

코끼리마늘(*Allium ampeloprasum* L.)의 기내 미숙총포 배양을 통한 다신탄유도와 종구대량증식 시스템

권영희*, 정재현, 이재선, 전종욱, 박영욱, 민지현, 장후봉, 이상영, 윤철구, 김기현
충청북도농업기술원

Multiple Shoot Induction and Bulb Mass Proliferation System by *in Vitro* Immature Spathe Culture of Elephant Garlic (*Allium ampeloprasum* L.)

Young Hee Kwon*, Jae Hyun Jeong, Jae Sun Lee, Jong Ok Jeon, Young Uk Park, Ji Hyun Min,
Who Bong Chang, Sang Young Lee, Cheol Ku Youn and Ki Hyun Kim
Chungcheongbuk-do Agricultural Research & Extension Services, Cheongju 28130, Korea

Abstract - This study was performed to develop the mass propagation system using tissue culture technique to supply the seeds of Elephant garlic (*Allium ampeloprasum* L.) which has difficulty in propagation. Immature spathe of Elephant garlic was cultured on Murashige & Skoog (MS) medium supplemented with two plant growth regulators, naphthaleneacetic acid (NAA) and kinetin. After 6 weeks of culture, the highest number of shoot (14.9/explant) was obtained when the immature spathe with 10 cm length was cultured right after harvesting. In MS medium supplemented with 2 mg/L kinetin and 0.5 mg/L NAA, the most vigorous growth characteristics was observed, the shoot number was 14.9/explant, its length was 11.3 cm, and its fresh weight was 2.5 g. When the bulblets were cultured in MS medium with 2 mg/L kinetin and 0.5 mg/L NAA, the addition of 30 mg/L adenine improved their proliferation and growth significantly, the highest bulblet formation rate (48%) was obtained. The addition of 7% sucrose also increased the bulblet formation rate at the highest frequency of 98.2%. The shoots were shown to be more vigorously proliferated at the secondary subculture stage rather than primary culture stage, their propagation rate was 80% after subculture.

Key words - Bulb, Elephant garlic (*Allium ampeloprasum* L.), Immature spathe, *in vitro*, Propagation

서 언

코끼리마늘(*Allium ampeloprasum* L.)의 원산지는 지중해 연안의 서남아시아 지역으로 알려져 있으며(McCollum, 1987), Leek의 일종으로 2년생 4배체($2n=4x=32$)식물이다(Kaska *et al.*, 2013). 코끼리마늘은 마늘에 비해 냄새가 적고 인편이 큰 편으로, 일본에서는 천연무취마늘, 점보마늘 등으로 불리우고, 인경이 마늘보다 크고 인경 근처에 소형 자구 수가 20개 정도 부착된다(Arigo *et al.*, 2002). 코끼리마늘은 일반 마늘과는 다르게 주아(화경 상단부에서 형성되는 씨마늘)가 맺히지 않고 꽃이 피는 특성이 있으나 종자 획득이 어려워 인편과 자구(구근에서

형성되는 씨마늘)로 번식되는데, 코끼리마늘의 인편 수는 2~4개, 자구는 10~20개 정도이지만 발아율이 낮아 대량생산을 위한 기술 개발이 필요하다.

마늘은 바이러스 무병주 생산 및 대량 증식을 위해 주로 생장점 배양을 하는데(Nam *et al.*, 2002), 이러한 생장점 배양은 마늘 인편 1개에서 1개의 생장점을 적출하여 사용하기 때문에 배양의 효율이 낮아지는 단점이 있다. 이를 보완하고자 화경내 미숙주아로부터 적출한 생장점 배양을 통한 무병주 생산이 이루어졌는데 5 cm 미만으로 생육한 화경의 정단은 인경의 생장점보다 바이러스 감염이 적다고 하였으며(Yang *et al.*, 1993), 난지마늘 고당의 화경 내 미숙주아의 배양에서 구의 비대와 신탄의 증식에 최적 배지조건은 LS (Linsmaier and Skoog, 1965) 배지에 0.2 mg/L NAA와 5.0 mg/L 2-iP 조합 첨가 구였고, 5-10

