

천궁시험관싹유도에 미치는 몇가지 요인의 영향

송은희, 이성, 리영철

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)

천궁(*Cnidium officinale* Makino)은 미나리과에 속하는 여러해살이풀이다.

천궁의 뿌리줄기에 들어있는 크니디움락톤을 주성분으로 하는 정유와 식물체에 들어있는 쿠마린, 만니톨 등은 피흐름강화, 어혈해소, 간기능강화, 아픔뚫이작용에 효과가 있으므로 진정진경, 보혈강장, 통경약으로서 팽증, 월경불순, 산후증, 어지럼증, 머리아픔, 까들기, 빈혈, 고혈압, 협심증 등 여러가지 질병치료에 리용되고있다.[1, 3]

천궁은 우리 나라의 기후조건에서 씨앗을 잘 맺지 못하므로 뿌리줄기가름법과 줄기마디번식방법 등 영양번식방법[1]으로 번식시키고있다.

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

재료와 방법

재료로는 3년생 천궁의 뿌리줄기를 리용하였다.

천궁뿌리줄기를 모래포트에 심어 15일정도 방안(23~25℃)에서 싹틔운 다음 뿌리줄기에서 자라난 2~5cm크기의 싹을 떼냈다. 떼여낸 싹을 수도물로 씻고 표백분과 0.1% 승홍용액을 리용하여 소독하였다.

싹잎꼭지조직은 15mm정도의 크기로, 싹잎은 10mm×10mm정도의 크기로 잘라 6-BA 0.2mg/L를 첨가한 MS배지에 접종하였다. 눈은 조직에 손상이 가지 않도록 약간의 뿌리조직까지 포함하여 잘라내고 소독하여 해당한 크기로 잎원기를 벗겨 MS배지에 접종하였다.

싹유도에 미치는 소독시간의 영향은 0.1% 승홍용액을 리용하여 시간에 따라, 6-BA의 영향은 농도에 따라 고찰하였다.

배양조건은 온도 25℃, 비침도 1 500~2 000lx, 빛주기 14~16h/d, 배양기일 45일이다.

결과 및 논의

1) 외식체의 영향

일반적으로 미나리과의 약초조직배양에는 식물체의 끝눈이나 결눈, 줄기, 잎, 잎꼭지 등을 리용[2]하므로 먼저 외식체종류에 따르는 시험관싹의 유도상태를 관찰하였다.

뿌리줄기로부터의 천궁싹틔기과정을 보면 5~7일 지나서 최두로부터 직접 잎이 전개되고 20일정도 지나 잎아귀에 눈이 생기며 줄기는 환경에 따라 60~90일정도 지나서 형성된다.

뿌리줄기에서 직접 나온 잎과 잎꼭지, 뿌리줄기에서 나온 잎아귀의 눈(10mm×10mm×10mm)을 접종하여 싹유도상태를 관찰하였다.(표 1)

표 1에서 보는바와 같이 잎은 접종후 배지와 닿은 면이 팽대되면서 넓어지기는 하나 싹은 분화되지 않았으며 잎꼭지는 배지와 닿은 부분이 부풀면서 약간 길어지나 역시 싹이 분화되지 않았다. 그러나 눈은 접종후 5일 지나서 싹이 나오기 시작하여 15일후에는 많은 외식체들에서 싹이 분화되었으며 30일경에는 2.5개의 싹을 가진 증식형 싹으로 되었다.

이와 같이 외식체종류에 따라 싹유도상태가 차이나는것은 조직의 분화능력이 차이 나기 때문이다. 식물체의 모든 세포들은 전능성을 가지고있지만 그 능력은 세포의 유전적 및 생리적상태와 배지조성에 따라 크게 차이나다. 미나리과식물의 조직배양에서 싹잎이나 잎꼭지로부터 식물체를 분화시킨 자료들이 제기[2]되고있지만 우의 실험결과는 천궁의 싹잎이나 잎꼭지가 시험관싹유도에 적합하지 않다는것을 보여준다. 그러나 눈은 세포갈림능력이 왕성한 생장점조직을 포함하고있는 맹아이므로 싹분화능이 매우 높으며 따라서 시험관싹의 유도가 쉽다. 이로부터 천궁시험관싹의 유도에는 눈을 리용하였다.

