

네오레게리아 기내배양시 변이발생과 기외 생육

정항영* · 한봉희 · 신학기 · 김의영¹

원예연구소, 연암축산원에대학

Variation of the Regenerated Plantlets from in Vitro Culture of *Neoregeria carorinae* 'Tricolor' and in Vivo Growth of Regenerated Plantlets

Hyang Young JOUNG*, Bong Hee HAN, Hak Ki SHIN, Eui Young KIM¹

National Horticultural Research Institute R.D.A., Suwon, 440-310; and
Yonam Junior College of Livestock and Horticulture, Sungwhan, 333-800. *Corresponding author.

In vitro propagation of *Neoregeria carorinae* 'Tricolor' was achieved by using immature flowers and lateral buds, and the plantlets from tissue culture were transplanted and cultivated in greenhouse. The picking times of explants to decrease disappearance of stripes, and *in vivo* the growth and flowering of regenerated plantlets as influenced by *in vitro* treated auxin were investigated. The normal plantlets were obtained at a frequency of 67% in the culture of immature flowers picked at 4 weeks after flower bud differentiation, while all leaf stripes disappeared in the culture of immature flowers picked 1 and 5 weeks after flower bud differentiation. *In vivo* growth of plantlets from immature flower buds was better than those from lateral buds, and the flowering of 27.8% showed in the greenhouse culture of plantlets from immature culture, but the plantlets from lateral buds did not flower at all. The plantlets rooted on the medium with 0.5 mg/L IBA were the most favorable in green house culture, and the kinds and concentrations of auxin *in vitro* did not have any influence on variation of plants cultured in greenhouse.

Key words: auxin, growth, *in vitro*, *in vivo*, neoregeria, variation

최근 꽃의 소비가 증가하면서 화훼의 종묘산업이 발전하여 조직배양을 이용한 묘종생산이 활발해지고 있다. 일본의 경우 화훼에서 상업적으로 조직배양묘를 이용하고 있는 작목은 숙근류 15, 구근류 10, 난류 5, 화목류 3, 관엽류 20속 등 총 53속에 이르고 있고(三位·露木, 1986), 우리나라의 경우도 난류와 카네이션, 거베라, 안개초 등 몇몇 절화식물들이 이용되고 있다(白, 1994). 또한 분화의 소비추세와 실내조경의 발달로 관엽식물의 조직배양묘가 많이 요구되며 이를 위해서 기본적인 기술의 축적이 필요하다.

종묘생산의 가장 큰 관건은 모본과 동일한 묘를 일정한 크기로 단기간내에 많은 양을 만들어 내는 것으로서, 영양번식을 하는 작물의 대부분은 조직배양을 이용하여 번식하면 균일한 묘를 단시일내에 대량생산할 수 있다. 그러나 무늬를 가진 종의 경우 조직배양과정에서 키메라(Chimera)현상이 소실되는 경우가 많아 큰 문제점으로 대두되고 있다

(George and Sherrington, 1984). 그러므로 변이의 발생을 억제하고, 활착률이 높은 건전한 묘를 생산하는 것이 중요하다.

식물 조직배양에서 변이는 캘러스에서 재분화시킬 경우와 원형질체에서 분화된 식물이 대부분이며 체세포배에서 유래된 식물체에서는 변이가 적다고 하며(小倉, 1983), 생장점이나 액아에서 유래된 식물체에서는 더욱 적으므로(金 등, 1989) 많은 식물에서 이 방법을 이용하여 대량증식하고 있다.

Bromeliads의 신초 대량번식은 거의 액아와 부정아에서 나오며 액아를 이용한 기내번식이 대부분이다(Hirimburegame and Wijesinghe, 1992; 細木, 1981; Hosoki and Asahira, 1980; Mekers and VanOnsem, 1983; Murashige, 1974; Zepeda and Sagawa, 1981). 본 연구에서는 네오레게리아 기내배양시 무늬소실을 줄일 수 있는 배양방

법과 기내의 배양재료 및 발근용 오옥신의 처리가 기외에서 식물체의 후대생장과 개화에 미치는 영향에 대하여 조사하였다.

