

【별지 제19호 서식】

완결과제 최종보고서

일반과제(○), 보안과제()

(과제번호 : PJ010080)

국산 프리지아 바이러스 무독화 및 우량종구 생산·보급

(Establishment of virus elimination technology and production and distribution of high quality combs in domestic bred freesia cultivars)

국립원예특작과학원

2014. 2. ~ 2016. 12

농촌진흥청

제 출 문

농촌진흥청장 귀하

본 보고서를 “국산 프리지아 바이러스 무독화 및 우량종구 생산·보급”

(개발기간 : 2014. 2. 1~ 2016. 12. 31.) 과제의 최종보고서로 제출합니다.

제1세부연구과제 : 국산 프리지아 품종의 바이러스 무독화 연구 및 기내 무병모구 생산
기술 확립

제1협동연구과제 : 국산 프리지아 무병구 기내 급속 대량생산 및 고품질 육묘 기술 확립

제2협동연구과제 : 국내 육성 프리지아의 주 생산지 무병종구 시범재배를 통한 재배
안정성 검정

2017. 02. 28.

제1세부/협동연구기관명 : 국립원예특작과학원

제1세부/협동연구책임자 : 최윤정

참 여 연 구 원 : 구대회, 이영란, 강운임

제1협동/협동연구기관명 : 경남과학기술대학교

제1협동/협동연구책임자 : 윤재길

참 여 연 구 원 : 임미영, 정경진, 강지수, 박철민, 성형도, 김용길, 김순자

제2협동/협동연구기관명 : 전라북도 농업기술원

제2협동/협동연구책임자 : 이진재

참 여 연 구 원 : 진성용, 이성희, 장동숙, 이병관, 이수진, 김정만, 정동준

주관연구책임자 : 최 윤 정

주관연구기관장 : 황 정 환



농촌진흥청 농업과학기술 연구개발사업 운영규정 제51조에 따라 보고서
열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제번호	PJ010080		연구기간	2014. 2. 1.~16. 12. 31	
연구사업명	단위사업명	공동연구사업			
	세부사업명	FTA대응경쟁력향상기술개발			
	내역사업명	원예특용작물경쟁력제고			
연구과제명	주관과제명	국산 프리지아 바이러스 무독화 및 우량종구 생산·보급			
	세부(협동) 과제명	(1세부) 국산 프리지아 품종의 바이러스 무독화 연구 및 기내 무병모구 생산기술 확립 (1협동) 국산 프리지아 무병구 기내 급속 대량생산 및 고품질 육묘 기술 확립 (2협동)국내 육성 프리지아의 주 생산지 무병종구 시범재배를 통한 재배 안정성 검정			
연구책임자	구분	연구기관		소속	성명
	1세부	국립원예특작과학원		화훼과	최윤정
	1협동	경남과학기술대학교		원예학과	윤재길
	2협동	전라북도농업기술원		원예산업과	이진재
총 연구기간 참여 연구원 수	총: 20명 내부: 4명 외부: 16명		총 연구개발비	정부: 750,000천원 민간: 천원 계: 750,000천원	
위탁연구기관명 및 연구책임자	해당사항 없음		참여기업명	해당사항 없음	
국제공동연구	상대국명: 해당사항 없음			상대국 연구기관명: 해당사항 없음	
○ ‘샤이니골드’ 등 국내육성 프리지아 총 14품종 및 7계통에서 바이러스 무독묘 생산을 위한 기내도입 및 생장점 배양을 통해 총 6품종 5,260주의 바이러스 무병묘 확보 ○ ‘골드리치’ 등 국내육성 주재배 품종 및 ‘모브토파즈’ 등 신품종 배양묘 총 10품종, 27,150주 서천 및 완주 농가에 보급 ○ 우량종구 생산 및 고품질 절화재배 매뉴얼화 ○ 자구절편체의 역위치상 방법에 의한 고효율 대량증식기술 확립 - 액체진탕 배양 및 생물반응기를 이용한 신초생육 및 기내 구근 생산 기간단축기술 확립 - 국내육성 프리지아 배양묘 대량 증식 및 농가 보급: 총 46천구 - 양액재배시 피트모스1:펄라이트1 혼합배지 선발				보고서 면수: 103	

〈 국 문 요 약 문 〉

연구의 목적 및 내용	<ul style="list-style-type: none"> - 국산 프리지아 고품질 절화생산을 위한 바이러스 무병모구 생산기술 확립 - 국산 프리지아 무병종구 대량증식 및 농가 보급체계 확립 - 국산품종의 고품질생산 및 보급 확대를 위한 양액재배 도입 				
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> - 생장점 배양을 통한 국내육성품종의 바이러스 무병묘 6품종 5,260주 생산 및 우량종묘 농가 보급 총 27,150주 - 우량종구 생산 및 고품질 절화재배 매뉴얼화 - 자구절편체의 역위치상 방법에 의한 고효율 대량증식기술 확립 - 액체진탕 배양 및 생물반응기를 이용한 신초생육 및 기내 구근 생산 기간단축기술 확립 - 국내육성 프리지아 배양묘 대량 증식 및 농가 보급: 총73,150구 - 양액재배 배지 선발 : 피트모스1:펄라이트1 혼합배지 선발 				
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> - 국내육성 프리지아 바이러스 무병종구 생산기술 및 생물반응기를 이용한 급속 대량 증식 기술 보급, 기타구근식물에 적용시도 - 기내 급속 대량증식 기술을 이용한 국내 육성 프리지아 품종의 바이러스 무병묘의 대량 증식 및 농가 보급 - 고품질 절화재배를 통한 국내육성 프리지아 품종 보급 및 수출 확대 - 양액재배 농가실증을 위한 완주, 전주 2농가 양액시설 지원 사업화 및 양액재배기술 보급 확대 				
중심어 (5개 이내)	프리지아	바이러스 무독묘	기내 대량증식	양액재배	

〈 Summary 〉

Purpose& Contents	<ul style="list-style-type: none"> - Construction of virus free plantlet production, mass propagation, and dissemination system of freesia cultivars bred in korea - Introduction of nutrient culture for expanding spread and hi-quality production of domestic Freesia cultivar 				
Results	<ul style="list-style-type: none"> - Totally 5,260 of virus free plantlet production in 6 domestic freesia cultivar by development virus free plantlet production system using meristem culture, <i>in vitro</i> propagation, and dissemination of 27,150 plantlet to the freesia farm - Development of high efficiency propagation method to obtain multiple shoot by inverse transplanting with sectioned freesia corm, and the enlargement production period shortening by using bioreactor system or shaking incubation with liquid media both of plantlets and cormlets - Selected optimal medium as equal ratio of peat moss and perlite, and optimal EC density for nutrient culture of freesia 'Shiny Gold', EC0.8 at early stage and EC1.0 from middle stage, and in case of 'Gold Rich' EC 0.8 and 1.0~1.2, respectively, 				
Expected Contribution	<ul style="list-style-type: none"> - Expansion of dissemination and export high quality freesia cultivar for cut flower bred in korea - Proliferation and distribution of virus free corms of domestic freesia cultivar using rapid multiple propagation technique developed in this study. - Distribution of rapid multiple propagation technique by bioreactor - Application of this technique for other corm plants such as gladiolus - Equipment supporting for the nutrient culture to 2 place of freesia farm for industrialization 				
Keywords	<i>Freesia hybrida</i>	virus free	<i>in vitro</i> mass propagation	nutrient culture	

〈 목 차 〉

제 1 장	연구개발과제의개요	7
제 2 장	국내외 기술개발 현황	9
제 3 장	연구수행 내용 및 결과	11
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	93
제 5 장	연구결과의 활용계획 등	94
제 6 장	연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	95
제 7 장	연구개발성과의 보안등급	95
제 8 장	국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황	95
제 9 장	연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	95
제 10 장	연구개발과제의 대표적 연구실적	95
제 11 장	기타사항	96
제 12 장	참고문헌	97

제 1 장 연구 개발 과제의 개요

제 1 절 연구 개발 목적

국내 프리지아 품종은 45품종('16)이 개발되어 있으며, 2006년 부터 보급이 시작되어 2008년 이후 급격히 증가, 35%('12)에서 57.0('16)로 확대되었다. 본 연구는 시장성이 우수한 국내육성 프리지아 품종의 보급률 확대를 위해 고품질 절화생산을 위한 바이러스 무독화, 대량생산을 통한 안정된 우량종구 보급 및 생산체계 확립, 시범 재배를 통한 안정적 재배법 확립을 목적으로 한다. 또한 최근 프리지아의 토양 병해충에 의한 바이러스 등 병감염률 증가로 재배방법 개선이 필요한 실정으로 국산품종의 고품질생산 및 보급 확대를 위해서는 양액재배도입 및 실증하고자 한다.

제 2 절 연구 개발의 필요성

1. 국산 프리지아 고품질 절화생산을 위한 바이러스 무병모구 생산기술 확립

프리지아는 남아프리카 원산으로 국내 재배면적 40ha('15), 생산액 약 44억으로 국내 절화 시장에서 7위를 차지하는 구근화훼작물이다(MAFRA 2015). 국내에서 겨울철 시설 내에서 구근을 정식, 절화재배, 수확 후 휴면타과 과정을 거쳐 다시 정식에 이용되는 과정에서 지상부 및 지하부의 바이러스 등 병해충에 의해 구근퇴화가 일어나 절화 품질이 떨어지게 되기 때문에 2~3년에 한 번씩 구근을 갱신이 필요하다. 프리지아에서는 현재까지 FreMV, BYMV, FreSV, CMV, TRV, 총 5종의 바이러스에 감염된다고 알려져 있다. FreMV가 가장 많이 감염되어 있다. FreMV 단독 감염의 경우 병징이 거의 없거나 잎에 옅은 황화 및 모자이크 증상이 나타난다. 그러나 진딧물, 충채벌레와 같은 매개충에 의한 BYMV, 토양곰팡이 매개에 의해 FreSV 등 2종 이상의 바이러스가 복합 감염되면 황화, 모자이크, 잎의 뒤틀림 증상이 나타나며 심하면 화색의 변화까지 나타나 생산된 절화는 상품성이 없어지게 된다(Choi et al., 2015).

2. 국산 프리지아 무병종구 대량증식 및 농가 보급체계 확립

최초의 국내육성 프리지아 품종 '샤이니골드'는 2003년 개발 후, 보급시작 10여년에 들면서 영농현장에서 품질퇴화 증상이 발견되고 있으며 점점 심화될 것으로 예상된다. 프리지아는 구근이 점점 퇴화해 가기 때문에 무병종구로 3~4년에 한번 씩 구근 교체가 필요하다. 국내 프리지아는 대부분 소규모 재배로 토양 및 지상 병해충 방제가 계획적으로 이루어지지 않아 토양 연작재배로 토양 병해충에 의한 바이러스 감염 증가되고 있으며 또한 구근 갱신 없이 자가생산한 구근을 계속 사용하여 퇴화된 상태이다. 최근 '샤이니골드' 등 품종에 종구퇴화 및 바이러스 증상이 만연하여 종구 대체가 시급하며, 바이러스 무병주 대량증식 기술 및 국내육성 신품종에 대한 품종별 맞춤형 대량증식 및 순화에 대한 연구가 시급하다. 프리지아 농가에서 기내 증식이 일부 이루어지고 있으나 바이러스 검정단계를 거치지 않은 감염모주가 증식, 보급 되고 있어 바이러스의 감염이 심화되고 있는 실정이다. 시장성이 우수한 국산 프리지아 품종의 보급률 확대에 기여를 위해서는 안정된 기내 우량종구 생산체계 확립 필요하며 기내 무병모주 생산 및 품종별 맞춤형 대량증식, 순화에 대한 연구가 필수적이다. 프리지아는 기내 배양묘 생산

시 기형화 발생이 일어나므로 세심한 주의와 지속적 관찰 필요하다.

3. 국산품종의 고품질생산 및 보급 확대를 위한 양액재배 도입

프리지아는 화훼류 중에서도 불량환경에 민감한 작물 중 하나이다. 시설 내 광, 온도, 습도 등 지상 환경과 온도, 수분, 용존산소, 양분조절 등 근권 환경관리의 최적화가 매우 중요하다. 염류집적으로 인한 생리장해 발생의 심화, 토양전염성 병원미생물의 만연, 시설의 이동설치에 따른 경비와 인건비 증가로 경영악화 초래, 농업 노동인력의 고령화 등으로 인해 기존의 토양재배에서 양액재배로 전환하려는 농업인들이 크게 늘고 있다. 특히 프리지아는 토양 충해에 의한 바이러스가 최근 문제가 되고 있어 양액재배 연구가 필요한 시점이다. 프리지아는 그 동안 대부분 토양에서 재배되어왔기 때문에 연작에 의한 병·해충 감염, 특히 바이러스 감염에 노출되어있다. 토양재배는 염류 집적으로 인한 생리장해 발생, 토양전염성 병원균 만연, 농업 노동인력의 고령화 등으로 양액재배로 전환하려는 농업인이 크게 늘고 있는 실정이다(Kim et al., 2001; Lee, 1999; Kim et al., 2009). 양액재배는 연작장해를 회피할 수 있고 재배관리의 생력화 및 작업의 용이함, 양수분관리의 시스템화, 자동화에 의해 토경재배보다 경영규모의 확대가 가능한 점 등의 많은 장점을 가지고 있다(Lee et al., 1999). 프리지아의 경우도 국내육성종의 무병종구보급과 고품질 절화생산을 위해서는 양액재배 도입이 필요한 시점이라고 생각된다. 현재 프리지아 절화생산은 2~3월 졸업과 입학시즌에 주로 생산되지만, 구근장기저장 기술(Lee et al., 2003)과 축성재배기술(Lee et al., 1997)이 개발되어 12월부터 5월까지 절화생산이 가능한 화훼작물이다. 최근 일본의 엔저현상으로 수출이 감소했지만 2012까지 매년 100만본 이상 수출한 품목으로 고품질 절화 생산 기술이 필요하다. 또한 국산품종의 보급률 확대를 위해서는 작기 확대와 함께 고품질의 균일한 절화 생산을 위한 전용 양액재배기술의 개발과 보급이 필요하다. 따라서 본 연구는 실제 농가에서 적용 가능한 프리지아 양액재배 전용 인공배지와 양액농도를 선별하기 위해 수행되었다.

제 3 절 연구 개발 범위

국내육성 프리지아 품종 및 유망계통의 바이러스 무병모주를 생산하기 위해 기내도입을 시도하였으며 생장점 배양 등 바이러스 저해 처리를 통해 식물체내 바이러스 무독화하고자 한다. 또한 생산된 기내 프리지아 배양묘에 대해 RT-PCR 및 ELISA법을 이용한 바이러스 검정을 통한 무병모주 선별하여 증식모주로 유지하여 재배 농가에 우량종구를 보급할 예정이다. 고품질 우량종구를 보급에서 국내시장 및 수출까지의 파이프라인을 구축하여 프리지아 재배농가가 고품질의 국내육성 프리지아 재배, 생산이 용이하도록 하여 국제경쟁력을 갖출 수 있도록 건전 우량종구 유지 증식을 위한 관리기술 매뉴얼화하고자 한다. 국산 프리지아 무병구 기내 급속 대량생산 및 고품질 육묘 기술 확립을 위해 국내육성종 무병종구 기내 대량증식 적정치상 부위 설정, 무병종구 급속 증식을 위한 호르몬 농도 설정, 무병종구의 조기 활착을 위한 양액재배 적정배지 설정, 기내 자구 형성 및 우량구 생산기술개발을 수행하였다. 국내 육성 프리지아의 주 생산지 무병종구 시범재배를 통한 재배안정성 검정을 위해 프리지아 무병종구 실증농가 생산성 검토, 양액농도별 생산성 및 바이러스 감염률 검토, 최적 순화조건 및 고품질 개화구 육묘 기술, 증식된 무병종구 재배 안정성 확보를 위한 농가 시범재배 및 보급체계를 확립을 위한 연구를 수행하였다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

프리지아(*Freesia hybrida*)는 남아프리카 원산의 추식 구근으로 19C 부터 약 800 여 품종이 개발되어 있다(Wang 2006; Bala and Berecici 2010). 2003년 노랑색 겹꽃의 향기가 진한 조생 프리지아 ‘Shiny Gold’를 시작으로 절화용 품종 프리지아 ‘Bolero’, ‘Shiny Lemon’, ‘Pretty Woman’, ‘Dancing Flame’, ‘Shiny Bell’ 등, 분화용 품종은 ‘Tiny Gold’ 및 ‘Shy Smile’ 등 2016년 까지 국립원예특작과학원에서 다양한 화색 화형의 프리지아 총 45품종을 개발하였다(Lim et al., 2004; Cho et al., 2008, 2010, 2011, 2013; Choi et al., 2014). 국내 육성 프리지아의 국내 보급률은 57%에 달하고 있으며(‘16), 수출전망이 밝은 유망한 화훼작목이다(Cho et al., 2007; MAFRA 2014; QIA 2014).

프리지아에서 감염 보고되는 바이러스는 *Freesia mosaic virus* (FreMV), *Freesia necrosis virus* (FreNV), *Bean yellow mosaic virus* (BYMV), *cucumber mosaic virus* (CMV), *Tobacco rattle virus*(TRV) 등 총 5가지로 알려져 있다(Derks and Vink-van den Abeele, 1987; Brunt, 1995; Vaira et al., 2006; Kumar et al., 2009; Choi et al., 2010; Choi et al., 2013b). Potyvirus 중 하나인 FreMV는 1954년 네덜란드의 연구팀이 *Freesia refracta* 종에서 처음으로 발견하여 보고하였으며, 호주, 영국, 인도를 포함하여 한국에서도 보고 되었다(Van et al., 1954; Brunt 1995; Kumar et al., 2009; Choi et al., 2010). 또한 우리나라에서 분리된 균주 FreMV-Kr 의 전체 유전체 염기서열 및 구조가 밝혀졌다(Choi et al., 2010). FreSV는 ophiovirus에 속하며 최근 우리나라에서도 발생이 보고되었다. FreSV의 coat protein이 분석 및 NCBI database에 등록되었으며 지금까지 보고된 ophiovirus에 30~70%의 상동성을 나타내었다(Navarro et al., 2005, Yoon et al., 2013). FreSV는 토양중에 있는 곰팡이에 의해 전염된다고 알려져 있으며 최근 우리나라에서도 발견되어 보고되었다(Yoon et al., 2013). 프리지아에 바이러스가 감염되면 연한 황색의 모자이크 무늬가 나타나고, 심하면 괴사되기도 한다. 포기에 따라서는 모자이크가 선명하지 못하고 잎이 기형으로 되거나 뒤틀리기도 하고 구부러지기도 하며 생육이 나쁘고 정상으로 꽃이 달리지 않는다(Derks and Vink-van den Abeele, 1987; Choi et al., 2013).

Penning, Royal van Zanten 등 네덜란드 구근 육종회사, 유통회사에서는 나리, 프리지아, 아마릴리스 등 품종이 육종, 선발되고 있으며 무병주 증식에 대해 구근 생산부터 선별, 검정, 생산에 있어 및 철저한 병충해방제 시설 등 관리를 실시하고 있다. 원예원 화훼과에서는 프리지아 주 재배지역 경기(이천), 충남(서천, 부여, 괴산, 청양), 전북(전주) 총 8농가, ‘샤이니골드’ 바이러스 감염 의심주의 수집 및 검정하였으며 그 결과 바이러스 감염율은 FreMV 100%, FreSV 46%, BYMV 39%, CMV 0%, TRV 0% 로 나타났다. 프리지아에서는 2014년 부터 프리지아 ‘샤이니골드’에서 무병모구 생산을 시도하여, ELISA 수준에서 바이러스 무독묘를 생산하였다(Choi et al., 2015). 화훼를 포함한 대부분의 주요 작물에서 품질향상을 위해 무병종구 생산에 주력하고 있으며 고품질 프리지아 재배를 위해 바이러스 저항성 유전자원 선별을 통한 바이러스 저항성 프리지아 품종육성, 생장점 배양 및 바이러스 저해제 등을 이용한 바이러스 무병묘 생산을 위한 연구가 시도 중에 있다(Choi et al., 2016).

프리지아 미세번식에서 캘러스 및 신초분화는 MS기본배지에 0.5mg/L NAA와 1.0mg/L BA를 첨가한 배지에서 양호하였고, multiple shoot 형성에는 BA 0.5mg/L을 첨가했을 때 가장 높았으며(Ko et al., 2003), 기내 증식된 무병묘를 20%의 sucrose 배지에 치상하고 17℃에서 배

양하였을 때, 자구가 형성되는 것을 관찰하였으나(Kim et al., 2013), 최적 sucrose 농도와 당의 종류가 자구 형성에 미치는 영향 등이 구명되어야 할 필요가 있다.

국내 프리지아에 대한 연구는 오래전부터 이루어져 왔는데, 주로 재배적인 연구로 프리지아 구근의 장기 저장 시 발생하는 2단구와 관련된 생리적인 변화에 대한 연구로 2단구 촉진온도는 15℃이고(Lee 등, 2003), 프리지아 구근의 생육, 휴면 발달 및 저장 중 2단구에 대한 수확 전 재배온도 조건(Lee 등, 2003), LED를 이용한 생육, 개화시험(Lee 등, 2014) 등이 주로 연구되어왔다. 양액재배연구가 전혀 이루어지지 않은 프리지아는 기본적인 배지선발과 생육단계별 양액공급 농도 등 연구가 필요한 상황이다. 양액재배 시 인공배지의 장점은 병균과 잡초 종자가 없으며 가볍고 반복사용이 가능하며, 생장과 수량을 높일 수 있다는 점들 때문에 많은 농가에서 펄라이트와 피트모스, 바크, 버미큘라이트 등을 혼용하여 사용하고 있다(Wilson, 1986). 일부 농가에서 프리지아의 양액재배를 시도하고 있지만 국화와의 윤작방식으로 국화위주의 양액방식을 접목하고 있어 프리지아 전용 양액재배 시스템이 필요하다고 생각된다. 화훼작물 양액재배 기술은 장미(Chung, 1994; Han et al., 2001), 국화(Ji et al., 1998; Lee et al., 1999; Hwang et al., 2003), 거베라(Kang et al., 1998)등에서 개발되었지만 프리지아의 양액재배는 시도되지 않은 상황이다. Hwang et al.(2003)은 배지종류별 국화 생육 반응 연구에서 T-N, P 및 K 함량이 피트모스+왕겨혼합배지가 왕겨나 펄라이트 단용배지 보다 전반적으로 높게 나타났다고 보고하였다. 또한 Aichiken 처방액을 이용한 국화 양액재배 결과(Hwang et al., 2003), 피트모스+왕겨 혼합배지가 왕겨 단용배지와 펄라이트 단용배지 보다 지상부 생체중이 높았다는 보고가 있다. Ahn(1996)은 국화 양액재배에서 개화기를 조사한 결과 왕겨 배지가 혼탄 배지보다 6일, 펄라이트 배지보다는 14일 단축되었다고도 했다. 백합에서도 일부 양액재배연구가 보고되어 있는데, Mills와 Jones(1996)는 아시아틱 백합의 경우 식물체내 K 함량이 1.49~3.19%일 때 정상적인 생육을 유지할 수 있다고 하였다. 또 나팔백합은 3.35~5.0%의 식물체내 함량을 유지해야 작물생육을 우수하게 유지할 수 있다고 하였다. Verdonck와 Demeyer (2004)는 양액배지 연구에서 피트모스에 펄라이트가 혼합되면 액상과 기상의 구성이 크게 변한다고 했고, 종류별 절화수국의 연구결과(Hwang et al., 2013)를 보면, 배지의 수분함량이 펄라이트 배지는 201%, 펄라이트+코코피트(1:1) 혼합배지는 310%, 코코피트 배지가 618%로 가장 많았고 공극률은 펄라이트 배지가 95.3%, 펄라이트+코코피트(1:1) 혼합배지는 96.1%, 코코피트 배지는 97.6%로 분석됐는데, 혼합배지에서 절화장이 가장 양호했으며 꽃 크기와 꽃 무게도 양호한 결과를 얻은 것으로 보고했는데 이는 배지의 물리성과 연관이 깊다고 판단했다. 기존 연구를 보면 양액재배 시 배지의 중요성은 매우 큰 것으로 분석되어 프리지아 양액재배 연구에 많은 도움을 주었다. 생육단계별, 계절별 양액처방에 대한 꾸준한 연구도 필요한 것으로 생각된다.

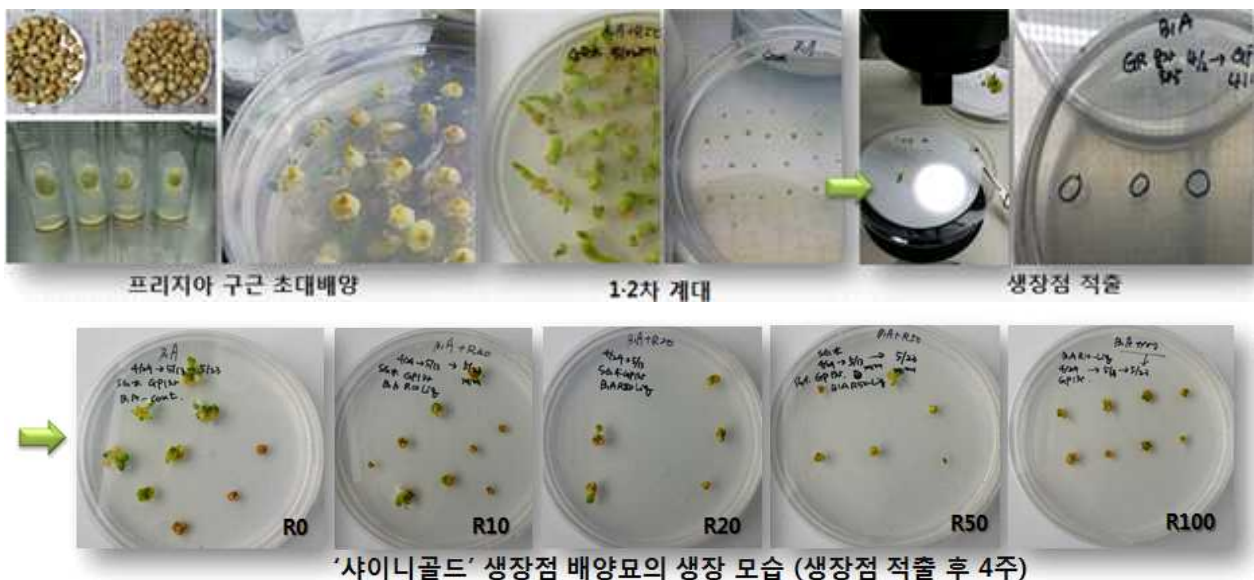
제 3 장 연구 수행 내용 및 결과

제 1 절 국산 프리지아 품종의 바이러스 무독화 연구 및 무병모구 생산 기술 확립

1. 국내육성 프리지아 품종의 바이러스 무독화 연구

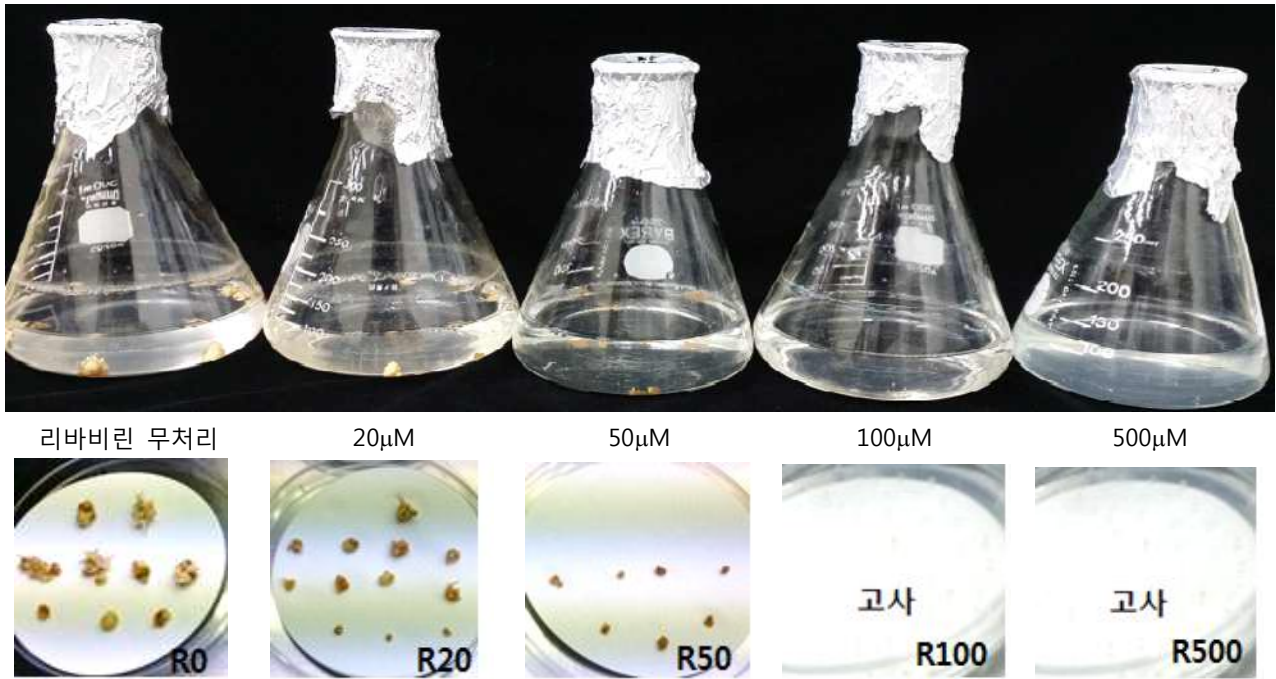
가. 바이러스 무병모구 생산을 위한 기내도입, 생장점 배양 및 바이러스 저해처리

농촌진흥청 국립원예특작과학원에서 수확한 프리지아 ‘샤이니골드’ 자구를 70% 에탄올에 30초간 담근 후 멸균수로 수세한 후 1% sodium hypochloride 용액에서 20분간 소독, 멸균수로 3회 수세 하여 3% sucrose (w/v), 0.8% agar, pH 5.8로 조절한 MS(Murashige and Skoog) 배지에 치상하여 25℃, 12 시간 일장에서 배양 하였다. 배양 약 3주 후 분엽이 0.5~1cm로 자랐을 때 약 0.2~0.5mm 크기로 생장점을 적출하여 3% sucrose (w/v), pH 5.8, BA 1, IAA0.5 ppm 를 첨가한 MS 액체배지에 리바비린 0, 20, 50, 100, 500μM 처리하여 각각 진탕 배양 하였으며 주 1회 계대배양 하였다(그림1-1).



<그림1-1> 프리지아 ‘샤이니골드’ 생장점 배양과정 및 배양묘의 생장 모습

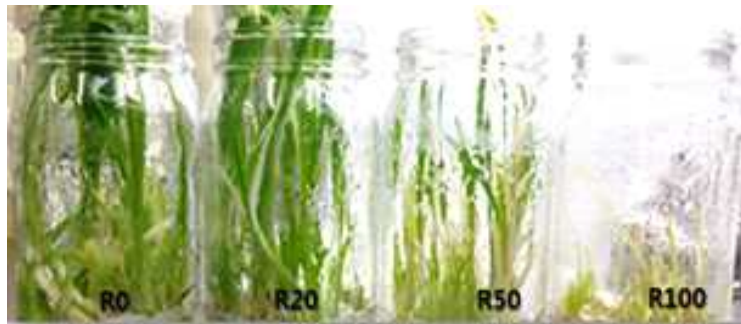
‘샤이니골드’ 등 4품종에서는 리바비린 농도 100uM까지는 생장점의 생장 및 분화에 영향이 없었으나, ‘골드리치’의 생장점의 경우 리바비린 0, 20, 50, 100, 500uM 처리 후 생장점 배양 시 대조구에 비해 농도가 높아질수록 생장이 저해되었으며 100uM 이상 농도에서 고사하였다(그림1-2). 품종에 따라 리바비린 감수성은 다르며 골드리치는 다른품종에 비해 리바비린에 민감한 품종인 것으로 판단된다. 또한 액체 배지에서 생장은 빨랐으나, 고체 배지에 비해 오염율이 높은 것으로 나타났다.



<그림1-2> 프리지아 '골드리치' 품종의 생장점 적출 후 리바비린 농도의 영향

나. 바이러스 저해제 리바비린 처리에 따른 바이러스 감소효과

프리지아 '샤이니골드'의 생장점으로부터 4주간 생장 및 분화된 callus 와 shoot를 3% sucrose (w/v), 0.8% agar, pH 5.8로 조절한 MS배지에 옮겨 같은 조건에서 3개월간 계속 계대 배양결과. 리바비린 대조구의 배양묘 평균 초장 18.9cm, 리바비린 0, 20, 50, 100 μ M 처리구는 각각 15.3, 13.1, 5.4 cm 로 리바비린 농도가 높아질수록 생장이 저해되었다(그림1-3, 표1-1).



<그림1-3> 프리지아 '샤이니골드' 생장점 배양 및 리바비린 농도별 처리

<표1-1> ribavirin 처리에 따른 '샤이니골드' 생장점 배양체의 생장량

리바비린 농도 (μ M)	Plant height of 'Shiny Gold' (cm)
0	18.3a ^z
20	15.3b
50	13.1c
100	5.4d
Significance	***

^zThe data were analyzed with ANOVA and Duncan's honestly significant difference test at $p < 0.001$.

증식된 ‘샤이니골드’ 기내 배양묘로 부터 잎을 채취하여 FreMV 특이 프라이머를 이용하여 RT-PCR 및 ELISA법으로 검정하였다(표1-2). 실험재료는 RT-PCR을 이용한 검정결과 FreMV만 감염된 시료를 이용하였으며 생장점 배양체는 대조구에서 FreMV 평균 농도 대조구 0.098, 리바비린 20, 50, 100 μ M 처리구에서 각각 0.0963, 0.0996, 0.1092 범위 수준으로 음성 대조구(NC) 평균값 0.1364에 비해 낮아 ELISA 수준에서 FreMV가 검출되지 않았다. 그러나 ELISA 수준에서 FreMV 미검출 시료를 RT-PCR법으로 검정한 결과 FreMV coat protein 서열이 증폭되어 미세한 농도의 FreMV가 남아있는 것을 알 수 있었다. 또한 ELISA 검정 시 리바비린의 처리 농도에 상관없이 FreMV가 검출이 되지 않아 리바비린에 의한 FreMV의 감소 효과는 알 수 없었다. 생장점 배양을 하지 않은 초대 배양체는 평균 0.3232로 음성 대조구 보다 높게 나타나 바이러스에 감염되어 있는 것으로 나타났다(그림1-4, 표 1-3).

<표1-2> RT-PCR에 사용된 프라이머의 염기서열

Virus ²		Primer sequence	Length
FreMV	F	5'-GCAACCAGCGCACCAGAGCAACT-3'	23mer
	R	5'-CATGTGACGTACCCCAACAGACT-3'	24mer
FreSV	F	5'-ATAGTGAATCCATAAGCTGCTCGA-3'	24mer
	R	5'-TACAAGTCTGGTGTATGTAATCGTG-3'	24mer
BYMV	F	5'-TCTGACCAAGAACAACACTCAATGCA-3'	24mer
	R	5'-CTAAATACGAACACCAAGCATGGTG-3'	25mer
CMV	F	5'-ATGGACAAATCTGAATCAACCAGTGCT-3'	27mer
	R	5'-TCAGACTGGGAGCACTCCAGATGTGGG-3'	27mer
TRV	F	5'-CGATGAGGAGTTTGATAGCAAAGC-3'	24mer
	R	5'-ACCCACCTAGTGTGTACGATTTC-3'	23mer

²Freesia mosaic virus (FreMV), Freesia necrosis virus (FreNV), Bean yellow mosaic virus (BYMV), cucumber mosaic virus (CMV), Tobacco rattle virus (TRV).



<그림1-4>ELISA를 이용한 ‘샤이니골드’ 초대배양 및 생장점 배양묘의 FreMV 검정 생장 모습

<표1-3. ELISA법을 이용한 프리지아 ‘샤이니골드’의 바이러스 검정>

ribavirin concentration (mM)				NMCPs ²	PC	NC	BC	Significance
0	20	50	100					
0.0980cd ^y	0.0963cd	0.0996cd	0.1092c	0.3232b	0.3782a	0.1364c	0.1084c	***
-	-	-	-	+	+	-	+	바이러스 감염

²NMCPs, non-meristem cultured plantlets; PC, positive control; NC, negative control; BC, blanc

^yConcentration of FreMV

^xThe data were analyzed with ANOVA and Duncan's honestly significant difference test at p<0.001.

다. 바이러스 무병주 생산을 위한 성장점 배양

약 12개월 배양 이후 ‘샤이니골드’에서 채취한 잎 RT-PCR 법을 이용하여 BYMV, FreMV, CMV, TRV 총 5개의 바이러스에 대해 검정하였으며 사용된 프라이머의 염기서열은 표1-2과 같다. ‘샤이니골드’의 성장점 배양을 통해 RT-PCR법을 이용한 FreMV 검정시 약 60%의 무병화 효과가 있는 것으로 나타났다(표1-4). ‘샤이니골드’와 같은 방법으로 배양하여 RT-PCR법을 이용한 바이러스 검정 결과, ‘샤이니벨’의 경우 약 85%, ‘점보화이트’ 품종의 경우 100%로 무병화율이 높았으며 ‘골드리치’는 약 27.5%, ‘송오브엔젤’ 품종은 16.7%의 무병주를 얻을 수 있었다(표1-2). 프리지아의 경우 바이러스 피해 처리 없이 성장점 배양에 의해 FreMV 농도가 감소되어 무병묘 생산이 가능할 것으로 판단된다. 개화특성 검정을 위해 기내 성장점 배양을 통해 무병화된 ‘샤이니골드’ 배양묘를 포장 정식하였으며 정상적으로 개화되는 것을 확인하였다(그림1-5).

<표1-4> ‘샤이니골드’ 배양묘 정식 후 RT-PCR법을 이용한 바이러스 검정 결과

Concentration of ribavirin(μ M)	FreMV (%)	FreSV (%)	BYMV (%)	CMV (%)	TRV (%)
0	2/33 (6.0)	0/33 (0)	0/33 (0)	0/33 (0)	0/33 (0)
20	1/16 (6.3)	0/16 (0)	0/16 (0)	0/16 (0)	0/16 (0)
50	0/15 (0)	0/15 (0)	0/15 (0)	0/15 (0)	0/15 (0)
100	41/41 (100%)	0/41 (0)	0/41 (0)	0/41 (0)	0/41 (0)

<표1-5> RT-PCR 분석 통한 배양묘 바이러스 검정

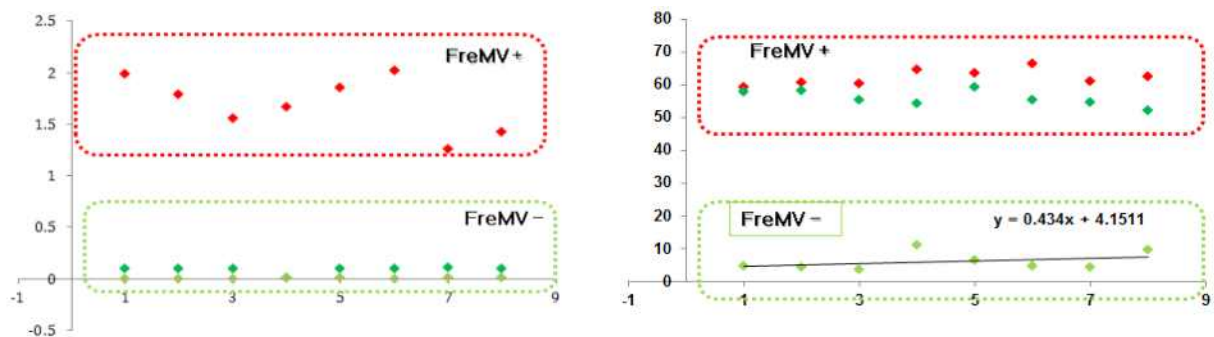
품종	바이러스 감염율 (감염주 수/분석주 수 (%))				
	FreMV	FreSV	BYMV	CMV	TRV
샤이니벨	0/35(0)	0/35(0)	5/35(14.3)	0/35(0)	0/35(0)
점보화이트	0/28(0)	0/28(0)	0/28(0)	0/28(0)	0/28(0)
골드리치	29/40(72.5)	0/40(0)	5/40(12.5)	0/40(0)	0/40(0)
송오브엔젤	15/18(83.3)	0/18(0)	4/18(22.2)	0/18(0)	0/18(0)



<그림1-5> 배양묘 정식모습

라. Real-time PCR 을 이용한 바이러스 검정 기준 설정 결과

ELISA 수준에서 FreMV 미검출 시료를 더 정밀한 검정 방법인 RT-PCR을 이용하여 검정한 결과 FreMV가 매우낮은 수준으로 감염되어 있는 것을 알 수 있었다. 현재로서 바이러스 검정에 있어 가장 정밀한 방법인 real-time PCR 법을 이용해 FreMV 감염여부 기준을 설정하기 위해 음성 대조구는 RT-PCR검정 시에도 음성반응인 시료(FreMV-, ●), 양성 대조구는 ELISA에서도 양성반응인 시료(FreMV+, ●)를 이용하여 ELISA 및 RT-PCR 수준에서 미검출 시료(FreMV-, ●)의 바이러스 감염 기준 설정에 이용하였다. real-time PCR법으로 검정한 결과 음성대조구(FreMV-, ●)는 Ct값 15.1이하로 나타났으며, ELISA 수준에서 FreMV 검출 시료(FreMV+, ●)는 Ct값 62.7-70.3 이었으며 ELISA 검정 시 FreMV 미검출(FreMV-), RT-PCR 검정결과(FreMV+) 검출인 시료(●)는 양성반응(FreMV+, ●)시료 수준으로 FreMV 염기서열이 증폭되었다. qRT-PCR법을 이용한 FreMV검정 과정을 통해 극히 낮은 수준의 농도로 남아있어도 RT-PCR 또는 qRT-PCR법을 이용한 검정 시 정밀하게 바이러스 진단이 가능함을 확인하였다(그림1-6).



<그림1-6> ELISA 및 Real time PCR을 이용한 FreMV 검정

마. 국내육성 프리지아 품종의 바이러스 무병종구 생산 및 증식 현황

배양 이후 바이러스 검정결과, ‘골드리치’ 및 ‘샤이니골드’ 품종 이외 ‘모브토파즈’ 등 총 6 품종의 배양묘에서 RT-PCR 검정시 바이러스 무병묘가 얻어졌으며 2017년 2월 현재 개화특성 검정을 위한 순화과정 중에 있으며 같은 방법으로 무병모주의 증식, 기내구근 형성과정을 통해 농가에 보급할 예정이다(그림1-8, 9, 10).



<그림1-9> RT-PCR 법을 이용한 FreMV 검정



<그림1-10> 바이러스 무독묘 순화 및 정식 (2016. 10.)

프리지아 야생 및 도입 유전자원 또한 유망계통 선발 및 신품종 육성 소재로 이용하기 위해 안전 증식 및 보존해야 한다. 보유 유전자원들에 대한 바이러스 무병모구 생산을 시도하기 위해 국내육성품종, 외국품종, 유망계통 등 총 50 품종 및 계통에 대해 기내도입 후 생장점 배양 중에 있다 (그림1-11).



<그림1-11> 프리지아 기내도입, 성장점 배양 및 증식

2. 국내육성 프리지아 우수 품종의 기내 우량묘 증식 및 보급

가. ‘샤이니골드’ 및 ‘골드리치’ 우량종구 증식 및 보급

(1) 초대배양체로부터 증식된 배양묘의 증식 및 보급

서천 및 전주지역 프리지아 시범재배 농가에 초대배양 후 증식된 ‘샤이니골드’ 및 ‘골드리치’ 배양묘를 각각 3,500주, 4,200주로 총 7,700주를 보급하였다(‘14.9., 그림2-1). 서천 및 전주 지역의 재배농가에서 ‘샤이니골드’와 ‘골드리치’ 배양묘 정식 후 양액 재배 시 전반적으로 생육은 매우 양호하였으나 정식 16주 후 두 품종 모두 꽃눈 및 꽃잎 미발육에 의한 기형화가 심하게 발생하였다(제3절, 2014-15년 재배시험결과 참고). 꽃눈 및 꽃잎 미발육 발생은 주로 꽃봉오리와 꽃이 급속히 발육하는 기간에 햇빛이 부족하고, 정식 시 18℃이상의 초기 생육 온도 환경하에서 꽃눈이 발육하지 못하고 건조되어 기형이 되는 것으로 추정되며 바이러스에 심하게 감염되어도 비슷한 증상이 나타날 수 있다는 보고도 있으나(Choi et al, 2012 표준영농교본) 포장내 프리지아 잎에 병징의 발생이 거의 없고 생육이 매우 양호한 상태이며 RT-PCR법을 이용한 검정시 FreMV 단독 감염이 확인되어 바이러스 감염보다는 정식초기 고온 및 꽃눈분화가 본격적으로 시작되는 시기인 11월(‘14)에 흐린 날씨와 잦은 비로 인한 광 부족 등 부적합한 재배 환경이 기형화 발생의 원인으로 의심된다(기상청, 2014). 특히 배양묘에 있어 꽃눈 및 꽃잎 미발육에 의한 기형화가 발생하나 원인이 불명확하여 정식기 고온, 광부족, 수분 등 재배환경에 따른 화기형성관련 유전자 등 다양한 각도에서 기형화 발생 원인에 대해 연구가 필요하다.



