

최 종
연구보고서

첨단기술을 이용한 자생오갈피, 오미자류의
유전자원 수집동정 및 우량품종 개발

Development of superior *Acanthopanax* and
Schizandra for genetic resource conservation
and mass production by advanced technology

국립산림과학원

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “첨단기술을 이용한 자생오갈피, 오미자류의 유전자원수집동정 및 우량품종 개발”에 관한 연구의 최종보고서로 제출합니다.

2004 년 8 월 일

주관연구기관명 : 국립산림과학원

협동연구기관명 : 순천대학교

총괄연구책임자 : 이 갑 연

협동연구책임자 : 정 재 성

세부연구책임자 : ”

연 구 원 : 이 성 규

협동연구기관명 : 강원대학교

연 구 원 : 허 성 두

협동연구책임자 : 박 완 근

연 구 원 : 이 병 실

연 구 원 : 김 기 철

연 구 원 : 이 정 주

연 구 원 : 김 중 한

연 구 원 : 김 원 우

연 구 원 : 박 유 현

연 구 원 : 이 상 봉

연 구 원 : 장 경 환

연 구 원 : 강 영 재

연 구 원 : 한 무 석

연 구 원 : 유 세 결

요 약 문

I. 제 목

첨단기술을 이용한 자생오갈피, 오미자류의 유전자원수집동정 및 우량품종 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 필요성

우리나라에 자생하는 많은 종류의 식물은 먼 과거부터 건강식품 및 약용으로서 널리 사용되고 있는데, 최근 식물에 의한 新藥資源의 가치에 대한 인식이 전 세계적으로 증대됨에 따라서 유용 자생식물자원을 탐색하고, 이를 수집 보존하여 활용하는 연구에 많은 노력을 기울이고 있다.

오갈피류는 주로 약용으로서 오랜 선조 때부터 이용되어 왔는데 최근의 연구결과에서 가시오갈피(*Acanthopanax senticosus*)는 주로 강장, 강정, 신경통, 중풍, 이뇨, 식욕부진, 건망증, 불면증, 고혈압, 저혈압, 노화현상, 병후나 산후의 자양강장제 및 치료제로, 운동선수나 정신노동자들의 피로회복제로 사용되며, 성분이 따스하고, 독이 없으며, 오로(五勞)와 칠상(七傷)을 보해주고, 견근골(堅筋骨)하며 견지의(堅志意)한다고 보고 되었는데, 특히 가시오갈피나무의 뿌리는 흥분완화작용, 당뇨병 치료효과 및 항암제의 부작용을 경감시킨다는 임상연구에 대한 결과가 발표되었다.

오미자류는 식용 및 기호식품으로 각각 이용가치가 높다. 특히 오미자류의 오미자와 흑오미자(*Schizandra nigra*)를 포함하여 가시오갈피는 식·약용 가치가 인정되면서 극히 제한된 지역에 소규모로 자생하고 있는 천연자원을 채취·이용되고 있으므로 인하여 자생군락이 파괴되고, 우량 유전자원이 감소되고 있는 실정이므로 天然資源으로서의 존재가 매우 희귀하다.

일부 국가의 연구기관과 사설 연구소에서 오미자류와 오갈피류에 대한 성분과 약성 및 상품화에 대한 연구가 상당히 활발하게 이루어지고 있으나, 품종선발과 재배방법 등에 대한 연구 사례가 매우 적으며, 수요에 대한 공급부족으로 자생수종에 대한 적극적인 활용보다 외국 재료의 수입 또는 도입종의 단순재배에 의한 상품화에

편중되어 있다. 이것은 조속한 산업화와 단기소득창출에는 효과적이거나, 장기적인 측면에서는 약효가 높고 자원으로서의 가치가 높아 무한한 개발의 잠재력이 있는 우리나라 자생식물자원의 개발에 장애를 초래한다.

따라서 이러한 자생유용식물자원에 대한 체계적인 수집, 보존, 분류 및 육성연구에 의한 우량품종의 개발과 보급기반을 조성하는 연구가 필요하고, 우리나라 토종 자생종의 우수한 성분특성을 활용한 국가 경쟁력확보와 短期 山林所得資源을 개발하여 산지자원의 보존과 고유자원의 유효활용을 주요 목적으로 한다.

2. 기술적 측면

오갈피 및 오미자류의 식용 및 약용으로서의 가치가 인정되는 오갈피류 및 오미자류는 극히 제한된 지역에 소규모로 자생하고 있는 천연자원을 채취·이용하고 있으므로 인하여 自生群落이 파괴되고, 우량 유전자원이 감소되고 있는 추세이다.

따라서 자생 식물 유전자원을 체계적으로 탐색하여 이를 수집·보존하는 국가 차원의 연구사업과, 첨단 생물공학기법을 이용하여 우량 유전자원을 분류·동정하고 이를 品種化하는 기반 연구가 필요하다.

한편 육종개량할 대상식물은 자유로운 교배를 통해 풍부한 결실이 되므로 다수의 식물개체수가 요구된다. 그러나 오갈피류는 자생지와 그 개체수가 극히 희소하고 활용가치가 높은 것으로 평가되고 있어 대량증식이 매우 필요하며, 오미자류에 대해서도 자생지역의 분포지역이 한정되어 있고 개체수가 적어 개체의 보존과 재배법을 확립하고 대량 증식하는 것이 중요하다.

본 연구에서는 이와 같이 희소하면서 귀중한 유용자원에 대한 파종 및 삼목시험을 통해 대량번식기술을 개발함으로써 희귀자원의 멸종위기를 해소하는 효과가 기대되며, 다수의 산지로부터 자생식물을 수집, 보존하고 이를 선발육종의 대상으로 하여 산지개체별 생장, 결실특성 및 약용성분 분석 등 산지검정을 통하여 優良 藥用植物 품종의 육성이 기대된다.

3. 경제·산업적 측면

오갈피 및 오미자류를 재료로 한 건강음료가 다양하게 개발되면서 다량의 원료 공급을 요구하고 있다. 이들 수요에 충족시키기 위한 방법으로 일부 농산촌에서는 도입종을 재배하고 있으나, 약효가 우리나라 자생종에 미치지 못하여 토종 국산품 원료의 품귀현상이 발생되고 있다.

특히 오갈피류 중에서 가시오갈피는 관절염, 당뇨병 및 순환기계 질병에 뛰어난

약효가 알려지면서 재배수요가 증가하는데 반하여 국내 자원이 희귀하여 중국산 종자번식묘가 소수 종묘상에서 판매되고 있거나, 러시아에서 다량 생산되어 일부는 국내에 유입 시판되고 있다.

가시오갈피의 주요약효 성분 중 Eleutheroside E와 Chlorogenic acid의 함량은 자생지나 재배지에 따라서 유의한 차이를 나타내는데, 이러한 물질의 차이는 자생지의 환경조건과 더불어 유전적 배경에 기인하므로 우리나라 고유의 기후와 토질에 따른 특징으로 수입제품에 비하여 고유의 유효성분이 높은 비율의 함량으로 구성되어 약효측면에서 우수한 것으로 알려져 추후 수요의 증가는 지속될 추세이다.

오미자류의 경우에는 암 오미자에서만 열매가 형성되며, 소비되는 열매는 야생 상태에서 불법적으로 채취되고 있기 때문에 산림 내 분포지 훼손이 심각하고 또한 가격이 매우 높기 때문에 일반인이 쉽게 구입할 수 가 없다. 따라서 암수 구별을 통한 암오미자의 실생묘를 과수원과 같은 형태로 조성하여 재배를 하게 되면 산지의 고효율 소득 작물로서 기여될 것으로 판단된다.

한편 토종 국산재를 원료로 사용한 건강음료의 상품과 외국 도입품종을 사용한 상품에 대한 불명확한 차별성으로 국제 경쟁력이 확실하지 않아, 우량 고품질의 품종 개발에 의한 차별화로 국가 경쟁력의 확보와 단기 산림소득자원의 조속한 개발이 요구된다.

4. 사회·문화적 측면

오랜 역사문화를 중요시하는 우리나라 국민정서에 도입 식물을 이용한 전통 기호식품의 재료로 사용하는 차원은 일반 상식적으로도 국민정서에 적절하지 못하고, 전통문화에 대한 신뢰감이 저하되어 자긍심의 퇴화를 초래할 수도 있다. 따라서 전통문화에 대한 자긍심을 자연스럽게 심어 줄 수 있는 토종자생의 소중함과 전통이 함유되어 있는 식용 및 약용 식물로서 발굴하고 우량품종을 개발·육성하며, 이를 원료로 하는 건강음료와 기호식품 그리고 약용자원으로 확대·활용할 수 있는 기초기반의 여건조성으로 보다 폭 넓은 연구가 필요하다고 할 수 있다.

한편 천연자생 수종인 가시오갈피 등이 자생지 훼손과 개체 감소 등 유전자원의 보호라고 하는 측면서도 매우 중요하여 산림청에서는 희귀 및 멸종위기 식물로, 환경부에서는 보호야생식물로 각각 지정하고 보호하고 있는 실정이다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

제한된 자생분포 지역과 개체가 희소한 가시오갈피와 오미자류에 대하여 유전자원 수집동정과 산지검정을 실시하며, 재배기술을 개발하기 위하여 종자발아 및 삼목 발근을 증진시험과 생육 적정 庇蔭度を 구명하며, 시료의 부위별 대절처리 및 맹아 수 조절에 의한 다경유도시험과 산지식재 시험을 수행한다.

또한 우량품종 선발에 있어서 산지별(5個 產地) 생장, 엽(葉) 및 개화결실 특성 조사에 의한 산지 검정을 실시하고 이를 통하여 우량개체 선발과 품종 특이적 marker선발하며, 선발된 우량개체를 바탕으로 보급기반 조성을 위한 採種園을 조성한다.

생물학적 검증을 통한 우량품종 육성방안을 검토하는데 우선 오갈피류와 오미자류에 대한 PCR(유전자자동증폭장치)의 최적조건 확립을 위하여 genomic DNA 추출법을 구명하고, DND 농도별 PCR pattern 변화, 품종 및 개체 변이 조사 그리고 PCR 방법의 표준화를 검토한다. 또한 오미자류에 대해서는 암수유전특성을 구명하기 위하여 흑오미자를 중심으로 genomic Library의 제작과 암수염기서열의 screening, 염색체 구성(조사)확인을 검토한다.

또한 염기서열에 의한 염색체를 조사, 유전자 분석, 실생묘 SCAR marker 조사 등으로 screening에 의한 신 SCAR marker 개발과 표지현장 활성화로 암수 SCAR marker를 검증한다. 이와 더불어 미숙배의 배양계 탐색과 최적배지 조성조건의 확립으로 기내대량 증식법을 개발하고, 배양묘의 순화 시험으로 순화 최적 광도, 온도조사를 실시한다.

자생지별 가시오갈피와 오미자의 외부형태를 주사전자현미경(SEM)을 이용하여 가시오갈피와 오미자의 산지간 화분의 외부형태적 특징과 차이점을 관찰하였다.

오갈피와 오미자류의 유전자원을 탐색으로 자생지의 다양한 변이체 등의 선발을 위하여 육종집단 조성용 자원수집 및 보존하고, 유전자원의 분류와 형태학적 특성조사로 품종 분류를 동정과 DNA분석과 변이검사로 유전변이 분석으로 분류형태학적 변이의 규명 등을 본 과제의 범위로 하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

가시오갈피 및 오미자류의 식용 및 약용으로서의 가치가 높게 인정되고, 일반적으로 알려지면서 소비량이 매우 증가되어 있다. 그러나 가시오갈피 및 오미자류는 극히 제한된 지역에 소규모로 자생하고 있지만 이를 천연상태에서 채취하여 이용하고 있는 실정이다.

이로 인하여 자생 군락지는 파괴되고, 우량 유전자원이 감소되고 있는 추세이므로 자생 식물 유전자원을 체계적으로 탐색하여 수집과 보존하는 국가차원의 연구사업과 첨단 생물공학기법을 이용하여 우량 유전자원을 분류 및 동정을 하고 이를 품종화하는 기반조성이 필요하였다.

특히 인체의 순환기 계통 등에 약용가치가 뛰어나게 높은 가시오갈피류에 대하여 소비량에 따른 공급 충족을 위하여 대량증식이 매우 필요하며, 오미자류에 있어서도 자생지역의 분포지역이 한정되어 있고 개체수도 대단히 적어 개체의 보존과 개체의 생리 생태적 특성을 구명과 재배법을 확립을 목표로 다음과 같이 수행하였다.

먼저 제한된 자생분포지역과 개체가 희소한 가시오갈피에 대하여 유전자원 수집 동정과 산지검정을 평창, 삼척 등지에서 실시하였는데 60% 이상의 차광지역 해발 약 800m의 고산지역에서 일반적으로 생육하였다. 이를 임가에서 재배될 수 있도록 우수산지를 선발하였으며, 재배기술의 개발로 종자발아 시험에서 노천매장과 상온화분 저장처리 등 2처리 별로 종자저장처리를 하여 파종시험을 실시한 결과에서 발아율은 상온화분저장처리에서 89%로 82%의 노천매장보다 다소 양호하게 나타났다.

발아 실험을 위한 혼합상토 재료로 토사입경 1mm의 세립토사형인 BM₁의 상토에서 발아 및 생육상황이 양호하였으며, 파종복토에서의 발아율은 Peatmoss보다 Vermiculite에서 우수하게 나타났다.

산지별 삼목발근율 증진시험으로 peatmoss와 vermiculite, perlite를 같은 양으로 배합한 배양토를 상토로 가시오갈피의 산지 또는 clone별 숙지삼목을 실시한 결과 덕유산 등 6산지 중에서의 평균 발근율은 34.2%로 나타났고, 을수2의 경우 54.2%로 가장 높은 발근율로 나타났다. 생육 적정 차광도를 구명에서는 25~50%의 차광이 적정한 것으로 나타났으며, 시료의 부위별 대절처리 및 맹아수 조절에 의한 다경 유도시험과 산지식재 시험을 수행한 결과에서는 주간을 존치하고 근맹아의 중단부를 절단한 처리에서 다경수 5개로 가장 우수하였으며, 다경의 생장 길이에서도 47cm로 가장 양호하였다

또한 우량품종 선발에 있어서 5개지역의 產地別 생장, 葉 및 개화결실 등의 특

성조사에 의한 산지 검정으로 가시오갈피 21산지에 대한 성장특성조사를 실시한 결과 을수2 등이 수고, 근원경 및 신초생장 등 산지간 차이가 크게 나타났으며, 홍천2와 홍천1, 덕유산, 홍천6 및 오대산등 5개 산지는 신초생장 등이 양호하여 산지선발이 유망하였고 보급기반 조성으로 종자연구소의 춘천과 충주 시험림에 채종원을 조성하였다.

생물학적 검증을 통한 우량품종육성 방안을 검토하였는데 가시오갈피에 대한 PCR의 최적조건 확립을 위하여 genomic DNA 추출법으로 kit를 이용한 경우가 비교적 깨끗한 DNA가 추출되었다. 또한 PCR에 이용되는 DNA의 농도에 따른 band pattern 변화여부를 확인하기 위하여 10ng, 30ng, 50ng, 100ng/100 μ l의 DNA를 첨가하여 PCR을 수행한 결과, 10 ng에서는 적은 수의 band를 얻었고, 50 ng과 100 ng의 경우는 비특이적인 band 또는 smear한 band pattern을 보여 많은 양의 template가 오히려 PCR을 저해하는 것으로 나타났다.

또한 품종 및 개체 변이 조사에서 모든 primer에 대해 가시오갈피와 다른 band pattern을 나타내어 품종간에 많은 유전적 변이가 존재함을 확인할 수 있었다. 산지별로 구별한 RAPD의 수행 결과, 120개의 primer 중 112개의 primer에서 국산 및 외국산을 분류할 수 없는 동일한 band pattern을 나타내었으나 8개의 primer에 대해 polymorphic한 band pattern을 보여 지리적 분포에 따른 차이를 확인할 수 있었다.

가시오갈피의 기내대량증식법 개발에서 체세포배 형성을, 식물체 재분화율 그리고 토양순화율에 있어서 고체배지와 액체배지의 배양형태에서 차이가 다소 있지만 체세포 배발생에 의한 식물체의 생산성은 높게 나타나 멸종위기에 처한 약용식물인 가시오갈피의 대량번식은 배발생 캘러스와 현탁배양에 의해 가능해질 수 있다고 사료되었다.

한편 유전자원을 탐색으로 자생지의 다양한 변이체 등의 선발을 위하여 육종집단 조성용 자원수집 및 보존하고, 유전자원의 분류와 형태학적 특성조사로 품종 분류를 동정과 DNA분석과 변이검사로 유전변이 분석으로 분류형태학적 변이의 규명을 하고자 하였다.

그 결과 산지별로 가시오갈피의 가시와 주화경에서 산지간에 변이 폭이 큰 것을 알 수 있었고, 유전변이 분석을 위한 DNA 시료에 의한 집단간 개체변이는 20개의 primer를 이용하여 오갈피와 5개지역(삼악산, 오대산, 치악산, 중국, 러시아)으로부터 수집되어 재배되고 있는 가시오갈피에 대한 RAPD를 수행한 바, 모든 primer에서 가시오갈피와 오갈피간에 다양한 polymorphism을 보이는 것으로 나타났다.

자생지별 가시오갈피의 산지간 화분의 외부형태적 특징과 차이점을 SEM으로 관찰한 결과, 발아구의 길이와 폭, 그리고 발아공의 길이에서 차이가 있을 뿐 산지간

에 거의 동일한 형태인 것으로 나타났다. 발아구의 길이는 대부분 산지의 개체들은 15 μm 정도인 것에 반하여 중국에서 들여와 재배되고 있는 개체의 화분은 평균 22.07 μm 로 차이가 인정되었다. 또한 발아구의 폭에서는 크게 2개의 그룹 즉, 평균 3 μm 정도의 폭을 갖는 개체와 평균 6 μm 정도의 폭을 갖는 그룹으로 구분되었다. 그리고 발아공의 길이에서는 대부분 산지의 개체들은 5 μm 정도인 것에 반하여 덕유산 지역 개체의 화분은 평균 2.78 μm 로 작은 발아공을 갖고 있어 차이가 인정되었다.

한편 오미자류에서 흑오미자는 직경이 굵을수록 개화결실과 열매의 충실한 발육이 이루어져 집약재배를 하고자 할 때에는 충분한 비배관리가 요구되는 것으로 사료되었으며, 종자발아에서는 파종 2년차 발아율에 있어서 냉장습사처리구와 노천매장처리구가 93~95%로 양호한 발아율을 나타낸 반면 냉장저장 및 비교구인 상온저장처리구에서는 38~61%로 낮은 발아율을 보였다.

그리고 삼수에 의한 번식에서 삼수 채취시기는 삼수가 경화되지 않은 7월 초순에 채취하여 IBA 500 mg/l 를 처리하여 삼목 하였을 경우가 가장 효과적일 것으로 판단되며, 삼목상토별 발근율에서는 배양토 + 마사에서 가장 높았고, 온실보다는 수하에 위치한 삼목상에서 다소 양호하였다.

오미자류의 암수유전특성을 구명하기 위하여 흑오미자를 중심으로 20개체의 신품종을 무작위로 선택하여 암수 SCAR marker의 유용성을 검증하였다. 20개의 표본으로부터 잎을 채취하여 genomic DNA를 분리한 후, 성의 구별이 가능하였던 특이적 primer들을 이용하여 PCR을 수행하였다. 그 결과 20개의 표본 중 9개의 DNA에서 460 bp의 band가 검출되었고, 암그루 특이적 marker인 female 1 primers를 이용한 경우에는 12개의 PCR 산물에서 436 bp의 band를 검출할 수 있었다.

오미자의 외부형태학적 형질 가운데 자생지간 뚜렷한 차이를 보이는 형질은 없었으며 형질의 연속성이 인정되었으나 과실의 수에서 차이를 나타냈다. SEM을 이용하여 오미자의 산지간 화분의 외부형태적 특징과 차이점 크기나 모양에서 특이적 큰 차이가 나타나지 않았으나 오대산의 과실이 비교적 충실하게 나타났다.

본 연구에서 도출된 성과와 같이 국민의 건강한 생활향상의 일환으로 지속적인 토종자원의 탐색이 필요하며 이를 위하여 주요정책사항으로서 지원이 요청되었다.

이상과 같이 본 연구의 성과는 한국 생태학회, 한국임학회 그리고 농림기상학회에 연구결과의 일부를 아래와 같이 발표하였으며, 계속하여 연구학술지에 투고하여 가시오갈피와 오미자류에 대하여 재배기술 등을 보급할 예정이다.

○ 허성두, 박유현, 이갑연, 유세걸. 2001. 오갈피와 가시오갈피의 자생지 생장 및 엽 특성. 한국농림기상학회 2001 학술발표논문집 89-92.

○ 허성두, 박유현, 이갑연, 이성규, 김기철, 이정주, 이위영. 2003. 가시오갈피의 자생

지 특성 및 산지간 성장비교. 한국임학회 2003 학술발표논문집 271-273.

- 김판기, 이갑연, 허성두, 김선희, 이은주. 2003. 차광처리가 가시오갈피의 광합성 활성에 미치는 영향. 한국생태학회지 26(6):321-326.

SUMMARY

Acanthopanax spp. native in Korea, known to have high medical use values but are getting rare in their original habitats. *Schizandra* spp. are also known to be favorable food materials and heavily rely on collecting in the original habitats than cultivation so far. Both plants are limited in their distribution and their original habitats are rapidly disturbed by recent human activities. So it is urgently needed to find ways to conserve their genetic diversities.

In this study, we aimed to 1) to find better way conserving valuable resource plants, 2) to clarify eco-physiological characteristics of the plants, 3) to establish their cultivation in the field, and 4) to provide efficient mass production methods.

We carried out the field survey in Pyongchang and Samchuck on native *Acanthopanax* and found that they generally grew under 60% shaded on 800 m above high elevation habitats. We selected superior populations for cultivation and found that pot treatment in room temperature showed higher seed germination than buried under the ground. Seed germination test was performed better in 1 mm soil (BM1) than 2 mm soil (BM2) and also vermiculite was better than peatmoss.

In rooting experiment, the average rooting rate was 34.2% among 6 habitats and Eulsu 2 resulted the highest rate, such as 54.2%. We found that 25-50% shaded treatment appeared best result in tree growth rate. In branching test, when the main branch were present and root shoots were removed treatment showed better branching growth (47 mm).

In a superior population selection test based on growth characteristics of 21 habitats, Eulsu 2 appeared good performance in height, root circumference, new shoot growth, and Hongchon 2, Hongchon 1, Dukyusan, Hongchon 6 and Odaesan showed better results in new shoot growth. Therefore we established forests for seed collection in National Forest Seed Research Institute (Chunchon and Chungju).

We also experimented genomic DNA extract method to find out better genetic traits and found that 30ng/100 μ l DNA extract addition showed good

results. There were many genetic variations among inter habitats and inter individuals. In RAPD analysis, 112 among 120 primers showed no difference in band patterns between native and foreign samples. Eight primers showed polymorphic bands which indicating distinct geographical distribution patterns.

Solid and liquid growth media experiment showed a little differences in embryo formation rate, re-differentiation & field adaption and this results suggested that mass production could be possible by using callus and suspension culture.

We also tried to elucidate taxonomic and morphological variations by various molecular techniques and classical methods. The results showed that there were variations in thorns and flower patterns among habitats. In RAPD test using 20 primers, *Acanthopanax senticosus* and *A. sessiliflorus*, which were collected from Samaksan, Odaesan, Chiaksan, China & Russia, revealed polymorphism between these two species.

There were small differences by using SEM observation in pollen germination pore, pollen length & width and pore length but no difference among the habitats. *Acanthopanax senticosus*, which came from China, had 22.7 μm in pollen germination pore length and native ones showed around 15 μm . In pollen germination pore width, there were 2 groups, one had 3 μm and another had 6 μm . In pore length Dukyusan pollen had 2.78 μm but other populations had average 5 μm .

Schizandra nigra showed better fruit growth and production when they had thicker stems. In their seed germination test, by using 2-year old seeds, cool-wet treatment and out-side ground treatment showed 93-95% germination rate but room temperature treatment showed 38-61% germination rate.

For the propagation by cutting stem method, we got better results when we picked the samples in early July then treated IBA 500mg/l and cultivated soil with coarse sand. We tested 20 individual plants to discriminate male and female characters of *Schizandra spp.* by applying SCAR marker. We picked leaves from 20 individuals, then extracted genomic DNA and used specific primers. We were able to detect female specific marker, female 1 primer, and obtained 436bp band from 12 PCR products.

Schizandra chinensis had no external morphological difference among

habitats but showed differences in fruit numbers. There were no difference in pollen external morphology among populations and *S. chinensis* from Odaesan generally showed good fruiting.

In conclusion, there is a potential to select superior populations for two important resource plants, *Acanthopanax* & *Schizandra*, and we expect that it is worth to apply this study result for better production and better income in commercial forestry.

CONTENTS

Chapter 1	Research outline -----	15
Chapter 2	Present status of technology development -----	25
Chapter 3	Development of superior <i>Acanthopanax</i> -----	28
Section 1.	Study site survey -----	28
Section 2.	Development of cultivation technique -----	33
Section 3.	Investigation of light condition and tree growth -----	44
Section 4.	Field try of selected populations -----	52
Chapter 4	Development of superior <i>Schizandra</i> -----	64
Section 1.	Selection of superior <i>Schizandra chinensis</i> -----	64
Section 2.	Environmental condition of <i>Schizandra nigra</i> -----	69
Section 3.	Morphological traits of fruit -----	74
Section 4.	Propagation method -----	76
Chapter 5	Molecular characteristics and propagation system -----	91
Section 1.	<i>Acanthopanax senticosus</i> -----	91
Section 2.	<i>Schizandra nigra</i> -----	116
Section 3.	<i>Schizandra chinensis</i> -----	125
Section 4.	Development of micropropagation technique -----	128
Chapter 6	Morphological study of <i>Acanthopanax</i> & <i>Schizandra</i> -----	137
Section 1.	Search for genetic resource & identification -----	137
Section 2.	Cultivar identification and genetic variation analysis -----	151
Section 3.	DNA variation & morphological traits -----	173
Chapter 7	Goal achievement level and contribution to related areas ---	207
Chapter 8	Practical application of results -----	211
Reference	-----	213

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요 -----	15
제 2 장 국내외 기술개발 현황 -----	25
제 3 장 오갈피의 우량품종 육성 -----	28
제1절. 자생 오갈피의 산지환경조사 -----	28
제2절. 재배기술개발 -----	33
제3절. 광환경과 생장관계 구명 -----	44
제4절. 가시오갈피의 山地식재시험 -----	52
제 4 장. 오미자류의 우량품종 육성 -----	64
제1절. 오미자의 우량품종 선발 -----	64
제2절. 흑오미자의 자생환경 -----	69
제3절. 흑오미자 선발개체에 의한 과실의 형태적 특성 -----	74
제4절. 흑오미자 번식 -----	76
제 5 장 자생오갈피 오미자류의 분자생물학적 특성 분석 및 증식체계 확립 --	91
제1절. 가시오갈피 -----	91
제2절. 흑오미자 -----	116
제3절. 오미자 -----	125
제4절. 가시오갈피의 기내대량증식법 개발 -----	128
제 6 장 자생지별 가시오갈피와 오미자의 외부형태학적 연구 -----	137
제1절. 자생지 유전자원 탐색 및 품종 분류 동정 -----	137
제2절. 품종 분류 동정 및 유전변이 분석 -----	151
제3절. DNA 변이 분석 및 분류·형태학적 변이 규명 -----	173
제 7 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 -----	207
제 8 장 연구개발결과의 활용계획 -----	211
참고문헌 -----	213

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 우량품종 육성

1. 재배기술개발

가. 번식법 개발

가시오갈피 종자발아율 향상 및 파종 건전묘 생산을 위하여 파종시험을 하였는데 연구수행 1차년도 가을에 수입한 종자로서 2종의 전처리 즉 露天埋藏과 常溫盆貯藏하였으며, 이와 같이 처리된 종자를 온·습도 및 차광조절 비닐하우스 파종상에 산파하였다. 파종량은 화분저장 6㎡과 노천매장 39㎡이었다.

파종상토는 混合床土로 입자가 고운(1mm) BM₁ 상토와 거친(2mm) BM₂ 2처리로, 그리고 복토는 Peatmoss와 Vermiculite 2처리로 하여 각각 발아율과 발아묘 生育狀況을 조사하였다.

삽목시험은 상토로서 혼합토(Peatmoss, Vermiculite 및 Perlite 동률), 혼합토+모래 그리고 풍화토+Perlite 3종으로 하였으며 녹지삽수로서 액아 1단, 2단 및 정아 3종으로 각각 처리하여 挿木 후 발근율을 조사하였다.

가시오갈피 번식법개발을 위해 다경유도의 대절시험을 실시하였는데 실생 5년생묘를 대상으로 주간과 맹아를 존치 또는 절단하는 등 3종 처리 후 발생한 다경수와 다경길이를 측정하였다.

나. 생육적정 차광도 구명

본 연구 수행 초년도부터 계속하여 가시오갈피 생육에 적정한 차광도를 구명하기 위해 이식묘(1-2), 6년생 분근묘 그리고 식재목을 대상으로 55%등 遮光處理 후 처리별 생육특성을 조사하였다.

다. 산지식재시험

가시오갈피 산지재배법 및 산지의 차광도구명을 위해 산지식재시험 하였는데, 시험재료목은 1-2묘, 식재지 임분은 침엽수(스트로브잣나무)림과 활엽수(갈참나무류 등) 2처리로 구분식재(2003년 국립산림과학원 산림종자연구소의 충주시험림 내)후 생육특성 조사하였으며, 한편 식재지의 上層林冠에 있어서 울폐도 50%이상 및 이하로 구분하고 생육특성을 조사하였다.

2. 광환경과 생장관계 구명

가. 시험지 및 차광처리

2002년 봄 국립산림과학원 산림종자연구소 시험림에 0.1ha의 가시오갈피 차광시험지가 조성되었다. 차광은 50%, 75% 및 90%등 3시험구로, 시험목은 1-2묘로 시험구별로 80본씩 식재되었다.

나. 건중조사

2003년 7월 각 시험구에서 평균적 생장을 나타내는 3개체를 세근까지 굴취한 다음, 잎, 엽병, 줄기, 뿌리로 구분하여 시료를 채취하였다. 잎은 채취직후에 개체당의 엽면적, 개엽면적, specific dry mass 등을 조사하기 위해서 탁상형 엽면적기(Li-2100, Li Cor Inc.)로 엽면적을 측정하였다. 채취한 시료는 105℃에서 30분가량 통풍식 건조기로 건조시킨 후, 80℃에서 2일간 건조시켰다. 건조시킨 시료는 chemical balance를 사용하여 乾重을 조사하였다.

다. 엽록소 함량 조사

각 시험구에서 평균적 생장을 나타내는 6개체에서 동일한 시기에 전개한 成熟葉 2매씩을 채취하였다. 채취한 시료의 중앙 葉脈을 중심으로 선단부의 좌우에서 1cm² 葉片을 채취하였다. 채취한 切片을 10ml의 DMSO (dimethyl sulfoxide)가 들어있는 vial병(30ml)에 넣은 후, 60℃로 설정된 항온수조에서 8시간 동안 色素를 추출하였다 (김판기 등, 1999b; Hiscox 등, 1979).

추출한 용액의 흡광도(663nm, 645nm)를 UV/VIS spectrophotometer (Unicon 933/942, Kotron)로 측정함 다음, Arnon(1949)의 방법에 따라서 추출용액에 함유된 엽록소 함량을 산출하였다. 산출된 값을 사용하여 葉面積(g m⁻²)당 엽록소 *a*, *b*, *a+b* 함량을 구하고, 이를 사용하여 엽록소 *a/b*와 *a+b*를 산출하였다.

라. 광합성 조사

광도 및 葉肉內 CO₂농도 변화에 따른 광합성반응(light response curve, *A-Ci curve*)을 조사하기 위하여, 휴대용 광합성 측정기(Li-6400, Li Cor)를 사용하였다. 측정 앞에 조사되는 빛의 광도와 leaf chamber에 유입되는 공기의 CO₂농도를 임의로 조절하기 위하여 광합성측정기에 LED light source(6400-02, Li Cor)와 CO₂ injector system(6400-01, Li Cor)을 부착하여 사용하였다.

광합성측정기는 사용 전에 sodalime / $500\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ 의 표준가스와, CaSO_4 / 노점발생기(Li-610, Li Cor)로 적외선 가스분석장치(IRGA)의 Zeor / SPAN calibration을 수행하였다.

광도변화에 대한 광합성반응 조사는 광합성측정기의 leaf chamber에 유입되는 공기의 유량을 $500\mu\text{mol s}^{-1} \text{ air}$ (약 670ml min^{-1}), 온도를 $25.0\pm 0.2^\circ\text{C}$, CO_2 농도를 $400\pm 2 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ air}$ 조건에서 측정하였다. 光度는 PPFD 0, 50, 75, 100, 150, 300, 600, 1,000, 1,500 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 의 9수준으로 조절하였다.

葉肉內 CO_2 농도변화에 대한 광합성반응 측정은 광도 PPFD $1,000\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 에서 수행하였으며, leaf chamber에 유입되는 공기의 유량과 온도는 광도변화에 대한 광합성반응 측정과 동일한 조건이다. Leaf chamber에 공급되는 공기의 CO_2 농도를 0, 50, 100, 200, 400, 800, $1,200\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ air}$ 의 7수준으로 조절로 하면서 광합성을 측정함으로써 葉肉內部의 CO_2 농도를 변화시켰다.

葉肉內部의 CO_2 농도는 Farquhar and Sharkey(1982)의 식을 적용하여 산출하였다.



그림 1. 시험지에서 휴대용 광합성측정기(Li-6400, Li Cor Inc.) 측정 모습.

광도별에 광합성 속도를 측정하여 김관기와 이은주(2001)가 제시한 방법으로 광-광합선곡선(light response curve)을 작성하고, 이 곡선에서 純量子收率(apparent quantum yield), 암호흡 속도, 광보상점, 광포화점, 광합성능력(photosynthetic capacity)을 산출하였다.

純量子收率は Kok효과(Kok, 1948; Sharp 등, 1984)의 영향이 작은 PPFD 0 -

100 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 영역에서 광과 광합성의 직선회귀선 $y = a + bx$ 의 기울기 b 이다(Evan and Thomas, 2000; Fernando 등, 1997; Martin 등, 1997; Ro 등, 2001). 純量子收率은 약광 조건에서 광합성능력의 지표가 되고 광에너지가 화학에너지로 변환시키는 광화학계(photosystem)의 활성을 나타낸다(Evans, 1987; Wilmott and Moore, 1973).

직선회귀선의 x 절편($L_{comp} = -a / b$)을 광보상점(L_{comp})으로, 직선회귀의 연장선과 광도에 따른 광합성 속도의 증가가 매우 완만하게 나타나는 PPFD 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 이상에서의 광합성 속도(A_{sat})가 서로 만나는 접점 $L_{sat} = (A_{sat} - a) / b$ 을 산출하여, 그 값을 광포화점(L_{sat})으로 하였다. 광합성능력은 광포화점보다 높은 광도에서의 광합성속도를 평균하여 그 값으로 하였다.

광합성측정기의 leaf chamber에 공급되는 CO_2 농도를 다르게 하여 측정된 광합성속도의 결과를 사용하여 葉肉內 CO_2 농도(C_i)와 광합성(A)의 관계를 나타내는 $A-C_i$ curve를 작성하고, 이 결과에서 탄소고정효율(carboxylation efficiency), CO_2 보상점, 광호흡속도, 최대 광합성속도를 산출하였다.

탄소고정효율은 C_i 에 따른 광합성의 증가가 직선적으로 이루어지는 C_i 150 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ air}$ 이하에서의 회귀직선 $y = a + bx$ 의 기울기 b 이다. 이 값은 광합성에서 CO_2 固定系의 활성을 반영하고 있다(彦坂, 1997; 牧野, 1999; Farquhar 등, 1980).

이 회귀직선에서 y 절편인 a , 즉 C_i 의 값이 0 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ air}$ 일때의 CO_2 교환속도를 광호흡속도로 하였다. 이 값을 광호흡속도의 절대 값으로 간주하기에는 많은 문제점이 있으나, 일반적으로 광호흡속도의 지표로서 사용되고 있다(김판기와 이은주, 2001; 古川, 1978; Ro 등, 2001). 그리고 CO_2 보상점(C_{comp})을 직선회귀의 x 절편인 $C_{comp} = -a / b$ 로 산출하였다.

3. 우량품종 선발

1998년부터 2001년까지 국립산림과학원 산림종자연구소 시험림에 강원 인제 등 가시오갈피 21개의 산지검정림이 기존에 조성되었으며, 생장과 결실이 우수한 품종 육성을 위하여 産地 檢定林에 대한 산지별 생장 및 개화결실 특성을 조사하였다.

제 2 절 분자생물학적 특성분석 및 증식체계 확립

1. 가시오갈피나무 및 오미자

가. 식물재료

본 실험에 사용한 식물재료는 국내에 자생하고 있는 가시오갈피와 중국산 및 러시아산 가시오갈피를 기본적으로 적용하였으며, 필요한 경우에는 강원대학교와 산림과학원원 팀과 동일한 개체를 재료로 사용하였다. 오미자류에 대해서는 자생산지의 분포조사를 실시하면서 일부를 시료로서 채취하여 분석연구에 이용하였다.

나. RAPD (random amplify polymorphic DNA) 이용 개체변이 구명

1) Primer

Operon Technologies, Inc로부터 OPA kit (20 primers)부터 OPF kit (120 primers)까지 총 180개의 random primer를 구입하였고, 현재 OPB, OPD, OPE kit 중 80개의 primer에 대한 PCR을 수행하고 있다.

2) RAPD

오갈피나무의 개체변이를 구명하기 위해 80개의 primer를 이용하여 RAPD를 수행하였다. PCR 반응액은 30 ng의 template DNA, 25 pmole의 primer (decanucleotide), 각 200 μ M의 deoxyribonucleic acid, 1.5 mM MgCl₂, 1/10의 10 \times PCR buffer (100 mM Tris-HCl, 25 mM MgCl₂, 500mM KCl, pH 8.3), 1.25 unit/ μ l *Taq* DNA polymerase (Takara Co.)를 포함하는 25 μ l의 반응액을 PCR에 사용하였다.

Perkin Elmer사의 GeneAmp PCR system 2400을 사용하여 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 초기 denaturation을 행한 뒤, 94 $^{\circ}$ C에서 30초간 denaturation, 37 $^{\circ}$ C에서 30초간 annealing, 72 $^{\circ}$ C에서 30초간 extension과정을 45회 반복하였다. 마지막으로 72 $^{\circ}$ C에서 5분 동안 반응을 시켰다.

여기에서 얻어진 PCR 산물은 1.2% agarose gel에서 전기영동한 후 ethidium bromide (0.5 μ g/ μ l)로 염색하여 결과를 얻었다.

3) SCAR marker의 개발

가) Agarose gel로부터 DNA의 추출

RAPD를 통해 얻은 marker DNA를 agarose gel로부터 추출해 내기 위해 Ultra clean kit (Mobio, Co.)를 이용하였다. 원하는 부위의 gel을 잘라내어 3배 부피의 Ultra salt 용액을 넣고, 55℃ 항온수조에서 5분간 반응시켰다. 5 μ l의 Ultrabind를 넣어 잘 혼합하여 실온에서 5분간 반응시킨 후 원심분리 (15,000 rpm, 3분)하였다.

침전물에 1ml의 Ultra wash를 넣어 잘 섞은 다음 원심분리 하였고 (15,000 rpm, 5분), 상등액을 버린 후 실온에서 5분간 건조시켰다. 예열된 (55℃) 증류수를 첨가하여 pellet를 녹인 후 원심분리 (15,000 rpm, 5분)하여 상등액을 취하였다. 얻어진 DNA는 정량한 후 염기서열 분석에 이용하였다.

나) 염기서열 분석

DNA 4 μ l에 18 μ l의 멸균증류수를 넣고, 2 μ l의 2 M NaOH, 2 mM EDTA를 넣은 후, 실온에서 5분간 반응시켰다. 여기에 75 μ l의 99.9% ethyl alcohol을 넣어 잘 섞은 후, -70℃에 10분간 두었다. 4℃, 15,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 침전물에 20 μ l의 차가운 70% ethyl alcohol을 넣고 1분간 원심분리 하였다.

침전물은 진공 건조하여 18 μ l의 멸균증류수에 녹여 사용하였으며, ALF-Express automatic sequencer (Pharmacia Biotech)를 이용하여 염기서열을 분석하였다. 염기서열의 homology를 조사하기 위해 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>의 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) program을 이용하였다.

다) SCAR marker의 개발

특이적인 RAPD marker의 염기서열은 SCAR marker의 개발을 위해 인터넷의 Primer3 Input (<http://www.genome.wi.mit.edu>) site에 대입한 후, primer로 적절한 염기서열을 알아내었고 바이오니아사에 의뢰하여 primer들을 제조하였다.

다. 기내 대량 증식법 개발

가시오갈피 배발생 세포주의 유도는 성숙한 나무 유래에서는 매우 어려운 것으로 기존에 조사되고 있으며, 이를 재료로 한 세포주의 유도에 대하여 아직 보고되지 않았다. 가시오갈피의 종자 내 접합자배로부터 배발생 세포주의 유도는 매우 곤란하지만 유일하게 이 접합자배 부위로부터 배발생 세포주의 유도가 보고되었는데, 본 연구에서는 가시오갈피의 종자로부터 단기간에 접합자배의 성숙을 유도하고 이들로부터 배발생 세포주를 유도하는 방법을 개발하였으며, 이로부터 체세포 배발생을 통

한 식물체 재생을 시도하였다.

이와 함께 배지 구성에 따른 최적의 배양계를 검토하기 위하여 생장점을 생장조절물질 (NAA, BA)이 다양한 농도로 혼용 조합된 배지(MS, WPM)에서 callus를 유도하는 최적 조건을 조사하였다.

2. 흑오미자의 암수유전 특성 구명

가. male specific clone의 염기서열 분석

분석을 위한 DNA의 처리 및 homology 분석은 위의 가시오갈피와 동일한 방법으로 수행하였다.

나. male 관련 clone에서 male 특이적 위치 확인을 위한 PCR

male 관련 clone의 염기서열을 분석한 후, Primer 3 Input program을 이용하여 적절한 부위를 primer로 제작한 후 female clone의 DNA와 함께 PCR을 수행하여 male 특이적 위치를 비교 확인하였다.

PCR 반응액의 조성은 10 ng의 template DNA, 각 25 pmole의 primer (decanucleotide), 각 200 μ M의 deoxyribonucleic acid, 1.5 mM MgCl₂, 1/10의 10 \times PCR buffer (100 mM Tris-HCl, 25 mM MgCl₂, 500 mM KCl, pH 8.3), 1.25 unit/ml Taq DNA polymerase (Takara Co.)를 포함하는 25 μ l의 반응액을 PCR에 사용하였다.

온도조건은 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 초기 denaturation을 행한 뒤, 94 $^{\circ}$ C에서 30초간 denaturation, 55 $^{\circ}$ C에서 30초간 annealing, 72 $^{\circ}$ C에서 30초간 extension 과정을 35회 반복하였다. 마지막으로 72 $^{\circ}$ C에서 5분 동안 반응시킨 후, 얻어진 PCR 산물은 전기영동하여 male 특이적 위치에 대한 결과를 얻었다.

다. female specific clone의 분석

1) single colony excision

Screening을 통해 얻어진 plaque는 *in vivo* excision을 실시하였다. 1.5 ml의 microcentrifuge tube에 200 μ l의 *E. coli* XL-1 blue MRF'(OD₆₀₀=1.0), 250 μ l의 phage stock (> 10⁵ phage), 1 μ l의 helper phage (> 10⁶ pfu/ μ l)를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 15분간 배양하였다.

15 ml의 falcon tube에 3 ml의 LB 배지 (10 g tryptone, 5 g yeast extract, 10 g NaCl, 1 ml 1N NaOH/liter)를 첨가한 후 phage 배양액을 넣고 37°C 진탕배양기에서 3시간 배양하였다. 65°C에서 20분간 열 처리 한 후 원심분리 (1,000 xg, 15 분)하여 얻어진 상등액은 새 tube에 옮겨 4°C에 보관하면서 실험에 이용하였다.

1.5 ml의 microcentrifuge tube에 200 μ l의 *E. coli* XL0LR (OD₆₀₀=1.0), 10 μ l의 상등액을 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 kanamycin (50 μ g/ml)이 첨가된 LB plate에 도말하여 37°C에서 18시간 배양하였다. Single colony를 kanamycin (50 μ g/ μ l)이 첨가된 LB 배지에 접종하여 37°C에서 18시간 진탕배양한 후 동량의 60% glycerol에 넣어 -70°C deep freezer에 보관하며 실험에 이용하였다.

2) phagemid DNA의 분리 및 정제

Single colony를 kanamycin (50 μ g/ μ l)이 첨가된 LB 배지에 접종하여 37°C의 진탕배양기에서 포화 배양한 후, Ultra Clean™ Mini plasmid prep kit (Mo Bio)를 이용하여 DNA를 분리하였다. 배양액을 microcentrifuge tube에 옮겨 4°C, 10,000 xg에서 1분간 원심분리한 뒤 침전물에 50 μ l의 cell resuspension solution (10 mM EDTA, 50 mM Tris-HCl, 20 μ g/ml RNase A, pH 7.5)을 넣고 현탁시켰다.

여기에 100 μ l의 cell lysis solution (0.2 N NaOH, 1% SDS)을 넣어 현탁액이 투명해질 때까지 섞은 후, 325 μ l의 binding buffer (3 M potassium acetate, 10% binding salt)를 넣어 2분간 원심분리하였다.

분리된 상층액을 spin filter에 넣어 원심분리한 후, 300 μ l의 wash solution (70% ethanol, 0.1 M Tris-HCl, pH 8.0)을 넣어 원심 분리하였다. Spin filter를 새 tube로 옮겨 50 μ l의 증류수를 넣어 원심분리한 뒤 DNA를 -20°C에 보관하며 제한효소 처리와 염기서열 분석에 이용하였다.

3) 제한효소 처리

제한효소들은 Boehringer Mannheim사에서 구입하여 사용하였다. DNA를 TE buffer에 녹인 후 제한효소를 넣고 37°C에서 1~3시간 반응시켰다. 이것을 65°C에서 10분간 반응시킨 후, 1/6 부피에 해당하는 반응 정지 용액 (50% glycerol, 0.1 M EDTA, 0.025% bromophenol blue, 0.025% xylene cyanol)을 넣어 전기영동을 실시하였다.

4) 염기서열 분석

분석을 위한 DNA의 처리 및 homology 분석은 위의 가시오갈피와 흑오미자의 분석방법과 동일한 수법으로 수행하였다.

제 3 절 분류형태학적 특성 및 유전변이 분석

본 연구는 강원도내의 가시오갈피 자생지와 오미자의 자생지를 대상으로 자생지 유전자원 탐색 및 품종 분류 동정을 수행하여 가시오갈피와 오미자에 대하여 자생지 생육특성 조사를 통한 서식환경 규명과 분류·형태학적 특성 조사를 통한 산지간 변이 규명, 통계처리에 의한 유연관계, 화분분석을 통한 유연관계 그리고, DNA 분석을 통한 산지간 유연관계를 분석하였다.

1. 연구 내용

본 연구에서 수행한 내용은 가시오갈피와 오미자의 다양한 변이체의 선발을 위한 자원 수집 및 보존하고, 가시오갈피와 오미자의 분류·형태학적 특성 조사하며, 가시오갈피와 오미자의 집단간 변이 조사한다. 그리고 각 자생지에서 채취한 시료를 바탕으로 DNA분석 및 변이 검사와 비교하며 가시오갈피와 오미자의 분류학적 변이와 형태학적 변이 그리고 유전변이의 분석을 수행 한다.

2. 조사 방법

대상 수종의 자생지 생육환경 및 유전변이 분석에 대한 상세한 조사내용과 방법은 다음과 같다.

가. 자생지 특성 조사

조사지로 선정된 각각의 지역내에서 최소한 3개 이상의 표준지(plot 규격 10m×10m)를 설정하고, 표준지내에서 출현하는 대상 식물과 주요연구대상 외의 모든 식물종도 함께 조사하였다.

나. 토양의 물리·화학적 성질 조사

각 표준지에서 채취한 토양에 대하여 이화학성을 측정하여 서식지에 미치는 토양인자의 영향을 조사하였다.

다. 토양단면의 비교

각 표준지와 비교 조사지에 대한 토양단면의 상황을 비교하여 토양의 발달에 따른 각 수종의 분포상태를 조사하였다.

라. 기상환경 요인의 영향 조사

육상생태계에 영향을 미치고 있는 비생물적 환경요인 가운데, 국지적인 기후의 변화도 종의 분포를 한정하는데 중요하다고 할 수 있다. 희소적인 종들이 일부 지역에만 한정되어 분포하고 있는 것은 미세기상 환경에 영향을 받고 있는 것으로 추측되어, 서식지의 기상인자를 조사 분석하였다.

마. 산지별 각 수종의 DNA 분석용 시료 수집

오갈피속 식물과 오미자속 식물의 유전변이 분석을 위한 다량의 잎을 산지별로 각 시험대상의 시료를 수집하여 산지별로 각 수종의 DNA를 추출하였다.

바. 유전변이 조사를 통한 집단간 형태변이 분석

통계적인 방법을 적용하여 집단간 변이를 분석하여 유연관계 및 계통진화를 파악을 위하여 주성분 분석 및 상관분석과 유집분석을 실시하였다. 통계처리는 SAS version 6.12(SAS Institute Inc, Cary, NC)를 이용하였다.

사. 산지별 각 수종의 화분에 의한 외부형태학적 특징 분석

산지별 각 수종의 화분을 수집하여, 주사전자현미경(SEM)을 이용 가시오갈피와 오미자의 산지별 화분의 외부형태적 특징과 차이를 관찰하였다(JSM-5510 JEOL, Tokyo, Japan). 화분의 관찰 및 측정은 발아공의 길이와 폭, 발아구의 길이와 폭, 적도면의 길이, 극축의 길이 등을 조사항목으로 하여 실시하였다.

아. 분류·형태학적인 특성과 유전변이 고찰과 보존이용 대책의 제시

상기의 연구 결과에서 나타난 분류학적 특성 및 형태학적인 특성과 유전변이를 종합적으로 고찰하여 각 수종의 종에 대한 실체를 분명히 하며, 이를 통하여 희귀식물로 지정되어 있는 가시오갈피와 오미자의 종 보존과 보호 그리고 특수한 용도로서의 이용과 개발에 대한 방안 등을 제시한다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 가시오갈피나무

1. 자생집단분포 조사

가. 입지조건

가시오갈피는 세계적으로 온대 이북의 중국 동북부와 시베리아 등 한대지역에 주로 분포하여(磁田, 1989; 梶, 1986) 우리나라에서의 자생은 비교적 까다로운 조건에서 생육하고 있는데(Lee, W.T., 1979; 김태정, 1996), 본 연구의 기초 조사지에서도 가시오갈피의 자생집단은 140㎡의 면적에 16본에 불과한 소규모로서 형성되었고, 평균 해발고는 826m, 경사도는 22°, 석력도는 63% 정도이며, 자생산지에서는 주로 북서사면에 다수 분포하였다(허성두; 2001).

이러한 생육상태로 보아 가시오갈피나무는 그늘지고 서늘한 기후를 선호하고 배수가 양호한 고지대가 생태적 특성과 부합됨을 알 수 있다. 그러나 우리나라의 일부 지역에서는 비교적 低地帶에서도 자생하고 있음이 본 연구에서 알 수 있었다.

나. 자생지 가시오갈피의 생장 특성과 재배 기술

일부 현지에서 수집된 자생집단의 평균 수고는 200cm, 근원경은 1.6cm이며, 본당 수관수는 평균 2.5개(허성두; 2001)로 기존에 조사된바 있으며, 본 연구 수행을 통한 자생집단의 조사지에서는 평균수고는 238cm, 근원경은 2.4cm이며, 최근 3년간의 정단부 생장량은 20.3cm이었다.

본당 수관수는 평균 1.6개로 오갈피보다 근맹아 발생력이 비교적 낮게 나타났다. 자생지 5개소 중, 강원도 삼척시 하장에 자생하는 집단의 수고는 342cm, 정단부 생장길이가 32cm로 생장이 양호한 것으로 나타났으며, 이러한 지역은 북동사면에 자생하고 있다는 점이 특징적이다(허성두; 2001).

한편 일반적으로 우리나라에서의 가시오갈피의 자생지가 백두대간의 고산지역으로 소규모 군락하여 자생지에 의한 종자번식이 어렵고(Ahn, J.K.,; 1993, Kim C.H.,; 1997), 덕유산자생지에서는 모든 개체가 영양번식(Park, 1997)한다고 보고되었다.

2. 가시오갈피류 산지 검정과 분자생물학적 분석

가. 산지 검정립에서의 생장

가시오갈피 산지검정립(양구 대암산 등 18개 산지)의 평균 수고는 69cm, 근원경

1.2cm, 정단부 생장길이 28cm이다. 산지간에 무주 덕유산과 원주 치악산이 수고와 정단의 생장길이가 길었으나, 홍천 오대산과 창춘 산지는 작은 수고에서도 정단의 생장길이가 35cm 이상으로 양호하였다.

반면에 양구 대암산, 평창 백석산, 인제 진동, 상남 등의 산지에서는 고도의 유의차가 인정되어 금후 계속적인 산지 검정에 의해 생장이 우수한 산지가 선발될 수 있을 것으로 기대되었다(허성두; 2001).

나. 산지별 약용성분 분석

가시오갈피의 약용성분에 대해서 예로부터 많은 국내외 연구결과(오 진, 1971; 이시진, 1974; エゾウコギ效用研究會, 1982; Farnsworth, 1985)가 보고되었는데 산지별 약용성분 분석결과 가시오갈피나무의 각 부위 중에서 뿌리의 Eleutheroside E 성분함량이 검출되는데 이 성분은 위궤양 치료에 효과가 있는 것으로 보고(Slacanin, 1991; Tang, 1992; 김영진 1995)되었다.

한편 Eleutheroside E 성분은 같은 가시오갈피라 할지라도 자생지의 지리적 위치에 따라 함량의 변화가 많은 것으로 보고(Slacanin, 1991)되었다. 한편 이 성분은 식목이나 자생목에 유사하나 줄기에는 자생목이 현저히 많았으며, 산지간에는 인제군 상남 산지의 줄기에서 0.125%로 높게 나타나(안진권, 2000), 동일 동목일지라도 부위에 따라 有無多少의 차이가 인정되었다.

제 2 절 오미자류

1. 재배기술

오미자과의 수종은 북미와 열대, 아열대아시아 지역 그리고 우리나라, 중국, 일본 등 세계적으로 광범위하게 분포하며 모두 2속 22종으로 구성되어 있다(Bailey, 1992). 우리나라에서 자생하는 오미자는 *Schisandra*속의 낙엽활엽성 덩굴식물인 오미자와 흑오미자 등의 2종류와 *Kadsura*속의 상록활엽 덩굴식물인 남오미자의 1종류 등 모두 2속 3종이 자생분포하고 있으며 그 외 몇 종의 변이 종이 생육하고 있다(이창복, 1969).

일반적으로 오미자는 내륙의 산악지역에서 광범위하게 분포하고 있으나 흑오미자의 경우에는 자생지가 제주도의 한라산에서 해발고 600~1,350m 범위에 위치하여 생육하고 있으며, 주로 북향, 북서향 및 남서향을 중심으로 비교적 습도가 많고 35°

이하의 완만한 경사를 갖는 산록부에서 극히 제한적인 범위에서만 분포(제주도, 1985; 이창복, 1979)하는 것으로 알려져 있다.

이곳의 연평균 강수량은 약 3,000~3,940mm이고, 연평균 기온은 8.8~10.5 °C이다. 개화시기는 5~6월이며 수꽃은 암꽃에 비하여 수가 많고 착과량은 최고 106.2개/본이며, 과실 중량은 0.99g, ℓ 당 과실수는 722~795개이다. 삼목, 접목, 조직배양 등에 의하여 증식할 수 있으나(Brower, 1977; Farrar, 1991; 구관효, 1990) 종자 파종에 의한 실생묘 생산이 가장 유효하다(이갑연, 1998).

2. 품종탐색

RAPD와 southern hybridization를 통해 최종적으로 얻어진 marker로는 OPA-17, primer에 의한 수그루 특이적인 770bp, OPB-03 primer에 의해 생성되는 암그루 특이적인 749bp, 자웅동주에 특이적인 OPB-9의 609bp, OPF-16의 1,100bp, 자웅동주인 흑오미자 51 번에 특이적인 OPA-17의 580bp가 있다(Beckmann, 1976; Nei, 1978; Waugh, 1992; Yoo, 1996; 이갑연, 1998).

이 marker로 염기서열을 결정한 후, 품종 동정으로의 활용을 위한 primer를 이용하면 수그루, 암그루, 자웅동주를 동정해 낼 수 있다. 그리고 흑오미자의 유묘시기에 성별을 구별할 수 있으며 우량형질의 genetic marker로 사용할 수 있다.

3. 약효 등에 관한 구성 성분

오미자는 5가지 맛을 지닌 기호식품으로 천연약효의 성분에 대한 연구(김옥찬, 1994; 김영호, 1996; 이정숙, 1989; Lewis, 1995)와 천연음료개발에 대한 연구(정현숙, 1986; 강규찬, 1992; 김삼식, 1995; 오상용, 1990; 심희천, 1982)가 이루어져 강한 항산화성분을 가지고 있어 천연 항산화제로의 이용이 가능한 것으로 보고되고 있으며, 한방에서는 자양강장의 수검제로 알려져 있다.

흑오미자에는 오미자의 schizandrin과 유사한 물질이 함유되어 있으며, fructose와 glucose가 다량 함유되어 있고 malonic acid와 maleic acid의 함량과 필수 아미노산인 lysine의 함량이 오미자보다 높고, 오미자와 흑오미자의 정유성분 조성에도 차이가 있는 것으로 나타났다.

제 3장 오갈피의 우량품종 육성

제 1 절 자생 오갈피의 산지환경조사

1. 자생 오갈피의 산지환경조사

가시오갈피는 우리나라 중부 이북지역에 제한적으로 자생하며 개체수도 희소한데 예로부터 약효가 알려져 자생자원으로서 멸종위기에 있다.

본 조사연구는 약재자원으로서 귀중한 가시오갈피의 희귀자원 보존과 번식 및 재배기술의 기초 자료로 활용하고자 자생지의 입지환경 및 성장조사에 의한 자생특성을 구명하였으며, 자생지로부터 수집된 시료에 대하여 산지간의 성장비교를 통하여 우량품종의 육성자원으로 보존하기 위하여 수행하였다.

가. 자생산지의 주위 환경

가시오갈피의 자생지를 본 과제 개시 연도 이전부터 지속적으로 탐색하여 입지환경을 조사하였다. 해발고는 digital고도계(Alt Ni Pius Pertel ; France)로 측정하고, 경사도는 Dendrometer(Topcon No. Q20071)로, 석력도는 석력정도를 목측으로, 그리고 토심은 굴토하여 각각 측정하였다. 이와 동일한 방법으로 각 자생지의 입지환경을 조사한 후 자생목 5본을 임의로 선정하여 수고, 근원경, 수관폭 및 수간(줄기)수 등 성장조사 하였고, 정단부의 생장은 최근 3년의 평균 성장 길이로 나타냈다.

