

川芎의 莖頂培養을 통한 器內繁殖

李鉉淑 · 鄭載東¹ · 金昌培 · 尹在卓 · 崔富述
慶北農村振興院, ¹慶北大學校 園藝學科

In Vitro Propagation of *Cnidium officinale* Makino Through Shoot Tip Culture

Hyun Sook LEE, Jae Dong CHUNG¹, Chang Bae KIM, Jae Tak YOON, and Boo Sool CHOI

Kyungpook Provincial Rural Development Administration, Taegu 702-320; and

¹Department of Horticulture, Kyungpook National Univ., Taegu 702-701. *Corresponding author.

This experiment was conducted to identify the optimal in vitro propagation condition of *Cnidium officinale* rhizoma (*Cnidium officinale* Makino). It was effective to reduce contamination and improve regeneration of shoot when shoot tips taken in July were cultured in 1/2 strength Murashige and Skoog medium supplemented with 500 mg/L carbenicillin disodium, 1.0 mg/L BA and 1.0 mg/L GA₃ followed by surface sterilization of explant source in the solution of 1% sodium hypochlorite for 20 minutes. When shoot tips were cultured in 1/2 strength MS medium with 0.5 mg/L BA and 60 g/L sucrose, shoot elongation and subsequent multiplication of the formed shoot were more favorable than those in other media. Regenerants were well rooted in 1/2 strength MS medium containing 3.0 mg/L NAA.

Key words : GA₃, regenerant

천궁 (*Cnidium officinale* Makino)은 산형화과에 속하는 속근성 초본으로 불규칙한 혹을 가진 근경을 약용으로 사용하는 경제성이 높은 약용작물로서 재배적지는 비교적 서늘한 경북지방의 중북부지역이고 특히 울릉도에서 많이 재배가 되어 지역주민의 주소득원이다(Chang et al., 1988). 또한 천궁은 한방에서 없어서는 안되는 주요 약초로 보혈, 강장, 진정, 통경, 두통, 청혈의 특효약으로 많이 쓰인다(藥品植物學研究會, 1980).

천궁은 꽃이 피지만 결실이 되지 않아 근경과 노두로 번식하는데 근경을 심었을 경우 1년만에 수확이 가능하나 노두를 심었을 경우에는 2년이 되어야 수확할 수 있으며 품질도 다소 떨어진다. 그러나 근경은 노두에 비해 중구 가격이 비싸며 무병지에서 재배하여야 하는 어려움이 있으며 연작하였을 때 선충, 마이코플라스마 등의 피해가 심하여 수량이 크게 감소하게 된다(박 등, 1983).

이와 같은 영양번식 작물에 있어서 대량증식의 수단으로 경정배양을 한 사실은 많은 보고들을 통하여 알 수 있으며(George and Sherrington, 1984; Pierik, 1987; Sagawa, 1991) 최근 약용작물중에서 작약, 산수유 등 일부작물을 대상으로

기내배양에 의한 유묘증식에 관해 활발한 연구가 진행되고 있으나(Seong et al., 1987; Takashi et al., 1989; Choi and Kim, 1991) 천궁의 유묘증식을 위하여 조직배양방법이 적용되었다는 보고는 찾아보기 어렵다. 따라서 본 실험은 수요도가 상당히 높은 천궁의 종근 확보를 위하여 경정배양을 통한 단기간내 유묘의 대량증식과 더불어 건전한 종경을 생산하여 이들 유묘를 실제 재배에 공급하기 위한 기초 연구로서 배양조건에 관해 실험하였던바 그 결과를 보고코자 하는 바이다.

材料 및 方法

1991년 울릉도에서 구입한 일천궁의 종근을 정식한 후 이듬해 7, 8, 9월에 경정조직을 채취하여 배양재료로 사용하였다.

배양재료의 살균방법을 구명하기 위하여 sodium hypochlorite (NaOCl)의 농도를 0.1, 1.0, 3.0%로 하였고, 처리 시간은 각각 5, 10, 20분간 표면살균하였다.

