

이온강도에 따른 Agar와 공정육묘용 상토에서 기내배양된 딸기 소식물체의 생육

황승재^{1,2,3} · 정병룡^{1,2,3*}

¹경상대학교 대학원 응용생명과학부, ²경상대학교 농업생명과학연구원, ³경상대학교 생명과학연구원

Growth of Strawberry Plantlets Cultured in Vitro in the Agar or Commercial Plug Medium as Affected by Ionic Strength

Seung Jae Hwang^{1,2,3} and Byoung Ryong Jeong^{1,2,3*}

¹Department of Horticulture, Division of Applied Life Science (BK21 Program),
Graduate School of Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

²Research Institute Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

³Research Institute of Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Abstract. This study was conducted to investigate the effect of supporting material and ionic strength of the MS medium on growth of strawberry plantlets cultured in vitro for the rapid mass production. Explants of *Fragaria ananassa* ‘Houkouwase’ in vitro were planted in the agar or Tosilee (commercial plug medium) medium as the supporting material and supplied with 1/4 MS, 1/2 MS or basal (as the control) MS medium in an autotrophic micropropagation. Plant height and root length were significantly greater when they were cultured in 1/2 MS medium as compared to those grown in the agar medium. Also, shoot fresh and dry weights, and leaf area in the 1/2 MS medium were greater than in 1/4 MS or basal MS medium. When plantlets were cultured in Tosilee medium and fed with the basal MS medium, plant height, root length, shoot fresh and dry weights, root fresh and dry weights, and leaf area were promoted and greater than those in plantlets cultured in the agar medium.

Additional key words: autotrophic, explant, micropropagation, MS medium

서 언

첨단 원예농업(high technology horticulture)으로 발전하기 위한 기초적인 단계로서 미세번식기술은 이미 고도의 연구성과와 지속적인 실험이 이루어져 오고 있으며, 난, 카네이션, 딸기, 감자 등 다수의 화훼류와 채소류에서의 실용화 및 현지농가로의 보급이 진행되고 있다(Desjardins et al., 1998; Kim et al., 1992; Lee et al., 2010). 조직배양기술은 자연환경에 좌우되는 일이 없고, 인공배지를 이용해 모를 대량생산하므로 이 시스템은 하나의 훌륭한 식물공장(plant factory)이라고 할 수 있다. 종래 미세번식법은 소식물체의 생장과 증식을 위해 기본적으로 유기물(당, 비타민, 생장조절 물질 등)을 첨가하여 생장을 유도하는 종속영양(heterotrophic)

및 광혼합영양(photomixotrophic) 배양법이었으나 이 방법은 배지의 생물적 오염발생, 발근 불량, 생장을 저조 및 순화시 유식물체의 고사율 증가 등 조직배양묘의 생산 효율성이 저하되는 문제점을 가지고 있다(Jeong et al., 1996a; Kozai, 1995, 1998; Kozai et al., 1989, 1991).

이를 개선하기 위한 방법으로 배양기 내 광합성 유효광량자속(photosynthetic photon flux density)과 CO₂ 농도를 일정치 이상으로 주입해 내생적으로 광합성이 가능하게 하는 자가영양(autotrophic) 미세번식방법이 보고되었다(Jeong et al., 1996a, 1996b). 자가영양배양법은 배양기 덮개에 미세필터를 부착하여 배양기 내부로 외부의 오염물질이 차단된 공기의 유입을 통해 환기횟수를 높여 주면서 배양기 내의 CO₂ 가스 농도를 높여주어, 탄소원인 당(sucrose)을 인위적으로

*Corresponding author: brjeong@gmail.com

※ Received 2 January 2012; Revised 29 January 2012; Accepted 8 February 2012.

배지 내에 첨가하지 않고 탄수화물을 합성하여 기내 배양식물이 스스로 충분한 광합성을 할 수 있도록 환경을 조성해주는 방법이다. 이러한 배양방법은 당과 호르몬 등의 첨가에 따른 생물적 오염발생 감소, 유전적 변이감소, 기내생장 향상, 기외 순화 및 생존율 증대, 그리고 정식 후 성장 증대 등의 장점이 있는 것으로 보고되었다(Kim and Joeng, 2003).

