Korean J. Plant Res. 29(4):363-375(2016)
http://dx.doi.org/10.7732/kjpr.2016.29.4.363

Print ISSN 1226-3591
Online ISSN 2287-8203

Original Research Article

가락지나물의 생장과 생리활성물질 함량에 미치는 차광, 광질 및 화학적 엘리시테이션

이종두[1], 박정애[1], 박병준[2], 정철승[3], 박소영[1], 백기엽[1]*

[1]충북대학교 축산·원예·식품공학부, [2]한국콜마㈜ 소재연구소 바이오소재개발팀, [3]임상시험신약생산센터

Effect of Shading, Light Quality, and Chemical Elicitation on Growth and Bioactive Compound Content of *Potentilla kleiniana* Wight et Arnott

Jong-Du Lee[1], Jung-Ae Park[1], Byung-Jun Park[2], Cheol-Seung Jeong[3], So-Young Park[1] and Kee-Yoeup Paek[1]*

[1]Division of Animal, Horticulture and Food Sciences, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea
[2]Division of Bio-resources Development, Resources Research Center, Kolmar, Sejong 30004, Korea
[3]Clinical Drug Manufacturing Center, Osong-Eup 28160, Korea

Abstract - *Potentilla kleiniana* is a perennial herb beloning to *Rosaceae* family. Herein we investigated the effect of light intensity, light quality and chemical elicitor on plant growth and the accumulation of bioactive compounds in *P. kleiniana*. After 60 days of cultivation under different shading level [0% (200 μmol·m^{-2}·s^{-1}), 35% (95 μmol·m^{-2}·s^{-1}), 55% (65 μmol·m^{-2}·s^{-1}), 75% (40 μmol·m^{-2}·s^{-1})] in the greenhouse, chlorophyll and carotenoid content were the highest under 35% treatment, however, plant height, leaf number and biomass were the highest under non-shading. As a result of cultivation among strong light condition as a control, florescence and three mixture light sources [red:white:blue (RWB) = 8:1:1, red:blue (RB) = 8:2, red:green:blue (RGB) = 8:1:1] as treatments in plant growth chamber (25 ± 2℃, 185 ± 3 μmol·m^{-2}·s^{-1}), growth, biomass, chlorophyll content low difference between total phenolic compouds and flavonoid content were higher under RWB treatment. DPPH radical elimination ability was the highest under all treatments especially florescence and RGB treatment except control. As a result of treating chemical elicitor [salicylic acid (SA), methyl jasmonate (MeJA)] concentration (0, 50, 100, 200 μM) respectively, plant height, petiole diameter and biomass were higher under non-treatment, MeJA 50 μM. It was investigated that fresh weight and dry weight under MeJA 50 μM treatment were especially a little high. Total phenolic compounds and flavonoid content of SA 50 μM treatment was the highest but DPPH radical elimination ability was significantly the highest under MeJA 200 μM (88.65%) and MeJA 50 μM (87.84%) treatment. Thus, this study suggested that we determined optimal shading and light quality in the greenhouse and plant growth chamber also confirmed bioactive compound content, antioxidant ratio increase according to different chemical elicitation concentration.

Key words - Light-emitting diode, Antioxidant activity, Elicitor, Total flavonoids, Total phenolic compounds

서 언

가락지나물(*Potentilla kleiniana* Wight et Arnott)은 장미과(*Rosaceae*)에 속하는 다년생 초본으로 한국, 중국, 일본, 인도 및 말레이시아 등 온대지역과 열대지역의 산비탈이나 습기가 약간 있는 곳에 분포한다. 지상부는 줄기 기부가 비스듬히 자라다가 엽아에서 가지가 갈라져 높이 20~60 ㎝ 까지 자라며 많은 줄기가 가늘고 길며 포복하여 자란다. 지하부의 원뿌리는 짧고 측근은 수염뿌리의 형태로 발달한다. 한방에서는 사함초로 불리며 뿌리를 포함한 모든 부분을 약재로 사용하여 발열, 해독, 경기, 종기, 습진, 인후통, 뱀에 물린 상처, 말라리아 등의 치료에 쓰이는 것으로 알려져 있다(Kim *et al.*, 2013; Yeo, 2010).

*교신저자 : paekky@chungbuk.ac.kr
Tel. +82-43-261-3445

ⓒ 본 학회지의 저작권은 (사)한국자원식물학회지에 있으며, 이의 무단전재나 복제를 금합니다.
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.

또한 가락지나물의 추출물을 이용하여 여드름 균에 대한 항균 효과를 갖는 화장품 원료로 활용되고 있으며(Park *et al.*, 2015), 메탄올 추출물에서 항 인플루엔자 바이러스 활성이 확인된 바 있다(Yeo, 2010). 이러한 가락지나물의 생리활성물질로는 가수분해형 탄닌 성분인 potentillin, agrimoniin으로 밝혀졌다(Okuda *et al.*, 1982). 그러나 식물체의 생리활성물질은 재배환경, 수확시기 등에 따라 함량 차이가 크며 신약, 화장품, 건강식품 소재 등 산업적으로 사용하기 위해서는 연중 생산과 생리활성물질 변화가 적은 원료를 효율적으로 생산하는 시스템의 확립이 필요하다(Southwell and Bourke, 2001).

식물의 생육은 묘의 소질, 재배 관리 기술, 재배 환경 조절 등의 요인에 의해 영향을 받는다. 그 중 광은 광합성의 에너지원으로 사용되는 요소 중 하나로 광질, 광도와 광주기의 형태로 다양한 광 조건 조절이 가능하다(Wang *et al.*, 2009). 일반적으로 차광을 통한 광량의 조절은 식물의 생육을 증가시키는 것으로 알려져 있으나(Han *et al.*, 2001), 식물마다 요구되는 광도가 다르기 때문에 식물체에 적합한 차광율에 대한 구명이 필요하다. 또한 광질은 식물의 광합성과 광형태형성에 직접적인 영향을 끼치며 그 요인으로는 식물 내 존재하는 피토크롬(적색과 근적외선), 크립토크롬(청색과 UV-A) 및 포토트로핀(청색)과 같은 각각의 광수용체가 빛을 감지하고 신호를 전달하여 생육과 생리활성물질 생산에 영향을 끼치게 된다(Whitelam and Halliday, 2008). 최근 이러한 광질의 특성 이용을 극대화시키기 위해 밀폐형 식물생산시스템의 인공광원으로 발광다이오드(light-emitting diode; LED)가 주목 받고 있다. LED는 소형 광원으로 공간 활용이 용이하고 특정 파장대 LED의 조합으로 광질을 인위적으로 조절할 수 있다는 장점이 있다(Yeh and Chung, 2009). LED를 이용한 밀폐형 식물생산시스템을 활용하기 위해서는 고부가가치를 가지는 작물 혹은 약용식물의 재배조건에 맞는 온도, 광조건 등의 구명이 필요하다(Johkan *et al.*, 2012).

인위적으로 재배되는 식물체에 다양한 환경스트레스가 부여되면 물은 방어기작으로 체내 2차대사산물의 함량을 증가시키며 이러한 물질들은 인체의 생리활성 증진 천연소재로서 부가가치의 증대에 기여할 수 있다.

식물재배 시 생리활성물질의 증가를 유도하기 위해 elicitation 방법이 널리 이용되고 있다. 스트레스원인 elicitor에는 크게 식물체와 미생물을 이용한 biotic elicitor와 온도, 건조, 무기염, 중금속, UV, 오존 등을 이용한 abiotic elicitor가 있다(Ali *et al.*, 2006; Savitha *et al.*, 2006). 특히 abiotic elicitor 중, salicylic acid (SA)와 methyl jasmonate (MeJA)는 식물체에서 생리활성물질의 생합성을 유도하는 신호물질로 알려져 있다(Chen and Chen, 1999; Creelman and Mullet, 1997). 최근 *Raoulia australis* 신초의 생물반응기 배양시 salicylic acid와 methyl jasmonate 처리에 의해 총 페놀 화합물, 총 플라보노이드 함량이 증가한 것을 확인하였다(Jang, 2013).

