



체세포배발생 형태에 따른 일천궁 기내식물체 재분화

김지아^{1†} · 정희영²

Regeneration of Plant according to Somatic Embryogenesis Types in *Cnidium officinale* Makino

Ji Ah Kim^{1†} and Hui Yeong Jeong²

ABSTRACT

Received: 2022 May 9
1st Revised: 2022 May 23
2nd Revised: 2022 June 6
3rd Revised: 2022 June 20
Accepted: 2022 June 20

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Background: The present study investigated the types and concentrations of plant hormones affecting somatic embryo induction from leaves, stems, and roots of *Cnidium officinale* Makino. **Methods and Results:** Somatic embryos could be induced using two methods: direct and indirect somatic embryogenesis. Direct somatic embryogenesis was induced when the whole explants were grown in a medium supplemented with cytokinin (e.g., kinetin), while indirect somatic embryogenesis was induced when the medium was supplemented with auxin [e.g., 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)]. Both direct and indirect somatic embryos were mostly induced from leaves. The highest direct somatic embryo induction (95.8%) was obtained from leaf explants grown on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 0.5 - 1.0 mg/l kinetin. The highest indirect somatic embryo induction (75.0%) was obtained from leaf explants grown on MS medium supplemented with 0.5 mg/l 2,4-D. The induced somatic embryo could successfully germinate and acclimatize. **Conclusions:** Our results can be useful for establishing a mass propagation protocol for *C. officinale*.

Key Words: *Cnidium officinale* Makino, Auxin, Cytokinin, Somatic Embryogenesis



서 언

일천궁 (*Cnidium officinale* Makino)은 미나리과 (Apiaceae)에 속하는 다년생 초본으로 임산물 소득원의 지원대상 품목 중 하나이다. 우리나라 약용식물 생산량 중 일천궁은 3.6%를 차지하고 있으며, 생산액은 '20년 173 억에서 '21년 300 억으로 기존 대비 42% 상승했다 (KFS, 2021).

우리나라에서는 경북 봉화, 영양과 강원도 평창, 태백, 삼척 등에서 주로 재배되고 있으며 (Kim *et al.*, 2012; Jeong *et al.*, 2021), 재배 적지는 여름철 최고 기온은 28°C 이하로 해발 400 m 내 외의 준고랭지로 알려져 있다.

일천궁의 뿌리줄기는 예로부터 혈압강화, 혈액순환, 진통, 향

암, 생리불순 등의 약리 효능이 있어 이러한 질병에 대한 치료목적으로 사용되어 왔다 (Choi *et al.*, 2002; Bae *et al.*, 2011; He *et al.*, 2012; Chang *et al.*, 2020).

현대에 들어와 일천궁의 지표성분으로 falcariindiol, chlorogenic acid, ferulic acid, senkyunolide A 그리고 (Z)-ligustilide 등이 밝혀졌으며, 이 물질들은 주로 항산화, 간 보호, 항암, 항균, 해열, 항비만, 항바이러스, 항고혈압 등에 효과가 있다는 연구 결과들이 보고되었다 (Kumar and Pruthi, 2014; Muhammad *et al.*, 2018; Xie *et al.*, 2020). 최근에는 면역증진에 대한 관심이 증가하면서 건강기능성 식품의 원료로 각광을 받고 있으며 산업적 요구도가 증가하고 있는 실정이다.

[†]Corresponding author: (Phone) +82-43-261-3373 (E-mail) leeyi22@cbnu.ac.kr

¹국립산림과학원 산림약용자원연구소 연구사 / Researcher, Forest Medicinal Resources Research Center, NIFoS, Yeongju 36040, Korea.

²국립산림과학원 산림약용자원연구소 연구원 / Researcher, Forest Medicinal Resources Research Center, NIFoS, Yeongju 36040, Korea.

일천궁의 번식은 대부분 노두나 괴경을 이용한 영양번식으로 이루어진다 (Yu *et al.*, 1999). 꽃은 피지만 일부 염색체가 상동염색체와 짝을 이루지 않는 점 때문에 불임화분이 형성되어 열매의 결실이 일어나지 않는다 (Hatano *et al.*, 1970). 이러한 이유로 영양번식에 의해 대부분 증식되는 일천궁과 같은 뿌리를 이용하는 약용자원은 나누기를 하는 과정에서 괴경 혹은 괴근이 바이러스 감염에 쉽게 노출될 수 있으며, 바이러스에 감염된 재료를 사용 시 생산량과 품질 저하에 영향을 미칠 수 있다 (Rao and Reddy, 2020). 이러한 문제점을 해결하기 위한 대안으로 조직배양기술이 활용되고 있다. 조직배양은 바이러스 등의 병이 없는 개체를 기내에서 생산하고 이를 대량 생산할 수 있으며, 일천궁과 같이 종자로 증식이 어려운 수종들의 증식 문제를 해결할 수 있는 대안 중의 하나이다 (Thorpe, 2007).

