

황칠나무(*Dendropanax morbifera*)의 부정근 유도 및 기내증식조건

배기화 · 김지아 · 최용의*
강원대학교 산림자원조성학부

Induction and *in vitro* proliferation of adventitious roots in *Dendropanax morbifera*

Kee-Hwa Bae · Ji-Ah Kim · Yong-Eui Choi*

Division of Forest Resources, College of Forest and Environmental Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract *Dendropanax morbifera* (Araliaceae) is an endemic species in Korea and distributed in the southern part of Korea. The roots and stems of this plant have been used for folk medicine for the treatment of migraine headache, dysmenorrheal, and remove wind dampness and for Vanishes production. Production of adventitious roots in *D. morbifera* by *in vitro* cultures could be used as alternatives materials. Leaf, stem, and root segments from *D. morbifera* seedling were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 3.0 mg/L IBA and 30 g/L sucrose. After 4 weeks of culture, the highest induction of adventitious roots was obtained from the leaf segment. Frequency of adventitious root formation on medium with various kinds of auxins (IAA, NAA, 2,4-D, and IBA) and various concentrations of IBA (0, 0.1, 0.5, 1.0, 3.0, and 5.0 mg/L) was tested. The maximum induction of adventitious root was obtained on medium with 1.0 mg/L IBA. In liquid culture, growth of root was best 1/2MS medium supplemented with 1.0 mg/L IBA and 30 g/L sucrose. Adventitious roots were cultured in 5 L bioreactor containing 1/2 MS medium supplemented with 1.0 mg/L IBA and 30 g/L sucrose and mass-production of adventitious roots was successfully achieved. This study demonstrated for the first time to produce adventitious roots in *D. morbifera*.

서 론

Dendropanax 속은 약 30여종이 열대와 아열대, 난대지방의 중남미와 말레이반도를 비롯한 동남아시아에 분포하고 있고, 상록활엽성 소교목으로 관상용 또는 칠(도료)원료 생산을 위해 재배하고 있다(Bernart et al. 1996). *Dendropanax morbifera*는 황칠나무라 불리며 한국의 제주도과 완도, 거문도, 거제도 등 남서해안과 일부도서 지역에 분포하는 우리나라 1속 1종의 특산수종이다(Han et al. 1998). 황칠나무는 두릅나무과(Araliaceae)에 속하며 학명에서 뜻하는 바와 같이 목본(Dendro), 전능약(Panax)이라는 의미가 있고 줄기에 상처를 내면 노란액이 나온다고 해서 황칠나무라는 이름이 붙여졌다(Han et al. 1998).

황칠이라 불리는 황칠나무의 수지액은 옻나무 수지액과 함께 옛날부터 귀하게 취급되어온 우리나라 전통 도료로 다른 어떤 천

연도료와 비교할 수 없을 정도로 그 품질이 우수하다. 목재나 금속 또는 유리등에 광범위하게 쓰일 수 있을 뿐더러 건조나 부착성이 아주 좋고 진정, 안정효과가 있는 물질을 포함하고 있어서 칠을 하고 나면 상쾌한 향기를 내는 안식향이 발산된다. 황칠나무 수지액의 주성분은 polyacetylenes계 화합물질로서 식물의 외상에 의하여 자극을 받으면 분비되는 항균성 물질인 것으로 보고되었다(Lim et al. 1998).

황칠나무는 뿌리 또한 약재로 사용하였는데 조선중기 이후부터 국가에서 직접 황칠수지액의 채취와 보존을 규제하여서 뿌리에 대한 약효의 검증을 체계적으로 확립하지는 못하였다. 한국본초도감에서는 황칠나무의 뿌리와 가지는 맛이 달고 성질은 따뜻하고 거풍습과 활혈맥 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 최근에 Bae (2000)도 편두통, 월경불순, 거풍습 등에 효과가 있다는 동일한 연구결과를 보고하였다. 이러한 민간약재로서의 가치는 황칠나무가 두릅나무과에 속하고 두릅나무과는 우리나라에서 최고의 약재들로 손꼽히는 인삼, 두릅나무, 오갈피 등의 많은 약용식물을 포함하고 있어서 황칠나무는 황칠수지액 이외에 약용식물로서의 무한한

*Corresponding author Tel 033-250-8316 Fax 033-244-0155

E-mail: yechoi@kangwon.ac.kr

개발 가능성을 내포하고 있다. 이러한 관점에서 황칠나무의 유전 자원을 보존하고 이용하는 것이 중요하다고 여겨지지만 지금까지 황칠나무에 대한 연구는 자생지 생육특성(Choi et al. 1997a, Choi et al. 1997b; Kim 1993), 황칠수액분비 우수개체선발 및 방향성 물질 조사(Ahn et al. 2002)와 면역활성증진 물질 탐색(Lee et al. 2002) 등 주로 자생지의 생육특성이나 황칠이 가지는 수지액의 생리활성 등에만 초점을 맞추어 연구가 진행되어 왔다. 하지만 조직배양을 통한 유전자원의 보존 및 증식등에 관한 연구는 Choi와 Yoon (2001)이 경정배양에 의한 기내증식 방법만을 보고 한 것 이외에는 거의 전무한 상태이다.

