

熱帶觀賞樹 Desert Rose (*Adenium obseum*) 의 器內培養에 관한 研究

尹 晟 鐸*

In vitro Culture of Tropical Ornamental Plant,
Desert Rose (*Adenium obseum*).

Yoon, Sung tak*

Summary

Tropical ornamental plant, Desert Rose (*Adenium obseum*), was used for rapid multipropagation by tissue culture techniques. The aim of this experiment was to develop suitable medium for callus formation from leaf explant and organ induction from callus.

The results obtained were summarized as follows:

1. Callus formation from leaf explant was better in auxin medium than in cytokinin medium and fresh weight of callus at 20 days after inoculation was the highest in medium containing 2,4-D 1.0mg/l by 1478.3mg.
2. Two combination media of NAA 0.5mg/l + BA 0.05mg/l, and 2,4-D 1.0mg/l + IBA 1.0mg/l were most effective for callus greening.
3. Root differentiation was observed in two combination media of NAA 0.05mg/l + BA 0.05mg/l, and 2,4-D 2.0mg/l + NAA 0.05mg/l + BA 0.05mg/l added 1.0 g/l activated charcoal.

* 農村振興廳 熱帶農業官室(International Technical Cooperation Center, RDA,
Suweon 441-707. Korea)

緒 言

Desert Rose (*Adenium obseum*)는 열죽도과 (*Apocynaceae*)에 속하는觀賞植物로서 原產地는 熱帶 東 아프리카이며 이 지역에 12種이 존재한다.²⁾ 아프리카등지에서는 庭園樹로 이용되며 低木이다. 樹高는 2m 정도이며 乾季에는 낙엽이 진다. 꽃은 2~10개가 뭉쳐서 피며 동아프리카에서는 Mock-Azalea라고도 불려진다. 꽃의 아름다움은 世界熱帶 및 亞熱帶지역에서 널리 인정되고 있다. 그러나 Desert Rose는 그 번식 방법이 까다로운 受精이 불완전하여 種子가 잘 맺지 않기 때문에 營養繁殖으로서 挿木 등을 이용하여 繁殖을 하지만 번식율이 매우 낮다. 다행히도 植物組織培養法의 급속한 발전과 더불어 植物의 營養繁殖法을 개선할 수 있는 길이 열려져 우수한 형질을 가진 營養系繁殖性 식물묘의 대량생산에 거의 모두가 組織培養法을 이용하고 있다.

그러나 木本植物에 있어서는 草本植物에 비해 callus 증식과 植物體 再分化에 적합한 培地개발 및 그 연구가 상대적으로 뒤져있는 형편이며 최근 각국 연구자들이 뽕나무¹²⁾ 감귤⁷⁾ 포플라^{18,19,20)} 잣나무¹⁴⁾ 등 植物體 再分化에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

식물의 종류에 따라서는 배양된 組織片에서 callus가 형성되면서 그 callus의 일부에서는 器官이 분화되는 등 callus 형성과 器官分화가 동시에 일어나는 수도 있지만 Desert Rose의 경우에는 예비시험결과 다른 목본식물의 경우와 유사하게³⁾ 여러가지 배지조건하에서도 葉切片으로 부터 직접 器官이 분화될 가능성은 살펴볼 수가 없었다. 따라서 본 시험에서는 먼저 葉切片을 이용하여 callus 형성에 적합한 培地를 구명하고 동시에 형성된 callus로부터 기관분화를 위하여 각종 식물 생장조절제와 그 조합비를 처리하여 생육반응을 관찰하였다. 이들중 綠色化가 뛰어난 callus를 繼代培養하여 器官分化능력을 비교하여 Desert Rose의 大量增殖을 꾀하고자 하였다.

