

과제구분	기본연구	수행시기		전반기	
연구과제 및 세부과제명		연구분야	수행기간	연구실	책임자
나리 바이러스 저항성 신품종 육성		생명공학	'05~'09	농업기술원 환경농업연구과	소호섭
나리 바이러스 저항성 형질전환		생명공학	'05~'09	농업기술원 환경농업연구과	소호섭
색인용어	나리, 바이러스 저항성, 형질전환				

ABSTRACT

This experiment was conducted to develop the resistant lily of cucumber mosaic virus (CMV) and lily symptomless virus (LSV) offending lily cultivation. Virus resistant genes, CMV coat protein (CP) and LSV CP were used to optimize parameters required for agrobacterium transformation of bulblets of lily (Asca, Barbarisco, Georgia, Marcopolo, Montecristo, Simplon, Sorbonne, and Tiber). For transformation of lily bulblet, were co-cultured with plasmid DNA containing CMV CP, LSV CP under the *Oryza sativa* Cytochrome C1 (OsCc1) promoter and the *bar* genes under the cauliflower mosaic virus (CaMV 35S) promoter. 171 plants contained the CMV resistant transgene, and 202 plants contained the LSV resistant transgene were regenerated. These virus resistant transformants were required the progeny test and the fixation of transformants.

Key words : lily, virus resistance, transformation

1. 연구목표

나리를 재배할 때 가장 문제시 되고 있는 바이러스는 Lily symptomless virus (LSV), Cucumber mosaic virus (CMV), Tulip breaking virus (TBV)로 알려져 있으며, 바이러스 감염은 나리의 품종과 바이러스의 종류에 따라 다르고 한 가지 보다 두 종류 이상의 바이러스가 복합 감염되어 있을 때 피해가 심하다(01, 2004).

바이러스 방제는 토양소독 및 이병주 제거, 잡초 제거 또는 살충제를 살포하여 매개충을 근절하는 방법이 있지만 완전한 방제는 불가능하기 때문에 분자생물학적 기법을 이용한 바이러스 저항성 작물 개발이 요구되고 있다.

따라서 본 연구는 유전자 전환에 의한 나리 바이러스 저항성 작물을 개발하기 위하여 오이 모자이크 바이러스 (CMV)와 나리 무증상 바이러스 (LSV)의 외피 단백질을 과발현(over expression)하는 pMJ101백터와 RNAi를 일으키는 pMJ201 백터에 삽입시켜 바이러스 저항성 나리를 육성하고자 수행하였다.

2. 재료 및 방법

가. 백터

나리 바이러스 외피 단백질의 일부 유전자인 CMV CP, LSV CP 유전자를 농업생명공학연구원에서, 식물 형질전환용 바이너리 백터인 pMJ101과 pMJ201 백터는 GG바이오에서 분양받아 pMJ101+CMVCP, pMJ101+LSVCP, pMJ201+CMVCP, pMJ201+LSVCP 바이러스 저항성 바이너리 백터를 제작하였다.

나. 형질전환용 아그로박테리움 및 균주 증식

나리 형질전환을 위한 agrobacterium 균주는 LBA4404로써 농업생명공학연구원에서 분양받아 HB101 백터와 바이러스 저항성 바이너리 백터와 함께 tri parental mating(TPM) 방법으로 아그로박테리움에 형질전환시켰다. 배양된 균주의 콜로니는 spectinomycin 100mg/L 첨가된 액체 YEP(10mg/L peptone, 10g/L yeast extract, 5g/L NaCl)배지에 3ml 접종하여 28°C에서 250rpm으로 2일간 진탕 배양하여 증식한 후 플라스미드 DNA를 추출하여 아그로박테리움에 삽입되었는지를 PCR을 통해서 확인하였다.

