

## 강활(*Angelica koreana* MAX.) 組織培養을 통한 캘러스 誘導와 植物體 再生

張琦源\* · 閔庚洙\*\*

### Callus Induction and Plant Regeneration in *Angelica koreana* MAX.

Gi Won Jang\* and Kyung Soo Min\*\*

**ABSTRACT** : This study was conducted to investigate the possibility of callus induction and plant regeneration from immature inflorescence, stem and petiole of *A. koreana* MAX. which is worth enough to be used as food and medicine. The callus induction and its proliferation was best when immature inflorescence segments were placed on MS medium supplemented with 2,4-D 2mg/l. The white and compact embryogenic callus on the surface of dark yellow and soft callus which was induced from immature inflorescence segments came into being only on MS medium with 2,4-D 1mg/l and 2mg/l, but didn't come into being on the other ones. The shoot came into being effectively from callus derived from immature inflorescence on MS medium mixed 2,4-D 0.1mg/l with Kinetin 1mg/l, and 2,4-D 0.5mg/l with Kinetin 2mg/l.

Immature inflorescence was most appropriate material for callus induction and plant regeneration.

**Key word** : *Angelica koreana* MAX., Callus induction, Plant regeneration

강활은 미나리과에 속하는 다년생초본으로 옛부터 어린순은 食用으로 하고, 뿌리는 신경통, 관절통, 감기, 두통, 해열 등에 漢藥材로 널리 이용해 온 資源植物이다.

植物組織培養技術은 여러 組織으로부터 均一한 植物體를 增殖하는데 利用되어져 왔으며<sup>4,5,13)</sup> 2次代謝產物의 生産<sup>2,6,9,14)</sup>에도 중요한 役割을 하고 있다. 이러한 植物組織培養技術이 園藝나 農業에 應用되기 위해서는 植物組織으로부터 캘러스를 誘導하고, 이러한 캘러스로부터 植物體를 再生시킬 수

있는 方法이 확립되어야 한다. 그러나 組織培養을 통하여 生成되는 植物體들은 形態的, 遺傳的 變異가 많이 생기며<sup>1,12,16)</sup> 植物의 種類에 따라서 캘러스 誘導 및 再生樣相이 현저히 다를 뿐만 아니라 細胞의 世代가 거듭될수록 再生能이 減少하는등의 문제점이 있다<sup>11,15)</sup>.

따라서 이러한 器內培養技術을 모든 植物에 적용하는 데는 아직 많은 研究가 필요하다. Mathur & Ahuja<sup>8)</sup>는 *Valeriana wallichii* DC.의 葉병으로부터 캘러스 誘導와 植物體 再生을 報告하였는데

\* 全南專門大學(Chunnam College, Goksung 543-910, Korea)

\*\* 全南大學校 農科大學(College of Agri., Chonnam National University, Kwangju 500-575, Korea)

〈'94. 8. 18 接受〉

## 結果 및 考察

MS培地에 2,4-D를 2mg/l 以上 添加했을 때와 NAA 4mg/l를 添加했을 때는 培養 25-30일 以內에 캘러스의 褐變化가 發生하였다고 報告하였다. Chen et al.<sup>3)</sup>은 芭蕉의 여러 조직으로부터 캘러스 誘導와 植物體 再生을 報告하였는데 캘러스는 2,4-D 4-8mg/l가 添加된 MS培地에서 가장 잘 誘導되었고, 不定芽는 캘러스로부터 혹은 切片體로부터 직접 再生될 수 있다고 報告하였다. Jang & Min<sup>7)</sup>은 小麥 葉切片으로부터 그리고 Park et al.<sup>10)</sup>은 구기나무 葉切片으로부터 캘러스 誘導와 植物體 再生을 報告한 바 있다.

