

세포 배양을 통한 가시오갈피 (*Eleutherococcus senticosus*) 묘목의 대량 생산 시스템 개발

한정연, 최용의*

인삼산업연구센터, 중앙대 학교

Mass Production of *Eleutherococcus senticosus* Plants through in vitro Cell Culture

Jeong-Yeon Han, Yong-Eui Choi*

Korea Ginseng Institute, Chung-Ang University, Ansung, Gyeonggi-do 456-756, Korea

ABSTRACT Immature zygotic embryos of *Eleutherococcus senticosus* seeds matured rapidly within one month when the seeds comprising zygotic embryos were pieced to small size and cultured on 1/2 MS medium. Frequency of somatic embryos formation was declined rapidly when the zygotic embryos germinated and grew to plantlets. Embryogenic cells were induced by consecutive subculture of somatic embryos on MS medium with 1.0 mg/L 2,4-D. After heart-shaped somatic embryos were induced by suspension culture, these embryos were plated onto petri dish to support maturation of embryos. Germination of embryos occurred on medium with 5 mg/L GA₃ and transferred to culture bowl to stimulate the further growth. Frequency of soil survival of plantlets was influenced by soil mixture (perlite and peatmoss). The suitable combination of perlite and peatmoss was 1 : 5, and the soil survival rate was 78% after 4 months. The soil transferred plantlets were over-wintered in field condition after defoliation. New year sprouting of plants was achieved successfully and they grew to adult plants. These results indicate that the systematic procedure of plant production in *E. senticosus* could be practically applicable for micro propagation.

Key words: *Eleutherococcus senticosus*, micropropagation, Siberian ginseng, somatic embryogenesis

서 론

가시오갈피 (*Acanthopanax senticosus* 또는 *Eleutherococcus senticosus*)는 드롭나무과에 속하는 다년생 관목으로서 북반구 극동아시아 (한반도와 시베리아 및 중국 등)에만 분포하고 있는 야생식물이다 (Lee 1979). 가시오갈피는 “외인성 비특이적인 해로운 자극에 대한 저항력 증진효과” 즉 소위 “Adaptogen”으로서의 효능이 있음을 주장한 이래 (Brekman 1960) 인삼과

함께 국내외 학자들의 귀중한 연구대상이 되고 있다 (Yi et al. 2002; Davydov and Krikorian 2000).

최근 들어서는 국내의 약 100개 이상의 기업에서 오갈피 관련 식·의약품을 개발하여 출시하고 있다. 이들 대부분의 원료가 중국 및 러시아로부터 들여오고 있고 국내에서 생산된 오갈피를 원료로 한 가공업체는 극히 소수이다. 최근 연간 약 수 백톤의 근피 및 수피가 수입되고 있으며 엑기스 형태 또한 수입이 급증하고 있다. 최근 오갈피가 국내에 많이 알려지자 우리나라 산하에 자생되고 있는 약 수종의 오갈피가 거의 멸종위기에 있는 등 훼손되고 있다. 세계적으로 원료를 자연 산에 의존하고 주된 약용부위가 뿌리여서 나무를 회생하여야 한다. 따라서 자원이 고갈되어 러시아, 중국에서도 법정

*Corresponding author Tel 031-670-4682 Fax 031-676-5212
E-mail yechoi@cau.ac.kr

보호수로 지정하여 수출, 입을 통제하고 있다.

가시오갈피를 대량번식 시키고자 하는 연구가 국내에서 오래 전부터 수행되어 왔지만 인삼과 같이 실용화되어 농가에 기술이 보급되지 못한 상태이다. 이 원인은 종자 및 영양번식 방법을 통한 가시오갈피의 번식은 다른 어떤 식물보다 어렵기 때문이다. 남한의 경우 가시오갈피는 여름에 하고 현상으로 종자 결실이 나쁘며, 성숙한 열매의 종자 내에 있는 접합자 배(씨눈)가 매우 미숙한 상태에 있기 때문에 종자의 성숙 및 휴면 타파를 위해 최소 6개월에서 최대 2년 동안 충적 저온처리(stratification)을 해주어야 하는데 발아율 또한 인삼에 비해 매우 낮다 (Isoda and Shoji 1994). 또한 영양번식 방법인 삽목 번식의 효율도 극히 저조(약 10% 정도)하다. 국내에서도 대학 및 연구소 등에서 가시오갈피의 번식에 노력을 기울이고 있지만 가시오갈피의 대량번식이 실용화를 이루지 못하였다. 따라서 가시오갈피 묘목의 획기적인 대량 생산 방법의 개발이 필요하다.

