

GOVP1199802601

633.88
L293A

최종연구
보고서

주요 수입 생약재 품질 평가 및 자급생산 기술 개발

Quality Evaluation and Development of Cultural Practice
for Self-Supply of Main Importing Crude Drugs

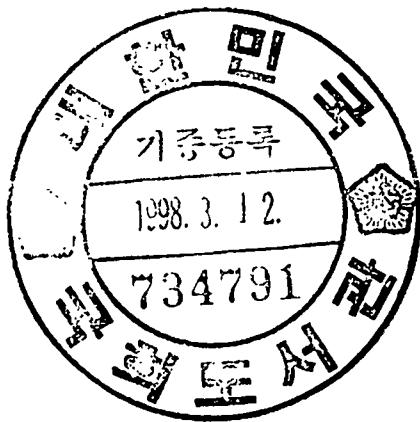
연구기관
동덕여자대학교

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “주요 수입생약재 품질 평가 및 자급
생산기술 개발” 과제의 최종 보고서로 제출합니다.



1997. 11. 30

주관연구기관명 : 동덕여자대학교
총괄연구책임자 : 도 상 학
협동연구기관명 : 경희대학교
협동연구책임자 : 안 덕 균
연구원 : 김 호 철
연구원 : 임 강 현
연구원 : 임 영 권
협동연구기관명 : 작물시험장
협동연구책임자 : 성 낙 술
연구원 : 박 충 현
연구원 : 박 춘 근
연구원 : 김 춘 식

요 약 문

I. 제목 : 주요 수입생약재 품질평가 및 자급생산 기술

II. 연구개발의 목적 및 중요성

상용한약재 중 사용빈도가 높고 국내생산은 부족하여 매년 중국으로부터 대량수입에 의존하고 있는 지황(지황 : *Rhemania glutinosa*)과 백출(백출 : *Atractylodes macrocephala*)은 국내재배가 가능하지만 기존의 국내 재래종으로는 수량성이 저조하여 중국난과의 가격 경쟁에 매우 불리하다. 중국에서는 이들 작물에 대한 육종연구가 20여년전에 이루어져 육성품종을 보급하고 있으나 국내에서는 관련연구가 전무하다.

본 연구에서는 중국의 재배종 지황과 백출을 도입하여 수량성과 약효를 국내 재래종과 비교하고 기원식물 합치여부를 판단하여 국내에서 대체 재배시 생약재로 이용하는 근거를 마련코자 하였고 이들 종은 국내 재배가 시도된 바 없어 일련의 재배기술 개발연구와 우량종묘의 증식기술 개발을 시도코자 하였다.

이들 지황과 백출은 연간 2~3,000톤씩 수입되고 있기 때문에 농가의 소득원으로 육성하고 이들 약재를 자급함으로 해서 외화 절약에 이바지 한다는 차원에서 본 연구과제의 중요성이 있다고 하겠다.

III. 연구개발 내용 및 범위

(제 1 세부과제 : 지황, 백출의 생약학적 평가)

본 과제에서는 국내 자생 백출 식물을 수집하고 중국과 일본으로부터

수집한 백출속 식물과 비교하여 근경의 조직학적 특성을 조사하였다.

또한 TLC에 의한 정성 분석을 시도하였으며 수집된 시료에 대한 정유 함량을 분석하였다.

지황에 대하여는 국내 재래종과 중국 도입종의 근경의 조직학적 특성을 비교하였으며 이들의 세포유전학적 특성과 RAPD에 의한 유연관계를 비교하였다

(제 2 세부과제 : 지황, 백출의 임상학적 평가)

중국 도입종 백출(*Atractylodes macrocephala*)와 국내 자생백출(*A.japonica*)간의 약리효과를 비교하기 위하여 이들 수종의 위액 분비량에 미치는 영향과 유리산도에 미치는 영향, 총산도 억제효과, 위산 분비량 억제효과 및 PH 상승효과를 동물실험을 통하여 비교하였다. 또한 이들 두 종에 대한 β -eudesmel과 atractulenolideIII 함량을 비교하였다.

지황은 국내 육성종 (지황 1호)와 재래종을 대상으로 조혈 효능시험으로써 적혈구수, 백혈구수, 혜모글로빈 및 hematocrit치를 측정하였으며 간독성 실험으로서 GTP, ALP, LAP, LDH 활성도를 측정하였고 중추신경계에 대한 효능실험으로서 화학적 자극 및 전기자극으로 유발한 경련에 대한 영향, 초산법에 의한 통증 완화작용 및 Hot plate법에 의한 통증 완화작용을 비교하였다.

(제 3 세부과제 : 종묘증식 및 재배기술 개발)

중국 도입진단으로부터 선발된 '지황 1호'에 대한 무병묘 대량 생산을 위해 조직배양 기술체계를 확립하였고 배양묘의 수량성, Virus 이병정도를 평가하였다.

지황 1호의 포장 재배기술에 대한 검토와 백출(*A.macroceptiala*)의 재배기술을 확립하였다.

IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

(제 1세부과제 : 백출, 지황 근연종의 생약학적 비교학인)

가. 백 출

o 국내외 삽주속 식물의 근연종 수집

- 국내 치봉산, 태행산 등 21개 지역 산야에서 삽주속식물 27계통 200여 점을 수집
- 일본지역에서 *A.koreanum*과 *A.japonica* 식물을 수집하였음.
- 중국으로부터 *A.sinensis*, *A.lancea*, *A.macrocephalla* 및 *A.koreanum*을 수집하였음.

o 외부형태 및 근경의 조직학적 비교

- 국내 수집종은 외부 형태에서는 약간 차이가 있었으나 근경의 조직특성으로 보아서는 모두 유사하였고
- 국외 수집종인 *A.macrocephala*, *A.lancea*, *A.sinensis*는 외부형태 및 근경의 조직특성에서 뚜렷한 차이를 보였다.

나. 지 황

o 국내외 지황 식물종 수집

- 국내 재래종(*Rehmania glutinosa* Libosch) 및 중국, 일본으로부터 동종의 야생종, 변종(*R.gutinosa* Libosch var. *purpurea*)를 수집하였다.

o 이들 수집재료들에 대한 외부특성 및 근경의 조직학적 특성을 비교하였다

- 지상부와 근경의 생육은 다양한 차이를 보였으나 조직학적 특성은 비슷하였다.

- 또한 이들 수집재료들의 세포유전학적 특성과 RAPD에 의한 유연관계를 비교하였다.
 - 그결과 수집재료 모두가 염색체수는 동일하였으며 ($2n=56$)
 - RAPD에 의한 Cluster 분석결과 국내 재래종과 중국종, 일본종은 유연관계가 먼 다른집단으로 분류되었다.
 - Flow cytometry에 의한 핵 DNA 함량은 수원재래 5.98, 단양재래 6.10, 중국종 6.27 Mbpb/1c로 차이를 보였다.
- 유리당 함량을 비교한 결과 중국 도입종이 평균 2.5%로 국내 재래종 (1.7~1.8%)에 비해 높았다.

(제 2세부과제 : 백출, 지황의 성분 및 임상학적 평가)

1. 백 출

현재 우리나라의 白朮은 삽주(*Atractylodes japonica* Koidz.)의 뿌리이며 중국의 白朮(*Atractylodes macrocephala* Koidz.)과는 종이 다르므로, 이에 대한 효능 연구가 요구되어 본 실험에 착수하였다. 白朮로 유통되는 2종의 한약재에 대하여 약효 비교실험과 성분 정량실험을 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 위액분비 억제효과에서 *A. japonica*군과 *A. macrocephala*군 모두에서 500 mg/kg투여군과 1000 mg/kg투여군에서 유의한 효과가 있었다.
- 유리산도 억제실험에서는, *A. japonica*군과 *A. macrocephala*군 모두 감소되는 경향을 나타내었다.
- 총산도 억제실험에서는, *A. japonica*군과 *A. macrocephala*군 모두 감소되는 경향을 나타내었다.
- 산분비량 억제효과에서, *A. japonica*군은 1000 mg/kg투여군에서 유의한 효과가 있었고, *A. macrocephala*군에서는 500 mg/kg투여군과 1000 mg/

kg투여군에서 유의한 효과가 있었다.

- 위액 중 pH의 변화에서, *A. japonica*군은 500 mg/kg투여군과 1000 mg/kg 투여군에서 유의한 효과가 있었고, *A. macrocephala*군에서는 500 mg/kg 투여군에서 유의한 효과가 있었고 1000 mg/kg투여군에서 감소되는 경향을 보였다.
- 두 종간의 β -eudesmol과 atracylenolide III는 두 종에서 모두 검출되었으며, 정량결과 두 종간의 성분함량에 유의한 차이를 볼 수 없었다. 이상으로 白朮로 사용되는 2종의 한약재에 대하여 약효를 비교 분석하였다. *Atractylodes macrocephala* Koidz.는 모든 항목에서 *Atractylodes japonica* Koidz.보다 우수하거나 유사하였다. 이에 *A. macrocephala*가 白朮로서 사용되는 것이 더 바람직하다고 생각한다.

2. 지 황

임상에서 홍반성낭창, 고혈압, 변비, 관절염, 피부병, 안과질환, 당뇨병, 자출혈, 월발성혈소판감소성자반에 다용하는 지황의 조혈작용, 간독성완화작용 및 충추신경계 작용에 대하여 실험적 연구를 수행한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

○ 조혈실험

적혈구수에서 중국지황 투여군이 유의한 효과를 보였고, 중국 및 국산지황 투여군의 차이는 두드러지지 않았다. 백혈구수에서 중국지황 및 한국지황 투여군 모두 수의 감소를 나타내었으나 유의성은 없었고, Hemoglobin 및 hematocrit에서 두군 모두 유의성은 없었으나 증가하는 경향을 나타내었다.

즉, 중국 및 한국지황투여군 모두 적혈구수 hemoglobin 및 hematocrit 치를 높여 빈혈유발을 억제하는 경향을 나타내었고, 중국지황 및 국산지황의 약리효능의 차이는 없었다.

○ 간독성 실험

간에 독성을 유발한 실험에서 유의성은 없었으나 한국지황 및 중국지황은 모두 GOT 활성도의 감소를 보여 독성작용을 완화하는 경향을 나타내었고, GTP 활성도도 한국지황 및 중국지황 모두 감소하는 경향을 나타내었고, 혈청 중 ALP 및 LAP 활성도에서는 그다지 큰 변화를 보이지 않았다. LDH 활성도에 대한 작용으로는 한구지황 투여군에서 유의한 감소를 나타내어 간독성작용을 유의하게 억제하였고, 중국지황 투여군에서는 유의성을 보이지 않았다.

이상의 결과,, 지황은 간독성작용을 완화하는 경향을 나타내어 간염, 간경화, 황달 등 간질환에 치료작용이 있을것으로 생각되고, 한국지황 및 중국 지황의 유의한 효력의 차이는 볼 수 없었다.

○ 중추신경계

항경련효과를 관찰하기 위하여 생쥐에 화학적으로 유발한 경련에 대하여 pentylenetetrazole으로 유발한 경우에 한국지황, 중국지황 모두에서 경련억 제효과가 없었다. Strychnine으로 유발한 경우 한국지황에서 유의한 경련 억제효과를 나타냈다. ($P<0.05$). 그리고, picrotoxin으로 유발한 경련에서는 모두 유의한 경련억제효과를 나타내지 않았다.

물리적 자극인 전기자극으로 유발한 경우에도 모두 유의한 경력억제효과를 나타내지 않았다. 진통효과를 관찰하기 위하여 초산에 의하여 통증을 유발한 뒤 발생하는 writhing syndrome의 빈도를 측정한 결과 한국지황, 중국지황에서 모두 진통작용이 있는 경향을 나타내었으나 유의성을 보이지는 않았다. hot plate에 의해 유발된 동통의 양상인 jumping의 유발시간을 측정한 결과 한국지황, 중국지황에서 차례로 진통효과가 있는 경향이 있었으나 유의성을 보이지 않았다.

이상의 결과로 보아 한국지황 투여군과 중국지황 투여군에서 유의성은 없으나 항경련 및 진통의 경향을 나타내었고, 특히 한국지황의 strychnine으로 유발한 경련에 유의한 경력억제 작용을 나타내었다.

현재 농촌진흥청 작물시험장에서 국내 품종화한 지황 1호(중국지황)와 재래종(한국지황)과의 효능을 비교하기 위하여 수행한 3종의 실험결과, 조혈작용에 있어 지황 1호가 한국지황보다 우수한 효능을 나타내었고, 간독성완화시험 및 중추신경계작용에 있어서는 한국지황이 중국지황보다 우수한 효능을 나타내었다. 그러나 실험결과로보아 두 약물의 효능에 유의한 차이를 나타내지 않아 중국지황(지황 1호)과 한국지황(재래종)은 대체할 수 있으리라 생각한다.

(제 3세부과제 : 우량종묘증식 및 재배기술 개발)

1. 지황 우량묘 기내생산 기술 및 재배기술 개발

가. 무병우량묘 기내생산기술 개발

중국도입 지황의 무병묘 대량생산기술개발을 위해 기내 증식기술을 개발하였다.

- o 배양재료(조직)선발 : 꽃봉우리 상태에 있는 화경이 유리
- o 치상조직으로부터 신초의 형성 : Kinetin에 비해 BA나 ZIP가 효과적이며 BA 1.0~3.0mg/ℓ에서 80%, zip 5.0mg/ℓ에서 66%의 신초형성
- o 신초의 기내 발근유도 : IAA 0.5~1.0mg/ℓ
- o 기외발근 : 기내에서 유도된 신초를 삽수로하여 IBA 100ppm에 30분 침지
- o 기외 발근 용토 선발 : 기내신초가 3cm 정도 자랐을 때 베미큘라이트와 퍼라이트를 1:1로 혼합

나. 조직배양묘의 실용화 연구

- 영양번식묘와의 수량성 및 관련형질 비교

| Source | Plant height (cm) | Leaf width (cm) | No.lwaves/ plant |
|---------------------------|----------------------|--------------------|---------------------|
| Tissue cultured plant | 22.5 | 6.7 | 12.1 |
| Conventionally propagated | 18.5 | 7.5 | 9.3 |

| Root length (cm) | Root thickuess (mm) | fresh root weight(g/plant) | Yield (kg/10a) |
|---------------------|------------------------|-------------------------------|-------------------|
| 17.3 | 9.6 | 29.3 | 1,954 |
| 15.2 | 8.2 | 15.6 | 1,025 |

다. 도입종의 재배기술 연구

- 적정 시비량 구명 : N - P₂O₅ - K₂O = 27 - 27 - 36kg/10a
- 천근성 계통선발 : RGa-3 선발, 증식중
- 적정재식거리 구명 : 60cm 휴폭재배시(경운기 수확) 30×10cm, 2열식이
유리
90cm 휴폭재배시(트랙터 수확) 30×10cm, 3열식이
유리
- 종근의 저장조건 : 지하 80cm에 노천매장이 유리
- 적정 토성 구명 : 사양토 재배에서 식양토 재배보다 225% 증수

라. 도입종의 현지실증 재배

지황 도입종의 지역별 수량성 비교

| 재배지역 | 근장 (cm) | 근수 (개) | 근경 (mm) | 근중 (g/주) | 수량 (kg/10a) |
|-------|------------|-----------|------------|-------------|----------------|
| 경기 안성 | 23.6 | 10.9 | 28.5 | 247.5 | 2,351 |
| 충북 제천 | 21.1 | 18.0 | 22.2 | 227.2 | 2,158 |
| 전남 완도 | 13.8 | 7.6 | 26.1 | 288.5 | 2,740 |
| 강원 정선 | 9.2 | 21.0 | 30.0 | 526.0 | 4,997 |
| 경북 김천 | 11.6 | 13.2 | 51.0 | 485.0 | 4,607 |
| 평균 | 15.8 | 14.1 | 31.5 | 354.8 | 3,371 |

2. 백출 실생직파 재배기술개발

가. 직파 재배시 파종적기

1) 흑색 비닐피복

- o 3. 27일부터 4.27일까지 10일 간격으로 4회 파종하였음.
- o 파종기별 출현기는 4.24일부터 5.13일까지였으며 출현기간 16일 이상이 소요 되었음.
- o 4. 17, 4.27일 파종구는 출현기의 차이가 없었음
- o 초장, 분지수 등 지상부 생육은 4.7일 파종구가 양호하였으나 생근중은 3.27일 파종구가 26.5g/주로 가장 높았음
- o 백출의 비닐피복 재배시 파종적기는 3월 하순 ~ 4월 상순이 적합할 것으로 추정됨.

표. 백출 흑색비닐 피복 재배의 파종기별 생육특성

| 파종기 (월.일) | 출현기 (월.일) | 초 장 (cm) | 분지수 (개/주) | 경 경 (mm) | 근 경 (mm) | 생근중 (g/주) |
|--------------|--------------|-------------|--------------|-------------|-------------|--------------|
| 3. 27 | 4. 24 | 43 | 13 | 4.5 | 32 | 26.5 |
| 4. 7 | 4. 30 | 46 | 14 | 4.7 | 33 | 25.2 |
| 4. 17 | 5. 12 | 44 | 9 | 4.0 | 30 | 23.7 |
| 4. 27 | 5. 12 | 45 | 11 | 4.2 | 28 | 23.0 |

2) 무피복 직파 재배시 파종적기

- o 파종기는 3. 27일부터 4. 27일까지 10일간격으로 4회 파종하였음.
- o 파종기별 출현기는 4. 28~5. 16일로 19일 이상 소요되었음.
- o 지상부 생육인 초장, 분지수, 경경 등은 파종시기별 큰차이가 없었음.
- o 주당생근중은 4. 17일 파종구가 21.5g으로 가장 높았음.
- o 백출 무피복 직파재배시 파종적기는 4월 중순경이 적합함.

표. 백출 무피복 직파 재배시 파종적기

| 파종기 (월.일) | 출현기 (월.일) | 초 장 (cm) | 분지수 (개/주) | 경 경 (mm) | 근 경 (mm) | 생근중 (g/주) |
|--------------|--------------|-------------|--------------|-------------|-------------|--------------|
| 3. 27 | 4. 26 | 40 | 9 | 3.7 | 26 | 18.6 |
| 4. 7 | 5. 2 | 39 | 8 | 3.6 | 25 | 19.2 |
| 4. 17 | 5. 15 | 39 | 10 | 4.0 | 28 | 21.5 |
| 4. 27 | 5. 16 | 40 | 10 | 3.8 | 26 | 20.2 |

나. 백출 적정 재식거리 구명

- o 60cm 두둑에 흑색비닐을 피복한 후 조간 20cm(3열), 30cm(2열) 주간 5 10, 15, 20cm로 4월 중순 파종함.

- 재식밀도별 지상부 생육인 초장, 엽수, 분지수는 처리간 큰 차이가 없었음.
- 재식밀도별 경경, 근경은 밀식구보다 소식구에서 증가되는 경향임.
- 주당 생근중은 소식구인 30cm(2열) × 20cm 구가 27.2g/주로 가장 높았음.
- 단위 면적당 재식본수를 고려할 때 20cm(3열)×10cm구가 주당 생근중 22.3g/주로 백출 직파 1년생의 적정 재식밀도로 추정됨.

표. 백출 재식밀도별 생육특성

| 조 간 | 주 간 (cm) | 초 장 (cm) | 엽 수 (매/주) | 분지수 (개/주) | 경 경 (mm) | 근 경 (mm) | 생근중 (g/주) |
|--------------|-------------|-------------|--------------|--------------|-------------|-------------|--------------|
| 20cm (3열) | 5 | 42.4 | 123 | 9 | 4.0 | 18.8 | 16.2 |
| | 10 | 40.4 | 120 | 11 | 4.0 | 20.8 | 23.2 |
| | 15 | 38.8 | 127 | 10 | 4.3 | 22.8 | 23.3 |
| | 20 | 35.4 | 115 | 12 | 4.2 | 20.8 | 24.3 |
| 30cm (2열) | 5 | 44.6 | 128 | 11 | 4.4 | 20.0 | 18.2 |
| | 10 | 44.2 | 127 | 10 | 5.6 | 25.5 | 24.3 |
| | 15 | 45.2 | 125 | 12 | 5.3 | 22.8 | 25.2 |
| | 20 | 44.0 | 132 | 10 | 5.6 | 23.6 | 27.2 |

다. 백출 근비대기 및 화뢰 적심효과 구명

- 4월 중순 파종한후 5월 중순경에 출아하였으며 7월 상순까지는 주근은 거의 비대하지 않았음.
- 생근중은 10. 20일경 27.5g/주로 가장 높았음.
- 생육시기별 생근중은 8월중순부터 10월상순까지 급격히 증가하는 경향임.
- 지상부 생엽중은 7월 이후 점차 증가하여 10.1일이 89.1g/주를 기점으로 감소 추세임
- 백출 직파 1년생의 화뢰 형성기인 7월 중순부터 3회 화뢰를 적뇌한 후 생근중을 조사한 결과 적뢰구는 무적뢰구에 비해 생근중이 26.5g/주로 20% 증수 되었음.

표. 백출 시기별 생근중 및 생엽중의 변화

| 시기별 | 7. 20 | 8. 20 | 9. 20 | 10. 1 | 10. 20 |
|----------|-------|-------|-------|-------|--------|
| 생근중(g/주) | 3. 4 | 8.7 | 16.7 | 27.9 | 27.5 |
| 생엽중(g/주) | 33.2 | 46.7 | 56.5 | 89.1 | 79.1 |

2. 결과 활용에 대한 건의

본 연구는 생약재중 소비면에서 가장 큰 주요품목으로 매년 각각 1500~2500톤의 물량을 중국으로부터 수입에 의존하고 있는 바, 이를 국산으로 대체하기 위한 배경을 제공하기 위하여 중국에서 사용되는 백출(*A.macrocephala*)과 국내산 자생백출간의 생약학적, 임상학적 비교와 아울러 재배기술을 확립코자 하였고, 중국에서 육성한 지황 종근을 수집, 증식하여 역시 국내산과의 형태학적, 임상학적 비교를 거쳐 Virus free stock을 생산하기 위한 조직배양기술과 기내배양묘의 푸장평가 등 일련의 시험을 수행하였다.

그결과의 활용이 기대되는 개발기술은 아래와 같이 요약할 수 있다.

□ 시책건의

- 대한약전의 식물규정 중 백출의 기원식물에 *A.macrocephala*추가(현행 규정 상에는 *A.japonica*로만 한정하고 있음)
 - ; 중앙 약사심의회에 건의, 대한약전 제 6개정에 반영결정)

- 지황 천근다수성 품종 (*R.gluatinosa* Libosch와 *R.gluatinosa* Libosche var.*purpurea*간의 교잡종)개발

□ 농촌지도사업 활용

- 지황 1호(중국 도입종)의 재배기술
- 중국 유래 백출(*A.macrocephala*)의 실생묘 재배기술

□ 산업체 활용

- 지황 우량종근의 기내 대량생산기술

SUMMARY

1. Purpose of this study

The aim of this study was to evaluate the quality, pharmacological efficacy and to develop cultural practice of introduced cultivar of Jihwang (*Rehmania glutinosa* Libosch) and Baek chool(*Atractylodes macrocephala* koidz.).

Above two kinds of crude drug are imported from China for national demands, as 2,000M/T~2500M/T every year because of low production in Korea.

To improve the production of two drude drugs for self-supply, this studies were conducted.

2. Materials and methods

Rootstock of Jihwang (*Rehmania glutinosa* Libosch) and seeds of Baekchool(*Atractylodes macrocephala* koidz.) introduced from Institute of Medicinal Plant Development, Beijing, China were used.

Taxonomical and clinical study compare to Korean local cultivar were emploied. Development of cultural practice and masspropagation techniques of seedlings were carried out in Dongduck Womans University, Kyunghee University, Seoul and Natioanl Crop Experiment Station, Suwon, Korea.

3. Results

I. Histological and Pharmacognosical Study of *Atractylodes* spp. and *Rehmania* spp.

1) *Atractylodes* species were collected as belowes ;

Atractylodes japonica KODZ. from 21 locations in Korea, *A.Koreanum* and *A.japonica* from Japan and *A. sinensis*, *A.lancea*, *A.macrocephala*, *A. koreanum* from China.

2) Histological and anatomical studies were employed and morphological characteristics were evaluated in each species.

It was showed that Korean native species(*A.japonica*) has quiet different tissue structure of rhizom compare to Chinese one (*A. macrocephala*)

II. Compoents Analysis and Clinical Evaluation

Baek-Chul is a popular herbal drug used to promote the digestion of food in gastrointestinal tract, remove dampness and control inside of body. In China, the root of *Atractylodes macrocephala* KODZ. is used as Baek-Chul, but in Korea the root of *Atractylodes japonica* KODZ. is used as Baek-Chul. In this study, pharmacological experiments were performed to compare biological activities of herbal drugs of *A. japonica* and *A. macrocephala* with pylorus ligated rats. In addition, quantitative analysis was used to compare amount of atracylenolide III and β -eudesmol in *A. japonica* and *A. macrocephala*. In completion of the experiments of hematogenesis, hepatoprotectivity and effect on CNS of Rechmannia glutionsa on SLE, cathasia, arthritis, dermatitis, ophthalmic diseasek, diabetes mellitus, metrorrhagia, primary thrombocytopenic purpura,

III. Development of Seedling Propagation Techniques and Cultural Practice

1) Development of masspropagation techniques for healthy seedlings in *Rehmania glutinosa*. It was recommended using floral stems for culture and treatment of BA or ZIP were more effective than Kinetin for shoot formation. IAA 0.5~1.0mg/ℓ treatment was good for *in vitro* rooting. Treatment of IBA 100ppm for 30 minutes to in vitro shoot for rooting.

Tissue cultured plant showed better growth characteristics than conventionally propagated one and yield was also higher in tissue cultured plant as 1954 kg/10a compare to conventionally propagated one of 1025kg/10a.

As a results of experiments for cultural practice, optimum fertilizer application level, planting density, storage condition of rootstocks and optimum soil texture were examined.

2) Development of Cutural Practice in *Atractylodes macrocephala*.

Optimum planting time in different cultural condition, planting density and effects of pinching on yield were investigated.

여 백

CONTENTS

| | |
|--|-----|
| I. Introduction | 23 |
| 1. Purpose and Range of the Studies | 25 |
| | |
| II. Taxonomical and Pharmacognosical Evaluation of <i>Atractylodes</i> and <i>Rehmania</i> spp. | 27 |
| 1. Introduction | 27 |
| 2. Materials and methods | 30 |
| 3. Results and discussion | 35 |
| 4. Summary | 51 |
| literature cited | 52 |
| | |
| III. Component Analysis and Clinical Evaluation of <i>Atractylodes</i> and <i>Rehmania</i> spp. | 54 |
| 1. Introduction | 54 |
| 2. Materials and methods | 56 |
| 3. Results and discussion | 64 |
| 4. Summary | 87 |
| literature cited | 90 |
| | |
| IV. Development of Seeding propagation techniques and Cultural practice of <i>Atractylodes</i> and <i>Rehmania</i> spp. | 92 |
| 1. Introduction | 92 |
| 2. Materials and methods | 94 |
| 3. Results and discussion | 97 |
| 4. Summary | 129 |
| literature cited | 131 |

여 백

목 차

| | |
|--|-----|
| 제 1 장 서 론 | 23 |
| 제 1 절 연구개발의 중요성 | 25 |
| 제 2 장 백출, 지황의 분류학적 및 생약학적 평가 | 27 |
| 제 1 절 서 론 | 27 |
| 제 2 절 재료 및 방법 | 30 |
| 제 3 절 결과 및 고찰 | 35 |
| 제 4 절 적 요 | 51 |
| 인용 문헌 | 52 |
| 제 3 장 백출, 지황의 성분 및 임상학적 평가 | 54 |
| 제 1 절 서 론 | 54 |
| 제 2 절 재료 및 방법 | 56 |
| 제 3 절 결과 및 고찰 | 64 |
| 제 4 절 적 요 | 87 |
| 인용문헌 | 90 |
| 제 4 장 종묘증식 및 재배기술 개발 | 92 |
| 제 1 절 서 론 | 92 |
| 제 2 절 재료 및 방법 | 94 |
| 제 3 절 결과 및 고찰 | 97 |
| 제 4 절 적 요 | 129 |
| 인용문헌 | 131 |

여 백

제 1 장 서 론

우리나라의 생약재(한약재) 수요는 국민생활수준의 향상, 건강추구에 대한 관심고조와 함께 한방의료보험의 실시, 대형 제약기업의 한방제제 생산 참여 등의 원인으로 1980년대 중반을 기점으로 급속히 증가하고 있는 추세이다.

국내의 생약재 생산은 '85년에 12,616M/T에 불과했으나 '96년에는 42,769 M/T으로 크게 증가하였고 재배면적도 동기에 4,025ha였던 것이 13,741ha로 크게 증가하여 농가의 소득작물로 정착돼가고 있는 실정이다.

한편, 국내에서 재배가 가능하며 이미 대규모 재배가 (1,000ha 이상)정착된 작물은 당귀, 천궁, 황기, 길경, 산약 등을 들 수 있으며 십수년전까지도 자급이 충분했으나 수요량의 대폭증가로 생산이 수요를 충족시키지 못하는 작물로 지황, 백출을 대표적으로 들 수 있는 바 본 연구는 대량수입 한약재인 지황과 백출에 대한 식물학적인 검토, 한방 임상학적 검토와 아울러 우량도입 품종의 재배기술을 개발하여 수입을 억제하고 자급생산의 기반을 마련하는 일은 매우 중요하다.

지황은 (*Rhemania glutinosa*) 강장, 보혈제로 보약은 물론 치료제로서 가장 많은 처방에 널리 쓰이며 또한 “경옥고”라는 보약처방에는 필수적으로 포함되기 때문에 그 수요가 감초 다음으로 큰 한약재라 할 수 있다.

그러나 소득저하로 인한 국내 지황의 재배면적 감소는 90% 이상 수입의존이라는 결과를 가져왔고 수입지황 반입량의 증가와 함께 국내 지황 재배농가는 재배를 포기해야 할 위기에 처하게 되었다.

백출은(*Atractylodes spp.*) 삽주속 식물의 뿌리로서 소화촉진제로 사용하는 빈용약재로 년간 수요는 1,000~15,000톤에 이르나 국내에서는 지금까지 야생삽주의 채취로 수요의 대부분을 충당하였으나 수요의 급속한 증가로

90% 이상을 수입에 의존하고 있다.

삽주속 식물은 우리나라에 널리 분포하는 *Atractylodes japonica* Koizumi 외에도 중국의 *A. macrocephala*, 일본의 *A. ovobata*, *A. lancea* 등으로 다양하나 우리나라에는 유독 *A. japonica* Koizumi만이 분포하는 바 이 식물은 초세가 왜소하고 근경의 생산량이 적어 인위적 재배시 소득성을 기대하기가 관란한 반면, 중국의 *A. Macrocephala*는 초세가 장대하고 근경이 굵어 (*A. japonica*의 5배 정도) 소득작물로 개발하기에 충분할 것으로 기대되고 있다.

총 농산물 생산액중 그리 큰 비중을 차지하지는 않지만 국민의 건강증진, 질병치료에 필수적인 이들 약재가 가격 경쟁력 열세라는 이유만으로 수입이 개방되고 국내의 생산기반이 붕괴된다면 머지않은 장래에 수입가격은 물론 공급 물량마저 예속당하게 될 것은 자명하므로 이들의 보호차원에서 본 연구의 필요성이 대두된다고 하겠다.

국제시장에서의 가격 경쟁력제고를 위해서는 우량품종의 개발, 다수확 재배기술의 개발 및 생력화 재배기술 개발이 이루어져야 하므로 본 연구에서는 중국으로부터 도입한 지황, 백출에 대한 식물학적 특성평가, 생약학적 및 한방임상학적 측면에서의 기원식물 합치여부 및 효능을 평가 하고자 하였고 이들에 대한 다수확, 생력화 재배기술을 개발하여 농가에 보급코자 하는데 그 목적을 두었다.

제 1절. 연구개발의 중요성

1) 지황과 백출은 한방의학에서 치료제, 보약원료로 가장 많이 쓰이는 약재로 국내의 생산량이 수요에 크게 모자라 막대한량을 매년 중국으로부터의 수입에 의존하고 있다.

지황, 백출의 수입량 ('91~'95 평균)

| 품 목 | 수 입 량 (M/T) | 수입액 (천\$) |
|-------|-------------|-----------|
| 백. 창출 | 2,300 | 7,200 |
| 지 황 | 1,880 | 2,820 |

국내생산이 부진한 큰원인은 생산력의 한계 및 수입품의 저가유통으로 인한 소득저조에 있으므로 생산력을 획기적으로 제고시키기 위해서는 우량 품종의 육성 및 생력화 재배기술 개발이 매우 중요하다.