따라서 본 연구에서는 우리나라에 특산수종인 황칠나무(*Dendropanax moribifera*)의 부정근 배양시스템을 개발하기 위해 황칠나무의 배양조 직별, 옥신(auxin)의 종류와 농도에 따라 부정근의 유도를 조사하였다. 또한 배양방법에 따라 부정근의 증식에 미치는 영향을 알아보았다.

재료 및 방법

식물재료 및 배양조건

실험에 사용된 황칠나무(*Dendropanax moribifera* Lev.)의 종자는 전라남도 산림환경연구소 완도수목원에서 분양받았다. 종자는 3개월간 저온처리한 후 포화수분 상태에서 24시간 침지한 후 종피를 완전히 제거 하였다. 종자의 소독은 70% 에탄올에 1분, 1% 차아염소산 나트륨용액에 15분간 침지한 후 멸균수로 5회 세척하였다. 멸균된 종자는 식물생장조절물질이 첨가되지 않은 1/3MS (Murashige and Skoog 1962) 배지에 치상하여 무균발아를 하였다. 실험에 사용한 모든 배지와 기구는 121°C, 1.2기압으로 20분간 고온고압 멸균하여 petri dish에 각각 30 mL씩 분주하여 실험에 사용하였다.

잎, 줄기, 뿌리 절편에 따른 부정근(adventitious root)유도

잎은 1 × 0.5 cm 정도로 3등분 횡절단하였다. 줄기는 엽병까지 제거한 후 1 cm로 절단하였고 뿌리는 근단을 포함하여 1 cm로 절단하여 실험에 사용하였다. MS배지에 3.0 mg/L의 IBA가 첨가된 배지위에 치상하여 4주 후 부정근의 개수, 길이 그리고 생중량을 조사하였다. 절편은 petri dish당 10개씩, 총 30개씩 각각 치상하였고 22 ± 1°C에서 암 배양 하였다.

Auxin 종류에 따른 2차 부정근유도

부정근 절편의 근단을 1 cm로 절단하여 sucrose가 30 g/L 포함된 MS배지에 2,4-D, IAA, IBA, NAA가 1 mg/L 첨가하여 10개씩 각각 30개의 절편을 치상하였다. 배양 4주후에 부정근의 유도 개수와 길이 그리고 생중량을 각각 조사하였다. 절편은 식물생장조절제의 처리에 따라 petri dish당 10개씩, 총 30개씩 각각 치상하였고 22 ± 1°C에서 암배양 하였다.

IBA 농도에 따른 부정근유도

부정근의 근단을 1 cm로 절단하여 sucrose는 30 g/L로 동일하게 첨가하고 IBA가 0, 0.1, 0.5, 1.0, 3.0 그리고 5.0 mg/L가 첨가된 MS 배지 위에 10개씩 각각 30개의 절편을 치상한 다음 배양 4주후에 부정근의 유도개수와 길이 그리고 생중량을 각각 조사하였다. 절편은 식물생장조절제의 처리에 따라 petri dish당 10개씩, 총 30개씩 각각 치상하였고 22 ± 1°C에서 암배양 하였다.

Sucrose 농도에 따른 부정근증식

고체배지조건에서 확립한 IBA의 1.0 mg/L를 기본으로 하여 sucrose 가 0, 10, 30, 50 g/L 첨가된 액체배지를 조성하였다. 부정근 1 g을 취해서 위에 제조된 배지에 접종하여 22 ± 1°C에서 암배양 하였다. 배양용기는 250 mL의 삼각플라스크(Horex, Germany)를 사용하였고, 배지는 100 mL를 첨가하였다. 배양은 4주간 110 rpm으로 액체 배양 하였으며, 4주후 생중량과 건중량을 조사하였다.

2단계 배양에 따른 부정근 증식

황칠나무의 부정근 10 g을 취해 5L 용적의 풍선형 생물반응기에 4L의 액체배지(1/2MS salts, 3 mg/L IBA, 30 g/L sucrose)를 넣고 접종하여 22 ± 1°C에서 암 배양 하였다. 그 후 하나의 배양기에는 계속해서 IBA가 3.0 mg/L 첨가된 배지를 첨가해 주었고 다른 하나는 IBA의 농도를 1.0 mg/L로 낮추어 첨가하였다. 배지 첨가주기는 2주 간격으로 1회 첨가하였다. 암 조건에서 4주간 배양 후 부정근의 생중량과 건중량을 비교하였다.

