

작약(*Paeonia lactiflora* Pall.) 뿌리절편 유래 캘러스 배양으로부터 부정근발생을 위한 최적 배양조건

이영진 · 최명석 · 최필선

Optimal conditions for adventitious root organogenesis from peony root explant callus cultures

Young Jin Lee · Myung Suk Choi · Pil Son Choi

Received: 5 September 2022 / Revised: 15 September 2022 / Accepted: 16 September 2022

© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract The optimal culture conditions for root organogenesis from the callus of peonies (*Paeonia lactiflora* Pall.) were investigated. Root explants with vascular bundles were cultured in Murashige and Skoog (MS) medium combined with 0.5-4.0 mg/L auxins (indole acetic acid [IAA], naphthalene acetic acid [NAA], indolebutyric acid [IBA], and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid [2,4-D]) and 0.0-2.0 mg/L cytokinins (kinetin, zeatin, and benzylaminopurine [BAP]) to induce callus formation. The callus was then cultured in MS medium combined with three concentrations (0.1, 0.5, and 1.0 mg/L) of IAA, NAA, IBA, kinetin, zeatin, and BAP in the dark for 6 weeks. Based on the results, the effects of dark and light conditions on the callus cultured in MS medium with combinations of 0.1-1.0 mg/L IBA and zeatin for 6 weeks were studied. Callus formation was most effective (>+++)) in the medium with a combination of 1.0 mg/L NAA and 1.0 mg/L zeatin. A high number of long adventitious roots were observed in the mediums with 0.1 mg/L IBA (6.66 and 4.82 cm) and 0.5 mg/L zeatin (2.32 and 0.72 cm) among auxins and cytokinins, respectively. The highest number (14.06) of adventitious roots were formed

from the callus cultured in light in the MS medium combined with 0.1 mg/L IBA and 0.5 mg/L zeatin. This same medium induced the formation of the longest adventitious root (5.45 cm) in the dark. Thus, optimization of *in vitro* culture conditions may be possible for the mass propagation of adventitious roots in peonies.

Keywords Adventitious root, Benzylaminopurine, Indole acetic acid, Indolebutyric acid, Naphthalene acetic acid, *Paeonia lactiflora* Pall.

서론

작약은 다년생 초본식물로 전 세계에 약 30여 종이 분포하고 있으며, 서양에서는 꽃이 크고, 향기가 강하며, 붉은색, 흰색, 분홍색 등 색깔이 다양하여 관상용으로 재배되고 있고, 우리나라를 비롯한 중국과 시베리아 남동부 등 동북아시아 지역에서는 뿌리를 중요한 한약재로 이용하고 있다. 특히 중국의 신농본초경과 본초강목 그리고 우리나라의 동의보감과 향약집성방에서 작약의 뿌리는 맛이 쓰고 신맛이 있으며, 인체의 기를 보하고 혈맥을 잘 통하게 하며, 복부와 허리 통증을 완화시켜 주는 효능이 있는 것으로 기록되어 있다. 최근 작약의 뿌리에는 paeoniflorin, albiflorin, oxipaeoniflorin 및 benzolipaeoniflorin 등의 약효성분이 포함되어 있고, 어혈, 진통, 복통, 월경통, 무월경, 토혈, 빈혈 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있어(Kim et al. 1996) 뿌리를 대량생산하기 위한 전통적인 재배 외에도 식물생명공학 기술을 통한 기내 대량 생산을 위한 연구가 활발히 진행되고 있다(Kwon et al. 2002).