- 2) 백출은 삽주속식물의 뿌리로서 삽주속(*Atractylodes* spp.)식물은 *A.japonica*, *A.lancea*, *A.koreanum*, *A.Ovobata*, *A. macrocephala*등으로 다양한 바 한약재의 주 생산국이면서 거대 소비국인 한국, 일본, 중국의 각국 공정서에 정하는 기원식물 표기에 차이가 있어 이들을 비교, 확인하여 공정서 내용을 통일할 필요가 있다. 즉 각국이 공정서에 수재하고 있는 식물에 대한 생약학적, 임상학적 효능을 비교할 필요가 있다.
- 3) 백출의 기원식물중 중국에서 재배되는 *A.macrocephala*(큰꽃삽주)는 국내에 자생하는 *A.japonica*(삽주)에 비해 수량성은 월등히 높으나 이들의 약효를 비교하여 *A.macrocephala*의 도입, 재배시 품질의 문제는 없는지를 확인하는 연구는 매우 중요하다.
- 4) 지황은 전형적 타화 수정작물로 수십년간을 영양번식에 의존하였고 국

내에서는 육종이 시도된 바 없어 Virus로 인한 퇴화가 극심하여 수량성이 매우 낮다.

지황의 거대 수출국인 중국에서는 1970년대 후반에 교배육종으로 북경 1호, 북경 2호, 회경지황 등을 육성하였으나 이후 육종사업을 중단하여 당시 품종이 현재까지 재배되고 있으나 국내 재래종에 비해 수량성이 월등히 높은 바 이를 도입하여 국내재배 적응성 검토 및 내병성의 보강 등 육종연구와 생력재배 기술개발은 소득작물로 개발하기 위해 매우 중요하다.

- 5) 또한 중국 도입지황과 국내 재래종 지황간의 유효성분함량 및 약효를 비교 검정하는 연구는 도입종 재배확대를 전제로 매우 중요한 의미를 갖는다.

제 2 장 백출, 지황의 생약학적 평가

제 1 절 서 론

시중 유통되고 있는 백출 및 창출의 차이점을 실제와 문헌을 중심으로 비교 검토하고 그 성상, 제법, 용용등을 살펴본다.

백출은 compositae (菊科)에 속하는 다년생 초본의 근경을 건조하여 약용에 쓰고 있는 것이다. 백출과 창출의 구분은 일부에서 다르게 기술하고 있다. 중국에서는 Atractylodes ovata DC (A-macrocephala Kakdz)를 백출이라 했고 A-lancea (thunb) DC를 창출이라고 하였다. 그러나 A-lancea를 南蒼朮이라고 異種으로 구분하기도 하였으나 본초강목엔 단순히 <출>로 표기하고 있고 그 포제방법에 따라 白朮, 冬朮, 南朮등으로 부르기도 한다.

古方에는 蒼, 白 二朮을 같은것으로 통용했고 후인이 <蒼>으로 구분하였다고 기록되어 있다. 도홍경은 二朮을 구분하여 썼다고 한다.

일본의 경우에도 고래로 일본에 자생하는 A-japonica Kaidziex Kitamura의 근경을 <출>이라고 하고 그 어린것의 껌질을 벗긴것을 말려서 <白朮>이라 했고 老근경을 그대로 말린것은 <蒼朮>이라고 하였다.

우리나라에서는 일찌기 창,백출을 구분하여 썼으나 기원식물을 혼동하여 쓰고 있다. 裴중순이 이르되, “<朮>은 <本經>에서는 구분이 없었고 도홍경이 적, 백 이종이 있다고 하였으며 근세에 창출과 백출의 구분이 있고 그 용도도 다르다.

창백출(삼주나물 뿌리)은 본래 야생으로 산야에 자생하고 있으나, 현재는 거의 재배에 의존하고 있다. 묵은 뿌리에서 나는 아묘는 흰색의 연한 모근을 덮어 싸고 총생하고 뿌리줄기 높이는 30-60cm에 이른다. 葉은 互生하고 깊게 셋으로 갈라지며 중간 잎이 가장 크고 타원형 또는 卵狀 披針形으로서 끝이 뾰족하고 톱니가 있으며 보드랍고 두텁다. 8-9월에 백색-자색의 꽃이 피며 과기는

10월이고 어린 잎은 채소로 식용할 수 있다.

우리나라와 일본에서는 삽주의 오래된 근경이나 수평으로 뻗고 있는 근경을 창출이라하고 비대한 어린 근경의 덩어리진 부분의 코르크층을 벗겨서 말린 것을 백출이라 한다. 그러나 중국에서는 절강성과 안휘지방에 분포하는(우리나라에는 없음)큰꽃삽주 *A.ovata* DC의 근경을 백출, 동출, 어출 이라 한다. 큰꽃 삽주의 앞에 자루가 있고 셋으로 이어지며, 두상화는 커서 지름 2-4cm 관상화는 길이 약 1.8cm로 짙은 보라색이다. 큰꽃삽주의 근경의 정유는 삽주와 같이 *atractylone*은 함유하나, *atractyloin*은 함유하지 않으며 창출과 같이 쓰이고 있다.

1. 백출의 名으로 살펴본 경우

Atractylodes japonica Koidz 日 蒼朮

Atractylodes Koreana Nakai 백출

Atractylodes japanica Koidz 창출

Atractylodes macrocephala Koidz 중국백출

Atractylodes Lancea (Thunb) D.C 남창출, 가는잎 창출

Atractylodes Chinesis D.C Koidz 북창출

Atractylodes Ovata var *Koreanum* 참 백출 (참큰삽주)

Atractylodes Coreana Kitamura 한국삽주 혹 참삽주

Atractylodes Chinensis Koidz var *simplicifoliak* 전엽삽주

Atractylodes Chinensis var *quinqueloba* 赤峰창출

Atractylodes Chinensis var *liaotungensis* 요동창출

Atractylodes japonica Koidz ex Kitam 관창출

그러나 일본의 J.P 중국의 C.P 그리고 우리나라 K.P엔 공통으로 백출은 *A-japonica* Koidz를 기재하고 J.P엔 *A-Ovata* D.C의 뿌리줄기라고 기재하고 있고 C.P엔 *A-macrocephala* Koidz의 건조한 근경을 백출(*Atractylodes*

Macrocephali Rhizoma)로 수재하고 있다.

C.P엔 창출의 경우 A-Lancea(Thunb) D.C로 수재하고 있다. J.P에도 동속식물인 A-Lancea D.C의 근경이나(모창출) A-Chinesis Koidz의 건조한 근경도 수재하고 있다.

우리나라 K.P 창출조엔 A-japonica Koidz의 근경으로 못박고 있으나 유사 동속 식물을 배제 한 것은 실제 임상에서 문제가 되고 있는 실정이다.

흩어진 자료는 모아본 바 한국에서 전통적으로 사용해온 창출, 백출은 기우너 식물이 분류학적으로 문헌에 따라 조금씩 다른것도 있고 한국, 중국, 일본 3국에서는 창출과 백출이라는 생약명으로 조금 상이한 *Atractylodes*의 種 起源 植物로 되어 있는것을 Table I에 기술했다.

위와 같은 자료들로 보아, 이들 3국에서 이용되는 창출, 백출의 분류학적 상관성이 과학적인 자료를 토대로 좀 명확하게 정의 되었으면 하는 바램이다.

창출과 백출의 기원식물비교

| 문현이름 | 기 원 식 물 | |
|---------------|---|--|
| | 창 출 | 백 출 |
| 대한약전 | <i>Atractylodes japonica</i> Koidz. 의 뿌리, 줄리 | <i>A.Japonica</i> Koidz.의 주피를 제거한 뿌리, 줄기 |
| 한국자원식물 총람 | | <i>A.coreana</i> Kitamura. (백출, 창출) |
| 생약학(일본) | <i>A. lancea</i> DC. 또는 그변종 의 근경 | <i>A. japonica</i> Koidz. |
| 원색천연약물 대사전 | <i>A.japonica</i> Koidz.(삽주) | <i>A.ovata</i> var. <i>Koreanum</i> (참 큰삽주) |
| 본초학 | | <i>A.Japonica</i> Koidz의 주피를 제거한 뿌리줄기 |

| 문 헌 이 름 | 기 원 식 물 | |
|-------------|--|----------------------------------|
| | 창 출 | 백 출 |
| 일본 약국방 | A.lancea D.C 또는 그 변종의 근경 | A.ovata DC.의 뿌리줄기 |
| 중국 약 전 | A. lancea D.C(모창출)과 A. chinensis Koidz.(당삼주)의 건조한 근경 | A.macrocephala Koidz.의 건조한 근경 |
| 중국약학대전 | | |
| 중약대사전 | | |
| 신 씨 본 초 | A.japonica Koidzumi의 근경 | A.japonica Koidzumi. 의 괴경 |
| 약품식물학 각론 | | A.japonica Koidzumi.의 주피를 제거한 근경 |

제 2 절 재료 및 방법

1. 재 료

가. 백출

- 국내 치봉산, 태행산 등 21개소 산야를 대상으로 삽주속 식물 27계통 200여점을 수집하여 사용하였다.

| 수집지역 | 수집지 | 식물명 (학명) | 수집점수 | 수집시기 |
|------|------|----------------|-------|------|
| 국 내 | 21개소 | A.japonica | 200여점 | 5~6월 |
| 일 본 | 쓰꾸바 | A.Koreanum | 5 | 7월 |
| | 쓰꾸바 | A.japonica | 5 | |
| 중 국 | 북 경 | A.sinensis | 4 | 6월 |
| | | A.lancea | 3 | |
| | | A.macrocephala | 5 | |
| | | A.Koreanum | 4 | |

나. 지 황

- 국내 재배종 지역별 3종 및 주국, 일본으로부터 5종을 수집하여 사용하였다.

| 수집국 | 수집지 | 식물명(학명) | 수집접수 | 수집시기 |
|-----|--------|--|-------|------|
| 국내 | 정읍, 서천 | <i>R. glutinosa</i> Libosch | 각 10주 | 4월 |
| 중국 | 안국 | <i>R. glutinosa</i> Libosch | 종근2kg | 6월 |
| 중국 | 안국 | <i>R. glutinosa</i> Libosch (야생종) | 2주 | 6월 |
| 일본 | 쓰꾸바 | <i>R. glutinosa</i> Libosch var. <i>purpurea</i> 와 2종 | 각 2주 | 10월 |

2. 시험방법

가. 근경의 조직학적 특성비교

제1처리 - 고정 fixing : 세포의 생활작용을 정지시키는 것으로 세포 내의 생활시에 있어서 구조 그대로의 상태로 영구 보존하는 것이다. 생재료를 곧 paraffin으로 매장할 때의 고정은 재료가 큰 것은 적당한 크기로 필요한 부분을 절취한 다음 재료를 적당한 고정제에 담근다.

고정에는 보통 유리관병(지름 3cm, 깊이 6cm 짜리가 좋다)을 사용하며, 고정액을 충분히 넣어 재료를 담근 후 코르크 마개를 한다.

제2처리 - 수세washing : 고정액을 세척, 제거하기 위한 수세로서 고정액의 종류, 재료의 대소 등에 의하여 수세 소요 시간은 다르며 흐르는 물로써 충분히 충분히 수세해야 한다.

고정액이 세포 및 조직 중에 잔류하면 염색 등에 지장을 초래한다. 수세의 방법은 흐르는 물로써 충분히 세척하는 것이 좋으나, 재료의 유실 등을 피하기 위하여 유리관병(지름 3cm, 깊이 6cm 고정병의 코르크 마개를 뗀 그대로 이용)을 거즈로 덮고 유리관을 사이펀으로 만들어 병 안의 물이 유실로 교환되도록

록 함이 좋다.

제3처리 - 탈수 dehydration : 수세가 끝난 재료는 수분을 제거하기 위하여 alcohol로 탈수를 하는데 보통은 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100%(무수) 등의 각종 alcohol을 준비하고, 수세가 끝난 재료를 %가 낮은 alcohol로 부터 점점 낮은 농도의 alcohol에 이행시킨다. 이 때 급격히 진한 alcohol중에 넣으면 재료가 수축하므로 좋지 못한 결과를 가져온다.

제4처리 - 투명화 clearing : 무수 paraffin으로 완전 탈수가 끝난 재료의 paraffin을 침입시키기 위한 전처리인 동시에 재료를 투명화시키기 위한 처리이다. 보통은 xylol이 사용되며 때로는 chloroform을 사용하는 경우도 있는데, 다음 순서에 의하여 서서히 처리했다.

- 1) 무수 alcohol 2와 xylol 1의 혼합액에 2-3시간 담근다.
- 2) 무수 alcohol과 xylol 등량 혼합액에 2-3시간 담근다.
- 3) xylol 2와 무수 alcohol 1의 혼합액에 2-3시간 담근다.
- 4) 순 xylol에 2-3시간마다 2-3회 xylol을 바꾼다.

제5처리 - 파라핀이행 : 탈 alcohol하여 투명한 재료에 paraffin을 침임, 이행하는 처리이다.

먼저 paraffin(F.P. 45°C)과 xylol 등량씩 혼합한 것에 재료를 담근 후 paraffin 용로중에 넣고 paraffin이 용융할 수 있는 최저온도를 보유하게 하며, 유리 용기의 뚜껑을 닫고 약 일주일간 방치한 다음, 연한 paraffin 3, xylol 1의 혼합액을 같은 paraffin용로에 넣고 paraffin을 용해시킨 것 중에 재료를 이행시켜 동일하게 1일간 방치했다.

다음에 연한 paraffin만을 동일하게 용해한 것 중에 이행하여 용융점보다 2-3°C 높은 온도를 유지하면서 1일간 방치하고, 최후에는 경 paraffin(F.P. 55-58°C)을 같은 방법으로 용해한 것 중에 이행시켜 동일하게 처리했다.(단,

60-62°C 이상으로 상승하게 한다.)

제6처리 - 파라핀 매장 paraffin imbedding : 재료에 paraffin을 침입시키는 조작으로서 절그릇으로 만든 paraffin매장그릇 혹은 유리로 만든 paraffin형 내면에 glycerin을 바르고 이 안에 paraffin을 유입시킨다. paraffin이 충분히 침입된 재료를 옮기고 paraffin의 표면을 입으로 불어 표면에 연한 막이 생길 때 가만히 냉수에 담가 급속히 냉각 응고케했다.

제7처리 - 절편의 절단 cutting : paraffin으로 매장된 재료는 microtome으로 전편을 만든다. 주위를 깎아 장방형으로 하여 paraffin편을 나무조각에 부착시켜 microtome에 고정하여 면도칼로써 상법에 의하여 절편을 만들면 paraffin과 같이 재료의 박편이 절편되어 나온다.

제8처리 - 절편의 첨부 : 절편이 된 것을 slide위에 첨부하는 조작으로서 우선 slide glass를 깨끗이 씻은 후 그 위에 난백 첨부액을 한 방울 떨어뜨린 후 손끝으로 얇게 편다(표면에 남아 있지 않을 정도로 하고, 그 위에 2-3방울의 물을 떨어뜨려 그 위에 paraffin절편을 띄우고 절단했을 때에는 칼에 접한 면을 밑으로 한다). slide의 하방으로부터 가온하여 충분히 주름살을 편다. 이 때의 온도는 40-45°C 정도로 하고 난백이 응고하지 않을 정도라야 한다. 주름살을 편 후에는 물을 유거하고 충분히 건조시킨다.

제9처리 - paraffin의 제거 : paraffin절편이 부착되어 있는 slide glass를 xylol 액중에 담그면 paraffin은 용해 제거된다(약 5분간).

제10처리 - xylol의 세척 : paraffin의 제거 후 염색 과정의 전처리로서 탈paraffin에 사용한 xylol을 제거하기 위하여 재차 100%(무수), 95, 75, 50, 30% 각 alcohol에 수분간씩 slide glass를 순차적으로 담근 후 물에 옮기고 약 10분 후 염색 조작에 들어간다. 이 때 염색액이 alcohol용액인 때는 75% alcohol에서 곧 염색 과정으로 들어간다.

제11처리 - 염색 staining : 염색은 상법에 의한 영구표본용의 염색을 한다.

제12처리 - 탈수, 투명, 봉쇄, 50, 75, 95, 100%(무수) 각 alcohol로써 순차적으로 탈수조작을 했다.

본 실험은 직접 재배지나 야산에 있는 재료를 채취하여 곧바로 10% 호르마링 고정액에 넣고 이것을 파라핀과 같이 microtom에 의하여 절편하는 방법을 사용했다.

나. 식물학적 특성

백출, 지황 공히 생육최성기의 특성을 조사 비교하였다.

다. 지황 수집종에 대한 세포유전학적 특성과 RAPD에 의한 유연관계 비교

RAPDs 분석을 위한 지황 DNA 분리는 어린잎 0.5g을 채워한 즉시 약체 질소를 이용하여 막자사발에서 마쇄 후, 50mL 원심분리관에서 10mL의 extraction buffer(Tris-HCl 50mM, pH 8.0, NaCL 0.7M, EDTA 50mM, CTAB 1%, β -mercaptoethanol 0.1%)와 혼합하여 60°C에서 1시간 동안 처리하였다. 동량의 chloroform : esoamyl alcohol(24:1) 용액을 가하여 조심스럽게 섞은 후 5,000xg로 10분간 원심분리하였다. 상징액을 새 원심분리관에 옮기고 2/3배의 isopropanol을 첨가하여 잘 혼합한 후 -20°C에서 1시간동안 DNA를 침전시켰다. 5,000-10,000xg로 10분간 원심분리 후 상징액을 버리고 침전물은 TE buffer(10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0)에 녹여 최종 농도가 2M이 되도록 NaCl 용약을 가하고 바로 2배의 75% ethanol을 처리하여 잘 섞어준 다음 -20°C에 1시간 동안 DNA를 재침전시켰다. 원심분리하여 얻은 침전물을 75% 에탄올로 씻은 다음 견조시켜 500 μ L의 TE buffer에 녹여 4°C에 보관하면서 시료로 사용하였다. DNA 순도분석은 spectrofluorophotometer(Shimadzu RF-5000, Japan)로 측정하였고 DNA농도는 λ DNA를 HindIII로 처리한 DNA 단편을 기준으로, 전기영동한 0.8% agarose gel 상에서 band의 강도를 비교하

여 정량하였다. PCR을 위한 DNA는 20ng/ μ L로 희석하여 사용하였으며 유연 관계분석을 위하여 20개의 10~mer, primer(표 1)를 사용하였다. DNA 증폭은 10배 반응 용액(Tris-HCl 1 M, pH 8.0, KCl 1M, MgCl₂ 1M, gelatin 1%), dNTPs 2.5mM, MgCl₂ 10mM, 5pM의 primer(UBC kit), DNA 20ng, *Taq* polymerase 1 unit가 혼합된 15 μ L의 반응 혼합물에 15 μ L의 mineral oil을 첨가한 후 DNA thermal cycler(Perkin-Elmer Cetus, USA)에서 94°C에서 15초, 36°C에서 45초, 72°C에서 1분간 35cycle을 반복하여 수행하였다. PCR산물은 4 μ L의 loading dye를 첨가하여 1X Neutral electrophoresis완충액(Tris 1M, EDTA 0.1M, NaAc3H₂O 1.25M, pH 8.0)가 첨가된 1.5% agarose gel에 loading 하였다. 85V로 3시간 전기영동 후 ethidium bromide로 염색하여 자외선하에서 증폭된 DNA의 다형현상을 사진 기록하였다. 20개의 primer에 따른 DNA의 다형현상을 이용하여 MEGA의 cluster분석법에 의하여 유연관계를 분석하였다.

제 3절 실험결과 및 고찰

1. 백출 속 실물수집 및 수집지의 군락 특성

국내의 산야에 자생하는 삽주속 식물의 특성을 비교코자 치봉산, 태행산등 20개 지역에서 '96, 5월부터 8월까지 200여 점을 수집한 바 군락지별 특성을 표 1에서 보는 바와 같이 표고에 따라 지역에 따라 상이하였으나 식물의 형태학적 특성은 거의 비슷한 경향이었다.

표 1. 백출 수집내역 및 수집지 군락 특성

| 번호 | 수집지(산명) | 표고(m) | 군락특성 |
|----|---------|-------|--|
| 1 | 치봉산 | 170 | 다소 세엽이 있었으나 1년생 및 신초가 많았고 종자 및 타식종의 특성이 잘 발현된 것으로 보여짐. |
| 2 | 태행산 | 250 | 다년생근이 많았고 지하부는 크나 지상부의 생육이 부진하였음. 자갈산의 영향으로 보여지며 오래된 뿌리는 썩어짐이 적었음. |
| 3 | 마도면(강화) | 150 | 음지에 극히 일부분 집단군락을 이룸. 집단이 오래되지 않았음. 등굴레, 산지 등 많음 |
| 4 | 계양산 | 150 | 군락 상태가 드물고 자갈(바위산)인 관계로 계곡에 습기 있는 곳이 극히 국지적으로 분포 |
| 5 | 고려산(강화) | 250 | (<i>A.lancea?</i>)의 변종으로 추정되는 개체확보, 다년생중심(산의 하위부에) 형성 |
| 6 | 전등산 | 250 | 다년생도 1년생과 같은 형태로 자라고 있음. 뿌리썩음이 심함. |
| 7 | 마니산 | 310 | 군락이 집중되지 않고 산개 하였으나 극히 다년생은 없는 편임. |
| 8 | 철산리(강화) | 150 | 국지적으로 다년생이 분포하였으며 뿌리썩음이 적었음. |
| 9 | 가현산 | 200 | 다년생 중심. 일년생 다수분포. |
| 10 | 가엽산 | 370 | 다년생 중심으로 속은 뿌리가 썩지 않고 세근의 발육이 좋았음.(사질토 영향으로 보여짐) |
| 11 | 국망산 | 400 | 다년생 광업이나 묵은 뿌리가 없고 세근이 발달됨. |
| 12 | 치악산 | 350 | 묵은 뿌리가 썩고 새뿌리의 발달이 됨. |
| 13 | 발교산 | 450 | 큰 소나무림 하를 벗어난 능선일부에만 존재. |
| 14 | 응봉산 | 600 | 5엽 개체 다수 있음. |
| 15 | 계방산 | 800 | 일년생이 드물고 다년생이 대부분이었으며 기후의 영향으로 5/20일 현재 출아중이었음. |
| 16 | 오대산 | 650 | 1년생은 없음. |
| 17 | 가리왕산 | 500 | 5엽이 다소 많음. |
| 18 | 명산 | 600 | 다년생 5엽 많음. 뿌리가 굽었고 뿌리썩음도 적었음. |
| 19 | 청옥산 | 350 | 잎이 연하고 채광상태가 좋음. |
| 20 | 태백산 | 500 | 다년생의 굽은 신초는 보이지 않고 여린 신초만 있음. |

2. 백출류 생약의 형태 특성

가. *Atractylodes macrocephala* Koidz. -*Atractylodes ovata* DC.

다년생 초본이고 높이 30-80cm이다. 根莖은 보통 직립, 肥大되고 약간 주먹 모양이고 표면은 노르스름한 회색이다. 莖은 직립, 굵고 上部에 分枝가 있다. 葉은 互生이다. 莖下部의 葉은 長柄이 있고 3-5개의 깊은 裂로 갈라지고 裂片은 타원형 혹은 卵狀 披針形이다. 葉 先端은 短尖(짧고 뾰족함) 혹은 漸尖(점차적으로 뾰족해짐)이고 변두리는 가시 모양의 齒가 있고 基部는 점점 좁아지고 頂端裂片이 제일 크다. 莖上부 葉은 위로 올라가며 葉柄이 짧고 갈라지거나 혹은 갈라지지 않는다. 잎의 길이 4-10cm, 넓이 1.5-4cm이다. 先端은 漸尖이고 변두리는 가시 모양의 齒가 있고 基部는 아래로 연장되어 柄으로 된다. 표면은 진한 녹색이고 뒷면은 연한 녹색이고 葉脉이 분명하다. 頭狀花序가 크고 가지의 끝에 單生된다. 모양은 卵形이고 길이 2.5-3.5cm, 직경 2-3cm이다. 總苞는 鐘形이고 基部는 魚骨形의 葉形 苞片이고 길이 3-5cm이다. 總苞片은 5-7層이고 기와가 겹치듯이 배열되고 外面은 소량의 軟毛가 있다. 外層은 短卵形이고 先端은 鈍하다. 맨 內層은 線形이고 先端은 약간 뾰족하고 신장되었다. 꽃은 많고 전부 管狀花이다. 花冠은 紫紅色이고 先端이 5裂로 갈라지고 裂片은 線形이다. 雄蕊는 5개이고 药은 合生되어 雌蕊 柱頭 아래의 둘레에 있다. 花絲는 약간 짧고 花冠 内面 基部에 着生되어 있다. 花柱는 가늘고 길며 연한 紫色이다. 柱頭의 끝 표면에 短毛가 있고 頂端은 약간 갈라졌다. 子房은 下位이고 橢圓形이며 표면에 白色 短毛가 있다. 上端에 一輪의 羽狀冠毛가 있는데 길이는 약 1.5cm이다. 瘦果는 타원형이고 약간 짧고 담갈색이고 표면에 황백색 絨毛가 있고 頂端에 보통 일부 冠毛가 남아 있다. 開花期는 9-10월이고 과실 성숙기는 10-11월이다.

山 언덕, 樹林 변두리 및 灌木林 속에서 생장된다.

陝西, 浙江, 安徽, 江西, 湖南, 湖北 등 省에 분포되어 있고 浙江, 安徽, 湖北,

湖南, 四川 등 20여개 省에서 재배되고 있다.

나. *Atractylodes japonica* Koidz. ex Kitam. -*Atractylis japonica* (Koida.) Kitag.

다년생 초본이고 높이 70cm에 달한다. 根莖은 가로 자라고 結節形으로 肥大되었다. 莖은 直立이고 上部에 分枝가 있다. 葉은 互生이다. 葉에는 長柄이 있고 위로 올라가며 점점 짧아진다. 中下部 葉은 3-5개 羽狀裂로 깊게 갈라지고 길이는 약 10cm이다. 裂片은 倒卵形이고 頂裂片이 비교적 크다. 先端은 短尖 (짧고 뾰족함)이고 변두리는 평평하거나 혹은 안으로 구분 가시 모양의 톱날형이고 基部는 점점 좁아지거나 혹은 쐐기 모양이다. 莖上部 葉은 3裂로 갈라지거나 혹은 갈라지지 않았고 거의 無柄이다. 頭狀花序는 줄기의 頂端에 單生되고 길이는 약 2cm, 직경은 1-1.5cm이다. 基部의 葉狀 苞片은 2列로 되어 있고 頭狀花序와 거의 같은 길이의 크기로 魚骨狀을 형성한다. 總苞는 鐘形이고 總苞片은 7-8列로 되어 있고 소량의 毛가 있다. 先端은 鈍形이고 外層 苞片은 타원형이고 中層 苞片은 長圓形이고 內層 苞片은 條形이고 先端이 紫色을 띤다. 꽃 전부가 管狀花이고 花冠은 백색, 길이는 약 1cm이다. 先端은 5裂로 갈라지고 裂片은 線形이고 展開되었다. 雄蕊는 5개이고 花柱은 雄蕊 위로 올라가고 柱頭는 2裂로 되어 있다. 雌花는 褪화된 雄蕊를 가지고 있다. 瘦果는 長圓形이고 길이는 약 0.5cm이고 표면에는 위로 향한 銀白色 短毛가 있다. 冠毛는 연한 담갈색이고 羽狀으로 되어 있고 길이는 약 0.7-.8cm이다. 開花期는 8-9월이고 과실 성숙기는 9-10월이다.

중국 백출과 한국 백출의 原植物에 대한 감정 결과 兩者의 형태 특징은 매우 가깝다. 즉 葉은 柄이 있고 보통 3-5裂로 깊게 갈라지고 根莖이 발달되었다. 兩種의 주요 구별은 아래 표에 표시하였다.

표 A. macrocephalaer A.japonica의 주요 区別

| 原植物 이름 | 根莖 | 花 |
|-------------------|--|---|
| A. macrocephalaer | 보통 直立, 拳形 | 頭狀花序, 길이 2.5-3.5cm, 직경 2-3cm, 花冠은 紫紅色이다. |
| A.japonica | 가로 자라고 보통 結節 頭狀花序가 비교적 작고 길이는 약 2cm, 모양으로 肥大된다. | 직경 1-1.5cm이고 花冠은 백색이다. |

注: A. ovata 原植物은 A. japonica와 같다.

3. 백출류의 근경 형태

가. 白術 *Atractylodes macrocephala* Koidz.의 乾燥된 根莖

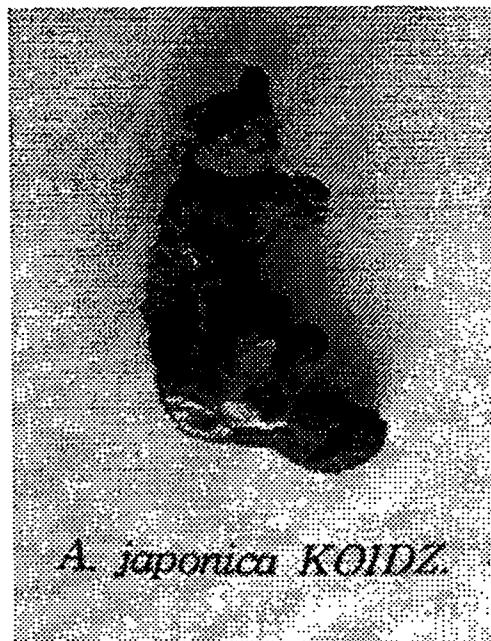
根莖은 불규칙적인 둉어리 모양으로 보통 上部는 좁고 가늘며 下부는 굵고
拳形을 이룬다. 길이 3-13cm, 직경 1.5-7cm이다. 표면은 황회색 혹은 담갈색이
고 腫氣 모양의 突起가 있고 이어지 않은 세로의 주름과 흄이 있다. 그리고 鬚
根 痕이 있고 頂端에는 殘留莖基와 芽痕이 있다. 材質은 단단하여 쉽게 절단되
지 않는다. 斷面은 平坦하지 않고 黃白色부터 연한 갈색 사이의 색을 띠며 황
갈색의 點狀 油室이 분포되어 있다. 불에 말리운 것은 斷面이 角質 모양이고
색갈이 비교적 진하고 혹은 갈라진 틈이 있다. 냄새는 연한 향기가 있고 맛은
달고 약간 맵우며 씹을 때는 약간 풀기가 있다.

나. 한국산 백출 (*Atractylodes japonica* Koidz.)의 건조된 根莖

根莖은 結節 모양의 圓柱形이고 소량은 불규칙적인 둉어리 모양이다. 길이
5-13cm, 직경 2-3.5cm이다. 표면은 갈색을 띠고 栓皮는 약간 거칠고 가는 주름
과 잔류된 鬚根과 根痕이 있고 일부가 腫瘍 모양의 突起가 있다. 材質은 단단
하여 절단될 수 있다. 斷面은 연한 황백색 또는 백회색이고 짧은 纖維性을 약
간 가지고 있다. 일부가 황갈색 點狀 油室이 분포되어 있다. 냄새가 특이하고
맛은 맵고 약간 쓰다.



A. macrocephala KOIDZ.



A. japonica KOIDZ.

4. 근경의 조직구조

가. 橫斷面

1) *A. macrocephala* 根莖(직경 1.5cm)의 橫斷面

木栓層은 1-5列 木栓細胞로 구성되고 세포는 扁長方形이고 壁이 瘦고 切向(橫向) 약 $70\mu\text{m}$, 經向(縱向) $18\mu\text{m}$ 이고 어떤 것은 黃 갈색 물질이 함유되어 있다. 木栓層 內側과 木栓層과 접하는 皮層에는 하나 또는 여러 개의 연결된 石細胞가 正方形 모양을 이룬다. 壁이 두껍고 木質化되고 胞腔과 흄이 분명하다. 皮層은 20여列 薄壁細胞(thin walled cell)로 구성되고 세포가 切向으로 길어지고 세포내에 Calcium oxalate 鈍晶(acicular crystals)이 대량으로 함유되어 있다. 皮層에 油室이 분포되어 있고 圓形 혹은 타원형이고 長徑은 $370\mu\text{m}$ 에 달하고 短徑은 $200\mu\text{m}$ 에 달하며 안에 黃色 기름이 함유되어 있다. 維管束은 外韌型, 環列되었다. 韌皮部는 小形 薄壁細胞와 篩管으로 구성되고 外側 방향으로

線形彎曲을 이루고 皮層에 가까운 세포는 항상 퇴폐된다. 形成層(cambium) 環이 뚜렷하다. 木質部는 放射形으로 배열되고 導管, 管胞, 木纖維 및 木薄壁細胞로 구성되었다. 導管은 多角形 모양이고 壁은 黃色이고 木質化되고 內側 初生 木質部의 導管은 비교적 작고 직경은 $20\mu\text{m}$ 밖에 안되며 外側으로 점점 커지고 제일 큰 것은 직경이 $60\mu\text{m}$ 에 달한다. 外側, 中部 및 內側의 木質部束 부근에 비교적 많은 木纖維束이 있고 初生 木質部 부근에 있는 것이 제일 발달되어 있다. 體部의 薄壁細胞는 圓形 혹은 多角形에 가까운 모양이고 油室이 분산되어 있다. 射線의 넓이가 일치하지 못하고 4-5列 혹은 20여列 세포로 구성되었다. 세포벽은 얇고 經向(縱向)으로 길어지고 어떤 것은 油室이 분산되어 있다.

