

## 치커리(*Cichorium intybus* L.)와 쑥갓(*Chrysanthemum coronarium* L.)의 기내 종자발아 개선

황현정 · 최근원\*

경희대학교 생명지원과학연구원

## Improvement of In Vitro Seed Germination in Chicory (*Cichorium intybus* L.) and Garland Chrysanthemum (*Chrysanthemum coronarium* L.)

Hyeon-Jeong Hwang and Geun-Won Choi\*

Institute of Life Sciences & Resources, Kyung Hee University, Yongin 446-701, Korea

**Abstract.** A series of experiments were conducted to suggest efficient in vitro germination conditions to improve germination rate and aseptic seedling production in chicory and garland chrysanthemum. For this purpose, various levels of NaOCl concentration and soaking treatment time combinations were tested. Fifteen minutes of soaking treatment with 5% NaOCl solution significantly improved germination and seedling formation percentages and prevented contamination in both chicory 'Precole' and 'Chiavari' and garland chrysanthemum 'Okiku 3'. There was no significant difference in germination response between MS and 1/2 MS medium compositions, but germination and seedling formation were delayed as sucrose concentration increased. Although petri-dish among various culture containers gave rise to improved germination responses in chicory 'Precole', there was no significant difference in germination responses among culture container types in chicory 'Chiavari' and garland chrysanthemum 'Okiku 3'. The ultrasonic treatment stimulated germination and seedling formation in both chicory cultivars but there was no effect in garland chrysanthemum 'Okiku 3'. The results suggested 15 minutes with 5% NaOCl for seed sterilization, 1/2 MS medium with no sucrose and petri-dish as proper medium composition and culture container, and 120 minutes with 5% NaOCl solution of ultrasonic treatment as promoting method for in vitro germination in chicory and garland chrysanthemum.

**Key words :** culture container, in vitro germination, medium composition, NaOCl, ultrasonic treatment

### 서    언

국화과 엽채류인 치커리(*Cichorium intybus* L.)와 쑥갓(*Chrysanthemum coronarium* L.)은 기능성과 건강성이 함께 부여된 고품질 채소로서 근래들어 더욱 관심의 대상이 되고 있는 작물이다(Park과 Ryu, 2002). 이들 종자는 자방벽이 그대로 말라붙어 식물학상 과실로 분류되는데 이러한 형태적 특성에 의해 종자 내부의 배나 배유조직, 과피의 표면 및 내부에는

각종 병균 및 발아억제물질 등이 다른 작물에 비해 더욱 많이 내재해 있을 수 있다(Choi 등, 2003). 특히 조직배양시 무균절편체 획득을 위해 기내 파종하는 경우 기외에서 발견되지 않았던 각종 균에 의한 오염을 일으켜, 빌아기간이 더 오래 걸리고, 전전하고 균일한 절편체를 일시에 얻기가 힘든 경우도 있다(Park 등, 1998). 이러한 문제점을 해결하기 위해 다음과 같은 방법들이 제시될 수 있다. 첫번째로 기내 파종 전 소독제인 차아염소산나트륨(sodium hypochlorite: NaOCl)을 사용하는 것인데 그 효과는 이미 많은 작물에서 오염 방지 뿐만 아니라, 종피의 일부를 제거시키거나, 변형시켜 투수성을 높임으로써 발아를 증진시키고(Ku 등,

\*Corresponding author: cwon@khu.ac.kr

Received November 17, 2008; Revised November 26, 2008;  
Accepted December 5, 2008

1996), 식물학상 과실이 종자인 경우 과피를 약화시켜 휴면을 타파하는 데에도 유용한 것으로 알려져 있다 (Drew와 Brocklehurst, 1987). 또 다른 방법으로서 초음파를 종자에 처리하는 것인데 이는 고체 표면에 부착된 오염물질을 이탈 시킬 수 있고, 초음파가 발포작용을 일으켜 발아가 어려운 난 등의 종자에 있어 발아억제요인을 타파하거나 발아율을 향상시키는 방법으로 보고된 바가 있다(Lee 등, 1998; Bang, 2002). 아울러 각 작물 및 품종의 발아요구도에 맞는 적정 배지조성 및 배양용기를 사용해야 하는데 그 이유는 용기 내 미세환경은 외부 환경과 달리 낮은 광도, 상이한 공기조성, 높은 공기습도 등이 유지되고, 배양을 위해 무기물과 당 등이 함유된 배지를 사용하기 때문에(Bhojwani와 Razdan, 1996) 발아환경에 민감하게 반응하는 종자의 경우 발아율 및 정상유묘의 형성이 저하될 수 있기 때문이다(Carpita와 Narbors, 1976; Kim 등, 2000). 그러나 치커리와 쑥갓 종자에 있어 기내발아 및 유묘형성 등과 관련한 연구는 재분화 및 형질전환을 위한 한 과정으로서 간단하게 서술되어 있을 뿐(Park과 Lim, 1999; Tien 등, 1997; Wim 등, 1999) 구체적인 연구는 매우 한정적이다.

