

생체반응기에서 수확한 지황 신초의 발근과 순화

고은정* · 채영암*†

*서울대학교 식물생산과학부

Rooting and Acclimatization of Shoots Harvested from Bioreactor Culture in *Rehmania glutinosa*

Eun-Jung Koh* and Young-Am Chae*†

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

ABSTRACT : This experiment was carried out to know the effect of media and agar concentrations, aeration and growth regulators on rooting and acclimatization of the shoots harvested from bioreactor culture in *Rehmannia glutinosa*. Half strength MS media with 1.2% agar improved rooting and acclimatization of shoots. Shoots were effectively acclimatized and rooted well in case of aeration by using membrane filtered vessels. Shoots acclimatized in vessel with membrane filter were healthier and had higher *ex vitro* survival rate than those without membrane filter on plug tray. Addition of paclobutrazol 0.3~0.4 mg/L to acclimatization media enhanced shoots growth and root development.

Keywords : *Rehmannia glutinosa*, Bioreactor, Shoot, Acclimatization, Rooting, Media, Aeration, Plant Growth Regulators

지황은 우리 나라에서 많이 이용하고 있는 생약재이나 종근으로 번식시키기 때문에 증식율이 낮고 종근 저장시 병원균에 의한 감염 및 발병으로 재배에 어려움이 있다. 생물반응기를 이용한 지황의 종묘 생산이 가능하였으나(박, 2000), 무병종묘 대량생산이 가능하기 위해서는 기내 유식물체를 기외 환경으로 이식했을 때 생존율과 생육에 대한 정보가 필요하다. 그러나 아직 이에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 기내 유도 신초를 온실이나 포장으로 이식할 때 자연환경에 적응할 수 있도록 순화기간 동안은 다소 낮은 90~60% 습도와, 영양분이 적은 조건(Kozai *et al.*, 1992), 용기의 통기성 증대(Debergh *et al.*, 1991), 성장조절물질(Welander, 1983), 배지 성분(Kozai, 1991), 응고제(Smith *et al.*, 1992; Tanaka, 1992) 등을 변화시키는 방법들이 이용되어져 왔다. 본 연구에서는 생물반응기에서 생육시켜 수확한 지황 신초의 발근과 순화에 미치는 몇가지 요인들을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

배지와 아가 농도가 신초의 발근과 순화에 미치는 영향

MS 배지 농도를 1X, 1/2X, 1/4X로한 다음 여기에 아가 농도를 0.8, 1.2, 1.6%로 조합처리하여 여과막이 없는 배양병에 분주한 후 공기부양형 생물반응기에서 수확한 신초를 치상하여 4주 후 발근과 신초의 생존율을 조사하였다.

신초의 발근과 순화에 미치는 aeration의 영향

기내 발근과 순화시 aeration의 효과를 알아보기 위해, 실험결과 효과적이었던 1.2% 아가를 첨가한 1/2X MS 배지를 0.2 µm polypropylene membrane filter가 부착된 배양병과 여과막이 부착되지 않은 배양병에 20 ml씩 넣고 생물반응기에서 수확한 신초를 치상하여 4주간 배양한 후 생육을 조사하였다. 또한 기내 발근과 순화시 aeration이 기외 활착시 유묘에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 순화과정에서 aeration을 시킨 것과 시키지 않은 조건에서 얻은 유식물체를 Sun 1 상토(Sun Gro Co., Canada)가 담긴 50구 plug 묘판에 이식하고 원예연구소 표준양액을 사용하여 2주간 활착 시킨 후 생존율, 초장, 엽수를 조사하였다.

신초의 순화에 미치는 생장억제제의 영향

생장억제제가 지황의 기내 순화에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 paclobutrazol 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/L, flurprimidol 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/L 및 chlorocholine chloride 0.1, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0 mg/L를 각각 처리하였다. 배지는 1.2% 아가를 포함한 1/2X MS 배지를 이용하였으며 배양 용기는 위의 실험 결과 효과가 인정된 여과막이 부착된 배양병을 이용하였다. 여기에 생물반응기에서 수확한 신초를 치상하여 4주간 배양한 후 생육을 조사하였다.

†Corresponding author: (Phone) +82-31-290-2306 (E-mail) yachae@snu.ac.kr <Received May 5, 2002>

결과 및 고찰

배지와 아가 농도의 영향

Table 1에서와 같이 MS 배지의 처리농도가 높을 수록, 아가의 처리농도가 낮을 수록 생존율이 높게 나타난 반면, 발근율은 MS 배지 농도가 낮을 수록, 아가 농도가 높을 수록 양호하였다. 그러나 MS 배지 농도가 너무 낮아 생존율이 지나치게 감소되는 1/4배 농도의 배지보다 1/2배 농도의 배지를 이용하고, 아가의 농도를 높이면 발근에는 효과적이지만 이것 또한 생존율을 감소시키게 되므로 아가는 1.2%로 처리하는 것이 지향의 발근과 순화를 동시에 향상시킬 수 있을 것으로 생각되었다.

