

석사학위논문

꽃향유(*Elsholtzia splendens*)의  
줄기 배양에 의한 식물체 재분화  
Plant Regeneration by the Stem Culture  
in *Elsholtzia splendens*



제주대학교 중앙도서관  
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

제주대학교 대학원

농학과

김 수 남

110984

2001년 6월

꽃향유(*Elsholtzia splendens*)의  
줄기 배양에 의한 식물체 재분화

지도교수 송 창 길

김 수 남

이 논문을 농학석사학위논문으로 제출함



JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2001년 6월

김수남의 농학석사학위 논문을 인준함

심사위원장  
위 원  
위 원

조남기  
고영남  
김보민



제주대학교 대학원

2001년 6월

Plant Regeneration by the Stem Culture  
in *Elsholtzia splendens*

 Su-Nam Kim  
(Supervised by Professor Chang-Khil Song)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF AGRICULTURE

DEPARTMENT OF AGRICULTURE  
GRADUATE SCHOOL  
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

# 목 차

Abstract .....	1
I. 서언 .....	2
II. 연구사 .....	4
III. 재료 및 방법 .....	7
IV. 결과 및 고찰 .....	9
1. 식물생장조절제 종류가 식물체 재분화에 미치는 영향	
2. 식물생장조절제 처리농도가 식물체 재분화에 미치는 영향	
3. 식물생장조절제의 혼합 농도가 식물체 재분화에 미치는 영향	
V. 적요 .....	24
인 용 문 헌 .....	25



## Abstract

This study was conducted to determine the kind and treatment concentration of some plant growth regulators, BA, NAA and 2,4-D, for plantlet production of *Elsholtzia splendens* by stem culture.

For the shoot formation of *Elsholtzia splendens* was in MS medium with them 0.1 mg/ℓ BA was the most effective than others. Their percentage after 4 weeks was 48, 36 and 16%, respectively.

For examine the optimum concentration of plant growth regulators, MS medium mixed with BA 2 mg/ℓ was the best than any other concentrations. Its percentage of shoot formation was 88%. But the shoot growth was more effective in MS medium mixed with BA 4 mg/ℓ. The adventitious root growth was the most effective in MS medium mixed with NAA 0.05 mg/ℓ.

The shoot formation was the greatest in MS medium mixed with BA 4mg/ℓ and NAA 1 mg/ℓ. Its percentage was 88%. The shoot growth was good in MS medium mixed with BA 0.5 ~ 4 mg/ℓ and NAA 0.05 mg/ℓ. The adventitious root growth was the best in MS medium mixed with BA 1 mg/ℓ and NAA 0.05 mg/ℓ.

Therefore plantlet production of *Elsholtzia splendens* by stem culture was the best in MS medium containing sucrose 30 g/ℓ, agar 8 g/ℓ and plant growth regulator, BA 1 mg/ℓ and NAA 0.05 mg/ℓ.

# I. 서 언

전국의 산야에 널리 자생하는 1년생 식물인 꿀풀과의 꽃향유(*Elsholtzia splendens* Nakai)는 뿌리를 제외한 지상부 전체에서 매우 특이하고 강한 향이 발산되는 식용, 약용 및 밀원용 식물이다. 꽃향유는 자생지에서 30~70cm 정도 자라고, 8~9월에 5~10cm의 화수에 보라색 꽃이 피는(Kim, 1996) 관상가치가 높은 식물로서 재배시 초장이 110cm로 자라는 것으로 보고되었다(Sohn 등, 1999a).

국내에 자생하는 *Elsholtzia* 속의 식물에는 꽃향유 외에도 향유, 흰향유, 가는잎향유, 좁향유, 애기향유 등이 있는데, 모두 식물체 전체에서 강한 향이 발산되는 1년생 방향성 식물로, 어린 잎은 식용하거나 관상초 및 밀원 자원으로 쓰이고 민간에서는 꽃 필 때의 전초를 생약으로 사용하는데, 발한, 이뇨, 수종, 해열, 지혈 등에 약으로 사용하고 육탕의 향료 등으로 쓰인다(Kim, 1996). 중국에서는 건조시켜 생약으로 이용되고 있다.

꽃향유는 향유와 생육습성이 매우 비슷하며 강원도에 자생하는 꽃향유는 잎 6.56%, 줄기 0.98%, 화수 8.01%의 매우 높은 정유 함량을 보였으며, 정유의 주요 성분은 monoterpene류인 elsholtziaketone(52%)과 naginataketone(30%)으로 향유와는 달리 자극성이 강한 향을 지니고 있다고 보고되어 있다(Sohn 등, 1999a).

화색은 보라색으로 관상가치가 높아 대구에서 자생하는 꽃향유 중 화색이 선명하고 일시 개화성이 우수하며 개화기간이 긴 '자향'이 화단용으로 선발되어 있으나(Song 등, 1996, 1998) 아직 분화용이나 향료용 및 약용 등의 용도로는 개발이 되어 있지 않다.

식물체의 조직배양은 Haberlendt가 인공배지에서 조직을 배양한 이후 영양체 작물의 다량번식, Virus 무병독주육성 및 Callus로부터 추출된 성분과 생체 자체의 성분과의 비교 연구에 크게 기여하고 있다(배, 1983; 은, 1981; 소, 1978; Wimber, 1963). 한편, 식물조직배양을 통하여 심비디움(김과 가,

1984; Wimber, 1963), 히아신스(배, 1983; 정 등, 1981; 이 등, 1982) 및 마늘(이 등, 1979; 소, 1978) 등 그 밖의 여러 식물에서 callus 유기, 기관 분화 및 식물체를 재분화시켜 번식의 한 방법으로 이용되고 있다. 현재 다수의 작물에서 영양생리, 유전, 육종, 병리학 및 약학 등 여러 분야에서 널리 이용되고 있는 식물조직배양을 꽃향유에 응용할 수 있다면 안전한 종묘 생산 및 생약학적 연구에 크게 이바지하리라 본다.

따라서 본 연구는 기내에서 꽃향유의 대량 생산을 유도할 수 있는 증식 체계와 안전한 종묘를 생산하고자 MS 배지에서 성장조절물질의 종류와 농도를 달리하여 검사하였던 바 몇 가지 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.



