

패모의 초기배양과 모구의 저온처리가 자구형성에 미치는 영향

유광진* · 백기엽* · 성낙술** · 최인식*** · 조진태***

Establishment of in Vitro Culture and Effect of Chilling Treatment of Mother Bulb On Bulblet Formation in *Fritillaria thunbergii* Miq.

Kwang-Jin Yu*, Kee-Yeoup Paek*, Nak-Sul Seong**, In-Sick Choi***, and Jin-Tae Cho***

ABSTRACT : This experiment was conducted to obtain basic information for the establishment of in vitro initial culture system in *Fritillaria thunbergii* Miq. Methods of surface sterilization of scale segments as explant and effect of antibiotics added into the culture medium on contamination of explant and chilling treatment of mother bulb on bulblet formation were investigated. Percent of contamination of cultured scale segments was significantly higher in the outer scale segments which were unsuitable as initial culture explant than inner scale segments. Contamination of explants taken from inner scale of bulb was reduced by surface sterilizing explants in the solution of 4~5% sodium hypochlorite for 10~15 minutes. Addition of antibiotics such as kanamycin, vancomycin, cefotaxim, agrimycin and agreptomycin and dithane as fungicide and Incytetm into MS medium was effective to reduce bacteriological contamination, but did not work to control fungi. It had effective to delay the degree of contamination caused by fungi and bacteria harboring in cultured explants. Bulblet formation from cultured scale segments was promoted by dry storage for 2~4 weeks or moisture storage of mother bulbs for 4~6 weeks at 10°C before excision of explants. Addition of kinetin into medium could not exerted for the bulblet formation from the scale segment of dry stored bulb compared to control. But explant taken from 6 week moisture stored bulb formed more than 10 bulblets per explant on the medium containing 3~5 mg/L kinetin.

패모(*Fritillaria*)는 백합과에 속하는 식물로서 인경이 전통적으로 한약재로 이용되어 오고 있다. 패모는 약리작용에 따라 두 집단으로 나눌 수 있는

데 일반적인 감기 등으로 인해 발생하는 기침이나 거담에 효과적인 *F. thunbergii*, *F. sunbei*, *F. cirrhosa*, *F. cirrhosa var. paosinensis*, *F. delavayi*,

본 연구는 1992년도 과학기술처 특정 연구비에 의해서 수행된 결과의 일부분임.

* 충북대학교 원예학과(Department of Horticulture, Chungbuk National University, Cheongju 360-763, Korea)

** 작물시험장 약용작물과(Medicinal Crop Division, Crop Experiment Station, RDA, Suwon 441-100, Korea)

*** 충청북도 농촌진흥원(Chungbuk Provincial RDA, Cheongju 360-270, Korea) <94. 1. 10 접수>

F. pallidiflora, *F. sichuanica*, *F. ussuricnsis* 가 있다.

F. thunbergii 이외에 속하는 다른 패모들은 주로 fritimine ($C_{38}H_{62}O_3N_2$), sipeimine ($C_{27}H_{43}O_3N$), fritiminine ($C_{28}H_{39}O_3N$), beilupeimine ($C_{27}H_{43}O_3N$), chinpeimine ($C_{27}H_{43}O_2N$)과 soupeimine ($C_{27}H_{43}O_4N$)을 포함하고 있으며 이들 약리 성분을 취나 토끼를 대상으로 실험한 결과 혈압이나 심장 박동의 강하등 순환기 질환에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다¹⁷⁾.

그러나 두 집단 모두 연주황과 유방 농양등에 효과가 있는 것으로 알려져 있다¹⁷⁾.

패모는 다양한 종류의 알카로이드를 함유하고 있는데 *F. thunbergii*의 주성분은 peimine ($C_{27}H_{45}O_3N$)과 peiminine ($C_{27}H_{43}O_3N$)이며 그 밖에는 peimisine ($C_{27}H_{43}O_6N$), peimiphine ($C_{27}H_{45-47}O_3N$), peimidine ($C_{27}H_{45}O_2N$)과 peimitidine ($C_{27}H_{47}O_3N$)을 소량 함유하고 있는데 이들은 peimine 보다 혈압강하에 더 효과적이다¹⁷⁾.

