韓藥作誌(Korean J. Medicinal Crop Sci.) 21(2) : 142 – 147 (2013)
ISSN(Print) 1225-9306
ISSN(Online) 2288-0186
www.medcrop.or.kr
http://dx.doi.org/10.7783/KJMCS.2013.21.2.142

천마 기내배양을 통한 영양번식경 유도와 생장

김현태 · 김승택 · 이위영 · 박응준†
국립산림과학원 산림유전자원부

Induction and Growth of Vegetative Stems through *In Vitro* Culture of *Gastrodia elata*

Hyun Tae Kim, Seung Taek Kim, Wi Young Lee and Eung Jun Park†
Department of Forest Genetic Resources, Korea Forest Research Institute, Suwon 441-847, Korea

ABSTRACTS : *Gastrodia elata* has been cultivated as an important medicinal resources to treat various human diseases. One of the major problems associated with its field production is the degeneration of seed tubers, which is mainly caused by soil-borne pathogens. This study was conducted to produce disease-free seed tubers by the development of *in vitro* micro-propagation method. First, tubers of *G. elata* were treated with $HgCl_2$ prior to culturing *in vitro*. Among various culture medium tested, water agar (WA) and WPM medium were the most effective on the induction and growth of vegetative stems. NAA (0.1 ㎎/ℓ) or TDZ (1.0 ㎎/ℓ) in WA medium showed better growth of vegetative stems compared to other plant hormones. Finally the induction and growth of vegetative stems were better in the dark compared to the light condition. In this study, we established an *in vitro* micropropagation system of *G. elata*, which might be an efficient way to increase the yield and quality of *G. elata* tubers in the field production.

Key Words : *Gastrodia elata* Blume, Immature Rhizome, Micro-Propagation, Vegetative Stem, Orchidaceae

서 언

천마 (*Gastrodia eleta* Blume)는 고등식물이지만 잎과 뿌리가 없어 탄소동화작용 능력이 없는 퇴화된 다년생 식물로서 독립적 생육이 불가능하며 담자균류인 뽕나무 버섯속 (*Armillaria* sp.)과 공생하는 기생식물로 빛이 거의 없는 산림 속에서도 생육이 가능하다. 보통 천마를 마과 (Dioscoreaceae)로 혼돈하고 있으나 식물학적으로 천마는 난초과 (Orchidaceae)에 속한 다년생 초본으로 정풍초 (正風草), 적근 (赤根), 귀독우 (鬼督郵), 난모 (難母), 신초 (神草)라는 이름으로 불리어지기도 한다 (Heo *et al.*, 2006; Chang and But, 1986; Ha *et al.*, 2000; Huang, 1985; Xu *et al.*, 1998). 주로 한국, 중국, 일본 등 북아시아 지역의 표고 700 m 이상의 고산지대 계곡의 숲속이나 부식질이 많고 경사면이 있는 참나무 군락 속에서 자생하며, 줄기와 잎은 15 ~ 8℃ 정도의 봄철에 일시적으로 지상으로의 생장을 하나 1개월 이내에 사멸하고 개화기인 5 ~ 6월에 꽃대 (60 ~ 100 ㎝)만 나온다. 지상부에 형성된 줄기 색깔에 따라 홍천마 (*Gastrodia elata for. elata*), 청천마 (*Gastrodia elata* Blume *for. glauca)* 및 녹천마 (*Gastrodia elata for. viridis*)로 구별하기도 한다. 천마의 꽃은 이삭화서로 꽃대 1개에서 피는 꽃의 수는 최소 30개에서 최대 100개 정도이며, 마지막 꽃 (아래에서 위로 개화)이 결실되기까지는 약 5 ~ 7일이 소요된다. 자연 상태에서 천마의 꽃은 끝이 모아진 봉우리 형태이며 무향으로 곤충매개에 의한 수분율이 매우 저조하다. 종자의 충실도에 따라 꼬투리의 생체중은 일반적으로 10 ~ 50 ㎎ 정도이며, 꼬투리 당 약 10,000 ~ 20,000개의 종자가 맺히는 것으로 알려져 있다. 이러한 천마 특유의 생리생태적 특성으로 자연 상태에서는 거의 찾아보기 어려운 귀한 약재로, 산출량이 극히 적어 야생천마를 산림청에서 보호약초 9호로 지정하여 보호하고 있다.

