

| | | | | | |
|--------|------------------------|--------|-----------|--------------------|-----|
| 사업구분 | 경상기관프로젝트 | Code구분 | LS0209 | 수행구분 | 전반기 |
| 연구과제명 | 수출유망 신작목 개발연구 | | | 연구책임자 | 정병찬 |
| 세부과제명 | 조직배양에 의한 칼라 조기비대 방법 개발 | | | '99 ~ 2000(2년차 완결) | |
| 연구원별임무 | | | | | |
| 구분 | 소속 | 성명 | 담당임무 | | |
| 연구책임자 | 원예연구과 | 엄남용 | 연구계획 및 총괄 | | |
| 공동연구자 | " | 김시창 | 조사 및 통계분석 | | |
| | " | 노희선 | 재료수집 및 조사 | | |
| 색인용어 | 칼라, 조직배양 | | | | |

ABSTRACT

This study was carried out to investigate of bulbs propagation in vitro and liquid culture for bulb enlarged of *Zantedeschia* spp 'Golden Affair'.

Murashige and Skoog(MS) medium supplemented with BA 0.1mg/L and 2iP 1.0mg/L formed 3.0 shoots per meristem. And Gamborg B5 medium supplemented with 2iP 0.1mg/L formed 7.0 shoots per meristem and shoot formation rate was 83.3%.

Result for bulb enlarged compared solid with liquid culture, shoot formation, fresh weight and growth conditions on liquid culture increased more than solid culture

1. 연구배경

칼라(*Zantedeschia* spp. Common Calla)는 아프리카에 자생하는 천남성과 구근식물로 백색 칼라는 결혼식에 부케화 및 졸업식등에 많이 이용되고 현재는 다양한 화색의 품종육성으로 실내 장식화로서 유망한 화종이다. 최근 강원도 고랭지를 이용한 단경기 재배가 가능하게 되면서 수출작목으로서의 가능성이 확인되며 재배면적의 증가가 예상된다. 그러나 농가에서 칼라 재배를 위한 종구구입은 대부분 네델란드, 뉴질랜드, 동남아등에서 수입하여 사용하고 있으나 유색칼라의 경우 단가가 구당 2500 ~ 4000원 정도로 매우 높아 종구비의 부담이 매우 크다. 따라서 종구비의 부담을 줄이기 위해서는 자가생산하여 사용해야 하는데 아직 농가에서의 재배방법 및 종구생산 기술이 확립되지 못하여 자체생산은 어려운 실정이다. 일반적으로 칼라의 번식은 주로 분구에 의해 번식시키나 세대가 경과함에 따라 번식율이 저하되고 바이러스나 연부병등에 의한 이병율이 높아져 효율적이지 못하다.

최근 수출유망 화종으로 급부상한 칼라의 종구생산 및 절화생산에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있는데 그중 조직배양에 의한 종구의 대량증식에 관한 연구(전라북도농업기술원 1995, 1997)가 대부분이며 특히 유색칼라의 성장점배양에 관하여 시험한 결과 embryogenic callus는 MS기본배지+2,4-D 5.0mg/L에서 형성되었고 embryogenic callus

에서 식물체의 분화는 선라이트의 경우 2iP 1.0mg/L에서 16배, 페수아지온은 BA 1.0mg/L에서 12배, 키안테는 BA 5.0mg/L에서 14배로 효과적이었다는 보고와 같이 품종별로 증식용 배지는 다소 차이가 있었다. ('95, 전북농업기술원) 또한 백색칼라인 칠드시아나의 치상부위별 식물체 분화력은 경정조직에서 28.5%로 높았고, 성장점 배양은 MS기본배지+BA 3.0mg/L에서 Shoot 분화율이 33.8%로 높았다.('94, 전북농업기술원)

따라서 본 시험은 강원도 고령지에서의 단경기 재배작형시 적품종인 골든어페어의 절화생산시 경영비 절감 및 구근 수입대체 효과를 위한 종구 대량증식 기술을 확립하고자 실시되었다.

