

## 고구마의 경정조직 유래 기내 소식물체의 성장촉진과 순화

은종선\* · 김영선<sup>1</sup> · 東四郎<sup>2</sup>

전북대학교 원예학부, <sup>1</sup>장흥대학 관상원예학과, <sup>2</sup>日本 鹿兒島大學 理學部

### Growth Acceleration and Acclimatization of *In Vitro* Plantlets derived from Apical Meristem of Sweet Potato

EUN, Jong Seon\* · KIM, Young Seon<sup>1</sup> · Shiro Higashi<sup>2</sup>

Department of Horticulture, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea

<sup>1</sup>Department of Ornamental Horticulture, Changheung Provincial College, Changheung 529-850, Korea

<sup>2</sup>Faculty of Science, Kagoshima University, Kagoshima 890, Japan

**ABSTRACT** The single node cuttings of sweet potato (cv. Mokpo #29) plantlets maintained *in vitro* were cultured with (MF+) or without membrane filter (MF-) under photomixotrophic (PM), hetrotrophic (HT) and autotrophic (AT) conditions. Shoot length was the greatest (11.9cm) in 30°C (HT) treatment and it was the shortest (3.4 cm) in 25°C (PM) treatment. Nodal explants cultured in 30°C treatment looked more vigorous than those of 25°C in appearance, and node number was the greatest (10.5 per plantlet) among the treatments. But plantlets grew in 30°C (HT) treatment were observed all overgrown. The size in leaf area was about 2 times greater and shoot length was about 2 times shorter in PM than in HT condition. Percent dry matter of shoots was 5.9% (HT) and 7.4% (PM) in 25°C treatment and 6.1% (HT) and 7.4% (PM) in 30°C treatment. Plantlets cultured in the MF+ treatments were less succulent than those cultured in the MF- treatment. Vitrified plantlets were examined 14.8% (both 25°C and 30°C) in PM condition and 22.2% (25°C) and 31.5% (30°C) in HT condition. Sucrose was necessary for the survival of *in vitro* plantlets. In the sucrose-free medium, explants cultured in the MF- had turned yellow and were dead after 30 days of culture. But explants cultured in the MF+ were alive and produced plantlets with shoot and root (AT). On the other hand, the survival of explants on the MS basal medium (sucrose-free and hormone-free) depended entirely upon the MF attachment.

**Key words:** Autotrophic, hetrotrophic, photomixotrophic, vitrified plantlets

#### 서 론

식물조직배양에 있어서 종래의 培養器內의 소식물체는 광합성능력을 거의 가지고 있지 않기 때문에 종속영양적 생장을 위하여 탄소원으로서 배지내에 糖의 첨가가 필수적이었다. 從屬榮養條件하에서 식물의 생장은 배지조성, 식물생장

조절물질 및 온도가 중요한 환경요인이기 때문에 배양묘의 생산에 있어서 비용이 많이 들었고 함수량이 높으며 광합성능력이 저하되어 배양묘의 순화기간 동안 생존율이 저하되는 문제점이 있다.

그러나 최근 기내의 光度나 CO<sub>2</sub>농도를 높여준 소식물체는 기외에서 생육된 식물체와 같은 광합성속도를 나타내었고 (Kozai et al. 1987), 기내 소식물체의 광합성을 촉진시켜줄 경우 배지내에 당류를 첨가하지 않는 光獨立營養 (Kozai and Iwanami 1988; Kozai et al. 1988) 조건하에서 배양이 가능하였다.

\*Corresponding author. Tel 0652-270-2576

E-mail jseun@moak.chonbuk.ac.kr

이와 같이 소식물체가 광독립영양배양이 행하여 질 경우 순화기간이 짧고, 정식 후의 생장이 촉진되며 순화기간 동안 배양묘의 고사율을 대폭 줄일 수 있는 잇점이 있다.

본 연구에서는 培養器의 마개에 membrane filter를 부착하여 배양기내의 가스환경 및 배양온도를 달리한 후 고구마의 莖頂組織 유래 기내 소식물체의 增殖 및 馴化에 적합한 배양조건을 조사하였으며, 배지내에 성장조절제 및 sucrose를 첨가하지 않은 광독립영양조건에서 고구마의 器內苗 생산가능성을 조사하였다.