식물세포는 동물세포와는 달리 체세포가 수정란과 같은 배 형성세포(embryogenic cell)로 될 수 있고 무한 증식될 수 있기 때문에 세포배양 방법을 이용하여 개체를 무한적으로 복제할 수 있다. 대부분의 경우 초본식물 및 화훼식물에 있어서는 이 기술이 실용화되어 산업화된 경우가 많으나 임목을 세포배양 방법을 이용하여 개체를 복제하는 기술이 매우 까다롭다고 알려져 있다. 본 연구자들은 이미 세포배양 방법을 이용하여 가시오갈피 체세포배의 발생, 인공종자 등의 선행연구가 있었지만 (Choi et al. 1999a,b, 2002a,b) 세포배양 방법을 이용한 가시오갈피 묘목생산의 시스템 중 가장 중요한 토양순화의 기술 개발이 이루어지지 않았었다. 따라서 본 연구에서는 가시오갈피를 세포 배양 공정에 중점을 두고 효율적으로 배를 유도하여 토양순화를 성공적으로 수행하였으며 가시오갈피 묘목을 대량생산하는 시스템을 개발하였다.

재료 및 방법

배의 성숙

함백산에서 채취한 가시오갈피 (*Eleutherococcus senticosus* Maxim) 열매의 과육을 제거하고 나서 종자를 70% EtOH로 1분, 1% NaOCl에 1시간 정도 표면살균한 후 멸균된 증류수로 3회 수세하였다. 가시오갈피 종자를 그대로 배양하거나, 가시오갈피의 종자를 여러 크기로 횡단하여 접합자배가 포함된 부위를 1/2로 희석시킨 MS (Murashige and Skoog 1962) 고체 배지 (0.25% gelrite)에 옮겨 2개월 배양한 후 접합자배의 절단 크기에 따른 배의 성숙을 조사하였다.

배의 성숙에 따른 배발생률

생장단계가 다른 종자유래 가시오갈피 (성숙한 배, 발아중의 유식물, 발아된 소식물체)를 약 2mm의 크기로 횡으로 절단하여 1.0 mg/L 2,4-D가 첨가된 MS 고체 배지 (0.8% agar + 3% sucrose)에 옮겨 약 2달 후에 배의 유도율을 조사하였다. 배양용기는 10×2 cm 일회용 플라스틱 용기에 배양하였고 이 때 분주한 배지는 pH 5.8로 충 다음 120°C에서 15분간 멸균하였다. 배양실 조건은 24±2°C로 조정하였고 24 μmol m⁻² s⁻¹ 형광 조건 하에서 16시간 조명을 하였다. 이 배양 조건은 다른 실험에서도 동일하게 적용하였다.

체세포배의 유도

가시오갈피의 체세포배를 Choi 등 (1999a)이 제시한 바와 같이 1.0 mg/L 2,4-D가 첨가된 MS 고체 배지에 연속적으로 배양하여 배발생 캘러스를 유도하였다. 배발생 캘러스가 유도된 후 이들 캘러스를 고체 또는 액체 배지에 옮겨 증식시켰는데 고체 배지의 경우는 일회용 페트리디쉬 (10×2 cm)를 사용하였다. 액체 배양의 경우 배양 용기는 250 mL 삼각플라스크를 이용하여 2주 간격으로 계대배양했으며 삼각 플라스크의 경우는 용기 당 약 500 mg의 배발생 세포를 배양하였다. 대량생산을 위해서 3 L의 air-bubble bio-reactor로 옮기고 MS 기본배지 2 L를 분주했으며 약 5g의 배형성세포를 2주 간격으로 계대 배양하여 배들을 발달시켰다. Air-bubble의 압력은 0.05~0.1 vvm의 유입률로 하고 배지는 pH는 5.7로 맞춘 후 121°C에 15분간 고압증기灭균 했다. 배양실 조건은 25±3°C에서 광도는 2500 Lux, 일장은 16시간으로 하였다.