따라서 본 연구는 치커리와 쑥갓을 대상으로 효과적인 NaOCl 소독농도와 시간, 적합한 발아 배지의 조성 및 기내 배양용기의 종류, 종자의 초음파 처리 가능성 등을 조사하여 기내파종 시 발아율 및 유묘형성율을 향상시키고, 오염을 효과적으로 줄여 건전한 실험재료의 확보를 가능케 하기 위한 목적을 가지고 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시재료

국내 유통되고 있는 국화과 작물 중 치커리류로는 잎치커리(*Cichorium intybus* L. var. *foliosum* cv. Precole)와 뿌리치커리(*Cichorium intybus* L. var. *sativus* cv. Chiavari)를 이용하고, 쑥갓은 중엽쑥갓 (*Chrysanthemum coronarium* L. cv. Okiku 3)을 사용하였다. 치커리류는 이태리에서, 쑥갓은 일본에서 채종한 것으로서, 모두 2008년도에 포장된 품종들을 수집하여 사용하였다.

### 2. NaOCl에 의한 종자소독

모든 종자는 1차로 종자를 70% ethanol에서 약 225rpm의 속도로 1분간 소독하였고, NaOCl 적정 처리농도와 시간 검정을 위해 0, 1, 5, 10%의 4수준으로 희석된 NaOCl(sodium hypochlorite solution, Duksan Co., Korea)에 Tween-20(polyoxyethylene sorbitan monolaurate, Duksan Co., Korea)을 1·2 방울 첨가한 용액에 15분 또는 30분 침지하여 225rpm 속도로 흔들어 2차 소독을 실시하였다. 이렇게 소독된 종자는 멸균수로 5회 수세한 후 파종하였다. 이 후 진행된 다양한 기내파종 검정에서는 종자의 소독 농도를 NaOCl 5%로 하여 15분간 처리한 후 실험에 사용하였다. 배양조건은  $20\pm0.5^{\circ}\text{C}$ , 16시간 명 상태의 일장 조건을 유지하도록 하여 총 10일간 배양하였다.

### 3. 배지조성 및 sucrose 농도

적합한 배지조성 및 sucrose 농도 검정을 위해 파종배지는 기본 MS 배지(Murashige와 Skoog, 1962)의 농도를 그대로 사용한 것과 그 농도를 1/2로 줄인 것으로 구분하였고, sucrose는 0, 1, 3%의 3수준으로 구성하였다. 이 후 진행된 다양한 기내파종 검정에서는 sucrose가 첨가되지 않은 1/2 MS 배지를 기본으로 사용하였다.

### 4. 배양용기

실험에 사용된 용기는 총 4가지로서 petri-dish (Medi-land Korea Co., Korea, size: 90×20mm, volume: 120mL, quality: polystyrene), Magenta vessel (Magenta Co., USA, size: 60×60×100mm, volume: 400mL, quality: body-polycarbonate, cap-polypropylene), 마요네즈병(Mayonnaise vessel, Korea, size: 80×130mm, volume: 570mL, quality: body-glass, cap-polypropylene), 사각병(Square vessel, Korea, size: 90×80×150mm, volume: 870mL, quality: body-glass, cap-polypropylene)으로서 용기의 모양, 재질 및 규격을 다양하게 구성하였다. 적정 배양용기 검정을 제외한 다른 기내파종 검정에서는 petri-dish만을 사용하였다.

### 5. 초음파 처리

종자의 초음파 처리 효과를 알아보기 위해 초음파세

## 치커리(*Cichorium intybus* L.)와 쑥갓(*Chrysanthemum coronarium* L.)의 기내 종자발아 개선

척기(Hwashin Co., Korea, size; 300×155×150mm, volume: 5.7L, frequency: 40KHz)를 이용하여 0, 10, 30, 60, 120분간 초음파 처리를 실시하였으며 이 때의 용매는 NaOCl 0 또는 5% 용액의 2수준을 사용하였다. 각각의 종자는 초음파 처리 전 70% etheanol에 침지하여 1분간 세척 후 무처리구를 제외하고 5% NaOCl 용액에서 15분간 소독을 실시하여 실험에 사용하였다.

### 6. 조사 및 통계처리

모든 실험은 25립씩 4반복으로 총 3회 실시하였으며 조사는 파종 3일, 6일, 10일 후에 각각 종자의 발아율, 유묘형성을, 오염율을 조사하였으며, 조사기준은 발아율의 경우 유근이 2mm 이상 돌출된 것으로 발아된 것으로 간주하였고, 유묘형성을은 발아 후 녹색의 배죽 및 두 장의 자엽이 나와 완전히 전개된 건전묘를 대상으로 하였으며, 오염율은 종자 주변에 각종 병변이 발생된 종자를 세어 측정하였다. 결과에 대한 통계처리는 SAS 프로그램(ver. 9.1)을 이용해 Duncan의 다중검정(Duncan's Multiple Range Test, DMRT)방법으로 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. NaOCl 적정 처리농도와 시간 검정

Table 1과 같이 치커리 두 품종 모두 NaOCl 1% 이하보다 5% 이상 처리구의 발아 및 유묘형성이 양호한 것으로 나타났으며, 소독시간은 NaOCl 5% 이상 처리구의 경우 30분 보다는 15분 처리가 좋은 결과를 보여주었다. 오염율은 무처리구에서는 파종 10일 후 약 60% 이상 발생하였으나 NaOCl 1% 이상 처리한 경우에는 발생되지 않았다. 전체적으로 'Chiavari'는 'Precole'에 비해 발아속도 및 최종발아율과 유묘형성을 모두 저조한 편이었다. 쑥갓 'Okiku 3'은 파종 10일 후 NaOCl 5%, 15분 처리구의 경우 발아율이 47.3%까지 이르렀고, 유묘형성을 또한 43.3%로서 타 처리구들과 비교 시 유의성이 인정되었다. 쑥갓에서 소독시간에 따른 차이는 치커리 'Chiavari'와 같이 명확히 나타나지 않았다. 오염율은 파종 3일 후부터 치커리류에 비해 다량 발생되었으나 NaOCl 처리농도를 5% 이상으로 높임에 따라서 점차 감소하였다.