다. 형질전환

나리 형질전환을 위하여 agrobacterium 균주를 tetracyclin 10mg/L와 spectinomycin 50mg/L를 첨가한 MS배지에 접종하여 28°C 인큐베이터에서 250rpm으로 3일간 진탕 배양하였다 (OD₅₀₀ = 0.7~1.0 범위). 페트리디쉬에서 1주일간 암배양시킨 인편 조각과 agrobacterium 균주를 넣고 20분간 서서히 흔들어 주었다. 그리고 여과지(No. 2) 위에 인편을 올려 놓고 2~5분간 건조시킨 후에 NAA 0.1mg/L이 첨가된 MS배지에 치상하여 25°C에 4일 동안 암조건 하에서 배양하였다. 공동배양된 인편

조각을 cefotaxim 250mg/L이 함유된 코니칼 튜브에 3회 흔들어 아그로박테리움 균을 박멸시킨 다음 인편을 다시 여과지 위에 올려놓아 3~5분 정도 건조시킨 후 NAA 0.1mg/L와 BA 1.0mg/L이 첨가된 MS배지에 치상하여 25°C, 7일간 암조건 하에서 배양하였다. 7일 후부터 25°C에서 16시간 명배양하였다. 형질전환 나리 기내선발은 인편에서 재분화된 개체를 PPT 2.0mg/L가 첨가된 MS배지에서 생존한 개체를 1차로 선발하고, 1차 선발된 재분화 개체를 PPT 3.0mg/L가 첨가된 MS배지에서 생존하는 2차로 선발하였다.

3. 결과 및 고찰

가. 품종별 바이러스 저항성 1차 형질전환에 따른 재분화율 및 고사율

형질전환에 의한 오이 모자이크 바이러스(CMV) 저항성 나리를 개발하기 위하여 CMV 외피 단백질을 과발현하는 pMJ101+CMVCP 바이너리 벡터가 포함된 아그로박테리움 균주를 Asca 등 8품종의 인편에 치상하여 1차 형질전환하였다 (표 1). Asca 품종은 140개 인편을 치상하여 10개가 식물체로 재분화하여 7%의 재분화율을 보여 8품종 중에서 가장 높았다. Barbarisco와 Georgia 품종은 각각 93개와 110개 인편을 치상하였지만 식물체로 재분화한 개체가 없었다. Marcopolo 품종은 82개 인편을 치상하여 1개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 1%이며, Montecristo 품종은 78개 인편을 치상하여 3개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 4%, Simplon 품종은 40개 인편을 치상하여 1개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 3%이며, Sorbonne 품종은 109개 인편을 치상하여 4개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 4%, Tiber 품종은 118개 인편을 치상하여 1개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 1%이며, 85개 인편은 재분화되지 않고 고사하여 72%의 고사율을 나타냈다. 따라서 pMJ101+CMVCP 바이너리 벡터가 포함된 아그로박테리움 균주를 Asca 등 8품종 770개 인편에 치상한 결과 20개가 식물체로 재분화하여 재분화율이 2.6%이며, 455개가 고사하여 59.1%의 고사율을 보였다.

표 1. pMJ101+CMVCP

품종명	치상수 (개)	재분화수 (개)	재분화율 (%)	고사수 (개)	고사율 (%)
Asca	140	10	7	94	67
Barbarisco	93	0	0	67	72
Georgia	110	0	0	5	5
Marcopolo	82	1	1	81	99
Montecristo	78	3	4	38	49
Simplon	40	1	3	39	98
Sorbonne	109	4	4	46	42
Tiber	118	1	1	85	72
8종	770	20	2.6	455	59.1

