칠색마(Dioscorea sp.)시험관싹의 유도에 미치는 몇가지 요인의 영향

리성, 박철진

위대한 수령 김일성동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《우리 나라에 풍부한 여러가지 약초를 채취하며 약초자원을 적극 조성하고 고려약생산기지를 튼튼히 꾸려 인민들의 건강을 보호증진하는데 필요한 고려약을 많이 생산하도록 하여야 하겠습니다.》(《김일성전집》제82권 454폐지)

칠색마는 마과에 속하는 넌출성여러해살이풀이다.

일반적으로 마속식물은 덩이뿌리의 영양가치와 약용가치가 대단히 높은것으로 알려져있다. 마의 덩이뿌리는 포도당, 람노즈, 농마, 단백질과 아밀라제 등을 많이 포함하고있으며 맛이 독특하고 좋으며 유해성분이 없으므로 세계적인 건강식품으로 되고있다. 또한 덩이뿌리는 디오스게닌과 놀로게닌, 스테롤, 알란토인, 수지 등을 포함하므로 위병, 설사증, 콩팥질병과 고혈압, 당뇨병, 천식, 신경쇠약, 허리와 다리아픔, 로화지연, 폐결핵, 장티부스, 부인병 등의 치료에 쓰며 여러가지 피임약과 스테로이드계통의 호르몬약품을 합성하는 기본재료로 리용되다.

칠색마는 마속식물중에서도 약용가치가 대단히 높은 마로 인정되고있다. 그러나 생장주기가 길고 환경조건 등의 영향으로 번식에서 제한을 받고있으며 오랜 기간의 영양번식 과정에 퇴화로 인하여 품질도 떨어지고있다. 그러므로 조직배양번식기술을 리용한 모생산체계를 확립하는것은 모의 질과 량에 대한 수요를 보장하는데서 큰 의의를 가진다.

우리는 칠색마의 시험관싹유도에 미치는 몇가지 요인의 영향을 고찰하고 그 결과를 종합하였다.

재료와 방법

재료로는 칠색마의 1년생 덩이뿌리를 리용하였다.

시험관싹유도를 위하여 1년생 덩이뿌리(길이 3cm, 직경 2cm)를 모래상자에 심고 온도 20~26℃의 암조건에서 키운 싹을 재료로 하였다. 기질로서 모래(1~2mm)를 리용하였다.

시험관싹유도에 미치는 외식체종류의 영향실험에서는 1년생 덩이뿌리의 끝눈과 곁눈을 포함한 줄기와 잎꼭지, 잎을 외식체로 리용하였다.

시험관싹유도에 미치는 소독시간의 영향실험에서는 끝눈과 곁눈을 포함하는 줄기를 외식체로 하여 0.1% 승홍용액으로 각이한 시간 소독하는 방법으로, 배지와 호르몬의 영향실험에서는 B5, MS, N6배지와 6-BA, NAA를 리용하였으며 기타 배양방법은 선행방법[2]에 준하였다.

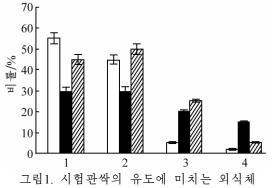
온도는 공기조화기로, 빛은 형광등으로 보장하였다. 배양기일은 60일로 하였다. 시험구당 조사개체수는 10개로, 실험은 3회 반복진행하였다.

결과 및 고찰

1) 외식체종류의 영향

시험관싹유도에서 외식체로 하는 싹유도재료를 바로 선택하는것이 매우 중요하다.

먼저 뿌리줄기의 싹트기전 눈을 재료로 하여 싹유도상태를 보았는데 모든 외식체에 서 오염이 발생하거나 오염되지 않은 외식체에서 나온 싹들은 배지와 닿은 면에서 갈변 물질이 심하게 분비되면서 죽었다. 그러므로 뿌리줄기의 눈으로부터 싹튼 후 7~10일간 자 란 싹을 재료로 하여 외식체의 종류에 따르는 시험관싹의 유도상태를 관찰하였다.(그림 1)



종류의 영향

1-끝눈을 포함한 줄기, 2-곁눈을 포함한 줄기, 3-잎꼭지, 4-잎; □-싹유도률, ■-유상조직 유도률, W-오염률; MS배지+1.0mg/L BA+0.2mg/L NAA, 온도 (25±1)℃, 및 1 000~1 500lx, 조명시간 14h, 배양시간 60d, 소독제 0.2% 승홍용액, 소독시간 20min

그림 1에서 보는바와 같이 외식체종류에 따라 시험관싹의 유도상태는 각이하였다.

