

기내 통기처리에 의한 백합의 생육특성

구대회
원예연구소 초분화학과

Growth Characteristics of Lily by the Treatment of Aeration *in vitro*

GOO, Dae Hoe

National Horticultural Research Institute, RDA, Suwon, 440-310, Korea.

ABSTRACT The effect of Milliwrap and Uniwrap attached to the lid on the growth and acclimation of lily growing *in vitro* was investigated. Milliwrap treatment increased the plant height 1.6 and 1.2 times higher than control in 'Dame Blanche' and '94-36', respectively, plant height of 'Dame Blanche' was 6.1 cm and '94-36' line was 13.4 cm. Two treatments slightly inhibited the fresh weight in 'Dame Blanche', whereas Milliwrap and Uniwrap enhanced the fresh weight more than 30% in '94-36'. Leaf width (1.0 cm) of Milliwrap treatment was most wide, which was 2.5 times higher than that of control. In the fresh weight of bulblets, the fresh weight per bulblet of treatment was higher than control in '94-36', but the number of bulblets per scale were few in the treatment to control. In the air composition of culture vessel, ethylene content (0.03 ppm) was low in the Milliwrap treatment compared with the control. CO₂ content of control was higher than treatments as 0.11% and it was about 3 times to air condition of out side. The acclimation ratio of Milliwrap treatment was higher as 85.1% and control was similar with Uniwrap treatment.

Key words: Aeration, bulblet, CO₂, ethylene, leaf width

서 론

백합은 조직배양에 의한 번식이 쉬운 작물로 '70년대부터 조직배양이 활성화되었다. 초기에는 배양기술 체계확립을 위해서 시도되었으나 최근에는 기내 대량증식 및 바이러스 무병주 생산을 목적으로 하고 있다. 그러나 일반적으로 식물을 조직배양에 의해 대량번식 시킬 때 식물체의 생육시 발생하는 가스 (Kim et al. 1989), Cl⁻ 및 NH₄⁺ 이온의 과다, auxin 또는 cytokinin 함량의 과다, 배양용기의 마개 종류에 따른 증산속도, 배양용기 내의 과습 등의 요인에 의해 식물체가 약해지거나 투명화가 일어나는 요인으로 지적되고 있다 (Debergh et al. 1981; Kevers et al. 1984; Kim and Byun 1988). 이러한 현상은 목본류 및 다른 초본류에서도 일어난다 (Arnold and Eriksson 1984). 백합을 포함한 구근류 조

직배양시에도 (Kim and Hertogh 1997) 배양시 첨가되는 당, 생장조절물질에 의한 효소활성의 변화 (Goo and Kim 1994; 1995; Kim et al. 1988; 1991)에 의해서 생육이 많이 좌우될 것으로 생각되지만 아직 통기여부에 대한 연구는 그리 많지 않으며, 광조건하의 충분한 CO₂량은 *Stactis* 유식물체의 생장을 촉진하고 (Kozai et al. 1987), 배양용기내의 미기상 즉 CO₂, O₂ 및 ethylene의 비율은 식물생육에 막대한 영향을 미치며, 배양용기 내외의 공기교환은 ethylene가스를 배출시키는 가장 좋은 방법이라고 하였다 (Fusiwara and Kozai 1995). 백합 조직배양시에도 밀폐된 배양용기내의 높은 습도 조건하에서 배양되므로 공기순환이 억제되어 많은 량의 ethylene이 발생되어 식물이 정상적으로 생육 할 수 없을 것으로 생각되나 배양용기 내의 미기상 변화와 이에 따른 백합의 생육에 대해서는 알려져 있지 않다. 따라서 본 연구는 통기처리에 의한 백합의 생육반응을 구명코자 하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 배양조건

