

보리 生育溫度條件과 登熟期間에 따른 未熟種子의 特性 및 世代促進을 위한 胚培養時 幼苗 生育의 變異

白城凡* · 李鍾溟* · 金興培**

Variation of Immature Kernel as Affected by Growth Temperature and Grain-filling Period, and of Seedlings Obtained from Barley Embryo Culture for Shortening Generation

Seong Bum Baek*, Jong Ho Lee* and Heung Bae Kim**

ABSTRACT: In relation to shortening generation by using embryo culture of barley immature seed, it is important to find out profitable embryo age for embryo culture and to understand the relationship among embryo and other characters. Two varieties(Olbori and Dusan #12) were cultivated under two growth conditions(15/10 and 25/15°C). The embryos were aseptically excised when immature seeds were collected 9, 13, 17, 21, 25 and 29 days after heading and cultured on B₅ medium.

On the 21st day after heading, the length of embryos from top or middle part of spike was longer than that from bottom part. Embryos from bottom part under low temperature condition had the shortest length. Shoot length, root length and root number after embryo culture were little difference among three parts of spike under high temperature condition. Under low temperature, seedlings from bottom part of spike were inferior to those from top or middle part. Length of 29-day-old embryos under low temperature condition was similar to that of 17-day-old ones under high. Under high temperature condition, the length of 17-day-old embryo had positive correlation with kernel width, shoot length, root length and root number, but that of 21-day-old one didn't have. Seventeen-day-old embryos obtained from 25/15°C growth condition seem to be efficient to shortening generation by using embryo culture.

Key words: Barley, Shortening generation, Immature seed, Embryo culture, Grain-filling period.

보리는 자연조건을 이용하여 일년에 두 세대를
진전할 수 있으며, 동계중 가운데 조명처리를 하
면 연 3회의 세대촉진도 가능하다.¹³⁾

보리의 세대 경과일수를 단축시키기 위하여, 우

선 休眠을 빠른 기간내에 打破시키는 것이 필요하
며 秋播性 消去 기간 및 登熟 기간의 단축 등 생육
단계별로 경과일수를 단축하여야 한다. 그런데 未
熟 종자에서 摘取한 胚는 休眠이 없는 상태^{5,10,16)}

* : 作物試驗場(Crop Experiment Station, Suwon 441-100, Korea)

** : 東國大學校 農學科(Department of Agronomy, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea)

<95. 2. 2. 接受>

로써 休眠打破를 위한 조작이 불필요하며, 기내에서 직접 저온 및 생장조절제를 처리할 수 있으므로 秋播性 消去가 용이하다. 이러한 측면에서 세대축진은 胚培養으로 하는 것이 효과적인데, Hannig가 최초로 成熟胚를 器內 培養한 것을 시작으로 많은 研究者들^{6,7,9)}이 胚培養에 대하여 연구를 한 결과, 최근에는 種間 또는 屬間의 雜種 種子에서 胚를 摘出하여 器內 培養을 함으로써 완전한 식물체를 얻을 수 있게 되었다^{1,8)}. 未熟種子에서 胚를 떼어 내어 胚培養할 때 胚齡과 胚의 크기가 매우 중요한데, 胚의 摘取 시기에 관하여 Inagaki²⁾는 밀에서 胚의 크기가 1.4 mm 이상일 때 植物體의 發生率이 좋고, 0.3 mm 일 때에는 全無하다고 하였다. Thomas 와 Scott¹⁴⁾는 보리에서 胚의 크기가 1~2 mm가 좋고 0.8 mm 이하는 生存率이 떨어졌다고 하였다. 한편, Jensen⁴⁾은 대체로 23℃의 生育條件에서는 13~15일, 18℃에서는 18~21일에 摘取하는 것이 실용적이라 하였다.

본 연구는 보리 세대축진을 위하여 生育온도조건과 등숙기간에 따른 未熟種子의 形質과 未熟種子의 胚培養時 幼苗의 生育 반응을 검토하고, 이들 형질들간의 상호 관계를 구명하기 위하여 실시하였다.

材料 및 方法

本 研究는 1989년 10월 初부터 1991년 8월까지 麥類研究所 溫冷調節溫室과 組織培養室에서 실시하였다. 온냉조절실에서 14시간 일장하에 주간 15℃, 야간 10℃와 주간 25℃, 야간 15℃(이하 15/10℃, 25/15℃)의 두 生育 온도 조건으로 栽培하였다. 供試 品種은 울보리와 斗山 12호로 1/5000 a Wagner 포트에 5粒씩 點播하였으며, 施肥 條件은 N - P₂O₅ - K₂O 를 10a당 12 - 9 - 7 kg으로 전량 基肥로 施用하였다.

