 생체중은 30 ml/L 첨가구에서 가장 무거웠고, 기내개화 역시 30 ml/L 첨가구에서 개체 중 20%가 개화하였다.

Chung 등(1985)은 건란(*C. ensifolium*)의 기내 분화에 관한 연구에서 신초와 뿌리의 생장은 코코넛액 15%를 배지에 첨가했을 때 생육이 가장 양호하였다고 하였으며, Kotomori 등(1965)은 *Dendrobium*의 기내 발아에 관한 연구에서 코코넛액의 첨가는 발아를 억제시킨다고 하였으나 묘의 생육에는 효과적이라고 하였고, Ichihashi와 Shunji (1973)는 조직배양을 통한 *Cattleya*의 증식에 관한 연구에서 코코넛액의 사용이 유묘의 성장에는 촉진적이었으나 뿌리의 성장에는 오히려 억제적이었다고 보고하였으며, Robert (1966)은 호접란 줄기 배

양에서 코코넛액의 사용이 유묘의 성장에 효과적이라고 하였다. 본 연구에서도 코코넛액을 사용했을 때 신초의 수는 감소하였으나, 유묘의 증식 및 성장에는 긍정적인 영향을 미친 것으로 보아 금후 석곡뿐만 아니라 다른 난과 식물의 조직배양에 의한 유묘의 증식에도 코코넛액의 사용이 효과적일 것으로 생각되었다.

기내개화(Fig. 3)는 목초액 1.0 ml/L, 코코넛액 30 ml/L 첨가구에서 각각 20%의 매우 높은 개화율을 보였다. 일반적으로 기내 개화는 여러 가지 요인에 의하여 조절되는 것으로 여겨지고 있으며, 아직도 그 정확한 원인 및 유기 조건을 찾지 못한 상황이나, 기내개화에 관한 최근의 연구결과를 보면 Carson과 Leung (1994)은 뉴질랜드의 멸종위기의 식물인 *Leptinella nana*의 조직배양 과정에서 계대배양이 지속됨에 따라 기내 개화가 발생하였으며, 그 원인을 찾기 위해 광주기, 당 농도, MS 배지의 농도 등 여러 가지 요인 실험을 수행하였으나



1.0 ml/L pyroligneous liquor



30 ml/L coconut water

Fig. 3. In vitro flowering of *Dendrobium moniliforme*.

정확한 원인을 밝힐 수 없었다고 하였다. Zhang과 Leung (2000)은 *Gentiana triflora*의 액아 기내 배양에서 B5 vitamins, sucrose 30g/L와 kinetin 2.0  $\mu$ M이 첨가된 woody plant medium (WPM)에서 기내 개화를 유도하였으며, Stephen와 Jayabalan (1998)은 *Coriandrum sativum* L.의 기내 배양에서, Thiruvengadam와 Jayabalan (2001)은 *Vitex negundo* L.의 기내배양에서 각각 NAA 0.15 mg/L와 GA<sub>3</sub> 0.5 mg/L의 첨가가 기내 개화를 촉진시킨다고 하였다.

본 연구에서는 NAA 0.1 mg/L와 kinetin 1.0 mg/L가 첨가된 H<sub>3</sub>P<sub>4</sub> 배지에 목초액과 코코넛액을 무첨가 또는 저농도 첨가구에서는 기내 개화가 일어나지 않거나 그 비율이 낮았으나, 처리 중상대적 고농도 처리에서 기내개화가 상당히 높은 비율로 나타나 석곡의 기내 개화를 유도 시키는데 목초액과 코코넛액의 배지내 첨가가 효과적인 것으로 생각되었으며, 특히 기내 개화율이 낮은 난과 식물에서는 특이한 현상으로 생각되며 금후 기내 개화의 유기 조건을 구명하는 좋은 자료가 될 것으로 생각되었다.

## 요 약

본 연구는 배지에 첨가된 목초액 및 코코넛액이 석곡 유묘의 증식 및 기내 개화에 미치는 영향을 조사하기 위하여 실시되었다. 목초액이 석곡 유묘의 증식에 미치는 영향은 NAA 0.1 mg/L와 kinetin 1.0 mg/L가 첨가된 H<sub>3</sub>P<sub>4</sub> 배지에 목초액 1.0 ml/L를 처리했을 때 유묘의 증식 및 생장이 양호하였다. 코코넛액은 30 ml/L가 첨가되었을 때 유묘의 증식 및 생장이 가장 양호하였다. 기내 개화 역시 NAA 0.1 mg/L와 kinetin 1.0 mg/L가 첨가된 H<sub>3</sub>P<sub>4</sub> 배지에 목초액 1.0 ml/L 또는 코코넛액 30 ml/L가 첨가되었을 때 전체 개체의 20%에서 기내개화가 일어났다.