皮層, 射線 및 體部의 薄壁細胞는 모두 Calcium oxalate 針晶(acicular crystals)이 함유되어 있고 길이는 $30\mu\text{m}$ 에 달하고 또한 sucrose가 함유되어 있다.

根莖頂端(직경 1.6cm)橫斷面: 조직구조는 상기한 것과 거의 같다. 그러나 韌皮部 外側에 큰 韌皮纖維束이 있고 纖維壁이 두껍고 木質化되었다. 木質部 導管과 木纖維束은 모두 발달되었다.

2) A. japonica 根莖(직경 1.8cm) 橫斷面

白術과의 주요 구별은 木栓層이 비교적 두껍다. 木栓細胞 4-12列로 되어 있고 切向(橫向) $40-70\mu\text{m}$ 이고 經向(縱向) $10-30\mu\text{m}$ 이다. 木栓層에 이어지지 않은 切向으로 배열된 石細胞 벤드가 끼여 있다. 石細胞는 정방형 혹은 장방형이고 壁이 두껍고 木質化되었다. 皮層이 비교적 좁고 적은 량의 油室이 분포되어 있는데 크기가 작다. 長徑이 $330\mu\text{m}$ 에 달하고 短徑이 $250\mu\text{m}$ 에 달하고 또한 大形 纖維束이 切向으로 성기게 배열되었다. 木質部 導管이 성기게 배열되고 많은 곳에 木纖維束이 있고 제일 內側에 있는 것이 제일 발달되었다. 木纖維束 중에 小數의 石細胞가 끼여 있고 형태는 木纖維와 비슷하지만 약간 크다. Calcium oxalate 針晶(acicular crystals)이 크고 길이 $40\mu\text{m}$ 에 달한다

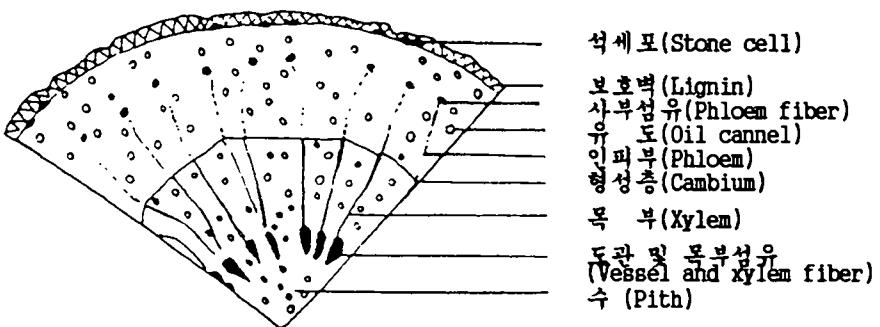
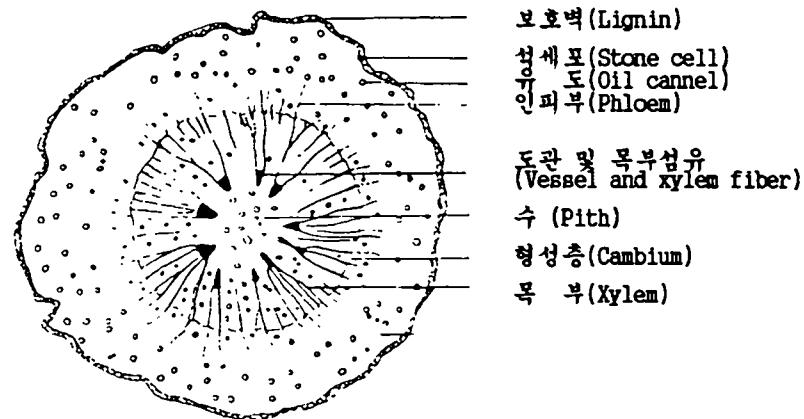
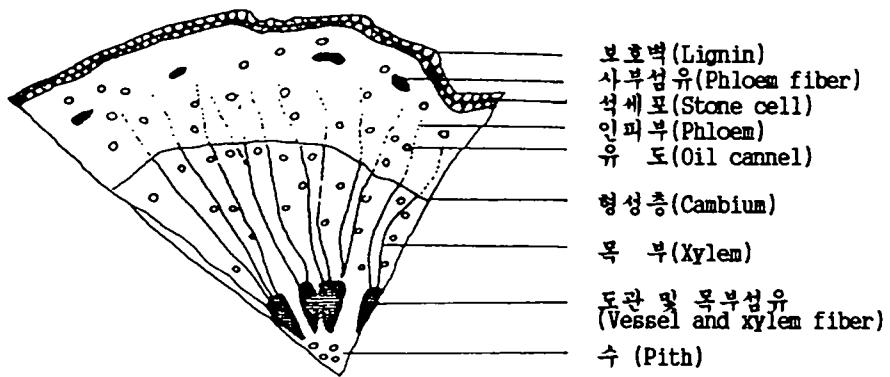


그림. 백출류의 근경조직 단면도
(上, 中 : *A.macrocephala*, F : *A.japonica*)

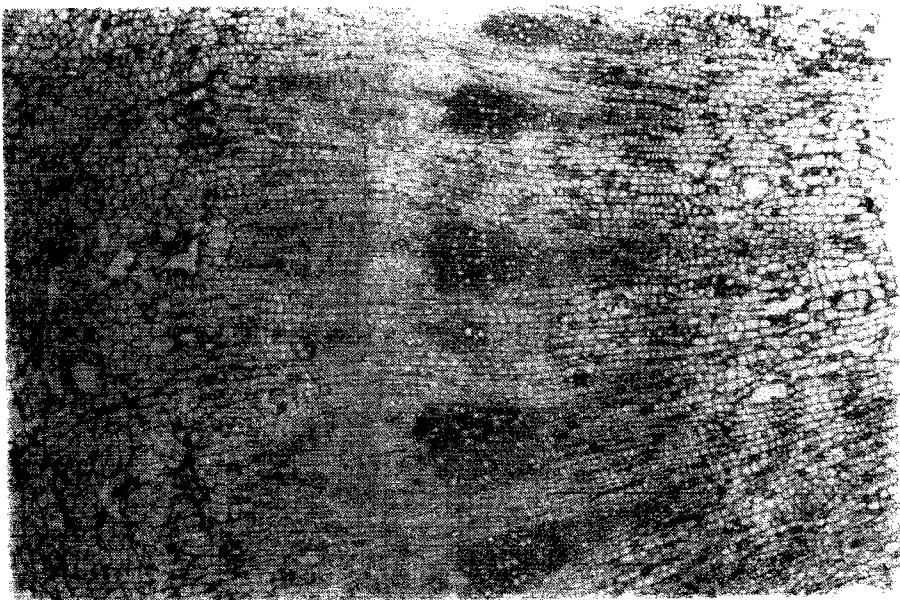
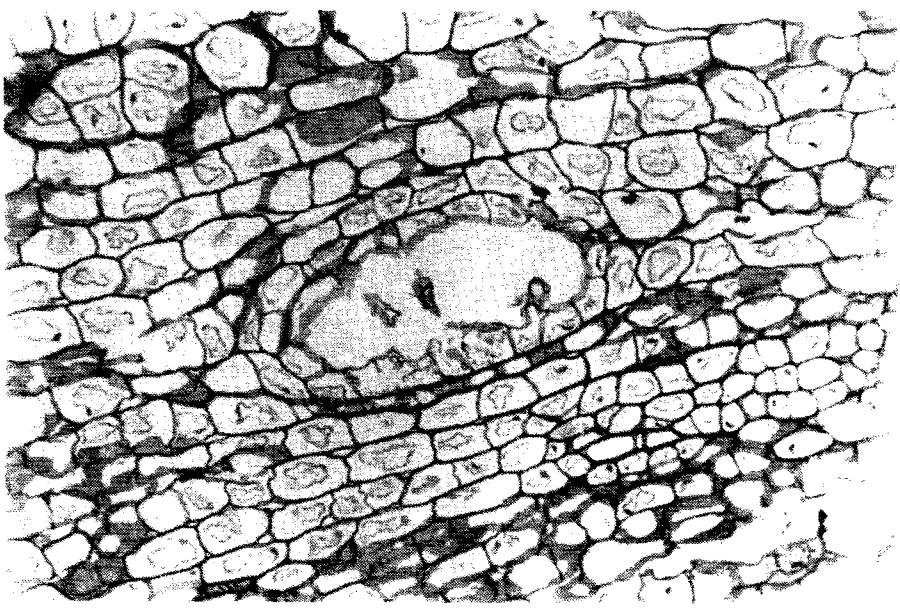


사진 1. *A. macrocephala*의 근경조직 단면

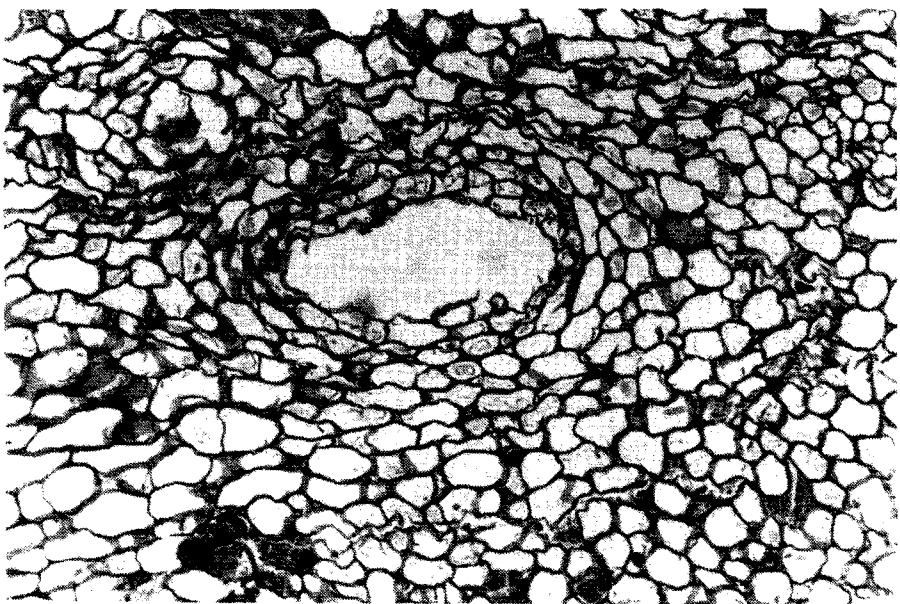


사진 2. *A. japonica*의 근경조직 단면

3) A. ovata 根莖 (직경 1.6cm) 橫斷面

조직구조는 A. macrocephala과 거의 같다.

나. 粉末特徵

1) A. macrocephala의 藥材粉末은 연한 황갈색을 띤다.

a. 石細胞는 정방형, 다각형 혹은 원형이고 하나 혹은 2-수개의 세포가 연결되어 있다. 長徑은 $100\mu m$ 에 달하고 短徑은 $30\mu m$ 에 달한다. 壁이 두껍고 연한 황색을 띠고 紋孔이 뚜렷한데 어떤 것은 層紋이 보인다. 보통 木栓細胞와 연결되어 있다.

b. 導管은 주로 網紋導管이고 具緣紋孔導管은 드물다. 導管分子의 길이는 $70-250\mu m$ 이고 端壁에는 홀로 생긴 구멍이 있다. 螺紋導管은 매우 드물게 있다.

c. 管胞는 網紋과 具緣紋孔 管胞이고 직경은 $10-30\mu m$ 이다.

d. 木纖維는 보통 束을 이루거나 혹은 導管과 연결되고 碎斷이 많다. 完整한 木纖維는 長梭形(긴 북 모양)이고 길이 $200-400-600\mu m$, 직경 $10-30-50\mu m$ 이다. 壁은 황색을 띠고 매두 두껍다. 胞腔은 좁고 孔溝가 뚜렷하고 어떤 것은 具緣紋孔이 있고 紋孔口가 孔緣을 초과한다. 端이 뾰족하거나 구불고 어떤 끝은 鈍圓形 혹은 짧게 갈라진다.

e. 韌皮纖維는 長梭形(긴 북 모양)이고 壁이 두껍고 木質化되었다. 보기 매우 드물다.

f. 木栓細胞 표면은 다각형을 이루고 壁은 비교적 얇고 어떤 것은 황갈색 물질이 함유되어 있다. 어떤 때는 橫斷面 碎片을 볼 수 있다.

g. Calcium oxalate 針晶(acicular crystals)이 항상 薄壁細胞 중에 함유되어 있거나 혹은 드물게 분포되어 있는데 길이는 $10-20-30\mu m$ 이다.

h. 황갈색 덩어리가 항상 관찰할 수 있는데 이게 바로 木栓細胞에 함유된 물질이다(圖 56.4.5).

油室 碎片은 관찰하기 매우 어렵다.

- 2) A. japonica의 藥材粉末은 灰黃갈색이며 粉末特徵은 白術과 유사하였다.. 그의 주요 구별은:
- 木纖維가 많고 末端에 얕게 갈라지고 한 끝이 鈍圓形인 것이 쉽게 관찰된다. 어떤 때는 石細胞와 纖維가 한데 붙어 있다.
 - 石細胞가 비교적 많고 長方形과 다각형인 것이 대부분이다(圖 56.4.6).
- (3) A. ovata 藥材粉末은 연한 황갈색이며 粉末 特徵은 A.japonica와 거의 같았다.

5. 지황 근연종의 세포유전학적 특성과 RAPD에 의한 유연관계

가. 지황 수집종에 대한 체세포 분열중기의 염색체 수를 조사한 바, 국내 재래종, 일본도입종 및 중국도입 육성종인 지황 1호 등 3종 모두 $2n=2x=56$ 으로 동일하게 관찰되는 특징을 보여 표현형의 차이가 뚜렷함에도 불구하고 체세포 염색체 수에는 차이가 없었다. 그러나 동일배율인 400배로 관찰한 경우 염색체 수는 동일하였으나 크기는 한국 재래종에 비하여 일본종이 약간 작았으며, 지황 1호는 큰 편으로, 차이를 육안으로 구별할 수 있었다. 따라서 앞으로 핵형 분석 등의 구체적인 연구가 필요하다고 생각된다.

나. RAPDs에 의한 유연관계

RAPDs 분석실험에 사용한 11종의 지황 앞에서 추출한 DNA의 순도 측정은 0.8% agarose gel을 이용하였으며 속 내에서의 변이와 기내배양주의 부위별 차이를 비교하기 위하여 서천재래와 단양재래 유래의 조직배양주와 모본 그리고 중국, 일본, 베트남 수집종을 공시하였다. 사용한 primer는 UBC #108, 474 등 20개가 사용되었다.

지황1호를 비롯한 지황속 식물과 조직배양주에 대한 배양세대별 변이를 조사하기 위해 RAPDs 분석을 실시한 결과 표 9와 같이 다양한 DNA 다형현상을

확인할 수 있었다. 증폭된 밴드의 수는 각 primer에 따라 차이를 보여 9~36 개로 비교적 많이 나타났으며(표 5), 같은 종내에서도 다양한 변이를 보였는데, minor band 뿐 아니라 major band 수준에서도 다형현상이 관찰되었다.

지황의 PCR에 의한 RAPDs 분석결과를 계통분석용 프로그램인 MEGA를 이용하여 지황속 식물과 배양세대의 부위별 유연관계를 dendrogram으로 나타낸 결과는 그림과 같으며 공시계통간 거리는 표와 같다.

유연관계는 국내종인 서천재래, 단양재래는 서로 밀접하였고, 일본종과 중국종 및 베트남종은 다른 집단으로 조사되었다.

Table 5. List of primers and number of their amplified products using genomic DNAs in *Rehmannia glutinosa* lines.

| Primer code ^z | Number of amplified bands | Primer code ^z | Number of amplified bands |
|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| 108 | 16 | 204 | 34 |
| 117 | 9 | 211 | 36 |
| 119 | 23 | 221 | 18 |
| 122 | 18 | 231 | 19 |
| 125 | 22 | 240 | 23 |
| 135 | 30 | 338 | 32 |
| 173 | 28 | 398 | 12 |
| 188 | 16 | 413 | 26 |
| 199 | 17 | 446 | 22 |
| 201 | 12 | 474 | 20 |

^z UBC primer

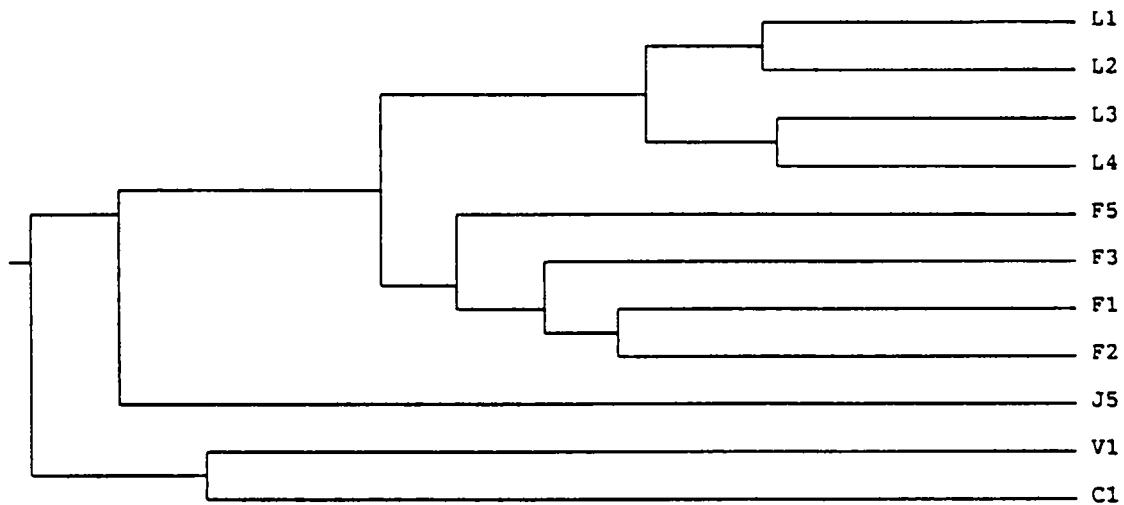


Fig. 3. RAPDs patterns of *R. glutinosa* using primer # 135(A) and 413(B).

- Lane 1 : In vitro cultured leaf of Seocheon local,
- 2 : In vitro callus of Seocheon local,
- 3 : Tissue cultured leaf of Seocheon local in the 2nd year,
- 4 : Mother plant leaf of Seocheon local,
- 5 : In vitro cultured leaf of Danyang local,
- 6 : In vitro callus of Danyang local,
- 7 : Tissue cultured leaf of Danyang local in the 2nd year,
- 8 : Tissue cultured root of Danyang local in the 2nd year,
- 9 : In vitro cultured root originated from Japan,
- 10 : In vitro cultured leaf originated from China,
- 11 : In vitro cultured leaf originated from Vietnam,
- M : ϕ X174 DNA/Hae III Marker, Pharmacia.

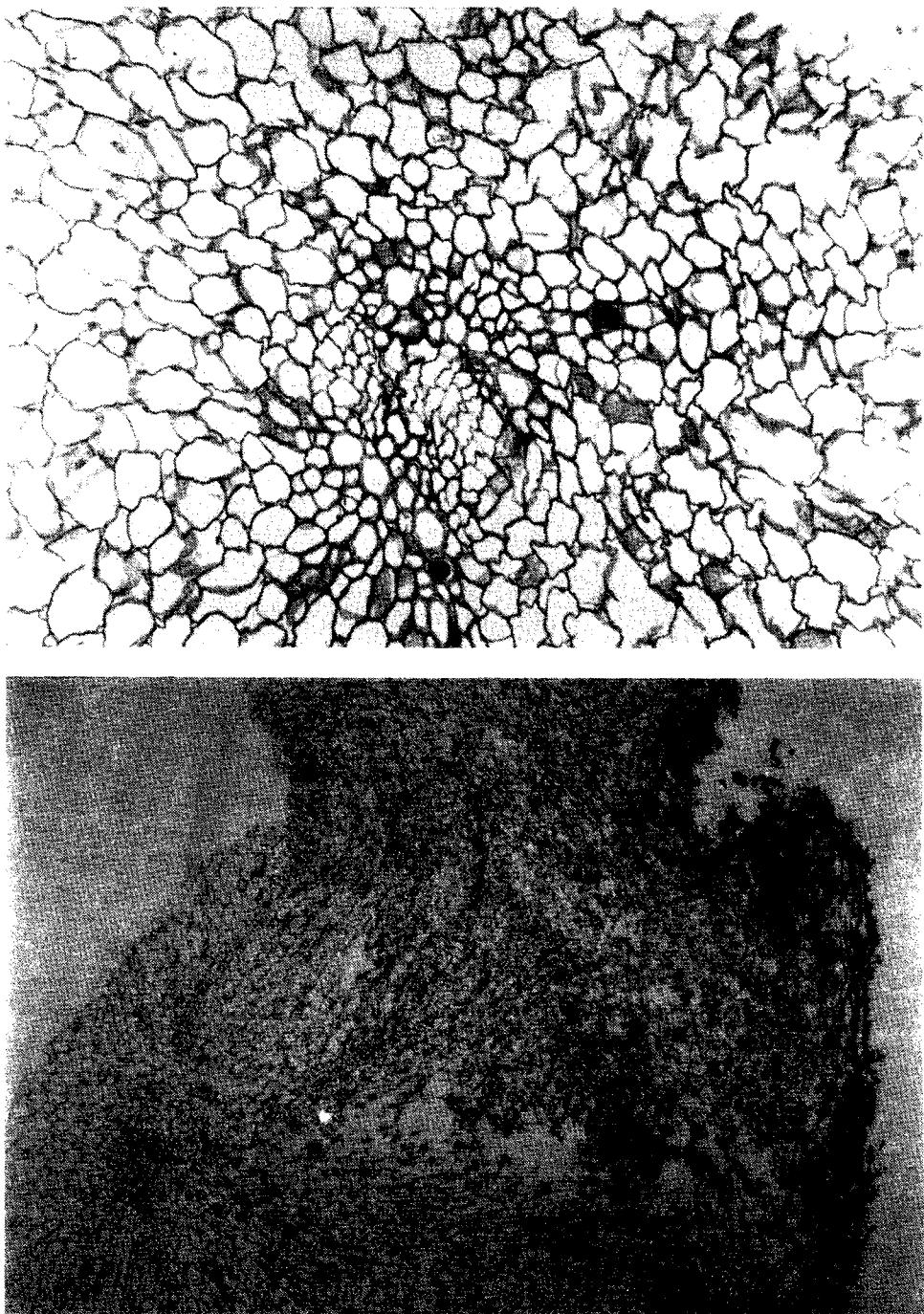


그림. 지황재래종의 근경조직 단면(上 : $\times 100$, 下 : $\times 20$)

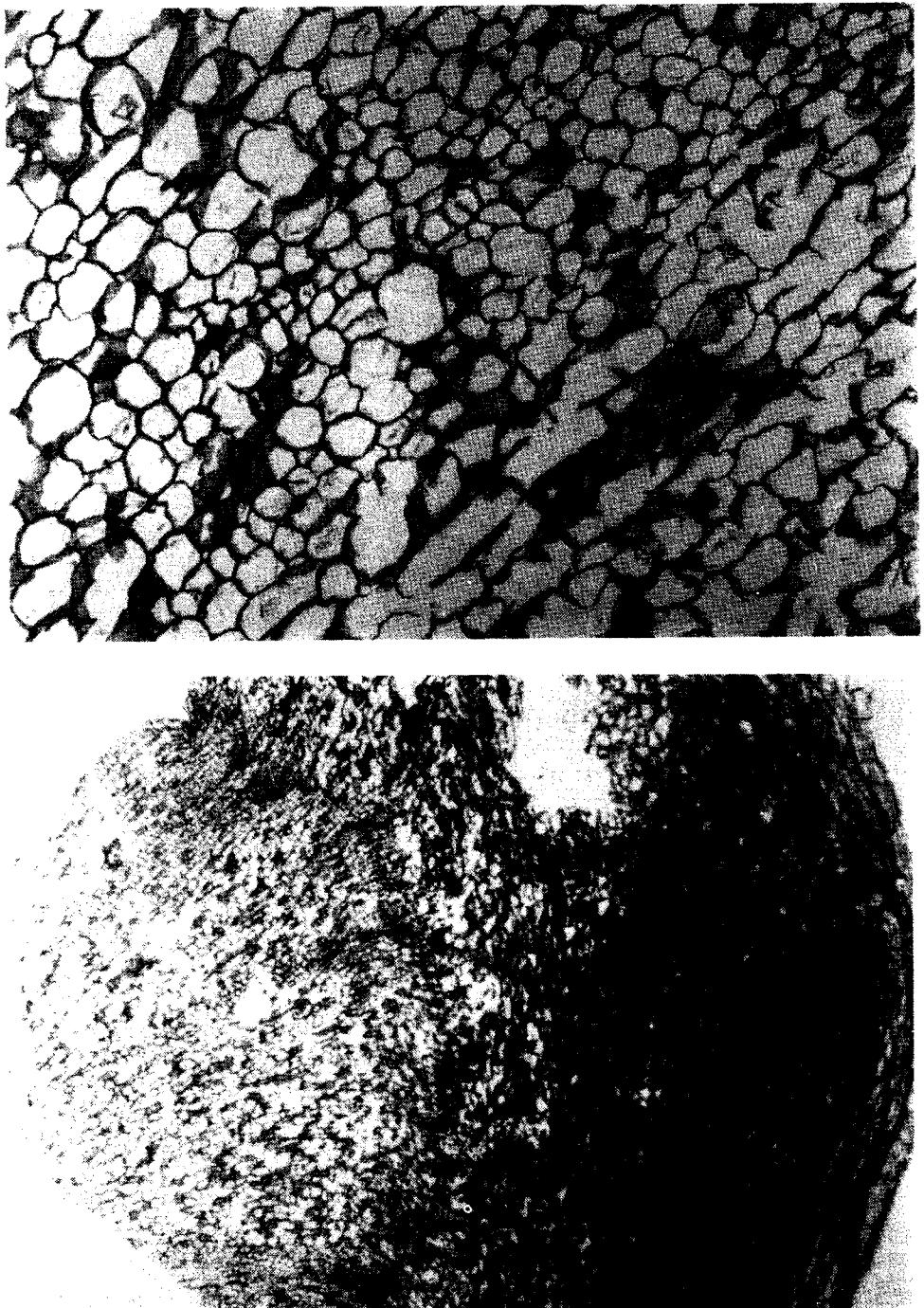


그림. 지황 1호의 근경조직 단면(上 : $\times 100$, 下 : $\times 20$)

6. 지황 재래종과 “지황 1호”의 근경조직 비교

중국 도입집단으로부터 육성된 지황 1호는 cork세포가 수층을 이루고 피층 조직내에 분비물을 많이 함유한 점액질 유조직이 피층 전면에 많이 나타났다. 형성층과 사관부가 불분명하고 목부의 물관이 1-2열로 방사성으로 배열되어 있었다. 피층부와 중심부조직의 비율이 비슷하였으며 전분은 함유하지 않았다.

한편 국내 재래종 지황은 cork 세포층이 지황 1호에 비해 견고하고 불규칙하게 배열되고 흄이 파인 부분이 보였다. 형성층의 유관속은 불규칙하게 배열되고 목부는 유조직으로 가득차 있고 방사성상으로 배열된 물관은 목질화 되었다. 피층에는 분비물을 함유한 세포가 산재하여 있고 기관 조직내에서 파열된 부분이 관찰되었다.

피층이 중심 조직에 비해 중국산(지황 1호) 보다 좁은 편이다.

제 4 절 적 요

백출속 식물의 외부 형태, 조직구조, 분말특성 등을 비교하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. 本草考證과 市場商品에 대한 조사에 의하면 백출 原植物은 古代와 현재가 일치한다. 한국에 분포하는 백출은 모두 모두 菊科植物 *Atractylodes japonica* Koidz.였다.
2. 藥材形質과 組織鑑定에 대한 연구결과 중국 도입백출과 국내 자생 백출의 組織構造는 같다. 藥材形質의 특징은 차이가 크지 않았다.
3. *A. japonica*는 植物形態, 약재의 組織構造, 함유된 주요성분 및 약리효과 등은 모두 중국 白術에 가깝고 창출속(*Atractylodes*) 기타 약용식물과는 매우 큰 차이가 있다. 이로부터 알 수 있는 바, 일본과 한국에서 사용되는 백출대신

중국백출 (*A.macrocephala*)을 사용하는 것은 과학적 근거가 있다.

4. 중국에서 사용하는 백출(*A.macrocephala*)은 국내로 수입시 가격이 매우 비싸므로 수량성이 훨씬 높은 이 種을 국산 백출대신 확대 재배하는 것이, 바람직하다.

5. “國際植物命名法則”의 優先權 法則에 따라 白術의 학명은 *Atractylodes ovata* DC.을 채용하는 것이 적절하고 *A. macrocephala* Koidz.은 같은 이름으로 보아야 한다.

6. 결론적으로 대한약전에 백출은 *A. japonica*로 규정되어 있는 바 개정판에는 *A. japonica* 또는 *A. macrocephala*의 근경으로 수정해야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. 중약대사전 . 상해과학기술출판사 별과 1, 2, 3, 4

2. 이영노, 한국식물도감 1996. 10. 교학사

3. 이우철, 한국식물명고 1996. 10. 아카데미

4. Ishidoya,, chinensis elrogen 1-4 쇼화 16 근택 인쇄소

 중국약전 1977외 문인쇄소

5. 남경약학원편 약제학,

 유독증초약대사전, 1992, 천진과학출판사

 대한약전 1, 2, 1987, 한국메디칼인쇄소

6. 중정맹지진 , 지리산 식물조사 보고서 1914 조선총독부

 백두산 식물조사 보고서 1916 조선총독부

 울릉도 식물조사 보고서 1921 조선총독부

7. 한국약학대학협의회 약전문화회, 대한약전 제 5개정 해설, 1992, 문성사

8. 죽증요, 관모연산봉고산식물채집, 1932. 조선박문학리지
조선 식물향명집, 1936 조선박문연구회
9. 정태현, 한국식물도감 초본목본, 1956. 민중서점
10. 이춘녕, 안학수, 한국식물명감, 1965. 법학사
11. 이창복, 한국식물자원, 1968. 연수립
11. 이창복, 야생식물도감, 1969, 삼성인쇄소
12. 顧觀光 重輯. 神農本草經, 北京: 人民衛生出版社, 1955:29
13. 孫星衍, 孫馮翼 輯. 神農本草經, 北京: 人民衛生出版社, 1984:14
14. 宋 · 唐慎微 編輯. 重修政和經史證類備用本草, 北京: 人民衛生出版社, 影印,
1957 :150-151
15. 復旦大學 歷史地理研究所 中國歷史地名辭典編委會. 中國歷史地名辭典, 南
昌: 江西教育出版社, 1986 : 485
16. 野上眞里 等. 生藥學雜誌 (日), 1985, 39(1) : 35
17. 明 · 李時珍. 本草綱目(校訂本) 上冊, 北京: 人民衛生出版社, 1985 : 733-743
18. 中國醫學科學院 藥物研究所 等. 中藥誌, 第一冊, 北京: 人民衛生出版社,
1979 : 152-155, 161-162
19. 徐國鈞 等. 藥學學報, 1956, 4(4) : 313
20. 於達望 等. 中華醫學雜誌, 1936, 1(3) : 201
21. 西川洋一 等. 生藥學雜誌 (日), 1976, 30(2): 132
22. 付舜謨 等. 植物分類學報, 1981, 19(2): 195
23. 馬起鳳 等. 沈陽藥學院學報, 1982, (15) : 54
24. 西川洋一 等. 生藥學雜誌 (日), 1975, 29(2): 139
25. 吉岡一郎 等. 藥學雜誌 (日), 1976, 96 (10) : 1229
26. 劉國聲. 植物學報, 1980, 22 (4) : 395
27. 富堅誠 等. 漢方研究 (日), 1976, (7) : 265

제 3 장 백출, 지황의 성분 및 임상학적 평가

제 1 절 서론

白朮(ATRACTYLODIS RHIZOMA)은 국화과(Compositae)에 속한 다년생초본인 白朮 *Atractylodes macrocephala* KOIDZ. 또는 삽주 *A. japonica* KOIDZ.의 根莖을 겨울에 채취하여 건조한 것으로,^{1,16)} 神農本草經⁴⁾ 上品에 “味苦溫 主治濕痺 死肌瘻疽 止汗除熱 消食 作煎餌 久服輕身 延年不飢 一名山薊 生鄭山山谷”라고 처음 收載된 이래, 여러 문헌에^{2,3,5,14)} 苦甘하고 溫한 性味와 補脾益氣 燥濕利水 固表止汗의 효능으로, 脾虛失運과 水濕이 停聚한 痰飲이나 水腫 表虛自汗 體弱自汗 脾虛氣弱 胎動不安 및 風濕痺證 등 증상을 치료하기 위하여 사용되고 있는 韓藥材이다.