材料 및 方法

培養材料는 수원에 위치한 農村振興廳 熱帶農業官室 溫室에서 생육하고 있는 Desert Rose의 葉切片을 이용하였으며 Murashige and Skoog 培地를 基本培地로 하고 sucrose는 25g/l. 植物生長調節劑는 2,4-D, NAA, IAA, zeatin, GA₃, BA, IBA, kinetin을 사용하였다. 植物生長調節劑의 농도는 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 1.0, 2.0mg/l로 하여 pH를 5.7로 고정하였다.

培養室조건은 백색형광등을 설치하여 1.2klux로 하였다. 배양실내의 온도는 주간 29±2°C 야간 25±2°C가 되게 하였으며 日長은 1일 12시간 조명되도록 하였다.

葉切片의 소독은 1.2% sodium hypochlorite solution 용액에 Tween-20을 몇방울 혼합한 용액에 넣고 20분간 shaking하여 소독한후 살균수로 수회 세척한후 無菌室에서 치상전 70% 알코올에 몇초간 담가 재차 소독후 치상하였다. 葉 절편의 크기는 0.8cm 정사각형(130mg)으로 하였으며 培養容器는 모든 처리에 500ml 배양용기를 사용하였다. 培地의 量은 25ml을 주입하였다. 본 실험에 이용된 固體培地는 寒天 7g/l로 고정첨가 하였다.

實驗1. 葉切片으로 부터의 callus 形成

植物體의 消毒 및 置床은 上記한 방법으로 하였으며 MS배지를 기본배지로 하고 植物生長調節劑는 2,4-D, NAA, IAA, BA, kinetin의 단용 처리와 2,4-D+NAA 조합처리로 하였다. 植物生長調節劑 농도는 0.05~2.0mg/l로 하여 처리당 20반복으로 하여 치상후 20일 callus 生體重을 조사하였다.

實驗2. 形成된 callus로 부터의 器官分화

실험1에서 얻어진 결과에 따라 2,4-D 1.0mg/l 처리로 다량의 callus를 형성시킨 후 이 callus를 植物生長調節劑가 조합처리된 배지에 옮겨 器官分化양상을 살펴보고자 하였다.

培地는 MS를 기본배지로 하였다. 植物生長調

節劑는 2,4-D, NAA, BA, zeatin, GA₃, IBA를 사용하였다. 이들의 농도는 0.05~2.0mg/ℓ로 하여 각각 조합처리한 培地에 형성된 callus를 無菌室에서 이식하였다.

이식 후의 결과에 따라 器官分化에 가장 우수한 培地를 중심으로 植物生長調節劑의 濃度조정 및 활성탄을 첨가하여 繼代培養을 하면서 器官分化양상을 관찰하였다.

結 果

實驗1. 葉切片으로 부터의 callus 形成

표1에서 보는바와 같이 2,4-D, NAA, IAA, BA, kinetin 처리에서 모두 callus가 형성되었다. 또한 cytokinin류 보다 auxin류가 callus 형성이 양호한 것을 볼 수 있었다.

Table 1. The effect of growth regulators on the callus formation from leaf explant at 20 days after inoculation.

(Unit : mg)

Growth regulator	Concentration (mg/ℓ)			Mean
	0.05	0.1	1.0	
2,4-D	299.2	440.0	1478.3	739.2
NAA	226.0	299.0	466.2	330.4
IAA	138.0	146.6	207.0	163.9
BA	140.3	147.0	139.6	142.1
Kinetin	157.2	160.3	139.0	152.2

Table 2. The effect of combination of 2,4-D and NAA on the callus formation from leaf explant at 20 days after inoculation.

(Unit : mg)

Growth regulator	Concentration(mg/ℓ)	Weight
2,4-D + NAA	0.05 + 0.1	182.5
	0.01 + 0.1	331.2
	0.1 + 0.05	619.2
	0.01 + 0.01	161.4
	0.01 + 0.05	426.8
	0.05 + 0.01	385.6
	0.5 + 0.01	1420.0
	1.0 + 1.0	925.0
	0.05 + 0.05	425.8
	0.1 + 0.01	627.5

4 亞熱帶農業研究

植物生長調節劑別 callus 生體重을 보면 2,4-D 가 739.2mg으로 가장 양호하였으며 그 다음은 NAA 처리가 330.4mg으로 callus형성이 좋았다. 植物生長調節劑 濃度別로 보면 2,4-D 1.0mg/l 처리가 1478.3mg으로 가장 좋았으며 다음이 NAA 1.0mg/l로 466.2mg으로 높았다.