체세포배의 발아 및 토양 순화

자엽단계의 체세포배를 발아시키기 위해서 5 mg/L GA₃가 첨가된 고체배지(페트리디쉬)에 옮겼으며 약 1달 경과한 후 재생된 식물체를 식물 생장조절제를 제거한 1/2 MS 고체배지가 단진 가우즈 용기에 옮겨 생육시켰다.

한편 어린 식물체를 perlite와 peatmoss의 비율을 1 : 1, 3 : 1, 5 : 1로 각각 달리한 플라스틱 용기 (20×15 cm)에 옮겨 순화시킨 다음 4개월 동안 토양 생존률을 조사하였다. 한편 계절별로 생산된 가시오갈피 식물체를 (9월, 10월, 11월, 12월) perlite와 peatmoss 비율을 5 : 1로 달리한 배양용기에 옮겨 순화시킨 후 노지에 노출시킨 다음 이듬해 새순의 출현률을 조사하였다.

결과 및 고찰

세포주의 유도 및 유지 관리

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 이부위로부터 세포주의 유도가 보고되어 있다 (Gui et al. 1991; Choi et al. 1999a,b). 가시오갈피 종자의 발아만을 위해 최소 약 6개월 이상의 충적처리를 하여주어야 한다고 보고 되어 있는데 (Isoda and Shoji 1994), 본 연구에서는 가시오갈피의 종자로부터 단기간에 접합자배의 성숙을 유도하여 이들로부터 배발생 세포주를 유도하는 방법을 개발하였다.

가시오갈피의 종자로부터 접합자배를 직접 나출시켜 흘물이 첨가되지 않은 MS배지에 배양하면 더 이상 성숙되지 못하고 고사되었다. 그런데 가시오갈피 배를 배유와 분리시켜 나출시키지 않고 가시오갈피를 배를 주변배유 일부와 함께 절단하여 배양한 경우는 가시오갈피를 저온 충적 처리하지 않고도 기내에서 약 1달만에 배의 성숙은 물론 발아시킬 수 있었다 (Table 1). 그러나 가시오갈피 종자 전체를 상처를 주지 않고 배양한 경우는 발아가 진행되는 속도가 종자 발아시 충적 처리하는 경우와 같이 매우 느려 약 수개월 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 (Table 1). 이 결과는 가시오갈피 종자의 배유 또는 종피에서 배의 발아를 억제하는 물질이 포함되어 있다고 판단되며 주로 휴면유도 및 생장억제에 관련된 ABA 등의 축적이 원인으로 추정된다.

가시오갈피가 성숙되고 발아되면 평으로 2 mm 절편을 만든 다음 1.0 mg/L 2,4-D가 첨가된 MS 고체배지에 옮겨 배양하였다. 발아직선의 배는 약 1달 경과되면 배의 자엽, 배축 또는 뿌리 절단조직의 표면으로부터 체세포배가 발생되었다. 한편 약 2 cm로 발아된 배는 배축에 한정되어 체세포배가 발생되었다. 그러나 약 5 cm로 자란 식물체의 경우는 모든 부위에서

체세포배의 발생이 이루어지지 않았다 (Table 2). 이 결과는 접합자배의 발아가 이루어지고 식물체로 생장됨에 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. 이러한 결과는 인삼의 경우에서도 비슷한 결과를 보였다 (Choi et al. 1998).