본 연구에서는 가락지나물의 생장을 최대화 하기위하여 차광에 따른 생육 및 엽록소 함량을 비교하였다. 또한 LED를 이용한 다양한 광질 하에서 가락지나물을 재배하고, abiotic elicitor인 salicylic acid와 methyl jasmonate 처리를 하여 생장과 생리활성물질의 축적에 미치는 영향을 구명함으로서 생리활성물질이 최대로 포함 된 가락지나물의 최적 재배조건을 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

식물재료

본 연구에 사용된 가락지나물(*Potentilla kleiniana* Wight et Arnott)은 한국콜마㈜ 소재연구소에서 분양 받아 충북대학교 내 무가온 온실에서 1개월 동안 재배하여 동일한 생육단계에 있는 것을 삽목상자에 이식한 후 실험재료로 사용하였다.

차광에 따른 광도조건

차광은 온실 내에서 무차광 대조구와 차광율이 35 – 75%인 검은색 차광막을 이용하여 0% (200 μmol·m^{-2}·s^{-1}), 35% (95 μmol·m^{-2}·s^{-1}), 55% (65 μmol·m^{-2}·s^{-1}), 75% (40 μmol·m^{-2}·s^{-1})로 달리하여 수행하였다(Fig. 1). 각 처리구당 48주의 가락지나물을 이용하였으며 60일 재배 후 10주씩 임의선발하여 생장과 바이오매스 및 엽록소함량을 조사하였다.

인공광원 및 혼합 비율에 따른 광질조건

대조구는 무가온 온실에서 재배되는 가락지나물을 사용하였다. 처리구는 온도조절이 가능한 식물생장상에서 형광등과 적색(Red, 654 ㎚), 청색(Blue, 456 ㎚), 녹색(Green, 515 ㎚), 백색(White, 456 ㎚ 69% + 558 ㎚ 31%) LED칩(㈜좋은인상, 한국)을 조합하여 각각 red:white:blue = 8:1:1, red:blue = 8:2, red:green:blue = 8:1:1의 3가지로 제작되어 재배되었다. 광 스펙트럼 분포는 휴대형 분광복사계(Li-1800, Li-COR, USA)로 300-1000 ㎚ 범위를 2 ㎚ 간격으로 측정하였다(Fig. 2 and Table 1). 온도 및 광도는 25 ± 2℃, 185 ± 3 μmol·m^{-2}·s^{-1}로 고

Fig. 1. Growth of *Potentilla kleiniana* cultivated under different shading levels. A. 0% shading (200 μmol·m^{-2}·s^{-1}). B. 35% shading (95 μmol·m^{-2}·s^{-1}). C. 55% shading (65 μmol·m^{-2}·s^{-1}). D. 75% shading (40 μmol·m^{-2}·s^{-1}).

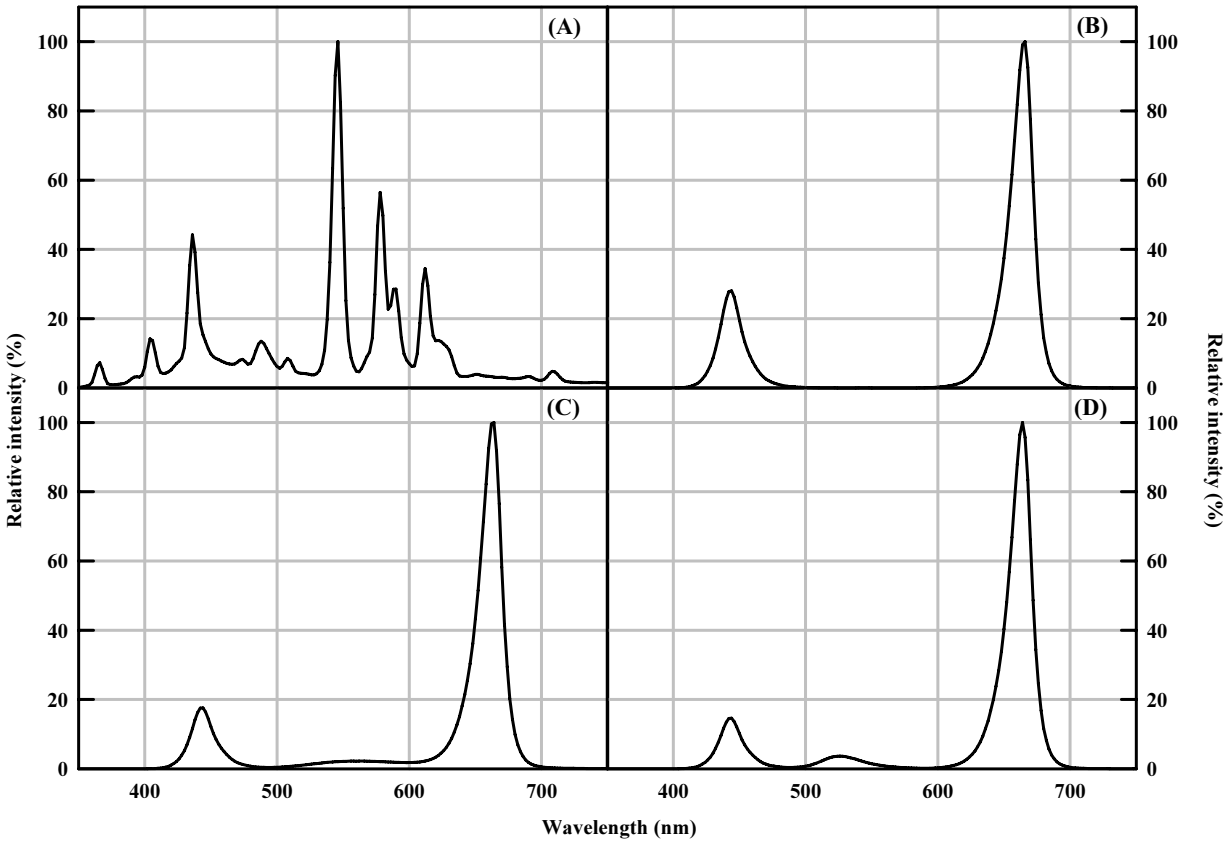

Fig. 2. Relative spectral distribution of 3 types of combined light-emitting diodes (LEDs) and fluorescent lamps. (A) fluorescent lamps, (B) red and blue (R:B = 8:2), (C) red, white, and blue (R:W:B = 8:1:1), and (D) red, green, and blue (R:G:B = 8:1:1) LEDs. Total photosynthetic photon flux (PPF) was 185 ± 3 μmol·m^{-2}·s^{-1} in each treatment. Spectral scans were measured at the top of the pot.

Table 1. Spectral data for 3 types of combined light-emitting diodes (LEDs) and control (fluorescent lamps)

Parameter	Light source			
	Control[z]	RWB 8:1:1	RB 8:2	RGB 8:1:1
PPFD[y](μmol·m^{-2}·s^{-1})				
Total (400-700 ㎚)	185	184	184	185
Far-red (700-800 ㎚)	8	1	0	0
Red (600-700 ㎚)	33	147	143	152
Green (500-600 ㎚)	92	10	0	10
Blue (400-500 ㎚)	52	26	41	23
Fraction (%)[x]				
Total	100	100	100	100
Far-red	4	0	0	0
Red	18	80	78	82
Green	50	6	0	5
Blue	28	14	22	13

Data were recorded at the plant canopy (25 ㎝ from LED lighting sources) with a spectroradiometer. The spectral data were acquired from five points (a center and four edges of each tray of pots) and the means were shown (n = 5).
[z]Fluorescent lamps.
[y]Photosynthetic photon flux density.
[x]Fraction of far-red, red, green, and blue wavelengths in terms of photosynthetic photon flux density (PPFD).

