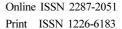
Vol. 20, No. 2, pp. 83-92 (2016)

Open Access http://dx.doi.org/10.7585/kjps.2016.20.2.83

ORIGINAL ARTICLES / Development





수피상처치료를 위한 식물생장조절물질 기반 상처유합제 개발

민호정 · 김병관 · 차병진*

충북대학교 식물의학과

Development of Wound-treatment Formulation Using Plant Growth Regulators for Wound Healing of Some Tree Species

Hojung Min, Byeongkwan Kim and Byeongjin Cha*

Dept. of Plant Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea (Received on June 20, 2016. Revised on June 27, 2016. Accepted on June 28, 2016)

Abstract New tree wound-treatment formulations (WTF) were developed in this study. Stimulating effects of plant growth regulating substance on callus formation were evaluated *in vivo* twig disc culture of *Zelkova serrata, Ziziphus jujuba, Pinus densiflora, Ginkgo biloba. and Aesculus turbinata*. Based on the evaluation, WTF were prepared with 2,4-D, NAA, and IBA using xanthan gum as an extending agent. WTF were pasted on 2 × 10 cm artificial wound on the stem and the effects were evaluated 12 weeks later with the thickness of new callus-tissues. The effects varied with tree species and the growth regulators. In *Z. serrata* and *A. turbinata*, 2 mg/L of 2,4-D was the best WTF. In *P. koraiensis* and *G. biloba*, 8 mg/L of NAA and 1 mg/L of IBA were the best, respectively. Callus formation was quite lower in *G. biloba* compared to other species. Stimulating effect of thiophanate-methyl paste was excellent only in *Z. serrata* and lower than certain WTF in other species. Vaseline, which was used generally as an WTF, remained longer on the wound and causing decay. From the results, it could be recommended that 2,4-D, NAA and IBA were the best WTF for *Z. serrata/A. turbinata*, *P. koraiensis* and *G. biloba*, respectively.

Key words 2,4-D, callus, IBA, NAA, wound-treatment

서 론

나무는 해를 거듭하여 살아가면서 태풍 등 자연재해는 물론, 관리를 위한 전정 등 여러 가지 인위적 상처를 받는다. 작은 상처는 큰 문제를 일으키지 않고 치료되는 경우가 많지만, 상처가 크다든지 관리가 잘못되면 나무의 경제적 가치를 떨어뜨릴 수도 있으며, 때로는 나무의 생명을 위협하기도 한다. 따라서 사람들은 오래 전부터 나무의 상처가 신속하게 잘 아물게 하기 위하여 석회나 재 등 여러 가지 물질들을 사용해 왔으며, 20세기에 들어와서는 일부에서 콜타르와 크레오소트(creosote)가 사용되었다(Hudler and Jensen-Tracy 2002).

상처가 잘 아물지 않을 경우에는 부후로 진행되는 것이

하여 CODIT (Compartmentalization of Decay in Tree) 개념으로 설명되는 조직구획화를 진행한다(Shigo 1988; 1991). 상처나 감염 부위의 구획화는 4개의 벽으로 이루어지는데, 네 번째 벽은 형성층으로부터 새로 만들어지는 보호조직으

과 혼합하여 사용하기도 하였다(Padfield 1955).

기면 형성층은 새로운 보호조직을 만들어 상처 발생 당시의 조직을 새로운 형성 조직으로부터 분리시키고, 노출된 상처

로서 4개의 벽 중에서 가장 강력한 방어벽이다. 상처가 생

일반적이므로(Kozlowski and Pallardy 1997; Tattar 1986) 살균제를 주성분으로 하여 상처도포제를 개발하려는 시도가

끊임없이 이어져, 건물이나 가구 등에 사용하는 일반 페인

트에 황산구리(copper sulfate)나 bichloride of mercury를 혼

합하여 사용하거나(Collins 1934), 보르도액과 펜타클로르페

놀(pentachlorophenol) 등을 바셀린(petroleum jelly, vaseline)

나무도 자기방어 체계를 갖추고 있어서 상처를 입으면 목 재 부후균을 비롯한 다양한 미생물들의 침입을 봉쇄하기 위

^{*}Corresponding author E-mail: bjcha@cbnu.ac.kr

의 외부를 에워싸서 더 이상 외부로부터의 감염을 차단한다. 이와 같이 스스로 방어기작을 발동하는 나무의 특성을 고려한다면, 나무의 상처를 위한 처리가 오히려 수목의 정상적인 방어 반응을 저해할 수도 있다는 주장도 제기되었으며 (Shigo and Shortle 1983; Shigo and Wilson 1977), 그 결과미국 등 일부 선진국에서는 상처도포제의 사용을 권장하지 않고 있지만(Gilman and Sharon 2008; TCIA 2008) 우리나라는 물론 선진국에서도 새로운 상처도포제에 대한 요구는계속 이어지고 있다.

CODIT 이론에 따르면 수목의 상처부위 보호는 상처와 인접한 형성층이 왕성하게 활동하여 새로운 유합조직을 얼마나 빠르게, 얼마나 많이 형성하는가 하는 것이 관건이다 (Ha et al. 2004). 따라서 형성층으로부터 만들어지는 유합조직의 형성을 촉진하는 방법 또는 물질을 이용하면 상처를통해 감염되는 부후균으로부터 수목을 보호할 수 있다 (Tattar 1986).

