

과제구분	기본연구	Code : LS0205	수행구분	전반기	연구기간	'02 ~ '03(완결)
연구과제명	생명공학 실용화연구			연구책임자	권순배	
세부과제명	세포배양기술을 이용한 강원특산작목의 대량번식기술 개발					
연구원별임무						
구분	소속		성명		담당임무	
세부과제책임자	농산물이용시험장		권순배		연구과제 총괄수행	
공동연구자	"		허수정		자료분석 협조	
색인용어	세포배양, 음나무, 대량번식					

## ABSTRACT

Recently, medical berbs and wild edible greens have been drawing much attention from public. *Kalopanax pictus* not only is used as high-quality wood and wild greens but also contains many components for medical purpose. This study was carried out to develop the technology of mass propagation by somatic embryo culture.

The optimum sterilization were achieved by soaking winter-bud in 2% NaOCl solution for 20min and root in 4% NaOCl solution for 15min. The induction of embryogenic callus was most effective in the MS medium supplemented with 4mg/l dicamba.

### 1. 연구배경

약용산채소비의 증가는 국민소득 수준의 향상과 더불어 건강에 대한 관심이 높아졌고, 생활의 양상이 주식위주에서 벗어나 점차 다양화되어져 저공해 채소류와 함께 약리적 기능이 우수한 산채류에 대한 관심이 커졌기 때문이다. 이러한 산채류에 대한 최근 연구결과는 인간의 생리활성증진 등에 새로운 가치를 인정받게 되면서 건강을 유지해 주는 식품 즉, 건강보조식품이라는 개념으로 바뀌어 가고 있다(산림청, 1993). 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 음나무(*Kalopanax pictus*)는 전세계적으로 1屬 1種 2變種이 생육하고 있으며, 한국, 중국, 시베리아, 일본 등의 동아시아에 분포하고 있다. 우리나라에도 1屬 1種 2變種이 자생하고 있으며, 수고 25m, 흉고지경 1m에 달하는 낙엽교목의 거목으로 우리나라 전역에 걸쳐 100 ~ 1,800m사이에 생육하고 있다. 하지만 표고 400 ~ 500m부근이 생육 중심지대를 이루며 군집성이 약하다(이, 1975).

음나무의 잎은 『개두릅』이라 하여 두릅과 마찬가지로 새순을 채취하여 산채로 널리 이용되고 있는 건강식품 중의 하나이다. 그러나 최근 들어 음나무에 대한 수요가 증가됨에 따라 자연산 음나무의 무분별한 남벌과 도벌이 이루어지고 있어 이에 대한 대비방안이 절실히 필요하다(김, 2000).

본 연구에서는 음나무의 체세포배양을 통한 대량증식방법 개발을 통해 중요생산 및 가공 재료로 이용하기 위하여 실시하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 식물재료

강원도농업기술원 평창에 소재한 산채시험장 시험포장에 식재되어 있는 2년생 음나무의 줄기(그림 1.)를 약 30cm로 절단하여 실험실로 운반하여 4℃, 암소에 보관하고, 동아의 배양시료로, 종자에서 발생한 1년생 어린 뿌리를 뿌리 배양재료로 이용하였다.



그림 1. 음나무 冬芽

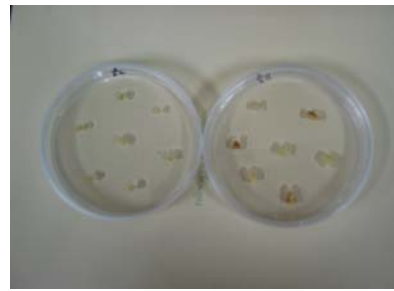


그림 2. (冬芽)

### 나. 표면살균

정아지는 약 3~5cm로 절단하고 가시가 있는 것은 가시를 제거하였고 뿌리는 흙을 제거한 후 흐르는 물에 깨끗이 수세하였다. 비이커에 시료를 넣고 tween 20액을 첨가하여 수돗물로 거품을 내어 여러 번 세척하였다. 무균상에서 70% 에탄올에 30초간 소독하고, NaOCl을 이용하여 표면을 살균한 후 멸균수로 수회 세척하여 처리별 오염률을 조사하였다.

