

감자절간 기내배양에서 소괴경의 형성과 형태적 발달

황혜연, 이영복*

충남대학교 농업생명과학대학 원예학과

Microtuberization and Morphological Development by Culture Condition *In Vitro* Node Culture of Potato

Hye-Yeon Hwang and Young-Bok Lee*

Department of Horticulure Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

ABSTRACT One-node stem pieces ca. 1 cm in length containing a axillary bud and a fully expanded leaf were obtained from *in vitro* plants of potato (*Solanum tuberosum* L.). Leaves were removed and the nodes were cultured on the MS medium to investigate the effects of temperature, day length, sucrose, and CCC in microtuber formation and development. The fresh weight of microtubers after 80 days increased significantly at 8% sucrose and 20°C compared with 28°C. The tuberization and development were reduced at 28°C except short-day treatment of 8 hours at 8% sucrose. The fresh weight and diameter were increased on the culture medium added CCC 500 mg/L. The potato tuberization was promoted under short daylength, and it showed great effect by treatment with the CCC. Though the tuberization was promoted at low temperature of 20°C in a histologic change of an axillary bud part cell of a potato, the cells were able to observe the swelling growth. Swelling growth of tissue was stimulated in the darkness and was more remarkable by addition of CCC. In particular, in the visual ratio of cell division for each position in the tissue, the cortex part showed larger ratio of cell expansion than that of the pith part. The effect of CCC was identified at 8% sucrose in the darkness. The effect of CCC was not showed in sucrose 3% under long daylength of 16 hours. As a result, the fact of a substance with AGPase important for starch composition was certified by the result with the increase of AGPase activity on high concentration of sucrose, CCC, and dark treatment by which tuber formation and development are promoted.

서 론

감자의 괴경형성에 대하여 Xu 등 (1998)은 괴경의 형태적 발달과정과 전분의 합성 및 저장의 생화학적 과정의 두 단계로 구분하고 있다. 이는 포복경 생장의 정지 (arrest of stolon

growth, Vreugdenhil and Struik 1989), 방사생장의 개시 (initiation of radial growth, Mingo-Castel et al. 1976) 및 저장 중합체의 축적 (storage polymer deposition, Muller-Rober et al. 1992)과정으로 설명된다.

괴경형성과정의 초기단계에서 포복경의 성장방향은 신장 생육으로부터 정단하부의 방사생장 (radial growth) 으로 변 환되면서 방사비대와 분열세포의 수가 증가된다 (Vreugdenhil et al. 1999), 이 때 토양생육에서는 경정으로부터 8개까지의

*Corresponding author Tel 042-821-5736 Fax 042-823-1382

E-mail: yblee@cnu.ac.kr

마디가 비대하며 (Xu et al. 1998b), 이 과정에서 엽원기의 크기, 성장점의 비후, 초기유관속분화 등이 감소한다고 알려져 있다 (Cenzano et al. 2003).

감자 포복경의 선단부에서 신장생육이 정지되고 저장기관인 괴경이 형성되는데는 저온과 단일조건과 같은 환경요인이 작용하고, 장일과 같이 괴경형성이 유도되기 어려운 조건에서는 지하의 포복경은 지상으로 출현하여 새로운 신초로 성장한다. 그러나 단일과 같은 괴경형성 유도조건에서 포복경은 정단이 괴경으로 형성되기 위해 비후될 때까지 지하에서 성장한다. 포복경 정단의 비후는 포복경의 신장이 정지되고 수 (pith)와 피층의 세포가 횡단분열을 하고 비대해지기 때문이다. 후에 주변수관대 (perimedullary region)에 있는 세포들은 성숙한 괴경조직의 집단형태 방향으로 무작위하게 분열하고 비대해 간다 (Jackson 1999). 이 때 괴경의 형성유도에는 환경요인 뿐만 아니라 내생생장조절물질의 영향도 존재하는데 대표적인 물질이 괴경형성의 유도나 괴경의 비대생장을 억제하는 gibberellin이다. Koda와 Okazawa (1983)는 포복경의 신장과 비대에 단계별로 분석한 결과 포복경의 신장기에 있어서는 내생 GA-like물질의 수준이 높았고, 포복경이 비후되기 시작하면 이 물질의 수준이 감소한다고 하였다. 따라서 GA가 감자의 생육단계에서 괴경형성을 억제하는 기능이 크므로 anti-gibberellin효과가 있는 CCC가 감자 괴경의 형성과 비대에 촉진효과가 높은 것으로 인정되었다 (Dyson 1965, Menzel 1980).

감자의 기내배양에서 포복경의 생장이 정지되고, 이 포복경의 선단부에서 괴경이 형성될 때 환경요인과 내생생장조절물질이 영향을 미치는 것으로, 우량한 소괴경의 생산을 체계화하기 위해서 괴경의 형성에 요구되는 일장과 온도 등의 환경조건과, sucrose의 농도, CCC 등의 다양한 배양환경에서 기내소괴경 형성방향을 검토하였다. 아울러 소괴경 형성과정에서의 세포조직을 관찰하고 체내 ADP-glucose pyrophosphorylase의 활성을 조사하여 기내배양을 위한 기초자료로 활용될 수 있도록 하였다.

