

참쇠고비(*Cyrtomium caryotideum*) 포자체로부터의 식물체 재생에 미치는 배양방법 및 배지구성물질의 영향

정진아, 이철희*
충북대학교 원예과학과

Effect of Culture Method and Medium Composition on Shoot Regeneration from Sporophytes of *Cyrtomium caryotideum* var. *coreanum* Nakai.

Jin-A Jeong and Cheol Hee Lee*

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

Abstract - This study was conducted to investigate the efficient propagation method of *Cyrtomium caryotideum* var. *coreanum* by sporophyte culture. The influence of origin of explant sources (rhizome, blade, or stipe) and homogenization of culture materials on shoot regeneration were investigated. As a result, only rhizome explant exhibited the organogenic capacity and the shoot regeneration was promoted by homogenization of culture material. Vigorous and excellent growth of multiple shoots was induced on the half-strength of inorganic salts containing MS medium. It was appeared that optimum nitrogen content of shoot regeneration was half-strength of nitrogen containing MS medium (30mM) and optimum sucrose concentration was 1%. Addition of NaH_2PO_4 to culture medium generally enhanced shoot multiplication and promoted growth of the regenerants. The organogenic capacity of homogenized rhizomes was especially promoted on medium supplemented with $5\mu\text{M}$ kinetin plus $5\mu\text{M}$ IBA. The incorporation of 0.1~0.2% activated charcoal on medium supplemented with growth regulators prevented the formation of multiple bud primordia - nodule-like bud clusters and improved the normal morphogenesis of sporophytes.

Key words - Fern, Shoot regeneration, Explant, Inoculation method, Media composition

서 언

양치식물의 번식법은 크게 포자를 이용한 유성번식법과 영양기관을 이용한 영양번식법으로 나뉘는데, 자연적인 영양번식법으로는 근경(rhizome), 포복지(stolon) 및 짧은 근경(crown) 등에서 발생하는 새로운 포기를 분주하는 방법이 주로 이용된다. 그러나 이러한 번식법은 연간 증식속도가 매우 느리고 또한 계절적인 영향을 많이 받을 수밖에 없기 때문에 요즘엔 포자(Fernandez *et al.*, 1997a; 1997c; 1999)나 영양기관(Bertrand *et al.*, 1999; Higuchi *et al.*, 1987; Higuchi and Amaki, 1989; Padhya and Mehta, 1982; Salome *et al.*, 1987)을 기내배양하여 식물체를 대량생산하는 방법이 보편화되고 있다.

면마과(Dryopteridaceae)에 속하는 참쇠고비(*Cyrtomium caryotideum* var. *coreanum*)는 잎 모양이 독특하고 아름다워 관상 가치가 높은 종이다. 상록성 양치식물로서 형태적으로 도깨비고비(*Cyrtomium falcatum*)와 매우 유사하나 15~30cm의 크기로 상대적으로 왜소하다(Jones, 1987). 우편은 알 모양의 타원형으로 가장자리에 불규칙한 물결모양이 있고, 꼭지우편은 2~3개로 중간에서 갈라진다. 제주도 남부 해안의 바위틈에 자생하는데, 우리나라를 비롯하여 일본, 중국, 인도 남부, 하와이 등지에 분포하고 있다(Pak, 1961).

본 연구는 포자체 배양을 통하여 참쇠고비의 효율적인 대량번식 체계를 확립하고자, 기내에서 식물체 증식에 적합한 치상재료 및 방법을 선별하고, 배지의 무기물 및 비타민 농도, 총 질소함량, 당

*교신저자(E-mail) : leech@chungbuk.ac.kr

농도, 성장조절물질의 조합 및 활성탄과 성장조절물질의 혼용 처리가 포자체 절편의 신초 재생 및 재생된 식물체의 생육에 미치는 영향을 알아보기 위해 수행하였다.

재료 및 방법

참쇠고비의 포자체는 포자를 무균배양하여 형성된 전염체로부터 유도하였으며, 1/2배 MS배지(sucrose 1%, 활성탄 0.1%, pH 5.8)에서 한두 달 간격으로 2~3회 계대배양하여, 5cm 정도의 크기로 자란 식물체를 실험에 사용하였다.