통계적인 분석

모든 데이터는 means ± standard deviation으로 표시하였다. 변인들의 집단간 차이를 알아보기 위해서 ANOVA를 실시하였고, 유의성이 있는 경우 Duncan's multiple range test로 사후검증을 하였다. 통계적 유의성은 P < 0.05로 설정하여 분석하였다.

결과 및 고찰

잎, 줄기, 뿌리 절편에 따른 부정근유도

기내배양 체계가 확실히 확립되어 있지 않은 식물, 특히 목본 식물인 경우 이들을 이용한 부정근의 유도는 초기 배양재료의 선택이 중요하다. 종자로부터 발아하여 2주된 유식물체를 잎, 줄기, 뿌리로 구분한 다음 IBA 3.0 mg/L이 첨가된 MS 배지에 치상하여 4주간 배양한 후 절편에 따른 부정근의 유도개수, 길이, 생중량을 조사하였다. 목본류인 황칠나무는 각각 다른 배양절편에서도 양호한 부정근의 유도를 보였다(Figure 1A, B, C). 유식물체의 뿌리를

배양하여 부정근을 유도한 경우 잎 (Figure 1A), 줄기(Figure 1B)절편보다 배양체가 캘러스화가 되는 경향을 보였다(Figure 1C). 잎절편을 이용하여 부정근의 유도를 하였을 때 절편 당 유도개수, 길이, petri dish 당 생중량이 가장 높았다(Table 1). 이상의 결과로 IBA를 기본으로 포함하는 MS배지에서 부정근의 유도는 잎 절편을 이용하였을 때 가장 효과적인 것으로 사료된다.

Auxin의 종류 및 IBA농도에 따른 2차 부정근유도

옥신의 종류에 따라서 부정근의 유도를 비교하기 위해 1.0 mg/L 2,4-D, IAA, NAA, IBA가 첨가된 MS배지에 근단을 포함하는 부정근을 치상하여 4주간 배양한 후 절편 당 유도개수와 길이를 조사하였다. 옥신을 첨가하지 않은 처리구에서는 부정근의 한쪽 절단면의 길이신장만 이루어졌고 (Figure 1D), 2,4-D와 IAA가 첨가된 배지에서는 조직이 갈변되는 현상이 두드러졌다(Figure 1E, F). NAA가 첨가된 배지에서는 측근이 유도된 후 길이신장이 이루어짐을 관찰할 수 있었다(Figure 1G). IBA를 포함하는 배지에서 성장한 부

정근은 전체적인 형태와 근정단 부분(root tip)이 정상적이고 측근 형성이 양호함을 보였으며(Figure 1H), 부정근의 유도는 각 절편당 10개, 길이는 21.9 cm로 가장 높았다(Table 2). 이상의 결과로 볼 때 초기 부정근의 유도는 옥신류 홀몬 중에 IBA 선택하는 것이 좀 더 효율적일 것으로 사료된다. 2차 부정근의 유도 시 가장 효과적인 옥신으로 조사된 IBA를 바탕으로 농도에 따라서 부정근의 유도를 알아보기 위해 0, 0.1, 0.5, 1.0, 3.0, 및 5.0 mg/L의 IBA가 첨가된 MS배지에 부정근을 치상하여 4주간 배양한 후 개수, 길이, 생중량, 건중량을 조사하였다. 1.0 mg/L의 IBA(Figure 2D)를 기준으로 농도가 낮을수록 측근의 발달이 적고 길이생장이 주로 이루어 졌다 (Figure 2A, B, C). 반면에 IBA의 농도가 높아지면 부정근이 캘러스화 현상을 보이며 측근의 발달이 이루어짐을 확인할 수 있었다 (Figure 2E, F). 산삼, 인삼 그리고 시호의 경우 부정근의 유도는 2,4-D를 처리한 다음 캘러스를 유도한 후 증식된 캘러스로부터 부정근을 유도하는 단계로 진행이 된다(Paek and Chakravarthy 2003; Yu et al. 2000; Kim et al. 1995). 하지만 본 연구에서는 황칠나무 식물체의 잎, 줄기, 뿌리 절편에서 캘러스의 유도나 증식 없이 1.0

