

생강의 화기구조 조사 및 약배양에 의한 식물체 재생

김태수*† · 최인택* · 김현순* · 김수동* · 박문수* · 고정애**

*호남농업시험장, **전북대학교 원예학과

Investigation of Floral Structure and Plant Regeneration through Anther Culture in Ginger

Tae Soo Kim*, In Lock Choi*, Hyun Soon Kim*, Soo Dong Kim*, Moon Su Park* and Jeong Ae Ko**

National Honam Agricultural Experiment Station, RDA Iri 570-080, Korea
Dept. of Hort. Chonbuk National Univ. Chonju 561-756, Korea

ABSTRACT : We investigated the structure of floral organs and possibility of seed-set to breed a variety in ginger, *Zingiber officinale* Rosc. Floral bud was formed from collected domestic Seosan var. and foreign Thailand var, the number of florets per bud were 8 and 10 in Seosan and Thailand var, respectively. Flowering time ranged from 18 to 25 August irregularly at 4~5 pm. The flower has the long styled with fiber hairs on top of stigma and connected-two anthers. Pollens were mixed of circular and ellips shape and its extine was two layer structure. Callus formation from anther explants was effective with compact and embryogenic on N₆ medium supplemented 2 mg/l of NAA (NCM). Plant regeneration was on the MS medium with BA of 1~2 mg/l from 40 days old callus after transferred callus medium.

Key words : ginger, flower, anther culture, callus formation, plant regeneration

생강은 생강과에 속하는 다년생 초본식물로 괴경에는 oleosin 과 gingerol을 함유하고 있어 독특한 맛과 향을 가지며 양념 채소 뿐만 아니라 향신료, 약용으로 널리 이용되고 있다. 원산지는 인도, 말레이시아 등 열대 아시아 지역으로 추정되며 우리나라, 일본 등에서는 겨울철 저온의 영향으로 일년생과 같이 생육한다(Choi, 1998; Kim *et al.*, 1991; Kim *et al.*, 1988). 우리나라 생강의 재배역사는 매우 오래 되었으나 현재까지 표준품종 없이 지역재래종이 재배되고 있는 실정이며 재배농가에서는 장기간 종강을 갱신하지 못하고 자가채종에 의하여 종강을 확보하기 때문에 뿌리썩음병이나 바이러스 등에 이병되어 수량성 및 품질이 저하되는 요인이 되고 있다

(Choi, 1998; 靑木, 1979). 지금까지 생강의 품종개량은 개화 결실이 거의 이루어지지 않아 교잡에 의한 품종육성은 어려운 것으로 알려져 있으며 영양체에 의한 우량종 선발이 일부 진행되고 있다(Ramachandram & chandrasecharan, 1992; Shinichi, 1991). 한편 종강의 갱신방법으로 생장점 배양으로부터 기내묘 생산방법과 기내 소과경 비대유도에 의한 건전묘 육성, 그리고 양액재배를 이용한 인공씨생강 생산체계에 대하여 보고된 바 있으나(Choi *et al.*, 1997; Hyun *et al.*, 1997; Noguchi & Yamakaha, 1988; Roh *et al.*, 1996), 겨울철 생강 저장시 부패로 인해 이듬해 많은 생강이 종강으로서의 역할을 다하지 못하기 때문에 실용화를 위하여는 저장성 향상이 요구되고 있다.

본 시험은 생강의 이러한 영양변식시 나타나는 수량 및 품질저하와 저장성 등의 문제점을 종자번식으로서의 가능성을 검토하고자 수집된 국내외 생강을 재배하여 그중 꽃이 핀 수집종을 토대로 화기구조를 조사하고 대량의 식물체를 얻은 목적으로 약을 배양하여 캘러스 형성과 재생 식물체를 유도하여 생강 품종육성의 기초자료를 얻고자 실시하였다.

材料 및 方法

개화특성 및 화기구조 관찰

공시재료는 국내종으로 봉동재래종과 서산재래종을 사용하였으며 도입종으로는 일본, 태국, 인도 및 브라질 등에서 수집한 생강을 30±3 g 크기로 구분하여 40×50 cm의 플라스틱 사각포트에 10월 25일 파종한 다음 최저기온이 주간 25°C, 야간 18°C의 온실내에서 생육시키면서 화기출현을 유도하였다. 화기구조 관찰은 화뢰를 채취하여 carnoy액에 고정한 다음 현미경 하에서 관찰하였고 화분의 형태는 aceto carmine으로 염색하여 검경하였다.

