

### 高麗人蔘의 子葉培養에 關한 研究

韓 裨 烈 · 李 榮 日

(韓國原子力研究所)

## Studies on the Cotyledon Culture of *Panax ginseng*

Harn, Changyawl and Young-il Lee

(Korea Atomic Energy Research Institute, Seoul, Korea)

### ABSTRACT

Cotyledon of *Panax ginseng* was cultured in the growth regulator-free Knudson C medium comprising only several kinds of mineral salts and sucrose. Shoot primordium or callus developed profusely from the cotyledonary tissue and finally plantlets were produced directly from the shoot primordium or indirectly through callus. Microscopic examination revealed that the epidermal cell as well as the mesophyll cell of the cotyledon became meristematic and divided, changing into multinucleate cell or multicellular body, eventually developing into either a shoot primordium or callus.

### 縮 論

1967年 Slepyan *et al.*이 人蔘을 材料로 하여 처음으로 人蔘의 組織培養을 實施한 以來, 人蔘과 이의 類 綠種에서 callus의 誘起 및 增殖, callus組織에서 植物體의 再分化, 또는 培地의 組成等에 關한 研究들이 報告되었다(Butenko *et al.*, 1968; Harn *et al.*, 1973; Jhang and Staba, 1974; Kita and Sugii, 1969; Pisetskaya, 1970; Slepyan, 1971). 또한 器內培養한 뿌리 및 callus 組織의 化學的成分과 藥理學的 効果等에 對한 報告도 있다(Furuya *et al.*, 1970; Jhang *et al.*, 1972; Jhang and Staba, 1974; Slepyan, 1968). 最近에는 組織培養에 依하여 callus를 急速히 增殖시켜 이를 工業化하려는 論도 擡頭되고 있다.

本 研究는 高麗人蔘의 胚를 使用하여 callus의 誘起, 植物體의 再分化等을 研究하던 中 生長調節物質을 全혀 添加하지 않고 單只 無機鹽類와 蔗糖만으로 된 培地에서 人蔘의 子葉이 callus化 또는 葉狀體化되는 것이 觀察되었기에 그 結果를 報告하는 바이다.

### 材料 및 方法

材料는 約 1~2cm 程度 차란 幼植物(成長한 胚)의 子葉을 使用하였다. 材料의 採取를 爲해서는 開匣種子에서 內果皮를 除去하고 7% calcium hypochlorite 液에 10分間 液漬하여 殺菌水로 數回 洗滌한 다음 種子에서 胚만을 摘出하였다. 摘出한 胚는 數種의 無機鹽類와 蔗糖만으로 組成된 Knudson C 固體培地(Table 1)에 接種하여 約 25°C의 incubator에서 暗培養하였

Table 1. Knudson C medium

Constituents	g/l
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.5
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.25
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.025
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0.0075
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.025
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1.0
Sucrose	20.0
Agar	8.0

다. 接種한 胚가 1~2cm程度 幼植物體로 자랐을 때 子葉을 採取하여 培養材料로 使用하였다.

幼植物體에서 切取한 子葉은 胚 接種時에 使用한 것 과 同一한 Knudson C培地에 培養하였고 子葉과 對照하기 爲해서 上, 下胚軸 및 幼植物全體도 同時에 培養하였다. 幼植物全體를 培養한 境遇는 上胚軸이 계속 자라서 植物體로 成長하는 故로 上胚軸 및 子葉腋芽를 차라는 대로 根 除去하여 주었다.

葉狀體, callus 등이 發生하기 始作할 무렵의 子葉은 paraffin切片을 單片이 子葉組織의 變化를 檢鏡하였다

結果 및 考察

高麗人蔘의 幼植物體에서 子葉을 切取하여 單只 無機鹽類와 蔗糖만으로 되어 있는 Knudson C培地에 培養한과 同時에 子葉과 對照하기 爲하여 上, 下胚軸과 幼植物全體도 같이 培養한 바 接種後 約 20餘日이 經過하면 子葉의 表面이 褐變하고 좀더 時日이 지나면 濃褐色으로 되면서 不定型의 生長點 또는 callus와 恰似한 組織이 생기기 始作하며 이것은 乃終에 植物體 또는 callus塊로 자란다(Fig. 1a-c). 그러나 上胚軸은 처음에는 이러한 callus와 恰似한 組織이 間或생기는 듯 하지만 結局은 退還해 버리고 下胚軸은 全然 callus와 恰似한 組織도 생기지 않는다(Table 2). 上胚軸, 腋芽等을 除去하여 주면서 幼植物全體를 培養한 것

Table 2. Induction of callus or plantlet from various parts of embryo cultured in Knudson C medium

Explant	Number cultured	Callus formed	Shoot primordium or plantlet
Epicotyl	81	3	0
Cotyledon	152	31	39
Hypocotyl	78	0	0

도 切斷子葉의 境遇와 같이 callus化되던가 또는 不定型의 生長點이 發生한다. 그러나 幼植物全體를 照明下에서 培養하면 이러한 再分化現象은 적어지는 것 같다.