이와 같이 다양한 생약 성분을 가진 패모는 인경에 의해서 번식되나 증식율이 매우 낮은 결점을 가지고 있다. *F. thunbergii*는 1년 재배후 1개의 인경에서 2개의 인경이 새로 형성된다. 병충해에 의한 손실을 감안한다면 연간 평균증식율은 1.5~1.6개에 불과하다¹⁷⁾. 따라서 매년 증식용 모구를 제외하고 약용으로 사용할 수 있는 인경은 0.5~0.6개에 불과하기 때문에 대량재배를 위해서는 증식율을 높이는 것이 필수적이다¹⁶⁾. 종자 번식의 경우 증식율은 높으나 발아후 유묘의 생장이 불량하고, 인경의 성장과 발달이 지연되어 생약성분을 가진 이용 가능한 인경으로 발달시키는데 5~6년이 소요되기 때문에 실용적으로 이용되지 못하고 있다. 이와 같이 문제점을 해결하기 위하여 조직배양에 의한 대량증식 실험이 주로 중국 등에서 수행되어 보고되고 있으나^{7,18,19)} 아직까지 체계화하여 실용화되고 있다는 보고는 없다. 지금까지의 보고를 종합해보면 패모의 성장단계별^{2,3)}, 절편체의 채취부위나^{1,16)} 성장조절제의 농도 및 조합이 기관형성에 미치는 영향^{14,20)}에 관한 것이 대부분이어서 조직배양의 기초단계에 머물고 있다. 특히, 패모는 영양번식을 주로하는 식물이기 때문에 오랜 재배과정을 통하

여 바이러스 감염이 심각한 실정이나 이에 관한 무병주식물 획득방법에 관해서 보고된 것은 없는것 같다. 국내에서 패모의 연구 결과를 보면 번식에 관한 실험은 아직 보고된 바가 없는것 같으며 모구의 파종기 재식밀도 및 파종심도 구멍에 관한 보고가 있다^{4,5)}. 따라서 본 연구는 지금까지 국내에서 거의 보고되지 않은 조직배양을 통한 패모의 대량 번식방법을 구명하여 무명우량 계통을 국내에서 주년 번식할 수 있는 체계를 확립하기 위한 기초자료를 얻기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

수확한 패모(*Fritillaria thunbergii* Miq.)의 근에서 인편을 분리하여 배양하였을때 인편조직으로 부터 오염이 심하게 발생되었기 때문에 표면살균방법에 따른 오염을감소를 위해서 모구에서 인편을 분리한 다음 다이센 1000배액에 12시간 침지한 후 Tween 20을 2방울 첨가한 용액에 10~15분간 표면살균하였다. 또한 인편조직을 70% 에탄올에 30초간 침지한 후 표면살균한 것과 오염율을 비교하였다. 이상의 실험에서도 외측 인편의 오염율은 거의 100%에 달하였기 때문에 Murashige-Skoog배지내 살균제인 다이센, Incytetm (Alcide Co, USA), 항생제인 kanamycin, vancomycin, cefotaxime과 농용 항생제인 agrimycin 및 agreptomycin을 membrane filter로 살균하여 배지에 첨가하였는데 농도는 5~100mg/L로 구분하여 실험하였다.

모구의 저온처리가 기관형성에 미치는 영향을 구명하기 위해서 10℃로 조절된 냉장고에서 모구를 6~8주간 건조 혹은 습윤저장한 다음, 구의 내측인편을 0.5cm² 크기로 채취하여 배양한다. 기본 배지로는 Murashige-Skoog배지를 이용하였으며, 0.3mg/L NAA, 5.0% Sucrose 그리고 0.2% Gelrite를 첨가 시켰다. kinetin의 농도는 0.3~10.0mg/L로 구분하여 농도별 효과를 배양 14주후에 조사하였다.

이상의 실험에서 배양은 형광등(1,500lux)으로 16시간 조명하면서 25℃로 조절된 배양실에서 행하였으며 모든 실험은 10~15반복하였다.

결과 및 고찰

수확 후 실온에서 보관중인 패모의 인편조직을 채취하여 기내 배양하였을 때 일반적인 구근류 인편의 표면 살균 방법에 의해서는 100% 오염으로 인하여 초기 배양을 확립하기가 어려웠다.

따라서 sodium hypochlorite의 농도를 3~5%로 높이고 표면살균시간을 달리하여 살균해 본 결과(표 1.) 외측인편조직은 농도와 처리시간에 관계없이 98%이상의 오염율을 나타냈으며, 내측인편은 5%에서 15분간 살균하였을 때 76.5%로 3%에서 10분간 살균하는것 보다 오염율이 13%정도 감소하였다.

