

아마릴리스의 미숙배와 인편조직으로부터 식물체 재분화

최은경* · 박학봉

전북대학교 농과대학 생물자원과학부

Plant Regeneration from Immature Embryo and Bulb Scale Tissue of *Hippeastrum hybridum*

CHOI, Eun Gyung · PARK, Hark Bong

Division of Biological Resources Science, Major in Horticultural Science,
Chonbuk National University, Chonju, 560-756, Korea *Corresponding author.

Immature hybrid embryos of *H. hybridum*, 'Picottee', 'White Christmas', 'Eldorado', 'Origin', 'Red Lion', 'elstar', 'Crypsy' were cultured on the MS medium supplemented with various concentrations of 2,4-D, NAA, BA and TDZ. Among the treatments, NAA were more effective for the shoot regeneration and bulblet formation than other treatment. Addition of 0.5 mg/L NAA was effective for bulblet induction from explant. Shoot regeneration was most effective on the medium with 1.0 mg/L NAA and 2.0 mg/L TDZ. The addition of 1.0~2.0 mg/L TDZ induced numerous shoots per explant but strongly inhibited root development when compared to 1.0~2.0 mg/L BA. When bulb scale segments of 'Star Van Holland' was incubated, bulblet formation was the most effective on MS medium with 0.5 mg/L NAA.

Key words: TDZ, amaryllis, bulblet

아마릴리스(*Hippeastrum hybridum*)는 수선화과의 춘식구근으로서 휴면기를 가지고 있는 튜울립이나 백합과 같은 다른 구근류와는 달리 휴면기를 가지고 있지 않기 때문에 주년 생산이 가능할 뿐만 아니라 백합과 튜울립은 우리나라의 토질이나 기후 여건상 퇴화되는데 비하여 아마릴리스는 퇴화하지 않고, 간단한 시설, 비닐하우스만으로도 충분히 구근을 비대시킬 수 있다.

아마릴리스의 번식은 종자, 분구, 인편번식 등에 의하여 이루어지지만 자연분구가 적어 구근번식율이 낮으며, 종자 번식의 경우 번이 발생이 많고 개화구에 달하기까지 3~4년이 소요되므로 'Ludwig Scarlet'와 'Rossini' 등 일부 품종에서만 실시되고 있을 뿐 다른 품종에서는 실용화되지 못하고 있다. 대부분의 품종에서는 주로 인편번식이 이루어지고 있으나 1년동안 발생하는 구당 신구수는 23~40개 정도로 증식율이 낮은 편이다. 따라서 번식용 모구는 거의 수입에 의존하고 있을 뿐만 아니라 구근 가격이 비싸 현재 우리나라에서 널리 보급되지 못하고 있는 실정이다. 우리나라의

재배환경에는 적합하나 번식율이 저조하여 널리 보급되고 있지 못한 아마릴리스의 자구형성을 위해 기내조직배양 방법이 시도되었으나, 현재까지 다른 구근류(Been et al., 1996: Dennis and Ascher, 1978: Paek et al., 1987)에 비하여 연구된 바가 매우 적은 편이고, 인편(Hussey, 1975: Mill et al., 1974)과 화경배양에 의한 자구 형성을 또한 저조한 편이다. 현재까지 아마릴리스 인편배양시 절편체로부터 자구형성과 비대에 BA와 자당의 효과가 인정되었고, 인편의 각 배양 부위별 자구형성능력, 자구형성시 형태적 관찰(Tadashi and Sakanioshi, 1980ab)이 보고 되었다. 본 실험에서는 색상과 화형이 다양한 아마릴리스의 여러품종을 상호 교잡한 후, 미숙배와 인편을 배양함으로써 캘러스로부터 자구형성을 조사하여 배양체에 따른 기내번식 효율을 비교해 보고자 실시하였다.

