藥作誌(Korean J. Medicinal Crop Sci.)2(1):60~66(1994)

紫胡의 體細胞組織培養에 의한 植物體再分化

박철호* · 유창연* · 김동욱* · 조혜경* · 박경숙* · 서정식** · 안상득* · 장병호*

Plant Regeneration of *Bupleurum spp.* through Somatic Tissue Culture

Cheol-Ho Park*, Chang-Yeon Yu*, Dong-Wook Kim*, Hye-Kyeong Cho*
Kyeong-Suk Park*, Jeong-Sik Seo**, Sang-Deuk Ahn*, and Byeong-Ho Chang*

ABSTRACT : This study was conducted to determine the optimum conditions of inducing callus, proliferating callus, forming somatic embryos, and regenerating plantlets via somatic embryogenesis, for the purpose of producing artificial seeds and substantially developing plant factory technologies that can be employed to all seasons production of *Bupleurum* plants. Callus was efficiently induced from leaf tissues at three leaf stage in the MS medium supplemented with 2, 4-D 2mg/l and thidiazuron(TDZ) 0.1mg/l. Callus induction from leaf tissues at maturity was mostly effective in the mixture of 2,4-D 2mg/l and TDZ 1.0mg/l while that from flower bud tissues was fairly good in the MS medium containing 2,4-D 1 or 2mg/l.

Callus was formed in 15 to 20 days after culture initiation in the MS media supplemented with 2, 4-D 1-2mg/l and TDZ 0.1-1.0mg/l. Such hormones as kinetin 3mg/l, GA 1mg/l, and the mixture of GA 1mg/l and TDZ 1mg/l effected markedly to proliferate the callus cells.

The optimum temperature and light intensity for callus culture were found to be 25℃ and 3000 Lux, respectively. Direct plant regeneration from cultured callus was fairly made on hormone-free MS or half-strength MS medium. Somatic embryogenesis was most frequently observed in hormon-free media:60 somatic embryos per 20ml in MS medium and 28 somatic embryos per 20ml in half -strength MS medium. There were three stages-globular, heart, and torpedo-in development of somatic embryos, among which globular stage was more frequently observed in MS medium rather than in half-strength MS medium. Somatic embryos induced from suspension culture fairly differentiated a number of shoots and roots on hormone-free and half-strength MS solid medium.

* 강원대학교 농과대학(College of Agri., Kangwon National University, Chunchon, 200-701, Korea)
** 강원도 농촌진흥원(Kangwon Provincial RDA, Chunchon, 200-150, Korea)
이 논문은 1992년도 과학기술처 선도기술개발사업연구비에 의하여 연구되었음. 〈'94. 1. 10. 接受〉

시호(*Bupleurum* L.)는 산형과의 다년초로서 유전, 발육, 형태 및 saponin 함량등에 있어서 지리적 변이가 흔히 발견되고 동일 산지내에서도 대폭적인 개체의 변이가 발견되며 근부병과 초기생육 부진등 재배의 문제점도 많은 것으로 알려져 있다.[2,10]. 우리나라에서는 여러 연구자들에 의해 시호의 재배법 확립을 위하여 1987년 이래로 파종기, 재식거리, 파종량, 시비량, 생육특성에 관한 품종간 비교시험이 수행된 바 있으며[11] 시호의 기계파종 및 수확법, 추대 예취방법에 따른 뿌리의 생산량, 순계분리, 채종체계확립등 우량 품종 선발 및 재배기술의 확립을 위한 연구가 꾸준히 수행되어 왔다[4]