원예원 분양 ‘샤이니골드’ 배양묘의 생장 모습
(‘14.6.20. 서천 이정민 농가)



‘샤이니골드’ 배양묘 (원예원)

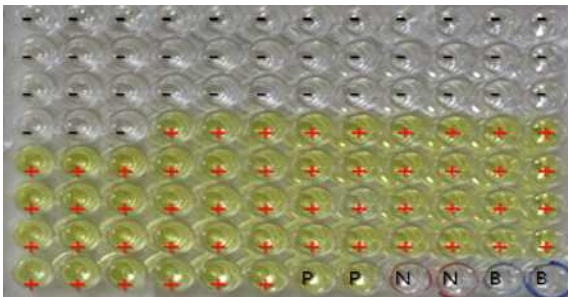


원예원 분양 ‘샤이니골드’ 배양묘의 정식 모습
(‘14.10.7. 전주 한양옥 농가)

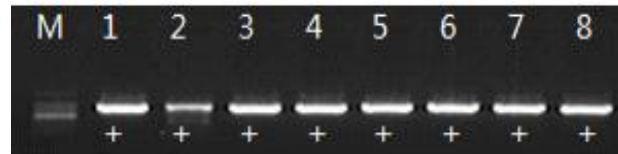
<그림2-1> 샤이니골드 배양묘(원예원) 및 농가 정식 모습

(2) ‘샤이니골드’ 생장점 배양묘의 증식 및 보급

국내 주요 재배 품종 ‘샤이니골드’의 바이러스 무병모주의 생산 및 재배농가 보급을 위해 기내도입 후 생장점 배양을 실시하여 ELISA 수준의 바이러스 무병구로 식물체내 FreMV농도가 낮아진 것을 확인하여(그림2-2, 2-3) 증식한 ‘샤이니골드’ 생장점 배양묘 39주 및 ‘골드리치’ 초대 배양묘 51주 총 90주로부터 얻은 잎 시료를 RT-PCR법을 이용하여 FreMV 등 총 5종의 바이러스를 검정한 결과 FreSV, BYMV, CMV, TRV는 감염되지 않았으나 FreMV 는 모든 개체에 감염되어 있었다(그림2-3, 표2-1). ELISA법을 이용한 검정 결과 ‘샤이니골드’ 생장점 배양체의 경우 FreMV 음성 대조구 이하의 수준이었으나, 초대배양체인 ‘골드리치’ 시료에서는 FreMV 양성 대조구 수준으로 이전 결과와 같은 경향을 나타내었다(그림2-2).



<그림2-2> ELISA법을 이용한 ‘샤이니골드’ 생장점 배양묘 및 ‘골드리치’ 초대배양묘의 FreMV 분석



<그림2-3> RT-PCR 법을 이용한 ‘샤이니골드’ 생장점 배양묘의 FreMV검정

<표2-1> ‘샤이니골드’ 및 ‘골드리치’ 배양묘 ELISA 및 RT-PCR법을 이용한 FreMV 검정

구분	‘샤이니골드’ 생장점 배양묘		‘골드리치’ 초대 배양묘	
	RT-PCR (%)	ELISA (%)	RT-PCR (%)	ELISA (%)
FreMV	39/39* (100)	0/39 (0)	51/51 (100%)	51/51 (100%)

*감염 주수/전체 주수

<표2-2> RT-PCR법을 이용한 바이러스 검정 결과

구분	FreMV (%)	FreSV (%)	BYMV (%)	CMV (%)	TRV (%)
‘샤이니골드’ 생장점 배양묘	39/39 (100)	0/39 (0)	0/39 (0)	0/39 (0)	0/39 (0)
‘골드리치’ 초대 배양묘	41/41 (100%)	0/41 (0)	0/41 (0)	0/41 (0)	0/41 (0)

2014년 기내 증식된 ‘샤이니골드’ ELISA수준의 바이러스 무독묘 총 4,050주를 서천 프리지아 시범재배농가에, 전주 양액재배 시범재배 농가에 1,000주 총 5,050주를 보급하였다(‘15.9., 그림2-4). 재배시험결과 생육이 양호하였으며 다음해 3월 대부분 정상적으로 개화하였다.



<그림2-4>프리지어 재배 현황 및 배양묘 정식 전경 (삼례 한양옥 농가, 2015. 10. 8.)

서천 및 삼례 농가의 ‘샤이니골드’ 배양묘 (’15. 9. 정식)의 경우 대부분 정상화였으나 약 5% 정도의 꽃잎 미발육 기형화가 발생하였으며, 같은 농가 시범재배 이외 재배중인 빨강색 품종(품종불명, 자구 정식)에서는 대부분 꽃잎 미발육 기형화가 발생하였다(그림2-5). 이외 프리지어 기형화는 주로 구근 정식 초기 18℃이상의 고온에 의해 발생하며, 꽃떨이현상, 글라디올러스 형 피기 꽃대에 새로운 가지 발생하는 증상이 이다.



<그림2-5>프리지어 ‘샤이니골드’ 배양묘 및 삼례 빨강색품종(품종불명)의 기형화 발생모습(16. 2)>

나. ‘샤이니골드’ 등 국내육성 프리지어 주요 재배 품종의 바이러스 무병묘 생산 및 보급

초대배양을 통해 얻어진 배양묘는 토양에서 재배, 증식되어 총채벌레, 진딧물 등 지상부 및 작은뿌리파리 유충, 뿌리응애 등 지하부에 병해충에 노출된 구근에 비해 곰팡이나 세균성 병원균이 제거된 상태이다. 그러나 절화생산에 가장 문제가 되고 있는 바이러스가 완전히 제거되지는 않았다. 바이러스 무병종묘 생산을 위해 정단 분열 조직의 생장점 배양을 시도하여 ELISA 수준, 호르몬 조절을 통한 급속 증식을 통해 RT-PCR 수준에서 바이러스 무병주를 얻었다(그림1-8). 증식된 ‘샤이니골드’ 및 ‘골드리치’ 배양묘 중 96주에 대해 RT-PCR을 이용한 바이러스 검정을 수행한 결과 FreMV, FreSV, BYMV, CMV, TRV 총 5종의 바이러스 모두 검출 되지 않아, 바이러스 무병묘가 생산되었다(표2-5). 생장점 배양 후 초기 분화 시에는 FreMV가 완전히 제거되지는 못하지만 식물체내 농도가 크게 감소하며, 호르몬 조절에 의해 다신초가 분화, 약 12개월간 반복된 증식 과정에 의해 FreMV 제거된 것으로 생각된다. 검정을 통해 선발된 바이러스 무병모주를 이용하여 농가 보급을 위한 기내 증식을 수행하였다. 바이러스 무독묘 ‘샤이니골드’ 2천주 및 ‘골드리치’ 3천주 등 총 5천주를 2016년 10~12월 서천 재배 농가 시범재배포장에 정식하여 생육 중에 있으며 개화 후 특성조사를 수행할 예정이다(그림 2-6, ’16.10-12).

<표2-3> RT-PCR법을 이용한 '샤이니골드' 및 '골드리치' 성장점 배양묘의 바이러스 검정

품종명	FreMV (%)	FreSV (%)	BYMV (%)	CMV (%)	TRV (%)
샤이니골드	0/96 (0)	0/96 (0)	0/96 (0)	0/96 (0)	0/96 (0)
골드리치	0/96 (0)	0/96 (0)	0/96 (0)	0/96 (0)	0/96 (0)

<그림2-6> '골드리치' 바이러스 무독묘의 농가 정식 모습>



다. 프리지아 재배시 바이러스 확산 방제법

FreMV 단독 감염의 경우 병징이 거의 없거나 잎에 옅은 황화 및 모자이크 증상이 나타난다. 그러나 진딧물, 총채벌레와 같은 매개충에 의한 BYMV, 토양곰팡이 매개에 의한 FreSV 등 2종 이상의 바이러스가 복합 감염되면 황화, 모자이크, 잎의 뒤틀림 증상이 나타나며 심하면 화색의 변화까지 나타나 생산된 절화는 상품성이 없어지게 된다(Choi et al., 2015). 바이러스 확산 방지 및 무병모주의 유지를 위해서는 모기장 설치를 통해 진딧물등 해충의 외부 침입을 통제해야 하며 황색 끈끈이 트랩을 이용한 예찰을 통한 병충해 발생 모니터링 및 방제약제살포 등 병충해 방제 시설을 철저히 해야 한다. 또한 구근 굴취 후에도 수확되지 못하고 남겨진 자구 및 구근의 외피 등에 토양 중 작은 뿌리파리유충 또는 뿌리응애 등 해충이 월동하여 다음해 구근 정식 시 뿌리를 가해, 심하면 구근뿐만 아니라 지상부의 줄기까지 가해하여 식물이 고사에 이르게 되기도 하므로 매년 정식 전 훈증제와 살충제를 이용한 토양소독 및 구근소독은 고품질 절화생산에 매우 중요한 요건이 된다(Choi et al., 2012, 프리지아 영농교본).

라. 재배 농가 프리지아 포장 시료의 바이러스 검정

서천 및 보령 지역 프리지아 재배 농가의 바이러스 검정 의뢰 시료 총 67 점에 대해 FreMV 등 5개 바이러스 검정 결과, 병징 유무와 상관없이 ELISA 검정에서 FreMV의 감염이 확인되었으며 RT-PCR법을 이용한 검정결과에서도 FreMV 단독 감염이 확인되었으나 정상적으로 개화되어 꽃눈 및 꽃잎 미발육 현상은 바이러스 감염보다는 광부족 등 재배환경의 영향을 많이 받을 것으로 예상된다(그림2-4, 표 2-3).



<그림2-4> ELISA 법을 이용한 FreMV 검정
(서천, 보령 농가 '골드리치' 시료)

<표2-3> RT-PCR을 이용한 바이러스 검정

농가	FreMV (%)	FreSV (%)	BYMV (%)	CMV (%)	TRV (%)
서천	40/40 (100)	0/40 (0)	0/40 (0)	0/40 (0)	0/40 (0)
보령	27/27 (100%)	0/27 (0)	0/27 (0)	0/27 (0)	0/27 (0)

전주 및 삼례 지역 프리지아 재배 농가의 바이러스 검정 의뢰 시료 총 67 점에 대해

FreMV 등 5개 바이러스 검정 결과, 병징 유무와 상관없이 ELISA 검정에서 FreMV의 감염이 확인되었으며 보급된 ‘샤이니골드’ 및 품종미상의 빨강색 품종의 잎 시료 총 60점에 대한 RT-PCR검정 결과 모든 시료가 FreMV에 감염되어 있었다. 전주지역 이본느의 경우 약 62.5%(25/40)가 BYMV에 중복 감염, 완주지역 농가의 ‘샤이니골드’ 및 빨강색(품종불명) 시료에는 FreMV만 감염 되어 있었다(표2-4).

<그림2-4> RT-PCR법을 이용한 전주, 삼례지역 재배 농가 시료의 바이러스 검정

농가	품종명	FreMV (%)	FreSV (%)	BYMV (%)	CMV (%)	TRV (%)
전주	이본느	40/40 (100)	0/40 (0)	25/40 (62.5)	0/40 (0)	0/40 (0)
삼례	샤이니골드	12/12 (100%)	0/12 (0)	0/12 (0)	0/12 (0)	0/12 (0)
	삼례유색 (품종불명)	8/8 (100%)	0/8 (0)	0/8 (0)	0/8 (0)	0/8 (0)

3. 국내육성 프리지아 신품종의 기내 우량묘 생산 및 보급

가. 신품종 프리지아 기내우량묘 생산 및 보급

2014년 프리지아 ‘블루윙스’ 등 신품종 프리지아 5품종에 대해 증식된 생장점 배양묘 총 3,100주를 보급하였다(그림3-1, 3-2). RT-PCR법을 이용한 바이러스 검정결과 모든 시료에서 FreMV가 검출되었으며 ‘블루라인’, ‘핑크핑키’, ‘프리티우먼’의 배양묘는 ELISA 수준에서는 FreMV가 검출되지 않았으나 ‘블루윙스’ 20%, ‘송오브헤븐’은 모든시료에서 FreMV가 검출되었다(표.3-1, 3-2). 배양묘 정식 시 순화율이 떨어지는 문제를 해결하기 위해 기내 구근 생산을 시도하였으며 2015년 9월 정식하여 정상적으로 개화되는 것을 확인하였다(그림3-3). ‘샤이니벨’ 등 6품종의 생장점 배양체 2015년 총 3,300주를 보급(그림3-4), 2016년 6품종 3천주 보급하여 기내 구근 생산 후 2017년 9월 정식을 위한 구근 생산 중에 있다(그림3-4).



<그림3-1> 프리지아 보급 품종 및 기내구근 유도



배양묘 증식 모습



기내구근 생성 유도 및 수확 모습(서천, 이정민 농가)



<그림3-2>프리지아 신품종 배양묘 보급 및 기내구근 생산모습

<표3-1> '블루윙스' 등 신품종 농가보급 배양묘 ELISA 및 RT-PCR법을 이용한 FreMV 검정

구분	블루라인		블루윙스		핑크핑크		송오브헤븐		프리티우먼	
	RT-PCR (%)	ELISA (%)	RT-PCR (%)	ELISA (%)	RT-PCR (%)	ELISA (%)	RT-PCR (%)	ELISA (%)	RT-PCR (%)	ELISA (%)
FreMV	10/10 (100)	0/10 (0)	10/10 (100)	4/10 (40)	20/20 (100)	0/20 (0)	20/20 (100)	20/20 (100)	30/30 (100)	0/30 (0)

<표3-2> '블루윙스' 등 신품종 농가보급 배양묘 RT-PCR법을 이용한 바이러스 검정

구분	블루라인	블루윙스	핑크핑크	송오브헤븐	프리티우먼
FreSV	0/10	0/10	0/20	0/20	0/30
BYMV	0/10	0/10	0/20	0/20	0/30
CMV	0/10	0/10	0/20	0/20	0/30
TRV	0/10	0/10	0/20	0/20	0/30



<그림3-3>프리지아 신품종 배양묘 정식모습



<그림3-4>프리지아 신품종 생장점 배양묘 보급모

4. '국내 육성 프리지아 품종의 무병모구 보급체계 구축 및 금후계획

생장점 배양에 의해 증식된 프리지아 '샤이니골드' 배양묘를 2015년 서천 및 전주지역에서 양액을 이용한 시범재배 결과 두 농가 모두 배양묘의 생장은 양호하였으며 바이러스 감염 증상이 관찰되지 않고 건전하게 유지되었다. 정식 1개월 후 생육중인 배양묘 잎을 이용하여

RT-PCR법을 이용한 검정결과, 바이러스 5종 중 FreMV만 단독 검출되어 배양묘 정식 전과 같이 유지되는 것을 확인하였다(Data not shown). 2015년 9월 정식된 서천지역 재배농가의 포장에서 임의로 채취한 ‘샤이니골드’ 및 ‘골드리치’ 시료의 RT-PCR 검정 시 대부분의 시료에서 FreMV가 검출되었음에도 바이러스 의심 증상이 거의 없고 생육상태가 매우 양호하였으며 정상적으로 개화되는 것을 확인하였다. 프리지아 재배에 있어 ELISA수준의 FreMV 무병묘는 프리지아 표준 재배 환경 하에서 절화품질에 거의 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다. 완벽한 바이러스 무병화 종구는 아니지만 농도가 낮아 재배상 문제가 없는 우량 종구로 표준 재배 시 고품질 절화 재배가 가능할 것으로 예상된다.

‘골드리치’ 및 ‘샤이니골드’ 등 주요재배품종의 바이러스 무병묘가 안정적으로 증식되고 있으며(‘16) 보급농가에 증식모주 보급하고 있으나 배양묘의 경우 순화율이 약 60% 정도로 낮은 문제점이 있다. 구근의 경우 순화율이 100%에 가깝기 때문에 순화율을 높이기 위해 배양묘를 기내에서 발아시켜 구근형성, 증식을 시도 중에 있다(그림4-1). 기내 증식된 구근의 경우 순화뿐 아니라 구근의 기내 도입 시 소독과정을 거처도 오염율이 높으나 기내배양 구근의 경우 소독과정 없이 기내 배양묘 증식에도 이용할 수 있어 효용성이 크다. 기존 배양묘를 정식해도 다음해에 개화는 가능하나, 정식 시 구근의 형성이 아직 이루어지지 않아 생장 개화 시 필요한 양분을 토양에서 흡수하기 때문에 소화수가 적고 화색 등 품종고유의 형질이 발현되기 어려워 상품성이 낮기 때문에 실제 상품성이 있는 절화 생산까지는 약 18개월이 소요된다. 반면 기내 구근이 형성되는 기간은 약 6개월로 3월에 배양을 시작하면 9월경 구근을 얻어, 일주일 정도 말려 구근을 정식하면 다음해 2~3월에 상품성 있는 절화생산이 가능하여 개화구 생산이 12개월 정도로 단축되는 장점도 있다. 프리지아 바이러스 무병 기내배양묘의 안정적인 기내 구근 증식을 위해 6%의 sucrose가 첨가된 MS배지를 이용 17℃ 암 조건에서 배양 중에 있다(Kang et al., 2016).



<그림4-1>국내육성 프리지아 ‘샤이니골드’ 및 ‘골드리치’ 기내 구근 양성

국내육성 프리지아의 바이러스 무병묘 생산을 위해 현재까지 개발된 품종 및 유망 계통 중 보라색 홑꽃 ‘모브토파즈’ 및 흰색 겹꽃 ‘샤이니벨’ 등 생장점 배양 14품종 및 7계통, RT-PCR 법을 이용한 바이러스 검정을 통해 바이러스 무병묘 선발, 증식 중에 있으며 생산된 무병모주를 증식하여 기내구근을 생산, 보급할 예정이다(표4-1, 그림4-2). 다양한 화색 화형의 국내육성 품종의 바이러스 확산을 막기 위해 무병모주 생산 후 모주를 유지, 보존, 증식할 필요가 있으며 고품질 절화생산이 가능한 국내 품종의 이미지 제고는 국내 보급률 향상 및 수출 확대에 기여할 것으로 기대된다.

<표4-1> 생장점 배양 및 바이러스 무병모주 생산품종

생장점 배양 품종 및 계통		프리지아 무독묘 (RT-PCR법)
흰색	점보화이트, 화이트스노우, 샤이니벨, 폴인러브	모브토파즈 25주, 샤이니벨 96주,
노랑색	골든아모르, 샤이니골드, 골드리치, 써니골드 10-333	점보화이트 20주, 송오브헤븐 25주,
보라색	모브토파즈, 블루라인, 블루윙스, 송오브헤븐	블루라인 20주, 블루윙스 20주
분홍색	스윗러브, 핑크리본, 샤이스마일, 핑키펑키	샤이니골드 2,000주, 골드리치 3,000주
빨강색	12-56, 12-60, 12-63, 12-65	
총	14 품종, 7계통	총 6품종, 5,206주



<그림4-1> 생장점 배양에 이용된 프리지아 품종 및 계통

제 2 절 국산 프리지아 무병종구 기내 급속 대량생산 및 고품질 육묘 기술 확립

1. 기내 급속증식을 위한 적정 이식체 종류와 호르몬 농도 구명

프리지아의 구경을 기내에서 급속대량증식시키기 위해서는 이식체로부터 부정아를 통한 신초를 대량증식시켜야 한다. 프리지아의 기내 증식을 위해서는 주로 구경이 이용되고 있으나, 신초나 뿌리를 이용했다는 보고는 없다. 본 실험에서는 프리지아 신초, 구경, 뿌리를 이식체로 이용하여 신초 재분화 정도를 구명하고 동시에 어떤 호르몬 조건에서 신초가 많이 발생하는지 알아보기 위해 실험을 수행하였다.

식물재료는 국내에서 육성된 ‘Shiny Gold’ 및 ‘Gold Rich’의 기내 배양 구경을 이용하였으며, 실험에 이용된 이식체로는 신초, 뿌리 및 구경을 이용하였다(그림 1-1-2). 실험배지는 MS 배지에 sucrose 3%(w/v), 활성탄 0.1%(w/v), 한천 0.8%(w/v)를 첨가한 후에 pH 5.8으로 조정하였다. 식물 호르몬 조성은 표 1-1-1과 같다. 배지는 121℃에서 15분간 고압증기멸균하여 petri dish(100×40mm)에 50mL씩 분주하였다.

이식체 선발을 위하여 이용된 신초와 뿌리에서는 다양한 호르몬 처리에도 불구하고 신초나 뿌리와 같은 기관형성이 보이지 않았다. 구경을 절편체로 사용한 경우 새로운 신초와 뿌리의 발생이 관찰되었다. ‘Shiny Gold’와 ‘Gold Rich’ 두 품종 모두 뿌리 절편체를 치상한 경우 잔뿌리가 발생하는 경향을 보였다(그림 1-1-3). 신초의 경우 이식체의 단순한 비대만 관찰되었고 처리간의 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 신초와 뿌리를 이용한 이식체에서는 대부분 반응이 없었기 때문에 생육조사를 생략하였다. 따라서 향후 실험에 사용될 이식체로 구경을 선발 하였다.

표 1-1-1. 실험에 이용된 식물 호르몬 종류 및 농도

NAA (mg·L ⁻¹)	Kinetin (mg·L ⁻¹)
1.0	0.5
	2.5
	5.0
5.0	0.5
	2.5
	5.0
10.0	0.5
	2.5
	5.0

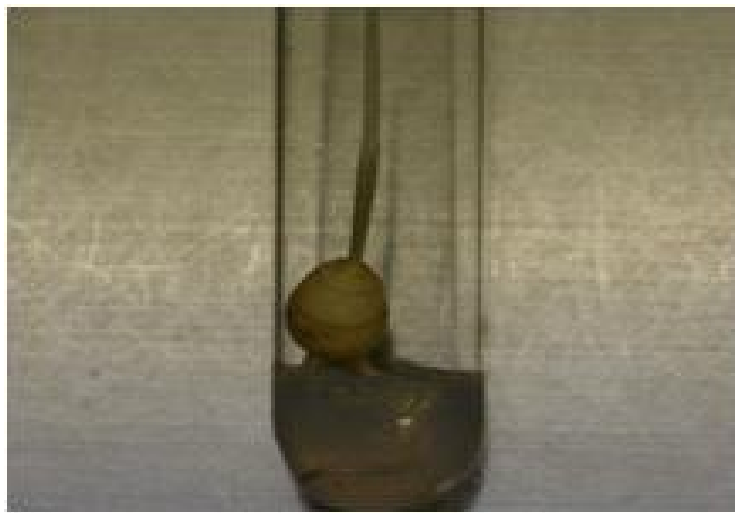


그림 1-1-1. 이식체로 사용된 기내 암배양 프리지아 구경의 신초, 뿌리 및 구경의 모습

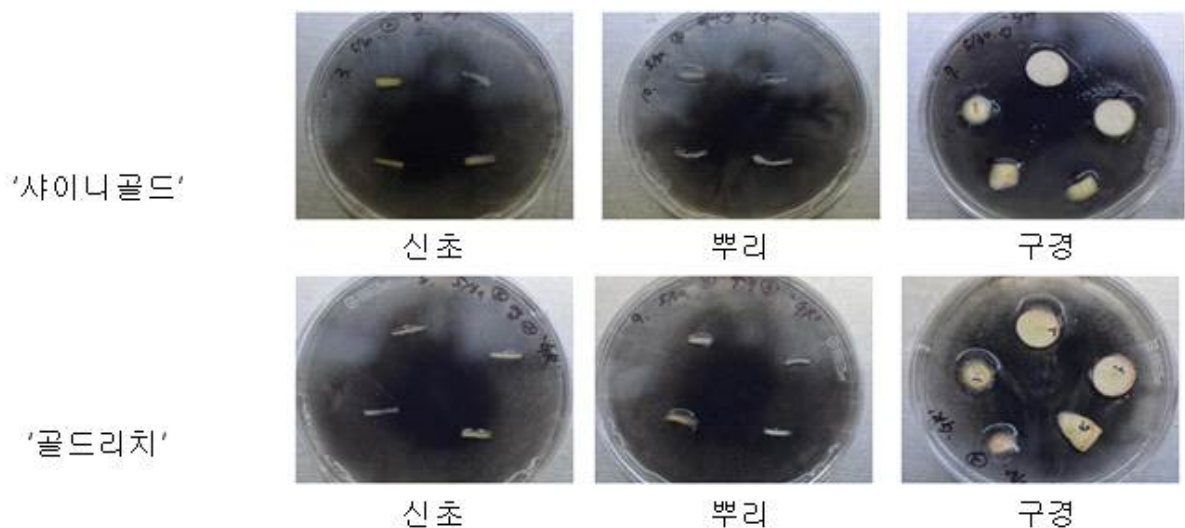


그림 1-1-2. 프리지아 'Shiny Gold' 및 'Gold Rich' 최적 이식체 선발을 위한 신초, 뿌리 및 구경의 치상 모습

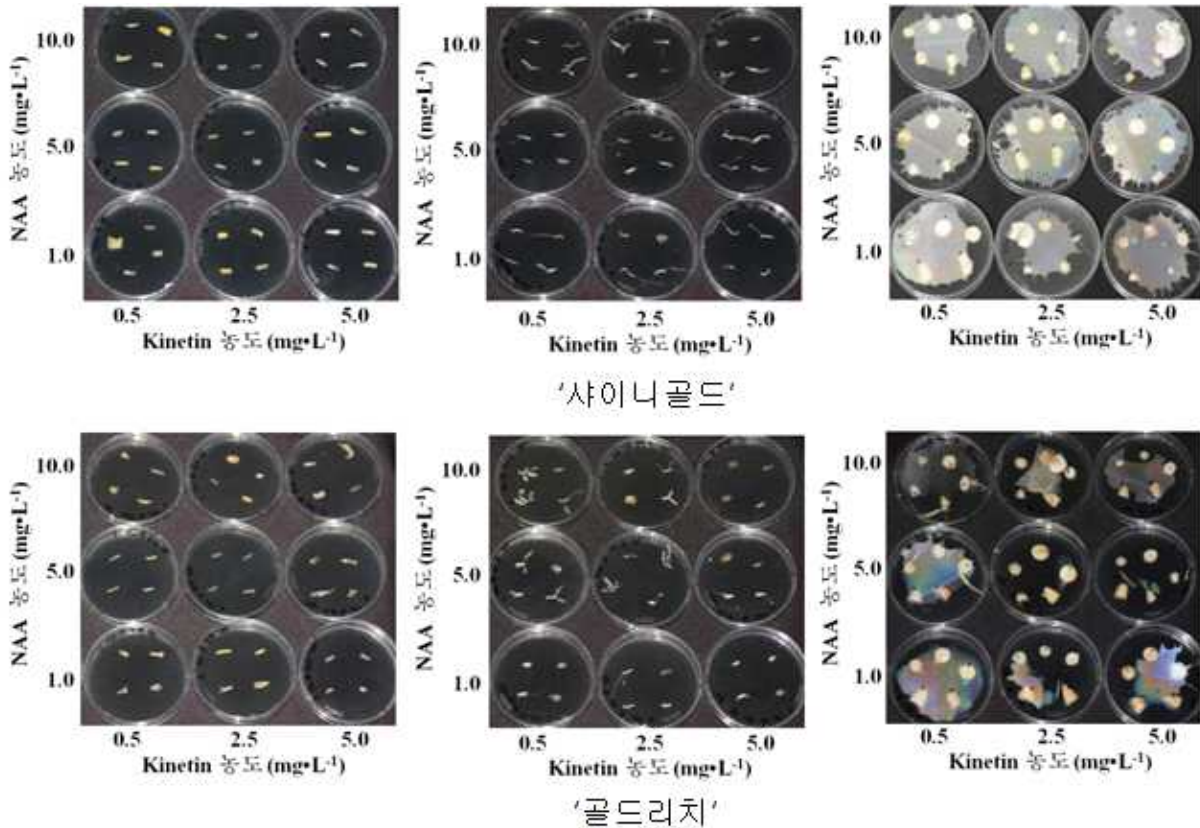


그림 1-1-3. 호르몬 처리구에서 배양된 프리지아 ‘Shiny Gold’ 및 ‘Gold Rich’ 신초, 뿌리 및 구경 이식체의 모습(치상 6주후)

2. 국내 육성종 프리지아의 기내 대량증식을 위한 구경의 적정 절단 방법 구명

구경을 이식체로 이용하여 단기간에 다수의 신초를 얻기 위한 실험을 수행하였다. 구경을 어떻게 절단하느냐 그리고 어떤 크기로 절단하느냐에 따라 증식율이 달라질 수 밖에 없다. 본 실험에서는 구경을 횡 또는 종으로 자르거나 절단 크기를 달리하여 부정아 및 신초 발생 정도를 조사하였다.

식물 재료로는 국내 육성 프리지아 ‘Shiny Gold’, ‘Gold Rich’, ‘Song of Heaven’ 구경을 이용하였다. 이 식물들의 구경을 기내로 도입하기 위해 호르는 수돗물에 깨끗이 세척하고 가장 외곽에 있는 구피를 제거한 후 70% 에탄올에서 10분간 교반하여 일차 소독을 하였다. 다시 안쪽에 있는 4-5장의 구피를 모두 제거하고 70% 에탄올에 5분간 처리한 후 Tween 20을 첨가한 2% NaOCl에서 10분간 소독하여 2차 소독을 하였다. 2차 소독 후 클린벤치로 이동하여 다시 70% 에탄올에서 30초간 처리하고 1% NaOCl에서 3분간 소독함으로써 소독과정을 끝냈다. 매 처리마다 멸균수로 3회 이상 구경을 세척하였다. 소독이 끝난 구경을 filter paper에 건조시킨 다음 실험에 이용하였다. 실험배지는 MS배지에 sucrose 3%(w/v), 한천 0.8%(w/v), 활성탄 0.1%(w/v)로 설정한 후, pH 5.8으로 조정하였다. 생장조절제는 $5.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA + $5.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Kinetin을 첨가하였다. 배지는 121°C 에서 15분간 고압증기멸균 하여 petri dish(100×40mm)에 50mL씩 분주하였다. 구경 이식체 절단방법으로는 구경을 횡으로 2번 절단하여 상부, 중부, 하부로 나누었고, 종으로 1번, 또는 2번 절단하여 총 5가지 절단방법을 실험에 이용하였다. 배양

환경은 이식체를 배지에 치상한 후 $23\pm1^{\circ}\text{C}$ 의 암배양실에서 4주간 배양한 후, 광도 $60\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (16h/8h)의 광환경으로 바꾸어 6주간 배양을 하였다.

암상태에서 4주간 배양했을 때, 대부분의 이식체의 표피부분에서 흰색의 신초가 발생된 것을 관찰 할 수 있었다. 횡으로 절단한 경우 구피에서 1개 정도의 신초가 발생하고 절단면에서는 부정아가 소수 발생되는 것으로 볼 수 있었다. “Shiny Gold”에서는 종으로 1회 절단했을 때 이식체당 2개의 신초가 발생되어 다른 처리보다 많은 것으로 나타났다(표 1-2-1, 그림 1-2-1). 이는 종으로 절단함으로써 구피 면적이 넓어져 잠아수가 많아진 결과로 보여진다. 그러나 “Gold Rich”와 “Song of Heaven” 품종에서는 신초 발생이 저조하였다(표 1-2-2, 표 1-2-3, 그림 1-2-2, 그림 1-2-3). 암상태에서 4주간 배양 후 광조건으로 이동하자 모든 신초들이 녹색으로 변화하였으며, 일부 이식체 절단면에서는 부정아가 발생하는 것을 관찰할 수 있었다(그림 1-2-5). 횡으로 절단된 이식체의 경우 절단면 보다는 구경의 표피에서 신초 발생이 많이 관찰되었다. 특히 구피에 있는 잠아를 중심으로 신초가 발생된 것을 관찰할 수 있었다. ‘Shiny Gold’ 품종의 경우 종으로 1번 절단한 처리구에서 가장 많은 4개의 신초수를 보였다(그림 1-2-4). 그러나 “Gold Rich”와 “Song of Heaven”에서는 신초발생이 1.5개 이하로 적었다. 신초의 생육은 종으로 1회 절단하였을 때 가장 좋은 것으로 나타났다(표 1-2-4, 5, 6). 이러한 결과는 구경을 이용하여 다량의 신초를 얻고자 하는 목표를 이루기에는 미흡한 결과였다. 따라서 단기간에 다량의 부정아 또는 신초를 얻을 수 있는 방법을 찾아내는 것이 중요한 과제가 되었다.

표 1-2-1. 프리지아 ‘Shiny Gold’ 이식체 절단 방법에 따른 생육결과 (이식 4주후)

이식체 절단방법 ^z	신초 발생 등급 ^y	신초 수 ^w (ea/explant)	최대 신초장 (cm)	뿌리 수 (ea/explant)
A	1.0a ^x	1.0a	0.3b	2.0a
B	1.0a	1.0a	0.3b	1.0ab
C	0.7a	1.0a	0.2b	0.0b
D	2.7a	2.0a	0.5b	3.0a
E	2.3a	1.0a	2.3a	2.7a

^zA, 횡단 상부; B, 횡단 중부; C, 횡단 하부; D, 종으로 1회; E, 종으로 2회

^y신초 발생 등급: 1-5

^xDuncan의 다중검증 $P=0.05$

^w초장 길이 0.5cm 이상

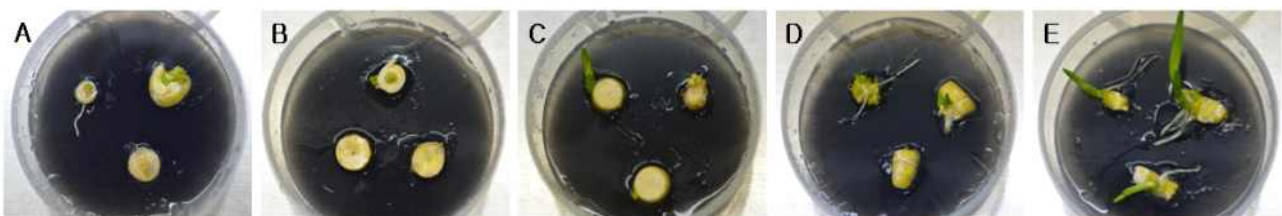


그림 1-2-1. 프리지아 ‘Shiny Gold’ 이식체 절단 방법에 따른 생육모습(3주): A, 횡단 상부; B, 횡단 중부; C, 횡단 하부; D, 종으로 1회; E, 종으로 2회

표 1-2-2 . 프리지아 ‘Gold Rich’ 이식체 절단 방법에 따른 생육결과 (이식 4주후)

이식체 절단방법 ^z	신초 발생 등급 ^y	신초 수 ^w (ea/explant)	최대 신초장 (cm)	뿌리 수 (ea/explant)
A	0.3a ^x	0.0b	0.0a	1.0a
B	1.0a	1.0a	0.2a	1.0a
C	0.3a	0.0b	0.0a	1.0a
D	1.0a	1.0a	1.2a	0.0b
E	1.7a	1.3a	0.8a	1.0a

^zA, 횡단 상부; B, 횡단 중부; C, 횡단 하부; D, 종으로 1회; E, 종으로 2회

^y신초 발생 등급: 1-5

^xDuncan의 다중검증 $P=0.05$

^w초장 길이 0.5cm 이상

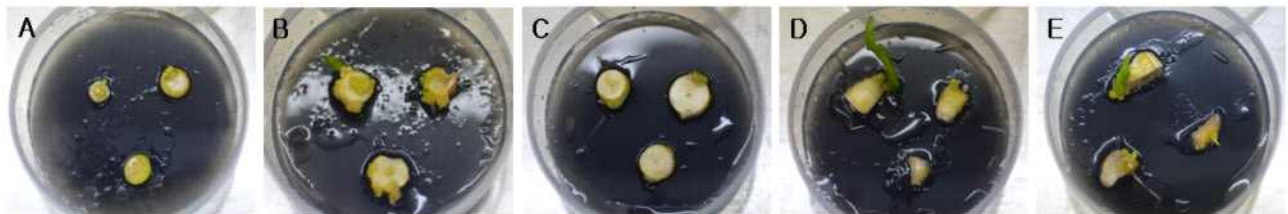


그림 1-2-2. ‘Gold Rich’ 이식체 절단 방법에 따른 생육모습 (4주): A, 횡단 상부; B, 횡단 중부; C, 횡단 하부; D, 종으로 1회; E, 종으로 2회

표 1-2-3. 프리지아 ‘Song of Heaven’ 이식체 절단 방법에 따른 생육결과 (이식 4주후)

이식체 절단방법 ^z	신초 발생 등급 ^y	신초 수 ^w (ea/explant)	최대 신초장 (cm)	뿌리수 (ea/explant)
A	0.4b ^x	0.0a	0.0a	0.0a
B	1.4ab	1.2a	0.3a	0.9a
C	1.2ab	0.6a	0.0a	0.7a
D	1.0ab	0.4a	0.6a	0.9a
E	1.8a	0.3a	0.3a	0.6a

^zA, 횡단 상부; B, 횡단 중부; C, 횡단 하부; D, 종으로 1회; E, 종으로 2회

^y신초 발생 등급: 1-5

^xDuncan의 다중검증 $P=0.05$

^w초장 길이 0.5cm 이상

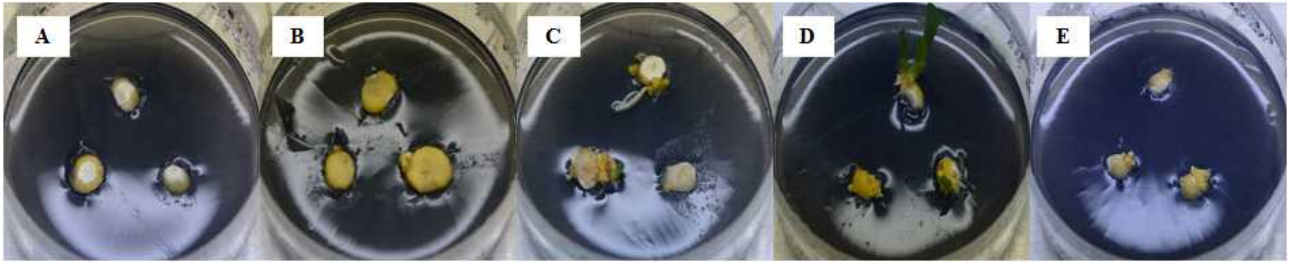


그림 1-2-3. ‘Song of Heaven’ 이식체 절단 방법에 따른 생육모습 (3주): A, 횡단 상부; B, 횡단 중부; C, 횡단 하부; D, 종으로 1회; E, 종으로 2회

표 1-2-4. 프리지아 ‘Shiny Gold’ 이식체 절단 방법에 따른 생육결과 (이식 10주후)

이식체 절단 방법 ^z	초장 (cm)	근장 (cm)	지상부 생체중 (g)	지하부 생체중 (g)	지상부 건물중 (mg)	지하부 건물중 (mg)
A	4.8bc ^y	6.0abc	1.5ab	0.5ab	288.5bc	33.2bc
B	7.8b	4.6bc	2.1a	0.5ab	427.0ab	40.2abc
C	3.0c	4.2c	0.5b	0.1b	58.0c	5.8c
D	8.3b	6.5ab	2.5a	1.0a	562.3ab	77.5a
E	12.9a	7.4a	2.4a	0.8a	589.1a	64.0ab

^zA, 횡단 상부; B, 횡단 중부; C, 횡단 하부; D, 종으로 1회; E, 종으로 2회

^yDuncan의 다중검증 $P=0.05$

표 1-2-5. 프리지아 ‘Gold Rich’ 이식체 절단 방법에 따른 생육결과 (10주)

이식체 절단 방법 ^z	초장 (cm)	근장 (cm)	지상부 생체중 (g)	지하부 생체중 (g)	지상부 건물중 (mg)	지하부 건물중 (mg)
A	9.5ab ^y	2.8b	0.6bc	0.1b	104.1b	12.1bc
B	9.8a	5.4a	1.6ab	0.5a	272.1ab	38.0a
C	0.0c	0.0d	0.2c	0.0c	31.2b	0.0c
D	8.1b	1.7c	2.7a	0.2b	442.4a	28.3ab
E	10.2a	2.7b	0.5bc	0.1bc	92.1b	11.1c

^zA, 횡단 상부; B, 횡단 중부; C, 횡단 하부; D, 종으로 1회; E, 종으로 2회

^yDuncan의 다중검증 $P=0.05$

표 1-2-6. 프리지아 ‘Song of Heaven’ 이식체 절단 방법에 따른 생육결과 (치상 10주후)

이식체 절단 방법 ^z	초장 (cm)	근장 (cm)	지상부 생체중 (g)	지하부 생체중 (g)	지상부 건물중 (mg)	지하부 건물중 (mg)
A	0.0c ^y	0.2c	0.0b	0.0b	0.0b	0.0c
B	1.3bc	1.1bc	0.0b	0.0b	3.2b	1.2ab
C	3.6bc	3.1ab	0.2b	0.2a	17.6b	13.0a
D	5.4ab	4.2a	0.6a	0.2a	62.3a	12.4a
E	0.8a	2.1abc	0.1b	0.1a	13.8b	4.5ab

^zA, 횡단 상부; B, 횡단 중부; C, 횡단 하부; D, 종으로 1회; E, 종으로 2회

^yDuncan의 다중검증 $P=0.05$

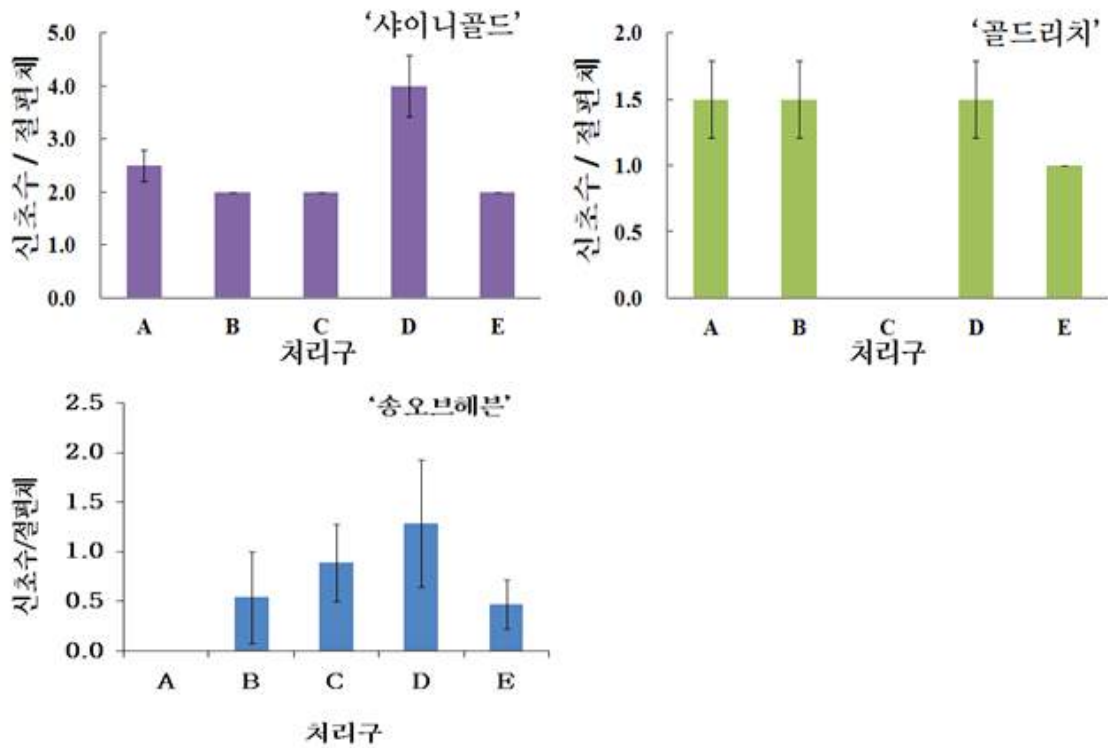


그림 1-2-4. 프리지아 ‘Shiny Gold’ 및 ‘Gold Rich’, ‘Song of Heaven’ 이식체 절단방법에 따른 이식체당 신초발생 수 (10주): A, 횡단 상부; B, 횡단 중부; C, 횡단 하부; D, 종으로 1회; E, 종으로 2회

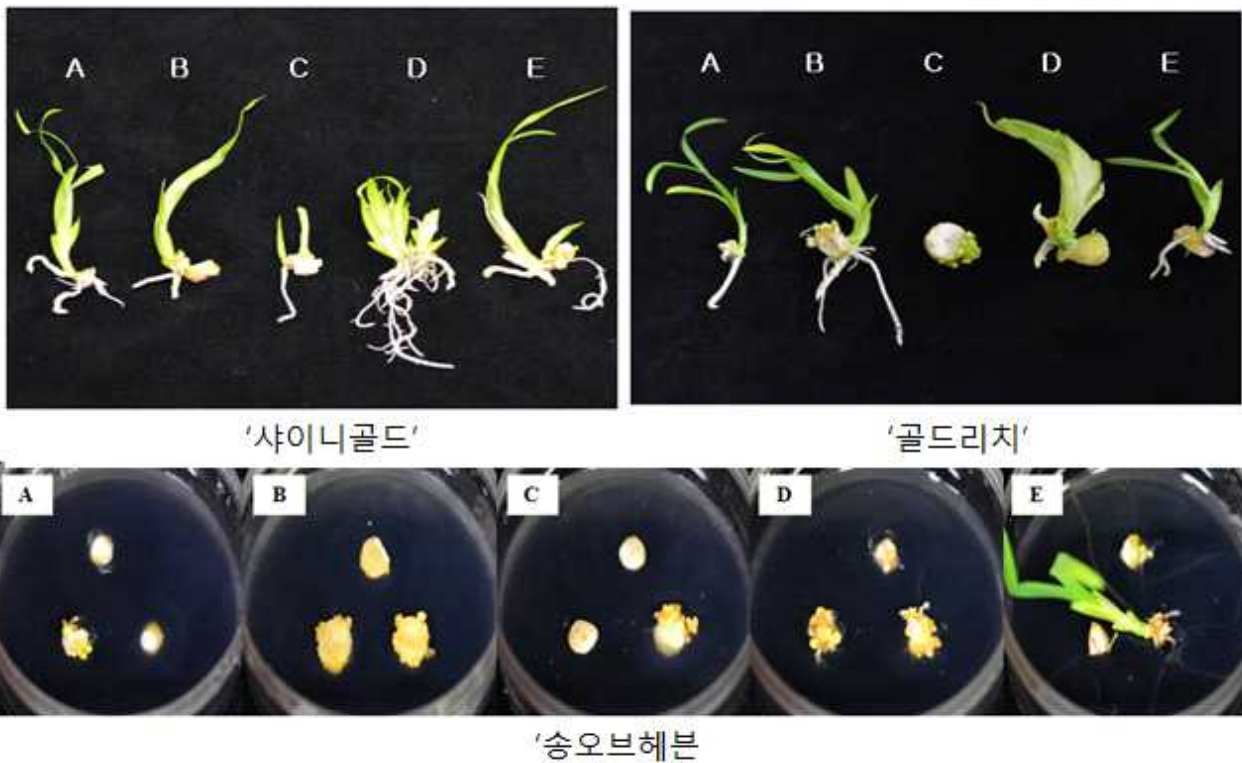


그림 1-2-5. 프리지아 ‘Shiny Gold’와 ‘Gold Rich’, ‘Song of Heaven’ 이식체 절단방법에 따른 생육 모습 (이식 10주후). A, 횡단 상부; B, 횡단 중부; C, 횡단 하부; D, 종으로 1회; E, 종으로 2회

3. 무병종구 급속 증식을 위한 구경 적정 치상 방법 구명

지금까지 단기간에 다량의 신초를 얻기 위한 실험을 수행하였으나, 목표로 하는 결과를 얻을 수 없었다. 그러나 우연히 구경을 횡으로 절단하여 거꾸로 뒤집어 치상했을 때 절단면으로부터 다량의 부정아가 발생하는 것을 관찰 할 수 있었다. 따라서 본 실험에서는 이러한 현상이 재현성이 있는지 그리고 어느 정도로 효율로 신초가 발생하는지를 알아보기 위해 실험을 수행하였다.

