식물조직배양학회지 제22권 제2호
Korean J. Plant Tissue Culture
Vol. 22, No. 2, 89~93(1995)

백합 기내자구 유래 소인편배양에서 기관분화에 미치는 생장조절제 및 배지조성의 영향

이은모* · 정해준[1] · 이영복[2]
충남농촌진흥원 원예과, 배재대학교 원예학과[1], 충남대학교 원예학과[2]

Regeneration of Bulblets from Bulblet-Derived Bulb-Scales of *Lilium longiflorum*

Eun Mo LEE*, Hae Joon CHUNG[1], and Young Bok LEE[2]
Chungnam Provincial RDA, Taejon 305-313; [1]Dept. of Horticulture, Paichai Univ., Taejon, 302-735.; and [2]Dept. of Horticulture, Chungnam Nat'l Univ., Taejon, 305-764. *Corresponding author.

Regeneration and growth of bulblets from bulblet-derived bulb-scale segments of *Lilium longiflorum* (cv Georgia) were investigated. Bulblets were initiated on bulb scales taken from bulblets on MS medium containing 0.05 mg/L 2,4-D with 3% sucrose or 0.02 mg/L 2,4-D with 9% sucrose. Benzyladenine promoted the differentiation of bulblets but inhibited the growth of differentiating bulblets. The growth of bulblet was promoted by supplying 1/2 strength NH_4NO_3 concentration in MS medium containing 12% sucrose.

Key words: growth regulator, in vitro culture, nitrogen source, sucrose

주요 화훼류 중에서 백합은 다수의 자생종과 교잡종이 재배되고 있으나, 대부분의 백합은 바이러스에 감염되어 있다. 다른 작물과 마찬가지로 바이러스에 감염이 되면 구근의 수량이 감소하고, 절화의 품질이 저하되어 그 피해가 큰 문제점으로 되고 있다. 바이러스 무병주의 생산은 경단배양에 의해서 생산될 수 있으나, 경단배양으로는 대량증식이 곤란하므로 경단배양에서 얻어진 소량의 무병주를 증식재료로 하여 다수의 무병구근을 생산하는 방법에 대한 연구가 필요하다. 그러나, 종래의 인편편식에 의한 방법은 많은 시설과 노동력이 소요되고, 증식과정중 바이러스 이병 혹은 병충해의 발생을 완전히 방지하기는 곤란하다. 따라서 기내증식방법은 증식과정에서 바이러스 감염을 회피할 수 있고, 배양시설을 집약적으로 관리할 수 있어, 우량종구의 안정증식이 가능한 이점이 있다.

기내에서의 대량증식 체계는 주로 3가지 방법으로 광범위하게 이용되고 있는데, 첫째로 유식물체의 여러 부위에서 다수의 부정아를 발생시키거나, 둘째로, 액아나 곁가지의 발생을 촉진시키는 방법, 셋째로, 캘러스를 계대배양하면서 식물체로 재분화시키는 방법을 도입시킬 수 있다. 일반적으로 단자엽식물은 유식물체의 분화 및 증식이 어려운 것으로 알려져 있으며, 기내배양에 있어서 *Lilium*속의 분화 및 증식에 관한 많은 연구가 보고되고 있으나(Kawarabayashi and Asahira, 1989; Lee et al., 1995; Peak and Chun, 1982; So et al., 1986; Takayama and Misawa, 1979; 1983), 실용적인 규모의 구근생산에 관한 보고는 그리 많지 않다. 따라서 본 연구는 백합 경단배양 및 인편배양에서 얻어진 기내자구를 다시 기내 계대배양하여 백합 우량종구를 기내 대량증식시키기 위하여, 기내자구 유래 소인편배양 시, 기관분화에 미치는 생장조절제, sucrose 및 질소원을 검토하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 배양조건

실험재료는 전실험(Lee et al., 1995)의 백합(*Lilium longiflorum*: cv Georgia) 경단배양 및 인편배양으로부터 얻어진 기내자구의 소인편을 채취하여 인편배양 재료로 사용하였다. 백합 소인편은 25°C에서 16시간 일장과 2,500 lx의 광조건 하에서 배양하였다.