材料 및 方法

미숙배 배양

미숙배를 얻기 위하여 백색계통 'Picottee', 'White Christmas'와 적색계통 'Eldorado', 'Origin', 'Red Lion', 'Telstar' 그리고 백색과 적색혼합계통 'Crypsy'를 사용하였으며 수분 3일 전에 미리 모본의 수술을 제거하고 유산지를 띄워 자가수분을 방지한 후, 7품종을 상호수분 교잡하였다. 수분 후 30일된 미숙배를 배양에 이용하였다. 미숙종자를 채취하여 70% 에칠알콜에 10초간, 7% calcium hypochlorite에 7분간 표면소독한 후, 멸균수로 3회 수세하였다. 소독된 미숙종자는 해부현미경 하에서 어린 미숙배만 적출하여 배양하였다. MS 기본배지에 여러 가지 생장조절물질을 처리한 후, 3% sucrose와 0.8% 한천을 첨가하였고 pH를 5.8로 조정하여 증기멸균하여 사용하였다. 배양 온도는 25 ± 2°C, 조도 2000 lx, 16시간 광주선 하에서 배양하였다.

인편배양

인편배양을 위하여 'Star Van Holland' 품종을 사용하였다. 인편배양용 구근은 흐르는 물에 24시간 세척한 후, 외인편 2~3겹을 제거하고 95% 에탄올에 10초간 침지한 다음, 7% calcium hypochlorite 수용액에 전착체를 2~3방울 첨가하여 20분간 소독 후 살균수로 4회 수세하여 사용하였다. 인편은 상, 중, 하로 구분하여 치상하였고 치상체는 8.0 × 7.0 mm 크기로 절단하여 사용하였다. 배지는 MS 기본배지에 24-D, NAA와 kinetin, BA, thidiazuron(TDZ)을 단독 또는 조합처리하였다. 인편으로부터 캘러스 유기를 위하여 4주동안 암배양한 후에 동일조건 하에서 명배양하였다. 배양 후 1주일 간격으로 캘러스 발생, 줄기와 뿌리 분화, 자구형성율을 조사하였다. 배양 4주후 얻어진 식물체는 MS 기본배지에 계대배양하여 자구 크기가 1 cm 이상 된 구근만 배양병에서 꺼내 질석과 하이드로볼에 이식하고 2주 순화시킨 후 부엽토와 모래를 1:1로 배합한 상토에 정식하였다.

結果 및 考察

미숙배 배양에 미치는 생장조절물질의 영향

배양초기 미숙배는 팽대하여 캘러스를 형성하거나 직접 줄기로 발달되기도 하고, 녹색의 단단한 캘러스를 형성한 후 뿌리와 줄기가 동시에 분화하였다(Figure 2). 교잡종의 미숙배를 배양한 3개월 후 절편체로부터 캘러스, 줄기, 뿌리, 자구형성율을 조사한 결과(Table 1), 'Picottee'와 'Origin'은 자가수분구보다 타가수분구에서 줄기, 뿌리, 자구형성율

Table 1. Effect of cross combination on callus formation and organogenesis from embryo culture amaryllis after 4 weeks in culture.

| Cross | No. of explant | No. of callus produced (%) | Organogenesis (%) | | |
|------------------------|----------------|----------------------------|-------------------|----------|----------|
| | | | shoot | bulblet | root |
| Picottee | | | | | |
| × Picottee | 54 | 18(33.3) | 18(33.3) | 13(24.1) | 21(38.9) |
| × White Christmas | 53 | 22(41.5) | 23(43.4) | 16(30.2) | 32(60.4) |
| × Eldorado | 53 | 9(17.0) | 23(43.4) | 19(35.8) | 30(56.6) |
| × Origin | 35 | 8(22.8) | 18(51.4) | 11(31.4) | 16(45.7) |
| × Telstar | 63 | 30(47.6) | 23(36.5) | 49(77.8) | 41(65.1) |
| White Christmas | | | | | |
| × Eldorado | 31 | 16(51.6) | 12(38.7) | 14(45.1) | 26(83.9) |
| Origin | | | | | |
| × Origin | 24 | 21(87.5) | 6(25.0) | 4(16.6) | 14(58.3) |
| × Telstar | 11 | 6(54.5) | 3(27.2) | 2(18.1) | 6(54.5) |
| × Crypsy | 24 | 13(54.1) | 14(58.3) | 12(50.0) | 3(12.5) |
| Red Lion | | | | | |
| × Eldorado | 35 | 17(48.6) | 12(34.3) | 13(37.1) | 16(45.7) |
| × Origin | 28 | 1(3.6) | 2(7.1) | 3(10.7) | 5(17.8) |
| × Telstar | 113 | 47(41.6) | 47(41.6) | 56(49.5) | 73(64.6) |
| × Crypsy | 21 | 6(28.5) | 7(33.3) | 6(28.5) | 14(66.6) |

