

# 세 가지 나리 종간교잡의 지방배양에서 사이토키닌 농도별 신초형성 효과

김승덕<sup>1\*</sup>, 김주형<sup>1</sup>, 이종원<sup>1</sup>, 이기열<sup>1</sup>, 김태중<sup>1</sup>, 백기엽<sup>2</sup>

<sup>1</sup>충북농업기술원, <sup>2</sup>충북대학교 원예학과

## Shoot Development thorough Cytokinin Treatments in Ovary Culture of Three Interspecific Hybrid Lilies

Seung Deok Kim<sup>1\*</sup>, Ju Hyung Kim<sup>1</sup>, Jong Won Lee<sup>1</sup>, Ki Yeol Lee<sup>1</sup>,  
Tae Jung Kim<sup>1</sup> and Kee Yoeup Paek<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Horticultural Research Division, Chungbuk Agricultural Research & Extension Sevice, Cheongwon-gun 363-883, Korea  
<sup>2</sup>Department of Horticulture, Chungbuk National University, Cheongju 362-763, Korea

**Abstract** - We performed the following experiment to increase the development of shoots in the in vitro culture of hybrid progeny. MS medium was used as the base medium; cytokinins BA at a concentration of 2.0, 3.0, or 5.0 mg/L and TDZ at a concentration of 0.2, 0.3, or 0.5 mg/L were added to the in vitro cultures. For the FO progeny, the shoot development rate was highest of 18% with 2.0 mg/L BA, at 18%, and 3.0 mg/L and 5.0 mg/L BA resulted in a lower rate of 12%. TDZ addition tended to identical or similar results to that of the control media. For the FA progeny, addition of TDZ tended to lead to a higher shoot development rate and was superior with 0.3 mg/L treatment. However, the addition of BA to the media resulted in a shoot development rate between 14.3% and 15.7%, similar to that of the control.

**Key words** - BA, Progeny, TZD

### 서 언

나리는 우리나라 구근화훼류 중 재배면적이 가장 큰 작목으로 '96년 198.9 ha에서 '11년 215 ha로 증가하였고, 생산액은 '96년 228억 원에서 '11년 371억 원으로 62.7% 증가하였다. 나리 절화는 수출액이 장미나 국화보다 많은 수출전략작목으로 주 수출 대상국인 일본의 경우 '00년 4,395 천\$, '05년 9,716천\$ '09년 24,742천\$로 수출 증가가 뚜렷하였다. 한국 내 절화수입(울)도 '05년 6.6백만 본(83%)에서 '09년 12.3백만본(96%)으로 증가하고 있는 추세이다. 그러나 재배되는 나리품종들의 대부분은 네덜란드나 최근에 남반구 칠레, 뉴질랜드 등에서 생산되는 구근에 수입을 의존하고 있어 나리 구근 수입액은 매년 증가 추세로 '05년 5,290천\$에서 '09년 5,328천\$, '11년에는 7,440천\$을 수입하고 있다.

오리엔탈 나리는 종자로부터 발아기간이 오래 걸리고, 소자구로부터 개화까지 적어도 4~5년의 시간이 필요하며(Lee, 2002), 개화 이후 후대의 생육특성검정 및 개체 증식, 개화구 생산까지 많은 기간이 소요되므로 신품종 육성이 국내에서는 더딘 편이다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 종자로 번식이 가능한 신나팔나리(*L. formolongi*)를 모본으로 한 종간교잡을 실시하여 FO (F<sub>1</sub> progeny between *L. formolongi* and *L. oriental hybrid*) hybrid를 얻음으로써 육종세대를 줄이려는 시도가 진행되고 있다(Lee, 2002). 그러나 종간교잡은 불화합성으로 인해 정상적인 종자를 얻지 못하는 문제점을 가지고 있다. 이러한 종간교잡 불화합성에는 수정 전 장벽과 수정 후 장벽으로 나뉘어 연구되고 있다. 종간 교잡에 따른 불화합성에 관한 수정 전 장벽에는 화분 미발아(Knox, 1986) 또는 주두 분비물의 억제작용(Sitch and Romero, 1990)의 몇 가지 원인들이 종간교잡에서 관찰되었다. 또한 교잡 후 pollen-wall proteins의 작용에 의해 정상적

