

<http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2021.7.3.605>

JCCT 2021-8-73

Picloram을 이용한 효율적인 백합 캘러스 유도 체계 확립

Establishment of Efficient Callus Induction System with Picloram Hormone in Lily Plants

김종보*

Jong Bo Kim*

요약 나리는 세계 5대 절화에 속하는 주요 절화 중의 하나이며, 아시아, 유라시아 및 북아메리카 등 다양한 지역에 서식한다. 나리 신품종개발을 위해서는 교배, 돌연변이 및 선발육종 기술 외에 조직배양 기술을 포함하는 생명공학 기술 도입을 통한 신품종 육성이 필요한데 조직배양 체계확립은 나리 육종체계에 있어서 필수적인 요소 중 하나이다. 조직배양의 많은 분야 중 배발생캘러스를 이용하여 식물체 재분화 증식 체계확립이 많은 작물에서 연구 중인데 본 연구에서도 배발생캘러스 유도에 사용되는 옥옥신 중 picloram을 다양한 농도로 처리하여 최적의 배발생캘러스 유도 농도를 선정하고자 실험을 수행하였다. 실험 결과, 3-4주 후부터 CEC (compact embryogenic callus), FEC (friable embryogenic callus) 및 백색캘러스 이렇게 3가지 형태 캘러스가 발생했는데 1.0 mg/l 처리구에서 CEC와 FEC 모두 높은 효율을 나타내었으나 갈변율이 높은 관계로 0.75 mg/l를 나리 배발생캘러스 유도에 적합한 최적 농도로 선정하였다. 이러한 연구결과는 향후 배발생캘러스를 이용한 나리 식물체 재분화 체계 확립 그리고 우량품종 증식체계 확립에 기여할 것이다.

주요어 : 캘러스, 백합, 대량증식, 재분화, 피클로램

Abstract Lily is one of the most important 5 cut flowers in international flower market and lilies are distributed in Asia, Eurasia and North America. To develop a new lily cultivar, in addition to hybridization, mutation and selection methods, biotechnological techniques including tissue culture are also required. Establishment of tissue culture system is one of the requirement for the breeding program in Lily. Among many fields of plant tissue culture, establishment of regeneration system via embryogenic calluses are studied in many crops. In this study, research was carried out to decide the proper concentration of picloram which is used for the induction of embryogenic calluses. As a result, 3 different types of callused were observed after 3-4 weeks. They were CEC (compact embryogenic callus), FEC (friable embryogenic callus) and white callus type. 1.0 mg /l of picloram showed the best result for the production of embryogenic callus, however, due to its higher rate of browning in this concentration, 0.75 mg/l of picloram was selected as a proper concentration of picloram for the induction of CEC and FEC in Lily. These results can be contributed to the establishment of both regeneration system and mass propagation in lily in the future.

Key words : Callus, Lily, Mass Propagation, Regeneration, Picloram

*정회원, 건국대학교 생명공학과 교수 (제1저자, 교신저자)
접수일: 2021년 8월 3일, 수정완료일: 2021년 8월 7일
게재확정일: 2021년 8월 9일

Received: August 3, 2021 / Revised: August 7, 2021

Accepted: August 9, 2021

*Corresponding Author: jbhee1011@kku.ac.kr

Dept. of Biotechnology, Konkuk Univ, Korea

I. 서론

나리 속은 백합과의 식물로 전 세계에서 5대 절화에 속하며 130여종이 분포하며 아시아, 유럽 및 유라시아 그리고 북아메리카 등에 분포하고 있다 [1]. 이러한 나리의 분류는 Asiatic, Oriental, Longiflorum, Martagon, Candidum, American, Trumpet의 7개 군(group)으로 나누었다가, 나중에 Martagon, Pseudolirium, Lilium, Archelirion, Sinomartagon, Leucolirion, Oxypetalum의 7개 그룹으로 재분류 되었다 [2, 3]. 국내에선 상업적으로 아시아틱 하이브리드, 오리엔탈 하이브리드 및 Longiflorum 하이브리드가 주로 재배되는데 이중 아시아틱 계통이 화색이 다양하나 향기가 없고 향기가 강하고 꽃이 대형인 건 오리엔탈 그룹, 마지막 Longiflorum 그룹은 향기가 강하고 순백색이다 [4].

