

배양재료와 품종이 수선의 기내배양시 부정아 형성에 미치는 영향

정향영* · 한봉희
원예연구소

Effect of Explant and Cultivars on the Adventitious Shoot Differentiation by In vitro Culture of *Narcissus*.

JOUNG, Hyang Young* · HAN, Bong Hee

National Horticultural Research Institute, R.D.A. Suwon, 440-310, Korea. *Corresponding author.

In order to establish a micropropagation system of *Narcissus*, the ability of bulblet regeneration among propagation materials was compared, and the adequate growth regulators and concentrations for each cultivar were investigated.

The inorganic components were also assayed in the parts of propagation materials.

In propagation materials, scape with based plates showed highest rate of bulblet formation and rapid growth of formed bulblets in vitro, comparing to other parts of it.

In comparing of varieties, 'Dutch Master' and 'Golden Harvest' showed a high ability for bulblet regeneration. The ability of bulblet regeneration was most favorable in the medium, supplemented with 5.0 mg/L BA and 2.5 mg/L NAA in 'Dutch Master', and 5.0 mg/L BA and 1.0 mg/L NAA in 'Golden Harvest', respectively.

In inorganic component analysis of propagation materials, the White part of scape contained 1.18 mg/L P_2O_5 , 2.57 me Ca, 0.94 me Mg and 3.20 mg/L total N. It showed higher levels in concentration of inorganic components as compared to those of the other part of scape.

In addition, leaves and yellow part of scape contained significantly high levels of Ca and Mg while scales bulb showed considerably low levels in all inorganic compounds.

Key words: growth regulators, inorganic component, material, organogenesis

수선은 추식 구근류로서 번식은 주로 자구, 인편 등을 이용하고 있다(Kim et al, 1989). 조직배양을 이용한 대량번식에서 어느 부위를 하느냐는 가장 중요한 것으로서 배양부위에 따라 번식능력이 차이가 크고, 또한 오염률과 생존율에 차이가 크다(Seabrook, 1990). 이용되는 부위는 성장점, 엽병, 줄기, 잎, 인편, 화기, 화경 등이다(George and Sherrington, 1984; Paek et al. 1987; Homma and Asahira, 1985; Seabrook, 1990). 속근류는 성장점 부위를, 구근류는 인편을 주로 이용하고 있다.

그러나 구근류인 수선의 인편은 얇고 절단할 경우 갈변화가 심해 초대배양재료로서 적합하지 않고, 또한 오염이 심하다. 품종에 따라 번식능력과 생장조절 물질의 농도가 달라진다(Hussey, 1982; Hosoki and Asahira, 1980). 본 연구에

서는 수선의 대량번식에 적합한 배양재료 구명, 품종간 번식력 비교 및 생장조절물질 농도를 구명하고 배양재료별 무기성분 함량을 분석하고자 실시하였다.

재료 및 방법

배양재료별 자구 형성률의 차이를 보기 위해 나팔수선 'Golden Harvest'을 구주 12~14 cm 크기의 구근을 인편, twin-scaling, 잎의 기부부위, 자방, 화경 백색부위, 화경 + 기저부를 90% 에탄올과 1.5% NaClO 용액에 10분간 소독하였다. 0.5 cm 크기로 절단하여 MS 배지 + BA 5.0 mg/L + NAA 2.5 mg/L에 치상하여 $24 \pm 2^\circ C$, 2,000 lx (40w 형광

등) 16시간 일장에서 배양하였고 치상후 11주에 자구형성을 조사하였다. 품종간 비교는 'King Alfred', 'Golden Harvest', 'Dutch Master', 'Ice Follies', 'Barrett Browning' 품종을 BA 0.5~5 mg/L을 단용 및 NAA 2.5 mg/L와 혼용처리한 배지에 화경기부 조직을 처리당 10반복씩 치상하였다. 1주 간격으로 최종 11주까지 신초 형성, 뿌리 분화율, callus 형성을 조사하였다. 예비실험에 따르면, 농도수준에 있어서 BA를 1.0, 2.5, 5.0, 10 mg/L로 처리했을 때 BA 농도가 증가할수록 신초수는 증가하는 경향이거나 10 mg/L 농도에서는 신초수가 감소하는 결과가 나타났기 때문에 본 연구에서는 BA 10 mg/L 농도는 제외시켰고, 품종간에 농도 요구도가 다를 것 같아 BA 수준을 달리 하였다.