이 증가되었다. 특히 'Picottee' × 'Telstar'에서 77.8%로서 가장 높은 자구 형성율을 나타냈고, 'Red Lion' × 'Origin'에서는 10.7%로 가장 낮은 자구형성율을 보였다. 자구는 줄기와 뿌리의 접촉부위가 비대되어지기 시작하면서 줄기와 뿌리가 분화되던지 약 6-8주후부터 관찰되었다(Figure 3). 절편체당 캘러스 발생은 'Origin'의 자식구에서 87.5%, 뿌리 발생은 'White Christmas' × 'Eldorado'에서 83.9%로 가장 높게 나타나 계통간 차이가 있었다.

생장조절물질의 영향은 Table 2와 같이 2,4-D 0.5~1.0 mg/L일때 줄기와 자구분화를 관찰할 수 있었으나 3.0~5.0 mg/L에서는 캘러스와 뿌리분화만 왕성하였고, 1.0 mg/L 2,4-D 단독처리보다 1.0~2.0 mg/L BA와 혼합처리가 줄기 분화에 더욱 효과적이었다.

NAA에서 0.5~5.0 mg/L 단독처리는 캘러스 발생은 저조하였고 뿌리와 줄기, 자구형성율이 높았다. 0.5 mg/L NAA 처리구에서 72%로 높은 줄기분화율을 보였으며 자구형성율은 62%로 모든 처리구중에서 가장 양호하였다. 그러나 NAA 1.0 mg/L 단독처리보다 1.0~2.0 mg/L BA와 TDZ 혼합처리가 줄기분화율을 더욱 향상시켰다. 사이토키닌의 종류에 따라서도 차이를 나타내어, 뿌리의 발생은 BA처리에서 많았으나 줄기의 발생은 TDZ 처리에서 양호하였으며 특히 NAA 1.0 mg/L와 TDZ 2.0 mg/L 혼용처리구에서 줄기 분화율이 90%로서 가장 높은 줄기 분화율을 보였다. 그러나 배양초기에 TDZ처리는 절편체로부터 높은 줄기 분화율을 나타냈으나, 엽육이 비정상적으로 비대되고 뒤떨어져 줄기의 생육이 저조하였다.

분화된 식물체는 MS 기본배지에 계대배양하였으며 배양 4개월후 자구의 크기가 1 cm 이상인 유식물체를 질석과 하이드로볼을 혼합한 배양토에 이식하여 25 ± 2°C하에서 2

Table 2. Effects of growth regulators on callusing, shooting, bulblet formation and rooting from immature embryo culture of amaryllis.

| Growth regulators(mg/L) | | | | No. of explant | No. of callus produced(%) | Organogenesis(%) | | |
|-------------------------|-----|-----|-----|----------------|---------------------------|------------------|---------|--------|
| 2,4-D | NAA | BA | TDZ | | | shoot | bulblet | root |
| 0.5 | | | | 51 | 11(21) | 36(70) | 24(47) | 48(94) |
| 1.0 | | | | 66 | 23(34) | 23(34) | 10(15) | 45(68) |
| 3.0 | | | | 61 | 42(68) | 3(4) | 1(1) | 51(83) |
| 5.0 | | | | 55 | 29(52) | 0 | 0 | 26(47) |
| | 0.5 | | | 61 | 1(1) | 44(72) | 38(62) | 47(77) |
| | 1.0 | | | 46 | 0 | 29(63) | 27(58) | 27(58) |
| | 3.0 | | | 38 | 5(13) | 26(68) | 23(60) | 30(78) |
| | 5.0 | | | 42 | 5(11) | 31(73) | 22(52) | 32(76) |
| 1.0 | | 1.0 | | 45 | 21(46) | 25(55) | 23(51) | 27(60) |
| 1.0 | | 2.0 | | 37 | 12(32) | 21(56) | 12(32) | 17(45) |
| | 1.0 | 1.0 | | 60 | 3(5) | 48(80) | 27(45) | 38(63) |
| | 1.0 | 2.0 | | 42 | 3(7) | 32(76) | 20(47) | 25(59) |
| 1.0 | | | 1.0 | 45 | 7(15) | 27(60) | 17(37) | 20(44) |
| 1.0 | | | 2.0 | 30 | 4(13) | 23(76) | 12(40) | 9(30) |
| | 1.0 | | 1.0 | 24 | 4(16) | 20(83) | 8(30) | 10(41) |
| | 1.0 | | 2.0 | 44 | 0 | 40(90) | 12(27) | 14(31) |

