

식물생장조절제 및 광원처리에 따른 헛개나무 줄기와 경정유래 신초의 기내증식

박미영 · 왕평보 · 엄석현 · 이승우[†]
경희대학교 생명과학대학 원예생명공학과

In vitro Shoot Propagation Derived from Stem and Shoot Tip in *Hovenia dulcis* var. *koreana* Nakai by Plant Growth Regulators and Light Resources

Mi Young Park, Fengbo Wang, Seok Hyun Eom and Seung Woo Lee[†]

Department of Horticultural Biotechnology, College of Life Science, Kyung Hee University, Yongin 446-701, Korea.

ABSTRACT : This study was conducted to examine effects of plant growth regulators and light resources on the formation of multiple shoot and plant regeneration of *Hovenia dulcis* var. *koreana* Nakai. Stem and shoot tip were cultured on MS medium or WPM supplemented with various plant growth regulators. At the single treatment, the highest shoot formation was obtained when stem explants were cultured on WPM supplemented with kinetin $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. MS medium containing NAA 0.1 and TDZ $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ gave the best results for shoot induction rate and shoot growth in combination treatments. Of the BAP and kinetin tested, BAP $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ on WPM was found to be more effective for shoot growth from shoot tip. Under white fluorescent light treatment, shoot growth was much higher than blue, red LED treatments. Root induction from *in vitro* growth of plantlet was the best on WPM supplemented with $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA. The results suggest that selection of plant growth regulators and light resources could be important factor to achieve an efficient *in vitro* growth.

Key Words : WPM, Shoot Regeneration, Shoot Growth, LED, Callus Induction, Root Induction

서 언

헛개나무 (*Hovenia dulcis* var. *koreana* Nakai)는 갈매나무과에 속하는 낙엽 활엽 교목으로 키는 10 m 정도로 자라며, 수피는 검은 빛을 띤 회색으로 줄기가 세로로 갈라진다. 잎은 어긋나고 타원형이며 축맥이 3쌍이고 가장자리에 잔톱니가 있다. 6월 중순경 흰색 꽃이 피고, 과육이 점차 살이 찌서 울퉁불퉁하게 되며, 둥근모양의 열매는 9-10월에 익으며 갈색을 띤다. 이 열매는 지구자라는 생약명으로 알려져 있다. 본초강목에서 헛개나무 열매는 숙취를 덜게 하고 간을 보호해주는 약효가 있으며 나무 조각을 술독에 넣으면 술이 물로 된다고 하여 예로부터 한방에서 이용되어왔다.

헛개나무는 알콜분해능 (An *et al.*, 1999; Cha *et al.*, 2004; Na *et al.*, 2004; Kang *et al.*, 2005), 간해독작용 (Hase *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 2000), 항산화 (Lee *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2005), 항당뇨 (Kim *et al.*, 2005), 항균성 (Cho *et al.*, 2004), 항돌연변이, 항암활성 (Park and Chang,

2007) 등이 있다는 보고가 있다. 이러한 약리활성으로 인해 헛개나무에 대한 관심이 높아짐에 따라 자생지에서의 무분별한 채취가 행해지고 수요를 따르지 못해 수입산 열매가 유입되어 사용되고 있다 (Kim *et al.*, 2000). 또한 헛개나무 종자는 종피가 두껍고 단단하여 기계적 휴면과 생리적 휴면도 같이 가지고 있어 발아하는데 2년이 소요된다. 이에 헛개나무 증식을 위한 방편으로 종자 발아율 향상 및 발아기간 단축 (Lee, 2001)이나 다수확 우량개체를 선발 품종으로 육성하기 위한 연구가 이루어져 왔다 (Chung *et al.*, 2004).

대량증식을 위한 헛개나무의 기내배양 연구도 행해져왔는데, Eom 등 (2002a, b)은 헛개나무의 캘러스 형성 및 multiple shoot 유기와 체세포배발생 및 식물체 재분화에 대한 연구보고를 하였으나 재분화 식물체는 얻지 못했으며, Jeong 등 (2009)의 비정상 신초발생을 통한 식물체 재분화 연구가 보고되어 있다. 그러나 이러한 헛개나무의 기내배양에 관한 연구 결과는 극히 제한적인 배양조건에서 이루어져왔다. 따라서 본 연구에서는 배지조성, 성장조절물질, 배양환경을 달리하여 줄

[†]Corresponding author: (Phone) +82-31-201-2620 (E-mail) swolee@khu.ac.kr

Received 2011 December 15 / 1st Revised 2012 January 6 / 2nd Revised 2012 February 6 / Accepted 2012 February 8

기와 경정배양을 통한 국내 헛개나무의 대량증식 체계를 확립하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 식물재료

헛개나무 종자는 황산원액 (95%)에 40분간 침지시킨 후 흐르는 물에서 12-36시간동안 세척하여 원예용 상토에 파종하였다. 이를 통해 얻어진 식물체의 조직을 70% 에탄올에 1분, 0.1% 벤레이트 (benomyl, Syngenta, Seoul, Korea) 용액에 12분, Tween 20을 1 liter당 2방울을 포함하는 0.5% sodium hypochlorite용액에 15분 소독하고, 멸균수로 3회 세척하여 배양재료로 이용하였다.

