

## 한라구절초 잎절편 배양에 의한 식물체 재분화

박영철\*, 김성용, 한태완<sup>1)</sup>

제주도농업기술원, <sup>1)</sup>제주도환경산림과

### Plant Regeneration from Leaf Segment Culture of *Chrysanthemum zawadskii* ssp. *coreanum*

Young Chul, Park, Sung-Ryong, Kim, and Tae-Wan Han<sup>1)</sup>

JeJu-Do Agricultural Research & Extension Services, Jeju. 690-190, Korea

<sup>1)</sup>Division of Environment Forestry, Juju-do Government, Jeju. 690-700, Korea

#### ABSTRACT

The effect of plant growth regulators and gelling agents for plant regeneration from leaf segment of *Chrysanthemum zawadskii* ssp. *coreanum* was investigated. NAA was more effective than BA for plant regeneration. MS medium supplemented with NAA 1 mg/L was the most effective in plant regeneration. The effect of agar and gelite as gelling agent was compared. Agar(0.8%) was more effective than gelite(0.2%) in plant regeneration. Regenerated shoots was successfully increased by shoot grafting in MS medium supplemented with NAA 0.1 mg/L in vitro, and hardened by shoot grafting in artificial soil mix(Peatmoss : Perlite = 1 : 1).

**Key word :** *Chrysanthemum zawadskii* ssp. *coreanum*, leaf, plant regeneration.

#### 서언

한라구절초 [*Chrysanthemum zawadskii* ssp. *coreanum* (Nakai) Y.N.Lee]는 한라산 해발 1300미터 이상의 고산초원에 자라는 한라산 특산식물로 9월 중순부터 10월 중순까지 흰색 또는 드물게 분홍색 꽃이 피는 국화과 식물이다. 한라구절초는 초장이 작고 군집하여 나는 특성이 있어 도로주변 식재용으로 활용가치가 높을 것으로 생각된다. 하지만 대부분이 자생식물과 마찬가지로 한라구절초 또한 화색

다양화, 겹꽃 등이 품종육성이 필요한 실정이다. 한편 국화과의 품종육성은 교배육종, 돌연변이 육종 등으로 이루어져 왔으나 최근에는 형질전환에 의한 육종연구가 활발히 진행되고 있다(Bush와 Pueppke, 1991).

국화과 조직배양 연구 초기에는 캘러스 형성을 통한 식물체 재생연구가 이루어졌으며(Bush 등, 1976; Sutter과 Langhans, 1981), 최근에는 잎, 줄기 절편체로부터 직접적으로 신초를 유기하는 방법이 많이 보고 되고 있다(Kaul 등, 1990). 캘러스 형성을 거

\* 교신저자 : E-mail : pyc1970@provin.jeju.kr

친 식물체 재분화는 체세포 영양계 변이와 키메라를 형성할 수 있는 가능성이 높아 유전적으로 동일한 클론을 만들기 위해서는 직접적인 신초 유기가 보다 효과적이다. 한라구절초의 조직배양에 대한 보고는 아직 없으나 국화과에 대한 보고를 보면 신초재생에 적합한 성장조절물질의 종류와 농도가 품종에 따라 다양하게 나타난다.

본 연구는 한라산 특산식물인 한라구절초 잎절편에서 직접적인 재분화를 유도하여 형질전환 품종육성을 위한 기초자료로 활용하고자 실시하였다.

### 재료 및 방법

줄기를 기내삽목하여 증식중인 식물체의 잎을 시험재료로 이용하였다. 잎의 재분화에 효과적인 식물 성장조절물질을 조사하기 위하여 MS배지(Murashie

와 Skoog, 1962)에 0.2% gelite와 3% sucrose 첨가하고, NAA(0, 0.5, 1, 1.5, 2, 4 mg/L)와 BA(0, 0.2, 0.4 mg/L)를 조합처리하였다. 치상은 배양중인 한라구절초의 잎을 엽병을 제거하여 4개씩 3반복으로 치상하였다. 시료는 25℃, 형광등을 이용하여 2,000 lux, 광16/암8 시간조건에서 배양하였다. 또한 선발된 성장조절물질을 고정하여 0.2% gelite와 0.8% agar를 이용하여 잎의 재분화 효과를 조사하였다.

