

족제비고사리 전엽체의 기내배양 및 기외 포자체 형성에 미치는 제요인

정진아, 이철희*
충북대학교 원예과학과

Several Factors Affecting on *In vitro* Culture of Prothallus and *Ex Vitro* Sporophyte Formation from Prothallus of *Dryopteris varia* (L.) O. Kuntze

Jin-A Jeong and Cheol Hee Lee*

Dept. of Horticultural Science, Chungbuk National Univ., Cheongju, 361-763, Korea

Abstract - The most effective conditions of *In vitro* culture and *ex vitro* sporophyte formation from prothallus were studied for mass propagation of *Dryopteris varia*. The most effective medium of prothallus proliferation was Murashige and Skoog's basal medium supplemented with 10:50mM of $NH_4^+ : NO_3^-$ and 2% sucrose. The optimum pH level was 5.8 and prothallus growth was promoted on medium containing 0.6~0.8% agar. Almost of the tested growth regulators (NAA, IAA, 2,4-D, BAP, kinetin and 2ip) were inhibitory in prothallus proliferation as the concentration of growth regulators became higher. The highest number of sporophytes was obtained by transplanting prothallus on compost only than on any other soil compositions. Sporophyte formation was promoted remarkably by soaking prothallus with 100 μ M GA_3 for 3 hours.

Key words - Fern, Mass propagation, Medium composition, Soil composition, Priming treatment

서 언

양치식물은 내음성이 강하고 풍성한 잎의 초록색이 신선한 느낌을 주어 장식성이 뛰어나므로 많은 나라에서 원예작물로 인기가 높다. 이들은 공원이나 정원 등의 실외조경에는 물론이고 화분에 심어져 실내장식용으로도 많이 이용되고 있다.

일찍이 조직배양기술을 이용하여 양치식물을 대량생산할 수 있는 효율적인 방법들이 연구되어왔는데, *Nephrolepis*(Padhya and Mehta, 1982; Paek *et al.*, 1984; Higuchi *et al.*, 1987; Higuchi and Amaki, 1989; Dawson *et al.*, 1991; Hvoslef-Eide, 1991), *Adiantum*(Salome *et al.*, 1987), *Platyserium*(Camloha *et al.*, 1994; Teng, 1997), *Polypodium*(Bertrand *et al.*, 1999), *Osmunda*(Fernandez *et al.*, 1997a), *Blechnum*(Fernandez *et al.*, 1997b) 등에서 전엽체 배양을 통한 효율적인 식물체 번식방법이 보고된 바 있다. 이들에 의하면, 광을 비롯하여 배지의 이화학적 특성 그리고 식물생장조절물질 등이 기내에서 전엽체 성장과 포자체 발달 등 전 과

정에 영향을 주는 것으로 밝혀졌다.

우리나라에 자생하는 양치식물의 수는 학자들에 따라 다소 의견의 차이가 있으나 대략 25과 73속의 226종(변종 이하 제외)인 것으로 알려져 있다(Pak, 1961). 면마과(Dryopteridaceae)에 속하는 족제비고사리(*Dryopteris varia*)는 50~75cm의 비교적 큰 상록성 양치식물로서 화분용 혹은 화단용 식물로 이용가치가 높은 종으로, 짙은 녹색을 띠는 가죽질의 잎은 전형적인 양치식물 잎 형태(deltoid형)를 이루고 있다(Jones, 1987). 울릉도를 비롯해 한반도 남부, 중부의 야산 숲 아래에 자생하며, 일본, 중국, 인도, 필리핀 등에도 분포한다(Pak, 1961).

본 연구는 전엽체의 배양을 통한 족제비고사리의 대량번식체계를 확립하고자, 전엽체 성장에 적합한 배지의 조건(무기물 농도, 질소급원 비율, 당 농도, pH, agar 함량, 성장조절물질의 종류 및 농도)을 구명하고, 기내에서 대량증식된 전엽체를 기외로 이식하여 포자체를 유도하는 과정에서 토양의 종류와 침지처리(GA_3 , IAA, BAP 및 KNO_3)의 영향을 구명하기 위하여 실시하였다.