이전 보고된 일천궁의 조직배양 연구는 정아 배양을 통한 다줄기 유도 (Pant *et al.*, 1996)와 화기에 2,4-D를 처리하여 현탁배양 혹은 고체배양을 통해 배발생캘러스를 유도 (Chae and Park, 1994; Cho., 2000)한 연구가 보고되었다. 또한 줄기절편으로부터 체세포배발생을 유도하였으며 (Adil *et al.*, 2018), 기내식물체의 생장점배양을 한 재분화연구가 보고되었다 (Lee *et al.*, 1994).

본 연구는 일천궁의 기내식물체 대량생산 효율을 높이기 위한 체세포배발생 유도의 효과적인 방법을 알아보려 하였으며, 연구 결과는 괴경으로만 증식이 가능한 일천궁을 조직배양 방법을 이용하여 안정적이고 지속적으로 생산할 수 있는 기초자료로 활용될 것으로 기대한다.

재료 및 방법

1. 식물재료

경북 영양 재배지에서 수확한 일천궁 (*C. officinale* Makino) 괴경의 눈 부분을 적출하여 기내식물체 확립을 위한 재료로 사용하였다. 적출한 눈은 흐르는 물에서 이물질을 제거하고 70%의 EtOH을 이용하여 1 분동안 세척한 후, 2% NaOCl에서 20 분간 소독하였고 멸균수로 3 회 세척하여 신초 유도용 재료로 사용하였다.

신초 유도배지는 1/2 MS (Duchefa Biochemie, Haarlem, Netherlands) 배지에 2% sucrose, 0.3% gelrite 그리고 200 mg/l의 cefotaxim이 첨가된 페트리디쉬 (90 mm × 10 mm, SPL Life Science Inc., Pocheon, Korea) 배지에서 수행하였다.

유도된 신초는 MS 배지에 3.0% sucrose와 0.3% gelrite가 포함된 유리 배양병 (10 mm × 15 mm) 배지에서 6 개월 이상, 4 주 간격으로 계대 배양하였으며, 계대 배양 후 4 주가 경과된 기내식물체의 엽, 엽병 그리고 뿌리 절편을 체세포 배발생 유도를 위한 재료로 사용하였다. 배양환경은 25 ± 2°C, 광조건

(70 μmol·m⁻²·s⁻¹ 냉백색 형광등, 16 시간 조명)에서 배양하였다.

2. 호르몬 및 절편체 종류에 따른 체세포배발생 유도

배발생 조직 유도를 위해 기내식물체의 엽 절편 (가로 0.3 cm × 세로 0.3 cm)과 줄기와 뿌리 (0.5 cm - 1.0 cm의 길이)를 절편체로 사용하였다.

배발생 조직 유도 배지는 MS 배지에 3.0% sucrose, 0.3% gelrite, pH 5.7 조건의 배지에 사이토키닌 benzylamino purine (BA), kinetin, Thidiazuron (TDZ)과 옥신 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), picloram을 각 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 mg/l의 농도별로 첨가 후 절편체를 배양하였다.

배양 8 주 후부터 배발생 조직이 유도되었으며 유도된 배발생 조직은 MS배지에 1.0 mg/l의 2,4-D, 3.0% sucrose 그리고 0.3% gelrite가 첨가된 배지에서 증식하였다. 절편체는 페트리디쉬 당 8 개를 치상하였고 3 반복으로 실험을 진행하였다. 배양환경은 25 ± 1°C, 암배양 하에서 수행하였으며, 배양 8 주 후 절편당 및 호르몬 종류에 따른 배발생조직 및 체세포배 유도율과 체세포배 개수를 측정하였다.

