

몇 가지 나리 품종의 기내배양에서 배지의 물리성이 자구증식 및 순화에 미치는 영향

손병구* · 강점순 · 이용재 · 최영환

밀양대학교 원예학과

Effects of Physiological Properties in Culture media on the Proliferation and the Acclimation of Bulblets of Lilies Cultured *in vitro*

Beung-Gu Son*, Jum-Soon Kang, Yong-Jae Lee and Young-Whan Choi

Dept. of Horticulture, Miryang National University, Miryang 627-702, Korea

Abstract

This experiment was conducted to clarify the effects of physiological properties in culture media on the proliferation and the acclimation of bulblets of several kinds of lilies cultured *in vitro*. Proliferation rate of bulblets from bulblet of *Oriental hybrid* 'Marco Polo', 'Casa Blanca' and *Asiatic hybrid* 'Jolanda' was higher in solid MS media compared with bulblets from scale. Acclimation rate of regenerated bulblets was high in solid media which was pre-cultured *in vitro*, compared with liquid media. Sprouting rate of bulblets from bulblet was higher than bulblets from scale.

Key words – physiological property, proliferation, bulblet, scale

서 론

기내에서 대량증식은 주로 유식물체로부터 다수의 부정아를 유도하거나, 액아나 측지의 발생 촉진 또는 캘러스로부터 식물체로 재분화 등의 방법이 이용되고 있다. 일반적으로 단자엽 식물은 유식물체의 분화 및 증식이 어려운 것으로 알려져 있으며, 기내배양에서 나리속의 분화 및 증식에 관한 많은 연구가 보고되고 있으나[3-5,7-10], 실용적인 규모의 구근생산에 관한 보고는 그리 많지 않다.

나리는 보편적으로 분구 및 인편번식 방법이 주로 이용해 왔는데, 분구는 완전한 식물체를 급속히 획득할 수 있다는 장점은 있으나 그 증식율이 대단히 저조하다. 따라서

주로 인편번식의 방법이 이용되었으나, 종래의 인편번식에 의한 방법은 많은 시설과 노동력이 소요되고, 증식과정 중 바이러스 이병 및 병해충의 발생을 완전히 방제하기가 곤란하다. 이러한 문제점을 해결하기 위해서 최근에는 기내 대량증식법이 이용되고 있는데, 이 방법은 증식과정에서 바이러스 감염을 회피할 수 있고, 배양시설을 집약적으로 관리할 수 있으며, 우량 종구의 안정적 증식이 가능하다는 이점이 있다. 하지만 기내에서 생산된 종구는 포장으로의 이식 과정에서 토양에 적응력이 감소하여 고사하는 비율이 높은 편이다[5].

이에 본 연구에서는 몇 가지 품종의 인편 번식에 있어 배지의 물리성이 나리의 자구 증식에 미치는 영향을 검토하고, 자구의 전배양 단계에 이용된 배지의 물리성이 자구의 순화에 미치는 영향을 검토하여 향후 기내에서 생산된 나리 자구의 포장 적응성을 높이는데 활용하고자 한다.

*To whom all correspondence should be addressed
Tel : 055-350-5392, Fax: 055-350-5392
E-mail : bgson@mnu.ac.kr

재료 및 방법

식물재료

초기배양의 실험재료로는 나리인 *Oriental hybrid 'Marco Polo'*, *'Casa Blanca'*와 *Asiatic hybrid 'Jolanda'*를 개화 후 수확하여 보관 중인 구근을 다음 해 1월 중순경에 실험재료로 이용하였다. 실험에 이용된 구근은 인편 외부엽을 제거하여 토양과 직접 접촉하지 않은 인편의 중간부위를 실험재료로 사용하였다.

자구의 대량증식을 위한 배양에서는 초기배양에서 얻은 자구를 이용하였으며, 자구의 크기를 균일하게 하기 위해 외부 인편의 일부를 제거하였다.

