

배지종류, 탄소원, 첨가물질 및 치상방법이 복숭아 기내 신초 증식에 미치는 영향

전지혜* · 정경호 · 강상조 · 박소연 · 예병우
원예연구소

Influence of Medium Composition, Carbon Source, Addition Agent and Explant Orientation of Shoot Proliferation from *Prunus persica* in vitro.

JUN, Ji-Hyae* · CHUNG, Kyeong-Ho · KANG, Sang-Jo · PARK, So-Yeon · YAE, Byeong-Woo
National Horticultural Research Institute, Suwon, 440-310, Korea. *Corresponding author

The most effective medium for shoot initiation in vitro of peach cv. Baekmijosaeng, Yumyeong and nectarine cv. Cheonhong was Quoirin and Lepoivre medium(LP). 20 g/L and 30 g/L sorbitol as carbon source were effective for shoot proliferation of cv. Baekmijosaeng. Addition of 500 mg/L lacto albumin enzymatic hydrolysate(LH) increased shoot number per explant of cv. Baekmijosaeng peach. Removing the apical meristem and horizontal placing of explants on the medium increased cv. Baekmijosaeng shoot.

Key words: peach, shoot initiation, LP, sorbitol, LH

복숭아(*Prunus persica*)는 '96년 현재 재배면적 10,002 ha, 생산량 127,540 MT으로 사과, 포도, 감, 배에 이어 5번째로 중요한 낙엽과수이다(농림부, 1997).

선진국에서는 조직배양에 의한 복숭아 대량번식에 관한 연구가 이미 진행되어 조직배양 자근묘와 실생에 아접한 묘목간의 생산성 비교시험 결과 조직배양 자근묘로 과수원을 조성하는 것이 생산적이라고 보고하였다(Hammerschlag, 1991). 또한 조직배양묘는 바이러스 무병주 생산이나 초저온 냉동보관에 의한 유전자원의 보존에 있어 효과적으로 활용될 수 있을 뿐만 아니라(Uematsu and Akihama, 1987), 기내 돌연변이 유기, 유전자 전환 등 기내 육종에 이용될 수 있는 기본식물 유지 및 증식에 이용될 수 있다. 그러나 국내의 조직배양에 의한 복숭아 대량번식에 관한 연구는 거의 전무한 상태에 있으며, 이핵성 황육계 품종 중심으로 연구되어온 외국의 대량번식 조건들을 집핵성 백육계 중심의 국내 재배품종에 적용하여 바로 이용하기에는 그 조건들이 맞지않아 묘의 기내번식에 어려움이 있었다(Uematsu and Akihama, 1987). 따라서 본 연구는 국내 복숭아 재배품종을 중심으로 배지종류, 탄소원, 배지내 첨가물질 및 치상방법을 달리하여 복숭아 기내 증식에 효과적인 조건들을

구명함으로써 묘의 대량번식과 앞으로의 기내 육종을 위한 기초 자료를 제공하기 위하여 수행되었다.

재료 및 방법

식물재료 및 배양조건

공시재료는 원예연구소 과수육종과의 포장과 온실에서 생육중인 복숭아(*Prunus persica*) 백미조생, 유명, 천홍 품종의 신초를 '96, '97년 3~5월 사이에 채취하여 정아와 액아가 붙어있는 마디를 0.5 cm로 절단하여 2시간동안 흐르는 물로 씻은 다음 70% ethanol에 1분간 침지하였다. 이를 Tween-20 1~2방울이 첨가된 0.5% sodium hypochlorite 용액으로 15분간 살균하고 멸균수로 3~4회 수세한 후 시험관내 치상하여 신초를 유기하였다. 시험구 배치는 완전확률화배치법으로 하였으며 별도의 언급이 없는 처리는 각 처리당 반복수는 5반복으로 하되 25 mL의 배지를 넣은 100 mL jar에 절편체를 3개씩 치상하여 1반복으로 하였다. 이때 배지는 pH가 5.8로 조정된 8 g/L agar가 첨가된 고체배지를 사

용하였으며, 배양조건은 25°C, 3000 Lux 정도로 유지하였으며, 1일 16시간 형광등하에서 조명하였다. 처리 4주후 신초 발생율 및 증식율을 조사하였다.