천마에 함유된 주요 성분은 gastrodin, ergothionine, vanillyl alcohol, alkaloid, phenolglycoside, β-sitosterol, citric acid, palmitic acid 등이 있다 (Bin and Chen, 2004; Hayashi *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2002). Gastrodin은 새로

†Corresponding author: (Phone) +82-32-290-1167 (E-mail) pahkej@forest.go.kr
Received 2013 January 31 / 1st Revised 2013 February 28 / 2nd Revised 2013 April 9 /3th Revised April 11 / Accepted 2013 Revised April 11
This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

운 phenolic glycoside인데 천마의 주요 생리활성물질이며, ergothionine은 버섯에 주된 항산화 물질로 천마에 상당량 함유되어 있음이 밝혀져 있으며 천마를 가공하는 방법에 따라 성분함량의 차이가 있음이 보고된 바 있다 (Choi *et al.*, 2011). 천마는 동양에서는 3000년 전부터 사용되고 있는 귀중한 약재자원으로 감자같은 괴경 (塊莖) 또는 줄기를 이용하여 고혈압, 경기, 당뇨병, 성인병, 두통, 현기증 등 신경성 질환의 예방과 치료용으로 사용하였으며, 특히 뇌졸중, 중풍 등 뇌신경 계통의 약초로는 최고로 여겨졌다 (Kim *et al.*, 2012).

1995년 농촌진흥청에서 천마재배용 뽕나무버섯균인 '천마1호'의 보급과 1998년 국립산림과학원의 '홍릉천마균'이 개발·보급되어 천마의 인공재배에 의한 생산이 가능하게 되었다 (Kim *et al.*, 2000). 이로 인해 천마의 생산량은 1998년 286톤에 달하였으나, 2000년에 이르러서는 생산량이 57톤에 불과하였다. 이러한 원인은 자마 (길이 4 ㎝ 이하의 작은 천마)를 이용한 계속적인 무성증식으로 인하여 자마의 토양균 오염으로 인하여 자마의 퇴화현상이 발생하였고 이로 인해 천마가 가늘어지고 길어져 상품가지가 없는 자마 (immature rhizome)만 발생하여 그 다음해에는 성숙천마 (mature tuber)의 생산이 불가능하게 되었다. 이를 보안하기 위해서는 오염되지 않은 무성증식 자마의 생산이 불가피한 상황이다. 그러나 천마는 종자의 발아 및 자마의 생장에 버섯류와 공생하는 특수성 때문에 기내 배양에 대하여 매우 어려운 상황이다. 최근 한라천마와 애기 천마의 꼬추리를 NaOCl로 소독하여 천마 종자의 발아를 성공한 예는 있지만 자마를 기내 배양한 예는 찾을 수 없다 (Bae *et al.*, 2012). 따라서 본 연구에서는 천마의 자마 생산을 위한 기내증식법을 개발하기 위하여, 자마의 무균체 조성과 영양번식경 (차세대 자마로 발달될 수 있는 secondary corm 생성 및 발달되는 조직)의 유도 및 생장을 촉진하기 위한 방법을 모색하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험재료는 2010년 강원도 춘천시에서 재배·수확된 것을 사용하였다. 다양한 실험을 위하여 자마의 크기별로 분리하였으며, 상처가 없으며, 자마의 정단부위에 상처가 없이 양호한 것을 선별하여 실험을 수행하였다.

2. 자마의 무균체 조성을 위한 소독조건

무균체 조성을 위하여 자마를 망에 담아 흐르는 물에서 12시간 이상 세척하고 무균실에서 70% 알코올 (EtOH)로 1분간 표면소독한 후 멸균수로 1분씩 3회 세척하였다. 다시 염화수은 ($HgCl_2$) 0.1%, 0.2%, 0.5%, 1.0% 처리에서 각각 2분간 2회 흔들어주면서 소독한 후, 멸균수로 1분씩 5회 세척하였다. 세척이 끝난 자마는 멸균된 거름종이가 깔린 petridish 위에 올려놓아 물기를 적당히 말린 후 0.7% Agar를 넣은 Water Agar (WA)배지에 자마를 치상하였다. 각 처리당 20반복 실시하였으며 4주 후에 오염률을 조사하였다.

