

과제구분	기본연구	Code : LS0205	수행구분	전반기	연구기간	'01 ~ '03(완료)
연구과제명	자생식물의 자원화 연구				연구책임자	허수정
세부과제명	조직배양기법을 이용한 희귀자생식물의 대량증식기술 개발					
연구원별임무						
구분	소속	성명	담당임무			
세부과제책임자	농산물이용시험장	허수정	연구과제 총괄수행			
공동연구자	"	권순배	자료분석 협조			
색인용어	조직배양, 자생식물, 대량증식					

ABSTRACT

This study was carried out to selected optimum media for the mass propagation in 9 rare native plant. Among these plants, *Lilium hansonii* and *L. cernum* were developed shoot. *L. hansonii* was cultured on MS medium supplemented with 5 growth regulator. The shoot differentiation rate of scale was 20~85% in MS medium supplemented with NAA, TDZ, 2,4-D and 85% in the MS medium containing 1 mg/l NAA. The shoot differentiation rate of *L. cernum* scale was 90% in the MS medium containing 1 mg/l NAA. Odd seven plants were not shoot differentiation and induced callus or browned.

1. 연구배경

무분별한 개발과 환경훼손으로 말미암아 식물군락파괴가 가속화되고 있고, 특히 번식력이 약한 식물의 경우는 존폐의 위기에 까지 이르게 되었다. 일반적으로 보호되어야 하는 야생의 식물 특히 개체군의 크기가 극히 적거나 감소하여 보전이 필요한 식물을 지칭하는 용어는 희귀식물, 멸종위기식물 보호식물, 감소추세종, 특정식물, 법정보호식물, 적색식물목록 등 매우 다양하다. 산림청에서는 희귀식물과 관련하여 보전사업을 수행하면서 희귀 및 멸종위기식물(Rare and Endangered Species)이라는 명칭으로 통칭하여 사용하였으나 자연환경보전법에서 멸종위기종을 별도로 구분하여 명시한 후, 이 명칭과의 혼란을 피하기 위하여 '희귀식물'이라는 단일한 명칭으로 통일하여 사용하고 있다. 또한, 환경부에서는 1991년 자연환경보전법을 제정하여 법적으로 보호되어야 하는 식물을 '특정야생식물'로 규정하였다. 몇 번의 목록 개정작업을 거쳐 최종적으로 126종을 지정하였고 이렇게 선정된 특정야생식물에 대해 이 종의 희귀정도에 따라 멸종위기종, 감소추세종, 특산종, 희귀종 등의 범주를 규정한 바 있다. 현재의 위협요인이 제거되거나 완화되지 아니할 경우 멸종위기에 처할 우려가 있는 야생식물을 '멸종위기식물(자연환경보전법 2조 6항)' 그리고 학술적 가치가 높은 야생식물, 국제적으로 보호가치가 높은 야생식물 또는 개체수가 감소되고 있는 야생식물을 '보호야생식물(자연환경보전법 2조 7항)'로 크게 두 범주로 구분하고 각기 6종류, 52종류 총 58종류의 식물을 명시하고 있다.

생활수준의 향상과 더불어 자생식물에 대한 관심이 높아져 관상용 수요가 높아지고 있으나 자생지 훼손 및 멸종위기식물에 있어서는 그 수요를 충족시키기 어려우므로 상품가치는 높으나 번식이 어려운 본도 희귀 자생식물의 번식 방법 개발로 신소득 작목으로 육성하고, 자생지 훼손·멸종 방지에 일조하고자, 대량증식을 위한 배지 및 생장조절제 선발을 목적으로 본 연구를 수행하였다.