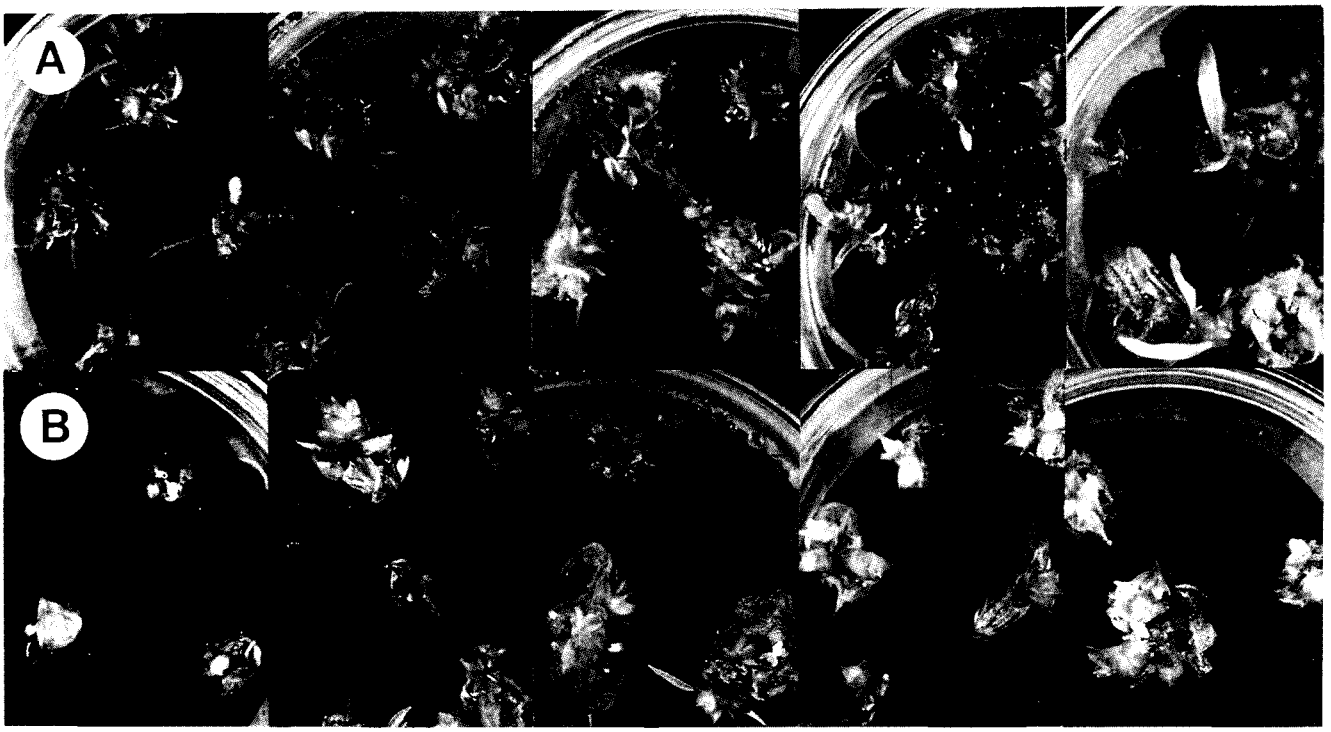

Figure 1. Shoot differentiation from scale segments of *Lilium longiflorum* bulblets obtained by in vitro culture using MS medium containing 3% (A) or 9% (B) sucrose. From left to right: 0, 0.01, 0.02, 0.05 or 0.1 mg/L 2,4-D.

생장조절제

기내자구 유래 소인편배양에서 sucrose과 2,4-D의 영향을 조사하기 위하여 MS배지에 sucrose 농도를 3%와 9%로 설정하여 2,4-D의 농도를 0, 0.01, 0.02, 0.05 및 0.1 mg/L로 하였다. 또한 인편배양에 미치는 BA의 영향을 조사하기 위해서 MS배지에 sucrose 농도를 3%로 고정하고 BA의 농도를 0, 0.25, 0.5, 및 1 mg/L로 한 배지에 소인편을 치상하여 배양하였다. 다른 한편으로 MS배지 중 NH_4NO_3 함량을 1/2로 감량하고, sucrose농도를 6%로 높인 변형 MS배지에 BA를 0, 0.25, 0.5 및 1 mg/L로 첨가하여 기내자구의 소인편을 치상하여 분화를 유도하였다.

Sucrose와 질소공급

기내자구 유래 소인편을 생장조절제를 첨가하지 않은 배지에 sucrose와 질소원을 달리하여 배양하였다. 1차 실험에서는 sucrose농도를 3%와 6%로 하여 MS배지의 NH_4NO_3양을 전량첨가구(20 mM), 1/2첨가구, 무첨가구를 설정하였다. 다음 2차 실험에서는 MS배지의 NH_4NO_3양을 전량첨가구와 1/2첨가구로 하여, 각각 sucrose 첨가양을 0, 3, 6, 9, 12%로 설정하였다.

