

# 유식물체 증식·순화용 배양시스템 개발

## Development of Culture System for Masspropagation and Acclimatization in Tissue Cultured Plantlets

한길수\* 허정욱\* 김시찬\* 이용범\* 김상철\* 임동혁\* 최홍기\*  
K. S. Han, J. W. Heo, S. C. Kim, Y. B. Lee, S. C. Kim, D. H. Im, H. G. Choi

### 1. 서론

조직배양에 의한 씨감자 배양소식물체(유식물체)의 생산은 생장점 배양 → 배양소식물체 유도 → 증식 → 발근유도 → 순화 등으로 여러 공정을 거쳐 이루어지는데 기내에서는 주로 경삽의 형태로 유식물체를 증식하고 기외에서는 주로 수경재배 방식으로 씨감자를 생산하고 있다. 또한 수경재배 전단계인 감자 유식물체의 기내생산에 있어서 소형의 배양용기에서 증식하고 기외에서 순화하는 작업이 전체 노동력의 70%이상을 차지하고 있어 유식물체의 증식과 순화공정을 생력화할 수 있는 기술개발이 필요하다.

따라서 본 연구는 광강도 및 환기량을 조절하는 광독립영양배양방법에 의거하여 씨감자용 감자 유식물체의 증식·발근·순화가 연속적으로 이루어질 수 있는 적정 배양환경 제어 알고리즘을 분석하여 수경재배형 배양시스템을 개발하기 위한 기초기술을 제공하기 위하여 수행하였다.

### 2. 재료 및 방법

#### 가. 식물재료 및 환경조건

##### (1) 식물재료

성능평가에 적용된 식물재료는 단절단엽의 감자 (*Solanum tuberosum*, cv. *Daeji*) 배양체로 하였다. 감자는 MS배지에 30 g/l를 첨가한 액체배지를 이용하여 현탁배양하였다. 예비시험에 적용된 식물재료는 국화 (*Chrysanthemum morifolium*, cv. *Cheonsu*) 및 고구마 (*Ipomoea batatas*, cv. *Shincheonmi*) 배양체로 하였다. 국화 및 고구마는 MS (Murashige & Skoog, 1962) 배지에 당 30 g/l를 첨가한 광혼합영양배양 조건하에서 계대배양하였다. 각 단절단엽의 배양체들은 실험 개시일에 1/2 MS배지에 당을 첨가하지 않은 액체배지에서 배양하였다 (광독립영양배양 조건). 각 배양체 수는 50개체였으며 4반복 하였다. 실험기간은 실험개시일을 배양 1일째로 하여 21일로 하였다. 한편, 강제환기 및 배양액 입배출은 식물체 이식 7일째부터 실시하였다.

##### (2) 배양실 환경조건

배양조 및 환경조절장치가 위치한 배양실내 명기 및 암기의 대기온도는 각각  $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$  및  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 로 조절하였으며 상대습도는  $60 \pm 10\%$ 였다.

\* 농촌진흥청 농업공학연구소

## 나. 시작기 설계

기존의 유식물체 배양방법은 삼각플라스크 및 소형의 배양병을 이용하기 때문에 배양환경의 조절이 어렵고 많은 양을 배양하기에 부적절하기 때문에 증식과 순화가 가능한 배양시스템이 필요하다. 그림 1은 다음과 같은 기능을 수행할 수 있는 시스템의 개략도를 나타내었다. 1) 기내 조직 배양체의 성장단계에 따라서 환기량 및 배양액 입배출 시간을 자동으로 제어할 수 있고 2) 조직배양실내 배양체 증식용뿐만 아니라 조직배양묘의 온실내 순화용 환경조절이 가능하며 3) 배양액 저장탱크와 배양조 사이에 자외선 살균등을 설치하여 배양기간 동안 배양액의 오염을 방지하여야 하고 4) 광강도, 온도 및 pH 등 배양액 및 배양환경을 수시로 확인하여 배양체의 성장에 적절한 배양환경을 조절할 수 있어야 한다.

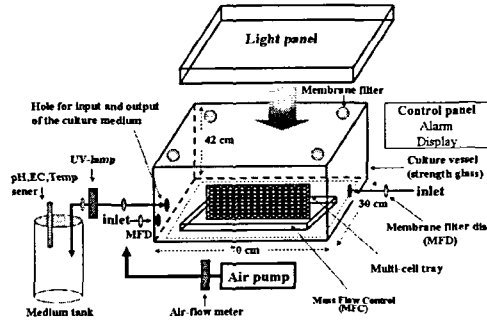


그림 1 증식 순화용 배양시스템 개략도

## 3. 결과 및 고찰

### 가. 시스템 제작

#### (1) 시스템의 구성

식물 조직배양용 강제환기형 배양시스템(Environmental Control System)은 그림 2와 같이 배양소식물체의 광합성 및 성장촉진에 의한 순화형 배양묘 생산을 목적으로 개발하였다.

