

쪽파(*Allium wakegi* Araki)의 정단분열 조직배양으로부터 식물체 분화와 인경형성

송원섭

순천대학교 농업생명과학대학

Direct Plant Regeneration and Bulblet Formation from Apical Meristems Culture in *Allium wakegi* Araki

Song, Won-Seob

Agriculture and Life Science, Sunchon National Univ., Sunchon 540-742, Korea

ABSTRACT

Apical meristems tissue were cultured on LS medium with different zeatin and NAA concentrations to compare their potential to regenerate shoots, roots and bulblet formation. Shoot regeneration from apical meristem was effective on LS medium added with zeatin 0.1, 0.5, 1.0 mg/L alone treatment or zeatin 0.5 mg/L and NAA 1.0mg/L combination treatment.

A high frequency of root regeneration was obtained on LS medium supplemented with zeatin 0.5mg/ and NAA 1.0 combination treatment. Linsmaier and Skoog(LS) medium with NAA 3.0mg/L and zeatin 1.0mg/L combination treatment gave the best results for normal bulblet formation

Key words : *Allium wakegi*, plant regeneration, bulblet formation

서언

분류학적으로 백합과에 속하는 쪽파는 다년생 초본으로 파와 양파를 교잡친으로 하는 잎채소이다. 쪽파의 잎과 인경에는 양질의 비타민 B, 비타민 B₂, 비타민 C 뿐만 아니라 니코틴산, 글루타민 산, 지방유, 점액질 등이 함유되어 있다. 한방에서는 어혈을 제거하고, 해독하며, 구충, 성장, 풍한, 두통, 코가 막히고, 몸에 열이 나거나 땀이 나지 않는 증상에도 이

용되어지고 있다. 이러한 효능을 가지고 있는 쪽파는 재배가 쉬워, 예로부터 가정채소로써 일반농가에서 재배하여 왔으며, 김치와 조미용으로 없어서는 안될 중요한 식물이다.

쪽파의 번식방법은 인경을 통한 영양체 번식을 하기 때문에 쉽게 virus에 감염될 뿐만 아니라 virus에 감염되거나 재배세대가 길어 질수록 생산량과 품질이 떨어져서 매년 새로운 종구를 구입하여 증식시켜야 된다. 따라서 농가에서는 경제적인 비용과 노력이 많이 소요되고 있어 조직배양을 통한 인공번식

*교신저자 : E-mail : fs-20@hanmail.net

방법이 절실히 요구되어지고 있다. 현재 쪽파에 대한 연구는 다른 *Allium*속 식물에 비하여 적은편이며, 쪽파의 염색체에 관한 연구(Seo and Kim, 1975)가 보고된 이래 캘러스배양을 통한 쪽파의 핵학적 변이(유,1988)와 조직배양을 통한 쪽파의 유전적 변이체들의 효소와 단백질유형의 변화 분석(박,1989)에 관한 연구가 보고되었고, 이를 바탕으로 쪽파의 육종가능성(이, 1989)이 제기되었다. 또한, 종구의 절제와 식물생장조절제가 생장과 발육에 미치는 영향(신, 1990), 계통분류(유, 2000), 생육특성과 우량계통선발(차, 2000), 종구의 온도처리가 휴면타파에 미치는 효과(이, 2001)등에 관한 연구들이 보고되었다. 하지만 쪽파 인경생산을 위한 인공번식방법 등이 보고되지 않아, 본 연구는 쪽파 종구의 주년생산체계 확립을 위한 기초실험으로 식물생장조절물질의 단독 및 혼합처리가 식물체 분화와 인경생산에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

식물재료와 살균

공시재료는 보성산 재래쪽파(*Allium wakegi* Araki)의 정단분열조직을 이용하였다. 배양재료의 소독방

법은 인경을 채취하여 2% sodium hypochlorite액에 15분간 표면살균 후, 다시 tween-20 액을 1-2방울 혼합시킨 sodium hypochlorite 액에 15분간 표면살균과 세척을 하였다. 세척 시 거품이 완전히 없어질 때까지 수 차례 세척하였다. 세척된 재료는 에탄올(95%)에 3-4초간 침지시킨 후, 다시 멸균수로 세척하였으며, 해부현미경하에서 정단분열조직을 적출하여 배지에 치상하였다.