순화에 관한 실험은 자구 증식 실험에서 얻은 세 품종 공히 자구의 구폭 3.5~4.0mm, 구고 5.0~5.5mm인 것을 이용하여 128공 공정육묘용 tray에 자구 순화용 상토(peatmoss perlite : vermiculite = 1 : 1 : 1(v/v))를 채운 후 식재하여, 온도 20℃, 광도 2,500 lux, 광주기 명 16시간, 암 8시간, 습도 70%인 생장상에서 순화시켰다. 관수는 분무기를 이용하여 2일에 1회 상토가 충분히 젖을 수 있도록 하였다.

재료의 살균

채취한 구근의 외부 인편엽을 제거한 다음 흐르는 물(수돗물)에 충분히 세척하고, 중성세제를 이용하여 다시 2-3회 세척하였다. 박테리아류의 살균을 위해서 배양에 사용할 인편을 하나하나 떼어낸 후 증류수로 수회 행구고 농용마이신 500배액에 30분간 교반하면서 침적하였고, 곰팡이류의 살균을 위해서는 1% 벤레이트 용액에 30분간 침지시켜 1차 살균을 완료하였으며, 2차 살균은 2% NaOCl 용액으로 감압·교반하면서 20분간 실시한 후 살균수로 3회 세척하였다. 살균이 완료된 후에는 인편표면의 물기를 완전히 제거하기 위해 무균상에서 살균된 petri dish에 인편을 담아 약 1시간 가량 건조하였다.

인편 및 자구배양

재료의 살균 후 초기 배양조건을 동일하게 하고 균 발생에 의한 실험의 지장을 방지하기 위해 4주간 생장조절물질이 첨가되지 않은 MS[6]배지에서 배양하였으며 이때 배양용기는 10×1.5cm의 시험관을 이용하였다. 초기 배양단계에서는 살균단계에서 인편의 가장자리가 손상을 입은 것이

있었기 때문에 손상된 부분은 메스로 완전히 제거한 후 치상하였다. 배양 개시 4주 후 오염이 되지 않은 인편을 선별하여 자구증식용 배지에 이식하였다. 자구증식용 배지는 MS[6]배지의 다량원소 농도를 1/2, 미량원소는 전량, NAA 0.3mg/L 및 sucrose 30g/L를 첨가하였다. 고체배지는 한천 8g/L를 첨가하였고, 액체배지는 첨가하지 않았다.

배양할 식물재료인 나리 각 품종의 인편은 큰 것은 여러 조각으로 나누어 치상하였고 크기가 작은 것은 1/2로 절단하여 치상하였는데 절편의 크기는 가로·세로를 각각 약 0.5cm로 하였다. 이때 메스로 인편 표면에 가벼운 상처를 준 뒤 배지에 9절편씩 치상하였다.

자구증식을 유도하기 위한 실험은 인편 배양에서 획득한 자구를 이용하였으며, 이 때 자구의 크기는 구폭 4.5mm, 구고 6.8mm, 생체중 15mg인 것을 이용하였다. 배양조건은 온도 25±1℃, 광도 2,000 lux, 광주기 16/8시간(명/암)으로 하였으며, 배양용기는 고체배지의 경우 750ml 사각 배양병에 배지 100ml을 분주하여 사용하였으며, 액체배지는 위와 같은 배양조건에 250ml 삼각플라스크에 액체배지 50ml씩 분주하여 100rpm으로 진탕배양하였다. 고체배지와 액체배지 각각 5반복으로 실험을 실시하였다. 4주에 1회씩 계대배양하여 12주간 배양 후 생육조사를 실시하였다.

결과 및 고찰

인편 및 자구배양

배지의 물리성이 몇 가지 나리 품종의 자구 형성에 미치는 영향은 *Oriental hybrid 'Casa Blanca'*의 경우 자구를 재료로 했을 때(Table 1), 액체배지보다 고체배지에서 자구의 발생수가 많았고, 발생한 자구의 성장도 액체배지보다는 양호하였다. 인편을 재료로 배양하였을 때는 고체배지에서 배양하였을 때에 액체배지에서 배양한 것보다 자구수가 많이 발생하였으며, 성장도 다소 양호하였다.

