

알로에 생장점 배양시 식물체 재분화에 미치는 Polyamine, 염류농도, 당 및 Gelling Agent의 효과

유창연*·김재광*·임정대*

Effect of Polyamines, Salt Strength, Sucrose, and Gelling Agents on plant Regeneration from Meristem Culture of *Aloe* spp.

Chang Yeon Yu*, Jae Kwang Kim* and Jung Dae Lim*

ABSTRACT : This study was carried out to investigate the effect of polyamines, salt strength, sucrose and gelling agents on the regeneration of plantlets by meristem culture of *Aloe arborescens* Mill. and *Aloe vera* L. Shoot multiplication was more effective when 10mg/l spermine in *Aloe arborescens* and 1mg/l spermidine in *Aloe vera* added into MS medium than when other polyamines were treated into media. A quarter strength of MS medium was effective for rooting of shoots regenerated. Higher concentration of sucrose (45g/l) was more effective for shoot regeneration. Addition of 4g/l gelrite into the medium was effective for induction of multiple shoots from *Aloe* than that of agar or other concentrations of gelrite. 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 words : *Aloe arborescens* Mill., *Aloe vera* L., meristem culture, spermidine, spermine

緒 言

*Aloe*는百合科에 속하는 多年生 木本性(*Aloe arborescens* Mill.), 다육질 초본(*Aloe vera* L.)의 약용식물로 약재명은 노회라고 한다. 북아프리카가 원산지며, 최근 우리나라에서도 건강식품, 화장품원료, 관상용으로 재배가 증가하고 있는 추세이다. 알로에는 barbaloin, aloesin, aloe-emodin 등의 성분을 함유하며, 건위, 강장, 완하, 식욕증진, 혈액순환촉진, 혈관개선, 심장기능향진, 살균 등 광범위한 약리작용을 가지고 있어 그 이용도가

점점 높아지는 추세이다. 알로에는 대부분 응성불임으로^{1,2)} 종자번식을 하지 못하며, 삽목이나 포기나누기등으로 번식을 하나 번식효율이 떨어지고 있다.

많은 식물종에서 식물체의 대량번식에 성공적 수단으로 사용된 조직배양기술을 이용한다면 이러한 번식에 대한 어려움점을 극복할 수 있을 것이다. 조직배양기술이 실용화되기 위해서는 식물조직으로부터 식물체 분화에 효과적인 최적조건이 구명되어야만 한다. 식물체 재분화에는 배지조성, 배양조건, 유전자형, 치상부위, 생장조절물질종류 및 농도 등이 다양하게 영향을 미치기 때문에 식

* 강원대학교 농업생명과학대학 (College of Agricultural and Life Science, Kangwon National University, Chuncheon 200 - 701, Korea)

< '97. 6. 5 접수 >

물체 분화시 최적조건구명을 위한 체계가 확립되어야만 한다.

알로에 기내배양에 관한 연구는 *Aloe saponaria* 에서 켈러스를, *Aloe pretoriensis* Pole Evans 종자에서 켈러스 유도과 식물체분화를, *Aloe vera* L. 분열조직으로부터 켈러스와 식물체를 분화시켰다고 보고하였다^{4,11,15,17}. 그러나 많은 연구자들에 의하여 식물체분화에 영향을 미치는 것으로 보고된 polyamine의 종류와 농도^{2,7,13}, 무기염류의 농도¹⁰, 탄소원의 농도^{1,3}, 한천 및 gelrite의 농도¹⁴에 관한 연구는 이루어지지 않았다. 따라서, 본 연구는 두 종의 알로에인 *Aloe arborescens* Mill과 *Aloe vera* L.를 재료로 사용하여 알로에 분열조직을 기내배양시 식물체 분화 및 생장에 영향을 미치는 polyamine, salt strength, sucrose농도, 한천 및 gelrite의 효과를 구명하고자 실시하였다.

