

## 홍경천(*Rhodiola rosea* L.)의 액아배양을 통한 다신초 유도 및 기내 대량증식

배기화 · 고명석 · 김남영 · 송재모 · 송관필

### *In vitro* propagation and multiple shoot induction of *Rhodiola rosea* L. by axillary bud culture

Kee-Hwa Bae · Myung Suk Ko · Nam Young Kim · Jae Mo Song · Gwan Pil Song

Received: 15 June 2012 / Accepted: 20 July 2012  
© Korean Society for Plant Biotechnology

**Abstract** An efficient *in vitro* propagation was established by using axillary bud explants of roseroot (*Rhodiola rosea* L.), which has been known as a medicinal plant in East Asia. Among various media tested, MS medium supplemented with 1.0 mg/L BA and 1.0 mg/L GA<sub>3</sub> was found to be the best for multiple shoot formation (15 axillary shoots per axillary bud). In addition 1/2MS medium containing 50 g/L sucrose was best for shoot elongation (7.8 cm) and increasing total chlorophyll contents (8.64 mg/g) best. Maximum number of roots (17.7 roots per explant) was observed on the medium without plant growth regulators. Propagated plants were successfully acclimatized to *ex vitro* conditions, with a survival frequency of 97% after 12 weeks. Most rooted shoots

grew well and produced viable seeds when grown *in vitro* culture conditions. Therefore, *R. rosea* can be effectively propagated *in vitro* by the system we developed in this study.

**Keywords** axillary bud culture, *in vitro* rooting, *in vitro* propagation, *Rhodiola rosea*

#### 서론

홍경천 (*Rhodiola rosea* L.)은 우리나라 중부 이북의 고산 지대에 자라는 다년초이다. 식물분류학적으로 돌나물과 (Crassulaceae), 돌꽃속 (*Rhodiola*)에 속하는 식물로서 뿌리와 줄기는 중요한 약리적 효능이 있는 것으로 알려져 있다 (Chung 1974; Linch et al. 2000). 돌꽃속에 속하는 식물은 전 세계에 96종이 있으며 전체 종의 약 70%가 중국 고산지역 (티벳신장 및 백두산지역)에 분포하고 있고, 약 20여종은 유럽에 자생하고 있다. 최근에는 백두산의 해발 1800~2300 m사이의 이끼가 낀 원시림 속 자작나무 숲과 협곡의 바위틈에서 많이 서식한다고 보고되고 있고 (Choi 2004), 이는 온도가 낮고 건조하고 산소가 적으며 강한 자외선이 비치고 낮과 밤의 온도차이가 큰 곳에서 자생할 수 있는 특수한 적응성을 가지고 있기 때문인 것으로 알려져 있다 (Choi 2004).

홍경천은 전통 의약적 측면에서의 기능은 원기를 회복 시켜 질병과 체내 독소축적을 해소할 수 있는 약재로 이용되어 왔다 (Ming et al. 1988). 현대 의학적인 측면에서의 주요한 효능은 항산화 (Park et al. 2005), 항암 (Kim et al. 2006a), 면역 반응 (Kim et al. 2008), 중추신경계활성 (Petkov et al. 1986)과 스트레스억제 (Afanas'ev et al. 1996; Lishmanov et al. 1999)에 효과가 있다고 보고되어 있다. 이

K. H. Bae  
(재)홍천메디칼허브연구소  
(Hongcheon Institute of Medicinal Herb, 101 Yeonbong-ri,  
Hongcheon-eup, Hongcheon, Gangwon, 250-930, Korea)

M. S. Ko  
(재)제주테크노파크  
(Jeju Biodiversity Research Institute, Jeju Technopark,  
Seogwipo, 699-943, Korea)

N. Y. Kim  
국립수목원  
(Department of Horticulture and Education, Korea National  
Arboretum, Pocheon, Gyeonggi 487-821, Korea)

J. M. Song  
강원도자연환경연구사업소  
(Nature Environment Research Office of Gangwon Province,  
Hongcheon, Gangwon, 250-884, Korea)

G. P. Song (✉)  
(주)제주환경자원연구소  
(Jeju Environment Research Institute, Rm 603, BI Center, Jeju  
Tourism College, Jeju 690-791, Korea)  
e-mail: gwanpill@hanmail.net

러한 약리적 효능을 보이는 대표적인 생리활성 물질은 salidroside와 p-trycol이 알려져 있으며 (Linch et al. 2000), 이외에 기본적인 화합물과 아스파라긴산, 트레오닌, 글루타민산, 글리신 등 20여종의 아미노산을 함유하고 있다.