## 참 고 문 헌

1. Britto, S. John, E. Natarajan and D. I. Arockiasamy. 2003. In vitro flowering and shoot multiplication from nodal explants of *Ceropegia bulbosa* Roxb. var. *bulbosa*. *Taiwania* **48**, 106-111
2. Carson, Jace A., and David W. M. Leung. 1994. In vitro flowering and propagation of *Leptinella nana* L., an endangered plant. *New Zealand J. Bot.* **32**, 79-83
3. Chung, J.D., C.K. Chun, Y.K. Suh, and S.Y. Byun. 1981. Studies on aseptic culture of seeds in *Dendrobium monile*. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **22**, 139-145.
4. Chung, J.D., J.K. Chun and S.O. Choi. 1985. Asymbiotic Germination of *Cymbidium ensifolium* (2) Effects of several supplements to the medium, pH values and light and / or dark culture periods on growth of rhizome and organogenesis from rhizome. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **26**, 186-192.
5. Guillen, M.D. and M.L. Ibargoitia. 1998. New components with potential antioxidant and organoleptic properties, detected for the first time in liquid smoke flavoring preparations. *J. Agric Food Chem.* **46**, 1276-1285.
6. Ichihashi, S. and K. Shunji. 1973. Studies on clonal propagation of *Cattleya* through tissue culture method (1) Factors affecting survival and growth of shoot meristem of *Cattleya* in vitro. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* **42**, 264-270.
7. Jang, C.S. and H.D. Seok. 2001. Policy directions for the general use of charcoal and wood tar in agriculture and livestock. *J. Res. Forest and economy* **9**, 28-37.
8. Jee, S.O. 1999. Effect of culture substrate and wood vinegar solution on bulblet increment of *Lilium longiflorum*. *J. Joongbu Univ.* **12**, 375-382.
9. Jee, S.O. 2002. Effect of pyroligneous liquor on rhizome growth and shoot formation of *Cymbidium ensifolium*. *J. Natural Sci. Joongbu Univ.* **11**, 81-85.
10. Kim, Y.H., S.K. Kim, K.S. Kim and Y.H. Lee. 2001. Compounds identification of commercial wood vinegar liquors. *J. Kor. Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **44**, 262-268.
11. Kotomori, S. and T. Murashige. 1965. Some aspects of aspects of aseptic propagation of orchids. *Amer. Orch. Soc. Bull.* **34**, 484-489.
12. Lee, E.J., and J.S. Lee. 1993. Studies on in vitro cutting of *Dendrobium moniliforme* native to Korea. *Abstract of J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **11**, 314-315
13. Lee, H.S., K.W. Lee and J.R. Liu. 1994. Measurement of determination time of in - vitro flowering in Ginseng (*Panax ginseng*). *Kor. J. Plant Tissue Culture* **21**, 347-351.
14. Lee, K. 1980. The wild orchids of Korea. Jungsung publisher. Seoul. Korea. p. 193
15. Mun, S.P. and C.S. Ku. 2002. Analysis of volatile compounds in bamboo and wood crude vinegars by the Solid-Phase Microextraction (SPME) method. *Mokchae Konghak* **30**, 80-86.
16. Robert, M.S. Jr. 1966. Stem propagation of *Phalaenopsis*. *Amer. Orch. Soc. Bull.* **35**, 40-42.
17. Stephen, R. and N. Jayabalan. 1998. In vitro flowering and seed setting formation of *Coriandrum sativum* L. *Curr. Sci.* **74**, 195-197.
18. Sugiura, G. 1972. In Mokuzai Kokyo Handbook. Forestry and Forest Res. Inst. Maruzen, Tokyo. p. 930.
19. Thiruvengadam, M. and N. Jayabalan. 2001. In vitro flowering of *Vitex negundo* L. - a medicinal plant. *Plant Cell Biotech and Mol. Biol.* **2**, 67-70.
20. Toth, L. and K. Potthast. 1984. Chemical aspects of the smoking of meat and meat products. *Adv. Food Res.* **29**, 87-158.
21. Virupakshi, S., B. R. Manjunatha, and G. R. Naik. 2002. In vitro flower induction in callus from a juvenile explant of sugarcane, *Saccharum officinarum* L., Var. CoC 671 *Current Science* **83**, 1195-1197.
22. Yatagi, M., G. Unrinin and G. Sugiura. 1986. By-products of wood carbonization. Tar from mangrove, sugi ogalite, wheat straw and chishima-sasa. *Mokuzai Gakkaishi* **32**, 467-471.
23. Yoo, Y.K. and S.W. Kang. 2003. Effects of wood charcoal and pyroligneous acid on the growth and formation of bulblet in lily. *Kor. L. Hort. Sci. Technol.* **21**, 80-81.
24. Zhang, Zemin, and David W.M. Leung. 2000. A comparison of in vitro with in vivo flowering in Gentian. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* **63**, 223-226.