

고구마 정단분열조직 유래 식물체의 기내 증식에 미치는 배양조건의 영향

은종선* · 박종숙 · 김영선¹

전북대학교 농과대학 생물산업연구소, ¹남도대학 관상원에산업과

Effects of Cultural Conditions on the *In Vitro* Propagation of Plantlets derived from Apical Meristem in *Ipomoea batatas* L.

EUN, Jong Seon* · PARK, Jong Suk · KIM, Young Seon¹

Research Institute of Bioindustry, Chonbuk National Univ., Chonju, 561-756, Korea

¹Dept. of Ornamental Horticulture Industry, Namdo Provincial College of Jeonnam, Changheung, 529-850, Korea

ABSTRACT Sweet potato is a crop vegetatively propagated by vine cuttings, an ineffective method for maintaining pathogene-free stock plants. As an alternative method, single-node cultures of virus-free plantlets derived from apical meristem in sweet potato (cv. Yulmi) was examined. Effective pH range, sugar concentration and nodal order were investigated to establish an *in vitro* mass propagation system with high quality virus-free stock plantlets to farmhouse. Although the plantlets grew at wide range of pH, the most effective pH of the medium was 4.8 in single-node cultures. High sugar concentration of 60~80 g/L resulted in increased growth response in shoot length, root length, number of node, leaf area and fresh and dry weight of shoot and root, whereas reducing sugar contents below 6% was showed reduced growth response. The first node including meristem tip was the best for the rapid growth of plantlets and the other nodes also showed a very similar growth response. Uniform plantlet can be obtained massively at the same time by culture of single node except for the first node including meristem tip. In conclusion, the most effective pH range and sugar concentration of medium for the growth of plantlets via single-node cultures was 4.8, 60~80 g/L respectively. The first node was the best for the rapid propagation of plantlets in nodal order.

Key words: growth response, mass propagation, single-node culture, sweet potato

서 론

고구마 (*Ipomoea batatas* L.)는 세계적으로 중요한 식량작물이며, 특히 중국을 비롯한 아시아 여러 지역의 탄수화물과 단백질의 중요한 공급원이다. 또한 고구마는 비타민과 무기염류가 다량 함유되어 있어 건강보조식품으로도 널리 활용되고 있다. 현재 재배되고 있는 고구마는 6배체로서 자가불화합성을 띠며 종자번식시 생산성도 떨어지기 때문에 특수한 목적 외에는 종자를 번식수단으로 사용하는 것이 불가능하며, 주로

괴근을 저장, 육묘하여 그 식물체의 줄기를 삽식하는 영양번식을 통해 재배되고 있다. 이 줄기삽식법은 병해충으로부터 모주를 유지하기에는 비효율적인 방법으로 (Litz and Conover 1978), 모주가 바이러스에 감염된 경우는 수량감소와 품질저하를 초래하기 때문에 고구마를 비롯한 영양계번식작물에서 virus 감염피해는 심각하다. 또한 유전자원으로서 종묘를 포장에서 유지, 보존할 경우 상당한 비용이 소요되며 병원균의 감염과 자연재해와 같은 요인으로 바람직한 유전자형을 유실할 수 있어서 (Jarret et al. 1984), 유전자원의 기내보존과 무병묘의 획득을 위하여 고구마의 정단분열조직배양에 관한 많은 연구가 행해져 왔다 (Litz and Conover 1978; Mori 1971; Zheng et al. 1996).

*Corresponding author. Tel 063-270-2576

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

본 연구에서는 고구마의 정단분열조직을 배양하여 얻은 기내 무병주를 이용하여 외마디배양을 통해 고품질의 묘를 효율적이며 비용절감 차원에서 대량증식하여 농가에 보급할 수 있는 생산체계를 확립하기 위한 방법으로 기내배양시 증식에 미치는 pH 농도, 당의 함량 및 마디위치에 따른 성장반응을 조사하였다.

