

과제구분	기본연구	수행시기		전반기	
증장기 Code	S02/VC061401	RIMS Code			
연구과제 및 세부과제		연구분야 (Code)	수행 기간	연구실	책임자
산채 우량품종 육성 연구		S02 VC061401	'04~	특화작물 시험장	안수용
1) 곰취 우량품종 육성 연구		S02 VC061401	'04~'10	특화작물 시험장	안수용
2) 두릅 신품종 육성 연구		S02 VC061403	'05~	특화작물 시험장	김종환
3) 독활(땅두릅) 신품종 육성 연구		S02 VC061403	'09~'10	특화작물 시험장	안수용
4) 우량계통 조직배양 기술 개발		S03 VC061401	'09~'10	특화작물 시험장	김영진
5) 산삼바귀 신품종 육성 연구		S02 VC061029	'10~'10	특화작물 시험장	안수용
색인용어	조직배양, 참산부추, 곰취, 두릅, 음나무, 독활, 땅두릅, 곤달비, 켈러스				

ABSTRACT

This study was conducted to determine effects of plant growth regulators on callus formation and plant regeneration in *Allium sacculiferum* Maxim., *Ligularia fischeri*(Ledeb.) Turczaninow, *Aralia elata* (Miq.) Seemann, *Kalopanax pictus*(Thunberg) Nakai, *Aralia cordata* Thunb., and *Ligularia stenocephala*(Maximowicz) Matsumura. The explants cultured on Murashige and Skoog(MS) medium supplemented with various growth regulators such as auxin and cytokinin. Plant regeneration was obtained from bulb scale of *Allium sacculiferum* Maxim. on MS medium supplemented with 2mg/L BA and 2mg/L NAA after 8weeks of culture. For plant regeneration of *Ligularia fischeri*(Ledeb.) Turczaninow, embryogenic callus were cultured on the regeneration medium with 2mg/L BA and 2mg/L NAA. After 6weeks, plant regeneration of it was obtained on MS medium supplemented with 2mg/L BA and 2mg/L NAA. Plant regeneration of "Jinhyang" was obtained on MS medium supplemented with 1mg/L BA and 0.1mg/L NAA from callus was induced on leaf tissues of it. Callus formation and plant regeneration of *Aralia cordata* Thunb. was obtained but root formation of it wasn't appeared. Callus formation of *Kalopanax pictus*(Thunberg) Nakai, *Aralia cordata* Thunb., and *Aralia elata* (Miq.) Seemann were obtained from the leaf tissues on MS medium supplemented with 2mg/L 2,4-D after 4weeks of culture. Callus formation and plant regeneration were obtained from leaf tissues of *Ligularia stenocephala*(Maximowicz) Matsumura on MS medium supplemented with 1mg/L BA and 0.1mg/L NAA.

1. 연구목표

경제수준 향상에 따른 국민 식생활 변화는 청정 기능성 산채에 대한 관심을 고조시켰고 수요의 증가와 더불어 산채는 단순 채취농업에서 주요 산채작목의 경우에는 재배화 단지가 추진되고 있는 실정이다. 강원도는 전국 대비 산채 재배 면적(2,672.2ha) 및 농가(6,260호)의 비율이 각각 26.7, 20.1%로 높은 비중을 차지하고 있으며, 더덕, 취나물, 도라지 등 20여종의 산채가 재배되고 있다(농림수산부, 2010). 산채에 대한 관심은 고유의 유전특성을 개발하여 보다 쉽게 재배화가 가능하고 상품성이 뛰어난 우량 신품종에 대한 산채 육종 연구의 필요성을 대두시켰다. 생물다양성협약 가입 이후 종자 및 품종에 대한 품종보호권이 강화되면서 원예작물 중에는 많은 품종들이 국내에서 육성되고 있으나 산채의 경우 재배화 기간이 짧고 선발육종 및 자가수정이 어려운 품종들이 많아 왕고들빼기(안 등, 2008), 곰취(안 등, 2009)에서 우량품종이 등록되어 농가 현장에서 이용되고 있는 정도이다 선발 육종이 어려운 산채의 경우 고유의 유전형질을 고정화하기 위해 영양 번식을 이용한 번식방법이 필수적이나 분주, 삽목 등의 방법으로는 효율도 낮고 기간도 오래 걸리는 단점이 있다 난, 나리 등 원예작물의 대량증식체계 확립을 위해 이용되었던 조직배양 기술은 산채류에서는 참나물(Kim et al., 1996), 산마늘(Kim et al., 1996), 두릅(Jhang et al., 1993) 등 일부 작목에서 시도되었으나 아직까지 실용화는 미미한 실정이다. 따라서 본 연구는 강원도내에서 주로 재배되고 있는 산채류 중 품종 육성연구가 진행 중에 있어 우수한 육성계통의 대량증식을 위한 조직배양 조건을 검토하고자 수행하였다.

