

지황 신초의 유도과 신장에 미치는 Thidiazuron과 Paclobutrazol의 영향

고은정*·채영암*†

*서울대학교 식물생산과학부

Effects of Thidiazuron and Paclobutrazol on the Induction and Elongation of Shoots in *Rehmania glutinosa* Lib.

Koh, E.J.* and Y.A. Chae*†

*School of Plant Science, Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

ABSTRACT : This experiment was carried out to find the proper way of shoot induction and elongation of shoots in *Rehmannia glutinosa*. Shoot induction and multiplication rate from stem explants were significantly improved in the induction media with 1.0mg/L thidiazuron compared to BA and NAA combinations. Shoot elongation was better in the media with thidiazuron 1.0mg/L alone than in the presence of paclobutrazol.

Key words : *Rehmannia glutinosa*, shoot induction and elongation, thidiazuron, paclobutrazol

緒 言

地黃은 현삼과 초본으로 뿌리에 함유되어 있는 catalpol, sterol, campesterol, rehmannin 등은 지혈, 강심, 이뇨, 혈당강하 등의 약리 작용이 있어 한약재로 많이 이용되고 있다(이와 채, 1996). 그러나 지황은 영양번식을 함으로 증식율이 낮고 대량번식이 어려울 뿐만 아니라 종근 저장시 병원균에 의한 감염 및 발병으로 품질과 수량이 저하되고 있다. 이를 극복하기 위한 無病種苗 대량생산기술이 절실히 요구되고 있는 가운데, 生物反應器를 이용한 지황의 배양연구 결과 증식율 향상과 노동력의 감소 효과를 얻을 수는 있었으나(박, 2000), 무

병종묘 대량생산이 가능하기 위해서는 기내 유식물체를 기외 환경으로 이식했을 때 생존율과 생육에 대한 정보가 무엇보다 중요하다. 그러나 아직 이에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 본 연구에서는 지황의 무병종묘 대량생산 체계의 기초자료로 삼고자 신초의 유도과 신장에 미치는 thidiazuron과 paclobutrazol의 영향을 조사 분석하였다.

材料 및 方法

1. 실험재료

실험재료는 기내에서 무균 식물체를 유지 및 보존하기 위해 지황의 줄기절편을 0.5~0.8cm 크기

† Corresponding author (Phone) : 031-290-2306, E-mail : yachae@plaza.snu.ac.kr
Received April 5, 2001

로 마디가 포함되게 자른 후 MS (Murashige and Skoog, 1962) 기본배지가 든 Magenta GA-7 vessel (Sigma)에 치상하여 4주간 배양한 후 실험에 이용하였다. 실험재료 유지를 위한 증식용 식물체의 側芽형성은 한천 1.2%가 포함된 MS 기본 고체 배지에서 배양하였고 온도 25℃, 일장 16시간의 배양조건에서 유지 및 보존하였다.

2. 신초의 유도

신초 유도에 적합한 성장조절제의 종류와 농도를 알아보기 위해 BA 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0mg/L와 NAA 0, 0.1, 0.5, 1.0mg/L를 MS 기본배지에 조합처리하였다. Thidiazuron은 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0mg/L를 MS기본배지에 단독 처리하였다. 배지가 든 petridish에 마디가 포함되지 않게 0.5~0.8cm 크기로 자른 지황 무균 식물체의 절편을 치상하여 4주간 배양한 후 신초 발생 정도를 조사하였다. Thidiazuron은 phenylurea compound로 (Arndt, 1976) 액아(Das et al., 1998), 부정아의 재분화(Sanago et al., 1995) 및 기관분화(Tosca et al., 1996)를 유도하며 auxin과 cytokinin을 동시에 대신할 수 있는 화합물로 보고되어 있다 (Kanyand et al., 1997).