재료 및 방법

공시품종은 네오레게리아(*Neoregeria carorinae* 'Tricolor')를 사용하였다. 화아 발달단계에 따라, 배양한 화기에서 나온 유식물 잎의 반입 소실 정도를 보기위해 화아분화되는 시점으로 부터 I: 내부의 잎이 물들기 시작하는 단계(화아분화 초기), II: 내부의 잎이 붉게 물든 단계(화아분화 3주 후), III: 화아가 신장한 것이 육안으로 보이는 단계(화아분화 4주 후), IV: 화아가 신장하여 포엽이 터지기 직전단계(화아분화 5주 후), V: 화아가 신장하여 포엽이 터지는 단계(화아분화 6주 후), VI: 화아가 신장하여 개화가 되기 직전 단계(화아분화 7주 후)로 나누어 화기를 채취하여 배양하였다. 미숙화기의 경우 포엽이 찢인 상태로 채취하였고 액아는 채취하여 외부엽을 2~3엽 제거한 다음, NaOCl 1.7%액에 20분간 소독하여 무균상내에서 멸균수로 2~3회 세척하였다. 미숙 화기는 2~3개의 자방이 포함되도록 하여 0.5 cm 크기로 절단하였고 시험관에 1개씩 접종하였다. 시험관은 폭 2.5 cm, 길이 10 cm 크기를 사용하였고, 배지는 10 cc씩 분주하였다. 배지는 Murashige & Skoog 기본배지 + BA 1 mg/L + IBA 0.5 mg/L + Agar 0.7% + Sucrose 3%에 pH 5.8로 조정하여 사용하였다. 배양실은 22 ± 2°C, 2,000 lx로 유지하였고, 배양후 90일에 반입이 소실된 식물체수(변이율)를 조사하였다. 화기와 액아에서 분화된 유식물체의 반입소실율을 조사하기 위해 화아분화 4주 후에 화기와 액아를 상기한 방법으로 배양하여 90일 후에 분화된 유식물체의 반입소실율(변이율)을 조사하였고, 온실식재 5개월후와 19개월후에 초장, 엽수, 엽장, 엽폭, 단축경길이, 개화율을 조사하였다. 기내에서 발근에 사용된 오옥신의 종류와 농도가 포장에서의 생육, 엽색, 개화에 미치는 영향을 조사하기 위해 기내에서 증식된 신초를 IAA, NAA, IBA가 각각 0.5, 1.0, 2.0 mg/L 농도로 첨가된 배지에서 45일간 배양하여 온실에 이식하였으며, 온실이식후 19개월에 초장, 엽수, 엽장, 엽폭, 단축경길이, 측아수, 단축경색, 엽색, 반입소실율, 개화율 등을 조사하였다.

결과 및 고찰

네오레게리아의 화기배양에서 화기의 채취시기가 잎의 반입소실에 미치는 영향은 Table 1과 같다. III 단계(화아분화 4주 후)에 배양하는 것이 반입소실률이 33.3%로 가장 적었고, I 단계(화아분화직후)와 IV 단계(화아분화 5주 후)에

Table 1. Effect of the picking times of flower buds on the variation percentage of regenerated plantlets in vitro culture of *N. carorinae* 'Tricolor'.

Picking times	I	II	III	IV	V	VI
No. regenerated plantlets	4	17	45	10	0	0
Variation (%) ^a	100	60	33.3	100		

^a No. plantlets variation in leaves ÷ Total No. regenerated plantlets × 100. I: Inner leaves begin to be red (First stage of flower bud differentiation). II: Inner leaves became red (3 weeks after flower bud differentiation). III: Elongated flower bud can be showed (4 weeks after flower bud differentiation). IV: Flower buds were elongated before opening of bracteal leaves (5 weeks after flower bud differentiation). V: Flower buds were elongated and bracteal leaves begin to open (6 weeks after flower bud differentiation). VI: Flower buds were elongated before flowering (7 weeks after flower bud differentiation)

Table 2. Variation percentage of regenerated plantlets as influenced by the kinds of cultural explants in *N. carorinae* 'Tricolor'.

Cultural explant	Total No. regenerated plantlets	Variation (%) ^a
Immature flower bud	45	33.3
Lateral bud	16	43.8

^aNo. plantlets variation in leaves ÷ Total No. regenerated plantlets × 100.

배양한 것은 반입이 모두 소실되어 화아분화 4주 후에 배양하는 것이 정상식물체 획득률이 가장 높은 것으로 나타났다.

