

모시풀 組織培養에서 消毒方法 및 生長調節劑의 Multiple Shoot 誘起 效果

朴洪在* · 文倫鎬* · 吳龍飛*

Effect of Growth Regulator and Sterilization Method on Multiple Shoot Induction through Sucker and Stem Node Culture in Ramie(*Boehmeria nivea* Hooker et Arnot)

Hong Jea Park*, Youn Ho Moon* and Yong Bee Oh*

ABSTRACT : This experiment was carried out to establish the system of mass propagation through tissue culture using sucker and stem in Ramie.

The sterilization for tissue culture of Ramie was the better treatment of 2% NaClO for 20 minute into ultrasonic cleaner than the others, and so rate of contamination was 3.3%, and it was able to produce 96% healthy plant.

The effect of growth regulator was superior to mixed treatment of 0.02mg /l NAA, 1.5mg /l BA, 0.1mg /l GA₃, which it was not formed callus and but produced 96% healthy plant.

The effect of propagation was higher in culturing of the stem node than the sucker in cultural part, local variety than improved ones.

The effect of acclimatization was superior to pretreatment of 30 minute after soaking in 100ppm NAA, transplanting on bed soil which mixed to ratio of vermiculite : soil : sand = 1 : 2 : 1, the transplanted plants were grown all normal.

Key words : Ramie, *Boehmeria nivea*, Tissue culture, Mass propagation, Sucker, Stem.

모시풀의 優良品種 增殖은 吸枝, 分株 또는 插木 등의 營養繁殖을 利用하며, 그중에서도 吸枝繁殖이 普遍化 되어 있다. 모시풀의 吸枝繁殖은 收穫이 한창인 모시풀의 성원을 파헤쳐서 吸枝를 採取해야 하고 다시 새로운 포장을 造成해야 하는 등 作業에 노력의 많이 들며, 增殖率에 있어서도 年平均 3배에 不過하여 非效率的이다.

한편 줄기를 이용하는 插木增殖은 제1회 또는 제2회 收穫時에 收穫된 줄기의 最下端 基部位를 插穗로 이용하기 때문에 纖維收量에 크게 影響을 주지 않으면서 增殖을 할 수 있으며, 本圃에 移植한

다음에도 成園의 60~70%의 收穫을 올릴 수 있고, 재식 2년째에는 完전한 成園으로 造成²⁾되기 때문에 현재까지 밝혀진 增殖方法으로는 매우 유리하다 하겠다. 그러나 插木增殖은 地上의 水分이 不充分하면 發根과 活着이 극히 불량하기 때문에 土壤水分과 插穗 近處의 濕度를 알맞게 하여¹⁾ 插穗의 活着率을 높이는 것이 매우 중요하다.

또한 插穗 採取時期와 部位도 活着에 影響을 미치는데 金等²⁾은 줄기삽수의 採取時期는 제1차 收穫適期後 5일이 活着率이 50.4%로 가장 높았고, 줄기의 採取部位는 最下端基部가 活着率이 가장

* 湖南農業試驗場 木浦試驗場 (Mokpo Experiment station, Muan, Chonnam 534-830, Korea)

〈'96. 9. 4 接受〉

높은 65.0%라고 하였다. 그러나 吸枝나 挿木繁殖의 方法은 優良品種 普及을 위해서는 增殖效率이 낮다. 그래서 最近에 이용되고 있는 組織培養 技術을 이용한 모시풀의 大量增殖 體系를 確立하는 技術이 必要하다.

組織培養을 통한 모시풀의 大量增殖에 있어서는 梗片의 숨털로 인한 滅菌이 어렵고, 줄기내의 많은 量의 樹液으로 인하여 器內 大量增殖이 어렵다. 또한 모시풀의 優良品種 增殖을 위해서는 켈러스를 거치지 않고 梗片이나 吸枝로부터 體細胞 變異가 일어나지 않는 많은 新초가 形成되어야만⁴⁾ 할 것이다.

따라서 本研究은 모시풀의 梗片과 吸枝의 培養을 통한 完全한 植物體를 얻기 위해서 消毒方法, 生長調節劑 處理效果 및 純化方法을 究明하기 위한 組織培養을 實施하여 몇가지 結果를 얻었다.

材料 및 方法

本 試驗에 사용한 모시풀品種은 湖南農業試驗場 木浦試驗場 試驗圃場에 栽植되어 있는 育成品種인 서방종과 在來種인 보성종의 2品種을 使用하였고, 梗片採取 時期는 3~6월까지 포장에서 褐變되지 않는 줄기를 採取했으며, 吸枝는 3~4월에 生育이 旺盛한 吸枝를 使用하였다.

