

## 人蔘 胚培養에 關한 研究 第 1報 不定芽 및 花器出現에 미치는 生長調節物質의 影響

鄭燦文 · 金鏡泰 · 曹在星\*

韓國人蔘煙草研究所

忠南大學校

(1989년 4월 28일 접수)

### Studies on the Embryo Culture of Korean Ginseng 1. Effects of Growth Regulators on Adventitious bud formation and Flower Emergence

Chan Moon Chung, Yo Tae Kim and Jae Seong Jo\*

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, and

\*College of Agricultural, Chungnam National University, Taejeon 302-345, Korea

(Received April 28, 1989)

**Abstract** □ This study was conducted to determine the effect of growth regulators, IBA, GA, and BA, on the adventitious bud formation, shoot differentiation, and inflorescence development in embryo culture of Korean ginseng. The adventitious bud formation and shoot differentiation were significantly promoted by application of a combination of 1 mg/l IBA and 5 mg/l GA. The adventitious buds had the primordial shoots and were differentiated as to plantlets. About 5 to 10 adventitious buds developed around the basal axis of the epicotyle of the ginseng embryo, and development of inflorescence was possible only after shoot differentiation. The MS medium supplemented with a combination of 3 mg/l each of IBA, GA, and BA was most effective for *in vitro* inflorescence development, and the ratio of inflorescence formation was 18.4%.

**Keywords** □ *Panax ginseng*, adventitious bud, flower emergence, multi-plant.

#### 緒 言

人蔘에 있어 組織培養은 callus 增殖<sup>13,16</sup> 및 器官 分化에 依한 個體增殖<sup>6-8,15,19</sup>, 花器의 器內出現<sup>4,5</sup> 그리고 saponin 成分의 利用<sup>9,17</sup>과 代謝物質의 變換<sup>9</sup> 등이 重點 研究되어 왔으며 人蔘 組織培養 技術의 開發은 栽培 및 育種學의 側面에서 뿐만 아니라 成分化學 또는 藥理學의 面에서도 매우 重要하다고 하겠다.

지금까지 人蔘 植物體의 再分化에 대하여는 많은 研究報告가 있는데 胚培養 方法<sup>3,10,12,18,20</sup>에 依한 것으로는 韓 等<sup>10</sup>이 子葉에서 callus 나 生長點 類似的

突起가 생기고 그 후 時間이 經過함에 따라 植物體로 發達한다고 하였고 曹<sup>14,15</sup>은 胚의 上胚軸 基部에서 5個 以上의 新芽가 形成되고 4個 以上의 莖이 發生하고 있음을 報告한 바 있으며 李 等<sup>18</sup>도 未熟胚를 暗處培養하였던 바 callus mass에서 protocorm-like body가 形成됨을 報告하였다. 器內培養에 依한 人蔘의 花器出現에 대하여 Chang 等<sup>4</sup>은 根의 callus로부터 胚發生에 依해 花器가 出現하였음을 最初로 報告하였다.

安 等<sup>12</sup>은 高年根 腦頭의 不定芽 形成 및 發達과 種子의 不定芽 發達을 調查하였던 바 種子의 不定芽는 胚軸部位에 1個가 着生하여 있는데 이는 發芽와

더불어 生長하는 사실을 報告하였다.

本 研究는 人參을 胚培養하여 不定芽 發生을 통한 植物體 分化 및 花器出現을 誘導하고자 生長調節物質 IBA, GA, 그리고 BA 를 處理하였던 바 몇가지 結果를 얻었기에 이를 報告하는 바이다.

### 材料 및 方法

本 實驗에 供試된 種子는 開匣處理한 紫莖種 種子로서 1986年 11월부터 '87年 12월까지 常溫에서 相對濕度(relative humidity) 54% 維持하여 貯藏하였고 消毒은 外果皮를 벗기고 이를 95% ethyl-alcohol 에 2~3秒, 5% sodium hypochlorite 에 20分間 浸漬하였다.

使用된 培養基는 Murashige and Skoog (MS) 基本培地에 生長調節物質, Indol-butric acid (IBA), Gibberellic acid (GA) 그리고 Benzyladenin (BA)를 濃度別로 各各 處理하였으며 sucrose 30g/l, agar 8g/l 를 添加하여 이를 滅菌한 다음 100 ml test tube 에 20 ml 씩을 各各 分注하였다.

胚培養은 消毒된 種子에서 胚단을 摘出하여 處理別로 test tube 1個에 1本씩 總 50本을 置床하였으며 胚養溫度 및 光度는 15°C, 3000 lux 에서 12時間 그리고 常溫에서 暗狀態로 12時間을 培養하였다. 특히 器內 花器出現은 IBA 와 GA 를 組合處理한 培地에서 40日間 培養한 後 繼代培養하였다.