## II. 연구사

꿀풀과 식물은 전세계에 분포하는 가장 크고 진화된 식물과에 속하는데, 약 200속 2,000 ~ 5,000종의 방향성 초본과 저관목 식물이 포함되어 있다 (Good, 1974). 꿀풀과에는 매우 다양한 형태의 식물이 포함되어 있지만 (El-Gazzar and Watson, 1970) 재배되고 있는 식물들은 꽃 형태에 의해 쉽게 구별된다. 대부분의 꿀풀과 식물은 terpene계와 phenylpropene계 등의 정유 성분들이 잎, 줄기, 꽃의 표면에 있는 선모조직에 저장되어 있으며, 꽃 모양과 색소, 꿀의 분비 등 충매에 잘 맞도록 적응되어 있다. 꿀풀과 식물은 구조적으로 양성화이지만 많은 종들은 양성불임 정도가 높아 육종에 상당한 영향을 미치고 있다(Valdeyron 등, 1977).

꿀풀과 식물 중 향유속(*Elsholtzia*)은 약 20여종이 있고, 아시아·유럽대륙의 온대와 난대에 주로 분포한다. 국내에 자생하는 향유속에는 향유(*Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hylander), 꽃향유(*Elsholtzia splendens* Nakai), 가는잎향유(*E. angustifolia* Kitagawa), 애기향유(*E. saxatilis* Nakai ex. Kitagawa), 좁향유(*E. minima* Nakai), 및 흰향유(*E. ciliata* Hylander for. *leucantha* T. Lee)가 있다. 모두 1년생 방향성 식물로 어린잎은 식용하거나 관상초 및 밀원자원에 쓰이고 민간에서는 꽃필 때의 전초를 생약으로 사용하는데 발한, 이뇨, 수종, 해열, 지열 등의 약으로 쓰이며 육탕의 향료로도 쓰인다(Kim, 1996).

또한 향유속 식물은 대부분이 방향성 식물로서 정유의 주요성분 조성을 화학분류기준에 이용하고 있다. 향유속 식물은 크게 oxygenated monoterpenoids, furano-monoterpenoids, phenylpropanoids 계열로 분류되며, oxygenated monoterpenoids계열에는 *E. blanda*, *E. poilosa*, *E. strobilifera*, *E. eriostachya* var. *pusilla*가 속하고, furano-monoterpenoids 계열에는 *E. densa*, *E. stauntonii* (Tucker and Maciarello, 1995), *E. cristata*, *E. oldhomi*, *E. argyi*, *E. partrinii*, *E. ciliata*가 포함되며,



phenylpropanoids 계열에는 *E. polystachya*, *E. incisa*, *E. splendens* (꽃향유), *E. argyi* var. *nipponica*가 포함되는 것으로 보고되었다(Ateeque 등, 1988).

꽃향유에 대한 최초의 연구는 구례군 농업기술센터에서 그 지역에 자생하는 꽃향유를 가을용 화단식물로 개발한 것이었다(Chung, 1994; Park, 1995). 이어 농촌진흥청 원예연구소에서 대구 팔공산에서 자생하는 종자를 채취하여 화단식물을 선발하기 위한 시험결과 개화기가 길고 화색이 좋은 자향 꽃향유가 선발되었다(Song 등, 1996, 1998). 그러나 남부지방에서 자생하는 꽃향유와 강원도에서 자생하는 꽃향유는 개화기와 초장에 차이가 있는 것으로 보인다(Sohn 등, 1999b).

꽃향유의 주요 성분은 monoterpene류인 elsholtziaketone(52%)과 naginatantone(30%)으로 매우 자극성이 강한 향을 가지고 있다고 Sohn(1999b)이 보고한 바 있다.

식물 조직배양은 Haberlandt(1902)가 가장 먼저 식물의 단세포로부터 식물체를 유기한 이래로 분화된 식물체를 여러 분야에서 이용하려는 연구가 시도되어지고 있다. 특히 식물의 번식, 생화학적 연구 및 육종에 이용하려는 연구가 많은 학자들에 의해 수행되어지고 있으며, 분화에 미치는 여러 요인들이 밝혀지고 있다. Murashige와 Skoog(1962)는 당근 속의 조직배양을 위한 배지를 효과 있게 만들어 MS 배지라 일컬었다.

식물조직배양에 있어서 가장 중요한 두 가지 물질은 식물생장조절제인 auxin과 cytokinin이다. auxin은 Went의 bioassay에 의해 그 존재가 최초로 확인되었는데 내생호르몬인 IAA(indoleacetic acid)가 있으며 합성물질로서는 NAA( $\alpha$ -naphthaleneacetic acid), IBA(indolebutyric acid), 2,4-D(2,4-dichlorophenoxy acetic acid)등이 있고 이들은 기내에서의 기작에 다소 차이가 있다(Wareing and Phillips, ). cytokinin은 내생호르몬으로 zeatin이 있고 합성물질로서 kinetin, BA(benzyl adenine), 2iP(N<sup>6</sup>-iso-pentenyl adenine)이 있으며 이들의 작용은 auxin과 길항적, 상가적 및 보완적이다(Wareing and Phillips, ).

일반적으로 auxin은 뿌리분화(root initiation)에 촉진적으로 작용하며 (Gamborg et al., 1974; Halperin,) 2,4-D는 auxin 중에서도 활성이 매우 높기 때문에 callus유도용 배지에 많이 첨가되며, 때로는 auxin과 cytokinin의 기능을 동시에 나타낼 때도 있다. cytokinin은 배지에서 shoot 형성에 효과적으로 작용하며 부정근 분화를 억제시킨다(Skoog, 1948). 기내배양에서 auxin과 cytokinin의 처리 비율은 식물체기관 및 형태형성에 중요한 역할을 한다(Skoog and Tsui, 1944; Skoog and Miller, 1957).

Skoog와 Miller(1955)는 기관형성에 호르몬의 조절에 대한 연구에서 담배 수(pith) 기내조직배양에서 부정근 및 shoot 분화는 auxin과 cytokinin의 비율에 따라 변화되었다고 보고하였다.

