

# 까마중(*Solanum nigrum* L.)의 유식물 절편체에서 부정아 형성 및 식물체 재분화

오순자, 고석찬<sup>1\*</sup>

자연교육연구소, <sup>1</sup>제주대학교 생물학과

## Adventitious Shoot Formation and Plant Regeneration from Explants of *Solanum nigrum* L.

Soonja Oh and Seok Chan Koh<sup>1\*</sup>

Institute for Field Science Education and Research, Jeju 690-140, Korea

<sup>1</sup>Department of Biology, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

**Abstract** - In the present study, the effects of plant growth regulators on adventitious shoot and root formation of various explants of *in vitro* seedlings of *Solanum nigrum* L. were investigated to determine the optimum conditions for the high-efficiency plant regeneration of this species. The formation of adventitious shoots was higher in leaf explants than in cotyledon, hypocotyl, or epicotyl explants at low concentrations (0.5~2.0 mg L<sup>-1</sup>) of 6-benzylaminopurine (BAP). The number of adventitious shoots and the shoot length were also higher in both leaf and cotyledon explants. In particular, 2.0 mg L<sup>-1</sup> BAP was most effective for stimulating the induction and multiplication of adventitious shoots. In terms of root formation and root development from shoots that were separated from multiple shoots, indole butyric acid (IBA) and indole acetic acid (IAA) were more effective than  $\alpha$ -naphthalene acetic acid (NAA). The percentage of rooting as well as the number of roots per shoot (4.0), root length (7.82 cm), and shoot length (8.76 cm) was highest on MS media supplemented with 0.05 mg L<sup>-1</sup> IAA. Furthermore, 100% of the regenerated plantlets survived when transplanted to compost soil. These results suggest that leaf explants are the best source for the high-efficiency regeneration of *S. nigrum* L., and that 2.0 mg L<sup>-1</sup> BAP and 0.05 mg L<sup>-1</sup> IAA are the best conditions for shoot and root induction, respectively.

**Key words** - *Solanum nigrum* L., Adventitious shoots, Root formation, BAP (6-benzylaminopurine), IAA (indole acetic acid)

### 서 언

까마중(*Solanum nigrum* L.)은 가지과의 1년생 초본으로, 아시아, 유럽, 아메리카 등 온대 및 열대지방에 널리 분포하고 있다. 한국에서는 전국 각지의 야산이나 들에 분포하고 있으며, 키는 약 1 m 내외로 자라며 가지가 옆으로 많이 퍼지고, 원줄기에는 약간의 능선이 나타난다. 잎은 난형 또는 타원형이며 가장자리가 밋밋하거나 물결형의 톱니가 있다. 꽃은 5~7월에 피며 화경이 있는 흰색의 꽃이 산형으로 달리고, 열매는 장과로 둥근 모양이며 흑색으로 완전히

익으면 단맛이 있어 어린이들이 먹지만 독성분이 약간 있다(Lee, 2003). 어린 식물체는 나물로 이용하고 성숙한 부분은 열매와 더불어 약용으로 이용한다. 전초를 말린 것을 용구(龍葵)라고 하며, solanine, solasonine, solamargine 등 여러 가지 알칼로이드와 비타민 A와 C가 함유되어 있다. 또한 saponin, asparagine, rutin, atropine, nicotine, carotene 등 다양한 성분을 포함하고 있어 항염증작용, 혈당저하, 항암작용, 항산화작용, HIV 억제활성, 간 손상 보호효과 등이 있는 것으로 알려져 약리학적으로도 중요한 식물이다(Atanu *et al.*, 2011; Lim, 2003; Li *et al.*, 2008; Yu, 2004; Heo *et al.*, 2009). 민간에서는 궤양이나 감기, 기관지염, 신장염, 고혈압, 황달 및 중기 등에 처방

\*교신저자(E-mail) : sckoh@jejunu.ac.kr

하는 식물로 알려져 있으며, 인도에서도 중요한 약용식물로 이용되고 있다.

뿐만 아니라 가지과(Solanaceae) 식물은 인류가 널리 활용해 온 식물로서 음식, 향신료, 의약품 등의 중요한 요소이다. 특히, 감자(*Solanum tuberosum* L.), 가지(*Solanum melongena* L.), 토마토(*Lycopersicon esculentum* Mill.), 고추(*Capsicum annuum* L.) 등은 전 세계적으로 잘 알려져 있는 채소작물이며, 이에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 반면에 까마중은 고대에는 채소작물로서의 가치도 높았으며, 민간요법으로도 많이 사용되었던 식물임에도 불구하고 현재에는 이에 대한 연구들은 거의 찾아볼 수가 없어, 지속적인 연구가 필요하다. 또한, 까마중은 생육기간이 짧고, 1개의 열매 당 30~40개의 많은 종자를 포함하고 있어 생산성이 높을 뿐만 아니라 종자번식 및 영양번식에 의해 증식이 용이하여, 형질전환 연구를 위한 모델식물로서도 활용이 가능할 것으로 보인다.

