윤판나물(*Disporum sessile*) 아배양에 의한 식물체 재분화에 영향을 미치는 배지 종류 및 성장조절물질 효과

이나념 · 김지아 · 김태동 · 김용욱

Effect of kinds of medium and plant growth regulators for plantlets regeneration by bud culture in *Disporum sessile*

Na-Nyum Lee · Ji-Ah Kim · Tae Dong Kim · Yong Wook Kim

Received: 6 December 2016 / Revised: 22 March 2017 / Accepted: 29 March 2017
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract This study was conducted to establish the optimal condition for *in vitro* propagation of *Disporum sessile*. In the experiments with different kinds of media (MS, B5 and WPM) and explant types for shoot induction and elongation, the highest number of shoot inductions (2.5/explant) was shown when the axillary bud explants were cultured on MS medium without plant growth regulators (PGRs). The best shoot elongation (7.2 cm) was also obtained when the apical buds were cultured on MS medium. The effect of BA pulse treatments with *in vitro* shoots was also examined. The highest in shoot induction (2.29/explant) and elongation (7.28 cm) was observed when the shoots from axillary buds were cultured on the media without PGRs. However, it decreased with increasing duration of BA pulse-treatment. The highest rooting rate (100%) and number of root inductions (21.3/explant) were achieved with 1.0 mg/L indole-3-butyric acid (IBA) treatment, whereas no differences were observed by different shoot types. The regenerated *in vitro* plantlets were hardened and successfully established in soil.

Keywords Axillary bud, BA pulse treatment, Micro-propagation, Plant regeneration, Shoot elongation

서론

윤판나물은 백합과(Liliaceae)에 속하는 다년생 초본성 식물로 한국, 일본 및 사할린 등지에 많이 분포하고, 우리나라의 경우 제주도와 울릉도 및 중부지방 산지에서 자생한다. 꽃이 아름다워 공원이나 식물원 등에서 관상용으로 많이 재배하고, 봄에 어린 순을 나물로 식용하기도 한다.

윤판나물은 예로부터 감기, 소화불량 및 폐결핵 등을 치료하는 전통약재로 이용하였고, 최근 연구에서 Williams et al. (1988)은 윤판나물아재비는 플라보노이드의 루테올린(luteolin) 성분을, Williams et al. (1993)은 *Disporum* 속 약 21종의 식물에는 플라보놀(flavonol)과 캄페롤(kaempferol) 성분이 함유되어 있음을 보고한 바 있다. 플라보노이드(flavonoid)는 항산화 효과가 뛰어난데 특히 윤판나물이 속한 식물 대부분이 이 성분을 많이 함유하고 있다. 최근에는 윤판나물에서 추출한 식물에스트로젠(phytoestrogen)이 자연 에스트로젠과 유사한 기능을 보여 향후 에스트로젠 대체가 가능한 물질로 보고되기도 하였다(Jeon et al. 2010).

국내의 윤판나물에 관한 연구는 윤판나물이 속한 애기나리속의 분류학적 연구(Lee 1992) 및 윤판나물에 발생하는 흰비단병(Kwon et al. 2007) 연구 등이 있다. 또한 최근 윤판나물은 약용성분을 많이 함유한 식물로 알려지면서 그 유용성분 분석 및 효과에 관한 연구(Jeon et al. 2010)등이 보고되기도 하였으나 액아 조직배양을 이용한 대량 증식의 보고는 없다.