가시오갈피의 접합자배로부터 배발생 캘러스를 직접 유도하기는 매우 어렵다고 알려져 있다 (Gui et al. 1991; Choi et al. 1999a,b). 따라서 캘러스를 유도하기 위해서는 일단 가시오갈피의 배양재료로부터 직접 체세포배를 유도한 다음 (Figure 1A), 이를 1.0 mg/L 2,4-D가 첨가된 MS 고체배지에 계속 계대 배양 하면서 배발생 캘러스를 유도할 수 있었다. 가시오갈피 배발생 캘러스의 특징은 모든 세포가 크기가 작고, 세포질이 풍부한 배발생 세포로 구성되어 있었고 (Figure 2A), 이들 가시오갈피 배발생 세포는 비배발생 세포로 전환되지 않았고 모든 배발생 세포는 구형, 심장형, 자엽형단계의 배로 생장되었다 (Figure 2C, 2D). 한편 배발생이 전혀 이루어지지 않는 비배발생 세포는 신장되고 액포화되어 있었다 (Figure 2B). 이러한 가시오갈피 세포의 특징은 배발생 세포로부터 높은 배발생률을 보이는 가장 큰 원인으로 판단된다.

가시오갈피 배발생 캘러스를 1.0 mg/L 2,4-D에서 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 관리 할 필요 없이 균일한 세포배양이 가능하였다 (Figure 1B). 가시오갈피의 배발생 세포주로부터 배를 유도하기 위해서는 1.0 mg/L 2,4-D가 제거된 액체배지에 배양하면 되는데 이때 세포주의 특성에 따라 세포주가 계속 증식되기 때문에 약 2~5번의 계대 배양을 해주면 배발생 세포의 대부분이 배발생이 이루어졌다.

가시오갈피의 배발생 세포는 250 mL 삼각플라스크에서 유지하는 경우 약 1 g의 세포를 얻을 수 있는데 이들 세포를 2,4-D가 제거된 배지에 옮겨주면 배발생이 이루어지게 되어

Table 2. Frequency of direct somatic embryo formation from hypocotyl explants of zygotic embryos, seedlings and plants of *E. senticosus* after 2 months of culture

Explants	Size (mm)	Explants	No. of embryo per explants ^a
Zygotic embryo	6	Cotyledon	78±6.3
		Hypocotyl	89±7.2
Seedling	20	Radicle	79±6.3
		Cotyledon	34±2.1
		Hypocotyl	56±4.1
Plant	50	Root	13±1.8
		Cotyledon	0
		Hypocotyl	12±0.7
		Root	0

^aData represent the mean values±SE from 3 independent experiments.

Table 1. Effect of seed excision on the frequency of germination of zygotic embryos of *E. senticosus* after 2 months of culture

Explants Size	Size (mm)	Frequency of germination	Size of plantlets (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

^aData represent the mean values±SE from 3 independent experiments.