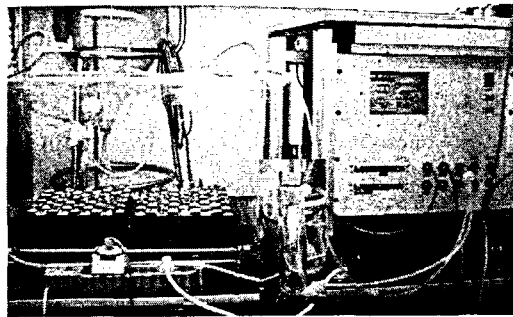


그림 2. 유식물체 증식 순화용 배양시스템

#### (2) 시스템의 제원

이 시스템은 배양조, 배양환경통합제어장치, 광강도 제어장치, 살균 및 오염경보장치 등으로 제작하였다. 표 1은 시스템의 제원 및 특징을 나타내었다. 시스템은 환기량 및 배양액 입배출 제어가 가능하고 배양체 증식용뿐만 아니라 조직배양묘의 온실내 순화용 환경조절장치

로 이용할 수 있다. 또한 배양액 저장탱크와 배양조 사이에 자외선 살균등을 설치하여 배양액의 오염을 방지하며 광강도, 온도 및 pH 등 배양체의 성장에 적절한 배양환경을 조절할 수 있도록 제작하였다.

표 1. 시스템 제원

구분	주요 제원
식물재료	유식물체(감자, 국화, 고구마)
배지	MS배지에 30g/l, 입배출 : Ebb & Flood
배양체지지물	플리그트레이+필라이트+암면
배양조	투명의 아크릴(W 700×L 420×H 300mm, 두께 5mm), 덮개부 환기용 반투명실리콘(직경 5mm)튜브 부착
배양액탱크	20l용량, 액체여과필터 채용, pH, EC, 온도센서 부착
배양액공급장치	마그네틱펌프
환기량조절장치	공기량조절장치, 공기량 0~100cc/min
광제어장치	외부전극형광램프(W 600×L 300×H 40mm) 발광부 : 직경6mm, 길이 400mm, 0~147 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )
살균장치	자외선살균파장 253.7nm, 소비전력 8Watt
오염경보장치	pH 값의 변화에 따른 오염경보, 부저부착

## 나. 예비시험

### (1) 국화 배양소식물체의 성장

강제환기형 배양시스템에서 21일간 배양된 국화 배양소식물체의 생장은 종래의 배양방법에 비해 현저히 촉진되었다. 배양개시 21일째 배양소식물체의 생체중, 건물중, 전개엽수 및 엽면적은 통계적인 유의차가 인정되어 관행의 배양방법에 비해 배양시스템 배양방법에서 현저하게 증가하는 것으로 나타났다 (그림 3). 국화 배양소식물체의 생체중은 대조구인 관행구에 비해 배양시스템구에서 약 2배 증가하였으며 엽면적은 통합제어장치 처리구에서 대조구에 비해 2배이상 증가하였다. 대조구의 소식물체는 배양 3주째에 뿌리발생이 거의 이루어지지 않았으나 배양시스템구에서는 근부발달이 왕성하였는데, 이것은 지상부 및 지하부의 환기처리에 의한 것으로 생각되었다.

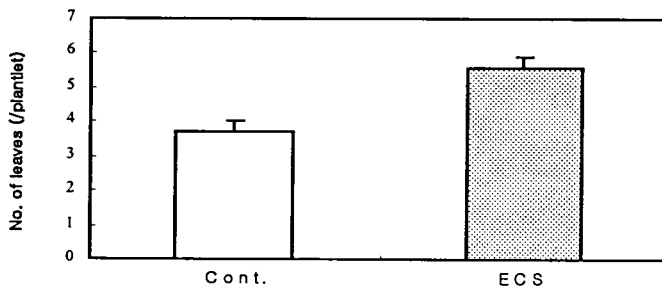


그림 3. 실험개시 21일째 국화 배양소식물체의 전개엽수

## (2) 고구마 배양소식물체의 생장

대조구에 비해 배양시스템구에 있어서 배양소식물체의 생장은 통계적으로 유의하게 증가하였다. 강제환기형 배양시스템에서 21일간 배양된 고구마 배양소식물체의 근부 생체중은 대조구에 비해 2배 이상 증가하였다. 대조구의 뿌리는 가늘고 긴 형상을 나타내는 반면 배양시스템 조건하에서 배양된 소식물체의 경우에는 뿌리가 굵고 짧았다. 배양개시 21째 배양시스템구에서의 전식물체 건물중은 대조구에 비해 2배 이상 증가하였다. 배양시스템에 있어서 엽면적은 대조구에 비해 3배 이상 증가하는 것으로 나타났다 (그림 4). 배양시스템은 국화 배양소식물체의 경우와 마찬가지로 고구마 배양소식물체의 생장에 유의한 영향을 미치는 것을 알 수 있었다.