식물의 기내번식 기법 중 액아배양은 가장 보편적인 방법으로서(Bonga 1987; Dhavala et al. 2010), 액아배양을 통한 고추나물(*Hypericum erectum*)의 대량증식(Kim et al. 2006), 희귀수종인 시로미(*Empetrum nigrum*)의 액아줄기를 이용

N. N. Lee · J. A. Kim · T. D. Kim · Y. W. Kim (✉)
국립산림과학원 산림생명공학과
(Forest Biotechnology Division, National Institute of Forest Science, 39 Onjeong-ro, Suwon 16631, Korea)
e-mail: bravekim@korea.kr

한 미세변식(Han et al. 2010), 약용식물인 홍경천(*Rhodiola rosea*)의 액아배양을 통한 다신초 유도(Bae et al. 2012) 등 많은 수종의 대량증식 연구에 널리 이용되어 왔다. 그리고 액아배양을 통한 재분화된 식물체는 변이체 발생율이 낮아 유전적으로 안정된 방법이며, 유식물체의 생산 시간 또한 짧기 때문에 대량증식을 위한 기술로서 그 실용성이 매우 높다(Kim et al. 2006).

따라서 윤판나물은 아름다운 꽃을 보기 위한 관상용뿐만 아니라 어린 순을 나물용으로 이용하기 위한 대량 재배의 필요성, 약용성분을 이용한 기능성 식물소재의 상업적 생산 및 이를 위한 식물재료의 지속적 공급 등 대량증식의 기내 배양 체계 확립이 요구된다. 조직배양의 성공은 배양 목적에 부합하는 배양 기술개발 및 조건 적정화가 필수적인데, 이를 위해 배지의 종류, 식물생장조절제의 종류, 농도 및 BA 침지 처리 등을 이용한 식물체 재분화를 위한 효과적인 기내배양조건을 구명하고자 본 실험이 수행되었다.

재료 및 방법

실험재료 및 배양조건

본 연구에 사용된 식물재료는 온실에서 생육중인 윤판나물의 당년생 신초지를 이용하였다. 먼저 신초지를 5 cm 정도로 채취하여 500 mL 삼각 플라스크에 넣고 계면활성제를 1~2 방울 첨가 후 충분히 거품을 내어 수돗물로 표면세척하였다. 그 후 70% 에탄올에 30초간, 2% NaClO에 7~8분 표면살균 후 멸균수로 5회 세척하였다. 최초 액아 배양을 위한 기내배지 조성은 염류의 양을 반으로 줄인 1/2 MS (Murashige and Skoog 1962)에 2% sucrose 및 0.3% gelrite를 첨가하였다. 배양을 위한 절편 조제는 조직절편을 2마디(3 cm) 정도로 절단하여 치상하였으며 배양 환경은 $40 \text{ um m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 광주기 16시간 및 $25 \pm 1^\circ \text{C}$ 조건에서 실시하였고, 오염 정도와 줄기생장은 배양 2주 후 조사하였다.

절편체, 배지 종류 및 BA 농도 효과

신초 유도 및 증식에 미치는 적정 배지 효과를 구명하기 위해 MS, B5 (Gamborg et al. 1968) 및 WPM (Lloyd and McCown 1980) 등 3종류의 기본배지를 사용하였고 각각의 배지에 3% sucrose 및 0.3% gelrite를 공통적으로 첨가하였으며, 식물생장조절물질은 BA를 0.2, 0.5, 1.0 mg/L 등의 3가지 농도로 첨가하였다. 배양은 액아 배양으로부터 증식된 신초의 정아와 액아 절편(3 cm)을 분리 후 수직으로 치상하여 각 배지 종류 별 처리구 당 5점씩 5반복을 치상하였고, 배양은 $40 \text{ um m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 광주기 16시간 및 $25 \pm 1^\circ \text{C}$ 에서 실시하였다. 배지 종류 및 식물생장조절물질 농도에 따른 각각의 신초의 발생 수 및 길이는 배양 4주 후 조사하였다.

