

민들레 (*Taraxacum platycarpum*) 유식물 절편으로부터 부정아 발생에 미치는 auxin과 cytokinin의 영향 및 식물체 재생

이미현 · 윤의수 · 정수진 · 배기화 · 서진욱¹ · 최용익^{2*}

공주대학교 생물학과, ¹중앙대학교 생명공학과, ²중앙대학교 인삼산업연구센터

Plant Regeneration and Effect of Auxin and Cytokinin on Adventitious Shoot Formation from Seedling Explant of *Taraxacum platycarpum*

LEE, Mi-Hyun · YOON, Eui-Soo · JUNG, Su-Jin · BAE, Ki-Hwa · SEO, Jin-Wook¹ · CHOI, Youg-Eui^{2*}

Department of Biological Science, Kong-Ju National University, Kongju, 314-701, Korea

¹Department of Biotechnology, Chung-Ang University, Anseong, 456-756, Korea

²Korea Ginseng Institute, Chung-Ang University, Anseong, 456-756, Korea

ABSTRACT *Taraxacum platycarpum* has been used as a medicinal plant. We investigated optimal condition for efficient plant regeneration through adventitious shoot formation on medium with various kinds of growth regulators. Adventitious shoot formation was achieved when cytokinin was used alone. Shoot formation was higher on MS medium containing 2 mg/L BAP compared to that with 2 mg/L kinetin and 2 mg/L 2-ip. Among root, hypocotyl and cotyledon, roots were the best explant for the adventitious shoot induction. Adventitious shoot formation from roots declined markedly by the combination of both 0.1 mg/L NAA and 2 mg/L BAP, while shoot formation from cotyledons was stimulated by the same combination. Root formation from the regenerated shoots was achieved on 1/3MS medium containing 0.2 mg/L NAA. Regenerated plantlets was acclimatized and transplanted to the soil, showing 100% survival.

Key words : *Taraxacum platycarpum*, plant regeneration, shoot formation

서 론

민들레 (*Taraxacum platycarpum* H. Dahlstedt)는 국화과 식물로 양지에서 자라는 다년초로서 줄기가 없고 잎이 총생한다. 국화과의 민들레속 식물은 전 세계에 약 400여 종이 분포하고 있으며, 우리나라에는 좀민들레 (*Taraxacum hallaisanensis*), 민들레 (*Taraxacum platycarpum*), 산민들레 (*Taraxacum ohwianum*), 흰민들레 (*Taraxacum coreanum*), 서양민들레

(*Taraxacum officianale*) 등이 분포하고 있다.

민들레는 옛부터 민간에서 강장, 해열, 이뇨, 건위, 거담, 해독제로 이용되어 왔으며 한방에서는 포공영과 포공영근이라는 약재로 종창, 유방염, 인후염, 맹장염, 복막염, 급성간염, 황달에 사용되고 있다. 민들레의 비타민 C 함량은 다른 엽채소에 비해 높아 비타민 공급원으로서 가치가 높다고 보고하고 있으며 (Shin 1999), 메탄올로 항균성 물질을 추출하여 식품의 부패와 오염에 관계하는 5종의 균주에 대하여 항균성을 검사한 결과 항균성이 보고되었다 (Kim et al. 1998). 또한 Ho 등 (1998)은 민들레의 추출물인 desacetylmatricain이 항알레르기 효과가 있는 것으로 보고하고 있으며, Choi 등 (1998)은 민들레 추출물이 혈액의 응고를 방지하는 것으로 보고한 바 있다. 또한 자

*Corresponding author Tel 031-670-4754 Fax 031-676-5212

E-mail yechoi@cau.ac.kr

극된 뇌신경교세포로부터 면역기능을 조절하는 세포활성물질들 (Tumor necrosis factor- α , IL-1)의 생성을 조절하여 중추신경계에서 항염증 활성을 나타내는 것으로 보고되고 있다 (Ling 2000). 또한 항산화제 역할을 할 수 있는 가능성이 규명됨으로써 암예방 및 치료제로서의 활용가능성을 제시했다 (Lee 1997). Cho 등 (2000)은 흰쥐의 혈청과 간조직을 대상으로 실험한 결과 총콜레스테롤과 유리콜레스테롤의 축적을 억제하는 것으로 보고하였다.

