

(농고교사 현장연구)

가시오갈피의 번식

- 무성번식법과 배양법을 중심으로 -

박봉재* · 한상억**

(*홍천농고 · **임업연구원 임목육종부)

Propagation of *Acanthopanax Senticosus*(Rupr. et Max.) Harms - On the asexual and the *in vitro* culture -

Bong-Jae Park* · Sang-Urk Han**

*Hongchon agricultural Highschool

**Forest Research Institute, Forestry Administration

적 요

이 연구는 약리작용이 뛰어나며, 희귀 및 멸종식물로 선정되어 있는 가시오갈피의 번식체계를 확립하기 위하여 실시하였다. 무성번식법으로는 삽목을, 기내배양법으로는 아배양, 종자배 배양, 캘러스 배양, 다경유도 및 캘러스 유도 등의 실험이 이루어졌다. 가시오갈피 삽목의 발근율은 시기별로는 후기 숙지삽 제 1차 실험에서 평균 44.2%로 비교적 높았으며, IBA의 사용이 효과적인 것으로 나타났다. 아배양에 있어서는 오염률이 약 55%에 달했다. 오염이 안된 절편은 잎이 전개되며 반응을 보이고 녹색화되었다. 오염이 안된 절편을 시료로 증식시험을 실시한 결과, 증식배지에서 잎은 완전히 전개되고 줄기의 자람이 시작되나, 줄기의 자람은 매우 느렸다. 줄기는 절편에 따라 2~3개의 줄기로 자라기도 하였으나 생장은 불량했다. 호르몬의 처리에 따른 줄기생장은 처리간에 큰 차이를 보이지 않았지만 10mg/L GA₃ 처리구에서는 3cm 이상 자라는 절편도 관찰되었다. 종자 배양에 있어서 종자의 발아는 1% 미만으로 매우 저조하였다. 배는 정상 발아되어 0.5~3cm의 길이로 자랐다. 발아된 종자는 동일배지로 계대배양했을 때 거의 모든 식물체에서 배축을 중심으로 절편의 상부에서 주로 형성되었고 길게 부정근이 내리기도 하였다. 체세포배는 대부분 기형으로 형성되었으며 절편에서 분리하기가 어려웠다. 그러나 체세포배에 따라서는 절편에서 쉽게 분리되어 식물체로 재분화되기도 하였다. 아배양에서 줄기의 생장이 매우 저조한 것을 감안하면 체세포배 유도를 통한 이 수종의 증식은 가능한 방법으로 생각된다. 캘러스 배양에 있어서는 오염률이 모든 처리구에서 40~90%로 심하였다. 캘러스는 오염이 안된 절편에서 모두 형성되어 처리에 따른 효과는 없는 것으로 나타났다. 캘러스는 절단면을 중심으로 형성되었고, 주로 담황색을 띠었다. 캘러스의 생장은 매우 느리게 이루어졌고, 4주 후에도 3~5mm 크기만 자랐다. 캘러스는 4주 후에 동일배지로 계대하였을 때에도 생장은 매우 저조하였고 점차 갈변화되었다. 이러한 캘러스는 암상태로 배양하였을 때 다시 생장이 시작되는 것이 관찰되었으나 대부분의 캘러스는 점차 갈변화되어 고사하였다. 초대배양 후 오염률을 방지하기 위하여 예비실험으로 삽목 후 자란 신초지를 이용하여 배양한 결과 오염율을 10% 미만으로 줄일 수 있어 앞으로는 온실에서 맹아지를 유도한 다음 시료로 사용함이 좋을 것이다. 다경유도 및 캘러스 유도에 있어서 오염률은 최저 10%에서 최고 57.5%로 나타났으며 오염이 되지 않은 절편들도 차차 갈변 고사되어 생존개체는 적었으며, 2,4-D 5.0mg/L 처리구에서 생존율이 65%로 높게 나타났다. 기부의 캘러스 생성은 2,4-D 5.0mg/L 처리구에서 가장 활발하였다.

I. 서론

가시오갈피 [*Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Max.) Harms]는 한반도, 만주, 연해주 등지에 자생하는 목본식물로서 특수 성분을 포함하고 있어 약리 작용이 뛰어나며, 특히 성분함유량은 국산이 가장 높은 것으로 나타나고 있다.

국내의 분포 또한 좁은 지역에서 작은 군락으로 자생하고 있다. 또한 산림에서의 감시가 어려워 도벌에 의한 천연군락의 소멸로 보존 우선순위 38위의 희귀 및 멸종 위기식물로 선정되어 있다(산림청 임업연구원, 1996). 따라서 종 다양성 유지를 위해서도 번식법은 반드시 개발되어야 한다.

임목의 전통적 번식 방법으로는 종자를 가을에 채취하여 모래 2~3 : 종자 1의 비율로 섞어 노천에 30~50 cm 깊이로 겨울 내내 묻어두었다가 다음해 봄에 파종하는 노천매장법이 발아촉진법으로 쓰여지고 있다. 그러나 종자의 껍질이 두꺼워 물의 투과가 어려운 종자나 종자의 후숙이 반드시 필요할 정도로 발달이 늦은 종자들은 대개 채취 당년 매장한 후 그해 겨울과 다음 해 겨울을 난 다음 2년 쯤 봄에 파종하는 것이 효과적이다. 때로는 종자 탈각기로 종피를 가산하여 흡수가 용이하게 한 후 4~5개월 동안 노천매장과 같은 조건을 겪은 뒤 파종하기도 한다. 이러한 방법은 충분한 종자가 있으면 문제가 없겠으나 가시오갈피는 종자 충실률이 10%를 넘지 못하여 번식에 어려움이 많다. 줄기와 뿌리를 이용하는 무성번식법도 가능하지만 공시 재료 확보의 어려움이 있어 현실적으로 문제가 있다.

지베렐린 처리에 의한 발아 반응을 보면 오갈피류는 이 처리시에 배의 발육이 신장되어 촉진 효과가 있었다. 오갈피 속 식물은 미숙배이기 때문에 발아가 지연되는 것이다(안, 1993). 가시오갈피는 항온습기(15°C) 내에서의 후숙처리에 의하면 처리 20일 전후에 배의 생장이 시작되었고 40일 전후에 배축과 자엽이 분화되었으며, 후숙처리 150일에는 77%가 종피가 파열되었다(박 등, 1997). 오갈피나무는 노지 파종시 춘파보다 추파가 발아율이 높았고, 노천파종보다 하

우스 내에 2월 파종이 발아에 유리하였으며, 이식은 본엽이 2~3매일 때 4월 말~5월 초순이 가장 좋았는데 직파 재배보다 육묘 이식 재배를 권장하였다(조, 1998). 일본에서 가시오갈피의 후숙촉진 처리 연구는 촉진 적온 15°C, 호르몬은 지베렐린으로 100ppm 24시간 침적, 휴면 타파는 5°C가 최적온, 휴면타파는 200ppm에 25시간 침지로 가능하였다(Isoda & Shoji, 1989).

생물공학적인 방법에 의한 가시오갈피 배에서 캘러스를 유도(형성률 45.5%)하고 이 캘러스에서 간헐적으로 지조와 뿌리가 유도되었으나 대량 번식 체계로 전환은 보도되지 않고 있다(유 등, 1997). 가시오갈피 배로부터 체세포의 발생을 보고하면서, 발생률은 하배측에서 가장 높았고 조직학적 관찰 결과 하배측 하부나 자엽에서는 단일배가 주로 관찰되었으나, 배형성능이 높은 자엽절이나 하배측상부에서는 다배의 발생이 높았다. 단일배는 표피의 단세포에서 유래하였고, 다배는 모두 표피 및 하표피의 다세포에서 유래하였다(최와 소, 1993).

가시오갈피를 비롯한 오갈피속 식물 5종(가시오갈피, 지리오갈피, 서울오갈피, 섬오갈피, 당오갈피)의 잎 및 가시의 형태와 분포 양상, 줄기 내부의 코르크층의 두께와 수, 사부와 목부의 두께 등을 조사하여 분류 지표가 밝혀졌다(김 등, 1997). 이들 중 가시의 형태가 대표적 분류 형질로서 가시오갈피는 바늘모양의 가시가 줄기에 밀생하고 있었으며, 지리오갈피에서는 장미가시 모양의 가시가, 서울오갈피와 당오갈피에서는 탁엽침이, 섬오갈피에서는 갈고리 모양의 가시가 줄기나 엽병 기부에 나 있었다. 임의 증폭 다형 유전자(RAPD)에 의한 연구에서는 덕유산, 오대산과 북해도 도입종을 하나의 무리로 묶을 수 있었으나, 덕유산에서 유래한 한 나무는 근연관계가 상당히 멀게 나타났다(김 등, 1998).