식물생장조절물질 첨가와 배양조건

사용배지는 LS(Linsmaier and Skoog) 기본배지에 3% sucrose와 8g/L agar를 첨가시키었으며, pH는 5.7-5.8로 고압살균전에 조절하였다. 배지에 첨가된 식물생장조절물질은 식물체 분화율을 조사하기 위하여 zeatin 0.1, 0.5, 1.0, 3.0mg/L 단독첨가와 NAA 0.1, 1.0mg/L 혼합첨가하였다. 또한 분화된 식물체로부터 인경생산을 위하여 NAA 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0mg/L 단독첨가와 zeatin 1.0mg/L 혼합첨가하였다. 광조건은 식물체 분화와 인경형성을 위하여 1일 23℃에서 16시간 형광등을 광원으로 하여 2,500±100 Lux에서 명배양하였다. 배양 30일마다 계대배양하였으며, 배양60일 후에 신초와 뿌리분화율을 조사하였고, 분화된 식물체로부터 인경형성은 배양 40일 후에 조사하였다.

Table.1. Effect of zeatin alone, zeatin and NAA combination treatment on plant regeneration from apical meristem of *Allium wakegi* in light culture

PGR ² (mg/L)	of Plant regeneration (%)		Decline of apical meristem
	Shoot	Root	
Control(without PGR)	66	35	28
Zeatin 0.1	88	7.0	12
0.5	92	10	8.0
1.0	95	10	5.0
3.0	71	5.0	29
zeatin 0.5+NAA0.1	80	58	20
1.0	87	62	13
zeatin 1.0+NAA0.1	74	45	26
1.0	82	53	18

²PGR : Plant Growth Regulator



Fig. 1. Shoot and root regeneration from apical meristem on LS medium supplemented with zeatin 1.0 mg/L alone treatment.

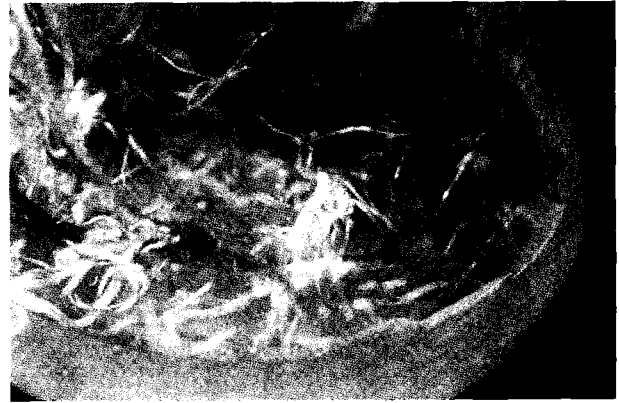


Fig. 2. Shoot and root regeneration from apical meristem on LS medium supplemented with zeatin 0.5 mg/L and NAA 1.0 mg/L combination treatment.

결과 및 고찰

식물체 분화에 미치는 zeatin과 NAA첨가효과

쪽파의 정단분열조직을 zeatin 단독첨가구와 zeatin과 NAA혼합첨가구, 무처리구에 배양한 결과는 Table 1과 같다. 무처리구에서는 신초분화율이 66%로 비교적 양호하였지만 신초의 발생상태가 매우 가늘고 약하였으며, 뿌리의 발생율이 저조하였고, 늦게 발생되었다. Zeatin단독첨가의 경우, 신초분화율은 대체적으로 모든 첨가구에서 양호하였으며 특히 0.1, 0.5, 1.0mg/L 첨가구에서 90%내외의 매우 양호한 반응을 보였다(Fig.1). 하지만 뿌리의 발생율은 저조하였으며 뿌리의 길이는 무처리구에 비하여 짧았다.

Zeatin과 NAA혼합첨가구에서는 신초분화율이 매우 좋았으나 zeatin단독첨가구 보다는 다소 떨어지는 경향을 나타내었고, 뿌리의 분화율은 모든 첨가구 가운데 가장 양호한 결과를 보였다. 특히 zeatin 0.5mg/L에 NAA 1.0mg/L 혼합첨가구에서 가장 좋은 반응을 나타내었다(Fig.2). 이러한 결과로 볼 때 쪽파의 식물체 분화는 zeatin단독첨가보다는 NAA와 혼합첨가가 훨씬 효과적이라 판단되었다. 메밀(Hong *et al.*, 2002)의 효과적인 식물체 분화에서 가장 좋은 신초 분화는 MS배지에 BA 1.0, 2.0mg/L를 첨가한 경우에 양호하였다는 보고는 본연구와는 사용한 배지

의 종류는 달랐지만 비슷한 경향을 보였으며, *Alhagi graecorum*의 부정아 형성에서 MS배지에 BA를 2.5 μ m처리하였을 때 양호하였다는 보고(Hassanein and Mazen, 2001)와도 같은 경향을 나타내었다. Hazra *et al.*(2002)은 *Agave sisalana*의 미성숙잎 배양에서 BA 26.6 μ M 단독처리구에서 신초의 발생수가 많았다고 하였으며, 뿌리의 분화는 IAA가 첨가된 배지에서 양호한 결과를 나타냈다고 하였다. *Piper longum*의 기내 미세번식에서 신초 분화는 BA와 kinetin의 혼합처리구에서 양호한 결과를 얻었으며 뿌리의 분화는 IBA 2.46 μ m 첨가구에서 좋았다는 보고(Soniya and Das, 2002)와 본 연구는 상이한 결과를 나타내었는데, 이것은 아마도 배양식물과 배지의 종류가 다르기 때문이라 추측된다.