홍경천은 이러한 효능과 다양한 생리활성물질이 보고됨에도 불구하고 서식환경이 제한적이어서 재배지가 특정한 지역에 국한된다. 식물조직배양은 약리적 효능이 우수한 수종의 대량증식과 이들의 무병주의 생산을 통한 청정식물재료의 생산에 효과적인 방법이 될 수 있지만 국내외적으로 몇몇 연구자에 의해 부정근 생산(Bae et al. 2009), 캘러스유도를 통한 이차대사산물 생산(Choi et al. 2005), 생물반응기를 활용한 증식기법(Debnath 2009) 등의 연구만 진행될 뿐, 인삼 (Choi et al. 1997b), 가시오갈피 (Choi et al. 1997a), 더덕 (Ahn et al. 2008), 팔손이 (Choi et al. 2005), 당느릅나무 (Kim et al. 2007)의 연구에 비하면 매우 미진한 상태이다.

홍경천의 번식은 실생 (seedling)이나 분근으로 번식이 가능한 것으로 알려져 있지만 국내에서 번식에 성공한 사례는 아직까지 보고되지 않고 있다. 또한 조직배양에 의한 신초증식에 관한 연구는 Bae 등 (2005)에 의한 홍경천의 잎절편으로부터 부정아 배양을 통한 식물체생산에 관한 연구 외에는 전무한 상태이다. 따라서 본 연구에서는 기내에서 홍경천의 액아로부터 다신초를 유도하고 효과적인 신초증식을 통한 기내 유식물체의 대량증식조건을 확립하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 식물재료 및 배양조건

본 연구에 사용된 홍경천의 기내배양체는 Bae 등 (2005)에 의해 잎절편으로부터 생산된 재분화체를 사용하였다. 모든 배양은 온도  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , 광주기 16/8시간, 광도  $46 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 배양실에서 배양하였다. 실험에 사용한 모든 배지와 기구는  $121^\circ\text{C}$ , 1.5기압으로 20분간 고온-고압 멸균하여 페트리디쉬는 30 mL, 4각 plastic 배양병(SPL, Korea)에 각각 100 mL 씩 배지를 분주하여 실험에 사용하였다.

### 액아로부터 다신초(multiple shoot)의 유도

기내배양 중인 홍경천의 줄기에서 액아를 포함하는 마디를 2 cm의 길이로 절단하여 1.0, 3.0 mg/L의  $\text{GA}_3$ 와 0.5, 1.0, 3.0 mg/L의 BA를 농도별로 각각 첨가한 MS (Murashige and Skoog 1962)고체배지와 농도를 1/2로 줄인 1/2MS 고체배지 (30 g/L sucrose, 0.3 g/L gerlite, pH 5.7)를 사용하였

다. 절편은 각 처리구당 10개씩 3반복하여 치상하였고 광주기 16/8h, 온도  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 6주간 배양한 후 신초의 발생 수와 길이 및 신초의 발생양상을 관찰하였다.

### Shoot 신장에 미치는 sucrose 농도 및 엽록소 함량측정

홍경천의 액아로부터 6주간 배양하여 얻어진 다신초의 신장에 미치는 적정 배지 및 sucrose의 농도를 알아보기 위해 액아로부터 발생된 다신초를 분리하여 1/2MS, MS, 및 2MS배지에 0, 10, 30, 50 g/L의 sucrose가 각각 첨가된 배지를 제조하여 처리구당 5개체씩 3반복하여 치상하였다. 광주기 16/8h, 온도  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 4주간 배양한 후 shoot의 길이와 shoot당 액아수를 조사하였다. 엽록소 함량의 측정은 80% acetone에 잎절편을 잘게 절단하여 80% acetone용액에 침지하였다. 암조건에서 48시간 추출하고 chlorophyll a, b의 함량은 분광광도계 (Shimadzu, UV-1650PC, Japan)를 이용하여 흡광도 663 nm, 645 nm에서 측정하여 Lichtenthaler (1987)의 방법으로 계산하였다.

### 기내 뿌리 유도

기내뿌리유도를 통한 효과적인 식물체 성장 및 순화를 위해 각각의 초장이 5~8 cm로 신장된 신초를 절단하여 다신초로부터 분리하였다. 분리된 유식물체는 1/2MS 배지에 30 g/L의 sucrose를 첨가하고 0, 0.1, 1.0, 및 3.0 mg/L의 IBA 또는 NAA를 단용처리한 배지위에 치상하였다. 실험에 사용한 개체는 5개체씩 3반복하였으며 6주후에 발달된 뿌리의 수와 길이를 각각 조사하였다.

### 무균배양묘의 순화

기내에서 확립한 배양체계에 따라 기외 생존율에 적합한 토양조성을 알아보기 위하여 평균초장이 6~10 cm 내외, 근장 2.5 cm로 성장한 유식물체를 사용하였다. 토양 조성은 모래단용상, 모래와 peat moss를 1:1로 배합한 SP혼용상, 펄라이트 단용상, 펄라이트와 peat moss를 1:1로 배합한 PP혼용상, peat moss 단용상을 조성하고 관수에 의한 토양유실 및 수분증발을 막기 위해 수태(말린 이끼)를 덮어 주었다. 위 조성상에 4개체씩 3반복 처리하여 4주후에 신장률, 뿌리길이, 토양활착률 및 생존율을 조사하였다. 유리온실 내 생육환경은 차광 60%, 습도 50~70%로 조절하였다.