2,4-D와 NAA 조합처리의 경우를 보면 표2와 같다. 가장 callus가 잘 형성된 처리는 2,4-D 0.5mg/l+NAA 0.01mg/l으로서 1420.0mg이었다.

實驗2. 形成된 callus로 부터의 器官分化

실험1의 결과에 따라 2,4-D 1.0mg/l 처리에서

형성된 callus를 각조합처리에 이식한 결과를 보면 표3에서 보는바와 같다. 移植後 20일 callus의 녹색화는 NAA 0.05mg/l+BA 0.05mg/l 처리와 2,4-D 1.0mg/l+IBA 1.0mg/l 처리가 양호하였다. 器官分化는 NAA 0.05mg/l+BA 0.05mg/l 처리에서 callus로 부터 뿌리가 분화되었으나 callus가 뿌리분화후 20일경 갈색으로 퇴색하여 뿌리의 생장이 정지되었다.

표4는 표3의 결과에 따라 NAA 0.05mg/l+BA 0.05mg/l 처리를 중심으로 활성탄을 첨가하여 callus로부터 器官分化 양상을 관찰한 것이다.

器官分化는 2,4-D 2.0mg/l+NAA 0.05mg/l+BA 0.05mg/l+1.0g/l activated charcoal 처리

Table 3. The effect of growth regulators on callus greening and organogenesis from callus transplanted.

Media Growth regulator(mg/l.)	No. of Culture media	Greening*		Organogenesis (Culture media)
		20 days after transplanting	30 days after transplanting	
2,4-D 0.2+ Zeatin 0.01	15	F	F	
zeatin 2.0	17	P	P	
zeatin 0.1	14	P	P	
2,4-D 1.0+NAA 0.01	10	P	P	
2,4-D 1.0+ zeatin 0.01	11	P	P	
2,4-D 1.0+GA, 0.01	10	P	P	
NAA 0.05+BA 0.05	140	G	P	2
2,4-D 1.0+IBA 1.0	11	G	P	
2,4-D 1.0+NAA1.0+BA 0.1	9	F	P	

* P=Poor

F=Fair

G=Good

에서 뿌리가 分化되었으나 分化后 20일 분화된 callus가 갈색으로 퇴색하면서 괴사하였다.

考 察

植物의 組織培養은 번식이 불량한 식물을 증식시키는 방법으로도 이용되고 있는데 callus 형성 및 器官分化는 植物의 種類, 植物生長調節劑의 種類와 濃度 培養條件 및 培養組織의 부위에 따라 차이가 있다고 여러 식물에서 보고되어 있다.

Table 4. The effect of growth regulators on organogenesis from successive callus culture.

Media	No. of Culture Media	Organogenesis
Growth regulator(mg/l)		
2, 4 - D 1.0+NAA 0.05+BA 0.05+2.0g activated charcoal	20	-
2, 4 - D 1.0+NAA 0.05+BA 0.05	20	-
2, 4 - D 1.0+NAA 0.05+BA 0.05+1.5g activated charcoal	20	-
2, 4 - D 2.0+NAA 0.05+BA 0.05+2.0g activated charcoal	19	-
NAA 0.05+BA 0.05+1.0g activated charcoal	20	-
2, 4 - D 2.0+NAA 0.05+BA 0.05+1.0g activated charcoal	40	2
2, 4 - D 1.5+NAA 0.05+BA 0.05+1.0g activated charcoal	30	-
2, 4 - D 1.0+NAA 0.1+BA 0.05	60	-
2, 4 - D 1.0+NAA 0.1+BA 0.05+1.0g activated charcoal	20	-
2, 4 - D 1.0+NAA 0.05+BA 0.1	20	-
2, 4 - D 1.0+NAA 0.2+BA0.05	22	-