재료 및 방법

경정배양을 통하여 얻어진 감자 (*Solanum tuberosum* L. cv. Superior) 유식물체를 생장조절물질이 첨가되지 않은 MS (Murashige and Skoog 1962) 기본배지에서 25°C 및 16시간의 장일조건으로 절간배양을 하여 실험재료로 이용하였다.

기내 배양식물체는 지속적인 재료의 공급을 위하여 2주 간격으로 절간 계대배양을 하였다. 재료를 유지하기 위한 계대배양기간 중에는 괴경의 형성이 보이지 않았으며, 실험의 도입시에 생육상의 차이를 고려하여 정단부위는 사용하지 않았다. 실험의 내용으로 sucrose의 농도, 온도, 일장 및 2-(chloroethyl) trimethylammonium chloride (CCC)의 처리가 기내소괴경 형성에 미치는 영향과 괴경 형성과정에서의 세포조직을 관찰하였으며, 이 과정에서 체내 ADP-glucose pyrophosphorylase (AGPase)의 활성을 조사하였다.

Sucrose, 온도 및 CCC처리

실험재료로 감자 기내 유식물체의 줄기를 이용하여 마디 1개가 포함된 절간을 평균 1 cm의 길이로 채취하였다. 절간의 잎을 제거한 후 3%와 8% sucrose가 첨가된 MS배지에 치상하여 20°C 및 28°C로 80일간 배양하였다. 또한 CCC의 효과를 보기 위해 MS 기본배지에서 8%의 sucrose를 첨가한 S8배지와, 8% sucrose 및 생장억제물질 CCC를 500 mg/L 첨가한 S8C500배지에 절간마디조직을 옮겨 80일 동안 배양하였다. 일장조건은 생육상에서 42~45 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 의 조명으로 하였고, 0, 8, 12, 16시간 배양 후 소괴경의 형성과 생체구중을 조사하였다.

배양온도, 일장, CCC 첨가에 따른 괴경형성의 조직관찰

MS기본배지에서 2주간 기내배양한 감자의 유식물체로부터 액아부위가 포함되게 3-4 mm의 길이의 마디조직을 채취한 절간조직을 S8배지 및 S8C500배지에 옮겨 0, 8, 16시간 일장조건으로 배양하였다. 이 때 배양온도는 20°C로 하였으며, 암조건에서 28°C로 배양한 처리구도 설정하였고 일장처리에서의 광도는 생육상에서 42~45 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$ 로 하였다. 절간을 이식하여 9일간 배양한 후 액아로부터 괴경의 분화 및 생장의 외형적인 생육상태와 내부 세포조직의 신장 및 비대상태를 조사하였다.

일정기간 배양한 재료를 잘 수세한 다음 Xu 등(1998b)의 방법에 따라 0.1 M phosphate buffer (pH 7.2)에 용해한 2.5% glutaraldehyde+2.5% PFA (paraformaldehyde)용액으로 2시간 동안 고정 (fixation)하였다. 고정된 재료를 buffer용액으로 15분씩 4회에 걸쳐 세척한 다음 다시 증류수로 15분씩 2회 세척한 후 30% EtOH, 2시간; 50% EtOH, 5시간; 70% EtOH, 12시간; 85% EtOH, 1시간; 80% EtOH (65)+BtOH (35), 1시간; 90%

EtOH (45)+BtOH (55), 1시간; 100% EtOH (25)+BtOH (75), 1시간; BtOH, 1시간; BtOH, 1시간의 순서로 탈수(dehydration) 과정을 거친 후 paraffin block을 만들어 15 μm 의 두께로 절편하였다.

Mounting재료 paraffin을 제거하고, 염색(stain)은 Heidenhain iron hematoxylin method로 (佐野 1972) 하였다. 수세가 끝난 재료를 2.5% iron alum으로 3시간 축매처리한 다음 0.5% hematoxylin으로 16시간 염색한 후 다시 2.5% iron alum-용액에 5-30분간 옮겨 분별시키고 흐르는 물로 1시간 세척한 다음 canada balsam으로 밀봉한 후 검경하였다.

AGPase 활성조사

감자 줄기의 마디조직을 1 cm 간격으로 절단하여 괴경형성 조건인 20°C에서 S8배지와 S8C500배지에 옮겨 0, 8, 16시간 일장으로 15일간 배양한 12개의 배양재료를 채취하여 Thévenot 등 (2005)의 방법에 따라 AGPase의 activity를 조사하였다.

마디조직을 배지로부터 채취한 후 즉시 액체질소를 공급하면서 유발로 미세하게 분쇄한 후 -180°C에 보관하였다. 이 중 1 g의 시료를 채취하여 시료 무게의 4배가 되도록 extraction buffer (50 mM HEPES-NaOH pH 7, 10 mM MgCl₂, 1 mM Na₂-EDTA, 2.6 μM DTT, 0.02% TritonX100, 1% BSA)를 첨가 후 4°C로 5분간 원심분리 (15,000 x g)를 하였다. 원심분리 후 상정액(crude extract)을 효소의 활성을 측정하는데 사용하였다.