3. 체세포배 발아 및 기내식물체 유도

발아 배지는 1/2 MS 배지에 3.0% sucrose, 0.3% gelrite 호르몬을 첨가하지 않은 배지를 사용하여 체세포배 발아를 유도하였다. 발아 배지는 페트리디쉬 (90 mm × 10 mm, SPL Life Science Inc., Pocheon, Korea)를 사용하였고 배양 4 주마다 새로운 배지로 계대배양 하였다.

기내식물체 유도배지는 1/2 MS 배지에 2.0% sucrose, 0.3% gelrite가 첨가된 기본 배지를 사용하였으며, 배양 용기는 유리 배양병 (100 mm × 150 mm)을 사용하여 기내식물체를 유도하였다. 모든 실험의 배양조건은 25 ± 1°C의 광조건 (70 μmol·m⁻²·s⁻¹ 냉백색 형광등, 16 시간 조명) 하에서 배양하였다. 배양 4 주 이후 기내 재분화 식물체의 줄기길이, 엽수, 뿌리 길이, 뿌리 수, 뿌리 직경 및 비대근 유도율을 조사하였다.

4. 토양순화

동일한 엽 절편에서 유도된 체세포배를 하나의 라인으로 보고 체세포배 유도 및 발아가 우수한 4 개의 라인 중 식물체 길이가 7 cm 이상의 건전한 개체를 각 40 개씩 선발하여 순화를 위한 재료로 사용하였다.

인공상토는 펄라이트와 버미큘라이트 2 종을 사용하였다. 상토의 배합비율은 펄라이트 단독 사용 그리고 펄라이트 : 버미큘라이트 (1 : 1 = v : v) 조합에 각각 20 개씩 식물체를 이식하여 순화하였다. 뿌리 부위의 배지는 흐르는 물에서 모두 제거한 후 순화를 위해 사용하였다.

순화 직후부터 90%의 공기 중 습도를 2 주간 유지하였으

며, 2 주 이후 60%의 습도를 유지하며 순화하였다. 순화실은 25 ± 1°C, 70 μmol·m⁻²·s⁻¹ 냉백색 형광등, 16 시간 조명하에서 4 주간 생육 후 온실로 이동하여 30 일 뒤 생존율을 조사하였다.

5. 통계분석

통계분석은 SPSS 프로그램 (IBM SPSS Statistics, Ver. 25, IBM Co., Armonk, NY, USA)를 이용하여 ANOVA 분석을 하였으며 Duncan's Multiple Range Test (DMRT) 방법으로 5% 유의수준에서 통계적 유의성을 검정하였다 (*p* < 0.05). 체세포배 유도율은 평균치 (means)로 나타내었고, 절편체당 체세포배수는 평균치 ± 표준편차 (means ± SD)로 나타내었다. 각 처리는 한 페트리디쉬당 8 개의 절편씩 치상하여 3 반복으로 진행하였다.

결과 및 고찰

1. 호르몬 및 절편종류에 따른 체세포배발생 유도

배발생 조직 유도율은 세 종류의 절편 중 엽 절편체에서 가장 높았다. 체세포배의 유도 형태는 사이토키닌이 첨가된 배지의 경우 절편에서 직접 체세포배가 유도되는 직접 체세포배 발생 (direct somatic embryogenesis) 형태로 나타났으며, 옥신 첨가 배지에서는 배발생 조직이 나타난 후 체세포배가 유도되는 간접 체세포배 발생 (indirect somatic embryogenesis) 형태가 특징적으로 나타났다.

엽 절편을 접종한 사이토키닌 처리 배지에서는 배발생조직 유도율은 0.5 mg/l 와 1.0 mg/l 농도의 kinetin 처리에서 모두 95.8%로 높은 유도율을 보여주었으며, 다음으로 1.0 mg/l 의 수준의 BA 처리에서는 79.2%의 배발생 조직이 유도되었다 (Table 1). 0.5 mg/l 의 TDZ 처리에서는 20.0% 이하의 낮은 배발생 조직 유도율을 보여 배발생 조직 유도를 위해서는 적정하지 않았다 (Table 1).

엽 절편당 유도된 체세포배 개수는 0.5 mg/l - 2.0 mg/l 의 BA 처리에서 절편당 평균 10 개에서 17 개까지 유도되었으며, kinetin의 경우 0.5 mg/l 의 농도에서 11.6 개, 2.0 mg/l 의 농도에서는 11.2 개 순으로 유도되었다.

