

고사리(*Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*)의 전엽체 기내 대량증식 및 포자체 형성에 영향을 미치는 몇 가지 요인

이철희

충북대학교 원예과학과

Several Factors Affecting In Vitro Prothallus Multiplication and Sporophyte Formation in *Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*

Cheol Hee Lee *

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

실험 목적

본 연구는 식용 양치식물인 자생 고사리의 전엽체를 실험재료로 하여 전엽체 증식과 포자체 형성에 미치는 요인을 구명함으로써 고사리의 대량번식체계를 확립하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

우리 나라에 자생하는 고사리(*Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*)의 포자를 기내 파종하여 증식된 전엽체를 시험재료로 사용하였다. 앞 뒷면에 붙어 있는 완숙 포자를 채취한 후 증류수를 첨가하여 회전식 진탕 배양기(100rpm)에서 24시간 진탕하였다. 충분히 흡수된 포자를 파스트류 피펫을 이용하여 원심분리용 튜브에 넣어 1% sodium hypochlorite 용액으로 12분간 살균한 후 2,000rpm으로 3분간 원심분리하여 상등액인 sodium hypochlorite를 제거하였다. 세척은 살균한 포자가 들어있는 원심분리 튜브에 살균수 20ml를 넣어 골고루 흔들어서 다음 2,000rpm으로 3분간 원심분리하여 살균수를 제거하는 방법으로 5회 실시하였다. 살균한 포자는 MS 고체배지에 고르게 접종하였다.

배지의 종류별 실험을 제외한 모든 실험의 기본배지로는 sucrose 3%, agar 0.8%를 첨가한 MS배지를 이용하였으며, pH 5.8로 조절하여 사용하였다. 배양조건은 25±1℃로 조절한 배양실에서 형광등(3,000lux)으로 16시간 조명하였다. 형성된 전엽체는 1개월에 1회씩 MS 기본배지에 계대배양하며 전엽체 증식 및 포자체 유도를 위한 배양재료로 사용하였다. 기내의 모든 실험은 전엽체 250mg을 다져서 30ml의 고체배지를 첨가한 200ml 마요네즈병에 5반복으로 접종하였으며, 배양 8주 후 생육상태를 조사하였다.

고사리 전엽체의 증식에 적합한 배지구성물질의 농도를 구명하기 위하여 MS배지를 기본으로 하여 각각 1/4, 1/2, 1, 2배의 구성물질을 첨가한 배지에 전엽체를 배양하였다. 탄소원으로 이용되는 당 종류 및 농도가 전엽체 증식에 미치는 영향을 구명하기 위하여 조직배양

시 주로 이용되는 sucrose와 glucose를 각각 0, 1, 2, 3, 4% 첨가한 MS배지에 전엽체를 배양하였다. 또한 전엽체의 증식에 미치는 배지 물리성의 영향을 알아보기 위하여 MS 기본배지에 agar를 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.2% 첨가하여 배양하였다. 배양병에 첨가한 배지의 양에 적합한 전엽체의 접종량을 알아보기 위하여 30ml의 MS 기본배지를 첨가한 200ml 마요네즈병에 50, 100, 200, 300, 400mg의 전엽체를 접종하여 배양하였다. 배양기간별 전엽체의 성장정도를 알아보기 위하여 배지에 접종한 10, 20, 30, 40, 50, 60일 후 전엽체의 성장정도를 비교 분석하였다.

전엽체에서 포자체로의 전환을 촉진하며, 포자체를 얻기 위한 경제적인 방법을 개발하기 위하여 전엽체를 기외로 직접 이식하여 포자체의 유도를 시도하였다. 기외에서 포자체 형성을 위한 실험재료로는 기내에서 형성된 전엽체를 사용하였으며, 전엽체의 덩어리에 묻어 있는 한천을 물로 잘 씻은 후 다짜가렌 1,000배액에 1시간 침지하여 표면살균하였다. 표면살균 후 수돗물로 5~6회 수세하여 실험에 사용하였다.

전엽체의 각 요인별 특성실험을 제외한 모든 실험은 전엽체 1g당 12ml의 증류수를 넣어 전기믹서(M-1211, 성원, 한국)로 10초 동안 분쇄한 후 2g을 직경 9×14cm의 사각분에 각각 이식하여 성장상(HB-301LP, 한백, 한국)에서 5반복씩 재배하였다. 재배는 온도 25±1°C, 습도 70%, 광도 3,000lux(16시간)의 조건에서 하였으며, 저면관수를 실시하였다. 전엽체 이식 후 12주간 재배한 다음 형성된 포자체수, 포자체의 엽수 및 초장 등을 조사하였다.