기내배양을 이용한 식물체의 증식에 적합한 배양재료를 찾기 위하여, 5cm 크기의 어린 식물체에서 3mm²의 근경 부위와 5~8mm의 엽병(stipe) 부위, 그리고 엽신(blade) 부위를 상중하(5~8mm)로 나누어 각각 배양하였다(Fig. 1). 효율적인 치상방법을 선별하기 위하여 이상 5개 부위의 절편을 그대로 치상하거나 혹은 메스로 곱게 다진 후 치상하여 배양하였다.

식물체 재생에 적합한 배지 조건을 찾기 위한 이후의 모든 실험에서는 참쇠고비의 근경부위를 메스로 곱게 다진 후, 30mg씩 5반복으로 실험배지에 치상하여 배양하였다. 식물체 재생에 적합한 배지의 무기물 및 비타민 농도를 조사하기 위하여, MS기본배지의 무기물 및 비타민 농도를 각각 1/8, 1/4, 1/2, 1 및 2배 수준으로 조절된 5종의 배지를 이용하였다. 질소 급원의 총 함량이 포자체 재생에 미치는 영향을 구명하기 위한 실험에서는 NH₄Cl과 KNO₃를 각각 암모니아태 질소와 질산태 질소의 급원으로 하여 NH₄⁺:NO₃⁻의 몰농도비를 1:2로 조절한 후, 배지의 총 질소함량이 7.5, 15, 30, 60 및 120mM이 되도록 각각 처리하였다. 배지의 적정 sucrose 농도를 구하기 위하여, 농도를 0, 1, 2, 3, 그리고 4%로 조절하였다. NaH₂PO₄의 첨가량이 식물체 재생 및 생장에 미치는 영향을 구명하기 위하여, NaH₂PO₄의 첨가량을 0, 50, 100, 200 및 400mgL⁻¹로 달리하여 근경조직을 배양하였다. 성장조절물질의 단용 및 혼용 처리가 균질화한 절편의 기관형성능력 및 식물체 생장에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 4종의 성장조절물질(NAA, IBA, BAP 및 kinetin)을 0, 1, 5, 10μ M의 농도로 각각 단용 처리하거나, 또는 BAP+NAA, BAP+IBA, kinetin+NAA 및 kinetin+IBA의 조합으로 혼용 처리하였다. 성장조절물질이 첨가된 배지에서 활성탄의 흡수효과가 신초 재생 및 식물체 생장에 미치는 영향을 알아보기 위하여, kinetin 5μ M+IBA 5μ M이 첨가된 배지에 활성탄을 0, 0.1, 0.2, 0.4 및 0.8%의 농도로 혼용하였다.

모든 실험은 25±1°C의 배양온도에서 3,000lux로 16시간 조명하였으며, 16주 배양 후에 생체중, 포자체의 수와 길이, 뿌리의 수와 길이 등을 조사하였다.

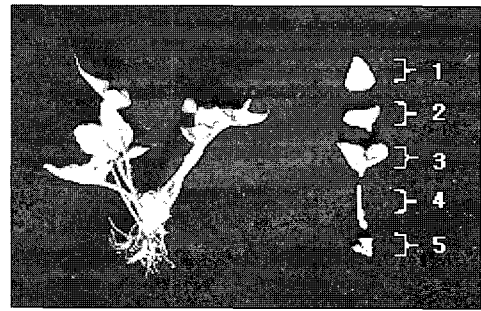


Fig. 1. Five sections of *C. caryoptideum* sporophyte. The numeral letters 1, 2, 3, 4 and 5 represent upper part of blade, middle part of blade, low part of blade, stipe and rhizome, respectively.

결과 및 고찰

배양재료 및 치상방법의 영향

참쇠고비의 기내증식에 적합한 배양재료 및 치상방법을 선별하기 위하여, 어린 포자체를 근경, 엽병, 상중하의 엽신 등 5개의 부위(Fig. 1)로 나누어 절편을 그대로 치상하거나 혹은 곱게 다져서 치상하였다.

