

## 고추냉이(*Wasabia japonica* (Miq.) Matsum.)의 정단분열조직유래 기내묘의 순화

殷鍾旋  
全北大學校 園藝學科

### Acclimatization of in vitro Plantlets of *Wasabia japonica* (Miq.) Matsum. Derived from the Apical Meristem Culture

EUN, Jong-Seon

Department of Horticulture, Chonbuk National University, Chonju, 561-756, Korea

The repeated subcultures of in vitro plant materials in wasabi became highly vitrified and the capacity for multiple shoot formation from the vitrified plant materials was very low. In order to improve the quality of in vitro propagated planting materials, the experiments were carried out using culture vessels capped with membrane filter(MF). When vitrified shoots were cultured on MS medium with 0.2 mg/L BA in the vessels with MF or without MF for 60 days, the shoots in the vessels with MF did not vitrified. In contrast, the shoots grown in the vessels without MF vitrified at 65%. The stomates of vitrified leaves were circular and inflated, whereas those of normal leaves acclimatized in the vessels with MF were ovate in shape. The hardened shoots were also cultured on MS media without sucrose containing 0.01 mg/L IBA in vessels with(photoautotrophic culture) or without(control) MF. Sucrose was necessary for survival of the in vitro plantlets in the vessels without MF. After 20 days of culture, the shoots in the vessels without MF on the sucrose-free media turned yellow and died. But the shoots in the vessels with MF in the sucrose-free media produced a lot of roots. When shoots were cultured on MS medium with 2% sucrose containing 0.01mg/L IBA in the vessels with(photomixotrophic culture) or without(heterotrophic culture) MF, best growth occurred in photomixotrophic culture.

**Key words:** membrane filter, multiple shoot, photoautotrophic culture, vitrification, wasabi

조직배양에 의한 種苗의 대량생산체계에 있어서 소요되는 비용도 고려해야 할 문제중의 하나인데 일반적으로 소 식물체를 배양묘까지 성장시키려면 많은 기간이 필요하고 배양기간 중에는 미생물오염에 의한 손실도 크다. 또한 培養묘를 순화하는데도 많은 시간이 요구되고, 순화기간중 고사하는 경우가 많다. 배양묘는 일반적으로 환경스트레스에 약하기 때문에 증식, 생장, 순화단계에 이르는 기간을 단축하기 위해서는 배양기간중에 健全묘를 육성하여 순화단계에서의 고사율을 저하시킬 필요가 있다.

기존의 조직배양은 밀폐된 용기라는 제한된 배양환경으로 인하여 弱光, 高濕度, 명암조건에 따른 CO<sub>2</sub>농도의 변화, 배양기간에 따라 축적되는 C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, 배지내 높은 양의 유기물과 당함량, 성장조절제의 첨가 등 여러 요인이 외부환경과는 크게 차이가 있다. 따라서 조직배양묘를 포장에서 순화할 경우 급격한 환경변화로 심한 스트레스를 받을 뿐만 아니라 대기중의 CO<sub>2</sub>를 이용하는 자가영양체계로 전환하는

과정에서 심한 생리장해를 입는 등 기내 순화과정에서 많은 문제점이 발생되고 있다. 배양묘의 순화과정에서 생존율을 높이려면 순화기간에 생장이 촉진되도록 증식배양단계에서 환경스트레스에 강하고 광합성 능력이 높은 식물체로 馴化하는 것이 중요하다(Kozai, 1992).

배양기내의 소식물체는 주로 배지에 첨가된 sucrose를 흡수, 이용하며 光상태의 배양조건에서는 광합성이 이루어져 성장하게 되는데 밀폐된 배양기내의 CO<sub>2</sub>농도가 낮기 때문에 식물체의 순광합성속도가 낮아지는 바, 배양실내에서 CO<sub>2</sub>를 시용하거나 明期에 배양기내의 CO<sub>2</sub>농도를 높이면 배양식물의 光合成 및 생장이 촉진되어 독립영양생장이 가능하다는 보고가 있다(Kozai et al., 1987; 1990b).