pMJ201 벡터를 이용하여 오이 모자이크 바이러스(CMV) 저항성 나리를 개발하기 위하여 pMJ201+CMVCP 바이너리 벡터가 포함된 아그로박테리움 균주를 Asca 등 8품종의 인편에 치상하여 형질전환하였다(표 2). Asca 품종은 147개 인편을 치상하여 3개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 2%이며, 109개 인편은 재분화되지 않고 고사하여 74%의 고사율을 나타냈다. Barbarisco, Georgia 및 Montecristo 품종은 각각 100개, 152개와 96개의 인편을 치상하였지만 식물체로 재분화한 개체가 없었다. Marcopolo 품종은 52개 인편을 치상하여 9개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 17%이며 8품종 중에서 가장 높은 재분화율을 보였다. Simplon 품종은 102개 인편을 치상하여 1개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 1%이며, Sorbonne 품종은 132개 인편을 치상하여 2개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 2%, Tiber 품종은 114개 인편을 치상하여 5개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 4%이며, 76개 인편은 재분화되지 않고 고사하여 67%의 고사율을 나타냈다. 따라서 pMJ201+CMVCP 바이너리 벡터가 포함된 아그로박테리움 균주를 Asca 등 8품종 895개 인편에 치상한 결과 20개가 식물체로 재분화하여 재분화율이 2.2%이며, 594개가 고사하여 고사율이 66.4%였다.

표 2. pMJ201+CMVCP

품 종 명	치상수 (개)	재분화수 (개)	재분화율 (%)	고사수 (개)	고사율 (%)
Asca	147	3	2	109	74
Barbarisco	100	0	0	87	87
Georgia	152	0	0	34	22
Marcopolo	52	9	17	48	92
Montecristo	96	0	0	44	46
Simplon	102	1	1	100	98
Sorbonne	132	2	2	96	73
Tiber	114	5	4	76	67
8종	895	20	2.2	594	66.4

pMJ101 벡터를 이용하여 나리 무증상 바이러스(LSV) 저항성 나리를 개발하기 위하여 pMJ101+LSVCP 바이너리 벡터가 포함된 아그로박테리움 균주를 Asca 등 8품종의 인편에 치상하여 형질전환하였다(표 3). Asca 품종은 112개 인편을 치상하여 6개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 5%를 보였다. Barbarisco 품종은 100개 인편을 치상하여 6개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 6%이며, Georgia 품종은 115개 인편을 치상하였지만 식물체로 재분화한 개체가 없었고, Marcopolo 품종은 50개 인편을 치상하여 1개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 2%이며, Montecristo 품종은 122개 인편을 치상하여 8개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 7%, Simplon 품종은 68개 인편을 치상하여 1개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 1%이며, Sorbonne 품종은 115개 인편을 치상하여 10개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 9%, Tiber 품

중은 112개 인편을 치상하여 8개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 7%이며, 59개 인편은 재분화되지 않고 고사하여 53%의 고사율을 나타냈다. 따라서 pMJ101+LSVCP 바이너리 벡터가 포함된 아그로박테리움 균주를 Asca 등 8품종 794개 인편에 치상한 결과 40개가 식물체로 재분화하여 재분화율이 5.0%이며, 441개가 고사하여 55.5%의 고사율을 보였다.

표 3. pMJ101+LSVCP

품 종 명	치상수 (개)	재분화수 (개)	재분화율 (%)	고사수 (개)	고사율 (%)
Asca	112	6	5	97	87
Barbarisco	100	6	6	72	72
Georgia	115	0	0	24	21
Marcopolo	50	1	2	48	96
Montecristo	122	8	7	37	30
Simplon	68	1	1	67	99
Sorbonne	115	10	9	37	32
Tiber	112	8	7	59	53
8종	794	40	5.0	441	55.5