2. 재료 및 방법

가. 조직배양에 의한 칼라 종구생산 방법 구명시험

시험에 사용된 품종은 유색칼라중 황색계통인 골든어페어로 뉴질랜드에서 구주 14-16cm인 구를 수입하여 시중에서 시판되는 바로커 상토를 이용하여 직경 11cm의 포트에 정식한후 신초의 길이가 5cm 정도 되었을 때 사용하였다. 포트에서 꺼낸 구근은 뿌리와 표피를 모두 제거한후 흐르는 수돗물에서 중성세제를 이용하여 세척한후 기내에서 70% 알콜로 20초간 소독한후 멸균수로 3회 헹구고 4% 락스에서 20분간 저어가며 소독한후 멸균수로 4회 헹구어 주었다. 소독이 끝난 시료는 해부 현미경하에서 성장점을 채취하여 MS, B5, 수정 kano배지에 성장조절물질인 NAA, BA, 2iP를 0, 0.1, 1.0, 3.0mg/L 의 농도로 단용 및 혼용처리하여 치상한후 20±2℃의 암조건에서 10일간 배양한후 16시간 조명하에서 50일간 배양하여 생존율 및 생육특성등을 조사하였다.

나. 조직배양에 의한 칼라 조기비대 방법 개발

성장점배양에 의해 형성된 Shoot를 시험1에서 선발된 B5배지 + 2iP 0.1mg/L에 agar를 첨가한 고체배지와 첨가하지 않은 액체배지에 치상하여 30일간 20±2℃에서 16시간 조명하며 배양한후 구의 크기 및 구중등을 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 조직배양에 의한 칼라 종구생산 방법 구명시험

유색칼라인 골든어페어의 우량종구 생산을 위한 조직배양시 적정 배지 및 성장조절물질의 농도를 구명하기 위하여 시험한 결과 MS 배지에 성장조절물질을 농도별로 단용 및 혼용 처리한 결과는 표 1과 같다. Callus 형성율은 BA 0.1mg/L+NAA 3.0mg/L, BA 1.0mg/L 처리시 전 개체에서 Callus가 형성 되었으나 Shoot와 Root의 형성은 보이지 않았다. Shoot와 Bulb의 형성은 BA 3.0+NAA 3.0+2iP 0.1mg/L 처리시 전개체에서 Shoot가 형성되었으며 Bulb의 형성율은 60%였고 Root의 형성율도 60%로 양호하였다. 그러나 형성된 Shoot의 개

체수는 NAA 3.0mg/L 단용처리와 BA 0.1+2iP 1.0mg/L 처리시 Shoot의 형성율은 각각 25, 50%였으나 형성된 Shoot는 3.0개로 양호하였으며 Bulb를 형성한 개체수도 각각 2.0개와 1.0개로 양호하였다. 형성된 Shoot의 생육상황은 BA 0.1+NAA 1.0+ 2iP 0.1mg/L 처리시 신초장이 8.9cm로 가장 컸고 엽수는 NAA 3.0mg/L 단용처리시 9.0개로 많았으며 근수도 4.0개로 양호하였다.

표 1. MS배지에서의 성장조절물질의 농도별 생육특성

| 성장조절물질 농도(mg/L) | | | 형성율(%) | | | | Shoot수 | Bulb수 | 신초장 | 엽수 | 근수 |
|--------------------|-----|-----|--------|-------|------|------|--------|-------|------|-----|-----|
| BA | NAA | 2iP | Callus | Shoot | Bulb | Root | (개) | (개) | (cm) | (개) | (개) |
| 0 | 1.0 | 0 | 50 | 50 | 50 | 50 | 2.5 | 1.5 | 6.2 | 6.0 | 3.0 |
| 0 | 3.0 | 0 | 50 | 25 | 25 | 25 | 3.0 | 2.0 | 2.2 | 9.0 | 4.0 |
| 0.1 | 0 | 1.0 | 12.5 | 50 | 25 | 37.5 | 3.0 | 1.0 | 4.0 | 4.3 | 2.0 |
| 0.1 | 1.0 | 0.1 | 66.7 | 66.7 | 66.7 | 66.7 | 1.5 | 1.5 | 8.9 | 5.0 | 3.5 |
| 0.1 | 3.0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1.0 | 0 | 0 | 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3.0 | 0 | 0.1 | 33.3 | 66.7 | 33.3 | 33.3 | 1.5 | 1.0 | 4.5 | 2.0 | 4.0 |
| 3.0 | 0.1 | 0 | 25 | 50 | 25 | 25 | 2.5 | 1.0 | 2.8 | 2.0 | 2.0 |
| 3.0 | 1.0 | 0 | 100 | 50 | 0 | 0 | 1.0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3.0 | 3.0 | 0.1 | 20 | 100 | 60.0 | 60.0 | 1.2 | 1.0 | 4.0 | 2.6 | 3.0 |

