

## 무스카리(*Muscari armeniacum* 'Early Giant')의 화경 조직으로부터 신초형성과 구형성에 미치는 생장조절물질의 영향

전수민 · 정미영 · 김창길\*

경북대학교 원예과학과

### Effect of Plant Regulators on Direct Shoot Formation and Bulblet Formation from Flower Stalk Culture of *Muscari armeniacum* 'Early Giant'

Su-Min Jeon · Mi-Young Chung · Chang-Kil Kim\*

Department of Horticultural Science, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

#### Abstract

This study was carried out to produce multiple shoots and bulblets from flower stalk tissue cultures of *Muscari armeniacum* LEICHTLIN ex BAKER 'Early Giant', which were cultured in the half strength Murashige & Skoog's (MS) medium supplemented with auxin, NAA in combination with kinetin, BA, and TDZ, alone and/or. In flower stalk tissue culture, upper part explant was the most suitable as a source of culture material. Direct shoot formation was much more favorable in half strength MS medium supplemented with 0.1 mg · L<sup>-1</sup> NAA and 1.0 mg · L<sup>-1</sup> TDZ. On the other hand, bulblet formation was increased when cultured in half strength MS medium added with 0.01 mg · L<sup>-1</sup> NAA and 0.1 mg · L<sup>-1</sup>, 0.2 mg · L<sup>-1</sup> kinetin. Acclimatized plant flowered during the second year of the growing period without any phenotypic variations and formed average 1.5 bulblets per mother bulb.

**Key words** : *Muscari armeniacum*, bulblet formaion, direct shoot formation, regeneration

#### 서 언

무스카리(*Muscari armeniacum* 'Early Giant')는 단  
자엽식물아강 백합과의 구근 식물로서 대부분이 아르  
메니아 · 서부 이란 · 지중해 연안 및 서남아시아에서

자생한다(Choi 등, 2000). 통상적으로 'muscaris' 또는  
'grape hyacinth'라 불리며 화색은 청색, 백색 등으로  
단지 모양의 꽃이 총상화서로 피며 개화기는 3~5월  
로 향기가 좋고 꽃대의 길이는 10~30cm이다(Kim,  
2005). 잎은 인경에서부터 7~10장이 총생하고 선형  
으로 회록색을 띠며 안쪽으로 굽이져 있고 구근은  
회갈색의 소구형 인경으로 크기가 4~10cm이고 여름  
에 휴면하고 가을에 정식하는 추식구근이다.

\*Corresponding author. E-mail : cckim@knu.ac.kr,  
Phone : 82-53-950-5728, Fax : 82-53-950-5722  
(Received November 20, 2011; December 9, 2011;  
Accepted December 21, 2011)

번식방법으로 분구 또는 모구의 기부 주위에 형성되는 자구를 이용하여 증식(Hartmann 등, 1990; Peck 등, 1986; Cumming과 Peck, 1984)하며 이외에도 종자 번식, 엽삽번식(Choi 등, 2000; Park 등, 2000), 인편번식(Bae 등, 2000), 조직배양기술을 이용하고 있다(Famelaer 등, 1996; Godo 등, 1998; S. Suzuki and M. Nakano, 2001; Kumar 등, 2007). 지금까지 이루어진 선행연구를 보면, 주로 분구나 자구를 이용한 번식방법은 개화구의 생산은 빠르지만 번식률이 낮아 대량 번식이 어려우며 이외 종자번식, 엽삽번식, 인편번식, 조직배양 및 notching, scooping과 같은 인공번식방법

등은 증식률이 높아 대량번식에는 유리하나 개화구를 얻기까지 오랜 기간이 걸리는 단점을 가지고 있다(Bae 등, 2000). 무스카리의 경우 지금까지 다양한 배양재료로부터 기관분화와 체세포배발생을 통해 비교적 높은 빈도로 식물체를 재생시키고 있다(Nakano 등, 2005; Suzuki and Nakano, 2001). 그러나 기내 배양시 캘러스 형성과정을 통한 기관 재분화는 배양기간이 오래 소요되고 많은 종에서 변이체가 발생하는 문제점이 있다(Bacchetta 등, 2003; Peck and Cumming, 1986; Hussey, 1978). 이와 같은 문제점을 고려하여 본 연구에서는 우리나라 주요 재배종인 *Muscari*