우리가 주변에서 민들레처럼 보이는 것은 외국에서 들어와 우리나라에 정착한 귀화 식물인 서양민들레 (*Taraxacum officianale*)로 우리나라 고유종인 민들레 (*Taraxacum platycarpum*)는 보기 힘들다. 서양민들레 (*Taraxacum officianle*)를 재료로 하여 Booth와 Satchuthanthavale (1974)는 뿌리 절편을 이용한 재분화와 캘러스를 통한 부정아 및 부정근 유도를 보고한 바 있으며, Bowes (1970)는 이차 뿌리 절편으로부터 식물체를 얻었다고 보고하였다. 그러나 우리나라에 자생하는 민들레 (*Taraxacum platycarpum*)에 대한 조직배양을 통한 재분화에 대한 보고가 없다.

식물의 기관분화는 auxin과 cytokinin의 조합에 따라 달라지고 (Skoog and Miller 1957) 배양절편의 부위에 따라 다른 경향을 보인다. 따라서 본 실험은 민들레의 종자로부터 auxin과 cytokinin의 조합에 따른 식물체 재분화의 최적 조건을 확립하고자 한다.

재료 및 방법

식물 재료 및 발아조건

본 실험 재료는 대전시 주변에서 자생하는 민들레 (*Taraxacum platycarpum*)를 공주대학교 온실에 옮겨 심은 후 종자를 채취하여 70% EtOH로 15초간 침지 후 2~3회 멸균수로 수세하고 1% sodium hypochlorite 용액에 10분간 표면살균하였다. 살균된 종자는 멸균수에 3회 세척시킨 후 멸균된 filter paper 위에 올려 놓아 물기를 제거하였다. 발아배지는 1/3MS (Murashige and Skoog 1962)에 1% sucrose, 0.7% agar를 첨가한 petri-dish (10×2 cm)에 30 mL씩 분주하였다. 표면 살균된 종자는 배지에 petri-dish당 15개씩, 총 45개를 치상하였다. 종자는 25±3°C, 16시간 광주기, 50μmol·m⁻²·s⁻¹ 광도의 배양실에서 발아시켰다.

생장조절제 종류에 따른 부정아형성

생장조절제 종류에 따른 부정아 형성을 조사하기 위하여 auxin류로서 2,4-D (1 mg/L), NAA (0.1 mg/L)와 cytokinin류로서 kinetin, BAP, 2-ip (2 mg/L)를 단독처리 하였다. 또한 BAP (2 mg/L)와 NAA (0.1 mg/L, 2 mg/L)를 조합처리 하였다. 상

기 호르몬 처리한 MS배지에 3% sucrose, 0.7% agar를 첨가하여 배지를 조성하였다. 배지의 pH는 5.7로 조정하였고 petri-dish (10×2 cm)에 30 mL씩 각각 분주하였다. 1주일 발아시킨 유식물을 뿌리, 배축, 자엽으로 구분하여 2~3 mm로 횡으로 절단하여 petri-dish 당 절편 25개씩, 총 100개의 절편을 치상하였다. 4주간 배양하여 부정아 형성에 미치는 auxin과 cytokinin의 종류와 농도를 조사하고 뿌리, 배축, 자엽의 부위별 영향에 대해 조사하였다. 배양은 상기와 동일한 조건에서 행하였다.

뿌리 유도

형성된 부정아로부터 부정근을 유도하여 온전한 식물체를 재생시키기 위해 1/3MS에 1% sucrose, 0.7% agar가 첨가된 배지와 이 배지에 auxin류로서 NAA (0.2, 0.5, 1 mg/L)와 IBA (0.2, 0.5, 1 mg/L)를 각각 첨가한 다음 100 mL 배양병 (Sigma)에 30 mL씩 분주하였다. 배양병당 형성된 부정아를 5개씩 총 50개씩 치상하여 6주간 배양하였다. 배양조건은 상기의 조건과 동일하게 행하였다.