*교신저자(E-mail) : leech@chungbuk.ac.kr

재료 및 방법

족제비고사리의 포자는 실험에 사용하기 전까지 4°C 저온고에서 보관하였다. 포자를 무균발아 시키기 위하여, 포자에 증류수를 첨가한 후 2시간 동안 진탕배양(100rpm)하여 수분을 충분히 흡수시켰다. Sieve(65 μ m)로 포자액을 거른 후 15ml 튜브로 옮겨 원심분리(2,500rpm, 3분)하고, 모아진 포자에 1% sodium hypochlorite를 첨가하여 15분간 살균한 후 멸균수로 3회 세척하였다. 포자에 적당량의 멸균수를 첨가하여 MS기본배지(Murashige와 Skoog, 1962)에 치상하였다. 배양 후 약 20일 만에 전엽체를 얻을 수 있었으며, 이를 동일 배지에 한두 달 간격으로 계대배양하여 증식시켰다.

전엽체 배양의 적정조건을 찾기 위한 이하 모든 실험에서 전엽체는 메스로 곱게 다진 후 100mg씩 나누어 30ml의 실험배지에 치상하였으며, 모든 처리 당 4반복으로 실험하였다. 배양온도는 25 \pm 1°C였으며, 3,000lux로 16시간 조명하였다.

배지의 무기물 및 비타민 농도가 전엽체 증식에 미치는 영향을 구명하기 위한 실험에서는 1/4, 1/2, 1, 2MS배지 및 Hyponex배지를 사용하였다. 질소급원의 적정 비율을 구하기 위하여, NH₄⁺:NO₃⁻의 농도비를 60:0, 50:10, 40:20, 30:30, 20:40, 10:50, 및 0:60mM로 처리하였으며, 적정 sucrose 농도를 찾기 위하여, 0, 1, 2, 3, 및 4%의 농도로 달리 처리하여 실험하였다. Agar의 농도는 0, 0.2, 0.4, 0.6 및 0.8%, 그리고 pH는 3.8, 4.8, 5.8, 6.8 및 7.8로 각각 조절하여 실험하였다. 생장조절물질은 NAA, IAA, 2,4-D, BAP, kinetin 및 2ip를 0~20 μ M의 농도 수준으로 각각 단용 처리하였다.

전엽체의 기외이식 시 적정 토양을 알아보기 위한 실험에서는 전엽체 덩어리를 물로 세척하여 한천을 모두 제거한 후, 다짜가렌 1000배 희석액에 1시간 동안 침지, 살균하고 수돗물로 충분히 헹구어 주었다. 이렇게 준비한 전엽체에 1배 분량의 물을 첨가하고 전기 blender로 10~20초간 곱게 간 후에 1g씩 나누어 상토(TKS[®] 2, Flora gourd, 독일), 피트모스(Sunshine, Genuine, 캐나다), 코코피트의 단용 토양과 버미큘라이트(그린소일- I, 신성자원, 한국)와의 혼용 토양(Table 1)이 담긴 포트(직경 9cm)에 처리 당 4반복씩 분주하였다. 전엽체 기외이식 시 전처리의 효과를 알아보기 위한 실험에서는 수세한 전엽체를 GA₃, IAA 및 BAP(0, 20, 50, 100 μ M), 그리고 KNO₃(0, 200, 500, 1000 μ M)로 각기 0, 1, 3, 6 시간 동안 침지처리 하였다. 처리가 끝난 전엽체는 수돗물로 다시 수세하고 전엽체와 동량의 물을 첨가하여 전기 blender로 곱게 간 후, 상토(TKS[®] 2, Flora gourd, 독일)를 배양토로 하여 포트(직경 9cm)에 1g씩 분주하여 재배하였다. 재배는 70% 차광시킨 비가림 시설에서 실시하였으며, 토양이 마르지 않도록 수시로 관수해 주었다. 12주 재배한 후에 각 토양에서 형성된 포자체의 수

와 길이, 뿌리 길이, 생체중 등을 조사하였다.

결과 및 고찰

배지의 종류에 따른 영향

MS기본배지의 무기물 및 비타민 농도를 1/4~2배로 조절한 4종의 배지와 Hyponex배지에서 족제비고사리의 전엽체를 배양한 결과, 증식률은 MS배지에서 가장 높았다(Fig. 1). 2MS배지의 경우 생체중이 MS의 10.64g에 비하여 8.12g으로 감소되었을 뿐만 아니라 짙은 녹색의 쉽게 물러지는 비정상적인 조직이 발달하였다. 1/4~1/2MS배지에서는 전엽체의 색깔이 연녹색을 띠어 영양부족이 추정되었다. 포자체의 발달은 대부분의 처리구에서 미미하게 이루어졌는데, 1/2MS배지에서 8.0개로 가장 많이 형성되었다.

