

# 배양토 종류 및 IBA 처리가 Birdsfoot Trefoil의 뿌리 유도에 미치는 영향

김기용 · 최기준 · 이상훈 · 이종경 · 지희정 · 이병현\* · 김진석\*\*

## Effect of Culture Soil Type and IBA in Root Initiation of Birdsfoot Trefoil (*Lotus corniculatus* L.)

Ki-Yong Kim, Gi Jun Choi, Sang-Hoon Lee, Joung Kyong Lee, Hee Chung Ji, Byung-Hyun Lee\* and Jin-Seog Kim\*\*

### ABSTRACT

To select the most proper soil for root initiation from stem cuts of Birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.), eight-week-old stem cuts were cultured on three types of soil [commercial bed soil, decomposed granite (DCG), and river sand] for one month. The results showed that the root initiation ratios on DCG (77.8%) and river sand (70.0%) were relatively high, but the ratio on commercial bed soil (41.1%) was very low. To examine the effect of rare earth (RE) and Indole-3-Butyric Acid (IBA) on root initiation from stem cuts of Birdsfoot Trefoil, stem cuts were cultured on two types of soil (DCG and river sand) with treatment of RE and IBA for one month. The root initiation ratios turned out to be 90.0% (DCG with 60 ppm of RE), 80.0% (river sand with 20 ppm of RE), 96.7% (DCG with 40 ppm of IBA), and 96.7% (river sand with 40 ppm of IBA). These results suggested that the most efficient way for root initiation of Birdsfoot trefoil was to culture the stem cuts on river sand or DCG over 30 days with IBA treatment (40 ppm).

(Key words : Birdsfoot trefoil, Root initiation, Decomposed granite, River sand, IBA (Indole-3-Butyric Acid))

### I. 서 론

형질전환 작물의 실용화 연구는 형질전환 작물을 개발하는 과정보다 수확 또는 수백 배의 노력과 예산이 투자되어야 함은 모두가 알고 있는 사실이다. 도입한 유전자를 고정하여 호모화 된 계통 선발, 농업적 특성 검정, 재배시험 및 환경위해성 평가를 거쳐 산업화에 이르

기까지는 아직 가야할 길은 멀고도 험난하다. 이 과정에서 우리가 개발한 형질전환 작물을 안전하게 보존하고 증식하는 일은 가장 기본적인 일이며, 또한 매우 중요한 과정이다.

농촌진흥청 축산과학원에서는 90년대 후반부터 버즈풋 트레포일 (*Lotus corniculatus* L.)의 재분화 조건, 형질전환 조건, 형질전환체 생산 등 많은 연구들이 수행되어 왔다(김 등, 1999;

농촌진흥청 축산과학원 (National Institute of Animal Science, Cheonan 330-801, Korea).

\* 경상대학교 응용생명과학부 (Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea).

\*\* 한국화학연구원 (Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-600, Korea)

Corresponding author : Ki-Yong Kim, National Institute of Animal Science, Cheonan 330-801, Korea.

Tel : +82-41-580-6751, Fax: +82-41-580-6779, E-mail: kimky77@rda.go.kr

김 등, 2001a; 김 등, 2001c; 김 등, 2004; 김 등, 2005; 김 등, 2006). 본 연구는 형질전환 버즈풋 트레포일의 계통들을 안전하게 보존, 증식하는 기술을 확립하기 위하여 수행하게 되었다. 기내에서 버즈풋 트레포일의 줄기로부터 뿌리를 유도한 연구(김 등, 2001b)는 이미 발표되었지만, 포장에서 재배하고 있는 식물체를 절단하여 기내에서 뿌리를 유도할 경우, 살균 과정이 매우 어렵기 때문에 쉬운 방법으로 뿌리를 유도할 수 있는 기술을 확립하는 것이 필요하다.

