Korean J. Plant Res. 25(4):456-464(2012)
http://dx.doi.org/10.7732/kjpr.2012.25.4.456

Original Research Article

야생 참당귀(*Angelica gigas* N.)의 기내발아 및 기관유도에 미치는 PGRs의 영향

이수광, 조원우, 이송희, 박광우[1], 최 경[1], 강호덕*
동국대학교 바이오환경과학과, [1]국립수목원 산림자원보존과

Effects of Plant Growth Regulators on *In Vitro* Germination and Organ Formation of Wild *Angelica gigas* N.

Su-Gwang Lee, Won-Woo Cho, Song-Hee Lee, Kwang-Woo Park[1], Kyung Choi[1] and Ho-Duck Kang*
Department of Biological and Environmental Science, Dongguk University, Seoul 100-175, Korea
[1]Korea National Arboretum, Pochen 487-821, Korea

Abstract - This study was conducted to establish the *in vitro* optimal condition for seed germination and organogenesis of wild *Angelica gigas*. The experiment was evaluated the effects of GA_3 for pre-treatment with different periods of time (0h, 24h, 48h, 72h) and followed the treatment of seeds by control, scarification and methanol-heating method. As a result, the highest rates (15%) of seed germination was shown under the treatment without soaking of GA_3 and methanol-heating treatment. The seed germination was highly increased 60% under the condition of treatment on ultrasonic waves (frequency 80 KHz) with methanol-heating treatment including 0.1 mg/L GA_3. The highest callus induction rate was obtained from *in vitro* germinated stem, root and hypocotyl on the MS medium with 1.0 mg/L NAA and 0.5 mg/L BA. The highest percentages of shooting (50%) and rooting (85%) induction were observed in hypocotyl and root cultured on PGRs free medium and 0.1 mg/L NAA, respectively. In addition, somatic embryogenesis was observed from stem (1.0 mg/L 2,4-D) and hypocotyl (0.1 mg/L NAA).

Key words - *Angelica gigas*, *In vitro* germination, Micropropagation, Somatic embryogenesis

서 언

당귀는 산형과에 속하는 약용식물로서 우리나라 각처의 산지에 자생하는(Choo *et al.*, 2009) 다년초로 높이 1～2 m로 자라며 뿌리는 약용으로 사용되고 어린잎은 식용으로 사용되는 유용한 자원식물이다(Lee, 2001). 당귀는 일당귀(*Angelica acutiloba*), 참당귀(*Angelica gigas*), 중국당귀(*Angelica sinensis*)의 세 종류로 구분되며 모두 한방에 이용되는 전통 한약재로서 국내에서는 참당귀의 약효가 가장 뛰어나 널리 재배되고 있으며 2008년도에 2,581 M/T이 710 ha 에서 생산되었다(농림수산식품부, 2009). 한방에서의 참당귀 효능은 풍병(風病), 혈병(血病), 허로(虛勞)를 낫게 하며, 궂은 피를 헤치고, 새 피를 생겨나게 하고, 온학(溫瘧)을 낫게 하고, 오장을 보하며 살이 살아나게 한다(Huh, 1999). 이와 같이 우리나라에서 자생하는 야생 참당귀는 효능이 다양하고 뛰어난 유용약용작물로서 그 수요가 재배종 보다 더 각광을 받고 있지만 무분별한 남획으로 야생종의 개체수가 점차 감소하고 있다(Yook *et al.*, 2000). 야생종은 광범위한 유전자 집단을 구성하고 있을 뿐만 아니라 다양한 환경 스트레스에 대응할 수 있는 유전자를 내포하고 있어 품종개량으로서 이용 가능성이 매우 높아(Cho *et al.*, 1998), 실제 야생종을 대상으로 생명공학기술과 육종기술을 적용하여 새로운 품종을 개발한 바 있다(Kim *et al.*, 2003; 조 등, 2007). 그 중에서 품종개량을 위해 야생종을 대상으로 한 기내선발 기법은 GMO에 대한 위험성과 부담감 없이 농민이 원하는 요구를 만족시켜 줄 수 있는 최적의 기술이다. 기내선발은 야생종의 우량개체의 선발을 통하여 대량생산이 가능하며 유용자원 확보와

*교신저자(E-mail) : hdk0225@dongguk.edu

ⓒ 본 학회지의 저작권은 (사)한국자원식물학회지에 있으며, 이의 무단전재나 복제를 금합니다.

동시에 육종의 소재로서 활용이 가능한 장점을 비롯하여 원하는 형질의 개체를 획득할 수 있으며, 획득한 형질과 더불어 목적으로 하는 유용물질생산이나 생리·생태적 특성에 관한 연구가 가능하다. 실제 야생 참당귀 종자를 대상으로 신품종을 육성한 사례가 보고되었지만(김, 2011) 발아율이 낮으며 발아하더라도 대부분 미생물 감염으로 인한 물리적 손상이 야기되는 문제가 발생한다. 따라서 발아율을 효율적으로 높이는 연구가 진행됨과 동시에 미생물 감염을 감소시켜 주는 기내 무균발아 연구가 필요하다.

