

인삼 배발생세포에서 재분화된 유식물체의 뿌리 발육에 미치는 Phytigel의 영향

안인옥[#] · 최영준* · 이성식 · 이장호 · 강제용 · 유연현 · 정희돈*

KT&G 중앙연구원 원료연구소, *영남대학교 자연자원학부

(2004년 11월 4일 접수, 2004년 11월 27일 수리)

Effect of Phytigel on the Root Growth of Plantlets Redifferentiated from Ginseng(*Panax ginseng*) Embryogenic Cells

In-Ok Ahn[#], Young-Jun Choi*, Sung-Sik Lee, Jang-Ho Lee,
Jae-Yong Kang, Yun-Hyun Yu, and Hee-Don Chung*

Agro-Tech Research Group, KT&G Central Research Institute, Suwon 441-480, Korea

*Department of Horticultural Science, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

(Received November 4, 2004, Accepted November 27, 2004)

Abstract : This study was carried out to find out the optimum hardening condition for ginseng plantlets redifferentiated by tissue culture method. While a lot of root hair were observed on the root of seedling grown on the soil, few root hair were observed on the root of plantlet redifferentiated *in vitro*. On the medium solidified with 0.1% phytigel, root hair was not observed and root weight, root width and lateral root development were also very poor. While raising the phytigel concentration on the media, root hair began to increase and root weight, root width and lateral root development were improved. Vascular tissue of plantlet grown on the medium with 0.1% phytigel was very poor, but that of plantlet grown on the medium with 0.8% phytigel was very good.

Key words : *Panax ginseng*, hair root, vascular tissue, phytigel

서 론

식물세포는 동물세포와는 달리 체세포가 쉽게 배형성세포가 될 수 있고 무한정 증식될 수 있기 때문에 세포배양법을 이용하여 개체를 대량으로 복제할 수 있다. 원예작물이나 수목류에서는 종묘의 번식수단으로서 채종이나 삽목 등을 이용하는 대신에 조직배양묘의 생산으로 대체해 가고 있으며, 조직배양묘에 종자법을 적용하여 특허권을 인정하고 있는 것이 국제적인 추세이다. 조직배양묘의 생산에 활용되고 있는 다양한 기술 가운데 체세포배 생산기술은 배양묘의 대량생산에 가장 효율적인 방법이지만 아주 고난도의 배양기술을 요구한다.^{1,2)} 한 세대가 4년인 인삼은 신품종 육성에 20년 이상이 소요되며, 신품종의 농가 보급을 위하여는 3-4세대의 증식기간을 필요로 한다.

따라서 체세포배발생기술은 인삼 신품종의 급속증식과 종묘의 안정적인 공급체계의 확립에 꼭 필요한 기술이라 하겠다.^{4,5)} 그런데 체세포배 생산기술을 통하여 생산된 인삼유식물체는 토양에 이식하였을 때 생존율이 극히 낮은 것이 문제점으로 나타나고 있다. 배추와 같이 염에 내성이 있는 작물일지라도 어린 유묘시기에는 토양염류에 아주 민감하게 반응하는 것으로 보아,^{6,7)} 시험관내에서 생육하여 조직이 유약한 인삼 유식물체의 경우 토양환경에 적응하기가 쉽지는 않으리라 생각되었다. 이에 유식물체의 토양적응력을 높이는 한 방안으로 고형물질인 phytigel처리로 배지의 수분포텐셜을 높일 때 뿌리조직이 경화되는지를 알아 보고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 재분화식물체의 육성

인삼종자에서 무균적으로 절취한 자엽을 2,4-D(2,4-dichlor-

#본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 016-771-6685; (팩스) 031-419-9434
(E-mail) ioahn2000@ktng.com

rophenoxy acetic acid) 1.0 mg/L와 BAP(Benzylaminopurine) 0.1 mg/L을 첨가한 Murashige-Skoog(MS) 배지에 접종하여 배발생세포를 유기하였으며 1개월 간격으로 동일한 배지에서 계대배양하였다. 2,4-D 1.0 mg/L와 BAP 0.1 mg/L를 첨가한 변형된 MS배지에 배발생세포를 접종하여 체세포배의 발육 및 성숙을 유도하였다. 1/2 MS배지에 3% sucrose와 5 uM GA(gibberellic acid)를 첨가시킨 배양기에서 유식물체의 발아를 유도한 다음 phytage의 첨가농도를 0.1%, 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%로 조절한 1/2 MS배지로 유식물체를 옮겨 배양하였다. 배양온도는 25°C로 유지하였으며 발아 후에는 3000 Lux의 자연광 형광등 하에서 배양하였다.