재료 및 방법

고구마 (품종 울미)의 정단분열조직을 배양하여 유도한 무병주를 기내에서 유지하면서 소식물체의 마디를 약 5 mm 내외의 크기로 1마디씩 잘라 배양재료로 사용하였다. 배지는 MS (Murashige and Skoog 1962) 기본배지에 NAA 0.5 mg/L를 첨가하고 한천 0.9%로 조정하였다. 배양조건은 28°C 성장상에서 PFD (Photosynthetic Photon Flux Density) 60µM · m⁻² · s⁻¹의 광조건으로 1일 16시간 광, 8시간 암상태에서 1개월간 배양하였다. pH 농도에 따른 효과는 백설탕 (삼양사 제품) 3%에 pH를 4.3~6.3까지 0.5씩 차이를 두었으며, 당의 함량에 따른 반응은 pH 5.8에 백설탕을 1~10%로 조정하였으며, 재료로 사용된 마디는 성장점 부위를 포함한 정단부를 제외한 부분만을 사용하였다. 고구마 마디의 배양효율에 미치는 정아우세성을 조사하기 위해 백설탕 3%, pH 5.8로 조정한 후 정단부를 포함하는 가장 윗부분을 기준으로 차례로 7마디까지 총 8마디를 치상하였다. 성장반응은 배양 30일 후 초장, 근장, 마디수, 엽면적, 경엽과 뿌리의 생체중 및 건물중을 비교하였다. 통계처리는 Window용 SAS 6.12 version을 이용하였다.

결과 및 고찰

배지의 pH 영향

기내에서 배양되고 있는 고구마 유식물체의 마디배양에서

배지의 pH 농도에 따른 성장량을 조사한 결과 (Table 1), 식물체의 초장은 pH 4.8에서 5.2 cm로 가장 컸으며, pH 6.3에서 3.6 cm로 가장 적게 나타나 유의성이 인정되었다. 뿌리 길이는 pH 4.8에서 9.9 cm로 가장 길었고 pH 4.3에서 7.2 cm로 가장 적게 나타났는데 pH 4.8을 제외한 배지간에는 유의적인 차이가 없었다. 또한 절간수에 있어서도 pH 4.8에서 7.9개로 가장 많은 절간수를 보였으나, pH 4.3~5.3 범위의 배지간에 차이가 크지는 않았고 pH 5.8 이상에서는 감소되었다. 엽면적, 초장과 뿌리의 생체중 및 신초의 건물중에 있어서도 pH 4.8구에서 가장 높은 수치를 보였으나, 다른 배지 간과의 유의성은 인정되지 않았다. 그러나 뿌리 건물중은 pH 4.8에서 15.3 mg으로 가장 높아 유의성이 인정되었으나 다른 배지간에는 큰 차이를 보이지는 않았다 (Figure 1).

식물조직배양에 사용되는 배지의 일반적인 pH 범위는 주로 5.5~5.8이며, 고구마 조직배양의 경우도 대부분 pH 5.8에서 주로 이루어지고 있다 (Eun and Kim 1999; Eun et al. 1999). 식물재료에 따라서 배양에 적합한 pH 범위는 다양하여 Anderson (1975)은 rhododendron을 이용한 신초증식에서 적합한 pH는 4.5라고 하였으며, 딸기의 유식물체 계대배양을 위한 배지 pH의 범위는 4.8로부터 5.8로 비교적 넓은 범위에서 양호하였으나, 그 중에서 pH 5.3에서 유식물체의 분화, 초장의 신장, 뿌리의 분화 및 생체중의 증가에 가장 효과적이었다 (Lee et al. 1992). Cymbidium의 protocorm 증식의 경우

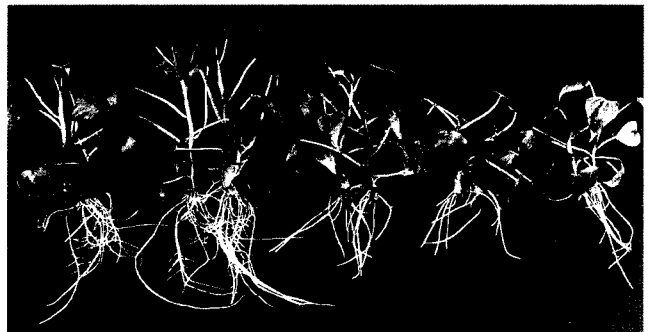


Figure 1. Growth responses of plantlets formed from single-node of sweet potato at various pH ranges after 30 days of cultures. Left to right, pH 4.3, 4.8, 5.3, 5.8 and 6.3.