1962년 Murashige & Skoog(Murashige and Skoog, 1962)에 의한 MS 배지 개발로 인해 많은 식물체들을 대상으로 초보자들도 조직배양을 할 수 있는 여건은 마련되었으나, 작물의 종류, 품종, 생육단계, 지상부와 지하부의 생육조절을 위한 목적에 맞게 수정하여 사용하기 위한 과학적인 연구 데이터가 요구되고 있다. 식물조직배양을 통한 미세증식과정에서 고농도 무기염들이 배지에 함유됨으로써 식물체의 생육저해, 배양기간의 장기화 및 염류 스트레스로 인한 식물체 고사가 빈번하게 일어나고 있다. 또한 배지의 산화와 더불어 2,4-D와 같은 매우 강력한 옥신이 배지에 첨가될 때에는 배지의 변성, 순화시 면역성 감소 및 염류 스트레스로 인한 식물체 고사 등이 초래된다고 보고되었다(Choi and Meyer, 1994; Kozai et al., 1988). 이러한 인공합성물질들이 배양조직에 정상적인 영향을 미치지 않는 경우가 있는데 이런 생육저해 요인들을 정확하게 파악하지 못해서 종종 상업적 배양에 실패한다거나 미세증식실험 결과에 있어 부정확한 해석을 할 때도 있다. Kozai et al.(1989)은 딸기 소식물체의 조직배양 시 배양기 자체에 micro-filter를 부착하여 내부로의 CO₂ 유입촉진을 통한 원활한 광합성 환경조성과 당이 첨가되지 않은 MS 배지를 이용한 자가영양배양 조건하에서 배양 시 생장이 최대에 달한다고 보고하였다.

또한 기내 급속대량 미세증식의 효율성을 높이기 위해 다양한 지지물질 탐색을 위한 연구가 진행되고 있다(Kidmanee et al., 1995a, 1995b; Oh and Chung, 1997; Takazawa and Kozai, 1992). 공기유동이 불량하고 양분흡수가 원활하지 않은 agar보다는 공정육묘용 상토를 기내에 직접 도입함으로써 생물적 오염을 방지함과 동시에 기내외 동시 사용이 가능하므로 기외 이식시 필요했던 노동력과 시간을 절약할 수 있을 것으로 기대되고 있다.

이와 같은 이유로 딸기 미세번식을 위한 MS 배지의 적정 농도를 구명하고, 자가영양배양을 위한 새로운 배지로서 공정육묘용 상토(Tosilee)가 배양 유식물의 생육에 미치는 영향을 조사하기 위하여 연구를 수행하였다.

실험재료

경남 진주시의 플랜토피아 조직배양연구소(주)에서 분양 받은 딸기 조직배양묘를 경상대학교 조직배양실에서 계대 배양하며 증식시킨 무균 건전묘를 선발하여 실험에 사용하였다. 절편체는 70% 에탄올에 1분간 침지한 후 2방울의 'Tween 20'가 함유된 1%의 NaOCl 용액에 20분간 멸균작업을 거쳤다. 이 후에 3차 증류수에 3회 세척한 후 배지에 치상하여 실험재료로 사용하기 위해 대량증식 작업을 수행하였다. 미세증식의 5단계로 Stage 0의 모식물체의 증식 단계, Stage I 절편체 선발 및 배양기내 삽입을 통한 무균배양 단계, Stage II 캘러스(callus) 발달단계, Stage III 기내발근 단계, Stage IV 기외자체발근과 순화과정 중에서 광혼합영양배양법을 통하여 증식한 기내 발근단계인 Stage III의 딸기(*Fragaria* × *ananassa* cv. Houkouwase) 소식물체(plantlets)를 분주하여 뿌리를 제거하고 2-3매의 소엽을 남긴 절편체(explant)를 치상하였다. 절편체당 평균 생체중(절편체 10개를 측정된 평균치)은 28mg이었다. 배양기당 4개씩의 절편체를 치상하였다.

배양기

Polycarbonate 배양용기(GA7 Magenta box, Sigma Chemical Co. Ltd., USA, 공기용적 $3.7 \times 10^4 \cdot \text{m}^3$)의 환기횟수는 시간당 0.1이었고, 2.8로 늘리기 위하여 배양기 뚜껑에 직경 10mm의 구멍을 뚫어 통기성의 Microporous filter(Milliseal, 공경 0.5 μm, 직경 18μm, Millipore Co. Ltd., Tokyo)를 구멍에 1개씩 부착하였다. 환기횟수는 Fujiwara et al.(1987)의 방식에 의해 산출되었다.

배지

배지는 Murashige and Skoog(1962) 기본 배지(당, 비타민, 기타 유기물 무첨가)와 기본 MS 배지 농도의 1/2, 1/4인 배지를 각각 절편체당 10mL씩 분주하였고, 지지물로 agar(Kanto Chemical Co. Inc., Tokyo) 0.08kg·m⁻³, 공정육묘 전용 상토(토실이 상토, ShinanGro Co. Ltd., Korea; 이하 Tosilee) 3.0kg·m⁻³을 이용하였다. Tosilee 상토를 담기 위해 사용된 448공 플러그 트레이의 구당 용적은 $0.2 \times 10^5 \cdot \text{m}^3$ 이었다. 트레이는 7 × 7cm의 크기로 잘라 사용하였다. pH는 고압증기 멸균 전에 5.70으로 조절하였으며, 절편체당 $0.15 \times 10^5 \cdot \text{m}^3$ 씩 배지를 분주하여 121℃, 1.2기압에서 15분간 고압멸균하였다.

