

울금의 경정배양에 의한 기내번식

최성규[†]

순천대학교 자연과학대학 한약자원학과

In vitro Propagation using Shoot Tip Culture of *Curcuma longa* L.

Seong Kyu Choi[†]

Department of Oriental Medicine Resources, College of Nature Science, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

ABSTRACT : The present study was carried out to assess the possibility of rapid multiplication of *Curcuma longa* Linne 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 MS (Murashige and Skoog) medium developed into plantlet in 16 Weeks. M. S. medium containing NAA at 0.5 ppm and BA 5.0 ppm was found to be optimal for growth of *in vitro* plantlet

Keywords : *Curcuma longa* Linne, auxin, cytokinin, multiplication, shoot, root

울금(*Curcuma longa* Linne)은 생강과(Zingiberaceae)에 속하는 다년생 초본식물로 인도가 원산지이며 대만, 인도네시아(자바), 일본(오키나와)등에서 재배되고 있다. 최근 개정된 우리나라의 공정서인 대한약전에 의하면 울금을 강황(薑黃)과 같은 식물로 규정하였다(보건복지부, 2003). 울금의 주요성분은 curcumin, P-methyldol Iruccabinole, Tumerone, Azulene, Kampfa 등으로 밝혀져 있으며, 간장의 해독 촉진과 담즙의 분비작용 및 이혈작용이 뛰어나서 민간약으로 널리 이용되고 있다(홍, 1966; 김, 1984).

생강과 식물은 종자가 잘 맺히지 않기 때문에 근경이 번식수단이 되는데, 울금의 근경은 생강(*Zingiber officinale*)보다 약간 가늘고 양하(*Zingiber mioga*)보다는 두껍다. 울금과 같은 생강과 식물인 양하의 근경을 종경으로 이용할 경우 지하경이 클수록 생육이 양호하고 화퇴 수량이 증수된다고 하였으며, 일시적으로 많은 면적을 재배하고자 할 때는 종경의 확보가 문제 된다고 보고하였다(안 등, 1989). 일반적으로 영양번식 작물의 지하경을 종경으로 이용할 경우 지하경의 크기와 생육 및 수량 간에는 밀접한 관계가 성립되어 종경이 크면 클수록 증수됨은 사실이나 대규모재배의 경우에는 지하경이 대량으로

소요되기 때문에 대량으로 소요되는 지하경의 확보는 관행 증식방법으로는 많은 시일이 소요되어 짧은 기간에 대량의 종경을 확보하는 방법에 대한 연구가 필요하다.

경정배양(莖頂培養)은 식물체에서 적출한 경정분열조직과 엽원기를 기내 배양하여 shoot의 신장과 발근을 유발하여 새로운 식물체를 대량으로 생산해내는 영양번식법(micropropagation)이므로 삼목번식처럼 모체와 유전적으로 동일한 식물체를 육성할 수 있고, shoot를 절단하여 계대배양 함으로써 유묘를 대량으로 얻을 수 있는 번식법이다(김, 1986). 최와 김(1991)은 울금과 같은 영양번식 작물인 생강을 경정배양하여 기내 번식시키는 방법을 연구하였으며, 최와 서(1993)는 양하의 경정배양을 실시하여 대량번식의 가능성을 구명하바 있다. 최근 최와 윤(2001)은 황칠나무를 경정배양하여 기내에서 번식하는 방법을 연구하여 대량번식의 가능성을 구명하였다. 영양번식 작물에 대한 조직배양은 대량증식 및 유전자원의 보존뿐만 아니라 기내 돌연변이 유도, 유전자 전환 등 육종적인 면에서의 활용가능성이 높다.

우리나라에서 울금에 관한 연구는 거의 이루어져 있지 않고, 다만 전남 진도지역에서 97년도 일본 오키나와에서 도입된 종경으로 일부 시험재배 되고 있다. 그러나 아직 조직배양에 관한 연구는 우리나라에서는 거의 보고가 되어 있지 않은 실정이다.

따라서 본 실험은 경정배양을 이용하여 기내에서 울금을 대량 증식하는 방법을 구명하고자 실시하였던바 몇 가지 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

식물재료 및 배양조건

전남 진도군 임회면에서 재배하고 있는 울금(*Curcuma longa* Linne)을 공시재료로 하여, 근경을 5 cm 크기로 절단한 후 2% 승홍(HgCl₂) 희석액에 5초간 침적 소독한 다음 25°C의 생육상내에서 최아 시킨 후 눈이 1.0 cm정도 자랐을 때 이

[†]Corresponding author:(Phone) +82-61-750-3663. (E-mail) skchoi@sunchon.ac.kr

<Received May 15, 2003>

를 절취하여 1.0%의 Sodium hypochlorite 수용액에서 20분간 소독한 후 멸균수로 5회 수세하였으며, clean bench에서 경정부위를 2~3mm 크기로 추출하여 준비된 배지에 치상하였다.

