

*Pelargonium aridum*과 *P. zonale*의 기관발생에 의한 식물체 재분화

柳 順 南

大邱曉星가톨릭大學教 植物育種學科

Organogenesis and Plant Regeneration in Tissue Cultures of *Pelargonium aridum* (*Ligularia*) and *P. zonale* (*Ciconium*)

Sun-Nam YU

Department of Plant Genetics and Breeding, Catholic Universtry of Taegu Hyosung, Kyungsan, Kyungbuk, 713-702

Cotyledon and epicotyl explants of *P. aridum* and *P. zonale* formed calli when cultured on MS medium supplemented with 2 mg/L NAA and 0.2 mg/L BA. Calli were subcultured on the same medium. Upon transfer to MS medium with 0.1 to 1 mg/L NAA and 0.25 to 2 mg/L BA for *P. aridum* and 0.1 to 0.5 mg/L NAA and 1 to 2 mg/L BA for *P. zonale*, subcultured calli gave rise to the greatest number of shoots (0.78 shoots for *P. aridum* and 0.65 shoots per explant for *P. zonale*, respectively). Most shoots produced roots when cultured on 1/2MS basal medium. The regenerants were transferred to potting soil and grown to maturity in a greenhouse.

Key words: cotyledon, epicotyl

*Pelargonium*은 우리 나라에서는 제라늄으로 알려져 조금씩栽培되고 있으나, 유럽과 아메리카에서는 봄부터 초겨울까지의 제일 중요한 베란다, 花壇用花卉作物로서 18세기 이후 지금까지 花卉育種家の 매우 중요한 對象作物로 되고 있다(Clifford, 1970; Harney and Chow, 1971; Maatsch, 1977; Moore, 1971; Payet, 1982; Van Der Walt, 1977).

최근에는 *Pelargonium*屬의 野生種으로부터 病蟲害, 花色 등 풍부한 野生種의 有用形質을 栽培品種에 導入하는데 육종가들의 관심이 고조되고 있다. *Pelargonium*屬의 栽培品種의 주요 系統은 P.-Zonale-Hybrids, P.-Peltatum-Hybrids와 P.-Grandiflorum-Hybrida로서 2,000餘 品種에 이른다. 이들은 18세기 이후 交雜育種에 의해서 形成되었으며, 그 形質은 매우 雜多할뿐만 아니라, 그들의 兩親은 불분명하여(Chow and Harney, 1970; Clifford, 1970; Moore, 1971; Oliver and Van Der Walt, 1984; Payet, 1982) 이러한 品種들에 野生種의 有用形質 導入을 위한 交雜育種 방법은 不稔이거나 또는 交雜不親和性이므로 쉽지 않다(Yu, 1985; Yu and Horn, 1984).

본 연구의 目的은 原形質體培養의 재분화체계 확립을 위한 適正倍地的 검토, *Pelargonium* 栽培에서 現實적으로 가장

問題시되는 *Xantomonas pelargonium*의 無病株生産, micropropagation을 통한 大量生産과 交雜育種으로는 어려운 *Ligularia*亞屬 *P. aridum*(노란색)과 *Ciconium* 亞屬 *P. zonale*(분홍, 적색계통)간의 원형질융합체배양을 통해 노란색꽃 體細胞雜種 *Pelargonium*을 얻기위한 기초연구로서 이들의 子葉 및 上胚軸으로부터 器官發生 경로를 통한 植物體再分化 條件을 糾明하고자 하였다.

재료 및 방법

植物材料

材料植物은 *Pelargonium*屬 *Ligularia*亞屬의 *P. aridum* Dyer와 *Ciconium*亞屬의 *P. zonale* (Ait.)의 두 原種이며, 原種의 種子를 西獨 仁현대학에서 分讓받아 無菌播種하여 4주된 幼苗의 子葉 및 上胚軸으로부터 軸에 근접한 부위를 약 0.7 × 0.7 cm로 잘라서 explant로 사용하였다(일 한 개당 한 개의 explant를 잘라냄).