BA 침지 시간에 따른 신초 유도 효과

BA 침지 시간에 따른 신초 유도에 미치는 영향을 조사하고자 먼저 액아 절편을 MS 배지에 3% sucrose 및 0.5 mg/L BA를 첨가하여 액체배지를 조제 후, 그 액체배지에 시간 별(0, 1, 3, 5 및 24시간) 침적한 다음 MS에 3% sucrose 및 0.3% gelrite 조성 배지로 옮겨 배양하였다. 약 3 cm 길이로 조제한 액아 절편은 시간 별 진탕 배양 후 각 처리구 별 5점씩 5반복 치상하였고 배양은 $40 \text{ um m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 광주기 16시간 및 $25 \pm 1^\circ \text{C}$ 에서 실시하였다. BA 침지 시간에 따른 신초 발생율 및 길이는 배양 6주 후 조사하였다.

IBA 농도에 따른 발근 효과

기내 신초지로부터 발근 유도에 효과적인 IBA 농도 구명을 위해 정아 및 액아 유래 신초지를 3 cm 길이의 절편으로 잘라서 발근 시료로 이용하였다. 1/2 MS에 2% sucrose 및 0.3% gelrite의 기본 배지에 IBA를 0.2, 0.5 및 1.0 mg/L 등의 3농도로 첨가하여 각 처리구 당 5점씩 5반복을 치상하였고, 배양은 $40 \text{ um m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 광주기 16시간 및 $25 \pm 1^\circ \text{C}$ 에서 실시하였다. IBA 농도에 따른 발근율 등은 배양 4주 후 조사하였다.

유식물체 순화

기내에서 발근된 7~8 cm 길이의 유식물체를 인공배양토(peatmoss : perlite : vermiculite = 1 : 1 : 1, v/v/v)로 이식하였고, 1일 16시간 광조명($40 \text{ um m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) 및 $25 \pm 1^\circ \text{C}$ 로 유지되는 순화실에서 8주간 순화시켜 생육하였다.

통계분석

본 실험의 모든 데이터는 SPSS 12.0 (SPSS Inc., Chicago, USA)을 이용하였으며 각 처리간 유의성 검정은 one-way ANOVA를 실시하였다. 유의성이 있는 경우 Duncan's multiple range test로 차후검정을 실시하였고, 통계적 유의성은 $P < 0.05$ 로 설정하여 분석하였다.

결과 및 고찰

최초 신초 유도 및 증식

윤판나물의 액아로부터 신초 유도는 배양 5일 후부터 신초가 발생되기 시작하였고, 2주 후에는 평균 3.0 cm 정도로 증식하였다(Fig. 1A). 특히 이렇게 기내 증식된 일부 신초에서는 IBA 무첨가 배지에서도 자연적인 발근(Fig. 1B)이 이루어졌는데, 발근율은 약 30% 정도였다. 초대 배양 후 액아로부터 유도된 줄기의 증식은 MS 배지에 3% sucrose 배지로 계대배양하여 유지하였다.

Fig. 1 Micropropagation by axillary bud cultures of *Disporum sessile*. A: Induction of initial shoots from axillary bud on 1/2 MS medium without plant growth regulators after 2 weeks of culture; B: Roots were induced from shoots derived from Fig. A (arrows)

절편체, 배지 종류 및 BA 농도에 따른 신초 유도 및 줄기 생장 효과

절편체, 배지 종류 및 BA 농도에 따른 신초 유도 및 줄기 생장에 미치는 영향은 Table 1과 같다. 정아 절편을 이용한 경우 최대 신초 유도 수는 MS 및 B5 배지에서 각각 2.3개 및 2.1개로 효과적이었지만 WPM 배지(1.4개)에서 가장 저조하였