지금까지 참당귀의 종자발아 및 기내배양에 관한 연구는 몇몇 연구자에 의해 수행되었으며(Cho and Kim, 1993; Lee *et al.*, 1999; Yu *et al.*, 1996) 야생 참당귀의 종자발아에 관한 연구는 Kim(2004)에 의해 보고되었으나 발아율이 저조하였다. 참당귀의 기내배양 연구는 모상근 생산과 형질전환된 모상근으로부터 decursin의 정제와 생산에 관한 연구(Xu *et al.*, 2008; Xu *et al.*, 2009), 잎에서 유래된 캘러스에서 체세포배 유도에 관한 연구(Choi and Soh, 1993; Cho *et al.*, 1998) 등이 이루어져 있을 뿐 기관분화에 따른 식물체 생산에 관한 일련의 연구는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구는 야생 참당귀의 무균묘 확보, 대량생산체계 확립 및 품종개발을 위한 기초연구로 기내에서의 발아율 향상과 기내발아 무균식물체에서의 기관분화에 미치는 PGRs의 영향을 구명하고자 수행하였다.

재료 및 방법

공시재료

2010년 9월 중순 정선에 위치한 가리왕산의 해발 1,000 m 지점에서 성숙된 참당귀 종자를 채취하여 공시재료로 사용하였다. 채취된 종자는 정선하여 냉장보관(0～4℃)하였다가 실험 전에 꺼내어 사용 하였다.

기내발아에 미치는 GA_3 전처리 효과

GA_3(Gibberellic acid) 용액 침지처리(100 ppm)가 종자발아에 미치는 영향을 살펴보기 위해 0, 24h, 48h, 72h의 침지처리 시간을 달리하여 비교하였다. 또한 표면소독은 종자를 30분간 수돗물 수세 후, 70% 에탄올에 30초간 침지시켜 종자 소독 전처리를 하였다. 종자소독을 2% NaOCl 용액에 30분간 침지처리 하였으며, 멸균수로 5회 세척하였다. 또한 종자 처리가 오염과 발아에 미치는 영향을 조사하기 위해 대조구, 메스로 기계적인 가상처리를 한 처리구 및 종자를 메탄올에 침지 후 불을 붙여 소독하는 표면 메탄올 가열 소독법(메탄올 가열법)으로 처리한 처리구를 두어 그 효과를 각각 비교하였다. 각 처리구 당 종자 15개씩 2반복 치상하였으며 오차를 줄이기 위해 위와 같은 실험을 3회 반복하였다. 발아 배지는 1/2 MS(Murashige and Skoog, 1962) 배지를 기본으로 하여 0.5 mg/L GA_3 첨가 유무에 따른 효과도 검정하였다.

기내발아에 미치는 초음파 및 PGRs의 효과

기내발아 향상 및 오염율 저하를 위해 메탄올 가열법, 초음파, 초음파 + 메탄올 가열법으로 종자를 처리하였다. 초음파(frequency 80 KHz) 처리는 4% NaOCl 용액이 담긴 Cornical 튜브에 참당귀 종자를 침지시킨 후 30분간 초음파 처리를 실시하였다. 처리된 종자는 1/2 MS 배지에 PGRs로서 GA_3, BA(6-benzylaminopurine), TDZ(thidiazuron)를 각각 0, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 mg/L를 첨가하여 제조하여 처리하였으며, 각 처리구 당 종자 15개씩 3반복 치상하였고 오차를 줄이기 위해 위와 같은 실험을 3회 반복하였다.

기내발아 야생 참당귀 조직절편의 기관유도에 미치는 PGRs 효과

PGRs가 기관유도에 미치는 영향을 살펴보기 위해 기내에서 발아된 야생 참당귀 조직절편(줄기, 뿌리, 자엽, hypocotyl)을 각각 1.5～2 cm로 잘라 준비된 배지에 치상하였다. 배지조건은 MS 기본배지에 PGRs를 첨가하지 않은 대조구, 2,4-D(2,4-dichlorophenoxyacetic acid)와 NAA(α-naphtalene acetic acid)를 각각 0.1, 0.5, 1.0, 5.0 mg/L 첨가구와 일반적으로 조직배양에 쓰이는 1.0 mg/L 2,4-D와 0.01 mg/L TDZ 혼용처리구, 그리고 1.0 mg/L NAA와 0.5 mg/L BA의 혼용처리구도 비교하였다. 조직치상 8주 후 각 조직에서의 기관 분화율(캘러스, 신초, 뿌리)과 유도된 신초와 뿌리의 개수와 길이를 측정하였다.

통계처리

본 실험에 수집된 데이터는 평균(means) ± 표준오차(standard error)로 산출하였으며, 집단 간 변이를 알아보기 위해 일원배치 변량분석(one-way ANOVA)을 실시하였고, 유의성이 있는 경우 Duncan multiple range test(P=0.05)로 2차 검증하였다. 또한 모든 통계처리는 SPSS(ver. 12.0 Kor) 프로그램을 사용하였다.

결과 및 고찰

기내발아에 미치는 GA_3 전처리 효과

치상 9일 후 종자발아가 시작되었으며, 발아 시험 4주 이내에 종자발아가 완료되어 더 이상 발아가 진행되지 않았다. GA_3 전처리 시간과 농도에 따른 야생당귀 종자 발아율과 오염율의 상관관계를 비교한 결과 유의성은 없으나, 오염율이 높으면 발아율도 떨어지는 것으로 나타났다(Table 1). 본 연구를 통해 야생당귀의 오염율은 18～89%를 나타내었고, 표면 메탄올 가열법으로 처리한 종자의 오염율이 낮게(19～43%) 나타났다. 발아율은 100 ppm GA_3 용액에 침지처리를 하지 않고 메탄올 가열법으로 처리한 종자를 0.5 mg/L의 GA_3가 첨가된 배지에 치상하였을 때 가장 높은 발아율 15%를 보였지만, Kim(2004)이 보고한 야생 참당귀의 발아율 47%에 비해 발아율이 낮게 나타났다. 이는 기내환경이라는 제한된 상태에서 실험한 것과 참당귀 종자가 발아억제물질인 coumarin을 함유하고 있어 비교적 발아율이 낮게 나타난 것으로 판단된다(Yu *et al.*, 1996). 또한 야생 참당귀의 종자는 과피로 쌓여있지 않아 자연 상태에서 많은 오염원과 접촉함으로써 오염율이 높게 나타난 것으로 생각된다.