**Table 1. Effect of plant growth regulators(PGRs), alone and/or in combination, on the multiple shoot and bulblet formation from upper part tissue cultures of flower stalk in *Muscari armeniacum*.**

Treatment <sup>2</sup> (mg L <sup>-1</sup> )	Average No. of shoots/explant	Average No. of bulblets/explant	Bulblet diameter (mm)	Bulblet height (mm)	Mean fresh weight of a bulblet (mg)
Control	0.0	1.2	4.0±0.2	5.2±0.2	70.0
N 0.01	0.0	2.0	5.5±0.2	6.9±0.3	114.0
0.1	0.0	2.5	0.0	0.0	0.0
K 0.1	0.0	1.3	4.3±0.2	6.0±0.6	91.0
0.2	0.0	1.8	4.4±0.1	5.9±0.3	64.0
1.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0
2.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0
B 0.1	0.8	1.1	0.0	0.0	0.0
0.2	1.0	1.6	5.0±0.5	6.2±0.5	94.0
1.0	0.2	0.2	0.0	0.0	0.0
2.0	0.5	0.6	0.0	0.0	0.0
T 0.1	1.9	0.6	0.0	0.0	0.0
0.2	3.3	0.6	0.0	0.0	0.0
1.0	3.3	0.2	0.0	0.0	0.0
2.0	2.5	0.4	0.0	0.0	0.0
N 0.01 + K 0.1	0.0	2.6	3.8±0.2	5.3±0.2	46.0
N 0.01 + K 0.2	0.0	3.3	4.5±0.1	5.9±0.4	69.0
N 0.1 + K 1.0	0.0	0.6	0.0	0.0	0.0
N 0.1 + K 2.0	0.0	1.2	0.0	0.0	0.0
N 0.01 + B 0.1	1.6	0.5	0.0	0.0	0.0
N 0.01 + B 0.2	1.5	1.3	0.0	0.0	0.0
N 0.1 + B 1.0	8.2	0.4	0.0	0.0	0.0
N 0.1 + B 2.0	4.0	0.1	0.0	0.0	0.0
N 0.01 + T 0.1	3.4	1.1	5.0±0.1	6.7±0.2	98.0
N 0.01 + T 0.2	4.6	0.3	0.0	0.0	0.0
N 0.1 + T 1.0	9.6	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.1 + T 2.0	7.8	0.0	0.0	0.0	0.0

<sup>2</sup>Control=non treatment of plant regulators; N=NAA; K=kinetin; B=BA; T=TDZ

무스카리(*Muscari armeniacum* 'Early Giant')의 화경 조직으로부터 신초형성과 구형성에 미치는 성장조절물질의 영향

*armeniacum* 'Early Giant' 품종을 대상으로 캘러스 유도과정을 거치지 않고 화경 절편체로부터 직접 식물체를 재생을 유도하고자 하였다. 아울러 재생된 식물체의 신초 및 자구 형성에 미치는 성장조절물질의 효과를 구명함으로써 자구생산을 통한 대량증식 체계를 확립하고자 본 실험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