2. 배지조제

MS (Murashige and Skoog, 1962)배지, WPM (Lloyd and McCown, 1980)을 사용하였다. 3% sucrose와 성장조절물질을 첨가한 배지의 pH는 5.8로 조절 한 후 0.8%의 agar를 첨가하여 121°C에서 15분간 고압 멸균 하였다. 배지와 성장조절물질은 Duchefa (Haarlem, Netherlands)에서 구입하여 사용하였다.

3. 캘러스 형성 및 다신초 유도

다신초 유도를 위해 줄기 절편체를 1.0 cm 로 절취하여 cytokinin류인 BAP, TDZ, kinetin 0.5, 1.0, 2.0 mg · L⁻¹, auxin류인 NAA 0.5, 1.0, 2.0 mg · L⁻¹의 농도로 단독처리하거나, NAA 0.1 mg · L⁻¹와 BAP, TDZ 0.1, 0.5, 1.0 mg · L⁻¹를 조합처리 하였다. 페트리디쉬 당 5개의 절편체를 치상하였고 반복 당 3 페트리디쉬씩, 3반복으로하여 처리당 총 45개의 절편체를 사용하였다. 배양환경은 25 ± 2°C, 16시간 광처리 하였다. 배양 6주 후 신초 형성율과 재분화 신초 수는 0.1 cm 이상의 신초를 계수하였으며, 캘러스 형성율, 재분화 신초의 길이, 재분화 뿌리 형성율, 절편체 당 재분화 뿌리 수를 조사하였다.

4. 경정 배양 신초의 기내생장

경정배양을 통한 신초의 기내생장에 영향을 미치는 성장조절물질을 알아보기 위해 BAP, kinetin 0.1, 0.5, 1.0 mg · L⁻¹의 농도로 단독처리한 배지에 생장점을 치상하였다. 또한 광원의 종류에 따른 기내 신초 생장에 미치는 영향을 검토하고자 다 인 고휘도 LED 광원장치 (Dynebio.Inc, Seongnam, Korea)를 설치하여 청색 460nm, 적색 LED 660nm, 40 W 형광등의 PPF값을 60 μmol m⁻²s⁻¹ 조정 한 뒤, 명기 16시간, 암기 8시간 하에 실험하였다. BAP 0.5 mg · L⁻¹를 첨가한 WPM을 배양용기 당 50 mL씩 분주한 후 10개의 절편체를 치상하고 4회

반복하였다. 25 ± 2°C가 유지되는 배양실에서 배양하였으며 4주 후 식물체의 길이를 조사하였다.

5. 발근유도

발근을 유도하는 배지 종류와 성장조절물질을 조사하기 위해 형성된 신초를 1.0 cm 크기로 절단하여 NAA, IBA 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 mg · L⁻¹의 농도로 단독처리한 후 배양 6주 후, 뿌리 형성율 및 재분화 뿌리 수를 조사하였다. 배양용기 당 10개의 절편체를 치상하고 4회 반복하였으며, 배양환경은 25 ± 2°C, 16시간 광 처리하였다.

결과 및 고찰

1. 캘러스 형성 및 다신초 유도

헛개나무의 줄기 절편에서 캘러스와 신초 형성 및 생장을 조사하였다. MS배지, WPM에 cytokinin류인 BAP, TDZ, kinetin과 auxin류인 NAA를 단독 처리하여 6주 후의 결과를 살펴보면 Table 1과 같다. MS배지에서 캘러스 형성율은 모든 처리 농도의 kinetin과 1.0 mg · L⁻¹ TDZ, NAA에서 100%를 나타냈다. 캘러스에서 또는 절단면에서 직접신초가 발생하였는데 TDZ와 kinetin처리에서만 신초가 발생하였다. 그 중 kinetin 0.5 mg · L⁻¹의 농도에서 신초 형성율, 절편체 당 재분화 신초 수, 재분화 신초의 길이가 가장 높게 나타났으며, auxin처리인 NAA처리에서는 뿌리가 발생하였다. WPM에서는 BAP, TDZ, NAA 단독처리 시 하얀 캘러스가 유기 되었다. 대조구와 비교해서 BAP, kinetin 2.0 mg · L⁻¹의 농도처리를 제외하고, 모든 성장조절물질 처리에서 신초가 유기되었으나 신초 형성율은 낮았다. 하지만 kinetin 1.0 mg · L⁻¹의 농도에서 신초 형성율, 절편체 당 재분화신초의 수가 2.5개로 가장 높게 나타났다. NAA 처리에서는 캘러스를 많이 형성하며, 뿌리가 발생하였는데 NAA 1.0 mg · L⁻¹의 농도에서 절편체당 뿌리의 수가 4.18개로 높은 값을 나타냈다.