기내발아에 미치는 초음파 및 PGRs의 효과

기내발아에 미치는 GA_3 전처리 효과실험은 발아율이 저조하여 발아율 향상과 오염율 저하를 위해 초음파 처리와 PGRs의 종류 및 농도가 미치는 영향을 조사하였다. 초음파 처리 후 메탄올 가열법으로 처리한 종자를 GA_3(0.1 mg/L)가 첨가된 1/2 MS 배지에 치상하였을 때 가장 높은 발아율(60%)을 보였으며, 오염율 또한 초음파 처리 및 메탄올 가열법으로 처리한 종자가 다른 조건보다 상대적으로 낮은 오

Table 1. Effects of GA_3 on *in vitro* seed germination and contamination in 1/2 MS media

Soaking pre-treatment (GA_3 100 ppm)	GA_3 concentrations (mg/L)	Seed treatment	Germination (%)	Contamination (%)
Control	0	Con	0.0 ± 0.0 d	86.3 ± 4.4 a
	0	Scarification	0.0 ± 0.0 d	89.0 ± 3.7 a
	0	Fire	0.0 ± 0.0 d	26.6 ± 0.8 d
	0.5	Con	10.6 ± 1.7 ab	64.6 ± 7.3 b
	0.5	Scarification	5.0 ± 2.4 c	26.0 ± 2.6 d
	0.5	Fire	15.0 ± 4.6 a	23.0 ± 4.7 d
24h	0	Con	0.0 ± 0.0 d	87.6 ± 6.7 a
	0	Scarification	0.0 ± 0.0 d	79.3 ± 12.3 ab
	0	Fire	0.0 ± 0.0 d	43.3 ± 13.2 c
	0.5	Con	0.0 ± 0.0 d	63.0 ± 5.6 b
	0.5	Scarification	0.0 ± 0.0 d	76.6 ± 5.6 ab
	0.5	Fire	0.0 ± 0.0 d	26.6 ± 3.2 d
48h	0	Con	0.0 ± 0.0 d	44.0 ± 16.3 c
	0	Scarification	1.6 ± 0.8 c	26.3 ± 8.1 d
	0	Fire	0.0 ± 0.0 d	23.6 ± 3.8 d
	0.5	Con	0.0 ± 0.0 d	63.3 ± 7.6 b
	0.5	Scarification	3.3 ± 1.5 c	80.3 ± 3.9 ab
	0.5	Fire	0.0 ± 0.0 d	21.6 ± 2.9 d
72h	0	Con	11.2 ± 1.2 ab	76.6 ± 4.6 ab
	0	Scarification	0.0 ± 0.0 d	73.6 ± 3.5 ab
	0	Fire	5.6 ± 2.8 c	25.6 ± 5.8 d
	0.5	Con	1.6 ± 0.8 c	61.3 ± 8.9 b
	0.5	Scarification	6.6 ± 2.2 c	23.6 ± 6.1 d
	0.5	Fire	6.6 ± 1.7 c	18.6 ± 2.2 d

Values are means ± standard error.
Mean values followed by the same *letter* do not differ significantly according to Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

염율(9.7～15.1%)을 나타냈다(Table 2). 초음파 처리는 공동화로 인해 미세한 공동화기포가 생성되며, 생성한 기포가 파열하는 진행과정을 거치게 된다. 이 과정에서 수용액의 증기가 기포 내로 유입되고 또한 기포내에 에너지가 축적되어 기포내부의 온도와 압력이 높아진다. 충분히 발생한 기포가 폭발적으로 파열될 때 기포내의 고온고압가스가 순간

Table 2. Effects of PGRs (plant growth regulators) on seed germination and contamination under *in vitro* condition on 1/2 MS media mount