대부분의 식물은 한 개의 세포나 조직으로부터 완전한 개체식물로 재분화 할 수 있는 능력, 즉 전형성능을 지니고 있다. 식물호르몬(plant hormones)은 극히 미량으로도 식물의생장과 발육을 촉진시키거나 억제시킬 수 있으며, 이들 물질을 식물생장조절물질(plant growth regulator)이라고 한다(Kwak et al. 1996). 그 중 IBA (indol butylic acid)는 저농도에서 유합조직 생성을 촉진한다고 보고되었으며, 식물의생장과 발육에 대한 식물생장조절제의 효과에서 옥신(auxin)은 세포의 증대, 뿌리발생, 유합조직 형성, 목질부 형성 등에, 사이토키닌(cytokinin)은 세포분열, 세포증대, 뿌리발생, 유합조직 형성 등의 효과와 함께 식물생장조절제의효과와 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다(Kim 1991; Leopold & Kriedemann 1975).

하지만 식물생장조절제가 수목에 발생하는 상처를 치유하는데 관여하는 역할에 관한 연구는 현재 일부에서 제한적으로 이루어지고 있다. Seol et al. (2004)은 스트로브 잣나무 대량증식을 위한 기내배양에서 생장조절물질이 유합조직 형성에 미치는 영향을 조사한 결과 2,4-D와 BA 처리가 유합조직 형성률을 높였다고 보고하였으며, Ha et al. (2004)은 식물생장조절제 이외에 바셀린의 영향 등에 대해서도 검토하였다.

따라서 본 연구에서는 형성층의 유합조직 형성을 촉진하여 수목의 상처치료 효과를 높일 수 있는 상처유합제를 개발하기 위하여 몇 가지 식물생장조절물질이 기내에서 유합조직 형성에 미치는 영향을 조사하고, 그 결과에 따라 실제로 수목의 상처에 처리할 수 있는 상처유합제를 만들고, 그효과를 검정하고자 하였다.

재료 및 방법

생장조절제에 따른 유합조직 형성조사

충청북도 청주시 소재 모 대학교 교내에 조경용으로 식재되어 있는 소나무(Pinus densiflora), 은행나무(Ginkgo biloba) 등 침엽수 2종과 느티나무(Zelkova serrata), 대추나무(Zizyphus jujuba), 칠엽수(Aesculus turbinata) 등 활엽수 3종의 1년생가지들을 실험에 사용하였다(Table 1). 수목의 생육이 감소하는 시기인 9월에 각 수종의 1년지를 길이 0.5~0.7 cm로자르고 흐르는 물로 5분간 씻은 후, 2% 차아염소산나트륨에 5분 동안 담가 표면살균하였다. 추가살균을 위하여 이들을 70% 에틸알코올에 2분간 침지한 후 꺼내어 멸균수로 3~4회 씻은 뒤 사용하였다. 소독한 가지는 멸균한 거름종이위에서 표면의 물기가 제거될 때 까지 무균상 내에서 건조한 후에 조직의 단단함을 고려하여 중단면과 횡단면으로 절단하여 실험에 사용하였다. 모든 작업은 무균상 내에서 수행하였다.

준비된 가지 절편을 식물호르몬과 2% sucrose, 0.23% gelrite (Duchefa, Haarlem, the Netherlands)가 함유된 MS 배지(Murashige & Skoog, 1962)에 치상하였다. 캘러스유도를 위한 식물호르몬으로는 3종의 auxin (2,4-D: 2,4-dichlorophenoxy acetic acid, NAA: naphthalene acetic acid, IBA: indole-3-butyric acid)과 3종의 cytokinin (TDZ: thidiazuron, BA: 6-benzylaminopurine, kinetine: 6-furfurylamino purine)을 사용하였으며, 농도를 0.5, 1, 2, 4, 8 mg/L으로 조절하였다. 생장조절물질이 함유된 MS배지는 0.1 NNaOH를 이용하여 pH 5.8로 조정 후 121℃에서 15분간 고압멸균하고 플라스틱 페트리접시(6.0×1.5 cm)에 12 mL 씩분주하여 사용하였다. 수종별 생장조절물질의 농도별로 각각의 배지에 길이 0.5±0.1 cm의 가지 절편 3~4개씩을 치상

Table 1. Species and size of trees used in this study

*	•			
Common name	Scientific name	Height (m)	DBH ^a (cm)	$WC^{b}(m)$
Zelova	Zelkova serrata	6.4 ± 1.2^{c}	11.4 ± 1.9	4.3 ± 1.5
Maple	Acer palmatum	3.0 ± 0.7	9.3 ± 1.2	2.2 ± 0.9
Ginkgo	Ginkgo biloba	9.2 ± 2.0	18.7 ± 2.4	1.8 ± 0.3
Nut pine	Pinus koraiensis	7.6 ± 0.4	10.3 ± 1.7	5.0 ± 1.2

^a Diameter of main stem at breast height

^b Width of crown

^c Values represent by mean ± SD

하여 25±2℃, 암조건에서 배양하며 관찰하였다. 페트리접 시 하나를 한 반복으로 간주하였으며, 모든 처리는 3반복으 로 수행하였다.

배양 4주 후에 각 처리구별로 유합조직 발생여부를 조사하였고, 8주 후에 실체현미경(SMZ745, Nikon, Japan; 20x)을 이용하여 캘러스의 형태, 색깔, 생성률 및 생성량을 조사하였다.

상처유합제 조제

수목에 처리할 상처유합제에 첨가된 생장조절물질의 종류와 농도는 기내 유합조직 유도실험 결과를 토대로 결정하였으며, 대상 수목을 활엽수와 침엽수로 구분하여 처리하였다. 즉, 활엽수는 2,4-D 2 mg/L와 NAA 1, 2 mg/L이었으며, 침엽수는 2,4-D 1, 2 mg/L, NAA 4, 8, 10 mg/L, 그리고 IBA 1, 2, 4 mg/L였다.