이삭 部位別로 未熟種子의 특성과 培養된 幼苗의 生育 반응을 구명하기 위하여, 出穗日에 각 개체의 主稈에 出穗 표찰을 달고 出穗後 21일에 여섯 이삭을 採取하였으며, 이삭 中央列의 粒長, 粒

幅 및 未熟種子 胚의 胚長(이하 胚長)을 이삭의 부위별로 측정하였다. 즉, 6條인 울보리는 側列 4열을 버리고 양쪽 두 中央列에 있는 未熟種子 만을, 2條인 斗山 12호는 좌우 兩列을 모두 측정하였다. 동일 種子에서 摘取한 未熟種子의 胚를 9 cm 사래에 0.1 M의 蔗糖이 첨가된 B₅培地를 20 ml씩 分注하여 20개씩 置床하고 23℃, 24시간 日長으로 조절된 培養室에서 5일간 培養한 후 幼芽長, 根長 및 根數를 測定하였는데 사래 内部의 照度는 600 lux로 하였다.

登熟 期間別로 種子의 特性和 培養된 幼苗의 生育 반응을 究明하기 위하여 出穗 후 13, 17, 21, 25 및 29일이 經過한 이삭의 中央列에서 生育이 부진한 上下部 1~2粒을 제거한 뒤에 採取한 未熟種子의 粒長, 粒幅 및 胚長을 測定하였다. 동일 種子에서 摘取한 未熟種子의 胚를 生育 온도 조건 및 品種別로 각각 20개씩 3반복으로 앞의 방법과 동일 조건에서 培養하여 幼芽長, 根長 및 根數를 측정하였다. 모든 통계치리는 두 공시 품종의 평균치를 이용하였다.

結果 및 考察

出穗 후 21일이 경과한 未熟種子의 粒長, 粒幅 및 胚長을 生育 온도 조건에 따라 着粒 部位別로 조사한 결과는 표 1과 같다.

粒長은 生育 온도 조건에 따른 차이가 없었으나 부위별로는 溫度 條件에 관계없이 中央 部位가 가장 길었다. 반면, 粒幅은 부위별 차이가 없었고, 生育 온도간에는 현격한 차이를 보였다. 胚長은 하부보다는 중상부가, 저온(15/10℃)보다는 고온(25/15℃) 조건에서 길었는데, 특히 저온 조건의 하부에서 짧았으며, 부위별 차이보다는 生育 온도 조건에 따른 차이가 컸다.

粒長이 중상부에서 가장 길었던 것은 麥類의 小穗가 중상부가 먼저 分化하고 점차 그 상하로 分化하여, 중상부가 상하부보다 生育이 왕성하다는 견해^{3,15)}와 일치한다. 또 Inagaki²⁾는 밀에서 胚의 크기가 1.4 mm 이상일 때 植物體의 發生率이 좋고, 0.3 mm일 때에는 全無하다고 하였으며,

Table 1. Mean values of two varieties for characters of immature kernels as affected by growth condition and different position of barley spike. Kernel characters were measured on the 21st day after heading

Characters	Kernel position	Growth condition (day/night)		Mean
		15/10°C	25/15°C	
..... mm				
Kernel length	Top	9.4	9.4	9.4 c ¹⁾
	Middle	10.1	9.9	10.0 a
	Bottom	9.7	9.8	9.7b
	Mean	9.7A ²⁾	9.7A	
..... mm				
Kernel width	Top	3.4	4.5	4.0a
	Middle	3.5	4.5	4.0a
	Bottom	3.5	4.5	4.0a
	Mean	3.5B	4.5A	
..... mm				
Embryo length	Top	1.70	3.00	2.35a
	Middle	1.80	3.02	2.41a
	Bottom	1.42	2.92	2.17b
	Mean	1.64B	2.98A	

- 1) Within the same column, means followed by different lowercase letters are significantly different at the 0.05 probability level.
- 2) Within the same row, means followed by different capital letters are significantly different at the 0.05 probability level.