식물의 조직배양은 유용식물자원의 증식은 물론 식물이 생산하는 생리활성물질의 안정적 생산, 형질전환기술을 이용한 품종개발 시 필요한 기술로서 상업적으로도 중요하다. 이러한 조직배양을 통해 다양한 조직체 절편으로부터 직접 부정아를 유도하거나 배발생 캘러스를 거쳐 재분화를 유도할 수 있다. 특히 직접적인 부정아 유도는 대량증식을 위한 목적으로 뿐만 아니라 형질전환을 위한 식물체 재분화에 있어서도 유용한 방법이다. 따라서 본 연구에서는 약용가치가 있는 까마중을 대상으로 기내에서 발아된 유식물체의 조직으로부터 직접 다발성 신초 및 뿌리 형성을 통한 재분화 조건을 밝힘으로써 형질전환 연구의 기초자료로 활용하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 식물재료 및 무균발아

본 실험의 재료는 제주도 삼양 지역에서 채취한 까마중(*Solanum nigrum* L.)의 성숙한 열매로부터 종자를 분리하고 건조시킨 후 실온에 보관하며 사용하였다. 종자는 중성 세제 2~3 방울을 넣은 증류수에서 15 분간 표면을 세척하고 70% ethanol로 1분간, 1% sodium hypochlorite 용액으로 15분간 처리하여 살균하였으며, 멸균수로 3회 세척하였다. 소독된 종자는 멸균된 filter paper로 종자표면의 물기를 제거한 후, 성장조절제가 들어 있지 않는 MS 기본배지

(Murashige and Skoog, 1962)에서 배양하였다. MS 기본배지에 파종한 종자는  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $40\sim 50 \mu\text{mole m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ (16시간 광주기)로 조절되는 배양실에서 배양하였다. 기내 발아 후 14~15일된 유식물체에서 하백축, 자엽, 상배축, 잎을 절취하여 실험재료로 사용하였다.

### 신초의 유도 및 증식

기내 발아 후 14~15일된 유식물체를 하백축(4 mm), 자엽( $5 \times 2$  mm), 상배축(4 mm), 잎( $6 \times 2$  mm)으로 구분하고, 일정한 크기로 절단하여 각각의 절편을 petri dish당 5~7개씩 치상하여 신초를 유도하였다. 신초 유도를 위한 배지는 0.3% gelrite를 함유한 MS 기본배지에 6-benzylaminopurine (BAP)의 농도를 0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 12.0, 16.0  $\text{mg L}^{-1}$ 로 달리하였다. 각각의 실험재료가 치상된 petri dish는 밀봉하여  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $40\sim 50 \mu\text{mole m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ (16시간 광주기)로 조절되는 배양실에서 배양하였으며, 3반복 수행하였다. 배양 5주 후 캘러스 및 신초 형성율, 절편체당 재분화된 신초 수, 신초 길이 등을 조사하였다. 실험결과는 SPSS program을 이용하여 mean  $\pm$  SD로 나타내었으며, Duncan의 다중비교검정( $p < 0.05$ )을 실시하였다. 그리고 신초가 유도된 잎 절편은 분할하여 2.0  $\text{mg L}^{-1}$  BAP가 첨가된 MS 배지에 계대배양 하여 다발성 신초(multiple shoot)를 증식하였다.

### 뿌리분화 유도

증식된 다발성 신초를 분리하여 2~3 cm 정도의 동일한 길이로 절단한 후  $\alpha$ -naphthalene acetic acid(NAA), indole butyric acid (IBA)와 indole acetic acid(IAA)가 각각 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5  $\text{mg L}^{-1}$ 로 첨가된 MS 배지에 시험관 당 1개씩 치상하였다. 그리고 무균상태로  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $50 \mu\text{mole m}^{-2} \text{sec}^{-1}$  (16시간 광주기)로 조절되는 배양실에서 4주간 배양하였으며 10반복 수행하였다. 그리고 4주 후에 각 처리구별로 부정근 형성율, 발근 수, 뿌리의 길이, 줄기의 신장 등을 측정하였다. 실험결과는 SPSS program을 이용하여 mean  $\pm$  SD로 나타내었으며, Duncan의 다중비교검정( $p < 0.01$ )을 실시하였다.

### 토양순화 및 생육특성 조사

기내에서 발근한 소식물체는 배양용기에서 꺼내어 뿌리 부위에 묻어있는 배지를 증류수로 2~3회 깨끗이 수세한

다음 원예용 상토(Nongwoobio Co., peatmoss 25~35%, cocopeat 40~50%, perlite 10~14%, vermiculite 8~10%, zeolite 8~13%)를 채운 소형 포트에 1개체 씩 이식하였다. 이식 후 랩으로 싸서 1주간 습도를 높게 유지시키고 공기순환 구멍을 일정 간격으로 뚫어 외부환경에 서서히 적응하도록 하였다. 이후 랩을 벗겨내고 2~3개월 동안 식물체를 관리하면서 까마중의 개화와 결실 과정을 살펴보았다.