子葉에서 callus 또는 生長點의 突起가 發生한 무렵 이들 子葉을 切斷하여 組織의 變化를 보면 子葉表裏의 表皮層, 葉肉 또는 葉脈部位의 分化組織들이 脫分化하여 分裂組織化하고(Fig. 2a-c) 또 이것들이 callus 혹은 生長點으로 發達되는 것이 多數 觀察된다(Fig. 1 a, b). 이때에 表皮나 葉肉組織의 細胞들은 垂直壁 및 並側壁側으로 分裂하여 多核性細胞 혹은 多細胞體로 變한다(Fig. 3a, b).

子葉組織의 分化細胞가 多細胞體로 되는 樣相은

callus組織이 增殖하던가 callus에서 植物體가 再生할 때 callus의 分化細胞가 未分化狀態로 脫分化될 때의 樣相과 全然 同一한 것으로 보아 子葉組織의 分化細胞와 callus의 分化細胞는 모두 脫分化能에 있어서 그 機能의 差異가 없는 것 같다.

Begonia나 *Saintpaulia ionantha*, *Streptocarpus* 같은 것은 葉挿을 해도 完全한 植物體를 形成한다. 興味 있는 것은 *S. ionantha*나 *Streptocarpus*같은 植物은 葉의 表皮層을 形成한 單細胞들이 各各 植物體를 形成한다는 事實이다(Broertjes, 1969). 植物의 表皮는 그 機能이 被覆作用이 主가 되고 分裂도 垂直壁側으로 하는 것이 普通이지만 境遇에 따라서는 만드시 그러한 것도 아니다. 당근의 表皮組織을 培養하면 흔히 表皮細胞에서 胚狀體가 誘起되고(Kato and Takeuchi, 1966; Kato, 1968) 또 달배의 幼葉에서도 器內培養을 했을 때 表皮가 脫分化됨과 同時에 callus 또는 生長點으로 變化되는 수가 있다(Harn, 1972). 그런데 이것들은 모두 培養基에 生長調節物質들이 添加되어 있는 境遇이다. 그런데 人蔘子葉의 境遇는 生長調節物質의 添加없이 單只 無機鹽類와 蔗糖만으로 된 培養基에서 callus나 生長點이 생기고 이들은 乃終에 植物體까지 形成하는데 이러한 것은 人蔘子葉의 特異性이라 하겠다.

摘 要

高麗人蔘의 幼植物體에서 切取한 子葉을 單只 無機鹽類와 蔗糖만으로 된 Knudson C培地에 培養한 바 子葉에서 callus나 生長點類似的 突起가 생기고 그 後 時日이 經過함에 따라 이것들은 完全한 植物體로 發達한다. 培養中の 子葉을 切斷하여 보면 表皮層, 葉肉組織, 葉脈 등이 모두 脫分化하여 分裂組織化하고 또 表皮, 葉肉組織中에는 多核性細胞 혹은 多細胞體화된 것이 多數 觀察된다.

參考文獻

Broertjes, C. 1969. Mutation breeding of *Streptocarpus Euphytica* 18 : 333-339.  
 Butenko, R. G., I. V. Brushwitzky, and L. I. Slepyan. 1968. Organogenesis and somatic embryogenesis in the tissue culture of *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Bot. Zh.* 7 : 906-913.  
 Furuya, T., H. Kojima, K. Syono, and T. Isih. 1970. Isolation of panaxatriol from *Panax ginseng* callus. *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo) 18 : 2371-2372.  
 Harn, C. 1972. Studies on the culture of haploid tobacco leaf. *Korean J. Bot.* 15 : 28-32.  
 \_\_\_\_\_, J. S. Kim, K. D. Kim, and S. K. Hong. 1973. Studies on the tissue culture of *Panax ginseng*.

- Korean J. Plant Tissue Cult.* 1: 1—6.
- Jhang, J. J., E. J. Staba, and J. Y. Kim. 1972. American and Korean ginseng tissue culture: growth and examination for saponins (abstr. 45). Thirteenth Annual Meeting of the Amer. Soc. Pharm., College of Pharmacy, Ohio State Univ., Ohio.
- \_\_\_\_\_, and \_\_\_\_\_. 1974. American and Korean ginseng tissue cultures: growth, chemical analysis and plantlet production. *In vitro* 9: 253—259.
- Kato, H., and M. Takeuchi. 1966. Embryogenesis from the epidermal cells of carrot hypocotyl. *Sci. Papers Coll. Gen. Educ. Univ., Tokyo* 16: 245—254.
- \_\_\_\_\_. 1968. The serial observations of the adventitive embryogenesis in the microculture of carrot tissue. *ibid* 18: 191—197.
- Kita, K., and M. Sugii. 1969. Tissue culture studies on *Panax ginseng* C. A. Meyer. I. On the culture requirements of callus. *Yakugaku Zasshi* 39: 1474—1476.
- Pisetskaya, N. F. 1970. On the problem of the selection of suitable nutrient medium for the tissue culture of *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Russ. Resur.* 6: 516—522.
- Slepyan, L. I., I. V. Brushwitzky, and R. B. Butenko. 1967. *Panax ginseng* C. A. Meyer as an object for introduction into tissue culture. *Probl. Pharmacog.* 21: 198—203.
- \_\_\_\_\_. 1968. Pharmacological activity of callus tissue of ginseng grown under *in vitro* conditions. *Trans. Leningrad Khim-Farm. Inst.* 26: 236—244.
- Slepyan, B. I. 1971. Callus development in isolated ginseng root tissue culture. *Russ. Resur.* 7: 175—186. (1974. 10. 23 접수)