정하였으며 처리구당 15주의 가락지나물을 이용하였으며 4주 재배 후 10주씩 임의선발하여 생장과 바이오매스 및 엽록소함량, 총 페놀 화합물 함량, 플라보노이드 함량, DPPH 라디칼 소거능을 조사하였다.

화학적 elicitation

화학적 elicitation이 생장과 생리활성물질 축적에 미치는 영향을 조사하기 위해 온실에서 60일 간 재배하여 잎이 10매 이상 발달 한 가락지나물에 salicylic acid (SA) 0, 50, 100, 200 μM과 methyl jasmonate (MeJA) 0, 50, 100, 200 μM를 분무처리하였다. 각 처리구당 50개체씩을 처리하였고 처리 7일 후 각 처리별 20주씩 임의선발하여 생장과 바이오매스를 조사하고 총 페놀과 플라보노이드 함량, DPPH 라디칼 소거능을 분석하였다.

생육과 바이오매스 조사

가락지나물의 생육을 비교하기 위하여 실험구당 초장, 근장, 엽수, 엽장, 엽폭, 엽병장, 엽병 길이 및 엽면적을 조사하였다. 엽면적은 5개의 잎을 임의 선발하여 엽면적 측정기(Li-3000C, Li-COR, USA)를 이용하여 측정하였다. 바이오매스를 조사하기 위하여 생체중은 전자저울(ED323-DS, Sartorius AG, Germany)로 측정하였고, 건물중은 시료를 70℃ 항온 건조기(FS-420, Advantec, Japan)에서 72시간 말린 후 측정하였고 건물율은 생체중당 건물중을 백분율로 표시하였다.

엽록소 및 카로티노이드 함량

엽록소 함량은 생체중을 기준으로 지상부 잎을 50 ㎎씩 채취하여 80% acetone 6 ㎖에 침지시켜 냉암소에서 48시간 추출한 후 UV/VIS spectrophotometer (Optizen POP, Mecasys, Korea)을 이용하여 엽록소 a와 엽록소 b를 각각 663.2 ㎚, 646.8 ㎚에서 흡광도를 측정하였다. 카로티노이드의 함량은 470 ㎚에서 Lichtenthaler (1987)법으로 측정하였고 아래의 식으로 계산하였다.

Ca = 12.25･A663.2 × - 2.79 A646.8

Cb = 21.5･A646.8 × - 5.1 A663.2

Ca+b = 7.15･A663.2 + 18.71 A646.8

Catotenoid = (1000 A470 - 1.82 Ca - 85.02 Cb)/198

시료 추출물의 제조

시료 추출물은 건조한 가락지나물 지상부와 지하부 각 0.5 g을 취하여 15 ㎖의 80% 메탄올로 80℃ 온수욕조에서 수직의 환

류 냉각기(LS-2050-S10, LSTech, Korea)가 부착된 추출 flask를 이용하여 2시간 동안 추출하였다. 추출이 완료된 추출액은 glass funnel에 filter paper (Whatman No.2 110 ㎜, Whatman™, UK)를 이용하여 얻었으며 20 ㎖로 정량하여 추출물을 조제하였다.

총 페놀 화합물과 플라보노이드 함량

총 페놀 화합물 함량은 Folin-Ciocalteu 방법(Folin and Ciocalteu, 1927; Hagerman *et al.*, 2000; Zhang and Kim, 2015)에 따라 측정하였다. 0.1 ㎖ 메탄올 추출물과 gallic acid standard solution (Sigma, USA)에 2.5 ㎖의 증류수를 넣어 혼합한 후 2 N인 Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, USA) 0.1 ㎖를 첨가하였다. 6분 경과 후 20% Na_2CO_3용액 0.5 ㎖를 첨가한 후 실온에서 30분간 암상태로 방치한 다음 spectrophotometer (Optizen POP, Mecasys, Korea)를 이용하여 760 ㎚에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 colorimetric 방법(Shohael *et al.*, 2005, Sakanaka *et al.*, 2005)에 따라 측정하였다. 0.25 ㎖의 메탄올 추출물과 (+)-catechin standard solution (Sigma, USA)에 1.25 ㎖의 증류수를 첨가한 후 5% $NaNO_2$용액 75 ㎕를 첨가하였다. 6분 경과 후 0.15 ㎖의 10% $AlCl_3$용액을 첨가하여 5분간 정치한 다음 1 M NaOH 용액 0.5 ㎖를 첨가하였다. 혼합액의 총량이 2.5 ㎖가 되도록 증류수를 첨가한 다음 spectrophotometer를 이용하여 510 ㎚에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질 용액의 검량선으로부터 추출액의 총 페놀 화합물과 플라보노이드 함량을 측정하였으며 함량은 $mg \cdot g^{-1} \cdot DW$로 나타내었다.

DPPH radical 소거능

가락지나물의 free radical 소거능을 조사하기 위해 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)를 이용한 방법(Brand-Williams *et al.*, 1995, Yang *et al.*, 2015)으로 측정하였다. 시료 추출물 0.375 ㎖와 메탄올에 녹인 200μM DPPH (Sigma-Aldrich, USA) 0.625 ㎖를 혼합하여 상온에서 10분간 방치한 후 UV spectrophotometer (Optizen POP, Mecasys, Korea)를 이용하여 520 ㎚에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 80% 메탄올과 DPPH 용액을 첨가하여 얻은 값으로 사용하였다. DPPH 법에 의한 항산화 활성의 측정은 시료 첨가구와 대조구의 흡광도차를 백분율로 표시하였다.

통계분석

각 data별 통계분석은 SAS 9.3 (SAS Institute, Cary, NC) program을 이용하여 Duncan의 다중검정(5% 수준)에 의해 처리하였거나 3개 반복치의 평균 ± 표준오차로 표시하였다.

결과 및 고찰

차광에 따른 생육과 엽록소 함량

온실에서 무차광 대조구(200 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$)와 35% (95 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$), 55% (65 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$), 75% (40 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$)의 차광 처리구에서 60일 동안 재배한 가락지나물의 초장, 엽수, 엽장, 근장을 조사한 결과, 엽병장을 제외하고 모두 유의적 차이를 보였다(Table 2). 특히 무차광 재배시 초장, 엽수, 엽폭, 엽병경 및 근장이 가장 높은 값으로 나타났다. 바이오매스도 무차광구가 차광 처리구에 비해 3배 이상 높았다(Fig. 3A). 그러나 엽록소 함량과 카로티노이드 함량은 35% 차광 처리구에서 유의적으로 높은 값을 나타냈다(Fig. 3B). 작물 재배 시 차광은 광도, 기온 및 지온을 저하시켜 식물의 생육, 수확량 및 엽록소 함량 등에 영향을 미치며 수광에 필요한 식물의 엽면적을 증가시키는 역할을 한다(Brand, 1997; Seo *et al.*, 1994). 그러나 지나친 차광은 광합성의 감소를 초래하여 식물의 생육을 저하시

Table 2. Effects of shading levels on growth of *Potentilla kleiniana* after 60 days after transplanting in greenhouse