실험재료는 프리지아 ‘Shiny Gold’, ‘Gold Rich’ 구경을 이용하였다. 기외에 있는 구경을 기내 시험재료로 이용하기 위하여 실험 2에서 사용한 소독 방법을 이용하여 소독하였다. 소독이 끝나고 멸균된 filter paper에서 건조시킨 후 1/2 MS배지(호르몬 무첨가)에 치상하고 23℃ 배양실에서 암 상태로 배양하였다. 10일 경과 후 오염이 발생하지 않은 건전한 구경을 선발하여 실험에 사용하였다. 배지는 MS 기본배지만 이용한 대조구와 MS배지에 5.0 mg·L⁻¹ NAA + 5.0mg·L⁻¹ Kinetin을 첨가한 호르몬 배지로 하여 비교하였다. 기본배지에는 3% sucrose(w/v)와 0.1% (w/v) 활성탄을 첨가하였다. pH를 5.8로 조절한 후 agar를 0.8% (w/v) 첨가하고 전자렌지를 이용하여 agar를 충분히 용해시켰다. Agar가 완전히 용해된 배지는 페트리디쉬(100 × 40mm)에 50 mL씩 분주하고 고압멸균기를 이용하여 121℃에서 15분간 소독하였다.

구경 절편체의 치상 방법을 달리하기 위하여 구경을 횡으로 3-4mm 두께로 절단하여 상부가 위로 가도록 치상한 처리구(정상치상)와 절편체를 뒤집어서 하부가 위로 가도록 치상한 처리구(역위치상)를 두었다. 치상이 끝난 페트리디쉬는 23℃의 배양실에서 암막을 이용하여 5주간 암배양 한 후, 암막을 걷어주어 광도 60 μmol·m⁻²·s⁻¹, 광주기 16시간의 광환경으로 옮겨주었다. 치상 후 10주째에 절편체에서 발생된 켈루스와 부정아를 나누어 계대배양하였다. 호르몬이 없는 기본배지 처리구는 호르몬 없는 MS 배지에, 호르몬 처리구는 1.0 mg·L⁻¹ BA + 0.5mg·L⁻¹ IAA가 첨가된 MS배지로 계대배양하였다. 치상 개시 후 10주째에는 부정아 발생 정도와 뿌리수를 조사하였다. 부정아 발생 정도는 0단계부터 5단계까지 6수준으로 구분하여 조사하였다. 절편체의 절단면에 부정아가 전혀 보이지 않을 때는 0, 절단면에 부정아 조직 크기가 직경 1-2mm 일 때는 1, 부정아 조직 크기가 직경 3-4mm 정도일 때는 2, 5-6mm 크기일 때는 3, 7-8mm 일 때는 4, 절단면 전면에 부정아가 발생하였을 때는 5로 간주하였다. 19주째에는 신초수와 신초의 초장, 생체중, 건물중 등을 조사하여 처리간 차이를 비교분석하였다. 실험설계 및 통계처리는 모든 처리구는 페트리디쉬당 3개의 절편체를 이용하였으며, 각 페트리디쉬를 1반복으로 보고 각각 5반복 처리를 하였다. 이렇게 얻어진 데이터들은 SAS (Statistical Analysis System, V. 9.1, Cary, NC, USA) 통계프로그램을 이용하여 ANOVA 검정과 Duncan's multiple range test를 이용하여 실험군 평균값을 유의수준 5%에서 유의성을 검정하였다.

프리지아 ‘Shiny Gold’와 ‘Gold Rich’ 구경 절편체를 호르몬 유무, 치상방법을 달리하여 치상하고 암배양이 끝난 5주째에 그 결과를 육안으로 관찰하였다. 호르몬 유무와 관계없이 프리지아 구경 절편체를 역위치상했을 때 정상 치상한 처리구보다 노란색의 부정아와 뿌리가 훨씬 많이 관찰되었다(데이터 생략). 암상태에 있던 절편체들을 광상태의 배양실로 옮기고 5주 후 1차 생육조사를 실시한 결과, 암상태에서는 노란색이었던 부정아는 광상태로 이동 후 녹색으로 변화되었으며 일부는 이미 신초로 성장하기 시작하였다(그림 1-3-1). 프리지아 ‘Shiny Gold’와 ‘Gold Rich’ 두 품종 모두 호르몬 유무에 따른 부정아 발생 정도에는 차이가 없었다. 그러나 절편체 치상을 정상으로, 또는 거꾸로 역위치상을 하는 치상방법에 따라서는 신초 발생

정도와 뿌리수에서 높은 유의성을 나타내었다(그림 1-3-2, 표 1-3-1, 표 1-3-2). 호르몬이 없는 기본배지에서 부정아 발생 정도를 살펴보면 역위치상했을 때 ‘Shiny Gold’는 3.2개, ‘Gold Rich’는 4.3개로 정상치상했을 때의 약 2-6배 높은 결과를 보였다. 또한 ‘Gold Rich’ 품종이 ‘Shiny Gold’ 품종보다 부정아 발생과 뿌리수가 더 많은 것으로 나타나 품종간 차이를 보였다. 그리고 호르몬처리에 따른 차이는 $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA + $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Kinetin이 첨가된 배지에서 배양된 절편체가 기본배지에서 보다 뿌리수가 더 많이 관찰되었다.

본 실험에서는 프리지아 구경을 횡으로 상중하 3부위로 절단하여 배지위에 정상으로 또는 상하를 거꾸로 뒤집어 치상하였다. 치상 후 5주간 암상태로 배양한 결과, 황색의 많은 부정아와 캘루스를 관찰할 수 있었다. 프리지아 구경 조직배양시 배양초기에 일정기간 암배양이 요구되며 기관분화는 광을 조사한 이후에 가능하다는 기존 결과(Kim et al. 1997; Stimart and Ascher 1982)와 같은 결과를 관찰할 수 있었다. 광조건으로 옮기자 황색의 캘루스와 부정아들은 곧 녹색을 띠기 시작했으며, 부정아와 신초가 신장하기 시작하였다. 특히 절편체를 역위치상했을 때는 정상치상했을 때보다 2.5배에서 7배에 가깝게 많은 부정아 및 신초가 발생하였다. 치상 19주 후에 1개의 절편체로부터 ‘Shiny Gold’는 40개 이상의 신초를, ‘Gold Rich’의 경우는 60개 이상의 신초를 얻을 수 있었다(그림 1-3-3). 이러한 결과는 지금까지 발표되었던 프리지아 기내 급속대량증식에 관한 어떤 결과보다도 효율적인 결과로 보인다. 부정아나 캘루스가 발생하는 부위에 관해서는 정상치상의 경우에는 구경 표피에 있는 액아로부터 많이 발생하였으나, 역위치상한 경우에는 절단면 전면으로부터 부정아와 캘루스가 발생하는 것을 관찰할 수 있었다. 지금까지 구근류의 조직배양시 구근을 횡으로 절단하여 상하를 반대로 치상한 연구결과가 보고된 바 없다. 그렇기 때문에 어떤 기작에 의해 이런 결과가 나왔는지 아직까지는 분명하게 설명하는 데는 무리가 있다. 다만 몇 종류의 식물에서 삽수를 정상으로 치상하는 것 보다 수평이나 거꾸로 치상했을 때, 더 많은 신초가 발생하였다는 보고는 있다. 나리에서는 소화경을 조직배양할 때, 꽃받침에서 가까울수록 그리고 배지에 역위치상했을 때, 정상치상보다 약 5배 정도 더 많은 부정아를 발생시켰다는 보고(Liu and Burger 1986)가 있다. Orlikowska et al. (2000)은 크로톤 (*Codiaeum variegatum*) 절편체를 역위치상했을 때, 그렇지 않은 경우보다 부정아가 많이 발생하였다고 하였고 그 원인에 대해서는 오옥신의 이동이 저해되었기 때문이라고 해석하였다. Kumar et al. (2005)은 고추 (*Capsicum annuum*)의 하배축을 배지에 역위치상했을 때에만 다수의 부정아를 얻을 수 있었으며, 그 주된 원인으로는 극성이 관여하는 것 같다고 고찰하였다. 본 연구 결과도 구경의 절편을 역위치상했을 때 정상치상보다 훨씬 많은 수의 부정아를 얻었지만 그렇다고 해서 선행 연구결과들과 같이 이러한 현상이 오옥신의 이동이나 극성과 관련이 있다고 단정짓기에는 무리가 있어 보인다. 금후 이에 대한 좀더 세밀한 연구가 있어야 하겠다.

그동안 프리지아의 조직배양에 관한 연구로는 생장점 배양에 의한 무병주 생산에 관한 연구가 많이 있었고(Bertaccini et al. 1989; Foxe 1993; Kim et al. 2013; Ko et al. 2003; Song et al. 1998), 구경을 이용한 기내 대량증식에 관한 연구도 있었다 (Bajaj and Pierik 1974). 하지만, 구경을 횡으로 잘라 절편을 반대로 치상(역위치상)했을 때, 부정아와 신초 발생이 획기적으로 증가한다는 것은 본 논문이 최초일 것이다. 결론적으로 프리지아를 기내에서 급속대량증식을 하고자 할 때는 구경을 횡으로 절단하여 상하를 반대로 뒤집어서 치상하는 것이 부정아 발생과 신초 발생에서 가장 좋은 결과를 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

표 1-3-1 프리지아 'Shiny Gold'의 구경 절편 배양시 치상방법과 호르몬 유무에 따른 부정아 및 뿌리 발생

Medium (A)	Planting method (B)	Adventitious bud formation ^z	No. of roots (ea)
MS	Normal	0.5 b ^y	0.5 ab
	Inverted	3.2 a	1.5 ab
MS + 5.0 mg·L ⁻¹ NAA + 5.0 mg·L ⁻¹ Kinetin	Normal	0.7 b	0.3 b
	Inverted	2.7 a	3.3 a
<i>F-test</i>	A	NS	NS
	B	***	*
	A*B	NS	NS

^z Adventitious bud formation grade : 1-5

^y Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at $P=0.05$

NS, *, ***: Nonsignificant or significant at $P \leq 0.05, 0.001$, respectively

표 1-3-2. 프리지아 'Gold Rich'의 구경 절편 배양시 치상방법과 호르몬 유무에 따른 부정아 및 뿌리 발생

Medium (A)	Planting (B)	Adventitious bud formation ^z	No. of roots (ea)
MS	Normal	1.8 b ^y	1.0 bc
	Inverted	4.3 a	4.1 ab
MS + 5.0 mg·L ⁻¹ NAA + 5.0 mg·L ⁻¹ Kinetin	Normal	1.5 b	0.2 c
	Inverted	3.8 a	6.3 a
<i>F-test</i>	A	ns	ns
	B	***	***
	A*B	ns	ns

^z Adventitious bud formation grade : 1-5

^y Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at $P=0.05$

NS, *, ***: Nonsignificant or significant at $P \leq 0.05, 0.001$, respectively

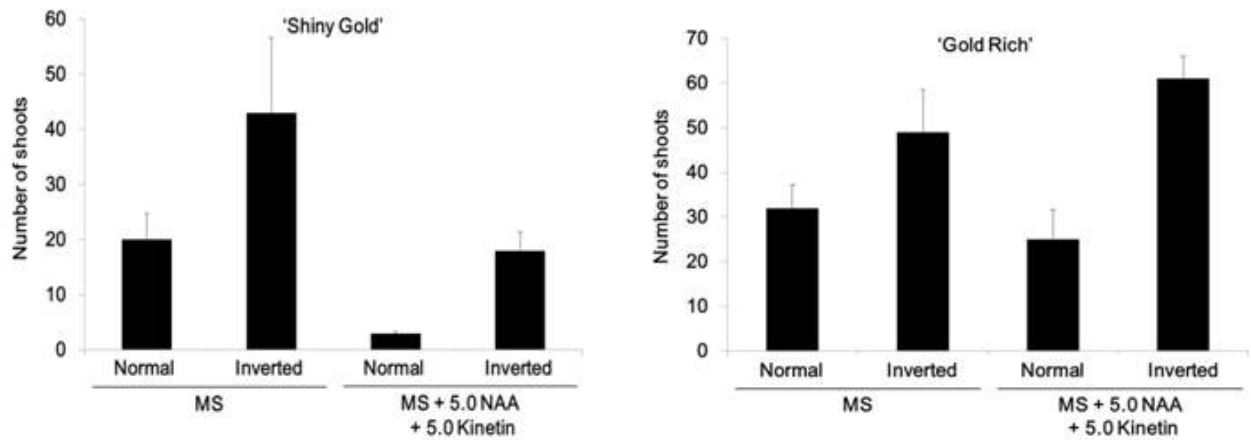


그림 1-3-2. 프리지아 구경 조직배양 시 절편체 치상 방법 (정상치상과 역위치상)에 따른 신초 수 발생 (좌; Shiny Gold, 우: Rich Gold)

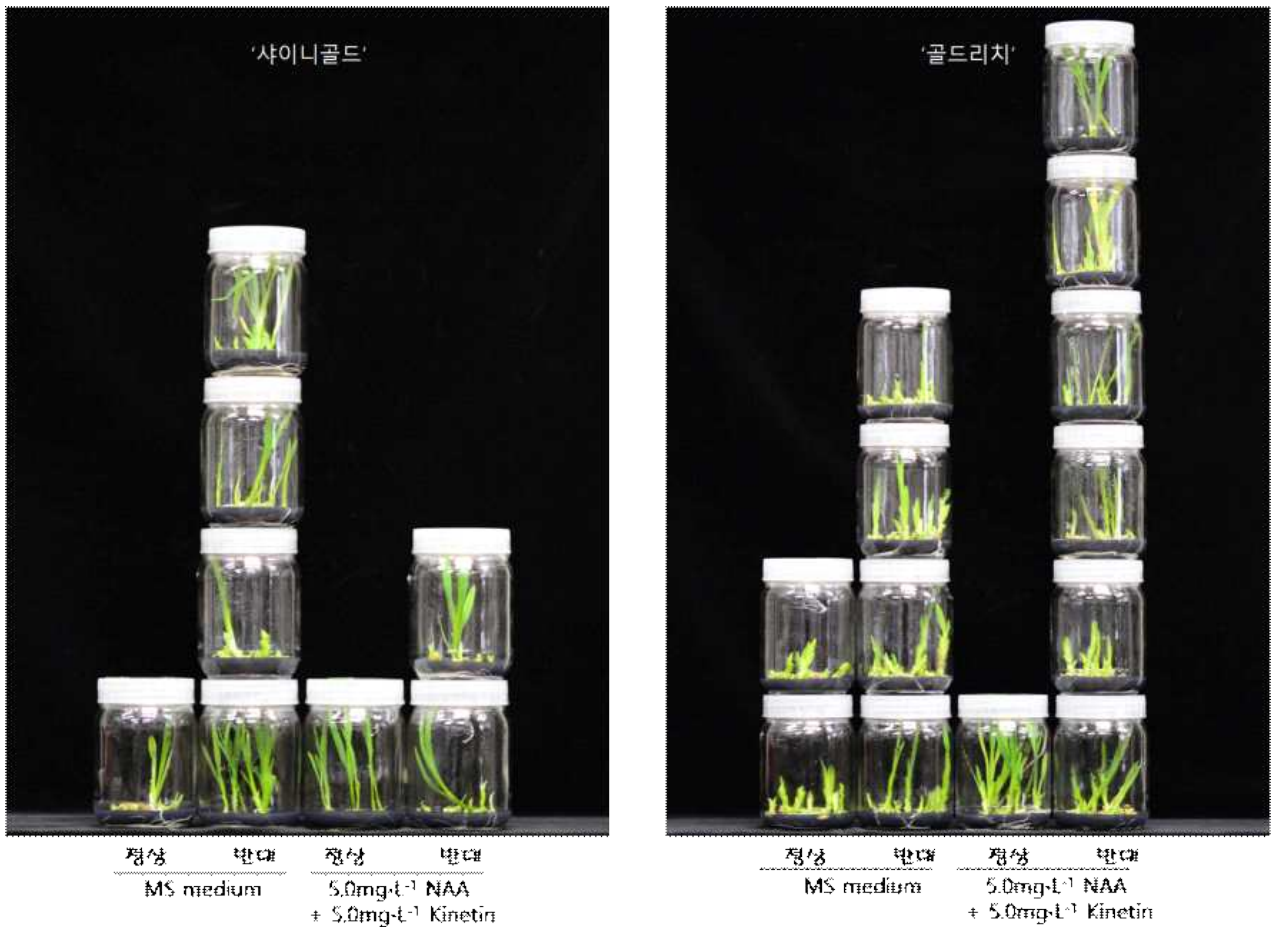


그림 1-3-3. 이식체 치상방법에 따른 프리지아 'Shiny Gold'와 'Gold Rich'의 신초 생육모습 (19주 후)

4. 프리지아 기내 증식시 변이체 발생억제를 위한 천연물질 이용 연구

국내에서 육성된 프리지아(*Freesia refracta*) 품종의 무병종구 농가보급을 위하여 급속 대량증식 기술이 필요한 시점이다. 무병주를 생산하기 위해서는 조직배양기술을 이용하여 생장점 배양을 하고 있다. 조직배양 시 재분화를 위해 식물호르몬을 사용하게 되는데, 이때 변이체가 발생되어 문제가 되고 있다. 변이체 발생 억제를 위해서는 식물 호르몬 대신에 천연물을 이용하는 연구가 필요하다. 본 연구에서는 ‘Shiny Gold’와 ‘Gold Rich’ 두 품종을 기내에서 증식시킬 때 호르몬 대신에 사용할 수 있는 적정 천연물 종류와 농도를 알아보기 위해 실험을 수행하였다.

가. 적정 천연물 종류 및 농도선발 실험 (1차 실험, Sucrose 2%)

실험배지는 MS배지에 sucrose 2%(w/v), agar 0.8%(w/v), 활성탄 0.1%(w/v)로 설정한 후, pH 5.80으로 조정하였다. 대조구는 호르몬을 첨가하지 않은 배지와 $5.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA + $5.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Kinetin을 첨가한 호르몬 배지를 이용하였다. 천연물의 종류 및 농도는 코코넛워터 10, 50, $100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 감자 10, 50, $100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 사과 10, 50, $100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 사과 10, 50, $100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 사과와 감자를 혼합하여 10, 50, $100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 를 이용하였다. 배지는 121°C 에서 15분간 고압증기 멸균하여 petri dish($100\times 40\text{mm}$)에 50mL씩 분주하였다. 배양환경은 $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ 의 암 배양실에서 6주간 배양한 후, 광도 $60\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (16h/8h)의 배양실로 옮겨서 10주간 배양을 하였다.

암 8주 광 3후에 프리지아 ‘Shiny Gold’와 ‘Gold Rich’의 생육조사를 실시한 결과, ‘Shiny Gold’는 호르몬처리에서 부정아 발생 정도, 신초수, 뿌리수가 가장 높은 수치를 보여 생육이 가장 좋은 것으로 나타났으며, 천연물 처리구에서는 부정아 발생율 등 모든 지표에서 현저하게 떨어졌다. 그러나 Gold Rich는 사과 10mL/L처리에서 호르몬처리구보다 부정아 발생정도와 최대초장, 뿌리수가 좋은 것으로 나타났다(표 2-1-1, 그림 2-1-1). 암 8주 광 10후에 프리지아 ‘Shiny Gold’와 ‘Gold Rich’의 생육조사를 실시한 결과, ‘Shiny Gold’는 무처리와 호르몬처리에서 부정아발생정도가 가장 높은 수치를 보여 생육이 가장 좋은 것으로 나타났다. 또한 사과 10mL/L와 감자 5mL+사과 5mL, 감자 25mL+사과 25mL에서도 부정아 발생정도가 매우 높게 나타났다. ‘Gold Rich’는 호르몬처리와 사과 50mL/L처리에서 부정아발생정도와 뿌리수가 가장 높은 수치를 보였다. 하지만 ‘Shiny Gold’의 경우, 부정아 발생 정도가 낮은 것은 sucrose 농도(2%) 낮았기 때문인 것으로 판단하여 향후 sucrose 3%로 이용하기로 하였다(표 2-1-2, 그림 2-1-2).

표 2-1-1. 천연물의 종류 및 농도가 'Shiny Gold'와 'Gold Rich'의 신초 생육에 미치는 영향
(암 8주 후, 광 3주)

품종	처리 ^y	부정아 발생 정도 ^x	신초수 (ea/explant)	최대 초장 (cm)	뿌리수 (ea/explant)
Shiny Gold	1	0.67bc ^z	3.60b	1.35a	0.33b
	2	4.00a	6.67a	1.34a	6.47a
	3	0.25bc	0.92c	0.38ab	1.17b
	4	0.00c	0.00c	0.00b	0.00b
	5	0.07bc	0.07c	0.07ab	0.60b
	6	0.07bc	0.27c	0.02b	0.00b
	7	0.13bc	0.27c	0.03b	0.07b
	8	0.00c	0.00c	0.00b	0.00b
	9	0.73b	1.13c	0.27ab	0.53b
	10	0.17bc	0.58c	0.79ab	0.08b
	11	0.33bc	0.67c	0.13ab	0.33b
	12	0.27bc	0.53c	0.03b	0.07b
	13	0.56bc	1.00c	0.39ab	0.44b
	14	0.00c	0.00c	0.00b	0.00b
Gold Rich	1	3.11ab	2.00a	0.10ab	1.78ab
	2	3.11ab	1.33a	0.21ab	1.11b
	3	1.67bcde	2.56a	0.17ab	0.33b
	4	2.00abcd	0.78a	0.20ab	0.67b
	5	1.22cefd	0.22a	0.08ab	0.00b
	6	0.56def	1.67a	0.02b	0.00b
	7	0.00f	0.00a	0.00b	0.00b
	8	0.00f	0.00a	0.00b	0.00b
	9	3.44a	1.22a	0.42a	3.44a
	10	2.44abc	2.00a	0.34ab	1.22b
	11	1.67bcde	1.11a	0.28ab	0.00b
	12	1.22cefd	1.22a	0.08ab	0.33b
	13	0.33ef	0.00a	0.00b	0.00b
	14	0.22ef	0.00a	0.00b	0.00b

^z부정아 발생 정도 0-5

^yDuncan's의 다중검정 $P=0.05$

^x1, Control; 2, $5.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA+ $5.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Kinetin; 3, 코코넛워터 $10\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$; 4, 코코넛워터 $50\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$; 5, 코코넛워터 $100\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$; 6, 감자 $10\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$; 7, 감자 $50\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$; 8, 감자 $100\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$; 9 사과 $10\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$; 10, 사과 $50\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$; 11, 사과 $100\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$; 12, 감자 $5\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$ +사과 $5\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$; 13, 감자 $25\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$ +사과 $25\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$; 14, 감자 $50\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$ +사과 $50\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$.

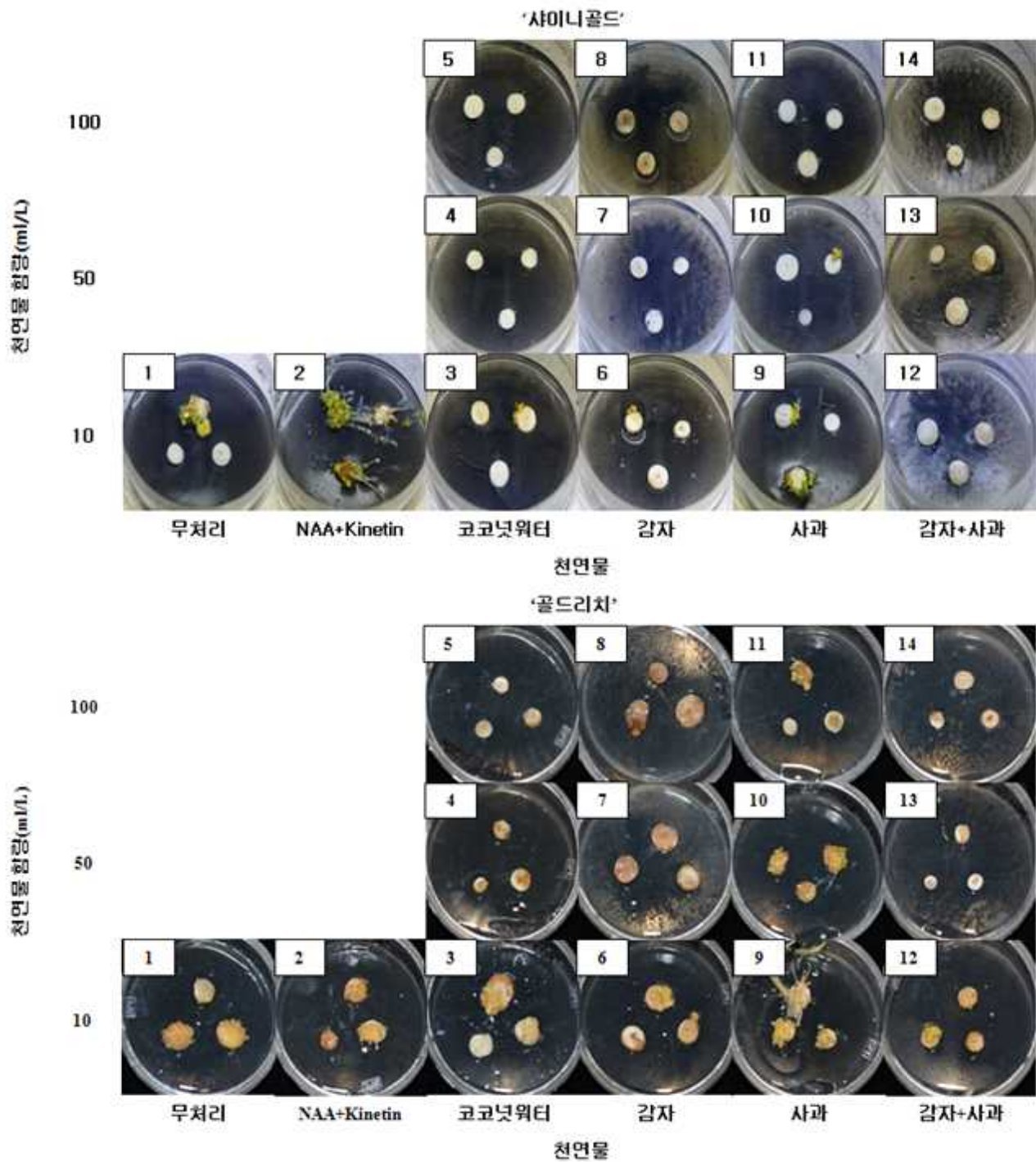


그림 2-1-1. 천연물의 종류 및 농도가 ‘Shiny Gold’와 ‘Gold Rich’의 부정아 및 신초 생육에 미치는 영향(암 8주 후, 광 3주). 각 번호에 대한 설명은 표 2-1-1과 동일함

표 2-1-2. 천연물의 종류 및 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’와 ‘Gold Rich’의 생육에 미치는 영향(암 8주, 광 10주)

품종	처리 ^y	부정아 발생 정도 ^x	신초수 (ea/explant)	최대 초장 (cm)	뿌리수 (ea/explant)
Shiny Gold	1	3.20az	2.60a	3.90a	3.20a
	2	4.07a	1.20a	2.51a	6.08a
	3	2.00abc	1.33a	3.17a	3.33a
	4	0.00c	0.00a	0.00a	0.00a
	5	0.50bc	0.50a	8.00a	1.50a
	6	0.50bc	1.00a	4.00a	1.50a
	7	1.00bc	1.00a	2.10a	1.00a
	8	1.00bc	3.50a	0.50a	3.00a
	9	3.00abc	1.00a	0.50a	1.50a
	10	1.67abc	0.33a	5.33a	1.00a
	11	2.33abc	0.67a	4.40a	3.33a
	12	3.00abc	0.50a	5.00a	1.00a
	13	3.00abc	1.67a	1.73a	2.00a
	14	1.50abc	1.50a	4.00a	2.00a
Gold Rich	1	2.89ab	1.11a	3.44a	0.78ab
	2	3.89a	0.44a	1.00a	0.56ab
	3	1.78bc	0.00a	0.00a	0.00b
	4	3.00ab	0.33a	0.78a	0.44b
	5	1.56bcd	0.17a	0.22a	0.11b
	6	1.11cd	0.22a	0.22a	0.67ab
	7	0.00d	0.00a	0.00a	0.00b
	8	0.00d	0.17a	0.00a	0.11b
	9	2.89ab	1.11a	3.22a	0.56ab
	10	4.50a	0.70a	1.50a	1.67a
	11	1.83bc	0.00a	0.00a	0.00b
	12	1.83bc	0.20a	0.83a	0.33b
	13	0.56cd	0.00a	0.00a	0.00b
	14	0.44cd	0.00a	0.00a	0.00b

^z부정아 발생 정도 0-5

^yDuncan's의 다중검정 $P=0.05$

^x표 2-1-1과 동일함

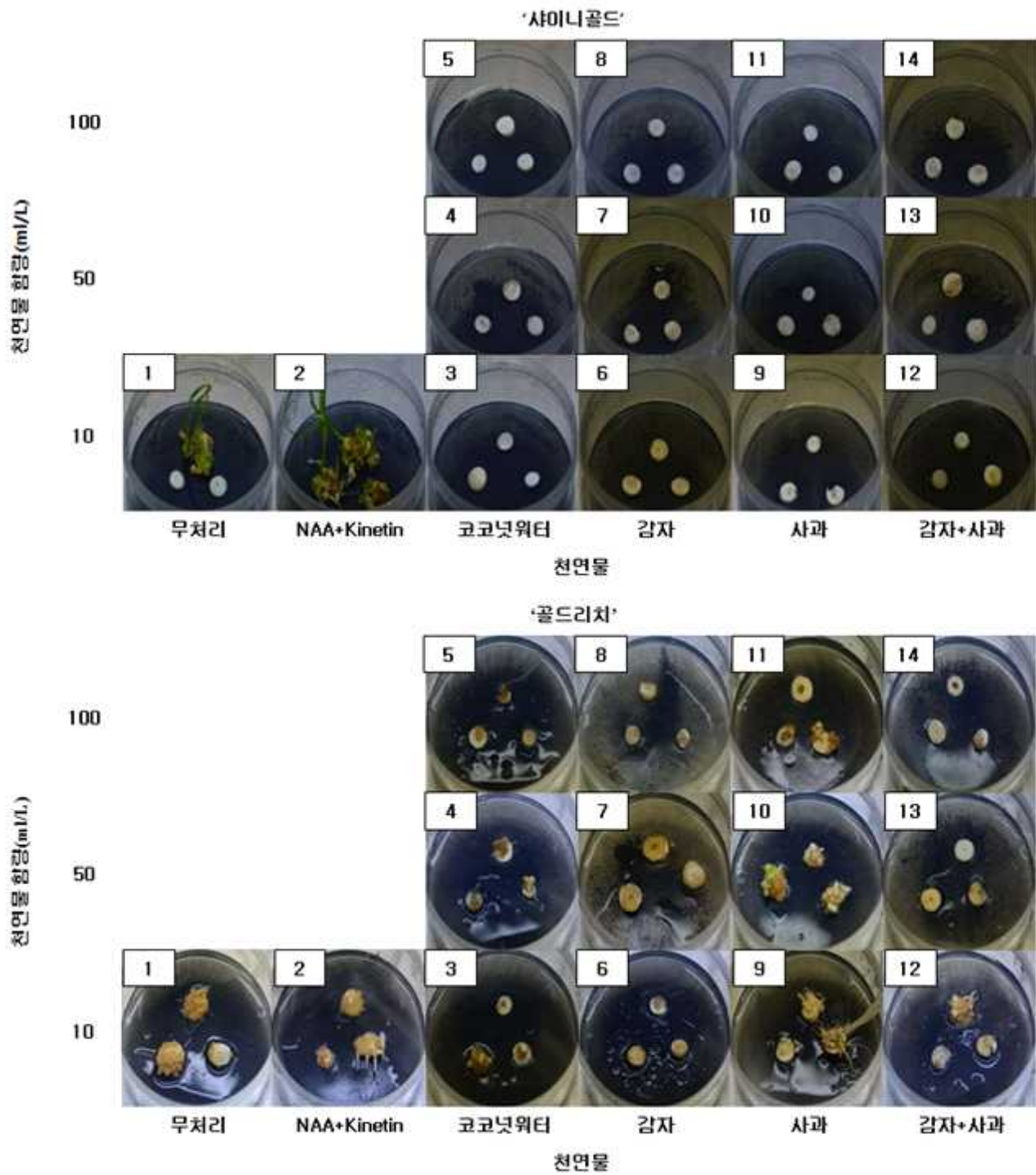


그림 2-1-2. 천연물의 종류 및 농도가 ‘Shiny Gold’와 ‘Gold Rich’의 생육에 미치는 영향(암 8주, 광 10주). 각 번호에 대한 설명은 표 2-1-1과 동일함

나. 적정 천연물 종류 및 농도 선발 실험 (2차, sucrose 3%)

1차 실험에서 sucrose 농도를 2%로 한 결과 기대했던 결과를 얻을 수 없었다. 따라서 sucrose 농도를 3%로 높이고 동일한 실험을 반복 수행하였다. 식물재료는 기내에서 배양된 프리지아 ‘Shiny Gold’의 구경을 황으로 절단하여 이용하였다. 실험배지는 MS배지에 sucrose 3%(w/v), agar 0.8%(w/v), 활성탄 0.1%(w/v)로 설정한 후, pH 5.80으로 조정하였다. 대조구는 호르몬을 첨가하지 않은 배지와 $5.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA + $5.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Kinetin을 첨가한 호르몬 배지를 이용하였다. 천연물의 종류 및 농도는 코코넛워터 10, 50, $100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 감자 10, 50, $100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 사과 10, 50, $100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 사과 10, 50, $100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 사과와 감자를 혼합하여 10, 50, $100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 를 이용하였다. 배지는 121°C 에서 15분간 고압증기멸균하여 Petri Dish($100 \times 40 \text{ mm}$)에 50mL씩 분주하였다. 배양환경은 $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 의 암 배양실에서 6주간 배양한 후, 광도 $60\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (16h/8h)의 배양실로 옮겨서 10주간 배양을 하였다. 생육조사는 암배양후 광배양 3주와 10주에 수행하였다.

몇 가지 과일즙액을 이용하여 프리지아 신초를 암상태에서 6주간 배양 후 광상태로 옮기고 다시 3주 후에 생육조사를 수행한 결과는 표 2-1-3과 그림 2-1-3, 2-1-4와 같다. ‘Shiny Gold’의 경우 부정아는 호르몬 처리구에서 가장 많이 발생하였으며(그림 2-1-3), 호르몬을 처리하지 않은 대조구에서도 부정아는 많이 발생하였다. 천연물 처리 중에서는 사과즙액과 사과+감자즙액에서 가장 많은 부정아가 관찰되었다. 이식체당 신초수는 호르몬 처리구에서 6.67개로 가장 높았으며 다음이 무처리구로 3.6개였다. 그러나 호르몬 무처리구에서 부정아수가 많았기 때문에 시간이 지남에 따라 신초수가 많아질 것으로 예상되었다. 이러한 결과는 프리지아의 경우 호르몬을 처리하지 않아도 구경 이식체로부터 많은 부정아와 신초를 얻을 수 있다는 결과를 보여 주었다.

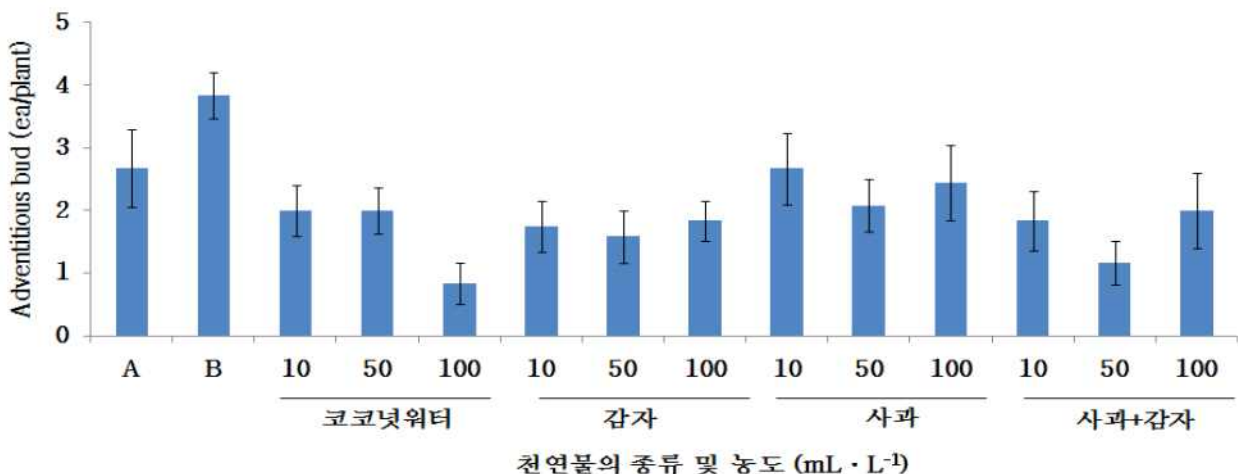


그림 2-1-3. 천연물의 종류 및 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’의 부정아 발생에 미치는 영향 (암 6주후, 광 3주) A, MS medium; B, MS medium + NAA $5.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + Kinetin $5.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

표 2-1-3. 천연물의 종류 및 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생육에 미치는 영향 (암 6주 후, 광 3주)

처리 ^x		신초수 (ea/explant)	최대근장 (cm)	뿌리수 (ea/explant)
MS배지		3.60b ^z	1.35b	0.33b
MS배지 + 5.0mg·L ⁻¹ NAA + 5.0mg·L ⁻¹ Kinetin		6.67a	1.34a	6.47a
코코넛워터 (mL)	10	0.92c	0.38b	1.17b
	50	0.00c	0.00b	0.00b
	100	0.07c	0.07b	0.60b
감자 (mL)	10	0.27c	0.02b	0.00b
	50	0.27c	0.03b	0.07b
	100	0.00c	0.00b	0.00b
사과 (mL)	10	1.13c	0.27b	0.53b
	50	0.58c	0.79b	0.08b
	100	0.67c	0.13b	0.33b
사과+감자 (mL)	10	0.53c	0.03b	0.07b
	50	1.00c	0.39b	0.44b
	100	0.00c	0.00b	0.00b

^zDuncan's의 다중검정 $P=0.05$

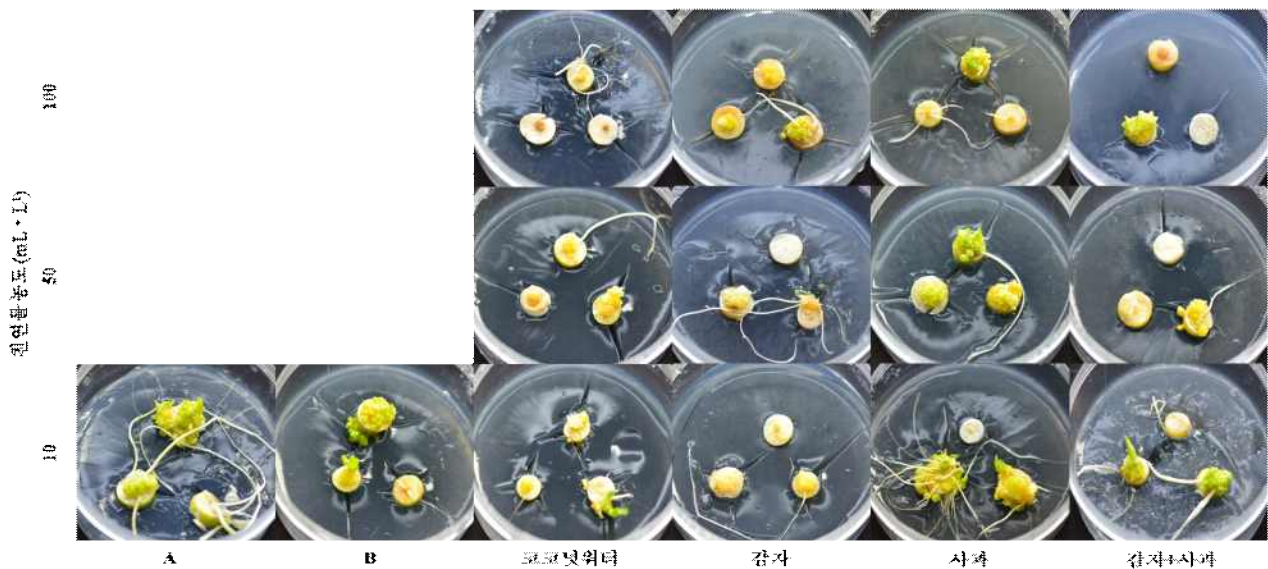


그림 2-1-4. 천연물의 종류 및 농도에 따른 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생육에 미치는 영향 (암 6주 후, 광 3주) A, MS배지; B, MS배지+NAA 5.0mg·L⁻¹+Kinetin 5.0mg·L⁻¹.