상처유합제의 제형을 만드는 데 필요한 증량제로는 예비실험에서 생장조절물질과의 친화성이 높고 상처에 도포 하였을 때 흘러내리지 않을 정도의 뛰어난 점증력을 가진 천연점증제인 잔탄검(xanthan gum)을 사용하였다. 우선 고온의 자석교반기를 사용하여 멸균수를 $60\pm5^{\circ}$ C로 가열한 상태에서 잔탄검 분말 5%를 첨가하여 녹인 후 호르몬을 첨가하여 다시 잘 섞은 다음, 실온에서 60° C 이하로 식힌 뒤 마지막으로 살균제(베노밀)를 500 ppm이 되도록 첨가하였다. 만들어진 상처유합제는 4° C에 보관하며 실험에 사용하였다. 이와 같이 조제한 상처유합제들을 유효성분의 첫 글자와

이와 같이 조제한 상처유합제들을 유효성분의 첫 글자와 농도에 따라 D1, D2, N1, N2, N4, N8, N10, I1, I2, I4 등으로 명명하였다.

상처유합제의 효과 조사

실제 수목에서의 상처유합도를 조사하기 위하여 기내 유합조직 형성실험 결과를 토대로 충북 청주 소재 대학교 교내에 식재되어 있는 조경용 느티나무, 단풍나무 등 활엽수 2종과 은행나무, 잣나무 등 침엽수 2종 등을 선정하여 각 수종별로 7~10그루씩을 실험에 사용하였다(Table 1). 선발된 개체들은 모두 외관상 건강하며 병해가 없이 정상적으로 생장하고 있었으며, 형성층 전기저항치 측정기인 Shigometer (OZ-93, OSMOSE, USA)를 이용한 수목활력 측정에서 높은 활력도를 보였다. 실험 수행 중에 기온, 일조량, 토양 습도 등 환경요인들이 나무의 유합조직 형성에 미치는 영향을 최대한 배제하기 위하여 수종별로 모두 같은 장소에 식재되어 있는 개체들을 사용하였다.

실험에 선정된 나무들에는 수목이 활발하게 생장하는 시기인 6월 중순에 주간의 가슴 높이에 70% EtOH로 소독한 칼을 사용하여 길이 10 cm, 너비 2 cm의 인위적 상처를 내고 목질부가 드러나도록 수피를 제거하였다. 그리고 수피의 형성층을 포함하여 절단면에 위와 같이 제조한 상처유합제

를 처리에 따라 충분량을 고르게 도포하였다. 상처유합제에 대한 대조구로는 수목류의 상처 살균 및 보호제로 널리 사용되는 티오파네이트메틸 도포제(thiophanate-methyl 3%)와 바세린(vaseline)을 사용하였으며, 처리 방법은 동일하였다. 티오파네이트메틸 도포제처리구는 T 처리구라고 명명하였다.

상처유합제 처리에 따른 유합조직의 유도 및 상처 치유도를 조사하기 위하여 상처유합제 도포 후 2주 간격으로 버니어캘리퍼스를 사용하여 상처유합 정도를 조사하였다. 그리고 상처, 즉 좌우측 절단면에서 자라나오는 유합조직의 수치를 각각 측정하여 그 평균값을 그 처리의 치유도로 정하였다. 유합조직 형성량 조사는 상처유합제를 처리한 2주 후부터 나무가 휴면기에 접어드는 시기인 9월 초순까지 조사하였다

자료 분석

본 실험은 모두 3반복 이상으로 수행되었으며 통계처리는 SAS 프로그램(Statistical Analysis System, Cary, NC)을 이용하여 5% 유의수준에서 Duncan 다중검정으로 비교하였다.

결과 및 고찰

유합조직 형성에 미치는 생장조절물질의 영향

여러 수준의 옥신과 사이토키닌을 처리한 MS배지에서 느 티나무와 소나무 등 두 종의 가지절편은 유합조직을 형성하 였으나, 나머지 3종은 어떤 처리구에서도 유합조직을 형성 하지 않았으며, 배양 6주 뒤에는 조직이 갈변되며 죽었다.

느티나무와 소나무에서 각각 배양 4주 후부터 가지 절단면의 형성층 부위에서 유합조직이 만들어지기 시작하였는데, 호르몬 농도에 따라 유합조직의 형성량과 조직의 형태, 색깔 등에 차이가 있었다(Fig. 1). 느티나무는 2,4-D와 NAA등 옥신 처리구에서 유합조직이 형성되기 시작하였으나, IBA와 TDZ, BA, kinetin 등 사이토키닌 처리구에서는 캘러스가 만들어지지 않았다. 이 결과는 옥신은 조직배양에서 세포분열을 촉진하며, 특히 사이토키닌과 공존하여 유합조직의 형성을 촉진한다고 한 Lee (2005)의 결과와 부합하는 것이다. 옥신의 단독 첨가 시에는 배양 조직의 세포분열이일어나지 않고 세포 크기만 현저히 커지는 현상이 관찰된바 있으나(Kim, 1991), 본 실험에서는 유합조직의 불규칙한 당어리들이 만들어지는 것으로 미루어 세포분열이일어나는 것으로 보인다. 유합조직을 형성하지 못한 가지절편들은 배양 6주 후에는 절단면이 마르면서 죽는 것이 확인되었다.