결 과

기내자구 유래 소인편배양 시 생장조절제의 영향

기내배양에서 얻어진 자구의 소인편을 분리 계대배양하면서, 배지에 첨가되는 sucrose 및 생장조절제중 auxin류인 효과를 검토하기 위하여 2,4-D를 처리하였다. Figure 1에서와 같이 기내자구의 소인편에서도 생장조절제의 첨가 없이도 자구분화는 양호하였다. Auxin 중 2,4-D의 효과는 sucrose 3%구에서는 0.01, 0.02, 0.05 mg/L의 저농도에서 자구분화가 양호하였고, sucrose 9%구에서는 0.01, 0.02 mg/L구에서 양호하였다. 그러나 2,4-D 농도가 0.1 mg/L로 상승됨에 따라 자구 분화수도 감소할뿐 아니라 생육도 저조하였고, 특히 sucrose농도가 9%일 경우에는 엽록소 생성도 불량하였다. 배지중의 sucrose농도에 따른 효과는 3%처리구와 9%처리구에서 두드러진 차이는 인정하기가 어렵고, 다만 자구분화에서는 오히려 3%처리구가 양호한 것으로 관찰됨으로서 이에 대한 보충실험이 필요할 것으로 사료되었다.

기내자구 유래 소인편을 sucrose농도를 3%로 하고 BA농도를 0, 0.25, 0.5, 및 1 mg/L로 한 MS배지에 치상하여 배양하였을 때의 결과는 Figure 2에서와 같이, BA를 첨가하지 않은 대조구에서는 유식물체 분화는 많지 안으나, 유식물체 생장이 양호하고 자구형성과 비대가 가장 양호하였다. 반면에 BA 첨가구에서는 유식물체 생육이 부진하고, 자구형성

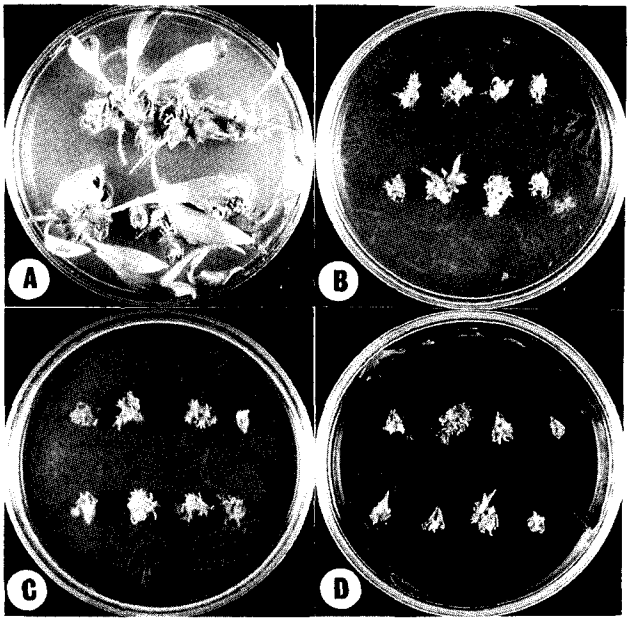

Figure 2. Shoot differentiation from scale segments of *Lilium longiflorum* bulblets obtained by in vitro culture using MS medium supplemented with 0 (A), 0.25 (B), 0.5 (C) and 1.0 (D) mg/L BA.

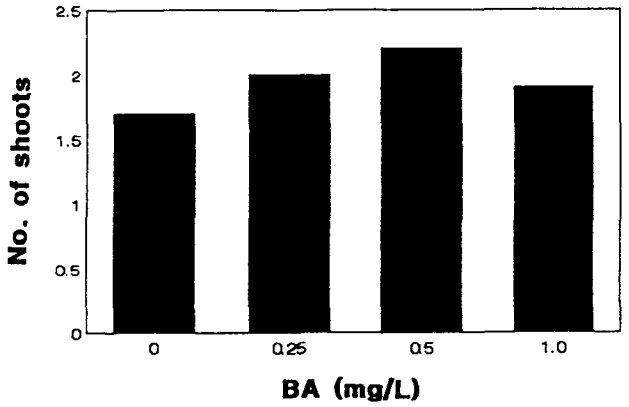

Figure 3. Effect of BA on shoot differentiation from scale segments of *L. longiflorum* bulblets obtained by in vitro culture using MS medium containing 1/2 strength NH_4NO_3 and 6% sucrose.