앞선 연구결과에 의하면 전엽체 생장에 필요한 영양물질의 요구도는 양치식물의 종에 따라 다른 것으로 밝혀졌는데, *Asplenium nidus*, *Blechnum spicant*, *Dryopteris affinis*, *Pteris ensiformis*와 *Woodwardia virginica* 등은 족제비고사리와 마찬가지로 MS기본배지에서 전엽체의 생장이 양호한 것으로 보고되었다(Fernandez *et al.*, 1993; 1996; 1997b). 반면 *Osmunda regalis*의 전엽체는 Knop 배지처럼 상대적으로 영양성분이 적은 배지에서 더 잘 자라는 것으로 밝혀졌다(Fernandez *et al.*, 1997a).

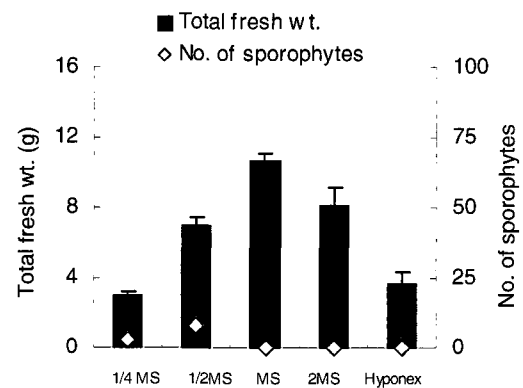


Fig. 1. Effect of culture media on prothallus proliferation and sporophyte formation of *D. varia*. Bar indicates standard error.

질소급원의 농도비에 의한 영향

질소급원의 농도비를 달리하여 전엽체를 배양한 결과, NH₄⁺:NO₃⁻의 농도비가 10:50mM인 처리구에서 생체중이 12.96g으로 전엽체의 생장이 가장 활발하였으며, 암모니아태 질소의 무첨가구에서도 생체중이 10.88g으로 비교적 양호한 결과를 보였다(Fig. 2). 그러나 질산태 질소 없이 암모니아태 질소만 첨가된 배지에서는 전엽체가 성장하지 못하고 갈변 괴사하였다.

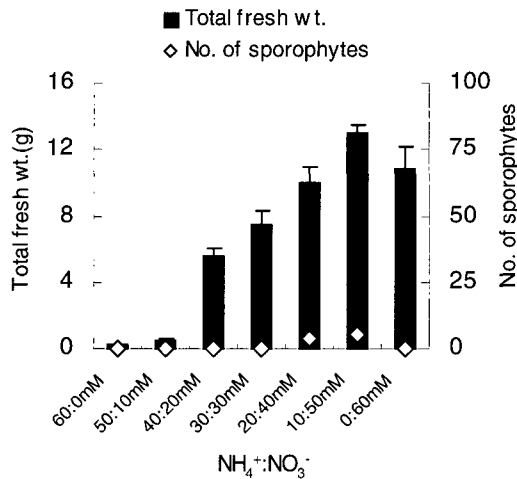


Fig. 2. Effect of nitrogen source ratio on prothallus proliferation and sporophyte formation of *D. varia.*. Bar indicates standard error.

앞선 보고에 의하면 양치식물의 전엽체는 일반적으로 암모니아태 질소와 질산태 질소가 일정한 비율로 모두 함유된 배지에서 생장이 양호한 것으로 알려져 있지만(Jin, 1999), *Osmunda re-galis*는 Knop배지에 암모니아태 질소를 첨가하자 전엽체의 생장이 저해되었다고 하였다(Fernandez et al., 1997a). 본 실험에서 족제비고사리 또한 암모니아태 없이 질산태질소만 첨가된 배지에서도 전엽체의 생장이 비교적 양호하여, 전엽체 생장에 필요한 질소급원의 종류와 농도비는 양치식물의 종에 따라서 다를 수 있었다.

Sucrose 농도의 영향

Sucrose의 농도를 0~4%로 달리하여 전엽체를 배양한 결과, 1~3%의 처리구에서 무처리구에 비하여 생체중이 현저히 증가하

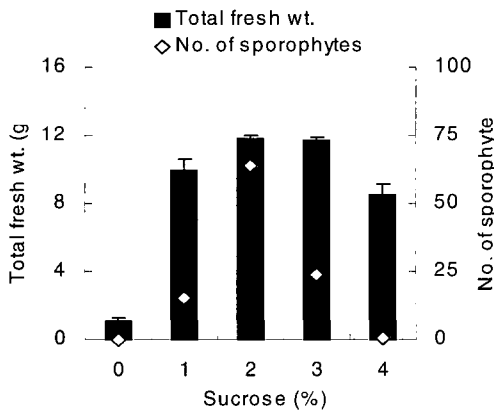


Fig. 3. Effect of sucrose concentration on prothallus proliferation and sporophyte formation of *D. varia.*. Bar indicates standard error.