다. 줄기 신장 비교에서는 MS 배지에서 7.2 cm로 가장 높았고, 다음으로 WPM 배지에서 6.3 cm로 나타났지만 통계적 유의성은 없어 두 배지 종류 간 그 효과 차이가 없는 것으로 보였다. B5 배지의 경우 4.2 cm로 가장 저조하여 줄기 신장에 미치는 배지의 영향이 가장 적었다. 액아 절편으로부터 신초 유도는 MS 및 B5 배지에서 각각 2.5 및 2.2개가 유도되어 정아 절편 때와 그 효과가 비슷하였지만 WPM 배지(1.8개)의 경우 정아 절편과 마찬가지로 가장 저조하였다. 줄기 길이 비교에서는 WPM 및 MS 배지에서 각각 6.9 및 6.7 cm로 B5 배지(4.4 cm)보다 효과적이었다. 신초 유도 및 줄기 길이 생장에 영향을 미치는 배지 효과는 MS가 가장 효과적이었고, 특히 신초 유도는 액아 절편(2.5개)을, 줄기 길이 생장은 정아 절편(7.2 cm)을 이용할 경우 그 효과가 좋았다. 신초 유도 및 줄기 생장을 위해 첨가한 BA 효과 비교 연구에서는 대조구로 사용된 BA 무첨가 처리구에서만 신초 유도 및 줄기 신장이 이루어졌지만, 0.2–1.0 mg/L BA가 첨가된 3종류의 배지에서 배양한 정아 및 액아 절편은 배양 10일경 모두 고사하였다(Table 1). 신초 유도 및 줄기 생장에 영향을 미치는 BA 첨가 효과에 관해 미선나무 액아 배양의 경우 BA 무첨가가 줄기 신장에 더 양호하였지만(Lee et al. 2015), 홍경천(Bae et al. 2012) 액아 배양의 경우 오히려 고농도 BA 첨가 시 배양체 고사를

Table 1 Effect of different kinds of media and explant types for shoot induction and elongation in *Disporum sessile*. Explants were cultured on three kinds of medium supplemented with 0, 0.2, 0.5 and 1.0 mg/L BA for 4 weeks of culture

Explant type	Medium	Concentration (mg/L)	No. of shoots/explant	Shoot length (cm)
Apical bud	MS	BA 0	2.3 ± 0.91 a ^x	7.2 ± 2.52 a
		0.2	-	-
		0.5	-	-
		1.0	-	-
	B5	BA 0	2.1 ± 0.79 a	4.2 ± 1.76 b
		0.2	-	-
		0.5	-	-
		1.0	-	-
	WPM	BA 0	1.4 ± 0.58 b	6.3 ± 2.71 a
		0.2	-	-
		0.5	-	-
		1.0	-	-
Axillary bud	MS	BA 0	2.5 ± 0.72 a	6.7 ± 1.53 b
		0.2	-	-
		0.5	-	-
		1.0	-	-
	B5	BA 0	2.2 ± 0.73 b	4.4 ± 2.59 c
		0.2	-	-
		0.5	-	-
		1.0	-	-
	WPM	BA 0	1.8 ± 0.38 c	6.9 ± 2.69 a
		0.2	-	-
		0.5	-	-
		1.0	-	-

^xMean(± SD) separation within column by Duncan's multiple range test ($P = 0.05$)

-: Necrosis after 10 days of culture

Fig. 2 Comparison of shoot induction and elongation by different explant types on different kinds of media (MS, B5 and WPM) without PGRs

이 최대 93%였고, 윤판나물의 경우 또한 BA 첨가가 신초 유도 및 줄기 신장을 억제하는 것으로 나타나 본 실험 결과와 유사하였다.

본 실험 결과, 동일한 배지 조건(MS배지)에서 신초 유도의 경우 액아 절편이 정아 절편보다 다소 효과적이었고, 이와 유사한 결과로는 미선나무 신초 유도 시 액아 절편이 정아 절편보다 효과적이어서 절편에 따라 차이가 있음을 보고하였다(Lee et al. 2015). 신초 유도에 영향을 미치는 배지의 효과는 청미래덩굴의 액아로부터 신초 유도의 경우 WPM 및 B5배지보다 MS배지에서 보다 효과적임을 보고(Song et al. 2010)하고 있지만, 복숭아(Jun et al. 1998)의 경우 MS배지에서 신초는 유도되었으나 차후 기내 줄기 생장이 좋지 않아 본 실험의 결과와 상반된 결과를 보고하고 있다. 이는 일반적으로 MS배지는 WPM이나 B5배지보다 2~4배 많은 질소 성분이 함유되어 있고, 식물의 생장과 형태 발생은 MS 배지 내 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 의 비율에 따라 영향을 받는다(Choi and Soh 1997). 따라서 윤판나물의 액아 배양에서는 질소 성분이 상대적으로 많이 함유되어 있는 MS배지가 신초 유도 및 줄기 신장에 효과적인 것으로 나타났으나, 신초 발생 및 줄기 신장의 차이는 배지 조성의 질소 성분뿐만 아니라 미량원소, 무기 염류 및 비타민 등 여러 배지 조성 성분의 상호 작용에