pMJ201 벡터를 이용하여 나리 무증상 바이러스(LSV) 저항성 나리를 개발하기 위하여 pMJ201+LSVCP 바이너리 벡터가 포함된 아그로박테리움 균주를 Asca 등 8품종의 인편에 치상하여 형질전환하였다(표 4). Asca 품종은 108개 인편을 치상하여 3개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 3%이며, Barbarisco 품종은 90개 인편을 치상하여 3개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 3%, Georgia 품종은 126개 인편을 치상하였지만 식물체로 재분화한 개체가 없었으며, Marcopolo 품종은 72개 인편을 치상하여 8개가 나리 식물체로 재분화하여 11%의 재분화율을 보여 8품종 중에서 가장 높았다. Montecristo 품종은 124개 인편을 치상하여 2개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 2%이며, Simplon 품종은 71개 인편을 치상하여 2개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 3%, Sorbonne 품종은 134개 인편을 치상하여 14개가 나리 식물체로 재분화하여 재분화율이 10%이며, Tiber 품종은 106개 인편을 치상하여 1개가 나리 식물체로 재분화하여 1%의 재분화율을 보였다. 따라서 pMJ201+LSVCP 바이너리 벡터가 포함된 아그로박테리움 균주를 Asca 등 8품종 831개 인편에 치상한 결과 33개가 식물체로 재분화하여 재분화율이 4.0%이며, 463개가 고사하여 고사율이 55.7%였다.

표 4. pMJ201+LSVCP

품 종 명	치상수 (개)	재분화수 (개)	재분화율 (%)	고사수 (개)	고사율 (%)
Asca	108	3	3	72	67
Barbarisco	90	3	3	55	61
Georgia	126	0	0	24	19
Marcopolo	72	8	11	69	96
Montecristo	124	2	2	61	49
Simplon	71	2	3	70	99
Sorbonne	134	14	10	59	44
Tiber	106	1	1	53	50
8종	831	33	4.0	463	55.7

나. 2009년 품종별 바이러스 저항성 형질전환 및 형질전환체 재분화율

2009년 형질전환에 의한 오이 모자이크 바이러스(CMV) 저항성 나리를 개발하기 위하여 CMV 외피 단백질 발현하는 pMJ101+CMVCP 바이너리 벡터가 포함된 아그로박테리움 균주를 Asca 등 8품종의 인편에 치상하여 2차 형질전환하였다 (표 5). Asca 품종은 2009년 8월 24일 84개 인편을 1회 치상하였지만 재분화된 나리 식물체를 얻지 못했다. Barbarisco 품종도 2009년 8월 17일 36개 인편, 9월 14일 82개 인편을 2회 치상하였지만 재분화된 나리 식물체를 얻지 못했다. Georgia 품종은 같은 해 8월 31일 1,867개 인편을 1회 치상하여 42개의 재분화된 나리 식물체를 획득하여 2%의 재분화율을 보였다. Marcopolo 품종도 같은 해 9월 7일 40개 인편을 1회 치상하여 1개의 재분화된 나리 식물체를 획득하여 3%의 재분화율을 보였다. Montecristo 품종은 2009년 4월 26일 109개 인편, 10월 26일 90개 인편을 2회 치상하였지만 재분화된 나리 식물체를 얻지 못했으나, 같은 해 8월 3일 48개 인편을 치상하여 4개의 재분화된 나리 식물체를 획득하였다. Simplon 품종은 8월 10일 64개 인편을 치상하였을 경우 2개의 재분화된 나리 식물체를 얻었으나, 10월 19일 101개의 인편을 2차 치상하였을 때는 형질전환 식물체를 획득하지 못했다. Sorbonne 품종도 Simplon 품종과 마찬가지로 7월 27일 42개 인편을 치상하였을 경우 2개의 재분화된 나리 식물체를 얻었으나, 9월 21일 50개의 인편을 2차 치상하였을 때는 형질전환 식물체를 획득하지 못했다. Tiber 품종도 Sorbonne과 Simplon 품종과 마찬가지로 7월 20일 53개 인편을 치상하였을 경우 7개의 재분화된 나리 식물체를 얻었으나, 8월 31일 73개의 인편을 2차 치상하였을 때는 형질전환 식물체를 획득하지 못했다.