재료 및 방법

온실에서 재배한 알로에 *Aloe arborescens* Mill. 과 *Aloe vera* L.의 정단분열조직을 채취하여 흐르는 물에 세척한 후 증류수로 3~4회 수세 후 70% ethanol에 1분간 침지후 멸균수로 3~4회 세척한 후, 5% sodium hypochlorite 용액에 10분간 흔들여 주면서 표면 살균한 후 멸균수로 3~4회 세척하였다. 분열조직을 0.5cm²로 절단하여 배지에 치상하였다. 기본배지는 MS(Murashige and Skoog, 1962)⁹ 기본배지에 3% 당과 0.8% 한천을 첨가하였고, 배지의 pH는 5.7로 조절하였으며 직경이 2.4cm인 시험관에 10mL의 배지를 분주하고 멸균하였다. 배양은 25℃의 온도와 2000 Lux의 형광등하에서 16시간 일장하에 실시하였다.

1. 식물체분화 및 생장시 polyamines, sucrose, gelrite의 효과

알로에 분열조직을 위에서 설명한 방법으로 준비한 후 MS배지에 polyamines인 putrescine, spermidine, spermine의 농도를 1, 10, 30mg/l 첨가한 배지에 치상하여 8주가 경과한 후에 분화된 줄기수, 줄기 길이를 조사하였다. 또한, 적당한 sucrose의 효과를 구명하고자 sucrose의 농도를 0,

15, 30, 45, 60g/l를 첨가한후 분화되는 줄기수를 조사하였다. Gelrite의 효과를 구명하고자 gelrite의 농도를 2, 4, 6%로하여 줄기 분화수를 조사하였다.

2. 뿌리유도에 있어서 salt strength의 효과

*Aloe arborescens*와 *Aloe vera* L.의 분열조직을 배양하여 분화된 식물체의 줄기를 MS 배지 염류농도를 2, 1, 1/2, 1/4, 1/8 strength로하여 치상후 형성된 뿌리수와 뿌리길이를 조사하였다.

3. 분화된 식물체의 토양순화

분화된 식물체의 토양이식을 위해 식물체를 세척한 후 vermiculite, perlite를 채운 파종상에 뿌리가 유기된 식물체를 이식하여 온도 25℃, 70%의 습도가 유지되는 유리온실에서 2개월간 순화과정을 거친 후 생존율을 조사하였다.

결과 및 고찰

1. 식물체 분화에 미치는 polyamine의 효과

Table 1. Effect of polyamines on the regeneration of shoot in meristem culture of Aloe on MS medium after 8 weeks.

Polyamines (mg/l)	<i>A. arborescens</i>		<i>A. vera</i>		
	No. of shoot	Shoot length (cm)	No. of shoot	Shoot length (cm)	
Control	3.8±1.4	2.0±1.0	3.5±1.2	3.0±0.8	
Putrescine	1	5.8±1.4	2.9±0.7	4.0±0.8	3.7±0.5
	10	5.4±1.1	2.8±0.4	3.6±0.7	2.7±0.4
	30	3.9±0.5	2.3±0.6	3.8±0.9	3.5±0.7
Spermidine	1	7.6±1.9	3.5±0.8	6.5±1.4	4.1±0.5
	10	5.6±1.3	2.5±0.4	4.7±0.9	2.8±0.3
	30	6.3±1.5	3.3±0.6	4.5±0.7	3.3±0.5
Spermine	1	7.1±2.1	4.4±0.6	5.4±1.1	2.3±0.6
	10	8.9±1.7	5.2±0.9	4.9±0.7	4.4±0.3
	30	8.5±2.3	4.7±0.8	4.5±0.8	3.8±0.6

