

삽주시험관싹유도에 미치는 몇가지 요인의 영향

리성, 송은희, 김광숙

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)

삽주는 국화과에 속하는 여러해살이약용식물로서 제약공업에서 중요한 의의를 가진다. 주성분으로 아트라틸론이 포함되어있는 삽주의 뿌리줄기는 다른 고려약초와 섞어서 구토, 소화불량, 다리부종, 오줌내기 등에 쓰이고있다.[1]

삽주는 우리 나라의 각지에서 자라지만 현재 정확한 채종체계가 없이 야생채배하고 있다.

그러므로 자연번식에 의거하지 않는 삽주의 합리적인 번식방법을 찾아내는것은 고려약재인 창출생산을 늘이는데서 매우 중요한 문제로 나선다.

우리는 조직배양방법으로 유전적안전성이 높고 병이 없는 삽주모를 대량번식시킬 목적에서 조직배양의 첫 공정인 싹유도조건을 확립하기 위한 연구를 하였다.

재료와 방법

재료로는 2018년 4월에 채집한 조선삽주(*Atractylodes koreana*)와 큰삽주(*Atractylodes chinensis*)의 3년생 식물체를 리용하였다.

먼저 봄에 채취한 뿌리줄기를 표백분포화용액으로 소독한 다음 이미전에 멸균한 모래판에 심어 싹틔우기를 하여 각이한 크기로 자래웠다. 싹유도를 위한 외식체재료로는 뿌리줄기로부터 나온 싹줄기를 리용하였다. 소독에는 0.05~0.2%농도의 승홍용액을 리용하였으며 각이한 시간(15, 20, 25, 30min)에 따라 소독효과를 검토하였다.

싹유도에는 기초배지로서 B₅, MS, N₆배지를 리용하였다. 선행연구방법[2]에 따라 성장조절제로는 6-BA 1.0mg/L, NAA 0.1mg/L를 리용하였다.

배양에서는 온도 (25±2)°C, 비침도 1 500~2 000lx, 14~16h/d, 배양기일 40일로 보장하였다.

결과 및 논의

1) 싹유도에 미치는 재료의 영향

시험관싹유도률을 높이기 위해서는 싹유도재료를 바로 선택하는것이 중요하다.[2]

먼저 각이한 크기의 싹을 소독하여 오염률을 보았는데 싹튼 후 5~10cm크기로 자란 싹이 비교적 오염률이 적었다. 그러므로 이 싹에서 결눈이 포함되게 각이한 크기의 줄기접종체를 만들어 싹유도상태를 검토하였다.(표 1)

표 1에서 보는바와 같이 조선삽주와 큰삽주의 시험관싹유도에서 접종체의 크기가 클수록 접종체오염률은 높았으며 크기가 작으면 오염률은 낮았으나 접종체가 갈변화되어 죽

표 1. 시험관썩유도에 미치는 접종체크기의 영향

재 료	접종체 크기 /cm	접종체 수 /개	오염수 /개	오염률 /%	썩유도된 접종체 수/개	갈변화 정도	썩유도를 /%
<i>A. koreana</i>	0.5	20	6	30±1	0	++++	0
	1.0	20	10	50±2	3	+++	30±1
	1.5	30	18	80±3	6	++	50±2
	2.0	10	10	100	-	++	0
<i>A. chinensis</i>	0.5	20	3	15±1	2	++	16±1
	1.0	20	6	30±1	7	+	50±1
	1.5	30	10	33±1	12	+	60±2
	2.0	10	5	50±2	1		20±1

배지 MS, 온도 25±1℃, 비침도 1 500~2 000lx, 14h/d, 소독 0.2% HgCl₂ 15min

는률이 높아져 썩유도률이 낮았다. 또한 조선삼주는 큰삼주에 비하여 갈변화정도도 높았고 재료의 오염률도 높았다. 이것은 접종체를 취하는 삼주뿌리줄기의 생리적상태와 성장 조건의 차이에 의한것이라고 본다.

총접종체당 썩유도률은 1.0~1.5cm크기의 재료에서 30~60%로서 비교적 높았으므로 이 크기의 재료를 기준으로 썩유도에 미치는 소독제의 영향을 검토하였다.

2) 썩유도에 주는 소독제의 영향

먼저 표백분포화용액을 리용하여 15~35min동안 재료를 소독하였지만 모든 구에서 세균이나 곰팡이의 오염을 막을수 없었다.

그러므로 소독제로 승홍(HgCl₂)용액을 리용하였는데 이것이 시험관썩유도에 미치는 영향은 표 2와 같다.

표 2. 시험관썩유도에 미치는 승홍(HgCl₂)용액의 농도영향

재 료	승홍농도 /%	오염수 /개	오염률 /%	썩유도된 접종체 수/개	갈변화 정도	썩유도를 /%
<i>A. koreana</i>	0.05	10	67±2	4	-	27±1
	0.1	7	47±2	8	-	53±2
	0.2	3	20±1	3	+++	20±1
<i>A. chinensis</i>	0.05	7	47±1	5	-	33±1
	0.1	5	33±1	10	-	67±2
	0.2	3	20±1	6	++	40±1

재료크기 1.0~1.5cm, 소독시간 15min, 접종수 15개, 기타 조건은 표 1과 같음

표 2에서 보는바와 같이 승홍용액의 농도에 따라 그리고 삼주의 종에 따라 오염률과 썩이 갈변화되는 정도에서는 차이가 있다. 0.1% 승홍용액처리구에서 접종체가 갈변화되지 않으므로 썩유도률은 53%로서 높았다. 0.05%에서도 갈변화는 없었지만 오염률이 높으므로 썩유도률이 낮았다.

