

조직배양에 의한 알로에(*Aloe arborescens* Mill) 식물체의 대량번식

유창연*, 전인수*, 안상득*, 조동하*, 정일민**

*강원대학교 농과대학 자원식물개발학과

**건국대학교 농과대학 농업자원연구소

Rapid Micropropagation of *Aloe arborescens* Mill. by Meristem Culture.

Chang Yeon Yu*, In Su Jeon*, Sang Deuk Ahn*, Dong Ha Cho*, Ill Min Choung**

* Department of Plant Resource, College of Agriculture, Kang Won National University, Chuncheon, 200-701.

**Agriculture Resources institute, College of Agriculture, Kon Kuk University, Seoul, 133-701, Korea.

Abstract

This study was carried out to investigate the optimum medium and concentrations of growth regulators for induction of multiple shoot by meristem culture of *Aloe arborescens* Mill. MS medium supplemented with 3μM TDZ was effective for induction of multiple shoot. Shoot multiplication was more effective when 2mg/l BA combined with 0.1mg/l IAA than when only BA were treated on medium. Half strength of MS medium supplemented with 2mg/L IAA was effective for rooting of shoots regenerated. When plantlets regenerated from meristem culture were transferred to pot, survival rate of plantlets was 80% on perlite and was 95% on vermiculite, respectively.

Key word : *Aloe arborescens* Mill, In vitro propagation.

Aloe는百合科에 속하는 多年生 木本性(*Aloe arborescens* Mill.) 약용식물로 약재명은 노회라고 한다. 북아프리카가 원산지로서 지금은 주로 멕시코, 베네주엘라, 자메이카 등지에서 널리 재배되고 있으며(Fassina, 1974), 최근 우리나라에서도 재배가 증가하고 있는 추세이다. 알로에는 barbaloin, aloesin, aloe-emodin(Birch & Donovan, 1955) 등의 성분을 함유하며, 건위, 강장, 완하, 식욕증진, 살균 등 광범위한 약리작용을 가지고 있어 근래에는 건강식품과 화장품 원료로 이용되고 있으며 가정에서는 관상용과 식용을 겸하여 재배하는 등 그 이용도가 점점 높아지는 추세이다. 알로에는 대부분 응성불입(Keijzer & Cresti, 1987; Sapre, 1975)

으로 종자번식을 하지 못하며, *A. arborescens*의 경우는 점액질이 적은 잎 또는 선단부위를 잘라서 삽목하여 번식을 하고 있으나 번식효율이 떨어져 있다.

최근에 조직배양이 식물체의 대량증식, 품종개발, 유용물질생산, 유전자보존, 각종 내성식물체선발 및 유용유전자의 형질전환 등에 다양하게 이용되어지고 있다. 그 중에서도 식물체의 대량번식에 대한 연구는 농업에 널리 실용적으로 이용되어지고 있다. 조직배양기술이 실용화되기 위해서는 식물조직으로부터 식물체 분화에 효과적인 최적조건이 구명되어야만 한다. 식물체 재분화에는 배지조성, 배양조건, 유전자형, 치상부위, 생장조절물질종

류 및 농도 등이 다양하게 영향을 미치기 때문에 식물체 분화의 최적조건들에 대한 체계가 확립되어야만 한다(Jain et al., 1988).

알로에 기내배양에 관한 연구는 Yagi 등(1983)이 *Aloe saponaria*에서 캘러스를 유도하였으나 식물체 분화에 관한 보고는 없었다. Groenewald 등(1975)은 *Aloe pretoriensis* Pole Evans종자에서 캘러스 유도와 식물체분화를 보고하였으며, *Aloe vera* L.의 분열조직과 캘러스에서 식물체가 분화하였다는 보고(Castorena Sanchez et al, 1988; Natali. et al, 1990; Meyer & Staden, 1991)도 있으나 체계적인 연구가 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구는 알로에 분열조직을 기내배양하여 multiple shoot 대량생산의 최적화 조건 규명 및 종묘대량 증식과 무병주의 생산가능성을 알기위하여 수행하고 있는 실험 중 일부 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 다개체 Shoot 유도

