

Saintpaulia 組織培養 중 光度와 培地 의 量에 따른 生育 反應

蘇 寅 燮

Growth Responses of *Saintpaulia ionantha* Wendl. to the Light Intensities and Medium Volumes in the Aseptic Culture

So In-sup

Summary

The growth responses and morphogenic function on the *in vitro* culture of *Saintpaulia* were investigated in various medium volumes and under the controlled light intensities.

The experimental results obtained are shown as follows:

1. The smaller the medium volumes in the cultural vessels, the faster the growth responses and deterioration of nutrients
2. In general, the optimum volumes for mass propagation was truned out to be 20% of the cultural vessels.
3. Many of the adventitious buds were developed under the 1.5 Klux light intensity, whereas no bud but callus growth and adventitious roots were developed under the 0.5 Klux.

It was suggested that the mechanism of light effect on the adventitious bud formation be further expoured.

序 論

組織培養法의 폭 넓은 利用은 現在 高等식물의 異種屬間雜種 즉 細胞雜種(Cybrid)의 作出에서 발전의 極을 達하고 있으며 速속 成功 사례들이 발표되고 世間의 化제를 모으고 있는 實情이다(melcher 等, 1978).

그러나 短期間 內的 급속한 성장은 결국 組織培養 方法上 未解決의 많은 문제점을 남겨 놓고 지나쳤기 때문에 보다 本質적인 研究를 細密히 수행하므로써 그러한 업적을 한층 더 돋보이게 할 수 있을 것이

다.

現在 알려진 *Saintpaulia*의 種類는 約 8,000여 種에 達하고 있으며 年間 수백 種의 新品種이 選拔 育成되어 急速히 일반인들에게 普及 愛好되고 있다 (Melvin, 1980).

또한 花色이 다양하고 栽培 및 繁殖方法이 용이하기 때문에 그 인기가 높아져 새로운 品種이 소개되기 前 하면 즉각 많은 量의 注文이 쇄도하여 조직배양법을 利用한 단기간 내의 大量 苗生産이 필요하게 된다.

이러한 必要性에 따라 國內外에서 이미 수 많은 研究가 수행되어 조직배양법을 利用한 苗의 大量生

産에는 문제가 없겠지만(Bilkey 等, 1978), 배양 환경의 變化에 따라 야기되는 生長反應은 本植物의 경우에서 뿐만 아니라 타식물의 培養過程에서도 同一하게 나타날 수 있다.

現在까지의 문헌을 살펴볼 때 이식되는 재료 식물의 크기에 따른 생육 차이와(Calpin, 1963) 재료 식물이 배지에 맞닿는 정도에 따른 枯死 및 生理現象(蘇, 1984), 재료 식물의 소독방법(朴 等, 1983) 등에 대한 연구는 수행된 바 있지만 배지 量에 따른 생육에 대하여는 여타 실험에서도 조사된 바가 없는 것 같다.

따라서 배양에 앞서 용기에 注入되는 알맞은 배지 量 결정과, 광선의 強弱에 따라 培養 植物體가 吸收하는 물질대사 生理에 對한 차이를 밝히기 위하여 본 실험을 수행하였다.

材料 및 方法

供試植物로는 생육상태가 양호한 *Saintpaulia ionantha* Wendl.의 Optimara系, 'California'를 選定하여 MS培地를 基本으로 pH는 5.8로 調定하고 寒天을 0.9%, Sucrose는 3% 그리고 生長調節物質로는 蘇(1983)의 結果에 따라 BA를 2ppm, NAA를 0.5ppm 농도로 固定하여 1.2kg/cm²(15 psi)의 autoclave에 살균하여 배양에 임하였다.

培養室의 온도는 25±2℃되게 조절하였고 白色 형광등을 照明하여 日長이 16시간 되도록 人爲造作하였다.

