

# 액체배지 첨가시 sucrose 및 MS 염류가 *Lilium* Oriental Hybrid 'Casa Blanca' 의 기내 자구비대에 미치는 영향

한봉희\* · 예병우 · 백기엽<sup>1</sup> · 염미란<sup>1</sup>

원예연구소, <sup>1</sup>충북대학교 원예학과 첨단원예기술개발연구센터

## Effects of sucrose and MS salts in the addition of liquid medium on in vitro bulblet growth of *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca'

HAN, Bong Hee\* · YAE, Byeoung Woo · PAEK, Kee Yoeup<sup>1</sup> · LIAN, Meilan<sup>1</sup>

Hort. Res. Ins. RDA, Suwon, 440-310, Korea

<sup>1</sup>Res. Center for the Development of Advanced Hort. Tech., Chungbuk Univ. Cheongju, 361-763, Korea

**ABSTRACT** The effects of post-cultural addition of liquid medium addition to stimulate in vitro bulblet growth in *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca' were investigated. The sections of bulblets with swollen basal plate (7 mm × 12 mm) were cultured on medium containing 60 g/L sucrose and 1 g/L activated charcoal for two months in dark, and then, liquid medium was added into the same vessels. The addition of liquid medium stimulated the growth of bulblets remarkably, compared to no addition of liquid medium. The liquid medium supplemented with 120 g/L sucrose and double strength of MS salts were the most effective on the growth of in vitro bulblets.

**Key words:** MS salt, sucrose concentration

### 서 론

나리는 국내 꽃 시장에서 4대 절화에 속하며 세계적으로 나리의 선호도는 매우 높은 편으로 외국시장에 수출전망이 좋은 품목 중 하나로 평가되고 있다. 최근 국내의 나리 재배 면적은 크게 증가하고 있으나 구근 생산량은 수요에 미치지 못해 대부분 수입에 의존하고 있는 실정이다 (Ministry of Agriculture and Forest 1999). 나리는 일반적으로 인편 및 조지배양에 의하여 번식되고 있으며 (Stimart and Ascher 1978), 조직배양에 의한 나리의 번식은 인편에서 부정자구를 직접 형성하는 인편배양 방법이 많이 사용되고 있다 (Han et al. 1999a). 그러나, 기내 인편배양에 의한 나리의 증식은 절편당 증식되는 자구수가 적고 (Niimi and Onozawa 1977;

Han et al. 1999a), 생성된 자구가 작으며, 자구가 충분히 성숙하기까지는 3~4개월 (Niimi, 1984; Takayama and Misawa, 1979)의 긴 기간이 소요된다. 조직배양에서 생산된 자구의 크기는 이식 후 포장에서 자구의 비대 및 경출엽의 발생과 밀접한 연관이 있으며 이것은 구근 생산량을 증가시킨다 (Yae et al. 2001; Van Tuyl 1988). 그러나 자구의 크기를 증가시키기 위하여 형성된 자구를 새로운 배지에 이식하면 생산비가 상승하는 단점이 있다. Maene와 Debergh (1985)는 새로운 배지에 식물조직을 이식하는 대신에 이미 확립된 배양체에 액체배지를 첨가하면 식물조직배양에서 인건비를 줄일 수 있고 식물체의 신장 및 발근을 촉진시킨다고 보고하였다.

따라서 본 연구는 액체배지 첨가방법을 나리비대에 적용하여 기내에서 생산되고 있는 자구의 크기를 증가시키기 위하여 실시하였다.

\*Corresponding author. Tel 031-240-3419 Fax 031-240-3683

E-mail bhhan@rda.go.kr

재료 및 방법

실험재료

*L. oriental hybrid* 'Casa Blanca'를 실험재료로 사용하였으며 저반부가 비대된 자구 절편체 (7 mm×15 mm)를 MS 기본배지 (Murashige and Skoog 1962)에 활성탄 1 g/L, sucrose 60 g/L가 첨가된 배지에서 2개월간 암배양하여 자구를 비대시킨 다음 (Han et al. 1999b), 동일용기에 액체배지를 첨가하여 8주간 배양하였다.

