

## 잡종키위 (양다래×다래)의 엽조직 캘러스로부터 식물체 재분화

김용욱\* · 문흥규  
국립산림과학원 생물공학과

### Plant Regeneration from Leaf derived Callus of Hybrid Kiwi (*Actinidia deliciosa* × *A. arguta*)

Yong-Wook Kim\* and Heung-Kyu Moon

Div. of Biotechnology, Korea Forest Research Institute, Suwon 441-350, Korea

**요 약:** 잡종키위(*Actinidia deliciosa* × *A. arguta*) 엽조직의 캘러스로부터 완전한 식물체를 재분화시킬 수 있었다. 캘러스는 옥신류(2,4-D, NAA: 0.1~0.5 mg/l)와 사이토키닌류(BA: 0.1~0.2 mg/l)를 조합하여 첨가된 MS배지에 엽절편체를 배양하여 캘러스를 유도하였다. 가장 높은 캘러스 유도율(96.2%)은 0.5 mg/l 2,4-D+0.1 mg/l NAA+0.05 mg/l BA의 처리구에서 나타났다. 신초유도는 1차 신초 유도배지에서 1.0 mg/l BA+0.05 mg/l IBA 혹은 2.0 mg/l BA+0.05 mg/l IBA 첨가구에서만 소수의 신초가 유도되었다. 그러나 캘러스를 1.0, 2.0 혹은 5.0 mg/l zeatin의 단독처리구 혹은 BA, TDZ 혹은 zeatin이 첨가된 2차 신초 유도배지처리구에서 다경유도가 가능하였지만 BA 첨가구에는 그 농도에 관계없이 다경유도는 이루어지지 않아 잡종키위의 캘러스로부터 신초유도시 BA첨가는 별 효과가 없는 것으로 나타났다. 신초로부터 발근은 기내발근 [Standardi (ST)+1.0 mg/l IBA]시 가장 높은 발근율(83.3%)를 보였지만 500 mg/l IBA의 수용액에 신초를 1시간동안 침지한 처리구에서 가장 저조한 발근율(40.0%)을 보였다. 줄기와 뿌리가 유도된 완전한 식물체를 재분화가 가능하였고 순화 또한 성공적으로 이루어졌다.

**Abstract:** Whole plants were regenerated from callus induced from leaf explants in hybrid kiwi (*Actinidia deliciosa* × *A. arguta*). Callus was induced from leaf explants which cultured on MS solid medium supplemented with combination of auxin (2,4-D, NAA: 0.1~0.5 mg/l) and cytokinin (BA: 0.1~0.2 mg/l). Among them, the highest callus formation (96.2%) was obtained from the treatment of 0.5 mg/l 2,4-D+0.1 mg/l NAA+0.05 mg/l BA. In the experiment of adventitious shoots induction from primary shoots, only a few shoots were produced in the treatment of 1.0 mg/l BA+0.05 mg/l IBA or 2.0 mg/l BA+0.05 mg/l IBA. As the callus were transferred to the secondary shoot-inducing medium, multiple shoots were obtained from the medium supplemented with 1.0, 2.0 or 5.0 mg/l zeatin in addition to the mixed treatments of BA, thidiazuron (TDZ) or zeatin. However, no multiple shoots were induced on the BA-contained medium regardless of concentrations. Therefore it turned out that addition of BA to medium was less effective for induction of multiple shoots from callus in *Actinidia deliciosa* × *A. arguta*. For producing adventitious roots from shoots, the best frequency of rooting (83.3%) were recorded on the treatment of *in vitro* rooting (Standardi (St)+1.0 mg/l IBA). On the other side, the lowest result (40.0%) were shown in the treatment of 500 mg/l IBA, 1 hr. Whole plants with shoots and roots were recovered and acclimatized successfully.

**Key words:** Adventitious shoot, hybrid kiwi, plant acclimatization, root formation

### 서 론

다래나무속(*Actinidia*)에는 전 세계적으로 60여종이 분포하며 그중 양다래(*A. deliciosa*)는 덩굴성의 산과실로 중국이 자생지로 알려져 있다. 우리나라의 경우 1977년경 뉴질랜드로부터 묘목이 도입되었지만 내한성이 약하여 제

주도를 비롯한 남해안 일대, 그리고 최근에는 충남, 경기도 서해안의 일부지역에서도 소규모로 재배되고 있다(Cho *et al.* 1995). 따라서 1987년부터 국립산림과학원에서는 전국적으로 식재가 가능한 내한성 개체인 양다래×다래의 잡종키위 육종연구에 착수하여 1994년에 수원지역에서는 전혀 동해피해를 받지 않는 내한성개체를 육성하는데 성공하였다(Cho *et al.*, 1995). 이러한 잡종키위를 단기간에 대량증식을 하여 보급하기 위해서는 접, 삽목 등의 무성

\*Corresponding author  
E-mail: dragonkim@foa.go.kr

증식방법이 있으나 이 개체의 절간길이가 길게 성장하는 특성으로 인해 많은 양의 삽수를 대량으로 준비하기 어렵다. 이를 극복하기 위한 방법으로 Moon 등(2001)은 잡종 3개체의 줄기를 무균 기내배양으로 식물체를 생산할 수 있는 기술 개발에 관해 보고를 하고 있다.