인경형성에 미치는 zeatin과 NAA첨가효과

분화된 식물체로부터 인경형성에 미치는 zeatin과 NAA 첨가효과는 Table 2와 같다. NAA 단독첨가구의 경우, NAA 1.0, 3.0mg/L첨가구에서 80, 88%의 정상적인 인경형성을 보여 가장 좋은 반응을 보인 반면, 5.0mg/L첨가구에서는 정상적인 인경형성이 22%로 낮게 나타났으며, 특히 뿌리의 발달이 비정상적이었다. 정상적인 인경형성이 가장 많이 나타난 NAA 1.0mg/L와 3.0mg/L 첨가구에 zeatin 0.5, 1.0mg/L를 각각 혼합첨가시킨 결과, 정상적인 인경

Table 2. Effect of NAA alone, NAA and zeatin combination treatment on bulblet and root regeneration from regenerated shoot of *Allium wakegi* in light culture

PGR ^a (mg/L)	of Bulblet formation (%)		Root regeneration (%)
	Normal	Abnormal	
Control (without PGR)	58	42	95
NAA 0.1	70	30	100
0.5	75	25	100
1.0	79	21	100
3.0	87	13	100
5.0	22	78	100
NAA 3.0 + zeatin 0.5	90	10	100
NAA 3.0 + zeatin 1.0	95	5.0	100

^aPGR : Plant Growth Regulator



Fig. 3. Bulblet formation from regenerated plantlet on LS medium supplemented with NAA 3.0 mg/L and zeatin 1.0 mg/L combination treatment.

형성율은 90, 95%로 매우 양호하였으며, 뿌리의 발달 상태도 매우 좋았다(Fig. 3).

후리지아의 정단분열조직 배양에서 신초분화는 NAA와 BA를 조합한 배지에서 양호하였다는 보고(고 등, 2003)는 본 연구와 비슷한 경향을 나타내었다. 일반적으로 cytokinin류는 신초의 발생을 촉진시킨다고 알려져 있으며(Pennazio, 1975 ; 은등, 1997; Vanegas *et al.*, 2002 ; Catapan *et al.*, 2002) 이러한 경향은 본 연구에서도 나타났다. 또한 수선화의 부정아 발생에서도 cytokinin의 첨가는 필수적이라 보고하였으며(Hosoki and Tadashi, 1980), 튜립의 인편배

양에서도 같은 경향을 나타내었다(Yoshio, 1971). 본 연구에서도 정상적인 인경 형성에 cytokinin류인 zeatin의 첨가시 양호한 반응을 보였으나, 뿌리의 발생은 NAA 첨가구에서 좋은 반응을 나타내었다. Nunes *et al.* (2002)은 *Cedrela fissilis*의 기내 배양에서 auxin 무첨가 배지에서도 뿌리의 발생이 좋았다는 보고는 본 연구와는 상이한 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 식물의 종류와 배양부위에 따라서도 반응정도가 다르기 때문이라고 생각되며, 후리지아의 정단분열조직에서 신초로부터 뿌리 발생은 1/2 MS 기본 배지에 성장 조절제를 첨가하지 않은 처리구에서 완전한 식물체로 발달하였다는 보고와도 같은 경향이였다. 본 연구에서는 식물성장조절물질을 첨가하지 않은 경우에도 완전한 정상적인 식물체가 발생되었지만 이보다는 NAA와 저농도의 zeatin을 혼합 첨가시킨 경우가 훨씬 정상적인 인경 형성에 효과적이었으며 인경의 굵기가 크게 나타났다.

적요

쪽파의 정단분열조직을 LS기본배지에 zeatin(0.1, 0.5, 1.0, 3.0mg/L)과 NAA(0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0mg/L)를 단독 및 혼합첨가시키어 식물체 생산과 인경 형성율을 조사하였다.