4.5.10) 표1에서 보는 바와같이 Desert Rose의 열 결편으로 부터의 callus 형성은 auxin류에서 더욱 손쉽게 유도할 수 있었으며 이는 auxin류의 첨가가 callus화 하는 경향을 보인다는 결과⁸⁾와 일치하는 경향을 보였다. callus 生體重은 2,4-D 1.0mg/l 처리에서 가장 양호하였다. 金 등¹³⁾도 大豆의 培養에서 2,4-D 처리군은 모두 callus 형성 및 증식이 활발하였으며 특히 2,4-D 1.0mg/l 처리가 촉진되었다고 報告하였으며 崔 등¹¹⁾도 참죽나무 줄기절편배양에서 2,4-D 1.0~2.0mg/l 처리에서 callus형성이 가장 왕성하였다고 하였다. 이로 미루어 대체로 많은 식물의 경우 callus 형성엔 2,4-D가 유효할 것으로 생각된다.

표3은 callus 형성이 가장 잘되는 2,4-D 1.0mg/l 처리 배지를 이용하여 callus를 형성시킨후 20일된 callus를 auxin류 및 cytokinin류를 조합처리한 배지에 이식하여 器官分化를 유도코자 한 것이다. 培養條件에 따라서 기관발생에 미치는 적정 auxin이나 cytokinin의 농도는 다소 차이는

있겠으나 본 시험의경우 zeatin 또는 GA₃의 첨가는 callus 녹색화 및 기관분화에 별효용이 없음을 알 수 있었다. 녹색화를 보면 이식후 20일에는 생생한 푸른빛을 띠고 있던 callus도 30일이 되면 갈변하는 것을 볼 수 있었다. 韓 등⁹⁾은 마늘의 生長點培養에서 2,4-D/BA비가 높을때 callus가 갈변한다고 하였으며 Richard¹⁶⁾는 熱帶果樹 mango, citrus 배양에서 초기의 callus는 흰빛을 띠다가 繼代培養 2주後 갈색으로 변하였으나 callus 노화는 아니라고 보고 하였다. 그러나 본 시험에서는 갈변후 괴사하는 경향을 보였다. 이는 다른 연구자¹¹⁾가 언급한 바와같이 培地內 phenol 물질등 生長抑制物質의 축척에 그 원인이 있다고 생각된다.

표4는 뿌리가 分化된 NAA 0.05mg/l+BA 0.05mg/l 처리를 중심으로 활성탄을 첨가하여 器官分化상태를 살펴보고자 한 것이다. 활성탄의 효과로서 Proskauer와 Berman¹⁵⁾ 그리고 Klein 등¹⁴⁾은 培地의 phenol 등의 抑制物質 및 代謝分泌物

의 吸收로 뿌리의 발육을 촉진한다고 보고를 하였으며 Richard⁶⁾는 팔성탄 또는 ABA의 첨가가 callus의 갈변을 억제하는 것 같다고 報告하였다. 반면 Constantine등³⁾과 Weatherhead등¹⁷⁾은 배지내 함유된 auxin이나 cytokinin등의 生長調節物質의 흡착으로 인한 불리점을 시사하였으나 본 시험의 결과는 팔성탄의 긍정적 부정적 영향이 명확치 않았다.

따라서 본 시험의 결과 가장 해결하여야 할 점은 callus의 갈색피사를 방지하고 callus를 장기간 活力있게 유지시킬 수 있는 方法과 callus 노화에 관한 組織學的인 연구가 금후과제가 될 것으로 생각된다.

摘 要

Desert Rose 葉 절편을 이용하여 callus 형성에 적합한 培地를 개발함과 동시에 형성된 callus로 부터 器官分化를 위한 적정배지를 개발코자 시험한 결과는 다음과 같다.