본 연구에서는 버즈풋 트레포일의 뿌리 유도를 위하여 좀 더 체계적인 데이터를 얻고자 실험을 3단계로 나누어 실시하였다. 1단계에서는 버즈풋 트레포일의 절단한 줄기로부터 뿌리 유도를 하기 위한 배양토를 선발하였으며, 2단계에서는 복합희토(다조아, 동성엔씨티)를 처리하여 뿌리 유도율을 조사하였고, 3단계에서는 IBA (Indole-3-Butyric Acid, Duchefa)를 처리하여 뿌리 유도율을 조사하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 식물재료 및 배양토

식물재료로는 버즈풋 트레포일 (*Lotus corniculatus* L.) 품종 중 Audewey를 사용하였으며, pot에서 생육한 식물체로부터 잎이 2~3장씩 있도록 줄기를 잘라서 사용하였다. 각 처리별로 굵기와 생육상태가 비슷한 줄기를 선발하여 사용하였다.

뿌리유도를 위한 배양토로는 원예농 상토(부농), 마사토, 강모래 등 3종류를 사용하였다. 원

예농 상토는 화원에서 구입하였으며 (Table 1), 마사토와 강모래는 오염되지 않은 토양을 직접 채취하여 실험에 이용하였다.

### 2. 버즈풋 트레포일의 뿌리 유도

버즈풋 트레포일의 뿌리 유도 실험은 배양토의 종류별, 복합희토의 처리유무, 그리고 IBA의 처리 유무로 나누어 실시하였다.

배양토 종류별 뿌리 유도 실험에서는 원예농 상토(부농), 마사토, 강모래 등의 3종류를 사용하였다. 준비한 각각의 공시토양에 버즈풋 트레포일 줄기 30개씩을 삽지한 다음, 매일 아침 저녁으로 수분이 마르지 않을 정도의 물을 주면서 뿌리를 유도하였다.

복합희토 및 IBA 농도에 따른 뿌리 유도 실험에서는 마사토와 강모래를 배양토로 사용하였다. 1,000배액 (1 g/L)의 복합희토 및 IBA stock solution을 제조한 다음, 이를 각각 0, 20, 40, 60, 80 및 100 ppm 농도가 되도록 희석하여 준비한 다음, 처리별로 버즈풋 트레포일 줄기 30개씩을 삽지하여 각각의 용액으로 충분히 적신 후, 아침 저녁으로 수분이 마르지 않을 정도의 물을 주면서, 4일 간격으로 복합희토 및 IBA 용액을 각각 처리하였다.

### 3. 뿌리유도율 조사

배양실은 24±2℃의 온도와 16의 일장조건이 되도록 조절하였으며, 배양기간은 30일로 하였고, 뿌리 유도율은 각각의 처리구에서 줄기를 뽑아 뿌리가 형성된 숫자를 세어서 조사하였다.

Table 1. Component of commercial bed soil

H <sub>2</sub> O (%)	pH	EC (dS/m)	NH <sub>4</sub> -N (mg/ℓ)	NO <sub>3</sub> -N (mg/ℓ)	PO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> (mg/ℓ)	CEC (cmol/ℓ)
40±20	5.5~7.0	0.7±0.3	400±200	200±100	300±200	20±10

\* Main material : zeolite, vermiculite, perlite, coir dust, soluble fertilizer.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 배양토 종류가 버즈풋 트레포일의 뿌리 유도에 미치는 영향

버즈풋 트레포일의 줄기를 3종류의 배양토에 삽지하여 뿌리 형성을 살펴 본 결과, 삽지 7일 후부터 모든 처리구에서 뿌리가 형성되기 시작하였으나, 배양토 종류별로 큰 차이를 보이지 않았다. 삽지 2주 후부터 뿌리의 생육은 현저하게 왕성해짐을 관찰할 수 있었으며, 이때부터 식물체의 생육도 좋아지고 일부 줄기에서는 측지가 생겨났다. 반면에 뿌리가 형성되지 않은 줄기의 경우 삽지 2주 후부터 서서히 고사하는 경향을 보였다. 삽지 30일 후에는 토양에 옮겨 심어도 생육할 수 있을 정도로 충분한 뿌리가 형성되었으며, 배양토 종류에 따라 뿌리형성 및 생육정도의 차이는 있었으나, 배양토 종류에 관계없이 버즈풋 트레포일 줄기로부터 뿌리를 유도할 수 있다는 것을 확인할 수 있었다.