### 結果 및 考察

生長調節物質 IBA 와 GA 單獨處理에 依한 不定芽 및 地上部 分化는 표 1과 같다. 地上部 分化率은 GA 처리시 IBA 처리구에 比하여 顯著히 높았으며 不定芽數는 GA 3 mg/l에서 가장 많았고 IBA 1 mg/l에서 가장 적게 형성되었다. 分化된 幼苗數는 IBA 處理時 1.25~1.40으로 농도가 높을수록 많아지는 傾向이었으며 GA 處理時는 1.90~1.98로 處理間에 대체로 비슷하였다.

그러나 GA 처리시 置床後 初期에 不定芽의 發生 및 幼苗 分化가 容易한 反面 IBA 처리구에서는 後期에 不定芽 發生이 이루어져 IBA 와 GA 는 人參 胚培養에서 不定芽 發生 및 幼苗 分化에 相異한 效果

가 있음을 알 수 있었다. 또한 IBA 處理는 子葉의 生長이 어느 程度 進前되어 callus가 形成되었으며 上胚軸의 生長은 停滯되어 枯死하였다.

生長調節物質 IBA 와 GA 를 組合處理하여 相互作用에 依한 不定芽 發生 및 幼苗 分化를 誘導하였던 바 結果는 표 2와 같다. 幼苗 分化率은 IBA 1 mg/l, IBA 3 mg/l에 GA 5 mg/l를 各各 組合하여 處理하였을 때 92.4~93.7%로 나타났고, IBA 1 mg/l, IBA 3 mg/l에 각각 GA 3 mg/l를 組合處理하였을 때 82.3~85.6%로 나타났으며, 不定芽 및 幼苗 IBA 1 mg/l와 GA 5 mg/l를 組合處理時 가장 많이 형성되었다.

이같은 結果는 IBA 에 依해 子葉의 生長은 勿論 胚의 各 部位에서 callus가 誘導되고 GA 에 依해 不定芽 發生 및 幼苗 分化를 促進하는 效果가 相互 有機的으로 作用하였기 때문으로 생각된다.

生長調節物質 IBA 와 GA 處理에 依한 胚軸으로부터 不定芽의 發生 形態를 調査하였던 바 不定芽의 發生은 胚軸에 있던 最初의 不定芽가 分化하여 生長

Table 1. Effect of IBA and GA on the adventitious bud and shoot formation in ginseng embryo culture

Concentration (mg/l)	Percent of shoot formation	No. of adventitious bud	No. of shoot
1	22.4	2.3	1.25
IBA 3	24.6	2.4	1.36
5	22.7	2.4	1.40
1	78.7	3.2	1.90
GA 3	83.6	4.4	1.94
5	84.7	3.8	1.98

\* Investigated at 80 days after culture

Table 2. Effect of IBA and GA on the adventitious bud and shoot formation in ginseng embryo culture

Concentration (mg/l)		Percent of shoot formation	No. of adventitious bud	No. of shoot
IBA	GA			
1	3	85.6	3.62	3.16
1	5	92.4	5.41	5.61
3	3	82.3	3.72	3.28
3	5	93.7	5.36	4.74

\* Investigated at 80 days after culture

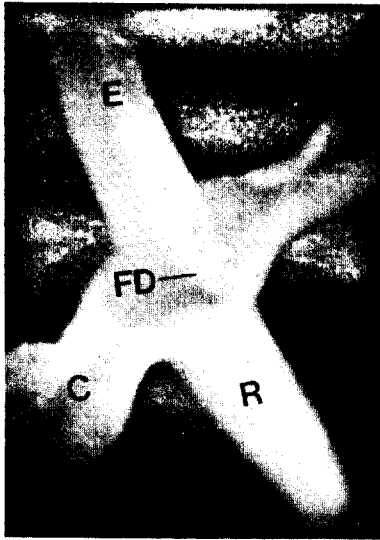


Photo 1. Position of first adventitious bud. (E: Epicotyle, R: Radicle, C: Cotyledon, FD: First adventitious bud)

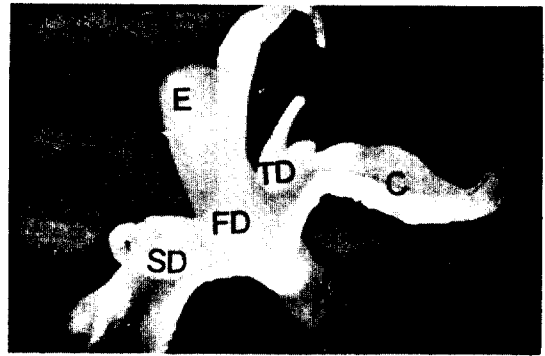


Photo 2. Verticillate emergence of adventitious bud. (E: Epicotyle, R: Radicle, C: Cotyledon, FD: First adventitious bud, SD: Second A., TD: Third A.)