培養條件

基本培地로는 Murashige와 Skoog(MS)(1962)培地에 NaH₂PO₄·H₂O를 170 g/L添加하여 磷酸原을 높였으며, 50 mg/L adenine을 더添加하였다(Hamdorf, 1976). 生長調節劑組合은 NAA+BA와 IAA+kinetin이며, 濃度는 NAA 0.1, 0.2, 0.25, 1, 1.5, 2 mg/L, BA 0.2, 0.25, 0.5, 1, 2 mg/L, IAA 0.2, 0.25, 0.5, 1, 2 mg/L, kinetin 0.25, 1, 2, 4 mg/L로 하고 0.8%의 agar (Junsei, Japan)를 넣은 다음 120°C의 1.4 bar에서 15분간 고압증기살균법으로 하였다. 배양용기는 100 mL erlenmeyer flask에 25 mL의 培養培地를 넣고 알루미늄 호일로 막았으며, 유리 뚜껑이 있는 tube (25 × 150 mm)에는 15 mL의 배지를 넣었다. 培養室이 溫度는 晝間 26 ± 1°C, 夜間 24 ± 1°C에 照度는 1,100~1,450 lx (cool-white 형광램프)로 하였으며 培養 1~2일째는 100 lx의 低光度에서 培養하였고, 明/暗기를 각각 16/8 時間으로 하여 培養하였다. 生體의 接種은 10反復으로 하였으며, 캘리스 繼代培養은 4차까지 實驗內容과 材料量에 따라 實驗당 反復수는 0~10회로 反復을 달리하여 캘리스 繼代培養에서 平均値가 1 g 이상일 때를 繼代培養이 有用한 것으로 보았다. 統計處理로는 LSD 또는 표준오차를 適用하였다.

식물체 재분화

상기조건에서 발생한 *Pelargonium* shoot를 生長조절제가 첨가되지 않은 MS 고체배지에서 培養하여 發根을 유도하였다. 發根하여 얻어진 幼植物體를 피트모스에서 순화시켜, 부엽토:피트모스:모래를 1:1:1인 상토에 옮겨 溫室에서 재배하여 開花시켰다.

결과 및 고찰

Table 1과 Figure 1에서 子葉과 上胚軸 절편체 모두 캘리스가 먼저 形成된 다음 shoot가 形成되며, 모든 처리구에서 接種 4週후 캘리스生成은 거의 1 g 미만이었다. *P. aridum*과 *P. zonale*의 子葉과 幼植物體를 2 mg/L NAA와 0.2 mg/L BA를 첨가한 MS培地에 배양하였을 때 캘리스를 가장 많이 형성하였다. 이들 캘리스는 동일한 배지에서 繼代培養하였다. NAA + BA 組合區에서는 캘리스가 形成되었으나 IAA + kinetin 組合區에는 캘리스가 形成되지 않았다(데이터 미제시). 切片體당 shoot 형성수는 *P. aridum*에서 0.87, *P. zonale*은 0.65이었다.

*P. aridum*과 *P. zonale*는 NAA + BA 組合區에서 1次繼代培養에서 3 g 이상으로 캘리스 形成이 아주 양호했으며 2次까지 1 g 이상으로 良好하였다. 그러나 3차, 4차 繼代培養에서는 모두 1 g 미만의 不良한 生育을 하였다(데이터 미제시).

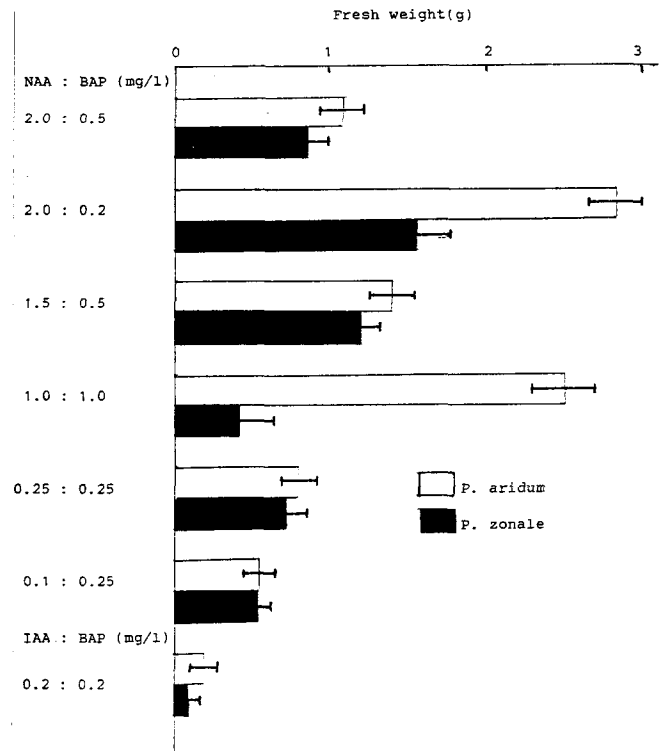


Figure 1. Interaction between auxin and cytokinin combination at different concentrations on callus formation on explants of *Pelargonium aridum* and *P. zonale* (bars indicate standard errors).

