

# 1장. 식물조직배양의 정의, 목적과 역사

## 1절. 식물조직배양의 정의

식물 조직배양은 많은 세포로 이루어진 식물의 기관, 조직 또는 세포 등을 식물체에서 적출, 분리해서 영양분이 들어있는 기내에서 배양하여 callus나 단세포집단을 유지시키든지, 또는 식물체나 기관을 callus, 세포 등에서 식물체로 재분화시키는 일을 말한다.

그렇지만 배양하는 재료 중에는 식물체조직, 뿌리, 잎, 화기 같은 기관, 식물체의 어린배, 성숙배를 배양, 약내의 미숙 또는 성숙화분에서 반수체의 callus나 식물체를 유지, 암술, 배주, 태좌, 소포자, 2n성의 단세포를 배양 그리고 원형질체만을 분리시켜 배양하기 때문에 배양의 재료나 방법, 배양목적이 다양하고 이에 따라 불리는 것도 여러 가지가 있다. 즉 기관배양, callus배양, 단세포배양, 성장점배양, mericlone배양, 암술배양, 자방배양, 배주배양, 태좌배양, 배유배양, 배배양, 약배양, 화분배양, 소포자 배양, 원형질배양 등 10여 종류가 되고 이밖에 기관의 종류에 따라 잎배양, 경정배양, 화편배양, 엽병배양, 액아 및 유아배양 등으로 불리고 있으나 이 중에는 진정한 의미로 조직배양이 아닌 것도 많지만 이들을 전부 합쳐서 넓은 의미로 조직배양이라고 한다.

## 2절. 식물조직배양의 목적과 특성

### 2-1. 조직배양의 목적

-조직배양은 다음과 같이 재료와 목적에 따라 나눌 수 있다.

#### ① 실생

난과 식물등 무배유종자를 인공배지에 파종하여 발아시켜 1개체의 식물체로 만든다. 난과 식물의 육종에 있어서는 꼭 필요한 육묘기술이다.

#### ② 배배양

배주안의 배를 꺼내어 배양하는 기술로 교잡육종 과정에서 수정배의 퇴화등이 원인이 되어 불임현상을 나타내는 경우가 있다. 또는 감규류에서와 같이 다배성 품종에 있어 서도 이와 같은 원인으로 육종이 곤란하여 수정배를 꺼내어 배양하여 식물체를 얻고 있다.

#### ③ 기관배양

성장점, 줄기, 잎, 구근, 화기(꽃잎, 꽃받침, 수술, 약, 자방, 배주)등 식물체의 각 기관을 배양하여 유전적으로 동일한 개체를 재생시킨다. 주로 영양번식 무병묘의 육성과 육종을 위한 목적으로 이용한다.

#### ④ 조직배양

기관의 일부인 조직을 분리하여 배양하는 경우에는, 배양이 곤란하며 성장점 배양과 같이 성장점 분열조직만 배양해도 거의 성공하지 못하므로 엽원기를 함유한 조직을 배양하여 성공시킨다. 또한 배양에서 얻은 캘러스를 분화시켜 식물체로 재생하기도 하며 무병주 생산, 변이체의 유지 등의 목적에 이용된다.

#### ⑤ 세포배양

캘러스를 액체 진탕 배양하면 세포를 유리시키거나, 원형질체를 배양하거나, 체세포의 융합에 의해 새로운 개체의 육종을 시도한다.

## 2-2. 식물조직배양의 장단점

### <식물조직배양 장점>

#### ① 공간의 효율적인 이용

배양용기 안에서 많은 식물체를 다량으로 수용할 수 있고 생산할 수 있으므로 파종상자나 화분 에서 재배하는 것보다 면적이 훨씬 줄어들어 온실공간을 절약할 뿐 아니라 에너지 절약차원에 서도 유지비용 등을 절약할 수 있다.

#### ② 최적환경조건

기내에서의 조건은 양분조건, 성장조절제 및 생육환경조건 등이 작물생육에 적합하여 번식 속도가 빠르다. 특히 조직의 일부에서 기관분화를 유도하여 새로운 개체의 증식 또한 가능하다

#### ③ 무병식물체의 생산

균류, 세균, 바이러스 등의 모든 미생물과 고등식물에 번식하는 해충, 곤충, 선충 등이 모두 제거되어 무병식물체의 생산이 가능하다. 더욱이 바이러스 등에 이미 오염된 식물에서도 분열 조직을 배양하면 무병식물체를 생산할 수 있다.

#### ④ 식물체의 모든 부분을 이용 가능

원형질체나 세포를 독립적으로 자랄 수 있게 하여 이전에는 불가능 하였던 식물체의 작은 부분까지도 증식이 가능하다.

#### ⑤ 유성기(幼性期)의 회복

기내배양에서는 노화된 조직의 회춘(回春)이 가능하므로 생체에서 번식될 수 없는 식물도 번식할 수 있다.