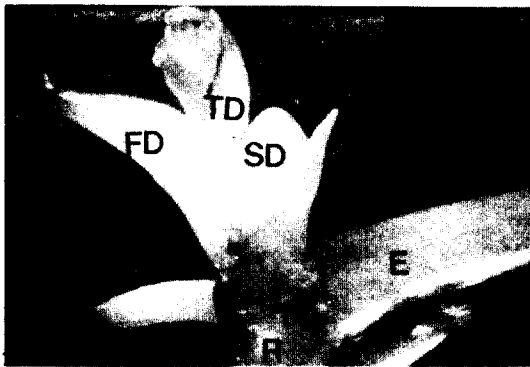


Photo 3. Continuance emergence of adventitious bud. (E: Epicotyle, R: Radicle, FD: First adventitious, SD: Second A., TD: Third A.)



Photo 4. Multi-plant from adventitious bud in embryo culture.

되면서 子葉이 附着된 基底部位에 輪生的으로 생겨나는 形態와 連續的으로 생겨나는 2가지 形態가 있음을 觀察할 수 있었다(사진 1, 2, 3).

한편 不定芽는 줄기原基의 機能이 있어 이들이 分化되어 多量의 幼植物이 되었고(사진 4) 하나의 胚로부터 發生되는 不定芽의 數는 많을 때 5~10개가 있음이 觀察되어 이들의 正常的인 分化條件 究明은 곧 人蔘의 個體增殖 效果도 期待할 수 있어 이에 대한 檢討가 要望된다.

韓 等<sup>10)</sup>은 胚培養에 依해 幼植物 全體를 培養한

境遇 上胚軸이 자라서 植物體로 成長하여 이를 除去하고 子葉에서만 callus 나 生長點 類似的의 突起에 依한 植物體 分化를 報告한 바 있다. 또한 曹<sup>14,15)</sup>는 胚의 上胚軸 基部에서 新芽의 發生과 1個의 胚에서 4個 以上の 莖이 分化 伸長하였음을 報告한 바 있는데 本 試驗의 不定芽 發生에 따른 幼苗의 分化는 IBA 와 GA 를 組合處理하므로써 그 效果가 더욱 크게 나타났던 것으로 생각된다.

生長調節物質 IBA 와 GA 의 組合處理에 依한 植物體 分化와 더불어 BA 를 追加하여 組合處理하였던 바 *in vitro* flower 가 出現하였으며 그 結果는 表 3과 같다. 花器은 IBA, GA 그리고 BA 를 1 mg/l, 3 mg/l 그리고 1 mg/l 를 組合處理하였을 때 13.7%가 出現하였고 IBA, GA 그리고 BA 를 各 3 mg/l 씩 同一 濃度로 組合處理하였을 때 18.4%가



Photo 5. Flower emergence from adventitious bud in embryo culture. (S: Shoot, C: Callus)

Table 3. Effect of IBA, GA and BA on the flower formation from the ginseng embryo culture

Concentration (mg/l)			Flower* formation (%)	No. of flower per flask	No. of flowerlets
IBA	GA	BA			
1	3	1	13.7	1.7	7.7
1	5	1	4.5	1.2	4.2
3	3	3	18.4	1.4	11.5
3	5	3	8.2	1.3	6.4

\* Investigated at 80 days after culture

出現하여 가장 높은 花器出現率을 나타냈다. 또한 이들 出現된 花器의 數는 1, 2~1, 7個로 處理間에 큰 差異는 없었고 小花數는 4.2~11.5個로 處理間에 상당한 差異를 보였다.

Chang 等<sup>4)</sup>은 somatic embryogenesis에 의한 器內 花器出現에 成功한 바 있지만 本 試驗의 不定芽 發生에 따른 幼苗 分化에 있어서도 花器의 器內 出現이 可能하였다(사진 5). 따라서 이는 人蔘에 있어 花器形成에 대한 새로운 素材로서 많은 研究가 있어야 할 것으로 생각된다.

또한 花器가 出現한 器內的 狀態가 callus, 莖葉의 分化 그리고 根分化가 混在하여 있는 關係로 正確한 花器 出現의 部位는 알 수 없으나 幼苗가 分化하여야 花器가 出現하는 것을 觀察할 수 있었다.

## 摘 要

人蔘을 胚培養하여 生長調節物質 IBA, GA 그리고 BA 處理에 따른 不定芽 發生과 幼苗 分化 그리고 花器出現 등을 調査하였던 바 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 不定芽의 發生 및 幼苗 分化는 IBA 1 mg/l 와 GA 5 mg/l 를 組合處理하였을 때 가장 良好하였다.