†Corresponding author: (Phone) +82-63-840-2235 (E-mail) kimts@nhaes.go.kr

<Received May 8, 2000>

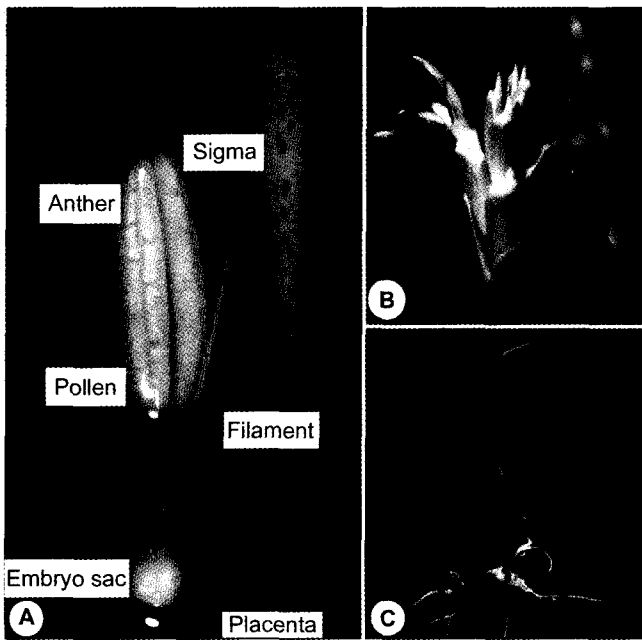


Fig. 1. Floral organs and flowering in natural and plant regeneration through and culture in Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.)
A. Morphological floral organs. B. Flowering in natural. C. Regenerated ginger plant

약배양에 의한 callus 형성 및 식물체 재분화

생강의 藥은 약포로 둘러싸여 있는데(Fig. 1A), 화기 형성 후 10~12일이 지났을 때(약의 길이 2 ± 0.3 cm) 약을 채취하여 약포와 함께 70% 에탄올에 30초간 침지하여 표면 살균 후 멸균수로 4~5회 씻은 뒤 약포를 벗겨내고 0.3 cm 크기로 절편을 만들어 배지에 치상하였다. 캘러스 유도를 위한 배지는 생강의 엽조직에서 캘러스를 유도에 효과적이었다고 보고한 MS배지(Murashige & Skoog, 1962; Nirmal *et al.*, 1992)에 2,4-D를 1, 2, 3 mg/l 농도로 조절하여 첨가하였고 비 약배양에서 사용하고 있는 N6배지(Nishi *et al.*, 1968)에 NAA 2 mg/l(NCM), 그리고 보리 약배양에서 사용되는 CI배지(Lee *et al.*, 1993) NAA 2, BAP 1 mg/l를 넣은 후 1회용 petri dish에 분주하여 사용하였다. 배양온도는 $26 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 배양실 내에서 광조건은 배양 후 30일 동안은 1일 24시간 암배양을 하였고 이 후에는 1일 16시간 3,000 lux의 조건을 유지하면서 캘러스 증식 및 기관분화를 유도하였다. 캘러스로부터 식물체 재분화는 생강 기내묘 증식에 사용되는 MS배지에 BA를 0.5, 1, 2, 3 mg/l로 농도를 달리하여 처리하였고 CI배지에 IAA 1 mg/l와 BAP 2 mg/l 첨가한 배지를 사용하였다.

結果 및 考察

생강의 개화특성

생강 괴경으로부터 화기형성을 조사하기 위하여 국내종으로

Table 1. Formation of floral organ in collected ginger varieties.

Collected place	No. of floral bud/tuber	Floret period	No. of florets/bud
Pongdong	-	-	-
Seosan	2	Jul. 26~Jul. 29	8
Japan	-	-	-
Thailand	4	Jul. 23~Jul. 27	10
India	-	-	-
Brazil	-	-	-

Table 2. Characteristics of flowering and flower in ginger.

Flowering period	Flowering time	Flowering persistence	Flower structure
Aug. 18~Aug. 25	p.m 4~5	15~20 hrs	<ul style="list-style-type: none"> • long-styled flower • embryo sac : axile placenta • two types of : circular and ellipse • pollen exine : thick two layers

는 서산종과 봉동종을, 외 국종은 일본, 태국, 인도, 브라질에서 도입한 유전자원을 공시하여 화기출현정도를 조사하였다. 하나의 괴경에서 화기의 형성은 서산종이 2개, 태국종이 4개 형성되었으나 봉동종과 다른 도입종 생강에서는 화기형성이 이루어지지 않았다. 화피가 형성되는 시기는 태국종이 7.23~7.27일로 서산종의 7.26~7.29일보다는 약간 빨랐으며 화피에서 형성된 어린 꽃봉오리의 수는 8~10개로 서산종과 태국종 간에 큰 차이를 나타내지 않았다