### 통계분석

모든 데이터는 means  $\pm$  standard deviation으로 표시하였다. 변인들의 집단간 차이를 알아보기 위해서 one-way ANOVA

를 실시하였고, 유의성이 있는 경우 Duncan's multiple range test로 사후검증을 하였다. 통계적 유의성은  $P < 0.05$ 로 설정하여 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 액아로부터 다신초 (multiple shoot) 유도

홍경천의 액아로부터 다신초의 유도조건을 알아보기 위해 GA<sub>3</sub>와 BA의 혼합배지를 제조하여 실험한 결과, 배양 2주 후부터 액아가 비대되기 시작하였고, 배양 4주후에 모체가 고사하며 액아에서 다신초가 형성됨을 관찰하였다. MS배지의 농도에 따른 다신초 유도의 차이는 미미하였지만 GA<sub>3</sub>와 BA가 각각 1.0 mg/L 첨가될 경우 다른 농도에 비해 다신초유도율이 높음을 확인할 수 있었다 (Table 1). 대조구로 사용된 식물생장조절물질 무첨가 배지에서는 줄기의 신장 만 이루어 질 뿐 액아부위에서 아무런 반응도 일어나지 않았다 (Fig. 1A). 반면, 식물생장조절물질로 GA<sub>3</sub>와 BA의 혼합에 따른 다신초 유도를 확인 한 결과 1.0 mg/L의 GA<sub>3</sub>와 1.0 mg/L의 BA를 혼합한 처리구에서 대조구보다는 15배, 다른 GA<sub>3</sub>와 BA의 조합에 비해 2~3배정도 높은 다신초 유도양상을 확인하였다 (Table 1). 또한 혼합처리 (Fig. 1C)는 BA 단용처리 (Fig. 1B) 보다 신초의 색은 열지만 좀 더 건실한 발육상태를 보였다. GA<sub>3</sub>와 BA의 단용처리 시 GA<sub>3</sub>가 첨가된 배지에서는 홍경천의 줄기신장만이 이루어졌고 BA만 첨가된 배지에서는 조직이 부풀어 오르지만 하는 현상을 보였다. 홍경천의 액아에서 다신초를 유도한 경우 GA<sub>3</sub>와 BA의 농도가 모두 낮은 처리구에서 신초의 유도가 양호했다. GA<sub>3</sub>의 농도가 증가할수록 신초가 연한 녹색을 띠며 신초가 웃자라는 경향을 보였다. BA 역시 농도가 증가할수록 조직이 비대해지며 비정상적인 신초발생이 이루어졌다. 이는 고농도의 cytokinin의 처리는 캘루스와 신초의 정상적인 성장을 억제한다는 연구 보고와 일치하였다 (Moon et al. 1999; Moon et al. 2002). 한편 3.0 mg/L의 GA<sub>3</sub>와 1.0 mg/L 이상의 BA가 혼합된 처리구에서는 모체에 붉은색 침전물이 침적되는 것을 확인하였고 이러한 침적은 배양 후기로 갈수록 진해지면서 배양체가 고사하는 결과라 사료된다.

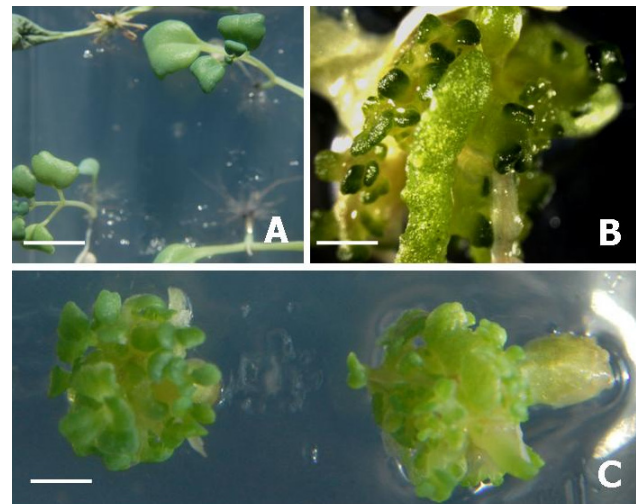
### Shoot 신장에 미치는 sucrose농도 및 엽록소 함량

Sucrose의 농도가 액아로부터 유도된 다신초의 증식과 신장에 미치는 영향을 알아보기 위해 모체로부터 다신초 덩어리를 절단하여 배지에 치상해 본 결과, 홍경천의 다신초 증식 (신장)은 sucrose가 첨가되지 않은 배지에서는