나리는 다양한 유전형질 도입을 위해 종간 교잡종을 필요로 하므로, 나리의 증식은 원종뿐만 아니라 종간교잡종 역시 안정적으로 증식될 수 있어야 한다 [4]. 나리는 2015년 화훼재배현황에 따르면 161 ha로 국내에서 장미, 국화에 이어 3위를 차지하며, 판매금액도 171억원으로 역시 3위를 차지하고 있다 [5].

생명공학 기술 중 조직배양 기술은 신제품개발기간을 단축시킬 뿐만 아니라 [6], 우량품종 개발 후 대량증식에도 유리하므로 칼라 [7], 알스트로메리아 [8] 및 팔레놉시스 [9] 등의 단자엽 화훼류에도 연구되어져 왔다. 나리의 경우 주로 우량 품종 개발 후, 인편번식으로 주로 증식하는 데 [10], 이러한 번식은 효율성이 저하되고 무병주 나리종구 생산이 힘들어 인편조직 등이 이용되어 왔다 [11]. 그러나 간접기관분화가 가능한 캘러스의 경우 많은 연구가 되어 있지 않은 상황이다. 식물캘러스 배양에서 다양한 호르몬이 사용되었는데 보리의 경우 picloram 사용 시 최적의 캘러스 유도 뿐만 아니라 신초유도 및 식물체 재분화에도 효과가 있는 것으로 보고되었다 [12]. 따라서, 본 연구에서는 나리 '레드플레임' 품종에서 캘러스 유도에 효과적인 오옥신 중 picloram을 이용하여 최적의 캘러스 유도 조건을 확립하고자 실험을 진행하였다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 식물체 재료

본 연구에 사용된 나리 식물체는 국립원예특작과학원 화훼과에서 육성한 '레드플레임' 품종의 인편을 절취하여 MS (Murashige and Skoog, [13]) Medium basal salts with vitamins에 3% sucrose 그리고 0.07% plant agar (Duchefa, Haarlem, The Netherlands)를 첨가한 배지 (pH 5.8)에 치상하여 4주 간격으로 계대배양 하였다. 배양체는 기온 24±1℃인 배양실에서 명기 16시간과 암기 8시간의 조건 하에서 배양하였다.

2. 캘러스 배양 실험

효율적인 캘러스 유도 실험을 진행하기 위해 나리 품종 '레드플레임' 인편을 1cm 크기로 잘라 실험에 사용하였다. 각각의 식물 재료들은 MS 배지에 picloram을 0, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 mg/l 첨가하여 실험을 진행하였다.

각 배지는 Petri dish(90 × 15, SPL)에 약 30 mL 분주하여 준비하였고 배양체는 Petri dish당 30개의 인편을 치상하여 각각의 처리구를 5반복으로 배열하였다. 조사항목으로는 4주마다 캘러스 발생율을 조사하였고 2회 계대배양 후 8주 후에 배발생캘러스 형성율을 조사하였다.