실험결과, 근경을 제외한 다른 배양재료에서는 치상방법에 관계없이 식물체가 전혀 재생되지 않았다(Table 1). 근경조직은 절편을 그대로 치상한 경우에 4.8개의 식물체가 재생되었고, 곱게 다져서 배양한 경우에는 17.0개의 식물체가 재생되어 치상방법에 따라 현저한 차이를 보였다. 그러나 재생된 포자체의 성장 및 뿌리의 발달은 치상방법에 따라 유의차를 나타내지 않았다.

양치식물의 영양기관 배양에는 주로 근경(Bertrand *et al.*, 1999; Higuchi and Amaki, 1989), 포복경 끝(Higuchi *et al.*, 1987; Hvoself-Eide, 1991; Paek *et al.*, 1984), 엽 절편(Camloha *et al.*, 1994; Salome *et al.*, 1987; Teng, 1997), 근경에서 발생한 측아(Thakur *et al.*, 1998) 등이 배양 재료로 이용되고 있는데, Bertrand *et al.*(1999)은 기내배양중인 *Polypodium cambricum*의 어린 포자체를 근경, 엽상체, 엽병 및 뿌리 등으로 나누어 배양한 결과, 뿌리의 기관형성능력이 가장 저조하였고 근경 및 엽상체에서 식물체의 재생이 양호하였다고 하였다. 반면 본 실험에서 참쇠고비는 오직 근경 부위에서만 식물체가 재생됨으로써 양치식물의 종에 따라 포자체의 부위별 기관형성능력에는 다소 차이가 있는 것으로 판단되었다. 또한 절편을 그대로 치상하는 것 보다 곱게 다져 치상한 경우에 기관형성능력이 현저히 촉진됨으로써 보다 효율적인 신초 증식이 가능할 것으로 기대되었다.

배지의 무기물 및 비타민 농도의 영향

신초 형성은 1/2배 MS에서 14.8개로 가장 많이 이루어졌는데, 이는 1/8배 MS(2.3개)나 2배 MS배(0.8개)에 비하여 현저히 향상된 결과였다(Table 2). 재생된 포자체의 생육은 1/2배 MS와 MS배지에서 대체적으로 양호하였다. 반면 1/8배 MS나 1/4배 MS배지에서 성장한 포자체는 생육이 저조하였을 뿐만 아니라 식물체가 황록색을 띄어 영양분이 결핍된 것으로 생각되었다. 2배 MS배지에서 재생된 소수의 식물체는 짙은 녹색을 띄었는데, 재생된 식물체의 잎은 비틀린 듯이 비정상인 형태였고 뿌리는 거의 발달되지 않았다. 그러므로 참쇠고비의 신초 재생 및 생장에 적합한 배지의 무기물 농도는 MS기본배지의 1/2배 수준인 것으로 판단되며, 재생된 식물체의 생육은 1/2배 MS나 MS기본배지가 적합한 것으로 판단되었다.

양치식물의 근경 배양 및 신초 증식의 경우 MS기본배지가 그대로 이용되기도 하지만(Higuchi와 Amaki, 1989; Camloha, 1994), MS기본배지에 함유된 무기물의 농도는 전반적으로 신초

재생을 억제하는 경향이 있기 때문에 1/2배의 MS(Thakur *et al.*, 1998; Teng, 1997)나 1/4배 MS배지(Higuchi *et al.*, 1987; Bertrand, 1999)와 같이 무기물 함량을 낮춘 배지가 보다 적절한 것으로 제시되고 있다. 참쇠고비의 근경조직 역시 MS의 1/2배 수준의 무기물 및 비타민 농도에서 가장 많은 식물체가 재생되었고, 식물체의 생육도 상대적으로 양호함을 이상의 실험결과에서 확인할 수 있었다.