배양 절편체의 종류가 네오레게리아 잎의 무늬소실에 미치는 영향은 Table 2와 같다. 미숙 화기는 33.3%, 액아는 43.8%로 미숙화기를 배양한 것이 반입소실이 덜 되는 것으로 나타났다. 아나나스 대량번식시 Syncarps와 Slip를 배양재료로 사용한 것은 높은 변이가 발생했으나 Crown과 액아를 사용한 것은 변이의 출현빈도가 낮은 경향이다(Wakasa, 1979)

일반적으로 액아를 이용하여 배양하면 변이 발생이 적게 되는 것으로 알려져 있으나 아나나스류와 같이 물을 생장점 부위에 저장하는 식물은 오염이 심해 배양이 어려워 환경이나 화기를 이용하는 것이 바람직하며 수선, 거베라, 튜립의 미숙 화경부위를 이용하여 대량번식했을 경우에 변이는 거의 발생하지 않으며(Joung, 1994; Chu and Hwang, 1983; Alderson, 1987), 나팔나리의 화기를 배양하여 대량번식에 이용하는 방법도 검토되었다(Chung et al., 1984).

기내의 배양절편체 종류가 네오레게리아의 기외재배에서 식물체의 생육에 미치는 영향은 Table 3과 같다.

온실재배 5개월 후 식물체의 생육상황은 미숙화기를 배양하여 얻은 식물체가 액아를 배양하여 얻은 식물체보다 초

Table 3. Effect of in vivo cultural periods on the growth of regenerated plantlets as influenced by in vitro cultural explants in *N. carorinae* 'Tricolor'.

In vivo cultural period	In vitro cultural explant	Plant height (cm)	No. leaves (cm)	Length of leaf (cm)	Width of leaf (cm)	Length of dwarf stem (cm)	Flowering (%)
5 months	Immature flower	7.9	14.3	6.8	0.39	1.97	-
	Lateral bud	2.6	7.9	2.2	0.25	0.37	-
19 months	Immature flower	21.0	16.1	13.5	3.3	9.8	27.8%
	Lateral bud	15.7	18.0	10.6	0.82	4.0	0

장, 엽수, 엽장, 엽폭, 단축경 길이 등 생육의 모든 면에서 월등히 좋았다. 온실재배 19개월 후에도 같은 경향이며 액아를 배양하여 얻은 식물체는 개화가 전혀 이루어지지 않았으나, 미숙화기를 배양하여 얻은 식물체는 27.8%가 개화되었다. 이는 미숙화기를 배양한 것은 기내에서부터 생육이 왕성하였기 때문으로 생각된다.

신초의 발근을 위하여 기내에서 처리한 오옥신의 종류와 농도가 포장에 이식된 식물체의 후기생육에 미치는 영향은 Table 4와 같다. IBA 0.5 mg/L에서 발근시킨 것이 식물체의

Table 4. In vivo growth of regenerated plantlets as influenced by the kinds and concentrations of auxin treated in vitro in *N. carorinae* 'Tricolor'.^a

Auxin (mg/L)	Plant height (cm)	No. leaves	Length of leaf (cm)	Width of leaf (cm)	Length of dwarf stem (cm)	No. lateral buds	
IAA	0.5	25.5 b ^b	20.5 b	17.2 ab	3.6 NS	10.7 b	0.13 b
	1.0	26.2 ab	20.1 ab	17.2 ab	3.7	12.0 b	0.30 ab
	2.0	28.7 ab	22.8 ab	19.7 ab	3.5	13.2 ab	0 b
NAA	0.5	27.1 ab	21.9 ab	19.9 a	3.6	12.2 ab	0.04 b
	1.0	27.0 ab	20.1 b	17.0 ab	3.4	12.6 ab	0 b
	2.0	27.7 ab	20.9 ab	20.4 a	3.8	12.4 ab	0.6 ab
IBA	0.5	30.2 a	24.6 a	20.2 a	3.8	14.1 a	0.14 b
	1.0	25.5 b	20.8 ab	15.7 b	3.7	12.0 b	1.0 a
	2.0	26.5 b	18.9 b	17.0 ab	3.7	12.1 b	0.50 ab
Hormone free	26.8 ab	21.9 ab	18.7 ab	3.3	12.4 ab	0.25 ab	

^aAugust 24, 1989-In vitro rooting;
 May 19, 1990-Transplanting in greenhouse;
 August 12, 1992-Investigation of plant growth.