Aeration의 효과

Table 2에서와 같이 여과막이 부착된 배양병에서 순화된 신초들의 생육이 여과막이 부착되지 않은 것에서 순화된 것에 비해 건전한 생육을 보여 gas가 이동되게 함으로써 용기 내의 습도를 낮춰주는 것이 유리함을 알 수 있었다. Whish *et al.*(1992)은 낮은 습도 조건에서 *Ptilotus*를 배양한 결과 기외 이식시 생존율이 향상되었다고 하였다. Debergh(1991)는 aeration이 가능한 용기를 사용하는 것이 식물체로 하여금 수분 보유 능력을 향상시킬 수 있다고 하였으며, Kozai *et al.*(1991)은 딸기의 액체배양에서 미세한 구멍이 있는 polypropylene film을 이용하여 용기 내에 aeration이 되도록 하였다.

여과막이 부착된 배양병에서 순화된 신초들의 생육은 우수하였으나 유묘 생산과정에서 중요한 것은 기내 식물체를 기외

Table 3. Growth characteristics of young plantlets transplanted on to plug tray after 4 weeks cultured in the culture vessel with or without 0.2 µm membrane filter in *Rehmannia glutinosa*.

Magenta type	Survival rate (%)	Plant height (cm)	No. of leaves
with membrane filter	96	9.8	9.5
without membrane filter	78	8.5	7.5
LSD _{0.05}	-	1.2*	0.9**

***indicate differences at the 5 and 1 significant levels, respectively.

환경에서 활착시킬 때 유묘의 생존율이다. 이를 검토한 Table 3에서 보면, 여과막이 부착된 배양병에서 순화된 신초가 여과막이 부착되지 않은 배양병에서 자란 신초보다 생육은 물론 생존율도 높았다.

생장억제제의 영향

신초의 기내순화시 도장을 억제하고 뿌리의 발달에 미치는 anti-GA계열 생장조절제인 paclobutrazol, flurprimidol, chlorocholine chloride의 영향을 검토한 결과는 Table 4와 같다. Paclobutrazol의 처리구는 지나친 생육억제 효과를 나타내지 않으면서도 생체중은 증가하여 식물체의 조직이 치밀해졌음을 알 수 있었다. 특히 0.3~0.4 mg/L 처리구에서는 뿌리가 다른 처리구에 비해 잘 발달되어 순화는 물론 순화 다음 단계인 토양 활착에도 유리하리라 생각되었다. Flurprimidol을 처리한 경우 초장과 잎수 및 뿌리의 발달이 가장 저조하였고 생체중이 가벼워 식물체의 생육이 건실하지 못하였다. Chlorocholine

Table 1. Effect of agar concentration and MS medium strength on rooting from the shoots of *Rehmannia glutinosa* harvested after 3 weeks culture in bioreactor.

Agar MS (%) strength	Rooting rate (%) [†]				Survival rate (%) [†]			
	0.8	1.2	1.6	mean	0.8	1.2	1.6	mean
1/4 X	89.7	93.9	96.7	92.5 ^a	78	66	60	72.7 ^b
1/2 X	76.6	91.9	94.1	88.2 ^{ab}	94	94	68	85.3 ^{ab}
1 X	76.0	79.2	86.7	80.8 ^b	100	96	90	90.7 ^a
mean	80.6 ^b	87.4 ^{ab}	93.5 ^a	-	95.3 ^a	85.3 ^a	68.0 ^b	-

[†]Survival shoots/total shoots × 100 (%)

[‡]Rooted shoots/survival shoots × 100 (%)

[§]Within columns, means followed by the same letters are not significantly different at p=0.05.

Table 2. Effect of culture vessel with 0.2 µm membrane filter on shoot development of *Rehmannia glutinosa* harvested after 3 weeks culture in bioreactor.

Vessel	Plant height (cm)	Fresh weight (g)	No. of leaves	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Root length (cm)
Without membrane filter	7.4	1.0	7.7	3.2	1.7	3.8
With membrane filter	8.2	1.3	10.1	4.9	2.7	5.6
LSD _{0.05}	0.7	0.3	0.9	0.4	0.2	0.6

Table 4. Effect of anti-GA growth regulators on *in vitro* acclimatization of *Rehmannia glutinosa* shoots harvested after 3 weeks culture in bioreactor.

