

## 高麗人蔘의 組織培養에 관한 研究

### 第3報 NAA가 人蔘 Callus의 誘起 및 器管의 變化에 미치는 影響

曹 在 星\*

## Studies on the Tissue Culture of Korean-Ginseng

### III. Effects of NAA on the Callus Induction and Organ Differentiation from Korean-ginseng Explants

Jo, J. S.\*

#### ABSTRACT

These experiments were carried out to define the effects of NAA, 2,4-D and Benzyladenine on the callus induction and the organ differentiation from the explants and to find out the vegetative propagation method of Korean ginseng. The results obtained are summarized as follows;

1. NAA was significantly effective in forming roots from the ginseng stem segment and the number of roots was increased by increasing NAA concentration in the medium. The roots were formed from both distal and proximal ends of the ginseng stem segments grown on the medium containing more than 2mg/L of NAA.
2. The amount of callus growth increased proportionately with NAA concentration in the range of 4.0mg per liter in the medium. The callus was easily induced from stem segment than leaf segment and 2,4-D was more effective in callus induction and growth than NAA.
3. The benzyladenine showed the significant inhibition effect in forming roots from ginseng explant. The callus was not induced with BA alone, but in BA and 2,4-D or BA and NAA added medium, the callus was easily induced and its growth was also accelerated. The interaction effects between 2,4-D and BA on the callus induction and growth were significantly higher than those between NAA and BA.
4. As the ginseng embryos were cultured on the M.S. medium supplemented with 2mg per liter NAA, number of shoots was significantly increased and the percentage of embryo which had shown more than 4 shoots later was 22.2%. On the medium containing 8mg per liter NAA, the ginseng embryo showed the normal growth of shoots and leaves, but increased roots and callus induction on the basal part of shoots.
5. When the shoots with 3 leaflets were cut in 1.5cm long and grown on the Blayde's medium containing NAA 1.0mg per liter, roots were formed at the proximal end of shoot, and a new ginseng seedling was successfully obtained.

---

\* 忠南大學校 農科大學

\*College of Agriculture, Choongnam National University, Daejeon, Korea 300

## 緒 言

人蔘은 多年生宿根草로서 1世代的 經過에 3~4年 이상인 所要될 뿐 아니라 低温, 低光度下에서 生育하는 作物로서 栽培環境에 따라 아주 민감한 個體間 差異를 나타내는 作物이므로 이의 育種이나 生理 및 生態에 관한 研究를 遂行하는 데는 많은 어려움이 따른다. 최근 20여년간 急進의인 發展을 보여온 植物 組織배양 細胞培養 技術은 여러 作物의 育種 및 大量繁殖과 아울러 生理 및 生態的인 問題에 관한 研究에도 多角的으로 利用되고 있다. Slepyan<sup>10)</sup> 以來 人蔘의 組織배양에 관해서도 國際적으로 높은 관심이 집중되어 왔으며 Furuya<sup>2,3)</sup> 등은 人蔘의 낮은 生産性を 극복하는 方法으로 Callus나 單細胞培養을 통한 人蔘抽出物의 生産方案을 提示하였다. 그러나 人蔘의 育種을 위한 組織배양의 利用에 관한 研究는 別로 進전된 바 없는데 通常적인 方法에 의한 人蔘育種 所要年限을 短縮할 때 組織배양을 利用한 人蔘의 大量繁殖法의 開發을 또하나의 效果의인 育種方法으로 人蔘의 品種改良에 크게 기여할 것으로 기대된다. 本 研究는 人蔘의 胚 및 莖葉組織片으로부터의 Callus의 誘起와 生長에 미치는 몇가지 Phytohormone의 영향을 究明하여 Callus 增殖體系 樹立을 위한 基礎情報을 얻는 한편 新芽를 비롯한 器管의 分化 및 形成에 미치는 NAA의 영향을 究明하고자 遂行되었다. 이 研究는 1978年度 峨山社會福祉團體에서 支給된 研究費로 遂行되었던 바 이 研究의 遂行에 많은 뒷받침을 해주신 財團 여러분께 감사드린다.

## 材料 및 方法

供試한 人蔘胚는 忠北 塊山群 曾坪邑에 所在한 高麗人蔘研究所 曾坪人蔘試驗場에서 분양받은 開厘種子에서 摘出한 것을 供試했으며 이를 Murashige and Skoog(M. S.)培地上에 培養하여 얻은 人蔘 幼植物의 莖葉을 材料로 使用하였다. 胚培養에서 얻은 이들 幼植物은 다시 無菌箱內에서 10%의 NaOCl용액에 10分間 침지후 滅菌水로 2회 세척하였으며 莖은 길이 5mm 그리고 葉은 약 5×5mm의 Explant를 만들어 이들을 供試하고자 하는 培地에 移植하였다.