Jensen⁴⁾은 대체로 23 °C의 生育 條件에서는 13~15일, 18 °C에서는 18~21일에 摘取하는 것이 실용적이라 하여 배배양에서 胚의 크기와 胚齡이 중요한 요소임을 강조하였던 바, 本 연구에서도 出穗 후 21일이 經過한 未熟種子의 胚는 生育 온도 조건 및 이삭 부위에 관계없이 모두 1.4 mm 이상이었으므로 배배양에서 정상적인 식물체를 유도할 수 있을 것으로 생각된다.

표 2는 보리 未熟種子의 着粒 部位別 幼苗 特性을 검토하기 위하여, 未熟種子의 特性을 調査한 같은 種子에서 胚를 떼어 내어 培養하고 幼芽長, 根長 및 根數를 調査한 結果이다.

幼芽長은 두 生育 온도 조건에서 큰 차이를 보

였고, 또 15/10 °C에서의 부위별 幼芽長도 큰 변이를 보여 중앙부의 것이 30.7mm인 것에 비해 하부의 것은 16.6mm 밖에 안되었다. 根數도 유아장과 같은 경향이어서 저온에서는 3.1개인데 비하여 고온에서는 5.2개로 현저한 차이를 보였다. 根長은 生育 온도 조건간에 차이를 볼 수 없었던 반면, 저온인 경우에 부위에 따라 큰 차이를 보여 중부의 것은 38.0mm로 길었으며, 하부의 것은 22.8mm로 짧았다. 저온 조건에서 중상부보다는 하부의 幼苗 生育이 저조하였던 것은 표 1에서 언급한 바와 같이 胚의 크기가 다른 부위에 비해 상대적으로 작았기 때문이었던 것으로 생각된다.

生育 온도 조건을 대별하여, 登熟 期間別 未熟 種子의 특성과 幼苗 生育에 관한 變異를 살펴보면 표 3과 같다.

Table 2. Mean values of two varieties for seedling characters after embryo culture as affected by growth condition and different position of barley spike

Characters	Kernel position	Growth condition (day/night)		Mean
		15/10°C	25/15°C	
..... mm				
Shoot length	Top	25.2	44.1	34.7a ¹⁾
	Middle	30.7	41.7	36.2a
	Bottom	16.6	40.1	28.4a
	Mean	24.2B ²⁾	42.0A	
..... no.				
Root number	Top	3.2	5.4	4.3a
	Middle	3.4	5.3	4.3a
	Bottom	2.8	5.0	3.9a
	Mean	3.1B	5.2A	
..... mm				
Root length	Top	31.8	32.6	32.3a
	Middle	38.0	32.8	35.4a
	Bottom	22.8	33.4	28.1b
	Mean	30.9A	32.9A	

- 1) Within the same column, means followed by different lowercase letters are significantly different at the 0.05 probability level.
- 2) Within the same row, means followed by different capital letters are significantly different at the 0.05 probability level.

고온 조건에서 생육시에, 粒長은 25일 까지 일 정 水準을 유지하다 그 이후 감소하는 경향이었고, 粒幅은 21일까지 증가하다가 감소하였다. 胚長은 고온 조건에서 21일경에 최장에 이르러 더 이상 신장하지 않았지만 저온 조건에서는 29일까지도 계속적으로 신장하여 저온 조건의 29일배가 고온 조건의 17일胚와 유사한 경향치를 보였다. Sharma와 Mascia¹²⁾는 밀에서 17日胚로 胚培養을 통한 低溫 春化 效果를 보았다고 하였는데, 본 시험에서도 고온 조건의 17일胚는 2.5 mm의 비교적 큰 胚로 未熟種子의 胚培養을 통하여 정상적인 植物體를 얻는데 별로 문제가 없을 것으로 생각된다. 또 Jensen⁴⁾은 몇가지 혼합 生長調節劑를 처리한 바, 胚發育에 효과가 있는 것으로 보고하였는데, 受粉 직후 生長調節劑를 처리하면 더 빠른 胚齡에서도 정상 식물체를 얻을 수 있을 것으로 생각되었다. 幼芽長은 고온조건에서는 13~17일경에, 저온 조건에서는 21~25일경에 급격히 신장하는 경향을 보였다. 그리고 그것은 출수 후 25일경에 고온일때 47.1mm, 저온일때 47.3mm로서 거의 비슷했는데, 胚長을 보면 고온에서 3.1 mm, 低溫일때 1.9mm로서 현저한 차이가 있었음에도 불구하고 幼芽長은 비슷한 것으로 나타났다. Sharma 등¹¹⁾은 幼芽長과 根長은 開花 후 20일까지 胚齡이 증가할수록 좋았다고 하였는데 본 시험