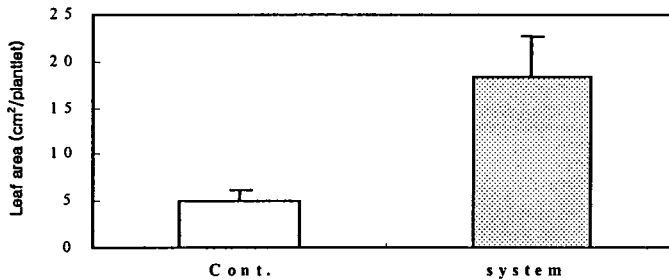


그림 4. 실험개시 21일째 고구마 배양소식물체의 엽면적

## 다. 성능시험

### (1) 감자 배양소식물체의 생장

강제환기형 증식 및 순화용 배양시스템 내에서 21일간 광독립영양배양 방법 (배지에 당을 첨가하지 않고 광강도 및 환기량 조절에 의해 배양체의 생장을 촉진하는 배양방법)에 의해 배양한 결과, 종래의 배양방법 (배지내 당을 첨가하여 400~500 mL의 소형배양기에서 배양하는 광혼합영양배양방법)에 의해 배양된 소식물체에 비해 현저한 성장촉진효과가 있는 것으로 나타났다.

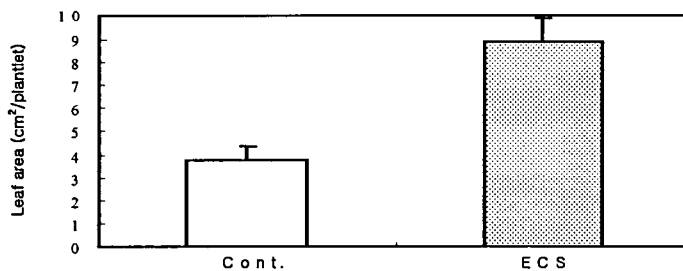


그림 5. 실험개시 21일째 감자 배양소식물체의 엽면적

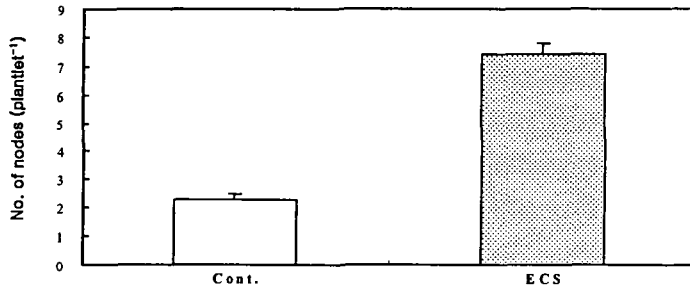


그림 6. 실험개시 21일째 감자 배양소식물체의 마디수

배양시스템구에 있어서 감자 배양소식물체의 엽면적은 대조구에 비해 2배이상 증가하였다 (그림 5). 배양기간 동안 증가된 마디수는 대조구에서 3.4였으며 배양시스템구에서 6.9개로, 배지에 당을 첨가하지 않고 환기횟수 및 광강도를 증가시키는 광독립영양배양 조건하에서 마디수가 2배 이상 증가하였다. 한편, 21일간 개발된 배양시스템 조건하에서 배양된 감자 배양소식물체의 마디수 증가는 대조구인 관행구에 비해 현저히 증가하였는데, 배양시스템구에서는 관행구에 비해 약 2배 이상 마디수가 증가하였다 (그림 6).

생체중 및 건물중에서도 두 처리구간에 통계적인 유의차가 인정되어 배양시스템구에서 현저한 성장촉진효과가 인정되었다.

또한, 배양종료 후 배양소식물체를 기외에서 순화시킨 결과, 생존율이 100%인 것으로 보아 환기조절에 의한 기내순화가 이루어진 것으로 판단되었다.

이상으로 감자 배양소식물체 증식에 있어서 배양시스템에 의한 배양소식물체 증식방법은 관행의 배양방법에 비해 유효한 것으로 생각되며, 대형의 배양조를 이용한 배양시스템은 순화 촉진 및 순화기간 단축에도 효과적일 것으로 생각된다.

#### 라. 실용화를 위한 개선사항

감자 배양소식물체의 증식 및 순화용 배양시스템 개발을 위한 기초 자료를 얻기 위해 고안된 배양시스템은 감자 배양소식물체 이외에 국화 및 고구마의 기내 삼수 증식 및 기내 성장뿐만 아니라 기외순화에 효과적인 것으로 판단되었다. 배양시스템은 감자를 비롯한 기타 기내 배양소식물체의 기내 광독립영양생장 (배지에 첨가하는 당을 생장에 이용하는 대신에 환기량 및 광강도를 증가시키므로써 공기중의 이산화탄소를 탄소원으로 하여 독립적으로 성장함)을 촉진하여 결과적으로 관행의 배양방법에 비해 배양소식물체의 성장을 촉진시킬 수 있다.