총 질소함량의 영향

MS배지의 주요 무기물성분인 질소원의 총 함량이 근경조직의 기관형성능력 및 식물체 생장에 미치는 영향을 알아본 결과, 재생된 포자체의 수는 총 질소함량이 MS배지의 1/2배 수준인 30mM에서 14.3개로 가장 많았으나 7.5mM(11.8) 및 15mM(11.3)에서 얻어진 결과와 유의차를 보이지 않았다. 재생된 식물체의 생장 역시 7.5~30mM의 농도처리 간에 유의차 없이 양호하였다(Table 3). 그러므로 질소급원의 농도가 MS기본배지의 1/8배 수준으로 감소되어

Table 1. Organogenesis from various segments of young *C. caryotideum* sporophytes with two different inoculation methods *In vitro*

Culture material	Inoculation method	Fresh weight (g)	Number of shoots	Shoots length (cm)	Number of roots	Root length (cm)
Rhizome	A ^z	0.40	4.8	3.33	34.3	2.03
	B	0.52	17.0	3.13	44.8	2.43
Stipe	A			Dead		
	B			Dead		
Low part of blade	A			Dead		
	B			Dead		
Middle part of blade	A			Dead		
	B			Dead		
Upper part of blade	A			Dead		
	B			Dead		
<i>F</i> -test significance ^y						
Culture material (CM)		**	**	**	**	**
Inoculation method (IM)		NS	**	NS	NS	NS
CM×IM		NS	**	NS	NS	NS

^zA, B inoculate with simply divided explant and with chopped explant, respectively.

^ySignificant at 1% level (**), 5% level (*) and not significant (NS).

Table 2. Effect of medium concentration on plant regeneration from homogenized rhizome segments of *C. caryotideum* *In vitro*

Medium	Fresh weight (g)	Number of shoots	Shoot length (cm)	Number of roots	Root lengths (cm)
1/8MS	0.06 b ^z	2.3 c	0.98 c	3.3 c	1.23 c
1/4MS	0.16 b	8.8 b	1.70 bc	13.3 b	2.40 b
1/2MS	0.36 a	14.8 a	2.70 ab	27.3 a	2.25 a
1MS	0.44 a	6.8 b	3.13 a	20.8 ab	2.08 ab
2MS	0.10 b	0.8 c	1.45 c	2.0 c	0.53 c

^zMean separation within column at 5% level, Duncan's multiple range test.

Table 3. Effect of concentration of nitrogen source on plant regeneration from homogenized rhizome segments of *C. caryoptideum* *In vitro*

Nitrogen source (mM)	Fresh weight (g)	Number of shoots	Shoot length (cm)	Number of roots	Root lengths (cm)
7.5	0.26 b ^z	11.3 a	2.58 a	16.3 a	1.88 a
15	0.26 b	11.8 a	2.05 a	14.8 a	1.33 b
30	0.37 a	14.3 a	2.63 a	22.8 a	1.83 a
60	0.08 c	2.0 b	1.27 b	1.3 b	0.43 c
120	0.01 c	0.7 b	0.23 b	0.0 b	0.00 c

^zMean separation within column at 5% level, Duncan's multiple range test.

도 다른 무기물 및 비타민의 농도가 MS배지의 1/2배 수준으로 유지 되면 근경의 기관형성능력은 크게 저해되지 않는 것을 확인할 수 있었다. 이는 MS기본배지의 1/2배 수준의 무기물 및 비타민 성분 중에서 질소급원 외에 다른 성분이 근경조직의 기관형성능력에 주요한 요인으로 작용하기 때문인 것으로 추정되었다. 반면 60~120mM의 처리구에서는 신초 재생이 거의 이루어지지 않았고 식물체의 형태발달도 비정상적이었다. 그러므로 60mM 이상의 총 질소함량은 참쇠고비의 신초 증식을 저해하는 것으로 나타났다.