3. 신초의 신장

지황의 신초를 신장시킬 때 생물반응기 (Air-lift type Bioreactor) 배양에 적합한 성장조절제를 알아보기 위해 thidiazuron 1.0mg/L의 단독처리와 thidiazuron 1.0mg/L에 paclobutrazol 0.3mg/L을 조합처리하여 유도시킨 신초를 신초의 신장용 실험재료로 사용하였다. MS 액체배지에 thidiazuron 0, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0mg/L 각각을 단독처리하거나 BA 2.0mg/L와 NAA 0.5mg/L를 조합처리하여 100ml 삼각 플라스크에 30ml씩 분주하고 앞에서 유도한 신초를 10개 (1.2~1.5g)씩 치상하여 3주간 배양한 후 생체중과 마디수, 발생 신초수를 조사하여 신장정도를 비교하였다.

結果 및 考察

1. 신초의 유도

지황의 절편을 직접 생물반응기에 접종하여 신초를 형성시키는 것보다 먼저 고체배지에서 신초를 유도한 후 이를 생물반응기에서 배양했을 경우 신초 형성율이 증가하였다는 박(2000)의 결과에 따라 고체배지에서 신초를 먼저 발생시킨 후 생물반응기에서 이 신초들을 길이생장을 시켰다. 신초 유도시 BA와 NAA를 농도별로 조합처리한 경우와 thidiazuron을 각 농도별로 단독처리하여 실험한 결과(그림 1), BA와 NAA를 조합처리한 경우의 약 4개 정도보다 thidiazuron을 단독처리한 경우의 약

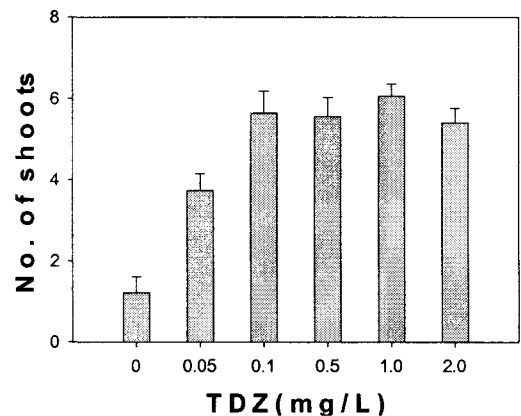
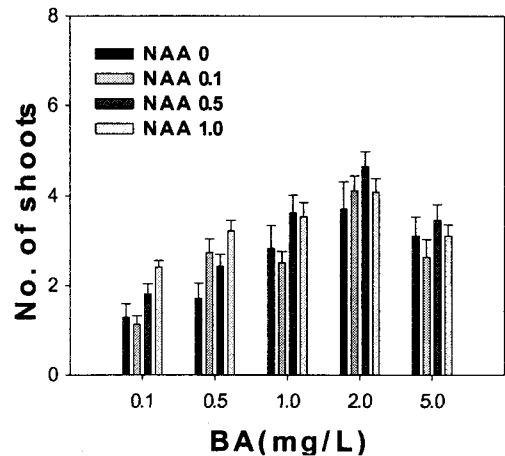


Fig. 1. Combinational effect of BA with NAA and thidiazuron on shoot formation in *Rehmannia glutinosa* after 4 weeks culture.

6개 정도로 신초 발생율이 상대적으로 많았다. 또한 thidiazuron은 저농도에서부터 활성을 나타내었고 신초발생에 대해 영향을 나타내는 농도범위가 비교적 넓음을 알 수 있었다. 특히, thidiazuron 1.0mg/L의 농도로 처리한 배지에서 가장 많은 신초가 발생하여 지황의 신초유도에 적정 농도로 생각되었다.

