
博士學位論文

百合의 種間 雜種育成을 위한 受精,
未熟胚 培養 및 形質檢定

濟州大學校 大學院

園藝學科



1995年 12月

百合의 種間 雜種育成을 위한 受精,
未熟胚 培養 및 形質檢定

指導教授 文斗吉

金承炫

이 論文을 農學 博士學位 論文으로 提出함

1995年 12月

金承炫의 農學 博士學位 論文을 認准함

제주대학교 중앙도서관
審査委員長 김명하
委員 한해룡
委員 文斗吉
委員 李永鐵
委員 蘇寅燾

濟州大學校 大學院

1995年 12月

**Assessing Characteristics of Fertilization
and Immature Embryo Culture for
Interspecific Hybridization of Lilies**

Seung-Hyun Kim

(Supervised by professor Doo-Khil Moon)



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF AGRICULTURE**

**DEPARTMENT OF HORTICULTURE
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY**

1995. 12.

目 次

Summary	1
I. 緒論	4
II. 研究史	6
III. 材料 및 方法	12
實驗I. 授粉方法	
I-1. 花粉管 伸長 檢定	13
I-2. 花柱길이가 受精에 미치는 影響	13
I-3. 授粉시기가 受精에 미치는 影響	14
I-4. 授粉後 子房肥大의 變化	14
實驗II. 未熟胚 배양	
II-1. 未熟胚 生育에 미치는 生長조절제의 影響	14
II-2. 발아에 미치는 生長조절제의 影響	15
實驗III. 種間雜種의 形質檢定	
III-1. 表現型 특성	15
III-2. 染色體 특성 비교	15
III-3. 단백질 함량과 효소의 多形	16
III-4. 花瓣의 色素分析	17
IV. 結果 및 考察	18
實驗I. 授粉方法	
I-1. 花粉管 伸長 檢定	18
I-2. 花柱길이가 受精에 미치는 影響	18
I-3. 授粉시기가 受精에 미치는 影響	21
I-4. 授粉後 子房肥大의 變化	23
實驗II. 未熟胚 배양	
II-1. 未熟胚 生育에 미치는 生長조절제의 影響	25
II-2. 발아에 미치는 生長조절제의 影響	26
實驗III. 種間雜種의 形質檢定	
III-1. 表現型 특성	31
III-2. 染色體 특성 비교	33
III-3. 단백질 함량과 효소의 多形	37
III-4. 花瓣의 色素分析	40
V. 綜合考察	43
VI. 摘要	48
VII. 引用文獻	51

Summary

Pollination methods, immature embryo culture, and the F₁ hybrid production, were studied to produce hybrids of new red flower color by obtaining interspecific hybridization between white colored *Lilium longiflorum* 'Nellie White' and red colored *Lilium callosum*. The hybrid production, was confirmed by various assessments of phenotypes, chromosomes, proteins, enzymes, such as PER., AcPH., and GOT.. Expression of flower colors was also investigated in the conclusive study.

The results obtained were summarized as follows;

1. After pollination, pollen tube growth in the cross of, *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum* was observed on the stigma but did not grow to the ovary. Pollen tube growth in the cross of, *Lilium callosum* × *Lilium longiflorum* 'Nellie White', was not observed on the stigma.

2. The ovary enlargement was not observed in the both crosses of *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum* and of *Lilium callosum* × *Lilium longiflorum* 'Nellie White' after pollination with 1/2 cut styles, but was observed only in the cross of *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum* when pollinated with styles cut 1-2mm length above ovaries. Approximately 12% of immature embryo were grown after the ovary enlargement.

3. Pollination after cutting the styles 1-2mm length above the ovaries, 0, 2 and 4days after flowering in the cross of *Lilium callosum* × *Lilium longiflorum* 'Nellie

White' did not induce the ovary enlargement, whereas 0.43, 10.76, and 9.52% of immature embryos were grown from enlarged ovaries in the cross of pollination of *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum*, 0, 2 and 4 days after flowering, respectively.

4. Ovaries in the cross of between *Lilium callosum* × *Lilium longiflorum* 'Nellie White' rapidly aborted 1 week after the pollination, whereas those in the cross of *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum* showed maximum size 3-4 weeks after the pollination, and 14.7% and 11.6% of immature embryos were grown *in vitro*, and then the abortion occurred 5 weeks after the pollination.

5. Immature embryos harvested in 3 weeks after pollination were grown significantly in MS medium after 2 weeks in culture. The percentages of immature embryo growth were 70 and 56.5% in Murashige and Skoog medium containing 3mg/ℓ NAA and 0.5mg/ℓ kinetin, and 3mg/ℓ NAA and 3mg/ℓ kinetin, respectively. Those were both 13.3% in media containing 1mg/ℓ NAA and 0.5mg/ℓ kinetin, and 5mg/ℓ NAA and 0.1mg/ℓ kinetin, respectively 3 weeks, after culture.

6. Percent germination of immature embryo were 10, 6.6, and 3.3%, respectively in Murashige and Skoog medium containing 3mg/ℓ NAA and 0.3mg/ℓ kinetin, 1mg/ℓ NAA and 0.5mg/ℓ kinetin, and 5mg/ℓ NAA and 0.1mg/ℓ kinetin. NAA was more effective than kinetin for the germination of immature embryo. Embryo plated onto the culture medium started germinating 3 weeks after culture.

7. The phenotypes of the F₁ hybrids obtained cross of between *Lilium longiflorum*

'Nellie White' × *Lilium callosum* were intermediate between the two parents. Flower color of *Lilium longiflorum* 'Nellie White' was pure white, and *Lilium callosum* was dark orange, whereas that of the F₁ hybrid was light yellow, and petals were rolled up backward in flower shape like *Lilium callosum*.

8. Number of chromosomes in both parents was 2n=24. Karyotypes of *Lilium longiflorum* 'Nellie White', *Lilium callosum*, and the F₁ hybrid were 2n=24 (8J+4i), 2n=24 (2V+6J+6j), and 2n=24 (10J+2j), respectively.

9. As based upon protein and enzyme analysis, total proteins and GOT were influenced by female parent, *Lilium longiflorum* 'Nellie White', PER by both male and female parents, and ACPH by male parent, *Lilium callosum*.

10. Flavonols were not clearly separated at 340nm, but F₁ hybrid were able to be distinguished by maximal peak differences on the given flow time. Anthocyanins and carotenoids were not detected in white colored *Lilium longiflorum* 'Nellie White', and the absorption spectra of anthocyanins and carotenoids in red colored *Lilium callosum* were 0.8 and 2.1, respectively, whereas those in F₁ hybrid were 1/4 and 1/3 in *Lilium callosum*.

I. 緒論

화훼산업은 경제발전과 문화수준의 향상, 정서생활의 관심도가 높아지면서 수요가 급증하고 있으며, 재배기술의 발달에 따른 생산의 주년화, 품종의 다양화되고 있는 구근류 재배는 오래전 부터 확대되어 왔고 (淺野, 1981; Rees, 1985), 그 중에서도 백합류는 전 세계적으로 널리 이용되고 있다.

현재 우리나라에 자생하고 있는 백합류는 10여종이 있는 것으로 (李, 1980)으로 알려져 있는데기후적으로 볼때, 우리나라를 비롯한 일본이 재배 적지 (淺野, 1981)로 알려져 있다. 일본에는 16종이 자생하고 있으며 (清水, 1987), 그중 *Lilium longiflorum*은 19세기 후반부터 미국과 유럽에까지 수출하여 (Kiplinger 와 Langhans, 1967) 세계적인 화훼식물로 인정받고 있다.

그러나 국내에서 절화용으로 재배되고 있는 백합류 구근의 대부분은 수입에 의존하고 있는 실정에 있으며, 농산물의 개방화 추세에따라 시급한 문제는 신품종의 개발이라고 생각된다.

이미 오래전부터 백합의 육종은 소비자의 기호도에 알맞는 품종육성이 요구되어 다양한 화색 (Mol 등, 1989), 꽃의 형태 (Sparnaaij 등, 1985), 내병성 (Doss 등, 1986; van Eijk 등, 1978; van Eijk 과 Eikelboom, 1983), 축성재배용 (van Eijk, 1971), 多倍數性 (van Tuyl 등, 1990c; Broertjes와 Alkema, 1971) 등에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있는데 최근들어서 화색의 다양성에 대한 요구가 높아지면서 이에따른 연구 (Lamont, 1986; Mol 등, 1989; van Eijk 등, 1986; Willkins, 1988)가 많이 이루어지고 있다.

이러한 품종을 육성하기 위한 방법으로서 종간교잡이 요구되어지고 있으며 (van Tuyl 등, 1986; van Tuyl 등, 1990), 특히 야생종이 지니고 있는 특성 중 소비자의 기호도를 충족시킬 수 있는 화려한 화색, 절화 용으로 이용하기에 적합한 강한 줄기, 그리고 내병성 등을 고려한 신품종 육성에 대한 연구가 이루어지고 있다 (清水, 1987; Sparnaaij,

1979; van Eijk 등, 1991). 그러나 우리나라에서 백합의 종간 교잡육종에 관한 연구는 기초단계 (金과 成, 1990; 金 등, 1991; 尹, 1991)에 머물러 있다.

우리나라에 자생하는 백합류는 대부분 화려한 적색계 (淺野, 1981; 李, 1980)이기 때문에 육종 재료로 사용하기에 적합하다. 재배종으로 꽃색깔이 백색이며 줄기가 강건 할 뿐만 아니라 多花性인 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'와 자생종으로서 꽃색깔이 적색인 *Lilium callosum*간의 종간교잡을 통하여 유색의 나팔백합 계통을 육성하고자 하였다. *Lilium longiflorum* 'Nellie White'와 *Lilium callosum*간의 교잡시 수정이 정상적으로 이루어지지 않기 때문에 종자가 형성되지 않아, 본 연구에서는 수분방법 개선과 미숙배 배양을 통하여 두 종간의 잡종개체를 얻고자하였으며 획득된 개체의 특성을 검정하여 잡종 여부를 확인하고자하였다.



II. 研究史

나리류는 세계적으로 130여종이 분포하고 있으며 그중에서 71종이 우리나라를 포함한 동북아시아에 집중되어 있고, 22종이 유럽에, 37종이 북미대륙에 분포하고 있는 것으로 알려져 있다 (淺野, 1981; Rees, 1985; 清水, 1987). 이들 중 우리나라에는 10종 (6변종)이 자생하고 있는데, 鄭 (1991)과 李 등(1980)에 의하면 자생나리는 모두 赤色 系統으로서 화색이 아름답고 관상가치가 높으며 耐病性, 耐寒性이 뛰어나 이를 이용한 신품종 육성에 관한 연구가 활발하게 이루어지고 있다 (Marshall, 1970; Marshall, 1972; 清水, 1987; Syngé, 1980).

신품종 육성은 Doss 등(1986), Mol 등(1989), Sparnaaij (1979, 1985), van Tuyt 등 (1986, 1990)에 의해 다양한 화색, 주년재배를 위한 강한 줄기, 내병성 등을 목적으로 이루어져 왔으며, 특히 van Eijk (1985)은 야생종 튜립에서, van Tuyt 등(1986)은 야생종나리에서 재배종과의 중간교잡 육성을 통하여 목적을 앞당길 수 있다고하였다.

그러나 중간교잡은 대부분 불화합이 원인으로서 정상적인 종자를 얻지 못하는 문제점이 대두되고 있다.

이러한 不和合에 대한 연구로는 Knox (1973)와 Howlett 등(1975)은 코스모스에서, Knox와 Friederich 등(1974)은 *Leschenaultia*, Heslop-Harrion 등(1974)은 *Iberis*, Li와 Tsao (1985), Fett 등(1976)은 백합에서 교잡후 pollen-wall proteins 작용에 의하여 정상적 受精이 이루어지지 않는다고 보고하였고, Ghosh와 Shivanna (1980), Desborough와 Peloquin (1988)은 백합의 경우 esterase와 peroxidase 작용에 의하여 불화합이 일어난다고하였다. Nasrallah 등(1970)과 Levin (1971)의 보고에 의하면 백합은 비정상적인 花粉管 伸長으로 배주에서 受精되지 않는다고하였다. Brewbaker (1957)는 백합의 경우 주두, 花柱, 배주에서 억제작용으로 불화합이 일어난다고하였고 Stushnoff 와 Nelson (1966)은 불화합의 원인이 불명확하다고하였으며, 韓 (1994)은 무궁화의 경우 花粉管 伸長은 이루

어지나 子房에서 退化되었다고 보고하였다.

백합속 식물은 Jost (1907)에 의하여 오래전부터 배주 抑制物質 존재로 인한 자가불화합성 식물로 알려져 왔으나, 孫 (1971)에 의하면 참나리의 3배체 변종을 제외하면 자가授粉으로 종자를 얻을 수 있는 것으로 확인되었다 (李, 1989). 그러나 Ascher와 Peloquin (1966b, 1970), Cambell과 Linskens (1984)은 *Lilium longiflorum* 에서 自家授粉時 受精이 이루어지지 않았다고 보고하였다.

*Lilium longiflorum*을 모본으로 한 종간교잡시 Asano (1980c)는 花粉管 伸長이 억제되는 현상을 나타내었다고 보고하였고, 또한 柱頭와 花柱입구 사이에서 伸長이 억제 (Asano, 1981)되고 van Roggen 등(1988), Ascher (1977)는 花柱길이의 절반까지만 伸長되었다고하였다.

이러한 현상을 극복하기 위하여 花柱절단법을 사용한 授粉方法을 통하여 受精시키는 (Asano, 1982; Ascher 와 Peloquin, 1966a; Hiratsuka 등, 1983; Myodo, 1962; Watts, 1967) 한편 Ascher 와 Drewlow (1975)는 주두액을 주입하면 花粉管 伸長이 촉진된다고 보고하였다.

또한 Ascher와 Peloquin (1966a)는 *Lilium longiflorum*의 花柱를 제거한 授粉方法으로 개화 2일전에 제거후와 개화후 6-9일에 授粉하는 것이 효과적이었다고 보고하였으며, 또한 온도 처리에 의한 *Lilium longiflorum*의 수분방법으로 花柱를 4-7℃ 저온처리후 수분한 경우에는 효과가 없었으며 (Ascher, 1975), 고온처리 수분방법으로 화주를 24℃에서 48시간 (Ascher와 Peloquin, 1968), 30℃-39℃에서 48시간 (Ascher와 Peloquin, 1966b), 23.5℃에서 48시간 (Cambell과 Linskens, 1984), 45℃에서 1.5-2.5분 (Hiratsuka, 1989), 45℃에서 5분 (Hiratsuka 등, 1989), 50℃에서 6분 (Hopper 등, 1967), 40℃-50℃에서 30분에서 60분 (Matsubara, 1981), 70℃-80℃처리 (Roggen과 van Dijk, 1976)에서 효과를 나타내었다고 보고하였으며, 국화의 경우에는 35℃에서 24시간 처리 (Ronald 와 Ascher, 1975.)하여 효과를 나타내었다고 보고하였다. 그러나 van Tuyl 등(1986, 1990, 1991)은 *in vitro* 상태에서 授粉시키는 것이 효과적이었고, 花粉을 40℃-60℃에서 1시간 처리한 경우

(van Tuyl 등, 1982), 또한 50℃에서 5분 처리시 효과가 없었다고하였다 (Fett, 1976).

授粉시 花粉의 稔性は *Lilium longiflorum* 인 경우 발아율이 42.5%이하로 나타났고 (Myodo, 1962), Post (1983)의 보고에 의하면 90%의 발아율을 나타내어 큰 차이를 보여 주었으며, 수선화의 경우 27.4% (Bowes, 1990.)로 나타나서 식물의 종류에 따라서 차이가 있었다.

花粉管 伸長은 12시간 (Hiratsuka 등, 1989)에서 48시간 (Myodo, 1962)이내 이루어지며, 개화 1일째 가장 좋은 結果를 나타내었다고하였고, *Lilium longiflorum*은 매우 높은 임성을 나타낸다고 보고하였다 (Asano, 1980c, 1982b.)

North (1975), Dowrick과 Brandram (1970)등은 중간교잡후 子房내에서 배의 퇴화 현상은 배유의 비정상, DNA 비정상, 염색체 배열의 비정상으로 인한다고하였다. 중간교잡 방법으로 얻어지는 종자는 未熟胚 상태인데 매우 적은 수 밖에 발생되지 않기 때문에 *in vitro* 상태에서 未熟胚 배양을 통하여 개체를 얻는 방법을 보고하였다 (Asano, 1978, 1980a, 1980b; Asano와 Myodo, 1978; Dowrick과 Brandram, 1970; Hayashi 등, 1986, Kanoh 등, 1988; 金과 成, 1990; 金 등, 1991; North, 1975; North와 Wills, 1969; van Tuyl 등, 1992, 1990a; 尹, 1991). 또한 未熟胚의 器內培養은 원추리 (Arisumi, 1973), 담배 (Iwai 등, 1986; Zenkteler와 Nitzsche, 1985), 콩 (Belivanis와 Dore, 1986), 배추 (Inomata, 1977), *Ornithogalum* (Menendez 등, 1986), *Petunia* (Niimi, 1972, 1982.), 튜립 (Niimi, 1978, Sayama 등, 1982), *Iris* (Yabuya와 Yamagata, 1981), 토마토 (Nitsch, 1951), 포도 (Ranning 등, 1990) 등, 다른 식물에서도 개체를 얻어내었다고 보고하였다.