III. 결과 및 고찰

1. Picloram 농도별 캘러스 유도 효율 비교

단자엽 화훼류에서 캘러스 배양을 통한 연구가 알스트로메리아 [8, 14] 및 칼라 [7] 등에서 수행되어 왔는데, 알스트로메리아에서는 2,4-D와 picloram을 비교한 실험에서 2,4-D가 2배 높은 캘러스 형성율을 나타내었다 [14]. 칼라의 경우, 오옥신인 NAA (Naphthelene acetic acid)와 BA (Benzyl aminopurine)이 혼합된 처리구에서 25%의 캘러스 형성율을 보고하였다 [7]. 단자엽 식물인 등글레에세도 2,4-D 0.5 mg/l 처리구에서 87%의 노란색배발생 캘러스 형성율이 관찰되었다고 보고 되었다 [15]. 반대로 오옥신이 아닌 사이토키닌의 한 종류인 BA 2.0 mg/l 처리구에서 노란색 배발생 캘러스 발생율이 53.3%에 달하는 좋은 결과를 보여준 연구결과도 있었다 [16].

본 연구에서는 나리 인편으로부터 캘러스유도조건을 확립하기 위한 실험을 진행하였다. 인편 조각을 치상하고 난 후, 3-4주 경과하고 나서 3가지 형태의 캘러스가 관찰되었다 (Figure 1. A-C). 나리인편배양에서 유도된 캘러스는 크게 Compact Embryogenic Callus (CEC -

Figure 1A)), Friable Embryonic Callus (FEC - Figure 1B) 그리고 흰색캘러스 (Figure 1c)가 관찰되었다. CEC나 FEC는 알스트로메리아에서도 관찰이 되어 이들 조직으로부터 배발생캘러스를 유도하여 식물체로 재분화 시키는 연구보고가 있었다 [8].

흰색 캘러스는 1차 계대배양 후 3-4주 후 증식 중 갈변되어 고사하였고 신초 발생 등의 징후도 관찰되지 않았다. 본 실험에 사용된 picloram을 농도별로 처리한 결과, 캘러스 유도는 CEC와 FEC 모두 1.0 mg/l에서 가장 높게 나타났으나, 갈변정도가 심하여 최적 농도로는 0.75 mg/l이 가장 좋은 것으로 나타났다. Picloram 0.75 mg/l 보다 낮은 농도나 대조구에서는 CEC와 FEC 모두 발생율이 저조하였다 (Table 1). 흰색 캘러스는 picloram 0.5 mg/l에서 가장 높은 발생율을 보여 줬으나, 식물체 재분화도 안되고 배양 후기에 갈변고사 되어 더 이상 실험에 이용되지 못하였다. 보리의 경우, picloram을 처리하여 캘러스 유도효율을 조사한 결과, 7.5 mg/l 처리구에서 가장 높은 효율을 나타내었으며, 이 농도에서 신초유도 및 식물체 재분화 효율도 가장 좋았다 [15]. CEC와 FEC 중 CEC에서 신초 유도도 더 발생이 잘 되었으므로 (결과 미 제시), 향후 나리 '레드플레임' 품종 캘러스 조직을 이용한 재분화 연구에 CEC가 더 유용하게 사용될 것으로 판단된다.

2. Picloram 농도에 따른 갈변화율 비교

바나나 조직배양 시 페놀화합물에 의해 생성된 퀴논 물질이 배지와 식물이 갈변된다는 결과가 보고되었다 [17], 본 실험에서도 백합 인편배양 시 picloram 농도에 따른 갈변율을 조사한 결과 picloram 1.0 mg/l에서 15.5%로 가장 높은 갈변율을 나타내었다. 이러한 갈변율을 감소하기 위하여 나리 조직배양에서 질산은 (silver nitrate), 구연산 (citric acid) 및 비타민 C (ascorbic acid) 등의 처리를 통한 갈변율 감소에 관한 연구에서 질산은 처리는 갈변율을 통계적으로 유의미하게 감소시키지는 않았지만, 비타민 C의 경우 150 mg/l 처리 시 1.5%까지 갈변율이 낮아진 것을 관찰되었다 [18]. 구연산의 경우 질산은 처리보다는 갈변율 감소효과가 좋았지만 비타민 C보다 덜 효과적이었다고 보고되었다. 본 연구에서도 대조구에서도 6% 정도의 갈변율을 나타내었는데 향후 이러한 갈변을 감소시키기 위한 다양한 갈변억제물질 적용에 대한 추가적인 실험

힘이 필요하다고 판단된다.

