

과제구분	경상기본 Code : LS 0209	수행시기	전반기	연구기간	1996~2002
연구과제명	수출용 나리 고품질 안정생산 종합기술개발			과제책임자	안광복
세부과제명	조직배양에 의한 나리 우량종구 생산				
색인용어	나리, 조직배양, 바이러스 무병주				
연구원별 임무					
구분	소속	성명	전화번호	담당임무	
세부과제책임자	경기도원 원예연구과	이지영	031)229-5808	시험연구수행 및 총괄	
공동연구자	"	정재운	031)229-5805	생육 및 수량조사	
	"	이영순	031)229-5806	생육 및 수량조사	

### ABSTRACT

This experiment was performed to propagate virus free seed bulb for the production of high quality bulbs of oriental lily. Apical meristem of lily bulb was plated in MS medium supplemented with NAA  $0.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  and BA  $0.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . And scales were cultured in MS medium supplemented with NAA  $0.2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  for mass propagation. As a result of test by method of RT-PCR, LSV(Lily symptomless virus), CMV(Cucumber mosaic virus), LMoV(Lily mottle virus) of lily bulblet cultured were not impected. About 1.4 million of bulblets were producted and 785 thousand of bulblets were spreaded to farmers.

**Key words** : Lily, tissue culture, mass propagation, virus free stock

## 1. 연구목표

나리의 국내 재배면적은 218.8ha이며 생산량은 84백만본으로 생산량과 생산액이 해마다 증가하는 추세이지만 매년 구근을

해외에서 수입하고 있는 실정이다.

수입되는 종구가격이 비싸 종구비가 생산비의 70%이상을 차지하고 있다. 수입종구는 품종에 따라 차이는 있지만 대부분 바이러스에 감염이 되어 있기 때문에 절화

재배하는데 어려움이 많다. 바이러스는 한번 감염되면 그 피해가 지속되며 효과적인 방법이 없기 때문에 바이러스 무병구의 유지가 필수적이다.

나리의 번식은 실생번식이나 지하부에 발달되는 자구, 줄기에 형성되는 목자, 그리고 자연분구에 의한 자구를 이용하는 방법이 있으나 대량증식을 하기 위해서는 구근의 성장점을 이용하여 바이러스 무병구를 만들어 인편배양을 하는 방법이 많이 이용되고 있다.

본 시험은 기내에서 무병종구를 대량증식하여 농가에 보급하고자 수행되었으며 보급된 종구의 바이러스 감염정도를 알아보기 위하여 연차별 바이러스 검정을 실시하였다.

## 2. 재료 및 방법

### <시험1> 나리 우량종구 생산

본 시험은 1996년부터 2002년까지 경기도농업기술원 조직배양실에서 수행하였으며 시험품종은 *Lilium* Oriental Hybrid 'Casablanca', 'Le Reve', 'Marco Polo', 'Tiber', 'Siberia', 'Sorbonne' 6품종이었으며 기내 증식방법은 구근의 외인편을 분리하고 80% 에탄올에 5분간 소독한 후 1% Sodium hypochloride 용액에 10분간 소독 후 멸균수로 3회 수세하였다. 성장점을 채취하여 NAA  $0.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 와 BA  $0.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , sucrose  $30\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 가 첨가된 MS배지에 치상하였다. 6개월후 인편을 떼내어

NAA  $0.2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , sucrose  $60\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 가 첨가된 MS배지에서 인편을 배양하여 소인경을 유도하였다. 배양환경은  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 를 유지하였으며 2,500lux에서 16시간 명배양하였다.

기외로 꺼낸 소인경을 캡탄 500배액에 30분간 침지소독한 후 휴면타과를 위해 피트모스에 충전하여  $4^\circ\text{C}$ 에서 8~12주 저온저장하였다. 바이러스는 기내 소인경 및 순화구를 대상으로 나리에서 주로 발생하는 LSV(Lily symptomless virus), CMV(Cucumber mosaic virus), LMoV(Lily mottle virus)를 RT-PCR방법으로 검정하였다.