덕유산 자생지의 가시오갈피는 해발 1,050~1,300m(냉온대 습윤 기후)의 북사면에 위치하였고, 낙엽광엽수림대로 토양은 암갈색 자갈이 있는 사양토이며 유효 토심은 20~50cm이고 산도는 5.2~5.6정도이며 인산함량은 10ppm이었다. 수세는 낮은 조도로 매우 연약하였으며 근부맹아에 의한 번식을 하고

있었고, 주변 주요 식생은 까치박달, 모감주 및 박쥐나물 등과 함께 서식하고 있었다(박 등, 1996).

오갈피류의 성분 분석에 대한 보고는 많으나 실제 그 재료로 쓰이는 원료의 생산을 위한 번식과 재배에 대한 연구는 상당히 초보적 단계에 있다. 더욱이 이미 수행된 전통적 방법에 기초한 연구와 일반화된 방법은 번식을 위한 재료, 즉 종자나 개체가 충분히 있을 때나 가능한 방법으로 현재처럼 공식 재료가 부족한 시점에서는 다른 방법을 통한 번식법 개발에 대한 접근이 필요하다.

이러한 점에서 기내배양에 의한 번식 방법은 현재의 제한된 잔존 재료로 번식을 가능하게 하므로 멸종위기에 있는 수종의 번식에 적합하다 하겠다.

또한 농촌은 현재 노동 집약적 작목으로 주 소득원을 이루고 있고 산주는 소득의 순환이 늦어 산림관리를 거의 포기한 상태이다. 이들에게 노동력이 적게 들며 단기간에 투자의 환원이 가능한 소득 자원을 제공함으로써 소득을 증가시켜야 한다. 더욱이 유희농지와 한계 농지를 활용할 수 있는 식물과 재배법의 확립은 국토의 효율적 이용을 위해서도 이루어져야 할 일이다.

삼목과 기내배양에 의하여 번식된 개체는 유희농지와 한계농지의 활용에 도움을 줄 것이며, 산림자원의 극대화를 통하여 산간 농민과 임업가의 소득증대에 큰 도움을 줄 것으로 기대된다.

강원도는 도면적의 82%가 산지인 만큼 주민의 주 소득원이 될 수 있는 재배작물이 있다면, 산에도 촌락이 발생하여 독특한 사회·문화권을 조성할 수 있을 것으로 생각된다. 이러한 면에서 산에서 재배되어 특히 가치가 향상되는 자원으로서의 약품과 식품으로 가능성이 있는 것이 더 요구된다고 볼 때 가시오갈피는 매우 적합한 수종이다.

본 연구의 목적은 효용가치가 높으나 번식에 어려움이 있는 수종인 가시오갈피의 무성번식과 재배를 통하여 토지의 생산성 증대와 산림자원의 고가치화를 통한 산간 농민과 임업가의 소득증대에 있다.

II. 재료 및 방법

1. 삼목

가. 秋期숙지삽 : 1998년 9월 26일 강원도 홍천군 내면 오대산에서 채취한 시료를 저온상에 보관하였다가 동년 9월 27일에 삼목하였다. 생장조절물질 처리는 IAA, IBA, Kinetin, NAA를 각 500, 1000, 2000mg/L에 침적하여 사용하였다. 침적시간은 500mg/L가 20초, 1000, 2000mg/L에는 10초간 침적하였다. 삽수는 액아를 1~2개 포함하도록 조제하였으며, 상기의 처리구 각각에 22개, 무처리 60개의 삽수로 총 324개의 삽수가 삼목되었다. 삼목상은 온실내에 모래를 상토로 하였으며, 관수는 추기에 1일 1회, 동기에 1주 2회 정도 실시하였다.

나. 春期숙지삽 : 1999년 3월 6일에 강원도 삼척시 노곡면 중마읍리의 재배농가에서 제공받은 시료를 저온상에 보관하였다가 동년 3월 17일에 삼목하였으며, 생장조절물질 처리는 IAA, IBA, NAA 및 루톤을 사용하였다. 농도는 상기 가.에서와 같다. 삽수는 액아를 1~2개 포함하도록 조제하였다. 각 처리구당 삽수의 수는 10개씩 3반복으로 총 330개의 삽수가 사용되었으며, 삼목상은 온실에 설치하고, 30% 차광의 커튼을 사용하였으며, 상토는 모래를 사용하였고, 관수는 춘기 1일 1회, 하절기 1일 2회 실시하였다.

다. 夏期숙지삽 : 1999년 6월 19일에 강원도 삼척시 노곡면 중마읍리의 재배농가에서 제공받은 삽수를 시료로, 동년 6월 23일에 삼목하였다. 생장조절물질 처리는 IAA, IBA, Kinetin, NAA와 루톤을 사용하였으며, 농도는 상기 가.에서와 같다. 삽수는 액아를 1~2개 포함하도록 조제하였으며, 상부의 엽을 1~2개 남기고 각 소엽의 1/2가량 절단하여 조제하였다. 처리구당 삽수의 수는 각각의 생장조절 물질 처리에 대하여 10개체씩 3반복하였으며, 단 Kinetin 2000mg/L는 5개체씩 3반복으로 총 405개의 삽수가 사용되었다. 관수는 1일 2회 실시하였다.

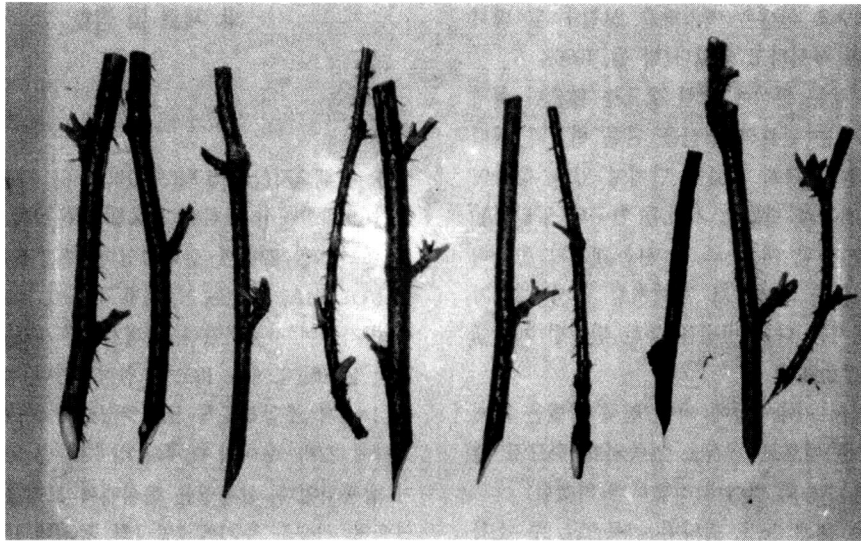


그림 1. 조제된 삽수

라. 秋期 숙지삽 : 1999년 10월 3일에 강원도 삼척시 노곡면 중마읍리 재배농가에서 제공받은 시료를 10월 4일에 삽목하여 현재 실시중이다. 생장조절물질 처리는 IAA, IBA, Kinetin, NAA와 루톤을 사용하였으며, 농도는 상기 가에서와 같다. 삽수는 액아를 1~2개씩 포함하도록 조제하였으며, 엷은 엷병 하단부에서 1.5cm 부위를 남기고 절단하였다. 처리구당 삽수의 수는 10개씩 3반복으로 총 420개를 사용하였다. 관수는 1일 1회 실시하고 있다.

2. 조직배양

가. 아배양

아배양에 사용된 재료는 1999년 10월 3일에 강원도 삼척시 노곡면에서 채취되었다.

채취된 재료는 정단 3cm를 절단하여 소독하였다. 소독순서는 tween 20으로 30분 진탕 세척-무균수 세척 3회-클린벤치 내에서 70% Ethanol에 3분간 침적-무균수 세척 3회-차아염소산 2%에 15분간 진탕 살균-무균수 세척 3회-무균수 침적 30분으로 하였다.