*Actinidia*속 수종의 조직배양 연구는 Harada(1975)가 마디 및 신초 배양에 의한 증식이 시초이며 세포배양(Kim and Moon, 2005), 형질전환(Jansen and Gardner, 1993; Uematsu *et al.*, 1991) 및 원형질체 배양(Oliveira and Pais, 1991), 캘러스로부터 신초유도(Zhang *et al.*, 1998; Xiao *et al.*, 2004) 등 다수의 연구가 이루어져 왔다. 그중 캘러스배양은 *A. chinensis* cv Tomuri(Barbieri and Morini, 1987), *A. deliciosa* var. *deliciosa* 'Hayward'(Gonzlez *et al.*, 1995; Marino and Battistini, 1990; Mulec and Morini, 1990; Revilla and Power, 1988) 등에서 다수의 연구가 이루어졌다. 잡종키위의 경우 Moon 등(2001)이 잡종키위의 액아배양을 실시하여 기내발근과정을 거쳐 완전한 포트묘까지 생산하는데 성공하였으며 캘러스 유도 시 2,4-D 및 NAA 첨가배지에서 캘러스를 유도하였고 신초유도는 NAA가 첨가된 배지에서만 이루어졌다는 보고만 있고 캘러스로부터 신초유도 및 발근유도 위한 식물생장조절물질 종류 및 농도 등에 관한 자세한 비교실험 데이터는 전혀 제시되지 않고 있다.

현재 아그로박테리아를 이용한 형질전환 방법을 이용한 병충해 및 제초제 등의 저항성을 지닌 새로운 과수 품종개발을 위해 많은 연구가 활발히 진행 중인데 그 과정 중의 한 단계인 캘러스유도는 형질전환 식물체의 획득에 있어 필수적인 과정이며 차후 이 수종을 대상으로 새로운 신종종육성을 위한 유용유전자 삽입 등의 생물공학 기법을 응용하기 위해서는 캘러스 유도를 통한 식물체 재분화와 같은 조직배양 기술의 개발이 선행되어야 한다. 따라서 본 연구는 키위잡종 식물체의 기내 증식된 엽 조직을 재료로 하여 캘러스를 유도하고 그로부터 신초 및 발근유도를 통한 완전한 식물체 재분화까지의 가장 효과적인 식물생장조절물질의 종류 및 농도를 구명하고 최종적으로 는 식물체 재분화 기술 개발에 그 목적이 있다.

## 재료 및 방법

### 1. 식물재료

본 실험에 사용된 시료는 국립산림과학원에서 교배시켜 육종한 잡종키위를 사용하였다. 먼저 아배양을 위한 시료조제는 잎을 제거한 후 1~2개의 액아가 포함되도록 적당한 길이로 자른 다음 수돗물에서 2시간동안 세척하였다. 그 후 무균하에서 70% 에틸알콜에 1분간 소독 후 2% 차아염소산나트륨(NaClO) 용액에 15분동안 표면살균한

다음 멸균증류수로 3회 세척하였다. 액아로부터 신초유도를 위한 배지는 ST배지에 3.0 mg/l BA와 0.2 mg/l gibberellic acid(GA<sub>3</sub>) 그리고 3% sucrose 및 0.25% gelite를 첨가하였다. 배양환경은 25°C, 16시간 광주기, 3,000 lux의 광도하에서 이루어졌으며, 초대배양 후 2주마다 동일조성의 새로운 배지로 계대배양 하였다. 배양 8주 후에는 4주 간격으로 계대배양을 통해 캘러스유도에 사용될 엽조직을 증식시켰다.

### 2. 엽조직 캘러스 유도

캘러스 유도는 시험관내에서 4주정도 성장시킨 잡종다래의 잎을 채취하여 배양재료로 사용하였다. 채취한 잎은 5 mm 내외의 크기로 절편을 만들어 캘러스유도 배지에 치상하였다. 캘러스유도 배지로서는 MS(Murashige and Skoog, 1962)를 기본배지로 하고 옥신류는 2,4-D(0.5, 1.0, 2.0 및 5.0 mg/l) 및 NAA(0.1 mg/l)를 각각 첨가하였고 사이토키닌은 0.05 mg/l BA를 공히 전체 처리구에 공통적으로 첨가하였다(Table 1). 캘러스유도를 위한 배양환경은 25±1°C, 3000 lux의 냉백색 형광등으로 16시간씩 광배양하였고 캘러스 유도율은 배양 6주 후에 식물생장조절물질의 농도 및 종류에 따른 처리구별로 조사하였다.