액체배지 첨가

MS 기본배지에 활성탄 1 g/L과 sucrose 60 g/L가 첨가된 배지를 450 mL 배양병 (삼광병유리)에 80 mL씩 분주하고 자구절편체를 배양병당 13개씩 배양하여 배양병 4개로 4반복하였다. 액체배지는 액체배지의 용량실험을 제외하고는 모두 15 mL씩 시험관에 분주하여 첨가하였다. 첨가되는 배지의 sucrose 및 MS 염류농도, 첨가되는 액체배지의 양이 자구의 비대촉진에 미치는 영향을 조사하기 위하여 sucrose는 30~150 g/L 농도로 첨가하였고, MS 염류는 다량, 다량+미량, 다량+미량+비타민이 첨가된 배지로 나누어 첨가하였으며, MS 배지의 농도를 1/2~2배까지 달리하여 MS 배지의 농도가 자구비대에 미치는 영향도 조사하였다. 또한 첨가되는 액체배지의 양을 배양병 (450 mL)당 10~30 mL까지 첨가하여 자구비대 촉진에 적절한 첨가배지량도 조사하였다.

액체배지의 조제 및 배양

액체배지는 pH 5.8로 조절한 후, 시험관에 분주하여 121°C (1.2 kg/cm<sup>2</sup>)에서 15분간 고압멸균하여 첨가하였으며, 조사는 액체배지를 첨가한 다음 8주 후에 자구수, 자구무게, 자구직경 등을 조사하였고, 배양은 25±1°C로 조절되는 배양실에서 암상태로 정치배양하였다.

결과 및 고찰

MS 기본배지에 활성탄 1 g/L과 sucrose 60 g/L가 첨가된 배지에서 저반부가 비대된 자구절편체를 2개월간 배양한 후에 sucrose가 첨가된 배지 15 mL를 첨가하였다. 배지 첨가 8주 후 자구수는 sucrose의 농도에 따라 일정한 경향을 나타내지 않았으나, 자구무게는 sucrose 90~150 g/L 첨가구에서 현저하게 증가하였으며, 자구직경은 sucrose 120 g/L를 첨가한 처리구가 가장 높았다. 따라서 나리 비대촉진을 위하여 액체배지를 첨가할 때 sucrose 농도는 120 g/L가 적절하다고 생각되었다 (Table 1). Van Aartrijk와 Blom-Barnhoorn (1980)은 *L. speciosum* 'Rubrum'의 인편배양에서 당은 식물체의 전분축적을 위한 중요한 탄수화물 급원이기 때문에 자구형성 및 비대에 필수적인 요소라고 입증하였다. Takyama와 Misawa (1979)는 *L. auratum*과 *L. speciosum*의 배양에서 MS배지에서 당농도가 증가할수록 자구무게도 비례하여 증가하였으며 9% 또는 12%의 당이 첨가된 배지에서 최대의 생육을 얻을 수 있었지만 자구수는 차이를 나타내지 않았다고 보고하였다. 본 실험에서는 처음 고농도의 sucrose 배지에서 자구를 비대시키지 않고 액체배지를 첨가한 것은 다르지만 액체배지의 sucrose가 90~150 g/L의 고농도에서 자구비대가 현저하게 촉진되어 이들의 결과와 매우 유사하였다.

Sucrose 120 g/L가 첨가된 배지에 MS 염류를 달리하여 배지에 첨가한 결과, 배양 8주 후에 배지첨가를 하지 않은 처리구에서는 자구무게가 912 mg, 자구직경이 8.6 mm로 자구가 작았으나, MS 다량 및 미량요소, 비타민을 모두 첨가한 처리구에서는 자구수가 2.4개, 자구무게 1,323 mg, 자구직경 12.3 mm의 큰 자구가 생산되었다. 또한 생체중에 대한 건물중의 비율도 24%로 가장 양호하였다 (Table 2). 따라서 나리 'Casa Blanca'의 자구비대를 위한 액체배지에는 MS 염류 및 비타민 모두를 첨가하는 것이 효과적이었다. Han 등 (1999a)은 *L. oriental hybrid* 'Casa Blanca' 인편배양에서 MS 배지의 염류를 변화시키기보다는 MS 기본배지를 사용하는 것이 자구의 형성과 비대에 양호하였다고 보고하여 본 실험과 일

**Table 1.** Effect of sucrose contained in the addition of liquid medium on the bulblet growth of *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca' after 8 weeks in medium addition.