2. 재료 및 방법

특화작물시험장 평창분소에서 육성중인 참산부추, 곰취, 두릅, 음나무, 땅두릅, 곤달비의 인편, 엽, 생장점을 배양의 재료로 사용하였다. 절편부위는 상처가 적은 깨끗한 개체를 선별하여 흐르는 물에 깨끗이 수세하고 무균상에서 70% 에탄올로 수 초간 소독한 후 Tween-20 액을 한, 두방울 첨가한 4% NaOCl를 포함한 유한락스를 10%로 희석한 용액으로 15분간 진탕 소독하였으며, 멸균증류수로 3회 이상 세척하여 소독액을 제거하였다.

모든 실험에 사용된 배양배지는 MS(Murashige and Skoog, 1962)배지에 3% sucrose와 0.3% phytigel 또는 agar를 첨가한 후 pH 5.8로 조정된 것을 기본배지로 하였다. 배지는 멸균소독 후 배양병에 25ml씩 분주 후 멸균소독하여 사용하였다. 배양조직의 접종 치상 수는 처리구 당 9개체씩 3반복으로 하였고 25℃에서 16시간 광주기로 배양하였다. 배양 절편체에 따른 callus 유도 및 shoot 분화에 미치는 성장조절물질의 영향을 알아보기 위하여 MS 기본배지에 BA, NAA, 2,4-D, cppo 및 TDZ 등의 식물성장조절물질을 농도별로 단독 및 혼합처리 하였다.

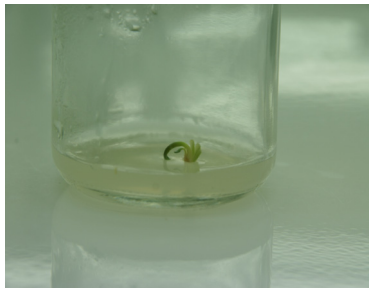
3. 결과 및 고찰

산채류의 기내배양을 통한 캘러스 유기 및 식물체 재분화는 절편부위 및 배양 조건에 따

라 다양한 양상이 나타나는 것으로 알려져 있다. 참산부추 인편과 뿌리를 BA와 NAA를 첨가한 MS 기본배지에 배양한 후 절편체로부터의 식물체 분화 양상을 조사한 결과 BA 2mg/L와 NAA2mg/L 농도에서 인경수가 4.3개였고 크기도 가장 크게 분화되었으며, BA 2mg/L와 NAA2mg/L 농도에서는 식물체 분화가 되지 않고 뿌리만 발달하였다(표 1).

표 1. 참산부추 인편의 조직배양 반응

배지조성 MS+생장조절물질(mg/L)		반응	지상부(인경)			뿌리	
BA	NAA		수(개)	직경(mm)	길이(mm)	길이(cm)	수(개)
1	1	분화	1.2	1.8	4.7	5.6	9
	2	분화	1.7	1.9	4.9	5.8	8
	3	분화	2.1	2.1	5.4	6.1	12
2	1	뿌리	2.3	2.0	5.2	6.3	14
	2	분화	4.3	2.9	7.3	7.8	16
	3	분화	2.6	2.3	6.3	7.6	14
3	1	분화	2.5	2.2	6.8	7.9	15
	2	분화	3.1	2.3	7.1	8.3	18
	3	뿌리	2.2	2.1	6.2	9.7	23



인편 치상



분화 및 증식



순화묘 포트생육(50일 후)

<그림 1> 참산부추 조직배양

곰취의 정아 등 여러 절편부위를 치상하였을 때 새로 나온 어린 잎을 이용한 처리가 MS 기본배지에 BA 2mg/L와 NAA 2mg/L 농도에서 식물체가 분화되었다(표 2). 정아, 자엽, 엽병을 치상하였을 때 신초에 비해 캘러스 형성 및 식물체 분화가 저조하였고 2,4-D 2mg/L에서 엽병과 신초를 치상하였을 때 캘러스가 형성이 되었다. cppu와 TDZ 단용 처리에서는 전혀 반응이 나타나지 않았다. 특화작물시험장에서 육성한 「진향」 곰취는 김 등(2003)의 보고와 같이 BA 1mg/L와 NAA 0.1mg/L 농도에서 식물체 분화가 나타났으며(표 3), 1/2 MS 배지에서는 BA 2mg/L와 NAA 0.1, 1mg/L 농도에서 캘러스 형성 및 신초 분화가 되었으나 식물체 분화는 나타나지 않았다.