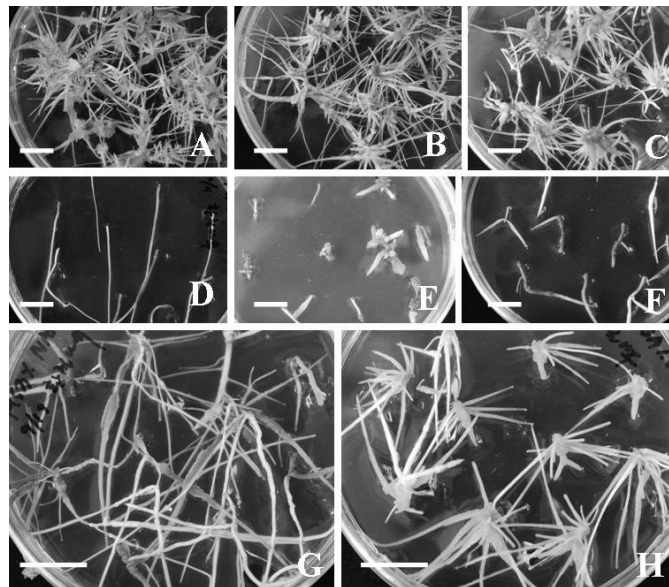


Figure 1. Induction of adventitious root from leaf, stem and root (A, B and C) on medium with various kinds of auxins (D, E, F, G and H). A: leaf segment, B: stem segment, C: root segment on MS medium supplemented with 3.0 mg/L IBA and 30 g/L sucrose. D: control, E: 2,4-D 1.0 mg/L, F: IAA 1.0 mg/L, G: NAA 1.0 mg/L, H: IBA 1.0 mg/L

Table 1. Effect of leaf, stem and root on adventitious root induction of *D. morbifera* on MS solid medium supplemented with 3.0 mg/L IBA and 30 g/L sucrose after 4 weeks of culture

Explants	No. of adventitious root/segment	Length of adventitious root /segment (cm)	Fresh weight (g/dish)
Leaf	21.4±5.5 ^a	28.1±4.5 ^a	3.8±0.8 ^a
Stem	14.4±3.0 ^b	17.4±3.6 ^b	3.4±1.2 ^a
Root	11.3±3.3 ^b	9.6±2.1 ^c	2.8±0.7 ^b

^aData are the means ± SD, of three experiments. Different alphabetical letters are significantly different according to Duncun's multiple range test at P<0.05

Table 2. Effect of auxins on formation and growth of adventitious roots on MS solid medium supplemented with 30 g/L sucrose after 4 weeks of culture

Auxins (1.0 mg/L)	No. of adventitious root/segment	Length of adventitious root /segment (cm)
Control	1.1±0.2 ^c	6.3±0.6 ^c
2,4-D	0.8±0.3 ^c	1.3±0.2 ^e
IAA	0.7±0.4 ^c	4.1±0.8 ^d
NAA	3.9±0.6 ^b	17.7±1.3 ^b
IBA	10.3±0.4 ^a	21.9±1.7 ^a

Data are the means ± SD, of three experiments. Different alphabetical letters are significantly different according to Duncun's multiple range test at $P < 0.05$.

Table 3. Effect of IBA concentrations on adventitious root growth of *D. morbifera* after 4 weeks of culture

IBA concentration (mg/L)	No. of adventitious root/segment	Length of adventitious root /segment (cm)	Fresh weight/segment (mg)	Dry weight/segment (mg)
0	1.0±0.0 ^e	3.1±0.3 ^e	1.0±0.3 ^d	0.4±0.1 ^c
0.1	4.1±0.3 ^c	8.6±0.7 ^c	11.0±1.0 ^c	1.3±0.2 ^{bc}
0.5	7.1±0.4 ^b	28.1±0.8 ^b	27.0±5.0 ^b	2.3±0.5 ^b
1.0	11.2±0.9 ^a	33.8±1.0 ^a	36.0±0.02 ^a	5.8±1.7 ^a
3.0	3.1±0.4 ^d	3.6±0.7 ^{de}	14.0±1.0 ^{cd}	1.1±0.2 ^{bc}
5.0	3.7±0.3 ^d	4.3±0.3 ^d	12.0±3.0 ^b	0.5±0.2 ^c

Data are the means ± SD, of three experiments. Different alphabetical letters are significantly different according to Duncun's multiple range test at $P < 0.05$.