토양순화

발근배지에서 6주간 배양하여 얻은 온전한 식물체를 멸균된 인공배양토 (perlite : 부토, 3 : 1, v/v)에 이식시켰다. 인공배양토를 증류수로 적당히 적신 후 유리병 (6×6×12 cm, 500 mL)에 담아 121°C, 1.2기압에서 15분간 멸균했다. 이식 작업은 무균상태에서 이루어졌으며 뿌리 부위를 멸균수로 수세한 뒤 심었다. 재분화체를 각 조건에서 10개씩, 2반복하고 4주간 배양하여 순화율을 조사하였다. 배양조건은 상기의 조건과 동일하게 행하였다. 인공배양토에서 4주간 순화를 거친 식물체를 비멸균 토양조건에서 3 mm 채로 거른 마사토에 이식하여 성장시켰다.

결과 및 고찰

생장조절제에 따른 부정아 형성

Auxin과 cytokinin의 단독처리가 부정아 형성에 미치는 영향

종자로부터 1주일 발아시킨 유식물을 2~3 mm로 횡으로 절단하여 뿌리, 배축, 자엽을 auxin과 cytokinin를 단독처리한 배지에 치상하여 4주간 배양한 후 절편에 따른 부정아의 형성률을 조사하였다. Auxin을 단독 처리한 1 mg/L 2,4-D 또는 0.1 mg/L NAA에서는 부정아가 전혀 유도되지 않았으며, 1 mg/L 2,4-D 처리시에는 캘러스가 활발히 유도되었다 (Figure 1A). Cytokinin을 단독으로 처리한 경우에 부정아 형성률이

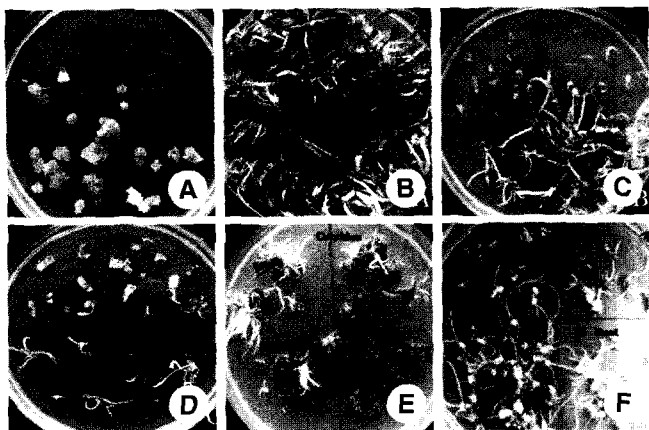


Figure 1. Seedling explants of *Taraxacum platycarpum* cultured on medium with various growth regulators. A, 1 mg/L 2,4-D; B, 2 mg/L BAP; C, 2 mg/L kinetin; D, 2 mg/L 2-ip; E, 0.1 mg/L NAA and 2 mg/L BAP; F, 2 mg/L NAA and 2 mg/L BAP.

Table 1. Effect of growth regulators on adventitious shoot formation from seedling explants of *Taraxacum platycarpum* after 4 weeks of culture.

Growth regulator (mg/L)		No. of explant producing adventitious shoot/total (%)	No. of shoot/explant
Auxin	Cytokinin		
NAA 0.1		0/100 (0)	0
2,4-D 1.0		0/100 (0)	0
	BAP 0.5	28/100 (28)	0.8 ± 0.2
	BAP 2.0	67/100 (67)	2.1 ± 0.3
	2-ip 2.0	45/100 (45)	1.1 ± 0.2
	kinetin 2.0	30/100 (30)	0.6 ± 0.1
NAA 0.1	BAP 2.0	32/100 (32)	0.8 ± 0.2
NAA 2.0	BAP 2.0	0/100 (0)	0

