

04-2-1

## Auxin의 종류와 농도 및 생물반응기 내 공기공급량이 Gymnema 세포배양에 미치는 영향

이은정\*, 한은주, 백기엽

충북대학교 첨단원예기술개발연구센터

### 목적

짐네마 세포 증식에 미치는 식물생장조절물질과 배양기 내 공기공급량의 영향 및 생물반응기 내에서 짐네마 세포의 성장 변화를 확인하고자 본 실험을 실시하였다.

### 재료 및 방법

1. 재료 : *Gymnema sylvestre* R. Br.

2. 방법 : ① Auxin의 종류와 농도가 짐네마 세포배양에 미치는 영향

IBA와 NAA를 각각 1mg/L, 3mg/L, 5mg/L, 7mg/L, 9mg/L로 처리하였다. 배지는 Kinetin 0.1mg/L와 sucrose 30g/L가 함유된 MS배지를 사용하였으며 초기 세포의 접종량은 60g/L로 고정하였다. 본 실험은 400ml 플라스크를 이용하여 20±1℃로 유지되는 암배양실에서 3주간 액체진탕배양으로 수행되었다.

② 생물반응기 내 공기공급량이 짐네마 세포배양에 미치는 영향

공기흐름조절장치를 이용하여 공기 주입량을 0.05vvm, 0.1vvm, 0.2vvm, 0.3vvm, 0.05-0.4vvm (0.05vvm으로 시작하여 세포의 생장이 진행됨에 따라 서서히 0.4vvm까지 증가시킴)으로 처리하였다. 배양은 공기용적이 3L인 bulb type 생물반응기를 이용하였으며 공급되는 공기는 압축공기를 이용하였다. 배지는 NAA 5mg/L, kinetin 0.1mg/L, 설탕 30g/L가 함유된 MS배지를 사용하였으며 20±1℃로 유지되는 암배양실에서 15일간 수행되었다.

③ 생물반응기 내 짐네마 세포의 성장변화

위 실험결과들을 바탕으로 25일간 5일 간격으로 생육조사를 실시하였다.

### 결과 및 고찰

짐네마는 약용식물로 식용을 고려한다면 세포의 성장량에는 큰 영향을 주지 않는 범위 내에서 2,4-D이외의 타 옥신으로 전환하는 것이 안정성을 높일 수 있다. 그 이유는 2,4-D가 식물 세포의 성장과 캘러스 유기에 일반적으로 이용되지만, 선택적 제초제로 이용이 가능할 정도의 독성을 가진 물질이기 때문이다. 따라서 2,4-D 1mg/L를 대조구로 하여 IBA와 NAA를 각각 농도별로 처리한 결과 IBA처리구의 경우 대조구에 비하여 전반적으로 생장이 저조한 반면, NAA 1mg/L, 3mg/L, 5mg/L 처리구간에는 대조구와 5% 유의범위에서 유의차가 나타나지 않는 성장 반응을 나타내었다.

생물반응기 내로 주입하는 공기 공급량은 배양기 속의 배지 및 배양체의 섞임 상태를 결정시키며, 공기가 공급되는 양에 따라 유체역학적 스트레스의 강도가 결정되므로 세포생장에 영향을 미치는 요인이다. 본 실험결과 세포가 성장함에 따라 단계적으로 공급되는 공기량을 증가시킨 처리구에서 생체중과 건물중이 각각 255.24g/L와 14.00g/L로 생장이 가장 양호하였다. 비교적 적은 양의 공기를 주입한 0.05vvm과 0.1vvm처리구에 비하여 0.2vvm과 0.3vvm 처리구의 생장이 10-20%정도 감소하였는데 이는 배양초기부터 상대적으로 많은 양의 공기를 공급받음으로써 세포가 유체역학적 스트레스와 CO<sub>2</sub>와 Ethylene제거에 따른 성장억제 현상으로 생각되었다.

위 실험결과들을 바탕으로 짐네마 세포의 성장변화를 확인한 결과 생체중의 경우 배양 10일부터 급격히 증가하여 배양 20일째 최고 성장을 나타내었다. 그러나 건물중의 경우 배양 15일 이후에 큰 변화를 보이지 않았는데 이는 배양 15일 이후 세포가 더 이상 분열되지 않고 세포내 수분 함량 증가로 인한 세포 크기 증가에 따른 생체중의 증가로 생각되었다. 또한 배양 15일 후부터 세포증식에 따라 공기주입구 부분부터 세포가 침적되며 생물반응기내 압력상승에 따른 배지 역류현상이 관찰되었다. 이상의 결과로보아 짐네마 세포의 경우 15일주기로 배양하는 것이 세포증식에 가장 효과적인 것으로 생각된다.

\* 연락저자: 이은정, 전화: 019-467-7560, E-mail: ejlee@chungbuk.ac.kr.