표 2. 곰취의 조직배양 배지에 따른 반응

배지조성					곰 취			
MS+생장조절물질(mg/L)					정아	자엽	엽병	엽
BA	NAA	2,4-D	cppu	TDZ				
1		1			-	-	-	-
		2			-	-	-	+ 뿌리
		3			-	-	-	++ 뿌리
2		1			-	-	-	-
		2			-	-	-	+++ 분화
		3			-	-	△ callus	+++ 뿌리
3		1			-	-	-	-
		2			-	-	-	-
		3			-	-	-	-
		1.0			-	+ callus	-	-
		2.0			-	-	+ callus	+ callus
		3.0			+ callus	-	-	-
			1.0		-	-	-	-
			2.0		-	-	-	-
			3.0		-	-	-	-
				1.0	-	-	-	-
				2.0	-	-	-	-
				3.0	-	-	-	-

- +++ : 우수, ++ : 보통, + : 불량, - : 무반응

표 3. 배지 및 성장조정제 종류별 곰취 '진향'의 캘러스형성 및 식물체 분화 효과

배지	성장조정제		callus 형성	신초분화	식물체분화
	BA	NAA			
1/2MS	0.1	0.1	-	-	-
		1.0	-	-	-
		2.0	+	+	-
	1.0	0.1	-	-	-
		1.0	-	-	-
		2.0	+	-	-
2.0	0.1	+	+	-	
	1.0	+	+	-	
	2.0	-	-	-	
MS	0.1	0.1	-	-	-
		1.0	+	-	-
		2.0	++	+	+
	1.0	0.1	+++	++	++
		1.0	+	+	+
		2.0	-	-	-
2.0	0.1	+	-	-	
	1.0	-	-	-	
	2.0	-	-	-	

- +++ : 우수, ++ : 보통, + : 불량, - : 무반응



캘러스 형성

엽원기 생성

식물체 분화(곰취, 「진향」)

<그림 2> 곰취 조직배양

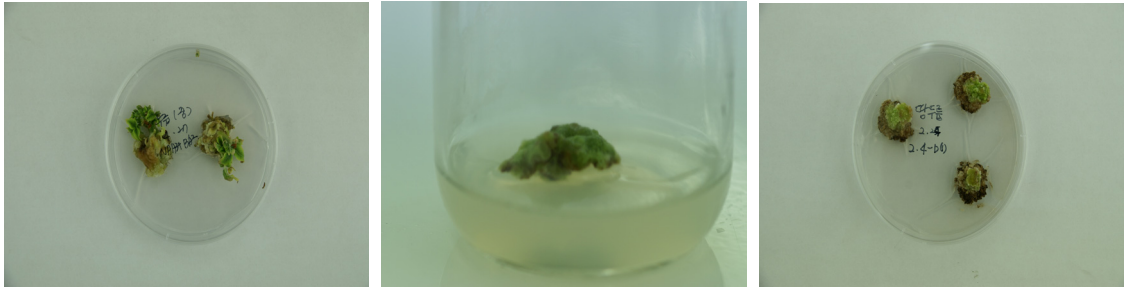
두릅, 음나무, 땅두릅은 봄에 새로 출현한 싹의 정단부위를 치상하여 MS 기본배지에서 4주간 배양하였다. 2,4-D 2mg/L에서 두릅, 음나무, 땅두릅 모두 캘러스가 형성 되었으나 식물체 분화는 나타나지 않았다(표 4). 두릅은 MS 기본 배지에 BA 2mg/L와 NAA 1, 3mg/L 농도에서 식물체가 분화되었으나 발근이 되지 않았고 Jhang et al(1993)이 땅두릅의 유엽조직에서 호르몬을 첨가하지 않은 배지에서 식물체 분화가 이뤄졌다는 보고와는 다른 경향을 나타냈다. 음나무와 땅두릅은 전혀 반응이 없어 1mg/L 2,4-D의 고체배지에서 땅두릅의 미성숙 화기절편을 이용하여 배발생 캘러스를 유도한 뒤 1mg/L kinetin 혹은 1mg/L zeatin 을 처리하여 2차 자엽형배를 재생하였다는 Lee & Soh(2000)의 보고와는 차이를 나타냈다. 곤달비는 BA 1mg/L와 NAA 0.1mg/L 농도에서 식물체 분화가 나타나 「진향」 곰취와 유사한 반응을 나타냈다(표 5).

