

팔손이 액아배양을 통한 기내증식

최경미* · 황성진** · 안준철*** · 이현용**** · 김재현***** · 황 백*†

*전남대학교 생물학과, **동신대학교 한약재산업학과, ***서남대학교 생명과학부, ****강원대학교 바이오산업공학부

In vitro propagation from axillary bud explants of *Fatsia japonica* Decne. et Planch.

Kyong Mi, Choi*, Sung Jin Hwang**, Jun Cheul Ahn***, Hyeon Yong Lee****, Jae Heun Kim*****, and Baik Hwang*†

*Dept. of Biology and Institute of plant Resources, Chonnam Natl. Univ., Gwangju 520-830, Korea.

**Dept. of Oriental Medicine Materials, Dongshin Univ., Naju 520-714, Korea.

***Dept. of Life Science, Seonam Univ., Namwon 590-711, Korea.

****Dept. of School of Biotechnology & Bioengineering, Kangwon Natl. Univ., Chunchon 200-701, Korea.

*****Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea.

ABSTRACT : A propagation for *Fatsia japonica* using axillary bud explants were established. Cultures were initiated from axillary bud explants on MS medium supplemented with IAA (1, 2, 3 mg^l⁻¹), 2,4-D (1, 2, 3 mg^l⁻¹) or NAA (1, 2, 3 mg^l⁻¹) in combination with BA (0.5 mg^l⁻¹). The maximum shoot bud formation was obtained in MS medium supplemented with 0.5 mg^l⁻¹ BA and 2 mg^l⁻¹ IAA after 4 weeks culture. The microshoot rooted within 4 week in MS medium containing 1.0 mg^l⁻¹ IBA.

Key words : *Fatsia Japonica*, axillary bud, propagation

서 언

자연환경의 훼손 등에 따른 자원식물의 감소에 대처하기 위해서는 이들 식물을 기내 (*in vitro*)에서 효율적으로 증식시킬 수 있는 기술을 개발함으로써 자원식물의 보존과 우량 품종의 개발·유용성분의 효율적 생산 등을 이룰 수 있다 (Heyenga *et al.*, 1990; Teixeira *et al.*, 1994). 조직배양에 의한 증식법은 재래 육묘증식 기술의 대안이 될 수 있으며 아(芽) 배양에 의한 기내 증식은 여러 활엽수종의 클론 증식의 주요 수단이 되어왔다 (Bonga, 1987; Thorpe *et al.*, 1991; Lubrano, 1992; Meier-Dinkel, 1992). 약용식물의 하나인 팔손이는 두릅나무과 (Araliaceae)에 속하는 목본식물로 3종 (*F. oligocarpella* Koidz, *F. japonica* (Thunb.) Decne. et Planch., *F. polycapa* Hayata)으로 구성되어 있고, 국내에서는 거제도과 남해도를 중심으로 통영시 비진도와 내도 등지의 해변에 군락지를 형성하고 있다 (Hoo *et al.*, 1978; Lee, 1991). 팔손이의 나무껍질은 잿빛을 띤 흰색이며, 줄기는 몇 개씩 같이 자라고 가지가 갈라진다. 그늘에서 잘 자라고 공해에 비교적 강하며 잎에 무늬가 있는 것도 있다. 꽃은 잡성화(雜性花)로서 10~11월에 흰색으로 피고, 커다란 원추꽃차례로 달린다. 열매는 장과로서 등글며 다음해 5월 무렵 검게 익는다.