최근 Biotechnology의 농업적 이용이 본격화 되면서 직물의 번식과 개량에도 급속 증식, 무병주 생산, 인공종자 개발, 배배양, 약배양, 세포잡종, 형질전환식물의 육성등 폭넓게 조직배양기술이 적용되고 있으며 그중 일부는 실용화 단계에 있는 실정이다. 시호에서도 시호 품질의 균일화 및 우수한 계통으로부터 조직배양을 통한 양질의 시호를 단시일내에 대량증식하기 위하여 경정배양[5], 부정배의 형성 및 분화[1]가 보고되었고, 그밖에 조직배양 根에서 saikosaponin 함량의 증가[3]가 보고되었다. 그러나 부정배 형성율 및 동조성에 변이가 크고 부정배의 기내 및 포장에서의 발아와 발근이 미약하며 인공종자의 제조, 파종, 저장 및 발아등 제반기술이 개발되어 있지 않다. 또한 기내 발근에 있어서도 수염뿌리의 발생이 심한데 비하여 주근의 발근이 미약하여 토양이식후 활착률이 저조한점 등 문제점이 있으므로 효율적인 조직배양기술을 개발하여 단시일내에 우량종묘를 확보하고 주년재배를 가능케함으로써 국내수급 및 수출을 위한 시호의 안정적 공급 기반의 조성을 꾀할 필요가 있다.

따라서 본 연구는 기내번식에 의한 우량종묘를 생산하기 위한 조직배양 기술을 개발하고 나아가 培養系를 이용한 주년생산체계를 확립하기 위하여 일차적으로 적절한 배양조직 및 배양조건을 구명한 결과이다.

材料 및 方法

1. Callus 유기 및 식물체 분화

참시호(*B. scorzoneraefolium* Willd)와 삼도시호(*B. falcatum* L.)를 강원대학교 구내 온실에서 pot 재배하여 공시하였다.

생육된 식물체로부터 잎과 화뢰조직을 따내어 70% ethanol에 1분, 5%, Sodium hypochlorite용액에 5분간 소독한후 치상하였다. 치상조직별 callus 유기율을 조사하기 위하여 잎은 유엽과 성숙엽으로, 화뢰는 발달초기와 후기로 구분하여 MS배지 및 B5 배지에 2, 4－D 1,2,3mg / ℓ를 첨가한 배지에서의 callus 유기율을 조사하였으며 잎은 또 3엽, 5엽 7엽의 엽령별 callus 유기율을 조사하였다. 시호의 유엽, 성숙엽, 화뢰의 배양시 호르몬의 종류, 농도. 단용 및 혼용의 효과에 따른 callus유기율을 조사하기 위하여 2,4－D, Dicamba, Picloram, Thidiazuron(TDZ)의 농도를 달리하여 callus 형성율 및 매 5일별 callus 유기율을 조사하였다. 유기된 callus의 증식에 미치는 Kinetin, BA, GA, TDZ의 효과를 생체중 증가량으로 조사하였으며 광도 및 일도 등의 배양환경이 callus 생장에 미치는 효과를 알아보기 위하여 온도를 20℃, 25℃, 30℃로 하고 광도 1500, 3000, 4500 Lux로 하여 callus의 생장률을 조사하였다.

Callus로부터 식물체의 적정 분화조건을 찾고자 MS배지의 salt strength를 1X, 1/2X로 하여 호르몬이 첨가되지 않은 배지와 Kinetin과 BA 등의 Cytokinin류의 호르몬이 첨가된 배지에서 분화율을 조사하였다.

2. 현탁배양으로부터 부정배의 형성 및 식물체 분화

고체배지에서 유기된 embryogenic callus를 잘게 부순 다음 40mesh에 통과시켜 현탁배양의 시료로 사용하였으며 250㎖ flask의 액체배지 20㎖에 시료 6㎖씩을 가하여 3반복으로 진탕배양기에서 배양하였고 매 7－10일마다 계대배양하였다. 잘 현탁배양된 세포에서 체세포배를 형성시키기 위하여 호르몬이 첨가되지 않은 MS배지, salt strength를 1X, 1/2X로 한 MS배지 및 ABA 0.01, 0.1, 1.0mg / ℓ를 첨가한 MS배지를 사용하였다. 배양조건은 형광등 광원으로 24시간 연속조명하였으며 광도는 2000lux, 온도는 25℃로 하였다. 배양 3주후에 배 형성상태를 조사하기 위하여 해부현미경으로

구형, 심장형, 어뢰형 및 자엽형성의 배발달 단계를 관찰하였다.

