

앞절편 배양에 의한 제주 자생나리의 재분화

박영철*, 김정선, 송승운, 김용철, 김광호

제주도농업기술원

Plant Regeneration from Leaf Segments Culture of Several Jeju Native Lilies

Young-Chul Park*, Jeong-Seon Kim, Seung-Woon Song,
Yong Chol Kim and Kwang-Ho Kim

Jeju-do Agricultural Research & Extension Services, Jeju 690-815, Korea

ABSTRACT

This study was conducted to examine the effects of plant growth regulators on the plant regeneration from leaf segments of *Lilium callosum*, *L. concolor* var. *partheneion*, and *L. formosanum*. Leaf segments were sectioned about 5 mm long and cultured on the basal medium (MS medium with 3% sucrose and 0.8% agar) under dark condition. The most effective plant regulators on harvesting more shoots from leaf culture of *L. callosum* were 0.2 mg · L⁻¹ BA and 0.5 mg · L⁻¹ NAA. Culturing in the basal medium with 0.2 mg · L⁻¹ BA and 2.0 mg · L⁻¹ NAA was effective for leaf culture of *L. concolor* var. *partheneion*. The treatment of 1.0 mg · L⁻¹ BA and 1.0 mg · L⁻¹ NAA was the most effective condition for shoot harvest at the leaf culture of *L. formosanum*.

Key words : *L. callosum*, *L. concolor* var. *partheneion*, *L. formosanum*

서언

조직배양은 식물의 대량증식, 무병주의 생산 및 생명공학관련 연구에 매우 유용한 수단이다. 특히 나리와 같이 바이러스에 민감한 작물에서 조직배양은 바이러스가 없는 무병종구의 생산에 중요한 수단이다. 나리는 전 세계에 130종이 자생하며 우리나라에는 변종을 포함하여 19종이 자생한다(Kim, 1993). 제주도에는 땅나리, 참나리, 말나리, 솔나리, 중나리, 털중나리가 있었

다고 전해지고 있으나, 솔나리, 중나리, 털중나리는 보고된 이래 자생상태가 확인된 바 없으며, 1996년에 대만나리가 자생함을 확인한 바 있고(Song, 1996), 보고되지 않았던 하늘나리, 날개하늘나리가 자생하고 있음이 확인되어, 제주도에는 총 6종이 자생하는 것으로 나타났다. 나리 조직배양의 연구소재로는 인편(Gupta *et al.*, 1978; Nam and Kim-Lee, 2003; Park *et al.*, 1998), 꽃가루(Qu *et al.*, 1988), 화탁(Nhut *et al.*, 2000) 등을 이용하고 있으며,

*교신저자 : E-mail : pyc1970@provin.jeju.kr

주로 재배되고 있는 나리품종들에 대해 무독 종류의 생산에 목적을 두고 있다. 자생나리 기내배양에 관한 연구로는 참나리(Nam and Kim-Lee, 2003), 중나리(Joung *et al.*, 1995), 하늘나리(Park *et al.*, 1996), 땅나리(Park *et al.*, 1998), 솔나리(Kim *et al.*, 2001) 등이 있으나 대부분 인편을 이용한 기내증식에 목적을 두고 있어 잎절편 배양연구는 거의 없는 실정이다.

최근에 아그로박테리움을 이용한 비의 형질전환이 성공을 거두면서 다른 단자엽식물도 많은 연구가 진행되고 있는 실정이다. 본 연구에서는 아그로박테리움을 이용한 나리의 형질전환체계 확립에 기초자료로 활용코자 배양중인 땅나리, 하늘나리, 대만나리의 잎 절편으로부터 식물체를 재분화 시키고자 실시하였다.

재료 및 방법

시험재료는 제주도에 자생하는 땅나리 (*Lilium callosum* Siebold et Zucc.), 하늘나리 (*L. concolor* var. *partheneion* BAK.), 대만나리 (*L. formosanum* Wallace)를 대상으로 하였다. 배양에 이용한 잎절편은 기내에서 배양 중인 어린 묘로부터 채취하여 잎의 기부쪽에서 1/2까지를 5 mm 정도 크기로 절단하여 치상하였다. 기본배지는 MS배지(Murashige and Skoog, 1962)에 설탕 3%(w/v)와 한천 0.8%(w/v)를 첨가한 배지를 이용하였다. 성장조절제의 효과를 비교하기 위하여 기본배지에 NAA와 BA를 단독 또는 혼용 처리하여 배양하였다. 배양실의 온도는 약 25℃로 하였으며, Petri dish에 잎절편을 20개씩 치상하였고 처리당 3-4 반복으로 하여 실험을 수행하였다. 광조건은 형광등을 이용하여 2,000 lux 정도로 조절하였으며 일주기는 명 16시간, 암 8시간으로 하였다.

