韓資植誌 21(2) : 134~138(2008)
Korean J. Plant Res.

조직배양에 의한 네리네 대량증식

한수곤*, 강찬호, 최인영, 최소라, 임회춘, 이진재, 오남기, 최정식
전라북도농업기술원

Bulb Propagation on *Nerine* by Tissue Culture

Soo-Gon Han*, Chan-Ho Kang, In-Young Choi, So-Ra Choi, Jin-je Lee, Hoi-Chun Lim, Nam-ki Oh and Jeong-sik Choi
Jeollabuk-do Agricultural Research and Extension Services, Iksan 570-704, Korea

Abstract - *Nerine* from south africa and its sparkling flower shape make us estimate it as a hopeful kind of cut follow. There was a few studies on *Nerine* in korea. We started this study to set bulb propagation methods. The propagation by tissue culture was changeable according to the growth regulators. The best growth regulator combination which makes a lot of Bulblet was NAA 0~0.5 + BA 0.5~2.0mg · L^{-1} in *Nerine bowdenii* 'Favourite' and *Nerine sarniens* 'Red' respectively. The adjust culture media source for tissue culture were glucose 9% as a carbon source and (NH_4+NO_3) 40mM as a nitrogen source. When glucose was used as a carbon source, Bulblet were harvested a little bit low then sucrose but comparative emergence rate was so high that it is good for carbon source in *nerine* tissue culture. When we consist culture media as MS+BA 1.0mg · L^{-1} + sucose 7% + (NH_4+NO_3) 40mM, the produced Bulblet were reached up to 1.7 each per bulb and emergence rate was up to 100% irrespective of acclimatization period. The suitable culture explant for *nerine* tissue culture was scale. When scale was cultured with MS+BA 1.0mg · L^{-1}+sucose 7%, its propagation efficiency was 54 times greater than using growing point. A proper culture part of the scaly leaf was middle part (8 scaly leaf from outer 8th scaly leaf) when middle part was cultured the number of Bulblet were up to 1.8 each per explant.

Key words - *Nerine*, Propagation, Tissue culture, Cormlet

서 언

아마릴리스과의 식물로 상사화속 화종들과 비슷한 특성을 보이는 네리네는 아프리카 남부에 약 30종이 자생하고 남아프리카 원산의 몇 종이 교배되어 만들어진 원예종으로 알뿌리는 비늘줄기이다. 반 내한성으로 난지 이외에서는 분구를 하여 온실에서 주로 재배한다. 9월 하순~11월에 5~6개의 가는 잎과 30~40cm의 꽃줄기가 자라며 끝에 6~8개의 꽃이 달린다. 꽃은 백색 · 황백색 · 황색 · 분홍색 · 홍색 · 자홍색 등으로 색채가 다양하나 향기는 없다(Sytsema, 1975). 점질양토에 모래와 부엽토를 섞은 것에 깊이심기가 되지 않도록 심으며, 자생종은 약 30여종이 자생하고 있는데 재배되는 주요 화종은 보데니종으로 90% 이상을 차지한다(Fortanier *et al.*, 1979; Traub, 1967). *Nerine* 대량증식을 위한 자구 저장 및 순화재배 조건은 15℃에서 12주가 적절하며, 기내 생산 자구의 적정 토양순화 시기는 휴면타파온도인 22℃이상 유지가 가능한 6월 상순이다. 또한 순화 재배시 효율성 향상을 위한 적정 광원은 적색과 청색의 혼합파장이다(Choi *et al.*, 2006, Berghoef and Van Brenk, 1983).