植物材料는 비교적 生育이 均一한 新葉을 數枚 선 발하여 朴等(1983)의 消毒方法에 따라 Clorox 10% 용액에 展着劑의 一種인 Tween-20을 몇 방울 添加한 용액에서 5分間 沈積한 후 滅菌水로 몇 회 洗滌하고 葉의 中央部位를 가로 세로 1cm되게 절단한 후 使用하였다.

Callus의 生育狀態는 Rao等(1983)의 方法으로 (+) 부호를 使用하여 肉眼으로 判斷할 때 가장 좋은 狀態를 3個(+++), 普通은 2個(++) 그리고 貧弱한 것은 1個(+)로 表示하였으며 다음과 같이 2가지로 나누고 處理당 10反復을 두어 各各 실험하였다.

1) 培地의 量에 따른 生育조사

用器로는 100ml들이 flask를 使用하여 4처리로 培地의 量을 flask當 5ml, 10ml, 20ml 그리고 40ml로 注入하고 培養室內에서 光度가 1.5KLux되는 장소에 놓고 배양하였다.

處理에 따른 培養 후의 生長變化를 보기 위하여 15일 간격으로 배양 후 90일까지 不定芽의 發生을 조사하였으며 일반적인 生育을 비교하기 위하여는 少量배지의 고갈을 고려하여 培養 50일까지의 수치를 조사하였다.

2) 光度에 따른 生育조사

Flask當 배지의 量을 20ml로 注入하고 培養室內에서 光度가 1.5KLux되는 장소와 人爲차광하여 0.5KLux되는 장소를 選定하여 배양 90일 후에 必要한 수치를 취하였다.

結果 및 考察

일반 조직배양의 경우에 실험자가 자신의 계획 또는 설계에 의하여 배지를 조작할 때 제일 먼저 결정해야 되는 것이 용기 내에 주입하는 培地量을 결정하는 문제이다.

따라서 본 실험의 경우, Table 1과 같이 동일한 100ml들이 flask를 용기로 使用했을 때 각각의 培地 量에 따른 生育정도가 다르게 나타나게 되는데 대체로 용기 용적의 1/10과 1/5이 부정아 발생정도와 生體重에서 가장 좋았음을 알 수 있다[Plate. 1].

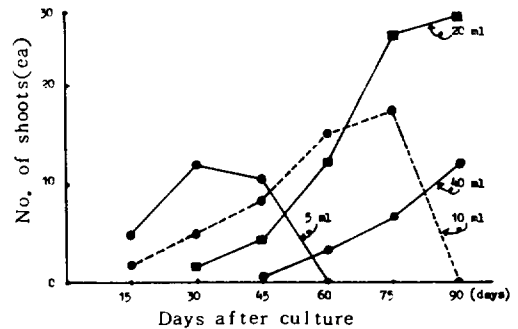


Figure 1. Cummulative shooting responses obtained in an interval of 15 days after culture.

Table 1. Influence of various medium volumes contained with uniform flask on *Saintapulia* 'California' in vitro.

Treatment Medium	volumes per flask (%)	No. of shoot (ea)	Fresh weight (g)	Intensity of callus develop.
5ml	1/20	10.5	1.85	+
10ml	1/10	12.3	3.27	+++
20ml	1/5	11.4	3.31	+++
40ml	2/5	3.2	2.94	++

All numericals are observed at 50 days after culture.

Basal medium was MS supplemented with BA 2 ppm and NAA 0.5ppm.

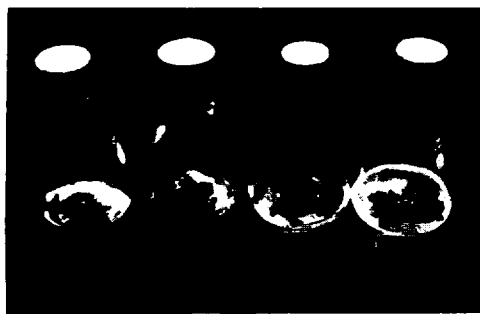


Plate 1. Influence of varied medium volumes on the growth of *Saintapulia* 'California' in vitro as grown 50 days after culture.