포자체의 형성에 적합한 배양토를 개발하기 위하여 원예용 상토(농원상토, 농원산업, 한국)와 피트모스(SunShine, Canada)를 단용하거나 혹은 질석(그린소일, 신성자원, 한국) 및 펄라이트(뉴그린, 성현, 한국)와 혼용한 8종류의 배양토에 전엽체를 배양하였다(Table 1). 전엽체의 분쇄시간이 포자체 형성에 미치는 영향을 구명하기 위하여 전엽체를 각각 5, 10, 20, 30초간 분쇄한 후 원예용 상토에 분주하여 배양하였다. 정해진 양의 배양토에 재배하는 적정 전엽체의 양을 알아보기 위하여 원예용 상토를 담은 직경 9×14cm의 사각분에 전엽체를 각각 0.5, 1, 2, 3, 4g씩 분주하여 재배하였다. 포자체 형성에 미치는 성장조절제의 영향을 구명하기 위하여 기내에서 증식된 전엽체를 GA₃, IAA, NAA, BA 및 kinetin을 0, 20, 50, 100mg·L⁻¹의 농도로 희석한 용액에 0, 1, 3, 6시간 침적한 후 증류수로 3~4회 수세하여 전기믹서로 20초간 분쇄한 후 원예용 상토에 분주하여 재배하였다.

Table 1. Media compositions used in this study.

Treatment	Media composition(v/v)
S	Compost only
SV	Compost : Vermiculite = 2 : 1
SP	Compost : Perlite = 2 : 1
SVP	Compost : Vermiculite : Perlite = 2 : 1 : 1
Pm	Peatmoss only
PmV	Peatmoss : Vermiculite = 2 : 1
PmP	Peatmoss : Perlite = 2 : 1
PmVP	Peatmoss : Vermiculite : Perlite = 2 : 1 : 1

결과 및 고찰

MS배지를 기본으로 하여 배지구성물질을 1/4~2배 첨가한 배지에 전엽체를 배양한 결과 2MS배지에서 전엽체의 생육이 가장 왕성하였다. 당의 종류 및 농도별로는 탄소원인 sucrose와 glucose를 1% 이상 첨가한 모든 처리구에서 전엽체의 증식이 활발하였다. Agar 농도별로는 0.6%를 첨가한 처리구에서 전엽체의 증식이 가장 왕성하였다. 배지 30ml을 분주한 배양병에 100~400mg의 전엽체를 접종하여 배양해 본 결과 200mg 이상의 접종구에서 전엽체의 증식이 왕성하였으나, 접종량이 증가됨에 따라 전엽체의 노화현상이 나타나서 200mg을 접종하는 것이 적당한 것으로 생각되었다. 배양기간별로는 배양 50일까지는 전엽체의 증식이 활발히 일어났으나 그 이후에는 전엽체의 노화현상이 일어났다.

전엽체를 믹서로 갈아 원예상토, 피트모스 단용 및 이들을 질석, 펄라이트와 혼용한 8종류의 배양토에 재배한 결과 상토 단용구에서 포자체의 형성 및 생육이 가장 우수하였다. 전엽체를 5~30초간 믹서로 갈아서 원예용 상토에 이식하여 재배한 결과 10초 처리구에서 포자체 형성 및 생육이 가장 양호하였다. 원예상토를 담은 사각분(9×14cm)에 0.5~4g의 믹서로 갈은 전엽체를 재배한 결과 2g을 이식한 처리구에서 가장 많은 포자체가 형성되었다. 다섯 종류의 성장조절제 20, 50, 100mg · L⁻¹ 용액에 전엽체를 1, 3, 6시간 침지처리하여 원예상토에서 재배한 결과 NAA를 침지처리하는 경우 포자체의 형성 및 생육이 가장 양호하였다. 특히 NAA 20~50mg · L⁻¹ 용액에 1시간 침지처리구에서 포자체의 형성 및 생육이 가장 왕성하였다. GA₃와 kinetin 처리구에서도 처리농도 및 시간에 관계없이 전반적으로 대조구에 비해 포자체의 형성이 촉진되는 경향을 보였다. 그러나 BA 50mg · L⁻¹의 용액에 1, 3시간 처리구를 제외한 BA와 IAA 처리구에서는 포자체 형성이 억제되었다.