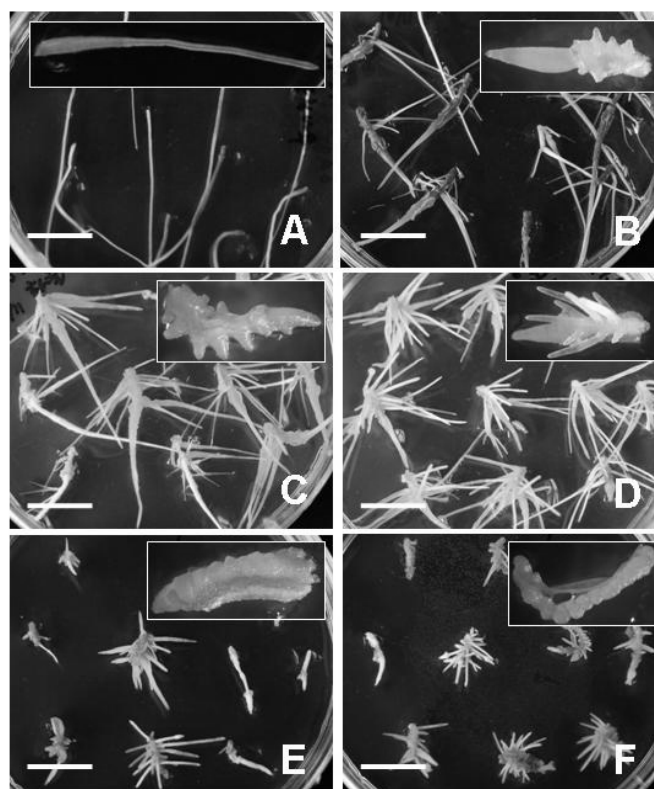


Figure 2. Induction of adventitious roots on medium with various concentrations of IBA after 4 weeks of culture. A: control, B: 0.1 mg/L, C: 0.5 mg/L, D: 1.0 mg/L, E: 3.0 mg/L, F: 5.0 mg/L. Adventitious roots were cultured for 2 weeks in square box containing MS solid medium supplemented with various concentration of IBA with 30 g/L sucrose

mg/L IBA가 첨가된 MS 배지에서 짧은 기간안에 부정근을 유도 할 수 있었다. 이러한 결과는 Ahn 등(2008)이 보고한 더덕의 부정근 유도시 0.5 mg/L의 IBA가 첨가된 배지에서 직접 부정근을 유도하여 증식한 결과와 유사한 결과를 나타낸다.

Sucrose 및 염농도에 따른 부정근 증식

IBA가 1.0 mg/L 첨가된 배지에서의 황칠나무 부정근 유도 및 증식은 다른 옥신에 비해 효과적이었으므로 IBA의 농도는 1.0 mg/L로 고정하고 MS 배지의 비율 및 sucrose의 농도를 달리하여 액체배양에 따른 증식효과를 조사하였다. 먼저 MS배지의 농도에 따른 부정근의 생중량 및 건중량을 비교하였는데(Figure 3A), 1/2MS가 첨가된 배지에서 성장한 황칠나무 부정근의 생중량과 건중량은 MS

배지보다 20% 정도 증식효율이 높았다(Figure 4). 따라서 부정근의 대량생산을 위해서는 MS 배지보다 반으로 줄여 공급하는 것이 생중량과 건중량의 증가에도 효과적인 뿐만 아니라 배지성분을 공급하기 위한 비용 면에서도 효율적인 것으로 판단된다. 또한 sucrose의 농도는 30 g/L가 첨가된 배지가 생중량과 건중량이 10 g/L와 50 g/L의 sucrose가 첨가된 배지보다 각각 2배, 0.5 배 높았다(Figure 4). 이상의 결과로 볼 때 sucrose의 적정 농도는 30 g/L로 판단되어지고 이보다 낮거나 (Figure 3B, C) 높으면(Figure 3E) 생장이 저해됨을 관찰하였다. *Glycyrrhiza glabra* 부정근 배양시 sucrose가 50 g/L 이상을 첨가를 하면 증식량이 1.5배 감소한다는 결과를 보고한 바 있다 (Toivonen and Rosenqvist 1995). 소리쟁이(*Rumex crispus*) 부정근의 배양 시 탄소원의 증가는 생중량을 증가시키지만 생리활성 물질은 감소되는 것을 보고한 바 있다(Chang et al. 1999). 하지만

