

## 羌活의 캘러스 增殖 및 植物體 再分化에 미치는 生長 調節劑, sucrose 및 培地 凝固劑의 影響

李重浩\*·李承燁\*\*·南宮承泊\*

### Effects of Growth Regulators, Sucrose and Gelling Agents on Callus Growth and Plant Regeneration in *Angelica koreana* MAX.

Joong Ho Lee\*, Seung Yeob Lee\*\* and Seung Bak Namkoong\*

**ABSTRACT** : The effects of growth regulators, sucrose and gelling agents were investigated to increase the efficiency of the callus growth and plant regeneration in tissue culture of *Angelica koreana* Max. The fresh weight and dry weight of subcultured callus was highest in MS medium supplemented with 1 mg/l 2,4-D. Callus growth was excellent in 2% sucrose, but it was inhibited in proportion to sucrose content. Effect of gelling agents on callus growth was highest on 1.2% agar and 0.4% Gelrite medium, respectively. The browning of callus was protected on the media supplemented with 10 mg/l ABA and 5 or 10 mg/l AgNO<sub>3</sub>. In the callus induction and growth from the peduncle of immature inflorescence, 2,4-D was more effective than NAA, and the frequency of callus induction was highest as 81.7% in 2 mg/l 2,4-D. Plant was not regenerated from the callus derived from young leaf. Somatic embryos were developed from the surface of callus derived from the peduncle of immature inflorescence in the medium containing 0.5 mg/l 2,4-D, 1 mg/l kinetin, 5 mg/l ABA and 5 mg/l AgNO<sub>3</sub>. Plants were developed from the matured somatic embryos in the medium supplemented with 0.2 mg/l 2,4-D and 1 mg/l kinetin.

**Key words** : Callus growth, Somatic embryo, Plant regeneration, Growth regulators, Sucrose, Gelling agents.

## 緒 言

강활(*Angelica koreana* Max.)은 미나리과에 속하는 2~3년생 속근성 草本으로 우리나라에서는 중북부 산간지역에 주로 자생하고 있다. 어린순은 식용으로 이용되며 뿌리는 진통, 진경, 거풍, 발

한, 해열 등에 효과가 있어서 漢藥材로 널리 이용되고 있다. 主成分으로는 limonin, O-cresol,  $\alpha$ -pipene 등의 精油成分과 isoimperatorine, oxypeucedanin, osthol 등의 coumarine계 화합물이 알려져 있다<sup>1)</sup>. 강활의 植物學的 特性은 키가 곧게 자라 1~2m에 달하며, 잎은 호생으로 2회 3출엽이다. 꽃은 복산형화서로 8~9월에 백색으로

本研究는 1995年度 圓光大學校 校內 研究費 支援에 의하여 이루어졌음.

- 圓光大學校 農科大學 (College of Agriculture, Wonkwang University, Iksan, Cheonbuk, 570-749, Korea)
- 湖南農業試驗場 (National Honam Agricultural Experiment Station, RDA, Iksan, Cheonbuk, 570-080, Korea)

피며 雄藥先熟으로 他花受精을 주로 하며 종자는 9~10월에 익는다. 이용부위인 뿌리는 직근성으로 짧고 굵으며, 8~9월에 꽃대가 올라오면 뿌리의 저장양분이 꽃대로 이동하여 漢藥材로서의 가치가 떨어진다. 繁殖은 種子繁殖과 蘆頭繁殖이 가능하나 蘆頭繁殖은 當年 수확이 가능하지만 노력이 많이 들고 大量繁殖이 어려워 주로 種子繁殖을 한다. 그러나 種子繁殖을 할 경우 他殖性이 강하여 個體變異가 심하기 때문에 규격품 생산이 어렵고, 수량 및 성분의 不均一性이 문제가 된다. 또한 1년간 苗 培養하여 定植하는 育苗 移植栽培는 추대로 인한 收量 減少가 문제점이다. 따라서 강활의 安定的栽培를 위하여는 均일한 묘의 大量생산이 필요하며, 캘러스의 急速 大量增殖에 의한 有用物質 生産에 관한 연구도 이루어져야 한다. 최근 生藥 및 藥理性 資源植物에 대한 관심이 높아지면서, 植物細胞를 大量培養하여 有用物質을 생산하려는 연구가 많이 이루어지고 있다<sup>9)</sup>. 특히 植物細胞 또는 毛狀根 培養에 의한 生物工學的 방법은 自然環境의 制限을 받지 않고 器內的 最適환경에서 大量培養하여 經濟性을 높일 수 있으므로 産業的으로 이용이 가능하다. 국내에서 強활에 대한 연구는 서 등<sup>17)</sup>이 育苗 移植栽培에서 묘크기에 따른 추대 및 收量性 반응을 보고하였고, 장·민<sup>3)</sup>은 組織培養을 이용한 캘러스 유도 및 植物體를 再分化시켰다. 최·박<sup>2)</sup>은 미숙종자로부터 體細胞胚 發生에 의한 植物體 再分化에 성공하였다. 박 등<sup>15)</sup>은 Germanium의 器內 生産에 관한 기초적 연구로서 強활의 캘러스를 GeO<sub>2</sub>를 첨가한 培地에서 배양하여 캘러스내 Germanium 함량의 증가를 보고한 바 있다. 그러나 強활의 體細胞胚 發生은 주로 培養組織으로부터 직접 발달하는 경우가 많아서 이용이 제한적이기 때문에, 캘러스의 大量培養에 의한 植物體 分化 및 有用物質 生産을 위한 지속적인 연구가 필요하다. 본 연구는 強활의 캘러스 培養과 植物體 再分化에 필요한 最適 배양 조건을 究明하기 위하여 캘러스 生長과 體細胞胚發生에 미치는 生長調節劑, sucrose 및 培地 凝固劑 등의 영향을 조사하였다.