치커리와 쑥갓 모두 NaOCl 5% 이상 처리구에서 높은 발아 및 유묘형성을 보인 것은 오염의 발생정도와 상관성을 보이는 결과로서 NaOCl 소독에 의해 오염원이 제거되었고, 과과 또한 연화되어 무처리구에 비해 발아에 적합한 환경이 조성된 요인으로 분석된다. 이와 유사한 보고는 Kim과 Lee(2001)가 Cucumber Green Mottle Mosaic Virus(CGMMV)에 걸린 박 종자를 대상으로 NaOCl 처리가 부분적이지만 병의 방제에 효과가 있다고 하였고, 5% NaOCl에서 60분간의 침지처리로 미선나무(*Abeliophyllum disticum*) 종자의 발아율이 95%까지 향상된 예를 통해서(Kim과 Yoou, 1998) 제시된 바가 있다. 쑥갓이 치커리에 비해 다량의 오염이 발생되었던 이유는 형태적 특성상 종자가 각주형(角柱形)으로(Kim 등, 2000) 매끈한 모양의 치커리에 비해 오염물질이 잘 제거되지 않을 수 있기 때문으로 추측되었고 또한 치커리에 비해 종자의 털종, 조제시 건전 종자가 제대로 선별되지 않아 종자 자체의 훈련 및 충실패이 떨어져(Thiraporn 등, 1987) 더욱 많은 오염이 발생되었을 것으로 여겨진다.

본 결과를 바탕으로 적정 NaOCl 처리는 5%, 15분이 치커리와 쑥갓 모두에 사용될 수 있는 적정범위라고 생각되었다.

### 2. 적정 배지조성 및 sucrose 농도 검정

치커리 'Precole' 파종 6일후부터 sucrose를 첨가하지 않은 MS 및 1/2 MS 처리구와 1/2 MS에 sucrose를 1 또는 3% 첨가한 처리구들에서 고른 발아 및 유묘형성을 나타내었으며, 특히 MS 배지를 사용하는 경우 sucrose 농도가 높을수록 발아 및 유묘형성을이 저하됨이 뚜렷이 나타났으며 파종 10일후에도 같은 양상을 유지하였다. 파종 10일 후 발아율은 sucrose가 없는 1/2 MS 배지에서 79.3%, 유묘형성을은 sucrose가 없는 MS 배지에서 55.3%로 가장 높았다. 'Chiavari'의 경우 파종 6일 후부터 sucrose를 첨가하지 않은 MS 및 1/2 MS 배지에서 발아 및 유묘형성을이 타 처리구에 비해 현저히 높았으며, 파종 10일 후에도 같은 경향을 보였다. 쑥갓 'Okiku 3'에서는 파종 3일 후부터 1/2 MS 배지를 사용하는 경우 sucrose 농도가 높아질수록 발아 및 생육이 느려지는 현상이 관찰되었으며, 파종 10일 후까지 이러한 변화가 그대로 유지되었다. 오염율은 치커리의 경우 배지조

**Table 1.** Effects of NaOCl concentration and treatment period on germination, seedling formation and contamination percentage in chicory and garland chrysanthemum.

NaOCl (%) + time (min.)	Germination (%) <sup>z</sup>			Seedling (%) <sup>y</sup>			Contamination (%) <sup>x</sup>		
	3 days <sup>w</sup>	6 days	10 days	3 days	6 days	10 days	3 days	6 days	10 days
Chicory 'Precole'									
0+15	1.3 d <sup>v</sup>	4.0 d	10.7 de	0.0 a	0.7 c	6.0 c	22.7 a	37.3 a	60.0 a
0+30	3.3 cd	4.0 d	9.3 e	0.0 a	1.3 c	3.3 c	14.0 b	40.0 a	58.7 a
1+15	2.0 d	4.0 d	10.7 de	0.0 a	0.0 c	2.7 c	0.0 c	0.0 b	0.0 b
1+30	5.3 bcd	18.0 bc	23.3 cd	0.0 a	7.3 b	18.0 b	0.0 c	0.0 b	0.0 b
5+15	8.0 abc	28.7 a	45.3 a	0.0 a	8.0 ab	30.0 a	0.0 c	0.0 b	0.0 b
5+30	6.0 bcd	13.3 c	28.0 bc	0.0 a	6.0 b	20.0 b	0.0 c	0.0 b	0.0 b
10+15	10.7 ab	24.7 ab	46.0 a	0.0 a	10.0 ab	31.3 a	0.0 c	0.0 b	0.0 b
10+30	12.7 a	25.3 ab	38.0 ab	0.0 a	12.7 a	25.3 ab	0.0 c	0.0 b	0.0 b
Chicory 'Chiavari'									
0+15	0.0 a	1.3 cd	1.3 d	0.0 a	0.0 a	0.0 d	21.3 a	32.0 a	71.3 a
0+30	2.0 a	4.0 a-d	6.7 cd	0.0 a	2.0 a	4.7 cd	16.0 b	26.7 b	70.0 a
1+15	0.0 a	0.0 d	4.7 cd	0.0 a	0.0 a	0.0 d	0.0 c	0.0 c	0.0 b
1+30	0.0 a	2.0 bcd	8.0 bcd	0.0 a	0.0 a	5.3 cd	0.0 c	0.0 c	0.0 b
5+15	0.0 a	6.7 ab	18.0 ab	0.0 a	0.0 a	10.7 abc	0.0 c	0.0 c	0.0 b
5+30	1.3 a	5.3 abc	14.7 abc	0.0 a	0.0 a	6.0 bcd	0.0 c	0.0 c	0.0 b
10+15	2.7 a	8.7 a	22.0 a	0.0 a	2.7 a	12.7 a	0.0 c	0.0 c	0.0 b
10+30	2.0 a	8.0 a	25.3 a	0.0 a	2.0 a	12.0 ab	0.0 c	0.0 c	0.0 b
Garland chrysanthemum 'Okiku 3'									
0+15	4.7 cd	8.0 c	13.3 d	0.0 a	0.0 e	6.0 de	42.0 a	44.0 a	86.0 a
0+30	7.3 cd	10.0 bc	11.3 d	0.0 a	3.3 cde	6.7 de	31.3 b	46.7 a	84.7 a
1+15	2.7 d	2.7 c	6.7 d	0.0 a	2.0 de	3.3 e	21.3 c	35.3 b	44.7 b
1+30	13.3 bc	18.7 b	22.7 c	0.0 a	8.7 bcd	16.0 cd	3.3 d	14.0 c	19.3 c
5+15	23.3 a	28.7 a	47.3 a	0.0 a	31.3 a	43.3 a	2.7 d	2.7 d	5.3 d
5+30	20.7 ab	29.3 a	39.3 b	0.0 a	10.0 bc	30.7 b	4.7 d	0.7 d	2.0 d
10+15	18.0 ab	38.7 a	45.3 ab	0.0 a	4.7 cd	31.3 b	0.7 d	2.0 d	2.0 d
10+30	17.3 ab	34.7 a	44.0 ab	0.0 a	14.7 b	25.3 bc	0.0 d	0.7 d	2.7 d