생육조사는 농촌진흥청 농사시험 연구조사기준에 의거하여 실시하였다.

### <시험2> 조직배양산 종구 연차별 바이러스 검정

본 실험은 2001년에 수행되었으며 시험품종은 카사블랑카, 르레브, 마르코폴로 3품종이었으며 1998~2000년에 생산된 나리종구의 바이러스 감염여부를 확인하기 위하여 RT-PCR방법으로 검정하였다.

식물체 잎에서 total RNA를 추출시료로 이용하여 LSV, CMV, LMoV에 특이적인 primer를 사용하여 감염여부를 확인하였다. Primer는 기산(주)에서 각각에 대하여 sense primer, antisense primer와 reverse transcriptase로 제작한 RCR mix kit를 구입하여 사용하였다. PCR 수행조건은  $42^\circ\text{C}$ 에서 45분간 역전사시키고  $95^\circ\text{C}$ 에서 2분간

reverse transcriptase의 활성을 억제시켰다. Denaturation은 96℃에서 30초간, annealing은 60℃에서 1분, extension은 68℃에서 2분간 실시한후 이를 40회 반복하였다. 72℃에서 15분 final extension한후 4℃에서 저장하였다. PCR산물은 TAE buffer용액과 염색시약으로 EtBr을 사용하여 1% agarose gel을 제조하여 전기영동하였으며 UV transilluminator lamp상에서 감염여부를 확인하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### <시험1> 나리 우량종구 생산

오리엔탈 나리의 품종별로 기내증식하여 기외로 순화시키기 전 생육상황은 표 1과 같다. 구중이 1g 이상 되어야 구근 저장중 부패율이 낮았으며 전 등(2002)은 1.01g 이상의 소인경이 구비대 효율이 좋다고 보고한 바 있다.

표 1. 오리엔탈 나리 품종별 기내 소인경의 생육상황

품종	구중(g)	구주(cm)	구고(cm)	인편수(개)
르레브	1.36	3.7	2.3	8
카사블랑카	1.20	4.3	1.7	8
마르코폴로	1.58	3.6	2.0	10
소르본느	1.31	4.3	1.7	8
티버	1.08	4.4	1.6	9
시베리아	1.09	3.4	1.5	6

표 2. 연차별 나리 기내인편번식 및 순화종구 생산

년도	품종	기내인편종구(구)	순화종구(구)
1998	카사블랑카	289,691	71,882
	마르코폴로	7,900	2,116
	르레브	2,409	960
소계	3품종	300,000	74,958
1999	카사블랑카	274,720	22,800
	마르코폴로	15,320	2,200
	르레브	10,000	-
	시베리아	3,600	-
소계	4품종	303,640	25,000
2000	카사블랑카	110,160	84,500
	마르코폴로	101,760	3,200
	르레브	104,260	-
	시베리아	3,080	-
소계	4품종	319,260	87,700

2001	카사블랑카	115,300	-
	마르코폴로	55,200	-
	르 레 브	56,000	-
소계	3품종	226,500	-
2002	르 레 브	45,000	-
	마르코폴로	37,500	-
	소 르 본 느	3,000	-
	티 버	5,000	-
	시 베 리 아	5,000	-
	카사블랑카	20,000	5,000
소계	6품종	115,500	5,000
총계		1,264,900	192,658

※ 2001~2002년 국비로 생산된 200,000구는 제외되었음

표 3. 나리 무병종구 농가보급 실적

년 도	품 종	생산보급량(구)	분양지역
1998	카사블랑카	73,700	이천, 가평, 연천, 파주
	마르코폴로	3,900	
	스타게이저	1,910	
	르 레 브	490	
	소 계	80,000	
1999	카사블랑카	186,000	연천, 평택, 파주, 이천
	마르코폴로	2,200	
	소 계	188,200	
2000	카사블랑카	248,000	이천, 여주, 파주, 화성
	마르코폴로	46,000	
	르 레 브	31,000	
	소 계	325,000	
2001	카사블랑카	10,000	파주, 화성
	마르코폴로	44,000	
	르 레 브	33,000	
	소 계	88,000	
2002	르 레 브	45,000	여주, 화성, 파주, 평택
	카사블랑카	5,000	
	마르코폴로	41,500	
	소르본느	3,000	
	티 버	5,000	
	시베리아	5,000	
	소 계	104,500	
	총계	6품종	