각처리별로 10 μL 용량의 crude extract를 취한 후 여기에 최종량이 1 mL가 되도록 reaction mixture (50 mM HEPES-NaOH pH 7, 2 mM MgCl₂, 1 mM Na₂-EDTA, 1.15 mM ADP glucose, 0.34 mM NAD⁺, 2 units phosphoglucomutase (from rabbit muscle), 및 2 units glucose-6-phosphate dehydrogenase (from *Leuconostoc mesenteroides*)를 주입한 다음 spectrophotometer cuvette에 옮겨 30°C에 정치시켰다. 3분간 정치 후 1 mM PPI (diphosphoric acid)를 첨가한 후 340 nm에서 3분 간격으로 5 회의 NAD⁺ reduction의 time-course를 UV/VIS Spectrophotometer (2120UV, MECASYS, Korea)를 사용하여 측정하여 'nkat/g fresh weight' (kat = mol·s⁻¹)로 표시하였다.

결과 및 고찰

Sucrose, 온도 및 CCC처리

Sucrose, 온도처리에 의한 80일 동안 배양한 결과 20°C의

온도에서는 S8배지의 경우 모든 일장처리구에서 소괴경이 형성되었으며, 3% sucrose 첨가구에서도 괴경은 형성되었으나 S8배지와 비교할 때 비대효과에 크게 차이가 보였다 (Table 1). 기내에서의 감자 소괴경의 형성은 sucrose의 농도에 따라 크게 영향을 받으며 (Xu et al. 1998a), sucrose는 감자의 소괴경이 형성되는 과정에서 patatin, proteinase inhibitor II, 및 AGPase 등을 유도하는 유전자를 활성화시키는 것으로 알려져 있다 (Jackson 1999). Sucrose의 농도가 8%인 배지에서 형성된 소괴경의 비대생장도 20°C의 저온조건에서는 어느 일장에서나 양호하였으며 오히려 일장이 장일에서 양호한 결과를 보였다. 그러나 28°C의 고온배양에서는 8시간 단 일조건으로 S8배지에서 배양하였을 때를 제외하고 전체적으로 괴경의 형성이나 비대가 현저하게 억제되었음을 보여 주고 있다. 감자의 괴경형성과 온도와의 관계에 있어서 저온에 의한 괴경형성 유도효과가 매우 강하다는 것을 알 수 있었으며, Ewing and Struik (1992)도 고온은 괴경의 유도 및

Table 1. Effects of temperature, day length and sucrose concentration on tuber formation *in vitro* node culture of potato for 80 days on MS medium

Temp (°C)	Day length (h)	Sucrose concn (%)	Tuber no.	Tuber diam (mm)	Tuber weight (mg)	
20	0	1	1.0	0.6	4	
		3	2.4	4.2	74	
		8	2.6	6.1	216	
	8	1	1	0.0	0.0	0
			3	3.0	5.0	196
			8	2.3	7.0	296
		16	1	0.8	2.2	15
			3	3.9	4.3	80
			8	4.2	7.6	355
28	0	1	0.2	0.9	23	
		3	0.6	4.0	57	
		8	1.2	2.0	38	
	8	1	1	0.0	0.0	0
			3	0.8	2.6	123
			8	2.5	6.6	252
		16	1	0.0	0.0	0
			3	0.2	0.6	12
			8	0.6	1.4	51
Temperature(A)			***	***	***	
Day length(B)			NS	NS	***	
Sucrose(C)			***	***	***	
A x B			***	***	***	
A x C			NS	***	***	
B x C			NS	***	***	
A x B x C			NS	***	***	

NS, *** No significant or significant at $P=0.001$, respectively.

비대에 억제적인 영향을 보이며, 온도가 낮으면 신장하던 shoot는 신장발육이 정지되고 발육의 방향이 전환되어 괴경 형성의 방향으로 발달된다고 보고하고 있다. Vreugdenhil 등 (1998)의 연구에서 감자의 axillary bud를 배양할 경우 배지에 첨가되는 당의 농도에 따라 액아로 부터의 분화의 방향이 다르게 나타나 S8배지에서는 액아로 부터의 기관의 발달이 소괴경으로 직접 분화되었고, 1%의 sucrose가 첨가될 경우에는 shoot로 분화되었다는 보고와 같이 감자의 마디배양에서 sucrose가 괴경형성에 중요한 요인으로 작용함을 알 수 있다 (Sergeeva et al. 2000). MS배지에서 절간을 15일간 20°C로 배양하였을 때 이미 외형적으로도 괴경의 형성된 모습이 빠르게 출현하고 있었으며, 3% sucrose를 첨가한 배지에서는 일장간의 차이가 두드러지게 보여 암처리에 비해 일장이 길어질수록 초장이 짧아짐을 볼 수 있었다. 이것은 단일에 의한 도장현상으로 보여진다. 그러나 S3배지에 CCC 500 mg/L를 첨가한 배지에서는 모든 일장에서 정단부가 왕성한 상태에서 기부가 약간 비후한 상태의 괴경이 형성된 것을 볼 수 있었다. 반면에 S8배지의 암처리에서는 정단부위가 짧은 괴경이 형성됨을 볼 수 있었다. 8, 16시간 일장 처리에서도 비슷한 양상으로 기부부위는 부풀고 정단 부위는 약간 신장하는 형태의 괴경이 형성됨을 볼 수 있었다. 그러나 S8C500배지의 암처리에서는 S8배지에서보다 더 양호한 상태의 괴경이 형성됨을 볼 수 있었고 8, 16시간 일장에서 일장간의 차이는 크지 않았으나 S8배지에서보다 정단부위가 짧고 양호한 괴경이 수 있었다 (Figure 1).