B5배지에서의 성장조절물질의 농도별 생육특성은 표 2와 같다. Callus형성율은 NAA 1.0mg/L 단용처리와 BA 3.0+NAA 3.0+ 2ip 1.0mg/L 혼용처리시 80%의 형성율을 나타내었고, Shoot 형성율은 2ip 3.0mg/L, NAA 0.1+2iP 0.1mg/L, BA 0.1+NAA 0.1+2iP 0.1mg/L, BA 0.1+NAA 1.0mg/L, BA 1.0+NAA 1.0mg/L, BA 1.0+NAA3.0+2iP3.0mg/L, BA 3.0mg/L, BA3.0+NAA0.1mg/L, BA 3.0+NAA 3.0+2iP 1.0mg/L 처리에서 전개체에서 Shoot가 형성되었다. Bulb의 형성은 BA 0.1+NAA1.0mg/L처리에서 형성된 Shoot의 전개체가 Bulb가 형성되었으며 Root 형성율도 100%로 양호하였다. 그러나 형성된 Shoot 개체수는 2iP 0.1mg/L 단용처리에서 7.0개가 형성되었고, BA 1.0+NAA 0.1mg/L 혼용처리에서 4.2개가 형성되었다. 기내 생육상황은 BA 0.1+NAA1.0mg/L 처리시 신초장이 7.4cm로 가장 컸고 엽수는 BA 0.1+2iP 3.0mg/L 처리시 6.5개가 형성되었으며 근수는 BA 3.0+NAA 3.0+2iP 1.0mg/L 처리시 6.0개가 형성되었다.

표 2. B5배지에서의 성장조절물질의 농도별 생육특성

| 성장조절물질 농도(mg/L) | | | 형성율(%) | | | | Shoot수 | Bulb수 | 초장 | 엽수 | 근수 |
|--------------------|-----|-----|--------|-------|------|------|--------|-------|------|-----|-----|
| BA | NAA | 2iP | Callus | Shoot | Bulb | Root | (개) | (개) | (cm) | (개) | (개) |
| 0 | 0 | 0.1 | 62.5 | 83.3 | 50 | 66.7 | 7.0 | 1.0 | 5.2 | 3.8 | 3.3 |
| 0 | 0 | 3.0 | 33.3 | 100 | 66.7 | 66.7 | 1.7 | 1.0 | 3.9 | 3.5 | 1.8 |
| 0 | 0.1 | 0.1 | 66.7 | 100 | 67 | 67 | 1.0 | 0.7 | 3.2 | 2.3 | 1.5 |
| 0 | 0.1 | 3.0 | 16.7 | 50 | 33.3 | 50 | 2.3 | 1.0 | 5.2 | 3.0 | 2.3 |
| 0 | 1.0 | 0 | 80 | 75 | 50 | 75 | 2.3 | 1.0 | 3.3 | 5.5 | 3.0 |
| 0.1 | 0 | 0.1 | 42.9 | 66.7 | 40 | 60 | 2.3 | 1.0 | 5.0 | 3.7 | 1.7 |
| 0.1 | 0 | 3.0 | 66.7 | 22.2 | 11.1 | 11.1 | 3.5 | 1.0 | 2.2 | 6.5 | 2.0 |
| 0.1 | 0.1 | 0.1 | 50 | 100 | 66.7 | 66.7 | 1.5 | 1.0 | 4.5 | 2.0 | 2.5 |
| 0.1 | 1.0 | 0 | 20 | 100 | 100 | 100 | 1.5 | 1.0 | 7.4 | 3.8 | 4.0 |
| 1.0 | 0.1 | 0 | 33.3 | 62.5 | 37.5 | 37.5 | 4.2 | 1.0 | 3.0 | 3.0 | 4.0 |
| 1.0 | 1.0 | 0 | 37.5 | 100 | 75.0 | 75 | 1.3 | 1.0 | 6.9 | 3.3 | 2.3 |
| 1.0 | 3.0 | 3.0 | 66.7 | 100 | 0 | 0 | 1.0 | 0 | 0.8 | 1.5 | 0 |
| 3.0 | 0 | 0 | 50 | 100 | 66.7 | 66.7 | 1.3 | 1.0 | 4.0 | 3.0 | 1.0 |
| 3.0 | 0.1 | 0 | 75 | 100 | 50 | 50 | 1.5 | 0.5 | 3.3 | 1.5 | 2.0 |
| 3.0 | 3.0 | 0.1 | 60 | 30 | 33.3 | 33.3 | 2.7 | 1.0 | 4.6 | 2.7 | 6.0 |
| 3.0 | 3.0 | 1.0 | 80 | 100 | 60 | 60 | 1.2 | 1.0 | 2.1 | 2.0 | 2.3 |