온실에서 생육하던 알로에(*Aloe arborescens* Mill.)의 분열조직을 채취하여 증류수로 3-4회 수세 후 70% ethanol에 1분간 침지하고, 5% sodium hypochlorite용액에 10분간 흔들며 주면서 표면을 살균한 후 멸균수로 4-5회 세척하였다. 분열조직을 0.5cm로 절단하여 배지에 치상하였다. 배지는 MS(Murashige and Skoog, 1962)기본배지에 3% 당과 0.8%한천을 첨가하였고, 다개체 식물체 유도조건을 알기 위하여 BA, kinetin을 0.1, 1, 3 mg/l, thidiazuron(TDZ)을 0.1, 1, 3 μ M로 단독처리 및 BA와 IAA를 혼합처리 하였다. 그리고 B5배지에 식물생장조절제를 처리하여 식물체 분화효과를 관찰하였다. 배지의 pH는 5.7로 조절하였으며 시험관(2.4×15cm)에 10ml의 배지를 분주하고 멸균하였다. 배양조건은 25°C의 온도와 2000Lux의 형광등하에서 16시간 일장으로 배양하였다.

2. 뿌리유도와 토양에서의 순화

분화된 싹에서 뿌리를 유도하기 위하여 2cm의 균일한 shoot를 IAA와 NAA 각 0, 0.1, 2.0mg/l씩 첨가된 1/2×MS, MS기본배지(3% 당, 0.8% 한천)

에 치상하여 6주간 위의 실험과 동일한 조건에서 배양하였다. 토양 순화정도를 조사하기 위해 버미클라이트, 펄라이트를 채운 파종상에 뿌리가 유지된 식물체를 이식하여 온도 25°C, 70%의 습도가 유지되는 유리온실에서 2개월간 재배 후 생존율을 조사하였다.

결과 및 고찰

1. 다개체 Shoot 유도

알로에의 분열조직에서 다개체 식물체 유지 최적조건을 구명하기 위하여 알로에의 분열조직을 식물생장조절제가 처리된 MS배지에서 8주간 배양한 결과는 표1과 같다. 시토키닌류 처리에서 TDZ 처리가 BA나 kinetin처리시보다 신초형성수나 생장이 양호하였으며 저농도보다 3mg/l처리에서 더 효과적이어서 절편체당 8.5개의 줄기가 분화되었다. BA나 카이네틴처리는 TDZ처리에 비하여 신초형성 효율이 저조하였다. Thidiazuron은 *Phaseolus lunatus* L.의 캘러스 생장에 zeatin보다 3배이상 효과적이었고 *Solanum*종의 식물체 분화에도 IAA와 BA보다 효과적이었다(Capell et al., 1983; Yu and Masiunas, 1990). 사이토키닌류 처리에서 농도간의 신초형성에 미치는 영향은 차이가 크지 않았다. 일반적으로 TDZ처리가 신초형성에 양호하였으며, BA 2mg/l, IAA 0.1mg/l 혼합처리에서는 BA 단독처리보다 신초형성이 촉진되었으며 다른 혼합처리는 BA 단독처리보다 신초형성에 촉진효과가 없었다. BA 0.1mg/l와 IAA 2mg/l 처리는 신초형성을 억제하는 경향을 보였다. IAA의 농도가 증가되었을 시에는 신초분화를 감소시켰다. 따라서 알로에의 분열조직배양시 BA, 카이네틴, TDZ 단독처리나 높은 농도의 BA(2mg/l)와 낮은 농도의 IAA(0.1mg/l)가 혼합처리되었을 때 줄기분화에 효과적이었다. 반면에 Natali등(1990)은 *Aloe vera* L.의 분열조직 배양에서 BA나 카이네틴 단독처리는 신초형성에 효과가 없었으며, 2,4.-D 1 μ M와 카이네틴 2.3 μ M처리에서 신초형성이 양호하였으며 2,4.-D 0.1 μ M와 BA 2.2 μ M처리로 계대배양하였을때 생육이 좋았다고 하였다. Meyer와 Staden(1991)은 *Aloe vera* L.의 신초절편배양에서 IBA 5 μ M

처리에서 부정아형성과 신초생육이 양호하였고, 2, 4-D는 분화를 억제하였으며 BA, 카이네티, TDZ 처리는 부정아형성에 별다른 영향을 미치지 못하

였다고 보고 하여 *Aloe aborescense* Mill을 실험재료로 사용한 본 실험의 결과와는 많은 차이를 보였다.

Table 1. Effect of plant growth regulators on shoot regeneration of *Aloe arborescens* by meristem culture on MS medium after 8 weeks.

