

## 백합 경단 및 인편배양으로부터 유식물체 분화 및 자구형성에 미치는 성장조절제의 영향

이은모\* · 정해준<sup>1</sup> · 민병훈<sup>1</sup> · 이영복<sup>2</sup>

충남농촌진흥원 원예과, 배재대학교 원예학과<sup>1</sup>, 충남대학교 원예학과<sup>2</sup>

### Effects of Growth Regulators on Shoot Differentiation and Bulblet Formation in Shoot-Tip and Bulb-Scale Cultures of *Lilium longiflorum*

Eun Mo LEE\*, Hae Joon CHUNG<sup>1</sup>, Byung Hoon MIN<sup>1</sup>, and Young Bok LEE<sup>2</sup>

Chungnam Provincial RDA, Taejon 305-313; <sup>1</sup>Dept. of Horticulture, Paichai Univ., Taejon, 302-735; and <sup>2</sup>Dept. of Horticulture, Chungnam Nat'l Univ., Taejon, 305-764. \*Corresponding author.

Regulation of organ differentiation by growth regulators was investigated through the shoot-tip and bulb-scale cultures of *Lilium longiflorum* (cv Georgia). When shoot tips were placed on MS medium supplemented with 0.1 mg/L NAA alone or 0.1 mg/L NAA and 0.1 mg/L BA, axillary shoots were proliferated. Root differentiation and growth were stimulated on the basal medium. Although growth regulators did not seem to be necessary when bulb scales were used as explants for shoot differentiation, its differentiation was promoted vigorously by 0.2 mg/L NAA, but suppressed by BA. Bulblets were formed from bulb-scale-derived plantlets cultured on MS medium supplemented with 0.1 mg/L IBA. And more bulblets were formed from the plantlet in MS medium supplying 0.2 mg/L NAA with 6% than 3% sucrose

**Key words:** in vitro culture, sucrose

구근성 작물은 일반적으로 구근이나 인경 등으로 번식하는 관계로 번식률이 저조하다. 또한 노지 영양번식 과정에서 바이러스의 감염이 심하여 종구퇴화, 화기발육 불량, 품질저하 등으로 고상품의 생산이 불가능하므로 이의 해결방안에 대한 연구가 많이 되어져 왔다(Kim, 1981). 백합의 일반적인 노지증식은 자구번식법, 인편번식법과 주아번식법 등이 이용되고 있다. 그러나 이와 같은 방법은 증식속도가 늦을 뿐 아니라, 특히 바이러스 무병주의 생산은 불가능하다. 이와 같은 두가지의 목적을 동시에 해결할 수 있는 방법으로서 조직배양의 도입은 매우 고무적인 방법으로서 가치가 인정되고 있다.

Robb(1957)가 처음으로 백합속의 *Lilium speciosum* 인편 조직배양에 관하여 논문을 발표한 이래, 다른 구근작물에 있어서도 대량번식에 관한 보고가 많다. 특히 Takayama와 Missawa(1983)는 백합의 대량증식 체계에 관하여 발표하는 등, 기내 대량증식 가능성을 시사하였다. 국내에서는 히야신스(Chung et al., 1983; Chung et al., 1984), 백합(Peak and Chun, 1982; So et al., 1986)등 구근화훼류의 기내증식에 관

한 연구도 수행되어 왔으나, 백합의 상업적인 목표로 대량 증식을 하기 위한 기내배양의 체계의 확립에 관한 종합적인 연구는 아직 미흡한 상태이다. 따라서 본 연구는 백합에 관한 종합적인 연구를 수행함에 있어서, 백합종구의 대량증식을 도모할 수 있는 일련의 생산체계를 확립하고, 아울러 실제 종묘산업에 도입되고 나아가서 농가의 소득증대에 기여하고자, 우선 백합 경단 및 인편배양 시 유식물체분화 및 기내자구 형성에 미치는 성장조절제의 영향을 검토하기 위하여 수행하였다.