광상태로 옮긴 후 10주째에 생육조사를 수행한 결과는 표 2-1-4, 그림 2-1-5 및 2-1-6과 같다. 부정아는 호르몬 처리구에서 4.7개로 가장 높았으며 다음이 무처리구와 사과즙액 처리구 그리고 감자 처리구에서 비슷한 수준으로 발생하였다 (표 2-1-5, 그림 2-1-5). 신초수는 무처

리구에서 5.25개로 가장 많이 발생하였으며 다음으로 사과즙액 100mL에서 3.11개로 높았다. 이러한 결과로부터 프리지아 구경 절편으로부터 부정아나 신초를 얻기 위해서는 호르몬을 사용하지 않아도 된다는 판단을 하게 되었다. *Dendrobium* ‘Candidum’의 PLB를 증식할 때, 천연물을 첨가하지 않는 것이 효과적이라고 하였다(Zhang et al. 1992). 하지만 다양한 천연물과 농도가 *Dendrobium* ‘Alya Pink’의 PLB 생육에 미치는 영향을 조사한 결과, 다른 천연물에 비해 코코넛을 첨가한 처리에서 PLB 생산에 효과적이라고 보고하였으며(Nambiar et al. 2012) 코코넛에는 각종 아미노산, 지방산, 무기물이 풍부하게 포함되어 있고(Santoso et al. 1996; Nambiar et al. 2012) 천연 호르몬인 cytokinin과 auxin이 함유되어 있어(Agampodi et al. 2009) 다른 천연물보다 배양체의 생장에 효과적이라는 보고되고 있다. 결론적으로 신초를 기내 급속대량증식하고자 할 때는 호르몬을 사용하지 않아도 많이 발생한다는 것을 알 수 있었으며 천연물을 사용할 경우에는 사과즙을 첨가한 배지를 이용하는 것 좋은 것으로 생각된다.

표 2-1-4. 천연물의 종류 및 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생육에 미치는 영향 (암 6주 후, 광 10주)

처리		신초수 (ea/explant)	최대근장 (cm)	뿌리수 (ea/explant)	생체중 (g/shoot)
무처리		5.25a ^z	6.04ab	3.10ab	0.28b
호르몬		2.00b	4.62bc	4.78a	0.24b
코코넛 워터 (mL·L ⁻¹)	10	2.17b	4.33bc	1.42b	0.29ab
	50	2.92ab	2.80bc	1.25b	0.17b
	100	0.33b	0.75c	1.67ab	0.09b
감자 (mL·L ⁻¹)	10	0.75b	2.42bc	1.25b	0.17b
	50	0.82b	4.18bc	1.91ab	0.43ab
	100	1.42b	3.08bc	1.00b	0.17b
사과 (mL·L ⁻¹)	10	1.08b	4.63bc	4.75ab	0.51ab
	50	1.92b	9.38a	2.42ab	0.76a
	100	3.11ab	3.61bc	4.33ab	0.30ab
사과+감자 (mL·L ⁻¹)	10	1.75b	4.96abc	1.33b	0.44ab
	50	1.25b	2.79bc	1.83ab	0.19b
	100	1.92b	4.03bc	1.83ab	0.25b

^zDuncan's의 다중검정 $P=0.05$

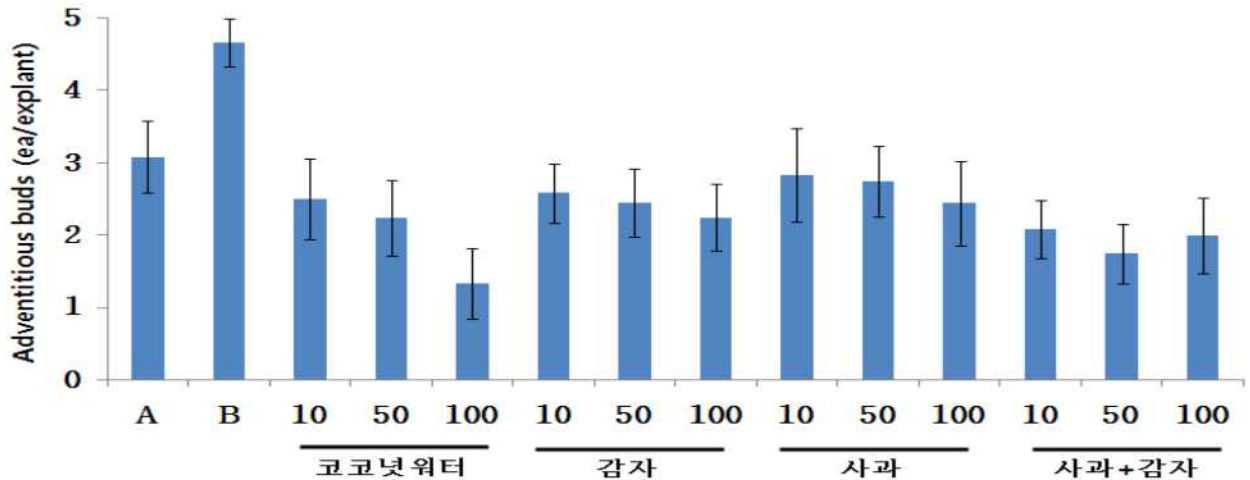


그림 2-1-5. 천연물의 종류 및 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’의 부정아발생에 미치는 영향 (암 6주 후, 광 10주) A, MS medium; B, MS medium + NAA $5.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + Kinetin $5.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

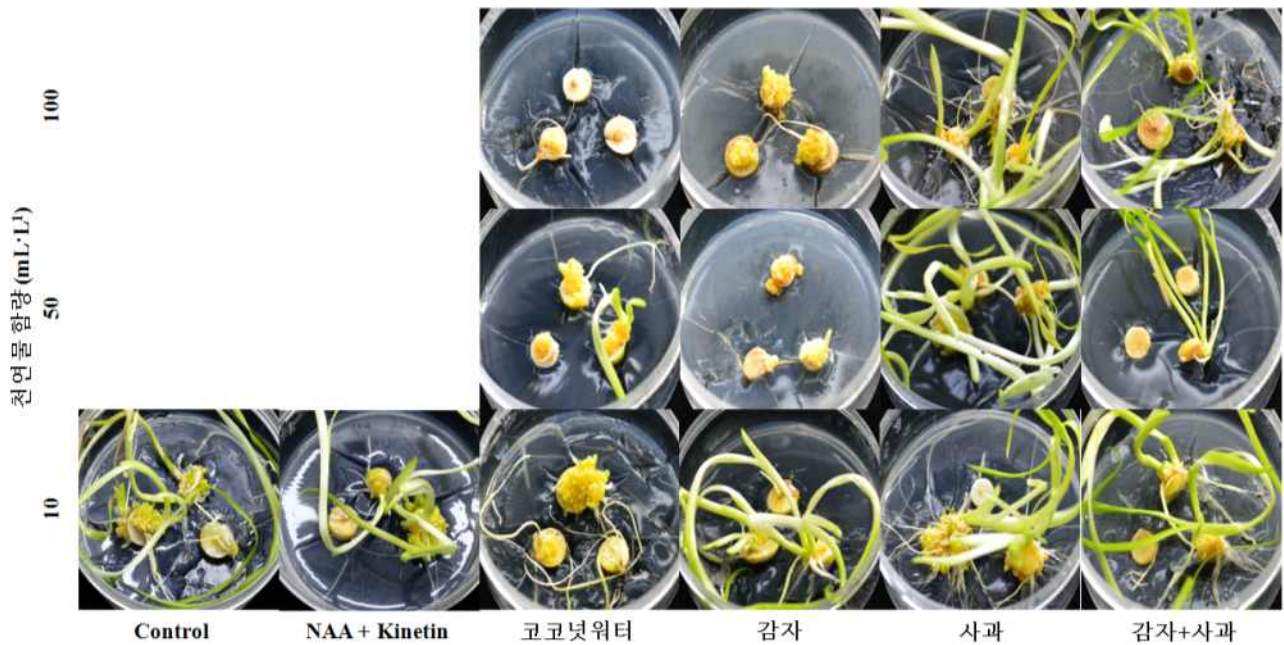


그림 2-1-6. 천연물의 종류 및 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생육에 미치는 영향 (암 6주 후, 광 10주)

5. 기내 자구비대와 대량생산을 위한 적정 sucrose 농도와 온도 구명

프리지아의 신초를 고농도의 sucrose (20%)가 포함된 고형배지에 치상을 하고 17℃에서 오랫동안 배양을 하면 자구가 형성된다고 알려져 있다. 그러나 신초를 어느 정도 크기를 이식하는게 좋은지 ? 그리고 세밀한 sucrose농도와 배양온도에 대한 검토가 필요한 실정이다. 본 연구에서는 신초의 뿌리를 제거했을 때와 제거하지 않고 치상했을 때를 비교하고 sucrose 농도와 배양온도에 대한 검토를 수행하였다.

1) 기내자구 비대를 위한 적정 sucrose 농도와 온도 구명 (1차 실험, 뿌리 제거)

1차 실험으로 신초를 자구 비대용 이식체로 사용할 때, 신초의 하부에 있는 뿌리를 완전히 제거하고 치상하는 방법을 이용하였다. 식물재료는 기내에서 배양된 프리지아 ‘Shiny Gold’, ‘Gold Rich’, ‘Song of Heaven’의 구경 이식체로부터 신초를 유기시켜 이용하였다. 7-8cm 신초의 뿌리를 제거하고, 실험에 이용하였다. 실험배지는 MS배지를 기본배지로 하여 agar 0.8%(w/v), 활성탄 0.1%(w/v)로 설정한 후, pH 5.80으로 조절하였다. Sucrose 농도는 14, 17, 20, 23% 4가지로 하였다. 배지는 121℃에서 15분간 고압증기 멸균하여 마요네즈병에 50mL씩 분주하였다. 배양조건은 17, 22℃의 plant growth chamber에서 암 상태에서 10개월간 배양하였다. Sucrose농도와 온도처리는 다음 표 2-2-1과 같다. 생육조사는 암상태에서 10개월 배양한 후에 자구수, 구경, 구고, 구생체중, 구건물중을 조사하였다.

표 2-2-1. Sucrose농도 및 온도

처리	온도 (℃)	Sucrose (%)
1	17	14
2	17	17
3	17	20
4	17	23
5	22	14
6	22	17
7	22	20
8	22	23

온도와 sucrose 농도에 대한 프리지아 자구형성 반응은 품종에 따라 크게 다르게 나타났다. 프리지아 ‘Shiny Gold’는 온도 17℃ sucrose 14% 에서 구경이 가장 좋은 것으로 나타났다 (표 2-2-2, 그림 2-2-1). 22℃에서는 자구 비대가 17℃에 비해 훨씬 적게 이루어진 것으로 나타났다. ‘Gold Rich’는 모든 처리에서 자구 비대가 현저하게 낮은 것으로 나타났다. 심지어 온도가 달라도 유의한 차이가 보이지 않았다. ‘Song of Heaven’은 온도 17℃ sucrose 20%에서 자구 생체중, 구경, 구고 등에서 가장 좋은 것으로 나타났다. 22℃에서는 sucrose 농도와 상관없이 구비대 생장이 떨어지는 것으로 나타났다. 따라서 프리지아의 자구 비대를 위해서는 17℃가 가장 적절한 온도이며 sucrose 농도는 17-20% 범위인 것으로 판단되었다. 자구비대에 뿌리의 유무가 영향이 있을 것으로 보여 다음 실험에서는 뿌리를 제거하지 않고 2차 실험을 수행하기로 하였다.

표 2-2-2. Sucrose 농도와 온도가 프리지아 ‘Shiny Gold’, ‘Gold Rich’, ‘Song of Heaven’의 자구 비대에 미치는 영향 (치상 10개월 후)

품종	온도 (℃)	Sucrose (%)	자구수 (ea/explant)	구경 (mm)	구고 (mm)	구생체중 (g/plant)	구건물중 (g/plant)
Shiny Gold	17	14	0.78a ^z	5.90a	6.23a	0.38a	0.21a
		17	0.33a	3.10ab	3.61a	0.20a	0.14a
		20	0.56a	3.81ab	4.53a	0.18a	0.10a
		23	0.44a	3.37ab	4.53a	0.23a	0.16a
	22	14	0.11a	0.78b	1.05a	0.03a	0.01a
		17	0.33a	1.63ab	4.64a	0.50a	0.26a
		20	0.89a	4.00ab	4.45a	0.29a	0.14a
		23	0.67a	5.06ab	5.65a	0.63a	0.39a
Gold Rich	17	14	0.22a	1.93a	1.98a	0.11a	0.06a
		17	0.22a	1.95a	2.77a	0.16a	0.10a
		20	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
		23	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
	22	14	0.22a	1.42a	2.32a	0.07a	0.02a
		17	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
		20	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a	0.00a
		23	0.22a	0.87a	0.94a	0.05a	0.02a
Song of Heaven	17	14	0.33ab	2.67bc	5.70bcd	0.28bcd	0.18ab
		17	0.33ab	2.40bc	3.33cd	0.14cd	0.07c
		20	1.00ab	11.99a	16.60a	1.52a	0.83a
		23	1.22a	5.99b	8.73bc	0.60b	0.36b
	22	14	0.22b	1.27c	2.40cd	0.05d	0.02c
		17	0.78ab	5.60b	10.55ab	0.52bc	0.19ab
		20	0.11b	0.62c	0.80d	0.02d	0.01c
		23	0.78ab	2.70bc	4.10bcd	0.25bcd	0.06c

^zDuncan's의 다중검정 $P=0.05$

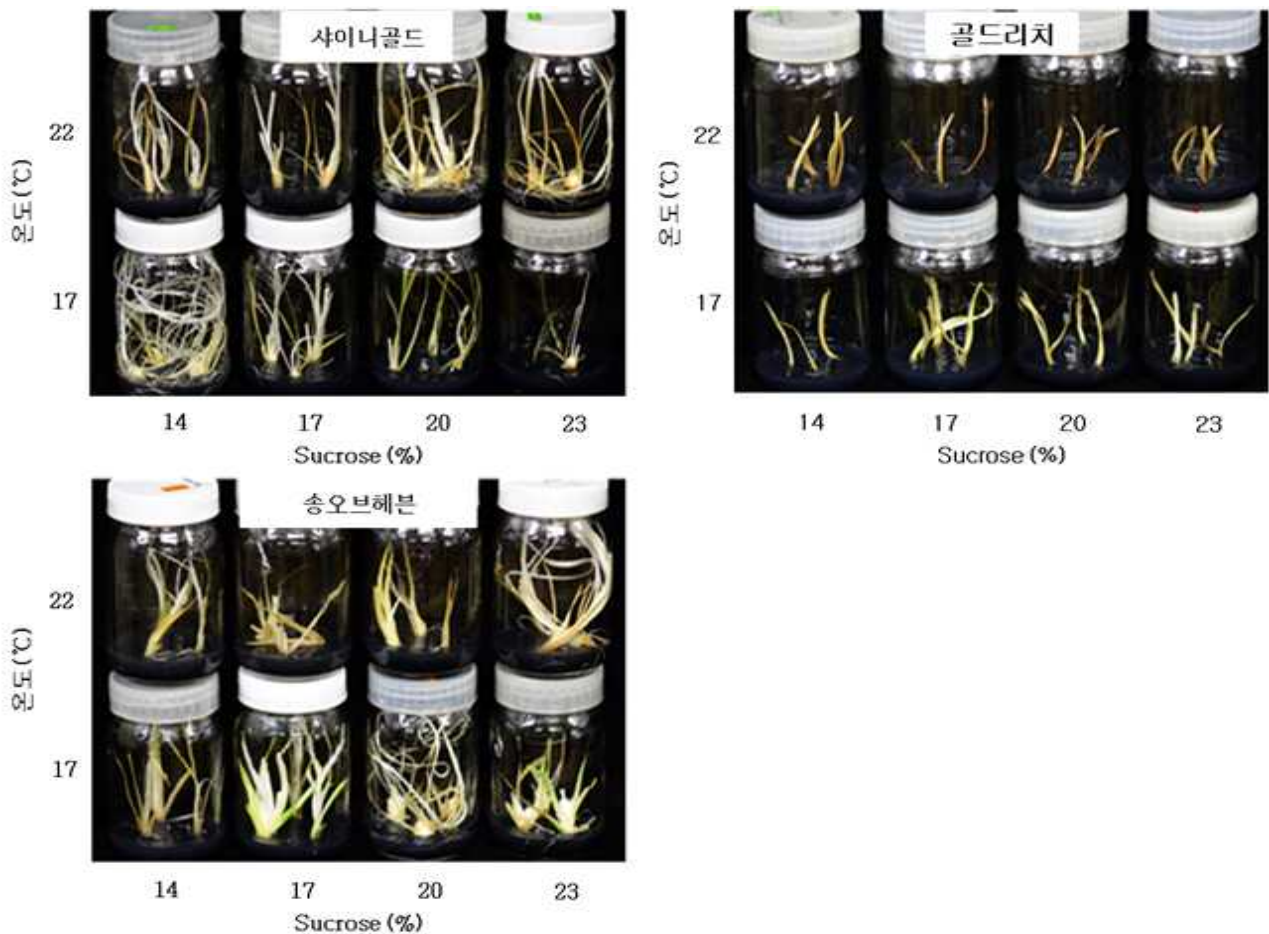


그림 2-2-1. Sucrose 농도와 온도에 따른 프리지아 ‘Shiny Gold’, ‘Gold Rich’, ‘Song of Heaven’의 자구 비대 모습 (10개월)

2) 기내 자구비대를 위한 적정 sucrose 농도와 온도 구명 (2차 실험, 뿌리 남김)

상기 실험에서는 신초의 뿌리를 제거하고 치상한 결과를 보여 주었다. 본 실험에서는 신초의 뿌리를 제거하지 않고 치상하여 그 결과를 보고자 실험을 수행하였다. 식물재료는 기내에서 배양된 프리지아 ‘Shiny Gold’의 신초(7-8cm)를 이용하였으며, 이번에는 신초로부터 뿌리를 제거하지 않고 실험에 이용하였다. 실험배지는 MS배지에 agar 0.8%(w/v), 활성탄 0.1%(w/v)로 설정한 후, pH 5.80으로 조절하였다. Sucrose 농도는 14, 17, 20, 23% 4가지로 하였다. 배지를 마요네즈병에 50mL씩 분주하고, 121°C에서 15분간 고압증기 멸균하였다. 배양조건은 17°C와 22°C의 plant growth chamber에서 암 상태로 10개월간 배양하였다. sucrose 농도와 온도 처리는 다음 표 2-2-3과 같다. 생육조사는 암상태에서 10개월 배양한 후에 자구수, 구경, 구고, 구생체중, 구건물중을 조사하였다.

표 2-2-3. Sucrose 농도 및 온도

처리	온도 (°C)	Sucrose (%)
1	17	14
2	17	17
3	17	20
4	17	23
5	22	14
6	22	17
7	22	20
8	22	23

자구 비대를 위하여 17°C와 22°C에서 신초를 배양 했을 때, 자구 비대 효과는 17°C에서 크게 높게 나타났다. 구생체중과 구경에서 뚜렷하게 17°C구에서 좋은 것으로 나타났다(표 2-2-3). Sucrose 농도에서는 20%에서 배양 온도와 상관없이 구비대가 가장 큰 것으로 나타났다. 23%에서도 대체적으로 구비대가 잘 이루어지고 있으나 여러 조사항목을 종합해서 관찰할 때 20%에서 가장 좋다고 판단되었다 (표 2-2-3, 그림 2-2-2). 결론적으로 신초에서 뿌리를 제거하거나 제거하지 않거나 그 결과는 비슷한 것으로 판단되었다.

표 2-2-3. 온도 및 sucrose 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’의 자구 비대에 미치는 영향 (10개월)

온도 (°C)	Sucrose (%)	자구수 (ea/shoot)	구경 (mm)	구고 (mm)	구생체중 (g/shoot)	구건물중 (g/shoot)
17	14	1.00a ^z	8.18cd	14.20cd	0.62bcd	0.30cd
	17	1.00a	10.10bc	17.16bc	1.06ab	0.40bcd
	20	1.00a	13.96a	18.25a	2.28a	1.00a
	23	1.00a	12.53ab	15.87ab	1.68abc	0.81ab
22	14	1.00a	8.06cd	8.05cd	0.39e	0.13d
	17	1.00a	7.08d	8.87d	0.28e	0.10d
	20	1.00a	12.00ab	13.24ab	1.27cd	0.51bc
	23	1.00a	10.52bc	11.28bc	0.91de	0.47bcd

^zDuncan's의 다중검정 $P=0.05$

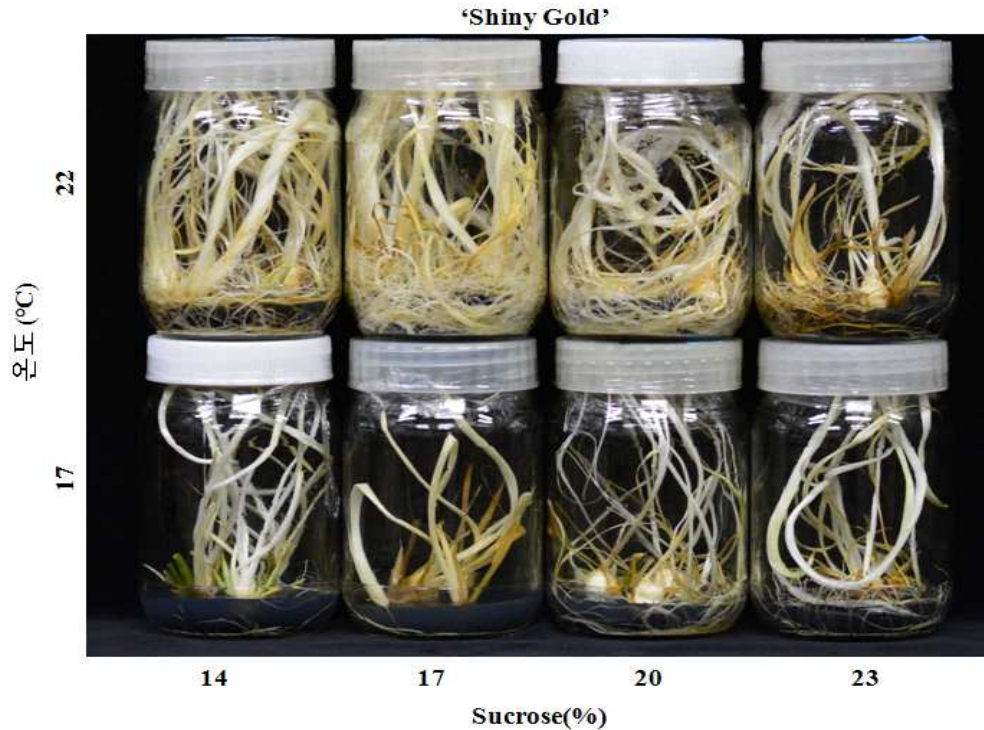


그림 2-2-2. 온도 및 sucrose 농도가 자구 비대에 미치는 영향 (10개월)

6. 액체진탕배양에 의한 기내 자구 비대 기술 개발

조직배양 시 액체배지를 이용하면 이식체의 생육이 고체배지에 비해 훨씬 촉진된다는 연구결과들이 계속 보고되고 있다. Han (2011)은 유색칼라의 신초생육에 대한 고체 배지와 액체 배지를 비교한 결과 비록 신초 발생수는 고체배지보다 적었지만 신초의 생육은 액체배지에서 월등히 뛰어났다고 보고 하였다. 이와 같이 액체배지에서 신초발생이 촉진되는 현상은 아나나스 (*Ananascomosus*) (Firoozabadyand Gutterson 2003), *Cameliasinensis*(Sandal et al. 2001), *Droseraallice*와 *Drosera binate* (Kawiak et al. 2003) 등에서도 보고되었다. 또한 Eum et al. (2010)은 나리 인편을 액체진탕배양했을 때, 고체배지에서 보다 구 비대가 크게 촉진되었다고 하였다.

이와 같이 액체진탕배양을 이용하면 고체배지에서보다 절편체의 생육과 자구비대가 크게 촉진되는 효과가 있는 것을 알 수 있다. 따라서 본 연구에서는 액체진탕배양을 이용하여 국내 육성 프리지아 ‘Shiny Gold’의 신초 생육 및 구경 비대에 효율적인 환경조건을 구명하여 기내 급속 대량증식 기술을 확립하고자 실험을 수행하였다.

1) 프리지아 액체배양 시 신초생육을 위한 적정 MS 배지 농도 선발

식물재료는 기내에서 배양된 프리지아 ‘Shiny Gold’, ‘Gold Rich’를 이용하였으며, 3cm 신초의 뿌리를 제거하고, 실험에 이용하였다. 실험배지는 MS배지에 sucrose 3%(w/v), agar 0.8%(w/v)로 설정한 후, pH 5.80으로 조절하였다. MS 배지농도는 1/4, 1/2, 1배로 하였다. 배지는 100mL 삼각플라스크에 배지를 50mL씩 분주한 후, 121℃에서 15분간 고압증기멸균 하였다. 삼각플라스크당 유식물체(신초)를 5개씩 치상한 후 온도 23±1℃, 광도는 60μmol·m⁻²·s⁻¹(16h/8h), 130rpm의 액체진탕배양기에서 4주간 배양을 하였다. 생육조사는 배양 4주

후에 신초수, 최대초장, 뿌리수, 최대근장, 생체중, 건물중, 배지의 pH, EC를 조사하였다.

프리지아 ‘Shiny Gold’와 ‘Gold Rich’ 모두 1/2배 MS배지에서 신초의 생체중이 가장 높게 나타났다 (그림 2-3-1, 그림 2-3-2, 표 2-3-1). 초장과 최대 근장도 1/2배 배지에서 가장 좋았다. *Centaurium erythraea*을 액체배지에서 배양하였을 때 고체배지에서보다 3배 이상의 신초를 얻을 수 있었다고 하였다(Piatczak et al. 2005). 오미자(*Schisandra chinensis*)의 조직 배양시 저농도의 무기염 배지에서 체세포 발생과 식물체 재분화가 잘 이루어졌다고 하였다(Chen et al. 2010). 유색 칼라의 신초 생육에 대한 고체배지와 액체배지를 비교한 결과 비록 신초 발생수는 고체배지보다 적었지만 신초 생육은 액체배지에서 월등히 뛰어났던 것으로 보고되었다(Han 2011). *Dahlia*의 신초는 고체배지에서보다 액체배지에서 4배나 생육이 빨랐다(De klerk and Brugge 2011). 이와 같이 액체배지에서 신초 발생 및 생육이 촉진되는 현상은 *Camellia sinensis* (Sandal et al. 2001), *Ananas comosus* (Firoozabady and Gutterson 2003), *Drosera* ‘Allice’와 *Drosera* ‘Binate’ (Kawiak et al. 2003), 장미 (Pati et al. 2006) 등에서도 보고되었다. 하지만 고구마 ‘율미’의 고체배양 시, 1배 MS배지에서 초장이 12.0cm로 가장 길었고, 절간수는 14.3개로 가장 많았으며 신초와 뿌리의 생체중에서 좋은 것으로 나타났다. 결론적으로 프리지아 부정아로부터 신초를 성장시키기 위해서는 1/2배 MS 액체배지가 가장 좋은 것으로 판단되었다.

표 2-3-1. 액체진탕배양 시 MS배지 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’와 ‘Gold Rich’의 신초 생육에 미치는 영향 (4주)

품종	MS배지 (strength)	신초수 (ea/shoot)	초장 (cm)	뿌리수 (ea)	근장 (cm)	pH	EC (mS)
샤이니 골드	1/4	1.00a ^z	8.90b	1.20a	1.10c	4.18a	6.79a
	1/2	1.00a	12.35a	1.67a	5.36a	4.05a	4.05b
	1	1.00a	7.25c	1.47a	3.27b	4.71a	4.71b
골드 리치	1/4	1.00a	8.85a	0.73ab	2.30b	4.56a	0.46a
	1/2	1.00a	8.79a	1.27a	5.09a	4.43a	0.58a
	1	1.00a	4.30b	0.33b	0.77b	4.52a	0.39a

^zDuncan's의 다중검정 $P=0.05$

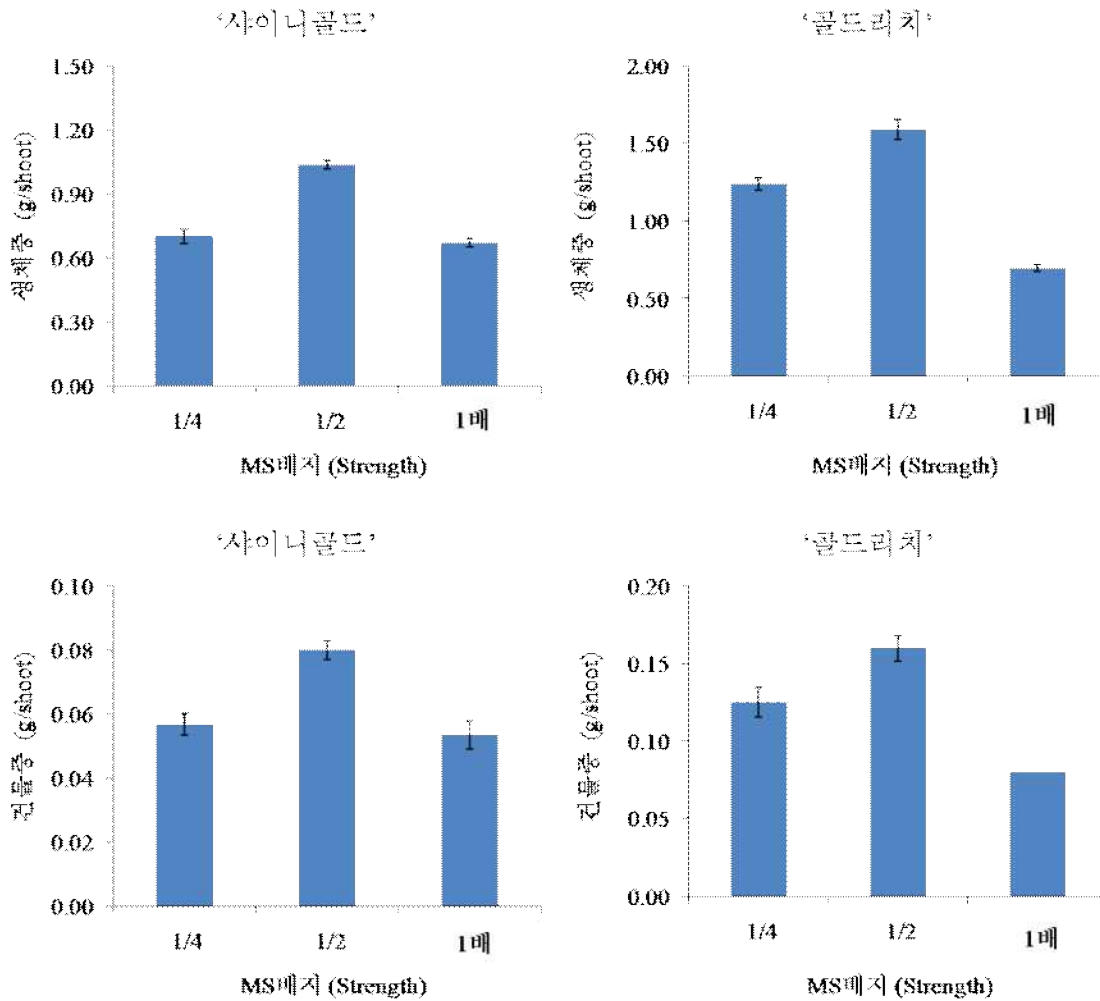


그림 2-3-1. 액체진탕배양 시 MS배지 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’와 ‘Gold Rich’의 생체중과 건물중에 미치는 영향 (4주)

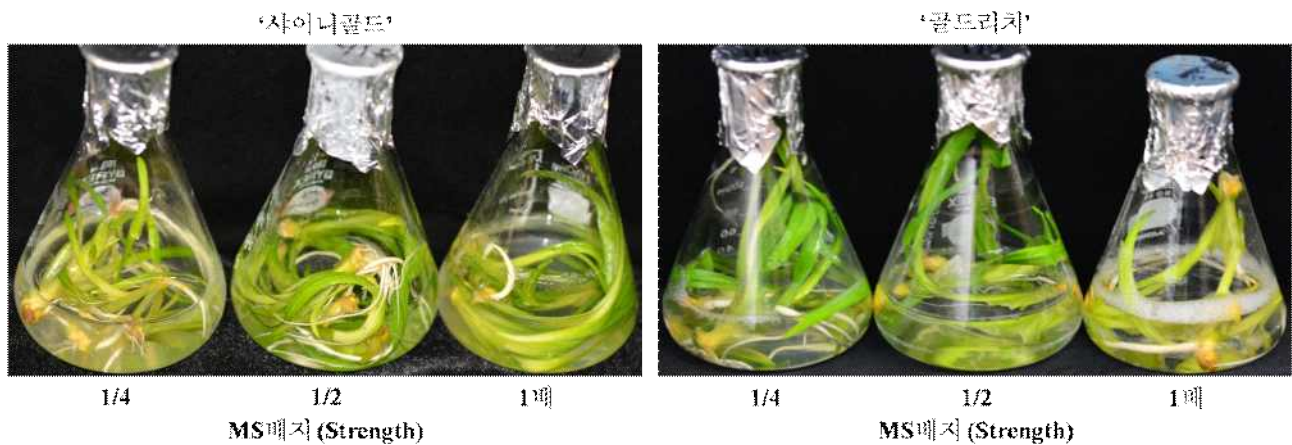


그림 2-3-2. 액체진탕배양 시, MS배지 농도에 따른 프리지아 ‘Shiny Gold’와 ‘Gold Rich’의 생육모습 (4주)

2) 프리지아 액체배양 시 신초생장을 위한 적정 sucrose 농도 선발 (1차 실험)

식물재료는 기내에서 배양된 프리지아 ‘Shiny Gold’, ‘Gold Rich’를 이용하였다. 초장이 3cm인 신초(유식물체)의 뿌리를 제거하고 배지에 치상을 하였다. 실험배지는 MS배지에 sucrose 3%(w/v)를 첨가한 다음 pH 5.8로 조절하였다. Sucrose 농도는 3, 6, 9%로 하였다. 배지는 100mL 삼각플라스크에 50mL씩 분주를 한 후, 121℃에서 15분간 고압증기멸균 하였다. 삼각플라스크당 유식물체(신초)를 5개씩 치상한 후 온도 23±1℃, 광도는 60μmol·m⁻²·s⁻¹(16h/8h), 130rpm의 액체진탕배양기에서 4주간 배양을 하였다. 생육조사는 배양 4주 후에 신초수, 최대초장, 뿌리수, 최대근장, 생체중, 건물중, 배지의 pH, EC를 조사하였다.

프리지아 ‘Shiny Gold’는 sucrose 3%에서 생체중, 초장, 뿌리수, 최대근장에서 가장 좋은 것으로 나타났다(그림 2-3-3, 표 2-3-2). Gold Rich도 sucrose 3-6%에서 생체중과 건물중에서 가장 높게 나타났다(표 2-3-2, 그림 2-3-3). 특히 초장은 3% 배지에서 다른 농도보다 2-3배 정도 높게 나타났다. 뿌리수와 최대 근장에서도 3%에서 2-4배 정도 높게 나타났다(그림 2-3-4). Ahn et al. (2007)도 생강(*Zingiber officinale*)의 경우 6% sucrose에서 신초수가 가장 많아지고 신초의 생육도 가장 좋은 것으로 보고하였으며, Eum et al. (2010)은 나리 인편도 6-9% sucrose에서 가장 효과적으로 증식되었던 것으로 보고하였다. 그러나 고추냉이의 진탕배양시 신초 생육은 3% sucrose에서 신초수, 초장이 가장 양호하였으며 생체중은 6% sucrose에서 가장 높았다고 하였으며(Park. 2007), 적정 sucrose 농도가 식물 종에 따라 조금씩 달라지는 것을 알 수 있다. 결론적으로 액체 진탕배양을 이용하여 프리지아 신초의 급속증식을 위해서는 3% sucrose가 적당하다는 것을 알 수 있었다.

표 2-3-2. 액체진탕배양시 sucrose 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’와 ‘Gold Rich’의 신초 생육에 미치는 영향(4주)

품종	Sucrose (%)	신초수 (ea/shoot)	초장 (cm)	뿌리수 (ea)	최대 근장 (cm)	생체중 (g/shoot)	건물중 (g/shoot)	pH	EC (mS·cm ⁻¹)
샤이니 골드	3	1.00a ^z	8.33a	1.23a	2.32a	0.66a	0.08a	4.00b	3.92a
	6	1.00a	4.83b	0.31b	0.27b	0.29b	0.05b	4.12a	3.76a
	9	1.00a	4.01b	0.31b	0.17b	0.26b	0.05b	4.15a	3.71a
골드 리치	3	1.00a	12.27a	1.00a	3.58a	1.59a	0.23a	4.75a	0.99b
	6	1.00a	5.15b	0.20b	0.50b	1.40a	0.18b	4.94a	1.90ab
	9	1.00a	3.90c	0.00b	0.12b	0.51b	0.09c	4.59a	2.86a

^zDuncan's의 다중검정 $P=0.05$

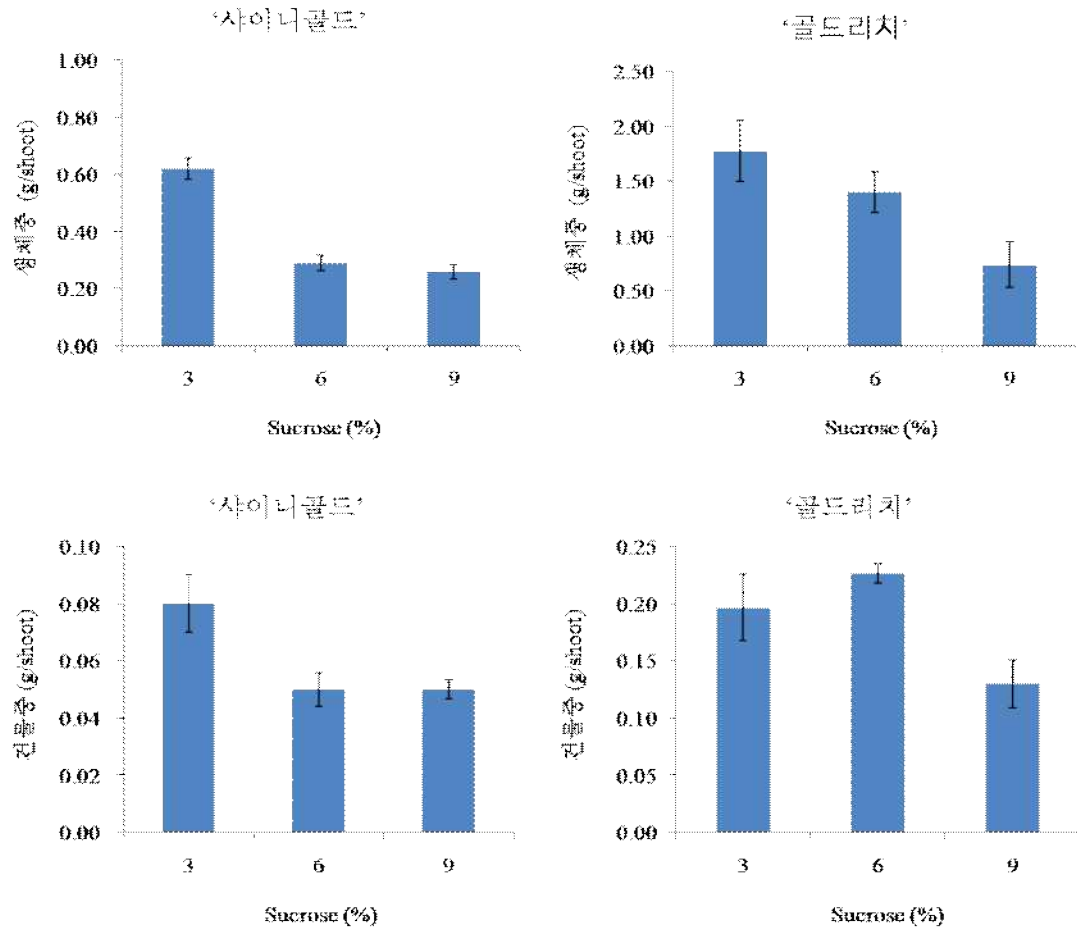


그림 2-3-3. 액체진탕배양 시 sucrose 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’와 ‘Gold Rich’의 생체중과 건물중에 미치는 영향(4주)

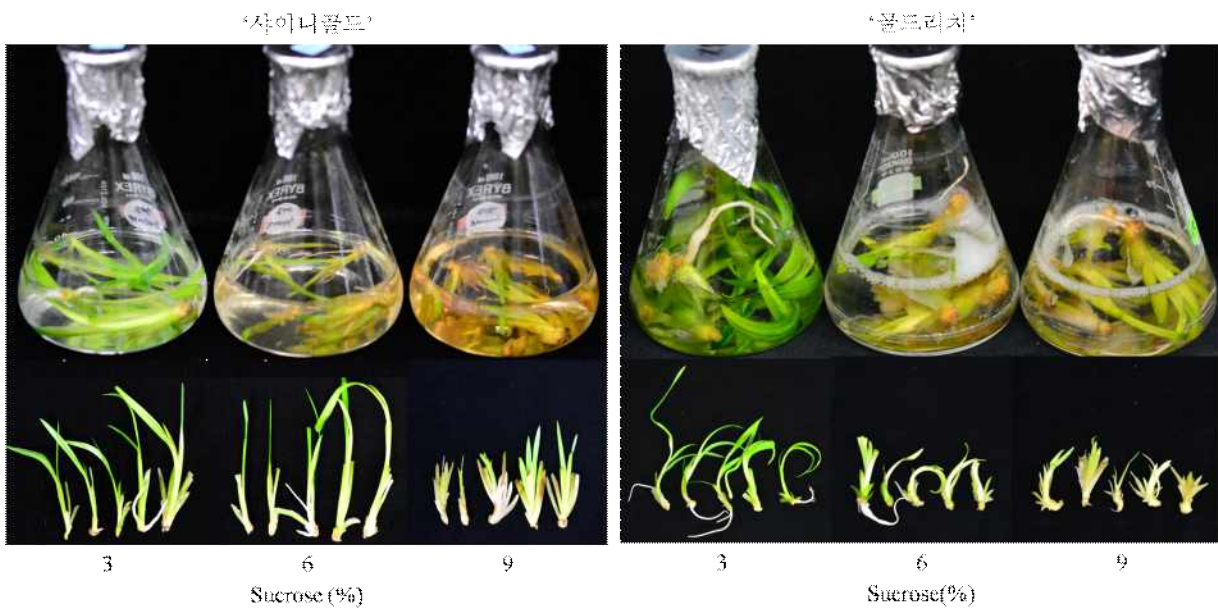


그림 2-3-4. 액체진탕배양 시 sucrose 농도에 따른 프리지아 ‘Shiny Gold’와 ‘Gold Rich’의 생육 모습 (4주)

3) 프리지아 액체배양 시 신초생장을 위한 적정 sucrose 농도 선발 (2차 실험)

1차 실험과 다른 점은 sucrose 농도를 1.5%를 추가했고, 배지량은 20mL/100mL 플라스크로 줄여서 실험을 수행하였다. 식물재료는 기내에서 배양된 프리지아 ‘Shiny Gold’를 이용하였다. 초장이 3cm인 신초(유식물체)의 뿌리를 제거하고 배지에 치상을 하였다. 실험배지는 1/2 MS배지에 agar 0.8%, pH 5.80으로 조절하였다. sucrose 농도는 1.5, 3, 6, 9% 4가지로 하였다. 배지는 100mL 삼각플라스크에 20mL씩 분주를 한 후, 121℃에서 15분간 고압증기멸균을 하였다. 삼각플라스크당 유식물체(신초)를 5개씩 치상한 후 온도 23±1℃, 광도는 60μmol·m⁻²·s⁻¹(16h/8h), 130rpm의 액체진탕배양기에서 4주간 배양을 하였다. 생육조사는 배양 4주 후에 신초수, 최대초장, 뿌리수, 최대근장, 생체중, 건물중, 배지의 pH, EC를 조사하였다.