생강의 화기구조

한편 생강의 꽃은 가장자리가 붉은색을 나타내는 3 ± 1 cm 내외의 원통형 꽃으로(Fig. 1B) 개화기는 화피 형성 후 25일 내외인 8월 18일에서 8월 25일 사이에 불규칙적으로 개화하였고 1일중 개화시각은 오후 4시 전 후로 대부분 꽃이 피는데 꽃이 피어 있는 시간이 15~20시간으로 매우 짧았다(Table 2). 생강꽃의 내부구조를 보면 주두가 꽃 위로 나와있는 장주화로서 주두상단에는 섬모형태의 돌기가 있으며 수술은 연착약이 있으며 배낭내 태좌는 증축태좌 형태를 나타냈다. 화분은 원형과 타원형이 혼재되어 있으나 원형이 많았으며 화분외막이 2중구조를 나타냈다(Fig. 1A).

이와 같이 생강은 개화가 오후에 이루어지며 꽃의 형태가 장주화로서 수정이 어렵고 또한 개화 지속시간이 짧아 인공수분을 위한 꽃가루 확보가 어려울 것으로 생각되는데 결실증자의 획득을 위하여는 화분의 활력검정과 주두를 절단하여 단주화 상태에서 수분하는 방법 또는 수정 후 胚발달의 조직학적 관찰 등 다각적으로 세밀한 검토를 해야 할 것으로 생각된다.

藥培養에 의한 callus 형성 및 식물체 재분화

생강 藥절편에서 캘러스를 유도하기 위하여 MS배지에 생강

Table 3. Callus formation from anther on various media and plant growth regulators in ginger.

Media (mg/l)	No. of explants	Callus formation (%)	Callus condition		
			color	characteristics	viability
MS+2.4-D 1	20	20.0	plae yellow	friable	moderate
2	21	23.8	yellow	compact	moderate
3	22	13.6	plae yellow	compact, friable	slight
NCM	20	40.0	yellow	compact	good
CI+NAA 2, BAP 1	20	30.0	plae yellow	friable	slight

Table 4. Plant regeneration derived anther culture on MS medium with various BA concentrations and CI with IAA and BAP in ginger.

Media (mg/l)	No. of callus	Plant regeneration (%)
MS+BA 0.5	22	6 (27.3)
1.0	18	6 (33.3)
2.0	22	8 (36.4)
3.0	20	3 (15.0)
CI+IAA 1, BAP 2	20	5 (25.0)

조절물질로는 2.4-D를 농도별로 첨가하고 NCM배지 및 CI배지에 재료를 치상하여 캘러스 형성능을 조사하였다(Table 3). 캘러스의 형성은 배양 3주 후부터 치상조직의 비대 및 분열이 관찰되었고 6~8주가 경과되면서 캘러스가 형성되었는데 2.4-D 첨가조합에서도 농도에 따라 캘러스의 상태는 다르게 나타났다. MS+2.4-D 1 mg/l 배지에서는 연미색을 띄는 friable한 캘러스가 유도되었고 시간이 경과하면서 갈변되는 양상을 보인 반면, 2.4-D 2 mg/l배지에서는 compact한 캘러스가 다수 관찰되었다. NCM 배지에서의 경우 캘러스 형성율이 40%로 가장 높았고 미색을 띄는 compact한 캘러스가 대부분이었으며 장기간 활력을 유지하였다. CI배지에서는 캘러스 형성율은 30%로 양호한 편이었으나 활력이 떨어지는 캘러스가 형성되었다. 이러한 결과는 Nirmal(1992)등이 생강 엽조직에서의 캘러스 형성은 MS 배지에 2.4-D를 첨가한 배지에서 치상 후 4 주경부터 시작된다고 하였는데, 본 실험에서와 같이 蒔절편을 배양했을 경우에는 6~8주가 소요되는 것으로 보아 생강에서도 explant에 따라 캘러스 형성정도가 다르고 약으로부터 캘러스 형성에는 2.4-D보다 NAA가 효과적인 것으로 나타났다. 또한 활력이 양호한 캘러스 형성율을 높이기 위하여는 약배양 전 저온처리 또는 배지내 첨가물질 등 제조조건에 대한폭넓은 검토가 필요할 것으로 생각된다.