### 재료 및 방법

#### 경단배양

공시재료 백합 (*Lilium longiflorum*: cv Georgia)은 1992년 도에 수확한 종구였다. 종구를 수세한 후 벤레이트 400배 용액에 4시간 침지 처리하였고, 다시 10% sodium

hypochlorite(원액의 염소함량: 약 10%) 용액에 15분간 침적하여 표면살균하였다. 표면살균된 종구는 멸균수로 3회에 걸쳐 수세한 다음 본 실험의 재료로 이용하였다.

경단배양은 표면살균된 재료의 인편을 제거하고 성장점에 엽원기 1매가 부착된 상태로 경단부위를 채취하여 sucrose 3%, 한천 0.8% 첨가된 MS배지를 시험관 (15 mm × 200 mm)에 10 mL씩 분주하여 1개 경단을 치상하여 20 반복으로 하였다. 성장조절제로서 NAA 0.1 mg/L에 BA 0, 0.1, 0.5 mg/L를 복합처리하였고, 성장조절제를 첨가하지 않은 대조구를 설정하였다. 배양은 28 ± 2°C, 형광등을 이용하여 2,500 lx 16시간 일장 하에서 90일 배양하였다.

### 인편배양

인편배양 시 인편 절단방법 및 성장조절제가 유식물체분화 및 자구형성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 실시하였다. 공시재료 및 소독방법은 경단배양과 동일하게 실시한 후, 표면살균된 종구 인편을 분리하여, 인편을 가로로 3등분 횡단절단하거나, 세로로 2등분 종단절단하였다. 횡단 및 종단절단한 인편은 BA와 NAA를 각각 0, 0.2, 2.0 mg/L의 복합처리된 배지에 이식하여 30일 배양하였다. 또한 다른 auxin의 영향을 검토하기 위하여, 2등분 종단절단한 인편을 IBA 0, 0.1, 1.0 mg/L 단독첨가된 배지에 이식하였다. 배지는 MS배지에 sucrose 3% 한천 0.8%로 첨가하였다. 자구형성에 미치는 sucrose의 영향을 보기위하여, 유식물체가 분화된 후 NAA 0.2 mg/L 첨가된 MS배지에 sucrose 농도를 3%와 6%로 달리 첨가하여 60일 계대배양 후 자구형성 상태를 조사하였다. 기타 배양조건은 경단배양과 동일하게 하였다.

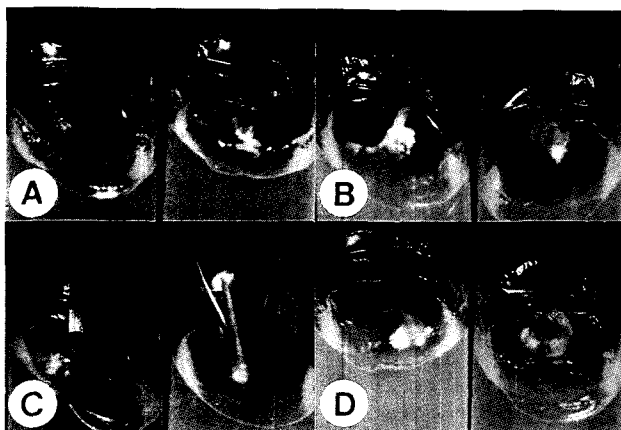


Figure 1. Shoot differentiation from apical shoot tip of *Lilium longiflorum* bulblets cultured on MS medium supplemented with 0 (A), 0.1 mg/L NAA (B), 0.1 mg/L NAA and 0.1 mg/L BA (C), or 0.1 mg/L NAA and 0.5 mg/L BA (D).

