

## *Cucurbita foetidissima* 와 *Asclepias syriaca*의 정단배양을 통한 기내 대량증식

염미란 · 이선교<sup>1</sup> · 백기엽\*

충북대학교 첨단원예기술개발연구센터, <sup>1</sup>Nexgen 바이오테크놀로지

### Micropropagation of *Cucurbita foetidissima* and *Asclepias syriaca* through Shoot Tip Culture of Seeding

LAN, Mei Lan · LEE, Sun<sup>1</sup> · PAEK, Kee Yoeup\*

Research Center for The Development of Advanced Horticultural Technology, Chungbuk National University,  
Cheongju, 361-763, Korea

<sup>1</sup> NEXGEN BIOTEchnologies, Inc. BVC, KRIBB, Daejeon, 305-333, Korea

**ABSTRACT** In order to establish a micropropagation system for buffalo gourd (*Cucurbita foetidissima*) and common milkweed (*Asclepias syriaca*), the effects of several plant growth regulators and culture temperature on shoot multiplication and rooting were investigated. In buffalo gourd, the greatest number of shoot from shoot tip culture and well growth of formed shoot were obtained on the MS medium supplemented with 1.0 mg/L BA and 0.3 or 0.6 mg/L IAA. Whereas kinetin and 2iP were not effective for shoot multiplication *in vitro*. It was found that 22°C and 25°C were suitable for shoot multiplication. Roots were easily formed by the addition of auxins, especially 1.0 or 2.0 mg/L IBA and 2.0 mg/L IAA. Over 90% of plants survived successfully after being transferred into the field. In common milkweed, BA was more effective than kinetin or 2iP for its micropropagation *in vitro*. The increased shoot weight and number of nodes per shoot were obtained on the medium containing 3.0 mg/L BA and 0.3 or 0.6 mg/L IAA. But 2iP promoted the shoot elongation. In addition, common milkweed was sensitive to culture temperature *in vitro*. Temperature around 22°C was favorable for shoot multiplication and growth, whereas temperature higher than 25°C usually reduced the rate of shoot survival rate.

**Key words:** Buffalo gourd, common milkweed, multiple shoot formation, plant growth regulators, temperature

#### 서 론

지구상에는 환경에 대한 저항성이 높거나 유용물질을 다량 함유하면서도 미 개발된 식물들이 많이 존재하고 있다. 또한, 어떤 특수한 목적을 가지고 재배되고는 있지만 그 식물이 지닌 잠재적 특성이 잘 알려지지 않은 식물들도 매우 많다. 현

재 미 개발된 작물 중 적절한 선발이나 육종에 의해 신품종으로 개발될 가능성이 있는 식물을 "New Crop"이라고 하여 신품종 육성을 위한 유전자원으로, 식품첨가물 및 의학분야에서는 원재료로서 이들 식물체에 함유된 유용 성분을 활용하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다 (Hogan and Bemis 1983).

Buffalo gourd (*Cucurbita foetidissima*)는 다년생 박과 식물로, 원산지는 북미의 건조, 반건조 지역 및 미국의 서남부 지역인데, 내건성, 내열성, 내한성이 아주 강하여 지하부는 -25°C에서도 생존이 가능하다 (Nelson et al. 1983; Nelson et

\*Corresponding author. Tel 0431-261-2529  
E-mail peaky@cubucc.chungbuk.ac.kr

al. 1989). 또한 유용 성분도 많이 함유하고 있으며 줄기에는 소화가 잘 되는 단백질이 다량 함유되어 있고 (Somogyi and Heltman 1995), 지하부에는 cassava 뿌리 만큼이나 많은 전분이 함유되어 있으며 (Dreher and Berry 1983), 종자에는 불포화 지방산과 단백질이 많이 함유되어 있는데, 지방산은 리놀레산 (linoleic acid) 65.3%, 올레산 (oleic acid) 23.0%, 팔미트산 (palmitic acid) 6.1%, 그리고 스테아르산 (stearic acid) 2.2%로 구성되어 있다. 현재 이 작물은 미국의 대규모 농장에서 사료작물로 재배되고 있고, 종자에 함유된 지방산과 뿌리의 높은 전분 함량 때문에 신작물로서의 개발에 무한한 잠재력을 가지고 있으며 (Berry et al. 1975; Berry et al. 1976; Vasconcellos et al. 1981; Fan et al. 1988), 이 작물에 대한 연구가 다방면으로 진행되고 있다 (Scheerens et al. 1978; Knapp and Fahnestock 1990; Hibbard et al. 1997; Cosse and Baker 1999).