높았으며 이때 형성된 부정아는 캘러스를 거치지 않고 절편 표면으로부터 직접 유도되었다. Cytokinin 중에서는 2 mg/L BAP 에서 가장 높은 부정아 형성률을 나타냈다 (Table 1). Yoh과 Roh (2001)은 종이 다른 민들레 (*Taraxacum mongolicum*)의 부정아를 유도하기 위해 1 μM BAP에 1 μM IAA를 조합처리한 것과 다르게, 본 실험에서는 IAA의 처리 없이도 부정아 유도가 매우 잘 이루어지는 것으로 나타났다. Cytokinin의 단독처리의 경우 그 종류에 따라 부정아의 형성이 다른 경향을 보였다 (Figure 1B, 1C, 1D). Figure 2에서 보는 바와 같이 2 mg/L BAP에 치상된 유식물의 뿌리, 배축, 자엽의 모든 절편에서 부정아 형성률이 높게 나타났다. Kinetin을 처리한 경우 뿌리에서의 부정아 발생률이 현저히 높았다 (Figures 1, 2). 2-ip를 2 mg/L 처리한 경우에 자엽에서의 부정아 형성률이 kinetin 처리시보다 높게 나타났다. 이와 같이 민들레는 cytokinin 단독 처리시 일반적으로 다른 식물들에서 뿌리 절편에서 부정아 형성률이 낮은 것과 다르게 뿌리 절편에서 부정아 형성률이 높은 특징을 보였다. Cytokinin은 뿌리

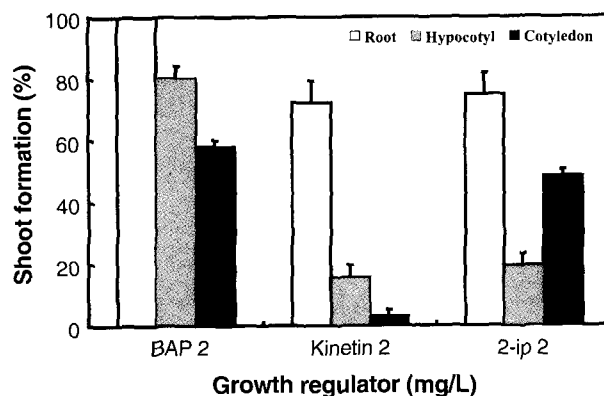


Figure 2. Effect of cytokinin on adventitious shoot formation from seedling segments of *Taraxacum platycarpum* after 4 weeks of culture.

의 발육을 억제하지만 줄기의 생육을 촉진한다는 보고가 있으므로 (Pennazio 1975) 부정아 유도시 cytokinin을 적절히 사용하여야 한다고 사료된다. 또한 cytokinin (BAP, kinetin, 2-ip)의 종류와 배양절편체의 부위에 따라 부정아 형성률이 다른 경향을 띄는 것으로 조사되었으며 (Figures 1, 2) 이는 고추냉이의 정단분열조직으로부터 multi shoot의 형성이 cytokinin (BAP, zeatin, kinetin)의 종류에 따라 다른 경향성을 보고하고 있는 것과 유사하며 (Eun et al. 1997), 시클라멘의 자엽과 엽병의 캘러스 유도과 shoot 형성시 cytokinin의 농도에 따라 그 양상이 다른 것과 유사하다 (Eun et al. 1995). 따라서 부정아를 효율적으로 유도하기 위해서는 cytokinin의 종류와 부위별 절편을 신중히 고려해야 한다고 생각된다.

