

물레나물 약배양에 의한 부정 싹초 및 식물체 재분화

고정애^{1*}, 김현순², 김형무¹

¹전북대학교 농업생명과학대학 생물자원과학부, 농업과학기술연구소, ²농촌진흥청 작물과학원

Adventitious Shoot and Plant Regeneration from Anther Culture of *Hypericum ascyron* L.

Jeong Ae Ko ^{1*}, Hyun Soon Kim² and Hyung Moo Kim¹

¹Faculty of Biological Resources Science, College of Agriculture, Chonbuk National University, Institute of Agricultural Science & Technology, Chonbuk National University, JeonJu 561-756, Rep. of Korea

²National Institute of Crop Science, Rural Development Administration 151 Suinro, Seodun-Dong, Gwonseon-Gu Suwon 441-857, Rep. of Korea

Abstract - In order to investigate the effects of low temperature pretreatment of floral bud and plant growth regulators on anther-derived callus and shoot differentiation, anthers were cultured on 1/2 MS medium supplemented with 2,4-D, NAA, BA and TDZ. This plant depends on the plant growth regulators, for these anthers couldn't respond on 1/2 MS medium without plant growth regulators. 2,4-D was a prerequisite substance in this experiment, especially 52.6% of callus formation on MS medium with 2.0 mg/L 2,4-D alone. However, the optimum medium was on 1/2 MS medium with 0.1 mg/L 2,4-D and 1.0 mg/L BA for continuous growth and shoot differentiation from the anther. Calli derived from on MS medium with 2.0 mg/L 2,4-D transferred to the 1/2MS medium with TDZ and BA. TDZ were less superior to BA, only one anther could produce shoot on MS media with 1.0 mg/L TDZ. On the other hand, when the calli transferred to the medium with 3.0 mg/L BA, adventitious shoots were proliferated, subsequently, regenerated shoots elongated from the embryogenic calli. After floral buds of one week before anthesis were incubated at 5°C refrigerator for eight or fifteen days, anthers separated from floral buds were cultured on 1/2 MS medium supplemented with 0.1 mg/L 2,4-D and 1.0 mg/L BA. Callusing and shoot differentiation on anthers from treated at 5°C for eight days were more effective than those of fifteen days or control.

Key words - anther-derived callus, adventitious shoots, 2,4-D, NAA, BA, TDZ

서 언

물레나물(*Hypericum ascyron* L.)은 쌍떡잎식물 측막 태좌목 물레나물과에 속하는 다년생 초본식물로 우리나라에는 고추나물, 물레나물, 망종화 등 13종이 분포되어있다. 전국의 숲 가장자리 또는 밭둑 등지의 토양이 기름지고 양지 바른 곳에 주로 분포되어 자라며 꽃 모양이 마치 물레를 연상케 한다하여 붙여진 이름이다. 우리나라에서 *Hypericum*속 식물은 7-8종이 서식하고 있으나 물레나물과 가장 유사한 식물은 큰 물레나물(*Hypericum ascyron* var. *longistylum*)이 있다. 이 속의 꽃들은 유럽과 서아시아에서는 성요한의 꽃

으로 알려져 있으며, 주성분이 hypericin, hyperforin, 정유, 플라본, 탄닌, 수지 등으로 주로 생리활성 효과가 있으며, 꽃잎 즙액은 적색염료로 약용 외에 화주의 착색제로, 향기, 탄닌, 수지, 정유 등은 Tutsun이라 하는 약초로 이용되며 베인 상처에 특효가 있다고 한다. 물레나물의 살균 작용효과가 과학적으로 인정되었으며, 씨를 달인 즙은 히스테리, 우울증, 신경통, 생리통, 이뇨제 등으로 쓰이고 있다. 물레나물은 다년초로서 키는 30-40 cm로 자라며 6-8월에 노란색의 꽃이 피어 약용 외에 정원재료로 관상 가치가 크기 때문에 물레나물의 개화기를 조절하므로 유망한 자생식물로서 화훼화 시키고자 하는 연구가 수행되었다 (Kim, 1997). 물레나물과 유사한 고추나물에 대한 연구는 다양하여 Hypericin 함량(Kim et al., 2005), 면역 활성

*교신저자(E-mail) : kjam@chonbuk.ac.kr

(Park et al., 2004), RAPD방법을 이용한 유연관계 분석 (Kim et al., 2005)과 액아배양(Jin et al., 2006), TDZ를 이용한 미세번식(Kim et al., 2006) 등 조직배양에 관한 연구가 행해진 반면 물레나물에 관한 연구는 극히 미미한 실정이다.