Growth regulator (mg/l)		Average number of shoots/explant	Shoot length(cm)	Shoot formation*
BA	0.1	4.3±0.8	3.4±0.9	+
	1.0	5.3±0.9	2.8±0.7	+
	3.0	4.6±0.8	3.7±0.8	+
Kinetin	0.1	5.2±1.1	3.3±0.6	+
	1.0	3.9±0.7	3.8±0.9	+
	3.0	5.7±1.2	2.6±0.5	+
TDZ ^a	0.1	6.8±0.9	4.1±0.9	+
	1.0	7.3±1.2	3.7±0.7	+
	3.0	8.5±1.5	5.3±1.2	++
BA 0.1 + IAA	0.1	3.1±0.5	2.4±0.6	-
2.0 + "	0.1	7.3±1.5	5.1±1.5	++
0.1 + "	2.0	4.5±0.8	2.1±0.4	-
2.0 + "	2.0	3.8±0.6	2.5±0.6	+

*- : poor, + : good, ++ : very good

^a- : TDZ concentration is μM

Table 2 Effect of plant growth regulators on shoot regeneration of *Aloe arborescens* by meristem culture on B5 medium after 8 weeks.

Treatments (mg/l)		Average number of shoots/explant	Shoot length(cm)	Shoot formation*
BA	0.1	3.7±0.7	3.6±0.8	-
	3.0	4.1±0.6	2.9±0.6	+
TDZ ^a	0.1	5.4±0.9	3.7±0.7	+
	3.0	6.8±1.1	4.4±0.9	++
BA 0.1 + IAA	0.1	2.5±0.3	1.9±0.4	-
2.0 + "	0.1	6.9±1.5	4.2±0.8	++
0.1 + "	2.0	3.1±0.4	1.4±0.3	-
2.0 + "	2.0	4.3±0.7	1.9±0.4	+

*- : poor, + : good, ++ : very good

^a- : TDZ concentration is μM

표2는 B5배지의 효과를 알아보기 위하여 식물 성장조절제를 처리하고 분열조직을 배양한 결과인

데 식물성장조절제의 처리 효과는 MS배지에서 처럼 TDZ처리가 신초형성수나 생장에 효과적이었으

며, BA 2mg/l와 IAA 0.1mg/l 혼합처리는 BA 단독처리보다 신초형성을 촉진하였고 다른 IAA와 BA 혼합처리는 효과가 없었다. B5배지와 MS배지에서 식물생장조절제의 효과는 큰 차이가 없었으며, 신초형성이나 생육은 B5배지보다 MS배지가 더 효과적이었다.

알로에의 기내배양시 배지의 효과는 Groenewald 등(1975)과 Racchi(1987)에 의하여 보고되었다. Groenewald 등(1975)은 *Aloe pretoriensis* Pole Evans의 종자를 Linsmaier and Skoog(1965) 기본

배지에 기내배양하여 캘러스 유도과 식물체분화를 보고하였고, Racchi(1987)는 *Aloe ferox* Mill.의 종자를 2,4-D 0.5mg/l, kinetin 1mg/l, BA 0.5mg/l이 처리된 N6(Chu, 1978)배지에서 배양하여 한달 후 캘러스를 얻었다고 하며, 같은 조건의 배지에 계대배양하여 체세포배형성을 통한 식물체분화를 보고하였다. 본 실험의 결과에서는 MS배지가 분열조직으로부터 식물체를 대량생산하는데 적합하였다.

Table. 3 Effect of the strength of medium and auxins on rooting of shoots of *Aloe arborescens* cultured on MS medium after 6 weeks.

Medium strength	Auxins (mg/l)	Average number of roots/shoot	Root length(cm)	Shoot length(cm)
1X MS	Control	1.7±0.4	1.4±0.5	6.3±1.4
	IAA 0.1	3.8±0.6	2.2±0.3	7.2±1.3
	2.0	4.8±0.8	3.1±0.6	3.9±0.7
	NAA 0.1	4.4±0.7	1.8±0.3	5.8±0.4
	2.0	3.9±0.4	2.9±0.5	3.4±0.5
1/2X MS	Control	2.3±0.5	1.9±0.2	6.8±1.1
	IAA 0.1	4.5±0.7	2.4±0.4	8.0±1.4
	2.0	5.6±1.1	3.5±0.7	4.4±0.9
	NAA 0.1	4.9±0.6	2.3±0.5	6.3±1.2
	2.0	4.8±0.9	3.1±0.7	3.8±0.8