**Table 1. Effect of plant growth regulators on callus formation from leaf explant in *Actinidia deliciosa* × *A. arguta*.**

| Plant Growth Regulators (mg/l) |     |      | % of callus formation   |
|--------------------------------|-----|------|-------------------------|
| 2,4-D                          | NAA | BA   |                         |
| 0.5                            | 0.1 | 0.05 | 96.2 ± 5.7 <sup>a</sup> |
| 1.0                            | 0.1 | 0.05 | 82.1 ± 4.3              |
| 2.0                            | 0.1 | 0.05 | 46.5 ± 3.7              |
| 5.0                            | 0.1 | 0.05 | 24.7 ± 3.1              |

<sup>a</sup>Mean ± standard deviation

**Table 2. Effect of primary plant growth regulators from leaf derived callus in *Actinidia deliciosa* × *A. arguta*.**

| Treatments (mg/l)              | % of shoot formation | % of root formation   |
|--------------------------------|----------------------|-----------------------|
| 0.5 BA+0.05 IAA                | 0                    | 72 ± 5.7 <sup>b</sup> |
| 1.0 BA+0.05 IAA                | 3.3                  | 58 ± 3.7              |
| 2.0 BA+0.05 IAA                | 0                    | 68 ± 3.9              |
| 0.5 BA+0.05 IBA                | 0                    | 70 ± 5.3              |
| 1.0 BA+0.05 IBA                | 0                    | 54 ± 3.2              |
| 2.0 BA+0.05 IBA                | 3.3                  | 60 ± 3.4              |
| 0.5 zea <sup>a</sup> +0.05 IAA | 0                    | 56 ± 3.0              |
| 1.0 zea+0.05 IAA               | 0                    | 50 ± 2.9              |
| 2.0 zea+0.05 IAA               | 0                    | 44 ± 2.9              |
| 0.5 zea+0.05 IBA               | 0                    | 62 ± 3.9              |
| 1.0 zea+0.05 IBA               | 0                    | 60 ± 3.4              |
| 2.0 zea+0.05 IBA               | 0                    | 52 ± 3.4              |

<sup>a</sup>zeatin

<sup>b</sup>Mean ± standard deviation

**Table 3. Effect of secondary plant growth regulators from leaf derived callus in *Actinidia deliciosa* × *A. arguta*.**

| Treatments (mg/l)                   | % of shoot formation  | Mean no. of shoot per callus | % of root formation |
|-------------------------------------|-----------------------|------------------------------|---------------------|
| 1.0 BA                              | 24 ± 2.7 <sup>a</sup> | 0.3                          | 8                   |
| 2.0 BA                              | 24 ± 2.4              | 0.4                          | 4                   |
| 5.0 BA                              | 40 ± 5.7              | 0.8                          | 12                  |
| 1.0 zea <sup>a</sup>                | 40 ± 5.1              | multiple                     | 4                   |
| 2.0 zea                             | 100                   | multiple                     | 0                   |
| 5.0 zea                             | 76 ± 7.9              | multiple                     | 0                   |
| 1.0 BA+1.0 zea+0.1 TDZ <sup>b</sup> | 32 ± 3.2              | 0.8                          | 4                   |
| 1.0 BA+1.0 zea+0.5 TDZ              | 88 ± 8.7              | multiple                     | 0                   |
| 2.0 BA+2.0 zea+0.1 TDZ              | 100                   | multiple                     | 0                   |

<sup>a</sup>zeatin<sup>b</sup>Thidiazuron<sup>c</sup>Mean ± standard deviation**Table 4. Comparison of *in vitro* and *ex vitro* treatment on the rooting from the shoots in *Actinidia deliciosa* × *A. arguta*.**

| Treatments                        | % of rooting            |
|-----------------------------------|-------------------------|
| <i>In vitro</i> (St+1.0 mg/l IBA) | 83.3 ± 8.7 <sup>a</sup> |
| 1% IBA+Talc                       | 76.7 ± 6.7              |
| 2% IBA+Talc                       | 56.7 ± 5.4              |
| 5% IBA+Talc                       | 46.7 ± 3.7              |
| 100 ppm IBA, 1 hr                 | 63.3 ± 5.7              |
| 500 ppm IBA, 1 hr                 | 40 ± 5.1                |
| 1,000 ppm IBA, 1 hr               | 43.3 ± 5.3              |