## 결 과

### 경단배양 시 유식물체분화 및 자구형성에 미치는 성장조절제의 영향

백합 경단배양에 있어 기관분화는 Figure 1과 같이 대조구, NAA 0.1 mg/L 단독처리구, NAA 0.1 mg/L + BA 0.1 mg/L 및 NAA 0.1 mg/L + BA 0.5 mg/L 복합처리구에서 유식물체가 분화되었다. 그러나 유식물체의 생육은 성장조절제를 처리하지 않은 대조구에서는 다소 불량하였으나 NAA 0.1 mg/L 단독처리구와 NAA 0.1 mg/L + BA 0.1 mg/L 복합처리구에서는 비교적 양호하였다. 그리고 NAA 0.1 mg/L + BA 0.5 mg/L 복합처리구에서는 기부가 캘러스화 되면서 유식물체의 신장 생장이 둔화되고 신엽이 비대화되는 경향을 보였다. 한편 분화된 유식물체로부터 뿌리분화는 성장조절제 무첨가구에서 양호하였고, NAA 0.1 mg/L의 단독처리구에서 어느정도 뿌리분화가 이루어졌지만, 첨가되는 BA의 농도가 0.1 mg/L에서는 뿌리분화가 보이지 않았다. 이와 같이 백합 경단배양 시, 기관분화는 성장조절제 첨가가 필요조건이 되는 것은 아니지만, 저농도의 NAA와 BA를 처리함으로써 생육을 촉진시킬 수 있었다.

### 인편 절단방법 및 성장조절제가 유식물체분화 및 자구형성에 미치는 영향

인편을 횡단으로 3등분하여 BA와 NAA가 첨가된 배지에서 30일간 배양하였을 때의 결과는 Figure 2와 같다. 백합 인편조직으로부터 유식물체분화는 cytokinin이나 auxin이 첨가되지 않은 배지에서도 가능한 것으로 나타났으나, 유식물체분화에 효과적인 조건은 NAA 0.2 mg/L 및 2.0 mg/L의 단독처리구로 보였으며, 특히 NAA 0.2 mg/L에서 가장 양호한 것으로 판단되었다. 또한 NAA 단독처리구에서 분화된 유식물체는 생장도 뚜렷하였다. BA 단독처리구에서 유식물체분화는 NAA 단독처리에 비해 부진한 상태를 보였으나, BA 2 mg/L의 처리구에서는 유식물체가 분화하면서 바로 자구를 형성하였다. NAA와 BA의 복합처리에서는 BA의 상승효과가 현저하지 않으나, BA가 첨가될 경우에는 NAA 농도가 높을 때 분화가 증가될 가능성을 보였다.

인편을 종단으로 2등분하여 배양하였을 경우에는 Figure 3에서 보여 주듯이 NAA 첨가에 의해 유식물체분화가 증가하는 경향을 보이고 있으며, Figure 2의 횡단절편 배양처럼 BA농도가 2 mg/L일 경우 유식물체 분화수도 증가하며 자구형성에 촉진적이었다. 또한 NAA 0.2 mg/L + BA 0.2 mg/L 복합처리구에서도 분화되는 유식물체가 바로 자구를 형성하는 경향을 보였다. 그러나 NAA 2 mg/L + BA 0.2 mg/L 복합처리구에서 분화된 유식물체 경우는 3개월 이상 지속적으로 배양하여도 자구형성이나 비대가 이루어지지