Cytokinin과 auxin의 조합 처리에 따른 부정아 형성

앞의 실험에서 BAP 2 mg/L 단독 처리시 부정아 형성률이 가장 높은 결과를 보였기 때문에 2 mg/L BAP에 auxin로서 NAA를 0.1 mg/L와 2 mg/L 각각 조합 처리하였다. 유식물의 뿌리, 배축, 자엽 절편을 BAP와 NAA가 조합된 배지에 배양하여 부정아 형성률을 4주간 조사하였다. BAP를 2 mg/L 단독 처리한 유식물의 모든 절편에서 높은 부정아 형성률을 나타냈으나, NAA의 농도를 0.1 및 2.0 mg/L로 달리하여 조합 처리한 경우에는 처리구 모두에서 BAP 단독 처리시보다 부정아 형성률이 크게 낮아졌다 (Figures 1B, E, F). NAA를 0.1 mg/L 조합 처리한 경우 절편에 따라 살펴보면, 2 mg/L BAP 단독 처리시와 대조적으로 뿌리 절편에서 캘러스가 형성되면서 부정아 형성률이 크게 낮아졌으며 그에 반해 자엽 절편에서 부정아 형성률이 매우 높아지는 흥미로운 결과를 얻었다 (Figure 3). 그러나 NAA의 농도를 2 mg/L로 높여 2 mg/L BAP와 조합 처리한 경우에는 부정아가 전혀 형성되지 않았고 모든 배양재료의 절편에서 부정근이 발생되었다 (Figure 1E). Auxin과 cytokinin의 균형에 따라 식물체 재생의 패턴이 달라진다는 결과 (Skoog and Miller 1957; Walker et al. 1979)

가 보고된 바 있는 것처럼 민들레에서도 배양재료마다 생장 조절제에 반응하는 민감도가 크게 다르며 이 원인은 배양재료의 내재 호르몬의 균형과 상관된다고 생각된다.

뿌리 유도

Cytokinin 단독 혹은 auxin과의 조합처리에서 얻은 부정아를 1/3MS에 1% sucrose, 0.7% agar를 첨가한 배지 또는 auxin류의 NAA와 IBA를 각각 농도별 (0.2, 0.5, 1 mg/L)로 처리하여 치상하였다. 부정아를 auxin이 첨가된 배지에 옮겨준 경우에는 뿌리가 유도되었으나 첨가되지 않은 경우에는 뿌리가 전혀 유도되지 않았다. Table 2에서 보는 바와 같이 auxin류 중에서도 NAA가 IBA보다 뿌리 유도에 더 효과적인 것으로 나타났다. 이는 민들레 (*Taraxacum platycarpum*)의 경우 뿌리 원기의 유도에 IBA보다 NAA가 더 효과적인 것으로 생각된다. 특히 NAA 0.2 mg/L를 처리한 경우 100% 뿌리가 유도되었으며 뿌리의 갯수와 길이도 양호하게 나타났다. 일반적으로 NAA와 IBA의 auxin은 낮은 농도에서는 뿌리를 유도하지만 높은 농도에서는 캘러스를 유도하여 뿌리 유도율이 낮은 것으로 알려져 있다. 본 실험에서도 NAA와 IBA의 높은 농도에서는 캘러스화되면서 뿌리 유도율이 현저히 낮아졌다. NAA를 1 mg/L를 처리한 경우 뿌리 유도가 현저히 낮아졌으며 1 mg/L IBA를 처리한 경우에는 뿌리가 전혀 유도되지 않았다.

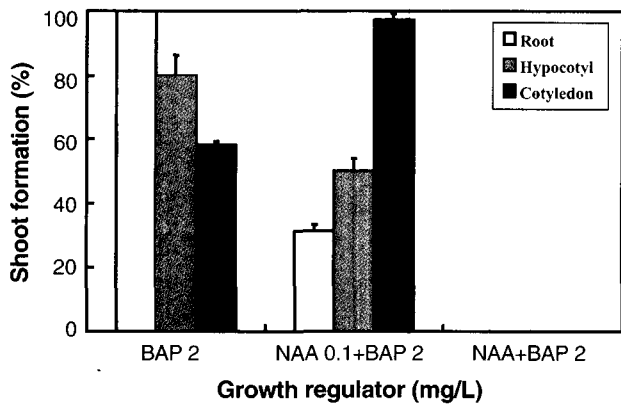


Figure 3. Effect of NAA combination with BAP on adventitious shoot formation from seedling segments of *Taraxacum platycarpum* after 4 weeks of culture.