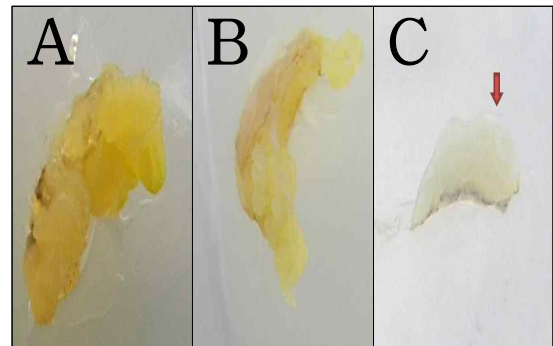


그림 1. 나리 인편으로부터 발생된 캘러스 발생 과정
 Figure 1. Production process of callus from scales of lily cultivar 'Red Flame'
 (A: Compact type of callus, B: Friable type of callus, C: White type of callus)

표 1. 나리 레드플레임 품종에서의 Picloram 농도에 따른 캘러스 유도 효율 비교

Table 1. Comparison of callus induction efficiency according to the concentration of Picloram in lily cultivar 'Red Flame'

Medium	Frequency of induction (%)			
	Compact type	Friable type	White color	Browning
Control	2.9±0.1	0.2±0.1	0.5±0.1	6.1±0.5
P0.1	7.3±0.4	1.3±0.2	8.7±0.3	5.3±0.8
P0.25	14.2±3.3	3.8±1.1	5.5±1.1	7.7±1.1
P0.5	19.5±3.5	8.9±2.2	10.5±2.6	7.4±0.2
P0.75	22.4±4.4	15.4±2.5	7.5±0.5	8.7±0.8
P1.0	25.2±5.3	18.1±3.9	9.3±2.3	15.5±0.9

IV. 결 론

나리에 다양한 형질도입을 위해서는 중간교잡 및 생명공학 기술 등의 도입이 필요한데 중간교잡의 경우 안정적으로 증식될 수 있는 대량배양기술이 필요한 실정이다. 본 연구에서는 나리 인편을 절편체로 하여 배발생캘러스 유도효율을 높이기 위해 일반적으로 배발생캘러스 유도에 널리 사용되는 오옥신 중 picloram을 다양한 농도로 처리하여 농도간 배발생캘러스 유도효율을 비교하였다. 실험 결과, 배양 3-4주 후 Compact embryogenic callus (CEC), friable embryogenic callus (FEC) 그리고 백색캘러스가 관찰되었으며 백색캘러스는 후에 갈변고사 되어 더 이상 증식도 불가하였다. Picloram 1.0 mg/l에서 CEC와 FEC 모두 유도효율이 높았지만

갈변율이 높은 이유로 0.75 mg/l을 배발생캘러스 유도에 관한 최적 농도로 선정하였다. Picloram 처리 시 갈변율도 조사하였는데 1.0 mg/l에서 15%의 높은 갈변율을 나타내었다. 이러한 연구결과는 나리 신품종 대량 증식 시스템 구축에 기여할 것이다.