지금까지는 두릅나무과 식물들 중 인삼과 오가피나무에 국한되어 효능과 이용방법에 대해 많은 연구가 이루어져 왔다 (Kim, 2002). 또한, 이들 수종에 대해서는 다수의 조직 배양 연구가 보고된 바 있다 (Choi *et al.*, 1999; Daykin *et al.*, 1997; Lee *et al.*, 2002; Moon & Youn, 1999; Nishihira *et al.*, 1998; Moon *et al.*, 2001). 그러나 팔손이는 관상용 수종으로 육성되거나 관절계 질환에 대한 민간약재로 이용되어 왔다. 회귀종으로서 학술적 가치가 인정되어 천연기념물 제 63호로 지정·보호되고 있다 (Cultural Properties Administration, 2003). 따라서 회귀수종인 팔손이의 대량 육묘를 위한 새로운 기술로 조직배양 방법이 개발될 필요가 있다. 지금까지 두릅나무과의 수종 가운데 조직 배양 연구는 주로 오갈피나무를 가지고 수행되었을 뿐 (Lee *et al.*, 2002; Moon & Youn, 1999) 팔손이에 대한 조직 배양 연구는 보고된 바 없다. 본 연구는 팔손이의 액아배양을 통해 신초의 대량증식 조건을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 식물재료

본 실험에 사용한 팔손이 (*Fatsia japonica* Decne. et Planch)

†Corresponding author: (Phone) +82-62-530-3392 (E-mail) bhwang@chonnam.ac.kr
Received November 4, 2005 / Accepted December 30, 2005

는 광주광역시 송정동 일대에서 채취하였다. 1년생 팔손이를 액아부분을 포함한 잎과 줄기를 15~20 cm 크기로 절단하여 흐르는 물에 충분히 수세하고 무균상에서 70% EtOH에 3분, sodium hypochlorite에 6분 정도 침적하여 표면살균한 후 멸균수로 3회 이상 세척하고 멸균된 여과지로 물기를 제거한 후 1 cm~1.5 cm 크기로 절단하여 3% sucrose만을 포함한 MS고형배지(0.3% gelite, pH 5.8)에서 24시간 배양하였다.

2. 액아로부터 신초의 증식

신초를 유도하기 위하여 MS기본배지에 BA와 NAA, 2,4-D, IAA를 농도별로 조합처리 하였다. 모든배지는 3%의 sucrose와 0.3% gelite를 첨가한 후 pH를 5.7~5.8로 맞추어 121°C에서 20분간 고압숙윤 멸균처리 하였다. 표면살균 처리된 팔손이의 액아부분이 포함된 줄기절편을 무균조건하에서 0.5~1 cm 크기로 절단한 다음 신초 유도배지에 치상하여 온도 25±1°C가 주어진 암조건에서 배양하였다.

3. 발근

액아로부터 유도된 신초로 부터 발근을 유도하기 위하여 MS기본배지에 IBA를 농도별 (0.1, 0.25, 0.5, mg⁻¹)로 처리하여 발근을 유도하였다. 발근은 암조건에서 수행하였으며, 2주일 간격으로 뿌리의 양상 및 수, 길이를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 액아로부터 신초의 유도

BA와 NAA, 2,4-D 그리고 IAA를 농도별 조합처리한 MS 기본배지에 줄기절편을 치상하여 암조건 아래서 배양하였을 때 약 4~5주 후 신초가 유기되는 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 1). 0.5 mg⁻¹ BA와 2 mg⁻¹ NAA 그리고 1 mg⁻¹ 2,4-D를 처리한 실험구에서 각각 32%와 27%의 신초형성을 확인할 수 있었으며, 0.5 mg⁻¹ BA와 2 mg⁻¹ IAA 처리구에서 57%로 가장 높게 나타났다. 그러나 나머지 조건에서는 모두 캘러스만 형성될 뿐 신초는 발생하지 않았다 (Table 1). 한편 0.5 mg⁻¹ BA+2 mg⁻¹ IAA 처리구에서는 절편의 기부에서 캘러스의 형성과 함께 신초가 형성되었으며, 3주 간격으로 계대 배양시 새로운 신초가 유기됨을 확인할 수 있었다 (Fig. 2). 일반적으로 활엽수종의 배양에서는 cytokinin류로 BA를 가장 많이 사용하고 있으며, BA는 정아의 성장을 억제시켜 액아로부터 줄기발생을 촉진하는 것으로 알려지고 있다 (George, 1996). 그러나, 팔손이의 액아배양에서 초대배양시 cytokinin의 처리로 multiple shoot는 이루어지지 못했다. 초대배양된 대부분의 절편은 액아로부터 하나의 줄기만 성장하고 잎이 다량으로 발생하는 형태로 성장 되었다. 이는 Moon (2002) 등이 보고한 결과와 유사하였다. 여러 활엽수종의 기내배양에서 절편기부에 형성되는 캘러스는 절편의 양분 및 성장호르몬의 저장