느타나무 가지절편은 옥신 중 2,4-D 1 mg/L 처리구와 NAA 2 mg/L 처리구에서 다른 농도의 처리구 보다 유합조직이 더 균일하게 형성되었으며 형성률도 높았다. 특히 NAA 2 mg/L 처리구에서는 반복 간에 유합조직이 일정량 이상으로 높은 형성률을 보였을 뿐 아니라, 2,4-D 및 다른

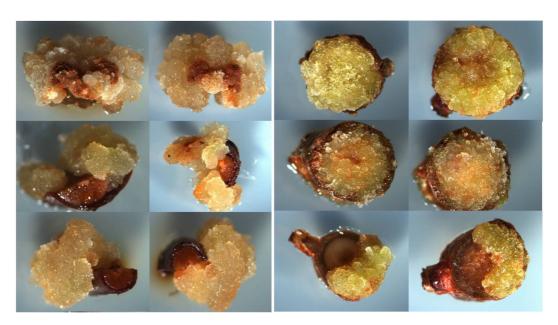
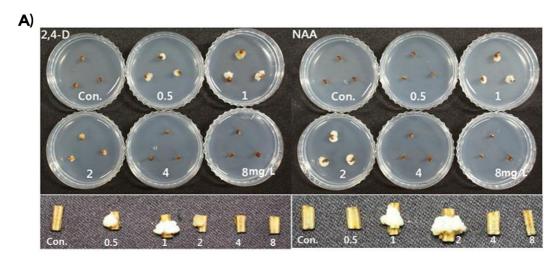


Fig. 1. Callus formation on twig explants of Zelkova serrata (left two columns) and Pinus densiflora (right two columns) after 4 weeks on MS medium amended with 2 mg/L (Z. serrata) and 8 mg/L (P. densiflora) of NAA.



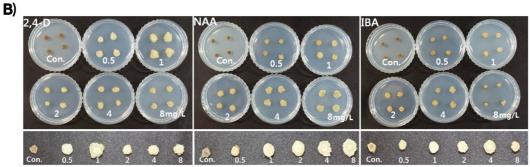


Fig. 2. Callus formation of twig explants of Zelkova serrata (A) and Pinus densiflora (B) after 4 weeks on MS medium amended with 2,4-D and NAA. Con: control (no growth regulator amendment).

농도의 NAA 처리구에서 보다 더 많은 양의 유합조직을 확 인할 수 있었다(Table 2). 따라서 느티나무의 경우 상처의 느티나무 가지절편에서 형성된 유합조직은 형성 초기에는

유합조직 형성에는 NAA 2 mg/L 처리가 가장 효과적이었다.

Table 2. Effects of plant growth regulators on callus formation on twig explants of Zelkova serrata and Pinus dendiflora

Plant growth regulator ^a -	Zelkova serrata		Pinus dendiflora	
	Concentration (mg/L)	Callus formation ^b	Concentration (mg/L)	Callus formation ^b
	0.5	+	0.5	++
	1	++	1	+++
2,4-D	2	+	2	++
	4	-	4	++
	8	-	8	++
NAA	0.5	-	0.5	+
	1	++	1	+
	2	+++	2	++
	4	-	4	++
	8	-	8	+++
IBA	0.5	-	0.5	-
	1	-	1	+
	2	-	2	+
	4	-	4	+
	8	-	8	-
TDZ	0.5	-	0.5	-
	1	-	1	-
	2	-	2	-
	4	-	4	-
	8	-	8	-
BA	0.5	-	0.5	-
	1	-	1	-
	2	<u>-</u>	2	-
	4	-	4	-
	8	-	8	-
Kinetin	0.5	-	0.5	-
	1	-	1	-
	2	-	2	-
	4	-	4	-
	8	-	8	-
Control	0	-	0	-

^a 2,4-D: 2,4-dichlorophenoxy acetic acid, NAA: naphthalene acetic acid, IBA: indole-3-butyric acid, TDZ: thidiazuron, BA: 6-benzylaminopurine, kinetine: 6-furfurylamino purine

대부분 옅은 노란색 내지 투명한 느낌이었으나, 구성 세포 간에 부착이 약한 편으로 잘 부서지는 특성을 보였다. 하지만 배양 5주 후에는 유합조직이 옅은 갈색으로 변색되었으며, 구성 세포 간에 부착이 강하고 단단한 특성으로 바뀌었다(Figs. 1, 2A). 고등식물 조직으로부터 기내 배양을 통해유도되는 유합조직의 생체성분은 배지의 종류와 생장조절제의 농도 및 종류 그리고 광, 온도, 시간 등 배양환경의 영향에 민감한 것으로 알려져 있는데(Lee, 2005), 느티나무의 유합조직 형성도 환경의 영향을 많이 받는 것으로 보인다.