Raghvan (1966)은 未熟胚 배양시 아미노산 공급과 성장조절제의 影響이 結果를 좌우한다고하였고, Asano와 Myodo (1978)은 Murashige and Skoog배지에 20-40g의 sucrose와 NAA첨가가 효과적이었다고 보고하였는데 이는 金과 成 (1990)과 金 등 (1991)도 비슷한 결과를 발표하였다. 그러나 크기가 작은 未熟胚 (0.5mm이하)인 경우 정상적으로 생육치 못하고 퇴화되는 현상을 나타낸다고하였고 (Asano, 1980a; Kanoh 등, 1988), 未熟胚 배양에서 얻어지는 개체수는 10%미만 (North와 Wills, 1969)이라고하였다. 未熟胚 배양

시 未熟胚가 갈색으로 변하는 현상이 나타나며 (Asano, 1980a; Dowrick 와 Brandram, 1970; Hayashi 등, 1986; North, 1975), 이는 유묘생장과 비슷한 과정이라하였다.

Erythronium (Allen과 Antos, 1988)종간교잡종의 경우 형태적 변화는 생태적 차이에 의해 나타난다고하였고, Allard (1988)는 유전자요인에 의해 나타난다고하였다. 백합의 경우 Asano (1978)와 Noda (1971), Myodo (1966)의 보고에 의하면 표현형은 양친의 중간 형태를 나타내며 이는 de Jong 와 Rademaker (1989)가 국화에서 얻은 결과와도 비슷하였다. *Impatiens*의 경우 오렌지색과 백색을 교잡하여 얻은 F₁은 오렌지색이었으며 (Stephens 등, 1988), *Pelargonium* 유색계와 백색계 교잡시 F₁은 주변은 유색으로 중앙이 백색으로 나타나며 (Nugent와 Snyder 등, 1967), 카네이션의 경우 F₁세대는 父系의 색갈에 影響 받는다고하였다 (Mehlauist, 1939). 또한 *Ornithogalum*의 종간교잡에서는 백색과 오렌지색의 F₁세대는 연황색을 띠며 크기는 중간을 나타내었다고하였다 (Griesbach 등, 1993). 그러나 Horn (1971)은 튜립의 경우 재배종끼리 교잡하면 다양한 색상이 나타났으며, Mynett (1986)의 백합 재배종 교잡시에도 동일한 결과가 나타났다고 보고하였다.

Stewart (1947)의 보고에 의하면 *Lilium*의 염색체수는 2n=24이라고하였으며, Bennich (1979)는 염색체 혼합으로 형태변이를 유도한다고하였다. Noda (1971)는 양친의 염색체 특성은 다음 세대에 그대로 이어 받는다고하였으며, *Lilium longiflorum* 과 *Lilium callosum*의 염색체수는 2n=24 (Qu 등, 1988; 尹, 1991)인데 서로 다른 형태를 갖는다고 보고하였다. 또한, 형태적 특성을 염색체 특성의 차이에 따른 비교 分析을 (Noda, 1978, 1986)한 바 있었고, *Lilium miquelianum* (孫, 1971), *Lilium concolor* (孫, 1979), *Lilium amabile* (孫, 1981)의 염색체 구조와 특성을 보고한 바 있었다.

Yamaguchi 등(1990)은 *Lilium concolor*, *Lilium callosum*, *Lilium pumillum*등 3종이 서로 비슷한 배열을 갖고 있다고 보고하였고, Asano는 종간 교잡시 양친의 염색체가 서로 교차된다고 보고하였으며 (Asano, 1983), 종간 교잡후 분리되었던 핵의 75.6%가 감수분열 종기에 복원되어 정상적 염색체가 나타난다고하였고 (Asano, 1984), 일부 3배체에서 다른 genome을 나타내었다는 보고도 있다 (Asano, 1982a). Bang (1988)은 호밀에서 B염

색채 차이로 인한 단백질 함량 변화로서 形質을 구분하였다.

정 (1991)은 자생 나리류의 proteins을 分析하였던 바 여러개의 band가 형성되었는데 특정한 band는 공통적으로 나타났다고 보고하였고, 李 (1989)는 *Lilium callosum* 인 경우 2개의 band만 형성되어 대조를 보였고, van Tuyl 등(1986)의 보고에 의하면 앞에서는 나타나지 않았다고 보고하였다. Weeden 등(1988)은 포도에서 AcPH, Parfitt 등(1985)은 양앵두와 복숭아의 교잡종에서 GPI와 PGM, Messenguer 등(1987)은 복숭아 품종간에서 EST, IDH, APS, MDH, GOT, Bournival 등(1987)은 사과에서 PGM, GOT, PER, Kobayashi 등(1987)은 *Anthrrium*에서 GOT, PER, MDH, DGI, Hauagge 등(1987)은 almond에서 AAT, GPI, LAP, PGM, Durham 등(1987)은 복숭아에서 PER, MDH, Cousineau 등(1989)은 raspberry에서 PGM, Colby 등(1988)은 PER, SKD가 발견되어 각 품종을 구분하는 marker로서 보고하였다. van Tuyl 등(1986)은 *Lilium longiflorum*에서 PER을 分析하여 개체간 구분을 뚜렷하게 할 수 있었다고하였고 Menendez 등(1986)은 사과 계통간 分析에서 특정한 효소는 특정한 系統에만 존재하여, 이로써 계통간구분하는 지표로 활용하였다.

Griesbach (1984)와 Paech (1955), Asen (1979)등에 의하면 花色은 플레보노이드 함량과 성분이 화색을 결정된다고하였고, Harborne (1979)은 플레보노이드의 함량과 종류 차이에 따라서 類緣關係를 알 수 있다고하였으며 Ballington 등(1987)은 blueberry의 경우 안토시아닌의 농도 차이에 의해, Asen 등(1975)은 *Larkspur*의 경우 pH농도에 따라 화색이 변한다고 보고하였다. Cohen 등(1985)은 *Gladiolus*의 경우 안토시아닌이 3 group으로 발견되어 화색을 나타 낸다고하였으며 양친이 단일 색소인 경우 F₁에서는 화색 변화 없이 나타난다고하였다. Sakata와 Arisumi (1985)는 동백의 백색 적색간 교잡에서 안토시아닌함량이 많은 품종의 影響을 받아 F₁세대의 우세 색깔이 발생되었다고하며 색소 유전자가 우성 표현형으로 나타남을 보고한 바 있고, Nieuwhof 등(1988)은 튜립에서 양친의 색소가 F₁으로 이전 되었음을 보고한 바, 색소간의 유전 분리비는 대상 식물의 종에 따라서 다양한 형태의 색깔이 나타나고 있음을 알 수 있다.

Banda (1968)는 *Lilium pumilum*에는 카로티노이드 색소가 존재하며 *Lilium longiflorum* 에는 카로티노이드 (Banda, 1968)와 안토시아닌 (Banda, 1967)가 존재하지 않는다고 보고하였다. 장미에 있어서 glucoside함량 차이에 의해 색깔이 좌우 된다는 보고 (Arisumi 등, 1977)와 국화인 경우 안토시아닌은 분홍색계, 카로티노이드는 적색의 화색을 발현 한다는 보고 (Kawase와 Tsukamoto, 1976)도 있다.

Asen과 Emsweller (1962)는 *Lilium regale*과 *Lilium leucanthum*의 교잡종에서 노란색 계통이 kaempferol glycosides 함량이 적게 나타났다고하였고, Hahlbrock (1981)는 노란색과 ivory색의 유형이 다양한 중간 색깔을 나타내어 종간의 근연관계 추정이 가능하다고하였다.



Ⅲ. 材料 및 方法

實驗 I. 授粉方法

백합의 種間交雜을 육성하기 위하여 백색계인 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'는 1991년 3월 중앙종묘 주식회사를 통하여 수입된 구를 사용하였고 적색계인 *Lilium callosum*은 제주도 북제주군 애월읍 중산간 일대에 야생하고 있는 것을 채취하여 사용하였다 (Fig. 1).



Fig. 1. Different flower color and type used for interspecific crossing; *Lilium longiflorum* 'Nellie White' (left), and *Lilium callosum* (right)

개화촉진을 위한 저온처리는 peat moss에 약간의 水分을 함유시켜서 *Lilium longiflorum* 'Nellie White' 는 5℃에서 4주간, *Lilium callosum* 은 5℃에서 10주간 처리

하였고 *Lilium callosum*의 개화시기가 *Lilium longiflorum* 'Nellie White' 보다 약 5주정도 늦기때문에 날짜를 역산하여 개화기를 일치시켰다. 自家授粉 방지를 위하여 개화전에 수술을 제거하였으며, 수분작업의 편의를 위하여 花瓣도 제거하였다. 중간교잡을 위한 花粉은 서로다른 비닐하우스에 식재한 재료에서 얻었고, 모든 授粉은 花粉을 채취한 후 즉시 시행하였다. 재배 온도는 주간 25℃-30℃, 야간온도는 17℃-19℃를 유지 시켰으며 다음과 같이 각 시험당 세분화하여 단계별 시험을 실시하였다.

I-1. 花粉管 伸長檢定

만개일과 만개 1일후, 2일후에 柱頭表面 전체에 綿棒을 이용하여 각각 20반복으로 他家 授粉 시켰다. 授粉後 다른 종류의 花粉流入을 방지하기 위하여 유지봉지로 주두를 싸주었다. 花粉管 伸長의 관찰은 Martin(1959)의 방법에 따라 授粉 24시간 후에 채취하여 FAA용액 (formalin, 1, 80%alcohol,8. acetic acid, 1. V/V)에 24시간 침지시켜 고정한다음, 다시 8N sodium hydroxide에 24시간 침지시켜 조직을 연화시킨 후, 증류수에 4시간 세척하고 0.1N K₃PO₄에 수용성 aniline blue dye를 첨가하여 slide glass로 압착시켜 400배 배율의 현미경으로 관찰하였다.



I-2. 花柱길이가 受精에 미치는 影響

실험 I-1의 화분관 신장이 이루어지지 않은 결과와 Myodo (1962), Asano (1982b)의 화주절단 방법에 따라 花柱길이 차이에 따른 受精檢定을 위하여 만개일에 각 20반복씩 주두, 花柱 1/2길이 절단, 子房으로부터 花柱길이를 1-2mm남겨두고 예리한 칼로 절단하는 3가지 방법으로하였다. 주두의 授粉은 實驗 I-1과 같이하여 2주후 子房肥大를 관찰하였고, 절단된 花柱에는 1mm 깊이까지 花粉을 핀셋으로 밀어 넣었다. 얻어진 未熟胚는 MS배지에 sucrose 30g/l, NAA 1mg/l, kinetin 0.1mg/l 를 첨가하여 배양하였으며, 배양상태는 관행에 준하여 4주후 관찰하였다.

I-3. 授粉시기가 受精에 미치는 影響

만개일과, 만개2일후, 만개4일후에 각각 花柱길이를 子房으로부터 1-2mm남겨두고 절단하여 *Lilium longiflorum*과 *Lilium callosum*의 花粉을 서로 달리하여 각각 20반복으로 子房의 끝부분이 닿도록 핀셋을 이용하여 밀어 넣었다. 2주후 子房의 肥大를 관찰하였고, 기내배양 4주후 未熟胚 變化 상태를 관찰하였으며, 기내배양 조건은 實驗 I-2와 같게 하였다.

I-4. 授粉後 子房肥大의 變化

만개 2일후 花柱를 子房으로 부터 1-2mm남겨두고 절단하여 각종의 花粉을 서로 달리하여 각각, 20반복씩 핀셋으로 子房끝에 닿도록 밀어 넣은 후, 授粉 1, 2, 3, 4, 5주후에 子房肥大를 관찰하였고, 얻어진 未熟胚는 實驗 I-2와 같이 기내배양 4주후에 관찰하였다.

實驗 II. 未熟胚 배양



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

實驗 I-4와 같은 방법으로 授粉하여, 3주후 子房을 채취하였으며, 未熟胚의 채취는 상처를 주지 않기 위하여 子房內 벽사이를 상하로 절단한 후, 핀셋으로 상기배지에서 5일간 배양후 분리된 1-1.5mm크기의 未熟胚만을 선별하여 사용하였다.

II-1. 未熟胚 生育에 미치는 生長조절제의 影響

기내배양은 MS배지에 sucrose 30g/l, NAA 0, 1, 3, 5ml/l와 kinetin 0, 0.1, 0.3, 0.5mg/l를 서로 혼합하여 고압살균후 멸균된 petri dish에 10ml씩 주입하여 선별된 未

熟胚 30개씩을 각 10반복으로 치상하였으며, 배양조건은 25℃ (±2℃), 광도는 1,600Lux, 1일 16시간 형광등으로 조명하였고, 치상 2주후와 3주후 2차례에 걸쳐 미숙배의 生育과정을 관찰하였다.

II-2. 發芽에 미치는 生長조절제의 影響

II-1에서와 같은 방법과 조건 하에서 치상 4주후 미숙배의 발아 상태를 관찰하였다.

實驗III. 種間雜種의 形質檢定

實驗 I, II에서 *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum* 간의 F₁을 얻어 내었고, 같은 시기에 양친의 鱗片을 채취하여 vermiculite에 鱗片삽을 통하여 子구를 얻어 F₁과 같이 2년 6개월간 肥大 촉진시켜 比較관찰하였다. 比배관리동안 한국원에 연구소 백합 양구 경종법에 의거 시비하여, 양친은 개화가 이루어진 10개체를 선발하여 평균을 내었고, F₁은 6개체를 평균내었으나, 특성비교와 분석실험 檢정에는 개화가 이루어진 1개체만을 사용하였다.



實驗III-1. 表現型 特性

양친과 F₁의 구의 크기, 초장, 엽수, 엽장, 엽폭의 특성과 화색, 화경, 화장 등을 비교하였고 生育과정에서의 특성을 비교 관찰하였다.

實驗III-2. 染色體 特性比較

염색체에 대한 조사는 근단 2-3mm를 절단하여 2% colchicine 수용액에 2시간 전처리한 후 Carnoy's액에 약 2시간 고정한 후 60℃ 1N-HCl에 5분간 加水分解 시킨 것을 1% aceto-orcein액으로 2시간 염색하여 squash preparation한 것을 400배의 배율로 관찰하였

다. 각 염색체의 길이는 Jinno (1963)의 방법에 의하여 filer 접안 micrometer로 측정하여 Relative Length (R.L. ; 전체 염색체의 길이 실치 합계에 대한 염색체의 길이의 백분율로 비교하였고, 또 각 염색체의 모양은 form percent (F% ; 염색체의 길이에 대한 short arm 길이의 비)로 표시하였다. 염색체의 제1차 협착부를 기준으로하여 F%에 의한 협착 위치중 47-50을 median (m), 36-46을 submedian (sm), 12-35를subterminal (st), 11이하를 terminal (t)로 표시하였다.

實驗Ⅲ-3. 단백질 함량과 효소의 多形

양친과 F₁간의 鱗片內 수용성 총단백질과 효소 (Peroxidase, Acid Phosphatase, Glutamate - oxalacetate transaminase)에서 多形の 차이가 있는지를 알아보기 위하여 等電點 電氣泳動을 수행하였다. 양친과 교잡종의 2번째 鱗片을 채취하여 세척한 후, 4℃ 유발에서 50mM의 Tris-HCl buffer를 넣어 5분간 분쇄한 후 냉동고속 원심분리기에서 17,000xg으로 30분간 원심분리하여 상등액만 취하였고 0℃ 이하의 냉동고에 냉동상태로 저장하여 사용하였다. LKB회사 제품의 polyacrylamide gel (pH 3.5-9.5)을 사용하여 40mA 조건에서 200V에서 1시간, 400V에서 2시간, 800V에서 2시간, 1,200V에서 1시간 동안 通電하였다.

단백질 염색은 0.2% Coomassie brilliant blue R에서, PER 염색은 0.03% H₂O₂ 25ml 증류수 100ml, benzidine solution 25ml (benzidine 1g, acetic acid 9ml, 증류수40ml 혼합액)의 염색액으로 30℃ 暗조건에서 발색시켰고, AcPH 염색은 50mM sodium acetate (pH 5.5) 100ml, MgCl₂ 1ml, fast black K salt 100ml, 1% β - naphthyl acid phosphate 3ml의 염색액으로 30℃ 암조건에서 발색시켰다. GOT의 염색은 pyridoxal - 5 - phosphate 6mg, L-aspartic acid 240mg, α -keto-glutaric acid 120mg, fast blue BB salt 180mg을 138ml 증류수에 녹인후 1M Tris-HCl (pH8.8) 12ml의 염색액으로 암조건에서 30분간 발색시켰다.