滅菌은 挿穗와 吸枝를 0.1% HgCl₂에 5분, 3%

H₂O₂에 10분, 2% NaClO에 20분간, 超音波洗滌機를 利用하여 0.1% HgCl₂에 5분, 3% H₂O₂에 10분, 2% NaClO에 20분간, 0.1% HgCl₂에 5분간 消毒하여 滅菌水로 3회 洗滌한 후 2% NaClO에 20분간 消毒과 3% H₂O₂에 10분간 消毒하여 滅菌水로 3회 洗滌한 후 2% NaClO에 20분간 消毒한 총 8處理하여 滅菌이 끝난 梗片과 吸枝는 滅菌水로 3회 洗滌한 후 치상하였다(표 1). 滅菌效果를 알아보기 위한 梗片과 吸枝의 置床은 0.5~0.7cm 程度를 잘라서 MS³⁾基本培地에 置床하였다.

生長調節劑 處理는 MS³⁾基本培地에 auxin類로 IAA와 NAA를 0.01~0.5mg/l을 使用하였고, cytokinin類로는 kinetin과 BA 0.1~2.0mg/l을 使用하였으며, GA₃는 0.1~0.2mg/l을 다른 種類를 混用하여 使用하였다.

培養條件은 26℃, 16/8hr의 明暗條件으로 하고, 使用된 培地는 MS³⁾基本培地에 3% sucrose, 0.8% agar를 添加하고 pH는 5.8로 調整하였다.

各 處理別 滅菌 效率調查는 培養 2주후 汚染된 個體數와 진한 녹색을 띠고 있는 健全한 梗片을 調查하였고, 培養 4주 후 植物 生長調節 物質의 種類에 따른 新草形成率을 조사하였고, 純化方法은 培養된 幼植物 中에서 튼튼하고 녹색을 띤 健全한 植物體는 發根을 促進하기 위하여 Rooton을 分의한 處理와 NAA를 100ppm, 500ppm, 1000ppm을 30분, 1시간, 3시간, 6시간동안 담근

Table 1. The contamination state of cultured stem node on MS basal medium by a disinfectant system in 2weeks after culture

Disinfectant system	Time of sterilization (min)	No. of explants cultured	No. of explant contaminated	No. of healthy explant	Degree of plant growth
0.1% HgCl ₂	5	100	100	-	- ¹⁾
3% H ₂ O ₂	10	100	100	-	-
2% NaOCl	20	100	88	9	+++
0.1% HgCl ₂ + 2% NaOCl	25	120	104	7	++
3% H ₂ O ₂ + 2% NaOCl	30	120	108	5	++
Ultrasonic cleaner + 2% NaOCl	20	150	5	118	+++
Ultrasonic cleaner + 0.1% HgCl ₂	5	150	7	47	+
Ultrasonic cleaner + 3% H ₂ O ₂	10	150	7	53	++

¹⁾ indicated (-) bad, (+) common, (++) good, (+++) excellent in degree of plant growth

후 床土에 심었다. 床土配合은 버미큐라이트 : 모래 : 황토 = 1 : 1 : 1, 1 : 2 : 1, 2 : 2 : 1의 3가지 比率로 테라늄통에 넣어서 온도는 약 25~30℃, 濕도는 60~80% 範圍의 溫室에서 하였다. 또는 純化苗의 乾燥를 막기 위해서 매일 오전, 오후 2번씩 spray로 床土 表面이 젖어 있게 撒水하였다.

結果 및 考察

1. 消毒方法에 따른 汚染率과 健全植物體

組織培養을 통한 吸枝와 梗片의 滅菌效率과 健全植物體 養成의 效率을 높이기 위한 試驗結果는 표 1에서와 같다. 0.1% HgCl₂, 3% H₂O₂, 2% NaClO를 單用 또는 混用處理 했을 때보다 超音波洗滌機를 이용한 0.1% HgCl₂, 3% H₂O₂, 2% NaClO를 處理하였을 때가 汚染이 5%미만으로써 滅菌效率이 높았고 健全植物體를 양성할 수 있었

을 뿐만 아니라 生育程度도 좋았다.