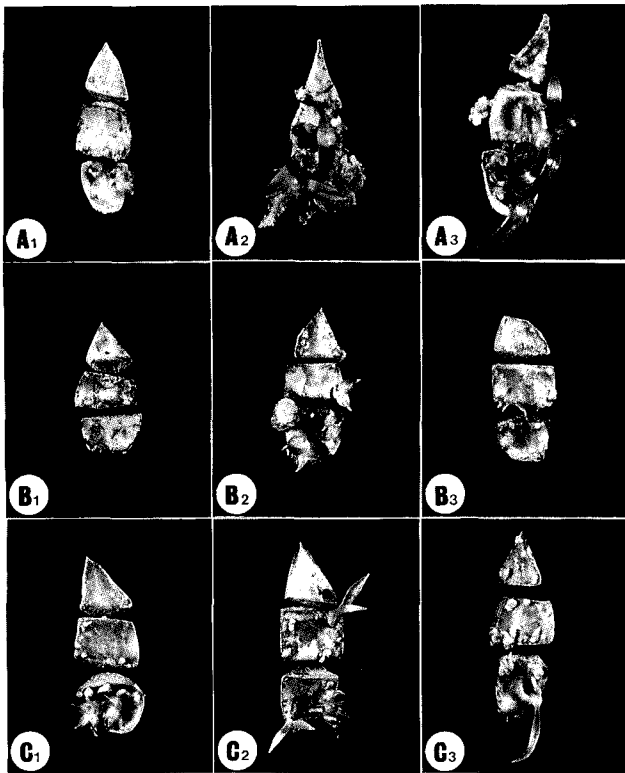


Figure 2. Shoot differentiation from transversely sliced bulb-scale segments of *Lilium longiflorum* bulblets on MS medium supplemented with NAA and BA. Lane A: 0 mg/L BA; B: 0.2 mg/L BA; C: 2.0 mg/L BA. Lane 1: 0 mg/L NAA; 2: 0.2 mg/L NAA; 3: 2 mg/L NAA.

않고 신엽이 계속 분화하는 영양생장만을 하여, 이 처리구는 분화된 유식물체 자구형성에 바람직하지 않은 것으로 생각되었다(Figure 3B3).

종단으로 2등분한 인편을 NAA 대신 IBA를 단독으로 첨가한 배지에서 배양하였을 때의 결과는 Figure 3D-F와 같이 대조구에 비해 유식물체 분화가 양호하였고, 또한 IBA의 농도가 0.1 mg/L와 같이 비교적 낮은 농도에서는 자구비대 및 뿌리분화가 양호하였다. 이에 반해 IBA 1 mg/L에서는 유식물체의 분화가 양적으로는 증가하는 반면 자구비대는 IBA 0.1 mg/L 첨가구에 비하여 지연되는 경향을 보여, 유식물체 분화수를 증가시킬 것인가, 자구형성을 유도할 것인가의 목적에 따라 배지에 첨가하는 IBA나 NAA 등 auxin류의 농도의 범위가 결정되어진다고 할 수 있다.

#### 인편배양 시 자구형성에 미치는 Sucrose의 영향

유식물체분화 효과가 비교적 양호하였던 처리구 가운데 NAA 0.2 mg/L구에서 분화된 식물체를 sucrose농도를 3%와 6%로 달리한 배지에 계대배양한 결과, sucrose 농도가 6%일 때 자구비대가 다소 양호한 경향을 보이고 있으나, 3%