다음으로 재료에 리용되는 눈이 야외에서 3년동안 자란 덩이뿌리에서 생기는 눈이므로 잎원기를 벗겨낸 외식체의 크기가 시험관싹유도에 미치는 영향을 검토하였다.(표 2)

표 2. 시험관싹유도에 미치는 외식체크기의 영향

외식체크기	오염률 /%	싹유도률 /%	싹길이 /mm	싹수 /(개·본 ⁻¹)
10mm×10mm×10mm	73±1	45±2	36±2	1.5±0.2
7mm×7mm×7mm	50±1	23±1	15±1	1.0±0.1
2mm×2mm×2mm	13±1	12±1	8±1	1.0±0.1

10mm×10mm×10mm: 잎원기를 3~4회정도 벗기고 뿌리줄기조직을 약간 포함한것,
7mm×7mm×7mm: 잎원기를 5~7회정도 벗긴것,
2mm×2mm×2mm: 줄기끝조직,
소독 0.1% HgCl₂용액에서 15min, 기타조건은 표 1에서와 같음

표 2에서 보는바와 같이 외식체의 크기가 작아지는데 따라 오염률과 싹유도률이 낮아지고 외식체당 싹수가 작아지는데 이것은 외식체의 상태와 관련된다.

일반적으로 외식체의 크기가 작을수록 싹유도률이 낮아지지만 소독한 눈을 약간의 뿌리줄기조직까지 포함(10mm×10mm×10mm)하여 접종하면 싹유도률은 45%, 싹수는 1.5개로 줄기끝조직보다 싹유도상태가 좋았다. 그것은 약간의 뿌리줄기를 포함하는 조직에 있는 결눈수가 차이 나기 때문이라고 본다. 천궁의 퇴두는 뿌리가 아니라 줄기의 변태물인 뿌리줄기이며 이것은 줄기의 압축된 형태로 볼수 있다. 이와 마찬가지로 싹의 줄기도 압축된 형태로 생기므로 눈과 함께 약간의 뿌리조직을 포함하여 접종하면 싹의 압축된 줄기가 보존되고 또 뿌리줄기에 많은 결눈이 포함되므로 싹분화률이 높아진다.

한편 눈은 심히 오염되어있으므로 오염률이 높다. 잎원기를 많이 벗길수록 외부환경과 격리되어있었으므로 눈의 오염률은 낮아지지만 외식체의 크기가 작으면(7mm×7mm×7mm) 결눈원기수가 줄어들어 분화되는 싹의 수가 적어진다.

그리고 줄기끝조직(2mm×2mm×2mm)은 조직의 채취때 눈조직이 손상되고 결눈원기들도 보존되지 못하므로 싹유도률도 낮고 분화된 싹의 상태도 나쁘다.

이로부터 약간의 뿌리줄기조직을 포함하는 눈(10mm×10mm×10mm)의 오염률을 낮추고 싹유도률을 높이기 위한 소독제의 영향을 검토하였다.

2) 소독제의 영향

표백분산화용액을 써서 외식체의 소독정도와 싹유도률을 검토하였는데 소독시간을 길게 하여도(10~35min) 세균의 오염을 피할수 없었다. 그러므로 0.1% 승홍용액의 소독시간이 시험관싹유도에 주는 영향을 검토하였다.(그림)

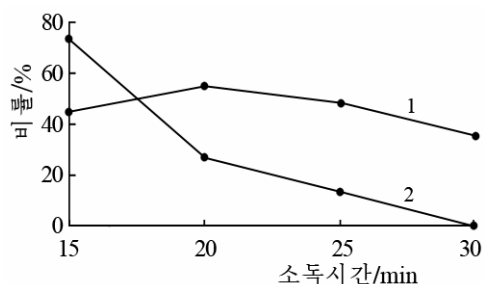


그림. 0.1% 승홍용액의 소독시간이 시험관싹유도에 미치는 영향
1-싹유도률, 2-오염률

그림에서 보는바와 같이 소독시간을 길게 할수록 오염률이 낮아졌는데 30min 소독할 때 모든 외식체들에서 오염이 나타나지 않았다. 그러나 소독 피해가 심하여 싹유도률이 낮았고(35%) 유도된 싹도 밑부분이 갈변화되면서 죽었다.