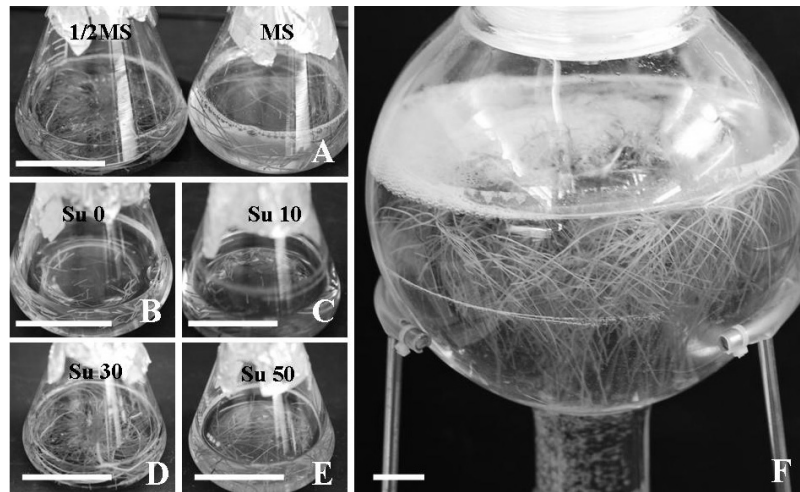


Figure 3. Growth of adventitious roots of *D. morbifera* in liquid culture. Culture in 250 mL flask supplemented with different strength of MS salt (A) and various concentration of sucrose (B-E); B: sucrose 0 g/L (control); C: sucrose 10 g/L; D: sucrose 30 g/L; E: sucrose 50 g/L; F: Mass production of adventitious roots cultured in 5L bioreactor supplemented with 30 g/L sucrose and 1.0 mg/L IBA after 4 weeks

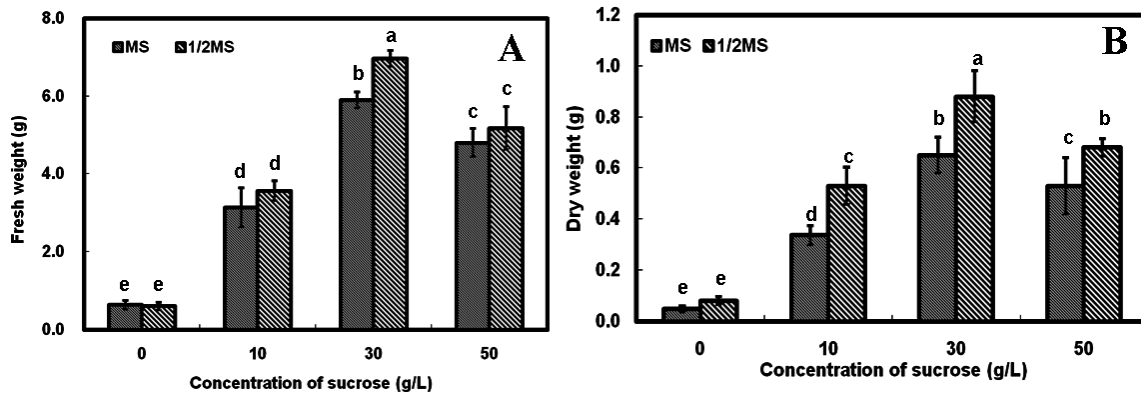


Figure 4. Effect of sucrose concentration on adventitious root growth *D. morbifera* in MS and 1/2MS liquid medium after 4 weeks of culture. Adventitious root (200 mg) were initially inoculated in 250 mL flask containing 100 mL medium with 1.0 mg/L IBA. A: Fresh weight, B: Dry weight. Different alphabetical letters are significantly different according to Duncun's multiple range test at P < 0.05

황칠나무의 경우 sucrose가 30 g/L 첨가되었을 때 가장 높은 생중량과 건중량을 보였다. Sucrose가 첨가되지 않은 배지에서는 부정근의 생장이 일어나지 않았고 50 g/L 정도의 고농도로 처리가 되면 성장량이 낮아지는 것으로 보아 적절한 sucrose(탄소원)의 농도는 황칠나무 부정근의 증식에 있어서 중요한 요소인 것으로 보여진다. 이는 Toivonen 과 Rosenqvist (1995)가 보고한 *Glycyrrhiza glabra*의 부정근 및 모상근의 증식에 30 g/L의 sucrose가 적절하다는 결과와 비슷한 양상을 보이는 것이다.

2단계 배양에 따른 부정근 증식

생물반응기는 대량생산과 생산비 절감에 초점을 맞추어 인삼 등의 약용식물의 biomass 생산연구에 이용되어왔다. 부정근은 생물반응기 배양을 통한 biomass 생산 시 연속적인 증식과 안정적인 공급이 가능한 배양재료이다. 고체배지와 액체배지를 통해 부정근의 증식에 효과적인 배지조성을 확립하여 생물반응기 배양에 기본적인 배지로 선정하였다. 하지만 고체배지에서 유도 증식된 황칠나무 부정근의 경우 IBA의 농도가 낮으면 길이생장을 하는 반면 농도가 높아지면 측근발달이 왕성하였다. 이에 따라 배지는 sucrose가 30 g/L 첨가된 1/2MS 배지를 기본으로 하고 IBA의 농도를 3.0 mg/L 첨가한 배지에 2주후 동일한 배지를 첨가해준 대조구와 동일한 배지에서 2주간 배양한 다음 IBA의 농도를 1.0 mg/L로 감소시킨 배지에서의 부정근의 증식을 관찰하였다(Figure 3F). 그 결과 계속해서 3.0 mg/L의 IBA가 첨가된 배지에서 성장한 황칠나무의 부정근은 생중량 116 g, 건중량 33.5 g 인 반면 IBA의 농도를 1.0 mg/L로 낮추어 배양한 부정근은 이들의 2~2.5배의 생중량과 건중량을 보였다 (Figure 5). 또한 부정근의 성장 상태도 계속해서 고농도의 IBA를 처리한 경우 생장이 일어나지 않을뿐더러 갈변물질 때문에 배양액의 색깔도 불투명 해졌다(data not shown). 인삼(Yu et al.

