

## 기내 배양환경이 오리엔탈 백합 '카사블랑카'의 기외 발아에 미치는 영향

전민화 · 한은주 · 박현춘 · 백기엽\*

충북대학교 첨단원예기술개발센터

### Effect of In Vitro Culture conditions on Ex Vitro Sprouting of Bulblets of Oriental *Lilium* Hybrid cv. Casa Blanca

JEON, Min-Wha · HAHN, Eun-Joo · PIAO, Xuan-Chun · PAEK, Kee-Yoeup\*

Research Center for the Development of Advanced Horticultural Technology, Chungbuk National University,  
Cheongju, 361-763, Korea

**ABSTRACT** This study was carried out with *Lilium* oriental hybrid cv. Casa Blanca to observe the effect of in vitro culture conditions on ex vitro sprouting of bulblets. Low temperature (15°C) inhibited the growth of in vitro bulblets while high temperature (25°C) enhanced the growth. Bulblets cultured at 15°C did not show dormancy while those cultured at 20°C, 25°C had a longer dormancy period. High sucrose concentration (9%) induced longer dormancy. Dormancy period was also prolonged in bulblets cultured in vitro at high temperature (25°C). Dormancy period was more affected by in vitro culture temperature rather than sucrose concentration. Physiological dormancy was released more rapidly when bulblets were cultured at 25°C for 6 weeks and further transferred at 15°C and cultured for another 12 weeks. Treatment of ABA induced the dormancy in *Lilium* bulblets but when bulblets were subjected to chilling treatment (4°C for 8 weeks) nearly 100% sprouting were observed. The medium containing 1.0 mg/L BA or 1.0 mg/L fluridone was also effective to produce non-dormant bulblets.

**Key words:** BA, fluridone, sucrose

## 서 론

오리엔탈 백합의 조직배양에서 기내 자구형성과 증식에 관해서는 많은 연구가 이루어져 왔다 (Park et al. 2000; Lim et al. 1998). 기내에서 생산된 소인경은 대부분 휴면을 하기 때문에, 휴면타파를 위해 별도의 저온처리 시설과 함께 비용 및 시간이 요구되므로 구근 생산비의 상승을 가져오게 된다 (Kim et al. 2000).

기내 백합 소인경의 휴면은 배양온도, sucrose 농도, 배양기간에 의해 영향을 받으며 (Takayama and Misawa 1980), 휴면을 타파하기 위해서는 저온처리나 GA<sub>3</sub> 처리를 해야 한다 (Higgins and Stimart 1990; Masumi 1995; Paek and Shin

1983). Kim 등 (1998)은 15°C 이하의 저온에서 배양한 오리엔탈 백합 'Casa Blanca'와 'Marcopolo'의 소인경은 휴면이 있거나 없다고 하였고, 명배양 하에서 재생된 소인경은 sucrose 농도와 배양기간에 상관없이 모두 휴면을 한다고 하였다. Kim (1991)도 sucrose 농도와 온도처리를 달리하여 *L. speciosum*을 배양하였을 때 15°C에서 생산된 소인경은 휴면 정도가 낮았으나 20°C와 25°C에서 생산된 소인경은 휴면수준이 매우 높고 sucrose 농도는 자구형성에는 관여하지만 휴면 유도와는 관계가 없다고 하였다. 반면, Aguetaz 등 (1990)은 sucrose 농도를 달리하여 *L. speciosum*을 배양하였을 때 sucrose 농도가 높을수록 휴면수준이 높다고 하였다. Goo 등 (1998)은 BA가 글라디올러스의 휴면타파에 효과적이라 하였으며, Kim 등 (1994)은 fluridone을 배지에 첨가하면 *L. speciosum*의 무휴면 소인경을 생산할 수 있다고 하였다. 본 실험에서는 오리엔탈 백합 '카사블랑카'를 재료로 하여 배양

\*Corresponding author. Tel 043-266-3245 Fax 043-272-5369  
E-mail paekky@chungbuk.ac.kr