배양 4주 후에 신초의 생체중을 보면 3%와 6%에서 가장 높은 수치를 보였으며, 지하부 생체중은 6%와 9%에서 가장 높은 수치를 보였다(그림 2-3-5). 지상부 건물중은 6%에서 가장 높았고 지하부 건물중도 생체중과 마찬가지로 6%와 9%에서 가장 높게 나타났다(그림 2-3-6). 신초의 초장은 1.5-6%에서 가장 높았으며, 뿌리수도 1.5%에서 가장 높았다. 그러나 최대 근장은 sucrose농도가 높을수록 길어지는 경향을 보였다 (표 2-3-3, 그림 2-3-7). 결론적으로 액체진탕배양 시 신초의 생육을 위한 적정 sucrose 농도는 3%이라는 결론을 내릴 수 있었다. 배지량은 100mL 당 20mL가 적당한 것으로 판단되었다.

표 2-3-3. 액체진탕배양 시 sucrose 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’의 신초 생육에 미치는 영향 (4주)

품종	Sucrose (%)	신초수 (ea/shoot)	초장 (cm)	뿌리수 (ea)	최대근장 (cm/shoot)	pH	EC (mS·cm ⁻¹)
샤이니 골드	Con ^z	1.00a ^y	10.48b	2.32b	4.20d	-	-
	1.5	1.04a	18.72a	4.20a	6.78c	4.15b	0.58a
	3.0	1.12a	19.06a	3.88a	9.66b	4.42a	0.39b
	6.0	1.12a	16.34a	3.64a	13.36a	4.45a	0.23b
	9.0	1.04a	11.06b	3.92a	13.08a	4.61a	0.21b

^zMS배지, sucrose 3%, 한천 0.8%, pH 5.8

^yDuncan’s의 다중검정 $P=0.05$

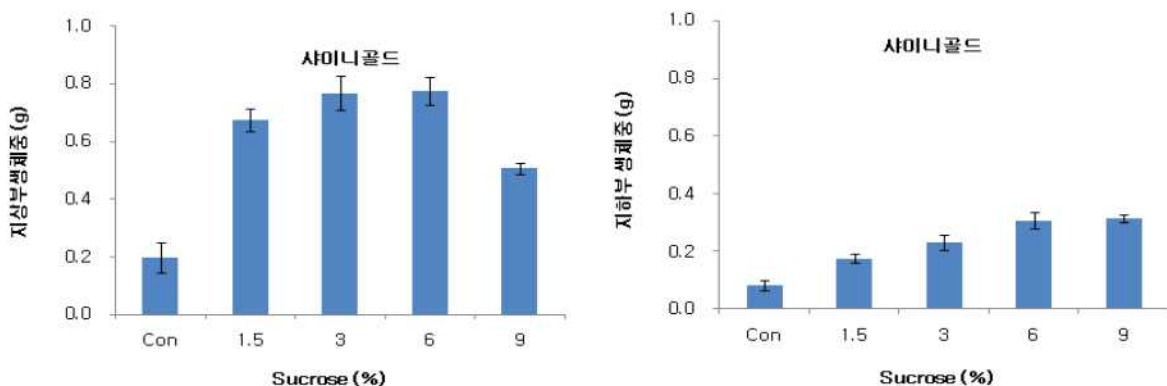


그림 2-3-5. 액체진탕배양 시 sucrose 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’의 지상부 생체중과 지하부 생체중에 미치는 영향 (4주)

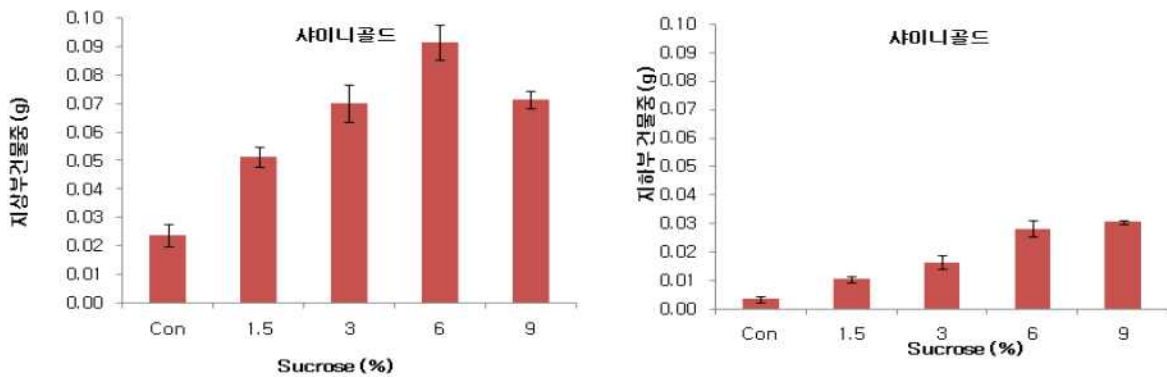


그림 2-3-6. 액체진탕배양 시 sucrose 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’의 지상부건물중과 지하부건물중에 미치는 영향 (4주)

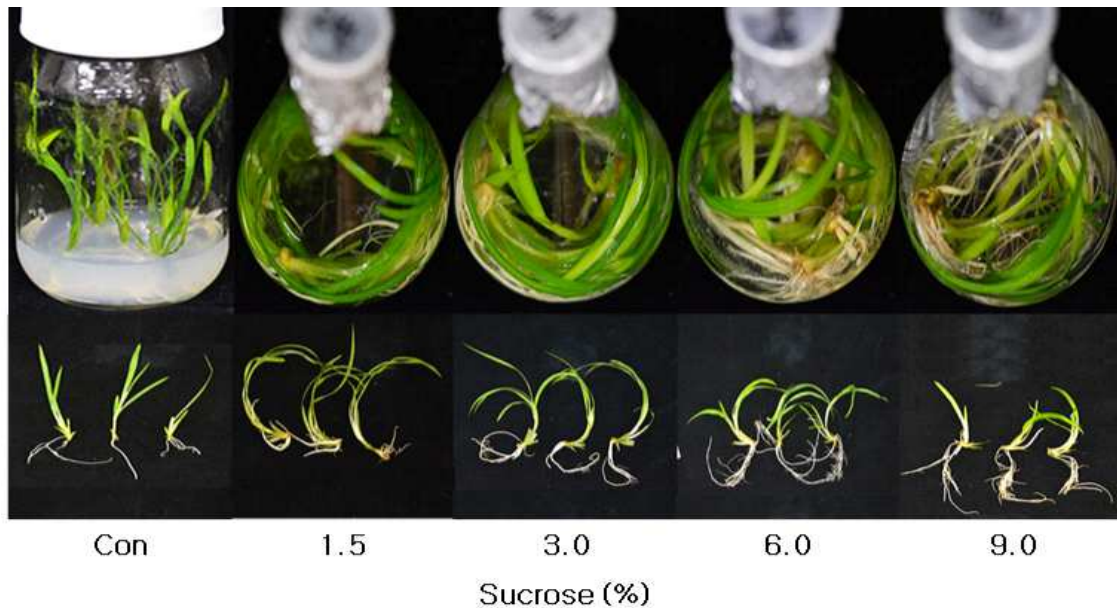


그림 2-3-7. 액체진탕배양 시 sucrose 농도에 따른 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생육 모습 (4주)

4) 프리지아 액체진탕배양 시 신초 생육을 위한 적정 배지량과 식물량 구명

식물재료는 기내에서 배양된 프리지아 ‘Shiny Gold’를 이용하였다. 초장이 3cm인 신초(유식물체)의 뿌리를 제거하고 배지에 치상을 하였다. 실험배지는 1/2 MS배지에 sucrose 3%(w/v)로 설정한 다음 pH 5.8로 조절하였다. 배지량은 20%와 50%(100mL 삼각플라스크)로 하였으며, 식물량은 1, 3, 5개/플라스크로 하였다. 배지는 100mL 삼각플라스크에 분주를 한 후, 121℃에서 15분간 고압증기멸균 하였다. 삼각플라스크당 유식물체(신초)를 치상한 후 온도 23±1℃, 광도는 60μmol·m⁻²·s⁻¹(16h/8h), 130rpm의 액체진탕배양기에서 4주간 배양을 하였다. 생육조사는 배양 4주 후에 신초수, 최대초장, 뿌리수, 최대근장, 생체중, 건물중, 배지의 pH, EC를 조사하였다.

배지량에 따른 신초의 생육은 20%에서 50%보다 좋은 것으로 나타났다. 신초의 생체중과 건물중에서 배지량 20%에서 식물량과 상관없이 50%보다 전체적으로 높게 나타났다(그림

2-3-8). 식물량에 따른 생육차이는 생체중에서 볼 때, 식물량이 1-3개로 많아질수록 감소하는 것으로 나타났다(표 2-3-4). 20%에서 신초의 길이는 1, 3개 넣었을 때가 5개 넣을 때보다 더 길어졌으며, 50%에서는 3개와 5개를 넣었을 때 더 길어졌다(그림 2-3-9). Choi and Kim (1997)도 글라디올러스 ‘Topaz’의 액체진탕배양 시 배지량은 20%에서 가장 효과적이라고 보고 하여, 구근류의 신초 생육에는 20% 정도의 배지량이 식물 생육에 좋은 것으로 판단되었다.

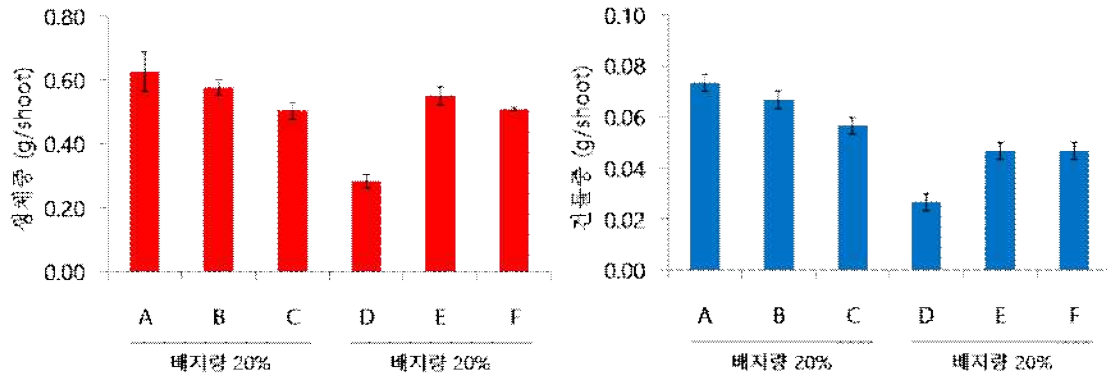


그림 2-3-8. 액체진탕배양 시 sucrose 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생체중과 근물중에 미치는 영향(4주). 신초수 : A와 D는 1개, B와 E는 3개, C와 F는 5개

표 2-3-4. 액체진탕배양 시 배지량과 식물량이 프리지아 ‘Shiny Gold’의 신초 생육에 미치는 영향 (4주)

배지량 (%)	식물량 (ea/flask)	신초수 (ea/shoot)	최대초장 (cm)	뿌리수 (ea/shoot)	최대근장 (cm)	pH	EC (mS·cm ⁻¹)	배지 소모량 (mL)
20	1	1.00a ^z	11.00a	3.00b	7.00a	3.36c	2.59c	2.12c
	3	1.00a	10.78a	4.33a	5.28b	4.31b	3.06b	4.51b
	5	1.00a	9.57b	3.27ab	5.43b	5.14a	4.52a	5.52a
50	1	1.00a	8.33c	3.33ab	4.17c	3.91bc	3.13b	2.03c
	3	1.00a	10.94a	4.33a	7.67a	4.29b	2.48c	4.83b
	5	1.00a	10.59a	2.73b	7.65a	4.31b	2.07d	5.65a

^zDuncan's의 다중검정 $P=0.05$

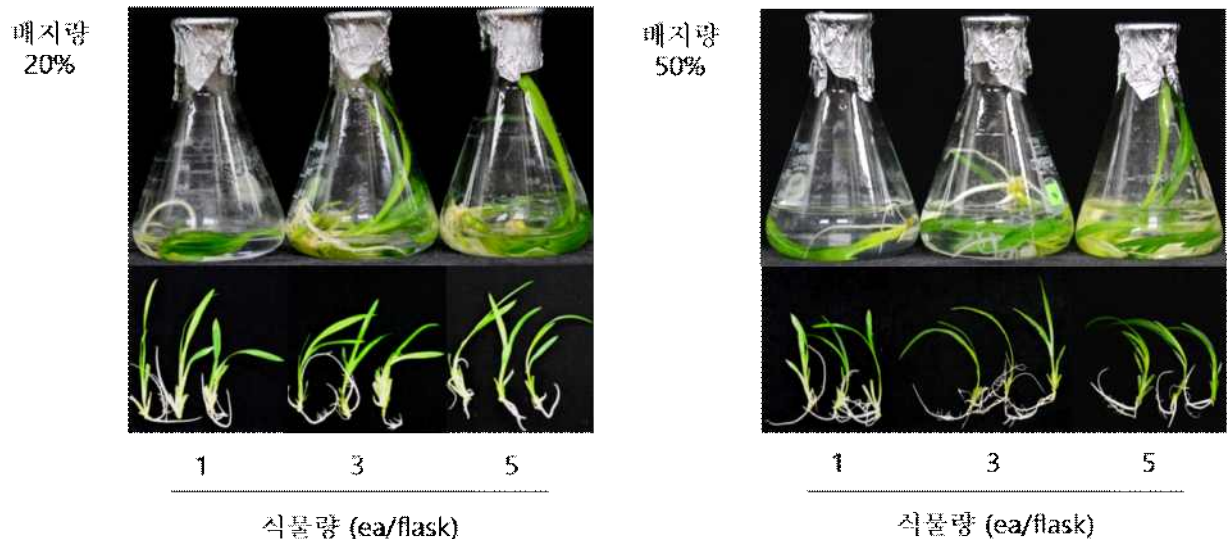


그림 2-3-9. 액체진탕배양 시 배지량과 식물량에 따른 프리지아 'Shiny Gold'의 생육 모습 (4주)

5) 액체진탕배양시 프리지아 자구비대를 위한 적정 배지량과 식물량 선발

식물재료는 기내에서 배양된 프리지아 'Shiny Gold'를 이용하였다. 초장이 7-8cm인 신초(유식물체)의 뿌리를 제거하고 배지에 치상을 하였다. 실험배지는 1/2배 MS배지에 sucrose 3%(w/v)로 설정한 다음 pH 5.80으로 조절하였다. 배지량은 20, 50%(100mL 삼각플라스크)로 하였으며, 식물량은 1, 3, 5개/플라스크로 하였다. 배지는 300mL 삼각플라스크에 분주를 한 후, 121℃에서 15분간 고압증기멸균 하였다. 삼각플라스크당 유식물체(신초)를 치상한 후 온도 17±1℃, 광도는 60μmol·m⁻²·s⁻¹(16h/8h), 130rpm의 액체진탕배양기에서 6주간 배양을 하였다. 생육조사는 배양 주 후에 자구수, 구경, 구고, 생체중, 건물중 등을 조사하였다.

배지량과 식물체량을 달리하여 신초로부터 자구를 비대시키고자 실험을 수행한 결과는 그림 2-3-10, 표 2-3-5, 그림 2-3-11과 같다. 구의 생체중과 건물중은 배지량이 20%일 때 50%보다 훨씬 좋은 결과를 보였고(그림 2-3-10, 11), 식물체량은 1개 보다는 3개일 때 높아졌다. 구경과 구고에서도 식물체량이 많을수록 더 좋아지는 경향이 뚜렷하였다(표 2-3-5). Choi and Kim(1997)도 *Gladiolus* 'Topaz'의 액체진탕배양 시 배지량은 20%에서 가장 효과적이라고 보고하였다. Eum et al. (2010)은 액체진탕배양 시, *Lilium* 'Amabile'은 배지량이 30mL에서 생체중이 가장 높게 나타났으며, *Lilium* 'Dauricum'과 *Lilium* 'Hansonii'에서도 동일하게 나타났다. 하지만 *Lilium* 'Oartneion'의 경우에는 배지량이 50mL에서 생체중이 가장 높게 나타났으며 70mL 이상에서는 구근이 발생하지 않았다. 액체진탕배양을 이용하여 구근을 비대할 때 식물에 따라 배지의 요구도가 다르며 배지가 50mL 이상이 되면 구비대가 억제되는 것을 알 수 있었다. 결론적으로 프리지아 자구를 급속증식을 위해서는 20%의 배지량에 플라스크당 신초 5개를 배양하는 것이 좋은 것으로 판단된다.

표 2-3-5. 액체진탕배양시 배지량 및 식물량이 프리지아 ‘Shiny Gold’의 자구 비대에 미치는 영향 (6주)

배지량 (%)	식물량 (ea/flask)	자구수 (ea/shoot)	구경 (mm)	구고 (mm)	배지소모량 (mL/flask)
20	1	1.00a ^z	5.81bc	7.64b	12.22d
	3	1.00a	6.51ab	8.20b	22.17bc
	5	1.00a	7.04a	10.3a	26.51b
50	1	1.00a	5.65c	7.97b	16.93c
	3	1.00a	5.68c	7.10b	24.82b
	5	1.00a	6.36b	9.30b	39.43a

^zDuncan's의 다중검정 $P=0.05$

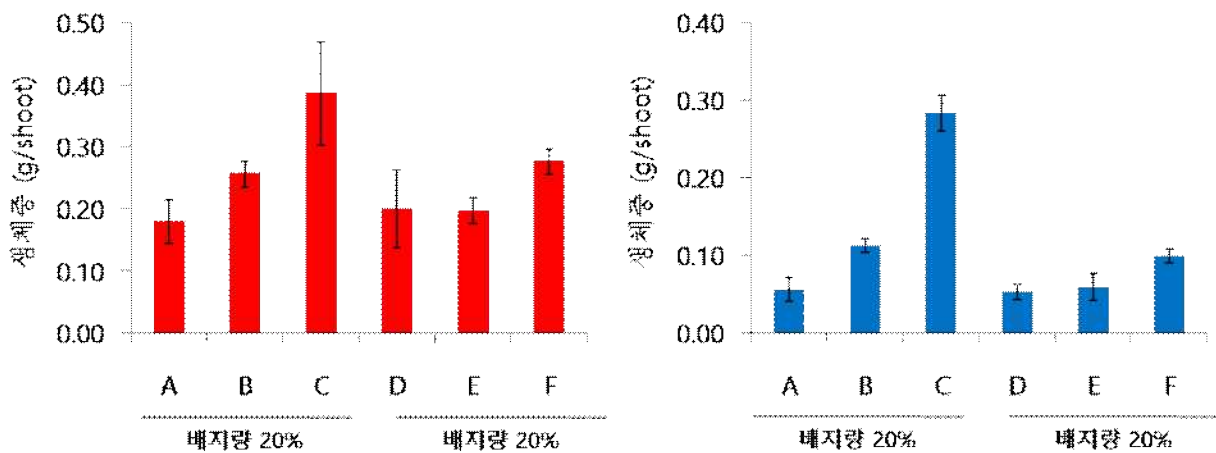


그림 2-3-10. 액체진탕배양 시 배지량과 식물량이 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생체중과 건물중에 미치는 영향 (6주). 신토수 : A와 D는 1개, B와 E는 3개, C와 F는 5개

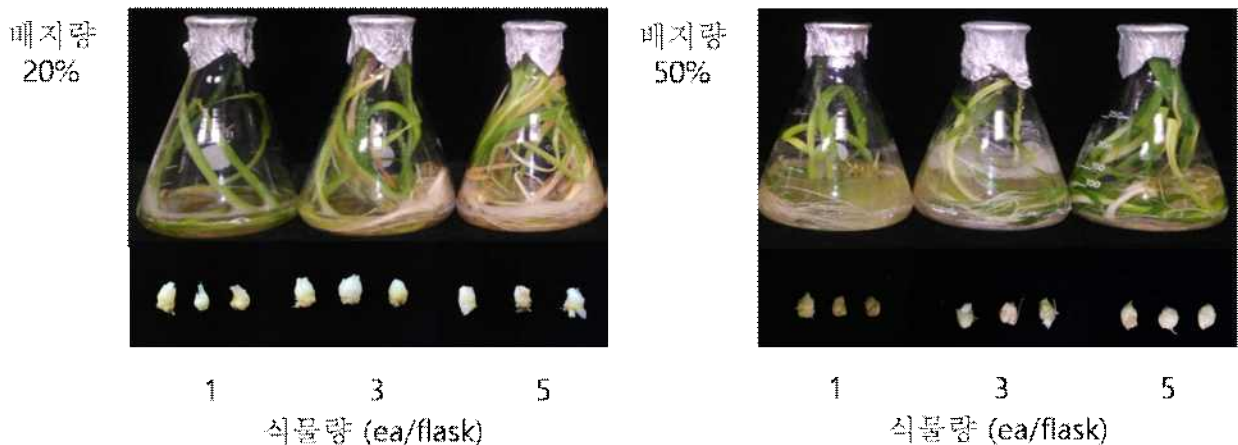


그림 2-3-11. 액체진탕배양 시 배지량과 식물량에 따른 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생육 모습(4주)

6) 프리지아 액체배양 시 자구비대를 위한 적정 sucrose 농도 선발 (1차 실험)

식물재료는 기내에서 배양된 프리지아 ‘Shiny Gold’를 이용하였다. 초장이 7-8cm인 구비대를 시작한 신토의 뿌리를 1cm 남기고 모두 제거하고 배지에 치상을 하였다. 대조구(고체

배지)는 MS배지에 sucrose 20%, 한천 0.8%(w/v), 활성탄 0.1%(w/v)로 설정한 후, pH 5.8로 조절하였다. 액체배지는 MS배지에 pH 5.80으로 조절하였다. Sucrose 농도는 3, 6, 9, 12%로 하였다. 배지는 300mL 삼각플라스크에 60mL씩 분주를 한 후, 121℃에서 15분간 고압증기멸균을 하였다. 식물체는 배지당 5개씩 치상한 후 온도 17±1℃, 광도는 60μmol·m⁻²·s⁻¹(16h/8h), 150rpm의 액체진탕배양기에서 6주간 배양을 하였다. 생육조사는 배양 주 후에 자구수, 구경, 구고, 생체중, 건물중 등을 조사하였다.

Sucrose 농도에 따른 구생체중 변화는 6-9% 범위에서 가장 높은 수치를 보였다(그림 2-3-12, 그림 2-3-13). 그러나 구경이나 구고 등 자구의 품질에 영향을 미치는 요인들은 6%부터 12%까지는 비슷하게 나타났다(표 2-3-6). 문제는 이단구나 자구가 발생하는 경우가 발생하였다(표 2-3-5, 그림 2-3-13). 이단구나 자구가 발생하게 되면 정식구로서는 품질이 떨어지게 된다. 그러므로 구경 비대를 위해서는 암상태에서 배양할 필요가 있다고 생각되었다. Han et al. (1999)은 *Lilium* Casa Blanca'의 경우도 암배양보다 명배양에서 자구가 많이 발생하였다는 연구결과도 있어, 자구가 없는 개화구를 기내에서 생산하고자 할 때는 암조건이 필수적인 것을 알 수 있었다. *Gladiolus*의 경우 고체배지보다 액체진탕배양에서 소구경의 크기가 훨씬 컸다고 보고 하였으며(Park et al. 2001), 생물배양기에서 나리를 배양했을 때, 9% sucrose가 첨가된 배지에서 구비대가 가장 효과적이었다고 하였다(Kim et al. 2003; Lian et al. 2003). 결론적으로 액체진탕배양시 9% sucrose를 첨가하여 암조건에서 액체진탕배양하는 것이 가장 효율적인 것으로 생각된다.

표 2-3-6. 액체진탕배양 시 sucrose 농도가 프리지아 'Shiny Gold'의 자구 비대에 미치는 영향 (6주)

Sucrose (%)	자구수 (ea)	구경 (mm)	구고 (mm)	pH	EC (mS·cm ⁻¹)	신구 형성율 (%)
Agar medium ^z	1.00a ^y	8.40c	8.34d	-	-	0.07b
3	1.00a	10.31b	12.15c	3.58c	1.39a	0.73a
6	1.00a	10.48b	12.43c	3.94b	1.42a	0.47ab
9	1.00a	11.20a	14.39b	4.14ab	0.88b	0.60ab
12	1.00a	11.43a	15.71a	4.37a	0.78b	0.27ab

^zMS 배지, 20% sucrose, 0.1% 활성탄, 0.8%, 한천 0.1%

^yDuncan's의 다중검정 $P=0.05$

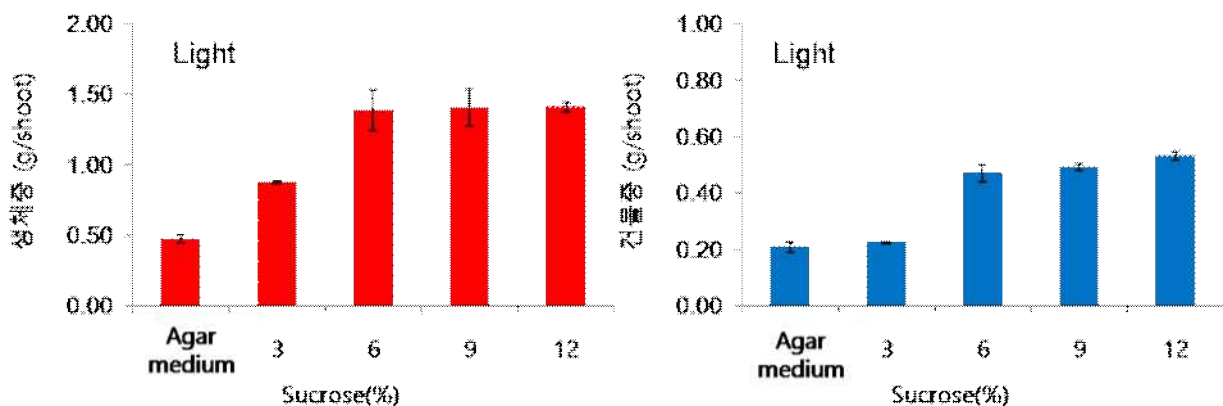


그림 2-3-12. 액체진탕배양 시 sucrose 농도가 프리지아 'Shiny Gold'의 생체중에 미치는 영향 (6주)

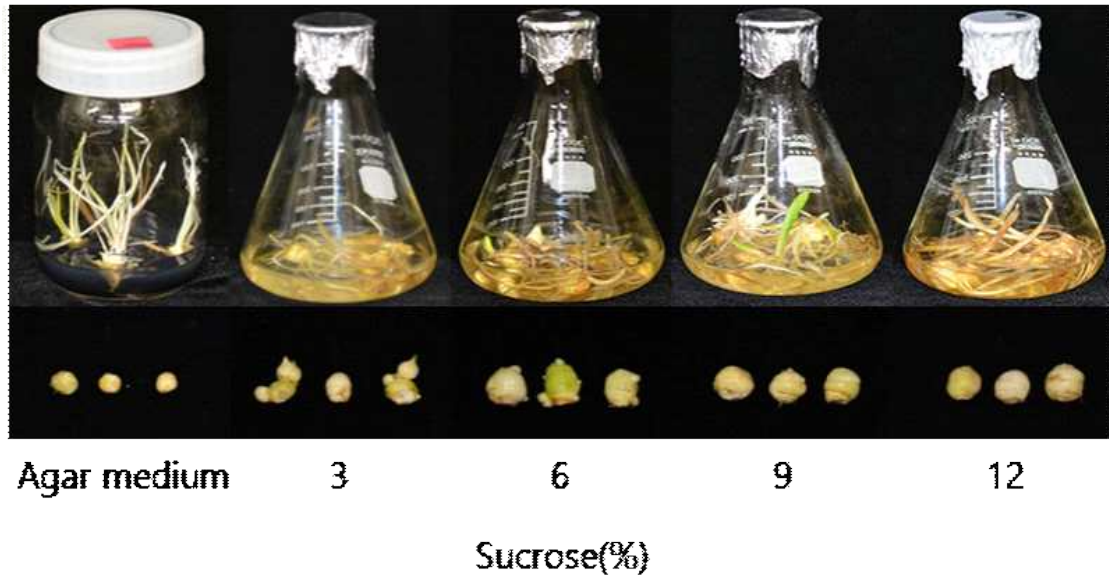


그림 2-3-13. 액체진탕배양 시 sucrose 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’의 자구 비대에 미치는 영향 (6주, 광상태)

7) 프리지아 액체배양시 광의 유무가 자구 비대에 미치는 영향

식물재료는 기내에서 배양된 프리지아 ‘Shiny Gold’의 신초(7-8cm)를 이용하였다. 신초의 뿌리를 1cm 남기고 모두 제거하고 배지에 치상을 하였다. 대조구(고체배지)는 MS배지에 sucrose 20%(w/v), 한천 0.8%(w/v), 활성탄 0.1%(w/v)로 설정한 후, pH는 5.8로 조절하였다. 액체배지는 MS배지에 sucrose 6%(w/v)로 설정한 다음 pH 5.80으로 조절하였다. 배지는 300mL 삼각플라스크에 60mL씩 분주를 한 후, 121℃에서 15분간 고압멸균 하였다. 광조건은 광, 암조건 2가지로 하였다. 배지당 신초를 5개씩 치상한 후 온도 17±1℃, 광도는 60μmol·m⁻²·s⁻¹(16h/8h), 150rpm의 액체진탕배양기에서 6주간 배양을 하였다. 생육조사는 배양 주 후에 자구수, 구경, 구고, 생체중, 건물중 등을 조사하였다.

구생체중에서는 광의 유무와 상관없는 것으로 나타났다(그림 2-3-14). 마찬가지로 구고와 구경 등에서도 광의 유무와 상관없이 비슷한 결과를 보였다(표 2-3-7). 그러나 광이 있는 곳에서는 이단구나 자구(신구)가 발생하여 상품성이 현저하게 감소되었다(그림 2-3-15). 암상태에서는 이러한 현상이 보이지 않았으므로 자구 비대를 위해서는 반드시 암상태여야 한다고 판단되었다. *Lilium Casa Blanca*의 경우도 암배양보다 명배양에서 자구가 많이 발생하였고 보고하였다(Han et al. 1999). 결론적으로 액체진탕배양을 이용하여 프리지아의 자구가 없는 개화구를 기내에서 생산하고자 할 때는 암조건이 필수적인 것을 알 수 있었다.

표 2-3-7. 액체진탕배양시 광의 유무가 ‘Shiny Gold’의 자구비대에 미치는 영향 (6주)

처리	자구수 (ea/shoot)	구경 (mm)	구고 (mm)	pH	EC (mS·cm ⁻¹)	신구 형성율 (%)
Agar medium ^z	1.07b ^y	8.40b	8.34b	-	-	0.00
광	1.53a	11.21a	14.24a	0.90a	3.99a	26.67
암	1.00b	11.63a	13.95a	1.16a	3.78a	0.00

^zMS 배지, 20% sucrose, 0.1% 활성탄, 0.8%, 한천 0.1%

^yDuncan's의 다중검정 $P=0.05$

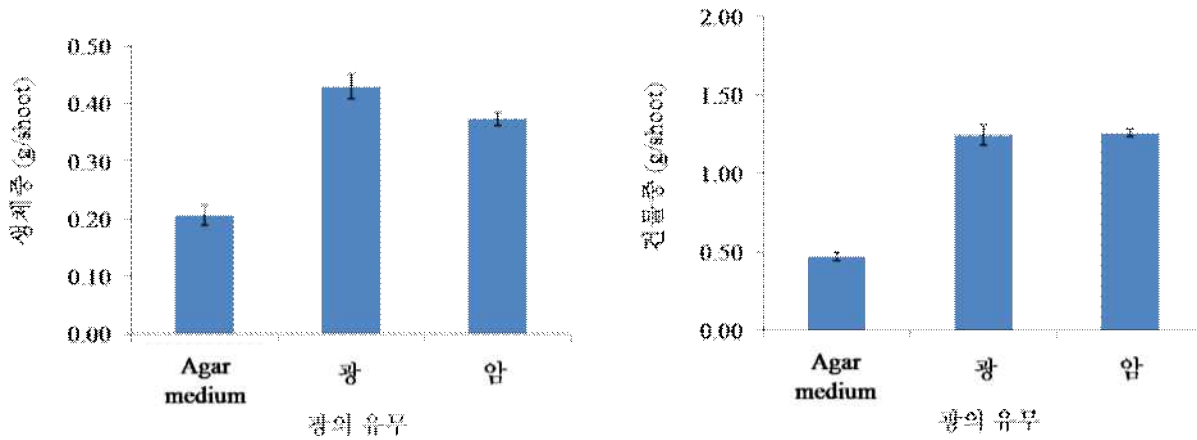


그림 2-3-14. 액체진탕배양 시 광의 유무가 'Shiny Gold'의 구생체중에 미치는 영향 (6주)



그림 2-3-15. 액체진탕배양 시 광의 유무에 따른 프리지아 'Shiny Gold'의 생육 모습 (6주)

8) 프리지아 액체배양 시 배양 온도가 자구비대에 미치는 영향

식물재료는 기내에서 배양된 프리지아 'Shiny Gold'의 신초(7-8cm)를 이용하였다. 신초의 뿌리를 1cm 남기고 모두 제거하고 배지에 치상을 하였다. 대조구(고체배지)는 MS배지에 sucrose 20%(w/v), 한천 0.8%(w/v), 활성탄 0.1%(w/v)로 설정한 후, pH 5.8로 조절하였다. 액체배지는 MS배지에 sucrose 6%(w/v)로 설정한 다음 pH 5.80으로 조절하였다. 배지는 300mL 삼각플라스크에 60mL씩 분주를 한 후, 121℃에서 15분간 고압증기멸균을 하였다. 온도 처리는 17, 22℃ 2가지로 하였다. 삼각플라스크당 신초를 5개씩 치상한 후 온도 17±1℃, 광도는 60μmol·m⁻²·s⁻¹ (16h/8h), 150rpm의 액체진탕배양기에서 6주간 배양을 하였다. 생육조사는 배양 주 후에 자구수, 구경, 구고, 생체중, 건물중 등을 조사하였다.

구 생체중은 22℃에서 17℃보다 높은 수치를 보였으나 건물중은 반대로 17℃에서 더 높은 수치를 보였다(그림 2-3-16, 그림 2-3-17). 22℃에서는 대조구인 고체배지의 자구보다 2배

이상 생체중이 높았으며, 구경, 구고에서도 액체배지에서 월등히 크게 나타났다(표 2-3-8). 그러나 이단구 및 자구가 발생하는 문제가 있었다. 그러므로 기내에서 자구비대를 시키기 위해서는 17℃가 반드시 필요하다고 판단되었다. Eum et al. (2010)은 나리 인편의 액체진탕배양 시 고체배지보다 종에 따라 구비대가 최대 114-215% 촉진되었다고 하였다. 고체배지보다 액체배지에서 생육이 촉진되는 원인으로는 식물생장조절제나 영양성분이 더 잘 흡수되고 이식체로부터 분비되는 생장억제물질이 액체배지에서는 쉽게 이동되어 농도가 낮아지기 때문인 것으로 보고되고 있다(Preil 2005; George and Davies 2008; Sivanandhan et al. 2013). 결론적으로 프리지아 자구를 급속증식을 위해서는 17℃에서 배양하는 것이 좋은 것으로 판단된다.

표 2-3-8. 액체진탕배양시 온도가 ‘Shiny Gold’의 자구비대에 미치는 영향(6주)

배양 온도 (℃)	자구수 (ea/shoot)	구경 (mm)	구고 (mm)	신구 형성율 (%)
Agar medium ^z	1.07a ^y	8.40b	8.34b	00.00
22	1.20a	10.85a	13.36a	26.67
17	1.00a	11.03a	12.09a	00.00

^zMS 배지, 20% sucrose, 0.1% 활성탄, 0.8%, 한천 0.1%, 17℃

^yDuncan'의 다중검정 $P=0.05$

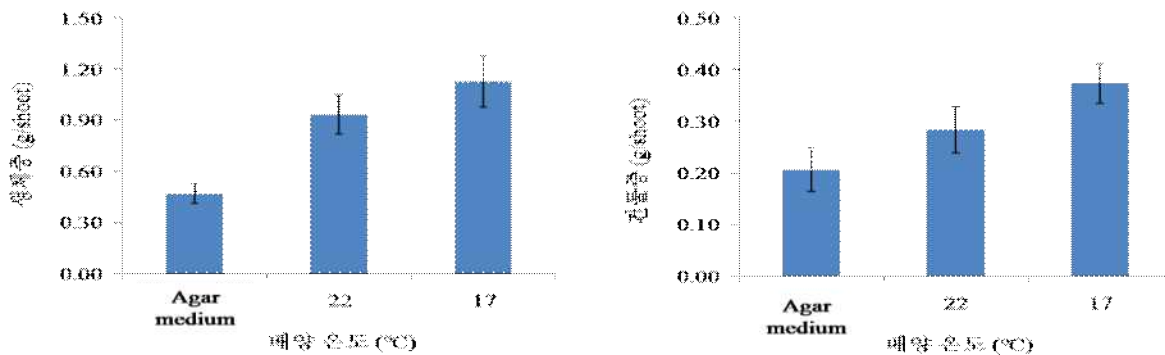


그림 2-3-16. 액체진탕배양 시 배양 온도가 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생체중과 건물중에 미치는 영향(6주)

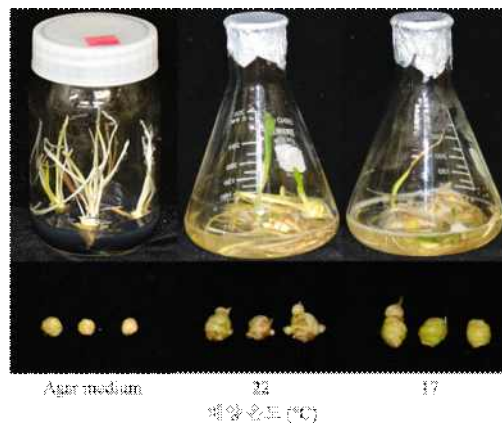


그림 2-3-17. 액체진탕배양 시 배양 온도에 따른 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생육 모습 (6주)

9) 액체진탕배양 시 sucrose 농도가 프리지아의 자구비대에 미치는 영향 (암조건)

식물재료는 기내에서 배양된 프리지아 ‘Shiny Gold’의 신초(7-8cm)를 이용하였다. 신초의 뿌리를 1cm 남기고 모두 제거하고 배지에 치상을 하였다. 대조구(고체배지)는 MS배지에 sucrose 20%(w/v), Agar 0.8%(w/v), charcoal 0.1%(w/v)로 설정한 후, pH 5.8로 조절하였다. 액체배지는 MS배지에 sucrose 6%(w/v)로 설정한 다음 pH 5.80으로 조절하였다. Sucrose 농도는 6, 9, 12, 15%로 하였다. 배지는 300mL 삼각플라스크에 60mL씩 분주를 한 후, 121℃에서 15분간 고압멸균 하였다. 삼각플라스크당 신초를 5개씩 치상한 후 온도 17±1℃, 150rpm의 액체진탕배양기에서 6주간 암조건에서 배양을 하였다. 생육조사는 배양 주 후에 자구수, 구경, 구고, 생체중, 건물중 등을 조사하였다.

Sucrose 농도를 달리하여 프리지아 신초로부터 구경을 비대 시켰을 때, 9%에서 구 생체중과 건물중이 각각 2.5g과 1g으로 가장 높게 나타났다 (그림 2-3-18). 다음으로 12%이었으며, 다른 농도에서는 크게 구비대가 떨어졌다. 구경과 구 직경에서도 9%가 가장 크고 다음이 12%로 나타났다. 신구 형성율은 0%로 나타나, 광상태에서는 이단구나 자구나 발생한 것과는 상반된 결과였다(그림 2-3-19). *Gladiolus*의 경우 고체배지보다 액체진탕배양에서 소구경의 크기가 훨씬 컸다고 보고 하였으며(Park et al. 2001), 생물배양기에서 나리를 배양했을 때, 9% sucrose가 첨가된 배지에서 구비대가 가장 효과적이었다고 하였다(Kim et al. 2003; Lian et al. 2003). 또한 Han et al. (1999)은 *Lilium* Casa Blanca’의 경우도 암배양보다 명배양에서 자구가 많이 발생하였다는 연구결과도 있어, 자구가 없는 개화구를 기내에서 생산하고자 할 때는 암조건이 필수적인 것을 알 수 있었다. 결론적으로 액체진탕배양시 9% sucrose를 첨가하여 암조건에서 액체진탕배양하는 것이 가장 효율적인 것으로 생각된다.

표 2-3-9. 액체진탕배양시 sucrose 농도가 ‘Shiny Gold’의 자구 비대에 미치는 영향 (6주)

처리	자구수 (ea/shoot)	구경 (mm)	구고 (mm)	pH	EC (mS·cm ⁻¹)	신구 형성율 (%)
Agar medium ^z	1.00a ^y	7.06c	8.32e	—	—	0.00a
6	1.00a	9.13b	14.02c	3.81b	0.65b	0.00a
9	1.00a	13.55a	23.44a	4.38ab	0.63b	0.00a
12	1.00a	12.73a	16.63b	4.95a	0.53b	0.00a
15	1.00a	9.11b	12.56d	4.16ab	1.15a	0.00a

^zMS 배지, 20% sucrose, 0.1% 활성탄, 0.8%, 한천 0.1%, 17℃

^yDuncan’의 다중검정 $P=0.05$

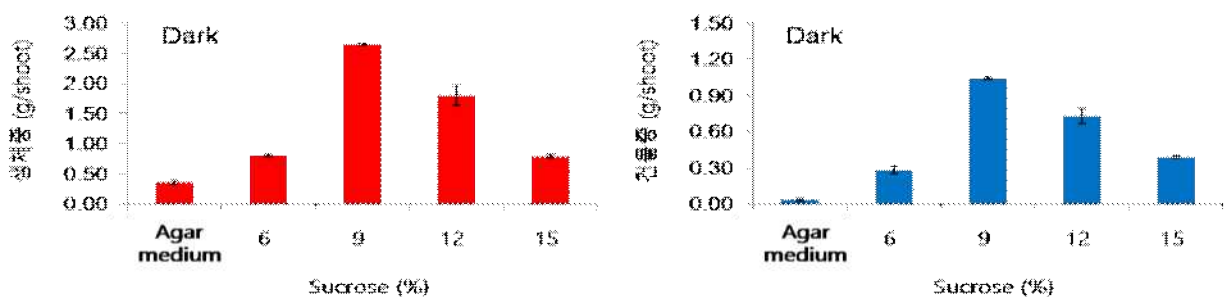


그림 2-3-18. 액체진탕배양 시 sucrose 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생체중과 건물중에 미치는 영향 (암 6주)

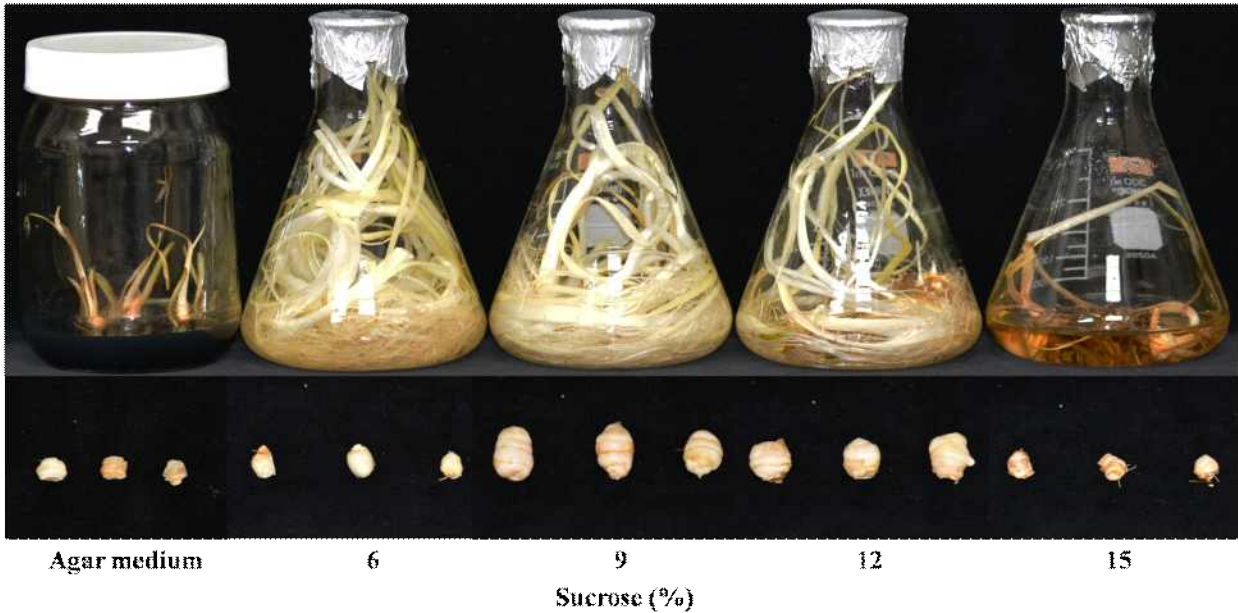


그림 2-3-19. 액체진탕배양 시 sucrose 농도에 따른 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생육 모습 (암 6주)

7. 생물반응기를 이용한 프리지아 구경의 기내급속대량증식 기술 확립

기존의 고체배양에 비해 생물반응기배양은 액체배지를 이용하여 생물반응기 내부로 적정 수준의 공기를 꾸준히 공급할 수 있어 생물반응기 전체 용적의 90% 이상을 활용할 수 있고 공기량 조절, 산도 자동조절, 온도제어 장치 등을 부착할 수 있어 자동화 및 대형화가 가능하고 하였다(Paek et al. 2001). 처음에 생물반응기는 미생물의 대량번식을 위하여 고안 되었으나 현재는 식물의 대량증식에도 사용되고 있다. Takayama and Misawa(1981)는 생물반응기를 이용하여 베고니아의 대량번식에 성공하였다. 이후 현재까지 줄기, 인경, 소피경 및 구경 등 많은 식물 생산에 생물반응기를 적용한 연구들이 다양하게 진행되고 있다(Jo et al. 2006). 하지만 생물반응기를 이용한 프리지아의 신초 생육 및 자구 비대에 관한 연구는 미미한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 생물반응기를 이용하여 프리지아의 신초 생육 및 자구 비대의 적정 배양조건을 구명하고자 실험을 실시하였다.