1) 자생지 특성

가시오갈피의 자생지역을 조사한 평창, 삼척, 인제 등 강원도 지역과 그 밖의 자생지의 해발고는 평균 752m으로 주로 800m 내외의 고지에서 발견되었으나 예외적으로 500m 부근에서도 자생지가 발견되어 장차 재배지의 해발고도를 하강시킬 수 있는 개체(품종)육성도 기대할 수 있을 것으로 사료되었다. 자생지의 경사도는 평균 18°, 토심은 42cm이고, 석력도는 평균 47%로 돌이 많은 지대였으며, 그 밖에 대체로 배수 양호한 활엽수림하의 서늘한 느낌이 드는 그늘진 곳에 자생지가 주로 분포하였다(표 1).

일반적으로 재배지환경은 자생지 환경과 유사할수록 적합하므로 가시오갈피를 재배하고자 할 때에는 이와 같은 자생지환경을 고려하는 것이 중요한 것으로 판단되었으며, 일본의 북해도에서는 자생환경은 해발고가 40m 내외로 극히 낮은 곳에서도 분포하고 경사도는 평지에서 35°로 우리나라와 유사하였다.

한편, 자생지에서의 가시오갈피는 수고 2~3m의 낙엽활엽관목으로서 햇볕이 잘 들어 온도가 높은 곳에서는 거의 발견되지 않아 내음 및 내한에 강한 수종으로 알려져 있다.

그 밖에 가시오갈피의 모든 자생지는 활엽수 수하의 그늘진 곳(비음정도는 60% 이상)에 분포하였다. 이와 같이 조사지역의 모든 자생지의 입지환경을 바탕으로 고찰해 보면, 가시오갈피는 고산지대에 높은 석력도와 부식질 많은 토양 그리고 서늘한 곳이 생육 적지인 것으로 판단되었다.



그림 1. 가시오갈피자생목과 주변 생육환경의 광경

생지별 입지환경을 조사한 결과에서 오갈피나무의 집단면적은 평균 432m²이고 집단내 자생 본수는 평균 30본이었다. 해발고에 있어 지리산과 같은 고산지대인 구례, 남원지역을 제외하면 평균 536m로 가시오갈피보다 해발고가 약 200m 정도 낮은 것을 알 수 있었다.

반면에 오갈피나무(*A. sessiliflorus*)는 수고가 3~4m이고 과실성숙기도 가시오갈피보다 1개월 정도 늦으며, 분포지역이 제한된 가시오갈피와는 달리 우리나라 전국 산야에 분포하고 있으며, 음지에서는 생육성장이 늦은 것으로 알려져 생육상태에서도 가시오갈피와 구분되는 것으로 조사되어있다.

자생지역의 출현 빈도에 있어서도 오갈피는 높은 빈도로 나타났는데, 강원 양구 등 10개 지역의 자

표 1. 가시오갈피의 자생특성

장 소	분 포 면적(m ²)	분 포 본수(본)	해발고 (m)	위 치	방 위	경사도 (°)	토 심 (cm)	석력도 (%)
평창	200	6	959	산북	서	25	30	75
삼척	100	15	780	"	북동	25	40	60
정선	100	15	698	"	"	20	30	50
인제	200	30	900	"	북	18	40	80
:	:	:	:	:	:	:	:	:
평균*	200	20	759	산북	북	19.5	39	51
최소	50	6	470	산록		2	18	20
최대	2,500	200	1,100	산정		40	80	80
sd	801	40	290			12	42	32

*19산지

또한 오가피 자생지의 지형적인 분포형태는 위치적으로 산록에서 산정까지 고르게 분포하였으며, 지형방위에서도 전체 방위에 걸쳐 폭 넓게 분포하였다. 경사도는 최대 40°의 급경사지에서도 일부 발견되었으나 평균적으로는 16°로 가시오갈피와 유사하였고, 석력도에서는 평균 37%로 가시오갈피보다 10% 낮은 것으로 나타났다.

2) 자생지 간의 생장 특성

자생지에서 생장특성이 조사된 가시오갈피 자생목은 95본(19산지×5본)으로 분당 평균수간(줄기)수 2.5개, 평균수고와 근원경이 2m와 1.6cm으로 나타나 관목성임을 알 수 있으며(표 2), 지역에 따라 상층목 비음도가 비교적 낮은 곳에서는 대경목도 조사되었는데 금후 생장에 영향을 미치는 비음도 조사 연구가 필요할 것으로 사료된다.

표 2. 자생지 가시오갈피의 성장특성

장 소	조사본수 (본)	수 고 (cm)	근원경 (cm)	수관폭 (cm)	수간수 (개)	정단부 생장 (cm)
평창	5	167	1.5	61	2	24
삼척	5	342	3.1	162	2	32
정선	5	261	3.3	124	1	27
인제	5	194	2.3	134	1	10
:	:	:	:	:	:	:
평균	95	204	1.6	75	2.5	23
최소		96	0.6	36	1	6
최대		342	3.3	162	9	49
Sd		73	0.8	27	2.4	9

3) 산지별로 구분한 성장비교

자생지에서 성장한 가시오갈피의 성숙목에서 채취한 시료를 영양 번식으로 조성한 산지 검정림에서 산지별로 신초의 성장길이를 조사한 결과, 최소 6cm에서 최대 49cm로 나타나 산지간에 고도의 유의차를 보였으며 전체산지의 평균길이는 33cm이었다.

이들 산지 중에서 특히 홍천2 등 4개산지로부터 채취한 신초의 성장길이가 40cm이상으로 양호하여 약효 등의 유리한 성분 분석이 이루어져 최소한 타 산지와 비교하여 동일 이상의 수준이 된다면 금후 우수산지 선발에 유리할 것으로 판단되었다.

나. 자생지에서 오갈피류의 성장특성

자생지에서의 가시오갈피 수령은 평균 6.7년으로 10년생 이상은 거의 발견하기 어려웠으며 성장도중 고사하는 개체를 다수 확인할 수 있었는데, 특히 상층목의 율폐도가 높은 곳에서 그러한 경향이 많아 적정비음도의 조건을 갖추면 수령연장이 가능할 것으로 사료되었다.

평균수고 및 근원경은 각각 190cm 및 14mm로 비교적 작은 관목이었고, 줄기는 평균 2.7개 이었으며 정단부 생장은 최근 3년 평균 23cm로 수고에 비하여 빠른 성장

을 보였다. 양구 월명 등 오갈피나무 자생지 10개 지역에서 성장특성을 조사한 결과, 평균수령은 7년이고 수고 및 근원경은 각각 176cm 및 19mm로 가시오갈피와 유사하였으며 줄기 수는 4.3개로 가시오갈피보다 현저히 많아 보다 근맹아 형성이 왕성한 것으로 보였다.

정단부 생장은 최초 3년 평균 31cm로 가시오갈피보다 생장이 빠른 것을 알 수 있었다. 지역간 정단부 생장에 있어서는 제천 송계지역이 3년 평균 53.1cm로 가장 빠른 생장을 보였고 충주 상모지역은 12.8cm로 가장 낮은 생장을 나타냈다.

1) 엽의 특성

가시오갈피와 오갈피나무의 엽 특성을 비교해 보면 평균 엽 크기는 엽 병장을 제외하고 총엽 및 소엽 등 모든 엽의 크기에서 가시오갈피의 엽이 크게 나타났으며, 측맥각과 거치수는 오갈피나무의 엽에서 높게 나타났고, 엽특성중 유일하게 소엽폭 대 소엽장의 비에서는 0.47로 두 수종 동일하게 나타났다.

오갈피나무의 엽특성은 분산 분석한 결과(표 3) 지역 및 개체간 모든 엽특성에서 고도(1%유의수준)의 유의차가 인정되었으며, 소엽장의 분산비가 가장 높고 측맥각의 분산비가 가장 낮게 나타나 엽특성 중 소엽장에서 지역 및 개체간의 차이가 크게 나타남을 알 수 있었다.

표 3. 오갈피나무 엽 특성의 분산분석(F-값)

구분 (자유도)	엽병장	총엽장	총엽폭	소엽병	소엽장	소엽폭	소엽폭/ 소엽장	측맥각	거치수
지역 (8)	10.49**	16.99**	21.53**	13.84**	19.99**	13.83**	16.19**	6.85**	12.69**
개체 (44)	9.07**	11.87**	12.10**	11.82**	12.41**	10.93**	7.54**	7.76**	11.99**

** : 1% 유의수준

2) 엽 특성간의 상관관계

홍천 내면 등 10개 지역 오갈피나무의 엽특성간 단순상관은 표 4와 같다. 엽병장, 총엽장, 총엽폭, 소엽장 및 소엽폭등 엽의 모든 크기를 나타내는 특성을 상호간에는 고도(1%유의수준)의 정의상관을 보여 이들 특성 중 어느 특성에 의해서도 엽의 크기에 영향을 받는 것을 알 수 있었다.

표 4. 가시오갈피 엽 특성간 상관계수

구 분	엽병장	총엽장	총엽폭	소엽병	소엽장	소엽폭	측맥각	거치수
총엽장	0.5477**							
총엽폭	0.4575**	0.8476**						
소엽병	0.3901**	0.5476**	0.3915**					
소엽장	0.5330**	0.9944**	0.8524**	0.4565**				
소엽폭	0.4320**	0.8722**	0.8557**	0.4526**	0.8706**			
주맥각	0.0929 ^{n.s.}	-0.1310**	-0.0466 ^{n.s.}	-0.0957*	-0.1263*	-0.0812 ⁿ		
거치수	-0.2342**	-0.3419**	-0.3529**	-0.0091 ⁿ	-0.3631*	-0.4000*	-0.0458 ⁿ	
소엽폭/ 소엽장	-0.2130**	-0.3130**	-0.0826 ⁿ	-0.0608 ⁿ	-0.3254*	0.1639**	0.0966**	-0.0201 ⁿ

제 2 절 재배기술개발

가. 번식법 개발

1) 종실특성

강원지방에서 가시오갈피 과실(漿果) 10ℓ를 수집하여 표-5와 같이 구형, 중간형, 부채형 등의 3가지 장과 형태별로 과실특성을 조사 하였는데, 장과형태 중에서 중간형이란 소과경의 길이가 구형과 부채형의 중간정도를 의미한다.

여기서 장과의 특성을 장과 과립수, 과립당 종자수 그리고 총실 종자율에 의해서 구분하면 3종의 장과형태 중에서 구형이 장과의 과립수와 중량, 장과 당 종자의 중량과 개체수가 가장 많았으며, 0.1ℓ 당 종자수에서 있어서도 부채형에 비하여 약 1,800정도가 많았다(표 5).

표 5. 漿果형태별 과실 및 종자특성

장과형태	장과(漿果)		장과당 종자			0.1ℓ 당 종자수	과립당 종자수	총 실 종자율
	중량	과립수	수	중량	부피			
	g	개	개	g	ml		개	%
구 형	19.6	95.7	350	1.77	6	5831	3.8	42
중간형	18.8	67.7	242	1.45	5.3	4599	3.6	49
부채형	14.6	38.5	179	1.22	4.4	4040	4.6	38
평 균	17.67	67.3	257	1.5	5.2	4,823	4.0	43

그러나 종자의 충실율에 있어서는 구형과 부채형의 중간형에서 49%로 우수한 특성이 나타났다. 이러한 종자의 형태적 특성에 따라 풍산성이 가장 높은 구형장과에서 대량번식에 유리한 형태로 사료된다.

표 6. 가시오갈피 종자수득율

장과량 (ℓ)	종자량 (ℓ)	수득율 (%)	종자 1ℓ 중량 (g)
10	1.06	10.6	242

이와 같이 장과 과실 10ℓ에서 약 10%정도의 충실종자(1.06ℓ)가 정선되어, 장과의 양으로서 파종이 가능한 양을 예상할 수 있었다(표 6).



그림 2. 가시오갈피의 종자

BM₂가 상토의 발아 및 생육상황이 보다 양호하였으며, 파종복토에서의 발아율은 Peatmoss보다 Vermiculite에서 우수하게 나타났다.

2) 가시오갈피의 삼목증식시험

2000년 3월 산림종자연구소에서 유리온실 내 배양토(peatmoss + vermiculite + perlite= 1 : 1 : 1)를 상토로 가시오갈피의 산지 또는 clone별 숙지삼목을 실시한 결과 덕유산 등 6산지 중에서의 평균 발근율은 34.2%로 나타났으나 을수2의 경우 54.2%로 가장 높은 발근율로 나타난 반면, 덕유산에서는 21.9%로 저조하게 나타났다(표 7).

삼목에 의한 증식 시험에서 대체적으로 발근율이 낮은 원인은, 우선 증식을 위

한 시험 장소가 유리온실로 되어 있어 시험시설의 불충분함에 의한 냉각이 이루어지지 못한 측면도 있지만, 한편에서는 한대수종에 해당되는 가시오갈피가 아열대에서 온대에 해당되는 기후에 적응할 수 있는 환경 부족에 의한 고온의 영향에 따른 것으로 사료된다.

표 7. 가시오갈피의 산지별 습지삽목 발근율

산지	삽목본수 (본)	발근본수 (본)	발근율 (%)
덕유산	32	7	21.9
치악산	15	4	26.7
황병산	35	13	37.1
을수2	24	13	54.2
오대산	37	15	40.5
중 국 (흑룡강)	138	44	31.8
평 균	281	96	34.2



그림 3. 삽목묘의 개엽상태



그림 4. 삽목묘의 발근

*표 8. 우량 가시오갈피 파종에 의한 종묘생산

산 지	저온처리		배양토	발 아 본 수		
	온도(℃)	기간(일)		계	2003년	2004년
정선	7	90	P+BM2	337	37	300
정선	7	180	P+BM2	335	43	292
정선	7	150	P+BM2	160	20	140
가리왕산	10	90	P+BM1	567	52	515
가리왕산	10	150	P+BM1	428	36	392
가리왕산	10	180	P+BM1	244	23	221
반류산	12	90	V+BM2	433	59	374
반류산	12	150	V+BM2	163	23	140
반류산	12	180	V+BM2	475	51	424
반류산	15	90	V+BM2	384	68	316
반류산	15	150	V+BM2	281	35	246
고양산	7	90	V+BM	1343	86	257
고양산	7	150	V+BM1	435	33	402
고양산	7	180	V+BM1	1,018	105	913
만지산	10	90	V+BM1	926	73	853
만지산	10	150	V+BM1	380	29	351
만지산	10	180	V+BM1	811	79	732
만지산	12	90	V+BM1	73	46	27
만지산	12	180	V+BM1	84	51	33
만지산	12	150	V+BM1	50	35	15
만지산	15	90	V+BM1	62	37	25
만지산	15	150	V+BM1	54	44	10
총 계				8,043	1,065	6,978

* V : Vermiculite



그림 5. 가시오갈피 파종묘의 발아 상태

비닐 온실 내에 과중한 각 산지, 저온처리, 상토조절을 통한 발아상황은 표-8에 나타난 바와 같이 가리완산, 반륜산, 고양산 등에서는 과중2년차가 당년도보다 약 10배가량 발아되었으나, 민지산의 경우에는 10℃에서 저온처리한 과중상을 제외하고는 대부분감소하는 현상이 발생되어 원인구명을 위한 추적조사가 필요하였다(표 8).

나. 가시오갈피의 생육에 필요한 적정 비음도 구명

시험대상인 가시오갈피의 이식묘에 대하여 1차년도에는 25%, 50%, 75%의 비음 시험과 수하식재에 의한 시험 등 4처리에 의한 시험을 실시하였다. 그 결과 4개의 시험구 중에서 25%의 비음이 18.6cm의 신초생장으로 생장이 가장 양호하였고, 수하에서는 11.4cm로 비교적 낮게 나타났다. 또한 75%의 비음시험에서는 4개의 시험구 중 가장 낮은 7.8%로 나타나, 비음정도가 신초생장에 크게 영향을 미치는 것으로 판단되었다.(표 9),

한편 비음도별로 시험한 분근목의 생육 특성(표 10)에서는 90%비음에서 신초생장이 23.6cm으로 가장 우수하게 나타났으며, 비음도 55%와 수하에서는 각각 14.0cm, 14.7cm로 조사되었다.

가시오갈피의 자생지 주변 환경을 조사한 결과에 의하면, 대부분 임내 그들의 하층에서 생육하는 있는 특성을 보이고 있으므로 생육과 비음도의 상관관계가 높은 것으로 추정되어 시험을 통한 인위적 비음도의 적정한 설정구명이 필요하였다.

표 9. 비음도별 이식묘 생육특성(1차년도 시험)

비음도 (%)	조도 (lux)	조사본수 (본)	근원경 (mm)	수고 (cm)	신초생장 (cm)
25	57,200	141	7	27.1	18.6 ^{a*}
55	27,200	117	5	18.3	13.8 ^b
75	20,900	181	3	33.5	7.8 ^c
수하	5,300	38	13	40.8	11.4 ^a

* : 다른 영문자간 유의차(p<0.01)

가시오갈피의 자생지 주변 환경을 조사한 결과에 의하면, 대부분 임내 그들의 하층에서 생육하는 있는 특성을 보이고 있으므로 생육과 비음도의 상관관계가 높은 것으로 추정되어 시험을 통한 인위적 비음도의 적정한 설정구명이 필요하였다.

표 10. 비음도별 분근목 생육특성 (1차년도 시험)

비음도 (%)	조도 (lux)	조사본수 (본)	근원경 (mm)	수고 (cm)	신초생장 (cm)	수간수 (본)
55	27,200	41	12	62.8	14.0 ^b	2.3 ^b
75	20,900	41	11	63.1	19.2 ^{ab}	2.5 ^b
90	4,400	40	11	61.9	23.6 ^a	3.9 ^a
수하	5,300	26	15	82.4	14.7 ^a	3.4 ^{ab}

본 연구 수행 2차년도에는 이식묘포지에 비음시설을 설치하고 각각 55%, 75% 및 90%의 비음처리 후 활착율, 수고, 신초생장량 등등, 각 항목별로 생육특성을 지속적으로 관측 조사한 결과, 활착율과 수고 및 근원경이 55%의 비음처리구에서 약간 우수하게 나타났으며, 특히 새 줄기(新幹)의 발생에서는 평균 2.1개로 양호하였다.

하지만 신초생장에 있어서는 비음도 75%가 타처리구의 신초생장 3.0cm와 2.8cm에 비하여 3.4cm로 나타나, 신초를 성장재배를 목적으로 재배할 경우에는 비음도 75%가 적정한 것으로 판단되었다. 이와 같이 재배목적에 따른 비음도의 조절선택이 필요할 것으로 생각된다(표 11).



그림 7. 이식묘 비음시험지



A : 노지식재(전광)



B : 완전 비음



C : 수하식재(활엽수)



D : 수하식재(침엽수)

그림 8. 비음처리별 가시오갈피 생육상황

가시오갈피 1년생 유묘의 비음처리별 생육상황을 조사한 결과는 그림8과 같다. 완전히 빛에 노출된 전광처리에서는 거의 생장을 하지 못하거나 고사를 하였으며, 완전히 차광을 한 완전비음처리구에서는 생장은 하나 건전하게 자라지 못했다. 수하식재 처리에서는 생장이 우수하였으며, 수세도 건전하였다. 침엽수 밑에 식재한 것이 생장이 가장 우수한 것으로 나타났다.

표 11. 비음도별 이식묘의 생육특성(2차년도 시험)

비음도 (%)	조사본수 (본)	활착율 (%)	수고 (cm)	근원경 (mm)	신초생장 (cm)	줄기수 (개)
55	80	97	42	12	3.0	2.1a
75	96	97	37	11	3.4	1.7ab
90	65	91	33	10	2.8	1.5b

또한 분근묘의 경우는 수하처리가 활착율, 수고, 근원경, 줄기의 수 등에서 비음 처리구에 비교하여 양호하였고, 신초생장에서는 28.6cm로 보다 월등하게 나타났다. 이와 같은 결과에서 분근묘는 중간 이식과정을 배제하고 직접 산지에 적용재배가 가능한 것을 의미하는 것으로 판단되었다(표 12).

표 12. 비음도별 분근묘 생육특성(2차년도 시험)

비음도 (%)	조사본수 (본)	활착율 (%)	수고 (cm)	근원경 (mm)	신초생장 (cm)	줄기수 (개)
55	120	42	50	8	11.8	1.7
75	120	57	49	9	15.2	1.6
90	120	55	42	8	10.8	1.7
수하	200	83	54	10	28.6	2.8

이식에 따른 성숙묘의 식재적정비음 정도를 구명하기 위하여 비음처리시험을 실시한 결과 그림 1의 비음도별 생육 특성에서는 나타난 것과 같이 90%비음처리에서 비교적 생장이 양호하였는데, 이는 이식묘는 수령이 높을수록 생장이 양호하고, 높은 비음도가 요구되는 것으로 나타났다(표 13).

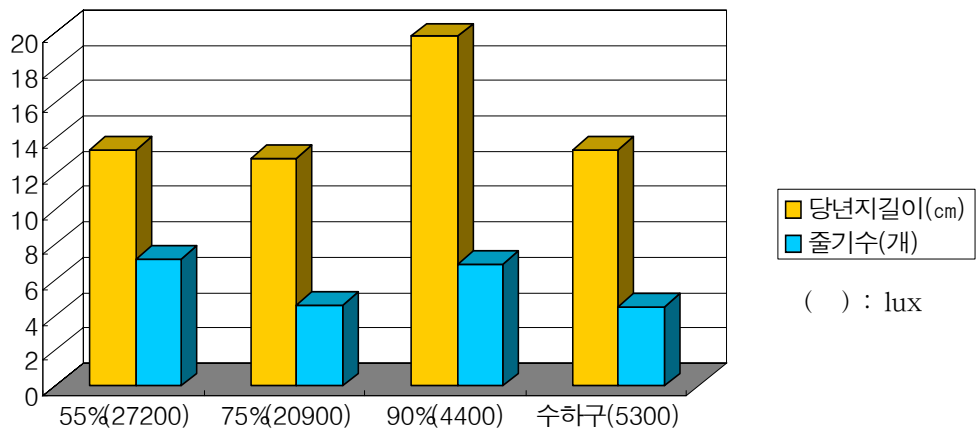


그림 9. 식재지의 비음도별 생육특성

표 13. 수령별 및 비음처리별 가시오갈피 결실상황

수령(연)	비음처리	생육본수(본)	결실본수(본)	결실율(%)	비고
7	계	138	109	79.0	
	55%	45	39	86.7	
	75%	54	46	85.2	
	95%	39	24	61.5	
5	계	277	173	62.5	
	55%	90	60	71.1	
	75%	92	62	70.5	
	95%	95	51	53.7	

※ 수하식재한 가시오갈피는 101중 38본이 결실되었음

비음처리별 결실 상황을 각 처리별로 조사한 결과 전체적으로는 차광도가 높을수록 결실율은 저하되었다. 이중에서 55%의 차광처리를 한 5년생 집단이 71.1% 수준으로 결실되었으며, 7년생에서는 86.7%로 보다 높은 결실이 조사되었다.

다. 삼목발근 증진시험

시료인 가시오갈피 삼목발근율의 증진에 대한 시험으로 혼합토, 모래, 진사토, 펄라이트 등을 조합하여 삼목상토로 9처리 하였다. 여기서 혼합토는 피트모스(peatmoss), 비미큐라이트(vermiculite) 그리고 펄라이트(perlite)를 각각 같은 비율로 혼합하였음을 의미한다.

또한 삼수액아처리로 1단, 2단, 정아 등 3처리 등, 모두 9처리의 삼목시험에 각

처리별 본수를 30본씩 삼목한 결과, 이중에서 상토에 삼수액아 1단으로 처리한 삼목에서 발근율이 3처리구 모두 양호하였으며, 그중 혼합토의 1단처리가 19본의 63%로 가장 높은 발근율을 나타내었다.

그리고 각 상토별 2단과 정아의 삼수액아처리에서는 약간의 차이는 있으나 비슷한 양상으로 발근되었으며, 대체적으로 정아에서 발근율이 조금 더 저조하게 나타났다(표 14).

라. 다경유도시험

가시오갈피의 5년 실생묘를 대상으로 多莖(multiple shoots)유도를 위하여 主幹과 근맹아지를 하부 또는 중단부 절단 등 5처리로 실시한 결과 주간을 존치하고 근맹아의 중단부를 절단한 처리에서 다경수 5개로 가장 많고 다경의 성장 길이에서도 47cm로 가장 양호하였다.

가시오갈피 비음처리와 대절처리에 의한 생육상황(표 15)을 조사한 결과에서는 대절1단+맹아존치의 처리1과 전주절단+맹아절단+복토의 처리 2에서 분지수가 양호하였는데, 이중에서 비음처리 75%의 전주절단+맹아절단+복토에 의한 처리 2에서 가장 양호한 결과를 나타내었다. 이는 처리 1과 비교할 때 복토가 전체 생장에 영향을 미치는 것으로 사료되어 이에 대한 지속적인 검토의 필요성이 제기 되었다.

표 14. 삼목처리별 발근율

상토	삼수액아처리	삼목본수	발근본수	발근율(%)
혼합토*	1단	30	19	63
	2단	30	14	47
	정아	30	12	40
혼합토+모래	1단	30	15	50
	2단	30	11	37
	정아	30	11	37
마사+펠라이트	1단	30	14	47
	2단	30	11	37
	정아	30	10	33

* 피트모스+비미큐라이트+펠라이트 각각 같은 비율

또한 효과적인 분주 번식법 개발을 위하여 수간과 맹아의 절단 처리별로 발생된 다경수와 신초길이를 조사한 결과는 다음과 같다.

주간존치 또는 맹아절단 등, 종류별 5본씩 처리한 결과에서 수간에서 주간을 존치하고 맹아를 절단한 처리에서 신초발생이 5개로 가장 많고, 신초성장 길이에서도 41cm로 양호하였다.(표 16)

표 15. 가시오갈피 비음처리와 대절처리에 의한 생육상황

대절처리	비음도(%)	수고(cm)	근원경(cm)	신초생장(cm)	분지수
처리 1	95	177.1	1.46	49.9	6.2
	75	145.7	1.56	41.8	6.1
	55	106.7	1.23	34.9	3.6
	평균	143.2	1.42	42.2	5.3
처리 2	95	67.1	0.92	67.1	6.3
	75	91.2	1.01	91.2	8.1
	55	78.0	0.88	78.0	4.8
	평균	78.8	0.94	78.8	6.4
처리 3	95	93.7	1.18	37.5	4.3
	75	131.0	1.37	83.0	4.6
	55	107.3	1.18	28.0	4.7
	평균	110.7	1.24	49.5	4.5
처리 4	95	111.4	1.23	42.0	2.7
	75	108.3	1.34	37.4	5.0
	55	104.2	1.18	30.6	4.3
	평균	108.0	1.25	36.7	4.0

처리 1: 대절1단+맹아존치, 처리 2: 전주절단+맹아절단+복토, 처리 3: 비대절+맹아절단, 처리 4: 무처리

표 16. 주간 및 맹아절단 처리별 다경발생특성

주간	맹아	다경수 (개)	다경길이 (cm)
존치	존치	2	21
존치	절단	5	41
절단	존치	3	36

제 3 절 광환경과 생장관계 구명

가. 생장특성

일반적으로 가시오갈피는 고산, 음지에서 양호한 생장을 나타내는 것으로 알려져 있으며, 본 연구개시 1차년도 연구결과에서도 75% 비음처리된 시험구가 노천에서 전천광을 受光하고 있는 대조 시험구에 비해서 높은 묘고와 근원경을 나타냈다.

이러한 생장특성은 임내의 낮은 광도와 낮은 적색광/원적색광(660nm/730nm) 비율이 파이토크롬을 주체로 하는 광형태 형성에 영향을 미쳐, 지상부에 대한 광합성산물의 배분이 많아져 지상부 생장이 촉진되었을 가능성을 시사하고 있다. 본 연구에서는 이러한 가시오갈피의 생장특성이 광합성산물의 지상부와 지하부에 대한 분배에 기인하는지를 검토하기 위해서 기관별 Biomass를 조사하였다(표 17).

표 17. 지상부 및 지하부의 생장량

Plot	Terrestrial Part (g tree ⁻¹)			Root (g tree ⁻¹)	T/R
	Leaf	Petiole	Stem		
Control	9.8 (±1.9)	1.8 (±0.5)	13.8 (±4.6)	39.8 (±9.9)	0.65 (±0.04)
Shaded 50%	13.9 (±2.2)	1.7 (±0.4)	17.7 (±0.7)	46.8 (±4.9)	0.72 (±0.11)
Shaded 75%	20.5 (±0.8)	3.3 (±0.1)	46.8 (±3.3)	61.9 (±5.4)	1.16 (±0.17)
Shaded 90%	15.1 (±1.0)	2.5 (±0.5)	20.5 (±3.5)	35.7 (±6.2)	1.11 (±0.28)

()의 ±는 표준편차를 나타냄.

표 17의 결과 75% 비음처리된 시험구는 지상부와 지하부 모두가 다른 시험구에 비하여 높은 건중을 나타내고, 광합성산물이 지상부와 지하부에 분배된 비율을 반영하고 있는 T/R도 다른 시험구에 비하여 높은 값을 나타냈다. 이러한 결과는 75% 비음처리 조건에서 높은 생장량(묘고, 근원경 등)을 나타내는 원인이 임내의 낮은 광도 조건에서 나타나는 광형태형성 반응의 결과가 아닌 것을 의미한다.

그리고 동화기관인 잎의 건중이 다른 처리구에 비하여 높은 값을 나타내는 점으로 보아, 75%의 비음처리에 의하여 동화기관의 생장이 촉진되어 전체 생장량이 증가하였음을 시사한다. 이를 검토하기 위해서 잎의 면적, 착엽수 등의 특성을 조사하였다(표 18).

그 결과 75%의 비음 처리구는 착엽수와 개체당의 엽면적, 개엽면적 등이 다른 처리구에 비하여 높은 값을 나타내, 수광면적 및 동화기관의 면적이 증가하였음을 알 수 있었다. 그러나 잎의 두께를 반영하고 있는 specific dry mass의 값이 다른 처리구에 비하여 낮은 값을 나타내, 음엽(shade leaf)과 유사한 특성(김 등, 2001b)을 나타냈다.

표 18. 잎의 형태적 특성

Plot	Leaf Area		Leaf Number	Specific Dry Mass (mg cm ⁻¹)
	cm ² tree ⁻¹	cm ² leaf ⁻¹		
Control	1039.5 (± 93.5)	26.8 (± 8.7)	40 (±9)	9.3 (±1.0)
Shaded 50%	2122.5 (±189.5)	47.7 (±14.6)	46 (±8)	7.7 (±4.0)
Shaded 75%	5241.0 (±109.0)	100.6 (±10.9)	52 (±9)	3.9 (±0.3)
Shaded 90%	3118.5 (± 96.5)	74.3 (±11.9)	42 (±7)	4.8 (±0.5)

()의 ±는 표준편차를 나타냄.

나. 엽록소함량

잎의 질소함량 및 광합성 능력과 양(+)의 상관관계(김 등, 2001b)에 있는 엽록소 함량과, 음엽화와 노화의 지표가 되는 엽록소 *a/b*를 조사하였다(표 19).

표 19. 엽록소 함량 및 엽록소 *a/b*

Plot	Chl. <i>a</i>	Chl. <i>b</i>	Chl. <i>a+b</i>	Chl. <i>a/b</i>
Control	0.87 (±0.06)	0.43 (±0.06)	1.30 (±0.12)	2.04 (±0.16)
Shaded 50%	0.77 (±0.02)	0.36 (±0.03)	1.13 (±0.05)	2.15 (±0.10)
Shaded 75%	0.59 (±0.05)	0.30 (±0.02)	0.88 (±0.06)	1.99 (±0.07)
Shaded 90%	0.48 (±0.03)	0.30 (±0.01)	0.78 (±0.03)	1.62 (±0.13)

()의 ±는 표준편차를 나타냄.

그 결과 가지오가피는 사과 등과 같은 수종에 비하여 엽록소*b*의 함량이 높게 나타났으며(Ro et al., 2001), 75% 비음 처리구는 90% 비음처리구에 비하여 엽록소 (*a+b*) 함량이 높으나, 다른 두 처리구에 비해서는 현저하게 낮은 값을 나타냈다. 그리고 음엽에서 나타나는 엽록소 *a/b*의 저하가 엽록소함량과 동일한 경향으로 나타났다. 이러한 엽록소 함량의 특성이 음엽화와 관계되는지를 검토하기 위해서 다음의 광합성특성을 광화학계의 반응(명반응)과 탄소고정계의 반응(암반응)으로 구분하여 조사하였다.

다. 광도변화에 대한 광합성 반응

광도를 서로 달리하면서 측정된 광합성속도를 광-광합성 곡선으로 나타내고(그림 10), 이 곡선을 토대로 하여 미토콘트리아호흡(암호흡), 광보상점, 광포화점, 광합성능력, 순양자수율을 산출하였다(표 20).

광보상점은 모든 비음처리구가 대조구에 비해서 낮은 광도에서 나타났으며, 비음처리구 내에서는 비음율이 높을수록 낮은 값을 나타냈다. 광포화점은 개체 간에 편차가 컸으나, 75%와 55% 비음처리구가 다른 두 시험구에 비하여 높은 값을 나타냈다. 생명유지와 새로운 조직을 구성하기 위한 에너지를 획득하는 과정인 암호흡은 비음처리구가 대조구에 비하여 낮은 값을 나타냈으며, 비음처리구 중에서는 생장이 좋은 75%비음처리구가 통계적 유의성은 없었으나, 가장 높은 값을 나타냈다.

한편 광합성에서 빛 에너지를 화학에너지로 변환시키는 광화학계의 활성을 반영

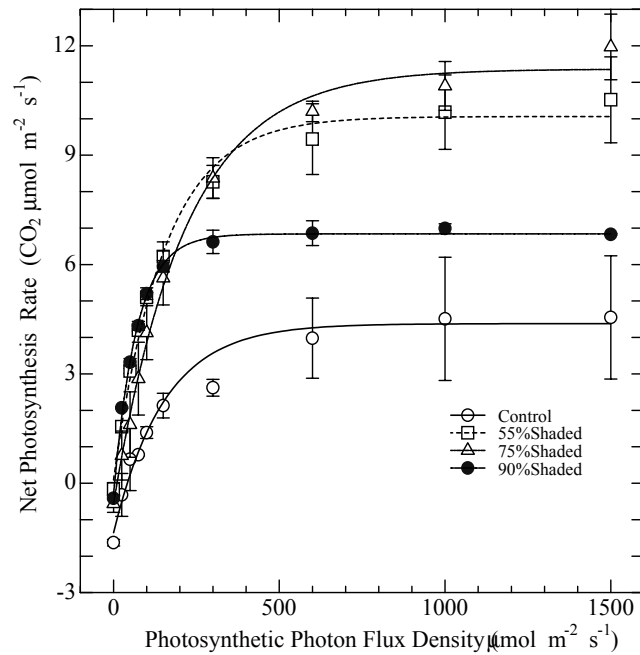


그림 10. 각 처리구의 광도변환에 대한 광합성 반응

하고 있는 순양자수율(Farquhar et al, 1982)은 모든 비음처리구가 대조구에 비하여 높은 값을 나타내, 비음처리에 의해서 광화학계의 반응이 상승됨을 알 수 있었다. 그러나 75%비음처리구는 가장 높은 乾物重을 나타냈음에도 불구하고 다른 두 비음처리구에 비하여 현저하게 낮은 값을 나타냈다.

표 20. 광-광합성곡선에서 산출한 광보상점, 광포화점, 광합성능력, 순양자수율

Plot	light compensation point ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	light saturation point ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	dark respiration rate ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	photosynthetic capacity ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	apparent quantum yield (mmol mol^{-1})
Control	50.8(± 3.0) ^a	278.7(± 16.1) ^b	1.63(± 0.08) ^a	3.77(± 0.63) ^c	33.2(± 4.7) ^c
Shaded 55%	42.8(± 1.7) ^a	338.6(± 21.7) ^a	0.28(± 0.07) ^b	10.35(± 1.12) ^a	54.2(± 0.7) ^a
Shaded 75%	12.8(± 8.5) ^b	381.0(± 39.1) ^a	0.56(± 0.24) ^b	11.43(± 0.96) ^a	46.0(± 6.3) ^b
Shaded 90%	11.7(± 0.2) ^b	251.6(± 10.4) ^b	0.41(± 0.04) ^b	6.91(± 0.12) ^b	53.9(± 1.4) ^a

()의 \pm 는 표준편차를 나타냄.

따라서 순양자수율의 상승이 비음에 의한 성장촉진의 직접적인 원인으로 간주하기는 어려웠다. 반면, 광포화점보다 높은 광도에서의 광합성속도는 광합성능력과 탄소고정계의 활성을 반영하는 것으로 알려져 있는데(김 등, 2001a,c), 이들 값은 각 시험구의 성장량과 동일한 순서를 나타냈다.

라. 엽육내 CO₂농도변화에 광합성 반응

광합성측정기의 leaf chamber에 도입되는 공기의 CO₂농도를 조절하면서 광합성속도를 측정하여 엽육내 CO₂농도와 광합성속도와의 관계(A-Ci curve)를 나타내고(그림-11), 이를 토대로 CO₂보상점, 광호흡속도, 최대 광합성속도, 탄소고정효율을 산출하였다(표 21).

표 21. A-Ci 곡선에서 산출한 CO₂ 보상점, 광호흡, 최대광합성속도 및 탄소고정효율

Plot	CO ₂ compensation point ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)	photo respiration rate ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	maximum photosynthesis rate ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	carboxylation efficiency (mmol mol^{-1})
Control	70.26(± 11.11) ^a	2.79(± 0.23) ^a	16.50(± 0.10) ^b	40.36(± 4.54) ^{bc}
Shaded 55%	47.66(± 6.00) ^c	2.20(± 0.38) ^b	17.90(± 0.30) ^b	41.95(± 0.56) ^b
Shaded 75%	54.73(± 0.88) ^b	2.74(± 0.25) ^a	20.65(± 0.35) ^a	45.49(± 2.99) ^a
Shaded 90%	49.90(± 6.80) ^{bc}	2.55(± 0.32) ^a	13.80(± 0.10) ^c	39.97(± 0.18) ^c

()의 \pm 는 표준편차를 나타냄.

비음처리구의 CO₂ 보상점은 대조구에 비하여 낮은 값을 나타냈으며, 비음처리구 중에서는 75%비음처리구가 다른 두 시험구에 비하여 약간 높은 값을 나타냈다. 이러한 경향은 광호흡에서도 유사하게 나타났다. 한편, 엽육내 CO₂농도가 높은 영역에

서의 광합성속도(maximum photosynthesis rate)는 탄소고정계의 재인산화속도에 의해서 좌우되는데, 이때의 광합성속도는 75%비음처리구가 다른 시험구에 비해서 높은 값을 나타냈다. 그리고 RuBP (rubisco)의 함량과 활성을 나타내는 탄소고정효율에서도 75%비음처리구가 다른 시험구에 비해서 현저하게 높은 값을 나타냈다. 이러한 결과는 성장량과 대응되는 결과로서, 비음처리에 의한 성장촉진효과가 탄소고정계의 효소(RuBP)활성에 기인하고 있음을 나타내고 있다.

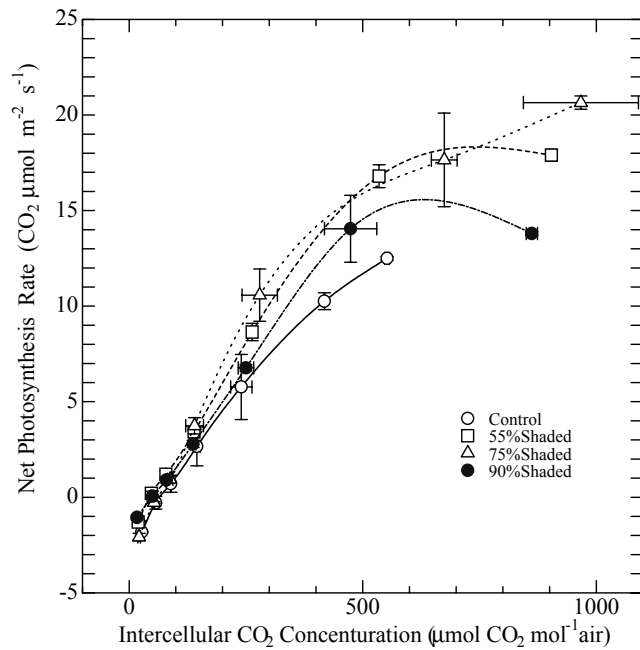


그림 11. 엽육내 CO₂농도(Ci) 변화에 대한 광합성(A-Ci)

마. 수분이용 효율

광도에 따른 광합성속도 변화를 측정된 결과를 활용하여, 광합성에 대한 수분이용 효율을 증산속도에 대한 광합성의 비율로 산출하였다(그림 12).

각 시험구의 수분이용효율은 광도가 낮은 영역에서 낮은 값을 나타냈는데, 특히 대조구는 다른 3시험구보다 낮은 값을 나타냈다. 광도가 점차 증가하면서 수분이용 효율도 증가하였는데, 55%비음 처리구는 다른 세 시험구에 비하여 낮은 값을 나타내며 증가속도도 완만하였다. 광포화점보다 높은 광도에서는 모든 시험구가 일정한 수분이용 효율을 나타내거나 매우 완만하게 저하하는 경향을 나타냈는데, 55% 비음

처리구는 다른 세 시험구에 비하여 낮은 값을 나타냈다. 그러나 각 시험구간의 차이는 편차가 매우 커서 통계적 유의성($p < 0.05$)은 없었으며, 모든 시험구의 수분이용 효율은 양수인 이태리포플리나(김 등, 2001), 현사시나무(김 등, 2002b)보다 높은 값을 나타냈다.

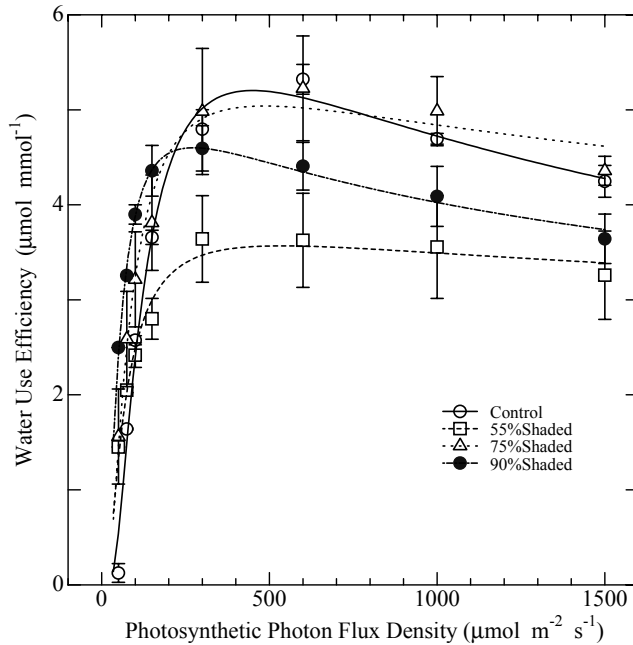


그림 12. 광합성에 대한 수분이용효율

바. 순양자수율(광화학계의 반응)

25°C, 400 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{air}$ 조건에서 광도(PPFD)를 서로 달리하면서 측정한 광합성속도를 광-광합성 곡선으로 나타내고(그림 10), 이 곡선을 토대로 하여 미토콘드리아 호흡(암호흡), 광보상점, 광포화점, 광합성능력, 순양자수율을 산출하였다(표 22).

비음(50%, 75%, 90%) 처리구는 전천광을 수광한 대조구(Control)에 비해서 광보상점이 높은 광도에서 나타났으나, 그러나 가장 높은 생장을 나타내는 75%비음처리구는 다른 두 비음처리구에 비해서 광보상점이 높은 값을 나타냈다. 광포화점은 75%비음처리구가 가장 높은 값을 나타내고 90%비음처리구가 가장 낮은 값을 나타냈다.

또한 75%비음처리구는 탄소고정계의 능력을 반영하고 있는 광포화점에서의 광합성속도, 즉 광합성능력이 50%비음처리구에 비하여 약간 높고 다른 처리구에 비해서는 현저하게 높은 값을 나타냈다. 그리고 광도가 $0 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 일 때의 CO_2 교환속도를 의미하는 암호흡속도는 광보상점과 유사한 경향을 나타냈다.

표 22. 광-광합성곡선에서 산출한 광보상점, 광포화점, 광합성능력, 순양자수율

Plot	Light compensation point ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Light saturation point ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Dark respiration rate ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Maximum photosynthesis rate ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Apparent quantum yield (mmol mol^{-1})
Control	50.0 (± 3.0)	278.7 (± 16.1)	1.63 (± 0.08)	3.77 (± 0.63)	33.2 (± 4.7)
Shaded 50%	2.8 (± 1.7)	338.6 (± 21.7)	0.28 (± 0.07)	10.35 (± 1.12)	54.2 (± 0.7)
Shaded 75%	12.8 (± 8.5)	381.0 (± 39.1)	0.56 (± 0.24)	11.43 (± 0.96)	46.0 (± 6.3)
Shaded 90%	3.8 (± 0.2)	251.6 (± 10.4)	0.41 (± 0.04)	6.91 (± 0.12)	53.9 (± 1.4)

빛 에너지를 화학에너지로 변환시키는 광화학계의 활성을 반영하고 있는 純量子收率は 비음(50%, 75%, 90%)처리구가 대조구에 비하여 높은 값을 나타내, 비음처리에 의해서 광화학계의 반응이 상승됨을 알 수 있었다. 그러나 가장 높은 성장량을 나타낸 75%비음처리구가 비음처리구 중에서는 가장 낮은 순양자수율을 나타내는 점으로 보아, 광화학계 반응의 상승이 생장에 직접으로 관여했다고 간주하기는 어렵다.

사. 탄소고정효율

광합성측정기의 leaf chamber에 도입되는 공기의 CO_2 농도를 조절하여 측정된 광합성(A)과 Farquhar and Sharkey(1982)의 식을 적용하여 산출한 葉肉內 CO_2 농도(Ci)를 사용하여 A-Ci curve를 작성하였다(그림 13). 그리고 이 A-Ci curve를 토대로 CO_2 보상점, 광호흡속도, 최대 광합성속도, 탄소고정효율을 산출하였다(표 23).

75%비음처리구는 CO_2 보상점이 대조구와는 비슷한 값을 나타냈으나, 다른 두 비음처리구에 비해서는 현저하게 높은 값을 나타냈다. 그리고 엽육내 CO_2 농도(Ci)가 높아져 탄소고정계의 재인산화속도에 의해서 광합성이 좌우되는 최대광합성속도는 75%처리구가 다른 시험구에 비해서 높은 값을 나타냈다.

그리고 RuBP의 함량과 활성을 나타내는 탄소고정효율이 75%처리구가 다른 시험구에 비해서 유의하게 높은 값을 나타냈다.

이러한 결과는 성장량과 동일한 경향으로서, 비음처리에 의한 성장촉진효과가 탄소고정계의 효소(RuBP)활성에 기인하고 있음을 간접적으로 증명하고 있다. 즉, 75%비음처리에 의한 엽온 저하가 RuBP의 효소를 활성화 시키고 있음을 의미한다. 이러한 결과를 직접적으로 증명하기 위해서는 엽온변화에 대한 광합성의 반응을 광화학계와 탄소고정계의 반응으로 구분하여 연구할 필요성이 있다.

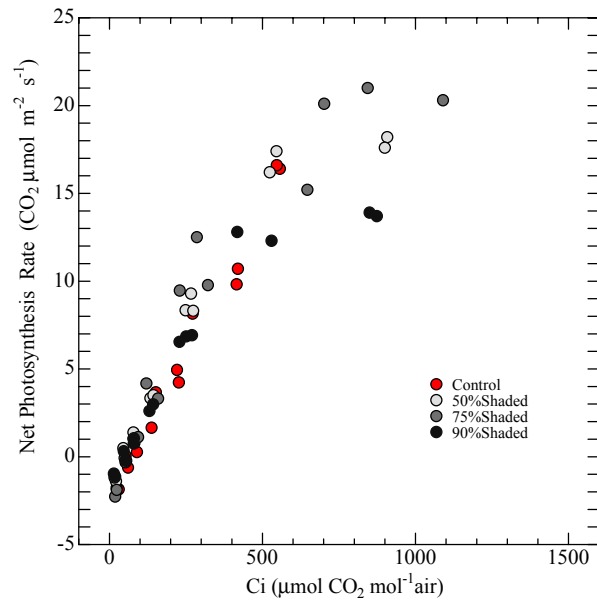


그림 13. 엽육내 CO_2 농도(C_i) 변화에 대한 광합성(A) 반응(25°C , PPFD $1000 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)

표 23. A-Ci 곡선에서 산출한 CO₂ 보상점, 광호흡, 최대광합성속도, 탄소고정효율

Plot	CO ₂ compensation point ($\mu\text{molCO}_2 \text{ mol}^{-1}$)	Photo respiration rate ($\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	Maximum photosynthesis rate ($\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	Carboxylation efficiency ($\text{mmolCO}_2 \text{ mol}^{-1}$)
Control	70.26 (± 11.11)	2.79 (± 0.13)	16.50 (± 0.10)	40.36 (± 4.54)
Shaded 55%	47.66 (± 6.00)	2.00 (± 0.28)	17.90 (± 0.30)	41.95 (± 0.56)
Shaded 75%	64.73 (± 0.88)	2.94 (± 0.15)	20.65 (± 0.35)	45.49 (± 2.99)
Shaded 90%	49.90 (± 6.80)	1.55 (± 0.22)	13.80 (± 0.10)	30.97 (± 0.18)

제 4 절 가시오갈피의 山地식재시험

가. 山地식재시험

가시오갈피의 산지 재배방법 및 식재지 상층 임관의 비음도 구명을 위하여 산림종자연구소 시험림에서 상층림을 침엽수의 스트로브잣나무 단순림과 갈참나무 등 다종으로 구성된 활엽수림 내에서 산지식재시험을 실시하였다. 조사항목은 산지식재 후의 활착율 등 성장특성 조사결과 근원경 및 수고에서는 활엽수림 수하 시험지에서 양호하였으며, 신초생장에서는 침엽수에서 다소 양호하였다.

이러한 결과는 가시오갈피의 자생지가 모든 상층 활엽수림으로 구성되어 있었으므로, 자생지의 식생구성 분포상황을 참고로 하면 식재시험의 성장조사는 매우 주목할 만한 결과로 지속적인 관찰조사가 필요하였다.

상층 임관의 울폐도에 있어서 침엽수림 시험지에서는 표 13의 가시오갈피 산지식재의 생육특성에서 나타난 것과 같이 울폐정도 차이에 의한 가시오갈피의 근원경과 신초생장차이는 없고, 수고성장에 있어서 약간의 차이를 나타냈다.

그리고 활엽수림 시험식재지에서는 울폐도 50%이하보다 50%이상에서 수고와 신초생장이 다소 양호한 결과로 나타났으며, 근원경에서는 같은 결과로 나타났지만, 시험식재지를 전체적으로 침엽수림과 활엽수림을 구분하여 비교하면 활엽수림이 근원경과 수고, 그리고 신초생장 등 조사항목 모두에서 생육이 양호한 것으로 나타났다(표 24).

나. 산지검정

자생목은 다수의 줄기(수간)로 이루어져 있어 분근의 형태로 시험재료를 수집하



그림 14. 가시오갈피의 산지식재



그림 15. 침엽수림 수하식재



그림 16. 활엽수림 수하식재

여 국립산림과학원 시험포지에 강원 평창 등의 21산지 250본으로 산지검정림을 조성하였으며, 산지별 신초생장 길이의 비교조사를 실시하였다.

시험포지에 조성된 시료의 전체 평균수고 및 근원경은 104cm 및 1.7cm이었고, 산지별로 조사된 본수는 3~15본으로 일정하지 않았으며, 성적비교는 Duncan 다중검정에 의해 나타냈다. 참고적으로 자생자원 보호를 위하여 세부적인 자생장소는 표기하지 않았다.

생장과 결실이 우량한 품종육성을 위해 1차 연구년도에 이어서 강원 인제등 가시오갈피 21개산지에 대한 생장 및 개화결실 특성조사 등 산지검정을 지속적으로 실시하고 있다.

표 24. 가시오갈피 산지식재지 생육특성

상층림관		근원경 cm	수고 cm	신초생장 cm
수종	울폐도			
침엽수	50%이하	0.7	42.5	6.8
	50%이상	0.7	43.6	6.8
활엽수	50%이하	0.9	53.1	5.3
	50%이상	0.9	55.4	6.6

1) 성장특성

가시오갈피 산지검정 시험목은 창촌지역 등 자생지로부터 분근의 형태로 채집되는데, 선행연구에 의해 1998년부터 산지검정림이 조성되고 있으며, 현재까지 본 산림종자연구소 시험림포지에 0.1ha, 230본이 조성되어있다.

그림 17과 같이 산림종자연구소 춘천지소 내에 조성된 시험지로서 산지에서 채취된 부근을 이식하고 3년경과 후의 상황이다. 그림에서 나타난바와 같이 낙엽활엽수의 수림 아래 조성된 것으로 대체적으로 양호한 생육상태를 나타내고 있으며 결실이 이루어져 해발고도가 낮은 임지에서 재배될 수 있다고 판단되어 생산영역의 범위가 확대될 수 있을 것으로 기대된다.

본 연구에서는 이와 같은 산지검정림에서 산지 간에 성장 및 개화결실을 종합적으로 검정하여 성장과 번식특성이 우수한 우량품종선발을 목표로 시험연구를 추진하여, 표 25에서와 같이 창촌3등 19산지 평균 신초의 성장길이는 40.3cm이며, 을수 및 운두령에서 50cm이상으로 양호하였다.

가시오갈피 대한 성장특성조사로 수고, 근원경 및 신초생장, 줄기 수 등을 조사한 결과 산지간의 차이가 나타났는데 그중에서도 신초생장 길이는 조사 1차년도 21산지 중에서 을수 2가 표-25에 나타난 것과 같이 조사지 최저성장 19.2cm보다 45cm 큰 64.2cm로 크게 나타났으며, 그 다음이 57.0cm의 을수로 을수의 성장조건 또는 개체의 우수성이 인정되었다.

또한 표-26에서와 같이 제 2차 조사에서 개화송이의 수를 중심으로 파악해보면 오대산이 97.5개로 가장 많은 양으로 나타났고, 다음으로 을수와 을수 2가 오대산에 조금 미치는 92.3개와 79.7개로 개화되었으며, 정선이 9.8개로 가장 낮은 개화수를 나타내었다. 화아원기의 수에서도 오대산이 98.9개로 하장의 5개에 비해 약 10배 정도 높게 나타났으며 그다음은 을수와 을수 2로 나타났다.



그림 17. 가시오갈피의 산지 적용과 結果

표 25. 1 구역 가시오갈피 산지별 생육특성 (제 1차 현지조사)

산 지	조 사 본수(본)	수 고 (cm)	신초생장 길이(cm)	근원경 (mm)	줄기수 (개)
창 촌3	16	88.6	26.9	18.9	4.8
하 장	3	46.2	19.2	17.7	2.0
백 석	9	105.8	39.6	26.0	3.2
상 남	6	173.8	44.0	34.8	3.3
정 선	33	80.0	25.9	22.0	2.2
치악산	2	180.6	36.6	27.2	3.5
덕유산	2	213.6	45.6	33.6	8.0
중 국	40	146.6	53.9	20.8	4.6
진 동	54	117.0	38.2	18.3	4.0
가리산	4	187.4	45.4	24.9	2.8
자 운	5	165.8	39.6	28.5	4.4
점 봉	8	140.7	35.9	18.1	2.9
고양산	8	111.0	31.8	14.5	2.8
삼악산	4	117.3	34.0	14.0	5.3
황병산	13	129.8	37.4	24.3	3.1
운두령	4	148.8	50.8	18.9	2.5
을 수	4	116.2	57.0	18.1	3.8
을 수2	10	169.8	64.2	18.0	5.7
오대산	11	151.0	45.4	22.6	6.4
mean		125.3	40.3	21.0	3.9
root mse		38.9	15.7	6.4	2.1
c.v.		42.0	39.1	35.8	54.2
f-value		7.85*	5.9**	4.7**	3.9**

표 26. 1구역 가시오갈피 산지별 생육특성(제 2차 현지조사)

산 지	조사본수 (본)	수고 (cm)	근원경 (mm)	줄기수 (개)	화아원기수 (개)	개화송이수 (개)
창 촌3	16	161.7	1.5	8.3	39.2	41.8
하 장	7	117.8	1.2	2.3	5.0	10.0
백 석	9	170.1	1.7	6.5	6.3	11.7
상 남	4	226.3	2.3	6.3	11.0	10.0
정 선	29	141.0	1.4	2.4	6.0	9.8
치악산	2	230.5	1.7	10.0	39.5	52.5
덕유산	2	263.5	2.3	10.5	58.0	60.0
진 동	54	187.4	1.6	6.4	39.3	41.8
가리산	4	158.3	1.5	7.8	51.3	55.0
자 운	5	175.2	1.7	8.0	70.6	73.4
점 봉	8	142.5	1.5	4.9	39.5	39.8
고양산	5	169.7	1.3	6.0	37.3	37.3
삼악산	4	175.3	1.8	9.0	52.0	53.8
황병산	4	204.3	2.1	3.0	11.0	11.5
운두령	4	224.5	1.7	7.3	59.8	61.8
을 수1	4	192.3	1.5	9.8	92.3	90.3
을 수2	10	213.7	2.1	13.0	79.7	73.3
오대산	11	203.6	1.6	14.8	98.9	97.5
(중 국)	63	213.8	1.4	7.5	36.8	28.7
평 균	12.9	188.0	1.7	7.6	43.9	45.3

가시오갈피에 대한 다른 조사지 홍천2, 홍천1, 덕유산, 홍천6 및 오대산 등 20개 산지에서는 표 28과 그림 18에서 나타난 것과 같이 홍천의 신초생장이 가장 우수하였으며 삼척의 경우에서 낮은 성장으로 조사되었으나 제한된 조사 시기와 기간으로 완전한 결과로서 인정하기에는 무리가 있을 것으로 판단되어 지속적인 검토가 필요하였다. 하지만 현재까지 표면적으로 나타난 결과에서 수고 172cm의 인제 2, 근원경 18.7mm의 홍천 6, 줄기수 11.5개의 치악산이 요소별로 우수하여 이를 시간의 여유를 가지고 종합적으로 판단하여 우량개체를 선발할 수가 있고, 한편에서는 재배시 부위의 목적이 필요할 때에는 인제, 홍천 6 그리고 치악산의 자료를 이용할 수가 있다.