알로에의 분열조직에서 식물체 분화에 미치는 polyamines의 효과를 구명하고자 실시한 실험의 결과는 Table 1과 같다. *Aloe vera* L. 분열조직배양시 explant당 분화된 줄기수는 spermidine 1mg/l 가 첨가되었을 때 6.5개의 줄기가 분화되었으며, spermine 1mg/l 가 첨가되었을 때 explant당 5.4개의 줄기가 분화되었다. Spermidine, spermine의 농도가 10mg/l 이상 처리되었을 때 줄기의 분화는 억제하는 경향을 보였다. Putrescine이 첨가되었을 때에는 1, 10, 30mg/l 가 첨가되었을시 4.0개 이하의 줄기가 분화되어 가장 저조한 결과를 보였다. *Aloe arborescens* 분열조직배양시에는 spermine 10mg/l, 30mg/l 가 첨가된 배지에서 explant당 8.9개, 8.5개의 줄기가 각각 분화되었으며, spermidine 1mg/l 첨가시 7.6개의 줄기가 분화되어 좋은 결과를 보였다. 그러나, Putrescine이 첨가된 배지에서는 spermine, spermidine이 첨가된 배지에서보다 저조한 식물체 분화율을 보여 알로에 경우에는 spermine이나 spermidine 처리가 더 적당하였다. 이러한 결과는 송 등¹³이 포플러 잎 배양시 spermine 첨가시 부정아의 형성을 증가하였다는 결과와 김 등⁷이 포플러 분화시 spermidine의 함량이 중요한 역할을 한다는 결과와 일치하였다. 많은 연구자들에 의하여 polyamine은 식물에 있어서 세포분열촉진, 발근촉진, 화분관성장촉진, 배발생유도, 개화유도 등에 관여하는 것으로 보고하였다^{2,7,13}. 본 실험에서 *Aloe arborescens*가 *Aloe vera*보다 식물체 분화시 고농도의 spermine을 요구하였는데 이러한 결과는 식물체 분화시 각 polyamine의 요구도나 식물체내의 내생함량 등이 상이하기 때문인 것으로 사료된다. 길이측정 결과 polyamine은 분화된 식물체의 성장도 증가시켰다.

2. 식물체 분화에 미치는 당 및 gelling agent의 효과

Sucrose 농도와 gelrite농도에 따른 *Aloe vera*와 *Aloe arborescens*의 분열조직으로부터 식물체 분화를 조사하였다. 본실험에서 사용된 배지, 생장 조절물질 종류 및 농도는 유 등^{17,18}에 의하여 앞서 수행된 실험에서 BA 2mg/l 와 IAA 0.2mg/l 을 조합처리시 줄기분화율과 분화된 식물체의 생장이

좋았다. 따라서 BA 2mg/l 와 IAA 0.2mg/l 을 기본배지에 첨가하고 sucrose 농도를 0, 15, 30, 45, 60g/l 로 처리한 후 분화율을 조사하였다 (Figure 1). Sucrose 45g/l 가 처리되었을 때 *Aloe vera*와 *Aloe arborescens* 식물체 분화율이 가장 높아 *Aloe vera*는 16개, *Aloe arborescens*는 7개 정도의 줄기가 분화되었다. Sucrose의 농도가 45g/l 이상 되었을 때 줄기의 분화는 감소하는 경향을 보였으나, 일반적으로 많은 식물의 조직배양시 사용되는 sucrose 농도인 30g/l 보다 높은 농도인 45g/l 이 사용되었을 때 알로에의 줄기의 분화를 촉진하였다. 이러한 결과는 비 약배양시 sucrose 농도가 60g/l 되었을 때 식물체분화 향상에 효과적이었다는 결과와 Gertlocoski와 Peterson이¹² *Coleus blumei*의 현탁배양시 sucrose 농도를 1%에서 6% 까지 증가할수록 생장을 촉진하였다는 결과와 일치하였다. 높은 농도의 sucrose는 커피의 분화 뿐만 아니라 기내보존에도 영향을 미치어 낮은 농도의 sucrose농도에서는 줄기생장, 발근, 생존율을 저하시키는 결과를 보였다¹¹. 따라서 Aloe 조직배양시에는 농도를 일반조직배양시 사용하는 30g/l 보다 45 g/l 로 증가시켜 사용하는 것이 줄기분화에 더 효과적이라 사료된다.

