

襄荷의 莖頂培養에 關한 研究

I. 基本培地 및 生長調節物質이 植物體 再分化와 幼苗의 生長에 미치는 影響

崔成圭·徐永南*

Study on the Clonal Multiplication of *Zingiber mioga* ROSC. through *in vitro* Culture of Shoot Apex.

I. Effects of Basal Media and Growth Regulators on Plant Regeneration and Growth of Plantlet

Seong-Kyu Choi and Young-Nam Seo*

ABSTRACT : The present study was carried out to assess the possibility of rapid multiplication of *Zingiber mioga* ROSC. through *in vitro* culture of shoot-apex. The factor investigated was effect of various growth regulators on shoot-apex culture. The shoot-apex cultured of M. S. (Murashige and Skoog) medium developed into plantlet in 12 Weeks. M. S. medium containing NAA at 0.5ppm and BA 5.0ppm was found to be optimal for growth of *in vitro* plantlet.

襄荷(*Zingiber mioga* ROSC.)는 生薑科에 屬하는 多年生草本으로 韓國, 日本, 中國 및 열대아시아가 原產地로 우리나라에서는 全國各地의 野山이나 들에 分布되어 있으며, 特히 오래된 寺刹 주변이나 古家 등에서 發見되는 것으로 보아 오래 전부터 栽培된 것으로 推測된다.^{1,8,12,19,21)}

襄荷는 使用部位에 따라서 食用과 藥用으로 區分할수가 있으며 우리나라에서는 주로 花器를 食用으로 利用하고, 藥用으로는 地下莖을 利用하는데 地下莖에는 Zingiberene, Zingirone, Shogaol β-phellandren 등의 成分이 含有되어 있어서 鎮痛, 健胃, 祛痰劑로 利用되고 있으며 가을철에 地下莖을 採取하여 햇볕에 말린후 韓藥劑로 利用한다.^{10,11,20)}

襄荷의 繁殖은 種子가 잘 맺히지 않기 때문에 地下莖이 繁殖手段이 되는데, 地下莖은 生薑보다 가

늘다. 安等²⁾은 襄荷의 地下莖을 種莖으로 利用할 경우 地下莖이 클수록 生育이 良好하고 收穫量이 增收된다고 하였으며, 一時的으로 많은 面積을 栽培하고자 할때는 種莖의 確保가 문제 된다고 報告하였다.

一般的으로 營養繁殖 作物의 地下莖을 種莖으로 利用할 경우 地下莖의 크기와 生育 및 收量간에는 밀접한 關係가 成立되어 種莖이 크면 클수록 增收된 사실이나 大規模栽培의 경우에는 地下莖이 大量으로 所要되기 때문에 大量으로 所要되는 地下莖의 確保는 慣行增殖方法으로는 많은 時日이 所要되기 때문에 짧은 期間에 大量的 種莖을 確保하는 方法에 대한 研究가 절실히 要求 되고 있다.

崔. 金⁴⁾은 襄荷와 같은 營養繁殖 作物인 生薑을 栽培할때 大量으로 所要되는 種莖을 組織培養을 利用하여 繁殖시키는 것이 經濟的으로 有利하다고

*順天大學校 韓藥資源學科 (Dept. of Oriental Medicine Resources, Suncheon Nat'l Univ., Suncheon, Korea) <1992. 12. 28. 接受>

報告한 바 있다.

莖頂培養은 植物體에서 摘出한 莖頂分裂組織과 葉原基를 器內 培養하여 shoot의 伸張과 發根을 誘導하여 새로운 植物體를 大量으로 生産해내는 營養繁殖法(micropropagation)이므로 插木繁殖처럼 母體와 遺傳적으로 同一한 植物體를 育成할 수 있고, shoot를 切斷하여 繼代培養하므로서 幼苗를 大量으로 얻을 수 있는 繁殖法이다^{13,15,17}.

Morel²⁰이 양란의 生長點을 培養하여 mericlone에 의한 大量繁殖法을 最初로 報告한 以來 莖頂培養 分野에 關한 研究가 活潑하게 進行되고 있는데, 特히 Murashige가 micropropagation의 基本課程을 明確히 規定하므로서 急速增殖技術에 關한 技術普及과 實用化가 더욱 急速으로 擴大되어 最近에는 球根類에서도 많이 利用되고 있으며 短期間에 大量으로 健全한 幼苗를 生産하기에 이르렀다.⁶

따라서 본 實驗은 莖頂培養을 利用하여 器內에서 襄荷를 大量增殖하는 方法을 究明하고자 實施하였던 바 몇가지 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

材料 및 方法

全南 長城郡 白岩里의 野山에 自生된 襄荷를 供試材料로 하여, 地下莖을 5cm크기로 切斷한 후 2% 승홍(HgCl₂) 稀釋液에 5抄間 침적 消毒한 다음 25℃의 生育箱內에서 催芽시킨 後 눈이 1.5cm 程度 자랐을때 이를 切取하여 1.0%의 Sodium hypochlorite 水溶液에서 20分間 消毒한 후 滅菌水로 5回 水洗하였으며, clean bench에서 莖頂部位를 2~3mm크기로 抽出하여 準備된 培地에 置床하였다.