2. 재료 및 방법

가. 식물재료

산작약(*Paeonia obovata* Max.) 등 9종의 희귀 또는 보존식물을 자생식물 재배농가에서 구입하거나 분양받아 춘천시 신북읍 유포리 포장 야산 아래쪽에 차광하우스를 설치하고, 그곳에 식재한 후 배양을 위한 재료로 이용하였다. 배양부위는 산작약, 땃강나무(*Abelia mosanensis* T. Chung), 갯갯이풀(*Jeffersonia dubia* Benth.), 노루귀(*Hepatica asiatica* Nakai), 복수초(*Adonis amurensis* Regel et.), 연령초(*Trillium kamschaticum* Pall), 노랑무늬붓꽃(*Iris odaesanensis* Y. Lee)는 잎과 엽병을 섬말나리(*Lilium hansonii* Leichtl)와 솔나리(*Lilium cernuum* Kom)를 인편을 이용하였다.

나. 표면소독

잎과 엽병은 흐르는 물에 깨끗이 수세하고 무균상에서 70% 에탄올로 수 초간 소독한 후 0.5% NaOCl로 15분간 진탕하여 살균하고 멸균수로 5회 세척하였다. 나리류의 인편은 비이커에 시료를 넣고 tween 20액을 첨가하여 수돗물로 거품을 내어 여러 번 세척하였다. 무균상에서 70% 에탄올에 수 초간 소독하고, 1% NaOCl로 15분간 표면을 살균한 후 멸균수로 수회 세척하여 배치에 치상하였다.

다. 캘러스 및 신초분화

표면 살균 후 잎과 엽병은 1cm 길이로 절단하여 절편을 만들어 petridish당 7~9개씩 치상하여 3반복으로 배양하였고, 나리류의 인편은 소독액이 닿았던 가장자리를 잘라낸 후 시험관에 1개씩 치상하였다. 배지는 MS배지(Murashige and Skoog 1962)와 B5(Gamborg et al. 1968)를 사용하였으며, 생장조절제로 BA, 2,4-D, TDZ, NAA, IAA 등을 사용하였고, 3% sucrose를 첨가하고 0.3% phytigel로 경화하여 사용하였다. 배지는 멸균소독 후 1회용 petridish에 25ml씩 분주하거나 시험관에 분주 후 멸균소독하여 사용하였다. 배양은 25±1°C, 1일 16시간 조명조건의 배양실에서 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 배지 및 생장조절제가 캘러스 및 신초분화에 미치는 영향

MS 및 B5배지를 기본으로 5종의 생장조절제를 이용하여 9종의 식물체 조직을 배양한 결과 노루귀의 잎은 2,4-D처리구에서 10%내외의 callus 형성율을 보였으나 신초로 분화하지 못하였으며, 대부분의 처리구에서는 조직이 갈변하여 분화하지 못하였다(표. 1). 섬말나리는 NAA와 TDZ처리구에서 신초가 분화하였으며 신초분화 시 callus 단계를 거치지 않고 인편에서 바로 분화하였고, NAA 1mg/l처리 시 85% 분화율을 보였다(표. 2). 이는 일반 나리류에서의 신초분화와 큰 차이가 없었으며, 자구를 형성하여 일반나리와 마찬가지로 저온처리 하였다. 이 자구를 포장에 이식하여 적응력 검토가 요구된다. 실제로 섬말나리는 보호종이고 자생지인 울릉도에서의 반출이 금지되고 있는 상황에서 대량증식을 통해 자생지 복원은 물론 농가보급에도 기여할 것으로 사료된다.