Young Jin Lee · Pil Son Choi (✉)
남부대학교 응급구조학과
(Department of Emergency Medical Rescue, Nambu University,
Gwangju 506824, Republic of Korea)
e-mail: cps6546@hanmail.net

Myung Suk Choi
경상대학교 농업생명과학대학 환경산림과학부
(Division of Environmental Forest Science, Gyeongsang
National University, Jinju 52828, Republic of Korea)

대부분의 약초식물은 일반 식물에 비해 다량의 유용성분과 페놀화합물을 함유하고 있어 절편을 배지에 치상하였을 때 절편 주변의 배지가 갈변되거나 신초 발생과 부정근 및 체세포배 등 분화과정이 까다로운 것으로 알려져 있다(Choi and Meyer 1994). 작약의 기내 배양은 주로 화기, 소포자, 잎, 줄기, 뿌리 등이 배양재료로 이용되어 왔으며(Choi and Meyer 1994; Kim and Lee 1995; Marino et al. 2018; Shen et al. 2012; Shin et al. 1997, 1998; Sohn et al. 1994, 1995), 신초 발생에 BAP 단독, BA와 GA₃ 조합처리 또는 NAA와 zeatin 그리고 NAA와 2iP 조합처리 등이(Chung et al. 1995; Jana and Jeong 2013; Marino et al. 2018), 체세포배발생에는 ABA단독, NH₄NO₃ 처리, 2,4-D 단독 또는 NAA와 조합처리가(Shin et al. 1997, 1998; Sohn and Kim 1993; Shon et al. 1995) 각각 효과적인 것으로 보고되어 있어 다양한 호르몬과 농도 스크리닝을 통한 최적의 호르몬 종류 및 농도 선정이 매우 중요함을 보여주고 있다. 또한 작약 뿌리절편으로부터 부정근 발생에는 IBA 또는 NAA 단독처리가 효과적인 것으로 일부 알려져 있으나(Jana and Jeong 2013; Marino et al. 2018; Shen et al. 2012), 아직까지 다양한 호르몬의 종류와 조합처리에 대한 최적의 배양조건 규명이 필요한 실정이고, 덧붙혀 비록 배나 유체의 경우이지만 물리적 요인으로서 명/암처리가 부정근 발생에 중요한 요인으로 작용하는 것으로 알려져 있어(Afshari et al. 2011; Bertazza et al. 1995) 작약의 부정근 발생에 대한 체계적 연구의 필요성이 제기되고 있는 실정이다. 이와 같이 약초식물을 포함한 많은 식물의 배양과정에서 뿌리 분화에 대한 적절한 식물 호르몬의 종류와 농도 선정 그리고 배양환경 선정은 실험의 성공 여부를 결정할 수 있는 매우 중요한 요인이라 할 수 있기 때문에 최적의 배양 조건 규명이 선행되어야 할 것이다.

따라서 기내배양을 통한 작약 뿌리의 대량생산을 위해서 뿌리 절편을 오옥신으로서 IAA, NAA, IBA를 그리고 사이토카닌으로서 kinetin, zeatin, BAP를 다양한 농도와 조합으로 첨가한 MS배지에서 암 또는 명 조건으로 배양하면서 부정근 발생에 대한 최적의 호르몬 종류와 적정농도 선정 그리고 최적의 배양환경을 선정하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

배양재료

전라북도 전주시 완산구 용복동 지역에서 재배하고 있는 5년생 작약(*Paeonia lactiflora* Pall) 뿌리를 채취하여 실험재료로 이용하였다. 뿌리는 흐르는 수돗물에 깨끗이 수세한 후 70% 알코올에 1분, 0.5% 클로락스용액에 30분간 침적하여 표면 살균한 후 멸균수로 4회 수세하였다. 무균작업대에서 메스로 뿌리를 횡단면으로 절단한 후 형성층이 포함되도록

약 4 × 4 × 4 mm³ 크기로 절단하여 배양재료로 사용하였다.

작약 뿌리 절편으로부터 캘러스 형성

5년생 작약 뿌리 절편을 유관속층이 포함되도록 절편을 만들어 오옥신과 사이토카닌이 여러가지 농도로 조합 첨가된 MS배지(Murashige and Skoog 1962)에 배양하였다. 캘러스 유도배지는 MS배지에 오옥신으로서 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mg/L IAA, NAA, IBA, 2,4-D를, 그리고 사이토카닌으로서 0.0, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L kinetin, zeatin, BAP를 각각 조합 첨가하여 제조하였다. 작약 캘러스를 유도하기 위하여 각각의 배지에 뿌리 절편을 치상한 후 암상태로 6주 동안 배양하였다. 배양 6주째에 배양절편으로부터 캘러스 형성 측정은 육안으로 매우 양호(>+++), 양호(++), 보통(+)로 기록하였으며, 각 처리구당 15개의 절편을 3회 반복 수행하였다.