III-4. 花瓣의 色素分析

花瓣內 플라보놀 성분을 檢定하기 위하여 花瓣을 말린후 500mg을 취하여 1ml의 MeOH에 혼합하여 녹인 후 0.5 μ m millipore filter에 여과하였고, 2N NaOH로 pH3.0으로 조절하여 HPLC 분석용 試料를 제조한 후 20 μ l를 주입하여 分析하였다. HPLC (Waters model 244)를 이용하여 column은 μ BONDAPAK c18 (7mm \times 30cm) 를 사용했으며, 340nm에서 流速 1.5ml/min속도와 119-140Kg/cm² 압력으로 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'는 10¹volt로 F₁과 *Lilium callosum* 은 10² volt로 검출하였다. 이때 용매는 CH₃CN, HOAC, H₂O (19, 1.6, 79.4 V/V)을 사용하였다.

안토시아닌과 카로티노이드는 4cm²를 0.1% HCl MeOH로 상온에서 약 8시간 抽出하고 Hitach U-2000 spectrophotometer로 530nm에서 吸光度를 측정하여 안토시아닌의 존재를 확인하였고, 4cm²의 花冠을 petroleum ether로 8시간 常溫에서 추출후 카로티노이드의 존재를 확인하였다.



IV. 結果 및 考察

實驗 I. 授粉方法

I-1. 花粉管 伸長 檢定

백합의 종간교잡에 따른 花粉管 伸長 유무를 알아보기 위하여 柱頭에 授粉 實驗한 結果 *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum* 에서는 花粉管 伸長이 주두에서 伸長되어 花粉 入口에서 停止되는 현상이 나타났다. 이는 Asano (1978)의 경우와 같은 結果를 나타내었으며, Ascher (1977)가 보고한 화주 중간까지 花粉管 신장이 이루어졌다는 것과는 많은 차이가 있었다. *Lilium callosum* × *Lilium longiflorum* 'Nellie White' 의 경우는 주두에서도 伸長이 미약하게 나타났다 (Fig. 2). 이에따라 花柱에서는 전혀 花粉管 伸長현상이 나타나지 않았다. 이는 Asano (1978)와, Kho와 Bear (1971)의 結果와도 같았다. 이와같은 結果는 近연관계 차이로 인한 花粉의 친화성 정도에 따른 花粉管 신장의 차이를 나타내는 것으로 생각된다.

I-2. 花柱길이와 受精에 미치는 影響

實驗 I-1의 結果에서와 같이 종간 교잡 授粉시 花粉管 伸長이 정상적으로 이루어지지 않아 花柱길이를 인위적으로 달리하여 授粉시킨 結果, *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum* 에서 주두와 花柱1/2 절단 授粉에서는 子房肥大가 이루어지지 않았으며, 花柱1/2 절단 授粉의 경우 子房의 끝부분만 약간 肥大되다가 退化되는 현상을 나타내었다. 이는 수분후 정상적 花粉管 신장이 이루어지지 않고 (Asano와 Myodo, 1977), 체내의 억제작용으로 인하여 자방의 비대가 이루어지지 않았다는 것으로 Brewbaker (1957)와 Jost (1967)의 보고와 같은 結果로 생각된다. 子房으로부터 1-2mm길이 花柱절단

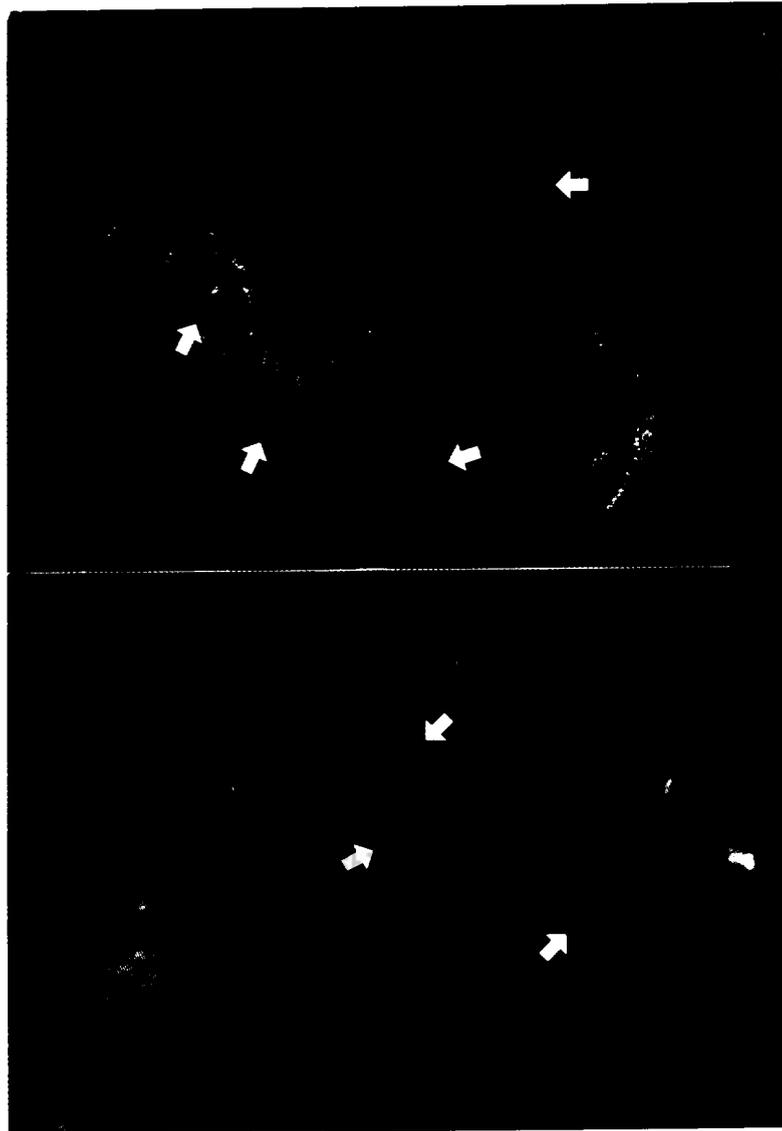


Fig. 2. Pollen tube elongation of *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum* (upper), *Lilium callosum* × *Lilium longiflorum* 'Nellie White' (lower) on style of the maternal parent. (400×).

子房으로부터 1-2mm길이 花柱절단 授粉의 경우는 子房肥大가 정상적으로 이루어지
花柱길이의 차이에 따른 授粉효과가 크게 나타났다. 이는 실험 1-1의 結果에서 花粉管

신장이 주두부분에서 이루어진 길이만큼 자방내로 유입되어 일부수정이 이루어진 것이라고 판단된다.

Lilium callosum × *Lilium longiflorum* 'Nellie White'의 경우는 앞의 관찰결과와 같이 주두와 花柱 1/2 절단授粉에서 子房肥大가 전혀 이루어지지 않았으며, 授粉 1주후 급격히 퇴화되어 2주째에는 완전히褐變되는 현상이 나타났다. 자방으로부터 1-2mm 길이 花柱 절단 授粉인 경우 子房의 끝부분만 약간 肥大 되었으나 그이하 부분은 퇴화되어 가는 경향을 나타내었다 (Fig. 3).

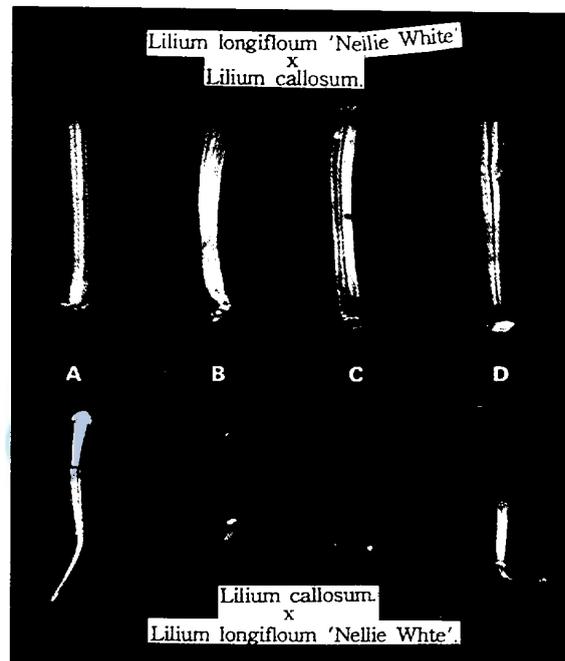


Fig. 3. Ovary development according to the different style length 2 weeks after pollination.

- A: Control B: Full length style
C: 1/2 cut style D: 1-2mm length style

이러한 결과는 花粉管 신장이 거의 이루어지지 않았음을 반증하는 것이라고 생각되며 이는 화주와 배주에서의 抑制作用이 아닌 다른 요인에서 일어나는 것으로 생각된다.

子房의 肥大는 授粉後 24시간 이내에 변화를 나타내었다. 이는 Asano (1980c)와 Myodo (1962)의 연구결과와 같은 경향을 나타내었다. 花柱길이를 달리한 授粉 2주일 後 얻어진 子房을 조사한 바 *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum*의 1-2mm 花柱 길이가 授粉 처리구에서 만 자방이 비대 되었고, 未熟胚를 기내 배양한 結果 (Table 1)를 보면 Fig. 3의 子房肥大 차이와 같이 未熟胚는 11.88%의 기내생장 효과를 얻을 수 있었고 다른 처리구에서는 퇴화되었다.

Table 1. Effect of style length on embryo development in the hybrid of *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum* cultured for 4 weeks *in vitro*.

Part	Species crossed	No. of pollinated ovary	No. of developed ovary	Length of ovary	Width of ovary	Percent of normal embryo	Embryo development grading
full length style	NW×LC ^{y)}	20 ^{ea}	2 ^{ca}	3.3	0.9	11.88	++ ^{z)}
	LC ×NW	20	-	-	-	-	-
1/2 style	NW×LC	20	-	-	-	-	-
	LC ×NW	20	-	-	-	-	-
1-2mm length style	NW×LC	20	20	3.3	0.9	11.88	++++
	LC ×NW	20	-	-	-	-	-

z) +: bad ++: normal +++: good ++++: excellent

The gradings based upon the sizes from 0.43 - 2.06mm

y) NW: *Lilium longiflorum* 'Nellie White'

LC : *Lilium callosum*

1-3. 授粉시기가 受精에 미치는 影響

授粉처리의 일자를 달리하여 子房肥大의 효과를 살펴본 結果는 다음과 같다. 만개일 처리구의 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'에서는 子房 끝부분이 약간 肥大되다가 퇴화 되었고, 만개 2일후와 4일후 처리구에서는 정상적으로 肥大되었으나, 크기는 4일후 처리구가 컸다. 이는 개화 1일째가 가장 좋은 結果 (Myodo, 1962)의 結果와는 다르게 나타났다. *Lilium callosum*에서는 만개일과 만개2일후 처리구에서는 子房의 윗부분만 약간 肥大되고 아랫부분은 退化되는 경향을 나타내었고 만개 4일후 처리구에서는 퇴화되었다

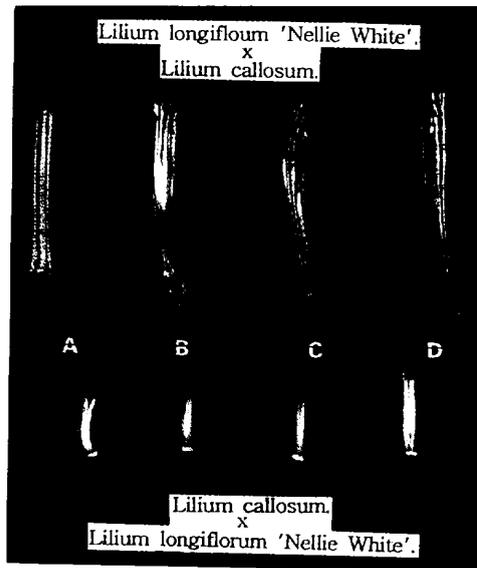


Fig. 4. Ovary development according to different pollination times (A: control, B: blooming day, C: 2 days after blooming, D: 4 days after blooming) 2 weeks after pollination.

(Fig. 4). 이러한 결과는 실험 1~2의 결과와 같은 경향을 나타내었다.

子房의 未熟胚를 기내배양한 結果, *Lilium callosum* 의 全 處理區에서는 전혀 얻을 수 없었고, *Lilium longiflorum* 'Nellie White' 경우, 만개일 처리구에서 0.43%, 만개2일후 처리구에서 10.76%, 만개 4일후 처리구에서 9.52%의 미숙배의 기내생장을 나타내었으나, 자방의 크기에 있어서는 각각 3.0, 3.1, 3.1cm의 길이를 나타내었고, 폭은 각각 0.8, 1.0, 1.1cm의 크기를 나타내었다 (Table 2).

Table 2. Effect of pollination time on embryo development with 1-2mm length styles of the hybrid, *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum*, cultured for 4 weeks *in vitro*.

Pollination time	Species crossed	No. of pollinated ovary	No. of developed ovary	Length of ovary	Width of ovary	Percent of normal embryo	Embryo development gradings
Blooming day	NW×LC ^{y)}	20 ^{z)}	20 ^{z)}	3.0 ^{a)}	0.8 ^{a)}	0.43 ^{b)}	++ ^{z)}
	LC×NW	20	-	-	-	-	+
2 days after blooming	NW×LC	20	20	3.1	1.0	10.76	++++
	LC×NW	20	-	-	-	-	+
4 days after blooming	NW×LC	20	20	3.1	1.1	9.52	++++
	LC×NW	20	-	-	-	-	+

z) See Table 1.

The gradings based upon the sizes from 0.43 - 2.06mm

y) See Table 1.

I-4. 授粉後 子房肥大의 변화

授粉처리후 子房의 기간별 肥大 변화를 살펴보기 위한 實驗 結果, *Lilium callosum*에 서는 授粉後 1주 處理區에서만 약간의 肥大 변화가 있는 후 퇴화 되었고, 다른 처리구에 서는 급격히 퇴화되어 未熟胚를 전혀 얻을 수 없었다. *Lilium longiflorum* 'Nellie White' 에서는 2주후 처리구부터 肥大변화가 나타나 3주후 처리구, 4주후 처리구까지는 정상적 인 肥大가 이루어졌으나, 5주후 처리구에서는 퇴화 현상이 나타났다 (Fig. 5). 이는 畵과 成 (1990)이 보고한 수분후 6주 처리가 가장 좋았다는 보고와는 차이가 있었다.

1주후 처리구에서는 子房의 길이가 2.3cm였으나 3주후와 4주후 처리구에서는 3.1과 3.2 cm를 보여 많은 肥大 차이를 나타내었고, 未熟胚의 기내생장에서도 1주후 처리구에서는 0.9%, 3주후와 4주후 처리구에서는 14.47, 11.64%의 차이를 나타내었다. 3주후와 4주후 처리구에서는 子房의 길이는 4주후 처리구가 3.2cm로 좋았으나, 未熟胚의 기내생장에서 는 3주후 처리구가 14.47로 좋았다. 5주후 처리구에서는 0.13%를 나타내어 授粉 5주후에 는 자방의 퇴화와 함께 미숙배도 급격한 퇴화 현상을 나타냄을 알 수 있었다 (Table 3).

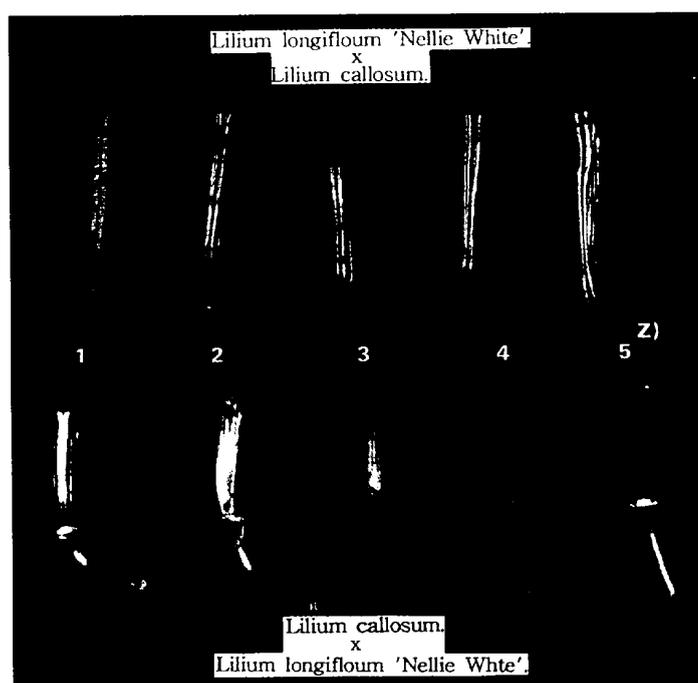


Fig. 5. Ovary development during 1-5 weeks after pollination.
 Upper: *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum*
 Below: *Lilium callosum* × *Lilium longiflorum* 'Nellie White'.

Table 3. Embryo and ovary developments during 1-5 weeks of *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum* cultured for 4 weeks *in vitro*.