이어 배양시 재료의 오염을 막기 위하여 배지내 항생제인 Carbenicillin을 500 mg/L와 1,000 mg/L의 농도로, 살균제는 Mancozed wp.를 1%(w/v)의 농도로 단용 또는 Carbenicillin과 혼용으로 처리하였다. Carbenicillin은 0.2 μm membrane filter로 여과멸균한 후 배지온도가 60°C정도 되었을 때 배지에 첨가하였으며, Mancozed wp.는 멸균수로 녹인 용액을 사용하였으며 0.5mm 정도의 크기로 절취한 경정을 이들 용액에 수초간 담근후 각 처리별로 20개씩 시험관에 옮겨 배양하였다.

경정배양에 있어서 신초의 재분화에 적합한 배지의 구멍을 위하여 MS무기염을 전량(Full strength MS medium) 또는 반량(Half strength MS medium)을 함유한 배지에 성장 조절물질을 GA₃ 0, 1.0 mg/L와 BA 0, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L를 단용 또는 혼용하였다.

경정배양으로부터 얻은 신초의 기내증식에 적합한 배지를 알기 위하여 1/2 MS배지에 BAP를 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 mg/L, 탄소원으로써 당(sucrose)의 농도를 15, 30, 45, 60 g/L 함유한 배지에 각각 15반복씩 배양하여 신초의 증식정도를 조사하였다.

기내증식한 신초의 발근을 유도하기 위하여 3-4cm 크기의 유묘를 MS 전량배지와 1/2 MS배지에서 배양하였고, 성장 조절물질은 kinetin 0, 1.0 mg/L와 NAA 0.1, 1.0, 3.0 mg/L를 단용 또는 혼용하였다. 배양은 24 ± 1°C의 항온실내에서 광도 2,000 lux로 16시간 명배양하였다.

結果 및 考察

배양재료의 효과적인 살균방법을 구명하기 위하여 NaOCl의 농도와 시간을 달리하여 실험한 결과(Table 1), 1.0% NaOCl 용액에 20분간 살균했을 때 오염율이 40%로 가장 낮았으며, 살균시간과는 상관없이 0.1% NaOCl 용액에서는 100% 오염되었고, 3.0% NaOCl 용액에서는 경정조직이 모두 고사하였다.

앞서의 실험에서 재료의 표면살균만으로는 배양재료의 살균에 문제점이 있어 이를 보완코자 배지내에 항생제 Carbenicillin 500 mg/L 및 1,000 mg/L와 살균제 Mancozed wp. 1%를 단용 또는 혼용으로 처리한 결과를 보면(Table 2), 5개의 처리구 모두 오염율은 1% NaOCl 용액에 20분간 표면살균한 대조구에 비하여 낮았지만 경정의 생존율은 Carbenicillin 500 mg/L 처리구가 100%로 가장 높았고 타 처리구는 대조구보다 낮았다.

이상의 결과로 볼때 천궁의 shoot tip 배양시에는 배양재료를 1%의 NaOCl에서 20분간 표면살균한 후 Carbenicillin 500 mg/L가 첨가된 배지를 사용하는 것이 효과적일 것으로 생각되며, Lee(1991)가 보고한 바에 의하면 춘란을 경정배양할 경우 오염의 정도가 심하여 몇 단계의 살균과정을 거

Table 1. Effect of sodium hypochlorite on contamination of shoot tip cultures of Cnidii rhizoma after 4 weeks in culture.

NaOCl Conc (%)	Contamination (%)		
	Minutes		
	5	10	20
0.1	100	100	100
1.0	80	80	40
3.0	D ^a	D	D

^aall dead.

Table 2. Effect of antibiotic and fungicide added to the medium contamination in shoot tip cultures of Cnidii rhizoma after 4 weeks in culture.