의 결과와 일치하였다. 根數는 고온의 경우 17일 경에 최고에 달했으며, 저온의 경우에는 29일까지도 계속 증가하였다. 이와 같은 현상은 胚長의 경우와 거의 같은 경향이어서 胚長과 根數는 밀접한 관련이 있는 것으로 보였다. 根長은 幼芽長의 登熟日數에 따른 變異와 비슷하게 온도에 관계없이 계속 증가 추세를 보였는데 出穗 후 21일과 25일 경에 고온과 저온에서 비슷한 경향이였다.

주간 25 ℃, 야간 15 ℃ 에서 17일과 21일이 경과한 보리의 형질들간의 相關을 조사해 본 결과는 표 4와 같다. 17일이 경과한 未熟種子의 경우, 粒長은 根數와, 粒幅은 모든 형질과, 胚長과는 粒長을 제외한 모든 형질에서 有意性있는 상관성이 있었다. 21일이 경과한 未熟種子의 경우에 粒幅은 粒長, 幼芽長 및 根長과의 사이에 유의성이 있었고, 胚長은 어느 형질과도 유의성이 없었다. 여기서 特記할만한 것은 胚長이 어느 형질과도 상관성이 없었는데 이것은 고온조건(주간 25 ℃, 야간 15 ℃)에서 21일이 경과한 未熟種子가 着粒 部位와 未熟種子 胚의 大小에 관계없이 幼苗 生育이 일정했기 때문이었던 것으로 생각된다(표 1, 2).

따라서 未熟種子의 胚培養을 이용한 세대축진 시에는 15/10 ℃의 저온보다는 25/15 ℃의 고온 조건에서 생육한 식물체가 유리할 것으로 판단된다. 한편 고온 조건에서는, 배배양후 온실 移植時

Table 3. Mean values of two varieties for characters of immature kernel and seedling as affected by grain-filling period and growth condition

Characters	Growth condition	Days after heading					
		9	13	17	21	25	29
Kernel length(mm)	L	—	—	—	—	—	—
	H	9.7	9.8	9.9	9.9	9.8	9.3
Kernel width(mm)	L	—	—	—	—	—	—
	H	3.2	3.8	4.2	4.6	4.5	4.4
Embryo length(mm)	L	—	—	1.3	1.7	1.9	2.5
	H	—	1.4	2.5	3.0	3.1	3.1
Shoot length(mm)	L	—	—	18.9	26.8	47.3	53.2
	H	—	20.3	36.1	44.3	47.1	—
Root number	L	—	—	2.6	3.3	3.5	4.1
	H	—	2.9	4.6	5.1	4.8	—
Root length(mm)	L	—	—	22.5	33.0	41.2	49.6
	H	—	23.5	31.2	34.6	42.1	—

L : 15/10 ℃, H : 25/15 ℃.

Table 4. Correlation coefficient among characters related to immature kernel and seedling after embryo culture in barley

Characters	Embryo age	KW	EL	SL	RN	RL ¹⁾
	day					
Kernel length (KL)	17	0.550*	0.225	-0.096	0.638**	0.057
	21	0.508*	0.271	0.016	0.040	0.091
Kernel width (KW)	17		0.856**	0.560*	0.725**	0.767**
	21		0.321	0.634**	-0.394	0.696**
Embryo length (EL)	17			0.579*	0.670**	0.873**
	21			0.458	0.312	-0.048
Shoot length (SL)	17				0.418	0.621**
	21				-0.018	0.561*
Root number (RN)	17					0.405
	21					-0.208

¹⁾ Root length

*, ** Significant at the 5 and 1% level, respectively.

에 활착율을 높이기 위해 근수가 많고 유묘 생육이 좋은 출수후 17일 이상 경과한 胚가 적당할 것으로 보였다. 그 가운데 세대 경과일수를 단축하는 의미에서는, 17일胚가 가장 적당할 것으로 보였다.