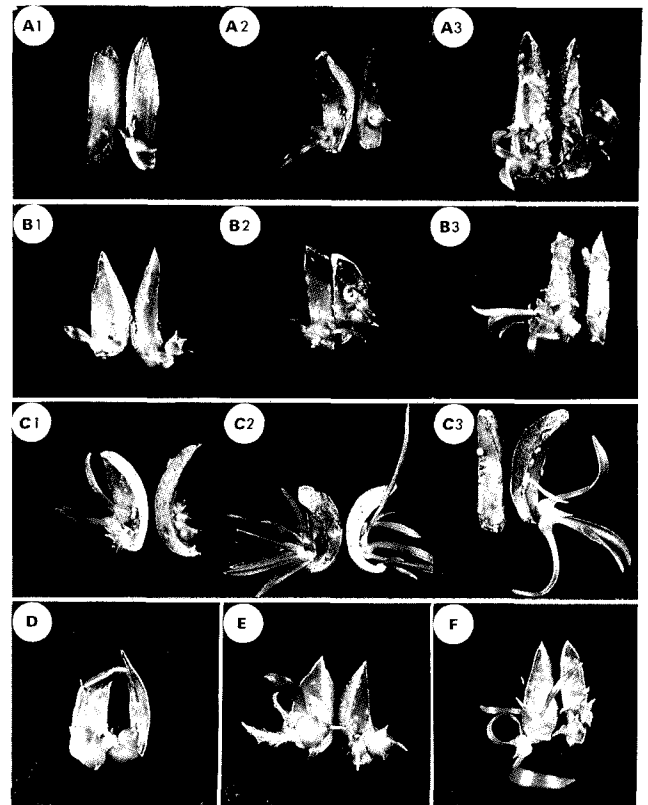


Figure 3. Shoot differentiation from vertically sliced bulb-scale segments of *Lilium longiflorum* bulblets on MS medium supplemented with NAA and BA or IBA alone. Lane A: 0 mg/L BA; B: 0.2 mg/L BA; C: 2.0 mg/L BA. Lane 1: 0 mg/L NAA; 2: 0.2 mg/L NAA; 3: 2 mg/L NAA. Lane D: 0 mg/L IBA; E: 0.1 mg/L IBA; F: 1 mg/L IBA.

농도에서도 어느 정도까지 비대는 가능한 것으로 생각되었다(Figure 4).

## 고 찰

백합 경단배양 시 생장조절제 무첨가구에서 유식물체분화는 가능하나, 생장이 불량하였다(Figure 1). 반면에 인편배양 시 인편조직으로부터 유식물체분화 및 생장은 생장조절제 첨가가 없어도 가능한 것으로 보아(Figure 2, 3, and 4) 저장기관인 인편내부 자체에 이미 새로운 shoot나 자구분화에 필요한 내생물질이 함유되고 있는 것으로 추측을 할 수 있다. 분화 부위에 있어서도 기존의 발표(Furmanova and Oledka, 1981; Grootaarts et al., 1981; Hussey, 1982; Stimart and Asher, 1978)처럼 단축경과의 연접부분에 해당되는 기부에서 분화가 양호하였으나, Figure 2에서 보여 주듯이 횡단으로 3등분하여 배양하여 각 절편조직간의 분화상태를 비교할 경우 하단 절편에서 분화가 가장 양호하였으며, 중단

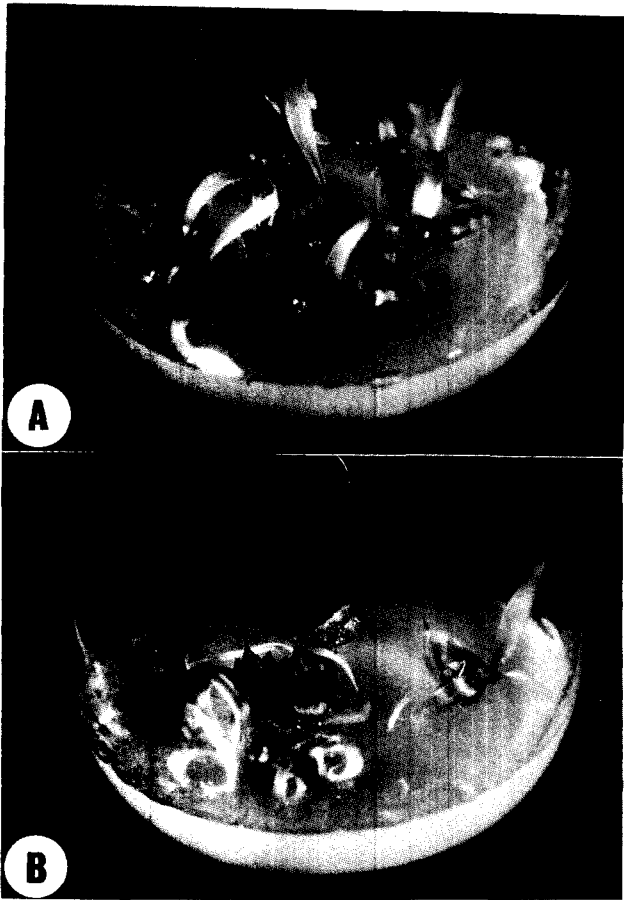


Figure 4. Bulblet formation and growth on MS medium containing 30 (A) or 60 (B) g/L sucrose supplemented with 0.2 mg/L NAA.