Treatment	Survival rate (%)	Contamination (%)	
Control	Carbenicillin (mg/L)	80	20
0	500	100	0
0	1000	60	0
Mancozed wp. 1%	0	60	0
Mancozed wp. 1%	500	40	0
Mancozed wp. 1%	1000	40	0

Table 3. Effect of explant taken time on shoot regeneration from shoot tip cultures of Cnidii rhizoma after 4 weeks in culture.

Explant taken time	Shooting(%)	No.shoots/ explant	Shoot length (cm)
July	38	1.0	1.1
August	0	0	0
September	25	1.0	1.0

쳐야 하고 배지내에도 살균제를 첨가하는 것이 효과적이라고 하여 본 실험의 결과와 유사하였는데 영년생 식물의 경우 특히 지하부에 미생물의 오염정도가 심하기 때문에 완전살균이 어려운데 초기배양시 살균방법의 확립이 대단히 중요한 선결문제로 대두되고 있다.

천궁의 경정조직을 시기별로 채취하여 배양한 결과를 보면(Table 3), 경정조직을 7월과 9월에 채취하였을 경우 재분화율이 38%와 25%로 나타났으나, 8월에 채취하였을 경우에는 전혀 분화하지 않았다.

이는 8월에 phenol성 물질의 활성이 높아짐에 따라 경정조직의 재생력이 약화된 것으로 생각되며(Ishii, 1980; Chun et al., 1982; Nishuchi, 1979; Yanagawa and Sakanishi, 1977) 이러한 결과는 Choi 등(1992)이 보고한 바에 의하면 포도의 생장점을 시기별로 배양하였을 경우 생장점 채취의 효과적 인 시기는 6월로써 이 시기는 phenol성 물질의 함량이 낮는데 기인하는 것으로 추정하였고(Choi et al., 1992) 사과와

Table 4. Effect of BA and GA₃ on shooting from shoot tip cultures of *Cnidii* rhizoma after 4 weeks in culture.

Medium	GA ₃ (mg/L)	BA (mg/L)	Shooting (%)	No. shoots /explant	shoot length(cm)
Full strength- MS	0	0	38	1.0	1.1
	0	0.5	13	1.0	0.4
	0	1.0	0	0	0
	0	2.0	0	0	0
	1.0	0	50	1.0	1.5
	1.0	0.5	50	1.0	1.8
	1.0	1.0	13	1.0	1.7
Half strength- MS	1.0	2.0	13	1.0	1.2
	0	0	38	1.0	1.3
	0	0.5	50	2.0	1.8
	0	1.0	13	3.0	1.2
	0	2.0	0	0	0
	1.0	0	38	1.0	2.2
	1.0	0.5	50	2.0	2.2
	1.0	1.0	75	1.5	2.3
	1.0	2.0	50	1.0	0.7

카틀레아의 경우 5월 이전에 경정배양을 하여야 하며 고온기에는 폐놀 물질의 함량이 급격히 상승하므로 고온기를 피해야 한다고 하였다(Joung and Ko, 1983; Ishii, 1980).

한편 여름철 고온기가 휴면기인 식물의 경우 저온처리를 해서 휴면타파를 행한후에 배양하는 것이 바람직하였는데 (Chun et al., 1982; Joung and Ko, 1983) 본 실험에서도 고온기인 8월에는 경정으로부터의 재생이 전혀 이루어지지 않은 것은 고온에 의한 폐놀의 함량증가 및 고온휴면에 기인하는 것으로 생각된다.

천궁의 신초분화에 있어서 배지의 무기염 농도 차이에 따른 GA₃와 BA의 효과를 보면(Table 4), 기본배지는 전량 배지로 사용했을 때 보다 1/2배지가 신초 재분화율이 높은 경향이었는데, Lee 등(1993)이 보고한 산약의 기내배양에서 MS 무기염 농도를 1/2, 1/4, 1/8로 하여 실험한 결과 농도가 낮아질수록 신초의 길이와 출葉率이 모두 증가하는 경향을 보였다고 하여 본 실험의 결과와 유사하였는데 이는 각 식물에 있어서 무기염류 요구도의 차이에 기인하는 것으로서 무기염의 적정농도와 재생력간에 어떤 연관관계가 있을 것으로 추정되어 진다.