<sup>z</sup>(Number of germinated seeds / total number of seeds sown) × 100.<sup>y</sup>(Number of normal seedlings / total number of seeds sown) × 100.<sup>x</sup>(Number of contaminated seeds / total number of seeds sown) × 100.<sup>w</sup>Days after sowing.<sup>v</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at P = 0.05.

성의 차이가 나타나지 않았으며, 쑥갓에서는 피종 10 일후 sucrose를 첨가하지 않은 MS 및 MS+sucrose 1% 처리구에서 11% 이상 발생하였다(Table 2).

일반적으로 종자가 발아하는 데에는 지나친 수분보다는 포장용수량 정도의 수분과 낮은 삼투압 조건, 홀흡에 필수적인 산소량과 적정 발아온도가 필요하다 (Choi 등, 2003). 그러나 기내환경은 인위적으로 생육에 필요한 각종 무기조성 및 에너지원으로서 당 등을 이용하기에 삼투압이 높은 상태로 유지되게 되므로

(Bhojwani와 Razdan, 1996) 환경에 민감하게 반응하는 국화과 종자의 발아장애요인으로 대두될 수 있다. 따라서 치커리 및 쑥갓 종자의 피종에 있어 sucrose가 첨가되지 않은 1/2 MS 배지를 사용하는 것이 발아불량환경 하에서도 양호한 발아 및 유묘형성을 가능케 하는 조건으로 여겨졌다.

### 3. 적정 배양용기의 검정

치커리 'Precole'에서 피종초기 발아 및 유묘형성을

치커리(*Cichorium intybus* L.)와 쑥갓(*Chrysanthemum coronarium* L.)의 기내 종자발아 개선

**Table 2.** Effects of sowing medium composition on germination, seedling formation, and contamination percentage occurred from seed itself sterilized with 5% NaOCl in chicory and garland chrysanthemum.

MS + sucrose (%)	Germination (%) <sup>z</sup>			Seedling (%) <sup>y</sup>			Contamination (%) <sup>x</sup>		
	3 days <sup>w</sup>	6 days	10 days	3 days	6 days	10 days	3 days	6 days	10 days
Chicory 'Precole'									
MS + 0	28.0 a <sup>v</sup>	56.0 a	71.3 ab	2.0 a	32.0 a	55.3 a	0.0 a	1.3 a	1.3 a
MS + 1	18.0 b	38.0 b	57.3 b	0.0 a	18.0 b	35.3 bc	0.0 a	0.0 a	0.0 a
MS + 3	3.3 c	17.3 c	30.0 c	0.0 a	4.0 c	22.7 c	0.0 a	0.0 a	0.0 a
1/2 MS + 0	26.0 a	50.7 ab	79.3 a	0.7 a	26.0 ab	53.3 a	1.3 a	1.3 a	1.3 a
1/2 MS + 1	18.0 b	46.7 ab	61.3 ab	0.0 a	24.7 ab	51.3 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a
1/2 MS + 3	22.7 ab	42.7 ab	58.7 b	1.3 a	23.3 ab	47.3 ab	0.0 a	0.0 a	0.0 a
Chicory 'Chiavari'									
MS + 0	3.3 b	22.0 ab	47.3 a	0.0 a	10.0 ab	21.3 ab	0.0 a	1.3 a	1.3 a
MS + 1	2.7 b	12.0 bc	32.7 bc	0.0 a	2.0 b	16.7 ab	0.0 a	0.0 a	0.0 a
MS + 3	0.0 b	9.3 c	20.7 c	0.0 a	1.3 b	11.3 b	0.0 a	0.0 a	0.0 a
1/2 MS + 0	10.0 a	27.3 a	44.7 ab	0.0 a	15.3 a	30.7 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a
1/2 MS + 1	6.0 ab	15.3 bc	30.7 c	0.0 a	6.7 ab	13.3 b	1.3 a	1.3 a	1.3 a
1/2 MS + 3	3.3 b	14.7 bc	30.7 c	0.0 a	2.0 b	20.0 ab	0.0 a	0.0 a	0.0 a
Garland chrysanthemum 'Okiku 3'									
MS + 0	29.3 bc	50.0 a	54.0 a	1.3 a	34.0 a	44.7 a	0.0 a	14.7 a	17.3 a
MS + 1	33.3 ab	38.0 b	45.3 bc	0.0 a	36.0 a	38.0 a	0.0 a	10.7 ab	11.3 b
MS + 3	19.3 d	37.3 b	40.7 c	0.0 a	7.3 c	22.0 b	0.0 a	6.0 b	4.7 c
1/2 MS + 0	40.0 a	48.0 a	49.3 ab	0.7 a	35.3 a	40.7 a	0.0 a	6.7 b	6.7 bc
1/2 MS + 1	33.3 ab	39.3 b	48.7 ab	0.0 a	26.7 ab	38.0 a	2.0 a	8.7 b	8.7 bc
1/2 MS + 3	22.0 cd	30.7 c	38.7 c	0.0 a	16.0 bc	22.7 b	0.0 a	8.0 b	6.7 bc