한편 캘러스로부터 식물체를 분화시키기 위하여, MS배지에 BA 농도를 달리하여 첨가하고 CI배지에 IAA 1 mg/l와 BAP 2 mg/l를 혼합첨가하여 캘러스를 계대배양 한 다음 식물체 분화능을 조사하였다(Table 4). 캘러스로부터 기관분화는 재분화 배지에 이식 후 40일경부터 뿌리분화가 먼저 이루어지고 녹점이 형성되면서 배양 60일 후에는 줄기와 뿌리가 완전히 분화

된 유식물체를 얻을 수 있었다(Fig. 1C). 유식물체의 활력은 BA 1 또는 2 mg/l 농도에서 가장 좋았고 분화율도 양호하였다. 그러나 BA 3.0 mg/l의 고농도 에서는 분화율이 15%로 현저히 낮아졌다.

摘 要

생강의 개화특성과 화기구조를 관찰하고 약배양에 의한 캘러스 형성과 식물체 재분화에 미치는 배지내 생장조절물질의 효과에 대하여 검토한 결과는 다음과 같다.

1. 화병의 형성은 국내종은 서산종, 도입종은 태국종에서만 출현되었으며 화퇴당 소화형성은 서산종 8개, 태국종이 10개 형성되었으나 종자형성은 이루어지지 않았다.
2. 개화기는 8월 18일에서 8월 25일 사이에 불규칙적으로 나타났고 1일중 개화시각은 오후 4시~5시 사이에 대부분 개화하였다.
3. 꽃은 장주화로서 주두상단에는 섬모가 나 있으며 수술은 연착약, 배낭내 태좌는 증축태좌 형태를 나타냈다. 화분은 원형과 타원형이 혼재되어 있으나 원형이 많았으며, 화분막은 2 중 구조였다.
4. 약 유래 캘러스 형성에는 CM배지가 좋았고, 캘러스로부터 기관분화는 MS배지에 BA 2 mg/l를 첨가한 재생배지에 이식 후 40일경부터 부정근이 먼저 출현되고 배양 60일 후에는 줄기와 뿌리가 완전 분화된 정상적인 식물체를 얻을 수 있었다.

인용문헌

Cho S. K., Roh K. H., Hyun D. Y., Choi I. L., Kim K. Y., Kim S. D., Park M. S. and Choi K. G. 1997. Mass production of rhizome induced by tissue culture on ginger II. Selection of the optimal nutrient solution and media in hydroponics. *RDA. J. Indus. Crop Sci.* 39(2):16-21.

Choi J. E. 1998. Breeding of ginger using DNA marker and development of rhizome rot control in ginger. Ministry of Agri. & For. Res. Rep.

Hyun D.Y., Cho S. K., Roh K. H., Kim K. Y., Choi I. L., Kim S. D., Park M. S. And Choi L. K. 1997. Mass production of rhizome induced by tissue culture on ginger. I. Environmental factor related to the increasing rhizome. *RDA. J. Indus. Crop Sci.* 39(2):10-15.

青木宏史. 1979. ショガ栽培技術の基礎. 農業技術大概(野菜編) 農水

- 産文化協會.
- Kim J. S., Koh M. S., Kim Y. H., Kim M. K., and Hong J. S. 1991. Volatile flavor components of Korean ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) *K. J. Food Sci Technol.* 23(2):141-149.
- Kim Y. H., Yoo C. S. 1988. Analysis of specific components in ginger (*Ziniber officinale* Rosc.) *Bulletin of the Agri. coll. Chonbuk univ.* 19:43-50.
- Lee J. H., Barbel Foroughi Wehr. 1993. Microspore selection and callus formation efficiency in Barley (*H. vulgare* L.) whole spikelet culture. *Crop Production and Improvement Technology in Asia.* 537-541.
- Murashige & Skoog. 1962. A rivised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Nirmal Babn K., Savn Sudeen K., Ratnambal. M. J. 1992. In vitro plant regeneration from leaf derived callus in ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) *Plant Cell. Tissue and Organ Culture* 29:71-74.
- Nishi. T., Y. Yamada, and E. Takahashi. 1968. Organ redifferentiation and plant restoration in rice callus. *Nature (London)* 219:508-509.
- Noguchi Y. and Yamakawa O. 1988. Rapid clonal propagation of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) by roller culture. *J. Japan Breeding* 38:437-442.
- Ramachandran, K. and Chandrasecharan Nair P. N. 1992. Induced tetraploids of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) *J. of Spices and Aromatic Crops* 1:39-42.
- Roh K. H., Kim T. S., Lee J. H., Choi I. L., Choi Y. H. and Jang Y. S. 1996. In vitro propagation and tuberization of plantlet regenerated from shoot-tip culture ginger. *K. J. plant Tissue Culture* 23(2):129-134.
- Shinichi Adaniya. 1991. Effects of pollination season and relative humidity on seed setting potential in *Zingiber mioga* Rosc and variation in the number of chromosomes of self-pollinated progenis. *J. Japan Soc. Hort.* 60(2):361-367.