배양조건으로 온도는 25±2°C로 유지하였으며, 형광등(32 μmol · m⁻² · s⁻¹)으로 주야 16/8시간 조명하였다.

배지의 종류

울금의 경정배양을 통한 기관분화에 적합한 기본배지를 구명하기 위하여 Wangpojen(왕과 황 1974), MS(Murashige and Skoog, 1962), LS(Linsmaier and Skoog, 1965; 김 등, 1987), White(White, 1954; 정, 1985; 김, 1986)배지에 각각 경정을 30개체씩 3반복으로 2002년 4월 20일 치상한 후 shoot와 root의 분화정도를 4개월 후인 8월 20일 조사하였다. 배지는 autoclave전에 sucrose 3%, agar 0.7%, pH 5.7이 되도록 조정하여 1.5×15.0 cm의 시험관에 5 ml씩 분주하고 120°C(압력 2 kg/cm²)의 고압멸균기에서 15분간 멸균한 다음 냉각하여 사용하였다.

기내증식 및 생장

기관분화된 유식물체의 기내증식과 생장에 미치는 식물생장 조절제의 효과를 구명하기 위해 경정배양 후 2개월 된 유식물체를 shoot와 root의 형성율이 양호했던 MS 기본 배지에 auxin류인 NAA(α-naphthaleneacetic acid)를 0.1 ppm, 0.5 ppm 및 1.0 ppm 그리고 cytokinin류인 BA(6-benzylaminopurine)를 1.0 ppm, 5.0 ppm 및 10.0 ppm을 각각 단용 또는 혼용 첨가하여 배양 12주 후인 2002년 11월 25일에 shoot와 root의 형성정도를 조사하고 16주후에 생체중을 측정하였다.

결과 및 고찰

배지의 종류

울금의 경정배양에 알맞은 배지를 구명하기 위해서 배지의 종류별로 경정치상 후 4개월이 경과된 다음 shoot, root의 형성정도를 조사한 결과는 표 1과 같다.

경정부위는 치상 후 10~12주 후에 기관 분화현상이 나타나서 shoot와 root가 발생되었다. 경정부위는 일정한 캘러스 형태를 거치지 않고 shoot가 형성되는 개체가 있었고, shoot의

형성정도는 배지의 종류에 따라서는 약간의 차이가 있어서 30개체의 경정부위 중에 MS배지는 26개체가 발생되었으며 그 중 11개체는 완전한 형태의 shoot가 되었다. LS배지는 1개체가 발생되었고, White배지는 16개체, 그리고 Wangpojen배지는 10개체가 발생되어 shoot의 발생율이 가장 낮았다. 이는 최와 서(1993)가 양하의 경정배양에서 보고한 바와 같이 MS기본배지가 shoot의 형성율이 높다는 내용과 같은 경향이였다. 한편 Hosoki and Sogawa(1977)는 울금과 같은 영양번식작물이며 생강과 식물인 생강을 생장점이 포함된 줄기의 절편조직에서 식물체로 재분화 시킬 때 일정한 캘러스형태를 거치지 않고 바로 shoot가 형성되는 개체가 많이 있었다고 보고한 바 있다.

Shoot가 형성된 후 일부 개체에서 root가 형성되었는데 배지의 종류에 따라서 약간의 차이가 있었다. MS배지가 root발생이 가장 좋았고, 다음은 White배지로 LS배지나 Wangpojen 배지보다는 root형성이 잘 되었다. 특히 MS배지에서 shoot가 형성된 26개체 중 9개체는 root가 형성되었고 그 중에서 3개체는 완전한 형태의 root가 형성되었다.

이와 같은 결과로 보아 MS배지가 울금의 경정부위를 치상한 후 shoot와 root의 발생에 가장 효과적이라는 것을 알 수 있었으며, 이것은 은 등(1982)이 딸기의 경정을 이용하여 MS 배지에서 대량증식을 하였고, 최와 김(1991)이 생강의 경정배양에서 MS기본 배지가 shoot와 root의 형성율이 높다는 보고와 일치되는 경향을 보였다.

기내증식

경정의 기내배양에서 분화된 shoot와 root의 생장에 적합한 식물생장조절제의 농도를 구명하기 위하여 NAA와 BA를 단용 또는 혼용 첨가한 결과, 엽수, shoot수, 근수, 초장 및 pseudostem 직경을 조사한 내용은 다음 표 2와 같다.