현탁배양으로부터 형성된 부정배를 식물체로 분화시키기 위하여 salt strength를 1X, 1/2X로 한 MS배지에 sucrose 30g/ℓ, agar 8g/ℓ 첨가하고 호르몬이 첨가되지 않은 배지와 NAA와 Thidiazuron이 단독 또는 조합처리된 배지에 옮겨 6주후에 shoot수, shoot길이, 根數, 根長을 조사하였다.

結果 및 考察

1. 캘러스 유기 및 식물체 재분화

생육단계를 달리하는 잎(유엽, 성숙엽)과 화뢰(발달초기 및 후기)를 치상하여 캘러스 유기반응을 조사한 결과 잎과 화뢰의 유조직이 성숙조직보다 캘러스 유기가 잘되었으며 유엽(65%)이 화기(44%)보다 양호하였다. 엽령별 캘러스 유기율은 5,7엽기에서 각각 46%와 40%의 캘러스유기율을 나타낸 반면 3엽기에서 74%로 가장 높아 李 등[8]의 보고와 일치하였다.

배지 및 호르몬별 캘러스 유기반응을 조사한 결과 B5와 MS중 MS 배지에서 캘러스 유기가 다소 양호하였으며 참시호의 3엽기 유엽배양에서 2mg/ℓ 2,4-D와 0.5mg/ℓ TDZ첨가 배지가 80% 이상의 양호한 캘러스 유기율을 나타냈다. 캘러스는 TDZ첨가 배지에서 짙은 녹색을 띠었으며 주로 2,4-D와 TDZ첨자 배지에서 embryogenic한 외양을 나타내는 특성을 보였다.

이와같은 결과는 2mg/ℓ 2,4-D가 첨가된 MS배지[8]와 LS배지[6]에서 캘러스유기가 잘된 이전의 보고와 유사한 경향을 나타냈으며, 平岡등[6]은 2,4-D > NAA > IAA 순으로 캘러스 형성에 양호한 영향을 미치는 것으로 보고하였다. 한편, 시호의 조직배양에서 잎조직으로부터의 캘러스 유기에 대한 Thidiazuron의 현저한 효과는 본 연구에서 처음으로 검증되었는데(표1) Tidiazuron은 Phenylurea(N-phenyl-N-(1,2,3-thidiazol-5-yl)urea) 계통의 cytokinin 물질로서 목화의 고엽제로 사용되며 조직배양에는 특히 분화가 어려운 목본 식물의 줄기분화에 유용하게 사용되고 있는 물질이다.

삼도시호 및 참시호의 성숙엽(개화기)으로부터의 캘러스 유기율은 종간에 차이가 현저하였다.(삼도시호-16.7%, 참시호-44.8%). 참시호의 경우 2,4-D 2mg/ℓ+TDZ 1mg/ℓ 혼합배지에서 가장 높은 캘러스 유기율을 나타냈으며 삼도시호는 2,4-D 2mg/ℓ+BA 0.5, 1mg/ℓ에서 캘러스유기가 양호하였다. 그밖에 2,4-D 2mg/ℓ+BA 0.5mg/ℓ, 2,4-D 2mg/ℓ+Kinetin 2mg/ℓ, 2,4-D 2mg/ℓ+GA 0.5mg/ℓ 혼합배지도 캘러스 유기율이 70% 이상으로 양호하였다(표2). 참시호의 화뢰배양의 경우 호르몬의 캘러스 유기에 대한 효과는 1, 2mg/ℓ 2,4-D 사용시 가장 현저하였다. 발달초기의 화뢰가 후기의 화뢰에 비하여 캘러스 유기율이 높았다(표3). 그러나 平岡등[6]이 삼도시호의 화뢰배양에서 100%의 캘러스 유기율을 보고한 것에 비하면 본 실험에서 참시호의 화뢰로부터의 캘러스 유기는 대체로 저조하였다. 이와 같은 차이점은 genotype과 생육환경의 차이에 기인하는 것으로 사료된다.

배양조직을 치상한 후 10일 후부터 5일간격(매

Table 1. Effects of auxin and cytokinin on callus induction from young leaf tissues of *B. falcatum* L.