배양조건

배양체는 기온 $24 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 70-80%로 유지되는 광독립영양배양실에서 16/8(명기/암기)의 광주기에 명기 동안 $1,000\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 의 농도로 CO_2 가스를 공급해 주었다. 배양실온도 상승을 막기 위해 광원으로는 발열량이 적은 3파장 60W Cool-white 형광램프(Lumilux FL 40EX-W, SeungSan Osram Co. Ltd., Korea)를 이용하였다(Table 2).

실험구

실험구는 광독립영양배양(PPF $70\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, CO_2 농도 $1,000\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$, 시간당 환기횟수 2.8) 조건에서 agar와 Tosilee 지지물에 3수준의 배양액(1/4 MS, 1/2 MS, MS)의 난괴법 6처리 5반복(반복당 4개체)으로 배치하였다(Table 1).

Table 1. Supporting materials and culture solutions used.

Supporting material	Culture solution
Agar	1/4 MS
	1/2 MS
	1/1 MS
Tosilee	1/4 MS
	1/2 MS
	1/1 MS

Table 2. Experimental conditions.

Sucrose ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$)	NAEH ^z	PPFD ^y ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	CO_2 ($\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$)	Temperature ($^\circ\text{C}$)	Relative humidity (%)
0	2.8	70	1,000	24 ± 2	70-80

^zNumber of air exchange per hour.

^yPhotosynthetic photon flux density.

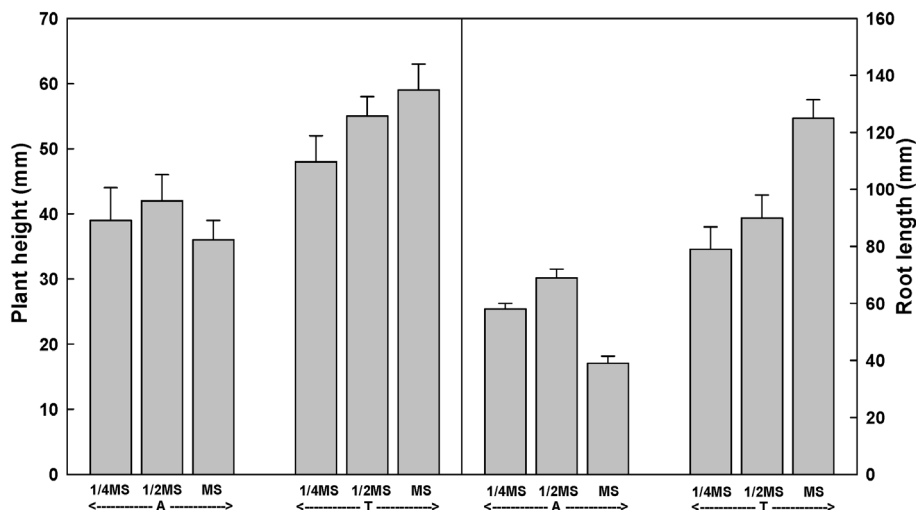


Fig. 1. Plant height and root length of *Fragaria* × *ananassa* 'Houkouwase' plantlets, cultured in vitro for 39 days, as affected by supporting material and ionic strength. A, Agar and T, Tosilee (commercial plug medium). Vertical bars represent standard errors of means (n = 5).

생장량 측정

치상 후 39일째에 각 실험구의 배양기로부터 소식물체를 꺼내 지상부와 지하부의 생체중과 건물중, 초장, 근장, 엽면적 및 엽록소 농도를 측정하였다. 건물중은 생체중을 측정 한 후 60°C 의 항온건조기 내에서 72시간 건조한 직후에 측정하였다. 총엽록소 농도는 각 실험구에서 식물체의 잎을 채취하여 80%(v/v) 아세톤으로 추출하고 분광광도계(Unikon 922, Kotron Instruments, Italy)를 이용하여 645nm와 663nm에서의 흡광도를 측정 한 후 아래의 식을 이용해 산출하였다 (Arnon, 1949).

$$\text{엽록소 농도}(\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ fw}) = [(20.29 \times A_{645}) + (8.02 \times A_{663})] \times [\text{아세톤량}(\text{mL})/\text{생체중}(\text{mg})]$$

측정된 결과는 SAS(Statistical Analysis System, V. 6.01, Cary, NC, USA) 프로그램을 이용해 standard errors 값을 구했으며, 그래프는 Sigma Plot(10.0, Systat Software, Inc., Chicago, IL, USA) 프로그램을 사용하여 작성하였다.