#### ⑥ 기내(器內)에서의 배양

기내라는 말은 배양초기에 유리용기가 사용되었기 때문에 유리안(in glass)이라는 의미에서 유래 되었다. 어쨌든 실내에서는 계절의 영향을 받지 않고 실내에서도 일정한 환경조건에서 배양되므로 균일한 식물체의 생산이 가능하고 연중 노동력을 계속 이용할 수 있다.

#### ⑦ 비정상적으로 발달

조직이 배지에 접촉되면 식물체의 일반적인 발달양상이 나타나지 않고 캘루스를 형성하거나 비정상적인 방향 즉 기관형성 또는 체세포 배형성(somatic embryogenesis)등으로 진행된다.

#### ⑧ 우수 품종의 대량 복제

좋은 조건의 생산성을 지닌 품종을 복제하여 같은 형질을 지니는 우수 품종을 대량으로 생산할 수 있다.

#### ⑨ 2차 대사물의 생산

식물은 성장, 발육 및 생식과정과 같이 생존에 필수적인 물질 이외에 수천 가지의 부수적인 천연산물을 생산하는데, 이를 식물의 2차 대사산물이라고 한다. 이 중에는 의약, 염료, 시약 및 공업원료 등으로 쓰이는 고가의 물질들이 많다. 이러한 성분들을 생물반응기 등의 특수한 조직배양 방법을 통하여 대량으로 생산하고자 하는 연구가 많이 진행되고 있으며, 이미 대규모 생산체제에 돌입한 경우도 있다

#### ⑩ 대량 급속 증식

식물의 조직배양이 원예 산업에서 가장 많이 활용되는 분야는 영양번식 작물의 대량 급속 증식이다. 감자, 카네이션, 사과, 등 영양기관으로 번식하는 원예 식물들은 유전적으로 상당

히 이형접합적(heterozygous)상태여서 이들 개체들로부터 종자를 받아 심으면 후대에서는 품종의 고유 특성이 없어지고 아주 잡박하게 된다.

#### <식물조직배양 단점>

기내번식을 이용하기 위해서는 어떤 단점도 나타나지 않도록 주의해야 되겠지만 경우에 따라서는 식물체 본래의 특성상 아래와 같은 단점이 1개 이상 나타날 수도 있으므로 상업적인 농장에서는 사용재료의 선택 또는 배양조건에 대하여 주의하여야 하겠다.

1. 배양중에 돌연변이가 발생하여 초기재료의 형질을 잃어버릴 수도 있다.

변이체 발생 : 유전적 변이(유전적으로 불안정하기 때문에 일어난다), 표현형적 변이(조직 배양을 통해 재분화된 식물체에서 여러 가지 표현형적으로 변이가 발생됨), 염색체 수준에서의 변이, 유전자 발현과 변이

발생 조건 : 배양재료의 영양, 배양재료의 형태(원형질체 세포에서 가장 심하고 기관이나 조직 빈도의 변이는 적다), 재료의 기원

2. 기내에서 번식된 식물체는 측아(側芽)만 생산하여 수풀형(bush)으로 되거나 유성기(juvenile phase)로 되돌아갈 수 있다

3. 식물에 따라 뿌리의 형성이 어렵고 뿌리가 발생되었더라도 토양으로 이식된 후에 제 기능을 발휘하지 못하기 때문에 활착이 어렵다.

4. 어떤 식물에서는 기내에서 토양으로 이식하는 과정에서 많이 죽는다.

5. 기내에서 번식된 영양계가 토양에 이식될 때 병원체의 침해를 받기 쉽다.

6. 분화능력의 소실

계대배양을 계속할수록 분화능력은 점차 저하한다. 당근의 뿌리에서 캘러스에서는 약 1년, 완두콩의 뿌리에서는 2년 반, 담배 뿌리에서는 1년 반으로, 뿌리를 분화하지 않게 되다는 보고가 있다. 원인에 대해서는 알 수 없지만 염색체수의 변화와 관계가 있을지도 모른다.

7. 세포의 응집

세포를 배양하면 세포들이 서로 응집하여 세포의 생장이나 분열에 필요한 양분이나 화학물질이 모든 세포에 고르게 침투하지 못하게 된다. 따라서 키메라 캘러스가 형성되고 그로부터 재분화된 식물체는 키메라 식물이 되어 선발에서 어려움이 생기며, 그의 조작도 어려워지게 된다.

8. 한 세대 기간에서의 문제

대장균의 경우 배양 조건이 양호할 경우 세포의 주기가 20분 정도이며, 효모의 경우에도 세포주기는 90분 정도인데 비해 배양 식물 세포의 경우 그 주기가 보통 30시간이나 된다. 더구나 캘러스로부터 완전한 식물체의 재분화 과정에서 여러 주일이 소요되기 때문에 배양 기간 단축도 큰 문제로 대두되고 있다.