After pollination week	Species crossed	No. of pollinated ovary	No. of developed ovary	Length of ovary	Width of ovary	Percent of normal embryo	Embryo development gradings
1	NW × LC ^{y)}	20 ^{ca}	20 ^{h,A}	2.3 ^{cr}	0.5 ^{cm}	0.90 ^{bn}	++ ^{z)}
	LC × NW	20	20	1.1	0.2	-	+
2	NW × LC	20	20	2.8	0.7	10.51	+++
	LC × NW	20	-	-	-	-	-
3	NW × LC	20	20	3.1	0.9	14.47	++++
	LC × NW	20	-	-	-	-	-
4	NW × LC	20	20	3.2	0.9	11.64	++++
	LC × NW	20	-	-	-	-	-
5	NW × LC	20	7	3.1	0.7	0.13	+
	LC × NW	20	-	-	-	-	-

z) See Table 1.

The grading based upon the sizes from 0.32 - 2.26mm

y) See Table 1.

실험 II. 未熟胚 培養

II-1. 未熟胚 生育에 미치는 생장조절제의 影響

종간 교잡후 子房의 퇴화로 정상적 종자를 얻지 못하여 子房의 퇴화전에 미성숙된 배를 채취하여 기내배양시 생육에 대한 생장조절제의 효과에 대한 結果를 보면, 子房내에 시 정상적으로 發育된 未熟胚는 다른 미숙배에 비하여 색깔이 좀더 짙은 녹색이며 두꺼웠다. 기내배양 초기4-5일후 子房내의 未熟胚는 子房으로부터 이탈되어 돌출(Fig. 6) 되었다. 이는 未熟胚가 양분흡수 과정에서 일어나는 현상으로 추정된다. 이러한 결과는 Asano와 Myodo (1978)의 보고와 유사한 것을 알 수 있었다.

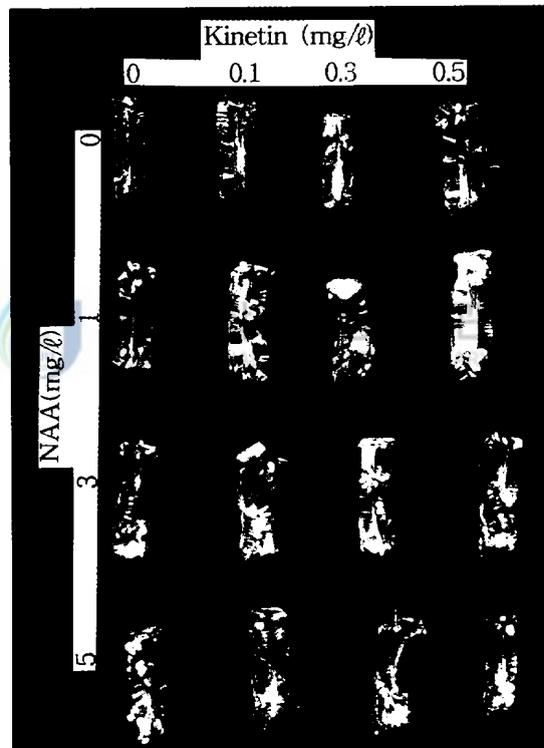


Fig. 6. Effect of NAA and keinetin on immature embryo of the hybrid, *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum*, *in vitro* cultured for 1 week in MS medium.

처리 2주후 결과, NAA 3mg/l 에 kinetin 0.5mg/l 와 0.3mg/l 처리구에서 각각 70%와 56.6%의 기내생육 결과를 나타내었고, NAA 1mg/l 와 kinetin 0.5mg/l 처리구에서도 50%를 나타내었다 (Table 4).

Table 4. Effect of NAA and kinetin on the growth of immature embryo (1-1.5mm) obtained from the hybrid of *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum* in Murashige and Skoog medium.

Conc.	NAA Kinetin	0				1				3				5					
		0	0.1	0.3	0.5	0	0.1	0.3	0.5	0	0.1	0.3	0.5	0	0.1	0.3	0.5		
No. of immature embryo ^{a1}		30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30		
No. of growing embryo ^b		after 2 weeks ^{a2}		1	2	5	6	1	2	8	15	2	3	17	21	7	14	3	4
		(%)		3.3	6.6	16.6	20	3.3	6.6	26.6	50	6.6	10	56.6	70	23.3	46.6	10	13.3
		after 3 weeks ^{a2}		-	-	1	1	-	-	3	4	-	-	6	3	1	4	-	-
		(%)		-	-	3.3	3.3	-	-	10	13.3	-	-	20	10	3.3	13.3	-	-

^{a1} : Embryos growing above 1mm after treatment..

이는 未熟胚의 기내생육에 NAA 처리가 효과적이라는 보고와도 일치하는 결과를 나타내었다 (金 등, 1991). 그러나 3주후에는 급격히 발육이 저조해지는 현상이 나타났는데 NAA 1mg/l 에 kinetin 0.5mg/l 처리구와 NAA 5mg/l 에 kinetin 0.1mg/l 처리구에서 13.3%를 유지하였다. 이는 정상적 發育이 되지 않은 미숙배의 吸收障碍로 추정된다. NAA는 1mg/l 와 3mg/l 처리구에서 kinetin은 0.3mg/l 와 0.5mg/l 처리구에서 효과적으로 나타났다 (Fig. 7, 8).

II-2. 發芽에 미치는 생장조절제의 影響

기내배양시 未熟胚 발아에 미치는 생장조절제의 影響으로 NAA 1mg/l 와 kinetin 0.5mg/l 처리구에서 6.6%를 나타내었고, NAA 3mg/l 와 kinetin 0.3mg/l 처리구에서는 10%를 나타내었다. NAA 5mg/l 와 kinetin 0.1mg/l 처리구에서는 3.3%를 나타내었

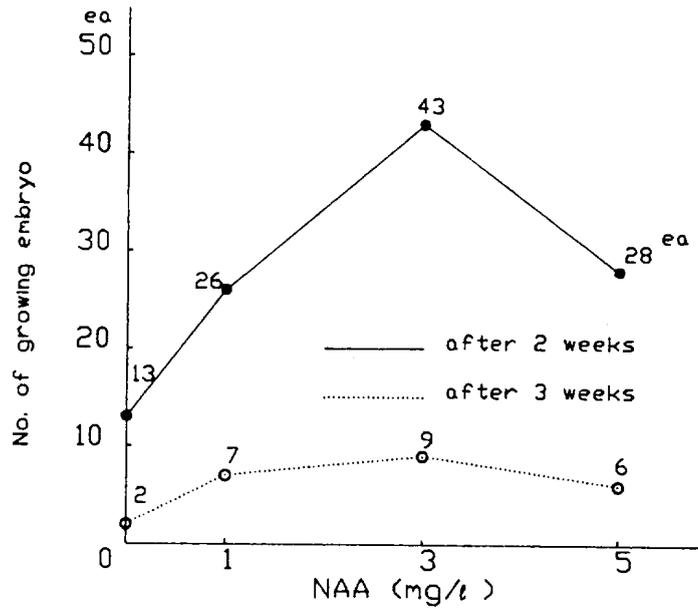


Fig. 7. Effect of NAA on the growth of immature embryo (1-1.5mm) of the hybrid, *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum*, *in vitro*.

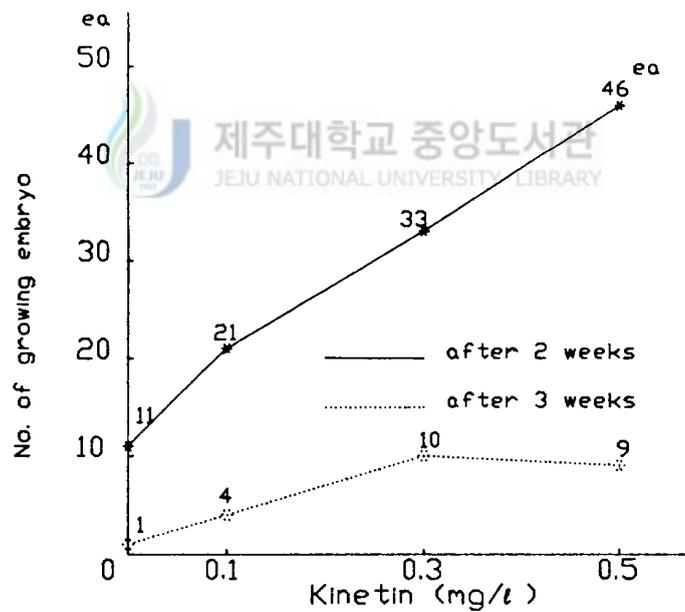


Fig. 8. Effect of kinetin on the growth of immature embryo (1-1.5mm) of the hybrid, *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum*, *in vitro*.

으며(Table 5), NAA 효과로는 1mg/ℓ와 5mg/ℓ 처리구에서는 1.1%를 나타내었고, 3mg/ℓ 처리구에서는 3.3%를 나타내었으며 (Fig.9), kinetin은 0.1mg/ℓ 처리구에서 0.8%, 0.5mg/ℓ 처리구에서는 1.6%를 나타내었다. 0.3mg/ℓ 처리구에서 2.5%를 나타내어 (Fig. 10) NAA와 kinetin의 비교에서는 NAA가 未熟胚 생육에서와 같이 발아에도 影響을 미치는 것으로 나타났다.

Table 5. Effect of NAA and kinetin on seedling percentage of the hybrid, *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum*, cultured for 4 weeks in Murashige and Skoog medium.

Conc.	NAA ^{mg/ℓ}				1				3				5			
	0	0.1	0.3	0.5	0	0.1	0.3	0.5	0	0.1	0.3	0.5	0	0.1	0.3	0.5
No. of immature embryo	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30 ^{ab}
Normally growth seedlings	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	3	-	-	1	-	- ^{ea}
Seedling percentage	-	-	-	-	-	-	-	6.6	-	-	10	-	-	3.3	-	- ^b

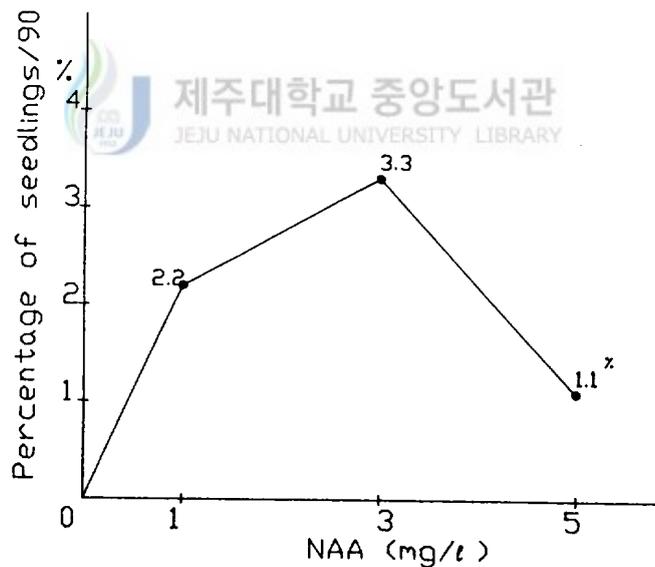


Fig. 9. Effect of NAA on immature embryos (1-1.5mm) of the hybrid *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum* cultured for 4 weeks *in vitro*.

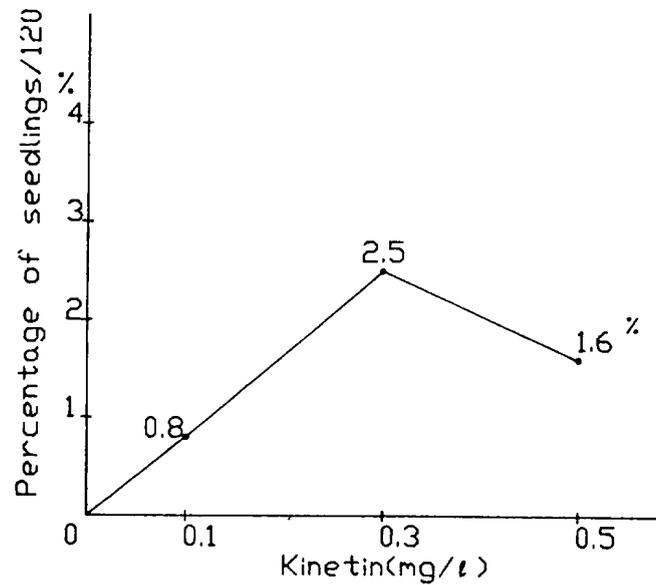


Fig. 10. Effect of kinetin on immature embryo (1-1.5mm) of the hybrid *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum*, cultured for 4 weeks *in vitro*.

또한 kinetin 0.5mg/l 처리구에서 발아한 未熟胚는 초기에 callus 상태를 보여 kinetin의 세포분열 효과를 그대로 보여 주었고 (Fig. 11), NAA 3mg/l와 kinetin 0.3mg/l 처리구에서는 정상적으로 발아하였다. 대부분의 未熟胚가 퇴화되는 것은 정상적인 受精이 이루어지지 않았거나 受精이 되었다해도 배의 미숙으로 양분 흡수과정의 저해 작용으로 퇴화하는 것으로 보여진다.

정상적으로 發育된 未熟胚인 경우 배양 2주후부터 뚜렷한 생육 차이를 나타내었고 完熟種子 발아와 별 차이가 없이 개체를 얻을 수 있었다 (Fig. 11).



Fig. 11. Different stages of embryo development of the hybrid, *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum*.
 ① Abnormally fertilization. ② Normally fertilization (arrow direction is embryo). ③ Shoot development from embryo.
 ④ Leaf development. ⑤⑥ Sprout leaf callus style.

실험Ⅲ. 種間雜種의 形質 檢定

Ⅲ-1. 表現형 특성

F₁의 구 크기는 양친의 중간정도를 나타 내었고 구의 색깔은 백색을 띠어 *Lilium callosum*과 같았고 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'의 노란색과 구별되었다 (Fig. 12).



Fig. 12. Different types of bulb formation in *Lilium longiflorum* 'Nellie White' (left), the F₁ hybrid (middle), *Lilium callosum* (right).

꽃의 색깔은 *Lilium longiflorum* 'Nellie White' 은 순백색 *Lilium callosum* 은 붉은 주황색을 나타내었으나 F₁은 연한 주황색을 나타내어 중간색으로 나타났다. 이는 카네이션의 경우 부계의 영향을 받는다는 결과와 비슷하였다 (Mehlquist, 1939). 수술의 색은 적색을 나타내어 *Lilium callosum* 과 같은 색으로 나타나 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'의 노란색과 다르게 나타났으며 (Fig. 13), 花瓣은 약간 뒤로 말리는 形態로 양친의 중간을 나타내었다. 이는 Asano (1978).; Myodo (1966).; Noda (1978)의 표현형은 양친의 중간 형태를 나타낸다는 보고와도 같았다. 꽃의 크기는 직경 6.1cm 길이 8.5cm를 나타내어 꽃색깔과 같이 중간 정도를 나타내었다 (Table 6). 잎의 크기는 길이에서는 큰 차이가 없었으나 폭에 있어서는 1.0cm를 나타내어 *Lilium callosum*과 비슷하였고 잎끝이



Fig. 13. Different views and color of *Lilium longiflorum* 'Nellie White' (left), the F₁ hybrid (middle), *Lilium callosum* (right).

Table 6. The characteristics of parents and interspecific the F₁ hybrids of *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum*.

Species	Bulbs wt.	Plant ht.	Leaves			Flower		
			No.	length	width	diameter	length	color
NW ^{y)}	23.3 ^a	101.9 ^a	91.8 ^a	11.9 ^a	3.2 ^a	10.9 ^a	15 ^a z)	Pure white
Hybrid	17.3 ^b	76.9 ^b	69 ^b	10.5 ^b	1.0 ^b	6.1 ^b	8.5 ^b	Light purplish white
LC	13.1 ^c	64.2 ^c	51.4 ^c	9.2 ^c	0.4 ^c	2.9 ^c	3.2 ^c	Redish purple

z): Mean separation by DMRT at the 5% level.

y): NW: *Lilium longiflorum* 'Nellie White' (Female).

Hybrid : Interspecific the F₁ hybrid (NW × LC)

LC : *Lilium callosum* (Male).

타들어가는 현상이 나타나 *Lilium callosum* 의 특징을 나타내었다. 개화시 꽃은 아래쪽을 향하여 수평으로 피는 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'와 비교 되었고 *Lilium callosum* 과 같은 형태를 나타내었다 (Fig. 14). 구의 크기, 구의 색깔, 초장, 엽수, 엽장 등은 양친의 중간 특질을 나타내었고 花徑, 花長-은 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'의 특성을 (Table 6), 수술과 花粉의 색깔, 꽃피는 방향은 *Lilium callosum* 의 특징을 나타내었다 (Fig. 13, 14).



Fig. 14. Flowering and growth status of the F_1 hybrid (*Lilium longiflorum* 'Nellie White' \times *Lilium callosum*) 2 years after.