PGRs	Concentrations (mg/L)	Seed treatment	Germination (%)	Contamination (%)
Control	0	Fire	30.3 ± 3.0 c	25.4 ± 1.5 b
	0	Ultra	3.7 ± 1.8 f	20.7 ± 3.7 c
	0	Fire + Ultra	0.0 ± 0.0 g	17.3 ± 4.3 cd
TDZ	0.1	Fire	11.0 ± 2.0 e	25.0 ± 3.5 ab
	0.1	Ultra	20.2 ± 2.7 d	17.7 ± 2.1 cd
	0.1	Fire + Ultra	0.0 ± 0.0 g	15.6 ± 1.7 d
	0.5	Fire	5.1 ± 1.5 f	24.3 ± 2.4 bc
	0.5	Ultra	14.6 ± 2.4 de	25.4 ± 3.9 b
	0.5	Fire + Ultra	48.8 ± 3.8 b	10.1 ± 2.1 e
	1.0	Fire	0.0 ± 0.0 g	22.4 ± 3.9 c
	1.0	Ultra	14.7 ± 2.4 de	20.1 ± 1.9 c
	1.0	Fire + Ultra	0.0 ± 0.0 g	13.7 ± 2.1 d
	5.0	Fire	5.0 ± 0.9 f	30.8 ± 2.9 a
	5.0	Ultra	0.0 ± 0.0 g	22.0 ± 2.8 c
	5.0	Fire + Ultra	2.1 ± 0.7 f	15.1 ± 2.7 cd
BA	0.1	Fire	28.4 ± 6.3 cd	22.7 ± 1.4c
	0.1	Ultra	13.2 ± 2.9 de	25.7 ± 2.7ab
	0.1	Fire + Ultra	28.5 ± 5.2 cd	10.8 ± 2.1e
	0.5	Fire	18.8 ± 3.0 d	23.4 ± 3.7 bc
	0.5	Ultra	27.9 ± 7.4 cd	21.5 ± 1.7 c
	0.5	Fire + Ultra	10.5 ± 1.2 e	14.0 ± 1.4 d
	1.0	Fire	17.1 ± 4.3 de	21.4 ± 3.8 c
	1.0	Ultra	5.3 ± 2.0 f	23.4 ± 1.4b c
	1.0	Fire + Ultra	28.5 ± 4.7 cd	13.7 ± 0.9 d
	5.0	Fire	8.6 ± 2.4 f	27.8 ± 4.9 b
	5.0	Ultra	11.0 ± 2.4 e	23.7 ± 3.4 c
	5.0	Fire + Ultra	20.5 ± 3.2 d	15.1 ± 1.4 cd
GA3	0.1	Fire	2.9 ± 1.4 f	23.4 ± 0.8 bc
	0.1	Ultra	1.8 ± 0.9 f	12.7 ± 1.7 de
	0.1	Fire + Ultra	60.0 ± 0.7 a	11.1 ± 1.2 e
	0.5	Fire	0.0 ± 0.0 g	29.7 ± 4.8 a
	0.5	Ultra	14.6 ± 0.5 de	21.1 ± 1.7 c
	0.5	Fire + Ultra	27.9 ± 4.4 cd	12.0 ± 1.9 de
	1.0	Fire	12.9 ± 1.2 e	21.4 ± 1.9 c
	1.0	Ultra	0.0 ± 0.0 g	21.5 ± 2.4 c
	1.0	Fire + Ultra	27.2 ± 2.0 cd	10.4 ± 1.1 e
	5.0	Fire	1.7 ± 1.0 f	26.7 ± 2.8 ab
	5.0	Ultra	1.8 ± 1.1 f	20.0 ± 1.1 c
	5.0	Fire + Ultra	0.0 ± 0.0 g	9.7 ± 0.7 f

Values are means ± standard error.
Mean values followed by the same *letter* do not differ significantly according to Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

적으로 방출되면서 충격파를 발생한다(Lee *et al.*, 2006). 이와 같은 작용으로 인해 야생 참당귀 종자 표면의 이물질과 미생물이 세척되어 발아를 촉진한 것으로 판단된다. 따라서 초음파 처리 및 메탄올 가열법이 야생 참당귀종자의 기내발아를 위한 멸균방법으로 적절한 것으로 생각된다.

기내발아 야생 참당귀 조직절편의 기관유도에 미치는 PGRs 효과

줄기의 기관분화 실험에서 캘러스 유도율은 1.0 mg/L NAA + 0.5 mg/L BA 혼용처리구에서 가장 높게(100%) 나타났으며, 발근율은 NAA(0.5 mg/L)가 첨가된 배지에서 가장 높게(86.7%) 관찰되었고, 뿌리 수와 길이 또한 6.8 ± 1.2 개와 2.1 ± 0.2 cm로 가장 높았다(Fig. 1A, Table 3). 반면 2,4-D(0.5 mg/L, 1.0 mg/L, 5.0 mg/L)가 첨가된 배지에서는 캘러스 유도율과는 상관없이 모든 처리구에서 뿌리가 유도되지 않았다. 대체적으로 발근율이 높을수록 뿌리의 수도 증가하였으며 그에 따른 길이도 길게 관찰되었다.

뿌리의 기관분화 실험시 PGRs 첨가구에서 높은 캘러스 유도율(77～100%)을 보였다(Table 4). 특히 뿌리에서 신초가 유도되었으며 최대 신초 유도율는 1.0 mg/L NAA 처리구에서 가장 높게(13.7%) 나타났으며 0.1 mg/L NAA 처리구에서 신초수(3.1 ± 0.7 개)와 신초길이(2.3 ± 0.5 cm)가 가장 높게 발달하였다. 발근율은 0.1 mg/L NAA 첨가구에서 본 실험에 사용된 조직(줄기, 뿌리, 자엽, hypocotyl) 중 가장 높게(100%) 나타났으며 뿌리수(11.1 ± 2.7 개)와 뿌리 길이(3.1 ± 0.9 cm) 또한 가장 높게 나타났다(Fig. 1B).