Wood(1982)는 pecan의 줄기절편 배양에서 shoot 증식은 4 mg/l의 BA와 1 mg/l의 IBA의 첨가가 가장 효과적이었으며 합성호르몬이 천연호르몬보다 생장이나 발육을 유도하는데 더 효과적이라고 보고하였다. Stapfer와 Heuser(1985)도 periwinkle의 줄기절편 배양에서 shoot의 증식을 위해서 kinetin이나 2iP보다 BA가 더 효과적이라고 하였다. Zhang와 Davies(1986)는 배롱나무의 줄기절편을 WPM(woody plant medium)배지에 PBA(6-(benzylamino)-9-(2-tetrahydropyran-2-yl)-9H-purine), BA 또는 kinetin 등을 첨가하여 배양한 결과 3 ~ 9 μM의 BA 첨가가 shoot 증식에 효과적이라고 하였다.

### Ⅲ. 재료 및 방법

#### 1. 실험 재료 생산

제주도에 자생하고 있는 꽃향유의 종자를 채집하여 이를 줄기 배양의 재료로 사용하기 위해 배양용기 내에서 발아·생육시켰다. 이때 사용된 배지는 MS 배지(Murashige and Skoog, 1962)에 sucrose 20 g/l 과 agar 8 g/l 를 첨가하고, 고압 멸균 전 pH 5.8로 조절하여 배양병에 100 ml씩 분주하였다. 이를 121℃(1.5atm)에 15분간 고압 멸균 한 것을 사용하였다.

종자의 살균은 70% 알콜에 15초간 침지시킨 후 곧바로 20%의 Lax에 15분간 침지시켰다. 이를 멸균수에 3~5회 세척 후 배지에 10립씩 치상하였다. 배양 조건은 25±2℃의 온도와 24시간 연속 조명 하에 12주간 발육시켰다.



#### 2. 줄기절편배양

줄기절편 배양의 사용한 배지는 MS 배지에 sucrose 30 g/l 과 agar 8 g/l 를 첨가한 후, 고압멸균 전 pH 5.8로 조절하여 250 ml 삼각플라스크에 50ml씩 분주하여 121℃(1.5atm)에서 15분간 고압멸균하여 사용하였다. 줄기절편 배양에는 종자를 12주간 생육시킨 식물체의 마디를 2 ~ 3 mm 크기로 절단하여 각 처리 당 25개체 씩 치상하였다. 배양조건은 25±2℃의 온도에 2,000Lux의 광원 하에 16/8h의 광주기로 명배양하였다.

##### 1) 식물생장조절제의 종류가 식물체 재분화에 미치는 영향

이 실험은 식물생장조절제의 종류가 식물체 재분화에 미치는 영향을 규명하고자 실시하였다. 적당한 성장조절제의 종류를 알아보기 위하여 cytokinin계 BA와 auxin계 NAA와 2,4-D를 각각 0.1 mg/l 의 농도로 처리하여 사용하였다.

## 2) 식물생장조절제의 농도가 식물체 재분화에 미치는 영향

식물생장조절제의 농도가 식물체 재분화에 미치는 영향을 알아보기 위해 위 실험에서 생육이 양호한 BA와 NAA를 사용하였다. 각 처리 농도는 0.05, 0.5, 1, 2, 4 mg/ℓ로 단용 처리하였고 무처리를 control로 두었다.

## 3) 식물생장조절제의 혼합 농도가 식물체 재분화에 미치는 영향

식물생장조절제의 혼합 농도가 식물체 재분화에 미치는 영향을 규명하고자 BA와 NAA를 사용하였다. 처리 농도는 BA와 NAA를 각각 0.05, 0.5, 1, 2, 4 mg/ℓ으로 혼합하여 사용하였다.



## 결과 및 고찰

### 1. 식물생장조절제 종류가 식물체 재분화에 미치는 영향

본 실험은 종자를 sucrose 20 g/l 과 agar 8 g/l 를 첨가한 MS 배지에서 12주간 생육시킨 식물체(Figure 1)의 줄기 절편을 식물생장조절제인 BA, BAA 및 2,4-D를 각각 0.1 mg/l 를 처리하여 배양하였다. 이때 shoot 형성과 생육 및 부정근 생육에 미치는 영향을 알아보기 위하여 시행한 결과는 Table 1과 Figure 2에서와 같았다.

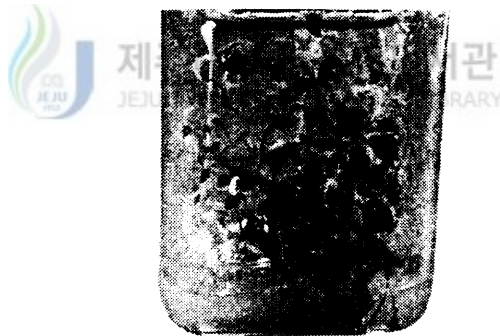


Figure 1. Germinated plant from seed of *Elsholtzia splendens* Nakai for 12 weeks.

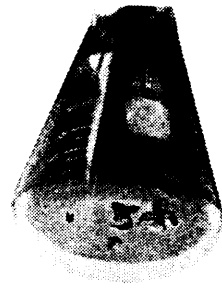
Table 1. Effects of BA, NAA and 2,4-D on shoot formation and shoot and adventitious root growth from node of *Elsholtzia splendens* Nakai for 4 weeks.

Growth regulator(mg/ℓ)	No. of explant cultured	Node explants shoot forming		Shoot growth	Adventitious root growth
		No.	%		
BA 0.1	25	12	48	++	+
NAA 0.1	25	9	36	++	++
2,4-D 0.1	25	4	16	+	-

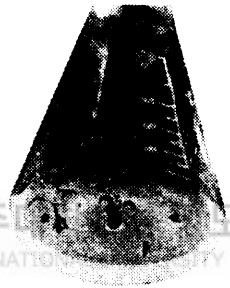
- : none    + : poor    ++ : good    +++ : very good

일반적으로 줄기 절편을 배양한 배지에서 치상 후 5 ~ 7일 경부터 shoot가 형성되는 것을 육안으로 관찰할 수 있었다. 이렇게 형성한 shoot는 식물생장조절제에 따라 다소 차이를 보였다. shoot 형성은 BA, NAA 및 2,4-D에서 각각 48%, 36% 및 16%로 나타나 BA가 가장 우수하였다. 그러나 shoot 생육은 BA와 NAA에서 모두 양호하게 나타났지만 2,4-D는 shoot 형성 후 거의 생육을 하지 못하였다.