## 결과 및 고찰

### 절편체 종류 및 BAP 농도에 따른 신초 유도

기내 배양을 통한 캘러스 유도 및 재분화는 식물의 종에 따라, 또는 식물체 내에서도 배양에 이용되는 조직부위 및 배양조건에 따라 크게 다른 것으로 알려지고 있다. 특히, 부정아의 유도는 cytokinin의 종류 및 농도에 의해 영향을 받는 것으로 알려져 있으며, BAP가 널리 사용되고 있다(Hick, 1994). 식물체의 절편으로부터 직접 부정아를 유도하고자 BAP의 농도를 달리하여 조사하였다. 즉, 발아된 유식물체를 하백축, 자엽, 상배축, 잎으로 구분하고, 각각을 일정한 크기로 절단하여 여러 농도의 BAP가 첨가된 MS 기본배지에 치상하고 신초를 유도하였다. 절편체의 조직부위에 따라 다소 다르지만 0.5~8.0 mg L<sup>-1</sup> BAP가 첨가된 배지에서 신초가 유도되었으며, BAP의 농도가 증가함에 따라 신초가 늦게 형성되고 형성 빈도도 낮았다(Table 1, Fig. 1). 이러한 결과는 고농도의 BAP가 신초의 형성 및 줄기신장을 억제한다는 보고와 유사하며(Saito and Ide, 1985; Shim and Ha, 1997), 같은 *Solanum*속 식물인 *Solanum dulcamara* L.의 잎 배양에서 3.0 mg L<sup>-1</sup> BAP 또는 3.0 mg L<sup>-1</sup> BAP와 0.5 mg L<sup>-1</sup> IAA가 혼합 첨가된 배지에서 신초의 형성이 양호하였다는 보고와도 유사하다(Mutlu and Turker, 2008). 일반적으로 cytokinin은 지하부의 발육을 억제하고 지상부의 생육을 촉진한다고 알려져 있으며(Pennazio, 1975), 그 중에서도 BAP는 다른 cytokinin보다 활성이 높아 많은 식물의 대량증식에 사용되고 있다(Han *et al.*, 2004; Choi *et al.*, 2011). 본 연구에서도 절편체의 종류에 큰 관계없이 저농도(0.5~2.0 mg L<sup>-1</sup>)의 BAP에서 신초의 형성 및 줄기신장이 양호하여 저농도 BAP 조건이 신초의 대량증식에 적합한 것으로 나타났다. 신초의 발달양상을 살펴보면, 잎이나 자엽 등의 절편체에서는 저농도(0.5~2.0 mg L<sup>-1</sup>)의 BAP가 첨가된 배지에서

배양 1주 후부터 절단 부위가 비대해지기 시작하며 캘러스가 서서히 형성되기 시작하였다. 배양 2주 후 절편체의 표 면에서 많은 수의 돌기가 관찰되었고, 절편체 표면위로 돌출된 신초 원기들은 초록색을 띠면서 점점 발달하여, 배양 3주 후부터 잎이 전개되고, 배양 4~5주 후에는 다수의 다발성 신초가 형성되었다(Fig. 1). 반면에 BAP가 첨가되지 않은 대조구에서는 캘러스나 신초가 거의 유도되지 않았으며, 배양기간이 길어짐에 따라 조직이 황백색 또는 약간 붉은색을 띠면서 결국에는 고사하였다.

5주간 배양한 후 절편체의 종류에 따른 신초의 형성률, 절편체당 신초의 수와 길이 등을 조사하였다. 신초의 형성은 식물체 부위별로 서로 달랐으며, 잎에서 신초의 형성 빈도가 자엽이나 하백축 그리고 상배축보다 높았다. 절편체당 신초의 수는 잎과 자엽에서 다소 많았으며, 신초의 길이도 다른 부위에 비해 잎과 자엽에서 빠른 증식과 신장을 나타내었다(Table 1, Fig. 1). 유식물체의 부위별로는 다소 차이가 있지만 전반적으로 BAP의 농도가 낮을수록 신초의 수가 증가하고 길이가 길어졌으며, 높은 농도의 BAP에서는 신초의 수가 적어지고 길이가 짧았으며 신초의 색이 점차 갈색으로 변하다가 고사하였다. 자엽에서는 2.0 mg L<sup>-1</sup> BAP가 첨가된 배지에서 신초의 형성율이 88.9%이며, 신초의 수는 절편체당 평균 6.21개, 줄기의 길이는 3.39 cm로 2.0 mg L<sup>-1</sup> BAP가 신초 형성 시 가장 효율적인 것으로 보인다. 하백축에서의 신초 형성은 1.0~2.0 mg L<sup>-1</sup> BAP가 첨가된 배지에서 81.0~90.9%로 높았으나, 절편체당 신초의 수와 길이는 자엽보다는 낮았다. 상배축에서의 신초 형성은 BAP 농도에 별 차이 없이 0.5~8.0 mg L<sup>-1</sup> BAP가 첨가된 배지에서 81.3~100%로 높았으나, 절편체당 신초의 수와 길이는 하백축과 마찬가지로 자엽보다는 낮았다. 잎 절편에서의 신초 형성은 유식물체의 다른 조직보다 높을 뿐만 아니라 고빈도 신초의 유도 및 생장에 더 효율적인 것으로 나타났다. 특히, 2.0 mg L<sup>-1</sup> BAP가 첨가된 배지에서 재분화율이 높고 신초의 수와 길이가 증가하여, 고빈도 신초의 유도 및 생장에 효율적인 것으로 판단되었다. 따라서 까마중으로부터 신초를 효율적으로 유도하기 위해서는 저농도(1.0~2.0 mg L<sup>-1</sup>) BAP 조건에서 잎이나 자엽 등의 조직을 사용하는 것이 바람직할 것으로 보인다. 이는 같은 가지과 식물은 아니지만 홍경천의 잎 절편 배양 시 1.0 mg L<sup>-1</sup> BAP가 첨가된 배지에서 부정아 형성이 효과적이라는 결과와 유사하다(Bae *et al.*, 2005). 그러나 6.0 mg L<sup>-1</sup>