네리네는 종자번식과 영양번식법 등에 의해 번식한다(Smee, 1984). 종자번식은 종속간 교잡 등 신품종육성에 주로 이용되고 있지만 일반적인 번식방법은 아니다. 따라서 주로 자연분구, 쌍인편 번식, 취핑법, 노칭법, 스코핑법 등의 영양번식법과 조직배양에 의해 번식방법을 이용한다(Lilien-Kipnis *et al.*, 1991; Pierik *et al.*, 1986). 특히, 모구를 twin-scale법으로 20℃에 처리했을 때 최적 분구시기는 휴면각성기로 자구형성 및 생육상황이 수확기, 휴면기에 비해 우수하다. 또한 분구처리 적정 온도는 20℃로 조직 치밀도면에서도 충실한 자구로 발육한다(Han *et al.*, 2006). 한편 구근류의 조직배양은 다수의 자구를 생산할 수 있는 대량증식의 목적뿐만 아니라 바이러스에 의한 종구의 퇴화 등을 막는 무병주 생산에 이용되고 있다(Kawarabayashi

*교신저자(E-mail) : hanara58@hanmail.net

and Asahira, 1988; 1989; Kim *et al.*, 1996).

네리네는 우리나라에서는 아직까지 재배 및 판매가 적으나 절화에 대한 주년 소비 성향 및 새로운 꽃에 대한 수요를 충족시키기 위한 신 화종으로서 각광받게 될 것이다. 따라서 조직배양에 의한 네리네 대량증식을 목표로 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

네리네 기내 조직배양에 의한 대량증식 조건을 확립하고자 배지선발, 자구비대 및 출현율 향상을 위한 첨가물질, 배양부위별 증식효율 등에 관한 연구를 수행하였다. 시험에 사용된 품종은 *Nerine bowdenii* 'Favourite'와 *Nerine sarniensis* 'Red'이며, 기본배지로 MS를 사용하였다.

대량번식 배지선발

대량번식을 위한 생장조정제는 MS 기본배지에 Auxin류의 NAA, Cytokinin류의 BA를 사용하였으며, 첨가농도는 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0mg · L^{-1} 범위에서 단용 및 혼용 처리하였다.

자구비대를 위한 첨가물질

자구비대는 *Nerine sarniensis* 'Red' 품종을 이용하여 탄소원과 질소원를 처리하였다. 탄소원은 MS배지에 sucrose, glucose를 각각 3, 5, 7, 9%, 질소원은 질산태(NO_3)와 암모니아태(NH_4)를 단용 및 혼용으로 10, 20, 40mM 농도로 환산하여 첨가하였으며, 자구 형성정도와 생육상황을 조사하였다.

배양부위에 따른 증식효율

기내 조직배양 시 가장 효율적인 배양 부위를 결정하기 위하여 생장점과 인편 저반부를 시험재료로 사용하여 증식효율과 생성된 자구의 생육상황 등을 조사하였다. 시험품종은 *Nerine sarniensis* 'Red' 이며, 모구의 크기는 구경 3.5±0.2㎝, 구고 4.8±0.2㎝ 이었다. 사용된 인편은 모구를 6등분 한 후 외인편, 중인편, 내인편으로 각각 구분하여 조사하였다.

각 처리별 배지는 pH를 5.8로 조절한 후 900㎖ 배양병에 100㎖씩 분주하여 1.2kg · ㎠ 에서 10분간 살균하였다. 배지내의 한천은 8g · L^{-1}을 첨가 하였다. 배양병당 6개의 절편을 10반복으로 치상하여 24±1℃ 배양실에 3,000lux, 16시간 광조건으로 배양하였고, 치상 210일 후 생존율, 자구형성수, 자구직경 및 지상부 생육을 조사하였다. 또한 기내 생산자구의 적정 토양순화재배 시기를 구명하고자 4월부터 8월에 거쳐 원예용 상토에 조직배양묘(구경 4.0㎜, 구고 8.5㎜, 구중 0.2g)를 이식하고 11월에 출현율을 조사하였다.