은 보였지만 비대가 불충실하였다. 이러한 현상은 BA농도가 증가됨에 따라 더욱 뚜렷하였다.

자구비대가 당의 축적과도 관련이 있는 것으로 고려됨에 따라 배지에 첨가되는 sucrose농도를 6%로 높이고, NH_4NO_3 양을 1/2로 감량하여, BA농도를 검토한 결과는 Figure 3과 같다. BA 0.5 mg/L까지 농도가 증가됨에 따라 유식물체수는 다소 증가하나, BA 1 mg/L부터는 다시 감소하는 경향을 보였으며, 분화된 자구의 초기생장 및 비대는 BA무처리구가 다소 양호한 경향을 보였다.

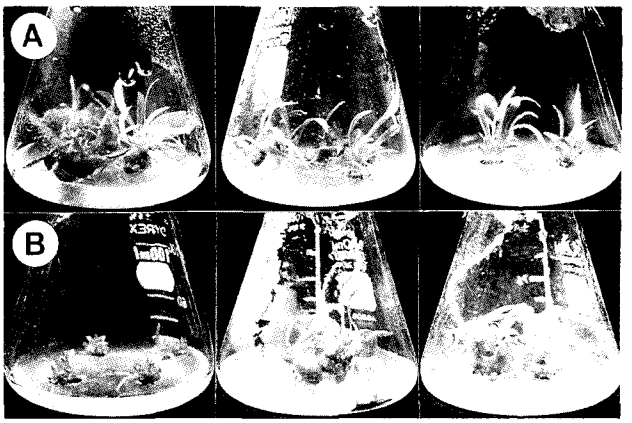

Figure 4. Shoot differentiation from scale segments of *Lilium longiflorum* bulblets obtained by in vitro culture using MS medium containing 3% (A) or 6% (B) sucrose. From left to right: 1, 1/2 or 0 strength NH_4NO_3 content of MS medium.

기내자구 유래 소인편배양 시 Sucrose 및 질소원의 영향

기내자구 소인편배양에서 생장조절제를 첨가하지 않고 sucrose 농도를 3% 및 6%로 하고 MS배지 중 NH_4NO_3의 첨가량을 변형시켜 전량 첨가구, 1/2첨가구 및 무첨가구로 설정하였다. sucrose 농도가 3%일 경우 NH_4NO_3를 전량 첨가구에서는 신엽발달은 매우 양호하였으나 자구형성이 지연되었고 아울러 캘러스 형성이 많았다(Figure 4). NH_4NO_3 1/2 첨가구에서는 신엽 출현수는 전량 공급구에 비해 다소 미약하였으나, 캘러스 형성은 거의 없었고 신엽신장은 양호하였다. NH_4NO_3 무첨가구에서 자구형성은 오히려 양호하였지만 신엽 분화는 현저히 감소하였다. 그러나 sucrose 농도가 6%일 경우 NH_4NO_3를 전량첨가구에서 신엽신장은 보이지 않았으나 자구분화는 양호하였다. 전체적인 신엽생육 및 자구분화는 sucrose 6%에 NH_4NO_3를 1/2로 반감한 변형 MS배지에서 가장 양호하였다.

또한 NH_4NO_3의 양을 전량첨가구 및 1/2첨가구로 하고, sucrose의 농도를 0, 3, 6, 9, 12%로 달리 첨가하여 배양할때 기관분화는 Figure 5와 같다. 자구분화는 질소 첨가양을 그대로 유지한 경우가 다소 좋았으나, 자구비대에 있어서는 NH_4NO_3 첨가량이 절반으로 감소된 배지에서 보다 양호하였다. 또한 sucrose 농도가 증가함에 따라 자구로부터 신엽의 생장은 억제되고, 9% 이상에서는 신엽생장이 완전히 억제되었으며, sucrose 고농도 처리구에서 자구비대가 양호하여 비교적 큰 대구를 생산할 수가 있었다. 뿌리의 생장은 NH_4NO_3를 1/2첨가구에서 양호하였고, sucrose 농도가 높으면 뿌리생장은 억제되는 경향이었다. 또한 sucrose이 첨가되지 않은 처리구에서는 절편체의 생육이 저조하여 생체중이 70-90 mg에 불과하였으나, sucrose을 첨가한 처리구에서는