Shading level (%)	Light intensity (PPFD, $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$)	Plant height (㎝)	No. of leaves (per plant)	Leaf		Leaf area (㎠)	Petiole diameter (㎜)	Petiole length (㎝)	Root length (㎝)
				Length (㎝)	Width (㎝)				
0	200	9.33a[z]	46.8a	1.95ab	1.43a	1.87ab	0.92a	6.69a	19.7a
35	95	8.53ab	23.8b	2.02a	1.30ab	2.05a	0.62bc	6.07a	11.03b
55	65	7.55b	29.8b	1.55c	1.11b	1.21c	0.48c	5.36a	13.05b
75	40	8.19ab	25.9b	1.61bc	1.18ab	1.62b	0.75ab	5.92a	11.16b

[z]Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

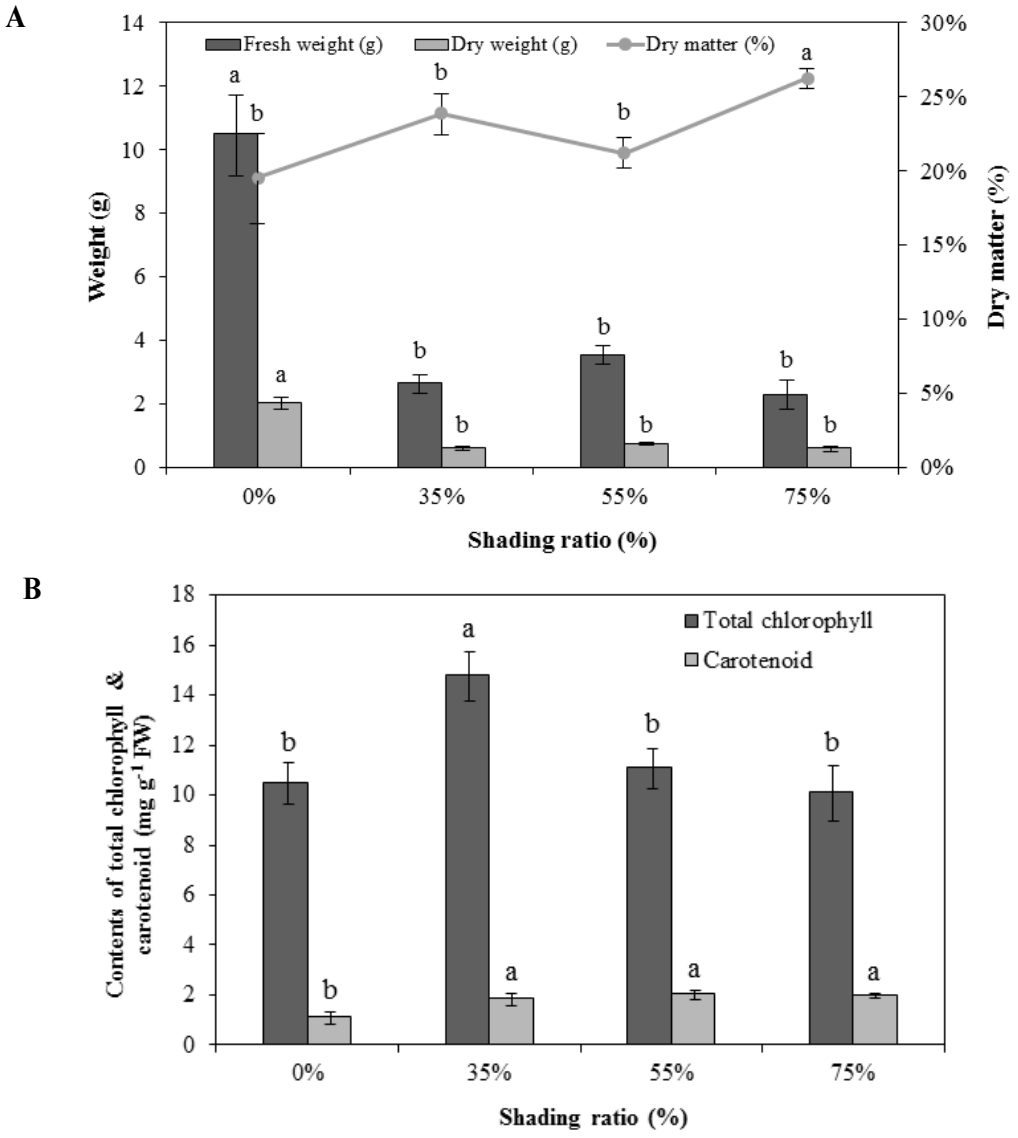

Fig. 3. Effects of shading levels on biomass and chlorophyll content of *Potentilla kleiniana* Wight et Arnott after 60 days of cultivation. Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level. A. Fresh weight and dry weight B. Total chlorophyll and carotenoid content.

킬 수 있으며 특히 양지성 식물에 지나친 차광처리는 광 부족현상을 일으켜 식물생육에 악영향을 미칠 수 있다(Son and Chae, 2003). 본 연구에서 차광재배 시 무차광에 비해 생장이 저조한 이유는 자연상태에서 산비탈이나 습지 등에서 자생하는 가락지나물이 차광처리에 의해 광합성 촉진에 필요한 광도에 미달하는 조건에서 바이오매스가 감소된 것으로 판단된다. 그러나 35% 이상의 차광조건에서 엽록소 함량과 카로티노이드 함량이 상대적으로 높은 경향을 나타낸 것은 가락지나물 체내에서 합성된 카로티노이드 색소가 엽록소의 광산화를 방지하여 함량이 증대되었고, 이것이 광에너지를 흡수한 후 엽록체 a로 전달하여 광합성의 증대로 이어진 것으로 판단된다.

광질에 따른 생장과 생리활성물질 축적

온실 내 자연광하에서 재배된 대조구와 실내 형광등 및 LED 혼합광원[red:white:blue (RWB) = 8:1:1, red:blue (RB) = 8:2, red:green:blue (RGB) = 8:1:1]에서 4주간 재배한 가락지나물의 생육을 조사하였다(Table 3 and Fig. 6). 그 결과 적색, 백색과 청색이 혼합된 RWB 처리구에서 생체중과 건물중이 가장 높

Table 3. Effects of light quality on growth and chlorophyll content of *Potentilla kleiniana* Wight et Arnott after 4 weeks of cultivation

Light quality treatments	Plant height (㎝)	No. of leaves (per plant)	Leaf area (㎠)	Petiole diameter (㎜)	Total chlorophyll (㎎ g^{-1} FW)	Carotenoid (㎎ g^{-1} FW)
Greenhouse	5.56±0.24[z]d[y]	33.10±0.85d	2.71±0.16b	0.90±0.05c	15.15±0.54c	1.76±0.07c
Fluorescent light	9.82±0.25a	63.20±3.21c	4.87±0.42a	1.03±0.05b	13.70±1.06cd	2.00±0.24bc
RWB=8:1:1	8.63±0.22c	87.70±1.94a	4.56±0.31a	1.21±0.02a	18.00±1.21b	2.45±0.20b
RB=8:2	9.64±0.29ab	75.60±2.17b	4.84±0.41a	1.15±0.06ab	23.37±0.44a	3.58±0.23a
RGB=8:1:1	8.91±0.32bc	84.90±2.37a	3.92±0.40a	1.27±0.03a	11.32±1.24d	1.77±0.17c

[z]Values are mean ± SE (n = 10).
[y]Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