Table 1. Effects of various concentrations of auxin and cytokinin on callus formation and organogenesis from cotyledon (Cot), epicotyl(Epi)(Hy), and callus subcultures (Cal) of two *Pelargonium* species.^{a, b}

BAP(mg/L)	0.25		0.5		1.0		2.0		2.0	
NAA (mg/L)	0.25		0.5		1.0		2.0		2.0	
Explant	Species		<i>P. aridum</i>				<i>P. zonale</i>			
0.1	Cot	C	NC	NC	C	C	C	C	C	CS
	Epi	NC	C	C	C	C				
	Cal	S***		S***	S***				S**	
0.25	Cot	C	C	C	C	C	C	C	C	CS**
	Epi	C	C	C	C	C				
	Cal	SR***		S***	S***				S	S
0.5	Cot		C	C	C		C	C	C	
	Epi		C	C	C					
	Cal		S						S	S**
1.0	Cot			C					C	
	Epi			C					C	
	Cal			S***						
2.0	Cot	C	C			C	C			
	Epi	C	C			C	C			
	Cal	R	SR							

^aC: Callus, CS: Callus + Shoots, Blank: not cultured.

^bShoot formation: ***very good, **good, *moderate.

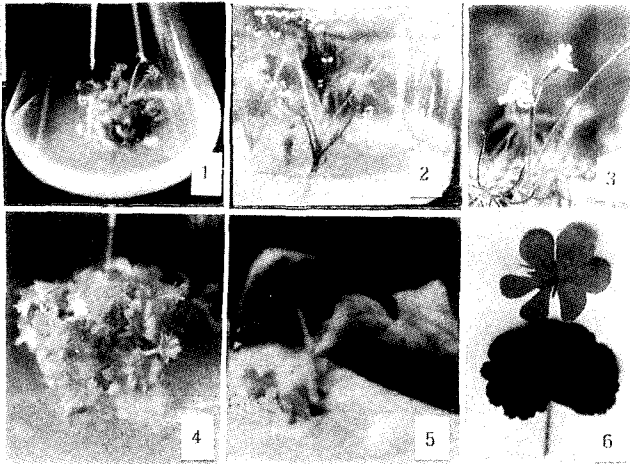


Figure 2. Plant regeneration in tissue cultures of *P. aridum* (Pa) and *P. zonale* (Pz).

- 1) Shoot formation on callus (Pa).
- 2) Regenerated plants (Pa).
- 3) Flowering plants regenerated from callus (Pa).
- 4) Shoot formation on cotyledonary explants (Pz).
- 5) Regenerated plants (Pz).
- 6) A flower and a leaf from a flowering plant regenerated from cotyledonary explant (Pz).

*P. aridum*에서 생긴 90 shoot 중에서 65 植物體(72%) *P. zonale*에서 생긴 15 shoot 중에서 12 植物體(80%)가 生存하여 溫室에서 자라며 일부는 開花되었다(Figure 2).

*Pelargonium*의 품종 및 clone의 genotype은 *Pelargonium-Zonale-Hybrids* (PZH), *Pelargonium-Peltatum-Hybrids* (PPH), *Pelargonium-Zonale × Peltatum-Hybrids* (PZP), *Pelargonium Grandiflorum-Hybrids* (PGH)가 있다. 機內培養에 성공적인 genotype은 비교적 많은 편이며, 그중 139 品種은 PZH系統에서 기내배양이 제일 많았고(Hammerschlag, 1978; Hammerschlag and Bottino, 1981), PPH나 PGH의 경우는 비교적 적게 보고되었다(Jelaska and Jelencic, 1980). 일반적으로 系統內에서가 系統間에서 보다 倍地造成的의 差異가 덜 심했으며, PPH系統이 PZH系統(Beauchesne, 1974; Graifenberg and Giustiniani, 1978; Reuther, 1982)보다 培養이 어려웠다고 일반적으로 알려져 있다. Hamdorf (1976)는 22 PZH系統에서는 shoot가 再生되었으나 그 차이가 심하다고(Pillai and Hildebrant, 1968a; Reuther, 1982; Thiler, 1981) 하였으나, 培養倍地로서는 Hamdorf (1976)는 MS培養이 2.0 mg/L IAA와 kinetine에서 'Grand Slam'의 shoot 재생은 54.7%, 'Lethas'에서는 4%, 'Geronimo'에서는 20%로 보고하였으며, Schneider-Moldricks (1983)은 더 높은 식물재생력이 있다고는 것을 보고하였다('Grand Slam'=70%, 'Lethas'=45%, 'Geronimo'=40%). *Pelargonium*品種과 clone에 있어서의 캘러스 有機와 肥大에서는 큰 차이가 없었으며, 다만 캘러스에서 再生力에 미치는 영향은 genotype에 따라서 크게

다르다고 보고되었다(Hammerschlag, 1978; Reuther, 1982).

본 연구에서는 *Pelargonium*속에서 아직까지 器官發生 過程으로 再分化 보고가 없는 두 野生種을 대상으로 비교적 높은 빈도의 再分化가 가능한 條件을 糾明하였다. 이러한 再分化 條件은 이들의 原形質融合體培養에 의한 體細胞雜種 生産에 利用될 수 있을 것으로 展望된다.