소나무도 느티나무와 같이 2,4-D, NAA, IBA 등 모든 옥

신에서 유합조직이 형성된 반면, 사이토키닌에서는 캘러스가 전혀 만들어지지 않았으며(Table 2), 배양 4주 후부터는 단면이 진한 갈색으로 변하면서 죽기 시작하였다. 유합조직을 만들지 않은 소나무 가지절편이 느티나무 가지절편보다 더 빨리 죽었는데, 그 이유에 대해서는 좀 더 많은 연구가 필요할 것으로 보인다. 반면, 소나무의 유합조직 형성은 전반적으로 느티나무보다 더 좋아, 2,4-D와 NAA의 모든 처리 농도에서 캘러스가 형성되었다. NAA에서는 처리 농도 증가에 따라 유합조직 형성률도 증가하였으며, 반복 간에 유합조직의 양도 큰 편차 없이 많은 것을 확인할 수 있었다.

b -: no callus, +: callus covers camabial area only, ++: callus covers up to the width of the twig, +++: callus more than the twig width

소나무 가지절편은 2,4-D 1 mg/L와 NAA 8 mg/L에서 유합 조직 형성률이 가장 좋았다. 육안관찰의 결과, 호르몬의 종류나 처리농도에 따라 소나무 가지 절편의 유합조직 형성이 달라지는 것은 발견할 수 없었다. 유합조직은 전체적으로 연녹색을 띄는데, 표면이 부드러운 느낌을 주면서 광택이 있고, 느티나무에 비해 수분함량이 많고 세포조직이 치밀하게 보였다(Figs. 1, 2B).

상처유합제의 효과

기내시험 결과를 바탕으로 상처유합제를 조제하여 느티나무, 단풍나무, 은행나무, 잣나무 등에 인위적으로 균일게 만든 상처에 처리한 결과, 유합조직 형성은 느티나무, 단풍나무의 순으로 많았다. 은행나무와 잣나무는 상대적으로 낮은 형성도를 보였으며, 유합조직이 만들어지는 시기에서도 차이를 보였다.

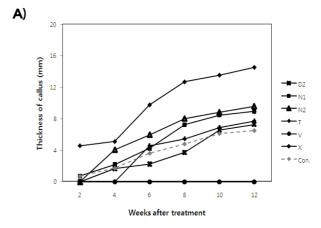
잔탄검을 이용한 제형은 상처에 도포 후 일주일 까지 도 포부위에서 유분기를 보였으며 2주일 이후에는 상처 부위에 서의 흡수 및 수분 증발로 인해 유분기가 관찰되지 않고 건 조되는 것으로 보였다. 또 잔탄검 제제는 점도가 뛰어나 5% 이상으로 제조하여 도포하였을 경우 약한 빗물로는 쉽게 소 실되지 않는 특징도 확인되었다.

느티나무에 대한 상처유합제의 효과

각 처리결과는 통계분석에서 T 처리구와 NAA 처리구만 이 유합조직 촉진효과를 보였으며, 나머지 처리구는 모두 무처리 대조구와 유의차를 보이지 않았고, 바셀린 처리구는 오히려 억제효과를 보였다. 가장 높은 촉진효과를 보인 T 처리구에서 도포 2주 후부터 4.58 mm로 가장 많은 유합조직이 만들어졌으며, 12주가 지난 후에는 14.56 mm로 상처 너비 20 mm 대한 피복률(유합조직이 상처 표면을 덮은 비율) 73%로 가장 높았다(Figs. 3A, 4A). 다음으로 N2 처리구에서 9.59 mm, N1 처리구에서 8.94 mm의 유합조직이 만들어져 두 처리 간에 통계적 유의차는 없었으나, 호르몬을 포함하지 않은 잔탄검 처리구의 7.71 mm 및 무처리구의 6.54 mm 보다는 통계적으로도 더 많은 유합조직을 형성하였다. N 처리구들의 상처피복률은 50%에 근접하였다.

이러한 결과는 기내 유합조직 형성실험(Table 2)과 부합하는 결과로서, 상처유합제의 사용가능성을 제시하는 것이었다. 반면 바셀린 처리구에서는 유합조직이 형성되지 않았으며, 상처 부위에 도포 10주 후까지도 유분기가 남아있어도포한 안쪽의 상처부위가 심하게 부패한 것을 확인할 수있었다(Fig. 4A). Ha et al. (2004)도 외과수술 후 수목의 효율적인 유합조직 형성방법에 관한 연구에서 느티나무의 상처 유합 실험 결과 바셀린 처리에서 유합조직이 형성되지않았으며 부분적으로 부패가 일어났다고 보고하였다.

상처유합제 별 유합조직 형성에 걸리는 시간을 조사한 결



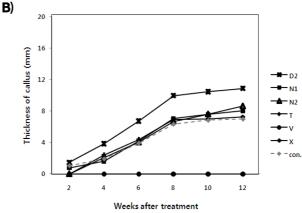


Fig. 3. Effects of the wound-treatment formulations on callus formation in *Zelkova serrata* (A) and *Acer palmatum* (B). Extending agent of the formulation was xanthan gum and the formulation D2, N1, and N2 contains 2 mg/L of 2,4-D, 1 mg/L of NAA, and 2 mg/L of NAA, respectively. T: thiophanatemethyl paste, V: vaseline, x: xanthan gum, Con.: control (wound only).

과, T 처리구, N1 처리구 및 무처리구에서는 제형 도포 2주 후부터 유합조직이 만들어지기 시작하는 것을 확인하였으며, D2 처리구 및 N2 처리구에서는 4주 후 부터 캘러스가 만들어지기 시작했다. 잔탄검 처리구에서는 6주 후부터 유합조직이 관찰되었다(Fig. 4A).