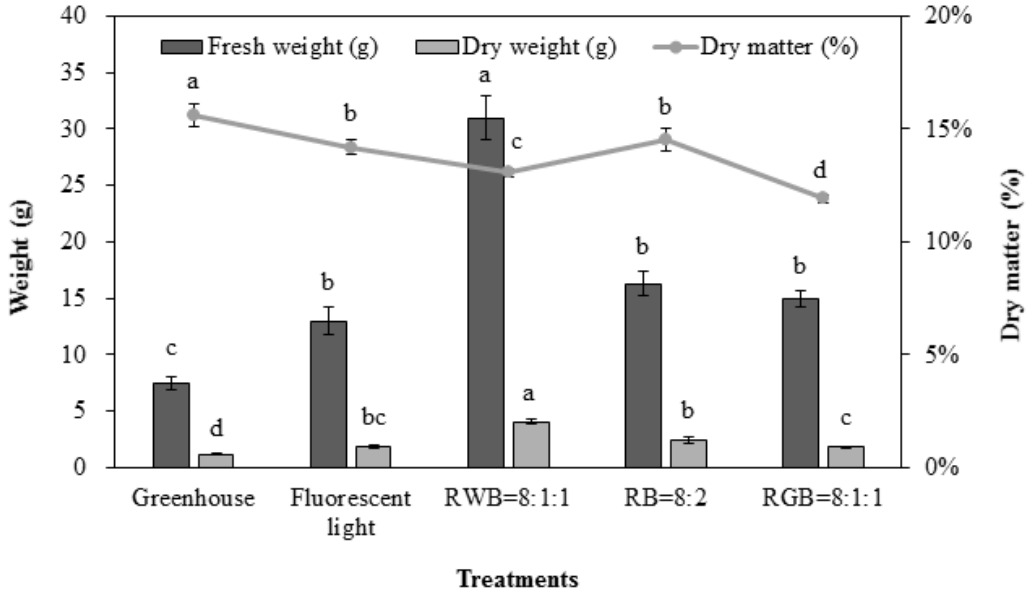

Fig. 4. Effects of light quality for 7 days on biomass of *Potentilla kleiniana* Wight et Arnott after 4 weeks of cultivation. Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

았고, 전반적인 식물생육과 엽록소 함량도 양호한 것으로 나타났다. 결론적으로 무가온 온실 내 차광되지 않은 자연광 재배조건(PPFD, 200 μmol·m^{-2}·s^{-1})보다 형광등 또는 단색파장을 혼합한 LED하에서 재배하였을 때 생장과 바이오매스가 증가하였다(Fig. 4). 이는 자연광에 포함된 짧은 파장대의 UV가 가락지나물 광합성 광계에 끼친 직접적 영향과 광합성 색소와 엽면적이 감소된 간접적 영향에 따라 생장이 감소된 것으로 생각된다. 그러나 광합성에 적정한 파장대의 혼합광질이 되었을 때는 생장에 긍정적인 영향을 미쳤을 것이라고 생각된다. 특히 적색광은 잎의 광합성 관련 기관의 발달과 전분 축적에 효과적이며 (Saebo *et al.*, 1995), 광합성 흡수 스펙트럼상에서 높은 흡수율을 보이는 청색광 또한 생체중 증가에 효과적이라고 보고된 바 있다(Johkan *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2007). 여러 광질 중 대조구와 형광등(FL), RB, RGB 처리구에서는 가락지나물의 총 페놀 화합물과 플라보노이드 함량을 비교한 결과 두 물질의 함량이 서로 상당한 차이를 보였으나 RWB 처리구는 두 함량이 비교적 적은 차이를 보였다(Fig. 5A). 특히 RWB 처리구는 대조구에 비해 총 페놀 화합물 함량과 총 플라보노이드 함량의 증가를 확인할 수 있었다. 이는 광합성과 관련하여 흡수율이 높은 적색광과 청색광에 백색광이 더해져 각 파장대의 광질을 보광해주는

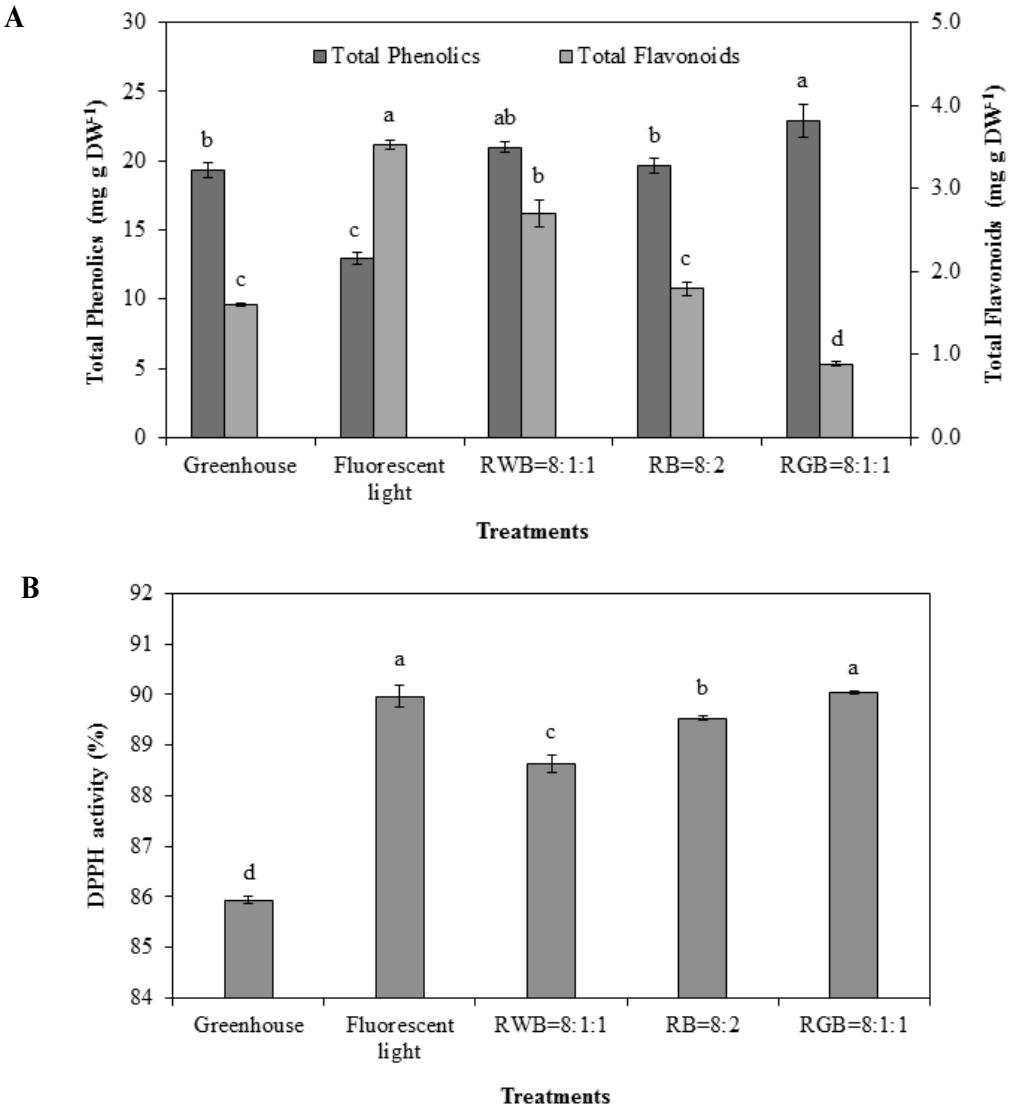

Fig. 5. Effects of light quality on total phenolic compounds, total flavonoids and DPPH radical elimination of *Potentilla kleiniana* Wight et Arnott after 4 weeks of cultivation. Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level. A. Total phenolics and total flavonoids. B. DPPH activity.