배지종류

기내 복숭아 신초 유기에 적합한 배지 종류를 구명하고자 Murashige & Shoog medium(MS), Woody Plant Medium(WPM), 및 Quorin and Lepovire medium(LP)에 각각 기외에서 채취한 백미조생, 유명, 천홍 품종의 엽아를 7 mL의 배지를 넣은 시험관에 1개씩 치상하여 30반복으로 하였다. 이때 각 배지에는 8 g/L agar와 30 g/L sucrose를 첨가하였다.

탄소 공급원

기내 신초 증식에 효과적인 탄소공급원을 구명하고자 1.0 mg/L BA가 첨가된 LP배지에 sucrose, sorbitol를 0, 20, 30 g/L 농도로 처리하였다. 이때 시험재료는 기내 유기된 0.5 cm 크기의 백미조생 신초를 이용하였으며, 절편체 치상방법은 신초정부를 제거하지 않고 수평치상하였다.

첨가물질

단백질 가수분해산물인 casein enzymatic hydrolysate (CH), lacto albumin enzymatic hydrolysate (LH)의 신초 증식에 미치는 효과를 구명하기 위하여 1.0 mg/L BA와 30 g/L sucrose가 첨가된 LP배지에 CH 및 LH 0, 500, 1000 mg/L를 각각 첨가하여 신초 증식 정도를 비교하였다. 이때 시험재료는 기내 유기된 0.5 cm 크기의 백미조생 신초를 이용하였으며, 절편체 치상방법은 신초정부를 제거하지 않고 수평치상하였다.

치상방법

신초 증식 효율을 증진시키고자 1.0 mg/L BA, 30 g/L sucrose가 첨가된 LP배지를 사용하여 일반적으로 수행되고 있는 수직치상외에 액아의 신초 유기를 도모하고자 0.5 cm 크기의 백미조생 신초의 정단분열조직을 제거한 수평치상, 정단분열조직을 제거하지 않은 수평치상 처리를 하여 신초 증식 정도를 비교하였다.

결과 및 고찰

배지종류별 기내 신초 유기

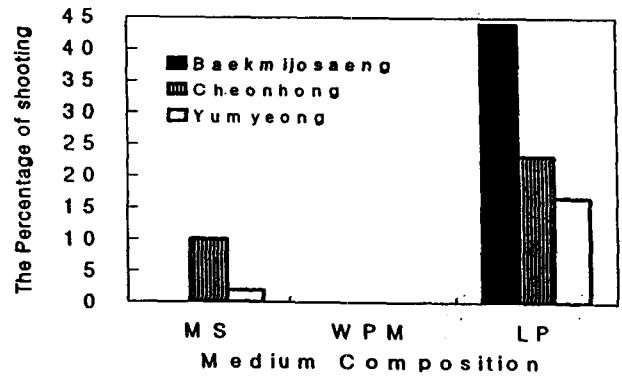


Figure 1. Effect of medium component on shoot initiation cv. Baekmijosaeng and Yumyeong peaches and cv. Cheonhong nectarine. The medium contained 8 g/L agar and 30 g/L sucrose was used.

백미조생, 천홍, 유명 품종으로부터 채취된 신초의 정아 및 액아의 신초 발생율은 3품종 모두 LP배지에서 가장 높게 나타났다. 가장 보편적으로 사용되고 있는 MS 배지의 경우, 천홍과 유명 품종에서 신초는 발생되었으나 신초발생율이 저조하였고, 백미조생 품종에서는 신초가 전혀 발생하지 않았다(Figure 1). 또한 계속해서 MS 배지상에서 신초가 계대배양되어 유지되면 엽이 황화되고, 정아가 갈변되어 고사되는 경향을 보였다. 목본류의 신초 증식배지로 많이 사용되는 WPM 배지에서는 3품종 모두 신초가 발생되지 않고 엽아가 갈변 고사되는 경향을 나타내어 본 연구에 공시된 품종들의 신초발생 배지로서는 적합하지 않은 것으로 판단되었다.

그러나 복숭아 대목 P.S. B2는 MS 배지상에서는 발생된 신초가 짧은 절간과 큰 엽을 가지고 있으면서 액아에서 신초가 전혀 발생되지 않았으나 WPM 배지로 옮기면 신초생장이 향상되어 기내 신초 발근에 MS 배지보다 WPM 배지가 효과적이라 하였다(Morini and Concetti, 1985).