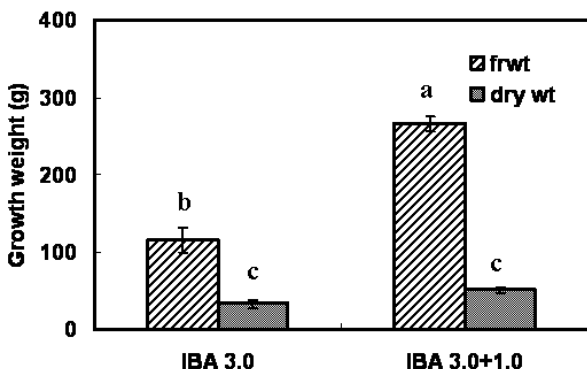


Figure 5. Influence of medium change in the bioreactor culture of adventitious roots from *D. morbifera*. Adventitious roots were initially cultured in the presence of 3 mg/L IBA for two weeks, subsequently changed to fresh medium with 3.0 mg/L IBA (IBA 3.0) or 1.0 mg/L IBA (IBA 3.0+1.0). Different alphabetical letters are significantly different according to Duncun's multiple range test at P < 0.05.

2002)과 가시오갈피(Seo et al. 2003)등의 부정근 대량생산은 이미 수년 전에 보고가 되었고 인삼의 경우 톤 단위의 생산을 하고 있는 시점에서 부정근의 대량생산은 하나의 산업화되고 있다. 특히 뿌리를 식용으로 하는 경우 생물반응기 배양을 통해 현탁세포배양 배양 방법보다 유전적, 생화학적으로 안정적이라는 것이 지배적이다 (Bourgaud et al. 2001). 따라서 장기적으로 뿌리저장기관이 함유하고 있는 유용한 물질의 생산이라는 측면에서 적합한 재료인 것으로 보고되고 있다(Lanzaridou et al. 2002; Yu et al. 2002; Paek and Chakravarthy 2003).

본 결과에서 황칠나무의 유식물체를 이용하여 각각의 부위에 따른 최적의 부정근 유도조건을 조사하였고 유도된 부정근을 이용하여 옥신의 종류와 IBA의 농도에 따른 부정근의 유도양상을 확인하였다. 또한 삼각플라스크와 생물반응기를 통한 액체배양의 증식 조건도 확립하였다. 이러한 결과는 현재 우리나라 특산수종으로 알려진 황칠나무의 기내 부정근의 생산 체계를 확립하였다고 생각되어지고 향후 황칠나무를 이용한 생리활성물질의 생산 등, 다양한 식물소재개발연구에 자생지에서 황칠나무의 훼손 없이 원료를 공급할 수 있는 기초적인 자료를 제공하는데 의미가 있다고 생각되어진다.

적 요

본 실험은 황칠나무의 기내 부정근 유도 및 증식조건을 확립을 목적으로 수행되었다. 우선 황칠나무(*Dendropanax morbifera*)의 기내 발아체로부터 부위(잎, 줄기, 뿌리)를 달리하여 부정근을 유도한 결과 잎은 줄기나 뿌리보다 양호한 부정근의 유도를 보였다. 또한 유도된 부정근을 이용하여 옥신의 종류(IAA, IBA, NAA와 2.4-D)에 따른 부정근 유도율을 조사한 결과 IBA와 NAA는 IAA와 2.4-D 보다 높은 유도율을 보였다. IBA의 농도에 따른 유도율과 증식효율은 IBA가 1.0 mg/L 첨가되었을 때 가장 높은 유도 및 증식효율을 보였다. 최적의 액체배지조건을 확인하고자 sucrose의 농도와 염농도를 달리하여 실험한 결과 1/2MS 배지는 MS 배지보다 10%정도 높은 증식을 보였고 sucrose는 30 g/L 첨가 되었을 때 가장 높은 생중량과 건중량을 나타냈다. 액체배양된 황칠나무의 부정근을 각각 1/2MS 배지에 30 g/L sucrose, 3.0 mg/L IBA가 첨가된 5L 용량의 생물반응기에 4주간 배양한 대조구와 2주후 IBA의 농도를 1.0으로 낮추어 배양한 실험구에서 2주후 IBA의 농도를 낮추어 배양한 실험구에서 약 2배 높은 부정근의 증식량을 보였다. 본 실험에서는 황칠나무의 종자발아체를 이용하여 부정근의 유도 및 증식조건에 필요한 기내배양조건을 조사하였고 2차적으로 유도된 부정근을 이용하여 플라스크와 생물반응기 배양을 통한 효율적인 증식조건을 조사하였다.