2. 광학현미경 검정

배지에서 생육한 유식물체의 뿌리절편을 2.5% glutaraldehyde로 90분간 1차 고정한 후 phosphate buffer액으로 15분 간격으로 4~5회 세척하고 1% osmic acid에서 90분간 2차 고정한 후 다시 phosphate buffer액으로 20분 간격으로 4~5회 세척하고 phosphate buffer에서 24시간 처리하였다. 2차 고정후 탈수 및 embedding은 시작전 phosphate buffer 액으로 15분간 세척하고 40%, 60%, 90%, 95%, 100% 에탄올을 이용하여 탈수한 후 propylene oxide 처리를 거쳐 epon에 침지시켜 60°C의 오븐에서 4일간 경화시켰다. 준비한 시료는 초미세절단기를 이용 80 mm 두께로 절단하여 광학현

미경(Nikon, Japan)으로 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 유식물체과 묘삼의 뿌리 비교

해부현미경으로 토양에서 재배된 일년생 인삼(묘삼)과 자화 유식물체의 뿌리를 관찰하였던 바, 묘삼의 뿌리표면에는 근모(根毛)가 빽빽하게 발생하였으나, 배지안에서 생육한 자화유식물체의 뿌리표면에는 근모가 거의 발달하지 않았다(Fig. 1). 포장조건에서 생육한 묘삼의 경우에는 수분포тен셜이 낮은 토양에서 수분을 흡수할 수 있는 표면적을 높이고자 다량의 근모가 분화되었으나, 수분이 포화상태인 배지에서 자란 유식물체의 경우에는 수분흡수가 비교적 용이하므로 근모가 거의 분화하지 않았던 것으로 생각된다.^{8,9)}

2. Phytage의 농도가 재분화식물체의 뿌리 생육에 미치는 영향

따라서 수분포тен셜을 낮춘 배지에서 유식물을 배양하면 뿌리에서 근모가 발생할 것이라 예상되어, phytage의 농도를 증가시켜 수분포тен셜을 인위적으로 낮춘 배지에 인삼 유식물체를 배양하였다. 배지에 첨가된 phytage의 농도가 비교적 낮은 0.1%~0.2% 범위에서는 근모가 발생하지 않아 유식물체의 뿌리표면이 매끄러웠으나, 0.4%~0.6% phytage 첨가배



Fig. 1. Development of root hair on the surface of root. (Left: ginseng seedling, Right: redifferentiated ginseng plantlet)

Table 1. Root growth of ginseng plantlets grown on the media solidified with different concentration of phytage¹⁾

Phytage ¹⁾ (%)	Root hair (number)	Root weight (g)	Root length (mm)	Root width (mm)	Lateral root (number)
0.1	0	0.11	18.8	3.3	0.6
0.2	2	0.12	28.6	3.0	3.3
0.4	5	0.13	25.3	3.0	4.3
0.6	12	0.06	19.0	1.51	3.3
0.8	25	0.02	15.6	1.51	2.5

¹⁾ were cultured on the 1/2 MS media with 3% sucrose.