표 5. pMJ101+CMVCP

품 종 명	접종일	치상수 (개)	재분화수 (개)	재분화율 (%)
Asca	09.8.24	87	0	0
Barbarisco	09.8.17	36	0	0
"	09.9.14	82	0	0
Georgia	09.8.31	1,867	42	2
Marcopolo	09.9.7	40	1	3
Montecristo	09.04.26	109	0	0
"	09.08.03	48	4	8
"	09.10.26	90	0	0
Simplon	09.08.10	64	2	3
"	09.10.19	101	0	0
Sorbonne	09.7.27	42	2	5
"	09.9.21	50	0	0
Tiber	09.7.20	53	7	13
"	09.8.31	73	0	0
8종		2,742	58	2.1

따라서 pMJ101+CMVCP 바이너리 벡터가 포함된 아그로박테리움 균주를 Asca 등 8품종 2,742개 인편에 치상한 결과 58개가 식물체로 재분화하여 재분화율이 2.1%를 보였다.

pMJ201 벡터를 이용하여 오이 모자이크 바이러스(CMV) 저항성 나리를 개발하기 위하여 2009년 pMJ201+CMVCP 바이너리 벡터가 포함된 아그로박테리움 균주를 Asca 등 8품종의 인편에 치상하여 2차 형질전환하였다(표 6). Asca 품종은 2009년 8월 24일 79개 인편을 1회 치상하였지만 재분화된 나리 식물체를 얻지 못했다. Barbarisco 품종도 2009년 8월 17일 50개 인편, 9월 14일 80개 인편을 2회 치상하였지만 재분화된 나리 식물체를 얻지 못했다. Georgia 품종은 같은 해 8월 31일 1,930개 인편을 1회 치상하여 54개의 재분화된 나리 식물체를 획득하여 3%의 재분화율을 보였다. Marcopolo 품종도 같은 해 9월 7일 40개 인편을 1회 치상하여 1개의 재분화된 나리 식물체를 획득하여 3%의 재분화율을 보였다. Montecristo 품종은 2009년 4월 26일 106개 인편, 10월 26일 86개 인편을 2회 치상하였지만 재분화된 나리 식물체를 얻지 못했으나, 같은 해 8월 3일 59개 인편을 치상하여 11개의 재분화된 나리 식물체를 획득하였다. Simplon 품종은 8월 10일 51개 인편을 치상하였을 경우 3개의 재분화된 나리 식물체를 얻었으나, 10월 19일 102개의 인편을 2차 치상하였을 때는 형질전환 식물체를 획득하지 못했다. Sorbonne 품종도 Simplon 품종과 마찬가지로 7월 27일 49개 인편을 치상하였을 경우 3개의 재분화된 나리 식물체를 얻었으나, 9월 21일 84개의 인편을 2차 치상하였을 때는 형질전환 식물체를 획득하지 못했다.

표 6. pMJ201+CMVCP

품종명	접종일	치상수 (개)	재분화수 (개)	재분화율 (%)
Asca	09.8.24	79	0	0
Barbarisco	09.8.17	50	0	0
"	09.9.14	80	0	0
Georgia	09.8.31	1,930	54	3
Marcopolo	09.9.7	40	1	3
Montecristo	09.04.26	106	0	0
"	09.08.03	59	11	19
"	09.10.26	86	0	0
Simplon	09.08.10	51	3	6
"	09.10.19	102	0	0
Sorbonne	09.7.27	49	3	6
"	09.9.21	84	0	0
Tiber	09.7.20	60	1	2
"	09.8.31	60	0	0
8종		2,836	73	2.6

Tiber 품종도 Sorbonne과 Simplon 품종과 마찬가지로 7월 20일 60개 인편을 치상하였을 경우 1개의 재분화된 나리 식물체를 얻었으나, 8월 31일 60개의 인편을 2차 치상하였을 때는 형질전환 식물체를 획득하지 못했다. 따라서 pMJ201+CMVCP 바이너리 벡터가 포함된 아그로박테리움 균주를 Asca 등 8품종 2,836개 인편에 치상한 결과 73개가 식물체로 재분화하여 재분화율이 2.6%를 보였다.