Fig. 1은 각 처리에 대하여 배양 15일 간격으로 부정아 發生 정도를 조사한 결과인데 5ml 처리에서는 배양 45일 후부터, 10ml 처리에서는 배양 75일 경과 후부터 같은 고사하는 경향을 보이는 반면 부정아의 발생은 배지의 量이 적으면 적을수록 빠르게 나타난다.

또한 20ml 처리에서는 배양 후 90일이 경과할 때까지 계속적인 부정아 발생을 보이고 있으며 40ml 처리에서는 배양 45일 경과 후부터 부정아 발생이 서서히 증가하고 있음을 보여 준다.

Krikorian과 Cronauer(1984)가 Banana의 생장점 培養時 50ml들이 flask에 액체 배지를 20ml 넣고 배양하는 것이 protocol 증식을 위하여 바람직하다고 한 것과 Dodds와 Roberts(1982)가 그들의 實驗書에서 aeration을 고려할 때 용기의 20%를 주입해야 한다는 것 以外에 培地 量의 변화에 따른 生育에 대한 언급이 없으며 오직 실험자의 경험과 주관에 의하여 나름대로의 量을 정하여 실험되어 온 것 같다.

그러나 본 실험의 결과에서 나타난 바와 같이 同一한 배지 조성일지라도 배지의 量이 많으면 목적하는 기관 분화의 속도가 늦어지고 반대로 배지의 量이 적으면 기관 분화가 빠른 대신 營養物質의 고갈로 인한 갈변 고사현상이 나타난다.

Street(1973)에 의하면 고체 배지의 경우에는 寒天이 첨가 용해되어 입체적인 sieve를 형성하면서 배지가 굳게 되는데 액체 배양과 비교할 때 nutrient gradients를 형성하여 물질 흡수의 불균형을 초래한다고 하였던 바, 본 실험에서도 培地 量이 많으면 많을 수록 그러한 불균형이 심화됨은 물론 生育에 必要한 물질이 sieve를 통하여 전달되는 속도가 지연되어 培養反應이 더딘 것으로 나타나지 않았는가 생각된다.

또한 용기 내의 통기를 고려해 볼 때 배지의 量이 적을수록 수용되는 공기의 量이 많아지기 때문에 배양 식물의 세포분열과 기관분화에 따른 상대적인 공기 순환의 요구도 또한 적어지므로 그러한 要因이 복합적으로 作用하고 있다고 보아진다.

따라서 大量繁殖을 제외한 급속한 기관 분화를 목적으로 하는 경우에는 용기에 대한 배지의 양을 가능한 限 적게 注入하고 제대배양하는 것이 바람직하며 시간이 약간 경과하더라도 大量繁殖을 목적으로 하는 培養의 경우에는 培養物質이 고갈되어 제대배양하는 노력을 감안할 때 용기의 용량에 20%(1/5) 정도의 量을 注入하는 것이 바람직한 것으로 사료된다.

Table 2는 광도에 따른 기관 분화와 생육에 관하여 관찰한 결과인데 적합한 광도로 인정되는 1.5 KLux 처리에서는 부정아의 數가 28.3個인데 반하여 弱光으로 생각되는 0.5 KLux 처리에서는 부정

Table 2. Effects of light intensity on *Saintpaulia* 'California' tissue culture.

Treatment light intensity	No. of shoot (ea)	No. of root (ea)	Fresh weight (g)
1.5 Klux	28.3	2.3	3.84
0.5 Klux	0	5.7	3.12

All numericals are observed at 90 days after culture.