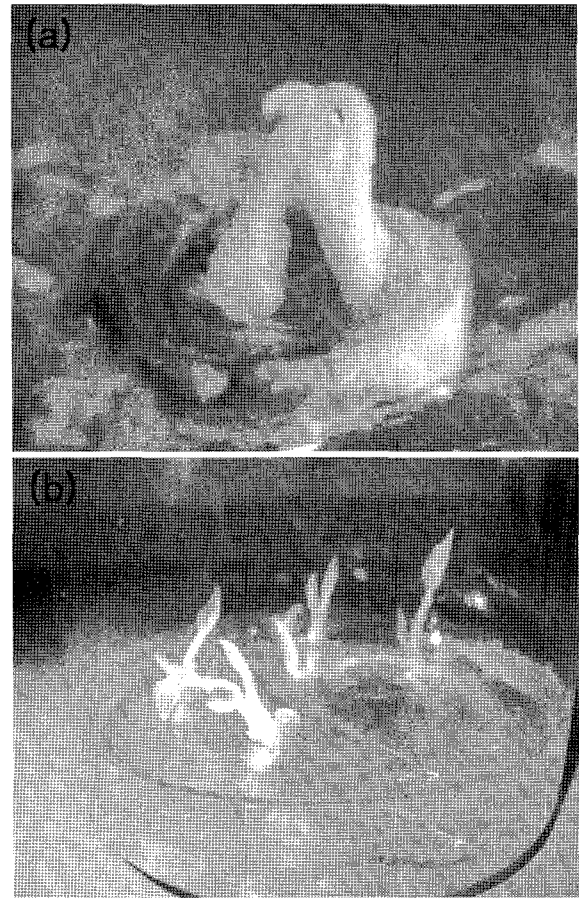


Fig. 1. (a) Induction of adventitious shoot from axillary bud of *Fatsia japonica* on MS medium supplemented with 0.5 mg⁻¹ BA and 2 mg⁻¹ IAA (b) Growing of adventitious shoots on MS medium containing with 0.5 mg⁻¹ BA and 2 mg⁻¹ IAA after 4~5 weeks.

Table 1. Effects of plant growth regulators on adventitious shoot induction from axillary bud of *Fatsia japonica*

Plant growth regulators (mg ⁻¹)				No. of axillary bud explants	Shoot induction (%)
BA	IAA	NAA	2,4-D		
0.5		1		30	-
0.5		2		30	32
0.5		3		30	c
0.5			1	30	27
0.5			2	30	c
0.5			3	30	-
0.5	1			30	c
0.5	2			30	57
0.5	3			30	-