*Oriental hybrid 'Marco Polo'*의 경우(Table 2, Fig. 1), 자구를 배양재료로 하였을 때, 발생한 자구수는 액체배지에서 배양한 것이 다소 많았으나, 각각의 자구생장은 고체배지가 양호하였다. 인편을 배양하였을 때, 자구수에서는 차이가 없었으나, 발생한 자구의 생장은 고체배지에서 다소 양호하였다.

Table 1. Effect of materials and physiological properties in culture media on the bulblet proliferation of *Oriental hybrid 'Casa Blanca'* cultured *in vitro*

Materials	Media	No. of regenerated bulblet	Diameter of bulblet(mm)	Height of bulblet(mm)	Fresh weight(mg)
Bulblet	Solid	22	4.4±1.5 ²⁾	7.3±2.1	7.2±1.2
	Liquid	8	4.2±1.2	6.8±1.5	5.3±1.3
Scale	Solid	25	4.1±1.4	6.4±1.0	3.4±1.4
	Liquid	15	3.8±0.7	5.8±0.8	3.3±1.1

²⁾Mean value±standard error.

Table 2. Effect of materials and physiological properties in culture media on the bulblet proliferation of *Oriental hybrid 'Marco Polo'* cultured *in vitro*

Materials	Media	No. of regenerated bulblet	Diameter of bulblet(mm)	Height of bulblet(mm)	Fresh weight(mg)
Bulblet	Solid	25	5.4±2.0 ²⁾	10.3±4.5	23.4±1.5
	Liquid	30	4.5±2.1	7.8±4.0	22.5±0.3
Scale	Solid	25	5.0±1.1	8.5±1.5	7.2±2.4
	Liquid	25	4.5±1.3	6.8±1.4	6.1±4.1

²⁾Mean value±standard error.

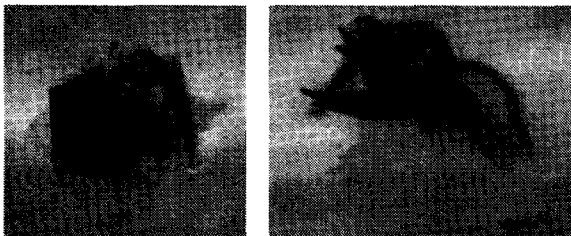


Fig. 1. *Oriental hybrid 'Marco Polo'* bulblet which were obtained from scale(left) and from bulblet(right) cultured *in vitro*.

*Asiatic hybrid 'Jolanda'*의 경우(Table 3), 자구를 재료로 하였을 때, 발생한 자구의 수는 고체배지가 액체배지보다 다소 많았으며, 자구의 성장도 고체배지가 다소 양호하였

다. 인편을 재료로 하였을 때, 자구수는 고체배지에서 배양한 것이 액체배지에서 배양한 것 보다 발생한 자구수에서 2배 이상 증가하였으며, 성장도 다소 양호하였다.

이상의 결과로 볼 때 자구의 생산에는 액체배지보다는 고체배지에서 많은 수의 자구를 생산할 수 있을 뿐만 아니라, 생산된 자구의 소질도 다소 양호하다는 것을 알 수 있었다.

Artrijk와 Blom-Barnhoorn[1]은 저농도의 auxin 단용처리구에서 자구의 형성 및 생장이 양호하다고 하였으며, Chung 등[2]도 IBA 1mg/L 단용처리가 자구생산이 양호하다고 하였는데 이는 나리류에 있어서도 대상품종에 따라 기관분화 양상이 요구되는 조절물질의 종류 및 농도가 다

Table 3. Effect of materials and physiological properties in culture media on the bulblet proliferation of *Asiatic hybrid 'Jolanda'* cultured *in vitro*

Materials	Media	No. of regenerated bulblet	Diameter of bulblet(mm)	Height of bulblet(mm)	Fresh weight(mg)
Bulblet	Solid	25	5.8±2.0 ²⁾	11.0±1.7	21.1±7.4
	Liquid	21	5.7±1.4	9.0±2.7	20.2±3.1
Scale	Solid	25	5.1±1.1	8.7±1.6	11.4±3.1
	Liquid	11	4.4±1.0	7.6±2.1	8.1±2.0

²⁾Mean value±standard error.