TDZ첨가 배지에서는 0.5 mg/l 처리에서 평균 5.2 개의 체세포배가 유도되었으며, 그 이상의 농도에서는 체세포배가 유도되지 않았다 (Table 1). 사이토키닌처리 배지에 접종한 대부분 엽절편에서는 배양 2 주 이후부터 직접 체세포배발생 형태로 체세포배가 유도되었으며, 배발생조직을 거치지 않고 초기 단계의 심장형, 어뢰형의 체세포배가 엽절편의 절단면을 따라 형성되었다 (Fig. 1A and B).

옥신첨가 배지에 엽절편을 접종한 후 배발생 조직의 유도율은 0.5 mg/l 수준의 2,4-D 처리에서 75%의 유도율과 절편당

Table 1. Effects of plant growth regulators on somatic embryo induction from leaf explants of *C. officinale*.

Plant growth regulators (mg/l)	Embryogenic cell and somatic embryo induction (%)	Mean number of somatic embryos/explant	Type	
None	-	29.2 ^{de}	10.3 ± 7.0 ^{abc}	
BA	0.5	66.7 ^b	17.0 ± 7.2 ^a	
	1.0	79.2 ^{ab}	10.5 ± 2.9 ^{abc}	
	2.0	58.3 ^{bc}	15.0 ± 5.1 ^{ab}	
	3.0	66.7 ^b	9.3 ± 1.5 ^{bcd}	
Kinetin	0.5	95.8 ^a	11.6 ± 0.7 ^{abc}	Direct
	1.0	95.8 ^a	7.0 ± 2.4 ^{cde}	
	2.0	62.5 ^{bc}	11.2 ± 3.6 ^{abc}	
	3.0	66.7 ^b	6.1 ± 3.6 ^{cde}	
TDZ	0.5	29.2 ^{de}	5.2 ± 2.4 ^{cde}	
	1.0	-	-	
	2.0	-	-	
	3.0	-	-	
Picloram	0.5	20.8 ^{def}	2.8 ± 2.0 ^{de}	Indirect
	1.0	8.3 ^{ef}	1.7 ± 1.5 ^e	
	2.0	8.3 ^{ef}	0.7 ± 0.6 ^e	
	3.0	-	-	
2,4-D	0.5	75.0 ^{ab}	16.2 ± 11.5 ^{ab}	Indirect
	1.0	37.5 ^{cd}	2.8 ± 0.7 ^{de}	
	2.0	20.8 ^{def}	2.2 ± 2.0 ^{de}	
	3.0	8.3 ^{ef}	0.7 ± 0.6 ^e	

*Means within a column followed by the different letters denote significantly different based on Duncan's Multiple Range Test (DMRT, *p* < 0.05).

평균 16.2 개의 체세포배 유도를 보여주었다. Picloram 처리의 경우, 0.5 mg/l 의 picloram 첨가 배지에서 20.8%의 배발생 조직 유도율을 보였으며, 1.0 mg/l 와 2.0 mg/l 농도의 picloram 처리 배지에서 8.3%, 3.0 mg/l 의 picloram 처리에서는 배발생조직이 유도되지 않아 체세포배 발생 유도 배지로 적정하지 않았다 (Table 1). 옥신이 첨가된 배지에 접종한 엽 절편에서는 간접 체세포배 발생형태로 배양 4 주 이후 연노랑색을 띠는 배발생 조직이 유도된 후 체세포배가 함께 유도되었다 (Fig. 1C).

사이토키닌 첨가 배지에 엽절편을 접종한 결과 1.0 mg/l 의 kinetin 첨가 배지에서 45.8%의 배발생 조직이 유도되었다 (Table 2). 1.0 mg/l - 3.0 mg/l 농도 수준으로 첨가된 BA 첨가 배지에는 접종한 엽절편으로부터 약 25.0%에서 41.7% 수준으로 체세포배 발생이 유도되었으며, 절편당 유도된 체세포배의 수는 평균 12.8 개에서 28.2 개로 나타났다 (Table 2). 대부분의 체세포배는 직접 체세포배 발생형태로 유