공시재료는 oriental계통의 백합 'Dame Blanche' 품종과 asiatic hybrid인 '94-36' 계통을 이용하였다. 기본배지는 MS (Murashige and Skoog 1962) 배지를 이용하였으며, '94-36' 계통의 배양시에는 기본배지에 NAA와 kinetin을 0.1 mg/L 첨가하였으며 배양환경은 일장 16시간, 온도 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 및 조도 4,000 lux로 하였다. 배양용기는 350 mL용 삼각플라스크를 이용하였고, 용기내의 통기를 위해서 대조구는 Aluminium foil로 뚜껑을 막았고 Milliwrap (pore size 0.2 μm , Millipore) 및 Uniwrap (염화비닐수지, 서통) 처리구는 Aluminium foil 뚜껑에 직경 1cm의 구멍을 뚫고 거기에 공기를 통과시킬 수 있는 Milliwrap과 시판용 Uniwrap을 멸균용 테이프로 부착시켰다. 배양실내 공기는 에어컨디셔너를 이용하여 강제순환시켰다. 생육특성은 인편배양 후 3개월 만에 조사하였다. 기내배양 2개월된 'Dame Blanche' 품종을 배양 초기에 인편엽이 있는 상태로 온실에 배양토를 담은 파종상자에 옮겨 한달 후 고사주수를 총 재식주수로 나누어 순화율을 조사하였다.

배양용기내의 CO₂ 및 ethylene 함량 측정

배양용기내의 가스함량 측정은 배양용기의 뚜껑에 물방울을 떨어뜨려 1 mL syringe로 물방울을 통과시켜 외부공기가 syringe구멍으로 들어가지 못하게 하면서 배양병을 흔들어서 배양용기내의 공기를 채취하였으며, 채취는 오후 2시경에 하였다. 배양실내의 공기도 동일한 량을 취하여 분석하였다. 분석은 가스크로마토그래피 (varian 3400)로 CO₂ (detector: TCD, column: activated charcoal 60/80 mesh, detector temp.: 150°C , column temp.: 110°C , carrier gas: He)와 ethylene (detector: FID, column: active alumina 60/80 mesh, detector temp.: 150°C , column temp.: 110°C , carrier gas: He)을 분석하였다.

결과 및 고찰

백합 조직배양시 기존 사용하고 있는 Aluminium foil에 Milliwrap이나 시판용 Uniwrap을 부착함으로써 공기유통이 백합의 생육 및 순화에 미치는 효과를 구명하고자 시험한 결과, 기내 배양 백합의 초장 및 생체중은 'Dame Blanche'의 경우 Milliwrap 처리구에서 초장 6.1 cm로 대조구 3.9 cm에 비하여 2.2 cm 더 길었고 생체중은 처리구가 대조구에 비하여 다소 낮았다 (Table 1). '94-36' 계통에서 초장은 두 처리구 공히 대조구보다 컸으며 생체중도 대조구보다 높았다. 이

Table 1. The effect of various covering materials on plant height and fresh weight of lily *in vitro*. Data were collected three months after culture.

Treatment	Dame Blanche		94-36	
	Plant height (cm)	Fresh wt (g)	Plant height (cm)	Fresh wt (g)
Aluminium foil	3.9 ± 0.96^a	3.6 ± 0.49	11.1 ± 0.73	2.5 ± 0.24
Milliwrap	6.1 ± 0.95	3.2 ± 0.46	13.4 ± 0.58	3.3 ± 0.29
Uniwrap	3.4 ± 0.71	3.5 ± 0.32	12.4 ± 1.38	3.8 ± 0.54

^aMean values \pm standard error of 10 replications.

처럼 초장이 Milliwrap 처리구에서 높게 나타난 것은 Milliwrap 처리구가 공기의 유통이 원활하여 기내에서 발생한 ethylene 가스는 기외로 배출하고 광합성 및 호흡에 필요한 CO₂ 및 O₂ 가스는 기내로 순환되어 생장에 촉진적 역할을 한 것으로 생각되며 이러한 결과는 광조건하의 풍부한 CO₂ 함량은 *Stative*의 생장을 촉진한다는 연구 (Kozai et al. 1987)와 유사한 경향이였다. 또 '94-36' 계통에서 처리구가 대조구에 비하여 생체중이 증가하였으나 'Dame Blanche'가 대조구에 비하여 처리구 생체중이 다소 낮은 것은 배양후 3개월만에 조사하였으므로 asiatic계통인 '94-36'은 구비대가 거의 완료되었으나 oriental계통인 'Dame Blanche'는 4개월 이상되어야 구비대가 완성되는 관계로 구비대는 대조구에 비하여 다소 떨어진 것으로 생각되었다. 엽수는 'Dame Blanche'의 경우 4매 정도로 비슷하였으나 '94-36' 계통에서는 Uniwrap 처리구가 21.8매로 대조구 18.1매에 비하여 많았고 엽폭은 'Dame Blanche', '94-36' 공히 처리구에서 더 높게 나타났으며, 특히 'Dame Blanche'의 경우 대조구 0.4 cm에 비하여 Milliwrap 처리구 1.0 cm로 약 2.5배 정도 넓었다 (Figure 1). 이처럼 처리구에서 잎이 넓은 이유는 대조구에서 과습 등의 요인에 의해 식물이 정상생육을 못하고 도장하거나 연약하게 되는데 비하여 통기처리한 구에서는 식물이 정상생육이 가능하여 완전한 잎의 전개가 이루어진 것으로 판단되었다 (Figure 2). 이러한 것은 배양용기의 마개 종류에 따라 배양용기내의 과습 등의 요인에 의해 식물체가 약해지거나 투명화가 일어난다는 Debergh (1981) 등의 연구와 비슷한 경향이였다. 뿐만 아니라 기내에 많이 축적되어 있는 ethylene 가스는 형태형성 즉 잎의 전개에 부의 영향을 미친다는 보고와 일치하는 (Jackson et al. 1991; Hussey and Stacey 1981) 것으로 생각되었다.