역할을 하여 생리활성물질 함량 증가에 영향을 끼쳤을 것으로 판단된다(Son *et al.*, 2012; Hogewoning *et al.*, 2010). 항산화도를 나타내는 DPPH 라디칼 소거능 역시 대조구에 비해 모든 처리구에서 3% 이상 높은 것으로 나타났고 그 중 형광등과 RGB 처리구에서 가장 높았다(Fig. 5B). 이는 선행연구에서 청색광이 상추의 페놀 물질 축적을 유도시키고 항산화능을 증가시키며(Johkan *et al.*, 2010), 적색광이 콩묘의 항산화능을 증가시킨 것과 연관이 깊은 것으로 판단된다(Wu *et al.*, 2007). 그러나 광질에 대한 작물 간의 반응차이가 있기 때문에 녹색광과 혼합광이 가락지나물의 생리활성물질 축적과 항산화도 변화에 어떠한 영향을 미치는 지에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 생각된다.

화학적 elicitor 처리에 따른 생장과 생리활성물질 축적

Salicylic acid(SA)와 methyl jasmonate(MeJA) 처리가 가락지나물 생장과 생리활성물질 축적에 미치는 영향을 조사하기 위하여 4주 간 온실에서 재배한 가락지나물에 SA와 MeJA를 0, 50, 100, 200 μM 농도로 분무처리하였다. 처리 7일 후 생육, 바

Fig. 6. Growth of *Potentilla kleiniana* Wight et Arnott cultivated with different light quality. A. Grown in plant growth chamber. B. Pot arrangement in the box. C. Growth on different light quality after 4 weeks of cultivation.

Table 4. Effects of elicitation treated for 7 days on growth of *Potentilla kleiniana* Wight et Arnott

Treatments[z] (μM)	Plant height (㎝)	No. of leaves (per plant)	Leaf		Petiole diameter (㎜)
			Length (㎝)	Width (㎝)	
Control	5.32±0.29[y]a[x]	25.6±2.04c	2.16±0.11a	2.29±0.11ab	0.94±0.03a
SA 50	5.04±0.44ab	38.1±1.17a	1.92±0.13ab	2.15±0.14ab	0.52±0.04b
SA 100	4.50±0.24ab	33.2±1.78b	1.99±0.08ab	2.21±0.09ab	0.52±0.02b
SA 200	5.09±0.21ab	29.3±1.53bc	2.02±0.06ab	2.38±0.07a	0.56±0.02b
MeJA 50	5.32±0.23a	32.2±1.47b	1.90±0.07ab	2.19±0.09ab	0.92±0.03a
MeJA 100	4.41±0.27b	28.5±1.35bc	1.79±0.07b	2.06±0.09b	0.89±0.02a
MeJA 200	4.37±0.21b	30.8±1.40b	1.93±0.08ab	2.12±0.08ab	0.56±0.04b

[z]SA: Salicylic acid. MeJA: Methyl Jasmonate.
[y]Values are mean ± SE (n = 10).
[x]Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

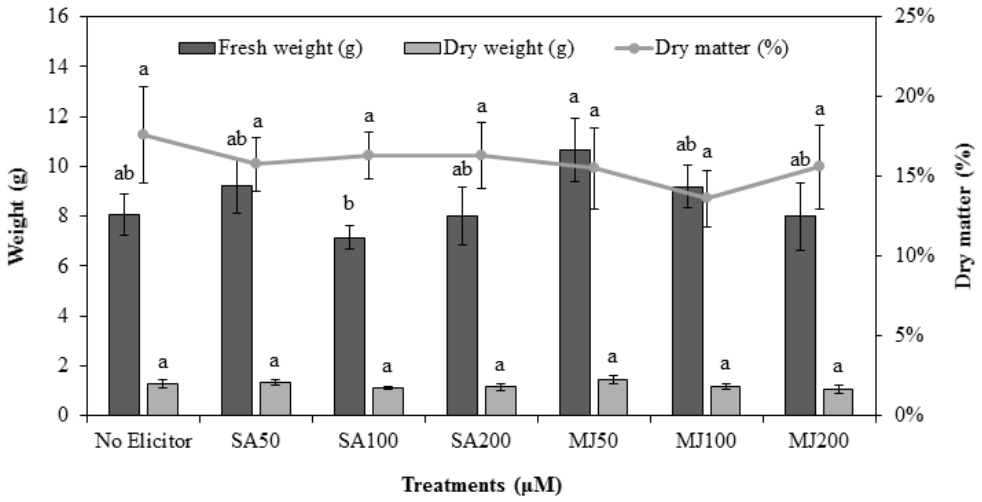

Fig. 7. Effects of elicitation treated for 7 days on biomass of *Potentilla kleiniana* Wight et Arnott. SA. Salicylic acid. MeJA. Methyl Jasmonate. Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

이오매스, 생리활성물질 및 항산화도를 조사하였다. 그 결과 무처리구와 MeJA 50 μM 처리구에서 초장과 엽병경이 가장 높았고 SA 50 μM 처리구에서도 전반적인 생육이 양호한 것으로 나타났으나 elicitor의 농도가 높아질수록 생육이 억제되는 것을 확인할 수 있었다(Table 4). 생체중은 대조구에 비해 MJ 50 μM을 처리했을때 유의적으로 증가된 경향을 나타냈으나 SA 100