소독처리후 재료의 아린(芽鱗)을 벗겨내고 MS 배지를 기본으로 하여 GA3의 농도를 1.0, 3.0, 5.0, 10.0 mg/L으로 하여 재료를 치상하였다.

배양실의 조건은 하루 18시간 광조건, 6시간 암조건이며 온도범위 25±1°C이다.

나. 종자 배배양

재료로 사용된 종자는 98년도에 채집된 시베리아산과 북해도산의 종자이다. 종자의 표면살균은 가에서와 동일한 방법으로 이루어졌으며, 현미경하에서 종피와 배유의 제거를 거쳐 1/2 MS배지에 치상하였다. 약 4주후에 계대배양이 이루어졌다.

배양실의 조건은 가에서와 같다.

다. 캘러스 배양

캘러스 배양은 아배양에서 전개된 엷병을 재료로 하였다. 사용된 배지는 MS배지를 기본으로 하여 control, 2,4-D 농도를 0.5, 1.0, 3.0 mg/L으로 한 것과, 각각의 2,4-D 농도에 BA 0.1mg/L을 첨가한 것 그리고, 2,4-D 1.0mg/L에 Kinetin 0.1을 첨가한 배지를 사용하였다. 재료를 길이 1-2mm로 예리한 칼로 절단하여 준비된 배지에 치상하였다.

배양조건은 가에서와 같으나 단, 광량이 1/2로 감소된 조건에서 캘러스 유도가 이루어졌다.

라. 다경유도 및 캘러스 유도

재료 소독후 아린(芽鱗)을 벗겨내고 BA처리구에는 생장점을 포함한 크기 5mm가량의 절편을 시험관내의 배지에 치상하였으며, 2,4-D 처리구에는 아린을 벗겨낸 절편을 3~4등분하여 시험관내의 배지에 치상하였다. 배지의 조성은 MS배지를 기본으로 하여 BA를 1.0, 3.0, 5.0mg/L 첨가한 것과 2,4-D를 0.5, 1.0, 5.0mg/L 첨가한 것으로 하였다.

배양실의 조건은 가.에서와 같다.

트 이식률은 IBA 1000ppm 처리구에서, 포지의 활착율은 Kinetin 500ppm 처리구에서 가장 높게 나타났다. IBA의 처리가 효과적으로 나타났으며, 포트 이식율과 포지 활착률을 감안하면 500ppm 처리가 효과적인 것으로 나타났다.

나. 春期 숙지삽

춘기 숙지삽의 발근율은 상당히 저조하였으며 호르몬 처리에 대하여 일정한 경향을 보이지 않았다.

다. 夏期 녹지삽

하기 녹지삽 또한 발근율이 저조하였으나 IBA 500ppm 처리구에서 가장 높게 나타났다.

라. 秋期 숙지삽

추기 숙지삽은 익년의 경우와 같이 춘기 녹지삽과 하기 녹지삽에 비하여 발근율이 높게 나타났으며,

III. 결과 및 고찰

1. 삽목

가. 秋期 숙지삽

표 1에서와 같이 추기 숙지삽의 발근율은 IBA 2000ppm 처리구에서 가장 높게 나타났다. 그러나 포트

표 1. 추기 숙지삽의 발근율, 포트 이식율 및 활착률

생장조절물질(mg/L)	발근율*	포트 이식률**	활착률***
IAA 500	27.27	9.09	33.33
IAA 1000	54.55	27.27	33.33
IAA 2000	45.45	36.36	0.00
IBA 500	68.18	31.82	83.33
IBA 1000	77.27	68.18	20.00
IBA 2000	81.82	18.18	33.33
Kinetin 500	23.81	38.10	77.78
Kinetin 1000	18.18	45.45	36.36
Kinetin 2000	27.27	54.55	13.33
NAA 500	45.45	22.73	16.67
NAA 1000	50.00	31.82	42.86
NAA 2000	31.82	22.73	33.33
무처리	36.67	40.00	50.00
평균	44.27	34.98	37.29

*삽목상에서의 발근율 - 조사일 1998. 12. 19

**포트로 이식하여 월동한 후의 이식률 - 조사일 1999. 5. 1

***포지에서의 활착률 - 조사일 1999. 6. 10

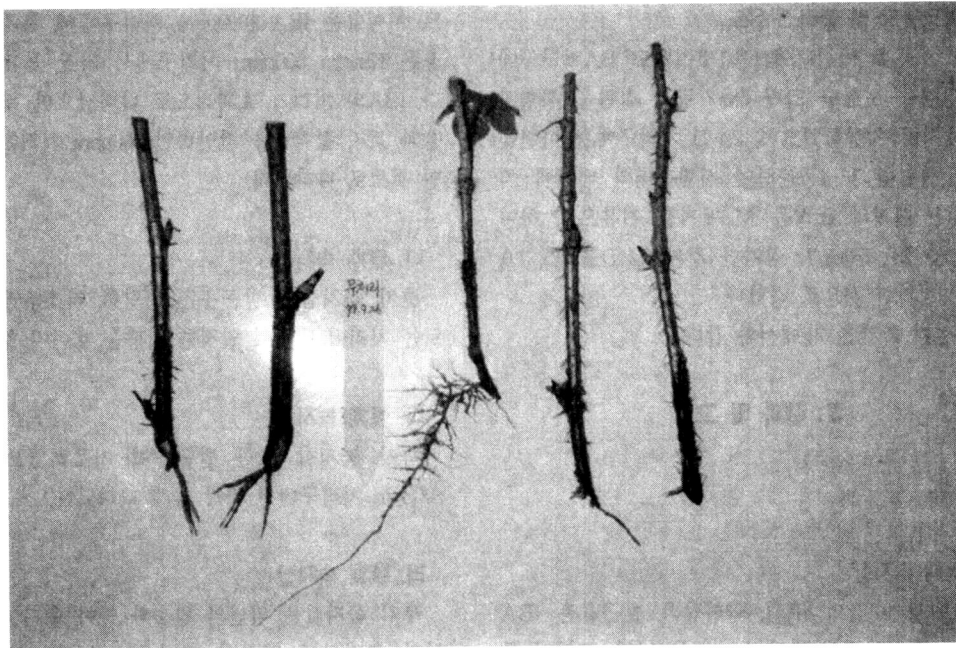


그림 2. 발근된 개체들



그림 3. 포트에 이식된 개체들



그림 4. 포지에 이식되어 적응중인 삼수

IBA 500ppm 처리구에서 가장 높게 나타났다.

가시오갈피 삼목의 발근율은 시기별로는 추기 숙지삽 제 1차 실험에서 평균 44.2%로 비교적 높았으

며(표 1), IBA의 사용이 효과적인 것으로 나타났다.

그러나 실제로 포트 이식률과 포지에서 활착률을 감안하면 전체 삼수의 5.7%만이 적응하여 생존하였

표 2. 춘기 녹지삽의 발근율

생장조절물질(mg/L)	삼수의 갯수	발근	근장(cm)	발근율(%)	비고
IAA 500	30	0	-	0	
IAA 1000	30	0	-	0	
IAA 2000	30	1	3.7	3.3	
IBA 500	30	0	-	0	
IBA 1000	30	1	3.0	3.3	
IBA 2000	30	2	5.0	6.7	
NAA 500	30	2	2.4	6.7	
NAA 1000	30	0	-	0	
NAA 2000	30	1	9.4	3.3	
루톤	30	0	-	0	
무처리	30	2	7.0	6.7	
계	330	9	2.14	2.73	