<sup>z</sup>(Number of germinated seeds / total number of seeds sown) × 100.

<sup>y</sup>(Number of normal seedlings / total number of seeds sown) × 100.

<sup>x</sup>(Number of contaminated seeds / total number of seeds sown) × 100.

<sup>w</sup>Days after sowing.

<sup>v</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at P=0.05.

은 용기별로 유의성이 나타나지 않았으나 파종 6일 후 petri-dish의 발아율이 향상되었고, 파종 10일 후에는 71.3%까지 올라갔으며, 유묘형성율도 56.7%로 타 용기에 비해 유의차가 인정되었다. 'Chiavari'에서는 petri-dish 외에도 마요네즈병이나 사각병의 최종발아율 및 유묘형성율도 높게 나타났다. 쑥갓 'Okiku 3'의 경우 파종 6일 후부터 모든 배양용기의 발아율 및 유묘형성율이 고르게 나타났다. 오염율은 모든 처리구에서 발생하지 않거나 6% 이하로 적게 조사되어 용기종류에 따른 유의성이 인정되지 않았다(Table 3).

일반적으로 기내배양 시 배양용기의 부피가 클수록 용기내의 각종 ethylene, CO<sub>2</sub> 가스 등을 잘 희석시킬 수 있고, 배양단위당 더 많은 배지를 이용할 수 있기 때문에 생육과 발육이 좋아지는 것으로 알려져 있다

(Bhojwani와 Razdan, 1996; Koazi, 1991; Nguyen 등, 1999). 그러나 이러한 용기의 선택이 품종, 배양기간 및 절편체의 크기 등에 따라 달라져야 함은 배추의 소포자 배양에서 87×15mm의 petri dish가 60×15mm 크기의 것보다 배의 발생이 더 적게 되었다는 보고와(Lees와 Kim, 2000), Kim 등(2000)의 실험을 통해 이미 제시된 바가 있다. 미세종자인 치커리와 쑥갓은 발아 및 유묘형성 시 배양용기의 부피나 높이에 별다른 민감성을 나타내지 않았고, 기내작업의 효율성 및 식물체가 받는 광 조장영역 측면(Dooley, 1991; Fujiwara 등, 1989)까지 고려한다면 petri-dish 가 기내 파종을 위한 가장 바람직한 배양용기라고 판단되었다.

**Table 3.** Effects of culture container on germination, seedling formation, and contamination percentage occurred from seed itself sterilized with 5% NaOCl in chicory and garland chrysanthemum.

Container type	Germination (%) <sup>z</sup>			Seedling (%) <sup>y</sup>			Contamination (%) <sup>x</sup>		
	3 days <sup>w</sup>	6 days	10 days	3 days	6 days	10 days	3 days	6 days	10 days
Chicory 'Precole'									
Petri-dish	28.0 a <sup>v</sup>	52.0 a	71.3 a	1.3 a	34.0 a	56.7 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a
Magenta	17.3 a	36.7 b	58.7 b	1.3 a	18.7 b	37.3 b	0.0 a	0.0 a	0.0 a
Mayonnaise	18.0 a	40.0 b	58.0 b	0.0 a	18.7 b	43.3 b	0.0 a	0.0 a	0.0 a
Square	22.0 a	37.3 b	57.3 b	0.7 a	25.3 ab	46.0 b	0.0 a	0.0 a	0.0 a
Chicory 'Chiavari'									
Petri-dish	2.7 a	18.0 a	38.7 a	0.0 a	2.7 bc	24.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a
Magenta	2.7 a	6.7 b	24.7 b	0.0 a	1.3 c	14.0 b	0.0 a	0.0 a	0.0 a
Mayonnaise	1.3 a	8.0 b	38.0 a	0.0 a	3.3 b	20.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a
Square	4.0 a	16.7 a	36.7 a	0.0 a	6.0 a	22.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a
Garland chrysanthemum 'Okiku 3'									
Petri-dish	41.3 a	53.3 a	23.3 a	0.0 b	40.7 a	48.7 a	2.7 a	2.7 a	2.7 ab
Magenta	42.0 a	50.0 a	21.3 a	4.0 a	40.7 a	46.0 a	0.7 a	0.7 a	0.7 b
Mayonnaise	40.0 a	50.0 a	18.0 a	2.0 ab	37.3 a	46.7 a	0.0 a	2.7 a	2.7 ab
Square	27.3 b	42.7 a	23.3 a	1.3 b	32.7 a	41.3 a	2.7 a	3.3 a	6.0 a