따라서 복숭아 품종간에 적정 배지의 종류가 달라지며, 그에 알맞는 배지종류를 구명할 필요가 있을 것으로 판단된다.

일반적으로 NH₄-N는 배형성과 기관발생을 촉진시키고, NO₃-N는 세포생장에 효과적이므로 질소는 신초, 뿌리 및 체세포배발생에 중요한 역할을 한다고 보고되어지고 있다(김규원 등, 1990). 따라서 위의 3품종은 질소함량이 부족한 WPM에서는 신초 발생에 저하를 가져왔으며, LP배지에서 신초 발생율이 높은 것으로 보아 NH₄⁺와 NO₃⁻ 이온 함량의 비율이 신초발생에 효과적으로 작용한 것으로 생각되었다. 그러나 배지조성에 따른 신초발생율의 차이는 어느 한가지 성분 때문에 좌우되는 것이 아니라 다른 여러 무기염류 및 비타민들의 상호작용 또는 길항작용에 의해 그 유효도에 따라 차이가 있는 것으로 판단된다(김규원 등, 1990).

Table 1. Effect of carbon source and concentration on shoot proliferation of cv. Baekmijosaeng peach.

Carbon source	No. of shoots per explant	Shoot length (cm)
0	1.12 c ^z	0.32 d
20 g/L sucrose	1.54 bc	1.02 ab
30 g/L sucrose	1.82 ab	1.20 a
20 g/L sorbitol	2.20 a	0.78 bc
30 g/L sorbitol	2.08 a	0.54 cd

^zMeans separation by Duncan's multiple range test, $P=0.05$.
LP medium with 1.0 mg/L BA and 8 g/L agar was used.

Table 2. Effect of casein enzymatic hydrolysate (CH) and lacto albumin enzymatic hydrolysate (LH) on shoot proliferation of cv. Baekmijosaeng.

Addition agent	No. of shoots per explant	Shoot length (cm)
0	2.58 b ^z	1.12 a
500 mg/L CH	3.82 ab	0.88 ab
1000 mg/L CH	3.74 ab	0.80 ab
500 mg/L LH	4.94 a	0.74 b
1000 mg/L LH	3.96 ab	0.80 ab

^zMeans separation by Duncan's multiple range test, $P=0.05$.
LP medium with 1.0 mg/L BA, 30 g/L sucrose and 8 g/L agar was used.

탄소원에 따른 신초 증식

기내 신초 증식에 효과적인 탄소원의 종류 및 농도를 구명하고자 sucrose와 sorbitol을 0, 20, 30 g/L씩 배지내 첨가한 후 백미조생 품종의 신초 증식정도를 비교하였다.

20 g/L와 30 g/L의 sorbitol 처리구에서 절편체당 증식 신초수가 2.2, 2.1개로 sucrose 처리구와 무첨가구에 비해 신초 증식수가 높았다. 그러나 신초길이는 30 g/L의 sucrose 처리구에서 1.2 cm로 다른 처리구에 비해 길게 나타났다(Table 1). 탄소원이 공급되지 않은 처리구에서 신초는 황화 고사되는 경향을 나타냈고, 신초 증식율도 저조하였으며 sorbitol 처리구가 sucrose 처리구에 비해 신초의 엽색이 진한 녹색을 띄었다.

일반적으로 복숭아 조직배양에 주로 사용되고 있는 탄소원은 sucrose이다(Hammerschlag, et al., 1987). 그러나 복숭아의 왜성대목으로 사용되고 있는 정매의 경우 sorbitol이 신초 증식에 효과적이라는 보고가 있다(Ishida et al., 1989) 따라서 품종 및 공시재료에 따라 효과적인 탄소원이 다르며, 본 시험에서는 신초증식에는 20, 30 g/L sorbitol 처리가, 신초길이면에서는 30 g/L sucrose 처리가 효과적인 것으로 나타났다.

단백질 가수분해산물의 영향

단백질 가수분해산물로서 질소화합물인 casein enzymatic

Table 3. Effect of explant orientation on shoot proliferation of cv. Baekmijosaeng peach.