고추냉이의 기내묘를 실제 농가에 보급하기 위해서는 기내에서 우량종묘 생산이 필수적인데 정단분열조직을 배양하여 얻어진 多芽體에서 분할묘로 3차 증식하는 과정에서 다수의 투명화된 식물체가 발생되었다. 장기간 기내에서 계

대배양을 통하여 種苗을 유지 增殖해야 할 경우 종묘의 생산비 절감과 다량증식하는데 큰 문제점이 아닐 수 없다. 투명화현상은 처음 explant에서 shoot로 증식되는 기간과 1차 계대배양기간에는 거의 발생되지 않았지만 2차, 3차 계대배양 횟수가 증가되면서 투명화묘의 출현이 많아졌는데 일단 투명화된 묘는 더 이상 증식되지 않고 종묘로서의 가치가 없었다.

본 연구는 기내에서 건전한 묘를 육성할 수 있도록 배양기내의 환경을 조절하는 방법으로 membrane filter를 부착하여 기내 묘의 발근 및 외부 환경적응력을 증진시켜 고추냉이 배양묘의 순화체계를 확립하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 투명화 묘 방지에 미치는 membrane filter(MF)의 효과

고추냉이의 정단분열조직 유래의 多芽體 증식과정에서 발생된 투명화 묘중 엽병길이 약 2cm, 본엽 3~4매의 소식물체를 선별하여 MS(Murashige와 Skoog, 1962) 기본배지에 0.2 mg/L BA를 첨가하고 배양기의 마개에 MF를 부착 또는 未附着하여 배양한 후 透明化 여부 및 다아체수를 조사하였다.

### 기공 및 공변세포의 관찰

MF부착 또는 미부착 배양기에서 생육한 잎을 투명화한 것과 정상인 것으로 구분하여 채취한 후 1cm<sup>2</sup>로 절단하여 2% glutaraldehyde가 포함된 0.1M cacodylate buffer(pH 7.2)에 前固定하고 완충액으로 3회이상 수세한 다음 2% osmium tetroxide액에 後固定하고 완충액으로 다시 수세하였다. 이를 연속 농도의 EtOH로 탈수한 후 isoamyl acetate액으로 치환하여 critical point drying방식으로 건조하였다. 건조한 표본을 금으로 sputter coating하여 SEM(Model: JSM-5410LV)으로 관찰하였다.

### Photosynthetic photon flux density(PPFD)처리별 MF의 효과

PPFD를 25, 50, 75 $\mu$ mol  $\cdot$  m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> 등으로 구분한 배양상에서 0.2% phytigel, 2% sucrose, 0.01 mg/L IBA가 첨가된 MS기본배지에 본엽수 6~7매의 식물체를 배양한 후 MF부착여부에 따른 식물체의 생장을 조사하였다.

### Sucrose濃도와 MF의 효과

MS 기본배지에 0.01 mg/L IBA를 첨가한 후, 2% sucrose

배지에 MF를 부착(混合營養培養)하거나 미부착(從屬營養培養)하고, 0% sucrose배지에 MF를 부착(獨立營養培養)하거나 未附着(대조구)하여 PPFD 75 $\mu$ mol  $\cdot$  m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> 에서 본엽 6~7매의 식물체를 배양한 후 生長을 조사하였다.

## 결과 및 고찰

### 투명화 묘 방지에 미치는 MF의 효과

MF부착(MF+)과 미부착(MF-)한 배양기내에서 60일간 배양한 결과(Table 1) 다아체수는 MF+의 경우 3.6개였으며, MF-의 경우 2.4개로 MF+처리구가 多芽體數가 많았다. 또한 투명화율은 MF-구에서 65.0%로 나타났는데 이것은 투명화현상을 보인 기내묘만을 選別하여 배양한 결과 MF를 부착하지 않은 배양기내에서도 계대배양한 후 새로 증식된 shoot의 약 35%정도는 투명화되지 않았다고 볼 수 있다. 그러나 일단 투명화된 묘를 MF 부착된 培養器內에서 배양할 경우 투명화는 전혀 발생되지 않았고 실제 다아체수도 투명화되지 않은 건전묘를 분할·증식할 때와 같은 약 3.6개를 증식시킬 수 있었다. 또한 MF 부착으로 투명화묘의 회복이 가능하여 장기간 배양기내에서 보존할 경우에도 배양기내의 가스교환은 건전묘 육성을 위해 중요하다고 본다. 한편, MF+구에서 생장한 정상식물체의 잎과 MF-구의 투명화된 잎을 채취하여 SEM을 통해 기공을 관찰한 결과, 기공의 크기와 모양으로도 정상개체와 비정상개체를 구분할 수 있었다. MF-구에서 生育된 잎의 경우 氣孔이나 葉肉組織 등에 이상을 보여 기공이 크고 둥글고 팽창되어 있었으며 밀폐된 용기내에서는 수분공급의 과잉으로 기공은 열려져 突出된 상태였고 epicuticular 밀랍구조물이 발달되지 않아 표면이 매끄러운 상태였다(Figure 1A). 반면 MF+구의 경우 기공모양은 정상적인 타원형으로 氣孔 개폐작용을 하고 있고, 기공이 작았으며 표면은 체내 수분조절을 위해 밀랍구조물의 조직이 치밀하여 MF의 부착에 따라 가스교환이 되고 獨立營養狀態가 되어 건전식물체로 육성됨이 관찰되었다(Figure 1B). 이러한 결과를 살펴보면 MF-구에서는 기내의 가스교환이 이루어지지 않아 상대습도가 높아져 透明化가 되므로서 葉肉組織, 表皮細胞, 氣孔 등에 이상을 일으키게 되어 투명화되고 결국 건전묘 생산에 큰 장애요인이 되고 있음을 알 수 있었다.