## 材料 및 方法

供試 材料는 圓光大學校 農科大學 資源植物 圃場에서 생육 중인 2년생 強활 (*Angelica koreana*

Max.)을 使用하였다. 培地는 250 mg/l proline, 1 g/l casein hydrolysate를 첨가한 MS배지<sup>13)</sup>를 기본으로 pH는 auto-clave 前 5.8로 조절하였으며,  $\varnothing$  8.7cm 샐레에 25ml씩 분주하였다.

### 1. 幼葉 由來 캘러스 生長에 미치는 生長調節劑, sucrose 및 배지 응고제의 영향

4월 하순 幼葉을 채취하여 70% 에탄올로 표면 살균한 후, 3% sodium hypochlorite로 15분간 멸균하여 2 mg/l 2,4-D를 첨가한 MS 배지에 置床하였다. 培養은 25℃에서 暗培養하였으며, 치상 후 40일째에 誘起된 캘러스를 동일배지에 繼代培養하여 증식한 다음 캘러스 生長에 미치는 生長調節劑, sucrose, 배지 응고제, ABA 및 AgNO<sub>3</sub>의 영향을 조사하였다.

#### ○ 生長調節劑의 영향 조사

캘러스 生長에 미치는 最適 生長調節劑의 농도를 조사하기 위하여 0.5, 1.0, 2.0 mg/l 2,4-D와 0, 0.2, 0.5, 1.0 mg/l kinetin을 첨가한 12조합의 培地에 幼葉 由來  $\varnothing$  5mm 크기의 캘러스를 샐레당 15개씩 3반복 置床하였다. 캘러스 生長量은 25℃에서 暗培養하여 30일 후에 반복당 15개의 캘러스에 대한 평균 생체중 및 건물중으로 비교하였다. 건물중은 80℃에서 48시간 건조하여 측정하였다.

#### ○ Sucrose의 영향 조사

炭素源으로 쓰이는 sucrose의 적정 농도를 조사하기 위하여 0.5, 1.0, 2.0mg/l 2,4-D를 첨가한 MS 배지에 sucrose 濃度를 2, 4, 6, 8%로 조절한 12조합의 배지에 같은 방법으로  $\varnothing$  5mm 크기의 幼葉 由來 캘러스를 샐레당 15개씩 3반복 치상하여, 캘러스 生長량을 조사하였다.

#### ○ 배지 응고제의 영향 조사

배지 응고제인 agar와 Gelrite의 농도가 캘러스 生長에 미치는 영향을 조사하기 위하여 1 mg/l 2,4-D를 첨가한 MS배지에 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6% agar와 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0% Gelrite를 첨가한 10조합의 배지에 같은 방법으로 幼葉 由來 캘러스를 치상하여 30일 후의 캘러스 생체중과 건물중을 비교하였다.

○ ABA와 AgNO<sub>3</sub>의 영향 조사

ABA와 AgNO<sub>3</sub>가 캘러스 성장 및 器官 分化에 미치는 영향을 조사하기 위하여 幼葉 由來의 캘러스를 재료로 1 mg/l 2,4-D를 첨가한 MS배지에 0, 5, 10 mg/l ABA와 AgNO<sub>3</sub>를 각각 첨가한 6조합의 배지에 치상하였다. 배양 조건은 25℃, 2,000 Lux (16/8 hrs., day/night)로 조절하였다. 배양 30일 후에 1차 계대배양하였으며, 계대배양후 20일까지의 캘러스 성장과 器官 分化를 조사하였다.