III-2. 染色體 特性比較

Lilium longiflorum 'Nellie White'과 *Lilium callosum*을 교배하여 얻은 F_1 에 대한 染色體의 特徵을 調査하였던 바, 染色體의 크기 및 形態는 A~L形으로 區分되었는데, *Lilium longiflorum* 'Nellie White' (Table 7)의 染色體 크기의 範圍는 最大 7.2 μ 에서 最小 3.3 μ 이었고, 길이의 합계는 124.4 μ , 平均値는 5.18 μ 이었으며, 動原體의 位置는 st 이 4雙 (A,E,F,Z), t이 8雙 (B,C,D,G,H,J,K,L)이었다 (Fig. 15, 16).

Table 7. Somatic chromosome size of *Lilium longiflorum* 'Nellie White'.

Number	Arm length(μ)			RL ^{z)}	F% ^{z)}	Centromere
	Short	Long	Total			
1	2.2	5.5	7.2	5.79	30.56	st
2	2.2	5.5	7.2	5.79	30.56	st
3	1.5	4.5	6.5	5.23	8.33	t
4	1.5	4.5	6.5	5.23	8.33	t
5	0.5	5.5	6.0	4.83	7.70	t
6	0.5	5.5	6.0	4.83	7.70	t
7	0.5	5.0	5.5	4.42	9.09	t
8	0.5	5.0	5.5	4.42	9.09	t
9	0.8	4.5	5.3	4.26	15.09	st
10	0.8	4.5	5.3	4.26	15.09	st
11	0.5	4.7	5.2	4.18	15.39	st
12	0.5	4.7	5.2	4.18	15.39	st
13	0.5	4.5	5.0	4.02	10.00	t
14	0.5	4.5	5.0	4.02	10.00	t
15	0.5	4.3	4.8	3.86	6.25	t
16	0.5	4.3	4.8	3.86	6.25	t
17	0.6	4.0	4.6	3.70	13.04	st
18	0.6	4.0	4.6	3.70	13.04	st
19	1.0	3.5	4.5	3.62	11.11	t
20	1.0	3.5	4.5	3.62	11.11	t
21	0.4	3.9	4.3	3.46	6.98	t
22	0.4	3.9	4.3	3.46	6.98	t
23	0.3	3.0	3.3	2.66	9.09	t
24	0.3	3.0	3.3	2.66	9.09	t

^{z)} See in the text for "Materials and Methods".

Table 8. Somatic chromosome size of *Lilium callosum*.

Number	Arm length(μ)			RL ^{z)}	F% ^{z)}	Centromere
	Short	Long	Total			
1	4.0	5.0	9.0	6.62	44.44	sm
2	4.0	5.0	9.0	6.62	44.44	sm
3	3.0	4.5	7.5	5.52	40.00	sm
4	3.0	4.5	7.5	5.52	40.00	sm
5	0.5	6.5	7.0	5.15	14.29	st
6	0.5	6.5	7.0	5.15	14.29	st
7	0.5	6.0	6.5	4.78	7.69	t
8	0.5	6.0	6.5	4.78	7.69	t
9	1.0	5.0	6.0	4.41	8.33	t
10	1.0	5.0	6.0	4.41	8.33	t
11	0.5	5.0	5.5	4.04	18.18	st
12	0.5	5.0	5.5	4.04	18.18	st
13	0.5	4.5	5.0	3.68	10.00	t
14	0.5	4.5	5.0	3.68	10.00	t
15	0.5	4.3	4.8	3.53	10.42	t
16	0.5	4.3	4.8	3.53	10.42	t
17	0.5	4.2	4.7	3.46	10.64	t
18	0.5	4.2	4.7	3.46	10.64	t
19	1.0	3.5	4.5	3.31	11.11	t
20	1.0	3.5	4.5	3.31	11.11	t
21	0.5	3.5	4.0	2.94	12.50	st
22	0.5	3.5	4.0	2.94	12.50	st
23	0.5	3.0	3.5	2.57	14.29	st
24	0.5	3.0	3.5	2.57	14.29	st

^{z)} See in the text for "Materials and Methods".

Lilium callosum (Table 8)은 染色體 크기의 範圍는 最大 9.0 μ 에서 最小 3.5 μ 이었고, 길이의 總和는 136.0 μ , 平均値는 5.67 μ 이었으며, 動原體의 位置는 sm이 2雙 (A,B), st가 4雙 (C,F,K,L), t가 6雙 (D,E,G,H,I,J)이었다 (Fig. 15, 16).



Fig. 15. Metaphasic view of *Lilium longiflorum* 'Nellie White' (A), *Lilium callosum* (B) and the F₁ hybrid (C: A × B).

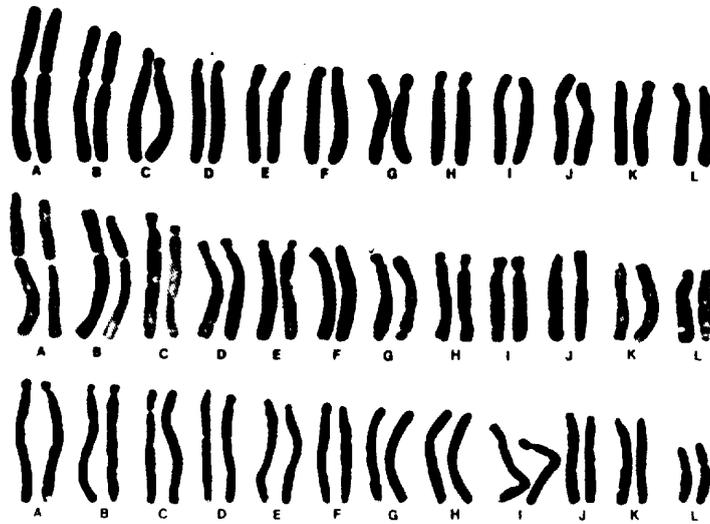


Fig. 16. Metaphasic view of chromosomes of *Lilium longiflorum* 'Nellie White' (upper), *Lilium callosum* (middle), the F₁ hybrid (interspecific hybridization and *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum*) (lower).

F₁ (Table 9)은 染色體 크기의 範圍는 最大 8.2μ에서 最小 3.2μ이고, 길이의 總和는 128.8μ, 平均値는 5.36μ이었으며, 動原體의 位置는 st가 4雙 (C,D,H,L), t가 8雙 (A,B,E,F,G,I,J,K)이었다 (Fig. 15, 16). *Lilium longiflorum* 'Nellie White'와 *Lilium callosum*의 형태는 Stewart (1947)의 연구결과와 비슷하였고, *Lilium callosum*의 경우 *Lilium pumillum*과 비슷한 배열을 나타내었다 (Yamaguchi 등, 1990).

Lilium longiflorum 'Nellie White'의 核型式

$$K (2n)=24 (8J+4i)=2A^{st}+2B^{st}+2C^{st}+2D^{st}+2E^{st}+2F^{st}+2G^{st}+2H^{st}+2I^{st}+2J^{st}+2K^{st}+2L^{st}$$

*Lilium callosum*의 核型式

$$K (2n)=24 (2V+6J+6j)=2A^{sm}+2B^{sm}+2C^{st}+2D^{st}+2E^{st}+2F^{st}+2G^{st}+2H^{st}+2I^{st}+2J^{st}+2K^{st}+2L^{st}$$

F₁의 核型式

$$K (2n)=24 (10J+2j)=2A^{st}+2B^{st}+2C^{st}+2D^{st}+2E^{st}+2F^{st}+2G^{st}+2H^{st}+2I^{st}+2J^{st}+2K^{st}+2L^{st}$$

Table 9. Somatic chromosome size of the F₁ hybrid obtained from *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum*.

Number	Arm length(μ)			RL ²⁾	F% ²⁾	Centromere
	Short	Long	Total			
1	0.5	7.7	8.2	6.00	6.09	t
2	0.5	7.7	8.2	6.00	6.09	t
3	0.5	6.5	7.0	5.43	7.19	t
4	0.5	6.5	7.0	5.43	7.19	t
5	1.5	5.0	6.5	5.04	23.07	st
6	1.5	5.0	6.5	5.04	23.07	st
7	1.0	5.2	6.2	4.81	16.12	st
8	1.0	5.2	6.2	4.81	16.12	st
9	0.5	5.0	5.5	4.27	9.09	t
10	0.5	5.0	5.5	4.27	9.09	t
11	0.6	4.8	5.4	4.19	11.11	t
12	0.6	4.8	5.4	4.19	11.11	t
13	0.4	4.8	5.2	4.03	7.69	t
14	0.4	4.8	5.2	4.03	7.69	t
15	1.0	4.0	5.0	3.88	20.00	st
16	1.0	4.0	5.0	3.88	20.00	st
17	0.5	3.8	4.3	3.33	11.62	t
18	0.5	3.8	4.3	3.33	11.62	t
19	0.3	3.8	4.1	3.18	7.31	t
20	0.3	3.8	4.1	3.18	7.31	t
21	0.3	3.5	3.8	2.95	7.89	t
22	0.3	3.5	3.8	2.95	7.89	t
23	1.0	2.2	3.2	2.48	31.25	st
24	1.0	2.2	3.2	2.48	31.25	st

²⁾ See in the text for "Materials and Methods".

F₁의 J와 j핵형은 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'의 J형과 *Lilium callosum*의 J형과 j형의 영향을 받은 것으로 추정된다. 이는 Noda (1971)의 보고와 같이 양친 염색체의 특성을 그대로 이어 받은 것과 비슷한 결과를 나타낸 것으로 보여진다.

III-3. 단백질 함량과 효소의 多形

양친과 F₁의 水溶性 總蛋白質 특성 檢定과 PER, AcPH, GOT의 효소를 等電點 電氣泳動法으로 檢定한 結果는 다음과 같다.

단백질의 특성은 양친과 F₁이 다같이 다양한 band가 형성되어 뚜렷한 구분을 나타내었다. 특히 F₁의 경우 pH 7.5에서 양친에 비하여 매우 뚜렷하게 band가 형성되어 이것이 F₁만이 갖는 형질임을 추정케하였으나 어떠한 형질을 발현하는 지는 불분명하며, pH 4.5와 pH 6.0에서 형성된 band는 3종이 거의 공통적으로 나타났다 (Fig. 17).

Band의 형성으로 보아 단백질은 母系인 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'의 영향을

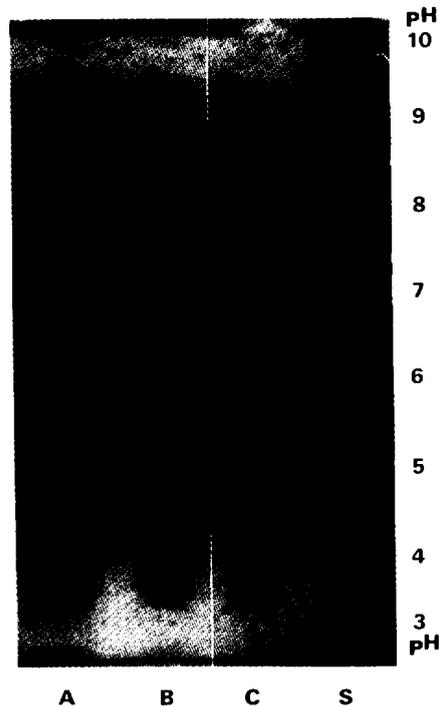


Fig. 17. Zymogram showing total protein patterns in parents and the F₁ hybrid

A: *Lilium longiflorum* 'Nellie White' B: The F₁ hybrid (A × C)
 C: *Lilium callosum* S: Protein standard

많이 받은 것으로 추정되지만 이결과만으로써는 특정한 유연관계의 추정은 곤란하였다. 이는 鄭 (1991)과 李 (1989)가 보고한 바 *Lilium callosum*인 경우 2개의 band만 형성 되었다는 것과는 대조적이었다.

각종 효소를 검정한 결과 peroxidase는 pH 6.5에서 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'에서 희미하게 band가 형성 되었고, pH 4.5와 pH 8.5는 F₁과 *Lilium callosum*에서 band가 형성되어 구분 되었으며, pH 6.5에서는 band의 형성이 거의 이루어지지 않아 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'와 대조를 이루었다. Band의 형태로 미루어 보아 F₁은 양친의 영향을 받은 것으로 추정되며, 양친과 F₁의 구분은 뚜렷하게 나타나 van Tuyl 등(1986)의 결과와 같이 개체간 구분을 할 수 있었다.

GOT 검정결과, 양친과 F₁이 pH 7에서 pH 4.5 사이에서 band가 형성되었다. *Lilium longiflorum* 'Nellie White'의 경우 첫번째와 두번째 band가 뚜렷하게 나타났으나 F₁에서는 희미하게 나타났고, *Lilium callosum*에서는 형성되지 않았다. 이는 F₁이 모계인 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'의 영향을 받은 것으로 추정된다. Messenguer 등 (1987)이 복숭아 품종간 구분과 Bournival과 Korban (1987)이 사과에서 구분한 것과 같이 band 형성이 뚜렷하여 양친과 F₁의 구분은 할 수 있으나 形質의 영향과 발현에 대하여는 좀더 깊은 연구가 이루어져야 할 것이다.

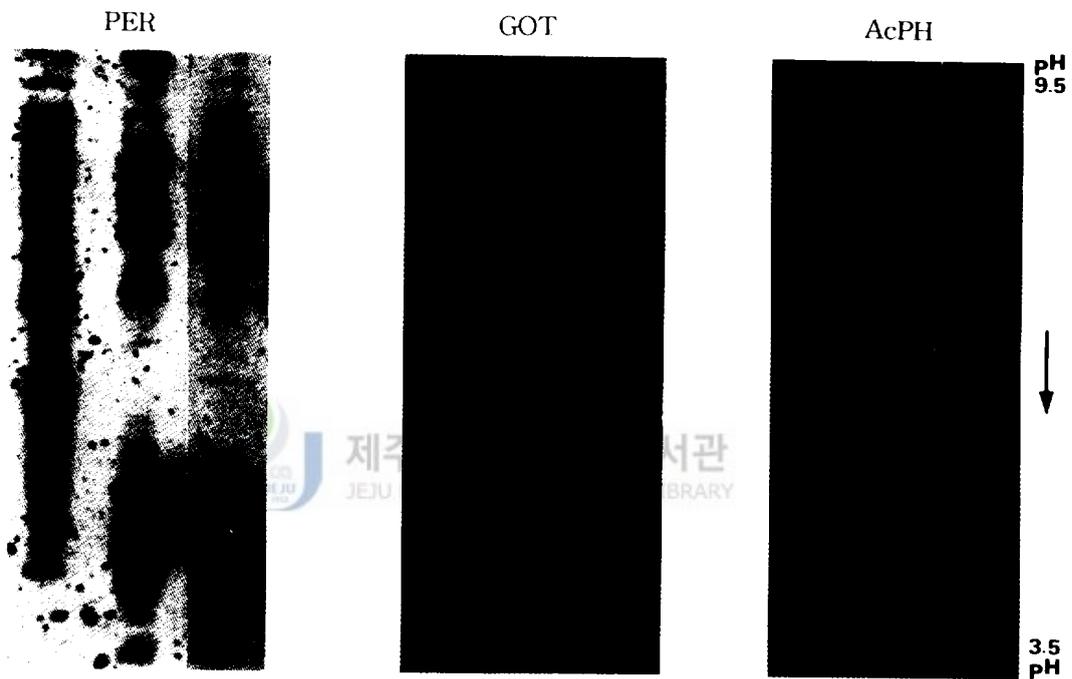


Fig. 18. Zymograms of PER., GOT., and AcPH. isoenzyme patterns in parents and the F₁ hybrid.

A: *Lilium longiflorum* 'Nellie White'

B: The F₁ hybrid (A × C) C: *Lilium callosum*

AcPH 검정결과는 pH 6.5에서 pH 9.5에서는 band형성이 전혀 이루어지지 않았고, *Lilium longiflorum* 'Nellie White'에서는 pH 6.5에서 뚜렷하게 형성되었다. *Lilium*

*callosum*의 경우 pH 6.5 부터 pH 4.0까지 다양한 band가 뚜렷하게 형성되었고, F₁에서는 pH 6.5에서 아주 뚜렷이 나타났으며 pH 4.0에서 뚜렷하지 않았는데, 父系인 *Lilium callosum*의 영향을 받은 것으로 추정된다 (Fig. 18).

이상의 단백질 PER, AcPH, GOT 효소 비교檢定 結果, 특정 band가 F₁으로 이전 되었다는 사실은 추정할 수 있었으나 이것이 어떠한 形質로 나타나는지는 좀더 연구가 필요 하며 양친의 교잡으로 인한 F₁의 구분은 가능하였다.

III-4. 花瓣의 色素 分析

양친과 F₁의 花瓣內 플레보놀와 안토시아닌, 카로티노이드의 존재를 확인한 결과, 플레보놀의 경우, 340nm에서 검출되어 명확한 분리는 이루어졌으나 성분분석이 곤란하여 전체 플레보놀의 추이만 추정 가능하였다. 하지만, 양친과 F₁이 각각 다르게 나타나 각종간의 차이는 인정할 수 있었다 (Fig. 19).

