



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2012년01월25일
(11) 등록번호 10-1106961
(24) 등록일자 2012년01월11일

(51) Int. Cl.

A01H 17/00 (2006.01) A01G 9/02 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0100839

(22) 출원일자 2009년10월22일

심사청구일자 2009년10월22일

(65) 공개번호 10-2011-0044038

(43) 공개일자 2011년04월28일

(56) 선행기술조사문헌

KR1019960003572 A

KR1020070024791 A

KR100923270 B1

KR100686693 B1

(73) 특허권자
대한민국

(72) 발명자
박웅준

경기도 안산시 단원구 초지동 그린빌아파트 1302
동 401호

안진권

경기도 수원시 권선구 금곡동 LG빌리지 306동
1503호

(뒷면에 계속)

(74) 대리인
황이남

전체 청구항 수 : 총 2 항

심사관 : 김기연

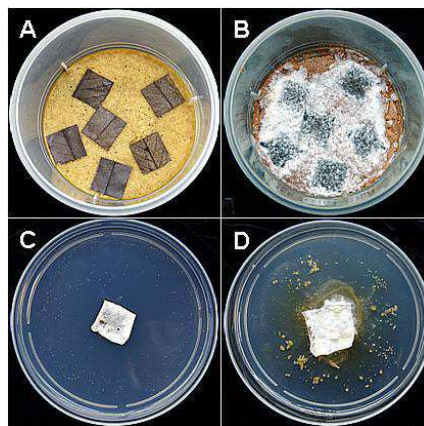
(54) 공생균을 이용한 천마종자의 기내발아방법

(57) 요약

본 발명은 공생균을 이용한 천마종자의 기내발아방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 1) 천마종자 발아균을 배양하는 단계; 2) 낙엽미강 배지의 준비 및 상기 1)의 배양된 발아균을 준비된 낙엽미강 배지에 접종하는 단계; 3) 상기 2)의 접종된 발아균과 천마종자의 공조배양 단계; 및 4) 상기 3)의 공조배양물에서 천마종자 발아균을 선별하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 공생균을 이용한 천마종자의 기내발아방법 및 이의 방법으로 제조된 천마종자로부터 유도된 원구경에 관한 것이다.

본 발명의 제조방법은 유성번식에 의해 생산된 천마종자를 이용하여 자마의 대량생산을 가능하게 함으로써 연속된 자마무성번식에 의해 야기된 천마퇴화현상을 극복하고, 환경제어가 가능한 기내배양법을 이용함으로써 자마의 연중생산을 가능케 한다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

이위영

경기도 수원시 팔달구 매탄동 매탄주공 4단지 424
동 107호

가강현

서울 동대문구 제기1동 한신아파트 101동 901호

김승택

경기도 화성시 동탄면 목리 114-1

특허청구의 범위

청구항 1

- 1) 천마종자 발아균으로서 흰애주름버섯균(*Mycena osmundicola*)을 PDA(Potato Dextrose Agar) 배지에서 배양하는 단계;
- 2) 미강과 물이 1:4의 부피율이 되도록 섞은 후 가로×세로가 1×1~5×5cm의 비율인 참나무류 낙엽을 미강과 물이 섞인 배지위에 올려놓은 낙엽미강 배지의 준비 및 상기 1)단계에서 배양된 천마종자 발아균을 준비된 낙엽미강 배지에 접종하는 단계;
- 3) 상기 2)의 접종된 천마종자 발아균과 천마종자의 공조배양 단계; 및
- 4) 상기 3)의 공조배양물에서 천마종자 발아균을 선별하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 공생균을 이용한 천마종자의 기내발아방법.

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

제1항에 있어서,

상기 공조배양은 한천배지에 천마종자를 살포한 후, 천마종자 발아균이 증식된 낙엽미강 배지를 천마종자 한천배지 위에 올려놓고, 암배양 하는 것을 특징으로 하는 공생균을 이용한 천마종자의 기내발아방법.

