

기내배양에 의한 헛개나무의 Callus 형성
경희대학교 : 박미영*, 왕평보, 엄석현, 이승우

Callus Formation by In Vitro Culture of *Hovenia dulcis* var. *koreana* NAKAI
Department of Horticultural Biotechnology, Kyung Hee University, Yongin-si, Gyeonggi-do, Korea
Mi Young Park*, Feng Bo Wang, Seok Hyun Eom, and Seung Woo Lee

실험목적

헛개나무(*Hovenia dulcis* var. *koreana* NAKAI)는 갈매나무과(Rhamnaceae) 낙엽교목으로 뛰어난 알콜 분해능과 그 외 정혈, 이뇨, 갈증해소, 해독작용 등의 효능이 있어 민간에서 생약으로 이용되고 있으며 이를 재료로 한 건강보조식품들이 시판되고 있다. 그러나 현재 자생지에서의 무분별한 채취와 그 수요를 따르지 못해 중국에서 상당량을 수입하고 있어 국내 헛개나무의 안정적인 공급을 위한 대량 번식 및 육종이 연구되어야 한다.

따라서 본 연구는 헛개나무의 대량번식 기술개발을 위한 기초연구의 일환으로 식물조직 배양에 의한 캘러스 형성에 미치는 성장조절물질의 종류와 적정농도, 배양 환경의 영향을 조사하고자 수행하였다.

재료 및 방법

○ 실험재료

경기도 용인시 수지구 고기동에서 헛개나무의 열매를 채취하여 본 실험에 사용하였다.

○ 실험방법

열매는 과피를 제거한 후 황산 원액에 40분 동안 침지시켰으며 흐르는 물에 12-36시간 동안 세척하여 원예용 상토에 파종하였다. 발아한 유묘로부터 채취한 잎을 70% 에탄올에 1분, 0.1% 벤레이트 용액에 12분, Tween 20을 1 liter당 2방울을 포함하는 0.5% NaClO 용액에 13분 소독하고, 멸균수로 5회 세척하여 배양재료로 이용하였다. pH를 5.8로 조정된 MS배지에 3% sucrose와 성장조절물질을 첨가하여 121°C 에서 15분간 고압멸균하였다. 배양조건은 25±1°C 에서 일장을 16시간/8시간과 24시간 암조건으로 구분하여 실시하였다.

각 성장조절물질에 캘러스 형성율을 조사하기 위해 잎을 잎맥을 포함하여 1cm x 1cm로 절취한 후 배지에 치상하였다. 성장조절물질은 cytokinin류인 BAP 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg · L⁻¹, TDZ 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg · L⁻¹과 auxin류인 NAA 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg · L⁻¹, 2,4-D 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg · L⁻¹의 농도로 단독처리 하였다. 또한 BAP, TDZ 0.1, 1.0 mg · L⁻¹와 NAA, 2,4-D 0.1, 1.0 mg · L⁻¹를 조합처리 하였다. 배양 4주에서 5주 후 캘러스 형성율과 형성능을 조사하였다.

실험결과

MS배지에서 성장조절물질을 단독처리 하였을 때 배양 4주 후 캘러스 형성율은 16시간/8시간 일장처리에서는 TDZ 1.0 mg · L⁻¹와 TDZ 2.0 mg · L⁻¹에서 100%를 보였다. 캘러스 형성능은 TDZ 2.0 mg · L⁻¹의 농도에서 가장 뛰어났으며 밝은 녹색으로 비교적 compact한 캘러스가 유기 되었다. 24시간 암조건에서는 16시간/8시간 일장처리에 비해 모든 성장조절물질처리에서 캘러스 형성능이 뛰어났으며 하얗거나 밝은 노란색의 friable한 캘러스가

주저자 연락처 : 박미영 E-mail : mmmyyy@khu.ac.kr Tel : 031- 201-3695

형성되었다. 캘러스 형성율은 NAA 1.0 mg · L⁻¹의 농도에서 가장 좋았으나 캘러스의 형성능은 TDZ 2.0 mg · L⁻¹와 2,4-D 0.1 mg · L⁻¹에서 가장 효율적이었다

생장조절물질의 조합처리 시, 16시간/8시간 일장처리에서는 캘러스 형성율은 BAP 1.0+ 2,4-D 0.1 mg · L⁻¹에서 높았으나, 캘러스 형성능은 TDZ 0.1+NAA 1.0 mg · L⁻¹, TDZ 1.0 + NAA 1.0 mg · L⁻¹의 농도에서 가장 효율적이었고 compact하고 진한 녹색의 캘러스가 유리되었다. 24시간 암처리에서는 BAP 0.1+ NAA 0.1 mg · L⁻¹의 농도에서 캘러스 형성율이 가장 높았으나, 캘러스 형성능은 BAP 1.0+ 2,4-D 0.1 mg · L⁻¹에서 가장 좋았으며 friable한 캘러스가 형성되었다.

Table 1. Effect of plant growth regulators on callus formation of *Hovenia dulcis* var. *koreana* NAKAI

Plant growth regulators		Callus formation rate(%) ^z		Callus formation efficiency ^y	
Concentration (mg·L ⁻¹)		16hrL/8hrD	24hrD	16hrL/8hrD	24hrD
Control	0.0	13.33	76.67	-	+
BAP	0.1	80.00	66.67	-	+
	0.5	66.67	80.00	-	+
	1.0	53.33	73.33	-	+
	2.0	53.33	86.67	-	+
	TDZ	0.1	86.67	86.67	+
TDZ	0.5	93.33	66.67	+	++
	1.0	100.00	93.33	+	++
	2.0	100.00	86.67	++	+++
	NAA	0.1	33.33	86.67	-
NAA	0.5	66.67	66.67	-	++
	1.0	66.67	100.00	-	++
	2.0	33.33	53.33	-	++
	2,4-D	0.1	80.00	93.33	-
0.5		80.00	86.67	-	++
1.0		73.33	73.33	-	+
2.0		86.67	73.33	-	+

^zNumber of callus formation explants/ total number of explants *100

^y-: no callus formation, +: 0-49%, ++: 50-89%, +++: ≥90%

Table 2. Effect of treatments in combination with auxin and cytokinin on callus formation of *Hovenia dulcis* var. *koreana* NAKAI

Plant growth regulators		Callus formation rate(%) ^z		Callus formation efficiency ^y	
Concentration (mg·L ⁻¹)		16hrL/8D	24hrD	16hrL/8hrD	24hrD
BAP 0.1 +	NAA 0.1	40.00	100.00	-	++
	NAA 1.0	53.33	93.33	-	++
	2,4-D 0.1	26.67	60.00	-	++
	2,4-D 1.0	26.67	53.33	-	++
BAP 1.0 +	NAA 0.1	20.00	60.00	-	+
	NAA 1.0	53.33	46.67	+	+
	2,4-D 0.1	93.33	80.00	+	+++
	2,4-D 1.0	33.33	73.33	-	++
TDZ 0.1 +	NAA 0.1	66.67	60.00	+	+
	NAA 1.0	86.67	46.67	++	+
	2,4-D 0.1	66.67	33.33	+	+
	2,4-D 1.0	80.00	33.33	+	+
TDZ 1.0 +	NAA 0.1	26.67	66.67	-	++
	NAA 1.0	60.00	73.33	++	++
	2,4-D 0.1	53.33	60.00	+	+
	2,4-D 1.0	40.00	80.00	+	+

^zNumber of callus formation explants/ total number of explants *100

^y-: no callus formation, +: 0-49%, ++: 50-89%, +++: ≥90%