싹유도률은 0.1% 승홍용액으로 20min간 소독할 때 55%로서 가장 높았으며 이때 오염률은 27%로서 비교적 낮았다.

그러므로 시험관싹의 유도에는 눈을 0.1% 승홍용액으로 20min 소독한 다음 약간의 뿌리조직을 포함하도록 잘라내어 접종하는것이 좋다.

3) 6-BA의 영향

일반적으로 시험관싹유도에는 성장조절제로서 시토키닌을 많이 적용하고있는데 천궁의 시험관싹유도에는 흔히 6-BA를 리용하고있다.[2, 4] 이로부터 천궁의 시험관싹유도에 미치는 6-BA농도의 영향을 검토하였다.(표 3)

표 3에서 보는바와 같이 싹유도률과 유도된 싹의 상태는 6-BA의 농도에 따라 다른데 농도가 높을수록 싹유도률과 싹수는 증가하고 싹길이는 작아지는 경향성이 있었다. 특히 1.0mg/L 6-BA에서 싹유도률이 85%로서 가장 높았고 싹수도 2.5개로서 싹증식에도 유리하였다. 0.5mg/L이하의 농도에서는 싹은 길어지나 싹수가 1.8개이하이며 싹유도률도 낮았다. 1.5mg/L의 6-BA에서는 싹유도률과 싹수에서 1.0mg/L에서와 큰 차이가 없었지만 유도된 싹은 8mm로서 매우 작고 잘 부스러지는 유리질화된 싹이었다.

선형연구[2, 3]에서는 0.2mg/L의 6-BA를 리용하였을 때 싹유도률이 75%이상이었지만 이 실험에서는 싹유도률이 55%였다. 같은 농도에서 이러한 싹유도률의 차이는 리용한 재료의 품종적, 생리적상태가 서로 다르기때문이라고 본다. 이로부터 천궁시험관싹유도에서는 6-BA농도를 1.0mg/L로 하는것이 적합하다.

표 3. 싹유도에 미치는 6-BA농도의 영향

6-BA /(mg·L ⁻¹)	싹유도률 /%	싹길이 /mm	싹수 /개	유리질화 상태
0.2	55±2	35±2	1.5±0.1	—
0.5	64±3	28±1	1.8±0.1	—
1.0	85±4	24±1	2.5±0.2	—
1.5	78±4	8±1	2.5±0.2	+

소독 0.1% HgCl₂용액에서 20min, 기타 조건은 그림 1에서와 같음

맺 는 말

천궁시험관싹유도에 적합한 재료는 싹튼 후 20일정도 된 눈을 0.1% 승홍용액으로 20min 소독한 다음 잎원기를 2~3회정도 벗겨낸 약간의 뿌리조직을 포함하는 10mm×10mm×10mm 크기의 눈이다.

천궁시험관싹유도에 적합한 배지는 6-BA 1.0mg/L를 첨가한 MS배지이다.

참 고 문 헌

- [1] 임록재; 조선식물지 5, 과학기술출판사, 185~186, 주체87(1998).
- [2] E. F. George; Plant Propagation by Tissue Culture, Springer, 355~402, 2008.
- [3] J. Akaki et al.; Journal of Ethnopharmacology, 220, 1, 2018.
- [4] 弓献龙; 植物生物技术, 北京科学出版社, 249~320, 2004.

주체109(2020)년 1월 5일 원고접수

Influence of Some Factors on Induction of *in vitro* Shoot of *Cnidium officinale* Makino

Song Un Hui, Ri Song and Ri Yong Chol

To gain suitable materials for induction of *in vitro* shoot of *C. officinale*, we sterilized the 20-day-old bud after germination with 0.1% of corrosive sublimate solution for 20minutes, and peeled off primordium 2~3 times. The bud is one of 10mm×10mm×10mm in size, containing some rhizomata.

The proper culture medium is MS medium supplemented with 1.0mg/L 6-benzylaminopurine (6-BA).

Keywords: *Cnidium officinale*, *in vitro* shoot