처리요인간의 상관관계에 있어서 온도와 일장간에는 괴경의 수, 크기, 무게 어느 경우에도 고도의 유의성이 인정되었다. 그러나 온도와 sucrose의 농도, 일장과 sucrose의 농도는 괴경의 형성수에 유의성이 인정되지 않았지만, 괴경의 직경과 괴경중에 있어서는 고도의 유의성이 인정되었다. 따라서 온도, 일장, sucrose 농도간의 상관관계는 구경과 구중에 있어서 고도의 유의성이 인정되었다 (Table 1).

감자의 기내배양에서 괴경의 형성과 비대를 촉진시키기 위해 Smith와 Rappaport (1969)가 제시한 anti-giberellin CCC를 첨가하여 배양하였을 때, Figure 1에서와 같이 괴경의 형성에서 배양 15일 후에도 CCC처리의 효과가 뚜렷하였고, 배양기간을 늘려 80일간 배양한 결과, 형성된 괴경의 비대에서 횡단직경이나 생체중은 S8배지에서 보다 S8C500배지에서 양호함이 인정되었다 (Figure 2). 이 경우에 있어서도 괴경의 비대는 일장이 짧을 수록 효과가 있었으나 생체중에

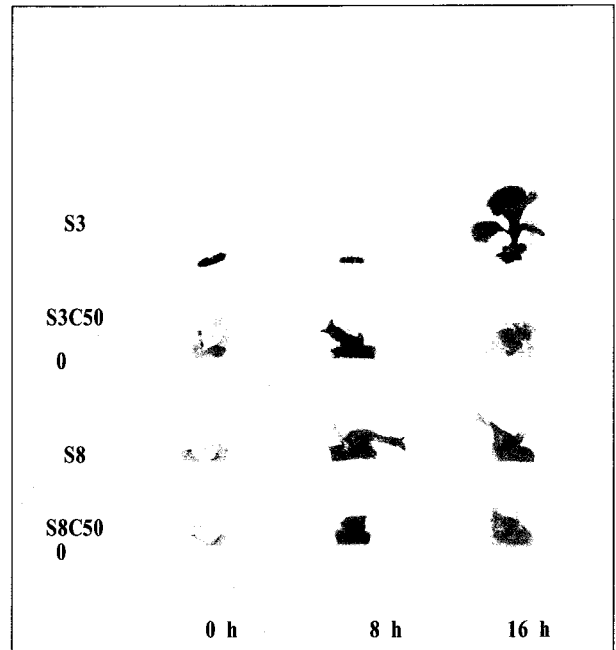


Figure 1. Growth of axillary bud and formation of microtuber at 15 days *in vitro* node culture. Day length was set to 0, 8 and 16 hours. The S3, S3C500, S8, and S8C500 were the MS media containing 3% sucrose, 3% sucrose and 500 mg/L CCC, 8% sucrose, and 8% sucrose and 500 mg/L CCC, respectively.

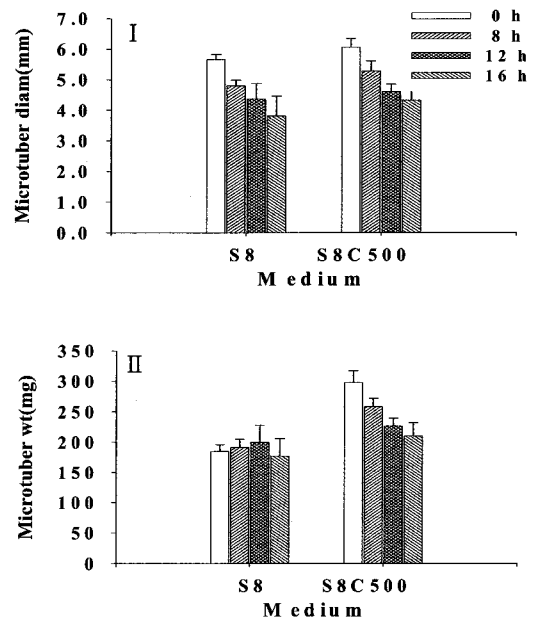


Figure 2. Effects of various day lengths of 0, 8, 12, and 16 hours and CCC 500 mg/L on the diameter (I) and fresh weight (II) of microtuber developed *in vitro* node culture for 80 days at 20°C. The S8 was the MS medium containing 8% sucrose and S8C500 was containing 8% sucrose and 500 mg/L CCC. Vertical bars indicate SE.