c : callusing

- : no response

기능을 담당하는 것으로 보고되고 있다 (Vieitez *et al.*, 1989). 따라서 증식과 더불어 절편기부에 어느 정도의 캘러스가 형성

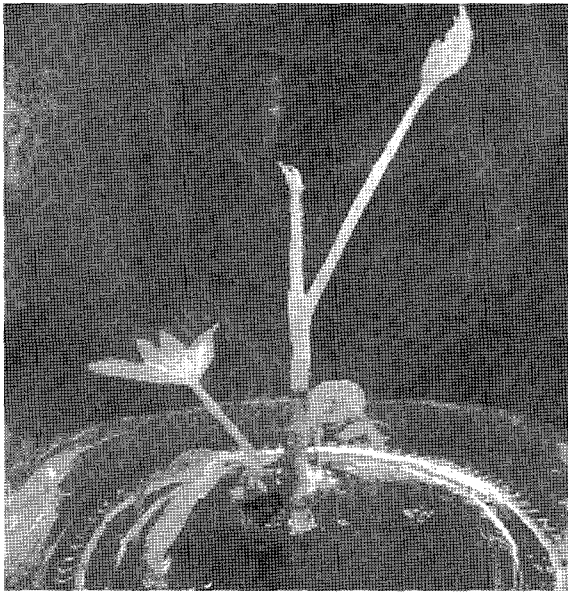


Fig. 2. Elongation of adventitious shoots on MS medium containing 0.5 mg l^{-1} BA and 2 mg l^{-1} IAA.

되는 것은 바람직하다고 보고 있으며 줄기의 길이생장이 양호하여 절간 마디의 액아를 다시 절편으로 이용하여 대량증식할 수 있었다. 한편, 절취부에서 5주 후부터 약간의 정단괴저(apical necrosis)가 관찰되었다. 액아 배양시에 나타나는 정단괴저의 원인으로 칼슘의 결핍, 정아(apical bud)로의 칼슘 분배 부족, 과습으로 인한 통기성 불량 등이 원인으로 보고된 바 있다 (Sha *et al.*, 1985). 그러나 팔손이의 증식과정에서 나타나는 정단괴저는 극히 제한적으로 나타났고, 계대배양을 반복할수록 그 현상은 거의 일어나지 않았다. 또한, 정단괴저로 인해 정아가 고사되더라도 줄기하부의 액아에서 새로운 신

Table 2. Effects of various IBA concentration on root induction from axillary bud of *Fatsia japonica*

	IBA (mg l^{-1})	Days to rooting	Length of root (cm)
MS	0	0	-
	0.1	0	-
	0.25	30	1.2 ± 0.7
	0.5	26	4.5 ± 1.3
	1	26	2.5 ± 1.1

- : no response

초의 발생이 이루어지기 때문에 증식상의 큰 문제는 되지 않았다.

한편, 배양과정에서 빛의 세기(light intensity)가 줄기의 생장에 크게 영향을 미치는 것으로 관찰되었다. 500 lux 이하의 약광 하에서 배양하면 줄기생장에 뚜렷한 효과가 나타났고 (결과 미제시), 배양 5주 후에도 신초지의 정단괴저가 거의 관찰되지 않고 절간 조직의 생장이 좋았다. 이 수종을 정상 조건에서 배양하면 절간 생장이 매우 느린 점을 감안할 때 이식 가능한 줄기의 연속생산을 위해서는 약광 하에서 배양하여도 좋다고 생각된다. 약광 하에서 잎은 녹색을 띠었으며 외견상 생장에 큰 문제가 없었다.

2. 발근

신초로부터 발근을 유도하기 위해 IBA를 0.1, 0.25 그리고 0.5 mg l^{-1} 농도로 처리하여 암조건에서 약 5주 동안 배양하였다 (Table 2). 그 결과 처음에는 신초당 2~3개에 불과하였으나, 이후 부정근의 형성이 빠른 속도로 진행되었으며 초기에 형성된 부정근보다 성장 상태가 양호하였다. 조직 배양에서 반복적인 계대배양은 줄기의 재 유통화를 촉진하는 것으로 알려