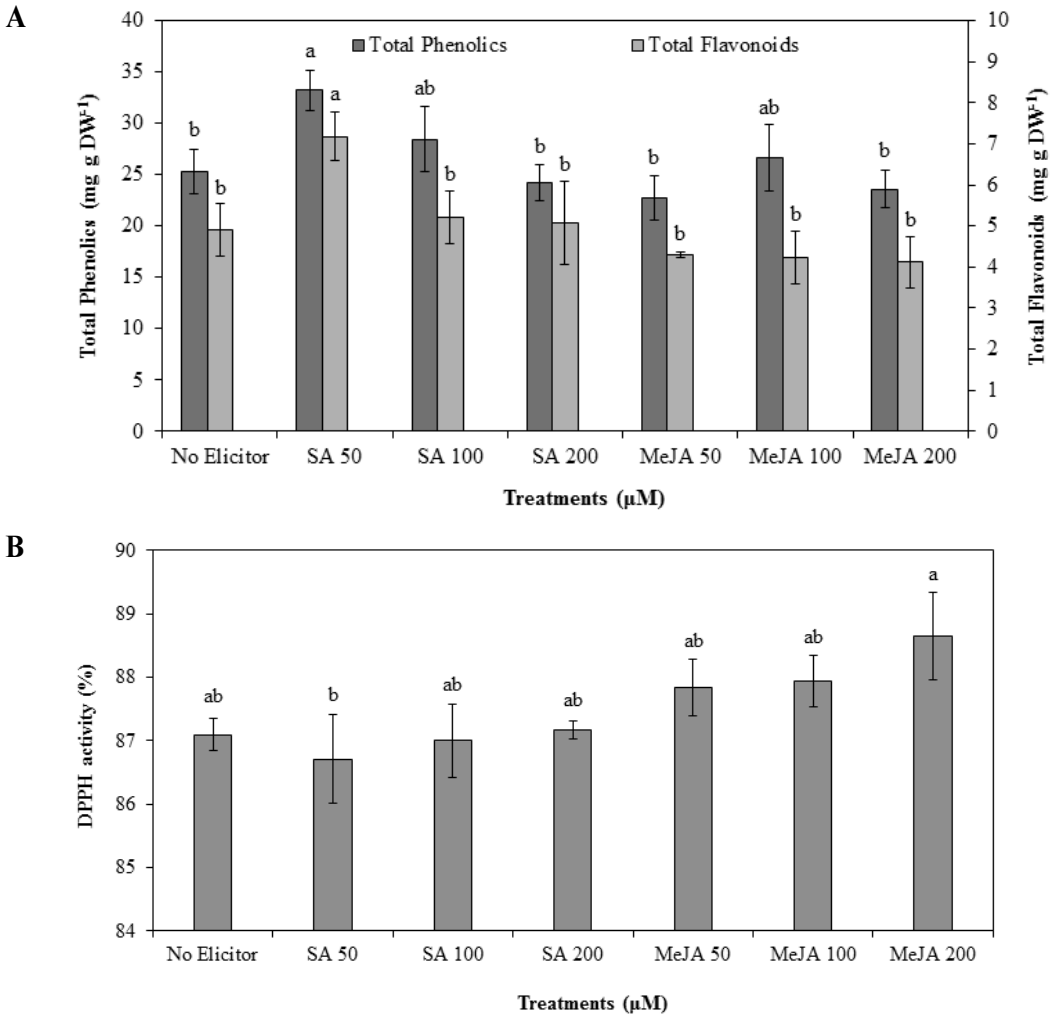

Fig. 8. Effects of elicitation treated for 7 days on total phenolic compounds, total flavonoids and DPPH radical elimination of *Potentilla kleiniana* Wight et Arnott. Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level. SA. Salicylic acid. MeJA. Methyl Jasmonate. A. Total phenolics and total flavonoids. B. DPPH activity.

μM을 처리했을때에는 감소된 경향을 나타냈다(Fig. 7). 식물은 환경적인 스트레스가 주어지면 방어기작을 통해 생리활성물질을 축적하게 된다(Ebel and Mithofer 1998). 본 실험에서는 SA와 MeJA가 가락지나물 생장에 있어 스트레스 요인이 되어 생육에 억제적으로 작용하였으며 이는 *Scopolia paryiflora* 모상근 배양 시 MeJA농도가 100 μM 이상이 되면 생장이 억제되었다는 결과와 유사하다(Kang *et al.*, 2004). 또한 Lee (2009)는 식물체에 있어 SA와 MeJA가 병원균 침입으로 인식되기 때문에 일정 농도 이상으로 처리하면 대조구에 비해 생장이 억제된다고 보고한 바 있다. SA와 MeJA분무처리 7일 후 총 페놀 화합물과 플라보노이드 함량은 SA 50 μM 처리구가 대조구에 비해 1.3배 이상 높게 나타났으나 SA와 MeJA 농도가 높을수록 함량이 감소되는 경향을 나타냈다(Fig. 8A). DPPH 라디칼 소거능은 대조구에 비해 MeJA 200 μM 처리구에서 1.5% 이상 높은 것으로 나타났으나 SA 처리시에는 감소되는 경향을 보였다(Fig. 8B). SA와 MeJA 등 elicitor는 식물체가 병원균 침입 등 스트레스에 대한 방어기작으로 발현시키는 신호전달물질이고 특히 SA는 에틸렌 합성을 억제시키는 것으로 알려져 있다(Dong, 1998). 또한 개화유도와 질소환원의 활성화(Jain and Sirvastava, 1981), 식물 내 페놀물질 합성경로의 중요한 효소인 PAL (phenylalanine ammonia-lyase)의 유전자를 발현시켜 페놀물질 합성을 증가시키는 것으로 보고되었다(Wen, 2005). 본 실험 결과 SA 분무처리가 가락지나물 내 PAL 유전자를 발현시켜 총 페놀 화합물과 플라보노이드 함량을 증가시킨 것으로 생각되며 이는 SA와

MeJA처리에 의해 *Hypericum hirsutum*과 *Hypericum maculatum*의 생리활성물질인 hypericin이 증가한 결과와 유사한 것으로 판단된다(Coste *et al.*, 2011). 또한 가락지나물의 SA, MeJA처리로 PAL 유전자가 발현되어 어떠한 합성경로를 통해 각 페놀화합물의 함량 변화가 있는지에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 사료된다.

따라서 본 연구를 통해 가락지나물을 차광 정도별 및 다양한 광질 하에서 재배하였을 때 생장과 생리활성물질 함량이 증대된 최적의 광량과 광질 조건을 구명하였으며, 화학적 elicitor인 SA 50 μM 처리시 생리활성물질 함량이 가장 증가됨을 확인하였다.

적 요

가락지나물은 장미과에 속하는 다년생 초본으로 potentillin, agrimoniin 등 생리활성물질은 한약재와 화장품 원재료로 이용되고 있다. 본 연구는 가락지나물의 재배 시 차광, 광질 및 화학적 elicitation에 따른 생육, 바이오매스, 엽록소함량, 생리활성물질 함량 축적효과를 조사하여 생산조건을 구명하고자 하였다. 온실에서 재배 중인 가락지나물을 각각 다른 차광조건[0% (200 μmol·m^{-2}·s^{-1}), 35% (95 μmol·m^{-2}·s^{-1}), 55% (65 μmol·m^{-2}·s^{-1}), 75% (40 μmol·m^{-2}·s^{-1})]에서 60일간 재배한 결과, 엽록소 함량과 카로티노이드 함량은 35% 처리구에서 가장 높았으나 개체당 초장, 엽수와 바이오매스는 무차광구에서 가장 높은 것으로 조사되었다. 식물생장상 내(25 ± 2℃, 185 ± 3 μmol·m^{-2}·s^{-1})에서 형광등과 3가지 혼합광원 [red:white:blue(RWB) = 8:1:1, red:blue(RB) = 8:2, red:green:blue(RGB) = 8:1:1] 처리구에서 재배한 결과, RWB 처리구에서 생장, 바이오매스, 엽록소함량, 총 페놀화합물과 플라보노이드 함량이 높은 것으로 나타났다. DPPH 라디칼 소거능은 모든 처리구에서 높았으며, 특히 형광등과 RGB 처리구에서 가장 높았다. 화학적 elicitor (SA; salicylic acid, MeJA; methyl jasmonate)를 0, 50, 100, 200 μM 농도별로 처리한 결과, 무처리구와 MeJA 50 μM 처리구에서 초장, 엽병직경, 바이오매스가 높게 조사되었다. 또한 MeJA 50 μM 처리구의 생체중과 건체중이 높은 것으로 나타났다. SA 50 μM 처리구에서의 총 페놀화합물(33.20 ㎎·g DW^{-1})과 플라보노이드 함량(7.18 ㎎·g DW^{-1})은 높게 분석되었으나 DPPH 라디칼 소거능은 MeJA 200 μM 처리구(88.65%)에서 유의적으로 높게 나타났다. 본 연구를 통해 가락지나물의 높은 생장, 바이오매스, 기능성물질 함량을 얻기 위한 온실과 식물생장상 내 최적의 차광 및 광질조건을 구명하였으며, 화학적 elicitation 농도에 따른 생리활성물질 함량과 항산화도를 확인하였다.

사 사

이 논문은 2015년도 충북대학교 학술연구지원사업의 교내연구비 지원에 의하여 수행되었습니다.

References

Ali, M.B., K.Y. Yu, E.J. Hahn and K.Y. Paek. 2006. Methyl jasmonate and salicylic acid elicitation induces ginsenosides accumulation, enzymatic and non-enzymatic antioxidant in suspension culture *Panax ginseng* roots in bioreactors. Plant Cell Rep. 25:613-620.

Brand, M.H. 1997. Shade influences plant growth, leaf color, and chlorophyll content of *Kalmia latifolia* L. cultivar. Hort. Sci. 32:206-208.

Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier and C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Sci. Tech. 28:25-30.

Chen, H. and F. Chen. 1999. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on cell growth and crytotashinone formation in Ti transformed *Salvia miltiorrhiza* cell suspension cultures. Biotechnol. Lett. 21:803-807.