Jeong (2009)이 헛개나무의 잎 유래 캘러스로부터 MS, 1/2MS 배지에 GA₃ 과 BA, kinetin 첨가 시, MS배지에 GA₃ 0.23 μM과 kinetin 0.46 μM의 조합처리가 신초발달에 효과적이었다. 이는 kinetin이 헛개나무의 신초형성을 촉진하는 것으로 여겨진다. Bae (2009) 등은 *Camptotheca acuminata* Decaisne 캘러스로부터 WPM에 BA, TDZ, zeatin을 처리 한 결과, 0.5 mg · L⁻¹ BA 처리구에서 26.7%의 shoot bud를 유기하였다는 보고가 있다.

성장조절물질을 조합처리 하였을 때 (Table 2), MS배지에 NAA 0.1 mg · L⁻¹과 TDZ 처리 시, BAP 처리보다 신초 형성율, 절편체 당 재분화 신초 수, 재분화 신초의 길이 모두 높게 나타났다. 그 중 NAA 0.1과 TDZ 0.1 mg · L⁻¹에서 신초 형성율 (47.50%), 재분화 신초 수 (1.9개), 신초의 길이

식물생장조절제에 따른 경정유래 신초의 기내증식

Table 1. Effects of single treatment of plant growth regulators on shoot induction in 6 weeks culture.

Treatments (mg · L ⁻¹)			CIR (%)	SIR (%)	NO.S	SL (cm)	RIR (%)	NO.R	
MS	Control	0.0	100.00	-	-	-	-	-	
		BAP	0.5	93.33	-	-	-	-	
		1.0	80.00	-	-	-	-	-	
		2.0	70.00	-	-	-	-	-	
	TDZ	0.5	93.33	13.33	1.00±0.00	0.33±0.06	-	-	
		1.0	100.00	3.33	1.00±0.00	0.40±0.00	-	-	
		2.0	96.67	13.33	1.33±0.33	0.50±0.15	-	-	
	NAA	0.5	92.50	-	-	-	10.00	1.75±0.48**	
		1.0	100.00	3.33	1.00±0.00	0.20±0.00	2.50	1.00±0.00	
		2.0	96.67	-	-	-	29.03	1.44±0.34	
	Kinetin	0.5	100.00	17.78	1.60±0.40	0.53±0.14	-	-	
		1.0	100.00	4.44	1.00±0.00	0.25±0.05	-	-	
		2.0	100.00	-	-	-	-	-	
	WPM	Control	0.0	100.00	-	-	-	-	-
			BAP	0.5	100.00	11.11	1.67±0.33	0.48±0.10	-
1.0			100.00	13.33	1.20±0.20	0.45±0.04	-	-	
2.0			92.50	-	-	-	-	-	
TDZ		0.5	100.00	13.33	1.50±0.50	0.55±0.13	-	-	
		1.0	100.00	15.00	1.00±0.00	0.30±0.06	-	-	
		2.0	100.00	16.67	1.00±0.00	0.20±0.05	-	-	
NAA		0.5	100.00	4.44	1.00±0.00	0.30±0.00	14.49	1.89±0.31	
		1.0	100.00	2.22	1.00±0.00	0.40±0.00	22.45	4.18±1.03	
		2.0	100.00	4.44	1.00±0.00	0.60±0.10	26.67	3.00±1.07	
Kinetin		0.5	62.50	13.33	1.20±0.20	0.45±0.10	-	-	
		1.0	66.67	22.22	2.50±1.19	0.36±0.13	-	-	
		2.0	75.00	-	-	-	-	-	

*CIR:Callus Induction Rate, Number of callus formation explants/total number of explants*100, Fifteen explants per treatment were used and three independent experiments were conducted.; SIR:Shoot Induction Rate, Number of shoot/total number of explants*100; No.S:Number of Shoot/explant, Number of shoots/number of shoot induction explants; SL:Shoot length, Length of regenerated shoots/number of shoot; RIR:Root Induction Rate, Number of root induction explants/total number of explants*100; No.R:Number of root/explant, Number of roots/number of root induction explants, -:not emerged. **Values are expressed as mean ± S.E (Standard Error).

Table 2. Effects of combination treatments of plant growth regulators on shoot induction in 6 weeks culture.