참고문헌

Ahn CH, Bae KH, Yi JS, Choi YE (2008) Induction and growth

- of adventitious roots and bioreactor culture in *Codonopsis lanceolata*. Kor J Plant Tiss Cult 35:155-161
- Ahn JC, Kim MY, Kim OT, Kim KS, Kim SH, Kim SH, Hwang B (2002) Selection of the high yeild capacity of Hwangchil lacquer and identification of aromatic components in essential oil of *Dendropanax morbifera* Lev. Kor J Medcinal Crop Sci 10:126-131
- Bae KH (2000) The Medicinal Plants of Korea. Kyo-Hak Publishing Co., Ltd., Seoul, Korea pp 364
- Bernart MW, Balaschak MS, Alexander MR, Shoemaker RH, Boyd MR (1996) Cytotoxic falcarinol oxylipins from *Dendropanax arboreus*. Journal of Natural Products 59:748-753
- Bourgaud F, Gravot A, Milesi S, Gontier E (2001) Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant Sci 161:839-851
- Chang SW, Kim IH, Han TJ (1999) Anthraquinone productivity by the cultures of adventitious roots and hairy roots from Cured dock (*Rumex crispus*). Kor J Plant Tiss Cult 26:7-14
- Choi SK, Choi KJ, Lee JI (1997a) Native enviornment and growth characteristics *Dendropanax morbifera* Lev. in Korea. Kor J Plant Res 10:271-273
- Choi SK, Lee JI, Kim SK, Park CU, Kim HK, Choi KJ, Lim HK (1997b) Effect of low temperature and hot-water treatment on germination of seed in *Dendropanax morbifera* Lev. Kor J Plant Res 11:101-105
- Choi SK, Yun KW (2001) *In vitro* propagation using shoot tip culture in Gold Tree (*Dendropanax morbifera* Lev.) Kor J Crop Sci 46:464-467
- Han SH, Jung YH, Oh MH, Ko MH, Oh YS, Koh SC, Kim MH, Oh MY (1998) Phylogenetic relationships of the *Dendropanax morbifera* and *D. trifidus* based on PCR-RAPD. Korean Journal of Genetics 20:173-181
- Kim SG, Cho DY, Soh WY (1995) Saikosaponin content in adventitious root formed from callus of *Bupleurum falcatum* L. Kor J Plant Tiss Cult 22:29-33
- Kim SH, Na CS, Kim YJ, Shin CH (1993) Biomass production in a selected *Dendropanax morbifera* forest stand at Mt. Halla. Genetic Res Inst Korea 29:67-73
- Lazaridou A, Roukas T, Biliaderis CG, Vaikousi H (2002) Characterization of pullulan produced from beet molasses by *Aureobasidium pullulans* in a stirred tank reactor under varying agitation. Enzyme Microbial Tech 31:122-132
- Lee SH, Lee HS, Park YS, Hwang B, Kim JH, Lee HY (2002) Screening of immune activation activities in the leaves of *Dendropanax morbifera* Lev. Kor J Medcinal Crop Sci 10:109-115
- Lim KP, Chung WY, Hong DH (1998) Studies on the development of traditional Korea Golden Vamish (Hwangchil) (III) main component analysis of Korean Golden Vamishes traditionally refined from the exudates of Hwangchil namu (*Dendropanax morbifera* Lev.). Mokchae Konghak 26:73-80
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15: 473-479
- Paek KY, Chakravarthy D (2003) Micropropagation of woody plants using bioreactor. In: Jain SM, Ishii K (eds), Micropropagation of Woody Trees and Fruits. Kluwer Academic Publisher, Dordresht, pp 735-755
- Seo JW, Shin CK, Choi YE (2003) Mass production of adventitious roots of *Eleutherococcus sessiliflorus* through the bioreactor culture. J Plant Biotech 5:187-191
- Toivonen L, Rosenqvist H (1995) Establishment and growth characteristics of *Glycyrrhiza glabra* hairy root culture. Plant Cell Tissue Org Culture 41:249-258
- Yu KW, Gao W, Hahn EJ, Paek KY (2002) Jasmonic acid improves ginsenoside accumulation in adventitious root culture of *Panax ginseng* C.A. Meyer. Biochem Eng J 11:211-215
- Yu KW, Hahn EJ, Paek KY (2000) Production of adventitious ginseng roots using bioreactor. Kor J Plant Tiss Cult 27: 309-315

(접수일자 2009년 5월 27일, 수리일자 2009년 6월 9일)