물레나물과 같이 약용과 관상 가치가 있는 식물체의 유전자원 보존을 위한 다량증식방법과 유용유전자의 이입에 의한 형질전환, 육종자료가 될 수 있는 다양한 목적을 위해 기내 재분화 체계 확립이 절실히 요구된다. 물레나물에 대한 조직배양에 관한 연구는 아직까지 보고된 바 없으며 본 연구에서는 개화기를 중심으로 약 배양을 실시하였던 바 다량의 식물체를 얻었기에 화뢰의 저온처리 및 식물생장조절물질이 약 유래 캘러스 및 식물체 재분화에 미치는 효과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

식물재료 및 약배양

전북대학교 학술림 포장에 식재되어 있는 물레나물에서 개화 1주일 전(6월 20일경) 화뢰(크기 10-15 mm)를 채취하여 5°C 냉장고에 0, 8일 및 15일간 저온처리 하였으며 치상전 70% 에탄올에 30초간 침지하고 7% calcium hypochlorite 수용액에 10분간 소독과 멸균수로 4-5회 수세한 다음 배지에 치상하여 22 ± 1°C와 50 μmol·m⁻²·s⁻¹, 16/8h 광주기로 조절된 성장상에서 배양하였다.

식물생장조절물질 및 배양조건

MS(Murashige and Skoog, 1962) 및 1/2MS 기본배지에 식물생장조절물질을 첨가하지 않거나, 2,4-D(1.0, 2.0, 3.0 mg/L)단용처리, 0.1 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L BA, 0.5 mg/L NAA와 1.0 mg/L BA 및 0.5 mg/L NAA와 1.0 mg/L TDZ를 혼용 처리한 8조합 배지에서 약배양 반응여부를 조사하였고, 형성된 캘러스는 0.1 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L BA 혼용처리된 1/2MS 배지에서 60일간 계대배양 하였다. 한편, 증식된 캘러스는 BA와 TDZ를 1.0, 2.0, 3.0, 5.0 mg/L씩 처리한 1/2MS 배지에 계대배양 후 싹초분화에 미치는 BA와 TDZ 효과를 조사하였다.

조사방법

초기 캘러스 형성율 및 형성된 캘러스로부터 싹초 분화는 10일 간격으로 현미경하에서 관찰하였고 배양 120일경

에는 캘러스로부터 shoot 재분화 수를 육안으로 조사하였다.

결과 및 고찰

약 유래 캘러스 형성 및 싹초 재분화에 미치는 식물생장 조절물질 효과

물레나물 약배양에 있어서 약 유래 캘러스 유도에 미치는 배지 및 식물생장조절물질의 효과를 조사하기 위해 MS 및 1/2MS 기본배지에 2,4-D, NAA, BA, TDZ를 단용 또는 혼용 처리한 후 120일간 배양하였다(Fig. 1). 개화 1주일 전의 화뢰 내 약을 분리하여 기본배지별 배양 90일까지 약배양 변화를 관찰한 결과 MS 배지보다 1/2MS 배지에서 캘러스 형성율이 높았으며 따라서 기본 배지는 1/2MS 배지로 선정하였고 2,4-D(1.0, 2.0, 3.0 mg/L) 단용 및 0.1 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L BA, 0.5 mg/L NAA와 1.0 mg/L BA 또는 0.5 mg/L NAA와 1.0 mg/L TDZ를 혼용처리 하였다. 물레나물의 약은 극히 작고 치상당시 노랑색을 띄었으나 배양기일이 경과됨에 따라 담갈색으로 변하였다. NAA와 BA 및 NAA와 TDZ 혼용처리에서는 초기 약벽에서 담황색의 단단한 캘러스가 형성되기 시작하여 배양 90일 경에는 전체치상수의 12.7%와 10.6%의 캘러스가 각각 형성되었는데 2,4-D단용 및 BA와 혼용에 비해 캘러스 형성에는 부적합 하였다.