1. 葉切片으로 부터의 callus 形成은 cytokinin류보다 auxin류에서 잘 형성되었으며 치상후 20일 callus의 生體重은 2,4-D 1.0mg/l 처리가 1478.3mg으로 가장 좋았다.

2. callus의 綠色化는 NAA 0.05mg/l + BA 0.05mg/l 처리와 2,4-D 1.0mg/l + IBA 1.0mg/l 처리가 좋았다.

3. 器官分化는 NAA 0.05mg/l + BA 0.05mg/l 처리와 2,4-D 2.0mg/l + NAA 0.05mg/l + BA 0.05mg/l + 1.0g/l activated charcoal 처리에서 뿌리가 분화되었으나 分化后 20일 피사하였다.

引 用 文 獻

1. 崔龍義, 呂邑東, 蘇雄永. 1986. 참죽나무 (*Cedrela sinensis* Juss.) 줄기의 切片 칼무스로 부터 體細胞 胚形成과 植物體 再生. 植物組織培養學會誌 13(1): 61-70.
2. 最新 園藝 大辭典. Vol-1, 文堂 新光社.
3. Constantin, M. J., R. R., Henk, and M. A. Mansur. 1977. Effect of activated charcoal on callus growth and shoot organogenesis in tobacco. *In vitro* 13: 293-296.
4. Edwin, F. G. and P. D. Sherrington. 1984. Plant propagation by tissue culture. Exegetics Ltd. Eversley. Basingske, Hants. England: 284-330.
5. 韓烈烈. 1982. 植物組織培養. 一朝閣: 1-67. 植物組織培養學會誌 1: 38. 42.
6. ———. 金濟桓, 李炳基, 殷鍾旋. 1979. 마늘의 生長點에 관한 研究. 植物組織培養學會誌 6(1): 1-14.
7. 黃柏, 鄭忠德, 康榮憲. 1979. Citrus의 조직별로 본 Callus 形成에 관한 研究. 植物組織培養學會誌 1: 38-42.
8. 濟州大學校 農科大學. 1985. 熱帶營養繁殖物의 增殖에 관한 研究. 農振廳 產學協同.
9. 金在憲. 1985. 林木育種과 組織培養. 植物組織培養學會誌 12(1): 59-75.
10. 金濟桓. 1981. 마늘의 生長點 培養에 관한 研究. 全北大學校 大學院 博士學位論文.
11. Klein, B. and M. Bopp. 1971. Effect of activated charcoal in agar on the culture of lower plants. *Nature*, 230. 474.
12. 金元敬. 1973. 桑樹의 組織培養에 關하여. 植物組織培養學會誌 1: 30-34.
13. 金字甲, 朴弘德, 金鍾鳳. 1977. 植物生長素가 大豆器官分化에 미치는 影響. 植物組織培養學會誌 5(1): 1-9.
14. 金佑龍, 朴龍求. 1986. 잣나무의 器官培養에 관한 研究. II. Callus 細胞의 染色體 變異. 韓國林學會誌 74: 56-60.
15. Proskauer, J. and R. Berman. 1970. Agar Culture medium modified to approximate soil condition. *Nature* 227: 1161.
16. Richard, E. L. 1985. Somatic

- Embryogenesis in tropical fruit trees :
176-193. Tissue Culture in Forestry and
Agriculture.
17. Weatherhead, M. A., J. Burdon and G.
G. Henshaw. 1972.
Some effects of activated charcoal as an
additive to plant tissue culture media. Z.
Pflanzen Physiol. 89 : 141-147.
18. Winton, L. L. 1968. Plantlets from aspen
tissue culture. Science 160 : 1234.
19. ————. 1970. Shoot and tree
propagation from aspen tissue cultures.
Amer. Jour. Bot. 57 : 904-909.
20. Wolter, K. E. 1968. Root and shoot initiation
in aspen callus culture. Nature 219 :
249-50.