**Table 1** Effect of GA<sub>3</sub> and BA on shoot multiplication from axillary bud culture of *R. rosea* after 6 weeks of culture

Medium	PGRs (mg/L)		No. of shoot/ axillary bud	Necrotic shoot (%)
	GA <sub>3</sub>	BA		
Control	0	0	0.0±0.0 <sup>a</sup>	0
		0.5	4.3±1.5h	23.1
		1.0	15.0±3.0a	22.7
MS		3.0	7.3±0.6c	33.3
		0.5	6.0±1.0e	22.2
		3.0	7.0±1.0d	61.9
		3.0	4.7±2.1g	92.9
		0.5	6.3±1.5e	21.1
		1.0	14.7±3.0b	52.4
1/2MS		3.0	7.0±1.0d	59.1
		0.5	5.7±1.5f	23.5
		3.0	6.3±0.6e	52.6
		3.0	4.7±2.1g	78.6
		0.5	6.3±1.5e	21.1
		1.0	14.7±3.0b	52.4

\*Data are the means ± SD, of three experiments. Different alphabetical letters are significantly different according to Duncan's multiple range test at  $P < 0.05$ .



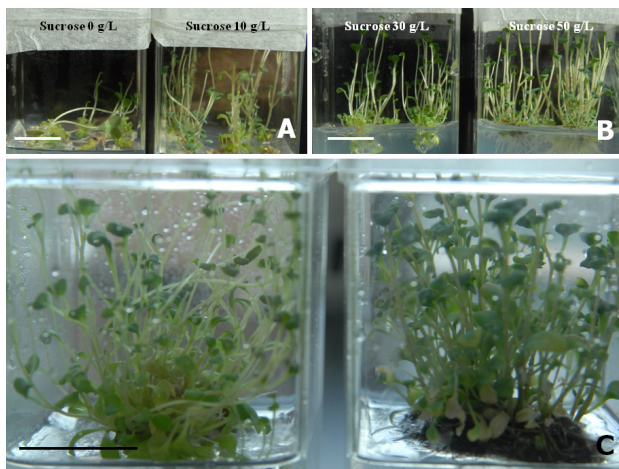
**Fig. 1** Shoot multiplication via axillary bud culture of *R. rosea* after 6 weeks of culture. A: Control (1/2MS medium 30 g/L sucrose), B: Dark green shoot primordia on 1/2MS medium with 1.0 mg/L BA, C: 1/2MS medium with 1.0 mg/L BA and 1.0 mg/L GA<sub>3</sub>. Scale bars, 15 mm.

전혀 일어나지 않았지만 sucrose가 10, 30, 50 g/L가 첨가된 배지에서는 점차적으로 증가하는 현상을 보였다 (Table 2, Fig. 2A, B). 줄기의 길이는 sucrose가 5%첨가된 배지에서 7.8 cm로 가장 높은 신장을 보였으며, 절편 당 증식된 다신초의 수도 16개로 가장 높았다 (Table 2). 4주간 sucrose 농도에 따른 실험을 수행한 후 1/2MS 배지에 50 g/L의 sucrose가 첨가된 배지에 계대배양 후 4주간 생육을 지켜

**Table 2** Effect of sucrose concentration on shoot elongation and number of multiple shoot from *R. rosea* after 6 weeks of culture

Sucrose concentration (g/L)	Frequency of shoot growth	
	Length of shoot (cm)	No. of multiple shoot/explant
0	1.1±0.4 <sup>d</sup>	2.1±0.4d
10	4.4±1.8c	8.8±2.4c
30	5.2±1.1b	12.5±2.1b
50	7.8±1.4a	16.4±1.5a

\*Data are the means ± SD, of three experiments. Different alphabetical letters are significantly different according to Duncan's multiple range test at P < 0.05.



**Fig. 2** Micropropagation of *R. rosea* via axillary bud culture. A and B: Elongated shoots from primary explants on 1/2MS medium with different sucrose concentration, C: Proliferated shoot of after 6 weeks of culture. Scale bars, 5 cm.

본 결과 초기 4주간의 배양은 식물체가 웃자라는 경향을 보였지만 계대배양 후 건실하게 생육하는 결과를 보였다 (Fig. 2C). 본 실험에서 액아로부터 다신초 덩어리를 유도하기 위해 BA와 GA<sub>3</sub>를 혼용하여 처리하여 유도율을 증가시켰다. 하지만 유도효율의 증가는 초기 결과로 매우 중요한 의미를 지니지만 증식과 신장은 유도효율과는 별개로 중요하다. 이에 따라 식물생장조절물질의 영향 없이 증식과 신장효율을 알아보았다. 다신초 덩어리가 유도된 다음 4주 이상 식물생장조절물질이 첨가된 배지에서 배양을 하면 식물생장조절물질의 영향으로 인해 배양체의 과수화와 뒤틀림현상이 일어난다 (Moon et al. 1999). 하지만 본 실험의 경우 유도는 식물생장조절물질 첨가 배지에서 진행을 하고 증식과 신장은 식물생장조절물질이 첨가되지 않은 배지에 sucrose를 달리하여 실험한 결과 건전하게 증식, 신장한 홍경천의 줄기들을 생산할 수 있었다. 한편 신초의 건전성을 파악하기 위하여 생리적 생장지표인 엽록소의 함량을 측정된 결과, sucrose가 50 g/L 첨가된 배양군에서 8.6 mg/g의 엽록소함량을 나타냈고,