캘러스 클론으로부터 부정근 발생 및 길이 생장

작약 뿌리 절편으로부터 가장 양호한 캘러스 형성은 1.0 mg/L NAA와 1.0 mg/L zeatin을 조합 첨가한 배지에서 이루어졌으며, 동일배지에서 1개월 간격으로 계대배양하면서 3개월 이상 배양하여 대량의 캘러스를 얻었다. 캘러스 클론은 캘러스 덩어리로부터 메스와 날카로운 핀셋으로 크기가 약 5 × 5 × 5 mm³ 크기로 조심스럽게 잘라 준비하였다. 첫 단계에서 캘러스 클론으로부터 부정근 발생은 오옥신으로서 IAA, NAA, IBA를, 사이토카닌으로서 kinetin, zeatin, BAP를 각각 0.1, 0.5, 1.0 mg/L를 단독 첨가하여 암 상태로 6주 동안 배양하면서 최적의 오옥신과 사이토카닌을 선정하였고, 둘째로 첫 단계에서 선정된 IBA와 zeatin을 다시 0.1, 0.5, 1.0 mg/L농도로 조합 첨가하여 명(18시간 46 μmol m⁻²s⁻¹ 광, 6시간 암 주기)암 조건으로 배양하면서 최적의 농도와 조합 그리고 명/암 효과를 조사하였다. 모든 처리구는 1회당 15개의 캘러스 클론을 사용하였으며, 3회 반복 수행하였다.

결과 및 고찰

작약 뿌리 절편으로부터 캘러스 형성

작약 뿌리 절편으로부터 캘러스 증식에 대한 최적의 호르몬 조건을 조사하기 위하여 여러 가지 농도의 오옥신(IAA, NAA, IBA, 2,4-D)과 사이토카닌(kinetin, zeatin, BAP)을 각각 조합 처리한 MS배지에 암 조건으로 6주 동안 배양하면서 관찰하였다. 배양 2주째부터 절단면의 유관속조직 주위부터 초기 캘러스가 형성되기 시작하였고, 배양 4~6주째까지 연노란색의 단단한 캘러스가 증식되었다. 캘러스 유도는 오옥신 중 NAA와 2,4-D가, 사이토카닌에서는 kinetin과 zeatin이 비

Table 1 Effects of plant growth regulators on callus formation from root explant of *Paeonia lactiflora* Pall. cultured in Murashige and Skoog medium containing auxins and cytokinins in the dark for 6 weeks

Plant growth regulator (mg/L)	Kinetin				Zeatin			BAP			
	0.0	0.5	1.0	2.0	0.5	1.0	2.0	0.5	1.0	2.0	
IAA	0.5	+ ^c	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	2.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NAA	0.5	+	+	+	+	++	++	+	+	+	+
	1.0	++ ^b	++	+	+	+++ ^a	++++	++	++	+	+
	2.0	++	++	+	+	+++	+++	+	++	+	+
	3.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IBA	0.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1.0	+	+	+	+	++	++	+	+	+	+
	2.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2,4-D	0.5	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+
	1.0	++	++	++	+	++	++	++	++	+	++
	2.0	+++	++	+	+	++	++	++	+	+	+
	3.0	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

^a>+++ : very good callus formation, ^b++ : good callus formation, ^c+ : moderate callus formation

IAA: indole acetic acid, NAA, naphthalene acetic acid, IBA: indolebutyric acid, 2,4-D: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, BAP: benzylaminopurine