통기처리가 기내 소인경 형성 및 발달에 미치는 영향은, 'Dame Blanche' 기내 소인경 생체중의 경우 대조구와 Milliwrap 처리구는 비슷하였고 Uniwrap 처리구는 282.4 mg으로 다소 작았다. 소인경의 수도 대조구 6.0개에 비하여 처리구가 3.4~3.5개로 적었다. Milliwrap 처리구에서 처럼 소인경의 수가 대조구보다 적은데도 생체중이 비슷한 것은 대조구에서 크기가 작은 소인경이 많이 생긴다는 것을 알 수 있었고, 처리구에서는 대조구보다 형성수는 적지만 크기가 큰

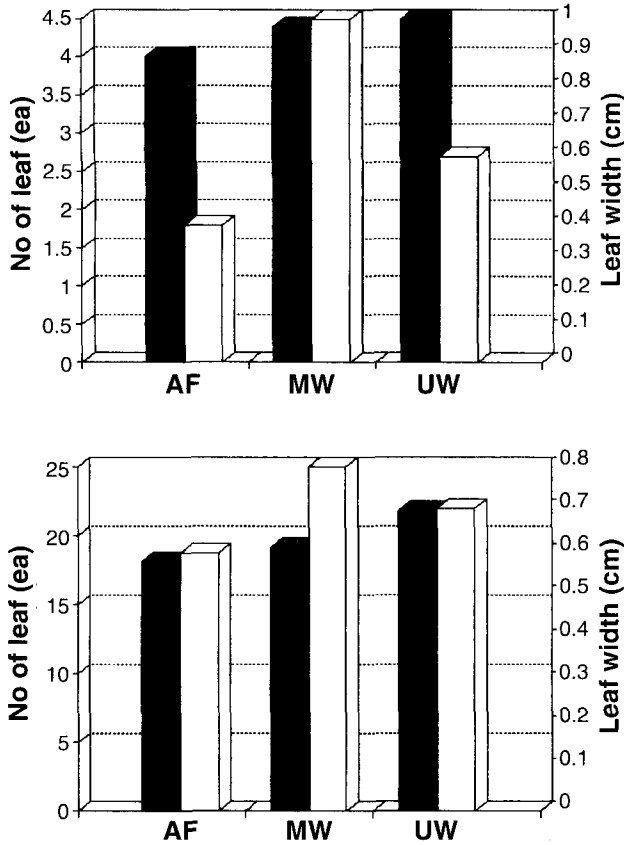


Figure 1. Number of leaves (■) and leaf width (□) by the treatment of Milliwrap (MW), Uniwrap (UW) and untreated Aluminium foil (AF) in 'Dame Blanche' (up) and '94-36' (down).



Figure 2. Change of leaf shape and width treated with Milliwrap (left) and Aluminium foil (right) in lily 'Dame Blanche' cultivar.

소인경이 형성됨을 알 수 있었다. '94-36' 계통에서 소인경 형성수는 'Dame Blanche'와 같은 경향이었으나 생체중은 대조구 95.1 mg에 비하여 Milliwrap처리구는 185.5 mg으로 월등히 높았다 (Table 2).