3회 반복 실험한 성적을 평균한 결과, 원예용 상토에서는 41.1%, 마사토에서는 77.8%, 강모래에서는 70.0%의 뿌리 유도율을 나타내었다 (Table 2). 마사토와 강모래를 배양토로 사용했을 때는 비슷한 결과를 얻었지만, 원예용 상토는 뿌리유도용 배양토로는 부적합한 것으로 나타났다. 3종류의 배양토 중 버즈풋 트레포일의 뿌리유도를 위해서는 마사토를 사용하는 것이 가장 유리한 것으로 나타났다. 온 (2006)은 구지뽕나무의 발근을 향상을 위한 삼목 상토로는

미풍화토가 좋으며, 조경수의 뿌리유도에는 모래나 마사토를 사용하는 것이 좋다고 발표하였다. 버즈풋 트레포일의 뿌리 유도 실험 결과에서도 강모래나 마사토를 배양토로 사용하는 것이 효과적인 것으로 나타났다.

#### 2. 복합회토 처리가 버즈풋 트레포일의 뿌리 유도에 미치는 영향

회토 원소는 동식물체의 각종 효소 및 생리활성물질, 호르몬 등의 생산과 활성을 촉진하여 양적, 질적 성장촉진을 통한 수량제고와 품질향상, 내병성 및 내환경성 증진 등 여러 효과가 있는 것으로 밝혀져 있다. 박 등 (2004)은 옥수수, 수수, 이탈리아인 라이그라스, 알팔파 등에 회토를 처리하여 출현율, 분얼경, 뿌리 활력, 수량성 등에 대해 조사한 결과, 전반적으로 긍정적인 결과를 도출하였다.

박 등 (2004)은 옥수수, 수수, 이탈리아인 라이그라스, 알팔파 등에 회토를 처리하였을 때, 출현율, 분얼경, 뿌리 활력, 및 수량성이 높아진다고 보고하였다.

이러한 결과로 미루어 볼 때 회토 처리가 버즈풋 트레포일의 뿌리 유도에도 영향을 미칠 것으로 예상되어 회토 처리 실험을 수행하였다.

마사토와 강모래를 배양토로 사용하여 복합회토를 농도별로 처리하여 버즈풋 트레포일의 뿌리 유도율을 조사한 결과, 마사토에서는 복합회토 용액을 60 ppm 처리하였을 때 90.0%로 가장 높았으며, 강모래에서는 복합회토 용액

Table 2. Percentage of rooted stem from stem cuts of Birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) cultured on three types of soil for one month

Division	NTS <sup>1)</sup>	NRS <sup>2)</sup>			Total	PRS <sup>3)</sup> (%)
		1st	2nd	3rd		
CBS <sup>4)</sup>	30	13	12	12	37	41.1
DCG <sup>5)</sup>	30	23	23	24	70	77.8
River Sand	30	22	21	20	63	70.0

<sup>1)</sup> NTS = No. of treated stems, <sup>2)</sup> NRS = No. of rooted stems, <sup>3)</sup> PRS = Percentage of rooted stem,

<sup>4)</sup> CBS = Commercial bed soil, <sup>5)</sup> DCG = Decomposed granite.

20 ppm 처리에서 80.0%로 가장 높았다(Table 3). 복합희토 용액을 처리하였을 때 전반적으로 뿌리 유도율은 향상되었으나, 마사토와 강모래에서 뿌리 유도율이 최고로 되는 복합희토 용액의 농도에는 다소 차이가 있었다.

3. IBA 처리가 버즈풋 트레포일의 뿌리 유도에 미치는 영향

김 등 (2001c)은 기내에서 버즈풋 트레포일의 줄기에서 뿌리를 유도한 결과, 2.5 mg/L의 IBA를 첨가한 처리구에서 뿌리유도 정도가 90~95%로 가장 좋았다고 하였으며, 알팔파(IBA 1~1.5 mg/L)와 이탈리아인 라이그라스(IBA 1.0 mg/L)의 줄기에서 뿌리를 유도한 결과에서도 IBA를 첨가한 처리구에서 뿌리 유도가 매우 좋은 것으로 보고되었다(손 등, 2001; 김 등, 2001b). 백 등 (1997)은 지황근 신초의 뿌리 유도 연구에서 IBA 분말을 처리하면 효과적이라고 보고하였으며, 박 등 (2007)은 고추냉이의 경우, IBA (0.01 mg/L) 처리가 NAA 처리 보다