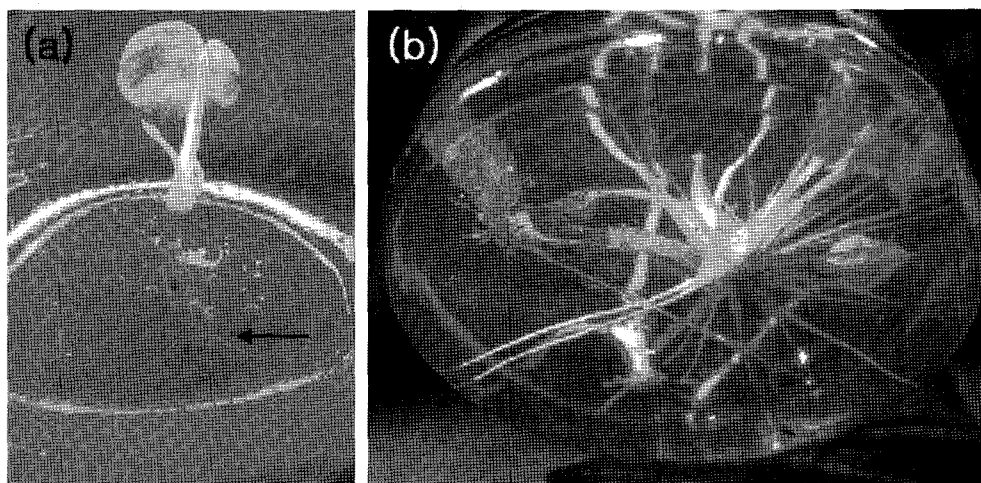


Fig. 3. (a) Root development of microshoot induced from axillary bud of *Fatsia japonica* on MS medium supplemented 0.5 mg l^{-1} IBA (b) Root proliferation on MS medium containing 0.5 mg l^{-1} IBA after 6 weeks.

져 있는데 (Arnaud *et al.*, 1993; Arrillaga *et al.*, 1992; Bonga 1987; Greenwood 1987; Hackett 1987) 팔손이도 이와 유사한 결과를 보였다. 성숙목의 기내배양에서 root 유도 방향성은 재유령화 정도를 나타내는 지표가 되는데 이러한 재유령화는 배지에 처리된 cytokinin의 영향으로 알려져 있다. Arnaud (1993) 등은 80년생의 *Sequoia sempervirens*의 기내배양에서 이 같은 사실을 확인한 바 있다. 한편, IBA 0.5 mg⁻¹와 1 mg⁻¹ 처리구 모두에서 발근율은 비슷하였으나, 길이생장에 있어서 큰 차이를 보였다 (Table 2). 즉, 0.5 mg⁻¹ IBA 처리구에서 보다 길이생장이 빠르게 이루어졌다 (Fig. 3). Barve & Mehta (1993)에 의하면 발근시 IAA와 IBA의 공조 처리가 효과적이라고 보고한 바 있으나 팔손이의 경우 IBA 단독 처리만으로 발근이 이루어졌다.

적 요

액아가 포함된 줄기절편을 0.5 mg⁻¹ BA와 함께 IAA, NAA, 2,4-D를 농도별 (1, 2, 3 mg⁻¹)로 조합한 MS기본배지에 치상하여 신초를 유도하였다. 액아로부터 신초의 형성은 0.5 mg⁻¹ BA와 2 mg⁻¹ IAA를 혼합처리한 배지에서 57%의 효율로 가장 높게 나타났다. 신초로부터 발근은 MS배지에 IBA를 1 mg⁻¹를 첨가하였을 때 가장 좋았다. 발생한 root의 길이는 평균 4주 후 약 4 cm로 측정되었다.

사 사

본 연구는 농림부 농림기술개발사업 (0903003-1-1(2003343))의 지원으로 수행되었습니다. 이에 감사합니다.