\*교신저자(E-mail) : kasdfh@korea.kr

인 수정이 이루어지지 않는다고 하였다. 화분에 의한 불화합성은 esterase와 peroxidaes의 작용에 의해 불화합성이 일어난다고 하였으며(Ghoh and Shivanna, 1980) 또한 화분관 발아에 있어서 화분관에 불구착한 callose 분포, 가지발생, 화분관 끝이 부푸는 현상 등 화분관의 기형적인 신장으로 인해 지방의 진입에 실패하는 것으로 보고되었다(Chichiricco, 1996).

*L. longiflorum*과 Asiatic Hybrids 'Mont Blanc'의 중간교잡 후 화분관 신장은 주두 부근에서 급게 신장하거나 화주 중간 부위에서 신장이 멈추며, 화주절단수분을 실시한 경우에도 주공 부근에서 화분관 신장이 멈춘다고 보고되었다(Van Tuyl, 1988). *L. longiflorum*을 모본으로 한 중간교잡 시, Asano(1980)는 화분관 신장이 억제되는 현상이 나타난다고 보고하였고, 주두와 화주입구 사이에서 신장이 억제되며 화주의 절반까지만 신장되었다고 하였다(Asano, 1981; Van Roggen, 1988; Ascher, 1968).

나리속 식물은 오래전부터 배주 억제물질이 있어 자가불화합성 식물로 알려져 왔으나 참나리의 3배체 변종을 제외하면 자가수분으로 종자를 얻을 수 있는 것으로 확인되었다(Lee, 2002). 수분장벽의 발생은 품종간수분에서 화분관의 일부가 화주를 통과하여 그 선단은 지방의 배주까지 도달하였지만, 자가수분과 이종간수분의 경우는 화주상부에 머물러 수분장벽이 일어나며(Yoon, 1990) 화분관 신장이 배낭 깊은 곳에서 일어나거나 화분이 화분관을 통과하지 못하거나 통과하더라도 정상적으로 결합하지 못하는 경우가 있다. 중간교잡불화합성은 수정 후 교잡체 형성에 방해될 뿐만 아니라 배, 배유, 그리고 지방의 성숙된 조직의 정상 종자 형성에 영향을 준다. 미숙배는 중간교잡 시 관찰되며 North and Wills (1969)는 몇몇 중간 교잡에서 배유의 미성숙 또는 퇴화로 인해 미숙배가 형성된다고 하였다.

본 연구는 나리 주요 품종의 중간교잡에서 생기는 삭과의 배유 퇴화방지와 미숙배 형성 시 발생하는 이상증상의 경감을 위해 나리 중간교잡계통의 지방배양 했을 때 cytokinin 첨가가 신초형성에 미치는 영향을 구명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

2008년부터 2010년까지 충청북도 농업기술원 이충비닐하우스에서 실시하였다. 각 품종별 병충해 및 생육특성검정을 실시한 후 생육 및 개화특성이 우수하다고 판단되는 4품종을 선발하여 중간 교잡 모-부본으로 사용하여 F<sub>1</sub> 중간잡종을 얻기 위해 정역교배를 실시하였다.

식물재료는 신나팔나리(F) '라이잔2호'를 자방친으로, 오리

엔탈나리(O) 'Sorbonne', 아시아틱나리(A) 'Brunello', 나팔나리와 아시아틱나리의 중간잡종(LA)품종인 'Royal Fantasy'를 화분친으로 하여 교배 조합별로 30화를 중간교배 하였다. 중간교잡에서 생육이 정지하는 경우를 방지하기 위해 배가 퇴화하기 전에 미숙한 꼬투리를 채취하여 배 및 배주배양을 하였다. 꼬투리 채취는 너무 이르르면 배가 형성되지 않고 채취 시기가 늦어지면 배가 퇴화되거나 꼬투리의 열개되어 무균적으로 취급하기 곤란하기 때문에 FA교배조합과 FLA교배조합인 라이잔 2호 × Brunello, 라이잔 2호 × Royal Fantasy의 경우, 35일부터 45일 사이에 형성된 미숙 꼬투리를 채취하였고 FO교배조합인 라이잔 2호 × Sorbonne의 경우는 55일 이후에 채취하였다.