실험의 재료는 개화기의 무스카리(*M. armeniacum*) 'Early Giant' 품종을 시중에서 구입하여 실험 시작 일주일 전부터 농용항생제를 1,000배액으로 희석하여 하루 1회씩 식물체의 화경 전체에 골고루 살포하였다. 화경장이 17~19cm에 이른 화경을 채취하여 흐르는 수돗물에 깨끗하게 수세하고 증류수로 행구었다. Fig. 1과 같이 화경을 소화경이 붙어있던 부분은 상부, 화경의 녹색부는 중부, 화경의 백색부는 하부로 각각 나누어 70% EtOH에 수 초간 침지 후 멸균수로 수세하고 1% NaOCl(sodium hypochlorite) 용액에 넣어 15분간 교반 살균 후 멸균수로 2~3회 수세 다음 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액에 수 초간 침지 후 멸균된 filter paper 있는 petri-dish에서 수분을 제거 시킨 다음 길이 8mm로 잘라 petri-dish 당 10절편씩 2~3 반복으로 배양하였다. 화경 절편체로부터 신초 유기 및 체세포배 형성을 위한 배지 조성은 1/2MS(Micro and 1/2Macro elements including vitamins), sucrose 30g·L<sup>-1</sup>의 기본 배지에 NAA(1-Naphthalene acetic acid) 0.01, 0.1g·L<sup>-1</sup>과 BA(6-Benzylaminopurine) 0.1, 0.2, 1.0, 2.0g·L<sup>-1</sup>, kinetin (6-furfurylamino purine) 0.1, 0.2, 1.0, 2.0g·L<sup>-1</sup>, TDZ(Thidiazuron) 0.1, 0.2, 1.0, 2.0g·L<sup>-1</sup>을 단용 또는 혼용한 배지를 pH 5.6으로 조정 후 agar 8g·L<sup>-1</sup>을 첨가하여 121℃에서 20분간 고압 살균한 다음 90(D)×20(H)mm의 petri-dish에 50mL씩 분주하였다. 배양은 25±1℃에 800~1,000lux에 16시간 명, 8시간 암상태로 배양하였으며 배양 7주 후 신초 및 자구 형성 등을 조사하였다.

## 결과 및 고찰

무스카리(*Muscari armeniacum* 'Early Giant') 화경

조직에서부터 신초형성 및 자구 형성을 위해 화경 상, 중, 하부로 나누어 NAA와 kinetin, BA, TDZ를 단용 또는 혼용한 배지에서 각각 배양한 결과, 화경의 부위별로 신초와 자구가 형성되었다. 소화경이 달린 화경의 상부에서의 신초와 자구의 형성 결과는 Table 1과 같다. NAA와 cytokinin 종류별 단용 또는 혼용처리 처리했을 때 농도가 높은 처리구에서 보다 농도가 낮은 처리구에서 자구형성율이 높았으며 어리연꽃의 화경조직을 이용해 저농도에서 캘러스 재분화율이 높았다(Oh 등, 2007)는 결과와 일치 하였다. 절편당 자구 형성 수는 NAA 0.1mg·L<sup>-1</sup>에서 절편체당 2.5개의 자구가 형성되었고 kinetin 0.1mg·L<sup>-1</sup>에서 1.8개, BA 0.2mg·L<sup>-1</sup>에서 1.6개의 자구가 형성되었으며 TDZ 단용처리는 자구형성에 저조한 결과를 보였다. Kumar 등(2007)은 기내 소인편배양에서 자구 형성에 BA와 TDZ 등의 cytokinin 류가 효과적이라고 하였는데 본 실험에서 kinetin 처리시 BA와 TDZ처리 보다 자구형성율이 높았던 결과와는 다소 차이가 있었다. 하지만 NAA와 cytokinin 종류별, 농도별로 혼용했을 때 자구형성은 NAA 0.01 mg·L<sup>-1</sup> 와 kinetin 0.2 mg·L<sup>-1</sup> 혼용했을 때 절편당 3.3개의 자구가 형성되어 가장 많은 자구를 형성하였다. 또한 단용 처리에서의 절편체당 신초형성율은 NAA와 kinetin 처리에서 신초가 형성되지 않았으며 BA 0.2 mg·L<sup>-1</sup>에서 절편체당 1.0개, TDZ 0.2 mg·L<sup>-1</sup>, 1.0 mg·L<sup>-1</sup>에서 3.3개의 신초가 형성되었고 NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup> 와 TDZ 1.0 mg·L<sup>-1</sup> 을 혼용했을 때 절편당 9.6개의 신초가 형성되었다. 팔레놉시스 화경배양시 TDZ보다 BA가 신초형성에 효과적이라고 보고한 결과(Choi 와 Koh, 2009)와 다소 상이하였지만 성장조절물질의 농도가 낮은 곳에서 배양하는 것이 효과적이라는 결과(Oh 등, 2007)와 유사하였다. 또한 Kang 등(2011)은 카네이션 신초 형성시 kinetin이나 BA 처리보다 TDZ를 처리했을 때 신초형성율이 높았으며, TDZ 단용 처리보다 NAA와 혼용처리했을 때 높은 신초 형성율을 나타내는데 적합하다고 하였는데 이는 본 실험의 결과와 동일하였다.