였고, 4%에서는 다시 다소 감소하는 경향을 보였다(Fig. 3). 이는 앞서 개고비, 봉의꼬리, 석위(Jin 1999), 및 *Blechnum spicant*(Fernandez et al., 1997c) 등에서 보고된 결과와 유사한 양상이었다.

한편 배지에 첨가된 3% 이상 고농도의 sucrose는 전엽체가 정상적인 형태로 발달되는 것을 저해하는 것으로 조사되었다. 즉 sucrose의 농도가 높아질수록 전엽체는 작고 두터워졌으며 탁한 녹색을 띄었고 양쪽 날개부분이 퇴화된 듯이 비정상적인 구조를 보였다. 포자체의 발달은 2%의 sucrose가 첨가된 배지에서 가장 촉진되었으며, 무처리구나 4% 처리구에서는 전혀 관찰되지 않았다. 그러므로 족제비고사리의 전엽체 생장에 적합한 sucrose의 농도는 1~2%인 것으로 판단되었다.

pH에 따른 영향

실험배지의 pH를 3.8~7.8로 달리하여 전엽체를 배양한 결과, pH 5.8의 배지에서 증식이 가장 활발하였고 pH 4.8의 배지에서도 비교적 양호한 결과를 보였다. 그러나 pH 3.8의 산성배지나 pH 6.8~7.8의 중성 및 약알칼리성 배지에서는 생체중이 약 1/3 가량 감소되었다(Fig. 4).

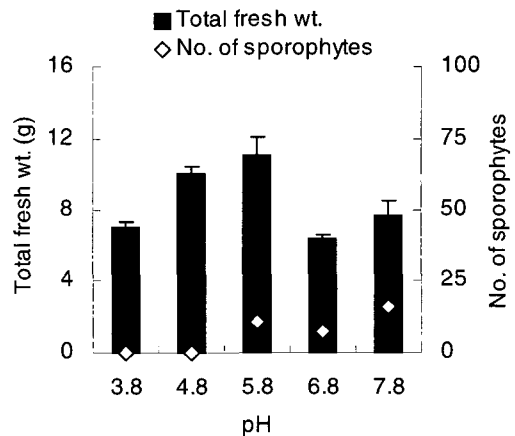


Fig. 4. Effect of pH on prothallus proliferation and sporophyte formation of *D. varia.*.Bar indicates standard error.

*Platycerium bifurcatum*의 전엽체 또한 pH 5.0~7.0의 구간에서 배양한 결과, pH 5.5에서 생장이 가장 양호하였다고 하여 (Camloh와 Gogala, 1992), 족제비고사리와 유사한 경향을 보였다. 그러나 *Asplenium nidus*(Fernandez et al., 1997b)와 *Blechnum spicant*(Fernandez et al., 1997c)의 전엽체는 pH 4.7~8.7 범위에서 증식에 별다른 차이가 없었다고 보고 되었음으로 양치식물의 종에 따라 전엽체 생장에 적합한 pH 수준이 다른 것으로 생각되었다.

Agar 첨가량의 영향

배지 내의 agar 함량이 높아질수록 전엽체의 증식이 억제되었다는 연구결과가 있었지만(Calmloh and Gogala, 1992; Douglas and Sheffield, 1990; Fenandez *et al.*, 1997c), 족제비고사리의 전엽체는 agar를 첨가하지 않은 액체배지에 비하여 0.6~0.8%의 첨가구에서 생장이 다소 향상된 것으로 나타났다(Fig. 5).

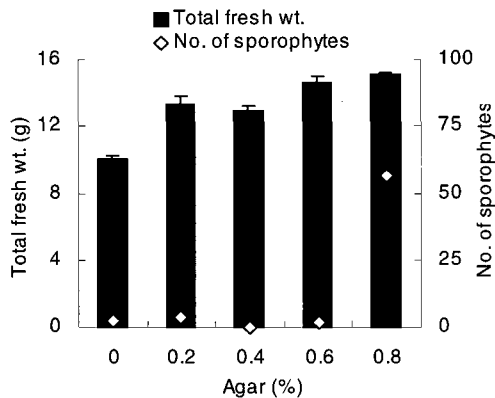


Fig. 5. Effect of agar on prothallus proliferation and sporophyte formation of *D. varia* after 12 weeks in culture. Bar indicates standard error.