莖頂培養에 알맞는 基本培地를 究明하기 위해서 Wangpojon²³, Murashige and Skoog(MS), Linsmaier and Skoog(LS), White培地^{6,17}에 各

各 莖頂을 30個體씩 3反復으로 置床한 後 shoot의 形成率을 調査하였다.

植物生長調節劑의 效果를 알기위해서 莖頂培養 후 2個月된 plantlet를 MS基本 培地에 Auxin類인 α -naphthaleneacetic acid(NAA)를 0.1 ppm과 0.5 ppm, 1.0 ppm 그리고 Cytokinin類인 6-benzylamino purine(BA)를 1.0ppm, 5.0ppm, 10.0ppm을 各各 單獨 또는 混合 添加하였다.

또한 培地는 autoclave前에 pH5.7이 되도록 調整하여 1.5×15.0cm의 試驗管에 5ml씩 分注하고 120℃(壓力 2kg/cm²)의 高壓滅菌器에서 15分間 殺菌한 다음 冷却하여 使用하였다.

培養室 環境條件은 溫度가 22±2℃로 維持되도록 하였으며 2,500Lux 螢光燈으로 16時間 照明하였다.

調査方法은 培養 3~5個月後에 shoot와 root의 形成程度 및 生長을 調査하였다.

結果 및 考察

襄荷의 莖頂培養에 알맞는 培地를 究明하기 위해서 培地의 種類別로 shoot,root의 形成率을 莖頂置床후 4個月이 經過된 다음 調査한 結果는 표1과 같다.

shoot는 莖頂部位를 置床한 後 3~4週가 지난후 形成되었고, 培地의 種類에 따라서는 약간의 차이가 있어서 30個體의 莖頂部位中에 MS培地는 24個體가 發生되었으며 그중 12個體는 完全한 形態의 shoot가 되었다. LS培地는 18個體가 發生되었고, White培地는 20個體, 그리고 Wangpojen培地는 7個體가 發生되어 shoot의 發生率이 가장 낮았다.

Hosoki and Sogawa⁹는 襄荷와 같은 營養繁殖作物이며 같은 *Zingiber*屬인 生薑을 生長點이 包含된 줄기의 절편조직에서 植物體로 再分化 시킬때 일정한 callus形態를 거치지 않고 바로 shoot가 形成되는 個體가 많이 있었다고 報告한 바 있다.

Table 1. Response of meristem of *Zingiber mioga* ROSC. in different media after 4 months culture

Medium	No of Shoot-apex cultured	Multiple shoot formation			Shoot formed (%)	Root formation			Root formed (%)
		+	++	+++		+	++	+++	
Wangpojen	30	2	4	1	23	2	4	1	23
MS	30	5	7	12	80	5	7	11	77
LS	30	4	6	8	60	3	4	9	53
White	30	4	7	9	67	3	5	9	57

+ : slight, ++ : good, +++ : excellent response.

root는 shoot가 形成된 후 一部 個體에서 發生되었는데 培地의 種類에 따라서 약간의 差異가 있어서 MS培地가 가장 좋았고, 다음은 White培地로 LS培地나 Wangpojen培地보다는 root形成이 잘 되었으며, 특히 MS培地에 있어서 30個體중 22個體는 root가 形成되었고 그中에서 11個體는 完全한 形態의 root가 形成되었다.

한편 이와같은 結果로 보아 MS培地가 囊荷의 莖頂部位를 置床한 後 shoot와 root의 發生에 가장 效果의이라는 것을 알 수 있었으며, 이것은 殷等⁷⁾이 딸기의 莖頂을 利用하여 大量增殖할때와 金¹⁷⁾이 감자의 莖頂을 培養할때 MS培地를 使用했던 경우와 最近에 崔, 金⁴⁾이 生薑의 莖頂培養에서 MS基本培地가 shoot와 root의 形成率이 높다는 報告와 一致되는 傾向을 보였다.