온도, 배양기간, sucrose 농도 및 BA와 fluridone이 무휴면 소인경 생산에 미치는 영향을 구명하고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 식물 재료

4°C의 저온저장고에서 피트모스에 4개월 간 저장된 *Lilium Oriental Hybrid 'Casa Blanca'* 중에서 구주가 약 16~18 cm인 충실한 구를 골라 외인편을 제거한 후 수돗물로 씻고 다시 3~4겹의 인편을 더 제거하였다. 깨끗한 내인편을 70% 에탄올에서 수초 간 침지한 후 멸균수로 3회 헹구고 다시 2~3 방울의 Tween 20을 첨가한 2% NaOCl 용액에서 20분간 표면을 살균한 후 멸균수로 4회 세척하여 초대배양 재료로 이용하였다.

### 배양 방법

MS (Murashige and Skoog 1962) 배지에 sucrose 30 g/L를 첨가하고, pH는 5.8로 조절하였으며 한천 (Duchefa Biochemie BV, The Netherlands) 0.55%를 첨가하여 고형화하였다. 표면을 살균된 인편은 0.5×1.0 cm 크기로 조제하여 10 mL의 배지가 분주된 시험관 (2×9 cm)에 절단면이 배지에 접하도록 하여 배양하였다. 배양은 총 18주간 50 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> PPF의 형광등 하에서 16시간 일장으로 실시되었으며 배양온도를 15°C, 20°C 및 25°C로 달리하여 1반복당 30개체씩 6반복으로 처리하여 18주간 배양한 후 지상부와 지하부의 생체중을 측정하였고, 저온처리를 하지 않은 소인경과 4°C 암상태에서 8주간 저온처리를 한 소인경을 토양에 이식하여 2주 후 맹아율을 조사하였다. 배양중 온도처리는 15°C→25°C 또는 25°C→15°C로 처음 배양온도에서 6주간 배양 후 다음 온도에서 12주간 배양하였으며 온도조건을 바꾼 후 0, 3, 6, 8, 10, 12주마다 40개체씩 꺼내어 20개체는 4°C 암상태에서 8주간 저온처리를 한 후 맹아율을 조사하였고 20개체는 저온처리를 하지 않고 토양에 이식하여 맹아율을 조사하였다. sucrose 농도가 맹아율에 미치는 영향을 알아보기 위해 sucrose 농도를 0, 30, 60, 90, 120 g/L로 달리하여 15, 20, 25°C의 배양온도 조건에서

각각 18주간 배양한 후 저온처리를 하지 않고 토양에 이식하여 맹아율을 조사하였다.

### 생장조절물질

배양온도를 15°C와 25°C로 달리하여 MS배지에 sucrose 30 g/L를 첨가하고, ABA를 0, 1, 5 mg/L로 달리 첨가한 배지에서 18주간 배양하였다. BA와 fluridone의 농도에 따른 휴면 정도를 비교하기 위해 농도를 0, 0.1, 1.0 mg/L로 달리하여 25°C 배양온도에서 18주간 배양한 후 배양된 소인경을 토양에 이식하여 맹아율을 조사하였다.

### 저온처리와 맹아율 조사

저온처리는 뿌리와 잎이 제거된 소인경을 0.5% 벤레이트 용액에 30분간 침지 소독한 후 지름 12 cm 플라스틱 용기에 여과지를 깔고 피트모스를 충분히 적신 다음 4°C 저온 저장고에 8주간 저장한 후 사용하였다. 수확된 자구는 저온처리한 것과 저온처리하지 않은 것으로 구분하여 처리 당 20개씩 피트모스 : 질석 : 펄라이트가 1 : 1 : 1 (v/v)로 혼합된 용토를 충전한 50공 플라스틱 트레이에 파종하여 2주 후에 맹아율을 조사하였다.