2. 未熟 花序의 花梗으로부터 캘러스 형성 및 植物體 再分化

캘러스 誘起 및 植物體 再分化가 幼葉보다 비교적 容易할 것으로 생각되는 미숙화뢰의 花梗을 3 mm 크기로 잘라 1, 2, 3 mg/l 2,4-D와 NAA를 첨가한 MS배지에 샤레당 20개씩 3반복 置床한 다음, 25℃에서 암배양하여 40일째의 캘러스 형성을 조사하였다. 이 중 0.5 mg/l 2,4-D를 첨가한 배지에서 자란 활력이 높은 캘러스를 0.5 mg/l 2,4-D와 1 mg/l kinetin, 그리고 5 mg/l ABA와 AgNO<sub>3</sub>를 첨가한 再分化 培地에 이식하여 25℃에서 暗培養하였다. 體細胞 胚發生을 조사하여 성숙한 體細胞胚는 0.2 mg/l 2,4-D와 1 mg/l kinetin을 첨가한 MS 배지에 옮겨 25℃, 2,000 Lux (16/8hrs., day/night)로 배양하여 植物體를 再分化시켰다.

結果 및 考察

1. 幼葉 由來 캘러스 성장에 미치는 生長調節劑, sucrose 및 배지 응고제의 영향

강활의 캘러스 성장에 미치는 2,4-D와 kinetin의 영향을 구명하기 위하여, 幼葉으로부터 유기된 캘러스를 繼代培養한 結果는 표1과 같다. 30일간 배양한 캘러스의 生體重은 1 mg/l 2,4-D 단독 첨가가 캘러스 성장에 가장 효과적이었으며, kinetin 농도가 높아짐에 따라 감소하는 경향을 보였다. 캘러스 乾物重의 변화도 비슷한 경향을 보였다. 최박<sup>2)</sup>은 2,4-D와 BA의 혼용처리가 캘러스 발생 및 증식에 효과적이라고 하여 본 실험 결과와 상이하

Table 1. Effects of growth regulators on the growth of callus derived from young leaf of *A. koreana* Max.

Growth regulators(mg/l)*		Callus growth(mg/callus)**	
2,4-D	kinetin	Fresh weight	Dry weight
0.5	0	324	53.7
	0.2	315	50.3
	0.5	309	48.0
	1.0	309	48.2
1.0	0	513	60.1
	0.2	384	58.3
	0.5	378	50.4
	1.0	317	50.2
2.0	0	349	52.5
	0.2	393	52.7
	0.5	346	38.0
	1.0	255	35.8

\* Basic medium : MS+250 mg/l proline, 1 g/l casein hydrolysate and 5 g/l Gelrite

\*\* Data were tested at 30 days in culture

였으나, 장·민<sup>3)</sup>은 강활 未熟 花序 유래의 캘러스 생장이 0.5~2 mg/l 2,4-D와 NAA 첨가 배지에서 농도가 높을수록 왕성하였으며, 未熟 花序는 2 mg/l 2,4-D 첨가 배지에서 胚發生 캘러스가 發生하였으나, 줄기 및 엽병조직에서는 캘러스 증식만 계속되고 胚發生 캘러스가 형성되지 않았다고 하여 본 실험 결과와 같았는데, 이는 배양조직의 차이때문에 나타난 것으로 생각된다<sup>12)</sup>.

한편 표1에서 kinetin 과 혼합 처리보다 2,4-D 단독처리가 캘러스 성장을 촉진시킨 결과를 토대로 동일한 농도의 2,4-D 단독 첨가시 sucrose 함량이 캘러스 성장에 미치는 영향을 조사한 결과는 표2와 같다. 2,4-D 농도에 따른 캘러스 생장은 성장조절제의 영향에서와 비슷한 경향을 보였으며, sucrose 농도의 증가에 따라 생장이 낮아지는 경향이었다. 1 또는 2 mg/l 2,4-D 첨가 배지에서 적정 sucrose 농도는 2%로서 캘러스 生體重 및 乾物重이 모두 增加하였다. 정 등<sup>4)</sup>은 작약 화사유래 캘러스 배양에서 2~4%의 sucrose 첨가 배지에서 농도가 높을수록 胚發生率이 낮아졌으며, 2%

sucrose와 0.3% 활성탄을 같이 첨가하였을 때 胚發生率이 가장 높았다고 하였다.

Table 2. Effects of 2,4-D and sucrose content on the growth of callus derived from young leaf of *A. koreana* Max.