따라서 본 研究은 이러한 研究 結果를 토대로 食用 또는 藥用으로 그 利用 價値를 충분히 가지고 있는 강활의 미숙화서, 줄기, 그리고 葉병으로부터의 캘러스 유도와 植物體 再生에 관하여 試驗하였던 바 몇가지 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

## 材料 및 方法

### 1. 캘러스 誘導

포장에서 자라고 있는 强활의 미숙화서, 줄기 그리고 葉병을 70% ether에 1분간, 그리고 2% sodium hypochlorite 溶液에 수분간 表面殺菌하여 滅菌水로 4-5回 水洗하였다. 미숙화서를 露出시키기 위해 바깥엽을 제거하였고, 줄기와 葉병은 3mm 두께로 切斷하였다. 캘러스를 誘導하기 위해 각 組織의 切片을 2,4-D와 NAA가 각각 0.5, 1, 2, 5mg/l 添加된 MS培地에 置上하여 5주간 培養한 후 캘러스 誘導率과 增殖程度 그리고 褐變與否를 조사하였다. 培地에는 sucrose 30g/l와 agar 8g/l가 添加되었고 pH는 고압멸균 前 5.8로 調節하였다. 培養條件은 1000Lux 형광등하에서 16시간 일장과 25±1℃ 온도조건에서 培養하였다.

### 2. 植物體 再生

2,4-D 0.1, 0.5, 1, 2mg/l와 Kinetin 0.5, 1, 2, 4mg/l를 그리고 2,4-D 0.1, 0.5, 1, 2mg/l와 BA 0.5, 1, 2, 4mg/l를 각각 조합처리한 MS培地에 置上하여 5주간 培養한 후 器官分化를 調査하였다. 培養條件은 캘러스 誘導 때와 동일하였다.

### 1. 캘러스 誘導

强활의 미숙화서, 줄기, 그리고 葉병을 여러 濃度의 2,4-D와 NAA가 添加된 MS培地에 置床하여 5주간 培養한 후 캘러스 誘導率과 增殖程度 그리고 褐變與否를 調査하였던 바 그 結果는 表 1, 3, 4와 같다.

表 1은 미숙화서로부터 캘러스 誘導率과 增殖程度 그리고 褐變與否를 調査한 結果이다.

Table 1. Effect of auxins on callus induction and its browning from immature inflorescence of *A. koreana* MAX. after 5 weeks culture in vitro

Auxins (mg/l)	No. of explant cultured	Callus induction rate(%)	Callus proliferation	Callus browning	
2,4-D 0.5	30	53	+	×	
	1	30	70	++	×
	2	30	77	+++	×
	5	30	70	++	○
NAA 0.5	30	33	+	×	
	1	30	63	++	×
	2	30	70	++	×
	5	30	43	+	○

+: poor, ++: good, +++: very good, ×: none, ○: browning

캘러스는 培養 후 7일경부터 切片體가 부풀어 오르면서 모든 培地에서 誘導되었다. 캘러스 誘導率은 2,4-D 1-5mg/l까지의 濃度에서 70% 이상으로 양호 하였으나, 특히 2mg/l 濃度에서 77% 誘導되어 가장 높았다. 그리고 0.5mg/l 濃度에서는 53%로 낮은 경향을 보였다. NAA 1mg/l와 2mg/l 濃度에서는 캘러스 誘導率이 각각 63%, 70%로 대체로 良好하였으나 이보다 低濃度이거나 高濃度에서는 낮아지는 傾向을 보였다.

캘러스 增殖程度는 2,4-D 0.5-2mg/l 그리고 NAA 0.5-2mg/l 濃度에서 濃度가 增加함에 따라 增殖程度도 增加하는 傾向을 보였으며 특히 2,4-D 2mg/l 濃度에서 가장 활발하였으며 2,4-D 5mg/l와 NAA 5mg/l 濃度에서는 減少되었다. 이는 4-D와 NAA의 毒性 때문에 細胞分裂이 低調하여

増殖程度가 감소되었다고 생각되며 Jang & Min<sup>7)</sup>도 小麥에서 이와 類似한 결과를 報告한 바 있다.

