

## 평의비름(*Sedum erythrostichum* Miq.)의 잎과 줄기 절편으로부터 식물체의 재분화에 미치는 성장조절제의 영향

윤 의 수

공주대학교 자연과학대학 생물학과

### Effect of Plant Growth Regulators on Plant Regeneration from Leaf and Stem Explant Cultures of *Sedum erythrostichum* Miq.

YOON, Eui Soo

Department of Biology, Kongju National University, Kongju, 314-701, Korea

Leaf and stem explants of *Sedum erythrostichum* Miq. were cultured on MS medium supplemented with various combinations of growth regulators. After two weeks of culture, 100% of the leaf explants formed calli on medium containing 2.0 mg/L 2,4-D and 1.0 mg/L BA. Callus proliferated when subcultured on medium containing 2.0 mg/L 2,4-D and 1.0 mg/L BA. Numerous adventitious buds were regenerated from callus cultured on the medium containing 2.0 mg/L NAA and 1.0 mg/L BA. Root formation from shoot was occurred on the MS basal medium containing 1.0 mg/L IAA.

**Key words:** adventitious bud, Crassulaceae, plantlets

지금 세계의 선진국들은 유전 자원의 수집과 보존 그리고 관리에 많은 경비를 투자하고 있다. 또한 지금까지 별로 관심을 갖지 못하였던 야생 들풀 까지도 이제는 본격적인 연구의 대상이 되고 있다(Choi et al., 1994; Matsumoto et al., 1986). 우리나라에서의 약용 식물에 대한 연구는 허준의 동의보감에서 상당 부분 정리되고 체계화 되었다. 그러나 식물이 가지는 약효 성분들과 질병에 대한 특성에 대하여는 학술적 연구가 충분하게 이루어져 있지 못한 상태이다. 본 연구의 재료인 평의비름(*Sedum erythrostichum* Miq.)은 돌나물과에 속하는 다년생 초본으로서 우리나라 전역의 산에 자생하며 재배되어지기도 한다. 관상용으로 화단이나 화분에 심기도 한다. 한방에서는 경천(景天)이라고하며 피부병 치료에 사용한다. 민간에서는 뱀이나 독충에 물렸을때에 그리고 칼에 상처난 곳의 해독에 사용한다. 일본에서도 잎의 뒤 표피를 벗겨내고 피부의 화농에 붙이는데 이용한다(Lee, 1993). 번식은 종자 혹은 포기나눔으로 한다. Gill 등(1984)은 *Sedum*속의 16종의 식물을 분석하여 미백효과가있어 화장품에 사용하는 arbutin이 12종의 식물에 포함되어있으며 항산화제인 hydroquinone은 14종에 다량 함유되어 있음을 보고하였다. Choi 등(1989)은 *Sedum sarmentosum*(돌나물)의 화

합물을 분석하였으며, Li 등(1981)은 *Sedum sarmentosum*에서 추출한 sarmentosina가 간염의 치료에 효과가 있음을 보고하였다. 그러나 아직 많은 연구자들에게 별로 관심을 끌고있지 못하는 식물로서, 평의 비름에 대한 생리 특성이나 약효 성분에 대한 연구는 별로 많지 못하다. 따라서 본 연구에서는 사람의 흥미의 대상에서 떨어져 차츰 야산에서 사라져가는 평의비름의 보존과 증식 및 2차 대사 산물이나 약효 성분의 연구 자료 제공을 위한 기초 연구로서 잎과 줄기의 절편 배양을 시도하여 완전한 식물체를 얻었기에 보고한다.

### 재료 및 방법

#### 식물재료

충남 공주군 마곡사 일대에서 자생하는 평의비름(*Sedum erythrostichum* Miq.)을 1993년도에 채취하여 화분에 옮겨심어 매년 새로이 성장한 줄기와 잎을 5월 초에 채취하여 재료로 사용하였다. 약 15 cm정도 자랐을 때 잎과 줄기의 부

위를 분리하여 채취한 후 70%(v/v) 에칠알콜에 30초, Tween 20을 한방울 떨어뜨린 1%(v/v) sodium hypochlorite에 15분간 침지하여 표면 살균하였다. 멸균 증류수로 4회 세척한 후 앞은 0.7 cm × 0.7 cm, 줄기는 1 cm 정도의 길이로 절단하여 사용 하였다.

