

## 미숙화기와 액아에 의한 네오레게리아의 기내 번식

정향영\* · 박봉규<sup>1</sup> · 유창재<sup>2</sup>

원예연구소, 공주대학교, 경기농촌진흥원

### In Vitro Propagation of *Neoregeria carorinae* cv. Tricolor from Immature Flowers and Lateral Buds

Hyang Young JONG\*, Bong Kyu PARK<sup>1</sup>, Chang Jae YU<sup>2</sup>

National Horticultural Research Institute. R.D.A., Suwon, 440-310;

Kongju University, Yesan, 314-701; and Kyonggi Provincial R.D.A., Hwasong, 445-970. \*Corresponding author.

Immature flowers and lateral buds of *Neoregeria carorinae* cv. Tricolor were cultured for micropropagation and the collecting times of materials, growth regulators and their concentrations, and cultural methods on the formation of adventitious buds and growth were investigated in this experiment. The formation rate was the highest in immature flowers collected at 4 weeks after flower bud differentiation and in buds at 7 weeks after flower differentiation of adventitious buds. MS medium supplemented with 1.0 mg/L BA and 0.5 mg/L IBA was the most favorable for the formation of adventitious buds. Solid medium was more effective for the formation of adventitious buds than liquid one. MS medium with 1.0 mg/L NAA was the most suitable for the rooting of regenerated shoots. Liquid medium was effective for the rooting of regenerated shoot than solid one.

key words: cultural materials, growth regulators, micropropagation

네오레게리아는 파인애플과에 속하는 다년생 초화로서 착생식물이며, 브라질이 원산지이고 약 50여종이 자생하고 있다(Briggs and Calvin, 1987). 중심부분에 물이 고여 있고 양분흡수는 뿌리보다는 식물체 중심부의 잎내부에서 하며 뿌리는 식물체를 지탱하는 역할만 한다(細谷, 1987).

꽃은 중앙부의 잎이 붉은색으로 물들면서 중심부에서 원통으로 꽃대가 올라와 개화하는 두상화서로 보라색 꽃이 피며, 꽃보다는 주로 잎이 관상의 대상이 된다(東夏川, 1971).

번식은 개화가 종료된 후, 잎의 기부에서 신초가 발생하면 그것을 키워 분주에 의한다. 주당 년간 2~3개 정도의 번식이 가능하나 채취한 묘는 크기가 균일하지 않으며, 다량의 균일한 묘를 얻기 위해서는 많은 모본이 필요하다. 또한 최근 대만으로 수출이 되고 있으나, 일시에 다량의 균일한 묘를 얻기가 어려워 수출에 많은 어려움이 있다.

네오레게리아의 대량번식에 관한 연구는 거의 없고 파인애플과인 *Ananas*, *Quesneia*, *Vriesea*, *Aechmea*의 대량번식에 관한 연구가 이루어졌으며 이들 문헌에서는 주로 액아를 실험재료로 이용하고 있다(Hirimburegame and Wijesinghe,

1992; Hosoki and Asahira, 1980; Mekers and Van Onsem, 1983; Wakasa, 1979; Zepada and Sagawa, 1981; 細木, 1981). 그러나 기부가 늘 물속에 잠겨 있어 오염이 심한 문제점이 있다.

따라서 본 실험은 네오레게리아를 대량번식하기 위해, 화기와 액아를 이용하여 배양에 적합한 재료의 채취시기 및 생장조절제의 종류와 농도 등을 구명하고 액체배양의 이용 가능성을 검토하고자 실시하였다.

### 재료 및 방법

공시품종은 네오레게리아 캐롤리나에 '트리칼라' (*Neoregeria carorinae* cv Tricolor)를 사용하였다.

