

배수화된 은조롱(*Cynanchum wilfordii*)의 시험관싹유도에 미치는 몇가지 요인의 영향

강진호, 홍희경

위대한 수령 김일성동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《약학부문에서는 화학적합성약에만 매여달리지 말고 약초재배를 늘이는것과 함께 약초의 재배방법과 리용방법을 더욱 구체적으로 연구하여 약초를 더 잘 쓰도록 하여야 하겠습니다.》(《김일성전집》 제14권 491페이지)

현시기 천연약물에 기초한 병치료가 인체에 부정적인 영향을 미치지 않는것으로 하여 광범히 리용되고있는데 그 수요는 날을 따라 높아가고있다. 그가운데서 은조롱은 여러가지 유용물질들을 포함하고있는것으로 하여 효능높은 고려약원료로 리용되고있으며 그로부터 그 생산량을 늘이는것이 매우 중요하다.

매 식물종에 따라 조직배양특성이 각이할뿐아니라 배수화된 식물체들의 배양특성도 서로 다르다.[1, 5] 선행연구[2]에서는 씨앗을 싹틔운 다음 배수화체를 처리하고 야외포전에 옮겨 자래웠지만 우리는 배수화된 은조롱의 결눈을 직접 시험관싹(4n)유도를 위한 재료로 리용함으로써 배수체의 시험관번식을 위한 기초연구를 하였다.

재료와 방법

클로로헥시딘으로 배수화처리하여 얻은[4] 은조롱(*Cynanchum wilfordii*) 2년생뿌리(4n=84)를 화분에 심어 온실안에서 자래운 다음 그것의 줄기끝, 결눈을 연구재료로 리용하였다.

줄기끝 또는 결눈이 있는 줄기(2cm)를 외식체로 리용하였는데 배지에 이식하기 전에 70% 에틸알콜에 25~50s동안 잠그었다가 0.1% 승홍용액에 14min정도 담그어 소독을 하였다.

배지로는 6-BA가 1mg/L 포함된 MS배지(pH 5.8)를 리용하였으며 배양조건은 온도 29~32℃, 비침도 1 500~2 000lx, 빛주기 18h(빛), 6h(어둠)으로 보장하였다.

결과 및 논의

배수화된 은조롱무균싹유도에 미치는 외식체종류의 영향 일반적으로 약초의 조직배양에는 결눈, 줄기끝 등이 리용[3, 6]되고있는데 먼저 우리는 외식체종류에 따르는 시험관싹유도 특성을 보았다.(표 1)

표 1에서 보는바와 같이 결눈에서는 접종후 4일경부터 새싹이 유도되었으며 28~30일경에는 3~4개의 새싹이 형성되었다.

줄기끝을 리용한 경우 일부에서 싹분화가 일어났으며 유상조직이 형성된 배양병들도 있었다. 그러므로 적합한 외식체로는 결눈을 리용하는것이 합리적이라고 볼수 있다.

표 1. 배수화된 은조롱무균싹유도에 미치는 외식체종류의 영향

외식체종류	접종체수 /개	오염된 수 /개	오염률 /%	싹유도된 수/개	싹유도률 /%	비고
결눈	20	2.0±0.2	10.6	17.0±0.2	89.1	접종 4d후 싹유도시작
줄기끝	20	3.0±0.2	15.1	7.0±0.3	34.3	접종 7d후 싹유도시작

시험장소 생물공학분원 식물조직배양연구소; 기초배지 MS배지, 6-BA 1mg/L, NAA 0.1mg/L, 온도 (25±4)℃, 비침도 1 500~2 000lx, 배양기일 30d, 반복수 3, $p<0.05$

승홍에 의한 소독시간이 배수화된 은조롱무균싹유도에 미치는 영향 표백분포화용액을 리용하여 외식체의 소독정도와 싹유도률을 검토한 결과[2]에 의하면 소독시간을 길게(15~35min) 하여도 세균이나 곰팡이오염을 막을수 없었다고 한다. 이로부터 0.1% 승홍용액을 리용하여 시험관싹유도에 미치는 소독시간의 영향을 보았다.(표 2)

표 2에서 보는바와 같이 소독시간을 길게 할수록 오염률은 낮아졌는데 25min이상부터는 소독피해가 심하여 싹유도률이 낮았으며 유도된 싹도 밑부분과 줄기가 갈변화되면서 죽었다. 소독효과는 0.1% 승홍용액으로 10~15min간 소독할 때가 좋았으며 이때 오염률은 21~28%이고 싹유도률은 71~82%로서 높았다. 그러므로 배수화된 은조롱의 무균싹유도는 결눈을 0.1% 승홍용액으로 10~15min 소독한 다음 접종하여 진행하는것이 합리적이다.