**Table 3** Effect of sucrose concentrations on chlorophyll contents in *R. rosea* after 3 months of culture. Plants were grown on 1/2MS medium without plant growth regulators containing 3.0 g/L gelrite

Sucrose (g/L)	Chlorophyll contents (mg/g)		
	Chla	Chlb	TCC
Control	1.46±0.8 <sup>c</sup>	1.82±0.4c	3.31±0.8c
10	1.08±0.4d	1.52±0.3d	2.67±0.4d
30	1.64±0.7b	1.86±0.5b	3.57±0.7b
50	5.16±0.2a	3.84±1.9a	8.64±0.4a

\*Data are the means ± SD, of three experiments. Different alphabetical letters are significantly different according to Duncan's multiple range test at P < 0.05. TCC means total chlorophyll contents.

**Table 4** Effect of IBA and NAA concentration on root induction from plantlet of *R. rosea* after 6 weeks of culture

Treatment of auxins (mg/L)	No. of root/explant	Length of root/explant (cm)
0	17.7±1.4 <sup>a</sup>	2.8±0.4a
IBA 0.1	12.1±1.2c	1.2±0.8cd
IBA 1.0	16.4±2.4b	1.4±0.4c
IBA 3.0	11.5±0.8d	2.1±0.6b
NAA 0.1	0.0±0.0e	0.0±0.0e
NAA 1.0	0.0±0.0e	0.0±0.0e
NAA 3.0	0.0±0.0e	0.0±0.0e

\*Data are the means ± SD, of three experiments. Different alphabetical letters are significantly different according to Duncan's multiple range test at P < 0.05.

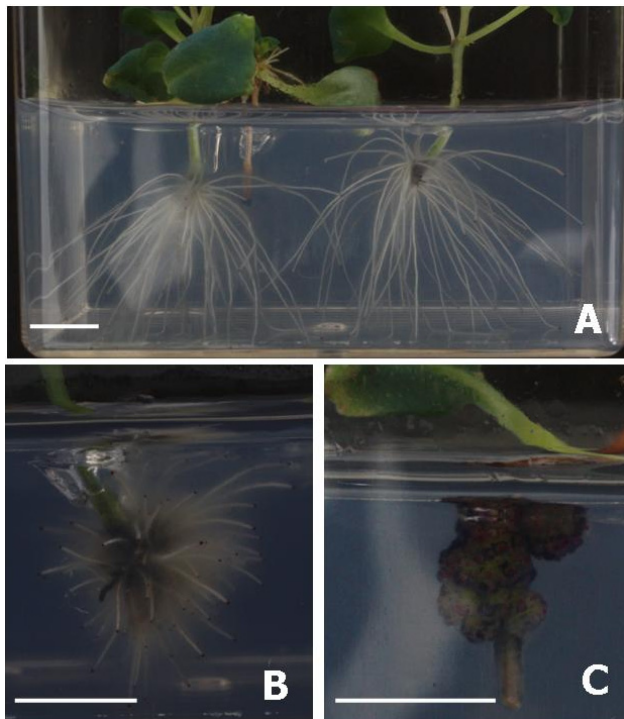
이는 엽록소의 함량은 sucrose의 농도가 높아질수록 농도의존적으로 증가하였다 (Table 3). 일반적으로 엽록소의 함량은 배지 내에 첨가되는 미량원소에 의해 좌우되는 경향이 있다 (Cho and Rho 2008). 현재까지 기내조직배양 시 sucrose는 식물의 생육과 이차대사산물의 함량에 초점이 맞추어져 연구가 이루어지며 일차대사산물에 관한 연구는 아직까지 보고된 바 없다.