자엽의 기관분화 실험시 1.0 mg/L NAA + 0.5 mg/L BA 첨가구에서 가장 높은 캘러스 유도율(66.7%)과 발근율(29.2%)을 보였다(Fig. 1C, Table 5). 뿌리 수와 길이는 5.0

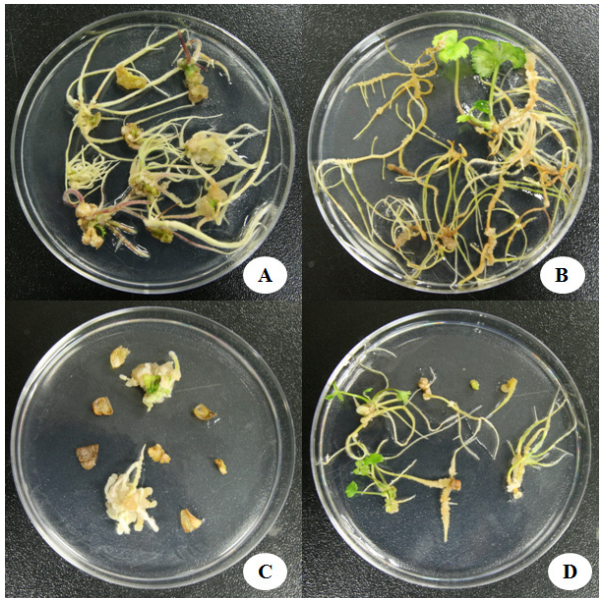

Fig. 1. *In vitro* organ formation of *Angelica gigas*.
(A) *In vitro* callus and root formation from stem on MS medium with 0.5 mg/L NAA, (B) callus, root and shoot formation from root on MS medium 0.1 mg/L NAA, (C) callus and root formation from cotyledon on MS medium with 1.0 mg/L NAA and 0.5 mg/L BA. (D) callus, root and shoot formation from hypocotyl on basal MS medium.

Table 3. Effect of PGRs on *in vitro* organ formation from stem explant on MS media

PGRs	Concentrations (mg/L)	Callus formation (%)	Root formation (%)	Root No.	Root Length (cm)
Control	0	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 d
2,4-D	0.1	86.7 ± 13.3 a	30.0 ± 12.5 c	3.8 ± 0.6 bc	0.6 ± 0.1 c
	0.5	80.0 ± 16.5 a	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 d
	1.0*	88.3 ± 2.8 a	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 d
	5.0	30.0 ± 10.7 c	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 d
NAA	0.1	60.0 ± 12.2 b	65.0 ± 12.5 ab	2.6 ± 0.4 c	1.6 ± 0.1 ab
	0.5	86.7 ± 6.7 a	86.7 ± 6.7 a	6.8 ± 1.2 a	2.1 ± 0.2 a
	1.0	90.0 ± 7.5 a	75.0 ± 7.8 a	4.2 ± 0.7 b	1.2 ± 0.1 bc
	5.0	90.0 ± 7.5 a	50.0 ± 15.4 b	5.1 ± 0.9 b	1.1 ± 0.1 bc
2,4-D 1.0 + TDZ 0.01		94.1 ± 4.5 a	3.1 ± 1.5 d	1.0 ± 0.2 c	0.5 ± 0.1 c
NAA 1.0 + BA 0.5		100 ± 0.0 a	85.0 ± 4.5 a	7.1 ± 0.7 a	2.6 ± 0.2 a

*Embryogenic callus formation occurred on the medium.
Values are means ± standard error.
Mean values followed by the same *letter* do not differ significantly according to Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

mg/L NAA 처리구에서 각각 9.5±3.4개와 0.8±0.2 cm로 가장 높게 나타났다. 반면 대조구에서는 캘러스 유도 및 발근이 진행되지 않았으며, 2,4-D 처리구에서는 10%이내의 캘러스 유도율을 확인하였으나 발근은 진행되지 않았다. 자엽 기관분화 실험시 다른 조직(줄기, 뿌리, hypocotyl) 보다 캘러스 유도율 및 발근율이 저조한 것으로 확인되었다.

Hypocotyl 기관분화 실험시 캘러스 유도율은 모든 처리구에서 83~100%로 높게 나타났다(Table 6). 신초 유도율은 1.0 mg/L NAA + 0.5 mg/L BA 첨가구에서 본 실험에 사용된 조직(줄기, 뿌리, 자엽, hypocotyl) 중 가장 높게(85%) 나타났으며 신초 수와 길이는 대조구에서 높게(3.5±0.5개, 2.1±0.3 cm) 나타났다(Fig. 1D). 발근율은 0.1 및 0.5

Table 4. Effect of PGRs on *in vitro* organ formation from root explant on MS media

PGRs	Concentrations (mg/L)	Callus formation (%)	Shoot			Root		
			Formation (%)	No.	Length (cm)	Formation (%)	No.	Length (cm)
Control	0	28.6±14.2 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 d	45.5±8.5 c	2.4±0.6 c	2.2±0.6b
2,4-D	0.1	100±0.0 a	13.4±1.3 a	2.5±0.5 ab	1.7±0.4 a	64.3±8.6 b	4.4±0.6 bc	2.9±0.5a
	0.5	92.9±7.2 a	7.2±2.4 b	3.1±0.7 a	0.5±0.1 c	16.7±1.5 d	1.0±0.1 c	0.6±0.2c
	1.0	92.9±7.2 a	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 d	0.0±0.0 e	0.0±0.0 d	0.0±0.0 d
	5.0	77.8±12.2 ab	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 d	11.8±0.7 d	1.0±0.2 c	0.8±0.3c
NAA	0.1	93.8±6.2 a	6.3±2.5 b	3.1±0.7 a	2.3±0.5 a	100±0.0 a	11.1±2.7 a	3.1±0.9a
	0.5	100±0.0 a	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 d	85.7±7.2 a	10.2±1.6 a	1.8±0.2b
	1.0	100±0.0 a	13.7±4.3 a	2.3±0.4 b	0.9±0.3 bc	77.8±11.1 ab	7.5±1.2 b	1.9±0.1b
	5.0	100±0.0 a	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 d	66.9±10.7 b	6.7±2.3 b	0.7±0.1c
2,4-D 1.0 + TDZ 0.01		90.1±1.7a	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 d	4.5±0.8 d	4.0±1.4 bc	1.0±0.1 bc
NAA 1.0 + BA 0.5		100±0.0 a	6.3±2.5 b	3.0±0.3 a	1.2±0.3 b	83.4±8.9 a	10.6±2.4 a	2.7±0.8 ab