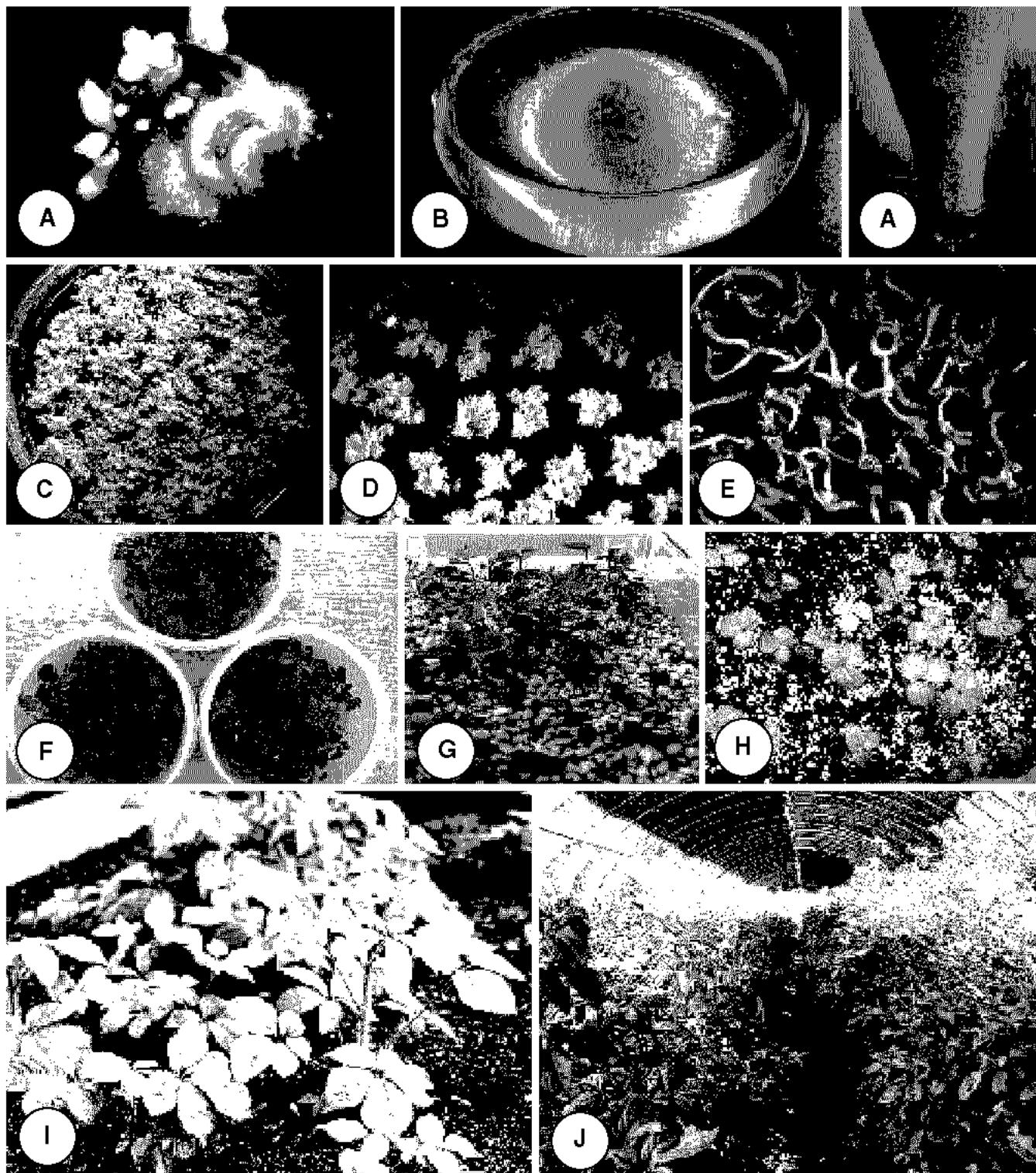


Figure 1. Propagation of *Eleutherococcus senticosus* plants through somatic embryogenesis, plant conversion and soil transfer. A, Somatic embryos induced directly on the surfaces of explants; B, Shake-flask culture of embryogenic cells constituted with fine and pure cells; C, Production of heart-shaped embryos in 3-L air-bubble bioreactor; D, Heart-shaped embryos plated on MS solid medium; E, Cotyledonary embryos matured on MS solid medium; F, Germinating embryos on MS medium with 5 mg/L GA₃; G, Plantlets with shoots and roots in the plastic culture Jar; H, Acclimatization of plantlets in soil (perlite and peatmoss, 5 : 1); I, New year sprouting of soil survived plants; J, Plants grown in field; K, Adult plants derived from somatic embryos grown in field.

약 20개의 플라스크에 옮겨 자엽단계의 배를 약 15만개의 배를 얻을 수 있었다. 한편 1개의 250 mL 삼각플라스크에서 생산된 약 1 g의 세포를 3-liter bio-reactor에 옮겨 주면 1개의 bio-reactor에서의 배양이 한계점에 도달하여 전체 무게의 1/3

에 해당하는 무수한 배를 얻을 수 있고 그 숫자 또한 약 15만 개의 배를 얻을 수 있었다 (Figure 1C). 이러한 배의 생산 시스템은 모델 식물인 당근에 비해 효율이 절대 뒤지지 않는다고 볼 수 있으며 특히 배발생 세포로부터 비배발생 세포로의

Table 3. Effect of soil mixture on the survival of soil transferred plantlets of *E. senticosus* during 4 months of culture

Proportion		Survival rate of plants (%)			
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

^aData represent the mean values±SE from 3 independent experiments.

