

## 정단배양에 의한 *Delphinium* cv. Princess Caroline의 대량번식

한봉희\* · 정향영 · 고재영  
원예연구소, 화훼 1과

### Micropropagation of *Delphinium* cv. Princess Caroline through Shoot Tip Culture

HAN, Bong Hee\* · JUNG, Hyang Young · KO, Jae Young

Dep. of Floriculture, Hort. Res. Ins. R. D. A. Suwon, 440-310, Korea. \*Corresponding author.

The shoot tips of *Delphinium* cv. Princess Caroline were cultured on the MS medium supplemented with cytokinin and auxin alone or in combination. Among cytokinins, BA was most effective in shoot multiplication, adequate concentrations being 1.0-5.0 mg/L. Shoot multiplication was very favorable on the media with 1.0-3.0 mg/L BA and 0.1-0.5 mg/L IAA. Additions of BA and IAA did not stimulate shoot multiplication, but increased a little fresh weight. Shoots were scarcely rooted on the media with IBA or NAA, and were not done utterly on the media containing activated charcoal. Therefore, shoots were treated by Rootone and planted in the cultural media for in vivo rooting. The highest rate of rooting was 68% in the mixed cultural medium composed of Perlite 1 and Vermiculite 1.

**Key Words:** micropagation, *Delphinium*, in vivo rooting

*Delphinium*은 화수가 크고 선명한 색깔을 가지고 있기 때문에 인기가 높은 화훼이며, 보통 실생에 의하여 번식되고 있다(Bredomose, 1987; Geertsen and Bredomose, 1985). 그러나 육종에 의하여 많은 교배종이 생산되면서 조직배양에 의하여 *Delphinium*을 대량번식하는 것에 많은 관심이 모아지고 있다(Pryce et al., 1993). 이러한 교배종들은 발아율이 낮고, 한식물체에서 얻을 수 있는 삽수가 적으며, 삽수가 발근하기 어렵기 때문에 조직배양에 의한 대량번식이 요구되고 있다(Bott, 1980; Legro and Main, 1983).

*Delphinium* cv. Princess Caroline은 화란에서 육성된 품종으로 영양번식에 의하여 번식되고 있으며, '92년도에 국내에 수입되면서 유망화훼로 급성장하고 있다. 그러나 묘종이 매우 고가에 수입되고 있어 농가에서 묘종을 구입하는데 많은 어려움을 겪고 있다.

따라서 본 실험은 *Delphinium* cv. Princess Caroline을 기내에서 대량번식하기 위하여 실시하였다.

공시재료는 온실에서 생육하고 있는 *Delphinium* cv. Princess Caroline의 신초를 MS 배지(Murashige and Skoog, 1962)에 BA 1.0 mg/L가 첨가된 배지에서 배양하여 6주 간격으로 계대배양하면서 재생된 신초를 사용하였다. 배지는 MS 배지에 당 30 g/L, 한천 8 g/L가 첨가된 배지를 사용하였으며, pH는 5.8로 배지살균 전에 조절하였다. 신초의 증식을 위하여 사이토킨린류로는 BA, kinetin, 2iP를 0.0-5.0 mg/L 범위에서 첨가하였으며, 오옥신류로는 IAA 0.1-1.0 mg/L를 BA 1.0-3.0 mg/L와 혼용으로 첨가하였다. 증식된 신초를 기내에서 발근시키기 위하여 IAA, IBA, NAA를 0.0-5.0 mg/L 범위에서 첨가하였다. 배양용기는 삼각후라스크(100 ml 용량)를 사용하였으며, 삼각후라스크에 식물체를 4개씩 접종하여 처리당 4반복으로 하였고, 배양 6주후에 신초수, 신초길이, 생체중, 발근정도 등을 조사하였다. 배양은 25 ± 2°C로 조절되는 배양실에서, 형광등 3,000 lx, 16시간 조명하에서 배양하였다. 또한 기내에서 증식된 신초를 Rootone (NAA 0.5%와 IBA 0.1% 함유)을 묻혀 펄라이트와 버미큘라이트가 단용 또는 혼용으로 혼합된 배양토에서 기외발근하였다. 기외발근은 주간 23 ± 2°C, 야간 15 ± 2°C

로 조절되는 온실에서 신초를 삼목상에 재식하고 비닐로 밀폐시켜 6주간 관리 후 조사하였다.