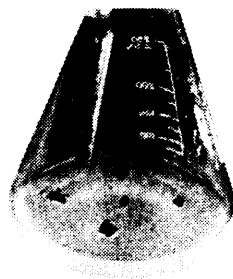
부정근은 BA와 NAA에서만 형성되었고 2,4-D에서는 형성되지 않았으며, 그 생육은 BA보다 NAA에서 다소 양호하게 나타났다. 일반적으로 NAA는 뿌리분화(root initiation)에 촉진적으로 작용하며(Gamborg et al., 1974; Halperin,) 2,4-D는 auxin 중에서 활성이 매우 높기 때문에 callus 유도용 배지에 많이 첨가되며, 때로는 auxin과 cytokinin의 기능을 동시에 나타낼 때도 있다. 그리고 BA는 배지에서 shoot 형성에 효과적으로 작용하며, 부정근 분화를 억제시킨다(Skoog, 1948)고 알려져 있다.



BA 0.1 mg/L



NAA 0.1 mg/L



2,4-D 0.1 mg/L

Figure 2. Plantlet formation from node culture of *Elsholtzia splendens* Nakai in MS medium with BA, NAA and 2,4-D for 4 weeks

## 2. 식물생장조절제의 농도가 식물체 재분화에 미치는 영향

위 실험에서 shoot 형성과 부정근 생육에 우수한 식물생장조절제인 BA 와 NAA를 가지고 식물생장조절제의 처리농도가 생육에 미치는 영향을 알아보기 위하여 각각 0.05, 0.5, 1, 2, 4 mg/l 의 농도로 처리 한 결과는 Table 2와 Figure 3에서와 같았다.

Table 2. Effects of BA and NAA concentrations on shoot formation and shoot and adventitious root growth from node of *Elsholtzia splendens* Nakai for 4 weeks.

Growth regulator(mg/ l )	No. of explant cultured	Node explants shoot forming		Shoot growth	Root growth	
		No.	%			
control	25	7	28	++	+	
BA	0.05	25	10	40	++	+
	0.5	25	15	60	++	+
	1	25	16	64	++	+
	2	25	22	88	++	-
	4	25	11	44	+++	-
NAA	0.05	25	7	28	++	++
	0.5	25	9	36	+	+
	1	25	5	20	+	-
	2	25	4	16	+	-
	4	25	3	12	+	-

- : none    + : poor    ++ : good    +++ : very good

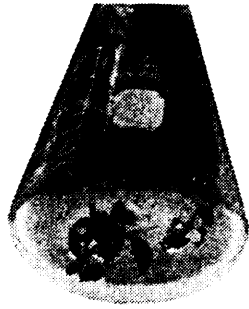
생장조절제의 종류에 따른 실험에선 BA와 NAA는 shoot 형성과 생육에 대해 비교적 비슷한 양상을 보였지만 농도에 따른 실험에선 농도 차에 따라 큰 차이를 보였다. BA의 경우는 농도가 높아질수록 shoot 형성은 증



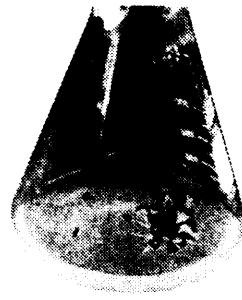
가하여 2 mg/l 일 때 88%로 가장 좋았고 이는 대조구의 28%에 비해 매우 우수한 결과를 나타냈다. 그러나 생육은 농도에 따라 큰 차이는 보이지 않았지만 4 mg/l 에서 가장 잘 자랐다. 부정근은 저농도인 0.05 ~ 1 mg/l 에서만 형성되었지만 생육은 빈약하였다. Datta와 Datta (1984)가 *Angelonia salicariifolia*에 BA 1 mg/l 을 처리했을 때 부정아 출현이 양호하다고 하였으나 Subramanya와 Schwandes (1986)은 BA 2.5 mg/l 을 처리했을 때 shoot 형성에 가장 유효하다고 하였는데 이들 연구 결과는 본 연구 결과와 유사하였다.

cytokinin 처리는 부정근 발생을 억제하는 것으로 알려져 있지만 (Schrandolf and Reinert, 1959; Ben-Jacov et al., 1991), 본 실험에서는 저 농도의 cytokinin 처리에서 부정근이 형성되었는데 이 경우는 윤 등 (2000)의 실험에서와 마찬가지로 저 농도에서의 처리는 부정근 발생을 억제하지 않는 예와 일치하였다. 또한, 동부의 경우 callus로부터 발생된 부정근은 cytokinin 처리에 의해 촉진된 예도 있다(Soh et al., 1998; Soh et al., 1999). 그리고 상처를 받은 부위는 내재 auxin이나 ethylene의 농도가 증가한다는 보고(Moncousin et al., 1989)가 있는데 cytokinin인 BA에서 부정근이 유도된 것은 내재 auxin이 작용한 것으로 사료된다.

NAA의 경우, shoot 형성은 저농도인 0.5 mg/l 에서 36%로 가장 우수하여 대조구보다는 다소 양호하였지만 농도가 높아질수록 shoot 형성율은 감소하는 경향을 보였다. shoot 생육에서도 역시 0.05 mg/l 의 저농도에서는 좋았지만 농도가 높아질수록 감소하는 경향을 보였다. 부정근 형성은 BA와 비슷한 양상을 보여 저농도인 0.05 ~ 0.5 mg/l 에서만 형성되었지만 생육은 0.05 mg/l 에서는 BA나 대조구에 비해 비교적 양호한 결과를 나타내었다. 이처럼 NAA의 농도가 높아질수록 생육이 감소하는 결과를 나타내는 것에 대해 Thomas(1989)는 높은 농도의 auxin이 뿌리 조직에서 ethylene 합성을 증가시켜 뿌리의 발육을 억제시킨다고 보고한 바 있어 이러한 현상이 꽃향유의 조직으로부터 유도된 shoot의 발근에 영향을 미치는 것으로 사료된다.