本試驗에서 使用된 基本培地는 Murashige and Skoog培地로서 여기에 Sucrose 30g/l 및 Agar 8g/l의 處理比較하고자 하는 生長調節 物質들을 첨가하여 固體培地를 만들었으며 生長調節 物質의 處理

內容은 各試驗 結果의 表에서 보는 바와 같다. 各處理別 標本의 數는 20개체 이상이었으며 各培地에 Explant를 移植한 후 25°C, 3,000lux의 生長箱에서 培養하였고 90日 후에 Callus 및 各器管의 生長量을 調査하였다.

## 結果 및 考察

Naphthaleneacetic acid(NAA)의 處理가 人蔘 Explant로부터의 發根 및 Callus의 誘起에 미치는 영향은 表 1에서 보는 바와 같다. NAA를 0.1mg/l 첨가

Table 1. Effect of NAA on the Root initiation and the Callus induction from the Stem segment of Ginseng Seedling.

	Concentration of NAA(mg/L)					
	0.1	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0
Root Numbur	2.00	4.57	3.00	4.71	10.02	10.09
Root initiation	5.00	54.5	54.5	100.0	100.0	100.0
Callus (mg)	38	53	71	188	607	544

한 培地上에서는 50%의 莖片에서 發根하였고 發根量도 아주 적었으며, NAA를 0.5 내지 1.0mg/l 첨가한 培地上에서는 55%의 莖片에서 發根하였고 發根數는 3~5個였으나 2.0mg/l 이상 첨가한 培地上에서는 全個體에서 모두 旺盛한 發根을 보였다. 發根部位는 모두 莖片의 基部였는데 2.0mg/l 이상의 NAA를 첨가한 培地上에서는 莖片의 兩端에서 모두 發根되는 경우도 있었으며 發生된 뿌리는 時間이 경과됨에 따라 모두 연황갈색의 Callus化되었고 Callus化되는 정도는 NAA의 농도가 높을수록 심한 경향이였다. 한편 葉片을 移植하였을 때에는 NAA 1.0mg/l까지는 전혀 根의 發生이 없었으나 NAA의 處理濃度를 2.0mg/l 이상으로 하였을 때에는 葉柄部位에서 發根되었는데 發根數는 적었고 NAA의 處理

Table 2. Effect of NAA on the Callus induction from Ginseng Explants.

	Concentration of NAA(mg/L)					
	0.1	0.5	1.0	2.0	4.0	8.0
Stem seg.	+	+	++	+++	++++	++++
Leaf seg.	-	+	++	++	+++	+++
Roots	+	+	++	++	++	++

농도가 높아질수록 發根數는 약간씩 增加되었다.

NAA의 處理농도가 人蔘莖葉組織片으로부터의 Callus 誘起 및 生長에 미치는 영향을 조사한 결과를 보면(表 1 및 2 참조) NAA 0.1mg/l 첨가시에는 葉片에서는 전혀 Callus의 誘起가 되지 않았으나 莖片의 경우 莖片의 兩端에 약간의 Callus의 발생흔적을 나타내었고 0.5mg/l 첨가구에서는 葉片의 경우 葉柄 혹은 葉脈部位에 Callus의 발생흔적을 나타내었으며 莖片에서는 莖片의 兩端에서 약간의 Callus가 發生되었으나 NAA 1.0mg/l區에서는 葉 및 莖의 斷片에서 모두 Callus가 誘起되었고 莖片에서 發生된 根도 모두 연황갈색의 Callus化로 되었다. 2.0mg/l 이상의 NAA를 첨가하였을 경우에는 葉 및 葉片에서 모두 쉽게 Callus가 誘起되었으며 Callus의 生長도 왕성하였는데 NAA 4.0mg/l까지는 NAA의 處理량이 많을수록 Callus의 生體重도 현저한 增加를 보였던 바 NAA의 첨가량과 Callus의 生體重間에는 0.973\*의 有意相關을 나타내었다. 한편 NAA 8.0mg/l 處理區의 Callus 生長量은 NAA 4.0mg/l 處理區와 差가 없었으며 NAA 4.0 및 8.0mg/l 處理區에서는 Callus가 誘起되어 어느 정도 生長한 후에 Callus에서 다시 白色의 根이 多數 分化 伸長하였는데 Callus에서 分化된 根은 대체로 다시 Callus化되지는 않았던 바 莖에서 分化된 根은 모두 連황갈색의 Callus化되었던 현상과는 대조적이었다. 그리고 Explant의 種類에 따르는 Callus의 分化, 生長의 差異가 현저하였던 바 2,4-D에서와는 달리<sup>9)</sup> NAA를 處理할 경우 葉의 斷片보다는 莖의 斷片에서 Callus의 誘起 및 生長에 현저한 增加를 보였다.