결과 및 고찰

땅나리 잎 절편으로부터 재분화시 성장조절제의 효과를 조사하기 위하여 BA(0.0, 0.5, 1.0, 2.0 mg · L⁻¹)와 NAA(0.0, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 mg · L⁻¹)를 단독 또는 혼용처리하여 암조건에서 배양하였다(Fig. 1A, Table 1). 캘러스형성율은 2.0 mg · L⁻¹ BA와 0.5 mg · L⁻¹ NAA를 혼합처리한 구에서 캘러스 발생율이 100%로 나타나 가장 양호하였으며, 다음으로 0.2 mg · L⁻¹ BA와 NAA 0.5 mg · L⁻¹ 혼용처리구, 0.2 mg · L⁻¹ BA와 2.0 mg · L⁻¹ NAA 혼용처리구 및 1.0 mg · L⁻¹ BA와 0.5 mg · L⁻¹ NAA 혼용처리구에서 93.3%로 나타났다. 구형성율은 0.2 mg · L⁻¹ BA와 0.5 mg · L⁻¹ NAA 혼용처리구와 1.0 mg · L⁻¹ BA 0.5 mg · L⁻¹ NAA 혼용처리구에서 86.7%로 높았으며, 2.0 mg · L⁻¹ BA와 0.5 mg · L⁻¹ NAA를 혼합처리구에서는 80%로 나타났다. 치상한 잎절편당 소구발생수는 0.2 mg · L⁻¹ BA와 0.5 mg · L⁻¹ NAA 혼용처리구에서 1.7개로 나타나 가장 우수하였다.

Park *et al.*(1998)은 땅나리 인편배양에서 암조건보다는 광조건에서 자구의 발생과 캘러스형성이 잘 된다고 하였으나, 본 실험 결과 잎절편배양시에는 암조건에서 캘러스와 자구발생이 양호하여 같은 땅나리에 있어서도 부위별 배양조건에 차이를 확인할 수 있었다. 따라서 땅나리 잎 절편으로부터 다수의 배양체를 얻기 위해서는 MS배지에 0.2mg · L⁻¹ BA와 0.5mg · L⁻¹ NAA를 첨가한 배지를 암조건에서 배양하여 얻은 인편을 광조건으로 배양하는 것이 적합할 것이라고 생각되었다.

하늘나리 잎절편으로부터 재분화시 성장조절제의 효과를 조사하기 위하여 BA(0.0, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 mg · L⁻¹)와 NAA(0.0, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 mg · L⁻¹)를 단독 또는 혼용처리하여 암조건에서 배양하였다(Fig. 1B, Table 2).

고사율은 0.5~1.0 mg · L⁻¹ BA 범위에서는 NAA 농도가 높을수록 낮아지는 경향이였다. 캘러스형성율은 0.2 mg · L⁻¹ BA와 2.0 mg · L⁻¹ NAA를 혼용처리한 구에서 100%로 나타나 가장 양호하였으며, 다음으로 1.0 mg · L⁻¹ BA와 1.0 mg · L⁻¹ NAA 혼용처리구 및 2.0

mg · L⁻¹ BA와 1.0 mg · L⁻¹ NAA 혼용처리구에서 93.3%로 나타났다.

구형성율은 0.2 mg · L⁻¹ BA와 2.0 mg · L⁻¹ NAA 혼용처리구 및 1.0 mg · L⁻¹ BA와 2.0 mg · L⁻¹ NAA 혼용처리구에서 93.3%로 높았다. 치상한 잎절편당 소구발생수는 0.5 mg · L⁻¹

Table 1. Effects of BA and NAA on plant regeneration from leaf segments of *L. callosum* after 10 weeks culture under dark condition