BAP와 0.5 mg L<sup>-1</sup> IAA가 혼합 첨가된 배지에서 까마중의 잎 절편을 배양하였을 때 신초 형성이 높았다는 보고와는 다소 상이한 결과를 보였다(Pandhure *et al.*, 2010).

Table 1. Effect of BAP on formation of adventitious shoots in the segments of *Solanum nigrum* after 5 weeks of culture on MS media

Explants	BAP (mg L <sup>-1</sup> )	Formation of adventitious shoots (%)	No. of shoots per explant	Length of shoots
Cotyledon	0	8.3	0.06 ± 0.06 <sup>d</sup>	0.33 ± 0.33 <sup>d</sup>
	0.5	77.8	4.15 ± 0.81 <sup>ab</sup>	2.35 ± 0.37 <sup>b</sup>
	1.0	77.8	4.31 ± 0.77 <sup>ab</sup>	2.68 ± 0.40 <sup>ab</sup>
	2.0	88.9	6.21 ± 0.88 <sup>a</sup>	3.39 ± 0.37 <sup>a</sup>
	4.0	66.7	4.31 ± 1.13 <sup>ab</sup>	1.43 ± 0.35 <sup>c</sup>
	8.0	66.7	4.57 ± 0.96 <sup>ab</sup>	0.84 ± 0.16 <sup>cd</sup>
	12.0	61.1	2.46 ± 0.69 <sup>bc</sup>	0.75 ± 0.19 <sup>cd</sup>
	16.0	27.8	0.73 ± 0.38 <sup>cd</sup>	0.54 ± 0.26 <sup>cd</sup>
Hypocotyl	0	66.7	1.56 ± 0.24 <sup>cd</sup>	1.05 ± 0.20 <sup>bc</sup>
	0.5	76.9	1.57 ± 0.33 <sup>cd</sup>	1.56 ± 0.34 <sup>ab</sup>
	1.0	90.9	2.67 ± 0.53 <sup>abc</sup>	1.98 ± 0.38 <sup>ab</sup>
	2.0	81.0	4.07 ± 0.63 <sup>a</sup>	2.45 ± 0.41 <sup>a</sup>
	4.0	57.1	3.67 ± 0.96 <sup>ab</sup>	1.24 ± 0.29 <sup>bc</sup>
	8.0	55.5	2.07 ± 0.56 <sup>bcd</sup>	0.95 ± 0.26 <sup>bc</sup>
	12.0	55.6	1.56 ± 0.61 <sup>bc</sup>	1.86 ± 0.65 <sup>ab</sup>
	16.0	38.9	0.60 ± 0.21 <sup>d</sup>	0.33 ± 0.15 <sup>c</sup>
Epicotyl	0	49.7	0.89 ± 0.24 <sup>c</sup>	0.65 ± 0.18 <sup>d</sup>
	0.5	82.2	2.38 ± 0.64 <sup>b</sup>	2.18 ± 0.36 <sup>ab</sup>
	1.0	81.3	3.23 ± 0.35 <sup>ab</sup>	2.16 ± 0.26 <sup>ab</sup>
	2.0	90.9	4.20 ± 0.63 <sup>a</sup>	2.51 ± 0.26 <sup>a</sup>
	4.0	90.5	3.11 ± 0.48 <sup>ab</sup>	1.83 ± 0.30 <sup>abc</sup>
	8.0	100.0	2.46 ± 0.45 <sup>b</sup>	1.12 ± 0.17 <sup>cd</sup>
	12.0	74.4	2.31 ± 0.47 <sup>bc</sup>	1.39 ± 0.27 <sup>bcd</sup>
	16.0	60.1	2.06 ± 0.51 <sup>bc</sup>	0.88 ± 0.26 <sup>d</sup>
Leaf	0	0	0.00 ± 0.00 <sup>c</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>d</sup>
	0.5	94.4	5.05 ± 0.49 <sup>b</sup>	4.92 ± 0.69 <sup>a</sup>
	1.0	91.7	5.55 ± 0.68 <sup>b</sup>	4.14 ± 0.45 <sup>ab</sup>
	2.0	100.0	9.70 ± 0.62 <sup>a</sup>	3.85 ± 0.26 <sup>b</sup>
	4.0	100.0	5.55 ± 0.88 <sup>b</sup>	1.62 ± 0.25 <sup>c</sup>
	8.0	100.0	4.05 ± 0.44 <sup>bc</sup>	1.62 ± 0.27 <sup>c</sup>
	12.0	72.2	2.95 ± 0.52 <sup>cd</sup>	1.07 ± 0.19 <sup>c</sup>
	16.0	57.1	1.79 ± 0.40 <sup>d</sup>	0.63 ± 0.14 <sup>cd</sup>

Each value represents the mean ± SE.