Control



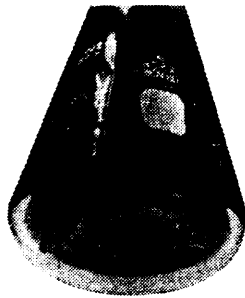
BA 0.05 mg/L



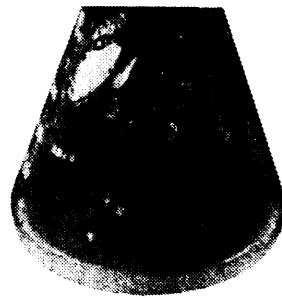
BA 0.5 mg/L



BA 1 mg/L

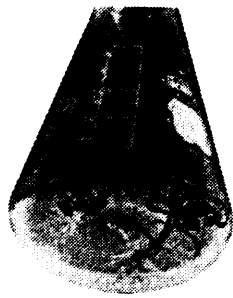


BA 2 mg/L

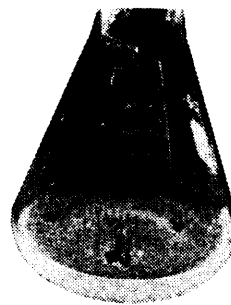


BA 4 mg/L

Figure 3-1. Plantlet formation from node culture of *Elsholtzia splendens* Nakai in MS medium with BA and NAA for 4 weeks.



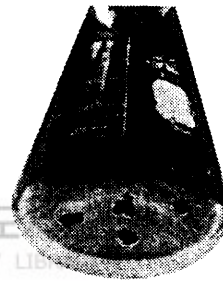
NAA 0.05 mg/L



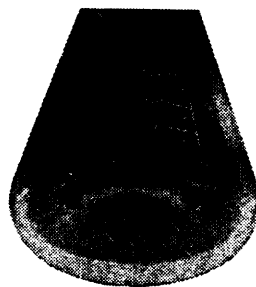
NAA 0.5 mg/L



NAA 1 mg/L



NAA 2 mg/L



NAA 4 mg/L

Figure 3-2. Plantlet formation from node culture of *Elsholtzia splendens* Nakai in MS medium with BA and NAA for 4 weeks.

### 3. 식물생장조절제의 혼합 농도가 식물체 재분화에 미치는 영향

기내배양을 통한 식물체의 분화 및 탈분화는 성장조절물질을 포함한 배지의 구성에 따라 그 양상이 크게 다른 것으로 알려져 있으며(Binh and Heszky, 1990; Data et al., 1990; van Altvorst et al., 1995), 분화유도는 일반적으로 종에 따라 특정농도의 auxin과 cytokinin의 조합이 작용한다고 보고되어 있다. Kaul 등(1990)은 NAA와 BA가 첨가된 배지에 *Dendranthema grandiflora*의 잎과 줄기의 절편체를 배양하였을 때 callus의 분화 없이 직접 shoot와 부정근이 분화되는 것으로 보고하였다. 그래서 줄기절편 배양을 통한 shoot 형성과 부정근 형성에 적당한 식물생장조절제의 혼합 농도를 알아보기 위하여 BA와 NAA를 혼합하여 실험한 결과는 Table 3과 Figure 4에서와 같았다.

식물생장조절제의 혼합농도에 따른 shoot 형성은 대체로 BA의 농도가 높아질수록 증가하였고 NAA는 농도가 높아질수록 감소하는 경향을 보여 NAA에 비해 BA에 대한 영향이 큰 것으로 나타났다. 그러나 BA 4 mg/l에서는 다소 다르게 나타났으나 BA 4 mg/l + NAA 1 mg/l의 혼합한 농도에서 가장 좋았다.

BA의 농도에 따른 shoot 생육은 큰 차이를 보이지는 않았지만 NAA의 농도가 높아질수록 증가하는 경향을 보였으며, BA 0.5 ~ 4 mg/l에 NAA 0.05 mg/l를 혼합한 농도에서 우세하게 나타났다.

부정근 형성과 생육은 대체로 고농도의 BA에서는 형성되지 않거나 생육이 저조하였고 NAA는 농도가 높아질수록 감소하는 경향을 나타냈으나 BA 1 mg/l에 NAA 0.05 mg/l를 혼합한 농도에서 가장 우수하였다. 이처럼 NAA의 농도가 높아질수록 생육이 감소하는 결과를 나타내는 것에 대해 Thomas(1989)는 높은 농도의 auxin이 뿌리 조직에서 ethylene 합성을 증가시켜 뿌리의 발육을 억제시킨다고 보고하였는데 이러한 현상은 꽃향유의 조직으로부터 유도된 shoot의 발근에 영향을 미치는 것으로 사료된다. 그리고 BA 4 mg/l의 농도에 NAA를 혼합 처리한 것에서는 부정근이

형성되지 않았다. Anthurium의 잎절편 배양에서 callus로부터 분화된 shoot는 식물생장조절제가 없는 배지에서도 쉽게 발근되었고(Thomas, 1986), Lim et al.(1994)는 줄기가 분화된 토마토의 경우에 NAA 0.5 mg/l 와 TDZ 0.2 mg/l 가 혼합된 배지에서만 부정근 유도가 가능하다고 보고하였는데, 이는 식물에 따라 내생 호르몬의 수준이 달라 식물생장조절제의 농도, 종류 및 auxin과 cytokinin의 특정 비율에서만 발근이 유도된다고 사료된다.

그리고 BA 1 mg/l + NAA 4 mg/l 의 혼합 처리 농도에서 일부 개체는 callus가 형성되기도 하였다. 대부분의 종에서 callus 형성에는 고농도의 auxin이, 분화 및 발달에는 저농도의 auxin이 유리하다는 보고가 있다 (Chen et al., 1985; Kawahara and Komamine, 1991).

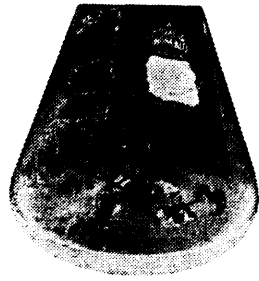
따라서 소식물체를 생산하려면 BA 1 mg/l + NAA 0.05 mg/l 의 혼합한 농도가 가장 적합하다고 사료된다.