그러나 다이센 1000배액에 12시간 침지한 다음 내측인편을 모구에서 분리하여 70%에탄올에 30초간 표면살균하고 다시 sodium hypochlorite 4~5%용액에 10~15분간 살균하였을 경우에는 오염율이 54~60%로 감소하여 sodium hypochlorite용액에 살균하기전 70%에탄올로 채취한 인편을 전처리하는 것이 오염을 방지하는데 효과적이었다. 이는 외측인편의 경우 영양생장기간이

Table 1. Effect of concentration and exposure time of sodium hypochlorite on contamination of bulb scale segments in *Fritillaria thunbergii* after 2-week in culture.

| Sodium hypochlorite(%) | Exposure (min) | Explant source | No. cultured explants | Contamination (%) |
|------------------------|----------------|----------------|-----------------------|-------------------|
| A | 3 | Outer scale | 60 | 100.0 |
| | | Inner scale | 120 | 89.2 |
| | 4 | Outer scale | 60 | 100.0 |
| | | Inner scale | 120 | 80.0 |
| | 5 | Outer scale | 60 | 98.3 |
| | | Inner scale | 120 | 76.7 |
| B | 4 | Inner scale | 120 | 58.3 |
| | 5 | Inner scale | 120 | 60.0 |
| | 5 | Inner scale | 120 | 54.2 |

All scales were soaked in 1000×solution of Dithane for 12 hour.

A : 2 drops of Tween 20 were added in sodium hypochlorite solution.

B : Isolated scales were dipped in 70% ethanol for 30 seconds.

내측인편 보다 길어 상당히 비후하여 있고, 토양과 접촉되어 있기 때문에 내측인편 보다 조직내 병원균이 체계적으로 감염되어 있을 확률이 높기 때문이라 생각되었다.

오염되는 경향을 보면 배양 2~3주후 부터 세균성 오염이 발생되고 그후 곰팡이가 발생되어 오염되는 현상을 나타냈는데 대부분 기내오염은 인편 표면에 부착된 오염원에 의한 발생이라기 보다는 인편조직내 체계적으로 감염된 병원균에 의해서 발생되었다고 생각되었다. 한편 오염율이 높은 외측인편을 살균제인 다이센, 곰팡이와 세균에 효과적이라고 알려져 있는 Incyte™, 그리고 5종류의 항생제를 5~100mg/L농도로 구분하여 멤브레인 필터로 살균한 다음 배지에 첨가하고 인편조직을 배양해본 결과는 표 2와 같다.

다이센과 Incyte™의 경우 농도에 관계없이 100%오염을 나타내어 조직내 체계적으로 감염된 병원균을 제거하는데 효과가 없었다. 그러나 이들

Table 2. Effect of antibiotics, Dithan and Incyte added into the medium on contamination of cultured scale segments of *Fritillaria thunbergii* after 12 weeks in culture.

| Treatment | Conc. (mg/L) | Contamination (%) | Treatment | Conc. (mg/L) | Contamination (%) |
|--------------|--------------|-------------------|------------|--------------|-------------------|
| Dithane | 5 | 100 | Vancomycin | 5 | 100 |
| | 10 | 100 | | 10 | 100 |
| | 20 | 100 | | 20 | 100 |
| | 50 | 100 | | 50 | 100 |
| | 100 | 100 | | 100 | 93.3 |
| Incyte™ | 5 | 100 | Cefotaxime | 5 | 100 |
| | 10 | 100 | | 10 | 100 |
| | 20 | 100 | | 20 | 100 |
| | 50 | 100 | | 50 | 100 |
| | 100 | 100 | | 100 | 86.7 |
| Kanamycin | 5 | 100 | Agrimycin | 5 | 100 |
| | 10 | 100 | | 10 | 100 |
| | 20 | 100 | | 20 | 100 |
| | 50 | 100 | | 50 | 100 |
| | 100 | 93.3 | | 100 | 94.0 |
| Agreptomycin | 5 | 100 | | | |
| | 10 | 100 | | | |
| | 20 | 100 | | | |
| | 50 | 100 | | | |
| | 100 | 93.3 | | | |

물질을 배지내 첨가시켰을 경우 오염발생이 현저히 지연되었다. 항생제를 처리해본 결과 그람 양성 및 음성세균에 효과적인 kanamycin보다 그람 음성세균에만 효과가 있는 cofotaxime에서 오염율이 86.7%로 조금 낮았을 뿐 50mg/L이하 농도에서는 100%오염이 되었으며 *Pseudomonas* 속에 속하는 세균에 효과적이라고 알려진 *agrimycin*과 *agreptomycin*에서도 효과가 없는 것으로 나타나 패모의 종구는 한가지가 아닌 여러가지 종류의 세균이 복합적으로 감염되어 있는 것으로 생각되어져 항생제 처리로써는 패모 인편배양시 오염을 방지할 수 없었다.