결과 및 고찰

대량번식 선발 배지

기내 조직배양 배지조건 구명을 위한 생장조정제 처리결과 자구형성수는 단용처리보다 혼용처리에서 효과적임을 알 수 있었다(Table 1). 품종별 증식효율은 *Nerine bowdenii* 'Favorite'와 *Nerine sarniensis* 'Red' 모두 NAA 0~0.5 + BA 0.5~2.0mg · L^{-1}에서 무처리 1.2개보다 66%~100% 향상된 1.8~2.4개로 효과적이었다. 또한 형성된 자구생육도 생장조정제 처리에서 직경 및 엽수 등의 생육상황이 우수하였다. 자구직경은 *Nerine bowdenii* 'Favorite'가 NAA 1.0~2.0 + BA 0.5~1.0mg · L^{-1}, *Nerine sarniensis* 'Red'는 NAA 0.1~0.5 + BA 0.5~1.0mg · L^{-1}에서 양호하였으며, 엽수는 *Nerine bowdenii* 'Favorite'가 NAA 0.1~1.0 + BA 1.0mg · L^{-1}, *Nerine sarniensis* 'Red'는 NAA 1.0~2.0 + BA 0.1~1.0 mg · L^{-1}에서 좋았고, 품종 간에는 *bowdenii*가 *sarniensis*보다 우수하였다.

Table 1. The number of new bulb formation, size (㎜) and tissue cultured leaves of *Nerine* cultivar at different concentrations BA and NAA

Cultivar	BA	0 mg · L^{-1}			0.1			0.5			1.0			2.0		
	NAA	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
N. bowdenii 'Favourite'	0	1.2	3.7	2.0	1.5	3.8	1.9	2.3	3.9	3.1	2.2	3.9	3.0	2.1	4.4	2.8
	0.1	2.3	3.8	3.6	2.2	4.4	2.8	2.2	4.9	4.1	2.4	4.6	5.9	2.4	4.8	5.2
	0.5	2.2	3.8	4.5	1.7	4.6	4.5	1.8	4.0	3.7	1.6	4.8	5.4	1.5	4.1	3.3
	1.0	1.8	5.1	4.5	1.3	5.2	4.0	1.4	6.0	3.3	1.4	6.0	3.4	1.4	5.5	4.3
	2.0	1.3	5.2	3.2	1.2	5.3	2.6	1.1	6.0	3.4	1.2	5.0	3.2	1.3	5.3	3.8
N. sarniensis 'Red'	0	1.2	3.2	1.4	1.4	4.3	2.0	1.9	3.8	1.8	1.8	3.9	1.9	2.4	4.6	2.5
	0.1	1.9	4.9	2.4	1.6	4.8	2.5	2.0	5.0	2.1	1.7	5.3	2.3	1.9	4.4	2.3
	0.5	1.9	4.9	2.5	1.8	4.4	3.1	1.7	5.1	2.9	1.3	4.7	2.9	1.9	5.9	2.7
	1.0	1.3	2.7	2.2	1.3	5.2	3.0	1.6	4.4	3.0	1.3	4.9	2.2	1.7	4.4	2.9
	2.0	1.7	4.5	2.0	1.5	4.3	3.0	1.8	5.9	2.4	1.9	4.8	3.3	1.8	4.5	3.0

A: Number of new bulb formation, B: Size of New bulb, C: Number of tissue cultured leaves.

Table 2. Growth characteristics of *Nerine* cultivar at different concentrations of sucrose and glucose for 150 days

Carbon	source	Diameter of bulb (㎜)	Length of bulb (㎜)	Number of bulb	Number of leave	Length of leave (㎝)	Number of root
Sucrose (%)	3	4.7	9.2	1.9	0.7	1.1	1.6
	5	4.8	10.0	1.8	0.2	0.2	0.6
	7	5.2	9.3	1.7	0.4	0.2	0.5
	9	5.3	9.7	1.7	0.1	0.1	0.6
	mean	5.0	9.6	1.8	0.4	0.4	0.8
Glucose (%)	3	5.4	9.0	1.8	-	-	0.6
	5	5.5	8.0	1.7	-	-	0.1
	7	5.4	9.1	1.7	-	-	0.0
	9	6.2	10.7	1.7	-	-	0.8
	mean	5.6	9.2	1.7			0.4

※ MS + BA 1.0㎎ · L^{-1} + carbon sucrose (%).