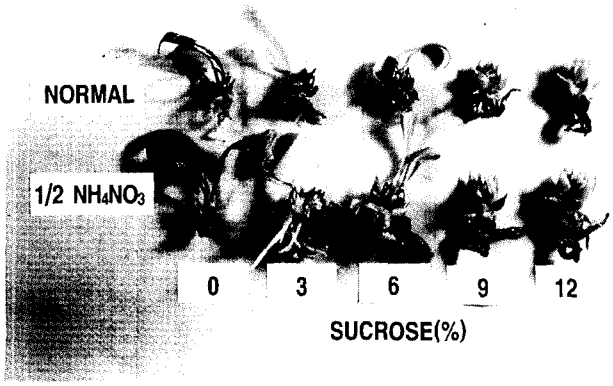

Figure 5. Shoot differentiation and bulbing from scale segments of *Lilium longiflorum* bulblets obtained by in vitro culture using MS medium containing normal and 1/2 strength NH_4NO_3, and 0, 3, 6, 9 or 12% sucrose.

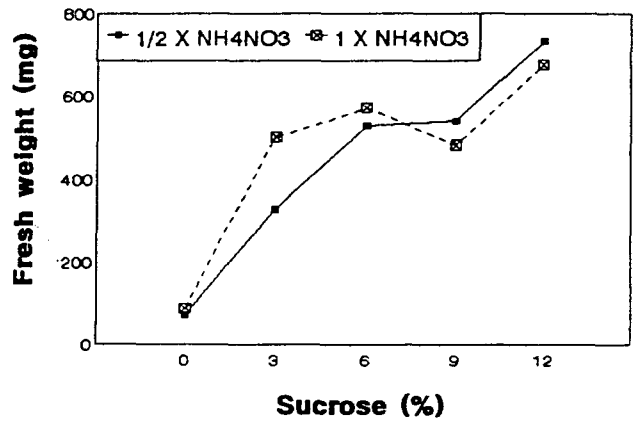

Figure 6. Fresh weight from scale segment of *Lilium longiflorum* bulblets obtained by in vitro culture using MS medium with normal(□) and 1/2(■) strength NH_4NO_3 and different concentrations of sucrose.

절편체의 생장이 급격히 증가하였으며, sucrose 첨가량이 6%까지는 NH_4NO_3 전량 첨가구가 NH_4NO_3 1/2 첨가구보다 높았으나, sucrose 첨가구가 9% 이상 첨가구에서는 NH_4NO_3 1/2 첨가구에서 생체중이 높았다(Figure 6). 이러한 현상은 기내내양할때 질소함량을 낮추고, 당의 첨가량을 높이면, 자구형성 및 비대가 양호한 결과로 미루워 볼 때, 고농도의 sucrose 첨가는 신엽의 영향생장은 억제되고 저장물질이 자구로 이동 축적된 결과로 생각된다.

고 찰

기내번식 작물의 번식 마지막 단계는 순화 작업이다. 기내유식물체의 외부로의 순화작업은 세심한 작업이 요구되며, 계절적으로 많은 제약이 따른다. 이런 이유로 하여 기내에서 자구를 생산하는 방법은 종묘공급체계에 있어서 중요한 과정이다. 기내 자구형성은 광도, 광주기, 배양온도, 영양상태 등 여러 환경요인이 관여를 하게된다. 배양시 처리되는 생장조절제 관계 연구에 있어서, Aartrijk와 Blon-Barnhoorn(1981)은 저농도의 auxin 단용처리구에서 자구의 형성 및 생장이 양호하다고 하였으며, Chung 등(1981)도 IBA 1 mg/L 단용처리에서 자구생산이 양호하다고 하였고, Peak과 Chun(1982)은 NAA 1 mg/L + kinetin 0.3 mg/L의 복합처리에서 캘러스 생육이 좋다고한 바, 백합류에서도 대상품종에 따라 기관분화 양상이 요구되는 조절물질의 종류 및 농도가 다름을 보여주고 있다. 본 실험에서도 2,4-D 저농도 첨가구에서 자구분화가 양호하여 비슷한 결과를 보여주고 있다. cytokin류의 BA 첨가시 부정아(자구원기)의 분화촉진 효과가 있음을 보여주고 있으나, 분화된 자구의 발달은 억제하고 있는 바, 자구발달을 촉진하기 위해서는 생장조절제가 첨가되지 않은 배지나 혹은 저농도의 auxin이 첨가된 배지에 이식하여 배양하는 것이 효과적일 것으로 사료되었다(Kawarabayashi and Asahira, 1989). 인편배양에서 재료가 토양에서 정상적으로 생육된 종구(Lee et al., 1995)나 기내에서 배양된 자구의 어느경우에 있어서도 자구분화는 특별한 생장조절제 처리없이도 용이하였다. 이는 인편자체가 분화에 필요한 능력을 스스로 확보하고 있다는 사실이 입증될 뿐만 아니라, 무병우량종구의 대량확보을 위해서 정단배양 또는 경단배양으로부터 얻어진 소수 자구를 소재로 하여 대량증식 체계확립이 가능할 것으로 판단되었다.