	2,4-D(m/l)			Dicamba(mg/ℓ)			Picloram(mg/ℓ)			Thidiazuron(mg/ℓ)			
	0.5	1.0	2.0	0.5	1.0	2.0	0.5	1.0	2.0	0.1	0.5	1.0	2.0
No. of explants cultured	311	159	88	220	180	104	231	219	270	118	110	120	106
No. of explants forming calli	50	93	73	125	73	60	88	145	140	100	88	93	73
% callus induction	16.1	58.5	83.0	56.8	40.6	57.7	38.1	66.2	51.9	84.8	80.0	77.5	68.9

Table 2. Effect of hormones on callus induction from matured leaf tissues of *Bupleurum* L.

Hormone treatment	*B. falcatum*			*B. scorzoneraefolium*		
	No. of explants cultured	No. of explants forming calli	% callus induction	No. of explants cultured	No. of explants forming calli	% callus induction
2,4-D+Dicamba						
0.5mg / ℓ	32	1	3.1	31	18	58.1
1.0mg / ℓ	30	0	0	30	4	13.3
2.0mg / ℓ	30	0	0	27	7	23.3
2,4-D+Picloram						
0.5mg / ℓ	24	0	0	30	11	36.7
1.0mg / ℓ	27	1	3.7	27	7	25.9
2.0mg / ℓ	27	6	22.2	30	16	53.3
2,4-D+NAA						
0.5mg / ℓ	29	1	3.4	24	11	45.8
1.0mg / ℓ	30	0	0	30	6	20.0
2.0mg / ℓ	24	0	0	24	3	12.5
2,4-D+BA						
0.5mg / ℓ	27	13	48.1	26	19	73.1
1.0mg / ℓ	25	12	48.0	30	13	43.3
2.0mg / ℓ	26	6	23.1	27	18	66.7
2,4-D+Kinetin						
0.5mg / ℓ	24	2	8.3	32	20	62.5
1.0mg / ℓ	40	9	22.5	18	7	38.9
2.0mg / ℓ	27	2	7.4	27	19	70.4
2,4-D+TDZ						
0.5mg / ℓ	21	10	47.6	30	21	70.0
1.0mg / ℓ	29	4	13.8	12	11	91.7
2.0mg / ℓ	27	9	33.3	30	21	70.0
2,4-D+GA						
0.5mg / ℓ	24	5	20.8	24	17	70.8
1.0mg / ℓ	28	9	32.1	27	9	33.3
2.0mg / ℓ	24	3	12.5	31	19	61.3

5일별 유기율)으로 1개월동안 캘러스 유기율을 조사하여 처리간 캘러스 유기속도를 비교한 결과 참시호 유엽배양시 배양 15일째 50%가 넘는 치상조직으로부터 캘러스가 유기되는 조건은 TDZ 0.1, 0.5, 1.0mg / ℓ 첨가 배지하였으며 배양 20일째 50%가 넘는 조건은 2,4-D 1.0, 2.0mg / ℓ 와 TDZ 2mg / ℓ 첨가 배지였다. 발달초기의 화뢰 배양시 2,4-D 2mg / ℓ 첨가 배지에서만 배양 20일째 50% 이상의 캘러스 유기율을 보였다. 이와같은 결과는 1μM 2,4-D 첨가 배지에서 치상후 20일째부터 캘러스의 발생이 관찰된 平岡등[6]의 보고에 비하면 훨씬 효과적임을 알 수 있다.

유기된 캘러스의 증식에 미치는 Kinetin, BA, GA, TDZ의 효과를 생체중 증가량으로 살펴본 결과 1개월 배양기간 동안 캘러스는 Kinetin 3mg / ℓ 첨가 배지에서 약 10배로 증식되었으며 BA와의 혼합처리는 Kinetin 1mg / ℓ +BA 1mg / ℓ 에서 4.5배로 증식되었다. 또한 GA 1mg / ℓ +TDZ 1mg / ℓ 첨가 배지에서 9배로 증식되었다.