표 27. 2구역 가시오갈피 산지별 생육특성

산지	조사본수 (본)	수 고* (cm)	근원경 (mm)	신초생장 (cm)	줄기수 (개)
홍천 2	10	146 ^{bd}	15.7 ^{bd}	40 ^a	8.9 ^{ac}
홍천 1	4	103 ^{df}	15.7 ^{bd}	31 ^{ab}	3.7 ^{df}
덕유산	2	206 ^a	175. ^{ac}	29 ^{ac}	9.5 ^{ab}
홍천 6	4	130 ^{ce}	18.7 ^{ab}	29 ^{bd}	4.0 ^{df}
오대산	11	135 ^{be}	16.4 ^{ad}	28 ^{be}	7.3 ^{bd}
황병산	13	131 ^{ce}	16.2 ^{ad}	21 ^{bf}	5.7 ^{bf}
삼악산	4	110 ^{df}	11.0 ^{dg}	21 ^{bg}	6.5 ^{be}
인 제	54	102 ^{eg}	11.6 ^{cg}	20 ^{bg}	6.0 ^{be}
홍천 5	5	152 ^{bc}	17.8 ^{ab}	20 ^{bg}	5.6 ^{bf}
치악산	2	161 ^{bc}	17.5 ^{ac}	19 ^{bg}	11.5 ^a
인제 2	6	175 ^{ab}	21.7 ^a	19 ^{cg}	4.7 ^{df}
흑룡강	46	128 ^{ce}	14.7 ^{be}	19 ^{cg}	5.2 ^{cf}
정 선	29	82 ^{fg}	13. ^{4bf}	17 ^{dg}	2.7 ^{ef}
홍천 4	16	50 ^{hi}	9.3 ^{eg}	17 ^{eg}	2.5 ^{ef}
가리산	4	159 ^{bc}	18.0 ^{ab}	16 ^{eg}	6.0 ^{be}
창 촌	16	106 ^{df}	12.7 ^{bf}	15 ^{fh}	6.4 ^{be}
인제 3	8	125 ^{ce}	12.9 ^{ef}	13 ^{fh}	3.7 ^{df}
평 창	6	97 ^{eg}	14.5 ^{be}	13 ^{fh}	5.0 ^{cf}
고양산2	3	121 ^{cf}	11.7 ^{cg}	11 ^{fh}	3.3 ^{df}
고양산1	6	65 ^{gi}	8.5 ^g	9 ^{gh}	3.3 ^{df}
삼 척	7	31 ⁱ	6 ^g	4 ^h	1.6 ^f
전체평균	12	120	14	19.6	5.4

* 다른영문자간 1%유의차

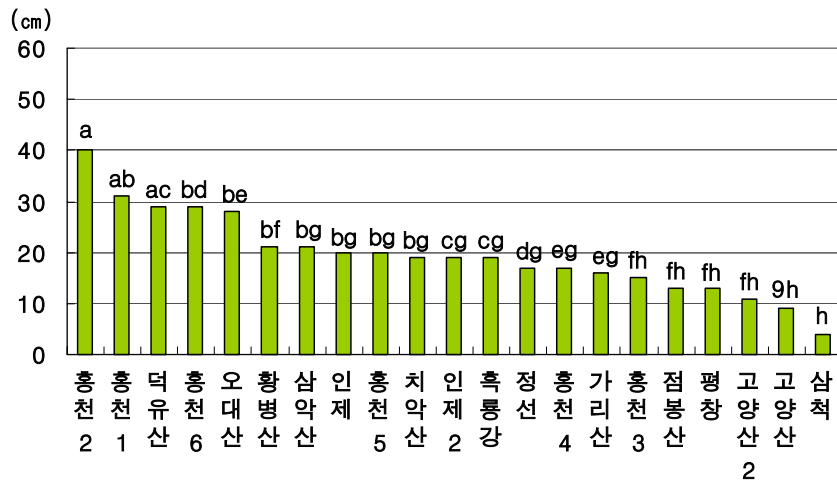


그림 18. 가시오갈피 산지별 신초생장(2 구역)

한편 가시오갈피에 대한 자료를 바탕으로 산지별 성장특성에 대한 분산분석을 하여 표 28에 나타내었다.

표 28. 가시오갈피 산지별 성장특성에 대한 분산분석

구 분	신초생장 (cm)	줄기수(개)
Mean	13	5.1
RootMSE	4	3.0
C.V.	31	58.4
F-value	6.0**	4.6**

2) 각 산지별 개화특성

창춘, 홍천 등지에서 수집한 시료 개체의 개화시기를 조사한 자료에 의하여 차대 품종의 육성과 생산시기조절을 위한 혼식시기 등을 결정하기 위하여 조사 검토하였다(그림 19와 20). 그 결과 개화초기에는 황병산과 을수 2가 6월8일로 가장 먼저 개화하였으며, 백석과 정선의 2 산지가 6월 20일로에서 늦은 개화가 이루어 졌다.

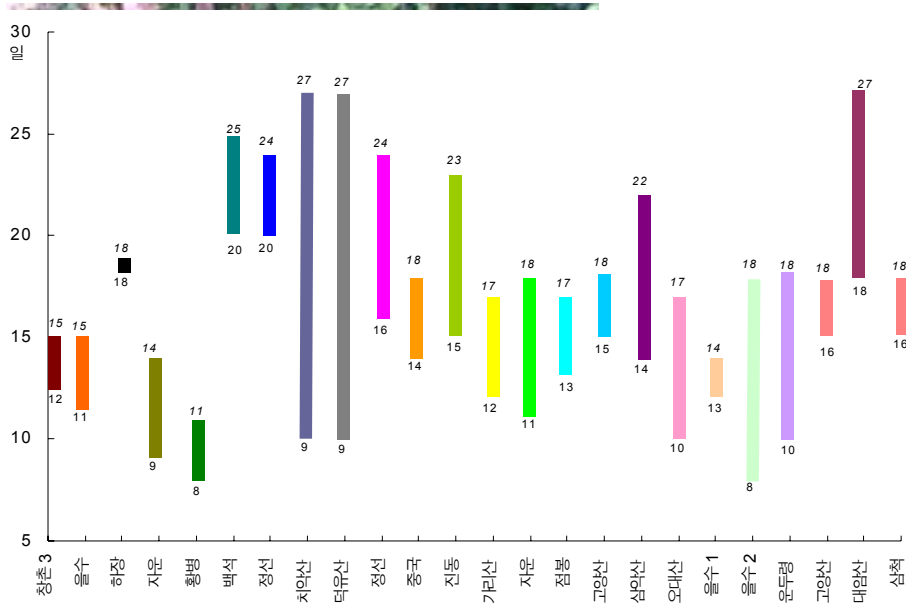


그림 20. 1구역 가시오갈피 산지별 개화시기

개화기간은 3일에서 약 20일로 산지 간에 차이가 크게 나타나고 홍천2와 6, 황병산, 자운, 울수1등의 산지는 조기개화 그리고 백석, 정선, 대암산 등의 산지는 만기에 개화하는 특성을 보이고 있다.

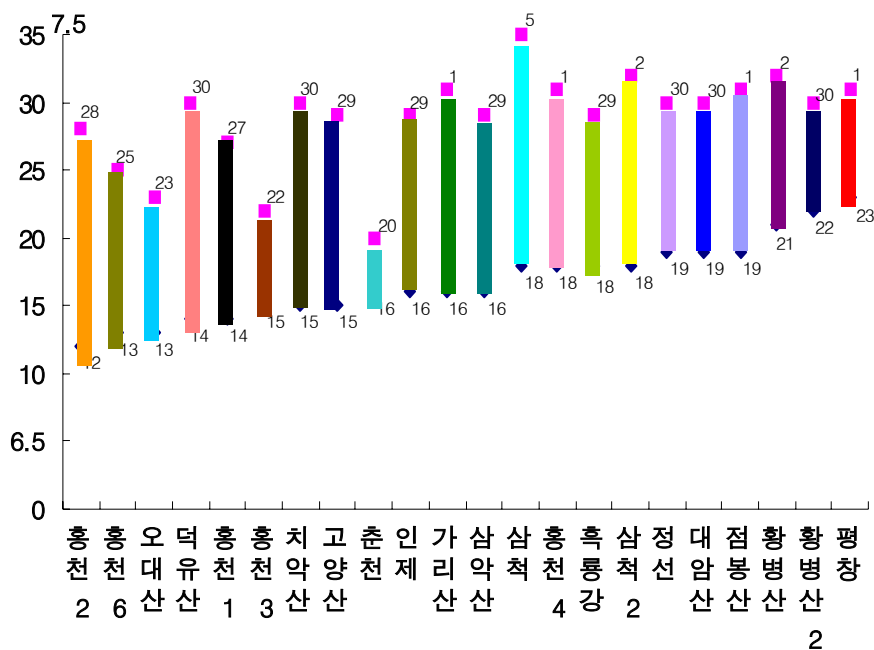


그림 21. 2 구역 가시오갈피 산지별 개화시기

또한 생장특성이 타 조사지에서 조사된 가시오갈피 21산지와 대암산 등 22산지의 개화특성조사 결과 개화 시기는 6월12일~23일 만개기는 6월21일~7월5일 및 개화기간은 4일~17일로 산지 간 차이가 크게 나타났다(그림 21). 또한 편의상 2 구역으로 구분된 홍천 등의 20개 산지에의 개화특성은 홍천 2가 6월 12일에 개화되는 등, 12개의 산지가 6월 12일~16일 사이에 개화 되었으며, 황병산과 평창이 22일과 23일로 다소 늦은 개화가 이루어졌다. 개화기간에서는 약 18일 정도 지속된 삼척과 홍천 2, 덕유산, 치악산 등이 15일로 그 다음 순위를 차지하였는데 이러한 자료는 금후 품종간의 혼식재배와 화분의 활용에 중요자료로 활용될 것으로 생각한다.

3) 결실특성

개화특성 조사된 가시오갈피 22산지 중 결실된 산지는 표-29와 같이 평창 등 20개 산지로 전산지로 판단하였을 때 평균 20%가량으로 결실률이 저조하였다. 그러나 결실된 흑룡강, 진동 등의 5개산지에서 결실은 진동이 11.5개, 중량과 송이크기 그리고 과립수에서 각각 평창이 13.7g, 47mm, 37개로 우수하였고 과정의 크기에서는 흑룡강이 84mm로 5개 산지 중에서 가장 우수한 형태로 나타났다. 비교적 충실하여

금후 품종선발시 참고될 사항으로 나타났다(표 29). 한편 표 30과 같이 이들 결실특성 분산 분석결과 송이중량, 직경, 과립수 등에 산지 간에 고도의 유의차를 보였다.

또한 이들 결실 5개의 산지는 그림-18과 같이 가시오갈피 2구역 조사지에서 개화개시일(6월16일)과 만개일(7월1일)이 비교적 늦어 이와 같은 개화특성과 결실의 상관관계를 본 연구수행 종료 후에도 계속조사 할 필요가 있다고 사료된다.

표 29. 산지별 결실특성

산지	개화수 (개)	결실수 (개)	결실율 (%)	송이중량 (g)	송이* (mm)	과립 (개)	과경길이 (mm)
평창	4.6	4.6	100	13.7 ^{ab}	47 ^a	37 ^a	54 ^{bc}
홍천 4	8.5	8.0	94.1	4.4 ^c	35 ^b	10 ^b	77 ^a
인제	5.4	5	92.6	16.1 ^a	45 ^a	29 ^a	44 ^c
흑룡강	8.2	7.5	91.5	12.6 ^{ab}	44 ^a	28 ^a	84 ^a
진동	12	11.5	95.8	9.3 ^b	43 ^a	26 ^a	64 ^b

* 다른 영문자간 10% 유의차

표 30. 결실 특성에 대한 분산 분석

구분	송이중량 (g)	송이직경 (mm)	송이당 과립수 (립)	소과경 길이 (mm)
Mean	10.8	43.5	26.9	68.5
RootMSE	6.0	8.2	13.0	24.2
C.V.	56.0	18.9	48.1	35.3
F-value	9.77**	5.0**	5.0**	13.8**

4) 우량개체에 의한 채종원 조성

가시오갈피에 대하여 다양한 연구 수행과 종자보급 등을 위한 우량개체 채종원을 산림과학원 산림종자연구소 춘천지소와 충주 시험림에 표 31과 같이 8,650m²의 포지를 조성하여 25개 산지의 1,990본에 식재하여 관리하고 있다.

표 31. 가시오갈피 우량개체 채종원 조성현황

식재장소	면적(m ²)	식재본수(본)	현존본수(본)	산지수
계	8,650	1,990	1,722	25
강원 춘천	5,650	1,680	1,634	24
충북 충주	3,000	310	288	1



A: 산지식재



B: 수하식재



C: 노지식재(비움)



D: 노지식재(전광)

그림 22. 가시오갈피 우량개체 채종원 조성

제 4 장 오미자류의 우량품종 육성

제 1 절. 오미자의 우량품종 선발

가. 자생특성 구명 및 산지수집

강원 인제읍 가리산리 등 2개소 오미자 자생지 조사된 입지환경은 해발고 700m 이상 고산지대로 계곡부의 석력도 높은 곳이고, 1ha 이상 대규모 면적에 40° 정도의 산지 경사에서도 분포하였으며 (표 32) 금후 재배지조성에 있어서 이와 같은 자생지 주위환경을 고려해야 할 것으로 사료된다.

표 32. 강원도산 오미자 자생지의 입지환경

장 소	해발고 (m)	위 치	방 위	경사도 (°)	석력도 (%)	분포면적 (m ²)	분포본수 (본)
인제 가리산리	700	산중계곡	남	5	75	10,000	2,000
홍천 월둔리	810	계곡	동남	40	90	10,000	3,000
정선 고양리	673	산중계곡	정북	25	35	2,500	20

표 32과의 자생지에서 조사한 오미자의 생육특성으로 평균수고(간장) 12m, 근원경 1.2cm, 수령 13년으로 비교적 대경의 장령목으로 구성되어 있었으며(표 33), 수하에서는 다수(2500본/ha)의 치수들이 서식하고 있어 서식환경의 표본지로 사료되었다.

표 33. 우수산지에 의한 우량품종 선발

산 지	신초생장 (cm)	수간수 (개)	결실율 (%)	본당 송이 수 (개)
인 제	20	6.0	96	12.0
홍천 5	17	2.5	94	8.5
인제 3	13	3.7	93	5.4
평 창	13	5.0	100	4.6
홍천 2	40	8.9	-	-
오대산	28	7.3	-	-
전체평균	19.6	5.4	-	-

그리고 위 표의 서식지에서 각 산지별로 5본씩의 치수를 채집하여 본 산림종자연구소 시험림에 산지검정림을 조성하여 이식하였다.

나. 우수산지 선발

전술한 생장 및 개화결실 특성 등 산지검정결과 현재까지 생장 및 결실이 우수한 인제등 4산지와 결실은 되지 않으나 생장이 우수한 홍천2와 오대산을 포함한 6산지가 금후 우량품종 선발에 기대된다(표 34).

표 34. 강원도 오미자 자생목의 생육특성

장 소	조사본수 (본)	수 고 (m)	근원경 (cm)	수관폭 (m)	수 령 (년)	줄기수 (개)
인제 가리산리	5	15.2	1.1	4.5	18	5.6
홍천 월둔리	10	8.8	1.4	4.3	9	1.5
정선 고양리	4	22	1.8	1.3	8.7	3.5

다. 오미자 재배사례

1) 재배사례

산지 자원화와 농산촌 주민의 소득작물로서 오미자를 현재 재배하고 있는 전북

무주군 안성면 공정리에서 재배사례를 조사하였다.

오미자를 재배할 때에 생육상태와 생산량 증대를 위하여 다음과 같은 점을 주의할 것으로 나타났다.

가) 성장점의 존치

성장점을 절단하게 되면 후기성장 및 결과 모지의 생산이 정상적으로 이루어지지 않으므로 성장점 절단은 실시하지 말아야 한다.

나) 맹아 관리

한주를 식재하였을 경우에 보통 3-8개의 주지를 발생한다면 그 이외의 것은 맹아로 구분한다. 주지를 제외한 맹아는 전량 제거해주는 것이 좋다. 혹시 맹아로서 구분하지 못하고 삼목의 삼수로 사용하게 되면 그 차후세대는 결실이 제대로 이루어지지 않는다.

다) 묘목 관리

묘목의 생산관리는 오미자 생산량에 막대한 영향을 미친다. 따라서 묘목을 생산하는 모수는 우량하고 품질이 좋은 나무를 선발하여야 하며, 그 선발 모수로부터 접수를 채취하여 접목묘를 생산해야 하며 그 접목묘에서 생산된 종자를 사용하여야만 양질의 오미자를 생산할 수 있어 우수가계의 계통관리가 중요하다. 그러나 우수한 계통의 접목묘라고 할지

라도 묘령이 증가하면서 생산량이 감소하게 된다.



그림 19 오미자의 재배지 광경(식재 후 3년)

묘목을 다시 식재하여 오미자생산에 대비하며, 묘목의 수령은 대략 6에서 7년을 기준으로 한다.

또한 생산량이 감소되는 원인으로 수광량이 영향을 미치는 것으로 나타나 적절한 수광량이 이루어지지 못하면 생산량이 감소할 수도 있다. 이를 위해서는 통풍과 채광이 잘될 수 있도록 일부의 가지를 적절하게 전정 조절하여 오미자생산량을 증대시킬 수 있다.

하지만 적절한전정이 이루어졌을 때에도 수확량에 영향을 준다면 주변의 수목을 제거하고 다른

2) 유통현황

가) 생산량

오미자의 생산은 과거에 강원도가 전국 생산량을 좌우할 정도로 편중되어 있으며, 그 재배면적은 약 3,000ha 정도 산지가 개발되면서 거의 없어지고 경북 및 전북에 생산량이 증가되고 있다.



그림 20. 3년생 오미자의 착과모습

한편 연구조사 수행을 위하여 장수군농업기술센터, 온양농업기술센터, 호남작물시험장 등 해당 연구기관에 협조를 받아 현지 사례를 고찰해보면, 경북 지역에는 문경시 동로면 지역에서 새로운 오미자의 조성지가 새로 형성되고 있으며, 재배면적은 약 1,000ha에 100가구 정도가 참여하고 있다. 또한 전북지역은 무주군 안성면 지역과 장수군지역에서 생산단지가 조성되고 장수지역은 조성면적이

점점 확대되고 있는 실정이다

생산된 오미자가 한약 재료로서만 국한된다면 과잉 생산으로서 부작용이 발생되지만, 茶와 飲料水로서 품질개발과 보급이 확대되면서 재료활용의 범위가 넓어짐으로 인하여 오미자의 생산이 본격화 되어 있다. 이렇게 오미자의 소비량은 계속 증가되고 있는 추세로, 생산되는 오미자 물량은 앞으로도 지속적으로 부족한 것으로 판단된다고 관련업계측에서는 추정하고 있다.

또한 현재의 생산량은 부족한 실정에 따라 지속적으로 생산면적이 적정하게 확대되어야하고 오미자의 특성상 단위면적당 수확량이 타 수종에 비하여 높은 장점을 지니고 있다.

표 35. 오미자 재배지 입지환경

장 소	지 형	해발(m)	방 위	토 성	토 심	석력도(%)	비 고
경북. 문경. 동로. 노은리	산 록	200	북동	사질 점토	중	5	황정산 산록 (해발1077m)
전북. 무주 안성. 공정리	평 지	150	-	양토	심	20	평당 만원 수익

나) 생 구과와 건조구과의 유통

농가에서 생산된 오미자의 구과를 생으로 직접 사용하면 수익이 높아진다. 그러나 구



그림 21. 오미자의 과실

산자와 관련업계를 네트워크로 연결하여 서로의 정보가 필요하였다.

과채취 일로부터 3일 이내에 유통이 되어야만 변질을 막을 수 있다. 또한 수익을 높일 수 있지만 구과를 채취하여 변질되기 전에 가공공장까지 도착시켜야하는 유통기간의 확보하기가 어려운 실정으로 인하여 생산된 구과를 건조시킨 상태로 운반 유통 시키게 된다.

따라서 생산된 오미자 구과를 소비자가 만족할 수 있는 상태의 고품질로서 유지시켜 주고 더불어 생산자도 고수익을 올릴 수 있도록 폭넓게 생

정보를 교환할 수 있는 체계의 정비

표 36. 오미자 재배목 생육상황

장 소	재배면적 (ha)	본 수	식재간격 (m)	간 장 (m)	근원경 (cm)	수관폭 (m)	수 령 (년)	결실량/본 (송이)
공정리	1.3	10,000	0.4×1	3~4	0.5~1.5	1~2	3~5	20~30
노은1	0.1	1,000	0.4×1	3~4	1.2~3.4	1~1.5	7~10	15~25
노은2	0.13	1,300	0.45×3	3~5	1.5~4.0	1.5~2	10~12	20~40

※ 복합영농 일부로 오갈피나무도 소규모 면적(0.1ha)으로 재배하고 있음.

다) 오미자차의 일반

현지의 재배지에서 직접 만든 오미자의 차는 입안의 감촉이 감미롭고, 끝 맛이 독특하다 하였다. 이를 위해서는 시원하고 온도의 변화가 거의 없는 단지를 준비하고, 가을에 오미자를 채취하여 곧바로 생과 상태로 조심스럽게 세척하여 준비하고 이를 성숙시켜서 완성품으로 만든다. 성숙된 완성품을 원액으로 하고 이에 물을 희석시켜서 차로 만들어 음미하면 된다고 하였다.

제 2 절. 흑오미자의 자생환경

가. 흑오미자 자생지 입지환경조사

흑오미자 자생지의 생육환경을 구명하기 위하여 자생지의 위도, 경도 및 해발고, 방위, 관계적 위치, 지표형태, 경사, 토심, 토양습도 등을 조사하였다. 위도, 경도 및 해발고는 Global Positioning System을 이용하여 단독측정법으로 측정하였다. 이들 지역의 입지 조건은 산록, 산복, 산정으로 구분하고, 지표형태는 凹面지역, 凸面지역, 평지 등으로 구분하였다. 토심은 심(60cm이상), 중(31~60cm), 천(30cm이하)으로 구분하고, 토양습도는 적, 건습으로 구분하여 조사하였다. 흑오미자 자생지의 기상 자료는 중앙기상청 기상자료를 통하여 최근 20년간의 자료를 요약하였다.

나. 흑오미자 자생지의 분포 및 입지환경

흑오미자(*Schisandra nigra* Max.)는 국내에서는 제주도에만 부분적으로 분포하고 있는 우리나라 特産樹種중의 하나이다.



그림 22. 오미자재배의 밭고랑 관리

흑오미자의 분포는 해발고 600~1,350m 범위 내에 주로 북향, 북서향 및 남서향을 중심으로 비교적 습도가 많고 35° 이하의 완만한 경사를 갖는 山麓部에 위치하고 있다. 이 지역의 모암은 현무암과 퇴적암으로 구성되어 있으며, 토양은 부식도가 많은 미사질 양토를 이루고 있다.

표 37. 흑오미자 조사지의 토양 이화학적 특성

Plot location	Organic matter(%)	Total nitrogen(%)	pH	Exchangeable(m.e./100g)					P ₂ O ₅	
				K ⁺	Na ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	C.E.C		
Sanghyo	1	22.51	0.61	4.93	0.20	0.16	0.16	0.34	15.74	3.05
	2	23.58	1.00	4.37	0.38	0.24	0.40	0.90	12.15	1.30
	3	21.27	0.85	5.14	0.26	0.19	0.40	0.50	12.57	0.30
	4	25.08	1.33	4.97	0.46	0.33	2.30	1.50	10.21	1.80
	5	27.21	0.69	4.92	0.16	0.24	0.30	0.30	13.32	2.02
Average	23.93	0.90	4.87	0.29	0.23	0.71	0.71	12.80	1.69	
Youngsil	6	24.86	0.53	5.02	0.35	0.25	2.33	1.48	17.61	2.46
	7	24.18	0.96	4.79	0.47	1.43	3.14	0.31	22.19	4.07
	8	23.82	0.99	5.28	0.31	0.83	1.40	0.80	16.07	0.30
	9	24.51	0.92	4.81	0.42	1.23	3.25	0.56	19.82	3.12
	10	22.48	0.61	4.53	0.38	0.33	2.52	0.85	18.22	2.07
Average	23.97	0.80	4.89	0.39	0.81	2.53	0.80	18.78	2.40	
Kwanumsa	11	23.51	1.27	4.90	0.44	0.98	1.70	1.00	19.21	2.40
	12	19.27	1.14	4.90	0.35	1.32	0.80	0.60	20.23	1.70
	13	15.45	0.68	5.04	0.38	1.43	1.78	3.68	22.74	2.21
	14	21.83	0.81	4.58	0.37	0.19	1.00	0.88	16.74	1.88
Average	20.02	0.98	4.89	0.39	0.98	1.32	1.54	19.73	2.05	
Total average	22.64	0.89	4.88	0.36	0.67	1.52	1.02	17.10	2.05	

표 37은 흑오미자 조사지의 토양 이화학적 특성을 나타낸 것이다. 표 37에 의하면 흑오미자가 분포하는 조사지의 토양산도는 pH 4.36~5.28의 범위로써 우리나라 산림토양의 평균치 5.5와 비교할 때 비교적 산성에 가까운 토양이었으며, 토양의 보비력을 나타내는 양이온 치환용량(C.E.C.)은 평균 16.7±3.83(10.21~22.74)me/100g으로 국내 山林土壤의 평균치 11.34me/100g보다 비교적 높은 값을 나타내고 있다.

유기물함량에서도 22.81±2.85%로 우리나라 산림토양중 비교적 유기물 함량이 높은 谷間崩積土(4.54±2.97)보다 5배 이상 높은 비옥한 토양이었다.

본 조사지의 토양특성 중 특이할 만한 것은 토양 중에 치환성 Na⁺의 함량이 육지의 산림토양보다 매우 높은 것인데, 토양중에 치환성 Na⁺의 함량이 높으면 토양 입단구조의 발달을 저해하게 되어 식물의 생육에 저해요인으로 작용하게 된다. 이렇게 치환성 Na⁺가 높은 원인중의 하나는 제주도의 지리적인 특성상 다량의 Na가 공급되었을 것으로 생각되고 또 화산분출 물질에는 치환성 염기중에 Ca 다음으로 Na가 많다는 宮森 等(1982)의 보고에서와 같이 모재특성상의 원인으로도 생각된다(宮森 等, 1982)

표 38은 최근 30년간 제주지역의 기상자료를 참고로 한 것이다. 조사지역의 연평균 강우량은 약 3,000~3,094 mm 정도였으며, 연평균기온은 8.8~10.5°C이지만 해발 100m 상승에 따라 0.6°C씩 감소하므로 黑五味子の 최저 극한기온은 1,300m지점을 기준으로 할 때, -7°C 이하로 내려가지 않아야 생육이 가능하리라고 생각된다.

표 38. 조사지역의 기후인자

지역	위도	경도	해발고 (m)Altitude (m)	년평균 온 도 (°C)	년평균 강수량 (mm)	1월의 최저온 도 (°C)	8월의 최고온 도 (°C)
상효	33°19'15"	126°33'32"	750~1,250	9.2	3,000	-5.8	23.0
	33°20'25"	126°33'53"					
영실	33°20'40"	126°27'22"	850~920	8.8	3,694	-6.8	22.8
	33°22'45"	126°27'54"					
관음사	33°24'29"	126°32'42"	660~710	10.0	3,045	-4.0	24.3
	33°24'49"	126°33'59"					

다. 흑오미자의 군락별 분포형

표 39은 상층과 중층에서 비교적 밀도가 높은 수종에 대하여 군락유형별 Morista 指數를 나타내었다. 일반적으로 개체군의 분포형은 환경에 대한 적응과 종간경쟁 결과, 집중분포, 확률분포, 규칙분포의 세 가지의 유형으로 구분할 수 있는데, 집합하는 경향을 보이지 않을 경우 확률분포, 종내경쟁이 심해서 균등한 공간배열이 요구될 경우 규칙분포, 종간경쟁이 심하거나 환경조건이 비교적 불균일할 경우 집중 분포하는 경향이 있다.

Morista 指數는 규칙분포, 확률분포, 집중분포에 가까울수록 각각 0, 1, ..., n(조사구수)에 수렴하게 된다. 흑오미자는 때죽나무군락과 소나무-때죽나무군락에서는 Morista 指數가 1.1846~1.1052로써 집중분포에 가까운 확률분포를 하고 있었으며, 소나무-졸참나무 군락에서는 0.9351로 규칙분포에 가까운 확률분포를 하는 것으로 나타났다. 이것은 흑오미자가 햇빛에 대한 요구도가 커서 그 분포형태가 주로 인위적으로 분포하는 숲과 숲 사이의 숲틈을 중심으로 숲틈 가장자리에 있는 나무의 줄기를 타고 올라가 생육하고 있는 것으로서 설명될 수 있다. 또한 때죽나무와 서어나무는 모든 군락형에서 확률분포를 보였으며, 소나무, 산벚나무, 비목나무는 규칙분포를 나타냈다. 이러한 경향은朴홍락 등이 백운산지역의 서어나무림에 대한 연구에서 서어나무는 1에 가까운 확률분포를 하고 있다는 보고와 일치하고 있다(박 등, 1996).

표 39. 흑오미자와 중요 수종에 대한 군락유형별 Morista 지수

Species	Communities			Total
	A	B	C	
<i>Pinus densiflora</i>	-	0.82	0.74	0.48
<i>Styrax japonica</i>	1.15	1.09	1.14	0.87
<i>Carpinus laxiflora</i>	1.27	0.97	1.13	1.21
<i>Quercus serrata</i>	0.60	1.14	1.11	0.72
<i>Prunus sargentii</i>	0.29	0.61	0.58	0.22
<i>Cornus kousa</i>	1.15	0.77	0.26	0.72
<i>Cornus controversa</i>	0.46	1.17	0.89	0.42
<i>Lindera erythrocarpa</i>	0.59	-	0.79	0.11
<i>Pourthiaea villosa</i>	3.81	1.42	1.24	0.82
<i>Schisandra nigra</i>	1.19	0.94	1.11	1.10

A-group : *Styrax japonica*-*Corunus kousa*

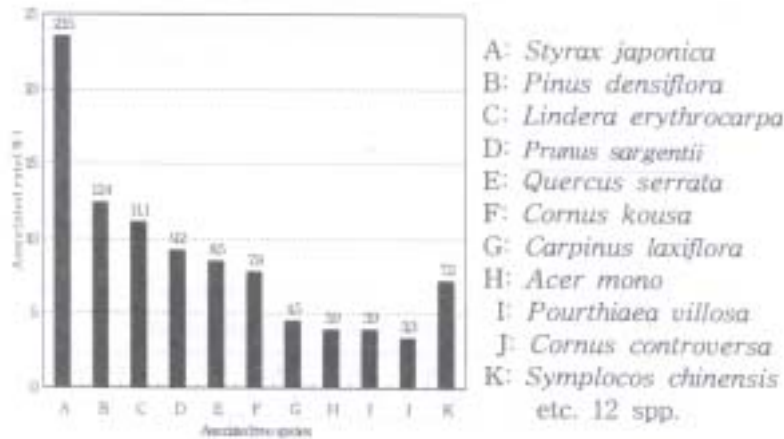
B-group : *Pinus densiflora*-*Quercus serrata*

C-group : *Pinus densiflora*-*Styrax japonica*

라. 흑오미자의 생육상황

흑오미자는 만경식물이라는 생육특성상 칩덩굴처럼 적절한 햇빛을 공급받기 위하여 다른 수종의 줄기를 타고 수관의 중간부위나 윗부분까지 올라가야만 정상적인 생육이 가능하다. 일반적으로 천연발아가 된 뒤 1, 2년내에 다른 나무의 수관부까지 올라가지 못하면 대부분은 고사하게 된다.

그림 23는 黑五味子の 분포지역내 설치한 14개 조사구(5,600m²)에서 다른 수종의 수관부위까지 올라가 생육하는 흑오미자의 개체수와 지지하는 수종을 나타낸 것이다. 黑五味子の 개체수는 총 192본이었으며, 조사구내에 출현한 목본식물(총 55수종) 중 25종류에 대해서만 흑오미자가 착생하는 것으로 나타났다. 수종별로 보면 때죽나무가 전체의 23.5%로 가장 많은 흑오미자가 착생하였으며, 다음으로는 소나무 12.4%, 비목나무가 11.1%였으며, 그 외에 산벚나무가 9.2%, 졸참나무가 8.5%, 산딸나무가 7.8%의 순으로 착생하는 것으로 나타났다.



이러한 나무들은 잎이 크거나 소지가 굵으며 잔가지가 적어 햇빛이 나무 전체에 고루 공급될 수 있는 특성을 갖고 있어 비교적 햇빛을 좋아하는 黑五味子が 생육하기에 좋은 조건을 갖추었다고 생각된다.

또한 흑오미자가 착생하는 수종들의 흉고직경과 수고분포는 표 40과 41에 나타내었다. 흉고직경 분포에 있어서는 3~6cm 이하의 DBH에서 24%로 가장 많았으나, 전체적으로 볼 때, 흉고직경 3~21cm의 범위에 전체의 80.7%가 집중되어 있었고, 수고분포에 있어서는 대부분이 6~8m 범위와 8~10m 범위에서 각각 24.0%와 27.7%로 분포하고 있었으나 전체적으로 볼 때, 4~10m의 범위에서 전체의 70% 이상이 집중

표 40. 흑오미자가 착생하는 수종들의 흉고직경 분포

DBH	<3	3≤ <6	6≤ <9	9≤ <12	12≤ <15	15≤ <18	18≤ <21	21≤ <24	24≤ <27	27≤ <30	30≤ <33	33≤ <36	36≤ <39	39≤ <42	42<	Total
No. of Total tree																
No. Tree	37	42	94	156	163	139	128	64	33	25	18	14	17	17	12	959
(%)	3.9	4.4	9.8	16.3	17.0	14.5	13.3	6.7	3.4	2.6	1.9	1.5	1.8	1.8	1.3	100
No. of supporting tree																
No. Tree	5	46	25	27	23	18	16	6	7	5	2	3	2	4	3	192
(%)	2.6	24.0	13.0	14.1	12.0	9.4	8.3	3.0	3.7	2.6	1.1	1.6	1.1	2.1	1.6	100

되어 있었다.

표 41. 흑오미자가 착생하는 수종들의 수고 분포

Height (m)	<4	4≤ <6	6≤ <8	8≤ <10	10≤ <12	12≤ <14	14≤ <16	16<	Total
No. of total tree									
No. of Tree	60	71	83	225	319	102	47	18	925
(%)	6.5	7.7	9.0	24.3	34.5	11.0	5.1	1.9	100
No. of supporting tree									
No. of tree	3	36	46	53	20	20	12	2	192
(%)	1.6	18.8	24.0	27.7	10.4	10.4	6.3	1.0	100

제 3 절. 흑오미자 선발개체에 의한 과실의 형태적 특성

흑오미자 자생지는 제주도 한라산의 해발 600~1,400 mm 사이에 분포하고 있지만 흑오미자의 밀도가 높은 곳은 크게 영실지역의 해발 850~950 m, 上孝地域 700~1,250 m, 관음사지역 660~800 m 지역의 국소지역별 群落形態로 자생하고 있으며, 기타 지역에는 개체수가 극히 소수로 산재하여 자생하고 있다.

이러한 협소한 자생상태에서 소비의 급증으로 자생지가 훼손되어감에 따라 귀중한 유전자원의 소실이 심각한 상태로 자생지에서 결실상태가 좋고 열매특성이 좋은

개체를 43본 선발하였으며, 생육상태가 우수한 수그루 7본을 선발하여 착과상황, 열매특성, 종자특성을 조사한 바는 Appendix 4와 같다.



그림 24. 흑오미자의 청과

선발목 평균 근원직경은 2.3 cm, 본당 평균 70송이, 송이당 평균 열매 수는 10.3개 이고 열매 1개당 평균중량은 0.77g, 열매 평균직경은 1.09 cm로서 1당 평균열매립수는 741립이었다. 또한 종자의 충실율은 59%, 실중은 39.9g/1000粒이었다.

선발 개체 중에 특기할 만한 것은 濟州 6號의 경우 雌雄同株 개체로서 착과량, 착과수 및 열매도 大粒으로 차대검정 후 우량품종으로서의 개발이 기대된다.

표 42. 흑오미자 선발목의 과실과 종자의 특성간의 상관관계

Characteristics	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9
Altitude (X1)	.	-0.1554 NS	-0.1600 NS	-0.0049 NS	-0.1720 NS	-0.1000 NS	0.0780 NS	0.0202 NS	0.4067 **
Diameter at root clooar(X2)		.	0.3992 **	0.0228 NS	0.0572 NS	0.0593 NS	0.0704 NS	-0.0650 NS	-0.0350 NS
Fruit bearing(X3)			.	-0.1709 NS	0.0658 NS	0.0594 NS	0.1545 NS	-0.2043 NS	-0.1206 NS
No. of fruit per cluster(X4)				.	0.1359 NS	-0.1706 NS	-0.0825 NS	0.3071 *	0.3345 *
Fruit weight(X5)					.	0.8710 **	-0.6072 **	0.4771 **	0.1215 NS
Fruit diameter(X6)						.	-0.6139 **	0.4147 **	0.1675 NS
No. of fruit per litter(X7)							.	-0.2754 NS	-0.1883 NS
% if pure seeds (X8)								.	0.0996 NS
Average weight of 1000 seeds(X9)									.

NS: not significantly at 1% or 5% levels

* : significantly at 5% level

** : significantly at 1% level

黑五味子 선발목간 특성을 비교해 보면 표 42와 같이 나타났으며, 선발목 직경

과 착과량, 해발고와 종자실중, 착과수와 종자충실을 및 실중, 과실중량과 열매직경과는 정의 상관관계를 보였다. 이는 흑오미자의 직경이 굵을수록 개화결실과 열매의 충실한 발육이 이루어져 집약재배를 하고자 할 때에는 충분한 비배관리가 요구된다고 생각된다.

제 4 절. 흑오미자 번식

가. 실생번식

黑五味子の 종자번식 실험은 금후 우량개체 선발에 의한 접목 증식의 대목 및 기타 시험연구 재료로 활용하기 위하여 2년만에 발아하는 흑오미자의 발아율 제고를 위해 자생지에서 채취한 종자를 果肉을 제거한 후 증류수로 비중 정선한 것을 공시 재료로 이용하여 수행하였다.

1) 종자선정

실생 번식에 유효한 종자 저장법을 구명하기 위하여, 냉장(4℃)저장, 냉장(4℃)습사저장, 노천매장, 상온저장의 4가지 저장방법별 발아시험을 하였다. 발아를 시험에 사용한 종자는 각 저장방법별 저장기간은 5개월간이다. 발아율 조사를 위한 파종상은 산림청 임업연구원 남부산림연구소 구내포지에 설치하였다. 시험을 위한 파종은 각 저장방법별로 300립씩 파종하였으며, 발아율은 당년도 발아율과 2년차 발아율로 구분하여 조사하였다.

2) 종자처리

2년 발아종자로 알려져 있는 흑오미자의 당년도 발아율을 높이는 방법을 구명하고자 저장 전처리방법과 저장방법이 서로 다른 종자의 發芽試驗을 하였다. 저장 전처리 시험은 H₂O₂ 10%, GA₃ 1,000ppm, BAP 1,000ppm, 계면활성제인 TWEEN(pon-pon 30%), alcohol 30%액 처리로 5종류로써, 12시간씩 침지처리 하였다.

저장 전처리를 끝마친 종자는 노천매장, 상온(25℃)저장, 냉장(4℃)습사저장, 습사변온저장으로 4가지의 서로 다른 저장방법으로 4개월(120일) 저장하였다. 습사변온저장은 저온(4℃)저장과 상온(25℃)저장을 7일 간격으로 반복하여 처리하였다. 發芽試驗은 산림청 임업연구원 남부산림연구소 구내포지에서 실시하였다. 공시 종자수는 각각의 시험구별로 150粒이며(50粒×3反復), 파종 후 60일에 발아율을 조사하였다.

처리내용은 4℃ 냉장저장, 4℃냉장습사저장, 노천매장, 상온저장 등 4개 처리로

처리기간은 5개월간 처리하여 포지에 300립씩 파종하여 당년발아율과 2년차 발아율을 조사한 결과 표 43과 같았다.

표 43. 흑오미자의 발아율

Treatment	No. of sowing (ea)	Percentage of germination	
		1st. year(%)	2nd year (%)
5 months dry cold storage	300	-	61
5 months cold moist stratification	300	9	95
5 months storage in open ground	300	8	93
Control (dry storage)	300	-	38

3) 종자발아

파종 당년도의 발아율은 극히 저조하였지만 발아가 개시된 처리구는 냉장습사저장과 노천매장처리구에서 8~9% 발아되었으며, 냉장저장 및 비교처리한 상온저장처리구는 전혀 발아가 되지 않았다. 2년차 발아율에 있어서도 냉장습사처리구와 노천매장처리구가 93~95%로 양호한 발아율을 나타낸 반면 냉장저장 및 비교구인 상온저장처리구에서는 38~61%로 냉장습사처리구와 노천매장처리구에 비해 저조한 발아율을 보였다.

Hartmann and Kestan(38)은 종자발아에 지베렐린 처리효과가 있다고 하였으며 (Hartmann et al., 1983), 沈 等(121)은 노각나무 종자를 채종 후 습도가 유지된 상태로 고온과 저온처리로 휴면타파가 가능하였다(沈 等, 1992)는 선행 연구로, 흑오미자 종자발아는 습도가 유지된 상태로 변온처리하는 것과 함께 지베렐린 처리 등 좀 더 적극적인 처리가 필요하다고 생각되어, H₂O₂ 10%, GA₃ 1,000ppm, BAP 1,000ppm, 계면활성제 TWEEN과 Alcohol 30%액에 각 처리별로 12시간 침적처리한 후, 노천매장, 25℃ 습사상온 저장, 4℃ 냉장습사저장, 습사변온저장으로 4℃ 7일, 25℃ 7일 반복처리로서 5개 전처리×4개 저장방법으로 처리한 후, 포지에 파종하여 60일 후 발아율을 조사한 결과는 그림 25와 같다.

각 처리별 발아촉진 효과를 보면 종자전처리에서 GA₃ 1,000ppm처리구가 15~29%로 가장 우수하였으며, 종자저장별로는 냉장습사저장과 변온처리구가 가장 우수

하였다. 냉장습사저장구의 GA₃ 처리가 가장 우수하였으나 29%에 불과한 저조한 발아율을 보였으나 종자 전처리 없이 냉장습사한 경우, 당년발아율이 9%에 불과하였다. 그러므로 본 시험에서 黑五味子の 종자발아에 지베렐린 처리효과가 무처리에 비해 3배 이상 효과가 있었으므로 Hartman과 Kester(38)의 종자발아에 지베렐린 처리효과가 있다는 보고와 같은 경향을 보였으며(Hartmann et al., 1983), 변온처리구도 다른 종자처리구에 비해 양호한 결과를 보였는데, 沈 等(121)의 노각나무 종자의 변온처리로 휴면타파가 가능하였다는 보고(沈 等, 1992)와도 같은 경향을 보였다.

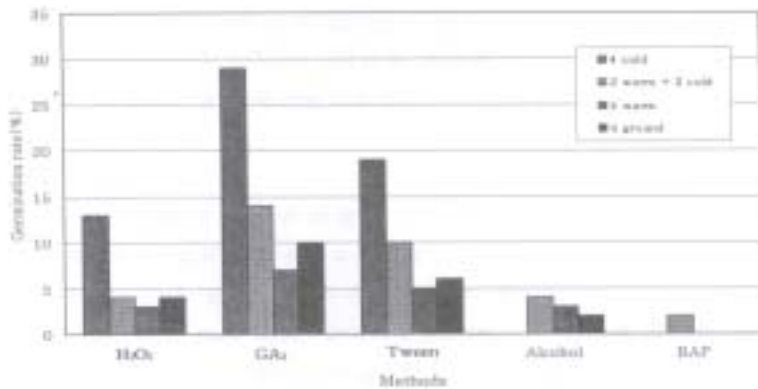


그림 25. 처리구별 흑오미자의 발아특성

이상의 결과를 종합해 보면 흑오미자 종자는 생리적·기계적 장애의 2중 휴면성을 가지고 있어 2년 만에 발아를 하나 지베렐린 처리와 냉장습사 및 변온처리로 당년발아촉진이 가능하다고 생각되어 진다.

나. 삼목번식

1) 발근촉진제 및 삼목시기별 삼목

제주도 북제주군 애월읍 한라산 900 m지역의 흑오미자 천연분포지에서 1995년 3월 20일, 줄기가 어느 정도 굳어지는 7월 10일과, 8월 1일, 8월 24일 삼수를 채취하여 시기별 IBA 농도별 삼목을 실시하였으며, 발근촉진제의 효과를 조사하기 위하여 IBA, NAA, IAA를 농도별로 처리하였다. 插木床은 나무판재를 이용하여 길이 20cm, 폭 1.3m, 깊이 20cm의 상을 처리한 후 버미큘라이트, 펄라이트, 피트모스를 혼합하여 사용하였고 삼수의 길이는 줄기 중앙부를 10cm길이로 조제하였다. 발근촉진제는

기부 3cm정도 잠기도록 30분간 처리하고 5cm 정도의 깊이로 삼목하였다.

삼목상은 관수시설을 이용하여 상대습도를 높게 유지하였으며, 직사광선의 차단과 급격한 온도의 상승을 防止하기 위하여 55% 차광되는 차광막을 설치하였다. 발근율은 삼목 3개월 후 굴취하여 뿌리가 1개 이상 나온 것을 발근한 개체로 간주하였다. 발근율은 삼수 본수에 대한 발근본수의 비율로 하였다. 또한 1996년에 수행한 黑五味子の 모수령, 삼수채취 부위 및 배양토, 선발개체의 발근력 등을 조사하기 위한 삼수조제 및 삼목상의 환경조건은 1995년 시험과 동일하게 실시하였다.

2) 발근촉진제 및 시기별 효과

흑오미자의 삼목에서 발근촉진제에 따른 삼목발근효과를 조사한 결과는 표 44와 같다. 발근촉진제에 따른 평균삼목 발근율은 IBA 69%, NAA 55%, IAA 52%, 무처리구 52%순으로 나타나 IBA가 가장 좋은 결과를 보였고 NAA 50 mg/l 처리구가 30%로 가장 저조한 발근율을 보였다. 발근촉진제 처리에 따라 삼목발근된 뿌리수 및 뿌리길이는 IBA처리구가 평균 6.6개, 6.1 cm로 가장 좋은 결과를 보였으며, 비교구가 뿌리수 47개, IAA처리구가 뿌리길이 5.1 cm로 가장 저조한 결과를 보였다.

插木時期 및 IBA 濃度別 效果를 조사한 결과는 표 44와 같다. 표 44에서와 같이 시기 및 농도별 효과는 7월 10일 IBA 500 mg/l 처리구에서 80%의 발근율을 보여 가장 좋은 효과를 보였으며, 8월 24일 발근촉진제가 처리되지 않은 무처리구에서 48%가 발근되어 가장 저조한 결과를 보였다. 또한 시기별 효과는 7월 10일 처리구가 평균 73%로 가장 좋은 결과를 보였고 8월 24일 처리구가 63%로 저조한 결과를 보여 삼수가 완전히 경화되는 8월 후반기 삼목이나 3월의 숙지삼목 보다는 녹지삼목이 좋은 결과를 보였다. 이러한 결과를 종합하면 삼수 채취시기는 삼수가 硬化되지 않은 7월 초순에 채취하여 IBA 500 mg/l 를 처리하여 삼목 하였을 경우가 가장 효과적일 것으로 생각된다.

또한 IBA 농도별 효과는 시기에 관계없이 500 mg/l 의 농도로 처리 할 때 가장 좋은 결과를 보였으며 고농도나 저농도의 경우에는 다소 발근율이 감소하였다(표 45). 이러한 결과로 볼 때 黑五味子 삼목에 있어서는 삼목 시기 및 발근촉진물질의 농도에 따른 삼목 발근 효과가 나타나는 것으로 생각되었다. 이러한 결과는 金과 姜 (1992)의 상록활엽수인 후박나무 삼목시험에서 호르몬농도에 따른 삼목 발근력에 유의적인 차이가 없었다는 결과(김 등, 1992)와는 다소 다른 결과로 유사한 환경에서 생육하는 수종들 사이에도 수종의 특성에 따라 삼목발근에 미치는 인자가 다른 것으로 생각되어지며 黑五味子の 경우는 강우량이 많은 지역에서 주로 분포하며 수분 함량이 높은 곳에서도 잘 성장하는 습성 때문에 적절한 보습 조건 및 통기성이 유지되

는 배양토에서 성장조절 물질을 처리하면 높은 發根率을 나타낼 것으로 생각 된다.

표 44. 식물생장조절물질의 종류와 농도별 흑오미자의 삽목발근

Treatment (mg/ℓ)	No. of cuttings (ea)	No. of rooting(ea)	Rooting rate(%)	No. of root(ea)	Length of roots
IBA 50	60	34	57	5.7	6.4
100	60	46	77	6.6	6.2
500	60	48	80	6.4	6.1
1000	60	37	62	7.6	5.8
Mean	60	41	69	6.6	6.1
NAA 50	60	18	30	4.8	5.2
100	60	38	63	5.4	5.3
500	60	46	77	5.9	6.2
1000	60	29	48	6.1	5.6
Mean	60	33	55	5.6	5.6
IAA 50	60	24	40	4.8	5.4
100	60	29	48	4.6	5.9
500	60	38	63	4.9	4.9
1000	60	34	57	4.3	4.2
Mean	60	31	62	4.7	5.1
Control	60	31	52	4.7	5.8

표 45. IBA 농도와 삽목시기별 흑오미자의 삽목발근율

Treatment	March 20	July 10	August 1	August 24
IBA 50ppm	57	63	68	55
100	77	78	78	77
500	80	83	78	78
1000	62	80	58	57
Control	52	60	57	48
Mean	66	73	67	63

3) 모수령별 挿木

삽수의 모수령이 삽목 발근에 미치는 영향을 조사하기 위하여 모수의 수령에 따라 삽수를 채취하였다. 삽수를 채취한 모수의 수령은 1, 5, 10 및 15년생으로 삽수는 줄기의 중앙부를 조제하여 삽목하였다. 삽목상은 버미큘라이트, 펠라이트, 피트모스를 1:1:1(v/v)로 혼합하여 사용하였고, IBA는 500 mg/ℓ의 농도를 적용하였다.

4) 母樹齡 삽목발근에 미치는 效果

挿穗의 모수령이 삽목 발근에 미치는 영향을 조사한 결과는 표 46과 같다.

모수령에 따른 삽목 발근율은 63 ~ 88%로 모수령의 증가에 따른 삽목 발근율이 감소하는 경향을 보였다. 뿌리수와 뿌리길이, 묘고에서는 뿌리길이, 묘고에서는 뿌리수 5.9 ~ 9.6개, 뿌리길이 5.8 ~ 7.3 cm, 묘고 6.1 ~ 9.0 cm로 모수령에 따라 유의적인 차이가 인정 되었다.

그러나 직경에 있어서는 차이가 없었다. 일반적인 수목의 삽목 발근력은 수령이 높아질수록 현저히 낮아진다는 결과가 발표되고 있으며, Kim과 Nam(1985)은 주목의 삽목시험에서 모수령이 5, 10, 20년으로 증가함에 따라 발근율이 각각 85.7%, 81.7%, 62.4%로 감소한다고 하였으며(Kim et al., 1985), Yim(1962)은 리기다소나무의 경우 1, 2, 10, 20년으로 증가함에 따라 각각 84%, 43%, 28%, 15%로 급속히 감소한다(Yim, 1962)는 결과와는 다소 상이한 결과로 黑五味子の 경우 15년생의 경우에도 63%가 발근되어 黑五味子是 비교적 유시성이 높은 수종이기 때문으로 생각된다.

표 46. 삽수의 모수령별 삽목발근과 뿌리생장

Ortet age	No. of cuttings	No. of rooting	Rooting rate(%)	No. of roots	Root length (cm)	Height (cm)	Diameter (mm)
1	60	53	88	9.6	7.3	9.0	1.2
5	60	49	82	8.1	6.9	7.5	1.3
10	60	45	75	7.3	6.2	7.4	1.2
15	60	38	63	5.9	5.8	6.1	1.2
Mean	60	46	77	7.7	6.6	7.5	1.2
F-value			15.90**	12.78**	9.30**	9.42**	0.97 ^{NS}

** : significant at 1% level. NS : Non significant at 1 or 5% level

5) 挿穂採取 部位 및 培養土別 挿木

삽수채취 부위 및 배양토가 黑五味子 삽목 발근에 미치는 영향을 조사하기 위하여 줄기를 채취한 후 삽수를 줄기의 상부, 중앙부, 하부로 구분하여 조제하여 삽목하였다. 삽목상은 VPER(vermiculite+perlite), VPEA(vermiculite+peatmoss), VPPL(vermiculite + peatmoss + perlite)를 1:1:1(v/v)로 혼합한 처리구와 일반 토양을 사용한 비교구로 구분하였다. 생장조질 물질은 IBA 500mg/ℓ를 적용하였다.

가) 삽수채취 부위 별 발근 상황

삽수채취 부위별 삽목 발근율을 조사한 결과는 표 47과 같다.

삽수 채취 부위에 따른 발근율은 줄기상부에서 60%, 줄기중앙부에서 67%, 줄기하부에서 50%가 발근되어 삽수채취 부위에 따라 줄기중앙부가 가장 좋은 결과를 보였다. 또한 생존된 개체의 뿌리수, 뿌리길이, 묘고 및 직경에 있어서도 뿌리수 5.0 ~ 7.4개, 뿌리길이 5.7 ~ 6.7cm, 묘고 5.7 ~ 7.0cm 및 직경 1.0 ~ 2.1mm로 삽수위치에 따라 유의적인 차이가 인정 되었다.

표 47. 삽수채취 부위별 삽목발근과 뿌리생장

Stem position	No. of cuttings	No. of rooting	Rooting rate(%)	No. of roots	Root length (cm)	Height (cm)	Diameter(mm)
Upper stem	60	36	60	7.1	6.4	6.8	1.9
Middle stem	60	40	67	7.4	6.7	7.0	2.0
Lower stem	60	30	50	5.0	5.7	5.7	2.1
Mean	60	35	59	6.5	6.3	6.5	2.0
F-value			4.618**	89.36**	13.80**	27.40**	6.89**

** : significant at 1% level. NS : Non significant at 1 or 5% level

이러한 결과는 Kummerow(1966)의 라디에타소나무 삽수 채취 부위에 따른 삽목 시험 결과에서 수관중앙부에서 채취한 삽수가 삽목 발근율이 가장 좋았다는 연구결과(Kummerow, 1966)와 정(1992)의 낙엽송의 삽목시험에서 삽수채취 부위에 따른 발근율 차이는 크게 나타나지 않았으나 수관 중앙부, 수관 하층부, 수관상층부 순으로 발근되었다는 결과(정, 1992)와 Farrar and Grace(1942)의 *Pinus monticola* 삽목시험에서 수관의 上部支 보다 下部支가 발근능력이 우수하며, 頂芽支 보다 萌芽支가 우수한 발근율을 보였다는 결과(Farrar et al., 1942)와 유사한 결과를 보여 덩굴성 식물인 黑五味子の 경우도 줄기에서 채취한 삽수로 신초발생 후 녹지의 정화과정 따른 삽수의 위치 효과가 다르게 나타난 것으로 생각 된다.

6) 배양토가 발근에 미치는 효과

培養土가 挿木發根에 미치는 영향을 조사한 결과는 표 48과 같이 처리구에 따라 VPPL 처리구가 68%가 발근되어 가장 좋은 결과를 보였으며, 비교구가 38%로 가장 저조한 결과를 보여 처리구간 유의적인 차이가 인정 되었다. 또한 생존된 개체의 뿌리수, 뿌리길이, 묘고 직경에 있어서는 뿌리수 6.2 ~ 7.0개, 뿌리길이 6.0 ~ 6.5cm, 묘고 6.4 ~ 6.7cm 및 직경 2.0 ~ 2.1 mm로 나타나 배양토에 따라 통계적으로 유의적인 차이는 인정 되지 않았다.

표 48. 배양토별 삽목발근과 뿌리생장

Treatment	No. of cuttings	No. of rooting	Rooting rate(%)	No. of roots	Root length (cm)	Height (cm)	Diameter(mm)
Control	60	23	38	6.2	6.0	6.5	2.0
VPER	60	38	63	6.6	6.5	6.7	2.1
VPEA	60	39	65	6.3	6.2	6.4	2.1
VPPL	60	41	68	7.0	6.3	6.5	2.0
Mean	60	35	59	6.5	6.3	6.5	2.1
F-value			17.31**	0.868 ^{NS}	0.826 ^{NS}	0.223 ^{NS}	0.637 ^{NS}

*VPER:vermiculite+perlite 1:1(v/v), VPEA:vermiculite+peatmoss 1:1 (v/v), VPPL:vermiculite+peatmoss+perlite 1:1(v/v), ** : significant at 1% level, NS : Non significant at 1 or 5% level

7) 삽목 발근에 미치는 제 영향과의 관계 분석

삽목 發根率과 다른 조사 特性間의 相關을 조사한 결과는 표 49와 같다. 삽수채취 부위와의 관계는 발근수, 뿌리수, 뿌리길이, 묘고 와는 높은 負의 相關關係가 인정되었으며, 배양토는 발근수와는 높은 正의 相關關係가 있었으나 다른 요인과는 상관관계가 없었다.

표 49. 삽목 발근율과 다른 조사 특성간의 상관관계

Characteristics	X1	X2	X3	X4	X5	X6
No. of rooting(X1)						
No. of roots(X2)	0.5671**					
Root length(X3)	0.6015**	0.6853**				
Height(X4)	0.3798*	0.7210**	0.6885**			
Diameter(X5)	0.1093	-0.3621*	-0.2163	-0.4421**		
Position(X6)	-0.2893*	-0.7450**	-0.4716**	-0.5945**	0.5371**	
Media(X7)	0.6845**	0.2137	0.1115	-0.0543	0.1348	0.0896

** : significant at 1% level, NS : Non significant at 1 or 5% level

이러한 결과로 볼 때 삼수채취 부위에 따라 발근율, 발근수, 뿌리수, 뿌리길이 등이 변화한다는 것을 알 수 있었으며, 배양토의 경우는 발근율에 많은 영향을 미치나 그 밖의 요인에서는 영향을 미치지 않는 것으로 생각 된다.

8) 선발 개체별 삼목발근력 차이 조사

선발 개체별 삼목발근력 차이를 조사하기 위하여 우량개체로 선발된 제주 1, 2, 3, 4, 5,

6, 7, 8, 9, 10, 13, 15, 16, 20호등 14본에 대하여 7월 12일에 삼수를 채취하여 삼목하였다. 삼목상은 버미큘라이트, 필라이트, 피트모스를 1:1:1(v/v) 혼합하여 사용하였고, IBA는 500mg/l의 농도를 적용하였다.

選拔 個體間 發根力 差異를 조사한 결과는 표 50과 같다. 선발 개체간의 발근율은 40 ~ 85%로 대단히 큰 차이를 나타내고 있다.

이중 제주 2, 9, 25호가 80% 가 발근되어 가장 좋은 결과를 보였으며, 제주 10호가 40%의 발근율을 보여 가장 저조한 결과를 보였다. 또한 뿌리수 5.0 ~ 7.6개, 뿌리길이는 5.4 ~ 7.4cm로 선발 개체간에 차이를 보였다. 이와 같은 결과는 Carter(16)의 *Larix laricina*에 대한 삼목시험에서 클론에 따라 23-93%의 현격한 발근율 차이를 보인다는 결과(Carter, 1984)와 유사한 결과를 보였다.

표 50. 선발 개체별 삽목발근

Clones	No. of cutting	No. of rooting	Rooting (%)	No. of roots	Root length(cm)
Cheju 1	20	15	75	6.4	7.4
Cheju 2	20	17	85	5.8	6.8
Cheju 3	20	11	55	6.2	6.9
Cheju 4	20	13	65	7.6	6.6
Cheju 5	20	16	80	5.2	5.4
Cheju 6	20	9	45	6.4	6.6
Cheju 7	20	12	60	5.2	6.3
Cheju 8	20	14	70	5.0	5.8
Cheju 9	20	17	85	7.3	6.8
Cheju 10	20	8	40	6.6	6.4
Cheju 13	20	13	65	6.2	7.6
Cheju 15	20	17	85	5.8	7.8
Cheju 16	20	15	75	6.2	6.4
Cheju 20	20	10	50	5.6	6.8
Mean	20	13	67	6.1	6.7

이러한 결과는 선발 개체간의 수령에 따른 유지성 차이와 생육 환경에 의한 차이로 생각되어지나 Hyun 과 Hong(1968)의 개체간 발근력의 차이는 생육 환경에 의한 결과(Hyun et al., 1968)와 Bower와 Buijtenen(1977)의 슬래시소나무에 있어 클론에 따라 16 ~ 63%로 발근능력에 있어서 개체간에 차이가 심하다는 보고(Bower et al., 1977)와 Hartman and Kester(1983)의 수종간에 오옥신의 함량은 비슷하지만 발근능력의 차이가 있는 것(Hartman et al., 1983)으로 보아 또 다른 발근 물질의 차이에서 오는 것으로 추정된다는 결과로 볼 때 금후 유지성과 생육환경 등의 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

다. 접목

흑오미자의 우량선발개체의 무성증식을 위해 2월 20일에 1년생 삽수를 채취하여 이끼에 싸서 냉장고에 4℃로 보관한 후 3월 25일에 3년생 黑五味子 대목에 숙지 접목을 실시한 60일 후 접목 활착율을 조사하였다.