## 결과 및 고찰

사이토킨인은 보편적으로 지하부의 발육을 억제하고 지상부의 생육을 촉진한다고 알려져 있어(Pennazio, 1975), 식물체의 대량번식에서 신초를 유기, 증식시키는데 많이 사용되고 있다.

본 실험에서도 신초증식을 위하여 사이토킨인류인 BA와 kinetin, 2iP를 농도별로 첨가한 결과(Table 1), kinetin이나 2iP 첨가배지보다는 BA 첨가배지에서 신초증식이 높았다. 농도는 BA 1.0-5.0 mg/L가 첨가된 배지에서 신초수가 5개 이상으로 증식이 양호하였다. 그러나 식물체에서 배지내로 증식 또는 발근 억제물질이 유출되어 배지가 검게 변하였다. Kusey 등(1980)과 Han 등(1991)은 안개초의 배양에서 BA가 kinetin이나 2iP보다 신초증식과 생체중에 있어서 더 우수하다고 보고하여 본 실험의 결과와 일치하였다.

**Table 1.** Effects of cytokinin on the shoot multiplication from shoot tip culture of *Delphinium* cv. Princess Caroline after 6 weeks in culture<sup>a</sup>.

Cytokinin (mg/L)	No. of shoots	Shoot length (cm)	Fresh wt. /explant(mg)
Control	296 ± 0.21	2.62 ± 0.21	298 ± 11
BA	0.1	3.78 ± 0.37	3.60 ± 0.28
	0.5	4.03 ± 0.26	3.24 ± 0.10
	1.0	5.23 ± 0.43	2.83 ± 0.24
	3.0	5.28 ± 0.57	2.53 ± 0.10
	5.0	5.10 ± 0.18	2.28 ± 0.18
Kinetin	0.1	2.00 ± 0.20	3.50 ± 0.20
	0.5	2.80 ± 0.20	2.95 ± 0.17
	1.0	3.40 ± 0.33	3.05 ± 0.51
	3.0	4.03 ± 0.37	2.95 ± 0.21
	5.0	4.08 ± 0.29	2.65 ± 0.25
2iP	0.1	2.25 ± 0.23	3.20 ± 0.31
	0.5	2.50 ± 0.35	3.10 ± 0.07
	1.0	3.25 ± 0.41	2.98 ± 0.35
	3.0	4.25 ± 0.33	3.15 ± 0.25
	5.0	3.00 ± 0.58	2.97 ± 0.22

<sup>a</sup>Data presented are means of 4 replications with SE.

사이토킨인 단용처리에서 신초의 증식에 양호한 BA 1.0-3.0 mg/L에 IAA를 농도별로 혼용처리한 결과(Table 2), BA 1.0-3.0 mg/L와 IAA 0.1-0.5 mg/L 첨가배지에서 신초수가 5개 이상으로 높은 신초증식을 보여주었다. 그러나 BA 단용처리(Table 1)보다 BA와 IAA를 혼용첨가하였을 때, 생체중은 약간 증가하였으나 저농도의 auxin 첨가에 의한 신초의

**Table 2.** Effects of BA and IAA in combination on the shoot multiplication from shoot tip culture of *Delphinium* cv. Princess Caroline after 6 weeks in culture<sup>a</sup>.

Treatment (mg/L)	No. of shoots	Shoot length (cm)	Fresh wt. /explant(mg)
BA 1.0 + IAA	0.1	5.19 ± 0.41	3.05 ± 0.10
	0.5	5.69 ± 0.33	2.73 ± 0.32
	1.0	4.89 ± 0.63	2.91 ± 0.24
BA 2.0 + IAA	0.1	5.31 ± 1.02	2.50 ± 0.22
	0.5	5.69 ± 0.64	2.69 ± 0.20
	1.0	5.19 ± 0.54	2.81 ± 0.23
BA 3.0 + IAA	0.1	5.13 ± 0.73	2.58 ± 0.19
	0.5	5.38 ± 0.46	2.86 ± 0.38
	1.0	4.69 ± 0.58	3.28 ± 0.13

<sup>a</sup>Data presented are means of 4 replications with SE.