서 sucrose 8% 단독처리구에서는 일장처리간의 차이가 크게 인정되지 않았다. 감자의 괴경형성에 대한 CCC의 효과에 관하여 Sharma 등 (1998a)은 CCC는 신초나 포복경의 성장, 건물중의 증가를 억제하고 괴경형성을 촉진한다고 하였다. 또한 CCC처리에 의해 chlorophyll a와 b의 함량을 증가시키며, 무처리에 비해 전분의 함량을 11% 증대시킨다고 하였다. CCC처리에 의한 괴경의 발달효과에 있어 포복경을 통해 전분으로 전환되는 sucrose의 양이 무처리에 비해 2.5배가 된다는 보고도 있다 (Sharma et al. 1998b). 또한 CCC는 괴경형성에서 고온에 의한 억제효과를 타파할 수 있는 기능을 가지고 있다는 보고도 있다 (Vreugdenhil and Sergeeva 1999).

Sucrose, CCC 및 일장차이에 따른 AGPase 활성의 변화

20℃의 온도조건에서 9일간 배양한 후 각 일장간의 비대 형태를 비교하였을 때, Figure 3에서와 같이 24시간 암배양의 경우 S8배지에서는 액아로부터 새로 발달되는 포복경의

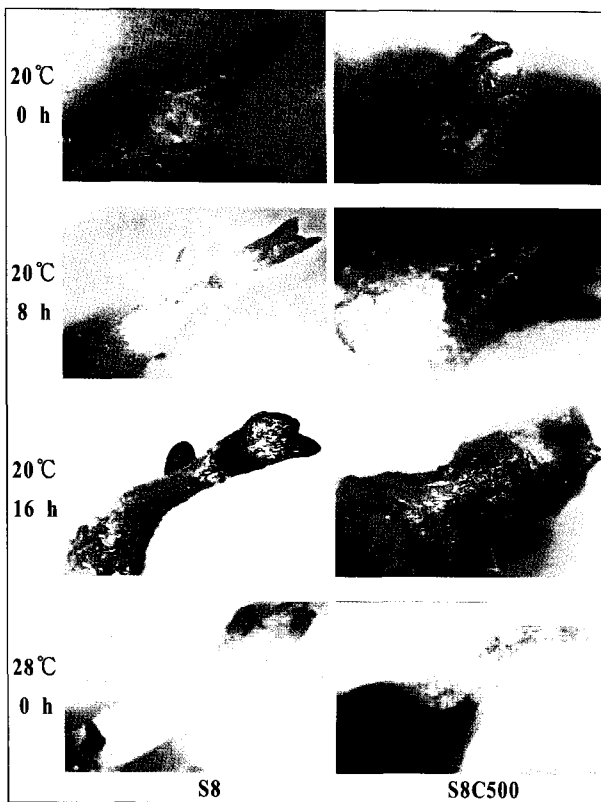


Figure 3. Growth of axillary bud at 9 days after *in vitro* node culture. Day length was set to 0, 8 and 16 hours in 20℃ and 0 hour in 28℃. The S8 was the MS medium containing 8% sucrose and S8C500 was containing 8% sucrose and 500 mg/L CCC.

기부부위가 비후하는 현상이 보였지만 완전한 괴경의 형성 단계에는 미치지 못하고 있음을 알 수 있었으나, 이 조건에서도 CCC가 첨가되면 괴경의 발달이 양호하였다. 20℃의 경우 8시간의 단일조건에서는 CCC의 첨가 유무에 관계없이 괴경의 초기형성은 매우 양호하였다. 특히 포복경의 기부신장이 보이지 않고 괴경이 형성되는 이른바 ‘sessile tuber’ (Van den Berg 1996)가 형성되는 것을 알 수 있었다. 그러나 20℃의 저온조건에서도 16시간의 장일온 괴경의 형성을 유도하는데 억제적 효과를 보였으며, 괴경형성에 뚜렷한 촉진 효과를 보였던 CCC와 같은 조절물질의 처리에서도 괴경의 형성은 억제되는 경향을 보였다.