^bMean separation in columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

기외생육에 가장 좋은 것으로 나타났고 그 다음이 IAA 2.0 mg/L에서 발근한 식물체였다. 액아생장수는 NAA 2 mg/L를 첨가한 배지에서 발근한 식물체가 0.6개로 가장 많았다. 상품화를 위해서는 액아생장이 안되는 것이 좋으며, 발근연

구에서는 NAA 1 mg/L가 기내발근에 효과적이었으나, 기외에서의 생육은 IBA 0.5 mg/L가 첨가된 배지에서 발근시킨 식물체가 좋은 것으로 생각되었다. 신초의 발근을 위하여 기내에서 처리한 오옥신의 종류와 농도가 포장에 이식된 식물체의 엽색 및 개화에 미치는 영향은 Table 5와 같다.

Table 5. In vitro the color and flowering of plantlets as influenced by in vitro treated auxin in *N. carorinae* 'Tricolor'.^a

Auxin (mg/L)	Color of dwarf stem		Leaf color		Normal Flowering plant		
	Green (%)	Greenish purple (%)	Green (%)	Greenish purple (%)	(%)	(%)	
IAA	0.5	93	6.7	20	80	0	13.3
	1.0	100	0	18.8	81.3	0	12.5
	2.0	100	0	27.3	72.7	0	0
NAA	0.5	100	0	25.0	75.0	0	12.5
	1.0	100	0	0	100	0	0
	2.0	100	0	27.8	72.2	0	22.2
IBA	0.5	100	0	14.3	85.7	0	0
	1.0	87.5	12.5	37.5	50.0	12.5	37.5
	2.0	100	0	29.4	70.6	0	23.5
Hormone free	100	0	37.5	62.5	0	12.5	

^aAugust 24, 1989:In vitro rooting;
 May 19, 1990:Transplanting in greenhouse;
 August 12, 1992:Investigation of plant color and flowering.

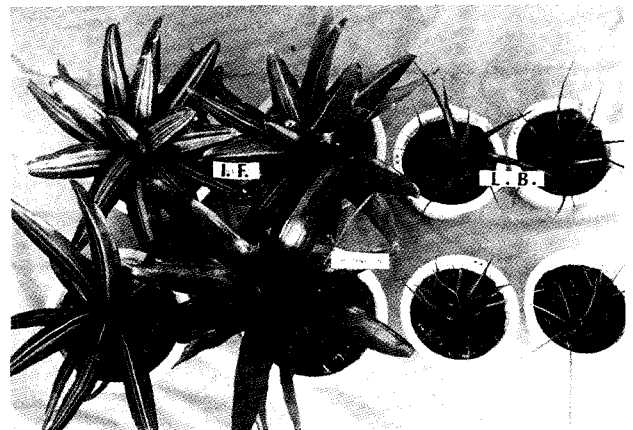


Figure 1. Growth of adventitious bud 19 months after culture in immature flower and lateral buds of *Neoregeria carorinae* 'Tricolor' in greenhouse.

엽색은 전반적으로 녹자색을 띤 것이 많았으며 특히 NAA 2 mg/L에서는 모든 식물체의 잎이 녹자색이었다. 녹색이 모본과 동일한 색상이며 가장 유사한 경향을 나타내는 것은 IBA 1.0 mg/L이 처리된 배지에서 발근된 식물체이다. 그러나 전반적으로 차광율이 낮아 녹색보다는 자색의 발현이 많이 된 것으로 생각되었다. 단축경색은 거의 대부분이 녹색이었다. 모본과 동일한 반입식물체는 IBA 1.0

mg/L가 처리된 배지에서 발근된 식물체에서만 12.5%로 나타났고 그의 식물체에서는 반입이 소실되었다. Aechmea 조직배양에서 계대배양 횟수가 증가할수록 반입이 소실된다는 보고가 있으며(Meker and VanOnsem, 1983), 고농도의 사이토키닌은 체세포 변이를 일으킬 확률이 높다고 한다(George and Sherrington, 1983). 본 연구에서는 배양기간이 100일(계대배양, 3회)이 지나면서 반입이 거의 다 소실되어 버려 반입의 소실이 발근용 오옥신의 영향보다는 계속되는 계대배양에 의하여 발생하는 것으로 생각된다. 결론적으로 네오레게리아의 반입소실을 최소화하기 위해서는 화아분화 개시 4주(Ⅲ 단계)에 화기를 배양하고 배양기간을 100일 넘기지 말고(계대배양 3회) 포장으로 순화시키는 것이 가장 좋은 것으로 생각되었다.