자구 비대 첨가물질 선발

조직배양 중 탄소원 및 질소원 첨가가 기내증식과 토양순화에서 출현율과의 관계를 검토하였다. 탄소원은 sucrose에서 평균 1.8개/구가 형성되어 glucose처리보다 많았다. sucrose 농도별 자구형성수는 3%에서 다소 많았으나 자구생육은 7~9%가 양호하였고, glucose 농도별 자구생육은 9%에서 우수한 생육을 나타냈다(Table 2, 3). 나팔나리인 죠지아 품종의 자구비대를 위한 탄소원 농도는 60g · L^{-1}이 최적이며, 120g · L^{-1} 농도에서의 자구비대는 촉진되나 탄소원 농도가 높으면 잎의 신장이 억제된다고 Kawarabayashi와 Asahira(1989) 등은 보고하였으며, Han 등(1999)은 Casa Blanca 품종에서 저반부 유래 소구 배양시 sucrose 60g · L^{-1} 첨가가 자구 생육이 양호하였다고 하였는데 이는 본 연구결과와 유사하였다. 따라서 네리네 구근의 자구비대를 위한 기내배양시 배지내 첨가되는 에너지원으로 탄소원 70~90g · L^{-1}가 효과적일 것으로 생각된다.

한편, 조직배양을 통한 기내 자구 생산에서 가장 비중 있게 고려해야 할 내용 중 기내에서 생산된 자구가 실제로 토양에서 순화 시 높은 효율을 가지고 출현하는가 여부이다. 실제 포장 내에서 재배 작기와 관련하여 연관되는 많은 문제점을 해결하기 위해서도 빠른 출현과 높은 출현율을 유지하는 것이 중요하다. 따라서 토양에서의 출현율을 조사한 결과, sucrose 처리는 48.9%로 비교적 낮았던 반면 glucose는 89.8%로 매우 높아 실질적인 면에서 glucose가 적절한 탄소원으로 판단되었으며, 농도에서는 glucose 7%가 순화시기에 상관없이 출현율을 100%에 가깝게 유지할 수 있어 가장 적절한 탄소원 및 농도로 판단되었다(Table 3).

다음으로 질소원 종류 및 농도를 구명하였다. 자구수는 질산태(NO_3)질소 단용 처리가 암모니아태(NH_4) + 질산태(NO_3)를 혼용보다 양호하였으며, 생성되는 자구수와 생육상황을 고려해 볼 때 농도는 10mM 처리가 적절하였다(Table 4). 그러나 탄소원 종류 및 농도에서와 마찬가지로 조직배양 배지조성 시 중요한 고려사항이 휴면기 없는 출현과 높은 출현율을 감안할 때 적합한 질소 배지원은 질산태 질소(NO_3)와 암모니아태 질소(NH_4)의 혼용형태가 좀 더 양호한 것으로 판단되었다. 실제로 40mM의 농도로 질산태 질소(NO_3)와 암모니아태 질소(NH_4)를 혼용하여 처리 할 경우 전체적으로 순화 출현율이 높게 유지 되었으며, 순

Table 3. New bulb appearance at different concentration of sucrose and glucose

Carbon	source	210 day (April)	180 day (May)	150 day (June)	120 day (July)	90 day (August)
Sucrose (%)	3	20.0	11.0	11.1	0	0
	5	12.5	71.0	22.2	0	0
	7	20.0	55.6	38.5	57.1	39.8
	9	36.4	58.3	50.0	44.4	41.5
	mean	22.2	48.9	30.4	25.4	20.3
Glucose (%)	3	63.2	60.0	90.9	83.3	71.6
	5	70.0	80.0	90.9	100	80.9
	7	100	100	90.0	100	85.5
	9	36.4	80.0	87.5	55.6	50.0
	mean	67.4	80.0	89.8	84.7	72.0

※ Shrine: harvested new bulb from tissue culture for 120 days.

화 후 150일 경과 시에는 출현율이 100%까지 상승하였다. 반면 자구 생성 면에서 유리 하였던 질산태(NO_3) 질소 단용 처리는 평균 출현율이 81.8%로 상대적으로 낮은 결과를 보였다(Table 5).