Table 1. Effects of pH range on the growth of plantlets cultured in MS medium supplemented with 0.5 mg/L NAA at 28°C under 16 hours of daylength after 30 days of culture by using single-node in sweet potato.

pH range	Shoot length (cm)	Root length (cm)	No. of node	Leaf area (cm ²)	Fr wt (mg)		Dry wt (mg)	
					Shoot	Root	Shoot	Root
4.3	4.3 ab	7.2 b	7.2 ab	12.1 a	839.2 a	123.3 a	59.2 a	11.8 ab
4.8	5.2 a	9.9 a	7.9 a	13.8 a	843.3 a	169.2 a	63.6 a	15.3 a
5.3	4.5 ab	7.5 b	7.4 ab	12.3 a	800.8 a	129.2 a	60.8 a	12.2 ab
5.8	4.1 ab	7.9 b	6.9 b	12.0 a	720.0 a	95.0 a	55.0 a	10.3 ab
6.3	3.6 b	7.7 b	6.9 b	10.7 a	636.7 a	87.5 a	50.8 a	8.5 b

Values represent the mean of 3 replicates. Numbers followed by the same letter are not significantly different according to the Duncan's Multiple Range Test (P=0.05).

기관발생은 pH 4.0에서, 생장은 pH 5.0에서 양호하였다 (Paek and Chun 1985). 고구마 마디배양에 있어서 pH 범위는 비교적 넓은 것으로 보이지만, 유식물체의 생육에 가장 효과적인 pH는 4.8로 나타났다. 이와 같은 결과는 고구마가 산성토양에 강하며 비교적 넓은 범위의 pH에서도 잘 자라는 재배적 특성과 관계가 깊다고 생각된다.

당 함량에 따른 영향

당의 함량에 따른 배양효과는 배양종묘의 단가를 저하시키는 하나의 방법으로 값비싼 시약용 sucrose를 사용하지 않고 시판하는 백설탕을 사용하였다. 배지의 당 함량에 따른 생육 정도를 배양 30일 후 조사한 결과 (Figure 2), 백설탕 1%에서는 다소 황변하고 왜소하여 초장이 0.9 cm에 불과하였으나 농도가 증가할수록 유의적으로 증가하여 6%에서는 6.7 cm로 가장 길었고 그 이상의 농도에서는 다시 감소하기 시작하여 10%에서는 2.2 cm로 급격히 감소하였다. 뿌리의 길이도 초장과 비슷한 반응을 보여 8%에서 11.7 cm로 농도 증가에 따라 비례적으로 길어지는 유의성을 보였으며 10%에서 약간 낮아졌다. 유식물체의 마디수에 있어서도 당 8%에서 8.7개로 계속 증가하다가 10% 배지에서 5.8개로 줄었다. 백설탕 6~8% 함유 배지에서 식물체의 엽면적은 12.2~14.3 cm²로 가장 넓었고, 1%에서 1.4 cm²로 백설탕의 함량이 낮아질수록 엽면적도 줄어들었다. 신초의 생체중과 건물중에 있어서도 백설탕 6~8% 배지에서 가장 좋았고 당함량이 낮아질수록 줄어들었다. 뿌리의 생체중과 건물중에 있어서 1~5%에서 상당히 낮았고 고탍유 배지에서 높게 나타났다.

Jarret과 Gawel (1991)은 고구마 마디배양에서 sucrose 함량이 3%에서 1.5% 또는 2%로 낮아질수록 뿌리와 절간수가 줄었다고 하였고, 또한 카네이션과 토마토의 기내 소식물체의 생장에 있어서 sucrose 함량의 감소는 생장을 억제시키는 데 효과가 있었다 (Schnapp and Preece 1986). 백설탕 함량이 6~8%인 배지에서 식물체의 초장, 근장, 마디수, 엽면적, 생체

중 및 건물중 등 모든 성장반응이 우수하였고 당함량이 6~8%보다 감소할수록 성장반응이 줄어들었다.