2,4-D* (mg/l)	Sucrose (%)	Callus growth (mg/callus)**	
		Fresh weight	Dry weight
0.5	2	353	49.7
	4	333	48.0
	6	328	49.2
	8	308	45.0
1.0	2	416	53.1
	4	317	49.6
	6	322	48.1
	8	283	46.4
2.0	2	407	49.9
	4	314	47.4
	6	329	44.3
	8	262	42.0
LSD (5%)		175	7.3

\* Basic medium : MS+250 mg/l proline, 1 g/l casein hydrolysate and 5 g/l Gelrite

\*\* Data were tested at 30 days in culture

캘러스 생장에 있어서 배지내 수분 및 양분 흡수와 관련이 있는 배지 응고제의 영향을 조사한 결과는 표3과 같다. agar 농도에 따른 캘러스의 생장이 0.8~1.4%까지는 큰 차이가 없었으나 1.2%에서 가장 양호하였고, 1.6%에서는 캘러스 생장이 억제되었다. Gelrite의 경우 0.2%와 0.4%에서 캘러스 생장이 양호하였으며, 캘러스의 생체중은 0.6% 이상의 Gelrite 첨가시 급격히 감소하였으나, 乾物重은 농도에 따른 차이가 없었다. 이는 캘러스의 水分吸收와 관계가 있는 것으로 생각되며, agar와 Gelrite농도가 높을수록 스폰지형의 캘러스가 發達하였다(Fig. 1). 배지 응고제의 濃度에 따른 배지내 物理的變化에 대하여 Liu & Lai<sup>11)</sup>는 배지내 水分減少에 따른 스트레스가 植物體分化能

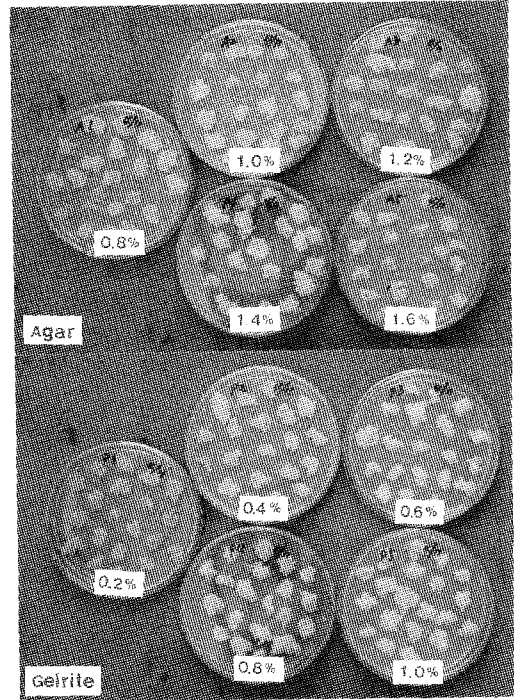


Fig. 1. Effect of the content of gelling agents on callus characteristics of *A. koreana* Max. Agar;0.8 to 1.2%-Normal, 1.4 and 1.6%-Spongy type. Gelrite;0.2%-Wetted type, 0.4% to 1.0%-spongy type

Table 3. Effect of gelling agents on the growth of callus derived from young leaf of *A. koreana* Max.

Gelling agent (%) *	Callus growth (mg/callus)**		
	Fresh weight	Dry weight	
Agar	0.8	405	45.6
	1.0	447	47.5
	1.2	463	49.2
	1.4	425	42.2
	1.6	289	35.7
Gelrite	0.2	429	43.0
	0.4	467	48.2
	0.6	284	44.3
	0.8	271	43.9
	1.0	256	42.3
LSD (5%)		168	3.9

\* Basic medium : MS+1 mg/l 2,4-D, 250 mg/l proline, 1 g/l casein hydrolysate and 20 g/l sucrose

\*\* Data were tested at 30 days in culture

을 증대시킨다고 하였고, 이·이<sup>10)</sup>는 벼 藥培養에서 Gelrite가 胚發生 캘러스의 發生을 촉진한다고 하였는데, 본 실험에서는 백색의 영성한 구조를 가진 스폰지형 캘러스가 급격히 發達하였다. 이들 캘러스는 성장만 계속할 뿐, 器官分화가 되지않아 再分化能을 상실한 캘러스로 보였다.