### 기내 뿌리유도

액아로부터 유도, 증식된 홍경천의 유식물체를 절단하여 뿌리유도 배지에 치상한 결과, 배양 2주후부터 절단면이 약간 부풀어 오르며 절단면이 검은색으로 변하며 뿌리가 유도되기 시작했다. 기내발근효율을 높이기 위해 기내배양체의 발근 시 주로 사용하는 옥신류 식물생장조절물질 중에 IBA와 NAA를 개별적으로 처리하여 실험을 수행한 결과, 식물생장조절물질을 첨가하지 않은 대조군에서 가장 높은 발근수와 길이를 보였다 (Table 4). 홍경천의 기내



유식물체를 이용한 발근은 식물생장조절물질을 첨가하지 않아도 발근이 쉽게 이루어짐을 확인하였다 (Fig. 3A). IBA가 첨가된 배지에서는 뿌리의 유도는 대조구와 비슷한 빈도로 이루어지지만 유도 후 증식은 억제됨을 확인하였다(Fig. 3B). 또한 NAA가 첨가된 배지에서는 붉은색 반점을 포함하는 초록색의 비대조직이 만들어 짐을 관찰할 수 있었다 (Fig. 3C). 일반적으로 기내배양체 (초본, 목본류)의 발근은 토양순화 시 토양활착을 양호하게 하기 위한 전단계로 정상적인 기내발근이 이루어져야 토양순화 후 배양체가 생존할 확률이 높아지는 것이다. 하지



**Fig. 3** *In vitro* rooting in *R. rosea*. A: Rooting on 1/2MS medium without plant growth regulators (control), B: Root formation on 1/2MS with 1.0 mg/L IBA, C: Rooting on 1/2MS with 1.0 mg/L NAA. Scale bars, 1 cm.

만 내생옥신(endogenous auxin)이 많은 식물의 경우 식물생장조절물질이 첨가되지 않은 배지에서도 발근이 잘 이루어지는 것으로 알려져 있다. 특히 목본류인 개느삼 (*Echinosophora koreansis*)과 팔손이 (*Fatsia japonica*), 초본류인 고추나물 (*Hypericum erectum*)의 경우 옥신류 식물생장조절물질 무첨가 배지에서도 20~50%이상의 발근률을 보였다 (Choi et al. 2005; Kim et al. 2006b; Moon and Kim 2008). 이는 수종은 다르지만 식물생장조절물질이 첨가되지 않은 배지에서도 발근이 이루어지는 결과를 보이는 것으로 본 실험의 결과와 비슷한 양상을 보이는 것이다.

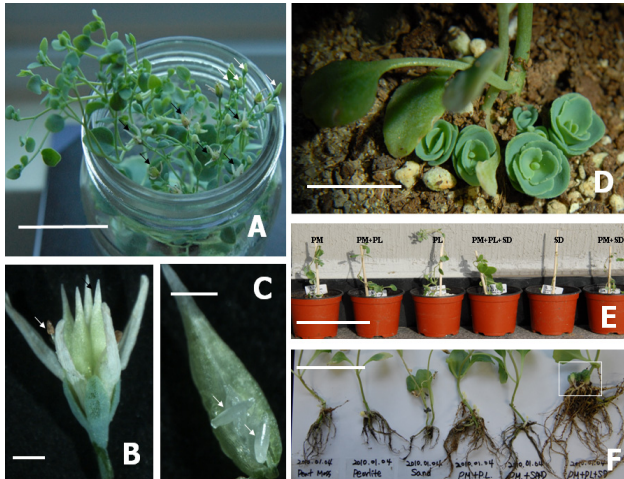
### 기내 화아형성 및 토양순화

기내배양 식물의 효율적인 토양순화는 실용화 (산업화)의 측면에서 매우 중요한 요인이다. 유용한 성분을 함유하고 있는 식물과 희귀 및 멸종위기종의 경우 특히 더 중요하다. 본 실험에 사용된 홍경천은 약리작용이 우수한 수종으로 재배를 통한 증식을 위해 수년전부터 연구를 진행해왔다. 하지만 뿌리발육이 저조했으며 토양활착 후 생장이 현저히 저해되는 현상을 보여 산업화 연구에 장애물로 작용하고 있다 (Hong et al. 2003). 하지만 본 연구에서는 기내에서 발근된 유식물체를 다양한 배양토를 조합한 포트에서 95%이상 활착을 보였으며 100% 생존하였다. 모래상을 제외하고는 모든 처리구에서 비교적 건실한 생장을 하였고 (Table 5), 4주후 PM+PL+SD가 혼용 처리된 포트에서는 뿌리가 토양을 활착하는 양 (토양활착량: rootage root)이 다른 처리구에 비해 3~10배 높았다 (Table 5). 또한 shoot 기저부 사이에서 멍아(동아)가 형성됨을 확인 할 수 있었다 (Fig. 4 D, E, F). 한편 기내 유식물체를 3개월간 증식할 경우 기내 유식물체에서 완전한 구조를 가지는 화기가 형성이 되었다 (Fig. 4 A, B). 또한 자방 내에 미숙한 종자가 약 12개 정도 포함하고 있었다 (Fig. 4C).