캘러스의 유기

잎과 줄기에서의 캘러스의 유기는 Murashige와 Skoog(1962) 배지를 기본으로 Table 1과 같이 성장조절제를 첨가한 배지를 10 mL 씩 샐레에 분주하였다. 잎은 앞면이 위로 오도록 누어서 집중하고 줄기도 누어서 집중하였는데 한 샐레당 9개의 절편을 집중하였으며 3회 반복하였다. 배양 조건은 1일 광주기를 16시간으로 하였으며 1,500 lx 광도로 27°C±2°C를 유지 하였다. 모든 실험은 3회 반복하였으며, 캘러스의 형성 빈도는 배양 30일째에 조사하고 캘러스가 유기된 잎과 줄기의 수를 헤아려 전체 치상수에 대한 백분율로 나타내었다.

캘러스의 계대배양과 식물체의 재분화

배양 60일째에 유도된 캘러스를 0.5 × 0.5 cm의 크기로 절단하여 MS배지를 기본으로하는 Table 3과 같이 성장조절제를 첨가한 배지를 만들고 한 샐레당 4개씩 각 실험구 마다 5개의 샐레에 접종하여 캘러스의 증식과 유식물체를 유도하였다. 4주 간격으로 계대배양하면서 계대배양 60일 후에 캘러스의 크기와 부정아 및 발근수를 조사하였다. 계대배양 90일 후에 재분화된 싌초는 MS 배지를 기본으로하는 발근 배지로 이식하여 발근을 유도하였다. 배양 환경은 캘러스의 유기와 같다. 발근 상태는 계대 배양 40일 후에 조사하였다.

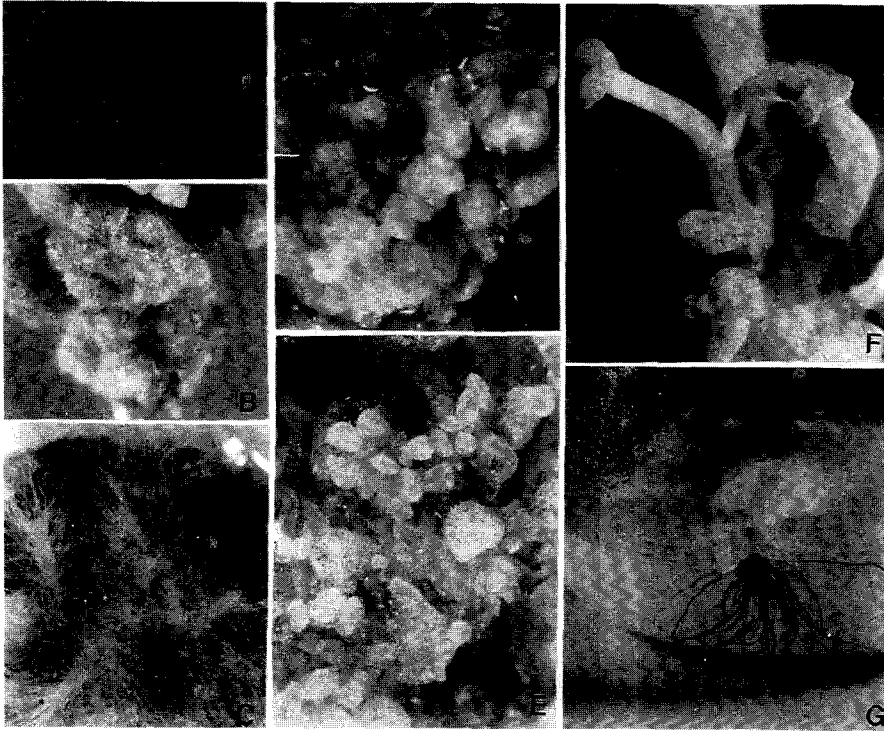
결과 및 고찰

배양 2주 후부터 캘러스가 형성되어지기 시작하였으며 사용된 성장조절제의 종류와 식물체의 부위에 따라 다양한 재분화의 양상을 보였다(Table 1). 2,4-D를 단독 처리한 구에서는 줄기나 잎 절편으로부터 캘러스가 유도되었으나 그 생장이 매우 느렸으며 부정근이나 부정아는 잎 절편에서만 약간 보여졌다. 1.0 mg/L NAA 단독 처리구에서는 줄기나 잎 절편 모두 캘러스의 발생보다는 모상근의 발생이 양호

Table 1. Effect of plant growth regulators on callus, hairy root and shoot induction from stem and leaf disk of *Sedum erythrostichum* Miq. after 30 days of culture.