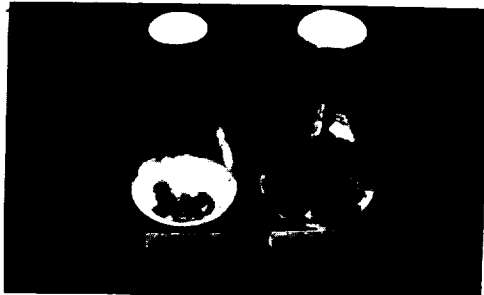


Plate 2. Effect of light intensity on *Saintpaulia* 'California' in vitro as grown 50 days after culture.

아의 발생이 전혀 없음을 보여 주고 있다.

반면 뿌리의 발생은 정상 광선에서 2.3個, 弱光에서 5.7個로 발생하였지만 Plate 2에서 보는 바와 같이 弱光에서도 callus의生育은 활발하게 進行되어 生體重에서는 큰 차이가 없는 것으로 나타났다.

본 실험에 적용된 생장 조절 물질의 組合比인 BA 2mg/l 와 NAA 0.5mg/l 처리는 蘇(1983)에 의하여 밝혀진 바로서 *Saintpaulia*의 大量繁殖을 위한 最適 培地 조건인데도 불구하고 光度의 強弱에 따라 目的하는 바와는 달리 기관분화 상태가 相異하게 나타났다[Plate 2].

즉 *Saintpaulia*는 再生 능력이 왕성하여 發根이 容易하기 때문에 조직배양時 부정아의 發生만 많이 유도된다면 硬化 단계에서 쉽게 發根시킬 수 있으므로 培養時 발근은 문제되지 않는다(Bilkey와 Cocking, 1981).

따라서 不定芽의 발생만을 目的으로 하여 組製된 똑 같은 培地 조건일지라도 광도의 강약에 따라 그러한 차이가 있는 것은 흥미로운 현상으로 보여지는데 Murashige(1974)에 의하면 배양에 적합한 광도는 약 1Klux 이상이면 무난하다고 하였고 토양에 이

식할 때는 고 광도에서 생육한 묘가 월등한 생존율을 갖는다고 한 바 있다.

Welander(1978)는 *Begonia*의 조직배양時 광도가 높아짐에 따라 不定芽의 發生率이 증가하지만 生體重에는 차이가 없다고 하였고, 다른 보고서에서도 일반적으로 callus의 증식을 위해서는 暗 조건이 좋으며 不定芽의 發生을 위해서는 明 培養하는 것이 좋다고 밝힌 경우가 많다.

또한 Murashige와 Nakano(1968)는 담배의 callus 培養時 光은 不定芽 發生에 결정적인 역할을 하며 뿌리의 발생을 억제한다고 단정적으로 보고한 바 있다.

이상과 같이 문헌에 나타난 광선의 필요성에 대한 보고를 종합해 볼 때 培養되어 生育中인 植物體는 光線 조사에 의하여 동화천분을 合成하고 그것들이 利用되어 不定芽를 발생시키는 內生 hormone 류로 轉換된다는 사실(Thorpe, 1974)을 암시하고 있다.

그러나 Plate 2와 같이 약광 아래서 생육되는 경우, 外生 hormone의 처리효과 특히 不定芽 발생을 위한 cytokinin 류로서의 BA 처리효과가 나타나지 않고 發根을 촉진하는 auxin의 처리효과만 나타나는 이유에 對하여는 지금까지 밝혀진 사실로는 쉽게 설명할 수 없겠지만 다음과 같이 추측할 수 있다.

즉 光度와는 달리 光質 즉 광파장의 相對的인감소에 의한 것인지, 처리된 cytokinin 물질의 약광에 의하여 auxin류 만이 선택적으로 흡수하여 cytokinin 류의 흡수에 길항적으로 作用하는 것인지, 혹은 어느 정도 이상의 광도를 가진 광선 조사로서만 합성되는 특수한 효소나 高 energy와 相助的으로 作用해야만 처리된 cytokinin이 기관 분화능력을 發揮하는 것인지 단정지을 수는 없다.