청구항 5

삭제

명세서

발명의 상세한 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 공생균을 이용한 천마종자의 기내발아방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 1) 천마종자 발아균을 배양하는 단계; 2) 낙엽미강 배지의 준비 및 상기 1)의 배양된 발아균을 준비된 낙엽미강 배지에 접종하는 단계; 3) 상기 2)의 접종된 발아균과 천마종자의 공조배양 단계; 및 4) 상기 3)의 공조배양물에서 천마종자 발아균을 선별하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 공생균을 이용한 천마종자의 기내발아방법 및 이의 방법으로 제조된 천마종자로부터 유도된 원구경에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

주름버섯은 담자균류 주름버섯목 주름버섯과의 버섯으로, 분포지역은 한국(변산반도국립공원, 가야산, 발왕산), 일본, 중국, 시베리아, 유럽, 북아메리카, 호주, 아프리카이다. 주름버섯은 여름부터 가을까지 풀밭이나 밭에 무리를 지어 자라며 가끔 균륜(菌輪)을 만든다. 버섯갓은 지름 5~10cm로 공 모양에서 빵 모양을 거쳐 편평해진다. 갓 표면은 흰색이지만 노란색 또는 붉은색을 띠고 비단실 같은 광택이 있으며 가장자리는 어릴 때 안쪽으로 감긴다. 살은 두껍고 흰색인데 흠집이 생기면 약간 붉은색을 띤다. 주름살은 끝붙은 주름살로 촘촘하며 처음에 보라색이다가 자갈색 또는 흑갈색으로 변한다. 버섯대는 크기가 5~10cm×7~20mm로 기부가 가늘다. 버섯대 표면은 흰색이며 손으로 만지면 갈색으로 변한다. 고리는 자루 상부 또는 중간에 붙어 있고 얇은 흰색 막질인데 쉽게 떨어진다. 홀씨는 6~9.5×4.5~7 μm의 타원형 또는 달걀 모양이고 자갈색이고, 식용으로도 이용된다.