*교신저자: E-mail tomato94@korea.kr
Tel. +82-43-220-5652

μM AgNO_3 를 첨가하는 것이 좋았다(Kim *et al.*, 2006). 미숙총포 채취시기별 단구 크기는 추대 전 채취한 경우 0.1 g 소구 생산율이 85.3% 정도로 나와 있으며, 추대 후 20일 채취 시에는 49%로 나타나 추대가 빠를수록 소구의 생성비율이 높다는 것을 알 수 있다(Kwon *et al.*, 2016). 이 외에도 동절기에는 변온조건보다 24°C 항온조건, 휴면기는 배양 전 종구를 15~16일간 4°C 저온 처리하는 것이 신초 성장 및 발근을 촉진시키며(Lee and Lee, 1994), 유식물체의 생장은 $\text{NO}_3\text{-N}$ 단일 공급 시 저조하고, NH_4NO_3 공급에서 양호하였으며, 기내인경 비대는 $\text{NH}_4\text{-N}$ 를 공급하였을 때와 고농도의 sucrose에서 촉진된다는 보고가 있다(Lee and Lee, 1994b).

본 연구는 코끼리마늘의 인편 수가 2~4개 밖에 안 되어 기내 미숙총포를 이용한 조직배양 방법으로 증식율이 낮은 코끼리마늘의 증식방법을 구명하기 위하여 미숙총포 채취 길이 및 저장기간 영향과 다신초 유기를 위한 생장조절제 유기물질 처리 및 기내소구 생산을 위한 자료를 얻고자 수행하였다.

재료 및 방법

식물재료

시험에 사용된 재료는 충청북도농업기술원 마늘연구소에서 재배하는 코끼리마늘(*Allium ampeloprasum* L.)의 미숙총포를 이용하였다. 코끼리마늘의 미숙총포 추대 길이 및 저장기간이 조직배양 시 신초 형성에 미치는 영향을 구명하기 위하여 2015년 5월 7일부터 6월 3일까지 추대 길이 약 10, 20, 30, 40 cm 길이의 총포를 채취하였고 추대 길이에 따라 채취된 총포는 저장기간 0, 30, 60, 90일에 따른 신초 형성율을 구명하기 위해 4°C 저온 챔버(TG100-ADCT, Nippon Medical, Japan)에 보관하면서 재료로 사용하였다. 총포는 소독을 위하여 흐르는 물에 약 30분간 깨끗하게 세척한 후, 70% 에탄올을 넣고 50초 처리하고 증류수 1회 세척한 다음 Tween 20을 100 ml당 20 μl 씩 첨가한 3% NaOCl 용액에서 20분간 표면 살균한 후 멸균수로 10분씩 3회, 5분 세척후 총포의 바로 밑 1 cm 부분과 1~2 cm 부분으로 구별한 다음 이를 3 mm 두께로 절단하여 미숙총포 절편을 250 ml 배양병에 치상하였다.

다신초 배양

코끼리마늘 미숙총포로부터 다신초 증식과 생장에 적합한 배지 조건을 구명하기 위하여 배지는 MS (Murashige & Skoog, 1962) 배지와 1/2MS 배지를 사용하였고, 각각의 배지에는 30 g/l

sucrose (Junsei, Tokyo, Japan)와 Naphthalene Acetic Acid (NAA, Duchefa Biochemie, Haarlem, Netherlands) 0, 0.2, 0.5 및 1.0 mg/L와 kinetin (Duchefa Biochemie, Haarlem, Netherlands) 0, 1, 2, 4 mg/L 등을 첨가하는 처리를 하였다. 배지 조성은 0.1N NaOH를 사용해 pH 5.8로 조정된 후 agar (Junsei Chemical, Tokyo, Japan)를 8 g/l 첨가한 다음 250 ml 배양병에 50 ml씩 분주하고, 고압멸균기(AC-60, Daihan Scientific, Korea)를 이용해 121°C, 1.2기압 하에서 20분간 멸균 후 균한 다음 사용하였다. 배양 조건은 23±1°C 온도가 유지되는 배양실에서 명배양(광주기 16D : 8H, cool white 형광등 30 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) 하였다. 배양 과정 중 신초의 발생 양상을 관찰하였고, 배양 6주 후에 형성된 신초의 수를 조사하였다. 배양기간은 초대배양 6주, 다신초 계대배양은 15일 간격으로 3회 반복해 6주 배양하였고, 기내소구를 형성하기 위해 8주 배양하였다.

계대배양은 신초의 줄기를 기부에서 1 cm를 남기고 절단한 다음 동일한 배지에서 이식하여 다신초를 유기하였다. 신초 선발 배지에서 다신초 유기를 위해 MS배지에 NAA 0.5 mg/L, kinetin 2 mg/L에 생장조절제 유기물질인 adenine (Duchefa Biochemie, Haarlem, Netherlands) 0, 30, 60, 90 mg/L 등을 첨가한 처리를 하여 신초수와 구형성수를 조사하였다.