Sucrose 농도의 영향

재생된 포자체의 수는 sucrose 1% 농도구에서 14.8개로 가장 많았으며, 무처리구에서는 단지 1.5개의 포자체가 형성되는데 그쳤다 (Table 4). Sucrose의 농도가 2% 이상 높아지자 식물체의 재생은 점차 감소하였는데, 특히 3% 이상 고농도에서는 포자체의 형태발달 및 생장이 현저히 저해되어 근경에서 발달된 분열조직은 정상적인 포자체로 성장하지 못하고 많은 눈(芽)을 가진 primordia 형태에 머물러있는 경향을 보였다.

이는 저농도(1%)의 sucrose는 근경의 기관형성능력을 촉진시키지만, 3% 이상의 고농도를 처리할 경우에는 sucrose의 삼투효과에 의하여 재생된 분열조직이 정상적인 식물체로 분화되는 것이 저해되기 때문인 것으로 생각되었다.

NaH₂PO₄ 첨가량의 영향

참쇠고비의 근경 배양에서 NaH₂PO₄의 첨가량에 따른 기관형성

능력 및 식물체 생육을 조사한 결과, 근경조직에서 재생된 식물체의 수는 400mgL⁻¹의 NaH₂PO₄가 첨가된 배지에서 17.3개로 가장 많았으나 다른 처리구와 유의차를 보이지는 않았다(Table 5). 반면 재생된 식물체의 생장은 200~400mgL⁻¹의 NaH₂PO₄가 첨가된 배지에서 신초 길이 3.05~3.38cm로 무처리구의 1.88cm에 비하여 현저히 향상되었으며, 뿌리의 생장 또한 무처리구의 뿌리 길이 1.53cm에 비하여 이들 처리구의 경우 2.00~2.55cm로 촉진되었다.

일반적으로 양치식물의 포복경 끝 배양이나 근경 배양에서 배지에 첨가된 NaH₂PO₄는 식물체의 증식 및 생장을 촉진하는 것으로 알려져 있다(Garcia와 Furelli, 1987; Hvostlef-Eide, 1991; Paek et al., 1984). 본 실험에 의하면 참쇠고비의 경우 배지에 NaH₂PO₄를 첨가함으로써 신초증식물에는 큰 차이가 없으나 재생된 식물체의 생육이 촉진되는 것으로 나타났다.

생장조절물질의 영향

대부분의 생장조절물질 처리구에서 무처리구에 비하여 재생된 식물체의 수가 크게 증가하였다(Table 6, 7). 특히 kinetin, BAP 및 IBA의 단용 처리구와 kinetin+IBA 및 BAP+IBA의 혼용 처리구에서 근경조직의 기관형성능력이 현저히 향상되었다. 가장 많은 수의 식물체가 재생된 처리구는 kinetin 5μ M+IBA 5μ M과 kinetin 5μ M+IBA 10μ M의 혼용 처리구로 각각 35.0개와 34.8개의 식물체가 형성되었는데, 무처리구의 18.5개에 비하여 두 배 가까이 증가하였다.

Table 4. Effect of sucrose concentration on plant regeneration from homogenized rhizome segments of *C. caryoptideum* *In vitro*

Sucrose (%)	Fresh weight (g)	Number of shoots	Shoot length (cm)	Number of roots	Root lengths (cm)
0	0.03 c ^z	1.5 c	1.13 b	2.3 b	0.85 a
1	0.34 a	14.8 a	2.30 a	28.3 a	1.63 a
2	0.18 b	6.3 b	2.23 a	12.3 b	1.83 a
3	0.12 bc	5.0 bc	1.48 ab	4.8 b	0.93 a
4	0.10 bc	3.8 bc	0.95 b	3.3 b	1.05 a

^zMean separation within column at 5% level, Duncan's multiple range test.

Table 5. Effect of NaH_2PO_4 concentration on plant regeneration from homogenized rhizome segments of *C. caryotideum* *In vitro*

NaH_2PO_4 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	Fresh weight (g)	Number of shoots	Shoot length (cm)	Number of roots	Root lengths (cm)
0	0.25 c ^z	13.0 a	1.88 c	17.3 a	1.53 b
50	0.28 bc	13.3 a	2.25 bc	19.0 a	1.83 ab
100	0.28 bc	15.3 a	2.25 bc	20.3 a	2.00 ab
200	0.43 a	15.8 a	3.38 a	24.5 a	2.55 a
400	0.35 ab	17.3 a	3.05 ab	25.8 a	2.00 ab

^zMean separation within column at 5% level, Duncan's multiple range test.