1) 생물반응기배양 시, 신초 생육을 위한 적정 MS배지 농도 선발

식물재료는 프리지아 ‘Shiny Gold’의 신초(초장 3cm, 유식물체)를 이용하였다. 배지는 MS배지에 sucrose 3%(w/v), pH 5.80으로 조절하였다. 121℃에서 15분간 고압증기 멸균하였다. 5L 생물반응기를 고압증기멸균기에서 소독을 한 후 배지량은 20%가 되게 하였다. MS배지 농도는 1/4, 1/2, 1배 3가지로 하였다. 배양조건은 23±1℃, 광도 60μmol·m⁻²·s⁻¹(16h/8h), 공기주입량이 0.2vvm의 생물반응기에서 4주간 배양을 하였다. 생물반응기에서 프리지아 유묘를 넣고 MS 배지 농도를 3가지로 달리하여 4주간 배양한 결과는 그림 3-1-1, 3-1-2과 표 3-1-1과 같다. 생체중과 건물중에서 1/2배 배지에서 가장 좋았으며 1/4배와 1배 배지에서는 비슷한 수준이었다. 신초의 초장은 1/4배 배지에서 가장 좋았고 1/2배 와 1배 순이었으나, 1/4배 배지의 경우 신초가 너무 가늘게 자라서 1/2배 배지보다는 건강하게 보이지 않았다. 뿌리수에서 1/2배 배지에서 5.4개로 가장 많고 길이고 5.8cm로 가장 잘 자라 전체적으로 보아 1/2배 배지가 신초

의 생육에는 좋은 것으로 나타났다(그림 3-1-2). 식물에 따라 MS배지의 무기물 농도의 요구도는 차이가 있으며, Whang et al.(2009)은 석곡의 생물반응기배양 시 1/4배 MS의 저농도 배지에서 식물체 생장이 좋았다고 보고하였다. 하지만 고구마 ‘올미’의 고체배양 시, 1배 MS배지에서 초장이 12.0cm로 가장 길었고, 절간수는 14.3개로 가장 많았고, 신초와 뿌리의 생체중에서 좋은 것으로 나타났으며, 식물 종에 따라 적정 배지 농도가 달라지는 것을 알 수 있었다. 결론적으로 프리지아 신초의 급속증식을 위해서는 MS배지 농도를 1/2배로 하는 것이 좋은 것으로 판단된다.

표 3-1-1. 생물반응기배양 시 MS배지 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’의 신초 생육에 미치는 영향 (4주)

MS 배지 (strength)	신초수 (ea/shoot)	최대초장 (cm)	뿌리수 (ea/shoot)	최대근장 (cm)	pH	EC (mS·cm ⁻¹)	배지소모량 (mL/bioreactor)
1/4	1.00a ^z	15.87a	3.85c	3.60c	4.22b	3.02b	92a
1/2	1.00a	13.99b	5.44a	5.88a	4.30a	3.76a	78b
1	1.00a	11.00c	4.88b	5.32b	4.23b	3.33b	82b

^zDuncan’의 다중검정 $P=0.05$

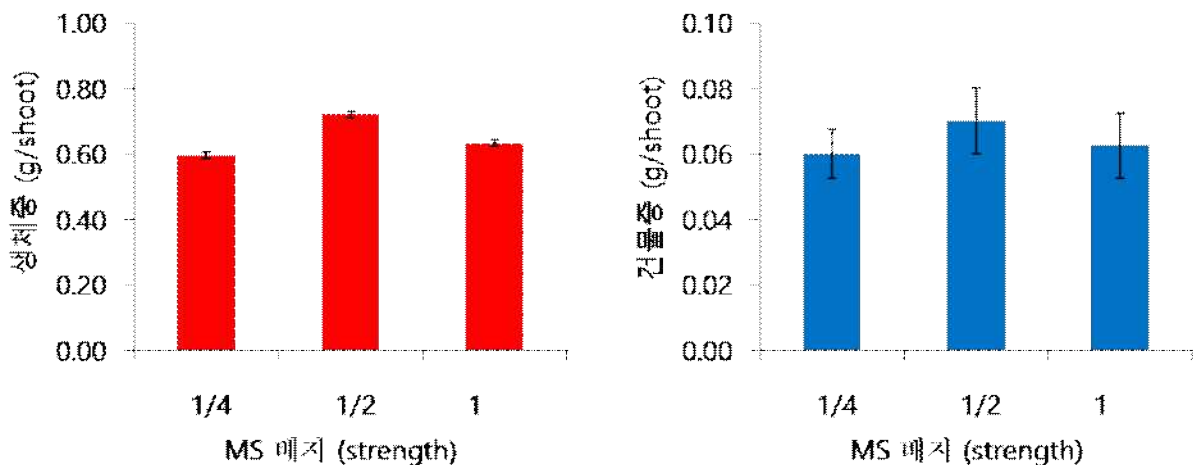


그림 3-1-1. 생물반응기배양 시 MS배지 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생체중과 건물중에 미치는 영향 (4주)

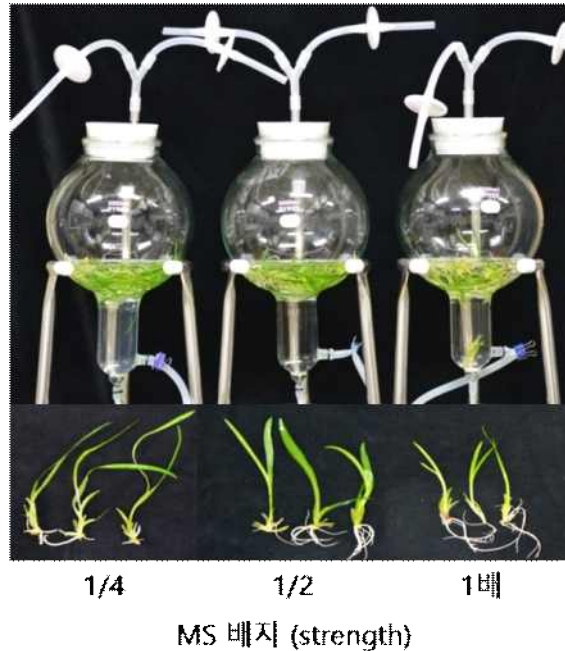


그림 3-1-2. MS 배지 농도에 따른 프리지아 'Shiny Gold'의 생육 모습 (4주)

2) 생물반응기배양시, 신초 생육을 위한 적정 sucrose 농도 선발

식물재료는 프리지아 'Shiny Gold'의 신초(초장 3cm, 유식물체)를 이용하였다. 배지는 1/2 MS배지에 sucrose 3%(w/v)를 첨가한 다음 pH 5.80으로 조절하였다. 121℃에서 15분간 고압증기 멸균하였다. 5L 생물반응기에 배지량은 20%가 되게 하였다. Sucrose 농도는 3, 6, 9% 3가지로 하였다. 배양조건은 $23\pm 1^{\circ}\text{C}$, 광도 $60\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (16h/8h), 공기주입량이 0.2vvm의 생물반응기에서 4주간 배양을 하였다. 생물반응기에서 프리지아 'Shiny Gold'의 신초를 넣고 sucrose 농도를 달리하여 4주간 배양한 결과는 그림 3-2-1과 3-2-2, 표 3-2-1과 같다. 생체중에서 3%와 6%에서 0.9g 이상으로 9%의 0.5g보다 크게 높았다. 건물중은 6%에서 가장 높게 나타났다. 신초의 길이는 6%에서 18.8cm로 가장 높았으나 다른 농도와 크게 차이는 보이지 않았다. 뿌리수에서는 9%에서 9.5개로 가장 높았으나 최대근장은 6%에서 10.4cm로 가장 높았다. Kang et al.(1999)도 감자 '대지마'와 '수미'의 고체배양 시 6% sucrose에서 신초의 측지수가 많이 발생하였으며 생체중도 좋다고 보고하였다. 결론적으로 프리지아 신초의 급속증식을 위해서는 6% sucrose로 하는 것이 좋은 것으로 판단된다.

표 3-1-2. 생물반응기배양 시 sucrose 농도가 프리지아 'Shiny Gold'의 신초 생육에 미치는 영향 (4주)

Sucrose (%)	신초수 (ea/shoot)	최대초장 (cm)	뿌리수 (ea/shoot)	최대근장 (cm)	pH	EC ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	배지소모량 (mL/bioreactor)
3	1.00a ^z	17.27b	6.25a	5.18c	4.41a	2.72b	114.00a
6	1.00a	18.89a	5.20b	10.39a	4.00b	2.48c	94.00b
9	1.00a	15.00c	9.50b	3.60c	3.60c	3.26a	129.00a

^zDuncan'의 다중검정 $P=0.05$

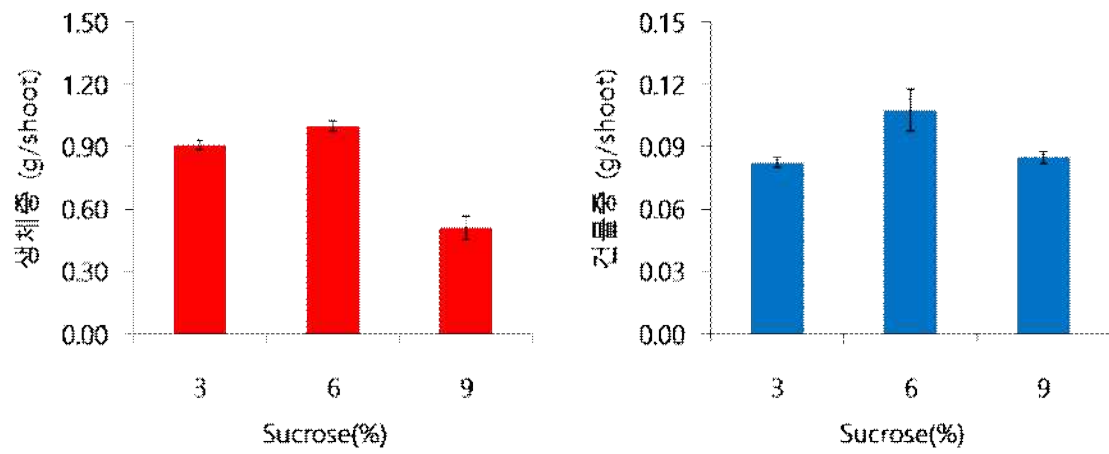


그림 3-1-3. 생물반응기배양 시 sucrose 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생체중과 건물중에 미치는 영향 (4주)

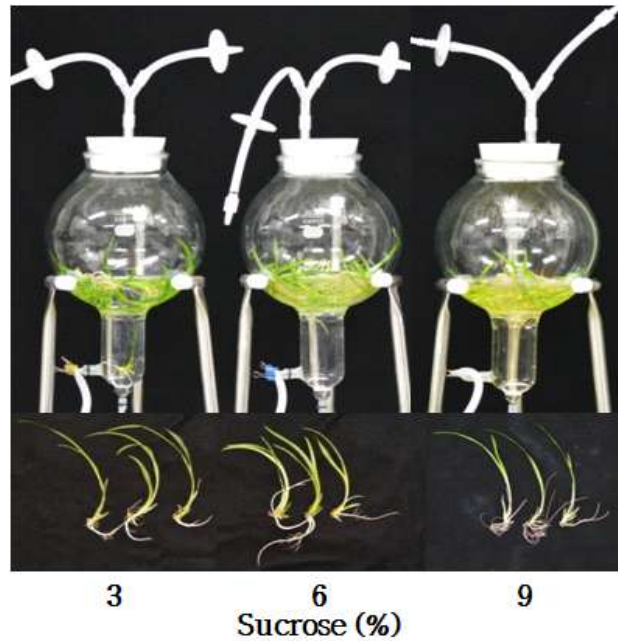


그림 3-1-4. Sucrose 농도에 따른 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생육 모습 (4주)

3) 생물반응기배양 시 프리지아 신초 생육을 위한 적정 배지량 선별

식물재료는 프리지아 ‘Shiny Gold’의 신초(초장 3cm, 유식물체)를 이용하였다. 배지는 1/2 MS배지에 sucrose 3%(w/v)를 첨가한 다음 pH 5.80으로 조절하였다. 121℃에서 15분간 고압증기 멸균하였다. 배지량은 10, 20, 40% (5L-생물반응기 기준) 3가지로 하였다. 배양조건은 23±1℃, 광도 60μmol·m⁻²·s⁻¹(16h/8h), 공기주입량이 0.2vvm의 생물반응기에서 4주간 배양을 하였다. 생물반응기에서 프리지아 신초를 생육시킬 때, 배지량을 달라하여 4주간 배양한 결과는 그림 3-1-5과 3-1-6, 표 3-1-3과 같다. 배지량이 20%일 때 신초의 생체중은 1.2g으로 가장 높았다. 건물중도 20% 배지량에서 가장 높았다. 그러나 신초길이는 10%나 40%에 비해 감소하였으며 뿌리수나 길이도 다른 처리구에 비해 유의적으로 낮아진 것으로 나타났다. 결론적으로 보아 수치상으로는 10%와 40%가 더 좋아 보이기도 하나, 그림 3-1-4에서 보는 바와 같이 이들 농도에서는 신초가 가늘게 도장하는 경향이 뚜렷하였다. 결과적으로 20% 배지량에서 신초가 가장 건실하였다고 볼 수 있다. Choi and Kim(1997)은 글라디올러스 ‘Topaz’의 액체진탕배양 시 배지량 20%에서 가장 효과적이라고 보고하였다. 결론적으로 프리지아 신초의 급속증식을 위해서는 배지량을 20%로 하는 것이 좋은 것으로 판단된다.

표 3-1-3. 생물반응기배양 시 배지량이 프리지아 ‘Shiny Gold’의 신초 생육에 미치는 영향 (4주)

배지량 (%/bioreactor)	신초수 (ea/shoot)	최대초장 (cm)	뿌리수 (ea/shoot)	최대근장 (cm)	pH	EC (mS·cm ⁻¹)	소모량 (mL/bioreactor)
10	1.00a ^z	24.30a	4.25a	9.74a	3.97b	3.16c	153.95b
20	1.00a	17.96b	4.21b	7.21b	4.29a	3.29b	152.12b
40	1.00a	22.67a	3.00a	9.58a	3.93b	3.93a	271.38a

^zDuncan’의 다중검정 $P=0.05$

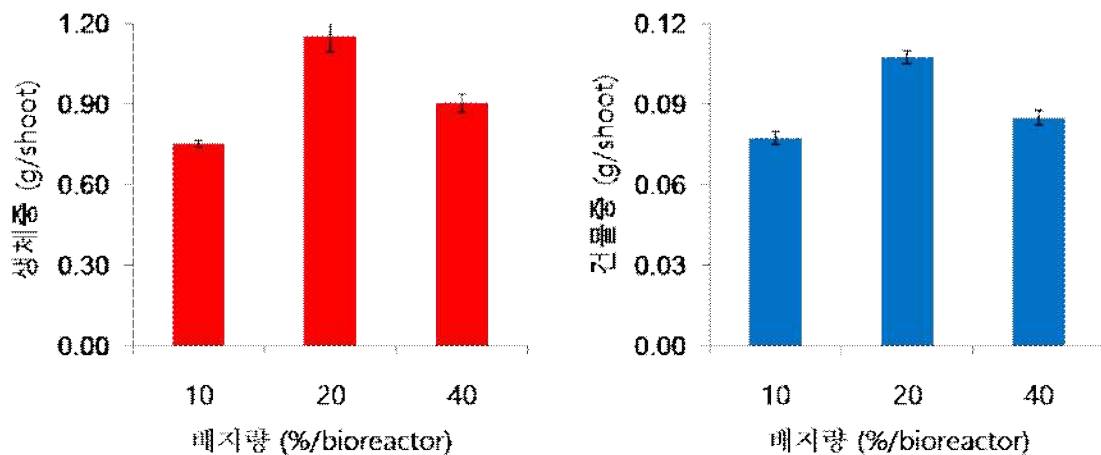


그림 3-1-5. 생물반응기배양 시 배지량이 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생체중과 건물중에 미치는 영향 (4주)

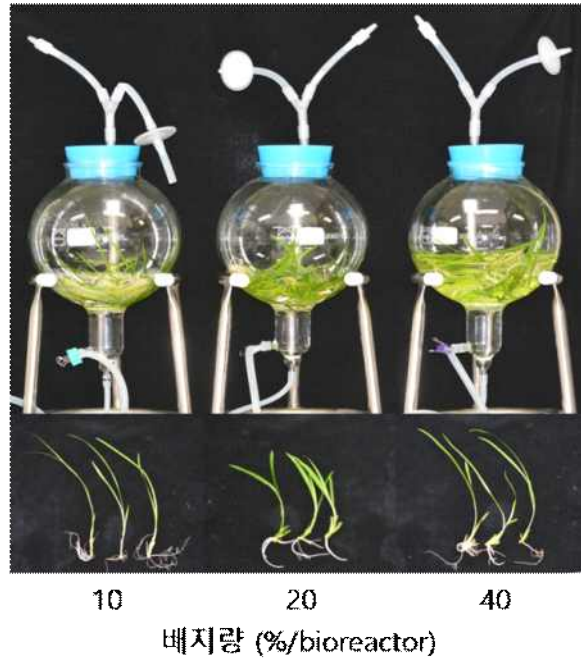


그림 3-1-6. 배지량에 따른 프리지아 'Shiny Gold'의 생육 모습 (4주)

4) 생물반응기배양 시 프리지아 신초 생육을 위한 적정 식물량 선발

식물재료는 프리지아 'Shiny Gold'의 신초(초장 3cm, 유식물체)를 이용하였다. 배지는 1/2 배 MS배지에 sucrose 3%(w/v)를 첨가한 다음 pH 5.80으로 조절하였다. 121℃에서 15분간 고압증기 멸균하였다. 배지량은 20%가 되게 하였다. 식물량은 10, 20, 40개(5L-생물반응기 기준)로 3가지로 하였다. 배양조건은 $23\pm 1^{\circ}\text{C}$, 광도 $60\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (16h/8h), 공기주입량이 0.2vvm의 생물반응기에서 4주간 배양을 하였다. 프리지아 신초를 생물반응기에서 배양할 때 적정 식물량을 알아보기 위해 각 생물반응기(5L)에 신초수를 달리하여 4주간 배양한 결과는 그림 3-1-7, 8과 표 3-1-4와 같다. 생체중과 건물중에서 40개를 넣었을 때 각각 1g과 0.08g으로 가장 좋았다. 신초 길이도 40개에서 가장 길었고 뿌리수와 길이에서도 40개에서 가장 좋은 것으로 나타났다. Choi and Kim(1997)은 글라디올리스 'Topaz'의 액체진탕배양 시 배지량 20%에서 가장 효과적이라고 보고하였다. 결론적으로 프리지아 신초의 급속증식을 위해서는 배지량을 20%로 하는 것이 좋은 것으로 판단된다.

표 3-1-4. 생물반응기배양 시 식물량이 프리지아 'Shiny Gold'의 신초 생육에 미치는 영향 (4주)

식물량 (ea/bioreactor)	신초수 (ea/shoot)	최대초장 (cm)	뿌리수 (ea/shoot)	최대근장 (cm)	pH	EC ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	배지소모량 (mL/bioreactor)
10	1.00a ^z	12.55c	2.40b	3.70c	2.72c	3.63a	124.52b
20	1.00a	13.96b	3.13b	5.49b	4.26a	2.51c	125.35b
40	1.00a	17.27a	4.33a	8.12a	3.88b	3.15b	177.18a

^zDuncan'의 다중검정 $P=0.05$

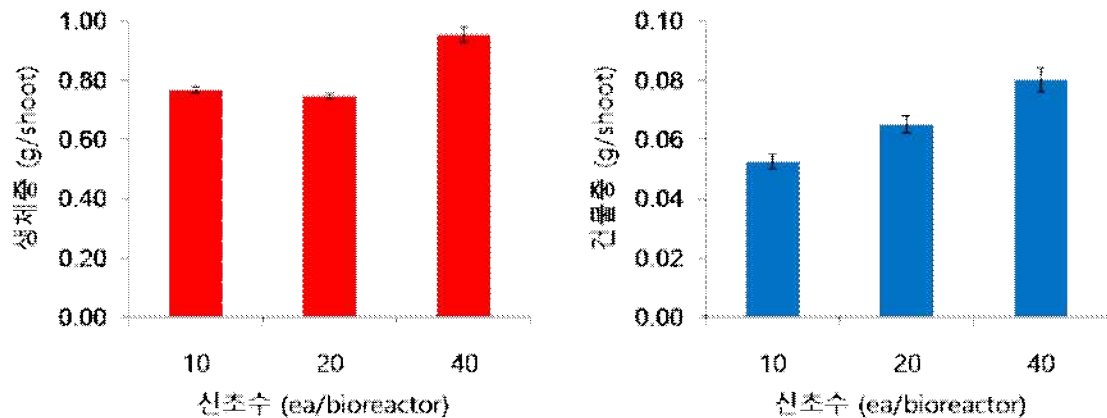


그림 3-1-7. 생물반응기배양 시 배지량이 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생체중과 건물중에 미치는 영향 (4주)

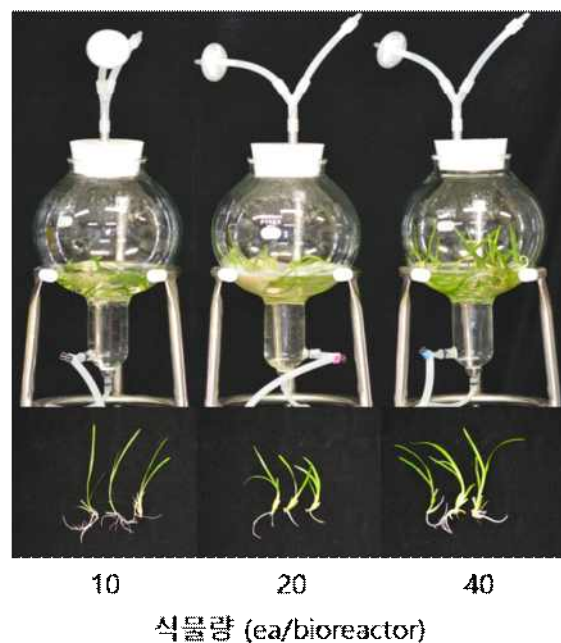


그림 3-1-8. 식물량에 따른 프리지아 ‘Shiny Gold’의 신초 생육 (4주)

5) 생물반응기배양시, 프리지아 신초 생육을 위한 적정 공기주입량 선발

식물재료는 프리지아 ‘Shiny Gold’의 신초(초장 3cm, 유식물체)를 이용하였다. 배지는 1/2 MS배지에 sucrose 3%(w/v)를 첨가한 다음 pH 5.80으로 조절하였다. 배지는 121℃에서 15분간 고압증기 멸균하였다. 생물반응기에 배지량이 20%가 되게 하였다. 공기주입량은 0.05, 0.1, 0.2vvm 3가지로 하였다. 배양조건은 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 광도 $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ (16h/8h), 생물반응기에서 4주간 배양을 하였다. 공기주입량을 달리하여 프리지아 신초를 생물반응기에서 4주간 배양한 결과는 그림 3-1-9, 10과 표 3-1-5와 같다. 공기주입량이 많을수록 생체중과 건물중이 늘어나는 경향이 뚜렷하였다(그림 3-1-9). 신초의 길이와 뿌리수, 그리고 뿌리 길이에서도 공기주입량이 많을수록 좋은 결과를 보였다. Kim et al.(2012)은 사계성 딸기 ‘고하’의 생물반응기배양 시 공기주입량 0.2vvm에서 엽수는 40.4개, 초장이 9.03cm로 가장 길었으며, 생체중은 6,106mg으로

다른 처리구에 비해 생육이 왕성하였다고 보고하였다. 결론적으로 프리지아 신초의 급속증식을 위해서는 식물량을 40개로 하는 것이 좋은 것으로 판단된다.

표 3-1-5. 생물반응기배양 시 공기주입량이 프리지아 ‘Shiny Gold’의 신초 생육에 미치는 영향 (4주)

공기주입량 (vvm)	신초수 (ea/shoot)	최대초장 (cm)	뿌리수 (ea/shoot)	최대근장 (cm)	pH	EC (mS·cm ⁻¹)	소모량 (mL/bioreac- tor)
0.05	1.00a ^z	12.55b	2.40a	3.70b	3.53a	4.70a	127.82c
0.1	1.00a	21.07a	3.74a	4.77b	3.93a	3.20b	277.26b
0.2	1.00a	18.08a	4.20a	8.17a	3.84a	3.84a	348.59a

^zDuncan'의 다중검정 $P=0.05$

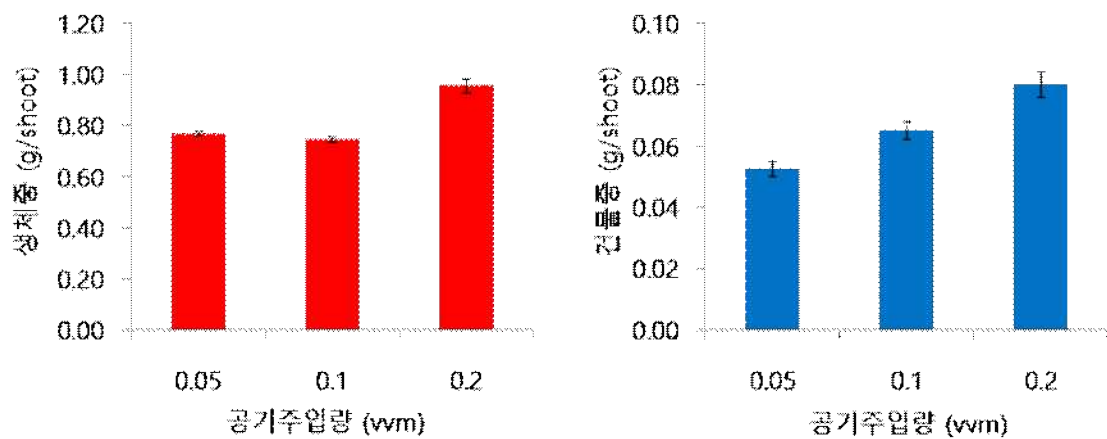


그림 3-1-9. 생물반응기배양 시 배지량이 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생체중과 건물중에 미치는 영향 (4주)

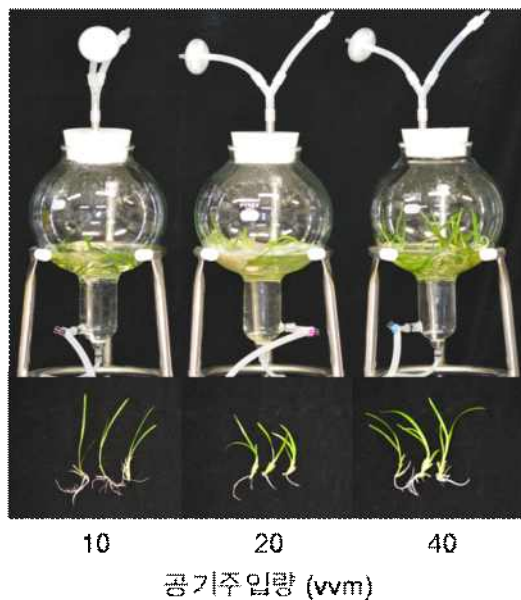


그림 3-1-10. 공기주입량에 따른 프리지아 ‘Shiny Gold’의 생육 모습 (4주)

6) 생물반응기 배양시, 프리지아 자구비대를 위한 적정 MS배지 농도 선발

식물재료는 프리지아 ‘Shiny Gold’의 싌초(초장 7-8cm)를 싌험에 이용하였다. 배지는 MS 배지에 sucrose 9%(w/v)를 첨가한 다음 pH 5.80으로 조절하였다. 배지를 121℃에서 15분간 고압증기 멸균한 후 생물반응기에 배지량 20%가 되게 넣었다. MS배지 농도는 1/4, 1/2, 1배 3가지로 하였다. 배양조건은 17±1℃, 암조건, 공기주입량이 0.2vvm의 생물반응기에서 6주간 배양을 하였다. MS배지 농도를 달리하여 프리지아 싌초로부터 자구를 비대시킨 결과는 그림 3-1-11, 12와 표 3-1-6과 같다. 자구의 생체중과 건물중을 보면 1/2배 배지에서 각각 0.55g과 0.25g으로 가장 높았다. 다음이 1배 배지에서 0.52g과 0.16g순이었다. 자구직경과 구고에서는 1/2배와 1배 배지에서 비슷한 수준이었다. 그러나 건물중의 결과는 1/2배 배지가 가장 높게 나와 자구의 충실도가 높을 것으로 여겨지는 바, 자구 비대를 위한 적정 배지 농도는 1/2배로 판단하였다. 액체진탕배양 시, *Lilium* ‘Amabile’, ‘Concolor’, ‘Dauricum’, ‘Hansonii’, ‘Tsingtauense’ 경우, MS배지 농도가 1배에서 생체중이 가장 높게 나타났다고 보고하였다(Eum et al. 2010). 결론적으로 생물반응기배양 시 프리지아 자구의 적정 배지 농도는 1/2배로 판단된다.

표 3-1-6. 생물반응기배양 시 MS배지 농도가 프리지아 자구 비대에 미치는 영향 (6주)

MS 배지 (strength)	자구수 (ea/shoot)	직경 (mm)	구고 (mm)
1/4	1.00a ^z	8.08b	10.69b
1/2	1.00a	8.92a	12.19ab
Full	1.00a	9.00a	11.31a

^zDuncan'의 다중검정 $P=0.05$

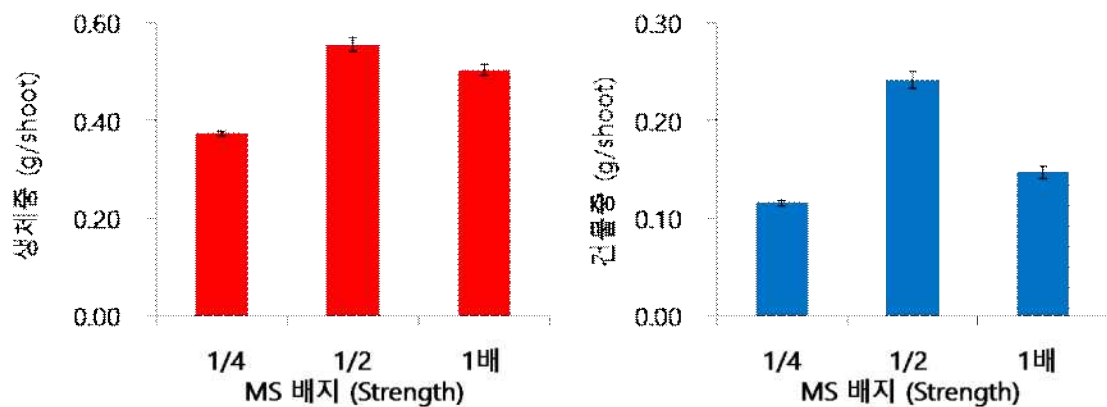


그림 3-1-11. 생물반응기배양 시 MS배지 농도가 프리지아 ‘Shiny Gold’의 자구 비대에 미치는 영향 (6주)

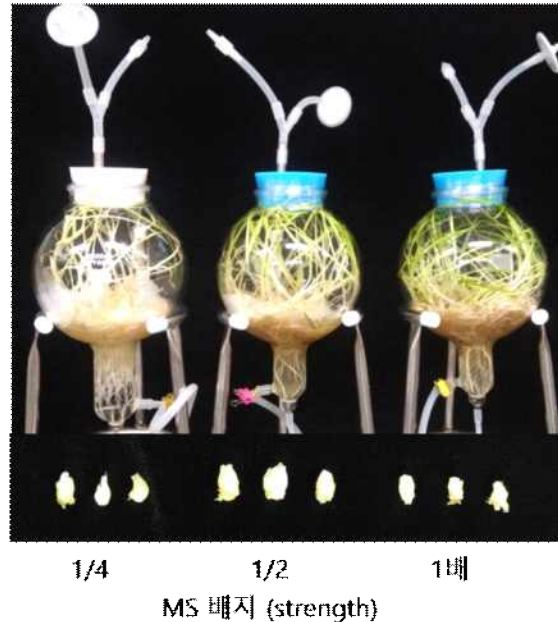


그림 3-1-12. MS배지 농도에 따른 프리지아 'Shiny Gold'의 생육 모습 (6주)

7) 생물반응기 배양시, 프리지아 자구비대를 위한 적정 sucrose 농도 선발

식물재료는 프리지아 'Shiny Gold'의 싹(초장 7-8cm)을 실험에 이용하였다. 배지는 1/2 MS배지에 sucrose 9%(w/v)를 첨가한 다음 pH 5.80으로 조절하였다. 배지를 121℃에서 15분간 고압증기 멸균한 후 생물반응기에 배지량 20%가 되게 넣었다. Sucrose 농도는 9, 12, 15% 3가지로 하였다. 배양조건은 17±1℃, 공기주입량이 0.2vvm의 생물반응기에서 6주간 암배양을 하였다. 생물반응기에서 sucrose 농도를 달리하고 프리지아 구경을 비대시킨 결과는 그림 3-1-13, 14와 표 3-1-7과 같다. 자구 비대는 sucrose 농도에 따라 현저하게 차이가 났다. 9%에서 생체 중과 건물중이 각각 0.67과 0.29g으로 가장 높았으며 다음으로 12%와 15%순이었다. 특히 15%에서는 구경의 비대가 거의 보이지 않았다. 자구의 크기에서도 9% 농도에서 직경이 9.15mm와 구고 10.28mm로 가장 높았으며 농도가 높아질수록 구경의 크기는 작아졌다. 이런 결과는 지금까지의 고체배지에서의 결과와는 크게 차이가 있는 것으로, 고체배지에서는 sucrose 20%에서 구 비대가 가장 잘 이루어졌다. 그러나 생물반응기에서는 절반 정도의 농도인 9%에서 가장 좋은 결과를 보여, 앞으로 생물반응기를 이용할 시에는 고체배지에서의 sucrose 사용량을 절반으로 줄여도 같은 효과를 볼 수 있다는 결론을 낼 수 있었다. Kim et al. (1996)은 *Lilium* 'Georgia'의 액체배양시 9% sucrose에서 구근비대를 촉진하며 12%에서는 구근비대를 억제한다고 보고하였으며, *Lilium* 'Casablanca'의 액체배양시 3% sucrose에서 구근비대를 촉진하며 sucrose 9% 이상 고농도에서는 구근비대를 억제한다고 보고하였다. Park et al. (1997)은 *Lilium* 'Connecticut King'의 경우, 9% sucrose정도 고농도의 당이 구근 비대를 촉진한다고 보고하였다. Lian et al.(2003)은 *Lilium* 'Casablanca'의 생물반응기배양 시, 9% sucrose에서 구근 비대를 촉진한다고 보고하였다. Goo et al.(2004)은 *Lilium* 'Hongwha'와 'Mirr'의 생물반응기배양 시, 6% sucrose에서 생육 및 자구비대에 가장 효과적이라고 보고하였다. Jeong et al. (2011)은 *Dioscorea opposita*의 생물반응기배양시 3% sucrose보다 6%에서 직경이 큰 소괴경이 많이 형성되었다고 보고하였다. 결론적으로 구근류의 구 비대를 위해서는 식물 종에 따라

조금씩 달라지나, 적정 sucrose 농도는 9% 인 것으로 판단되었다.

표 3-1-7. 생물반응기배양 시 sucrose 농도가 프리지아 자구 비대에 미치는 영향 (6주)

Sucrose (%)	자구수 (ea/shoot)	직경 (mm)	구고 (mm)
9	1.00a ^z	9.15a	10.28a
12	1.00a	7.26b	9.81a
15	1.00a	4.64c	5.93b

^zDuncan'의 다중검정 $P=0.05$

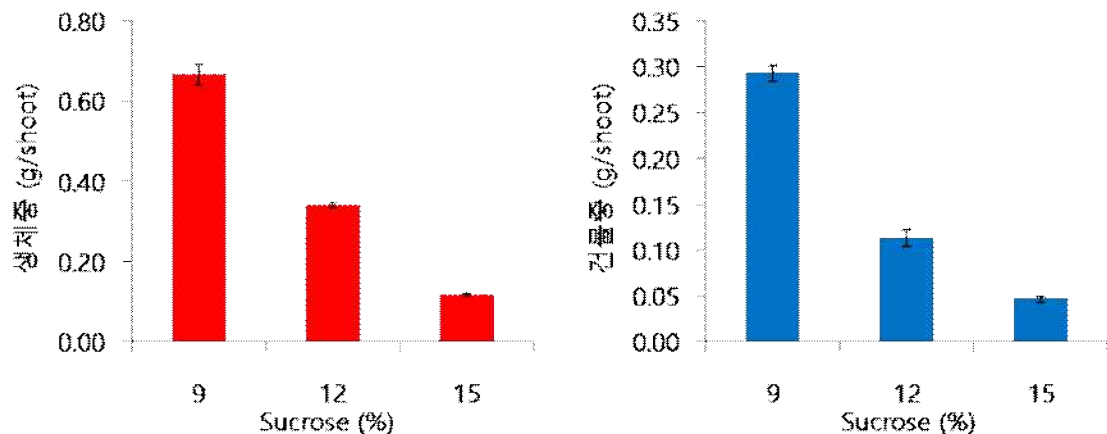


그림 3-1-13. 생물반응기배양 시 sucrose 농도가 프리지아 'Shiny Gold'의 생체중과 건물중에 미치는 영향 (6주)

8) 생물반응기배양 시 배지 교체 방법이 프리지아 구경비대에 미치는 영향

식물재료는 프리지아 'Shiny Gold'의 신초(초장 7-8cm)를 실험에 이용하였다. 배지는 1/2 MS배지에 sucrose 9%(w/v)를 첨가한 다음 pH 5.80으로 조절하였다. 배지를 121℃에서 15분간 고압증기 멸균한 후 생물반응기에 배지량 20%가 되게 넣었다. 배지교체는 무처리, 배양 3주째에 동일한 배지를 전체 교체, 1/2만 교체 3가지 방법으로 하였다. 배양조건은 17±1℃, 공기주입량이 0.2vvm의 생물반응기에서 6주간 암배양을 하였다. 생물반응기에서 프리지아 자구를 비대시키면서 배지를 바꾸어주거나 보충을 해줄 필요가 있다. 본 실험에서는 대조구로 배지를 바꾸지 않은 것과 배지 전체를 교체한 것, 1/2만 교체한 것을 두고 구 비대의 차이를 조사하였다. 배지를 배양 3주째에 전체를 교환해 주었을 때, 구 생체중과 건물중이 가장 높았다(그림 3-1-15,16). 자구크기에서도 전체 교환해주었을 때 직경 9.69, 구고 13.64mm로 가장 생육이 좋았다(표 3-1-8). 따라서 구 비대를 촉진시키기 위해서는 3주에 1회 배지를 전체 교환해 주는 것이 좋다고 판단되었다. Lian et al.(2003)은 *Lilium 'Casablanca'*의 생물반응기배양 시, 배지 교체를 하지 않은 것보다 배지를 교체하는 것이 구근비대를 촉진한다고 보고하였다. Jeong et al. (2011)은 *Dioscorea opposita*의 생물반응기배양 시 배지를 교체하는 것이 소피경 형성을 촉진시키는 효과가 있으며, 새로운 배지로 교체해주는 것이 배지에 축적된 생장억제물질의 제거 및 영양소를 공급해주는 효과가 있다고 하였다. 따라서 프리지아 구 비대를 촉진시키기 위해서는 3주에 1회 배지를 전체 교환해 주는 것이 좋다고 판단되었다.

표 3-1-8. 생물반응기배양시, 배지 교체 방법이 자구비대에 미치는 영향 (6주)

배지교체방법	자구수 (ea/shoot)	직경 (mm)	구고 (mm)
무처리	1.00a ^z	8.09c	10.68c
전체 교체	1.00a	9.69a	13.64a
1/2 교체	1.00a	9.05b	11.95b

^zDuncan'의 다중검정 $P=0.05$

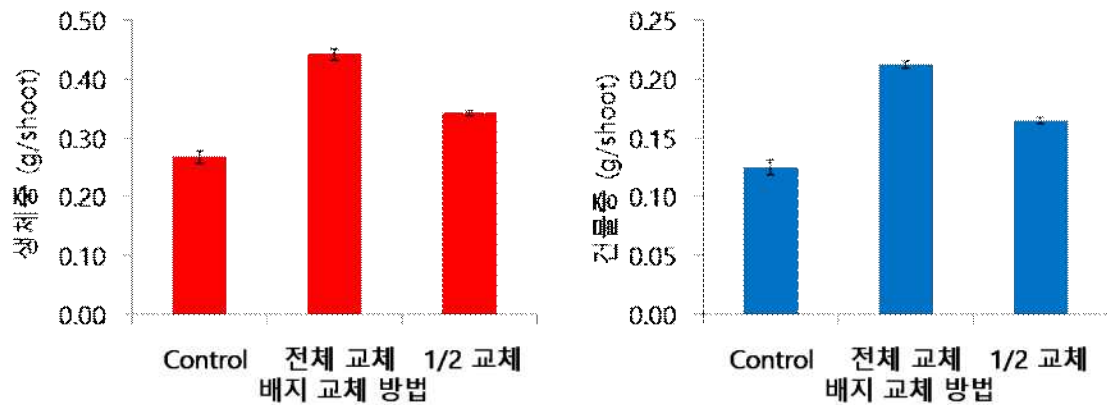


그림 3-1-15. 생물반응기배양 시 배지 교체 방법이 프리지아 'Shiny Gold'의 생체중과 건물중에 미치는 영향 (6주)



그림 3-1-16. 생물반응기배양 시 배지 교체 방법이 프리지아 'Shiny Gold'의 생육 모습 (6주)

8. 프리지아 기내 생산 신초의 최적 순화조건 구명

관행적으로 기내에서 신초를 생육시켜 기외에서 정식하여 구를 비대시키고 있는 경우가 있다. 이 경우 기내의 특이한 환경(습도 100%, 낮은 광도)에서 생장된 신초를 기외의 자연환경에 바로 두게 되면 많은 스트레스를 받게 되어 고사주가 생기거나 구비대가 제대로 이루어지지 않는 경우가 생기에 된다. 따라서 본 연구에서는 기내에서 생육시킨 신초를 기외로 정식할 때 적정 순화 환경을 구명하고자 실시하였다.