pMJ101 벡터를 이용하여 나리 무증상 바이러스(LSV) 저항성 나리를 개발하기 위하여 2009년 pMJ101+LSVCP 바이너리 벡터가 포함된 아그로박테리움 균주를 Asca 등 7품종의 인편에 치상하여 2차 형질전환하였다(표 7). Asca 품종은 2009년 8월 24일 88개 인편을 1회 치상하였지만 재분화된 나리 식물체를 얻지 못했다. Barbarisco 품종도 2009년 8월 17일 48개 인편, 9월 14일 80개 인편을 2회 치상하였지만 재분화된 나리 식물체를 얻지 못했다. Georgia 품종은 같은 해 8월 31일 1,826개 인편을 1회 치상하여 71개의 재분화된 나리 식물체를 획득하여 4%의 재분화율을 보였다. Montecristo 품종은 2009년 4월 26일 108개 인편, 10월 26일 109개 인편을 2회 치상하였지만 재분화된 나리 식물체를 얻지 못했으나, 같은 해 8월 3일 59개 인편을 치상하여 1개의 재분화된 나리 식물체를 획득하였다. Simplon 품종은 8월 10일 49개 인편을 치상하였을 경우 2개의 재분화된 나리 식물체를 얻었으나, 10월 19일 108개의 인편을 2차 치상하였을 때는 형질전환 식물체를 획득하지 못했다. Sorbonne 품종도 Simplon 품종과 마찬가지로 7월 27일 58개 인편을 치상하였을 경우 4개의 재분화된 나리 식물체를 얻었으나, 9월 21일 75개의 인편을 2차 치상하였을 때는 형질전환 식물체를 획득하지 못했다.

표 7. pMJ101+LSVCP

품종명	접종일	치상수 (개)	재분화수 (개)	재분화율 (%)
Asca	09.8.24	88	0	0
Barbarisco	09.8.17	48	0	0
"	09.9.14	80	0	0
Georgia	09.8.31	1,826	71	4
Montecristo	09.04.26	108	0	0
"	09.08.03	59	1	2
"	09.10.26	109	0	0
Simplon	09.08.10	49	2	4
"	09.10.19	108	0	0
Sorbonne	09.7.27	58	4	7
"	09.9.21	75	0	0
Tiber	09.7.20	43	13	30
"	09.8.31	70	0	0
7종		2,721	91	3.3

Tiber 품종도 Sorbonne과 Simplon 품종과 마찬가지로 7월 20일 43개 인편을 치상하였을 경우 13개의 재분화된 나리 식물체를 얻었으나, 8월 31일 70개의 인편을 2차 치상하였을 때는 형질전환 식물체를 획득하지 못했다. 따라서 pMJ101+LSVCP 바이너리 벡터가 포함된 아그로박테리움 균주를 Asca 등 7품종 2,721개 인편에 치상한 결과 91개가 식물체로 재분화하여 재분화율이 3.3%를 보였다.