*Aloe vera*와 *Aloe arborescens*의 분열조직을 agar와 gelrite 농도를 달리한 배지에서 배양한 결

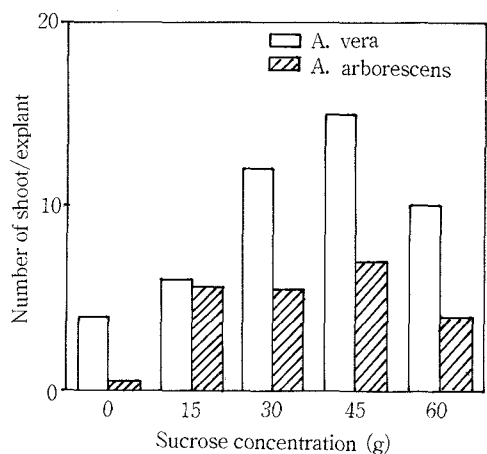


Fig. 1. Effect of different levels of sucrose on regeneration of *Aloe* on medium.

Table 2. Effect of agar and gelrite on the regeneration of shoots from the meristem culture of *Aloe* spp..

Gelling agents (g/l)		No. of shoot	
		<i>Aloe vera</i>	<i>Aloe arborescens</i>
Agar	8	1.4±0.0	2.5±0.8
Gelrite	2	1.4±0.7	3.0±0.6
	4	3.8±1.0	5.3±1.5
	6	1.4±1.2	4.5±1.1
LSD	5%	1.3	2.3

과 (Table 2), 8g/l 의 agar가 첨가된 배지에 *Aloe vera*를 배양시 explant당 2.6개의 shoot가 분화되었으며 *Aloe arborescens*는 explant당 4개의 줄기가 분화되었다. 그러나, gelrite농도 2, 4, 6g/l 가 첨가된 배지에 *Aloe vera*를 치상시 4g/l 가 첨가된 농도에서 explant당 3.8개의 줄기가 분화되었으며 *Aloe arborescens*는 explant당 5.3개의 줄기가 분화되어 agar를 gelling agent로 사용하였을 때보다 gelrite를 사용하였을 때가 더 효과적이었다.

이러한 결과는 Van Eck & Kitto⁴가 peppermint와 orangemint 옆절편배양시 식물체 분화에 agar가 gelrite보다 더 효과적이었으며 gelrite가 2g/l 첨가시 그 이상 처리시보다 식물체 분화에 효과적이었다는 결과와는 상이한 결과를 보였다. Gelling agent는 배지내의 수분 potential, proline 증가, 흡수능력에 영향을 미치는데 본 연구에서 gelrite가 고농도인 4g/l 첨가시 2g/l 가 첨가되었을 때보다 *Aloe vera*는 2.7배, *Aloe arborescens*는 1.8배의 줄기가 분화되어 *Aloe* 재분화경우에는 고농도의 gelrite가 적합하였다.

3. 분화된 식물체의 뿌리유도시 salt strength의 효과

분열조직으로부터 분화된 *Aloe*의 줄기를 염류농도가 다른 배지에 치상하여 뿌리의 생장을 조사하였다 (Table 3). 일반적으로 염류의 농도가 낮아질수록 알로에의 뿌리수와 뿌리길이 적어지는 경향을 보였다. *Aloe vera*는 1/4MS 배지에서 3.5개의 뿌리가 분화되어 MS 배지에서 1.5개의 뿌리가 분

화된 것보다 2~3배의 뿌리가 발생되었다. 1/8MS 배지와 2MS 배지에서는 각각 1개의 뿌리가 분화되었다. *Aloe arborescens*도 1/4MS 배지에서 4.0개의 뿌리가 분화되어 가장 좋은 결과를 보였다. 따라서 *Aloe* 뿌리 유도에는 1/4 MS 배지를 사용하는 것이 가장 적합하였으며 1MS, 2MS와 같이 염류농도가 높던가 1/8MS와 같이 너무 낮은 염류농도는 뿌리분화를 억제하는 결과를 나타냈다. 본 실험에서 분화된 줄기의 생장도 또한 1/4MS 배지에서 가장 좋았다. 이와같이 낮은 염류농도가 분화된 식물체의 뿌리분화에 더 효과적이라는 결과는 Yu와 Chae (1984)¹⁹에 의한 스테비아의 기내배양에 관한 연구에서도 비슷한 결과를 보여 낮은 salt strength의 MS배지가 스테비아의 분화된 식물체의 뿌리분화 및 생장에 더욱 효과적이었다.