Sucrose (g/L)	No. of bulblets /explant	Fresh wt. (mg) of bulblets /explant	Bulblet diameter (mm)	Dry wt./Fresh wt. (%)
Control <sup>a</sup>	1.6 ab <sup>b</sup>	543 b	6.9 b	18.4 ab
30	2.3 a	853 ab	7.1 b	17.7 b
60	1.6 ab	801 ab	8.0 b	19.0 ab
90	2.5 a	1,144 a	8.2 b	19.9 ab
120	1.2 b	1,228 a	11.0 a	19.5 ab
150	2.5 a	1,185 a	7.9 b	20.7 a

<sup>a</sup>Control means no addition of liquid medium.

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

**Table 2.** Effect of MS salts in the addition of liquid medium on the bulblet growth of *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca' after 8 weeks in medium addition<sup>a</sup>.

MS salts	No. of bulblets /explant	Fresh wt. (mg) of bulblets /explant	Bulblet diameter (mm)	Dry wt./Fresh wt. (%)
Control <sup>b</sup>	1.5 b <sup>c</sup>	912 b	8.6 a	21.0 c
Macro elements	1.6 b	1,149 ab	9.6 a	21.7 bc
Macro and micro elements	2.8 a	1,238 a	7.4 a	22.8 ab
Macro and micro elements, and vitamins	2.4 ab	1,323 a	12.3 a	24.0 a

<sup>a</sup>The liquid media were contained 120 g/L sucrose.<sup>b</sup>Control means no addition of liquid medium.<sup>c</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.**Table 3.** Effect of MS salt concentrations in the addition of liquid medium on the bulblet growth of *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca' after 8 weeks in medium addition<sup>a</sup>.

MS salt concentration	No. of bulblets /explant	Fresh wt. (mg) of bulblets /explant	Bulblet diameter (mm)	Dry wt./Fresh wt. (%)
Control <sup>b</sup>	2.8 a <sup>c</sup>	711 c	6.0 a	18.6 b
1/2x	2.2 a	943 b	7.8 a	19.9 ab
1x	1.8 a	923 bc	8.1 a	20.6 a
2x	2.6 a	1,187 a	6.5 a	21.5 a

<sup>a</sup>The liquid media were contained 120 g/L sucrose.<sup>b</sup>Control means no addition of liquid medium.<sup>c</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.**Table 4.** Effect of liquid medium volumes in the addition of liquid medium on the bulblet growth of *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca' after 8 weeks in medium addition<sup>a</sup>.

Liquid medium volume (mL)	No. of bulblets /explant	Fresh wt. (mg) of bulblets /explant	Bulblet diameter (mm)	Dry wt./Fresh wt. (%)
Control <sup>b</sup>	2.6 a <sup>c</sup>	639 d	7.3 ab	19.3 ab
10	2.7 a	993 c	6.7 bc	17.7 b
15	1.7 b	1,024 c	7.8 a	16.9 b
20	3.1 a	1,276 ab	6.4 bc	19.2 ab
25	3.1 a	1,440 a	7.3 ab	20.5 a
30	2.9 a	1,370 a	5.9 c	16.9 b

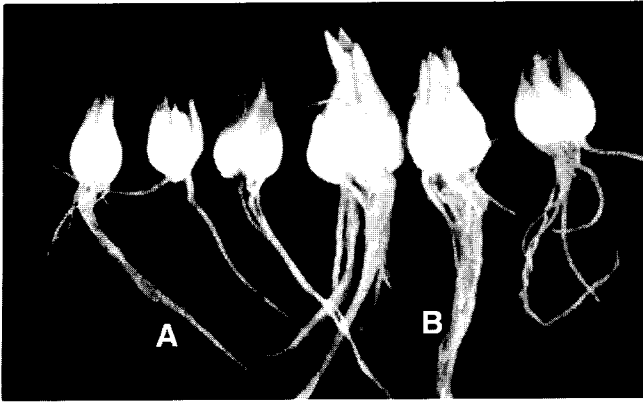
<sup>a</sup>The liquid media were contained MS salts and 120 g/L sucrose.<sup>b</sup>Control means no addition of any liquid medium.<sup>c</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

치하였다.