**재료 및 방법**

고구마 (*Ipomoea batatas* L.) 품종 '목포 29호'의 경정조 직 유래 기내 소식물체의 마디를 잘라 배양재료로 이용하였다. 배지는 종속 및 광혼합영양조건은 3% sucrose, 0.5 mg/L NAA를 첨가한 MS기본배지 (Murashige and Skoog 1962), 광독립영양조건은 sucrose 0%, 0.5 mg/L NAA 또는 sucrose 0%, hormone-free의 MS기본배지를 사용하였고, pH 5.8로 조정한 후 0.2% gelrite를 첨가하였다. 배양조건은 25°C와 30°C의 성장상에서 2,000 lux 광조건으로 1일 16시간 明培養하였다. 배양기내의 가스교환을 위하여 750 mL 사각배양용기의 PE마개에 직경 1 cm 크기의 구멍을 3개 뚫은 후 membrane filter (MF)를 부착하여 사용하였다. 3% sucrose 처리

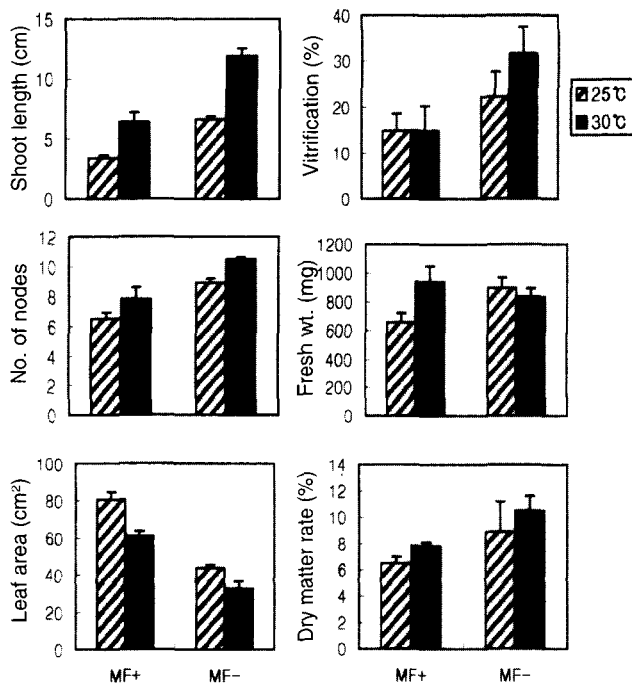
구는 배양 30일 후 마디의 액아가 성장한 식물체의 마디수, 초장, 근장, 투명화율, 생체중, 건물중, 건물률 및 엽면적을 조사하였으며, sucrose-free처리구는 배양 60일 후 마디수 및 액아생존율을 조사하였다.