결과 및 고찰

자가영양배양 조건에서 지지물(agar와 Tosilee 배지)과 엽

농도(기본 MS, 1/2 MS, 1/4 MS) 처리에서 39일간 배양된 딸기 소식물체의 초장과 근장을 Fig. 1에 나타내었다. 초장은 지지물로 agar를 이용한 처리에서는 기본 MS 처리와 비교하여 1/2 MS와 1/4 MS 처리구에서 유의성 있게 길었으며, 1/2 MS와 1/4 MS 배지간의 유의성은 인정되지 않았지만, 1/2 MS 배지에서 초장이 가장 양호한 경향을 보였다. 이는 Jeong et al.(1999)이 딸기 조직배양 소식물체의 공정육묘 트레이를 이용한 미세번식 연구에서 기본 MS 배지에서보다는 염의 농도를 1/2로 줄여 더 우수한 효과를 보았다는 결과와 일치한다. Tosilee를 이용한 처리에서의 초장은 기본 MS에서 59mm로 가장 길었으며, 1/2 MS에서 55mm, 1/4 MS에서 48mm로 염 농도가 낮아질수록 초장도 상대적으로 짧아지는 결과를 나타냈다. 근장은 agar를 사용한 1/2 MS에서 69mm로 가장 길었으며, 기본 MS에서 39mm로 가장 짧았다. Tosilee 처리구에서는 기본 MS 배지에서 125mm로 1/2 MS와 1/4 MS와 비교하여 가장 유의성 있게 길었으며 MS 배지의 이온강도가 낮아질수록 근장도 짧아지는 정의 상관관계를 나타냈다. 초장과 근장의 생육 결과에서 agar 배지에서는 1/2 MS 배지가 가장 양호한 생육을 보였지만, 온실용 배지인 Tosilee에서는 자체가 일정양분을 흡수한 후 서서히 근권에 양분을 제공함으로써 기본 MS 배지의 강도에서 가장 우수한 생육을 나타낸 것으로 판단된다. 또한 agar를 사용한 순수 고체배지보다는 유기물이 함유된 Tosilee와 같은 상토를 조직배양용 배지로 함께 사용함으로써 근권부의 급격한 pH와 EC의 변화에도 어느 정도 완충작용을 하여 근권부의 스트레스를 줄이고 발근에 양호한 조건을 만들어 준 것으로 판단된다. 이러한 결과는 Jeong et al.(1999)이 광독립영양배양하에서 딸기 미세번식을 위해 MS 배지에

공정육묘용 상토를 지지물로 이용할 경우 agar를 사용하는 것보다 초장과 근장에서 훨씬 우수한 결과를 얻었다는 보고와 일치하며 향후 기외 순환시 agar를 제거하는 노동력과 인건비를 절감할 수 있고 대형 배양용기를 이용할 경우 기계화와 자동화가 가능하여 미세번식의 생력화를 기대할 수 있을 것으로 기대된다.

Fig. 2는 딸기 소식물체의 발근 단계 이후에서부터 39일 동안 자가영양배양조건으로 지지물과 이온강도 처리에 따른 지상부 생체중과 지상부 건물중을 나타낸 결과이다. 염 스트레스에 약한 콩(*Glycine max* Merr.) 소식물체의 생육을 위해 염 농도를 일정수준 이하로 낮추어 재배하여 생장율을 급격하게 향상시켰다는 Nonami et al.(1995)의 보고에서와 유사하게 본 실험에서도 지상부 생체중이 기본 MS 배지의 염 농도를 1/2로 줄인 agar를 이용한 1/2 MS 배지에서의 생육이 245mg으로 가장 유의성 있게 무거웠으며, 다음으로 기본 MS 처리구와 1/4 MS에서는 유의적인 차이가 없었다. 또한 Lee and Jeong(1999)이 보고한 스타티스(*Limonium 'Misty Blue'*)를 이용한 조직 배양시 기내 배양을 위해 기본 MS 배지보다는 1/2 MS로 염의 농도를 절반으로 낮추었을 때 지상부의 생육과 T/R율이 유의적으로 향상되었다는 보고와 일치한다. 이는 기본 MS 배지에서의 생육이 불량한 이유는 딸기 소식물체가 염에 대한 저항성이 약한 식물이어서 염류 과다에 따른 생육장애인 것으로 생각되며, 가장 농도가 낮게 처리된 1/4 MS 배지에서는 생육에 필요한 양분이 부족하였던 것으로 생각된다. 이와 유사한 결과는 딸기 (Kozai, 1991, 1998; Lee et al., 2010), 카네이션(Jeong et al., 1996a), 콩(Nonami et al., 1995) 등에서 보고된 바 있다. Tosilee에서는 기본 MS 배지에서 지상부 생체중이 1/2 MS