References

- [1] Seo JN, Nam HH, Lee SG, and Kanh HD, "Effect of plant growth regulators on bulblets regeneration of *Lilium cernuum*," Korean Journal of Agricultural and Life Science 43(6): 29-33, 2009.
- [2] Royal Horticultural Society (RHS), "The royal horticultural society colour chart," Royal Horticultural Society, London, U.K, 2001.
- [3] De Jong PC, "Some notes on the evolution of lilies," lily year book North American Lily Society, 1974.
- [4] Hwang YJ, Lucidos GJ, Ahn BJ, Ahn HG and Lim KB, "Crossing affinity of Oriental hybrid 'Siberia' and Korean native lily species," Flower Research Journal 20(4): 167-171, 2012. <http://dx.doi.org/10.11623/frj.2012.20.4.167>
- [5] Ministry of Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, "Statistics of floriculture cultivation in 2015," 2016.
- [6] Chandler SF and Lu CY, "Biotechnology in ornamental horticulture," In Vitro Cellular Developmental-Biology Plant 41: 591-601, 2005. <http://dx.doi.org/10.1079/IVP2005.681>
- [7] Han IS, and Kim JB, "Establishment of a regeneration system for the production of Calla plants (*Zantedeschia* spp.) via embryogenic callus culture," Journal of Plant Biotechnology 46:32-36, 2019. <https://doi.org/10.5010/JPB.2019.46.1.032>
- [8] Kim J. B., Raemakers C. J. J. M., Jacobsen E., and Visser R. G. F, "Efficient somatic embryogenesis in *Alstroemeria*," Plant Cell Tissue Organ Cult. 86: 233-238, 2006. <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-006-9110-6>
- [9] Roh HS, and Kim JB, "Establishment of proliferation and regeneration system of PLBs in Phalaenopsis by treatments of a variety of types of medium, sucrose concentrations and anti-browning agents," Journal of Plant Biotechnology 41: 223-228, 2014. <http://dx.doi.org/10.5010/JPB.2014.41.4.223>
- [10] Jeong JH, "Effect of scale position, chilling duration and IBA on bulblet formation in scale cuttings of *Lilium hansonii*," Flower Research Journal 23: 33-41, 1998.
- [11] Joshi SK, and Dhar U, "In vitro propagation from axenic explants of *Lilium oxypetalum* (D. Don) Baker, an endemic bulbous plant of high altitude Himalaya," Acta Physiological Plantarum 31: 833-838, 2009. <http://dx.doi.org/10.1007/s11738-009-0299-y>
- [12] Sener O, Can E, Arslan M, and Celis N, "Effects of genotype and picloram concentrations on callus induction and plant regeneration from immature inflorescence of Spring Barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.)," Biotechnology and Biotechnological Equipment 22(4): 915-920, 2008. <https://dx.doi.org/10.1080/13102818.2008.10817578>
- [13] Murashige T, and Skoog F, "Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture," Physiologia Plantarum 15: 473-497, 1962.
- [14] Yang HR, Lee SH, and Kim JB, "Establishment of efficient *Alstroemeria* callus induction system, using node culture and various hormones." The Journal of the Convergence on Culture Technology 5(1): 413-416, 2019. <http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2019.5.1.413>
- [15] Park MW, Ryu SH, Lee YY, Song JM, Kim JH, Ahn YH, and Baw KW, "Callus induction and in vitro plant regeneration of *Polygonatum stenophyllum* Maxim," Journal of Plant Biotechnology 45: 266-272, 2018. <https://dx.doi.org/10.5010/JPB.2018.45.3.266>
- [16] Lee YS and Ko JA, "Effect of plant growth regulators on in vitro micropropagation of colored calla lily (*Zantedeschia* spp.)," Korean Journal of Plant Resources 18(1): 154-160, 2005.
- [17] Ko WH, Su CC, Chen CL, and Chao CP, "Control of lethal browning of tissue culture plantlets of Cavendish banana cv. Formosana with ascorbic acid," Plant Cell Tissue and Organ Culture 96(2): 137-141, 2009. <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-008-9469-7>
- [18] Roh HS, Lee SI, Kang YI, Kim MS, and Kim JB, "Effects of ascorbic acid, citric acid and silver nitrate on the growth of in vitro lily plantlets and reduction of browning," Journal of Plant Biotechnology 40: 224-230, 2013. <http://dx.doi.org/10.5010/JPB.2013.40.4.224>

※ 이 논문은 2018학년도 건국대학교의 연구
년교원 지원에 의하여 연구되었음.