

향부자(*Cyperus rotundus* L.)시험관싹유도에 미치는 몇가지 요인들의 영향

리성, 송은희, 박철진

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《우리 나라에 풍부한 여러가지 약초와 약재를 가지고 효능높고 쓰기 편리한 고려약을 대대적으로 생산하여 의약품문제해결에서 큰 몫을 담당할수 있게 하여야 합니다.》
(《김정일선집》 증보판 제25권 399페이지)

방동사니과에 속하는 여러해살이약용식물인 향부자의 덩이줄기에는 정유, 알칼로이드, 쿠마린, 탄닌, 농마, 당, 펙틴질, 수지, 유기산 등이 들어있는데 고려치료에서 경련성배아픔, 만성자궁내막염, 이슬, 부스럼, 위염, 월경아픔, 부인병에 쓴다. 또한 해열진정약, 소화약으로 처방에 넣어 감기, 머리아픔, 배아픔, 밥맛이 없을 때에도 쓴다. 최근에는 각종 위염 및 십이지장궤양, 만성간염, 만성콩팥염치료에도 효과가 있으며 간경변, 유선증, 담낭증, 결장암수술후의 위장기능장애, 담석증, 불임증, 갑상선종대, 고혈압, 지방간, 자궁내막이상증식증에도 효과가 있다는것이 밝혀졌다.[1]

우리는 유전적안정성이 높고 병이 없는 향부자시험관모의 대량생산조건을 밝히기 위한 연구를 하였다.

재료와 방법

재료로는 온도 20~25℃, 습도 40~50%, 자연빛조건의 실험실에서 자란 향부자(일명 약방동사니)의 덩이줄기로부터 나온 각이한 크기의 싹을, 외식체로는 결면소독하여 결잎을 3~4층정도 벗긴 싹을 리용하였다.

싹유도에 미치는 재료길이의 영향은 덩이줄기로부터 싹이 나온 후 자란 크기에 따라, 소독제의 영향은 10cm 크기의 싹을 70% 에틸알콜로 0.5~1min동안 소독한 후 승홍용액에 각이한 시간 잠그는 방법으로 검토하였다.

싹유도에 미치는 기초배지의 영향은 MS, B5, N6배지를 리용하여, 그밖의 영향은 MS 배지를 리용하여 검토하였다.

싹유도에 미치는 성장조절제의 영향은 각이한 농도의 6-BA와 NAA를 리용하여 검토하였다.

배양온도는 (25±2)℃로, 빛은 1 000~1 500lx(하루에 14~16h정도)로 보장하였으며 시험구당 조사개체수는 20개로, 배양주기는 30일로 하였다.

시험관싹유도율(%)과 오염률(%), 갈변화률(%)은 다음의 식으로 계산하였다.

$$\text{시험관싹유도율} = \frac{\text{싹유도된 접종체수}}{\text{접종체수}} \times 100, \quad \text{오염률} = \frac{\text{오염된 접종체수}}{\text{접종체수}} \times 100,$$

$$\text{갈변화률} = \frac{\text{갈변화된 싹수}}{\text{싹유도된 접종체수}} \times 100$$

결과 및 논의

1) 시험관싹유도에 미치는 재료길이와 소독의 영향

재료길이의 영향 일반적으로 땅속에서 겨울을 난 덩이줄기를 외식체재료로 하는 경우 오염을 극복하는것이 매우 중요한 문제로 제기된다.[2] 먼저 결눈을 포함하는 1.0~1.5cm 크기의 덩이줄기절편을 외식체로 하여 소독영향과 싹유도효과를 보았는데 모든 시험구들에서 세균의 오염을 피할수 없었고 싹유도률도 매우 낮았다. 이것은 덩이줄기내부의 오염이 심하고 덩이줄기조직에서 떼낸 눈으로부터의 시험관싹유도도 매우 힘들다는것을 보여준다. 그러므로 우리는 덩이줄기에서 일정하게 자란 싹을 외식체로 하여 재료길이 시험관싹유도에 미치는 영향을 보았다.(그림 1)

그림 1에서 보는바와 같이 5cm(3~4일)정도 자란 싹을 외식체로 하는 경우 싹유도률은 낮았는데 이것은 어린 재료일수록 소독제에 의한 피해를 쉽게 받을수 있고 눈으로부터 싹이 트는데 필요한 여러가지 영양을 덩이줄기로부터 충분히 받지 못하였기때문이라고 볼수 있다. 한편 15cm(10일)정도 자란 싹을 외식체로 하는 경우 오염률이 80%로서 심하며 따라서 싹유도률도 매우 낮았다. 이것은 싹튼 후 싹이 야외환경에서 자라는 기간에 재료가 다른 시험구보다 많이 오염되었기때문이라고 볼수 있다.