모든 외식체에서 싹이 유도되였는데 끝눈 또는 곁눈이 포함된 줄기들에서의 싹유도률이 45~55%로서 제일 높았고 잎꼭지, 잎에서는 5%이하였다. 그리고 오염률은 잎, 잎꼭지에서 25%이하로서 줄기(45~50%)에 비하여 낮았다. 여기서 싹유도률과 오염률의 차이는 외식체로 리용하는 재료의 생리적상태와 오염정도의 차 이로 볼수 있다. 그리고 접종한 모든 외식체의 배지와 닿은 면에서 갈변화되는 현상이 나타났 고 동시에 유상조직이 형성되면서 1~2개의 부 정아기원싹이 유도되는데 이러한 싹은 대체로 비정상싹으로 자라거나 갈변화가 심하여 죽었 다. 앞으로 유전적안정성을 담보하는 시험관싹

의 대량증식에서 부정아기원의 싹의 리용은 불리하다. 그러므로 시험관싹유도에는 곁눈이 나 끝눈을 포함하는 줄기를 외식체로 하는것이 적합하다.

2) 소독제의 영향

곁눈이나 끝눈을 포함하는 줄기를 외식 체로 하여 표백분과 승홍을 리용한 외식체 의 소독정도와 싹유도상태를 보았는데 표백 분포화용액을 리용하는 경우 소독시간을 길 게 하여도 배양기일이 경과함에 따라 세균 이나 곰팽이의 오염을 피할수 없었으며 0.2%의 승홍을 리용하는 경우 시간을 짧게 하면 오염률이 높고 길게 하면 외식체의 갈 변화률이 높아 죽는률이 높았다. 그러므로 0.1% 승홍용액을 리용하여 싹유도에 미치는 소독시간의 영향을 보았다.(그림 2)

그림 2에서 보는바와 같이 소독시간을

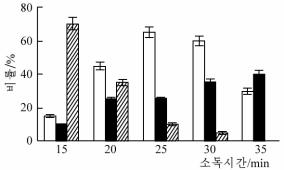


그림 2. 시험관싹유도에 미치는 승홍소독 시간의 영향

□-싹유도률, ■-갈변화률, 22-오염률; 외식체: 끝눈과 곁눈을 포함하는 줄기, 소독제 0.1% 승홍용액, 기타조건은 그림 1에서와 같음 길게 할수록 오염률이 낮았지만 반면에 싹의 갈변화률은 높았다. 특히 소독시간을 25~30min으로 하였을 때 싹유도률은 60~65%로서 높았지만 소독시간을 30min으로 하는 경우 갈변화률은 35%로서 높았다.

이로부터 칠색마의 시험관싹유도에서 끝눈과 곁눈을 포함하는 줄기를 0.1% 승홍용액으로 25min동안 처리할 때 소독효과를 높일수 있다는것을 알수 있다.

3) 기초배지의 영향

외식체의 갈변화는 상처면에서의 폴리페놀성물질의 분비, 그 산화효소의 작용과 관련 되며 이것은 소독에 의한 피해와 동시에 외식체의 생리상태와 배지의 조성과도 관련된다 [2]고 볼수 있으므로 시험관싹유도에 미치는 배지종류의 영향을 보았다.(표 1)

표 1. 시험관싹유도에 미치는 기초배지의 영향

배지종류	싹유도률/%	싹길이/mm	갈변화률/%
B5	25.5±2.5	10.0 ± 1.0	50.5±2.5
MS	65.0 ± 2.0	15.0 ± 1.0	25.0 ± 2.0
N6	45.5±3.0	8.5 ± 1.5	80.0 ± 2.5

외식체: 끝눈과 곁눈을 포함하는 줄기, 호르몬 농도 1.0mg/L BA+0.2mg/L NAA, 온도 (25±1)℃, 빛 1 000∼1 500lx, 조명시간 14h, 배양기일 60d, 소독제 0.1% 승흥용액, 소독시간 25min 표 1에서 보는바와 같이 기초배지의 종류에 따라 시험관싹유도와 싹자라기에 - 서의 차이가 심하게 나타났다. B5, N6배지 - 를 리용할 때 싹유도률은 25.5~45.5%로서 낮았고 유도된 싹의 기저부갈변화률은 - 50%이상이였는데 유도된 싹은 8.5~10.0mm정도로 자랐으며 일부 싹들은 갈변 물질의 피해로 잎이 누렇게 되고 싹기부가 물크러지면서 죽었다. 이러한 현상은 MS

배지를 리용할 때에도 있었지만 싹유도률이 65%로서 높고 싹도 15.5mm정도로 자라므로 싹유도에는 MS배지를 리용하는것이 합리적이라고 본다.