의한 것으로 차후 이 성분들의 상호 작용을 구명할 필요가 있을 것으로 판단된다.

액아 치상 약 5일 후부터 3종류의 배지 모두에서 신초가 유도되기 시작하였고, 배양 3주 후에는 배지 종류에 따른 줄기 길이 생장 정도가 뚜렷하게 차이가 났는데 MS 배지의 경우 신초는 진한 녹색을 띤 건전한 줄기 생장을 보인 반면 B5 및 WPM 배지의 경우 가늘고 옅은 녹색을 띠며 생장이 저조함을 보였다(Fig. 2). 또한 WPM 배지의 경우 배양 후기로 갈수록 기내 신초 엽의 황백화(etiolation) 현상 및 탈리(abscission) 현상 등으로 인해 생장이 저조함을 보여 정아 및 액아 등의 절편체 종류와 관계없이 MS 배지가 신초 유도와 줄기 생장에 가장 효과적인 것으로 나타났다.

BA 침지 시간에 따른 신초 유도 효과

BA 침지 시간 별 신초 유도효과는 Table 2와 같다. 최대 신초 유도는 BA 침지 무처리구에서 절편 당 2.3개로 나타났으나 침지 24시간 처리구에서 절편 당 1.3개로 가장 저조한 결과를 나타냈다. 신초 유도 수는 BA 침지 시간이 길어짐에 따라 점점 감소하였으나, 침지 5시간(1.8개/절편)까지는 통계적 유의성은 없어 처리구 간 효과는 비슷한 것으로 나타났다. 줄기의 길이 생장 비교에서 또한 BA 무처리구에서 7.3 cm로 가장 좋았지만, 1~5 시간의 BA 침지 시간에 따라 줄기 신장은 다소 감소하였으며 침지 24시간에는 4.8 cm로 BA 무처리구에 비해 1.5배 이상 감소하였다(Table 2 and Fig. 3).

BA 침지에 관한 연구는 해바라기 자엽(Zhang and Finer 2016)을 1.5 mg/L BA 용액에 침지 4~8일 처리 후 줄기 유도에 가장 효과적이었고, 커피 배발생세포를 11.25 mg/L BA에 침지 처리 후 체세포배 형성이 촉진되었다는 보고(Papanastasiou et al. 2008)가 있어, 액체 침지 처리를 통해 신초지로부터 부정아 유도 및 줄기 생장 효과 증진에 관한 다수 보고가 있으나 본 실험에서는 상반된 결과를 보였다. 반면에 BA에 장시간 침지 처리된 경우 정아의 정단괴저(apical necrosis), 엽의 황화현상과 낙엽이 지는 현상이 미선나무(Lee et al. 2015; Moon et al. 1999) 및 히어리나무(Moon et al. 2002)의 액아배양에서 보고된 바 있으며, 본 연구의 결과도 이러한 선행 연

Table 2 Effect of the duration of BA pulse treatment on shoot growth in *Disporum sessile* after 6 weeks of culture

Duration of BA ^x pulse treatment (hrs)	No. of induced shoot	Length of shoot (cm)
0	2.3 ± 1.2 a ^y	7.3 ± 3.0 a
1	2.0 ± 0.7 a	5.8 ± 2.4 b
3	1.9 ± 0.5 ab	5.7 ± 2.4 b
5	1.8 ± 0.4 ab	5.6 ± 2.1 b
24	1.3 ± 0.5 b	4.8 ± 1.3 b