그러나 세균의 증식정도는 현저히 감소 하였으

며 발생시기도 지연되는 현상을 관찰할 수 있었다. 일반적으로 오염이 심한 지하부나 지상부 조직을 조직배양할 경우, 조직속에 포함된 세균이나 곰팡이는 제거하기가 매우 어려운데 이들 경우 항생제나 살균제 등을 배지에 첨가⁶⁾하여 오염율을 줄이기도 한다. 그러나 항생제는 배양조직에 해작용을 미치거나 일시적으로 냉원균의 성장을 억제하여 외관성 오염이 안된것 처럼 보이고, 기관형성을 억제하기 때문에 이용되지는 않는다. 따라서 병원균이 침입되지 않도록 배양모본의 비배관리를 철저히 하는 것이 배양후 오염을 방지하는데 최선의 방법이다¹³⁾.

금후 패모에 있어서도 조직배양할 모본을 청결

Table 3. Effect of dry storage of bulbs at 10°C before culture and kinetin on organogenesis through culture of inner scale segments of *Fritillaria thunbergii* after 14-week in culture.

| Duration (weeks) | Kinetin(mg /L) | No. bulblets /explant(±SE) | Bulbing(%) | Callus(%) | No. roots /explant | Rooting(%) |
|------------------|----------------|----------------------------|------------|-----------|--------------------|------------|
| 0 | Control | 3.0 ± 0.12 | 100 | 100 | 0 | 0 |
| | 0.3 | 1.2 ± 0.40 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 1.0 | 1.1 ± 0.35 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 3.0 | 1.0 ± 0 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 5.0 | 1.0 ± 0 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 10.0 | 3.6 ± 0.5 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | Control | 5.0 ± 0.82 | 100 | 3.3 | 0 | 0 |
| | 0.3 | 4.7 ± 0.47 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 1.0 | 5.0 ± 0.82 | 100 | 0 | 4 | 67 |
| | 3.0 | 4.3 ± 0.47 | 100 | 25 | 0 | 0 |
| | 5.0 | 3.4 ± 0.83 | 80 | 40 | 6 | 20 |
| | 10.0 | 5.0 ± 1.26 | 100 | 50 | 1 | 50 |
| 4 | Control | 5.0 ± 0.89 | 100 | 50 | 0 | 0 |
| | 0.3 | 4.0 ± 1.79 | 100 | 67 | 0 | 0 |
| | 1.0 | 1.2 ± 0.40 | 33 | 67 | 0 | 33 |
| | 3.0 | 1.8 ± 0.40 | 56 | 67 | 0 | 0 |
| | 5.0 | 2.8 ± 0.42 | 67 | 100 | 2 | 33 |
| | 10.0 | 3.4 ± 0.50 | 70 | 100 | 1 | 33 |
| 6 | Control | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 |
| | 0.3 | 4.5 ± 1.61 | 33 | 80 | 0 | 0 |
| | 1.0 | 3.3 ± 0.45 | 33 | 100 | 1 | 50 |
| | 3.0 | 2.0 ± 0.54 | 33 | 80 | 0 | 0 |
| | 5.0 | 3.0 ± 0.93 | 33 | 100 | 1 | 33 |
| | 10.0 | 3.3 ± 0.70 | 33 | 100 | 1 | 33 |
| 8 | Control | 3.0 ± 0.89 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 0.3 | 1.7 ± 0.70 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 1.0 | 3.3 ± 0.94 | 100 | 67 | 0 | 0 |
| | 3.0 | 4.0 ± 0.63 | 25 | 100 | 0 | 0 |
| | 5.0 | 2.4 ± 0.80 | 75 | 0 | 0 | 0 |
| | 10.0 | 3.0 ± 0.94 | 50 | 0 | 0 | 0 |

Addenda to the MS basal medium were as follow: 0.3 mg /L NAA and 5.0% sucrose.