교적 양호한 것으로 나타났다. 호르몬 처리구중 1.0~2.0 mg/L 2,4-D 단독 또는 1.0 mg/L NAA와 0.5~1.0 mg/L zeatin을 조합처리 하였을 때 캘러스 증식이 잘 이루어졌고, 특히 1.0 mg/L NAA와 1.0 mg/L zeatin으로 조합하였을 때 가장 효과적인 것으로 관찰되었다(Table 1). 따라서 부정근 형성을 위한 캘러스증식은 1.0 mg/L NAA와 1.0 mg/L zeatin이 첨가된 배지에서 1개월 간격으로 계대배양하면서 3개월 이상 증식하였다(Fig. 1A). 작약은 뿌리절편으로부터 직접 부정근이나 싹 발생을 유도하는 것보다 다양한 배양 절편으로부터 캘러스를 경유한 간접적인 방법으로 기관 발생을 유도하고 있다(Shen et al. 2012). 작약 캘러스 유도는 자엽절편을 이용할 경우 1.0 mg/L BA와 0.1 mg/L NAA조합(Brukhin and Batygina 1994), 잎 절편을 이용할 경우 0.5 mg/L BA와 0.5 mg/L 2,4-D조합(Zhang et al. 2007) 그리고 배축절편을 이용할 경우 0.5 mg/L TDZ와 0.2 mg/L 2,4-D조합(Wang and Yue 2009)이 효과적인 것으로 알려져 있고, 또한 품종(Yu et al. 2011)과 배지의 종류에 따라(Pan 2010) 캘러스 형성율이 달라질 수 있음을 보고하고 있다. 본 연구에서는 기 연구의 배축, 자엽 및 잎 절편의 캘러스 유도 조건과는 다르게 NAA와 zeatin조합에서

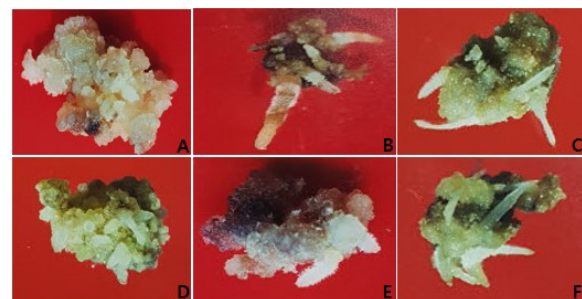


Fig. 1 Adventitious root formation on callus derived from root explant cultures of *Paeonia lactiflora* Pall. Light yellowish compact callus from root explant cultured in MS medium with 1.0 mg/L NAA and 1.0 mg/L zeatin (A) and adventitious roots formed from callus clone cultures in MS medium with 0.1 mg/L IAA (B), 0.1 mg/L IBA (C), 0.5 mg/L zeatin (D), 0.1 mg/L kinetin (E), and a combination of 0.1 mg/L IBA and 0.5 mg/L zeatin (F). MS: Murashige and Skoog, IAA: indole acetic acid, NAA, naphthalene acetic acid, IBA: indolebutyric acid, 2,4-D: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, BAP: benzylaminopurine

효과적으로 나타났고, 특히 1.0 mg/L NAA와 zeatin 조합이 가장 효과적임을 알 수 있었다.

Table 2 Optimal amount of auxin and cytokinin required for the greatest number and length of adventitious roots formed from callus clone cultures of *Paeonia lactiflora* Pall. in Murashige and Skoog medium containing various concentrations of plant growth regulators grown in dark condition for 6 weeks

Plant growth regulator (mg/L)	Number of adventitious roots ^a	Length of adventitious roots (cm)
IAA	0.1	5.50 ± 1.09
	0.5	4.37 ± 0.25
	1.0	3.96 ± 0.62
NAA	0.1	5.27 ± 0.24
	0.5	1.25 ± 0.91
	1.0	-
IBA	0.1	6.66 ± 1.89
	0.5	5.73 ± 1.46
	1.0	4.79 ± 0.72
Kinetin	0.1	1.69 ± 0.94
	0.5	-
	1.0	-
Zeatin	0.1	2.20 ± 1.60
	0.5	2.32 ± 2.75
	1.0	-
BAP	0.1	-
	0.5	-
	1.0	-

^aEach value represents the mean ± standard error of at least three replicates.