캘러스 褐變化는 2,4-D 5mg/l 濃度에서 培養 4 주경에 發生하였는데 이러한 結果는 *Valeriana wallichii* DC.의 葉병으로부터 캘러스를 유도할 때 2,4-D 2mg/l 以上 添加했을 때 切片體의 褐變化가 發生하였다는 報告<sup>8)</sup>와 比較할 때 본 實驗에서는 2mg/l 濃度에서는 褐變化가 發生하지 않았고, 5mg/l 濃度에서만 發生하였는데 이는 供試材料의 차이 때문이라고 생각된다. NAA 5mg/l 濃度에서는 2,4-D 5mg/l 濃度에서와 같이 培養 4주경에 캘러스의 褐變化가 觀察되었다. 이는 *Valeriana wallichii* DC.의 葉병으로부터 캘러스를 유도할 때 NAA 4mg/l가 添加된 MS培地에서 培養 25-30일 以內에 캘러스의 褐變化가 發生하였다는 報告<sup>8)</sup>와 類似한 傾向을 보였다.

embryogenic 캘러스는 2,4-D 2mg/l 濃度에서 淡黃色의 柔軟한 캘러스 表面에 희고 단단하게 良好한 發生을 보였으나(그림 1-A), 2,4-D 1mg/l 濃度에서는 低調한 傾向을 보였으며 그의 2,4-D 濃度와 NAA 濃度에서는 發生하지 않았다.

表 3은 줄기로부터 캘러스의 誘導率과 増殖程度 그리고 褐變與否를 調査한 結果이다.

캘러스 誘導率은 2,4-D 1mg/l와 2mg/l 그리고 NAA 1mg/l와 2mg/l 濃度에서 70% 以上으로 대체로 良好한 傾向을 보였으나, 이보다 저농도이거나 고농도에서는 낮아지는 傾向을 보였다.

캘러스 増殖程度는 2,4-D 2mg/l 濃度에서 가장 활발하였으며 이보다 低濃度이거나 高濃度에서는 減少되는 傾向을 보였다. 그리고 NAA 2mg/l

濃度에서는 대체로 良好하였으나 그의 나머지 濃度에서는 低調한 傾向을 보였다.

캘러스 褐變化는 2,4-D와 NAA를 각각 2mg/l 以上 添加하였을 때 培養 3주경에 發生하였다. 그리고 모든 培地에서 embryogenic 캘러스는 發生하지 않았다.

表 4는 葉병으로부터 캘러스 誘導率과 増殖程度 그리고 褐變與否를 調査한 結果이다.

캘러스 誘導率은 미숙화서와 줄기보다 低調한 傾向을 보였으며 특히 NAA를 처리했을 때 33~50%로 가장 低調한 傾向을 보였다. 캘러스 増殖

Table 3. Effect of auxins on callus induction and its browning from stem of *A. koreana* MAX. after 5 weeks culture in vitro

Auxins (mg/l)	No. of explant cultured	Callus induction rate(%)	Callus proliferation	Callus browning	
2,4-D	0.5	20	50	+	×
	1	20	70	++	×
	2	20	75	+++	○
	5	20	65	++	○
NAA	0.5	20	45	+	×
	1	20	70	+	×
	2	20	70	++	○
	5	20	60	+	○

+: poor, ++: good, +++: very good, ×: none, ○: browning

Table 4. Effect of auxins on callus induction and its browning from petiole of *A. koreana* MAX. after 5 weeks culture in vitro

Auxins (mg/l)	No. of explant cultured	Callus induction rate(%)	Callus proliferation	Callus browning	
2,4-D	0.5	30	43	+	×
	1	30	60	+	×
	2	30	60	++	○
	5	30	50	+	○
NAA	0.5	30	33	+	×
	1	30	45	+	×
	2	30	50	+	○
	5	30	40	+	○

+: poor, ++: good, +++: very good, ×: none, ○: browning

Table 2. Effect of auxins on embryogenic callus induction from immature inflorescence of *A. koreana* MAX. after culture in vitro

Auxins (mg/l)	Embryogenic callus induction	Auxins (mg/l)	Embryogenic callus induction
2,4-D 0.5	-	NAA 0.5	-
1	+	1	-
2	++	2	-
5	-	5	-

-: none, +: poor, ++: good

程度도 미숙화서와 줄기보다 아주 低調한 傾向을 보였다. 캘러스의 褐變化는 2,4-D와 NAA를 각각 2mg/l 以上 添加했을 때 줄기에서와 같이 培養 3 주경에 발생하였다. 그리고 embryogenic 캘러스는 發生하지 않았다.