안토시아닌과 카로티노이드의 존재 여부를 확인한 결과 백색인 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'인 경우 전혀 나타나지 않아, 이러한 결과는 백색인 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'에서는 안토시아닌 (Banda, 1967)과 카로티노이드 (Banda, 1968a)가 존재 하지 않는다는 보고와 일치하고 있음을 알 수 있었다. 적색계인 *Lilium callosum*에서는 530nm와 450nm에서 吸光度가 각각 0.8과 2.1로 높게 나타났다. F₁에서는 각각 0.2와 0.8로 나타나 백색과 적색의 교잡으로 인한 색소의 농도가 희석되어 발현된 것으로 추정된다 (Table 10).

Table 10. Phenotypic pigments of parents and the F₁ hybrid obtained from *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum*.

Cultivar	Relative absorbance ^{z)} at		Flower color
	Anthocyanin (530nm)	Carotenoid (450nm)	
<i>Lilium longiflorum</i> 'Nellie White'	- ^{y)} (0)	- (0)	Pure white
F ₁ hybrid	+ ^{x)} (0.2)	++ (0.8)	Light purplish white
<i>Lilium callosum</i>	++ (0.8)	++++ (2.1)	Redish purple

^{z)} :Optical density (O.D.)

^{y)} :Negative

^{x)} : +: 0-0.5 O.D. ++: 0.5-1.0 O.D. +++: 1.0-1.5 O.D. ++++: 1.5-2.0 O.D. +++++: above 2.0 O.D.

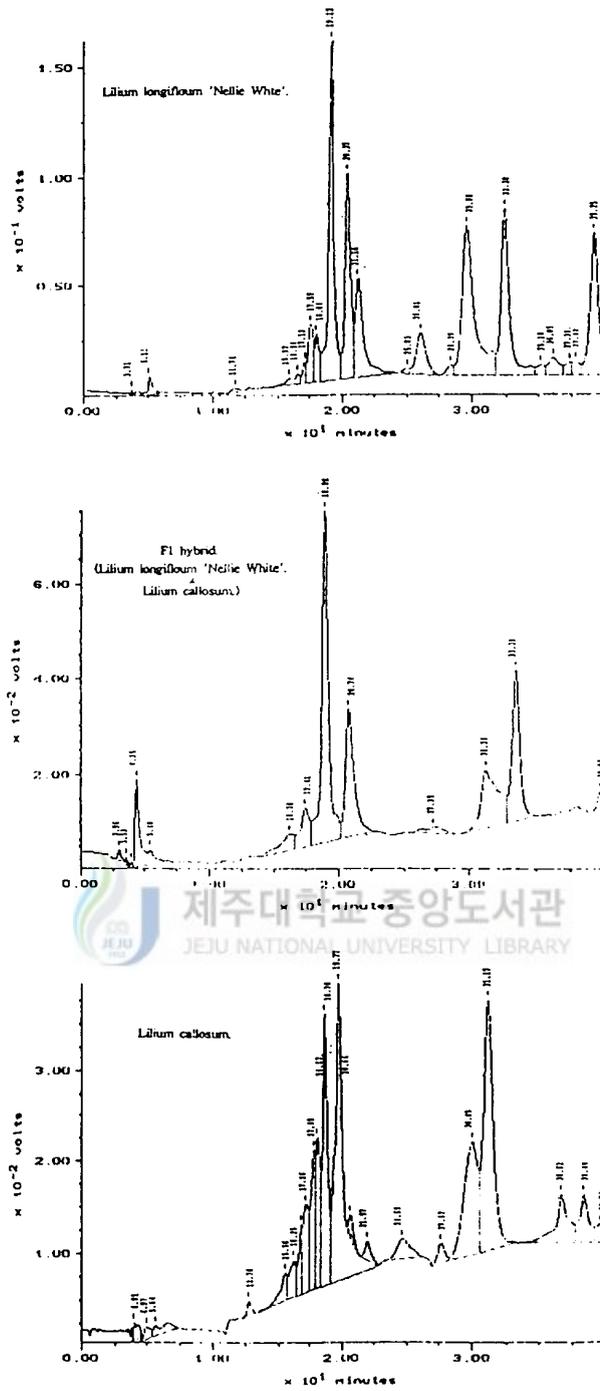


Fig. 19. Flavonol content of *Lilium longiflorum* 'Nellie White', *Lilium callosum* and the F₁ hybrid on HPLC.

이는 Nieuwhof 등(1988)이 tulip에서 양친의 색소가 F₁으로 이전 되었다는 보고와 같은 결과를 나타 내었으며, Banda (1968)가 적색인 *Lilium pumilum* 花瓣內에 카로티노이드가 존재 한다는 보고와 花瓣內의 안토시아닌은 분홍색계 화색을, 카로티노이드는 적색계 화색을 발현 한다는 보고 (Kawase와 Tsukamoto, 1976)와 같은 결과로 나타났다.



V. 綜合考察

주두에 종간 授粉으로 인한 花粉管 伸長은 *Lilium longiflorum* 'Nellie White' 의 경우 주두부분에서 伸長이 이루어지다가 花柱입구에서 멈추는 현상이 나타났다. 이는 Asano (1981)의 보고와도 같은 것이며, *Lilium callosum* 에서는 주두부분에서 부터 伸長이 거의 이루어지지 않았는데 이는 Koh와 Baer (1971)의 연구결과와 같았다. 花柱에서 花粉管的 신장이 이루어지지 않은 현상에 대하여 Ghosh와 Shivana (1980)는 주두표면에서 억제되거나, 주두, 花柱, 배주에서 억제작용이 일어난다는 보고와 같이 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'의 경우에는 화주에서, *Lilium callosum*의 경우에는 주두에서부터 불화합이 일어난다는 것을 확인 할 수 있었다. 특히 *Lilium callosum*인 경우 주두에서부터 花粉管 신장이 잘 이루어지지 않아 Nasrallah 등(1970)과 Levin (1971)의 S-allele가 불화합에 작용하여 비정상적인 花粉管 伸長 작용을 나타낸다는 보고에 비추어 볼때 이같은 원인으로 추정되어 진다.

주두, 花柱를 1/2길이로 절단, 子房으로부터 1-2mm길이 花柱절단후 授粉하였을 경우에 *Lilium callosum* 에서는 子房肥大가 전혀 이루어지지 않았는데, 이러한 결과는 花粉管 伸長에 따른 S-allele설 (Nasrallah 등, 1970; Levin, 1971)을 더욱 뒷받침 해주고 있었고, *Lilium longiflorum* 'Nellie White'의 경우, 자방으로부터 1-2mm 길이로 花柱를 절단한 처리에서 肥大가 이루어져 Asano (1980c), Kho와 Bear (1971)와 같은 결과를 나타내었는데, 花柱절단 授粉後 子房肥大까지는 정상적으로 이루어지는 결과를 얻었으며, 11.88%의 未熟胚 기내생육을 얻었다. 예비실험 결과 35℃ 고온을 유지한 성장상내에서 수분을 한 경우, 子房肥大가 길이 5cm 폭 1.3cm까지 이루어 졌으나 미숙배와 종자획득은 전혀 이루어지지 않은 결과를 얻어 이는 고온 상태는 정상적 수정되지 못한 상태에서 자방의 비대만이 이루어진 결과로 판단되며 종간 교잡의 극복을 위한 35℃ 정도의 고온처리 방법의 효과 (Asher와Peloquin, 1966, 1968; Hiratuska, 1989; Hopper 등, 1967)를 나타내

었다는 보고와는 차이를 나타내었다.

만개일과, 만개2일후, 만개4일후 각각의 종간授粉시 *Lilium callosum* 은 子房肥大가 이루어지지 않았으며, *Lilium longiflorum* 'Nellie White'에서만 이루어져, 만개일 처리구에서 0.43%, 만개2일후 처리구에서 10.76%, 만개4일후 처리구에서 9.52%의 미숙배 기내생육을 얻어냈다. 자방의 비대와 미숙배의 상태를 볼때 개화 3일 후 처리가 적합할 것으로 판단되었는데, Myodo (1962)가 보고한 바 개화 1일째가 가장 좋았다는 결과와는 많은 차이를 나타내었다. 이는 授粉시 주두액을 주입하면 授粉효과가 증진된다는 보고 (Ascher와Drewlow, 1975)와같이 개화후 주두액 분비로 인한 受精촉진 작용으로 추정된다.

子房의 肥大는 授粉 1주후에는 2.3cm를 나타내었으며, 3주후와 4주후에는 각각 3.1cm, 3.2cm를 보여 기간 차이에 따른 肥大 변화가 이루어졌다. 그러나 5주후에는 급속히 퇴화되어, 金 등(1991)의 보고와 같은 현상을 나타내었으며 종간교잡후 자방내에서 배의 퇴화 현상은 배유, DNA, 염색체 배열의 비정상적 원인으로 나타난다는 보고 (North, 1975; Dowrick과 Brandram, 1970)와도 같은 현상으로 추정된다.

미숙배를 배양한 결과 수분 3주후와 4주후에서 미숙배의 기내생육이 14.47%, 11.64%를 나타내어 1주후와 5주후의 0.9%와 0.13%와는 큰 차이를 나타내었다. 이와같은 결과로 수분 3주 - 4주후에 子房 切取를하는 것이 적합함을 알 수 있었다.

미숙배 생육을 위한 배양결과 기내배양 초기 4-5일 후 자방에서 미숙배가 돌출하는 현상이 나타났으며 이는 양분흡수과정에서 일어나는 현상이라는 보고 (Asano와 Myodo, 1978)와 같았다. 처리 2주후의 결과를 보면 성장조절제의 농도 차이에 따라 生育정도는 많은 차이를 나타내어 NAA 3mg/l 에 kinetin 0.5mg/l 와 0.3mg/l 처리구에서 각각 70%와 56.6%로 높게 나타났다. 이는 未熟胚 發育에 NAA 처리가 효과적이라는 보고 (金 등, 1991)와도 일치하였다. 하지만 3주 후에는 급격히 떨어지는 결과를 나타내었는데, 이는 비정상적 상태인 미숙배의 양분 흡수장애로 추정된다. 또한 胚乳와 DNA의 비정상, 종간 차이에 따른 염색체 배열의 비정상으로 기인 한다는 보고 (Dowrick과Peloquin, 1988)와도 같은 추정을 가능케하였다.

未熟胚의 발아를 위하여 MS배지에 sucrose 30g/ℓ 와 NAA와 kinetin 혼합 처리를 하여 NAA 3mg/ℓ 와 kinetin 0.3mg/ℓ 처리구에서 10%가 발아되었고, NAA 1mg/ℓ 와 kinetin 0.5mg/ℓ 처리구, NAA 5mg/ℓ 와 kinetin 0.1mg/ℓ 처리구에서 각각 6.6%와 3.3%의 발아 이루어졌다. kinetin보다는 NAA가 未熟胚 생육에 더 影響을 미치는 것을 확인하였는데, 이는 Asano와 Myodo (1978)의 보고와 일치하였다. 未熟胚 배양시 10% 미만 정도가 개체로 얻어진다는 보고(North와 Wills, 1969)와 未熟胚 배양시 갈변하는 현상이 나타난다는 보고 (Dowrick과 Brandram, 1970; Hayashi 등, 1986)와 비슷한 현상이 나타났으며 Asano (1980)는 이를 배양과정 중의 seedling growth 현상이라고하였다. 未熟胚 배양에서 개체발아에 따른 적정 배지와 성장조절제에 대한 연구가 좀더 깊이 이루어져야 할 것으로 생각된다. 정상생육된 미숙배는 처리 3주후부터 발아되었고 6개체를 얻을 수 있었는데 본 연구에 적합한 생육상태가 이루어지지 않았기 때문에 그중 정상적 개화가 이루어진 1구만을 재료로 이용하였고 차후 나머지 구에 대한 검증이 이루어져야 할 것이다.

F₁의 꽃 색깔, 球의 크기, 꽃의 크기, 葉數, 葉幅 등은 양친의 중간 形質을 나타내었으나, 구의 색깔, 수술과 花粉의 색깔, 꽃이피는 방향, 잎끝이 타 들어가는 현상 등은 *Lilium callosum*의 특성과 비슷하게 나타내었다. 이는 F₁의 표현형이 양친의 특성을 나타낸다는 보고 (Asano, 1978; Noda, 1971)와 비슷하였으며, 본 연구의 목표인 花色과 形態가 父系인 *Lilium callosum*의 영향을 많이 받은 것으로 판단되었는데, 카네이션의 경우 화색은 父系의 影響을 받는다는 보고 (Mehlquist, 1939)와도 비슷하였으며 이는 향후 백합류의 중간교잡시 부계의 화색 선택에 고려되어야할 사항이라고 판단된다.

염색체는 양친과 F₁이 모두 2n=24개였으며, *Lilium longiflorum* 'Nellie White'의 핵형은 2n=24 (8J+4i)이며 *Lilium callosum*의 핵형은 2n=24 (2V+6J+6j)였고, F₁의 핵형은 2n=24 (10J+2j)로서 3종이 서로 다른 형태로 나타났다. 이는 Asano (1983)가 중간교잡시 양친의 염색체쌍이 서로 교차 한다는 보고와 같이 교차시 다른 형태로 변환된다는 것임을 추정케하였다. *Lilium longiflorum* 'Nellie White'의 J형과 *Lilium callosum*의 J, j형이

F₁으로 이전된 것으로 추정 되었으며 이러한 특성이 표현형에서 *Lilium callosum*의 형질이 많이 나타난 것으로 판단되어진다.

양친과 F₁의 proteins band형태 중 여러 band가 나타났으나 pH에 따라 차이를 나타내어 각기 다른 종임을 입증케하였다. 그러나 F₁인 경우 pH 7.5에서 양친에 비하여 매우 뚜렷하게 나타나 양친과 확연한 구분을 할 수 있었으나, 이러한 band가 특정형질 발현과 양친과의 유연관계 확인은 곤란하였다. 이는 鄭(1991)이 보고한 자생나리류에서 많은 band가 형성되었다는 결과와도 비슷하였다.

PER 검정에서는 F₁과 *Lilium callosum*의 경우, pH 4.5와 pH 8.5에서 band가 형성되었고 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'에서는 pH 6.5에서 형성되어 대조를 이루었다. 부계인 *Lilium callosum*이 F₁에 영향을 미친 것으로 추정되며, 양친과 F₁의 구분은 뚜렷하게 나타나 van Tuyl 등(1986)의 보고와 같이 개체간 구분을 할 수 있게하였다.

GOT는 band 형성이 모두 뚜렷이 나타나 구분이 명확하였으며 주로 pH7에서 pH4.5까지만 형성 되었다. *Lilium longiflorum* 'Nellie White'는 pH7에서 band 2개가 뚜렷이 형성되었고 F₁에서 약하게 나타나 이 형질이 모계에서 F₁으로 이전된 것으로 추정 가능케하였다.

AcPH는 pH 6.5에서 band형성이 모두 뚜렷이 나타났으며 F₁과 *Lilium callosum*은 pH 6.5에서 pH 4에 걸쳐 여러개의 band가 형성되어 모계인 *Lilium callosum*의 형질이 F₁으로 이전된 것으로 추정 가능케하였다.

단백질과 효소검정의 결과, 단백질과 PER에서는 양친의 형질이 F₁으로 이전된 것으로 판단되어지며, GOT는 모계인 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'형질이, AcPH에서는 부계인 *Lilium callosum*의 형질이 F₁으로 이전된 것으로 추정 가능케하였지만 본 연구에서는 양친과 F₁의 개체구별 검정 차원에서만 이루어졌기 때문에 확인하기가 곤란하였지만 앞으로 좀더 깊은 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다. 그러나 개체간의 구분은 이루어져 향후 구별 지표로써 활용 가능하리라 판단된다. 또한 예비실험에서 ME, HK, SOD, PGM의 효소를 검정한 바, 전혀 band의 분리 및 형성이 되지 않아, 향후 이에따른

검토가 필요하였다.

화판내 색소 분석으로 플레보놀은 340nm에서 검출이 이루어져 명확한 분리는 이루어졌으나 성분분석이 곤란하여 전체 추이만 추정 가능하였다. 하지만 각각 다른 양상이 나타나 양친과 F₁ 간의 차이는 인정할 수 있었다. 향후 흡수파장을 달리한 연구를 통하여 좀더 깊은 플레보놀 검출이 요구된다. 안토시아닌과 카로티노이드는 백색인 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'에서는 전혀 나타나지 않았는데, 이는 Banda (1967, 1968)의 연구결과와 일치하였다. 적색계인 *Lilium callosum*에서는 흡광도가 각각 0.8과 2.1로 높게 나타났으며 F₁에서는 각각 0.2와 0.8로 나타나 화색에서는 父系인 *Lilium callosum*이 F₁에 영향을 미치는 것으로 판단되어진다.