Values are means ± standard error.
Mean values followed by the same *letter* do not differ significantly according to Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

Table 5. Effect of PGRs on *in vitro* organ formation from cotyledon explant on MS media

PGRs	Concentrations (mg/L)	Callus formation (%)	Root formation (%)	Root	
				No.	Length (cm)
Control	0	0.0±0.0 d	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 b
2,4-D	0.1	6.3±1.4 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 b
	0.5	8.4±3.4 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 b
	1.0	0.0±0.0 d	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 b
	5.0	8.5±2.9 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 b
NAA	0.1	0.0±0.0 d	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 b
	0.5	11.1±4.5 bc	11.1±3.4 b	9.0±2.1 a	0.8±0.2 a
	1.0	11.8±3.5 bc	11.8±1.8 b	3.5±1.2 b	0.7±0.1 a
	5.0	16.7±4.3 b	11.1±3.4 b	9.5±3.4 a	0.8±0.2 a
2,4-D 1.0 + TDZ 0.01		11.0±2.4 bc	0.0±0.0 c	0.0±0.0 c	0.0±0.0 b
NAA 1.0 + BA 0.5		66.7±4.6 a	29.2±3.2 a	5.3±1.9 ab	0.4±0.1 ab

Values are means ± standard error.
Mean values followed by the same *letter* do not differ significantly according to Duncan's multiple range test at $P=0.05$.

Table 6. Effect of PGRs on *in vitro* organ formation from hypocotyl explant on MS media

PGRs	Concentrations (mg/L)	Callus formation (%)	Shoot			Root		
			Formation (%)	No.	Length (cm)	Formation (%)	No.	Length (cm)
Control	0	94.0 ± 2.4 ab	50.0 ± 2.1 b	3.5 ± 0.5 a	2.1 ± 0.3 a	58.0 ± 7.4 b	5.6 ± 1.6 a	5.6 ± 1.2 a
2,4-D	0.1	100 ± 0.0 a	18.6 ± 4.1 c	3.0 ± 0.6 ab	1.1 ± 0.3 ab	6.3 ± 2.1 c	1.0 ± 0.1 c	0.7 ± 0.2 c
	0.5	100 ± 0.0 a	16.7 ± 4.3 c	1.5 ± 0.4 bc	0.6 ± 0.4 b	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 d
	1.0	83.2 ± 4.9 b	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 c	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 d
	5.0	83.2 ± 5.3 b	0.0 ± 0.0 e	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 c	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 d	0.0 ± 0.0 d
NAA	0.1*	100 ± 0.0 a	14.3 ± 7.4 c	4.0 ± 1.2 a	0.9 ± 1.5 ab	92.9 ± 7.1 a	3.5 ± 0.9 b	2.7 ± 0.2 b
	0.5	91.0 ± 2.4 ab	41.7 ± 5.5 b	1.3 ± 0.1 c	1.0 ± 0.5 ab	92.7 ± 4.3 a	4.0 ± 1.1 ab	1.2 ± 0.1 bc
	1.0	100 ± 0.0 a	8.3 ± 2.7 cd	1.3 ± 0.3 c	2.0 ± 0.8 a	66.7 ± 4.5 b	2.5 ± 0.3 b	0.5 ± 0.1c
	5.0	100 ± 0.0 a	12.4 ± 3.3 c	2.0 ± 0.7 b	1.1 ± 0.4 ab	64.3 ± 5.2 b	4.5 ± 1.1 ab	0.6 ± 0.1c
2,4-D 1.0 + TDZ 0.01		100 ± 0.0 a	12.5 ± 4.1 c	1.0 ± 0.2 c	0.4 ± 0.2 b	12.5 ± 3.1 c	1.0 ± 0.4 c	0.3 ± 0.1 cd
NAA 1.0 + BA 0.5		96.2 ± 1.2 ab	85.4 ± 7.2 a	2.0 ± 0.6 b	1.1 ± 0.3 ab	75.0 ± 7.1 b	3.4 ± 0.9 b	1.3 ± 0.4 bc

*Embryogenic callus formation occurred on the medium.
Values are means ± standard error.
Mean values followed by the same *letter* do not differ significantly according to Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

mg/L NAA 첨가구에서 높게(92%) 나타났으며, 뿌리수와 길이는 신초 수와 길이와 같이 대조구에서 5.6 ± 1.6 개와 5.6 ± 1.2 cm로 나타났다.