재료의 채취시기 및 배양절편체가 부정아의 형성에 미치는 영향을 조사하기 위해 생육단계를 6단계로 나누어 화아 분화기로부터 I: 내부의 잎이 물들기 시작하는 단계(화아 분화 초기단계), II: 내부의 잎이 붉게 물든 단계(화아분화 3주후), III: 화아가 신장한 것이 육안으로 보이는 단계(화아

분화 4주후), IV: 화아가 신장하여 포엽이 터지기 직전 단계(화아분화 5주후), V: 화아가 신장하여 포엽이 터지는 단계(화아분화 6주후), VI: 화아가 신장하여 개화가 되기 직전 단계(화아분화 7주후)로 나누어 미숙화기와 액아를 채취하였다. 미숙화기는 포엽이 싸인 상태로 하고, 액아는 기부를 붙인 상태로 채취하여 NaOCl 1.7%액에 20분간 소독한 다음 무균상내에서 멸균수로 2~3회 세척하여 재료를 소독하였다.

미숙화기는 2~3개의 자방이 포함되도록 하여 약 0.5cm 크기로 하여 집중하였고, 액아는 외엽을 2~3매 제거한 후 시험관에 1개씩 집중하였다. 배지는 MS 기본배지 + BA 1 mg/L + IBA 0.5 mg/L + 한천 0.7% + sucrose 3%, pH 5.8 인 배양액을 사용하였으며, 폭 25mm, 길이 10cm 크기의 시험관에 배지를 10 cc씩 분주하였다. 반복은 처리당 시험관 10개로 하였으며, 완전 임의배치를 하여 배양 90일후에 부정아 형성수를 조사하였다.

대량의 부정아 유기에 미치는 생장조절제 종류와 농도를 구명하기 위해 MS 기본배지에 IBA와 BA를 농도별로 혼용 처리하였고, 기내에서 번식된 신초를 한개씩 절취하여 시험관에 1개씩 집중하였다. 처리당 25반복으로 완전 임의배치하여 배양 75일후에 부정아 형성수, 엽수, 최대엽장, 최대엽폭을 조사하였다.

발근에 적합한 오옥신의 종류와 농도를 구명하기 위해 MS배지에 IAA, NAA, IBA를 농도별로 첨가하여 액체배양하였으며 처리당 20반복으로 완전임의배치를 하였다. 배양 후 75일에 근수, 최대근장, 엽수, 최대엽장, 액아수를 조사하였다. 배양방법이 부정아 형성 및 발근에 미치는 영향을 조사하기 위해 고체배양(한천 0.7%)과 액체배양으로 나누어 배양하였다. 부정아를 형성시키기 위한 배지는 MS + BA 1.0 mg/L + IBA 0.5 mg/L을 사용하였으며, 고체배지는 25반복, 액체배지는 20반복으로 완전 임의배치를 하였고, 배양 45일후 부정아 형성수, 엽수, 최대엽장, 최대엽폭을 조사하였다.

부정아의 발근을 위한 배지는 MS 기본배지에 NAA 1 mg/L이 첨가된 배지를 사용하였으며, 시험관에 유식물 한개씩 뿌리를 제거후 집중하여 75일후에 근수, 최대근장, 엽수, 최대엽장, 액아수를 조사하였다. 처리당 20반복씩 완전 임의배치를 하였다. 배양은 온도  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 조절되는 배양실에서 광도 2,000lx로 16시간/일 조명하면서 배양하였다.

## 결과 및 고찰

네오레게리아의 화기와 액아의 채취시기가 부정아 형성에 미치는 영향은 Table 1과 같다. 화기를 이용할 경우 III 단계(화아분화 4주후) 즉 화아가 신장한 것이 육안으로 보이는 단계가 31.1%로 가장 부정아 형성률이 높았고, IV단계

**Table 1.** Effect of time of collecting flower and lateral buds on the adventitious-buds formation in *Neoregeria carorinae* cv Tricolor.<sup>a, b</sup>

Explant	I July 18	II July 30	III August 6	IV August 13	V August 20	VI August 27
Flower bud	6.7	18.9	31.1	8.9	5.6	0.0
Lateral bud	1.1	1.1	7.8	4.4	13.3	24.4
Total	7.8	20.0	38.9	13.3	18.9	24.4