광도 및 온도 차이에 따른 캘러스 생장의 차이를 생체중 증가량으로 살펴본 결과 광도는 3000Lux, 온도는 25℃에서 캘러스 생장이 가장 양호하였다 (표4). 캘러스로부터 식물체의 재분화는 hormone

free MS배지에서 가장 잘 되었고(78%), Kinetin 1mg / ℓ 첨가배지에서도 10% 정도 재분화가 이루어졌다(표5). 李 등[8]은 0.25~4mg / ℓ 2,4-D가 첨가된 MS 배지에서 치상후 20일에서 30일 내에 치상한 유엽조직으로부터 체세포 배의 형성을 관찰하여 Direct Somatic Embryogenesis를 보고하였다. 본 실험에서도 캘러스로부터 식물체의 재분화는 direct somatic embryogenesis의 결과로 보인다. 李 등[8]은 부정배를 가진 절편체로부터 식물체의 재분화에는 0.1mg / ℓ 2,4-D+3mg / ℓ Kinetin의 혼합처리가 효과적임을 보고하였다.

Table 3. Effect of hormones on callus induction from flower bud tissues of *B. scorzoneraefolium* Willd.

Hormone concentration	Early flower bud stage			Late flower bud stage		
	No. of explants cultured	No. of callus induced	%	No. of explants cultured	No. of callus induced	%
2,4-D (mg / ℓ)						
0.1	22	3	13.6	20	0	0
0.5	17	9	52.9	24	0	0
1.0	21	13	61.9	24	14	58.3
2.0	24	17	70.8	24	15	68.2
Dicamba (mg / ℓ)						
0.1	19	0	0	20	0	0
0.5	22	10	45.5	24	0	0
1.0	26	12	46.2	24	3	12.5
2.0	25	5	20.0	25	1	4.0
Picloram (mg / ℓ)						
0.1	22	6	27.3	24	0	0
0.5	23	10	43.5	24	0	0
1.0	25	16	64.0	24	12	50.0
2.0	25	15	60.0	24	8	33.3
TDZ (mg / ℓ)						
0.1	20	0	0	24	0	0
0.5	19	6	31.6	24	0	0
1.0	22	3	13.6	25	5	20.0
2.0	25	3	12.0	24	3	12.5

2. 현탁배양으로부터 식물체의 재분화

MS배지에 NAA와 TDZ를 혼용 첨가하여 embryogenic callus를 유기할 수 있었으며 NAA 1mg / ℓ 및 TDZ 1μM 첨가된 배지에서 embryogenic callus 유기가 잘되었다. 잘 현탁배양된 세포는 체세포배를 형성시키기 위하여 호르몬이 첨가되지 않는 MS배지를 사용하여 salt strength를 1/2X과 1X로 하여 배양하였다.

호르몬이 첨가되지 않은 MS 배지에서 체세포배 형성이 가장 양호하여 20㎖ 당 60개의 체세포배가 형성되었다. 1/2 MS 배지에서도 20㎖당 평균 28

Table 4. Effects of temperature and light intensity on callus growth.

Light intensity (Lux) Temperature(℃)	1,500	3,000	4,5000
20	182.3*	189.1	125.2
25	176.4	204.2	144.3
30	141.7	180.1	120.5

* Percentage of increased fresh weight of calli.

Table 5. Results of plant regeneration from cultured callus cells.

Treatment	No. of callus cultured	No. of plantlet regenerated	%
1/2MS	48	27	56.3
MS	50	39	78.0
MS+Kinetin 1mg / ℓ	50	5	10.0
MS+BA 1mg / ℓ	50	0	0
MS+Kinetin 1mg / ℓ +BA 1mg / ℓ	45	0	0

Table 6. Results of somatic embryogenesis in suspension culture.