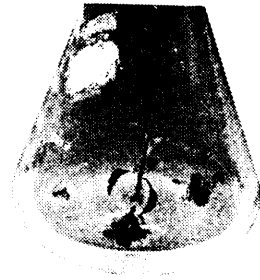
Table 3. Combinational effects of BA and NAA on shoot formation and shoot and adventitious root growth from node of *Elsholtzia splendens* Nakai for 4 weeks.

Growth regulator(mg/ ℓ )		No. of explant cultured	Node explants shoot forming		Shoot growth	adventitious root growth
BA	NAA		No.	%		
0.05	0.05	25	8	32	++	++
		25	6	24	++	+
		25	5	20	+	+
		25	5	20	+	+
		25	4	16	+	+
0.5	0.05	25	16	64	+++	++
	0.5	25	16	64	++	+
	1	25	13	52	++	+
	2	25	9	36	+	+
	4	25	7	28	+	+
1	0.05	25	21	84	+++	+++
	0.5	25	16	64	++	+
	1	25	14	56	+	+
	2	25	13	52	+	+
	4	25	6	24	+	+
2	0.05	25	20	80	+++	+
	0.5	25	20	80	++	+
	1	25	18	72	++	+
	2	25	12	48	++	+
	4	25	8	32	+	+
4	0.05	25	17	68	+++	-
	0.5	25	20	80	++	-
	1	25	22	88	++	-
	2	25	18	72	+	-
	4	25	17	68	+	-
Control		25	7	28	++	+

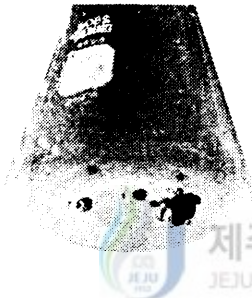
- : none    + : poor    ++ : good    +++ : very good



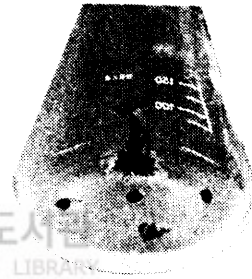
BA 0.05 mg/L + NAA 0.05 mg/L



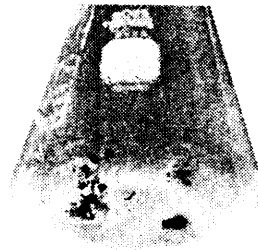
BA 0.05 mg/L + NAA 0.5 mg/L



BA 0.05 mg/L + NAA 1 mg/L



BA 0.05 mg/L + NAA 2 mg/L



BA 0.05 mg/L + NAA 4 mg/L

Figure 4-1. Plantlet formation from node culture of *Elsholtzia splendens* Nakai in MS medium with combinational concentrations of BA and NAA for 4 weeks.



BA 0.5 mg/L + NAA 0.05 mg/L



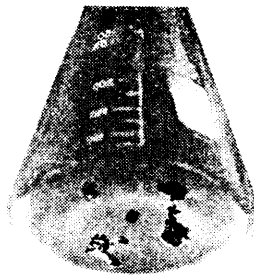
BA 0.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L



BA 0.5 mg/L + NAA 1 mg/L



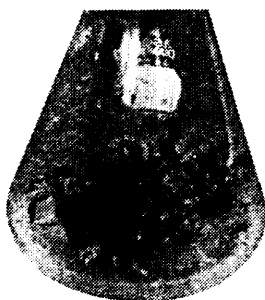
BA 0.5 mg/L + NAA 2 mg/L



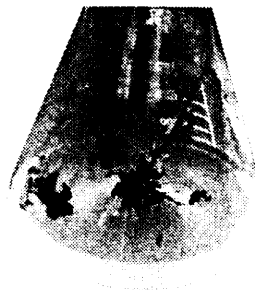
BA 0.5 mg/L + NAA 4 mg/L

Figure 4-2. Plantlet formation from node culture of *Elsholtzia splendens* Nakai in MS medium with combinational concentrations of BA and NAA for 4 weeks.

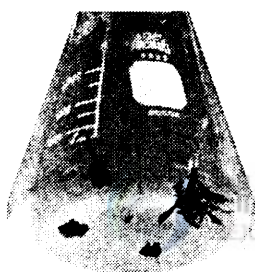




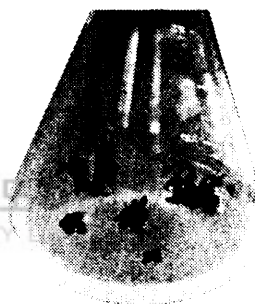
BA 1 mg/L + NAA 0.05 mg/L



BA 1 mg/L + NAA 0.5 mg/L



BA 1 mg/L + NAA 1 mg/L

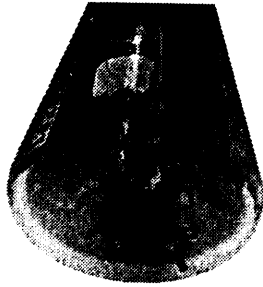


BA 1 mg/L + NAA 2 mg/L

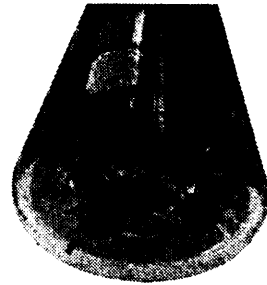


BA 1 mg/L + NAA 4 mg/L

Figure 4-3. Plantlet formation from node culture of *Elsholtzia splendens* Nakai in MS medium with combinational concentrations of BA and NAA for 4 weeks.