1) 접목번식의 활착 관계

黑五味자의 열매 및 결실상태가 양호한 선발개체 43본 중 30본에 대한 클론보존

및 재료의 증식을 위하여 1996년 2월 20일에 1년생 줄기에서 삼수를 채취하여 1996년 3월 25일에 3년생 黑五味子 실생대목에 접수길이 5~7cm에 눈 1~2개가 있는 상태로 숙지접목을 실시한 결과는 표 51과 같다. 클론간 접목활착율은 63~92% 범위의 변이를 보였다.

표 51. 개체간의 접목활착율

Individual	No. of grafting	No. of survival	% of survival	Individual	No. of grafting	No. of survival	% of survival
Cheju 1	24	20	83	Cheju26	24	22	92
2	24	17	71	27	24	20	83
3	24	22	92	28	24	17	71
4	24	21	88	29	24	-	-
5	24	20	83	30	24	15	63
6	24	22	92	31	24	18	75
7	24	21	88	32	26	17	65
8	24	18	75	33	18	13	72
9	24	20	83	34	25	19	76
10	24	18	75	35	30	18	60
11	-	-	-	36	20	10	50
12	24	23	72	37	22	12	55
13	24	22	92	38	26	15	58
14	24	21	88	39	24	20	83
15	24	28	75	40	24	18	75
16	-	-	-	41	24	18	75
17	-	-	-	42	22	14	64
18	-	-	-	43	22	17	77
19	24	16	73	44	-	-	-
20	24	20	83	45	-	-	-
21	-	-	-	46	24	14	70
22	24	20	83	47	26	20	83
23	-	-	-	48	28	11	42
24	-	-	-	49	24	18	64
25	-	-	-	50	26	17	71
				Total	983	702	71

2) 클론간 접목활착 적용

이 결과는 개체간의 변이라고 하기 보다는 접수의 상태와 대목의 성장상태에 기인된 결과로 보여지며, 黑五味子의 接木活着率은 평균 83%의 양호한 접목활착율을 보였으며, 대량증식에는 약간의 문제점이 있겠지만 우량품종의 클론증식 및 개화결

실의 촉진 등의 장점이 있으므로 점목증식에는 문제가 없을 것으로 생각된다.

3) 온실 내의 흑오미자 삼목증식시험

2000년 3월 산림종자연구소의 유리온실 내에서 배양토(peatmoss+vermiculite+perlite)를 상토로 하고 흑오미자의 산지 또는 clone별로 숙지삼목을 실시한 결과, 제주 6우상 등 9 clone 중에서 제주 49상이 66.7%로 가장 높았다(표 52).

2002년 7월 흑오미자의 삼수모수를 clone과 선발목으로 구분하고, clone 또는 개체별로 녹지를 이용하여 삼목증식시험한 결과, 8월초 현재 선발목 보다는 clone에서 비교적 활착율이 높았다(표 53). 이러한 원인으로서는 증식시험 삼수의 유령(juvenile) 효과에 의한 것으로 판단되며, clone간에서는 제주19 그리고 선발목에서는 애월3의 활착율이 각각 92.6% 및 82.6%로 높게 나타났으므로(표 54) 이러한 결과에 의해서 clone 또는 개체의 형태가 번식에 유리할 것으로 사료된다.

표 52. 제주도 흑오미자의 산지별 숙지삼목 발근율

산지	삼목본수본	발근본수본	발근율%
제주6우상	79	43	54.4
12	48	30	62.5
13	72	46	63.9
19	72	25	34.7
1	72	21	29.2
43상	48	20	41.7
45	64	22	34.3
49상	72	48	66.7
50상	48	24	50
평 균			48.6

삼목상토별 발근율에서는 표 53과 같이 배양토(peatmoss+vermiculite+perlite) + 흑오미자 + 마사에서 가장 높고 온실보다는 수하에 위치한 삼목상에서 다소 양호하였다.

표 53. 흑오미자 clone(개체)별 녹지삽목 활착율

삽목모수	clone(개체)명	삽목본수	활착본수	활착율
		본	본	%
clone	6우♂	71	27	38.0
	13	37	10	27.0
	19	68	63	92.6
	25	39	16	41.0
	31	42	37	88.1
	32	42	36	85.7
	34	24	20	83.3
	36	36	27	75.0
	37	31	9	29.0
	41♂우	52	23	44.2
	41우♂	33	27	81.8
	남오미자	28	9	32.1
	평균	42.0	25.3	59.8
	선발목	애월1	27	10
2		34	24	70.6
3		23	19	82.6
5		18	5	27.8
6		35	11	31.4
7		46	14	30.4
8		92	42	45.6
10		4	2	50.0
관음사		180	115	63.9
평균		51	26.9	52.7

표 54. 흑오미자 녹지삽목 상토별 발근율

삽목상위치	상 토	삽목본수	활착본수	활착율
		본	본	%
온실	마사토	50	37	74.0
	배양토*	70	58	82.8
	배양토+흑+마사	50	43	86.0
	배양토+모래	50	39	78.0
수하	마사토	50	39	78.0
	배양토	40	35	87.5
	배양토+흑+마사	50	46	92.0
	배양토+모래	40	32	80.0

* : peatmoss+vermiculite+perlite=동량혼합

4) 오미자류의 山地식재 및 유전자원 보존립 조성

흑오미자 삼목번식묘를 산 경사지, 계곡부 및 평탄지 등 산 위치별로 식재한 후 생육특성을 조사한 결과 계곡지에서 신초생장이 7.7cm로 가장 양호하게 나타났으며 (그림 26), 이들을 흑오미자의 유전자원 보존립으로 활용할 계획이다

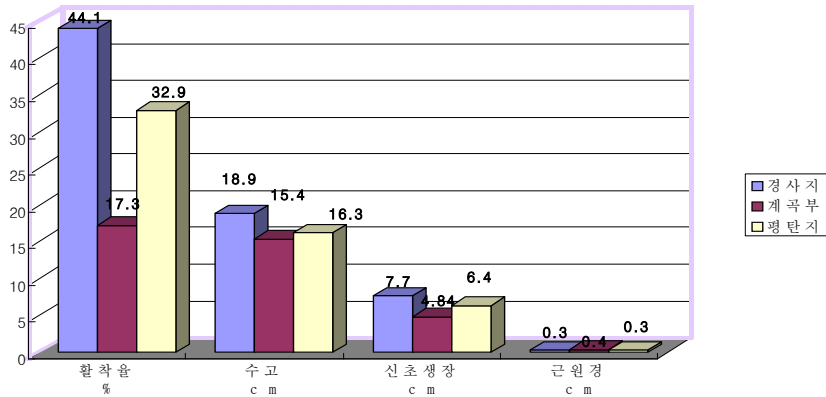


그림 26. 흑오미자 산지형태별 생장



그림 27. 흑오미자의 유전자원 보존립

제 5 장 자생오갈피 오미자류의 분자생물학적 특성 분석 및 증식체계 확립

제 1 절 가시오갈피

가. PCR의 최적조건 확립

1) genomic DNA 추출법 구명

가) 재료 및 방법

(1) 식물재료

본 실험에 사용한 식물재료는 국내에 자생하고 있는 가시오갈피와 중국산 및 러시아산 가시오갈피로 강원대학교와 국립산림과학원 산림종자연구소로부터 분양받아 사용하였다.

(2) 오갈피나무 잎으로부터 genomic DNA의 추출

식물체에서 genomic DNA를 분리하는 방법인 Dellaporta 등 (1983)의 방법과 CTAB buffer를 이용한 방법 (Murray와 Thompson, 1980) 그리고 DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Germany)를 이용한 방법을 동시에 수행하여 비교하였다.

(가) Dellaporta 등의 방법

750 μ l의 extraction buffer (50mM Tris-HCl, pH 8.0, 10mM EDTA, pH8.0, 100mM NaCl, 1% SDS, 10mM β -mercaptoethanol)에 액체질소로 냉동건조시켜 분쇄시킨 100mg의 엽육조직을 넣어 잘 섞은 후, 65 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시켰다.

250 μ l의 5M potassium acetate (pH 7.5)를 넣고 vortex한 후 얼음에서 20분간 반응시켰다. 4 $^{\circ}$ C, 8,000xg에서 10분간 원심분리하여 상등액을 새 tube로 옮긴 후 동량의 isopropanol을 넣어 혼합하였다. 4 $^{\circ}$ C, 8,000xg에서 10분간 원심분리하여 얻은 침전물에 500 μ l의 80% ethanol을 첨가하여 세척한 후 침전물을 건조시켰다.

50 μ l의 TE buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 mM EDTA)를 넣어 침전물을 녹여 5 μ l의 3M sodium acetate (pH 5.2)와 500 μ l의 isopropanol을 첨가한 후 원심분리 (4 $^{\circ}$ C, 8,000xg, 10분)하였고, 80% ethanol로 세척하였다. 40 μ l의 TE buffer로 녹여 실온에서 3,000 rpm으로 5분간 원심분리한 후 30 μ l의 상등액을 취하여 실험에 이용하였다.

(나) CTAB buffer를 이용한 방법

100mg의 엽육조직을 액체질소로 냉동건조시켜 막자사발로 분쇄시킨 후 tube에 옮겨 미리 예열된 (65°C) 100 μ l의 2 \times CTAB buffer (2% CTAB, 100mM Tris-HCl, pH 8.0, 20mM EDTA, pH 8.0, 1.4M NaCl, 1% polyvinylpyrrolidone (MW 40,000, sigma)를 넣고 섞었다.

400 μ l의 1 \times CTAB buffer를 혼합한 후 65°C에서 5분간 반응시켰다. 여기에 100 μ l의 chloroform을 넣고 완전히 섞은 후 실온, 12,000 rpm, 5분간 원심분리하였다. 상등액을 새 tube에 옮긴 후 2배의 CTAB precipitation buffer (1% w/v CTAB, 50mM Tris-HCl, pH 8.0, 10mM EDTA pH 8.0)를 넣어 가볍게 섞었다.

실온에서 1시간 반응시킨 후 실온, 12,000 rpm, 5분간 원심분리하였다. 침전물을 건조시킨 후 200 μ l의 TE buffer에 녹였다. 동량의 phenol을 넣어 혼합한 후 실온에서 15,000 rpm 10분간 원심분리하였다. 상등액을 취하여 동량의 phenol:chloroform (1:1) 용액을 첨가한 후, 실온, 15,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다.

상등액에 동량의 isopropanol을 첨가하고 -70°C deep freezer에 1시간 동안 방치하였다. 4°C, 15,000rpm, 15분간 원심분리한 후 침전물을 70% ethanol로 세척하였다. 4°C, 15,000rpm, 5분간 원심분리하여 침전물을 건조시킨 후, 50 μ l의 증류수에 녹여 -20°C에서 보관하며 실험에 사용하였다.

(다) DNeasy Plant Mini Kit를 이용한 방법

액체질소로 냉동건조시켜 막자사발로 분쇄시킨 100 mg의 엽육조직에 400 μ l의 AP1 buffer를 넣어 혼합한 후, RNase A solution (100 mg/ml)을 첨가하여 잘 섞어주었다. 혼합액을 65°C의 항온수조에서 10분간 배양한 후, 130 μ l의 AP2 buffer를 첨가하여 얼음에 5분간 방치하였다.

실온에서 원심분리 (22,000 xg, 5 min)한 다음 상청액을 QIAshredder spin column에 넣어 22,000 xg에서 2분간 원심분리하였다. Column을 통과한 추출액을 새로운 tube로 옮긴 후, 0.5배 부피의 AP3 buffer와 1배의 ethanol (99.9%)을 첨가하여 잘 섞었다. 650 μ l의 혼합액을 DNeasy mini spin column에 넣어 원심분리 (20°C, 10,000 xg, 2 min) 한 뒤 spin column에 500 μ l의 AW buffer를 넣어 다시 원심분리 (20°C, 10,000 xg, 2 min)하였다.

Column이 색을 띠고 있는 경우에는 500 μ l의 99.9% ethyl alcohol을 처리하여 앞과 동일조건으로 원심분리 한 후 실온에서 약 5분간 건조시켰다. 65°C에서 예열된 50 μ l의 멸균증류수를 column에 넣어 실온에서 5분간 반응시킨 후 원심분리 (20°C,

22,000 xg, 5 min)하여 DNA를 얻었다. DNA의 순도를 높이기 위해 동량의 차가운 isopropyl alcohol을 첨가하여 -70°C에서 1시간동안 반응시킨 후 원심분리 하였다 (4°C, 22,000 xg, 15 min). 침전물에 500 μ l의 70% ethyl alcohol을 첨가한 후 원심분리 한 후 DNA를 진공 건조시켰으며, DNA 양은 Hoefer사의 DNA fluorometer (TKO-100)를 이용하여 측정하였다.

나) 결과 및 고찰

일반적으로 식물에서 genomic DNA를 추출하는 경우 가장 많이 사용되는 방법은 Dellaporta 방법 (1983)과 CTAB를 이용한 방법 (Murray와 Thompson, 1980)이다. 그러나 전자의 경우는 오갈피 잎에 존재하는 다당류나 phenolic 화합물 등과 같은 불순물이 DNA와 함께 침전되었고, 후자의 경우는 과정이 복잡하고 시간이 많이 소요되는 단점이 있었다.

DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN Co.)를 이용하여 genomic DNA를 분리하였지만 이 경우에도 DNA 정제시 오갈피의 잎에 존재하는 phenolic 화합물 등이 다량으로 함유되어 있어 PCR을 저해하였다. 위의 세가지의 방법 중, kit를 이용한 경우가 비교적 깨끗한 DNA가 추출되었다. kit를 이용한 방법을 보완하기 위해 추출된 DNA에, isopropanol처리, 70% ethanol 세척과정을 추가하여 각 sample 1g 당 약 30~50 μ g의 정제된 DNA를 분리할 수 있었다.

2) PCR 최적 조건 탐색

가) 재료 및 방법

PCR의 최적조건을 확립하기 위해 PCR의 시행온도, cycle 수 및 DNA 농도별에 따른 PCR band의 변화여부를 확인하였다. PCR 시행온도를 확립하기 위해 초기 denature 단계는 94°C에서 5분, denature는 94°C에서 30초, extension은 72°C에서 30초, post-elongation은 72°C에서 7분으로 고정시킨 후 annealing 온도를 37°C, 42°C, 55°C로 변화시켜 band pattern의 변화여부를 확인하였다.

cycle수의 확립을 위해 30, 35, 40, 45 cycle로 변화시켜 결과를 관찰하였고, 최적의 DNA 농도를 확인하기 위해 10ng, 30ng, 50ng, 100ng/100 μ l로 DNA의 농도를 조절하여 PCR을 수행하였다.

나) 결과 및 고찰

식물에서 RAPD marker를 얻기 위한 PCR의 조건에서 가장 중요한 것은 annealing 단계의 온도로 일반적으로 36°C에서 55°C까지의 온도가 이용되고 있다 (Williams 등, 1990; Demeke 등, 1992; Kim 등, 1997). 특히 목본류 식물의 RAPD를 위한 annealing 온도는 36°C (Koller 등, 1993; Adams 등, 1993), 37°C (Bellamy 등, 1996; Lee 등, 1995)로 낮은 온도가 사용되어 왔다.

본 실험에서는 denaturation 94°C, extension 72°C로 일정하게 유지하고, annealing 온도를 다양하게 PCR을 수행한 결과 37°C의 온도에서 가장 많고 뚜렷한 band pattern을 얻을 수 있었다. annealing 온도가 높아지거나 cycle수가 작을수록 band의 수가 줄어들었다. 적정의 cycle수를 결정하기 위해 37°C의 annealing 온도를 이용하여, 30회, 35회, 40회, 45회를 시행한 결과, 45회에서 더 좋은 결과를 얻어낼 수 있었다.

PCR에 이용되는 DNA의 농도에 따른 band pattern 변화여부를 확인하기 위해 10ng, 30ng, 50ng, 100ng/100 μ l의 DNA를 첨가하여 PCR을 수행한 결과, 10 ng에서는 적은 수의 band를 얻었고, 50 ng과 100 ng의 경우는 비특이적인 band 또는 smear한 band pattern을 보여 많은 양의 template가 오히려 PCR을 저해하는 것으로 나타났다.

결국 사과나무 (Koller 등, 1993), 소나무 (Kim 등, 1997; Lee 등, 1997), 흑오미자 등(Lee 등, 1998)에서 처럼 30 ng의 DNA를 이용하였을 때 다양하고 뚜렷한 band pattern을 얻을 수 있었다. 따라서 최적의 PCR 조건은 annealing 37°C, 45 cycles에서, DNA의 농도는 30 ng/100 μ l에서 얻을 수 있었으며 모든 실험은 3회 반복하여 재현성을 검증하였다.

나. RAPD를 이용한 품종 및 개체변이 구명

1) 재료 및 방법

가) Primer

Operon Technologies, Inc로부터 OPA kit (20 primers)부터 OPF kit (20 primers)까지 총 120개의 random primer를 구입하여 실험에 사용하였다.

나) RAPD

오갈피나무의 개체변이를 구명하기 위해 40개의 primer를 이용하여 RAPD를 수

행하였다. PCR 반응액은 30 ng의 template DNA, 25 pmole의 primer (decanucleotide), 각 200 μ M의 deoxyribonucleic acid, 1.5 mM MgCl₂, 1/10의 10 \times PCR buffer (100 mM Tris-HCl, 25 mM MgCl₂, 500mM KCl, pH 8.3), 1.25 unit/ml Taq DNA polymerase (Takara Co.)를 포함하는 25 μ l의 반응액을 PCR에 사용하였다.

Perkin Elmer사의 GeneAmp PCR system 2400을 사용하여 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 초기 denaturation을 행한 뒤, 94 $^{\circ}$ C에서 30초간 denaturation, 37 $^{\circ}$ C에서 30초간 annealing, 72 $^{\circ}$ C에서 30초간 extension과정을 45회 반복하였다. 마지막으로 72 $^{\circ}$ C에서 5분동안 반응을 시켰다. 얻어진 PCR 산물은 1.2% agarose gel에서 전기영동한 후 ethidium bromide (0.5 μ g/ μ l)로 염색하여 결과를 얻었다.

2) 결과 및 고찰

최근 분자생물학의 발달로 식품 육종사업에도 분자생물학적 방법이 도입되어 개체, 계통 및 품종수준의 단계에서도 식별이 가능하게 되어있다. 예를 들어 RFLP (restriction fragment length polymorphism), RAPD (random amplified polymorphic) 및 DNA-fingerprinting 방법은 식물종의 계통 및 품종간에 유연관계를 분석하는데 유용하며, 생식질 보존을 위한 marker 탐색에도 적극적으로 활용되고 있다.

그 중에서도 RAPD 분석은 PCR을 이용하여 불특정 DNA를 증폭시킴으로써 원핵생물, 진핵생물 내에 폭넓게 존재하는 DNA 단편 장다형 현상을 손쉽게 확인할 수 있다. 또한 증폭된 단편은 hybridization 과정을 거치지 않고 전기영동만으로 DNA를 분획하여 개체의 품종을 식별할 수 있다 (Beyermann 등, 1992; Waugh와 Powell, 1992).

지금까지 목본식물의 경우 이러한 방법을 이용하여 코코아 (Wilde 등, 1992), 사과 (Koller 등, 1993), 파파야 (Stiles 등, 1993), 소나무 (Kim 등, 1997; Lee 등, 1997), 흑오미자 (Lee 등, 1998) 등의 식물에서 종내 분류군 또는 종간 분류군들을 비교 분석하는데 이용되어 왔다.

본 연구에서는 국내에 자생하고 있는 가시오갈피의 품종간, 개체간 및 지리적 분포에 따른 변이를 조사하고자 하였다. 가시오갈피는 국내에서 9지역 (삼악산, 치악산, 가리산, 고양산, 덕유산, 백석, 상남, 운두령, 을수)에서 각 1개체씩, 오대산에서 5개체, 러시아산 1개체, 중국산 1개체를 실험에 이용하였고, 국산 오갈피를 품종간의 식별을 위해 사용하였다.

가) 품종간 개체변이 조사

먼저 국산 및 외국산 가시오갈피 (*Acanthopanax senticosus*)와 오갈피 (*Acanthopanax sessiliflorus*)의 품종간의 유전적 변이를 분석한 결과 오갈피의 경우는 그림 1과 그림 2에서와 같이 모든 primer에 대해 가시오갈피와 다른 band pattern을 나타내어 품종간에 많은 유전적 변이가 존재함을 확인할 수 있었다.

나) 지리적 분포에 따른 유전적 변이 조사

가시오갈피의 경우, 산지별로 구별하여 RAPD를 수행한 결과, 120개의 primer 중 112개의 primer에서 국산 및 외국산의 구별 없이 동일한 band pattern을 나타내었으나 그림 2와 같이 8개의 primer에 대해 polymorphic한 band pattern을 보여 지리적 분포에 따른 차이를 확인할 수 있었다.

예를 들면 러시아산 오갈피는 OPB-08 primer에서 약 1,900 bp와 OPD-13 primer에서 약 300bp, 중국산 오갈피는 OPB-08 primer에서 약 1,800 bp, 삼악산 자생 오갈피는 OPD-15 primer의 약 1,900 bp, 오대산 자생 오갈피는 OPC-07 primer에서 약 1,300 bp, 치악산 자생 오갈피는 OPC-07 primer에서 약 1,100 bp와 같은 특이적인 band를 확인하였다.

또한 OPB-08의 삼악산, 오대산, 중국에서 나타난 약 550 bp, 오대산 러시아에서 나타나는 650 bp 등과 같은 16개의 특이적인 band들을 SCAR marker의 개발에 사용하였다.

상기의 8개의 primer에서 식별 가능한 band가 모두 120개가 검출되었고, 1종의 식물 당 평균 6개의 band pattern을 보여주었으며, 대부분의 band는 200 - 2,000 bp 사이에 존재하였다.

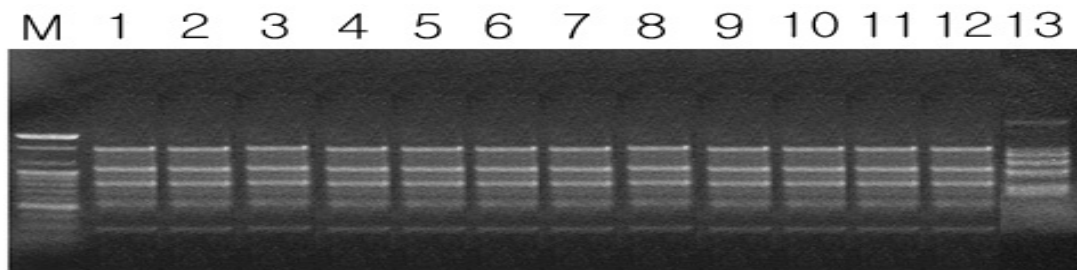


그림 1. Primer OPB-11을 이용한 PCR산물.

Lane M, size marker (100 bp ladder); lane 1-10, 각 지역별 국내산 가시오갈피 (삼악산, 오대산, 치악산, 가리산, 고양산, 덕유산, 백석, 상남, 운두령, 을수); lane 11, 러시아산 가시오갈피; lane 12, 중국산 가시오갈피; lane 13, 국내산 오갈피

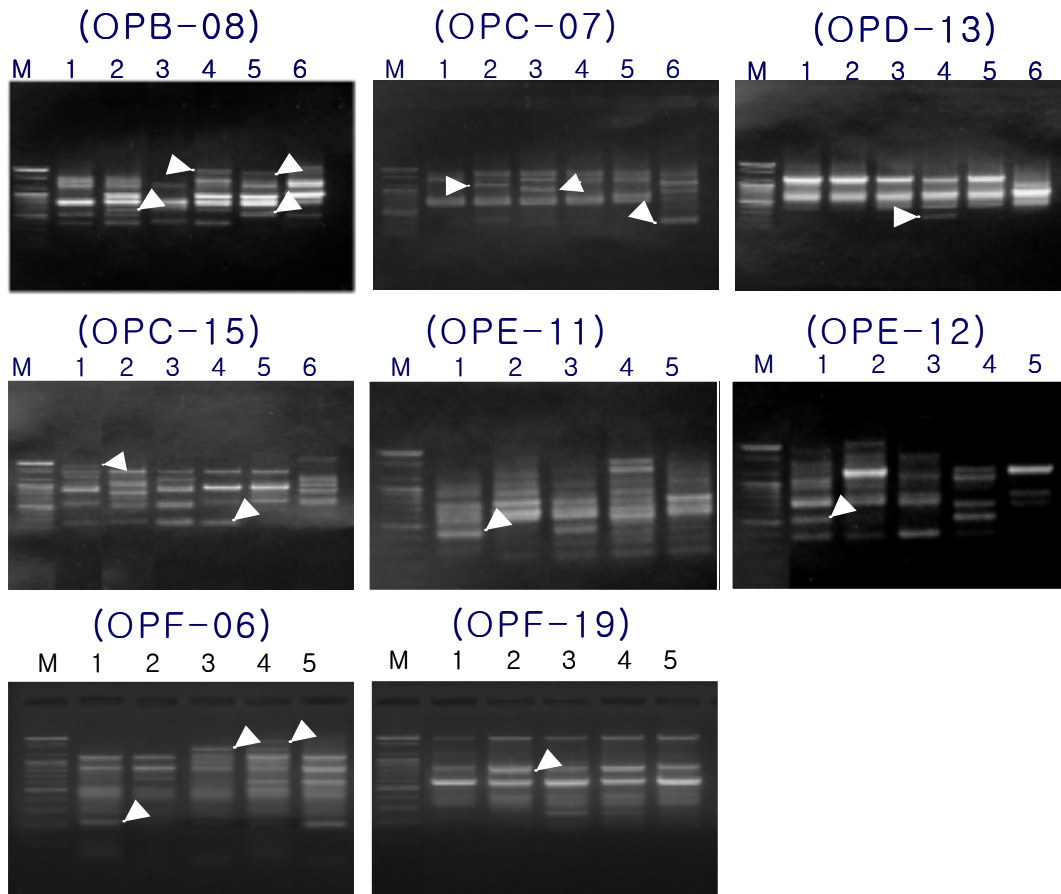


그림 2. 다양한 primer를 이용한 RAPD.

흰색 화살표는 RAPD marker를 나타낸다. Lane M, 100 bp marker; lane 1-5, 가시오갈피 (삼악산, 오대산, 치악산, 러시아, 중국); lane 6, 오갈피. 흰색화살표는 RAPD marker를 나타낸다.

동일지역에서 자생하고 있는 가시오갈피의 유전적 변이를 확인하기 위해 오대산에서 채집된 5개체에 대해 PCR을 수행한 결과, 모든 primer에 대해 동일한 band pattern을 나타내어 (그림 3), 자생지역이 동일하면 유전적 변이가 거의 없는 것으로 생각된다.

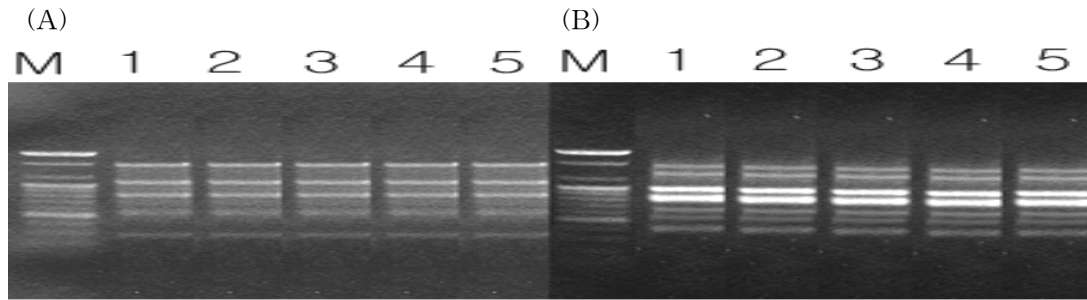


그림 3. OPE-15 primer (A) 와 OPB-08 primer (B)를 이용한 PCR 산물.

Lane M, size marker (100 bp ladder); lane 1-5, 오대산에서 채집된 가시오갈피 (오대산 #7, 오대산 #8, 오대산 #9, 오대산 #10, 오대산 #11)

이상의 결과를 살펴보면 가시오갈피와 오갈피는 외형적으로는 비슷하지만 유전적인 유연관계는 다소 먼 것으로 생각 할 수 있었다. 동일지역 내에 자생하는 가시오갈피의 경우는 유전적 변이가 없었으나 지리적 위치에 따라 유전적 변이를 보이는 경우도 발견할 수 있었다.

지리적 위치에 따라 변이를 보인 band들은 RAPD marker로서의 가능성을 보여 이를 이용하여 SCAR marker를 개발한다면 국내산과 외국산 가시오갈피 뿐 아니라 자생지에 따라 가시오갈피를 구별하는데 활용할 수 있을 것으로 생각하여 우량 품종 특이적 marker의 개발에 사용하였다.

다. 우량품종 특이적 SCAR marker의 선발

앞에서 확인된 16개의 RAPD marker를 바탕으로 SCAR marker의 개발에 사용하였다.

1) 재료 및 방법

가) Primer의 제조

RAPD의 결과 얻어진 marker들의 염기서열을 분석한 후, SCAR marker의 개발을 위해 Primer3 Input (<http://www.genome.wi.mit.edu>) site에 대입한 후, 적절한 염기서열을 찾아 primer들로 제조하였다.

나) PCR

반응액의 조성은 상기와 같은 농도로 사용하였다. 94℃에서 2분간 denaturation을 행한 뒤, 94℃에서 30초간 denaturation, 55℃에서 30초간 annealing, 72℃에서 30

초간 extension과정을 35회 반복하였다. 마지막으로 72℃에서 3분 동안 반응시켰다. 얻어진 PCR 산물은 1.2% agarose gel에서 전기영동 하였다. PCR 산물은 1% agarose gel에서 전기영동 하였다.

2) 결과 및 고찰

가) Primer

16개의 RAPD marker의 염기서열을 분석한 후 표 1에 나타낸 바와 같이 16쌍의 primer를 제작하였다.

표 1. SCAR primer의 염기서열

Primer 이름	염기서열 (5'→3')	예상된 크기 (bp)
1-F	TACACGAAGACAATGCAAAG	550
1-R	AATCATCCTCTCAAGCTGAA	
2-F	GCCTGTAGTCGATTGGTAAG	580
2-R	TCTTCCCTGATTGCCTAATA	
A-F	GCATTCACTTGCTCACAGGA	360
A-R	GAGGCAGAACCATGGTGAAT	
B-F	TACGCACTCTATCGCCACTG	600
B-R	CGGAATGCCAATACTCGTTT	
C-F	AGGAGGAGGAGGTACTTGAG	660
C-R	CAAAAGCTGTAGACACGACA	
D-F	GTGCACAGCTAAACGACC	610
D-R	TACCTCCTCTCCCTCCTCT	
E-F	AACAATAAAATCAACCACGG	450
E-R	TAACAATACGTGTGTCCCA	
F-F	GAAGCAAAGCTAAAACC	710
F-R	GGAATTCGGCCTTACTTA	
G-F	AGGAGCTTAACCACGGAG	480
G-R	CGTGGGATGGAAATACTC	
H-F	CACGACTACCCCTAGCTC	850
H-R	GACCGTTAAGGGGTAGTG	
I-F	GGATTCTAGGACTGCATC	370
I-R	TAGCTGTAGCTAGCTACT	
J-F	TACATGCAAGTCGAGCGAAC	210
J-R	AGTTAGCCGTGGCTTTCTGA	
K-F	TCACCACGTCGAAAAACAAA	704
K-R	GATCTCTGCAAGGAACTCGG	
L-F	CACGACTACCCCTAGCTC	550
L-R	GACCGTTAAGGGGTAGTG	
M-F	GGATTCTAGGACTGCATC	450
M-R	TAGCTGTAGCTAGCTACT	

나) PCR

16쌍의 SCAR primer 중에서 10쌍의 primer로 국내 15개 지역 (삼악산, 오대산, 치악산, 가리산, 고양산, 덕유산, 백석, 상남, 운두령, 을수, 자운, 점봉, 정선, 진동, 창촌)의 가시오갈피와 국외종 (중국, 러시아) 가시오갈피를 band의 유무에 따라 다른 지역의 개체와 구별이 가능하였다(그림 4). 반면에 6쌍의 primer는 모든 지역의 sample에서 band가 검출되어 SCAR marker로의 활용이 불가능하였다 (결과 미제시)

동일 지역에서 자생하는 가시오갈피에 대한 SCAR primer를 이용한 PCR 결과가 일치하는지의 유무를 파악하기 위해 오대산 지역의 5개 개체에 대한 PCR을 수행한 결과, 그림 3에서와 같이 모든 개체가 동일한 결과를 나타내었다 (그림 5).

따라서 국내에서 자생하는 가시오갈피들을 SCAR marker에 의해 정리하면 표 2와 같으며 이를 활용하여 가시오갈피를 산지별로 구별할 수 있었다.

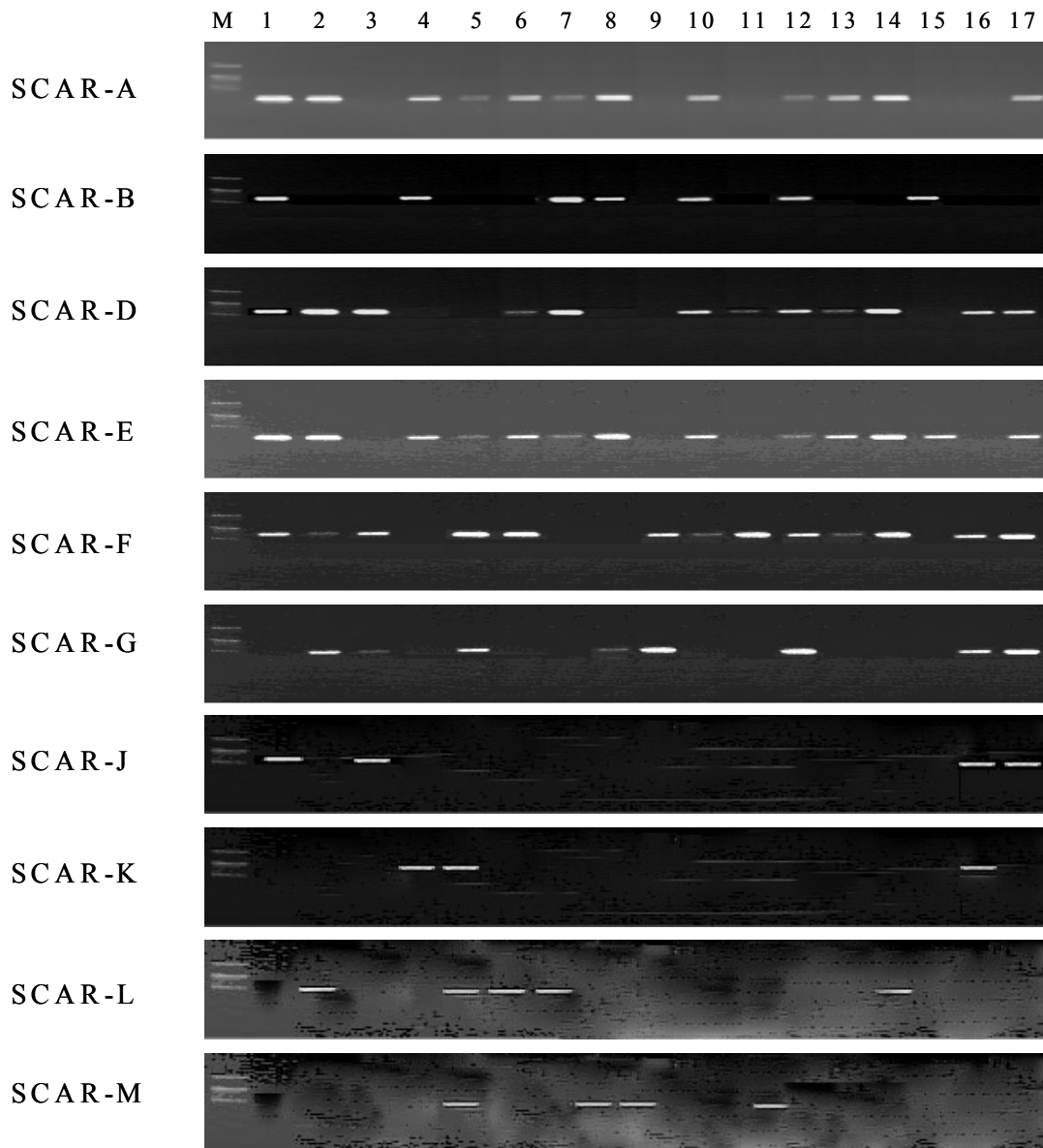


그림 4. 다양한 SCAR primer를 이용한 PCR

Lane M, size marker, 100 bp ladder; lane 1-17, 국내 및 국외 자생 가시오갈피 (삼악산, 오대산, 치악산, 러시아, 중국, 가리산, 고양산, 덕유산, 백석, 상남, 운두령, 을수, 자운, 점봉, 정선, 진동, 창촌)

표 2. SCAR marker에 의한 17지역 가시오갈피의 구분

채집지역	검출된 SCAR marker									
	A	B	D	E	F	G	J	K	L	M
가리산	○*	-	○	○	○	-	-	-	○	○
고양산	○	○		○	-	-	-	-	○	-
덕유산	○	○	-	○	-	○	-	-	-	-
러시아	○	○	-	○	-	-	-	○	-	-
백석	-	-	○	-	○	○	-	-	-	○
삼악산	○	○	○	○	○	-	○	-	-	-
상남	○	○	○	○	○	-	-	-	-	○
오대산	○	-	○	○	○	○	-	-	○	-
운두령			○		○	-	-	-	-	-
을수	○	○	○	○	○	○	-	-	-	-
자운	○	-	○	○	○	-	-	-	-	○
점봉	○	-	○	○	○	-	-	-	○	-
정선	-	○	-	○	-	-	-	-	-	-
중국	○		○	○	○	○	-	○	○	-
진동	-	-	○	-	○	○	○	○	-	-
창촌	○	-	○	○	○	○	○	-	-	-
치악산	-	-	○		○	○	○	-	-	-

* band가 검출된 경우는 ○로 나타내었으며 검출되지 않은 경우는 -로 나타내었다.

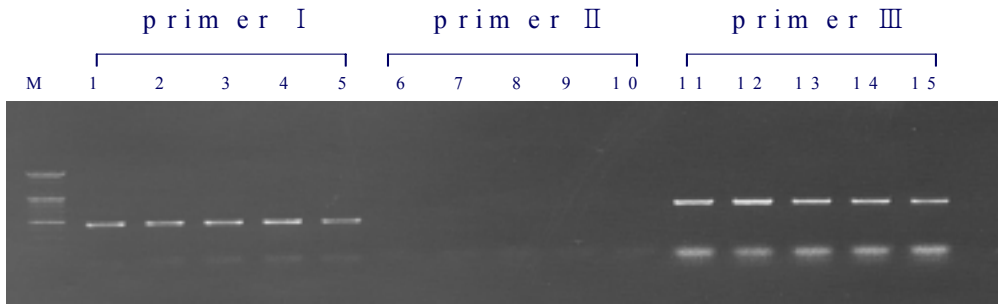


그림 5. 동일지역에서 분리한 DNA의 SCAR primer set를 이용한 PCR.

Lane M, size marker, 100 bp ladder; lane 1-5, 오대산 자생 가시오갈피 #7-#11.

3) 우량품종 특이적 marker의 유용성 검토

가) 재료 및 방법

위에서 개발한 10개의 SCAR marker의 유용성을 검토하기 위해 16개 지역 51개체의 DNA와 SCAR primer를 사용하여 PCR을 수행한 후 전기영동을 하였다.

나) 결과 및 고찰

각 자생지 지역별로 적절한 SCAR primer를 이용하여 PCR을 수행하였다. 그 결과, 이미 앞의 표 2에 나타낸 바와 같은 동일한 결과를 얻을 수 있었다. 예를 들어 백석지역의 자생오갈피 5개체에 대하여 D, F, G, J, L, M primer를 사용하여 PCR을 수행한 결과, 그림 6에서와 같이 D, F, G, M에서는 원하는 크기의 band가 검출되었다.

반면에 J와 L primer에서는 예상한 바와 같이 band가 나타나지 않았다. 오대산 지역이 자생오갈피 5개체에 대하여 A, B, D, E, F, G, L, M primer를 사용한 PCR 결과, 그림 7에서와 같이 A, D, E, F, G, L에서는 원하는 크기의 band가 검출된 반면에 B, M에서는 예상한 바와 같이 band가 나타나지 않았다.

이외의 자생지역인 가리산 (그림 8), 고양산 (그림 9), 덕유산 (그림 10), 을수 (그림 11), 점봉 (그림 12), 자운 (그림 13), 창촌 (그림 14), 치악산 (그림 15), 삼악산 (그림 16), 상남 (그림 17), 진동 (그림 18), 운두령 (그림 19), 러시아 (그림 20), 중국 (그림 21)에서도 표 2와 동일한 결과가 확인되어 SCA marker를 이용하여 국내외 가시오갈피의 지리적 기원은 찾을 수 있으며 이를 우량품종을 확인할 수 있는 marker로 활용가능 할 것으로 본다.

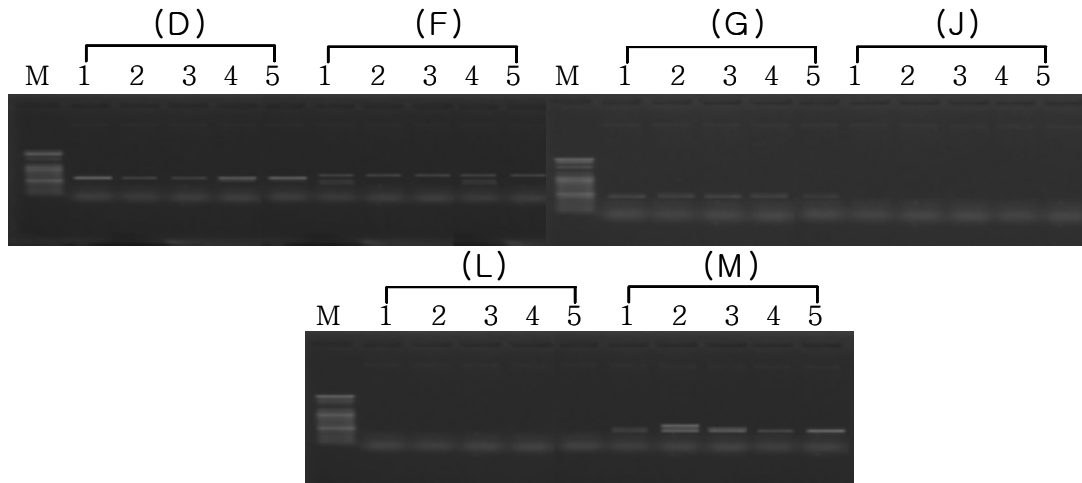


그림 6. 백석 지역의 가시오갈피에 대한 SCAR marker의 유용성

Lane M, size marker, 100bp ladder; lane 1, 백석 #2; lane 2, 백석 #3; lane 3, 백석 #4, lane 4, 백석 #5; lane 5, 백석 #6. SCAR primer는 D, F, G, J, L, M을 사용하였다.

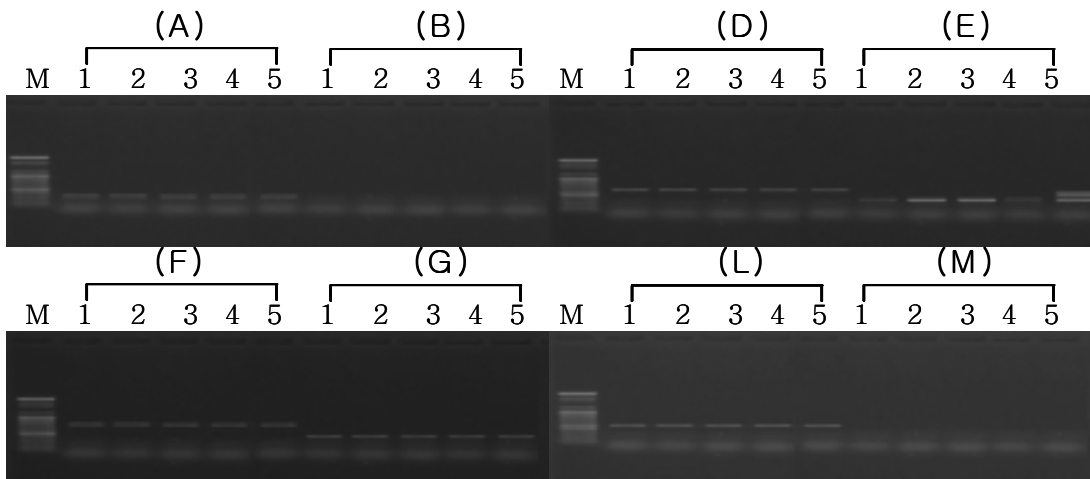


그림 7. 오대산 지역 가시오갈피에 대한 SCAR marker의 유용성

Lane M, size marker, 100bp ladder; lane 1, 오대산 #7; lane 2, 오대산 #8; lane 3, 오대산 #9, lane 4, 오대산 #10; lane 5, 오대산 #11. SCAR primer는 A, B, D, E, F, G, L, M을 사용하였다.

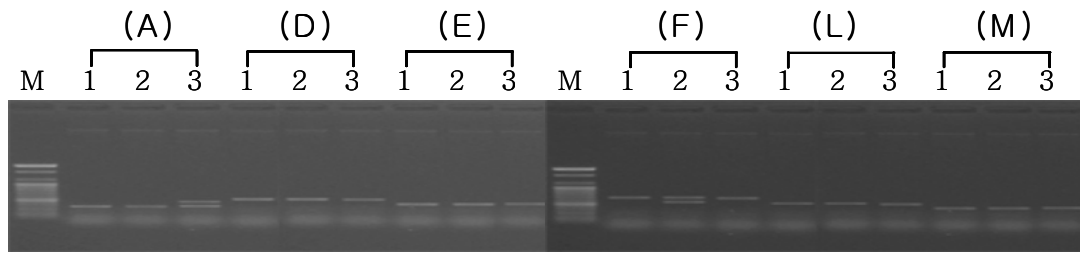


그림 8. 가리산 지역 가시오갈피에 대한 SCAR marker의 유용성

Lane M, size marker, 100bp ladder; lane 1, 가리산 #2, lane 2, 가리산 #3, lane 3, 가리산 #5. SCAR primer는 A, D, E, F, L, M을 사용하였다.

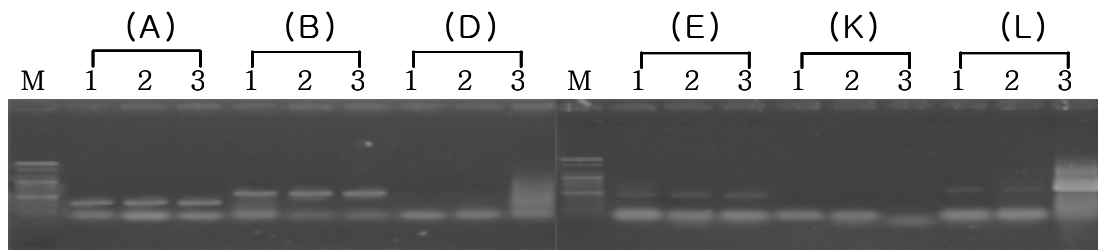


그림 9. 고양산 지역 가시오갈피에 대한 SCAR marker의 유용성

Lane M, size marker, 100bp ladder; lane 1, 고양산 #3, lane 2, 고양산 #5, lane 3, 고양산 #6. SCAR primer는 A, B, D, E, K, L을 사용하였다.

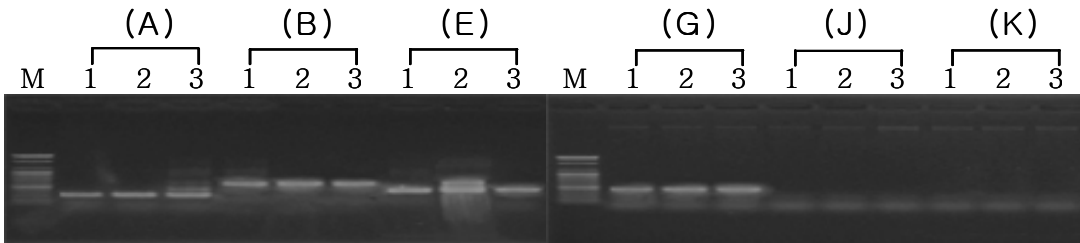


그림 10. 덕유산 지역 가시오갈피에 대한 SCAR marker의 유용성

Lane M, size marker, 100bp ladder; lane 1, 고양산 #2, lane 2, 고양산 #3, lane 3, 고양산 #5. SCAR primer는 A, B, D, E, K, L을 사용하였다.

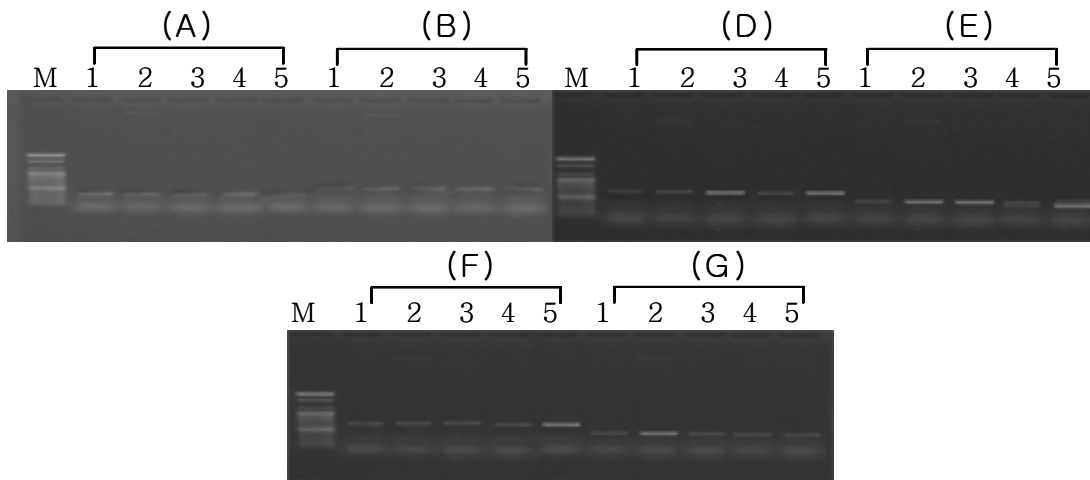


그림 11. 을수 지역 가시오갈피에 대한 SCAR marker의 유용성

Lane M, size marker, 100bp ladder; lane 1, 을수 #5; lane 2, 을수 #6; lane 3, 을수 #7; lane 4, 을수 #8; lane 5, 을수 #9. SCAR primer는 A, B, D, E, F, G를 사용하였다.

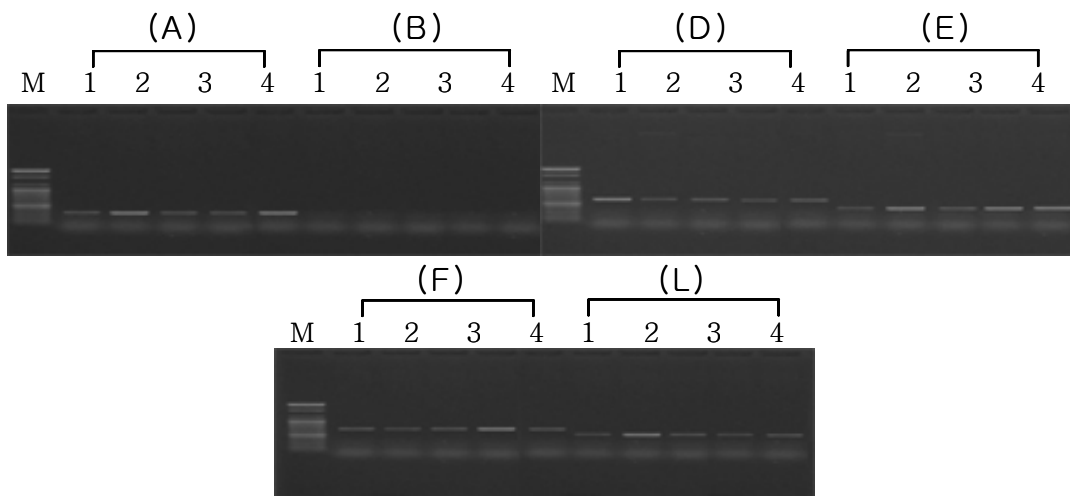


그림 12. 점봉 지역 가시오갈피에 대한 SCAR marker의 유용성

Lane M, size marker, 100bp ladder; lane 1, 점봉 #3; lane 2, 점봉 #5; lane 3, 점봉 #6; lane 4, 점봉 #7. SCAR primer는 A, B, D, E, F, L을 사용하였다.

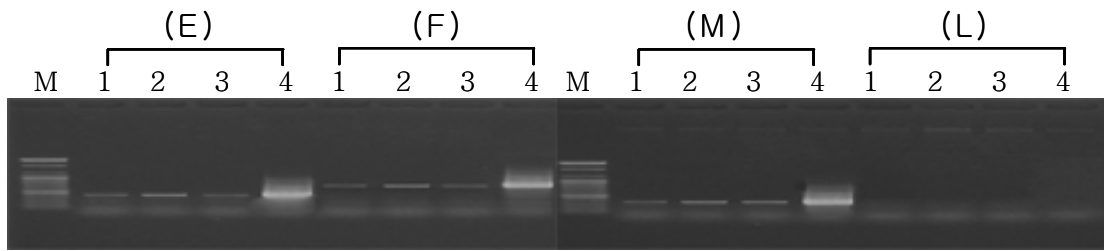


그림 13. 자운 지역 가시오갈피에 대한 SCAR marker의 유용성

Lane M, size marker, 100bp ladder; lane 1, 자운 #1; lane 2, 자운 #2; lane 3, 자운 #3; lane 4, 자운 #4. SCAR primer는 E, F, M, L을 사용하였다.

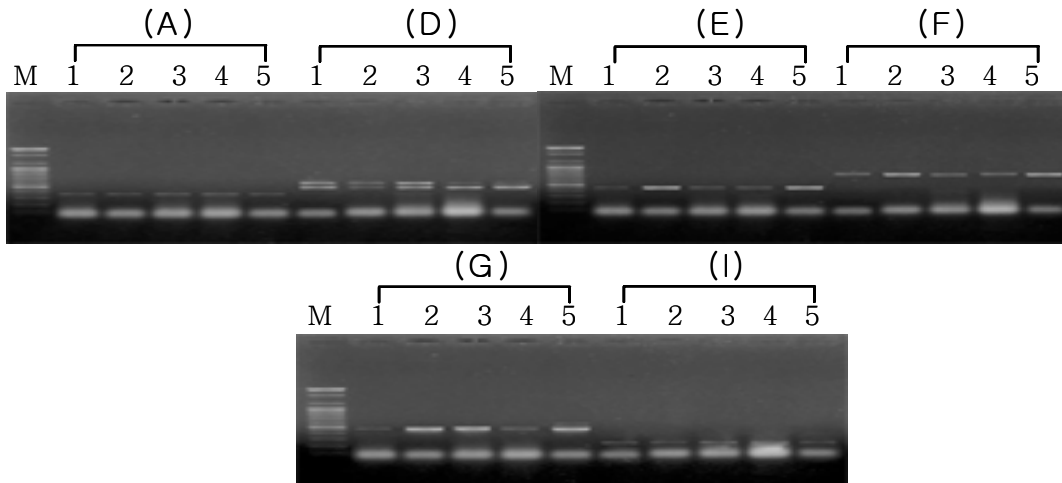


그림 14. 창촌 지역 가시오갈피에 대한 SCAR marker의 유용성

Lane M, size marker, 100bp ladder; lane 1, 창촌 #3; lane 2, 창촌 #4; lane 3, 창촌 #5; lane 4, 창촌 #7; lane 5, 창촌 #8. SCAR primer는 A, D, E, F, G, I를 사용하였다.

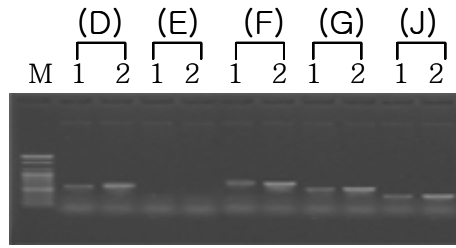


그림 15. 치악산 지역 가시오갈피에 대한 SCAR marker의 유용성

Lane M, size marker, 100bp ladder; lane 1, 치악 #1; lane 2, 치악 #2. SCAR primer 는 D, E, F, G, J를 사용하였다.

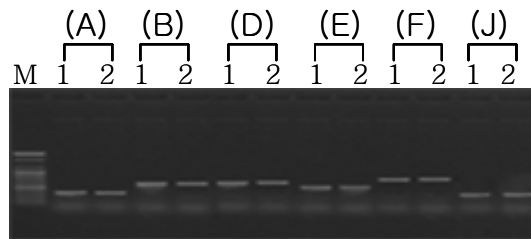


그림 16. 삼악산 지역 가시오갈피에 대한 SCAR marker의 유용성

Lane M, size marker, 100bp ladder; lane 1, 삼악 #3; lane 2, 삼악 #4. SCAR primer 는 A, B, D, E, F, J를 사용하였다.

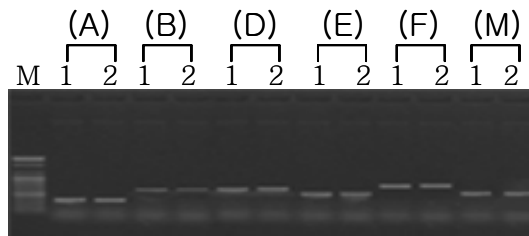


그림 17. 상남 지역 가시오갈피에 대한 SCAR marker의 유용성

Lane M, size marker, 100bp ladder; lane 1, 상남 #1; lane 2, 상남 #2. SCAR primer 는 A, B, D, E, F, M을 사용하였다.

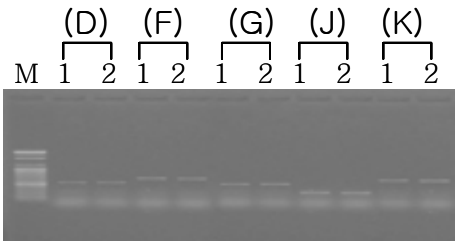


그림 18. 진동 지역 가시오갈피에 대한 SCAR marker의 유용성

Lane M, size marker, 100bp ladder; lane 1, 진동 #1; lane 2, 진동 #2. SCAR primer는 D, F, G, J, K를 사용하였다.

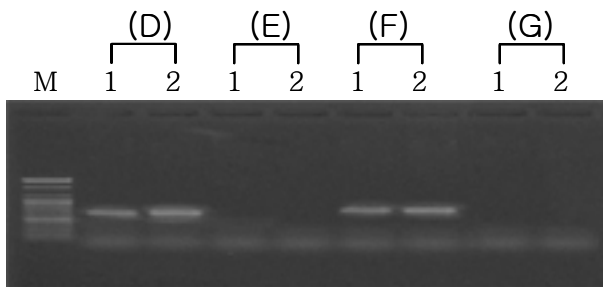


그림 19. 운두령 지역 가시오갈피에 대한 SCAR marker의 유용성

Lane M, size marker, 100bp ladder; lane 1, 운두령 #1; lane 2, 운두령 #2. SCAR primer는 D, E, F, G를 사용하였다.