기내소구 배양

유도된 다신초에서 기내소구를 생산하기 위하여 다신초를 절편으로 분리하여 MS배지에 생장조절제 NAA 0.5 mg/L와 kinetin 2 mg/L 등을 첨가하고, sucrose 0, 5, 7, 9%를 첨가하는 처리를 하여 배지 조성은 pH 5.8로 조정된 다음 agar를 8 g/l 첨가한 후, 250 ml 배양병에 50 ml 씩 분주하고 121°C, 1.2기압 하에서 20분간 고압 멸균하여 균한 다음 사용하였고 8주간 배양하였다. 배양 조건은 23±1°C 온도가 유지되는 배양실에서 명배양(광주기 16D : 8H, cool white 형광등 30 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) 하였다.

통계처리

모든 처리는 완전임의배치 3반복 측정하였으며, 시험 결과의 분석은 PC용 통계패키지인 COSTAT (CoHort software, Berkeley, CA, USA)를 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시한 후 Duncan's Multiple Range Test (DMRT)로 유의성을 $p < 0.05$ 수준에서 검정하였다.

결과 및 고찰

코끼리마늘 미숙총포 채취 화경길이에 따른 조직배양 시 발생한 절편체당 다신초의 조사결과를 확인해보면 화경길이 10 cm에서 신초 발생이 14.0개~6.4개로 많았던 반면, 화경길이 40 cm에서는 신초 분화율이 낮은 것으로 나타났으며, 총포 저장기간별 신초 발생을 조사한 결과는 총포채취 직후 치상한 것이 신초발생이 많은 것으로 조사되었다(Table 1). 조직배양에 사용한 미숙총포 채취 길이, 조직채취 부위, 미숙총포 절단모습 및 다신초 발생모습 사진은 Fig. 1과 같다. 마늘 총포의 화경 조직으로부터 신초의 형성은 화경의 성숙도와 밀접한 관련이 있는데 화경이 분화되어 1~2 cm 성장하였을 시기에 화경을 채취하여

배양하면 신초형성이 잘 되나 주아가 형성된 성숙된 화경 조직에서는 신초 형성이 되지 않은 것으로 알려져 있으며(Choi *et al.*, 1992), 미숙상태 소화경이 성숙한 화경보다 분화능력이 높고 하나의 소화경에서 보면 상부보다는 하부에서 신초 분화가 잘 이루어진다고 연구되었다(Suh *et al.*, 1988). 따라서 총포를 이용한 코끼리마늘의 대량증식을 할 경우 총포길이는 10 cm 정도로 하여 채취 즉시 배양을 하는 것이 가장 유리하고 채취 즉시 사용이 어려울 경우에는 저온에서 저장을 하되 저장 기간이 길지 않은 것이 유리할 것으로 생각되었다.

조직배양의 배지 조성 및 성장조절제 처리에 따른 구형성 및 생육을 조사한 결과는 1/2 MS 배지에 성장조절제 kinetin 4 mg/L + NAA 0.5 mg/L 처리에서 생체중은 기내소구 2.2 g으로