VI. 摘要

백합의 종간 교잡육종을 통하여 백색의 나팔나리 계통에 赤色을 도입하기 위하여 백색인 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'와 적색인 *Lilium callosum*의 교배시 授粉方法, 未熟胚 배양 그리고, F₁ 개체의 形質檢定을 위한 表現형 비교, 염색체 分析, 단백질 形質分析과 PER, AcPH, GOT 등의 효소 分析, 화색 檢定을 실시한 結果를 요약하면 다음과 같다.

1. 授粉後 花粉管 伸長은 *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum* 에서는 주두 부분에서만 이루어졌고, 花柱 入口에서 子房까지 전혀 花粉관이 신장되지 않았으며, *Lilium callosum* × *Lilium longiflorum* 'Nellie White' 에서는 주두에서 일부분을 제외하고는 花粉管 伸長은 거의 나타나지 않았다.

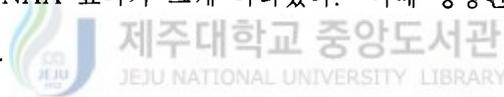
2. 주두와 花柱길이 1/2 절단 授粉처리에서 *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum* 과 *Lilium callosum* × *Lilium longiflorum* 'Nellie White' 의 어느쪽에서도 子房肥大가 이루어지지 않았고, 花柱길이 1-2mm 남긴 절단 처리에서는 *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum*에서 子房肥大가 이루어져 기내배양한 결과 12%의 未熟胚가 성장하였다.

3. 花柱길이를 1-2mm 절단하여, 개화일, 개화 2일후, 개화 4일후 授粉처리는 *Lilium callosum* × *Lilium longiflorum* 'Nellie White'에서는 子房肥大가 전혀 이루어지지 않았고, *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum* 에서 肥大가 이루어져 기내배양한 결과 개화일에서는 0.43%, 개화 2일후에는 10.76%, 개화 4일후에는 9.52%의 未熟胚가 성장하였다.

4. 授粉後 기간별 子房肥大 변화는 *Lilium callosum* × *Lilium longiflorum* 'Nellie White' 에서는 1주 후부터 급격히 퇴화하였고 *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum* 에서는 1주부터 肥大하기 시작하여 3-4주에서 가장 좋아, 기내배양한 결과 14.5%와 11.6%의 미숙배가 성장하였으며, 5주째부터 배의 퇴화가 시작되었다.

5. 수분 3주후 채취된 미숙배를 MS 배지에 배양한 결과 배양 2주후 높은 발육을 나타내어, NAA 3mg/ℓ 에 kinetin 0.5mg/ℓ 와 0.3mg/ℓ 에서 각각 70%와 56.6% 였으나, 3주 후에는 NAA 1mg/ℓ 에 kinetin 0.5mg/ℓ 처리구와 NAA 5mg/ℓ 에 kinetin 0.1mg/ℓ 처리구에서 13.3%를 나타내었다.

6. MS배지에 처리한 未熟胚의 성장은 NAA 3mg/ℓ 와 kinetin 0.3mg/ℓ 처리구에서 10%의 발아율을 나타내었고 NAA 1mg/ℓ 와 kinetin 0.5mg/ℓ 처리구에서 6.6% NAA 5mg/ℓ 와 kinetin 0.1mg/ℓ 처리구에서는 3.3%의 발아율을 나타내어 未熟胚의 성장과 발아에는 kinetin보다 NAA 효과가 크게 나타났다. 이때 성장된 未熟胚는 치상후 3주부터 발아되기 시작했다.



7. *Lilium longiflorum* 'Nellie White' × *Lilium callosum* 간의 중간교잡에서 얻어진 F₁의 표현형은 양친의 중간형태로 나타났다. 특히 화색에 있어서 *Lilium longiflorum* 'Nellie White' 는 순백색이며 *Lilium callosum* 는 적주황색인 반면 F₁은 중간색인 연황색을 나타내었으며, 꽃 모양은 *Lilium callosum* 의 影響을 받아 花瓣이 뒤로 말리는 현상을 나타냈다. 잎의 경우는 끝부분과 특히, 下葉이 마르는 특징이 있었다.

8. 양친과 F₁의 染色體의 基本數는 n=12이며, 핵형식은 *Lilium longiflorum* 'Nellie White':

$$K(2n)=24(8J+4i)=2A^{st}+2B^l+2C^l+2D^l+2E^{st}+2F^{st}+2G^l+2H^l+2I^{st}+2J^l+2K^l+2L^l$$

Lilium callosum :

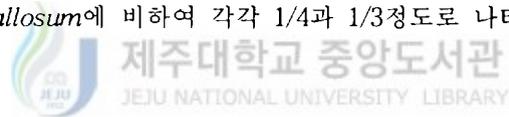
$$K(2n)=24(2V+6J+6j)=2A^{sm}+2B^{sm}+2C^{st}+2D^l+2E^l+2F^{st}+2G^l+2H^l+2I^l+2J^l+2K^{st}+2L^{st}$$

F₁:

K(2n)=24(10J+2j)=2A^l+2B^l+2Cst+2Dst+2E^l+2F^l+2G^l+2H^l+2Ist+2J^l+2K^l+2Lst 으로 나타났다.

9. 단백질과 각종 효소검정에서는 단백질과 GOT는 모계인 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'가 F₁에 영향을 나타내었고, PER은 양친의 형질이, AcPH는 부계인 *Lilium callosum*의 형질이 F₁에 영향을 나타내었다.

10. 플라보놀 검정은 340nm에서 검출되어 명확한 성분분리가 곤란하였지만 검출 시간에 따라 최고치 차이가 다르게 나타나 종간구분이 가능하였다. 안토시아닌과 카로티노이드의 함량은 *Lilium longiflorum* 'Nellie White'에서 검출되지 않았으며 F₁에서의 흡광도는 적색계인 *Lilium callosum*에 비하여 각각 1/4과 1/3정도로 나타났다.



VII. 引用文獻

- Allard, R. W. 1988. Genetic changes associated with the evolution of adaptedness in cultivated plants and their wild progenitors. *J. Hered.* 79:225-238.
- Allen, G.A. , and J. A. Antos 1988. Morphological and ecological variation across a hybrid zone between-*Erythronium oregonum* and *E. revolutum* (Liliaceae). *Madrono* 35:32-38.
- Arisumi, T. 1973 Embryo development and seed set in crosses for triploid Day Lilies. *Bot. Gaz.* 134:135-139
- Arisumi, T. 1980. Chromosome numbers and comparative breeding behavior of certain *Impatiens* from Africa, India, and New Guinea. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 105:99-102
- Arisumi, K. , Y. Sakata, M. Aoki And T. Kawahara 1977 Studies on the flower colors in *Rosa*, with special references to the biochemical and genetic analysis and to the application of those results to the practical breeding V. The Bulletin of the Faculty of Agriculture, Kagoshima, university, 27:23-30.
- Asano, Y. 1978. Studies on crosses between distantly related species of lilies. III. New hybrids obtained through embryo culture. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 47:401-41.
- Asano, Y. 1980a. Studies on the crosses between distantly related species of lilies IV. The culture of immature. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 49:114-118.
- Asano, Y. 1980b. Studies on crosses between distantly related species of lilies V. Characteristics of newly obtained hybrids through embryo cultured. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 49:241-250.
- Asano, Y. 1980c. Studies on crosses between distantly related species of Lilies. VI.

- Pollen-tube growth in interspecific cross on *Lilium longiflorum* (I) J. Japan. Soc. Hort. sci. 49:392-396.
- Asano, Y. 1981. Pollen-tube growth in interspecific crosses of *Lilium longiflorum* Thunb. (II). J. Japan Soc. Hort. Sci. 50:350-354.
- 浅野義仁, 1981. ユリ屬における栽培種の起源とその育種. 第23回 日本育種學會 シンポジウム 報告. p.48-57.
- Asano, Y. 1982a. Chromosome association and pollen fertility in some interspecific hybrids of *Lilium*. Euphytica 31:121-128.
- Asano, Y. 1982b. Overcoming interspecific hybrid sterility in *Lilium*. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 51:75-81.
- Asano, Y. 1983. Random distribution of the number of chromosome pairings in interspecific hybrids of *Lilium*. Cytologia 48:803-809.
- Asano, Y. 1984. Fertility of a hybrid between distantly related species in *Lilium*. Cytologia 49:447-456.
- Asano, Y. and Hiroshi Myodo. 1977. Studies on crosses between distantly related species of lilies I. For the intrastylar pollination technique. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 46:59-65.
- Asano, Y. and H. Myodo. 1978. Studies on crosses between distantly related species of lilies. II. The culture of immature hybrid embryos. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 46:267-273.
- Ascher, P. D. 1975. Special stylar property required for compatible pollen-tube growth in *Lilium longiflorum* Thunb. Bot. Gaz. 136:317-321.
- Ascher, P. D. 1977. Localization of the self- and the interspecific-incompatibility reactions in style sections of *Lilium longiflorum*. Plant Science Letters 10:199-203.

- Ascher, P. D. and L. W. Drewlow, 1975. The effect of prepollination injection with stigmatic exudate on interspecific pollen tube growth in *Lilium longiflorum* Thunb. styles. *Plant Science Letters* 4:401-405.
- Ascher, P. D. and S. J. Peloquin, 1966. Effect of floral aging on the growth of compatible and incompatible pollen tubes in *Lilium longiflorum*. *Amer. J. Bot.* 53:99-102
- Ascher, P. D. and S. J. Peloquin, 1966. Influence of temperature on incompatible and compatible pollen tube growth in *Lilium longiflorum*. *Can. J. Genet. Cytol.* 3:661-664.
- 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.
- Ascher, P. D. and S. J. Peloquin, 1970. Temperature and the self-incompatibility reaction in *Lilium*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 95:586-588.
- Asen, S., 1979. Flavonoid chemical markers in poinsettia bracts. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 104:223-226.
- Asen, S., R. N. Stewart. and K. E. Norris. 1975. Anthocyanin, flavonol co-pigments, and PH responsible for *Larkspur* flower color. *Phytochemo.* 15:2677-2682.
- Asen, S. and L. Emsweller 1962. Pigments responsible for a yellow-flowered mutant hybrid from *Lilium regale* E. H. Wilson by *Lilium leucanthum* Baker. *Amer. Soc. for Hort. Sci.* 81:530-534.
- Asen, S., R. N. Stewart and K. E. Norris, 1975. Anthocyanin, flavonol co-pigments, and pH responsible for larkspur flower color. *Phytochemo.* 14:2677-2682.
- Ballington, J. R., W. E. Ballinger, and E. P. Maness, 1987. Interspecific differences

- in the percentage of anthocyanins, aglycones, and aglycone-sugars in the fruit of several species of Blueberries. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 112:859-864.
- Banda, H., 1967. Pigments of lily flowers. I. Survey of anthocyanin. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 36:433-437.
- Banda, H., 1968. Pigments of lily flowers, Survey of carotenoid. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 37:367-378.
- 방재욱, 1988. 전기영동법을 이용한 호밀 (SECALE CEREALE L.) Seedling proteins의 유전적분석. I. soluble proteins의 SDS-PAGE와 2차원전기영동. Kor. J. Genet. 10:85-92.
- Belivanis, T. and C. Dore, 1986. Interspecific hybridization of *Phaseolus vulgaris* L. and *Phaseolus angustissimus* A. Gray using *in vitro* embryo culture. Plant Cell Report 5:329-331.
- Bennici, A., 1979. Cytological chimeras in plants regenerated from *Lilium longiflorum* tissues grown *in vitro*. J. Plant Breeding 82:349-353.
- Bournival, B. L. and S. S. Korban, 1987. Electrophoretic analysis of genetic variability in the apple. Sci. Hort., 31:233-243.
- Bowes, S. A., 1990. Long-term storage of Narcissus anthers and pollen in liquid nitrogen. Euphytica 48:275-278.
- Brewbaker, J. L., 1957. Pollen cytology and self-incompatibility systems in plants. J. Hered., 48:271-277.
- Broertjes, C. and H. Y. Alkema, 1971. Mutation breeding in flower bulbs. Acta Hort., 23:407-412.
- Cambell, R. J. and H. F. Linskens, 1984. Temperature effects on self incompatibility in *Lilium longiflorum*. Theor. Appl. Genet. 68:259-264.
- Cohen, A., N. Akavia and N. Umiel, 1985. The identification of anthocyanin

- pigments in the petals as an aid to the breeding of *Gladiolus*. *Acta Hort.*, 177:375-383.
- Colby, L. W. and L. C. Peirce, 1988. Using an isozyme marker to identify doubled haploids from anther culture of *Asparagus*. *HortSci.*, 23:761-763.
- Cousineau, J. C. and D. J. Donnelly, 1989. Identification of raspberry cultivars in vivo and *in vitro* using isoenzyme analysis. *HortSci.*, 24:490-492.
- de Jong, J. and W. Rademaker, 1989. Interspecific hybrids between two chrysanthemum species. *HortSci.*, 24:370-372.
- Desborough, S. and S. J. Peloquin, 1988. Disc-electrophoresis of proteins and enzymes from styles, pollen and pollen tubes of self-incompatible cultivars of *Lilium longiflorum*. *Theor. Appl. Genet.* 38:327-331.
- Doss, R. P., G. A. Chastangner and K. L. Riley, 1986. Screening ornamental Lilies for resistance to *Botrytis elliptica*. *Sci. Hort.*, 30:237-246.
- Dowrick, G. J. and S. N. Brandram, 1970. Abnormalities of endosperm development in *Lilium* hybrids. *Euphytica* 19:433-442.
- Durham, R. E., G. A. Moore, and W. B. Sherman, 1987. Isozyme banding patterns and usefulness as genetic markers in Peach. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 112:1013-1018.
- Fett, W. F., J. D. Paxton, and D. B. Dickinson, 1976. Studies on the self-incompatibility response of *Lilium longiflorum*. *Amer. J. Bot.* 63:1104-1108.
- Ghosh, S. and K. R. Shivanna, 1980. Pollen-Pistil interaction in *Linum grandiflorum* Scanning electron microscopic observations and proteins of the stigma surface. *Planta.* 149:257-261.
- Griesbach, R. J., 1984. Effects of carotenoid-anthocyanin combinations on flower color. *J. Hered.*, 75:145-147.

- Griesbach, R. J., F. Meyer and H. Koopowitz, 1993. Creation of new flower color in onithogalum via interspecific hybridization. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 118:409-414.
- Hahlbrock, K. 1981. flavonoids. (Ed.)Conn, E. E. pp.425-465. Academic Press, New York.
- 韓仁松, 1994. 무궁화의 自家不和合群, 自家和合群 및 不稔群間의 交雜時 花柱內에서의 花粉管 伸長, 韓園誌. 35:623-630.
- Harborne, J. B., 1979. Flavonoid pigments. (Ed.) Rosenthal, G. A. and D. H. Janzen, pp.619-656. Academic Press, New York.
- Hattori, K., 1991. Inheritance of carotenoid pigmentation in flower color of chrysanthemum. Japan J. Breed. 41:1-9.
- Hauagge, R. D. E. Kester, S. Arulsekhar, D. E. Parfitt, and L. Liu., 1987. Isozyme variation among california almond cultivars : II. Cultivar characterization and origins. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 112:693-698.
- Hayashi, M. , K. Kanoh, Y. Serizawa, and E. Yoon, 1986. Ovary slice culture of *Lilium formosanum* Wallace. Japan J. Breed. 36:304-308.
- Heslop-Harrison, J. , R. B. Knox and Y. Heslop-Harrison, 1974. Pollen- wall proteins : Exine-Held fractions associated with the incompatibility response in cruciferae. Theor. and Appl. Gen., 44:133-137.
- Hiratsuka, S., 1989. Analysis of self-incompatibility reaction in easter lily by using heat treatments. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 114:505-508.
- Hiratsuka, S. , T. Tezuka, and Y. Yamamoto, 1983. Use of longitudinally bisected pistils of *Lilium longiflorum* for studies on self-incompatibility. Plant & Cell Physiol. 24:765-768.
- Hiratsuka, S., T. Tezuka, and Y. Yamamoto, 1989. Analysis of self-incompatibility reaction in easter lily by using heat treatments. J. Amer. Soc. Hort. Sci.

114:505-508.

Hopper, J. E., Peter D. A. and S. J. Peloquin, 1967. Inactivation of self - Incompatibility following temperature pretreatments of styles in *Lilium longiflorum*. Euphytica 16:215-220.

Horn, W., 1971. Some results of breeding research on Tulips (*Tulipa* SP.). Acta Hort., 23:391-400.

Howlett, B. J. , R. B. Knox, J. D. Paxton and J. Heslop-Harrison, F. R. S., 1975. Pollen-wall proteins : Physicochemical characterization and role self-incompatibility in *Cosmos bipinnatus*. Proc. R. Soc. Lond. B. 188:167-182.

Inomata, N., 1977. Production of interspecific hybrids between *Brassica campestris* and *Brassica oleracea* by culture *in vitro* of excised ovaries. Japan J. Breed. 27:295-304.

Iwai, S., C. Kishi, K. Nakata, and N. Kawashima, 1986. Production of *Nicotiana tabacum* x *Nicotiana acuminata* hybrid by ovule culture. Plant Cell Reports 5:403-404.