Whitin each column, values followed by the different letter represent significant difference among treatments in each explant (Duncan's multiple range test, P < 0.05).

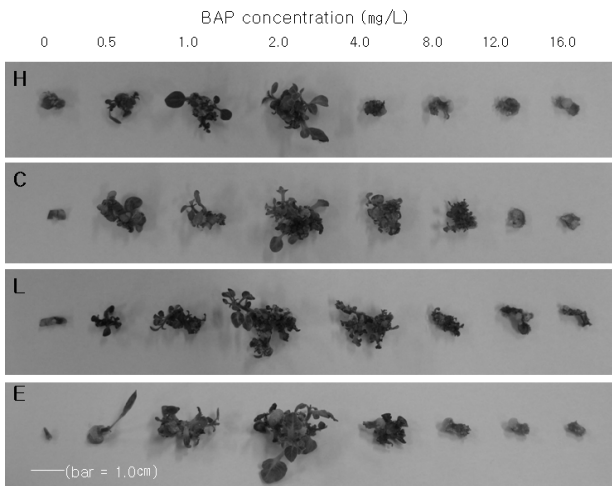


Fig. 1. Formation of adventitious shoots from hypocotyl (H), cotyledon (C), leaf (L) and epicotyl (E) segments of *Solanum nigrum* on MS media containing various concentration of BAP (0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 12.0, 16.0 mg L<sup>-1</sup>) after 5 weeks of culture.

#### 발근유도 및 토양순화

신초가 유도된 잎 절편을 2.0 mg L<sup>-1</sup> BAP가 첨가된 배지에 계대배양 하여 다발성 신초를 발생시키고(Fig. 2A, B), 활력 있는 신초를 분리하여 NAA, IBA, IAA가 첨가된 배지에 옮겨 뿌리를 유도하였다. 유식물체의 효율적인 성장과 뿌리 발달을 유도하기 위해 신초를 분리하여 auxin의 종류 및 농도를 달리한 배지에 치상하여 4주간 배양하고 발근과 유식물체의 성장에 적합한 배지를 조사하였다(Table 2). 그 결과, auxin류 중에서도 IBA와 IAA가 NAA보다 뿌리

분화에 더 효과적인 것으로 나타났다. 특히, 0.05 mg L<sup>-1</sup> IAA가 첨가된 배지에서의 뿌리 형성율은 90%이며, 뿌리의 갯수와 길이도 각각 평균 4.0개와 7.82 cm로 가장 양호하게 나타났다(Table 2, Fig. 2C). 그리고, 0.05 mg L<sup>-1</sup> IBA와 0.1 mg L<sup>-1</sup> IAA가 첨가된 배지에서도 뿌리 형성 및 뿌리 생장이 양호하였다. 더군다나, 0.05 mg L<sup>-1</sup> IBA가 첨가된 배지에서는 뿌리의 갯수와 길이도 각각 평균 2.2개와 5.42 cm로 양호하였으며, IAA가 첨가된 배지보다 뿌리의 갯수와 길이는 다소 적지만 뿌리의 전체적인 형태와 측근의 발달은 오히려 더 양호하였다. 또한 auxin이 첨가된 낮은 대조구에서도 100%로 발근이 이루어졌으며 뿌리의 길이도 7.56 cm로 길게 신장되었으나, 뿌리의 갯수가 평균 1.3개로 IAA나 IBA가 첨가된 처리구에 비해 저조하였다. 더군다나 뿌리의 굵기가 상대적으로 가늘고, 측근이 거의 형성되지 않고 뿌리의 전체적인 형태도 불량하였다. 그리고, 0.5 mg L<sup>-1</sup> IBA 또는 IAA가 첨가된 배지에서도 뿌리의 분화가 이루어지기는 하였으나, 배양기간이 길어짐에 따라 줄기의 절단면과 형성된 뿌리의 정단 부분이 비정상적으로 비대해지면서 캘러스로 되는 현상이 나타났다. 이는 0.5 mg L<sup>-1</sup> IBA가 첨가된 배지에서 까마중이나 같은 *Solanum*속 식물인 *S. dulcamara* L.의 뿌리 분화에 효과적이라는 보고와는 상이한 결과이다(Pandhure *et al.*, 2010; Sridhar and Naidu, 2011; Mutlu and Turker, 2008).