Table 6. Effects of BA, NAA and IBA on plant regeneration from homogenized rhizome segments of *C. caryotideum* *In vitro*

Growth regulators (μM)			Fresh weight (g)	Number of shoots	Shoot length (cm)	Number of roots	Root length (cm)
BAP	NAA	IBA					
0	0	0	0.24	18.5	1.83	7.5	1.40
0	1	0	0.33	24.5	2.33	15.5	1.68
0	5	0	0.43	24.0	3.30	16.3	1.88
0	10	0	0.32	19.5	1.75	8.25	1.50
0	0	1	0.38	29.5	1.90	17.3	2.03
0	0	5	0.43	33.5	2.35	17.5	2.28
0	0	10	0.34	26.0	2.25	17.0	2.25
1	0	0	0.51	24.8	2.03	19.8	2.30
1	1	0	0.34	22.3	1.87	12.7	2.10
1	5	0	0.33	24.0	2.13	9.7	2.00
1	10	0	0.31	20.5	1.60	10.8	1.13
1	0	1	0.53	30.5	2.50	29.5	2.50
1	0	5	0.40	26.0	2.23	19.0	2.23
1	0	10	0.46	24.7	2.10	16.3	2.20
5	0	0	0.40	23.8	1.85	15.0	1.93
5	1	0	0.31	24.3	2.20	15.3	2.03
5	5	0	0.30	25.8	2.30	14.5	1.78
5	10	0	0.46	28.5	2.10	17.5	2.08
5	0	1	0.44	25.0	1.95	19.3	2.28
5	0	5	0.41	21.8	1.73	18.0	2.10
5	0	10	0.35	20.7	1.93	11.3	2.27
10	0	0	0.37	22.3	2.08	13.3	2.10
10	1	0	0.40	26.8	2.05	14.3	2.05
10	5	0	0.32	23.3	1.60	6.0	1.23
10	10	0	0.34	20.0	2.05	11.0	1.73
10	0	1	0.37	20.0	1.83	13.0	1.77
10	0	5	0.31	21.3	1.80	11.7	1.43
10	0	10	0.35	20.3	1.67	13.3	1.70
<i>F</i> -test significance ^z							
BAP			**	*	*	**	**
NAA			NS	NS	NS	NS	NS
IBA			NS	*	NS	**	NS
BAP×NAA			**	NS	*	**	*
BAP×IBA			NS	*	*	**	*

^zSignificant at 1% level (**), 5% level (*) and not significant (NS).

Table 7. Effects of kinetin, NAA and IBA on plant regeneration from homogenized rhizome segments of *C. caryoptideum* In vitro

Growth regulators (μM)			Fresh weight (g)	Number of shoots	Shoot length (cm)	Number of roots	Root length (cm)
Kinetin	NAA	IBA					
0	0	0	0.24	18.5	1.83	7.5	1.40
0	1	0	0.33	24.5	2.33	15.5	1.68
0	5	0	0.43	24.0	3.30	16.3	1.88
0	10	0	0.32	19.5	1.75	8.25	1.50
0	0	1	0.38	29.5	1.90	17.3	2.03
0	0	5	0.43	33.5	2.35	17.5	2.28
0	0	10	0.34	26.0	2.25	17.0	2.25
1	0	0	0.31	19.8	1.98	10.0	1.55
1	1	0	0.41	29.3	2.22	21.5	2.15
1	5	0	0.45	28.5	2.28	21.3	2.23
1	10	0	0.55	29.0	2.42	18.0	2.08
1	0	1	0.46	30.8	2.23	23.8	2.50
1	0	5	0.40	28.8	2.00	25.8	2.43
1	0	10	0.56	34.5	2.20	30.0	2.18
5	0	0	0.35	25.8	2.10	19.5	2.10
5	1	0	0.47	26.8	2.30	26.3	1.93
5	5	0	0.41	28.8	2.15	18.3	1.78
5	10	0	0.48	34.1	2.08	27.8	2.33
5	0	1	0.43	30.8	2.13	21.0	2.30
5	0	5	0.56	34.8	2.30	39.5	2.10
5	0	10	0.50	35.0	1.88	26.0	2.20
10	0	0	0.26	23.3	1.83	11.3	1.93
10	1	0	0.34	22.8	1.93	16.8	1.90
10	5	0	0.43	30.0	2.03	17.8	1.95
10	10	0	0.40	27.5	2.13	22.5	2.13
10	0	1	0.41	26.5	2.23	24.8	2.35
10	0	5	0.33	29.7	1.90	17.0	1.77
10	0	10	0.49	30.5	2.08	26.0	1.98
<i>F</i> -test significance ^z							
Kinetin			**	**	NS	**	*
NAA			**	**	NS	**	NS
IBA			**	**	NS	**	**
Kinetin×NAA			NS	NS	NS	**	NS
Kinetin×IBA			NS	**	NS	**	NS