<sup>a</sup>Medium: MS + 0.5 mg/L IBA + 1 mg/L BA

I: Inner leaves begin to be red (First stage of flower bud differentiation), II: Inner leaves became red (3 weeks after flower bud differentiation), III: Elongated flower bud can be showed (4 weeks after flower bud differentiation), IV: Flower buds were elongated before opening of bracteal leaves (5 weeks after flower bud differentiation), V: Flower buds were elongated and bracteal leaves begin to open (6 weeks after flower bud differentiation), VI: Flower buds were elongated before flowering (7 weeks after flower bud differentiation).

**Table 2.** Effect of IBA and BA on the formation and growth of adventitious buds in *Neoregeria carorinae* cv Tricolor after 75 days in culture.<sup>a</sup>

Treatment (mg/L)	No. adventitious shoots / explant	No. leaves / explant	Length of the largest leaf (cm)	Width of the largest leaf (cm)
Control	2.80 b	13.76 ab	1.81 a	0.19 ab
IBA 0.5+BA 0.5	3.56 b	16.10 ab	1.59 ab	0.22 a
IBA 1+A 0.5	2.96 b	13.80 ab	1.25 bc	0.19 ab
IBA 0.5+BA 1	5.16 a	17.36 a	1.31 bc	0.18 ab
IBA 1+BA 1	3.36 b	12.72 abc	1.29 bc	0.22 a
IBA 0.5+BA 2.5	3.44 b	13.80 ab	1.08 cd	0.23 a
IBA 1 +BA 2.5	2.12 b	8.32 c	0.74 d	0.15 b
IBA 0.5+BA 5	2.96 b	11.80 bc	1.08 cd	0.20 a
IBA 1 +BA 5	3.20 b	12.36 bc	1.10 cd	0.22 a

<sup>a</sup>Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

(화아분화 7주후) 즉 꽃이 피기 직전의 화기는 전혀 부정아가 형성되지 않았다. 액아를 이용할 경우는 화아분화 7주후, 식물체가 늙을수록 신초의 형성률이 높았다. 따라서 네오레게리아를 대량번식할 경우, 화기는 III 단계(화아분화 4주후)의 화기를 배양하는 것이 가장 좋았으며, 액아는 VI 단계(화아분화 7주후)에서 채취하여 배양하는 것이 부정아 형성률이 가장 높았다. 대량의 부정아 형성 및 생장에 미치는 생장조절제 종류와 농도는 Table 2와 같다.

MS배지에 BA 1 mg/L + IBA 0.5 mg/L을 첨가한 배지가 부정아 형성수가 5.16개로 가장 많았고 생장도 양호하였다. 또한 BA 2.5 mg/L + IBA 1 mg/L을 첨가한 배지에서는 부정아 형성수가 2.12개로 가장 적었고 신초의 생육도 가장 나빴다(Figure 1).