현재 중국에서 白朮로 사용되고 있는 것은 *A. macrocephala* KOIDZ.의 뿌리이나 한국과 일본에서는 기원이 다른 삽주 *A. japonica* KOIDZ.의 뿌리를 白朮로 사용하고 있으나^{1,15,16)}, 두 종간의 차이에 관한 실험적 연구는 아직 보고된 바 없다. 이에 저자는 중국과 국내에서 유통되고 있는 白朮인 *A. macrocephala* KOIDZ.와 한국, 일본에서 白朮로 쓰이고 있는 *A. japonica* KOIDZ.의 뿌리를 실험적 방법으로 약효를 비교함으로써 대용 가능성을 규명하고자 한다.

白朮에 관한 연구로 久保¹¹⁾와 王玉¹²⁾ 등은 위궤양 예방효과가 있고, 위액, 위산의 양을 감소시킨다고 보고하였다. 그리고 山原⁸⁾ 등은 補肝, 利膽作用이 있고, 손상된 간조직의 재생을 촉진한다고 보고하였으며, 담즙분비량의 증가도 보고하였다. 雷¹⁰⁾ 등은 白朮의 휘발성 정유성분이 생쥐에 항종양작용이 있다고 보고하였다.

지황(地黃)은 현삼과, 지황 *Rehmannia glutinosa* GAERTNER.의 신선한 근경으로 신농본초경에 최초로 기재되었고, 한의학에서 3종으로 분류하여 선지황, 건지황 및 숙지황으로 나누어 효능을 다르게 기재하고 있고, 임상에서도

분류하여 사용하고 있다. 형태적으로 살펴보면 선지황은 건조하지 않은 상태를 말하고, 건지황은 건조한 상태이고, 숙지황은 아홉번 쪄고 말리는 것을 반복하여 제조된 검은빛을 띤다. 한의학적 효능을 살펴보면 선지황(鮮地黃)은 寒, 甘苦한 성미가 있어 清熱生津, 凉血止血의 효능으로 热風傷陰, 舌絳煩渴, 發斑發疹, 吐血, 崩血, 咽喉腫痛 등 증상을 치료하는데 사용되고, 건지황(乾地黃)은 寒, 甘의 성미로 清熱涼血, 養陰生津의 효능을 가지고 热病舌絳煩渴, 陰虛內熱, 骨蒸勞熱, 內熱消渴, 吐血, 崩血, 發斑發疹 등 증상을 치료한다. 그리고 숙지황(熟地黃)은 성미가 微溫, 甘하여 滋陰補血, 益精眞髓의 효능으로 肝腎陰虛, 腰膝軟, 骨蒸潮熱, 盜汗遺精, 內熱消渴, 血虛萎黃, 心悸, 月經不調, 崩漏下血, 眩暉, 耳鳴, 鬚髮早白등 증상을 사용하며, 임상에서 지황은 홍반성낭창, 고혈압, 간염, 변비, 관절염, 피부병, 안과질환, 당뇨병, 자궁출혈, 원발성혈소판 감소성자반에 다용하는 약재이다. 실험적인 지황에 관한 연구로 經 등은 토끼에 피하주사하여 혈당을 낮춘다고 보고하였고 易 등은 흰쥐의 신성고혈압을 떨어뜨리고, 신기능을 개선하여 사망률을 낮추고, 적혈구수와 혜모글로빈치를 높인다고 보고하였으며 또한 면역기능을 활성화하고, 진정, 항암 및 이뇨작용이 있다는 연구보고도 있다.

이에 저자는 白朮의 효능이 補脾益胃 燥濕和中인 것에 착안하여 위기능에 대한 실험과 HPLC에 의한 atracylenolide III 및 β -eudesmol의 정량으로 두 한약재의 품질을 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었으므로 보고하는 바이다.

또한 한의학에서 다용되는 지황이 중국수입 건지황 및 재래종 모두 혼용되어 유통되고 효능의 겸증없이 사용되고 있으며, 또한 현재 작물시험장 특용작물과에서 중국지황의 국내 개량화에 성공하여 지황1호라는 품종을 개발하였다. 이에 두 약물(재래종, 지황1호)의 효능을 비교하였다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 백출

가. 실험재료

이 실험에 사용된 한약재로는 삽주 *Atractylodes japonica*는 시중 유통되는 것을 구입하였고, 白朮 *Atractylodes macrocephala*는 산지(경북, 영주)에서 구입하여 사용하였다. 실험동물은 대한동물에서 분양받은 Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐를 고형사료(삼양유지, 소형동물용)와 물을 충분히 공급하면서 2주 이상 실험실 환경에 적응시킨 후에 건강한 동물만을 선별하여, 주로 10주령 200 g내외의 암컷을 사용하였다.

나. 약리 실험 방법

1) 검액의 조제

한약재 각 100 g을 증류수 2 ℥로 3시간 동안 2회 환류추출하여 얻은 여액을 회전감압농축기로 농축한 후, 동결건조하여 얻은 추출물(수율 : AM-20.04%, AJ-25.22%)을 실험에 필요한 농도로 만들어 사용하였다.

2) 위액분비량 측정

Shay 방법¹⁷⁾에 의하여 흰쥐를 1군에 8마리씩 배당하고 실험군과 대조군, 양성대조군으로 나누어 실험 전 24시간동안 물만 공급하고 절식시킨 후 에테르 마취하에 개복하여 위의 유문부를 결찰하고 실험군에는 각각 0.2 ml/100 g씩, 대조군에는 동량의 생리식염수를 십이지장에 직접 주입한 후 개복부를 봉합하고 안정시켰다. 양성대조군에는 유문부 결찰 직후 10 mg/kg의 atropine(Sigma, 미국)을 피하주사하였다.

4시간 후 ether 마취하에 위를 적출하여 저류된 위액을 채취하여 3,500rpm에서 15분간 원심분리하여 얻은 上澄液을 위액량으로 하여 측정하였다.

3) 산도 측정

(1) 총산도 및 유리산도 측정

상기의 방법으로 얻은 위액 2 ml을 정확히 비이커에 취하여 시약 0.5% dimethylaminoazobenzene alcohol용액(Sigma, 미국) 및 1% phenolphthalein alcohol용액(Sigma, 미국)을 각각 2 방울을 가하면 유리염산이 있는 위액은 적색을 띠고, 뷔렛을 써서 1/50 N NaOH를 가하여 적색이 완전히 없어지고 橙黃色으로 나타날 때를 정한 것이 유리염산이며, 다시 적색을 나타날 때를 총산도로 정하였다.

(2) 산분비량 측정

$$\text{산분비량(mEq/4hr)} = \text{총산도(mEq/l)} \times \frac{\text{위액 분비량(ml/4hr)}}{1000}$$

(3) pH 측정

상기의 방법으로 얻은 위액을 pH meter(Orion, 미국)를 사용하여 측정하였다.

3. HPLC에 의한 白朮 中 성분 함량

1) 시료, 시약 및 사용기기

(1) 시료

이 실험에 사용된 백출은 뿌리의 잡질을 제거하고 척단하여 이를 데시케이터에서 2일간 건조시킨 후 분쇄기를 사용하여 20 mesh 크기로 분쇄한 후 실험에 사용하였다.

(2) 표준품, 시약, 사용기기 및 조건

① 표준품 및 시약

- a. β -eudesmol 표준품 (Wako사, 일본)
- b. atracylenolide III 표준품 (Wako사, 일본)
- c. methanol HPLC grade (Baker사, 미국)
- d. ethanol HPLC grade (Baker사, 미국)

e. distilled water HPLC grade (Baker사, 미국)

f. acetonitrile HPLC grade (Baker사, 미국)

② 사용기기

Waters 600 pump(Waters사, 미국), Waters 717plus autosampler(Waters사, 미국) 및 Waters 996 PDA detector(Waters사, 미국)을 사용하여 분리하였고, 크로마토그램의 정량에는 Millennium software(Waters사, 미국)를 사용하였다.

③ 분석조건

시호를 분석하기 위한 분석조건은 Table I 과 같이 45% 아세토니트릴 이동상을 사용하여 UV 210nm에서 분석하였다.

Table I. Analytical Condition for Measuring of β -eudesmol and atracylenolide III in *A. japonica* and *A. macrocephala*

| Item | |
|----------------|---|
| Column | Merck C ₁₈ column |
| Mobile phase | Acetonitrile : H ₂ O = 45 : 55 |
| Sensitivity | 0.05 AUFS |
| Detector | UV absorbance detector 210 nm |
| Injection Vol. | 20.0 μ l |
| Flow rate | 1.0 ml/min. |

2) 표준액의 제조

β -eudesmol 표준품 및 atracylenolide III 표준품 0.15, 0.30, 0.60 및 1.20 mg 을 정밀히 달아 70% acetonitrile 1 ml에 녹여 표준액으로 사용하였다.

3) 시료 전처리

검체를 20 mesh 이하로 분쇄한 후 검체 100 mg을 정밀히 달아 70%

acetonitrile 10 ml을 가하고 초음파 진탕기로 추출한 후 0.45 μm syringe filter(watman사, 미국)로 여과하여 검액을 만들고 그 중 20 μl를 HPLC에 주사하여 β -eudesmol 및 atracylenolide III을 측정하였다.^{6,9,18)}

2. 지황

가. 재료

이 실험에 사용된 한약재로는 지황 *Rehmannia glutinosa* GAERTNER.을 사용하였고, 국내산 재래종(국산숙지황) 및 중국에서 도입하여 농업진흥청 특용작물과에서 품종을 개량한 지황1호(중국숙지황)를 직접 선별하여 사용하였다.

실험동물은 대한동물에서 분양받은 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 고형사료(삼양유지, 소형동물용)와 물을 충분히 공급하면서 2주 이상 실험실 환경에 적응시킨 후에 건강한 동물만을 선별하여, 주로 10주령 200 g내외의 암컷을 사용하였다. 그리고 대한동물에서 분양 받은 체중 25g내외의 ICR계 수컷생쥐를 시판고형사료(삼양유지, 소형동물용)와 물을 충분히 공급하면서 동일한 조건으로 2주일간 실험실환경에 순응시킨 후에 건강한 동물만을 선별하여 사용하였다.

나. 조혈효능실험 방법

1) 검액의 조제

한약재 각 100 g을 증류수 2 l로 3시간 동안 2회 환류추출하여 얻은 여액을 회전감압농축기로 농축한 후, 0.5g/ml의 농도로 만들어 사용하였다.

2) 검액의 투여 및 빈혈 유발

정상군과 대조군에는 생리식염수를 투여하고 국산숙지황군 및 중국숙지황군에 각각 약물을 투여(5.0 g/kg, p.o., b.i.d.)하였고, 7일 후 phenylhydrazine(40.0 mg/kg, s.c.)에 의한 빈혈을 유발하였다.

3) 혈액채취

검액투여 개시일로부터 11일후 심장천자에 의한 혈액을 채취하여¹⁾ EDTA 처리된 시험관에 넣어 항응고처리를 하였다.

4) 적혈구수 측정

깨끗한 101 눈금의 melangeur로 0.5 눈금까지 혈액을 흡입하여 melangeur의 바깥면에 부착된 혈액을 씻어내고 곧 희석액을 101눈금까지 흡입한다. 혈액을 흡입할 때에 소요량 이상을 흡입했을 때는 둘째 손가락 끝으로 melangeur의 끝을 순간적으로 스치면서 혈액을 조금씩 뽑아내어 눈금에 꼭 맞게끔 한다. 희석액을 흡입할 때는 melangeur를 회전시켜 액면이 구상부 내면을 골고루 적시도록 하면서 상승시킨다. 그 뒤 melangeur의 양끝을 손가락 끝으로 막고 약 30초간(약 100회) 강하게 흔든다. 그리고나서 improved neubauer 분획을 사용하여 우상, 우하, 좌상, 좌하, 중앙의 다섯 개 소분획(1소분획의 면적 : 1/400mm²)을 취하여 계산하였다. 계산 방법은 아래와 같다.

$$x = E \times \frac{25}{5} (\text{전구획}) \div 0.1 (\text{계산실의 깊이}) \times 200 (\text{희석배수})$$

$$= \frac{E \times 25 \times 10 \times 200}{5}$$

x ; 1mm³ 중의 적혈구 총수

E; 5개 중구역의 적혈구 총수

5) 白血球數 测定

Türk액은 적혈구를 용혈시키고 백혈구의 핵을 자색으로 만드는 시약으로 제조법은 다음과 같다.

1%gentian violet 1.0ml + acetic acid 1.0ml + 증류수 100ml

백혈구 수를 측정하기 위하여 11의 눈금을 가진 melangeur에 0.5까지 혈액을 취하고 Türk액을 11까지 흡입하고, 적혈구 때와 마찬가지로 잘 진탕한 후에 최

초의 3~4방울을 버리고, 그 후의 방울을 improved neubauer 분획에 넣고 1mm²중의 모든 수를 계산하고 이것을 200배하여 백혈구수를 측정하였다.

6) 혜모글로빈 정량

Hemo-S Reagent(영동)(60mg/dl cyanmethemoglobin 용액)을 아래와 같은 방법으로 표준액을 맹검으로하여 흡광도 눈금의 0에 맞추고, 검량선을 작성하여 직선성을 보였다.

표준 시약 5.0ml + 식염수 0.02ml

검체 시약 5.0ml + 혈액 0.02ml

정확한 피펫(오차 ±1%이내)를 사용하여 시약과 혼합하고 피펫내용에 묻은 혈액을 2~3회 씻어낸 후 실온에서 5분 방치한 후 검체 및 표준의 흡광도를 읽어(사용파장 546nm) 측정하였다.

$$\text{혜모글로빈(g/100mℓ)} = \frac{\text{검체의 흡광도}}{\text{표준의 흡광도}} \times \text{기준액의 Hb.농도}$$

7) hematocrit 치 측정

고속원심기에 의한 모세관법²⁾으로 측정하였다. 그 방법은 항응고처리된 capillary tube에 혈액을 넣어 한쪽을 봉한 후 밀봉한 관의 끝이 원심기의 바깥 끝에 접촉하도록 모세관을 회전판의 홈에 넣고, 단단히 뚜껑을 닫은 후 11,000 회전 5분간 원심한다. 그 후 시료 모세관을 꺼내서 적혈구층의 높이와 전층 높이를 눈금판으로 읽고 다음과 같이 계산한다.

$$\frac{\text{적혈구층 높이}}{\text{전층 높이}} \times 100 = \text{hematocrit (\%)}.$$

다. 간독성실험 방법

1) 검액의 조제

한약재 각 100 g을 증류수 2 ℥로 3시간 동안 2회 환류추출하여 얻은 여액을 회전감압농축기로 농축한 후, 0.5g/mℓ의 농도로 만들어 사용하였다.

2) 검액의 투여 및 간독성 유발

정상군과 대조군에는 생리식염수를 투여하고 국산숙지황군 및 중국숙지황군에 각각 약물을 투여(5.0 g/kg, p.o., b.i.d.)하였고, 2일후 Carbon Tetrachloride(CCl_4) : Olive oil(3:1 v/v) mixture solution (2.5mg/kg, i.p.)을 주사하여 간독성을 유발하였다.

3) 채혈 및 혈청분리

CCl_4 투여 24시간 후 실험동물을 ether로 가볍게 마취시킨 후 심장천자채혈하여 시험관에 넣어 원심분리기($4^{\circ}C$ 3,000 rpm)로 혈청을 분리하였다.

4) 혈청성분 및 효소활성도 측정

(1) 혈청 중 Transaminase 활성도 측정

혈청 중 Transaminase 활성도 측정은 Reitman-Frankel법에 준하여 Glutamic Oxaloacetic Transaminase(GOT) 및 Glutamic Pyruvic Transaminase (GPT) 활성도를 측정하였다.

(2) 혈청중 Alkaline Phosphatase 활성도 측정

혈청중 Alkaline Phosphatase(ALP) 활성도 측정은 Kind-king법의 원리를 이용한 Phenyl Phosphatase법에 준하여 측정하였다.

(3) 혈청중 Leucine Aminopeptidase 활성도 측정

혈청중 Leucine Aminopeptidase(LAP) 활성도 측정은 죽중 등법에 준하여 측정하였다.

(4) 혈청중 Lactic Dehydrogenase 활성도 측정

혈청중 Lactic Dehydrogenase(LDH) 활성도 측정은 Cabaud Wroble-wski법에 준하여 측정하였다.

라. 중추신경계에 대한 효능실험

1) 검액의 조제

한약재 각 100 g을 증류수 2ℓ로 3시간 동안 2회 환류추출하여 얻은 여액을 회전감압농축기로 농축한 후, 0.5g/ml의 농도로 만들어 사용하였다.

2) 화학적자극으로 유발한 경련에 대한 영향

경련유발제로 pentylenetetrazole 85.0 mg/kg, strychnine 1.5 mg/kg 및 picrotoxin 5.0mg/kg을 각각 피하주사하고, 이에 의하여 발생되는 경련발현시간과 사망여부를 관찰하였다. 검액은 경련유발 30분 전에 경구투여(5.0 g/kg)하였고 음성대조군으로 동량의 생리식염수를 경구투여하였으며 양성대조군으로는 동량의 phenobarbital (Luminal®, 48.0 mg/kg)을 경구투여하였다.

3) 전기자극으로 유발한 경련에 대한 영향

생쥐의 양쪽 귀를 생리식염수로 닦은 후 귀에 ECT(Electro Convulsive Treatment: Ugo Basile, Italy) 전극을 접촉시켜 통전(200Hz, 0.5ms, 35A, 0.2sec)하여 경련을 유발하였다. 이때 유발된 강직성 경련까지의 시간을 측정하였다. 검액은 경련유발 30분 전에 경구투여(5.0 g/kg)하였고 음성대조군으로 동량의 생리식염수를 경구투여하였으며 양성대조군으로는 동량의 phenobarbital (Luminal®, 48.0 mg/kg)을 경구투여하였다.

4) 초산법에 의한 동통완화작용

Whittle의 방법에 따라 0.7% 초산생리식염수 0.1ml/10g을 복강내주사하고 10분 후, 10분간의 writhing syndrome의 빈도를 관찰하였다. 검액은 초산투여 30분 전에 각각 5.0 g/kg을 경구투여하였다. 음성대조군으로 동량의 생리식염수를 투여하였으며, 양성대조군으로 aspirin 100.0 mg/kg을 경구투여하였다.

5) Hot plate법에 의한 동통완화작용

Woolfe & Mac Donald 방법에 따라 생쥐를 55°C의 열판(hot plate)위에 놓고 도약하는데 걸린 시간을 측정하였다. 검액은 동통유발 30분 전에 각각 5.0 g/kg

을 경구투여하였다. 음성대조군으로 동량의 생리식염수를 투여하였으며, 양성대조군으로 aspirin 100.0 mg/kg을 경구투여하였다. 그리고 진통율을 다음과 같이 구하였다.

$$\text{진통율}(\%) = \frac{\text{정상대조군의 도약시간} - \text{약물투여군의 도약시간}}{\text{정상대조군의 도약시간}} \times 100$$

제 3 절 결과 및 고찰

1. 배출

가. 위액분비 및 산도에 미치는 영향

1) 위액분비량에 미치는 영향

Table II. Gastric Volume of *A. japonica* and *A. macrocepi*

Gastric Secretion in Pylorus Ligated Rats

| Samples | Dose (mg/kg) | No. of rats | Volume (ml/4hr) |
|------------------------------|--------------|-------------|-------------------------|
| Control (i.d.) ^{a)} | - | 8 | 4.80±0.68 ^{d)} |
| Atropine (s.c.) | 10 | 8 | 0.92±0.24** |
| AJ. ^{b)} (i.d.) | 100 | 8 | 3.79±0.71 |
| | 500 | 8 | 3.04±0.24* |
| | 1,000 | 8 | 2.50±0.65* |
| AM. ^{c)} (i.d.) | 100 | 8 | 5.89±0.92 |
| | 500 | 8 | 2.41±0.34* |
| | 1,000 | 8 | 2.37±0.41* |

a) intraduodenal injection, b) *Atractylodes japonica*, c) *Atractylodes macrocephala*, d) average ± standard error.

* means statistically significant at $P<0.05$, ** means statistically significant at $P<0.01$

Shay방법에 의한 위액분비 실험에서, 대조군의 4.80 ± 0.68 ml에 비하여 *A. japonica*군은 500 mg/kg투여군과 1000 mg/kg투여군에서 각각 3.04 ± 0.24 ml 및 2.50 ± 0.65 ml로 유의한 효과가 있었고($p < 0.05$), *A. macrocephala*군에서는 500 mg/kg투여군과 1000 mg/kg투여군에서 각각 2.41 ± 0.34 ml 및 2.37 ± 0.41 ml로 유의한 효과가 있었다($p < 0.05$)(Figure 1, Table II).

2) 산도

(1) 유리산도에 미치는 영향

유리산도 억제실험에서는, 대조군의 7.76 ± 0.88 mEq/4hr에 비하여 *A. japonica*군과 *A. macrocephala*군에서 용량에 따라 감소하는 경향을 나타내었으나 유의성이 나타나지 않았다(Figure 2, Table III).

Table III. Free HCl of *A. japonica* and *A. macrocephala*

Gastric Secretion in Pylorus Ligated Rats

| Samples | Dose (mg/kg) | No. of rats | Free HCl (μ Eq/4hr) |
|------------------------------|--------------|-------------|-------------------------------|
| Control (i.d.) ^{a)} | - | 8 | 7.76 ± 0.88 ^{d)} |
| Atropine (s.c.) | 10 | 8 | 4.55 ± 0.95 |
| AJ. ^{b)} (i.d.) | 100 | 8 | 6.74 ± 1.03 |
| | 500 | 8 | 5.64 ± 1.11 |
| | 1,000 | 8 | 5.50 ± 1.55 |
| AM. ^{c)} (i.d.) | 100 | 8 | 8.74 ± 1.11 |
| | 500 | 8 | 6.29 ± 1.73 |
| | 1,000 | 8 | 5.47 ± 0.97 |

a) intraduodenal injection, b) *Atractylodes japonica*, c) *Atractylodes macrocephala*, d) average \pm standard error.

(2) 총산도 억제효과

총산도 억제실험에서는, 대조군의 10.86 ± 0.94 mEq/l에 비하여 *A. japonica* 군과 *A. macrocephala*군에서는 통계학적 의의는 없었으나, 100 mg/kg에서 1,000 mg/kg으로 용량의 증가에 따라 산도가 15.76에서 9.34까지 감소하는 경향을 나타내었다(Figure 3, Table IV).

Table IV. Gastric Total Acidity of *A. japonica* and *macrocephala* on Gastric Secretion in Pylorus Ligated Rats

| Samples | Dose (mg/kg) | No. of rats | Total acidity (mEq/l) |
|------------------------------|--------------|-------------|--------------------------|
| Control (i.d.) ^{a)} | - | 8 | 10.86 ± 0.94^d |
| Atropine (s.c.) | 10 | 8 | $8.47 \pm 1.10^*$ |
| AJ. ^{b)} (i.d.) | 100 | 8 | 15.76 ± 5.52 |
| | 500 | 8 | 11.25 ± 1.46 |
| | 1,000 | 8 | 9.34 ± 1.36 |
| AM. ^{c)} (i.d.) | 100 | 8 | 14.26 ± 2.26 |
| | 500 | 8 | 10.76 ± 2.36 |
| | 1,000 | 8 | 9.03 ± 1.28 |

a) intraduodenal injection, b) *Atractylodes japonica*, c) *Atractylodes macrocephala*, d) average \pm standard error.

* means statistically significant at $P < 0.05$

(3) 위산분비량 억제효과

위산분비량 억제효과에서, 대조군의 66.62 ± 10.54 μ Eq/4hr에 비하여 *A. japonica*군은 1000 mg/kg투여군에서 27.36 ± 7.49 μ Eq/4hr로 유의한 효과가 있었고($p < 0.01$), *A. macrocephala*군에서는 500 mg/kg투여군 및 1000 mg/kg투여군

에서 각각 21.63 ± 2.53 $\mu\text{Eq}/4\text{hr}$ 및 28.61 ± 8.20 $\mu\text{Eq}/4\text{hr}$ 로 유의한 효과가 있었다($p<0.01$)(Figure 4, Table V).

Table V. Gastric Acid Output of *A. japonica* and *macrocephala* on Gastric Secretion in Pylorus Ligated Rats

| Samples | Dose (mg/kg) | No. of rats | Acid output ($\mu\text{Eq}/4\text{hr}$) |
|------------------------------|--------------|-------------|---|
| Control (i.d.) ^{a/} | - | 8 | 66.62 ± 10.54^d |
| Atropine (s.c.) | 10 | 8 | $5.92 \pm 0.71^{**}$ |
| AJ. ^{b/} (i.d.) | 100 | 8 | 41.09 ± 9.01 |
| | 500 | 8 | 41.08 ± 8.84 |
| | 1,000 | 8 | $27.36 \pm 7.49^{**}$ |
| AM. ^{c/} (i.d.) | 100 | 8 | 78.13 ± 9.43 |
| | 500 | 8 | $21.63 \pm 2.53^{***}$ |
| | 1,000 | 8 | $28.61 \pm 8.20^{**}$ |

a) intraduodenal injection, b) *Atractylodes japonica*, c) *Atractylodes macrocephala*, d) average \pm standard error.

* means statistically significant at $P<0.05$, ** means statistically significant at $P<0.01$, *** means statistically significant at $P<0.001$

(4) pH치 상승 효과

위액 중 pH의 변화에서, 대조군의 1.72 ± 0.27 에 비하여 *A. japonica*군은 500 mg/kg투여군과 1000 mg/kg투여군에서 각 2.76 ± 0.39 및 2.78 ± 0.40 로 유의한 효과가 있었고($p<0.05$), *A. macrocephala*군에서는 500 mg/kg투여군에서 2.71 ± 0.36 로 유의한 효과가 있었다($p<0.05$)(Figure 5, Table VI).

Table VI. Effect of *A. japonica* and *A. macrocephala* on Secretion in Pylorus Ligated Rats

| Samples | Dose (mg/kg) | No. of rats | pH |
|------------------------------|--------------|-------------|-------------------------|
| Control (i.d.) ^{a)} | - | 8 | 1.72±0.27 ^{d)} |
| Atropine (s.c.) | 10 | 8 | 6.13±0.75** |
| AJ. ^{b)} (i.d.) | 100 | 8 | 2.58±0.56 |
| | 500 | 8 | 2.76±0.39* |
| | 1,000 | 8 | 2.78±0.40* |
| AM. ^{c)} (i.d.) | 100 | 8 | 2.33±0.71 |
| | 500 | 8 | 2.71±0.36* |
| | 1,000 | 8 | 2.69±0.71 |

a) intraduodenal injection, b) *Atractylodes japonica*, c) *Atractylodes macrocephala*, d) average ± standard error.

* means statistically significant at $P<0.05$, ** means statistically significant at $P<0.01$

2. 성분 실험

1) 성분정량 실험결과

β -eudesmol의 양은 *A. japonica*에서 0.029 ± 0.002 mg/g, *A. macrocephala*는 0.031 ± 0.002 mg/g이었고, atracylenolide III의 양은 *A. japonica*에서 0.033 ± 0.001 mg/g, *A. macrocephala*는 0.035 ± 0.002 mg/g이었다. 두 종간의 양의 통계학적 차이는 보이지 않았다(Table VII).

Table VII. Amount of β -eudesmol and atracylenolide III
japonica and *A. macrocephala*

| Amount (mg/g) | β -eudesmol | atracylenolide II |
|-----------------|--------------------------|-------------------|
| AJ ^a | 0.029±0.002 ^c | 0.033±0.001 |
| AM ^b | 0.031±0.002 | 0.035±0.002 |

a) *Atractylodes japonica*, b) *Atractylodes macrocephala*, c) average ± standard error.

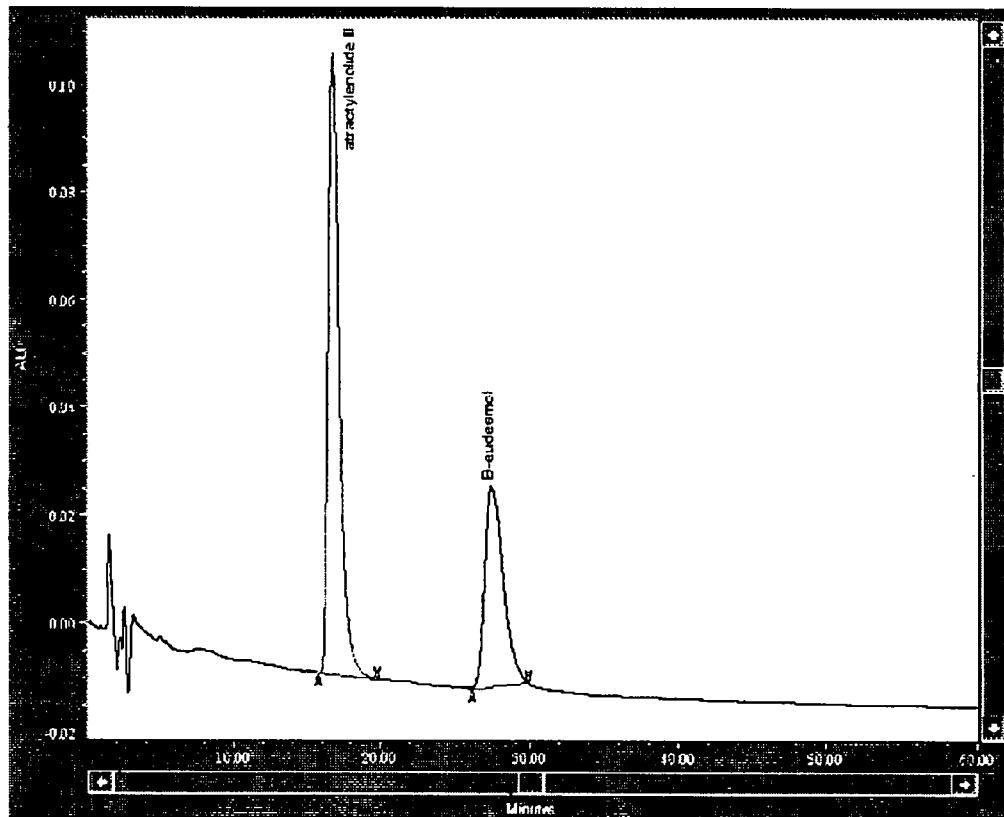


Fig. 1. HPLC chromatogram of authentic atracylenolide III and β -eudesmol.

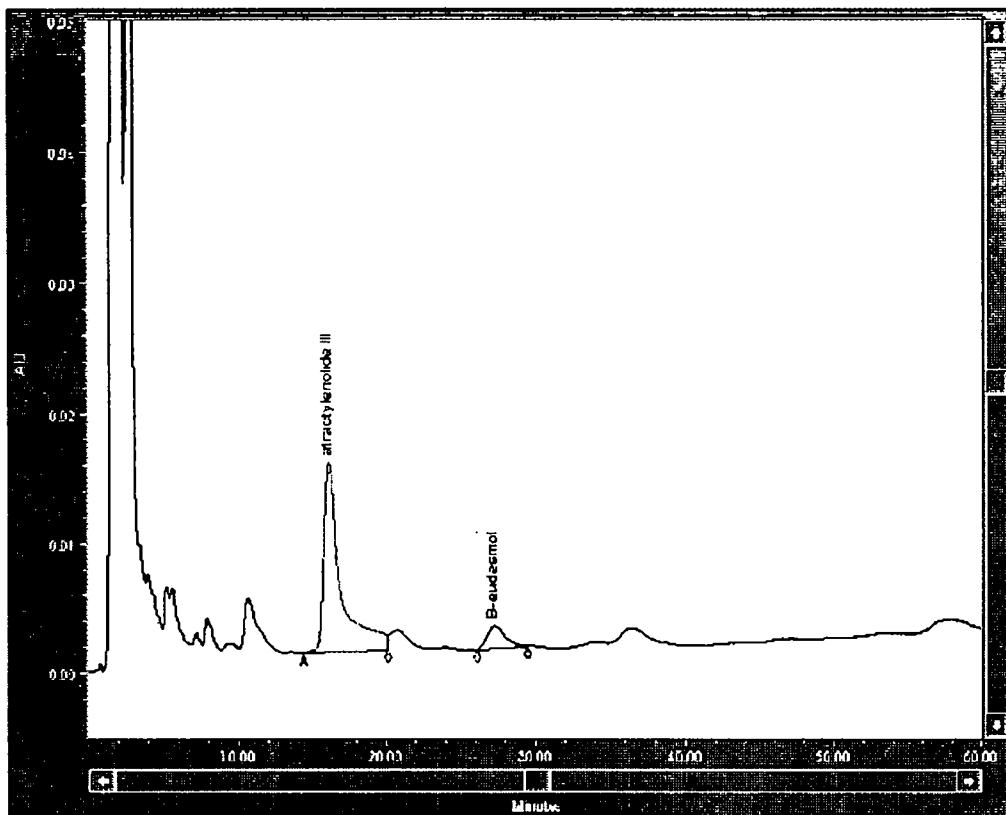


Fig. 2. HPLC chromatogram of ATRACTYLODIS RHIZOMA.