## 결과 및 고찰

기내 'Casa Blanca'의 생장과 휴면에 미치는 배양온도의 영향을 보면, 15°C에서 배양된 식물체의 잎은 생체중이 129.8 mg인 반면 자구의 생체중은 32.1 mg으로 구비대보다는 잎이 주로 생장하였고, 25°C에서는 잎과 자구의 생체중이 각각 79.4 mg, 94.2 mg으로 15°C보다 자구가 더 비대하였다 (Table 1). 25°C 배양온도에서 저온처리를 하지 않았을 때 맹아율이 2%에 머무른 반면 15°C에서 생산된 소인경은 맹아율이 70.3%에 달하여 무휴면 소인경 생산에는 기내온도 15°C에서 배양하는 것이 효과적이었다. Aguetaz 등 (1990)도 배양온도를 15, 20, 25°C로 달리하여 *L. speciosum*을 배양하였을 때 15°C에서 배양된 소인경은 저온처리를 하지 않아도 맹아율이 70% 정도에 달한다고 하였다. 25°C와 15°C에서 6주

**Table 1.** Effect of temperature on fresh weight and sprouting of *Lilium oriental hybrid cv. Casa Blanca* cultured in vitro for 18 weeks.

Culture temperature (°C)	Fresh weight/bulbut (mg)		Sprouting (%)	
	Leaf FW	Bulblet FW	No Chilling	Chilling <sup>b</sup>
15	129.8 a <sup>a</sup>	32.1 c	70.3 a	100 a
20	90.1 b	59.8 b	15.0 b	98 a
25	79.4 c	94.2 a	2.0 c	100 a

<sup>a</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, at 5% level.

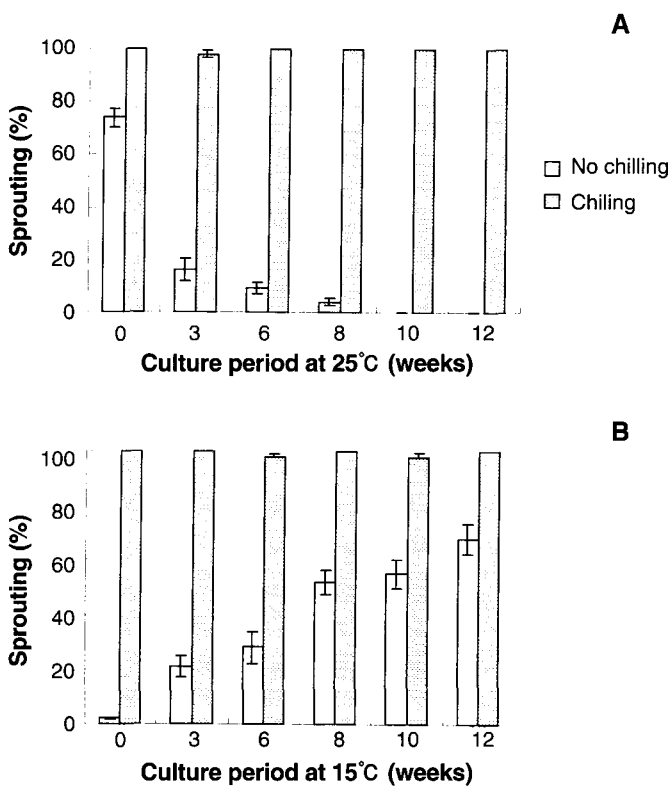
<sup>b</sup>Chilling treatment at 4°C for 8 weeks.

동안 배양한 소인경을 각각 15°C와 25°C로 온도조건을 바꾸어 12주 동안 배양하여 배양기간에 따른 맹아율을 조사하였다. 처음 15°C에서 6주간 배양된 소인경은 저온처리를 하지 않아도 맹아율이 74%로 높았으나 25°C로 온도 조건을 바꾼 3주 후에는 맹아율이 16%로 현저히 낮아졌다 (Figure 1). 한편 25°C에서 6주간 배양하고 15°C 배양온도로 옮긴 소인경은 서서히 맹아율이 증가하여 12주 후에는 68%가 맹아하였다. 기내 백합 소인경의 휴면은 배양온도, sucrose 농도, 배양기간에 의해 큰 영향을 받는 것으로 보고되고 있는데 (Takayama and Misawa 1980), Aguetaz 등 (1990)과 Kim 등 (1998)도 기내에서 생산된 소인경의 휴면에는 배양온도가 중요한 작용을 하며 저온 (15°C)에서 재생된 소인경은 휴면을 하지 않는다고 하였다. Kim 등 (2000)도 15°C 이하에서 생산된 소인경은 맹아율이 70~80%로서 저온배양이 무휴면 소인경 생산에 효과적이라 하여 본 실험의 결과와 유사하였다.