莖頂의 器內培養에서 分化된 shoot와 root의 生育에 適合한 NAA와 BA의 適正添加濃度를 究明하기 위하여 葉數, shoot數, 根數, 草長 및 pseudostem直徑을 調査한 結果는 表2와 같다.

葉數는 普通 置床 3個月 後에 2~5枚가 發生하였으며, NAA 0.5ppm과 BA 5.0, 10.0ppm의 混合添加培地에서 5枚로 가장 많이 發生하였다.

shoot數는 BA 單獨添加培地에서는 無添加에 比하여 BA添加培地에서 더 shoot發生數가 많았

며, 특히 BA 10ppm添加培地에서 가장 效果의이었다. NAA 單獨添加에서는 別 效果가 없었으나 BA와 混用添加에서는 약간의 效果가 있어서 NAA 0.5ppm과 BA 5.0ppm添加培地에서 6個의 shoot가 發生되었다. 따라서 shoot의 發生數는 NAA보다는 BA效果가 커서 BA濃度가 높아질수록 增加되는 傾向으로 BA 5ppm과 10ppm添加培地에서 4~6個의 shoot가 發生되었으나 BA를 添加하지 않은 培地와 BA 1ppm添加培地는 2~3個만 發生되었다.

根數에 있어서는 NAA 單獨添加培地에서 無添加에 比하여 NAA 添加培地가 根數가 더 많았으며 특히, NAA 0.5ppm과 NAA 1.0ppm에서 各各 3個로 가장 많았다. BA 單獨添加培地에서는 BA添加濃度別 큰 差이가 없이 1~2個가 發生되었다. NAA와 BA의 混合添加培地에서는 NAA 0.5ppm과 BA 5.0ppm의 混合添加培地에서 根數는 5個로 가장 많았는데 이와같은 이유는 NAA와 BA의 適正濃度에 의해서 地上部의 生長量이 良好하여 根發生數도 많은 것으로 思料된다.

草長은 NAA와 BA가 添加되지 않은 培地에서는 약 3.2cm程度였으나 NAA가 添加된 培地에서는 3.7cm以上으로 生長되었으며, 특히 NAA 1.0ppm添加培地에서 가장 效果의으로 NAA의 添加

Table 2. Effects of growth regulators on the growth of *Zingiber mioga* plantlet in Murashige and Skoog's medium

Regurator		Number of			Plant height	Pseudostem
MAA(ppm)	BA	Leaves(ea)	Shoots(ea)	Root(ea)	height(cm)	diameter (mm)
0	0	2b*	2b	1b	3.2b	1.1b
	1.0	2b	3b	1b	3.4b	1.2b
	5.0	2b	4ab	2b	3.1b	1.2b
	10.0	2b	5a	2b	2.9b	1.2b
0.1	0	2b	2b	1b	3.7b	1.2b
	1.0	3ab	3b	2b	4.0ab	1.3b
	5.0	4ab	5a	4a	4.1ab	1.3b
	10.0	4ab	5a	3ab	3.9b	1.2b
0.5	0	4ab	2b	3ab	5.4a	1.8ab
	1.0	4ab	3b	3ab	6.2a	2.2a
	5.0	5a	6a	5a	6.8a	2.5a
	10.0	5a	5a	4a	5.7a	2.4a
1.0	0	2b	2b	3ab	5.8a	1.3b
	1.0	3ab	3b	3ab	6.5a	1.6ab
	5.0	4ab	5a	4a	6.7a	1.8ab
	10.0	4ab	5a	3ab	6.1a	1.8ab

* : Same alphabetical letters indicate no significant difference at 5% level of DMRT.

濃도가 높아짐에 따라 草長이 커지는 傾向이었다. 이와 같은 結果는 Cymbidium의 莖頂 및 花器培養에서 報告^{13,14)}된 바와 비슷한 傾向으로 NAA의 添加效果가 잘 나타나 있다고 볼 수 있다. BA의 處理效果는 BA의 濃도가 높을수록 草長이 약간 짧아지는 傾向이었으나 添加濃度別로는 有意성이 認定되지 않았다.

崔.金⁴⁾의 生薑 器內培養에 關한 報告에 依하면 BA濃도가 增加함에 따라 shoot의 形成率이 높으며, NAA濃도가 增加됨에 따라 root의 形成率이 높다고 하였는데 本 實驗의 囊荷莖頂培養에서도 같은 傾向을 나타냈다.