Common milkweed (*Asclepias syriaca*)는 박주가리과에 속하는 半灌木性 다년생 식물로서 미국 북 다코타 지방에서 동쪽으로부터 약 2/3 지역이 이 식물의 원산지이다. 캐나다 동부 지방의 들판 황무지 등에서도 자생하고 있으며 식물체 내에 asclepiadin, asclepiion, galitoxin 등의 물질이 함유하여 약리작용이 강한 것으로 널리 알려져 있다 (Kaul et al. 1991). 미국의 원주민들은 이 식물을 여러 가지 용도로 이용 하였는데 종자의 경우 연고를 만들어 상처의 치료나 해독제로 이용 하였으며 (Joubert 1989) 유액은 고무 대용품으로의 이용 가능성이 검토된 바 있었다. 또한 common milkweed는 화색이 아주 밝고 향기가 좋아서 자생지에서는 절화용으로도 이용되고 있고, 꼬투리의 물리적 특성에 관해서도 보고된 바 있다 (Jones and Von Bargen 1992). 최근에는 이 작물의 유전육종을 위한 기초연구 수단으로 체세포배양에 관한 연구도 진행되고 있다 (Groet and Kidd 1981; Singh 1984; Therrien 1999). 그럼에도 불구하고 지금까지 buffalo gourd와 common milkweed는 일반인에게 아직 많이 알려지지 않았고 이런 작물들의 유용한 특성이 충분히 발휘되지 않는 상태이다. 따라서 본 실험은 이 두가지 작물의 기내번식 방법을 개발 함으로써 차후 형질전환이나 유전자 삽입등의 분자육종을 통한 신품종 육성을 위한 기초자료를 얻기 위해 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

Buffalo gourd (*Cucurbita foetidissima*)와 common milkweed (*Asclepias syriaca*)의 종자를 약 30일동안 저온 (5°C) 저장 후 20°C의 온수에 8시간 침지하였다. 이후 95% 에탄올로 1분간, 2% 차아염소산용액 (sodium hypochlorite)으

로 20분간 표면 소독후 멸균수로 충분히 수세한 다음 설탕이 3% 포함된 MS (Murashige and Skoog 1962) 고체배지에 파종하여 발아를 시켰다. 발아하여 1주일이 경과된 소식물체의 정단을 0.5 cm크기로 채취하여 BA 1.0 mg/L와 IAA 0.3 mg/L가 혼합된 MS배지에 접종하였다. 배양실의 온도는 25 ± 2°C로 유지하였으며 형광등 (32 μmol · m<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup>)으로 16시간 조명하였다.

### 기내증식 및 생장

상기배지에서 분화된 소식물체를 buffalo gourd의 경우 한 개씩 자르고 common milkweed의 경우 한 마디씩 잘라서 BA (6-benzylaminopurine) 0.3, 1.0, 3.0, 5.0 mg/L와 kinetin (6-furfurylamino purine), 2iP N<sub>6</sub>-(2-isopentyl) adenine 각각 0.3, 1.0, 3.0 mg/L와 IAA 0.3 mg/L를 혼용처리한 배지에 접종하였다. 사이토키닌 농도 실험결과 BA 처리에서 신초 증식 효과가 가장 양호하였으므로 오옥신과 BA 조합처리가 신초 증식과 생장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 IAA (3-indole-acetic acid), IBA (3-indolebutyric acid) 및 NAA (1-naphthyl acetic acid) 각각 0.3, 0.6 mg/L와 BA 1.0 mg/L (buffalo gourd), BA 3.0 mg/L (common milkweed) 조합처리를 하여 배양 4주후 처리효과를 조사하였다. 이상 실험에서 MS배지에 설탕은 3%, agar (Duchepa Biochemie BV)는 0.55%, pH는 5.8 (멸균 전)로 조절하였으며 magenta box를 사용하였는데 이때 50 mL 배지를 분주하였고 처리당 10반복을 실시하였다. 배양실의 온도는 25 ± 2°C, 상대습도는 70%, 광도는 32 μmol · m<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup>, 광주기는 명 18시간 암 6시간으로 하였다.

### 배양온도

배양온도가 기내 신초증식 및 생장에 미치는 영향을 검토하기 위하여 buffalo gourd의 신초를 BA 1.0 mg/L와 IAA 0.3 mg/L를 혼용한 MS 배지에, common milkweed는 BA 3.0 mg/L와 IAA 0.3 mg/L 혼용 MS 배지에 접종하여 18°C, 22°C, 25°C, 28°C로 조절된 성장상에서 4주간 배양한 후 증식과 생장에 미치는 영향을 조사하였다. 배양조건은 기내증식 및 생장조건과 동일하게 하였다.