정단분열조직으로부터 신초 분화는 zeatin 0.1, 0.5, 1.0 mg/L 단독처리구와 zeatin 0.5 mg/L에 NAA 1.0mg/L 혼합첨가구에서 가장 양호한 반응을 보였다. 뿌리분화율은 zeatin 0.5 mg/L에 NAA 1.0mg/L 혼합첨가구에서 가장 좋았다. 분화된 식물체로부터 정상적인 인경형성은 NAA 단독첨가보다는 zeatin과의 혼합첨가가 효과적이었다. 특히 NAA 3.0mg/L에 zeatin 1.0mg/L를 혼합시켰을 때 정상적인 인경형성에 가장 좋은 반응을 보였다.

인용문헌

- Catapan, E., M. Luis, B. da Silva, F. N. Moreno and A. M. Viana. 2002. Micropropagation, callus and root culture of *Phyllanthus urinaria*(Euphoriaceae). *Plant cell, Tissue and Organ Culture* 70 : 301-309
- Hassanein, A. M. and A. M. A. Mazen. 2001. Adventitious bud formation in *Alhagi graecorum*. *Plant cell, Tissue and Organ Culture* 65 : 31-35
- Hazra, S. K., S. Das and A. K. Das. 2002. Sisal plant regeneration via organogenesis. *Plant cell, Tissue and Organ Culture* 70 : 235-240
- Hong J., J. F. Jia and J. G. Hao. 2002. Efficient plant regeneration *in vitro* in buckwheat. *Plant cell, Tissue and Organ Culture* 69 : 293-295
- Hosoki T, A Tadashi. 1980. *In vitro* propagation of narcissus. *HortSci.* 15 : 602-603
- Ko, J.A., M.J. Kim, J.J. Lee, H.S. Kim, and Y.S. Kim. 2003. Micropropagation from Corm Apical Meristems Culture of *Freesia refracta* Hybrida. *Korean J. Plant. Res.* 16(1) 34-39
- Nunes, E. da C., C. V. de Castilho, F. N. Moreno and A. M. Viana. 2002. *In vitro* culture of *Cedrela fissilis* Vellozo. *Plant cell, Tissue and Organ Culture* 70 : 259-268
- Pennazio S. 1975. Effect of adenine and kinetin on development of carnation tips cultured *in vitro*. *J. Hort. Sci.* 50 : 161-164
- Seo, B. B. and J. H. Kim. 1975. Karyotypic analysis based on the heterochromatin distribution in *Allium fistulosum* and *A. ascalonicum*. *Korean J. Botany* 18 : 92-100
- Soniya, E. V. and M. R. Das. 2002. *In vitro* micropropagation of *Piper lomgum* - an important medicinal plant. *Plant cell, Tissue and Organ Culture* 70 : 325-327
- Vanegas, P. E., A. C. Hernandez, M. E. Valverde and O. P. Lopez. 2002. Plant regeneration via organogenesis in marigold. *Plant cell, Tissue and Organ Culture* 69 : 279-283
- Yoshio N. 1979. Studies on vegetative propagation tulip. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 48 : 99-105
- 강소신의학원. 1986. 중약대사전. 상해과학출판사 pp. 1542-1548
- 만인식, 라상립. 1977. 우량 쪽파 선발 시험. 충남농촌진흥원. 작물편 3 : 337-338
- 박경숙. 1989. 조직배양을 통한 쪽파의 유전적 변이체들의 Isozyme와 단백질 유형의 변화 분석. 경북대학교 석사학위 논문 pp. 1-33
- 신언균. 1990. 종구절제와 식물생장조절제가 쪽파의 생장과 발육에 미치는 영향. 건국대학교 석사학위 논문 pp. 1-31
- 유인석. 2000. 우리나라 쪽파의 계통분류에 관한 연구. 순천대학교 석사학위논문 pp. 1-38
- 유창희. 1988. Callus 배양을 통한 쪽파의 핵학적 변이. 경북대학교 석사학위논문 pp. 1-21
- 은종선, 고정애, 김영선, 김명집. 1997. 고추냉이의 정단분열조직배양에 의한 미세 증식. *한국식물조직배양학회지* 24(1) : 43-48
- 이영진. 2001. 우리나라 지역수집계통 쪽파 종구의 온도처리가 휴면타파에 미치는 효과. 순천대학교 석사학위 논문 pp. 1-33
- 이은모. 1989. 조직배양을 통한 쪽파 육종의 가능성. *농업시험년보* 3: 1-11
- 이은모, 라상립. 1988. 쪽파의 인경비대와 휴면타파 생리 연구. *충남노촌진흥원 작물편* 5 : 138-142
- 차성충. 2000. 우리나라 재래 쪽파의 생육 특성과 우

량계통 선발에 관한 연구. 순천대학교 석사학위
논문 pp. 1-41

(접수일 2004. 1. 02)

(수락일 2004. 1. 30)