**Table 1.** Effect of membrane filter attached to vessel caps on the production of normal plantlets of *Wasabia japonica* on MS medium containing 0.2 mg/L BA in 60 days of culture.

Treatment <sup>a</sup>	No. of shoots cultured	No. of multiple shoots	Shoots vitrified (%)	Fresh weight (g plantlet <sup>-1</sup> )	Dry weight
MF+	20	3.6 $\pm$ 0.19	0.0	1.57 $\pm$ 0.1	0.16 $\pm$ 0.01
MF-	20	2.4 $\pm$ 0.29	65.0	1.42 $\pm$ 0.1	0.11 $\pm$ 0.01

<sup>a</sup>MF+, with membrane filter; MF-, without membrane filter.

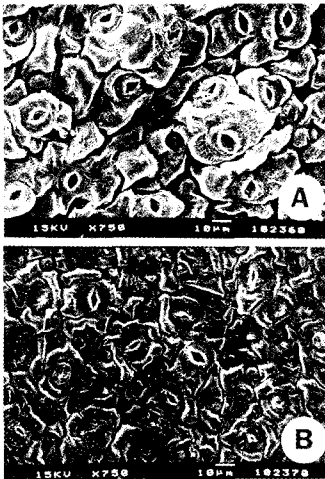


Figure 1. Abnormal stomates on a vitrified leaf of *Wasabia japonica* in the vessel capped without MF(A) and normal stomates on a non-vitrified leaf(B) in the vessel capped with MF.

PPFD 처리별 MF의 효과

PPFD처리와 MF부착에 따른 성장량을 비교한 결과 (Figure 2) 從屬榮養培養에서 PPFD 25, 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리에서는 본엽수가 각각 13.8개, 11.5개로서 75 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리에서 15.5개에 비해 적은 것은 다야체 증식이 75 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리구에서 비교적 양호하였기 때문이고, 엽병장은 25, 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 6.0, 5.7cm로 75 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리구에서의 4.6cm와 비교할 때 상당히 도장되었음을 알 수 있었다. 또한 葉面積은 25, 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리구에서는 15.5, 14.5 $\text{cm}^2$ 이었으나 75 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서는 20.1 $\text{cm}^2$ 로 엽면적이 크게 증가되어 저광도와 종속영양배지에서의 생육은 고광도에 비해 저조한 결과를 보였다. 發根率は 25, 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리구에서 83.3%, 75 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리구에서 66.6%로 75 $\mu\text{mol}$

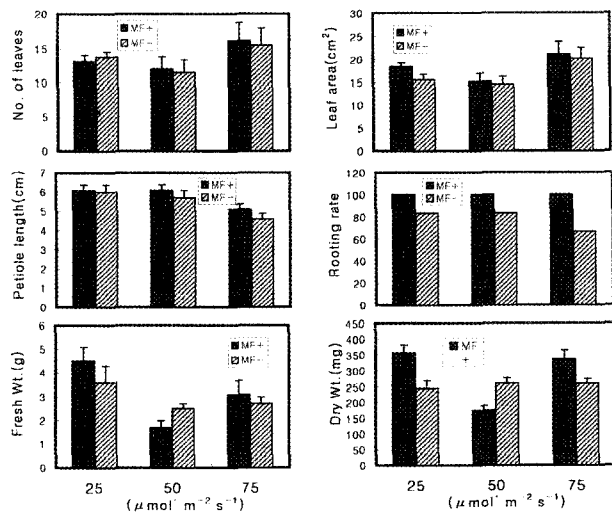


Figure 2. Number of leaves, petiole length, leaf area, rooting rate, fresh and dry weight of the in vitro plantlets of *Wasabia japonica* grown in the vessels capped with or without membrane filter(MF) under three levels of photosynthetic photon flux density(PPFD, 25, 50, and 75 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )

$\cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리구에서 약간 낮았는데 이것은 발근배지에培養하기 前苗의 상태에 따라서도 다를 것으로 생각되며 종속영양상태의 광도에 따른 발근률은 큰 의미가 없다고 본다. 그러나 혼합영양배양에서 발근률이 모두 100%를 나타내 뿌리발생에는 MF부착이 효과적이었다.

生體重과 乾物重의 비교에서 25 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리구에서는 생체중이 3.6g이었으나, 50과 75 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서는 각각 2.5, 2.7g으로 25 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리구가 약간 높았으나 乾物重은 50, 75 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리구에서 더 많아 저광도하에서의 함유율이 높았다.

한편, 혼합영양배양의 경우 葉數는 75 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리구에서는 16.1개였고 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리구에서는 12개로 75 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리구가 배양당시보다 多芽體增殖이 약간 높았으며, 葉柄長은 75 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리구에서 가장 짧았다. 葉面積의 크기는 75 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리구에서 종속영양배양의 경우 15.5 $\text{cm}^2$ 였던 것에 비하여 혼합영양배양에서는 18.4 $\text{cm}^2$ 로 약간 커져서 MF의 영향을 보였으나 75 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리구의 경우 從屬榮養培養과 거의 같은 크기를 나타냈다.

종속영양 및 혼합영양배양에서 생체중과 건물중을 비교한 결과 종속영양배양의 25 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 처리구에서 각각 3.6g, 244.8mg인 것에 반해 혼합영양배양의 경우 4.5g, 356.8mg으로 MF가 부착된 混合榮養培養에서 식물체내 함유율은 92.1%, 종속영양배양에서 93.2%를 보여 혼합영양배양에서 약간 낮았으나 큰 차이를 보이지 않았고 다른 처리구에서도 종속 및 혼합영양배양간 含水率에는 차이가 없는 것으로 나타났다.

Sucrose농도와 MF의 효과

뿌리 발생배지에 sucrose 0.2% 첨가 및 MF부착 여부에 따른 성장량을 배양 60일 후 조사하였던 바(Figure 3, 4) sucrose無添加區에서 처리 30일이후에 MF미부착구(MF-)인 대조구와 부착구(MF+)인 독립영양배양의 경우 뿌리발생 및 성장량에 큰 차이가 나타나기 시작하였다. 배양 30일까지는 뿌리발생이 독립영양배양에서 20%이었으나, 대조구에서는 전혀 발근이 없었고 배양 60일후에는 각각 95, 60%의 발근률을 보였다. 뿌리성장에는 獨立榮養培養의 경우 배지부분이 뿌리로 가득찰 정도로 뿌리가 성장되었으나 대조구의 경우는 겨우 3cm정도 밖에 신장되지 않아 sucrose무처리에서도 MF를 부착할 경우 뿌리발생을 및 성장량이 양호한 것으로 나타났다. 또한 葉面積의 경우 대조구에서 8.4 $\text{cm}^2$ 인 반면 독립영양배양에서는 17.8 $\text{cm}^2$ 로 약 2배이상 성장되어 큰 차이를 보였으며, 함유량도 독립영양배양에서는 87.1%, 대조구에서 94%를 나타내 뚜렷한 차이가 있었다. 배양 30일까지는 잎의 황변화현상에서 거의 차이를 보이지 않았으나 배양 60일 후에는 MF-의 경우 50%정도만 생존하였고 배양기간이 경과되면서 완전히 고사하였다.