식물체내 무기성분 분석은 삼각플라스크에 식물체 부위별 즉, 엽의 녹색, 황색 부위, 화경의 녹색, 황색, 백색부위, 화뢰, 자방, 인편, 기저부위로 건조시킨 시료를 농촌진흥청 토양화학 분석법에 준하였다(R. D. A., 1988).

결과 및 고찰

배양재료에 따른 자구 형성률의 차이를 보면, 수선의 기내 대량번식에 적합한 부위는 화경만 이용하는 것보다 화경에 기저부를 부착한 것이 자구형성률이 75%로 가장 높았고 자구수, 자구길이, 자구직경, 생체중이 양호한 것으로 나타났다(Table 1).

인편을 이용할 경우 완전한 살균이 불가능할 경우가 많은 반면 화경은 식물체 조직중 지상부와 떨어져 있어서 감염률이 낮고 타기관에 비해 분화력이 높아서 대량번식에 적합한 것으로 알려져 있다(Chung et al., 1983; Homma and Asahira, 1985; Hosoki and Asahira, 1980).

수선에 있어서 twin-scales나 잎의 기부조직을 배양재료로 이용하면 기저부 부근의 배측부위 피층세포나 내부 유관속의 세포가 분열하여 분열조직군을 형성하고 이것이 부정아로 발달하는 생리적 특성 때문에 이용가능성이 높으나(Yanagawa and Sakanishi, 1980), 실제로 초기배양시 화경에 비해 오염률이 높기 때문에 실용성이 없고, 인편보다는 화경이 기내대량번식에 적합한 재료이다(Hosoki and Asahira, 1980).

품종별 신초 분화율이 높은 성장조절제 종류와 농도는 'King Alfred'와 'Dutch Master'는 NAA 2.5 mg/L에 BA 5.0 mg/L을 첨가한 것이, 'Barrett Browning'과 'Golden Harvest'는 NAA 1 mg/L에 BA 5.0 mg/L을 첨가한 배지가 효과적이었다(Table 2).

본 실험에서는 'Dutch Master'와 'Golden Harvest'가 증식력이 가장 높은 것으로 나타났는데 품종들간에 증식력에는 많은 차이가 있으며(Hussey, 1982), 품종에 따라 분화력을 높여주는 적정 호르몬 농도가 다르다(Hosoki and Asahira,

Table 1. Bulblet formation of *N. pseudo-narcissus* 'Golden Harvest'^{a, b}

Plant parts	Bulblet formation (%)	No. of bulblets (ea)	Shoot length (cm)	Bulb diameter (mm)	Fresh weight (g)	No. of bulblets /bulb (ea)
Scape	45	1.2	0.8	2.89	1.98	22
Ovary	-	-	-	-	1.44	0
Scale	16.7	0.6	0.4	2.00	1.06	1
Leaf	5.3	0.1	1.4	5.00	1.15	0
Scape + basal Plate	75	2.1	3.0	7.63	2.24	31

^a Media : MS + BA 5.0 mg/L + NAA 2.5 mg/L.

^b Data were collected after 11 weeks of culture.

1980). 그러므로 증식력이 낮은 품종의 적정 호르몬 농도 구명에 관한 연구가 이루어져야 하리라 생각된다.

배양재료별로 기관분화율이 다르게 나타나는 것이 식물체내의 무기성분 함량차이에 기인하는 것인가를 알아보기 위해 P₂O₅, K, Ca, Mg, Total-N 함량의 차이를 식물체 부위별로 분석해 본 결과는 표 3과 같았다. 인산은 화경의 백색부위와 화뢰에서 1.18 mg/L, 자방과 인편에서 1.15 mg/L으로 높게 나타났고, 칼륨은 화경 백색부위에서 8.71 me, 칼슘은 기저부위에서 2.65 me, 화경의 황색부분과 엽의 황색부분에서 2.63 me로 높게 나타났으며 칼슘은 주로 황색부위에 많이 함유된 것으로 나타났다.