2,4-D가 첨가된 배지내에서 약은 약벽을 통하거나 약내

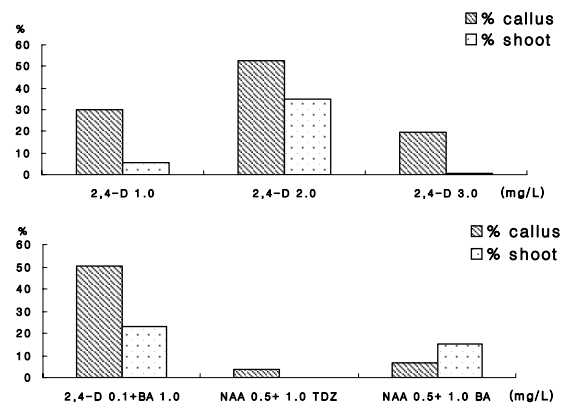


Fig. 1. Effect of plant growth regulators on callus induction and shoot differentiation in anther culture of *Hypericum ascyron* L. on 1/2MS medium with 1.0, 2.0, 3.0 mg/L 2,4-D alone, 0.5 mg/L NAA and 1.0 mg/L BA or 0.5 mg/L NAA and 1.0 mg/L TDZ after 120 days of culture.

부에서 팽대와 단단한 캘러스가 형성되었으며 약유래 캘러스 형성율은 1.0 mg/L과 2.0 mg/L 2,4-D 단용처리에서는 30%와 52.6%이었고 0.1 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L BA 혼용 처리시에는 25%이었으나, 3.0 mg/L 2,4-D 단용 처리구에서는 19.8%정도가 형성되어 물레나물의 약배양시 2,4-D는 캘러스형성에 필요한 물질로 생각되었다.

그러나 3.0 mg/L 이상 2,4-D를 처리한 경우 오히려 캘러스 형성이 저조하였으며 배양 90일 경부터는 농갈색, 흑색으로 변한 후 고사하였다. 특히 2.0 mg/L 2,4-D 단용 처리된 배지내에서 약들은 갈변된 약벽을 뚫고 약내부에서 유연한 점액성 캘러스가 형성되었으며 배양 120일 경에는 점액성 캘러스상에 희고 단단한 형태의 돌기들이 발생되어 물레나물 약배양에 가장 효과적이었다(Photo. 1B)

화뢰의 저온 전처리 효과

화뢰의 저온 전처리가 약배양에 미치는 효과를 조사하기 위해 개화 1주일 전(6월 20일경) 1.0-1.5 cm 크기의 화뢰를 채취하여 5°C 냉장고에서 8일 및 15일간 처리한 후 0.1 mg/L

2,4-D와 1.0 mg/L BA 혼용 첨가된 1/2 MS 배지에 120일 간 배양한 결과 캘러스형성 및 shoot 분화에 현저한 차이가 나타났다. 즉, 즉 저온처리하지 않은 대조구의 약은 약벽이 팽대하거나 약격이 열개되면서 캘러스가 형성되다가 배양 30일이 경과되었을 때는 점차 갈변되기 시작하였으며 배양기간이 경과됨에 따라 약내 캘러스가 모두 급속히 갈변되었다(Photo. 1A).