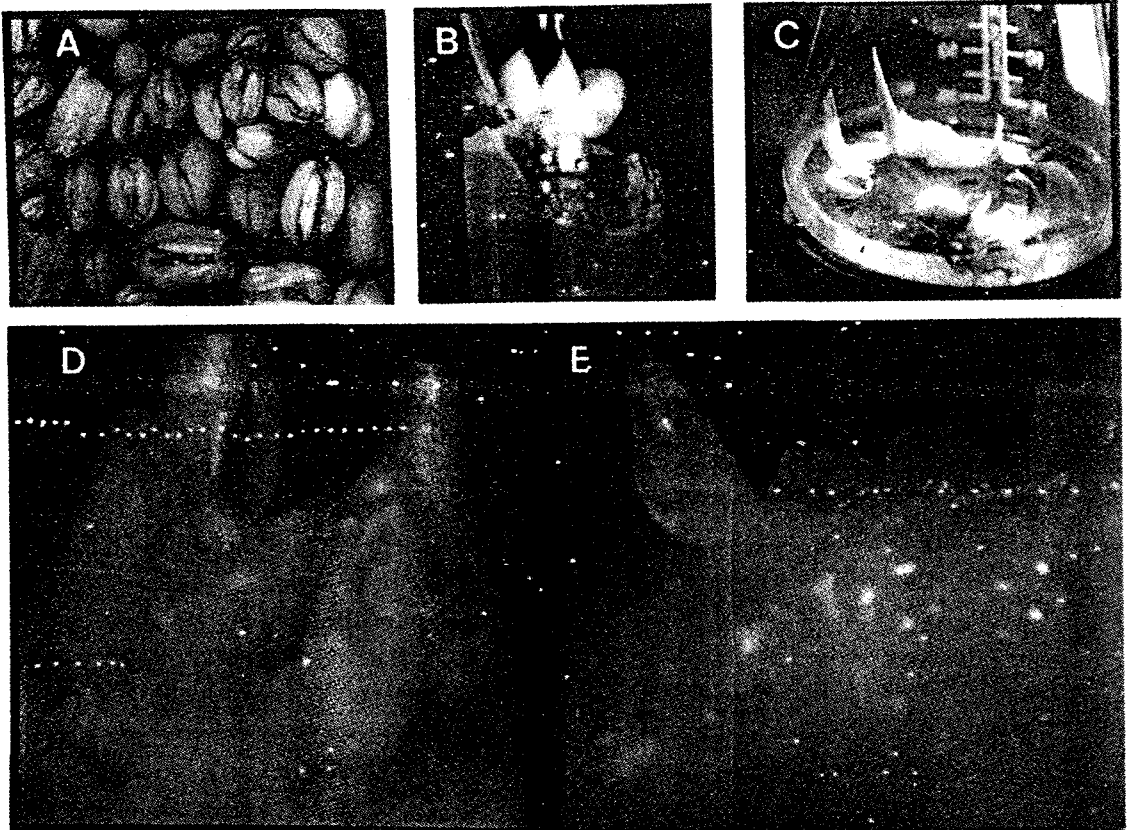
한 토양에서 비배관리를 양호하게하여 오염을 방지할 수 있는 재배법이 개발되지 않으면 인편배양을 확립하기가 어렵다고 생각되었다. 한편 오염된 조직에서 미생물을 분리배양해 본 결과 *Pseudomonas* 속에 속하는 미동정 세균으로 밝혀져 이들 세균의 감염이 패모의 성장과 약효성분의 함량에 어떠한 영향을 미치는지에 관한 실험도 병행하여야 될것으로 생각되었다.

이상의 결과 패모의 이편배양시 오염율을 감소시키기 위해서는 충실하고 건전한 구를 선택한 다음, 내측인편을 택하여 70%에탄올에 30초간 침치시킨 다음, sodium hypochlorite 4~5% 용액에

10~15분간 표면살균하는 것이 바람직하다고 생각되었다.

한편, 배양하기전 모구를 10℃에서 8주간 건조 저장하면서 2주 간격으로 kinetin이 0.3~10.0 mg/L첨가된 배지에 내측인편을 배양해 본 결과는 표 3과 같다. 저온처리하지 않은 모구(그림 1의 A)에서 채취한 내측인편은 모구의 충실도에 따라 자구 재생력에 상당한 차이가 있었기 때문에 구의 크기가 균일하게 충실한 것을 선택하여 배양했을 때 14주 후 평균 3개정도의 자구가 형성되었다.