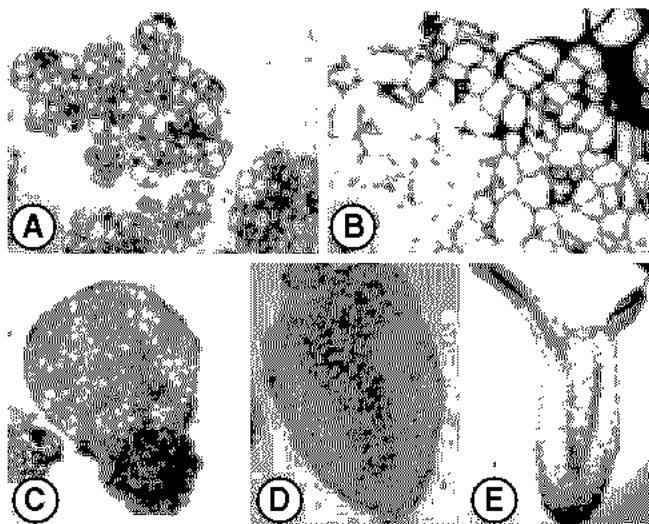


Figure 2. Histological observation of somatic embryogenesis of *Eletherococcus senticosus*. A; Embryogenic cell clumps constituted with small and dense cytoplasmic cells; B, Non-embryogenic callus with vacuolated cells; C, A globular embryo; D, A heart-shaped embryos; E, A cotyledonary embryo.

전환이 이루어지지 않기 때문에 더욱 효율이 높다고 볼 수 있으며 배발생 과정에 있어서 관여하는 유전자의 발굴에 있어서도 효율적인 재료라고 생각된다.

배 생산 시스템의 최적화

본 연구의 가장 큰 목적은 배양묘의 순화 및 묘목 생산을 목적으로 하였기 때문에 배의 생산 효율보다 건실한 배를 얻기 위해서 일단 액체 배지가 첨가된 250 mL 삼각플라스크에서 어뢰형 단계의 배를 유도하였다. 액체배지를 신선한 액체 배지로 갈아준 다음 약 1 mL 씩 고체배지에 플레이팅하는 것이 자엽단계의 배로 성숙시키는 것이 가장 이상적이라고 판단되었다 (Figure 1D). 왜냐하면 이 보다 어린 단계에서 플레이팅 하여주면 고체배지에서 충분히 성숙되지 않기 때문에 성숙도중에 배를 새로운 고체 배지에 옮겨주어야 하는 번거로움이 있고 액체 배지나 bio-reactor 그대로 생장시키면 삼각 플라스크의 경우 혼탁에 의한 물리적인 스트레스, air-bubble bio-reactor의 경우 용기의 바닥 밀이 있는 sparzer 유리 소재에 계속 물리적으로 부딪치게 되어 결국 배의 배축 신장이 억제되고 작고 통통한 형태의 배로 생장되었다 (데이터 미제시).

따라서 배의 배축 생장이 이루어지고 신장되는 어뢰형 단계에서는 고체배지에 배양하는 것이 바람직하다고 생각되었다. 이러한 어뢰형 단계에서 고체배지에 배양하는 경우는 접합자 배와 같이 약 5 mm 정도의 배축을 갖는 정상적인 자엽단계의 배를 얻을 수 있었다 (Figure 1E).