몇 가지 나리 품종의 기내배양에서 배지의 물리성이 자구증식 및 순화에 미치는 영향

를 보여주었는데, 본 연구에서도 동일한 성장조절제를 첨가한 배지의 물리성에 따라서 자구의 형성수와 크기 등에 상당한 차이가 있어 성장조절제뿐만 아니라 배지의 물리성에 따라서도 품종간에 반응의 차이가 있음을 알 수 있었다.

기외순화

초기배양에서 배지의 물리성과 자구의 발생유래에 따른 순화정도를 시험하기 위하여 자구와 인편을 재료로 하여 고체 또는 액체배양에 의해서 획득한 자구의 성장을 조사한 결과는 다음과 같다.

*Oriental hybrid 'Casa Blanca'*의 경우(Table 4), 고체배지에서 자구를 배양하였을 때 생존율이 71.0%였으며 인편을 배양하였을 때에는 78%가 생존하였으나, 액체배지에서는 자구와 인편을 배양하였을 때 모두 생존율이 0%였다. 맹아율은 자구유래의 자구가 인편유래의 배양체보다 다소 양호하였으며, 대부분이 인편엽이 맹아하였고, 단지 소수의 자구에서만 경출엽으로 맹아하였다. 이에 반하여 액체배지에서 배양하여 순화용 상토로 이식된 자구는 배양재료에 관계없이 모두 고사하였다.

*Oriental hybrid 'Marco Polo'*의 경우(Table 5, Fig. 2), 고체배지에서 배양한 자구의 순화정도는 자구생존율이 80.6%로 모든 처리구 중 가장 높았으나, 비맹아구가 맹아구에 비해 월등히 높았으며, 특히 액체배양에서 인편유래 자구의 맹아율은 전 처리구중 가장 낮아서 차후 이에 관한 연구가 추가적으로 수행되어야 할 것으로 생각되었다. 뿐만 아니라 *Oriental hybrid 'Marco Polo'* 품종은 자구 생존율에 비해 맹아율이 극히 저조하여 자구의 휴면에 관한 연구도 수행되어야 할 것으로 생각된다.

*Asiatic hybrid 'Jolanda'*의 경우(Table 6), 고체배지에서

Table 4. Effect of materials and physiological properties in pre-culture media on the bulblet acclimation of *Oriental hybrid 'Casa Blanca'* cultured *in vitro*

Materials	Media	survival(%)	sprouting(%)
Bulblet	Solid	71.0±8.6 ²⁾	48.4±5.3
	Liquid	0.0±0.0	0.0±0.0
Scale	Solid	78.1±2.5	46.9±8.5
	Liquid	0.0±0.0	0.0±0.0

²⁾Mean value±standard error.

Table 5. Effect of materials and physiological properties in pre-culture media on the bulblet acclimation of *Oriental hybrid 'Marco Polo'* cultured *in vitro*

Materials	Media	survival(%)	sprouting(%)
Bulblet	Solid	80.6±3.8 ²⁾	35.5±2.1
	Liquid	64.5±5.2	16.1±1.1
Scale	Solid	80.6±6.2	22.6±2.8
	Liquid	65.5±6.8	3.2±3.8

²⁾Mean value±standard error.

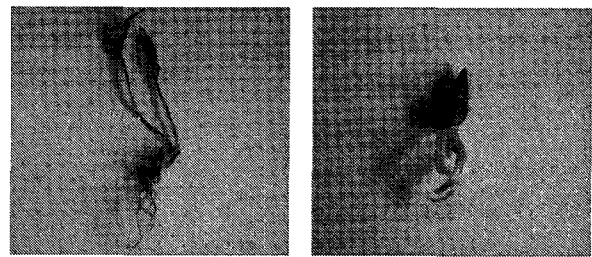


Fig. 2. Well developed plantlet(left) and non-sprouted bulblet(left) of *Oriental hybrid 'Marco Polo'* which were obtained from acclimation step.