일반적으로 NAA, IBA, IAA 등의 auxin은 낮은 농도에서는 뿌리를 유도하지만 높은 농도에서는 캘러스를 유도하

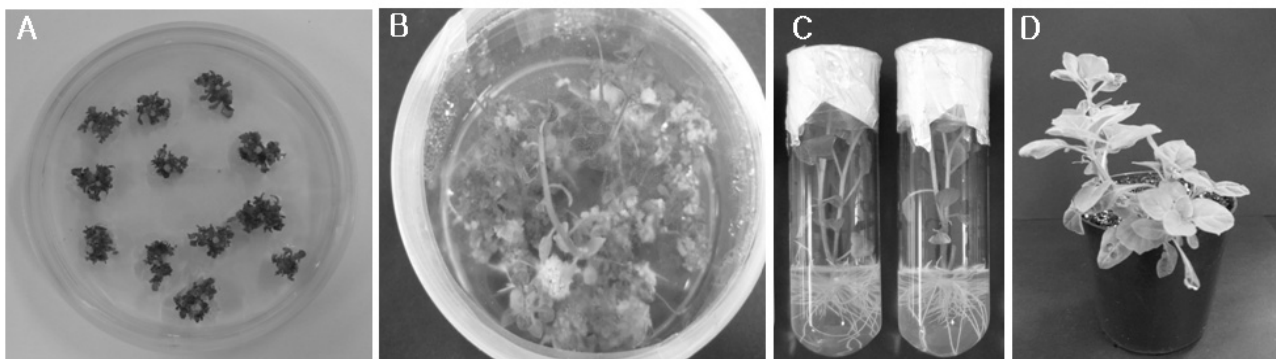


Fig. 2. Plant regeneration from leaf segments of *Solanum nigrum*. (A) Induction of multiple shoots from leaf segments on MS medium with BAP 2 mg L<sup>-1</sup> after 4 weeks of culture. (B) Subculture of multiple shoots on MS medium with BAP 2 mg L<sup>-1</sup>. (C) Root formation from the shoots on MS medium with IAA 0.05 mg L<sup>-1</sup> after 4 weeks of culture. (D) Hardening of plantlets in the pot containing compost soil.

Table 2. Effect of NAA, IBA and IAA on rooting and shoot elongation from shoots of *Solanum nigrum* after 4 weeks of culture on MS media

Concentration (mg L <sup>-1</sup> )	% rooting at				No. of roots	Length of longest root (cm)	Length of longest shoot (cm)	Remark	
	1w	2w	3w	4w					
Control		20	80	100	100	1.30 ± 0.15 <sup>bcd</sup>	7.56 ± 1.07 <sup>a</sup>	8.90 ± 0.63 <sup>a</sup>	
NAA	0.01	30	60	70	80	1.10 ± 0.31 <sup>bcd</sup>	3.75 ± 1.06 <sup>abc</sup>	7.59 ± 1.08 <sup>a</sup>	
	0.05	0	0	40	50	0.70 ± 0.30 <sup>cd</sup>	3.15 ± 1.40 <sup>bc</sup>	6.33 ± 0.84 <sup>ab</sup>	callus formation
	0.1	0	0	20	30	0.50 ± 0.31 <sup>d</sup>	0.90 ± 0.73 <sup>bc</sup>	5.24 ± 0.75 <sup>ab</sup>	callus formation
	0.5	0	0	10	20	0.10 ± 0.10 <sup>d</sup>	0.17 ± 0.17 <sup>c</sup>	2.80 ± 0.71 <sup>b</sup>	callus formation
IBA	0.01	40	40	60	100	2.30 ± 0.40 <sup>abcd</sup>	3.55 ± 1.07 <sup>abc</sup>	7.34 ± 1.08 <sup>a</sup>	
	0.05	50	50	70	90	3.75 ± 0.55 <sup>a</sup>	5.42 ± 1.62 <sup>ab</sup>	8.27 ± 1.14 <sup>a</sup>	
	0.1	20	30	40	80	1.70 ± 0.63 <sup>bcd</sup>	2.21 ± 0.93 <sup>bc</sup>	6.61 ± 1.11 <sup>a</sup>	
	0.5	0	0	40	80	1.10 ± 0.18 <sup>bcd</sup>	2.21 ± 0.93 <sup>bc</sup>	6.61 ± 1.11 <sup>a</sup>	callus formation
IAA	0.01	30	40	50	80	2.80 ± 0.80 <sup>abc</sup>	4.14 ± 1.09 <sup>abc</sup>	8.03 ± 1.16 <sup>a</sup>	
	0.05	60	80	90	90	4.00 ± 0.77 <sup>a</sup>	7.82 ± 1.00 <sup>a</sup>	8.76 ± 0.84 <sup>a</sup>	
	0.1	50	50	80	90	3.10 ± 0.94 <sup>ab</sup>	5.10 ± 1.35 <sup>ab</sup>	7.21 ± 0.94 <sup>a</sup>	
	0.5	0	30	60	90	2.00 ± 0.37 <sup>abcd</sup>	3.07 ± 0.85 <sup>bc</sup>	6.23 ± 0.70 <sup>ab</sup>	callus formation

Each values represents the mean ± SE of 10 replicates.

Whitin each column, values followed by the different letter represent significant difference among treatments (Duncan's multiple range test, P < 0.01).

w: weeks of culture.