IAA: indole acetic acid, NAA, naphthalene acetic acid, IBA: indolebutyric acid, 2,4-D: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, BAP: benzylaminopurine

캘러스로부터 부정근 발생 및 길이 생장에 대한 최적 호르몬과 명암 효과

작약 캘러스 클론으로부터 부정근 발생과 길이생장에 대한 최적 호르몬 조합을 선정하기 위하여 첫 단계로 오옥신으로서 IAA, NAA, IBA를 그리고 싸이토키닌으로서 kinetin, zeatin, BAP를 각각 0.1, 0.5, 1.0 mg/L를 단독 첨가하여 암 조건에서 조사한 결과 캘러스 클론 당 부정근 수는 IAA의 경우 0.1 mg/L에서 약 5.5개, 0.5 mg/L에서 4.37개, 1.0 mg/L에서 3.96개가 형성되었고, NAA의 경우 0.1 mg/L에서 5.27개, 0.5 mg/L에서 1.25개를 그리고 IBA의 경우 0.1 mg/L에서 6.66개, 0.5 mg/L에서 5.73개, 1.0 mg/L에서 4.79개를 형성하여 IBA가 다른 오옥신에 비하여 비교적 높았으며, 특히 0.1 mg/L IBA를 첨가하였을 때 가장 효과적인 것으로 나타났다(Fig. 1B,C). 그리고 사이토키닌의 경우 BAP와 kinetin의 경우보다 zeatin 첨가배지에서 부정근이 발생되었으며, 0.5 mg/L zeatin을 첨가하였을 때 클론당 2.32개의 부정근이 형성되었다(Fig. 1D,E). 부정근의 길이 생장은 IBA의 경우 0.1 mg/L에서 4.82 cm, 0.5 mg/L에서 1.58 cm, 1.0 mg/L에서 1.55 cm로 고농도보다 저농도에서 효과적이었으며, 이는 NAA와 IAA 경우에서도 동일한 경향을 보였다. 반면 싸이토키닌에서는 대부분

오옥신에 비하여 짧은 부정근의 길이생장을 보였고, 특히 0.1 mg/L kinetin과 0.1 - 0.5 mg/L zeatin 첨가배지에서 0.72 - 0.98 cm 정도의 짧은 길이 생장을 보였다(Table 2). 이와 같이 첫 단계 연구로부터 오옥신중에서 IBA를, 사이토키닌중에서 zeatin을 선정할 수 있었다.

둘째로 첫 단계에서 선정된 IBA와 zeatin을 여러 농도로 조합처리하여 명/암 조건으로 다시 조사한 결과 캘러스 클론당 부정근 수와 길이 생장은 0.1 mg/L IBA를 zeatin과 조합 첨가하였을 때 비교적 양호하였으며, 특히 0.1 mg/L IBA와 0.5 mg/L zeatin을 조합하였을 때 다른 조합보다 가장 효과적인 것으로 나타났다. 또한 명/암 조건을 비교하였을 때 부정근 수는 명 조건에서, 부정근 길이는 암 조건이 효과적인 것으로 나타났으며, 특히 가장 효과적인 호르몬 조합인 0.1 mg/L IBA와 0.5 mg/L zeatin에서 암 상태에서 부정근 수와 길이는 각각 7.45개와 5.45 cm, 명 상태에서 14.06개와 1.37 cm로 나타나 부정근의 수는 명 조건에서, 부정근의 길이 생장은 암 조건이 효과적인 것으로 나타났다(Table 3, Fig. 1F). 따라서 작약 캘러스 클론으로부터 부정근 발생 및 길이 생장에 대한 최적의 호르몬으로 IBA와 zeatin을 선정할 수 있었고, 최적의 농도와 조합으로는 0.1 mg/L IBA와 0.5 mg/L zeatin 조건임을 확인할 수 있었다.