<sup>a</sup>Mean ± standard deviation

### 3. 캘러스로부터 신초유도

캘러스로부터 신초유도를 위한 배지조성은 1차 및 2차 신초 유도배지로 나누어서 실시하였다. 1차 신초 유도배지 조성은 MS배지에 BA 및 zeatin의 농도를 0.5, 1.0, 및 2.0 mg/l의 범위로 첨가하고 옥신류인 IAA 및 IBA는 0.05 mg/l 씩 총 12조합을 조성하였다(Table 2). 2차 신초 유도배지 또한 MS배지를 기본으로 하였으며 BA 및 zeatin을 1.0, 2.0 및 5.0 mg/l의 농도로 첨가하였으나 IAA 등의 옥신류는 제외하였다(Table 3). 또한 싸이토키닌류의 혼합처리 효과를 보기위하여 Table 3과 같이 BA, zeatin 및 TDZ의 혼합 처리구를 만들었다.

신초유도는 캘러스를 약 5 mm 크기로 절단하여 1, 2차 신초유도배지에 각각 30개씩 배양하였고 2반복 실시하였다. 신초유도를 위한 배양환경은 25 ± 1°C, 3000 lux의 냉백색 형광등으로 16시간씩 광주기의 광배양하에 이루어졌으며 각 처리구에 따른 신초 유도율 및 신초 유도수 등의 조사는 배양 6주 후에 실시하였다.

### 4. 기내발근 및 꺾꽂이 생산

증식된 신초로부터 뿌리유도를 위해 먼저 신초를 ST배지에 3.0 mg/l BA와 0.2 mg/l GA<sub>3</sub> 및 3% sucrose 및

0.25% gelite가 첨가된 배지로 옮겨 4주정도 더욱 증식 및 유지시켰다. 이렇게 증식된 신초의 발근처리는 기내 및 기외발근을 각각 실시하였는데 기외발근 처리는 Table 4에 서와 같이 신초지 절단부위에 항균제인 Talc(Sigma) 분말에 IBA를 1, 2 및 5% 농도로 조제하여 묻히거나 혹은 100, 500 및 1,000 ppm의 IBA 용액속에 신초의 말단 부위를 각 1시간정도 침지 후 혼합토 peatmoss: perlite: vermiculite(1: 1: 1, v/v/v)로 이식하였고 토양이식 4주 후에 기외발근으로 활착된 식물체의 발근율을 조사하였다. 반면 대조구인 기내발근은 ST배지에 IBA를 1.0 mg/l를 첨가한 고체배지에서 이루어졌으며 기내발근 4주 후 유도된 식물체에 2~3 cm 길이의 뿌리발생이 신초말단으로부터 확인이 되면 발근을 조사를 마친 다음 시험관으로부터 꺼내어 뿌리에 묻어있는 gelrite 등을 깨끗이 세척한 후 혼합토에 이식하였다. 토양 이식 후에는 어린식물체의 습도유지를 위해 투명비닐과 아크릴판으로 덮어 습도를 충분히 유지하여 식물체의 순화를 유도하였다. 기외 및 기내 모두 발근유도를 위한 배양환경조건은 25 ± 1°C가 유지되는 배양실 내에서 3000 lux 정도의 냉백색 조명하에서 16시간씩 조사하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 캘러스 유도

잡종키위의 기내증식된 엽 절편체를 이용한 캘러스유도는 비교적 용이하게 이루어졌는데 최대 유도율의 캘러스유도는 0.5 mg/l 2,4-D+0.1 mg/l NAA+ 0.05 mg/l IBA가 첨가된 배지에서 96.2%를 보여 가장 양호하였으나 5.0 mg/l 2,4-D의 처리구에서 24.7%로 가장 저조한 유도율을 보였는데 이것은 고농도의 2,4-D가 첨가될수록 캘러스 유도율은 감소하는 경향을 보였다(Table 1). 따라서 1.0 mg/l 2,4-D 이상의 고농도 첨가는 오히려 엽조직 캘러스유도에는 불리하였다.

캘러스유도는 주로 *A. deliciosa*의 수종에서 많은 연구가 이루어져 왔는데 Revilla and Power(1988)는 0.5 mg/l 2,4-D+0.05 mg/l NAA 첨가시, Gonzalez 등(1995)은 0.01 mg/l IAA+1.0 mg/l zeatin이 첨가된 배지에서 높은 빈도의 캘러스 유도를 보고하고 있다. 또한 *A. eriantha* 수종의 실생묘 엽조직 유래 원형질체로부터 캘러스 형성은 1.0 mg/l NAA+1.0 mg/l 2,4-D 첨가구에서 가장 최적 조건을 보임에 따라 2,4-D 및 NAA 첨가가 키위류 수종의 캘러스유도에 효과가 있음을 보여 준다(Zhang *et al.*, 1998).