pMJ201 벡터를 이용하여 나리 무증상 바이러스(LSV) 저항성 나리를 개발하기 위하여 2009년 pMJ201+LSVCP 바이너리 벡터가 포함된 아그로박테리움 균주를 Barbarisco 등 7품종의 인편에 치상하여 2차 형질전환하였다(표 8). Barbarisco 품종은 2009년 8월 17일 57개 인편을 치상하였지만 재분화된 나리 식물체를 얻지 못했으나, 같은 해 9월 14일 66개 인편을 치상하여 2개의 재분화된 나리 식물체를 획득하였다. Georgia 품종은 같은 해 8월 31일 1,364개 인편을 1회 치상하여 32개의 재분화된 나리 식물체를 획득하여 2%의 재분화율을 보였다. Marcopolo 품종도 같은 해 9월 7일 81개 인편을 1회 치상하여 1개의 재분화된 나리 식물체를 획득하여 1%의 재분화율을 보였다. Montecristo 품종은 2009년 4월 26일 113개 인편, 10월 26일 80개 인편을 2회 치상하였지만 재분화된 나리 식물체를 얻지 못했다. Simplon 품종은 10월 19일 102개의 인편을 치상하였지만 형질전환 식물체를 획득하지 못했다. Sorbonne 품종은 9월 21일 94개 인편을 치상하여 1개의 재분화된 나리 식물체를 얻었다. Tiber 품종도 8월 31일 67개의 인편을 치상하였을 때 2개의 재분화된 나리 식물체를 얻었다. 따라서 pMJ201+LSVCP 바이너리 벡터가 포함된 아그로박테리움 균주를 Barbarisco 등 7품종 2,024개 인편에 치상한 결과 38개가 식물체로 재분화하여 재분화율이 1.9%를 보였다.

표 8. pMJ201+LSVCP

품종명	접종일	치상수 (개)	재분화수 (개)	재분화율 (%)
Barbarisco	09.8.17	57	0	0
"	09.9.14	66	2	3
Georgia	09.8.31	1,364	32	2
Marcopolo	09.9.7	81	1	1
Montecristo	09.04.26	113	0	0
"	09.10.26	80	0	0
Simplon	09.10.19	102	0	0
Sorbonne	09.9.21	94	1	1
Tiber	09.8.31	67	2	3
7종		2,024	38	1.9

나리 캘러스의 재분화는 NAA 1uM 전후 단독처리 (박 등 2003)와 NAA 0.5mg/L와 BA 0.1mg/L을 혼합처리한 (남과 김 2003) MS 배지에서 효율이 높았다고 보고한 반면 본 실험에 사용한 Asca 등 8 품종은 선행 연구에서 선발한 NAA 0.1mg/L와 BA 1.0mg/L이 첨가된 MS배지에서 식물체를 재분화하였다. 나리는 'Harmony' 품종의 GUS 유전자 형질전환 (Langeveld 등 1995)와 화분 이용 GUS 유전자 형질전환 (Park과 Park 2002)을 시작으로 유전자 총에 의한 형질전환 소인경과 CMV 저항성 형질전환체를 10개체 획득하였다고 보고하였다 (남과 김 2004, Ahn 등 2004). 본 실험에서는 아그로박테리움에 의한 형질전환으로 Asca 등 8품종에서 CMV 저항성 나리는 1차 40개체, 2차 131개체를, LSV 저항성 나리는 1차 73개체, 2차 129개체의 형질전환체를 획득하였다.

4. 적 요

나리를 재배할 때 가장 문제되는 바이러스인 CMV와 LSV에 저항성이 있는 품종을 분자적으로 육성하기 위하여 pMJ101백터와 pMJ201백터를 이용하여 Asca 등 8품종에 형질전환한 결과는 다음과 같다.

가. 품종별 바이러스 저항성 1차 형질전환에 따른 재분화율 및 고사율

- CMV에 저항성이 있는 pMJ101+CMVCP 바이너리 백터에 의한 형질전환시 Asca 등 8품종 770개 인편을 치상하여 20개의 식물체가 형질전환되어 2.6%의 재분화율과 59.1%의 고사율을 보였고, pMJ201+CMVCP 바이너리 백터의 경우 895개 인편을 치상하여 20개의 식물체가 형질전환되어 2.2%의 재분화율과 66.4%가 고사되었다.
- LSV에 저항성이 있는 pMJ101+LSVCP 바이너리 백터에 의한 형질전환시 Asca 등 8품종 794개 인편을 치상하여 40개의 식물체가 형질전환되어 5.0%의 재분화율과 55.5%의 고사율을 보였고,

pMJ201+LSVCP 바이너리 벡터의 경우 831개 인편을 치상하여 33개의 식물체가 형질전환되어 4.0%의 재분화율과 55.7%가 고사되었다.