消毒液 0.1% HgCl₂ 나 3% H₂O₂을 사용하여 滅菌했을 때는 梗片과 吸枝에서 하얗게 변하여 生育程度가 貧弱하였을 뿐만 아니라 汚染率이 높아 차후 모시풀 組織培養 滅菌方法은 0.2% NaClO을 超音波洗滌機를 이용하여 消毒하여 培養하는 것이 바람직할 것으로 判斷되었다.

2. 植物 生長調節劑의 影響

모시풀 梗片培養에 있어서 生長調節劑 處理가 植物體形成 및 캘러스형성에 대한 結果는 표 2와 같다. IAA, NAA, kinetin, BA, GA₃을 混用處理한 結果 NAA 0.02mg/l, BA 1mg/l, GA₃ 0.1mg/l과 NAA 0.02mg/l, BA 1.5mg/l, GA₃ 0.1mg/l를 사용할 때 植物體 形成率이 각각 93%, 96%로서 높았으며, 캘러스는 형성이 되지 않았고, 植物體 生育程度에 있어서는 NAA 0.02 mg/l, BA 1mg/l, GA₃ 0.1mg/l보다 NAA 0.02mg/l, BA 1.5mg/l, GA₃ 0.1mg/l가 진녹

Table 2. The Effect of growth regulator to produce plant from stem node in 4 weeks after culture

Concentration of growth regulator (mg/l)					No. of explants cultured	No. of plant formed	Rate of plant formed (%)	Degree of callus formed	Rate of healthy plant (%)
IAA	NAA	Kinetin	BA	GA ₃					
0.1	-	0.1	-	0.1	157	28	18	++ ¹⁾	18
0.1	-	-	0.1	0.1	128	38	30	++	20
-	0.1	0.1	-	0.1	138	32	23	+	15
-	0.1	-	0.1	0.1	157	82	52	+	21
0.5	-	0.1	-	0.1	150	3	2	+++	0
0.5	-	-	0.1	0.1	146	5	3	+++	0
0.01	-	0.5	-	0.1	167	18	11	+	15
0.01	-	-	0.5	0.1	128	39	30	+	18
0.01	-	-	1	0.1	139	37	27	+	20
-	0.01	-	1	0.1	153	87	57	-	61
-	0.02	-	1	0.1	141	131	93	-	58
-	0.02	-	1.5	0.1	153	147	96	-	93
-	0.02	-	2	0.1	127	108	85	-	86
-	0.01	-	2	0.1	136	108	79	-	62
-	0.01	-	2	0.2	148	104	70	-	23
-	0.02	-	2	0.2	149	142	95	++	25
-	0.03	-	2	0.2	153	146	95	+++	25

1), 2) indicated bad (-), common (+), good (++) , excellent (+++) in degree of callus formation and plant growth, respectively.

Table 3. The Effect of multiplication by a cultural parts in a local and a improved variety

Varieties	Cultural parts	No of explant cultured	No. of plant formed (4WAC) ¹⁾	Rate of multiplication (2MAC) ²⁾	Multiples of propagation (12MAC) ²⁾
Improved variety	Internode	127	113	400	51,827
	sucker	138	83	300	744
Local variety	Internode	137	137	6	514,067
	sucker	78	78	3	1,200

1), 2) indicated Weeks (WAC) and Month (MAC) after culture

Table 4. The acclimatization effect of pretreatment using NAA and Rooton on bed soil which was mixed to ratio of vermiculite : soil : sand = 1 : 2 : 1

Pretreatment		No. of transplanting	No. of living plant	Percentage of living plant
Regent	Time(Hour)			
NAA 100ppm	0.5	200	93	46.5
	1	200	98	49.0
	3	200	91	45.5
	6	200	104	52.0
NAA 500ppm	0.5	250	121	48.4
	1	250	136	54.4
	3	250	141	56.4
	6	250	134	53.6
NAA 1000ppm	0.5	250	207	82.8
	1	250	187	74.8
	3	250	138	55.2
	6	250	141	56.4
Rooton coating		300	134	44.7

색을 띠며 健實하여 바람직하였다. IAA가 0.5 mg/l의 高濃度로 사용하였을 때 캘러스는 많이 형성되었고, IAA 농도가 줄어들수록 캘러스형성이 되지 않아서 모시풀조직배양에 있어서 優良品種 増殖을 위한 組織배양은 IAA를 사용하지 않는 것이 바람직하고, 캘러스를 이용한 器內 突然變異 育種을 할 때는 IAA含量을 늘리면서 植物體를 再生시키는 것이 바람직할 것으로 생각되었다.