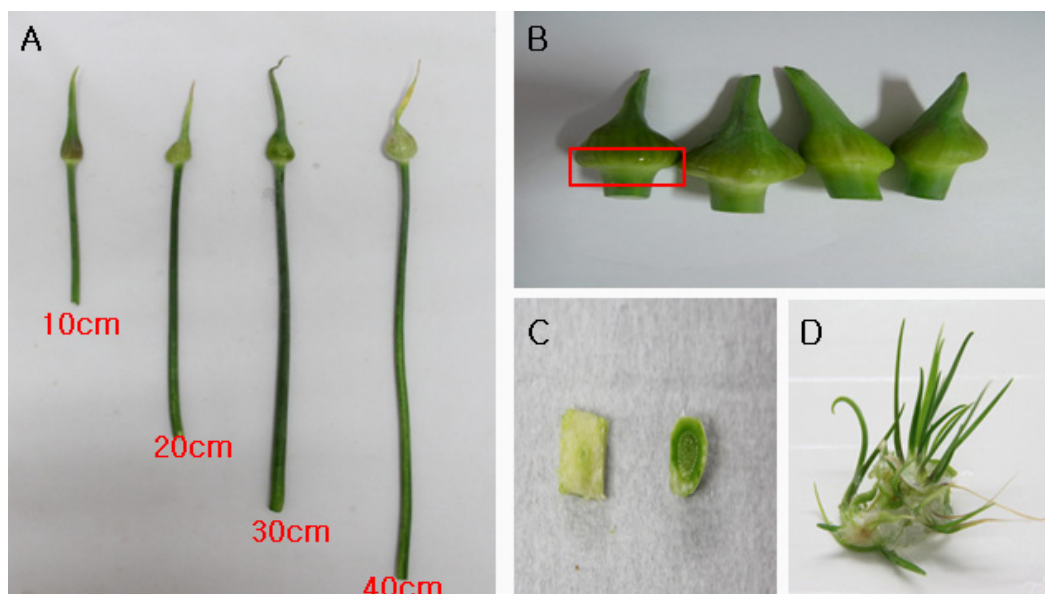


Fig. 1. Preparation of immature spathe by length, culture material and multiple shoot regeneration of Elephant garlic (*Allium ampeloprasum* L.). A: Immature spathe by length (10, 20, 30, 40 cm), B: Cutting area of immature spathe, C: Immature spathe sample, D: multiple shoot regeneration through immature spathe in 6 weeks culture.

Table 1. Number of shoot according to immature spathe length and storage period in MS medium supplemented with NAA 0.5 mg/L, kinetin 2 mg/L and 3% sucrose of Elephant garlic (*Allium ampeloprasum* L.) after 6 weeks in culture (unit : ea)

Length of immature spathe (cm)	Spathe storage period			
	0 day	30 day	60 day	90 day
10	14.0a ²	11.3a	8.9a	6.4a
20	7.8b	4.1b	5.2ab	4.5b
30	5.7bc	4.1b	2.3b	1.9c
40	2.6c	2.5b	2.1b	1.8c

²Means separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

가장 무거웠던 반면 무처리에서 생체중이 0.7 g으로 가벼웠으며, 신초생장은 kinetin 농도가 높을수록 무거운 것으로 나타났다(Table 2). MS배지에 생장조절제 혼합농도 처리에서 절편체당 생체중은 kinetin 2 mg/L+ NAA 0.5 mg/L에서 2.5 g으로 가장 무거웠다. 다신초 생육은 MS배지에 kinetin 2 mg/L에서 좋은 경향을 보였으나 절편체당 기내 소구 수는 kinetin 2 mg/L + NAA 0.5 mg/L에서 3.6개로 가장 높게 나타났다(Table 3, Fig. 2).

이와 관련하여 Lee *et al.* (1994a)은 마늘 총포내 미숙주아 및 화탁(receptacle)에서 평균 5.8개 신초수가 분화되어 1개 총포내에서 50개 이상 분화되었고, Choi *et al.* (1992)도 화뢰당 신초수는 생장조절제 NAA, BA 혼합 농도별로 처리한 결과 1개의 화뢰당 20~30개의 신초가 형성되었다고 하였다.

생장조절제 유기물질인 adenine 첨가 농도에 따른 생육 및 구 특성을 조사하기 위하여 다신초 유기에서 선발된 배지인 kinetin 2 mg/L + NAA 0.5 mg/L (MS배지, sucrose 3%)에 adenine 0, 30, 60, 90 mg/L 첨가 처리한 결과, adenine 30 mg 첨가시 절편체당 신초수가 13.2개로 생육이 좋았고 구형성율이 48%로 가장 높았다(Table 4).

이와 관련하여 Paek *et al.* (1985)은 adenine 첨가 시에 코르딜리네 구형성에서 shoot 형성수와 생장이 대조구나 타 농도에 비해 다소 효과적이었다고 보고했다.

코끼리마늘 미숙총포의 계대배양 횟수에 따른 생육 및 구 특성을 조사한 결과는 1차 계대배양에 비해 2차 계대배양에서 신초 증식배율이 1.6배 좋았으며 구형성율은 80%로 제일 높게 나타났다. 2차 계대배양과 3차 계대배양의 구 특성을 살펴보면 구중, 구경, 구고가 비슷하나 구형성수와 구형성률에서 2차 계대배양이 높게 나타났다(Table 5).

마늘의 조직배양 중 계대배양에 관하여 Nagakubo *et al.* (1993)은 27주 동안 4회 계대배양을 통해 128배 증식되어 한달 평균 약 2.5배의 증식률을 보였다고 밝혀 본 연구의 결과와 달랐던 반면, Suh and Park (1988)은 2,4-D가 첨가된 배지에서 계대 배양한 결과 신초수와 캘러스 형성은 잘되었다고 보고했다. 따라서 계대 배양 횟수와 기간이 길어질수록 신초수와 구형성률이 감소하는 것으로 보아 계대배양 횟수가 많아지면서 식물체의 활력은 떨어지는 것으로 생각되었다.