0~0.2%의 액체배지에서 성장한 전엽체는 대부분 과도한 수분으로 유리질화되는 경향을 보였다. 또한 액체배지의 경우에 배양기간이 12주 이상이 지나자 전엽체가 급속히 갈변 괴사하는 양상을 보였는데, 이는 전엽체가 증식됨에 따라 배지의 영양물질이 점차 고갈되고, 배지 속으로 배출된 대사물질이 액체 속에 잠긴 채 성장하는 전엽체에 직접적으로 유독한 영향을 미쳤기 때문일 것으로 추정되었다.

생장조절물질의 영향

6종의 성장조절물질(NAA, IAA, 2,4-D, BAP, kinetin 및 2ip)을 0~20 μ M의 농도로 배지에 달리 첨가하여 전엽체를 배양한 결과, 성장조절물질의 종류에 관계없이 농도가 증가함에 따라 생체중이 점점 감소되는 것으로 나타났다(Fig. 6). 이러한 양상은 2,4-D 첨가구에서 가장 극명하게 나타났는데, 이는 일찍이 잔고사리, 석위, 새빨석위, 봉의꼬리, 부싯깃고사리, 바위고사리, 개고비 등의 전엽체 배양에서도 보고된 바 있다(Jin, 1999).

생장조절물질의 첨가는 전엽체의 증식속도뿐만 아니라 형태형성에도 많은 영향을 미치는 것으로 확인되었는데, 고농도(10~20 μ M)의 BAP 및 2ip 처리구에서는 성숙한 심장형의 전엽체보다 필라멘트형의 어린 전엽체가 많이 관찰되었고, 저농도의 2,4-D 처리구에서는 캘러스와 유사한 형태가 나타났다. *Blechnum spicant*에서도 BAP나 IBA의 처리에 의하여 발달과정이 저해된 것처

럼 보이는 미성숙한 어린 전엽체가 유도되었다고 보고된 바 있다(Fernandez *et al.*, 1997). 그러므로 이들 성장조절물질은 전엽체의 정상적인 발달과정을 저해시키는 것으로 생각되었다.

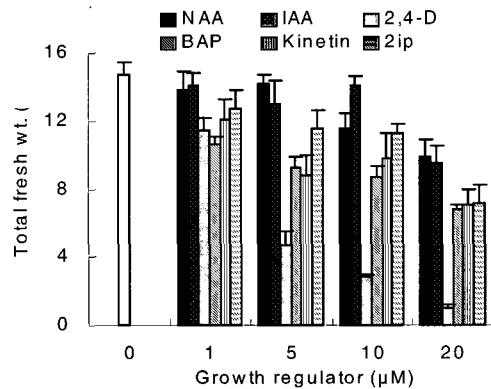


Fig. 6. Effect of growth regulators on prothallus proliferation of *D. varia* after 12 weeks in culture. Bar indicates standard error.

기외이식 시 토양 종류의 영향

족제비고사리의 전엽체를 6종의 토양(Table 1) 별로 이식하여 포자체 유도에 적합한 토양을 선발하였다. 포자체는 상토 단용구에서 1g의 전엽체 당 133개로 가장 많이 형성되었으며, 포자체의 생육은 피트모스 단용구에서 포자체 길이 3.0cm로 다른 토양에 비하여 왕성하였다. 한편 뿌리의 발달은 상토 단용구와 피트모스 단용구에서 6.0~6.3cm로 가장 활발하였다(Table 2).

Table 1. Soil composition used in this study

Code	Soil composition
S	Compost only
SV	Compost : vermiculite = 2:1
P	Peatmoss only
PV	Peatmoss : vermiculite = 2:1
C	Cocopeat only
CV	Cocopeat : vermiculite = 2:1

이와 같은 결과는 일찍이 잔고사리와 봉의꼬리(Jin, 1999) 그리고 부싯깃고사리, 거미고사리 및 넉줄고사리(Lee, 2001) 등에서 얻어진 양상과 일치하였다. 즉, 많은 양치식물들의 경우 상토와 같이 질소함량이 비교적 높고 칼슘함량이 많은 토양(Lee, 2001)에서 포자체의 발달이 촉진되는 것으로 생각되었다. 반면 음양고비는 질소함량과 칼슘의 함량이 상토 단용구에 비해 상대적으로 낮은 토양에서 포자체의 형성이 촉진되는 것으로 밝혀져(Jin, 1999), 포자체 형성과 발달과정의 영양요구도가 상대적으로 낮음을 알 수 있었다.