따라서 미숙화서는 캘러스 誘導와 增殖 그리고 embryogenic 캘러스 誘導에 가장 適合하다고 생각되며 줄기와 葉병은 不適合하다고 생각된다.

## 2. 植物體 再生

表 5는 2,4-D 2mg/l가 添加된 MS培地에서 誘導된 미숙화서 캘러스를 2,4-D와 Cytokinins를 조합처리한 MS培地에 5주간 培養한 후 器官分化를 調査한 結果이다.

2,4-D 0.1mg/l와 Kinetin 1mg/l, 2mg/l 그리고 BA 1mg/l, 2mg/l와 각각 조합처리했을 때, 또 2,4-D 0.5mg/l와 Kinetin 1mg/l, 2mg/l를 각각 조합처리했을 때 줄기가 發生하였으며 이중 2,4-D 0.1mg/l와 Kinetin 1mg/l, 그리고 2,4-D 0.5mg/l와 Kinetin 2mg/l을 조합한 배지에서 가장 효율적인 줄기 발생을 보였으며(그림 1-B) 그 외 나머지 培地에서는 뿌리만 發生하였다.

이와 같이 2,4-D 處理濃도가 높을수록 줄기 發生이 抑制되고 Kinetin은 BA보다 줄기 發生에 효과적이라고 생각된다.

Table 5. Effect of 2,4-D and cytokinins on the organogenesis from immature inflorescence-derived callus established on MS medium supplemented with 2,4-D 2mg/l

2,4-D (mg/l)	Kinetin(mg/l)				BA(mg/l)			
	0.5	1	2	4	0.5	1	2	4
0.1	R	S	S	R	R	S	S	R
0.5	R	S	S	R	R	R	R	R
1	R	R	R	R	R	R	R	R
2	R	R	R	R	R	R	R	R

R:Formation of roots, S:Formartion of shoots

## 摘 要

食用 또는 藥用으로 그 利用價値를 충분히 가지고 있는 강활의 미숙화서, 줄기, 그리고 葉병으로부터 캘러스 誘導와 植物體 發生에 관하여 實驗한 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 캘러스 誘導와 增殖程度는 미숙화서를 2,4-D 2mg/l 添加培地에 置上했을 때 가장 良好하였다.
2. 2,4-D 1mg/l와 2mg/l 添加培地에서 미숙화서로부터 誘導된 淡黄色의 유연한 캘러스 表面에 희고 단단한 embryogenic 캘러스가 發生하였고, 그의 培地에서는 발생하지 않았다.

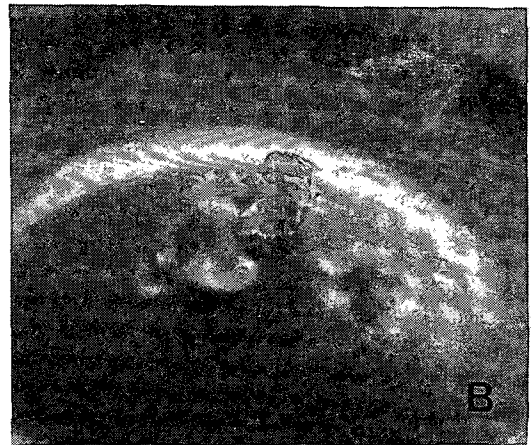
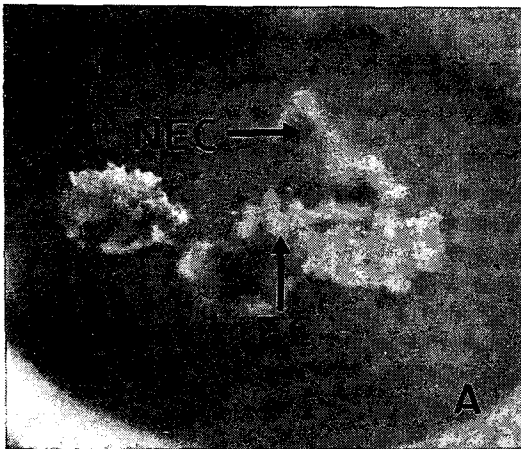


Fig. 1-A : Callus induced from immature inflorescence segment of *A. koreana* MAX.  
(EC: embryogenic callus, NEC: non-embryogenic callus)  
1-B: Shoot development from embryogenic callus.