는 부정근 형성에 효과가 있었으나, IBA와 NAA가 전혀 첨가되지 않은 배지에서 오히려 부정근 형성이 더 양호하다고 보고하였다. 김과 문 (2005)은 양다래 신초로부터 발근유도를 위해 1.0 mg/L IBA가 첨가된 배지를 사용하여 식물체 재분화에 성공하였고, 강 등 (2005)은 산호수 (*Ardisia pusilla* DC.)의 기내 대량번식에서 형성된 신초의 발근은 위해 1/2 MS 배지에 IBA, NAA를 각각 첨가한 배지를 사용하였는데, 각각의 옥신을 0.5 mg/L씩 첨가하였을 때 신초의 성장과 발근이 양호하다고 발표하였으며, 정 등 (2004)은 생물반응기 배양으로 지황 부정근의 대량증식을 위해서는 2 mg/L의 IBA가 첨가된 1/3 MS 배지 조건이 가장 좋았다고 보고하였다.

본 연구에서는 마사토와 강모래를 배양토로 사용하여 IBA의 농도별로 버즈풋 트레포일의 뿌리 유도율을 조사한 결과, 마사토와 강모래를 사용한 두 처리 모두 40 ppm에서 96.7%로 가장 높게 나타났다(Table 4; Fig. 1).

이상의 결과들을 종합하면, 포장에서 재배하

Table 3. Percentage of rooted stem from stem cuts of Birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) cultured on DCG (decomposed granite) and river sand treated with different concentration of rare earth soln. for one month

Division	Concentration of rare earth soln. (ppm)							
	0	20	40	60	80	100		
DCG <sup>4)</sup>	NTS <sup>1)</sup>	30	30	30	30	30	30	
	NRS <sup>2)</sup>	1st	24	24	24	30	24	27
		2nd	27	24	21	24	24	24
		3rd	18	27	27	27	27	24
	Total	69	75	72	81	75	75	
PRS <sup>3)</sup> (%)	76.7	83.3	80.0	90.0	83.3	83.3		
River sand	NTS <sup>1)</sup>	30	30	30	30	30	30	
	NRS <sup>2)</sup>	1st	21	24	21	21	18	18
		2nd	24	24	21	18	18	21
		3rd	18	24	24	21	15	18
	Total	63	72	66	60	51	57	
PRS <sup>3)</sup> (%)	70.0	80.0	73.3	66.7	56.7	63.3		

<sup>1)</sup> NTS : No. of treated stems, <sup>2)</sup> NRS : No. of rooted stems, <sup>3)</sup> PRS : Percentage of rooted stem,

<sup>4)</sup> DCG : Decomposed granite.

Table 4. Percentage of rooted stem from stem cuts of Birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) cultured on DCG (decomposed granite) and river sand treated with different concentration of IBA soln. for one month

Division		Concentration of IBA soln. (ppm)						
		0	20	40	60	80	100	
DCG <sup>4)</sup>	NTS <sup>1)</sup>	30	30	30	30	30	30	
	NRS <sup>2)</sup>	1st	21	27	30	27	27	24
		2nd	24	30	30	27	24	27
		3rd	27	27	27	27	21	21
	Total	69	84	87	81	75	72	
	PRS <sup>3)</sup> (%)	76.7	93.3	96.7	90.0	80.0	80.0	
River sand	NTS <sup>1)</sup>	30	30	30	30	30	30	
	NRS <sup>2)</sup>	1st	24	27	27	24	21	21
		2nd	21	27	30	24	21	18
		3rd	21	27	30	30	21	21
	Total	66	81	87	78	63	60	
	PRS <sup>3)</sup> (%)	73.3	90.0	96.7	86.7	70.0	66.7	

<sup>1)</sup> NTS : No. of treated stems, <sup>2)</sup> NRS : No. of rooted stems, <sup>3)</sup> PRS : Percentage of rooted stem,  
<sup>4)</sup> DCG : Decomposed granite.