여 뿌리의 분화가 낮아지는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서도 높은 농도에서는 줄기의 절단면이 점차 캘러스화되면서 뿌리의 분화가 현저히 낮았다. 특히 NAA가 첨가된 배지에서는 뿌리의 분화 없이 줄기의 대부분이 캘러스로 변하거나 뿌리가 형성되더라도 측근이 유도되면서 정단 부분이 비정상적으로 비대해지면서 캘러스로 되는 현상이 IBA나 IAA에 비해 현저히 높았다. 이러한 결과로 볼 때 까마중의 재분화된 신초에 저농도의 IAA와 IBA를 처리하는 것이 짧은 기간안에 부정근을 유도할 수 있고, 뿌리의 전체적인 형태와 측근 형성이 양호하여 좀 더 효율적일 것으로 보인다.

발근배지에서 4주간 배양하여 얻은 소식물체를 인공배양토를 넣은 소형 포트에 이식하여 랩으로 덮어 1주간 습도를 높게 유지시키고 공기순환 구멍을 일정 간격으로 뚫어 외부환경에 서서히 적응하도록 한 결과, 배양토에 완전하게 활착시킬 수 있었다(Fig. 2D). 그리고, 배양토에 이식한 재분화체는 100%의 생존율을 보였으며 정상적인 식물체로 성장하였다. 따라서 유도된 신초로부터 발근배지를 적절하게 이용하여 부정근이 유도된 재분화체를 얻는다면

그 후의 식물체의 순화에는 큰 문제가 없을 것으로 생각된다. 뿌리가 완전히 활착된 식물체를 28 ± 1°C, 50 μmole m<sup>-2</sup> sec<sup>-1</sup> (16시간 광주기)로 조절되는 배양실에서 2~3개월간 관리한 결과, 정상적으로 성장하여 화퇴와 꽃을 형성하였으며, 이후 정상적인 결실 과정을 통해 까망게 익은 열매를 수확할 수 있었다(Fig. 3).

이상의 실험 결과를 종합해 보면, 까마중의 유식물체로부터 신초를 효율적으로 유도하기 위해서는 저농도(1.0~2.0 mg L<sup>-1</sup>)의 BAP 조건에서 배양재료로 잎이나 자엽 등의 조직을 사용하는 것이 바람직할 것으로 보인다. 그리고 저농도(0.05 mg L<sup>-1</sup>)의 IAA 또는 IBA가 첨가된 배지에서 뿌리 형성을 및 뿌리 생장이 양호하였으며, 토양 조건에서 정상적으로 생육시킬 수 있음을 확인하였다. 더군다나, 까마중은 재분화 식물체의 획득에서부터 순화과정을 거쳐 종자를 수확하는데 대략 5~6개월 이내에 가능하여 형질전환 연구를 위한 모델식물로서의 효용성이 높을 것으로 보인다. 이러한 결과는 향후 유용한 유전자를 통한 형질전환 식물체의 개발에 중요한 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

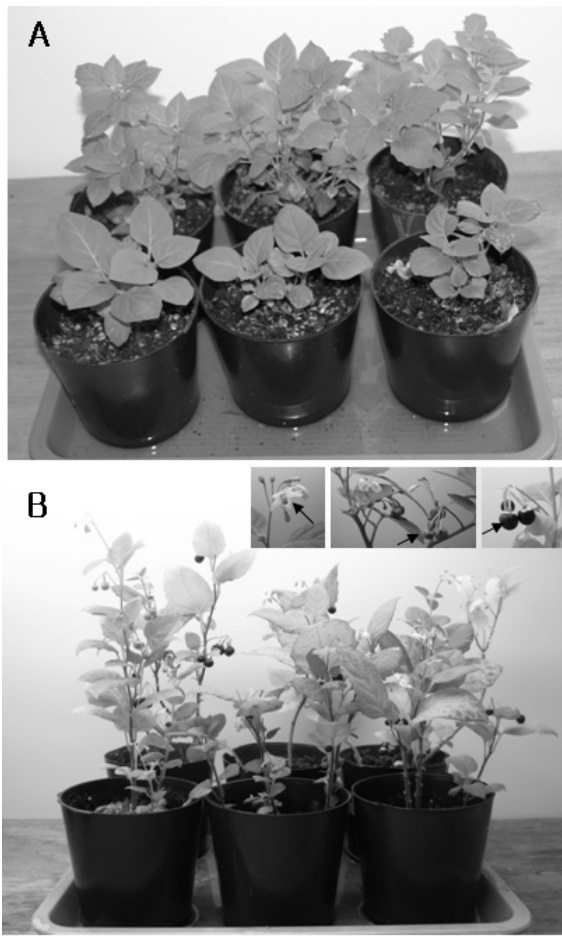


Fig. 3. Acclimation of plants regenerated from leaf segments of *Solanum nigrum* in the pots containing compost soil. (A) Vegetative growth stage of regenerated plants. (B) Reproductive growth stage of 2-month-old regenerated plants with flowers and developing fruits. Arrow of small pictures indicate floral buds, immature fruits (green) and mature fruits (black).