Aechmea, Vriesea, Qesneliana 등의 배양에서 부정아 형성

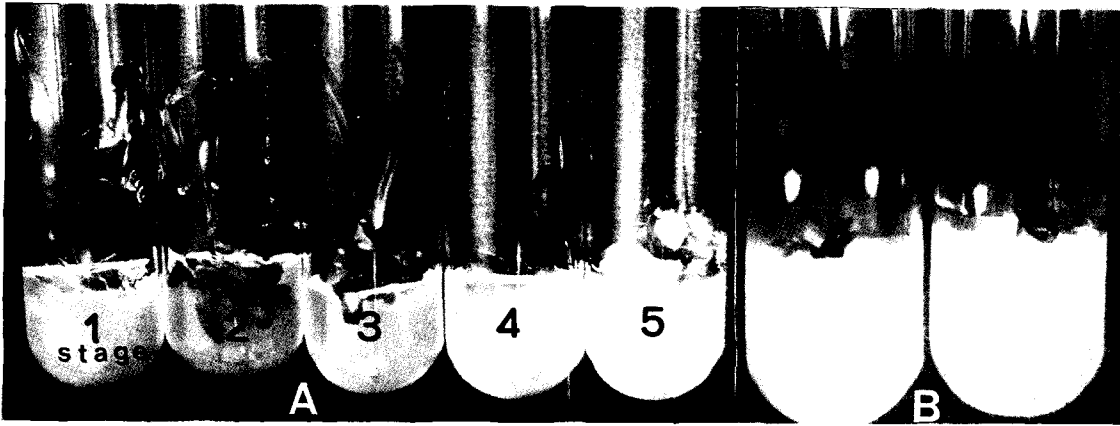


Figure 1. Growth of adventitious bud in collecting time of immature flower bud (A) and lateral bud (B) at 75 days after culture of *Neoregeria*.

Table 3. The formation and growth of adventitious of *Neoregeria carorinae* cv Tricolor as influenced by cultural methods after 45 days in culture.<sup>a,b</sup>

Cultural method	No. adventitious shoots / explant	No. leaves / explant	Length of leaf	Width of leaf
Solid culture	3.00	5.8	1.2	0.18
Liquid culture	0.95	3.5	0.8	0.12
LSD 0.05	1.05	2.03	0.49	N.S.

<sup>a</sup>Medium : MS + 0.5 mg/L IBA + 1.0 mg/L BA.



Figure 2. Liquid (left) and Solid (right) media in mass propagation of *Neoregeria*.

에 적합한 배지는 MS + BA 1 mg/L + NAA 1 mg/L이다. 3개월에 신초당 4~8개의 증식이 가능하다(Hosoki and Asahira, 1980). 본 실험에서도 75일에 신초당 5.1개의 증식이 가능하여 이들의 결과와 비슷한 경향이었다. 또한 *Ananas comosus*의 액아배양에서 BAP 10<sup>-5</sup>M + IAA 10<sup>-6</sup>M이 첨가된 배지가 신초의 대량번식에 효과적이고(Hirimburegama and Wijesinghe, 1992), 고농도의 cytokinin은 체세포 변이를 일으킬 확률이 높다(George and Sherrington, 1984). 그러므로 파인애플과 식물의 대량번식에 적합한 성장조절제 종류와 농도는 BA 1 mg/L + IBA, NAA, IAA 0.5~1 mg/L이라 생각되었다.

Table 4. Effect of auxin on the growth and rooting of shoots of *Neoregeria carorinae* cv Tricolor on liquid media after 75 days in culture.<sup>a</sup>

Auxin (mg/L)	Ratio of rooting(%)	No. roots /plantlet.	Length of the largest root	No.leaves	length of the largest leaf	No. lateral bud
Control	85	3.9 cd	1.90 a	17.3 a	3.8 d	3.10 a
IAA 0.5	80	3.4 d	1.49 ab	15.9 ab	3.19d	2.50 ab
" 1	85	4.4 bcd	1.82 ab	15.9 ab	4.4 bcd	2.75 a
" 2	95	5.9 ab	1.47 ab	15.2 ab	4.2 bcd	2.55 ab
NAA 0.5	95	5.4 abc	1.41 ab	17.4 a	4.0 cd	3.00 a
" 1	95	6.5 a	1.26 b	17.9 a	4.8 abc	2.75 a
" 2	95	6.1 ab	1.48 ab	14.2 ab	5.7 a	2.10 ab
IBA 0.5	80	4.8 abcd	1.25 b	14.4 ab	4.2 bcd	2.10 ab
" 1	90	5.7 abc	1.30 ab	14.4 a	4.6 abc	2.70 a
" 2	85	4.8 abcd	1.41 ab	11.2 b	5.3 ab	1.40 b