※ 2001~2002년 국비로 생산된 195,500구는 제외되었음

표 4. 조직배양산 종구 연차별 바이러스 검정

분양년도	지역	품 종	LMoV	CMV	LSV
1998	본원	르 레 브	- <sup>1</sup>	-	-
	"	마르코폴로	-	-	-
	"	카사블랑카	-	-	-
1999	본원	르 레 브	-	-	-
	"	마르코폴로	-	-	-
	"	카사블랑카	-	-	-
	과주	마르코폴로	-	-	-
	"	카사블랑카	-	-	-
2000	본원	르 레 브	-	-	-
	"	마르코폴로	-	-	-
	"	카사블랑카	-	-	-
	과주	마르코폴로	-	-	-
	"	카사블랑카	-	-	-
	이천	마르코폴로	-	-	-
	"	카사블랑카	-	-	-

<sup>1</sup> : RT-PCR에 의한 바이러스 미검출

1998~2002년에 오리엔탈 나리 ‘카사블랑카’등 6품종의 기내 인편종구 1,264,900구, 순화종구 192,658구를 기내배양으로 생산하였고 785,700구를 농가에 보급하였다.

#### <시험2> 조직배양산 종구 연차별 바이러스 검정

1998~2000년에 생산된 조직배양구를 2001년에 분양된 연차별로 바이러스 검정을 한 결과 나리에서 잘 발견되는 LSV, LMoV, CMV바이러스는 감염되지 않았다(표 4).

## 4. 적 요

조직배양기술에 의한 바이러스가 없는 고품질 절화용 무병종구를 생산하여 농가

에서 보급하기 위해 오리엔탈 나리 카사블랑카, 르레브 등 6품종을 시험한 결과는 다음과 같다.

가. 나리 바이러스 무병주를 생산하기 위해 성장점을 채취하여 NAA  $0.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , BA  $0.5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , sucrose  $30\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 가 첨가된 MS배지에서 치상한 후 NAA  $0.2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 와 sucrose  $60\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 을 첨가한 MS배지에서 인편을 대량증식하여 1,457,558구를 생산하였다.

나. 나리에서 주로 발생하는 LSV, CMV, LMoV를 기내배양으로 생산된 구를 RT-PCR방법으로 검정한 결과 감염되지 않았다.

## 5. 인용문헌

- 전민화, 한은주, 박현춘, 백기엽. 2002. 기내에서 배양된 오리엔탈 나리 ‘카사블랑카’ 소인경의 저온처리기간, 크기 및 양액농도가 구근비대에 미치는 영향. 한원지 43(1):69-72.
- 한영희, 소호섭, 유창재, 안영희. 1997. 백합 순원기 배양법에 의한 다량증식기술 개발. 경기도농업기술원 시험연구보고서. 436-441.
- 김규원, 김주성, 김의영, 최정두, 박경일. 1998. 오리엔탈 백합 기내 소인경의 휴면 정도에 미치는 배양조건의 영향. 한원지. 39(5):641-646.
- 김의영, 최정두, 박경일, 변미순, 김규원. 1999. 백합 소인편 절편체로부터의 Multiple shoot 유도를 통한 기내 증식 속도 향상. 한원지. 40(4):459-462.
- 김진영, 한영희, 소호섭, 이성재, 김정수, 나용준. 1998. 오리엔탈 나리의 바이러스 병 발생현황과 피해. 작물보호연구논문집. 40(2) 58-65.