2% sucrose가 첨가된 뿌리발생배지에 MF를 부착한 혼합 영양배양의 경우가 종래의 배양법인 MF未附着한 경우보다 식물체 생육에 좋은 영향을 끼쳤다. MF부착구의 경우 多芽體數는 2.2개, 미부착구는 1.2개로 미부착구에서 배양 당시의 상태에서 shoot증식이 거의 이루어지지 않은 것에 비해 附着區의 경우 배양당시보다 약 2배의 shoot가 증식된 것이 큰 차이였다. 또한 含水量이 혼합영양배양에서 86.6%, 종속영양배양에서 88.4%로 MF부착구에서 含水量은 낮게 나타났으며, 잎의 상태는 배양기간이 경과될수록 진한 녹색을 띠어 미부착구의 연녹색에 비해 광독립영양배양에 의한 배양기내에서의 순화기간 중 건전묘 육성이 관찰되었다. Sucrose무처리와 2%처리구를 비교할 때 2% sucrose첨가구가

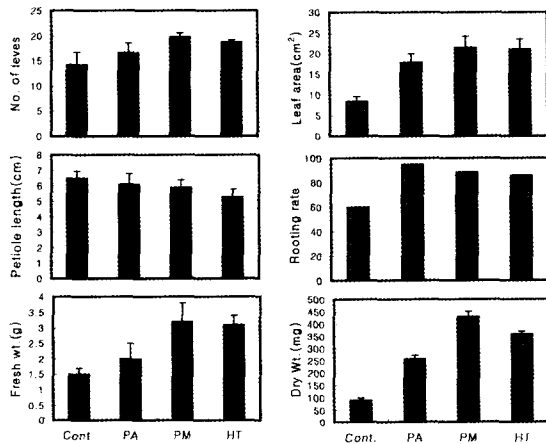


Figure 3. Number of leaves, petiole length, leaf area, rooting rate, fresh and dry weight of the in vitro plantlets of *Wasabia japonica* by type of cap and carbon source in the media. Cont.(sucrose-free medium in vessels capped without membrane filter), PA, Photoautotrophic(sucrose-free medium in vessels capped with membrane filter), PM, Photomixotrophic(2% sucrose medium in vessels capped with membrane filter), HT, Heterotrophic(2% sucrose medium in vessels capped without membrane filter).

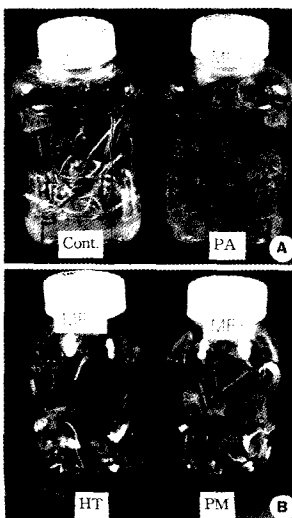


Figure 4. Effect of membrane filter(MF) attached to vessel cap on a rooting medium(0.01 mg/L IBA) of *Wasabia japonica* in vitro shoots. A: Control(sucrose-free medium in vessels capped without membrane filter), PA, Photoautotrophic(sucrose-free medium in vessels capped with membrane filter). B: PM, Photomixotrophic(2% sucrose medium in vessels capped with membrane filter), HT, Heterotrophic(2% sucrose medium in vessels capped without membrane filter).

전체적으로 식물체의 생육이 양호하였으며 그중에서 sucrose 2%, MF가 부착된 혼합영양배양에서 식물체는 가장 양호한 성장을 보였다.

이들 培養器內에서 각각 순화된 식물체를 배양 60일후에 꺼내 멸균된 모래상에 심고 20°C로 조정된 순화실에서 약 30일간 순화하는 과정에서 MF부착구가 미부착구의 묘보다 활착률 및 성장속도가 현저하게 양호한 결과로 보아 pot에 이식전 배양기내의 환경조건에 따라 양질의 健全苗育成이 가능하다고 본다.

Nakayama 등(1991)은 감자의 器內小植物體에서 1매의 잎이 포함된 마디를 배양하여 배양초기의 순광합성속도를 조사하였는데, 배양기를 자연환기하거나 강제환기하여 500~2500 $\mu\text{mol mol}^{-1}$  CO<sub>2</sub>농도에서 3% sucrose 또는 sucrose무처리된 MS배지에 배양 후, 배지중의 당의 유무가 식물체의 순광합성속도에 미치는 영향을 조사하였던 바 어떤 CO<sub>2</sub>농도에 대해서도 배양기를 강제환기한 경우는 自然換氣한 경우보다 식물체의 순광합성속도는 높았고 식물체의 초기건물중 증가는 sucrose를 첨가한 배지에서 높았다고 하였다.