Table 2. Effect of soil composition on the induction and

development of sporophyte from chopped prothallus (1g) of *D. varia* after 12 weeks in cultivation

Soil composition	No. of sporophytes (ea)	Fresh weight (g)	Length of sporophyte (cm)	Length of root (cm)
S	133 a	2.33 a ²	1.3 b	6.3 a
SV	89 b	1.39 bc	1.3 b	4.9 ab
P	42 cd	0.67 d	3.0 a	6.0 a
PV	65 bc	1.78 ab	1.4 b	4.4 b
C	26 d	0.58 d	0.9 bc	3.4 bc
CV	17 d	0.91 cd	0.5 c	2.5 c

²Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

기외이식 시 전처리 영향

기내배양한 전엽체를 토양에 이식하는 과정에서 성장조절물질 및 무기염류의 전처리가 포자체 발달에 미치는 영향을 알아보기 위하여, GA₃, IAA, BAP 및 KNO₃ 에 침지처리한 후 기외이식 하였다.

Table 3. Effect of GA₃ on the induction and development of sporophyte from chopped prothallus (1g) of *D. varia* after 12 weeks in cultivation

Conc. (μM)	Soaking time (hrs)	No. of sporophytes (ea)	Fresh weight (g)	Length of sporophyte (cm)	Length of root (cm)
Control		49 b ²	0.97 a	0.9 c	4.5 a
20	1	60 b	1.01 a	1.0 c	4.6 a
	3	71 b	1.39 a	1.2 bc	5.6 a
	6	60 b	1.14 a	2.0 a	5.3 a
50	1	68 b	1.40 a	1.5 a-c	5.5 a
	3	63 b	0.93 a	1.6 ab	5.5 a
	6	65 b	1.05 a	1.4 a-c	4.1 a
100	1	69 b	1.26 a	1.7 ab	5.6 a
	3	141 a	1.83 a	1.8 ab	5.4 a
	6	66 b	1.52 a	1.5 a-c	4.3 a

²Means separation within columns by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

GA₃ 전처리 실험에서 포자체의 형성은 100μ M, 3시간 처리구에서 전엽체 1g 당 141개로 대조구에 비하여 약 3배 가까이 촉진되었다. 생체중 및 뿌리의 생육은 대부분의 처리구에서 별다른 차이를 보이지 않았으나, 포자체의 생육은 GA₃ 처리구에서 무처리구에 비하여 전반적으로 양호한 편이었다(Table 3). 거미고사리와 넉줄고사리, 부싯깃고사리 역시 GA₃ 전처리에 의하여 포자체의 형성이 향상된 것으로 보고되어(Lee, 2001), GA₃ 전처리는 대체적으로 포자체 형성에 효과적이며 생육 역시 촉진하는 것으로 여겨진다.

Table 4. Effect of IAA on the induction and development of sporophyte from chopped prothallus (1g) of *D. varia* after 12 weeks in cultivation

Conc. (μM)	Soaking time (hrs)	No. of sporophytes (ea)	Fresh weight (g)	Length of sporophyte (cm)	Length of root (cm)
Control		49 bc ²	0.97 a-c	0.9 d	4.5 cd
20	1	54 b	1.08 a-c	1.1 cd	5.5 b-d
	3	108 a	1.69 a	2.2 b	5.9 a-c
	6	19 c	0.58 c	1.2 cd	3.7 d
50	1	56 b	1.04 a-c	0.9 d	5.4 b-d
	3	63 b	1.57 ab	3.1 a	7.6 a
	6	58 b	1.14 a-c	1.4 cd	3.6 d
100	1	49 bc	0.84 bc	1.0 cd	5.4 b-d
	3	66 b	1.03 a-c	2.1 b	6.8 ab
	6	57 b	1.20 a-c	1.7 bc	5.3 b-d

²Means separation within columns by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

Table 5. Effect of BAP on the induction and development of sporophyte from chopped prothallus (1g) of *D. varia* after 12 weeks in cultivation

Conc. (μM)	Soaking time (hrs)	No. of sporophytes (ea)	Fresh weight (g)	Length of sporophyte (cm)	Length of root (cm)
Control		49 b ²	0.97 c-f	0.9 c	4.5 a-c
20	1	43 b	0.59 ef	1.1 bc	5.0 a-c
	3	133 a	2.03 a	1.4 bc	6.3 a
	6	62 b	1.44 a-d	1.3 a-c	5.3 bc
50	1	47 b	0.78 d-f	0.9 c	4.9 a-c
	3	115 a	1.25 b-e	1.1 bc	5.5 a
	6	46 b	1.53 a-c	1.6 a	4.3 a-c
100	1	41 b	0.54 f	0.9 c	3.0 c
	3	66 b	0.84 c-f	1.5 ab	4.5 a-c
	6	40 b	1.83 ab	1.1 bc	3.4 bc

²Means separation within columns by Duncan's multiple range test, $P < 0.05$.