NAA의 Callus 誘起 및 生長에 미치는 효과와 比較하고자 2,4-D와 Benzyladenine의 效果를 調査하였던 바(表 3 參照) B.A.만을 첨가하였을 경우에는

**Table 3.** Effect of 2,4-D and Benzyladenine on the Induction and Growth of Ginseng Callus.

Concentration of 2,4-D	Concentration of Benzyladenine (mg/L)				
	0.1	0.5	1.0	2.0	Average
D 0.0					
D 0.1		13.3	24.5	37.0	24.93
D 0.5	148.3	190.7	298.0	228.3	216.33
D 2.0	<sup>R</sup> 377.5	<sup>R</sup> 838.0	475.5	873.0	641.00
Average	262.90	347.33	266.00	379.43	

R: Roots were initiated from callus

어느 농도에서도 Callus는 전혀 誘起되지 않았으나 2,4-D와 B.A.를 組合處理할 경우에는 處理농도의 組合에 따라 현저한 交互作用을 보였던 바 2,4-D 0.5mg/l 處理時에는 B.A. 1.0mg/l 處理區에서 Callus의 生體重이 가장 무거웠고 2,4-D 2.0mg/l 處理時에는 B.A. 2.0mg/l 處理區에서 Callus의 生長량이 가장 많았다. 이 結果로 미루어 볼 때 B.A.만으로는 Callus의 誘起效果가 전혀 없으나 2,4-D와 組合處理할 경우 Callus는 2,4-D의 效果에 의하여 誘起되고 일단 誘起된 Callus는 B.A.에 의해 현저히 그 生長이 촉진되는 것으로 생각되었다. 일반적으로 2,4-D만을 첨가한 培地에 人蔘 Explant를 移植하면 Callus가 誘起되며 Callus가 어느정도 生長하면 상당량의 뿌리가 Callus에서 發生되나<sup>9)</sup> 2,4-D와 B.A.를 組合 첨가한 培地에서는 2,4-D 2.0mg/l와 B.A. 1.0mg/l 및 2,4-D 2.0mg/l와 B.A. 0.5mg/l區의 Callus에서만 다수의 發根을 보였을 뿐 그외의 處理組合에서는 전혀 Callus에서 發根이 없었다. 人蔘莖葉片에서의 Callus 誘起에 미치는 NAA와 B.A.의 交互效果를 구명하고자 이를 2,4-D의 效果와 比較하고자 NAA 2.0mg/l 및 2,4-D 2.0mg/l와 B.A. 無處理 및 B.A. 2.0mg/l 處理를 2×2 Factorial로 組合處理하였던 바(表 4 參照) NAA보다는 2,4-D가

**Table 4.** Effect of NAA, 2,4-D and Benzyladenine on the induction and growth of Ginseng Callus.

	BA 2.0	BA 0.0	Interaction
NAA 2.0	510	242	268
2,4-D 2.0	1940	654	1286

蔘Callus의 誘起 및 生長에 현저히 효과적이었고 NAA와 2,4-D는 모두 BA와 組合處理할 경우 그들의 Callus 誘起 및 生長效果가 현저히 增大되는 방향으로의 交互作用을 나타내었는데 BA와의 複合處理로 나타나는 交互效果의 정도는 NAA보다는 2,4-D가 현저히 컸다. NAA만을 2.0mg/l 첨가한 培地에서는 人蔘의 莖片에서 Callus와 함께 많은 뿌리의 發生을 볼 수 있었으나 NAA에 BA를 2.0mg/l 첨가한 培地에서는 Callus만이 誘起되었을 뿐 전혀 發根은 없었던 바 BA의 發根抑制效果는 현저하였다.