**Table 5** Effect of several substrates on the growth and survival of plantlets of *R. rosea* transplanting to soil pot after 8 weeks of culture

Substrate	Shoot part (cm)		Root part (cm)		RTR (mg/g)
	Length	Diameter	Length	Diameter	
PM	19.9±1.7 <sup>a</sup>	1.4±0.1 <sup>c</sup>	4.7±1.5 <sup>de</sup>	1.2±0.2 <sup>b</sup>	56
PL	18.9±2.4 <sup>b</sup>	1.5±0.2 <sup>b</sup>	5.0±1.0 <sup>d</sup>	0.9±0.4 <sup>f</sup>	58
SD	14.2±2.7 <sup>e</sup>	1.0±0.3 <sup>ef</sup>	3.2±1.7 <sup>f</sup>	0.5±0.4 <sup>d</sup>	22
PM+PL	17.3±2.3 <sup>c</sup>	1.3±0.2 <sup>d</sup>	7.1±0.9 <sup>b</sup>	1.1±0.3 <sup>bc</sup>	78
PM+SD	15.1±2.3 <sup>d</sup>	1.1±0.3 <sup>e</sup>	6.8±0.6 <sup>bc</sup>	0.5±0.1 <sup>de</sup>	224
PM+PL+SD	17.3±0.7 <sup>c</sup>	1.7±0.3 <sup>a</sup>	14.4±1.8 <sup>a</sup>	2.3±0.2 <sup>a</sup>	658

\*Data are the means ± Standard deviation, of three experiments (n=15). Different alphabetical letters are significantly different according to Duncan's multiple range test at P < 0.05. Substrate mixtures used for the test: PM, only peatmoss; PL, only perlite; SD, only sand; PM+PL, mixed peatmoss and perlite (1:1); PM+SD, mixed peatmoss and sand (1:1); PM+PL+SD, mixed peatmoss, perlite and sand (1:1:1). PTR was described Rootage of root.



**Fig. 4** *In vitro* flower formation and acclimatized plantlets in the pot in *R. rosea*. **A:** *In vitro* flowering of plantlet after 3 months of culture (black and white arrows indicated bloomed flowers and flower buds), **B:** Flower. Double arrow and white arrow indicate stigma and stamen, respectively, **C:** Ovary. White arrows indicate immature embryo, **D:** Closer view of new sprouts shown in Fig. 4F (open square), **E:** Acclimatized plantlets in plastic pot after 8 weeks of transplanting. **F:** Growth of root in potting soil. Open square indicates new sprout. Scale bar, 5 cm.

**적 요**

본 실험은 약리적 효능이 뛰어난 홍경천의 기관(액아가 포함된 줄기 조직)배양을 통한 대량증식 방법의 일환으로 액아배양을 통한 다신초를 유도, 증식조건에 관해 BA와 GA<sub>3</sub>의 영향을 조사하였고 신초증식에 필요한 적정 sucrose의 농도를 확인하였다. 그 후 적절한 기내 발근 및 토양순화 조건을 탐색하여 최적의 홍경천의 생산 조건을 확립하였다. 다신초의 유도 및 증식은 GA<sub>3</sub>와 BA를 혼합 처리가 효과적이었다. 신초증식에 효과적인 sucrose의 농도는 50 g/L가 첨가된 배지였으며, 평균 7 cm 이상의 신장을 보였다. 기내 발근은 옥신류 식물생장조절물질 무첨가 배지에서 가장 높은 발근길기와 개수를 나타냈다. 기내발근된 유식물체의 토양순화는 모래상을 제외하고는 모두 양호한 생장을 보였고, 특히 모래, 피트모스, 펄라이트가 모두 첨가된 배합토에서 가장 양호한 생장을 보였다. 이상의 결과는 수년전 국내에 도입하려다 실패한 약용식물인 홍경천의 기내배양을 통한 재배의 가능성을 제시하는 것이고 더 나아가 다양한 생물소재의 활용방안의 기초재료로 활용될 것으로 보여진다.

**인용문헌**

Afanas'ev SA, Krylatov AV, Lasukosa TV, Lishmanov YB (1996) Participation of inducible stress proteins in the cardioprotective