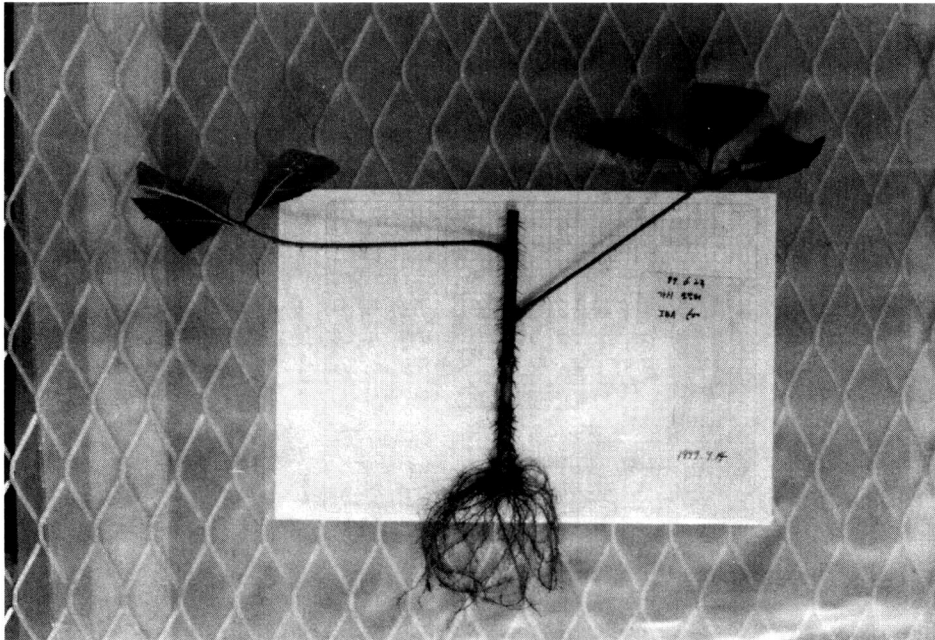


그림 5. 하기 녹지삽의 발근개체

표 3. 하기 녹지삽의 발근률

생장조절물질(mg/L)	삽수의 갯수	발근	근장(cm)	발근율(%)	비고
IAA 500	30	-	-	-	
IAA 1000	30	-	-	-	
IAA 2000	30	-	-	-	
IBA 500	30	6	11.18	20	
IBA 1000	30	-	-	-	
IBA 2000	30	-	-	-	
Kinetin 500	30	-	-	-	
Kinetin 1000	30	-	-	-	
Kinetin 2000	30	1	19	3.3	
NAA 500	30	1	14	3.3	
NAA 1000	30	-	-	-	
NAA 2000	15	-	-	-	
루톤	30	-	-	-	
무처리	30	-	-	-	
계	405	8	12.5	1.97	

다. 이러한 낮은 생존은 가시오갈피의 줄기 구조중에서 髓(pith)가 차지하는 비율이 높음으로써 삼목기간 동안의 수분손실과 부패에 의한 것으로 사료된다.

춘기의 숙지삽과 하기의 녹지삽은 평균 2% 내외의 낮은 발근율을 보였다. 이는 온도 및 습도등의 온실 조건의 미비가 그 원인으로 사료된다.

차후로도 계속적으로 삼목 실험을 실시할 예정이며, 삼목 조건의 변화를 통해 적합한 삼목조건을 탐색할 예정이다.

2. 조직배양

가. 아배양

배양 2주 후 오염률은 약 55%에 달했다. 오염이 안된 절편은 잎이 전개되며 반응을 보이고(그림 6), 녹색화되었다. 오염이 안된 절편을 시료로 증식시험을 실시한 결과는 표 5과 같다. 증식배지에서 잎은 완전히 전개되고 줄기의 자람이 시작되었다. 그러나 배양 4주 후에도 줄기의 자람은 매우 느렸다. 대부분

표 4. 후기 숙지삽의 발근율

생장조절물질(mg/L)	삽수의 갯수	발근	근장(cm)	생존율(%)	비고
IAA 500	30	1	0.2	3.3	
IAA 1000	30	-	-		
IAA 2000	30	1	1.1	3.3	
IBA 500	30	6	2.4	20.0	
IBA 1000	30	5	1.02	16.7	
IBA 2000	30	5	1.34	16.7	
Kinetin 500	30	1	6	3.3	
Kinetin 1000	30	-	-		
Kinetin 2000	30	-	-		
NAA 500	30	3	1.73	10.0	
NAA 1000	30	1	4.7	3.3	
NAA 2000	30	2	2.65	6.7	
루톤	30	3	3.03	10.0	
무처리	30	-	-		
계	420	28	2.78	6.7	

표 5. 3년생 가시오갈피 정아조직의 줄기증식

생장조절물질(mg/L)	치상점수	증식줄기수	기부 캘러스 생장*
GA ₃ 1.0	15	19	+
GA ₃ 3.0	15	20	++
GA ₃ 5.0	10	15	+++
GA ₃ 10.0	10	16	+++

*캘러스 생장은 + : 저조, ++ : 중간, +++ : 활발 의 3단계로 나누었다.

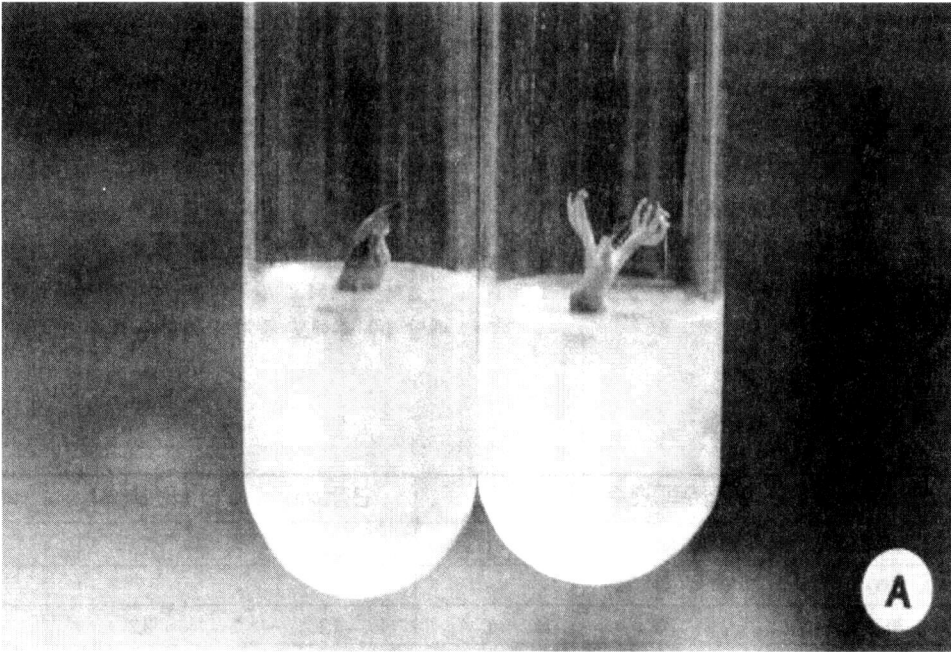


그림 6. 시험관에 치상된 동아

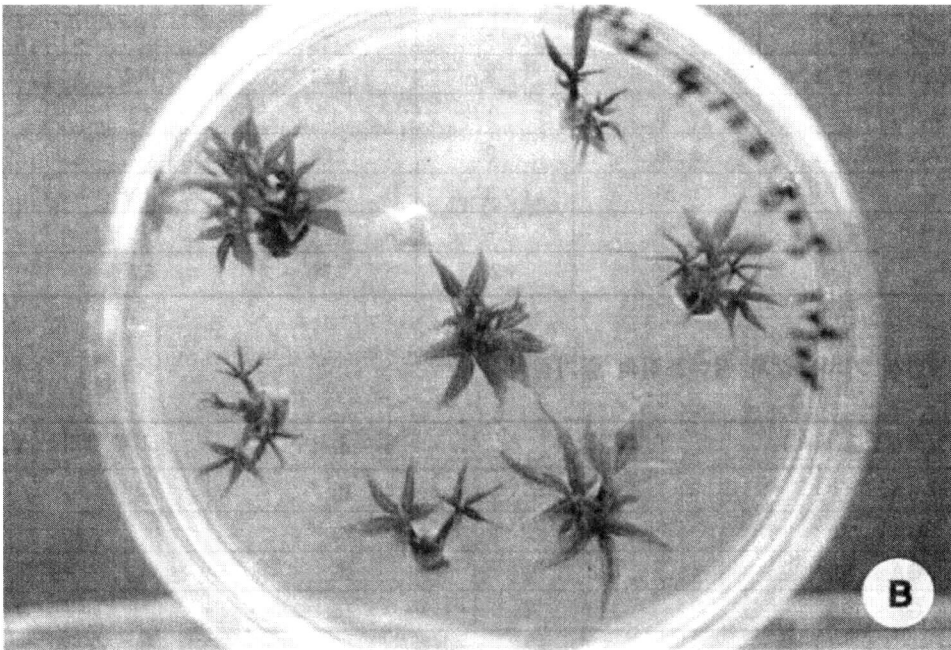


그림 7. 페트리디쉬에 치상된 동아



그림 8. 미오염 개체를 선별하여 계대배양한 것

의 절편기부에는 캘러스가 부풀어 오르는 형태로 형성되었고 호르몬 농도가 높아질수록 크게 형성되었다. 줄기는 절편에 따라 2~3개의 줄기로 자라기도 하였으나 생장은 불량했다(그림 7). 호르몬의 처리에 따른 줄기생장은 처리간에 큰 차이를 보이지 않았지만 10 mg/L GA₃ 처리구에서는 3cm 이상 자라는 절편도 관찰되었다(그림 8). 줄기는 현재 저온처리 및 암처리 배양을 통하여 증식을 도모하고 있다.

