

백출(*Atractylodes macrocephala* X *A. japonica*)의 조직 부위별 기내증식 조건 확립에 관한 연구

동국대학교 바이오환경과학과 : 고우리, 변지희, 전수희, 김명수, 조준형*

Establishment of in vitro culture system and effects of plant growth regulators for *Atractylodes* hybrid (*A. macrocephala* X *A. japonica*)

Woo-li Ko, Ji-Hui Byeon, Su-Hee Jeon, Moug-Su Kim and Joon-Hyeong Cho*

Department of Biological & Environmental Science, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

실험 목적

삼주(*Atractylodes* spp.)는 국화과 삼주속의 다년생 초본식물로, 한국, 일본, 중국 등 동아시아 지역에서 한약재로 사용되어 왔다. 삼주는 형태적 차이에 따라 종판별의 기준이 되는데, 중국 삼주는 적색의 비교적 큰 꽃을 피며 권상형 뿌리를 갖는데 종자번식이 가능한 반면 한국 삼주는 화퇴가 중국 삼주에 비해 작고 화색은 백색이며 뿌리는 결절형으로 종자번식이 어렵다. 삼주는 수요에 비해 재배·생산되는 양이 적어 수입에 의존하고 있으며, 종자결실율이 낮아 근경을 이용한 영양번식을 하지만 종근의 오염 위험이 있고, *Phytohphthora*에 의한 뿌리썩음병으로 인한 피해 수준이 심각하다. 따라서 본 연구는 *A. hybrid*종인 다출(*A. macrocephala* X *A. japonica*)을 이용하여 백출의 무병주 획득을 위한 기내증식의 기초 마련 및 식물생장조절제를 이용한 증식 조건을 구명하고자 수행되었다.

재료 및 방법

◎ 실험 재료

- 공시재료 : *A. hybrid* “ 다출 “ (*A. macrocephala* X *A. japonica*)
- 이용 부위 : 화퇴, 뿌리, 줄기(액아)

◎ 실험 방법

- 배양 조건 : 25 ± 2 °C, 2500 lux, 16/8 광주기
- 소독 및 배지 조건
 - 뿌리배양 : 70 % EtOH에 2분, 50µl Tween 20을 포함하는 0.8 % sodium hypochlorite에 2분간 진탕 소독한다. 세척 후 건조시킨 조직을 0.5 mm로 절단 후 MS기본배지에 2-iP, BAP, NAA, IBA의 혼용 배지에 치상한다.
 - 화퇴배양 : 50 % EtOH에 5분, 50µl Tween 20을 포함하는 0.8 % sodium hypochlorite에 3분간 진탕 소독한다. 세척 후 건조시킨 조직을 수직방향으로 4등분 하여 MS기본배지에 BAP, Kinetin, NAA, IBA, 2,4-D의 단용 배지에 치상한다.
 - 액아배양 : 70 % EtOH에 5분, 50µl Tween 20을 포함하는 0.8 % sodium hypochlorite에 3분간 2회 진탕 소독한다. 세척 후 건조시킨 조직을 MS기본배지에 2-iP, BAP, NAA, IBA의 혼용 배지와 MS기본배지에 sucrose가 3, 5, 7 %로 첨가된 배지에 치상한다.

* Corresponding author : Tel. 02-2260-3308, E-mail : jhcho@dongguk.edu

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 : PJ906938)의 지원에 의해 이루어진 것 임.

실험 결과

뿌리 절편을 이용한 실험 결과, BAP와 NAA 혼용 처리시에는 BAP 1, 3 mg·L⁻¹의 혼용 처리구에서 캘러스 형성율이 좋았고, 1 mg·L⁻¹ BAP와 NAA의 혼용 처리구에서 캘러스의 생장이 양호하였으며, BAP와 IBA의 혼용 처리시에는 1 mg·L⁻¹ BAP와 IBA의 혼용 처리구에서 캘러스 유도과 생장이 모두 양호하였다. 2-iP와 NAA의 혼용 처리 시에는 1, 3 mg·L⁻¹ 2-iP와 NAA의 혼용 처리구에서 캘러스 유도가 양호하였으며, 1 mg·L⁻¹ 2-iP와 NAA 혼용 처리구에서 캘러스의 생장이 좋았다. 2-iP와 IBA의 혼용 처리 시 1 mg·L⁻¹ 2-iP와 IBA를 혼용 처리하였을 때 캘러스의 유도와 생장이 모두 좋았다. 뿌리유도는 전반적으로 2-iP와 NAA의 혼용 처리 시 양호하였으며, 1 mg·L⁻¹ 2-iP와 3 mg·L⁻¹ NAA 처리에서 27.2 %로 가장 높았으나 shoot는 모든 처리구에서 유도되지 않았다. 화퇴 배양 시 식물생장조절제가 미치는 영향을 구명하기 위하여 BAP, Kinetin, NAA, IBA, 2,4-D를 단용으로 MS배지에 처리한 결과, 캘러스 유도율은 0.5 mg·L⁻¹ NAA 처리구에서 86.3 %로 가장 효과적이었다. 뿌리의 유도는 NAA처리구에서만 확인할 수 있었으며, 3 mg·L⁻¹ NAA 처리구에서 11.3 %로 가장 효과적이었다. 액아 배양 시 BAP와 NAA, IBA를 혼용 처리하였을 경우, 저농도의 BAP 혼용 처리구에서 shoot의 출현율과 식물체의 생장이 양호하였고, 2-iP와 NAA, IBA를 혼용하였을 경우 shoot의 출현율은 고농도의 2-iP 처리시 양호하였으며, 식물체의 생장은 저농도의 2-iP 혼용 처리구에서 양호하였다. sucrose 농도에 따른 액아배양 시, 뿌리의 직경은 7 % 농도에서 가장 비대하였으나 식물체의 생장은 좋지 않게 나타났다.