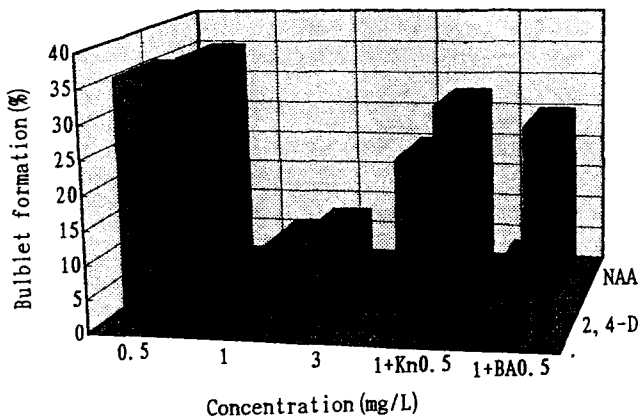


Figure 1. Effect of growth regulators on bulblet formation from bulb scale segment culture of *H. hybridum* var. 'Star Van Holland' after 8 weeks in culture.

주 순화시킴으로써 98% 활착율을 보였다.

현재 재배되고 있는 아마릴리스는 종간교잡에 의해 육성된 품종으로서 본 실험에도 품종간의 교잡에 의해 종자 획득이 용이하였다. 그러나 Kim과 Sung(1990)은 자가불화합성 및 교잡불친화성이 강하고 미숙배의 조기퇴화가 심한 백합의 경우 화주절단수분법과 배배양기술을 이용하여 종간잡종을 획득하고 있다. 잡종배는 연령에 따라 영양요구성이 달라 어퇴형 이후의 성숙배는 영양요구성이 단순하여 Knop 배지에도 잘 생육하나 길이 1 mm 이하의 미숙배의 경우 MS 배지가 적당하고 배발생 초기에는 배주내 삼투압이 높아 고농도 자당과 아미노산을 요구하는 경향이 있다고 하였다. 따라서 Kim과 Sung(1990)은 백합의 미숙배 배양시 한천 0.4~1.0%, sucrose 2~3%, pH 4.0-5.5와 16시간 일장 그리고 NAA 0.01 mg/L 조건하에서 정상 유식물체의 획득

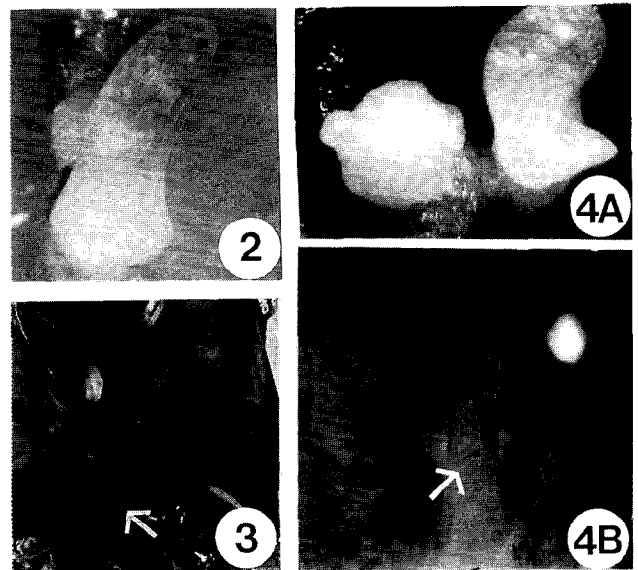


Figure 2. Shoot differentiation from immature embryos after 4 weeks of culture.