- [0003] 배지는 미생물이나 동식물의 조직을 배양하기 위하여 배양체가 필요로 하는 영양물질을 주성분으로 하고, 다시 특수한 목적을 위한 물질을 넣어 혼합한 것이다. 기체상으로 얻어지는 것을 제외한 생존, 발육에 불가결한 물을 비롯하여 영양물질로서 탄소원, 질소원, 무기염류, 발육인자(비타민류) 등을 공급해준다. 생물은 생존, 발육에 불가결한 물을 비롯하여 영양물질로서 다량요소, 미량요소 등을 요구하는데, 그 중 기체상으로 얻어지는 것을 제외하고는 모두 무기 또는 유기화합물로서 배지에 공급해 주어야 한다. 필요한 화합물은 독립영양, 종속영양 등 영양 형식에 따라 여러 가지이며, 보통 영양원을 탄소원, 질소원, 무기염류, 발육인자(비타민류) 등으로 나누어서 생각한다. 특히 발육인자와 관련하여 생물체에서 추출한 비교적 복잡한 조성을 가진 것을 주체로 한 경우를 천연배지(天然培地)라고 한다.
- [0004] 천마는 외떡잎식물 난초목 난초과의 여러해살이풀로서, 수자해죽, 적전(赤箭)이라고도 한다. 부식질이 많은 산지의 숲 속에서 식물의 뿌리에 활물기생하며, 높이 60~100cm이며 잎이 없고 감자 모양의 덩이줄기가 있다. 덩이줄기는 긴 타원형이며 길이 10~18cm, 지름 3.5cm 정도로 뚜렷하지 않은 테가 있다. 줄기는 붉은 밤색에 조그만 잎이 듬성듬성 난다. 잎집 같은 잎은 막질이며 잔 맥이 있고 밑부분이 줄기를 둘러싼다. 꽃은 6~7월에 피고 황갈색이며 총상꽃차례를 이루어 많이 달린다. 포는 막질이며 바소꼴 또는 줄 모양의 긴 타원형이고 잔 맥이 있다. 외화피 3개는 합쳐져서 부풀기 때문에 찌그러진 단지같이 되고 윗부분이 3개로 갈라지며 안쪽에 2개의 내화피가 달리므로 5개 같이 보인다. 입술꽃잎은 화피갈래조각 가장자리에 약간 나타난다. 암술은 2개의 날개가 있고 밑부분 앞쪽에 암술머리가 있으며 화분피에 대가 없다. 열매는 삭과(殼果)로 달걀을 거꾸로 세운 모양이며 겉에 화피가 남아 있다.
- [0005] 천마는 난과(*Orchidaceae*)에 속하는 다년생 고등식물이지만 광합성 능력이 퇴화된 식물이다. 한국, 중국, 일본 등의 고산지대에 자생하는 것으로 알려진 천마는 예부터 귀중한 상등품 약재로 이용되어 왔으며, 덩이줄기(塊莖)는 중풍, 고혈압, 현기증, 신경성 질환 등에 효능이 좋아 두부질환의 예방과 치료제로 이용되어 왔다. 광합성능력의 퇴화라는 천마의 특성상 종자발아와 생장단계에 따라 서로 다른 곰팡이균류와의 공생관계 형성이 요구된다. 1990년도 중반에 천마생장균의 개발 및 보급으로 대량재배가 가능하게 되었으나, 자마(子麻)에 의한 계속된 무성번식으로 품질과 수량이 저하되는 천마퇴화현상, 천마균주의 오용과 배양기술의 부족, 건조 등 환경 스트레스에 대한 천마자체의 생리적 취약성 등으로 인해 급격한 생산성 감소 및 재배농가의 경제적 손실로 이어지고 있다.
- [0006] 천마의 유성번식방법에 대한 연구는 지금까지 중국을 중심으로 진행되어 왔으나 종자를 이용해서 자마를 기내 번식하는 방법에 대한 체계적인 연구는 보고된 바 없다. 따라서 유성번식방법에 의해 생산된 천마종자를 이용하여 실제 천마재배 시 종마로서 사용되는 자마를 연중 대량생산할 수 있는 기내생산방법의 개발이 절실하다.

발명의 내용

해결 하고자하는 과제

- [0007] 국내에서의 천마생산은 자마를 이용한 번식방법에 의존해 왔으나 3-4세대에 걸친 연속적인 무성번식방법은 천마 괴경의 모양이 길고 가늘어져 경제성이 없어지는 천마퇴화현상을 야기하였고 생산성 감소와 재배농가의 소득감소로 이어졌다. 따라서 본 발명이 이루고자 하는 목적은 연속적인 무성번식에 기인된 천마퇴화현상을 천마종자를 이용함으로써 극복하고, 환경제어가 가능한 기내배양법을 이용함으로써 자마의 연중생산을 가능케 하고자 한다.

과제 해결수단

- [0008] 상기의 과제를 해결하고자, 본 발명은 공생균을 이용한 천마종자의 기내발아방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 1) 천마종자 발아균을 배양하는 단계; 2) 낙엽미강 배지의 준비 및 상기 1)의 배양된 발아균을 준비된 낙엽미강 배지에 접종하는 단계; 3) 상기 2)의 접종된 발아균과 천마종자의 공조배양 단계; 및 4) 상기 3)의 공조배양물에서 천마종자 발아균을 선발하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 공생균을 이용한 천마종자의 기내 발아방법을 제공한다.

효 과

[0009] 본 발명의 제조방법은 유성번식에 의해 생산된 천마종자를 이용하여 자마의 대량생산을 가능하게 함으로써 연속된 자마무성번식에 의해 야기된 천마퇴화현상을 극복하고, 환경제어가 가능한 기내배양법을 이용함으로써 자마의 연중생산을 가능케 한다.