3. 자마의 영양번식경 유도 및 생장을 위한 적정배지 및 배양조건 선별

자마의 영양번식경 유도와 생장에 가장 효과적인 배지를 찾기 위하여 Water Agar (WA), White's media (WHITE), McCOWN Wood Plant media (WPM), Gamborg B5 media (B5), Murashige & Skoog media (MS), Rugini Olive media (ROM), Gresshoff & Doy media (DBM2), CHU media (N6), Litvay media (LM), Juglans media (DKW), Westvaco media (WV5), de Greef & Jacobs media (GJM), Eriksson media (ER), Chee & Pool vitis media (CPM), Kao & Michayluk media (KMM), Schenk & Hildebrandt media (SH), Guoirin & Lepoivre media (QLM) 및 DCR media (DCR) 등의 18가지 배지를 사용하였다. 상기 배지에 3% Sucrose, 0.02% Activated charcoal, 0.7% Agar를 첨가하고, pH 5.7로 조정한 후, 121℃에서 20분간 멸균하여 사용하였다. 또한 자마의 영양번식경 유도 및 생장에 광에 대하여 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위하여, 천마의 자마 야외 식재시 지온이 15℃ 전후에 싹이 트며 20℃~25℃에서 생육 속도가 가장 빠르다는 보고 (Lee, 2007)에 근거하여 자마를 각 배지에 치상 후 명·암배양으로 나누었으며 배양온도는 18℃로 고정하였고 4주간 배양하면서 영양번식경 유도 및 생육상태를 조사하였다.

4. 생장조절물질 처리가 자마의 영양번식경 유도 및 생장에 미치는 영향

영양번식경 유도에 가장 효과적인었던 WA배지를 사용하여 생장조절 물질 처리가 영양번식경 유도에 어떠한 효과를 나타내는지 확인하였다. 생장조절물질로는 Thidiazuron (TDZ), 1-Naphthaleneacetic acid (NAA), Gibberellic Acid (GA_3), 2,4-dichlorophe-noxyacetic acid (2,4-D)을 사용하였으며, 각 0, 0.01, 0.1, 0.5, 1.0 및 2.0 ㎎/ℓ 의 농도로 처리하였다. 처리 후, 18℃ 배양기에서 6주 동안 암배양 하였다.

5. 배양 초기 자마의 크기에 대한 영양번식경 유도와 자마의 정아우세 현상

자마의 크기는 길이 2 ㎝, 3.5 ㎝, 5.0 ㎝ 되는 것과, 직경 0.5 ㎝, 1 ㎝로 나누어 사용하였고, 일반적으로 식물에서 적용되는 정아우세 현상이 천마에서도 고려되는지 알아보기 위하여 자마의 정단부위 즉, 자마가 성마에 붙어있는 부분의 반대

Table 1. Effects of the disinfectants on immature rhizome sterilization.

Disinfectants	Time (min)	Concentration (%)		
		1	1.5	2
NaOCl	30	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	91.67 ± 14.43*
	45	100.00 ± 0.00	91.67 ± 14.43	75.00 ± 0.00
	60	100.00 ± 0.00	75.00 ± 0.00	66.67 ± 14.43
$Ca(OCl)_2$	30	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00
	45	100.00 ± 0.00	100.00 ± 0.00	91.67 ± 14.43
	60	100.00 ± 0.00	91.67 ± 14.43	83.33 ± 28.86

*The data represents mean value ± SD (n = 3).

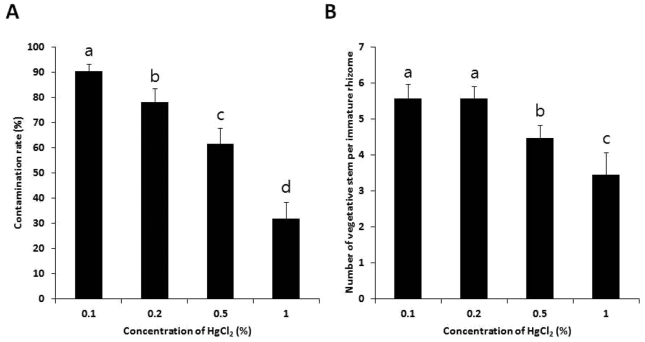

Fig. 1. Effects of the concentrations(A) of $HgCl_2$ treatment(2 min - 2 times) on immature rhizome sterilization and vegetative stem induction(B). The data represents mean value ± SD (n = 20). The same superscript letters indicate the corresponding components that do not differ statistically ($P < 0.05$; Duncan's test).