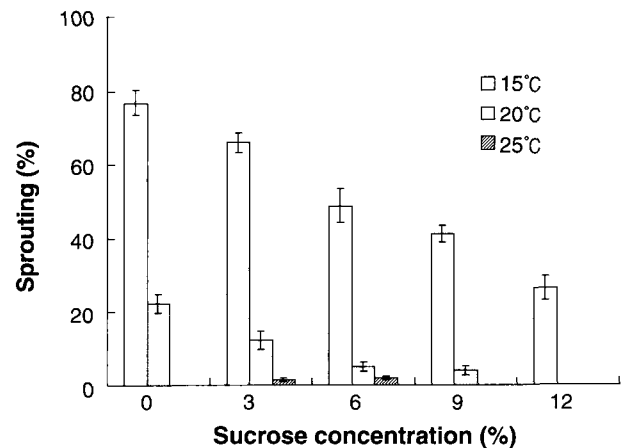
배양온도를 15°C, 20°C, 25°C로 구분하고 sucrose 농도를 0, 30, 60, 90, 120 g/L로 달리하여 배양하였을 때 sucrose 농도가 휴면에 미치는 영향을 검토한 결과, 15°C와 20°C 배양온도에서는 sucrose 농도가 높아질수록 맹아율이 낮아졌고, 25°C 배양온도에서는 sucrose 농도에 상관없이 모두 휴면하는 경향이였다 (Figure 2). Takayama와 Misawa (1980)도 25°C

배양온도에서 6주 이상 배양하거나 배지 내 sucrose 농도가 높을수록 백합 소인경의 휴면이 심화된다고 하였으며, Aguetaz 등 (1990)도 sucrose 농도를 달리하여 *L. speciosum*을 배양하였을 때 sucrose 농도가 높을수록 휴면수준이 높다고 하였다. 본 실험에서는 15°C와 20°C에서 sucrose 농도가 높을수록 소인경의 휴면이 깊었으나 25°C에서는 sucrose 농도에 상관없이 모두 휴면하여 sucrose보다 배양온도가 기내 소인경의 휴면에 더 큰 영향을 미치는 것으로 생각되었다.

ABA를 0, 1, 5 mg/L로 농도를 달리한 배지에서 18주간 배양하여 백합 소인경의 휴면을 검토한 결과 15°C 배양온도에서 ABA를 첨가하지 않은 소인경은 맹아율이 76.7%로 높았으나 5 mg/L의 ABA를 첨가한 배지에서 생산된 소인경은 맹아율이 26.7%로 낮아져 (Table 2) ABA가 휴면에 관여하는 물질임을 알 수 있었다. 휴면은 주로 내생 ABA에 의해 유도되며 성장조절물질 (Hosoki et al. 1985) 또는 저온처리 (Yae et al. 2001)에 의해 쉽게 타파될 수 있다고 하였다. Steinitz와 Lilien-Kipnis (1989)는 ABA가 내생 GA<sub>3</sub>의 함량을 저하시키고 영양분을 저장기관으로 이동시켜 소인경의 성장을 촉진하고 휴면을 유도한다고 하였다. 따라서 15°C와 20°C에서



**Figure 1.** Effect of in vitro temperature shift on ex vitro sprouting of bulbets cultured in vitro for 18 weeks. A, Bulbets were cultured at 15°C for 6weeks and transferred at 25°C for 12 weeks; B, Bulbets were cultured at 25°C for 6 weeks and transferred at 15°C for 12 weeks. Chilling, Chilling treatment at 4°C for 8 weeks.



