

액체배지 첨가에 의한 장미 기내 신초 증식 촉진

이예지 · 이정림 · 형남인 · 김성태 · 이은경 · 권오현 · 김원희 · 이수영

Promotion of *in vitro* shoot proliferation in rose by addition of liquid medium to culture

Ye Ji Lee · Jung Lim Lee · Nam-In Hyung · Seung Tae Kim · Eun Kyung Lee · Won Hee Kim · O Hyeon Kwon · Su Young Lee

Received: 26 November 2012 / Accepted: 5 December 2012
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract To promote the growth and proliferation of *in vitro* rose (*Rosa hybrida* L) shoots, a liquid medium was added to shoot culture. Shoots were obtained by culturing internodes of four cultivars, ‘Antique Curl’, ‘Shiny Orange’, ‘White Zen’, and ‘Red Zen’, and then were proliferated by the subculture two times. An addition with 10 ~ 15 mL of liquid medium enhanced the shoot elongation of all four cultivars. However, the effect of liquid medium addition to culture of *in vitro* shoot for proliferation was dependent on cultivars of rose.

Keywords addition, elongation, *in vitro* shoots, liquid medium, promotion, rose

서론

형질전환 기술은 교잡육종 기술의 한계점을 극복할 수 있어 최근에는 화훼작물의 신품종 개발을 위한 주요 육종 기술로 이용되기 시작하였다. 형질전환체를 개발하기 위해서는, 기내 재분화 기술이 선행적으로 확립되어야만 하고(Lee et al. 2008), 기내 재분화 기술을 확립하기 위해서는 재분화 대상 절편체를 채취할 최적 생육 상태의 기내 모식물체가 지속적으로 제공되어야 하므로, 결국, 형

질전환체를 개발하기 위해서는 기내 모식물체를 최적 생육상태로 유지하는 것이 무엇보다도 중요하다고 할 수 있다. 기내 식물체의 최적 생육상태를 유지하기 위해서 배양 배지를 주기적으로 교체해 주는데, 미량 영양원들의 고갈시점을 고려하여(Maene and Debergh 1985), 배양 용기 내에 배양되는 식물체 수에 따라 달라질 수 있겠지만 액체배지의 경우 2주, 고체배지의 경우 4주를 주기로 배지를 교체해 주는 것이 보편적이다(Kim et al. 2003; Pati et al. 2006). 그런데 세계 3대 절화류의 하나인 장미의 형질전환 기술 개발을 위한 본 연구팀의 이전의 연구에서 장미의 경우 배지 교체 3주내로 기내 신초 하부잎이 낙엽 되며 식물체 전체 생육이 저하되는 것을 관찰할 수 있었다(Lee et al. 2008, 2010). 한편, 기내 식물체 생산비를 줄이기 위하여 Maene and Debergh(1985)이 고안한 액체배지 첨가 방법은 배지를 교체해주지 않으면서 식물체가 배양중인 배지에 액체 배지를 첨가해 주는 방법으로 기내 증식중인 나리(Han et al. 2004), 스파티필름(Han et al. 2001), 안스리움(Han et al. 2003) 등의 경우 액체배지 첨가에 의해 신초 생육이 촉진되었다고 보고된 바 있다. 이에 본 실험은 기내 도입 후 증식중인 장미에서도 액체배지 첨가에 의하여 기내 식물체의 생육을 촉진할 수 있는지를 조사해 보고자 실시하였다.

재료 및 방법

실험 재료, 기내 도입 및 증식

국립원예특작과학원에서 육성되어 2012년도에 출원된 장미 신품종 중 스탠다드 타입 2품종(‘엔틱컬’과 ‘샤이니오렌지’)과 스프레이 타입 2품종(‘화이트젠’과 ‘레드젠’)을

Y. J. Lee · J. L. Lee · S. T. Kim · E. K. Lee · W. H. Kim · O. H. Kwon · S. Y. Lee (✉)
농촌진흥청 국립원예특작과학원
(National Institute of Horticultural & Herbal Science, Rural Development Administration, Suwon 441-440, Korea)
e-mail: lsy0504@rda.go.kr

Y. J. Lee · N.-I. Hyung
상명대학교 식물식품공학과
(Department of Plant Science and Technology, Sangmyung University, Cheonan 330-720, Korea)