幼葉 由來 캘러스 배양에서 캘러스의 褐變化가 나타났는데, 그 원인은 캘러스에서 분비되는 2차 대사산물의 영향으로 생각되었다<sup>7)</sup>. 이러한 改變화는 캘러스의 再分化能을 低下시킬수 있기 때문에 캘러스의 褐變化 방지 및 再分化能을 증대시킬 목적으로 ABA와 AgNO<sub>3</sub>의 영향을 조사한 결과는 표 4와 같다. 무처리에서의 캘러스 생장은 改變화로 인하여 억제되었으나, 5 mg/l ABA 첨가 배지에서는 無處理보다 왕성한 성장을 보였으며, 연갈색이었다. 10 mg/l ABA 첨가배지에서는 褐變化가 억제되어 유백색 및 연황색 캘러스로 발달하였으며, 캘러스 생장은 5 mg/l ABA 첨가 배지보다 지연되었다. 캘러스의 褐變化 억제에는 ABA보다 AgNO<sub>3</sub>가 효과적이었는데, 5~10 mg/l AgNO<sub>3</sub> 첨가배지에서 캘러스 생장이 농도간에 차이가 없었으며, 褐變化도 나타나지 않았다. 권 등<sup>7)</sup>도 ABA와 AgNO<sub>3</sub>가 산수유 캘러스의 褐變化를 억제한다고 하여 유사한 결과를 보고하였다. 10 mg/l ABA와 5~10 mg/l AgNO<sub>3</sub> 배지에서 자란 캘러스들을 다양한 生長 調節劑를 조합한 再分化 培地에 옮겨 器官 分化 또는 體細胞 胚發生을 유도하였으나, 이들 幼葉由來 캘러스로부터는 캘러스 성장만 계속될 뿐 器官 發生을 관찰할 수 없었다. ABA는 캘러스 활력을 오래도록 유지하여 植物體 再分化에 효과적이며, 에틸렌 억제 작용이 있는 AgNO<sub>3</sub>도 植物體 再分化를 촉진하는 것으로 알려져 있다<sup>1, 8, 10)</sup>. 본 실험에서는 캘러스의 褐變化 정도는 크게 減少하였으나, 胚發生 캘러스의 형성이나 器官 分化는 이루어지지 않았는데, 이는 계대배양으로 캘러스의 전분화능이 약화되었거나, 培養 材料의 차이때문에 나타나는 것으로 생각된다<sup>3, 12)</sup>. 고 등<sup>6)</sup>도 도라지 藥培養에서 화사 유래의 캘러스로부터는 胚發生에 의한 植物體가 再分化되었으나, 약역 및 약벽표면에서 발생된 캘러스는 120일까지도 體細胞胚가 형성되지 않고 줄기 및 뿌리 등의 器官分化

에 의하여 植物體가 分化되어 培養 部位에 따라 植物體 分化 양상이 다를을 보고하였다.

Table 4. Effects of ABA and AgNO<sub>3</sub> on the growth of callus derived from young leaf of *A. koreana* Max.

Treatment* (mg/l)	Callus growth**		Color of callus
ABA	0	+	Brown
	5	+++	Light brown
	10	++	Yellowish & Light brown
AgNO <sub>3</sub>	0	+	Brown
	5	+++	Yellowish & Light brown
	10	+++	Yellowish & Light brown

\* Basic medium : MS+1 mg/l 2, 4-D, 1 mg/l kinetin, 250 mg/l proline, 1 g/l casein hydrolysate and 5 g/l Gelrite  
 \*\* + : Good, ++ : Very good, +++ : Excellent

## 2. 未熟 花뢰의 花梗으로부터 캘러스 형성 및 植物體 再分化

幼葉 切片 培養에서 치상 조직의 괴사와 誘起된 캘러스의 褐變化로 인한 再分化能의 저하로 植物體 再分化가 어려워 體細胞 胚發生이 용이할 것으로 생각되는 미숙 화뢰의 어린 花梗을 배양하였다. 2, 4-D와 NAA 농도를 달리한 6종의 배지에 치상하여 캘러스 형성 및 성장을 조사한 결과는 표 5와 같다. 캘러스 형성은 1~2 mg/l 2, 4-D와 NAA 첨가 배지에서 모두 높은 형성율을 보였으며, 캘러스 성장도 1~2 mg/l 2, 4-D와 2 mg/l NAA 첨가 배지에서 양호하였다. 배양초기에 나타나는 置床 組織의 褐變化 현상은 유럽 절편보다 심하지 않았으나, 유기된 캘러스는 연갈색의 물기있는 非胚發生 캘러스가 대부분이었다. 0.5 mg/l 2, 4-D 첨가 배지에서는 캘러스 형성율이 낮고 캘러스 生長도 느렸으나, 캘러스 활력은 고농도에서보다 연황색

의 윤기있는 캘러스로 發達하였다. 최·박<sup>2)</sup>은 2, 4-D와 NAA 단독처리시 3 mg/l의 고농도보다 0.1이나 1 mg/l의 低濃度에서 胚發生 캘러스 發生이 양호하였다고 하여 본 실험 결과와 유사하였다.