증식효과는 나타나지 않았다(Table 2). Skoog와 Miller(1957)가 식물의 기관형성은 오옥신과 사이토킨인의 균형에 의하여 좌우된다고 보고한 이래, 오옥신과 사이토킨인을 혼용으로 첨가하여 신초를 유도하는 방법이 많은 화훼류의 대량번식에서 보고되고 있다(Earle and Langhans, 1974; Kusey et al., 1980). 일반적으로 신초의 증식은 증식배지에 사이토킨인과 저농도의 오옥신을 혼용첨가하였을 때, 월등히 증가한다는 것이 받아들여지고 있다. 그러나 본 실험에서는 IAA에 의한 증식촉진 효과는 나타나지 않았고 생체중만 약간 증가하였다. 따라서 사이토킨인과 오옥신을 혼용처리하였을 때 나타나는 증식촉진 효과는 식물에 따라 다르게 나타나는 것으로 생각되었다.

**Table 3.** Effects of IBA and NAA on rooting of regenerated shoots in *Delphinium* cv. Princess Caroline after 6 weeks in culture<sup>a</sup>.

Treatment (mg/L)	Rooting (%)	No. of roots	Root length (cm)	Fresh wt. /explant(mg)
Control	0	-	-	348 ± 35
IBA	0.1	0	-	607 ± 75
	0.5	0	-	702 ± 175
	1.0	0	-	761 ± 120
	3.0	4.2	1.00 ± 0.00	0.31 ± 0.00
	5.0	8.4	1.50 ± 0.05	0.22 ± 0.04
NAA	0.1	4.2	1.00 ± 0.00	0.32 ± 0.03
	0.5	12.5	1.67 ± 0.04	0.14 ± 0.00
	1.0	0	-	-
	3.0	0	-	-
	5.0	0	-	-

<sup>a</sup>Data presented are means of 4 replications with SE.

생산된 신초의 발근을 위하여 IBA와 NAA가 농도별로 첨가된 배지에서 신초를 6주간 배양하였다. 가장 높은 발근

**Table 4.** In vivo rootings of regenerated shoots in *Delphinium* cv. Princess Caroline after 6 weeks in culture.

Cultural media	Survival (%)	Rooting (%)	Shoot length (cm)	No. of roots	Root length (cm)
Perlite 1:					
Vermiculite 1	95	68	4.47 ± 0.12	4.17 ± 0.42	2.24 ± 0.20
Vermiculite	80	38	3.47 ± 0.16	2.65 ± 0.45	1.71 ± 0.49

<sup>a</sup>Rootone was treated on the basal part of shoots.

<sup>b</sup>Data presented are means of 4 replications with SE.

율이 NAA 0.5 mg/L 첨가배지에서 12.5%로 신초 발근율이 매우 저조하였다. 뿌리수도 매우 적었고 뿌리길이도 매우 짧았다. IBA 5.0 mg/L 첨가배지와 NAA 1.0 mg/L 이상 첨가배지에서는 신초의 기부가 이상비대하여 캘러스화 되었다(Table 3). 신초가 기내에서 거의 발근을 하지 않고, 식물체에서 발근억제물질이 유출되어 배지가 검게 변하기 때문에 활성탄소가 첨가된 배지에서 신초를 배양하여 보았으나 활성탄소가 첨가된 배지에서도 전혀 발근이 되지 않았다(결과생략). Pryce 등(1993)은 *Delphinium*은 기내에서 발근이 매우 어렵고, 발근이 되더라도 뿌리가 매우 늦게 자란다고 보고하여 본 실험의 결과와 동일하였다. 따라서 *Delphinium*은 기내발근이 매우 어렵고, 이것은 식물체에서 발근억제물질이 유출되어 발생하는 것으로 생각되었다.