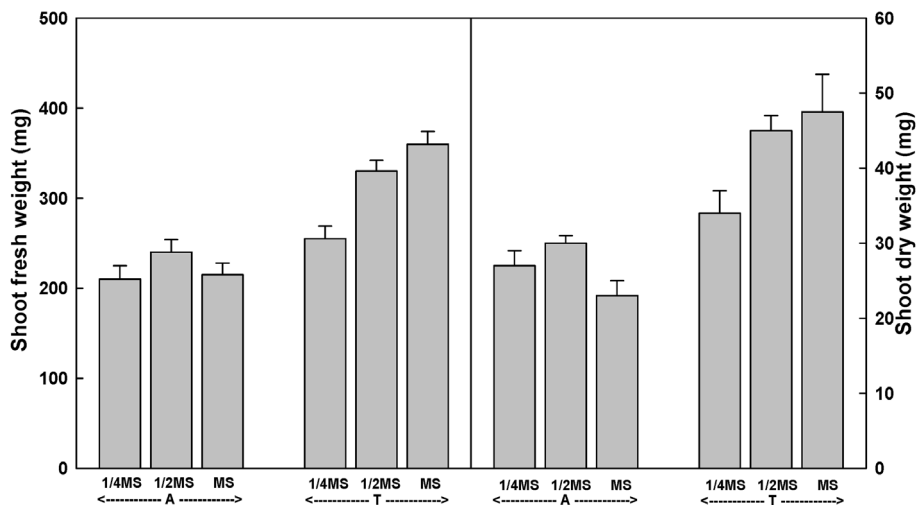


Fig. 2. Shoot fresh and dry weights of *Fragaria x ananassa* 'Houkouwase' plantlets, cultured in vitro for 39 days, as affected by supporting material and ionic strength. A, Agar and T, Tosilee (commercial plug medium). Vertical bars represent standard errors of means(n = 5).

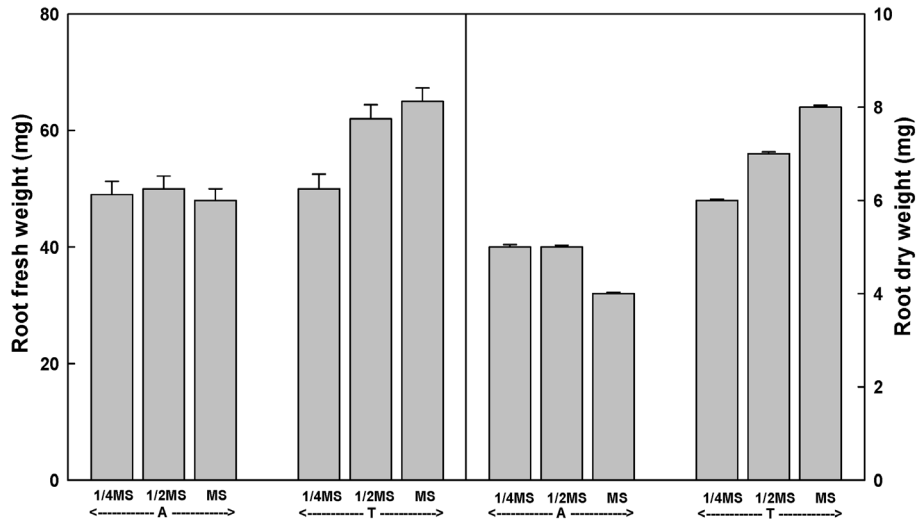


Fig. 3. Root fresh and dry weights of *Fragaria × ananassa* 'Houkouwase' plantlets, cultured in vitro for 39 days, as affected by supporting material and ionic strength. A, Agar and T, Tosilee (commercial plug medium). Vertical bars represent standard errors of means (n = 5).

와 1/4 MS 배지에 비해 월등히 컸다. 이는 Tosilee 상토에서 염의 흡수로 그 밖의 필수영양원으로 공급되는 무기이온들의 식물체내의 영양이동과 대사활동을 상호적으로 보완해 준 것에 기인한 것으로 생각되며 농도가 낮아질수록 생체중의 수치가 낮아지는 정의 상관관을 나타냈다. 지상부 건물중은 지상부 생체중과 유사한 결과를 보였는데, 지상부 건물중은 agar 배지를 사용한 1/2 MS 처리구에서 30mg으로 가장 무거웠으며, 기본 MS 배지에서 유의적으로 저조하였다. 이와 같은 결과는 완충능이 약한 agar 고형 배지에서 고농도의 염에 의한 양분흡수 저하에 따른 지상부 생육저조에 의해 건물중 또한 낮은 무게로 측정된 결과로 판단된다. Tosilee에서의 지상부 건물중은 기본 MS 배지에서 가장 높았으며 1/2 MS와 1/4 MS 배지와 비교하여 유의적인 차이를 보여 agar 배지에 비해 유기질 상토인 Tosilee 배지가 뿌리의 완충능을 증가시켜줄과 동시에 근권의 가스교환 기능을 부여해 준 것으로 판단된다.