편으로 자마가 길이생장이 활발한 부분을 0.3 ~ 0.5 ㎝ 가량 제거하고 18℃ 배양기에서 4주 동안 암배양한 후 측아에서 유도된 영양번식경의 생장을 조사하였다. 모든 실험은 WA배지를 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 자마의 무균체 조성을 위한 소독조건

기존의 난관 식물의 연구에서는 난 종자 발아와 근경배양의 기대배양을 위한 표면 소독에 차아염소산나트륨 (NaOCl)과 차아염소산칼슘 ($Ca(OCl)_2$)이 매우 효과가 있음이 확인되었다 (Kang and Yang, 2003; Choi *et al.*, 1996). 그러나 자마의 경우, 1.0% ~ 2.0%로 NaOCl, $Ca(OCl)_2$으로 소독을 하였을 때 소독시간 1시간 이전에는 많은 오염이 발생하였으며, 1시간 이상의 처리에서는 자마가 하얗게 탈색되어 식물체가 고사하였다 (Table 1). 또한 오염이 나타나지 않았던 소독별 실험에서는 자마의 영양번식경 유도 및 생장이 전혀 이루어지지 않아 NaOCl, $Ca(OCl)_2$의 시간별 농도별 소독방법은 자마의 무균체 조성을 위한 소독법으로 부적합한 것으로 판단된다. 따라서 본 실험에서는 $HgCl_2$을 사용하여 농도별, 시간별 실험을

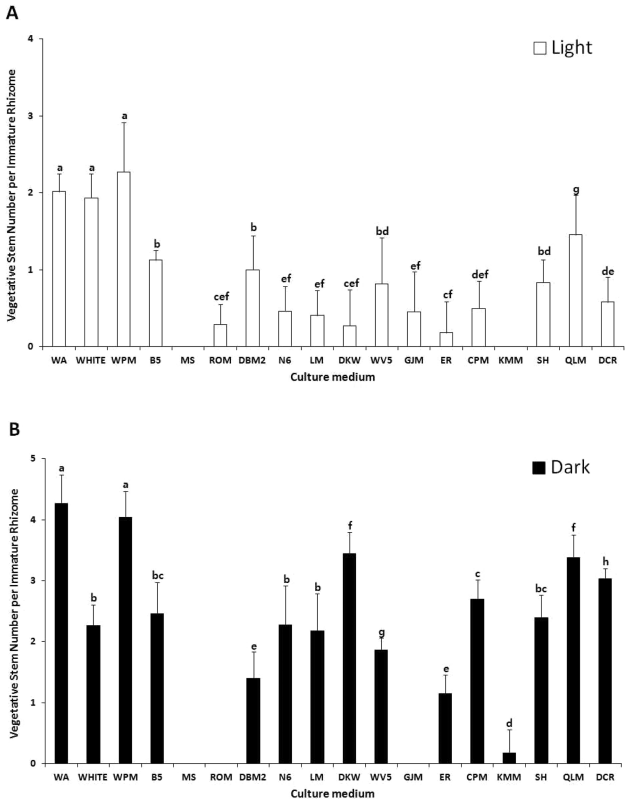

Fig. 2. Effect of culture media on the number of vegetative stems per immature rhizome (A; Light condition, B; Dark condition). The data represents mean value ± SD (n = 7). The same superscript letters indicate the corresponding components that do not differ statistically ($P < 0.05$; Duncan's test).

실시하였다. 자마의 기내배양을 위한 무균체 조성 및 영양번식경 유도에 가장 효과적인 처리로는 $HgCl_2$ 0.2% 농도로 2분간 2회 처리하는 것이 좋았으며, $HgCl_2$ 0.1%의 처리에서는 99% 영양번식경이 유도되었으나 많은 오염으로 인해 실험에 부적합할 것으로 판단된다 (Fig. 1). 실제로 천마는 버섯균과의 공생을 통하여 생장을 하게 되고 이러한 과정에서 천마 자체내에 포함되어 있는 내생균근이 괴경의 깊숙이 침투되어 생장을 돕고 있기 때문에 실제로 자마의 오염을 완벽하게 제

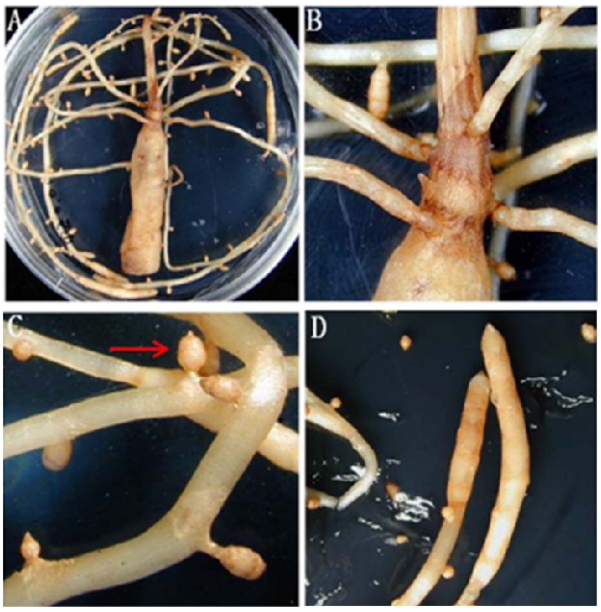

Fig. 3. *In vitro* vegetative stem induction from immature rhizome of *Gastrodia elata*. A; Entire feature of multi-vegetative stem induction, B; Vegetative stems, C; Secondary corms (indicated by arrows), D; Terminal corms.