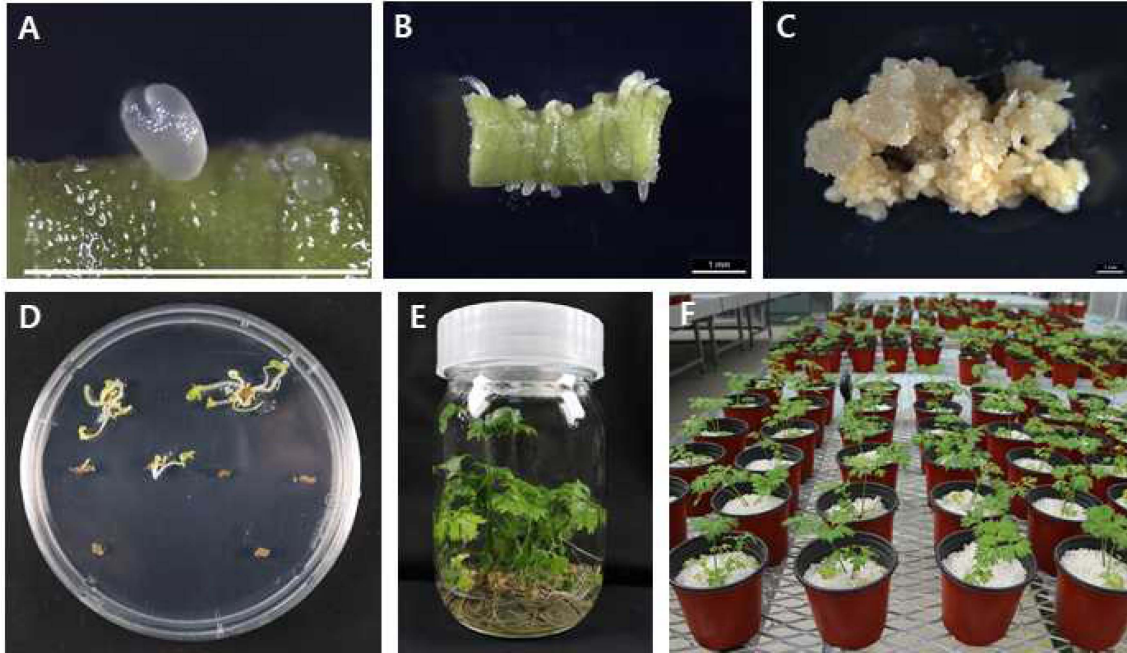


Fig. 1. Somatic embryogenesis of *C. officinale*. Leaf explants cultured on MS medium supplemented kinetin 2.0 mg/l induced globular (A) and heart-shaped (B) direct somatic embryos after culture for 3-week (Bar = 1 mm). (C) Indirect embryogenic callus and globular - torpedo stage embryo induced from leaf explant on MS medium supplemented 2,4-D 0.5 mg/l after culture for 10 weeks (Bar = 1 mm). (D) Germinated somatic embryos were developed from leaf explants on MS medium supplemented BAP 3.0 mg/l after culture for 4 weeks. (E) Root formation on MS hormone free medium for 8 week. (F) Plantlets were transferred to different artificial soils and left to grow for 60 days.

도되었고 배양 4 주 이후 어뢰형 체세포배 단계를 지나 부분적으로 발아가 되는 것이 관찰되었다.

엽병 절편을 대상으로하여 picloram과 2,4-D를 처리하는 경우, 배양 4 주 이후부터 연노랑 배발생 조직이 형성되었으며, 9 주 이후부터 체세포배가 형성되는 것이 관찰되었다. 체세포배발생 유도율은 20% 미만이었으며, 절편당 체세포배유도 효율은 사이토키닌 처리와 비교하여 저조하였다 (Table 2).

뿌리 절편을 사이토키닌 첨가 배지에 접종한 결과 체세포배발생은 1.0 mg/l의 kinetin 처리에서 20.8%의 유도율을 보였으며, 절편당 유도된 체세포배의 개수는 평균 8.9 개로 나타났다. 옥신이 첨가된 배지에서는 0.5 mg/l의 2,4-D 처리에서 29.2%의 배발생 조직이 유도되었고, 평균 9.3 개의 절편당 체세포배가 유도되었다 (Table 3). 뿌리 절편의 경우 사이토키닌 첨가 배지에서 배양 4 주 후부터 직접 체세포배가 유도되기 시작하였다. TDZ의 경우 3.0 mg/l의 고농도 처리에서 12.5%의 체세포배발생이 유도되었으나, picloram 처리에서는 흰색의 비배발생캘러스 만이 형성되었다.