그러나 5°C 냉장고에서 8일간 또는 15일간 전처리한 후 배양한 약에서는 대조구에 비해 약들이 오랫동안 생존해 있으면서 약벽 또는 약내에서 캘러스가 배양 2주 후부터 형성되기 시작하여 배양 60일경에는 처리별로 각각 79.8%와 42.7%의 캘러스 형성율을 보여 대조구의 25% 보다 월등한 효과가 있었다. 특히 5°C에서 8일간 처리한 화뢰에서 약들은 배양전 상태가 양호하였으나 15일간 처리한 화뢰내 일부 약들은 중앙부위쪽 일부 약을 제외하고는 저온장해를 입어 기내배양에서도 그 효과가 나타난 것으로 생각되며 따라서 물레나물의 약배양에는 5°C의 8일간이 가장 효과적인 저온처리기간으로 생각되었다.

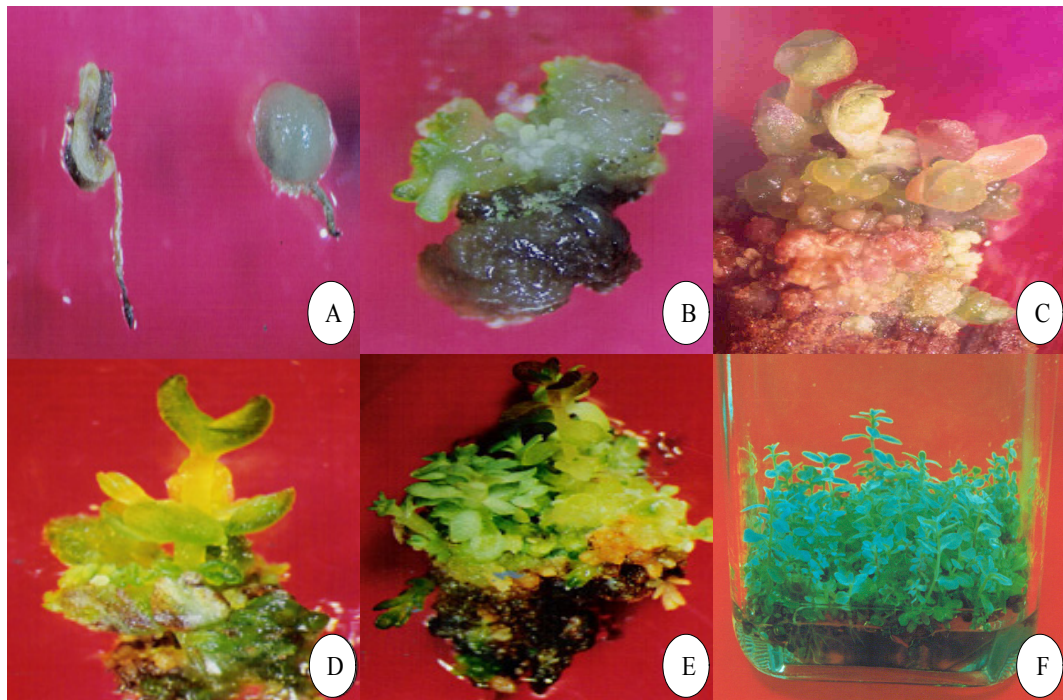


Photo. 1. Effects of plant growth regulators and low temperature of floral bud on callus induction and adventitious shoot regeneration through anther culture of *Hypericum ascyron* L. Anthers without treated low temperature of *Hypericum ascyron* L. were changed brown easily and died (A). Organogenic callus induced from anthers treated at 5°C for 8 days on 1/2MS medium on 2.0 mg/L 2,4-D alone after three months of culture (B). Adventitious shoots differentiated from the anther derived calli transferred to the medium with 0.1 mg/L 2,4-D and 1.0 mg/L BA (C, D) and 3.0 mg/L BA alone (E) after four months of culture. Multiple shoots and roots formed on 1/2MS medium without plant growth regulators (F).

부정 신초 재분화에 미치는 TDZ와 BA 효과

2.0 mg/L 2,4-D 단용처리에 의해 약유래 형성된 캘러스를 분리하여 캘러스의 지속적 증식 및 다수의 부정신초를 유도하기 위해 0.1 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L BA 혼용처리, BA 및 TDZ를 각각 1.0, 2.0, 3.0, 5.0 mg/L 씩 단용처리한 배지에 30일 간격으로 계대 배양하여 신초 재분화에 미치는 cytokinin 효과를 조사하였다. 1.0 mg/L TDZ 처리에서 단 1개의 신초가 분화된 것을 제외하고 TDZ 첨가된 모든 배지에서 캘러스는 검고 단단하여 더 이상 증식이 되지 않아 TDZ 처리는 물레나물 약유래 캘러스에서 신초 재분화에 효과가 거의 없었다.