배양시스템은 배양조를 둘러싸고 있는 물리적, 화학적 환경요인 (배양액 pH, 배양액온도, 광강도, 환기량)의 변화를 관찰할 수 있는데, 특히, 배양액의 오염발생을 경보하여 배양액 pH를 보정할 수 있으며 광강도 및 환기량을 정기적으로 측정하며, 배양소식물체의 성장단계에 맞추어 환기량을 제어할 수 있다. 또한, 배양시스템은 수경재배 방식의 하나인 Ebb & Flood 방식을 응용하여 배양조내 배양액을 입배출시키는 방식으로 지하부의 용존산소농도를 높일 수 있어 배양소식물체의 근부생장을 촉진시킬 수 있다. 통합제어장치는 지하부뿐만 아니라 지상부로의 환기량 조절을 가능하도록 설계하여 각 Cell마다 환기량을 적절하게 조절하므로

서 배양소식물체의 광합성 및 증산속도 등의 물질대사를 촉진할 수 있다. 그러므로 증식 및 순화용 배양시스템은 감자, 국화 및 고구마뿐만 아니라 목본식물이나 난과식물 등 비교적 배양기간이 긴 식물체의 기내 성장촉진 및 기외순화의 기간단축에 효과적일 것으로 생각된다.

본 연구는 배양시스템을 개발하기 위한 기초기술을 제공하기 위하여 수행하였기 때문에 실용화를 위하여 다음과 같은 사항이 개선되어야 할 것으로 판단된다. 1) 배양조내에 설치된 강제환기용 파이프의 무게를 재고하여 배양조를 둘러싼 시스템을 경량화할 필요가 있다. 2) 배양조의 반영구적 이용을 위하여 아크릴 패널로 제작된 배양조를 강화유리 등, 배양조의 광투과성을 향상시키며 배양조의 살균작업이 용이한 재질로 바뀌어야 할 필요가 있다. 3) 통합제어장치는 현재 장치내에 유량계를 포함하고 있지 않기 때문에 환기량 조절작업이 수동으로 이루어지고 있다. 따라서 정확한 환기량 측정 및 제어를 위하여 환기량을 자동으로 측정 및 조절할 수 있는 장치개선이 필요하다. 4) 환기량 조절범위는 0~1,000cc/min까지 증가시켜서 유식물체 성장후기단계의 환기량을 증가시킬 필요가 있다. 5) 또한 배양소식물체의 배양단계 후기의 광독립영양생장을 촉진시키기 위하여 현재 광강도 제어장치의 광강도를 약 200~250  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  이상으로 증가시켜야 할 필요가 있다.

#### 4. 요약 및 결론

환경조절장치 (ECS)는 배양조 및 유식물체를 둘러싼 미세환경조절이 가능하였다. 또한 ECS하에서 21일간 배양된 씨감자 유식물체뿐만 아니라 기타 고구마 및 국화 유식물체의 생장은 관행의 배양방법에 비해 현저히 증가하였으며 기외 순화율은 100%였다.

본 배양시스템의 실용화를 위하여 배양조내 강제환기용 파이프의 경량화, 강화유리와 같은 영구적으로 사용가능한 배양조 재질 및 ECS의 환기량 조절용 펌프 용량을 증가시키는 등의 개선이 요구되었다.

#### 5. 참고문헌

- J. Heo, T. Kozai, 1999, Forced Ventilation Micropropagation System for Enhancing Photosynthesis, Growth, and Development of Sweetpotato Plantlets, *Environ. Control in Biol.*, 37(1): 83-92
- J. Heo, S.B. Wilson, and T. Kozai, 2001, A Forced Ventilation micropropagation System for Photoautotrophic production of Sweetpotato Plug Plantlets in a Scaled-up Culture Vessel : 1. Growth and Uniformity, *Horttechnology*, 11(1): 90-94
- S.B. Wilson, J. Heo, C. Kubota, and T. Kozai, 2001, A Forced Ventilation micropropagation System for Photoautotrophic production of Sweetpotato Plug Plantlets in a Scaled-up Culture Vessel : 2. Carbohydrate Status, *Horttechnology*, 11(1): 95-99
- Q.T. Nguyen, T. Kozai, J. Heo, and D.X. Thai, 2001, Photoautotrophic growth response of in vitro cultured coffee plantlets to ventilation methods and photosynthetic photon fluxes under carbon dioxide enriched conditions, *Plant Cell Tiss. & Org. Cult.*, 66: 217-225