지에서 생육한 유식물체의 뿌리표면에서는 약간의 근모가 발생하였다. Phytogel 0.8% 첨가배지에서 자란 유식물체의 뿌리표면에서는 다량의 근모가 발생하는 것으로 보아(Table 1), 수분포тен셜과 근모의 발생은 반비례함을 알 수 있었다. 한편 뿌리의 길이(근장)는 phytogel 0.2%에서 가장 길었으며 이보다 phytogel의 농도가 높아짐에 따라 근장이 감소하였다. 또한 뿌리의 무게(근중)는 phytogel의 농도가 높아짐에 따라 증가하여 0.4% 처리구에서 가장 양호하였으며, 이보다 phytogel이 높게 처리된 배지에서는 근중이 감소하기 시작하여 0.8% phytogel 처리구에서 가장 저조하였다. 한편 phytogel 0.1% 처리구에서 자란 유식물체의 뿌리직경(근경)이 가장 두꺼웠으며 phytogel의 처리농도가 높아짐에 따라 근경이 감소하였고 phytogel 0.6%와 0.8% 처리구에서의 근경은 0.1% 처리구의 절반에 미쳤다. 또한 phytogel 0.1%에서는 거의 보이지 않던 세근이 phytogel의 농도가 높아짐에 따라 증가하

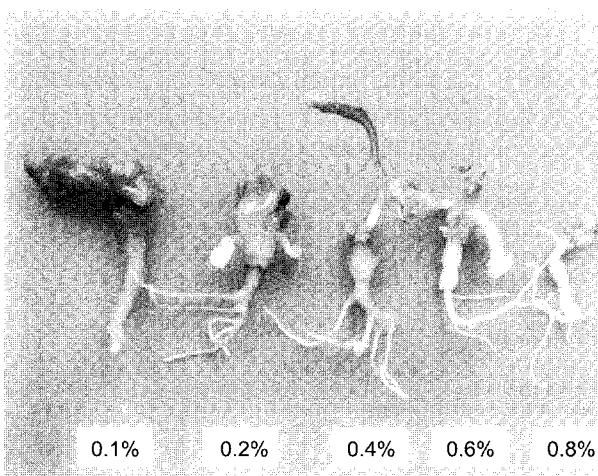


Fig. 2. Root growth of redifferentiated ginseng plantlets grown on the media solidified with different concentration of phytogel.

여 0.4% 처리구에서 가장 많이 관찰되었으며, 이보다 phytogel이 높게 처리된 배지에서는 세근 수가 다시 감소하였다 (Fig. 2).

3. 해부학적인 구조

Phytogel이 적게 첨가된 배지와 높게 첨가된 배지에서 각기 생육한 유식물체의 뿌리내부구조를 300배율의 광학현미경으로 관찰하여 보았던 바, phytogel이 0.1%로 적게 첨가되어 수분포тен셜이 높았던 배지에서 생육한 유식물체의 뿌리조직에서는 통도조직의 발달이 미비하였으며 유조직세포의 크기가 비후하였으나, phytogel이 0.8%로 높게 첨가되어 수분포тен셜이 매우 낮았던 배지에서 생육한 유식물체의 뿌리조직에서는 통도조직이 잘 발달되었을 뿐만 아니라 유조직세포의 크기도 작았다(Fig. 3). 수분포тен셜이 높은 배지에서 자란 유식물체에서는 통도조직의 발달이 미비하였고 근모도 거의 발생하지 않았으나, 수분포тен셜이 낮은 배지에서 자란 유식물체에서는 통도조직이 잘 발달하였고 근모와 세근이 잘 발달한 것으로 보아, 배지내의 수분함량은 뿌리에서의 근모의 분화와 통도조직의 발달에 중요한 영향을 미치며 근모와 세근의 분화는 통도조직의 발달과 깊이 연관되어 있는 것으로 생각된다.¹⁰⁾

요약

토양에서 재배되고 있는 묘삼의 뿌리 표피조직에는 근모가 많이 발생하였으나, 배지내에서 생육한 인삼 재분화식물체의 뿌리세포는 표피조직에 근모가 거의 발생하지 않았다. Phytogel이 적게 첨가된 배지에서 자란 유식물체의 뿌리에는 근모가 거의 발생하지 않았으며 근중, 근경, 지근발달 등의 뿌리 발육상태도 미약하였으나, phytogel의 농도가 증가함에 따라 근모의 발달, 근중, 근경, 세근발달 등의 뿌리발육이 양