부정아로부터 뿌리를 유도한 후 1/3MS에 1% sucrose와 0.7% agar를 첨가한 배지에 치상하여 식물체를 생장시켰다 (Figure 4B). 종이 다른 민들레 (*Taraxacum mongolicum*)의 부정아를 MS배지에서 2주 간격으로 계대함으로써 뿌리를 유도하였다고 보고하고 있으나 (Yeo and Roh 2001), 본 재료의 민들레 (*Taraxacum platycarpum*)는 auxin을 첨가 해주지 않았을 경우 뿌리의 유도에 어려움이 있었다. 따라서 본 식물들에 auxin류를 적정량 첨가함으로써 보다 효과적인 뿌리의 유도가 이루어질 것으로 생각된다.

토양순화

발근 배지에서 6주간 배양하여 얻은 재분화체를 멸균된 인공배양토에 이식하여 4주 후에 관찰한 결과 93%의 높은 생존율을 나타냈다 (Figure 4C). 멸균된 인공배양토에서 순화된 식물체는 3 mm 채로 거른 마사토로 비멸균 상태의 토양에 이식하여 배양실에서 생장시킨 결과 100% 생존율을 나타냈다 (Figure 4D). 이는 유도된 부정아로부터 발근배지를 적절하게 이용하여 부정근이 유도된 재분화체를 얻는다면 그 후의 식물체의 순화는 큰 문제가 없을 것으로 생각된다. 또한 이후

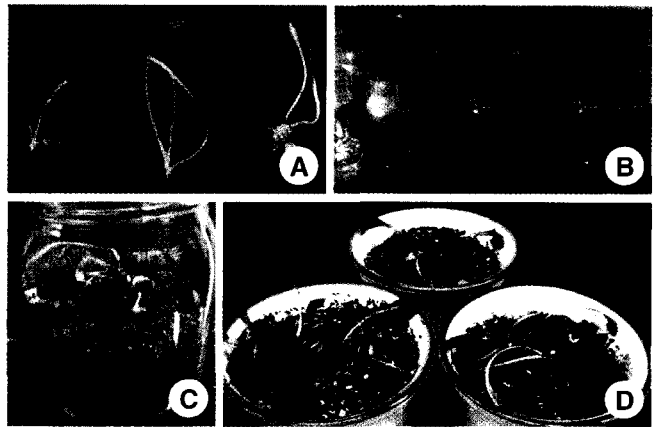


Figure 4. Root formation from adventitious shoots and soil transfer of plantlet. A, Comparison of root formation on different auxin (free, 0.5 mg/L IBA, 0.2 mg/L NAA). B, Growth of plantlets on hormone-free 1/3MS with 1% sucrose. C, An acclimatized plantlet in a glass bottle containing autoclaved soil (C) and transplanted to soil pot (D).

Table 2. Effect of growth regulators on root formation from adventitious shoots of *Taraxacum platycarpum* after 6 weeks of culture.

Growth regulator (mg/L)		No. of shoot producing root/total (%)	Root length (cm)	No. of root
NAA	IBA			
Free	Free	0/50 (0)	0	0
0.2		50/50 (100)	4.1±0.6	6.0±1.0
0.5		25/50 (50)	0.6±0.3	3.8±0.6
1.0		16/50 (32)	0.4±0.2	9.3±1.1
	0.2	14/50 (28)	0.2±0.2	1.0±0.2
	0.5	13/50 (26)	0.7±0.4	0.7±0.1
	1.0	0/50 (0)	0	0

기외의 포장 이식 후에도 높은 생존율을 나타낼 것으로 생각된다.