외식체의 싹유도률은 10cm정도(7~8일) 자란 싹에서 75%로서 다른 시험구보다 높았다. 그러므로 향부자시험관싹의 유도에는 10cm정도(7~8일) 자란 싹을 재료로 리용하는것이 좋다고 보았다.

소독의 영향 먼저 표백분을 리용하여 재료의 소독과 싹유도상태를 보았는데 소독시간을 길게 하여도 배양기일이 지남에 따라 세균과 곰팡이의 오염을 피할수 없었고 그림 1에서 보는바와 같이 0.2% $HgCl_2$ 용액으로 15min 소독하는 경우 10cm 크기의 외식체오염률이 25%, 갈변화률이 35%정도였는데 이보다 소독시간을 줄이면 외식체의 갈변화률이 낮지만 오염률이 높고 소독시간을 늘이면 외식체의 오염률은 낮지만 갈변화률이 높았다.

소독제인 승홍용액의 농도에 따라 소독피해상태가 다르므로 오염과 갈변화률을 낮추면서 싹유도률을 높이기 위한 실험을 하였다. 시험관싹유도에 미치는 승홍소독시간의 영향은 그림 2와 같다.

그림 2에서 보는바와 같이 소독시간을 길게 할수록 오염률이 낮고 싹유도률은 높았는데 특히 소독시간을 25min으로 할 때 유도률은 95%이상, 오염률은 5%이하였다.

또한 0.1% $HgCl_2$ 를 리용하는 경우 소독시간 30min내에서 유도된 싹의 갈변화현상은 나타나지 않았다. 소독시간을 35min으로 한 경우 갈변화률이 25%이고 싹유도률은 75%였다. 이로부터 향부자시험관싹유도에서 외식체의 갈변화에 직접적으로 영향을 미치는 요인은 $HgCl_2$ 의 농도와 소독시간이며 $HgCl_2$ 의 농도를 0.1%로 하고 소독시간을 적당히 조절하면 외식체의 갈변화률과 오염률을 낮추고 시험관싹유도률을 95~98%로 높일수 있다는것을 알수 있다.

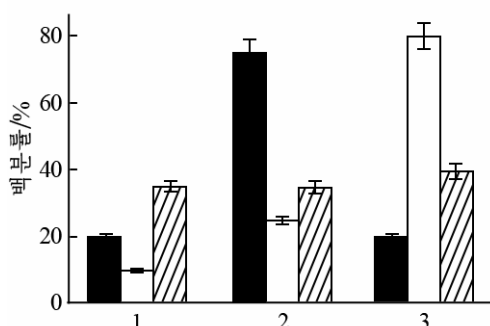


그림 1. 시험관싹유도에 미치는 재료길이의 영향

1-3은 재료길이가 각각 (5±1), (10±1), (15±1)cm 인 경우; ■ 싹유도률, □ 오염률, ▨ 갈변화률; 소독제 0.2% $HgCl_2$, 소독시간 15min, 배지 MS + 1.0mg/L 6-BA + 0.2mg/L NAA, 온도 25~28°C, 빛 2 000~2 500lx(16h/d), 배양기일 30d

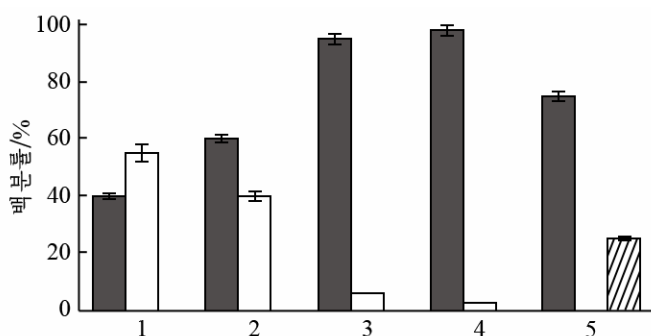


그림 2. 시험관싹유도에 미치는 승홍소독시간의 영향
1-5는 승홍소독시간이 각각 15, 20, 25, 30, 35min인 경우; ■ 싹유도율, □ 오염률, ▨ 갈변화률; 소독제 0.1% 승홍용액, 기타 조건은 그림 1에서와 같음, 외식체로는 10cm정도 자란 싹을 리용함.

그 적합한 조건은 $HgCl_2$ 농도 0.1%, 소독시간 25~30min이며 이때 시험관싹유도율은 95% 이상이었다.