白朮은 대한약전¹⁾에 백출 *Atractylodes japonica* KOIDZ.의 뿌리로 정의되어 있고, 中華人民共和國藥典¹⁶⁾에는 *Atractylodes macrocephala* KOIDZ.의 乾燥根으로, 日本藥局方¹⁵⁾에는 우리와 같이 *Atractylodes japonica* KOIDZ.의 뿌리로 정의되어 있다.

中國의 莖類에는 西蒼朮, 茅蒼朮, 朝鮮蒼朮, 白朮(용원삼주)과 關蒼朮의 5가지 종류가 있다. 西蒼朮이 원래 기원이며, 여기서 각종 蒼朮이 분화되어 나오는데 湖北西部地方의 葉柄이 없는 蒼朮類는 茅蒼朮과 朝鮮蒼朮, 北蒼朮 등을 포함하며, 葉柄이 있는 蒼朮類는 白朮과 關蒼朮을 포함한다. 여기서 北蒼朮은 茅蒼朮

의 變種이며 학명으로는 *Attractylodes lancea* (THUNB.) DC. var. *chinensis* (BGE.) KITAMURA이고, 朝鮮蒼朮은 *A. koreana* (NAKAI) KITAMURA이다. 茅蒼朮의 變種은 北蒼朮의 變種의 變形이며 그 종류로는 全葉蒼朮 *A. lancea* (THUNB.) DC. var. *chinensis* (BGE.) KITAM. f. *simplicifolia* (LOES.) Y.Z.GUO COMB.NOV, 赤峰蒼朮 *A. lancea* (THUNB.) DC. var. *chinensis* (BGE.) KITAM. f. *quinqueloba* (BARANOV et SKVORTZOV) Y.Z.GUO COMB.NOV, 遼東蒼朮 *A. lancea* (THUNB.) DC. var. *chinensis* (BGE.) KITAM. f. *liaotungensis* (KITAG.) Y.Z.GUO COMB.NOV로 분류된다.⁷⁾

현재 중국에서 백출로 사용되는 *A. macrocephala* KODZ.를 한국(경북, 영주)에서 재배하고 있고, *A. japonica* KODZ.와 같이 유통 중이다.

그러나 이 두 종간의 약효가 겸증되지 않아 본 실험을 수행하였다.

위액분비능 실험에서는 위액량과 위산도 측정의 여러 변수들을 측정하였는데 생리적인 정상위액은 강산성(pH 1.6~2.0, 약 0.1N-HCl)이다. 이것은 胃底線의 벽세포에서 분비되는 염산에 의한 것으로서, 염산은 pepsin을 활성화하여 pepsin의 소화력이 가장 왕성하게 발휘될 수 있는 pH 2.0의 상태로 만든다. 또 위산은 섭취된 음식물에 대한 살균소독의 작용도 가지고 있다. 결합염산은 단백질이나 점액 등과 결합되어 있는 결합염산(fixed HCl)과 유리염산(free HCl)으로 나누고, 이들을 총칭하여 총염산(total HCl)이라고 한다. 총산도(total acidity)는 그 외에 유기산 등까지 총괄한 것이다. 그러나 현재에는 페놀프탈레인 용액으로 측정한 것을 총산도로 사용한다.

白朮의 주요 성분 중 하나인 β -eudesmol은 백출의 정유성분 중 hinesol과 함께 주요 약리작용을 나타내는 성분이다.¹⁸⁾

β -eudesmol과 attractylenolide III의 정량은 두 종의 白朮에 존재하는 절대량을 측정비교하였다.

2. 지향

가. 조혈효능실험

1) 적혈구수에 미치는 영향

정상군의 적혈구수는 평균 859만이었고, PHZ를 투여한 대조군의 적혈구수는 평균 632만이었고, PHZ와 중국숙지황을 투여한 중국숙지황군의 적혈구수는 평균 681만으로 유의한 효과를 보였고, PHZ와 국산숙지황을 투여한 국산숙지황군의 적혈구수는 평균 659만이었다. 정상군과 대조군의 차이는 현저하나, 숙지황을 투여한 2개군은 현저하지는 않았으나 대조군보다는 많은 수의 적혈구를 보였다(Figure 1, Table I).

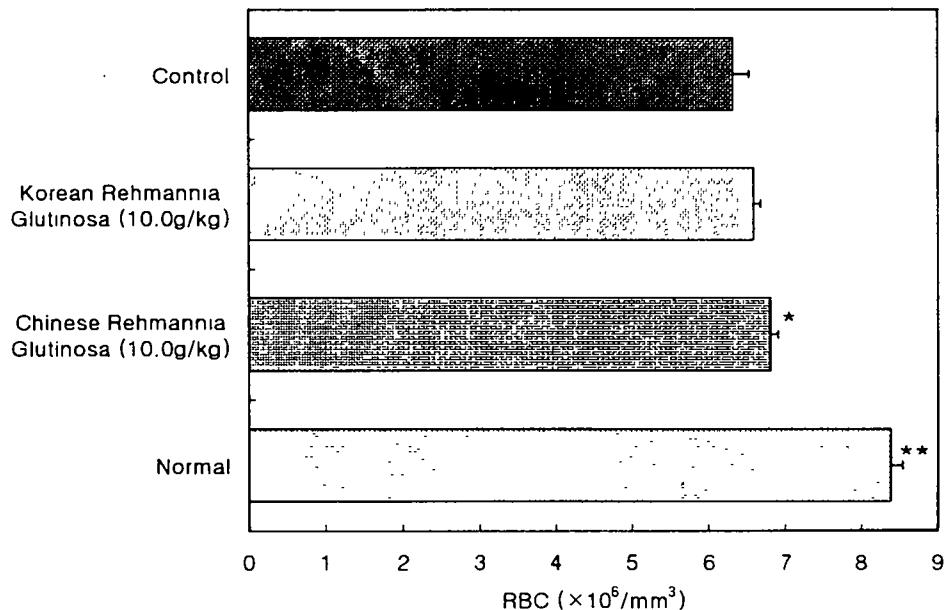


Figure I. Hemopoietic effect of *Rehmannia glutinosa* G AERTNER. on RBC in rats treated with phenylhydrazine(n=8).

2) 백혈구수에 미치는 영향

정상군의 백혈구수는 평균 15,070이었고, PHZ를 투여한 대조군의 백혈구수은 평균 16,670이었고, PHZ와 중국숙지황을 투여한 중국숙지황군의 백혈구수은 평균 15,560이었고, PHZ와 국산숙지황을 투여한 국산숙지황군의 백혈구수은 평균 17,070이었다. 정상군과 대조군의 차이는 근소하고, 숙지황을 투여한 2개군도 현저한 차이는 보이지 않았다(Figure 2, Table I).

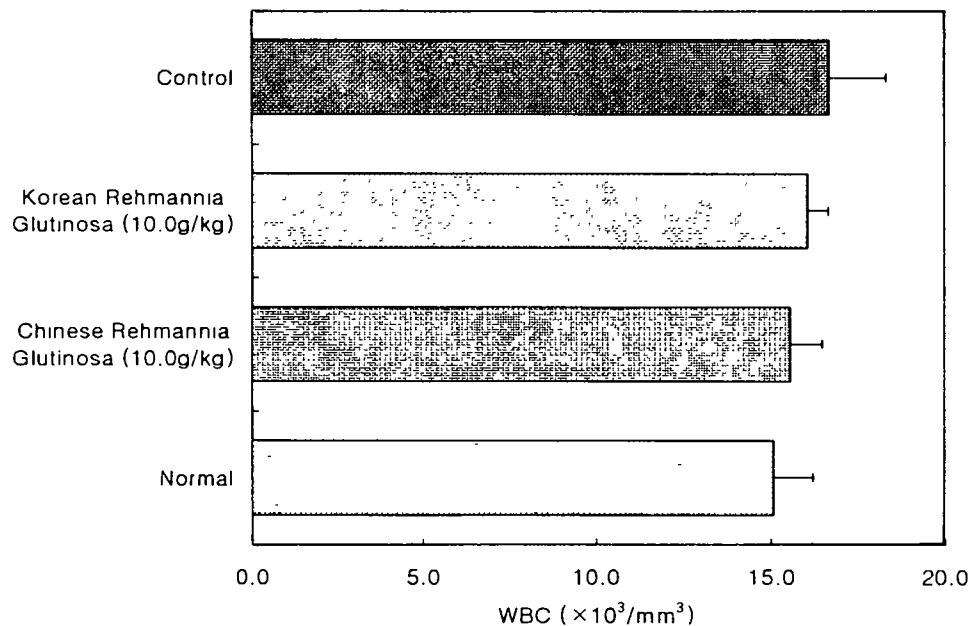


Figure 2. Hemopoietic Effect of *Rehmannia glutinosa* GÄERTNER. on WBC in Rats Treated with Phenylhydrazine(n=8).

3) Hemoglobin치에 미치는 영향

정상군의 hemoglobin은 평균 15.70g/100ml이었고, PHZ를 투여한 대조군의 hemoglobin은 평균 13.54g/100ml이었고, PHZ와 중국숙지황을 투여한 중국숙지황군의 hemoglobin은 평균 13.83g/100ml이었고, PHZ와 국산숙지황을 투여한 국산숙지황군의 hemoglobin은 평균 13.76g/100ml이었다. 정상군과 대조군의 차이는 현저하나, 숙지황을 투여한 2개군은 현저하지는 않았으나 대조군보다는 높은 경향을 나타내었다(Figure 3, Table I).

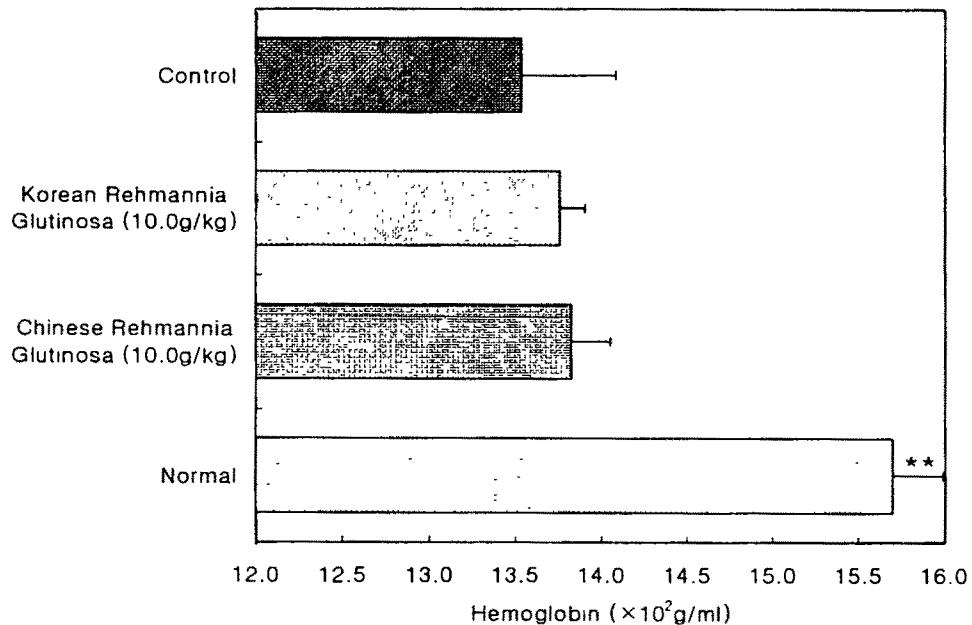


Figure 3. Hemopoietic Effect of *Rehmannia glutinosa* GÄERTNER. on Hemoglobin in Rats Treated with Phenylhydrazine(n=8).

4) Hematocrit치에 미치는 영향

정상군의 hematocrit은 평균 44.56%이었고, PHZ를 투여한 대조군의 hematocrit은 평균 37.47%이었고, PHZ와 중국숙지황을 투여한 중국숙지황군의 hematocrit은 평균 37.75%이었고, PHZ와 국산숙지황을 투여한 국산숙지황군의 hematocrit은 평균 38.00%이었다. 정상군과 대조군의 차이는 현저하나, 숙지황을 투여한 2개군은 현저하지는 않았으나 대조군보다는 높은 경향을 나타내었다(Figure 4, Table I).

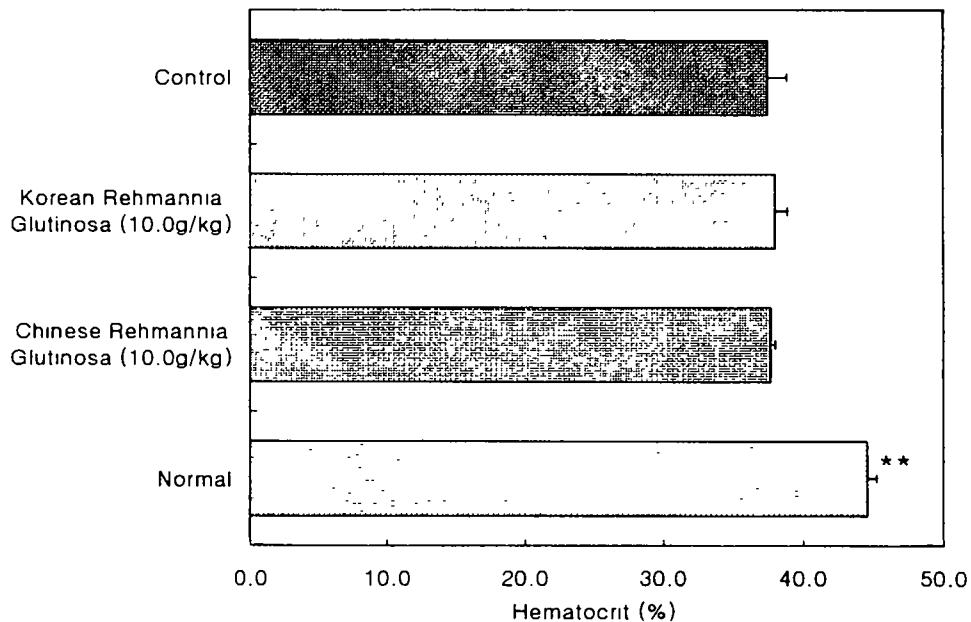


Figure 4. Hemopoietic Effect of *Rehmannia glutinosa* GAERTNER. on Hematocrit in Rats Treated with Phenylhydrazine ($n=8$)

Table 1. Effects of Korean and Chinese *Rehmannia glutinosa* on Blood of Phenylhydrazine Treated Rats.

| Group | Dose (g/kg) | No. of Rats | RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$) | WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$) | Hemoglobin ($\times 10^2/\text{ml}$) | Hematocri (%) |
|-------|----------------|----------------|--------------------------------------|--------------------------------------|---|------------------|
| NO | - | 8 | 8.39 ± 0.15 | 15.1 ± 1.1 | 15.7 ± 0.3 | 44.6 ± 0.7 |
| CO | - | 8 | 6.32 ± 0.21 | 16.7 ± 1.6 | 13.5 ± 0.5 | 37.5 ± 1.4 |
| KR | 5.0 | 8 | 6.59 ± 0.10 | 16.1 ± 0.6 | 13.8 ± 0.1 | 38.0 ± 0.9 |
| CR | 5.0 | 8 | 6.81 ± 0.10 | 15.6 ± 0.9 | 13.8 ± 0.2 | 37.7 ± 0.5 |

Mean \pm S.E : Mean \pm Standard Error

NO : normal group was administered with normal saline.

CO : control group was administered with normal saline and treated by phenylhydrazine(40.0 mg/kg, s.c.).

KR : KR group was administered with Korean *Rehmannia glutinosa* (5.0 g/kg, p.o.) and treated by phenylhydrazine(40.0 mg/kg, s.c.).

CR : CR group was administered with Chinese *Rehmannia glutinosa* (5.0 g/kg, p.o.) and treated by phenylhydrazine(40.0 mg/kg, s.c.).

* means statistically significant at $P < 0.05$.

나. 간독성실험

1) 혈청중 Glutamic Oxaloacetic Transaminase(GOT) 활성도에 대한 효과

혈청중 GOT 활성도는 정상군(NO)이 437.6 ± 183.2 IU/L이었고 CCl₄를 투여한 대조군(CO)은 840.6 ± 155.9 IU/L로 증가하였으나 유의성은 없었다. 한국지황과 CCl₄를 동시에 투여한 군(KR)에서는 혈청 GOT 활성도가 543.0

± 129.8 IU/L로 대조군에 비해 감소 효과가 있었으나 유의성은 없었고, 중국산 지황과 CCl4를 투여한 군(CR)은 660.2 ± 93.8 IU/L로서 한국산 지황을 투여한 KR군에 비해 높은 값을 보였다. 그러나 KR과 CR군 사이에 유의적인 차이는 없었다(Table II).

Table II. Effects of Korean and Chinese *Rehmannia glutinosa* treatment on Glutamic Oxaloacetic Transaminase Activities in serum of Carbon Tetrachloride Intoxicated Rats.

| Group | Dose(g/kg) | No. of Animal | GOT(IU/L), M±S.E |
|-------|------------|---------------|-------------------|
| NO | - | 9 | 437.6 ± 183.2 |
| CO | - | 8 | 840.6 ± 155.9 |
| KR | 5.0 | 9 | 543.0 ± 129.8 |
| CR | 5.0 | 9 | 660.2 ± 93.8 |

Mean \pm S.E : Mean \pm Standard Error

NO : normal group was administered with normal saline.

CO : control group was administered with CCl4 : olive oil(3:1, v/v) mixture solution 0.5mg/200g(rat's body weight).

KR : KR group was administered with Korean *Rehmannia glutinosa* 5g/kg (rat's body weight) and CCl4 : olive oil(3:1, v/v) mixture solution.

CR : CR group was administered with Chinese *Rehmannia glutinosa* 5g/kg (rat's body weight) and CCl4 : olive oil(3:1, v/v) mixture solution.

2) 혈청중 Glutamic Pyruvic Transaminase(GPT) 활성도에 대한 효과

혈청중 GPT 활성도는 NO군에서 96.0 ± 27.5 IU/L이었고, CO군은 630.5 ± 89.1 로서 정상군에 비하여 뚜렷한 증가를 보였다. KR군의 GPT는 433.2 ± 81.2 , CR군의 경우에는 457.3 ± 68.4 로서 지황 투여의 효과로 모두 대조군에 비해 혈청 GPT 활성이 감소했으나 대조군과 유의적인 차이는 없었고, 한국산과 중국산 지황의 효과도 유의적인 변화를 주지는 못하였다(Table III).

Table III. Effects of Korean and Chinese *Rehmannia glutinosa* treatment on Glutamic Pyruvic Transaminase Activities in serum of Carbon Tetrachloride Intoxicated Rats.

| Group | Dose(g/kg) | No. of Animal | GPT(IU/L), M \pm S.E |
|-------|------------|---------------|------------------------|
| NO | - | 9 | 96.0 ± 27.5 |
| CO | - | 8 | 630.5 ± 89.1 |
| KR | 5.0 | 9 | 433.2 ± 81.2 |
| CR | 5.0 | 9 | 457.3 ± 68.4 |

Mean \pm S.E : Mean \pm Standard Error

NO : normal group was administered with normal saline.

CO : control group was administered with CCl₄ : olive oil(3:1, v/v) mixture solution 0.5mg/200g(rat's body weight).

KR : KR group was administered with Korean Rehmannia glutinosa 5g/kg (rat's body weight) and CCl₄ : olive oil(3:1, v/v) mixture solution.

CR : CR group was administered with Chinese Rehmannia glutinosa 5g/kg (rat's body weight) and CCl₄ : olive oil(3:1, v/v) mixture solution.

3) 혈청중 Alkaline Phosphatase(ALP) 활성도에 대한 작용

혈청중 ALP 활성도를 비교해보면 NO군이 310.6 ± 40.7 IU/L이었고, CO 군은 315.4 ± 35.3 , KR군은 312.9 ± 42.6 , 그리고 CR군에서는 310.3 ± 31.3 로서 네 군간의 활성도가 서로 비슷한 값을 보이며 유의성있는 변화는 없었다(Table IV)

Table IV. Effects of Korean and Chinese *Rehmannia glutinosa* treatment on Alkaline Phosphatase Activities in serum of Carbon Tetrachloride Intoxicated Rats.

| Group | Dose(g/kg) | No.of Animal | ALP(IU/L), M±S.E |
|-------|------------|--------------|------------------|
| NO | - | 9 | 310.6 ± 40.7 |
| CO | - | 8 | 315.4 ± 35.3 |
| KR | 5.0 | 9 | 312.9 ± 42.6 |
| CR | 5.0 | 9 | 310.0 ± 31.3 |

Mean \pm S.E : Mean \pm Standard Error

NO : normal group was administered with normal saline.

CO : control group was administered with CCl₄ : olive oil(3:1, v/v) mixture solution 0.5mg/200g(rat's body weight).

KR : KR group was administered with Korean *Rehmannia glutinosa* 5g/kg (rat's body weight) and CCl₄ : olive oil(3:1, v/v) mixture solution.

CR : CR group was administered with Chinese *Rehmannia glutinosa* 5g/kg (rat's body weight) and CCl₄ : olive oil(3:1, v/v) mixture solution.

4) 혈청중 Leucine Aminopeptidase(LAP) 활성도에 대한 작용

혈청중 LAP 활성도를 보면 NO군이 69.3 ± 2.3 IU/L이었고, CCl₄로 처리한 CO군, KR군, CR군의 값은 각각 106.2 ± 4.8 , 100.6 ± 5.6 , 102.1 ± 10.1 로서 비슷한 수치를 보이며 정상군에 비해 증가했으나 유의성은 없었다 (Table V).

Table V. Effects of Korean and Chinese *Rehmannia glutinosa* treatment on Leucine Aminopeptidase Activities in serum of Carbon Tetrachloride Intoxicated Rats.

| Group | Dose(g/kg) | No. of Animal | LAP(IU//L), M±S.E |
|-------|------------|---------------|-------------------|
| NO | - | 9 | 69.3 ± 2.3 |
| CO | - | 8 | 106.2 ± 4.8 |
| KR | 5.0 | 9 | 100.6 ± 5.6 |
| CR | 5.0 | 9 | 102.1 ± 10.1 |

Mean ± S.E : Mean ± Standard Error

NO : normal group was administered with normal saline.

CO : control group was administered with CCl₄ : olive oil(3:1, v/v) mixture solution 0.5mg/200g(rat's body weight).

KR : KR group was administered with Korean *Rehmannia glutinosa* 5g/kg (rat's body weight) and CCl₄ : olive oil(3:1, v/v) mixture solution.

CR : CR group was administered with Chinese *Rehmannia glutinosa* 5g/kg (rat's body weight) and CCl₄ : olive oil(3:1, v/v) mixture solution.

5) 혈청 중 Lactic Dehydrogenase(LDH) 활성도에 대한 작용

혈청중 LDH 활성도를 비교해보면 NO군은 1446.4 ± 242.1 IU/L로서 낮았고, CO군은 2317.8 ± 56.6 로서 정상군에 비해 증가하였다. 한국산 지황을 투여한 KR군은 LDH 활성도가 1920.0 ± 108.1 로서 유의성 있는 감소를 보여 효과를 보았으나($p < 0.05$), 반면 중국산 지황을 투여한 CR군에서는 2389.2 ± 167.8 로서 증가하는 경향을 나타냈으나 유의성은 없었다(Table VI).

Table VI. Effects of Korean and Chinese *Rehmannia glutinosa* treatment on Lactic Dehydrogenase Activities in serum of Carbon Tetrachloride Intoxicated Rats.

| Group | Dose(g/kg) | No. of Animal | LDH(IU/L), M±S.E |
|-------|------------|---------------|----------------------|
| NO | - | 9 | 1446.4 ± 242.1 |
| CO | - | 8 | 2317.8 ± 56.6 |
| KR | 5.0 | 9 | $1920.0 \pm 108.1^*$ |
| CR | 5.0 | 9 | 2389.2 ± 167.8 |

Mean \pm S.E : Mean \pm Standard Error

NO : normal group was administered with normal saline.

CO : control group was administered with CCl₄ : olive oil(3:1, v/v) mixture solution 0.5mg/200g(rat's body weight).

KR : KR group was administered with Korean *Rehmannia glutinosa* 5g/kg (rat's body weight) and CCl₄ : olive oil(3:1, v/v) mixture solution.

CR : CR group was administered with Chinese *Rehmannia glutinosa* 5g/kg (rat's body weight) and CCl₄ : olive oil(3:1, v/v) mixture solution.

* means statistically significant compared with control data. (*P<0.05)

나. 중추신경계에 대한 영향

1) 항경련효과

(1) 항 pentylenetetrazole 작용

생리식염수를 투여한 음성대조군은 0.0 %의 경련억제율을 나타낸 반면, phenobarbital을 투여한 양성대조군에서는 62.5 %의 경련억제율로서 유의성을 보였다.($p<0.01$) 실험군인 한국지황과 중국지황에서 모두 25.0%의 억제율을 보였으나 유의성을 보이지 않았다. (Table VII-1).

Table VII-1. Anti-Convulsion Effects of Korean and Chinese *Rehmannia glutinosa* on the Pentylenetetrazole(85mg/kg s.c.) Induced Convulsions in Mice

| Samples | Dose (p.o.) | No. of mice | No. of Convulsion | Inhibitory Percent (%) |
|---------|----------------|-------------|----------------------|---------------------------|
| NS | - | 8 | 8 | 0.0 |
| PB | 48.0 mg/kg | 8 | 3** | 62.5 |
| KR | 5.0 g/kg | 8 | 6 | 25.0 |
| CR | 5.0 g/kg | 8 | 6 | 25.0 |

NS(normal saline) group was administered with normal saline and PB(phenobarbital) group was administered with phenobarbital.

KR(Korean *Rehmannia glutinosa*), CR(Chinese *Rehmannia glutinosa*). Chi-square test was used as statistical method.(** $P<0.01$).

(2) 항 strychnine 작용

생리식염수를 투여한 음성대조군은 25.0 %의 경련억제율을 나타낸 데 비하여 phenobarbital을 투여한 양성대조군에서는 87.5%의 경련억제율을 보였

다. 실험군 중 한국지황 투여군에서 87.5 %의 억제율로 유의한 경련억제효과가 나타났다.($P<0.05$) 중국지황은 62.5%를 나타내서 유의한 경련억제효과가 나타났다.($p<0.05$) (Table VII-2).

Table VII-2. Anti-Convulsion Effects of Korean and Chinese *Rehmannia glutinosa* on the Strychnine (1.5mg/kg, s.c.) Induced Convulsions in Mice

| Samples | Dose (p.o.) | No. of mice | No. of death | Inhibitory Percent (%) |
|---------|-------------|-------------|--------------|------------------------|
| NS | - | 8 | 6 | 25.0 |
| PB | 48.0 mg/kg | 8 | 1* | 87.5 |
| KR | 5.0 g/kg | 8 | 1* | 87.5 |
| CR | 5.0 g/kg | 8 | 3 | 62.5 |

NS(normal saline) group was administered with normal saline and PB(phenobarbital) group was administered with phenobarbital.

KR(Korean *Rehmannia glutinosa*), CR(Chinese *Rehmannia glutinosa*). Chi-square test was used as statistical method. (* $P<0.05$, ** $P<0.01$).

(3) 항 picrotoxin 작용

생리식염수를 투여한 음성대조군에서는 12.5 %의 경련억제율을 나타낸 데에 비하여 phenobarbital을 투여한 양성대조군에서는 62.5 %의 억제율을 보여 유의성을 나타내었다.($p<0.05$) 실험군에서는 한국지황, 중국지황 모두 유의한 효과가 나타나지 않았다. (Table VII-3)

Table VII-3. Anti-Convulsion Effects of Korean and Chinese *Rehmannia glutinosa* on the Picrotoxin (5.0 mg/kg s.c.) Induced Convulsions in Mice

| Samples | Dose (p.o.) | No. of mice | No. of Convulsion | Inhibitory Percent (%) |
|---------|-------------|-------------|-------------------|------------------------|
| NS | - | 8 | 7 | 12.5 |
| PB | 48.0 mg/kg | 8 | 3 | 62.5 |
| KR | 5.0 g/kg | 8 | 6 | 75.0 |
| CR | 5.0 g/kg | 8 | 7 | 12.5 |

NS(normal saline) group was administered with normal saline and

PB(phenobarbital) group was administered with phenobarbital.

KR(Korean *Rehmannia glutinosa*), CR(Chinese *Rehmannia glutinosa*).

Chi-square test was used as statistical method(* P<0.05).

(4) 항 electricshock 작용

생리식염수를 투여한 음성대조군에서는 경련유발시간이 13.7 ± 0.4 초였고, phenobarbital을 투여한 양성대조군에서는 12.8 ± 0.8 초로 경련시간이 단축되었다. 그리고 실험군에서는 한국지황 투여군에서 14.6 ± 1.3 초, 중국지황 투여군은 14.7 ± 0.6 을 경련시간이 늘어나 효과가 없었다. (Table VII-4)

Table VII-4. Anti-Convulsion Effects of Korean and Chinese *Rehmannia glutinosa* on the Electricshock(200Hz, 0.5ms, 35A, 0.2sec) Induced Convulsions in Mice

| Samples | Dose (p.o.) | No. of mice | Time (sec.) |
|---------|----------------|-------------|------------------------|
| NS | - | 8 | 13.7±0.4 ^{a)} |
| PB | 48.0 mg/kg | 8 | 12.8±0.8 |
| KR | 5.0 g/kg | 8 | 14.6±1.36 |
| CR | 5.0 g/kg | 9 | 14.7±0.6 |

a) Mean±standard error

NS(normal saline) group was administered with normal saline and

PB(phenobarbital) group was administered with phenobarbital.

KR(Korean *Rehmannia glutinosa*), CR(Chinese *Rehmannia glutinosa*).

Student's t-Test was used as statistical method(* P<0.05, ** P<0.01).

(5) 초산법에 의한 진통작용

초산에 의해 유발된 동통의 양상인 writhing syndrome의 빈도를 측정한 결과 생리식염수를 투여한 음성대조군의 20.3±2.0 회에 비하여 양성대조군인 아스피린 투여군에서는 2.7±1.0 회로 통증유발이 억제되었다.(P<0.05) 그리고 실험군 중 한국지황과 중국지황의 투여군에서 각각 11.6±2.4, 17.0±1.7 으로 나타나 모두 진통작용이 있는 경향을 나타내어 한국지황이 중국지황보다 효과가 좋았으나 유의성은 보이지 않았다. Table VII-5).

Table VII-6. The Analgesic Effects of Korean and Chinese *Rehmannia glutinosa* on the Writhing Syndrome of Acetic Acid Induced Pain in Mice

| Samples | Dose (p.o.) | No. of mice | No. of Withing Syndrome |
|---------|----------------|-------------|---------------------------|
| NS | - | 6 | $20.3 \pm 2.0^{\text{a}}$ |
| AS | 100.0 mg/kg | 6 | $2.7 \pm 1.0^*$ |
| KR | 5.0 g/kg | 6 | 11.6 ± 2.4 |
| CR | 5.0 g/kg | 6 | 17.0 ± 1.7 |

a) Mean \pm Standard Error

NS(normal saline) group was administered with normal saline and AS(aspirin) group was administered with aspirin.

KR(Korean *Rehmannia glutinosa*), CR(Chinese *Rehmannia glutinosa*).

Student's t-test was used as statistical method(* P<0.05, ** P<0.01).

(6) Hot plate법에 의한 진통작용

Hot plate에 의해 유발된 동통의 양상인 jumping의 유발시간을 측정한 결과 생리식염수를 투여한 음성대조군이 63.11 ± 8.1 초가 소요된 반면, 양성대조군인 아스피린 투여군에서는 103.6 ± 11.0 초로 동통역치시간이 지연되었다. 그리고 실험군 중 한국지황은 81.3 ± 9.5 초, 중국지황은 72.1 ± 5.5 로 나타나 동통역치시간을 지연하는 경향을 보였으나 유의성은 나타나지 않았다 (Table VII-7).

Table VII-7. The Analgesic Effect of Korean and Chinese *Rehmannia glutinosa* on Pain Induced with Hot Plate in Mice

| Samples | Dose (p.o.) | No. of mice | Time of jump (sec.) | Analgesic Ratio (%) |
|---------|----------------|-------------|-------------------------|------------------------|
| NS | - | 8 | 63.11±8.1 ^{a)} | - |
| AS | 100.0 mg/kg | 7 | 103.6±11.0* | 64.2 |
| KR | 5.0 g/kg | 7 | 81.3±9.5 | 28.9 |
| CR | 5.0 g/kg | 8 | 72.1±5.56 | 14.2 |

a) Mean±standard error

NS(normal saline) group was administered with normal saline and AS(aspirin) group was administered with aspirin.