발명의 실시를 위한 구체적인 내용

[0010] 본 발명은 공생균을 이용한 천마종자의 기내발아방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 1) 천마종자 발아균을 배양하는 단계; 2) 낙엽미강 배지의 준비 및 상기 1)의 배양된 발아균을 준비된 낙엽미강 배지에 접종하는 단계; 3) 상기 2)의 접종된 발아균과 천마종자의 공조배양 단계; 및 4) 상기 3)의 공조배양물에서 천마종자 발아균을 선별하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 공생균을 이용한 천마종자의 기내발아방법을 제공한다.

[0011] 본 발명에서 상기 천마종자 발아균은 흰애주름버섯균(*Mycena osmundicola*)을 PDA 배지에서 배양한 것일 수 있다.

[0012] 또한 본 발명에서 상기 낙엽미강 배지는 참나무류 낙엽을 포함하며, 배양용기당 낙엽크기가 가로대 세로 1 x 1 ~ 5 x 5cm의 비율로 준비된 것일 수 있다.

[0013] 또한 상기 공조배양은 한천배지에 천마종자를 살포한 후, 천마종자 발아균이 증식된 낙엽미강 배지를 천마종자 한천배지 위에 올려놓고, 암배양 한 것일 수 있다.

[0014] 본 발명은 또한 상기의 방법으로 제조된 천마종자로부터 발아된 원구경을 제공한다.

[0015] 이하 본 발명의 공생균을 이용한 천마종자의 기내발아방법에 대하여 보다 상세하게 설명한다.

[0016] 본 발명은 천마의 노지 재배시 자마의 연속적인 무성번식방법에 의해 야기되는 천마퇴화현상을 유성번식에 의해 생산된 천마종자를 이용함으로써 극복하고, 배양환경을 제어할 수 있는 기내배양을 통해 자마로의 발달이 가능한 원구경을 연중 생산하는 배양방법들에 관한 것이다.

[0017] 본 발명은 공생균을 이용한 천마종자의 발아기술에 관한 것으로, 기존의 천마 재배방법(자마와 뽕나무버섯균과의 공생배양을 통해 무성적으로 생산하는 방법)에 기인한 천마퇴화현상을 극복하고자 유성번식을 통해 생산된 천마종자와 천마종자를 발아시키는 능력이 있는 곰팡이균류와의 공조배양을 통해 발아시키고, 종자발아시 온도 및 습도 등의 환경조건을 기내배양을 통해 정확하게 제어함으로써 1년에 한번 이루어지는 자마 생산을 연중생산이 가능하도록 하여, 궁극적으로는 천마생산량의 증가와 더불어 천마재배농가의 소득증대에 도움이 될 수 있는 새로운 자마의 배양방법을 제공한다.

[0018] 본 발명의 제조방법은 1) 천마종자 발아균을 배양하는 단계; 2) 낙엽미강 배지의 준비 및 상기 1)의 배양된 발아균을 준비된 낙엽미강 배지에 접종하는 단계; 3) 상기 2)의 접종된 발아균과 천마종자의 공조배양 단계; 및 4) 상기 3)의 공조배양물에서 천마종자 발아균을 선별하는 단계;를 포함한다(도 1 참조).

[0019] 본 발명의 제조방법은 천마 발아균사체를 액체 배양한 후 천마종자와의 공조배양시 발아균의 성장과 활성을 유지하기 위해 참나무 낙엽이 포함된 낙엽미강배지를 이용하였으며, 종자와 발아균과의 공조배양을 통한 종자발아는 한천배지에서 수행되었고, 흰애주름버섯균이 천마종자의 발아에 가장 효과가 있는 곰팡이균류라는 것을 특징으로 한다.

[0020] 본 발명에서 상기 천마종자 발아균은 흰애주름버섯균(*Mycena osmundicola*)을 PDA 배지에서 배양한 것일 수 있다.

[0021] 또한 본 발명에서 상기 낙엽미강 배지는 참나무류 낙엽을 포함하며, 배양용기당 낙엽크기가 가로대 세로 1 x 1 ~ 5 x 5cm의 비율로 준비된 것일 수 있다.