그리고 GA₃ 1.0 mg/L의 처리효과는 기본배지와 상관없이 무처리구 보다 신초재분화가 양호하였고, BA의 처리는 1.0 mg/L의 처리가 좋았으나 농도간 효과는 일정한 경향이 없었으며, 1/2배지에 GA₃ 1.0 mg/L와 BA 1.0 mg/L를 첨가한 것이 재분화율이 75%로 가장 높았다.

Table 5. Effect of BA on shoot multiplication from shoot tip cultures of *Cnidii* rhizoma after 8 weeks in culture.

BA (mg/L)	Shooting (%)	No. shoots /explant	shoot length(cm)
0.1	75	0.7	1.5
0.5	63	5.6	2.8
1.0	50	4.0	2.5
2.0	50	4.0	2.5
5.0	50	3.8	1.5
Control ^a	75	1.5	2.3

^aBA 1.0 mg/L + GA₃ 1.0 mg/L.

**Figure 1.** Multiple shoot formation from shoot tip cultures of *Cnidii* rhizoma in 1/2 strength MS medium containing 0.5 mg/L BA after 8 weeks in culture.

재분화한 신초의 기내증식용 배지를 구명하기 위해 BA의 농도별 처리효과를 보면(Table 5), 신초 분화율은 BA의 농도가 0.1 mg/L과 2.0 mg/L일 때 75%로 가장 높았고 재분화된 신초의 수는 BA 0.5 mg/L일 때 5.6개로 가장 많았다.

이상 Table 4와 5의 결과를 종합해 볼 때, 천궁을 경정배양했을 경우 신초의 재분화율에 있어서는 GA₃ 1.0 mg/L를 첨가하는 것이 효과적이었으나, 재분화한 신초의 기내증식을 유도하고자 할 때는 BA에 GA₃를 혼용처리한 것 보다 BA 0.5 mg/L 단독처리가 효과적이었다(Figure 1).

Choi와 Seo(1993)는 생강과 양하의 경정배양시 BAP단용으로 10 mg/L까지 높였을 때 신초 발생수가 많았다고 하여 본 실험에서 얻은 BA 단독효과와 유사하였으나 正山(1991)는 지황의 경정배양에서 다수의 신초 발생에 GA 0.05 mg/L

Table 6. Effect of sucrose on multiple shoot formation from shoot tip cultures of *Cnidii rhizoma* after 8 weeks in culture.^a

Sucrose (g/L)	Shooting (%)	No. shoots /explant	shoot length (cm)
15	50	2.3	2.0
30	90	3.0	1.7
45	90	3.3	1.6
60	100	3.7	1.0

^aBasal medium: half strength of MS supplemented with BA 0.5 mg/L.

Table 7. Effect of kinetin and NAA on rooting from regenerants of *Cnidii rhizoma* after 8 weeks in culture.

Medium	kinetin (mg/L)	NAA (mg/L)	Rooting (%)	No. roots /explant
Full strength-MS	0	0.1	0	0
	0	1.0	0	0
	0	3.0	13	1.0
	1.0	0.1	0	0
	1.0	1.0	13	2.0
Half strength-MS	1.0	3.0	0	0
	0	0.1	25	4.0
	0	1.0	33	4.0
	0	3.0	38	2.5
	1.0	0.1	0	0
	1.0	1.0	25	1.5
	1.0	3.0	0	0

와 BA 1 mg/L를 혼용하여 배양했을 때 약 23개의 싹을 얻었다고 하였으며, Lee 등(1993b)도 황금의 엽조직 배양에 의한 식물체 증식에 있어서 BA 1.0 mg/L와 NAA 0.5 mg/L를 혼용하였을 때 효과적이었다고 한 것으로 볼 때 약용작물의 경정배양에 있어서 재분화한 싹의 증식은 BA 단용만으로 만족한 효과를 얻을 수 있을지의 여부는 작물의 종류에 따라서 다를 것으로 생각되며 GA의 처리에 의한 재생력의 향상효과는 배양전 또는 배양과정중 야기될 수 있는 휴면을 타파함으로써 증진되는 효과인 것으로 추정된다.