코끼리마늘 기내소구 증식을 위한 탄소원인 sucrose 농도 처

Table 2. Effect of various concentrations of NAA and kinetin on multiple shoot induction and bulb formation in 1/2MS medium of Elephant garlic (*Allium ampeloprasum* L.) in 14 weeks culture

Growth regulators		Fresh weight (g/ea)	No. of shoots (ea/explant)	Shoot length (cm)	No. of bulblets (ea/explant)
Kinetin (mg/L)	NAA (mg/L)				
0.0	0.0	0.7i ^z	0.5h	1.5i	1.0ef
	0.2	0.9j	2.8efg	1.9hi	1.7cd
	0.5	1.3h	2.7fg	3.1fgh	1.8cd
	1.0	1.5e	3.7cde	4.3def	2.7a
1.0	0	0.8k	3.3def	8.3a	1.3def
	0.2	1.0i	2.6fg	4.7cde	1.2ef
	0.5	1.2h	2.4fg	2.8gh	1.4de
	1.0	1.5e	4.5bc	4.5de	2.6a
2.0	0	0.9j	2.4fg	5.2bcd	0.8ef
	0.2	1.4g	2.2g	3.7efg	0.9f
	0.5	1.4fg	3.3def	4.1def	1.3def
	1.0	2.1b	3.8cd	5.3bcd	1.8cd
4.0	0	1.4f	2.6fg	5.9bc	0.9ef
	0.2	1.9c	5.3ab	7.7a	2.1bc
	0.5	2.2a	6.1a	6.3b	2.5ab
	1.0	1.7d	5.0b	5.9bc	2.3ab

^zMeans separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

Table 3. Effect of various concentrations of NAA and kinetin on multiple shoot induction and bulb formation in MS medium of Elephant garlic (*Allium ampeloprasum* L.) in 14 weeks culture

Growth regulators		Fresh weight (g/explant)	No. of shoots (ea/explant)	Shoot length (cm)	No. of bulblets (ea/explant)
Kinetin (mg/L)	NAA (mg/L)				
0.0	0	0.7k ^z	0.5g	1.5i	0.7fg
	0.2	1.0j	2.7g	4.3h	0.8efg
	0.5	1.1j	4.7ef	5.2gh	1.4cd
	1.0	1.4gh	3.6fg	5.2fgh	1.3de
1.0	0	1.2i	4.4ef	5.5fgh	0.8efg
	0.2	2.1de	5.9de	8.1cd	1.0def
	0.5	1.6f	4.8ef	7.5de	1.0def
	1.0	2.0d	7.0d	8.2cd	1.7bc
2.0	0	1.5f	2.7g	6.7ef	0.5g
	0.2	1.9e	9.7bc	10.2ab	1.9b
	0.5	2.5a	14.9a	11.3a	3.6a
	1.0	1.2i	4.8ef	6.5efg	1.2de
4.0	0	1.4g	5.1de	7.1de	1.0def
	0.2	2.2c	8.9c	8.2cd	1.2de
	0.5	2.3b	10.9b	9.2bc	1.8bc
	1.0	1.3h	5.0ef	5.0fgh	2.0b

^zMeans separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

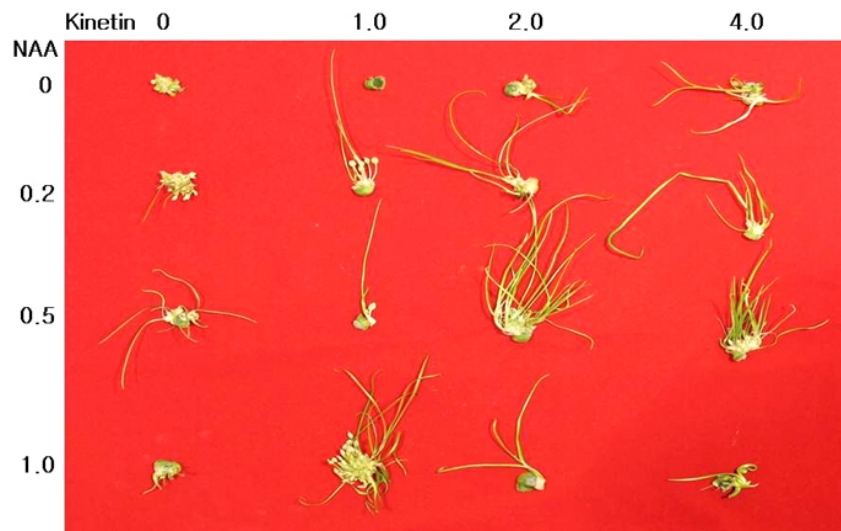


Fig. 2. Comparisons of shoot multiplication cultured on MS medium with growth regulator of NAA and kinetin in 6 weeks culture.