대조구로 사용한 살균제인 티오파네이트메틸 도포제의 상처치유효과에 대해서는 Lee and Lee (2010)와 Ha et al. (2004) 등이 이미 언급한 바 있는데, Chung (2008)은 그의 박사논문에서 식물생장조절물질을 이용한 약품처리 실험 결과 소나무의 톱신페스트(도포제) 처리에서 유합조직 형성이가장 우수하였으며, 바셀린이 가장 더딘 유합 조직 형성속도를 보였다고 보고하였다. 본 연구에서도 티오파네이트메틸 도포제는 상처에 도포하였을 때 표면에 고체막을 만들었으며, 이 처리구에서 가장 많은 유합조직이 형성되었다. 그러나 촉진 기작에 대해서는 아직까지 밝혀진 바가 없으며, 다만 표면에 만들어진 막이 상처부위를 부후균의 침입 등으로부터 보호하여 유합조직 형성에 도움을 준 것으로 생각된

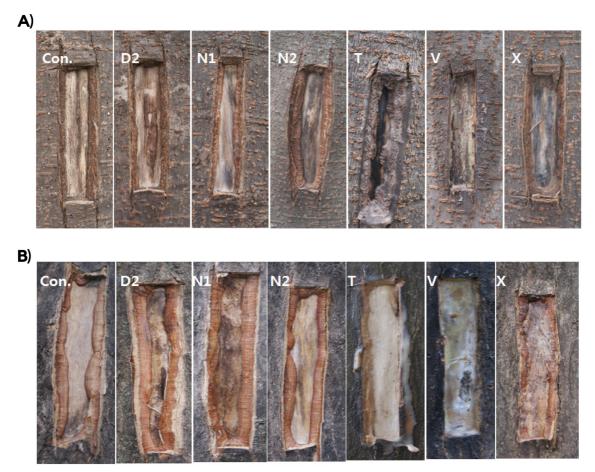


Fig. 4. Callus formation on the wound of *Zelkova serrata* (A) and *Acer palmatum* (B) main stem 12 weeks after wounding and application of wound-treatment formulation. Extending agent of the formulation was xanthan gum. Con.: control (wound only), D2: 2,4-D 2 mg/L, N1: NAA 1 mg/L, N2: NAA 2 mg/L, T: thiophanate-methyl, V: vaseline, X: xanthan gum.

다. 한편, 이 도포제는 상처에 도포 시 아래로 쉽게 흘러내 렸으며, 상처 표면의 기울기에 따라서 부착이 어렵고, 굳기 전에는 빗물에 쉽게 씻기는 단점이 있었다.

단풍나무에 대한 상처유합제의 효과

단풍나무는 느티나무와는 다소 다른 결과를 보여, D2, N2 및 바셀린 처리구를 제외한 나머지는 모두 무처리 대조 구와 통계적으로 유의한 차이가 나지 않았다. 특히, 느티나무에서 가장 좋은 효과를 보였던 T 처리구 역시 무처리 대조구와 차이가 없었다. D2와 N2 처리구는 촉진효과가 좋았던 반면 바셀린 처리구는 오히려 억제하는 효과를 보였다.

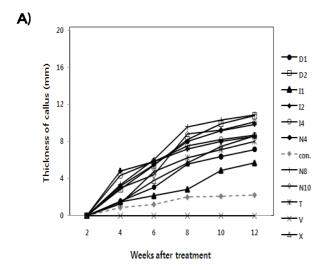
도포 2주 후 부터 D2, N1 처리구 및 무처리 대조구에서 유합조직이 만들어지기 시작하였으며, D2 처리구에서는 4 주 후에 3.86 mm로 다른 처리구에 비해 유합조직 형성이 빨랐다(Figs. 3B, 4B). 도포 12주 후 최종조사 때의 유합조직 형성은 D2 처리구에서 10.88 mm (상처피복률 54%), N2 처리구에서 8.62 mm, 그리고 N1 처리구에서 8.03 mm이었다. 생장조절물질이 포함되지 않은 잔탄검 처리구와 무처리 대조구의 유합조직 형성은 각각 7.22 mm와 6.82 mm이었다.

바셀린 처리구에서는 느티나무의 경우와 같이 유합조직이 전혀 만들어지지 않았으며 12주 경과 후에도 환부에 유분기 가 남아있었다(Fig. 4B). T 처리구에서도 유합조직이 전혀 만들어지지 않았는데, 이것은 단풍나무의 특성 및 환경의 영향 때문일 가능성이 있다. Chung (2008)은 약품 처리별 유합조직 형성 실험에서 티오파네이트메틸 도포제에 의한 유합조직 형성은 도포 후 환부에 암막 처리 여부와 수종 등 에 따라서 차이가 있었다고 하였다.

잣나무에 대한 상처유합제의 효과

대부분의 처리가 무처리보다 높은 촉진효과를 보였으며, 그 중에서도 통계적으로 높은 유의차를 보인 것은 N8, N10, D2 및 I2 처리구였고 나머지 처리구들은 무처리 대조구보다 다소 높은 결과를 보였다(Fig. 5A).

유합조직 형성은 N8 처리구에서 상처도포 12주 후 10.88 mm에 달하여, 상처 너비 20 mm에 대한 상처피복률 54%로 처리구들 중 가장 높았으며, D2 처리구가 10.75 mm로 그 뒤를 이었다. 다음으로 N10과 I2 처리구에서 각각 10.12 mm와 9.93 mm이었다. N8, N10, D2 및 I2 간에는 통계적



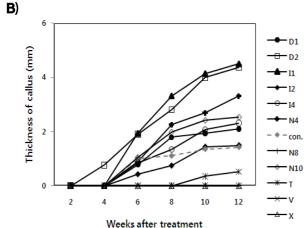
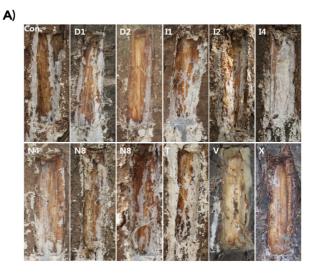


Fig. 5. Effects of the wound-treatment formulations on callus formation in *Pinus koriensis* (A) and *Ginko biloba* (B). Extending agent of the formulation was xanthan gum. The formulation name means active ingredient and concentration (mg/L). D: 2,4-D, I: IBA, N: NAA, T: thiophanate-methyl paste, V: vaseline, X: xanthan gum, Con.: control (wound only).