엽수는 보통 치상 12주 후에 3~6매가 발생하였으며, NAA 0.5 ppm과 BA 5.0 ppm의 혼합첨가배지에서 6매로 가장 많이 발생하였다. shoot수는 BA 단독첨가배지에서는 무첨가에 비하여 BA첨가배지에서 더 shoot발생수가 많았으며, 특히 BA 10 ppm첨가배지에서 가장 효과적이었다. 그러나 NAA 단독첨가에서는 별 효과가 없었으나 BA와 혼용첨가에서는 약간의 효과가 있어서 NAA 0.5 ppm과 BA 5.0 ppm 첨가배지에서 7개의 shoot가 발생되었다. 따라서 shoot의 발생수는 NAA보다는

Table 1. Response of meristem of *Curcuma longa* Linne in different media after 4 months culture.

Medium	No of Shoot apex cultured	Multiple shoot formation			Shoot formed (%)	Root formation			Root formed (%)
		+	++	+++		+	++	+++	
Wangpojen	30	4	5	2	37	1	1	1	27
MS	30	6	9	11	87	4	2	3	35
LS	30	3	5	7	50	2	1	1	29
White	30	4	6	6	53	2	2	1	31

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

BA효과가 커서 BA농도가 높아질수록 증가되는 경향을 보였다. BA 5 ppm과 10 ppm 첨가배지에서 5~7개의 shoot가 발생되었으나 BA를 첨가하지 않은 배지와 BA 1 ppm 단독 첨가 배지는 2~3개만 발생되었다.

근수에 있어서는 NAA 단독 첨가배지에서 무첨가에 비하여 NAA 첨가배지가 근수가 더 많았으며 특히, NAA 0.5 ppm과 NAA 1.0 ppm 단독처리에서 각각 3개로 가장 많았다. BA단독 첨가배지에서는 BA첨가농도별 큰 차이가 없이 1개가 발생되었다. NAA와 BA의 혼용첨가배지에서는 NAA 0.5 ppm과 BA 5.0 ppm의 혼용첨가배지에서 근수는 5개로 가장 많았는데 이와 같은 이유는 NAA와 BA의 적정농도에 의해서 지상부의 생장이 양호하여 근 발생수도 많은 것으로 생각된다.

초장은 NAA와 BA가 첨가되지 않은 배지에서는 약 3.1 cm 정도였으나 NAA가 첨가된 배지에서는 3.9 cm 이상으로 성장되었다. 특히 NAA 1.0 ppm 첨가배지에서 가장 효과적으로 NAA의 첨가농도가 높아짐에 따라 초장이 성장되는 경향으로 유의성이 인정되었다. 이와 같은 효과는 *Cymbidium*의 경정 및 화기배양에서 보고된 바와 비슷한 경향으로 NAA의 첨가 효과가 인정되었다(Morel, 1964). BA의 처리효과는 BA의 농도가 높을수록 초장이 약간 짧아지는 경향이었으나 첨가농도 별로는 유의성이 인정되지 않았다. 최와 서(1993)는 울금과 같은 생장과 식물인 양하의 기내배양에 관한 보고에서 BA농도가 증가함에 따라 shoot의 형성율이 높고, NAA농도가 증가됨에 따라 root의 형성율이 높다고 하였는데, 본 실험의 울금 경정배양에서도 같은 경향을 나타냈다.

따라서 울금의 경정배양결과 식물호르몬의 일반적인 특징인 auxin은 rooting을 촉진하고, cytokinin은 shooting을 촉진하는 결과를 나타냈다.

유식물체의 pseudostem의 직경에 대한 영향은 NAA가 BA보다 현저하였으며, NAA 농도별로 볼 때 0.5 ppm이 적정농도였다. 특히 NAA 0.5 ppm과 BA 5 ppm에서 pseudostem의 직경이 2.8 mm로 가장 비대 되어 적정농도로 생각된다. 이와 같은 결과로 보아 NAA단용보다 BA와의 혼용이 pseudostem의 직경 비대에 더 상승적으로 작용한 것으로 판단된다.

기내생장

기내에서 식물 성장조절제의 첨가에 의해 성장된 울금 유식물체의 생체중은 그림 1과 같다.