통기처리에 따른 'Dame Blanche' 품종 배양용기내의 공기 조성을 가스크로마토그래피로 분석해 본 결과, Aluminium foil은 CO₂가 0.11%, ethylene은 0.32 ppm, Milliwrap처리구에서는 CO₂ 0.06%, ethylene 0.03 ppm이었고 이는 배양실내의 공기 조성 (CO₂ 0.07%, ethylene 0.02 ppm)과 같아 배양용기 내외의 공기유통이 잘 됨을 알 수 있었다. Uniwrap처리구에서는 CO₂ 0.04%, ethylene 0.24 ppm이었다. 이처럼 Aluminium foil처리가 공기의 유통이 가장 나빠 CO₂ 및 ethylene 가스가 가장 많았고 Milliwrap처리구는 두종류의 가스 함량이 모두 적어 공기의 교환이 가장 잘 되고 있음을 알 수 있었다. 이러한 공기의 유통이 CO₂를 받아 들이고 ethylene가스를 배출시킴으로서 배양용기내의 식물체가 정상적인 생육이 가능한 것으로 판단되었고 (Figure 3), 배양실내의 CO₂함량 0.07%, ethylene함량 0.02 ppm으로 CO₂함량은 일반대기중의 0.03%보다 2배이상 이었으며 ethylene가스도 상당히 많이 존재하였다. 이는 배양용기로부터 가스가 배양실로 이동됨을 알 수 있었다 (Table 3). 따라서 Milliwrap을 부착함으로써 생육에 해로운 ethylene가스를 밖으로 배출하고 CO₂ 및 O₂를 기내로 유입시켜 배양식물을 자연상태와 비슷한 환경에서 생육시킴으로써 순화도 용이하여 'Dame Blanche'의 유식물체를 온실에 순화시킨 결과, Aluminium foil (62.0%) 및 Uniwrap처리구 (67.3%)보다 Milliwrap 처리구가 순화율 85.1%로 높았다 (Table 4).

이상의 결과로 배양용기내 공기의 교환으로 인한 미세기상을 변화시켜 줌으로써 백합 유식물체의 엽폭이 넓어지고 구중이 증가하는 등의 정상생육이 가능하였다. 그러나 구중의 경우 백합의 종류 및 품종에 따라 차이가 있는 것으로 생각되었다.

적 요

백합 'Dame Blanche', '94-36' 조직배양시 배양용기 뚜껑에 Milliwrap 및 시판용 Uniwrap을 부착한 통기처리가 생육

Table 2. The effect of Milliwrap and Uniwrap on bulblet fresh weight and bulblet numbers of lily *in vitro*. Data were collected three months after culture.

Treatment	Dame Blanche		94-36	
	Fresh wt / bulblet (mg)	No. of bulblets / scale	Fresh wt / bulblet (mg)	No. of bulblets / scale
Aluminium foil	388.8 ± 10.83 ^a	6.0 ± 1.00	95.1 ± 10.16	4.3 ± 0.48
Milliwrap	363.8 ± 12.14	3.4 ± 0.38	185.5 ± 13.85	3.8 ± 0.33
Uniwrap	282.4 ± 11.35	3.5 ± 0.45	116.7 ± 12.07	3.6 ± 0.46

^aMean values ± standard error of 10 replications.

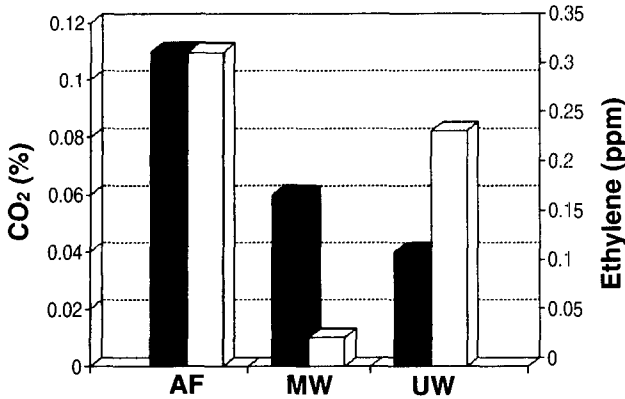


Figure 3. CO₂ (■) and ethylene (□) concentration of culture vessel by the treatment of Milliwarp (MW), Uniwrap (UW) and untreated Aluminium foil (AF) in lily 'Dame Blanche' cultivar.

Table 3. The content of CO₂ and ethylene gas of tissue culture room.