1) 기내생산 신초의 순화 시, 적정 습도 구명

식물재료는 기내에서 생산된 프리지아 ‘Shiny Gold’의 신초를 이용하였다. 습도는 80, 60, 40%로 설정하였다. 배양조건은 광도 5,000-7,000Lux, 온도 20℃로 하였으며 관수는 1회/1일 토양의 건조 상태를 확인하고 필요시 관수하였다. 주 1회 1,000배액 hyponex 용액으로 시비하였다. 4주 후에 고사율, 신초 생체중과 건물중, 초장, 뿌리수 및 뿌리 생체중 등 생육조사를 실시하였다. 습도를 달리하고 습도가 40%로 낮아질수록 신초의 생육상태는 좋아졌다. 엽수, 초장, 뿌리수, 엽폭, 지상부 및 지하부 생체중에서 모두 40% 습도하에서 가장 높은 수치를 보였다(표 3-2-1). 특히 엽폭이 60% 이상에서 보다 2배 이상 되어 40% 습도가 프리지아 신초의 초기 생육에는 좋은 것으로 판단되었다. 사진으로 보아도 이러한 현상은 뚜렷하게 나타났다(그림 3-2-1)

표 3-2-1. 습도가 프리지아 기내 생산 신초의 생육에 미치는 영향(4주)

습도 (%)	신초수 (ea/shoot)	엽수 (ea/shoot)	초장 (cm)	뿌리수 (ea/shoot)	근장 (cm)	엽폭 (cm)	지상부 생체중 (g)	지하부 생체중 (g)
40	1.00a ^z	6.10a	23.77a	3.70a	8.90a	0.99a	1.09a	0.29a
60	1.00a	4.69b	19.53b	2.66b	8.71a	0.46b	0.59b	0.23a
80	1.00a	4.86b	19.61b	1.97c	6.51b	0.42b	0.49b	0.11b

^zDuncan'의 다중검정 $P=0.05$

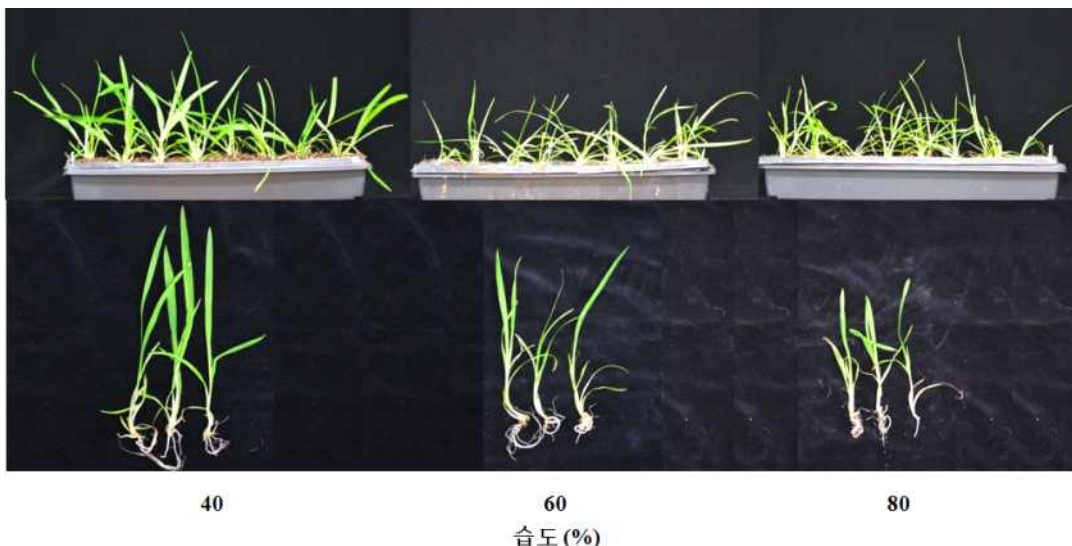


그림 3-2-1. 습도에 따른 기내 생산 프리지아 ‘Shiny Gold’의 신초 생육 (4주)

2) 프리지아 기내생산 신초의 순화 시, 적정 광도 구명

식물재료는 기내에서 생산된 프리지아 ‘Shiny Gold’의 신초를 이용하였다. 차광은 60, 75, 90%로 설정하였다. 배양조건은 광도 5,000-7,000Lux, 온도 20℃로 하였으며 관수는 1회/1일 토양의 건조 상태를 확인하고 필요시 관수하였다. 주 1회 1,000배액 hyponex 용액으로 시비하였다. 4주 후에 고사율, 신초 생체중과 건물중, 초장, 뿌리수 및 뿌리 생체중 등 생육조사를 실시하였다. 차광이 80%까지 증가할수록 초장이 증가하였다. 80% 차광구에서는 엽폭이 좁고 도장하는 경향이 있었다(표 3-2-2). 엽폭은 이와는 반대로 차광정도가 낮을수록 넓어져, 차광은 60%정도가 신초의 생육에는 적합한 것으로 판단되었다(그림 3-2-2).

표 3-2-2. 차광정도가 기내 생산 신초의 순화에 미치는 영향 (4주)

차광 (%)	신초수 (ea/shoot)	엽수 (ea/shoot)	초장 (cm)	뿌리수 (ea/shoot)	근장 (cm)	엽폭 (cm)	지상부 생체중 (g)	지하부 생체중 (g)
60	1.00a ^z	5.42a	8.33b	3.94a	9.53a	0.99a	0.64a	0.23b
75	1.00a	5.26a	14.63a	3.16b	9.60a	0.90ab	0.74a	0.32a
80	1.00a	5.17a	14.00a	3.30ab	8.60a	0.84b	0.66a	0.29a

^zDuncan'의 다중검정 $P=0.05$

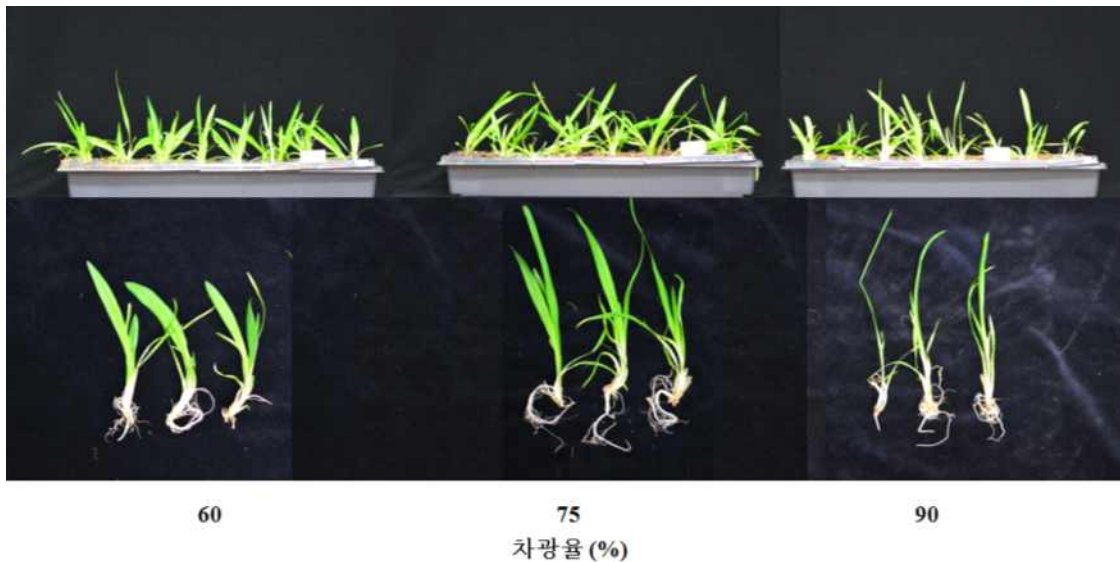


그림 3-2-2. 차광정도에 따른 기내 생산 프리지아 ‘Shiny Gold’의 신초 생육(4주)

9. 국내 육성 프리지아 우량종구 생산 및 보급

국내 육성 프리지아 품종의 우량구를 생산하여 농가에 보급하기 위해 기존의 기내 증식 방법에 따라 프리지아 구경을 생산하였다. 즉, 생장점 배양을 통해 얻어진 자구를 종으로 여러 단 절단하여 고체배지에서 부정아를 발생시키고 다시 부정아로부터 신초를 발생시켰다. 8-10cm 정도 자란 신초를 MS배지(sucrose 20%)에 치상하고 17℃, 암상태에서 8개월 배양하였다. 이렇게 얻어진 구경을 프리지아 농가에 보급하였다(표 1-4-1, 2, 3)

표 1-4-1. 국내 육성 프리지아 우량종구생산 및 농가 보급

작물 명	품종 명	수량 (조직배양묘)	용도
프리지아	Gold Rich	4,000주	우량종묘 증식
프리지아	Shiny Gold	4,000주	우량종묘 증식
프리지아	Song of Heaven	2,000주	우량종묘 증식
합계		10,000주	

*보급 농가 : 하늘화훼종묘 (대표 이정민)

국내 육성 프리지아 품종의 우량구를 생산하여 농가에 보급하기 위해 기존의 기내 증식 방법에 따라 프리지아 구경을 생산하였다. 즉, 생장점 배양을 통해 얻어진 자구를 종으로 여러 단으로 절단하여 고체배지에서 부정아를 발생시키고 다시 부정아로부터 신초를 발생시켰다. 8-10cm 정도 자란 신초를 MS 액체배지 (sucrose 9%)에 치상하고 17℃, 암상태에서 2개월 배양하였다. 이렇게 얻어진 구경을 프리지아 농가에 보급하였다.

표 1-4-2. 국내 육성 프리지아 우량종구 20,000구 (조직배양묘)를 생산하여 농가에 보급

작물 명	품종 명	수량 (조직배양묘)	용도
프리지아	Gold Rich	9,000	
프리지아	Shiny Gold	9,000	
프리지아	Song of Heaven	2,000	
합계		20,000	

o 보급 농가 : 하늘화훼종묘 (대표 이정민), 프리지아 농사(대표 한양옥)

국내 육성 프리지아 품종의 우량구를 생산하여 농가에 보급하기 위해 기존의 기내 증식 방법에 따라 프리지아 구경을 생산하였다. 즉, 생장점 배양을 통해 얻어진 자구를 종으로 여러 단 절단하여 고체배지에서 부정아를 발생시키고 다시 부정아로부터 신초를 발생시켰다. 8-10cm 정도 자란 신초를 MS배지(sucrose 20%)에 치상하고 17℃, 암상태에서 8개월 배양하였다. 이렇게 얻어진 구경을 프리지아 농가에 보급하였다.

1-4-3. 국내 육성 프리지아 우량종구 1생산하여 농가에 보급

작물명	품종명	수량 (조직배양묘)	용도
프리지아	Gold Rich	6,000주	우량종묘 증식
프리지아	Shiny Gold	6,000주	우량종묘 증식
프리지아	Song of Heaven	4,000주	우량종묘 증식
합계		16,000주	

o

보급 농가 : 하늘화훼종묘 (대표 이정민), 프리지아 농사(대표 한양옥)

제3절 국내 육성 프리지아의 주 생산지 무병종구 시범재배를 통한 재배안정성 검토

1. 국내 육성품종의 무병묘 및 종구 성능 양액재배 현장실증(양액배지선발)

본 연구에 사용된 프리지아는 국내 육성종인 ‘샤이니골드’와 ‘골드리치’ 품종으로 휴면이 타파된 구근을 저온처리 하지 않고 최저온도 10℃가 유지되는 서천의 단동 가온 비닐하우스와 완주의 3연동 비닐하우스에 2014년 9월 1일 정식하여 수행하였다(그림1). 재배 배드(폭80cm×높이 20cm)에 배지를 채우고 정식 전, EC 1.0dS·m⁻¹의 배양액으로 포화시켰고 10cm×10cm간격으로 정식하였다. 배양액 조성은 네덜란드 화훼연구소(PBG) 처방액(순환식기준)으로 표1과 같다. 급액은 점적 테이프를 이용하여 1회에 주당100mL를 오전(7:00)과 오후(19:00) 2회/일 공급하여 재배하였다. 배양액의EC는 정식 후 2주까지는 EC 0.6dS·m⁻¹, 이후 꽃눈분화 이전까지는 EC 1.0dS·m⁻¹, 꽃눈분화 이후는 EC 1.2dS·m⁻¹로 관리하였으며 pH는 전 생육기간 동안 5.8±0.2로 일정하게 유지시켰다. 시험구는 펄라이트 단용, 피트모스 단용 및 펄라이트+피트모스(1:1, v/v) 혼합 등 3처리를 두고 반복당 재식 주수를100주로하여 완전임의 3반복으로 배치하였다. 처리 용토의 가밀도(dry density), 공극률, 액상, 기상, 중량수분함량(Gravimetric water content) 등 물리적 특성(표 2)은 EN분석법에 따라 각각의 항목을 분석하였다(CEN, 1999). 꽃눈분화 전 생육특성으로 초장과 엽수는 정식 후 2주가 경과되었을 때, 2주 간격으로 4회에 걸쳐 조사하였다. 엽록소함량은 정식 후 9주가 경과되었을 때 SPAD meter(SPAD-502, Minolta, Japan)를 상용하여 3번째 잎의 중간부위를 측정하였다. 식물체 무기성분 분석은 화뢰가 출현된 직후 식물체 시료를 세척 후 건조(70℃, 72hr)한 다음 분쇄하여 흑연 블록산 순환 포집 분해장치(Ecopre, OD-lab, Seoul, Korea)를 이용하여 전처리하고, P은 ammonium vanadate법에 의한 비색정량, K, Ca, Mg은 원자흡광분광광도계(atomic absorption spectrophotometer, GBC Avanta PM, GBC Scientific Equipment Pty Ltd., Victoria, Australia)를 이용하여 분석하였고, 질소함량은 CN 원소분석기(Vario MAX CN, Elementar Analysensysteme GmbH, Germany)를 사용하여 분석하였다. 양액배지별 개화반응을 보기 위하여 개화특성조사를 측정하였다. 1번 소화가 착색되어 봉오리가 1~2mm 정도 열개되었을 때를 개화시로 조사하고, 1번화의 첫 번째 소화가 완전히 개화하였을 때 초장, 1번화의 절화장, 소화수, 1번 절화무게(생체중, 건물중)를 측정하였다. 또한 만개시에 전체 식물체 무게와 1번 절화무게를 측정하였다. 실험 결과에 대한 통계분석은 SAS(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 9.1 통계프로그램을 이용하여 5% 유의수준으로 실시하였다.



‘사이니콜드’ 품종 구근



‘골드리티’ 품종 구근



서천 : 단동, 측고 1.5m



완주 : 연동, 측고 5.5m

그림 1. 정식 전 구근휴면타파(위) 및 정식 후 생육 사진(아래)

표 1. 공급 PBG^z 양액 조성표

성분	다량요소						미량요소					
	Ca(NO ₃) • 4H ₂ O	KH ₂ PO ₄	MgSO ₄ • 7H ₂ O	KNO ₃	NH ₄ NO ₃	Fe-EDT A	MnSO ₄ • H ₂ O	H ₃ BO ₃	Na ₂ B ₄ O ₇ • 10H ₂ O	ZnSO ₄ • 7H ₂ O	CuSO ₄ • 5H ₂ O	Na ₂ MoO ₄ • 2H ₂ O
농도 (mg • L ⁻¹)	590	115	370	606	80	16	1.563	1.429	2.273	0.87	0.2	0.125

^zResearch Station for Floriculture &Vegetables in Netherlands.

표 2. 상토 처리별 물리성

양액배지	가비중 (g/cm ³)	전체공극 (%)	액상 (%)	기상 (%)	중력수 비율 (%)
펄라이트	0.15a	94.6	22.7c	71.7a	151.3c
피트모스	0.08b	96.6	52.7a	43.9c	658.8a
혼합 ^y	0.11a	95.8	37.0b	58.8b	336.4b

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range tests at $P \leq 0.05$.^yperlite + peatmoss(1:1, v/v).

2. 결과 및 고찰

가. 지역별 생육특성조사

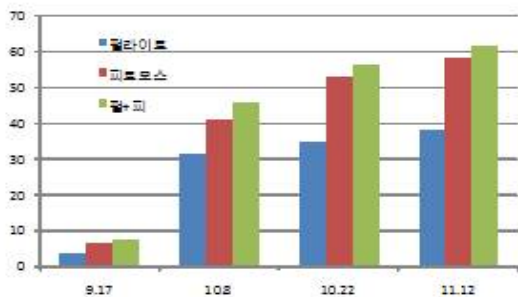
1) 서천지역 생육특성조사

표 3. 품종별 양액배지별 생육특성 조사

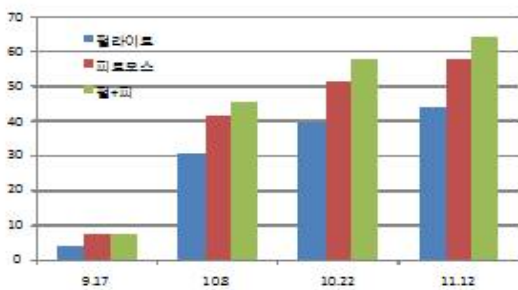
처리	샤이니골드			골드리치		
	엽장(cm)	엽폭(cm)	엽수	엽장(cm)	엽폭(cm)	엽수
펄라이트	38.3	1.7	4.5	44.1	2.1	4.7
피트모스	58.5	2.0	5.0	57.9	2.1	5.2
혼합(1:1)	61.8	2.0	5.4	64.5	2.1	5.5

엽장은 두 품종 모두 펄라이트가 가장 짧았고 피트모스가 펄라이트보다 길었고 혼합배지에서 가장 길게 조사되었다. 엽폭의 차이는 크지 않았고 엽수는 엽장과 비슷한 경향을 보였는데 혼합배지에서 가장 생육이 좋은 것으로 나타났다. 꽃눈분화 전 초장은 펄라이트 배지 보다 피트모스 배지와 혼합(펄라이트1+피트모스1, v/v)배지에서 증가 되었다(표 3). 절화수국에서도 펄라이트+코코피트(1:1) 혼합배지가 펄라이트와 코코피트 단용배지 보다 절화장이 긴 것으로 보고되어 본 연구 결과와 비슷하였다(Hwang et Al., 2013). 이는 혼합배지가 펄라이트 배지(관행) 보다 물리성 개선효과가 큰 것으로 판단된다.

·시기별 엽장변화

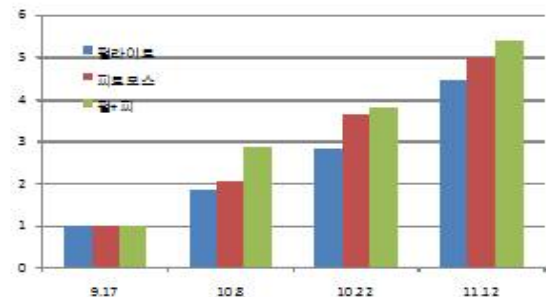


샤이니골드

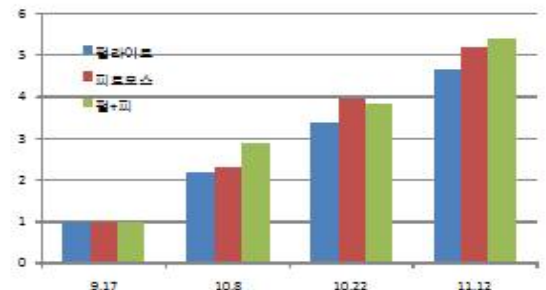


골드리치

·시기별 엽수변화



샤이니골드



골드리치

그림 2. 품종과 양액배지에 따른 시기별 엽장과 엽수의 변화

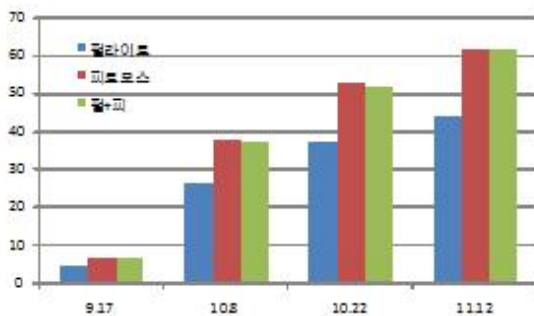
시기별 엽장의 변화를 보면 ‘샤이니골드’, ‘골드리치’두 품종 모두 같은 경향을 보였는데, 펄라이트<피트모스<펄라이트+피트모트 순으로 엽장이 증가하였음. 엽수의 시기별 변화도 엽장의 변화와 비슷한 경향을 보였다.

2) 완주 생육상황

표 4. 품종에 따른 양액배지 처리별 생육특성

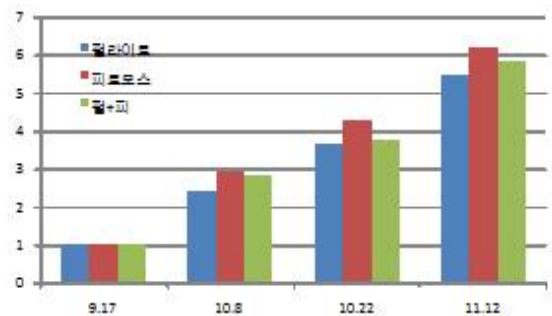
처리	샤이니골드			골드리치		
	엽장(cm)	엽폭(cm)	엽수	엽장(cm)	엽폭(cm)	엽수
펄라이트	48.9	1.9	5.5	37.7	2.0	5.4
피트모스	61.6	2.5	6.3	58.3	2.5	6.2
펄라이트+피트모스	61.5	2.1	5.9	60.3	2.4	6.0

· 시기별 엽장변화

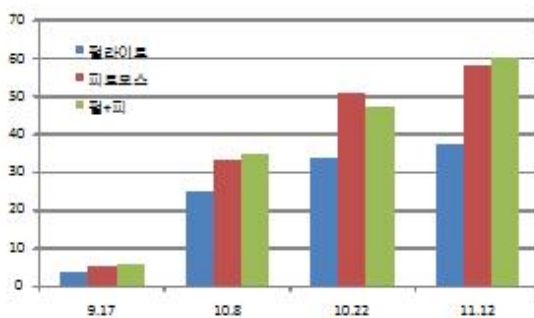


샤이니골드

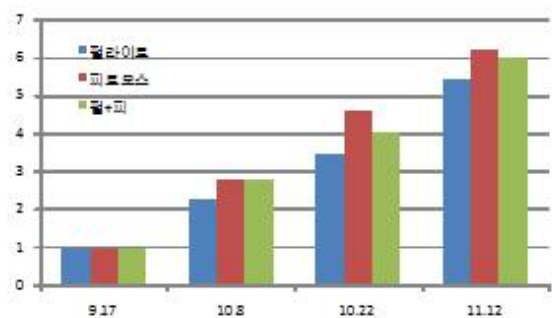
· 시기별 엽수변화



샤이니골드



골드리치



골드리치

그림 3. 품종과 양액배지에 따른 시기별 엽장과 엽수의 변화

처리별 엽장은 피트모스와 펄라이트+피트모스 혼합처리에서 펄라이트 단용 처리 보다 성적이 우수하였음. 엽수도 엽장과 같은 경향이었으나 두 품종 모두 피트모스 단용 처리가 혼합 처리보다 엽수가 더 증가하였음

표 5. 품종별 재배 용토에 따른 배양묘 정식 생육상황

처리	샤이니골드		골드리치	
	엽장(cm)	엽수	엽장(cm)	엽수
펄라이트	17.0	2.8	15.9	2.9
피트모스	20.0	2.4	16.7	3.0
펄라이트+피트모스	20.9	2.6	15.8	2.5

배양묘의 생육을 보면(표 5) 샤이니골드 품종은 생육초기 엽장이 펄라이트에서 17.0cm로 가장 짧았고, 피트모스와 펄라이트+피트모스 혼합처리에서 20.0cm로 긴 것으로 조사되었고 엽수는 오히려 펄라이트 단용 처리에서 피트모스보다 0.4개, 혼합처리보다 0.2개가 많았다. 골드리치 품종에서는 양액배지별 엽장은 큰 차이를 보이지 않았고, 엽수는 피트모스 단용 처리가 3.0개로 가장 많았다.

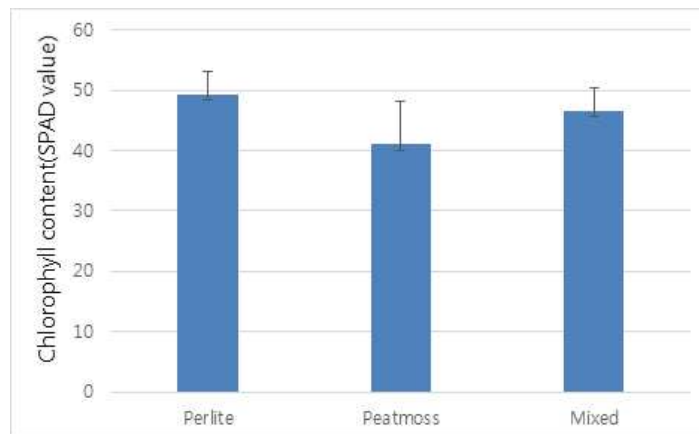


그림 4. 양액배지별 프리지아(골드리치) 엽록소함량(SPAD) 비교

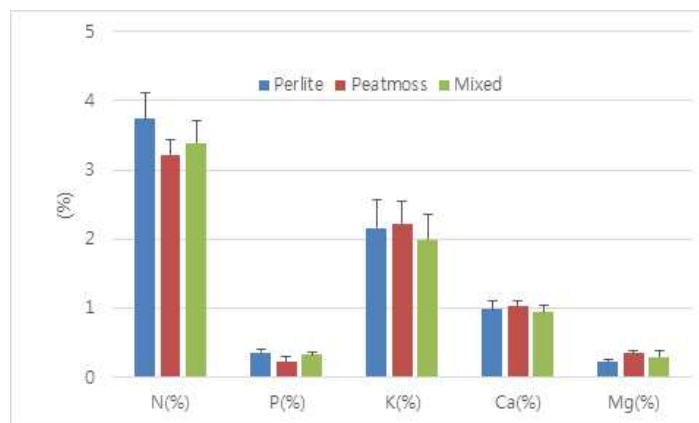


그림 5. 양액배지별 프리지아(골드리치) 엽내 무기이온 흡수량 비교

SPAD를 이용하여 골드리치 품종의 엽내 엽록소 함량(SPAD value)을 측정한 결과(그림 4) 역시 수치상으로는 펄라이트 배지에서 49.3으로 가장 높았지만 통계적인 차이는 없었다. 배지종류별 화뇌 형성기에 무기이온 흡수량을 보기위해 대표적으로 골드리치 품종의 엽내 N, P, K, Ca 및 Mg의 분석결과(그림 5), 펄라이트 배지에서 자란 식물체의 잎에서 N 함량과 P 함량이 높았고, 피트모스배지에서 자란 식물체는 K 함량과 Ca 및 Mg 함량이 높은 것으로 분석되었지만 통계적으로 큰 차이를 보이지 않았다. Hwang et al.(2003)은 배지종류별 국화 생육 반응 연구에서 T-N, P 및 K 함량이 피트모스+왕겨혼합배지가 왕겨나 펄라이트 단용배지 보다 전반적으로 높게 나타났다고 보고하였지만 본 연구는 배지 별 큰 차이를 보이지 않아 다른 경향을 보였다.

나. 지역별 개화특성조사

1) 서천지역 생육특성조사

표 5. 품종별 재배용토에 따른 개화특성

품 종	재배용토	개화소요일수 (일)	초 장 (cm)	1번화 절화장 (cm)	화서장 (cm)	소화수	화고 (cm)	화폭 (cm)	분지수
샤이니 골드	펄라이트	151a ^z	91.2b	44.1	11.7	9.8	5.5	7.0	3.5
	피트모스	142b	108.0a	49.5	11.7	11.9	5.4	7.0	3.7
	혼합(1:1)	140c	107.0a	46.2	11.5	12.0	5.0	6.2	3.4
골드 리치	펄라이트	150a	76.6b	42.5	13.0	9.7	5.6	6.8	2.9
	피트모스	143b	94.1a	43.9	13.5	12.3	5.1	6.7	4.4
	혼합(1:1)	137c	96.6a	47.3	13.2	11.6	5.1	6.2	3.3
샤이니 골드 (배양구)	펄라이트	165a	75.0c	38.0	12.5	10.0	5.5	7.3	3.0
	피트모스	147b	99.0a	55.1	12.4	11.1	5.4	7.5	4.9
	혼합(1:1)	140c	89.9b	45.9	12.1	11.3	5.3	6.4	3.7
골드 리치 (배양구)	펄라이트	158a	72.0b	38.0	16.0	11.5	4.5	4.0	3.5
	피트모스	148b	83.0a	47.0	16.6	11.0	5.3	7.6	2.8
	혼합(1:1)	137c	68.3b	44.7	17.0	11.7	5.0	7.0	2.7

^zDMRT(0.05)



샤이니골드

골드리치

배양구(샤이니골드)

배양구(골드리치)

그림 6. 처리별 개화사진(펄라이트, 피트모스, 혼합)

재배 배지에 따른 개화특성은 표 5와 그림 6과 같다. 정식 이후 개화까지 걸린 시간은 혼합배지에서 자란 프리지아가 가장 짧았고, 다음으로 피트모스 배지, 펄라이트 배지는 가장 늦었다. 이와 같이 배지 간 식물의 개화기간 차이는 구근을 이용했을 때 최대 13일로 많은 차이를 보였다. 배양묘에서도 같은 경향이었지만 그 차이는 더 커서 최고 21까지 차이가 났다. 조기 출하 시 절화 단가가 높고 꽃 수확 이후 겨울철 난방비를 절감할 수 있기 때문에 농가에서는 빠른 절화 수확을 선호한다. 따라서 재배 배지에 따라 출하시기가 달라질 수 있어 조수익에 큰 영향을 줄 수 있다고 생각된다. 식물체 초장은 피트모스와 혼합배지에서 자란 식물이 비슷했지만 펄라이트 배지에서 자란 식물체는 가장 짧았고 다른 두 배지와 비교 시 20cm가까이 차이가 나는 것으로 조사되었다. 그림6은 처리별 개화기에 촬영한 사진인데 전체 생육이 펄라이트 배지에서 피트모스나 혼합 배지보다 많이 억제된 것을 확인할 수 있다. 1번화 절화 길이도 같은 경향으로 혼합배지와 피트모스배지에서 자란 식물이 길었고 펄라이트 배지에서 자란 식물이 가장 짧았다. 소화수는 피트모스와 혼합배지에서 자란 프리지아는 펄라이트 배지에서 자란 프리지아보다 많은 경향이었고 배지종류에 따라서 소화수 차이가 약 2개 가까이 나는 것으로 조사되었다. 배양묘를 정식한 경우 소화수는 처리별 큰 차이를 보이지는 않았다. 시험에 사용한 상토의 물리적 특성을 보면(표 2), 가밀도는 펄라이트 배지가 0.15 g m^{-3} 으로 가장 높고 피트모스 배지는 0.08 g m^{-3} 으로 가장 낮았다. 전체 공극률은 반대로 피트모스 배지에서 96.6%로 가장 높았고 펄라이트 배지는 94.6%로 가장 낮았다. 또한 전체 공극 중 펄라이트 배지는 많은 부분이 공기로 채워져 있었고, 피트모스 배지는 물로 채워진 부분이 많았다. 펄라이트와 피트모스, 혼합배지의 물리성은 전체적으로 단용배지와 비교했을 때 한쪽에 치우치지 않고 개선된 것으로 조사되었다. 배지 종류별 절화수국의 연구결과(Hwang et al., 2013)를 보면, 배지의 수분 함량이 펄라이트 배지는 201%, 펄라이트+코코피트(1:1) 혼합배지는 310%, 코코피트 배지가 618%로 가장 많았고 공극률은 펄라이트 배지가 95.3%, 펄라이트+코코피트(1:1) 혼합배지는 96.1%, 코코피트 배지는 97.6%로 분석됐는데, 혼합배지에서 절화장이 가장 양호했으며 꽃 크기와 꽃 무게도 양호한 결과를 얻은 것으로 보고했는데 이는 배지의 물리성과 연관이 깊다고 판단했다. 우리 연구결과도 배지의 물리성에서 비슷한 분석결과를 보여, 혼합배지에서 생육 및 개화특성이 우수한 것은 혼합배지가 물리성 개선 효과가 있는 것으로 생각된다. 결과적으로 본 연구를 종합적으로 분석한 결과 프리지아 양액재배 시 적정 배지로는 지상부 생육이 좋고 개화특성에서 우수한 결과를 보인 펄라이트와 피트모스를 1:1로 혼합한 배지로 판단된다.

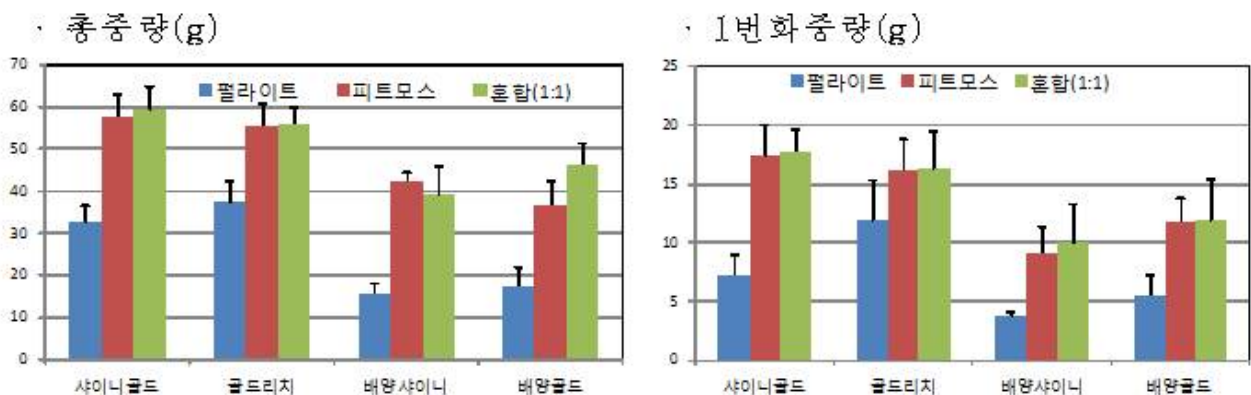


그림 7. 품종별 재배용토에 따른 총무게 및 1번화무게

소화가 모두 발달되었을 때 식물체 전체의 무게와 1번화 무게를 조사한 결과는 그림 7과 같다. 일반 구근을 이용한 경우, 식물체 전체의 생체중은 피트모스와 혼합 배지에서 자란 식물체가 가장 무거웠고 펄라이트 배지가 가장 가벼운 것으로 조사되어 유의한 차이를 보였다. 펄라이트 배지에서 자란 식물체가 다른 두 배지보다 가벼워 재배하는 배지에 따라 생육차이가 크게 나타났다. 1번화 무게도 비슷한 결과를 보였는데, 피트모스 배지와 혼합배지에서 자란 식물의 1번화 무게가 15g에서 20g사이로 조사되었지만 펄라이트 배지에서 자란 식물체는 15g 이하로 차이가 많았다. 배양묘의 경우도 비슷한 경향으로 두 품종 모두 펄라이트에서 생육이 억제되는 것으로 조사되었다. 배양묘의 경우 일반구근을 이용 했을 때보다 전체중이나 1번화 무게에서 15g이상 적게 조사되었다. 생육조사 결과 재배 배지에 따라 생육 및 절화 품질에 많은 차이가 나는 것으로 분석되었다. Aichiken 처방액을 이용한 국화 양액재배 결과(Hwang et al., 2003), 피트모스+왕겨 혼합배지가 왕겨 단용배지와 펄라이트 단용배지 보다 지상부 생체중이 높았다는 보고와 같은 경향을 보였다. 일반구근 정식 시 생존률은 두 품종 모두 피트모스와 혼합용토에서 펄라이트 보다 높았으나, 배양구근은 피트모스 용토에서 높았다. 바이러스 감염률은 일반구근 정식에서는 25%이상 감염된 것으로 조사되었고, 배양구근은 5% 이하로 조사되었다(그림 8).

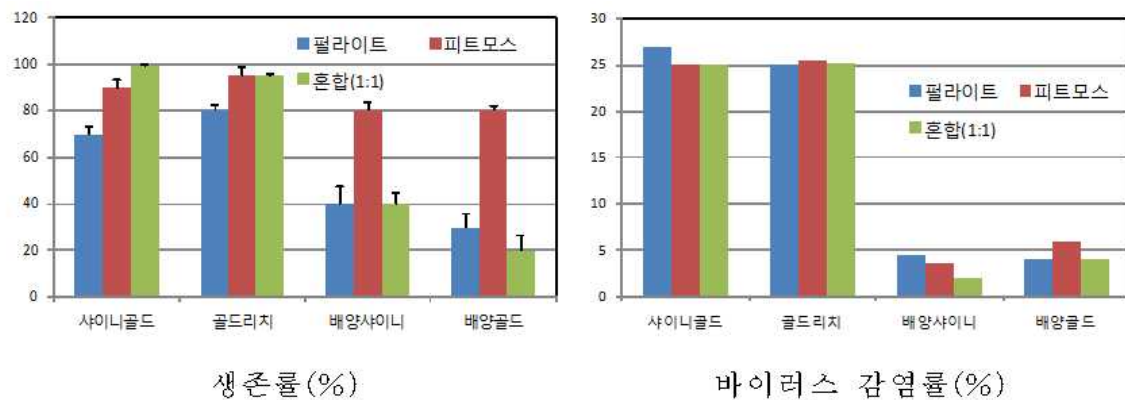


그림 8. 품종별 재배용토에 따른 생존율 및 바이러스 감염율(%)

표 6. 품종별 재배용토에 따른 구근특성

품 종	재배용토	구고 (mm)	구경 (mm)	전체중 (g)	모구중 (g)	자구수
사이니골드	펄라이트	26.3	22.6	12.1	8.7	3.4
	피트모스	24.3	23.1	10.5	8.1	2.2
	혼합(1:1)	27.3	25.7	15.6	11.6	2.8
골드리치	펄라이트	29.0	21.5	8.0	6.8	1.5
	피트모스	28.7	22.6	9.6	8.3	1.3
	혼합(1:1)	29.0	24.1	15.4	10.9	3.7
사이니골드 (배양구)	펄라이트	27.5	19.3	8.0	6.2	3.0
	피트모스	30.9	20.7	8.0	6.7	1.8
	혼합(1:1)	30.0	22.2	12.6	8.6	3.0
골드리치 (배양구)	펄라이트	28.0	16.0	6.3	5.1	2.6
	피트모스	28.5	19.6	8.8	6.4	2.2
	혼합(1:1)	31.0	19.9	9.1	6.8	2.6



샤이니골드

골드리치

배양구(샤이니골드)

배양구(골드리치)

그림 9. 처리별 구근사진

지하부 생육은 배지처리별 큰 차이를 보이지 않았다. 샤이니골드 품종은 구고, 전체중, 모구중에서 혼합배지가 가장 무거웠고 다음으로 펄라이트 배지의 성적이 우수했다. 특히 자구수는 펄라이트 배지에서 가장 많이 증식되었다. 골드리치 품종은 전체중, 모구중, 자구수에서는 혼합배지가 우수했고, 다른 특성은 큰 차이를 보이지 않았다. 배양구의 경우 샤이니골드 품종은 혼합배지가 다른처리에 비해 구고, 전체중, 모구중, 자구수 등에서 특성이 우수하였고, 골드리치 품종은 구고, 구경, 전체중이 혼합배지에서 우수하였다.

2) 삼례 개화특성

표 7. 품종별 재배용토에 따른 개화특성

품 종	재배용토	개화소 요일수 (일)	초장 (cm)	1번화 절화장 (cm)	화서장 (cm)	소화수	화고 (cm)	화폭 (cm)	분지수
샤이니골드	펄라이트	142a ^z	103.8b	46.7	11.85	10.1	4.7	6.8	5.4
	피트모스	140b	116.2a	46.0	11.45	9.2	4.5	6.4	4.7
	혼합(1:1)	138c	112.9a	42.4	10.25	9.8	4.9	6.2	5.4
골드리치	펄라이트	142a	93.4b	48.3	15.1	9.8	4.3	7.2	4.0
	피트모스	140b	110.1a	47.8	13.3	8.9	4.6	7.0	4.8
	혼합(1:1)	138c	111.4a	49.6	13.8	9.9	4.5	7.2	4.8
샤이니골드 (배양묘)	펄라이트	153a	74.2b	46.9	16.3	10.0	4.8	6.3	4.1
	피트모스	139b	94.8a	48.1	13.2	10.6	4.5	6.4	4.8
	혼합(1:1)	140b	81.6ab	45.6	13.1	11.0	4.8	6.5	4.0
골드리치 (배양묘)	펄라이트	149a	60.7b	40.1	15.4	8.6	5.2	5.8	3.7
	피트모스	145b	76.3a	44.2	16.9	12.4	5.0	5.7	3.2
	혼합(1:1)	138c	68.4ab	41.7	17.0	11.0	5.0	5.5	3.1

^zDMRT(0.05)



사이니골드 골드리치 배양묘(사이니골드) 배양묘(골드리치)

그림 10. 처리별 개화사진(펄라이트, 피트모스, 혼합)

재배 배지에 따른 개화특성은 표 7와 그림 10와 같다. 서천과 비슷하게 개화소요일수는 혼합용토에서 가장 짧았고 피트모스와 펄라이트 순으로 길어졌으며 특히 배양구에서 10일 이상 차이가 컸다. 초장도 펄라이트에서 가장 짧았고 피트모스와 혼합용토는 비슷한 경향이였다. 정식 이후 개화까지 걸린 시간은 혼합배지에서 자란 프리지아가 가장 짧았고, 다음으로 피트모스 배지, 펄라이트 배지는 가장 늦었다. 이와 같이 배지 간 식물의 개화기간 차이는 구근을 이용했을 때 최대 4일로 차이를 보였다. 배양묘에서도 같은 경향이였지만 그 차이는 더 커서 최고 13까지 차이가 났다. Ahn(1996)은 국화 양액재배에서 개화기를 조사한 결과 왕겨 배지가 혼탄 배지 보다 6일, 펄라이트 배지보다는 14일 단축되었다고 했는데, 본 연구에서도 유기물이 포함된 배지인 피트모스와 피트모스+펄라이트 혼합배지가 펄라이트 배지 보다 개화기가 단축되어 비슷한 결과를 보였다. 식물체 초장은 피트모스와 혼합배지에서 자란 식물이 비슷했지만 펄라이트 배지에서 자란 식물체는 가장 짧았고 다른 두 배지와 비교 시 20cm가까이 차이가 나는 것으로 조사되었다. 그림 10은 처리별 개화기에 촬영한 사진인데 전체 생육이 펄라이트 배지에서 피트모스나 혼합 배지보다 많이 억제된 것을 확인할 수 있다. 1번화 절화 길이는 큰 경향치를 보이지 않았는데 사이니골드 품종의 경우 펄라이트에서 길었고, 골드리치 품종은 혼합배지에서 길었다. 삼레포장에서 소화수는 처리간 큰 차이 보이지 않았다. 배양묘를 정식한 경우 개화소요일수는 혼합배지에서 가장 많이 단축된 것으로 조사되었지만 다른 생육은 처리별 큰 차이를 보이지는 않았다.