부나 상단부 절편에서도 하부에서 분화가 양호한 경향을 보였다. 즉 백합 인편배양에서 기관분화는 단축경과 연결부위에서 분화력뿐만 아니라 각 절편의 하부에서 분화능이 높다는 결과에 따라, 내부 분화능 분포 또는 분화를 유도하는 물질의 이동에 관해서는 앞으로 좀더 상세하게 검토할 필요가 있다고 생각된다.

조직배양으로부터 분화된 유식물체의 생육상태에 있어서, 지속적인 지상부의 영양생장과 자구형성 관계는 처리하는 성장조절제 처리에 의해 변동되는 지는 현재로서는 뚜렷한 결론을 내리기가 어렵지만, 특히 자구형성에 미치는 cytokinin의 영향에 관해서는 좀 더 검토가 요구된다. 구근 작물뿐만 아니라 일반적으로 식물 세포분열이나 유식물체 분화유기에 auxin과 cytokinin의 영향이 큰 것으로 알려지고 있는데, 수선(Hussey, 1982) 및 백합 인편배양(Aartrijk and Blom-Barnhoorn, 1981; Stimart and Ascher, 1978)에서 기관 분화에 저농도의 auxin 영향이 큰 것으로 보고되고 있으며, 또한 다른 몇 가지의 연구결과에 의하면 cytokinin은 그다지 요구되지 않는 것으로 보고되고 있다(Aartrijk and Blom-Barnhoorn, 1981; Furmanova and Oledka, 1981; Hussey,

1976; Hussey, 1982; Stimart and Ascher, 1978). 그러나 본 실험의 결과에서 볼 때, auxin 중에서도 NAA와 IBA의 효과에는 차이를 보이고 있고, 또한 cytokinin의 영향에 관하여도 자구형성보다는 신엽생장에 보다 효과적이라는 결과를 보여주고 있어 이는 기존의 보고들(Hosoki and Asahira, 1980; Hussey, 1977; Kim et al., 1981; Wright and Alderson, 1980)과도 일치하는 경향을 보이고 있다.

자구 형성 및 비대에 있어서 auxin 농도가 저농도일 때 자구의 형성이 촉진된다고 하는 견해가 있듯이(Hosoki and Ascher, 1978), 본 실험에 있어서도 auxin의 농도가 낮을 때에는 확실히 자구형성이 촉진되었지만, NAA 2 mg/L 고농도에서도 자구형성과 신엽발달을 볼 수 있었다. 또한 sucrose 효과에 있어서 고농도 처리에 의해 자구형성 및 비대가 촉진되고(Nishiuchi, 1980; Rice et al., 1983; Takayama and Misawa, 1980; Ziv, 1979), 저농도의 당은 신엽생장을 촉진하며 자구형성 개시를 지연시킨다는 보고(Takayama and Misawa, 1980; Ziv, 1979)가 있으나, 본 실험의 경우 Figure 4에서와 같이 sucrose 3%와 6%간에 현저한 차이를 볼 수는 없었다. 이는 sucrose 3%구에서도 자구형성과 비대가 어느 정도까지는 이루어지기 때문으로 생각되어 진다.