^zSignificant at 1% level (**), 5% level (*) and not significant (NS).

한편 재생된 식물체의 형태발달 및 생육은 대부분의 처리구에서 유의차를 보이지 않는데, BAP와 옥신류의 혼용 처리구에서는 옥신류의 농도가 높아질수록 식물체의 생장이 오히려 저해되는 경향을 보였고, 뿌리의 발달 역시 BAP의 농도가 높아질수록 억제되었다.

pGarcia *et al.*(1987)에 의하면 *Cyrtomium falcatum*의 포자체 배양에서 kinetin과 NAA의 혼용 처리 시에 분열조직이 발달되었고, kinetin과 IBA를 혼용 처리한 경우에는 분열조직으로부터 식물체의 발달이 촉진되었다고 하였다. 실험결과 참쇠고비 또한 kinetin과 IBA를 혼용 처리한 배지에서 근경조직의 기관형성능력이 촉진됨을 확인할 수 있었다.

활성탄과 성장조절물질의 혼용 처리 효과

*Platyserium bifurcatum*의 엽 세포 배양에서 BA와 NAA가 첨가된 배지에 0.2%의 활성탄을 혼용한 결과, 활성탄 무처리구에 비하여 정상적인 포자체의 재생이 증가하였고, 무포자생식과 다수의 눈을 가진 분열조직의 발달이 억제되었으며, 재생된 식물체의 과수화(hyperhydricity)가 감소하였다고 하였다(Teng, 1997). 이처럼 식물조직 및 세포 배양에서 성장조절물질과 혼용 처리된 활성탄은 식물체의 형태형성반응에 질적 혹은 양적으로 영향을 미치는 것으로 밝혀졌으며, 이러한 효과는 식물체가 재생되는 동안에

Table 8. Effect of activated charcoal concentration on plant regeneration from homogenized rhizome segments of *C. caryotideum* in medium supplemented with growth regulator

Activated charcoal (%)	Fresh weight (g)	Number of shoots	Shoot length (cm)	Number of roots	Root length (cm)
0	0.42 c ²	24.0 a	1.85 b	29.0 b	2.28 a
0.1	0.83 a	28.0 a	3.30 a	44.5 a	2.90 a
0.2	0.65 b	26.3 a	3.27 a	47.7 a	3.07 a
0.4	0.43 c	19.0 a	2.97 a	25.3 b	2.23 a
0.8	0.52 bc	23.3 a	3.05 a	30.0 b	2.38 a

²Mean separation within column at 5% level, Duncan's multiple range test

활성탄이 배지의 조성물질과 생장조절물질을 균형 있게 분배하기 때문인 것으로 추정된다.