Figure 3. Bulblet formation from embryo on MS medium with 0.5 mg/L NAA.

Figure 4. Micropropagation of *H. hybridum* var. 'Star Van Holland' by bulb scale culture.

A: bulblet produced from compact greenish callus after 3 weeks of culture

B: plant regeneration from bulb scale explant

율이 가장 좋았다고 하였다. 그러나 아마릴리스의 교잡배 배양에서는 0.5 mg/L NAA 첨가구에서 가장 높은 식물체 분화율을 나타냈다. 자연상태에서 배의 발달과정은 어느정도 배적생장을 한 후 발아하는 경우와 즉시 발아하는 경우가 있는데 대부분 교잡배의 경우 전자의 발달과정을 거쳐

발달한다. 본 실험에서도 교잡배의 경우 수분후 7~10일까지는 자방이 정상적으로 비대 발육하지만 수분 10여일 후 자방이 더 이상 성장하지 않고 갈변 고사하는 경우도 많이 발견되어 수분후 배발육에 관한 현미경적 관찰이 요구되었다. 수분후 30일된 배는 대부분 배양 3-4주 후에 발아하였으며 배지내 성장조절물질의 농도 및 종류에 따라 캘러스화하거나 갈변 고사하였다. 뿐만 아니라 본 실험에서는 수산화(Lee et al, 1995)와 같이 지금까지 보고된 BA나 kinetin처리와는 달리 높은 사이토키닌 활성을 가지는 TDZ처리는 배양체당 많은 줄기를 분화함으로써 BA처리 보다 더 많은 유식물체 획득이 가능하였고, TDZ 처리에 의해서 얻어진 많은 유식물체는 배양초기 있어 비대되거나 투명화되는 등 형태적으로 정상식물체와 다른 양상을 나타냈으나, 성장조절물질이 첨가되지 않은 MS 배지에 계대배양함으로써 정상적인 식물체로 발달되었다. 따라서 TDZ처리는 단시일에 많은 식물체 획득이 가능하나 계대배양의 필요성이 요구되었다.

인편배양에 미치는 성장조절물질의 영향

'Star Van Holland'의 인편을 2,4-D, NAA가 각각 0.5~3.0 mg/L 함유된 MS 배지에 배양하여 자구 발생율을 조사하였다. 배양초기 팽대된 인편은 절단부위에 흑갈색 캘러스나 돌기를 형성하였으며 이처럼 캘러스 표면에 생긴 돌기들은 명상태에서 엽록소를 띄면서 줄기와 뿌리로 분화되었다 (Figure 4 A, B). 2,4-D나 NAA 단독처리는 0.5 mg/L 처리가 1.0~3.0 mg/L보다 자구 형성율이 높았고 고농도로 갈수록 캘러스 발생이 왕성하였다. 2,4-D, NAA와 BA, kinetin 혼용처리는 같은 농도의 NAA, 2,4-D 단독처리보다 자구형성 및 분화에 효과적이었다.

기부를 붙이지 않은 인편을 치상하였을때 접종체의 오염은 줄일 수 있었으나 줄기 및 자구 형성율은 저하되었다. 배양초기에 배양체의 절단면에서 많은 페놀성 물질이 발생하여 빈번한 배지 교환이 필요하였고 페놀성 물질이 많이 발생된 치상체에서는 자구 형성이 억제되었다. 본 실험에서는 배양초기 4주동안 암상태에서 배양하였을때 자구의 발생이 양호하였고, 2000 lx 조도에서 명배양함으로써 줄기로 발달되었다. Paek과 Chun(1982)은 백합 인편배양시 암배양은 캘러스 발생과 자구의 크기 및 구중을 증가시키지만, 단단한 녹색의 캘러스가 줄기분화에 촉진적이므로 명배양이 보다 효과적이라고 하였으며, 계속적인 암배양보다는 4주간 암배양 후에 명배양으로의 전환이 자구의 분화율과 캘러스 발생이 증가된다고 하여 본 실험과 일치하였다. 뿐만 아니라 Han 등(1991)은 아마릴리스의 자구형성 및 구비대에 관하여 BA 1.0~2.0 mg/L가 가장 적합하였고, NAA처리는 1.0 mg/L 이하의 농도에서 개체분화가 촉진되고 그 이상의 농도에서는 억제작용이 일어난다고 하였으며 배지내 BA,