채취한 꼬투리는 75% 에탄올에 3~5분 침적한 후 알코올램프로 화염소독하여 MS배지를 기본배지로 하여 sugar 30 g/L와 BA 2, 3, 5 mg/L 및 thidiazuron 0.2, 0.3, 0.5 mg/L를 첨가한 배지에 치상하여 기내 배양하였다. 신초 형성이 이루어 질 때까지 25°C에서 암배양 하였고, 그 후 명배양(2.8 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> 16시간 일장)하여 8~10주 후 교배후대 유묘의 획득수를 조사하였다.

## 결과 및 고찰

나리 중간교잡에서 종자 형성율이 낮은 이유로 배가 퇴화하기 전에 미숙한 꼬투리를 채취하여 배 및 배주배양을 하는데(Fig. 1, 2) 신초 발생율은 10% 정도로 낮은 편이다. 따라서 생장을 조절하고 세포분열을 촉진하는 역할을 하는 cytokinin류 BA와 TDZ첨가 시 중간 교배별 후대획득에 미치는 영향을 알아본 결과, FO계통은 BA처리가 TDZ 처리보다 효과적이었으며 BA처리 적정농도는 2.0 mg/L로 신초발생율은 18%였다(Table 1).

FA계통에서 신초발생에 미치는 BA, TDZ 효과를 보면(Table 2), BA보다는 TDZ 첨가가 신초발생에 더욱 효과적이었다. BA처리에서 14.3%에서 15.7%로 TDZ 처리보다 효과는 낮았지만 2.0 mg/L 처리에서 가장 양호하였으며, TDZ처리는 0.3 mg/L 이하의 저농도 처리에서 가장 효과적이었는데, 이는 중간교잡 나리의 미숙배 배양에서 cytokinin류인 kinetin 0.5와 0.3 mg/L를 첨가했을 때 13.3%에서 20%의 생존율을 보였고(Kim *et al.*, 1998) 고농도의 생장조절제가 배 발달을 억제한다(Kim *et al.*, 1999)는 결과와 일치하였다.

FLA계통에서 신초발생에 대한 BA, TDZ처리 효과는 Table 3과 같다. 신초 발생율은 생장조절제에 의해 증가되었으나 BA처리 시 20~24%, TDZ 처리 시 22~24%로 대조구 20%에 비하여 효과는 미미하였다.

Table 1. Effects of cytokinins on frequency of shoots formation in *L. formolongi* × *L. orientalis* crossing (Raizan No.2 × Sorbonne)

Cytokinins (mg/L)	No. of explants	Shoot formation	
		No. of shoots /explant	Frequency (%)
Control <sup>2</sup>	50	4	8
BA 2.0	50	9	18
BA 3.0	50	6	12
BA 5.0	50	6	12
TDZ 0.2	50	5	10
TDZ 0.3	50	6	12
TDZ 0.5	50	4	8

<sup>2</sup>MS medium was added with sugar 30 g/L and agar 7 g/L.

Table 2. Effects of cytokinins on frequency of shoots formation in *L. formolongi* × *L. asiatic* crossing (Raizan No.2 × Brunello)

Cytokinins (mg/L)	No. of cultures	Shoot formation	
		No. of shoots /explant	Frequency (%)
Control <sup>2</sup>	70	10	14.3
BA 2.0	70	11	15.7
BA 3.0	70	10	14.3
BA 5.0	70	10	14.3
TDZ 0.2	70	15	21.4
TDZ 0.3	70	18	25.7
TDZ 0.5	70	11	15.7

<sup>2</sup>MS medium was added with sugar 30 g/L and agar 7 g/L.

Table 3. Effects of cytokinins on frequency of shoots formation in *L. formolongi* × LA hybrid crossing (Raizan No.2 × Royal Fantasy)

Cytokinins (mg/L)	No. of cultures	Shoot formation	
		No. of shoots /explant	Frequency (%)
Control <sup>2</sup>	50	10	20
BA 2.0	50	11	22
BA 3.0	50	13	26
BA 5.0	50	12	24
TDZ 0.2	50	11	22
TDZ 0.3	50	12	24
TDZ 0.5	50	11	22

<sup>2</sup>MS medium was added with sugar 30 g/L and agar 7g/L.