나. 종자 배양

종자의 발아는 1% 미만으로 매우 저조하였다. 발아되는 종자는 유근이 먼저 내리고 다음 자엽이 나오는 형태로 정상 발아되었다. 발아된 식물체의 생장은 개체에 따라 매우 달랐다. 길이는 0.5~3cm의 길이로 자랐다. 발아된 종자는 다시 동일한 배지로 계대배양했을 때 거의 모든 식물체에서 배축을 중심으로 체세포배가 형성되었다. 체세포배는 상배축과 자엽을 중심으로 절편의 상부에서 주로 형성되었고 길게 부정근이 내리기도 하였다(그림 9). 한편 체세포배는 대부분 기형으로 형성되었으며 절편에서 분리

하기가 어려웠다. 그러나 체세포배에 따라서는 절편에서 쉽게 분리되어 식물체로 재분화되기도 하였다. 대부분의 체세포배는 자엽이 붙어 있거나 나팔형의 체세포 배로 형성되어 정상적으로 발아되지 못했다. 현재 이러한 체세포 배는 분리하여 발아 및 생장시험 중에 있으며 아울러 현탁배양을 통한 배발생 캘러스의 증식 및 재분화를 시험중에 있다. 아배양에서 줄기의 생장이 매우 느리고 다경줄기 형성이 저조한 것을 감안하면 체세포배 유도를 통한 이 수준의 증식은 가능한 방법으로 생각된다. 앞으로 이에 대한 계속된 실험이 요구된다.

다. 캘러스 배양

배양 3주 후의 오염률이 모든 처리구에서 40~90%로 심하였다(표 6). 캘러스는 오염이 안된 절편에서 모두 형성되어 처리에 따른 효과는 없는 것으로 나타났다. 캘러스는 절단면을 중심으로 형성되었고, 주로 담황색을 띠었다(그림 10). 캘러스의 생장은 매우 느리게 이루어 졌고, 배양 4주 후에도 3~5mm 크기로만 자랐다. 캘러스는 4주 후에 동일한 배지로 계대

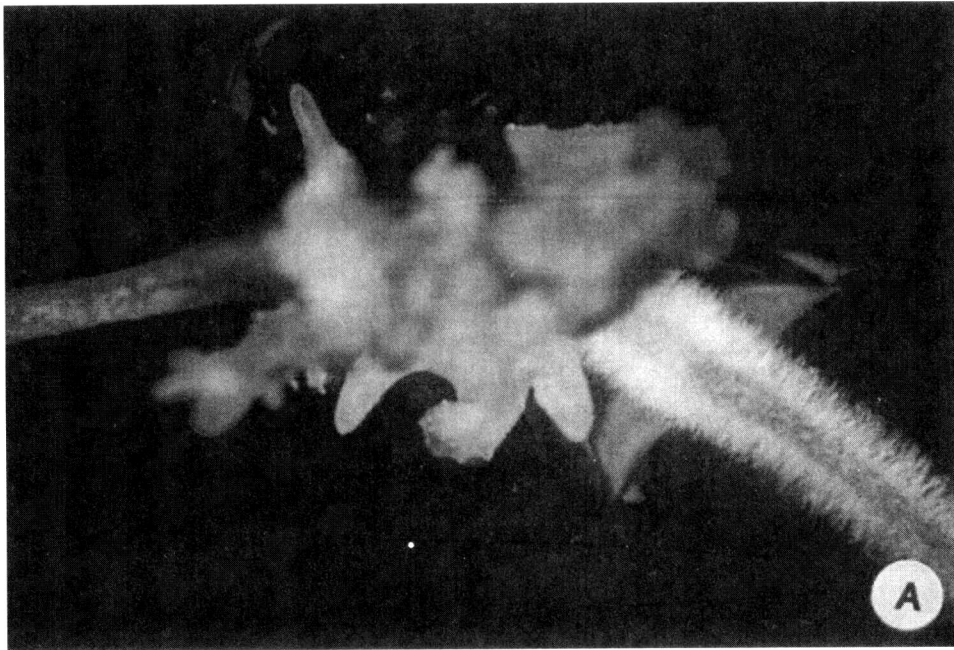


그림 9. 배배양을 통한 체세포배의 생성

하였을 때에도 생장은 매우 저조하였고 점차 갈변화되었다. 이러한 캘러스는 암상태로 배양하였을 때 다시 생장이 시작되는 것이 관찰되었으나 대부분의 캘러스는 점차 갈변화되어 고사하였다. 본 실험 조건하에서 오갈피나무의 캘러스 배양은 매우 부적절하여 금후 배지와 성장조절물질을 달리하여 실험할 필요성이 있다. 아울러 초대배양 후 오염률을 방지하기

위하여 예비실험으로 삼목 후 자란 신초지를 이용하여 배양한 결과 오염율을 10% 미만으로 줄일 수 있어 앞으로는 온실에서 맹아지를 유도한 다음 시료로 사용함이 좋을 것이다.

라. 다경 유도 및 캘러스 유도

표 7에서와 같이 오염률은 최저 10%에서 최고

표 6. MS 배지에서 성장조절물질에 따른 캘러스 유도율

배지 및 성장조절물질(mg/L)	치상점수	오염률(%)	캘러스 형성률(%)
Control	15	80.0	20.0
2,4-D 0.5	13	61.5	38.5
2,4-D 1.0	24	79.2	20.8
2,4-D 3.0	13	92.3	7.7
2,4-D 0.5 + BA 0.1	25	56.0	44.0
2,4-D 1.0 + BA 0.1	27	63.0	37.0
2,4-D 3.0 + BA 0.1	7	57.2	42.8
2,4-D 1.0 + KN 0.1	10	40.0	60.0

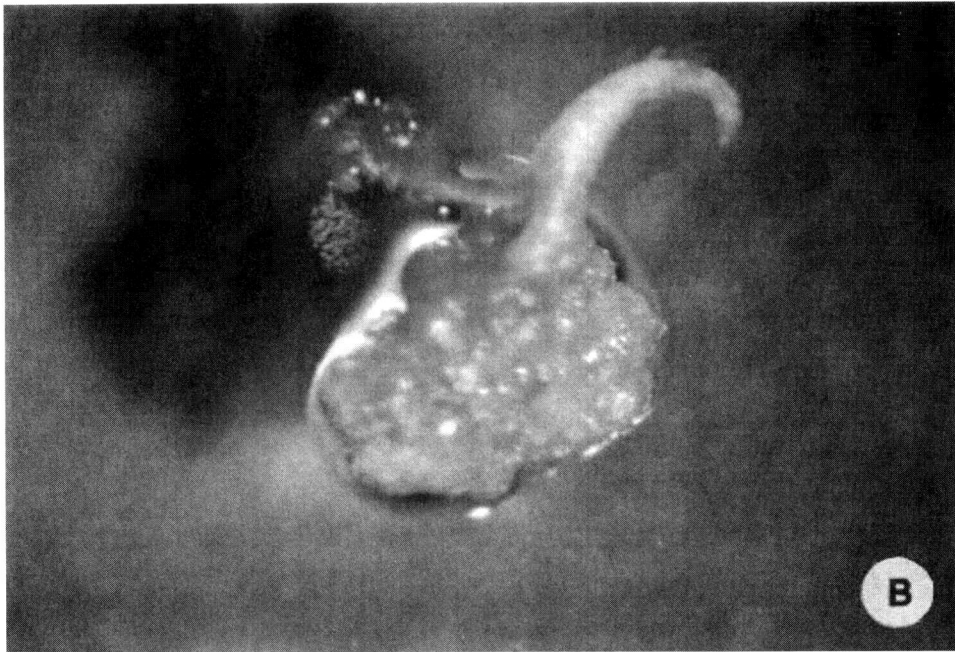


그림10. 켈러스로부터 부정근의 형성

57.5%로 나타났으며 오염이 되지 않은 절편들도 차차 갈변 고사되어 생존개체는 많지 않았으며, 2,4-D 5.0mg/L 처리구에서 생존율이 65%로 높게 나타났다. 각각의 처리구에서 기부의 켈러스의 생성이 이루어지는 절편(그림 13, 15, 17)과 이루어지지 않는 절편(그림 14, 16, 18)이 나타났으며, 2,4-D 0.5mg/L 처리구에서 켈러스 생성이 가장 활발하였다.