Table 3. Effect of salt strength on the root number and root growth of *Aloe* on MS medium containing NAA 1mg/l.

Salt strength	<i>A. arborescens</i>		<i>A. vera</i>	
	No. of root	Root length (cm)	No. of root	Root length (cm)
2 MS	0.3±0.2	0.2±0.2	1.0±0.4	1.0±0.5
1 MS	2.0±0.6	1.3±0.5	1.5±0.7	1.5±0.3
1/2 MS	3.5±1.5	2.3±0.6	2.7±1.1	1.5±0.6
1/4 MS	4.0±1.2	2.3±1.0	3.5±0.6	2.5±0.5
1/8 MS	1.3±0.8	0.3±0.2	1.0±0.4	2.0±0.4

4. 분화된 식물체의 토양활착

분화된 줄기를 기내 배양하여 발근시킨 식물체를 perlite와 vermiculite가 든 포트에 이식한 후 유리온실에서 재배한 결과 2개월 후 기내 분화된 식물체의 토양 활착율은 vermiculite를 사용한 경우는 95%의 생존율을 보였고 perlite는 80%의 생존율을 보였다. 이 결과로 보아 알로에 토양활착에는 vermiculite를 사용하는 것이 적합할 것으로 생각된다. Natali 등²⁰은 *Aloe barbadensis* Mill.의 기내배양에서 분화된 줄기를 생장조절물질이 첨가되지 않은 MS기본배지에서 배양하여 발근시킨 후 흙,

모래, 펄미스가 혼합된 포트에 이식하여 온실에서 재배한 결과 100%의 생존율을 보였다고 하며, Meyer와 Staden⁸⁾는 *Aloe vera* L.의 신초절편배양에서 5~6cm 정도 자란 분화된 식물체를 미스트장치에서 순화시킨 결과 98%가 생존하였다고 보고했다. 본 실험 결과 알로에의 기내 분화나 토양 활착이 양호한 편이었으며, 주년 생산과 무병 종묘 생산가능성을 확인할 수 있었다.

인 용 문 헌

- Bertrand-Desbrunais, A., Noirot, M., and A. Charrier. 1992. Slow growth in vitro conservation of coffee (*Coffea* spp.) 2 : Influences of reduced concentrations of sucrose and low temperature. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 31 : 105 - 110.
- Feirer, R. and G. Mignon, and J. Litvay. 1984. Arginine decarboxylase and polyamines required for embryogenesis in the wild carrots. *Science* 223 : 1433 - 1435.
- Gertlowsk, C. and M. Petersen. 1993. Influence of the carbon source on growth and rosmarinic acids production in suspension cultures of *Coleus blumei*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 34 : 183 - 190.
- Groenewald, E. G., A. Koeleman, and 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.
- 김성호, 김명원, 강영희, 이문희. 1993. 포플러 잎절편의 부정근 분화시 polyamine의 함량 변화. *식물조직배양학회지* 20(6) : 329 - 335.
- 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 *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.
- 송재진, 김명원, 이순희, 강빈구, 강영희. 1993. 포플러의 극성분화 기작 : 내생호르몬 함량과 극성분화에 대한 NAA와 polyamine의 영향. *식물조직배양학회지* 20(1) : 21 - 26.
- Van Eck and S. L. Kitto. 1992. Regeneration of peppermint and orangemint from leaf disks. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 30 : 41 - 49.
- Yagi A, Y. Shoyam, and 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.
- 유창연, 조혜경, 안상득. 1994. 알로에 (*Aloe vera* L.) 생장점 배양에 있어 성장조절물질 및 배지가 식물체 분화와 생장에 미치는 영향. *한옥지*. 26(3) : 260 - 264.
- 유창연, 전인수, 안상득, 조동하, 정일민. 1994. 조직배양에 의한 알로에 (*Aloe arborescens* Mill) 식물체의 대량번식. *동양자원식물학회지* 7(1) : 17 - 22.
- Yu, C. Y. and Y. A. Chae. 1984. *In vitro* propagation of *Stevia rebandiana* B. K. J. *Crop Science*. 29(1) : 101 - 107.