화경의 중부와 하부를 배양 했을 때 자구 및 신초형성은 거의 이루어지지 않았으며(Table 2, 3) 자구 형성에는 NAA 0.01 mg·L<sup>-1</sup>와 kinetin 0.1 mg·L<sup>-1</sup> 또는 0.2

mg·L<sup>-1</sup>를 혼용했을 때 자구가 형성되었고, 자구 및 신초유도 시 단용처리보다 NAA와의 혼용처리구에서 자구 형성 및 신초형성이 양호(Fig. 2. C, D)하였으며, 신초형성 역시 Oh 등(2007)이 보고한 저농도의 성장조절처리에서 신초형성이 양호하였다는 결과와 동일한 결과를 나타내었다.

무스카리의 화경조직을 이용해 신초 및 자구를 유도한 결과 무스카리 상부 조직에서 신초 및 자구 형성이 가장 양호하였고(Fig. 2. A, B), 히야신스 화경조직의 상부에서 자구 형성이 양호하였다는 결과(Chung

등, 1983)와 동일하였다. 한편 무스카리 화경 절편배양으로부터 얻은 자구를 온실에서 순화 후 얻은 자구를 저온에서 후면타과 처리 후 비닐포트에 식재하여 재배한 결과, 15주 후에 정상적으로 개화하였다. 또한, 지하부의 생육을 조사한 결과 구의 크기에 따라 다소간 차이는 있으나 평균 구중이 0.3g 이상의 구를 생산할 수 있었으며 기저부에 약 1.5개 내외의 자구가 형성되는 것을 관찰할 수 있었다.

본 연구 결과 무스카리의 화경절편체로부터 직접재생을 통해 자구 및 신초를 유도할 수 있었으며, 이러한

**Table 2. Effect of PGRs, alone and/or in combination, on the multiple shoot and bulblet formation from middle part tissue cultures of flower stalk in *Muscari armeniacum*.**

Treatment (mg·L <sup>-1</sup> )	Average No. of shoots/explant	Average No. of bulblets/explant	Bulblet diameter (mm)	Bulblet height (mm)	Mean fresh weight of a bulblet (mg)
Control	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0
N 0.01	0.0	2.3	0.0	0.0	0.0
0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
K 0.1	0.0	0.6	0.0	0.0	0.0
0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
B 0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.2	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
T 0.1	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0
0.2	3.3	0.0	0.0	0.0	0.0
1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.01 + K 0.1	0.0	1.1	0.0	0.0	0.0
N 0.01 + K 0.2	0.0	1.1	3.4±0.2	4.4±0.2	29.0
N 0.1 + K 1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.1 + K 2.0	0.0	1.2	0.0	0.0	0.0
N 0.01 + B 0.1	1.1	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.01 + B 0.2	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.1 + B 1.0	0.6	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.1 + B 2.0	0.8	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.01 + T 0.1	8.5	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.01 + T 0.2	7.0	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.1 + T 1.0	3.2	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.1 + T 2.0	1.7	0.0	0.0	0.0	0.0

See foot note of table 1

무스카리(*Muscari armeniacum* 'Early Giant')의 화경 조직으로부터 신초형성과 구형성에 미치는 생장조절물질의 영향

직접 재생을 통해 단시간내에 식물체를 대량 생산하는 데 기본 자료로 사용할 수 있다고 사료된다.