그러나 kinetin을 0.3~0.5mg/L첨가했을 경우에는 1개의 인편에서 평균 1개의 자구만이 양성되



Pho. 1. Organogenesis from scale segment culture in fritillary.

A=mother bulb before culture, B=bulblets formation from bulb scale segment on MS medium containing 5.0 mg/L kinetin and 0.3 mg/L NAA after 10 weeks in culture, C=regeneration of bulblets from scale segments excised from regenerated bulblets on medium added 10.0 mg/L kinetin, D=bulblet formation from callus on medium supplemented with 0.1 mg/L 2, 4-D after 8-weeks in culture, E=bulblet formation on surface of cultured scale segments which treated 2-week chilling before culture on medium added 5.0 mg/L kinetin after 9-week in culture.

었으나 kinetin의 농도가 10.0mg/L로 증가하면 대조구보다 약간 자구형성수가 증가하는 경향을 보였다. 인편당 형성되는 자구의 수가 자구의 생장에 영향을 미쳤는데, 인편당 자구형성수가 증가할 수록 생장은 불량하였고 인편당 1개의 자구가 형성될 경우 자구의 생장은 촉진되는 경향이였다(그림 1의 B).

전반적으로 저온처리를 2~4주 동안 하였을 때 대조구에서 자구형성수가 증가하였고, 캘루스 형성율은 4~6주 처리구에서 높았다. 저온처리 기간에 관계 없이 kinetin 처리는 대조구보다 자구형성수를 증가 시키지 못하였으나 저온처리기간이 6주일 경우에는 0.3mg/L에서, 8주에서는 3.0mg/L처리구에서 대조구보다 자구형성수가 증가하였다. 그러나 인편배양에서 형성된 자구의 인편을 재 배양 하였을 경우 kinetin 첨가는 신초의 발생을 촉진시키는데 효과가 있었다(그림 1의 C).

한편, 4주간 저온처리한 후 kinetin 10.0 mg/L 첨가된 배지에 인편을 채취하여 배양하였을 때 형성된 캘루스를 2, 4-D가 0.1 mg/L첨가된 배지로 옮겼을 때 다수의 자구 형성을 관찰할 수 있었다(그림 1의 D).

배양할 인편으로부터 자구형성은 인편의 향측보다는 배측에서 주로 이루어졌는데 (그림 1의 E) 이는 참나리¹⁰⁾ 및 히아신스¹¹⁾ 인편 조직배양에서도 보고된바 있는데 패모 인편내 존재하는 vascular strand와 abaxial epidermis사이의 거리가 짧아 이 부위에 세포분열 촉진물질이 많이 포함되어 있거나 이동이 된다는 것을 추정할 수 있었다.

모구를 건조저장 대신 습윤저장한 후 인편을 배양해 본 결과는 표 4와 같다. 건조저장과는 달리 전반적으로 자구형성수가 증가하였는데 습윤한 상태로 실온에서 보관한 인편조직에서는 kinetin을 첨가하지 않더라도 인편당 7개의 자구가 형성되어

Table 4. Effect of moisture storage of bulbs at 10°C before culture and kinetin on organogenesis through culture of inner scale segments of *Fritillaria thunbergii* after 14-week in culture.