3. 培養 部位別 増殖率

모시풀 組織배양에서 改良種과 在來種의 梗片과 吸枝등 培養部位別 増殖效果는 표 3에서 보는 바와 같다. 品種別로는 改良種보다 在來種의 増殖效率이 높았으며, 培養部位 別로는 梗片培養이 吸枝培養보다 높았다. 改良種을 1년동안 増殖할 경

우 梗片培養에서 51,827배가 増殖될 수 있으며, 吸枝培養에서 774배의 増殖을 할 수 있었다.

在來種은 1년동안 増殖할 경우 梗片培養에서 514,067배가 増殖 가능하며, 吸枝培養에서는 1,200배의 増殖效率을 보였는데 在來種이 改良種보다 増殖效率이 높은 것은 在來種 分枝數가 많고 節間이 짧은 특성때문에 起因된 것으로 판단되었다.

4. 組織 培養苗의 純化

組織培養된 苗의 純化를 위해서 培養 1년된 苗를 사용하여 NAA와 Rooton를 處理한 결과와 床土別 純化 效果는 표 4 및 사진 2와 같다.

純化苗의 前處理는 Rooton 분의와 NAA 100, 500, 1000ppm으로 하고 시간은 30분, 1, 3, 6 시

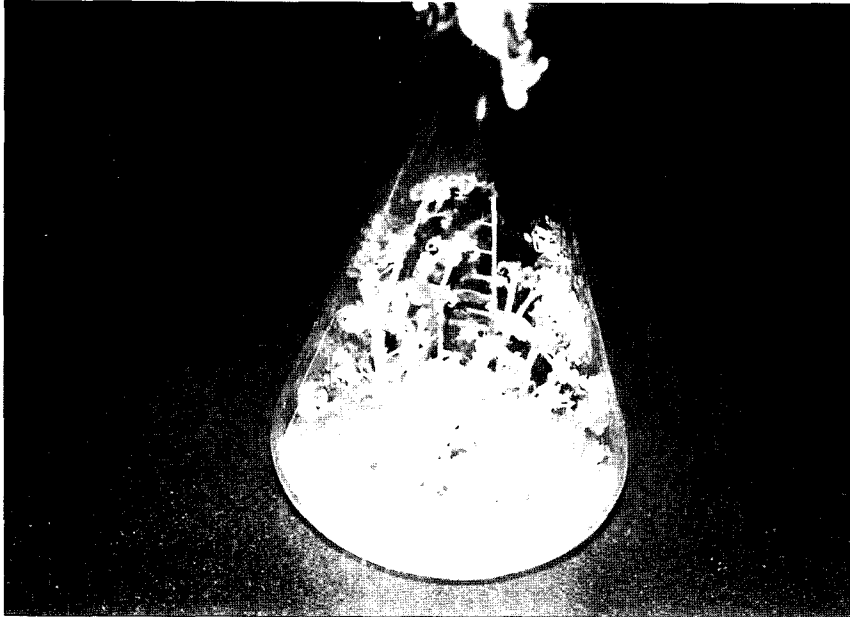


Plate. 1. Multiple shoot induction from stem node of Seobang var. differentiated on MS medium containing 0.02mg /l NAA, 1.5mg /l BA and 0.1mg /l GA₃.