캘러스 형성은 배양 3주 후 엽조직의 절단면에서부터 연노란색을 띤 캘러스 유도로 시작되는데(Figure 1a) 캘러스 형성은 주로 엽맥을 따라 혹은 배지와 접촉한 엽조직의 접촉면에 따라 이루어졌다. 그리고 2,4-D 농도에 따른

캘러스형성 정도는 0.5 mg/l 2,4-D에서는 캘러스 생장이 가장 왕성하였고 1.0 mg/l 2,4-D에서는 캘러스유도가 어느 정도 이루어졌으나 0.5 mg/L 2,4-D 첨가구 만큼 왕성한 캘러스 증식은 보이지 않았다. 반면에 2.0 및 5.0 mg/l 2,4-D를 첨가시에는 캘러스형성은 그다지 왕성하지 않은 반면 배양한 엽조직의 대부분이 팽창하기만 하였다.

2. 캘러스로부터 신초 유도

1) 1차 신초유도

캘러스로부터 부정신초유도는 Table 2에서와 같이

토키닌류 및 옥신류가 첨가된 12조합의 배지에 배양한 결과 전체 처리구에서 매우 저조한 신초유도의 결과를 보였다. 그중 0.05 mg/l IAA+1.0 mg/l BA(3.3%) 및 0.05 mg/l IBA+2.0 mg/l BA(3.3%)의 처리구에서 낮은 신초형성을 보였을 뿐 그 외의 처리구에서는 신초형성이 전혀 이루어지지 않았다(Table 2). 반면 캘러스로부터 부정근유도가 전체 처리구에서 관찰되었는데(Figure 1b) 이는 첨가된 IAA 및 IBA의 농도가 0.05 mg/l로 비교적 저농도이지만 zeatin 및 BA의 신초형성의 초기 단계인 부정근유도를 위한 사이토키닌류의 활성을 옥신류가 강하게 억제하는