Growth regulators(mg/L)				Callus induction (%)		Adventitious Root (%)		Adventitious bud <sup>a</sup> (%)	
2,4-D	NAA	BA	Kinetin	Stem	Leaf	Stem	Leaf	Stem	Leaf
0		0		0	0	0	0	0	0
0		0.1		0	0	0	15	0	0
0		1.0		0	45	0	50	0	15
1.0		0		35	40	0	10	0	5
2.0		0		30	40	0	15	0	5
1.0		0.1		50	30	0	15	0	0
1.0		1.0		15	50	0	5	10	35
2.0		0.1		35	50	0	25	0	0
2.0		1.0		100	85	30	35	0	25
0			1.0	0	20	0	40	0	0
1.0			1.0	50	55	10	10	5	5
1.0			2.0	85	60	20	25	0	0
2.0			1.0	50	35	0	0	5	20
2.0			2.0	40	10	10	30	10	15
	1.0	0		0	20	60	40	0	0
	1.0	0.1		5	20	20	100	0	0
	1.0	1.0		30	70	10	30	0	15
	1.0	2.0		70	35	0	15	0	0
	2.0	0		35	65	0	25	0	0
	2.0	1.0		85	85	25	30	0	15
	2.0	2.0		0	20	10	40	0	0
	2.0	5.0		5	5	10	10	5	5
	1.0		1.0	90	30	10	60	5	15
	1.0		2.0	55	40	5	50	5	40
	2.0		1.0	40	5	5	15	0	0
	2.0		2.0	30	0	0	15	0	15

<sup>a</sup> % of induced calli, adventitious roots and buds per inoculated explants.



**Figure 1.** A: Callus induction from leaf explant on the medium containing 2.0 mg/L 2,4-D and 1.0 mg/L BA. B: Callus growth on the medium containing 2.0 mg/L 2,4-D and 1.0 mg/L BA. C: Hairy root formation on the surface of callus on the medium containing 2.0 mg/L 2,4-D and 1.0 mg/L BA. D: Callus growth on the medium containing 2.0 mg/L NAA and 1.0 mg/L BA. E: Regenerated adventitious buds from callus cultured on the medium containing 2.0 mg/L NAA and 1.0 mg/L BA. F: Shoot formation from callus cultured on the medium containing 2.0 mg/L NAA and 1.0 mg/L BA. G: Root formation regenerated shoot on the medium containing 1.0 mg/L IAA.

하였으나 2.0 mg/L NAA 단독처리구에서는 캘러스의 발생이 더 좋았으며 모상근은 잎의 절편에서만 약간 형성되었다. BA를 단독 처리한 구의 잎 절편에서는 캘러스의 형성과 부정근, 부정아의 발생이 보여졌으나 줄기 절편에서는 전혀 보여지지 않았다. kinetin을 단독처리한 구에서는 잎 절편에서만 약간의 캘러스와 부정근의 발생이 보여졌다.

2,4-D에 BA 혹은 kinetin을 혼합한 배지에서 캘러스의 형성 빈도가 월등히 높았으나 부정근이나 부정아의 형성에는 큰 차이를 보이지 않았다. 특히 2.0 mg/L 2,4-D에 1.0 mg/L BA를 첨가한 배지에서 캘러스의 형성 빈도가 줄기에서는 100%였으며 잎에서도 85%였다(Table 1). 1.0 mg/L 2,4-D에 2.0 mg/L kinetin을 혼합한 배지에서도 캘러스의 형성 빈도가 60% 이상으로 비교적 높았으나 캘러스 유기 이후의 생장에 있어서는 그 생장이 매우 느렸다. BA나 kinetin 단독 처리 배지에서는 잎 절편으로부터 부정근의 형성이 40~50%의 빈도로 형성되었으나, 2.0 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L BA를 첨가한 배지에서는 부정근의 형성 빈도도 30~35% 정도를 나타내었으며 2,4-D에 kinetin을 첨가한 배지에서도 낮은 빈도이기는 하지만 부정근의 형성이 보여졌다.