마디위치별 배양효율

외마디배양을 통한 증식방법에서 마디 위치별 배양효율을 조사하기 위해 성장점을 포함하는 가장 윗부분을 기준하여 차례로 7마디까지 총 8부분을 치상한 결과 경정조직을 포함하는 가장 윗부분만이 초장, 마디 수, 엽면적, 생체중과 건물중 등 대부분의 성장반응에서 유의적인 증가를 보였다. 나머지 두 번째 마디부터 기부에 이르는 8번째 마디의 배양에서

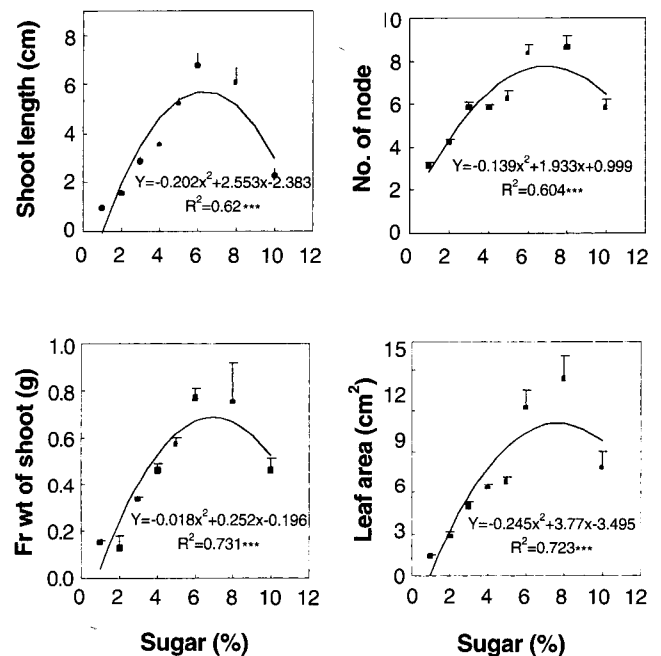


Figure 2. Effects of sugar concentration on the growth of plantlets cultured on MS medium supplemented with 0.5 mg/L NAA at 28°C under 16 hours of daylength after 30 days of culture by using single-node in sweetpotato. Vertical bars represent mean ± SE of 3 replicates.

Table 2. Effects of nodal order on the growth of plantlets cultured in MS medium supplemented with 0.5 mg/L NAA at 28°C under 16 hours of daylength after 30 days of culture by using single-node in sweet potato.

Node	Shoot length (cm)	Root length (cm)	No. of node	Leaf area (cm ²)	Fr wt (mg)		Dry wt (mg)	
					Shoot	Root	Shoot	Root
1 st	7.8 a	6.4 a	10.6 a	9.7 a	819.2 a	104.2 a	61.7 a	10.0 a
2 nd	4.7 b	6.4 b	6.4 b	6.6 b	512.5 b	53.3 b	40.8 b	5.3 b
3 th	4.0 bc	5.5 ab	7.1 b	7.7 b	545.8 b	76.7 b	40.8 b	5.8 b
4 th	3.8 cd	5.0 ab	6.9 b	6.2 b	482.5 b	61.7 b	37.5 b	5.0 b
5 th	3.5 cde	3.9 b	6.5 b	6.3 b	489.2 b	55.0 b	39.2 b	4.5 b
6 th	3.5 cde	4.2 b	6.6 b	5.8 b	447.5 b	48.3 b	26.7 b	5.0 b
7 th	2.6 e	3.4 b	5.9 b	5.6 b	410.0 b	44.2 b	33.3 b	3.5 b
8 th	3.6 de	4.6 ab	6.4 b	7.4 b	504.4 b	83.0 b	37.2 b	6.9 b

Values represent the mean of 3 replicates. Numbers followed by the same letter are not significantly different according to the Duncan's Multiple Range Test (P=0.05).

는 가장 윗부분의 2, 3번째 마디에서 다소 성장반응이 양호하였으나 초장을 제외한 다른 형질간에는 유의차가 인정되지 않았다 (Table 2).

Kim 등 (1991)은 고구마 기내 소과근 형성용 줄기를 얻고자 길고 굵은 부정근원기가 가장 많을 것으로 예상되는 6~12마디 짜리의 줄기를 균일하게 대량으로 획득하는 실험에서 줄기의 절간에 존재하는 상대적인 정아우세를 없애기 위하여 1개의 마디절만 포함되어 있도록 3~4 mm 정도의 마디절편으로 절단한 뒤 35일 동안 배양한 결과에서 모두 균일한 묘를 얻을 수 있었다고 보고하였다.

