

수선화 구근의 기내배양시 성장조절제의 조직별 재분화와 뿌리 형성에 미치는 효과

김 영희

상명대학교 공과대학 생명정보공학과

e-mail: ykim@smu.ac.kr

Effect of growth regulators on shoot regeneration and root formation during *in vitro* culture of bulb segments from *Narcissus* (cv. *Dutch Master*)

Younghee Kim

Dept. of Biotechnology and informatics,

College of Engineering, Sangmyung University,

요약

본 연구는 수선화 구근의 각 조직으로부터 기내배양시 캘러스형성과 신초재분화를 위한 성장조절제의 효과를 측정하기 위하여 시행되었다. 신초형성과 callus의 형성은 기저부를 포함하는 floral axis에서 50%의 신초발아율을 관찰하였고 scale에서는 신초형성이 거의 관찰되지 않았다. 그리고 floral axis만을 치상한 경우는 아주 저조한 신초형성율이 관찰되었다. 기저부를 포함한 floral axis의 신초형성은 callus의 형성과 같은 NAA 0.5 mg/L과 BA 1.0 mg/L을 포함하는 MS 배지에서 만족할만한 결과를 얻었다. 신초형성으로부터 모든 신초가 형성되기까지는 약 140일이 소요되었다. 신초가 형성된 구근조직을 NAA 5.0 mg/L과 TDZ 0.02 mg/L을 포함하는 뿌리유도 MS배지에서 뿌리가 유도되는 결과를 얻었다. 본 실험에서는 수선화의 재 분화에 있어서 구근의 조직에 따라 신초형성이 다르게 나타남을 발견 할 수 있었다.

1. 서론

수선화는 구근이 어느 정도의 크기가 되지 않고서는 모구 옆에 분리된 자구를 형성 할 수가 없는 경우가 많다. 결국 수선화의 구근 인편은 튕립의 경우처럼 한해가 경과함에 따라 없어지는 것이 아니라 그 다음해까지 그대로 있다가 생장점에서 새로 생육하기 시작한다. 수선화는 구근저장기간중 가을에 심기 전

에 화아분화가 구근 속에서 일어난다.

번식에 있어 위와 같은 특징을 가지고 있는 수선화는 추식구근류로서 자연계에서 많은 번식을 하지 않으며, 번식시키기에도 다른 식물과 비교하였을 때 까다로운 식물체이다. 특히 수선화는 번식시키는데 시간이 많이 소비되며, 번식시키기에도 번거로움이 많기 때문에 조직배양을 통하여 짧은 기간에 수선화의 대량번식을 확립하여야한다. 그리하여 본 실험실에서

는 수선이 가지고 있는 향유물질을 분리하여 고부가 가치 산업에 응용하여 산업적으로 이용 할 수 있게 하고자 한다. 따라서 본 연구에서는 먼저 수선화구근의 배양부위에 따른 소자구 형성 비율을 구명하고자 연구를 실시하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. callus와 신초유도

구근의 외부껍질을 적당히 벗겨내고 90%의 에탄올과 50%의 calcium hypochlorite (w/v) 용액에 10분과 20분 동안 침지한 후 clean bench에서 멸균수로 3회 헹궈 준 후, callus 유도를 위하여 MS (Murashige and Skoog 1962) 배지에 NAA 농도를 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/L을 BA 농도를 0, 1.0, 2.0 mg/L과 함께 조합하여 첨가하였다 (Gray and Benton 1991). 조직의 절편은 기저부가 포함된 floral axis, floral axis, scale을 6 mm씩 메스로 섬세하게 자른 후 조직별로 callus를 유도하였다. callus 유도 후 신 초 유도를 위하여 상기에서 처리된 동일한 방법으로 NAA농도를 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mg/L을 BA 0, 2.0, 1.0, 1.5, 0.5 mg/L농도와 함께 조합하여 첨가하였다. 배양조건은 1600 Lux의 형광등 하에서 명조건으로, 온도는 25℃가 유지되는 배양실에서 배양하였다. 또한 2주에 한번씩 식물의 영양상태를 고려하여 배지를 새로운 것으로 교체하여 주었다.

2.2. 발근유도

NAA와 BA를 처리하여 신초유도배지에 구근의 각 조직을 치상 후 약 140일 후 모든 신초가 유도된 것을 확인 후 신초가 유도된 구근조직을 MS 배지에 NAA 호르몬을 5.0 mg/L농도로 고정시키고 TDZ (Sigma)의 농도를 달리하여 뿌리를 유도하였다. TDZ의 적절한 농도 선택을 위하여 6종류의 농도 (0, 0.01, 0.02, 0.03, 0.05, 0.1, and 0.2 mg/L)로 처리하여 치상하였다. 배양은 25℃로 조절되는 배양실에서 1일 16시간 1600 Lux의 조명 하에서 배양하였다. 배양 3주 후 유도된 뿌리와 길이를 조사하였다