## 적 요

백합 경단 및 인편배양에 있어서 유식물체분화 및 자구형성에 미치는 성장조절제의 효과를 구명하기 위하여 실험을 수행하였다. 백합 경단배양 시 유식물체분화는 NAA 0.1 mg/L 또는 NAA 0.1 mg/L + BA 0.1 mg/L 복합처리구에서 비교적 양호하였으나, 뿌리분화는 성장조절제가 무첨가구가 양호하였다. 인편 조직절편 배양 시 성장조절제 첨가없이도 유식물체분화는 가능하였으나, NAA 0.2 mg/L 처리구에서 가장 양호하였으며, BA 단독처리구에서는 양호하지 못하였다. NAA대신 IBA를 처리할 경우에는 분화된 유식물체의 자구형성을 촉진시켰고, 특히 IBA 0.1 mg/L에서 효과적이었다. NAA 0.2 mg/L를 처리할 때 sucrose 3% 첨가보다 6% 첨가가 자구형성을 촉진시켰다.

사사-이 연구는 1992년도 한국과학재단 연구비 지원(과제번호 921-1500-019-2)에 의한 결과이며 연구비 지원에 감사 드립니다.

## 인 용 문 헌

Aartrijk 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, Rhee EM (1983) In vitro propagation of *Hyacinthus orientalis* L. J Kor Soc Hort Sci 24: 162-168
- Chung, JD, Chun CK, Rhee EM (1984) In vitro propagation of *Hyacinthus orientalis* L.. J Kor Soc Hort Sci 25: 72-79
- Furmanova M, Oledka H (1981) Plant regeneration from excised bulb-scale segments of *Zephyranthes robusta* Baker. Acta Soc Bot Poloniae 50: 399-404
- Grootaarts H, Schel JHN, Pierik RLM (1981) The origin of bulblets formed on excised twin scales of *Nerine bowdenii*. Plant Cell Tissue Organ Culture 1: 39-46
- Hosoki T, Asahira T (1980) In vitro propagation of *Narcissus*. HortScience 15: 602-603
- Hussey G (1976) Plantlet regeneration from callus and parent tissue in *Ornithogalum thyrsoides*. J Exp Bot 27: 375-382
- Hussey G (1977) In vitro propagation of *Gladiolus* by precocious axillary shoot formation. Sci Hort 6: 287-296
- Hussey G (1982) In vitro propagation of *Narcissus*. Ann Bot 49: 707-719
- Kim YJ, Hasegawa PM, Bressan RA (1981) In vitro propagation of hyacinth. HortScience 16: 645-647
- Nishiuchi, Y (1980) Studies on the vegetative propagation of tulip. Regeneration of bulblets in bulb-scale segments cultured in vitro. J Jap Soc Hort Sci 49: 235-240
- Paek KY, Chun CK (1982) In vitro propagation of bulb scale sections of *Lilium longiflorum* Thunb. J Kor Soc Hort Sci 23: 230-239
- Rice RD, Alderson PG, Wright NA (1983) Induction of bulbing of tulip shoot in vitro. Sci Hort 20: 377-390
- Robb SM (1957) The culture of excised tissue from bulb scales of *Lilium speciosum* Thunb. J Exp Bot 8: 348-352
- So IS, Lee CS, Kang IS (1986) Studies for mass propagation of virus free stocks on the *Lilium* plants by using meristem culture techniques. Res Rept RDA (Agri Institutional Cooperation): 63-70
- Stimart DP, Ascher PD (1978) Tissue culture of bulb-scale sections for asexual propagation of *Lilium longiflorum* Thunb. J Amer Soc Hort Sci 103: 182-184
- Takayama S, Missawa M (1980) Differentiation in *Lilium* bulb scales grown in vitro. Effects of activated charcoal, physiological age of bulb, and sucrose concentrations on differentiation and scale-leaf formation in vitro. Physiol Plant 48: 121-125
- Takayama S, Missawa M (1983) A scheme for mass propagation of *Lilium* in vitro. Scientia Hort 18: 353-362
- Wright NA, Alderson PG (1980) The growth of tulip tissues in vitro. Acta Hort 109: 263-270
- Ziv M (1979) Transplanting *Gladiolus* plants propagated in vitro. Sci Hort 11: 257-260

(1995년 1월 27일 접수)