Plantlet의 pseudostem의 直徑에 대한 影響은 NAA가 BA보다 顯著하였으며, NAA濃度別로 볼 때 0.5ppm이 適正濃度였다. 特히 NAA 0.5ppm과 BA 5ppm이 添加된 培地와 NAA 0.5ppm과 BA 10ppm이 混合添加된 培地가 각각 2.5mm와 2.4mm로 地上部의 生育이 가장 良好하였고, NAA 0.5ppm과 BA 1ppm이 添加된 培地는 2.2mm로 生育이 좋은 傾向이었다. 이와같은 結果로 보아 NAA單用보다 BA와의 混用이 더 좋은 傾向이었다.

器 내에서 生長된 Plantlet의 生體重은 그림1과 같다.

MS基本培地에서의 Plantlet은 植物 生長調節劑를 添加하지 않는 培地보다 NAA와 BA를 添加했을 때 增加하는 傾向이었으며 單用보다 混用이 좋았다.

NAA의 單獨添加培地에서 生體重은 NAA가 添加되지 않은 培地에서는 Plantlet의 重量이 67mg

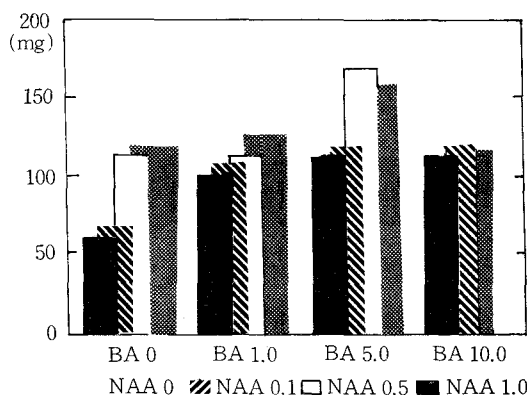


Fig. 1. Effect of NAA and BA concentration on the fresh weight after 14 weeks culture of shoot-apex.

였고, NAA 0.1ppm 添加培地가 71mg, 0.5ppm添加培地에서는 121mg, 1.0ppm添加培地에서는 124 mg 으로 NAA 1.0ppm添加培地가 가장 良好한 傾向이었다.

따라서 生體重에 미치는 NAA의 適正濃度는 0.5ppm에서 1.0ppm으로 나타났다. 이는 NAA의 添加效果(표2)에서 나타난 바와 같이 莖葉重은 無添加培地에서 거의 비슷한 크기를 보였으나 根部의 發生 및 伸長量에서는 濃度間에 差異가 있었던 점으로 미루어 NAA의 單獨處理에서 Plantlet의 重量差異는 根部의 發生數에서 由來된 것으로 보여진다. 이와같은 結果는 Kumo and Wareing의 報告¹⁸⁾에서 auxin은 低濃度(0.1~1.0ppm)에서는 作物의 生育이 促進되어 幼植物의 生體重이 增加되거나 高濃度(10~30ppm)에서는 오히려 抑制作用을 하였다는 結果와 類似한 傾向이었다.

BA의 單獨添加培地에서의 生體重에 미치는 影響을 보면 MS基本培地에서는 64mg, 1.0ppm添加培地에서는 108mg, 5.0ppm添加培地에서는 119mg, 10ppm添加培地에서는 120mg으로서 本 實驗에서의 BA濃度は 높을수록 生體重이 增加하였다.

이와같은 結果는 BA添加培地の 效果(표2)에서 본 바와 같이 BA는 根重量을 增加시키는 것보다 莖葉重을 增加시키는데 效果가 있어서 全體의 生體重이 增加된 것으로 思料된다.

한편 崔와 蔡³⁾는 담배 細胞培養에서 BA를 0.1mg/l와 1mg/l로 處理한 境遇 置床 45日 後에 callus의 50%以上이 shoot를 分化하였고 shoot의 크기도 상당히 커지는 結果를 나타냈고, shoot의 分化數와 길이를 勘案할 때 BA를 0.1mg/l 濃度로 處理하는 것이 보다 效果的이라고 報告하였으며, 뿌리 發生과 伸長에는 影響을 주지 않았다는 報告과 같은 傾向을 나타냈다. 本 實驗에서 BA의 添加濃度가 5.0ppm까지 增加할수록 生體重 또한 增加하는 傾向을 보였으나 10.0ppm에서는 오히려 減少의 傾向이었다. 이것은 適正濃度의 BA를 添加시킴으로써 shoot의 發生量이 많아서 生體重이 增加되는 것으로 推測되었다. 鄭⁶⁾은 植物組織培養時에 cytokinin은 生長과 shoot의 形成을 促進하므로 培養 Plantlet의 生體重이 增加된다고 報告한 바 있다.