종래의 배양기내의 소식물체는 광합성능력을 거의 갖고 있지 않기 때문에 소식물체에 필요한 炭素源으로서 배지내에 당의 첨가가 일반적으로 행해져 왔는데 최근 배양기내의 光度나 CO<sub>2</sub>농도를 높여줌에 따라 배양기내의 식물체는 배양기외의 보통식물체와 같은 光合成速度를 나타낸다고 報告되었다(Kozai et al., 1989). 배양기내의 식물체의 광합성이 촉진될 경우 배지중의 당을 첨가하지 않는 光獨立營養이 가능해졌는데 이 경우 식물체의 생장은 CO<sub>2</sub>농도(Kozai 와 Iwanami, 1988: Kozai et al., 1988), 광도(Kozai et al., 1988) 등의 영향을 받는다. 또한 Hayashi 등(1993)은 1매의 잎이 부착된 감자의 1절간을 sucrose 20g/L가 첨가된 MS배지에 배양하여 明暗週期를 4가지로 구분한 광혼합영양배양에서 명암주기가 짧은 시험구일수록 건물중 및 생체중은 높았고, 明期 1시간과 暗期 0.5시간의 시험구에서 shoot길이는 가장 작았고 葉部 건물중 및 엽면적은 최대로 되어 명암주기가 소식물체의 생장 및 형태에 영향을 미친다고 하였다.

Kozai 등(1990a)은 카네이션 소식물체의 뿌리를 자르고 잎 2매를 부착하여 배지종류, 광도, 배양기 마개의 종류에 따라 광독립영양 및 혼합영양배양에서 식물체의 생장을 비교하였는데 식물체의 生體重은 sucrose가 없는 Enshi수경액 배지에서 높은 PPF(210 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )와 공기교환 횟수가 많은 경우 가장 높았고, 반면에 낮은 PPF(70 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )와 공기교환 횟수가 적은 경우에 가장 낮았다고 하여 PPF처리에 따른 식물체의 생장에서 유의성을 인정하였다.

고추내이의 정단분열조직 유래의 分割苗를 기내에서 유지·증식한 후 종묘로 이용하기 위한 幼苗는 0.01mg/L IBA가 첨가된 배지에서 약 30~60일간 배양하여 뿌리발생을 유도해야 하는데 이때 배양기간중에 묘의 상태가 양호해야 pot에 옮긴 후 건전묘 육성이 가능하다. Shoot에서 뿌리발생

은 分割苗의 상태에 따라 뿌리배지에 제대배양한 후 약 10~20일경에 뿌리발생이 대부분 이루어지지만 일부 뿌리발생이 부적당한 不良苗의 경우 배양 60일이 경과하여도 전혀 뿌리가 발생되지 않거나 1cm정도 크기에서 3~4개정도만 발생하는 경우도 있었다. 본 실험에서 25, 50, 70 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  PPFd처리에 MF를 부착한 혼합영양배양과 미부착한 從屬榮養培養에서 식물체의 생장은 70 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  PPFd에서 엽면적, 엽수가 증가되었고 엽병길이는 25, 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  PPFd 처리에서 신장된 것으로 나타났고, 70 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  PPFd처리구에서 가장 짧아 식물체의 성장량은 주로 PPFd처리구에 따라 유의성이 인정되었으며, 종속영양과 混合榮養培養간에는 유의성은 인정되지 않았으나 뿌리발생률은 혼합영양배양에서 훨씬 양호하였다.

또한 고추냉이의 뿌리발생배지에 70 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$  PPFd처리에서 sucrose를 2% 또는 무처리한 MS배지에 MF를 부착하거나 미부착한 후 배양한 결과, sucrose무처리의 경우 MF를 부착한 光獨立榮養培養과 미부착한 대조구의 경우 초기 배양 15일부터 생육에 차이를 보였고 배양 30일경에는 대조구의 식물체는 영양부족으로 점차 잎은 황색으로 변화하였다. 이것은 종래에 사용한 배양기내는 相對濕度가 높기 때문에 배양식물체의 蒸散速度가 낮아지며 또한 영양원으로서 탄소원을 sucrose에 의존해야 했던 밀폐용기의 경우 탄소원의 영양결핍에 의해 뿌리발생 및 생육이 극히 저해되었으나 MF를 부착한 경우 배양용기내의 가스교환으로 光合成에 의한 자가독립영양이 가능해져 sucrose없는 상태에서도 식물체의 생육은 양호한 결과를 보였다.