Treatments (mg · L ⁻¹)			CIR (%)	SIR (%)	NO.S	SL (cm)	RIR (%)	NO.R
MS	NAA 0.1+	BAP 0.1	100.00	-	-	-	-	-
		BAP 0.5	75.00	-	-	-	-	-
		BAP 1.0	75.00	12.50	1.67±0.67	0.70±0.33**	-	-
		TDZ 0.1	100.00	47.50	1.90±0.31	1.27±0.28	-	-
		TDZ 0.5	100.00	27.50	1.83±0.40	0.45±0.06	-	-
		TDZ 1.0	100.00	15.00	2.00±0.58	0.47±0.19	-	-
		WPM	NAA 0.1+	BAP 0.1	100.00	6.67	1.00±0.00	0.35±0.05
BAP 0.5	100.00			10.00	1.00±0.00	0.50±0.15	-	-
BAP 1.0	96.55			16.67	1.25±0.25	0.46±0.04	-	-
TDZ 0.1	100.00			13.33	1.00±0.00	0.55±0.16	-	-
TDZ 0.5	88.89			10.00	1.00±0.00	0.53±0.13	-	-
TDZ 1.0	100.00			33.33	1.33±0.33	0.45±0.08	-	-

*CIR:Callus Induction Rate, Number of callus formation explants/total number of explants*100, Fifteen explants per treatment were used and three independent experiments were conducted.; SIR:Shoot Induction Rate, Number of shoot/total number of explants*100; No.S:Number of Shoot/explant, Number of shoots/number of shoot induction explants; SL:Shoot length, Length of regenerated shoots/number of shoot; RIR:Root Induction Rate, Number of root induction explants/total number of explants*100; No.R:Number of root/explant, Number of roots/number of root induction explants, -:not emerged. **Values are expressed as mean ± S.E(Standard Error).

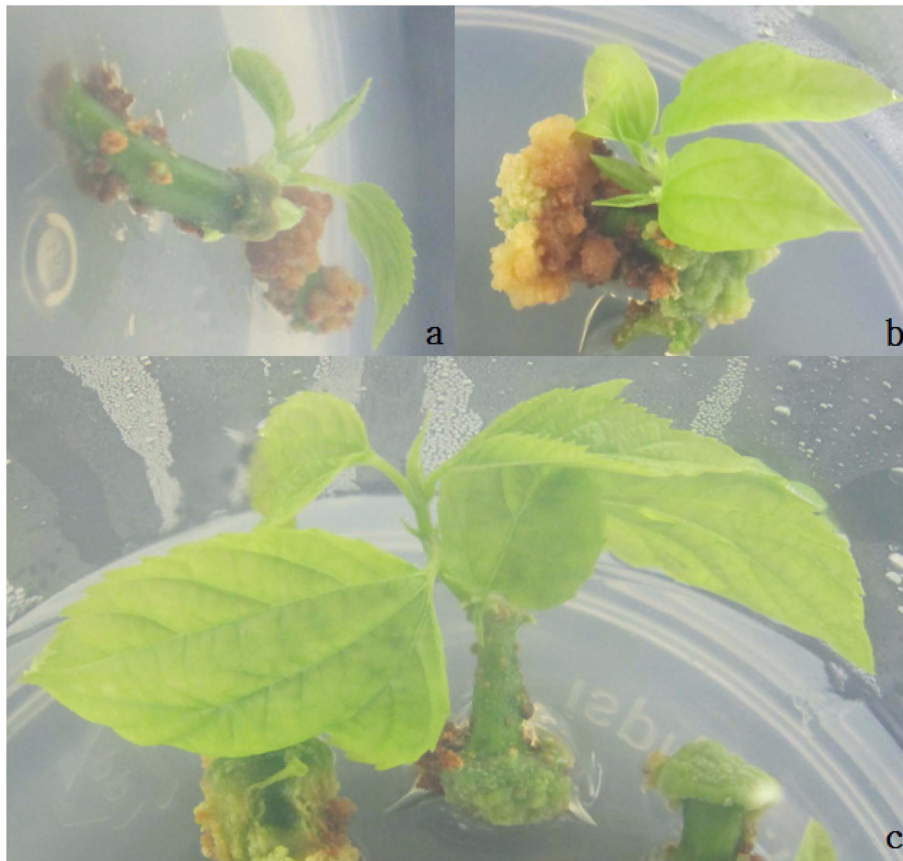


Fig. 1. Shoot induction from stem explants in *Hovenia dulcis* var. *Koreana* Nakai in 6 weeks culture. a: MS supplemented with $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ kinetin, b: WPM supplemented with $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA + $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BAP, c: MS with $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA + $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ.

Table 3. Effects of plant growth regulators on growth of shoot in 4 weeks culture.