Anti-GA	Concentration (mg/L)	Plant height (cm)	No. of leaves	Root length (cm)	Fresh weight (g)
PAC	0.1	8.62 ^a	9.10 ^{ab}	3.86 ^{cdef}	0.66 ^e
	0.2	8.50 ^a	8.90 ^{ab}	4.28 ^{cde}	0.89 ^c
	0.3	8.27 ^a	9.20 ^{ab}	5.76 ^{ab}	1.31 ^b
	0.4	8.12 ^a	9.85 ^a	6.29 ^a	1.42 ^a
	0.5	6.72 ^b	7.45 ^c	4.41 ^{cd}	1.29 ^b
FLU	0.1	5.62 ^{cd}	5.25 ^{de}	3.31 ^{efg}	0.28 ^g
	0.2	6.21 ^{bc}	5.65 ^d	3.19 ^{fgh}	0.35 ^g
	0.3	4.83 ^{de}	4.60 ^{def}	2.33 ^{gh}	0.32 ^g
	0.4	4.16 ^{ef}	4.25 ^{ef}	2.47 ^{gh}	0.31 ^g
	0.5	3.44 ^f	3.60 ^f	2.18 ^h	0.30 ^g
CCC	0.1	9.06 ^a	8.65 ^b	3.81 ^{cdef}	0.49 ^f
	0.5	8.60 ^a	8.30 ^{bc}	4.59 ^{cd}	0.71 ^{de}
	1.0	8.72 ^a	8.35 ^{bc}	4.71 ^{cd}	0.76 ^{de}
	2.5	8.76 ^a	8.50 ^{bc}	4.88 ^{bc}	0.79 ^{cd}
	5.0	8.87 ^a	8.45 ^{bc}	4.81 ^{bcd}	0.81 ^{cd}
Control		8.67 ^a	8.20 ^{bc}	3.71 ^{def}	0.36 ^g

PAC; Paclobutrazol, FLU; Flurprimidol, CCC; Chlorocholine chloride.

[†]within columns, means followed by the same letters are not significantly different at p=0.05.

chloride의 경우에는 초장과 엽수에서 paclobutrazol 처리구와 큰 차이가 없었으나 뿌리 발달과 생체중에서 다소 불리하였다.

이상의 결과 1.2%의 아가가 포함된 1/2배 MS배지에 paclobutrazol 0.4 mg/L를 처리하여 생물반응기에서 수확한 신초의 순화배지로 이용하고, 배양은 여과막이 부착된 배양병을 이용하는 것이 효과적임을 알 수 있었다.

적 요

생물반응기에서 배양 수확한 신초의 발근과 순화조건을 알기 위하여 실험한 결과는 다음과 같다. 배양배지는 MS 기본 배지의 농도를 반으로 줄이고 아가 농도를 1.2%로 하는 것이 신초의 발근과 순화에 유리하였다. 여과막이 부착된 배양병에서 신초를 생육시키는 것이 밀폐된 배양병에서 생육시킨 것보다 생육이 양호하고 생존율도 높았다. 배지에 paclobutrazol을 0.3~0.4 mg/L로 처리한 경우 신초의 발근과 생육이 양호하였다.

사 사

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것임.

인용문헌

- Debergh, P. C. 1991. Acclimatization techniques of plants from *in vitro*. *Acta Horticulture*. 289 : 291-300.
- Kozai, T., K. Iwabuchi, K. Watanabe, and I. Watanabe. 1991. Photoautotrophic and photomixotrophic growth of strawberry plantlets *in vitro* and changes in nutrient composition of the medium. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 25 : 107-115.
- Kozai, T., S. Kino, B. R. Jeong, M. Hayashi, M. Kinowaki, T. Ochiai, and K. Mori. 1992. A sideward lighting system using diffusive optical fibers for production of vigorous micropropagated plantlets. *Acta Horticulture*. 319 : 237-242.
- Park, J.H. 2000. Plant propagation in bioreactor and acclimatization of shoots in *Rehmania glutinosa*. Ph.D. Thesis, Seoul National University, 2000.
- Smith, M. A. L., S. M. Eichorst, and R. B. Rogers. 1992. Rhizogenesis pretreatments and effects on microcuttings during transition. *Acta Horticulture*. 319 : 77-82.
- Tanaka, M., M. Ikeda, S. Fukai, and M. Goi. 1992. Effect of different films used for film culture vessels on plantlet development of *Phalaenopsis* and *Cymbidium*. *Acta Horticulture*. 319 : 225-230.
- Welander, M. 1983. *In vitro* rooting of the apple rootstock M 26 in adult and juvenile growth phases and acclimatization of the plantlets. *Physiologia Plantarum*. 58 : 231-238.
- Whish, J. P. M., R. R. Williams, and A. M. Taji. 1992. Acclimatization-Effects of reduced humidity *in vitro*. *Acta Horticulture*. 319 : 231-236.