2.0 mg/L NAA에 1.0 mg/L BA를 혼합한 배지에서는 잎과 줄기의 절편 모두에서 85%의 캘러스 형성 빈도가 보여졌으며(Figure 1-A), 1.0 mg/L NAA와 1.0 mg/L kinetin을 혼합한 배지에서도 줄기에서는 캘러스의 형성 빈도가 90%로 높았다. 그러나 캘러스 형성 이후의 생장은 매우 느렸다. 줄기 절편으로부터의 부정근의 형성은 1.0 mg/L NAA 단독

배지에서 60%의 빈도를 나타내었으며 잎절편으로부터는 1.0 mg/L NAA에 0.1 mg/L BA를 첨가한 배지에서 100%의 빈도를 보였다. 또한 NAA에 kinetin을 첨가한 배지에서 잎절편으로부터의 부정근 형성 빈도가 비교적 높았다. 부정아의 형성은 배지의 조합과 조직의 부위에 따라 낮은 빈도의 형성이 보여지기도 하였으나 대체로 양호하지 못하였다.

Kaul 등(1990)은 NAA와 BA가 첨가된 배지에 *Dendranthema grandiflora*의 잎과 줄기의 절편체를 배양하였을 때 캘러스의 분화가 없이 직접 신초와 뿌리가 분화되는 것을 보고하였으며 Subramanya와 Schwandes (1984)는 *Esarnmole*의 잎 절편에 BA 25 mg/L를 처리하였을 때 신초의 형성이 이루어짐을 보고하였다. Rha와 Kim (1996)은 지황의 잎절편 배양에 있어서 BA 단독 처리의 경우 신초의 재분화가 양호한 것으로 보고하였다. 본 실험에서는 오옥신에 BA를 혼합 처리하였을 경우 신초의 분화 보다는 부정근의 분화에 보다 효과적이었으며, 1.0 mg/L 2,4-D에 1.0 mg/L BA를 처리하였을 때 잎절편의 약 30% 정도에서 부정아가 형성되었으며 BA를 단독처리한 경우에는 잎 절편의 50%에서 부정근이 형성되었으며 잎 절편의 15%에서 부정아가 형성되었으나 줄기의 절편으로 부터는 직접적인 신초나 부정근의 재분화는 보여지지 않았다(Table 1).

2.0 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L BA를 혼합한 배지에서 유기된지 50일째된 캘러스를 Table 2의 배지로 계대배양하여 그 성장 상태를 조사 하였다. 캘러스의 생장은 2.0 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L BA를 혼합한 배지에서 가장 왕성하였다. 초기

**Table 2.** Effect of plant growth regulators on the growth of callus, adventitious buds and root from callus of *Sedum erythrostichum* Miq.

Growth regulator (mg/L)	Callus growth	Adventitious root	Adventitious bud	Callus colour
2,4-D(1.0) + BA(0.1)	+ <sup>a</sup>	1 <sup>b</sup>	2 <sup>c</sup>	green
2,4-D(1.0) + BA(1.0)	+	15	5	red green
2,4-D(2.0) + BA(0.1)	++	2	3	green
2,4-D(2.0) + BA(1.0)	+++	14	8	red green
NAA(1.0) + BA(0.1)	+	0	6	light green
NAA(1.0) + BA(1.0)	+	0	14	yellow green
NAA(2.0) + BA(0.1)	++	0	8	light green
NAA(2.0) + BA(1.0)	++	0	20	yellow green

<sup>a</sup> ± : poor, + : slight, ++ : moderate, +++ : good

<sup>b</sup> Number of adventitious roots per inoculated explant.