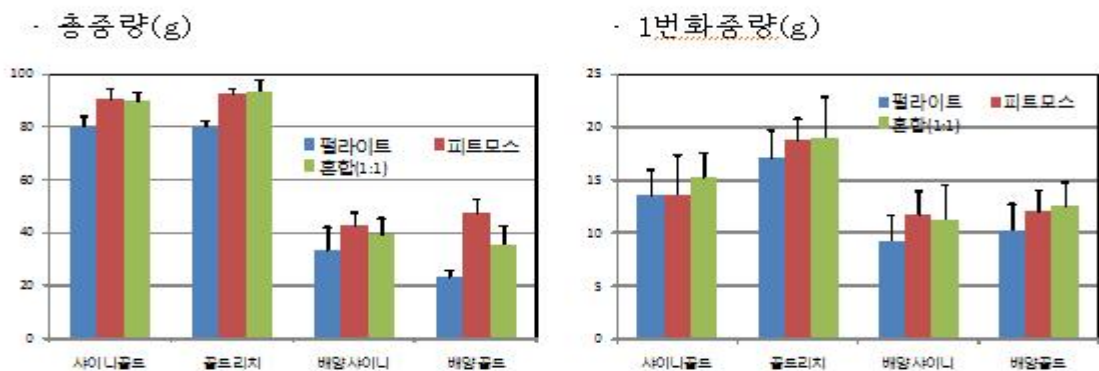


그림 11. 품종별 재배용토에 따른 총무게 및 1번화무게

소화가 모두 발달되었을 때 식물체 전체의 무게와 1번화 무게를 조사한 결과는 그림 11과 같다. 일반 구근을 이용한 경우, 식물체 전체의 생체중은 피트모스와 혼합 배지에서 자란 식물체가 가장 무거웠고 펄라이트 배지가 가장 가벼운 것으로 조사되었다. 펄라이트 배지에서 자란 식물체가 다른 두 배지보다 가벼워 재배하는 배지에 따라 생육차이가 크게 나타났다. 배양묘의 경우 전체무게는 피트모스에서 가장 높게 조사되었고 다음이 혼합배지이고 펄라이트가 가장 가벼웠는데, 샤이니골드 품종은 통계적으로 유의하지 않았지만, 골드리치 품종은 통계적으로 뚜렷하게 비교되었다. 1번화 무게는, 펄라이트배지보다 피트모스배지에서 더 무거웠고 혼합배지가 가장 무거웠지만 통계적으로 유의하진 않았다. 배양묘의 경우도 비슷한 경향으로 두 품종 모두 펄라이트에서 생육이 억제되는 것으로 조사되었다. 생육조사 결과 재배 배지에 따라 생육 및 절화 품질에 많은 차이가 나는 것으로 분석되었다. Aichiken 처방액을 이용한 국화 양액재배 결과(Hwang et al., 2003), 피트모스+왕겨 혼합배지가 왕겨 단용배지와 펄라이트 단용배지 보다 지상부 생체중이 높았다는 보고와 같은 경향을 보였다.

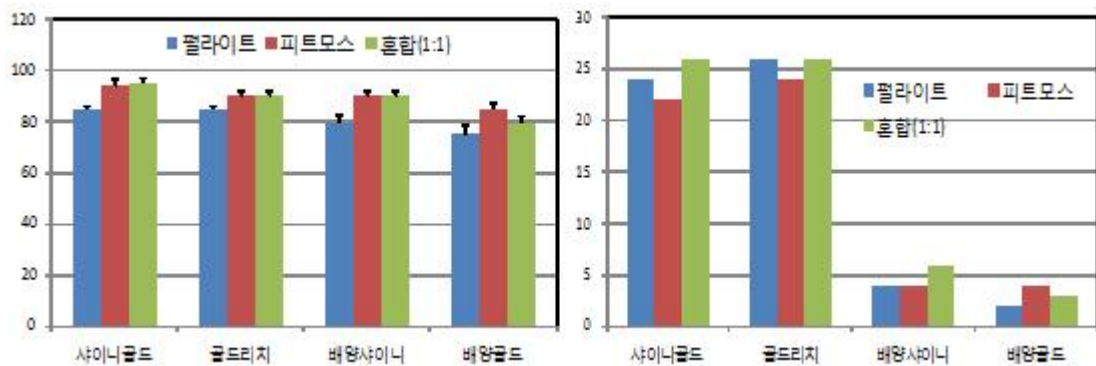


그림 12. 품종별 재배용토에 따른 생존율 및 바이러스 감염률

생존률은 관행인 펄라이트 용토에서 가장 낮았고 피트모스와 혼합용토에서는 비슷한 경향이 있었다. 바이러스 감염률은 일반 구근정식에서는 25% 가까이 나타났으나 배양묘에서는 상대적으로 낮은 5%정도로 조사되었다. Verdonck와 Demeyer (2004)는 피트모스에 펄라이트가 혼합되면 액상과 기상의 구성이 크게 변한다고 했는데 본 연구결과에서도 혼합배지에서 물리성이 변한 것을 확인할 수 있었다. 수분함량은 펄라이트 배지가 151.3%였고 피트모스 배지는 658.8%, 혼합배지는 336.4%로 조사되었다. 배지 종류별 절화수국의 연구결과(Hwang et al., 2013)를 보면, 배지의 수분함량이 펄라이트 배지는 201%, 펄라이트+코코피트(1:1) 혼합배지는 310%, 코코피트 배지가 618%로 가장 많았고 공극률은 펄라이트 배지가 95.3%, 펄라이트+코코피트(1:1) 혼합배지는 96.1%, 코코피트 배지는 97.6%로 분석됐는데, 혼합배지에서 절화장이 가장 양호했으며 꽃 크기와 꽃 무게도 양호한 결과를 얻은 것으로 보고했는데 이는 배지의 물리성과 연관이 깊다고 판단했다. 우리 연구결과도 배지의 물리성에서 비슷한 분석결과를 보여, 혼합배지에서 생육 및 개화특성이 우수한 것은 혼합배지가 물리성 개선 효과가 있는 것으로 생각된다. 결과적으로 본 연구를 종합적으로 분석한 결과 프리지아 양액재배 시 적정 배지로는 지상부 생육이 좋고 개화특성에서 우수한 결과를 보인 펄라이트와 피트모스를 혼합한 배지로 생각된다.

2. 무병종구의 생육단계별 양액 농도에 따른 생장량 평가

본 연구에 사용된 프리지아는 국내 육성종인 ‘샤이니골드’와 ‘골드리치’ 품종으로 휴면이 타파된 구근을 저온처리 하지 않고 최저온도 10℃가 유지되는 서천의 단동 가온 비닐하우스에 2015년 9월 1일 정식하여 수행하였다. 재배 배드(폭80cm×높이 20cm)에 배지를 채우고 정식 전, EC 0.6dS·m⁻¹의 배양액으로 포화시켰고 10cm×10cm간격으로 정식하였다. 배양액 조성은 네덜란드 화훼연구소(PBG) 처방액 (순환식기준)으로 표1과 같다. 급액은 점적 테이프를 이용하여 1회에 주당 100mL를 오전(7:00)과 오후(19:00) 2회/일 공급하여 재배하였다. 양액배지는 시험1에서 우수한 것으로 선발된 혼합배지(펄라이트1+피트모스1, v/v)를 이용하였다. 배양액의 EC는 꽃눈발달전인 정식초기와 화뇌 형성기인 정식중기 또한 개화기인 정식후기로 3단계별로 농도를 달리하여 생육단계별 2처리씩 구분하여 처리 하였는데, 정식초기는 9~10월로 EC농도는 0.6dS·m⁻¹과 0.8dS·m⁻¹로 처리하였고, 정식중기는 11~12월로 EC농도는 0.8dS·m⁻¹과 1.0dS·m⁻¹으로, 정식후기는 1~2월로 EC농도는 1.0dS·m⁻¹과 1.2dS·m⁻¹로 구분하여 처리하였다. pH는 전 생육기간 동안 5.8±0.2로 일정하게 유지시켰다. 시험구는 단구제로 3반복을 두고 반복당 재식 주수를 100주로 배치하였다. 생육특성은 정식초기(9~10월)와 정식중기(11~12월)에 실시하였고, 양액농도별 개화반응을 보기 위하여 정식후기(1~2월)에 개화특성조사를 측정하였다. 1번 소화가 착색되어 봉오리가 1~2mm 정도 열개되었을 때를 개화시로 조사하고, 1번화의 첫 번째 소화가 완전히 개화하였을 때 초장, 1번화의 절화장, 소화수, 1번 절화무게(생체중, 건물중)를 측정하였다. 또한 만개시에 전체 식물체 무게와 1번 절화무게를 측정하였다. 실험 결과에 대한 통계분석은 SAS(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 9.1 통계프로그램을 이용하여 5% 유의수준으로 실시하였다.

2. 결과 및 고찰

가. 초기 생육특성(9~10월)

1) 생육특성

표 8. 품종별 양액농도에 따른 맹아율 및 생육특성(10월22일)

처리	샤이니골드				골드리치			
	맹아율 (%)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	엽수	맹아율 (%)	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	엽수
EC 0.6	96.3	38.3	1.7	4.5	92.5	44.1	2.1	4.7
EC 0.8	93.8	58.5	2.0	5.0	95.0	57.9	2.1	5.2

맹아율은 샤이니골드와 골드리치 품종 전체적으로 90%이상 나타나 양호한 편이었고, 샤이니골드의 엽장은 EC 0.8에서 58.3cm로 EC 0.6(38.3cm) 보다 20cm이상 길어 큰 차이를 보였다. 엽폭도 0.3cm가 높은 농도(EC 0.8)에서 더 길었고, 엽수도 EC 0.8에서 EC 0.6보다 0.5장이 많았다. 골드리치 품종도 같은 경향으로 EC 0.8에서 EC 0.6보다 엽장은 13.8cm가 길었고, 엽수는 0.5장이 많았다. 엽폭은 2.1cm로 같은 수치를 보였다. 위의 결과를 보면 양액농도별 초기생육은 EC 0.8이

0.6보다 월등히 우수한 것으로 조사되었고 샤이니골드 품종에서 차이가 더 뚜렷했다.

2) 생체중 및 건물중 특성(10월 22일)

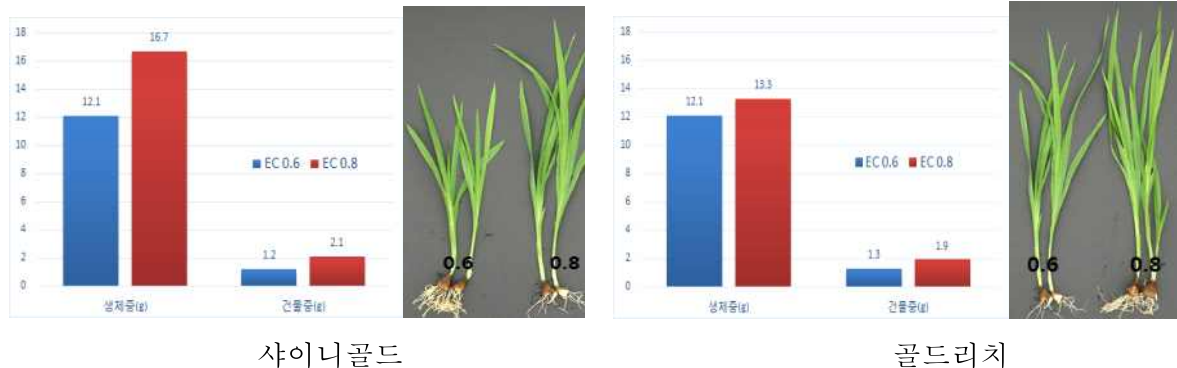


그림 13. 생육초기 생체중 및 건물중 비교

초기생육 중 생체중과 건물중을 비교한 결과(그림 13) 샤이니골드 품종은 생체중에서 EC 0.8 처리가 16.7g으로 EC 0.6(12.1g) 보다 4.6g이 무거워 많은 차이를 보였고 건물중도 0.9g이 EC 0.8에서 더 무거운 것으로 조사되어 전체적인 생장량 차이가 큰 것으로 분석되었다. 골드리치 품종도 같은 경향이었으나 그 차이는 크질 않았다. 생체중에서는 EC 0.8이 13.3으로 EC 0.6(12.1g) 보다 1.3g이 더 무거웠고, 건물중은 0.6g이 EC 0.8에서 더 무거웠다. 생육초기에 생체중과 건물중은 EC 0.8이 0.6보다 우수했고 골드리치보다 샤이니골드에서 차이가 크게 나타났다.

나. 중기 생육특성(11~12월)

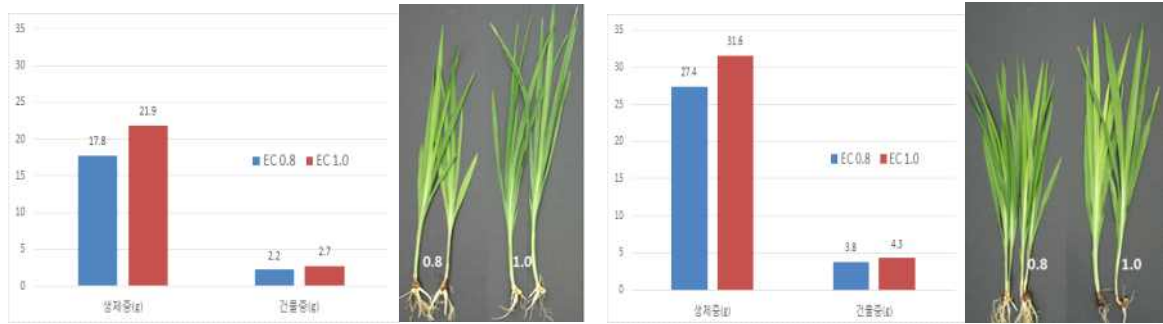
1) 생육특성(12월 15일)

표 9. 품종별 양액농도에 따른 생육특성

농도	샤이니골드			골드리치		
	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	엽수	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	엽수
EC 0.8	70.0	2.0	8.1	61.5	1.7	7.2
EC 1.0	72.1	2.0	8.5	64.2	1.9	7.9

꽃눈이 발달되어 화씨가 çıkar되는 시기인 생육중기 특성을 보면(표 9) 샤이니골드 품종의 경우 EC 1.0에서 엽장이 EC 0.8보다 2.1cm가 더 길었고, 엽폭은 2.0cm로 차이가 없었으며 엽수는 EC 1.0이 EC 0.8보다 0.4개 더 많았다. 골드리치 품종은 엽장이 EC 1.0이 64.2cm로 EC 0.8보다 2.7cm가 더 길었고 엽폭도 EC 1.0이 EC 0.8보다 0.2cm가 길었으며 엽수도 EC 1.0이 7.9장으로 EC 0.8(7.2장)보다 0.7장이 더 많았다. 중기생육도 엽장, 엽수 등이 EC 1.0에서 0.8보다 우수했는데, 정식초기와는 다르게 골드리치 품종에서 차이가 더 크게 나타났다.

2) 생체중 및 건물중(11월 16일)



샤이니골드

골드리치

그림 14. 생육중기 생체중 및 건물중 비교

생육중기 생체중과 건물중을 비교한 결과(그림 14), 샤이니골드 품종은 생체중에서 EC 1.0 처리가 21.9g으로 EC 0.8(17.8g) 보다 4.1g이 무거워 많은 차이를 보였고 건물중도 0.5g이 EC 1.0에서 EC 0.8보다 더 무거운 것으로 조사되었다. 골드리치 품종도 같은 경향이었으나 생육중기에 샤이니골드 품종보다 생체중에서 10g이상 더 생장량이 많이 이루어진 것으로 조사되었다. 생체중에서는 EC 1.0이 31.6으로 EC 0.8(27.4g) 보다 4.2g이 더 무거웠고, 건물중은 EC 1.0처리에서 4.3g으로 EC 0.8(3.8g) 보다 0.5g 더 무거웠다. 생육중기에 생체중과 건물중은 EC 1.0이 EC 0.8보다 우수했고 골드리치와 샤이니골드 품종 모두에서 비슷한 차이를 보였다.

다. 후기 생육특성(1~2월)

1) 개화특성(2월 25일)

표 10. 품종별 양액농도에 따른 개화특성

품 종	농도 (EC)	개화일 (일)	초장 (cm)	1번화 절화장 (cm)	화서장 (cm)	소화수	화고 (cm)	화폭 (cm)	분지수
샤이니골드	1.0	2.16	103.8	28.9	9.9	8.9	7.2	7.2	11.3
	1.2	2.17	105.6	29.3	9.9	8.7	7.1	7.6	11.6
골드리치	1.0	2.13	90.7	37.5	10.9	9.7	7.0	6.2	6.4
	1.2	2.16	93.0	37.6	10.8	9.4	7.1	6.9	6.5

개화가 시작하여 절화 시기인 생육후기 특성을 보면(표 10), 샤이니골드 품종의 경우 EC 1.0에서 EC 1.2 보다 개화가 하루정도 단축되었고 초장은 EC 1.2가 105.6cm로 EC 1.0보다 1.8cm 길었으나 큰 차이를 보이지 않았다. 1번화 절화장도 0.4cm 차이로 크지 않았고 화서장, 소화수, 화고, 화폭 등도 큰 차이를 보이지 않았다. 골드리치 품종도 비슷한 경향으로 EC 1.0에서 EC 1.2 보다 개화가 3일 단축되어 차이를 보였고, 초장은 EC 1.2가 93.0cm로 EC 1.0보다 2.3cm 더

길었다. 나머지 1번화 절화장, 화서장, 소화수, 화고, 화폭, 분지수 등은 양액농도별 큰 차이를 보이지 않았다. 결과적으로 두 품종모두 개화일은 EC 1.0에서 1.2보다 약간 앞당겨 졌으며, 초장 등 절화특성은 처리 농도 간 큰 차이를 보이지 않은 것으로 분석되었다.

2) 생체중 및 건물중(2월 25일)

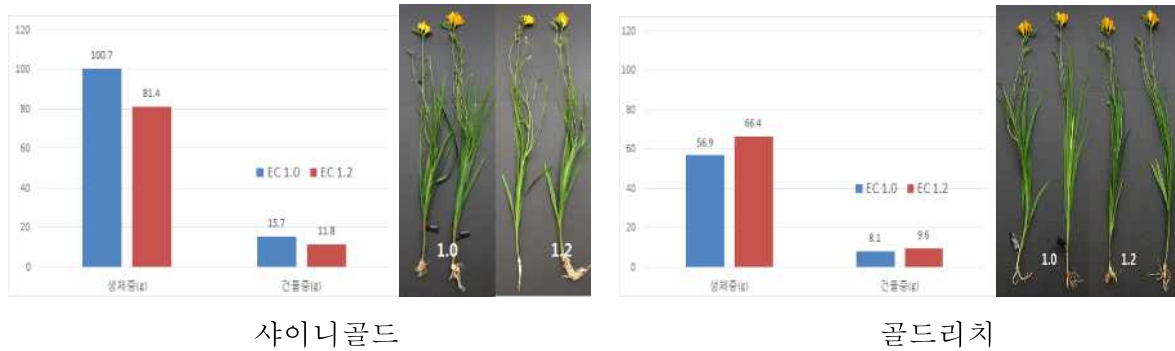


그림 15. 생육후기 생체중 및 건물중 비교

생육후기 생체중과 건물중을 비교한 결과(그림 15), 샤이니골드 품종은 생체중에서 EC 1.0 처리가 100.7g으로 EC 1.2(81.4g) 보다 19.3g이 무거워 많은 차이를 보였고 건물중도 3.9g이 EC 1.0에서 EC 1.2보다 더 무거운 것으로 조사되었다. 골드리치 품종은 다른 경향을 보인 것으로 조사되어, 생체중에서는 EC 1.2이 66.4g으로 EC 1.0(56.9g) 보다 9.5g이 더 무거웠고, 건물중은 EC 1.2처리에서 9.6g으로 EC 1.0(8.1g) 보다 1.5g 더 무거웠다. 생육후기에 생체중과 건물중은 품종에 따라 다른 차이를 보였는데 샤이니골드 품종은 EC 1.0이 EC 1.2보다 월등히 우수했고 골드리치 품종은 EC 1.2가 EC 1.0보다 약간 우수한 것으로 분석되었다.

3) 바이러스 감염률 조사

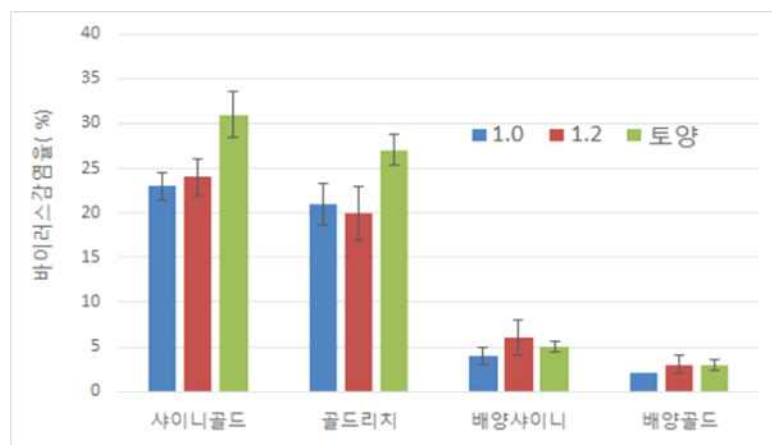


그림 16. 생육후기 양액농도와 토양재배에 따른 바이러스 감염률 비교

양액재배 후기 농도별로 바이러스 감염률 차이는 크지 않았지만 토양재배 보다는 양액재배에서 5%이상 감염률이 감소한 것으로 조사되었고, 배양묘를 이용한 처리에서는 양액재배나 토양재배 모두 7%이하로 나타나 배양묘의 바이러스 발현율이 가장 적었다.

4) 구근특성(4월 22일)

표 11. 생육 후 품종별 농도처리에 따른 수확구근 특성

품 종	농도 (EC)	전체구중 (g)	모구중 (g)	자구중 (g)	자구수	구고 (mm)	구폭 (mm)
샤이니골드	1.0	11.5	9.5	2.0	3.9	26.8	25.9
	1.2	12.3	9.3	3.0	4.1	24.7	26.8
골드리치	1.0	9.9	7.7	2.2	3.6	22.1	21.6
	1.2	9.5	7.2	2.3	3.7	20.7	20.4



그림 17. 품종별 양액농도 처리에 따른 수확구근 비교

수확 후 구근의 특성을 조사 한 결과(표 11, 그림 17), 두 품종 모두 처리 농도 간 큰 차이를 보이지 않았다.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야 기여도

* 연도별 연구목표 및 평가착안점에 입각한 연구개발목표의 달성도 및 관련분야의 기술발전에의 기여도 등을 기술

제1절 : 목표대비 달성도

당초 목표	가중치(%)	개발 내용	달성도(%)
1)제1세부 ○기내도입, 생장점배양 15품종 ○우량종구 보급 24,000주 ○건전 우량종구 유지 증식을 위한 관리기술 매뉴얼화	40	1)제1세부 ○기내도입, 생장점배양 21품종 및 계통 ○우량종구 보급 27,150주 ○건전 우량종구 유지 증식을 위한 관리기술 매뉴얼화	40
2)제1협동 ○무병주 기내 급속 대량증식 기술 개발 ○변이체 무발생 대량증식 기술 개발 ○가내 자구 생산기술 개발 ○무병주의 순화 및 고품질 육묘 기술 개발	30	2)제1협동 ○무병주 기내 급속 대량증식 기술 개발 ○변이체 무발생 대량증식 기술 개발 ○가내 자구 생산기술 개발 ○무병주의 순화 및 고품질 육묘 기술 개발	30
3)제2협동 ○양액재배를 위한 적정배지 선발 ○생육단계별 적정 양액농도 선발	30	3)제2협동 ○양액재배를 위한 적정배지 선발 - 피트모스1:필라이트1 혼합배지 ○생육단계별 적정 양액농도 선발 - '사이니골드': 초기 0.8, 중기 이후 1.0 - '폴드리치': 초기 0.8, 중기 1.0, 후기 1.2	30
	100%		100%

제2절 : 정량적 성과(논문게재, 특허출원, 기타)를 기술

연도 성과지표명		당초 목표 (전체)	실적	달성도 (%)	가중치 (%)
논문게재*	SCI	3	(1)	0	15
	비SCI	5	3	60	15
학술발표	국제	1	1	100	5
	국내	7	9	100	5
현장 분석/검정 지원		30	217	100	5
사업화실적(백만원)		2	2	100	5
품종증식/분양/보급 (만 주)		7	7.3	100	20
영농활용 기관제출		4	3	75	10
농가기술지도/ 컨설팅/현장기술지원		15	25	100	10
자료발간		1	1	100	5
홍보성과		35	119.1	100	5
계					100

제 5 장 연구 결과의 활용 계획

- * 추가연구의 필요성, 타 연구에의 응용, 기업화 추진방안을 기술
- * 현재 추진중인 추가적인 논문게재, 산업재산권 출원 사항
- 프리지아 기내도입 및 생장점 배양, 단계적인 바이러스 진단을 거친 무병종구 선발 및 대량생산을 통해 국내육성 프리지아 바이러스 무병종구의 안정적 생산, 유지, 및 보급 체계기반 구축
 - 국산 프리지아의 바이러스 무병종묘의 안정적 보급, 바이러스 내병성 향상을 위한 양액재배 기술 확립으로 고품질 절화 생산을 통한 재배농가의 소득 증대
 - 기내 자구 대량 증식법 등을 이용한 국내 우량 품종 무병종구의 안정적 생산을 통한 국산품종 보급률 확대 및 기술이전을 통한 수출 작기 확대를 통한 경쟁력 확보
 - 무병종묘의 생산, 선별, 대량증식 및 품종 맞춤형 순화 등 재배법의 매뉴얼화를 통한 재배농가에 고품질 프리지아 절화생산 유도
 - 프리지아 무병모구 생산기술 및 바이러스 저항성 프리지아 관련 논문 작성
 - 프리지아 생육단계별 양액농도 논문 작성
 - 생물반응기를 이용한 프리지아 'Shiny Gold'의 급속대량 증식, 기내 생산 프리지아 자구의 휴면과 휴면 타파, 기내 생산 프리지아"shiny Gold" 신초의 순화 조건 구명, 생물반응기를 이용한 프리지아 "골드리치" 급속대량증식 관련 논문 작성

제 6 장 연구 과정에서 수집한 해외 과학 기술 정보

○ 없음

제 7 장 연구 개발 결과의 보안 등급

보안등급분류	일반과제
결정사유	「국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정」 제24조의4에 해당하지 않음

제 8 장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

○ 없음

제 9 장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

본 연구과제의 기술적 위험요소는 일반적인 시약누출 사고, 무균작업상의 화재사고 및 실험실내 전기적 사고가 발생할 수 있어, 전 연구원에 대한 보험가입이 되어 있으며, 정기적인 실험실 안전 관리 교육 실시 및 연구실 기기 점검과 연구원 교육을 실시하고 있다.

제 10 장 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문 /특허 /기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국가	Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/ 인용횟수 등)
1	논문	프리지아 '골드리치'의 양액 재배시 인공배지 별 생육 및 개화특성	전북농 업기술 원	주저자	원예과학 기술지		2017.02.23. (게재확정)	단독	SCIE
2	논문	Virus Identification Using RT-PCR Method from Meristem Cultured and Ribavirin Treated Plantlet for Producing FreMV-free Freesia 'Shiny Gold'	원예원	주저자	한국인간 식물환경 학회지		2016.02.29	단독	비sci
	논문	액체진탕배양에 의한 프리지아 'Shiny Gold'의 신초 생육 및 구경 비대	경남과 기대	주저자	화훼연구 회지	0.4884	2016.09.24	단독	비sci
4	논문	국내 육성 프리지아 구 경 절편체의 역위 치 상에 의한 기내 급속대 량증식	경남과 학기술 대학교	주저자	화훼연구	0.4884	2015.09.00	단독	비SCI

제 11 장 기타사항

○ 없음

제 12 장 참고문헌

- Ahn JH, Lee JJ, Kim TS, Kim HS, Lee SY (2007) Effects of growth regulators and sucrose concentrations on proliferation of in vitro shoot using bioreactor culture in *Zingiber officinale*. Hort Environ Biotechnol 148:354-358.
- Ahn, K.B. 1996. Effect of cultural media on growth in hydroponically grown chrysanthemum. Thesis collection of Honam University 17:491-499.
- Bajaj YPS, Pierik RPM (1974) Vegetative propagation of freesia through callus cultures. Neth J Agric Sci 22:153-159.
- Bala, M. and D. Berecici. 2010. Study on quality and quantity aspects of some new freesia cultivars in the second year of culture. Bulletin UASVM Horticulture 67:302-307.
- Bertaccini A, Bellardi MG, Rustignoli E (1989) Virus-free freesia corms produced by meristem-tip culture. Advances in Hort Sci 3:133-137
- Brunt, A.A. 1995. Freesia. In: G. Loebenstein, R.H. Lawson, and A.A. Brunt (eds). Virus and virus-like diseases of bulb and flower crops. p. 274 - 280. Wiley, Chichester, UK.
- CEN (European committee for standardization). 1999. Soil improvers and growing media-Determination of physical properties-Dry bulk density, air volume, water volume, shrinkage value and total pore space. EN 13041.
- Chen AH, Yang JL, Niu YD, Yang CP, Liu GF, Li CH (2010) High-frequency somatic embryogenesis from germinated zygotic embryos of *Schisandra chinensis* and evaluation of the effects of medium strength, sucrose, GA3, and BA on somatic embryo development. Plant Cell Tissue Organ Cult 102(3):357-364.
- Cho, H.R. 2007. Horticulture in Korea. Freesia. Korean Society for Horticultural Science. Suwon, Korea p. 283-286.
- Cho, H.R., H.K. Rhee, M.S. Kim, S.R. Choi, H.K. Shin, H.Y. Joung, and J.H. Lim. 2011. A light pink freesia 'Bolero' with single multi-flowering for cut flower. Flower Res. J. 19:115-118.
- Cho, H.R., J.H. Lim, H.K. Rhee, M.S. Kim, and S.K. Park. 2010. A lemon double multi-flowering freesia, 'Shiny Lemon' with early flowering and high yield for cut flower. Korean J. Breed. Sci. 42:248-251.
- Cho, H.R., J.H. Lim, H.K. Rhee, M.S. Kim, S.R. Choi, and H.K. Shin. 2008. A bright pink single freesia 'Pretty Woman' with mid-flowering and high yielding for cut flower. Korean J. Hort. Sci. Technol. 26:54-56.
- Cho, H.R., J.H. Rhee, J.H. Lim, M.S. Kim, S.K. Park, H.K. Shin, H.Y. Joung, and Y.J. Choi. 2013. Breeding of a scarlet single flowering freesia 'Dancing Flame' with early flowering and high yielding for cut flower. CNU J. of Agricultural Sci. 40(4):305-309.
- Choi JD, Kim KW (1997) Enhancement of proliferation rate by shaking culture of *Gladiolus* 'Topaz' callus. Horticulture Abstracts 15(2):638-639.
- Choi, H.I., H.R. Lim, Y.S. Song, M.J. Kim, S.H. Choi, Y.S. Song, S.C. Bae, and K.H. Ryu. 2010. The complete genome sequence of freesia mosaic virus and its relationship to

- other potyviruses. Arch. Virol. 155:1183–1185.
- Choi, S.H., J.Y. Yoon, K.H. Ryu, and S.K. Choi. 2013b. The complete nucleotide sequence of a Korean isolate bean yellow mosaic virus from *Freesia* sp, and comparison to other potyviruses. Res. Plant Dis. 19:1–7.
- Choi, Y.J., H.R. Cho, H.Y. Jeong, D.H. Goo, Y.I. Kang, B.N. Chung, J.Y. Yoon, S.K. Choi. 2016.J. Korean Soc. People Plants Environ. Vol. 19 No. 1: 19–23.
- Choi, Y.J., H.Y. Joung, D.H. Goo, Y.I. Kang, and H.R. Cho. 2013a. A new purple single freesia ‘Shy Smile’ with middle petals. Korean J. Breed. Sci. 45:66. (Abstr)
- Choi, Y.J., H.Y. Joung, D.H. Goo, Y.I. Kang, and H.R. Cho. 2014. A white double flowering freesia ‘Shiny Bell’ with high yielding for cut flower. CNU J. of Agricultural Sci. 41(4):331–334.
- Chung, S.K. 1994. Studies on the simple installation, cutting propagation and root-zone warming for rock wool cultivation in cut roses(*Rosa* hybrid). PhD Thesis, Wonkwang Univ., Iksan.
- De Klerk G, Brugge J (2011) Micropropagation of dahlia in static liquid medium using slow-release tools of medium ingredients. Sci Hort 127:542–547.
- Derks, A.F.L.M. and J.L. Vink-van den Abeele. 1987. Leaf yellowing in combination with corm necrosis in freesia caused by bean yellow mosaic virus: factors involved in syndrome development. Neth. J. Plant Pathol. 9:159–166.
- Eum SJ, Park KI, Oh W, Kim KW (2010) Promotion of bulblet enlargement through liquid stationary culture in korean native lilies in vitro. Hort Environ Biotechnol 51(1):45–50.
- Firoozabady E, Gutterson N (2003) Cost effective in vitro propagation methods for pineapple. Plant Cell Rep 21:844 – 850.
- Foxe MJ (1993) Rapid in vitro propagation of virus-indexed Freesia. Horti 63:4389 (Abstr)
- George EF, Davies W (2008) Effects of the physical environment. In: George EF, Hall MA, De Klerk GJ (eds). Plant propagation by tissue culture. 3rd ed. Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp 423–464.
- Goo DH, Park MH, Moon SY (2004) Proliferation and enlargement of Lilium Asiatic Hybrids by bioreactor and solid medium culture. Korean Journal of Horticultural Science & Technology 22(4):477–480.
- Han BH, Yae BW, Goo DH, Ko JY (1999) Effects of growth regulators and light on the formation and proliferation of bulblets with swollen basal plate from in vitro culture of bulbscales in Lilium Oriental Hybrid ‘CasaBlanca’. J Korean Soc Hort Sci 40(4):463–466.
- Han NH (2011) A study on induction of multiple shoot in *Zantedeschia* spp. callus by liquid culture. Master Thesis, Sangzi Univ, Kanwondo, Korea.
- Han, Y.H., Y.G. Sim, K.B. Choi, B.S. Choi, and S.N. Yu. 2001. Effect of harvesting height on yield and quality of cut roses in rockwool culture. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 42(1):95–98.
- Hwang, I.T., G.Y. Ki, K.C. Cho, K C. Ma, J.G. Kim, B.S. Kim, and B.K. Yun. 2013. The effect of substrate kind on the growth in hydroponically grown hydrangea. Kor. J.

Hort. Sci. Technol. 31(SUPPL. II) October.

- Hwang, I.T., K.C. Cho, T.H. Han, K.J. Choi, S.J. Chung, and K.S. Kim. 2003. Growth responses of hydroponically-grown *Dendranthema grandiflorum* cv. Chungwoon as affected by substrates and nutrient solution formula. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 44(1):114-119.
- Jeong EA, Kim SJ, Kim MH, Choi B, Kim ES, Kwon ST (2011) Effects of culture time and replacement of media for efficient production of microbulbs in chinese Yam(*Dioscorea opposita* Thunb.) using 5L bioreactor. The Plant Resources Society of Korea 143-143(Abstr).
- Ji, E.Y., W. Oh, S.W. Kim, and K.S. Kim. 1998. Effect of concentration of nutrient solution and irrigation frequency on growth and flower quality of cut chrysanthemum grown hydroponically in perlite. Kor. J. Hort. Sci. & Tech. 16(1):37-39.
- Kang, J.G., B.S. Lee, and S.J. Chung. 1998. Effect of planting date and substrate on the growth and flowering of hydroponically-grown carnation. J. Bio. Fac. Env. 7(2):116-122.
- Kang, J.S., M.Y. Lim, K.J. Jeong, Y.J. Choi, J.G. Yoon. 2016. Shoot Growth and Corm Enlargement of Freesia 'Shiny Gold' by Liquid Shaking Culture. Flower Res. J. 24:196-204.
- Kawiak A, Królicka A, Lojkowska E (2003) Direct regeneration of *Drosera* from leaf explants and shoot tips. Plant Cell Tissue Organ Cult 75(2):175 - 178.
- Kim AJ, Yoo SS, Park SB, Song JK (2013) In vitro culture technology development of freesia virus-free corms. Korean J Hort Sci Technol 31:181 (Abstr)
- Kim HJ, Lee JN, Kim KD, Im JS, Lim HT, Yeoung YR (2012) Growth characteristics of in vitro mass propagated plantlets of ever bearing Strawberry 'Goha' according to aeration rate in bioreactor. Korean Journal of Horticultural Science & Technology 30(4):432-436.
- Kim HR, Chung JD, Park JW, Choi YM, Yiem MS (2003) Effects of thermotherapy and shoot apical meristem culture, antiviral compounds for GLRaV-3 elimination. J Plant Biotech 30:155-160.
- Kim JK, Yang HH, Kim KJ, Hwang IT, Kim WS, Kim KS (1996) Rapid and mass production of small bulblets through in vitro suspension culture of bulblet scale in *Lilium* spp. Horticulture Abstracts 14:322-323.
- Kim SC, Huh IO, Kim KH, Chun SJ, So IS (1997) Effects of inorganic salts and growth regulators on meristem tip culture of freesia. J Korean Soc Hort Sci 38(1):86-91.
- Kim, H.G., B.S. Seo, J.G. Kang, S.Y. Yang, S.U. Chon, and H.O. Boo. 2009. Effect of medium supplemented with a photosynthetic bacterium (*Rhodospirillum rubrum*) on the growth of hydroponically grown cucumber plants. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 27(1):67-72.
- Kim, K.Y., Y.C. Kim, T.C. Seo, and H.C. Lee. 2001. The establishment of technical system of Korean-style soilless culture for fruit vegetable production. Korea National Horticultural Research Institute Press.
- Ko JA, Kim MJ, Lee JJ, Kim HS, Kim YS (2003) Micropropagation from corm apical

- meristems culture of *Freesia refracta* Hybrida. Korean J Plant Res 16:34-39
- Kumar, Y., V. Hallan, and A.A. Zaidi. 2009. First finding of freesia mosaic virus infecting freesia in India. Plant Pathol. 58:404.
- Lee, B.S. 1999. Effect of root-zone environment on the nutrient and water uptake and growth of hydroponically grown cucumber(*Cucumis sativus*L.) plant. PhD Diss., Chonnam National Univ., Korea.
- Lee, B.S., S.G. Park, J.G. Kang, and S.J. Chung. 1999. Effect of mixing ratio of perlite and coir dust on the growth and nutrient uptake of hydroponically grown chrysanthemum. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 40(2):225-230.
- Lee, J.J., and J.H. Hwang. 2014. Effect of day-length extension treatment using LED on growth and flowering of *Freesia hybrida* 'Yvonne'. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 32(6):794-802.
- Lee, J.J., J.S. Jeong, and J.C. Kim. 1997. Development of technique on forcing culture in freesia. Jeollabuk-do ARES, Res. Rpt. P. 705-723.
- Lee, J.J., J.S. Jeong, Y.R. Kwon, J.S. Choi, and H.B. Bark. 2003. Effect of pre-harvest temperature condition on growth, dormancy development, and pupation during storage of *Freesia hybrida* corms. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 44(4):426-429.
- Lee, J.J., Y.G. Choi, and J.C. Kim. 2003. Physiological changes in relation to pupation of *Freesia hybrid*corms in response to long-term storage. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 44(4):422-425.
- Lian ML, Chakrabarty D, Paek KY (2003) Growth of *Lilium oriental* hybrid 'Csablanca' bulblet using bioreactor culture. Scientia Hort 97(1):41-48.
- Lim, J.H., H.R. Cho, H.K. Rhee, D.H. Goo, and H.Y. Joung. 2004. New freesia cultivar 'Shiny Gold', large double type dark yellow color with early-flowering. Korean J. Hort. Sci. Technol. 22:99. (Abstr.)
- Liu L and Burger DW (1986) In vitro propagation of easter lily from pedicels. Hort Science 21:1437-1438.
- MAFRA(Ministry of Agriculture and Food and Rural Affairs) 2014. Statistics for floricultural industry in 2016. p.13.
- Mills, H.A., and B.J. Jones. 1996. Plant analysis handbook II. A practical sampling, preparation, analysis and interpretation guide. Micro Macro Publishing, Inc. Athens, GA.
- Naip, Ashalatiia S, and Deepa P (1991) Tissue culture of bulb scale sections for micropropagation of *Eurycles sylvestris* Salish. Proc Indian Natn Sci Acad 7(6):397-402.
- Nambiar N, Tee CS, and Maziah1 M (2012) Effects of organic additives and different carbohydrate sources on proliferation of protocorm like bodies in *Dendrobium Alya* Pink. J Plant Omics 5(1):10-18.
- Navarro, J.A., V.A. Torok, H.J. Vetten, and V. Pallas. 2005. Genetic variability in the coat protein genes of lettuce big-vein associated with virus and mirafiori lettuce big-vein virus. Arch. Virol. 150:681-694.
- Orlikowska T, Sabala I, Kucharska D (2000) The effect of leaf and shoot tip removal and

- explant orientation on axillary shoot proliferation of *Codiaeum variegatum* Blume var. *pictum* Muell. Arg. cv. Excellent. *Scientia Hort* 85(1):103-111.
- Park IS, Choi JD, Byun MS, Goo DH, Kim KW (2001) Effects of liquid shaking culture and growth retardants on cormlet formation of *gladiolus* 'Spic&Span' in vitro. *J Korean Soc Hort Sci* 42(2):215-218.
- Park KI, Park CK, Choi JD, and Kim KW (1997) Effect of culture conditions on bulblet formation from *Lilium elegans* 'ConnecticutKing' scale in vitro. *Kor J Hort Ind Sci* 1:38-42.
- Park YY, Cho MS, Park S, Lee YD, Jeong BR, and Chung JB (2007) Effects of medium salt strength, concentration of sucrose and nitrogen ratio on the growth of seedlings by In vitro culture of *wasabia japonica*. *Horticulture Abstracts* 25(1): 85-85.
- Pati PK, Rath SP, Sharma M, Sood A, Ahuja PS (2006) In vitro propagation of rose-a review. *Biotechnol Adv* 24(1):94-114.
- Piatczak E, Wielanek M, Wysokinska H (2005) Liquid culture system for shoot multiplication and secoiridoid production in micropropagated plants of *Centaurea erythraea* Rafn *Plant Science* 168(2):431-437.
- Plant Virus Online. 2014. <http://pvo.bio-mirror.cn/descr347.htm>
- Preil, W (2005) General introduction: a personal reflection on the use of liquid media for in vitro culture. In: Hvoslef-Eide AK and Preil W (eds). *Liquid culture systems for in vitro plant propagation*. Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp 1-18.
- Sandal I, Bhattacharya A, and Ahuja PS (2001) An efficient liquid culture system for tea shoot proliferation. *Plant Cell Tiss Org* 65(1):75-80.
- Santoso U, Kubo K, Ota T, Tadokoro T, and Mackawa A (1996). Nutrient composition of kopyor coconuts(*Cocos nucifera* L.). *Food Chem.* 57(2):299-304.
- Sivanandhan G, Rajesh M, Arun M, Jeyaraj M, Kapil Dev G, Arjunan A, Man-ickavasagam M, Muthuselvam M, Selvaraj N, Ganapathi A (2013) Effect of culture conditions, cytokinins, methyl jasmonate and salicylic acid on the biomass accumulation and production of withanolides in multiple shoot culture of *Withania somnifera*(L.) Dunal using liquid culture. *Acta Physiol Plant* 35(3):715 - 728.
- Song HS (1998) Studies on production of virus free stock of Freesia hybrid through the flower organ culture. MS thesis, Jeju University, Jeju, Korea
- Stimart DP, Ascher PK (1982) Plantlet regeneration and stability from callus cultures of *Freesia* × *hybrida*. *Sci Hort* 17(2):153-157.
- Vaira, A.M., V. Lisa, A. Constantini, V. Masenga, S. Rapetti, and R.G. Milne. 2006. Ophioviruses infecting ornamentals and a probable new species associated with a severe disease in freesia. *Acta. Hort.* 722:191-199.
- Van Koot, Y., D.H.M. Van Slogteren, M.C. Cremer, and J. Camfferman. 1954. Virus verschijn-selen in freesia's. *Tijdschr Plziekt* 60:157.
- Verdonck, O. and P. Demeyer. 2004. The influence of the particle sizes on physical properties of growing media. *Acta Hort.* 644:99-101.

- Wang, L. 2006. Freesia. In: N.O. Anderson (eds). Flower breeding and genetics. p. 665-693. Springer, Netherlands.
- Whang SS, Koo CH, Choi K, Park KW, Kang KW, Choi EG, and Kim JW (2009) Mass production of the seedlings of *Dendrobium moniliforme* using bioreactor culture. J Plant Biotechnol 36(4):392 - 396.
- Wilson, G.C. S. 1986. Tomato production in different growing media, Acta Hort. 178:115-120.
- YFMC, Yangjae Flower Market Center (<http://yfmc.at.or.kr>)
- Yoon, J.Y., Y.J. Choi, G.S. Choi, and S.K. Choi. 2013. First report of freesia sneak virus in *Freesia* spp. in Korea. Res. Plant Dis. 19(4):3183-318.
- Zhang ZG, Liu H, Wang L, Cai ZG, Han XZ, Zhao LH, and Luo ZJ (1992) Studies on protocorm propagation of *Dendrobium candidum* Wall. ex. Lindl. J Chines Traditional Herbal Drugs 23:431-434.

주 의

1. 이 보고서는 농촌진흥청에서 시행한 「FTA대응경쟁력향상기술개발사업」의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농촌진흥청에서 시행한 「FTA대응경쟁력향상기술개발사업」의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.