IAA 전처리 실험에서는 20μ M, 3시간 처리구에서 1g의 전엽체 당 108개의 포자체가 형성되어 대조구의 49개에 비하여 향상된 결과를 보였다. 포자체의 길이는 50μ M, 3시간 처리구에서 3.1cm로 대조구의 0.9cm에 비하여 향상되었으며, 뿌리의 발달은 농도와 관계없이 3시간 처리구에서 대조구의 4.5cm에 비하여 5.9~7.6cm로 전반적으로 향상되었다(Table 4). Lee(2001)에 의하면 부싯깃고사리의 경우 IAA 20μ M 처리구에서 포자체 형성이 다소 향상되었을 뿐 농도에서는 오히려 억제되었고, 넉줄고사리는 대조구와 큰 차이를 보이지 않았으며, 거미고사리는 오히려 무처리구에 비하여 IAA 침지 처리구에서 포자체의 형성이 저조하다고 하였다. 그러므로 전엽체 기외이식에서 IAA의 효과는 양식식물의 종에 따라 다른 것으로 생각되었다.

Table 6. Effect of KNO₃ on the induction and development of sporophyte from chopped prothallus (1g) of *D. varia* after 16 weeks in cultivation

Conc. (μM)	Soaking time (hrs)	No. of sporophytes (ea)	Fresh weight (g)	Length of sporophyte (cm)	Length of root (cm)
Control		49 c ²	0.97 ab	0.9 cd	4.5 a
200	1	21 c	0.49 b	0.8 d	3.6 a
	3	65 bc	1.06 ab	2.0 a	4.6 a
	6	105 a	1.61 a	1.5 a-d	4.6 a
500	1	49 c	0.58 b	1.1 b-d	3.6 a
	3	99 ab	1.50 a	1.7 a-c	4.7 a
	6	90 ab	1.41 a	1.8 a-c	4.8 a
1000	1	46 c	0.50 b	1.1 a-d	3.6 a
	3	111 a	1.25 ab	1.8 ab	5.0 a
	6	90 ab	1.70 a	1.8 ab	3.7 a

²Means separation within columns by Duncan's multiple range test, P<0.05.

BAP의 전처리 실험에서 포자체의 형성은 20μ M 및 50μ M의 3 시간 처리구에서 1g의 전엽체 당 각각 133개, 115개의 포자체가 형성되어 가장 양호한 결과를 보였고, 이들 처리구에서 뿌리의 발달 역시 활발하였다. 반면 포자체의 생육은 50μ M, 6시간 및 100 μ M, 3시간 처리구에서 포자체 길이 1.5~1.6cm로 다른 처리구에 비하여 양호하였다(Table 5). 거미고사리, 부싯고사리 및 넉줄고사리에서도 적정 농도 및 처리시간에 다소 차이가 있었지만 BAP 처리에 의하여 포자체의 형성이 촉진되었다고 하였다(Lee, 2001).

전엽체에 KNO₃를 전처리한 결과, 200μ M, 6시간 및 1000μ M, 3시간 처리구에서 전엽체 1g 당 각각 105개, 111개의 포자체가 형성되어 대조구에 비해 촉진된 결과를 보였다(Table 6). 생체중은 전반적으로 처리시간이 길수록 증가하는 경향을 보였으며, 포자체의 생육은 200μ M, 1시간 처리구에서 다소 억제되었던 것을 제외하면 모든 처리구에서 유사하였다. Lee(2001)에 따르면 거미고사리, 부싯고사리 및 넉줄고사리 모두 Ca(NO₃)₂의 전처리에 의하여 포자체의 형성이 향상되었다고 하였다. 그러므로 양치식물의 전엽체에 KNO₃ 또는 Ca(NO₃)₂ 등의 무기염류를 전처리한 후 토양에 이식하면 포자체의 형성이 촉진됨을 확인할 수 있었다.