KR(Korean *Rehmannia glutinosa*), CR(Chinese *Rehmannia glutinosa*).

Student's t-Test was used as statistical method. (* P<0.05)

제 4 절 적 요

1. 백출

현재 우리나라의 白朮은 삼주(*Atractylodes japonica* Koidz.)의 뿌리이며 중국의 白朮(*Atractylodes macrocephala* Koidz.)과는 종이 다르므로, 이에 대한 효능 연구가 요구되어 본 실험에 착수하였다. 그러므로 저자는 白朮로 유통되는 2종의 한약재에 대하여 약효 비교실험과 성분 정량실험을 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

가. 위액분비 억제효과에서 *A. japonica*군과 *A. macrocephala*군 모두에서 500 mg/kg투여군과 1000 mg/kg투여군에서 유의한 효과가 있었다.

- 나. 유리산도 억제실험에서는, *A. japonica*군과 *A. macrocephala*군 모두 감소되는 경향을 나타내었다.
- 다. 총산도 억제실험에서는, *A. japonica*군과 *A. macrocephala*군 모두 감소되는 경향을 나타내었다.
- 라. 산분비량 억제효과에서, *A. japonica*군은 1000 mg/kg투여군에서 유의한 효과가 있었고, *A. macrocephala*군에서는 500 mg/kg투여군과 1000 mg/kg투여군에서 유의한 효과가 있었다.
- 마. 위액 중 pH의 변화에서, *A. japonica*군은 500 mg/kg투여군과 1000 mg/kg투여군에서 유의한 효과가 있었고, *A. macrocephala*군에서는 500 mg/kg투여군에서 유의한 효과가 있었고 1000 mg/kg투여군에서 감소되는 경향을 보였다.
- 바. 두 종간의 β -eudesmol과 atractylenolide III는 두 종에서 모두 검출되었으며, 정량결과 두 종간의 성분함량에 유의한 차이를 볼 수 없었다.

이상으로 白朮로 사용되는 2종의 한약재에 대하여 약효를 비교 분석하였다.

Atractylodes macrocephala Koidz.는 모든 항목에서 *Atractylodes japonica* Koidz.보다 우수하거나 유사하였다. 이에 *A. macrocephala*가 白朮로서 사용되는 것이 더 바람직하다고 생각한다.

2. 지황

임상에서 홍반성낭창, 고혈압, 간염, 변비, 관절염, 피부병, 안과질환, 당뇨병, 자궁출혈, 원발성혈소판감소성자반에 다용하는 지황의 조혈작용, 간독성완화작용 및 중추신경계 작용에 대하여 실험적연구를 수행한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

가. 조혈실험

적혈구수에서 중국지황 투여군이 유의한 효과를 보였고, 중국 및 국산지황투

여군의 차이는 두드러지지 않았다. 백혈구수에서 중국지황 및 한국지황투여군 모두 수의 감소를 나타내었으나 유의성은 없었고, Hemoglobin 및 hematocrit에서 두군 모두 유의성은 없었으나 증가하는 경향을 나타내었다.

즉, 중국 및 한국지황투여군 모두 적혈구수, hemoglobin 및 hematocrit치를 높여 빈혈유발을 억제하는 경향을 나타내었고, 중국지황 및 국산지황의 약리효능의 차이는 없었다.

나. 간독성실험

간에 독성을 유발한 실험에서 유의성은 없었으나 한국지황 및 중국지황은 모두 GOT 활성도의 감소를 보여 독성작용을 완화하는 경향을 나타내었고, GPT 활성도도 한국지황 및 중국지황 모두 감소하는 경향을 나타내었고, 혈청 중 ALP 및 LAP 활성도에서는 그다지 큰 변화를 보이지 않았다. LDH 활성도에 대한 작용으로는 한국지황 투여군에서 유의한 감소를 나타내어 간독성작용을 유의하게 억제하였고, 중국지황투여군에서는 유의성을 보이지 않았다.

이상의 결과, 지황은 간독성작용을 완화하는 경향을 나타내어 간염, 간경화, 황달 등 간질환에 치료작용이 있을 것으로 생각되고, 한국지황 및 중국지황의 유의한 효력의 차이는 볼 수 없었다.

다. 중추신경계

항경련효과를 관찰하기 위하여 생쥐에 화학적으로 유발한 경련에 대하여 pentylenetetrazole으로 유발한 경우에 한국지황, 중국지황 모두에서 경련억제효과가 없었다. strychnine으로 유발한 경우 한국지황에서 유의한 경련억제효과를 나타냈다. ($P<0.05$). 그리고, picrotoxin으로 유발한 경련에서는 모두 유의한 경련억제효과를 나타내지 않았다. 물리적 자극인 전기자극으로 유발한 경우에도 모두 유의한 경련억제효과를 나타내지 않았다. 진통효과를 관찰하기 위하여 초산에 의하여 통증을 유발한 뒤 발생하는 writhing syndrome의 빈도를 측정한 결과 한국지황, 중국지황에서 모두 진통작용이 있는 경향을 나타

내어었으나 유의성을 보이지는 않았다. hot plate에 의해 유발된 동통의 양상인 jumping의 유발시간을 측정한 결과 한국지황, 중국지황에서 차례로 진통효과가 있는 경향이 있었으나 유의성을 보이지 않았다.

이상의 결과로 보아 한국지황 투여군과 중국지황 투여군에서 유의성은 없으나 항경련 및 진통의 경향을 나타내었고, 특히 한국지황의 strychnine으로 유발한 경련에 유의한 경련억제 작용을 나타내었다.

현재 작물시험장 특용작물과에서 중국지황의 국내 개량화에 성공한 지황1호(중국지황)와 재래종(한국지황)과의 효능을 비교하기 위하여 수행한 3종의 실험결과, 조혈작용에 있어 중국지황이 한국지황보다 우수한 효능을 나타내었고, 간독성완화시험 및 중추신경계작용에 있어서는 한국지황이 중국지황보다 우수한 효능을 나타내었다. 그러나 실험결과로 보아 두 약물의 효능에 유의한 차이를 나타내지 않아 중국지황(지황1호)과 한국지황(재래종)은 대체할 수 있으리라 생각한다.

참 고 문 헌

1. 보건사회부 : 대한약전 5개정 제1·2부, 한국메디칼인덱스사, 서울, 1987. p.846.
2. 陶弘景 集, 尚志鈞 輯校 : 名醫別錄, 人民衛生出版社, 北京, 1986, pp.22
3. 李時珍 : 本草綱目(上冊), 人民衛生出版社, 北京, 1982, pp.733-748
4. 曹元宇 輯注 : 本草經, 上海科學技術出版社, 上海, 1987, pp.64-66
5. 吳儀洛 撰 : 本草從新, 上海科學技術出版社, 上海, 1982, pp.10-12

6. 원도희등 : 상용생약의 성분정량, 성은출판사, 한국, 1989, p.231.
7. 樓之芩等 : 常用中藥材品種整理和質量研究 北方編 第 3 冊, 北京醫學大學, 中國, 1996, pp.752-757.
8. 山原條二他 : 生藥學雜誌, 37(1):17, 1983.
9. 田井孝明等 : 生藥學雜誌, 44(1):1, 1990.
10. 雷海鵬等 : 藥學學報, 10(4):199, 1963.
11. 久保道德等 : 藥學雜誌, 103(4):442, 1983.
12. 王玉良摘譯 : 藥學雜誌, 111(1):36, 1991.
13. 武田修己 : 藥學雜誌, 115(7):543, 1995.
14. 吳普 : 吳普本草, 人民衛生出版社, 北京, 1987, pp.14
15. 日本公定書協會 : 日本藥局方解說書(第十一改正), 廣川書店, 韓國, 1986, p.D-801.
16. 中華人民共和國衛生部藥典委員會 : 中華人民共和國藥典(一部)(95年版), 廣東技術出版社, 上海, 1995, p.84.
17. H. Shay : Gastroenterology, 5:43, 1943.
18. 武田修己等 : Natural Medicines 50(4):289, 1996.

제 4 장 지황, 백출의 우량종묘 증식 및 재배기술 개발

제 1 절 서 론

우리나라의 생약재(한약재) 수요는 국민생활수준의 향상, 건강추구에 대한 관심고조와 함께 한방의료보험의 실시, 대형 제약기업의 한방제제 생산 참여 등의 원인으로 1980년대 중반을 기점으로 급속히 증가하고 있는 추세이다.

국내의 생약재 생산은 '85년에 12,616M/T에 불과했으나 '96년에는 42,769 M/T으로 크게 증가하였고 재배면적도 동기에 4,025ha였던 것이 13,741ha로 크게 증가하여 농가의 소득작물로 정착돼가고 있는 실정이다.

한편, 국내에서 재배가 가능하며 이미 대규모 재배가 (1,000ha 이상)정착된 작물은 당귀, 천궁, 황기, 길경, 산약 등을 들 수 있으며 십수년전까지도 자급이 충분했으나 수요량의 대폭증가로 생산이 수요를 충족시키지 못하는 작물로 지황, 백출을 대표적으로 들 수 있는 바 본 연구는 대량수입 한약재인 지황과 백출에 대한 식물학적인 검토, 한방 임상학적 검토와 아울러 우량도입 품종의 재배기술을 개발하여 수입을 억제하고 자급생산의 기반을 마련하는 일은 매우 중요하다.

지황은 (*Rhemania glutinosa*) 강장, 보혈제로 보약은 물론 치료제로서 가장 많은 처방에 널리 쓰이며 또한 “경옥고”라는 보약처방에는 필수적으로 포함되기 때문에 그 수요가 감초 다음으로 큰 한약재라 할 수 있다.

그러나 소득저하로 인한 국내 지황의 재배면적 감소는 90% 이상 수입의존이라는 결과를 가져왔고 수입지황 반입량의 증가와 함께 국내 지황 재배농가는 재배를 포기해야 할 위기에 처하게 되었다.

백출은(*Attractylodes spp.*) 삽주속 식물의 뿌리로서 소화촉진제로 사용하는

반용약재로 년간 수요는 1,000~15,000톤에 이르나 국내에서는 지금까지 야생삼주의 채취로 수요의 대부분을 충당하였으나 수요의 급속한 증가로 90% 이상을 수입에 의존하고 있다.

삼주속 식물은 우리나라에 널리 분포하는 *Atractylodes japonica* Koizumi 외에도 중국의 *A. macrocephala*, 일본의 *A. ovobata*, *A. lancea* 등으로 다양하나 우리나라에는 유독 *A. japonica* Koizumi만이 분포하는 바 이 식물은 초세가 왜소하고 근경의 생산량이 적어 인위적 재배시 소득성을 기대하기가 관란한 반면, 중국의 *A. Macrocephala*는 초세가 장대하고 근경이 굵어 (*A. japonica*의 5배 정도) 소득작물로 개발하기에 충분할 것으로 기대되고 있다.

총 농산물 생산액중 그리 큰 비중을 차지하지는 않지만 국민의 건강증진, 질병치료에 필수적인 이들 약재가 가격 경쟁력 열세라는 이유만으로 수입이 개방되고 국내의 생산기반이 붕괴된다면 머지않은 장래에 수입가격은 물론 공급 물량마저 예속당하게 될 것은 자명하므로 이들의 보호차원에서 본 연구의 필요성이 대두된다고 하겠다.

국제시장에서의 가격 경쟁력제고를 위해서는 우량품종의 개발, 다수확 재배기술의 개발 및 생력화 재배기술 개발이 이루어져야 하므로 본 연구에서는 중국으로부터 도입한 지황, 백출에 대한 식물학적 특성평가, 생약학적 및 한방임상학적 측면에서의 기원식물 합치여부 및 효능을 평가 하고자 하였고 이들에 대한 다수확, 생력화 재배기술을 개발하여 농가에 보급코자 하는데 그 목적을 두었다.

제 2 절 재료 및 방법

1. 지황

지황의 우량 건전 종묘 생산을 위한 생장점 배양에는 지황 1호와 서천재래를 공시하였다. 배지조성은 MS배지에 생장조정물질을 auxin으로 NAA는 (1-Naphthalene acetic acid)와 IAA(Indole-3-acetic acid)를 cytokinin으로 BA(6-Benzyl amino purine)와 kinetin(6-Furfurylaminopurine)을 각각 0.1, 0.5, 1.0 및 2.0 mg/L씩 단용 첨가하였으며, 공시품종의 생장점을 적출 배양한 후 각 처리별 캘러스 형성과 식물체 분화정도를 조사하였다. 생장점 유래의 배양 식물체에 대한 바이러스 진단은 투과전자현미경(TEM)을 이용하여 TMV와 PVX를 검출 여부를 확인하였고, 지표식물로 명아주 등을 이용하여 동정하였다.

지황의 캘러스 배양에 의한 기내대량증식을 위하여 공시재료는 작물시험장 약용작물 재배 온실에 식재되어 있는 서천재래 지황의 유엽조직을 채취하여 0.5% Sodium hypochlorite액에 10분간 침지후 표면 살균하고 멸균수로 3회 수세하여 5㎖ 크기로 배양하였다. 배지는 MS(Murashige and Skoog, 1962) 기본 배지에 오옥신으로 NAA(1-Naphthalene acetic acid)와 2, 4-D (2, 4-Dichlorophenoxy acetic acid)를 각각 0.5mg/L 넣고 사이토키닌으로 BA (6-Benzyl amino purine)와 zeatin (6-[4-Hydroxy -3-methylbut -2-enyl]purine)을 0.1, 0.5, 1.0, 2.0 및 4.0mg/L의 농도로 혼합 첨가하여, 배지 조제는 처리별로 성분량과 0.8% 한천을 넣은 후 121℃에서 15분간 고압 멸균하였다. 배양조건은 처음 1개월은 암배양하였고 그 후에는 광도 $24\mu\text{mol s}^{-1}\text{ m}^{-2}$ (PAR)에서 16시간의 일장으로 조절하였으며, 배양실의 온도는 $25\pm1^\circ\text{C}$ 로 유지되도록 조절하였다. 배양 30일후의 캘러스 형성 및 식물체 재분화율을 조사하였다. 조직배양을 통하여 얻어진 shoot의 기내증식에 적합한 배지를 선발하고자 MS, GD(Gresshoff and Doys, 1972), WPM (McCown and Lloyd, 1980), DKW (Driver and Kuniyuki-walnut, 1984) 및 B5 (Gamborg et al. 1985) 등 3종류의 배지에 NAA 0.1mg/L와 BA 0.5mg/L를 첨가하여 같은 방법으로 배양한 다음 신초증식 수를 조사하였다. 신초의 증식 및 생육에 미치는

pH, 활성탄 및 배지 지지물의 영향을 구명하기 위하여 pH는 5.0, 5.5, 5.8 및 6.2로 조절하였고, 활성탄을 0.1, 0.5, 1.0 및 2.0g/L을 넣어 주었으며, 지지물질로 phytagel을 2, 3, 4g/L을 첨가하여 배양한 다음 초장과 신초수 등을 조사하였다.

공시재료는 서천재래종의 엽절편에서 캘러스 유도후 기관분화한 엽배양 1년차와 2년차 묘, 단양재래의 화경배양 유래의 2년차, 그리고 지황1호 등 4계통을 사용하였다. 전년도에 수확한 종근의 적정 저장조건과 이에 따른 생육 차이를 조사하고자 농가 관행의 상온과 13°C(고구마 저장고) 노천매장 40cm와 80cm 등 4처리를 하여 월동후 종근 부패율을 조사하고, 파종후 생육 특성을 비교 조사하였다. 조직 배양주와 모식물간 파종에 적합한 종근의 크기를 구명하기 위하여 종근을 대(직경 2cm), 중(직경 1cm), 소(직경 0.6cm)의 3종류로, 길이를 3, 5, 7cm로 각각 절단하여 파종한 다음, 종근의 크기에 따른 지상부 생육 특성과 근 수량을 조사하였다.

2. 백출

백출 1년생 직파 재배시험은 1996년부터 4월부터 12월까지 작물시험장 약용작물포장에서 수행하였으며 농가실증 시험은 1997년 전국 약용작물 주산지중 충북 제천, 충남 청양, 강원 정선에서 수행하였다.

시험재료는 1992년 11월 중국에서 도입한 *Artatylodes macrocephalf koidumi*를 시험재료로 공시하였다.

백출 1년생 직파재배의 적정 파종시기를 구명하기 위하여 1996년 3월 하순부터 4월 하순까지 흑색 비닐 피복, 무피복 재배로 구분한 후 10일 간격으로 휴폭 60cm, 조간 20cm, 주간 10cm에 2열로 파종하였다.

적정 재식밀도 구명은 4월 중순에 흑색 비닐 피복구, 무피복 재배구로 시험포장을 구분한 후, 휴폭 60cm에 조간 20cm, 주간 5, 10, 15, 20cm 3열 재식구와 조간 30cm, 주간 5, 10, 15, 20cm, 2열로 파종하였다.

적정 재식밀도 구명은 4월 중순에 흑색비닐 피복구, 무피복 재배구로 시험

포장을 구분한 후, 휴폭 60cm에 조간 20cm, 주간 5, 10, 15, 20cm 3열 재식구와 조간 30cm, 주간 5, 10, 15, 20cm, 2열로 식재한 후 시험을 수행하였다.

백출 화뢰 제거에 의한 근비대 효과를 구명하기 위하여 8월 중순경 화뢰형성 초기에 적심을 한 후 근비대 정도를 구명하였다.

근대시기 구명은 4월 중순 파종한 1년생 식물체를 이용하여 7월 하순부터 10월 중순까지 10일 간격으로 20주를 수확한 후 지상부 및 지하부 생육을 조사하였다.

백출 직파 1년생 농기 실증 시험의 시비량은 N-P₂O₅-K₂O=8-6-9kg/10a를 사용하였으며 재식거리는 휴폭 60cm, 조간 20cm, 주간 10cm에 2열로 파종한 후 흑색 비닐을 피복하였다.

시험 재료의 주요 조사항목은 초장, 엽수, 경수, 경테, 근테, 생엽중, 생근중, 화뢰중을 조사하였으며 조사기준은 농촌진흥청 약용작물 조사기준에 준하였다.

제 3절 결과 및 고찰

1. 지 황

가. 지황 무병 우량묘 기내 생산 기술개발

지황의 우량종묘 생산을 위하여 화경조직을 배양한 결과는 다음과 같다. 배양재료의 선택에 있어 뿌리조직은 세균 및 곰팡이의 오염으로 재료로 이용이 곤란하였으며 소화경으로부터 신초를 유기시킬 수 있었다.

꽃봉오리 상태에 있는 지황의 화경을 채취하여 사이토카닌의 종류와 농도로 달리한 배지에 배양해본 결과는 표과 같다. 화경의 발달단계에 따라 신초 발생율에는 차이가 있었으며, 미숙 꽃봉오리 상태의 소화경을 배양하였을 때 신초형성을 증가하였다. 생장조절제가 첨가되지 않은 대조구에서는 신초형성이 전혀 이루어지지 않았고 절편체의 크기만 증대 되었다.

Table 1. Effect of Cytokinin on organogenesis through pedice segment culture of *Rehannia glutinosa* after 4 weeks in cultture.

| Cytokinin (mg/l) | Shooting (%) | Mean shoot length(cm) | Fresh wt /explant(mg±SE) | Vitrification |
|---------------------|-----------------|--------------------------|-----------------------------|---------------|
| Control | 0 | - | 190±10 | |
| 0.3 | 0 | - | 170±50 | |
| 1.0 | 0 | - | 130±30 | |
| Kinetin | 3.0 | 20 | 230±110 | - |
| | 5.0 | 0 | 450±140 | |
| | 0.3 | 33 | 380±160 | + |

| Cytokinin (mg/l) | Shooting (%) | Mean shoot length(cm) | Fresh wt /explant(mg±SE) | Vitrification |
|---------------------|-----------------|--------------------------|-----------------------------|---------------|
| BA | 1.0 | 100 | 1.3 | 590±230 |
| | 3.0 | 82 | 1.0 | 780±220 |
| | 5.0 | 66 | 0.8 | 1170±430 |
| | 10.0 | 33 | 0.8 | 450±180 |
| | 0.3 | 25 | 0.4 | 310±120 |
| 2iP | 1.0 | 0 | - | 430±180 |
| | 3.0 | 50 | 0.3 | 630±220 |
| | 5.0 | 66 | 0.5 | 730±260 |
| | 10.0 | 100 | 0.7 | 970±170 |

* Z- = none : + = mild : ++ = moderate : +++ = severe.

Addenda to the Murashige-Skoog medium were as follow :

0.3mg/l IAA and 0.2% Gelrite.

기관형성에 미치는 사이토키닌 종류별 효과를 보면 kinetin에 비해 BA나 2iP 가 효과적이었는데 BA에서는 1.0~3.0mg/l에서 80%이상, 2iP에서는 5.0mg/l 이상 첨가구에서 66%이상의 신초형성을 나타냈다. 형성된 신초의 생장은 BA 0.3~1.0mg/l 첨가구에서 1.3cm이상으로 양호하였고, 그 밖의 처리구에서는 rosette화 하면서 생장이 지연되었다. 투명화 정도를 보면 저농도 보다는 고농도에서 증가하는 현상을 나타냈다. 일반적으로 조직배양 재료로써 정단을 많이 이용하고 있으나 식물에 따라서는 정단조직보다 화경조직에서 재생력이 높다.

그러나 재생력은 배양조직의 크기나 생리적 연령에 좌우되기 때문에 본 실험에 사용한 재료보다 더 어린 상태의 소화경을 채취하여 배양한다면 신초형성

율을 증가시킬 수 있다고 생각되었다. 한편 사이토키닌의 종류별 기관형성 정도는 상당한 차이가 있었는데 이는 식물 및 절편체의 종류에 따라서도 적정 사이토키닌의 종류와 농도에 차이가 있다는 것을 의미한다.

신초형성에 유리한 생장조절제 선발은 Kinetin보다는 BA나 2iP처리가 효과적이었다.

Table 2. Effect of two cytokinins and two gelling agents on organogenesis from *in vitro* culture shoot tips of *Rehannia glutinosa* after 5 weeks in culture

| Cyto- kinin (mg/l) | | No. shoot /explant (\pm SE) | Mean shoot length (cm \pm SE) | Rootin (%) | Mean root length (cm \pm SE) | Vitrifi- cation |
|--------------------------|----------------|--------------------------------------|---------------------------------------|---------------|--------------------------------------|--------------------|
| Control | Bacto agar | 1.9 \pm 0.7 | 1.3 \pm 0.5 | 50 | 1.4 \pm 0.6 | - |
| | Gelrite | 2.7 \pm 0.7 | 2.2 \pm 0.6 | 0 | - | + |
| 0.3 | Bacto agar | 2.2 \pm 0.5 | 1.5 \pm 0.5 | 0 | - | - |
| | Gelrite | 2.2 \pm 0.9 | 3.7 \pm 0.1 | 0 | - | ++ |
| 1.0 | Bacto agar | 2.2 \pm 0.7 | 1.8 \pm 0.6 | 0 | - | - |
| | Gelrite | 3.5 \pm 1.3 | 2.0 \pm 0.7 | 0 | - | +++ |
| BA | 3.0 Bacto agar | 5.6 \pm 2.1 | 1.8 \pm 0.8 | 0 | - | - |
| | Gelrite | 4.0 \pm 0.8 | 2.2 \pm 0.2 | 0 | - | +++ |
| 5.0 | Bacto agar | 7.8 \pm 2.3 | 1.6 \pm 0.4 | 0 | - | + |
| | Gelrite | 6.4 \pm 1.7 | 1.5 \pm 0.7 | 0 | - | +++ |

| Cyto- kinin (mg/l) | | No. shoot | Mean shoot | Mean | | Vitrifi- cation |
|--------------------------|----------------|-------------------------|-------------------------|---------------------|-------------------------|--------------------|
| | | /explant (\pm SE) | length (cm \pm SE) | Root in root (%) | length (cm \pm SE) | |
| Kinetin | 0.3 Bacto agar | 2.6 \pm 0.7 | 1.5 \pm 0.5 | 50 | 1.9 \pm 0.7 | - |
| | Gelrite | 1.8 \pm 0.8 | 2.4 \pm 0.5 | 0 | - | + |
| | 1.0 Bacto agar | 2.6 \pm 0.7 | 1.3 \pm 0.4 | 17 | 2.8 \pm 0.6 | - |
| | Gelrite | 3.0 \pm 0.8 | 2.5 \pm 1.0 | 0 | - | + |
| | 3.0 Bacto agar | 3.7 \pm 1.4 | 1.5 \pm 0.4 | 17 | 2.5 \pm 0.9 | - |
| | Gelrite | 3.0 \pm 1.3 | 2.5 \pm 1.0 | 0 | - | + |
| | 5.0 Bacto agar | 4.5 \pm 1.2 | 1.4 \pm 0.7 | 0 | - | + |
| | Gelrite | 3.6 \pm 1.3 | 1.8 \pm 0.8 | 0 | - | + |

* Z Bacto agar = 0.8%, Gelrite = 0.2%

Y - =none : + + mild : ++ = moderate ; +++ = severe.

Addenda to the Murashige - Skoog medium was as follow : 0.3mg/l IAA.

BA와 Kinetin의 농도를 달리하고 Bacto agar와 Gelrite가 첨가된 MS배지에 기내 생산된 정단을 재배양해 본 결과는 표2와 같다.

절편체당 평균 신초형성수는 BA나 Kinetin 1.0mg/l 첨가구와 대조구를 제외하고는 Gelrite 첨가구보다 Bacto agar 첨가구에서 증가하였고 Kinetin 보다는 BA첨가구에서 신초형성수가 증가하였다. 그러나 형성된 신초의 생장은 BA나 Kinetin에 관계없이 거의 일정하였는데 Bacto agar처리구보다는 Gelrit 첨가배지에서 다소 양호하였다.

재생된 식물의 투명화 정도를 보면 Kinetin 보다는 BA가, Bacto agar 보다는 Gelrite 첨가구에서 심하게 나타났다. 이와 같이 agar의 종류에 따라서 투명화 발생정도나 신초형성수 및 생장에는 차이가 있었는데 이는 agar의 종류에 따른 배지의 산도변화 정도, 전기 전도도 차이, 수분함량 및 agar내 포함되어 있는 다량과 미량요소의 함량 차이 등에 의해서 발생되었다고 생각되며 이와 같은 보고는 사과나 배의 조직배양시에도 보고된 바 있다.

또한 장미의 줄기생장이나 거베라의 생체중에도 현저한 영향을 미치느 라이락 조직배양시에는 agar의 종류에 따른 기관형성고라 생장정도는 크게 영향을 받지 않는다고하여 배양식물에 따른 agar의 반응에는 다소 차이가 있는 것 같다. 형성된 신초의 정도를 보면 전반적으로 광도가 높아질수록 초장은 감소하는 경향이었고, Gelrite처리구에서는 0.15~0.2%에서, Bacto agar에서는 0.4%에 최대의 생장이 이루어졌으며 이보다 농도가 증가하면 신초의 생장은 억제되었다. 투명화 묘의 판정기준이 될 수 있는 생체중 : 건물중의 비율을 보면 광도가 높아질수록 Gelrite나 Bacto agar의 농도가 증가할수록 감소하는데 Gelrite 보다는 Bacto 처리구에서 생체중 : 건물중의 비중이 낮았다.

신초증식용 배지에 활성탄을 0.1~1.0%로 5등분하여 첨가해본 결과 생체중은 마디 조직에 비해 정단을 배양했을 때 전반적으로 증가하였고 0.7~1.0%의 고농도에서는 저농도보다 생체중이 감소하였다.

Table 3. Shoot formation and subsequent growth as affected by activated charcoal from shoot tip and node culture of *Rehannia glutinosa* after 5 weeks in culture.

| Explant | Activated Charcoal (%) | No. shoot /explant (\pm SE) | Mean shoot length (cm \pm SE) | No. roots /explant (%) |
|----------|------------------------|--------------------------------|---------------------------------|------------------------|
| Shoottip | 0.1 | 1.6 \pm 0.5 | 3.8 \pm 0.8 | 10.6 \pm 1.9 |
| | 0.3 | 1.8 \pm 0.7 | 4.4 \pm 0.5 | 9.3 \pm 2.6 |
| | 0.5 | 1.8 \pm 0.7 | 4.5 \pm 0.7 | 9.1 \pm 2.7 |
| | 0.7 | 1.9 \pm 0.6 | 2.3 \pm 0.7 | 5.9 \pm 1.6 |
| | 1.0 | 2.8 \pm 0.4 | 4.0 \pm 0.8 | 7.9 \pm 1.1 |
| Nodebud | 0.1 | 1.1 \pm 0.3 | 3.2 \pm 0.9 | 7.1 \pm 1.9 |
| | 0.3 | 1.9 \pm 0.3 | 3.8 \pm 0.7 | 9.3 \pm 1.7 |
| | 0.5 | 2.1 \pm 0.6 | 4.1 \pm 1.0 | 6.8 \pm 1.3 |
| | 0.7 | 2.2 \pm 0.5 | 4.4 \pm 0.7 | 8.0 \pm 2.6 |
| | 1.0 | 1.5 \pm 0.5 | 3.7 \pm 0.7 | 5.7 \pm 0.8 |

| Explant | Activated Charcoal (%) | Mean length (cm \pm SE) | Fresh wt /explant (g \pm SE) | Vitrification |
|----------|------------------------|---------------------------|--------------------------------|---------------|
| Shoottip | 0.1 | 2.6 \pm 0.8 | 0.90 \pm 0.22 | - |
| | 0.3 | 2.2 \pm 0.7 | 0.75 \pm 0.11 | + |
| | 0.5 | 2.3 \pm 0.7 | 0.78 \pm 0.15 | - |
| | 0.7 | 2.0 \pm 0.5 | 0.70 \pm 0.23 | - |
| | 1.0 | 2.7 \pm 1.4 | 0.72 \pm 0.22 | + |
| Nodebud | 0.1 | 2.4 \pm 0.7 | 0.47 \pm 0.14 | - |
| | 0.3 | 1.3 \pm 0.7 | 0.51 \pm 0.09 | + |
| | 0.5 | 3.1 \pm 0.8 | 0.48 \pm 0.10 | - |
| | 0.7 | 1.8 \pm 0.3 | 0.44 \pm 0.09 | - |
| | 1.0 | 3.8 \pm 1.0 | 0.37 \pm 0.11 | + |

* Z - =none : + mild

Addenda to the Murashige - Skoog medium was as follow :

0.3mg/l IAA, 5.0mg/l BA and 0.6% Bacto agar

신초형성수를 보면 활성탄 첨가시에는 생장조정물질이 첨가되었음에도 불구하고 절편체당 1.1~2.7개로 활성탄의 농도에 관계없이 현저히 감소한 반면 신초의 평균생장은 2.3~4.5cm로 현저히 증가하였다. 또한 뿌리형성수 및 생장이 신초증식용 배지에서 보다 현저히 증가하였을 뿐만 아니라 투명화 묘의 발생빈도도 감소하였다. 따라서 신초증식용 배지에서 증식시킨 다수의 신초를 포장에 옮겨 심기전 개개로 분리하여 활성탄이 첨가된 배지로 옮기면 뿌리의 형성과 동시에 건전한 묘로 생장시킬 수 있는 좋은 방법이라 생각되었다.

그러나 BA와 IAA가 첨가되었음에도 불구하고 현저히 감소한 것은 타식물의 조직배양에서는 잘 관찰되지 않는 지황조직배양의 특징이라 생각되었다. 조직배양시 배지내 활성탄소의 첨가는 배양조직으로부터 분비되는 생장 저해물질의 흡수, 캘러스의 생장억제, 체세포배 형성의 촉진 및 발근촉진 등의 효과가 있다고 알려져 있으나, 가장 현저한 특징은 배지내 첨가한 생장조절제를 흡수하는 것으로 0.5%의 활성탄은 배지내 첨가된 1.0mg/l NAA와 10.0mg/l BA를 제거한다고 알려져 있어 이러한 원인으로 인하여 신초형성수가 현저히 감소되었다고 추측된다.

나. 조직배양묘의 Virus 검정

전자현미경(SEM)과 지표식물을 이용하여 바이러스 이병여부를 조사한 결과 국내 재래종과 중국도입종에서 막대형이 TMV와 사상형인 PVX 바이러스가 검출되었다.

조직배양중에서는 SEM에서는 검출되지 않았으나 지표식물 검정에서 일부 경미하게 보이므로 추후 생장점 배양주에 대한 바이러스 정밀검정 후 우량 종묘 대량생산하여 농가 보급이 가능할 것이다.