표 2. 승홍에 의한 소독시간이 배수화된 은조롱무균싹유도에 미치는 영향

소독 시간/min	오염된 수/개	오염률 /%	무균싹유도된 수/개	싹유도률 /%
5	18.0±0.2	75.3	7.0±0.2	67.4
10	7.0±0.2	28.6	18.0±0.3	82.5
15	5.0±0.1	21.4	19.0±0.2	71.3
25	3.0±0.3	13.3	6.0±0.1	24.6
30	0	0	—	—

시험장소 생물공학분원 식물조직배양연구소; 기초배지 MS배지, 6-BA 1mg/L, 온도 (25±4)℃, 비침도 1 500~2 000lx, 배양기일 30d, 구별 접종체수 25개, 반복수 3, $p<0.05$

배수화된 은조롱무균싹유도에 미치는 기초배지의 영향 약초조직배양에 리용되는 배지는 여러가지가 있으나 MS, B5, N6, NT배지들을 많이 리용하고있다.[3] 그러므로 은조롱의 시험관싹유도에 미치는 MS, B5, N6, NT배지들의 영향을 보았다.(표 3)

표 3. 시험관싹유도에 미치는 기초배지의 영향

배지 유형	싹길이 /mm	싹잎수 /개	증식가능한 싹수/개	무균싹유도된 수/개	싹유도률 /%
MS	38.5±0.3	4.9±0.2	2.6±0.3	6.9±0.2	65.1
B5	41.3±0.2	6.3±0.4	1.3±0.2	17.5±0.3	81.5
N6	43.9±0.3	6.9±0.1	1.1±0.2	17.4±0.2	70.3
NT	37.4±0.2	5.4±0.3	1.6±0.2	5.6±0.1	21.6

시험장소 생물공학분원 식물조직배양연구소; 6-BA 1mg/L, 온도 (25±4)℃, 비침도 1 500~2 000lx, 배양기일 20d, 반복수 3, 배지별 접종체수 25개, $p<0.05$

1개의 완성된 개체로 자라기 위한 그루수를 늘이는데는 큰 영향을 미치지 못한다는것을 보여주고있다. 그러므로 MS배지가 싹유도에 비교적 합리적이라고 할수 있다.

배수화된 은조롱무균싹유도에 미치는 6-BA농도의 영향 싹을 유도하는데 6-BA를 리용한데 의하면 매 식물체종별로 싹분화에 미치는 6-BA의 농도는 서로 다르다.[6] 여기서 적당한 농도를 선택하는것이 시험관싹유도률을 높이는데서 중요하다.[3]

표 3에서 보는바와 같이 B5와 N6배지들의 경우 MS와 NT배지들에 비하여 싹길이가 크고 싹잎수가 비교적 많았다. 하지만 MS배지에서 유도된 증식가능한 싹수는 다른 배지들에 비하여 많았다. 이것은 B5, N6배지들의 무기이온들이 싹분화에 좋은 영향을 주지만

배수화된 은조롱의 싹유도에 미치는 6-BA농도의 영향을 조사한 결과는 표 4와 같다.

표 4. 시험관싹유도에 미치는 6-BA농도의 영향

6-BA농도 /(mg·L ⁻¹)	싹길이 /mm	싹잎수 /개	증식가능한 싹수/개	무균싹유도된 수/개	싹유도 률/%
0.6	5.5±0.2	4.9±0.2	3.1±0.2	5.9±0.2	59.4
0.8	5.8±0.4	6.3±0.3	4.1±0.2	16.5±0.3	81.8
1.0	6.9±0.2	7.1±0.2	4.9±0.3	17.4±0.2	84.3
1.2	7.1±0.2	7.2±0.2	5.3±0.3	7.6±0.1	21.6
1.4	4.6±0.3	5.7±0.3	4.2±0.4	7.8±0.1	20.6

시험장소 생물공학분원 식물조직배양연구소; 기초배지 MS배지, 6-BA 1mg/L, 온도 (25±4)°C, 비침도 1 500~2 000lx, 배양기일 38d, 반복수 3, 구별 접종체수 20개, $p<0.05$

표 4에서 보는바와 같이 6-BA농도가 1.0, 1.2mg/L일 때 싹길이가 길고 싹잎수도 비교적 많았다. 그러나 6-BA농도가 1.2mg/L인 배지에서 유도된 싹은 증식가능한 싹수가 많은 반면에 다음번 세대 배양 4일후에 싹이 잘 자라지 않는 현상이 나타났다. 그러므로 6-BA농도가 1.0mg/L인 경우 은조롱싹유도가 비교적 잘 된다고 볼수 있다.

맺 는 말

배수화된 은조롱의 결눈을 외식체로 리용하여 0.1% 승홍액에서 10~15min간 소독을 진행하고 MS배지에 접종하는것이 싹유도에 합리적이였다. 적합한 6-BA농도는 1.0mg/L였으며 이때 싹유도률은 84%이상이었다.

참 고 문 헌

- [1] 로명숙; 식물조직배양리론, 김형직사범대학출판사, 34~43, 주체101(2012).
- [2] 장인철 등; 생물학, 3, 21, 주체105(2016).
- [3] 홍희경 등; 생물학, 2, 13, 주체104(2015).
- [4] 강진호 등; 기술혁신, 12, 21, 주체106(2017).
- [5] S. Dutta Guptu; Plant Tissue Culture Engineering, Springer, 112~150, 2005.
- [6] 林昶; 时珍国医国药, 25, 6, 2014.

주체106(2017)년 10월 5일 원고접수

Effect of Several Factors on *in vitro*-Shoot Induction of Polyploidized *Cynanchum wilfordii*

Kang Jin Ho, Hong Hui Gyong

On the study, the proper culture condition of polyploidized *Cynanchum wilfordii* was illustrated, and then effect level of several factors that affected to culture was offered.

The explants were just axillary bud, it was sterilized with 0.1% HgCl₂, for 10 or 15 minutes, the optimal concentration of 6-BA was 1mg/L, so *in vitro* propagation of polyploidized *Cynanchum wilfordii* was flourishing.

Key words: *Cynanchum wilfordii*, tissue culture