### Explanation of Plate

Fig. 1

1. Development of shoot primordia (sp in 1a) and plantlets (1b) from cotyledon (cot) cultured.

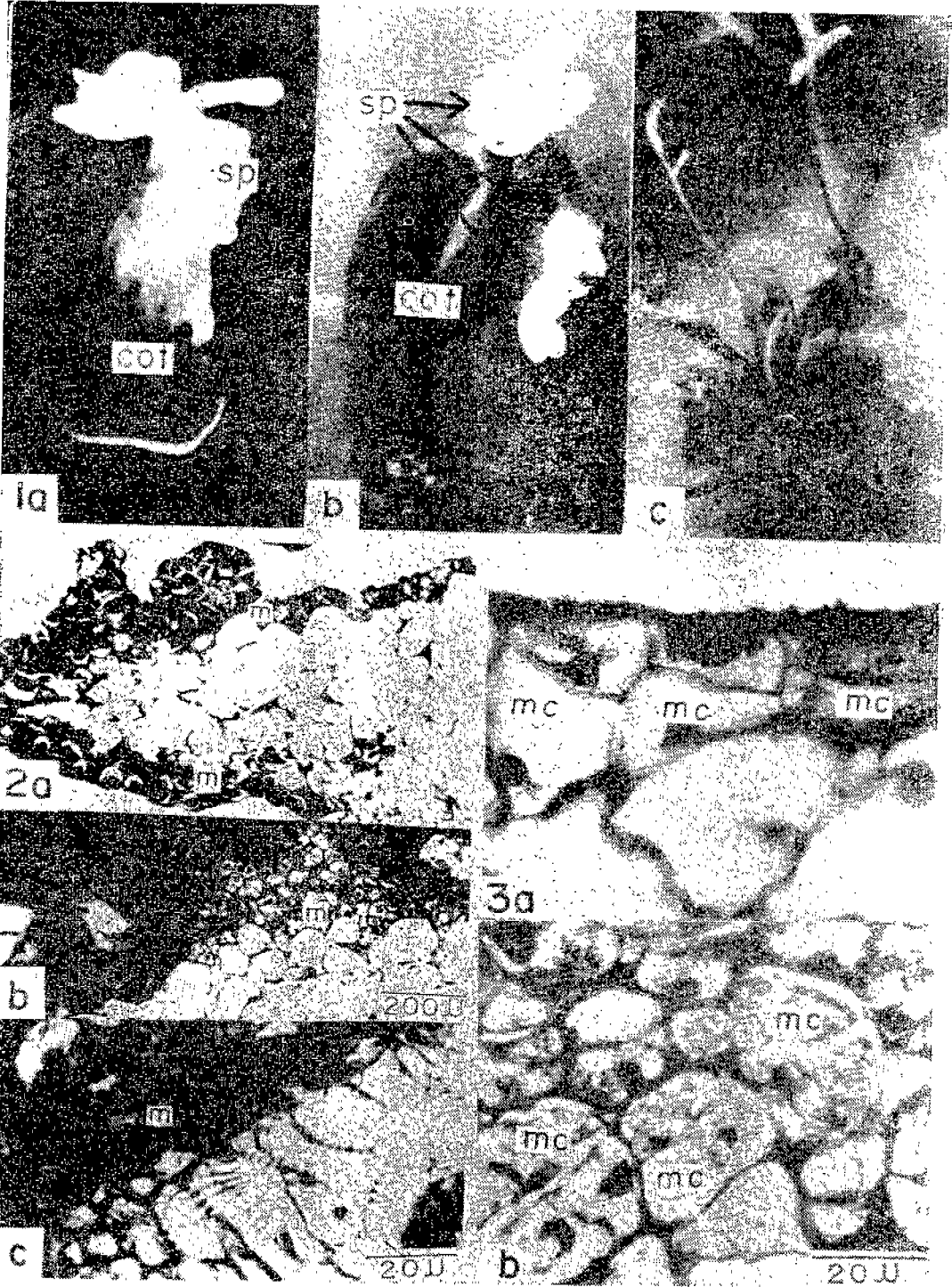
Fig. 2

2. Epidermis (2a), mesophyll (2b), and vascular

bundle (2c) became meristematic (m) and later developed into shoot primordia or calli.

Fig. 3

3. Epidermal (3a) and mesophyll (3b) cells divided to be multicellular (mc).



Plate