2. 신초의 신장

생물반응기를 이용해 신초의 추가적인 유도 및 신장시키기에 앞서 thidiazuron 단독처리와 thidiazuron 및 paclobutrazol의 조합처리로 유도된 신초를 사용하여, 신초의 신장에 적합한 성장조절제의 종류와 농도를 조사하고 신초유도에 사용되었던 paclobutrazol이 신초의 신장에 미치는 영향을 알아보기 위해 실험하였다. 신초의 신장을 유도하기 위한 성장조절제로써 thidiazuron보다 활성이 낮은

BA와 NAA를 조합처리한 경우와 thidiazuron을 단독처리한 경우로 나누어 실험을 수행한 결과(표 1), 신초 유도시 thidiazuron을 단독처리하거나 thidiazuron에 paclobutrazol을 조합처리하였던지 간에 신초의 신장에는 모두 thidiazuron 1.0mg/L 처리에서 증식에 가장 중요한 요소인 마디수와 신초의 수가 가장 많았다. 신초 유도시 paclobutrazole을 조합처리한 경우에는 발생된 마디수가 다소 적었는데, 이는 paclobutrazol의 성장억제 작용에 의한 것으로 생각되었다. 또한 그림 1에서 BA와 NAA의 조합처리 농도 중 가장 효과적이었던 BA 2mg/L와 NAA 0.5mg/L의 조합처리구에서는 생체중이 가볍고 발생된 신초의 수가 가장 적었다. 그림 2에서 보면 신초의 유도시 thidiazuron 1.0mg/L에 paclobutrazol 0.3mg/L를 조합처리하였을 경우(오른쪽)는 thidiazuron 단독처리(왼쪽)에 비해 신초의 신장이 둔화되어 나타났으며 발생된 마디의 수도

Table 1. Effect of Thidiazuron(TDZ) on shoot elongation in *Rehmannia glutinosa* after 3 weeks culture

Shoot induction hormone (mg/L)	Shoot elongation hormone (mg/L)	Fresh weight /shoot(g)	Fresh weight /flask(g)	No. of nodes/shoot	No. of shoots
TDZ 1.0	Control	† 0.72±0.35 ^{def} ‡	11.42±2.25 ^d	4.92±2.11 ^{ef}	16.50±4.51 ^{ef}
	TDZ 0.05	0.81±0.49 ^{cde}	13.63±4.09 ^{cd}	4.93±2.38 ^{ef}	18.29±6.82 ^{def}
	0.1	0.90±0.68 ^{bcd}	16.41±3.35 ^{bc}	6.25±2.94 ^{bc}	27.13±7.43 ^{bc}
	0.5	1.04±0.71 ^{ab}	20.17±5.52 ^{ab}	6.57±2.55 ^b	29.86±6.23 ^b
	1.0	1.12±0.45 ^a	21.23±2.61 ^a	7.68±2.10 ^a	41.25±6.82 ^a
	2.0	0.92±0.38 ^{abcd}	18.92±4.47 ^{ab}	5.90±1.76 ^{bcd}	23.50±3.94 ^{bcde}
	BA 2 + NAA 0.5	0.65±0.50 ^{ef}	8.94±3.90 ^d	4.80±2.77 ^{ef}	13.67±5.02 ^f
TDZ 1.0 + PAC 0.3	Control	0.56±0.30 ^f	9.58±0.84 ^d	4.85±2.12 ^{def}	15.33±5.20 ^f
	TDZ 0.05	0.79±0.66 ^{cde}	13.15±4.65 ^{cd}	4.64±1.75 ^f	15.50±5.69 ^f
	0.1	0.87±0.47 ^{bcd}	16.00±3.46 ^{bc}	6.04±1.71 ^{bc}	25.20±8.11 ^{bcd}
	0.5	1.00±0.49 ^{abc}	20.29±4.03 ^{ab}	6.26±1.72 ^{bc}	27.57±6.27 ^{bc}
	1.0	1.06±0.43 ^{ab}	20.49±1.90 ^{ab}	6.33±1.71 ^{bc}	29.38±9.17 ^b
	2.0	0.87±0.46 ^{bcd}	18.75±5.44 ^{ab}	5.98±1.61 ^b	21.00±4.97 ^{bcde}
	BA 2 + NAA 0.5	0.76±0.48 ^{de}	10.16±3.56 ^d	5.59±2.41 ^{cde}	15.25±4.10 ^f

Control ; No hormone treatment during the stage of shoot elongation.