### 결과 및 고찰

식물체 재생에 미치는 성장조절물질의 효과를 조사한 결과, 신초발생에는 Lee 등(1999)이 국화 잎절편 재분화 시험결과와 유사하게 BA보다는 NAA 농도와 밀접하게 관련이 있었다. NAA가 첨가되지 않은 처리구에서는 잎절편이 모두 고사하였으며 NAA

Table 1. The effects of PGRS on root and shoot production of *Chrysanthemum zawadskii* ssp. *coreanum*

Plant growth regulators(mg/L)		Mortality(%)	Rooting rate(%)	Shooting rate(%)
NAA	BA			
0.0	0.0	-	-	-
0.0	0.2	-	-	-
0.0	0.4	-	-	-
0.5	0.0	11.1	88.9	88.9
0.5	0.2	0.0	100.0	100.0
0.5	0.4	22.2	77.8	66.7
1.0	0.0	11.1	88.9	88.9
1.0	0.2	0.0	100.0	100.0
1.0	0.4	0.0	100.0	100.0
1.5	0.0	0.0	100.0	100.0
1.5	0.2	0.0	100.0	100.0
1.5	0.4	0.0	100.0	88.9
2.0	0.0	0.0	100.0	100.0
2.0	0.2	0.0	100.0	100.0
2.0	0.4	0.0	100.0	100.0
4.0	0.0	0.0	100.0	100.0
4.0	0.2	0.0	100.0	100.0
4.0	0.4	0.0	100.0	100.0

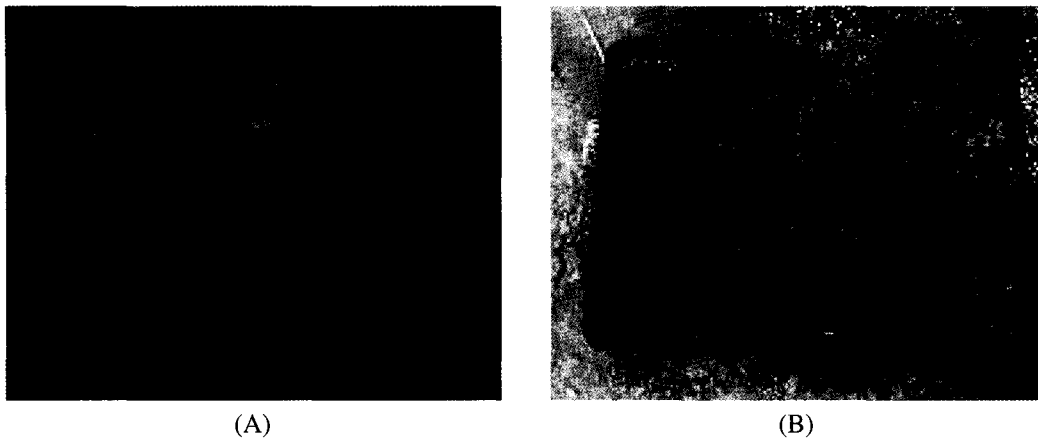


Fig. 1. Plant of regeneration from leaf (left) and hardening(right) of *Chrysanthemum zawadskii* ssp. *coreanum*.

1.0 mg/L 이상에서는 고사되는 현상을 거의 찾아 볼 수 없었다(Table 1).