참쇠고비의 근경 배양에서 생장조절물질과 혼용 처리된 활성탄이 식물체 재생에 미치는 영향을 조사한 결과, 0.1%의 활성탄이 첨가된 배지에서 가장 많은 포자체가 재생되었으나, 전체 농도구간에서 유의차는 없었다(Table 8). 반면 재생된 식물체의 생육은 활성탄 무처리구에서 조사된 신초 길이 1.85cm에 비하여 0.1~0.2%의 활성탄이 첨가된 배지의 경우 3.27~3.30cm로 현저히 향상되었다. 뿌리의 발달 또한 활성탄 무처리구의 뿌리 수 29.0개에 비하여 0.1~0.2%의 첨가구에서 44.5~47.7개로 향상되었고, 뿌리 길이 또한 이들 배지에서 다른 처리구에 비하여 상대적으로 길었다.

이는 일반적으로 생장조절물질이 배양조직의 기관형성능력을 촉진하지만 재생된 분열조직이 완전한 식물체로 발달되는 것을 억제하는 경향이 있으며, 반면 활성탄을 생장조절물질과 혼용 처리할 경우 전 배양기간 동안에 활성탄이 배지 내 생장조절물질의 농도를 일정하게 유지함으로써 재생된 분열조직이 정상적인 식물체로 발달할 수 있도록 완충작용을 하기 때문인 것으로 판단되었다.

적 요

본 연구는 포자체 배양을 통하여 참쇠고비의 효율적인 번식방법을 구하고자 수행되었다. 배양절편의 기원(근경, 엽병, 엽신)과 절편의 균질화가 신초 재생에 미치는 영향을 조사한 결과, 오직 근경 조직에서만 기관발생능력이 관찰되었고, 식물체 재생은 배양재료를 균질화함으로써 더욱 촉진되었다. MS배지의 무기물 농도를 1/2배로 첨가한 배지에서 신초의 증식과 생장이 활발히 이루어졌다. 신초 재생에 적합한 배지의 질소함량은 MS배지의 1/2배 수준이었고, 적정 sucrose 농도는 1%였다. 또한 배지에 NaH₂PO₄를 첨가함으로써 재생된 식물체의 생육이 전반적으로 촉진되었다. 근경 절편의 기관형성능력은 kinetin과 IBA를 혼용 처리함으로써 촉진되었으며, 0.1~0.2%의 활성탄과 생장조절물질을 혼용 처리한 결과, 다수의 싹이 뭉친 듯이 보이는 primordia 형태의 발달이 억제되었고, 포자체의 정상적인 형태형성이 향상되었다.

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., N. Gogala and J. Rode. 1994. Plant regeneration from leaf explants of the fern *Platycerium bifurcatum* *In vitro*. Sci. Hort. 56: 257-266.
- 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. 1997c. Gametophyte culture *In vitro* and antheridiogen activity in *Blenchum spicant*. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 50(1): 71-74.
- Fernandez, H., A.M. Bertrand and R. Sanchez-Tames. 1999. Biological and nutritional aspects in fern multiplication. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 56: 211-214.
- Garcia, E. and L. Furelli. 1987. Clonal mass propagation of the fern *Cyrtomium falcatum*. Acta Hort. (ISHS) 212: 655-660.
- 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.
- Jones, D.L. 1987. *Encyclopedia of ferns*. Timber press, Portland.
- Padhya, M.A. and A.R. Mehta. 1982. Propagation of fern (*Nephrolepis*) through tissue culture. *Plant Cell Rep.* 1: 261-263.
- Paek, K.Y., H.C. Lee, J.K. Choi and B.H. Kwack. 1984. Mass propagation *Nephrolepis exaltata* by runner tips *In vitro*. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 25(4): 313-321.
- Pak, M.K. 1961. *Flora of Korean Pteridophyta*. Kyohakdosoo 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.
- 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. and M.C. Teng. 1997. *In vitro* regeneration patterns of *Platyserium bifurcatum* leaf cell suspension culture. *Plant Cell Rep.* 16: 820-824.
- Thakur R.C., Y. Hosoi and K. Ishii. 1998. Rapid *In vitro* propagation of *Matteuccia struthiopteris* (L.) Todaro - An edible fern. *Plant Cell Rep.* 18: 203-208.
- (접수일 2006.1.10 ; 수락일 2006.3.22)