**결과 및 고찰**

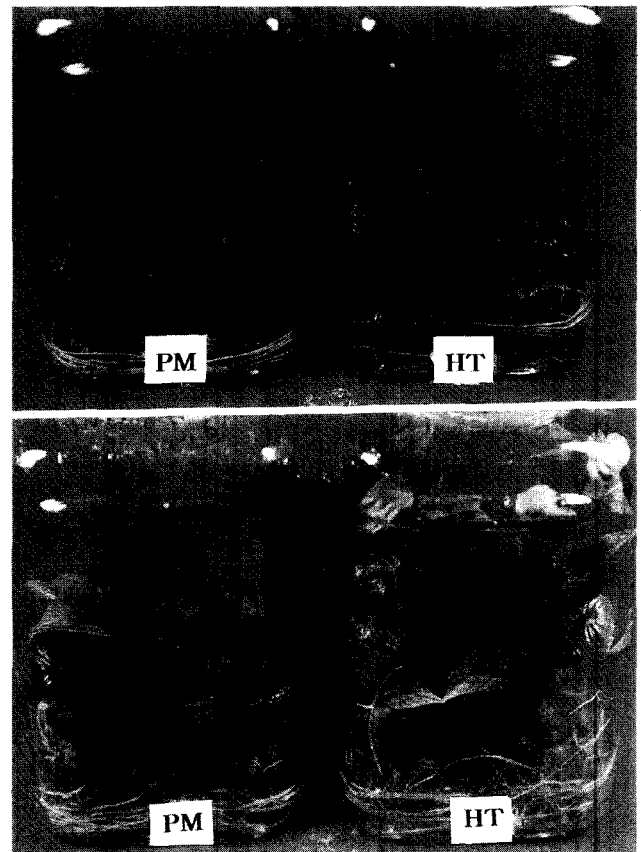
**從屬 및 光混合榮養培養**

기내 소식물체의 마디를 3% sucrose와 0.5 mg/L NAA가 첨가된 MS 기본배지에 치상하여 배양용기 마개에 MF를 부착한 구 (光混合榮養條件)와 MF를 부착하지 않은 구 (從屬榮養條件)로 구분하여 25°C와 30°C의 성장상에서 각각 30일간 배양한 후 식물체의 생육정도를 조사하였다 (Figure 1, 2)

마디절편을 배양하였을 때 약 5~7일 후부터 腋芽가 성장하기 시작하였는데 배양 14일경까지는 처리구별로 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 배양 14일경부터 온도와 MF의 효과



**Figure 1.** Growth of sweet potato plantlets cultured under the different air temperature after 30 days of culture. (MF+, with membrane filter; MF-, without membrane filter)



**Figure 2.** Growth of plantlets on photomixotrophic (PM, MF+) and heterotrophic (HT, MF-) culture on MS medium with 0.5 mg/L NAA and 3% sucrose under different air temperature after 30 days of culture. A: 25°C ; B: 30°C. (MF+, with membrane filter, MF-, without membrane filter).

를 육안으로 확인할 수 있었는데, 특히 30°C의 MF-처리구에서 초장이 길게 신장되어 배양 30일 후에는 마디수가 10.5개였고 초장은 11.9 cm로 같은 온도의 MF부착구가 각각 7.8개, 6.4 cm인 것에 비하여 상당히 徒長되어 있었다. 이것은 25°C의 MF-처리구에서 마디수가 8.9개, 초장은 6.6 cm인 것과 비교하여 볼 때 호온성 작물인 고구마의 기내 생육온도는 30°C에서 급속증식되었다. 또한 25°C에서 MF+처리구와 MF-처리구간에도 마디수와 초장은 큰 차이를 보여 MF를 부착한 배양기내에서 생육된 소식물체에 비하여 MF-처리구의 소식물체는 도장되어 있었다.

그러나 뿌리길이에서는 30°C에서는 MF+처리구에서 MF-처리구보다 길었지만 25°C에서는 거의 같았기 때문에 온도처리 및 MF처리구간에 어떤 유의성이 인정되지 않았다. MF+와 MF-처리구간에 가장 큰 차이는 엽면적이었는데 25°C에서 MF+처리구에서 80.7 cm<sup>2</sup>, MF-처리구에서는 43.8 cm<sup>2</sup>로 약 2배정도 넓었으며, 30°C에서도 약 2배의 큰 차이를 보여 MF 부착에 따른 배양기내의 가스교환이 기내 식물체의 생육에 크게 영향을 알 수 있었다.

또한 고구마의 器內 苗 유지를 위하여 마디를 배양하였을 때 액아가 2~3마디 신장되었을 때 이미 줄기나 잎에 투명화 현상이 나타나 더 이상 신장이 이루어지지 않은 경우가 많았다. 종래 배양법인 종속영양조건의 경우 MF+처리된 혼합영양조건에 비해 30°C에서 31.5%, 25°C에서 22.2%로 高温에서 더 심하였으며 MF+처리구의 경우 25°C와 30°C 모두 14.8%를 나타내 MF부착에 따라 투명화는 상당히 줄어드는 경향이었다.

한편, shoot의 乾物率을 조사한 결과 25°C에서 MF-처리구에서 5.9%, MF+처리구에서 7.4%였고, 30°C의 경우 각각 6.1%와 7.4%를 나타내 MF+처리구에서 shoot의 함유율이 약간 낮았다.