<sup>c</sup> Number of adventitious buds per inoculated explant

**Table 3.** Effect of growth regulators on the root formation from shoot after 40 days in culture.

Plant growth regulators(mg/L)			Root regeneration	
NAA	IAA	BA	% <sup>a</sup>	No. of root <sup>b</sup>
0	0	0	0	0
0	0	1.0	13	3
0	1.0	0	87	16
0	1.0	1.0	0	0
0	2.0	0	73	12
0	2.0	1.0	0	0
1.0	0	0	73	11
1.0	0	1.0	0	0
2.0	0	0	67	5
2.0	0	1.0	0	0

<sup>a</sup> % of regenerated root per inoculated explant.

<sup>b</sup> Average number of roots per each shoot.

의 진한 녹색을 띠면서 연하고 부드러웠던 캘러스는 상당히 빠른 속도로 2차 캘러스를 형성하였다. 초기의 녹색 캘러스는 차츰 붉은 색을 띠면서 표면의 일부에서 하얀 싹트물과 같은 조직이 생겨나고(Figure 1-B) 배양 20일째부터 솜털을 많이 갖는 모상근이 왕성하게 형성되었으며(Figure 1-C) 일부의 캘러스에서 부정아의 형성이 관찰되었다. 이 캘러스들을 생장호르몬이 첨가되지 않은 배지로 계대배양하였을 때 부정근이나 부정배, 부정아의 형성은 관찰되지 않았다.

2.0 mg/L NAA와 1.0 mg/L BA를 혼합한 배지로 계대배양한 캘러스도 상당히 빠르게 녹색의 2차 캘러스를 형성하였다. 계대배양 2주 후부터 일부의 캘러스는 구형으로 단단하여지면서 부정아가 다량으로 형성되었다(Figure 1-D). 부정아가 형성되는 캘러스는 연한 녹색을 띠었으며 일부의 부정아는 붉은 색을 띠었으나(Figure 1-E) 흰 캘러스는 형성되지 않았다. 부정아가 형성된 캘러스를 생장호르몬이 첨가되지 않은 배지로 계대배양하였을 경우 빠른 속도로 신

초로 분화되었다(Figure 1-F). 그러나 부정아가 형성되지 않은 캘러스를 생장호르몬이 첨가되지 않은 배지로 계대배양하였을 때에는 더 이상의 생장이나 재분화는 보이지 않았다.

Gulati와 Jaiwal (1992)는 *Vigna radiata*의 잎절편 배양에 있어서 사이토키닌이 첨가될 경우 캘러스의 형성이 양호하고 신초의 재분화도 많았다고 보고하고 있다. 그러나 NAA와 BA를 혼합한 배지에서는 신초의 증식은 이루어지지 않고 뿌리의 분화도 없다고 보고하고 있다. Eun 등 (1994)은 *Pelargonium citrosa*의 잎절편 배양에 있어서 2,4-D에 BA를 첨가 하였을 경우 신초가 분화하였으며 BA가 신초의 분화에 효과적이라고 보고하였다. 본 실험에서는 잎절편에서 유기된 캘러스를 BA만 들어있는 배지에 배양하였을 경우에는 부정근이나 부정근이 별로 형성되지 않았으나(결과 미제시), 2,4-D에 BA를 혼합 처리한 배지에서는 모상근이 형성되었으며, NAA에 BA를 혼합 처리한 배지에서는 부정아의 형성이 양호하였다(Table 2). 이러한 결과들은 BA가 오옥신의 종류 또는 식물의 종류에 따라 반응 여부가 다를 수 있음을 의미한다고 볼 수 있다.

재분화된 신초를 절단하여 Table 3의 배지로 계대하여 발근의 상태를 조사하였다. 발근은 NAA나 IAA의 단독배지에서 계대 3주후부터 보여졌다. 1.0 mg/L IAA 배지에서 신초의 87%가 발근 되었으며 한 개체당 평균 16개 발근하였다(Figure 1-G).