적 요

본 연구는 죽제비고사리의 대량번식법을 개발하기 위하여 전엽체의 기내배양 및 기외 포자체 형성의 적정 조건을 구하고자 실시되었다. 기내에서 전엽체 증식은 MS배지의 무기물 조건에서 가장 활발하였고, NH₄⁺:NO₃⁻의 농도비가 10:50mM이고, 2%의 sucrose가 첨가된 배지에서 생장이 향상되었다. 전엽체 생장에 적합

한 배지의 pH는 5.8이었으며, 적정 agar 농도는 0.6~0.8%로 조사되었다. 배지에 첨가된 생장조절물질(NAA, IAA, 2,4-D, BAP, kinetin 및 Zip)은 대부분 농도가 높아질수록 전엽체의 생장을 더욱 저해하는 것으로 나타났다. 기내에서 증식된 전엽체를 토양 별로 기외이식한 결과, 상토 단용구에서 가장 많은 포자체가 형성되었으며, GA₃ 100μ M에서 3시간 동안 침지처리 한 전엽체로부터 포자체의 형성이 현저히 촉진되었다.

사 사

본 연구는 산업자원부·한국산업기술평가원 지원의 지역협력연구센터인 충북대학교 생물건강산업개발연구센터의 지원에 의한 것입니다.

인용문헌

- Bertrand, A.M., M.A. Albuerno, H. Fernandez, A. Gonzalez and R. Sanchez-Tames. 1999. *In vitro* organogenesis of *Polypodium cambricum*. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 57: 65-69.
- Camloha, M. and N. Gogala. 1992. *In vitro* culture of *Platyserium bifurcatum* gametophytes. Sci. Hort. 51: 343-346.
- Camloha, M., N. Gogala and J. Rode. 1994. Plant regeneration from leaf explants of the fern *Platyserium bifurcatum* *In vitro*. Sci. Hort. 56: 257-266.
- Dawson, L.A., R.W. King and R. van der Staay. 1991. Optimising condition for growth of *Nephrolepis* ferns. Sci. Hort. 45: 303-314.
- Douglas G.E. and E. Sheffied. 1990. A new technique for the culture of fern gametophytes. Plant Cell Rep. 8: 632-634.
- Fernandez, H., A.M. Bertrand and R. Sanchez-Tames. 1997a. Gemmation in *Osmunda regalis* L. gametophyte cultured *In vitro*. Plant Cell Rep. 16: 358-362.
- Fernandez, H., A.M. Bertrand, I. Feito and R. Sanchez-Tames. 1997b. Gametophyte culture *In vitro* and antheridiogen activity in *Blechnum spicant*. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 50(1): 71-74.
- Higuchi, H., W. Amaki and S. Suzuki. 1987. *In vitro* propagation of *Nephrolepis cordifolia* Prsel. Sci. Hort. 32: 105-113.
- Higuchi, H. and W. Amaki. 1989. Effect of 6-benzylaminopurine on the organogenesis of *Asplenium nidus* L. through *In vitro* propagation. Sci. Hort. 37: 351-359.
- Hvoslef-Eide, A.K. 1991. The effect of temperature, daylength and irradiance on the growth of mother plants of *Nephrolepis exaltata* (L.) Schott and on the subsequent growth *In vitro* of

- runner tip explants. *Sci. Hort.* 47: 137-147.
- Jin, Y.H. 1999. Masspropagation of pteridophyta native to Korea by tissue culture. M.S. Thesis, Chungbuk National Univ. pp. 1-62.
- Jones, D.L. 1987. *Encyclopedia of ferns*. Timber press, Portland.
- Lee, J.S. 2001. Several factors affecting sporophyte formation of three species in pteridophyta. M. S. Thesis, Chungbuk National Univ. pp. 11-13.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physical plantarum* 15: 473-479.
- Padhya, M.A. and A.R. Mehta. 1982. Propagation of fern (*Nephrolepis*) through tissue culture. *Plant Cell Rep.* 1: 261-263.
- Paek, K.Y., C.H. Lee, J.K. Choi and B.H. Kwack. 1984. Masspropagation *Nephrolepis exaltata* by runner tips *In vitro*. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 25(4): 313-321.
- Pak, M.K. 1961. *Flora of Korean Pteridophyta*. Kyohakdosso Co., Seoul.
- Salome, M., S. Pais and M. Casal. 1987. Propagation of the fern *Adiantum capillus-veneris* through tissue culture of the circinate part of young leaves. *Acta Hort. (ISHS)* 212: 651-654.
- Teng, W.L. 1997. Activated charcoal affects morphogenesis and enhances sporophyte regeneration during leaf cell suspension culture of *Platycerium bifurcatum*. *Plant Cell Rep.* 17: 77-83.

(접수일 2006.1.10 ; 수락일 2006.3.21)