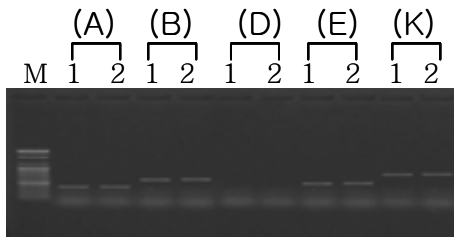


그림 20. 러시아지역 가시오갈피에 대한 SCAR marker의 유용성

Lane M, size marker, 100bp ladder; lane 1, 러시아 #1; lane 2, 러시아 #2. SCAR primer는 A, B, D, E, K를 사용하였다.

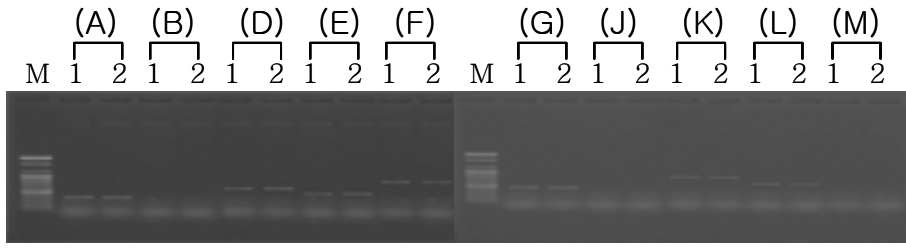


그림 21. 중국 지역 가시오갈피에 대한 SCAR marker의 유용성

Lane M, size marker, 100bp ladder; lane 1, 중국 #1; lane 2, 중국 #2. SCAR primer 는 A, B, D, E, F, G, J, K, L, M을 사용하였다.

국립산림과학원 산림종자연구소의 포장에서 실생묘의 잎을 채집한 후 10개의 SCAR primer를 사용하여 PCR을 수행한 결과, 그림 22과 같이 2종류로 구분되었다. 1번과 2번 시료는 A, E, F, G, J, M primer들에서 band가 확인되었고 3번과 4번 시료는 A, D, E, F, G, J, K, M primer들에서 band가 검출되었다. 따라서 1번은 2번과 그리고, 3번은 4번과 지리적 기원이 서로 동일함을 예상할 수 있었다.

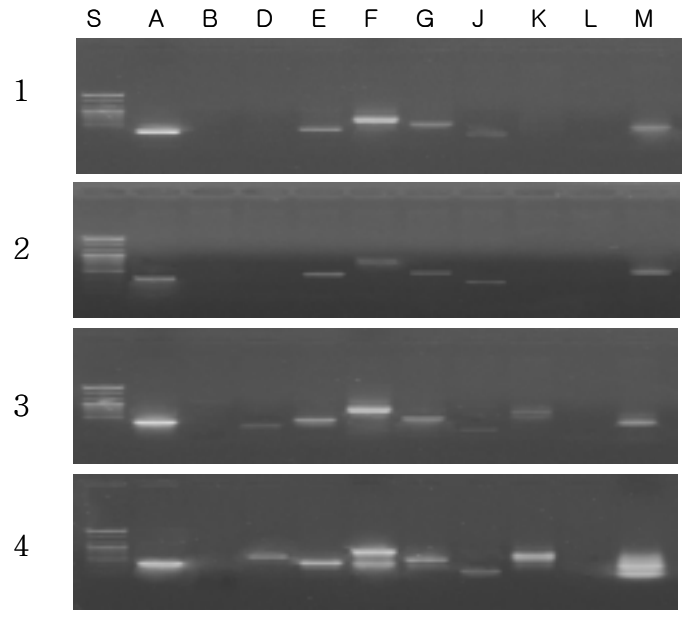


그림 22. 실생묘 가시오갈피(1, 2, 3, 4)에 대한 SCAR marker의 유용성

Lane S, size marker, 100bp ladder; lane A, B, D, E, F, G, J, K, L, M, SCAR primer.

라. 가시오갈피의 ITS (internal transcribed spacer)의 유전적 분석

1) 재료 및 방법

가) Primer

White등 (1990)이 설계한 primer를 PCR에 이용하였으며 염기서열과 PCR 산물의 크기는 표 3에 나타내었다.

표 3. ITS를 증폭하기 위해 사용한 primer의 염기서열 및 PCR 산물의 크기

name	nucleotide sequence (5'→ 3')	product size	reference
ITS1	5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	약 700 bp	White 등 (1990)
ITS4	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'		

나) PCR

반응액의 조성은 앞에서와 같은 농도로 사용하였다. 반응조건은 앞에서의 SCAR marker의 개발과 동일한 조건하에서 수행하였다. 얻어진 PCR 산물은 1.2% agarose gel에서 전기영동 하였다.

다) Agarose gel로부터 DNA의 추출

DNA를 agarose gel로부터 추출해 내기 위해 Ultra clean kit (Mobio, Co.)를 이용하였다. 원하는 부위의 gel을 잘라내어 3배 부피의 Ultra salt 용액을 넣고, 55℃ 항온수조에서 5분간 반응시켰다. 5 μ l의 Ultrabind를 넣어 잘 혼합하여 실온에서 5분간 반응시킨 후 원심분리 (15,000 rpm, 3분)하였다.

침전물에 1ml의 Ultra wash를 넣어 잘 섞은 다음 원심분리 하였고 (15,000 rpm, 5분), 상등액을 버린 후 실온에서 5분간 건조시켰다. 예열된 (55℃) 증류수를 첨가하여 pellet를 녹인 후 원심분리 (15,000 rpm, 5분)하여 상등액을 취하였다. 얻어진 DNA는 정량 한 후 염기서열분석에 이용하였다.

라) 염기서열 분석

4 μ l의 DNA에 18 μ l의 멸균증류수를 넣고, 2 μ l의 2M NaOH, 2mM EDTA를 넣은 후, 실온에서 5분간 반응시켰다. 여기에 75 μ l의 99.9% ethyl alcohol을 넣어 잘 섞은 후, -70 $^{\circ}$ C에 10분간 두었다.

그리고 4 $^{\circ}$ C, 15,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 침전물에 20 μ l의 차가운 70% ethyl alcohol을 넣고 1분간 원심분리 하였다. 침전물은 진공 건조하여 18 μ l의 멸균증류수에 녹여 사용하였으며, ALF-Express automatic sequencer (Pharmacia Biotech)를 이용하여 염기서열을 분석하였다.

염기서열의 homology를 조사하기 위해 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>의 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) program을 이용하였다.

2) 결과 및 고찰

rDNA는 오래전부터 계통분류학적 연구에 사용되어 온 DNA 구간으로서 18S, 15.8S, 26S 등 세 개의 ribosomal RNA를 coding하는 구간과 이들 coding region을 연결하는 2개의 internal transcribed spacer (ITS 1, ITS 2)로 구성되어 있다.

이들의 단위가 intergenic spacer (IGS)로 연결되어 수천-수만개가 반복되는 구조로 되어 있다 (그림 23). rDNA 중 18S, 15.8S, 26S 등의 coding region은 진화속도가 매우 느려 과 (family) 이상의 상위 분류군의 계통학적 진화관계를 연구하는데 활용될 수 있는 반면에 ITS구간은 진화속도가 비교적 빠르기 때문에 속간, 혹은 속 이하의 분류군의 연구에 적합하여 최근 이를 이용한 식물계통학의 연구가 활발히 진행되고 있다 (Bult 등, 1995; Downie와 Katz-Downie, 1996; San 등, 1995).

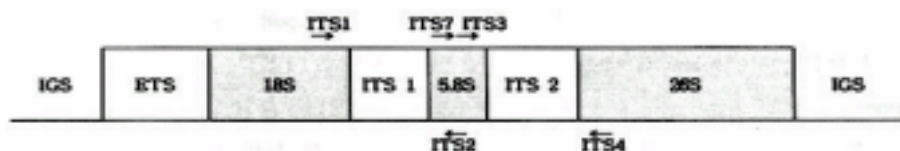


그림 23. Ribosomal DNA의 구조와 primer의 위치.

ETS, external transcribed spacer; ITS, internal transcribed spacer; IGS, intergenic spacer; 18S, 5.8S, 26S, ribosomal RNA의 coding region; ITS1, ITS2, ITS3, ITS4, ITS7, PCR과 염기서열 분석을 위한 primer들 (White 등, 1990).

ITS1은 18S와 5.8S 사이에, ITS2는 5.8S와 26S사이에 존재함으로써 양쪽 말단에 ribosomal RNA coding gene이 위치하게 된다. 이러한 coding region은 거의 모든 진핵생물계 내에서 염기서열의 변이가 적어 보존되어 있는 구간이다. 따라서 본 연구에서는 ITS1 primer와 ITS4 primer를 이용하여 ITS1과 ITS2 부위 전체를 증폭하였고, 염기서열 분석에 이용하였다.

가) PCR에 의한 ITS의 증폭 및 agarose gel로부터 DNA의 정제

오대산에 자생하고 있는 가시오갈피, 러시아 및 중국산 가시오갈피 중 각각 1개체를 선택하여 ITS부위를 증폭한 후 그림 24에서와 같이 약 700 bp의 band를 검출할 수 있었고, 이를 agarose gel로부터 분리하여 염기서열 분석에 이용하였다.

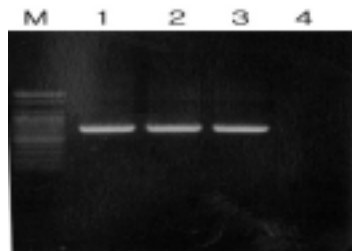


그림 24. ITS1과 ITS4 primer를 이용한 가시오갈피의 PCR 산물.

Lane M, size marker (100 bp ladder); lane 1-3, 가시오갈피 (오대산, 러시아, 중국); lane 4, negative control.

나) ITS의 염기서열 분석

국내 오대산에 자생하는 가시오갈피의 ITS1에서 ITS2 부위까지, 608 bp의 염기서열을 분석한 결과, 가시오갈피와 같은 속으로 중국 Yunnan, Sichuan 등지에 자생하는 것으로 알려진 *Eleutherococcus simonii* (*Acanthopanax simonii*)와 10 bp 차이를 나타내어 98.4%의 상동성을 나타내었으며, 음나무 (*Kalopanax pictus*)와 97.9%의 상동성을 나타내었다.

한편 오갈피나무 (*Eleutherococcus sessiliflorus*, *Acanthopanax sessiliflorus*)와는 97.2%의 상동성을 나타내었다. 따라서 국내에 자생하는 가시오갈피의 경우, ITS 분석만으로는 오갈피나무보다는 음나무와 유전적 유연관계가 더 높은 것을 추정할 수 있었다.

또한 각 지역에 따른 ITS 염기서열의 변화 유무를 확인하기 위해 오대산, 치악산, 삼악산에 자생하는 가시오갈피와 중국산 및 러시아산에 대한 ITS 염기서열을 분석한 결과, 세 지역의 국내산과 중국산은 100%가 일치하였으나 러시아산과는 5 bp의 차이를 나타내어 99.2%의 상동성을 나타내었다(그림 25). 국내에 자생하는 가시오갈피의 경우 러시아산보다는 중국산과 유전적 유연관계가 더 가까운 것으로 생각된다.

오대산	1	CGAAACCTGC	ACAGCA-GAA	CGACCCGCGA	ACACGTTACC	ATACCGGGCG	AGGGACGTGG
러시아	1A.....
오대산	60	GGTGCGAAG	TTCCCCAAGT	CGCGAACCCA	TTGTGCGGGA	TCGCCCTCGG	G-CGGTCCTC
러시아	61G.....
오대산	120	GACTGAACAA	CGTCACCCCG	GCGCGGAATG	CGCCAAGGAA	ATCAAACCTGA	ACTGAACGCG
러시아	122
오대산	179	TCCCACCCGT	TCGCGGGCTG	TGGGGGCGTC	TTTTTAAAAC	ACAAACGACT	CTCGGCAACG
러시아	181
오대산	239	GATATCTCGG	CTCTCGCATC	GATGAAGAAC	GTAGCGAAAT	GCGATACTTG	GTGTGAATTG
러시아	241
오대산	299	CAGAATCCCG	TGAACCATCG	AGTCTTTGAA	CGCAAGTTGC	GCCCGAAGCC	ATTAGGCCGA
러시아	301
오대산	359	GGGCACGTCT	GCCTGGGCGT	CACGCATCGC	GTCGCCCCCC	AACCCTGCAC	TCCCTCATGG
러시아	361
오대산	419	GAGTCATGAC	TGAGGGGCGG	ATACTGGCCT	CCCGTGTCTC	ACCGTGCGGT	TGGCCCAAAT
러시아	421
오대산	479	GTGAGTCCTT	GGCAGCGGAC	GTCACGACAA	GTGGTGGTTG	A-AAAGCCTA	CTCTTCTCCT
러시아	481G.....G.....G.....
오대산	538	GTCGTGCGGT	GGCCCGTCGC	CAGCAAAAGC	TCATGTGACC	CTGTTGTGCC	GTCCTCGACG
러시아	541
오대산	598	AGCACTCCGA	C	608			
러시아	601	611			

그림 25. 가시오갈피의 ITS 부위의 염기서열 비교

제 2 절 흑오미자

가. 흑오미자의 암수 유전 특성 구명

1) genomic library 제작 및 암수염기서열 screening

가) 재료 및 방법

(1) Genomic library의 제작

흑오미자의 성 관련 유전자를 분석하기 위해 자웅동주 개체의 genomic library를 제작하였다. 자웅동주의 genomic DNA를 BamH I으로 절단한 fragment들을 ZAP Express Predigested Vector kit와 Gigapack cloning kit (Stratagene Co.)를 이용하여 library를 제작하였고, library를 약 1011 pfu/ml로 amplify하여 deep freezer (-70℃)에 보관하며 실험에 사용하였다.

(2) Male specific marker의 screening

① plating과 lift

Genomic library는 E. coli XL1-Blue와 단계적인 희석을 통해 한 plate 당 약 5×10^2 pfu가 되게 배양하였다. 적당한 크기의 membrane을 준비하여 표시한 후 배양된 plate 위에 2분간 올려놓았다.

Membrane은 denaturation 용액 (1.5 M NaCl, 0.5M NaOH)에서 7분간 1회, neutralization 용액 (1.5 M NaCl, 0.5 M Tris-HCl, 0.001M EDTA, pH 7.2)에서 3분간 2회 반복하여 반응시켰다. 2×SSC 용액에서 10분간 반응시켜 실온에서 건조한 후 UV transilluminator에서 2분간 cross linking시켜 DNA를 membrane에 고정시켜 사용하였다.

② Probe의 제조

Probe의 DNA는 male에 특이적인 789 bp의 band를 정제하여 이용하였으며 DNA and RNA labelling kit (Takara Co.)를 이용하여 labelling하였다. 1 μ l의 template DNA (25 ng), 2 μ l의 random primer, 11 μ l의 멸균증류수를 첨가하여 95℃에서 3분간 반응시킨 후 얼음에 5분간 방치하였다.

2.5 μ l의 10×buffer, 2.5 μ l의 dNTP, 1 μ l의 Klenow enzyme, 5 μ l의 32P를 첨가한 후 37℃에서 15분간 반응시켰다. Pasteur pipet으로 컬럼을 제조하여 label된

DNA를 첨가한 후 400 μ l씩의 TE buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0)를 넣어 서로 다른 1.5ml의 microcentrifuge tube에 넣고 받는 것을 반복하였다.

컬럼을 통과해 얻은 용액 중 가이저 계수기의 수치가 높은 4-5개의 tube 용액을 모아 95 $^{\circ}$ C에서 4분간, 얼음에서 5분간 반응시킨 후 hybridization solution (7.5 \times SSC, 5 \times Denhart's solution, 100 μ g/ml Herring sperm DNA, 0.2% SDS, 0.5 \times formamide)에 첨가하여 probe 용액으로 이용하였다.

③ Hybridization

미리 예열된 (42 $^{\circ}$ C) 4ml의 hybridization solution을 petri-dish에 첨가한 후 membrane을 놓고 다시 4ml의 hybridization solution을 첨가하는 것을 반복하였다. 마지막 membrane을 놓은 후 5ml의 hybridization solution을 첨가하여 두 겹의 parafilm으로 밀봉한 후 42 $^{\circ}$ C에서 1시간 30분 동안 반응시켰다.

새 petri-dish에 3ml의 probe 용액을 첨가한 후 membrane을 놓고 첨가를 반복하였다. 마지막 membrane을 놓은 후 4 ml의 probe 용액을 첨가하여 두 겹의 parafilm으로 밀봉한 후 42 $^{\circ}$ C에서 16시간 동안 반응시켰다.

Hybridization 과정이 끝난 membrane은 세척용액 (2 \times SSC, 0.5% SDS)을 넣어 가이저 계수기의 수치가 5가 될 때까지 30분간 2회씩 세척한 후, X-ray film에 노출시켰다.

④ Screening

Hybridization 결과 강한 signal을 보이는 plaque를 선택하여 SC buffer (500 μ l SM buffer, 200 μ l chloroform)에 보관하면서 screening을 수행하였다. Screening 위의 모든 과정을 반복하면서 강한 signal의 single plaque를 얻을 때까지 수행하였다.

⑤ single colony excision

Screening을 통해 얻어진 plaque는 in vivo excision을 실시하였다. 1.5ml의 microcentrifuge tube에 200 μ l의 E. coli XL-1 blue MRF'(OD600=1.0), 250 μ l의 phage stock (> 10⁵ phage), 1 μ l의 helper phage (> 10⁶ pfu/ μ l)를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 15분간 배양하였다.

15 ml의 falcon tube에 3 ml의 LB 배지 (10g tryptone, 5g yeast extract, 10g

NaCl, 1ml 1N NaOH/liter)를 첨가한 후 phage 배양액을 넣고 37°C 진탕배양기에서 3시간 배양하였다. 65°C에서 20분간 열처리 한 후 원심분리 (1,000xg, 15분)하여 얻어진 상등액은 새 tube에 옮겨 4°C에 보관하면서 실험에 이용하였다.

1.5 ml의 microcentrifuge tube에 200 μ l의 E. coli XL0LR (OD600=1.0), 10 μ l의 상등액을 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 kanamycin (50 μ g/ml)이 첨가된 LB plate에 도말하여 37°C에서 18시간 배양하였다. Single colony를 kanamycin (50 μ g/ μ l)이 첨가된 LB 배지에 접종하여 37°C에서 18시간 진탕배양한 후 동량의 60% glycerol에 넣어 -70°C deep freezer에 보관하며 실험에 이용하였다.

⑥ phagemid DNA의 분리 및 정제

Single colony를 kanamycin (50 μ g/ μ l)이 첨가된 LB 배지에 접종하여 37°C의 진탕배양기에서 포화 배양한 후, plasmid DNA Purification kit (Mobio Co.)를 이용하여 phagemid DNA를 분리하였다.

⑦ 염기서열 분석

분석을 위한 DNA의 처리 및 homology 분석은 위와 동일한 방법으로 수행하였다.

(3) Female specific marker의 screening

DIG High Prime DNA Labelling and Detection Starter Kit II (Boehringer Mannheim Co.)를 이용한 hybridization을 통해 흑오미자의 female에 특이적인 clone을 screening하였다. 사용한 probe는 흑오미자의 female에 특이적으로 알려진 780bp의 DNA 단편을 이용하였다.

나) 결과 및 고찰

(1) Male specific marker의 screening

방사선 동위원소로 표지 시킨 789 bp의 male 관련 DNA marker를 Genomic library와 hybridization으로 1, 2차 screening을 통해 그림 26와 같은 clone들을 얻을 수 있었다. 이들 중 signal이 강한 6개의 clone를 선택하여 각각에 대해 in vivo excision을 수행하여 single colony를 얻었으며, phagemid DNA의 추출과 double enzyme digestion을 통해 DNA의 크기를 확인하였다 (그림 27)

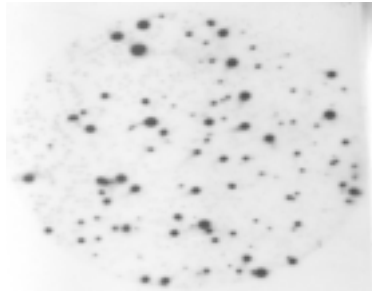


그림 26. Male specific marker를 이용한 2차 screening 결과

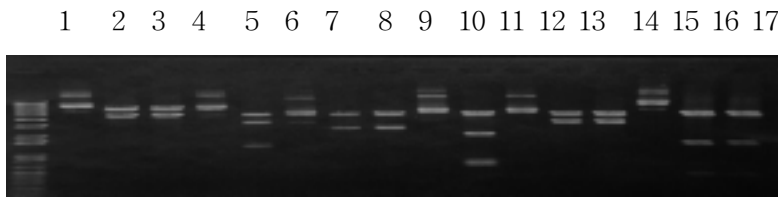


그림 27. 각 clone으로부터 추출한 phagemid DNA의 enzyme digestion 결과.

Lane 1, 1kb ladder; lane 2, 5, 7, 10, 12, 15, 각 clone (clone 1-6)의 phagemid DNA; lane 3-4, 6, 8-9, 11, 13-14, 16-17, 각 clone의 DNA의 enzyme digestion 결과

(2) 수그루 관련 clone의 염기서열 분석

clone의 염기서열을 분석한 결과 7,204 bp의 크기였고 (그림 28), 이미 보고된 흑오미자의 male과 관련된 염기서열이 3'쪽에 치우쳐져 존재하였으나, 다른 성관련 유전자와는 의미있는 상동성이 나타나지 않았다 (Jung 등, 2001).

따라서 3'쪽으로 계속적인 walking을 수행함으로써 수그루 특이적인 부분의 전체 구조를 확인하는 것이 필요하다고 하겠다. 분석된 염기서열의 적절한 부위를 선택하여 (Primer 3 Input program) primer를 제조한 후, PCR을 통해 암그루와 구별되는 수그루 특이적인 부분을 확인하였다 (그림 29, 30).

염기서열의 5'쪽은 수그루와 암그루의 모든 DNA에서 예상된 band가 검출된 반면에 3'쪽은 수그루에서만 예상된 band가 검출되었다. 이와 같은 결과로 2,271 bp (4,934 bp ~ 7,204 bp)의 염기서열이 male과 관련되었을 것으로 예상할 수 있었다.

1 GATCCAGCTT CAATTCGCTG GAGCGGTAT GCGGATGGCC AAGAAGGGGA CGGTCTTCCA AAAGTGGATG ACGGTGGCT GGGGATGGCC CAATTCGCTG
101 AGACAGCGTG GACAGGCTCC GAATGACTTA TATACGGCCC TCTGTGCTGC CTCTAAGAGT TGCGTATCGG TGCTACCTGG TATACGGCCC GACAGGCTCC
201 AACCCGACTA TTCCTACAGG AGCTTGGCTT TGCTACAGCA CCAGTCCCGC TTTTACACAGG GTGGGCGCTG AGTITGGCTT TCCGTACAGG TCCGTACAGG
301 ACTGAGAGGG TGACTAGGGA ACTTAGAGAC ATCCGGCAAG CATGGCTTGA CCTGGTCTTC GGACCGACAG GTACCCCTGC ATCCGGCAAG TGACTAGGGA
401 TGGCTATATA TTTTAGAGTC TTCTTCTTTT CCCCCTCTTT TTATCTTATT CATCTCTTTT TGAACAGGTC ACACATTTCT CCCCCTCTTT TTTTAGAGTC
501 CCTTCCCGGC CAACAGGACT AGGGTGTCTC ATCGAGCGCC TATATATAGC CTGGTGGAAA ACCAGGACGA CCGGCTCTTT ATCGAGCGCC CAACAGGACT
601 TAATGTGGCG ATGCATCTTC TATTTGAGGG AATCGTCCCC AGTTATCACC GCGGAAGCAG CCAGGCTACT ACTGAAGGTG AATCGTCCCC ATGCATCTTC
701 CTGTGGCAA GTCCGGGGG GCGTACTTTG CTAAGATAGC CAGAGAACA GCGTTGACGG GATCTCTTAG CAGAGGGGGA CTAAGATAGC GTCCGGGGG
801 TGTCTCCCC ATACCGGTCA GCGCATACCT CCCCAGCTG TCAGGCTTTT GGAGAAAAC CTACTCAGGG TCCTGTAAGG ACCGAGTACT TCAGGCTTT GAGCCAGTAC
901 GGAAGGGGG GAGCCAGTAC CAAGGGGGAG TCAGGCTTTT TTTTAGAGTC TTCTTCTTTT CCCCCTCTTT TTATCTTATT CAGGCTCTGG CCATGGAGGT
1001 TCAATAGGGA CCATGGAGGT GCTCTGCC CAGGCTCTGG TTTTAGAGTC TTCTTCTTTT CCCCCTCTTT TTATCTTATT CAGGCTCTGG CCATGGAGGT
1101 GCGCGCTTA CTGTCTAAGA TAAGGACTTA CTAAGATAGC CAGAGAAAAC TCAATAGGGA CCATGGAGGT GCTCTGCC TTTTAGAGTC TTTTAGAGGT
1201 GTCCGGGGG ATACTTCTT CCCCAGCTG AAGTAAGAAC TCAGTAAGG CCGCTCTGAG GATCTCTAG CAGAGGGGGA CTAAGATAGC GTCCGGGGG
1301 ATACCGGTCA GCGCATACCT GCGTATTAGCT AAGTAAGAAC TCAGTAAGG CCGCTCTGAG GATCTCTAG CAGAGGGGGA CTAAGATAGC GTCCGGGTCA
1401 GAGCCAGTAC CAAGGGGGAG TCAGGCTTTT GGAGAAAAC CTACTCAGGG TCCTGTAAGG ACCGAGTACT TCAGGCTTT GAGCCAGTAC GCGTCTGAAG
1501 CCATGGAGGT GCTCTGCC CAGGCTCTGG TTTTAGAGTC TTCTTCTTTT CCCCCTCTTT TTATCTTATT CAGGCTCTGG CCATGGAGGT TCCGTAAAG
1601 GCGCTTACAG GATCTCTAG CAGAGGGGGA CTAAGATAGC GTCTTACGG GATCTCTAG CAGAGGGGGA CTAAGATAGC GTCTTACAG CAGAGGGGGA
1701 TCGAGTAAGG GCGTCTGAG AGGAGATTCA CCCCAGCTG ATACCGGTCA TCAGTAAGG GCGTCTGAG AGGAGATTCA CCCCAGCTG ATACCGGTCA
1801 CTACTCAGG TCCTGTAAAG ACCGATGACT TCAGGCTTTT GAGCCAGTAC CTACTCAGGG TCCTGTAAAG ACCGAGTACT TCAGGCTTT GAGCCAGTAC
1901 CCGCAGCTCT AGAGCCAGAG CGTATTAGCT AACCACAATT TCAGTAAGG GATCTGAGGA GATCTGAGGA GATCTGAGGA AACCACAATT AGAGCCAGAG
2001 CCACAAGCCA AATAGAGCAA AACGCCAAGT CAGTTATGAA GTCACTGCT CGTATGCCGG GAGAAAAGCA CGTTGCCGG CAGTTATGAA AATAGAGCAA
2101 CGAAGCAACC ACTGTATGCG CTAAGGAGCA AAAAGCGGT GCGCATGCTA AGGACCGGT CGTATGTCCA AGGAGCCAAA AAAGCGCGT ACTGTATGCG
2201 GAGCAGGTG GATCGCGGA GCAACCACTC GTATGGTATG CCAAGGATGC CCAAGGATGC CACTAGTACA CCAAGGATGC CCAAGGATGC GTATGGTATG
2301 TAGGCAGCTT GCGCGCGAA GCAACCACTC GTATGCCCAA AATTAATTAAG GATATAAATT AAGGATATGA TTAAGTATGA GTATGCCCAA GCGCGCGAA
2401 ATTAAGTCTT TTTCTTGATG TCCTTTTGG CCGGAAATGA GCACCCGAA GCTTGTCTGA GTCCAAATGT GATGCGAAGT CCGGAAATGA TTTCTTGATG
2501 AGAAACCAAG CCGATCCCG GAATGTCAC TTCCGTTTGG ATGGAATGTT GCGGAGTCC GGAGTATTA TCTCCGATTA TTCCGTTTGG CCGATCCCG
2601 TGCCCTCAAG GGATAAGACC GAAAGCTCT TTCCGGGAA GAATTCACCT GAACTTATT GAAAGTCAA GAAGATCAA AGAATCAA TTCCGGGAA GGATAAGACC
2701 TGTCTCCCC ATACCGGTCA GCGCATACCT CCCCAGCTG AAGTAAGAAC TCAGTAAGG GCGTCTGAG AGGAGATTCA CCCCAGCTG ATACCGGTCA
2801 ACTGTATGCG TAAGGAGCA AAAGCGCGT GCGCATGCTA AGGACCGGT CGTATGTCCA AGGAGCCAAA AAAGCGCGT ACTGTATGCG AATTAAGTCT
2901 GATGCGGGA GCAACCACTC GTATGGTATG CCAAGGATGC CAAGGATGC CACTAGTACA CCGAAGGGA GTATGGTATG GATGCGGGA AGAACCACAG
3001 GCGCGCGAA GCAACCACTC GTATGCCCAA AATTAATTAAG GATATAAATT AAGGATATGA TTAAGTATGA GTATGCCCAA GCGCGCGAA
3101 CGAAGCAACC ACTGTATGCG CTAAGGAGCA AAAGCGCGT GCGCATGCTA AGGACCGGT CGTATGTCCA AGGAGCCAAA AAAGCGCGT ACTGTATGCG
3201 GAGCAGGTG GATCGCGGA GCAACCACTC GTATGGTATG CCAAGGATGC CCAAGGATGC CACTAGTACA CCGAAGGGA GTATGGTATG GATGCGGGA
3301 TAGGCAGCTT GCGCGCGAA GCAACCACTC GTATGCCCAA AATTAATTAAG GATATAAATT AAGGATATGA TTAAGTATGA GTATGCCCAA GCGCGCGAA
3401 ATTAAGTCTT TTTCTTGATG TCCTTTTGG CCGGAAATGA GCACCCGAA GCTTGTCTGA GTCCAAATGT GATGCGAAGT CCGGAAATGA TTTCTTGATG
3501 AGAAACCAAG CCGATCCCG GAATGTCAC TTCCGTTTGG ATGGAATGTT GCGGAGTCC GGAGTATTA TCTCCGATTA TTCCGTTTGG CCGATCCCG
3601 TGCCCTCAAG GGATAAGACC GAAAGCTCT TTCCGGGAA GAATTCACCT GAACTTATT GAAAGTCAA GAAGATCAA AGAATCAA TTCCGGGAA GGATAAGACC
3701 TGTCTCCCC ATACCGGTCA GCGCATACCT CCCCAGCTG AAGTAAGAAC TCAGTAAGG GCGTCTGAG AGGAGATTCA CCCCAGCTG ATACCGGTCA
3801 TCCTTTTGG CCGGAAATGA GCACCCGAA GCTTGTCTGA GTCCAAATGT GATGCGAAGT CCGGAAATGA TTTCTTGATG ATTAAGTCT TTCCGGGAA
3901 GAATGTCAC TTCCGTTTGG ATGGAATGTT GCGGAGTCC GGAGTATTA TCTCCGATTA TTCCGTTTGG AGAACCACAG CCGCAGCTG
4001 CGAAAGCTCT TTCCGGGAA GAATTCACCT GAACTTATT GAAAGTCAA GAAGATCAA AGAATCAA TTCCGGGAA CGATAAGACC ATTAAGTCT
4101 CGAAGCAACC ACTGTATGCG CTAAGGAGCA AAAGCGCGT GCGCATGCTA AGGACCGGT CGTATGTCCA AGGAGCCAAA AAAGCGCGT ACTGTATGCG
4201 GAGCAGGTG GATCGCGGA GCAACCACTC GTATGGTATG CCAAGGATGC CCAAGGATGC CACTAGTACA CCGAAGGGA GTATGGTATG GATGCGGGA
4301 TAGGCAGCTT GCGCGCGAA GCAACCACTC GTATGCCCAA AATTAATTAAG GATATAAATT AAGGATATGA TTAAGTATGA GTATGCCCAA GCGCGCGAA
4401 ATTAAGTCTT TTTCTTGATG TCCTTTTGG CCGGAAATGA GCACCCGAA GCTTGTCTGA GTCCAAATGT GATGCGAAGT CCGGAAATGA TTTCTTGATG
4501 AGAAACCAAG CCGATCCCG GAATGTCAC TTCCGTTTGG ATGGAATGTT GCGGAGTCC GGAGTATTA TCTCCGATTA TTCCGTTTGG CCGATCCCG
4601 TGCCCTCAAG GGATAAGACC GAAAGCTCT TTCCGGGAA GAATTCACCT GAACTTATT GAAAGTCAA GAAGATCAA AGAATCAA TTCCGGGAA GGATAAGACC
4701 TGTCTCCCC ATACCGGTCA GCGCATACCT CCCCAGCTG AAGTAAGAAC TCAGTAAGG GCGTCTGAG AGGAGATTCA CCCCAGCTG ATACCGGTCA
4801 TTCCGGGAA TGACTAGGGA ACTTAGAGAC ATCCGCAAG CATGGCTGAA CTTGGGAATA CTTGAAGTCA ACTAAGTCA GTGAGGTAG ACTACTCTC GATTTACAT
4901 CCCCAGCTG TTTTAGAGTC TTCTTCTTTT CCCCAGCTG TCAGGCTTTT GCGGAAAAC CTACTCAGGG TCCTGTAAGG ACCGAGTACT TCAGGCTTT GAGCCAGTAC
5001 CAGGATGTT GATAAGTTT CAGGAATTTA GTTCACTCA TCACATGTA TCACATGTA TCACATGTA TCACATGTA TCACATGTA TCACATGTA TCACATGTA
5101 TTAAGTATCT TACTGAAAA ATCTCTATAA AATATTGTA AGTATCCAAT ATTTGTGAT TGTATTGTT TGAATCAA ATACTAAAA ATTTGTGTTAT
5201 CTAGTCAAG TGAGTCAATC TTCAGTCCG TGATCAAAAT AGGCAGTAA TGTCACTAT TICTAGTTT GAGTCTTACA GTATGGTATG GATGCGGGA
5301 TAGGCAGCTT GCGCGCGAA GCAACCACTC GTATGCCCAA AATTAATTAAG GATATAAATT AAGGATATGA TTAAGTATGA GTATGCCCAA GCGCGCGAA
5401 ATTAAGTCTT TTTCTTGATG TCCTTTTGG CCGGAAATGA GCACCCGAA GCTTGTCTGA GTCCAAATGT GATGCGAAGT CCGGAAATGA TTTCTTGATG
5501 AGAAACCAAG CCGATCCCG GAATGTCAC TTCCGTTTGG ATGGAATGTT GCGGAGTCC GGAGTATTA TCTCCGATTA TTCCGTTTGG CCGATCCCG
5601 TGCCCTCAAG GGATAAGACC GAAAGCTCT TTCCGGGAA GAATTCACCT GAACTTATT GAAAGTCAA GAAGATCAA AGAATCAA TTCCGGGAA GGATAAGACC
5701 TGTCTCCCC ATACCGGTCA GCGCATACCT CCCCAGCTG AAGTAAGAAC TCAGTAAGG GCGTCTGAG AGGAGATTCA CCCCAGCTG ATACCGGTCA
5801 GTATGGTATG AGAAACCAAG CGAAGCAACC TAGGCAGTTC GCGCGCGAA GCAACCACTC GTATGCCCAA AATTAATTAAG GATATAAATT AAGGATATGA
5901 TCCCTCAAG GATGTTTGG GAGCAGTTG ATTAAGTCTT TTTCTTGATG TCCTTTTGG CCGGAAATGA GCACCCGAA GCTTGTCTGA CTTCTTGA
6001 CCGGAAATGA GAATGTTAC TAGGCAGTTC GCGCGCGAA GCAACCAAG GCGATGCCG GAATGTCAC TTCCGTTTGG ATGGAATGTT GCGGAGTCC GGAGTATTA
6101 TTCCGTTTGG CGAAAGCTCT ATTAAGTCTT TGCCCTCAAG GGATAAGACC GAAAGCTCT TTCCGGGAA GAATTCACCT GAACTTATT GAAAGTCAA
6201 CTAGTCAAG TGAGTCAATC TTCAGTCCG TGATCAAAAT AGGCAGTAA TGTCACTAT TICTAGTTT GAGTCTTACA GTATGGTATG GATGCGGGA
6301 TAGGCAGCTT GCGCGCGAA GCAACCACTC GTATGCCCAA AATTAATTAAG GATATAAATT AAGGATATGA TTAAGTATGA GTATGCCCAA GCGCGCGAA
6401 ATTAAGTCTT TTTCTTGATG TCCTTTTGG CCGGAAATGA GCACCCGAA GCTTGTCTGA GTCCAAATGT GATGCGAAGT CCGGAAATGA TTTCTTGATG
6501 AGAAACCAAG CCGATCCCG GAATGTCAC TTCCGTTTGG ATGGAATGTT GCGGAGTCC GGAGTATTA TCTCCGATTA TTCCGTTTGG CCGATCCCG
6601 TGCCCTCAAG GGATAAGACC GAAAGCTCT TTCCGGGAA GAATTCACCT GAACTTATT GAAAGTCAA GAAGATCAA AGAATCAA TTCCGGGAA GGATAAGACC
6701 TGTCTCCCC ATACCGGTCA GCGCATACCT CCCCAGCTG AAGTAAGAAC TCAGTAAGG GCGTCTGAG AGGAGATTCA CCCCAGCTG ATACCGGTCA
6801 GTATGGTATG AGAAACCAAG CGAAGCAACC TAGGCAGTTC GCGCGCGAA GCAACCACTC GTATGCCCAA AATTAATTAAG GATATAAATT AAGGATATGA
6901 GTATGCCCAA TCCTTTTGG GAGCAGTTG ATTAAGTCTT TTTCTTGATG TCCTTTTGG CCGGAAATGA GCACCCGAA GCTTGTCTGA GTCCAAATGT
7001 CCGGAAATGA GAATGTTAC TAGGCAGTTC AGAACCACAG GCGATGCCG GAATGTCAC TTCCGTTTGG ATGGAATGTT GCGGAGTCC GGAGTATTA

7101 TTCGGTTTGG CGAAAGCTCT ATTAAGTCTT TGGCTCAAG GGATAAGACC CGAAAGCTCT TTCGGCGAA GAATTCACCTT GAAACCTATT GAAGATCAA
 7201 TTCC

그림 28. male 관련 clone의 염기서열 분석

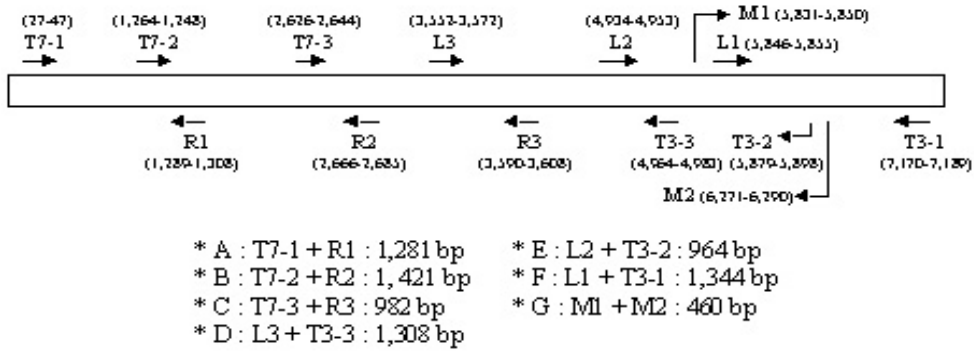


그림 29. male clone의 특이성 파악을 위한 primer의 위치



그림 30. male clone의 특이성 파악을 위한 PCR

Lane M, size marker; lane 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 수그루 DNA, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 13, 암그루 DNA. PCR 분석에 사용한 primer는 A, T7-1 + R1; B, T7-2 + R2; C, T7-3 + R3; D, T3-3 + L1; E, T3-2 + L2; F, T3-1 + L1; G, M1 + M2이다.

(3) 암그루 관련 clone의 screening 및 염기서열 분석

DIG High Prime DNA Labelling and Detection Starter Kit II (Boehringer Mannheim Co.)를 이용한 hybridization을 통해 흑오미자의 female에 특이적인 3개의 clone을 screening하였다.

3개 clone에 대하여 in vivo excision을 수행한 후 얻어진 phagemid를 BamHI으로 절단한 후 크기가 가장 큰 첫 번째 clone의 염기서열을 분석하였다 (그림 31, 32) 염기서열의 크기는 3,191 bp였으며, 선행연구를 통해 밝힌 바 있는 female과 관련된 염기서열이 591 bp ~ 1330 bp의 위치에 존재하였다.

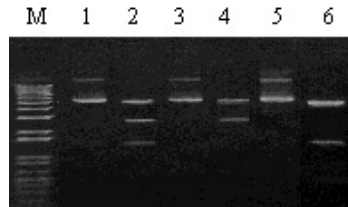


그림 31. 각 clone으로부터 추출한 phagemid DNA의 enzyme digestion.

Lane M, 1kb ladder; lane 1, 3, 5, 각 clone의 phagemid DNA; lane 2, 4, 6, phagemid DNA를 BamHI으로 절단한 절편.

```

1  AAGAAGGGGA CAATTCCTTG GAGGCCGTAT GCGGATGGCC AAGAAGGGGA CCGTCTTCCA AAAGTGGATG ACGGTGGGCT GCGGATGGCC CAATTCCTTG
101 CCTGTCTTTC GACAGGCTCC GAATGACTTA TATACGGCCC TCTGTGCTGC CTCTAAGAGT TGGCTATCGG TGGTACCTGG TATACGGCCC GACAGGCTCC
201 CCCCGCTCTT TCCGTACAGG TTGGGTACC AGTTTGGCTT TGATCAGTCA CCAGTCCCGC TTTCACACGG GTGGGCGGTG AGTTTGGCTT TCCGTACAGG
301 TATATATAGC TGACTAGGGA ACTTAGAGAC ATCCGGCAAG CATGGCTGAA CCTGGTCTTC GGACCGCAGG GTACCCCTGC ATCCGGCAAG TGACTAGGGA
401 TGGCTATATA TTTTAGAGTC TTCTCTCTTT TTATCTTATT CATCTCTTTC TGAACAGGTC ACACATCTCG CCCCGCTCTT TTTTAGAGTC
501 CCTTCCCGCC CAACAGGAT AGGGTCTGCC ATCGAGCGCC TATATATAGC CTGGTGGAAA ACCAGGACGA GCGGCTTCTT ATCGAGCGCC GGACTGCAGA
601 CATGATTAC ATACGAAAC TCACCATAGA AACCTCTCTT TCTTATAGGC GTACAAAGAG GGTCCCATAG ATCAGGATAT AGGTTGAGAA GCACTAGGAA
701 GGACTACCGG CAAAAGAGTA AATCATCGAT CGACTCAATT CTTTCTATC TTGGTCTAGA AAGAGAGGCG CTGAAGTAAC TGGCAATAGT GCAGAAAAAA
801 GCFTTACCAT CAAGCCCTT GCTTTTGTCT CTGCCCTCTT TTGTGAGAA TTATCGGTAC GGTACACCAC CTGAAGCGGA GTCCGAGCTT GTTCCCTAT
901 TCTTCACTGA GCACAGTGA CTGACTTTGC TTTTGTATGAT TTTTCTTTC CCAAGACTGA CATTTGTGTC GTTTGAGTGC ATGAACTGCT GTGTTAAGTA
1001 TGTGTAAACT TAAAAATAA AGTAGATGAT TGATGTTAGA GAAGTCCCTT CTATGATTGG TTACCGAATC GTATGCCCTT GAGTTGTTTT GCTTTCACAA
1101 GACAAGGGGA TGTCTCCCA TCCCTCCGGA GATCATAGGA AAGATGGAGT GATTCCTCAT CTGGCTTCTA CCTATTTAAG AGAGTGTATA TTTCACTTTA
1201 AAGACAGTCT GTGGCCTAGC TACCAGATAG AATACAGTCT TACCTGTCT AGCTTGATAG AAACTAGCT ACAAAAAGGA CTTCCCGCTT TTGAAAAATAC
1301 CAGAGGGGGA GATCTTCTAG GCTTGTACGG CTAAGATAGC GTCCAGTCC CTCTCTGAAG AGGAGATTCA CCCCGAGCTG ATACCGGTCA GATCTTCTAG
1401 TCAGCGCTTT ACCGAGTACT GAGCCAGTAC GGAGAAAAAC CTACTCAGGG TCTGTGAAG CAAGGGGGAG TCAGCGCTTT GAGCCAGTAC GCCTCTGAAG
1501 CAGGCTCTGG TTATCTTATT CCATGGAGGT TTTTAGAGTC TTCTCTTTT CCCCGCTCTT GCTCTGCCC CAGGCTTGG CCATGGAGGT TCTGTGAAG
1601 CAGAGGGGGA GATCTTCTAG GCTTGTACGG CTAAGATAGC GTCCAGTCC CTCTCTGAAG AGGAGATTCA CCCCGAGCTG ATACCGGTCA GATCTTCTAG
1701 AGGAGATTCA GCCTCTGAAG TCGAGTAAGG CCCCGAGCTG ATACCGGTCA TCGAGTAAGG GCCTCTGAAG AGGAGATTCA CCCCGAGCTG ATACCGGTCA
1801 ACCGAGTACT TCCGTAAAG CTACTCAGGG TCCGCTTTT GAGCCAGTAC CTACTCAGGG TCCGTAAAG ACCGAGTACT TCCGCTTTT GAGCCAGTAC
1901 CGTATTAGCT GTCTATTGAA CGGCACCTCT AACCCTCAAT TCGATACAAG GATCGAGGCA AGAGGCAGAG GCCTGTATG AACCCCAATT AGAGGCAGAG
2001 AACGCCAAGT GAGAAAGCCA CCACAAGCCA CAGTTATGAA GTCAACTGCT CGTATGCCGG AATAGACGAA CGTTGGCGCG CAGTTATGAA AATAGACGAA
2101 CTAAGGAGCA CGTATGTCCA AAAGGCGGCT GGGCATGCTA AGGACCGT TACTGTATGC AGGAGCCAAA AAAGGCGGCT ACTGTATGC
2201 GCAACCCTC CACTAGTACA GAGCAGTGT GTATGGTATG CCCAAGGACC CAAGGGATGC GATGGCGGGA CCCGAAGGGA GTATGGTATG GATGGCGGGA
2301 GCAACCCTC AAGGATATGA TAGGCAGCTT GTATGCCCAA AATTAATTA GGATATAAAT GGGCGCGGAA TTAAGTGTTA GTATGCCCAA GGGCGCGGAA
2401 TCTTTTGGG TTCCAATGT ATTAAGTCTT CCGGAAATGA GCACCGGAA GCTTGTGTA TTTCTTGATG GATGGCAAGT CCGGAAATGA TTTCTTGATG
2501 GAATGTTTAC GGAGTGATTA AGAAACCAAG TTCGGTTTGG ATGGAATGTT GCGGAGTGC GCGATGCCG TCTCCGATTA TTCGGTTTGG GCGATGCCG
2601 CGAAAGCTCT GAAGATCCAA TCGCTCAAG TTCCCGCGAA GAATTCACCTT GAAACCTATT GGATAAGACC AGAATCAAA TTCCCGCGAA GGATAAGACC
2701 GGCCATACCT GCCTCTGAAG TGTCTCCCT CCCCGAGCTG AAGTAAGAAC TCGAGTAAGG ATACCGGTCA AGGAGATTCA CCCCGAGCTG ATACCGGTCA
2801 AAAGGCGGCT AGGAGCCAAA ACTCGTATGC GGGCATGCTA AGCCAGCTT CGTATGTCCA CTAAGGACGA AAAGGCGGCT ACTCGTATGC ATTAAGTCTT
2901 GTATGGTATG CCCGAAGGGA GATGGCGGGA CCCAAGGACC CAAGGGATGC CACTAGTACA GCAACCCTC GTATGGTATG GATGGCGGGA AGAAACCAAG
3001 GTATGCCCAA TTAAGTGTTA GGGCGCGGAA AATTAATTA GGATATAAAT AAGGATATGA GCAACCCTC GTATGCCCAA GGGCGCGGAA TCGCTCAAG
3101 CTAAGGAGCA CGTATGTCCA CGAAGCAACC AAAGGCGGCT GGGCATGCTA AGGACCGT TACTGTATGC AGGAGCCAAA AAAGGCGGCT A

```

그림 32. Female 특이적 clone의 염기서열

위의 특이적 marker들의 염기서열은 AT의 함량이 높았으며, ORF의 길이도 대체적으로 짧았다. 따라서 본 연구에 의해 얻어진 염기서열들은 번역 (translation)이

되지 않는 intron 부분이거나 exon의 일부일 가능성이 있다. 식물에서 번역이 되지 않는 유전자로 알려져 있는 대표적인 경우는 오이에서 분리한 CR20과 *Arabidopsis thaliana*에서 분리된 AtCR20-1을 들 수 있는데, 이들 유전자들은 conserved regions 과 안정된 2차원적 구조를 가지고 있는 것이 특징이다 (Teramoto 등, 1996).

본 연구를 통하여 얻어진 유전자들의 경우에는 AT region이 많이 존재하기는 하였지만, 안정된 2차원적 구조는 가지고 있지 않았다. 결정된 염기서열의 5' 과 3' 말단 쪽에 ORF들이 존재하였으므로 ORF의 일부만 확인됐을 가능성이 있는 것으로 생각된다.

일반적으로 genome에서 짧은 ORF들은 번역되지 않는 것으로 알려져 있지만, 예외적으로 genome의 크기는 작으나 기능을 가진 peptide들도 알려져 있다. 토마토에 존재하는 systemin은 proteinase inhibitor의 합성 유도체로 알려져 있으며 18개의 아미노산으로 구성되어 있다 (Pearce 등, 1991).

*Chlamydomonas reinhardtii*에서 엽록체의 cytochrome b6/f complex의 pelM을 encode하는 polypeptide (de Vitry 등, 1996)도 4 kDa으로 비교적 크기가 작다. 이런 peptide들은 비활성 전구체로 합성된 후 단백질 가수분해에 의해 성숙한 짧은 peptide를 구성하게 된다 (McGurl 등, 1992).

대조적으로 담배의 ENOD40는 단지 10개의 아미노산을 암호화하는 매우 짧은 ORF를 가지며 직접 번역되어, 콩과식물의 작은 마디의 성장 초기단계에 발현과 auxin의 작용을 조절하는 단백질로서 작용한다 (van de Sande 등, 1996).

성숙한 꽃가루에 대해 특이적인 유전자 중의 하나인 537 bp의 MROS1은 가장 긴 ORF로 3.7 kDa에 상응하는 36개의 아미노산을 가지고 있었으며, in-situ hybridization을 통해 이 유전자가 꽃가루 입자의 성숙에 관여한다는 것을 입증하기도 하였다 (Matsunaga, 1997).

따라서 실험결과를 통하여 얻어진 염기서열의 ORF의 경우 지금까지 알려진 유전자들과의 상동성을 찾지는 못하였고, 일반적으로 크기도 작지만 전술한 유전자들 처럼 genome에서 짧은 ORF들이 번역이 되는 경우가 존재하기 때문에 이 ORF들도 번역이 될 가능성이 있다고 생각된다.

얻어진 수그루와 암그루에 특이적인 SCAR marker를 이용하여 자웅이주 식물인 양다래와 은행나무에 적용시켜 보았으나 유의성 있는 결과를 얻지 못하였다. 따라서, 본 연구를 통해 얻은 SCAR marker들은 흑오미자 중에 특이적일 것으로 사료된다.

나. 암수 SCAR marker의 유용성 및 야외포장에서의 검증

1) 재료 및 방법

가) 실험재료

제주도 난대산림연구소로부터 흑오미자 수그루와 암그루의 실생묘 20개체의 잎을 분양받아 사용하였다.

나) PCR

모든 반응조건은 ITS 유전자를 증폭하기 위한 PCR 조건과 동일하게 수행하였다.

2) 결과 및 고찰

제주도 난대산림연구소에서 20개체의 실생묘를 무작위적으로 선택하여 암수 SCAR marker의 유용성을 검증하였다. 20개의 표본으로부터 잎을 채취하여 genomic DNA를 부리한 후 성의 구별이 가능하였던 특이적 primer들을 이용하여 PCR을 수행하였다.

수 그루에 특이적 marker인 male 1 primers를 이용하여 PCR을 수행한 결과 그림 32의 (A)와 같이 20개의 표본 중 9개의 DNA에서 460 bp의 band가 검출되었다. 암그루 특이적 marker인 female 1 primers를 이용한 경우에는 12개의 PCR 산물에서 436 bp의 band를 검출할 수 있었다 (그림 33 B).

Lane 3의 경우, male 1 primer와 female 1 primer 모두에서 PCR 산물이 검출되어, 자웅동주임을 예상할 수 있었다. 이상의 결과는 F₁세대에 대한 marker들의 적용 가능성을 보여주고 있다. 20개의 표본에 대한 전체적인 수그루와 암그루의 비율이 8 : 11로 나타났으나, 자웅이주 식물의 종자를 받아서 조사한 성의 비율이 일반적으로 1 : 1로 알려져 있는 것처럼 (Allen, 1992; Nagylaki, 1995; Tomlinson, 1974) 좀 더 많은 표본을 대상으로 실험을 한다면 1 : 1과 같은 결과를 얻을 수 있을 것으로 기대한다.

자생지 내에서의 수 그루에 대한 암그루의 성 비율은 7 : 3으로, 이는 흑오미자 열매 채취를 위한 암그루의 무분별한 벌목으로 인해 상대적으로 수 그루 개체수가 많은 것으로 보인다. 따라서 흑오미자의 경우 자생지내에서의 성 비율의 편향은 인위적인 요인에 의한 것으로 보인다.



그림 33. SCAR primer를 이용한 실생묘의 암수 구별.

(A), male 1 primers, (B), female 1 primers, (C) mono 2-1 primers. lane M, size marker, 100 bp ladder; lanes 1-13, *S. nigra*; lane N, negative control.

제 3 절 오미자

가. RAPD를 이용한 개체변이의 구명

1) 재료 및 방법

가) 식물 재료 및 Primer

국내에 자생하는 6지역의 오미자 (홍천, 화악산, 오대산, 검룡소, 대덕산, 태백)를 강원대학교로부터 분양받아 사용하였다. Primer는 Operon사의 OPE kit 20개를 사용하였다.

나) RAPD

반응액 조성과 반응조건은 앞의 가시오갈피 RAPD 분석시에 사용하였던 것과 동일한 조건으로 수행하였다.

2) 결과 및 고찰

20개의 random primer를 사용한 RAPD 분석 결과, 18개의 primer에서는 동일한 band pattern을 보였으나 그림 34에서 보는바와 같이 OPE-02와 OPE-13 primer에서는 polymorphic한 band pattern을 나타냈다. 또한 각 지역을 구분할 수 있는 4개의 RAPD marker를 선별하였다.

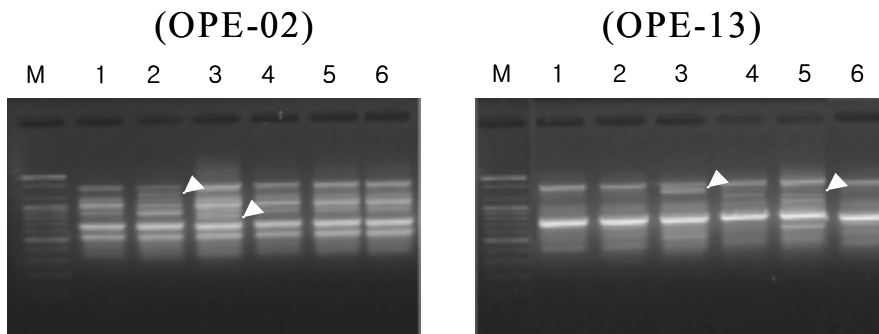


그림 34. OPE-02 (A)와 OPE-13 primer (B)를 사용한 오미자의 RAPD

Lane M, size marker (100bp ladder); lane 1-6, 국내 자생 오미자 (홍천, 화악산, 오대산, 검룡소, 대덕산, 태백)

나. ITS 염기서열 분석

1) 재료 및 방법

국내 6개 지역에 자생하고 있는 오미자 (홍천내면, 화악산, 오대산, 검룡소, 대덕산, 태백)들을 대상으로 가시오갈피의 ITS의 염기서열 분석시에 사용하였던 동일한 primer와 방법으로 PCR을 수행한 후 염기서열 분석을 실시하였다.

2) 결과 및 고찰

오미자의 ITS의 크기는 672bp였으며, 1~282bp는 ITS1, 283~445bp는 5.8S 그리고 446-672 bp는 ITS2 부위로 나타났다 (그림 35). 국내에 자생하는 오미자들 간에는 0-3bp 차이가 있어 99%의 상동성을 나타내었고, 특히 홍천내면과 대덕산의 ITS는 100% 동일하였다.

672 bp 중 6곳에서 염기치환이 일어났는데 특히 251 bp에서 중국 오미자는 G, 한국산은 T로, 278 bp에서 중국산은 A, 한국산은 T로 변이가 나타났다. 따라서 위의 결과는 중국산과 한국산을 구별할 수 있는 marker로서 사용 가능할 것으로 생각된다.

료로 한 가공업체는 극히 소수이다. 특히 세계적으로 인정받고 있는 가시오갈피는 95% 이상이 외국으로부터 수입에 의존하고 있다. 또한 국산 가시오갈피는 외국 수입 원료에 비해 월등한 생리활성성분을 지니고 있어서 유전자원으로 보호가치가 크고 대량번식이 가능하다면 실용화되어 산업적인 가치를 충분히 지닌다고 볼 수 있다.

가시오갈피는 주로 근삽과 종자를 이용하여 번식하고 있다. 그중 삽목법은 활착이 비교적 양호한 편이나 삽수채취량의 한계 때문에 소규모로 이용되고 있다. 종자 번식은 대량증식에 효과적인 방법이나 종자의 품질, 종자발아율의 저조한 아직 해결해야 할 많은 문제점

문제점이 존재한다.

특히 종자는 미숙배상태로 발아하기까지 오랜 기간의 층적저장과 후숙이 필요하다. 현재까지 가시오갈피의 종자번식에 관한 연구는 주로 후숙, 개갑특성과 휴면타파를 중심으로 단편적으로 이루어져 왔으며(박호기 등, 1997), 최근 GA₃ 처리에 따른 종자발아에 관한 연구에서는 26.6%의 낮은 발아율을 나타냈다(이성호 등, 2003).

가시오갈피를 대량번식 시키고자 하는 연구가 국내에서 오래 전부터 수행되어 왔지만 인삼과 같이 실용화되어 농가에 기술이 보급되지 못한 상태이다. 이러한 원인은 종자 및 영양번식 방법을 통한 가시오갈피의 번식은 다른 어떤 식물보다 어렵기 때문이다. 따라서 가시오갈피 묘목의 획기적인 대량 생산방법의 개발이 필요하다.

식물세포는 동물세포와는 달리 체세포가 수정란과 같은 배형성세포(embryogenic cell)로 될 수 있고 무한 증식될 수 있기 때문에 세포배양 방법을 이용하여 개체를 무한적으로 복제할 수 있다. 또한 체세포배 발생을 이용한 식물체 생산 기술은 식물체의 대량생산에 있어서 다른 배양방법보다도 효율적인 번식법으로 인식되고 있다.

가시오갈피 배발생 세포주의 유도는 성숙한 나무 유래에서는 매우 어려운 것으로 조사되고 있으며, 이를 재료로 한 세포주 유도는 보고되지 않았다. 가시오갈피의 종자내 접합자배로부터 배발생 세포주의 유도 또한 까다롭지만 유일하게 이 부위로부터 배발생 세포주의 유도가 보고되어 있다(Gui et al. 1991; Choi YE. 1999a,b). 본 연구에서는 가시오갈피의 종자로부터 단기간에 접합자배의 성숙을 유도하여 이들로부터 배발생 세포주를 유도하는 방법을 개발하였으며, 이로부터 체세포배 발생을 통한 식물체 재생을 시도하였다.

