

균공생성 천마(*Gastrodia elata* B.)종자의 발육특징과 원구경형성에 미치는 배지성분들의 영향

리춘희, 김현철, 조충원

위대한 수령 김일성동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

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

우리는 희귀한 약재인 천마의 자원을 보호하고 늘이는데서 나서는 과학기술적문제들을 해결하기 위한 연구를 하였다.

천마는 생식생장하는 5월과 6월에만 땅우로 꽃대가 나와 꽃이 피고 그외에는 *Mycena osmundicola*, *Armillaria mellea* 등의 도움으로 발육하며 영양번식한다.[1, 2]

땅속에서의 특이한 생활주기와 종자의 난발아성, 품종적퇴화 등으로 최근에 그 보호증식을 위한 조직배양연구들이 진행[1-3]되어 시험관안 균공생종자번식체계는 확립되었지만 [1] 품이 많이 들고 공정이 복잡한것으로 하여 일련의 제한성을 가지고있으며 무균종자번식에 관한 자료는 전혀 제기된것이 없다.

본문에서는 무균종자번식체계확립에서 중요한 의의를 가지는 시험관안 무균조건에서 천마종자의 발육특징과 종자로부터의 원구경형성에 미치는 배지성분들의 영향을 밝혔다.

재료와 방법

원구경형성재료로는 인공수정후 15~17일된 미숙열매안의 종자들을 리용하였다. 종자는 열매가 터지기 전에 채취하여 0.1% 승홍에서 20min동안 소독한 후 열매를 쪼개여 무균적으로 취하였다.

기초배지로는 H, MS, KC배지를, 천연복합물로는 바나나, 감자, 도마도를 리용하였다.

배지성분들에 대한 영향검토는 농도변화에 따르는 시험구를 만들어 (20±2)°C 암조건에서 진행하였다.

종자로부터의 원구경형성과정은 쌍안현미경과 립체현미경상에서 관찰조사하였으며 원구경형성률(종자발아률)은 총 파종한 종자수에 대한 원구경을 이룬 종자수의 백분률로 평가하였다.

결과 및 논의

1) 시험관안 무균조건에서 천마종자의 발육특징

천마종자를 1/2MS합성배지에서 150일 무균배양한 다음 각이한 발육상을 조사한데 의하면 그것은 시험관안 균공생종자배양[1]에서와 같이 3단계의 발육상으로 구분되었다.(사진)

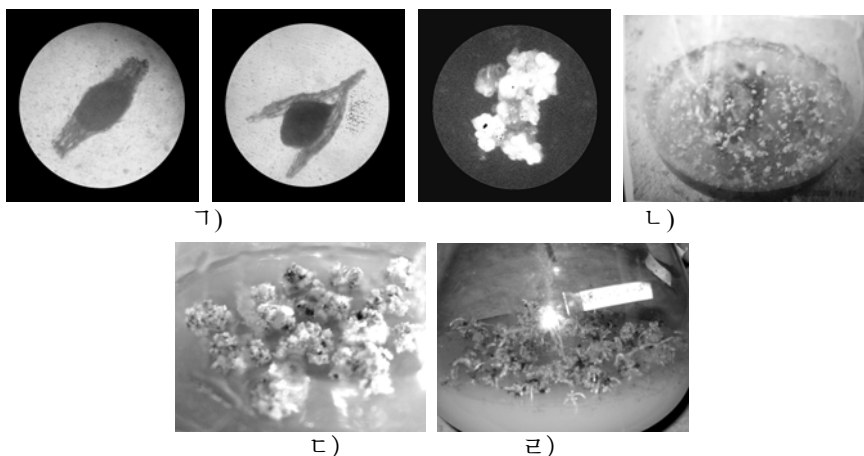


사진. 무균조건에서 천마종자의 발육과정

가) 종자발아, 나) 원구경형성, 다) 원구경증식, 라) 원구경자라기

1단계 배들이 *Mycena osmundicola* 등을 비롯한 균의 도움이 없이도 종자껍질을 뚫고 나와 구형의 원구경을 형성한다.(그림 1의 가)와 나))

2단계 원구경들은 가지치기 전에 더욱 길어진다.(그림 1의 다))

3단계 원구경의 기본축에서 결삭이 나온다.(그림 1의 라))

이로부터 시험관안 무균종자번식체계는 원구경형성(종자발아)⇒원구경증식⇒원구경자라기공정으로 이루어지는것이 합리적이라고 본다.

시험관안에서 다 자란 어린 천마식물상은 원구경자라기단계(2, 3단계)에서와 같이 일반식물과는 달리 줄기와 잎이 전혀 없고 자연계에서의 발육단계와 비교해볼 때 미마(어린마; 길이 2cm미만)에 해당되므로 결국 천마종자를 리용하여 계절에 구애됨이 없이 다량의 미마 즉 재배용종마(종자마)들을 생산할수 있다는것을 알수 있다.