Table 3 Effects of dark and light conditions after 6 weeks on the number and length of adventitious roots formed from callus clone cultures of *Paeonia lactiflora* Pall. in MS medium containing IBA and zeatin

Combination (mg/L)		Light		Dark	
IBA	Zeatin	Number of adventitious roots	Length of adventitious roots (cm)	Number of adventitious roots	Length of adventitious roots (cm)
0.1	0.1	7.34 ± 1.56	0.79 ± 0.40	4.67 ± 0.82	4.09 ± 1.32
	0.5	14.06 ± 1.43	1.37 ± 0.02	7.45 ± 1.46	5.45 ± 1.70
	1.0	6.09 ± 1.02	0.16 ± 0.82	6.37 ± 1.02	1.39 ± 0.42
0.5	0.1	6.77 ± 0.73	0.59 ± 0.07	4.98 ± 0.69	1.22 ± 0.68
	0.5	6.40 ± 0.48	0.56 ± 0.05	4.58 ± 0.28	0.77 ± 0.33
	1.0	4.91 ± 1.00	0.10 ± 0.17	4.51 ± 0.51	0.59 ± 0.51
1.0	0.1	8.42 ± 0.63	0.55 ± 0.20	6.04 ± 0.11	0.57 ± 0.60
	0.5	3.78 ± 0.03	0.17 ± 0.03	3.28 ± 0.73	0.68 ± 0.02
	1.0	3.08 ± 0.62	0.11 ± 0.07	2.56 ± 0.03	0.37 ± 0.08

^aEach value represents the mean ± standard error of at least three replicates.

IBA: indolebutyric acid

일반적으로 식물의 기내배양으로부터 부정근 발생은 배지에 첨가되는 오옥신에 의해 촉진되고(Drew et al. 1991), 싸이토카닌에 의해 저해되는 것으로 알려져 있지만(De Klerk et al. 1995), 해바라기, 삼내자(*Kampheria glabga* L.) 및 동부와 같은 일부 식물에서는 오옥신 단독처리보다는 저농도의 싸이토카닌 단독처리나 싸이토카닌과 조합처리가 오히려 효과적인 것으로 나타나 싸이토카닌이 중요성을 강조하고 있다(Amitha and Reedy 1996; Fabijan et al. 1981; Vincent et al. 1992). 또한 부정근 발생이 식물절편으로부터 직접 발생할 경우 식물 조직내 내생호르몬의 영향이 중요하지만, 캘러스를 거쳐 부정근이 형성될 경우 외생 호르몬의 역할이 매우 중요하며(Kim and Cha 2015; Yu et al. 2017), 이는 캘러스의 경우 동종의 세포로 이루어진 탈분화된 조직인 반면, 식물 조직 절편은 이종의 세포와 조직으로 이루어진 분화된 조직으로 형태학적 구조와 기능적인 차이 때문인 것으로 알려져 있다(Soh et al. 1998). 그리고 이러한 탈분화된 캘러스로부터 부정근을 유도하기 위해서는 기관 발생이 가능한 분화된 조직으로 변화가 필요하고, 이를 위해서는 반드시 싸이토카닌 처리가 필요한 것으로 알려져 있다(Soh et al. 1998). 한편 캘러스 클론이나 식물 조직절편으로부터 부정근 발생은 암 처리에 의해(Gonzalez et al. 1991) 또는 광처리에 의해 촉진되기도 한다(Selby et al. 1992). 특히 탈분화된 캘러스 클론으로부터 초기 부정근 원기 형성에는 광 처리가 효과적이며, 이미 형성된 부정근의 길이 성장에는 암 처리가 촉진하는 것으로 보고하였다(Soh et al. 1998). 본 연구에서도 작약 뿌리 절편으로부터 얻은 캘러스 클론으로부터 가장 효과적인 부정근 발생은 오옥신이나 싸이토카닌 단독 처리보다는 오옥신과 싸이토카닌 조합처리가 비교적 양호하였으며, 가장 효과적인 처리구로는 0.1 mg/L IBA와 0.5 mg/L zeatin을 조합 첨가하였을 때로 캘러스 클론으로부터 부정근 발생에 싸이토카닌의 중

요성을 확인할 수 있었고, 또한 탈분화된 캘러스로부터 부정근 수는 광 처리가, 부정근의 길이 성장에는 암 처리가 효과적인 것으로 확인되어 기 연구와 유사함을 보여주고 있다. 따라서 이러한 결과는 향후 작약 캘러스로부터 부정근 대량생산을 위한 기초 자료로의 활용과 부정근 발생과정에 대한 학술적 자료로 이용할 수 있을 것으로 판단한다.