胚로부터 직접 Callus의 誘起와 莖의 發生에 미치는 NAA의 영향을 구명하고자 몇가지 농도의 NAA를 첨가한 M.S. 培地에 人蔘의 胚를 移植하였던 바

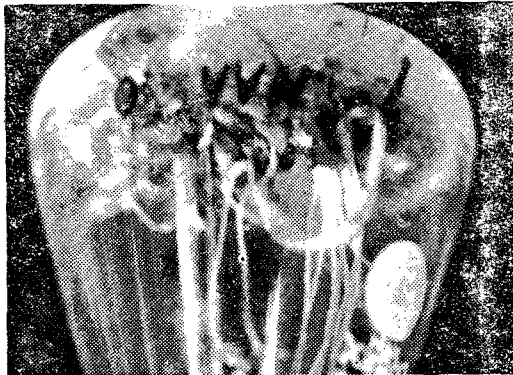
그 결과는 表 5에서 보는 바와 같다. NAA 2.0mg/l 첨가한培地에서는 하나의胚에서 평균 2個 이상의 莖이 分化伸長하였고 NAA 1.0 및 4.0mg/l培地에서는 1.93 및 1.92個로서 NAA 2.0mg/l 첨가培地에서 보다 莖發生數가 적었으며 NAA 0.5mg/l 이하와 8.0mg/l 첨가培地에서는 대체로 1個만의 莖이 發生하였다. 특히 NAA 2.0mg/l 첨가培地에서는 하

**Table 5.** Effect of NAA on the Shoot initiation and the Callus induction from the Ginseng Embryo.

	2,4-D		NAA (mg/L)		
	1.0	1.0	2.0	4.0	8.0
No of Stems	0.50 (0.00)*	1.93 (13.3)	2.04 (22.2)	1.92 (12.0)	1.16 (0.00)
Callus induction	++++	-	+	++	+++
Callus & Root(mg)	1324	391	914	870	1248

\* ( ): Percentage of embryos which showed more than 4 shoots later.

나의胚에서 4個 이상의 莖이 分化伸長하는 個體比率이 22.2%였으며 이들 중에는 10個 이상의 莖이 發生되어 生長하는 個體도 있었다(그림 1 參照).



**Fig. 1.** As the ginseng embryos were cultured on the M. S. medium supplemented with 2mg per liter NAA, number of shoots was significantly increased and the percentage of embryo which had shown more than 4 shoots later was 22.2%.

NAA 1.0 및 NAA 4.0mg/l 첨가培地에서는 4個 이상의 莖이 發生된 個體比率은 각각 13.3 및 12.0%였으나 NAA 0.5mg/l 이하나 8.0mg/l 이상을 첨

가한培地에서는 3개 이상의 莖이 出現된 個體는 전혀 없었다. 이상의 結果를 綜合하여 보았을 때 人蔘의 多莖誘導는 營養繁殖法을 利用한 大量繁殖의 可能性을 提示하고 있는 바 이에 관한 보다 세밀한 研究가 요망된다. 한편 人蔘의 營養繁殖法을 開發하고자 위 實驗에서 얻은 多莖個體의 莖을 3枚의 少葉이 부착된 상태로 上部에서부터 1.5cm 길이로 切斷하여 NAA 1.0mg/l 를 첨가시킨 Blayde의 한천培地에 直立시켜 移植하였던 바 莖의 基部에 多數의 根이 發生하여 하나의 完全한 人蔘苗가 形成되었다(그림 2 參照). 이 營養繁殖을 利用하는 大量繁殖 方案의 開發은 人蔘의 育種 및 優良人蔘의 普及에 크게 기여할 것으로 생각된다.



**Fig. 2.** When the shoots with 3 leaflets were cut in 1.5cm long and grown on the Blayde's medium containing NAA 1.0mg per liter, roots were formed at the proximal end of shoot, and a new ginseng seedling was successfully obtained.

NAA 0.5mg/l 첨가培地에 胚를 培養할 경우 1個의 種子根단 伸張하여 肥大하였고 NAA 0.5mg/l 첨가培地에서는 1個 혹은 2~3個의 뿌리단 發生하여 약간 肥大하였는데 NAA 1.0mg/l 이상 첨가한培地에서는 胚에서 多數의 根이 發生하였으며 發生된 根은 모두 황갈색의 Callus化 하였다. 그리고 NAA 1.0mg/l 첨가培地의 胚에서는 Callus가 誘起되지 않았고 2.0mg/l 첨가한培地에서는 胚의 胚軸部位에서 약간의 Callus가 誘起되었으며 8.0mg/l 첨가한培地에서도 莖葉이 正常的인 生長을 보임과 동시에 根의 發生도 많았으며 莖의 基部에 상당량의 Callus가 誘起되었다. 그러나 對照區인 2,4-D 1.0mg/l 첨가區보다는 Callus의 誘起程度 및 生長量이 현저히 적었던 바 2,4-D를 0.5mg/l 첨가한培地에서도 莖葉의 生長이 억제되고 胚에서 직접 Callus

가誘起됨을 밝힌 報告<sup>9)</sup>를 감안할 때 Callus의 誘起 및 生長에는 NAA 보다는 2,4-D가 현저히 效果的 일 것으로 인정되었다.