NAA의 단독첨가배지에서 생체중은 NAA가 첨가되지 않은 배지에서는 유식물체의 중량이 70 mg였고, NAA 0.1 ppm 첨가배지가 80 mg이었으며, 0.5 ppm 첨가배지에서는 115 mg이었다. 그리고 1.0 ppm 첨가배지에서는 125 mg으로 NAA 1.0 ppm 첨가배지가 가장 양호한 경향 이었다. 따라서 생체중에 미치는 NAA의 적정농도는 0.5 ppm에서 1.0 ppm으로 나타났다. 이는 NAA의 첨가효과(표 2)에서 나타난 바와 같이 shoot 수는 무첨가와 차이가 없이 거의 비슷한 크기를 보였으

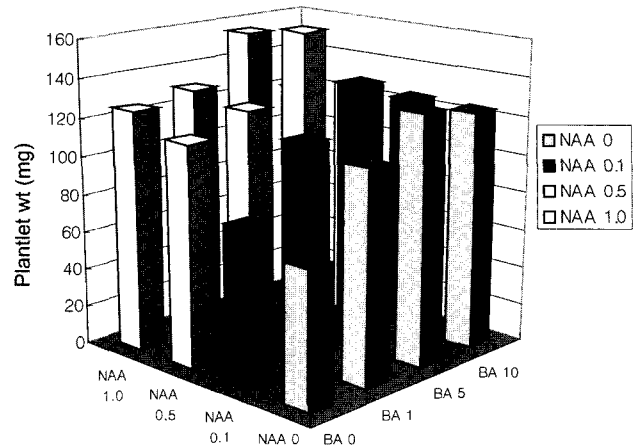


Fig. 1. Effect of NAA and BA concentration on the fresh weight after 16weeks culture of shoot-apex.

나 root의 발생 및 신장량은 농도간에 차이가 있었던 점으로 미루어 NAA의 단독처리에서 유식물체의 생체중은 근부의 발생수에서 유래된 것으로 생각된다. 한편 이와 같은 결과는 Kumo and Wareing(1974)이 주장한 바와 같이 auxin은 저농도(0.1~1.0 ppm)에서는 작물의 생육이 촉진되어 유식물의 생체중이 증가되나 고농도(10~30 ppm)에서는 오히려 억제작용이 있다는 보고와 유사한 경향이였다. 본 시험의 결과, auxin의 저농도(0.1~1.0 ppm)에서 유식물의 생육이 촉진되어 생체중이 증가한 것으로 판단된다.

BA의 단독첨가는 무처리의 70 mg에 비하여 1.0 ppm 첨가 배지에서는 110 mg이었고, 5.0 ppm 첨가배지에서는 130 mg이었으며, 10 ppm 첨가배지에서는 124 mg으로 본 실험에서의 BA농도는 5.0 ppm 첨가배지에서 생체중이 가장 무거웠다. 이와 같은 결과는 BA첨가배지의 효과(표 2)에서 본 바와 같이 BA는 근중량을 증가시키는 것보다는 경엽중을 증가시키는데 효과가 있어서 전체적인 생체중이 증가된 것으로 생각된다.

한편 최와 채(1986)는 담배 세포배양에서 BA를 0.1 mg/l과 1 mg/l로 처리한 결과 치상 45일 후에 캘러스의 50% 이상이 shoot로 분화하였고 shoot의 분화수와 길이를 감안할 때 BA를 0.1 mg/l 농도로 처리하는 것이 효과적이라고 보고하였으며, 뿌리 발생과 신장에는 영향을 주지 않았다는 보고와 같은 경향을 나타냈다. 본 실험에서 BA의 첨가농도가 5.0 ppm까지 증가할수록 생체중도 증가하는 경향을 보였으나 10.0 ppm에서는 오히려 감소의 경향이였다. 이것은 적정농도의 BA를 첨가 시킴으로써 shoot의 발생량이 많아서 생체중이 증가되는 것으로 추측되었다. 정(1985)은 식물조직배양시에 cytokinin은 생장과 shoot의 형성을 촉진하므로 배양 유식물체의 생체중이 증가된다고 보고한 바 있다. 식물성장조절제의 혼용처리에서는 MS기본배지에 NAA 0.5 ppm과 BA 5.0 ppm를 첨가한 배지에서 생체중이 160 mg으로 가장 무거웠다. 이것은 엽원기가 있는 경정배양에서도 auxin과 cytokinin 등의 외생 성장조절물질

Table 2. Effects of growth regulators on the growth of *Curcuma longa* Linne plantlet after 12 weeks culture in Murashige and Skoog's medium.

