

토천궁(*Ligusticum chuanxiong*)의 현탁배양에서 체세포배 형성과 동조화에 관여하는 요인

서울대 농생대 농학과 박주현*, 소은희, 송지숙, 윤상원, 유희숙, 채영암

Analysis of Factors Affecting on Somatic Embryogenesis and Synchronization in Suspension Culture of *Ligusticum chuanxiong*

Coll. Agric. & Life Sci., Seoul Nat'l Univ.

Ju-Hyun Park*, Eun-Hee Soh, Ji-Sook Song, Sang-Won Yoon,
Hee-Sook Yoo and Young-Am Chae

실험목적

토천궁의 체세포배 배양으로 기내종묘의 대량생산체계를 확립하고, 식품공장시스템에서 주년생산 할수 있도록 기초자료를 마련하고자 체세포배형성에 적합한 배지조건을 조사하고 그 발생의 동조화를 이룰수 있는 요인들을 검토하고자 함

재료 및 방법

가. 재료

작물시험장 약용작물포장에서 재배하는 토천궁(*Ligusticum chuanxiong*)의 미숙화기와 기내에서 재분화된 식물체의 어린줄기를 2,4-D 0.5mg/l가 첨가된 MS(Murashige-Skoog)배지에 치상하여 유도된 배발생캘러스

나. 조사항목

1. 액체배지와 고체배지에서 체세포배 발생 효율 비교
2. 액체배지에서 적절한 접종량과 배양액의 비율
3. 현탁배양에서 체세포배 발생에 적합한 배지종류, 배지농도, 탄소원과 질소원
4. 체세포배 발생에 미치는 Polyamine의 영향
5. ABA, Uniconazol, Inabenfide등의 성장억제제가 체세포배 발생의 동조화에 미치는 영향
6. 삼투안정제인 Inositol과 Mannitol이 체세포배 발생의 동조화에 미치는 영향

실험결과 및 고찰

1. 토천궁의 체세포배 발생에는 액체배지가 더 효율적이었다.
2. 체세포배 형성에 적절한 접종량과 배양액의 비율은 20ml의 배양액에 3ml의 접종량 또는 40ml의 배양액에 6ml의 접종량이었다.
3. MS배지가 체세포배 형성과 생육에 좋았으며, 1/2X MS배지가 더 효과적이었다.
4. 탄소원으로는 sucrose가 효과적이었고, 질소원으로는 KNO₃ 825mg/l와 NH₄NO₃ 238mg/l의 혼합처리가 배발생에 가장 효과적이었다.
5. Polyamine처리에서는 spermidine 30mg/l의 처리에서 자엽기의 체세포배가 가장 많았으나 비정상적인 배가 많았고, spermine은 배발생을 억제하는 효과를 보였다.
6. 동조화를 위한 성장억제제 처리에서 ABA는 배양20일후 0.05mg/l처리가, Inabenfide는 배양20일후 20mg/l처리가 생육의 균일화에 효과가 있었지만, Uniconazol의 농도별 처리는 체세포배발생과 동조화에 효과가 없었다.
7. 삼투안정제인 inositol을 1g/l 처리하였을때 체세포배 발생과 동조화에 효과가 있었으나 mannitol을 첨가한 경우에는 배발생이 전혀 이루어지지 않았다.

Table . Effect of inoculum volume on somatic embryogenesis in *Ligusticum chuansiang* suspension culture after 30 days.

Flask size	Medium vol.	Inoculum vol.	I.V./M.V. (%)	no. of somatic embryo
100ml	20ml	3ml	15	+++
		6ml	30	+
		9ml	45	+
200ml	40ml	3ml	7.5	++
		6ml	15	+++
		9ml	22.5	++

+++ ; very good, ++ ; good, + ; fair
 ○ ; Inoculum volume / Medium volume

Table . Effect of basal media on somatic embryo development in suspension culture of *Ligusticum chuansiang* after 3 weeks.

Basal media	Stages of somatic embryo development				Total F.W. of embryos (g ± SE)
	Globular	Heart	Torpedo	Cotyledon	
B5	17 ± 5	7 ± 2	6 ± 1	3 ± 1	0.3 ± 0.1
LS	29 ± 7	16 ± 4	13 ± 4	10 ± 3	1.1 ± 0.3
MS	35 ± 11	19 ± 8	17 ± 5	14 ± 5	1.3 ± 0.4
White	16 ± 6	5 ± 1	4 ± 2	2 ± 0	0.3 ± 0.1

Table . Effects of carbon source on somatic embryo development in suspension culture of *Ligusticum chuansiang* after 3 weeks.

Carbon source	Stages of somatic embryo development				Total F.W. of embryos (g ± SE)
	Globular	Heart	Torpedo	Cotyledon	
Fructose	11 ± 5	-	-	-	-
Galactose	31 ± 9	13 ± 4	9 ± 3	4 ± 1	0.3 ± 0.1
Glucose	38 ± 8	20 ± 6	15 ± 4	17 ± 3	1.6 ± 0.5
Maltose	26 ± 5	15 ± 4	7 ± 2	3 ± 1	0.3 ± 0.1
Sucrose	43 ± 14	21 ± 11	17 ± 5	19 ± 7	1.7 ± 0.3

Table . Effect of concentration and timing of ABA treatment on somatic embryogenesis of *Ligusticum chuansiang* for 30 days.

Formation of Somatic embryo	ABA treatment (mg/l)								
	0	0.01		0.05		0.1		0.5	
		10 ^z	20 ^y	10	20	10	20	10	20
Somatic embryo	+++	+	+	-	+++	+	++	-	+
Maturity	+++	+	++	-	++	+	++	+	+
Uniformity	++	-	-	-	+++	-	+	-	-

+++ ; very good ++ ; good + ; fair - ; poor
 z ; ABA treatment after 10 days culture
 y ; ABA treatment after 20 days culture