기내에서 발아된 줄기, 뿌리, 자엽, hypocotyl을 이용하여 PGRs에 따른 기관분화 실험을 실시한 결과 2,4-D 첨가보다 NAA를 첨가하였을 때, 또한 첨가량이 0.5 mg/L 이하일 때 전반적으로 발근율이 높은 것을 확인할 수 있었으며, 옥신과 시토키닌을 혼합하였을 때(1.0 mg/L NAA + 0.5 mg/L BA) 캘러스 유도율이 높은 것을 확인 할 수 있었다. Lu *et al.*(1982)과 Malamug *et al.*(1991)은 캘러스 유도 실험에 있어서 옥신계 식물생장호르몬 중 2,4-D가 가장 효율적이며 효과적이라고 보고되었지만 본 실험에서는 상이한 결과를 나타내었다. 또한 Proebsting(1984)에 의하면 옥신계 PGRs 중에서 NAA가 뿌리 발달 및 유도에 효과적이라고 보고한 바 있으며 본 실험에서도 NAA가 2,4-D에 비해 뿌리가 발달한 것을 확인할 수 있었다. 뿌리와 hypocotyl에서 유도된 건전한 식물체를 MS 기본배지에 치상하였을 때 정상적인 식물체로 발달한 것을 확인 할 수 있었다. 또한 줄기(1.0 mg/L 2,4-D 처리구)와 hypocotyl (0.1 mg/L NAA 처리구) 조직에서 체세포배발생(somatic embryogenesis) 현상을 확인 할 수 있었다(Fig. 2A). 유도된 체세포배를 별다른 처리 없이 MS 기본배지로 옮겨주었을 때 1개월 후 정상적인 체세포배 발달과정(구형→심장형→어뢰형)을 거쳐 온전한 식물체로 발달하였으며(Fig. 2A, B, C and D), 동일 MS 기본배지에 한 달 간 계대배양 한 후(Fig. 2E) 원예용 상토에 토양순화하여 정상적인 식물체를 획득하였다(Fig. 2F).

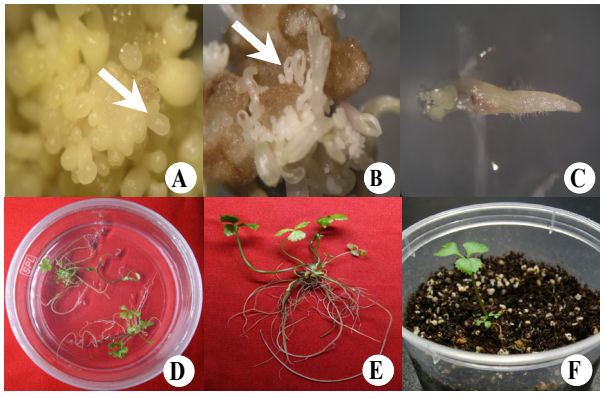

Fig. 2. *In vitro* somatic embryogenesis of *Angelica gigas*. (A) somatic embryogenesis (arrow) formation from hypocotyl on MS medium with 0.1 mg/L NAA, (B) somatic embryogenesis (arrow) formation from stem on MS medium with 1.0 mg/L 2,4-D, (C) somatic embryo germination on basal MS media, (D) plantlet formation on basal MS medium, (E) regenerated plant from embryo after 2 month culture and (F) soil acclimatization after 1 month transfer.

이상의 결과는 야생 참당귀의 기내 발아를 통해 획득한 조직으로부터 캘러스, 신초, 뿌리 조직을 유도할 수 있었으며, 조직분화를 통해 신초와 뿌리 발달이 양호한 식물체는 정상적인 식물체로 성장이 가능하였다. 또한 캘러스로부터 체세포배 발생을 통해 획득한 구형배로부터 정상적인 식물체 획득도 가능하였다. 현재 당귀 뿌리는 진정제 및 보혈제로 사용(김인환, 1971)되는 유용 자원식물로서 야생 참당귀의 기관유도실험에서 모두 뿌리가 유도된 점으로 보아 다량의 자원을 안정적으로 확보할 수 있을 것으로 사료된다. 뿐만 아니라 조직으로부터 신초와 체세포배가 유도되어 원하는 형질의 식물체를 온전하게 획득할 수 있을 것으로 판단된다. 본 실험은 현재 당귀 재배종에 국한되어 연구가 진행되어 왔던 것과는 달리 야생 참당귀를 대상으로 실험을 실행하여 대량생산, 신품종 확보 및 우량 개체 육성의 가능성을 시사하였다.

적 요

본 연구는 야생 참당귀의 무균묘 확보, 대량생산체계 확립 및 품종개발을 위해 기내발아와 기관유도에 미치는 PGRs의 영향을 알아보고자 실시하였다. 종자발아 실험은 전처리로 GA_3 침지시간(0, 24h, 48h, 72h) 및 종자의 처리방법(대조구, 기계적가상 처리, 표면 메탄올 가열 소독법)을 달리하여 실시하였다. 그 결과 GA_3에 침지시키지 않고 메탄올 가열법으로 처리한 종자를 0.5 mg/L GA_3가 첨가된 배지에서 가장 높은 발아율(15%)을 보였으나 저조하여 발아율 향상을 위해 초음파(frequency 80 KHz) 및 PGRs (GA_3, BA, TDZ)를 처리하였다. 그 결과 초음파 처리 후 메탄올 가열법으로 처리 한 종자를 0.1 mg/L GA_3가 첨가된 배지에 치상하여 발아율(60%)을 증진 시킬 수 있었다. 기내 발아된 식물체로부터 기관유도에 미치는 PGRs(2,4-D, NAA, TDZ, BA)의 영향을 살펴본 결과 캘러스 유도는 줄기, 뿌리, hypocotyl을 1.0 mg/L NAA + 0.5 mg/L BA 처리구에 치상하였을 때 높은 유도율을 보였다. 신초와 뿌리유도는 각각 hypocotyl(PGRs 무첨가)과 뿌리(0.1 mg/L NAA 첨가구)에서 효율적으로 분화되었다. 또한 줄기(1.0 mg/L 2,4-D 처리구)와 hypocotyl(0.1 mg/L NAA 처리구) 조직에서 체세포배가 발생되어 MS 기본배지에 계대배양하여 정상적인 식물체로의 육성이 가능하였다. 본 연구를 통해 무균묘 확보 및 대량생산 체계를 확립하였으며 이를 통해 신품종 개발에 유용할 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 2011~2012년도 국립수목원의 '유용탐사 식물자원의 대량증식 및 재배기술개발'(KNA1-2-15,11-6)과제의 지원을 받아 수행되었으며 실험을 도와준 구민정, 박수정 양에게 감사의 마음을 표합니다.