4) 6-BA와 NAA의 영향

배지에 넣은 호르몬이 싹기저부의 갈변화에 영향을 주므로[2] MS배지를 리용하면서 시험관싹의 유도와 갈변화에 미치는 6-BA와 NAA의 영향을 보았다.(표 2)

표 2에서 보는바와 같이 6-BA 와 NAA농도에 따라 싹의 유도효과는 각이하였다. 6-BA만을 넣을 때 농도가 높을수록 갈변화률이 높았고 싹길이는 5~10mm로서 작았으며 잎은 누렇게 되는 경향성이 심하였다. 그러나 6-BA농도가 낮아지고 NAA 농도가 높아지는데 따라 싹의 유도률은 높아졌으며 싹기저부의 갈변화률은 6-BA농도가 낮을수록 낮았다.특히 NAA만을 넣을 때 갈변화률은 0%였다.

일반적으로 시험관싹유도에서 시토키닌의 역할은 매우 중요하며 좋 은 영향을 준다[2]고 하지만 칠색마 -의 시험관싹유도에서는 시토키닌이

표 2. 시험관싹유도에 미치는 6-BA와 NAA의 영향

호르몬농도	$L/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	싹유도률	갈변화률	싹길이		
6-BA	NAA	/%	/%	/mm		
	0	15.5±2.5	0	20.0±1.5		
0	0.2	75.0 ± 2.5	0	45.5±2.0		
	0.5	100	0	85.0 ± 2.5		
	0	30.5±2.0	35.0 ± 2.0	10.5±2.0		
0.2	0.2	75.5 ± 3.5	15.0 ± 1.0	45.5 ± 2.0		
	0.5	90.0 ± 4.5	10.0 ± 1.0	50.5 ± 2.0		
	0	30.0 ± 3.0	55.0±2.5	5.5±2.0		
0.5	0.2	70.5 ± 3.5	20.0 ± 2.0	30.0 ± 2.0		
	0.5	85.0 ± 3.5	15.0 ± 1.5	40.5 ± 2.0		
	0	25.0 ± 2.0	65.0 ± 2.0	5.0±1.5		
1.0	0.2	65.0 ± 2.5	25.0 ± 1.0	15.0 ± 2.0		
	0.5	70.0±3.0	25.5±1.0	25.5±1.5		
기초배지 MS 기타조건은 표 1에서와 같음						

기초배지 MS, 기타조건은 표 1에서와 같음

오히려 갈변물질의 분비로 하여 싹유도에 적합지 않을뿐아니라 아욱신만으로도 싹을 유 도할수 있는데 이것은 칠색마체내의 내생시토키닌함량이 아주 높다는것을 보여준다.

이상의 연구결과로부터 칠색마의 시험관싹유도에는 0.5mg/L의 NAA을 넣은 MS배지가 적합하다는것을 알수 있다.

맺 는 말

- 1) 시험관싹유도에 적합한 외식체는 끝눈과 곁눈을 포함한 줄기이며 적합한 소독조 건은 0.1% 승홍용액에서 25min동안 소독하는것이다.
 - 2) 시험관싹유도에 적합한 배지는 0.5mg/L의 NAA를 넣은 MS배지이다.

참 고 문 헌

- [1] 김일성종합대학학보(자연과학), 61, 2, 91, 주체104(2015).
- [2] 陈美霞; 植物组织培养, 华中科技大学出版社, 59~64, 2012.

주체106(2017)년 10월 5일 원고접수

Effect of Some Factors on in vitro-Shoot Induction of Dioscrea sp.

Ri Song, Pak Chol Jin

Using explants proper for *in vitro*-shoot induction of *Dioscorea* sp., sterilization time and medium, we can increase induction ratio to 100%.

The explant proper for *in vitro*-shoot induction is stems containing a top shoot and a lateral bud, and sterilization is the best to do for 25min in 0.1% HgCl₂.

MS medium containing 0.5mg/L NAA is medium proper for in vitro-shoot induction.

Key words: Dioscorea sp., cultural condition