## 적 요

본 연구는 기내에서 발아된 까마중 유식물체의 조직별로 신초 및 뿌리 유도를 통해 효율적인 재분화 조건을 확립하고자 실시하였다. 신초 형성은 식물체 부위별로 서로 달랐으며, 잎에서의 신초 형성빈도가 자엽이나 하백축 그리고 상배축보다 높았다. 절편체당 신초의 수는 잎과 자엽에서 다소 많았으며, 신초의 길이도 다른 부위에 비해 잎과 자엽에서 빠른 증식과 신장을 나타내었다. 특히, 2.0 mg L<sup>-1</sup> BAP가 첨가된 배지에서 재분화를, 신초의 수와 길이가 증

가하여 2.0 mg L<sup>-1</sup> BAP가 고빈도 신초의 유도 및 성장에 효율적인 것으로 판단되었다. 뿌리분화는 IBA와 IAA가 NAA보다 더 효과적인 것으로 나타났으며, 0.05 mg L<sup>-1</sup> IAA가 첨가된 배지에서 뿌리 형성율이 90%이며, 뿌리의 갯수와 길이도 각각 평균 4.0개와 7.82 cm로 가장 양호하게 나타났다. 더욱이 배양토에 이식한 재분화체는 100%의 생존율을 보였으며 정상적인 식물체로 성장하였다. 이러한 결과를 토대로 2.0 mg L<sup>-1</sup> BAP 조건에서의 잎 절편에서 다발성 신초 유도, 그리고 0.05 mg L<sup>-1</sup> IAA 조건에서의 뿌리형성 유도가 까마중의 대량번식을 위한 최적의 조건임을 알 수 있었다.

## 사 사

이 논문은 2007년 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행되었으며(KRF-2007-532-D00010), 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

- Atanu, F.O., U.G. Ebiloma and E.I. Ajayi. 2011. A review of the pharmacological aspects of *Solanum nigrum* Linn. *Biotechnol. Mol. Biol. Rev.* 6(1):1-7.
- Bae, K.H., J.A. Yoo and E.S. Yoon. 2005. Effect of growth regulators of plant regeneration from *Rhodiola sachalinensis* leaf segments. *Korean J. Plant Res.* 18(3):410-416 (in Korean).
- Choi, S.W., S. Lim, W.G. Park and Y.E. Choi. 2011. Plant regeneration from the segments of petioles of *Cacalia firma*. *Korean J. Plant Res.* 24(5):483-488 (in Korean).
- Han, B.H., B.W. Yae, D.H. Goo and H.J. Yu. 2004. Micro-propagation of *Philodendron wend-imbe* through adventitious multi-bud cluster formation. *Korean J. Plant Biotechnol.* 31(2):115-119 (in Korean).
- Heo, Y.Y., R.H. Kwon, M.S. Ha and B.J. Ha. 2009. The effects of *Solanum nigrum* Linne extract on the hepatotoxicity of rats induced by lipopolysaccharide. *J. Fd. Hyg. Safety* 24(3):285-290 (in Korean).
- Hick, G.S. 1994. Shoot induction and organogenesis *in vitro*: A developmental perspective. *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 30:10-15.
- Lee, T.B. 2003. Coloured flora of Korea, Volume II. Hyangmunsa Publishing Co., Seoul, Korea. p. 152 (in Korean).

- Li, J., Q.W. Li, D.W. Gao, Z.S. Han and K. Li. 2008. Antitumor effects of total alkaloids isolated from *Solanum nigrum* *in vitro* and *in vivo*. *Pharmazie* 63(7):534-538.
- Lim, J.K. 2003. Screening of antioxidants and lunasin peptide as cancer chemoprevention in *Solanum nigrum*., MS Thesis, Andong Univ., Korea. p. 40.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
- Mutlu, E.C. and A.U. Turker. 2008. Efficient plant regeneration of bittersweet (*Solanum dulcamara* L.), a medicinal plant. *Acta Soc. Bot. Pol.* 77(4):275-280.
- Pandhure, N., R. Bansode and V. Kothekar. 2010. *In vitro* multiplication of important medicinal plant *Solanum nigrum* L. *Rec. Res. Sci. Tech.* 2:33-35.
- Pennazio, S. 1975. Effect of adenine and kinetin on development of carnation tips cultured *in vitro*. *J. Hort. Sci.* 50:161-164.
- Saito, A. and Y. Ide. 1985. *In vitro* plantlet regeneration from adventitious buds on induced cuttings of peeled twigs of Japanese white birch. *J. Japanese For. Soc.* 67:282-284.
- Shim, K.K. and Y.M. Ha. 1997. Mass propagation of Korean native *Styrax japonicus* through axillary bud culture. *J. Korean Soc. Hort. Sci.* 38(5):575-580.
- Sridhar, T.M. and C.V. Naidu. 2011. Effect of different carbon sources on *in vitro* shoot regeneration of *Solanum nigrum* (Linn.) - An important antiulcer medicinal plant. *J. Phytol.* 3(2):78-82.
- Yu, Y.B. 2004. The extracts of *Solanum nigrum* L. for inhibitory effects on HIV-1 and its essential enzymes. *Korean J. Oriental Med.* 10(1):119-126 (in Korean).

(접수일 2011.8.29; 수정일 2012.2.3; 채택일 2012.4.4)