어하기란 사실상 어렵다. 특히 오래된 자마나 상처가 있는 자마의 경우 100% 오염이 나는 것을 확인하였다. 따라서 자마의 기내배양을 위한 다량의 영양번식경 유도를 위해서는 상처가 없고, 자마의 저장기간이 길어 자마의 퇴화가 진행되지 않은 자마를 사용하여 $HgCl_2$ 0.2%에서 2분간 2번 살균한 후 배양에 이용하는 것이 가장 효과적으로 판단된다.

2. 자마의 영양번식경 유도 및 생장을 위한 적정배지 및 배양조건 선별

천마의 영양번식경 유도 및 생장을 위해 가장 효과적인 배지를 선발하고자 MS, WA, B5, SH, WPM, White 등 18가지의 배지를 이용하여 실험을 실시하였다. WA배지와 WPM배지에서 영양번식경 유도가 가장 효과적이었으며, MS, ROM, GJM, KMM배지에서는 자마의 갈변현상과 함께 아무 반응도 일어나지 않거나 고사하였다 (Fig. 2). 적정배지로는 미네럴과 영양분이 함유되어 있지 않는 WA 배지와 다른 배지들보다 미네랄이 다소 적은 WPM 배지가 적합한 것으로 판단된다 (Fig. 3). 또한 배양 조건으로는 명배양 보다는 암배양에서 영양번식경의 유도에 효과적인 결과를 확인할 수 있었다. 이는 천마의 생활사를 보았을 때 95% 정도의 시간을 지하경 상태로 생활하기 때문이라 판단된다. 그래서 일장의 처리가 영양번식경의 생장에 미치는 영향을 알아보고자 암배양의 시간을 조절하여 배양을 실시하였다. 춘난과 풍란의 경우 암배양의 시간이 길어질수록 근경의 분지수가 증가함을 확인하였고

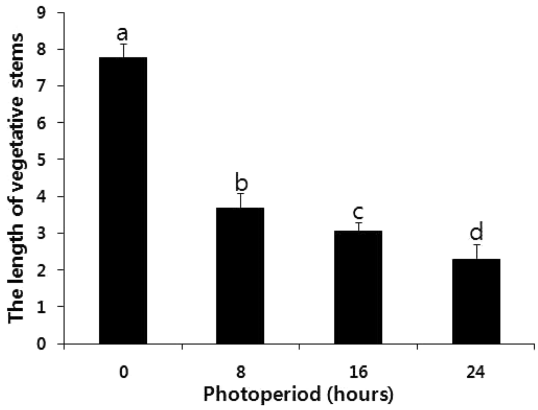

Fig. 4. Effects of photoperiod on the length of vegetative stems. The data represents mean value ± SD (n = 7). The same superscript letters indicate the corresponding components that do not differ statistically ($P < 0.05$; Duncan's test).

(Chung *et al.*, 2004; Sung *et al.*, 2006), 감자의 일장처리가 기내 소괴경형성에 영향을 미치므로 괴경유기 단계에서 암배양하는 것이 괴경수 증가에 매우 효과적이었음을 밝혀진 바 있다 (An *et al.*, 2002). 자마 또한 암상태의 시간이 증가됨에 따라 자마의 영양번식경 개수가 증가하였고, 실험결과 영양번식경의 출현 시기 및 상태, 크기에서도 암배양이 우수하였다 (Fig. 4). 따라서 천마의 기내배양 증식을 위해서는 재배 특성을 고려하여 18℃가 유지되는 배양기에서 암배양하는 것이 영양번식경의 유도 및 자마의 생장에 가장 효과적일 것으로 판단된다.