^xBA concentration: 0.5 mg/L

^yMean(± SD) separation within column by Duncan's multiple range test ($P = 0.05$)

Fig. 3 Effect of shoot elongation after BA pulse treatments for 0, 1, 3, 5 and 24 hours

구와 일치하였다. 액아배양에서 신초의 유도 및 줄기 생장의 결과는 싸이토키닌 적용 농도뿐만 아니라 처리 시간을 조절하는 것이 중요하며, 액체배지의 전처리가 절편체에 생리적 활성을 주기 때문에 식물체 형성에 유리하나(Franklin et al. 2006; Minal et al. 1985), 식물 수 종(species) 또는 배양체의 종류에 따라서 그 효과는 달라질 수 있다. 윤판나물의 경우 차후 BA 이외의 다른 종류의 싸이토키닌의 적정 농도 및 처리 시간에 관한 작용을 구명할 필요가 있을 것으로 판단된다.

IBA 농도에 따른 발근 효과

증식된 유식물체의 정아 및 액아 절편으로부터 유도 및 생장한 신초를 농도 별 IBA가 첨가된 배지에 치상한 결과 발근에 미치는 영향은 Table 3과 같다. 정아로 유도된 신초의 최대 발근율은 0.2-1.0 mg/L 처리구에서 100%로 대조구(0 mg/L) (96.7%)에 비해 좋은 결과를 보였다. 뿌리 수의 비교에서는 1.0 mg/L 처리구에서 21.3개가 유도되어 가장 높았으나 뿌리 길이의 경우 오히려 1.0 mg/L 첨가 시 0.9 cm로 다른 저농도의 IBA 처리구에 비해 뿌리 길이가 3배 정도 낮았다. 액아 절편에서 유래한 신초를 이용한 경우 최대 발근율은 0.5 및 1.0 mg/L 처리구에서 100%로 나타나 정아 절편과 발근율에서는 차이가 없는 반면, 대조구(0 mg/L) (83.3%) 및 0.2 mg/L (96.7%) 처리구에서는 정아 절편을 이용하였을 때

보다 저조하였다. 뿌리 수의 비교에서는 1.0 mg/L 처리구에서 18.4개, 뿌리 길이 비교의 경우 대조구에서 2.7 cm로 가장 효과적이었으나 정아 절편보다 뿌리 수 및 뿌리 길이는 저조하였다. 본 실험에서 IBA 농도 증가에 따라 발근율은 증가하는 경향을 보였으나 뿌리 길이는 대조구에서 가장 효과가 좋아, IBA 첨가로 발근율과 뿌리 길이 효과는 상반된 결과를 보였다(Table 3).

대개 기내 식물체의 발근은 저농도의 옥신 처리가 요구되지만(Boggetti et al. 1999) 윤판나물의 액아절편 유래 신초의 발근은 1.0 mg/L의 다소 고농도의 IBA 첨가로 높은 발근율을 보였는데, 시로미의 경우 5.0 mg/L 고농도의 IBA에서 비교적 높게 나타났다(Han et al. 2010). 반면 홍경천은 IBA 첨가 배지에서 뿌리 발생은 되나 그 후 뿌리 신장은 억제되었고(Bae et al. 2012), 고추나물(Kim et al. 2006)의 경우 옥신류 무첨가 배지에서도 20~50% 이상의 발근율을 보여 내생옥신(endogenous auxin) 함량이 많은 식물체의 경우 옥신류 무첨가 배지에서도 발근이 용이하게 이루어짐을 보고 해수중에 따라 옥신 농도 등 기내 발근에 미치는 결과가 매우 다양하게 나타남을 알 수 있었다.