### 적 요

화경을 상, 중, 하부로 나누어 신초 및 자구를 유도하기 위하여 NAA와 몇 종류의 cytokinin 첨가 배지에서 각 부위별 화경 절편체를 배양해서 얻은 결과는 다음과 같다. 화경 조직에서 상부, 중부, 하부 중 소화

경이 부착된 상부조직에서 다아체 및 자구 형성이 전반적으로 가장 양호 하였다. 다아체 형성은 NAA  $0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 와 TDZ  $1.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  혼용배지에서 가장 효율적이었고 자구 형성은 NAA  $0.01\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 와 kinetin  $0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  또는 NAA  $0.01\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 와 kinetin  $0.2\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  혼용배지에서 가장 효율적이었다. 온실에서 순화된 식물체는 정상적으로 개화하였으며 재식 2년차에 1.5 개 내외의 자구를 가진 구를 생산할 수 있었다.

**Table 3. Effect of PGRs, alone and/or in combination, on the multiple shoot and bulblet formation from lower part tissue cultures of flower stalk in *Muscari armeniacum*.**

Treatment ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Average No. of shoots/explant	Average No. of bulblets/explant	Bulblet diameter (mm)	Bulblet height (mm)	Mean fresh weight of a bulblet (mg)
Control	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0
N 0.01	0.0	2.3	0.0	0.0	0.0
0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
K 0.1	0.0	0.6	0.0	0.0	0.0
0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
B 0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.2	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
1.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
T 0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
0.2	1.6	0.0	0.0	0.0	0.0
1.0	-	0.0	0.0	0.0	0.0
2.0	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.01 + K 0.1	0.0	3.4	4.1±0.2	6.2±0.2	59.0
N 0.01 + K 0.2	0.0	1.8	3.5±0.3	5.6±0.2	39.0
N 0.1 + K 1.0	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0
N 0.1 + K 2.0	1.2	1.1	0.0	0.0	0.0
N 0.01 + B 0.1	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.01 + B 0.2	2.1	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.1 + B 1.0	4.9	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.1 + B 2.0	5.3	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.01 + T 0.1	2.5	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.01 + T 0.2	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.1 + T 1.0	4.9	0.0	0.0	0.0	0.0
N 0.1 + T 2.0	4.6	0.0	0.0	0.0	0.0

See foot note of table 1

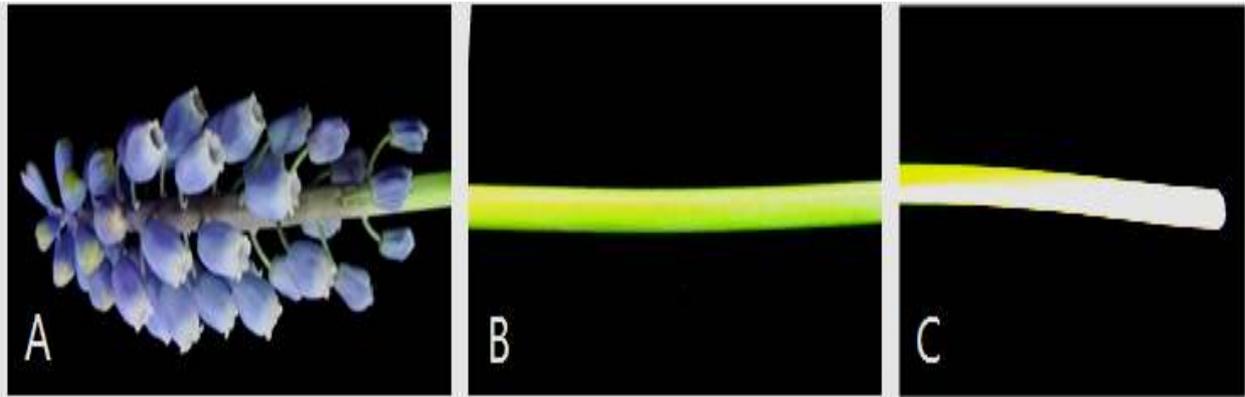


Fig. 1. Flower stalk of *Muscari armeniacum*, upper part of flower stalk(A), middle part of flower stalk(B) and lower part of flower stalk(C).