배의 발아 및 식물체 유도

가시오갈피의 배는 약 9%의 고농도의 설탕이 첨가된 MS 배지에 배양하면 발아되지 않고 생장이 멈추며 휴면하게 되는 점이 밝혀졌으며 이 원인으로서 내재하는 ABA의 농도가 약 2배 증가함을 밝혔다 (Choi and Jeong 2002a). 본 연구에서는 인위적으로 휴면을 유도시킨 가시오갈피의 기내 보존기간을 조사하여 본 결과 약 6개월 동안 그대로 실험실 온도에서도 방치하여도 생존력이 전혀 감소되지 않음을 확인할 수 있었다 (데이터 미제시). 가시오갈피로부터 발아를 유도하기 위해서는 가시오갈피 배를 5.0 mg/L GA₃가 첨가된 MS배지에 옮겨주면 발아되며 (Figure 1F) 1달 내에 어린 식물체로 생장되었다. 페트리디ッシュ에서 자란 어린 식물체를 플라스틱 가우즈 용기에 옮겨주고 나서 약 1달 경과되면 줄기 및 뿌리의 생장이 잘 이루어져 약 7 cm의 크기로 자란 소식물체를 얻을 수 있었다 (Figure 1G).

순화 및 토양 적용

기내에서 자란 소식물체를 perlite와 peatmoss의 배합을 달리하여 소규모 순화용 플라스틱 용기에 옮긴 결과 perlite와 peatmoss의 비율을 5 : 1로 한 경우가 4개월 후까지 약 78%가 생존할 수 있는 가장 높은 순화율을 보였으며 (Figure 1H), perlite와 peatmoss의 비율을 1 : 1인 경우는 시간이 진행될수록 순발력이 증가되어 37%로 낮았다 (Table 2). 후자의 경우 가장 큰 원인은 순화과정에 있어서 가시오갈피의 뿌리는 수분이 지속적으로 높은 경우 생육에 큰 지장을 주는 것으로 조사되었다.

한편 가을에 9월, 10월, 11월에 온실에 토양 순화를 시작하였던 식물체는 야생의 가시오갈피처럼 잎이 시들어 지상부가 소실되었는데 이 상태에서 그대로 방치하여 겨울을 지난 후에 이듬해 봄에 새싹의 출현을 조사한 결과 순화 후에 조기에 잎이 지더라도 이듬해 새싹이 출현됨을 알 수 있었다 (Figure 1I). 식물체를 순화용 포트에 옮긴 후 2개월 이후에 순화율을 조사한 경우보다 이듬해 새순이 올라오는 비율이 더욱 높았다 (데이터 미제시). 이 결과는 순화되는 동안 지상부 잎이 조기에 지더라도 생존되었던 결과로 판단될 수 있었다.

한편 식물체의 순화시기에 따라 이듬해 새순의 생육이 확연히 달라졌는데 작년 9월에 순화를 시작한 묘목은 이듬해 4월 현재 약 10 cm 크기로 생육한 것에 비해서 작년 11월에 순화되어 약 1달 반만에 지상부 낙엽이 시작된 묘목의 경우

는 4월 현재 약 5cm의 크기로 생육되었다.

겨울을 지난 배발생 유래 가시오갈피 식물은 표고 약 400m의 밭에서 식재한 일반 오갈피보다 지상부 크기로 보아 생육은 약 30% 정도 저연되었지만 자연환경에 잘 적응하였고 비정상적인 잎을 지닌 돌연변이의 출현이 발견되지 않았다 (Figure 1J, 1K).

상기한 연구는 세포배양 방법을 이용하여 희귀식물이면서 경제적 가치가 매우 높은 가시오갈피를 번식시키고 토양에 순화시킨 최초의 예이며 충분히 산업화될 수 있다는 것을 증명한 셈이라고 할 수 있다. 이 방법을 이용하면 실험실 내에서 연중 수백만 개의 묘목을 대량 생산할 수 있기 때문에 획기적인 번식방법이며 식물생물공학 기술의 실용화로서 의미가 크다고 할 수 있다. 따라서 부가가치가 높은 농가의 새로운 소득작물로 개발할 수 있고 건강식품 및 의약품으로 개발할 수 있다고 본다.