**Figure 2.** Effect of in vitro sucrose concentration and temperature on ex vitro sprouting of bulbets cultured in vitro for 18 weeks. The bulbets was not treated with cold temperate.

**Table 2.** Effect of ABA on ex vitro sprouting of *Lilium* oriental hybrid cv. Casa Blanca cultured in vitro for 18 weeks.

ABA (mg/L)	Sprouting (%)			
	15°C		25°C	
	No chilling	Chilling <sup>b</sup>	No chilling	Chilling
0	76.7 a <sup>a</sup>	100 a	0.7 a	100 a
1	36.7 b	99 a	1.3 a	99 a
5	26.7 b	99 a	0.0 a	98 a

<sup>a</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, at 5% level.

<sup>b</sup>Chilling treatment at 4°C for 8 weeks.

**Table 3.** Effect of BA and fluridone on ex vitro sprouting of bulblets of *Lilium* oriental hybrid cv. Casa Blanca cultured in vitro at 25°C for 18 weeks.

Concentration (mg/L)	Sprouting (%)	
	BA	Fluridone
0.0	0.7 b <sup>a</sup>	0.0 c
0.1	4.4 b	41.3 b
1.0	72.6 a	80.8 a

<sup>a</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, at 5% level.

The bulblets were not treated with cold temperature.

sucrose 농도가 증가함에 따라 휴면 정도가 깊은 것은 고농도의 sucrose가 식물체에 수분 스트레스를 가하여 ABA의 생합성을 촉진시킴으로써 휴면이 유도되는 것으로 생각되었다 (Karssen et al. 1983; Kim et al. 2000).

BA와 fluridone을 배지에 각각 0, 0.1, 1.0 mg/L로 첨가하여 백합 소인경의 기내 휴면타파 효과를 검토한 결과, BA 1.0 mg/L처리에서 72.6%로 맹아율이 높아졌고 fluridone 역시 1.0 mg/L처리에서 80.8%로 맹아율이 높아졌다 (Table 3). Kim 등 (2000)도 BA 1.0 mg/L를 첨가한 배지에서 맹아율이 80%로 높아졌다고 하였는데 Cowan과 Railton (1987)은 시토키닌이 ABA의 생합성을 억제한다고 하였으며, Kim (1985)은 포도의 시토키닌 정량분석에서 휴면의 깊이와 시토키닌의 농도는 반비례한다고 하였다. Kim 등 (1994)도 배지 내에 일정 수준의 fluridone을 첨가하면 무휴면 소인경의 생산에 효과적이라 하였는데, BA와 fluridone을 배지에 첨가함으로써 ABA의 생합성을 억제하여 백합 소인경의 휴면타파가 빨리 되었던 것으로 생각되었다.

## 적 요

기내 백합 소인경의 비대는 저온구인 15°C에서 현저히 감소하는 경향이었고 25°C에서 증가하였다. 15°C에서 배양한 백합 소인경은 휴면을 하지 않았거나 하더라도 휴면정도가 미미하였던 반면, 20°C와 25°C에서 배양한 소인경은 모두 휴면이 깊었다. 15°C와 20°C에서는 sucrose 농도가 높을수록 휴면정도가 깊었으나 25°C 배양온도에서는 sucrose 농도에 상관없이 모두 휴면이 깊어 배양온도가 기내 백합 소인경의 휴면에 더 크게 관여하는 것으로 나타났다. 15°C에서 배양한 소인경을 25°C 조건으로 옮겨 3주 이상 배양하면 휴면이 깊어졌고 25°C 조건에서 배양한 소인경을 15°C 조건으로 옮겨 12주간 배양하면 휴면이 타파되었다. ABA를 배지 내에 첨가하면 15°C 배양온도에서도 휴면이 유도되었으나 4°C에서 8주간의 저온처리로 휴면이 100% 타파되었다. 배지 내에 BA (1.0 mg/L) 또는 fluridone (1.0 mg/L)을 첨가하였을 때 *Lilium* Oriental Hybrid 'Casa Blanca'의 무휴면 소인경 생산에 매

우 효과적이었다.