적 요

작약 뿌리 절편으로부터 유도된 캘러스 클론으로부터 부정근 발생에 대한 최적의 배양조건을 조사하기 위하여 뿌리 절편으로부터 캘러스 유도를 위해서 먼저 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mg/L 농도의 오옥신(IAA, NAA, IBA, 2,4-D)과 0, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L 농도의 싸이토카닌(kinetin, zeatin, BAP)를 조합한 MS 배지에서 배양하였다. 캘러스 클론으로부터 부정근 유도과 길이 생장은 0.1, 0.5, 1.0 mg/L 농도의 오옥신(IAA, NAA, IBA) 또는 싸이토카닌(kinetin, zeatin, BAP)을 단독으로 첨가한 배지에서 암 조건으로 그리고 0.1, 0.5, 1.0 mg/L 농도의 IBA와 zeatin을 각각 조합 첨가한 배지에서 명/암 조건으로 6주 동안 배양하였다. 캘러스 형성은 다른 조합 처리보다 1.0 mg/L 농도의 NAA와 zeatin을 조합 첨가한 배지에서 가장 효과적 이었으며, 캘러스 클론으로부터 부정근 발생 수와 부정근의 길이 생장은 IBA 단독처리의 경우 각각 6.66개와 4.82 cm, zeatin 단독 처리의 경우 2.32개와 0.92 cm로 다른 호르몬에 비해 우수하였다. 특히 0.1 mg/L IBA와 0.5 mg/L zeatin을 조합 첨가한 배지에서 광 조건으로 배양할 경우 가장 많은 부정근 이(14.06) 형성되었으며, 동일배지에서 암 조건으로 배양할 경우 부정근의 길이가 가장 긴 5.45 cm로 측정되어 가장 효과적인 농도와 조합임을 알 수 있었다. 이러한 작약의 기내

배양에 대한 최적의 배양 조건은 기내배양을 통해 작약 부정근의 대량 생산을 위한 배지로 사용할 수 있음을 보여 주었다.