기내발근이 어렵기 때문에 기내에서 생산된 신초를 기부에 Rootone을 묻혀 펄라이트와 버미큘라이트가 단용 또는 혼용으로 배합된 배양토에서 기외발근하였다. 생존율은 펄라이트 1과 버미큘라이트 1의 배합토에서 95%로 매우 높았으며, 다음이 버미큘라이트였다. 그러나 펄라이트에서는 식물체가 지지되지 않아 모두 고사하였다(결과생략). 펄라이트 1과 버미큘라이트 1의 배합토에서는 발근율이 68%, 뿌리수 약 4개, 뿌리길이 2.2 cm로 발근이 양호하였다. 버미큘라이트에서는 발근율이 38%로 저조하였으며, 뿌리수, 뿌리길이도 펄라이트 1과 버미큘라이트 1의 배합토보다 낮았다(Table 4). 이는 버미큘라이트가 펄라이트 1과 버미큘라이트 1의 배합토보다 통기가 부족하여 발생하는 것으로 생각되었다. 기내에서 생산된 식물체를 기외에서 발근시키는 일은 조직배양에서 생산비를 절감하는데 매우 중요하다(Debergh and Maene, 1981). 따라서 기내발근이 어려운 *Delphinium*은 기외에서 발근시키는 것이 생산비를 절감하고 발근율을 월등히 높일 수 있어 합리적이라 생각된다.

## 적 요

*Delphinium* cv. Princess Caroline을 대량번식하기 위하여 신초를 MS 배지에 사이토킨닌과 옥옥신이 단용 또는 혼용으로 첨가된 배지에서 배양하였다. 사이토킨닌 단용처리

서 kinetin이나 2iP 첨가배지보다는 BA 첨가배지에서 신초 증식율이 높았다. 농도는 BA 1.0-5.0 mg/L가 첨가된 배지에서 신초수가 5개 이상으로 증식이 양호하였다.

BA와 IAA를 혼용처리한 배지에서는 BA 1.0-3.0 mg/L와 IAA 0.1-0.5 mg/L 첨가배지에서 신초수가 5개 이상으로 높은 신초증식을 보여주었다. 그러나 BA와 IAA를 혼용첨가하였을 때, 생체중은 약간 증가하였으나 저농도의 옥옥신 첨가에 의한 신초증식 효과는 나타나지 않았다.

IBA 또는 NAA가 농도별로 첨가된 배지에서 신초는 거의 발근되지 않았으며, 활성탄소가 첨가된 배지에서도 전혀 발근이 되지 않았다.

기내에서 생산된 신초의 기부에 Rootone을 묻혀 기외발근을 한 결과, 펄라이트 1과 버미큘라이트 1의 배합토에서는 발근율이 68%, 뿌리수 약 4개, 뿌리길이 2.2 cm로 발근이 양호하였다.

## 인 용 문 헌

- Bott JC (1980) Tissue culture of *Delphinium*; Preliminary experiments with *Delphinium elatum* and University hybrids. *Plantsman* 2: 169-171
- Bredomose N (1987) Post harvest ability of some new cut flowers. *Acta Hort* 205: 187-194
- Debergh PC, Maene LJ (1981) A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Scientia Hort* 14: 335-345
- Earle ED, Langhans RW (1974) Propagation of *Chrysanthemum* in vitro. I. Multiple plantlets from shoot tip and the establishment of tissue culture. *J Amer Soc Hort Sci* 99: 128-132
- Geertsen V, Bredomose N (1985) *Delphinium* hybrid 'Volkerfrieden'-velegnet til tidig driving. *Gartner Tidende* 101: 1010-1011
- Han BH, Paek KY, Choi JK (1991) Micropropagation of *Gypsophila paniculata* through shoot tip culture in vitro. *J Kor Soc Hort Sci* 32: 394-400
- Kusey WE, Hammer Jr PA, Weiler TC (1980) In vitro propagation of *Gypsophila paniculata* L. 'Bristol Fairy'. *HortScience* 15: 600-601
- Legro RAH, Main JM (1983) Red dephiniums. *Garden, UK*. 108: 316-321
- Murashige T, Skoog F (1962) A reversed medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissues. *Physiol Plant* 15: 473-479
- Pennazio S (1975) Effect of adenine and kinetin on development of carnation tips cultured in vitro. *J Hort. Sci* 50: 161-164
- Pryce S, Lumsden PJ, Berger F, Leifert C (1993) Effect of plant density and macronutrient nutrition on *Delphinium* shoot cultures. *J Hort Sci* 68: 807-813
- Skoog F, Miller CO (1957) Chemical regulation of growth and organ formation. *Sym Soc Exp Biol* 11: 118-130