### 3절. 식물조직배양의 발전사

1838년 schwann과 schleiden은 세포의 전형성능(totipotency)의 이론을 제시하였는데 이것은 원칙적으로 세포가 자율성이고 완전한 개체로 재생할 수 있음을 의미하는 것이며 이 이론은 후에 식물의 세포와 조직배양의 토대가 되었다. 조직배양의 역사를 시기별로 살펴보면 다음과 같다.

년도	학자	내용
1838	Schleiden	세포가 자율적인 능력이 있으며 세포자체가 전형성능(totipotency)을 지니고 있다는 이론을 제시 (전형성능: 세포로부터 완전한 식물체로의 재생)
1839	Schwann	
1892	Sachs	식물체는 기관을 형성하고 물질을 합성하고 이들을 극(極)으로 분포시킨다.
1902	Haberlandt	식물조직배양을 처음으로 시도했으나 실패
1904	Hannig	선발된 가지과 식물의 배배양을 처음 시도
1907 ~ 1909	Harrison, Burrows, carrel	기내에서 동물과 인간의 조직을 배양하는데 성공. 2차 대전 이후에 이 분야에서의 발전이 급속히 이루어져, 특히 농업, 임업, 원예에서 중요한 결과가 많이 발표됨. 식물조직배양이 동물과 인간조직배양에 비해 뒤떨어졌는데, 그 이유는 성장조절제가 늦게 발견되었기 때문.
1909	Kuster	식물원형질체의 융합에 성공하였으나 생성물은 얻지 못함.
1921	Haberlandt	배추 속 식물의 줄기를 절단하여 배양하면 절단부위의 세포분열에 의해 세포괴가 형성된다는 것을 관찰 이세포괴를 캘러스(callus)라고 명명
1922	Knudson	난 종자가 기내에서 비공생적으로 발아
1925	Laibach	아마(linim)의 종간교잡(種間交雜)
1934	White	토마토 뿌리배양에 성공
	Gautheret	몇 종의 나무와 관목의 형성층 조직을 기내배양하였으나 옥신이 아직 발견되지 않아서 실패
1939	Gautheret, nobecourt, White	형성층 조직배양에 성공(이러한 절편체로부터는 세포들이 기관화되지 않고 캘러스를 형성, 진정한 의미에서 조직배양의 성공), 식물조직배양용 배지에 IAA를 첨가하여 당근에서 캘러스를 무한정 성장시킬 수 있었음
1940	Gautheret	느릅나무의 형성층 조직을 기내배양하여 부정아의 형성을 연구
1941	Braun	근두암종(根頭癌腫)조직의 기내배양
1944	Skoog	담배의 기내배양을 처음 실시하여 부정아 형성에 관한 연구
1946	Ball	루핀과 한련 식물체의 경단에서 처음 온전식물체 형성
1948	Skoog, Tsui	담배의 부정아와 부정근 형성에 옥신과 아데닌의 비율 측정
1950	Ball	sequoia sempervirens의 callus조직에서 기관재생
	Morel	코코넛 밀크를 이용하여 단자엽 식물의 배양에 성공
1952	Morel, Martin	Dahlia를 분열조직 배양하여 바이러스 무병개체를 얻음
1954	Muir	단일세포에서 식물체 재생
1955	Miller, Skoog	kinetin을 발견하고 이것이 세포분열 호르몬임을 확인
1956	Tulecke, Nickell	다중현탁배양장치를 이용하여 배양을 성장시키고 2차 생성물질 생성
1957	Skoog, Miller	auxin/Cytokinin을 변화시킴으로써 기관형성(뿌리, 줄기, 눈)을 조절할 수 있다는 사실을 발견, 옥신은 뿌리형성을 유도하고 Cytokinin은 눈의 발생을 유도한다는 사실이 알려짐

1960	Morel	경정배양에 의한 난의 영양번식
1962	Murashige, Skoog	Murashige와 Skoog배지의 개발(MS배지)
1964	Guha, Maheshwari	화분립에서 생산된 최초의 반수체 독말풀(Datura)식물체 생산
1967	Bourgin, Nitsch	담배의 화분립에서 반수체 식물체 얻음
1970	Power	원형질체를 최초로 융합
1971	Takebe	원형질체로 부터 처음 식물체 재생
1974	Zaenen, Larebeke 등	<i>Agrobacterium</i> 의 <b>Ti-plasmid</b> 가 종양을 유도하는 효소임을 발견
1976	Seibert	Carnation의 냉동 보존된 경단에서 싹이 출현
		Octopine과 Nopaline의 합성과 분해가 <i>Agrobacterium Tumefaciens</i> 의 <b>Ti-plasmid</b> 에 의하여 유전적으로 지배되는 것을 발견
1977	Chilton 등	<i>Agrobacterium Tumefaciens</i> 에서 나온 <b>Ti-plasmid</b> DNA를 식물체 속에 편입시키는 데 성공
1978	Melchers 등	토마토와 감자의 체세포잡종
1982	Zimmermann	전기자극으로 원형질체 융합
1987		유체에 microinjection에 의한 형질전환
1988		soybean에 particle gun에 의한 형질전환