다음으로 0.1% 승홍용액을 리용하여 시험관썩유도에 미치는 소독시간의 영향을 검토하였다.(표 3)

표 3에서 보는바와 같이 소독시간을 길게 할수록 오염률은 낮았으나 유도된 접종체의 갈변화가 심하였다. 특히 소독시간을 30min으로 하였을 때 접종체의 갈변화가 심하여 썩유도률은 20%이하로서 낮았다. 그러나 소독시간을 25min으로 하였을 때 썩유도률은 조선삼주에서 65%, 큰삼주에서 75%로서 가장 높았다.

표 3. 시험관싹유도에 미치는 소독시간의 영향

재료	소독시간 /min	접종체수 /개	오염수 /개	오염률 /%	싹유도된 접종체수/개	갈변화 정도	싹유도률 /%
<i>A. koreana</i>	20	20	3	15±1	11	+	55±2
	25	20	2	10±1	13	++	65±2
	30	15	1	0	2	++++	13±1
<i>A. chinensis</i>	20	20	2	10±1	13	-	65±2
	25	20	1	5±1	15	+	75±2
	30	15	0	0	3	++	20±1

소독 0.1% HgCl₂, 재료크기 1.0~1.5cm, 기타 조건은 표 1과 같음

이로부터 삽주시험관싹유도에는 접종체의 크기를 1.0~1.5cm로 하여 0.1% 승홍용액속에서 25min간 소독하는것이 적합하다고 본다.

3) 싹유도에 미치는 기초배지의 영향

시험관싹유도에서 기초배지는 싹유도률과 함께 유도된 싹의 성장에도 영향을 준다.[2, 3] 유도된 싹의 성장은 앞으로의 시험관싹증식에도 영향을 주므로 뿌리줄기에서 자란 5~10cm크기의 싹을 0.1% 승홍용액에서 25min동안 소독하여 1.0~1.5cm크기로 잘라 일반 조직배양에서 많이 리용되고있는 B₅, MS, N₆배지에 접종하여 시험관싹유도상태를 검토하였다.(표 4)

표 4. 시험관싹유도에 미치는 기초배지의 영향

재료	배지 종류	싹유도률 /%	싹수 /개	줄기길이 /mm	갈변화률 /%
<i>A. koreana</i>	B ₅	40±2	1.0±0.1	23±1	65±3
	MS	65±3	1.5±0.1	35±2	35±1
	N ₆	35±2	0.6±0.1	15±1	75±3
<i>A. chinensis</i>	B ₅	53±2	1.6±0.1	15±1	42±2
	MS	75±3	2.1±0.1	28±1	25±1
	N ₆	55±2	1.2±0.1	12±1	65±3

온도 (25±2)℃, 비침도 1 500~2 000lx, 14h/d, 배양기일 40d

표 4에서 보는바와 같이 기초배지가 시험관싹유도와 성장에 미치는 영향은 각이하다.

B₅, N₆배지를 리용한 시험구의 싹유도률은 35~55%이고 유도된 싹은 작았고 부서짐성이 있는 기형이었으며 싹의 밑부분이 갈변화되는 른은 42~75%이상으로서 높았다.

MS배지를 리용한 시험구의 싹유도률은 65~75%로서 새 싹이 많이 나오고 줄기도 원만하게 자라면서 기형도 적었다. 그리고 일부 싹들이 갈변화되는 른은 25~35%로서 다른 배지에 비하여 낮았다.

이로부터 삽주의 시험관싹유도에는 MS배지를 리용하는것이 적합하다고 본다.

종합적으로 보면 삽주의 종에 따라 오염률과 갈변화정도, 싹유도에서는 차이가 있었는데 조선삽주에서는 큰삽주에서보다 오염률과 갈변화정도가 높은 결과 싹유도률이 낮았다. 이것은 두종의 삽주가 자란 환경이나 식물의 생리상태에서 차이가 있기때문이라고 본다.

맺 는 말

시험관싹유도에 적합한 외식체는 뿌리줄기에서 자란 어린 싹의 결눈을 포함하는 1.5~2.0cm크기의 줄기로막이며 이것을 0.1% 승홍용액속에서 25min동안 잠금처리할 때 소독효과가 잘 나타난다. 싹유도에 적합한 기초배지는 MS배지이다.

참 고 문 헌

- [1] 백설희 등; 세계유용식물사전, 백과사전출판사, 803, 주체92(2003).
- [2] F. Chen et al.; Plant Cell Tiss. Organ Cult., 130, 73, 2017.
- [3] 李慧; 药源植物, 7, 27, 2002.

주체108(2019)년 10월 5일 원고접수

Influence of Some Factors on Induction of *in vitro* Shoot of *Atractylodes*

Ri Song, Song Un Hui and Kim Kwang Suk

We found the suitable conditions for induction of *in vitro* shoot of *Atractylodes*(*A. koreana*, *A. chinensis*) such as explant, disinfection and basic medium.

The proper explant on induction of *in vitro* shoot is a stem segment of 1.5 to 2.0cm in size that contains bud of shoot grown from rhizhom.

The suitable disinfection condition is the soaking in 0.1% solution of corrosive sublimate for 25minutes and the suitable basic medium is MS medium.

Keywords: *Atractylodes koreana*, *Atractylodes chinensis*, *in vitro* shoot induction