<sup>z</sup>(Number of germinated seeds / total number of seeds sown) × 100.<sup>y</sup>(Number of normal seedlings / total number of seeds sown) × 100.<sup>x</sup>(Number of contaminated seeds / total number of seeds sown) × 100.<sup>w</sup>Days after sowing.<sup>v</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at P=0.05.

#### 4. 초음파 처리 효과

초음파 처리에 의한 치커리의 발아 및 유묘형성율은 NaOCl 0% 보다는 5% 용매를 사용하고 처리시간이 길수록 약간 증가하는 양상을 나타내었다. 치커리 'Precole'에서 발아율은 파종 3일 후부터 NaOCl 5%, 초음파 120분 처리한 것이 가장 양호했으며, 최종조사 일에는 발아율이 90%, 유묘형성율도 73.3%까지 올라갔다. 그러나 이러한 발아율은 NaOCl 5% 용매를 사용한 모든 처리구 및 NaOCl 0%, 초음파 60분 처리구와 통계적 차이가 없었으며, 유묘형성율도 NaOCl 5%, 초음파 60 및 120분 처리구간에 유의차가 인정되지 않았다. 'Chiavari'에서는 파종 6일 후 NaOCl 5%, 초음파 120분 처리구의 발아율에서 높은 유의성이 나타났으나, 파종 10일 후에는 NaOCl 5%, 초음파 120분 처리 뿐만 아니라 NaOCl 5%, 초음파 30분 및 NaOCl 0% 초음파 120분 처리구에서도 양호한 발아율을 보여주었다. 유묘형성율은 파종 10일 후 NaOCl 5%, 초음파 120분 처리구가 58%로 가장 양호하였다. 쑥갓 'Okiku 3'의 경우 파종 10일 후 대부-

분의 처리구에서 NaOCl 농도 및 초음파 처리 시간에 따른 차이가 통계적으로 인정되지 않았으며, 유묘형성율도 NaOCl 0%, 초음파 30 및 120분을 포함하여 NaOCl 5% 용매를 사용한 모든 처리구에서 고른 분포를 나타내었다. 오염율은 치커리와 품종들과 쑥갓 모두에서 무처리구를 제외하고 다른 처리구들에서는 거의 발생되지 않아 초음파 처리 시 용매의 농도 및 시간에 따른 차이가 없는 것으로 조사되었다(Table 4).

종자의 무균발아를 위해 초음파 처리를 이용한 연구는 Lee 등(1998)이 한란(*Cymbidium karan*) 종자를 대상으로 20분 처리한 것이 무처리구에 비해 약 5.5 배의 발아율 증기를 보였다는 보고와, Bang(2002)이 건란(*Cymbidium encifolium*)에 30분 이상의 초음파 처리가 효과적이었다는 보고가 있었고, 이외에는 해바라기(Tuder와 Ioana, 1973), 새우난초(Miyoshi와 Mii, 1988) 등에서 유사한 실험이 진행되었다는 보고가 있었다. 본 연구를 통해 국화과 종자에 있어 초음파 처리가 가능하며, 그 처리시간은 120분까지 지속하여도 발아 및 정상묘의 생성에 문제가 없는 것으로 조사되

치커리(*Cichorium intybus* L.)와 쑥갓(*Chrysanthemum coronarium* L.)의 기내 종자별아 개선

**Table 4.** Effects of ultrasonic treatment on germination, seedling formation, and contamination percentage occurred from seed itself sterilized with 5% NaOCl in chicory and garland chrysanthemum.