28℃의 비교적 고온조건에서도 24시간 암처리로 감자의 절간을 배양하였을 경우 S8배지에서 뚜렷하지는 않았지만 세포의 약간의 비대와 신장을 확인할 수 있었고, S8C500배지에서는 기부부위에서 뚜렷한 괴경의 형성과 비대현상을 확인할 수 있어 고온에서도 단일과 CCC의 복합처리에 의한 괴경의 형성유도 효과가 확인되었다. 감자의 식물체에 CCC를 처리하였을 때 sucrose의 분해과정에서 sucrose synthase의 활성이 모든 조직내에서의 acid invertase 활성에 비해 몇 배 높게 나타나고, alkaline invertase의 활성은 미미하였다는 보고도 있다. 따라서 CCC를 처리한 식물체의 포복경에서의 전분의 함량은 급속히 감소하고, carbon을 괴경쪽으로 전환시키고 전분의 합성에 유리하도록 강화시킨다고 하였다 (Sharma et al. 1998b). 감자의 괴경형성과정에서 가용성 acid invertase의 활성은 13분의 1로 감소하고 반면에 sucrose synthase의 활성은 12배나 증가한다. 이 둘 두 가지 sucrolytic enzyme의 활성의 큰 차이에 기반해서 볼 때, 괴경형성 전에는 cell-wall-bound invertase나 hexokinase의 활성이 높지만 괴경의 형성 후에는 sucrose synthase가 sucrose의 분해에 주 역할을 담당한다고 본다 (Appeldoorn et al. 1997).

이에 대한 조직검경의 결과에서도 Figure 4에서와 같이, 20℃, S8배지에서는 일장이 길어짐에 따라서 분열된 세포의 생장이 비후성장보다 신장생장의 방향으로 발달되어짐을 확인할 수 있었다. 반면 S8C500배지에서는 일장이 길어짐에 따라 분열된 세포의 생장이 신장성장보다 비후성장으로 진행됨을 확인할 수 있었다. 28℃ 암처리의 경우에도 S8배지에서는 세포의 생장이 신장생장의 방향으로 발달되는 것이 뚜렷하게 보여지며 S8C500배지에서는 20℃에서와 마찬가지로 세포의 뚜렷한 비후생장이 확인되었다.

AGPase는 감자의 괴경에서 starch synthesis의 조절에 key-

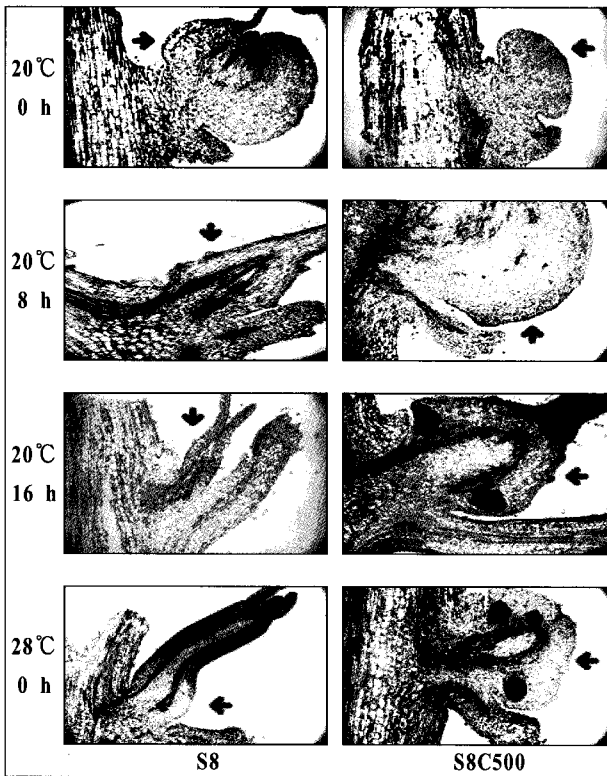


Figure 4. Longitudinal section of growing axillary bud and tubers at 9 days after *in vitro* node culture. Day length was set to 0, 8 and 16 hours in 20°C and 0 hour in 28°C. The S8 was the MS medium containing 8% sucrose and S8C500 was containing 8% sucrose and 500 mg/L CCC. Bar=0.5 mm.

enzyme 역할을 하는 것으로서 (Vreugdenhil and Sergeeva 1999) AGPase의 산화-환원 조정력이 전분합성을 조절하는데 강력한 능력으로 작용한다고 보고 있다 (Tissens et al. 2002). 본 실험의 감자의 절간배양에서 sucrose의 농도와 CCC처리에 따른 AGPase의 활성을 분석한 결과는 Figure 5와 같았다. 24시간 암조건배양에서 sucrose의 농도가 8%일 때 다른 일장 처리에 비해 AGPase의 활성이 다른 일장처리에 비해 3배 이상 높았으며 여기에 CCC를 첨가하면 활성이 더욱 높게 나타났다. 그러나 sucrose의 농도가 3%일 때에는 AGPase의 활성이 거의 나타나지 않았지만 이 경우에도 CCC를 첨가하였을 때에는 sucrose 8%처리구와 같은 수준의 활성을 보여 CCC가 AGPase의 활성에 촉진효과를 보이는 것을 알 수 있었다. 8시간의 단일조건에서는 sucrose 3%구를 제외하고 암조건에 비해 AGPase의 활성이 현저하게 떨어졌으나 16시간의 장일조건에 비해 높은 수치를 보이고 있다. Vreugdenhil 등 (1998)도 괴경의 형성유도 단계에서의 AGPase는 높으나 포복경에는 보이지 않고 괴경에만 한정된다고 하였다. 그러