| Duration (weeks) | Kinetin (mg/L) | No. bulblets /explant (±SE) | Bulbing(%) | Callus(%) | No. roots /explant | Rooting(%) |
|------------------|----------------|-----------------------------|------------|-----------|--------------------|------------|
| 0 | Control | 7.0 ± 2.24 | 100 | 0 | 2.0 | 75 |
| | 0.3 | 5.0 ± 1.39 | 100 | 0 | 1.0 | 25 |
| | 1.0 | 5.8 ± 1.13 | 87.5 | 62.5 | 3.7 | 37.5 |
| | 3.0 | 4.6 ± 1.10 | 71.4 | 71.4 | 0 | 0 |
| | 5.0 | 5.3 ± 1.16 | 100 | 83.3 | 0 | 0 |
| | 10.0 | 5.0 ± 1.31 | 100 | 60 | 0 | 0 |
| 2 | Control | 6.2 ± 0.83 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 0.3 | 3.7 ± 0.70 | 100 | 100 | 0 | 0 |
| | 1.0 | 1.2 ± 0.40 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 3.0 | 2.0 ± 0.71 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 5.0 | 2.0 ± 0.82 | 100 | 50 | 0 | 0 |
| | 10.0 | 2.5 ± 0.50 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | Control | 4.6 ± 1.01 | 100 | 28.6 | 0 | 0 |
| | 0.3 | 4.3 ± 0.88 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 1.0 | 4.8 ± 0.83 | 100 | 25 | 0 | 0 |
| | 3.0 | 5.6 ± 0.73 | 67 | 0 | 0 | 0 |
| | 5.0 | 2.7 ± 0.70 | 67 | 0 | 0 | 0 |
| | 10.0 | 2.7 ± 0.94 | 67 | 33.3 | 0 | 0 |
| 6 | Control | 6.5 ± 2.06 | 80 | 20 | 0 | 0 |
| | 0.3 | 4.3 ± 0.88 | 80 | 40 | 0 | 0 |
| | 1.0 | 4.5 ± 1.50 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 3.0 | 1.3 ± 3.09 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 5.0 | 0.0 ± 2.00 | 100 | 0 | 0 | 0 |
| | 10.0 | 7.5 ± 1.26 | 100 | 0 | 0 | 0 |

Addenda to the MS basal medium were as follow: 0.3 mg/L NAA and 5.0% sucrose.

kinetin첨가구 4.6~5.8개에 비해 높았다. 그러나 2주간 저온처리 했을 경우에는 대조구 6.2개인데 비해 kinetin 0.3 mg/L 첨가구는 3.7개, 1.0 mg/L이상에서는 1.2~2.5개로 현저히 감소하였으나 저온처리 기간이 4~6주로 증가하면서 자구 형성수는 첨가된 배지에 배양하였을 경우에는 인편당 10~11개의 자구가 형성되었다. 형성된 자구의 구비대화는 건조저장에 비해 양호한 편이었으며, 뿌리형성은 저온처리하지 않은 대조구에서 75%로 가장 높았다. Kinetin이 0.3~1.0 mg/L첨가된 배지에서는 25~37.5%범위였고, 그 밖의 처리구에서는 전혀 발근이 되지 않았다. 구근류의 조직배양시 모구의 저온처리 효과를 보면 백합¹⁵⁾에서는 2℃에서 6주간 저온처리 함으로서 자구의 재생력을 현저히 높일 수 있다고 하였으며, tulip⁹⁾에서도 저온처리 효과가 인정된다고 하였다. 그러나 히야신스 인편조직배양에서는 저온처리가 자구형성에 큰 영향을 미치지 않으나¹⁴⁾ 형성된 자구의 생체중은 증가¹²⁾한다고 하였다. 그러나 패모에서는 건조 저장시 저온처리 효과가 없었고 습윤저장시에는 전반적으로 자구형성수가 증가하여 건조저장에 비해 효과적이었는데 이는 타 구근류에서 보고⁶⁾된 바와 같이 습윤저장으로 인하여 인편내 당함량이 증가하고 가수분해성 효소의 활성증가, GA유사물질의 인편내 축적 등에 의해서 자구형성수가 증가한 것으로 추측된다.

적 요

조직배양에 의한 패모(*Fritillaria thunbergii* Miq)의 대량번식 체계를 확립하기 위한 기초실험으로써 인편배양시 오염을 감소에 미치는 모구의 표면살균방법, 항생체처리 효과, 모구의 저온처리 기간이 자구형성에 미치는 영향을 구명하고자 실험한 결과는 다음과 같다.

- 포장재배한 패모를 수확한 후 인편 배양하였을 경우 외측인편이 내측인편보다 오염율이 현저히 높아 배양재료로는 부적합하였고, 내측인편은 70% 에탄올에 30분간 침지후 4~5% sodium hypochlorite 용액에 10~15분간 표면살균함으로써 오염율을 줄일 수 있었다.
- 배지내 항생제, 살균제 및 Incyte[™]첨가가 세균성 오염을 줄이는 데는 효과가 있었으나 곰팡이에 의한 오염은 방지할 수 없었다. 그러나 오염 정도를 지연시키는 효과는 있었다.
- 건조 저장시에는 10℃에서 2~4주, 습윤저장시에는 4~6주에서 자구 형성이 양호하였으며, kinetin첨가는 대조구에 비해 자구형성수를 크게 증가시키지는 않았다. 건조저장시 4주 이후에는 구가 마르면서 고사하는 현상을 나타내어 건조 저장이 패모의 저온처리 방법으로 적당하지 못하다고 생각되었다. 한편, 습윤 저장 6주후 kinetin 3~5mg/L첨가구에서는 배양절편당 10개 이상의 자구가 형성되었다.