위의 결과와 같이 첨가된 호르몬의 종류 및 농도 뿐만 아니라 절편의 종류에 따라 체세포배발생의 효율 그리고 유도 기간이 현저히 차이가 나는 것을 확인하였다. 또한 엽 절편에서는 엽병 그리고 뿌리 절편과 비교하여 체세포배발생 유도율이 50% 이상 우수한 것을 확인하였다.

이전의 연구에서 일천궁 체세포배발생의 경우 미숙화기 혹은 절간 절편에서 체세포배 발생 유도 효율이 가장 높았으며, 2,4-D 혹은 BA 단독 처리와 두 가지를 혼합 처리 시 유도율이 높았다고 보고된 바 있으나 (Cho *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2009), 본 연구에서는 기내배양체의 엽 절편에서 95% 이상의 높은 체세포배발생 유도율을 보였으며, 기존 보고된 호르몬인 2,4-D와 BA 이외에 kinetin 처리에서 높은 유도효율을 나타내었다.

천궁과 같은 미나리과 (Apiaceae)에 속하는 탐시아가르가니카 (*Thapsia garganica*)는 1.0 mg/l의 2,4-D를 단독 처리 시 잎 절편으로부터 체세포배 발생 유도율이 가장 높았으며 (Anne *et al.*, 1993), 고수 (*Coriandrum sativum* L.)는 1.0 mg/l의 2,4-D와 1.0 mg/l의 kinetin을 혼합 처리한 배지에서 배측 절편으로부터 체세포배발생이 가장 적정하다고 보고된 바 있다 (Mujib *et al.*, 2014) 또한 아조완 (*Carum copticum* L.)은 0.5 mg/l의 2,4-D와 1.0 mg/l의 kinetin이 혼합 처리된 배지에 배측 절편에서 (Niazian *et al.*, 2017), 야생셀러리 (*Kelussia odoratissima*)의 경우, 1.0 mg/l의 2,4-D와 0.25 mg/l의 kinetin 혼합 처리한 배지에 자엽절편을 사용한 것에서 체세포배 발생 유도 효율이 가장 높다고 보고하였다 (Ebrahimi *et al.*, 2018).

이와 같이 미나리과 (Apiaceae)에 속하는 식물체의 체세포

Table 2. Effects of plant growth regulators on somatic embryo induction from petiole explants of *C. officinale*.

Plant growth regulators (mg/ℓ)	Somatic embryo induction (%)	Mean number of somatic embryos/explant	Type
None	–	–	
BA	0.5	20.8 ^{bcd}	Direct
	1.0	41.7 ^{ab}	
	2.0	25.0 ^{abcd}	
	3.0	33.3 ^{abc}	
Kinetin	0.5	16.7 ^{cde}	Direct
	1.0	45.8 ^a	
	2.0	12.5 ^{cde}	
	3.0	16.7 ^{cde}	
TDZ	0.5	12.5 ^{cde}	Indirect
	1.0	20.8 ^{bcd}	
	2.0	12.5 ^{cde}	
	3.0	8.3 ^{de}	
Picloram	0.5	16.7 ^{cde}	Indirect
	1.0	8.3 ^{de}	
	2.0	8.3 ^{de}	
	3.0	–	
2,4-D	0.5	20.8 ^{bcd}	Indirect
	1.0	–	
	2.0	–	
	3.0	–	

*Means within a column followed by the different letters denote significantly different based on Duncan's Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$).

Table 3. Effects of plant growth regulators on somatic embryo induction from root explants of *C. officinale*.

Plant growth regulators (mg/ℓ)	Somatic embryo induction (%)	Mean number of somatic embryos/explant	Type
None	–	0.7±0.6 ^{ef}	
BA	0.5	8.3 ^{bc}	Direct
	1.0	8.3 ^{bc}	
	2.0	12.5 ^{bc}	
	3.0	12.5 ^{bc}	
Kinetin	0.5	12.5 ^{bc}	Direct
	1.0	20.8 ^{ab}	
	2.0	8.3 ^{bc}	
	3.0	8.3 ^{bc}	
TDZ	0.5	–	Indirect
	1.0	–	
	2.0	–	
	3.0	12.5 ^{bc}	
Picloram	0.5	–	Indirect
	1.0	–	
	2.0	–	
	3.0	–	
2,4-D	0.5	29.2 ^a	Indirect
	1.0	16.7 ^{abc}	
	2.0	–	
	3.0	–	

*Means within a column followed by the different letters denote significantly different based on Duncan's Multiple Range Test (DMRT, $p < 0.05$).