### 기내 발근

Buffalo gourd와 common milkweed의 발근을 위해 IAA, IBA 및 NAA를 각각 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mg/L 단용 처리를 하여 소식물체의 발근을 유도시켰다. 이와는 별도로 common milkweed의 신초를 약 4 cm 크기로 조제한 후 IBA 10, 20, 40, 60, 80, 100 mg/L 용액에 각각 0.5, 1.0, 2.0 시간 침지한 후 MS배지에 치상한뒤 4주 후 발근 정도를 조

사하였다.

기의 순화

기내에서 발근된 buffalo gourd 소식물체는 부엽토와 펠라이트를 3:1비율로 혼합된 직경 10 cm인 플라스틱 화분에 재식한 후 수분을 충분한 공급하였으며 초기 1주일간은 플라스틱 필름으로 피복하여 저광도 ( $20 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )에서 재배하였다. 재배 시 온실의 평균 온도는  $25 \pm 5^\circ\text{C}$ 로 조절하였으며 1주일 후 광도는  $200 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 로 증가시켰으며 생존율은 50개체를 대상으로 2주 후에 조사하였다.

결과 및 고찰

Buffalo gourd 종자 발아율은 명상태에서 15일 후 8.3%에 불과하였으나 암상태에서는 40.2%로 증가하였다 (Figure 1A). Common milkweed의 종자발아는 비교적 용이 하여 명상태에서만 발아를 시켰는데 파종 15일 후 발아율은 71.2%에 달하였다.

기내 신초생장 및 증식에 미치는 영향

Buffalo gourd의 기내 신초증식 및 생장에 미치는 사이토키닌의 효과를 조사한 결과 (Table 1) BA 처리시 다수의 신

초를 얻을 수 있는 반면 kinetin과 2iP 처리구에서는 신초증식 효과가 미비하였다. 특히 BA 1.0 mg/L 처리시 신초증식수는 타 처리구에 비해 약 4~6배로 증가하였다 (Figure 1B). 생체중에 있어서도 BA 처리가 다른 사이토키닌처리 보다 양호하였다. 특히 BA 0.3 mg/L와 1.0 mg/L 처리에서 생체중이 약 250.0 mg으로 가장 양호하였고, 다른 처리구에 비해 약 2배의 생장율을 나타냈다. 하지만 BA 농도가 이 보다 증가하

Table 1. Effects of cytokinins on the proliferation and growth of shoots from shoot tip culture of buffalo gourd after 4 weeks in culture.

Type of cytokinins	Concentrations (mg/L)	No. of shoots	Shoot length (mm)	Shoot fresh weight (mg)
Control		1.0 c <sup>1</sup>	22.1e	89.0d
BA	0.3	1.3c	29.5cd	250.2a
	1.0	6.0a	21.0e	245.3a
	3.0	1.8b	20.4e	98.9d
	5.0	1.0c	21.6e	110.1bc
Kinetin	0.3	1.4bc	25.0de	160.0b
	1.0	1.0c	52.9a	175.3b
	3.0	1.2c	34.6bc	176.8b
2iP	0.3	1.0c	32.1cd	107.4cd
	1.0	1.0c	40.0b	134.7c
	3.0	1.0c	25.5de	94.0d

Addendum to the MS basal medium was 0.3 mg/L IAA. <sup>1</sup>Mean separation within columns by Duncan's Multiple Range Test at 5 % level.

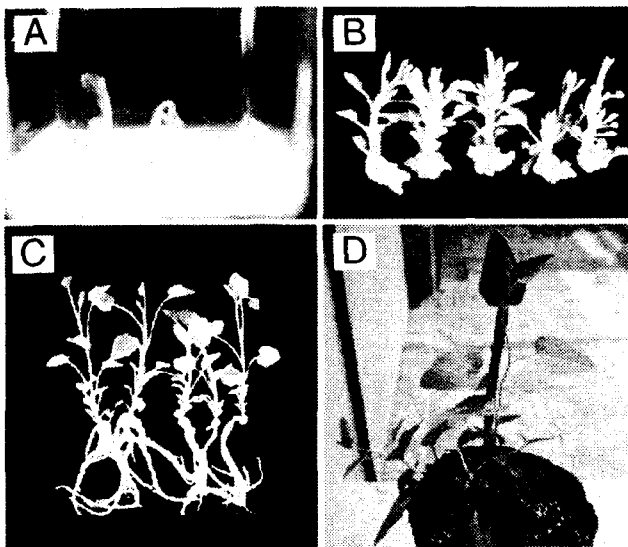


Figure 1. Micropropagation of buffalo gourd. (A) *In vitro* seed germination under light condition for shoot tip culture; (B) Multiple shoot formation from shoot tip culture on the medium containing 1.0 mg/L BA and 0.3 mg/L IAA; (C) *In vitro* rooting on the medium containing 2.0 mg/L IBA; (D) Reestablishment of *in vitro* plant into the field after 2 weeks in culture.