effects of *Rhodiola rosea*. *Biochem (Moscow)*. 61:1258-1263  
 Ahn CH, Bae KH, Yi JS, Choi YE (2008) Induction and growth of adventitious roots and bioreactor culture in *Codonopsis lanceolata*. *Kor J Plant Biotech* 35:155-161  
 Bae KH, Lim S, Yoon ES, Shin CG, Kim YY, Kim YS (2005) Effect of cytokinin and putrescine on plant regeneration from leaf explant of *Rhodiola sachalinensis* A. Bor. *Kor J Plant Biotech* 32:195-199  
 Bae KH, Yoon ES, Choi YE (2005) In vitro culture of adventitious root from *Rhodiola sachalinensis*. *Kor J Plant Res* 4:281-286  
 Cho EY, Roh KS (2008) Influence of ammonium against Cadmium effect on *in vitro* growth, chlorophyll and Rubisco/Rubisco activase in Tobacco leaves. *J Life Sci* 5:660-667  
 Choi DY, Ahn SY, Lee SG, Han JS, Kim EC, Lee HB, Shin JH, Kim EK, Row KH (2004) Separation and performance test of whitening agent in *Rhodiola sachalinensis*. *Kor J Plant Biotech Bioeng* 3:169-173  
 Choi HJ, Kim SJ, Hwang B, Ahn JC (2005) Optimization of treatment concentration and screening of exogenous plant growth regulators for improvement of salidroside yield in *Rhodiola sachalinensis* A Bor cell suspension culture. *Kor J Plant Biotech* 2:105-109  
 Choi KM, Hwang SJ, Ahn JC, Lee HY, Kim JH, Hwang B (2005) *In vitro* propagation from axillary bud explant of *Fatsia japonica* Deene. et Planch. *Kor J Med Crop Sci* 13:300-303  
 Choi YE, Kim JW, Soh WY (1997a) Somatic embryogenesis and plant regeneration from suspension cultures of *Acanthopanax koreanum*. *Plant Cell Rep* 17:84-88  
 Choi YE, Kim HS, Yang DC, Choi KT (1997b). Distribution and changes of reserve materials in cotyledon cells of *Panax ginseng* related to direct somatic embryogenesis and germination. *Plant Cell Rep* 16:738-744.  
 Chung TH (1974) Korean flora (Herb part). Seoul, Academybook. pp 283  
 Debnath SC (2009) Zeatin and TDZ-induced shoot proliferation and use of bioreactor in clonal propagation of medicinal herb, roseroot (*Rhodiola rosea* L). *J Plant Biochem Biot* 18(2): 245-248  
 Hong EY, Kim IH, Yun JS, Yun T, Lee CH (2003) Growth characteristics and search for eligible cultivation area of *Rhodiola sachalinensis* A. Bor. *Kor J Plant Res* 16:212-217  
 Kim CH, Kwon MC, Han JG, Ha JH, Jeong HS, Choi GP, Park UY, Nam JH, Hwang B, Lee HY (2008) Immune activities of *Rhodiola sachalinensis* A. Bor. extracts isolated with various extraction process. *Kor J Med Crop Sci* 16:383-389  
 Kim JA, You XL, Ahn CH, Lee JS, Choi YE (2007) Plant Regeneration via direct adventitious roots from free root segments of *Ulmus davidiana* Planch. *J Korean Forest Sci* 96(1): 83-88  
 Kim JY, Seong NS, Lee YJ (2006a) A study on the effects of *Rhodiola rosea* root on the cancers. *Kor J of Herb* 21:79-87  
 Kim ML, Nam DW, Ahn JC, Hwang B (2006b) Micropropagation of *Hypericum erectum* by axillary bud culture. *Kor J Med Crop Sci* 14:23-26  
 Lichtenthaler HK (1987) Chlorophylls and carotenoids: pigments

- of photosynthetic biomembranes. *Meth Enzymol* 148:350-382
- Linch PT, Kim YH, Hong SP, Jian JJ, Kang JS (2000) Quantitative determination of salidroside and tyrosol from the chromatography. *Arch Pharm Res* 23:349-352
- Lishmanov YB, Maineskulova LA, Uskina EV, Maslov LN (1999) Opiatergic mechanisms of cardioprotective and antiarrhythmic effects of adaptation. *Bull Exp Bio and Medi* 127:151-154
- Ming HQ, Xia GC, Zhang RD (1988) Advanced research on *Rhodiola*. *Chin Trad Herbal Drug* 19:229-234
- Moon HK, Noh EW, Ha YM, Shim KK (2002) Micropropagation of juvenile and mature tree of *Corylopsis coreana* by axillary bud culture. *Kor J Plant Tiss Cult* 29:117-121
- Moon HK, Suk GY, Kwon YJ, Son SH (1999) Micropropagation of a rare species, *Abeliophyllum distichum* Nakai. via axillary bud culture. *Kor J Plant Tiss Cult* 26:133-136
- Moon HK, Kim YW (2008) *In vitro* propagation of a rare species, *Echinosophora koreensis* Nakai. by axillary bud culture. *Kor J Plant Tiss Cult* 35:229-234
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15:473-479
- Park HU, Yoon JH, Kim JY, Jeong CH, Park CK, Song WS, Seo KI (2005) Biological activity of the fractions extracted from *Rhodiola dumulosa*. *Kor Soc Food Pres* 12:596-500
- Petkov VD, Yonkov D, Mosharoff A, Kambourova T, Alova L, Petkov V, Todorov I (1986) Effects of alcohol aqueous extract from *Rhodiola rose* L. root on learning and memory. *Act Physiol Pharmacol Bulg* 12:3-16