2) 싹유도에 미치는 기초배지의 영향

MS, B5, N6배지를 리용하여 향부자시험관싹유도에 미치는 배지종류의 영향을 검토하였다.(표 1)

표 1. 향부자시험관싹유도에 미치는 배지종류의 영향

기초배지 종류	싹유도		싹길이/mm
	싹수/개	싹유도율/%	
B5	6	30±3	22±2
MS	20	95±4	60±3
N6	12	60±3	42±2

배양조건은 그림 1에서와 같음.

표 1에서 보는바와 같이 배지종류에 따라 싹유도상태는 차이가 심하였다.

B5와 N6배지에서 싹유도율은 각각 30, 60%로서 MS배지에서보다 낮았으며 유도된 싹의 길이도 각각 22, 42mm로서 MS배지에서보다 작았다. MS배지의 싹유도율은 95%이고 싹길이는 60mm였다. 배지의 종류에 따라 싹유도상태가 차이가 심한것은 배지의 다량무기염조성과 농도에서의 차이와 관련된다고 볼수 있다.

이 결과로부터 향부자시험관싹유도에는 MS배지를 리용하는것이 좋다는것을 알수 있다.

3) 싹유도에 미치는 6-BA와 NAA의 영향

향부자시험관싹유도에 미치는 6-BA와 NAA의 영향은 표 2와 같다.

표 2에서 보는바와 같이 싹유도상태는 6-BA와 NAA의 농도에 따라 각이하였다. 싹유도율은 6-BA농도를 높이면 높아지지만 NAA농도를 높이면 낮아지는 경향성이 있으며 싹길이는 NAA농도를 높이면 길어지는 경향성이 있었다. 싹수는 6-BA와 NAA를 적당히 조합하면 많아지는데 그 적합한 농도는 각각 1.0, 0.2mg/L였다.

일반적으로 한쌍잎식물의 시험관싹유도에서 시토키닌의 요구량은 두쌍잎식물에 비하여 높고(4mg/L이상) 아옥신의 영향은 크지 않다[2]고 하지만 향부자시험관싹유도에서 요구되는 6-BA와 NAA의 농도는 한쌍잎식물에 요구되는 농도보다 낮았는데 이것은 향부자의 생리적특성과 관련된다고 볼수 있다.

표 2. 향부자시험관싹유도에 미치는 6-BA와 NAA의 영향

성장조절제 농도/(mg · L ⁻¹)		싹유도률/%	싹수/개	싹길이/mm
6-BA	NAA			
0.5	0	15±1	1.0±0.1	55±3
	0.2	35±2	1.2±0.2	95±3
	0.5	50±2	1.0±0.2	105±5
1.0	0	85±3	1.5±0.1	35±2
	0.2	95±4	1.8±0.1	60±3
	0.5	75±1	1.2±0.1	75±3
	1.0	45±2	1.0±0.1	95±5

배양조건은 그림 1에서와 같음.

우리는 이상의 결과로부터 향부자시험관싹유도에 적합한 6-BA와 NAA의 농도를 각각 1.0, 0.2mg/L로 정하였다.

맺는 말

1) 외식체와 소독, 기초배지와 성장조절제조건을 합리적으로 조성하여 향부자시험관 싹유도율을 95%로 높였다.

2) 싹유도에 적합한 외식체는 덩이줄기로부터 10cm(7~8일)정도 자란 싹이며 합리적인 소독조건은 0.1% HgCl₂용액에서 30min이다.

3) 싹유도에 적합한 기초배지는 MS배지이며 6-BA와 NAA농도는 각각 1.0, 0.2mg/L이다.

참고 문헌

- [1] Liang-Liang Zhang et al.; Food Control, 80, 290, 2017.
- [2] 陈美霞; 植物组织培养, 华中科技大学出版社, 59~64, 2012.

주제109(2020)년 10월 5일 원고접수

Influence of Some Factors on Induction of *in vitro* Shoot of *Cyperus rotundus* L.

Ri Song, Song Un Hui and Pak Chol Jin

The suitable explant for induction of *in vitro* shoot is a bud of 10cm in size grown from tuber.

We sterilized these buds with 0.1% corrosive sublimate solution for 30minutes.

The suitable culture medium for induction of *in vitro* shoot is MS medium supplemented with 1.0mg/L 6-benzylaminopurine(6-BA) and with 0.2mg/L naphthaleneacetic acid(NAA).

We raised the percentage of induction to 95% by using above conditions.

Keywords: *in vitro* shoot, *Cyperus rotundus*, tissue culture