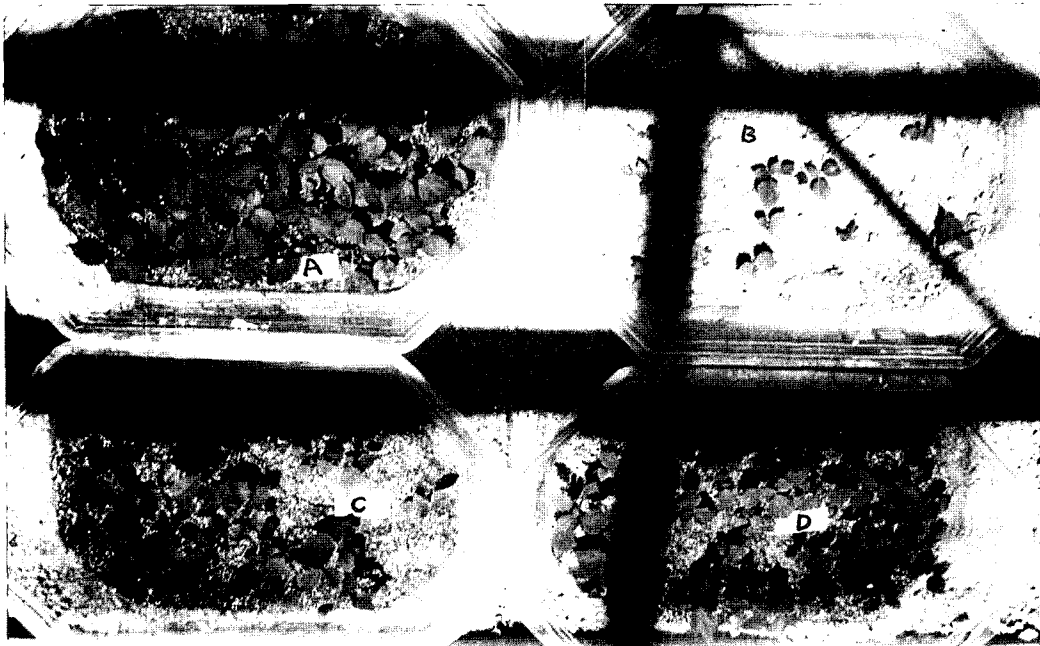


Plate. 2. The healthy plant transferred to the soil pot; the soil pot A (vermiculite : soil : sand = 1 : 1 : 1), B (all soil), C (vermiculite : soil : sand = 1 : 1 : 2) and D (vermiculite : soil : sand = 2 : 1 : 2). All plants were treated in 100 ppm NAA for 30 minute.

간 處理하여 버미큐라이트 : 황토 : 모래 = 1 : 2 : 1로 혼합한 床土에 심었을 때 NAA 100ppm과 NAA 500ppm 處理는 純化率이 50% 내외이고 역시 Rooton 분의 處理는 44.7%였다.

그러나 培養된 幼植物은 NAA 1000ppm 30분 동안 담근 후 버미큐라이트 : 황토 : 모래 = 1 : 2 : 1로 配合된 床土에 심었을 때 83%의 純化率을 나타내었다.

純化苗 發根을 促進하기 위하여 前處理에서 床土의 效果를 알아보기 위하여 NAA 100ppm 농도와 處理時間을 30분으로 하고 다시 純化苗를 100개체씩 在植한 結果 버미큐라이트 : 황토 : 모래 = 1 : 2 : 1로 配合된 床土에서 99%의 높은 純化率을 나타내었다.

모시풀 組織培養묘의 純化時에는 發根促進 物質도 影響을 미치지만 床土配合 즉 토양수분 관리가 중요한 요인으로 생각되었다.

摘 要

모시풀의 梗片과 吸枝의 培養을 통하여 완전한 植物體를 大量增殖하기 위하여 消毒方法과 生長調節劑 處理 效果에 대한 器內培養을 實施하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 모시풀 梗片 培養시 消毒은 超音波洗滌機를 이용한 2% NaClO를 20분 동안 하였을때 汚染率이 3.3%로 가장 낮았으며, 植物體도 79%가 生存하였고, 健實한 苗를 生産할 수 있었다.
2. 生長調節劑 處理效果에서는 NAA(0.02mg/l) + BA(1.5mg/l) + GA3(0.1mg/l) 混合處理가 캘러스 形成이 안되고, 植物體 形成率

96%였으며, 健實한 苗를 生産할 수 있었다.

3. 置床部位別로는 吸枝보다 梗片培養이, 品種別로는 改良種인 서방종보다 在來種인 보성종이 增殖效率이 높았다.
4. 純化 效率은 床土 配合과 호르몬 處理에 있어서 버미큐라이트 : 모래 : 황토 = 1 : 1 : 1의 配合과 NAA 1000ppm을 30분간 담근 후 이식한 純化率이 99%로서 健實하였으며, 植物體는 大部分 正常이었다.

引用文獻

1. Chung, D. H., S. G. Kim, B. S. Kwon and J. J. Hwang. 1993. Effects of gibberellin and atonic acid on growth and fiber yield of Ramie plant. Korean J. Crop Sci. 38(3):213-218.
2. Kim, S. K., J. J. Hwang, D. H. Chung and B. S. Kwon. 1993. Propagation through sucker and stem cutting in Ramie. Korean J. Breed. 25(1): 28-33.
3. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. plant 15:473-497.
4. Son, S. H. and R. B. Hall. 1995. Multiple shoot induction from Ex vitro and In vitro derived stem node culture of *Populus alba* L. × *P. grandidentata* Michx. Korean J. Plant Tissue Culture. 22(3): 131-135.