나. 2009년 품종별 바이러스 저항성 형질전환 및 형질전환체 재분화율

- CMV에 저항성이 있는 pMJ101+CMVCP 바이너리 벡터에 의한 형질전환시 Asca 등 8품종 2,742개 인편을 치상하여 58개의 식물체가 재분화되어 2.1%가 형질전환되었고, pMJ201+CMVCP 바이너리 벡터의 경우 2,836개 인편을 치상하여 73개의 식물체가 재분화되어 2.6%가 형질전환되었다.
- LSV에 저항성이 있는 pMJ101+LSVCP 바이너리 벡터에 의한 형질전환시 Asca 등 7품종 2,721개 인편을 치상하여 91개의 식물체가 재분화되어 3.3%가 형질전환되었고, pMJ201+LSVCP 바이너리 벡터의 경우 2,024개 인편을 치상하여 38개의 식물체가 재분화되어 1.9%가 형질전환되었다.

종합적으로 볼 때 형질전환 벡터에 따른 CMV와 LSV에 대한 저항성 나리 형질전환 개체를 Asca 등 8품종에서 획득하여 분자 육종에 의한 신품종 육성의 기틀을 제공하였다.

5. 인용문헌

- 남상욱, 김혜영. 2003. 참나리(*Lilium lancifolium* Thunb.) 인편으로부터 부정아 발생과 캘러스 유도를 통한 식물체 재생. 식물생명공학회지 30(1):53-58.
- 남상욱, 김혜영. 2004. Particle Bombardment에 의해 전처리된 참나리(*Lilium lancifolium* Thunb.) 캘러스의 *Agrobacterium tumefaciens*을 통한 형질전환. 식물조직배양학회지 31(1):13-17.
- 박경일, 최정두, 엄선정, 김규원. 2003. 오리엔탈 나리 '카사블랑카'의 캘러스 증식 및 캘러스로부터 부정아 유도에 미치는 자당과 성장조절물질 농도의 영향. 한국원예과학기술지. 44(6):986-990.
- 손성한, 김경환, 박종석, 황덕주, 한 장호, 이광웅, 황영수. 1997. 오이모자이크바이러스 외피단백질유전자 발현 담배의 바이러스 저항성 분석. 식물조직배양학회지 24 : 153-160
- 이금희. 백합 바이러스병. <http://www.cheju.rda.go.kr/agrinfo/htm/agro21/CGI-BIN/BE040604.htm>
- Ahn, B.J., Y.H. Joung, and K.K. Kamo. 2004. Transgenic Plants of Easter Lily (*Lilium longiflorum*) with Phosphinothricin Resistance. *Journal of Plant Biotechnology*. 6(1):9-13.
- Park, I.H., and H.S. Park. 2002. Lily Pollen Growth in vitro and *Agrobacterium*-mediated GUS Gene Transformation via Vacuum-Infiltration. *Journal of Plant Biotechnology*. 4(4):151-154.
- Langeveld, S.A., M.M. Gerrits, A.F.L.M. Derks, P.M. Boonekamp, and J.F. Bol. 1995. Transformation of lily by *Agrobacterium*. *Euphyrica*. 85:97-100.

6. 연구결과 활용제목

- 형질전환에 의한 CMV와 LSV 저항성 나리 형질전환체 선발 기술(기초활용)

7. 연구원 편성

세부과제	구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도
						'09
나리 바이러스 저항성 형질전환	책임자	농업기술원 환경농업연구과	농업연구사	소호섭	시험수행	○
	공동 연구자	”	농업연구관	한영희	자료분석	○
		”	농업연구사	이지영	분석조사	○
		”	농업연구관	김성기	결과검토	○