Table 1 Materials used in the study

| Growth type | Cultivar name | Flower color group |
|-------------|---------------|--------------------|
| Standard | Antique Curl | Compound pink |
| | Shiny Orange | Orange |
| Spray | Red Zen | Red |
| | White Zen | Yellow |

실험재료로 사용하였다(Table 1). 온실에서 양액재배 중인 모주로부터 신초를 채취하여 흐르는 수돗물에 성염을 제거한 다음 2마디 정도로 잘라 70% ethyl alcohol 용액에 30~40초 표면 소독한 후, 2% NaOCl 용액에 10분간 감압살균하였다. 소독 후, 클린벤치내에서 멸균수로 3회 세척 및 무균 filter paper에 흡습시킨 후, internode를 1.5~2 mm 길이로 잘라 MS기본배지(Murashige & Skoog 1962)에 BAP 2 mg·L⁻¹와 NAA 0.1 mg·L⁻¹가 첨가된 배지 30 mL이 담긴 175 mL의 배양병에 배양하였다. ‘엔틱컬’, ‘샤이니오렌지’, ‘화이트젠’, ‘레드젠’ 각각 12, 9, 5, 8개의 internode를 배양병당 한 개씩 배양하였다. 3~4일 암배양한 다음 명배양하였고, 4주 후 품종별 신초의 생육을 조사하였다. 신장한 신초는 MS 기본배지에 BAP 1 mg·L⁻¹와 IBA 0.1 mg·L⁻¹가 첨가된 배지(이하 계대배양 배지)에 4주간격으로 3회 계대배양하였다. 배양은 25±2°C로 조절된 배양실에서 50 μmol·m⁻²·sec⁻¹의 광도로 하루 16시간 조명하에서 이루어졌다.

액체배지 첨가

‘엔틱컬’ 등 4품종의 internode 의 초대배양과 3회의 계대배양을 거쳐 증식된 신초 5개체를 초대배양 시 사용했던 것과 같은 크기의 배양병 5개에 배양하였다. 2주 후 고압 멸균된 계대배양용 액체배지를 10~15 mL 첨가한 후 5주째 무첨가구에서 배양된 신초와 생육을 비교 조사하였다.

결과 및 고찰

액체배지 첨가법은 Maene와 Debergh(1985)가 필로덴드론, 스파티필름, 솔란기어나목련 등 화훼작물 조직배양묘 생산비를 절감하기 위하여 시도하였다가 생산비의 절감뿐 아니라 생산된 묘의 생육도 촉진할 수 있다고 보고한 방법이다. 액체배지 첨가에 의하여 장미 기내 신초 증식과정에서 배지교체 후 3주쯤 신초의 하단부위에서 발생하는 낙엽현상도 방지하고 기내 도입 후 증식 중인 기내 신초의 생육을 촉진할 수 있는지를 조사하였다. 국립원예특작과학원에서 육성하여 2012년 3월에 출원된 신품종 ‘엔틱컬’ 등 4품종의 internode를 기내 도입하였다. 3일간의 암배양과 이후 명배양 7일 후에 절편체로부터 신초가

Table 2 Growth of shoots generated from internode of rose cultivars

| Cultivar | Shoot length (cm) |
|--------------|-------------------|
| Antique Curl | 0.6 ± 0.3 |
| Shiny Orange | 0.5 ± 0.2 |
| White Zen | 0.8 ± 0.3 |
| Red Zen | 0.7 ± 0.4 |

* The growth of the shoots was examined at 4 weeks after internode culture. All data represents mean ± standard deviation.

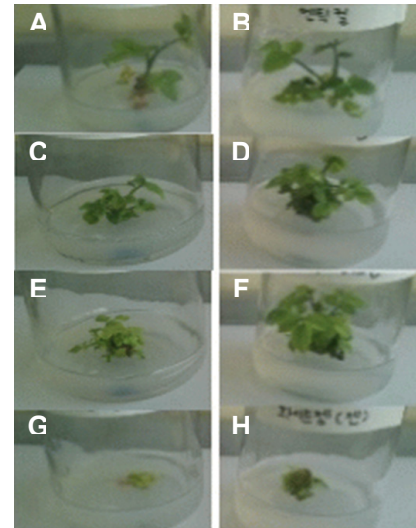


Fig. 1 *In vitro* rose shoots growing in the medium added with liquid medium after 2 weeks in subculture. A, B, ‘Antique Curl’; C, D, ‘Shiny Orange’; E, F, ‘Red Zen’; and G, H, ‘White Zen’. A, C, E, G, control; B, D, F, H, addition of liquid medium