장·민<sup>3)</sup>은 강활의 미숙화서 배양에서 1~2 mg/l 2, 4-D와 NAA가 캘러스 形成에 효과적이며, NAA는 이보다 낮거나 높을 경우 캘러스 형성율이 낮아진다고 하였다. 또한 고 등<sup>4)</sup>도 도라지 화사배양에서 2 mg/l 2, 4-D, NAA, kinetin 첨가시 배양 20일 경부터 非胚發生 캘러스가 왕성하게 增殖되었다고 하였으며, 김·소<sup>5)</sup>는 파의 화기배양에서 1 mg/l 2, 4-D 첨가시 胚發生 캘러스가 형성되었다고 하여 식물의 종류 및 부위에 따라 캘러스 유기 및 형성된 캘러스의 특성에 차이가 있음을 알 수 있다.

Table 5. Effects of growth of regulators on callus induction from peduncle of immature inflorescence in *A. koreana* Max.

Treatment* (mg/l)	No. of explant	Callus induction (%)	Callus growth	
2, 4-D	0.5	60	25 (41.7)	+
	1.0	60	39 (65.0)	+++
	2.0	60	49 (81.7)	+++
NAA	0.5	60	12 (20.0)	+
	1.0	60	34 (56.7)	++
	2.0	60	46 (76.7)	+++

\* Basic medium : MS+250 mg/l proline, 1 g/l casein hydrolysate and 5 g/l Gelrite  
\*\* + ; Good, ++ ; Very good, +++ ; Excellent

植物體 再分화를 위하여 0.5 mg/l 2, 4-D 첨가 배지에서 유기된 연황색 및 유백색 캘러스를 0.5 mg/l 2, 4-D와 1 mg/l kinetin, 5 mg/l ABA와 AgNO<sub>3</sub>를 첨가한 培地에 옮겨 캘러스 生長 및 體細胞 胚發生 양상을 조사하였다. 계대 배양 2주경부터 윤기있는 유백색 및 연황색의 캘러스가 발달하였으며, 幼葉 캘러스 培養에서와 같이 ABA와 AgNO<sub>3</sub>添加로 캘러스의 褐變化도 거의 나타나지

않았다. AgNO<sub>3</sub>는 에틸렌 抑制作用이 있어 器官分화를 촉진하는 것으로 알려져 있는데, Purhauser & Gyulai<sup>16)</sup>는 100 μM AgNO<sub>3</sub>의 첨가가 밀과 트리티케일, 유채의 캘러스 배양에서 再分化率을 현저히 촉진시키고, 유채 캘러스의 경우 線點形成을 향상시켰다고 하였다. 이 등<sup>8)</sup>은 배추 자엽 조직배양에서 100μM AgNO<sub>3</sub>가 植物體再分화를 현저히 촉진하였다고 하였다. ABA도 캘러스의 활력을 오랫동안 유지시키므로 植物體의 再分화를 증진시키고, 현탁배양에서 균일한 體細胞 胚의 발달을 촉진하는 것으로 알려져 있다<sup>1, 18)</sup>. 體細胞 胚는 윤기있는 유백색 및 연황색의 캘러스 표면에서 발달하였다 (Fig. 2A, B). 이들 體細胞 胚는 약 2주후부터 이 상비대하여 기형적으로 자랐는데, 이는 培地內生長調節劑의 영향으로 생각된다. 體細胞 胚는 非胚發生 캘러스로 보이는 갈변화된 캘러스의 표면에서도 발달하였는데, 그 빈도는 아주 낮았다 (Fig. 2C). 배발생 캘러스 및 체세포 배의 형성은 幼葉 由來 캘러스에서는 관찰할 수 없었으나, 花梗 由來 캘러스에서는 많은 體細胞 胚가 형성되는 것을 볼 수 있었는데, 이는 배양조직에 따라 전형성능이 다르기 때문으로 생각된다<sup>12)</sup>. 성숙한 體細胞 胚는 0.2 mg/l 2, 4-D와 1 mg/l kinetin을 첨가한 MS 배지에 옮겨 植物體 발생을 유도하였다 (Fig. 2D). 再分化된 植物體의 뿌리에 캘러스가 형성되었는데 (Fig. 2D), 이는 培地內 2, 4-D의 影響으로 보였다. 이상과 같은 결과로 미루어 보아 강활의 캘러스 형성은 저농도의 2, 4-D에서도 가능할 것으로 생각된다. 최·박<sup>2)</sup>도 강활의 미숙배 배양에서 0.01 mg/l 2, 4-D와 0.01 mg/l BA 혼용 배지에서 胚發生 캘러스의 증식이 양호하였으며, 배양기간이 길어짐에 따라 非胚發生 캘러스의 표면에 2차적으로 胚發生 캘러스가 형성되었다고 하였다.