2. 뿌리유기와 토양활착

분화된 신초로부터 뿌리분화를 유도시키기 위하여 옥신류를 처리한 결과를 표3에서 보면 대조구에 비해 옥신류 처리는 발근 효과가 있었다. MS배지와 1/2X MS배지에서 옥신류의 처리 효과는 비슷한 경향을 보였으나, 1/2X MS배지가 분화된 줄기의 뿌리유도나 뿌리분화배지로 옮긴 신초생육에 더 효과적이었다. 신초 당 발근수는 옥신류에 따라 큰 차이를 보이지 않았지만 근장은 IAA나 NAA 2mg/l처리에서 길어진 반면 신초의 신장을 억제하였고, 0.1mg/l처리에서 근장은 2mg/l처리에 비하여 빈약하였지만 줄기신장은 억제하지 않았다. 신초신장이 억제되지 않고 뿌리분화가 촉진되는 조건은 IAA 0.1mg/l처리가 적합하다고 판단되었다. 그림 1-A는 알로에의 분열조직에서 배양

4주 후 다개체 식물체가 분화되는 것이다. 분화된 신초를 NAA 2mg/l를 처리한 MS배지에서 6주간 기내 배양하여 발근시킨 식물체(Fig. 1-B)를 펠라이트와 버미클라이트가 든 포트에 이식한 후 유리온실에서 재배한 결과 2개월 후 기내 분화된 식물체(Fig.1-C)의 토양 활착율은 버미클라이트를 사용한 경우는 95%의 생존율을 보였고 펠라이트는 80%의 생존율을 보였다. 이 결과로 보아 알로에 토양활착에는 버미클라이트를 사용하는 것이 적합할 것으로 생각된다. Natali 등(1990)은 *Aloe vera* L.의 기내배양에서 분화된 신초를 호르몬이 첨가되지 않은 MS기본배지에서 배양하여 발근시킨 후 흙, 모래, 펄미스가 혼합된 포트에 이식하여 온실에서 재배한 결과 100%의 생존율을 보였다고 하며, Meyer와 Staden(1991)는 *Aloe vera* L.의 신초

절편배양에서 5-6cm 정도 자란 분화된 식물체를 미스트장치에서 순화시킨 결과 98%가 생존하였다고 보고했다. 본 실험 결과 알로에의 기내분화나

토양 활착이 양호한 편이었으며, 주년생산과 무병의 종묘 생산가능성을 확인할 수 있었다.

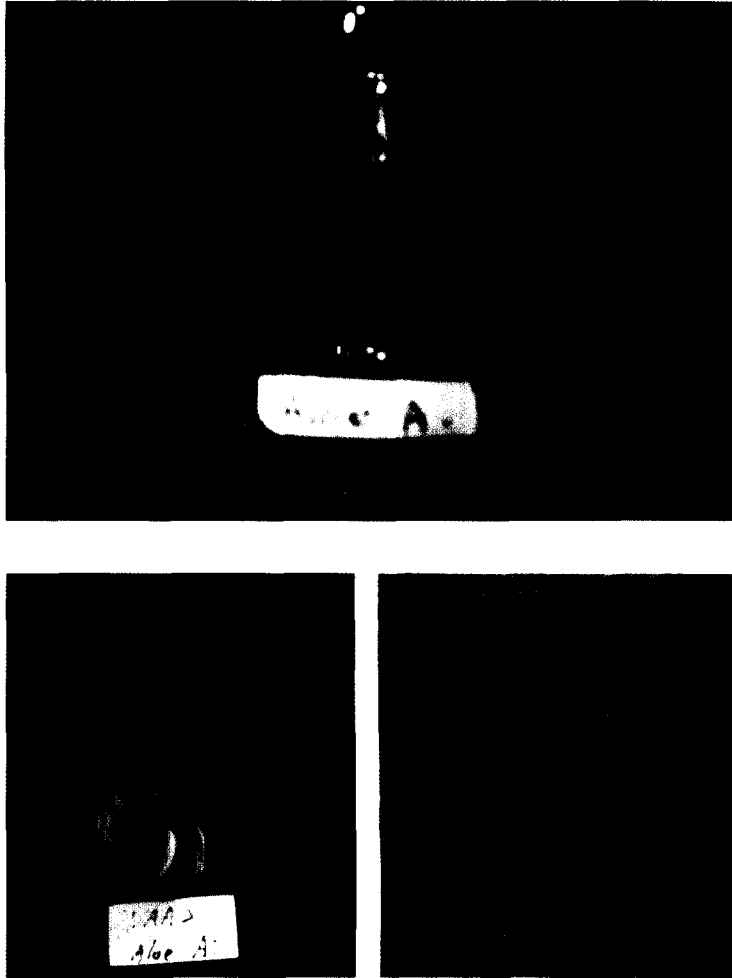


Fig 1. Plant micropropagation of *Aloe arborescens* Mill.