가. 배발생 세포주의 유도

가시오갈피의 접합자배로부터 배발생 캘러스를 직접 유도하기는 매우 어렵고 배양재료의 표면에 직접 배가 발생하는 직접 체세포배가 주로 유도되었다(Gui et al. 1991; Choi YE. 1999a,b). 직접 배발생은 배양재료로부터 식물체를 직접 유도하는 방법이기 때문에 단기간 내에 식물체를 유도할 수 있는 방법이지만 번식효율이 낮아서 그다지 이 방법을 이용한 묘목의 대량 번식실용화의 의미는 낮다.

따라서 가시오갈피를 배양하여 배형성 캘러스를 유도하고 이로부터 가시오갈피 체세포배를 대량으로 생산하는 연구를 시도하였다. 먼저 캘러스를 유도하기 위해서는 일단 가시오갈피의 배양재료로부터 직접 체세포배를 유도한 다음, 이로부터 배발생 캘러스를 유도하였다.

가시오갈피의 종자로부터 접합자배의 성숙을 유도한 결과는 표 4과 같다.

가시오갈피의 접합자배를 종자로부터 직접 나출시켜 호르몬이 첨가되지 않은 MS배지에 배양하면 더 이상 성숙되지 못하고 고사되었다. 그런데 가시오갈피 배를 배유와 분리시켜 나출시키지 않고 가시오갈피 배를 주변 배유 일부와 함께 절단하여 배양한 경우는 가시오갈피를 저온 층적처리하지 않고도 기내에서 약 1달 만에 배의 성숙은 물론 발아시킬 수 있었다. 그러나 가시오갈피 종자 전체를 상처를 주지 않고 배양한 경우 발아가 진행되는 속도가 종자 발아시 층적처리하는 경우와 같이 매우 느려 약 수 개월 걸리거나 발아가 되지 않았다. 가시오갈피를 1/2로 절단, 1/3로 절단 및 1/4로 절단한 후 접합자배가 포함된 부분을 MS 기본배지에 배양한 결과 배유가 포함된 부분이 적으면 적을수록 접합자배의 생장이 빨랐다(한정연 등, 2003).

표 4. 종자 절단부위별 접합자배의 발아율

절편체 크기	크기 (mm)	발아율 (%)	발아된 소식물체 크기 (mm)
Whole seed	7	0	0
Excised seed	1	100	47.4±1.2
	2	82±7.5	12.2±0.7
	3	43±5.2	6.7±0.5

배의 성숙에 따른 배발생률을 조사하기 위하여 성장단계가 다른 종자유래 가시오갈피(성숙한 배, 발아중의 유식물, 발아된 소식물체)를 횡으로 약 2mm 크기의 절편을 만든 다음 1.0mg/L 2,4-D가 첨가된 MS 고체배지에 옮겨 배양한 결과는 표 5와 같다.

표 5. 배의 성숙도에 따른 배발생율

절편체	크기 (mm)	배양부위	배양절편체당 체세포배 형성수
Z y g o t i c embryo	6	Cotyledon	78±6.3
		Hypocotyl	89±7.2
		Radicle	79±6.3
Seedling	20	Cotyledon	34±2.1
		Hypocotyl	56±4.1
		Radicle	13±1.8
Plant	50	Cotyledon	0
		Hypocotyl	12±0.7
		Radicle	0

발아 직전의 배는 약 1달 경과되면 배의 자엽, 배축 또는 뿌리 절단조직의 표면으로부터 체세포배가 발생되었다. 한편 약 2cm로 발아된 배는 배축에 한정되어 체세포배가 발생되었다. 그러나 약 5cm로 자란 식물체의 경우는 모든 부위에서 체세포배의 발생이 이루어지지 않았다. 이 결과는 접합자배의 발아가 이루어지고 식물체로 성장됨에 따라 배발생 캘러스의 유도율이 크게 감소됨을 알 수 있었고 가시오갈피의 조직으로부터 체세포배를 유도하기 위해서는 발아 전후의 접합자배를 배양재료로 사용하는 것이 중요한 요소임을 알 수 있었다(한정연 등, 2003).

가시오갈피의 배양재료로부터 유도된 직접 체세포배를 1.0mg/L 2,4-D가 첨가된 MS 고체배지에 계속 계대배양함으로써 배발생 캘러스를 유도할 수 있었다(그림 36).

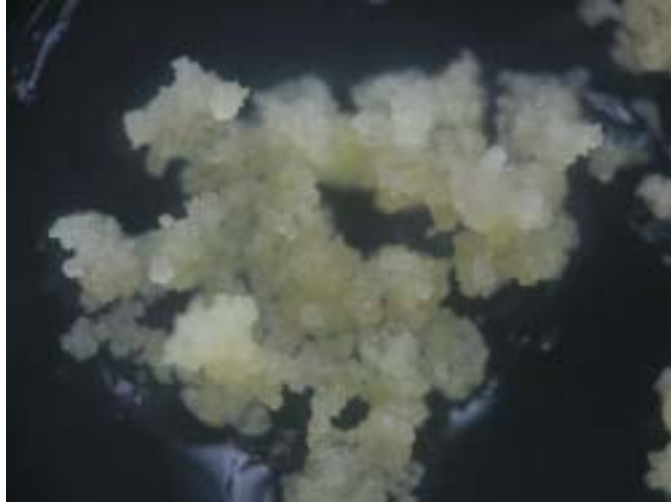


그림 36. 배발생 캘러스

가시오갈피 배발생 캘러스의 특징은 모든 세포가 크기가 작고, 세포질이 풍부한 배발생 세포로 구성되어 있었다. 이들 가시오갈피 배발생 세포는 비배발생 세포로 전환되지 않았고 모든 배발생 세포는 구형, 심장형, 자엽형단계의 배로 성장되었다. 이러한 가시오갈피 세포의 특징은 배발생 세포로부터 높은 배발생율을 보이는 가장 큰 원인으로 판단된다.

나. 체세포배의 유도

가시오갈피의 체세포배를 Choi 등(1999a)이 제시한 바와 같이 1.0mg/L 2,4-D가 첨가된 MS 고체배지에 연속적으로 배양하여 배발생 캘러스를 유도하였다. 배발생 캘러스가 유도된 후 이들 캘러스를 고체 또는 액체배지에 옮겨 증식한 결과는 표 6과 같다.

배발생 캘러스로부터 체세포 배를 유도하기 위해 1.0mg/L 2,4-D가 제거된 MS 고체배지로 옮겨서 배양한 결과 3주 후부터 구상형 체세포배가 발생하기 시작하였다. 그리고 1달 후에는 자엽단계의 체세포배로 성숙되었다. 대부분의 배발생 캘러스는 체세포배로 발달하였다(그림 37).

가시오갈피 배발생 캘러스를 1.0mg/L 2,4-D가 첨가된 MS 고체배지에서 약 1달 주기로 계대배양 해주면 점토와 같은 균일한 세포주를 유지할 수 있고 이들 세포주를 액체배지에 계대배양 해주면 즉시 각각의 세포로 풀어져서 특별히 망으로 걸러서 세포주를 관리할 필요 없이 균일한 세포배양이 가능하였다. 가시오갈피의 배발생 세

포주로부터 배를 유도하기 위해서는 1.0mg/L 2,4-D가 제거된 액체배지에서 배양한다. 이때 세포주의 특성에 따라 세포주가 계속 증식되기 때문에 약 2~3번의 계대배양을 해주면 배발생 세포의 대부분이 배발생이 이루어졌다(Choi YE. 1999a).

표 6. 배지형태별 배발생 캘러스로부터 배형성과 식물체 재생

배양형태	체세포배 형성수	식물체 재생율 (%)	토양순화율 (%)
Callus	1570±265	97±13	78±12
Suspension	5514±487	76±14	54±9

가시오갈피 세포가 일단 얻어지면 가시오갈피 세포 하나하나에서 모두 배발생이 유도되어 작은 세포 덩어리 하나에서 수 백개의 체세포배를 얻을 수 있어서 배발생 세포의 전형성능(totipotency)은 다른 어떤 모델 식물보다도 그 효율이 높은 것으로 관찰되었다(Choi YE. 1999a).

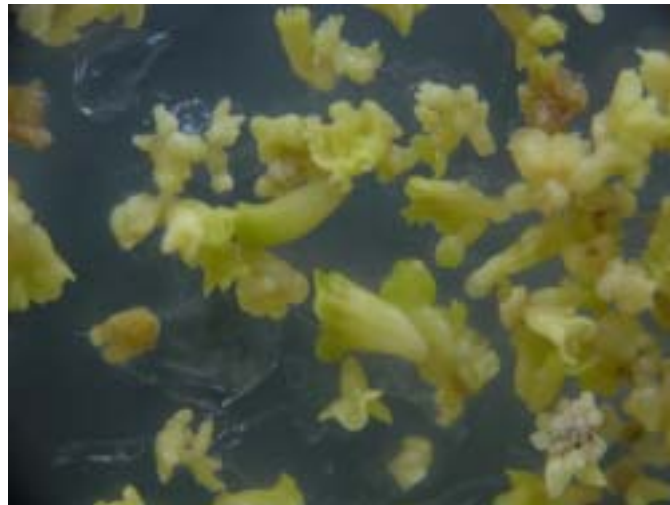


그림 37. 자엽단계의 체세포배

다. 체세포배 발아 및 식물체 재분화

가시오갈피의 체세포배로부터 발아를 유도하고 식물체로 재생하기 위해서 자엽 단계의 체세포배를 3.0mg/L GA₃가 첨가된 MS배지에 옮겨주면 발아되며(그림 38), 1달 내에 어린 식물체로 성장되었다. 페트리디쉬에서 자란 어린 식물체를 2% sucrose가 첨가된 1/2MS 고체배지가 담긴 플라스틱 용기에 옮겨주고 나서 약 1달 경과되면 줄기 및 뿌리의 생장이 잘 이루어진 식물체로 성장하였다(그림 39).

고체배지에서 형성된 대부분의 체세포배(97%)는 줄기와 뿌리를 가진 정상적인 식물체로 재생되는 반면에, 액체배지에서는 체세포배 중에서 단지 76%만이 정상적인 식물체로 재분화되었다(표 6). 이러한 차이는 체세포배의 발달과정에서 서로 다른 배양조건에 의해서 발생한 것으로 생각된다(Choi YE, 1999a).

많은 연구보고서에 의하면 체세포배는 접합자배와 비교해볼 때 형태학적으로 다르다고 보고되어져 왔다. 불안정한 자엽발달, 캘러스화된 배 또는 기형배와 같은 비정상적인 형태가 자주 관찰되었다. 그러므로 체세포배로부터 식물체 재생율과 성공적인 토양순화율은 접합자배와 비교할 경우 낮게 나타났다. 그러나 가시오갈피의 경우 대부분의 체세포배는 정상적인 구조(특히 고체배지에서 형성된 체세포배)를 갖고 있었으며, 캘러스화되거나 기형화된 배의 발생율은 낮게 나타났다.



그림 38. 발아중인 체세포배

라. 순화 및 토양 적응

기내에서 생산된 유묘를 건전한 식물체로 성장시키기 위한 순화과정은 체세포

배배양을 통한 가시오갈피 묘목 생산의 시스템 중 가장 중요한 과정이다. 특히 기내에서 배양된 어린 식물체를 토양에 옮겨 묘목으로 되기까지 순화는 목본식물에 있어서 매우 까다로운 단계로 알려져 있다. 따라서 어린 식물체를 perlite와 peatmoss의 비율을 1:1, 3:1, 5:1로 각각 달리한 플라스틱 용기(20×15cm)에 옮겨서 토양순화를 시도한 결과는 표 7와 같다.

기내에서 자란 소식물체를 perlite와 peatmoss의 배합을 달리하여 소규모 순화용 플라스틱 용기에 옮긴 결과 perlite와 peatmoss의 비율을 5:1로 한 경우가 4개월 후 까지 약 78%가 생존할 수 있는 가장 높은 순화율을 보였으며, perlite와 peatmoss의 비율이 1:1인 경우는 시간이 진행될수록 손실이 증가되어 37%로 낮았다. 후자의 경우 가장 큰 원인은 순화과정에 있어서 가시오갈피의 뿌리는 수분이 지속적으로 높은 경우 생육에 큰 지장을 주는 것으로 조사되었다(한정연 등, 2003).

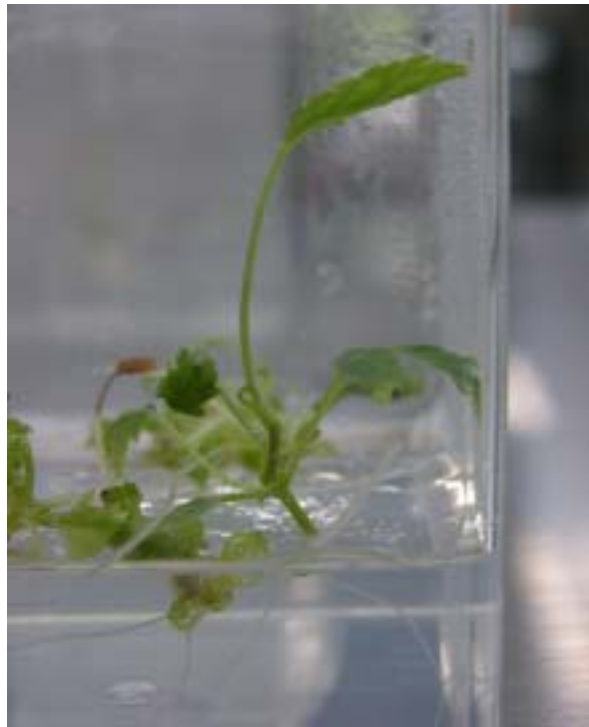


그림 39. 발아된 어린 식물체

표 7. 배양토별 순화율

배합비율		식물체 생존율(%)			
Perlite : Peatmoss		1	2	3	4 (month)
0	100	95±23	56±7	23±2	12±1
1	1	92±17	83±10	65±9	36±4
5	1	94±21	87±12	82±11	78±6

체세포배로부터 재분화된 소식물체를 온실로 옮겨 심은 후, 3주 동안 유리비이커로 덮어 둔 다음, 온실조건하에서 배양하였다(그림 40). 2개월 후 생존율을 조사한 결과 배발생 켈러스를 고체배지에서 배양하여 얻어진 식물체의 경우 78%가 생존한 반면에 현탁배양에서 얻어진 식물체의 경우는 54%가 생존하였다(표 6). 토양에 순화된 식물체는 노지 조건에서 겨울을 지나고 성공적으로 새순이 출현되었으며 성숙한 식물체로 성장되었다(Choi YE, 1999a).



그림 40. 토양순화 후 온실에서 자라고 있는 식물체

결과적으로 체세포배 형성율, 식물체 재분화율 그리고 토양순화율에 있어서 배양형태(고체배지, 액체배지)간의 차이가 있다 할지라도 체세포 배발생에 의한 식물체의 생산성은 높게 나타났다. 그러므로 멸종위기에 처한 약용식물인 가시오갈피의 대량번식은 배발생 켈러스와 현탁배양에 의해 가능해질 수 있다고 사료된다.

제 6 장 자생지별 가시오갈피와 오미자의 외부형태학적 연구

제 1 절 자생지 유전자원 탐색 및 품종 분류 동정

오갈피류 및 오미자류의 유전자원 수집 및 보존 방안의 일환으로 각 수종의 분류·형태학적 특성을 조사하여 집단간 형태 변이를 파악하고자 수행한 내용을 요약하면 다음과 같다.

가. 가시오갈피의 서식환경 규명

가시오갈피가 자생지하는 오대산, 대덕산, 강원대학교 부속 연습림 등 6개 지역에 대한 식생구조 분석을 수행하였다(표 1).

가시오갈피의 자생지 서식환경을 보면, 습한 곳을 선호하는 물참대, 물개암나무, 다래 및 당단풍의 목본류와 노랑물봉선, 뱀고사리, 노루오줌 등이 우점하는 고산지대의 계곡부 또는 사면하부의 경사가 완만한 북동 또는 북서사면에 분포하는 것으로 나타났다.

나. 오미자의 서식환경 규명

오미자가 자생지하는 오대산, 강원대학교 부속 연습림, 화악산 등 4개 지역에 대한 식생구조 분석을 수행하였다(표 2).

오미자의 서식지 서식환경을 보면, 함박꽃나무, 층층나무, 고로쇠등이 우점하며, 계곡부 또는 사면하부의 경사가 완만한 모든 사면에 분포하는 것으로 나타났다.

표 1. 가시오갈피 식생구조

조사지	대덕산1	대덕산2	대덕산3	연습림1	연습림2	오대산	출현 횟수	
해발고(m)	950	980	980	445	485	1,100		
방위	N32°W	N30°W	N72°W	N33°E	N0°	N53°E		
경사(°)	28	30	30	22	25	20		
지형	계곡부	사면하부	사면하부	계곡부	계곡부	계곡부		
조사면적(m×m)	10×10	10×10	10×10	10×10	10×10	10×10		
교목층(%)	70	75	70	95	45	55		
아교목층(%)	30	25	20	25	30	40		
관목층(%)	70	65	55	45	50	40		
초본층(%)	60	65	65	35	80	40		
출현종수	25	38	31	29	28	29		
물참대	1.1	1.2	1	1.2		1.2		5
뽕고사리		1.2	r	1.2	1.2	1.2		5
노랑물봉선	4.5	+	+	1	+			5
노루오줌	+	+		+	+	1		5
당단풍	1.2	3	1.2				4	
물개암나무	1	1.2	1.2	1.2			4	
다래		1.2	3	2	2.1		4	
등칫	1	1.2	1				3	
물푸레나무	3	2				2.2	3	
고로쇠나무	1.1	2				2	3	
괴불나무	1			1.1		1.1	3	
국수나무	1	1.2		1.2			3	
산딸기	1.1	1.2	2				3	
조릿대	3	2.2	3				3	
꼭두서니		1.2	r		r		3	
산뽕나무			2	4.5	3.3		3	
십자고사리				3.2	+	1	3	
읍나무				1.1	2.1	2	3	
물봉선		1.2		2.1	+		3	
할미밀망	+		+		r		3	
복자기		2	3.3				2	
산겨릅나무		2				1.1	2	
고추나물		r	+				2	
꽃개회나무		2				1.2	2	
넓은잎외잎쭈		r	r				2	
노린재나무		1	1.2				2	
생강나무		1.2	2				2	
호랑버들		3	2.1				2	
벌개덩굴				1.2	r		2	
고광나무				2.1	2.1		2	
큰참나물				1.2	2.1		2	
진범				r	r		2	

표 1. 계속

고추나무			2.1	+		2
큰개별꽃			1.1	+		2
명자순		1			1	2
방아풀			r		r	2
개다래	1.2			2.1		2
고사리	+			r		2
오미자		1.2		r		2
일본잎갈나무		3		4.4		2
천남성	+			r		2
참취	1.2			r		2
참회나무		1.2			1.1	2
태백제비꽃	r	r				2
피나무	3.2	1.2				2
함박꽃나무			1.2		1	2
황고사리	r		r			2
두릅나무					1.1	1
두메닥나무		1.1				1
등굴레			r			1
딱총나무	1					1
떡갈나무			1.2			1
물향찰나무					2	1
미역줄나무			1.1			1
민박쥐나물					+	1
바위떡풀			r			1
박새					+	1
백당나무		1				1
백작약					+	1
별개미취			r			1
복장나무					1.2	1
붉은병꽃나무					1.1	1
산거울		+				1
개머루		1.2				1
개미취					r	1
개살구			2.1			1
고려영경퀴		+				1
관중					2	1
팽이눈					+	1
구절초			r			1
귀룽나무	2.1					1
귀박쥐나물					+	1
금강제비꽃		r				1
김의털			1			1
까치박달		1.2				1
너도바람꽃					r	1
노루귀	r					1

표 1. 계속

단풍마		+					1
달맞이꽃		+					1
담쟁이덩굴		+					1
산괴불주머니				1.2			1
산씀마귀		r					1
속단			r				1
습나물		r					1
승마						1	1
신갈나무		2					1
오리방울		r					1
야광나무	1.2						1
오갈피				1.2			1
조팝나무			2.1				1
줄방채비꽃			r				1
참반디				r			1
층층나무						1.2	1
큰네잎갈퀴	r						1
파리풀				r			1
현호색						r	1
화살나무			1.2				1
산수국					2.1		1
주름조개풀					+		1
은꿍의다리					r		1
도깨비부채					+		1
애기똥풀					r		1
참당귀					r		1

표 2. 오미자의 식생구조

조사지	오대산	연습림북방	화악산1	화악산2	
해발(m)	585	535	945	925	
방위	S248°W	N34°E	S111°E	S273°W	
경사(°)	5	20	35	30	
지형	사면하부	계곡부	사면하부	사면하부	
조사면적(m ²)	5×5	5×5	5×5	5×5	
교목층(%)	60	85	-	75	
아교목층(%)	50	55	40	60	
관목층(%)	35	50	80	65	
초본층(%)	40	40	70	30	
출현종수	14	17	20	20	출현 횟수
오미자	3.2	3.2	3.2	2.1	4
산수국		2.1	2.1	2.1	3
십자고사리		+	r	+	3
고로쇠	3.2	5.4			2
함박꽃나무			2.1	3.2	2
층층나무		4.3		3.2	2
노랑물봉선	r		r		2
개망초	r		r		2
산딸기			+	+	2
산쑥			r	r	2
뽕고사리		+		r	2
돌배나무	4.4				1
참회나무	2.1				1
당단풍	2.1				1
달맞이꽃	r				1
질경이	r				1
봄여뀌	r				1
고사리	r				1
고마리	r				1
청가시덩굴	r				1
두루미꽃	r				1
호랑버들			3.2		1
두릅나무			2.1		1
고광나무			2.1		1
미역줄나무			2.1		1
큰엉경귀			r		1
각시취			r		1
거북꼬리			2.1		1
황고사리			r		1
고추나물			r		1

표 2. 계속

천남성			r		1
맑은대쭉			r		1
초롱꽃			r		1
신갈나무				3.2	1
개다래				2.1	1
쪽동백나무				2.1	1
개웃나무				r	1
가래나무				r	1
개미취				r	1
참취				r	1
고깔제비꽃				r	1
까치수영				r	1
기름새				r	1
꼭두서니				r	1
산뽕나무		3.2			1
벌깨덩굴		+			1
홀아비꽃대		r			1
노루오줌		r			1
풀솨대		r			1
진범		r			1
둘굴레		r			1
음양고비		r			1
흰털제비		2.1			1
금강초롱		+			1

다. 가시오갈피의 외부형태학적 특성 규명

산지별 가시오갈피 잎에 대한 형질(엽병 길이, 엽병 폭), 꽃에 대한 형질(꽃의 수, 주화경의 길이, 주화경의 폭, 소화경의 길이) 및 줄기의 특성(가시 수, 가시 길이) 등을 조사하였다.

1) 산지별 가시오갈피 엽병의 길이

각 조사 지역의 표본을 대상으로 엽병의 길이를 비교 조사하였다. 엽병의 길이는 전체 평균 100.1mm 정도인데 반하여 자운, 고양산, 중국, 정선 지역의 개체는 엽병 길이가 약 120mm 이상으로 차이를 나타냈으며, 덕유산지역의 개체는 61.4mm 정도로 매우 작은 엽병을 갖는 것으로 나타났다. 그러나 나머지 산지의 대부분 개체들은 엽병 길이에 있어서 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다(그림 1).

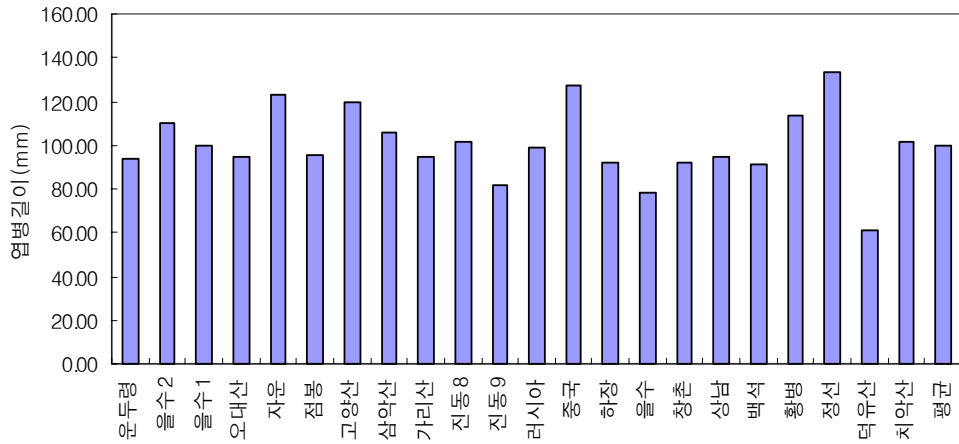


그림 1. 산지별 가시오갈피의 엽병 길이

2) 산지별 가시오갈피 엽병의 폭

각 조사 지역의 표본을 대상으로 엽병의 폭을 비교 조사하였다. 엽병의 폭은 전체 평균 2.07mm 정도인데 반하여 정선지역 개체는 엽병의 폭이 약 2.85mm로 매우 두꺼운 것으로 나타났으나 나머지 산지의 대부분 개체들은 엽병 폭에 있어서 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다(그림 2).

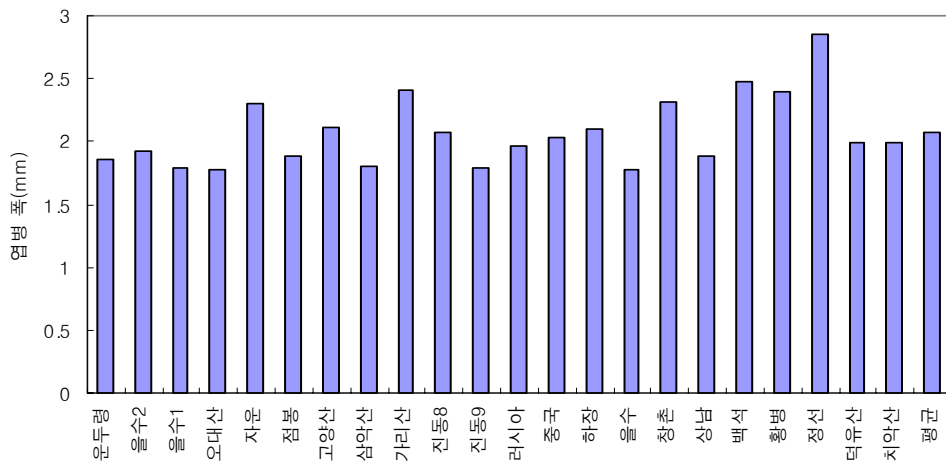


그림 2. 산지별 가시오갈피의 엽병 폭

3) 산지별 가시오갈피 가시의 수

각 조사 지역의 표본을 대상으로 줄기 1cm 부위에 붙어있는 가시의 수를 비교 조사하였다. 가시의 수는 전체 평균 26.78개 정도인데 반하여 점봉산지역의 개체는 90개/cm, 백석산지역의 개체는 70개/cm로 커다란 차이를 나타냈으며, 오대산, 삼악산, 창춘, 상남, 치악산 지역의 개체들은 10개/cm 이하의 가시를 갖는 것으로 나타났으며, 가시의 수는 각 지역간에 변이의 폭이 큰 것으로 나타났다(그림 3).

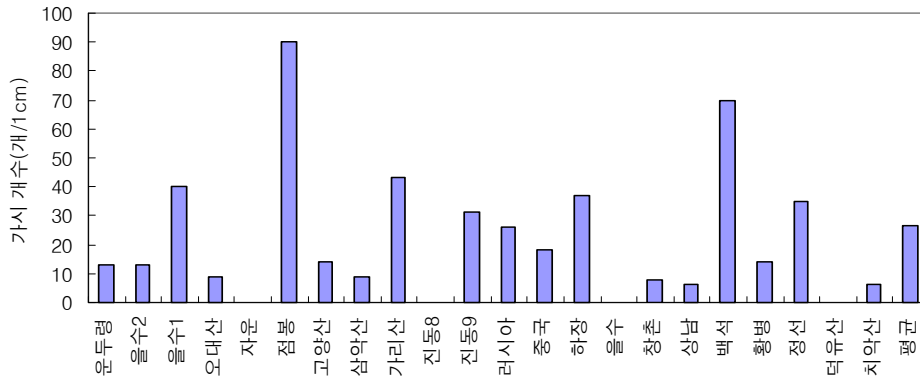


그림 3. 산지별 가시오갈피의 가시의 수

4) 산지별 가시오갈피 가시의 길이

각 조사 지역의 표본을 대상으로 가시의 길이를 비교 조사하였다. 가시 길이는 전체 평균 4.83mm 정도인데 반하여 운두령, 을수 1지역 개체는 가시 길이가 약 7mm 이상으로 차이를 나타냈으며, 하장지역의 개체는 3.32mm 정도로 매우 작은 가시를 갖는 것으로 나타났다. 그러나 나머지 산지의 대부분 개체들은 가시 길이에 있어서 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다(그림 4).

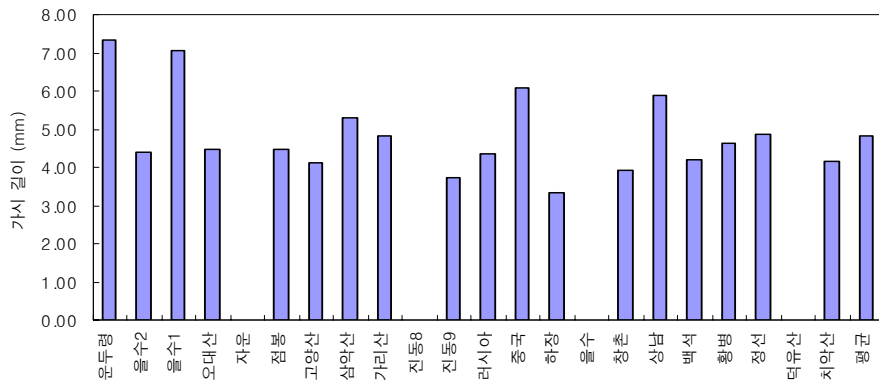


그림 4. 산지별 가시오갈피의 가시 길이

5) 산지별 가시오갈피 꽃의 수

각 조사 지역의 표본을 대상으로 꽃의 수를 비교 조사하였다. 꽃의 수는 1개의 화서당 평균 65.62개 정도인데 반하여 중국과 치악산 지역의 개체는 100개 이상의 꽃을 갖는다. 반면 자운, 고양산, 삼악산 지역의 개체들은 40개미만의 꽃을 갖는 것으로 나타나 산지간에 변이의 폭이 큰 것으로 나타났다(그림 5).

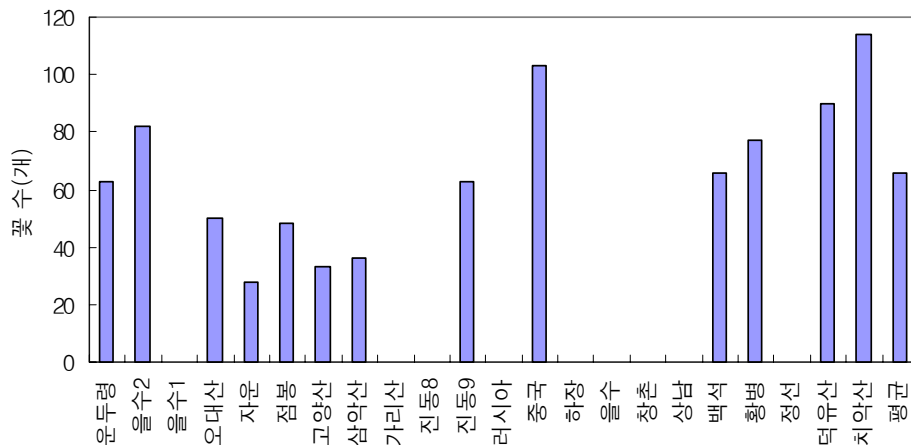


그림 5. 산지별 가시오갈피의 꽃 수

6) 산지별 가시오갈피 주화경의 길이

각 조사 지역의 표본을 대상으로 주화경의 길이를 비교 조사하였다. 주화경의

길이는 전체 평균 69.51mm 정도인데 반하여 을수2, 중국, 덕유산, 치악산 지역의 개체들은 주화경의 길이가 약 100mm 이상인 것으로 나타났다. 그러나 을수1, 점봉산, 진동9 지역의 개체는 약 40mm 이하로 매우 짧은 주화경을 갖는 것으로 나타나 산지간에 변이의 폭이 큰 것을 알 수 있었다(그림 6).

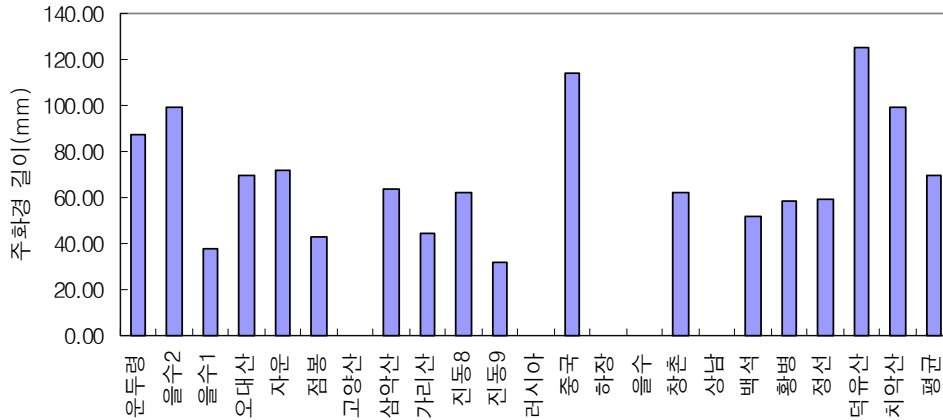


그림 6. 산지별 가시오갈피의 주화경 길이

7) 산지별 가시오갈피 주화경의 폭

각 조사 지역의 표본을 대상으로 주화경의 폭을 비교 조사하였다. 주화경의 폭은 전체 평균 2.07mm 정도인데 반하여 을수1 지역이 2.93mm로 가장 큰 값을 나타냈으며, 진동8 지역의 개체는 1.41mm로 가장 작은 값을 나타냈지만 각 산지간에 변이는 거의 없는 것으로 나타났다(그림 7).

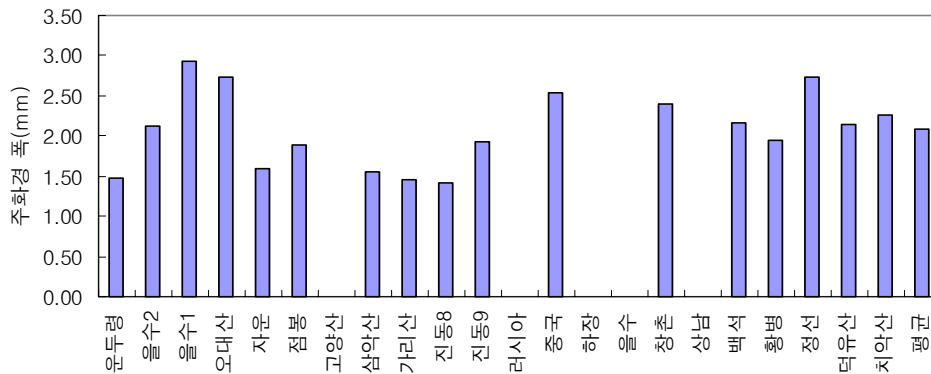


그림 7. 산지별 가시오갈피의 주화경 폭

8) 산지별 가시오갈피 소화경의 길이

각 조사 지역의 표본을 대상으로 소화경의 길이를 비교 조사하였다. 소화경의 길이는 중심부위와 가장자리 부위에서 약간의 차이를 나타냈지만, 각 산지간 변이의 폭은 뚜렷한 차이를 나타내지 않는 것으로 나타났다(그림 8).

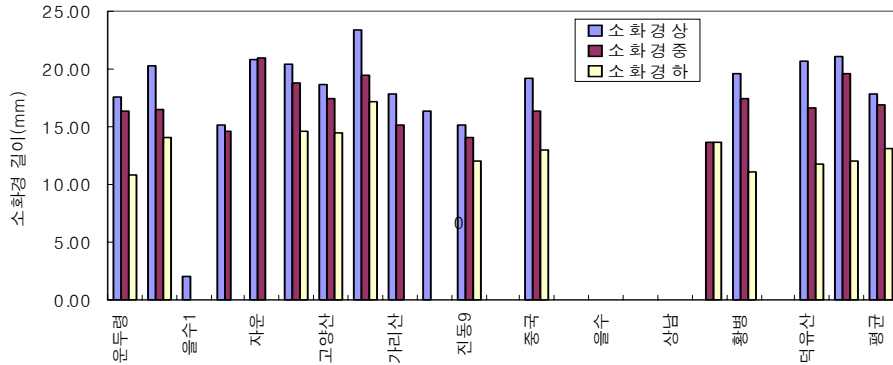


그림 8. 산지별 가시오갈피의 소화경 길이

라. 오미자의 외부형태학적 특성 규명

산지별 오미자 잎에 대한 분류형질 영양기관 및 생식기관 등의 특성을 조사하였다.

1) 산지별 오미자 잎의 길이

각 조사 지역의 표본을 대상으로 잎의 길이를 비교 조사하였다. 잎의 길이는 전체 평균 89.7mm 정도인데, 홍천군 내면 지역의 개체는 103.7mm로 가장 커다란 잎을 갖는 것으로 나타났으나, 그 밖의 산지의 개체들과 뚜렷한 차이를 나타내지 않아 변이의 폭이 매우 작은 것을 알 수 있었다(그림 9).

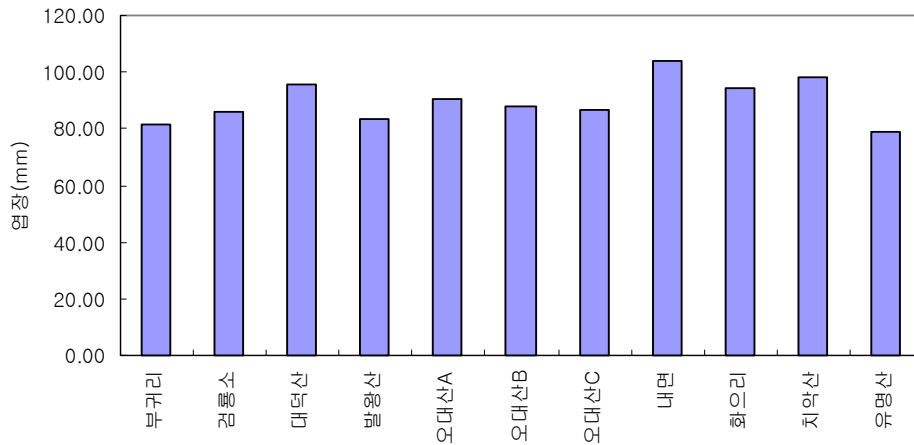


그림 9. 산지별 오미자의 엽장

2) 산지별 오미자 엽의 폭

각 조사 지역의 표본을 대상으로 잎의 폭을 비교 조사하였다. 잎의 폭은 전체 평균 52.3mm 정도인데 반하여 대덕산과 치악산 지역의 개체는 잎의 폭이 약 60mm 이상을 나타냈으며, 유명산 지역의 개체는 39.1mm 정도로 매우 작은 잎의 폭을 갖는 것으로 나타났다. 그러나 나머지 산지의 대부분 개체들은 잎의 폭에 있어서 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다(그림 10).

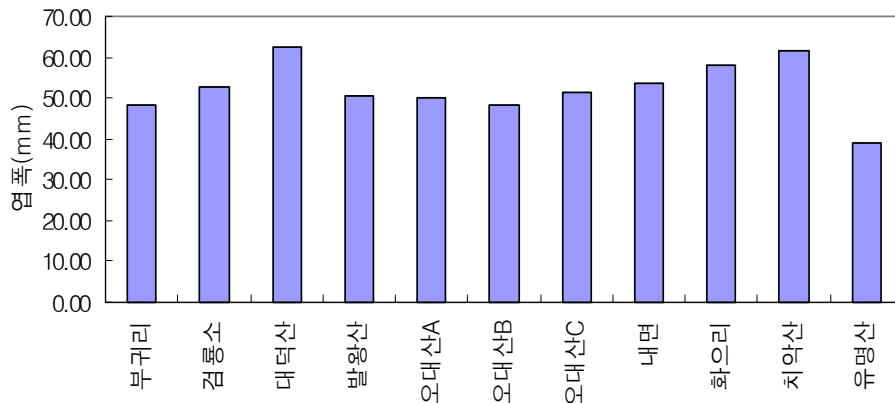


그림 10. 산지별 오미자의 엽폭

3) 산지별 오미자 엽병의 길이

각 조사 지역의 표본을 대상으로 엽병의 길이를 비교 조사하였다. 엽병의 길이는 전체 평균 26.4mm 정도인데 반하여 부귀리와 치악산 지역의 개체는 엽병 길이가 약 35mm 정도로 매우 큰 것으로 나타났으나, 나머지 산지의 대부분 개체들은 엽병 길이에 있어서 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다(그림 11).

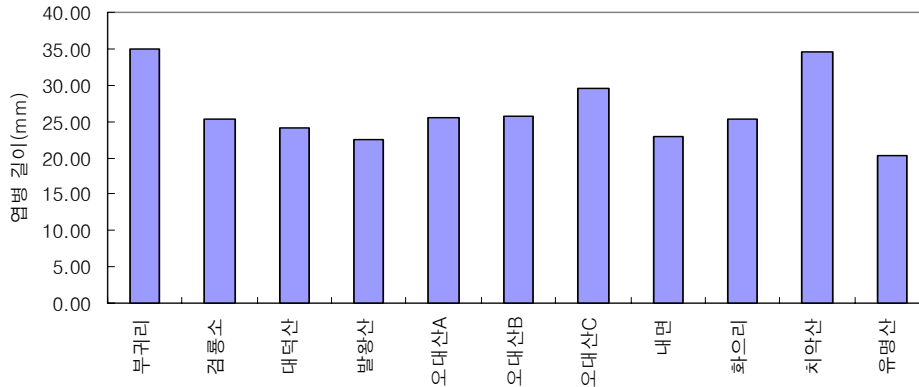


그림 11. 산지별 오미자의 엽병 길이

4) 산지별 오미자 엽병의 폭

각 조사 지역의 표본을 대상으로 엽병의 폭을 비교 조사하였다. 엽병의 폭은 전체 평균 1.4mm 정도인데, 검룡소와 대덕산 지역의 개체들이 1.7mm 이상으로 약간 폭이 넓은 것으로 나타났고 유명산 지역의 개체는 1.0mm 정도로 작게 나타났으나 나머지 산지들과 뚜렷한 차이를 나타내지는 않았다(그림 12).

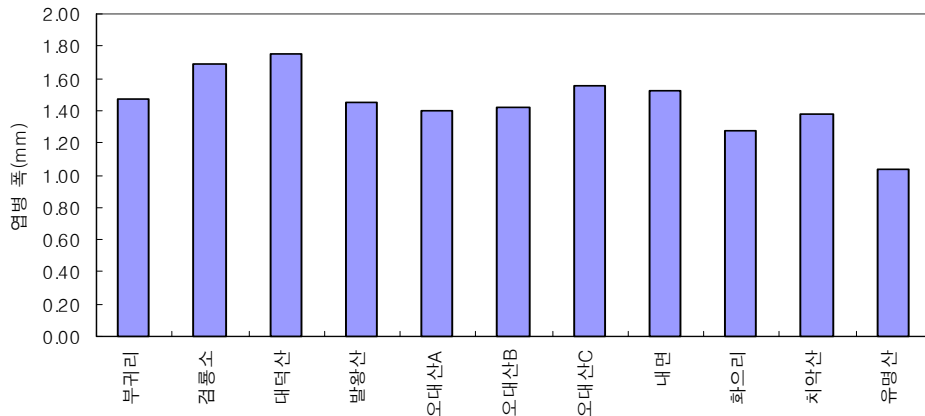


그림 12. 산지별 오미자의 염병 폭

5) 산지별 오미자 거치의 수/2cm

각 조사 지역의 표본을 대상으로 앞 가장자리 가운데 부분의 2cm에 있어서 거치의 수를 비교 조사하였다. 거치의 수는 전체 평균 3.1개 정도인데 반하여, 부귀리 지역의 개체는 4.4개/cm로 많은 거치를 갖으며, 홍천 내면 지역의 개체는 1.7개/cm로 적은 수의 거치를 갖는 것으로 나타났다. 그러나 나머지 산지의 대부분 개체들은 거치의 수에 있어서 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다(그림 13).

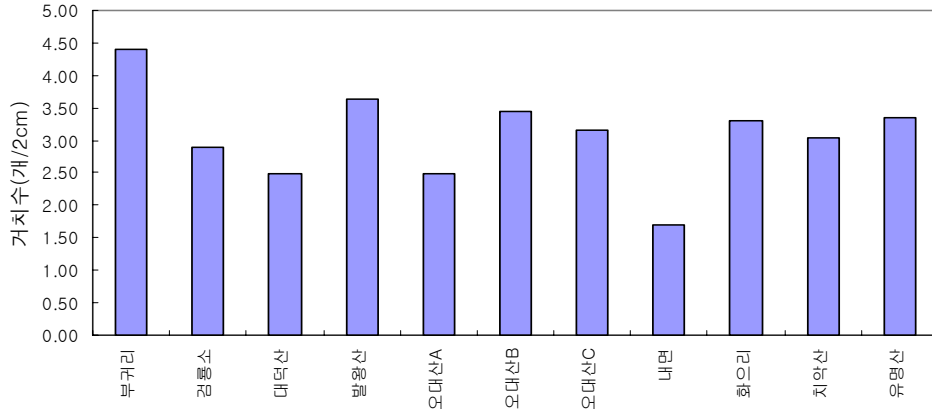


그림 13. 산지별 오미자의 거치 수

제 2 절 품종 분류 동정 및 유전변이 분석

가. 가시오갈피의 서식환경 조사

가시오갈피의 서식환경은 1차년도에 보고한 내용에 태백 검룡소 등 몇몇 새로운 서식지에 대한 서식환경을 조사하였다(표 3).

가시오갈피의 자생지 서식환경을 보면, 습한 곳을 선호하는 물참대, 물개암나무, 다래 및 당단풍의 목본류와 노랑물봉선, 뱀고사리, 노루오줌 등이 우점하는 고산지대의 계곡부 또는 사면하부의 경사가 완만한 북동 또는 북서사면에 분포하는 것으로 나타났다.

나. 가시오갈피의 분류·형태학적 특성 조사

가시오갈피의 산지간 변이 등을 분석하기 위하여, 태백 대덕산 등의 자생지 및 산림종자연구소 춘천지소 포지에 재배되고 있는 가시오갈피를 수집하여, 이들 식물체에 대한 분류형질(영양기관 및 생식기관)의 특성을 조사하였다.

가시오갈피의 형태적 특성은 1차년도에 조사 보고된 총화경의 길이 및 폭, 엽병의 길이 및 폭, 소화경(상, 중, 하)의 길이, 가시의 수/1cm 및 길이, 종자의 수 이외에 2차년도에는 꽃의 수, 소화경의 길이 및 폭, 꽃잎의 길이 및 폭, 자방의 길이 및 폭, 암술대의 길이 및 폭, 수술의 길이 및 폭, 약의 길이 및 폭 등에 대하여 조사를 수행하였다.

소화경의 길이에 있어서 가리산, 고양산, 자운, 운두령의 개체는 중국에서 들여와 재배하고 있는 것과 유사한 크기를 나타냈으나, 그 밖의 산지에서는 이 보다 작은 길이를 갖는 것으로 나타났다. 그러나 암술대의 길이는 중국에 들여와 재배되고 있는 개체만이 다른 산지로부터 수집되어 재배되고 있는 것보다 큰 것으로 나타나 구분이 되었다. 한편 수술의 길이에 있어서 오대산, 창촌 및 을수의 개체는 나머지 산지의 수술보다 매우 큰 것으로 나타나, 몇몇 형질은 산지간 개체를 구분하는 유용한 형질임을 알 수 있었다.

1) 산지별 가시오갈피 꽃잎의 길이와 폭

각 조사 지역의 표본을 대상으로 꽃잎의 길이와 폭을 비교 조사하였다. 꽃잎의 길이는 전체 평균 3.05mm 정도인데 반하여 진동리 지역의 개체는 꽃잎 길이가 약 2.29mm로 매우 작아 차이를 나타냈다. 꽃잎의 폭에 있어서도 평균 1.98mm 정도인데 반하여 진동리와 자운 지역의 개체는 각각 1.65mm와 1.67mm로 다른 지역 개체들에 비

하여 폭이 매우 작은 것으로 나타났다. 그러나 나머지 산지의 대부분 개체들은 꽃잎 길이와 폭에 있어서 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다(그림 14).

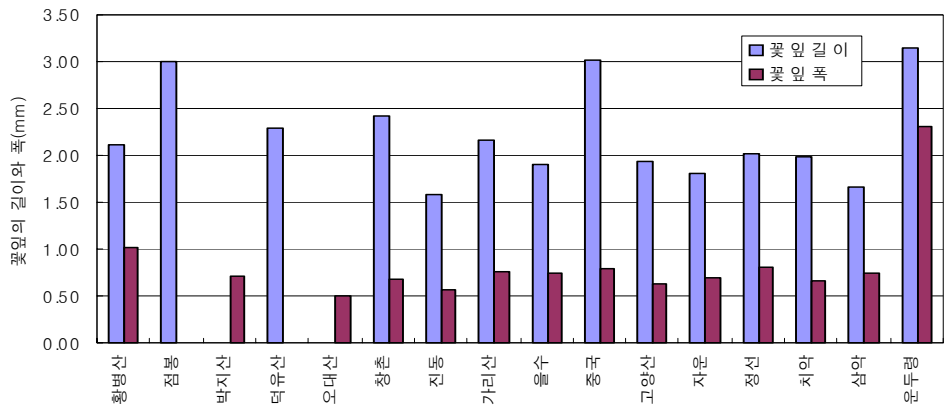


그림 14. 가시오갈피의 산지별 꽃잎의 길이와 폭

2) 산지별 가시오갈피 자방의 길이와 폭

각 조사 지역의 표본을 대상으로 자방의 길이와 폭을 비교 조사하였다. 자방의 길이는 전체 평균 2.89mm 정도인데 반하여 가리산, 황병산, 점봉산 지역의 개체는 자방 길이가 각각 3.86mm, 3.61mm, 3.42mm로 다른 지역의 개체보다 컸으며, 오대산과 고양산 지역의 개체는 2.22mm, 2.30mm로 매우 작아 차이를 나타냈다. 자방의 폭은 평균 2.39mm이며 최고치는 황병산 지역의 개체가 2.80mm, 최소치는 진동리 지역 개체가 2.03mm로 나타났지만 변이의 폭은 그다지 크지 않았다(그림 15).

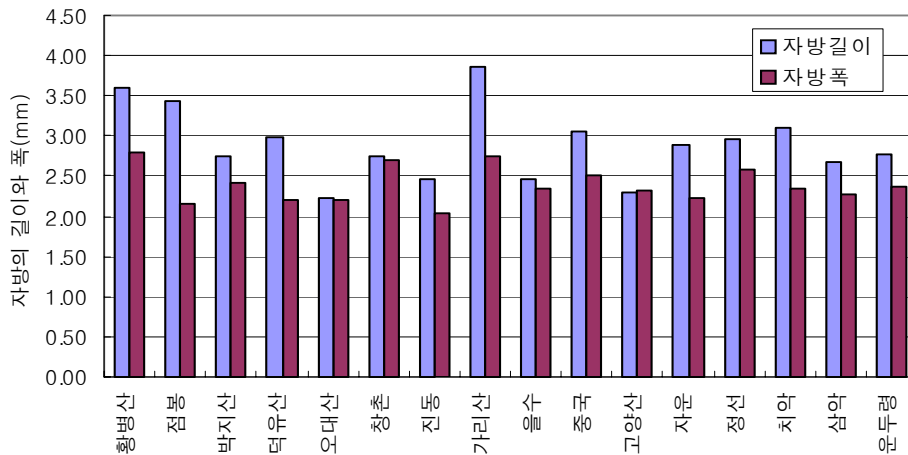


그림 15. 가시오갈피의 산지별 자방의 길이와 폭

3) 산지별 가시오갈피 암술대의 길이

각 조사 지역의 표본을 대상으로 암술대의 길이를 비교 조사하였다. 암술대의 길이는 전체 평균 2.13mm 정도인데 반하여 중국산의 개체는 암술대의 길이가 약 3.02mm로 매우 매우 큰 값을 나타내 차이를 보였으며, 반면 진동리 지역의 개체는 1.58mm로 매우 짧은 암술대를 갖는 것으로 나타났다. 그러나 나머지 산지의 대부분 개체들은 암술대의 길이에 있어서 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다(그림 16).

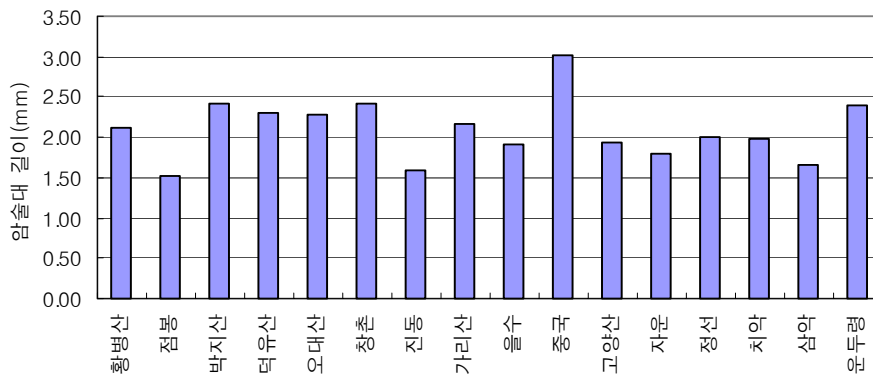


그림 16. 가시오갈피의 산지별 암술대의 길이

4) 산지별 가시오갈피 암술대의 폭

각 조사 지역의 표본을 대상으로 암술대의 폭을 비교 조사하였다. 암술대의 폭은 평균 0.71mm 정도인데 반하여 황병산 지역의 개체는 1.02mm로 다른 지역 개체들에 비하여 큰 값을 나타냈다. 그러나 나머지 산지의 대부분 개체들은 암술대의 폭에 있어서 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다(그림 17).

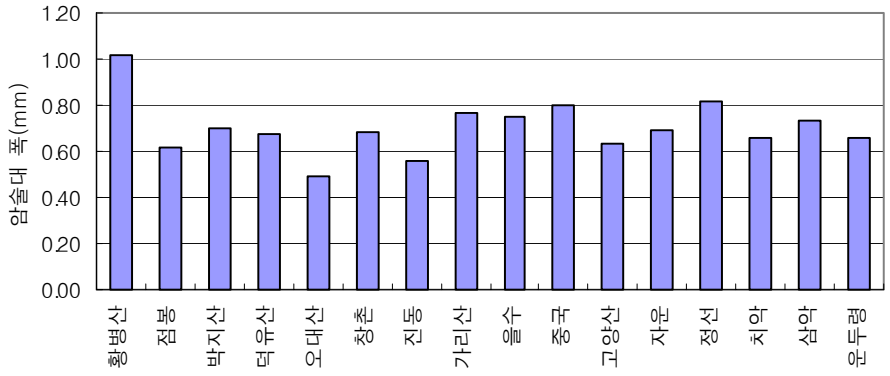


그림 17. 가시오갈피의 산지별 암술대의 폭

5) 산지별 가시오갈피 수술의 길이와 폭

각 조사 지역의 표본을 대상으로 수술의 길이와 폭을 비교 조사하였다. 수술의 길이는 전체 평균 1.83mm 정도인데 반하여 을수, 오대산, 창촌 지역의 개체는 수술의 길이가 각각 4.05mm, 4.00mm, 3.85mm로 나머지 산지와 비교하여 매우 큰 값을 나타냈으며, 점봉산, 덕유산, 진동리 및 자운 지역의 개체들은 수술의 길이가 약 1mm 이하로 낮은 값을 나타내 수술의 길이는 각 지역간에 매우 큰 변이의 폭을 갖는 것으로 나타났다. 그러나 수술의 폭에 있어서는 평균 0.48mm 정도이며, 나머지 산지의 대부분 개체들도 이와 비슷한 값을 나타내 변이가 심하지 않음을 알 수 있었다(그림 18).

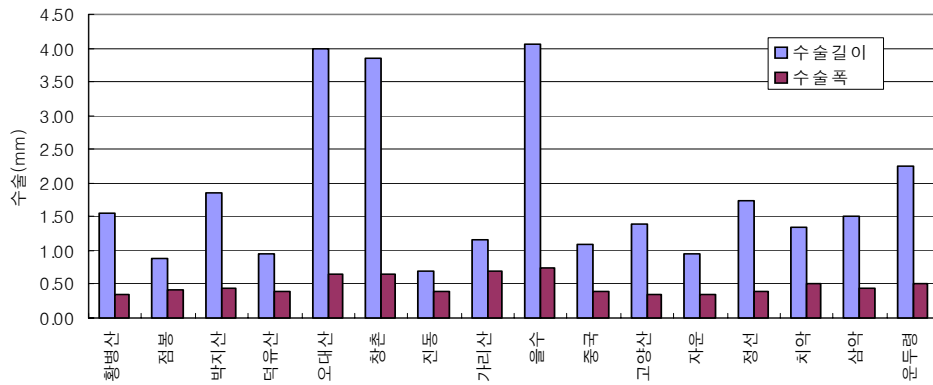


그림 18. 가시오갈피의 산지별 수술의 크기

6) 산지별 가시오갈피 약의 길이와 폭

각 조사 지역의 표본을 대상으로 약의 길이와 폭을 비교 조사하였다. 약의 길이는 전체 평균 1.43mm 정도인데 반하여 창춘 지역의 개체는 약의 길이가 1.80mm로 길지만, 점봉산 지역의 개체는 약의 길이가 1.12mm로 매우 작아 차이를 나타냈다. 반면, 약의 폭에 있어서는 평균 0.52mm 정도인데 반하여 을수 지역의 개체는 0.80mm로 다른 지역 개체들에 비하여 폭이 큰 것으로 나타났지만 나머지 산지의 대부분 개체들은 약의 폭에 있어서 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다(그림 19).