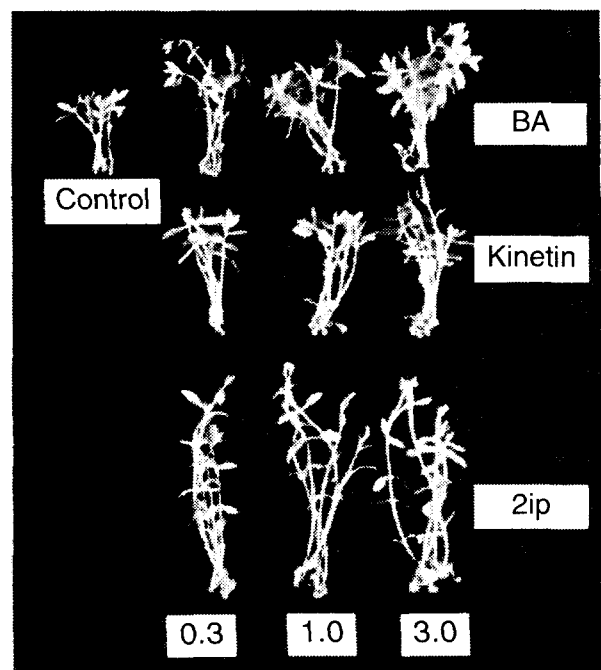


Figure 2. Effect of cytokinins on the micropropagation from node culture of common milkweed after 4 weeks in culture.

**Table 2.** Effects of cytokinins on the proliferation and growth of shoots from node culture of common milkweed after 4 weeks in culture.

Type of cytokinins	Concentrations (mg/L)	No. of nodes	Shoot length (mm)	Shoot fresh weight (mg)
Control		4.6c <sup>1</sup>	35.0c	38.0e
BA	0.3	5.9b	60.3b	124.7b
	1.0	5.5b	58.4b	132.5b
	3.0	8.0a	62.6b	235.1a
	5.0	6.0b	61.2b	251.0a
Kinetin	0.3	3.6d	52.3b	81.3d
	1.0	3.8cd	52.4b	77.4d
	3.0	4.6c	54.0b	86.8cd
2iP	0.3	5.6b	91.1a	92.9c
	1.0	5.6b	103.6a	121.3b
	3.0	6.0b	100.0a	125.2b

Addendum to the MS basal medium was 0.3 mg/L IAA.

<sup>1</sup>Mean separation within columns by Duncan's Multiple Range Test at 5% level.

**Table 3.** Effects of various auxins on the proliferation and growth of shoots from shoot tip culture of buffalo gourd after 4 weeks in culture.

Type of auxins	Concentrations (mg/L)	No. of shoots	Shoot length (mm)	Shoot fresh weight (mg)
Control		1.0c <sup>1</sup>	22.1a	89.0c
IAA	0.3	5.6a	18.0a	211.8c
	0.6	6.8a	20.2a	276.2c
IBA	0.3	3.0b	20.9a	320.1a
	0.6	2.0bc	13.1b	213.7c
NAA	0.3	4.4b	14.4b	114.0d
	0.6	3.2b	12.0b	98.3e

Addendum to the MS basal medium was 1.0 mg/L BA.

<sup>1</sup>Mean separation within columns by Duncan's Multiple Range Test at 5% level.

면 생체중은 오히려 억제되었다. 한편 kinetin과 2iP 처리구에서는 신초생장이 촉진되었는데, 특히 kinetin 1.0 mg/L에서 초장은 5.4 cm로 대조구 및 BA처리구에 비해 현저히 생장이 촉진됨을 알수있었다. Lee와 Thomas (1985)는 buffalo gourd의 신초 선단 및 액아를 BA 1.0~5.0 mg/L, NAA 0~0.1 mg/L를 첨가한 배지에서 배양했을 경우 BA 1.0 mg/L 처리구에서 신초증식이 가장 양호하였다고 하여 본 실험결과와 일치하는 경향을 보였다.