Coste, A., L. Vlase, A. Halmagyi, C. Deliu and G. Coldea. 2011. Effects of plant growth regulators and elicitors on production of secondary metabolites in shoot cultures of *Hypericum hirsutum* and *Hypericum maculatum*. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 106:279-288.

Creelman, R.A. and J.E. Mullet. 1997. Biosynthesis and action of jasmonates in plants. Ann. Rev. Plant Biol. 48:355-381.

Dong, X. 1998. SA, JA, ethylene, and disease resistance in plants. Curr. Opin. Plant Biol. 1:316-323.

Ebel, J. and A. Mithofer. 1998. Early events in the elicitation of plant defense. Planta 206:335-348.

Folin, O. and V. Ciocalteu. 1927. On tyrosine and tryptophan determination in proteins. J. Biol. Chem. 73:627-650.

Hagerman, A., I. Harvey-Mueller, and H.P.S. Makkar. 2000. Quantification of tannins in tree foliage-a laboratory manual. FAO/IAEA, Vienna. pp. 4-7.

Han, J.S., S.K. Kim, S.W. Kim and Y.J. Kim. 2001. Effects of

shading treatments and harvesting methods on the growth of *Eleutherococcus senticosus* Maxim. Kor. J. Med. Crop Sci. 9:1-7 (in Korean).

Hogewoning, S.W., G. Trouwborst, H. Maljaars, H. Poorter, W. van Leperen and J. Harbinson. 2010. Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. J. Expt. Bot. 61:3107-3117.

Jain, A. and H.S. Srivastava. 1981. Effects of salicylic acid on nitrate reductase activity in maize seedlings. Physiol. Plant. 51:339-342.

Jang, Y.S. 2013. Production of shoot clumps and secondary metabolites as affected by culture conditions of bioreactor in *Raoulia australis*. M.S. Thesis, Chungbuk Nat'l. Univ., Korea (in Korean).

Johkan, M., K. Shoji, F. Goto, S.N. Hashida and T. Yoshihara. 2010. Blue light-emitting diode light irradiation of seedlings improves seedling quality and growth after transplanting in red leaf lettuce. Hort. Sci. 45:1809-1814.

_____. 2012. Effect of green light wavelength and intensity on photomorphogenesis and photosynthesis in *Lactuca sativa*. Environ. Expt. Bot. 75:128-133.

Kang, S.M., H.Y. Jung, Y.M. Kang, D.J. Yun, J.D. Bahk, J.K. Yang and M.S. Choi. 2004. Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on the production of tropane alkaloids and the expression of PMT and H6H in adventitious root cultures of *Scopolia parviflora*. Plant Sci. 166:745-751.

Kim, H.S., O.K. Kwon, S.J. Kim, K.S. Cho, S.Y. Hong, H.B. Sohn, S.Y. An and J.H. Nam. 2013. Antioxidative activity and total polyphenol analysis of *Potentilla kleiniana* extract. Proc. 2013 Ann. Autumn Conf. Korean Soc. Hort. Sci. p. 69 (Abstr.)

Lee, E.J. 2009. Biomass and bioactive compounds production through bioreactor cultures of adventitious roots in *Eleutherococcus koreanum*. Ph.D. Thesis, Chungbuk Nat'l. Univ., Korea. (in Korean).

Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Method Enzymol. 148:350-382.

Okuda, T., T. Yoshida, M. Kuwahara, M.U. Memon and T. Shingu. 1982. Agrimoniin and potentillin, an ellagitannin dimer and monomer having an α-glucose core. J. Chem. Soc. Chem. Commun. 3:153-164.

Park, C.B., A.H. Kim, K.K. Park, B.J. Park and J.J. Kim. 2015. A cosmetic composition containing extracts of *Potentilla kleiniana* Wight et Arnott having antibacterial activity. Korea Patent. 10-2015-0000723.

Saebo, A., T. Krekling and M. Appelgren. 1995. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of birch plantlets *in vitro*. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 41:177-185.

Sakanaka, S., Y. Tachibana and Y. Okaka. 2005. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (Kakinoha-cha). Food Chem. 89:569-575.

Savitha, B.C., R. Thimmaraju, N. Bhagyalakshni and G.A. Ravishankar. 2006. Different biotic and abiotic elicitors influence betalain production in hairy root cultures of *Beta vulgaris* in shake-flask and bioreactor. Process Biochem. 41:50-60.

Shohael, A.M., D. Chakrabarty, K.W. Yu, E.J. Hahn and K.Y. Paek. 2005. Application of bioreactor system for large-scale production of *Eleutherococcus sessiliflorus* somatic embryos in an air-lift bioreactor and production of eleutherosides. J. Biotechnol. 120:228-236.

Son, H.Y. and S.C. Chae. 2003. Effects of shading, potting media and plant growth retardant treatment on the growth and flowering of *Spiranthes sinensis*. Kor. J. Hort. Sci. Tech. 21:129-135 (in Korean).

Son, K.H., J.H. Park, D. Kim and M.M. Oh. 2012. Leaf shape index, growth, and phytochemicals in two leaf lettuce cultivars grown under monochromatic light-emitting diodes. Kor. J. Hort. Sci. Tech. 30:664-672 (in Korean).

Southwell, L.A and C.A. Bourke. 2001. Seasonal variation in hypericin content of *Hypericum perforatu*m L. (St. John's wort). Phytochemistry 56:437-441.

Seo, J.T., W.B. Kim, S.Y. Rue. K.S. Choi, B.H. Kim, J.K. Kim, B.H. Han and K.S. Choi. 1994. Growth and yield of *Pimpinella brachycarpa* Nakai by various shading net treatment under rain-shielding conditions in alpine area. RDA J. Agr. Sci. 36:434-439 (in Korean).

Wang, H., M. Gu, J. Cui, K. Shi, Y. Zhou and J. Yu. 2009. Effects of light quality on CO_2 assimilation, chlorophyll- fluorescence quenching, expression of Cavin cycle genes and carbohydrate accumulation in *Cucumis sativus*. J. Photochem. Photobiol. B. 96:30-37.

Wen, P.F., J.Y. Chen, W.F. Kong, Q.H. Pan, S.B. Wan and W.D. Huang. 2005. Salicylic acid induced the expression of phenylalanine ammonia-lyase gene in grape berry. Plant Sci. 169:928-932.

Whitelam, G. and K. Halliday. 2008. Light and plant development. Annual Plant Reviews, Volume 30. Ann. Bot. 101: 480-481.

Wu, M.C., C.Y. Hou, C.M. Jiang, Y.T. Wang, C.Y. Wang, H.H. Chen and H.M. Chang. 2007. A novel approach of LED light radiation improves the antioxidant activity of pea seedlings.

Food Chem. 101:1753-1758.

Yang, S.R., S.Z. Zhao and H.O. Boo. 2015. Antioxidant activity of several cabbage (*Brassica oleracea* L.) cultivars. Kor. J. Plant Res. 28:312-320.

Yeh, N. and J.P. Chung. 2009. High-brightness LEDs-energy efficient lighting sources and their potential in indoor plant cultivation. Renew. Sustainable Energy Rev. 13:2175-2180.

Yeo, E.K. 2010. Phytochemical constituents and biological activity of *Potentilla kleiniana* Wight et Arnott. M.S. Thesis, Sungkyunkwan Univ., Korea (in Korean).

Zhang, Q. and H.Y. Kim, 2015. Antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxicity on human lung epithelial A549 cells of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) Tuber. Kor. J. Plant Res. 28:305-311.

(Received 2 March 2016 ; Revised 20 July 2016 ; Accepted 28 July 2016)