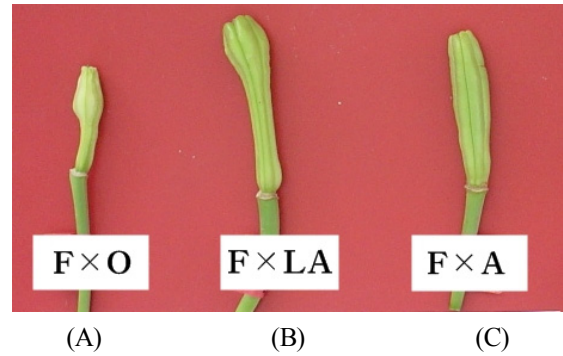


Fig. 1. Ovary obtained from interspecific cross in (A) F × O (Raizan No.2 × Sorbonne); (B) F × A (Raizan No.2 × Brunello); (C) F × LA (Raizan No.2 × Royal Fantasy) after 7weeks in pollination.

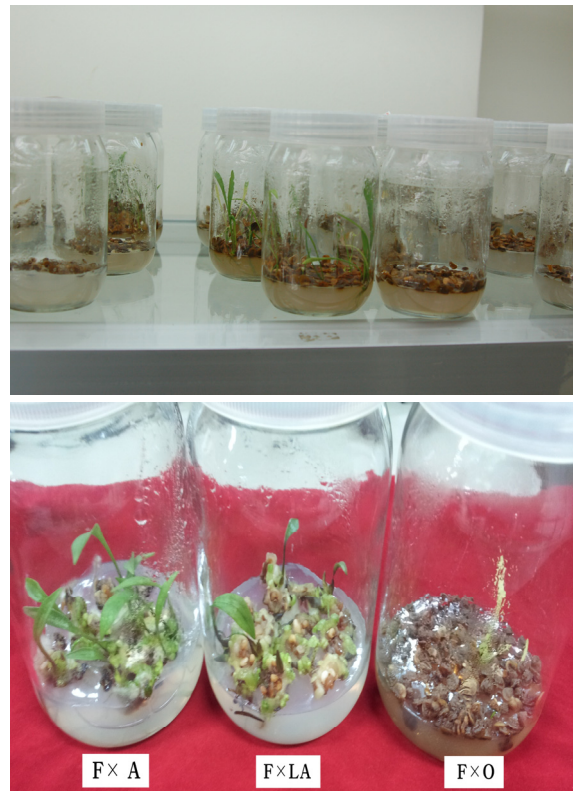


Fig. 2. Shoots obtained in culture of ovaries explant from interspecific crosses.

나팔백합의 지방조직에서 TDZ 처리로 다수 신초를 얻었으며 (Park and Choi, 1994) 오리엔탈과 아시아틱 품종의 인편배양은 BA와 TDZ를 첨가한 배지에서 신초분화에 효과적(Loretta Bacchetta *et al.*, 2002)이라 하였는데 cytokinin 첨가가 인편배양 뿐 아니라 지방배양에도 영향을 주었고 계통별로 cytokinin 종류와 농도에 따라 신초 발생율에 차이가 있음을 알 수 있었다.

Yoon and Lee (1988)는 종간교잡에서 동일종이면서도 품종에 따라 유전적 특성이 달라진다고 하였으며 계통간 신초발생율의 차이는 식물생장조절물질에 대한 형태형성 반응이 종에 따라 큰 차이가 나타나고 유전자형에 따라 체내 호르몬의 영향과 민감성이 각기 다르기 때문(Kim *et al.*, 1999)에 나타난 결과로 판단되었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 중간 교배한 자방을 배양 할 때 sugar 30 g/L만 첨가된 MS배지에서 신초 유도는 가능하지만 생장조절제 BA와 TDZ를 첨가 한다면 신초형성을 높일 수 있어 중간계통의 후대양성과 구근증식에 효과적인 것으로 생각된다.