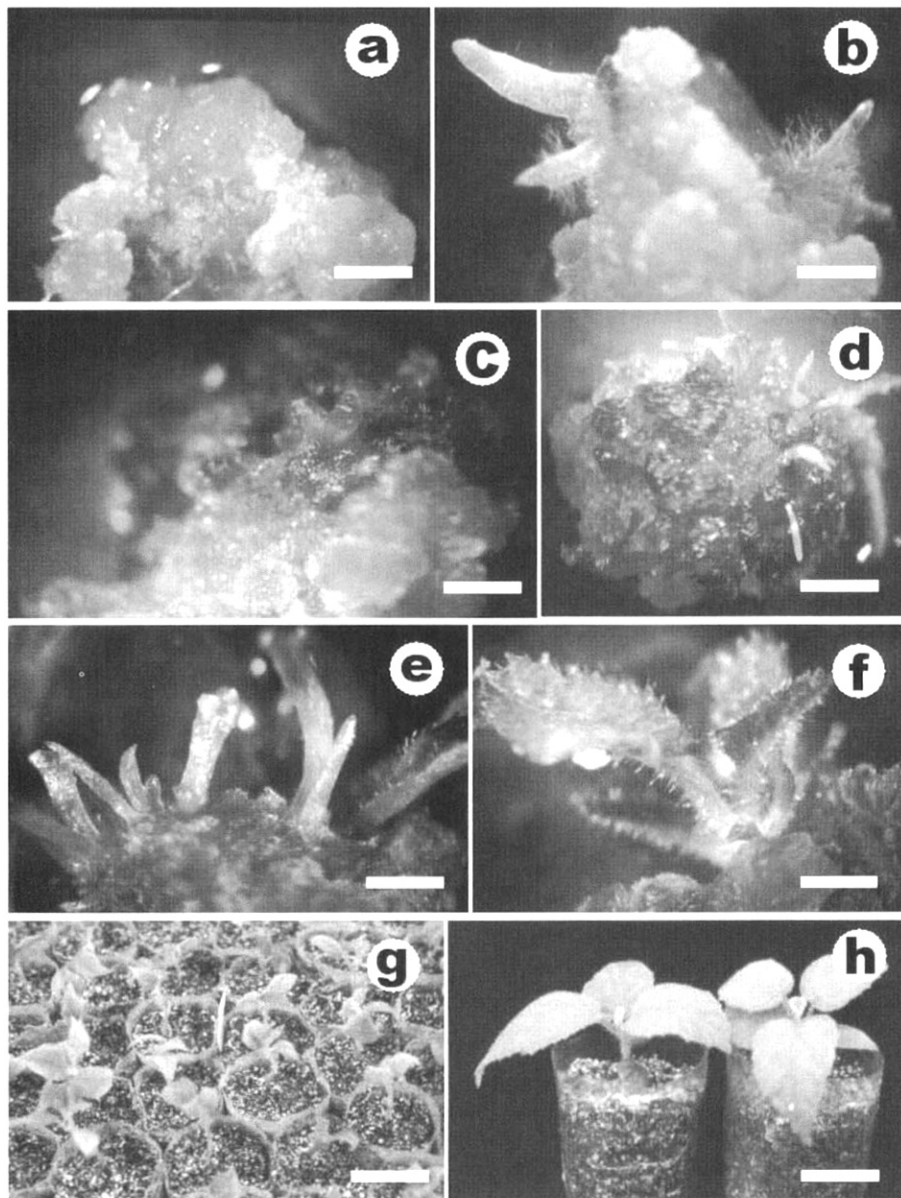


Figure 1. Callus formation from leaf tissue and plant regeneration in hybrid kiwi (*Actinidia deliciosa* × *A. arguta*) a: Callus formation from leaves (bar=2 mm), b: Adventitious roots formation from the callus on shoot induction medium (bar=2 mm), c: Adventitious shoot buds induction (bar=3 mm), d: A few adventitious shoots formation from first shoot medium (bar=3.5 mm), e: Multiple adventitious shoot formation from secondary shoot medium (bar=2 mm), f: More expanded shoots (bar=3 mm), g: Acclimatization of potted plants (bar=3 cm), h: Well-grown plants in pots (bar=7 cm).

현상으로 추정된다. 그리고 혼합첨가된 BA 혹은 zeatin 농도는 뿌리발생율과는 별 상관없이 보여졌으며 부정근 발생은 옥신류와는 상관없이 BA첨가구에서 대체로 높은 수치를 보였다. 캘러스로부터 부정근 발생율은 0.05 mg/l IAA+0.5 mg/l BA의 처리구에서 72%로 가장 높았고 0.05 mg/l IAA+2.0 mg/l zeatin 처리구에서 44%로 가장 낮은 발생율을 보였지만 전체적으로 높은 부정근 발생율을 나타냈다(Table 2).

## 2) 2차 신초유도

Table 2에서 보인 사이토키닌 및 옥신류의 조합에서 신초형성이 매우 드물게 이루어짐에 따라 Table 3과 같이 옥신류가 전혀 첨가되지 않은 BA와 zeatin의 단독 처리구 및 혼합조제된 2차 신초유도배지에서 신초를 재유도하고자 하였다. 그 결과 Table 2에서 보인 1차 신초유도의 결과와 비교시 큰 차이를 보였는데 2차 신초유도 실험에서는 2.0 mg/l zeatin 및 2.0 mg/l BA+zeatin 2.0 mg/l+0.1 mg/l TDZ의 혼합처리구에서 100%로 최대의 신초유도율을 보였다(Table 3). BA를 1.0 및 2.0 mg/l 첨가시 각각 24%로 가장 낮은 유도율을 보여 잡종키위의 엽조직 캘러스로부터 신초유도에는 별 효과적이지 못했다. 반면 2.0 mg/l zeatin의 농도에서는 모든 캘러스에서 신초유도가 이루어져 가장 효과적인 처리구로 나타났으며 5.0 mg/l zeatin 첨가구에서도 76%의 높은 신초유도율을 보였다. 또한 BA, zeatin 및 TDZ의 혼합첨가구에서도 높은 신초유도율을 보였는데 2.0 mg/l BA+2.0 mg/l zeatin+0.1 mg/l TDZ 첨가구에서 100%의 신초유도율을, 1.0 mg/l BA+1.0 mg/l zeatin+0.5 mg/l TDZ 첨가구에서도 88%로 높은 신초유도율을 보여 사이토키닌류의 혼합첨가가 또한 신초유도에 매우 효과적으로 나타났다. 캘러스 당 신초유도수 비교에서는 BA의 모든 농도에서 0.3-0.8개로 매우 저조한 신초유도수를 보인 반면 zeatin의 모든 농도에서는 다경(multiple shoot) 유도가 이루어져 BA 첨가구보다 훨씬 효과적인 사이토키닌으로 나타났다(Table 3). 그리고 사이토키닌 혼합처리구 비교시 1.0 mg/l BA+1.0 mg/l zeatin+0.1 mg/l TDZ 첨가구에서 가장 낮은 0.8개의 신초유도수를 보인 것을 제외하고 나머지 두 혼합처리구에서 다경유도가 이루어져 매우 효과적인 것으로 나타났다. 그러나 BA첨가의 경우 농도에 관계없이 zeatin 첨가구 보다 신초 유도율이 낮게 나타나 잡종키위의 캘러스로부터 신초형성은 zeatin 첨가가 훨씬 효과적인 것으로 보인다. 2차 신초 유도배지에서 zeatin 단독 처리구가 1차신초 유도배지의 zeatin+0.05 mg/l IAA 보다 신초유도율이 훨씬 효과적인 것으로 나타났는데 이것은 zeatin에 IBA 혹은 IAA와 같은 옥신류 첨가로 오히려 왕성한 뿌리형성을 촉진시켜 신초유도를 크게 억제하는 결과인 것으로 보인다(Table 3).