摘 要

본 시험은 未熟種子의 胚培養을 이용한 보리의 世代促進을 위하여, 栽培조건(15/10, 25/15℃)과 登熟기간에 따른 未熟種子의 형질을 조사하고 이들 형질들간의 상호 관계를 구명함과 동시에, 미숙종자의 胚培養時 幼苗의 생육 반응을 검토하였던 바, 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 出穗 후 21일이 경과한 未熟種子의 胚長은 이삭의 하부보다는 중상부가, 저온(15/10℃)보다는 고온(25/15℃) 조건에서 길었는데, 특히 저온 조건의 하부에서 짧았다. 그러나 部位別

차이보다는 생육 온도 조건에 따른 차이가 컸다.

2. 胚培養 후 幼芽長과 根數 및 根長은 고온의 경우 이삭 부위별 차이가 적었으나, 저온조건에서는 중, 상부보다 하부의 생육이 현저히 불량하였다.
3. 登熟 期間에 따른 胚長의 變異는 고온 조건에서 21일경에 最長에 이르러 더이상 신장하지 않았지만 저온 조건에서는 29일까지도 계속적으로 신장하여 저온 조건의 29日胚가 고온 조건의 17日胚와 유사한 경향치를 보였다.
4. 고온 조건에서 17일이 경과한 胚의 胚長은 粒幅, 幼芽長, 根數 및 根長과 正의 相關이 인정되었으나, 21일이 경과한 것은 어느 形質과도 상관성이 인정되지 않았다.
5. 未熟種子의 胚培養을 이용한 世代促進時에는 25/15℃의 고온 조건에서 出穗後 17일이 경과한 胚를 이용하는 것이 적당할 것으로 보였다.

引用文献

1. Inagaki, M. 1985a. Embryo culture of wheat cultivar Norin 61 crosses with *Hordeum bulbosum* L. Japan J. Breeding. 35 : 59-64.
2. Inagaki, M. 1985b. Chromosome doubling of the wheat haploids obtained from crosses with *Hordeum bulbosum* L. Japan J. Breeding. 35 : 193-195.
3. 稻村 宏, 鈴木辛三郎, 野中舜二. 1955. 大麥及び小麥の幼穂分化基準について. 關東東山農試研報. 8 : 75-91.
4. Jensen, C.J. 1976. Barely monopleids and doubled monopleids : Techniques and experience. Barley Genetics III : 316-345.
5. LaRue, C.D. and G.S. Avery. 1938. The development of the embryo of *Zizania aquatica* in the seed and in artificial culture. Bull. Torrey Bot. Club. 65 : 11-21.
6. Norstog, K. 1961. The growth and differentiation of cultured barley embryos. Am. J. Bot. 48 : 876-884.
7. Norstog, K. 1973. New synthetic medium for culture of premature barley embryos. *In vitro* 8 : 307-308.
8. Pickering, R. A. and P.W. Morgan. 1983. Plant regeneration from cultured embryos derived from *Hordeum vulgare* L. pollinated with *H. bulbosum* L. Euphytica. 32 : 585-591.
9. Raghavan, V. and J. G. Torrey. 1963. Growth and morphogenesis of globular and older embryos of *Capsella* in culture. Am. J. Bot. 50 : 540-541.
10. Rijven, A. H. G. C. 1952. *In vitro* studies on the embryo of *Capsella bursa-pastoris*. Acta Bot. Neerl. 1 : 158-200.
11. Sharma, H.C. and B.S. Gill. 1982. Effect of embryo age and culture media on plant growth and vernalization response in winter wheat. Euphytica 31 : 629-634.
12. Sharma, H.C. and P.N. Mascia. 1987. Vernalization of immature embryos of winter wheat genotypes. Euphytica 36 : 161-165.
13. Spunar, J. and B. Malovana. 1984. The cultivation of two generations of winter barley in the year, with a saving of energy. Wheat, Barley and Triticale Abstracts. Commonwealth Agricultural Bureaux. 2 (6) : 5067.
14. Thomas, M.R. and K.J. Scott. 1985. Plant regeneration by somatic embryogenesis from callus initiated from immature embryos and immature inflorescences of *Hordeum vulgare*. J. Plant Physiol. 12 : 159-169.
15. Walpole, P.R. and D.G. Morgan. 1971. A quantitative study of grain filling in three cultivars of *Hordeum vulgare* L. Ann. Bot. 35 : 301-310.
16. Ziebur, N. K., R. A. Brink, L. H. Graf and M.A. Stahmann. 1950. The effect of casein hydrolysate on the growth *in vitro* of immature *Hordeum* embryos. Am. J. Bot. 37 : 144-148.