2) 천마종자의 원구경형성에 미치는 배지성분들의 영향

우리는 천마의 무균종마생산에서 첫 공정이면서도 중요한 공정으로 되는 원구경형성 단계에서 종자의 싹트는률을 높이기 위하여 원구경형성에 미치는 배지성분들의 영향을 검토하였다.

천연복합물의 영향 많은 기생식물이나 란류와 같은 공생식물의 종자는 숙주식물의 뿌리

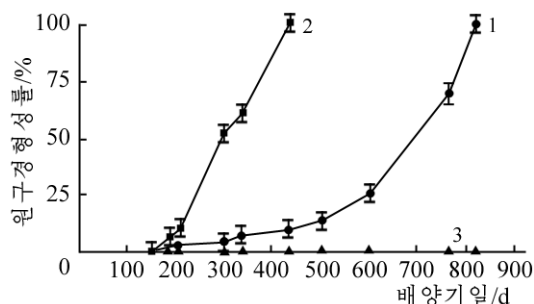


그림 1. 천연복합물의 종류에 따른 원구경형성률

1-Hba, 2-Hpo, 3-Hto

나 공생하는 균류가 내보내는 물질(실제로 란류인 경우 니코틴산아미드)이 있어야 싹튼다.[1]

우리는 란전용배지인 H배지를 기초배지로 하고 니코틴산의 좋은 원천들로 널리 리용되고 있는 바나나, 감자, 도마도즙액과 같은 천연복합물을 50g/L의 농도[3]로 첨가하였을 때 천마종자들의 원구경형성상태를 조사하였다.(그림 1)

그림 1에서 보는바와 같이 도마도즙액첨가구에서는 종자가 전혀 싹트지 않았으며 다른 시험구들에서는 1개월내에 종자들이 물을 흡수하

여 부분 상태에 있었지만 그후 인차 싹트지 않았다. 바나나구에서는 7개월경부터 종자가 싹트기 시작하여 100% 싹트는데 2년 3개월, 감자구에서는 배양 190일경에 싹튼률이 6%로서 100% 싹트는데 1년 2개월이 걸렸다. 이것은 우의 배지조건들이 싹트기에 적합치 못한것으로 하여 천마종자들이 2차싹(속싹)상태에 들어갔기때문이라고 보아지며 중요하게는 이 기간에도 배양병안에서 수년간 싹트는 능력을 잃지 않는다는것을 알수 있다.

이로부터 천마종자싹트기에는 H변경배지들가운데서 원구경형성기간이 비교적 짧은 감자를 첨가한 H_{po}배지가 효과적이라는것을 알수 있다.

배지종류의 영향 H_{po}배지에는 원예용복합비료(N : P : K=6 : 6.5 : 19)와 트립톤이 배지성분으로 포함되므로 배지제조공정은 간단하지만 원가가 비싸므로 일반적으로 널리 쓰이는 1/2MS, KC배지들과 H_{po}배지에서의 원구경형성률과 원구경형성기일을 비교하였다.(그림 2, 표 1)

그림 2와 표 1에서 보는바와 같이 H_{po}배지에서는 6개월경, 1/2MS변경배지에서는 5개월경, KC변경배지에서는 8개월경부터 종자가 싹트기 시작하여 100% 원구경을 형성하는데 모든 배지들에서 1년이상 걸렸는데 원구경형성기일이 비교적 짧은 1/2MS변경배지가 그중 효과적이라고 볼수 있다.

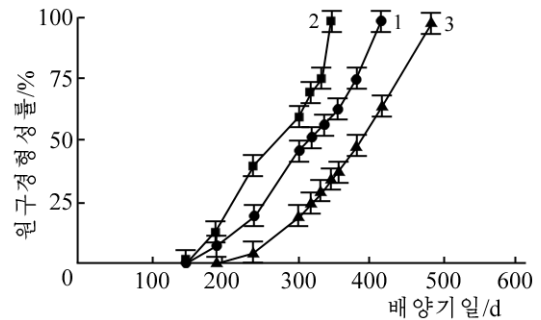


그림 2. 배지종류에 따르는 원구경형성률
1-H_{po}, 2-1/2MS변경, 3-KC변경

표 1. 배지종류에 따르는 원구경형성기일

배지명	총다량무기이온 농도 / (meq · L ⁻¹)	니코틴산합량 /(mg · L ⁻¹)	원구경형성 완료기일/d	원구경직경 /mm	배양물의 담색화세기
H _{po}	35.2	0.29	1년 2개월	1.6±0.2	+
1/2MS변경	24.8	0.5	약 1년	1.4±0.1	-
KC변경	19.9	0.5	1년 4개월	1.4±0.1	-

1/2MS변경: 1/2MS다량+MS미량+MS비타민+사탕 30g/L+우무 7.8g/L;

KC변경: KC다량+MS미량+MS비타민+사탕 30g/L+우무 7.8g/L

다음으로 천연복합물과 미량, 비타민들을 서로 조합한 합성배지들의 영향을 검토하였다.(표 2)