마그네슘은 칼슘과 비슷한 경향으로 황색부위에 많이 함유되어 있으며, T-N은 잎의 녹색부위, 화뢰, 화경의 백색부위 순으로 높게 나타났다. 한편, 인편은 Ca, Mg 함량이 낮았으며 전반적으로 무기성분의 함량이 낮았다. 전체적으로 볼 때 화경의 백색부위와 화뢰부위가 무기성분 함량이 고루 높게 함유되어 있고, 본 실험에서 신초 분화율은 화경의 백색부위가 가장 높은 점으로 미루어 보아 식물체내 무기성분 함량도 신초 분화율에 영향을 미치는 것으로 생각된다. 한편, 화뢰부위는 무기성분 함량은 많으나, 신초 분화율이 저조하고, 기저부위는 무기성분 함량은 저조하나 신초 분화율은 높는데 이는 절편체의 내생호르몬의 차이와 조직의 특성, 기타 다른 물질의 작용이 관여하는 것으로 생각된다. 일반적으로 신초분화에 미치는 요인은 genotype, 배양부위, 모식물체의 생육환경, 배지 조성물질, 배양환경 등 여러 요인이 작용되며(Kim et al., 1989), 수선의 경우 품종에 따라 배양부위에 따라서 배지내 무기성분, 성장조절물질의 종류와 농도가 달라진다(Seabrook, 1990).

P₂O₅는 조직배양시 신초형성에 촉진적이고 질소화합물은 배발생에 효과적이며(Wetherell and Dougall, 1976; Walker and Sato, 1981) 부정근 형성에도 영향을 미친다고 보고된 바 있다(Hyndman et al., 1982). K, Ca, Mg 등은 세포생장을 촉진시키는 역할을 하는데 수선의 배양시에는 N과 K함

Table 2. Effect of BA and NAA on organogenesis of *N. pseudo-narcissus*.

NAA (mg/L)	BA	Cultivars									
		'King Alfred'		'Dutch Master'		'Barrett Browning'		'Golden Harvest'		'Ice Follies'	
		Shoot (%)	No. bulblet /explant (ea)	Shoot (%)	No. bulblet /explant (ea)	Shoot (%)	No. bulblet /explant (ea)	Shoot (%)	No. bulblet /explant (ea)	Shoot (%)	No. bulblet /explant (ea)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
-	0.5	0	0	0	0	5.0	0.6	10.0	0.9	0	0
-	2.5	2.0	1.0	10.0	0.8	5.3	1.0	15.0	0.8	5.0	0.7
-	5.0	4.0	1.0	35.0	2.0	20.0	1.6	24.6	1.8	10.0	1.3
1.0	0.5	6.8	1.0	14.3	1.2	10.0	0.9	25.0	1.6	5.0	0.6
1.0	2.5	18.4	1.0	28.7	1.8	20.6	1.2	47.6	2.1	5.0	0.7
1.0	5.0	14.3	2.2	45.0	2.2	28.0	1.8	50.0	2.9	10.0	1.5
2.0	0.5	4.1	1.0	15.0	2.6	7.6	0.6	25.0	1.7	5.0	0.8
2.0	2.5	10.4	2.6	35.0	2.3	20.0	1.1	45.0	2.4	10.0	1.1
2.0	5.0	22.9	4.5	50.0	3.1	24.2	1.5	45.0	2.6	10.0	1.7

Table 3. Concentrations of inorganic nutrients in propagation materials of *N. pseudo-narcissus* 'King Alfred'.

Explant	P ₂ O ₅ (ppm)	K (me/100g)	Ca (me/100g)	Mg (me/100g)	Total nitrogen (ppm)
Leaf Yellow part	0.89	8.22	2.63	1.01	2.75
Scape Green part	0.85	8.35	2.12	0.90	2.84
Scape Yellow part	0.89	8.22	2.63	1.01	2.75
Scape White part	1.18	8.71	2.57	0.94	3.20
Flower bud	1.18	8.16	2.26	0.85	3.21
Ovary	1.15	7.84	2.32	0.81	3.08
Scale	1.15	0.96	0.32	0.16	2.41
Disk (Basal)	0.91	8.21	2.65	0.99	2.26

량이 많은 Murashige and Skoog 배지에 KH₂PO₄를 보강한 것이 분화력이 높다(Seabrook, 1990).