IV. 결론

1. 가시오갈피 삽목의 발근율은 시기별로는 추기의 숙지삽이 평균 44.2%로 비교적 높았으며, IBA의 사용이 효과적인 것으로 나타났다. 삽목시의 낮은 생존율은 가시오갈피의 줄기 구조 중에서髓(pith)가 차지하는 비율이 높은 이유로, 삽목기간 동안의 수분손

표 7. MS 배지에서 성장조절물질에 따른 켈러스 유도율

성장조절물질(mg/L)	치상점수(개)	오염률(%)	생존(개)	기부 켈러스 생성*
BA 1.0	10	30.0	6	++
BA 3.0	10	30.0	4	+
BA 5.0	10	10.0	1	+
2,4-D 0.5	40	57.5	13	+++
2,4-D 1.0	40	57.5	15	+
2,4-D 5.0	40	32.5	26	++

*켈러스 생성은 + : 저조, ++ : 중간, +++ : 활발의 3단계로 나누었다.

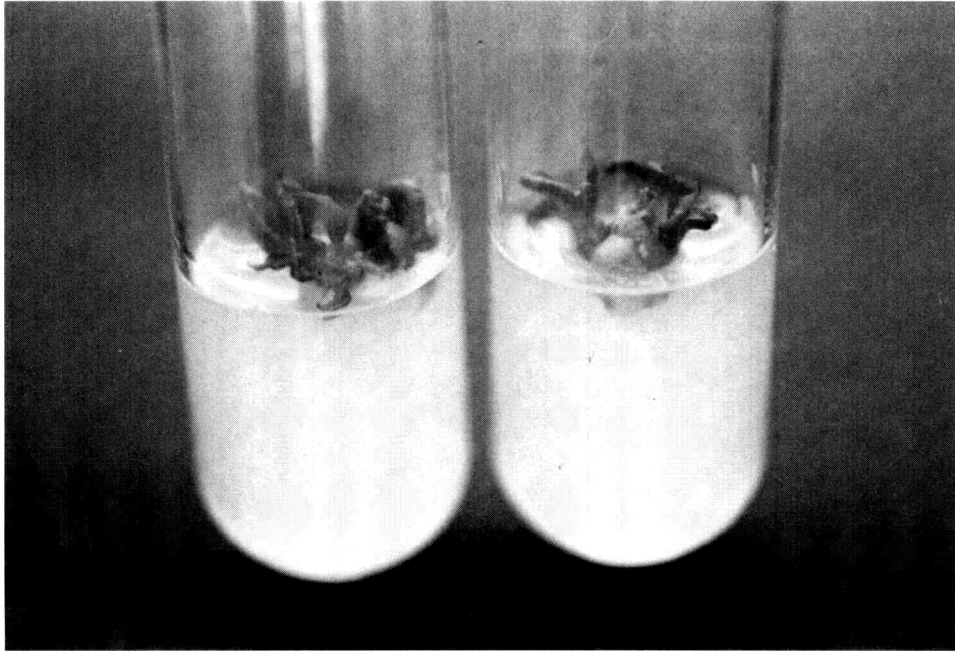


그림 11. BA 1.0 처리구

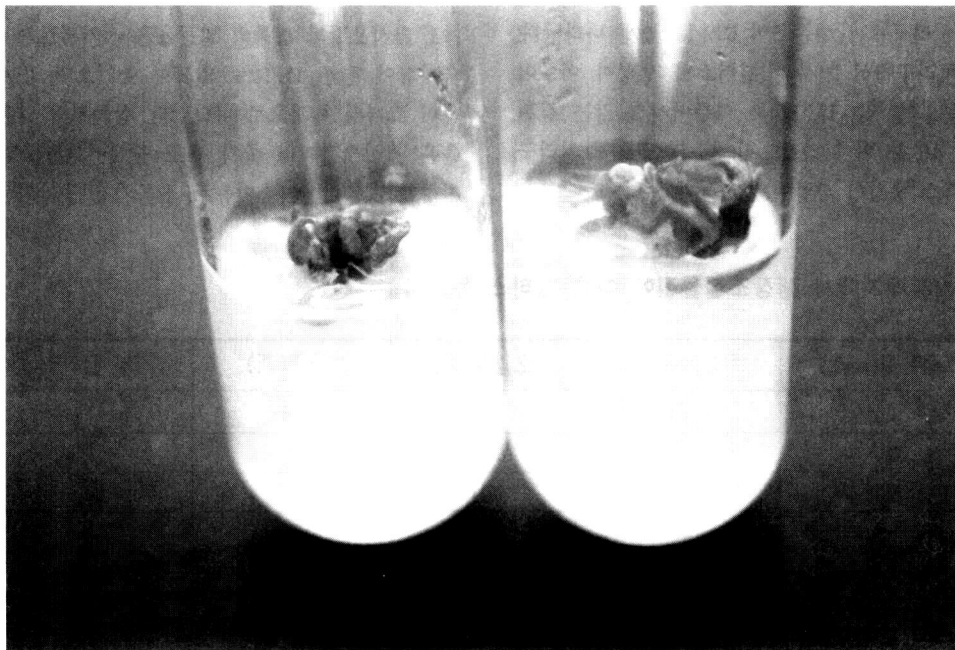


그림 12. BA 3.0 처리구

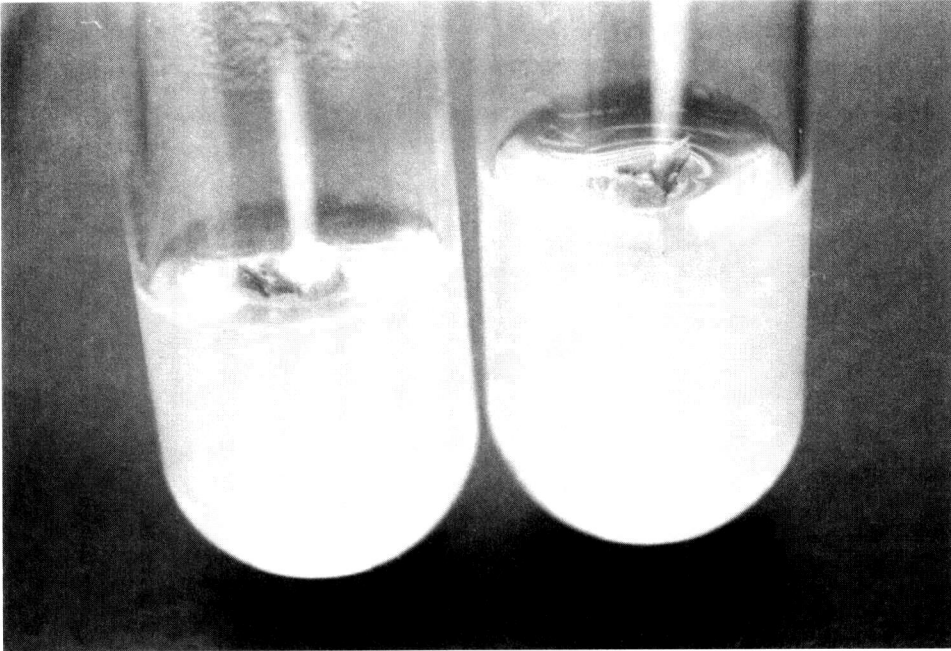


그림 13. 2, 4-D 0.5 처리구

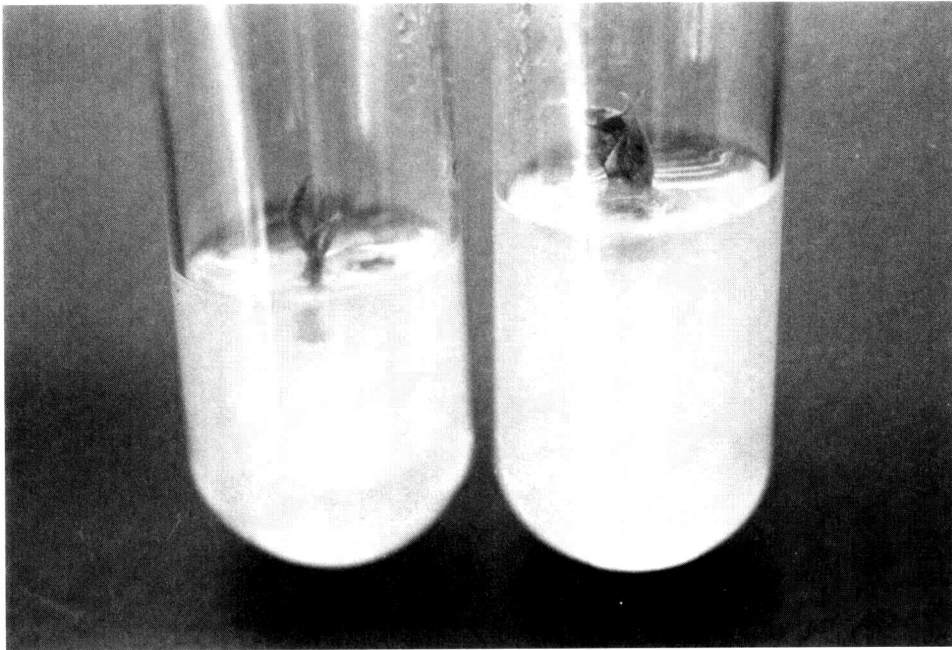


그림 14. 2, 4-D 0.5 처리구

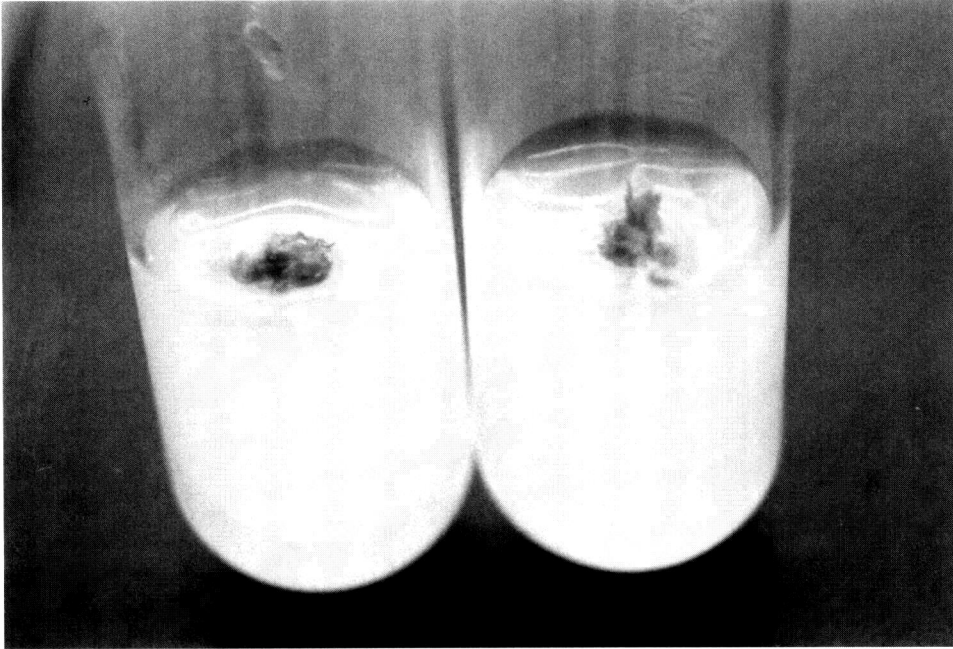


그림 15. 2, 4-D 1.0 처리구

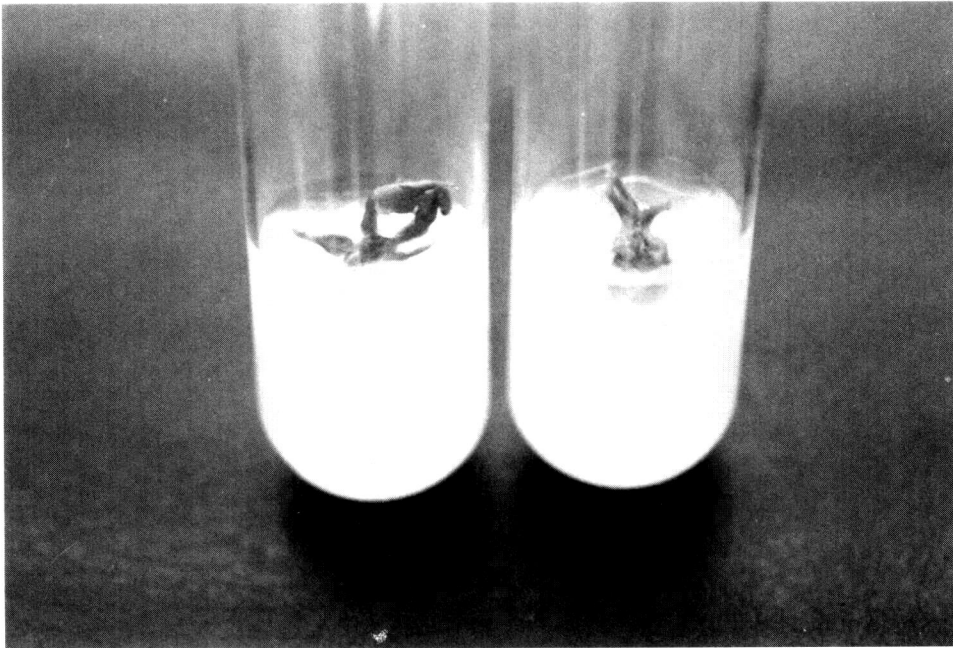


그림 16. 2, 4-D 1.0 처리구

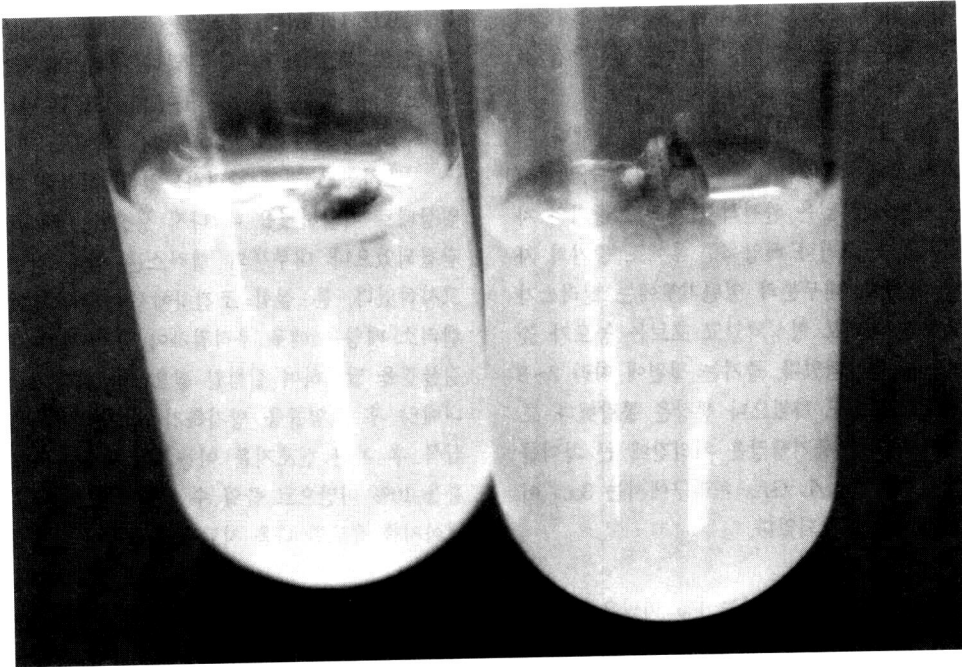


그림 17. 2, 4-D 3.0 처리구

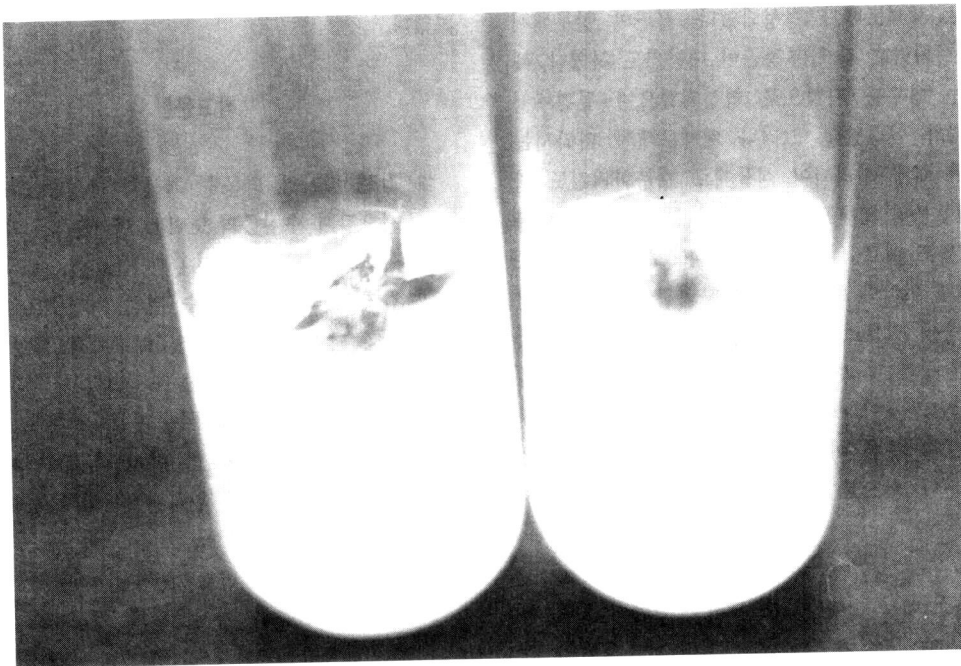


그림 18. 2, 4-D 3.0 처리구

실과 부패에 약한 것으로 사료된다. 춘기의 숙지삼과 하기의 녹지삼은 평균 2% 내외의 낮은 발근율을 보였다.

2. 아배양에 있어서 오염률은 약 55%에 달했다. 미오염 절편은 잎이 전개되며 반응을 보이고 녹색화되었다. 증식배지에서 잎은 완전히 전개되고 줄기의 자람이 시작되었다. 그러나 배양 4주 후에도 줄기의 자람은 매우 느렸다. 대부분의 절편기부에는 켈러스가 부풀어 오르는 형태로 형성되었고 호르몬 농도가 높아질수록 크게 형성되었다. 줄기는 절편에 따라 2~3개의 줄기로 자라기도 하였으나 생장은 불량했다. 호르몬의 처리에 따른 줄기생장은 처리간에 큰 차이를 보이지 않았지만 10mg/L GA₃ 처리구에서는 3cm 이상 자라는 절편도 관찰되었다.