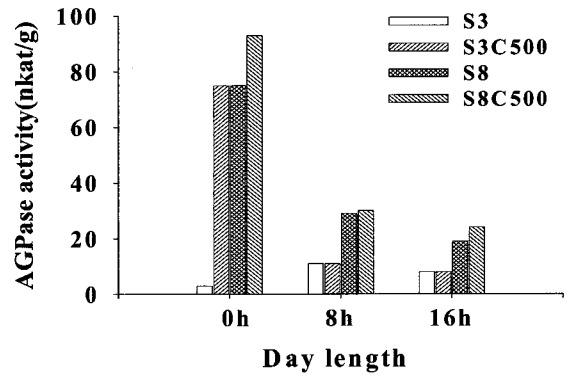


Figure 5. AGPase activities in axillary buds and tubers collected at 15 days after *in vitro* node culture. Daylength was set to 0, 8 and 16 hours. The S3, S3C500, S8, and S8C500 were the MS media containing 3% sucrose, 3% sucrose and 500 mg/L CCC, 8% sucrose, 8% sucrose and 500 mg/L CCC.

나 본 연구에서 AGPase의 양이 암조건에서 특히 높았다는 데 주목할 필요가 있으며, 아울러 Vreugdenhil와 Sergeeva (1999)가 감자의 괴경형성의 개시점에서의 형태적 변화는 GA에 의해 영향을 받는다고 하였듯이 내생 GA의 합성과 이의 활성과의 관계 등 다른 내생의 조절물질 등과의 관계에 관하여도 검토할 필요가 있다.

적 요

기내에서 배양되고 있는 감자 (*Solanum tuberosum* L.)로부터 액아와 완전히 전개된 잎이 부착된 약 1 cm 크기의 절간을 채취하였다. 절간의 잎은 제거한 후 온도, 일장, sucrose, CCC의 처리가 소괴경의 형성과 비대에 미치는 영향에 관하여 확인하기 위해 MS배지에서 배양을 하였다.

기내 소괴경의 형성에 있어 20°C와 28°C의 두 처리간에 있어 배양 80일 후에 형성된 괴경의 크기나 생체중 모두 28°C에 비해 20°C에서 유의성 있는 효과를 보였으며, 배지에 첨가되는 sucrose의 영향에 있어서도 농도에 따른 차이가 뚜렷하여 8% sucrose가 3% 보다 괴경의 비대발육을 촉진하였다. 일장의 영향은 배지의 sucrose의 농도의 영향을 많이 받았다. 20°C에서는 sucrose가 8%일 때 일장에 관계없이 괴경의 형성이 양호하였지만 sucrose의 농도가 3%일 경우에는 일장과 관계없이 액아는 신초로 발달하였다. 그러나 28°C의 고온에서는 8% sucrose와 8시간의 단일에서만 괴경의 비대에 효과가 있었다. CCC의 영향에 있어서 괴경의 구중은 sucrose 농도가 8%의 배지에서는 모든 일장에서 괴경의 형

성이 양호하였으며 일장이 짧을 수록 효과는 더 양호하였다.

배양온도에 따른 감자의 액아부위 세포의 조직학적 변화에 있어서는 저온조건에서 괴경이 형성이 촉진되어 세포의 조직은 신장생장보다 비후생장을 함을 관찰할 수 있었다. 일장조건에 따른 변화에 있어서는 암조건에서 조직의 비후생장이 뚜렷함을 관찰할 수 있었으며, CCC의 첨가 유무에 따른 변화에 있어서는 CCC를 첨가한 조건에서 양호한 현상을 관찰할 수 있었다. 또한 조직의 변화에 있어서 배양한지 9일이 되었을 때 pith, cortex 및 perimedullary tissue에 있는 parenchyma 세포의 수와 크기가 증가된 것으로 확인할 수 있었다. 특히 조직내 위치별 세포분열의 가시적 비율에서는 pith부위 보다 cortex부위에서 세포비후의 비율이 큰 것으로 보였다.

Sucrose, CCC 및 일장차이에 따른 AGPase 활성의 변화에 있어서 암처리에서는 sucrose 농도 3%보다 8%에서 양호하였고 sucrose 3%, 8%에서도 각각 CCC의 효과를 볼 수 있었다. 8시간 처리에서는 sucrose 농도 3%보다 8%에서 양호하였고 sucrose 3%, 8%에서는 CCC의 효과가 나타나지 않았다. 16시간 처리 sucrose 농도 3%보다는 8%에서 양호하였고 sucrose 3%에서는 CCC의 효과가 나타나지 않았으나 8%에서는 CCC의 효과를 볼 수 있었다. 결과적으로 sucrose의 농도가 높고, CCC와 암처리의 괴경형성의 촉진조건에서 AGPase의 활성이 양호함을 볼 때, AGPase가 starch 합성에 중요한 물질이라는 사실이 확인되었다.

사 사

본 연구는 충남대학교 학술연구지원사업의 연구비지원에 의하여 수행되었으며 지원에 감사드립니다.