**Sucrose-free 배지에서 MF부착 효과**

糖을 첨가하지 않은 MS기본배지에 0.5 mg/L NAA와 hormone-free를 사용하여 MF를 부착 (光獨立營養條件) 또는 미부착 (對照區)하여 액아생장 정도를 배양 60일 후에 조사하였다 (Table 1).

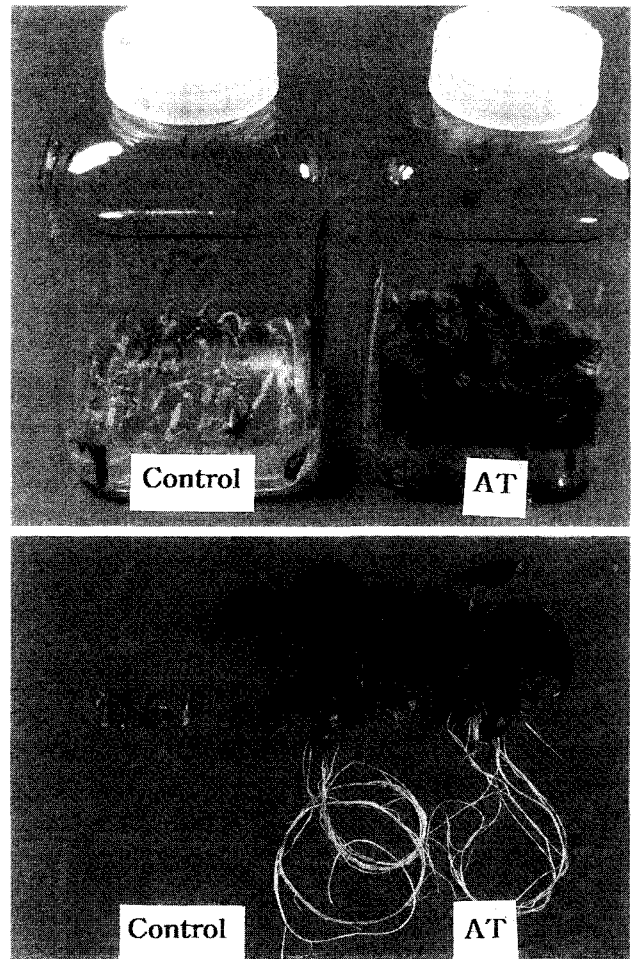
炭素源으로서 3% sucrose를 첨가하는 배양법인 從屬營養條件에서는 액아의 생장이 양호한데 반해 sucrose-free 배지에서는 배양 60일까지 마디에서 액아가 전혀 생장되지 않았으며 0.5 mg/L NAA를 첨가한 경우에도 반응을 보이지 않았다.

그러나 sucrose-free 배지에서 MF+처리했을 경우, 3% sucrose가 첨가된 종속 및 광혼합영양조건에서 배양 7일경부터 액아가 생장된 것과 비교해 보면 훨씬 늦은 배양 20일 이후부터 액아생장이 시작되었고 20~60일 사이에 소식물체로 생육되었다.

**Table 1.** Growth and survival rate of nodal explants on MS medium without sucrose after 60 days of culture.

| Treatments |               | No. of nodes | Survival rate (%) |
|------------|---------------|--------------|-------------------|
| NAA (mg/L) | MF            |              |                   |
| 0.5        | MF- (Control) | 0            | 0                 |
| 0.5        | MF+ (AT)      | 4.3±0.4      | 100               |
| 0          | MF- (Control) | 0            | 0                 |
| 0          | MF+ (AT)      | 4.5±0.5      | 86.1±5.3          |

MF, Membrane filter (MF+, with membrane; MF-, without membrane filter); AT, autotrophic culture (with MF); Control, without MF



**Figure 3.** Growth of plantlets on photoautotrophic culture (AT, MF+) and control (MF-) on MS medium without sucrose after 60 days of culture. A: Sucrose-free and 0.5 mg/L NAA; B: Sucrose-free and hormone-free. (MF+, with membrane filter, MF-, without membrane filter).