리시험에서 MS 기본배지에 미숙총포의 다신초 유기에 효과적인 kinetin 2 mg/L + NAA 0.5 mg/L 생장조절제를 첨가하고 sucrose 함량을 0, 5, 7 및 9% 처리한 결과, 7% sucrose 처리한 배지가 전반적으로 생육이 좋았으며, 구 형성율이 98.2%로 가

장 높았다(Table 6).

기내소구 형성을 위한 생장조절제는 쪽파의 정상적인 인경 형성에서는 zeatin에 NAA 첨가 구에서 좋은 반응을 나타내었다고 보고되어 있다(Song, 2004). Nagakubo *et al.* (1993)은 한지

Table 4. Effect of adenine addition concentration on shoot induction and bulblet formation in MS medium supplemented with NAA 0.5 mg/L, kinetin 2 mg/L and 3% sucrose of Elephant garlic (*Allium ampeloprasum* L.) in 6 weeks culture

Adenine (mg/L)	Fresh weight (g/ea)	No. of shoots (ea/explant)	Shoot length (cm)	No. of roots (ea/explant)	Root length (cm)	No. of bulblets (ea/explant)	Bulbing ratio (%)
0	1.12c ^z	9.7a	5.8a	3.2a	0.6c	2.1c	30.6b
30	2.28ab	13.2a	7.6a	5.4a	1.5ab	6.4a	48a
60	1.47bc	13.4a	5.9a	8.0a	1.1b	4.3b	25b
90	2.60a	13a	6.3a	8.7a	1.8a	3.6b	20b

^zMeans separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

Table 5. Growth and bulbil characteristics according to the number of subculture of Elephant garlic in 14 weeks culture

No. of subcultures	No. of shoots before proliferation (ea/explant)	No. of shoots after proliferation (ea/explant)	Proliferation rate	Shoot length (cm)	Bulblet weight (g)	Bulblet diameter (mm)	Bulblet length (mm)	No. of bulblets (ea/explant)	Bulbing ratio (%)
1	5.2a ^z	5.3a	1.0	4.5a	0.46a	8.4a	8.7a	3.5a	75.3a
2	3.6a	5.7a	1.6	5.1a	0.48a	8.6a	8.9a	3.6a	80.0a
3	2.3a	2.5a	1.1	3.0a	0.53a	8.6a	7.8a	1.8b	72.2a

^zMeans separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

Table 6. Effect of sucrose concentration on suitable bulblet formation in MS medium supplemented with NAA 0.5 mg/L, kinetin 2 mg/L and 3% sucrose of Elephant garlic in 14 weeks culture

Sucrose (%)	No. of shoots (ea/explant)	Shoot length (cm)	Bulblet weight (g)	Bulblet diameter (mm)	Bulb length (mm)	No. of bulblets (ea/explant)	Bulbing ratio (%)
0	3.6a ^z	2.6a	0.1a	5.5a	6.1a	2.2a	62.5b
5	4.0a	1.8a	0.2a	5.7a	5.6a	2.7a	63.6b
7	4.4a	3.7a	0.3a	6.6a	6a	3.1a	98.2a
9	4.8a	3.9a	0.3a	7.5a	7.6a	3.3a	71.1a

^zMeans separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

형과 난지형 마늘을 재료로 구 비대에는 생장조절물질이 첨가되지 않고 sucrose의 농도가 6~12%일 때 매우 양호하다고 보고했고, 마늘 기내 소구 형성이나 생장에 있어서는 sucrose농도에 3%보다 8%일 때 효과적이라고 밝혔다(Hwang and Lee, 2008). Han *et al.* (2008)은 sucrose 농도별 자구 형성수는 3%에서 다소 많았으나 자구생육은 7~9%가 양호하였다고 밝혔으며, 생장 생장점 배양으로 배지 내 sucrose 농도 30, 60, 90 g/L 중에서 60 g/L의 생육이 가장 좋았는데, 생장점 배양 시 shoot와 뿌리의 출현 속도도 빠르고 생체중도 가장 무거운 것(Jeong *et al.*, 2017)은 본 연구결과와 유사하였다. 인경이나 구근의 형성과 비대를 위해 sucrose 처리가 되는데(Han *et al.*, 1999;