기내 식물체 순화

발근된 기내 식물체는 상토로 이식하여 4주간 순화 후 완전한 식물체를 얻을 수 있었고(Fig. 4A), 활착율은 95% 이상 이

Table 3 Effect of kinds of explants and IBA concentration on rooting in *Disporum sessile* after 4 weeks of culture

Origin explants	Concentration of IBA (mg/L)	Rooting (%)	No. of root/explant	Root length (cm)
Shoots from apical bud	0	96.7	4.8 ± 1.00 c ^x	3.1 ± 1.43 a
	0.2	100.0	20.6 ± 4.79 a	1.0 ± 0.36 c
	0.5	100.0	13.0 ± 5.75 b	1.2 ± 0.54 b
	1.0	100.0	21.3 ± 6.12 a	0.9 ± 0.35 c
Shoots from axillary bud	0	83.3	3.3 ± 1.56 c	2.7 ± 1.24 a
	0.2	96.7	13.8 ± 4.08 b	1.0 ± 0.53 c
	0.5	100.0	13.0 ± 5.12 b	1.0 ± 0.48 bc
	1.0	100.0	18.4 ± 6.53 a	1.2 ± 0.58 b

^xMean(± SD) separation within column by Duncan's multiple range test ($P = 0.05$)

Fig. 4 Acclimatized plants in soil after 4 (A) and 8 (B) weeks of transplanting

었으며 줄기의 길이가 30 cm 정도로 활력있게 성장하였다 (Fig. 4B). 이상의 결과를 종합해보면 정아 및 액아로부터 신초를 유도하고 생장시켜 발근 과정을 통해 최종적으로 식물체 재분화를 이룰 수 있어 차후 운판나물의 기내 대량 증식의 가능성을 보여주었다.

적 요

본 연구는 운판나물의 효과적인 기내 증식을 위한 배양 최적 조건을 구명하기 위해 수행되었다. 신초 유도 및 생장에 영향을 미치는 배지(MS, B5 및 WPM) 및 절편체 종류에 따른 실험에서 줄기 유도는 액아 절편을 식물생장조절물질 무첨가 MS 배지에 배양 시 절편 당 2.5개로 가장 좋았고, 줄기 신장은 정아 절편을 식물생장조절물질 무첨가 MS 배지 배양 시 7.2 cm로 가장 효과적이었다. BA 침지 처리 시 신초 유도 효과는 액아배양 유래 신초를 BA 침지 무처리구에서 신초 유도(2.29개/절편) 및 신초 신장(7.28 cm)이 가장 효과적이었으며, BA 침지 시간이 길어짐에 따라 신초 유도 및 길이 생장은 감소하였다. 발근에 영향을 미치는 IBA 농도 효과는 정아 유래 신초를 1.0 mg/L 처리구에서 배양 시 최대 발근율(100%) 및 뿌리 유도수(21.3개/절편)를 보였으며, 정아 혹은 액아 유래 신초치 종류에 따른 발근율의 차이는 크지 않은 것으로 관찰되었다. 발근된 식물체는 상토로 이식하여 형태적인 변이 없이 정상적인 생장을 보였다.

References

Bae KH, Ko MS, Kim NY, Song JM, Song, GP (2012) *In vitro* propagation and multiple shoot induction of *Rhodiola rosea* L. by axillary bud culture. J Plant Biotechnol 39:114-120

Boggetti B, Jasik J, Mantell S (1999) *In vitro* multiplication of cashew (*Anacardium occidentale* L.) using shoot node explants of glasshouse-raised plants. Plant Cell Rep 18:456-461

Choi YE, Soh WY (1997) Effect of ammonium ion on morphogenesis from cultured cotyledon explants of *Panax ginseng*. J Plant Biotechnol 40:21-26

Dhaval A, Rathore TS (2010) Micropropagation of *Embelia ribes* Burm f. through proliferation of adult plant axillary shoots. In Vitro Cell Develop Biol-Plant 46:180-191