Table 2에서 액체배지 첨가시 MS 염류를 모두 첨가하는 것이 효과적이라 생각되어 MS 염류 농도를 달리하여 배지 첨가하였다. 배지 첨가 8주 후 자구수와 자구직경은 MS 농도 간에 차이를 나타내지 않았으나 자구무게 및 생체중에 대한 건물중의 비율이 2배 MS 염류를 첨가한 처리구에서 가장 높았다 (Table 3). Takayama와 Misawa (1979)는 *L. auratum* Lindl.의 인편배양에서 MS 배지의 2배 염류농도까지 인편에서 분화된 자구수와 자구의 무게는 MS 배지의 염류농도가 높아질수록 증가한다고 하였으며, Han 등 (1999a)은 *L. oriental* hybrid 'Casa Blanca' 배양에서 1/2~2배 MS 염류

농도 사이에서 자구수는 차이를 나타내지 않았으나 자구무게는 1/2 MS 염류농도보다는 1~2배 MS 염류농도에서 증가하였다고 하였다. 본 실험에서도 이와 유사하게 2배 MS 염류농도를 첨가하는 것이 자구비대에 가장 효과적이었다.

첨가되는 액체배지의 용량을 달리하여 배지첨가를 실시하였다. 자구수에 있어서는 15 mL 첨가구를 제외하고 용량에 따라 차이를 나타내지 않았으나 자구무게에 있어서는 20~30 mL 첨가에서 가장 무거웠다. 생체중에 대한 건물중의 비율은 25 mL를 첨가한 처리구에서 가장 높아 전반적으로 액체배지 25 mL를 첨가하는 것이 자구비대에 효과적이었다 (Table 4) (Figure 1).



**Figure 1.** Comparison of bulblets produced by the addition of liquid medium (B) and no addition of liquid medium (A).

이상의 결과를 종합하면 MS 기본배지에 활성탄 1 g/L과 sucrose 60 g/L가 첨가된 배지에서 저반부가 비대된 자구절편체를 2개월간 배양한 후에 액체배지를 동일용기에 첨가하면 자구비대가 현저하게 촉진되며, 액체배지는 MS 배지의 2배 염류농도에 sucrose 120 g/L가 첨가된 배지 25 mL를 첨가하는 것이 효과적이었다.

## 적 요

액체배지 첨가가 *L. oriental hybrid 'Casa Blanca'*의 자구비대 촉진에 미치는 영향을 조사하였다. MS 기본배지에 활성탄 1 g/L과 sucrose 60 g/L가 첨가된 배지에서 저반부가 비대된 자구절편체 (7 mm×12 mm)를 2개월간 암배양한 후에 액체배지를 동일용기에 첨가하여 자구비대를 현저하게 촉진시켰다. 첨가된 액체배지는 2배의 MS 배지 염류농도에 sucrose 120 g/L가 첨가된 배지 25 mL를 첨가하는 것이 자구비대에 효과적이었다.

사사-본 논문은 과학기술부 특정연구개발 사업의 연구비 지원에 의하여 수행된 연구결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

## 인용문헌

Han BH, Yae BW, Goo DH, Ko JY (1999a) Effect of inorganic salts

in MS medium, sucrose, and activated charcoal on bulblet formation from in vitro bulbscales in *Lilium Oriental Hybrid 'Casa Blanca'*. Kor J Plant Tiss Cult 26:103-107

Han BH, Yae BW, Goo DH, Ko JY (1999b) The formation and growth of bulblets from bulblet sections with swollen basal plate in *Lilium oriental hybrid 'Casa Blanca'*. J Kor Soc Hort Sci 40:747-750.

Maene L, Debergh P (1985) Liquid medium additions to established tissue cultures to improve elongation and rooting in vitro. Plant Cell Tiss Organ Cult 5:23-33.

Ministry of Agriculture and Forest (1999) '99 floriculture situation. pp. 10-11 and p. 189

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

Niimi Y (1984) Effect of  $\alpha$ -naphthalenacetic acid and 6-benzylaminopurine on the development of excised-bulbs (*Lilium rubellum Baker*) cultured in vitro both in diffused light and in continuous darkness, and the leaf emergence from the bulbs in vivo. J Jap Soc Hort Sci 53:59-65

Niimi Y, Onozawa T (1977) Vegetative propagation of *L. rubellum* Barker; Comparison of bulblet formation between scaling and scale segment cultured in vitro. Abstracts Fall Meeting. Jap Soc Hort Sci, pp. 348-349

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

Van Aartrijk J, Blom-Barnhoorn GJ (1980) Effect of sucrose, mineral salts, and some organic substances on the adventitious regulation in vitro of plantlets from bulb-scale tissue of *Lilium speciosm 'Rubrum'*. Acta Hort 109:297-301

Van Tuyl JM (1988) Dutch-grown *Lilium longiflorum* a reality. The Lily Yearbook of the NALS 41:33-37

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 7월 15일)