## 인용문헌

- Aguetz P, Paffen A, Delvallee I, Van der Linde P, De Klerk GJ (1990) The development of dormancy in bulblets of *Lilium speciosum* generated in vitro. I. The effects of culture conditions. *Plant Cell Tiss Org Cult* 22:167-172
- Cowan AK, Railton ID (1987) Cytokinins and ancymidol inhibit abscisic acid biosynthesis in *Persea gratissima*. *J Plant Physiol* 130:273-277
- Goo DH, Park IS, Kim KW (1998) Effects of low temperature and growth regulators on dormancy breaking of gladiolus comlets produced in vitro. *J Kor Soc Hort Sci* 39:479-482
- Higgins WS, Stimart DP (1990) Influence of in vitro generation temperature and post-in vitro cold storage duration on growth response of *Lilium longiflorum* Bulblets. *J Amer Soc Hort Sci* 115:930-933
- Hosoki T, Hiura H, Hamada M (1985) Breaking bud dormancy in corms, tubers and trees with sulfur-containing compounds. *HortSci* 20:290-291
- Karssen CM, Brinkhorst-van der swan DLC, Breekland AE, Koornneef M (1983) Induction of dormancy during seed development by endogenous abscisic acid: studies on abscisic acid deficient genotypes of *Arbidopsis thaliana* L. *Heynh Planta* 157:158-165
- Kim EY, Choi JD, Park KI, Byun MS, Kim KW (2000) Production of non-dormant bulblets of *Lilium* oriental hybrid by control of culture temperature and growth regulators in vitro. *J Kor Soc Hort Sci* 41:78-82
- Kim KS (1991) The effect of growth, temperature and sucrose on the dormancy in *Lilium speciosum* bulblets cultured in vitro. *Kor J Plant Tiss Cult* 18:103-111
- Kim KS, Davelaar E, De Klerk GJ (1994) Abscisic acid controls dormancy development and bulb formation in lily plantlets regenerated in vitro. *Physiol Plant* 90:59-64
- Kim KW, Kim JS, Choi JD, Park KI (1998) Effects of culture conditions on dormant status of in vitro regenerated *Lilium* oriental hybrid bulblets. *J Kor Soc Hort Sci* 39:641-646
- Kim WS (1985) Studies on the factors of rest induction and its breaking in *Vitis* cultivars. PhD thesis, Seoul Nat'l Univ, Suwon
- Lim S, Seon JH, Son SH, Han BH, Paek KY (1998) Effect of explant sources and plant growth regulators on bulblet formation in *Lilium*. *J Kor Soc Hort Sci* 39:111-114
- Masumi Y (1995) Effects of cold treatment, BA and GA<sub>3</sub> on enlargement and leaf emergence of in vitro cultured *Lilium japonicum* Thunb. *J Japan Soc Hort Sci* 64:367-373
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15:473-

497

**Paek KY, Shin SH** (1983) Factors affecting regeneration ability and physiology of dormancy in the mature bulblet segments of *Lilium longiflorum* in vitro. J Kor Soc Hort Sci **24**:149-157

**Park KI, Choi JD, Byun MS., Choi JJ, Kwon KH, Kim KW** (2000) Induction and proliferation of callus in *Lilium* oriental hybrid in vitro. J Kor Soc Hort Sci **41**:641-646

**Steinitz B, Lilien-Kipnis H** (1989) Control of precocious corm and

cormel formation in tissue culture. J Plant Physiol **135**:495-500

**Takayama S, Misawa M** (1980) Differentiation in *Lilium* bulb-scales grown in vitro. Effect of activated charcoal, physiological age of bulbs and sucrose concentrations on differentiation and scale leaf formation in vitro. Physiol Plant **48**:121-125

**Yae BW, Han BH, Goo DH** (2001) Dormancy breaking and in vitro growth of in vitro bulblets in *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca'. J Kor Soc Hort Sci **42**:99-102

(접수일자 2001년 11월 19일)