적 요

민들레 (*Taraxacum platycarpum*)는 오래전부터 민간에서 약용으로 이용되어 왔다. 본 실험에서는 민들레로부터 효율적인 식물체 재분화 조건을 조사하기 위해 수행되었다. 부정아 유도에 있어서 적절한 성장조절제와 그 농도를 조사하기 위하여 auxin (2,4-D, NAA) 또는 cytokinin (BAP, kinetin, 2-ip)을 단독, 조합처리 하였다. Cytokinin 단독 혹은 auxin과 조합처리 시 부정아가 유도되었는데 이 중 2 mg/L BAP에서 가장 높게 나타났다. Cytokinin 단독처리시 종류에 따라 부위별 부정아 형성률이 다르게 나타나며, 민들레의 경우에는 특이하게 뿌리 절편에서 자엽과 배측 절편보다에서 부정아 형성률이 가장 높게 나타났다. 한편 auxin을 cytokinin과 조합처리한 경우에는 cytokinin 단독처리시보다 뿌리 절편에서 부정아 형성률이 급격히 떨어졌다. 반면 자엽 부위로부터 부정아 형성률은 크게 증가되었다. 부정아로부터 부정근의 유도는 0.2 mg/L NAA에서 가장 양호하게 나타났으며 인공배양토의 순화과정에서 93%의 높은 생존율을 보였다. 비무균상태의 마사토에서 100% 생존함으로써 기외의 포장이식에 어려움이 없을 것으로 생각된다.

사사 - 이 논문은 2000년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음 (G00025).

인용문헌

- Booth A, Satchuthanathavale R** (1974) Regeneration in root cutting of *Taraxacum officinale*. I. Effects of exogenous hormones on root segments and root callus cultures. *New Phytol* **73**:453-460
- Bowes BG** (1970) Preliminary observations on organogenesis in *Taraxacum officinale* tissue cultures. *Protoplasma* **71**:197-202
- Cho SY, Park JI, Oh YJ, Jang JY** (2000) Effect of dandelion leaf extracts on lipid metabolism in rats fed high cholesterol diet. *J Kor Soc Food Sci Nutr* **29**:676-682
- Eun JS, Ko JA, Kim YS** (1995) Plantlet regeneration by cotyledon and petiole cultures of *Cyclamen persicum* Mill. *Kor J Plant Tissue Culture* **22**:213-216
- Eun JS, Ko JA, Kim YS, Kim MJ** (1997) Micropropagation by apical meristem culture of *Wasabia japonica* Matsum. *Kor J Plant Tissue Culture* **24**:43-48
- Ho C, Choi EJ, Yoo GS, Kim KM, Ryu SY** (1998) Desacetyl-matricarin, an anti-allergic component from *Taraxacum platycarpum*. *Planta Media* **64**:577-578
- Kim KH, Chun HJ, Han YS** (1998) Screening of antimicrobial activity of the dandelion (*Taraxacum platycarpum*) extract. *Kor J Soc Food Sci Nutr* **14**:114-118
- Lee JS, Kwon KW, Bae CH, Yang DC** (2001) Advanced regeneration and genetic transformation of *lycium chinense* harboring salt tolerance genes. *Kor J Plant Tissue Culture* **26**:47-52
- Pennazio S** (1975) Effect of adenine and kinetin on development of carnation tips cultured in vitro. *J Hort Sci* **50**:161-164
- Shin SR** (1999) Studies on the nutritional components of dandelion (*Taraxacum officinale*). *Kor J Postharvest Sci thchnol* **6**:495-499
- Skoog F, Miller CO** (1957) Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro. In: *The Biological Action of Growth Substances*, Symp Soc Exp Biol, Academic Press, New York, pp. 118-140
- Walker KA, Wendeln MI, Jaworski EG** (1979) Organogenesis in callus tissue of *Medicago sativa*. The temporal separation of induction processes from differentiation processes. *Plant Sci Lett* **16**:23-30
- Williams CA, Goldstone F, Greenham J** (1996) Flavonoids, cinnamic acids and coumarins from the different tissues and medicinal preparations of *Taraxacum officinale*. *Phytochemistry* **41**:121-127
- Yeo SE, Roh KS** (2001) Transformation of *Taraxacum mongolicum* Hand, by *Agrobacterium tumefaciens*. *Korean J Biotechnol Bioeng* **16**:480-485

(접수일자 2002년 2월 27일)