Table 4. Virus detection of leaves from field grown and tissue cultured plant by transmission electron microscopy in *R. glutinosa*

| Source | Specimen No | | Virus particle type | | |
|--------------------------|-------------|---------------|---------------------|----------|----------------|
| | Observation | Infection (%) | Rod | Filament | Rod + Filament |
| Field grown plants | 17 | 10(58.8) | 5 | 2 | 3 |
| Tissue cultured plantlet | 37 | 9(24.3) | 4 | 4 | 1 |
| -Meristem culture | 24 | 4(16.7) | 2 | 2 | 0 |
| -Callus culture | 13 | 5(38.5) | 2 | 2 | 1 |

Table 5. Reaction on the indicator plants for TR1 isolated from *R. glutinosa*.

| Indicator plant | Reaction on leaves ^z | |
|--|---------------------------------|---------|
| | Inoculated | Uppered |
| <i>Chenopodium amaranticolor</i> | NL | - |
| <i>Chenopodium quinoa</i> | CL | CL |
| <i>Gomphrena globosa</i> | NL | CL,M |
| <i>Nicotiana glutinosa</i> | NL | - |
| <i>N. rustica</i> | NL | SM |
| <i>N. bentamiana</i> | NL | SM |
| <i>N. clevelandii</i> | NL | SM |
| <i>N. tabacum 'Ky-57'</i> | NL | - |
| <i>N. tabacum 'X-nc'</i> | NL | - |
| <i>N. tabacum 'Samsun'</i> | NL | M |
| <i>N. tabacum 'Bright Yellow'</i> | NL | SM |
| <i>Phaseolus vulgaris 'Suwonjarae'</i> | - | - |
| <i>Tetragonia expansa</i> | CL | - |
| <i>Vicia faba</i> | - | - |
| <i>Vigna sesquipedalis</i> | - | CL, M |
| <i>Physalis floridana</i> | CL | - |
| <i>Datura stramonium</i> | NL | - |
| <i>Cucumis sativus</i> | - | - |
| <i>Lycopersicon esculentum</i> | - | - |
| <i>Capsicum annuum</i> | NL | - |

^z NL : Necrotic local, CL : Chlorotic local, M : Mosaic,
SM : Severe mosaic.

Table 6. Serological reaction in agar gel diffusion test.

| Antiserum | Reaction for purified virus |
|------------------------------------|-----------------------------|
| Odontoglossum ringspot virus(ATCC) | - |
| Radish mosaic virus (Korea) | - |
| Tobacco mosaic virus - O (Japan) | - |
| Tobacco mosaic virus - P (Japan) | - |
| Tobacco mosaic virus - P (Korea) | + |
| Tobacco mosaic virus - T (Japan) | - |
| Tobacco mosaic virus - cym (Korea) | - |

생장점 배양은 바이러스 무병주 생산을 위하여 영양번식 작물에서 주로 이용되는데, 영양번식을 주로 하는 지황의 바이러스 감염정도를 주사전자현미경으로 검경한 결과는 표 16과 같다. 재배포장의 경우 바이러스 이병율은 59%로 매우 높은 반면, 배양식물체는 24%로 낮게 조사되었는데, 검출된 바이러스는 막대형인 TMV와 사상형은 PVX로 동정되었다. 생장점 배양과 엽유래 캘러스에서 분화한 식물체를 구분하여 바이러스 감염을 조사한 결과, 생장점배양의 경우 24개체중 4개체에서 바이러스가 관찰되어 감염율이 16%였고 엽조직 유래 캘러스에서 분화된 식물체에서는 13개중 5개에서 검출되어 38%로 조사되었다. 생장점 배양의 경우 바이러스는 감염율이 떨어졌지만 일부 개체에서 보여짐에 따라 배양 생장점의 크기를 정밀하게 치상할 필요가 있다고 생각된다. 또한 지황 바이러스를 지표식물에 접종하였을 때 반응은 표 5와 같으며 명아주, 담배 등 대부분의 배지 식물의 엽표면과 이면에서 반점을 나타냈다.

지황에서 분리한 바이러스를 배지에 접종하였을 때 대부분 양성으로 나타냈다 (표 6).

다. 중국도입종 지황의 재배기술 연구

1) 종근저장 조건, 토성의 영향

재래종과 도입종을 저장조건별로 종근 부패율을 조사한 결과 재래종 농가관행이 62.9%가 부패한 반면 80cm 노천매장에서 19.3%로 현저히 감소하였고 도입종도 비슷한 경향을 보였다.

이는 고구마 저장고에서는 저장기간 중의 평균온도가 13°C로 종근의 호흡량 증대와 수분감소로 부패율이 25.7%로 비교적 높았으며 농가관행으로 이용되는 상온 방치조건에서는 보관중의 고온과 저온의 교호상태로 저장성이 가장 저조한 것으로 조사되었고 노천매장에 의해 부패율이 현저히 감소시킬 수 있음을 알았다.

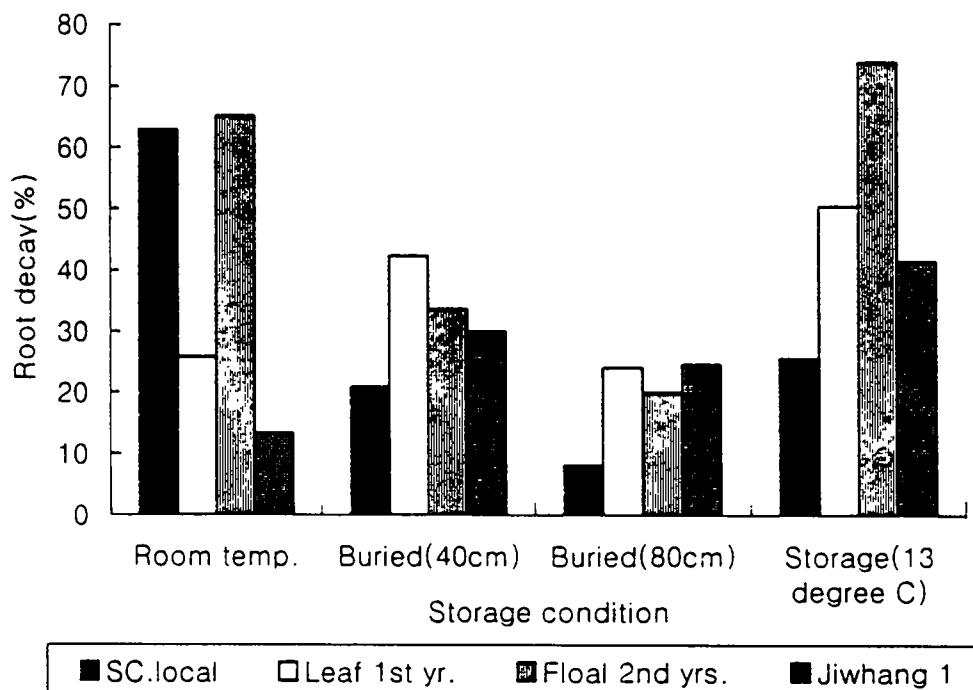


Fig. 1. Effect of storage condition on dacay of stock root in *R. glutinosus*

토양의 종류에 따라서는 차이를 보였는데 지상부의 생육은 유사한 반면 근수와 근중 등의 지하부 생장은 큰차이를 보였다(표 7). 식양토에서는 근수가 9.2개로 사양토와 양토에 비하여 약 절반이 형성되지 않아 근중도 가장 낮았다. 가장 좋은 생육은 양토로 주당근중이 125g 조사되어 가장 양호하였는데 이는 배수가 좋을 경우 양토 또는 식양토가 지황재배에 적합한 것으로 사료된다.

Table 7. Plant growth characteristics of *R. glutinosa* by soil texture.

| Soil | Plant height (cm) | No. leaves | Root | | No. | Root(g) weight/ plant | Yield | |
|------------|----------------------|------------|----------------|------------------|------|-----------------------------|--------|-------|
| | | | Length (cm) | Diameter (mm) | | | kg/10a | Index |
| Sandy loam | 17.5 | 13.0 | 14.0 | 20.9 | 16.1 | 104.2 | 1,786 | 100 |
| Loam | 16.1 | 13.4 | 13.9 | 21.1 | 21.3 | 125.0 | 2,144 | 120 |
| Clay loam | 17.5 | 13.0 | 14.0 | 20.9 | 9.2 | 35.8 | 614 | 34 |

2) 휴립방법 및 재식거리

지상부 생육은 고휴와 평휴재배간에 큰 차이를 보이지 않았지만 재식거리에 따라서는 30×10cm에 비하여 30×30cm로 넓혀 줄수록 엽수, 엽폭, 엽장이 증가하는 경향을 보여 근 수확 후 뿌리 비대 생육을 비교하였다.

'96년 11월 20일에 조사한 근수량요소와 수량성은 평휴에 비하여 휴립조건에서 뚜렷이 증가하는 경향이었다.

재식밀도가 넓어질수록 개체 생장량이 증가하는 경향을 보여 평휴의 주당근중이 30×10cm에서 70.0g, 30×20cm에서 98.5g, 30×30cm에서 99.4cm였고 고휴재배의 경우도 같은 경향을 보여 30×10cm에서 86.2g, 30×20cm에서 128.0g, 30×30cm에서 134.3g을 보였다. 따라서 근생육은 평휴보다는 휴립에서 뚜렷이 증가하는 경향을 보였다. 또한 근중은 재식밀도가 넓어질수록 양호하였다(표 9).

따라서 총수량성 향상을 위해서는 재식밀도를 30×20cm로 조절하여 재배하는 것이 효율적일 것으로 생각되었다.

Table 8. Effect of ridge culture and planting density for shoot growth characteristics in *R. glutinosa*.

| Cultivation | Planting density(cm) | Shoot length(cm) | No.of leaves | Leaf width(cm) | Leaf length(cm) |
|-------------|----------------------|------------------|--------------|----------------|-----------------|
| Plain | 30×10 | 27.9 | 23.1 | 9.7 | 24.3 |
| | 30×20 | 24.7 | 20.7 | 11.2 | 23.2 |
| | 30×30 | 23.2 | 22.3 | 10.8 | 22.9 |
| Ridge | 30×10 | 24.9 | 22.5 | 9.8 | 22.1 |
| | 30×20 | 25.1 | 23.3 | 10.2 | 22.4 |
| | 30×30 | 25.7 | 25.4 | 10.4 | 23.1 |

Table 9. Effect of ridge culture and planting density for root growth characteristics in *R. glutinosa*.

| Cultivation | Planting density (cm) | Root length (cm) | No.of root | Root diameter (mm) | Root weight (g/주) |
|-------------|-----------------------|------------------|------------|--------------------|-------------------|
| Plain | 30×10 | 31.7 | 5.8 | 18.1 | 70.0 |
| | 30×20 | 32.3 | 7.1 | 20.4 | 98.5 |
| | 30×30 | 33.9 | 5.2 | 23.9 | 99.4 |
| Ridge | 30×10 | 24.8 | 9.2 | 16.1 | 86.2 |
| | 30×20 | 37.5 | 6.1 | 21.1 | 128.0 |
| | 30×30 | 30.7 | 6.4 | 25.1 | 134.3 |

3) 수확적기

지황 수확적기의 판정을 위하여 근비대 생육을 조사한 결과는 다음과 같다.

국내 재래 지황과 중국 도입지황의 근부 발육을 7월 5일경부터 10일간격으로 조사한 결과 근비대 생장량이 재래종보다 도입종에서의 증가가 현저하였고 10월 21일 현재 주당근중이 재래종 56.0g 도입종 225.2g으로 큰 차이를 보였다. 그리고 지상부 생육은 10월 중순을 가정으로 감소추세였다(표10).

따라서 근 비대생장이 급격히 증가되는 뿌리의 양분흡수를 우이한 비료의 추비시기는 7월 상순경으로 하는 것이 효과적일 것 같다.

또한 주당근중도 재래종이 56g인데 비하여 중국종은 176.1g으로 현저히 무거워 재래종에 비하여 수량성이 월등히 높았다.

Table 10. Seasonal change of plant growth characteristics after planting in *R. glutinosa* between Jiwhang 1 and Korean local.

| Date | | 7.5 | 7.15 | 7.25 | 8.9 |
|--------------|----------------|------|-------|-------|-------|
| Root weight | Seocheon local | 2.5 | 12.6 | 12.6 | 24.1 |
| (g/plant) | Jiwhang 1 | 14.6 | 105.9 | 174.7 | 174.7 |
| Shoot weight | Seocheon local | 6.3 | 15.9 | 26.0 | 26.0 |
| (g/plant) | Jiwhang 1 | 38.0 | 78.5 | 83.6 | 83.6 |

| Date | | 8.21 | 9.21 | 10.24 |
|--------------|----------------|-------|-------|-------|
| Root weight | Seocheon local | 36.7 | 50.8 | 56.0 |
| (g/plant) | Jiwhang 1 | 204.6 | 218.5 | 225.2 |
| Shoot weight | Seocheon local | 36.2 | 42.8 | 35.9 |
| (g/plant) | Jiwhang 1 | 119.8 | 121.6 | 118.8 |

4) 적정 시비량

시비 수준별로 생육시킨 결과이다. N-P-K를 9-18-20kg/10a로 조절한 경우 근수량이 1,300g으로 가장 높게 조사되었다(표 11).

유기물인 퇴비를 10a당 1, 2, 3, 4톤으로 처리하였을 때는 4M/T까지 증가할 수록 근수량도 증가하는 경향을 보였으며 3, 4M/T 수준에서 1,500g으로 가장 근비대 생육에 양호한 조건이었다.

Table 11. Plant growth and root yield according to different fertilizer level in *R. glutinosa*

| N.P.K level | Plant height (cm) | Leaf | | Root | | diameter (mm) |
|----------------|-------------------------|-------|---------------|----------------|--------|------------------|
| | | No.of | width (cm) | length (cm) | No. of | |
| Control | 18.9 | 10.6 | 8.0 | 24.7 | 8.0 | 18.1 |
| 9-9-12 | 28.5 | 12.1 | 10.9 | 22.0 | 8.0 | 19.6 |
| 9-9-18 | 29.7 | 10.3 | 9.8 | 24.2 | 7.8 | 16.5 |
| 9-9-24 | 28.5 | 10.3 | 8.6 | 28.4 | 6.6 | 18.7 |
| 9-9-32 | 26.9 | 9.6 | 8.6 | 25.2 | 5.2 | 15.8 |
| 9-12-12 | 25.7 | 11.1 | 9.8 | 25.1 | 9.9 | 18.5 |
| 9-12-18 | 27.4 | 12.5 | 9.1 | 22.0 | 4.3 | 21.0 |
| 9-12-24 | 25.7 | 8.4 | 7.9 | 25.7 | 6.3 | 15.2 |
| 9-12-32 | 27.7 | 11.8 | 10.5 | 17.0 | 8.0 | 25.0 |
| 9-18-12 | 18.5 | 14.4 | 8.4 | 19.4 | 3.3 | 13.2 |
| 9-18-18 | 25.5 | 8.6 | 9.1 | 19.9 | 4.5 | 21.4 |
| 9-18-24 | 22.9 | 10.1 | 8.2 | 21.1 | 4.9 | 20.6 |
| 9-18-32 | 28.9 | 21.0 | 12.8 | 25.8 | 10.8 | 24.4 |
| Manure 1MT | 17.6 | 7.3 | 8.6 | 24.1 | 6.4 | 11.1 |
| Manure 2MT | 21.0 | 8.1 | 9.4 | 25.6 | 8.3 | 10.5 |
| Manure 3MT | 25.7 | 9.1 | 10.5 | 23.2 | 8.3 | 15.0 |
| Manure 4MT | 24.2 | 8.7 | 10.0 | 20.4 | 6.5 | 12.7 |

| N.P.K level | Plant | | Root Quality(%) | | | |
|----------------|---------------------|---------------------|-----------------|----|----|----|
| | weight (g/plant) | weight (g/plant) | Yield (g) | L | M | S |
| Control | 200.8 | 174.2 | 950 | 47 | 30 | 23 |
| 9-9-12 | 271.4 | 191.4 | 1,220 | 32 | 50 | 18 |
| 9-9-18 | 133.3 | 94.2 | 600 | 24 | 40 | 36 |
| 9-9-24 | 150.0 | 121 | 800 | 51 | 20 | 29 |
| 9-9-32 | 127.0 | 103.0 | 750 | 61 | 18 | 21 |
| 9-12-12 | 182.9 | 133.8 | 1,100 | 40 | 46 | 14 |
| 9-12-18 | 137.0 | 105.4 | 960 | 35 | 57 | 8 |
| 9-12-24 | 82.9 | 82.9 | 1,000 | 21 | 88 | 43 |
| 9-12-32 | 197.0 | 197.0 | 1,150 | 55 | 31 | 14 |
| 9-18-12 | 26.1 | 26.1 | 300 | 40 | 52 | 8 |
| 9-18-18 | 108.5 | 108.5 | 1,170 | 66 | 18 | 16 |
| 9-18-24 | 127.1 | 127.1 | 1,300 | 67 | 25 | 8 |
| 9-18-32 | 295.0 | 295.0 | 1,250 | 69 | 20 | 11 |
| Manure 1MT | 55.0 | 55.0 | 940 | | 38 | 61 |
| Manure 2MT | 53.8 | 53.8 | 1,000 | | 41 | 59 |
| Manure 3MT | 85.0 | 85.0 | 1,500 | 13 | 53 | 34 |
| Manure 4MT | 65.3 | 65.3 | 1,500 | | 64 | 36 |

라. 천근성 계통 선발

1) 지황 1호의 특성

지황 1호는 표 12에서 보는 바와 같이 잎은 담녹색으로 재배종보다 연한색이고 광엽이며 꽃잎은 연분홍색이다. 뿌리의 겹질색도 재래종보다 옅은 담황색이며 뿌리 육질단면은 백색을 띠는 특성이 있다.

Table 12. Inherent characteristics of *Rehmannia glutinosa* variety “Jiwhang 1”

| Variety | Flower color | Leaf color | Leaf shape | Tuber color | |
|--------------|--------------|-------------|------------|--------------|--------|
| | | | | Skin | Core |
| Jiwhang 1 | light pink | Light green | Broad | Light yellow | White |
| Korean local | Pink | Dark green | Slender | Dark yellow | Yellow |

생육특성은 표 13에서 보는 바와 같이 재래종과 비교할 때, “지황 1호”的 개화기가 7월 20일로 18일 정도가 빨랐고 엽폭이 5.0cm로 재래종보다 뚜렷하게 넓은 특성을 가지고 있다. 특히 근경이 34.6mm로 재래종의 9.2mm보다 현저히 굵고 주당근중도 176.1g으로 재래종 56g보다 월등히 높았다.

표 14는 지황 1호의 품질 특성을 조사한 결과인데 지황의 지표성분으로 알려져 있는 Catalpol 함량은 0.56%로 재래종 0.71%에 비하여 다소 적었으나, 80% 메탄올 엑스함량은 70.4%로 재래종보다 다소 높은 것으로 조사 되었으며 총당 함량도 2.5%로 재래종 1.7%보다 약간 높게 조사되었다.

Table 13. Agronomic characteristics of *Rehmannia glutinosa* variety “Jiwhang 1”

| Variety | Flowering date | Leaf width (cm) | No. of leaves | Tuber diameter (cm) | No. of tuber | Tuber weight (g) |
|--------------|----------------|-----------------|---------------|---------------------|--------------|------------------|
| Jiwhang 1 | July 20 | 5.0 | 16.6 | 34.6 | 5.8 | 176.1 |
| Korean local | August 8 | 2.7 | 10.5 | 9.2 | 4.2 | 56.0 |

Table 14. Catalpol, suger and extract contents of *Rehmannia glutinosa* variety "Jiwhang 1"

| Variety | Catalpol content(%) | Total suger content(%) | Extract content(%) |
|--------------|---------------------|------------------------|--------------------|
| Jiwhang 1 | 0.56 | 2.5 | 70.4 |
| Korean local | 0.71 | 1.7 | 61.2 |

Table 15. Disease tolerance of *Rehmannia glutinosa* variety "Jiwhang 1"

| Variety | Fusarium wilt (0-9) | Root rot (0-9) | Leaf spot (0-9) |
|--------------|------------------------|-------------------|--------------------|
| Jiwhang 1 | 5 | 3 | 5 |
| Korean local | 3 | 3 | 3 |

병해에 있어 시들음병과 점무늬병은 地黃1號가 在來種보다 다소 약한 것으로 조사되었고 뿌리썩음병 이병 정도는 비슷하게 나타났다. (표 15)

2) 유전자원의 형태학적 특성

지황 수집 유전자원의 고유특성은 표 16에서 보는 바와 같이 지황 1호의 잎은 담녹색으로 재배종보다 연한색이고 광엽이며 꽃잎은 연분홍색이다. 뿌리의 껍질색도 재래종보다 옅은 담황색이며 뿌리 육질 단면은 백색을 띠는 특성이 있다. 그러나 일본종은 화색이 자색에 가까운 정도로 진하며 뿌리색도 가장 진노랑을 나타내는 특성을 보였다.

Table 16. Inherent characteristics of *Rehmannia glutinosa*

| Line ⁴ | Flower color | Leaf color | Tuber color | |
|-------------------|--------------|-------------|--------------|--------|
| | | | Skin | Core |
| Jiwhang 1 | light pink | light green | light yellow | white |
| RG-5 | pink purple | dark green | dark yellow | yellow |
| RG-6 | pink purple | dark green | light yellow | yellow |
| RG-7 | light pink | light green | light yellow | white |
| RG-8 | pink | green | yellow | yellow |
| RG-9 | pink | dark green | dark yellow | yellow |

지황 유전자원에 대한 작물학적 특성을 생육 최성기인 9월 상순에 조사한 결과는 표 17과 같으며, 공시종의 시험포장에서의 생육특성은 그림3과 같다. 지황 1호에서 선별한 RG-1, 2, 3, 4와 RG-7는 초장과 엽폭 등의 지상부 생육과 근경과 근중 등의 지하부 생장이 다른 계통에 비하여 현저하게 증가한 생장량을 보이고 있다. 지상부 생육특성에서 초장은 RG-3가 23.9cm로 가장 길었고 단양재래가 13.9cm로 가장 짧았으며, 엽폭은 RG-1가 7.1cm, RG-5가 3.9cm로 큰차이를 보였다. 식물체의 주당 엽면적은 RG-3이 788.5cm²로 높았는데 엽폭이 좁은 반면 엽수가 많은 결과였고, RG-5는 311.5cm²로 공시품종중 가장 낮았다. 지하부 생육도 종과 품종간에 큰 차이를 보였는데, 생육중기의 근경은 RG-1가 19.5mm로 가장 높았고, 단양과 서천재래가 9.4, 9.3mm, RG-6는 가장 가늘어 5.6mm로 조사되었다. 주당근중도 같은 경향을 보여 RG-1가 59.4g RG-6가 11.5g으로 낮았다.

Table 17. Plant growth characteristics of *R. glutinosa*

| Line ^z | Plant height(cm) | No. of leaves | Leaf width(cm) | Root length(cm) | No. of roots |
|-------------------|------------------|---------------|----------------|-----------------|--------------|
| RG-1 | 19.4 | 9.2 | 7.1 | 25.8 | 5.8 |
| RG-2 | 18.7 | 13.2 | 5.5 | 23.3 | 5.6 |
| RG-3 | 23.9 | 25.1 | 4.9 | 21.4 | 5.9 |
| RG-4 | 18.8 | 22.7 | 6.6 | 21.9 | 6.3 |
| RG-5 | 16.3 | 10.9 | 3.9 | 32.6 | 6.1 |
| RG-6 | 14.1 | 9.4 | 3.8 | 22.1 | 4.8 |
| RG-7 | 21.2 | 20.1 | 6.9 | 37.8 | 5.5 |
| RG-8 | 13.9 | 15.4 | 4.4 | 23.9 | 5.4 |
| RG-9 | 16.2 | 11.8 | 4.9 | 23.6 | 4.7 |

| Line ^z | Root diameter (mm) | Root weight (g/plant) | Leaf weight (g/plant) | Leaf area (cm ² /plant) |
|-------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------------------|
| RG-1 | 19.5 | 59.4 | 35.3 | 782.0 |
| RG-2 | 15.5 | 50.0 | 38.9 | 495.5 |
| RG-3 | 12.2 | 37.1 | 54.0 | 788.5 |
| RG-4 | 17.5 | 66.3 | 46.3 | 637.5 |
| RG-5 | 5.8 | 13.3 | 24.2 | 311.5 |
| RG-6 | 5.6 | 11.5 | 15.0 | 246.5 |
| RG-7 | 18.5 | 48.5 | 80.6 | 684.0 |
| RG-8 | 9.4 | 30.3 | 22.5 | 519.5 |
| RG-9 | 9.3 | 28.5 | 21.9 | 443.5 |

^z RG-1 : Selection No. 1 selected from Jiwhang 1,
 RG-2 : Selection No. 2 selected from Jiwhang 1,
 RG-3 : Selection No. 3 selected from Jiwhang 1,
 RG-4 : Selection No. 4 selected from Jiwhang 1,
 RG-5 : Selection No. 1 introduced from Japan,
 RG-6 : Selection No. 2 introduced from Japan,
 RG-7 : Selection No. 2 introduced from China,
 RG-8 : Danyang local from Korea,
 RG-9 : Seocheon local from Korea.

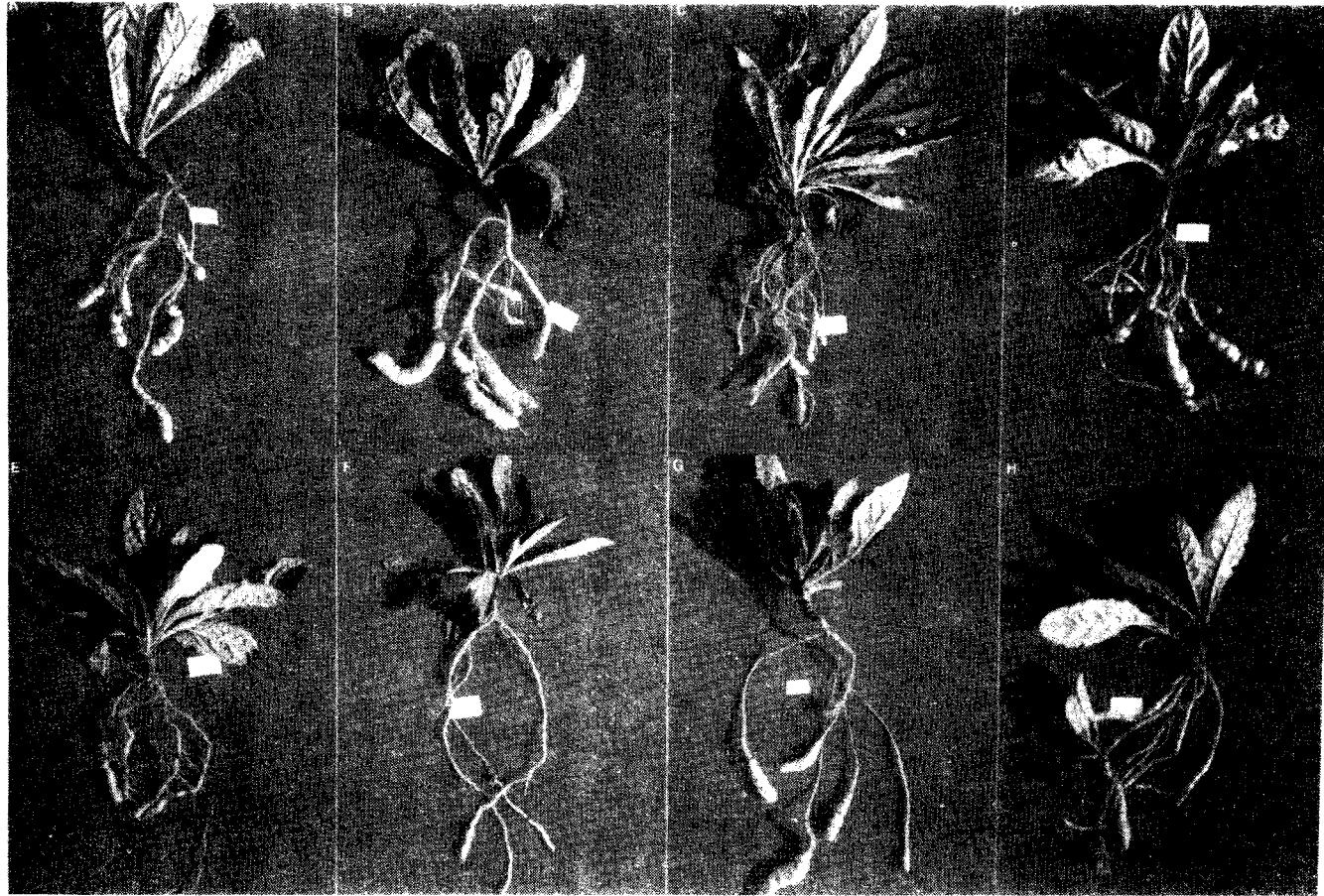


Photo. Phenotypes of *Rehmannia glutinosa* Libosch.

A : Selection No. 1 selected from Jiwhang 1,

B : Selection No. 2 selected from Jiwhang 1,

C : Selection No. 3 selected from Jiwhang 1,

D : Selection No. 4 selected from Jiwhang 1,

E : Selection No. 1 introduced from Japan

F : Selection No. 2 introduced from Japan

G : Selection No. 2 introduced from China

H : Danyang local from Korea.

RG-7은 수량 구성요소는 양호하나 심근성인 특성이 있고(그림 3G), RG-4는 근장 21.9cm, 근경 17.5mm, 그리고 주당 근중도 66.3g으로 천근다수성 계통으로 계통선발이나 육성모본으로 유용하게 활용할 수 있을 것으로 기대 된다(그림 3D). RG-3는 엽면적이 778.5cm²로 가장 높고, 엽수도 25.1매로 공시한 9종중 가장 양호한 지상부 생육특성을 보여 육종에 이용될 수 있을 것이다(그림 3C). 일본에서 도입한 RG-5는 근장이 생육중기임에도 약 33cm까지 신장하는 지하부 발달을 보이는 특성이 있었다(그림 3E). RG-7은 근장이 가장 길며 뿌리의 정부에 둥글게 비대하는 전형적인 회경지황의 특성을 보였다(그림 3G). 따라서 이런 작물학적 특성에 따른 교잡육종을 할 경우 지황수량을 증대시킬 수 있을 것으로 기대된다.

마. 지황 조작배양묘의 농가실증 시험

1) 지황 1호의 지역적응 시험

Table 18. Comparison of root growth characteristics by the cultivated region *R. glutinosa*

| Cultivate region | Root length (cm) | No. of root | Root diamdete (mm) | Root weight (g/plant) | Root yield (kg/10a) |
|------------------|------------------|-------------|--------------------|-----------------------|---------------------|
| Anseong | 23.6 | 10.9 | 28.5 | 247.5 | 2,357 |
| Jecheon | 21.1 | 18.0 | 22.2 | 227.2 | 2,158 |
| Wando | 13.8 | 7.6 | 26.1 | 288.8 | 2,740 |
| Cheongseon | 9.2 | 21.0 | 30.0 | 526.0 | 4,997 |
| Kincheon | 11.6 | 13.2 | 51.0 | 485.0 | 4,607 |
| Mean | 15.8 | 14.1 | 31.5 | 354.8 | 3,371 |

도입지황의 국내 재배적응성 검토를 위하여 전국의 5지역에서 수량성을 평가한 결과는 표 18과 같다. 충북 제천, 경기 안성과 전남 완도에서는 10a당 2,351~2,740kg 수량성을 보였고 강원정선과 경북 김천에서는 각각 4,997kg과 4,607kg의 생근 수량이 조사되어 5개지역평균 3,370kg으로 나타났다. 이는 국내 재래종의 평균수량이 500kg내외인데 비하여 현저히 증가되는 결과를 보였다.