Fig. 3은 39일간 배양된 딸기 소식물체의 지하부 생체중과 지하부 건물중을 나타내고 있다. 지하부 생체중은 agar 배지를 사용한 처리구에서 1/2 MS 배지에서 처리가 50mg으로 가장 무거웠으나, 1/4 MS 배지와 비교했을 때 통계적인 유의성은 인정되지 않았다. 본 결과는 딸기 '설향' 품종을 이용한 연구에서 배양액의 농도가 뿌리의 활성에 미치는 영향에 관한 Jun et al.(2011)의 보고에서도 공급되는 염농도를 절반수준으로 낮추었을 때 지하부 건물중이 유의적으로 무거웠다는 것과 일치한다. Tosilee 배지를 사용한 처리구에서는 기본 MS 배지에서 1/2 MS와 1/4 MS 배지와 비교하여 더 우수한 결과를 나타냈다. 지하부 건물중도 지하부 생체

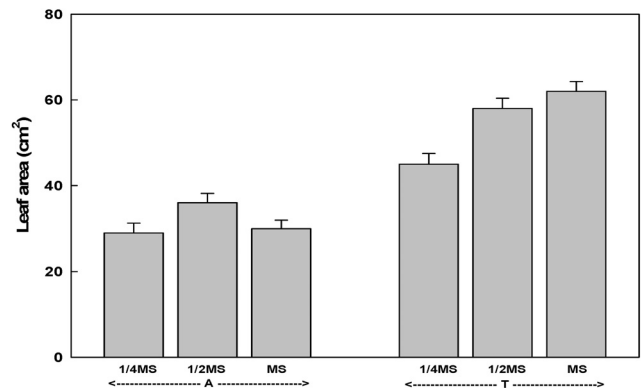


Fig. 4. Leaf area of *Fragaria × ananassa* 'Houkouwase' plantlets, cultured in vitro for 39 days, as affected by supporting material and ionic strength. A, Agar and T, Tosilee (commercial plug medium). Vertical bars represent standard errors of means (n = 5).

중과 유사한 경향을 보였는데 agar 배지의 1/2 MS와 1/4 MS 배지에서 약 5mg 정도로 기본 MS에서 보다 유의성 있게 무거웠다. 지하부 건물중에서 Tosilee 배지를 이용한 기본 MS에서 8mg으로 1/4 MS와 1/2 MS 배지에서 보다 유의적으로 더 무거웠다.

Fig. 4는 39일간 배양된 딸기 소식물체의 엽면적을 나타내고 있다. 지지물로 agar 배지를 사용한 1/2 MS 배지에서 1/4 MS와 기본 MS 배지에 비해 엽면적이 유의성 있게 넓었고, Tosilee 배지에서는 1/2 MS 배지에서보다 오히려 염의 농도가 높은 기본 MS 배지에서 62cm²로 가장 넓은 경향을 나타내었다. 이는 기내 생육시 Tosilee 상토의 완충작용으로 다량의 염류를 상토 자체가 흡수하고 적절한 농도의 무기이온들을 선택적으로 소식물체가 원활히 공급받을 수 있는 배

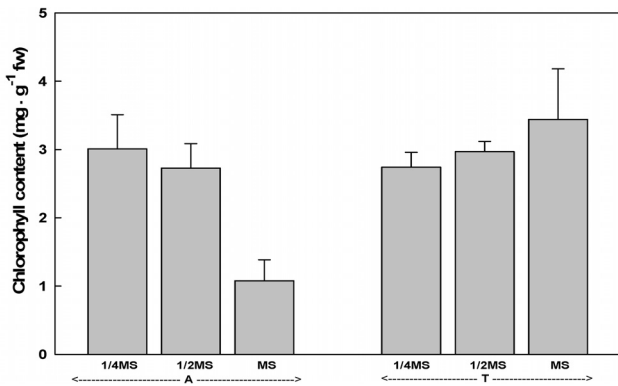


Fig. 5. Chlorophyll content of area of *Fragaria × ananassa* 'Houkouwase' plantlets, cultured in vitro for 39 days, as affected by supporting material and ionic strength. A, Agar and T, Tosilee (commercial plug medium). Vertical bars represent standard errors of means (n = 5).

지 조성 때문인 것으로 판단된다.