이와 같은 結果에서 MS基本培地에 NAA 0.5ppm과 BA 5.0ppm를 添加한 培地에서 囊荷의 莖頂培養이 가장 效果的으로 나타났다. 이것은 葉原基가 있는 莖頂培養에서도 auxin과 cytokinin 등의

外生 生長調節物質이 必要하다는 報告¹⁶⁾와 類似한 傾向이었다.

摘 要

襄荷를 大量繁殖 하고자 莖頂部位의 器內培養 方法을 確立하기 위하여, 莖頂部位의 生長에 알맞는 基本培地 및 植物生長調節劑의 濃度를 究明하고자 本 實驗을 遂行하였던 바 그 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 襄荷의 莖頂部位는 置床後 10~12週 後에 器官 分化現像이 나타나서 shoot와 root가 發生되었다.
2. 襄荷의 莖頂은 MS基本培地에 置床한 環境 比較的 生長이 잘 되었다.
3. 器內的 Plantlet의 生長은 植物生長調節劑 NAA 0.5ppm과 BA 5.0ppm의 混合 添加培地에서 좋은 傾向이었다.

引用文獻

1. 秋谷良三. 1967. 菜蔬園藝 핸드북. 養賢堂. 671~674.
2. 安圭武, 金鴻宰, 李敦吉. 1989. 襄荷의 栽植方法에 關한 研究. 農試論文集(田, 特作篇) 31(3): 41~46.
3. 崔奎煥, 蔡永岩. 1986. 담배 細胞培養에서 NAA와 BA가 器官分化에 미치는 影響. Korean J. Plant Tissue Culture Vol. 13, No. 1: 45~49.
4. 崔成圭, 金東喆. 1991. 生薑의 莖頂培養에 關한 研究. 農試論文集(生命工學篇) 33(1): 40~45
5. _____, 李鐘一. 1992. 栽培密度와 施肥量이 襄荷의 主要形質과 收量에 미치는 影響. 韓作誌. 37(4): 8~12.
6. 鄭載東. 1985. 植物組織培養을 利用한 園藝作物의 急速增加. 韓園誌 26(4): 410~428.
7. 殷種旋, 李炳基, 李萬相, 韓昶烈. 1982. 生長點 및 callus培養에 의한 딸기의 急速增殖에 關한 研究. 韓園誌. 23(4): 261~276.
8. 한해룡, 장적익, 박용봉. 1983. 襄荷(*Zingiber mioga*)의 生態와 栽培를 위한 基礎研究. 韓園

- 誌. 24(3): 220~206.
9. Hosoki, T. and Y. Sogawa. 1977. Clonal propagation of ginger(*Zingiber officinale* ROSC.) through tissue culture. Hort. Science 12(5): 451~452.
10. 洪鐘夏. 1966. 東醫寶鑑. 豐年社. 서울. 119p.
11. 金在佶. 1984. 原色天然藥物大辭典(下). 南山堂. 서울. 191p.
12. 金鴻宰, 金鐘錫. 1987. 襄荷에 대한 施肥法 確立試驗. 全南農試報告書. 372~379.
13. 金奎元, 加古隣治. 1982. シンビジウム 莖頂外植體의 器官形成にはたす 植物生長調節物質影響. 日本園學雜. 51(1): 106~144.
14. _____, _____. 1984. 花器培養에 의한 cymbidium營養繁殖에 關한 研究. 韓園誌. 25(1): 65~71.
15. _____, 변미순. 1985. 莖頂培養에 의한 카네이션 無病株의 獲得과 大量增殖. 韓園誌. 26(1): 76~82.
16. _____, 姜美淑. 1986. 試驗管內 插木에 의한 카네이션 大量增殖에 關한 研究. 韓園誌. 27(1): 81~83.
17. _____. 1986. 試驗管內 插木에 의한 有用植物의 大量增殖. 경북대 개교 40주년 기념 symposium特集號: 85~98.
18. Kumo, D. and P. F. Wareing 1974. Studies on tuberization of *Solanum andigena*, (II) Growth hormones and tuberization New Phytal. 73: 833~840.
19. 李昌福. 1982. 大韓植物圖鑑. 鄉文社. 서울. 231p.
20. 李相來, 尹義洙, 李洪宰, 李良洙, 李鐘一. 1983. 韓國에 自生하는 抗癌植物開發에 關한 基礎的 研究. 東洋資源植物學會誌. 2(1): 1~214.
21. 農村振興廳. 1989. 韓國의 自生植物. 三和社. 서울. 227p.
22. Morel. 1964. Tissue culture new means of clonal propagation in orchids. Amer. Orchid Soc. Bull. 33: 473~478.
23. 王博仁, 黃麗春. 1974. 大麻莖頂生長點培養. 中國園藝誌. (2): 79~87.