인용문헌

Cho D.Y., E.K., Lee and W.Y. Soh. 1998. Anomalous structure of somatic embryos developed from leaf explant cultures of *Angelica gigas* Nakai. Korean J. Plant Tiss. Cult. 25:1-5.

Cho S.H. and K.J. Kim. 1993. Studies on the increase of germination of *Angelica gigas* Nakai II. Effects of stratification, soaking and gibberelling treatment on germination. Korean J. Medical Crop Sci. 1:3-9.

Cho Y.H., S.T. Yoon and D.J. Lee. 1998. Conservation and utilization of plant genetic resources in Thailand. Kor. J. Intl. Agri. 10:40-45.

Choi Y.E. and W.Y. Soh. 1993. Effects of culture period on somatic embryo formation from callus culture of *Angelica gigas* Nakai. Korean J. Plant Tiss. Cult. 20:199-204.

Choo B.K., U.J. Yun, B.C. Moon, A.Y. Lee, J.M. Chunm T.S. Yoon and H.K. Kim. 2009. A study on environment characteristics of the *Angelica gigas* Nakai population. J. Korean. Env. Res. Tech. 12:92-100.

Huh J. 1999. Dong Eui Bo Gam. Beopinmoonhwasa. Publishing Co., Seoul. p. 1933 (in Korean).

Kim G.T. 2004. A study on the seed characteristics and germination percent of several native herb species. Kor. J. Env. Eco. 18:1-6.

Kim K.W., T.D. Kang, J.H. Lee, I.J. Lee, D.H. Shin, Y.H. Hwang, S.W. Kim and H.M. Kim. 2003. Physio-ecological characteristics of wild soybeans (*Glycine soja*) collected throughout Korea and their response to Glyphosate. Kor. J. Weed Sci. 23:153-159.

Lee D.J., Y.H. Kim and S.T. Yoon. 1999. The technology for increasing seed viability by priming treatment and plant growth regulators in medicinal plants. Kor. J. Intl. Agri. 11:85-95.

Lee J., K.T. Kim, J.H. Hong, Y.B. Lee, C.O. Rhee and J.H. Chung. 2006. Effects of ultrasound stimuli on acceleration of brown rice germination. J. of Biosystem Eng. 31:506 -513.

Lee Y.N. 2001. Korea illustrated plant book. Gyohaksa

Publishing Co., Seoul. p. 567.

Lu C., I.K. Vasil and P. Ozias-Akins. 1982. Somatic embryogenesis in *Zea mays* L. Theor. Applied Genet. 75:16-25.

Malamug, J.J.F, H. Inden and T. Asahira. 1991. Plantlet regeneration and propagation from ginger callus. Scientia -Hort. 48:89-97.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue. Physiol. Plant. 15:473-479.

Proebsting W.N. 1984. Rooting of douglas-fir stem cutting: relative activity of IBA and NAA. Hort. Sci. 19:854-856.

Xu H., J.H. Park, Y.K. Kim, N.I. Park, S.Y. Lee and S.U. Park. 2009. Optimization of growth and pyranocoumarins production in hairy root culture of *Angelica gigas* Nakai. Journal of Medicinal Plants Research. 3:978-981.

Xu H., Y.K. Kim, S.Y. Suh, M.R. Uddin, S.Y. Lee and S.U. Park. 2008. Decursin production from hairy root culture of *Angelica gigas*. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 51: 349-351.

Yook C.S., R.S. Seong, S.H. Ro, Y.H. Kim, D.H. Won, K.W. Ha and S.Y. Chang. 2000. Medicinal plants on Mt. Dae-Am in KangWon-Do (III). Natural Product Science 31:87-94.

Yu H.S., S.T. Lee, H.C. Yeong, K.S. Kim and Y.G. Kim. 1996. Germination and seedling growth characteristics of seeds with different bolting years in *Angelica gigas* NAKAI. Korean J. Medical Crop Sci. 4:193-198.

김산들. 2011. 한약재 소비 3위 '당귀' 품질 안전성 확실한 국산이 늘고 있다. 산림지. 1월호. pp. 62-66.

김인환. 1971. 약용식물도감. 농촌진흥청시험국. p. 96.

농림수산식품부. 2009. 2008 특용작물생산실적. p. 6.

조지홍, 박영은, 서효원, 이정윤, 조현묵, 이용범. 2007. 감자 근연 야생종으로부터 더뎅이병 저항성 계통 선발. 한국육종학회 학술발표회 발표요지. 38:201-202.

(Received 9 January 2012 ; Revised 16 April 2012 ; Accepted 26 July 2012)