NaOCl(%) + ultrasonic time (min)	Germination (%) <sup>z</sup>			Seedling (%) <sup>y</sup>			Contamination (%) <sup>x</sup>		
	3 days <sup>w</sup>	6 days	10 days	3 days	6 days	10 days	3 days	6 days	10 days
Chicory 'Precole'									
0+0	14.7 d <sup>v</sup>	26.7 d	28.0 c	0.0 a	17.3 d	21.3 e	23.3 a	37.3 a	46.7 a
0+10	27.3 bc	44.7 bc	64.7 b	0.0 a	28.7 bcd	49.3 d	0.0 b	0.0 b	0.0 b
0+30	28.0 abc	42.7 c	62.7 b	0.0 a	30.0 bcd	48.7 d	0.0 b	0.0 b	0.0 b
0+60	30.0 abc	52.7 abc	72.0 ab	0.0 a	30.7 bcd	56.7 cd	0.0 b	0.0 b	0.0 b
0+120	27.3 bc	55.3 abc	70.0 b	0.0 a	28.7 bcd	52.7 cd	0.0 b	0.0 b	0.0 b
5+0	27.3 bc	43.3 c	70.7 b	2.7 a	27.3 cd	48.7 d	0.0 b	0.0 b	0.0 b
5+10	32.7 abc	56.0 abc	76.7 ab	1.3 a	34.7 abc	62.0 bc	0.0 b	0.0 b	0.0 b
5+30	24.7 cd	48.0 bc	76.7 ab	1.3 a	26.7 cd	51.3 cd	0.0 b	0.0 b	0.0 b
5+60	38.0 ab	62.0 ab	74.0 ab	0.7 a	42.0 ab	68.0 ab	0.0 b	0.0 b	0.0 b
5+120	39.3 a	66.0 a	90.0 a	1.3 a	46.7 a	73.3 a	0.0 b	0.0 b	0.0 b
Chicory 'Chiavari'									
0+0	12.7 cde	24.7 e	39.3 c	0.0 a	11.3 c	28.7 c	10.0 a	12.0 a	23.3 a
0+10	15.3 b-e	32.7 cde	52.0 b	0.0 a	16.7 abc	34.7 c	0.0 b	0.0 b	0.0 b
0+30	12.0 cde	33.3 cd	54.0 b	0.0 a	16.0 abc	34.0 c	0.0 b	0.0 b	0.0 b
0+60	14.7 b-e	40.7 bc	57.3 b	0.0 a	18.0 abc	35.3 c	0.0 b	0.0 b	0.0 b
0+120	20.7 ab	42.7 b	64.0 ab	0.0 a	14.0 abc	42.7 b	0.0 b	0.0 b	0.0 b
5+0	11.3 de	28.0 de	52.7 b	0.0 a	12.7 c	34.0 c	0.0 b	0.0 b	0.0 b
5+10	18.0 a-d	36.0 bcd	60.0 b	0.0 a	15.3 abc	45.3 b	0.0 b	0.0 b	0.0 b
5+30	8.7 e	38.7 bc	64.0 ab	0.0 a	18.0 abc	43.3 b	0.0 b	0.0 b	0.0 b
5+60	23.3 a	39.3 bc	60.0 b	0.0 a	20.7 ab	46.7 b	0.0 b	0.0 b	0.0 b
5+120	18.7 abc	55.3 a	75.3 a	0.0 a	22.7 a	58.0 a	0.0 b	0.0 b	0.0 b
Garland chrysanthemum 'Okiku 3'									
0+0	16.7 d	26.7 d	34.7 c	0.0 a	18.7 c	22.7 e	18.7 a	27.3 a	37.3 a
0+10	17.3 d	34.0 cd	38.7 bc	0.0 a	18.7 c	33.3 de	0.0 b	1.3 c	2.7 b
0+30	38.0 a	56.7 a	61.3 a	0.0 a	36.0 ab	53.3 a	0.0 b	0.0 c	0.0 b
0+60	24.0 cd	37.3 bcd	37.3 bc	0.0 a	26.0 abc	35.3 cd	0.0 b	0.0 c	0.0 b
0+120	30.0 abc	43.3 bc	48.0 abc	0.0 a	33.3 b	42.0 a-d	2.7 b	6.7 b	8.7 b
5+0	25.3 bcd	47.3 ab	52.0 ab	0.0 a	24.7 bc	43.3 a-d	0.0 b	0.0 c	2.7 b
5+10	33.3 abc	40.0 bc	46.7 abc	0.0 a	32.7 ab	40.0 bcd	0.0 b	0.0 c	3.3 b
5+30	34.0 abc	49.3 ab	52.0 ab	0.0 a	37.3 ab	46.7 a-d	0.0 b	0.0 c	0.0 b
5+60	33.3 abc	44.7 abc	49.3 abc	0.0 a	37.3 ab	41.3 a-d	0.0 b	0.0 c	0.0 b
5+120	36.0 ab	56.7 a	61.3 a	1.3 a	38.7 a	49.3 ab	0.0 b	0.0 c	0.0 b

<sup>z</sup>(Number of germinated seeds / total number of seeds sown) × 100.

<sup>y</sup>(Number of normal seedlings / total number of seeds sown) × 100.

<sup>x</sup>(Number of contaminated seeds / total number of seeds sown) × 100.

<sup>w</sup>Days after sowing.

<sup>v</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at P=0.05.

었다. 품종에 따라 다소 차이가 있으나 전체적으로 사용되는 용매는 NaOCl 5% 용액을 이용하는 것이 NaOCl 0% 보다 양호한 결과를 나타내는 것으로 생각되었다.

## 적 요

치커리와 쑥갓에 있어 기내 파종 시 빌아 및 무균화 생산을 증진시키기 위한 적절한 방법을 제안하기

위해 일련의 실험들이 수행되었다. NaOCl의 적정 처리농도와 시간 검정을 통해 치커리 'Precole'과 'Chiavari' 및 쑥갓 'Okiku 3' 모두 NaOCl 5%로 15분간 처리하는 것이 발아 및 유효형성을 촉진시키고 오염발생을 억제하는 것으로 관찰되었다. 배지조성에 있어 MS와 1/2 MS 처리구들의 발아반응성은 뚜렷이 차이가 나타나지 않았으며, sucrose 농도가 높아짐에 따라 발아 및 유효형성이 저연되었다. 배양용기에 따른 반응성의 차이는 치커리 'Precole'의 경우 petri-dish에서 양호한 발아율 및 유효형성을 보여주었지만, 치커리 'Chiavari'와 쑥갓 'Okiku 3'에서는 용기에 큰 영향을 받지 않았다. 초음파 처리는 치커리의 발아율 및 유효형성을 증가시켰지만, 쑥갓 'Okiku 3'에서는 초음파 처리효과가 나타나지 않았다. 따라서 치커리와 쑥갓 모두에서 NaOCl 5%, 15분간 종자소독하고, sucrose가 무첨가된 1/2 MS 배지로 petri-dish를 이용하며, 초음파 처리는 NaOCl 5% 용매에서 120분간 하는 것이 기내 발아향상에 적당한 조건으로 선정되었다.