3. 생장조절물질 처리가 자마의 영양번식경 유도 및 생장에 미치는 영향

자마의 영양번식경 유도 및 생장에 미치는 생장조절물질 처리의 효과를 알아보기 위하여 WA배지에 TDZ, NAA, GA_3, 2,4-D의 농도를 달리하여 암배양한 결과 Auxin 계열의 NAA와 2,4-D 경우 대부분의 농도에서 영양번식경이 발달했으며, NAA 경우 0.1 ㎎/ℓ 이하를 처리했을 때 자마당 5.2개의 영양번식경을 유도하였으며, 2,4-D 경우 1 ㎎/ℓ 처리했을 때 5.0개의 영양번식경을 유도되었으며 자마의 생육상태 또한 좋은 것으로 관찰되었다. Cytokinin 계열의 TDZ의 경우 모든 농도에서 영양번식경이 유도되었으며 1 ㎎/ℓ 에서는 5.8개의 영양번식경을 유도되고 생육상태 또한 매우 양호했다 (Table 2). 하지만 식물의 줄기 신장과 분열조직의 성장을 유도한다고 알려진 GA_3 경우 모든 처리구에서 낮은 영양번식경 유도율을 보였으며, 5 ㎎/ℓ 이상일 때는 자마가 고사하는 현상을 나타내었다. 따라서 영양번식경 유도와 측아발현 개수의 증가를 위해서는 Cytokinin 계열 TDZ 1.0 ㎎/ℓ 를 처리하는 것이 가장 효과적일 것이라 판단된다.

Table 2. Effects of plant growth regulators on the number of vegetative stems per immature rhizome.

Treatments	Concentration (㎎/ℓ)	Vegetative stem induction (%)	No. of vegetative stems per immature rhizome
Control (WA)	0	67.00	3.97 ± 0.32
NAA	0.01	100.00	5.23 ± 0.37[*a**]
	0.1	100.00	5.15 ± 0.22[a]
	0.5	100.00	4.79 ± 0.40[b]
	1.0	100.00	4.35 ± 0.36[c]
	2.0	75.00	2.60 ± 0.33[d]
TDZ	0.01	100.00	3.73 ± 0.42[a]
	0.1	100.00	5.21 ± 0.22[b]
	0.5	100.00	4.77 ± 0.23[c]
	1.0	100.00	5.83 ± 0.31[d]
	2.0	100.00	4.71 ± 0.39[c]
GA_3	0.01	50.00	4.75 ± 0.39[a]
	0.1	33.00	0.61 ± 0.14[b]
	0.5	0.00	0.00 ± 0.00
	1.0	0.00	0.00 ± 0.00
	2.0	0.00	0.00 ± 0.00
2,4-D	0.01	100.00	4.15 ± 0.33[a]
	0.1	100.00	3.80 ± 0.27[b]
	0.5	100.00	4.53 ± 0.33[c]
	1.0	75.00	5.05 ± 0.42[d]
	2.0	100.00	3.26 ± 0.32[e]

*The data represents mean value ± SD (n = 7).
**The same superscript letters indicate the corresponding components that do not differ statistically (P < 0.05; Duncan's test).

Table 3. Effects of rhizome size on the number of vegetative stems per immature rhizome.

Treatments (cm)		No. of vegetative stems per immature rhizome	
		Light condition	Dark condition
Immature rhizome length (cm)	2.0	3.64 ± 0.35[ab]	4.09 ± 0.31[*a**]
	3.5	3.83 ± 0.26[a]	4.75 ± 0.36[b]
	5.0	3.47 ± 0.33[b]	4.33 ± 0.38[a]
Immature rhizome diameter (cm)	0.5	3.80 ± 0.27	4.70 ± 0.35
	1.0	4.11 ± 0.30	7.55 ± 0.29

*The data represents mean value ± SD (n = 10).
**The same superscript letters indicate the corresponding components that do not differ statistically (P < 0.05; Duncan's test).

4. 배양 초기 자마의 크기에 대한 영양번식경 유도와 자마의 정아우세 현상

난에 속하는 죽백난의 근경의 크기에 따른 분화 실험에서는 근경의 크기가 길어짐에 따라 근경 분화수와 생체중, 신초의 개수가 증가함이 보고된 바 있다 (Kim and Lee, 1992). 그래서 배양 초기의 자마의 크기에 대한 영양번식경의 유도 양상을 살펴본 결과 자마의 길이는 영양번식경의 유도에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으며, 직경의 경우 1.0㎝인 자마를 암배양 했을 때 7.55개의 영양번식경이 유도됨을 확인하였다 (Table 3). 이러한 결과로 보아 기내 영양번식경 유도에는 자마의 길이보다는 자마의 직경으로 선택하는 것이 더욱 효과적일 것으로 판단된다. 일반적으로 식물은 정아우세 현상을 가지고 있어서 정아에서 생성된 옥신이 정아의 생장을 촉진하고 측아의 발달을 억제한다고 알려져 있으며 이러한 정아우세가 강한 경우 정아를 제거함으로 인하여 측아를 유도하는 경우가 많다. 천마 또한 이러한 정아우세 현상이 있는지 확인하기 위하여 정단을 제거해본 결과 제거하기 전보다 영양번식경이 더 많이 발달하는 것으로 보아 천마 또한 정아우세임을 확인할 수 있었다 (Fig. 5).