Skoog와 Miller (1957)가 식물의 조직 절편을 배양하는 경우 배지내의 오옥신과 사이토키닌의 조성비에 따라 식물의 기관 분화가 좌우되며 오옥신의 비율이 높을 때 부정근이 형성 된다고 보고한 이후로 많은 연구자들에 의해 오옥신이 부정근에 미치는 영향에 대하여 연구되어 졌다(Gulati and Jaiwal, 1992., Thorpe, 1993). Gulati와 Jaiwal (1992)은 IAA와 NAA 단독 처리구에서 신초로부터 뿌리의 발생이 양호하다고 하였고, Eun 등(1996)은 NAA의 단독 처리구가 IAA의 단독 처리구보다 발근이 양호하다고 보고하였다. 본 실험에서도 NAA와 IAA의 단독 처리구에서 신초로부터 뿌리의 발근이 양호 하였으나 NAA보다는 IAA 단독 처리구에서 더 정상적이며 양호한 뿌리 분화를 얻을 수가 있었다(Table 3).

## 적 요

평의비름(*Sedum erythrostichum* Miq.)의 잎과 줄기의 절편을 몇가지의 호르몬이 첨가된 MS 배지에 배양하였다. 배양 2주후 2.0 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L BA를 혼합한 배지에서 잎의 절편으로부터 100%의 캘러스가 형성되었다. 이 캘러스를 2.0 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L BA를 혼합한 배지로 계대배양하였을때 캘러스의 생장이 왕성하였다. 또한 2.0

mg/L NAA와 1.0 mg/L BA를 혼합한 배지로 계대배양한 캘러스로부터 부정아의 분화가 왕성하였다. 생장호르몬이 없는 배지에서 분화된 싌초는 1.0 mg/L IAA를 첨가한 배지에서 발근하여 완전한 식물체로 성장하였다.

Galston AW, eds, Morphogenesis in plants: Molecular Approaches, Plenum press, New York, pp19-38

(1997년 5월 9일 접수)

사사-본 연구는 1996년도 공주대학교 자체학술 연구비의 지원에 의하여 수행되었음.

## 인용문헌

- Choi JS, Park SE, Kim IL (1989) Studies on the active principles of wild plants on biotransformation of drug. *Saengyak Hakhoechi* **20**: 117-122
- Choi SU, Nam SH, Yang GJ, Cho MJ, Yang MS (1994) Plant regeneration from the stem tissue of *Orostachys japonicus* A. Berger. *Korea J Plant Tissue Culture* **21**: 65-68
- Eun JS, Ko JA, Kim YS, Kim MJ (1994) Micropropagation by leaf and meristem cultures of *Pelargonium citrosa* Van leenen. *Korea J Plant Tissue Culture* **21**: 247-252
- Gill S, Dembinska-Migas W, Kozłowska, Joanna (1984) Occurrence of arbutin and hydroquinone in the genus *Sedum* L. *Farm Pol* **40**: 211-213
- Gulati A, Jaiwal PK (1992) In vitro induction of multiple shoots and plant regeneration from shoot tips of mung bean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). *Plant Cell Tissue Organ Culture* **29**: 199-205
- Kaul V, Miller RM, Hutchison JE, Richards D (1990) Shoot regeneration from stem and leaf explants of *Dendranthema grandiflora* Tzvelev(syn. *Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Plant Cell Tissue Organ Culture* **21**: 21-30
- Lee CB (1993) Illustrated flora of Korea. Myong Moon Sa, Seoul
- Li JE, Huang XL, Ye CQ (1981) Determination of sarmentosine content in *Sedum sarmentosum* Bunge and its related species during different growing seasons. *Yao hsueh Tung Pao* **16**: 12-13
- Matsumoto M, Nagano M, Shiyama Y, Mishioka I (1986) New vegetative propagation method of *Rehmannia glutinosa*. *Shoyaku Zasshi* **40**: 193-197
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* **15**: 473-497
- Rha ES, Kim JK (1996) Plant regeneration in leaf explant cultures of *Rehmannia glutinosa* Liboschuitz. *Korea J Plant Tissue Culture* **23**: 299-302
- Skoog F, Miller C (1957) Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. *Symp Soc Exp Biol* **11**: 18-130
- Subramanya R, Schwandens IS (1984) In vitro propagation of *Escarole* from leaf explants. *HortScience* **19**: 235-236
- Thorpe TA (1993) In vitro organogenesis and embryogenesis: Physiological and biochemical aspects. In Roubelakis-Angelakis KA,