<sup>a</sup>Mean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

액체배지와 고체배지가 부정아 형성과 생장에 미치는 차이점을 조사하기 위해 실험한 결과는 Table 3과 같다. 고체 배지가 액체배지보다 부정아 형성수가 높게 나타났고 생장도 월등히 좋았다(Figure 2). 그러나 네오레게리아(Mekers and Van Onsem, 1983), 파인애플(Hosoki and Asahira, 1980)의 액아를 액체배지에 배양하여 대량의 신초를 유도하여 본 실험과 상반된 결과를 나타냈다. 이는 본 실험에서는 액체배지만을 이용하여 정지한 반면, 그들은 액체 진탕배양을 하였기 때문이며, 또한 어린 유식물을 하나씩 떼어 넣어 액체 정지배양만 하였기 때문에 고사하는 식물체가 많이 발생하여 나타난 것으로 생각된다.

네오레게리아 발근 및 생육에 미치는 옥신의 종류와 농도는 Table 4와 같다.

발근율은 IAA 2 mg/L과 NAA 전처리 농도에서 95%로 가장 높았다. IAA에서는 2 mg/L을 첨가한 배지가 5.9개로 뿌리수가 가장 많았고 NAA에서는 1 mg/L을 첨가한 배지에서 6.5개, IBA에서는 1 mg/L이 첨가된 배지에서 5.7개로 발근이 가장 잘 되었다. 옥신 종류별로는 NAA를 첨가한

**Table 5.** The growth and rooting of shoots of *Neoregeria caroliniae* cv. Tricolor as influenced by solid and liquid culture.<sup>a</sup>

Treatment	No. roots /plantlet	Length of the largest root	No. leaves	Length of the largest leaf	No. lateral bud
Solid	3.7	0.64	11.2	2.46	1.70
Liquid	6.5	1.26	17.9	4.8	2.75
L.S.D 0/05	N.S	N.S	5.27	2.26	0.71

<sup>a</sup>Medium : MS + 1 mg/L NAA

것이 발근과 생장이 양호하였으며, NAA 1 mg/L을 첨가하는 것이 네오레게리아 발근 및 생육에 가장 적합한 것으로 나타났다. IAA 2 mg/L을 첨가한 것은 액아가 거의 안생기는 경향이었다.

Qesnelia, Aechmea, Vriesea 배양시 NAA 0.1 mg/L에서 발근이 가장 양호하다(Hosoki and Asahira, 1980). 네오레게리아 발근에는 NAA 1 mg/L + IBA 1 mg/L이 첨가된 배지가 효과적이다(Mekers and VanOnSem, 1983). 또한 파인애플 눈을 MS + NAA 10<sup>-7</sup>M에 일주일간 배양하면 완전한 식물로 발달된다(Hirimburegama and Wijesinghe, 1992). 그러므로 Bromeliads 발근에는 NAA가 적합한 것으로 생각되며, 네오레게리아는 Aechmea(0.1 mg/L)보다는 더 높은(1 mg/L) 농도에서 발근이 잘되는 것으로 생각되었다.

네오레게리아 발근 및 생육에 미치는 고체배지와 액체배지의 차이를 조사하기 위해 실험한 결과는 Table 5와 같다.

액체배지가 고체배지보다 발근수가 많고 뿌리길이도 길며 엽수, 엽장 등 생육도 양호하였다. 베고니아 기내 대량번식에서 6주간 고체배양한 후 액체배양하는 것이 계속 고체배양하는 것보다 신초 생장이 양호하고(Simonds and Werry, 1987), 기내발근시 액체배지가 고체배지에 비해 신초중, 발근중이 월등히 높다(Lee et al., 1986). 아나나스류는 초대, 증식, 발근배양 3단계 모두 액체배양을 하는 것이 대량번식 및 발근이 양호하며(Mekers and VanOnSem, 1983) 본 실험의 결과와 비슷한 경향이었다. 그러나 Bromeliads 기내 대량번식시 액체배양으로 증식시키고 고체배지에서 발근을 유도하는 것이 좋다는 견해가 있으며(Hosoki and Asahira, 1986), 한천 농도가 증가할수록 투명화 식물체의 형성수가 감소하여 포장식시 생존율이 높다고 하였다(古在, 1986).