적 요

*Pelargonium aridum*과 *P. zonale*의 子葉과 幼植物의 절편체를 2 mg/L NAA와 0.2 mg/L BA를 첨가한 MS배지에서 배양하였을 때 캘러스를 형성하였다. 이들 캘러스는 동일배지에서 繼代培養양하였다. 계대배양된 캘러스는 *P. aridum*의 경우 0.1~1 mg/L NAA와 0.25~2 mg/L BA에서, *P. zonale*의 경우 0.1~0.5 mg/L NAA와 1~2 mg/L BA를 첨가한 MS 배지에 옮겨주었을 때 가장 많은 shoot를 形成하였다(*P. aridum*은 explant당 0.78개, *P. zonale*은 0.65개). 대부분의 shoot은 1/2 MS基本倍地에서 배양하였을 때 發根하였다. 이들 再分化 個體들은 화분으로 옮겨진 후 溫室에서 발육하여 開花하였다.

사 사-이 연구는 대구효성가톨릭대학교 연구비지원에 의하여 수행된 결과입니다.

인용 문헌

- Beauchesne G (1974) Obtention de clone de *Pelargonium* en culture 'in vitro' a partir de meristemes. Proc 19th Int Hort Congr 1A: 64
- Chow TW, Harney PM (1970) Crossability between a diploid *Pelargonium × hortorum* Bailey cultivar and some of its putative ancestral species. Euphytica 19: 338-348
- Clifford E (1970) *Pelargoniums* including the popular 'Geranium'. Blandford Press 2nd edition London
- Craifenberf A, Giustiniani L (1978) Propagazione del pelargonio attraverso cultura in vitro di apici vegetativi. Riv. Ortoflorofruccolt Ital 62: 141-146
- Hamdorf G (1976) Propagation of *Pelargonium* varieties by stemtip culture. ActaHort 59: 143-152
- Hammerschlag FA (1978) Influence of light intensity and date of explantation on growth of geranium callus. HortScience 13: 153-154
- Hammerschlag FA, Bottino PJ (1981) Effect of plant age on callus growth, plant regeneration, and anther culture of geranium. J Amer Soc Hort Sci 106: 114-116.
- Harney PM, Chow TW (1971) Crossability between some *Pelargonium* species. Euphytica 20: 286-291

- Jelaska S, Jelencic B (1980) Plantlet regeneration from shoot tip culture of Pelargonium-Zonale-Hybrid. Acta Bot Croat 39: 59-63
- Maatsch R (1977) Botanische einfuhrung and Zuchterische entwicklung. In: Maatche, R., Weise, K. H. und Ganslichkeit, H. Pelagonien Geschichte Kultur Wirtschaftlichkeit und Zuchtung. Parey Verlag Berlin und Hamburg, pp 9-35
- Moore HE (1971) Taxonomy of Pelargoniums in cultivation, In JW Mastalerz (Ed) Geraniums perin Flower Grower, pp 14-52
- Olivier MC, Van Der Walt JJA (1984) The taxonomy of Pelargonium peltatum (L.) L'Herit complex. J S Afr Bot 50: 1-14
- Payet J (1982) Etude des caracteres morphologiques, anatomiques et cytologiques des Pelargoieims a feuilles edorantes et essai d'une classification numerique. Diss Universite Paris-Sud
- Pillai SK, Hildebrandt AC (1968a) In vitro differentiation of geranium (Pelargonium hortorum Bailey) plants from apical meristem. Phytion 25: 81-87
- Reuther G (1982) Die vermhrung von Pelargonienmutterpflanzen. Gb+Gw 32: 727-734
- Schneider-Moldricks R (1983) Untersuchungen zur wirkung des Lichts bei Gewebekulturen von Saintpaulia ionantha und Kalenchoe-Blossfediana-Hubriden. Diss. Tech Univ Muchen
- Thiler R (1981) Einsatz der Gewebekultur zur Anaucht pathogenfrier pflanzen: Moglichkeiten and Probleme ihrer Anwendung II. Erwerhsobstb 23: 18-20
- Van Der Walt (1977) Pelargonium of southern Africa. Vol 1. Purnell & Sons Cape Town
- Yu SN (1985) Research for interspecific compatibility and biosystematic on the genus Pelargonium. 1. Cytotaxonomy and compatibility. 재독과 기협 논문집 창간호:38-43
- Yu SN, Horn W (1984) Cross between Pelargonium spp. of different taxonomic sektionen. Rep. Eucarpia meet. Potplant Breeding Svendborg DK, pp 49-59

(1995년 10월 10일 접수)