엽록소 농도는 agar 배지의 1/4 MS와 1/2 MS 배지에서 유의적으로 높은 농도를 나타냈다. Lee and Jeong(1999)의 보고에서도 1/2 MS 배지에 인산을 첨가한 처리구가 기본 MS 배지에 인산을 추가한 처리구보다 엽록소 함량이 더 높았다는 보고와 유사한 결과를 나타내었다. 본 연구에서는 MS 배지에 인산을 첨가하지 않았지만 agar 배지에서 기본 MS 배지에서보다는 엽 농도를 절반 혹은 1/4로 줄인 처리구에서 엽록소 농도가 높게 나타나는 결과를 보였다. Tosilee 배지에서는 기본 MS 배지에서 가장 높게 나타났으며 1/2 MS와 1/4 MS 배지 순서로 처리간 차이를 나타냈다.

발근 단계(Stage III)에서의 딸기 미세번식을 위한 MS 배지의 적정강도를 규명하고, 자가영양배양을 위한 새로운 배지를 탐색하기 위해 agar와 Tosilee(공정육묘용 상토) 배지에서 딸기 소식물체의 생장을 비교 실험한 결과 식물조직 배양시 딸기 소식물체는 지지물로 agar를 사용할 경우 1/2 MS 배지에서 배양한 것이 1/4 MS 배지나 기본 MS 배지보다 초장과 근장 등이 유의성 있게 컸다. 이로써 딸기 소식물체는 엽에 약한 작물이며, 딸기 조직배양시 agar 배지만을 사용할 경우 1/2 MS 배지를 사용하여 염류 농도를 1/2로 줄여줌으로써 그 밖의 이온의 흡수를 돕고 생육의 극대화 및 배양기간을 단축할 수 있으며 또한 불필요한 물질의 낭비를 줄일 수 있을 것이다. 이는 Kozai et al.(1991)가 보고한 광독립영양배양 하에서 딸기 소식물체의 급속대량 증식을 위해 배지의 양액농도를 낮춰줌으로써 긍정적인 효과를 보았다는 결과와 일치한다. 기내 조직 배양시 배지의 이용가능성에 대한 물질로서 본 실험에 도입한 유기질 배지인 Tosilee 상토에서는 agar 배지의 1/2 MS 강도에서 생육할 때보다 Tosilee 배지에서 기본 MS 배지의 조건에서 초장, 근장, 생

체중 및 건물중, 엽면적 등에서 월등한 생육상태를 보였다. 이러한 결과로서 공기유통이 불량하고 양분흡수가 원활하지 않은 agar보다는 공정육묘용 상토를 기내에 직접 도입함으로써 기내 사용은 물론 기외 이식시의 미생물 오염과 병해충의 감염을 회피하기 위한 agar의 제거에 노력과 시간을 절약할 수 있을 것이다. 또한 딸기조직배양에 있어 급속대량증식과 기계화, 자동화를 통한 생력화를 기대할 수 있을 뿐만 아니라 미세번식에서 공정육묘로 바로 연결할 수 있는 시스템을 구축할 수 있을 것으로 기대된다.

초 록

본 연구는 딸기 소식물체의 급속대량 증식을 위한 기내배양에서 적절한 지지물과 최적의 MS 배지 이온강도를 구명하기 위해 수행되었다. 딸기(*Fragaria ananassa* 'Houkouwase') 절편체는 지지물로 agar와 Tosilee(상업적 플러그 육묘용 배지) 배지를 사용하고, 공급된 MS 배지는 기본 MS(대조구), 1/2 MS, 1/4 MS의 강도로 공급하여 자가영양배양 하에서 미세증식하였다. Agar 배지에서 생육을 비교했을 때 1/2 MS 강도에서 초장과 근장이 가장 길었다. 또한 1/2 MS 강도에서 지상부 생체중과 건물중, 그리고 엽면적이 1/4 MS와 기본 MS 강도에서보다 우수했다. 기본 MS의 Tosilee 배지에서 딸기 소식물체를 배양했을 때 초장, 근장, 지상부와 지하부의 생체중과건물중이 agar 배지에서 배양했을 때보다 더 양호했다. 자가영양배양을 통한 기내미세번식 딸기 소식물체는 1/2 MS 강도의 agar 배지에서 배양하기보다는 기본 MS 강도의 토실이배지에서 가장 우수한 생육을 나타냈다.