그러나 본 실험에서는 증식은 고체배양으로 하고 발근은 액체배양을 하는 것이 가장 좋았으며 투명화된 식물체의 형성은 전혀 없었다. 발근배양을 고체배지로 이용할 경우는 배지제거를 위한 노력이 많이 들고 뿌리가 손상이 되므로 액체배지를 이용하는 것이 바람직한 것으로 생각된다. 몇몇 Bromeliads의 대량번식은 초대, 증식, 순화에 적용할 수 있는 발근배양의 3단계로 나누어 배양하는 것이 좋다(Murashige, 1974). 따라서 네오레게리아 기내 대량번식에서 부정아 형성을 위한 배양시기는 화아분화 4주후의 화기와

화아분화 7주후의 액아를 이용하여 MS + BA 1 mg/L + IBA 0.5 mg/L의 고체배지에서 증식한 후, 발근은 MS + NAA 1 mg/L 배지에서 액체배양하는 것이 바람직한 것으로 생각되었다.

## 적 요

네오레게리아의 대량번식을 위해 미숙화기와 액아를 배양하였으며, 배양에 적합한 재료 채취시기, 성장조절제 종류와 농도 및 배양방법이 부정아 형성 및 생장에 미치는 영향을 조사한 결과, 미숙화기는 화아분화 4주후에, 액아는 화아분화 7주후에서 절취하여 배양하는 것이 부정아 형성률이 가장 높았다. 부정아 형성에 적합한 성장조절제 종류와 농도는 MS + BA 1 mg/L + IBA 0.5 mg/L이었다. 고체배지가 액체배지보다 부정아 형성 및 생장에 더 효과적이었다. 발근에 적합한 성장조절제 종류와 농도는 NAA 1 mg/L이었다. 액체배지가 고체배지보다 신초의 발근 및 생장에 더 효과적이었다.

## 인 용 문 헌

- Briggs GB, Calvin CL (1987) Indoor plants. Wiley & Sons, Inc
- George EF, Sherrington PD (1984) Plant propagation by tissue culture. Exegetics Ltd. Eversley, Basingstoke, England. p 392
- 凍夏川太郎 (1971) 觀葉植物. 中卷. 加島書店. 東京. 日本
- Hirimburegame K, Wijesinghe LPJ (1992) In vitro growth of *Ananas comosus* L. MERR(Pineapple) shoot apices on different media. Acta Horticulturae 319: 203-208
- 細木高志 (1981) 觀葉植物の組織培養. 新花卉 110號. 東京. 日本. p 66-71
- 細谷衆, 三浦泰昌 (1987) 花卉の營養生理と施肥. 松榮堂. 東京. 日本. p 259-266
- Hosoki T, Asahira JG (1980) In vitro propagation of *Bromeliads* in liquid culture. HortScience 15: 603-604
- 古在豐樹, 富士原和, 渡部一郎 (1986) 植物組織培養器内環境の基礎的研究. (1) 液體培地における培地組成と水ポテナルの關係. 農業技術 42: 1-6
- Lee N, Wetzstein HY, Sommer HE (1986) The effect of agar vs. Liquid medium on rooting in tissue cultured sweetgum. Hortscience 21: 317-318
- Mekers O, Van Onsem JG (1983) In vitro propagation of *Vriesea* cultivars in comparison with other ornamental *Bromeliaceae*. Acta Horticulturae 131: 125-129
- Murashige T (1974) Plant propagation through tissue cultures. Am Rev Physical 25: 135-166

Simmonds JA, Werry T (1987) Liquid shake culture for improved micropropagation of Begonia. HortScience 22: 122-124

Wakasa K (1979) Variation in the plants differentiated from the tissue culture of pineapple. Japan J Breed 29: 13-22

Zepeda C, Sagawa Y (1981) In vitro propagation of Pineapple. HortScience 16: 495

(1995년 8월 25일 접수)