Media	Mean no. of somatic embryos at different growth statges			
	Globular	Heart	Torpedo	Cotyledon
1×MS	24.3	15.8	10.3	8.5
1/2×MS	14.3	8.7	2.3	2.7
MS+ABA				
0.01mg / ℓ	19.5	11.2	6.5	9.3
0.1 mg / ℓ	28.2	18.0	8.0	5.0
1.0 mg / ℓ	21.0	0	0	0

개의 체세포배가 형성되어 MS배지가 1/2MS 배지보다 체세포배 형성에 있어서 더 효과적이었다. MS배지에서 체세포배 형성은 구형, 심장형, 어뢰형, 자엽 상태로 발달하였으며 구형 stage의 체세포배 형성이 가장 많았다(표6). MS 배지에서 ABA가 첨가되었을 때에도 구형, 심장형, 어뢰형, 자엽 단계의 체세포배가 형성되었으며 ABA가 0.01mg/ℓ가 첨가된 배지에서는 약 46개의 체세포배가 형성되었다. ABA의 농도가 증가함에 따라 체세포배가 형성되는 량이 감소하였으나, 구형 단계의 체세포배가 형성되는 량은 증가하였다. ABA 1mg/ℓ가 첨가된 배지에서는 구형 단계의 체세포배가 21개 형성되어 ABA가 체세포배의 균일한 발육에 효과적임을 밝힌 西村[9] 등의 보고와 일치하였다.

金등[7]은 2-3mg/ℓ Kinetin 첨가배지에서 현탁배양과 구형 체세포배의 형성이 양호하였고 또한 glultamin과 활성탄의 사용이 체세포배의 형성에 효과적임을 보고하였으며 hormone free MS 배지에서 균일한 체세포배를 대량생산하였다.

앞에서 형성된 체세포배로 부터 식물체 분화 및 생장에 대한 MS배지의 salt strength의 효과를 살펴본 결과는 salt strength를 1/2X MS로 하였을 때가 1X MS보다 shoot가 더 많이 분화되어 1/2X MS일때 체세포배당 약 8개의 shoot가 분화하였다. 이것은 체세포배의 분화과정에서 이차체세포배(secondary somatic embryos)의 발생에 기인하는 것으로 보인다. 분화된 shoot의 생장 또한 1/2X MS일때 더 양호하였다. TDZ와 NAA가 체세포배로 부터 식물체 분화에 미치는 효과를 살펴본 결과 호르몬이 첨가되지 않은 MS배지에서는 shoot와 root의 분화 및 생장이 모두 양호하였다. TDZ와 NAA가 단독 또는 혼용처리된 배지에서는 호르몬이 첨가되지 않은 배지에서 보다 분화되는 식물체가 적었으며 식물체가 분화되지 않고 callus가 형성되는 체세포배가 대부분을 차지하였다. 식물체로 분화된다 하더라도 shoot만 분화되었고 뿌리는 전혀 분화되지 않았다. 분화된 식물체의 생장도 호르몬이 첨가되지 않은 배지에서 양호한 결과를 나타내었으며 TDZ와 NAA가 첨가된 배지에서는 지나치게 형성되는 callus로 인하여 생장이 억제되는 경향을 보여 체세포배로 부터 식물체의 재분화는 salt의 량을 1/2로 줄인 1/2X MS배지가 식물체의 재분화와 재분화된 식물체의 생장에 가장 효과적이었다(표7). 이와같은 결과는 호르몬을 첨가하지 않고 sucrose의 농도를 감소시킨(1%) 1/2 LS배지에서 부정배로 부터의 양호한 식물체 분화를 보고한 平岡 등[6]의 결과와 유사하였으며 embryogenic callus 및 체세포배로 부터의 식물체 재분화에는 기본영양배지의 탄소원과 질소원의 조

Table 7. Effects of NAA and TDZ on plant regeneration from somatic embryos.

TDZ(μM)	NAA(mg/ℓ)	No. of somatic embryos cultured	No. of plantlets regenerated from somatic embryos				No. and length of shoot and roots per plantlet			
			shoot	root	shoot +root	calli	No. of shoot	shoot length	No. of roots	root length
0	0	23	0	1	22		3.8	1.5	6.4	1.2
0.1	0	20	12	0	0	8	1.0	0.3	0	0
5	0	20	10	0	0	10	2.0	0.4	0	0
10	0	20	5	0	0	15	3.5	0.5	0	0
0.1	0.01	20	12	0	0	8	2.0	0.2	0	0
0.1	0.1	20	5	0	0	15	2.2	0.3	0	0
0.1	1	20	5	0	0	15	2.5	0.2	0	0
5	0.01	20	8	0	0	12	1.2	0.2	0	0
5	0.1	20	8	0	0	12	1.1	0.1	0	0
	1	20	0	0	0	20	0	0	0	0
10	0.01	20	8	0	0	12	1.0	0.2	0	0
10	0.1	20	8	0	0	12	0	0	0	0
10	1	20	0	0	0	20	0	0	0	0

절이 호르몬의 사용보다 영향이 큰 것을 시사하는 것이다.