배양재료로 이용된 마디의 生存率은 MF-처리구의 경우 배양 20일 이후부터 녹색 잎이 점차 노랗게 되면서 배양 30일에는 더 이상 액아 생존을 기대하기 어려운 상태로 고사되는 것이 관찰되었다. MF+처리구에서는 sucrose-free에서 0.5 mg/L NAA가 첨가된 경우 액아의 생존율은 100%, sucrose 및 hormone-free인 경우는 86.1%를 보였다.

Kozai 등 (1990)은 카네이션의 기내 소식물체를 성분이 다른 배지를 이용한 광독립영양 및 혼합영양조건에서 PPFD를 각각 70, 210  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 로 달리하고 배지내의 탄소원으로 2% sucrose 또는 sucrose-free 상태에서 배양용기의 마개에 MF를 부착하거나 미부착하여 배양하였는데 소식물체의 최종 생체중은 배양기의 환氣 횟수와 PPFD가 가장 높은 sucrose-free의 Enshi 배지에서 가장 높았고, 가장 낮은 생체중은 가장 낮은 환기 횟수와 낮은 PPFD라고 하여 배양기내의 인위적인 환경변화는 기내 식물체의 성장량에 크게 영향을 알 수 있다. 딸기의 기내 소식물체의 마디배양에서 배양실에 인위적으로  $\text{CO}_2$  농도를 저농도의 350~450  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 과 고농도의 2,000  $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 로 구분하여 처리하고 光獨立 및 光混合榮養培養을 실시한 결과 (Kozai et al. 1991) 고농도의 광독립영양조건에서 多芽體 증식률이 가장 높았고, 2% sucrose가 첨가된 혼합영양조건에 비하여 광독립영양조건에서는  $\text{CO}_2$ 의 농도에 관계없이 透明化 苗는 관찰되지 않았고 식물체의 생육은 더욱 양호하였다고 하였다.

이것은 본 실험에서 고구마의 마디절편을 잘라 0%와 3% sucrose 처리구별로 구분하고, 배양기내의 가스교환을 위해 sucrose-free구에서 MF를 배양용기의 마개에 부착하여 실험을 실시한 결과 액아가 성장한 이후 소식물체의 생육은 3% sucrose 처리구의 MF가 부착되지 않은 기존의 배양방법인 종속영양보다 양호하였던 점에서 sucrose 무첨가구에서 MF와 같은 간단한 처리만으로도 다량생산할 경우 생산비를 훨씬 절감시킬 수 있다고 본다.

감자의 경우 기내에서 유지되고 있는 소식물체의 마디를 잘라 배양하여 배양기내의 상대습도가 培養 小植物體의 성장 및 shoot 신장에 미치는 영향에 대한 연구에서 shoot 길이는 상대습도가 낮은 처리구일수록 낮았고 가장 작은 shoot 길이는 가장 낮은 상대습도구에서 관찰되었다고 하였고 (Kozai et al. 1993), static에서는 소식물체를 보통보다 높은  $\text{CO}_2$  농도 및 높은 PPFD (150  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )에서 증식배양하였는데 초기배양당시  $\text{CO}_2$  농도를 950 ppm으로 유지하였으나  $\text{CO}_2$  농도는 매일 저하되어 시험개시 후 50일째에는 200~400 ppm까지 낮아졌다고 하여 소식물체가 광혼합영양적으로 성장한 결과라고 하였으며 소식물체의 생장은  $\text{CO}_2$  사용과 높은 PPFD에 따라 촉진된다고 하였다 (Kozai 1987).

조직배양에 의한 고구마의 기내묘생산에는 정단분열조직을 배양하여 shoot 및 多芽體를 유도시킨 후 1개의 마디를 잘라 액이증식배지에 배양하여 大量 苗를 생산하는 증식법이 행해지고 있기 때문에 배양기내에서 장기간 묘의 유지·증식이 이루어지고 있다. 본 실험에서도 배양한 마디절편에서 모든 액아가 정상적인 식물체로 성장되는 것은 아니고 일부 개체는 도장되어 연약한 묘의 상태가 되었고 투명화묘가 배양 병당 50% 이상인 경우도 관찰되어 순화기간 동안 외부 환경에 적응하지 못한 개체는 결국 고사하였다. 또한 sucrose를 첨가하거나 무첨가하였고, MF를 배양기에 부착하거나 미부