당의 농도별 증식의 효과를 보면(Table 6), 싹재분화와 싹수수는 당농도가 60 g/L일 때 가장 높았으며 농도가 15 g/L에서 60 g/L로 높아질수록 재분화율의 향상과 더불어 싹수수는 많아지는 경향이었으나 싹의 길이는 짧아지는 경향이였다. 에너지원인 당의 적정농도는 식물의 종류에 따라 다르며 일반적으로 2-4%의 당을 첨가하는데(Chung, 1985) 비해 천궁의 경우 6%의 첨가량은 고농도의 탄소원을 요구하는 식물의 부류에 속한다고 할 수 있겠다.

증식된 유묘의 기내발근에 미치는 kinetin과 NAA의 영향은(Table 7), 기본배지는 전량 MS배지보다는 1/2 MS배지

일 때 발근율이 높았으며, 이러한 결과는 산약의 발근 개체수가 MS에 비하여 1/8 MS로 무기염 농도가 낮을수록 촉진되었다는 것과 유사하였다(Lee et al. 1993a). 또한 유묘의 발근에 있어서 kinetin 과 NAA의 효과는 전량 MS배지에서는 NAA 3.0 mg/L 처리와 kinetin 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L 처리가 모두 13%의 발근율을 보였고, 1/2 MS배지일 경우에는 NAA 0.1 mg/L 처리와 kinetin 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L를 처리했을 때 발근율이 25% 였으며, NAA 3.0 mg/L 를 단용으로 처리하였을 때 발근율이 38%로 가장 좋았는데 반하의 자구형성 및 발근과 양하의 근수증가에 NAA 0.5 - 1.0 mg/L 단용이 효과적이었다고 하여(Seong et al.) 본 실험과 일치하였으나 산약의 경우는 kinetin과 IAA 또는 NAA를 혼용했을 때 가 출엽 및 발근에 효과가 있었다고 하였다(Lee et al., 1993a). 이와 같이 발근에 있어서 성장 조절물질의 요구도 차이는 식물의 종류에 따라 상당한 차이를 나타내고 있는데 성장조절물질을 요구하지 않는 형, 저농도 옥신을 요구하는 형, 옥신과 사이토키닌을 요구하는 형으로 나누어 지는데 이와 같은 현상은 기내 유식물체내에서 내생성장조절물질의 합성정도에 따른 차이일 것으로 추정되나 체내 생리작용과 첨가량과의 관계를 결론짓기는 지금으로선 어렵다.

摘 要

주요 약용작물로 사용하고 있는 천궁의 경정을 기내배양하여 건전한 종경을 대량으로 증식하는데 적합한 배양조건을 구명하기 위하여 실험한 결과를 요약하면 7월에 채취한 재료를 1%의 NaOCl에 20분간 표면살균한 후, carbenicillin 500 mg/L, BA 1.0 mg/L 와 GA₃ 1.0 mg/L가 첨가된 1/2 MS배지가 오염을 감소와 싹 재분화율을 높이는데 효과적이었고, 재분화한 싹의 기내증식은 BA 0.5 mg/L와 당 60 g/L가 함유된 1/2 MS가 양호하였으며 이들 유묘는 1/2 MS에 NAA 3.0 mg/L 단용배지에서 배양하였을 때 발근하였다.