적 요

1. 캘러스 유기는 잎과 화뢰의 유조직에서 잘 되었으며 유엽(65%)이 화기(44%)보다 양호하였고 엽령별 캘러스 유기율은 5,7엽기에서 각각 46%와 40%의 캘러스유기율을 나타낸 반면 3엽기에서 74%로 가장 높았다.
2. 성숙엽의 배양에서 참시호는 2,4-D2mg/ℓ+TDZ 1mg/ℓ 혼합배지에서 가장 높은 캘러스 유기율(92%)을 나타냈으며 삼도시호는 2,4-D 2mg/ℓ+BA 0.5 1mg/ℓ에서 캘러스유기(48%)가 양호하였다.
3. 2,4-D 1-2mg/ℓ와 TDZ 0.1-1mg/ℓ가 첨가된 배지에서 치상 후 15-20일에 캘러스유기율이 50%를 넘었으며 캘러스증식은 Kinetin 3mg/ℓ와 GA 1mg/ℓ 및 GA 1mg/ℓ+TDZ 1mg/ℓ 혼합처리에서 양호하였다.
4. 시호의 체세포조직배양에 적합한 광도는 3000Lux이었으며 온도는 25℃가 적온이었다.
5. 체세포배 형성에 있어서 MS 배지가 1/2MS 배지보다 더 효과적이었으며 식물체의 재분화와 재분화된 식물체의 생장에는 1/2X MS배지가 1X MS배지보다 더 효과적이었다.

인 용 문 헌

1. Amano A., K. Fujimoto, H. Ohashi, K. Matrunaga & H. Mizukami. 1989. Chromosome number variation in *Bupleurum falcatum* plant regenerated through somatic embryogenesis of callus cultures. Shoyakugaku Zasshi. 43:13-18
2. 정성현. 1993. 염색체, 전기영동과 RADP를 이용한 시호(*Bupleurum falcatum* L.)의 유전적계통분석. 충남대석사학위논문.
3. 조필형, 성낙선, 배계화, 소웅영, 조덕이. 1990. 조직배양한 시호근의 saikosaponin 함량. 생약학회지. 21(3):205-209
4. 작물시험장. 1992. 시험연구보고서
5. Fujioka N., A. Tanaka, A. Koyama, Y. Hamamoto, A. Namera, K.Yamasaki, & H. Kohda. 1987. Propagation of *Bupleurum falcatum* by shoot tip culture. Shoyakugaku Zasshi. 41:308-312
6. 平岡昇, 鉦知子, 富田裕. 1983. 組織培養によるミシヌサイユの 繁殖. 生藥學雜誌. 37:62-67.
7. 김태수, 박문수, 박호기, 장영선, 박근용, 김재훈, 1992. 시호(*Bupleurum falcatum* L.)의 현탁배양 세포로부터 체세포배 유도 및 식물체 재분화. 한국육종학회 발표요지. 17-18.
8. Lee, S.Y., T.S. Kim, Y.T. Lee. 1988. Somatic embryogenesis of *Bupleurum falcatum* L. I. Effects of growth regulator, glutamine and activated charcoal. Korean J. Breed. 20:191-198.
9. 西村繁夫, 齊藤猛雄, 山口眞美子 1989. 不定胚形成の 現狀と 誘導技術. バイオホルテイ 5:9-15
10. 서형수. 1993. 시호 '밀양1호' 국내 선발재배기술확립. 연구와 지도. 34(2):39-41
11. 영남작물시험장. 1988-1991. 시험연구보고서