[0022] 바람직하게는 상기 낙엽미강 배지는 상수리나무 낙엽을 포함하며, 지름 9cm의 배양용기당 낙엽크기가 가로대 세로 2 x 2cm의 비율로 준비된 것일 수 있다.

[0023] 또한 상기 공조배양은 한천배지에 천마종자를 살포한 후, 천마종자 발아균이 증식된 낙엽미강 배지를 천마종자 한천배지 위에 올려놓고, 암배양 한 것일 수 있다.

[0024] 바람직하게는 상기 공조배양은 천마종자를 포함하고 있는 꼬투리를 화염소독한 후 한천배지(Agar 8 g/l)가 함유

된 페트리디쉬(지름 9cm)에 종자를 골고루 털고, 이때 한 꼬투리당 약 10개의 페트리디쉬에 종자를 살포하며, 발아균이 감염된 낙엽미강 배지를 낙엽과 동일한 크기(2 x 2 cm)로 자른 후 종자가 살포되어 있는 한천배지 중앙에 올려놓는다. 발아균이 접종된 천마종자는 이후 23℃에서 9주간 암실에서 배양한 것일 수 있다.

[0025] 이하의 본 발명의 실시예 및 실험예를 설명한다. 다만, 이하의 실시예 등은 본 발명을 더욱 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 권리범위가 이에 한정되는 것은 아니다.

[0026] <실시예 1> 천마종자 발아균의 배양

[0027] 천마종자 발아균은 Potato Dextrose Agar 배지(PDA, Difco; 39 g/l)에 배양되어 온 흰애주름버섯균(*Mycena osmundicola*)을 이용하였다. 최초 액체 배양용 재료로 사용하기 위해 PDA 고체배지에 배양중인 균사체를 무균적으로 잘게 잘라 250ml의 삼각플라스크에 넣고, 잔나비배지(glucose 25 g/l, yeast extract 2 g/l, glutamic acid 1g/l, thiamine 0.1 g/l, KH₂PO₄ 2 g/l, MgSO₄ 0.5 g/l, disodium dihydrate EDTA 0.2 g/l, MnSO₄ 0.1 g/l) 100ml을 첨가하여, 100rpm으로 26±2℃에서 약 3주간 진탕배양 하였다. 배양된 균사체를 호모게나이저로 갈아 낙엽미강 배지에 접종용 균사체로 이용하였다.

[0028] <실시예 2> 낙엽미강 배지의 준비 및 발아균의 접종

[0029] 미강과 물이 1:4의 부피율이 되도록 섞은 후 20 ml을 원형배양용기(400 ml)에 넣고, 정사각형(2 x 2 cm)으로 자른 상수리나무 낙엽을 미강과 물이 섞인 배지위에 올려놓은 후 90분간 고온 멸균하였다. 멸균 후 배양된 발아균 사체 5 ml을 접종하고 26±1℃에서 약 3주간 암실에서 배양하였다.

[0030] 낙엽미강 배지는 발아균이 천마종자를 발아시키는 기간동안 발아균 생육을 위한 유일한 영양원이 된다. 낙엽미강 배지에 포함되는 낙엽으로는 상수리나무의 낙엽이 가장 우수한 것으로 나타났으며, 그 크기는 페트리디쉬(지름 9 cm)를 이용한 종자발아시 2 x 2 cm가 원구경 발달에 가장 우수하였다(도 2 및 3 참조). 도 2의 발아된 원구경 수는 떡갈, 루브라, 졸참 및 상수리나무의 낙엽을 이용한 배양용기(페트리디쉬 9 x 9 cm)당 발아된 원구경 수이며, 배양용기 당 살포된 종자 수는 약 400-500 정도이다. 도 3은 낙엽미강 배지(상수리 낙엽 2 x 2 cm)를 이용한 원구경 수로, 종자발아 단계로서 표시로 것이다.