적 요

수학 직후 가시오갈피 열매의 배는 미숙한 상태로 있어서 종자의 발아를 위해 최소 6개월 이상 충적처리가 필요하다. 본 실험에서는 가시오갈피 종자를 절단한 다음 배가 들어있는 종자의 일부만을 절단하여 (일부 배유 포함) 1/2 Murashige and Skoog (MS) 배지에 배양하면 1달 내에 발아 또는 식물체를 얻을 수 있어서 쉽게 배형성 세포주를 얻을 수 있었다. 한편 가시오갈피 종자유래 발아 또는 식물체 절편을 1.0 mg/L 2,4-D가 첨가된 배발생 배지에 배양했을 경우 체세포배의 발생률이 접합자배의 발아가 진행되고 식물체로 생장됨에 따라 급감되었다. 배발생 세포주의 유도는 1.0 mg/L 2,4-D가 첨가된 MS 배지에서 유도된 체세포배의 연속적인 계대 배양을 통해 유도한 다음 2,4-D가 제거된 MS 고체 또는 액체 배지에 배양하여 배를 유도하였다. 액체 배양의 경우 심장형 단계의 이후부터는 페트리디쉬상에서 배양하여야 배축의 신장이 양호한 배를 얻을 수 있었다. 배의 발아는 5 mg/L GA₃가 첨가된 배지에 옮겨 준 경우 이루어졌으며 발아된 어린 식물체는 플라스틱 배양용기에서 생육시켰다. 식물체의 토양순화를 위해 perlite와 peatmoss의 배합 비율을 달리한 경우 이를 배합비율에 따라 토양 생존률의 차이가 높았으며 특히 perlite와 peatmoss 배합비율이 5 : 1이 가장 이상적이었으며 4개월 후 최종 생존률은 78%였다. 토양에 순화된 식물체는 노지 조건에서 겨울을 지나고 성공적으로 새순이 출현되었으며 성숙한 식물체로 생장되었다. 이 결과는 경제적 가치가 있고 희귀한 가시오갈피를 세포배양 방법을 이용한 묘목의 대량생산 방법의 시스템을 성공적으로 개발한 것이라고 볼 수 있다.

사사 - 본 연구는 과학기술부 생명공학 실용화사업 및 농촌진흥청 바이오그린 21 사업에 수행되었음.

인용문헌

- Brekhan II (1960) A new medicinal plant of the family Araliaceae the spiny *Eleutherococcus*. Izv Sibir Otdel Akad Nauk USSR 9: 113-120
- Choi YE, Jeong JH (2002) Dormancy induction of somatic embryos of Siberian ginseng by high sucrose concentrations enhances the conservation of hydrated artificial seeds and dehydration resistance. Plant Cell Rep 20: 1112-1116
- Choi YE, Lee KS, Kim EY, Kim YS, Han JY, Kim HS, Jeong JH, Ko SK (2002) Mass production of Siberian ginseng plantlets through large-scale tank culture of somatic embryos. Plant Cell Rep 21: 24-28
- 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, Yang DC, 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
- Choi YE, Yang DC, Park JC, Soh WY, Choi KT (1998) Regenerative ability of somatic single and multiple embryos from cotyledons of Korean ginseng on hormone-free medium. Plant Cell Rep 17: 544-551
- Davydov M, Krikorian AD (2000) *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. (Araliaceae) as an adaptogen: a closer look. J Ethnopharmacol 72: 345-93
- Gui Y, Guo Z, Ke S, Skirvin RH (1991) Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Acanthopanax senticosus*. Plant Cell Rep 9: 514-516
- Isoda S, Shoji J (1994) Studies on the cultivation of *Eleutherococcus senticosus* Maxim. II On the germination and raising of seedling. Nat Med 48: 75-81
- Lee WT (1979) Distribution of *Acanthopanax* plants in Korea. Kor J of Pharmacol 10: 103-107
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue. Physiol Plant 15: 473-497
- Yi JM, Hong SH, Kim JH, Kim HK, Song HJ, Kim HM (2002) Effect of *Acanthopanax senticosus* stem on mast cell-dependent anaphylaxis. J Ethnopharmacol 79: 347-52