### 다. 캘러스 및 체세포배 유도

표면 살균 후 동아의 인편을 핀셋으로 조심스럽게 벗겨낸 다음 어린 싹을 절편으로 캘러스를 유도하였다. 해부용 칼로 5mm정도의 크기의 절편을 만들어 petridish당 7~9개씩 치상하여 3반복으로 배양하였다(그림 2.). 배지는 MS배지(Murashige and Skoog 1962)와 B5(Gamborg et al. 1968)를 사용하였으며, 성장조절제로 2,4-D, IAA, CPA, Dicamba 등을 사용하였고, 3% sucrose를 첨가하고 0.3% phytigel로 경화하여 사용하였다. 배지는 멸균소독 후 1회용 petridish에 25ml씩 분주하여 사용하였다. 모든 배양은 25±1℃, 1일 16시간 조명조건의 배양실에서 실시하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 가. 동아 및 뿌리의 배양을 위한 소독조건

동아와 뿌리의 배양을 위한 적절한 표면살균조건을 구명하기 위해 NaOCl을 이용하여 농도와 소독시간을 실험한 결과 동아 치상을 위한 소독 조건으로는 2% NaOCl, 20분 처리가 12.5%로 효과적이었으며 4% 경우 오염은 되지 않았으나 조직이 손상되었다. 뿌리의 경우는 4% NaOCl 15분 처리가 가장 효과적이었다(표. 1).

표 1. 음나무 동아와 뿌리의 표면살균 조건

NaOCl 농도(%)	소독시간(min)	오염률(%)	
		동아	뿌리
1	15	100	100
	20	100	100
2	15	50	100
	20	12.5	30
4	15	0*	0
	20	0*	0*

\* 조직 손상

나. Callus 유도

동아로부터의 callus는 2,4-D 처리구에서 주로 유도되었으나 빈도가 매우 낮았다(표 2.).

표 2. 배지 및 성장조절제의 종류에 따른 동아(冬芽)조직의 분화

배지종류	호르몬종류 및 농도(mg/l)			Callus 형성율 (%)	신초분화율 (%)
	2,4-D	IAA	CPA		
MS				0	0
	0.5			0	0
	1			0	0
	3			10	0
	5			20	0
		0.5		0	0
		1		0	0
		2		0	0
		3		0	0
			0.5	0	0
			1	0	0
			3	0	0
			5	0	0

배지종류	호르몬종류 및 농도(mg/l)			Callus 형성율 (%)	신초분화율 (%)
	2,4-D	IAA	CPA		
B5				0	0
	0.5			0	0
	1			0	0
	3			0	0
	5			0	0
		0.5		0	0
		1		0	0
		2		0	0
		3		0	0
			0.5	0	0
			1	0	0
			3	0	0
			5	0	0

절편에 따라 열린 노란색 계통의 callus가 형성되었으며, IAA 처리구에서는 callus의 형성 없이 부풀어 오르는 개체도 있었으나 모든 처리구에서 대부분이 갈변되었다. 갈변을 방지하기 위해 ascorbic acid 등 다수의 갈변방지제를 첨가하였으나 효과적이지 못하였다.. 뿌리로부터의 callus 분화에는 2,4-D보다 Dicamba 처리구가 효과적이었으며, 4mg/L의 dicamba를 처리했을 때 80%의 callus 형성을 보였고, 배발생 callus의 비율도 높았다(표 3, 그림 3).

표 3. 배지 및 성장조절제의 종류에 따른 뿌리조직의 분화

배지종류	호르몬종류 및 농도(mg/l)		Callus 형성율 (%)	Embryogenic callus 형성율(%)
	2,4-D	Dicamba		
½MS			0	0
	1		0	0
	3		20	0
	5		40	50
	10		80	50
		1	0	0
		2	0	0
		3	40	50
		4	80	80
		5	80	80



그림 3. 뿌리에서 형성된 Callus

#### 4. 적 요

- 가. 음나무 조직배양을 위한 시료의 표면 소독 조건으로는 동아의 경우 2% NaOCl 20분 처리가, 뿌리조직은 4% NaOCl 15분 처리가 효과적이었다.
- 나. 동아배양 시 MS기본배지에 2,4-D처리구에서 약간의 callus형성을 보였으나 모두 갈변하였고, 뿌리배양에서는 2,4-D 5 mg/l, Dicamba 3 mg/l농도 이상에서 callus와 체세포배가 발생하였으며, dicamba 4mg/l에서 80%이상의 callus 형성을 및 배발생 callus로 분화하였다.
- 다. 유식물체 생산을 위한 embryogenic callus의 대량 유기가 필요하나 2004년 기구개편에 따른 담당업무의 변경으로 부득이 본 연구를 중단하게 되어 이후 유식물의 생산체계까지 결과를 도출치 못하였다.

#### 5. 인용문헌

Gamborg O.L., Miller R.A., Ojima K. 1968. Nutrient requirement of suspensions cultures of soybean root cells. Exp. Cell Res. 50:151

Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol Plant 15:473-497.

김봉규. 2000. 음나무의 기내증식과 체세포배 유도. 건국대학교 석사학위논문

산림청. 1993. 단기소득임산물 특성과 재배법

이창복. 1975. 대한식물도감. 향문사.