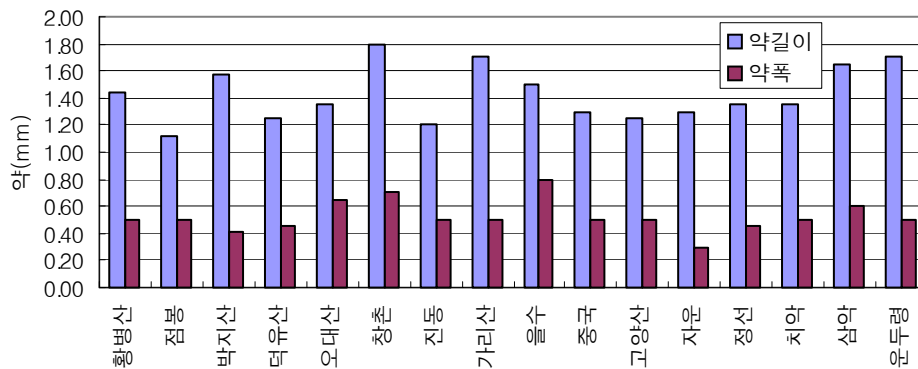


그림 19. 가시오갈피의 산지별 약의 크기

표 3. 가시오갈피 식생구조

조사지	대덕산1	대덕산2	대덕산3	연습림1	연습림2	오대산	검룡소	출현 횟수	
해발고(m)	950	980	980	445	485	1,100	880		
방위	N32°W	N30°W	N72°W	N33°E	N0°	N53°E	S190°W		
경사(°)	28	30	30	22	25	20	5		
지형	계곡부	사면하부	사면하부	계곡부	계곡부	계곡부	계곡부		
조사면적(m×m)	10×10	10×10	10×10	10×10	10×10	10×10	10×10		
교목층(%)	70	75	70	95	45	55	45		
아교목층(%)	30	25	20	25	30	40	30		
관목층(%)	70	65	55	45	50	40	50		
초본층(%)	60	65	65	35	80	40	30		
출현종수	25	38	31	29	28	29	12		
물참대	1.1	1.2	1	1.2		1.2	1.2		6
뽕고사리		1.2	r	1.2	1.2	1.2			5
노랑물봉선	4.5	+	+	1	+		+		6
노루오줌	+	+		+	+	1			5
당단풍	1.2	3	1.2						4
물개암나무	1	1.2	1.2	1.2					4
다래		1.2	3	2	2.1				4
등칫	1	1.2	1						3
물푸레나무	3	2				2.2	2.2		4
고로쇠나무	1.1	2				2		3	
피불나무	1			1.1		1.1		3	
국수나무	1	1.2		1.2				3	
산딸기	1.1	1.2	2					3	
조릿대	3	2.2	3					3	

표 3. 계속

꼭두서니		1.2	r		r			3
산뽕나무			2	4.5	3.3			3
십자고사리				3.2	+	1	+	4
읍나무				1.1	2.1	2		3
물봉선		1.2		2.1	+		+	4
할미밀망	+		+		r			3
복자기		2	3.3					2
산겨릅나무		2				1.1		2
고추나무		r	+				r	3
꽃개회나무		2				1.2		2
넓은잎외잎쭉		r	r					2
노린재나무		1	1.2					2
생강나무		1.2	2					2
호랑버들		3	2.1					2
별개덩굴				1.2	r			2
고광나무				2.1	2.1			2
큰참나무				1.2	2.1			2
진범				r	r			2
고추나무				2.1	+			2
큰개별꽃				1.1	+			2
명자순			1			1		2
방아풀				r		r		2
개다래	1.2				2.1			2
고사리	+				r		r	3
오미자			1.2		r			2

표 3. 계속

일본잎갈나무			3		4.4			2
천남성	+				r			2
참취	1.2				r			2
참회나무			1.2			1.1		2
태백제비꽃	r	r						2
피나무	3.2	1.2						2
함박꽃나무			1.2			1		2
황고사리	r			r				2
두릅나무						1.1	r	2
산거울		+					r	2
둥굴레				r			r	2
김의털				1			r	2
산씀바귀		r					r	2
두메닥나무		1.1						1
딱총나무	1							1
떡갈나무			1.2					1
물향찰나무						2		1
미역줄나무			1.1					1
민박쥐나물						+		1
바위떡풀				r				1
박새						+		1
백당나무		1						1
백작약						+		1
벌개미취				r				1
복장나무						1.2		1
붉은병꽃나무						1.1		1

표 3. 계속

개머루		1.2						1
개미취						r		1
개살구				2.1				1
고려영경귀			+					1
관중						2		1
괭이눈						+		1
구절초			r					1
귀룽나무	2.1							1
귀박쥐나물						+		1
금강제비꽃		r						1
까치박달		1.2						1
너도바람꽃						r		1
노루귀	r							1
단풍마		+						1
달맞이꽃		+						1
담쟁이덩굴		+						1
산괴불주머니				1.2				1
속단			r					1
숨나물		r						1
승마						1		1
신갈나무		2						1
오리방풀		r						1
야광나무	1.2							1
오갈피				1.2				1
조팝나무			2.1					1
졸방제비꽃			r					1
참만디				r				1
층층나무						1.2		1
큰네잎갈퀴	r							1

다. 오미자의 서식환경

오미자의 서식환경은 1차년도에 조사된 자생지 이외에 새로운 11개의 자생지(오대산 3지역, 대덕산, 검룡소, 치악산, 유명산, 홍천 내면, 춘천 북산면, 양구 대암산, 함백산)에 대하여 서식환경을 조사하였다(표 4).

오미자의 자생지 서식환경을 보면, 해발고, 방위, 경사도 등의 입지환경을 가리지 않으나 대부분 사면의 하부 또는 계곡부에 서식하는 것으로 나타났다.

라. 오미자의 분류·형태학적 특성 조사

오미자의 산지간 변이 등을 분석하기 위하여 오대산, 화악산, 내면, 태백 등에 자생하는 오미자를 수집하여 이들 식물체에 대한 분류형질(영양기관 및 생식기관)의 특성을 조사하였다.

1) 산지별 오미자 응예의 길이

각 조사 지역의 표본을 대상으로 응예의 길이를 비교 조사하였다. 응예의 길이는 태백 지역의 개체는 약 5.6mm로 매우 큰 값을 나타냈지만, 내면 지역 개체는 3.2mm 정도로 태백 지역 개체와는 큰 차이를 보였다. 그러나 오대산과 화악산 지역의 개체와는 커다란 차이를 나타내지 않았다(그림 20).

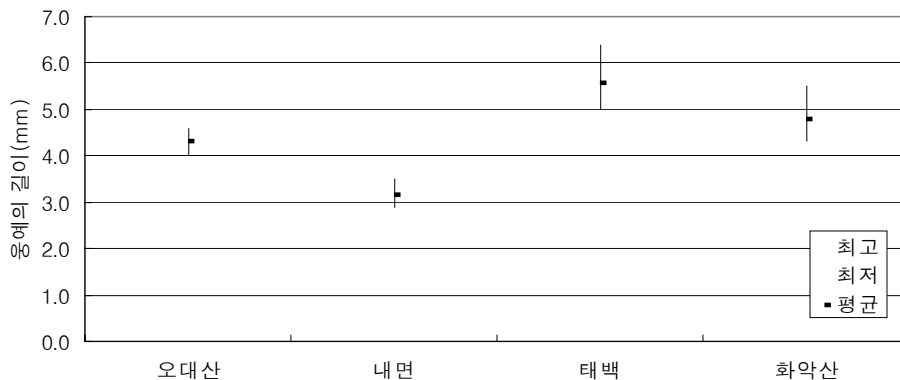


그림 20. 오미자의 산지별 응예의 길이

2) 산지별 오미자 응예의 폭

각 조사 지역의 표본을 대상으로 응예의 폭을 비교 조사하였다. 응예의 폭은 태백 지역의 개체가 화악산 지역의 개체와 유사하게 큰 값(4.1mm, 3.8mm)을 나타낸 반면, 오대산과 내면 지역의 개체는 비교적 작은 값(2.7mm, 2.5mm)을 나타내 앞의 두 지역 개체와 차이를 나타냈다.

표 4. 오미자의 식생구조

조사지	오대산A	오대산B	오대산C	대덕산	검룡소	화악산1	화악산2	북방	치악산	유명산	오대산	내면	출현 횟수	
Altitude(m)	775	795	795	925	920	945	925	535	415	765	585	680		
Direction	S240°W	S233°W	S257°W	N320°W	S196°W	S111°E	S273°W	N34°E	W264°	N60°E	S248°W	N540°E		
Gradient(°)	50	40	30	60	50	35	30	20	30	60	5	15		
Topography	사면하부	사면하부	사면하부	사면하부	사면하부	사면하부	사면하부	계곡부	사면하부	사면하부	사면하부	계곡부		
Survey area(m×m)	5×5	5×5	5×5	5×5	5×5	5×5	5×5	5×5	5×5	5×5	5×5	5×5		
교목층(%)	70	20	80	80	80	-	75	-	70	60	60	80		
아교목층(%)	35	50	30	-	40	40	60	40	70	50	50	-		
관목층(%)	80	70	40	50	50	80	65	80	40	40	35	35		
초본층(%)	60	15	70	80	30	70	30	70	60	60	40	60		
출현종수	14	19	19	16	18	19	18	15	14	33	14	14		
산딸기	2.1	3.2	+			+	+			+		2.1		7
고추나물	2.1	r	r			r								4
오리방울	r	+	2.1						r					4
기름새		r	r				r			+				4
물푸레나무	3.2		2.1							+			3	
취다래	3.2	3.2	2.1										3	
쉬땅나무	2.1	3.2	+										3	
쑥부쟁이	r	r	r										3	

표 4. 계속

머루				2.1	r				+				3
산쭉						r	r					+	3
별개덩굴				r	r			+					3
호랑버들		+				3.2							2
복자기				3.2	3.2								2
산수국						2.1	2.1	2.1					3
십자고사리						r	+	+					3
함박꽃나무						2.1	3.2						2
층층나무							3.2	4.3					2
고광나무						2.1			2.1	2.1	2.1		4
노린재나무									3.2	2.1			2
생강나무									2.1	r			2
느릅나무			4.3		2.1				4.3				3
산뽕나무								3.2	2.1				2
노랑물봉선				r		r					r		3
그늘쭉					r					r			2
개망초						r					r		2
족도리					r					r			2
질경이										+	r		2
고사리										r	r		2
다래										+		2.1	2
두릅나무		+				2.1				+			3

표 4. 계속

개미취		r				r			r		+	4
뱀고사리	r					r	+				+	4
새								r	r			2
단풍마									+		r	2
참당귀			+						r			2
고로쇠나무							5.4			3.2		
산거울			r	r								2
제비쑥		r	r									2
넓은잎외잎쑥			+		r				+			3
줄말기				+	+							2
나도제비란			r		r							2
신갈나무		3.2		+			3.2			3.2		4
할미밀망				r					+			2
미역줄나무						2.1				+		2
큰엉경귀						r				r		2
맑은대쑥			r			r						2
소나무	4.3	4.3										2
마타리	r	r										2
국수나무		+							2.1			2

표 4. 계속

물봉선		r												1
씀바귀		r												1
산겨릅나무			3.2											1
거제수나무			+											1
고추나무			+											1
정영영경귀			r											1
귀룽나무												4.3		1
붉나무												3.2		1
갈퀴나물												+		1
산박하												+		1
닭의장풀												2.1		1
돌콩												r		1
토끼풀												r		1
가시여뀌												r		1
괴불나무					3.2									1
까치밥나무					+									1
매자나무					2.1									1
병꽃나무					2.1									1
회잎나무					2.1									1

표 4. 계속

갈퀴꼭두서니										r			1
대사초										r			1
선밀나물										r			1
단풍취										r			1
개갈퀴										r			1
산짚신나물										r			1
줄방제비꽃										r			1
두메고들빼기										r			1
돌배나무											4.4		1
참회나무											2.1		1
당단풍											2.1		1
달맞이꽃											r		1
고마리											r		1
청가시덩굴											r		1
두루미꽃											r		1
수리취	r												1
각시취						r							1
거북꼬리						2.1							1
황고사리						r							1
천남성						r							1
초롱꽃						r							1

표 4. 계속

개다래						2.1							1
쪽동백나무						2.1							1
개웃나무						r							1
가래나무						r							1
참취						r							1
고깔제비꽃						r							1
까치수영						r							1
꼭두서니						r							1
홀아비꽃대							r						1
노루오줌							r						1
풀솜대							r						1
진범							r						1
등굴래							r						1
음양고비							r						1
흰털제비							2.1						1
금강초롱							+						1
눈갯버들	2.1												1
나도송이풀	r												1
큰기름새	2.1												1
젓나무		3.2											1
다릅나무		3.2											1

3) 산지별 오미자 화상의 길이

각 조사 지역의 표본을 대상으로 화상의 길이를 비교 조사하였다. 화상의 길이는 전체 평균 1.8mm로 오대산, 태백, 화악산 지역의 개체들 간에는 차이를 인정할 수 없으나, 내면 지역의 개체는 평균 1.1mm로 다른 지역의 개체보다 매우 짧은 화상을 갖는 것으로 나타났다(그림 21).

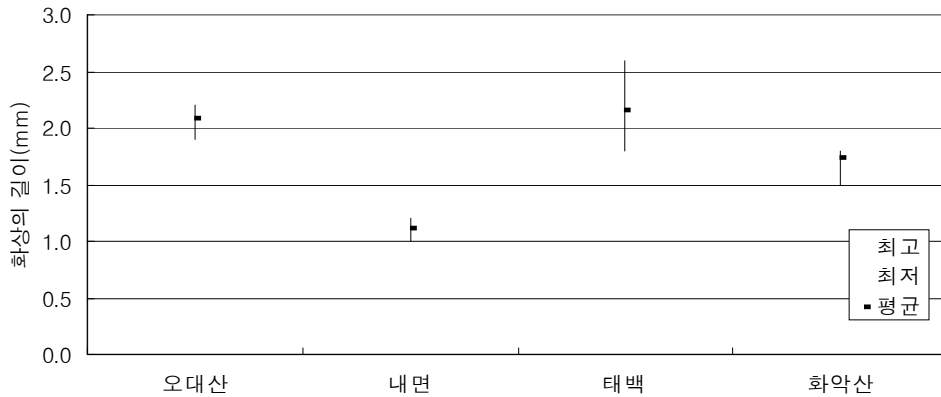


그림 21. 오미자의 산지별 화상의 길이

4) 산지별 오미자 수술의 수

각 조사 지역의 표본을 대상으로 수술의 수를 비교 조사하였다. 수술의 수는 각 지역간에 커다란 차이를 나타내지 않았지만, 내면과 태백 지역의 개체에서는 최고 6개까지 나타나는 경우도 있지만, 오대산과 화악산 지역의 개체는 최고 5개까지만 나타나 차이를 알 수 있었다(그림 22).

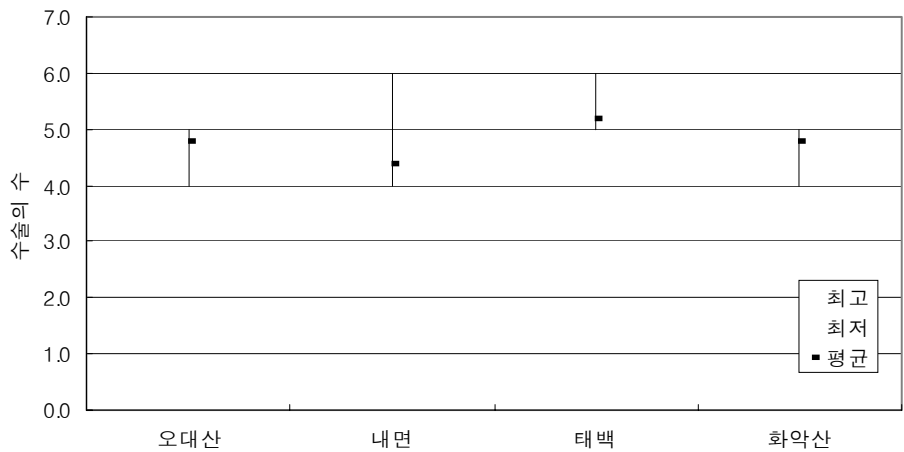


그림 22. 오미자의 산지별 수술의 수

5) 산지별 오미자 화사의 길이

각 조사 지역의 표본을 대상으로 화사의 길이를 비교 조사하였다. 화사의 길이는 내면 지역의 개체가 평균 1.8mm로 작은 값을 나타내 약간의 차이를 인정할 수 있으나, 그 밖의 지역 개체들 사이에는 전혀 차이를 인정할 수 없었다(그림 23).

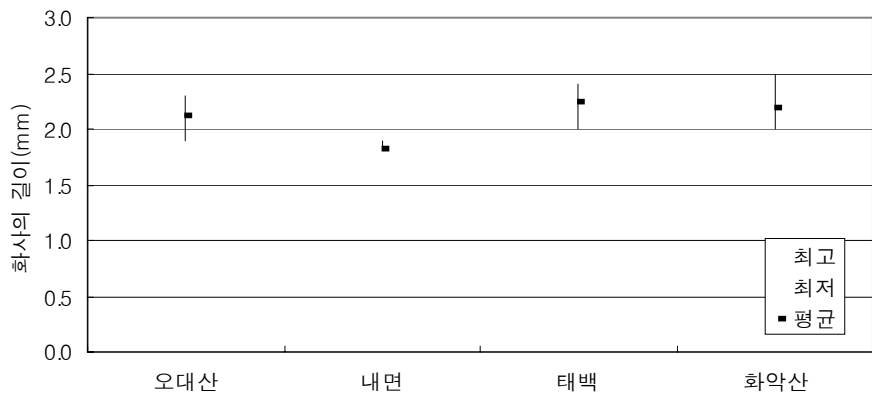


그림 23. 오미자의 산지별 화사의 길이

6) 산지별 오미자 화사의 폭

각 조사 지역의 표본을 대상으로 화사의 폭을 비교 조사하였다. 화사의 폭은 오대산 지역의 개체가 평균 0.4mm로 가장 작은 값을 나타냈고, 화악산 지역의 개체는 0.7mm로 가장 큰 것으로 나타났으나, 각 지역간의 차이는 인정되지 않았다(그림 24).

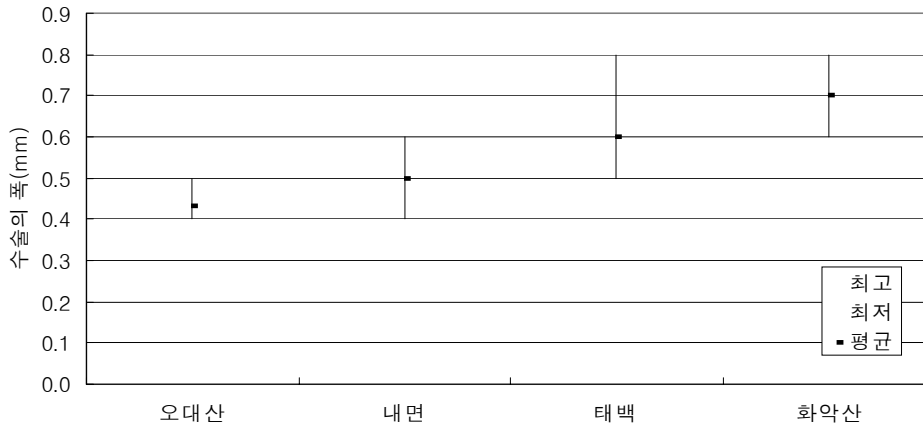


그림 24. 오미자의 산지별 수술의 폭

7) 산지별 오미자 약의 길이

각 조사 지역의 표본을 대상으로 약의 길이를 비교 조사하였다. 약의 길이는 화악산 지역의 개체가 평균 2.0mm로 가장 큰 값을 나타냈고, 오대산과 태백 지역의 개체는 1.8mm로 같은 크기이며, 화악산의 개체와는 별로 차이가 인정되지 않았으나, 내면 지역의 개체는 평균 1.3mm로 다른 지역 개체들의 약보다 현저히 작음을 알 수 있었다(그림 25).

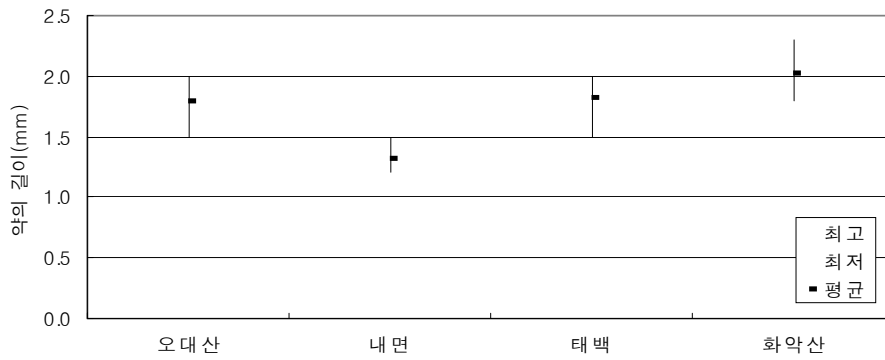


그림 25. 오미자의 산지별 약의 길이

8) 산지별 오미자 약의 폭

각 조사 지역의 표본을 대상으로 약의 폭을 비교 조사하였다. 약의 폭은 전체 평균 0.3mm이며, 조사지역 모두 평균 0.3mm로 지역간의 차이를 전혀 나타내지 않았다 (그림 26).

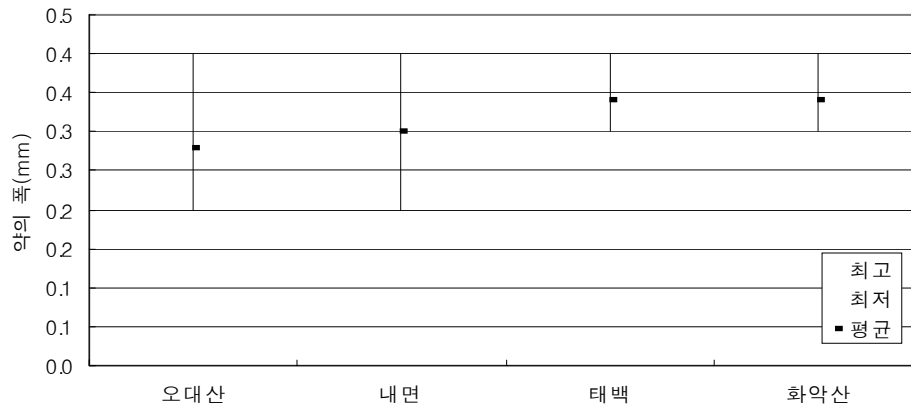


그림 26. 오미자의 산지별 약의 폭

제 3 절 DNA 변이 분석 및 분류 · 형태학적 변이 규명

가. 가시오갈피의 서식환경 조사

가시오갈피의 서식환경은 2차년도 환경조사로서 종결하여 위의 작성한바 있다.

나. 오미자의 서식환경 조사

오미자의 서식환경은 2차년도에 조사된 자생지 이외에 새로운 1개의 자생지(부귀리)에 대하여 서식환경을 조사하였다(표 5).

오미자의 자생지 서식환경을 보면, 해발고, 방위, 경사도 등의 입지환경을 가리지 않으나 대부분 사면의 하부 또는 계곡부에 서식하는 것으로 나타났다.

다. 가시오갈피의 형질에 대한 통계학적 처리

1) 가시오갈피 14가지 형질 특성간의 상관관계

가시오갈피 식물의 14가지 형질(표 6)간 상관관계를 분석하였다(표 7).

화경 폭은 꽃길이, 자방 폭, 꽃잎 길이와 꽃 길이는 자방 폭, 수술 길이·폭, 약 길이·폭과 꽃 폭은 암술대 길이, 꽃잎 길이·폭, 수술 폭, 약 길이와 암술대 폭은 자방 길이와 자방 길이는 자방 폭과 자방 폭은 꽃잎 길이·폭, 약 길이와 꽃잎길이는 꽃잎 폭, 수술 길이·폭, 약 길이·폭과 꽃잎 폭은 약 길이와 수술 길이는 수술 폭, 약 폭과 수술 폭은 약 길이·폭과 높은 정의 상관관계를 나타냈다. 그리고 화경의 길이는 수술 길이, 약 폭과 높은 부의 상관관계를 나타내었다(5% 유의수준).

2) 가시오갈피 산지간의 유연관계 및 유집군의 유형

가시오갈피의 14가지 형질 특성에 대해 군집을 분석하였다. Euclidean distance 1.2에서 중국, 자운, 가리산, 고양, 운두령이 다른 산지와 나뉘어졌다. Euclidean distance 1.0에서 오대산, 을수, 창촌이 나뉘었고, Euclidean distance 0.5에서 박지산, 덕유산, 황병산, 삼악산과 점봉산, 치악산, 진동, 정선과 구분되었다(그림 28).

가시오갈피의 14가지의 형질 특성에 대한 유집군의 유형을 조사하기 위하여 주성분분석을 실시한 결과 제5 주성분까지 14가지 형질의 90%를 나타내었다(표 7). 제 1 주성분의 기여율은 43.6%이며 꽃 길이, 꽃 폭의 특성이 제2 주성분의 기여율은 22.6%로 자방의 길이, 암술대 폭의 특성이 제 3주성분의 기여율은 11.8%이며 화경의 길이, 암술대 길이의 특성이 제 4주성분의 기여율은 6%이며, 수술 폭의 특성이 제 5 주성분의 기여율은 5%이며, 암술대 길이의 특성이 가시오갈피의 산지별 분류에 중요한 정보를 주는 요인으로 나타났다(표 8).

표 5. 오미자의 균집분석

조사지	오대산A	오대산B	오대산C	대덕산	검룡소	화악산1	화악산2	북방	치악산	유명산	오대산	내면	부귀리	출현 횟수	
Altitude(m)	775	795	795	925	920	945	925	535	415	765	585	680	540		
Direction	S240°W	S233°W	S257°W	N320°W	S196°W	S111°E	S273°W	N34°E	W264°	N60°E	S248°W	N540°E	S234°w		
Gradient(°)	50	40	30	60	50	35	30	20	30	60	5	15	10		
Topography	사면하부	사면하부	사면하부	사면하부	사면하부	사면하부	사면하부	계곡부	사면하부	사면하부	사면하부	계곡부	사면하부		
Survey area(m×m)	5×5	5×5	5×5	5×5	5×5	5×5	5×5	5×5	5×5	5×5	5×5	5×5	5×5		
교목층(%)	70	20	80	80	80	-	75	-	70	60	60	80	60		
아교목층(%)	35	50	30	-	40	40	60	40	70	50	50	-	-		
관목층(%)	80	70	40	50	50	80	65	80	40	40	35	35	35		
초본층(%)	60	15	70	80	30	70	30	70	60	60	40	60	60		
출현종수	14	19	19	16	18	19	18	15	14	33	14	14			
산딸기	2.1	3.2	+			+	+			+		2.1			7
고추나무	2.1	r	r			r							r		5
오리방울	r	+	2.1						r						4
기름새		r	r				r			+				4	
물푸레나무	3.2		2.1							+			+	4	
취다래	3.2	3.2	2.1											3	
쉬땅나무	2.1	3.2	+											3	
쑥부쟁이	r	r	r											3	

표 5. 계속

머루				2.1	r				+					3
산쑥						r	r					+		3
별개덩굴				r	r									3
호랑버들		+				3.2								2
복자기				3.2	3.2									2
산수국						2.1	2.1	2.1						3
십자고사리						r	+	+						3
함박꽃나무						2.1	3.2							2
층층나무							3.2	4.3						2
고광나무						2.1			2.1	2.1	2.1		2.1	5
노린재나무									3.2	2.1				2
생강나무									2.1	r				2
느릅나무			4.3		2.1				4.3				2.1	4
산뽕나무								3.2	2.1					2
노랑물봉선				r		r					r			3
그늘쭉					r					r				2
개망초						r					r			2
족도리					r					r				2
질경이										+	r			2
고사리										r	r		r	3
다래										+		2.1		2
두릅나무		+				2.1				+				3
개미취		r					r			r		+		4
뽕고사리	r						r	+				+		4
새									r	r				2
단풍마										+		r		2
참당귀			+							r				2

표 5. 계속

고로쇠나무							5.4			3.2		r	3
산겨울			r	r								r	3
제비썩		r	r										2
넓은잎외잎썩			+		r				+				3
줄딸기				+	+							r	3
나도제비란			r		r								2
신갈나무		3.2		+			3.2			3.2			4
할미밀망				r					+				2
미역줄나무						2.1				+			2
큰영경귀						r				r			2
맑은대썩			r			r							2
.소나무	4.3	4.3											2
마타리	r	r											2
국수나무		+							2.1				2
물봉선		r										r	2
썸바귀		r										r	2
산겨릅나무			3.2									r	2
거제수나무			+										1
고추나무			+										1
정영영경귀			r										1
귀룽나무											4.3		1
붉나무											3.2		1
갈퀴나물											+		1
산박하											+		1
닭의장풀											2.1	'	1
들콩											r		1
토끼풀											r		1

표 5. 계속

가시여뀌											r		1
피불나무				3.2									1
까치밥나무				+									1
매자나무				2.1									1
병꽃나무				2.1									1
회잎나무				2.1									1
물참대				+									1
만병초				r									1
독미나리				r									1
우산나물				r									1
봄여뀌											r		1
산돌배			3.2										1
개암나무			3.2										1
난티나무			+										1
조릿대			4.3										1
등근털제비꽃			r										1
등취			2.1										1
단풍제비꽃			r										1
방아풀			r										1
조록싸리							2.1						1
작살나무							2.1						1
주름조개풀							2.1						1
짚신나물							r						1
큰까치수영										+			1
산오이풀										r			1
취										r			1
은방울꽃										r			1
돌양지꽃										r			1

표 5. 계속

갈퀴꼭두서니										r					1
대사초										r					1
선밀나무										r					1
단풍취										r					1
개갈퀴										r					1
산짚신나무										r					1
줄방제비꽃										r					1
두메고들빼기										r					1
돌배나무											4.4				1
참회나무											2.1				1
당단풍											2.1				1
달맞이꽃											r				1
고마리											r				1
청가시덩굴											r				1
두루미꽃											r				1
수리취	r														1
각시취						r									1
거북꼬리						2.1									1
황고사리						r									1
친남성						r									1
초롱꽃						r									1
개다래								2.1							1
쪽동백나무								2.1							1
개웃나무								r							1
가래나무								r							1
참취								r							1
고갈제비꽃								r							1

표 5. 계속

까치수영							r								1
꼭두서니							r								1
흙아비꽃대								r							1
노루오줌								r							1
풀솨대								r							1
진범								r							1
등굴레								r							1
음양고비								r							1
흰털제비								2.1							1
금강초롱								+							1
눈갯버들	2.1														1
나도송이풀	r														1
큰기름새	2.1														1
젓나무		3.2													1
다릅나무		3.2													1

표 6. 가시오갈피의 형질

x1	화경의 길이
x2	화경의 폭
x3	꽃의 길이
x4	꽃의 폭
x5	암술대의 길이
x6	암술대의 폭
x7	자방의 길이
x8	자방의 폭
x9	꽃잎의 길이
x10	꽃잎의 폭
x11	수술의 길이
x12	수술의 폭
x13	약의 길이
x14	약의 폭

표 7. 가시오갈피 주성분분석표

	고유값	차	비율	누적비율
제1 주성분	6.1055	2.9378	0.4361	0.4361
제2 주성분	3.1676	1.5061	0.2263	0.6624
제3 주성분	1.6615	0.7598	0.1187	0.7811
제4 주성분	0.9016	0.1959	0.0644	0.8455
제5 주성분	0.7057	0.2693	0.0504	0.8959

표 8. 가시오갈피의 주성분분석표-1

	제 1 주성분	제 2 주성분	제 3 주성분	제 4 주성분	제 5 주성분
x1	-.0765	0.3529	0.4541	0.2760	0.1642
x2	0.2343	0.2207	-.4452	-.2442	0.1357
x3	0.3716	-.0281	-.1195	0.0662	0.3181
x4	0.3281	0.0476	0.3206	-.0708	0.1011
x5	0.1843	0.1927	0.4076	-.2152	0.5330
x6	0.0814	0.4523	-.3193	-.0944	-.0961
x7	-.0107	0.4617	-.2071	0.3364	0.0652
x8	0.2651	0.3957	-.0807	-.0026	-.1057
x9	0.3750	-.0175	0.0399	-.2689	-.0858
x10	0.3027	0.0391	0.2597	-.2693	-.5022
x11	0.3343	-.2838	-.0329	-.0831	0.0057
x12	0.2967	-.1981	-.0395	0.5443	0.1616
x13	0.2791	0.0851	0.1613	0.4470	-.4802
x14	0.2690	-.2883	-.2510	0.1955	0.1338

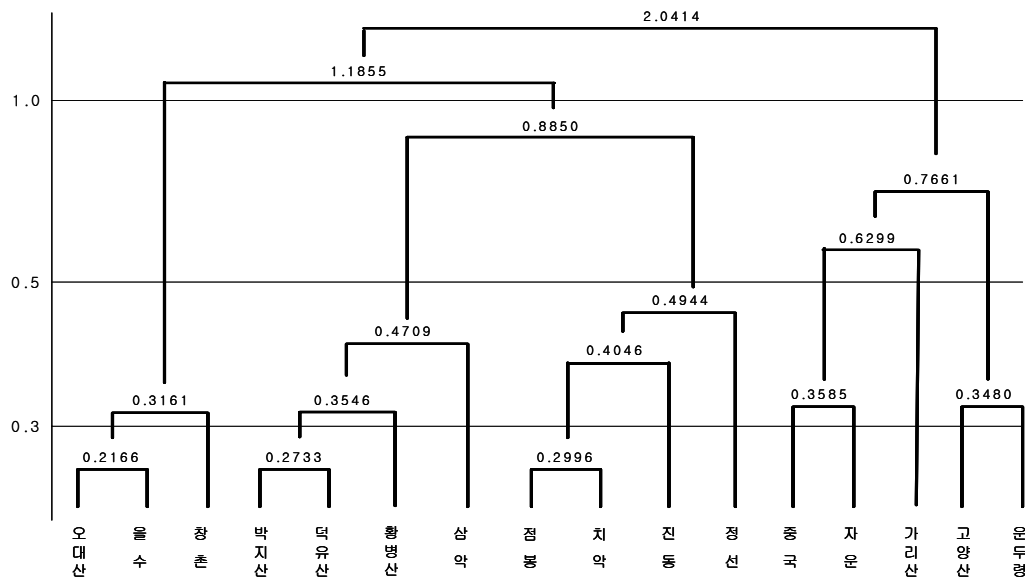


그림 27. 가시오갈피의 유집분석

3) 가시오갈피의 화분

화분의 크기를 측정하기 위하여 비교적 형태가 원형을 유지하며 일정한 모양을 갖춘 것을 골라 극축의 길이(P)와 그것의 직각으로 적도면의 길이(E)를 측정하였다. 발아구는 정면에서 보이는 것 중 형태가 완전한 것을 골라 길이와 폭을 재고 발아공 역시 발아구와 같은 방법을 사용하여 측정하였다(그림 28).

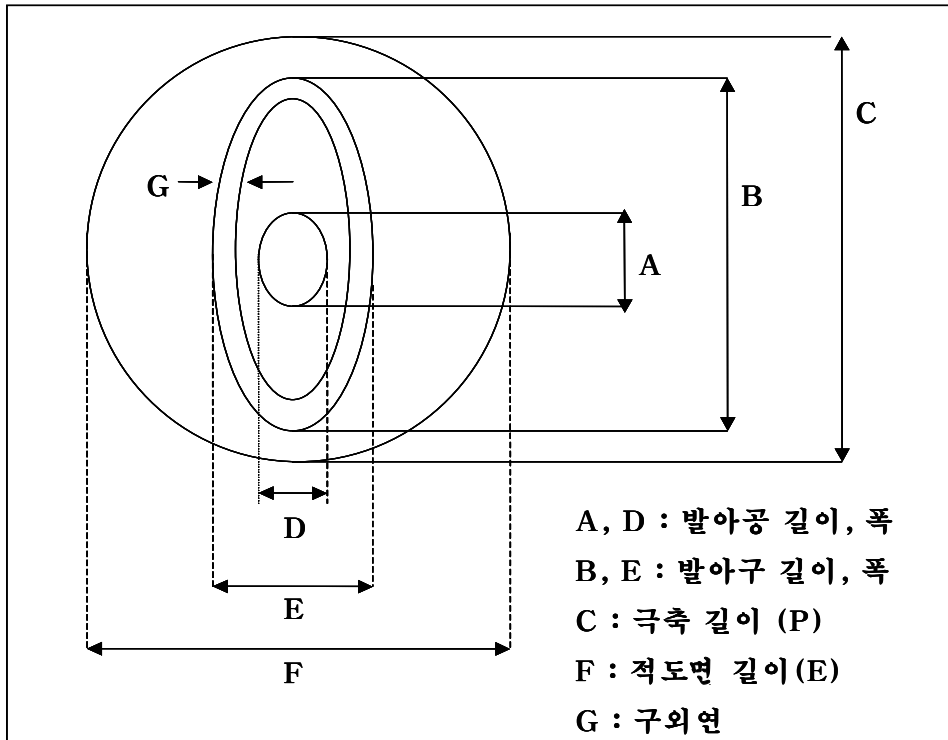


그림 28. 가시오갈피 화분의 측정 형질

가시오갈피의 산지별 화분 발아공의 길이를 조사한 결과, 덕유산에서 수집된 개체들의 화분은 발아공의 길이가 평균 $2.78\mu\text{m}$ 로서 다른 지역에서 수집된 가시오갈피의 화분보다 매우 짧아 차이를 나타냈다. 그러나 그 밖의 지역에서 수집된 개체들의 화분 발아공의 길이는 약 $5\mu\text{m}$ 정도의 크기를 가지며 상호간의 차이는 인정되지 않았다(그림 29).

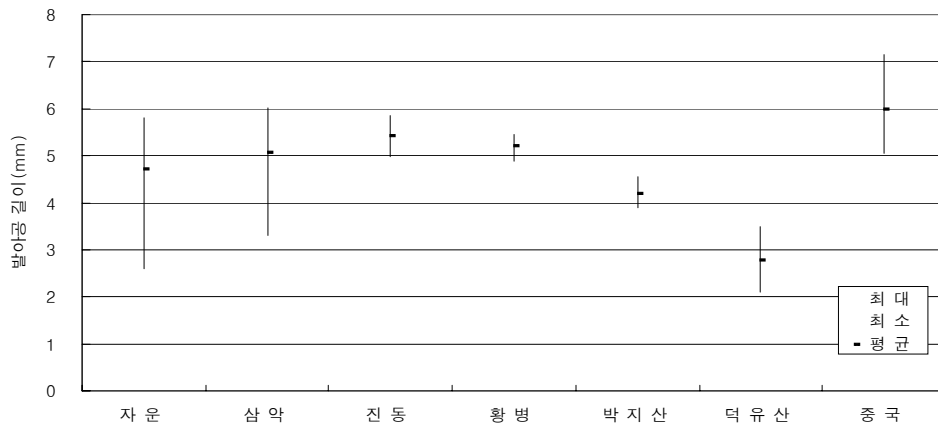


그림 29. 가시오갈피의 산지별 화분 발아공의 길이

가시오갈피의 산지별 화분 발아공의 폭을 조사한 결과, 전체 조사지역 평균 2.85 μm 이며 산지간의 차이는 전혀 인정되지 않았다(그림 30).

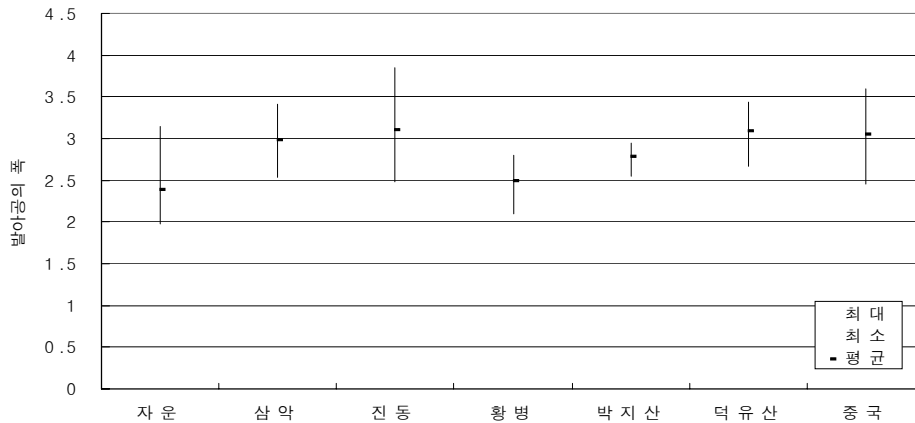


그림 30. 가시오갈피의 산지별 화분 발아공의 폭

가시오갈피의 산지별 화분 발아구의 길이를 조사한 결과, 중국에서 수집된 개체들의 화분은 발아구의 길이가 평균 22.07 μm 로서 다른 지역에서 수집된 가시오갈피의 화분보다 매우 길어 차이를 나타냈다. 그러나 그 밖의 지역에서 수집된 개체들의 화분 발아구의 길이는 약 15 μm 정도의 크기를 가지며 상호간의 차이는 인정되지 않았다(그림 31).

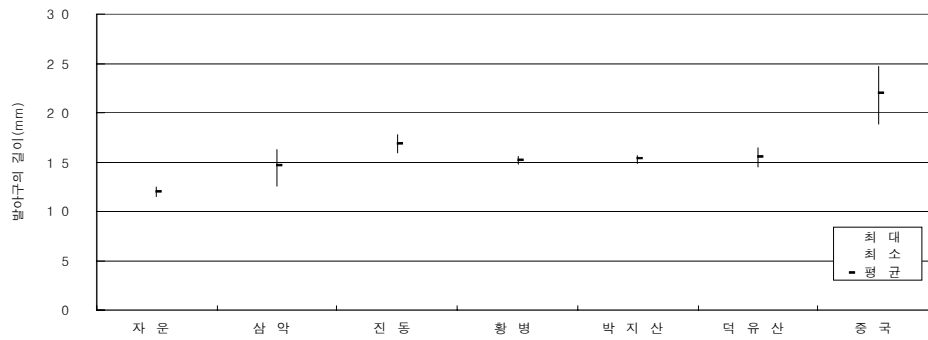


그림 31. 가시오갈피의 산지별 화분 발아구의 길이

가시오갈피의 산지별 화분 발아구의 폭을 조사한 결과, 전체 조사지역의 평균은 $4.36\mu\text{m}$ 이며, 크게 두개의 그룹으로 나뉘어 진다. 삼악산, 진동리 및 중국에서 수집된 개체들의 화분 발아구의 폭은 약 $6\mu\text{m}$ 정도로 큰 편에 속한다. 반면, 자운, 황병산, 박지산 및 덕유산에서 수집된 화분들의 발아구 폭은 약 $3\mu\text{m}$ 정도의 크기로서 작은 편에 속해 차이를 나타냈다(그림 32).

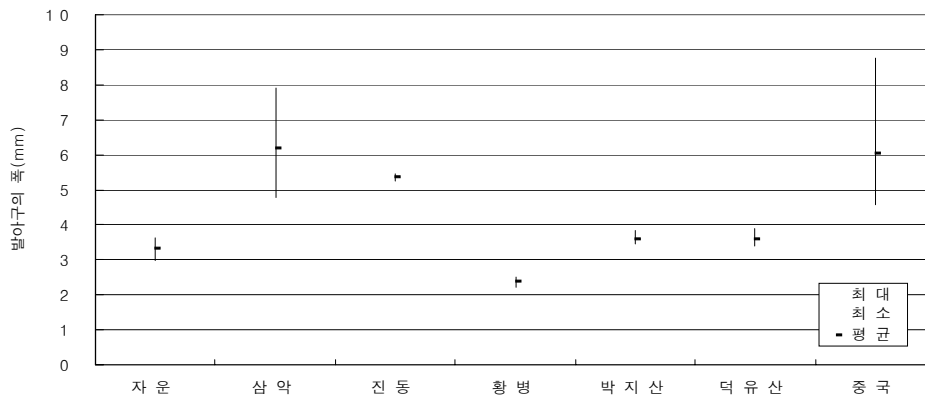


그림 32. 가시오갈피의 산지별 화분 발아구의 폭

가시오갈피의 산지별 화분에 대한 극축의 길이를 조사한 결과, 전체 조사지역 평균 $23.36\mu\text{m}$ 이며 산지간의 차이는 인정되지 않았다(그림 33).

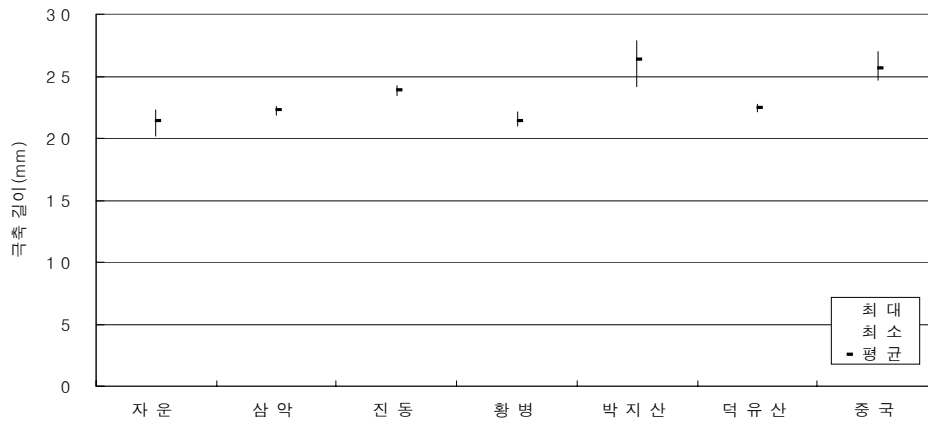


그림 33. 가시오갈피의 산지별 화분 극축 길이

가시오갈피의 산지별 화분에 대한 적도면의 길이를 조사한 결과, 전체 조사지역 평균 $24.45\mu\text{m}$ 이며 산지간의 변이의 폭은 그다지 크지 않았다(그림 34).

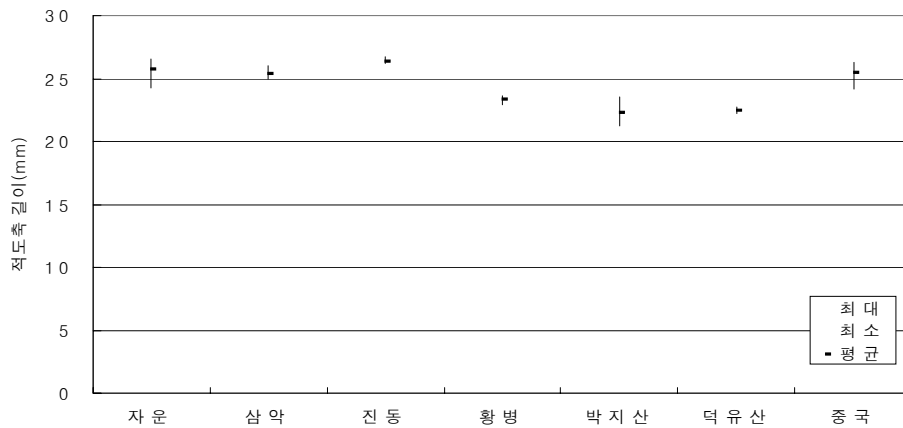


그림 34. 가시오갈피의 산지별 화분 적도축 길이

가시오갈피의 산지별 화분에 대한 구외연의 폭을 조사한 결과, 전체 조사지역 평균 $2.48\mu\text{m}$ 이며 자운 지역의 개체가 약간 작은 것으로 나타났으며, 그 밖의 산지간에는 차이가 인정되지 않았다(그림 35).

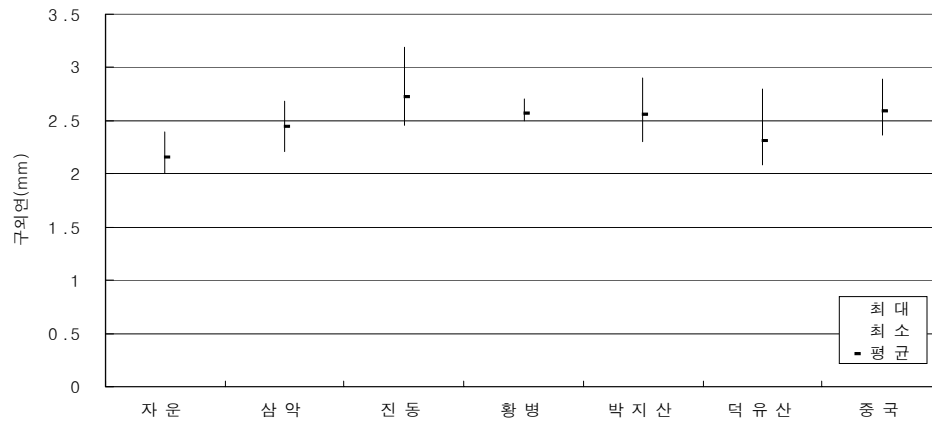


그림 35. 가시오갈피의 산지별 화분 구외연

4) 가시오갈피 화분의 형태

산지별 가시오갈피 화분립의 형태를 보면 3개의 발아구를 갖는 구형 (Stephanocolpate)으로 자운지역의 개체는 아편구상의 형태를 취하며 삼악산, 진동, 황병산, 덕유산 및 중국의 개체는 구상, 그리고 박지산 지역의 개체는 아장구상으로 나타났다(표 9).

표 9. 가시오갈피 화분립의 형태

	자운	삼악산	진동	황병산	박지산	덕유산	중국
극축길이 (P)	21.41	22.27	23.92	21.45	26.34	22.50	25.63
적도면 길이(E)	25.73	25.39	26.42	23.40	22.30	22.46	25.45
(P/E) ×100	83	88	91	92	118	100	101

또한 구외연은 모든 산지의 개체에서 뚜렷하게 나타났으며, 표면 무늬는 망상이며, 망의 모양은 다각형으로 모든 산지에서 동일하였다(표 10).

표 10. 가시오갈피 화분의 형질

	자운	삼악산	진동	황병산	박지산	덕유산	중국
화분형태	아편구상	구상	구상	구상	아장구상	구상	구상
구외연	뚜렷	뚜렷	뚜렷	뚜렷	뚜렷	뚜렷	뚜렷
표면무늬	망상	망상	망상	망상	망상	망상	망상
망의 모양	다각형	다각형	다각형	다각형	다각형	다각형	다각형

5) 가시오갈피 화분의 7가지 형질 특성간의 상관관계

가시오갈피 화분의 7가지 특성(표 11)간 상관관계를 분석하였다.(표 12).

발아공의 길이는 적도면 길이와 발아공의 폭은 발아구의 폭과 정의 상관관계를 가진다(10% 유의수준).

6) 가시오갈피 화분의 산지별 유연관계 및 유집군의 유형

가시오갈피의 7가지 형질 특성에 대해 군집을 분석하였다.

가시오갈피 화분 측정 형질 Euclidean distance 1.2에서 중국이 다른 산지와 분리 되었으며, Euclidean distance 1.0에서 자운이 분리되었다. Euclidean distance 0.9에서 삼악과 진동이 Euclidean distance 0.6에서 박지산이 구분되었다(그림 36).

또한 가시오갈피의 7가지의 형질 특성에 대해 유집군의 유형을 조사하기 위하여 주성분분석을 실시하였다. 제 6주성분까지가 eigenvalue 1.0이상으로 전체 변이의 100%를 설명하고 있음을 알 수 있다(표 13).

13).

하지만 제 3주성분까지가 가시오갈피 형질의 90%를 설명할 수 있으므로 제 3주 성분까지 분석하였다. 제 1주성분의 기여율은 49.6%로서, 발아구의 길이·폭 특성이 제 2주성분의 기여율은 24.4%로서 적도면 길이, 발아공의 길이 특성이 제 3주성분의 기여율은 14.3%로서, 구외연 폭이 가시오갈피 화분의 산지별 분류에 중요한 정보를 주는 요인으로 나타났다(표 14).

표 11. 가시오갈피 화분의 7가지 형질

x1	발아공의 길이
x2	발아공의 폭
x3	발아구의 길이
x4	발아구의 폭
x5	극축 길이
x6	적도면의 길이
x7	구외연의 폭

표 12. 가시오갈피 화분의 상관관계

	x1	x2	x3	x4	x5	x6	x7
x1	1.00000						
x2	-0.06043	1.00000					
x3	0.44910	0.62120	1.00000				
x4	0.46702	0.71575*	0.55231	1.00000			
x5	0.16564	0.46683	0.64502	0.36606	1.00000		
x6	0.70378*	0.09465	0.14391	0.61691	-0.14092	1.00000	
x7	0.52103	0.44694	0.61045	0.33070	0.54282	0.09726	1.00000

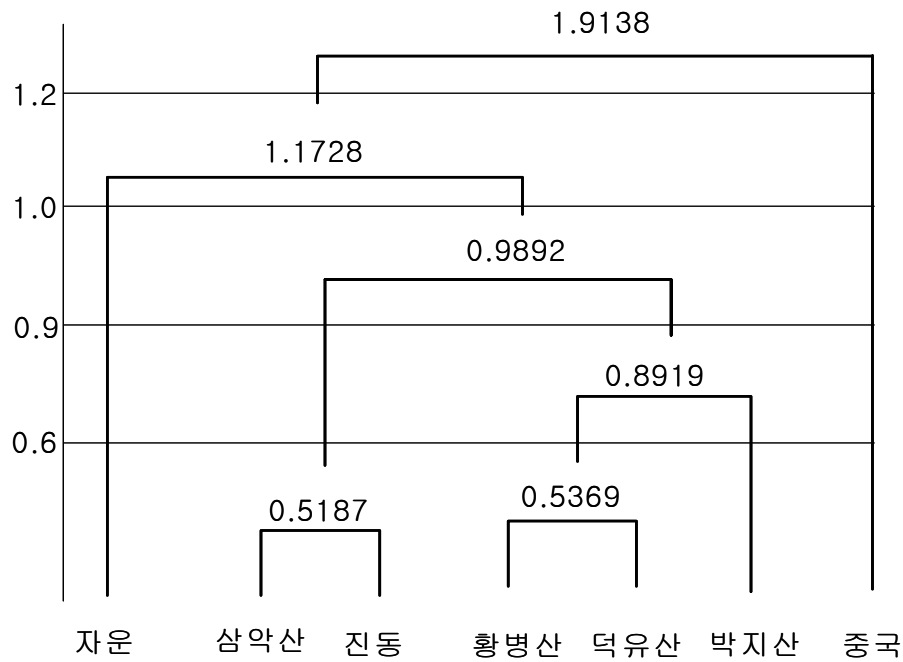


그림 36. 오미자의유집분석

표 13. 가시오갈피 화분의 주성분 분석

	고유값	차	비율	누적비율
제1 주성분	3.4756	1.7926	0.4965	0.4965
제2 주성분	1.6829	0.6767	0.2404	0.7369
제3 주성분	1.0062	0.5771	0.1437	0.8807
제4 주성분	0.4290	0.1297	0.0613	0.9420
제5 주성분	0.2993	0.1924	0.0428	0.9847
제6 주성분	0.1608	0.1608	0.0153	1.0000

표 14. 가시오갈피 화분의 주성분 분석-1

	제1주성분	제2주성분	제3주성분
x1	0.3326	0.4918	0.4369
x2	0.3815	-.3039	-.5315
x3	0.4580	-.1814	0.1112
x4	0.4404	0.1726	-.4674
x5	0.3520	-.4073	0.2178
x6	0.2411	0.6473	-.1937
x7	0.3973	-.1338	0.4589

	제4주성분	제5주성분	제6주성분
x1	0.0701	-.0904	-.3316
x2	-.3461	-.0021	0.1635
x3	0.1525	-.7976	0.1509
x4	0.1303	0.1788	-.6028
x5	0.6395	0.4576	0.1926
x6	0.0601	0.1473	0.6618
x7	-.6499	0..3040	0.0424

라. 오미자의 분류·형태학적 특성 조사

오미자의 산지간 변이 등을 분석하기 위하여 오대산, 화악산 내면, 태백 등에 자생하는 오미자를 수집하여 일부 미확인된 분류형질의 특성을 조사하였다.

1) 산지별 오미자 화경의 길이

각 조사 지역의 표본을 대상으로 화경의 길이를 비교 조사하였다. 화경의 길이는 전체 평균 27.45mm인데, 그중 내면 지역의 개체는 평균 30.67mm로 가장 크며, 그밖의 지역은 커다란 차이를 나타내지 않았다(그림 37).

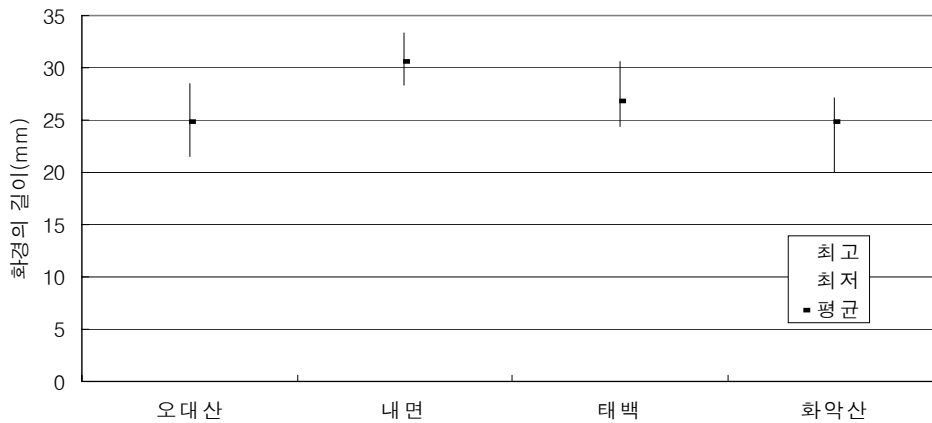


그림 37. 오미자의 산지별 화경의 길이

2) 산지별 오미자 화경의 폭

각 조사 지역의 표본을 대상으로 화경의 폭을 비교 조사하였다. 화경의 폭은 전체 평균 0.51mm이며 조사지역간의 차이가 전혀 인정되지 않았다(그림 38).

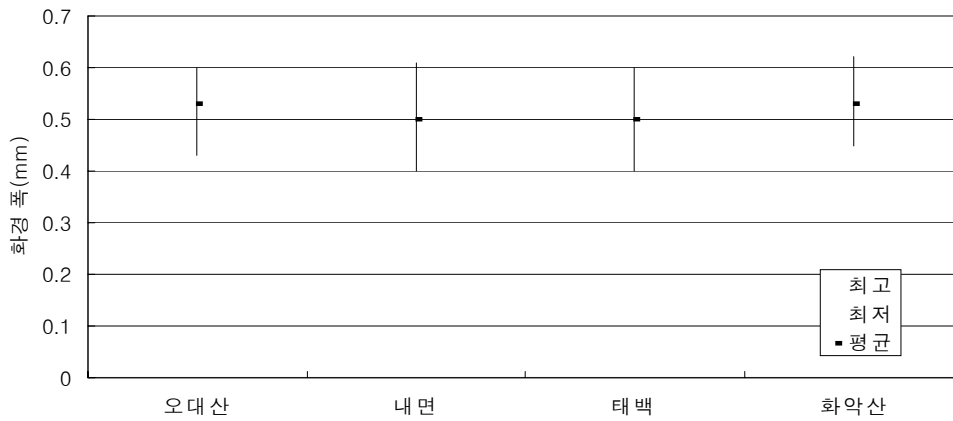


그림 38. 오미자의 산지별 화경의 폭

3) 산지별 오미자 꽃의 길이

각 조사 지역의 표본을 대상으로 꽃의 크기를 비교 조사하였다. 꽃의 길이는 전체 평균 9.23mm로 오대산, 태백 및 화악산 지역의 개체들 간에는 차이를 인정할 수 없으나, 내면 지역의 개체는 평균 7.65mm로 다른 지역의 개체보다 꽃의 길이가 매우 짧아 차이를 나타냈다(그림 39).

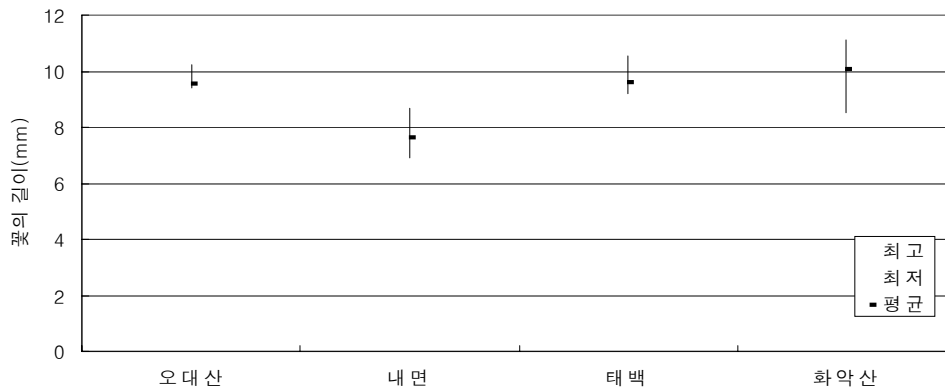


그림 39. 오미자의 산지별 꽃의 길이

4) 산지별 오미자 꽃의 폭

각 조사 지역의 표본을 대상으로 꽃의 폭을 비교 조사하였다. 꽃의 폭은 전체 평균 8.2mm 정도이지만 오대산과 화악산 지역의 개체는 약 10mm 정도로 큰 편이며, 내면과 태백 지역의 개체는 약 6-7mm로 작은 꽃을 갖는 것으로 나타났다(그림 40).