수정 Kano배지에서의 성장조절물질의 농도별 생육특성은 표 3과 같다. 수정 Kano배지에서는 성장조절물질이 첨가되지 않은 기본배지와 BA 0.1mg/L+NAA 3.0mg/L+2iP 0.1mg/L가 첨가된 배지에서 Shoot 형성율이 85.7%로 높았으나 모든 개체가 고사하였고 BA 0.1mg/L+NAA 1.0mg/L+2iP 1.0mg/L와 BA 1.0mg/L+NAA 3.0mg/L+2iP 3.0mg/L가 첨가된 배지에서는 고사개체가 없었으나 Shoot 형성율이 각각 6.3%와 12.5%로 낮았으며 형성된 Shoot의 개체수도 1.0개 였고 기내 생육상황도 저조하였다. 따라서 수정 Kano배지는 칼라의 성장점배양용 배지로서는 부적합한 것으로 나타났다.

표 3. 수정 kano배지에서의 성장조절물질의 농도별 생육특성

| 성장조절물질 농도(mg/L) | | | | 형성율(%) | | | Shoot수 (개) | Bulb수 (개) | 초장 (cm) | 엽수 (개) | 고사율 (%) |
|--------------------|-----|-----|--------|--------|------|------|---------------|--------------|------------|-----------|------------|
| BA | NAA | 2iP | Callus | Shoot | Bulb | Root | | | | | |
| 0 | 0 | 0 | 14.3 | 85.7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 |
| 0 | 3.0 | 0 | 0 | 22.2 | 0 | 0 | 1.0 | 0 | 0.7 | 1.5 | 55.6 |
| 0 | 3.0 | 3.0 | 0 | 26.7 | 0 | 0 | 1.0 | 0 | 1.0 | 1.0 | 6.7 |
| 0.1 | 0 | 0 | 16.7 | 66.7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 |
| 0.1 | 0 | 0.1 | 0 | 20 | 0 | 0 | 1.0 | 0 | 1.0 | 2.0 | 50 |
| 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0 | 25 | 0 | 0 | 1.0 | 0 | 0.3 | 1.0 | 75 |
| 0.1 | 1.0 | 0.1 | 0 | 58.3 | 0 | 0 | 1.0 | 0 | 0.3 | 1.0 | 83.3 |
| 0.1 | 1.0 | 1.0 | 0 | 6.3 | 0 | 0 | 1.0 | 0 | 0.3 | 1.0 | 0 |
| 0.1 | 3.0 | 0.1 | 0 | 85.7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 100 |
| 0.1 | 3.0 | 3.0 | 0 | 17.7 | 0 | 0 | 1.0 | 0 | 0.8 | 1.0 | 23.5 |
| 1.0 | 3.0 | 1.0 | 0 | 21.1 | 0 | 0 | 1.0 | 0 | 0.9 | 1.0 | 15.8 |
| 1.0 | 3.0 | 3.0 | 0 | 12.5 | 0 | 0 | 1.0 | 0 | 0.8 | 1.0 | 0 |
| 3.0 | 0 | 1.0 | 0 | 27.3 | 0 | 0 | 1.0 | 0 | 0.4 | 1.0 | 18.2 |
| 3.0 | 0.1 | 0.1 | 0 | 9.1 | 0 | 0 | 1.0 | 0 | 1.0 | 1.0 | 45.5 |
| 3.0 | 0.1 | 3.0 | 5.6 | 22.2 | 0 | 0 | 1.0 | 0 | 1.1 | 1.0 | 22.2 |
| 3.0 | 1.0 | 0.1 | 0 | 11.8 | 0 | 0 | 1.0 | 0 | 0.9 | 1.0 | 17.6 |
| 3.0 | 1.0 | 3.0 | 0 | 21.1 | 0 | 0 | 1.0 | 0 | 0.9 | 1.5 | 26.3 |
| 3.0 | 3.0 | 0.1 | 0 | 10.5 | 0 | 0 | 1.0 | 0 | 0.5 | 1.0 | 36.8 |

수정 Kano배지에서는 성장조절물질이 첨가되지 않은 기본배지와 BA 0.1mg/L+ NAA 3.0mg/L+2iP 0.1mg/L가 첨가된 배지에서 Shoot 형성율이 85.7%로 높았으나 모든 개체가 고사하여 칼라의 성장점배양용 배지로서는 부적합한 것으로 나타났다.