추가 주요어 : 자가영양배양, 절편체, 미세증식, MS 배지

인용문헌

- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24:1-15.
- Choi, S.J. and J. Meyer. 1994. Effects of medium components on discoloration and necrosis of cultures in peony (*Paeonia lactiflora* pall.) micropropagation. Kor. J. Plant Tissue Culture 21:173-176.
- Desjardins Y., F. Laforge, C. Lussier, and A. Gosselin. 1998. Effect of CO₂ enrichment and high photosynthetic photon flux on the development of autotrophy and growth of tissue culture strawberry, raspberry and asparagus plants. Acta Hort. 230:45-53.
- Fujiwara, K., T. Kozai, and I. Watanabe. 1987. Fundamental studies on environment in plant tissue culture vessels. J. Agric. Meteorol. 43:32-30.
- Jeong, B.R., C.S. Yang, and E.J. Lee. 1996a. Photoautotrophic growth of *Dianthus caryophyllus* in vitro as affected by

- photosynthetic photon flux and CO₂ concentration. *Acta Hort.* 440:611-615.
- Jeong, B.R., C.S. Yang, and J.C. Park. 1996b. Growth of *Geberahybrida* in vitro as affected by CO₂ concentration and air exchange rate of the vessel. *Acta Hort.* 440:510-514.
- Jeong, B.R., M.Y. Lim, and S.J. Hwang. 1999. Development of a mechanizable micropropagation method for strawberry plants. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 40:297-302.
- Jun, H.J., M.S. Byun, S.S. Liu, and M.S. Jang. 2011. Effect of nutrient solution strength on pH of drainage solution and root activity of strawberry 'Sulhyang' in hydroponics. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 29:23-28.
- Kidmanee, C., Y. Kitaya, and T. Kozai. 1995a. Effects of CO₂ enrichment and supporting material in vitro on photoautotrophic growth *Eucalyptus* plantlets in vitro and ex vitro: Anatomical comparisons. *Acta Hort.* 393:111-118.
- Kidmanee, C., Y. Kitaya, and T. Kozai. 1995b. Effects of CO₂ enrichment and supporting material on growth, photosynthesis and water potential of *Eucalyptus* shoot/plantlets cultured photoautotrophically in vitro. *Environ. Control Biol.* 33:133-141.
- Kim, H.S., J.H. Jeon, S.W. Park, H. Joung. 1992. Effects of salt strength and sucrose concentration in the medium on in vitro tuberization of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Kor. Soc. Plant Tissue Culture* 19:343-349.
- Kim, J.S. and B.R. Jeong. 2003. Growth of hosta and syngonium in vitro as affected by photosynthetic photon flux and the number of air exchanges per hour of the culture vessel. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 44:13-16.
- Kozai, T. 1991. Micropropagation under photoautotrophic conditions, p. 447-469. In: P.C. Debergh and R.H. Zimmerman (eds.). *Micropropagation*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Kozai, T. 1995. Ionic composition and strength of culture medium affect photoautotrophic growth, transpiration and net photosynthetic rates of strawberry plantlets in vitro. *Acta Hort.* 320:727-734.
- Kozai, T. 1998. Autotrophic (sugar-free) tissue culture for promoting the growth of plantlets in vitro and for reducing biological contamination. *Intl. Symp. Application of Biotechnology for Small Industries* (p. 1-21), Bangkok, Thailand.
- Kozai, T., C. Kubota, and I. Watanabe. 1988. Effect of basal medium composition on the growth of carnation plantlets in auto- and mixotrophic tissue cultur. *Acta Hort.* 230:159-166.
- Kozai, T., K. Iwabuchi, K. Watanabe, and I. Watanabe. 1989. Effect of CO₂ enrichment and sugar-free medium on the growth and nutrient uptake of strawberry plantlets in vitro. *J. Japan. Soc. Hort. Sci. Hort. Sci.* 58:254-255.
- Kozai, T., K. Watanabe, and I. Watanabe. 1991. Photoautotrophic and photomixotrophic growth of strawberry plantlets in vitro and changes in nutrient composition of the medium. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 25:107-115.
- Lee, E.J. and B.R. Jeong. 1999. Growth of *Limonium* 'Misty Blue' as affected by culture environment in vitro and level of shading during ex vitro acclimatization. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 40: 623-626.
- Lee, J.N., H.J. Kim, K.D. Kim, Y.S. Kwon, J.S. Im, Y.R. Yeoung, and H.T. Lim. 2010. Appropriate in vitro culture conditions of growing medium for new ever-bearing strawberry 'Goha'. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 28:1051-1056.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Nonami, H., K. Tanimoto, and A. Tabuchi. 1995. Salt stress under hydroponic conditions causes change in cell wall extension during growth. *Acta Hort.* 396:91-98.
- Oh, Y.S. and S.J. Chung. 1997. Effect of temperature, PPFD and supporting material on the growth of sweetpotato plantlet in vitro. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 15(Suppl.):567-568. (Abstr.)
- Takazawa, A. and T. Kozai. 1992. Effect of types of culture vessels with supporting material on the growth of carnation plantlets in vitro. *Environ. Control Biol.* 30:65-70.