[0031] <실시예 3> 천마종자와 접종된 발아균의 공조배양

[0032] 천마종자를 포함하고 있는 꼬투리를 화염소독한 후 한천배지(Agar 8 g/l)가 함유된 페트리디쉬(지름 9cm)에 종자를 골고루 털었다. 이때 한 꼬투리당 약 10개의 페트리디쉬에 종자를 살포하고, 발아균이 감염된 낙엽미강 배지를 낙엽과 동일한 크기(2 x 2 cm)로 자른 후 종자가 살포되어 있는 한천배지 중앙에 올려놓았다. 발아균이 접종된 천마종자는 이후 23±2℃에서 9주간 암실에서 배양하면서 발달단계별 원구경의 수를 확인하였다(도 4 참조).

[0033] <실시예 4> 천마종자 발아균의 선발

[0034] 수집된 애주름버섯균(*Mycena osmundicola*, *Mycena rorida*, *Mycena stylobates*, *Mycena species*)을 상기 실시예 1, 2 및 3의 방법을 통해 천마종자를 발아시킨 결과 흰애주름버섯균(*Mycena osmundicola*)이 종자발아에 가장 효과적이었다(도 5 참조).

산업이용 가능성

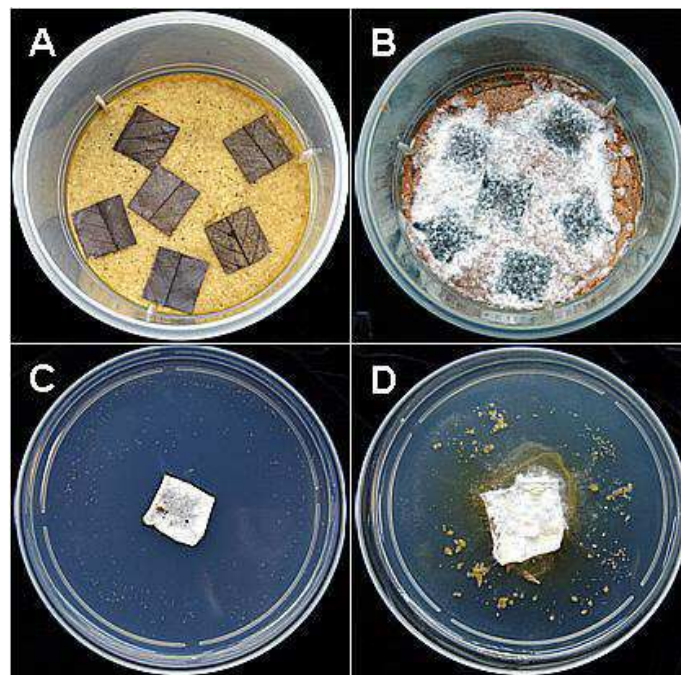
[0035] 본 발명의 공생균을 이용한 천마종자의 배양방법은 천마퇴화현상을 방지하고, 기내배양을 통해 자마로의 발달이 가능한 원구경을 연중 생산하는 신 배양방법으로써, 우리나라의 산업발전에 이바지할 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