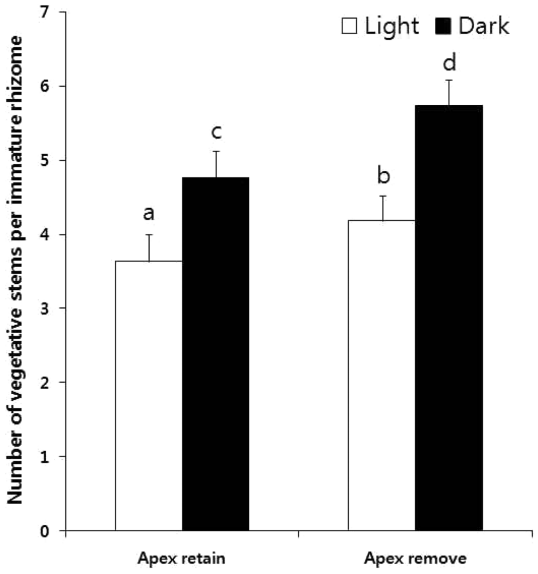

Fig. 5. Effects of apical dominance on immature rhizome. The data represents mean value ± SD (n = 10). The same superscript letters indicate the corresponding components that do not differ statistically (P < 0.05; Duncan's test).

천마는 같은 난과에 속한 식물이지만 기내 무균 배양을 위한 소독 조건과 배양조건이 매우 다름을 확인할 수 있었다. 난과식물의 무균파종용 기본배지는 일반적으로 Hyponex, KC 및 MS 배지를 사용하였다 (Kim *et al.*, 1998). 그러나 무균종자 발아는 매우 어려운 상황이다. 그래서 난과의 기내 배양은 종자 발아 후에 번식체인 원구체 (protocorm)가 근경 (rhizome)을 형성하고, 이들의 증식률이 매우 높고 식물체로의 생장이 용이하기 때문이다. 동양난류 배양의 경우 유묘생장에 초음파 세척 (30분 이상)을 실시하고 Kyoto Ⅱ, MS 및 Hyponex 배지에 NAA, IAA 및 BA 등의 식물생장조절물질의 첨가가 효과적이었다 (Chung *et al.*, 1983). 특히 MS배지에 종자를

파종했을 때 protocorm-like body (PLB)의 형성과 기관분화가 용이하였으며, 열개하지 않은 꼬투리의 종자를 배양하는 것이 발아율 증진과 발아기간을 단축시켰다 (Kang *et al.*, 2009).

본 실험은 자마의 영양번식경 유도 및 생장에 가장 효과적인 기내 조직배양 위하여 자마 무균체 조성을 위한 소독조건으로는 $HgCl_2$ 0.2% 농도로 2분간 2회 처리하는 것이 가장 효과적이었으며, 자마로부터 영양번식경을 유도하기 위한 적정 배지로는 WA와 WPM 배지가 가장 좋았다. 생장조절물질 처리는 WA배지에 TDZ 1.0 ㎎/ℓ를 첨가하여 암배양 하는 것이 가장 효과적이었다. 또한 초기배양 자마 선정 시 시료체취 후 자마의 저장기간이 길지 않고 상처가 없는 것을 사용하는 것이 실험에 용의하다. 크기는 길이보다 직경이 1 ㎝ 이상 되고 자마의 정단부를 제거한 것을 실험에 사용하는 것이 영양번식경 유도에 가장 효과적이었음을 확인할 수 있었다. 따라서 본 연구는 자마의 기배 배양을 통하여 무병자마의 생산시스템을 확립함으로 인하여 천마의 토양오염으로 인한 퇴화현상과 생리적인 장애를 극복할 수 있을 것이며 대량 생산을 통하여 원활한 자마의 공급 또한 가능할 것으로 사료된다.

LITERATURE CITED

Ahn YK, Na SY, Kim SY and Om YH. (2002). The effects of photoperiods on In vitro microtuberization in potato(*Solanum tuberosum L.*). Horticulture Environment and Biotechnology. 301-305.

Bae KH, Ko MS, Choi SA, Lee HB, Kim NY, Song JM and Song G. (2012). *In vitro* germination of *Gastrodia verrucosa* Blume and *Hetaeria sikokiana* Tuyama treated by NaOCl. Journal of Plant Biotechnology. 39:163-168.