Haruki *et al.*, 1996; kastner *et al.*, 2001), 고농도의 sucrose는 기내 식물의 당 급원이 되고 삼투압을 조절함으로써 구근식물의 구 비대를 유도한다고 보고되어 있다(Kovac and Ravnikar, 1998). 하지만 많은 구근 작물은 고농도의 당을 처리할 경우 기내 구근 및 자구의 형성은 양호하지만 신엽의 신장은 억제되는 것으로 알려져 있다(Kageyama *et al.*, 1990). 이는 배지의 당 농도가 높아지는 경우 식물세포내의 수분 포텐셜이 상대적으로 높아져 식물세포는 수분흡수가 어려워지게 되며, 지상부 생육이 저하됨에 따라 근부의 비대가 이루어지는 것으로 사료된다(Koo *et al.*, 2011)고 밝혔다.

적 요

본 연구는 증식이 어려운 코끼리마늘(*Allium ampeloprasum* L.)의 중구 보급을 위해 기내배양 기술을 이용한 대량증식 시스템을 개발하기 위해 수행되었다. 코끼리마늘의 미숙총포를 수확 직후 길이별로 채취하여 MS배지에 NAA와 kinetin 생장조절제를 혼합 농도 처리하여 배양한 결과, 10 cm 길이로 채취하였을 때가 절편체당 신초수 14.9개로 가장 많이 얻어졌다. 생장조절제 농도에 따른 생장을 조사한 결과, kinetin 2 mg/L와 NAA 0.5 mg/L를 첨가한 MS배지에서 절편체당 신초수가 14.9개로 가장 많았고 초장은 11.3 cm였으며, 생체중은 2.5 g으로 가장 좋았다. 코끼리마늘 기내소구 형성에 적합한 최적 배지 조성은 생장조절제 kinetin 2 mg/L, NAA 0.5 mg/L를 첨가한 MS배지에 다신초 유기물질인 adenine 30 mg/L를 첨가하였을 때 구 형성률이 48%로 높았으며, 이 배지에 sucrose 7%를 첨가하였을 때 기내중구 형성률이 98.2%로 증가하였다. 다신초 유도를 위한 계대배양은 1차 배양 단계보다 2차 계대배양 단계에서 신초 증식배율이 좋았으며, 2차 계대배양에서 구 형성률은 80%로 높게 나타났다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 공동연구과제 지역특화기술개발 연구사업 “코끼리마늘 기내증식 및 표준재배법 개발”과제(과제번호: PJ0094252014)의 지원에 의해 이루어 졌습니다.

References

Ariga, T., H. Kumagai, M. Yoshikawa, H. Kawakami, T. Seki, H. Sakurai, I. Hasegawa, T. Etoh, H. Sumoyoshi, T. Tsuneyoshi, S. Sumi and K. Iwai. 2002. Garlic-like but odorless plant *Allium ampeloprasum* ‘Mushuu-ninniku’. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 71:362-369.

Choi, S.Y., K.Y. Paek and J.T. Jo. 1992. Micropropagation through apical meristem, flower stalk and flower bud cultures in *Allium sativum* L. Korean J. Plant Tiss. Cult. 19:337-342.

Han, B.H., B.W. Yae, D.H. Goo and J.Y. Ko. 1999. Effects of inorganic salts in MS medium, sucrose and activated charcoal on bulblet formation from *in vitro* bulb scales in *Lilium* Oriental hybrid ‘Casa Blanca’. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 26: 103-107.

Han, S.G., C.H. Kang, I.Y. Choi, S.R. Choi, J.J. Lee, H.C. Lim,

N.K. Oh and J.S. Choi, 2008. Bulb propagation on *Nerine* by tissue culture. Korean J. Plant Res. 21(2):134-138.

Haruki, K., K. Yamada, T. Hosoki and K. Ohta. 1996. Effects of sugar and temperature on the growth of miniature bulblets of *Lilium japonicum* Thunb cultured on a rotary shaker. J. Jap. Soc. Hort. Sci. 65:363-371.