*Actinidia*속 키위 캘러스로부터 신초 유도시에는 주로 zeatin을 첨가하는 것으로 알려져 있는데(Barbieri and Morini, 1987; Pedroso *et al.*, 1992; Revilla and Power, 1988) 그중 *A. deliciosa*(Revilla and Power, 1988)와 *A. chinensis*(Harada, 1975)의 경우 1.0 mg/l zeatin의 단독처리가 유효하였지만 Pedroso 등(1992)은 1.0 mg/l zeatin에 0.05 mg/l IBA 첨가시 신초유도에 더욱 효과적임을 보고하고 있다. 또한 *A. chinensis*의 신초 증식에는 zeatin 혹은 2iP 보다는 오히려 BA가 효과적이며(Barbieri and Morini, 1987), *A. polygama*의 경우 BA 및 NAA 첨가가 더욱 효과적인 것으로 보고하고 있어 (Sugawara *et al.*, 1994) 키위수종에 따른 신초유도에서 사이토키닌의 종류 및 농도의 효과가 매우 다양하게 나타나는 것을 알 수 있다.

유도한 신초는 신초 증식배지(ST+3.0 mg/l BAP+0.2 mg/l GA<sub>3</sub>+2% sucrose+0.25% gelite)로 옮겨 더욱 길이생장을 유도하였고(Figure 1d, e) 이식 2-3주 후에는 신초 증식이 왕성이 이루어졌다(Figure 1f).

## 3) 기내발근 및 포트묘 생산

Table 4는 증식시킨 신초의 발근을 위한 최적조건을 조사한 결과로서 최대 발근율은 St+1.0 mg/l IBA의 기내발근으로 83.3%의 가장 높은 발근율을 보였으며 1.0 및 2.0% IBA 분말처리(각각 76.7 및 56.7%) 혹은 100 ppm 농도의 IBA 수용액에 1시간동안 신초침지(63.3%)를 하는 식의 발근처리 또한 효과가 있었다(Table 4). 반면에 5% IBA의 분말처리로는 6.7%의 가장 저조한 발근율을 보였는데 이는 고농도의 IBA는 오히려 신초지의 발근에는 악영향을 끼친 것으로 보인다(Table 4). 그리고 500(40%) 및 1,000 ppm(43.3%) IBA 용액의 침지 또한 그 발근율이 100 ppm(63.3%) IBA 처리구보다 낮게 나타나 이 처리구 또한 별 효과가 없었는데 IBA농도가 100 ppm이상의 농도에서는 용액의 독성으로 인해 오히려 발근율이 저조한 경향을 보였다(Table 4).

키위의 신초지의 발근유도는 기내 및 기외조건에서 다양하게 이루어지는데 기내발근의 경우 그중 Harada 등(1975)이 0.1~1.0 mg/l NAA가 첨가된 배지에서, Sugawara 등(1994)은 *A. polygama*의 경우 0.1 mg/l BA+0.1 mg/l NAA가 발근에 효과적임을 밝혔다. 그리고 Revilla and Power(1988)는 *A. deliciosa*의 신초발근에는 1.0 mg/l BA+2.0 mg/l IBA의 처리로 가장 높은 유도율을 보고하고 있어 수종에 따라 사용된 옥신류 및 사이토키닌류의 종류 및 혼합농도에 따라 그 효과는 매우 상이하게 나타나기 때문에 각 수종에 대한 최적 발근조건을 구명할 필요가 있다. 기외발근의 경우 Monette (1986)는 *A. chinensis*의 발근에는 0.05% IBA용액에 수초간 침적하여 가장 높은 발근율을 보였으며 Pedroso 등(1992)은 *A. deliciosa*의 발

근에는 신초를 20 mg/l IBA 용액에 24시간 처리로 가장 높은 발근율을 보여 그 효과가 매우 다양하게 나타난다고 보고하고 있다.