Common milkweed의 경우 사이토키닌 첨가로 대조구에 비해 초장 및 신초생체중이 증가하는 경향을 나타냈는데

**Table 4.** Effects of various auxins on the proliferation and growth of shoots from node culture of common milkweed after 4 weeks in culture.

Type of auxins	Concentrations (mg/L)	No. of shoots	Shoot length (mm)	Shoot fresh weight (mg)
Control		1.0c <sup>1</sup>	22.1a	89.0c
IAA	0.3	5.6a	18.0a	211.8c
	0.6	6.8a	20.2a	276.2c
IBA	0.3	3.0b	20.9a	320.1a
	0.6	2.0bc	13.1b	213.7c
NAA	0.3	4.4b	14.4b	114.0d
	0.6	3.2b	12.0b	98.3e

Addendum to the MS basal medium was 3.0 mg/L BA.

<sup>1</sup>Mean separation within columns by Duncan's Multiple Range Test at 5% level.

(Table 2) BA 처리구에서 생체중이 상대적으로 증가되었고 다음은 2iP 처리구이고, kinetin 처리구에서는 생체중 증가에 큰영향을 미치지 않았다 (Figure 2). 신초증식수, 초장, 생체중이 종합적으로 양호한 BA 처리를 살펴보면 생체중은 BA 농도가 높아짐에 따라 증가하여 3.0 mg/L와 5.0 mg/L 처리구에서 대조구에 비해 약 5배의 증가율을 나타내었으며 초장도 BA 첨가에 의해 다소증가하나 BA 3.0 mg/L와 5.0 mg/L 농도간에는 큰 차이를 나타내지 않았다. 신초증식수 (마디수)는 BA 농도가 3.0 mg/L일 때 가장 많았고 5.0 mg/L로 높아지면 그 수는 오히려 감소되었다. 따라서 BA 3.0 mg/L와 IAA 0.3 mg/L 혼합처리가 kinetin과 2iP 처리구 보다 증식 및 생장에 효과적이라는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 안개초 (Kusey et al. 1980) 및 *Delphinium* (Han et al. 1997)의 신초증식에 BA가 다른 사이토키닌보다 효과적이었던 결과와 일치하였고 본 실험의 경우, common milkweed의 생장은 부정아 형성에 따른 새로운 신초의 발생 대신, 사이토키닌첨가에 의해 절의 분화가 촉진되는 것으로 나타났는데, 기내 대량증식 수단으로 사이토키닌을 적절히 첨가함으로써 마디수를 증가시키고, 이를 다시 1~2마디로 절단하며 기내번식 수단으로 삼는 것이 효과적이었다. 이러한 관점에서 볼 때, 마디수나 생체중 증가에 탁월한 효과를 나타낸 BA의 첨가가 가장 효과적인 것으로 생각되었다.

Buffalo gourd 기내배양시 BA와 오옥신의 최적 조합을 찾기 위하여 IAA, IBA 및 NAA를 각각 0.3 mg/L, 0.6 mg/L와 BA 1.0 mg/L 혼용처리 한 결과 (Table 3) 신초 생체중은 IBA 0.3 mg/L 처리에서 가장 효과적이었으며 다음은 IAA 0.6 mg/L 처리구 였으며, NAA 처리에서는 오히려 억제되는 경향을 보였다. 신초의 생장도 NAA와 IBA 0.6 mg/L를 첨가한 혼용처리구에서는 억제되는 경향을 나타냈다. IAA는 다른 오옥신에 비해 신초수의 증가에 현저한 효과를 나타내었고 타 오옥신 처리시 보다 2배 이상의 증식율을 얻을 수 있었다.

**Table 5.** Effects of various temperature on the proliferation and growth of shoots from shoot tip culture of buffalo gourd after 4 weeks in culture.

Temperature (°C)	No. of nodes	Shoot length (mm)	Shoot fresh weight (mg)
18	3.0b <sup>1</sup>	15.2c	207.1b
22	7.0a	17.3c	265.4a
25	6.0a	23.0b	244.9a
30	3.2b	34.7a	181.2b

Addendum to the MS basal medium was 1.0 mg/L BA and 0.3 mg/L IAA.

<sup>1</sup>Mean separation within columns by Duncan's Multiple Range Test at 5% level.

**Table 6.** Effects of various temperature on the proliferation and growth of shoots from node culture of common milkweed after 4 weeks in culture.

Temperature (°C)	No. of nodes	Shoot length (mm)	Shoot fresh weight (mg)	Survival rate (%)
18	4.8b <sup>1</sup>	55.0b	77.2b	100.0
22	7.4a	60.9b	231.3a	100.0
25	7.6a	90.1a	234.8a	75.0
30	7.0a	108.2a	212.0a	29.2

Addendum to the MS basal medium was 3.0 mg/L BA and 0.3 mg/L IAA.