Table 6. Effect of materials and physiological properties in pre-culture media on the bulblet acclimation of *Asiatic hybrid 'Jolanda'* cultured *in vitro*

Materials	Media	survival(%)	sprouting(%)
Bulblet	Solid	78.1±1.1 ²⁾	50.0±0.0
	Liquid	62.5±0.3	18.8±2.5
Scale	Solid	77.4±1.3	51.6±4.3
	Liquid	62.5±3.5	25.0±2.7

²⁾Mean value±standard error.

획득한 자구는 그 유래에 관계없이 50%이상의 맹아율을 나타내었는데, 이는 *Oriental hybrid* 품종에 비해 맹아율이 높은 것으로서 휴면과 순화에 관련하여 향후 이 부분의 연구가 추가적으로 이루어져야 할 것으로 생각되었다. 액체 배지에서 배양된 자구의 경우도 고체배지에서 생산된 자구의 맹아율보다는 많은 감소를 나타내어 *Oriental hybrid* 품종에 비해서는 맹아율이 다소 높았다.

이상의 결과를 종합해 보면 액체배양의 경우 자구의 생산 면에서도 고체배양에 비해 그 수량이 다소 낮았으며,

자구의 소질도 열등한 것으로 나타났다. 그리고 생산된 자구의 순화과정도 고체배양에 의해서 생산된 자구는 생존율과 맹아율이 액체배지에서 생산된 자구에 비해 상당히 높은 편이었다. 따라서 차후 순화과정에서 생존율과 맹아율의 향상을 위해 액체배지에서 생산된 자구는 고체배지로 계대배양하여 고체배지에서 1회 정도의 순화 전처리를 거친 후 순화과정에 들어가는 것이 바람직할 것으로 생각되었다.

요 약

배지의 물리성이 몇 가지 나리 품종 자구의 기내 증식과 증식된 자구의 순화에 미치는 영향을 구명하기 위해 수행되었다. 기내 인편배양과 자구배양에 의한 자구의 증식은 *Oriental hybrid* 'Marco Polo', 'Casa Blanca'와 *Asiatic hybrid* 'Jolanda' 세 품종 모두 액체배지보다 고체배지에서 자구로부터 자구를 증식시켰을 때 형성된 자구의 수와 생장이 가장 양호하였다. 기외 순화단계에서는 모든 실험구에서 전배양이 고체배지였던 실험구가 생존율과 맹아율이 가장 높았으며, 특히 전배양에서 자구를 실험재료로 이용했던 실험구가 인편을 이용하였던 것보다 맹아율이 다소 양호하였다.

참 고 문 헌

1. Artrijk, J. V. and G. J. Blom-Bamhoorn. 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.
2. Chung, J. D., C. K. Chun., Y. K. Suh and J. K. Park. 1981. *In vitro* culture of bulbil scale of *Lilium lancifolium*. I. Effects of auxin on bulblet formation and growth of seedlings. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **22**, 131-138.
3. Kawarabayasi, W. and T. Asahira. 1989. *In vitro* multiplication of virus-free bulb of lilies. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.* **58**, 195-209.
4. Lee, E. M. and Y. B. Lee. 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.
5. Lee, E. M. and Y. B. Lee. 1995. Regeneration of bulblets from bulblet-derived from bulb scales of *Lilium longiflorum*. *Korean J. Plant Tissue Culture* **22**, 89-93.
6. Murashige T. and F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* **15**, 473-479.
7. Paek, K. Y. and C. K. Chun. 1982. *In vitro* propagation of bulb scale sections of *Lilium longiflorum* Thunb. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **23**, 230-239.
8. So, I. S., C. S. Lee and I. S. Kang. 1986. Studies for mass propagation of virus free stocks on the *Lilium* plants by using meristem culture techniques. *Res. Dept. RDA(Agri Institutional Cooperation)* 63-70.
9. Takayama, S. and M. Missawa. 1979. Differentiation in *Lilium* bulb scales grown *in vitro*. Effects of various cultural conditions. *Physiol. Plant.* **46**, 184-190.
10. Takayama, S. and M. Missawa. 1983. A scheme for mass propagation of *Lilium in vitro*. *Scientia Hort.* **18**, 353-362.

(Received November 5, 2002; Accepted December 21, 2002)