강활의 植物體 分化能은 배양 부위에 따라 크게 차이가 있어서 幼葉으로부터는 胚發生 및 器官分화를 관찰할 수 없었으며, 미숙 화뢰의 花梗 由來 캘러스로부터는 體細胞 胚發生이 비교적 용이하였다. 따라서 강활의 세포배양 및 植物體 再분화에는 未熟胚나 花器 組織을 이용한 胚發生 캘러스의 대량증식이 효과적일 것으로 생각된다.

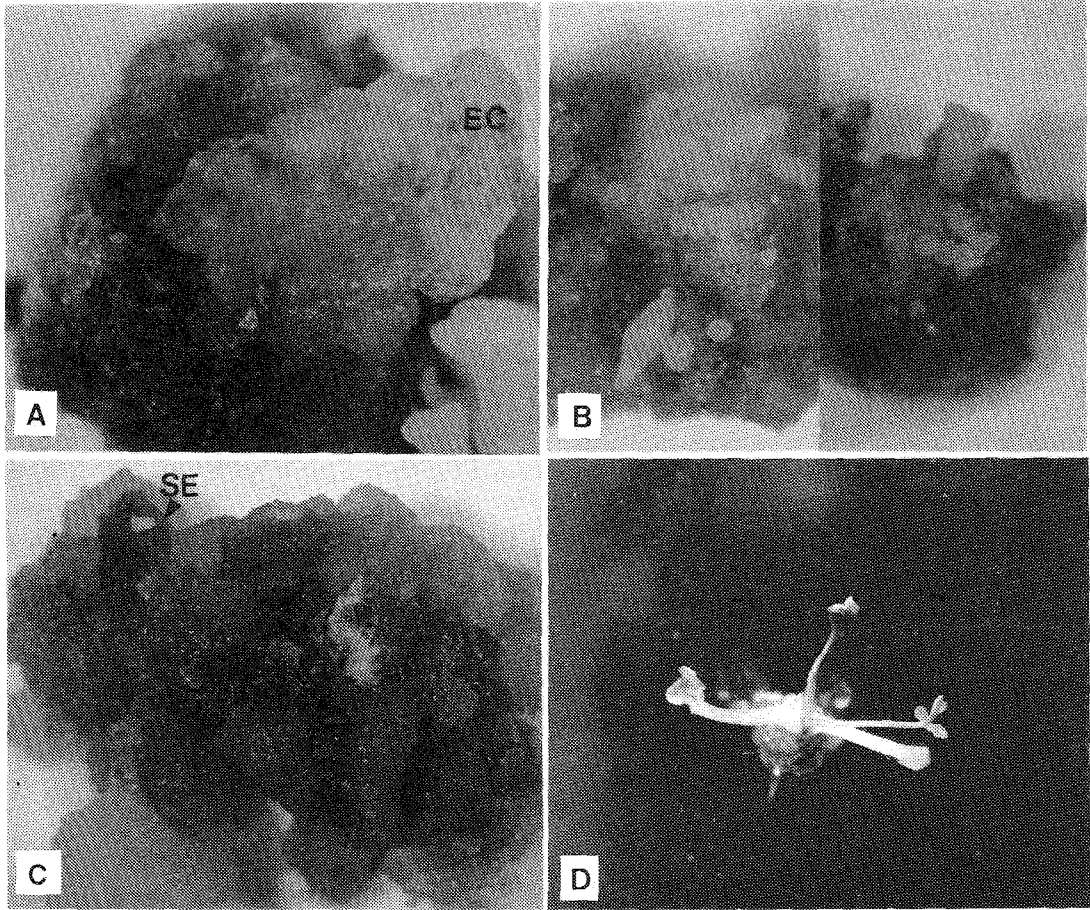


Fig. 2. Plant regeneration and somatic embryogenesis from callus of peduncle of *A. koreana* Max.

- A : Embryogenic callus(EC)
- B : Somatic embryos on the surface of embryogenic callus
- C : Somatic embryo(SE) on the surface of browning callus
- D : Plantlet developed from matured somatic embryo.

## 摘 要

羌活(*Angelica koreana* Max.)의 캘러스 배양과 植物體 再分化에 필요한 배양 조건을究明하기 위하여 幼葉 및 未熟花蕾의 花梗 배양에 미치는 生長調節劑, sucrose 및 培地 凝固劑 등의 影響을 調査한 結果는 다음과 같다.

1. 幼葉 由來 캘러스 生長은 1 mg/l 2,4-D를 첨가한 MS 배지에서 왕성하여, 生體重 및 乾物重이 가장 높았다.

2. 캘러스 生長을 위한 적정 sucrose 농도는 2% 였으며, sucrose 농도가 증가함에 따라 캘러스 生長이 억제되는 경향이였다.