**주제어 :** 기내종자발아, 배양용기, 배지조성, 초음파처리, NaOCl

## 사      사

본 연구는 경희대학교 연구비지원사업(KHU20040057)의 일환으로 수행되었습니다.

## 인 용 문 헌

- Bang, S.H. 2002. Studies on influencing factors for mass propagation of oriental orchids. M.D., Kyung Hee Univ., Suwon.
- Bhojwani, S.S. and M.K. Razdan. 1996. Plant tissue culture. Elsevier Science Publishing Company, N.Y., USA.
- Carpita, N.C. and M.W. Narbors. 1976. Effects of 35°C heat treatments on photosensitive 'Grand Rapids' lettuce seed germination. *Plant Physiol.* 57:612-616.
- Choi, B.H., B.H. Hong, G.H. Kang, J.G. Kim, and T.G. Min. 2003. Seed science. Hyang Mun Press. Seoul, Korea.
- Dooley, J.H. 1991. Influence of lighting spectra on plant tissue culture. ASAE Paper No. 917530. Amer. Soc. Agr. Eng. St. Joseph, M.I., USA.
- Drew, R.L.K. and P.A. Brocklehurst. 1987. The effect of sodium hypochlorite on thermoinhibition of lettuce seed. *ActaHort.* 215:179-183.
- Fujiwara, F., T. Kozai, Y. Nakaivo, and I. Watanabe. 1989. Effects of closures and vessels on light intensities in plant tissue culture vessels. *J. Agri. Meteorol.* 45:143-149.
- Kim, D.H. and J.M. Lee. 2001. Effects of seed sterilization treatment on germination and seedling growth of bottle gourd (*Lagenaria siceraria*). seeds and its detection. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 42:131-136.
- Kim, J.W., S.M. Park, and Y.R. Yeoung. 2000. Investigation of the causes of low germinability of *Chrysanthemum coronarium* seeds. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 11:20-27.
- Kim, K.S. and Y.K. Yoou. 1998. Effects of some pre-treatment on seed germination of white forsythia (*Abeliophyllum disticum*). *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 39:86-91.
- Kozai, T. 1991. Micropropagation under photoautotrophic conditions. Chiba University Press. Chiba, Japan.
- Ku, J.H., T.I. Kim, and D.W. Jun. 1996. Effects of sodium hypochlorite treatment on germination of spinach seeds. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 37:357-361.
- Lee, H.Y., J.S. Jung, and J.S. Lee. 1998. Induction of chlorophyll II deficient mutant plant of *Cymbidium kanran* by EMS treatment. *Kor. J. Plant Tissue Cult.* 25:183-187.
- Lee, S.S. and A.J. Kim. 2000. Effects of cultural vessel, plant growth regulator, illuminating and shaking on embryo induction and growth in microspore culture of heading chinese cabbage. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 41:16-20.
- Miyoshi, K. and M. Mii. 1988. Ultrasonic treatment for enhancing seed germination of terrestrial orchid, *Caranthe discolor*, in a symbiotic culture. *Hort. Science* 35:127-130.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* 15:473-479.
- Nguyen, Q.T., T. Kozai, and U.V. Nguyen. 1999. Effects of sucrose concentration, supporting material and number of air exchanges of the vessel on the growth of in vitro coffee plantlets. *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 58:51-57.
- Park, E.J. and H.T. Lim. 1999. Establishment of efficient in vitro plant regeneration system in chicory (*Cichorium intybus* L. var. *sativus*). *Acta Hort.* 483:367-370.
- Park, J.C., B.R. Jeong, I.J. Seol, Y.B. Min, Y.M. Lee, Y.C. Yoon, H.J. Kang, S.M. Jang, S.O. Lee, C.S. Yang, Y.G. Shon, B.S. Park, S.S. Shin, and S.R. Kim. 1998.

치커리(*Cichorium intybus* L.)와 쑥갓(*Chrysanthemum coronarium* L.)의 기내 종자발아 개선

- Development and practical application of photoautotrophic culture and acclimatization systems of mass-production of micropropagated horticultural plantlets. J. Res. Inst. Greenhouse Hort. 5:45-386.
20. Park, K.W. and K.O. Ryu. 2002. Leaf vegetables for wrapping food. Herb World Press, Seoul, Korea.
21. Thiraporn, P., R. Takano, and A. Choomsai. 1987. High temperature resistance of yard long bean seeds. Acta Hort. 215:111-116.
22. Tien, L., M.E.E. Huang, and E.C. Pua. 1997. High frequency shoot regeneration from leaf disc explants of garland chrysanthemum (*Chrysanthemum coronarium* L.). In vitro. Plant Sci. 126:219-226.
23. Tudor, M. and I. Ioana. 1973. The effect of treatment of sunflower with ultrasound shown during plant development. Univ. Craiova St. Int. Agri. 4:143-157.
24. Wim, V.D.E., J.D.I. Roover, and A.V. Laere. 1999. Effect of nitrogen concentration on fructan and fructan metabolizing enzymes in young chicory plants (*Cichorium intybus*). Phsiologia Plantarum 105:2-8.