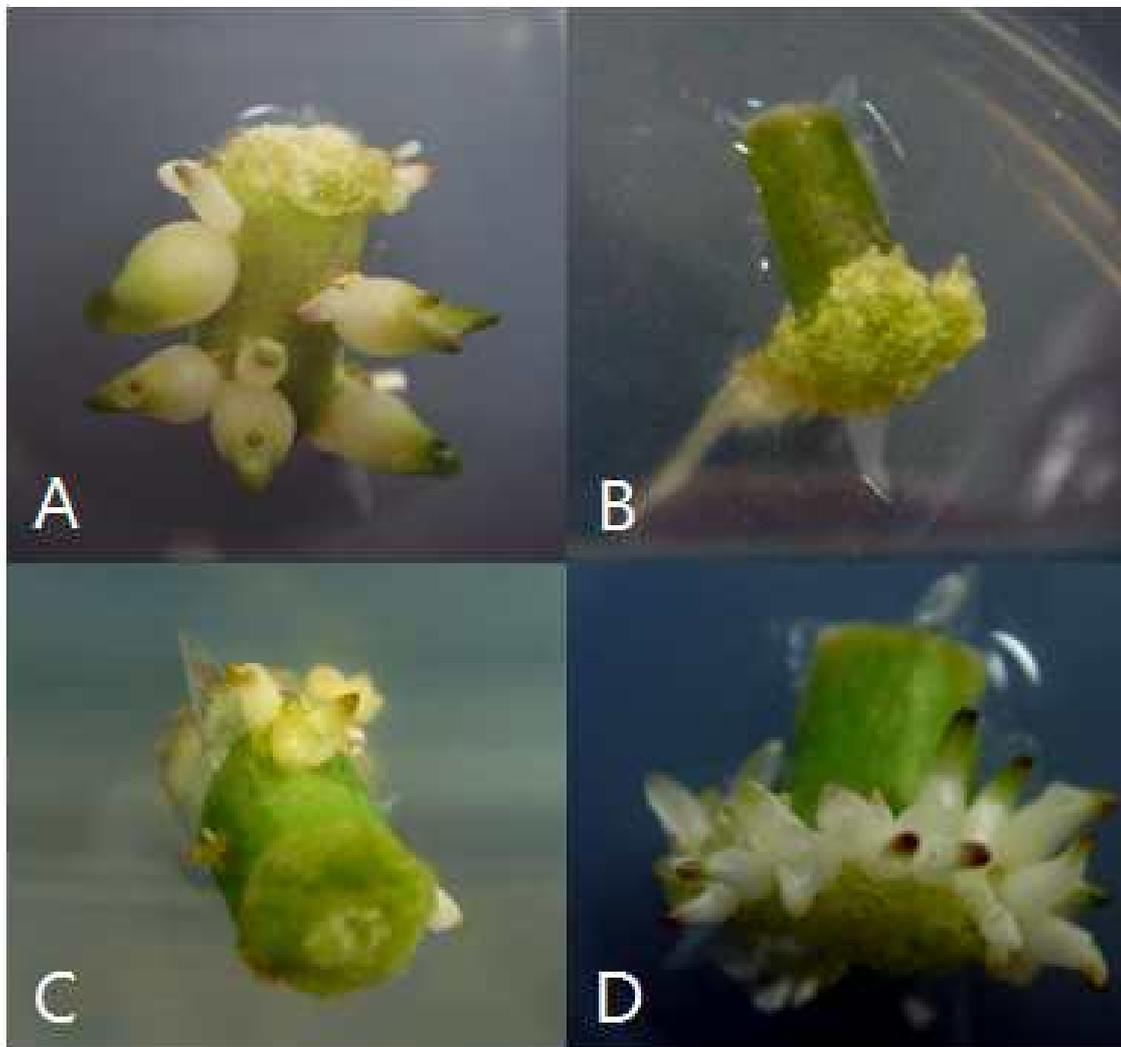


Fig. 2. Bulblet formation from upper part of flower stalk cultured in the medium containing  $0.01\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA,  $0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  kinetin(A), lower part of flower stalk culture in the medium containing  $0.01\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA,  $0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  kinetin(B), upper part of flower stalk culture in the medium containing  $0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  BA(C) and middle part of flower stalk culture in the medium containing  $0.01\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA,  $0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  BA(D).