Regurator		Number of			Plant height (cm)	Pseudostem diameter (mm)
NAA(ppm)	BA	Leaves(ea)	Shoots(ea)	Root(ea)		
0	0	3b*	2b	1b	3.1b	1.3b
	1.0	3b	3b	1b	3.8b	1.4b
	5.0	3b	3b	1b	3.5b	1.3b
	10.0	3b	5a	1b	3.1b	1.4b
0.1	0	3b	2b	1b	3.9b	1.3b
	1.0	4ab	4ab	2b	4.5ab	1.3b
	5.0	4ab	6a	3ab	4.9ab	1.8ab
	10.0	4ab	6a	3ab	4.1ab	1.7ab
0.5	0	5a	2b	3ab	5.7a	1.9ab
	1.0	5a	4ab	3ab	6.9a	2.5a
	5.0	6a	7a	5a	7.1a	2.8a
	10.0	4ab	5a	3ab	6.5a	2.6a
1.0	0	3b	2b	3ab	5.9a	1.4b
	1.0	4ab	4ab	4a	6.6a	1.5b
	5.0	5a	5a	3ab	6.9a	1.8ab
	10.0	4ab	5a	3ab	6.5a	1.5b

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

이 필요하다는 보고와 유사한 경향이였다(김&변, 1986).

이상과 같은 결과로 보아 MS 기본배지에서 유식물체의 생장은 식물생장조절제를 첨가하지 않는 배지보다 NAA와 BA를 첨가했을 때 증가하는 경향이였으며, 단독첨가보다 혼용첨가배지에서 더 효과적이였다.

적 요

울금의 기내대량번식을 위한 경정배양에 알맞은 기본배지의 종류와 기내증식 및 생장에 미치는 식물생장조절제의 농도를 구명하고자 본 실험을 수행한 결과는 다음과 같다.

울금의 경정은 MS(Murashige and Skoog) 기본배지에 치상한 경우 Wanspojen, LS, White 배지보다 shoot와 root의 형성율이 높은 경향이였다. 기내의 유식물체 생장은 오옥신(NAA 0.5~1.0 mg/l)과 사이토키닌(BA 1.0~5.0 mg/l)의 혼용처리가 효과적이였다.

인용문헌

안규빈, 김홍제, 이돈길. 1989. 양하의 재식방법에 관한 연구. 농촌진흥청 농시논문집(전.특작편) 31(3) : 41-46.
 보건복지부. 2003. 울금(鬱金). 대한약전 제 8개정 주요개정에 대한 설명. p. 13.
 최규환, 채영암. 1986. 담배 세포배양에서 NAA와 BA가 기관분화에 미치는 영향. *Korean J. Plant Tissue Culture* 13(1): 45-49.
 최성규, 김동철. 1991. 생강의 경정배양에 관한 연구. 농촌진흥청

농시논문집(생명공학편) 33(1) : 40-45.
 최성규, 서영남. 1993. 양하의 경정배양에 관한 연구. 한국약용작물학회지 1(1) : 38-42.
 최성규, 윤경원. 2001. 황칠나무의 경정배양에 의한 기내번식. 한국작물학회지 46(6) : 464-467.
 정재동. 1985. 식물조직배양을 이용한 원예작물의 급속증가. 한국원예학회지 26(4) : 410-428.
 은종선, 이병기, 이만상, 한창열. 1982. 성장점 및 callus 배양에 의한 딸기의 급속 증식에 관한 연구. 한국원예학회지. 23(4) : 261-276.
 Hosoki. T. and Y. Sogawa. 1977. Clonal propagation of ginger(*Zingiber officinale* ROSC.) through tissue culture. *Hort. Science* 12(5) : 451-452.
 홍중하. 1966. 동의보감. 풍년사. 서울. p.119.
 김규원, 백기엽, 정근식, 정재동, 최광태. 1987. 식물조직배양기술. 향문사. 서울 pp. 350-353.
 김재길. 1984. 원색천연약물대사전(하). 남산당. 서울. p.191.
 김규원, 변미순. 1985. 경정배양에 의한 카네이션 무병주의 획득과 대량증식. *한국원예학회지*. 26(1) : 76-82.
 김규원, 1986. 시험관내 삼목에 의한 유용식물의 대량증식. 경북대학교 40주년 기념 symposium 특집호 : 85-98.
 Kumo, D. and P. F. Wareing. 1974. Studies on tuberization of *Solanum andigena* (II) Growth hormones and tuberization. *New Phytol.* 73: 833-840.
 Murashige T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant.* 15 : 473-477.
 Morel. 1964. Tissue culture new means of clonal propagation in orchids. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 33 : 473-478.
 왕박인, 황여춘. 1974. 대마경정생장점배양. 중국원예학지. (2) : 79-87.