Bin H and Chen F. (2004). Preparative isolation and purification of gastrodin from the Chinese medicinal plant *Gastrodia elata* by high-speed counter current chromatography. Journal of Chromatography A. 1052:229-232.

Chang HM and But PH. (1986). Pharmacology and application of chinese materia medica(Vol. 1). World Scientific Publishing Co. Singapore. p.185.

Choi SO, Chung JD and Lee JH. (1996). Effect of culture media on rhizome formation and its subsequent growth from shoot tip culture of temperate *Cymbidium* species. Journal of Plant Biotechnology. 23:167-172.

Choi SR, Kim CS, You DH, Kim JY, Kim YH, Ahn YS, Kim JM, Kim YS and Seo KW. (2011). Changes of components and quality in gastrodiae rhizoma by different dry methods. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 19:354-361.

Chung JD and Chun CK. (1983). Effect of basal media and growth regulators on germininationof seeds and shoot emergence from rhizomes. Horticulture Environment and Biotechnology. 24:236-242.

Chung JD, Harm SH, Jee SO, Chung MY, Khin TM and Kim CK. (2004). The multiple propagation of mericlones from shoot tip culture of *Neofinetia Falcata*. Flower Research Journal. 12:101-106.

Ha JH, Lee DU, Lee JT, Kim JS, Yong CS, Kim JA, Ha JS and Huh K. (2000). 4-hydroxybenzaldehyde from *Gastrodia elata* B1. is active in the antioxidation and gabaergic neuromodulation of the rat brain. Journal of Ethnopharmacology 73:329-333.

Hayashi J, Sekine T, Deguchi S, Lin Q, Horie S, Tsuchiya S, Yano S, Watanabe K and Ikegami F. (2002). Phenolic compounds from *Gastrodia rhizome* and relaxant effects of related compounds on isolated smooth muscle preparation. Phytochemistry. 59:513-519.

Heo JC, Park JY, An SM, Lee JM, Yun CY, Shin HM, Kwon TK and Lee SH. (2006). Anti-oxidant and anti-tumor activities of crude extracts by *Gastrodia elata* Blume. Korean Food Marketing Association. 13:83-87.

Huang ZL. (1985). The pharmacological studies and clinical application of *Gastrodia eleta* Bl. Journal of Modern Development Traditional Media. 5: 251-254.

Kang KW, Park KS, Mo SY, Kim DH and Kang SY. (2009). A new *Cymbidium* orchid variety “Daegook” bred by *in vitro* mutagenesis. Korean Journal of Breeding Science. 41:210-514.

Kang TJ and Yang DC. (2003). Days to germination and effect of growth regulator on rhizome growth in *Cymbidium goeringii* hybrid. Korean Journal of Plant Resources. 6:144-148.

Kim MS, Lee YR, Won JY, Kim JY, Kim BH and Eun JS. (1998). Effects of days after pollination and media asymbiotic germination in cross combination of *Cymbidium* spp. Horticulture Environment and Biotechnology. 19:236-238.

Kim HT, Kim JA and Park EJ. (2012). Genetic diversity and metabolite analysis of *Gastrodia elata* by Inter-Simple Sequence Repeats(ISSR) Markers. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 20:440-446.

Kim JY and Lee JS. (1992). Effect of cultural conditions on rhizome growth and organogenesis of *Cymbidium lancifolium* native to Korea in vitro. Horticulture Environment and Biotechnology. 33:471-476.

Kim YG, Kim MG, Yoon S and Hong JS. (2000). Histological observation on the symbiotic relationships between *Gastrodia elata* and rhizomorph of *Armillaria mellea*. The Korea Journal of Mycrobiology. 28:41-45.

Lee BY, Choi HS and Hwang JB. (2002). Analysis of food components of *Gastrodiae Rhizoma* and changes in several characteristics at the various drying conditions. Korean Society of Food Science and Technology. 34:37-42.

Lee MY. (2007). Important medicinal crop characteristics and cultivation technologies. Dongguk University Press. Korea. p.39.

Sung KC, Mi YC, Kim CK, Lim KB and Chung JD. (2006). Effect of culture media on rhizome formation and subsequent growth from shoot tip culture of *Cymbidium goeringii*. Flower Research Journal. 14:289-295.

Xu Q, Liu Y, Wang X, Gu H and Chen Z. (1998). Purification and characterization of a novel anti-fungal protein from *Gastrodia elata*. Plant Physiology of Biochemistry. 36:899-905.