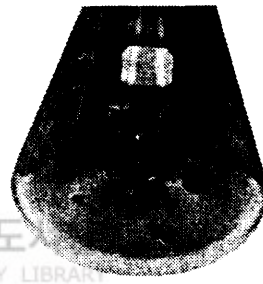
BA 2 mg/L + NAA 0.05 mg/L



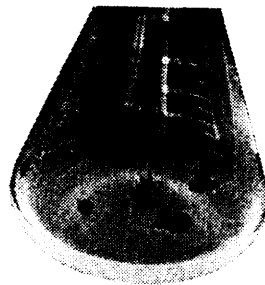
BA 2 mg/L + NAA 0.5 mg/L



BA 2 mg/L + NAA 1 mg/L

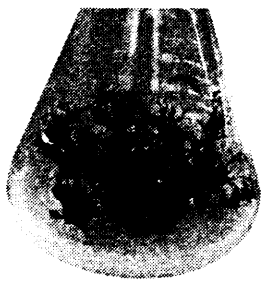


BA 2 mg/L + NAA 2 mg/L

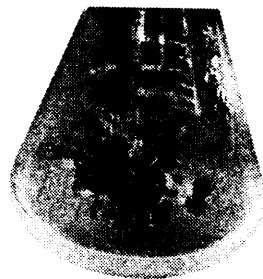


BA 2 mg/L + NAA 4 mg/L

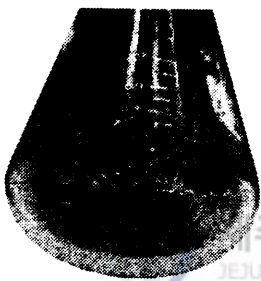
Figure 4-4. Plantlet formation from node culture of *Elsholtzia splendens* Nakai in MS medium with combinational concentrations of BA and NAA for 4 weeks.



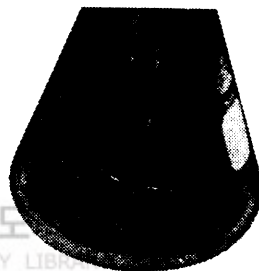
BA 4 mg/L + NAA 0.05 mg/L



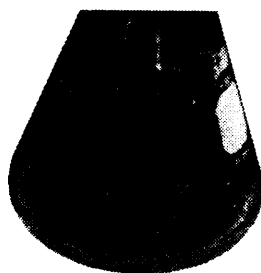
BA 4 mg/L + NAA 0.5 mg/L



BA 4 mg/L + NAA 1 mg/L



BA 4 mg/L + NAA 2 mg/L



BA 4 mg/L + NAA 4 mg/L

Figure 4-5. Plantlet formation from node culture of *Elsholtzia splendens* Nakai in MS medium with combinational concentrations of BA and NAA for 4 weeks.

## V. 적 요

꽃향유의 줄기 배양에 의한 소식물체 생산에 필요한 식물생장조절제의 종류와 처리 농도를 구명하고자 실험한 결과는 다음과 같다. 식물생장조절제의 종류에 관한 실험에서, shoot 형성은 BA에서 48%로 가장 효과적이었고, 그 다음으로 NAA, 2,4-D 순으로 나타났다. 부정근 생육은 NAA가 가장 양호하였고 BA, 2,4-D 순으로 나타났다. 그러나 shoot 생육에서는 큰 차이를 보이지 않았다.

식물생장조절제의 처리 농도에 관한 실험에서, shoot 형성 개체수는 BA 2 mg/l에서 88%로 가장 높게 나타났으며, shoot 생육은 BA 4 mg/l에서 가장 우수하였다. 부정근 생육은 NAA 0.05 mg/l에서 가장 양호하였다.

식물생장조절제의 혼합농도에 관한 실험에서, shoot 형성 개체수는 BA 4 mg/l + NAA 1 mg/l에서 88%로 가장 많았다. shoot 생육은 BA 0.5 ~ 4 mg/l에 NAA 0.05 mg/l의 혼합처리에서 가장 양호하였다. 부정근의 생육은 BA 1 mg/l + NAA 0.05 mg/l에서 가장 생육이 좋았다.

따라서 꽃향유의 줄기 배양을 통한 대량 증식은 MS 배지에 sucrose 30 g/l과 agar 8 g/l 및 BA 2 mg/l가 적당하고, 소식물체 생산은 MS 배지에 sucrose 30 g/l과 agar 8 g/l 및 BA 1 mg/l + NAA 0.05 mg/l 농도의 식물생장조절제를 첨가한 배지에서 배양하는 것이 적합하다고 사료된다.

## VI. 인용문헌

- Ateeque, A., M. S. Siddiqui, and L. N. Misra. 1988. Composition of *Elsholtzia polystachya* leaf essential oil. *Phytochemistry* 27(4):1065-1067.
- 배성국. 1983. 기내배양에 의한 hyacinth의 영양번식에 관한 연구. 전북대학교 대학원 석사학위 논문.
- Ben-Jaacov J., Ackerman A., Tale E. and Jacobs G. 1991. Vegetative propagation of *Alberta magna* by tissue culture and grafting. *HortSci.* 26:74.
- Binh, O. Q. and L. E. Heszky. 1990. Restoration of the regeneration potential of long-term cell culture in rice(*Oryza sativa* L.) by salt pretreatment. *J. Plant Physiol* 136:336-340.
- Chen, T. H., L. Lam and S. C. Chen. 1985. Somatic embryogenesis and plant regeneration from cultured inflorescence of *Oryza sativa* L. *plant Cell Tissue Organ Culture* 4:51-54.
- 정재동, 전재기, 김은명, 백기연. 1981. *Hyacinthus orientalis*의 조직배양에 의한 연구. 11. Auxin류가 인편조직으로부터 callus 형성 및 자구분화에 미치는 영향. *식물조직배양학회지.* 8(1):45-48.
- Chung, Y. K. 1994. *Elsholtzia splendens*. *Monthly Horticulture* 6:146-148.
- Data, S. K., Data K. and Portrycus I. 1990. Embryogenesis and regeneration from microspores of both 'japonica' rice(*Oryza sativa*). *Plant Science* 67:83-88.