Explant Orientation	No. of shoots per explant	Shoot length (cm)
Horizontal (Apical meristem removal)	3.00 a ^z	0.49 b
Horizontal	1.50 b	0.67 b
Vertical	1.40 b	1.02 a

^zMeans separation by Duncan's multiple range test, $P=0.05$.
LP medium with 1.0 mg/L BA, 30 g/L sucrose and 8 g/L agar was used.

hydrolysate (CH)와 lacto albumin enzymatic hydrolysate (LH)를 0, 500, 1000 mg/L 씩 배지내 첨가하여 백미조생 품종의 신초 증식 효율을 비교한 결과 CH와 LH 첨가구가 무첨가구보다 신초 증식배수가 높게 나타났고, 특히 500 mg/L LH 첨가구에서 절편체당 약 5개의 신초가 증식되어 가장 효과적이었다. 그러나 신초의 증식수가 많아지면 신초 길이는 짧아지는 경향을 나타냈다(Table 2). 따라서 CH, LH 같은 가수분해물질이 생장촉진 역할을 담당하고 있는 것으로 생각되었다.

치상방법의 영향

복숭아 신초 증식율을 향상시키고자 백미조생의 신초를 수직배양 하는 것 외에 신초 정단분열조직을 제거하고 수평 배양하는 경우와 신초 정단분열조직을 제거하지 않고 수평 배양하는 세가지 경우를 비교한 결과 신초 정단분열조직을 제거하고 수평배양을 실시한 경우 절편체당 신초수가 3개로 신초 정부를 제거하지 않고 수평배양한 처리구 및 수직 배양 처리구의 1.5와 1.4개에 비하여 높게 나타났다. 그러나 신초 길이면에서는 수직배양 처리구에서 신초 길이가 길게 나타났다(Table 3). 사과의 경우 신초정부를 제거하여 치상할 경우 정부우세성을 약화시켜 액아에서 신초 발생율을 높일 수 있고, Empire, Delicious, Triple Red Delicious와 Vermont Spur Delicious 품종의 경우 수직치상에 비해 수평치상을 할 경우 신초증식율이 높아졌으며, 특히 강한 정부우세성을 나타내는 품종의 경우에 이러한 경향을 보이고 있음이 보고되었다(Yae et al., 1987). 본 연구에서는 복숭아 백미조생 품종의 신초 증식에는 신초정부의 제거가 신초 증식에 효과적이었으며, 신초 정부를 제거하지 않은 수평배양과 수직배양에는 큰 차이가 없었다.

적 요

백미조생, 천홍, 유명 등 3가지 복숭아 품종에 있어서 기내 신초 유기에 적합한 배지는 LP 배지이며, 기내 신초 증식에 효과적인 탄소원은 20 g/L sorbitol 처리와 30 g/L

sorbitol 처리였다. 배지내 500 mg/L LH를 첨가함으로써 백미조생 품종의 기내 신초 증식율의 향상을 가져올 수 있었으며 신초정부를 제거하고 수평배양하는 것이 기내 신초 증식에 효과적이었다.

인용문헌

- Hammerschlag FA (1991) Field performance of micropropagated own-rooted peach trees. *J Amer Soc Hort Sci* 116: 1089-1091
- Hammerschlag FA, Bauchan GR, Scorza R (1987) Factors influencing in vitro multiplication and rooting of peach cultivars. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 8: 235-242
- Ishida M, Matsuyama H, Kitajima A, Sobajima Y (1989) In vitro propagation of *Prunus japonica* Thunb., a dwarfing rootstock for peach tree. *J Japan Soc Sci* 58: 49-54
- Kim KW, Back KY, Chung KS, Chung JD, Chae KT (1990) Technique of plant tissue culture. Hwangmoonsa. p26
- Ministry of Agriculture and Forestry (1997) Statistical yearbook of agriculture and forestry. p104
- Morini S, Concetti S (1985) In vitro propagation of P.S. B2 peach rootstock. *Acta Horticulturae* 173: 205-210
- Yae BW, Zimmerman RH, Fordham I (1987) Influence of photoperiod, apical meristem, and explant orientation on axillary shoot proliferation of apple cultivars in vitro. *J Amer Soc Hort Sci* 112: 588-592
- Uematsu C, Akihama T (1987) Effect of 4PU on the dormant shoot tip culture of peach, nectarine, sweetcherry and plum. *Japan J Breed* 37: 283-290

(1997년 12월 10일 접수)