표 1. 노루귀 배양에 미치는 생장조절제의 효과

배지종류	호르몬종류 및 농도(mg/l)					Callus 형성율(%)	신초분화율(%)	비 고
	BA	NAA	TDZ	2,4-D	IAA			
MS						0	0	갈변
	0.1					0	0	"
	0.5					0	0	"
	1					0	0	"
	2					0	0	"
		0.1				0	0	"
		0.5				0	0	"
		1				0	0	"
		2				0	0	"
			0.1			0	0	"
			0.5			0	0	"
			1			0	0	"
			2			0	0	"
				0.1		0	0	"
				0.5		0	0	"
				1		15	0	노란빛
				2		10	0	"
					0.1	0	0	갈변
					0.5	0	0	"
					1	0	0	"
				2	0	0	"	
B5						0	0	갈변
	0.1					0	0	"
	0.5					0	0	"
	1					0	0	"
	2					0	0	"
		0.1				0	0	"
		0.5				0	0	"
		1				0	0	"
		2				0	0	"
			0.1			0	0	"
			0.5			0	0	"
			1			0	0	"
			2			0	0	"
				0.1		0	0	"
				0.5		0	0	"
				1		10	0	노란빛
				2		15	0	"
					0.1	0	0	갈변
					0.5	0	0	"
					1	0	0	"
				2	0	0	"	

표 2. 섬말나리 배양에 미치는 성장조절제의 효과

배지종류	호르몬종류 및 농도(mg/l)					Callus 형성율 (%)	신초분화율 (%)	주당신초수 (개)
	BA	NAA	TDZ	2,4-D	IAA			
MS						0	0	-
	0.1					0	0	-
	0.5					0	0	-
	1					0	10	-
	2					0	0	-
		0.1				0	20	-
		0.5				0	40	-
		1				0	85	3.06
		2				0	60	-
			0.1			0	20	-
			0.5			0	30	-
			1			0	80	3.27
			2			0	40	-
				0.1		0	0	-
				0.5		0	0	-
				1		0	0	-
				2		0	0	-
					0.1	0	0	-
					0.5	0	10	-
					1	0	0	-
					2	0	0	-

댕강나무는 2,5-D 5mg/l이상의 고농도에서 10%내외의 callus를 형성하였으나 갈변하여 신초로 분화하지 못하였다(표. 3). 댕강나무의 경우 목본류인 만큼 일반적인 MS배지가 아닌 WPM배지 등 목본 전용배지에서의 검토가 필요할 것으로 판단된다.

표 3. 댕강나무 배양에 미치는 성장조절제의 효과

배지종류	호르몬종류 및 농도(mg/l)				Callus 형성율 (%)	신초분화율 (%)	비고
	BA	NAA	TDZ	2,4-D			
MS					0	-	갈변
	0.5				0	-	"
	1				0	-	"
	2				0	-	"
		0.5			0	-	"
		1			0	-	"
		2			0	-	"
			0.5		0	-	"
			1		0	-	"
			2		0	-	"
				1	0	-	"
				3	0	-	"
				5	15	-	"

복수초와 연영초, 노랑무늬붓꽃은 모든 처리구에서 callus 또는 신초로 분화하지 못하고 갈변되었는데(표. 4), 이들은 뿌리 등 배양부위를 달리하여 검토가 필요할 것으로 생각되며, 갈변 방지를 위한 방지제의 첨가도 고려할 수 있다.

표 4. 노랑무늬붓꽃 배양에 미치는 성장조절제의 효과

배지종류	호르몬종류 및 농도(mg/l)				Callus 형성율 (%)	신초분화율 (%)	비고
	BA	NAA	TDZ	2,4-D			
MS					0	-	갈변
	0.5				0	-	"
	1				0	-	"
	2				0	-	"
		0.5			0	-	"
		1			0	-	"
		2			0	-	"
			0.5		0	-	"
			1		0	-	"
			2		0	-	"
				1	0	-	"
				3	0	-	"
				5	0	-	"

산작약은 2,4-D와 dicamba 처리구에서 20%내외의 callus형성율을 보였으나 역시 신초로 분화하지 못하였다(표. 5). 산작약은 분주를 통한 번식 식물인 만큼 전개된 잎이나 엽병 대신 신초 또는 성장점 배양을 통한 증식방법을 고려한다면 기내 증식효율을 높일 수 있을 것으로 생각된다.