인 유의차는 없었다. N4 처리구는 8.57 mm로 I4 처리구와 비슷한 수준의 상처피복률을 보였다. 나머지 상처유합제 처리구들의 상처피복률은 30% 내외로 높지 않은 수준이었으나 2.25 mm의 유합조직을 형성하여 상처피복률이 11%로 저조했던 무처리 대조구와 비교하면 낮은 수준도 아니었다. 잔탄검 처리구와 T 처리구는 각각 8.64 mm와 7.99 mm의 유합조직을 형성하였던 반면, 바셀린 처리구에서는 유합조직이 전혀 만들어지지 않았다(Fig. 6A).

상처를 만들고 4주 후부터 유합조직이 형성되기 시작하였는데, 아무 것도 처리하지 않은 무처리 대조구에서의 유합조직 형성은 상처발생 12주 후에도 2.25 mm으로 활엽수인 느티나무(6.54 mm)나 단풍나무(6.82 mm)에 비하여 1/3 수준에 불과하였다. 잣나무는 활엽수와는 달리 상처 발생 직후부터 다량의 송진이 분비되기 시작하여 약 4주간 지속되



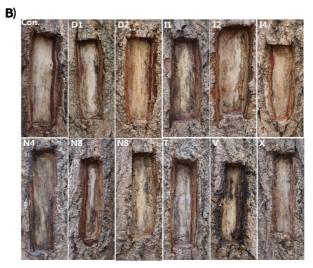


Fig. 6. Callus formation on the wound of *Pimus koriensis* (A) and *Ginko biloba* (B) main stem 12 weeks after wounding and application of wound-treatment formulation. Extending agent of the formulation was xanthan gum. The formulation name means active ingredient and concentration (mg/L). D: 2,4-D, I: IBA, N: NAA, T: thiophanate-methyl paste, V: vaseline, X: xanthan gum, Con.: control (wound only).

었는데, 이러한 생리기작 때문에 유합조직의 형성은 상대적으로 낮았던 것으로 추측한다. 또한 계속 분비되는 송진으로 인하여 상처유합제가 조직에 제대로 전달되었는지도 의문이다. Lee (2008)는 소나무, 잣나무 등의 송백의 수지 분비량은 1년 중 본 연구를 수행한 6월~7월에 가장 많이 측정되었다고 하였다. 따라서 수지가 많이 분비되는 시기에는 수지가 상처유합제의 흡수에 미치는 영향이 검토되어야 할것으로 생각한다.

은행나무에 대한 상처유합제의 효과

은행나무는 다른 수종에 비하여 유합조직이 늦게 형성되어 처리 6주 후부터 확인이 가능하였으며, 유합조직 형성률

도 매우 낮았다. 또한, 상처유합제에 대해서도 다른 수종들 과는 구분되는 반응을 보였다. 생장조절제 처리구에서는 I2를 제외하고는 모두 무처리 대조구보다 높은 유합조직 형성률을 보였다. 통계분석 결과 II과 D2의 효과가 가장 좋았고, 그 다음이 N4였으며, 다음으로 D1, N8, N10 및 I4가 서로비슷한 효과를 보였다. 하지만, 전반적으로 모든 처리구에서 유합조직의 형성이 매우 적은 편으로서 다른 수종들의 반이하에 머물렀다(Fig. 5B).

상처유합제 도포 12주 후에 I1 처리구에서 가장 많은 유합조직이 형성되었음에도 불구하고 그 두께는 4.51 mm로 상처피복률이 23%에 불과하였다. 그 다음으로 D2 처리구에서 4.37 mm로 I1 처리구와 통계적 유의차가 없었으며, N4 처리구에서 3.30 mm의 유합조직이 형성되었다. 반면, 잣나무에서 가장 좋은 효과를 보였던 N8 처리구에서는 촉진효과가 크지 않았다(Figs. 5B, 6B). 무처리 대조구에서의 유합조직 형성은 1.4 mm였으며, 바셀린 처리구에서는 유합조직이 전혀 만들어 지지 않았다(Fig. 6B).

McDougall and Blanchette (1996)은 상처가 만들어졌을 당시에 상처를 비닐랩으로 감싸주면 유합조직 형성이 빨라진다는 사실을 보고하였으며, 우리나라에서도 Chung (2008)은 약품처리별 유합조직 형성 실험에서 은행나무의 상처에약품을 처리한 후 암막으로 환부를 밀폐하면 햇볕의 차단과암막으로 인한 수분 유지가 도움이 되어 유합조직 형성에도움이 된다고 보고하였다. 또 은행나무에서 암막 처리한실험구가 암막처리 하지 않은 실험구 보다 높은 유합조직형성률을 보였다고 하였다. 따라서 은행나무와 같이 유합조직 형성률이 낮은 수종에서는 암막처리 등의 실험을 추가하는 것도 의미가 있을 것이라고 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2013년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었습니다.