반면에 BA 처리구에서는 농도에 따라 차이는 있었지만 캘러스로부터 shoot가 모두 분화되어 TDZ에 비해 효과적이었다. 1.0과 2.0 mg/L BA 처리에서 캘러스는 배지면에 접한 부위부터 점차 갈변되었으나 일부 캘러스에서는 담황색 및 담녹색 캘러스가 증식되어 곧바로 shoot로 재분화하였는데(Photo. 1C, 1D), 특히 3.0 mg/L BA 처리구에서 캘러스는 거의 모두 캘러스로부터 shoot가 왕성하게 분화되어 본 실험에서 가장 효과적이었다(Photo. 1E).

그러나 BA 농도가 5.0 mg/L로 고농도 첨가되었을 때에는 캘러스의 갈변 정도가 심하였고 shoot 재분화는 기대할 수 없었다. 한편, 0.1 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L BA 혼용 배지에 계대 배양한 캘러스는 지속적으로 동일한 캘러스를 증식시켰으며 일부 캘러스에서는 돌기형태의 단단한 캘러스가 증식되어 이들 돌기에서 shoot가 분화되기도 하여 그 효과가 인정되었으나 3.0 mg/L BA 처리구 보다는 그 수가 적었다.

부정 신초를 분리하여 식물생장조절물질이 첨가되지 않은 1/2MS 배지에 계대배양 한 결과 1주일 후부터 shoot 기부에서 희고 가는 뿌리가 다수 발생되었고, 외형적으로 정상적인 식물체가 재분화 되었다(Photo. 1).

고 찰

약배양에 의해 획득되는 반수성 캘러스 및 식물체는 유전 육종에 귀한 자료가 될 수 있기 때문에 많은 작물에서 약배양을 실시해 왔다. 모식물체의 유전적, 생육적 생리상태, 배지 및 식물생장조절물질, 화분의 이형현상, 약의 저온 전처리 효과 등 약배양에 미치는 여러 요인이 식물마다 다르기 때문에 약 유래 캘러스 또는 식물체를 얻기 위해서

모든 식물의 약배양 실시에 기본적으로 식물생장조절물질과 저온처리 효과가 우선되어야 한다.

약 배양에 요구되는 식물생장조절물질의 종류와 농도는 식물에 따라 다양한데 도라지(Lee et al., 1993), 개구리자리(Lee et al., 1993), 미나리아재비(Ko et al., 1994) 할미꽃(Ko et al., 2006) 등은 2,4-D와 kinetin보다는 NAA와 BA 혼용조합에서, 그리고 백합류(Lee et al., 1992; Ko, 1999)와 백색칼라(Ko et al., 1996) 등은 반대로 NAA와 BA 혼용보다 2,4-D 단용 또는 kinetin과 혼용처리된 조합에서 캘러스 및 배발생이 효과적이었다.

한편 약유래 형성된 캘러스나 배로부터 식물체 재분화에 요구되는 식물생장조절물질의 종류와 농도 역시 식물에 따라 차이가 있는데, 백색칼라의 경우, 2,4-D와 kinetin 1.0 mg/씩 처리하여 기관 분화성 캘러스 발생이 양호하였으나 0.5 mg/L NAA와 1.0 mg/L BA 또는 2.0 mg/L씩 NAA와 BA를 혼용처리하였을 경우 배발생적 캘러스를 통해 2배체 식물이 재분화 되었다(Ko et al., 1996). 백합의 경우도 5.0 mg/L 2,4-D 단용 및 1.0 mg/L씩 2,4-D와 kinetin이 혼용처리되었을 때 기관분화성 캘러스는 발생 되었으나 0.5 mg/L NAA와 1.0 mg/L BA 혼용처리에서 callus에서 shoot가, 2.0 mg/L씩 NAA와 BA 혼용처리시에는 3-4매 잎이 부착된 다아체의 형성 및 소자구 분화에 양호하여 이와같이 동일 식물에서 조차 캘러스 및 배발생과 식물체 재분화에 단계별로 요구되는 식물생장조절물질의 종류와 농도는 각각 달랐다.