Concentrations ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)		Shoot length (cm)*			
		MS medium		WPM	
Control	0.0	0.91 ± 0.04	c	0.94 ± 0.09	c**
BAP	0.1	1.03 ± 0.05	c	2.38 ± 0.25	b
	0.5	1.48 ± 0.10	b	3.36 ± 0.21	a
	1.0	1.37 ± 0.04	b	2.05 ± 0.16	b
	1.0	1.90 ± 0.24	a	0.87 ± 0.04	c
Kinetin	0.1	1.90 ± 0.24	a	1.86 ± 0.15	b
	0.5	1.98 ± 0.16	a	0.78 ± 0.05	c
	1.0	2.02 ± 0.18	a		

*Length of shoot/total number of explants. ** Values are expressed as mean \pm S.E (Standard Error) and Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, $p \leq 0.05$.

(1.27 cm)에서 가장 좋은 결과를 나타냈다. WPM에 성장조절물질의 조합처리 시에는 캘러스가 많이 유기 되었고, 캘러스에서 신초가 발생하였는데 NAA 0.1과 BAP $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 을 조합처리 하였을 때 신초 형성율이 높게 나타났다.

성장조절물질의 단일처리보다 NAA와 조합처리 하였을 때 신초의 생장이 더 양호했는데 (Fig. 1), 이는 식물체의 조직으

로부터 식물체의 재분화에는 auxin과 cytokinin과 같은 호르몬의 균형이 중요하다는 것 (Lakshmanan *et al.*, 2006)을 보여 준다. Eom 등 (2002a)이 헛개나무의 마디 배양을 통해 MS, 1/2MS, WPM에 성장조절물질을 BA, TDZ $0.1, 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 과 NAA $0.1, 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 단독 또는 조합처리 하여 다신초를 유도하였다. WPM에 BA 0.1 과 NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 을 조합처리

하였을 때 절편체당 신초의 수가 7개였으며, 신초의 길이 생장이 6.0 cm로 가장 높았고 동일한 성장조절물질 처리에서 MS, 1/2 MS 배지에서도 다신초 형성에 효과적이라는 결과를 보였다. 이는 배양환경이나 절편체의 차이에 따른 내생호르몬의 차이에 의한 것으로 여겨진다.

2. 경정 유래 신초의 기내생장

헛개나무의 성장점을 BAP와 kinetin처리된 MS배지와 WPM에 치상한 후, 배양 4주 후 식물체의 길이를 조사한 결과는 Table 3과 같다. MS배지에서는 모든 농도의 kinetin처리가 BAP처리보다 길이 생장이 좋았으나 kinetin 처리 간에는 유의차가 없었다. BAP 0.5 mg · L⁻¹을 첨가한 WPM에서 신초의 길이가 3.36 cm로 가장 길었으며 다른 처리들과의 유의차를 보여 이 농도를 다음 실험에 사용하였다. 본 실험 결과 WPM에 TDZ 처리 시 기부면에서 캘러스가 형성되었는데 이는 Garcia-Luis (1999)의 연구에서 Troyer citrange의 정단 부분을 고체배지에 수직으로 치상하였을 때, 정단부분에서 직접 신초가 발생하였으며 기부면에서는 캘러스 형성을 통한 신초가 형성되었다고 한 연구와 유사한 결과를 나타냈다. Choo 등 (2005)은 천문동 경정으로부터 신초의 생장에 미치는 cytokinin의 영향을 조사한 결과, MS배지에 성장조절물질 처리 시 kinetin, zeatin에 비하여 BA가 비교적 효과적이라 보고하였다.

기내 신초 생육을 알아보기 위한 LED 광원 처리 결과 (Table 4)는 형광등처리에서 길이 생장이 3.36 cm로 가장 높았

고, 청색LED와 적색LED처리에서는 0.89, 1.15 cm의 길이생장을 보였다. 신초의 성장모습을 살펴보면 (Fig. 2) 형광등 처리에 비하여 청색, 적색 LED 처리 시, 식물체의 기부면에서 하얀 캘러스가 많이 형성되어 있는 것을 볼 수 있는데 이 때문에 길이 생장에 영향을 미친 것으로 여겨진다. 하지만 형광등 처리와 달리 적색 LED처리에서 1.7개의 다신초가 유도되었다. 따라서 헛개나무 경정 배양 시 적색 LED처리를 하여 다신초를 유도한 후, 형광등 처리를 하면 대량증식을 위한 기내배양에 유리할 것으로 여겨진다.

3. 발근유도

신초를 1.0 cm로 절단하여 MS배지, WPM에 NAA, IBA를 단일 처리하여 6주일간 배양한 결과, 배양 2주일 후부터 절편에 따라 발근되기 시작하였다. 성장조절물질을 첨가하지 않은 배지보다 첨가된 배지에서 발근율이 높았으며, WPM에서 발

Table 4. Effects of different light resources on shoot growth in 4 weeks culture.