References

- Afshari RT, Angoshtari R, Kalantari S (2011) Effects of light and different plant growth regulators on induction of callus growth in rapeseed (*Brassica napus* L.) genotypes. *Omic J* 4: 60-67
- Amitha K, Reedy TP (1996) Regeneration of plantlets from different explants and callus cultures of cowpea (*Vigna unguiculata* L.). *Phytomorphology* 46: 207-211
- Bertazza G, Baraldi R, Predieri S (1995) Light effects on in vitro rooting of pear cultivars of different rhizogenic ability. *Plant Cell Tiss Org Cult* 41: 139-143
- Brukhin VB, Batygina TB (1994) Embryo culture and somatic embryogenesis in culture of *Paeonia anomala*. *Phytomorphology* 44: 151-157
- Choi SJ, Meyer MM (1994) Effects of medium components on discoloration a necrosis of cultures in peony (*Paeonia lactiflora* Pall.) micropropagation. *Kor J Plant Tiss Cult* 21: 173-176
- Chung JD, Harn JS, Jee SO (1995) In vitro propagation of *Paeonia lactiflora* Pall. Through shoot tip culture of winter buds. *Kor J Plant Tiss Cult* 22: 101-104
- De Klerk GJ, Keppel M, Brugge JT (1995) Timing of the phases in adventitious root formation in apple microcuttings. *J Exp Bot* 46: 965-972
- Drew RA, Simpson BW, Osborne WJ (1991) Degradation of exogenous indole 3-butyric acid and riboflavin and their influence of rootings response of papaya in vitro. *Plant Cell Tiss Org Cult* 26: 29-34
- Fabijan D, Taylor JS, Reid DM (1981) Adventitious rooting in hypocotyls of sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings. II. Action of gibberellins, cytokinins, auxins and ethylene. *Physiol Plant* 53: 589-597
- Gonzalez A, Casares A, Sanchez TR (1991) Adventitious root induction in *Corylus avellana*, cotyledon slices. *In Vitro Cell Dev Biol* 27: 125-131
- Jana S, Jeong BR (2013) Shoot induction, biochemical changes during in vitro rooting in *Paeonia lactiflora* Pall 'Hortensis'. *Science International* DOI: 10.1731/sciintl.013.318-324
- Kim H, Cha HC (2015) Effect of gibberellin on the adventitious root formation from the leaves-derived calli in *Persicaria perfoliata*. *J Life Sci* 25: 390-396
- Kim TK, Joo KJ, Chung JD, Rhee IK (1996) Analysis of the content of paeoniflorin in peony roots cultivated on Kyeongbuk area. *Agric Res Bull Kyungpook Natl Univ* 14: 15-28
- Kim YS, Lee BK (1995) Callus induction and embryogenesis through pollen culture in *Paeonia lactiflora* Pall. *Kor J Plant Tiss Cult* 22: 13-17
- Kwon YS, Shin YA, Shon JK (2002) Effect of phenylacetic acid (PAA) on embryo formation in anther and microspore culture of *Paeonia lactiflora*. *J Plant Biotechnol* 29: 193-198
- Marino G, Grandi F, Muzzi E, Giorgioni ME (2018) In vitro shoot multiplication and rooting of wild *paeonia officinalis* L., subsp. *officinalis*. *Eur J Hort Sci* 83: 125-134
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15: 473-479
- Pan T (2010) Studies on the tissue culture of multiple shoots and callus of *Paeonia lactiflora*. M.Sc. Thesis. Beijing Forestry University
- Selby C, Kennedy SG, Harvey BMR (1992) Adventitious root formation in hypocotyl cuttings of *Picea sitchensis* (Bong.) Carrthe: influence of plant growth factors. *New Phytol* 120: 453-457
- Shen M, Wang Q, Yu X, Teixeira da Silva JA (2012) Micropropagation of herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.). *Sci Horti* 148: 30-38
- Shin JH, Sohn JK, Kim KM, Kim KJ, Kim JC (1998) Effects of plant growth regulators on somatic embryogenesis from cotyledon of herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.). *Kor J Plant Tiss Cult* 25: 115-118
- Shin JH, Sohn JK, Kim KM, Park SD, Kim KW (1997) Plant regeneration through somatic embryogenesis from cotyledon of herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.). *Kor J Plant Tiss Cult* 24: 291-294
- Soh WY, Choi PS, Choi DY (1998) Effects of cytokinin on adventitious root formation in callus cultures of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant* 34: 189-195
- Sohn JK, Kim KS, Kim KM (1994) Development of pollen-derived embryos and ploidy level of their regenerated plants in *Paeonia lactiflora* Pall. *Kor J Plant Tiss Cult* 21: 215-219
- Sohn JK, Kim YH (1993) Effect of plant growth regulators on callus and embryo formation in anther culture of *Paeonia lactiflora* Pall. *Kor J Plant Tiss Cult* 20: 255-259
- Sohn JK, Kwon YS, Kim KM (1995) Effect of embryo morphology on plant development in anther cultures of *Paeonia lactiflora* Pall. *Kor J Plant Tiss Cult* 22: 165-168
- Vincent K, Mathew KM, Hariharan M (1992) Micropropagation of *Kaempferia galanga* L., a medicinal plant. *Plant Cell Tiss Org Cult* 28: 229-230
- Wang Y, Yue H (2009) Advances in browning researches in plant tissue culture of *Paeonia*. *Heilongjiang Agric Sci* 2: 159-160
- Yu J, Liu W, Liu J, Qin P, Xu L (2017) Auxin control of root organogenesis from callus in tissue culture. *Frontiers in Plant Sci* doi: 10.3389/fpls.2017.01385
- Yu XN, Wu HJ, Pan T (2011) Callus induction and differentiation of four peony cultivars. *J Hunan Agric Univ (Nat Sci)* 37: 166-171
- Zhang QR, Yang QS, Li YH (2007) Effects of different plant growth regulators on tissue culture of *Paeonia lactiflora* Pall. *J Henan Agric Univ* 41: 25-28