3. 종자배배양 : 종자의 발아는 1% 미만으로 매우 저조하였다. 발아되는 종자는 유근이 먼저 내리고 다음 자엽이 나오는 형태로 정상 발아되었다. 발아된 식물체의 생장은 개체에 따라 매우 달랐으며, 0.5~3cm의 길이로 자랐다. 발아된 종자는 다시 동일배지로 계대배양했을 때 거의 모든 식물체에서 배축을 중심으로 체세포배가 형성되었다. 절편의 상부에서 주로 형성되었고 길게 부정근이 내리기도 하였다. 체세포배는 대부분 기형으로 형성되었으며 절편에서 분리하기가 어려웠다. 그러나 체세포배에 따라서는 절편에서 쉽게 분리되어 식물체로 재분화되기도 하였다. 대부분의 체세포배는 자엽이 붙어 있거나 나팔형의 체세포 배로 형성되어 정상적으로 발아되지 못했다. 현재 이러한 체세포 배는 분리하여 발아 및 생장시험 중에 있으며 아울러 현탁배양을 통한 배발생 켈러스의 증식 및 재분화를 시험중에 있다. 아배양에서 줄기의 생장이 매우 저조한 것을 감안하면 체세포배 유도를 통한 이 수종의 증식은 가능한 방법으로 생각된다. 앞으로 이에 대한 계속된 실험이 요구된다.

4. 켈러스 배양 : 배양 3주 후의 오염율이 모든 처리구에서 40~90%로 심하였다. 켈러스는 오염이 안된 절편에서 모두 형성되어 처리에 따른 효과는 없

는 것으로 나타났다. 켈러스는 절단면을 중심으로 형성되었고, 주로 담황색을 띠었다. 켈러스의 생장은 매우 느려 배양 4주 후에도 3~5mm 크기로만 자랐다. 4주 후에 동일배지로 계대하였을 때에도 생장은 매우 저조하였고 점차 갈변화되었다. 이러한 켈러스는 암상태로 배양하였을 때 다시 생장이 시작되는 것이 관찰되었으나 대부분의 켈러스는 점차 갈변화되어 고사하였다. 본 실험 조건하에서 가시오갈피나무의 켈러스 배양은 매우 부적절하여 금후 배지와 생장조절물질을 달리하여 실험할 필요성이 있다. 아울러 초대배양 후 오염률을 방지하기 위하여 예비실험으로 삼목 후 자란 신초지를 이용하여 배양한 결과 오염률을 10% 미만으로 줄일 수 있어 앞으로는 온실에서 맹아지를 유도한 다음 시료로 사용함이 좋을 것이다.