2) 지황 조직배양묘의 특성

Table 19. Effect of stock root diameter and length on plant growth in *R. glutinosa*

| Origin | Stock root | | Plant height (cm) | Root | | | Total root weight / 5m ² |
|----------------|----------------|--------------|----------------------|------|----------------|------------------|-------------------------------------|
| | Length (cm) | Diameter(mm) | | No | Length (cm) | Diameter (mm) | |
| Seocheon local | 8 | 8.0 | 7.4 | 28.0 | 5.1 | 17.9 | 1,272 |
| Leaf cultured | 20 | 12.4 | 4.9 | 33.1 | 5.6 | 23.9 | 2,682 |
| lyr | 10 | 11.7 | 5.2 | 22.1 | 5.9 | 18.2 | 2,524 |
| stock root | 7 | 13.9 | 5.3 | 28.5 | 6.1 | 23.6 | 3,026 |
| Leaf | 20 | 16.8 | 5.2 | 27.3 | 6.6 | 22.6 | 2,665 |
| cultured 2yrs | 10 | 13.3 | 6.4 | 29.4 | 7.2 | 47.4 | 5,315 |
| stock root | 6 | 19.0 | 5.5 | 28.4 | 7.5 | 36.6 | 6,005 |

| Origin | Stock root | | Plant Height (cm) | Root | | | Total root weight/ 5m ² |
|-----------------|-------------|--------------|-------------------|------|-------------|---------------|------------------------------------|
| | Length (cm) | Diameter(mm) | | No | Length (cm) | Diameter (mm) | |
| Floral bud | 20 | 15.2 | 5.7 | 22.8 | 5.2 | 26.2 | 5,567 |
| cultured | 10 | 14.8 | 5.3 | 21.6 | 5.4 | 22.3 | 2,611 |
| 2yrs stock root | 6 | 18.8 | 5.3 | 25.6 | 5.3 | 21.8 | 3,149 |

서천재래와 엽배양 1, 2년차묘 및 화경배양 2년차 그리고 최근 도입육성된 지황 1호를 공시하여 종근의 굵기와 길이에 따른 생육 및 수량을 조사한 결과는 다음과 같다(표 19). 종근의 굵기에 따른 뿌리의 수량은 굵기가 가늘수록 증수되는 경향을 보였다. 엽배양 1년차는 2,682, 2,524, 3,026g/5m²의 수량성을 보여 서천재래주에 비하여 뚜렷하게 높았다. 이는 조직배양묘의 초기 1년차는 종근 증식용으로 이용하기 위한 증식용 세대로서 종근 굵기는 직경 7mm이며 3cm 길이를 공시한 경우 3,913g/5m²로 수량성이 가장 양호하였다. 엽배양 2세대와 화경배양 2세대는 더욱 높은 경향이었는데, 엽배양과 화경배양주의 수량성은 재배주에 비하여 월등히 뛰어났으며 종근굵기가 중간정도인 10mm 내외와 길이 5cm로 하였을 때 생육 및 수량성이 가장 양호하게 조사되었다. 엽배양 유래의 조직배양묘 2세대는 종근 굵기 6mm와 길이 3cm인 경우 6,568g/5m²의 근수량성을 보여 가장 높게 조사되었다. 지황 1호의 경우 29mm의 굵은 종근을 7cm 길이로 파종했을 경우 지상부 생육은 큰차이를 보이지 않았으나 근경이 가늘고 근중도 현저히 감소하여 수량성이 가장 낮은 결과를 보이는 특이한 현상을 나타냈는데 이는 종근이 굵고 긴 경우 종근에서 신근으로의 양분전류가 이루어지지 않고 원래 상태 그대로 남아 있는 것이 관찰되었다.

바. 조직배양주의 유리당과 Catalpol 함량비교

지황의 국내 재래종으로 서천재래와 단양재래, 신품종인 지황 1호 그리고 조직배양주를 작물시험장 표준재배법에 의해 재배한 것을 수확하여 공시한 종근굵기별 유리당과 catalpol 함량을 비교한 결과는 표 20과 같다. 전당함량은 근경의 굵기에 관계없이 지황 1호가 평균 2.5%로 서천재래 1.86%와 수원재래 1.70%에 비하여 높았다. 근경의 굵기에 따라서도 전당함량은 차이를 보였으며 중간굵기에서 지황 1호 2.91%, 서천재래 1.97%, 수원재래 2.12%로 조사되었다. 또한 지황 1호의 중간굵기와 작은굵기의 종근에서는 0.51%의 과당이 검출되었다. 조직배양 주의 당함량을 분석한 결과는 서천재래종을 공시한 엽배양 1년차와 2년차간에는 큰차이 보이지 않아 각각 1.2%, 1.1%를 조사되었다. 단양재래를 공시한 화경배양 2년차묘는 2.13%로 서천재래종에 비하여 비교적 높은 특성을 보여 품종간 차이를 알 수 있었다. Catalpol 함량은 도입선발 품종인 '지황 1호'가 0.22%인데 비하여 서천재래 0.46%, 단양재래 0.45%로 재래종이 약 2배 정도 높은 특성을 보였다. 뿌리의 굵기를 지름 23mm, 12mm, 7mm의 3종으로 구분하여 엑스함량을 조사한 결과 뿌리가 굵을수록 엑스함량은 높은 경향을 보여 지황 1호 78.7%, 서천재래 76.26% 단양재래 74.9%로 조사되었다. 조직배양주의 지표성분 함량을 조사한 결과는 서천재래종을 공시한 엽조직배양 유래의 1년차와 2년차의 catalpol 함량은 0.4%로 동일하게 조사되었고 단양재래종을 공시한 화경배양 2년차묘는 0.33%였다. 지표성분 함량은 수집종간 차이는 있었으나 조직배양주와 모식물이 큰 차이를 보이지 않아 안정적임을 알 수 있었다.

Table 20. Comparison of free sugar and catalpol contents according to root size among plants derived from tissue cultured and local cultivar on *R. glutinosa*

| Source | Root diameter (mm) | Fruc-tose | Glu-cose | Su-crose | Mal-tose -(%) | Total sugar | Catalpol | Extract |
|--|--------------------|-----------|----------|----------|---------------|-------------|----------|---------|
| Jiwhang 1 | 32 | - | 0.27 | 1.55 | - | 1.82 | 0.31 | 78.70 |
| | 20 | 0.51 | 0.15 | 2.25 | - | 2.91 | 0.19 | 76.81 |
| | 12 | 0.51 | 0.34 | 1.92 | - | 2.77 | 0.17 | 66.14 |
| | Mean | 0.51 | 0.25 | 1.91 | | 2.50 | 0.22 | 73.88 |
| Seocheon -local | 13 | 0.26 | 0.30 | 1.18 | - | 1.74 | 0.54 | 76.26 |
| | 8 | - | 0.31 | 1.66 | - | 1.97 | 0.44 | 73.02 |
| | 5 | - | 0.23 | 1.64 | - | 1.87 | 0.42 | 69.31 |
| | Mean | 0.26 | 0.28 | 1.49 | | 1.86 | 0.46 | 72.86 |
| Danyang -local | 13 | - | 0.22 | 1.39 | - | 1.61 | 0.45 | 74.90 |
| | 8 | - | 0.46 | 1.66 | - | 2.12 | 0.44 | 67.06 |
| | 5 | - | 0.33 | 1.64 | - | 1.37 | 0.47 | 65.00 |
| | Mean | | 0.34 | 1.56 | | 1.70 | 0.45 | 68.99 |
| Leaf culture 1 yr stock root | 20 | - | | 0.60 | - | 0.60 | 0.32 | 79.94 |
| | 10 | - | 0.17 | 1.23 | - | 1.40 | 0.49 | 77.56 |
| | 6 | - | 0.19 | 1.17 | 0.26 | 1.62 | 0.41 | 66.50 |
| | Mean | | 0.18 | 1.00 | 0.26 | 1.21 | 0.40 | 74.67 |
| Leaf culture 2 yrs stock root | 20 | - | | 0.38 | - | 0.38 | 0.34 | 79.34 |
| | 10 | - | 0.22 | 0.85 | - | 1.07 | 0.38 | 76.24 |
| | 6 | - | 0.20 | 1.66 | - | 1.86 | 0.48 | 67.08 |
| | Mean | | 0.21 | 0.96 | | 1.10 | 0.40 | 74.22 |
| Floral stem culture 2 yrs stock root | 20 | - | 0.27 | 1.52 | - | 1.79 | 0.36 | 76.50 |
| | 10 | - | 0.28 | 1.35 | - | 1.87 | 0.41 | 71.44 |
| | 6 | - | 0.26 | 2.47 | - | 2.73 | 0.23 | 67.94 |
| | Mean | | 0.27 | 1.78 | | 2.13 | 0.23 | 71.96 |

2. 백 출

백출직파 1년생의 파종적기를 검토한 바, 흑색비닐 피복 재배시 조파인 3.30일 파종구의 경우 출아기간은 37일이 소요되었으며 4.30일 파종구는 24일로 파종기가 높을수록 출아기간은 짧아지는 경향이었다.

출아율은 파종기 간에 대차없이 83~85%로 나타났으며 초장도 4.10일 파종구가 38.3cm, 여타 파종구는 34~36cm로 파종시기에 따른 차이가 없었으며 줄기 수 역시 2.6~3.0개로 나타나 파종기간의 차이가 없었다.

10a당 수량 및 주당 생근중은 4.10일 파종구에서 548kg, 28g/주로 가장 높았으나 파종기가 지연될수록 감소하는 경향을 보였다.

Table 1. Growth characteristics of different seeding time in one year old plant of *Atratylodes macrocephala* kiodzUMI in field condition

| Treatments | Seeding date (M.D) | Emergence date (M.D) | Emergence ratio (%) | Plant height (cm) | No.of shoot | No.of node | Shoot fresh weight (g/) | rhizome fresh weight (g/) | Yield (kg/10a) |
|----------------------|--------------------|----------------------|---------------------|-------------------|-------------|------------|-------------------------|---------------------------|----------------|
| Black vinyl mulching | Mar.30 | Apr.26 | 83 | 36.4 | 3.0 | 6.9 | 32 | 25 | 312 |
| | Apr.10 | Apr.30 | 83 | 38.3 | 2.6 | 7.6 | 27 | 28 | 548 |
| | Apr.20 | May.12 | 83 | 34.5 | 2.6 | 7.3 | 25 | 24 | 455 |
| | Apr.30 | May.14 | 85 | 34.0 | 3.0 | 7.6 | 31 | 22 | 428 |
| Control | Mar.35 | Apr.26 | 83 | 35.4 | 2.0 | 7.3 | 13 | 16 | 322 |
| | Apr.10 | May.6 | 83 | 32.5 | 1.9 | 6.7 | 13 | 17 | 401 |
| | Apr.20 | May.14 | 84 | 33.1 | 1.7 | 7.0 | 14 | 14 | 263 |
| | Apr.30 | May.15 | 83 | 30.9 | 1.2 | 6.8 | 9 | 13 | 250 |

무피복재배의 경우도 피복재배와 비슷한 경향을 보였는데, 파종기별 출아일수는 3.30일 파종시 36일이었으며 4.30일 파종시 15일로 파종기가 늦어질수록 출아기간은 짧아지는 경향이었으며 출아율은 83%로 파종기 간에 차이가 없었다.

초장은 3.30일 파종시 35.4cm, 4.30일 파종구 30.7cm보다 큰 경향이었으며 경수도 파종기가 빠를수록 많은 경향이었다. 주당 절수는 6.7~7.3개로 파종기간에 큰 차이가 없었다.

생엽중, 생근중은 4.30 파종구가 8.9g/주, 12.9g/주로 가장 적었으며 4.10일 파종구가 주당 생엽중 및 생근중이 13g/주, 17.2g/주였으며 수량은 401kg/10a로 여타 파종기보다 높게 나타났다.

이상의 결과로 보아 백출 재배시 파종적기는 흑색 PE 피복, 무피복 공히 4.10일이 파종적기로 사료된다.

Table 2. Comparsion of the plant growth characteristics in one year old *Atratylodes macrocephala* kiodzumi between non-mulching and Black Vinyl mulching treatment

| Treatments | Emergence date (M.D) | Emergence ratio (%) | Plant height (cm) | No.of shoot | Stem diameter (mm) | Shoot fresh weight (g) | Rhizome fresh weight Rhizome (g) | Yield (kg/10a) |
|----------------------|----------------------|---------------------|-------------------|-------------|--------------------|------------------------|----------------------------------|----------------|
| Black vinyl mulching | 4.30 | 83 | 38.1 | 2.7 | 5.4 | 28.2 | 29.5 | 662 |
| Control | 5.6 | 83 | 32.5 | 1.9 | 4.3 | 13.9 | 17.3 | 406 |

* Seeding date : Apr. 10

흑색 비닐 피복효과는 표 2에서 보인바와 같이 4.10일에 파종 하였을 때, 출아기는 흑색 비닐 피복재배가 무피복 재배보다 7일정도 빨랐으나 출아율은

83%로 처리간 차이가 없었다. 초장, 경수, 경태 등도 흑색 비닐 피복구가 무피복구보다 높은 경향이었으며 주당 생근중은 흑색 비닐 피복재배가 27.5g으로 무피복보다 59% 증가하였고 10a당 수량도 무피복 대비 39%의 증수를 보였다.

Table 3. Plant growth characteristics of different planting density of one year old *Atratyloides macrocephala* kiodzumi

| Row space (cm) | Hill space (cm) | Plant density /m ² | Plant height (cm) | No.of shoot | No.of node | Shoot Fresh weight (g) | Rhizome fresh weight (g) | Yield (kg/10a) |
|----------------|-----------------|-------------------------------|-------------------|-------------|------------|------------------------|--------------------------|----------------|
| 20 | 5 | 54 | 35.8 | 1.6 | 4.3 | 13.4 | 13.5 | 660 |
| | 10 | 27 | 37.9 | 1.9 | 6.6 | 14.9 | 17.2 | 520 |
| | 15 | 18 | 32.9 | 1.8 | 5.9 | 16.9 | 17.9 | 440 |
| | 20 | 16 | 37.9 | 1.8 | 6.9 | 15.0 | 17.1 | 434 |
| 30 | 5 | 36 | 39.4 | 2.2 | 4.6 | 14.7 | 14.3 | 632 |
| | 10 | 18 | 35.1 | 2.1 | 6.8 | 18.4 | 23.7 | 432 |
| | 15 | 12 | 38.7 | 2.0 | 8.2 | 19.4 | 20.0 | 374 |
| | 20 | 9 | 39.2 | 2.6 | 7.3 | 21.6 | 23.6 | 372 |

※ Seeding date : Apr. 20

백출 흑색 PE 피복재배의 적정재식밀도를 검토한 결과는 표3과 같이 초장, 절수는 재식밀도간에 차이가 적었으나 줄기수는 소식구인 조간 30cm 재식구가 밀식구인 조간 20cm 재식구보다 많았으며 주당 생엽중은 소식할수록 높은 경향이었다. 주당 생근중은 밀식구인 20×5cm, 30×5cm의 경우 각각 13.5g, 14.3g인데 비하여 소식구인 30×20cm의 경우 23.6g으로 나타나 재식밀도가 낮을수록 주당 생근중은 증가하는 경향이었다.

생근수량성은 밀식구인 조간 20cm, 주간 5cm, 3열 재식구와 조간 30cm, 주간

5cm, 2열 재식구가 660kg/10a, 632kg/10a인 반면 소식구인 조간 30cm, 주간 20cm 재식구의 생근수량은 372kg/10a으로 나타나 재식밀도가 낮을수록 10a당 생근수량은 감소하는 경향이었다.

이상의 결과에서 백출 흑색 비닐 피복 재배시 재식밀도별 10a당 생근수량성은 20×5cm, 30×5cm구가 높게 나타났으나 주당 생근중이 낮아 생약재로의 상품성이 낮을 것으로 추정되며 조간 30cm, 주간 10cm가 적정 재식밀도인 것으로 사료된다.

Table 4. Comparsion of the plant growth characteristics in one year old *Atratylodes macrocephala* kiodzumi between bud picking and control

| Treatments | Plant height (cm) | No. of leaf | No. of shoot | Stem diameter (mm) | Rhizome diameter (mm) | No. of Root | Shoot fresh weight (g/) | Rhizome fresh weight Rhizome (g/) |
|----------------|-------------------|-------------|--------------|--------------------|-----------------------|-------------|-------------------------|-----------------------------------|
| Bud picking(A) | 30.4 | 34.8 | 3.3 | 4.7 | 33.5 | 36.4 | 19.6 | 40.3(122) |
| Control (B) | 32.6 | 57.4 | 2.9 | 5.1 | 27.9 | 42.2 | 48.5 | 31.3(100) |
| % (A/B) | △7 | △65 | 12 | △9 | 17 | △16 | △147 | 22 |

백출 직파 1년생의 화회 적십효과는 표 4에서와 같이 적뇌구는 초장, 엽수가 무적뇌구에 비하여 각각 2.2cm, 22.6배 감소하는 경향이었으며 줄기수는 무적뇌구가 2.9개에 비하여 적뇌구는 12% 증가하였다.

근부 생육특성에서 근태의 경우 적뇌구 33.5mm, 무적뇌구 27.9mm로 적뇌구가 17%증가한 반면 지근수는 적뇌구가 36.4개로 무적뇌구에 비하여 16%감소하였으며 주당 생근중은 적뇌구의 경우 40.3g으로 무적뇌구 31.3g에 비하여 22%증가하였다.

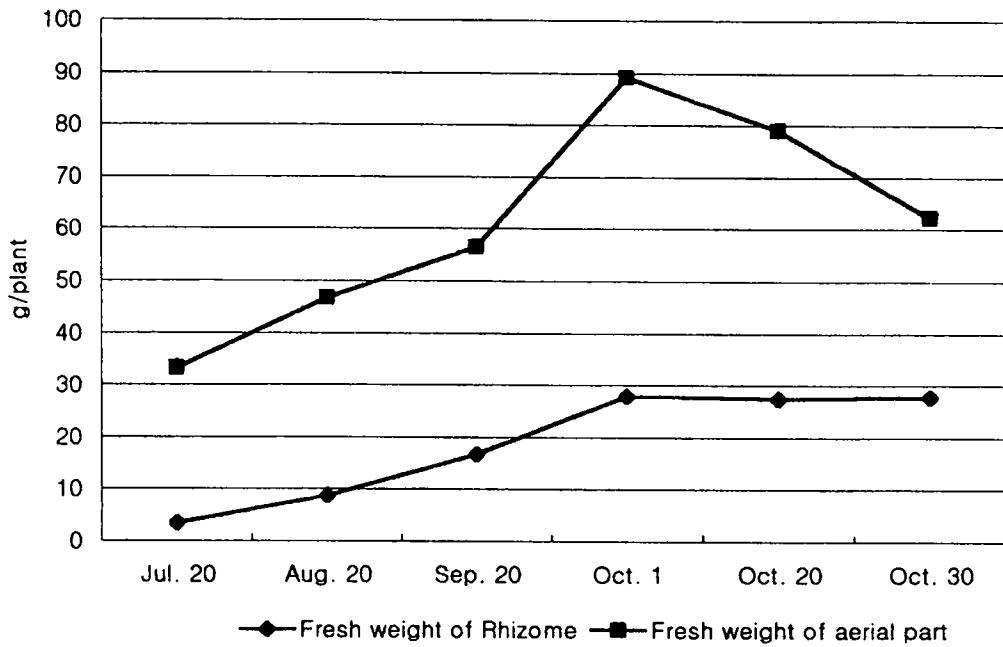


Fig 1. Seasonal growth change of one year old plant after planting in *Atratylodes macrocephala* kiodzumi

백출 근비대시기를 구명코자 시험을 수행한 결과는 그림 1과 같이 출아기 이 후 7월 중순까지는 지상부 생육은 왕성한 편이나 주당 생근중은 3.4g미만으로 근경은 거의 비대되지 않았다.

생육시기별 주당 생근중은 8월 중순 8.7g/주에서 9.20일경 16.7g, 10.1일경 27.9g으로 증가되었고 10월 이후에는 근비대가 정지되는 경향으로 나타났다. 지 상부 생엽중은 7월 이후부터 점차 증가하여 10초순경 89.1g/주로 증가한 후 점 차 감소하는 경향을 보였다.

이상의 결과에서 백출직과 재배의 수확적기는 근비대가 정지되는 10월 상순 경으로 추정된다.

Table 5. Comparison of plant growth between one and two year old plants of *Atratylodes macrocephala* kiodzumi

| Culture years | Plant height (cm) | Dry weight(g) | | | | Number of | |
|--------------------|-------------------|---------------|---------|--------|--------|-----------|------------|
| | | Roots | Rhizome | Shoots | Leaves | Leaves | Heads |
| One year old plant | 32.2 | 2.8 | 9.5 | 4.1 | 11.2 | 6.0 | 135.5 11.9 |
| Two year old plant | 43.6 | 4.1 | 28.3 | 13.6 | 28.2 | 58.2 | 392.4 51.7 |

표 5에서 백출 1년생의 식물체 부위별 건물중은 지상부인 줄기, 잎, 화례가 21.3g, 지하부인 근경 및 지근은 12.3g으로 나타났으며 근경의 무게비는 28.2%로 나타났다. 근부의 건물중은 세근 2.8g, 근경 9.5g으로 약용으로 이용할 수 없는 세근의 건물중은 29%를 차지하였다.

지상부의 건물중은 줄기 4.1g, 잎 11.2g, 화례 6.0g이였으며 지상부건물중 중 화례의 건물중이 28%로 나타났다.

백출 2년생은 줄기, 잎, 화례가 100g, 지하부인 근경 및 세근은 32.4g으로 나타났으며 근경의 건물중 비율은 21.4%로 나타났다.

근부의 건물중은 세근 4.1g, 근경 28.3g으로 세근의 건물중 비율은 12.7%를 차지하였다.

백출 1년생, 2년생의 년차간의 생육특성을 비교한 결과 초장은 1년생, 32.3cm, 2년생 43.6cm로 11.4cm 증가하였으며 약용부위인 근경은 1년생 9.5g, 2년생 28.3g으로 33.6% 증가되었으며, 화례중은 1년생 6.0g, 2년생 58.2g으로 52.2g으로 103%로 급격히 증가하였다. 화례수도 1년생, 11.9개/주, 2년생 55.7개/주로 유사한 경향을 보였다.

백출 직파 재배 농가현장 실증시험을 약용작물 주산지인 강원 정선등 3개 지역에서 수행한 결과, 초장은 충남 청양 40.3cm, 강원 정선 38.0cm, 충북 제천

39.4cm로 재배지역 간에 차이가 없었으며 화회수는 충북 제천, 충남 청양은 12.8개, 12개로 같은 경향이었으나 강원 정선은 3.3개로 낮게 나타났다.

주당 생근중은 충북 제천이 32.4g으로 가장 높았고 10a당 생근수량은 강원 정선 427kg, 충북 제천 635kg, 충남 청양 607kg으로 나타났다.

Table 6. Plant growth characters and yield in *Atratylodes macrocephala* on farmer's yield trial 1997

| Locations | Plant density/ m ² | plant height (cm) | No. of shoot | No. of node | No. of bud | Shoot fresh weight (g/) | Rhizome fresh weight (g/) | Yield (kg/10a) |
|---------------------|----------------------------------|----------------------|--------------|-------------|------------|----------------------------|------------------------------|----------------|
| Gangwean Jeogsean | 27 | 39.4 | 3.3 | 12.2 | 2.2 | 35 | 22 | 427 |
| Chungbug Jechean | 27 | 38.0 | 3.8 | 10.8 | 12.8 | 46 | 32 | 635 |
| Chungnam Cheangyang | 27 | 40.3 | 2.5 | 2.5 | 12.2 | 48 | 31 | 607 |

제 4 절 적 요

국내 지황의 생산량을 높이기 위해 중국으로부터 수집된 지황 1호의 무병종 묘 기내생산 기술과 이 품종의 재배기술을 개발코자 한 연구의 결과는 다음과 같다.

1. 적정 치상조직으로는 꽃봉우리 상태의 화경이 적합하였으며 치상조직으로부터 신초의 형성은 Kinetin에 비해 BA나 ZIP가 효과적이었으며 BA 1~3.0mg/l에서 80%, ZIP 5mg/l에서 66%의 신초형성이 가능하였다.

2. 신초의 기내발근은 IAA 0.5~1.0mg/l에서 양호하게 유도되었으며 기내에서 유도된 신초를 삽수로 하여 IBA 100ppm에 30분 침지하였을 때 기의 발근이 양호하였다. 용토는 버미큐라이트와 퍼라이트를 1:1로 혼합하는 처리가 좋았다.
3. 도입지황 재배시 적정 시비량은 N-P₂O₅-K₂O = 27-27-36kg/10a 수준이었다.
4. 적정 재식거리는 60cm 휴판 재배시 30×10cm 2열식이 유리하였으며 90cm 휴판 재배시 30×10cm 3열식이 유리하였다.
5. 종근의 저장조건은 지하 80cm 정도에 노천매장 방법이 가장 양호하였다.
6. 재배토성은 사양토에서 식양토 재배대비 25%의 증수가 가능하였으며 지역적으로는 북부지역 보다는 남부지역이 재배적지로 조사되었다.

백출 1년생 직파 재배기술을 개발하기 위하여 1996년부터 1997년까지 2년간 시험을 한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 직파재배 파종 적기는 흑색 비닐피복, 무피복 재배 공히 4월 10일 파종하였을 때 주당 생근중, 10a당 생근수량이 높았다.
2. 직파재배의 흑색 비닐 피복 재배 효과는 주당 생근중 59%, 10a당 생근수량 39%의 증수 효과를 보였다.
3. 재식밀도별 10a당 수량성은 밀식할수록 증가한 반면 주당 생근중은 소식 할수록 높았다.
4. 1년생의 화퇴 적심 효과는 무적심 대비 적심구에서 주당 생근중은 22% 증가하였으며 균경은 8월 중순에서 10월 상순사이에 급격히 비대하였다
5. 직파 1년생 재배를 위한 농가실증시험결과 주당생근중은 강원 정선 22g, 충북 제천 32g, 충북 청양 31g이였으며 10a당 생근수량은 충북 제천이 635kg으로 가장 높았다.

참 고 문 헌

1. Anon. 1979. A concise dictionary of chinese medicine. People's Health Press. Beijing.
2. 채영암, 박상언. 1993. 지황의 캘러스 유도와 혼탁배양에서 체세포배 발생. 약작지. 1(2):184-190.
3. 張相文, 姜信正, 崔姪. 1993. 地黃(*Rehmannia glutinosa*) 뿌리 중 無機成分, 遊離糖類 및 Catalpol의 生育時期別含量變化. 慶北大農學誌 11:19-23.
4. 崔仁植, 宋仁圭, 金準鎬, 趙鎮泰, 洪有基, 朴成圭. 1993. 地黃 栽植密度가 生育 및 收量에 미치는 影響. 藥作誌. 1(1):70-730.
5. 崔仁植, 金準鎬, 趙鎮泰, 洪有基, 宋仁圭, 孫錫龍. 1994. 地黃의 播種期 및 覆蓋材料가 收量에 미치는 影響. 藥作誌. 2(2):127-132.
6. 崔仁植, 朴栽成, 趙鎮泰, 孫錫龍, 鄭寅明. 1995. 地黃 栽培時 覆土깊이가 品質 및 收量에 미치는 影響. 藥作誌. 3(1):12-15.
7. 崔仁植, 朴栽成, 趙鎮泰, 孫錫龍, 鄭寅明, 李正日. 1995. 地黃 種根의 굽기와 길이가 收量에 미치는 影響. 藥作誌. 3(3):173-180.
8. 정규용, 이은섭, 오성근. 1968. 지황 영양계 분리 육성시험. 작물시험장 시험 연구보고서(특작편):731-740.
9. 韓昶烈. 1984. 植物育種의 基礎研究. 農村振興廳研究書 (10):245~356.
10. 한대석. 1992. '지황' 생약학(4판). 동명사 p 229-230.
11. 한국의약품수출입협회. 1996. '96의약품 등 수출입 실적표. pp.599
12. Hasegawa T., K. Koike, S. Takahashi, and U. Ariyoshi. 1982. Constituents of leaves and roots of Kaikei Jio(*Rehmannia glutinosa* Libosch forma *hueichingensis* HSIAO). Shoyakugaku Zasshi 36(1):1-5.

13. 지형준, 이상인. 1988. 대한약전의 한약(생약)규격집 주해서. 한국메디칼
인덱스사 pp.679.
14. 중국의학과학원 약용식물개발연구소. 1991. 중국약용식물재배학.
농업출판사. pp.1375
15. 중약자원학. 1993. 중국의약과기출판사북경
16. 김재길. 1984. 原色 天然藥物 大事典(上卷) 圖書出版 南山堂: 513.
17. 金在佶, 申永澈. 1992. 最新 藥用植物 栽培學 pp.270 南山堂
18. 金鍾奭, 金載哲. 1992. 藥用植物 地黃의 paraquat에 대한 抵抗性. 韓雜草誌
12(4):374-379.
19. 김준기, 서관석. 1981. 地黃 施肥量對 栽植距離 究明試驗. 忠南農振研究. :
292-297.
20. Kitagawa I., T. Nishimura, A. Furubayashi, and I. Yoshoka. 1971. On
the constituents of rhizome of *Rehmannia glutinosa* Libosch. forma
hueichingensis Hsiao. *Yakugaku Zasshi* 91(5):593-596.
21. Kitagawa I., Y. Fukuda, T. Taniyama, and M. Yoshikawa. 1995.
Chemical studies on crude drug processing X. On the constituents of
Rehmanniae radixes radices originating in China, Korea and Japan.
Yakugaku Zasshi 115(12):992-1003.
22. Kubo M., T. Asano, H. Matsuda, S. Yutani, and S. Honda. 1996. Studies
on *Rehmanniae Radix*. III. The relation between changes of constituents
and improvable effects on hemorheology with the processing of root of
Rehmannia glutinosa. *Yakugaku Zasshi* 116(2):158-168.
23. Kubo M., T. Asano, H. Shiromoto, and H. Masuda. 1994. Studies on
Rehmanniae radix I. Effect of 50% ethanolic extract from steamed and
dried *Rehmanniae radix* on hemorheology in arthritic and thrombotic
rats. *Biol. Pharm. Bull.* 17(9):1282-1286.

24. 이경순. 1996. 숙지황의 품질표준화 연구 pp117.
25. 이승택, 성낙술, 백기엽, 채영암, 박충현, 박상일. 1993. 부자, 지황의 기내증식 기술개발. 농촌진흥청 특정연구 보고서 pp 46.
26. Mao W.Y., Q.Q.Liu, C.S.Yu, B.M.Zhu. 1983. Studies on the meristem culture of *Rehmannia glutinosa*. Chin Bul Bot 1 : 44-46.
27. Mao W.Y., X.G.Li and B.M.Zhi. 1985. New strain of *Rehmannia glutinosa* from the culture of leaf explants In : Proc.Rep. *Rehmannia glutinosa* new strain obtained from tissue culture. Shandong Branch Chin Med Comp pp 17-21.
28. Matsumoto M., M. Nagano, Y. Shoyama and I. Nishika. 1986. New vegetative propagation method of *Rehmannia glutinosa*. Shoyakugaku Zasshi 40(2):193-197.
29. Matsumoto M., Y. Shoyama, and I. Nishioka. 1988. Effect of bacterial and virus infection on iridoid glycoside contents in *Rehmannia glntinosa* Libosch. var *purpurea* Makino. Shoyakugaku Zasshi 42(4):329-332.
30. 문관심. 1991. 약초의 성분과 이용. 일월서각 pp755.
31. 나의식, 김진기. 1996. 지황의 엽절편 배양에 의한 식물체 재분화. 식물조직 배양학회지 23(5):299-302.
32. 농촌진흥청 작물시험장. 1995. 부자, 지황의 기내증식 기술개발. 농촌진흥청 특정연구보고서 pp42.
33. 농림수산부. 1997. '96 특용작물 생산실적. pp.97
34. 大監春治, 成-義知, 井上博之 1981. 地黃の イリドイド 配糖体 の 定量分析. 生藥學雜誌 35(4):291-294.
35. 오성근, 이승택. 1980. 지모, 지황 시비량시험. 작물시험장 시험연구보고서 특작편 309-311.

36. 박주현, 박상언, 채영암. 1995. 지황의 혼탁배양에서 체세포배 형성에 관여하는 요인분석과 체세포배의 Encapsulation. 약작지 3(2):100-106.
37. 박상일. 1974. 韓國在來種 地黃에 관한 研究. 東國大學校大學院 碩士學位論文 : 1-27.
38. 박상일. 1974. 지황재배에 관한 연구. 충북대논문집 제 11단 : 269-273.
39. 박상일. 1977. 소석회와 봉소의 사용이 지황의 생육과 수량에 미치는 영향.
40. 朴炳允, 張相文, 朴秀俊, 崔 延. 1989. 土壤理化學性 및 三要素 施用量이 地黃(*Rehmannia glutinosa*)根莖 및 葉중의 無機成分含量에 미치는 影響. 韓土肥誌 22(1):45-52.
41. 朴炳允, 張相文, 崔 延. 1989. 窫素, 磷酸, 加理의 施用量이 地黃(*Rehmannia glutinosa*)根莖의 收量 및 有效成分含量에 미치는 影響. 韓土肥誌 22(2):105-110.
42. 佐作元吉. 1992. 藥用作物 栽培 と 品質評価 Part 1. 藥事日報社 pp65.
43. Shoyama Y., M.Nagano and I. Nishioka. 1983. Clonal multiplication of *Rehmannia glutinosa*. Planta Med 48 : 124-125.
44. 元道喜, 李海彬, 趙-衡, 洪南斗, 張承燁. 1991. 常用生藥의 成分定量. 聖恩出版社 pp547.
45. Xu, Z. H. 1988. *Rehmannia glutinosa* : Tissue culture and its potential for improvement. pp.501-512. In : Biotechnology in agriculture and forestry. vol 4. Medicinal and aromatic plants I. (T.P.S. Bajaj. et)