Literature Cited

- Collins, J. F. (1934) Treatment and cre of tree wounds. USDA Farmer's Bulletin 1726, 38pp.
- Chung, J. S. (2008) A Study on the surgery condition and conservation management measures in old trees. Ph.D. Dissertation, Sangmyeong University, 214pp.
- Gilman, F. G. and J. L. Sharon (2008) Best management practices-tree pruning (Revised). International Society of Arboriculture, 24pp.
- Ha, T. J. (2003) A study of the growth of large old trees and the formation of calloses after surgery on the trees. Ph.D. Dissertation. Sangmyung University, 157pp.

- Ha, T.-J., J.-K. Lee and O. B. Kwon (2004) A Study of effective methods for calluses formation after tree surgical operation. Landcape and Ecological Engineering Journal 7:29-38.
- Hudler, G. W. and S. Jensen-Tracy (2002) Lac Balsam[®] as a treatment to hasten wound closure and minimize discoloration and decay. Journal of Arboriculture 28:264-269.
- Kim, K. H. (1991) Effect of minerals, carbon sources, and plant hormons on in vitro culture of *Alnus hirsuta*. MS Thesis. Seoul National University, 53pp.
- Kozlowski, T. T. and S. G. Pallardy (1997) Physiology of Woody Plants (2nd ed.) Academic press. New York, 411pp.
- Kwak, S. S., I.-S. Kim, H. R. Kim, K.-Y. Paek, J. K. Byun, S. C. Lee, J. D. Chung, S. O. Jee, S.-J. Choi, and C. D. Choi (1996) Plant Growth Regulators. Nongwon Pub.: Seoul, 80pp.
- Lee, E. J. (2005) Effects of Physical and chemical factors on *Gymnema sylvestre* cell culture. MS thesis. Chungbuk National University, 64pp.
- Lee, K. H. and K. J. Lee (2010) Effects of wound dressing with thiophanate-methyl paste on compartmentalization of pruning wounds. Journal of Korean Forest Society 99:220-225.
- Leopold, A. C. and Kriedemann, P. E. (1976) Plant Growth and Development, McGraw-Hill Book Co.: New York, 425pp.
- McDougall, D. N. and R. A. Blanchette (1996) Polyethylene plastic wrap for tree wounds: A promoter of wound closure on fresh wounds. Journal of Arboriculture 22:206-210.
- McQuilkin, W. E. (1950) Effects of some growth regulators and dressings on the healing of tree wounds. Journal of Forestry 48:423-428.
- Padfield, C. A. S. (1955) Dressings for tree wounds: Testing new materials. Orchardist NZ 28:7-11.
- Seol, E. J., T.-R. Kim, D.-H. Shin, and K.-S. Choi (2004) Effects of auxin and activated charcoal on the embryo genesis and re-differentiation of *Pinus strobus*. Bulletin of Biotechnology, Chungnam National University, 10:49-54.
- Shigo, A. L. (1988) A New Tree Biology. Shigo and Trees Assoc. Durham. New Hampshire. 618pp.
- Shigo, A. L. (1991) Modern Arboriculture. Shigo and Trees Assoc. Durham. New Hampshire. 424pp.
- Shigo, A. L. and W. C. Shortle (1983) Wound dressings: Results of studies over 13 years. Journal of Arboriculture 9:317-329.
- Shigo, A. L. and C. L. Wilson (1977) Wound dressings on red maple and american elm: Effectiveness after five years. Journal of Arboriculture 3:81-87.
- Tatter, T. A. (1986) Diseases of Shade Trees (Revised Edition). Acad. Press. New York. 391p.
- TCIA (Tree Care Industry Association, Inc.) (2008) ANSI A300
 (Part 1)- for Tree Care Operations Tree, Shrub, and Other
 Woody Plant Management Standard Practices (Pruning).
 Tree Care Industry Association, Inc., Londonderry, NH. 5
 pp.

수피상처치료를 위한 식물생장조절물질 기반 상처유합제 개발

민호정・김병관・차병진*

충북대학교 식물의학과

요 약 상처로부터 수목을 보호할 상처유합제를 개발하기 위하여 생장조절물질을 첨가한 MS 배지에 느티나무, 대추나무, 소나무, 은행나무 및 칠엽수의 가지 절편을 배양하고 유합조직의 형성률을 조사하였다. 기내시험 결과를 바탕으로 2,4-D, NAA, IBA 등을 후보물질로 선발하고 증량제인 잔탄검과 혼합하여 상처유합제를 조제하였다. 2 × 10 cm 크기로 수피를 완전히 제거한 절단면에 각각의 상처유합제를 충분히 바르고 12주 뒤에 유합조직의 크기를 조사하였다. 유합조직 형성량은 수종에 따라, 상처유합제의 유효성분에 따라 다르게 나타났다. 느티나무와 단풍나무에서는 2,4-D 2 mg/L가 가장 좋은 효과를 보였으며, 잣나무에서는 NAA 8 mg/L이, 그리고 은행나무에서는 IBA 1 mg/L이 가장 좋은 효과를 보였다. 은행나무는 다른 수종보다 유합조직 형성량이 현저히 적었다. 티오파네이트메틸 도포제는 느티나무에서만 효과가 뛰어났으며, 다른 수종에서는 모든 생장조절제제를 능가하지는 못했다. 수피의 상처처리 제로 널리 사용되고 있는 바셀린은 4 수종 모두에서 상처부위에 오래 잔존하며 부후를 촉진시키는 역효과를 보였다. 따라서 활엽수의 상처유합제로는 2,3-D 제제가, 송백류에는 NAA 제제가, 그리고 은행나무에는 IBA 제제가 적당한 것으로 밝혀졌다.

색인어 상처유합제, 2,4-D, NAA, IBA, 유합조직