인용문헌

1. Bacchetta, L., P.O. Remotti, C. Bernardini, and F. Scaccerdo. 2003. Adventitious shoot regeneration from leaf explants and stem nodes of *Lilium*. Plant Cell Tissue Organ Culture 74:37-44.
2. Bae, H. C, H. G. Ahn, S. K. Park, W. M. Yue, W. Y. Jung, Y. D. Chang, and S.T. Choi. 2000. Effect of scaling time and scale position on bulblet formation in scaling of *Muscari armeniacum* 'Early Giant'. HORTICULTURE ENVIRONMENT and BIOTECHNOLOGY 41:93-95.
3. Choi S.T., S.K. Park, W.Y. Jung, H.G. Ahn, I.H. Park, Y.D. Chang, and S.T. Kim. 2000. Effect of leaf cutting time and leaf part on bulblet formation of *Muscari armeniacum* 'Early Giant'. Journal Korea Society Horticulture Science 41:87-89.
4. Cumming B. G. and Peck D. E.. 1984. Tissue culture of grape hyacinth. HortScience 19:723-724.
5. Famelaer, I., E. Ennik, W. Eikelboom, J.M. van Tuyl, and J. Creemers-Molenaar. 1996. The initiation of callus and regeneration from callus of *Tulipa gesneriana*. Plant Cell Tissue Organ Cult 47:51-58.
6. Godo, T., K. Kobayashi, T. Tagami, T. Matsui, and T. Kida. 1988. In vitro propagation utilizing suspension cultures of meristematic nodular cell clumps and chromosome stability of *Lilium* × *formolongi* hort. Scientia Horticulturae 72:193-202.
7. Hartmann, H. T., D.E. Kester, and F.T.J. Davies. 1990. Plant propagation; Principles and practices. Prentice Hall, P. 205-206.
8. Jeon S.M., M.Y. Chung, H.B. Lee, J.S. Han, J.S. Park, C.K. Kim, and J.D. Chung. 2010. Effect of plant growth regulators on direct shoots formation and somatic embryogenesis from leaf tissue culture of *Muscari armeniacum* 'Early Giant'. Flower Research Journal 18:261-265.
9. Kim Hong-Yul. 2005. Process of flower bud formation and changes of sugar content of *Muscari armeniacum* 'Early Giant'. Journal Korea Flower Research Society 13:97-100.
10. Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. physiol plant 15:473-497.
11. Nakano, M., S. Tanaka, S. Kagami, and H. Saito. 2005. Plantlet regeneration from protoplasts of *Muscari armeniacum* Leichtl. ex Bak. Plant Biotechnology 22:249-251.
12. Oh M.J., S.R. Min, J.R. Liu, and S.W. Kim. 2007. Plant regeneration from floral stem cultures of *Nymphoides indica*(L.) O. Kuntze. via somatic embryogenesis. Journal of Plant Biotechnology 34:7-10.
13. Park S.K., H.G. Ahn, W.Y. Jung, Y.D. Chang, S.T. Kim, I.H. Park, and S. T. Choi. 2000. Effect of leaf order and position on bulblet formation in leaf cutting of *Muscari armeniacum* "Early Giant". Journal Korea Society Horticulture Science 41:90-92.
14. Peck, D.E., and B.G. Cumming. 1986. Beneficial effects of activated charcoal on bulblet production in tissue cultures of *Muscari armeniacum*. Plant Cell Tissue Organ Culture 6:9-14.
15. Suzuki, S. and M. Nakano. 2001. Organogenesis and somatic embryogenesis from callus cultures in *Muscari armeniacum* Leichtl. ex Bak. In vitro Cell Development Biology Plant 37:382-387.