신장되기 시작하였다. 신초가 신장되지 않은 절편체는 절단면 주위로 캘러스만 형성되거나 고사하였다. 초대배양 4주 후 품종별 신초의 신장 정도를 조사한 결과, 스탠다드형 품종중에는 ‘샤이니오렌지’보다 ‘엔틱컬’이, 스프레이 타입 품종중에는 ‘레드젠’보다 ‘화이트젠’의 신초가 약간 빠르게 신장하였는데(Table 2), 기외 삽목 시 보여준 이들 품종의 맹아율과 같은 양상이었다(no data). 액체배지 첨가에 의해 증식 중인 장미 기내 신초의 생육이 촉진되는가를 조사하고자, 초대배양 이후 3회의 계대배양으로부터 획득한 신초를 새로운 배지로 옮긴지 2주 후 액체배지를 첨가하여 계속 배양한 결과, 5주 후 4품종 모두 신초의 생육이 촉진된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1). 신초길이에 있어서 ‘엔틱컬’ 등 4품종 모두 액체배지를 첨가하지 않았을 때 보다 1.1~1.6배 길어졌다(Fig. 2). 액체배지 첨가에 의한 증식력의 차이는 품종에 따라 달랐다. 분지수에 있어서는 ‘샤이니오렌지’와 ‘화이트젠’의 경우 액체배지를 첨가하지 않았을 때 보다 1.5~1.9배 증가하였으나, 신초 생장이 ‘샤이니오렌지’와 ‘화이트젠’ 보다

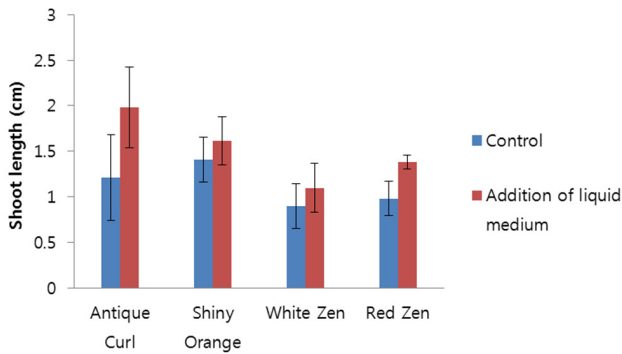


Fig. 2 Effects of liquid medium addition on elongation of *in vitro* rose shoots

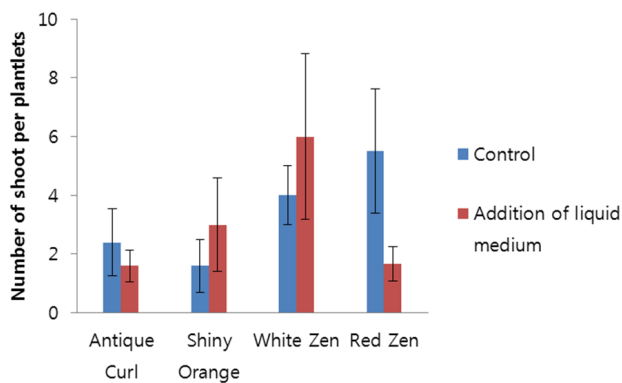


Fig. 3 Effects of liquid medium addition on increasing the number of *in vitro* rose shoots

빨랐던 ‘엔틱컬’과 ‘레드젠’은 액체배지를 첨가하지 않았을 때 보다 분지수가 감소하였다(Fig. 3). ‘엔틱컬’과 ‘레드젠’과 같이 액체배지를 첨가할 경우 액체배지를 첨가하지 않았을 때 보다 신초의 길이 신장은 촉진되었지만 분지수가 감소한 예는 스파티필럼에서도 찾아볼 수 있었으나(Han et al. 2001), 안스리움의 경우, 첨가한 액체배지의 MS다량 및 미량원소 종류, charcoal과 sucrose 첨가 농도에 따라 신초신장은 물론 분지수의 증가도 가능하였으므로(Han et al. 2003), 장미에서도 첨가하는 배지 내 성분들의 농도를 다르게 처리하는 등 보완 실험이 필요하리라 생각된다. 또한 액체배지 첨가에 의해 증식력이 커진 ‘샤이니오렌지’와 ‘화이트젠’의 경우 같은 생장형 품종인 ‘엔틱컬’과 ‘레드젠’에 비해 영양성분 증가에 대한 반응이 매우 크다는 것을 알 수 있었다.