본 실험에서 정단분열조직을 포함하는 첫번째 마디의 성장반응이 두 번째 이후의 마디를 배양한 결과보다 양호하였을 뿐 다른 마디간에는 큰 차이가 없으므로 우량 종묘의 기내 대량증식시 정단조직을 포함하는 마디를 제외하고 각각의 배양하면 균일한 묘를 동시에 대량으로 확보할 수 있다고 생각된다.

적 요

고구마 품종 '율미'의 정단분열조직을 배양하여 얻은 무병주를 대량증식하여 농가에 보급할 수 있는 고품질 종묘의 생산체계를 확립하기 위해 외마디배양 시 기내증식에 미치는 효과적인 pH 농도, 당의 함량 및 마디의 위치에 따른 성장반응을 조사하였다. 고구마 마디배양에 있어서 pH범위는 비교적 넓은 것으로 보이지만, 유식물체의 생육에 가장 효과적인 pH는 4.8로 나타났다. 당의 함량이 6~8%인 배지에서 식물체의 초장, 근장, 마디수, 엽면적, 생체중 및 건물중 등 성장반응이 가장 양호하였고 당의 함량이 6~8%보다 낮거나 높으면 비례적인 감소를 보였다. 정단분열조직을 포함하는 마디의 성장반응만이 다른 마디를 배양한 결과보다 양호하였고 그 외의 마디 배양간에는 큰 차이가 없었으므로 대량생산의 경우 경정조직을 포함한 마디를 제외하고 배양하면 균일한 묘를 동시에 대량으로 확보할 수 있었다. 결론적으로 고구마 외마디 배양을 통한 기내증식에 있어서 배지의 pH 농도는 4.8, sugar 함량은 6~8%에서 가장 효과적이었고, 마디위치에 따른 배양에서는 성장점을 포함한 첫 번째 마디의 생육이 가장 우수하였으며, 그 외의 마디간에 성장반응은 큰 차이가 없었다.

사사 - 이 논문은 농림부에서 시행한 농림기술개발사업 연구 결과의 일부입니다.

인용문헌

- Anderson WC (1975) Production of rhododendrons by tissue culture. I. Development of a culture medium for multiplication of shoots. *Proc Int Plant Prop Soc* **25**:129-135
- Eun JS, Kim YS (1999) Multiple shoot formation by apical meristem culture in *Ipomoea batatas* Poir. *Korean J Plant Tiss Cult* **26**:85-91
- Eun JS, Kim YS, Higashi S (1999) Growth acceleration and acclimatization of in vitro plantlets derived from apical meristem of sweet potato. *Korean J Plant Tiss Cult* **26**:115-119
- Jarret RL, Gawel N (1991) Chemical and environmental growth regulation of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) in vitro. *Plant Cell Tiss Org Cult* **25**:153-159
- Jarret RL, Salazar S, Fernandez Z (1984) Somatic embryogenesis in sweet potato. *HortSci* **19**:397-398
- Kim MK, Joung H, Jeon JH, Koo JS (1991) Effects of various cultural conditions on the formation of sweet potato (*Ipomoea batatas*) in vitro. *Korean J Plant Tiss Cult* **18**:345-354
- Lee EM, Lee YB, Ra SW, Woo IS, and Rho TH (1992) Effects of temperature, strength of macronutrients and pH on subculture of plantlets obtained by shoot tip culture of *Fragaria* × *ananassa* Duch. *Korean J Plant Tiss Cult* **19**:1-6
- Litz RE, Conover RA (1978) In vitro propagation of sweet potato. *HortSci* **13**:659-660
- Mori K (1971) Production of virus-free plant by means of meristem culture. *Jap Agri Res Q* **6**:1-7
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* **15**:473-479
- Paek KY, Chun CK (1985) Effects of pH on the organogenesis and nutrient uptake through cymbidium protocorm culture. *Korean J Plant Tiss Cult* **12**:1-7
- Schnapp SR, Preece JE (1986) In vitro growth retardation of tomato and carnation microplants. *Plant Cell Tiss Org Cult* **6**:3-8
- Zheng Q, Dessai AP, Prakash CS (1996) Rapid and repetitive plant regeneration in sweetpotato via somatic embryogenesis. *Plant Cell Rep* **15**:381-385