<sup>1</sup>Mean separation within columns by Duncan's Multiple Range Test at 5% level.

따라서 buffalo gourd의 기내증식에는 BA 1.0 mg/L과 IAA를 0.3~0.6 mg/L 첨가하는 것이 적합하다고 생각되었다.

Common milkweed에서의 BA와 IAA, IBA 및 NAA 혼합효과를 보면 (Table 4) 오옥신의 종류에 관계없이 0.3 mg/L 농도가 0.6 mg/L에 비해 생체중이 많았으며 특히 IBA 0.3 mg/L 처리가 다른 처리 보다 생체중 증가에 더욱 효과적이었던 반면 NAA 0.6 mg/L 처리구에서는 대조구보다 오히려 억제되었다. 형성된 신초의 생장은 IAA, IBA 처리로 촉진되었으나 NAA 처리로 신초신장이 억제된다. 마디수는 NAA 처리에서 가장 적었으며 IAA 0.3 mg/L와 0.6 mg/L 농도간에는 차이가 없었고, IBA에서는 0.6 mg/L 농도에서 마디수 증가에 효과적이라는 것을 알 수 있었다. 따라서 common milkweed의 기내증식에는 생체중의 증가와 함께 마디수의 증가에 가장 효과적이었던 BA 3.0 mg/L와 IAA 0.3~0.6 mg/L를 혼용 처리하는 것이 바람직하다고 생각되었다.

#### 배양 온도가 신초 생장과 증식에 미치는 영향

18°C, 22°C, 25°C 및 28°C 조건에서 buffalo gourd를 4주간 배양한 결과 (Table 5) 전반적인 생육은 22~25°C에서 가장 양호하였다. 온도가 증가함에 따라 생체중 및 신초의 발생은

현저히 억제되었으며 초장은 증가하였으나, 도장하여 연약하게 성장하였다.

Common milkweed의 경우 신초 생체중과 마디수는 18°C에서 가장 적었으며 초장은 온도가 높아짐에 따라 증가하는 경향이 있었으나 18°C와 22°C처리간, 25°C와 28°C 처리간에는 초장에 큰차이가 없었다. Common milkweed를 기내에서 4주간 배양하는 동안 고사 현상이 발생하였는데 온도가 높을수록 생존율이 낮아지며 28°C시에는 생존율이 30% 미만이었다. 배양온도에 따라 이처럼 현저한 차이를 나타낸 것은, 자생지의 환경과 밀접한 관계가 있을 것으로 생각되며 common milkweed의 기내번식에는 22°C의 온도가 적합하다고 생각되었다.

#### 기내 식물체의 발근

기내에서 증식된 buffalo gourd의 신초 발근을 유도하기 위하여 MS 배지에 IAA, IBA 및 NAA를 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mg/L 첨가하여 4주간 배양한 결과 (Table 5) 대조구 25%에 비해 오옥신의 종류와 농도에 관계없이 발근율이 83.5~100.0%로 증가하였다. 뿌리수, 뿌리직경 및 뿌리 생체중은 NAA 처리에서 가장 효과적이었으며 IAA 처리는 NAA와 IBA에 비해 불량하였다. 오옥신의 처리농도가 증가함에 따라 뿌리생장과 신초 생체중은 증가하는 반면 초장은 억제되는 경향이 있었다. NAA 처리에서는 비정상적인 굵고 짧은 형태의 뿌리가 많이 발생하였고, 지상부의 생장은 억제되어, 정상적인 식물체의 획득에는 부적절하다고 생각되었다. 또한 IBA 고농도인 4.0~8.0 mg/L 처리구에서도 뿌리생장이 불량한 반면 IBA 1.0~2.0 mg/L 처리에서는 뿌리 생육이 정상적이었고 지상부의 생육도 양호하였다 (Figure 1C). IAA 처리구에서는 뿌리생장이 양호하였던 2.0 mg/L 처리에서 지상부 생장도 양호하였다.

Common milkweed의 경우 상기의 다양한 오옥신처리에도 불구하고 전혀 발근이 되지않았다. 또한 IBA 10.0~100.0 mg/L 고농도 용액에 30분에서 2시간동안 침지한 후 발근 유도한 경우에도 IBA 농도나 침지시간에 관계없이 4~5%의 매우 낮은 발근율을 보였다. 따라서 common milkweed의 경우 기내 식물체의 발근율향상을 통한 토양 활착율을 높이기 위해서 보다 다양한 방법의 발근유도 실험이 필요하다고 생각되었다.