### 적 요

본 연구는 나리 주요 품종의 종간교잡에서 생기는 삭과의 배유 퇴화방지와 미숙배 형성 시 발생하는 이상증상을 경감하기 위해 나리 종간교잡계통의 자방배양 했을 때 cytokinin 첨가가 신초형성에 미치는 영향을 구명하고자 하였다. FO계통은 BA 2.0 mg/L에서 신초 발생율이 18%로 가장 효과적이었고, BA 3.0 mg/L와 5.0 mg/L에서는 12%로 다소 저조한 결과였다. TDZ 첨가의 경우는 대조구와 같거나 비슷한 경향이였다. FA계통은 TDZ 첨가 시 대체적으로 신초형성율이 높았고 0.3 mg/L 처리가 효과적이였다. 반면 BA를 첨가한 배지에서는 14.3%에서 15.7%로 대조구와 큰 차이가 없었다. FLA계통에서 신초발생율은 생장조절제에 의해 증가되었으나 대조구 20%와 비교했을 때 BA 20~24%, TDZ 22~24%로 처리효과는 미미하였다.

### 사 사

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ008245052013)의 지원에 의해 이루어진 것임.

### References

Asano, Y. 1981. Pollen-tube growth in interspecific crosses on *Lilium longiflorum* (II). J. Japan. Soc. Hort. Sci. 50:350-354.

Ascher, P.D. and S.J. Peloquin. 1968. Pollen tube growth and incompatibility following intra- and inter-specific pollinations in *Lilium longiflorum*. Amer. J. Bot. 55:1230-1234.

Chichiricco, G. 1996. Intra- and interspecific reproductive

barriers in Crocus (Iridaceae). Plant Systematics and Evolution 201:83-92.

Ghosh, S. and K.R. Shivanna, 1980. Pollen pistil interaction in *Lilium grandiflorum* scanning electron microscopic observations and proteins of the stigma surface. Planta 149:257-261.

Lee, H.K. 2002. Improvement of breeding efficiency in interspecific hybridization of lilies. Ph.D Thesis, Seoul National Univ., Korea.

Loretta B., C.R. Patrizio, B. Claudia and S. Francesco. 2002. Adventitious shoot regeneration from leaf explants and stem nodes of *Lilium*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 74:37-44.

North, C. and A.B. Wills. 1969. Inter-specific hybrid of *Lilium, lankongense* Franchet produced by embryo-culture. Euphytica 18:430-434.

Kim, E.Y., J.D. Choi, K.I. Park, M.S. Byun and K.W. Kim. 1998. Induction of multiple shoots through microscale section culture in *Lilium* oriental hybrid. Korean J. Hort. Sci. 16: 410-410.

Kim, E.Y., J.D. Choi, K.I. Park, M.S. Byun and K.W. Kim. 1999. Enhancement of proliferation rate through multiple shoot induction from culture of microscale section in *Lilium*. Korean J. Hort. Sci. 40:459-462.

Knox. 1986. An extensive review of technologies used to restore contaminated aquifers. p. 764.

Palacios, R., E. Martinez, M. Flores and D. Romero. 1990. Organization and dynamics of the *Rhizobium* genome. A Basis for Introducing Novel Arrangements of Genetic Information into the Environment. Scientific Committee on Problems of the Environment International Council of Scientific Unions. 44:69-78.

Park, H.B. and E.G. Choi. 1994. Effect of thidiazuron on bulb scale and floral organ culture of *Lilium longiflorum*. Chonbuk National University. Institute of Agricultural Science & Technology Korea. 38:205-212.

Van Tuyl, J.M. 1988. Effect of temperature treatments on the scale propagation of *Lilium longiflorum* 'White Europe' and *Lilium* × 'Enchantment'. Hort. Sci. 18:754-756.

Yoon, E.S. and S.R. Lee. 1988. Study of karyotype, meiosis and isozyme of hybrid from cross *Lilium longiflorum* × *L. × elegans*. Korean J. Plant Res. 1(1):80-87.

Yoon, E.S. 1990. Growth of pollen tube between self pollination and interspecific pollination of *Lilium* genus. Korean J. Plant Res. 3(2):123-128.

(Received 4 November 2013 ; Revised 8 January 2015 ; Accepted 23 March 2015)