인용문헌

- Appeldoorn NJG, de Bruijn SM, Koot-Gronsveld EAM, Visser RGF, Vreugdenhil D, van der Plas LHW (1997) Developmental changes of enzymes involved in sucrose to hexose-phosphate conversion during early tuberization of potato. *Planta* 202: 220-226
- Cenzano A, Vigliocco A, Kraus T, Abdala G (2003) Exogenously applied jasmonic acid induces changes in apical meristem morphology of potato stolons. *Annals of Bot* 91: 915-919
- Dyson PW (1965) Effects of gibberellic acid and (2-chloroethyl)-trimethylammonium chloride on potato growth and development. *J Sci Food Agric* 16: 542-549
- Ewing EE, Struik PC (1992) Tuber formation in potato: induction, initiation, and growth. *Hort Rev* 14: 89-98
- Jackson SD (1999) Multiple signaling pathways control tuber induction in potato. *Plant Physiol* 119: 1-8
- Koda Y, Okazawa Y (1988) Detection of potato tuberinducing activity in potato leaves and old tubers. *Plant Cell Physiol* 29: 969-974
- Liu J, Xie C (2001) Correlation of cell division and cell expansion to potato microtuber growth in vitro. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 67(2): 159-164
- Menzel CM (1980) Tuberization in potato at high temperatures. Responses of gibberellin and growth inhibitors. *Ann Bot* 46: 259-265
- Mingo-Castel AM, Smith OE, Kumamoto J (1976) Studies on the carbon dioxide promotion and ethylene inhibition of tuberization in potato explants cultured in vitro. *Plant Physiol* 57: 480-485
- Müller-Röber B, Sonnewald U, Willmitzer L (1992) Inhibition of the ADP-glucose pyrophosphorylase in transgenic potatoes leads to sugar-storing tubers and influences tuber formation and expression of tuber storage protein genes. *EMBO J* 11: 1229-1238
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497
- 佐野 豊 (1972) 組織學研究法. 南山堂. 東京. pp 143-206
- Sergeeva LI, de Bruijn SM, Koot-Gronsveld EAM, Navratil O, Vreugdenhil D (2000) Tuber morphology and starch accumulation are independent phenomena: Evidence from *ipt*-transgenic potato lines. *Physiol Plant* 108: 435-443
- Sharma N, Kaur N, Gupta AK (1998a) Effects of Gibberellic Acid and Chlorocholine Chloride on Tuberisation and Growth of Potato (*Solanum tuberosum* L.). *J Sci Food Agr* 78: 466-470
- Sharma N, Kaur N, Gupta AK (1998b) Effect of chlorocholine chloride sprays on the carbohydrate composition and activities of sucrose metabolising enzymes in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Growth Reg* 26(2): 97-103
- Smith OE, Rappaport L (1969) Gibberellins, inhibitors and tuber formation in the potato (*Solanum tuberosum*). *Amer Potato J* 46: 185-191
- Thévenot C, Simond-Côte E, Reyss A, Manicacci D, Trouverie J, Le Guilloux M, Ginhoux V, Sidicina F, Prioul J-L (2005) QTLs for enzyme activities and soluble carbohydrates involved in starch accumulation during grain filling in maize. *J Exp Bot* 56(413): 945-958
- Tiessen A, Hendriks JHM, Stitt M, Branscheid A, Gibon Y, Farré EM, Geigenberger P (2002) Starch Synthesis in Potato Tubers Is Regulated by Post-Translational Redox

- Modification of ADP-Glucose Pyrophosphorylase -A Novel Regulatory Mechanism Linking Starch Synthesis to the Sucrose Supply-. *The Plant Cell* 14: 2191-2213
- Van den Berg JH, Ewing E, Plaisted RL, McMurry S, Bonierbale MW (1996) QTL analysis of potato tuberization. *Theor Appl Genet* 93: 307-316
- Vreugdenhil D, Sergeeva LI (1999) Gibberellins and tuberization in potato. *Potato Res* 42: 471-481
- Vreugdenhil D, Struik PC (1989) An integrated view of the hormonal regulation of tuber formation in potato (*Solanum tuberosum*). *Physiol Plant* 75: 525-531
- Vreugdenhil D, Boogaard Y, Visser RGF, de Bruijn SM (1998) Comparison of tuber and shoot formation from *in vitro* cultured potato explants. *Plant Cell Tissue Organ Culture* 53(3): 197-204.
- Vreugdenhil D, Xu X, Jung JS, van Lammeren AAM, Ewing EE (1999) Initial anatomical changes associated with tuber formation on single-node potato (*Solanum tuberosum* L.) cuttings: a re-evaluation. *Ann Bot* 84: 675-680
- Xu X, van Lammeren AAM, Vermeer E, Vreugdenhil D (1998a) The role of gibberellin, abscisic acid, and sucrose in the regulation of potato tuber formation *in vitro*. *Plant Physiol* 117: 575-584
- Xu X, Vreugdenhil D, van Lammeren AAM (1998b) Cell division and cell enlargement during potato tuber formation. *J Exp Bot* 320: 573-582

(접수일자 2007년 10월 19일, 수리일자 2007년 11월 22일)