배양부위에 따른 증식효율

조직배양 치상재료로 부위별 증식효율은 중인편 배양에서 절편당 1.8개의 자구가 생성되어 가장 증식효율이 높았으며 생성된 자구의 소질도 양호하였다(Table 6). 이는 중인편의 경우 적당한 부피를 유지하고 있어 충분한 영양원을 공급할 수 있고 자구가 생성되어 성장할 수 있는 충분한 공간 확보가 가능하기 때문으로 생각된다. 네리네는 유피인경 식물로서 구를 구성하는 인편의 두께나 특성에 있어 내외간 차이가 있다. 모구의 구경이 3.5㎝(3년생 구근) 정도 되는 구근은 약 24개의 인편이 겹겹이 쌓여서 이루어지게 되는데 외부인편은 얇고 쉽게 찢어지는 특성을 보이는 반면 내부인편은 두껍고 인편 간 틈이 적은 밀집 형태를 이루게 되는 원인이 이와 같은 결과를 뒷받침 한다. 또한 생장점 배양과 인편배양의 증식효율을 비교한 결과 재료 채취가 제한적인 생장점 배양에 비하여 인편배양이 54배 높은 증식효율을 보여 대량증식을 통한 자구 확보 차원에서는 인편배양이 유리하였다.

적 요

조직배양에 의한 네리네 기내 대량증식 조건을 확립하고자 대량증식 배지선발, 자구비대 및 출현율 향상을 위한 첨가물질, 배양부위별 증식효율 등에 관한 연구를 수행하였다. 네리네 기내 대량증식을 위한 생장조정제 처리결과 자구형성수는 단용처리보다 혼용처리에서 효과적이었다. 생장조정제 처리별 자구수에서 *Nrine bowdenii* 'Favorite'와 *Nerine sarniensis* 'Red' 모두 NAA 0~0.5 + BA 0.5~2.0㎎ · L^{-1}에서 무처리 1.2개보다 66%~100% 향상된 1.8~2.4개로 효과적이었다. 자구비대

Table 4. Growth characteristics of *Nerine* at different concentration and sources of nitrogen for 150 days

Nitrogen source and concentration (mM)		Diameter of bulb (㎜)	Length of bulb (㎜)	Number of bulb	Number of leave	Length of leave (㎝)	Number of root
NO_3	10	6.4	10.9	1.6	0.6	4.5	2.0
	20	6.7	10.8	1.5	0.8	5.2	2.0
	40	5.5	9.5	1.4	0.7	3.2	1.5
	mean	6.2	10.4	1.5	0.7	4.3	1.8
NH_4	10	5.0	9.2	1.1	0.1	0.4	0.6
	20	3.2	7.9	1.0	0.1	0.6	0.4
	40	-	-	-	-	-	-
	mean	2.7	5.7	0.7	0.1	0.3	0.3
NH_4+NO_3	10	6.0	10.7	1.5	0.4	1.6	2.4
	20	5.0	8.6	1.1	0.4	2.7	0.9
	40	4.9	11.0	1.1	0.4	1.4	1.5
	mean	5.3	9.7	1.3	0.4	2.2	1.7

Table 5. New bulb appearance at different concentration and sources of nitrogen after acclimation in November

Nitrogen source and concentration (mM)		210 day	180 day	150 day	120 day	90 day
NO_3	10	28.6	16.7	81.8	54.5	52.3
	20	38.5	63.0	76.9	72.7	69.8
	40	16.7	81.8	57.1	45.5	46.3
	mean	27.9	53.8	71.9	57.6	56.1
NH_4	10	0	0	57.1	50.0	45.1
	20	0	0	20.0	33.3	32.0
	40	2.1	1.2	0	0	0
	mean	0.7	0.4	25.7	27.7	25.7
NH_4+NO_3	10	27.3	50.0	62.5	55.6	55.7
	20	33.3	50.0	85.7	62.5	59.6
	40	37.5	75.0	100	83.3	74.6
	mean	32.7	58.3	82.7	67.1	63.3

Table 6. Growth characteristics of *Nerine* using position of scale in the tissue culture for 150 days

Growth parameters	Diameter of bulb (㎜)	Length of bulb (㎜)	Number of bulb	Number of leave	Length of leave (㎝)	Number of root
Growing point	6.5	9.4	0.7	1.9	2.4	1.5
Inside scale	6.1	9.9	1.3	0.9	0.8	0.4
middle scale	6.3	10.4	1.8	0.8	0.5	0.5
outside scale	5.8	9.3	1.6	0.7	0.5	0.4

※ Size of original bulb: diameter (3.5±0.2㎝), length (4.8±0.2㎝), number of scale (24 no./bulb).