배유도의 경우 2,4-D와 더불어 공통적으로 kinetin이 첨가된 배지에서 유도 효율이 높은 것으로 보고되고 있으며 본 연구 결과에서도 kinetin 단독 처리 시 일천공의 엽 절편에서 체세포배발생 유도효율이 가장 좋은 것으로 확인되었다.

2. 체세포배 발아 및 기내 식물체 유도

유도된 체세포배의 발아를 위해 1/2 MS 호르몬 무처리 배지 조건에 어뢰형에서 자엽 단계의 체세포배를 접종하였다. 기내식물체를 유도한 결과 직접 체세포배발생을 통해 유도된 엽, 엽병 그리고 뿌리 절편 유래 체세포배는 배양 4 주 이후 절편체로 부터 직접 발아 식물체로 생육하는 것이 관찰되었다 (Fig. 1D).

간접 체세포배발생으로 유도된 엽, 엽병 그리고 뿌리 절편 유래 어뢰형에서 자엽단계 이상의 체세포배는 배양 5 주 이후 체세포배 발아를 거쳐 유식물체로 발달되었다. 발아 배지에서 생육한 체세포배 유래 식물체는 90% 이상 정상적인 식물체로 생육하였다 (Fig. 1E).

3. 토양순화 및 온실생육

직·간접 체세포배발생 유래 기내식물체의 순화율은 80% 이상으로 순화 30 일 후 온실로 이동하여 생육시켰다. 그 결과 펠라이트를 단독 사용한 인공상토에서 생육한 식물체의 생존율이 펠라이트와 버미큘라이트를 혼합한 인공상토 대비 높게 나타났다. 펠라이트와 버미큘라이트 혼합 처리에서는 1 번 라인 73.3%, 2 번 라인 33.3%, 3 번 라인 10.0%, 4 번 라인 100%로 생존율을 보였다. 펠라이트 단독 처리에서는 1 번 라인 93.3%, 2 번 라인 86.7%, 3 번 라인 73.3%, 4 번 라인 100%를 보여 4 번 라인을 제외한 처리에서 펠라이트 단독 처리가 효과적임을 확인하였다 (Table 4).

본 연구 결과는 종자로 번식이 어려운 천공의 체세포배 발생 유도 방법을 이용하여 균일하고 안정적인 종묘의 생산이 가능하며 대량생산과 신품종 개발연구에도 활용될 수 있을 것이다. 또한 일천공의 체세포배 발생 유도 연구는 엽과 뿌리 절편체를 이용한 연구가 이루어진 바가 없었으므로 향후 일천공 체세포배발생을 위한 기본자료로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

Table 4. Effects of substrates on the survival of transplanted *C. officinale* plantlets after transplanting for 60 days.

Lines*	Substrates	Survival (%)
L1	Perlite : Vermiculite (1 : 1 = v : v)	73.3
	Perlite	93.3
L2	Perlite : Vermiculite (1 : 1 = v : v)	33.3
	Perlite	86.7
L3	Perlite : Vermiculite (1 : 1 = v : v)	10.0
	Perlite	73.3
L4	Perlite : Vermiculite (1 : 1 = v : v)	100.0
	Perlite	100.0

*Each lines means regenerated plantlet from one explant.

