

## 7장. 배양환경

### 1절. 환경의 영향

#### 1. 광

배지에 탄소원으로 당이 첨가되기 때문에 배양 초기에는 탄소동화작용을 하기 위해 광이 꼭 필요하지는 않다. 그러나 형태형성과 기관형성에 광은 매우 중요한 역할을 수행한다. 특히 형태형성 및 배상체(embryoid)를 유지시키기 위해서는 24시간 중 일정한 비율로 명기와 암기로 구분하는 것이 좋다. 그러나 캘러스의 유지 및 생장을 위해서는 연속 암기가 효과적이다. 대다수의 초본류 조직배양에 있어서는 광도와 신초 분화 사이에 밀접한 관련이 있어 일반적으로 1000 lux 부근에서 신초 발생이 양호하다. 이끼류인 Physocomitrium에서 부정아의 발생은 7000 lux 부근에서 촉진된다. 그러나 일반적으로 광은 발근에 대해서 負의 영향을 나타낸다. 신초형성이 미치는 광질에 대한 연구중 청색광이나 적색광에서 신초형성이 양호하다는 보고가 있으나 광질은 식물의 종류에 따라 차이가 있고 아직 이 분야에 대한 연구는 미비하다 하겠다.

#### 2. 온도

식물조직배양시 적정 배양온도는 식물의 자생지에서 최적온도 범위로 조절하여 주는 것이 좋다. 배양시 기내의 온도는 온실효과로 인하여 배양실의 온도보다 3 ~ 4℃가 높으므로 이를 고려해야 한다. 배양실의 일반적인 온도 범위는 25 ~ 28℃로 조정한다.

#### 3. 기타요인

##### (1) 습도

배양실의 습도가 높으면 감염율이 높고 이와는 반대로 습도가 낮으면 배지의 수분이 감소하게 된다.

##### (2) 수분

배지의 수분은 한천의 농도로 조절할 수 있다.

##### (3) 산소

배양 절편체에 환기와 산소를 공급하기 위하여 액체 배양시 교반을 해주거나 고체배지시 절편체를 무극성으로 접촉하기도 한다. 일반적으로 산소공급을 잘하면 기관형성이 촉진된다.

##### (4)탄산가스

낮은 광도의 기내배양에서는 co<sub>2</sub>가 탄소원으로 이용되기 보다는 당이 탄소원으로 이용된다. 그러나 높은 광도에서는 co<sub>2</sub>가 탄소원으로 이용될 수 있는 보고가 있다. 즉, 광도를 10,000 lux 이상 높이고 기내의 co<sub>2</sub> 농도를 높임으로서 배지의 당 농도를 낮출 수 있어 거대 용기에 배양이 가능하다 하겠다. 또한 이러한 배양의 장점은 용기를 사용하므로써 로봇을 이용한 배양에 가능할 뿐만 아니라 배지의 당 농도를 낮춤으로서 오염율을 낮출 수 있다는 것이다.

### 2절. 식물재료의 영향

모식물체의 능력과 생육환경은 배양의 성장과 발육에 큰 영향을 끼칠 수 있으므로 식물재료를 선택할 때는 다음의 사항을 고려해야 한다.

#### 1. 인자형(Genotype)

식물의 재생능력은 유전적인 형질로 식물에 따라 다양하다. 일반적으로 쌍자엽(dicotyledon) 식물이 단자엽(monocotyledon)식물보다 재생이 잘 된다. 특히 쌍자엽 식물 중에서도 가지과(Solanaceae), 베고니아과(Begoniaceae), 돌나무과(Grasulaceae), 바위담배과(Grasulaceae) 및 배추와 무를 제외한 십자화과(Cruciferae)는 재생이 용이하다. 나자식물은 유묘기때에는 재생력이 비교적 좋으나 그 후에는 재생력이 약하다. 또한 품종간에도 재생력에 큰 차이가 있을 수 있다.

#### 2. 식물체의 나이(The age of plant)

생육단계가 어린 식물체일수록 그리고 어린 부분일수록 재생력이 좋다. 일반적으로 종자에서 나온 유식물이 가장 재생력이 높다. 즉, 자엽은 그 다음에 나온 본엽보다 높고, 본엽 중에서도 먼저 나온 것이 재생력이 높다.

#### 3. 생리적인 상태(The physiological state)

일반적으로 생식생장기에 있는 식물체에서보다 영양생장기의 식물체에서 더 잘 이루어진다. 초기 재료의 생리적인 조건은 절편의 기내 생육에 중요한 영향을 미칠 수 있으므로 이를 인위적으로 개선해야 한다. 즉, 절편을 채취하기 전에 모식물체에 cytokinin 같은 성장조절제를 처리함으로써 재생력을 높일 수도 있다.

#### 4. 건강상태(The state of health)

채취한 모본의 전반적인 영양상태에 의하여 재생력 등에 차이가 있다. 예를 들면 배추약배양시 모본의 관리에 따라 배 발생에 큰 차이가 있다. 또한 병의 감염 유무에 따라 기관 형성 능력에 차이가 있다. 따라서 모본에 충분한 영양분을 공급하고 병에 감염되지 않게 관리하는 것이 중요하다.

#### 5. 기상의 영향 또는 계절적 차이(Effect of different year)

포장에서 재배된 식물체를 모식물체로 하여 절편을 채취하였을 때 그 해의 기상에 따라 기관형성 능력에 차이가 있다. 또한 백합의 경우처럼 봄, 가을에 인편을 채취하면 자구의 형성이 잘 되나 여름과 겨울에 채취하였을 때는 자구의 형성이 불량할 뿐만 아니라 성장도 불량하다.