Hwang, H.Y. and Y.B. Lee, 2008. Introduction of two-step culture method for multiple seed bulb development from shoot tip culture of garlic (*Allium sativum*). J. Plant Biotechnol. 35:75-80

Jeong, E.A., H.M. Choi, K.B. Jeon, S.A. Moon and S.T. Kwon. 2017. Enhance efficiency production of virus free commercial ginger plants. Proceedings of Symposium. September 2017. Korean J. Plant Res. p. 300.

Kageyama, C., T. Komatsuda and K. Nakajima. 1990. Effects of sucrose concentration on morphology of somatic embryos from immature soybean cotyledons. Korean J. Plant Tiss. Cult. Lett. 7(2):108-110.

Kaska, A., F.C. Toprak and A.R. Alan. 2013. Gynogenesis induction in leek (*Allium ampeloprasum* L.) breeding materials. Curr. Opinion Biotechnol. 24S:28-47.

Kastner, U., A. Klahr, E.R.J. Keller and R. Kahane. 2001. Formation of onion bulblets *in vitro* and viability during medium-term storage. Plant Cell Rep. 20:137-142.

Kim, K.S., Y.S. Song, Y.S. Jang, S.S. Nam, I.H. Choi and J.K. Bang. 2006. Production of virus-free bulblets of garlic (*Allium sativum* L.) by meristem-tip culture of immature vegetative spathe. Korean J. Hort. Sci. Technol. 24:441-446.

Kovac, M. and M. Ravnkar. 1998. Sucrose and jasmonic acid interact in photosynthetic pigment metabolism and development of potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Sante) grown *in vitro*. Plant Growth Reg. 24:101-107.

Koo, W.L., J.H. Cho, C.C. Park, Y.S. Ahn and C.B. Park. 2011. Effect of plant growth regulators on *in vitro* cultured *atractylodes* hybrid ‘Dachul’ (*A. macrocephala* x *A. japonica*). Korean J. Plant Res. 24(5):591-598.

Kwon, Y.S., C.W. Kim, J.H. Kwak, M.S. Choi, J.W. Lee and I.H. Choi. 2016. Virus infection and propagation efficiency from immature spathe culture in garlic (*Allium sativum* L.). Korean J. Hort. Sci. Technol. 34(Suppl II): 131-132.

Lee, E.M. and Y.B. Lee. 1994a. Systemic propagation of high quality garlic (*Allium sativum* L.) through shoot apical meristem culture. I. Organogenesis from *in vitro* cultured shoot-tips. Korean J. Plant Tiss. Cult. 21:161-166.

_____. 1994b. Systemic propagation of high quality

- garlic (*Allium sativum* L.) through shoot apical meristem culture. II. Effects of sucrose concentration and nitrogen source on *in vitro* formation of bulblets. Korean J. Plant Tiss. Cult. 21:193-199.
- Nagakubo, T., A. Nagasawa and H. Ahkawa. 1993. Micro propagation of garlic (*Allium sativum* L.) through *in vitro* bulblet formation. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 32:175-183.
- McCollum, G.D. 1987. Onion and allies: In Simmonds, N.W. (ed.), Evolution of Crop Plants. Longman S.&T., England. pp. 186-190.
- Nam, S.I., J.H. Park, J.I. Choi, K.S. Kwon and J.S. Uhm. 2002. Commercial production of seed garlic (*Allium sativum* L.) by tissue culture technique. Korean J. Plant Biotech. 29:171-177.
- Paek, K.Y., M.O. Oh and J.K. Choi., 1985. *In vitro* masspropagation of cordyline and scindapsus. Korean J. Horti. Sci. 26:83-92.
- Song, W.S. 2004. Direct plant regeneration and bulblet formation from apical meristems culture in *Allium wakegi* Araki. Korean J. Plant Res. 17(1):1-6.
- Suh, S.K. and H.G. Park. 1988. Somatic embryogenesis and plant regeneration from flower organ culture of garlic (*Allium sativum* L.). Korean J. Plant Tiss. Cult. 15:121-132.
- _____. 1993. Rapid multiplication through immature bulblet cultures of garlic (*Allium sativum* L.). Korean J. Soc. Hort. Sci. 34:173-178.
- Yang, S.G., H.S. Lee, W.J. Jeong, S.R. Min and J.R. Liu. 1993. Production of virus-free microbulbs of garlic (*Allium sativum* L.) by *in vitro* culture of vegetable and floral buds in immature involucre. Korean J. Soc. Hort. Sci. 34:179-183.

(Received 9 November 2017 ; Revised 2 March 2018 ; Accepted 13 March 2018)