Treatments	Shoot Length(cm) [*]	NO. of Shoot ^{**}
W/F ^{***}	3.36±0.21	1.00±0.00 ^{****}
LED BLUE	0.89±0.13	1.00±0.00
LED RED	1.15±0.14	1.70±0.11

^{*}Length of shoot/total number of explants. ^{**}Number of shoot/explants, ^{***} W/F: White Fluorescent. ^{****}Values are expressed as mean ± S.E (Standard Error).

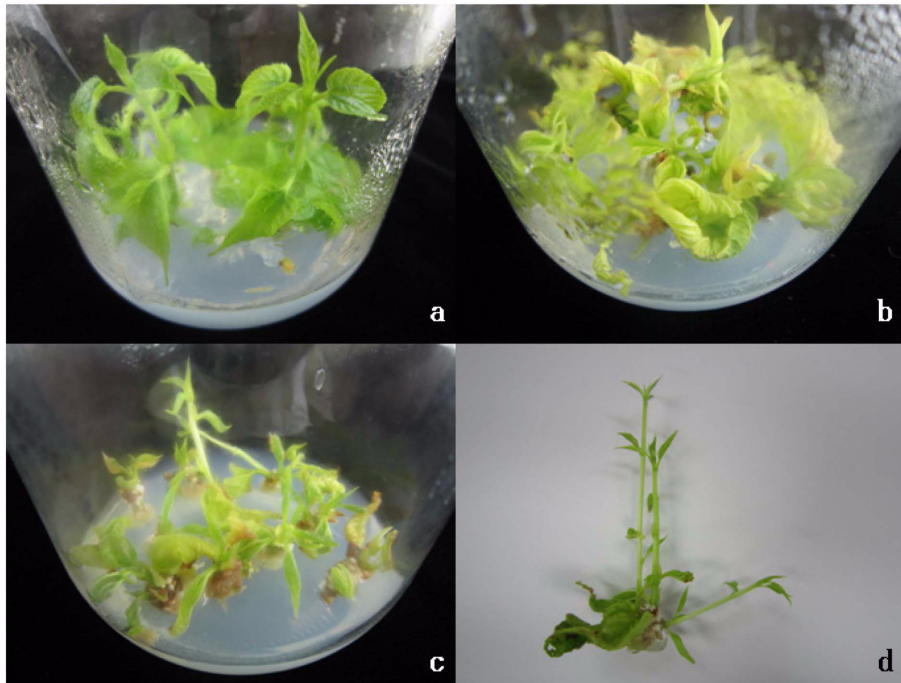
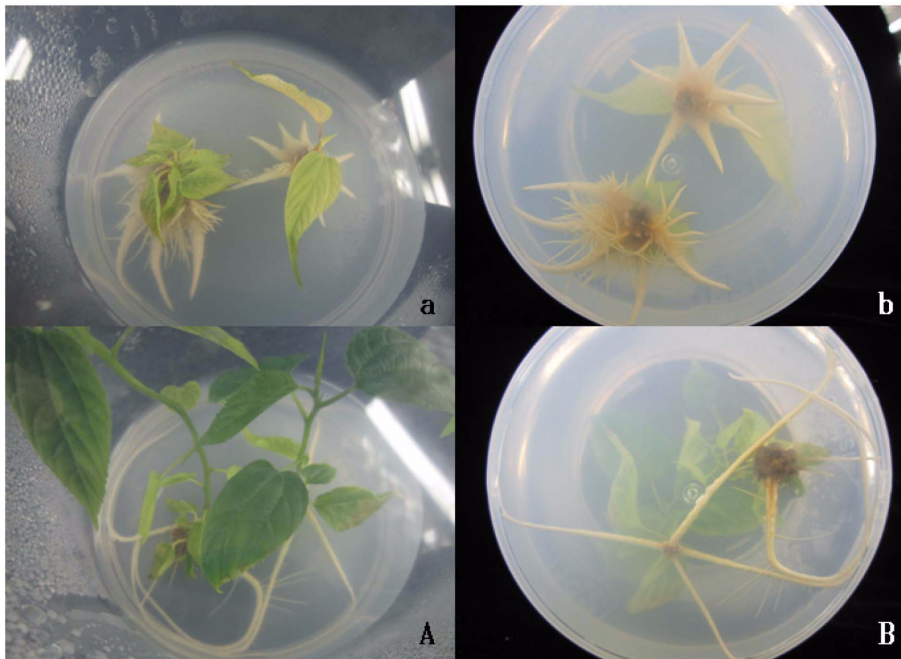


Fig. 2. Effects of different light resources on *in vitro* shoot growth in 4 weeks culture. a: White Fluorescent, b: blue LED, c,d: red LED.