Franklin G, Arvinth S, Sheeba CJ, Kanchana M, Subramonian N (2006) Auxin pretreatment promotes regeneration of sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids) midrib segment explants. Plant Growth Regul 50:111-119

Gamborg OL, Miller R, Ojima K (1968) Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Exp Cell Res 50:151-158

Han MS, Park SY, Moon HK, Kang YJ (2010) Micropropagation of a rare tree species, *Empetrum nigrum* var. *japonicum* K. Koch via axillary bud culture. J Kor For Soc 99:568-572

Hori Y, Yokoi T, Yokoi Y (1987) Production dependence of vegetative propagation in *Disporum smilacinum* A. Gray. Ecol Res 2:243-253

Jeon NR, Kang K, Jho EH, Lee HJ, Kim CY, Nho CW (2010) Phytoestrogenic activity of ethanol extract from Korean wild vegetable *Disporum uniflorum*. Food Sci Biotech 19:1543-1550

Jun JH, Chung KH, Kang SJ, Park SY, Yae BW (1998) Influence of medium composition, carbon source, addition agent and explants orientation of shoot proliferation from *Prunus persica* in vitro. Kor J Plant Tiss Cult 25:99-102

Kim ML, Nam DW, Ahn JC, Hwang B (2006) Micropropagation of *Hypericum erectum* by axillary bud culture. Kor J Med Crop Sci 14:23-26

Kwon JH, Shim CK, Park CS (2007) Stem rot of *Disporum sessile* caused by *Sclerotium rolfsii* in Korea. Res Plant Dis 13:50-52

Lee NN, Kim JA, Kim YW, Choi YE, Moon HK (2015) Effect of explant's position and culture method on shoot proliferation and micro-cuttings for a rare and endangered species, *Abeliophyllum distichum* Nakai. J Plant Biotech 42:228-234

Lee NS (1992) An electrophoretic study of the genus *Disporum* in Korea. 1-Review of *D. smilacinum* and *D. viridescens* complex. Kor J Plant Tax 22:207-217

Lloyd GB (1980) Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. Int Plant Prop Soc 30:421-427

Minal Mhatre, Bapat VA, Rao PS (1985) Regeneration of plants from the culture of leaves and axillary buds in mulberry (*Morus indica* L.). Plant Cell Rep 4:78-80

Moon HK, Noh EW, Ha YM, Shim KK (2002) Micropropagation of juvenile and mature tree of *Corylopsis coreana* by axillary bud culture. J Plant Biotechnol 29:117-121

Moon HK, Suk GY, Kwon YJ, Son SH (1999) Micropropagation of a rare species, *Abeliophyllum distichum* Nakai, via axillary bud culture. Kor J Plant Tiss Cult 26:133-136

Murashige T, Skoog F (1962) A revised method for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15:472-497

Papanastasiou I, Soukouli K, Moschopoulou G, Kahia J, Kintzios S (2008) Effect of liquid pulses with 6-benzyladenine on the induction of somatic embryogenesis from coffee (*Coffea arabica* L.) callus cultures. Plant Cell Tiss Org Cult 92: 215-225

- Song HJ, Sim SJ, Jeong MJ, Heo CM, Kim HG, Jeong GY, Heo SY, Choi YW, Park GH, Yang JK, Moon HS, Choi MS (2010) Rapid micropropagation by axillary buds cultures of *Smilax china*. J Agr Life Sci 44:39-44
- Williams CA, Harborne JB, Mathew B (1988) A chemical appraisal via leaf flavonoids of Dahlgren's Liliiflorae. Phytochem 27: 2609-2629
- Williams CA, Richardson J, Greenham J, Eagles J (1993) Correlations between leaf flavonoids, taxonomy and plant geography in the genus *Disporum*. Phytochem 34:197-203
- Zhang Z, Finer JJ (2016) Use of cytokinin pulse treatments and micrografting to improve sunflower (*Helianthus annuus* L.) plant recovery from cotyledonary tissues of mature seeds. In Vitro Cell Develop Biol-Plant 1-9