표 4. 두릅, 음나무, 땅두릅의 조직배양 배지에 따른 캘러스 형성 반응

배지조성			두릅	음나무	땅두릅
MS+생장조절물질(mg/L)					
2,4-D	BA	NAA			
1.0			+++	-	++
2.0			++	++	++
3.0			+	-	-
		1	-	-	-
	1	2	-	-	-
		3	-	-	-
		1	++분화	-	-
	2	2	-	-	-
		3	++분화	-	-
		1	-	-	-
	3	2	-	-	-
		3	-	-	-

※ 조직배양 반응 양상 : ×-불량, △-중간, ○-양호

- +++ : 우수, ++ : 보통, + : 불량, - : 무반응



두릅

음나무

땅두릅

<그림 3> 두릅, 음나무, 땅두릅 조직배양에 의한 캘러스 형성

표 5. 배지 및 성장조정제 종류별 곤달비의 캘러스형성 및 식물체 분화 효과

배지	성장조정제		callus 형성	신초분화	식물체분화
	BA	NAA			
1/2MS	0.1	0.1	-	-	-
		1.0	-	-	-
		2.0	+	+	-
	1.0	0.1	-	-	-
		1.0	++	+	+
		2.0	+	+	-
	2.0	0.1	++	+	-
		1.0	+	+	-
		2.0	-	-	-
MS	0.1	0.1	-	-	-
		1.0	+	-	-
		2.0	++	+	+
	1.0	0.1	+++	++	++
		1.0	++	++	+
		2.0	-	-	-
	2.0	0.1	++	+	+
		1.0	+	+	-
		2.0	-	-	-

- +++ : 우수, ++ : 보통, + : 불량, - : 무반응

4. 적 요

- 참산부추의 인편을 조직배양시 2,4-D 단독 처리구를 제외한 모든 처리구에서 분화 및 증식이 가능하였고 특히 BA 2, NAA 2mg/L 배지에서 가장 양호하였다.
- 곰취의 잎 조직에서 유도된 캘러스를 BA 2, NAA 2mg/L를 첨가한 배지에서 엽원기를 유도하였고 BA 2, NAA 2 mg/L 배지로 계대배양하여 완전한 식물체의 분화가 가능하였다.
- 「진향」 곰취는 잎 조직에서 유도된 캘러스를 BA 1, NAA 0.1mg/L를 첨가한 MS배지에

서 완전한 식물체의 분화가 가능하였다.

- 두릅은 켈러스 유도 및 식물체 분화는 가능하였으나 발근이 되지 않았다
- 으나무, 땅두릅, 두릅은 2,4-D 2mg/L 배지에서 켈러스는 유도되었으나 BA와 NAA 조합의 배지에서 더 이상의 분화는 나타나지 않았다.
- 곤달비는 BA 1, NAA 0.1mg/L 농도에서 켈러스 유도, 신초 및 식물체 분화가 나타났다.

5. 인용문헌

- 김원배, 심석원, 이용호, 권현중, 이종남, 류승열. 2003. 기능성 자생식물 대량증식 및 재배법 확립. 2002 시험연구보고서 pp.437~445. 고령지농업시험장
- 농림수산식품부. 2010. 2009년 한국농업통계. 농림수산식품부.
- 안수용, 김종환, 김영진, 송윤호. 2009. 곰취 신품종 「진향」 육성. 2008 농업과학기술연구 개발결과 기술보급 영농활용자료 pp.85~87. 강원도농업기술원
- 안수용, 김종환, 송윤호, 김영진. 2008. 왕고들빼기 육성종 「선향」. 2007 농업과학기술연구 개발결과 기술보급 영농활용자료 pp.95~98. 강원도농업기술원
- Jhang HH, Park CH, Cho DH, Shin YB. 1993. Callus induction and plant regeneration from leaf tissue culture of *Aralia elata* S.. Korean J. Crop Sci. 38(4):366~370.
- Kim WB, Kim JG, Lee EA, Kim BH, Kim JK, Lim HT. 1996. Plant regeneration from bulb explants of *Allium victorialis* var. *platyphyllum* Makino. Korean J. Plant Tissue Culture 23(2):123~127.
- Kim JC, Park YC, Lee KW, Cho SH, Han TJ. 1996. Multi-secondart somatic embryogenesis and plant regeneration from shoot-tip cultures of *Pimpinella brachycarpa*. Korean J. Plant Tissue Culture 23(2):189~194.
- Lee JC, Soh WY. 2000. Effects of cytokinins on secondary embryogenesis and plant regeneration from somatic embryos of *Aralia cordata* Thunb.. Korean J. Plant Tissue Culture 23(2):189~194.
- Murashige T, Skoog H. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiology Planta 15:473~497.

6. 연구원 편성

구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도	
					'09	'10
책임자	특화작물시험장	농업연구사	김영진	세부과제 총괄	○	○
공동연구자	"	"	김종환	조사업무 지원	○	○
"	"	"	최성진	조직배양 지원	○	
"	"	기능직	신동근	생육관리 지원	○	○
"	"	"	김성욱	분석업무 지원	○	○