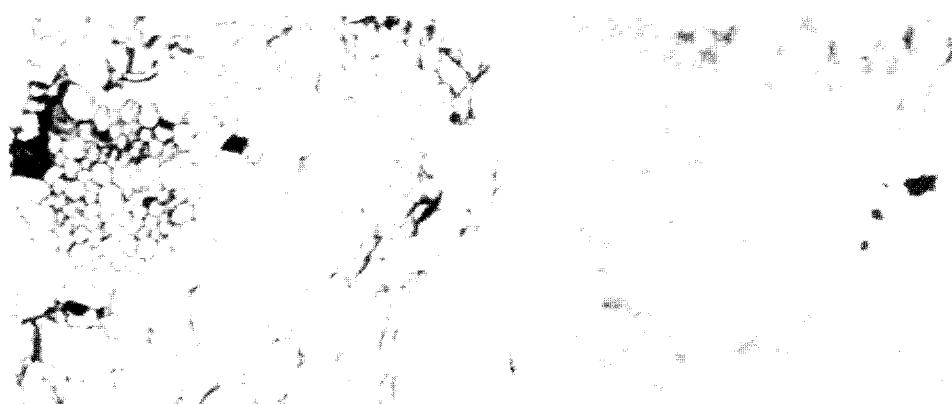


Fig. 3. Root anatomical structure of redifferentiated ginseng plantlets grown on the media solidified with different concentration of phytogel. (Left: 0.1% phytogel Right: 0.8% phytogel)

호해지는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 phytigel^o] 적은 배지에서 자란 유식물에서는 통도조직의 발달이 미약하였으나 phytigel^o] 높은 배지에서 자란 유식물에서는 통도조직의 발달이 아주 양호하였다.

인용문헌

1. Ahn, I. O. : Regeneration of ginseng(*Panax ginseng*) through the maturation process of somatic embryos. *J. Korean Soc. Hort. Sci.* **37**, 777-780 (1996).
2. Arya, S., Liu, J. R. and Eriksson, T. : Plant Regeneration from protoplast of *Panax ginseng* through somatic embryogenesis. *Plant Cell Reports*, **10**, 277-281 (1991).
3. Goren, R., Palavan, N., Flores, H. E. and Galston, A. W. : Changes in polyamine titer in etiolated pea seedlings following red light treatment. *Plant Cell Physiol.* **23**, 19-26 (1982).
4. Kim, J. H. : Studies on the growth of embryo of ginseng (*Panax ginseng*). *J. Nat. Acad. Natural Science Series R.O.K.* **5**, 118-23 (1964).
5. Kim, H. S. and Lee, B. Y. : In vitro production of somatic embryos in *Oenanthe stolonifera* DC. *J. Korean Soc. Hort. Sci.* **36**, 38-45 (1995).
6. Choi, Y. J., Won, D. C. and Chung, H. D. : Effects of Soil EC on Emergence Rate, Seedling Growth, and Physiological Disorders of Leafy and Root Vegetable Crops, and Diminishing Effect of Soil EC Level by Washing with Water or Manure adding. *Kor. Soc. Hort. Sci.* **44**, 575-581 (2003).
7. Choi, Y. J. and Chung, H. D. : Ultrastructural Changes in Leaves of Chinese Cabbage (*Brassica campestris* ssp. *pekinensis*) and Radicle Tissues of Radish (*Raphanus sativus*) Grown in High Soil EC. *Kor. Soc. Hort. Sci.* **44**, 582-587 (2003).
8. I, N. M. and Ginzburg, B. Z. : An analysis of the water potential isotherm in plant tissue. 1. The theory. *Aust. J. Biol. Sci.* **20**, 695-721 (1967).
9. Begg, J. E. and Turner, N. C. : Water potential gradients in field tobacco. *Plant Physiology* **46**, 343-348 (1970).
10. Sperry, J. S. and Tyree, M. T. : Mechanism of water stress-induced xylem embolism. *Plant Physiology* **88**, 581-587 (1988).