3. 줄기 發生은 2,4-D 0.1mg/l와 Kinetin 1mg/l 그리고 2,4-D 0.5mg/l와 Kinetin 2mg/l를 각각 조합한 培地에서 가장 效率的이었다.
4. 캘러스 誘導와 植物體 再生에 가장 적합한 材料는 미숙화서라 생각된다.

## 引用 文 獻

1. Baruah A. and D.N. Bordoli. 1989. High frequency plant regeneration of *Cymbopogon martinii*(Roxb) Wats by somatic embryogenesis and organogenesis. *Plant Cell Reports* 8: 483-485.
2. Chang, W.D., C.C. Chen, Y.S. Chang, and H.S. Tsay. 1993. Studies on tissue culture of *Angelica dahurica* var *Formosana*. 1. Callus induction and medium evaluation. *Jour. Agric. Res. China* 42(3):253-264.
3. Chun, C.C., T.G. Gau, and H.S. Tsay. 1989. Studies on the callus formation and plant regeneration of *Pinellia ternata*. *Jour. Agric. Res. China* 38(1):30-41.
4. Garton, S., M.A. Hosier, P.E. Read, and R. S. Farnham. 1981. In vitro propagation of *Alnus glutinosa* Gaertn. *Hortscience* 16:758-759.
5. Gi, H.S. and C.C. Yeh. 1992. Mass propagation of oriental lily "Casa Blanca" by shoot tip culture. *Jour. Agric. Res. China* 41(2):169-177.
6. Heyenga, A.G., J.A. Lucas, and P.M. Dewick. 1990. Production of tumor inhibitory lignans in callus culture of *Podophyllum hexandrum*. *Plant Cell Reports* 9:382-385.
7. Jang, G.W. and K.S. Min. 1993. Effects of plant growth substances on variation of chromosome number in callus cells derived from wheat(*Triticum aestivum* L.) leaf. *Korean Jour. Plant Tissue Culture* 20(2):97-102.
8. Mathur, J. and P.S. Ahuja. 1991. Plant regeneration from callus culture of *Valeriana wallichii* DC.. *Plant Cell Reports* 9:523-526.
9. Ohta, S. and M. Yatazawa. 1989. *Biotechnology in agriculture and forestry* 7. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany. 367-380.
10. Park, Y.G., B.W. Kim, M.S. Choi, and S. Roh. 1993. In vitro organogenesis from leaf callus of *Lycium chinense* Mill. *Korean Jour. Plant Tissue Culture* 20(2):85-89.
11. 貝守 昇. 1986. 바이오テク, 로지의 大量 増殖. 農業および園藝 61(3):75-77
12. Puolimatka, M. and A. Karp. 1993. Effects of genotype on chromosome variation in tissue culture of inbred and outbred of rye. *Heredity* 71:138-144.
13. Singha, S. 1982. In vitro propagation of crabapple cultivars. *Hort. Science* 17:221-226.
14. Smith, G.A., R.J. Hecker, and S.S. Martin. 1979. Effects of ploidy level on the components of sucrose yield and quality in sugar beet. *Crop Sci.* 19:319-323.
15. Smith, S.M. and H.E. Street. 1974. The decline of embryogenesis potential as callus and suspension cultures of carrot (*Daucus carota* L.) are serially subcultured. *Ann. Bot.* 38:223-241.
16. Virginia, M.P. and R.L. Phillips. 1992. *Advance in genetics*. Academic press, Inc.. U.S.A., pp. 41-76.