감사의 글

본 연구는 국립산림과학원 연구개발사업(과제번호: FG0700-2018-02)의 지원에 의해 이루어진 결과로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Adil MD, Kang ID and Jeong BR. (2018). Data on recurrent somatic embryogenesis and *in vitro* micropropagation of *Cnidium officinale* Makino. Data in Brief. 19:2311-2314.
- Anne KJ, Brigitte S, Ulla W, and Ulf N. (1993). Somatic embryogenesis in cell cultures of *Thapsia garganica*. Plant Cell Reports. 12:517-520.
- Bae KE, Choi YW, Kim ST and Kim YK. (2011). Components of rhizome extract of *Cnidium officinale* Makino and their *in vitro* biological effects. Molecules. 16:8833-8847.
- Chae YA and Park SU. (1994). Effect of carbon and nitrogen source on somatic embryogenesis on somatic embryogenesis in suspension culture of *Ligusticum chuanxiang* hort. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 2:44-50
- Chang KF, Chang JT, Huang XF, Lin YL, Liao KW, Huang CW and Tsai NM. (2020). Antitumor effects of n-butylidene-phthalide encapsulated in lipopolyplexes in colorectal cancer cells. Molecules. 25:2394. <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/10/2394> (cited by 2022 April 1).
- Cho DY, Lee EK and Soh WY. (2000). Cotyledon structure and germinability of somatic embryos formed from inflorescence explants of *Cnidium officinale* M. Korean Journal Plant Tissue Culture. 27:137-142.
- Choi HS, Lee-Kim MS and Sawamura M. (2002). Constituents of the essential oil of *Cnidium officinale* Makino, a Korean medicinal plant. Flavour and Fragrance Journal. 17:49-53.
- Ebrahimi M, Mokhtari A and Amirian R. (2018). A highly efficient method for somatic embryogenesis of *Kelussia odoratissima* Mozaff., an endangered medicinal plant. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 132:99-110.
- Hatano K, Nishioka I and Iwasa S. (1970). Studies on "Senkyu". I. On the sterility of *Cnidium officinale* Makino. Syoyakugaku Zasshi. 24:81-87.
- He CY, Wang S, Feng Y, Liang S, Lin X, Xu DS and Ruan KF. (2012). Pharmacokinetics, tissue distribution and metabolism of senkyunolide I, a major bioactive component in *Ligusticum chuanxiang* Hort.(Umbelliferae). Journal of Ethnopharmacology. 142:706-713.
- Jeong DH, Kim KY, Park HW, Jung CR, Kim HJ and Jeon KS. (2021). Growth characteristics of *Ligusticum chuanxiang* Hort. according to soil and meteorological environment. Korean Journal of Plant Resources. 34:64-72.
- Kim J, Jang W, Kim S and Park J. (2012). General information, cultivars and characteristics. Easy guide to understanding cultivation of *Cnidium officinale* Makino and *Ligusticum chuanxiang* Hort. Bongwha Highland Medicinal Plants Experiment Station. Bonghwa, Korea. p.8-30.
- Korea Forest Service(KFS). (2021). 2020 Production of forest products. Korea Forest Service. Daejeon, Korea. p.20-21.
- Kumar N and Pruthi V. (2014). Potential applications of ferulic acid from natural sources. Biotechnology Reports. 4:86-93.
- Lee CY, Kim YK, Kim YS, Suh SY, Lee SY and Park SU. (2009). Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Cnidium officinale* Makino. Journal of Medicinal Plants Research. 3:96-100.
- Lee HS, Chung JD, Kim CK, Yoon JT and Choi BS. (1994). *In vitro* propagation of *Cnidium officinale* Makino through shoot tip culture. Korean Journal of Plant Tissue Culture. 21:221-225.
- Muhammad N, Veghar H, Muhammad A, Asghar AK, Ghulam JK, Muhammad S, Fawwad A, Daryoush B, Xia FF, Faezeh MG, Li W and Zhou XH. (2018). Chlorogenic acid(CGA): A pharmacological review and call for further research. Biomedicine and Pharmacotherapy. 97:67-74.
- Mujib A, Tonk D and Ali M. (2014). Plant regeneration from protoplasts in Indian local *Coriandrum sativum* L.: Scanning electron microscopy and histological evidences for somatic embryogenesis. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 117:323-334.
- Niazian M, Noori SAS, Galuszka P, Tohidfar M and Mortazavian SMM. (2017). Genetic stability of regenerated plants via indirect somatic embryogenesis and indirect shoot regeneration of *Carum copticum* L. Industrial Crops and Products. 97:330-337.
- Pant B, Kohda H and Namera A. (1996). Clonal propagation of *Cnidium officinale* by shoot tip culture. Planta Medica. 62:281-283.
- Rao GP and Reddy MG. (2020). Chapter 38: Overview of yield losses due to plant viruses. In Awasthi LP. (ed.). Applied plant virology. Advances, detection, and antiviral strategies. Academic Press. Cambridge, MA, USA. p.531-562.
- Thorpe TA. (2007). History of plant tissue culture. Molecular Biotechnology. 37: 169-180
- Xie Q, Zhang L, Xie L, Zheng Y, Liu K, Tang H, Liao Y and Li X. (2020). Z-ligustilide: A review of its pharmacokinetics and pharmacology. Phytotherapy Research. 34:1966-1991.
- Yu HS, Bang JK, Kim YG and Lee BH. (1999). Mass propagation by stem cutting in *Ligusticum chuanxiang* Hort. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 7:200-204.