표 5. 산작약 배양에 미치는 성장조절제의 효과

배지종류	호르몬종류 및 농도(mg/l)				Callus 형성율 (%)	신초분화율 (%)	비고
	2,4-D	Dicamba	BA	NAA			
MS					0	-	
	1				0	-	
	2				25	-	
	3				20	-	
		1			0	-	
		2			5	-	
		3			20	-	
			0.5		0	-	
				1	0	-	
				3	10	-	
				5	10	-	
			1		0	-	
				1	5	-	
				3	0	-	
				5	0	-	
			2		0	-	
				1	0	-	
				3	0	-	
				5	0	-	

깽깽이풀은 갈변하지는 않았으나 callus 등으로 분화하지 못하고 길이가 길어지거나 비대해졌다(표. 6, 그림 1).

표 6. 깽깽이풀 배양에 미치는 성장조절제의 효과

배지종류	호르몬종류 및 농도(mg/l)				Callus 형성율 (%)	신초분화율 (%)	비고
	2,4-D	Dicamba	NAA	TDZ			
MS					0	-	
	1				0	-	
	2				15	-	신장
	3				30	-	"
		1			0	-	비대
		2			20	-	"
		3			0	-	"
			0.5		0	-	
			1		0	-	
			2		0	-	
				1	0	-	
				2	0	-	
				3	0	-	



그림 1. 배양중인 갱쟁이풀(엽병)

솔나리는 섬말나리와 마찬가지로 callus 과정을 거치지 않고 바로 신초로 분화하였는데 MS배지에 1mg/l NAA처리구에서 90%이상의 신초분화율을 보였다(표 7). 솔나리는 식물체 자체가 작고 꽃이 귀여워 분화용 상품으로의 개발가능성이 높아 그 수요가 지속적으로 증가할 것으로 생각된다.

표 7. 솔나리 배양에 미치는 성장조절제의 효과

배지종류	호르몬종류 및 농도(mg/l)					Callus 형성율 (%)	신초분화율 (%)
	BA	NAA	TDZ	2,4-D	IAA		
MS						0	0
	0.1					0	0
	0.5					0	0
	1					0	10
	2					0	20
		0.1				0	40
		0.5				0	20
		1				0	90
		2				0	70
			0.1			0	20
			0.5			0	60
			1			0	80
			2			0	30
				0.1		0	0
				0.5		0	0
				1		0	0
				2		0	0
					0.1	0	0
					0.5	0	0
					1	0	20
					2	0	0

4. 적 요

희귀 및 멸종위기식물 또는 보호식물로 지정되어 있는 9종의 식물을 대상으로 기내배양을 통한 대량증식방법을 구명하기 위해 실험을 수행한 결과, 산림청에서 지정한 희귀 및 멸종위기식물인 「섬말나리」는 MS배지에 1 mg/l NAA를 첨가했을 때 85%, 1 mg/l TDZ를 첨가한 배지에서 80%의 신초분화율을 나타냈으며, 주당 신초수에 있어서는 TDZ처리구가 3.27개로 NAA처리구의 3.06개에 비해 약간 높았다. 「솔나리」는 MS배지에 1mg/l NAA처리구에서 90%이상의 신초분화율을 보였다. 산작약과 갯쟁이풀은 2,4-D와 dicamba처리구에서 각각 15~30%의 callus 형성율을 보였으나 신초로 분화하지 못하였고, 땃강나무, 노랑무늬붓꽃, 연영초, 노루귀, 복수초는 callus의 형성없이 조직이 비대 또는 신장하거나 갈변하여 분화하지 못하였다. 생태계보존과 더 나아가 복원을 위해 이러한 보호식물들에 대한 증식법은 계속 연구되어야 할 것으로 사료된다.

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.
- 이창복. 1975. 대한식물도감. 향문사.
- 자연환경보전법, 1991. 법률 4492호

6. 연구결과 활용제목

- 관상용 분화 개발을 위한 재료로 활용