2. 不定芽는 줄기原基의 機能이 있어 分化하여 多量의 幼植物이 되었다.

3. 부정아의 發生 形態는 胚軸部位에서 5~10個程度가 輪生 또는 連續的으로 發生하였다.

4. 器內 花器 發生은 幼苗가 分化되어야만 可能하였고 IBA, GA 그리고 BA 를 各 3 mg/l 씩 組合處理하였을시 18.4%가 出現하였다.

## 引用文獻

1. 安相得, 崔光泰, 鄭燦文, 權宇生: 人蔘世代推進에 關한 研究. 第1報 人工氣象室 栽培人蔘의 腦頭發達에 關한 組織學的 研究. 韓育誌 17(4): 316-320(1985).
2. \_\_\_\_\_, 金鏡泰: 低年生 人蔘의 부정아 및 花序形成에 關한 研究. 高麗人蔘學會誌 11(2): 111-117 (1987).
3. 崔京永, 陳日斗, 黃鍾奎: 人蔘의 鍾子形成에 關한 研究. 未熟胚의 發育에 미치는 培地 및 生長調節物質의 影響. 韓國植物組織培養學會誌 5(2): 18-23(1978).
4. Chang, W.C., Y.I. Hsing: *In vitro* flowering of embryoids derived from mature root callus of ginseng (*Panax ginseng*) nature 284: 341-342 (1980).
5. \_\_\_\_\_, Y.Y. Tam: Ginseng fruit culture *in vitro* proceeding of the International Symposium on Ginseng Research. R.O.C: 302-305 (1987).
6. 崔光泰, 金明苑, 申熙錫: 人蔘根 및 子葉 callus의 器官分化에 關한 研究. 高麗人蔘學會誌 5(1): 35-40(1981).
7. \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_: 高麗人蔘의 組織培養에 의한 鍾子 및 器官分化. 高麗人蔘學會誌 6(2): 162-167(1982).

8. \_\_\_\_\_, 梁德春, 梁德祚: 苗蔕莖의 根形成에 미치는 植物生長調節物質의 影響. 麗人蔕學會誌 9(1): 42-53(1985).
9. 古谷力: 바이오テクノロジーと植物組織培養. 藥學雜誌 106(10): 856-866(1986).
10. 韓昶烈, 李榮日: 高麗人蔕의 子葉培養에 관한 研究. 韓國植物學會誌 17(4): 171-174(1974).
11. \_\_\_\_\_, 李萬相, 李重浩, 全炳機: 高麗人蔕의 組織培養에 관한 研究. 特別 Germanium의 效果에 대하여. 圓光大學校 農大論文集 3: 49-56(1980).
12. Han, C.: Studies on the tissue culture of *Panax ginseng*. proceedings of International Ginseng Symposium. The Research Institute Office of Monapoly R.O.K. 9-12(1974).
13. 曹在星: 高麗人蔕의 組織培養에 관한 研究(I). 溫度의 差異가 人蔕 및 人蔕 callus 生長에 미치는 影響. 韓作誌 24(3): 75-79(1979).
14. \_\_\_\_\_: 高麗人蔕의 組織培養에 관한 研究(II). 2,4-D 및 Benzyladenine 이 人蔕 callus 誘起 및 增殖에 미치는 影響. 韓作誌 24(4): 62-66(1979).
15. \_\_\_\_\_: 高麗人蔕의 組織培養에 관한 研究. 第3報 NAA가 人蔕 callus의 誘起 및 器管의 變化에 미치는 影響. 韓作誌 26(1): 110-114(1981).
16. Kita, K., M. Suge: Tissue culture studies on *Panax ginseng* C.A.Meyer. I. On the cultural requirement of callus. Yakugaku, Zasshi. 89(10): 1474-1476(1969).
17. 金明苑, 崔光泰, 裴孝元, 康榮熹: 人蔕根 由來갈루스組織의 사포닌含量에 미치는 2,4-D와 키네틴의 影響. 韓國植物學會誌 23(3, 4): 91-98(1980).
18. 李載斗, 朴鍾範: 人蔕(*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 胚培養에 관한 研究. I. Protocorm-like body의 形成. 成均館大學校 論文集 基礎科學編 36(1): 1-9(1985).
19. Shoyama, Y., I. Nishioka, N. Fujioka, H. Kohda., K. Yamasaki: Clonal multiplication of *Panax japonicus* by tissue culture. Shoyakugahu Zasshi 41(4): 333-337(1987).
20. 孫膺龍, R. Reuther: 人蔕種子의 休眠打破 및 發芽에 관한 基礎研究. 韓作誌 22: 45-51(1977).