#### 6. 식물체의 부위(Position of the explant within the plant)

식물체상의 위치 또한 절편의 재생 능력에 영향을 미친다. 일반적으로 목본 식물체에서 낮은 부위 일수록 신초나 부정근 형성이 잘된다. 백합의 인편배양에서도 인편의 기부쪽에서 기관형성이 양호하고 상부 조직으로 올라갈수록 기관형성이 억제된다.

#### 7. 절편의 크기(Size of the explant)

일반적으로 절편의 크기가 클수록 재생이 잘 된다. 이는 절편속의 영양분과 성장요소가 있

어 절편체가 크면 클수록 저장양분이 많아 재생력이 양호하다. 세포배양시에도 세포의 밀도가 높아 군락효과(community effect) 또는 집단효과(mass effect)가 발생되어 세포분열이 잘 된다. 난 종자 발아 시에도 이러한 효과가 뚜렷하다.

#### 8. 기타

절편체의 절단면적이 넓으면 배지의 영양소와 조절제의 흡수가 증가한다. 그러나 이와 동시에 절단면에서 ethylene 발생량이 많아지게 되며 phenol 물질도 배지내에 많이 분비가되어 성장을 억제하게된다. 또한 접종시 무극성으로 배지에 치상하면 일반적으로 재생이 더 빠르다.

### 3절. 배지에서 토양으로 이식

배양 식물이 어느 정도 성장하면 토양으로 이식하게 되는데 이 때 접하게 되는 문제점은 식물체의 생존율이 낮다는 것이다. 생존율의 감소는 유리화가 진행된 식물체에서 특히 심하다. 이러한 원인은 생육환경의 변화와 배양식물체의 특이성으로 인하여 발생하는 것이다.

#### 1. 기내식물의 특이성

1. 기내의 상대습도 90 ~100%이므로 기내식물은 cuticle에 wax층의 발달이 빈약하다.
2. 울타리세포(palissade cell)가 일반 식물체보다 더 작고 그 수도 적다.
3. 기내의 습도가 높아 기공이 항상 열려있고 작동을 하지 않는다.
4. 뿌리와 줄기의 관다발 조직의 연결이 빈약하다.
5. 기내에서는 종속 영양성이다.
6. 기내에서 형성된 뿌리는 뿌리털이 아주 적거나 없다.

이상과 같은 특이성으로 인하여 기내식물을 토양으로 이식 시 생존율이 낮다.

#### 2. 이식전 처리

##### - 경엽의 순화

이식하게 될 배양묘는 이식 후 외부환경에 적응할 수 있도록 미리 순화(acclimatization) 또는 硬化(hardening) 과정을 거친다. 이것은 배양용기 뚜껑의 일부를 열어 둔 채로 하는 것으로서 광합성 능력을 향상시키고 기공의 개폐 기능을 향상시키기 위한 방법이다.

##### - 증발억제

배지내의 습도를 낮춤으로써 배양묘의 wax층을 형성시키어 이식 후 생존율을 높이거나 배양묘에 증발억제제를 분무하여 생존율을 높일 수 있다.

##### - 뿌리 손실 방지

배양묘의 뿌리는 토양에 이식 후 상처를 입기 쉽고 뿌리털이 적거나 없어서 본래의 기능을 다하지 못한다. 또한 고체배지에서 성장한 배양묘는 기내에서 꺼낼 때 배지속으로 뺀 뿌리가 많이 손상되어 뿌리를 액체배지에서 유기시키면 유리할 경우도 있다.

##### - 토양세균과 공생배양

난과식물은 菌根 (mycorhiza), 콩과식물은 根瘤菌(Rhizobium)과 공생하고 있으므로 배양묘도 이들 미생물과 공생할 수 있도록 토양에 처리하면 생존율을 높일 수 있다.

### 3. 이식방법

#### 1. 일반원칙

- 당성분이 흡수되어 균류와 세균의 번식이 용이하기 때문에 배양묘로부터 한천을 잘 세척하여 제거하여야 한다.
- 이식에 사용될 토양이나 기질은 살균된 것을 이용하여야 한다.
- 배양묘를 토양에 이식 후 병원체(민달팽이, 곤충, 세균 및 균류 등)의 접근을 방지하여야 한다.
- 뿌리가 상해를 받지 않도록 한다.
- 염류 농도가 낮은 배양토에서 발근이 잘 된다.
- 기내에서 형성된 인경이나 목본류에서 휴면타과의 필요성을 검토하여야 한다.  
(일반적으로 5℃에서 4 ~ 8주간처리).
- 적절한 순화 또는 경화 처리한 후 토양에 이식한다.  
(mist, humidity tent, plastic cover 등을 이용한다.)

#### 2. 실제이용

##### - Plastic 피복

배양묘를 토양에 이식 후 fog nozzle을 이용하여 안개상태로 분무해주거나 plastic film으로 덮어 상대습도를 90 ~ 100%로 유지해 준다. 이때 반드시 차광과 아울러 온도를 다소 낮출 필요성이 있다. 비교적 소량의 배양묘를 토양에 이식할 때는 화분 자체를 wrap 등으로 씌워 생존율을 높일 수도 있다.

##### - 발근 기질 이용

배양토에 발근촉진제를 첨가하거나 teracotem 등을 이용하여 생존율을 높일 수 있다.