표 2에서 보는바와 같이 H_{po}와 1/2MS의 합성배지들에서 종자가 싹트기 시작하여 100%

표 2. 합성배지종류에 따르는 원구경형성기일

배지명	원구경형성기일/d			단축기일 /d
	50% 형성	70% 형성	100% 형성	
H _{po}	300±14	385±15	418±17	-
H _{po} 합성	225±12	297±13	329±15	89±2
1/2MS변경	242±11	319±14	350±15	-
1/2MS합성	150±8	213±11	244±12	106±4

H_{po}합성: H_{po}+MS미량+MS비타민;

1/2MS합성: 1/2MS변경+감자 50g/L

원구경을 형성하는데 걸리는 배양기일이 종전보다 각각 89, 106일 단축되었다. 이것은 천마종자가 영양물질에 대한 요구성이 매우 높으며 종자의 싹트기조건만 맞으면 싹트는 기일을 훨씬 줄이면서도 원구경형성률을 높일수 있다는것을 보여준다.

니코틴산의 영향 니코틴산이 천마종자싹트기에 필수적인 성분으로 된다[1]는데로부터 니코틴산농도에 따르는 원구경형성기일을 조사하였다.(표 3)

표 3에서 보는바와 같이 니코틴산농도를 0.5mg/L이상으로 올렸을 때 1.0mg/L에서 원

표 3. 니코틴산농도에 따르는 원구경형성기일

니코틴산농도 /(mg·L ⁻¹)	원구경형성기일/d			배양물의 밤색화세기
	50% 형성	70% 형성	100% 형성	
0.5	150±5	213±7	244±10	—
1.0	142±6	197±10	228±8	—
2.0	137±5	185±6	212±8	—
4.0	149±7	206±9	—	+
8.0	—	—	—	+++

배지: 1/2MS합성배지

당종류의 영향 자연계에서 오직 균의 도움으로만 싹트는 천마종자를 무균조건에서 배양하는 경우 당종류가 종자싹트기에 일정한 영향을 미치리라고 보고 당종류에 따르는 원구경형성기일을 조사하였다.(표 4)

표 4에서 보는바와 같이 포도당첨가구들에서는 사탕만을 리용한 시험구(대조구)에서보다 원구경형성기일이 8일이상 단축되었는데 포도당 20g/L+사탕 10g/L구에서는 종자의 50%가 원구경을 형성하는데 대조구에서보다 45일, 100% 형성하는데 47일 단축되었다. 이것은 포도당이 천마종자 싹트기에서 에네르기원천으로서 매우 필수적인 성분으로 된다는것을 보여주며 원구

경형성률을 높이기 위하여서는 보다 합리적인 배지조성을 확립해야 한다는것을 보여준다.

이로부터 천마종자싹트기에는 포도당과 사탕을 배합하여 리용하는것이 좋으며 배합비율은 포도당 : 사탕=2 : 1로 하는것이 효과적이라는것을 보여준다.

표 4. 당종류에 따르는 원구경형성기일

포도당 /(g·L ⁻¹)	사탕 /(g·L ⁻¹)	원구경형성기일/d		
		50%형성	70%형성	100%형성
0	30	137±4	185±6	212±9
10	20	125±3	177±5	204±7
20	10	92±3	139±4	165±6
30	0	114±2	152±5	194±7

배지: 1/2MS합성배지

맺 는 말

1) 시험관안 무균종자배양에서 천마종자는 수년간 싹트는 능력을 잃지 않으며 균공생 발육과정에서와 같은 3단계의 발육과정 즉 종자로부터의 원구경형성, 길이방향으로의 원구경자라기, 원구경으로부터의 결가지치기과정을 거친다.

2) 천마종자의 무균싹트기에는 H_{po}와 1/2MS의 합성배지들이 효과적이며 니코틴산의 적합한 농도는 2.0mg/L이다.

3) 포도당은 천마종자의 무균싹트기에서 필수적인 성분으로 되며 포도당과 사탕의 적합한 배합농도는 포도당 20g/L+사탕 10g/L이다.

참 고 문 헌

- [1] E. J. Park et al.; Hort. Environ. Biotechnol., 53, 5, 415, 2012.
- [2] Z. B. Huang et al.; Arch. Pharm. Res., 29, 11, 963, 2006.
- [3] 向崇高 等; 食用菌, 3, 33, 2004.

주제103(2014)년 12월 5일 원고접수

The Developmental Characteristics of the Seeds of Mycotrophic *Gastrodia elata* B. and the Effects of Media Components on the Formation of Its Protocorm

Ri Chun Hui, Kim Hyon Chol and Jo Chung Won

The seeds of *Gastrodia elata* B. don't lose their ability to shoot for several years. The developmental process can be divided into 3 step stage: the protocorm formation from the seeds, the length growth of protocorm and the growth of side branches from protocorm.

In the aseptic shooting of the seeds of *G. elata*, H_{po} and 1/2MS modified media is used widely and the suitable concentration of vitamin PP in media is 2mg/L. And the concentration of glucose and saccharose are 20, 10g/L respectively.

Key words: *Gastrodia elata*, growth, protocorm