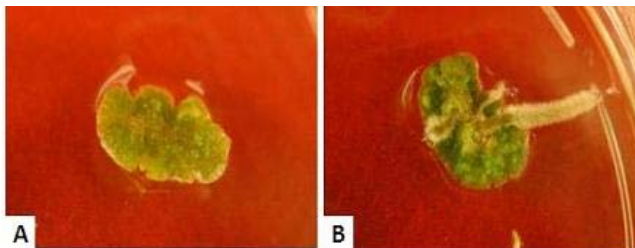


Fig. 1 callus and root was induced on MS medium supplemented with 2-iP 1 mg·L⁻¹ and NAA 3 mg·L⁻¹

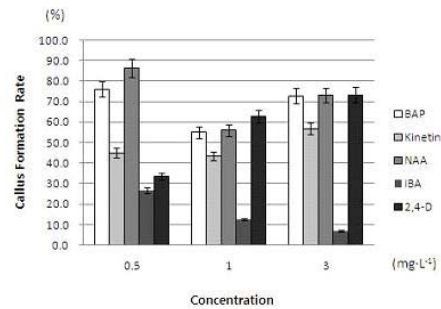


Fig. 2. The effects of plant growth regulator for callus formation from flower bud of *A. macrocephala* X *A. japonica*

Table 2. Effect of 2-iP, NAA and IBA concentration on plant growth from Axillary Bud Culture of *A. macrocephala* X *A. japonica* after 8 weeks of culture

Treatment (mg·L ⁻¹)	No. of cultured explants (ea)	No. of shoot (ea)	Plant height (mm)	Stem diameter (mm)	Root diameter (mm)
2-iP NAA					
0	0	24	2.1 b ²	34.64 d	7.53 a
1	0.1	24	1.3 e	65.03 a	4.27 c
	1	24	1.8 bcd	52.38 bc	5.46 b
3	0.1	24	1.3 e	23.15 f	3.29 ef
	1	24	2.2 b	26.21 ef	3.56 de
5	0.1	24	2.6 a	28.45 def	3.92 cd
	1	24	2.2 b	30.03 def	5.39 b
2-iP IBA					
1	0.1	24	1.2 e	53.57 b	3.81 cde
	1	24	1.3 de	44.63 c	5.3 b
3	0.1	24	1.2 e	22.94 f	2.74 f
	1	24	1.8 bcd	24.13 f	2.96 f
5	0.1	24	1.9 bc	28.75 def	3.82 cde
	1	24	1.5 cde	31.65 de	4.3 c

² Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, P = 0.

Table 1. Effect of BAP, NAA and IBA concentration on plant growth from Axillary Bud Culture of *A. macrocephala* X *A. japonica* after 8 weeks of culture

Treatment (mg·L ⁻¹)	No. of cultured explants (ea)	No. of shoot (ea)	Plant height (mm)	Stem diameter (mm)	Root diameter (mm)
BAP NAA					
0	0	24	2.1 bc ²	34.64 de	7.53 a
1	0.1	24	3.7 a	44.24 ab	5.07 b
	1	24	3.8 a	44.96 ab	5.04 b
3	0.1	24	3.6 a	35.39 de	4.96 b
	1	24	2.2 bc	43.27 a	4.26 c
5	0.1	24	1.4 d	35.24 de	3.45 e
	1	24	2.5 b	30.1 e	3.71 cde
BAP IBA					
1	0.1	24	2.7 b	39.49 bcd	4.28 c
	1	24	2.4 b	37.08 cde	4.08 cd
3	0.1	24	2.2 bc	32.38 de	3.99 cde
	1	24	1.4 d	42.5 abc	4.13 cd
5	0.1	24	1.3 d	31.19 e	3.56 de
	1	24	2 cd	32.59 de	3.42 de

² Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, P = 0.05