#### 기외 순화

IAA나 IBA를 첨가한 발근배지에서 발근된 buffalo gourd의 소식물체를 노지에서 순화시키기 위하여, 부엽토와 펄라이트를 3:1비율로 혼합한 상토에 이식하였다. 2주 재배 후 생존율을 조사한 결과 90.5%로 매우높았으며 그 이후 생장도 왕성하게 이루어짐을 관찰할 수 있었다 (Figure 1D). 따라서

**Table 7.** Effects of auxins on the root formation and growth of buffalo gourd after 4 weeks in culture.

Type of auxins	Concentrations (mg/L)	Shoot		Root				Rooting (%)
		Length (cm)	Fresh weight (mg)	No.	Length (cm)	Diameter (mm)	Fresh weight (mg)	
Control		2.0e <sup>1</sup>	83.0f	1.0d	1.0e	0.9c	7.0f	25.0
IAA	1.0	6.6b	190.0 d	1.4dc	8.0b	1.1c	85.0f	83.5
	2.0	9.1a	315.2c	1.4dc	11.6a	1.5c	328.8e	87.5
	4.0	4.4c	199.2d	1.6dc	5.3c	1.2c	87.6f	100.0
	8.0	3.0d	136.4e	1.4dc	4.7c	1.0c	74.6f	100.0
IBA	1.0	4.9c	341.6c	1.4dc	7.4b	1.4c	277.0e	100.0
	2.0	4.1c	450.6b	2.4c	7.8b	2.3b	371.8ed	100.0
	4.0	4.7c	464.8b	2.0dc	7.2b	2.1b	346.0e	100.0
	8.0	2.4ed	525.8a	2.6c	7.5b	2.7b	472.8d	100.0
NAA	1.0	8.6a	223.0d	2.4c	7.1b	2.0b	887.0c	100.0
	2.0	1.6ef	190.2d	3.8b	4.5c	2.6b	915.4c	100.0
	4.0	0.9f	29.0g	8.0a	2.6d	3.4a	1805.6a	100.0
	8.0	n.d.	n.d.	4.0b	1.1e	4.0a	1419.4b	100.0

<sup>1</sup>Mean separation within columns by Duncan's Multiple Range Test at 5 % level.

buffalo gourd의 기내 생산묘를 포장에 순화시켜 재배하는데는 별 어려움이 없다고 생각되었다. 그러나 common milkweed의 경우 기내 발근율이 매우 낮고, 발생된 뿌리의 생장도 불량하여 대량번식후 토양활착을 증가시키기 위해서는 우선적으로 기내발근법을 확립하는 것이 필요하다고 생각된다.

## 적 요

Buffalo gourd의 기내배양 체계를 확립하기 위하여, 기내 발아, 증식, 발근에 적합한 생장조절제와 배양환경 조건을 구명코자 본 실험을 수행하였다. Buffalo gourd의 종자는 암상태가 명상태 보다 더 높은 발아율을 얻을 수 있었다. BA 1.0 mg/L에 IAA 0.3~0.6 mg/L가 혼용처리된 MS 배지에서 신초 증식 및 생육이 가장 양호했고 kinetin과 2iP는 신초증식에 큰 영향을 미치지 않았다. 증식을 위한 적정배양 온도는 22~25°C였다. 기내발근은 오옥신 첨가로 쉽게 유도되었는데 특히 IBA 1.0~2.0 mg/L 및 IAA 2.0 mg/L 단용처리가 기내 발근에 가장 효과적이었으며, 지상부 생장도 양호하였다. 발근된 신초를 포장에 이식한 결과, 생존율이 90% 이상에 달하였다.

Common milkweed의 종자를 기내 파종하여 명상태에서 발아시킨 결과, 발아율이 71.2%로 비교적 높았다. 전반적으로 BA가 다른 사이토키닌 보다 기내생장에 더 효과적이었으나, 농도에 따라 효과는 달랐다. BA 3.0 mg/L에 IAA 0.3 mg/L 혹은 0.6 mg/L 혼용처리하는 것이 신초 생체중, 마디수의 증가에 효과적이었고 2iP는 신초신장에 효과적이었다. Com-

mon milkweed의 기내생장은 온도에 아주 민감하였는데, 22 °C에서 생장이 양호한 반면 25°C 이상에서는 생존율이 감소하였다. Common milkweed의 경우 기내 발근율이 매우 저조하였는데 배양전 신초를 IBA 10.0~100.0 mg/L 용액에 30~120분간 처리 후 MS 배지에 접종하였을 경우 발근율이 4~5%로 매우 낮았다.