- A) Shoots regenerated from meristem explant.
- B) Plantlet rooted on MS medium after 6 week culture.
- C) Plants hardened on perlite in greenhouse.

摘 要

알로에(*Aloe arborescens* Mill.) 분열조직을 기내 배양하여 다개체 식물체 분화의 최적조건과 식물체 대량생산가능성을 조사하기 위하여 실험한 결과는 다음과 같다. TDZ은 저농도 처리보다 $3\mu\text{M}$

처리에서 다개체 식물체형성이 양호하였으며, BA 2mg/l와 IAA 0.1mg/l 혼합처리에서는 BA 단독처리보다 신초형성이 촉진되었다. B5배지에서 식물생장조절제의 처리효과는 MS배지와 비슷하였으며, 신초형성이나 생육은 B5배지보다 MS배지가 더 효과적이었다. 1/2X MS배지가 뿌리유도나 신초생

육에 더 효과적이었고, 근장은 IAA나 NAA 2.0mg/l처리에서 길어진 반면 신초의 신장을 억제하였고, 0.1mg/l처리에서 줄기신장은 억제되지 않고 뿌리분화가 촉진되었다. 기내 분화된 식물체의 토양 활착율은 버미클라이트를 사용한 경우는 95%의 생존율을 보였고 펄라이트는 80%의 생존율을 보였다.

사 사

본 논문은 1993년 대산농촌문화재단의 학술연구 조성비에 의하여 수행된 결과의 일부분으로 연구비를 지원해주신 대산재단에 감사의 뜻을 표한다.

引用 文 獻

- Birch A. J. and F. W. Donovan. 1955. Barbaloin I. Some observations on its structure. Aust. J. Chem. 8 : 523-528
- Capelle S.C, D.W.S. Mok, S.C. Kirchner, and M.C. Mok. 1988. Effect of thidiazuron on cytokinin autonomy and the metabolism of N⁶-(isopenyl)[8-¹⁴C]adenosine in callus tissues of *Phaseolus Lunatus* L. Plant Physiol 73 : 796-802
- Castorena Sanchez I, L. Natali, and A. Cavallini. 1988. In vitro culture of *Aloe barbadensis* Mill. : Morphogenetic ability and nuclear DNA content. Plant Sci. 55 : 53-59
- Chu, C.C. 1987. The N⁶ medium and its applications to anther culture of cereal crops. In : Proc. Symp. Plant Tissue Culture. Science Press, Peking, pp.43-50
- Fassina, G. 1974. Lezioni di Farmacognosia-Droghe vegetali. CEDAM, Padova, Italy
- Groenewald, E. G., A. Koeleman, D.C.J. Wessels. 1975. Callus formation and plant regeneration from seed tissue of *Aloe pretoriensis* Pole Evans. Z. Pflanzenphysiol. 75 : 270-272
- Jain, R. K., J.B. Chowdhury, D. R. Sharma, and W. Friedt. 1988. Genotypic and media effects on plant regeneration from cotyledon explant cultures of some *Brassica species*. Plant Cell, Tissue, and Organ Culture 14 : 197-206
- Keijzer, C. J and M. Cresti. 1987. A comparison of anther tissue development in male sterile *Aloe vera*, and male sterile *Aloe ciliaris*. Ann. Bot. 59 : 533-542
- Linsmaier, E. M. and F. Skoog. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 18 : 100-127.
- Meyer, H. J. and J. Staden. 1991. Rapid in vitro micropropagation of *Aloe barbadensis* Mill. Plant Cell, Tissue, and Organ Culture 26 : 167-171
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15 : 473-97
- Natali, L., I.C. Sanchez, and A. Cavallini. 1990. In vitro culture of *Aloe barbadensis* Mill. : Micropropagation from vegetative meristems. Plant Cell, Tissue, and Organ Culture 20 : 71-74
- Racchi, M. L. 1987. Plant regeneration from callus cultures of a *Aloe ferox* Mill. In : Proc Int Congr Plant Tissue Culture. Bogota
- Sapre, A.B. 1975. Meiosis and pollen mitosis in *Aloe barbadensis* Mill.(*A. perfoliata* var. *vera* L., *A. vera* Auth. non Mill.). Cytologia 40 : 525-533
- Yagi A, Y. Shoyam, I. Nishioka. 1983. Formation of tetrahydroanthracene glucosides by callus tissue of *Aloe saponaria*. Phytochemistry 22 : 1483-1484
- Yu, C.Y. and J. B. Masiunas. 1990. Improved plant regeneration of *Solanum* and *Lycopersicon* genotypes from long-term callus culture. HortScience 25 : 112