

자생식물형질전환 및 증식기술개발

1. 술패랭이의 기내배양 및 식물체의 재분화

임정대, 유창연, 허 권
강원대학교 농업생명과학대학 식물응용과학부

술패랭이(*Dianthus superbus*)는 식물분류학상 석죽과 패랭이 속에 속하는 식물로서 한국과 중국에 분포하고 있는 숙근성 다년초로서 중요한 관상식물이다. 또한 꽃과 열매를 말려서 진통제, 진정제, 이뇨제로서 사용하는 특용자원식물이다. 따라서 본 실험의 목적은 기내배양에 의한 희귀종 대량증식 및 배양중의 변이종의 육종적 이용과 유전자 형질전환을 위한 기초실험으로 캘러스 유기 및 식물체 분화에 대한 연구를 실시하였다.

술패랭이꽃의 치상조직별 캘러스 형성과 재분화식물체의 유도를 위해서 술패랭이의 줄기와 줄기마디, 잎을 채취하여 흐르는 물에 수세한 후 각각 0.5%, 2%, 2.5%의 Sodium hypochlorite 용액에 15분간 표면살균 후 멸균수로 4-5회 수세한 후 잎은 0.5×0.5cm 줄기와 줄기마디는 1cm로 절취하여 배양재료로 삼았다. 재분화 식물체의 유도를 위하여 배지는 MS(Murashige and Skoog)와 MSB₅(MS salt + B5 vitamine, SH(Schenk and Hildebrandt))를 기본배지로 하여 2,4-D, BAP, TDZ, NAA, Kinetin 을 0.01, 0.1, 1, 2mg/l 의 농도로 단독처리 하였으며 2,4-D와 TDZ를 0.1, 2mg/l 의 농도로 혼합처리하였으며 BAP, NAA를 0.1, 2mg/l 의 농도로 혼합처리하였다. 또한 Multiple shoot의 유도를 위한 casein hydrolysate의 효과를 구명하기 위하여 MS(Murashige and Skoog)배지를 기본배지로 하여 kinetin 2mg/l +2,4-D 0.1mg/l +NAA 0.1mg/l 을 control로 사용, casein hydrolysate를 0.1, 1, 2, 4mg/l 의 농도로 처리하였다.

식물생장조절물질 2,4-D, BAP, NAA, TDZ가 첨가된 각각의 배지에 배양하여 60일 경과 후 callus 생성율을 조사한 결과는 단독처리에서는 MS배지에 NAA 2mg/l 첨가시에 92.3%로 가장 높은 형성율을 보이고 있으며, BAP와 NAA, TDZ와 NAA의 조합처리에서도 높은 캘러스 형성을 보이고 있다. 캘러스의 크기나 무게에서

더 좋은 결과를 보이고 있는 처리는 2,4-D 2mg/l이 첨가되었을 때였다. 2,4-D와 TDZ의 조합처리에서 2,4-D 2mg/l + TDZ 0.01mg/l 을 조합처리시 100% callus형성을 보였으며, 술패랭이의 캘러스 형성은 2,4-D처리시 가장 좋은 결과를 보이는 것으로 사료된다. 배지간에 따른 캘러스형성의 차이를 살펴보면 MS(Murashige and Skoog)배지가 모든 처리에서 높은 캘러스 형성율을 보이고 있으며 그 다음이 MSB5(MS salt + B₅ vitamine), SH(Schenk and Hildebrandt) 순으로 나타났다. 배발생 캘러스의 형성을 비교하여 보면 단독처리에서 MSB₅ 배지에 2,4-D 2mg/l 첨가한 경우에서만 배발생캘러스가 유도되었고 그 형성을 또한 저조하였으나, 조합처리시에는 2,4-D 2mg/l 의 높은 농도와 0.01mg/l 의 낮은 농도의 TDZ 조합처리에서 MS(Murashige and Skoog), MSB₅(MS salt + B₅ vitamine), SH(Schenk and Hildebrandt) 모두 50%이상의 배발생 캘러스가 유도되었다. 배지의 차이를 보면 SH(Schenk and Hildebrandt) medium 가 가장 우수한 것으로 나타났다. 따라서 술패랭이의 배발생 캘러스 유도를 위하여는 2,4-D처리시에는 MS배지를, 2,4-D 2mg/l 와 0.01mg/l 의 TDZ 조합처리시에는 SH배지를 사용하는 것이 적합하였다.

잎조직을 배양한 모든 처리에서 캘러스를 형성하였으며, 뿌리의 유도 NAA 0.01mg/l 의 적은 농도로 처리한 경우 1.5-3.5cm 까지 길게 신장하는 것으로 나타났으며, 2mg/l 의 높은 NAA농도에서 6-12개 까지의 많은 뿌리가 형성되었다. BAP와 NAA, TDZ와 NAA의 조합처리에서는 multiple root를 형성하는 경우가 많았으며 BAP와 NAA를 조합하여 처리하는 것이 TDZ와 NAA를 조합하여 처리하는 것보다 더 우수한 성장을 보였다. 재분화 식물체를 만들기 위한 Casein hydrolysate의 처리는 shoot의 분화에는 영향이 매우 적은 것으로 나타났으며 root의 발달에는 Casein hydrolysate 1mg/l 을 처리한 경우가 47개로 가장 좋은 root 형성을 나타내었다

술패랭이꽃 식물체의 줄기와 마디 절편을 배양한 결과 재분화 식물체는 MS medium 에 NAA 2mg/l 를 처리한 마디 배양에서 8개의 shoot를 얻음으로써 가장 높은 shoot 분화율을 나타내었고 줄기를 배양한 경우에는 shoot를 얻을 수 없었으며 MS medium에 NAA 1mg/l 를 처리한 경우에 평균 4.0cm로 길이 생장이 우수한 shoot를 얻을 수 있었다.