캘러스는 거의 형성되지 않아 직접적인 신초유기

가 이루어짐을 확인할 수 있었다(Fig. 1A). 뿌리의 발생은 고사되지 않은 모든 개체에서 발생되었으며 신초의 발생도 비슷한 경향을 나타냈다. 신초형성이

Table 2. The effects of gelling agent, NAA, BA on the number of roots and shoots of *Chrysanthemum zawadskii* ssp. *coreanum*

Plant growth regulators(mg/L)		No. of roots	No. of Shoots(ea)			Sum
NAA	BA		Less 3cm	3~5cm	Over 5cm	
0.0	0.0	-	-	-	-	-
0.0	0.2	-	-	-	-	-
0.0	0.4	-	-	-	-	-
0.5	0.0	3.6	3.9	0.7	0.0	4.6
0.5	0.2	2.4	4.3	0.1	0.2	4.7
0.5	0.4	1.6	1.8	1.0	1.3	4.1
1.0	0.0	2.9	4.9	1.1	0.0	6.0
1.0	0.2	3.0	2.8	0.4	0.0	3.2
1.0	0.4	3.6	4.7	0.4	0.0	5.1
1.5	0.0	5.9	3.4	0.9	0.0	4.3
1.5	0.2	4.0	3.0	1.0	0.0	4.0
1.5	0.4	4.6	2.4	0.1	0.2	2.8
2.0	0.0	5.2	2.9	0.4	0.0	3.3
2.0	0.2	7.0	3.7	0.4	0.0	4.1
2.0	0.4	2.6	3.0	0.6	0.0	3.6
4.0	0.0	6.8	5.4	0.6	0.0	6.0
4.0	0.2	4.8	2.6	1.6	0.1	4.2
4.0	0.4	4.7	2.6	1.0	0.0	3.6

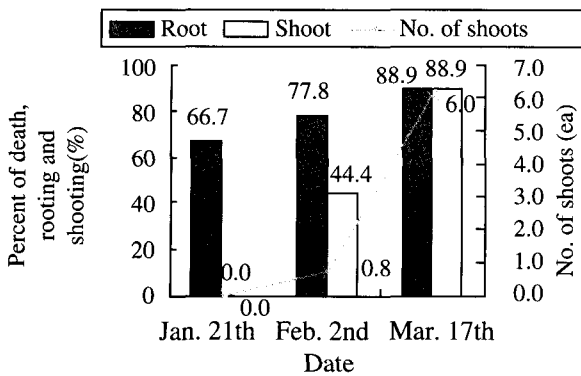


Fig. 2. Percent of death, rooting, shooting and number of shoots regenerated from leaf of *Chrysanthemum zawadskii* ssp. *coreanum*.

뿌리형성 후 일정한 기간의 지나면 이루어지는 것으로 보아 NAA 0.5 mg/L + BA 0.4 mg/L 처리구처럼 뿌리와 신초의 발생율이 다른 것도 장기간에는 모두 신초가 이루어질 것으로 판단되었다. 앞에서 발근은 배양후 7일 전후부터 이루어 졌으며 신초발생은 40 일경에 이루어 졌다(Fig. 2). 이는 Arabaud등(1994)가 국화 잎절편체 배양에서 신초발생이 17일 종도인 것에 비해 2배정도 기간이 더 필요한 것으로 나타나 종에 따른 차이를 확인할 수 있었다.

발생된 뿌리수는 NAA 농도가 높을수록 많아지는 경향이였으며 신초수는 NAA 1 mg/L와 NAA 4 mg/L에서 6개로 가장 많았다(Table 2).

Agar와 gelite가 잎 재분화에 미치는 영향을 조사한 결과, agar를 첨가한 배지에서 뿌리형성을 및 재

분화율이 높은 경향이였으나 유의성은 없었다. 그러나 줄기의 경우에는 gelite 첨가시 잎절편당 신초수가 다소 많았으며 agar 첨가시에는 잎절편당 신초수가 적은 반면에 신초의 길이가 길게 나타났다(Table 3).

잎절편에서 재분화된 신초를 2~3 cm 정도로 잘라 3% sucrose, 0.8% agar, NAA 0.1 mg/L를 첨가한 MS 배지에 삼목하면 손쉽게 증식이 가능하였으며 또한 배양된 식물체를 순화시킬 때에도 인공용토(피트모스 : 펄라이트 = 1:1)에 삼목하고 비닐로 터널을 만들어 습도를 유지시켜주면 삼목율이 90% 정도로 잘 이루어 졌다(Fig. 1B).