따라서 유색칼라인 골든어페어의 성장점배양을 위한 배지 및 성장조절물질의 종류 및 농도는 MS배지보다는 B5배지에 2iP 0.1mg/L 단용처리시 7.0개의 Shoot가 형성되어 종구생산을 위한 배지로 적합한 것으로 사료되었다.

나. 조직배양에 의한 칼라 조기비대 방법 개발

시험1인 조직배양에 의한 칼라 증구생산 방법 구명 시험에서 선발된 배지의 고체와 액체 배양에 따른 기내에서의 구경 비대를 위해 시험한 결과 기내 생육상황은 표 4과 같다.

Callus 형성율은 고체배양시 6.3%로 낮았고 액체배양에서는 Callus의 형성이 보이지 않았다. Shoot 형성율은 고체 및 액체배양 모두 전개체에서 Shoot가 형성되었고 개체당 형성된 신초수는 고체배양시 1.9개, 액체배양시 3.1개로 신초의 형성이 양호하였으며 초장 및 엽수, 엽장등도 고체배양에 비해 액체배양에서 양호하였다. 또한 생체중도 고체배양이 0.17g 이었던데 비해 액체배양시 0.49g으로 약 3배가 증가하였다. 이는 액체배양시 식물체가 액체에 잠기면 모든 부위에서 영양분과 조절제를 흡수하므로 단지 기부만 접촉하는 한천배지에서도보다 생육과 발육이 좋다는 보고(최상진 1990)와 일치한다.

표 4. 배양방법에 따른 기내 생육상황

| 구분 | Callus 형성율 (%) | Shoot 형성율 (%) | 신초수 (개) | 초장 (cm) | 엽수 (개) | 엽장 (cm) | 엽폭 (cm) | 생체중 (g) |
|------|----------------------|---------------------|------------|------------|-----------|------------|------------|------------|
| 고체배양 | 6.3 | 100 | 1.9 | 3.0 | 3.1 | 3.4 | 1.2 | 0.17 |
| 액체배양 | - | 100 | 3.1 | 5.8 | 4.8 | 5.3 | 1.1 | 0.49 |

표 5는 배양방법에 따른 구의 특성을 비교한 것으로 형성된 Shoot중 Blub의 형성율은 액체배양이 87.5%, 고체배양이 81.3%로 다소 액체배양시 높았으나 Root의 형성율은 고체 및 액체배양 모두 100%로 양호하였으며 구의 크기를 나타내는 구경은 액체배양시 0.52cm로 고체배양의 0.42cm 보다 다소 컸으며, 근장 및 근수도 양호하였다.

표 5. 배양방법에 따른 구의 특성

| 구분 | Bulb 형성율 (%) | Root 형성율 (%) | 구경 (mm) | 구고 (mm) | 근장 (cm) | 근수 (개) |
|------|-----------------|-----------------|------------|------------|------------|-----------|
| 고체배양 | 81.3 | 100 | 4.2 | 4.4 | 6.5 | 4.2 |
| 액체배양 | 87.5 | 100 | 5.2 | 6.1 | 8.9 | 6.8 |

4. 적요

본 연구는 유색칼라인 골든어페어의 조직배양에 의한 종구생산 방법을 구명하기 위하여 실시하였으며 그 결과는 다음과 같다.

가. 성장점배양을 위한 배지는 MS배지에 BA 0.1+2iP 1.0mg/L가 첨가된 배지에서는 Shoot 형성율이 50%로 낮았으나 Shoot수가 3.0개로 가장 많았다. 또한 B5배지에서는 2iP 0.1mg/L를 첨가한 배지에서 Shoot형성율이 83.3% 였고 Shoot수가 7.0개로 많았다.

나. 칼라 종구의 비대를 위한 액체배양의 가능성을 검토한 결과 액체배양시 고체배양에 비해 신초수가 3.1개로 신초 형성이 많았고, 기내 생육상황도 양호하였고 생체중도 고체 배양에 비해 2배이상 증가하였다.

5. 인용문헌

- 이영순, 임희춘, 안민실. 1994. 칼라 기내배양을 위한 기초연구. 전북도원 시험연구보고서.
최상진. 1990. 식물의 기내배양. 아카데미서적. P67
최소라, 서상영, 박숙현, 은종선, 나종성. 1997. 유색칼라 배양묘의 괴경비대에 관한 연구. 전북도원 시험연구보고서.
최소라, 임희춘, 안민실, 서상영, 고정애. 1995. 유색칼라 embryogenic callus를 통한 식물체 재분화에 관한 연구. 전북도원 시험연구보고서.

6. 연구결과 활용제목

유색칼라의 성장점배양을 위한 배지조건 구명