사사: 본 연구는 한국 과학재단지정 충북대학교 첨단원예기술개발연구센터 지원에 의한 것임.

## 인용문헌

- Berry JW, Bemis WP, Weber CW, Philip T (1975) Cucurbit root starches: isolation and some properties of starches from *Cucurbita foetidissima* HBK and *Cucurbita digitata* Gray. J Agr Food Chem 23:825-826
- Berry JW, Weber CW, Dreher ML, Bemis WP (1976) Chemical composition of buffalo gourd, a potential food source. J Food Sci 41:465-466
- Cosse AA, Baker TC (1999) Electrophysiologically and behaviorally active volatiles of buffalo gourd root powder for corn rootworm beetles. J Chem Ecol 25:51-66
- Dreher ML, Berry JW (1983) Buffalo gourd root starch: Part I. Properties and structure. Starch/Stärke 35:76-81
- Fan J, Feng B, Qiu M, Nie R (1988) The chemical constituents from roots of *Cucurbita foetidissima*. Acta Botanica Yunnanica

- 10:475-479
- Groet SS, Kidd GH** (1981) Somatic embryogenesis and regeneration from milkweed cell cultures method of rapid selection of superior varieties of *Asclepias syriaca* and *Asclepias tuberosa* for hydrocarbon crop development. Biomass Barking Essex 1:93-97
- Han BH, Jung HY, Ko JY** (1997) Micropropagation of Delphinium cv. Princess Caroline through shoot tip culture. Kor J Plant Tiss Cult 24:53-55
- Hibbard BE, Randolph TL, Bernklau EJ, Bjostad LB** (1997) Electroantennogram-active components in buffalo gourd root powder for western corn rootworm adults. Environ Entomol 26:1136-1142
- Hogan L, Bemis WP** (1983) Buffalo gourd and jojoba: potential new crop for arid lands. Advan Agron 36:317-349
- Jones D, Von Baren KL** (1992) Some physical properties of milkweed pods. Trans ASAE 35:243-246
- Joubert JP** (1989) Cardiac glycosides. In : Cheeke PR (ed) Toxicants of plant origin. Vol II Glycosides, CRC Press, London, pp 61-97
- Kaul RB, Rolfsmeier SSB, Esch JJ** (1991) The distribution and reproductive phenology of the milkweeds (*Asclepiadaceae: Asclepias* and *Cynanchum*) in Nebraska. Trans Nebr Acad Sci Affiliated Soc 18:127-140
- Knapp AK, Fahnestock JT** (1990) Influence of plant size on the carbon and water relations of *Cucurbita foetidissima* HBK. Funct Ecol Oxford 4:789-798
- Kusey WE Jr, Hammer PA, Weiler TC** (1980) *In vitro* propagation of *Gypsophila paniculata* L. Bristol Fairy. HortSci 15:600-601
- Lee CW, Thomas JC** (1985) Tissue culture propagation of buffalo gourd. HortSci 20:218-219
- Murashige T, Skoog F** (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15:473-497
- Nelson JW, Scheerens JC, Berry JW, Bemis WP** (1983) Effect of plant population and planting date on root and starch production of buffalo gourd grown as an annual. J Amer Soc Hort Sci 108:198-201
- Nelson JW, Scheerens JC, Bucks DA, Berry JW** (1989) Irrigation effects on water use, and production of tap roots and starch of buffalo gourd. Agron J 81:439-442
- Scheerens JC, Bemis WP, Dreher ML, Berry JW** (1978) Phenotypic variation in fruit and seed characteristics of buffalo gourd. J Amer Oil Chem Soc 55:523-525
- Singh RJ** (1984) The regeneration of milkweed (*Asclepias* spp.) plants from hypocotyl callus, cell suspension cultures and hypocotyl protoplasts. Z Pflanzenzucht J Plant Breed 92:95-101
- Somogyi N, Heltman TM** (1995) The buffalo gourd, our potential new cultivated plant. Olaj Szappan Kozmetika 44:153-155
- Therien JP** (1999) Genetic diversity in two rare milkweeds from the southwestern United States. Southwestern Naturalist 44: 247-255
- Vasconcellos JA, Bemis WP, Berry JW, Weber CW** (1981) The buffalo gourd, *Cucurbita foetidissima* HBK, as a source of edible oil. Monograph Amer Oil Chemists Society 9:55-68

(접수일자 1999년 12월 17일)