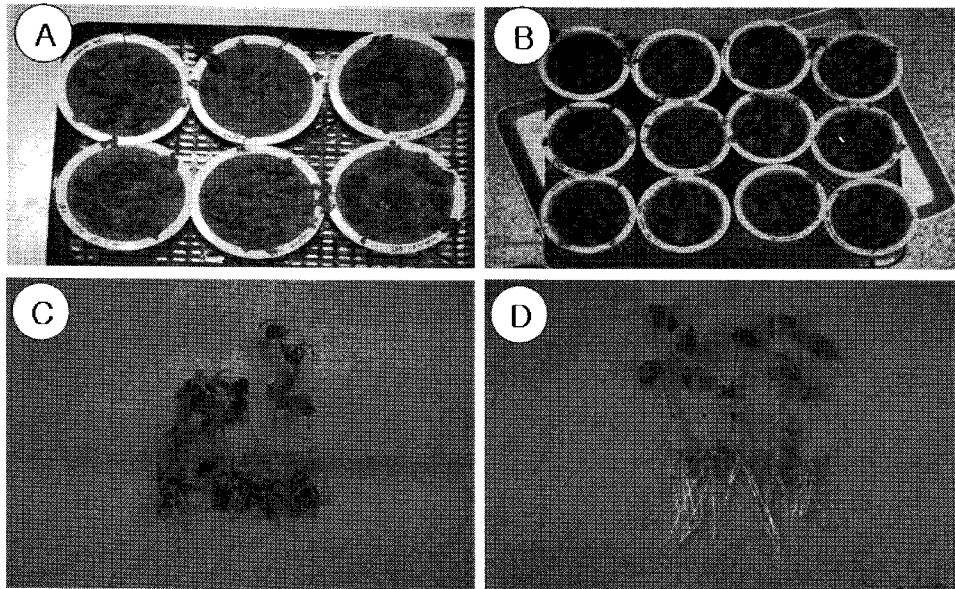


Fig. 1. Root initiation from stem cuts of Birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.). Eight week-old-stem cuts were cultured on DCG (decomposed granite) and river sand treated with 40 ppm of IBA soln. for one month. A & C, rooted stems in decomposed granite; B & D, rooted stems in river sand.

고 있는 버즈풋 트레포일의 영양체 증식을 하기 위해서는 버즈풋 트레포일 줄기를 절단하여 강모래나 마사토에 삽지 후 IBA 용액을 40 ppm 농도로 처리하여 30일 이상 배양하면 대

부분의 줄기에서 뿌리를 유도할 수 있을 것으로 판단된다.

김 등(2001c)의 연구결과, 기내에서 무균조건으로 뿌리를 유도하였는데, 본 연구에서는 무균

처리를 하지 않은 조건에서도 뿌리를 유도하는데 성공하였다. 기내에서는 살균작업이나 조작과정이 훨씬 까다롭기 때문에, 토양조건에서 뿌리 유도에 성공한 것은 우수계통의 영양번식 효율을 획기적으로 높일 수 있는 방법으로 생각된다.

#### IV. 요약

버즈풋 트레포일의 줄기에서 뿌리를 유도함에 있어, 최적의 유도조건을 확립하고자 배양토 종류별, 복합희토 처리 농도별, IBA 처리 농도별로 뿌리 유도율을 조사하였다. 원예농상토, 마사토, 강모래 등 3종류의 배양토에서 뿌리 유도율을 조사한 결과, 마사토(77.8%), 강모래(70.0%), 원예용 상토(41.1%) 순으로 높게 나타났다. 마사토와 강모래에서 복합희토 용액을 농도별로 처리하여 뿌리 유도율을 조사한 결과, 마사토에서는 복합희토 용액 60 ppm 처리에서 90.0%로 높게 나타났고, 강모래에서는 복합희토 용액 20 ppm 처리에서 80.0%로 높게 나타났다. 마사토와 강모래에서 IBA 용액을 농도별로 처리하여 뿌리 유도율을 조사한 결과, 마사토와 강모래를 사용한 두 처리 모두 40 ppm에서 뿌리 유도율이 96.7%로 동일하게 최고로 높게 나타났다. 이상의 결과로부터 포장에서 재배하고 있는 버즈풋 트레포일의 영양체 증식을 하기 위해서는 버즈풋 트레포일 줄기를 절단하여 강모래나 마사토에 삼지 후 IBA 용액을 40 ppm 농도로 처리하여 30일 이상 배양하는 방법이 가장 효율적인 것으로 밝혀졌다.