물레나물의 경우 식물생장조절물질이 첨가되지 않은 배지에서는 전혀 반응을 나타내지 않는 식물생장조절물질에 의존적인 식물로 2,4-D 단용 특히 2.0 mg/L 2,4-D 처리시 기관분화성 캘러스가 유도되었고 1.0 mg/L BA와 혼용처리 하므로 지속적인 캘러스증식과 shoot가 분화되어 약배양에 필수적으로 2,4-D가 요구되는 식물로 백합, 칼라 등의 식물과 비슷하였다.

본 재료인 물레나물(*Hypericum ascyron* L.)은 고추나물(*Hypericum erectum* Thunberg), 서양에서 불리는 성 요한의 꽃으로 불리는 St. John's wort(*Hypericum perforatum* L.)와 등과 같이 물레나물과에 속하나 이들 식물들이 함유하고 있는 hypericin 함량을 비교하였을 때 hypericin은 고추나물의 꽃과 잎의 작고 검붉은 점에 집중되어 있으며 St. John's wort 에도 이런 검붉은 점이 있는데 반해 물레나물에서는 관찰되어지지 않았다고 하였고(Kim et al., 2005),

RAPD 분석을 통한 한국산 물레나물속(*Hypericum*) 식물에서의 유연관계를 분석한 결과 고추나물 이 동일과에 속한 물레나물보다 *St. John's wort*와 유연관계가 더 가까운 것으로 나타났다고 한다(Kim et al., 2005). 이와같이 동일 과에 속하는 식물일지라도 함유된 성분에서도 차이가 있듯이 조직배양을 함에 있어서도 배양 절편 부위에 따라 요구되는 식물생장조절물질은 상이한 것으로 나타났다.

물레나물과 같은 속의 고추나물 식물체의 액아를 TDZ와 BA를 MS와 1/2MS 배지에 농도별로 처리하여 6주간 배양한 결과 0.005 mg/L TDZ 첨가구에서 가장 양호하였고 발생 신초는 0.5 mg/L IBA와 1.0 mg/L GA₃가 첨가된 1/2MS 배지에서 뿌리의 발생과 신장이 양호하였다고 하였다(Kim et al., 2006). 고추나물 마디를 통해 다량증식에 요구되는 적합 cytokinin을 구명하기 위해 BA, kinetin, 2ip 및 TDZ를 이용한 결과 TDZ가 다른 cytokinin에 비해 효과적이었으며 4.5 μM TDZ처리에서 1개 shoot가 발생된 반면 특히 10 μM TDZ가 증식에 적합 하였다고 한다(Kim et al., 2006). 그러나 본 실험의 물레나물 약유래 캘러스로부터 신초 및 다신초를 분화시키기 위해 0.1 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L BA 혼용처리, BA 및 TDZ를 각각 1.0, 2.0, 3.0, 5.0 mg/L 씩 단용 처리한 배지에 30일 간격으로 계대 배양하여 신초 분화에 미치는 cytokinin 효과를 조사한 결과 TDZ 처리구에서는 단 1개의 신초가 1.0 mg/L TDZ처리에서 분화되었을 뿐 고추나물의 배양에서와 같이 TDZ 효과는 기대할 수 없었다.

반면에 BA 처리구에서는 농도에 따라 차이는 있었지만 캘러스로부터 shoot가 모두 분화되어 TDZ에 비해 효과적이었다. 1.0과 2.0 mg/L BA 처리에서는 담갈색 캘러스로부터 녹색 캘러스가 형성되었고 곧이어 shoot가 분화되었고, 특히 3.0 mg/L BA 처리구에서 캘러스는 거의 모두 shoot가 왕성하게 분화되어 본 실험에서 가장 효과적이었다.