조직배양시 절편체의 기관형성 차이는 채취한 모본의 전반적인 영양상태 즉, 모본에 비료를 충분히 공급해 준 것과 비료를 공급하지 않은 것 간에는 배양한 후 반응이 다르게 나타난다는 사실로 미루어 볼 때(Kim et al., 1989), 모식물의 무기성분의 함량은 기관형성에 중요한 요인이라고 생각된다.

수선의 기내대량 번식방법을 확립시키기 위해 배양재료별 증식능력과 품종별 적정 성장조절제 농도 및 분화능력을 구명하고 아울러 배양재료간의 무기성분을 분석하였다. 배양재료별로는 화경에 기저부를 부착한 것이 자구형성율이 75%로 가장 높았고 기내에서의 자구생육도 양호하였다. 품종간에는 'Dutch Master'와 'Golden Harvest'가 증식력이 가장 높았고 'Dutch Master'는 BA 5 mg/L + NAA 2.5 mg/L 'Golden Harvest'는 BA 5 mg/L + NAA 1 mg/L을 첨가한 배지에서 자구증식능력이 가장 좋았다. 배양재료별 무기성분은 화경의 백색부위가 P₂O₅ 1.18 mg/L, K 8.71 me, Ca 2.57 me, Mg 0.94 me, T-N 3.20 mg/L으로 다른 부위에 비해 고루 많은 양을 함유하고 있었으며 Ca, Mg은 엽과 화경의 황색부위에 많이 함유되어 있었고 인편은 저농도의 무기성분을 함유하고 있었다.

인용문헌

Chung JD, Chun CK, Suh YK, Rhee EM (1983) In vitro propagation of *Hyacinthus orientalis* L. III. Effect of auxin concentrations and light or dark incubation on organogenesis from flower stalk tissue, and comparison of totipotency between bulb scale and flower stalk tissue. J Kor Soc Hort Sci 24: 162-168.

George EF and Sherrington PD (1984) Plant propagation by tissue culture. Easton Press Ltd, England. p393-394.

Homma Y and Asahira T (1985) New means of *Phalaenopsis* propagation with internode sections of flower stalk. J Jap Soc Hort Sci 54: 379-387.

Hosoki T and Asahira T (1980) In vitro propagation of *Narcissus*. J Amer Hort Sci 15: 602-603.

- Hussey G** (1982) In vitro propagation of *Narcissus*. *An Bo* **49**: 707-719
- Hyndman SE, Hasegawa PM and Bressan RA** (1982) The role of sucrose and nitrogen in adventitious root formation on cultured rose shoots. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* **1**: 229-238.
- Kim KW, Paek KY, Chung JD, Choi KT** (1989) Plant tissue culture. Hyang MoonSA. Seoul. pp26, 52, 60, 64, 165.
- Paek KY, Lee CW, Choi JK, Hong YP** (1987) Effect of explant source, breaking of dominated and dormancy on shoot proliferation and bulbing of Hyacinth, *Narcissus* and Lily in vitro. *J Kor Soc Hort* **28**: 88-98.
- R. D. A.**, (1988) Analysis of soil mineral
- Seabrook JEA** (1990) *Narcissus* (Daffodil) In PV Ammirato, DA Evans, WR Sharp, and YPS Bajaj, eds, *Handbook of Plant Cell Culture* Vol 5. McGraw-Hill, New York, pp577-597.
- Yanagawa T, Sakanishi Y** (1980) Regenerative studies on the excised bulb tissue of various tunicated-bulbous ornamentals. II. Morphological observations on bulblet formation from bulb-scale segments. *J Japan Soc Hort Sci* **49**: 119-126.
- Walker KA Sato SJ** (1981) Morphogenesis in callus tissue of *Medicago sativa*; the role of ammonium ion in somatic embryogenesis. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* **1**: 109-121.
- Wetherell DF Dougall DK** (1976) Sources of nitrogen supporting growth and embryogenesis in cultured wild carrot tissue. *Physiol Plant* **37**: 97-103

(1996년 10월 28일 접수)