Jost, I., 1907. Über die selbststerilität einiger bluten. Bot. Ztg. 65:77-117.

鄭正學, 1991. 韓國 自生 나리의 分布와 種間 類緣關係 分析. 서울대학교 박사학위논문. pp.69.

Jinno, P., 1963. Phomological variation of chromosomes in *Chelidonium majus* I. Bot. Mag. Tokyo 897:115-119.

Kanoh, K., M. Hayashi, Y. Serizawa, and T. Konishi, 1988. Production of interspecific hybrids between *Lilium longiflorum* and *L. elegance* by ovary slice culture. Japan J, Breed, 38:278-282.

Kawase , K. and Y. Tsukamoto, 1976. Studies on flower color in *Chrysanthemum morifolium* Ramat III. Quantitative effects of major pigments on flower color

- variation, and measurment of color qualities of petals with color difference meter. J. Japan Soc. Hort. Sci. 45:65-75.
- Kho, Y. O., and J . Baer, 1971. Incompatibility problems in species crosses of tulips. *Euphytica* 20:30-35.
- 金奎元, 成淑京, 1990. 백합의 未熟胚 培養을 통한 幼植物體 獲得. 韓園誌. 31:423-431.
- 金永鎮, 林眞姬, 洪永杓, 金剛權, 崔尙台. 1991. 나리類 種間交雜에 關한 研究. 1. 自生나리 交雜方法 및 胚培養에 關한 研究. 農試論文集 (園藝篇) 33:45-53.
- Kiplinger, D. C., and R. W. Langhans, 1967. Easter lilies. Cornell Univ. Ithaca, New York. p7-118.
- Knox, R. B., 1973. Pollen wall proteins : Pollen-stigma interactions in ragweed and *Cosmos* (compositae). J. Cell. Sci. 12:421-443.
- Knox, R. B., and E. Friederich, 1974. Tetrad Pollen grain development and sterility in *Leschenaultia formosa* (Gardeniaceae). *New Phytol.* 73:251-258.
- Kobayashi, R. S., J. L. Brewbaker, and H. Kamernoto, 1987. Identification of *Anthurium andraeanum* cultivars by gel electrophoresis. J. Amer. Hort. Sci. 112:164-167.
- Lamont, Greg, 1986. Report on study tour of the nursery and flower industries of Japan and the United States. N. S. W. Dept. of Agri. Australia, Miscellaneous Bulletin 22:1-37.
- 李昌福. 1980. 大韓植物圖鑑. p.206-209. 鄉文社, 서울.
- 李雄斌 1989. 韓國産 나리屬 (Lilium)의 系統分類學的 研究. 高麗大學校 博士學位論文. pp.126.
- Levin, D. A., 1971. The origin of reproductive isolating mechanisms in flowering plants. *Taxon.* 20:91-113.
- Li, Yi-Qin, and T. H. Tsao, 1985. Covalently bound wall proteins of pollen grains

- and pollen tubes grown *in vitro* and in styles after self- and cross-pollination in *Lilium logiflorum*. Theor. Appl. Genet. 71:263-267.
- Marshall, L. D., 1970. The lily species behind today's hybrids: part one. Roy. Hort. Soc. Lily Yearbook. 33:48-62.
- Marshall, L. D., 1972. The lily species behind today's hybrids: part two. Small flowered asiatic species. Roy. Hort. Soc. Lily Yearbook. 34:47-53.
- Martin, F. W., 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. Stain. Technol., 34:125-128.
- Mehlquist, G. A. L., 1939. Inheritance in the carnation, dianthus caryophyllus L. Inheritance flower color. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 32:1019-1021.
- Menendez, R. A., F. E. Larsen, and R. Fritts, Jr., 1986. Protein and isoelectric focusing for the characterization of apple clones. Sci. Hort., 29:211-220.
- Messeguer, R., P. Arus, and M. Carrera, 1987. Identification of peach cultivars with pollen isozymes. Sci. Hort., 31:107-117.
- Mol, J., A. Stuitje, A. Grats, A. van der Krol, and R. Jorgensen, 1989. Saying it with genes : molecular flower breeding. Trends Biotechnol. 6:148-153.
- Mynett, K., 1986. Breeding for early flowering of asiatic lilies. Acta Hort., 177:393-397.
- Myodo, H., 1962. Experimental studies on the sterility of some *Lilium* species. J. Facul. Agr., Hokkaido Univ., Sapporo 52:70-122
- Myodo, H., 1966. Hybrid Lilies raised at the experimental farm of the hokkaido university between 1950-1964, Hokkaido university. Research Bulletin of the University Farm 14:1-11.
- Nasrallah, M. E., J. T. Varber, and D. H. Wallace, 1970. Self-incompatibility proteins in plants : Detection, genetics, and possible mode of actio. Heredity

25:23-27.

- Nieuwhof, M., J. P. van Eijk, P. Keijer and W. Eikelboom, 1988. Inheritance of flower pigments in tulip (*Tulipa L.*). *Euphytica* 38:49-55.
- Niimi, Y., 1972 Effects of concentration of inorganic nitrogen, KNO_3 and / or NH_4NO_3 on growth of embryo *in vitro* in *Petunia hybrida*. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 40:56-63.
- Niimi, Y., 1978. Influence of low and high temperatures on the initiation and the development of a bulb Primordium in isolated *Tulip* embryos. *Sci. Hort.*, 9:61-69.
- Niimi, Y., 1982 Studies on the self-incompatibility of *petunia hybrida* in excised-style culture on attempt at improving a technique in excised-style culture. *Euphytica* 31:787-793.
- Nitsch, J. P., 1951. Growth and development *in vitro* of excised ovaries. *Amer. J. Bot.* 38:566-577.
- Noda, S., 1971. Cytogenetic studies in the hybrid Lilies. 1. Occurrence of binucleate cells in PMC and triploid variety. *Bot. Mag. Tokyo*, 84:399-409.
- Noda, S., 1978. Chromosomes of diplod and triplod forms found in the natural populations of tiger Lily in Tsushima. *Bot. Mag. Tokyo*. 91:279-283.
- Noda, S., 1986. Cytogenetic behavior, chromosomal differentiations, and geographic distribution in *Lilium lancifolium* (Liliaceae). *Pl. sp. Biol.* 1:69-78.
- North, C., 1975. Embryo culture as an aid to breeding *Lilium*. *Acta Hort.*, 47:187-192.
- North, C., and A. B. Wills, 1969. Inter-specific hybrids of *Lilium lankongense* Franchet produced by embryo- culture. *Euphytica* 18:430-434.
- Nugent, P. E., and R. J. Snyder, 1967. The inheritance of floret doubleness, floret

- center color, and plant habit in *Pelargonium hortorum* Bailey. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 91:680-690.
- Paech, K., 1955. Colour development in flowers. Ann. Rev. Plant Physiol., 6:273-298.
- Parfitt, D. E., S. Arulsekar, and D. W. Ramming, 1985. Identification of *Plum* x *Peach* hybrids by isoenzyme analysis. HortSci., 20:246-248.
- Post, T. B., 1983. Comparative study of pollen of *Lilium longiflrum*. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 833-836.
- Raghavan, V., 1966. Nutrition, growth and morphogenesis of plant embryos. Biol. Rev. 41:1-58.
- Ranning, D., W. R. I. Enershad, P. Spiegel-Roy., N. Sahar and I. Baron, 1990. Embryo culture of early ripening seeded Grape (*Vitis vinifera*) genotypes. HortSci., 25:339-342.
- Rees, A. R., 1985. *Lilium*. CRC Hand book of flowering(vol.1). (ed.) A. Halevy. pp288-293.
- Sakata, Y., and K. Arisumi, 1985. Studies on the flower clours in the *Camellia*: On the anthocyanin constitution in *C. reticulata*, *C. saluenensis*, *C. pitardii*, *C. hongkongensis*, *C. rosaeflora* and *C. maliflora* and in the cultivars derived from interspecific hybridization. Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ. 21:149-156.
- Sayama, H. T. Moue, and Y. Nishimura, 1982. Cytological Study in *Tulipa gesneriana* and *T. fosteriana*. Japan. J. Breed. 32:26-34.
- Semeniuk, P., and D. T. Krizek, 1973. Influence of germination and growing temperature on flowering of six cultivars of annual statice (*Limonium* cv.) J. Amer. Soc. Hort. Sci. 98:140-142.
- 清水基夫. 1987. 日本のゆり. 誠文堂 新光社, 東京.
- 孫珍鎬, 1971. 하늘말나리의 核型. 식물학회지 14:150-154.

- 孫珍鎬, 1979. 하늘나라의 核型과 染色體의 分染相. Kor. J. Genet. 1:44-48.
- Son, J. H., 1981. C-banded karyotype of *Lilium amabile* palibin. Kor. J. Genet. 2:65-69.
- Sparnaaij, L. D., 1979. Polyploidy in flower breeding. HortSci., 14:496-499.
- Sparnaaij, L. D., J. P. van Eijk and L. Smeets, 1985. Improving forcing ability- The breeder's contribution. Acta Hort., 177:385-391.
- Stephens, L. C., J. L. Weigle and S. L. Krell, 1988. Flower color inheritance in inbred progenies of *Impatiens* interspecific hybrid. J. Hered., 79:136-137.
- Stushnoff, C. and S. H. Nelson, 1966. Sterility and incompatibility in the patterson hybrid Lilies. North Amer. Lily Soc. Yearbook, 19:33-40.
- Stewart, R. N., 1947. The morphology of somatic chromosomes in *Lilium*. Amer. J. Bot. 34:9-26.
- Synge, P. M., 1980. Lilies. pp.276. B. T. Batsford, Ltd., London.
- van Eijk, J. P., 1971. Prospects of preselection in tulip Breeding. Acta Hort., 23:401-406.
- van Eijk, J. P., B. H. H. Bergman, and W. Eikelboom, 1978. Breeding for resistance to *Fusarium oxysporum* F. sp. *Tulipae* in tulip (*Tulipa* L.). I. Development of a screening test for selection. Euphytica 27:441-446.
- van Eijk, J. P., and W. Eikelboom, 1983. Breeding for resistaince to *Fusarium oxysporum* F. SP. *Tulipae* in tulip (*Tulipa* L.) 3. Geno-typic evaluation of cultivars and effectiveness of pre-selection. Euphytica 32:505-510.
- van Eijk, J. P., W. Eikelboom, J. B. M. Custers, J. Framken, and L. W. D. van Raamsdonk, 1986. Interspecific crosses in tulip breeding. Acta Hort., 177:590.
- van Eijk, J. P. , W. Eikelbom, and N. G. Hogenboon, 1985. The importance of wild species and old cultivars for the breeding of flowerbulbs. Acta Hort., 177:399-403.

- van Eijk, J. P. , L. W. D. van Raamsdonk, W. Eikelboom, and R. J. Bino, 1991. Interspecific crosses between *Tulipa gesneriana* cultivars and wild *Tulipa* species : a survey. *Sexual Plant Reproduction* 4:1-5.
- van Roggan, P. M., C. J. Keijzer, H. J. Wilms, J. M. van Tuyl, and A. W. D. T. Stals, 1988. An sem study of pollen tube growth in intra- and interspecific crosses between *Lilium* species. *Bot. Gaz.* 149:365-369.
- van Tuyl, J. M., R. J. Bino, and J. B. M. Custers, 1990a. Application of *in vitro* pollination, ovary culture, ovule culture and embryo rescue in breeding of *Lilium*, *Tulipa* and *Nerine*. Poster symposium on integration of *in vitro* techniques in ornamental plant breeding. Wageningen Nov. 10-14. pp.86-97.
- van Tuyl, J. M. , M. Claramarcucci and T. Visser, 1982. Pollen and Pollination experiments. VII. The effect of pollen treatment and application method on incompatibility and incongruity in *Lilium*. *Euphytica* 31:613-619.
- van Tuyl, J. M. , J. Fraken, R. C. Jongerius, C. A. M. Lock and T. A. M. Kwakkenbos, 1986. Interspecific hybridization in *Lilium*. *Acta Hort.*, 177:591-595.
- van Tuyl, J. M. , T. P. Straathof, R. J. Bino, and A. A. M. Kwakkenbos, 1988. Effect of three pollination methods on embryo development and seed set in intra-and interspecific crosses bwtween seven *Lilium* species. *Sexual Plant Reproduction* 1:119-123.
- van Tuyl, J. M., Marjan G. M. van Creij and Maria P. van Dien, 1992. In vitro pollination and ovary cuture as a breeding tool in wide hybridization of *Lilium* and *Nerine*. *Acta Hort.*, 325:461-466.
- van Tuyl, J. M., K. van de Sande, R. Van Dien, D. Straathof, and H. M. C. van Holsteijn, 1990b. Overcoming interspecific crossing barriers in *Lilium* by ovary and embryo culture. *Acta Hort.*, 266:317-322.

- van Tuyl, J. M., A. J. van Dijk, and L. W. D. van Raamsdonk, 1986. Identification of interspecific hybrids and determination of relationships between species in the genus *Lilium* by isoelectric focusing. *Acta Horticultutae*. 177:601-605.
- van Tuyl, J. M., M. P. van Dien, M. G. M. van Creijl, T. C. M. Van Kleinwee, J. Franken, and R. J. Bino, 1991. Application of *in vitro* pollination, ovary culture, ovule culture and embryo rescue for overcoming incongruity barriers in interspecific *Lilium* crosses. *Plant Science*. 74:115-126.
- van Tuyl, J. M., H. M. C. van Holsteijn, and A. A. M. Kwakkenbos, 1990c. Research on polyploidy in interspecific hybridization of Lily. *Acta Hort.*, 266:323-327.
- Watts, V. M., 1967. Influence of intrastylar pollination on seed set in Lilies. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 91:660-663.
- Weeden, N. F., B. I. Reisch, and Mary-Howell E. Martens, 1986. Genetic analysis of isozyme polymorphism in Grape. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 113:765-769.
- Willkins, H. F., 1988. Past, present, future of the floriculture ornamental horticulture world. *Minnesota State Florists Bulletin*. 37:1-4.
- Yabuya, T., and H. Yamagata, 1981. Embryo growth and cultural condition in *Iris ensata* Thunb. *Japan J. Breed.* 31:377-382.
- Yamaguchi, S., M. Kobayashi, B. Roy, and I. Okuda, 1990. Preliminary report on the Karyotype of *Lilium nepalense*. *Japan J. Breed.* 40:245-248.
- 尹義洙. 1991. 백합屬에 있어서의 종간잡종 생산을 위한 子房切片培養. I. 雜種胚의 生存率과 發芽率. *식물조직배양학회지* 18:185-193.
- Zenkter, M., and W. Nitzsche, 1985. In vitro culture of ovules of *Triticum aestivum* at early stages of embryogenesis. *Plant Cell Report.*, 4:168-171.

謝 辭

잘 다니던 직장을 사표 쪽지한장으로 내팽겨치고 나온지 꼭 10년이다. 그동안 마음에 걸렸던 것을 이제서야 마무리하며, 겨우 턱걸이 한 기분으로 다시 또다른 발걸음을 옮긴다.

지나온 동안 한계점에 달한 능력에 고개를 숙이며, 실험을 수행하면서 많은 도움을 주신 강훈 교수님, 청주교육대학의 한경철 교수님, 원광대학교의 배종향 박사님, 잔 심부름도 맡아 주신 고려대학교의 홍정 선생님, 또한, 석, 박사과정동안 아낌없는 지도와 도움을 주신 백자훈 교수님, 장전익 교수님, 박용봉 교수님, 심사과정동안 힘써주신 소인섭, 광병화 교수님께 감사드립니다.

무능력한 나를 제자이기전에 아들처럼 아껴주신 한해룡 교수님께 무엇으로 보답해야 할 지 막막하다. 볼 일 없는 나를 맡아 지도해 오시면서, 제대로 따르지도 못하고 항상 실망만 드렸고, 마지막까지 염려를 끼쳐드리게된 문두길 교수님께 죄스럽기만하다.

이제야 석, 박사과정 10년을 항상 지켜 봐주신 서울여자대학교의 이종석 교수님께 줄고를 드리게 되어 마음이 후련하다.

항상, 나에 대한 기대감에 격려를 해 주신 큰형님, 그리고 누님, 작은 형님께 감사드리며, 며칠전 나의 열렬한 팬인 유일한 여동생 경희가 딸 셋만에 아들을 낳았다고 한다. 다행스런 마음으로 이 줄고를 선물로 보낸다.

늦은 나이에 공부시작하여 속만 썩혀드린 부모님, 지금 이시간에도 과수원에 계시겠지... 지금껏 보살펴 주심에 감사드린다.

늦은 나이에 결혼하여 줄고를 준비 하느라 제대로 챙겨주지도 못한 외중에 무거운 몸이 되어버린 아내, 지금도 몸이 불편하여 제대로 먹지도 못하고 안쓰러움을 감추고 눈치도 없이 보채기만한다. 태어날 아기는 제발 나를 닮기를 바란다!

1995년 12월 12일 오전 9시 우산동 411호 연구실에서

김 승 현 씀