인 용 문 헌

- Anonymous 1978. Tissue culture and in vitro propagation of bulb segment of *Fritillaria thunbergii* Miq. Commun. Chi. Med. Herbs. 5:39~41
- Chen, H. R., F. T. Chen., M. Chen and F. L. Zhang. 1985. Tissue culture of *Fritillaria cirrhosa*. 1. J. Tradit Chin Med. 10:10
- Chen, M., H. R. Chen., F. L. Zhong and B. J. Wang. 1986. Tissue culture of *Fritillaria cirrhosa*. II. J. Tradit. Chin. Med. 11:13
- 최인식, 조진태, 1989. 패모의 파종기, 재식밀도 구명. 충북연보. 183~186
- 최인식, 조진태, 1990. 패모의 파종심도 구명. 충북연보. 164~165
- George, E. F. and P. D. Sherrington, 1984. Plant propagation by tissue culture. Exegetics Ltd. 88~108
- Hao, Y. R., M. S. Li and Y. W. Wu, 1982. Callus induction and plant regeneration in tissue culture of *Fritillaria pallidiflora*. Acta Bot. Bor-Occ. Sin. 2:38~43
- Hobson, G. E. and J. N. Davis. 1978. Influence of the extend and duration of cold

- treatment and metabolic activity of tulip bulbs. *Scientia Horticulturae*. 8:279~287
9. 백기엽. 1982. *Tulipa qesneriana*의 조직배양에 관한 연구. II. 성장점과 인편조직으로부터 기관발생과 callus형성에 미치는 저온처리효과. *한원지*. 23:348~356
 10. 백기엽, 신성호. 1983. 칙나리 주아 조직배양 시 자구재생에 미치는 몇가지 요인과 휴면에 관한 연구. *한원지*. 24:149~157
 11. Paek, K. Y. and T. A. Tharpe. 1990. Hyacinth. p. 479~508. In:Handbook of plant cell culture. Vol. 5. Ornamental species(P. V. Ammirato, et al., eds.). MacGraw Hill.
 12. Pierik, R. L. M. and A. J. M. Post. 1975. Rapid vegetative propagation of *Hyacinthus orientalis* L. in vitro. *Scientia Horticulturae* 3:293~297
 13. Pierik, R. L. M. 1987. In Vitro Culture of higher plants. Martinus Nijhoff Publishers. 89~93
 14. Qiao, H. L., X. F. Ma and L. Y. Li. 1986. Preliminary report of greenhose production of bulb of *Fritillaria sichuanica*. *J. Tradit. Chin. Med.* 11:10~11
 15. Stimart, D. P. and P. D. Ascher. 1978. Tissue culture of bulb scale sections for asexual propagation of *Lilium longiflorum* Thunb. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 103:182~184
 16. Sun, C. S., C. C. Chu and C. C. Wang. 1977. Callus formation and organ regeneration in the tissue culture of *Fritillaria thunbergii* Miq. *Acta Bot. Sin.* 19:161~162
 17. Sun, C. S. and D. Y. Wang. 1991. *Fritillaria* spp.(Fritillary):In vitro culture and the regeneration of plants. p. 258~269. In:Biotechnology in agriculture and forestry. Vol. 15. Medicinal and aromatic plants III. (Y. P. S. Bajaj, ed.)Spring-verlag.
 18. Wiesma, W. A. 1982. *Fritillaria* in K-weekbuize te vermeerderen. *Vakbl. Bloem.* 73:35
 19. Zhao, G. F., Y. Cao., Y. Wu., F. Fan., L. J. Zhou and W. H. Yang. 1983. Callus induction and organ regeneration in tissue culture of *Fritillaria ussuriensis* Maxim. *Chin. Bull. Bot.* 1. 2:40~41
 20. Zhou, B. J. 1983. A study on in vitro culture of bulb of *Fritillaria ussuriensis* Maxim. *Plant physiol. Commun.* 1:30