5. 다경유도 및 켈러스 유도 : 오염률은 최저 10%에서 최고 57.5%로 나타났으며 오염이 되지 않은 절편들도 차차 갈변 고사되어 생존개체는 많지 않았으며, 24-D 5.0mg/L 처리구에서 생존율이 65%로 높게 나타났다. 기부의 켈러스 생성은 24-D 5mg/L 처리구에서 가장 활발하였다. 그러나 이후 모두 갈변 고사하였다.

참고문헌

1. 김선, 김기영, 박문수, 최선영, 윤성중(1998), "가시오갈피 수신품종의 RAPD 변이분석," 약용작물학회지, 6(3): 165~169.
2. 김영진, 박호기, 박문수, 김선, 최경구(1997), "오갈피속 식물의 형태 및 해부학적 특성 비교," 한국육종학회지, 29(1): 56~63.
3. 박호기, 박문수, 김태수, 김선, 최경구, 박기훈(1997), "가시오갈피의 종자 후속처리시 배의 생장과 개갑 특성," 한국작물학회지, 42(6): 673~677.
4. 박문수, 김영진, 박호기, 김선, 김규성, 장영선(1996), "덕유산 가시오갈피 자생지의 생육환경," 한국작물학회지, 41(6): 710~717.
5. 산림청 임업연구원(1996), "희귀 및 멸종 위기

- 식물-보존 지침 및 대상식물-” 도서출판 생명의 나무, 132.
6. 안상득(1993), “오갈피나무속(*Acanthopanax*) 식물의 번식에 관한 연구.” 약용작물학회지, 1(1): 16~23.
 7. 유창연, 김재광, 안상득(1997), “가시오갈피 미숙배 배양으로부터 Callus 형성 및 식물체 재분화.” 약용작물학회지, 5(1): 49~55.
 8. 임종택(1995), “가시오갈피나무의 삽목번식에 관한 연구-삽목시기와 상토종류가 발근율에 미치는 영향을 중심으로-.” 건국대학교 농축대학원 석사학위 논문.
 9. 전라북도 산림환경연구소 시험연구보고서(1997), 제28호: 154~164.
 10. 조선행(1998), “오갈피나무의 육묘 이식재배에 따른 생육특성.” 한국자원식물학회지, 6(2): 60~61.
 11. 최용의, 소웅영(1993), “가시오갈피 접합자배로부터 체세포배 발생과정의 구조적 특성.” 식물조직배양학회지, 20(5): 261~266.
 12. Susumu Isoda, Junzo Shoji(1989), “後熟と休眠打破について(その1).” Shoyakugaku Zasshi 13(1): 71~77.