引用文獻

- Chang SM, Choi J, Jyung SH, Shu DH (1988) Effect of the seedroot weight and the local varieties on the yeild and quality of *Cnidium officinale* Makino root. Agric Res Bull Kyungpook Natl Univ 6: 87-91
- Choi SK, Seo YN (1993) Study on the clonal multiplication of *Zingiber mioga* ROSC through in vitro culture of shoot apex. I. Effects of basal media and growth regulators on plant regeneration and growth of plantlet. Korean J Medicinal Crop Sci 1: 38-42
- Choi SK, Kim DC (1991) The study on the clonal multiplication of

- ginger through in vitro culture of shoot. Res Rept RDA 33: 40-45
- Choi SY, Oh JY, Kim JS, Park KM, Lee SB, Choi DU (1992) Studies on the grape meristem culture in vitro. Res Rept RDA 34: 1-9
- Chun JK, Suh YK, Chung JD (1982) In Vitro Propagation of Hyacinthus orientalis L. (V) Effect of basal media, auxin concentrations, inoculated time of organogenesis from bulb scale tissues. Research Review Kyungpook of National Univ 34: 437-446
- Chung JD (1985) Rapid Multiplication of Horticultural Crops by Plant Tissue Culture Techniques. J Korean Soc Hort Sci 26: 410-428
- George EF, Sherrington PD (1984) Plant propagation by tissue culture. Eastern Press, The England, pp 510-517
- Ishii M (1980) Studies on tissue culture Cattleya species. III. The relationship between seasonal changes of phenolic exudes from pseudobulb tissues and survival rate of explants. J Japan Soc Hort Sci 49: 127-131
- Joung H, Ko KC (1983) Studies on the shoot tip culture of M. 7, M26, MM. 106 apple rootstock. J Korean Hort Sci 24: 135-143
- Lee Hs, Ryu SN, Lee JI, Cho CY (1993a) Effect of medium and growth regulators on tuber propagation by in vitro culture of yam (*Dioscorea japonica* Tunberg). Korean J Medicinal Crop Sci 1: 28-37
- Lee JH (1991) Rapid propagation of seedling through shoot tip culture of temperate orchid cymbidium species. MS thesis Kyung pook Nat'l Univ.
- Lee MS, Kim KH, O KH (1993b) Plant regeneration from leaf tissue culture and some effective substances in *Scutellaria baicalensis* G. Korean J Medicinal Crop Sci 1: 43-48
- Nishuchi Y (1979) Studies on vegetative propagation of tulips. II. Formation and development of adventitious buds in the excised bulb scale cultured in vitro. J Japan Soc Hort Sci 48: 99-105
- Pierik RLM (1987) In Vitro culture of higher plants. Department of Horticulture, Agricultural University Wageningen, The Netherlands, pp 159-167
- Sagawa, Y (1991) Clonal propagation of orchid. In Lindsey K ed. Plant Tissue Culture Manual. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp 1-7
- Seong RS, Jo PH, Park KH, Bae HH, Soh WY, Cho DY (1987) Rapid propagation of *pinellia ternata* (Thunb.) Breit via tissue culture. Korean J Plant Tissue Culture 15: 75-80
- Takashi HK, Michiko AD, Takehito KR, Morihiko HD, Masato IM (1989) In vitro propagation of herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Poll.) by a longitudinal shoot - split method. Plant Cell Reports 8: 243-246
- Yanagawa T, Sakanishi Y (1977) Regeneration of bulblets on *Hippeastrum* bulb segments excised from various parts of a parent bulb. J Japan Soc Hort Sci 46: 250-260
- 朴仁鉉, 李相來, 鄭泰賢 (1983) 藥用植物栽培. 先進文化社, pp 247-253
- 藥品植物學研究會 (1980) 藥品植物學各論. 先進出版社, pp 407-408
- 正山征洋 (1991) 藥用植物のマイクロプロパゲーション. 植物細胞工學 3: 157-163

(1994년 8월 1일 접수)