착하여 배양기내에서 탄소원인 sucrose에 의존하는 종래의 종속영양조건과 sucrose-free 및 hormone-free 상태의 배지에서 MF를 통한 가스교환으로 광합성을 행한 경우를 비교, 관찰하였다. 그 결과 광독립영양배양에서 초기배양 20일까지 액아가 성장되지 않아 sucrose 첨가배지와 차이를 보였으나 액아가 성장된 후에는 식물체로의 생육에 큰 차이가 없었다.

이와 같이 많은 식물체에서 배양기내의 환경을 인위적으로 조절하여 주는 광독립영양조건으로 배양함으로써 뿌리발생 및 신장을 촉진시키며 多芽體로의 증식 및 순화과정 중에 소요되는 비용 및 시간을 절감시킬 수 있다고 본다.

## 적 요

고구마의 器內 소식물체의 성장촉진 및 순화율을 높이기 위하여 마디를 光混合榮養과 從屬榮養, 光獨立營養 조건 하에서 각각 培養하였다. Shoot 길이는 30°C의 종속영양배양에서 11.9 cm로 가장 길었고 25°C의 혼합영양배양에서 3.4 cm로 가장 짧았다. 30°C에서 배양된 마디의 생육이 가장 빨라 마디수가 10.5개로 가장 많았지만 식물체는 도장되어 연약하였다. 葉面積은 MF-처리구인 종속영양배양보다 MF+처리구인 혼합영양배양에서 2배로 넓었고 shoot의 건물중도 약간 높게 나타나 含水量이 비교적 적은 편이었다. 투명화된 不良 苗는 광혼합영양배양의 경우 25°C와 30°C 모두 14.8%였고, 종속영양배양에서는 25°C에서 22.2%, 30°C에서 31.5%로 MF+처리구에서 훨씬 적게 나타났다. Sucrose-free 배지의 경우 MF-처리구에서 배양 30일 후에 마디절편이 노랗게 변하고 결국 고사되었으나 MF+처리구의 광독립영양배양에서는 정상적인 식물체로 성장되었다. 또한 sucrose와 호르몬이 첨가되지 않은 MS기본배지에서 MF+처리구의 경우 마디절편의 생존율은 양호하였다.

謝辭 - 이 논문은 1997년도 전북대학교의 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

## 인용문헌

- Kozai T (1987) Growth acceleration and acclimatization of *in vitro* plantlets. *Cell* 19:263-268
- Kozai T, Iwanami Y (1988) Effect of  $\text{CO}_2$  enrichment and sucrose concentration under high photon fluxes on plantlet growth of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) in tissue culture during the preparation stage. *J Jap Soc Hort Sci* 57:279-288
- Kozai K, Iwanami Y, Fujiwara K (1987) Environment control for mass propagation of tissue cultured plantlets (1) Effects of  $\text{CO}_2$  enrichment on the plantlet growth during the multiplication stage. *J Tiss Cult* 4:22-26

- Kozai T, Loyama Y, Watanabe I** (1988) Multiplication of potato plantlets *in vitro* with sugar-free medium under high photosynthetic photon flux. *Acta Hort* **230**:121-127
- Kozai T, Kubota C, Watanabe I** (1990) The growth of carnation plantlets *in vitro* cultured photoautotrophically and photomixotrophically on different media. *Environ Control Biol* **28**:21-27
- Kozai T, Iwabuchi K, Watanabe K, Watanabe I** (1991) Photoautotrophic and photomixotrophic growth of strawberry plantlets *in vitro* and changes in nutrient composition of the medium. *Plant Cell Tiss and Org Cult* **25**:107-115
- Kozai K, Tanaka K, Jeong BR, Fujiwara K** (1993) Effect of relative humidity in the culture vessel on the growth and shoot elongation of potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlets *in vitro*. *J Jap Soc Hort Sci* **62**:413-417.
- Murashige T, Skoog F** (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* **15**:473-497

(접수일자 1999년 2월 10일)