3. 培地 凝固劑에 따른 캘러스 生長은 1.2% agar, 0.4% Gelrite에서 生體重 및 乾物重이 가장 높았다.

4. 배지내 10mg/l ABA와 5~10mg/l AgNO<sub>3</sub> 첨가는 幼葉 由來 캘러스의 褐變化를 현저히 억제하였으며, 無處理보다 캘러스 활력도 높았다.

5. 未熟 花蕾의 花梗 배양에서 캘러스 형성율은

NAA보다 2, 4-D가 효과적이었으며, 2 mg/l 2, 4-D를 첨가한 배지에서 81.7%로 가장 높았고, 캘러스 성장도 왕성하였다.

6. 幼葉 由來 캘러스로부터는 植物體가 再分化되지 않았으나, 未熟 花의 花梗 由來 캘러스는 0.5 mg/l 2, 4-D, 1 mg/l kinetin, 5 mg/l ABA와 5 mg/l AgNO<sub>3</sub> 첨가배지에서 體細胞 胚가 형성되었으며, 이들 體細胞 胚로부터 植物體가 發生되었다.

## 引用文獻

1. Ammirato P. V. 1974. The effects of abscisic acid on the development of somatic embryos from cells caraway (*Carum carvi* L.). Bot. Gaz. 135 : 328 - 337
2. 최은경, 박학봉. 1995. 강활 (*Ostericum koreanum*) 과 지리강활 (*Angelica purpurae-folia*) 의 미숙종자로부터 고빈도의 체세포배 발생과 식물체 재분화. 한국식물조직배양학회지 22(5) : 299 - 305
3. 장기원, 민경수. 1994. 강활 (*Angelica koreana* MAX.) 조직배양을 통한 캘러스 유도과 식물체 재생. 한국작물학회지 39(6) : 537 - 541
4. 정재동, 한증술, 김원배. 1995. 작약 (*Paeonia lactiflora* Pall.) 의 화사유래 캘러스로부터 체세포 배 발생. 한국식물조직배양학회지 22(1) : 47 - 52
5. 김재훈, 소용영. 1993. 파 (*Allium fistulosum* L.) 의 화기조직배양으로부터 체세포배 발생. 한국식물조직배양학회지 20(5) : 227 - 232
6. 고정애, 김영선, 은종선. 1993. 도라지 (*Platycodon sceleratus* L.) 의 화사 배양에 의한 배발생 및 식물체 재분화. 한국식물조직배양학회지 20(5) : 283 - 288
7. 권태오, 김태수, 이승엽. 1995. 산수유의 약배양에 관한 연구. 약작지 3(3) : 233 - 239
8. 이혜승, 조화진, 김병동. 1995. 에틸렌 저해제에 의한 배추 자엽조직의 기내 재분화율 향상.

한국식물조직배양학회지 22(5) : 267 - 272

9. 이형주. 1989. 식물세포배양에 의한 유용물질 생산. '89농업생물공학 심포지움. 서울대학교 농과대학 부속 농업개발연구소. p 207 - 235
10. 이중호, 이승엽. 1995. 배지용고제와 성장조절제가 벼 약배양에 미치는 영향. 한국식물조직배양학회지 22(1) : 35 - 40
11. Liu L. F., and K. L. Lai 1985. High frequency plant regeneration from water-stressed rice tissue cultures. In Abstracts of the First International Congress of Plant Molecular Biology. p 11
12. Lu C. and I. K. Vasil: 1982. Somatic embryogenesis and plant regeneration in tissue cultures of *Panicum maximum* Jacq. Amer. J. Bot. 69 : 77 - 81
13. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant 15 : 477 - 497
14. 농촌진흥청. 1994. 약초재배. 표준영농교본-7. 농촌진흥청. 수원. 322p
15. 박병우, 이중호, 권태오. 1996. 강활의 캘러스 및 植物體中 Ge含量에 미치는 GeO<sub>2</sub>와 Citric acid의 影響. 약작지 4(1) : 투고중
16. Purharser L. and G. Gyulai. 1993. Effect of copper on shoot and root regeneration in wheat, triticale, rape and tobacco tissue cultures. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 35 : 131 - 139
17. 서정식, 정병찬, 손서규, 김기식, 김동한. 1994. 강활의 묘크기가 추대 및 수량에 미치는 영향. 약작지 2(2) : 114 - 120
18. Wang A. S. and R. L. Phillips 1984. Synchronization of suspension culture cells. In IK Vasil eds., Cell culture and somatic cell genetics of plants. Vol. 1. Laboratory procedures and their applications, Academic press, Inc. p 175 - 181