### 摘 要

高麗人蔘의 胚 및 莖葉組織片에서의 Callus의 誘起 및 器官의 分化에 미치는 NAA, 2,4-D 및 BA의 영향을 究明하는 한편 人蔘의 營養繁殖方法을 찾고 저 본 實驗을 遂行하였던 바 그 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. NAA는 發根에 탁월한 效果를 보였는데 NAA의 濃度가 높을수록 發根量은 增加되었으며 NAA 2.0mg/l 이상을 첨가한 培地上에서는 줄기의 양단에서 모두 發根하는 경우도 있었다.

2. NAA 4.0ppm까지는 NAA의 濃度를 增加시킬수록 Callus의 生長量은 直線의인 增加를 보였으며 葉보다는 莖片에서 Callus가 잘 誘起되었고 生長도 빨랐으나 Callus의 誘起 및 生長에는 NAA보다는 2,4-D가 현저히 效果的이었다.

3. BA는 發根을 억제하는 效果가 현저하였으며, BA 單獨으로는 Callus를 誘起하는 效果가 전혀 없었으나 BA를 NAA나 2,4-D와 組合處理할 경우 Callus의 誘起 및 生長이 배이상 促進되었는데 Callus의 誘起 및 生長을 促進시키는 交互效果는 NAA와 BA보다는 2,4-D와 BA간에서 현저히 높았다.

4. 胚培養에 있어서 NAA 2.0mg/l를 첨가한 培地上에서는 莖의 發生이 현저히 많았던 바 4個 以上の 莖이 發生된 個體의 比率이 22.2%였고 8個 以上の 莖이 發生된 개체도 있었다. NAA 8.0mg/l 첨가한 培地上에서도 莖葉은 正常的인 生長을 보였으나 뿌리의 發生量이 아주 많았고 莖의 基部에 상당량의 Callus도 生成되었다.

5. 3枚의 少葉이 부착된 莖을 1.5cm의 길이로 切斷하여 NAA 1.0mg/l를 첨가한 培地上에 移植하였던 바 莖의 基部에서 多數의 뿌리가 發生하여 正常的인 人蔘苗를 얻을 수 있었는데 實驗의 結果는 人蔘의 營養繁殖의 可能性을 명백히 시사하고 있다.

1. 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.
2. Furuya, T., H.Kojima, K.Syono and T.Ishii. 1970. Isolation of panaxatriol from *Panax ginseng* Callus. Chem. Pharm. Bull. 18:2371-2372.
3. \_\_\_\_\_ and T.Ishii. 1973. The manufacturing of *Panax* plant tissue culture containing crude saponins and crude sapogenins which are identical with those of natural *Panax* roots. Japan. Patent Appl. No. 48-31917.
4. Harn, C., J. Kim, K.Kim and S.Hong. 1973. Studies on the tissue culture of *Panax ginseng*. Korean J.Plant Tissue Cult. 1:1-6.
5. \_\_\_\_\_ and Y.Lee. 1974. Studies on the cotyledon culture of *Panax ginseng*. Korean J. of Bot. 17:171-174.
6. Jhang, J.J., E.J.Staba and J.Y.Kim. 1972. American and Korean ginseng tissue culture: growth and examination for saponins. 13th Annual Meeting of the amer. Soc. Pharm., College of Pharmacy Ohio State Univ., Ohio.
7. \_\_\_\_\_ and \_\_\_\_\_. 1974. American and Korean ginseng tissue cultures: growth, chemical analysis and plantlet production. In vitro 9: 253-259.
8. Jo, J. 1979. Studies on the tissue culture of Korean ginseng(I) Effect of temperature on the growth of Ginseng plant and ginseng callus. J. Korean Soc. Crop Sci. 24(3):75-79.
9. Jo, J. 1979. Studies on the tissue culture of Korean ginseng(II) Effect of 2,4-D and Benzyladenine on the induction and growth of Ginseng callus J.Korean Soc. Crop Sci. 24(4):62-66.
10. 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.

### 引 用 文 献