기내에서 줄기와 뿌리가 균형 있게 발달한 식물체를 혼합토가 담긴 포트에 이식 4주 후에는 활착된 식물체를 얻을 수 있었으며(Figure 1g, h) 그 생존율은 100% 가까이 되었다. 이 결과는 97%의 순화율을 보인 *A. deliciosa*(Gonzlez *et al.*, 1995)와 93.7%를 보인 *A. chinensis*(Monette, 1986)의 활착율과 비슷한 것으로 조직배양을 통한 *Actinidia*속 식물체 생산의 가능성이 매우 높음을 시사한다. 이상의 결과는 캘러스유도를 통한 식물체의 대량증식 및 유전 형질 전환을 통한 신품종의 개발 연구에 기초자료로 활용될 수 있을 것이다.

### 인용문헌

1. Barbieri, C. and S. Morini. 1987. Plant regeneration from *Actinidia* callus cultures. *Journal of Horticultural Science* 62: 107-109.
2. Cho, J.K., Lee, B.S., Hong, S.H., Hur, S.D. and Noh, E.W. 1995. Characteristics of the hybrids *Actinidia deliciosa* × *A. arguta*. *Forest Genetics Research Institute Research Note* 51: 8.
3. Gonzlez, M.V., Rey, M. and Rodriguez R (1995) Plant regeneration from petioles of kiwifruit microshoots. *HortScience* 30: 1302-1203.
4. Harada, H 1975. *In vitro* organ culture of *Actinidia chinensis* Pl. as a technique for vegetative multiplication. *Journal of Horticultural Science* 50: 81-83.
5. Jansen, B. and Gardner, R.C. 1993. The use of transient GUS expression to develop an *Agrobacterium*-mediated gene transfer system for kiwifruit. *Plant Cell Reports* 13: 28-31.
6. Kim, Y.W. and Moon, H.K. 2005. Plant regeneration from cell suspension culture using leaf callus in *Actinidia deliciosa* × *A. arguta* clone 118. *Korean Journal of Plant Biotechnology* 32: 287-292.
7. Marino, G. and Battistini, S. 1990. Leaf-callus growth, shoot regeneration and somaclonal variation in *Actinidia deliciosa*: Effect of media pH. *Acta Horticulturae* 280: 37-44
8. Monette, P.L. 1986. Micropropagation of kiwifruit using non-axenic shoot tips. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 6:73-82.
9. Moon, H.K., Kwon, Y.J. and Lee, B.S. 2001. Micropropagation of the hybrids of *Actinidia deliciosa* × *A. arguta* by tissue culture. *Korean Journal of Plant Biotechnology* 28: 227-230.
10. Muleo, R. and Morini, S. 1990. Effect of light quality on regeneration from callus of *Actinidia deliciosa*. *Acta Horticulturae* 280: 155-158.
11. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
12. Oliveira, M.M. and Pais, M.S.M. 1991. Plant regeneration from protoplasts of long-term callus cultures of *Actinidia deliciosa* var. *deliciosa* cv. Hayward (Kiwifruit). *Plant Cell Reports* 9: 643-646.
13. Pedroso, M., Oliveira, M.M. and Pais, M.S.S. 1992. Micropropagation and simultaneous rooting of *Actinidia deliciosa* var. *deliciosa* 'Hayward'. *HortScience* 27: 443-445.
14. Revilla, M.A. and Power, J.B. 1988. Morphogenetic potential of long-term callus cultures of *Actinidia deliciosa*. *Journal of Horticultural Science* 63: 541-545.
15. Standardi, A. 1983. La micropropagazione nella moltiplicazione dell'actinidia. *Frutticoltura* 45: 17-22.
16. Sugawara, F., Yamamoto, N. and Tanaka, O. 1994. Plant regeneration in *in vitro* culture of leaf, stem and petiole segments of *Actinidia polygama* Miq. *Plant Tissue Culture Letter* 11: 14-18.
17. Uematsu, C., Murase, M., Ichikawa, H. and Imamura, J. 1991. *Agrobacterium*-mediated transformation and regeneration of kiwi fruit. *Plant Cell Reports* 10: 286-290.
18. Xiao, Z.A., Wan, L.C. and Han, B.W. 2004. An interspecific somatic hybrid between *Actinidia chinensis* and *Actinidia kolomikta* and its chilling tolerance. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 79: 299-306.
19. Zhang, Y.J., Qian, Y.Q., Mu, X.J., Cai, Q.G., Zhou, Y.L. and Wei, X.P. 1998. Plant regeneration from *in vitro*-cultured seedling leaf protoplasts of *Actinidia eriantha* Benth. *Plant Cell Reports* 17: 819-821.

(2006년 10월 12일 접수; 2007년 3월 7일 채택)