Table 5. Effects of NAA and IBA on root induction of plantlet in 6 weeks culture.

Concentrations (mg · L ⁻¹)		Root induction rate*		No. of root/explant**			
		MS medium	WPM	MS medium		WPM	
Control	0.0	0.00	10.00	0.00±0.00	c	0.20±0.20	d***
NAA	0.1	56.25	57.14	1.38±0.35	bc	2.21±0.77	bcd
	0.5	81.25	87.50	2.81±0.64	a	3.75±0.72	abc
	1.0	42.86	42.86	1.07±0.46	bc	2.07±0.89	cd
	2.0	60.00	87.50	1.60±0.54	ab	4.00±0.82	abc
IBA	0.1	7.14	52.94	0.08±0.08	c	1.06±0.30	d
	0.5	31.25	66.67	0.69±0.31	bc	2.61±0.53	bcd
	1.0	61.11	87.50	1.11±0.31	bc	4.63±0.86	ab
	2.0	75.00	68.75	2.00±0.67	ab	4.25±1.15	a

*Number of root induction explants/total number of explants *100. **Number of roots/number of explants. ***Values are expressed as mean ± S.E(Standard Error) and Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, P ≤ 0.05.

**Fig. 3.** Effects of 0.5 mg · L⁻¹ NAA and IBA on WPM for root induction in 6 weeks culture. a,b: NAA, A,B: IBA.

근율이 높게 나타났다 (Table 5). MS배지에서는 NAA, IBA 모두 농도가 낮을 때는 직접 뿌리가 유도되는 반면에 높은 농도에서는 캘러스에서 유도된 또는 캘러스와 함께 발근 되었다. WPM에서는 MS배지보다 뿌리형성율과 뿌리의 상태가 양호했다. NAA처리 시 캘러스에서 유도된 뿌리의 주근과 측근이 많이 유도되었으며 두껍고 길이가 짧게 형성되었다. IBA 처리에서는 신초의 생장이 양호하여 길이생장도 활발하였다. 절편체 당 뿌리의 수도 1.0 mg · L⁻¹의 농도에서 4.63개로 가장 많았으며 뿌리가 NAA 처리보다 길이가 길고 얇은 형태로 형성되었다 (Fig. 3). 이는 식물생장조절물질이 뿌리의 형성 및 형태에 영향을 미치는 것으로 여겨진다. 목본식물이나 줄기가

목질화된 식물의 발근에는 IBA가 효과적인데 (Hartmann *et al.*, 2002), Lee (2006)는 헛개나무의 발근유도를 위해 1/2 MS배지에 NAA, IBA처리 시 IBA가 효과적이며 저농도에서는 대부분 기부로부터 직접 뿌리가 유도되는 반면에 농도가 높으면 캘러스가 형성된 후 그 캘러스로부터 혹은 캘러스와 더불어 발근되었다고 보고하였다. 천문동의 발근에도 IAA, NAA, IBA 처리 시, IBA 처리에서만 발근을 유도할 수 있었던 것은 천문동 줄기의 목질화 특성 때문이라고 하였다 (Choo, 2005).

본 연구 결과 MS배지에 0.1 mg · L⁻¹ NAA와 TDZ 조합 처리 시, 줄기로부터의 다신초 유도 및 생장이 양호하였으며, 경

정배양을 통한 기내 생장은 WPM에 0.5 mg · L⁻¹ BAP 처리 하였을 때 가장 효과적이었다. 경정 배양 시 적색광 처리는 다신초를 유기하는데 효과적이었고 길이생장은 형광등에서 촉진되었다. 재분화 식물체의 발근은 IBA 1.0 mg · L⁻¹ 첨가한 WPM에서 효과적으로 이루어졌다. 따라서 이와 같은 자료를 바탕으로 추가적인 연구를 실시한다면 헛개나무의 기내배양을 통한 대량증식에 유용한 자료가 될 것이다.

감사의 글

이 연구는 2005년 경희대학교 지원에 의한 연구 결과로 이에 감사드립니다.