한라구절초의 잎절편으로부터 재분화에는 MS에 3% sucrose, 0.8% agar와 NAA 1 mg/L를 첨가하여 25 °C, 2,000 lux 정도에서 배양하는 것이 효과적이었다.

적요

기 내에서 삼목 배양 중인 한라구절초 [(*Chrysanthemum zawadskii* ssp. *coreanum*(Nakai) Y.N. Lee)]의 잎으로부터 효과적인 식물체 재생을 위한 NAA와 BA농도 및 배지고형물의 효과를 조사하였다. 0.2% Gelite를 고형물로 하였을 때 한라구절초의 잎 재분화에는 BA농도 보다는 NAA 농도가 더 영향을 미쳤으며, NAA 농도가 1 mg/L 이상이면 모든 조직에서 재분화를 보였다. 신초수는 NAA 단용

Table 3. The effects of NAA and BA on the number of roots and shoots of *Chrysanthemum zawadskii* ssp. *coreanum*

Gelling agents	NAA (mg/L)	Root production rate(%)	No. of roots(ea)	Shoot production rate(%)	No. of Shoots(ea)		
					Less 3cm	3~5cm	Over 5cm
Gelite	1.0	88.9	3.4	88.9	4.9	1.1	0.0
	1.5	100.0	6.1	100.0	3.4	0.9	0.0
	2.0	100.0	5.7	100.0	2.9	0.4	0.0
	4.0	66.7	4.7	100.0	5.4	0.6	0.0
Agar	1.0	100.0	2.8	100.0	1.6	1.7	2.1
	1.5	100.0	3.7	100.0	2.6	1.3	0.9
	2.0	100.0	3.4	100.0	2.4	1.0	1.1
	4.0	100.0	6.1	100.0	2.7	1.2	0.2

처리에서 많은 경향이었으며 NAA 1 mg/L 처리시가 가장 양호하였다. 배지고형물로 agar과 gelite를 가지고 재분화 효과를 조사한 결과, gelite 첨가시 잎절편당 신초수가 많았으며 agar 첨가시에는 잎절편당 신초수가 적은 반면에 신초의 길이가 길게 나타났다. 한라구절초의 잎절편으로부터 재분화에는 MS에 3% sucrose, 0.8% agar와 NAA 1 mg/L를 첨가하여 25 °C, 2,000 lux 정도에서 배양하는 것이 효과적이었다.

### 인용문헌

Arabaud M, M. Carre and J. Martin-Tanguy. 1994. Polyamine metabolism and *in vitro* cell multiplication and differentiation in leaf explants of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. Plant Growth Reg. 15: 143-155.

Bush A.L. and S.G. Pueppke. 1991. Cultivar-strain specificity between *Chrysanthemum morifolium* and *Agrobacterium tumefaciens*. Physiol. Mol. Plant Path. 39: 309-323.

Bush S.L., E.D. Earle and R.W. Langhans. 1976. Plantlets from petal segments, petal epidermis, and shoot tips of the periclinal chimera, *Chrysanthemum morifolium* 'Indianapolis'. Amer. J. Bot. 63: 729-737.

Kaul V., R.M. Miller, J.F. Hutchinson and D. Richards, 1990, Shoot regeneration from stem and leaf explants of *Dendranthema grandiflora* Tzvelev(syn. *Chrysanthemum morifolium* Ramat.). Plant Cell Tiss. Org. Cult. 21:21-30.

Lee Y.K., Y.J. Kwon, K.M. Lee, and N.I. Hyung. 1999. Plant regeneration from leaf segment cultures of *Chrysanthemum*(*Dendranthema grandiflora* Tzvelev), Kor. J. Plant Tiss. cult. 26(1): 59-63).

Murashige T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant 15:473-497

Sutter E. and R.W. Langhans, 1981, Abnormalities in *Chrysanthemum* regenerated from long term cultures. Ann. Bot. 40: 559-568.

(접수일 2004. 1. 02)  
(수락일 2004. 1. 30)