	Content of gas	
	CO ₂ (%)	Ethylene (ppm)
Tissue culture room	0.07	0.02

Table 4. The effect of Milliwarp and Uniwrap on acclimation ratio of lily 'Dame Blanche' in a greenhouse.

Treatment	Acclimation ratio (%)
Aluminium foil	62.0
Milliwarp	85.1
Uniwrap	67.3

및 순화에 미치는 영향을 검토한 결과, 초장은 대조구에 비하여 Milliwarp처리구가 가장 컸고 'Dame Blanche'가 1.6배, '94-36'은 1.2배였으며 생체중은 'Dame Blanche'의 경우 처리구가 대조구에 비하여 낮았고 '94-36'은 처리구가 대조구보다 30%이상 높았다. 엽폭도 Milliwarp처리구에서 가장 넓게 나타났으며 'Dame Blanche'의 경우 1.0 cm였고 대조구 0.4 cm에 비하여 2.5배였다. 소인경의 경우 대조구에 비해 처리구가 형성수는 적었지만 '94-36'의 경우 소인경 한 개의 무게는 처리구에서 더 무거웠다. 배양용기내 공기조성 중 ethylene은 Milliwarp처리구에서 0.03 ppm으로 가장 낮았고, 대조구가 0.32 ppm으로 가장 높았으며, 이산화탄소 함량도 대조구에서 0.11%로 가장 높았으며 이는 일반 공기 0.03%의 3배 정도였다. 순화율도 Milliwarp처리구에서 85.1%로 가장 높았으며 대조구와 Uniwrap처리구에서는 비슷하였다.

인용문헌

Arnold S, Eriksson T (1984) Effect of agar concentration on grow and anatomy of adventitious shoots of *Picea abies*. *Plant Cell Tiss Org Cult* 3: 257-264.

Debergh PC, Harbaoui R, Lemeur R (1981) Mass propagation of globe artichoke (*Cynara scolymus*): Evaluation of different hyposes to overcome vitrification with special reference to water potential. *Physiol Plant* 53: 181-187

Fusiwara K, Kozai T (1995) Physical microenvironment and its effects. In : Aitken-Christie J, Kozai T, Lila Smith MA(eds), *Automation and environmental control in plant tissue culture*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, pp 319-369

Goo DH, Kim KW (1994) Influence of sucrose, ABA and daylength on cornlet formation of gladiolus *in vitro*: Histological observation. *J Kor Soc Hort Sci* 35: 400-405

Goo DH, Kim KW (1995) Peroxidase activity in callus, plantlets, and cornlets of gladiolus. *J Kor Soc Hort Sci* 36: 863-869

Hussey G, Stacey NJ (1981) *In vitro* propagation of potato (*Solanum tuberosum* L.) *Ann Bot* 48: 787-796

Jackson MB, Abbott AJ, Belcher AR, Hall KC, Butler R, Cameron J (1991) Ventilation in plant tissue cultures and effects of poor aeration on ethylene and carbon dioxide accumulation, oxygen depletion and explant development. *Ann Bot* 67: 229-237

Kevers CM, Coumans MF, Coumans G, Gaspar T (1984) Physiological and biochemical events leading to vitrification of plants cultured *in vitro*. *Physiol Plant* 61: 69-74

Kim KW, Byun MS (1988) Physiological and morphological characteristics of glaucous and vitreous carnation plantlets obtained *in vitro*. *J Kor Soc Hort Sci* 61: 69-74

Kim KW, Byun MS, Kang MS (1988) Effects of ABA and agar preventing vitrification in carnation plantlets cultured *in vitro*. *J Kor Soc Hort Sci* 29: 208-215

Kim KW, Hertogh AA (1997) Tissue culture of ornamental flowering bulbs (geophytes). *Hort Rev* 18: 87-169

Kim KW, Kang MS, Goo DH (1991) External and histological characteristics of organogenesis from gladiolus callus. *J Kor Soc Hort Sci* 32: 125-130

Kim KW, Paek KY, Chung ST, Chung JD (1989) Plant growth regulators theory and practice in agriculture. Yeungnam Univ. Press, pp 170-199

Kozai T, Iwanami Y, Fujiwara K (1987) Environmental control for masspropagation of tissue cultured plantlets (1) Effect of CO₂ enrichment on the plantlet growth during the multiplication stage. *Plant Tiss Cult Lett* 4: 22-26

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497