Plant growth regulator (mg · L ⁻¹)		Lethal rate (%)	Callusing rate (%)	Bulblet forming rate (%)	No. of bulblets (ea)
BA	NAA				
0.0	0.0	40.0 ^{abz}	26.7 ^{cd}	13.3 ^{de}	0.2 ^{de}
	0.2	60.0 ^{bc}	40.0 ^{abcd}	10.0 ^e	0.2 ^{de}
	0.5	26.7 ^{ab}	46.7 ^{abcd}	20.0 ^{cde}	0.4 ^{bcd}
	1.0	6.7 ^a	86.7 ^{abc}	66.7 ^{abc}	0.9 ^{abcd}
	2.0	0.0 ^a	73.3 ^{abc}	60.0 ^{abcd}	0.6 ^{abcd}
0.2	0.0	33.3 ^{ab}	40.0 ^{abcd}	33.3 ^{bcde}	0.9 ^{abcd}
	0.2	46.7 ^{ab}	53.3 ^{abcd}	40.0 ^{abcde}	0.6 ^{abcd}
	0.5	6.7 ^a	93.3 ^{ab}	86.7 ^a	1.7 ^a
	1.0	0.0 ^a	60.0 ^{abcd}	13.3 ^{de}	0.1 ^e
	2.0	0.0 ^a	93.3 ^{ab}	53.3 ^{abcde}	0.7 ^{abcd}
0.5	0.0	40.0 ^{ab}	33.3 ^{bcd}	33.3 ^{bcde}	0.5 ^{bcde}
	0.2	20.0 ^{ab}	73.3 ^{abc}	66.7 ^{abc}	0.9 ^{abcd}
	0.5	26.7 ^{ab}	66.7 ^{abcde}	40.0 ^{abcde}	0.5 ^{bcde}
	1.0	13.3 ^{ab}	80.0 ^{abc}	53.3 ^{abcde}	1.5 ^{ab}
	2.0	26.7 ^{ab}	66.7 ^{abcde}	40.0 ^{abcde}	0.5 ^{bcde}
1.0	0.0	93.3 ^c	6.7 ^d	6.7 ^e	0.2 ^{de}
	0.2	0.0 ^a	73.3 ^{abc}	53.3 ^{abcd}	1.3 ^{abcd}
	0.5	0.0 ^a	93.3 ^{ab}	86.7 ^a	1.3 ^{abc}
	1.0	0.0 ^a	66.7 ^{abcd}	66.7 ^{abc}	1.1 ^{abcd}
	2.0	26.7 ^{ab}	66.7 ^{abcd}	20.0 ^{cde}	0.3 ^{cde}
2.0	0.0	26.7 ^{ab}	33.3 ^{bcd}	20.0 ^{cde}	0.5 ^{bcde}
	0.2	26.7 ^{ab}	73.3 ^{abc}	53.3 ^{abcde}	0.9 ^{abcd}
	0.5	0.0 ^a	100.0 ^a	80.0 ^{ab}	1.5 ^{ab}
	1.0	0.0 ^a	86.7 ^{abc}	66.7 ^{abc}	0.7 ^{bcd}
	2.0	0.0 ^a	40.0 ^{abcd}	6.7 ^e	0.1 ^e

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

¹ BA와 0.5 mg · L⁻¹ NAA 혼용처리구에서 1.4개로 가장 우수하였으나, 치상한 절편체로부터 구형성율이 0.2 mg · L⁻¹ BA와 2.0 mg · L⁻¹ NAA 혼용처리구보다 낮아 하늘나리를 재분화시킬때는 0.2 mg · L⁻¹ BA와 2.0 mg · L⁻¹ NAA를 혼용처리하는 것이 효과적이었다.

Park *et al.*(1996)은 하늘나리 인편배양이 0.1~1.0 mg · L⁻¹ BA 처리가 자구발생에 유리하다고 하였는데, 앞의 재분화시에는 BA 단독 처리보다는 NAA와 혼용처리하는 것이 재분화에 효과적이었다.

대만나리의 잎절편으로부터 재분화시 성장조

Table 2. Effects of BA and NAA on plant regeneration from leaf segments of *L. concolor* var. *partheneion* after 10 weeks culture under dark condition