그러나 BA 농도가 5.0 mg/L로 고농도 첨가되었을 때에는 캘러스의 갈변 정도가 심하였고 shoot 분화는 기대할 수 없었다. 한편, 0.1 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L BA 혼용 배지에 계대 배양한 캘러스는 지속적으로 동일한 캘러스를 증식시켰으며 일부 캘러스에서는 돌기형태의 단단한 캘러스가 증식되어 이들 돌기에서 shoot가 분화되기도 하여 그 효과가 인정되었으나 3.0 mg/L BA 처리구 보다는 그 수가 적었다.

물레나물의 약배양에서 저온처리 하지 않은 약을 배양하

였을 때 배양 중 약은 쉽게 갈변되었고 형성되는 캘러스의 활력도 저온처리구와 비교하였을 때 현저하게 떨어져 저온 처리에 의한 약과 형성된 캘러스 생육에 효과가 뚜렷하였다. 한편, 식물에 따라서는 저온처리 온도와 기간이 캘러스 및 배형성에 영향을 주는데, 개구리자리의 경우 1, 5, 10°C의 처리 중 각 온도별 10일간 처리가 효과적이었으며 특히 10°C의 10일처리는 캘러스유도 및 배발생에 가장 탁월하였으며 분화된 식물체에서 화뢰가 형성되기도 하였다(Lee et al., 1993).

백합 약을 1°C에서 10일간, 10°C에서 3일간 저온 처리하여 극소수 약에서 callus 및 배 형성되었고(Lee et al., 1992), 백색칼라 약을 5°C에서 6일간 처리하므로 무처리 및 10°C 처리구에 비해 캘러스 발생속도가 30일 가량 빨랐으며 재분화된 식물체 생육도 왕성하여 가장 효과적이라 하였는데(Ko et al., 1996) 본 실험의 물레나물의 약도 5°C에서 8일간 및 15일간 처리하여 배양한 결과 두 처리구 모두 대조구에 비해 약 및 캘러스의 생육이 오랫동안 왕성하게 진행되었으며 발생된 캘러스의 활력도 장기간 요하는 약배양 기간동안 비슷한 속도로 유지할 수 있어 저온효과가 인정되었다. 그러나 5°C에서 15일간의 처리는 배양전 약 상태에 피해가 되었으며 이로 인해 배양 중 8일 처리에 비해 효과가 적은 것으로 생각되어 물레나물의 약배양에 있어서 5°C의 8일간 저온전처리는 캘러스 형성과 식물체 재분화에 효과적인 범위로 생각되었다.

적 요

물레나물 약유래 캘러스로부터 신초 재분화에 미치는 저온 전처리 및 식물생장조절물질의 효과를 조사하기 위해 약배양을 실시하였다. 약유래 캘러스 유도 및 식물체 재분화에 미치는 식물생장조절제의 효과를 조사하기 위해 2,4-D, NAA, BA 및 TDZ를 8종류로 혼합한 1/2 MS 배지에 약배양을 실시한 결과 물레나물은 식물생장조절물질에 의존적인 식물로 배지내 식물생장조절물질이 첨가되지 않으면 캘러스가 형성되지 않았다. 2,4-D가 포함된 배지에서 약유래 캘러스 형성이 양호하였으며 2.0 mg/L 2,4-D 단용 처리에서 캘러스 형성율이 52.6%로 가장 높았으며 지속적 캘러스의 증식 및 shoot 분화는 0.1 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L BA 혼용처리가 효과적이었다. 2.0 mg/L 2,4-D 단용처리에 의해 형성된 캘러스로부터 부정적 다수의 신초분화에 미치는

TDZ와 BA 효과를 조사한 결과 1.0 mg/L TDZ 처리구에서 단 한개의 shoot가 분화된 것을 제외하고는 캘러스가 갈변되어 효과적이지 못하였으나 모든 BA 처리구에서 캘러스는 shoot가 분화되어 TDZ에 비해 효과적이었다. 특히 3.0 mg/L BA 처리구에서는 캘러스 모두 shoot로 분화되어 다수의 multishoot가 형성되어 가장 효과적이었다. 개화 1주일전의 화뢰를 5°C에서 8일간, 15일간 저온 처리하여 0.1 mg/L 2,4-D와 1.0 mg/L BA 혼용처리된 MS 배지에 배양한 결과 무처리에 비해 처리구에서 약의 생육기간이 길었으며 특히 5°C 15일간 저온처리한 약이 배양기간 동안 지속적으로 캘러스 및 부정 shoot를 형성하여 저온처리 효과가 있었다.