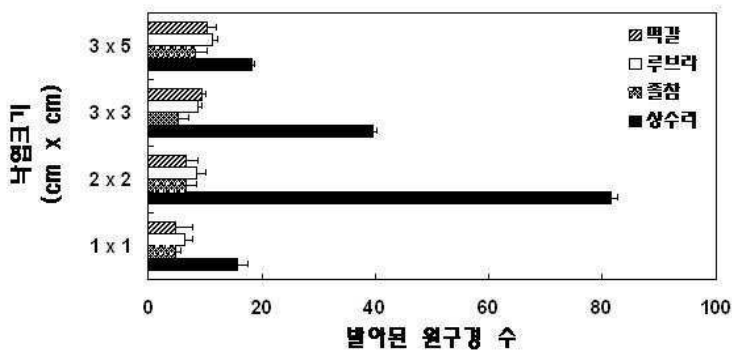
- [0036] 도 1은 본 발명의 공생균을 이용한 천마종자의 배양단계별 모식도를 보여준다(A는 상수리 나뭇잎(2 x 2 cm)이 포함된 낙엽미강 배지, B는 낙엽미강 배지에서의 발아균 배양과정, C는 발아균이 배양된 낙엽미강 배지와 천마 종자를 한천배지에서 공조배양과정 및 D는 공조배양개시 2개월 후 천마종자 발아양상을 나타낸다.).
- [0037] 도 2는 천마종자 발아에 있어서, 낙엽미강 배지 내 낙엽의 종류 및 크기에 따라 발아된 원구경 수를 나타낸 것이다.
- [0038] 도 3은 낙엽미강 배지(상수리 낙엽 2 x 2 cm)를 이용한 천마종자 발아에 있어서, 발아균 접종 후 배양기간에 따른 원구경 수를 나타낸 것이다(단계 1은 발아균사의 종자감염 및 배발달 개시단계, 단계 2는 초기 원형 원구경 발달단계 및 단계 3은 원구경으로부터 2차 측지의 발달단계이다.).
- [0039] 도 4는 천마종자의 발아단계별 양상을 사진으로 나타낸 것이다(A는 단계 1로 발아균사의 종자감염 및 배발달 개시, B는 단계 2로 초기 원형 원구경 발달, C는 초기 원형 원구경의 집단적 발달 및 D는 단계 3으로 원구경으로부터 2차 측지의 발달을 보여준다.).
- [0040] 도 5는 흰애주름버섯(*Mycena*) 균주를 이용한 천마종자 발아균의 원구경 수를 나타낸다(Msp는 미동정 애주름버섯, Ms는 빨판애주름버섯균(*Mycena stylobates*), Mr는 점질대애주름버섯(*Mycena rorida*) 및 Mo는 흰애주름버섯(*Mycena osmundicola*)을 나타낸다.).

도면

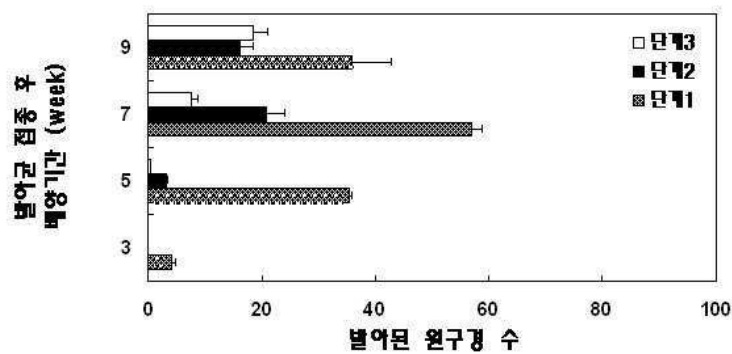
도면1



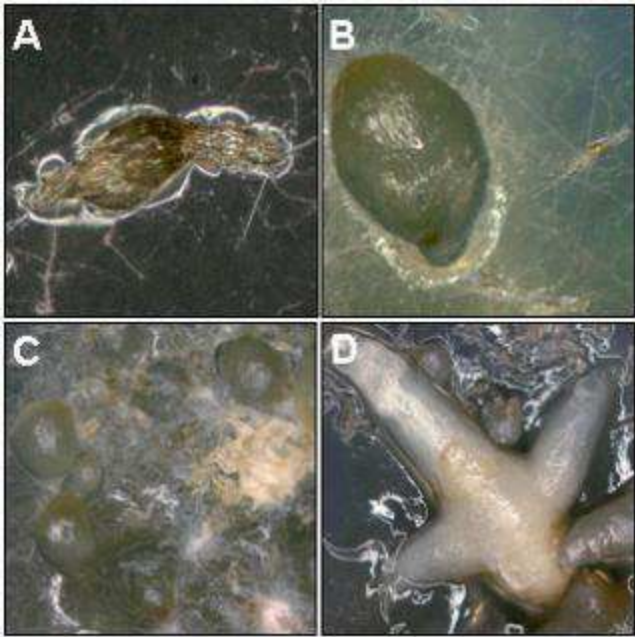
도면2



도면3



도면4



도면5