3. 결과 및 고찰

3.1. 구근조직 부위별 callus 유도 및 신초 재분화

구근 조직의 절편은 에탄올로 소독 후 기저부가 포

함된 floral axis를 6 mm씩 메스로 섬세하게 자른 후 callus유도배지 (MS)에 치상하여 주었다. callus 유도배지는 식물호르몬을 처리한 배지에서 30일 후 기저부를 포함한 floral axis에서 callus가 유도되었다 callus의 외형은 점액성을 지녀 부스러지기 쉬운 작은 모래알갱이 집단 모양으로 나타났고 callus의 출현은 조직을 식지한 배지에 따라 다소 차이는 있었으나 최초의 callus는 구근조직을 식지 한지 30일경에 식물호르몬 NAA 0.5 mg/L과 BA 1.0 mg/L을 조합 처리한 배지에서 관찰되었다. NAA와 BA의 농도의 조합을 달리하여 첨가한 15종류의 배지에서 각기 다른 callus의 유도현상을 나타내었다. 배양에 사용한 15종류의 배지중 NAA 0.5 mg/L과, BA 1 mg/L을 첨가한 배지에서 유기된 최초의 callus를 뚜렷하게 관찰할 수 있었고, NAA 0.5 mg/L과 BA 2.0 mg/L을 포함한 배지와, NAA 1.0 mg/L과 BA 1.0 mg/L, NAA 1.0 mg/L과 BA 2.0 mg/L, NAA 1.5 mg/L과 BA 1.0 mg/L, NAA 1.0 mg/L과 BA 2.0 mg/L에서 희미하게 최초의 callus를 관찰할 수 있었다. 그리고 40일 경에 NAA 0.5 mg/L과 BA 1.0 mg/L이 처리된 배지에서 callus가 최고로 많이 관찰되었으며 50일과 60일 경과 후 callus의 증식이 약간 둔화되었다. 특히 구근의 기저부를 포함한 floral axis에서는 높은 농도의 NAA와 BA는 callus의 증식에 별 효과가 없음을 알 수 있었다. 이러한 callus유도의 결과는 NAA와 BA의 두 가지 호르몬 조합의 결과는 낮은 농도에서 callus증식에 보다 효과적임을 알 수 있었다.

신초 재분화를 하기위하여는 배지 중에서 가장 callus가 왕성하게 증식된 NAA 0.5 mg/L과 BA 1.0 mg/L을 처리한 배지로부터 신초유도배지로 이식한 결과 140일 후 녹색으로 변한 표면으로부터 신초를 관찰 할 수 있었으며, 신초유도배지에서 20일이 경과 되었을 때는 지상부 잎이 자라는 것을 관찰할 수 있었다. 신초 재분화도 callus유도에 대한 성장조절제의 효과와 동일하게도 NAA 0.5 mg/L과 BA 1.0 mg/L이 첨가된 배지에서 가장 잘 일어났으며 NAA의 첨가는 0.5 mg/L의 낮은 농도가 효과를 나타내었으나 높은 농도인 1.5 mg/L의 농도에서는 아주 낮은 영향을 나타내었다. 이러한 효과는 cytokinin 종류인 BA는 기관분화나 재분화유도시 증추적인 역할을 하며, 특히 callus유도에 중요한 영향을 미친다고 여겨진다. 그리고 auxin류인 NAA는 낮은 농도에서는 기관분화나 재분화에 효과적인 수행을 하나 높은 농도에서는 오히려 저해현상을 나타내는 것으로 여겨진

다.

3.2. TDZ의 뿌리유도효과

신초와 함께 뿌리유도를 위해서 배지를 NAA 성장 조절제를 5.0 mg/L로 고정한 후 TDZ의 농도를 달리 배합하여 6종류의 뿌리유도배지로 신초유도배지를 교체하였다. 결과적으로 10일 후에 뿌리가 형성되었으며, 20일 후에는 절편에 따라 발근이 자리를 잡기 시작하였고 뿌리의 발근과 함께 형태적으로 신초도 더 건실함을 관찰할 수 있었다. NAA와 TDZ가 조합된 배지에서 NAA 5.0 mg/L과 TDZ 0.02 mg/L이 첨가된 배지에서 가장 높은 발근율을 보여주었다. 발근유도를 위한 MS배지조합에 있어 NAA성장조절제의 농도별 처리는 뚜렷한 효과는 없었으나 고농도로 갈수록 절편당 유도되는 뿌리의 수가 증가하여 5.0 mg/L에서 NAA농도를 고정하였다. 뿌리의 유도는 대체로 TDZ 0.01 mg~0.05 mg/L범위에서 양호하였으며 뿌리의 유도와 신장은 TDZ 농도가 증가할수록 저조한 경향을 보였다. 앞으로 우리는 수선화의 조직부위 뿐만 아니라 배지의 호르몬 조건을 여러 조건으로 관찰할 수 있도록 실험을 수행 할 것이다.

4. 참고문헌

- [1] George EF, Sherrington PD., Plant propagation by tissue culture. Easten press Ltd, England. pp 393-394, 1984.
- [2] Gray DJ, Benton CN., *In vitro* micropropagation and plant establishment of muscadine grape cultivars (*Vitis rotundifolia*). Plant Cell Tiss Org Cult 27:7-14, 1991.
- [3] Hank GR., Narcissus bulb morphology and twin-scale propagation. Acta Hort 177:309-313, 1986.
- [4] Homma Y, Asahira T., New means of Phalaenopsis propagation with internode section of flower stalk. J Jap Soc Hort Sci 54:379-387, 1985.
- [5] Hosoki T, Asahira T., *In vitro* propagation of Narcissus. J Amer Hort Sci 15:602-603. 1980.