LITERATURE CITED

- Arnaud Y, Franciet A, Tranvan H, Jacques M (1993) Micropropagation and rejuvenation of sequoia sempervirens (Lamb) Endl: a review Ann. Sci. For. 50:273-295.
- Arrilaga I, Lerrna V, Segura J (1992) Micropropagation of juvenile and adult flowering ash. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 117: 346-350.
- Bonga JM (1987) Clonal propagation of mature trees: problems and possible solutions. In : JM Bonga and Don J Durzan (eds.), Cell and Tiss. Cult. in Forestry, Martinus Nijhoff Pub, p. 249-271.
- Choi YE, Kim JW, Yoon ES (1999) High frequency of plant production via somatic embryogenesis from callus or cell suspension cultures in *Eleutherococcus senticosus*. Annals of Botany. 83:309-314.
- Daykin A, Scott IM, Francis D, Causton DR (1997) Effect of gibberellin on the cellular dynamics of dwarf pea internode development. Planta. 203:526-535.
- George EF (1996) Plant propagation by tissue culture, Part 2. Exegetics Limited Pub., p. 653-669.
- Heyenga AG, Lucas JL, Dewick PM (1990) Production of tumor-inhibitory lignans in callus cultures of *Podophyllum hexandrum*. Plant Cell Rep. 9:382-385.
- Greenwood MS (1987) Rejuvenation of forest trees. Plant Growth Regul. 6 : 1-12.
- Hoo g, Tseng CJ (1978) flora reipublicae popularis sinicae. Tomus 54. angiospermae dictyledone Araliaceae. Facultas Biologia Universitatis Amoensis. p. 210.
- Kim MJ, Kim JS, Kang WH, Yeon KD (2002) Antimutagenic and cytotoxic effects of extracts of *Kalopanax pictus* Nakai endoermis. Korean J. Medicinal Crop. Sc. 10:132-138.
- Kothari SL, Chandra N (1984) *In vitro* propagation of African marigold. Hortsci. 19:703-705.
- Lee CH, Lee ST (1991) A palynotaxonomic study of the genus *fatsia japonica* Decne. & Planch. and its relatives (Araliaceae). 21:9-25.
- Lee KS, Lee JC, Soh WY (2002) High frequency plant regeneration from *Aralia cordata* somatic embryos. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 28:241-246.
- Lubrano L (1992) Micropropagation of paplars (*Populus* spp.). In : YPS Bajaz (eds.), Biotechnology in Agriculture and forestry 18. Springer-Verlag Press, p. 151-178.
- Meier-Dinkel A (1992) Micropropagation of birches (*Betula* spp.). In : YPS Baiaz (eds.), Biotechnology in Agriculture and Forestry 18. Springer-Verlag Press. p. 40-81.
- Moon HK, Kim SH, Kim BK (2002) Micropropagation of *Kalopanax pictus* Nakai via Axillary Bud Cultures. Koean For. Soc. 91:775-780.
- Moon HK, Yoon Y (1999) Somatic embryogenesis from winter buds of 10-year-old *Aralia elata*. In : SM Jain, PK Gupta. RJ Newton (eds.), Somatic Embryogenesis in Woody Plants. Kluwer Academic Pub. 5:129-134.
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497
- Nishihira T, Hayashi Y, Matsumoto K (1998) Somatic embryo induction from cell suspension culture of *Aralia cordata* using bioreactors. J. of Japanese Soc. of Hort. Sci. 67:87-92.
- Sha L, McCown BH, Peterson LA (1985) Occurrence and cause of shoot-tip necrosis in shoot culture. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 110:631-634.
- Teixeira JB, Sondahl MR, Kirby EG (1994) Somatic embryogenesis from immature inflorescences of oil palm. Plant Cell Rep. 13:247-250.
- Thorpe TA, Harry IS, Kumar PP (1991) Application of micropropagation to forestry. In : PC Debergh and RH Zimmerman (eds.), Kluwer Academic Pub., p. 311-336.
- Tomimori T, Kizu H (1979) On the saponins from the leaves of *Fatsia japonica* Decne. et Planch (author's transl), Yakugaku Zasshi. 99:92-94.
- Vieitez AM, Sanchez C, San-Jose C (1989) Prevention of shoot-tip necrosis in shoot culture of chestnut and oak. Sci Hort. 41: 151-159.
- Moon HK, Hong YP, Kim YW, Lee JS (2001) Genotype Effect on Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration of 15 *Aralia elata*. Korean J. Plant tiss. Cult. 28:129-134.
- 한국문화재청 (2003) 천연기념물 백서, 문화재청 p. 331.