인용문헌

- Jin, M.L., D.W. Nam., J.C. Ahn and B. Hwang. 2006. Micropropagation of *Hypericum erectum* by axillary bud culture. Korean J. Medicinal Crop Sci. 14(1):23-26
- Kim, O.T., K.H. Bang., D.S. In., T.S. Kim., N.S. Seong., S.W. Cha., J.C. Ahn and B. Hwang. 2006. Micropropagation of *Hypericum erectum* Thunberg by using Thidiazuron. Korean J. Medicinal Crop Sci. 14(5):278-281
- Kim, S.H., Y.J. Jung., J.C. Ahn and B. Hwang. 2005. Hypericin contents of *Hypericum erectum* Thunberg. Korean J. Medicinal Crop Sci. 13(3):101-104
- Kim, S.H., E.S. Kim., S.H. Kim., J.C. Ahn and B. Hwang. 2005. Analysis of genetic relationships in *Hypericum erectum* Thunb. by RAPD. Korean J. Medicinal Crop Sci. 13(4):141-145
- Ko, J.A. 1999. Plant regeneration by anther culture of *Lilium asiatic hybrid* 'Gran Paradiso'. Korean J. Plant Tissue Cult. 26(1):1-6
- Ko, J.A., Y.S. Kim., M.J. Kim and J.S. Eun. 1994. Immature pollen -derived plant regeneration in anther cultures of *Ranunculus japonicus* Thunb. Korean J. Plant Tissue Cult. 21(5):293-297
- Ko, J.A., Y.S. Kim and J.S. Eun. 1996. Embryogenesis and plant regeneration by the anther culture of *Zantedeschia aethiopica* spp. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 37(3):468-474
- Ko, J.A., 1999. Plant regeneration by anther culture of *Lilium asiatic hybrid* 'Gran Paradiso'. Korean J. Plant Tissue Culture 26(1)1-6
- Ko, J.A. and H.S. Kim. 2006. Microspore-derived embryogenesis and plant regeneration from anther culture of *Pulsatilla cernua* var. *koreana*. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 24(2)209-295
- Lee, B.K., J.A. Ko and B.M. Park. 1992. Plant regeneration by the anther culture of *Lilium elegance* 'Enchantment'. Bulletin of the Agricultural College Chonbuk National University. 24:9-18
- Lee, B.K., J.A. Ko., Y.S. Kim and J.S. Eun. 1993. Plant regeneration by the anther culture of *Ranunculus sceleratus* L. Korean J. Plant Tissue Cult. 20(3):147-151
- Lee, B.K., J.A. Ko., Y.S. Kim and J.S. Eun. 1993. Embryogenesis and plant regeneration in anther cultures of *Platycodon grandiflorum*. Korean J. Plant Tissue Cult. 20(3):153-157
- Park, J.H., D.H. Kim., G.P. Choi., H.R. Lee., Y.L. Kang and H.Y. Lee. 2004. Immune activities on *Hypericum perforatum* L. Korean J. Medicinal Crop Sci. 12(4):304-308
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue. *Physiol Plant* 15:473-497
- Murch, S.J., K.L. Choffe., J.M.R. Victor., T.Y. Slimmon., R.S. Krishna and P.K. Saxena. 2000. Thidiazuron-induced plant regeneration from hypocotyls cultures of St. John's wort (*Hypericum perforatum* Cv. 'Anthos'). *Plant Cell Report* 19:576-581

(접수일 2008.7.25; 수락일 2008.9.4)