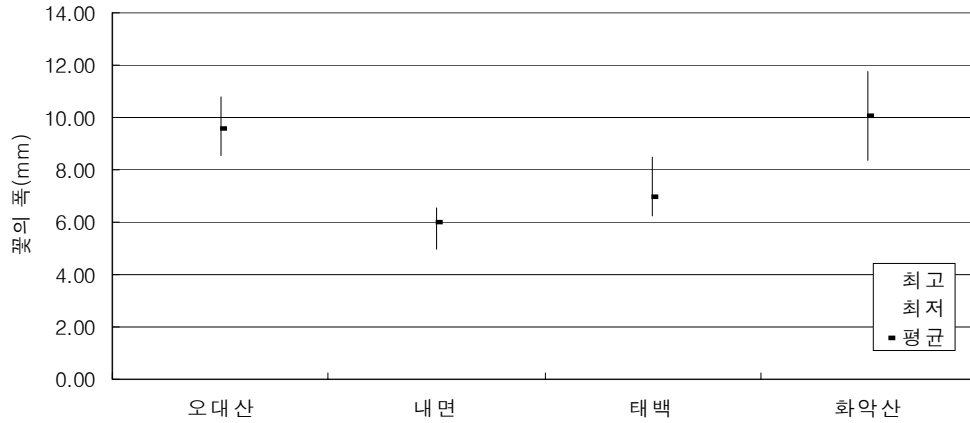


그림 40. 오미자의 산지별 꽃의 폭

5) 산지별 오미자 꽃잎의 수

각 조사 지역의 표본을 대상으로 꽃잎의 수를 비교 조사하였다. 꽃잎의 수는 전체 평균 6.56개 이지만, 내면과 태백 지역의 개체는 꽃잎이 6개이며, 화악산 지역의 개체는 8개로 뚜렷한 차이를 나타냈다. 그러나 오대산 지역의 개체는 6-7개의 잎을 갖는 것으로 나타났다(그림 41).

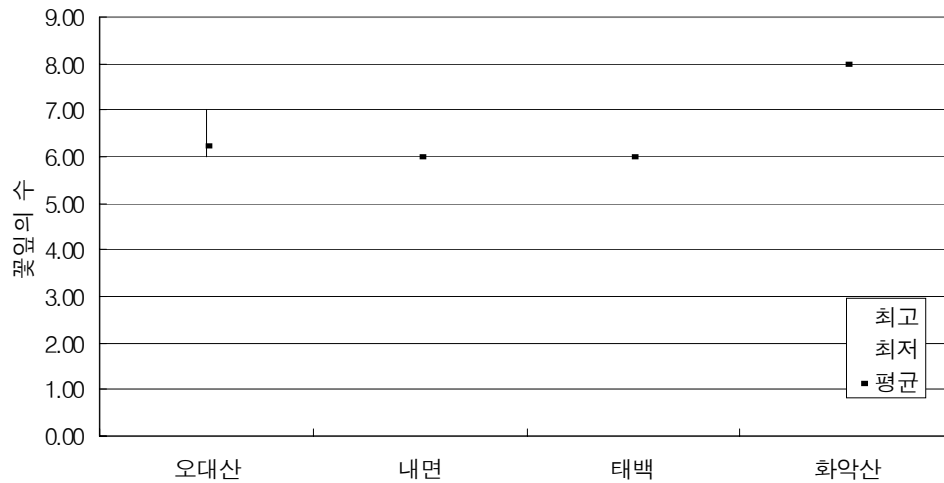


그림 41. 오미자의 산지별 꽃잎의 수

6) 산지별 오미자 꽃잎의 길이

각 조사 지역의 표본을 대상으로 꽃잎의 길이를 비교 조사하였다. 꽃잎의 길이는 전체 평균 9.1mm이며, 내면 지역의 개체는 평균 7.75mm로 작아 차이를 나타냈지만, 나머지 지역간에는 차이를 인정할 수 없었다(그림 42).

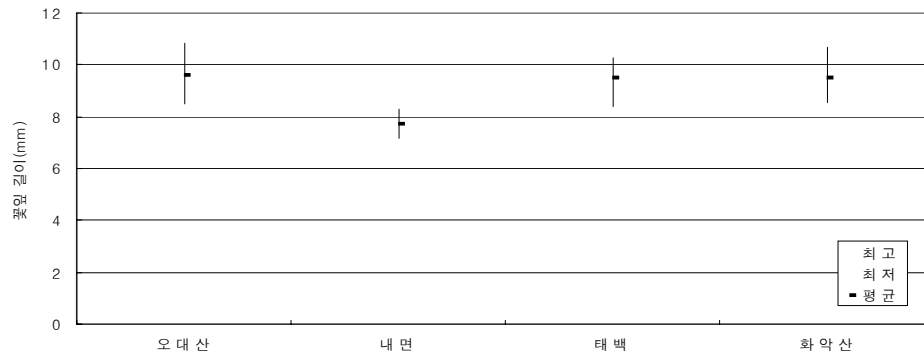


그림 42. 오미자의 산지별 꽃잎 길이

7) 산지별 오미자 꽃잎의 폭

각 조사 지역의 표본을 대상으로 꽃잎의 폭을 비교 조사하였다. 꽃잎의 폭은 전

체 평균 4.0mm 정도이며, 내면 지역의 개체는 평균 2.87mm로 작아 차이를 나타냈지만, 나머지 지역은 모두 4mm 이상이며 이들 지역간에는 차이를 인정할 수 없었다(그림 43).

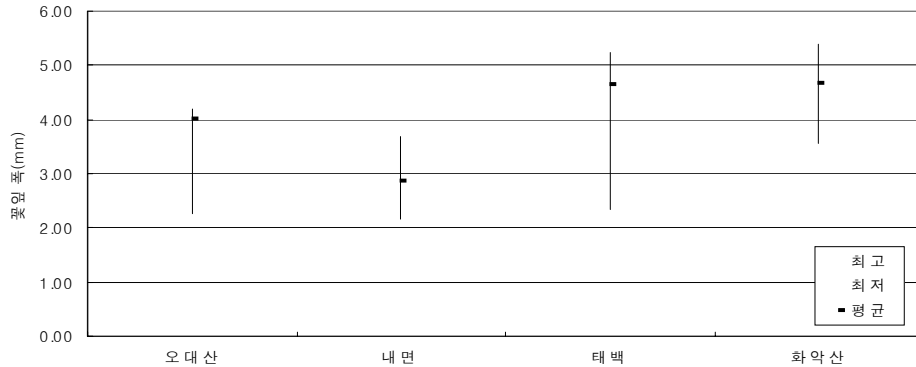


그림 43. 오미자의 산지별 꽃잎 폭

8) 산지별 오미자 화경당 꽃의 수(비립, 혼적포함)와 과경당 열매의 수

각 조사 지역의 표본을 대상으로 열매를 비교 조사하였다. 평균 화경당 꽃의 수와 과경당 열매의 수를 보면 오대산의 것이 꽃도 가장 많이 달리며, 충실하다는 것을 알 수 있으며, 화악산이 가장 낮은 것으로 나타났다(표 15).

표 15. 오미자 열매의 총수와 충실한 과실

	오대산	화악산	북방
꽃의 수/화경	9 - (28.3) - 37	12 - (19.2) - 30	7 - (24.2) - 43
열매의 수/과경	6 - (19.7) - 26	2 - (3.3) - 6	1 - (9.2) - 24

9) 산지별 오미자 열매의 충실률

각 조사 지역의 표본을 대상으로 열매를 비교 조사하였다. 충실률은 (열매의 수/과경) / (꽃의 수/화경(비립, 혼적포함))의 식으로 구하였다. 결과 오대산의 오미자가 가장 충실한 것으로 나타났으며, 화악산과 북방은 별 차이가 없는 것으로 나타났다(그림 44).

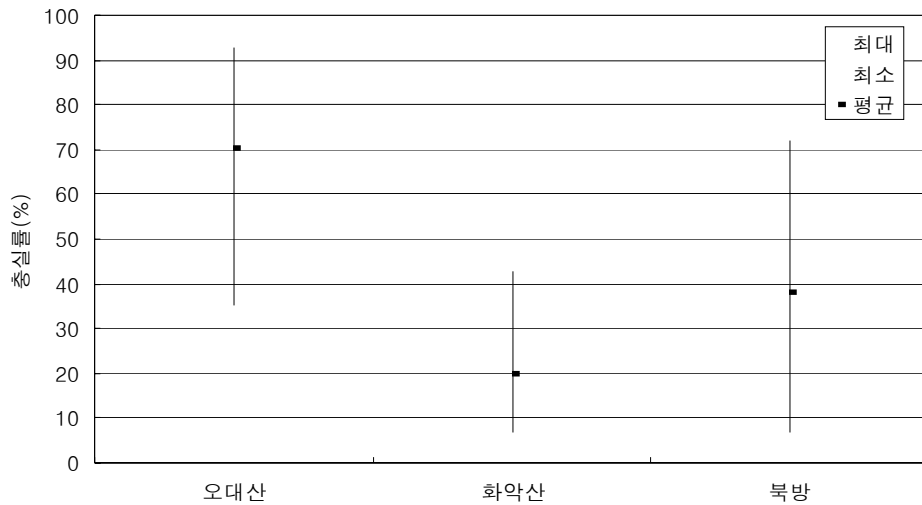


그림 44. 오미자의 산지별 열매 충실률

10) 오미자의 14가지 형질 특성간의 상관관계

오미자의 14가지 형질(표 16)간 상관관계를 분석하였다(표 17).

응예의 길이는 수술개수, 약의 길이는 화사의 길이, 화경 폭은 꽃의 폭, 꽃 길이는 꽃의 폭, 꽃잎 길이와 화사의 길이, 꽃잎 길이는 화사의 길이, 꽃잎 폭은 화사의 길이와 높은 정의 상관관계를 나타냈으며, 화경 길이와 꽃 길이는 높은 부의 상관관계를 나타내었다(5% 유의수준).

11) 오미자의 산지별 유연관계 및 유집군의 유형

오미자의 14가지 형질 특성에 대해 군집을 분석하였다(그림 45).

오미자 측정 형질 Euclidean distance 1.0에서 내면이 다른 산지와 구분되었고, Euclidean distance 0.5에서 태백이 다른 오대산, 화악산과 구분되었다. 또한 오미자의 14가지의 형질 특성에 대해 유집군의 유형을 조사하기 위하여 주성분분석을 실시하였다.

표 16. 오미자의 형질

X1	응예의 길이
x2	화상의 길이
x3	응예의 폭
x4	수술의 수
x5	약의 길이
x6	꽃잎의 수
x7	화경의 길이
x8	화경의 폭
x9	꽃의 길이
x10	꽃의 폭
x11	꽃잎의 길이
x12	꽃잎의 폭
x13	화사의 폭
x14	화사의 길이

제 3주성분까지가 eigenvalue 1.0이상으로 전체 변이의 100%를 설명하고 있음을 알 수 있다(표 18). 또한 제 1주성분의 기여율은 70.5%로서, 약 길이(X5) 꽃 길이(X9), 꽃잎 폭(X12), 화사의 길이(X14) 특성이, 제 2주성분의 기여율은 16.8%로 응예의 길이(X1), 응예의 폭(X3)의 특성이, 제 3주성분의 기여율은 12.7%로 꽃잎장수(X6), 화사의 폭(X13)의 특성이 오미자의 산지별 분류에 중요한 정보를 주는 요인으로 나타났다(표 19).

표 17. 오미자의 상관분석

	x1	x2	x3	x4	x5	x6	x7	x8	x9	x10	x11	x12	x13	x14
x1	1.0000													
x2	0.8359	1.0000												
x3	0.9150	0.5451	1.0000											
x4	0.9661*	0.9419	0.7931	1.0000										
x5	0.7806	0.7212	0.6931	0.8206	1.0000									
x6	0.2083	-0.475	0.3944	0.1543	0.6575	1.0000								
x7	-0.6417	-0.7617	-0.4533	-0.7565	-0.9490	-0.5449	1.0000							
x8	0.0862	0.2891	-0.0363	0.2294	0.6767	0.6726	-0.8100	1.0000						
x9	0.8234	0.7873	0.7066	0.8712	0.9947	0.5778	-0.9509*	0.6342	1.0000					
x10	0.3115	0.4336	0.2009	0.4275	0.8315	0.7357	-0.9101	0.9712*	0.7956*	1.0000				
x11	0.8250	0.9050	0.6170	0.9164	0.9421	0.3755	-0.9539	0.5981	0.9686*	0.7453	1.00000			
x12	0.9367	0.7834	0.8733	0.9274	0.9456	0.5066	-0.8282	0.4011	0.9598	0.6058	0.9155	1.0000		
x13	0.5012	-0.0258	0.7975	0.3077	0.4755	0.7019	-0.1854	0.0000	0.4296	0.1721	0.2188	0.5750	1.0000	
x14	0.9246	0.8378	0.8158	0.9446	0.9582*	0.4673	-0.8764	0.5425	0.9774*	0.6498	0.9564*	0.9929*	0.4774	1.0000

표 18, 오미자의 주성분 분석

	고유값	차	비율	누적비율
제1 주성분	9.8699	7.5171	0.7050	0.7050
제2 주성분	2.3527	0.5753	0.1681	0.8730
제3 주성분	1.7773	1.7773	0.1270	1.0000

표 19, 오미자의 주성분 분석-1

	제1 주성분	제2 주성분	제3 주성분
x1	0.2755	0.3261	-0.0099
x2	0.2549	0.1763	-0.4005
x3	0.2413	0.3434	0.2878
x4	0.2863	0.2441	-0.1686
x5	0.3143	-0.0958	0.0423
x6	0.1754	-0.3390	0.4894
x7	-0.2942	0.2103	0.1521
x8	0.1812	-0.5318	-0.0752
x9	0.3172	-0.0517	-0.0145
x10	0.2370	-0.4346	-0.0244
x11	0.3071	-0.0178	-0.1959
x12	0.3116	0.1176	0.0698
x13	0.1480	0.1430	0.6432
x14	0.3154	0.0866	-0.0112

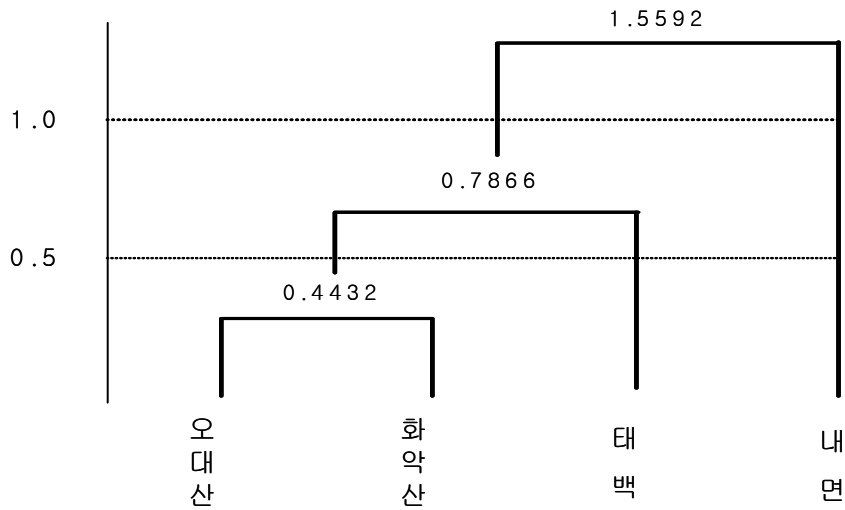


그림 45. 오미자의 유집분석

12) 오미자화분의 형태

화분의 크기를 측정하기 위하여 비교적 형태가 원형을 유지하며 일정한 모양을 갖춘 것을 선별하여 극축의 길이와 그것의 직각으로 적도면의 길이를 측정하였다. 발아구는 극축의 길이와 일치하여 측정하지 않았으며, 발아공은 존재 하지 않아 측정하지 않았다(그림 46).

표면 무늬는 망상이며, 망의 모양은 다각형으로 모든 산지에서 동일하게 나타났다.

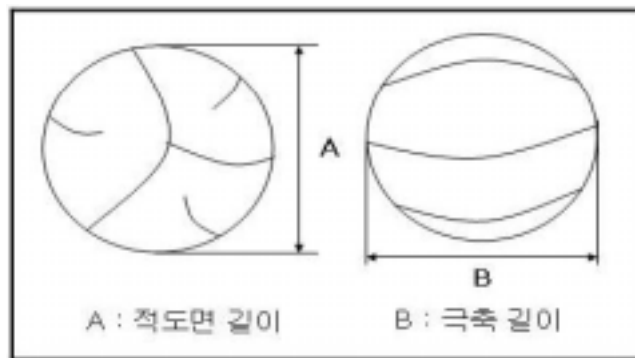


그림 46. 오미자의 화분 측정

오미자의 산지별 화분에 대한 적도면의 길이를 조사한 결과, 내면의 오미자 적도면의 분산이 적으면서 가장 높게 나타나고, 태백이 분산이 가장 컸다. 그러나 전체 조사지역 평균 27.68 μm 으로 산지간의 변이의 폭이 현저하게 크다고 판단하기에는 다소 무리가 있다고 판단된다(그림 47).

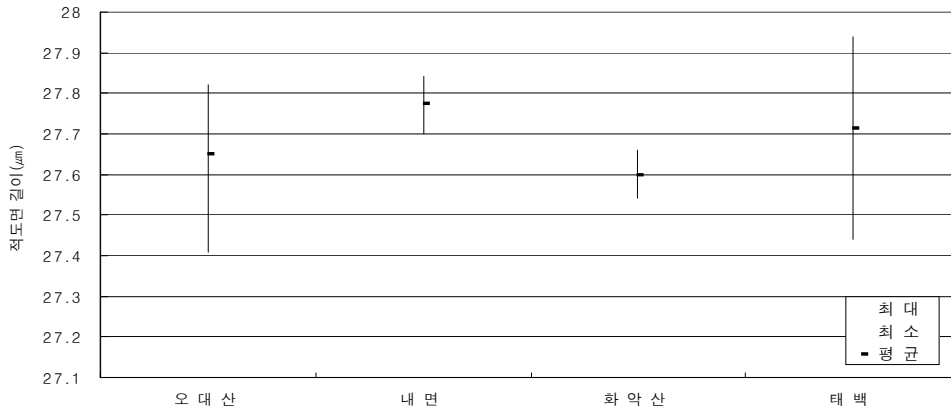


그림 47. 오미자의 산지별 화분 적도면의 길이

오미자의 산지별 화분에 대한 극축의 길이를 조사한 결과, 내면이 가장 적고, 태백이 가장 긴 것으로 나타났으나, 전체 조사지역 평균 22.62 μm 로 산지간의 변이의 폭은 크지 않았다(그림 48).

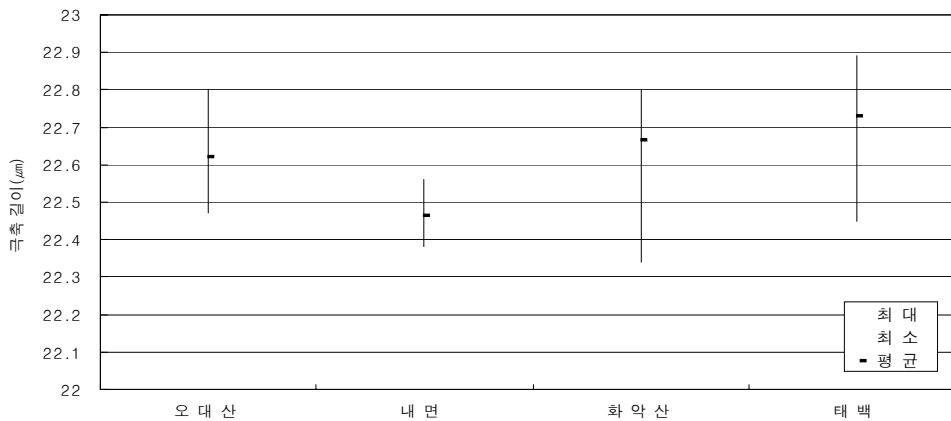


그림 48. 오미자의 산지별 화분 극축 길이

13) 유전변이 분석을 위한 DNA 시료의 채취

집단간 개체변이는 20개의 primer를 이용하여 오갈피와 5개지역(삼악산, 오대산, 치악산, 중국, 러시아)으로부터 수집되어 재배되고 있는 가시오갈피에 대한 RAPD를 수행한 바, 모든 primer에서 가시오갈피와 오갈피간에 다양한 polymorphism을 보이는 것으로 나타났다.

표 20. SCAR marker를 이용한 가시오갈피 집단의 구분

자 생 지	검출된 SCAR marker
을수	2, 3, D, E, F, G
운두령	D, F
정선	3, E
덕유산	2, 3, E, G
삼악산, 상남	2, 3, D, E, F
오대산, 중국, 창춘	2, 3, E, F, G
자운, 점봉산, 가리산	2, D, E, F
치악산, 진동리, 백석	D, F, G
러시아, 고양산	2, 3, E

그러나 동일한 지역에서 수집된 개체들은 42개 primer를 이용하여 분석한 결과 동일한 band pattern을 보였다. 한편 6개의 SCAR marker를 이용하여 각 산지별 가시오갈피를 구별하고자 시도된 바, 현재는 9개의 그룹으로 구분할 수 있었다(표 20).

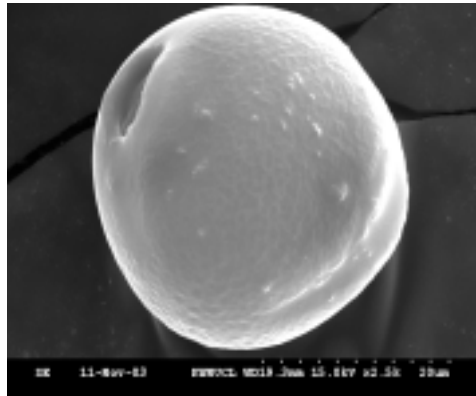
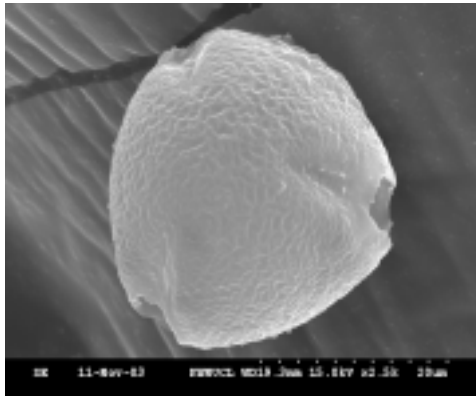
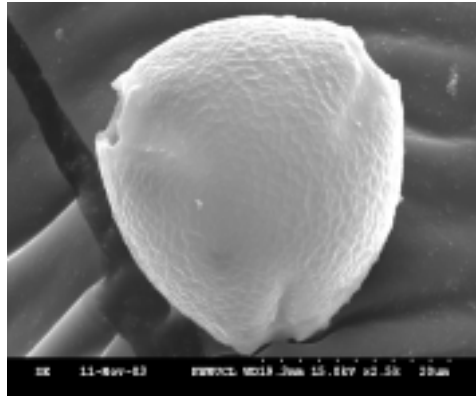
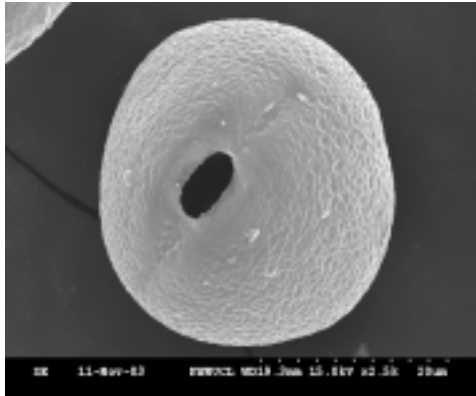


그림 49. 오갈피의 화분

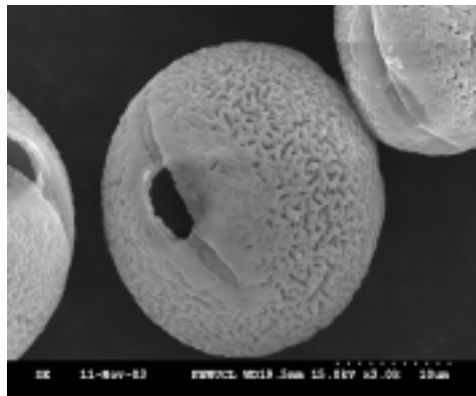
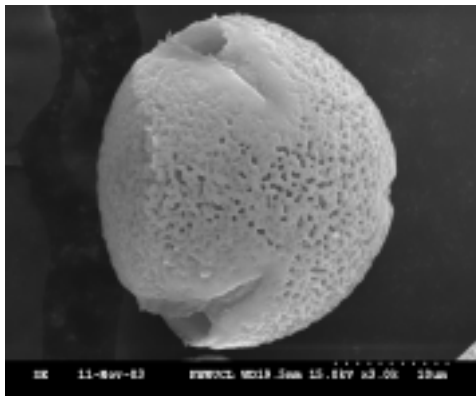
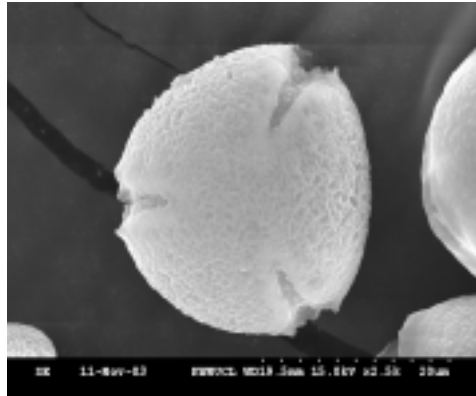
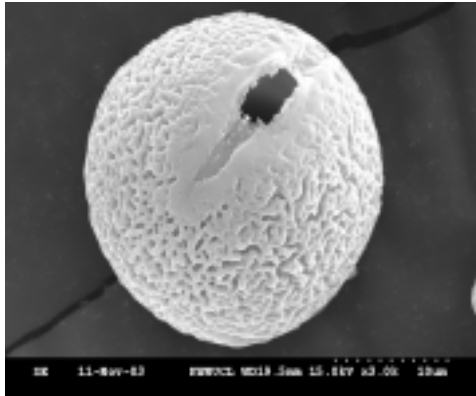


그림 50. 가시오갈피의 화분



그림 51. 가시오갈피 사진



그림 52. 오미자 사진

제 7 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

가시오갈피 및 오미자류의 식용 및 약용으로서의 가치가 인정되고 일반적으로 알려지면서 소비량이 매우 증가되어 있다. 그러나 가시오갈피 및 오미자류는 극히 제한된 지역에 소규모로 자생하고 이를 천연상태에서 채취·이용하고 있는 실정이다. 이로 인하여 자생군락지는 파괴되고, 우량 자원이 감소되고 있는 추세이므로 자생 식물 유전자원을 체계적으로 탐색하여 수집과 보존하는 국가 차원의 연구사업과, 첨단 생물공학기법을 이용하여 우량 유전자원을 분류 및 동정을 하고 이를 品種化하는 基盤 研究가 필요하다.

그러나 가시오갈피류는 자생지와 그 개체수가 극히 희소하고 인체의 순환기 계통 등에 약용가치가 뛰어나게 높은 것으로 평가되고 있어 대량증식이 매우 필요하며, 오미자류의 경우에도 자생지역의 분포지역이 한정되어 있고, 그 개체수도 대단히 적어 개체의 보존과 개체의 생리 생태적 특성을 구명과 栽培法을 확립하며 대량 증식기법 개발을 위하여 본 연구를 수행하였다.

먼저 제한된 자생분포지역과 개체가 희소한 가시오갈피에 대하여 유전자원 수집 동정과 산지검정을 평창, 삼척 등지에서 실시하였는데 60% 이상의 차광지역 해발 약 800m의 고산지역에서 일반적으로 생육하였다. 이를 임가에서 재배될 수 있도록 모체의 우수산지 선발로 인한 재배기술의 개발로 종자발아 시험에서 노천매장과 상온화분 저장처리 등 2처리 별로 종자저장처리를 하여 과중시험을 실시한 결과에서 發芽率은 상온화분저장처리에서 89%로 82%의 노천매장보다 다소 양호하게 나타났다.

발아 실험을 위한 혼합상토 재료로 토사입경 1mm의 세립토사형인 BM₁이 입경 2mm의 BM₂가 상토의 발아 및 생육상황이 보다 양호하였으며, 과중복토에서의 발아율은 Peatmoss보다 Vermiculite에서 우수하게 나타났다.

산지별 삼목발근율 증진시험으로 peatmoss와 vermiculite, perlite를 동량으로 배합한 배양토를 상토로 가시오갈피의 산지 또는 clone별 숙지삼목을 실시한 결과 덕유산 등 6산지 중에서의 평균 발근율은 34.2%로 나타났고, 을수2의 경우 54.2%로 가장 높은 발근율로 나타났다. 생육 적정 차광도를 구명에서는 25~50%의 차광이 적정한 것으로 나타났으며, 시료의 부위별 대절처리 및 맹아수 조절에 의한 다경유도 시험과 산지식재 시험을 수행한 결과 주간을 존치하고 근맹아의 중단부를 절단한 처리에서 다경수 5개로 가장 많고 다경의 생장 길이에서도 47cm로 가장 양호하였다

또한 우량품종 선발에 있어서 5個의 產地別 생장, 엽(葉) 및 개화결실 특성조사

에 의한 산지 검정하여 을수2 등 가시오갈피 21산지에 대한 성장특성조사를 실시한 결과 수고, 근원경 및 신초생장 등 산지간 차이가 크게 나타났으며, 홍천2와 홍천1, 덕유산, 홍천6 및 오대산등 5산지의 신초생장이 양호하여 이들 산지선발이 유망하였고 보급기반 조성으로 종자연구소의 춘천과 충주 시험림에 採種園을 조성하였다.

생물학적 검증을 통한 우량품종육성 방안을 검토하였는데 가시오갈피에 대한 PCR의 최적조건 확립을 위하여 genomic DNA 추출법으로 kit를 이용한 경우가 비교적 깨끗한 DNA가 추출되었다. PCR에 이용되는 DNA의 농도에 따른 band pattern 변화를 확인하기 위해 10ng, 30ng, 50ng, 100ng/100 μ l의 DNA를 첨가하여 PCR을 수행한 결과, 10 ng에서는 적은 수의 bend를 얻었고, 50ng과 100ng의 경우는 비특이적인 band 또는 smear한 band pattern을 보여 많은 양의 template가 오히려 PCR을 저해하는 것으로 나타났다.

또한 품종 및 개체 변이 조사에서 모든 primer에 대해 가시오갈피와 다른 band pattern을 나타내어 품종간에 많은 유전적 변이가 존재함을 확인할 수 있었다. 산지별로 구별한 RAPD의 수행 결과, 120개의 primer 중 112개의 primer에서 국산 및 외국산의 구별 없이 동일한 band pattern을 나타내었으나 8개의 primer에 대해 polymorphic한 band pattern을 보여 地理的 分布에 따른 차이를 확인할 수 있었다.

가시오갈피의 기내대량증식법 개발에서 체세포배 형성율, 식물체 재분화율 그리고 토양순화율에 있어서 배양형태(고체배지, 액체배지)간의 차이가 다소 있지만 체세포 배발생에 의한 식물체의 생산성은 높게 나타나 멸종위기에 처한 약용식물인 가시오갈피의 대량번식은 배발생 캘러스와 현탁배양에 의해 가능해질 수 있다고 사료된다.

한편 유전자원을 탐색으로 자생지의 다양한 변이체 등의 선발을 위하여 육종집단 조성용 자원수집 및 보존하고, 유전자원의 분류와 형태학적 특성조사로 품종 분류를 동정과 DNA분석과 변이검사로 유전변이 분석으로 분류형태학적 변이의 규명을 하고자 하였다.

그 결과 산지별로 가시오갈피의 가시와 주화경에서 산지간에 변이의 폭이 큰 것을 알 수 있었고, 유전변이 분석을 위한 DNA 시료에 의한 집단간 개체변이는 20개의 primer를 이용하여 오갈피와 5개지역(삼악산, 오대산, 치악산, 중국, 러시아)으로부터 수집되어 재배되고 있는 가시오갈피에 대한 RAPD를 수행한 바, 모든 primer에서 가시오갈피와 오갈피간에 다양한 polymorphism을 보이는 것으로 나타났으며, 동일한 지역에서 수집된 개체들은 42개 primer를 이용하여 분석한 결과 동일한 band pattern을 보였다.

자생지별 가시오갈피의 산지간 화분의 외부형태적 특징과 차이점을 SEM으로

관찰한 결과, 발아구의 길이와 폭, 그리고 발아공의 길이에서 차이가 있을 뿐 산지간에 거의 동일한 형태인 것으로 나타났다. 발아구의 길이는 대부분 산지의 개체들은 15 μ m 정도인 것에 반하여 중국에서 들여와 재배되고 있는 개체의 화분은 평균 22.07 μ m로 차이가 인정되었다.

또한 발아구의 폭에서는 크게 2개의 그룹 즉, 평균 3 μ m 정도의 폭을 갖는 개체와 평균 6 μ m 정도의 폭을 갖는 그룹으로 구분되었다. 그리고 발아공의 길이에서는 대부분 산지의 개체들은 5 μ m 정도인 것에 반하여 덕유산 지역 개체의 화분은 평균 2.78 μ m로 작은 發芽孔을 갖고 있어 차이가 인정되었다.

한편 오미자류에서 흑오미자는 직경이 굵을수록 개화결실과 열매의 충실한 발육이 이루어져 집약재배를 하고자 할 때에는 충분한 비배관리가 요구된다고 사료되었다. 종자발아에서는 과종 2년차 발아율에 있어서 냉장습사처리구와 노천매장처리구가 93~95%로 양호한 발아율을 나타낸 반면 냉장저장 및 비교구인 상온저장처리구에서는 38~61%로 냉장습사처리구와 노천매장처리구에 비해 저조한 발아율을 보였다.

그리고 삼수에 의한 번식에서 삼수 채취시기는 삼수가 경화되지 않은 7월 초순에 채취하여 IBA 500 mg/l 를 처리하여 삼목 하였을 경우가 가장 효과적일 것으로 판단되며, 삼목상토별 발근율에서는 배양토(peatmoss+vermiculite+perlite)+흑오미자+마사(眞砂土)에서 가장 높았고, 온실보다는 수하에 위치한 插木床에서 다소 양호하였다.

오미자류의 암수유전특성을 구명하기 위하여 흑오미자를 중심으로 산림과학원 난대림연구소에서 20개체의 실생묘를 무작위적으로 선택하여 암수 SCAR marker의 유용성을 검증하였다. 20개의 표본으로부터 잎을 채취하여 genomic DNA를 분리한 후, 성의 구별이 가능하였던 특이적 primer들을 이용하여 PCR을 수행하였다. 그 결과 20개의 표본 중 9개의 DNA에서 460 bp의 band가 검출되었고, 암그루 특이적 marker인 female 1 primers를 이요한 경우에는 12개의 PCR 산물에서 436 bp의 band를 검출할 수 있었다.

오미자의 외부형태학적 형질 가운데 자생지간 뚜렷한 차이를 보이는 형질은 없었으며 형질의 연속성이 인정되었으나 과실의 수에서 차이를 나타냈다. 주사전자현미경(SEM)을 이용하여 오미자의 산지간 화분의 외부형태적 특징과 차이점 크기나 모양에서 차이가 없었으며, 오대산의 과실이 가장 충실하게 나타났다.

본 연구에서는 이와 같이 희소하면서 귀중한 약용자원에 대한 과종 및 삼목시험을 통해 대량번식기술을 개발함으로써 희귀자원의 멸종위기를 해소하는 효과가 기대되며, 다수의 산지로부터 자생식물을 수집, 보존하고 이를 선발육종의 대상으로 하여 산지개체별 생장, 결실특성 및 생태적 특성 등 산지검정을 통하여 우량 약용식물 품

종의 육성에 의한 고효율 소득 작물의 보급이 기대된다. 또한 국산 자생수종의 구별 방법이 가능하여 低品質의 외국 수입산에 의한 부작용이 해소될 것으로 기대한다.

제 8 장 연구개발 결과의 활용계획

가시오갈피 및 오미자류의 식용 및 약용으로서의 가치가 높게 인정되고, 일반적으로 알려지면서 자생 군락지의 파괴로 우량 유전자원이 감소되고 있는 추세이므로 자생 식물 유전자원을 체계적으로 탐색하여 수집과 보존하는 국가차원의 연구사업과 첨단 생물공학기법을 이용하여 우량 유전자원을 분류 및 동정을 하고 이를 품종화하는 기반조성이 필요하였다.

이를 위하여 본 연구에서는 제한된 자생분포지역과 개체가 희소한 가시오갈피에 대하여 유전자원 수집동정과 산지검정을 평창, 삼척 등지에서 실시하여 임가에서 재배될 수 있도록 모체 선발하였으며, 재배기술의 개발로 종자발아는 노천매장이 유리하고, 발아를 위한 혼합상토 재료는 토사입경 1mm의 세립토사형인 BM₁이 상토에서 발아 및 생육상황이 양호하였으며, 파종복토에서의 발아율은 Peatmoss보다 Vermiculite에서 우수하였다.

산지별 삼목발근은 을수2가 높으며 생육 적정 피음은 25~50%의 차광이 적정하였다. 시료의 부위별 대절처리 및 맹아수 조절에 의한 다경유도시험과 산지식재에서 주간을 존치하고 근맹아의 중단부를 절단한 처리에서 우수하였다.

또한 우량품종 선발에 있어서 홍천2와 홍천1, 덕유산, 홍천6 및 오대산등 5개 산지는 신초생장 등이 양호하여 산지선발로 약 1만여 묘목생산을 하였으며, 보급기반 조성으로 종자연구소의 춘천과 충주 시험림에 채종원을 조성하였다.

유전자원을 탐색으로 DNA 시료에 의한 집단간 개체변이는 20개의 primer를 이용하여 RAPD의 수행, SEM을 이용한 산지 구별 등으로 유전자원의 보호, 기내대량 증식법 개발에서 체세포배 형성율, 식물체 재분화율 그리고 토양순화율에 있어서 고체배지와 액체배지의 배양형태에서 차이가 다소 있지만 체세포 배발생에 의한 식물체의 생산성이 높게 나타나 실내 대량생산의 가능성을 제시하였다.

한편 오미자류에서 흑오미자는 직경이 굵을수록 개화결실과 열매의 충실한 발육이 이루어져 집약재배를 하고자 할 때에는 충분한 비배관리가 요구되는 것으로 나타났다. 삼수의 의한 번식에서 삼수 채취시기는 삼수가 경화되지 않은 7월 초순에 채취하여 IBA 5,00mg/l를 처리하여 삼목 하였을 경우가 가장 효과적일 것으로 판단되며, 삼목상토별 발근율에서는 배양토+흑오미자+마사에서 가장 높았다.

오미자류의 암수유전특성을 구명으로 흑오미자의 암수 SCAR marker 유용성을 검증하여 20개의 표본으로부터 잎을 채취하여 genomic DNA를 분리한 후, 성의 구별이 가능하였던 특이적 primer들을 이용하여 PCR을 수행하였다. 그 결과 20개의

표본 중 9개의 DNA에서 460 bp의 band가 검출되었고, 암그루 특이적 marker인 female 1 primers를 이용한 경우에는 12개의 PCR 산물에서 436 bp의 band를 검출할 수 있었다

이와 같은 결과는 농산촌 단기소득작물로서 재료의 공급과 재배기술의 지도가 가능할 것으로 기대되며, 연구 성과의 일부는 한국 생태학회, 한국임학회 그리고 농림기상학회에 발표하였으며, 계속하여 연구학술지에 투고하여 가시오갈피와 오미자류에 대하여 재배기술 등을 보급할 예정이다.

참고문헌

- 김원배, 최관순, 김병현, 김정건, 김정기, 김종화, 유기억, 이우철, 임학태. 1996. 금강 초롱꽃의 생리 생태적 특성. 한국원예학회지 37:561-567.
- 김판기, 이은주. 2001a. 광합성의 생리생태(1) -광도와 엽육내 CO²분압 변화에 대한 광합성 반응. 한국농림기상학회지 3:126-133.
- 김판기, 이은주. 2001b. 광합성의 생리생태(2) -환경변화에 대한 광합성의 적응반응. 한국농림기상학회지 3:171-176.
- 김판기, 이은주. 2001c. 광합성의 생리생태(3) -CO²농도와 온도상승에 대한 광합성 반응. 한국농림기상학회지 3:238-243.
- 김판기, 이용섭, 정동준, 우수영, 성주환, 이은주. 2001. 광도가 내음성이 서로 다른 3 수종의 광합성 생리에 미치는 영향. 한국임학회지 90:476-487.
- 김판기, 김선희, 이상모, 이철호, 이은주 2002b. 김포 수도권 매립지에 식재된 현사시 나무의 환경 적응 반응(2) -수분생리를 중심으로. 한국임학회지 91:279-286.
- 김찬수, 강영제. 1992. 기내배양 및 삼수에 의한 후박나무 증식. 임육연보 28:58-62.
- 宮森康雄, 大垣昭一. 1982. 1977年 有珠山噴出物の輕視變化-特に鹽基溶脱について. ベドロジスト 26:15-26.
- 박우철. 1989. 한국산 두릅나무과의 화분분류학적 연구. 식물분류학회지. Vol. 19. No,2 pp.103-121

박호기, 박문수, 김태수, 김선, 최경구, 박기훈. 1997. 가시오가피의 종자 후숙처리시 배의 생장과 개갑 특성. 한국작물학회지 42(6) : 673-677.

박홍락, 구영본, 변광옥, 김판기. 1996. 내공해수 품종육성시험 연구결과. 임목육종연구소 연구보고서. p230~259.

심경구, 서병기, 조남훈, 김건호, 심상철. 1992. 한국 자생 노각나무에 관한 연구. -II. 노각나무의 실생번식 및 녹지삼목-. 한국원예학회지 34(2):160-166.

유기억, 이우철, 김남수, 김종화, 임학태. 1996. RAPD방법에 의한 금강초롱꽃과 근연분류군의 비교연구. 한국원예학회지 37:561-567.

유기억, 이우철, 임학태 1995a. 금강초롱꽃과 근연 분류군의 비교연구 1. 외부형태 및 해부학적 형질. 자원식물학회지 8(3):223-236.

이성호, 임정대, 김명조, 유창연. 2003. 가시오갈피 GA3처리에 따른 종자발아와 유묘 생존. 한국약용작물학회지. 11(3) : 207-211.

이상태. 1986. 화분학과 식물분류학. 한국양봉학회지. 제1권 제1호 ;pp. 46-53.

이상태. 1978. 화분형태의 계통학적 의의. 식물분류학회지. Vol. 8. Nos. 1,2 pp.59-68.

이영노. 1996. 원색한국식물도감. 교학사

이우철. 1979. 한국산 오갈피나무속 식물의 분포에 관하여. 생약학회지 10(3) : pp. 103-107.

이우철. 1996. 한국식물명고. 아카데미서적

이창복. 1980. 대한식물도감. 향문사

장남기. 1979. 한국화분도감. 서울대학교 출판부

장영희, 박춘근, 김영희. 1995. 오미자 수집종의 꽃과 과실특성. 한국약용식물작물학회지.Vol.3. No1. pp.35-40.

정덕영. 1992. 삽수의 클론, 모수령, 채취부위 및 발근촉진제가 낙엽송의 삽수발근에 미치는 영향. 서울대학교 석사학위논문. 28pp.

한정연, 최용의. 2003. 세포배양을 통한 가시오갈피(*Eleutherococcus senticosus*) 묘목의 대량 생산 시스템 개발. 식물생명공학회지 30(2) : 167-172.

허성두, 박유현, 이갑연, 유세걸. 2001. 오갈피와 가시오갈피의 자생지 생장 및 엽 특성. 한국농림기상학회 2001 학술발표논문집 89-92.

허성두, 박유현, 이갑연, 이성규, 김기철, 이정주, 이위영. 2003. 가시오갈피의 자생지 특성 및 산지간 생장비교. 한국임학회 2003 학술발표논문집 271-273.

Adams, M. D., S. E. Celniker, R. A. Gibbs, G. M. Rubin, and C. J. Venter. 2000. The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science* 287:2185-2189.

Bellamy, A., F. Vedel, and H. Bannerot. 1996. Varietal identification in *Cichorium intybus* L. and determination of genetic purity of F1 hybrid seed samples based on RAPD markers. *Plant Breed.* 115:128-132.

Beyermann, B., P. Nurnberg, A. Weihe, M. Mexier, and J. T. Epplen. 1992. Fingerprinting plant genomes with oligonucleotide probes specific for simple

- repetitive DNA sequence. *Theor. Appl. Genet.* 83:691-694.
- Bower, R. and J.P. van Buijtenen. 1977. A comparison of rooting success of greenhouse grown and field grown slash pine cuttings. *Can. J. For. Res.* 7:183-185.
- Braun-Blanquet. J. 1964. *Pflanzensoziologie*. Aufl. Springer. Wien. pp. 865
- Carter, K.K. 1984. Rooting of tamarack cuttings. *For. Sci.* 30:392-394.
- Choi YE, Kim JW, Yoon ES. 1999a. High frequency of plant production via somatic embryogenesis from callus or cell suspension cultures in *Eleutherococcus senticosus*. *Ann of Bot* 83: 309-314.
- Choi YE, Kim JW, Yoon ES. 1999b. Rapid propagation of *Eleutherococcus senticosus* via direct somatic embryogenesis from explants of germinating zygotic embryos. *Plant Cell Tiss Org Cult* 58:93-97.
- Dellaporta, S. L., Wood, J. and J. B. Hicks. 1983. A plant DNA miniprep: version 2. *Plant Molecular Biology Reporter* 1: 19-22.
- Demeke, T., R. P. Adams and R. Chibbar. 1992. Potential taxonomic use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) : a case study in *Brassica*. *Theor. Appl. Genet.* 84:990-994.
- Erdtman, G. 1971. *Pollen Morphology and Plant Taxonomy*, Vol. 1. Angiosperm. Hafner, New York.
- Farquhar, G.D. and T.D. Sharkey. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiology* 11:539-552.

- Farrar, J.L. and N.H. Grace. 1942. Vegetative propagation of conifers(XII). Effects of media, time of collection, and indole-acetic acid treatment on the rooting of white pine and white spruce cuttings. *Can. J. For. Res.* 20:205-211.
- Faegri, K. & J. Iversen. 1964. *Textbook of Pollen Analysis*, Ed.2. revised. Hafner Publ. Co., New York.
- Gui Y, Guo Z, Ke S, Skirvin RH. 1991. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Acanthopanax senticosus*. *Plant Cell Rep* 9: 514-516.
- Harms, H. 1918 *Acanthopanax*. *Mutt. Deuts. Ges.* 27:1, pro parte.
- Hoo, G. & C.J. Tseng. 1978. *Flora Reipublica Popularis Sinicae*. Tomus 54. Angiospermae Dicotyledonae Araliaceae. *Facultas Biologia Universitatis Amoensis*. pp.210.
- Hyun, S.K. and S.O. Hong. 1968. Fundamental mechanism of root formation in the cuttings of forest trees. *Res. Inst. For. Gen. Korea* 6:1-52.
- Hartman, H.T. and D.E. Kester. 1983. *Plant propagation : principles and practices*. prentice-HALL, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey, U.S.A. p. 199-342.
- Inoue, H., H. Nojima, and H. Okayama. 1990. High efficiency transformation of *Escherichia coli* with plasmids. *Gene* 96:23-28.
- Jung, J. S., H. S. Han, K. Y. Lee, C. H. Bae, and H. Y. Lee. 2001. A male associated DNA sequence in a dioecious plant, *Schisandra nigra*. *Breeding Science* 51:219-223.

- Kim, C.H. and J.C. Nam. 1985. Effects of some environmental factors on Japanese yew(*Taxus cuspidata* Sieb. et Zucc.). *J. Korean For. Soc.* 70:1-6.
- Kummerow, J. 1966. Vegetative propagation of *Pinus radiata* by means of needle fascicles. *For. Sci.* 12:391-398.
- Kim, J.W. 1990. A syntaxonomic scheme for the deciduous oak forests of South Korea, *Abstracta Botanica* 14 : 51-81.
- Kim, J.W. 1992. Vegetation of Northeast Asia-On the syntaxono and syngelography of the oak and beech forest. Ph.D Thesis. University of Wien
- Maximowicz, C.J. 1859. Araliaceae, in *Primitives Florae Amurensie*.
- Kim, Y. Y., J. O. Hyun, K. N. Hong, T. B. Choi, and K. S. Kim. 1997. Genetic variation of natural populations of *Pinus densiflora* in Korea based on RAPD marker analysis. *Kor. J. Breed.* 27:23-48.
- Koller, B., A. Lehmann, J. M. McDormott, and C. Gessler. 1993. Identification of apple cultivars using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 85:901-904.
- Lee, H. Y., H. S. Han, G. Y. Lee, S. S. Han, and J. S. Jung. 1998. Identification of monoecious and dioecious plants of *Schisandra nigra* using the RAPD markers. *Kor. J. Plant Tissue Culture.* 25:309-313.
- Lee, S. W., Y. Y. Kim, and K. W. Kwon. 1995. Genetic diversity of three native *Pinus* species in Korea. In: *Population genetics and genetic conservation of forest tree*. SPB Academic Publishing, Amsterdam, The Netherlands. pp. 211-218.
- Lee, S. W., Y. Y. Kim, J. O. Hyun, and Z. S. Kim. 1997. Comparison of genetic

- variation in *Pinus densiflora* natural populations by allozyme and RAPD markers. *Kor. J. Breed.* 29:72-83.
- Matsunaga, S., S. Kawano, and T. Kuroiwa. 1997. MROS1, a male stamen-specific gene in the dioecious campion *Silene latifolia* is expressed in mature pollen. *Plant Cell Physiol.* 38:499-502.
- McGurl, B., G. Pearce, M. Orozco-Cardenas, and C. A. Ryan. 1992. Structure, expression and antisense inhibition of the systemin precursor gene. *Science* 255:1570-1573.
- Murray, M. G., and W. F. Thompson. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res.* 8(19):4321-5.
- Pearce, G., D. Strydom, S. Johnson, and C. A. Ryan. 1991. A polypeptide from tomato leaves induces wound-inducible proteinase inhibitor proteins. *Science* 253:895-898.
- Ro, H.M., P.G. Kim, I.B. Lee, M.S. Yiem and S.Y. Woo. 2001. Photosynthetic characteristics and growth responses of dwarf apple saplings after 3 years of exposure to elevated atmospheric carbon dioxide concentration and temperature. *Trees* 15:195-203.
- Sande, V. K., Pawlowski, K., Czaja, I., Wieneke, U., Schell, J., and Bisseling. T. 1996. Modification of phytohormone response by a peptide encoded by ENOD40 of legumes and nonlegume. *Science* 273:370-373.
- Stiles, J. I., C. Lemme, S. Sondur, M. B. Morshidi, and R. Manshardt. 1993. Using randomly amplified polymorphic DNA for evaluating genetic relationships among papaya cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 85:697-701.

- Teramoto, H., T. Toyama, G. Takeba, and H. Tsuji. 1996. Noncoding RNA for CR20, a cytokinin repressed gene of cucumber. *Plant Mol. Biol.* 32:709-808.
- Vitry, C., Breyton, C., Pierre, Y., and Popot, J. L., 1996. The 4-kDa nuclear-encoded PetM polypeptide the chloroplast cytochrome b6/f complex: nucleic acid and protein sequences, targetting signals, transmembrane topology. *J. Biol. Chem.* 271:10667-10671.
- Waugh, R., and W. Powell. 1992. Using RAPD markers for crop improvement. *TIBTECH.* 10:186-191.
- White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M. Innis, S. Gelfand, J. Sninsky, and T. White (eds.), *PCR protocols: A guide to methods and applications.* Academic Press, San Diego. pp. 315-312.
- Wilde, J., R. Waugh, and W. Powell. 1992. Genetic fingerprinting of theobroma clones using randomly amplified polymorphic DNA marker. *Theor. Appl. Genet.* 83:871-877.
- Williams, J. G. K., A. R. Kubelik, J. Livak, J. A. Rafalski, and S. V. Tingey. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18:6531-6535.
- Yim, K.B. 1962. Physiological studies on rooting of pitch pine(*Pinus rigida* Mill) cuttings. *Res. Rep. Inst. For. Gen.* 2:22-56

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.

3. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	증식·재배 및 우량품종선발 기술개발
②	유용자원수종 암수 성감별 기술개발
③	우수산지 및 품종 동정기술 개발

4. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개발	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장으로 해결	정책 자료	기타
①의 기술		√						√	√	
②의 기술		√						√	√	

* 각 해당란에 v 표시

5. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	가시오갈피 등 유망자원의 재배기술 및 우량품종 보급에 의한 농산촌 유망 신소득원 개발
②의 기술	유용자원수종의 성감별에 의한 재배수종 고부가가치 창출
③의 기술	우수품종 조기동정에 의한 농가보급기간 단축

6. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명			
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	천원
이전방식	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타()		
이전소요기간		실용화예상시기	
기술이전시 선행조건			

- * 핵심기술이 2개 이상일 경우에는 각 핵심기술별로 위의 표를 별도로 작성
- * 기술이전시 선행조건 : 기술실시계약을 체결하기 위한 제반 사전협의사항(기술지도, 설비 및 장비 등 기술이전 전에 실시기업에서 갖추어야 할 조건을 기재)
- * 실용화예상시기 : 상품화인 경우 상품의 최초 출시 시기, 공정개선인 경우 공정개선 완료시기 등

연구개발보고서 초록

과 제 명	첨단기술을 이용한 자생오갈피, 오미자류의 유전자원수집 동정 및 우량품종개발				
	Development of superior <i>Acanthopanax</i> and <i>Schizandra</i> for genetic resource conservation and mass production by advanced technology				
주관연구기관	국립산림과학원		총 괄 연 구 책 임 자	(소속) 산림종자연구소	
참 여 기 업	-			(성명) 이 갑 연	
총연구개발비 (단위: 천원)	계	210,000	총 연 구 기 간	2001.8.~2004.8.(3년)	
	정부출연금	210,000	총 참 여 연 구 원 수	총 인 원	19
	기업부담금	-		내 부 인 원	13
	연구기관부담금	-		외 부 인 원	6
	기 타	-			
<p>○ 연구개발 목표 및 내용</p> <ul style="list-style-type: none"> - 재배기술개발 및 우량품종선발 - 분자생물학적특성 분석 및 증식체계확립 - 분류형태학적특성조사 및 유전자원탐색 수집 <p>○ 연구결과</p> <ul style="list-style-type: none"> - 재배기술개발 및 우량품종선발 <ul style="list-style-type: none"> ● 파종, 삼목 및 다경유도 등 증식법 개발 ● 생육적정 비음도 및 산지식재지구명 등 재배기술개발 ● 산지검정에 의한 우량품종 선발 - 분자생물학적특성 분석 및 증식체계확립 <ul style="list-style-type: none"> ● 암수유전특성, 암수 성감별 SCAR marker 개발 및 기내배양기술 개발 - 분류형태학적특성조사 및 유전자원탐색 수집 <ul style="list-style-type: none"> ● 영양 및 생식기관 등 형태학적특성 구명 ● 자생환경구명 및 유전자원 수집 <p>○ 연구성과 활용실적 및 계획</p> <ul style="list-style-type: none"> - 논문게재 : 한국생태학회지 26(6) : 321-326, 한국임학회 - 학술발표 : 한국임학회, 한국농림기상학회 - 홍 보 : 산림지 					

< 양식 4 >

자체평가 의견서

연구개발분야	임업	과제관리번호	201085-3		
연구과제명	첨단기술을 이용한 자생오갈피, 오미자류의 유전자원수집 동정 및 우량품종개발				
주관연구기관	국립산림과학원				
연구담당자	총괄책임자	이 갑 연			
	협동·위탁 ·세부 연구책임자	기관(부서)	강원대학교	성명	박완근
		"	순천대학교	"	정재성
연구기간	총기간	2001. 8.~2004. 8.	당해년도기간	2003.8~2004.8	
연구비(천원)	총규모	210,000	당해년도규모	70,000	

1. 연구는 당초계획대로 진행되었는가?

당초계획 이상으로 진행 계획대로 진행 계획대로 진행되지 못함

계획대로 수행되지 않은 원인은?

2. 당초 예상했던 성과는 얻었는가?

- 예상의 성과얻음 어느 정도 얻음 얻지 못함

3. 연구과정 및 성과가 농림어업기술의 발전·진보에 공헌했다고 보는가?

- 공헌했음 현재로서 불투명함 그렇지 않음

4. 경제적인 측면에서 농림어가의 소득증대에 공헌했다고 보는가?

- 공헌했음 현재로서 불투명함 그렇지 않음

5. 얻어진 성과와 발표상황

- 5-1 경제적 효과 기술료 등 수익 수익 :
 기업등에의 기술이전 기업명 :
 기술지도 등 기업명 :

- 5-2 산업·지적재산권 등 국내출원/등록 출원 건, 등록 건
 해외출원/등록 출원 건, 등록 건

- 5-3 논문게재·발표 등 국내학술지 게재 1건
 해외학술지 게재 건
 국내학·협회 발표 2건
 국내세미나 발표 건
 기타 1건

- 5-4 인력양성효과 석사 명
 박사 명
 기타 명

- 5-5 수상 등 있 다 상 명칭 및 일시 :
 없 다

- 5-6 매스콤등의 PR 있 다 1 건
 없 다

6. 연구개발착수이후 국내 다른 기관에서 유사한 기술이 개발되거나 또는 기술 도입함으로 연구의 필요성을 감소시킨 경우가 있습니까?

- 없다 약간 감소되었다 크게 감소되었다

감소되었을 경우 구체적인 원인을 기술하여 주십시오?

7. 관련된 기술의 발전속도나 추세를 감안할 때 연구계획을 조정할 필요가 있다고 생각하십니까?

- 없다 약간 조정필요 전반적인 조정필요

8. 연구과정에서의 애로 및 건의사항은?

(아래사항은 기업참여시 기업대표가 기입하십시오)

1. 연구개발 목표의 달성도는?
 만족 보통 미흡
 (근거 : _____)



2. 참여기업 입장에서 본 본과제의 기술성, 시장성, 경제성에 대한 의견
 - 가. 연구성과가 참여기업의 기술력 향상에 도움이 되었는가?
 충분 보통 불충분
 - 나. 연구성과가 기업의 시장성 및 경제성에 도움이 되었는가?
 충분 보통 불충분

3. 연구개발 계속참여여부 및 향후 추진계획은?
 - 가. 연구수행과정은 기업의 요청을 충분히 반영하였는가?
 충분 보통 불충분
 - 나. 향후 계속 참여 의사는?
 충분 고려 중 중단
 - 다. 계속 참여 혹은 고려중인 경우 연구개발비의 투자규모(전년도 대비)는?
 확대 동일 축소

4. 연구개발결과의 상품화(기업화) 여부는?
 즉시 기업화 가능 수년내 기업화 가능 기업화 불가능

5. 기업화가 불가능한 경우 그 이유는?

작 성 자

구 분	소 속 기 관	직 위	성 명
총괄연구책임자	국립산림과학원	임업연구관	이 갑 연 
협동연구책임자	강 원 대 학 교	조 교 수	박 완 근 
협동연구책임자	순 천 대 학 교	조 교 수	정 재 성 