및 출현율 향상을 위한 최적 배지원과 농도는 Glucose 7%로 가장 양호한 자구비대 및 순화시기에 관련 없는 높은 출현율을 보였다. 또한 질소원으로는 질산태와 암모니아태 질소 혼용 40mM에서 토양내 자구 출현율이 가장 높았다. 배양부위별 증식효율은 재료 확보가 제한적인 생장점 배양보다는 인편번식 배양이 54배 높은 증식효율을 보였으며, 인편번식 배양을 위한 부위로는 중인편이 양호한 생장 및 가장 높은 자구 형성(1.8개/절편)이 가능하였다.

인용문헌

Berghoef, J. and G.Van. Brenk. 1983. Effect of temperature on flowering of *Nerine bowdenii* W. Watts. Acta Hort. 134: 41-48.

Choi, I.Y., S.G. Han, C.H. Kang, H.C. Lim, B.R. Ko, J.S. Choi and W.H. Lee. 2006. Condition of storage and growth characteristics on bulb propagation of *Nerine* by tissue culture. Korean J. Plant Res. 19: 50-53.

Fortanier, E.J., G.Van. Brenk and S.J. Wellensiek. 1979. Growth and flowering of *Nerine flexuosa* alba. Scientia Horticultureae. 11: 281-290.

Han, B.H., B.W. Yae, D.H. Goo and J.Y. Ko. 1999. The formation and growth of bulblets from bulblet section with swollen basal plate in *Lilium* Oriental hybrid 'Casa Blanca' . J. kor. Soc. Hort. Sci. 40: 747-750.

Han, S.G., I.Y. Choi, C.H. Kang, H.C. Lim, B.R. Ko and J.S. Choi. 2006. Condition of division and growth characteristics on bulb propagation of *Nerine* by tissue culture. Korean J. Plant Res. 19: 88-92.

Kawarabayashi, W. and T. Asahira. 1988. Effect of different media and cultural conditions on the growth of shoot tips of lilies cultured *in vitro*. J. Japan Soc. Hort. Sci. 57: 258-266.

Kawarabayashi, W. and T. Asahira. 1989. *In vitro* mutiplication of virus-free bulbs of lilies. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 58: 195-209.

Kim, J.Y., S.T. Choi, M.S. Roh and T.S. Ko. 1996. Production and detection of virus-free plants by shoot tip culture and virazole treatment of bulbils. J. Kor. Hort. Sci. 37: 64-69.

Lilien-Kipnis, H., M. Ziv and S. Kahany. 1991. Proliferation and plantlet regeneration from inflorescence-derived *Nerine* explants cultures in liquid medium. In: J de Jong, Integration of *in vitro* techniques in ornamental plant breeding. Proceedings of Symposium, 10-14 November 1990, Eucarpia, Section Ornamentals. pp. 28-33.

Pierik, R.L.M. and H.H.M. Srttgmans. 1986. Adventitious plantlet regeneration from floral stem explants of *Nerine bowdenii* W. Watts. Netherlands Journal of Agricultural Science. 34: 217-223.

Smee, S. 1984. Growing and breeding Nerines. The Garden. 109: 408-413.

Sytsema, W. 1975. Flowering and bulb growth of *Nerine bowdenii*. Acta Horticulturae. 47: 241-249.

Traub, H.P. 1967. Review of the genus *Nerine*. Plant Life. 23: 1-23.

(접수일 2007. 8. 27 ; 수락일 2008. 3. 12)