† ; Each value represents the mean ± S.D.

‡ ; Within columns, means followed by the same letters are not significantly different at p=0.01 according to Duncan's multiple range test.

적었다. 따라서 지황의 신초를 유도하기 위한 고체 배지와 신초의 신장을 위한 액체 배지에는 생장조절제로써 thidiazuron 1.0mg/L만을 처리하는 것이 효과적임을 알 수 있었다.

사 사

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것임.

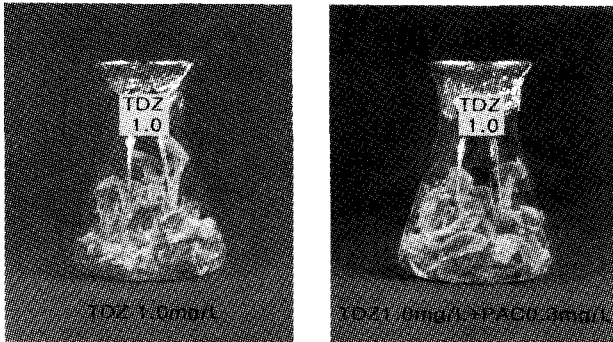


Fig. 2. Effect of Thidiazuron(TDZ) and Paclobutrazol(PAC) on shoot elongation in *Rehmannia glutinosa* after 3 weeks culture.

適 要

이 연구는 지황에서 신초의 유도과 신장에 미치는 thidiazuron과 paclobutrazol의 영향을 조사분석한 것으로 얻어진 결과는 아래와 같다.

1. 신초 유도시 thidiazuron을 단독처리한 경우에 신초 발생율이 높았으며, thidiazuron은 저농도에서부터 활성을 나타내어 영향을 주는 농도범위가 비교적 넓었다. 특히 thidiazuron 1.0mg/L 농도에서 신초 발생이 많았다.

2. 신초 유도시 thidiazurona만을 사용하였거나 thidiazuron에 paclobutrazol을 조합처리하였던지 간에 신초의 신장에는 모두 thidiazuron 1.0mg/L 처리구에서 마디수와 신초의 수가 가장 많아 신초 신장에 효과적이었다.

LITERATURE CITED

- Arndt, F. R., R. Rusch, H. V. Stillfried, B. Harnisch, and W. C. Martin. 1976. SN49537, a new defoliant. *Plant Physiology*. 57 (S) : 99.
- Das, D. K., N. S. Prakash, and N. B. Sarin. 1998. An efficient regeneration system of black gram (*Vigna mungo* L.) through organogenesis. *Plant Science* 134 : 199-206.
- Kanyand, M., C. M. Peterson, and C. S. Prakash. 1997. The differentiation of emergences into adventitious shoots in peanut, *Arachis hypogea* (L.). *Plant Science* 126 : 87-95.
- Lee, S.T. and Y.A. Chae, 1996. Cultivation of medicinal crops. Hyangmusa. pp. 181-186.
- Murasige T. and F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*. 15 : 473-497.
- Park, J.H. 2000. Plant propagation in bioreactor and acclimatization of shoots in *Rehmania glutinosa*. Ph. D. Thesis, Seoul National University, 2000.
- Sanago, M. H. M., S. J. Murch, T. Y. Slimmon, S. KrishnaRaj, and P. K. Saxena. 1995. Morphoregulatory role of thidiazuron : morphogenesis of root outgrowths in thidiazuron-treated geranium (*Pelargonium × Horticultureorum Bailey*). *Plant Cell Reports* 15 : 205-211.
- Tosca, A., R. Pandolfi, and S. Vasconi. 1996. Organogenesis in *Camellia × williamsii* : cytokinin requirement and susceptibility to antibiotics. *Plant Cell Reports* 15 : 541-544.