증식된 신초는 발근배지(MS 기본배지에 NAA 0.3 mg·L⁻¹가 첨가된 배지, Lee et al. 2010)에서 2~3주 배양에 의한 발근 후 온실 순화를 거쳐 온실에서 생육가능 할 것이다.

일본 Suntory(사)에서 2004년에 개발한 후 위해성 평가를 거쳐 2009년말 상업화 된 화색 변형 장미 형질전환 품종 ‘APPALUSE’는 현재 일본과 미국에서 일반 품종에 비해 높은 가격으로 판매될 만큼 형질전환 기술은 장미 고부가가치 창출 신품종을 개발하기 위한 중요 육종 기술

의 하나가 되었다. 국내에서도 2010년말 본 연구팀에 의해 장미 형질전환 기술이 확립되어 현재 국내 육성 장미 품종에 내환경성 유전자가 도입된 형질전환 장미를 개발 중에 있고, 차후에는 형질전환 기술에 의해 국내 육성 장미 품종의 단점이 보완되어 새로운 형질전환 품종으로 육성될 수 있을 것이다. 그런데 서론에서 언급한 것처럼 장미 형질전환체를 획득하기 위해서는 재분화 기술이 확립되어야 하며, 재분화 기술의 확립을 위해서는 최적의 생육상태의 기내 모식물체의 제공이 매우 중요하므로, 본 연구를 통해 얻어진 액체배지 첨가에 의한 장미 기내 신초 생육 촉진 방법은 향후 장미 형질전환 품종 개발에 매우 유용하게 활용될 수 있을 것으로 기대한다.

적 요

장미 기내 신초 생육을 촉진시키고자 액체배지 첨가 실험을 실시하였다. 국립원예특작과학원 육성 신품종 ‘엔틱컬’, ‘샤이니오렌지’, ‘화이트젠’, ‘레드젠’ 등 4품종의 internode를 기내 도입한 후, 2회의 계대배양에 의해 신초를 증식하였다. 10~15 mL의 액체배지 첨가에 의해 4품종 모두 신초의 신장이 촉진되었고, 증식력에 있어서는 품종간 차이를 보였다.

사 사

본 연구는 차세대바이오그린21사업(과제번호: PJ008167 2012)의 지원으로 수행되었습니다.

인용문헌

Han BH, Goo DH (2003) Growth stimulation of *in vitro* shoots by the post-supplying of liquid medium in *Anthurium andreaeanum* ‘Atlanta’. J Plant Biotechnol 30:185-188

Han BH, Yae BW, Goo DH, Shin JS (2001) Promotion of *in vitro* growth and rooting of micropropagated shoots in *Spathiphyllum floribundum* by the addition of liquid medium. J Plant Biotechnol 28:185-188

Han BH, Yu HJ, Yae BW, Peak KY (2004) *In vitro* micropropagation of *Lilium longiglorum* ‘Georgia’ by shoot formation as influenced by addition of liquid medium. Sci Hort 103:39-49

Kim CK, Oh JY, Lee SO, Chung JD (2003) *In vitro* micropropagation of *Rosa hybrida* L. J Plant Biotechnol 5:115-119

Lee SY, Jung JH, Kim JH, Han BH (2008) *In vitro* multiple shoot proliferation and plant regeneration in rose (*Rosa hybrida* L.). J Plant Biotechnology. 35:223-228

Lee SY, Jung JL, Kim WH, Kim ST, Lee EK (2010) Acquisition

- of transgenic rose plants from embryogenic calluses via *Agrobacterium tumefaciens*. J Plant Biotechnol 37:511-516
- Maene L, Debergh P (1985) Liquid medium additions to established tissue cultures to improve elongation and rooting in vivo. Plant Cell Tiss Org Cult 5:23-33
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15:473-497
- Pati PK, Rath SP, Sharma M, Sood A, Ahuja PS (2006) *In vitro* propagation of rose-A review. Biotechnol Advances 24:94-114