적 요

네오레게리아(*Neoregeria carorinae* 'Tricolor')의 기내배양 시 무늬소실을 줄일 수 있는 재료의 채취시기와 발근을 위하여 기내에서 처리된 오옥신이 온실에 이식된 식물체의 생육 및 개화에 미치는 영향에 관하여 실험한 결과, 화아분화 4주후(Ⅲ 단계)에 미숙화기를 배양한 것이 분화된 식물체 중 정상 식물체가 67%로 가장 많았고, 화아분화 직후 및 화아분화 5주후에 배양한 것은 모두 반입이 소실되었다. 미숙화기와 액아를 배양하여 나온 식물체 중 정상식물체 획득율은 미숙화기 배양에서는 67%, 액아배양에서는 56.2%였다. 미숙화기를 배양하여 얻은 식물체가 액아를 배양하여 얻은 식물체보다 온실재배에서 생육이 월등이 좋았고, 개화율도 미숙화기를 배양하여 얻은 식물체는 27.8%이었으나 액아를 배양하여 얻은 식물체는 전혀 개화하지 않았다. IBA 0.5 mg/L가 첨가된 배지에서 발근시킨 식물체의 기외생육이 왕성하였으며, 기내에서 처리한 오옥신 종류와 농도는 온실에서 재배되고 있는 식물체의 변이에 영향을 미치지 않았다.

인 용 문 헌

Alderson PG, Taeb AG, Rice RO (1987) Micropropagation of tulip: Bulbing of shoots in culture. *Acta Hort* 177: 291-298.

Chu CY, Hwang MC (1983) In vitro formation of *Gerbera (Gerbera hybrida)* Hort. plantlets through excised scape culture. *J Japan Soc Hort Sci* 52: 45-50.

Chung JD, Chung JK, Shin JA (1984) In vitro propagation of *Lilium longiflorum* through floral organ culture *J Kor Soc Hort Sci* 25(2): 170-181.

George EF, Sherrington PD (1984) Plant propagation by tissue culture. Exegetics Ltd. Eversley, Basing stoke, England. p 392.

Hirimburegame K, Wijesinghe LPJ (1992) In vitro growth of *Ananas comosus* L. MEER(Pineapple) shoot apices on different media. *Acta Horticulturae* 319: 203-208.

細木高志 (1981) 観葉植物の組織培養. 新花卉 110號 東京 日本 p 66-71.

Hosoki T, Asahira JG (1980) In vitro propagation of *Bromeliads* in liquid culture. *HortScience* 15: 603-604.

Joung HY (1994) Studies on multiplication system in *Narcissus pseudonarcissus* L. by in vitro scape culture and morphological organogenic process PhD thesis, Kon-Kuk University, Seoul.

金奎元, 白基燁, 鄭根植, 鄭載東, 崔光泰 (1989) 植物組織培養. 郷文社 서울.

Mekers O, VanOnsem JG (1983) In vitro propagation of *Vriesea* cultivars in comparison with other ornamental *Bromeliaceae*. *Acta Horticulturae* 131: 125-129.

Murashige T (1974) Plant propagation through tissue cultures. *Am Rev Physical* 25: 135-166.

小倉久和 (1983) 植物組織培養と染色体變異(2) 農業および園藝 第59卷 1號.

白基燁 (1994) 學研産. 조직배양 산업의 발전 방향. 한국과학재단 제 116회.

Rangan TS (1990) Tropical and Subtropical: Pineapple In Amnirato PV, Evans DA, Sharp WR, Bajaj YPS. *Handbook of plant cell culture volume 2*: 373-382.

三位正洋, 露木美英 (1986) 花き種苗の組織培養による増殖. 農業および園藝 第59卷 1號: 181-189.

Wakasa K (1979) Variation in the plants differentiated from the tissue culture of pineapple. *Japan J Breed* 29: 13-22.

Zepeda C, Sagawa Y (1981) In vitro propagation of Pineapple. *HortScience* 16: 495.

(1995년 8월 26일 접수)