많은 구근성 작물에 있어서 기내 영양기관 형성은 탄수화물의 공급량이 많아야 양호한 것으로 알려져 있다. 마늘에 기내인경 비대는 sucrose 8% 첨가가 양호하고, 첨가되는 질소도 NH_4-N 공급이 필수적이고, NO_3-N은 거의 흡수하지 않은 것으로 보고하고 있으나(Lee and Lee, 1994), 감자에서는 질소 공급형태의 요구도가 다르다고 하였다(Davis et al., 1986). 본 백합 실험에서 자구 분화는 질소의 양을 그대로 유지한 경우가 다소 좋았으나, 자구비대는 sucrose 첨가량이 고농도에서 우수하고, 질소의 공급양이 절반으로 감소된 배지에서 보다 양호하였다(Figure 5). 이러한 결과로 볼 때 구근성작물에 따라서 탄수화물의 요구도, 질소 공급형태 및 첨가량이 다름을 알 수 있다.

적 요

기내자구 소인편조직을 배양할 때, sucrose 3%, 2,4-D 0.05 mg/L이하에서, 혹은 sucrose 9% 2,4-D 0.01 mg/L에서 자구분화가 양호하였으며, 2,4-D 0.1 mg/L의 고농도가 되면 오히려 억제적이였다. BA 첨가는 대조구에 비해 자구분화

는 촉진적이었으나 자구비대는 불량하였다. 기내자구 소인 편배양에서 생장조절제를 무첨가 시, NH_4NO_3를 1/2로 줄인 MS배지에서 배양할 경우 자구비대에 효과적이고 sucrose 농도가 12%일 때 자구비대가 양호하였다.

사사 - 이 연구는 1992년 한국과학재단 연구비 지원(과제번호 921-1500-019-2)에 의한 결과이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

인 용 문 헌

Artrijk JV, Blom-Barnhoorn GJ (1981) Growth regulator requirements for adventitious regeneration from *Lilium* bulb-scale tissue in vitro, in relation to duration of bulb storage and cultivar. Scientia Hort **14**: 261-268

Chung, JD, Chun CK, Suh YK, Rark JK (1981) *In vitro* culture of bulbil scale of *Lilium lancifolium*. I. Effets of auxin on bulblet formation and growth of seedlings. J Kor Soc Hort Sci **22**: 131-138

Davis JM, Loescher WH, Hammond MW, Thornton RE (1986) Response of potatoes to nitrogen form and to change in nitrogen form at tuber initiation. J Amer Soc Hort Sci **111**: 70-72.

Kawarabayashi W, Asahira T (1989) In vitro multiplication of virus-free bulbs of lilies. J Jap Soc Hort Sci **58**: 195-209

Lee EM, Lee YB (1994) Systematic 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 Tissue Culture **21**: 193-199.

Lee EM, Chung HJ, Lee YB (1995) Effects of growth regulators on shoot differentiation and bulblets formation in shoot-tip and bulb-scale culture of *Lilium longiflorum*. Korean J Plant Tissue Culture **22**: .53-57

Paek KY, Chun CK (1982) In vitro propagation of bulb scale sections of *Lilium longiflorum* Thunb. J Kor Soc Hort Sci **23**: 230-239

So IS, Lee CS, Kang IS (1986) Studies for mass propagation of virus free stocks on the *Lilium* plants by using meristem culture technigues. Res Rept RDA (Agri Institutional Cooperation): 63-70

Takayama S, Missawa M (1979) Differentiation in *Lilium* bulbscales grown in vitro. Effects of various cultural conditions. Physiol Plant **46**: 184-190

Takayama S, Missawa M (1983) A scheme for mass propagation of *Lilium in vitro*. Scientia Hort **18**: 353-362

(1995년 1월 27일 접수)