#### V. 사 사

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업의 연구비지원(과제번호 20050301034466)에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

#### VI. 인용 문헌

1. 강관호, 오월선, 구대회, 은종선, 김형무. 2005.

산호수 (*Ardisia pusilla* DC.)의 기내 대량번식. 식물생명공학회지 32(4):281-285.

2. 김기용, 임용우, 최기준, 성병렬. 1999. 버즈풋 트레포일 종자로부터 캘러스 유도 및 BOi2Y 배지에서 식물체 재분화. 한초지 19(4):303-308.

3. 김기용, 최기준, 성병렬, 임용우, 박근재, 장요순, 조진기. 2001a. IBA 처리에 의한 이탈리아 라이그라스 줄기 절단면에서 뿌리 분화 유도. 한초지 21(1):31-34.

4. 김기용, 최기준, 성병렬, 임용우, 임영철, 장요순, 김원호. 2001b. IBA 처리에 의한 버즈풋 트레포일 줄기 절단면에서 뿌리 분화. 한초지 21(1):35-38.

5. 김기용, 성병렬, 임용우, 최기준, 임영철, 장요순, 정의수, 김원호, 김준근. 2001c. BcHSP17.6 유전자 도입에 의한 버즈풋 트레포일의 형질전환. 한초지 21(3):145-150.

6. 김기용, 최영진, 임용우, 성병렬, 이상진, 양주성, 한범수, 김종범, 이병현. 2004. 버즈풋 트레포일 및 이탈리아 라이그라스의 치사온도 결정. 한초지 24(4):341-346.

7. 김기용, 장요순, 김맹중, 임근발, 김원호, 서성, 이상진, 광상수. 2005. 'SWPA2 프로모터 + AtNDPK2 유전자' 도입에 의한 버즈풋 트레포일 형질전환체 생산. 한초지 25(4):281-286.

8. 김기용, 장요순, 최기준, 성병렬, 김원호, 서성, 이병현, 광상수. 2006. E35S 프로모터 + AtNDPK2 유전자 도입에 의한 버즈풋 트레포일(*Lotus corniculatus* L.) 형질전환체 생산. 한초지 26(2):83-90.

9. 김용욱, 문홍규. 2005. 양다래의 엽조직 캘러스를 이용한 세포 현탁배양으로부터 식물체 유도. 식물생명공학회지 32(4):287-292.

10. 박윤영, 조문수, 이영득, 정종배, 박신, 정병률, 박상규. 2007. 고추냉이 정단배양에 있어서 BA 농도 및 배양방법에 따른 기내증식 효과. 식물생명공학회지 34(1):1-6.

11. 백기엽, 유광진, 박상일. 1997. 기내증식된 지황묘의 기내 및 기외 발근. 식물조직배양학회지 24:335-340.

12. 손대영, 김기용, 장요순, 이효신, 원성혜, 이병현, 김미혜, 조진기. 2001. IBA 처리에 의한 알팔파 줄기 절단면에서 뿌리 분화. 한초지 21(1):27-30.

13. 온형근. 2006. 조경수의 육성번식. <http://www.xpert.co.kr/myhome/namu>. pp. 18-21.

14. 정재훈, 유기원, 김선자, 최용의, 백기엽. 2004. 지황 부정근을 이용한 식물체 재분화 및 생물반응기 배양. 식물생명공학회지 31(1):55-60.

15. 박홍석, 한강남, 허삼남, 손재권. 2004. 희토광물(Rare earth) 이용 농용 신소재 개발. 농림특정연구과제 보고서 pp. 1-102.