따라서 식물생장 조절물질의 흡수 및 대사생리에 관한 광선의 효과에 對하여는 앞으로 많은 연구가

세밀히 수행되어야 할 것으로 요망된다.

摘 要

Saintpaulia의 組織培養 中 培地の 量과 光度의 차이에 의한 生育 및 기관 분화능력을 조사하기 위하여 본 실험을 실시하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1. 용기에 주입되는 배지의 量이 적을수록 성장반

응과 영양물질의 고갈이 빨리 나타났으며, 배지의 量이 많아질수록 그 반대의 결과를 나타냈다.

2. 일반적으로 대량번식을 위한 최적의 배지 量은 용기 용적의 20%로 나타났다.

3. 1.5Klux의 光度에서는 多數의 不定芽가 發生하였지만, 0.5Klux의 光度에서는 callus의 生長과 不定根만이 發生하였다.

따라서 光度에 따른 容器內의 cytokinin류의 吸收 및 利用機作에 대한 연구가 시급히 요망된다.

參 考 文 獻

- Bilkey, P. C., E. C. Cocking, 1981. Increased plant vigour by in vitro propagation of Saintpaulia ionantha Wendl. from sub-epidermal tissue. *Hortscience*, 16:643-644.
- _____, B. H. McCown, A. C. Hildebrandt, 1978. Micropropagation of African violet from petiole crosssection. *Hortscience*, 13 : 37-38.
- Calpin, S. H., 1963. Effect of initial size on growth of plant tissue cultures. *Am. J. Bot.*, 50; 91-94.
- Dodds, J. H., L. W. Roberts, 1982. Experiments in plant tissue culture. Cambridge Univ. Press London p. 50.
- Krikorian, A. U., S. S. Cronauer, 1984. Tropical and subtropical fruits In: Handbook of plant cell culture. ed. Evans, S. and Yamada, A. Macmillan Pub. Co. Inc. New York Vol. II pp. 327-348.
- Melchers, G., M. P. Sacristan, A. Holder, 1978. Somatic hybrid plants of potato and tomato regenerated from fused protoplasts. *Carlsberg Res Commun.* 43; 203-218.
- Melvin, J. R., 1980. African violets. A. S. A. S. Barnes and Co. Inc. pp. 18-42.
- Murashige, T., 1974. Plant propagation through tissue cultures. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 25; 135-145.
- Murashige, T., R. Nakano, 1968. The light requirement for shoot initiation in tobacco callus. *Am. J. Bot.*, 55; 710-715.
- 朴天虎, 蘇寅燮, 郭炳華, 1983. Saintpaulia 組織培養 中 培地の 酸度 및 Sucrose含量에 따른 生育調查. *韓國園藝學會誌*, 24(2); 158-161.
- Rao, P. S., W. Handro, H. Harada, 1973. Hormonal control of differentiation of shoots, roots and embryos in leaf and stem cultures of *Petunia inflata* and *Petunia Hybrida*. *Physiol. Plant.* 28; 458-463.
- 蘇寅燮, 1983. Saintpaulia ionantha Wendl.의 組織培養에 관한 研究 I. 各種 生長調節 物質의 組合에 따른 器官分化에 관하여 *韓國園藝學會誌*, 24 (1); 86-91.
- _____, 1984. Saintpaulia의 組織培養에 있어서 培地上에 놓인 葉組織의 位置에 따른 組織學的 觀察. 石龜金承贊先生 停年退任記念論文 集, pp. 168-171.
- Street, H. E., 1973. Plant tissue and cell culture. Univ. of California Press pp. 44-47.
- Thorpe, T. T., 1974. Carbohydrate availability and shoot formation in tobacco callus cultures. *Physiol. Plant.*, 30; 77-85.
- Welander, T., 1978. In vitro propagation of clones from different cultivars of *Begonia xhiemalis*. *Swed. J. Agr. Res.*, 8; 181-185.