LITERATURE CITED

- An SW, Kim YG, Kim MH and Lee BI. (1999). Comparison of hepatic detoxification activity and reducing serum alcohol concentration of *Hovenia dulcis* Thunb and *Alnus japonica* Steud. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 7:263-268.
- Bae DH, Park WS, Hwang SJ and Hwang B. (2009). Plant regeneration through organogenesis from callus of *Camptotheca acuminata* decaisne. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 17:192-197.
- Cha BC, Lee EH, Lee E and Park HH. (2004). Activity of glutathione S-transferase and effect of alcohol decomposition on the fruit of *Hovenia dulcis* Thunb. Yakhak Hoeji. 48:213-217.
- Cho JY, Moon JH, Eun JB, Chung SJ and Park KH. (2004). Isolation and characterization of 3(Z)-dodecenedioic acid as an antibacterial substance from *Hovenia dulcis* Thunb. Food Science and Biotechnology. 13:46-50.
- Choo BK, Kim DH, Jeong JR, Lim JR, Park CB, Ko BS and Ryu JH. (2005). *In vitro* growth of shoot derived from shoot tip in *Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 13:138-140.
- Chung HG, Kim SH, Jang YS and Park HS. (2004). Superior tree selection of *Hovenia dulcis* var. *koreana* Nakai. for high fruit petiole productivity. Journal of Korean Forestry Society. 93:265-270.
- Eom SH, Kang WH, Shin DY, Heo K, Choi WC, Lee HY and Yu CY. (2002a). Callus formation and multiple shoot induction of *Hovenia dulcis* Thunb. Plant Resources Society of Korea. 15:237-242.
- Eom SH, Shin DY, Lee HY, Kim MJ, Kim JD, Choi WC, Heo K and Yu CY. (2002b). Somatic embryogenesis and plant regeneration of *Hovenia dulcis* Thunb. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 10:41-45.
- Garcia-Luis A, Bordon Y, Moreira-Dias JM, Molina RV and Guardiola JL. (1999). Explant orientation and polarity determine the morphogenic response of epicotyl segments of Troyer Citrange. Annals of Botany. 84:715-723.
- Hartmann HT, Kerster DE, Davies FT and Geneve RL. (2002). Plant propagation: Principle and practices (4th ed.). Prentice-Hall, Englewood Cliffs. New Jersey, USA. p. 320.
- Hase K, Ohsugi M, Xiong Q, Basnet P, Kadota S and Namba T. (1997). Hepatoprotective effect of *Hovenia dulcis* Thunb. on experimental liver injuries induced by carbon tetrachloride or D-galactosamine/ lipopolysaccharide. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 20:381-385.
- Jeong MJ, Song HJ, Park DJ, Min JY, Jo JS, Kim BM, Kim HG, Kim YD, Kim RM, Karigar CS and Choi MS. (2009). High frequency plant regeneration following abnormal shoot organogenesis in the medicinal tree *Hovenia dulcis*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 98:59-65.
- Kang HS, Kim SM and Kim JH. (2005). Method of using acid hydrolysis to increase the efficacy of decreasing alcohol concentration from *Hovenia dulcis* extract. Korean Journal of Biotechnology and Bioengineering. 20:129-132.
- Kim JS, Na CS and Eun BJ. (2005). Effect of *Hovenia dulcis* Thunb extract on the hyperglycemic mice induced with streptozotocin. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 34:632-637.
- Kim MH, Chung YT, Lee JH, Park YS, Shin MK, Kim HS, Kim DH and Lee HY. (2000). Hepatic detoxification activity and reduction of serum alcohol concentration of *Hovenia dulcis* Thunb from Korea and China. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 8:225-233.
- Lakshmanan P, Geijskes RJ, Wang L, Elliott A, Grof CPL, Berding N and Smith GR. (2006). Developmental and hormonal regulation of direct shoot organogenesis and somatic embryogenesis in sugarcane (*Saccharum* spp. interspecific hybrids) leaf culture. Plant Cell Reports. 25:1007-1015.
- Lee KS. (2001). Effect of temperature and sulfuric acid treatment on the germination of *Hovenia dulcis* Thunb. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 9:166-172.
- Lee WS. (2006). Mass propagation by in vitro culture of *Hovenia dulcis* var. *koreana* and *Aralia elata* seem. Chonbuk National University. Jeonju, Korea.
- Lee YA, Chae HJ and Moon HY. (2005). Effect of *Hoveina dulcis* Thunber var. *koreana* Nakai fruits extracts on glucose, lipid metabolism and antioxidant activities in streptozotocin induced diabetic rat. Journal of Experimental and Biomedical Sciences. 11:533-538.
- Li G, Min BS, Zheng C, Lee J, Oh SR, Ahn KS and Lee HK. (2005). Neuroprotective and free radical scavenging activities of phenolic compounds from *Hovenia dulcis*. Archives of Pharmacal Research. 28:804-809.
- Lloyd G and McCown B. (1980). Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. Combined Proceedings of the International Plant Propagators' Society. 30:421-427.
- Murashige T and Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum. 15:473-497.
- Na CS, Nam NC, Yang SH, Kim SH, Chung HS and Dong MS. (2004). Hepatoprotective and blood alcohol lowering effects of fruit peduncle extract of *Hovenia dulcis* var. *koreana* in the *in vitro* and *in vivo* animal models. Yakhak Hoeji. 48:34-40.
- Park SH and Chang EY. (2007). Antimutagenic and cytotoxic effects of *Hovenia dulcis* Thunb leaves extracts. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 36:1371-1376.