NaH₂PO₄ 및 adenine의 첨가는 자구수의 증가에 크게 영향을 미치지 않는다고 하였다. 그러나 본 실험에서는 품종간의 차이는 보이지만 BA 0.5 mg/L 단독처리에서는 자구형성이 되지않았으나, NAA 0.5~1.0 mg/L 단독처리나 2,4-D 또는 NAA 1.0 mg/L에 BA 0.5 mg/L 혼용처리함으로써 자구형성율이 더욱 양호함으로써 Han 등(1991)의 결과와는 약간의 차이가 있었다.

摘 要

아마릴리스 'Picottee', 'White Christmas', 'Eldorado', 'Origin', 'Red Lion', 'Telstar', 'Crypsy'의 교잡배를 여러 농도의 2,4-D, NAA, BA, TDZ가 첨가된 MS배지에 배양한 결과, 0.5~3.0 mg/L 2,4-D에 비하여 0.5~3.0 mg/L NAA 처리구에서 줄기와 자구 분화가 양호하였다. 0.5 mg/L NAA 처리는 배양체로부터 높은 자구 형성율을 나타냈고, 줄기 분화율은 NAA 1.0 mg/L과 TDZ 2.0 mg/L 혼용처리구에서는 가장 높았다. 배지에 1.0~2.0 mg/L TDZ 첨가는 치상체당 더 많은 줄기를 분화시켰으나 1.0~2.0 mg/L BA 처리보다 뿌리의 발달은 억제되었다.

'Star Van Holland'의 인편을 배양했을때 자구 형성은 0.5 mg/L NAA가 첨가된 배지에서 가장 효과적이었다.

주요어: 종간잡종배, 아마릴리스, TDZ

參 考 文 獻

- Been CG, Goo DH, Kim YJ, Ko JY (1996) Plant regeneration via somatic embryogenesis in Lily(*Lilium × formolongi*). J Plant Tissue Culture 23: 249-252
- Dennis PC, Ascher PD (1978) Tissue culture of bulb scale section for asexual propagation of *Lilium longiflorum* Thunb. J Amer Soc Hort Sci 103: 182-184
- Han BH, Kim JS, Paek KY (1991) Effect of growth regulators on the bulblet formation through twin-scale segment culture in *Hippeastrum hybridum* 'Red Lion'. Korean J Plant Tissue Culture 18: 355-360
- Hussey G (1975) Totipotency in tissue explants and callus of some members of the Liliaceae, Iridaceae and Amarylliaceae. J Expt Bot 26: 253-262
- Kim KW, Sung SK (1990) Obtaining of plantlets through immature embryo culture of Lilies. J Kor Soc Hort Sci 31: 423-431
- Lee BK, Kim TS, Park BM (1995) In vitro propagation of *Narcissus pseudonarcissus* by scale cultures using thidiazuron. Korean J Plant Tissue Culture 22: 53-57
- Mii M, Mori T, Iwase N (1974) Organ formation from the excised bulb scales of *Hippeastrum hybridum* in vitro. J Hort Sci 49: 241-244

Paek KY, Chun CK (1982) In vitro propagation of bulb scale sections of *Lilium longiflorum* Thunb. J Kor Soc Hort Sci 23: 230-239

Paek KY, Lee CW, Choi JK, Hong YP (1987) Effect of explant source breaking of apical dominance and dormancy on shoot proliferation and bulbing of Hyacinth, narcissus and lily in vitro. J Kor Soc Hort Sci 28: 88-98

Tadashi Y, Sakanishi Y (1980a) Studies on the regeneration of excised bulb tissues of various tunicated-bulbous ornamentals I. Regenerative

capacity of the segments from different parts of bulb scales. J Japan Soc Hort Sci 48: 495-502

Tadashi Y. and Sakanishi Y (1980b) Studies on the regeneration of excised bulb tissues of various tunicated-bulbous ornamentals. II. Morphological observations on bulblet formation from bulb-scale segments. J Japan Soc Hort Sci 49: 119-126

(1997년 9월 6일 접수)