이와 같이 조직배양에 의한 大量增殖 및 순화체계를 확립 하므로서 우량 종묘를 공급하여 雜種性이 강한 고추냉이의 종자를 계속 채종, 實生苗로 이용할 경우 발생하는 우량형질의 분리를 막을 수 있으며 또한 동일한 우수형질을 유지할 수 있고 우량한 계통의 종묘생산이 가능해져 고가로 수입하는 종자비용을 절감할 수 있으며 상품성이 저하되는 것을 막을 수 있다.

## 적 요

고추냉이 배양묘의 透明化 방지와 기내 건전묘 생산을 위하여 PPFd처리 및 sucrose농도를 달리하고 배양기 마개의 MF 부착여부에 따른 식물체 성장량을 조사하였다. 투명화된 유묘를 MF처리(MF+)와 무처리한(MF-) 배양기내에서 60일간 배양한 결과 분할묘의 수는 MF+구의 경우 3.6개였으며, MF-구의 경우 2.4개로 MF+구가 多芽體數가 많았다. 투명화 현상은 MF-구에서 65.0% 나타났으나 MF가 부착된 배양기내에서는 透明化가 전혀 발생되지 않았다. MF-구에서 생육된 잎의 경우 氣孔이나 葉肉 등에 이상을 보여 기공이 둥글고 팽창되어 있었고 정상식물체에 비하여 氣孔의 크기가 컸으며 밀폐된 용기내에서 수분공급의 과잉으로 氣

孔은 열려있는 상태였고 epicuticular 밀랍구조물은 발달되지 않아 표면이 매끄러운 상태였다. MF+구의 경우 기공모양은 타원형으로 기공이 투명화 앞에 비해 더 작았고 표면은 체내 수분조절을 위해 밀랍구조물의 조직이 치밀하여 MF부착에 의한 가스교환으로 건전식물체의 육성이 관찰되었다. Sucrose濃도와 MF의 효과를 조사하기 위하여 sucrose 무처리구에서 MF부착구(光獨立榮養培養)와 미부착한 경우(대조구)로 分類한 후 배양한 결과 광독립영양배양에서 모든 성장량이 양호하고 다수의 뿌리가 발생되었으나, sucrose 무처리구의 對照區는 배양 60일 후 50%만 생존되었고 발생된 뿌리는 빈약하여 광독립영양배양에서 MF부착에 의한 光合成 효과가 인정되었다. 從屬榮養培養과 혼합영양배양의 경우 混合榮養培養이 식물체의 성장량이 좋았으며, sucrose가 무처리된 상태의 광독립영양배양과 혼합영양배양을 비교하였을 때 혼합영양배양이 양호한 결과를 보였다.

시사 - 이 논문은 농림부의 1997년도 농림수산물특정연구사업에 의한 연구결과의 일부임.

## 인 용 문 헌

- Hayashi M, Kozai T, Tateno M (1993) Effects of the lighting cycle on the growth and morphology of potato plantlets in vitro under photomixotrophic culture conditions. *Environ Control Biol* 31:169-175
- Kozai T (1992) Environmental control in photoautotrophic plant tissue culture. *Environ Control Biol* 30:193-197
- Kozai T, Iwanami Y (1988) Effects of CO<sub>2</sub> enrichment and sucrose concentration under high photon fluxes on plantlet growth of carnation(*Dianthus caryophyllus* L.) in tissue culture during the preparation stage. *Jpn Soc Hort Sci* 57:279-288
- Kozai T, Iwanami Y, Fujiwara K (1987) Environment control for masspropagation of tissue cultured plantlets (1) Effects of CO<sub>2</sub> enrichment on the plantlet growth during the multiplication stage. *Jap Ass Plant Tiss Cult* 4:22-26
- Kozai, T, Koyama Y, and Watanabe I (1988) Multiplication of potato plantlets in vitro with sugar-free medium under high photosynthetic photon flux. *Acta Hort* 230:121-127
- Kozai T, Kubota C, Watanabe I (1990a) The growth of carnation plantlets in vitro cultured photoautotrophically and photomixotrophically on different media. *Environ Control Biol* 28:21-27
- Kozai, T, Oki H, Fujiwara K (1990b) Photosynthetic characteristics of *Cymbidium* plantlet in vitro. *Plant Cell Tiss Org Cult* 22:205-211
- Nakayama M, Kozai T, Watanabe K (1991) Effect of the presence/absence of sugar in the medium and natural/forced ventilation on the net photosynthetic rates of potato explants in vitro. *Jpn Ass Plant Tiss Cult* 8:105-109

(1998년 4월 6일 접수)