Plant growth regulator (mg · L ⁻¹)		Lethal rate (%)	Callusing rate (%)	Bulblet forming rate (%)	No. of bulblets (ea)
BA	NAA				
0.0	0.0	81.1	18.9 ^{efgz}	18.9 ^{cde}	0.1 ^d
	0.2	20.0	40.0 ^{cdefg}	30.0 ^{bcd}	0.5 ^{abcd}
	0.5	53.3	20.0 ^{efg}	20.0 ^{cde}	0.3 ^{cd}
	1.0	20.0	86.7 ^{abc}	80.0 ^{ab}	1.0 ^{abc}
	2.0	60.0	46.7 ^{bcdefg}	20.0 ^{cde}	0.3 ^{bcd}
0.2	0.0	60.0	0.0 ^s	0.0 ^e	0.0 ^d
	0.2	46.7	53.3 ^{abcdef}	46.7 ^{abcde}	0.8 ^{abcd}
	0.5	26.7	80.0 ^{abcd}	60.0 ^{abcd}	1.1 ^{abc}
	1.0	46.7	46.7 ^{bcefg}	40.0 ^{abcde}	0.5 ^{abcd}
	2.0	0.0	100.0 ^a	93.3 ^a	1.3 ^a
0.5	0.0	66.7	0.0 ^s	0.0 ^e	0.0 ^d
	0.2	26.7	40.0 ^{cdefg}	26.7 ^{bcd}	0.5 ^{abcd}
	0.5	6.7	80.0 ^{abcd}	73.3 ^{abc}	1.4 ^a
	1.0	33.3	60.0 ^{abcde}	60.0 ^{abcd}	0.7 ^{abcd}
	2.0	13.3	86.7 ^{abc}	73.3 ^{abc}	0.9 ^{abcd}
1.0	0.0	66.7	6.7 ^g	6.7 ^{de}	0.2 ^{cd}
	0.2	46.7	33.3 ^{defg}	40.0 ^{abcde}	0.5 ^{abcd}
	0.5	40.0	53.3 ^{abcdef}	46.7 ^{abcde}	0.8 ^{abcd}
	1.0	26.7	93.3 ^{ab}	60.0 ^{abcd}	0.9 ^{abcd}
	2.0	6.7	86.7 ^{abc}	93.3 ^a	0.9 ^{abcd}
2.0	0.0	33.3	0.0 ^s	0.0 ^e	0.0 ^d
	0.2	20.0	60.0 ^{abcde}	53.3 ^{abcde}	0.6 ^{abcd}
	0.5	33.3	66.7 ^{abcde}	60.0 ^{abcd}	1.2 ^{ab}
	1.0	0.0	93.3 ^{ab}	73.3 ^{abc}	1.3 ^a
	2.0	26.7	80.0 ^{abcd}	66.7 ^{abc}	0.9 ^{abcd}

²Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

절편의 효과를 조사하기 위하여 BA(0.0, 0.5, 1.0 mg · L⁻¹)와 NAA(0.0, 0.5, 1.0, 2.0 mg · L⁻¹)를 단독 또는 혼용처리하여 광조건에서 배양하였다(Fig. 1C, Table 3).

고사율은 1.0 mg · L⁻¹ BA와 1.0 mg · L⁻¹ NAA에서 가장 낮았으나 처리간에 통계적 유의성은 없었다. 캘러스 형성율도 1.0 mg · L⁻¹ BA와 1.0 mg · L⁻¹ NAA를 혼합처리한 구에서 캘러스 발생율이 90%로 나타나 가장 양호하였다. 자구형성을 및 자구수에 있어서는 처리간에

유의성은 없었으나 1.0 mg · L⁻¹ BA와 1.0 mg · L⁻¹ NAA 모두 높은 경향이였다.

대만나리의 잎 배양에 있어서는 캘러스가 다량으로 발생하는 특성이 있고 자구생성율이 다른 나리에 비해 낮게 발생하였는데 인편인 경우에도 같은 양상이였다. 이를 극복하여 구비대를 유도하기 위해서는 발생한 자구에서 캘러스를 깨끗이 제거한 후 계대하는 과정이 필요하였다.

적 요

Table 3. Effects of BA and NAA on plant regeneration from leaf segments of *L. formosanum* after 5 weeks culture under light condition

Plant growth regulator (mg · L ⁻¹)		Lethal rate (%)	Callusing rate (%)	Bulbulet forming rate (%)	No. of bulbulets (ea)
BA	NAA				
0.0	0.0	100	0.0 ^{dz}	0.0	0.0
	0.5	40.0	40.0 ^{abcd}	30.0	0.3
	1.0	50.0	30.0 ^{bcd}	0.0	0.0
	2.0	80.0	10.0 ^{cd}	10.0	0.0
0.5	0.0	30.0	10.0 ^{cd}	10.0	0.0
	0.5	20.0	60.0 ^{abc}	40.0	0.4
	1.0	20.0	80.0 ^{ab}	30.0	0.4
	2.0	50.0	0.0 ^d	10.0	0.5
1.0	0.0	40.0	26.7 ^{bcd}	25.0	0.3
	0.5	40.0	50.0 ^{abcd}	30.0	0.3
	1.0	0.0	90.0 ^a	60.0	0.7
	2.0	20.0	40.0 ^{abcd}	60.0	0.3

²Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

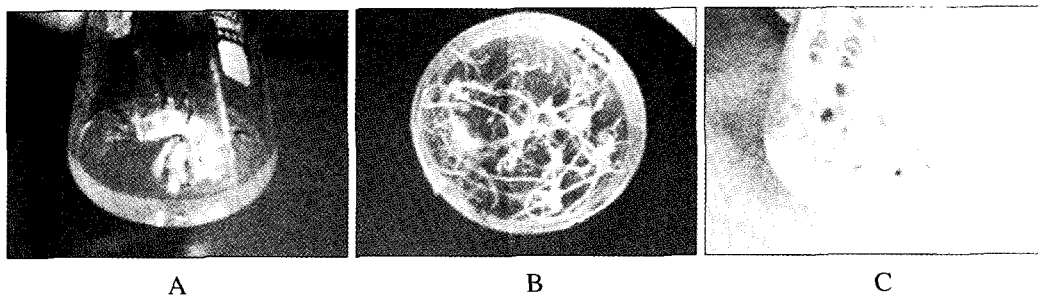


Fig. 1. The status regenerated from leaf segments of *L. callosum* (A), *L. concolor* var. *partheneion* (B), and *L. formosanum* (C).

아그로박테리움을 이용한 형질전환연구에 기초자료로 활용코자 기내배양중인 땅나리, 하늘나리, 대만나리의 잎절편으로부터 식물체를 유도하였다. 땅나리 잎절편으로부터 다수의 배양체를 얻기 위해서는 MS배지에 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA와 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA를 첨가하여 암조건에서 배양하는 것이 효과적이었고, 하늘나리 잎 재분화에는 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA와 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 혼용처리하는 것이 효과적이었으며, 대만나리의 잎 재분화에는 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA와 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 혼용처리가 우수하였다.

사사

이 연구는 제주공동연구센터 연구비 지원에 의해 이루어 졌음.

인용문헌

- Gupta, P., A.K. Sharma and H.C. Charturvedi. 1978. Multiplication of *Lilium longiflorum* Thunb. by aseptic culture of bulb-scales and their segments. Indian J. Exp. Biol. 16:940-942.
- Joung, H.Y., M.S. Sung, W.W. Lee and C.J. Yu. 1995. *In vitro* propagation *Lilium* oriental hybrid 'Casa Blanca' and *Lilium leichtalinii* var. trigrinum as influenced by growth regulators and cultural explant. RDA. J. Agri. Sci. 37:378-383.
- Kim, T. J. 1993. Wild flowers of Korea. Kyohaksa, Seoul. Korea.
- Kim, H.K., J.D. Lim, T.K. Hyun, H.Y. Lee, J.H. Lee and C.Y. Yu. 2001. *In vitro* culture and acclimatization of regenerated plants of *Lilium cernuum* Komarov. Korean J. Medicinal Crop Sci. 9:310-317.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant 15:473-497.
- Nam, S.W. and H.Y. Kim-Lee. 2003. Plant regeneration through adventitious bud formation and callus induction from scales of *Lilium lancifolium*. Korean J. Plant Biotechnology. 30:53-58.
- Nhut, D.T., B.V. Le, M. Tanaka and K.T.T. Van. 2000. Shoot induction and plant regeneration from receptacle tissues of *Lilium longiflorum*. Scientia Horticulturae 87:131-138.
- Park, J.Y., Y.K. Yoo, J.H. Jeong and K.S. Kim. 1998. Effect of light scale explant conditions on propagation efficiency in *Lilium callosum* scale culture. Kor. J. Hort. Sci. & Tech. 16:358-360.
- Park, S.Y., S.D. Kim, J.T. Cho and K. Y. Paek. 1996. Effects of growth regulators on *in vitro* propagation through shoot-tip, bulb-scale and bulblet culture of regenerated bulblet in *Lilium concolor* var. parthneion. RDA. J. Agri. Sci. 38:302-306.
- Qu, Y., M.C. Mok, D.W.S. Mok and J.R. Stang. 1988. Phenotypic and cytological variation among plants derived from anther culture of *Lilium longiflorum*. In Vitro Cell Biol. 24:471-476.
- Song, N. 1996. The Karyotype of *Lilium formosanum* Wallace from Cheju island in Korea. Acta Hort. (ISHS) 414:151-156.

(접수일 2005. 2. 25)
(수락일 2005. 6. 20)