- Datta K. and S. K. Datta. 1984. Rapid clonal multiplication of *Angelonia salicariifolia* through tissue culture. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 3: 215-220.
- El-Gazzar, A. and L. Watson. 1970. A taxonomic study of the Labiatae and related genera. *New Phytologist*. 69:457-486.
- 은종선. 1981. 성장점 및 Callus 배양에 의한 딸기의 급속 증식에 관한 연구. 원광대학교 대학원 석사학위 논문.
- Gamborg, O. L., F. Constable and J. P. Shyiuk. 1974. Organogenesis in callus from shoot apices of *pisum sativum*. *Physiol. Plant*. 30:120-128.
- Good, R. 1974. *The geography of the flowering plants*, 4th edition. London, Longman.
- Haberlandt, G. 1902. Kulturversuche mit isolierten pflanzenzellen sitzungsber Akad. wiss. wien. Kl. 111: 69-92.
- Halperin, W. Morphogenesis in cell cultures. *Ann. Rew. Plant. Physiol*. 20:39-369.
- Kaul, V., R. M. Miller J. E. Hutchison and D. Richards. 1990. shoot regeneration from stem and leaf explants of *Dendranthema grandiflora* Tzvelev (syn. *Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Plant Cell Tissue Organ. Culture* 21:21-30
- Kawahara, R. and A. Komamine. 1991. Mechanisms of somatic embryogenesis in carrot. *Korean J. Plant Tissue Culture* 18:334-339.

- 김규원, 加古舜治. 1984. 화기배양에 의한 *Cymbidium* 영양번식에 관한 연구. 한국원예학회지. 25(1):65-71.
- Kim, T. J. 1996. Korean resources plants IV. pp. 70-71. Seoul National University Press.
- 이병기, 배성국, 은종선. 1982. Hyacinth의 조직배양에 관한 연구. I. 인편, 화경과 엽조직에 있어서 Auxin과 Cytokinin이 자구 형성에 미치는 영향. 식물조직배양학회지. 9(1):13-20.
- 이종길, 한창열, 이영일. 1979. 마늘의 Callus 유기에 관하여. 식물조직배양학회지. 6(1):15-19.
- Lim, H. T., K. S. Lee, Y. R. Yeoung, Y. N. Song and J. H. Kim. 1994. Plant regeneration from hypocotyle explants of several species of *Lycopersicon*. Kor Plant Tissue Culture 21:137-143.
- Moncousin, C., J. M. Favre and T. Gasper. 1989. Early changes in auxin and ethylene production in vine cuttings before adventitious rooting. Plant Cell Tiss. Org. Cul. 19: 235-242
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. Arevised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plantarum. 15: 473-497.
- Park, S. I. 1995. Development of cultural method for native flowering plants in Chiri mountain as potted plants. Reports of Kuryegun Agricultral Development and Technology.
- Schrandolf H. and Reinert J. 1959. Interaction of plant growth regulators in regeneration process. Nature 184:465-466.

- Skoog F. and C. Tsui. 1944. Growth and organ formation in tobacco tissue culture. *Am.J.Bot.* 31:19-24.
- Skoog F. 1948. Chemical control of growth and bull formation in tobacco stem segment and callus cultured *in vitro*. *Am.J.Bot.* 35:378-384.
- Skoog F. and C. Miller. 1957. Chemical regulation of growth organ formation in plant tissue culture *in vitro*. *Symp.Soc.Exp.Biol.* 11:118-141.
- Skoog F. 1955. Growth factors, Polarity and morphogenesis. *Am.Bot.* 59:202-213.
- 소인영, 김동무. 1978. 조직배양에 의한 바이러스 무병독주생산에 관한 연구. 전북대학교 농대논문집. 9:12-19.
- Soh, W. Y., P. S. Choi and D. Y. Cho. 1998. Effects of cytokinin on adventitious root formation in callus culture of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *In vitro. Cell Dev. Biol* 34:189-195.
- Soh, W. Y., S. S. Bhojwani and S. C. Lee. 1999. Developmental and structural aspects of root organogenesis. In: Soh W-H E Bhojwani SS (eds) *Morphogenesis in Plant Tissue Cultures*. PP. 133-169.
- Sohn, K., J. S. Song, and K. S. Kim. 1999a. Clandular trichomes of *Elsholtzia splendens* Nakai. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 40(2):276-280.
- Sohn, K., J. S. Song, Y. A. Chae, and K. S. Kim. 1999b. The growth and analysis of essential ail of *Elsholtzia splendens* Nakai. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 40(2):271-275.



- Song, J. S., B. Y. Ryu, K. Y. Huh, C. S. Bang, Y. E. Choi, and B. H. Kim. 1998. Effects of bottom watering on growth of plug seedling and physical properties of media in native herbaceous flowering plants. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 39:475-478.
- Song, J. S., K. Y. Huh, S. K. Chung, D. W. Lee, and H. W. Kang. 1996. 'Jahyang', a cultivar selected from Korean native *Elsholtzia splendens* as bedding plant. *RDA. J. Agri. Sci.* 38(2): 562-565.
- Stapfer R. E. and C. W. Heuser. 1984. *In vitro* propagation of periwinkle. *HortScience* 20:141-142
- Subramanya, R. and L. S. Schwandes. 1984. *In vitro* propagation of *Escarole* from leaf explants. *HortScience* 19:235-236.
- Thomas, G. 1986. Factors affecting plant regeneration from leaf segments of *Anthurium scherzerianum* Schott (Araceae) cultured in vitro. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 6:115-125.
- Thomas, C. M. 1989. *Biochemistry and physiology of plant hormones*. 2nd ed. Springer-Verlag. pp. 158-195.
- Tucker, A. O. and M. J. Maciarelo. 1995. Volatile oil of *Elsholtzia stauntonii* Benth. *J. Essent. Oil Res.* 7:653-655.
- Valdeyron, G., B. Domme, and P. Vernet. 1977. Self-fertilization in male-fertile plants of a gynodioecious species: *Thymus vulgaris* L. *Heredity* 39:243-249.

- van Altvorst A. C., S. Yancheva and H. Dons. 1995. Cell within the nodal region of carnation shoots exhibit a high potential for adventitious shoot formation. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 40:151-157.
- Wareing, P. F. and I. D. J. Phillips. *Growth and Differentiation in plants.* (3rd. ed) Pergamon. Press. pp.64-70
- Wimber, D. E. 1963. Clonal multiplication of Cymbidiums through tissue culture of the shoot meristem. *Amer. Orchid Soc. Bull.* 32:105-107.
- Wood, B. W. 1982. *In vitro* proliferation of pecan shoots. *HortScience* 17:890-891
- Yang, Q. G., P. E. Read, C. D. Fellman and M. A. Hosier. 1986. Effect of cytokinin, IBA and rooting regime on *chinese chestnut* cultured *in vitro*. *HortScience* 21:133-134