

‘설향’ 딸기의 생장점 배양 시 MS 배지 농도에 따른 발아율 및 생육특성

김혜진¹, 이종남^{1*}, 임학태², 용영록³

¹국립식량과학원 고령지농업연구센터

²강원대학교 생명건강공학전공

³강릉원주대학교 식물생명과학과

Effect of MS Medium Strength on the Sprouting Rate and Growth Characteristics in Meristem Culture of Strawberry ‘Seolhyang’

Hyun Jin Kim¹, Jong Nam Lee^{1*}, Hak Tae Lim², and Young Rok Yeoung³

¹Highland Agriculture Research Center, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Pyeongchang 232-955, Korea

²Department of Bio-Health Technology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

³Department of Plant Science, Gangneung-Wonju National University, Gangneung 210-702, Korea

Abstract: This study was conducted to determine the optimal MS medium strength to improve sprouting rate of apical meristem of strawberry ‘Seolhyang’ in vitro. Strawberry apical meristems at size (0.2 mm to 0.3 mm) with leaf primordials were cultured on the MS media with four strength levels (1/4×, 1/3×, 1/2×, and 1×) and the sprouting rate and growth characteristics were evaluated after eight weeks after cultivation. Shoot rate of ‘Daewang’ apical meristems was 93.6% whereas ‘Seolhyang’ apical meristems were sprouted with 31.6% on 1× MS medium strength. Different sprouting rates were observed in ‘Seolhyang’ apical meristem with 31.6% in 1× medium, 75.0% in 1/2× medium, and 94.4% in 1/3× medium. The sprouting rate was improved with the decrease of medium strength, but the shoot rate in 1/4× medium decreased up to 54.5%. Shoot length was 0.9 cm in 1× medium, 1.2 cm in 1/2× medium, 1.6 cm in 1/3× medium, and 1.9 cm in 1/4× medium. Shoot length was longer as medium strength decreased and numbers of leaves and roots were not significant differences among the medium strengths. As a result, sprouting rate was highest and plant growth was best in 1/3× MS medium compared to the others.

Additional key words: Daewang, *Fragaria × ananassa*, leaf primordial, optimal, shoot length

서 언

우리나라 딸기(*Fragaria × ananassa* L. Duch)의 재배면적은 5,816ha(MIFAFF, 2011), 생산액은 약 7,000억원에 달하며, 단위면적당 소득이 높아서 중요 채소 중의 하나로 손꼽히고 있다. 특히 ‘설향’은 국내 딸기 총 재배면적의 70% 이상을 점유하고 있으며, 점차 재배면적이 증가하고 있는 추세이다.

딸기는 영양변식작물로 모주가 바이러스에 감염될 경우

런너를 통해 바이러스가 전염 및 축적되어 생산량이 감소하고 과실 품질이 떨어져 농가소득 감소를 초래하기 때문에 생장점 배양을 통해 생산된 무병묘(virus-free)를 사용하는 것이 바람직하다. 현재 재배하고 있는 딸기의 대부분은 관행 육묘법을 이용해 증식한 묘를 사용하고 있으며, 충남지역 등 일부에서는 조직배양묘에서 유래된 우량묘 즉, 후대 검정을 통해 생산력 검정이 이뤄진 묘를 사용하고 있으나, 그 외 지역은 생산력 검정이 이뤄지지 않은 조직배양묘를 사용하는 경우가 있어 재배농가에서 조직배양묘를 구입할

*Corresponding author: melondad@korea.kr

※ Received 7 June 2013; Revised 26 July 2013; Accepted 1 October 2013. 본 논문은 농촌진흥청 국립식량과학원 고령지농업연구센터의 ‘여름재배용 육성품종의 기본묘, 원원묘 생산 및 보급’ 연구과제비용으로 수행된 결과의 일부이며, 이에 감사합니다.

© 2014 Korean Society for Horticultural Science

경우 반드시 생산력 검정을 거쳐 품질특성을 확인한 후 사용해야 한다.

딸기는 다른 과채류에 비해 염류 농도에 매우 민감한 작물로서 딸기 수경재배 시 고농도의 배양액에서 뿌리 생육이 억제되고 지상부의 생육도 저하한다는 보고(Chi et al., 1998; Udagawa et al., 1988)로 미루어 보아, 조직배양 시에도 생육에 영향을 미칠 것이므로 배지 농도의 조절이 반드시 필요하다. 그러나 우리나라 딸기 조직배양묘 생산에 관한 연구는 Lee et al.(2010), Kim et al.(2011)의 사계성 딸기에 관한 몇 건에 불과하며, 일계성 딸기에 관한 연구는 부족한 실정이다. Lee et al.(2010)의 실험에서 사계성 딸기 ‘고하’는 생장점 배양 시 1배 농도(표준농도)의 MS 배지가 적당한 농도였으나 일계성 딸기 ‘설향’은 같은 농도의 MS 배지에서 생장점 발아 및 생육이 저조하였다. 따라서 본 실험은 일계성 딸기 ‘설향’의 생장점 배양 시 발아율 향상을 위한 적정 배지 농도를 구명하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 일계성 딸기 ‘설향’과 ‘대왕’의 모주는 고설식 수경재배법에 의해 재배하였으며, 모주로부터 나온 본엽이 1매 출현한 포복경 정단(runner tip)을 10cm 길이로 잘라 생장점 적출에 이용하였다. 준비한 포복경 정단을 흐르는 수돗물에 2-3회 수세한 후 클린벤치 안에서 tween 20 을 한 방울 첨가한 $20\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$ sodium hypochlorite solution에 10분간 침지하여 표면살균한 후 멸균수로 3회 이상 세척하였다. 페트리디쉬에 여과지를 깔아 포복경 정단 표면의 물기를 제거한 후 광학현미경(EMZ-8TR, MEIJI TECHNO, Japan) 하에서 엽원기 1매를 포함하여 0.2-0.3mm 크기로 생장점을 적출하였다.

1배의 MS 배지에서 품종간 생장점 발아율을 비교하였으며, ‘설향’의 생장점 배양 시 적정 배지 농도를 구명하기 위하여 MS 배지(Murashige and Skoog, 1962)의 염류 농도는 1배, 1/2배, 1/3배 및 1/4배로 조정하고 $30\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 의 sucrose와 $8\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 의 agar를 첨가하여 농도별 EC를 측정한(Table 1) 후 사용하였으며 pH는 5.6-5.8로 조절하여, 직경 1.4cm × 길이

Table 1. Variation of electrical conductivity (EC) according to medium strength in MS medium.

Medium strength	1×	1/2×	1/3×	1/4×
EC ($\text{dS}\cdot\text{m}^{-1}$)	6.25	3.19	2.23	1.43

13cm인 시험관에 10mL의 배지를 분주하여 121°C에서 15분간 멸균하여 사용하였다.

생장점 배양 8주 후, 발아율, 미발아율 및 고사율 등을 조사하였고, 1배 농도의 MS 배지에서 발아되지 않은 생장점 24점을 1/3배 농도의 MS 배지로 옮겨 발아 여부 및 발아율을 조사하였고, 초장 등과 같은 생육조사를 실시하였다.

결과 및 고찰

조직배양묘 생산을 위해 딸기 품종에 따른 생장점 배양 결과, 생장점 치상 8주 후 ‘대왕’의 생장점 총 47점 중 44점이 발아하여 발아율은 93.6%였으며, 미발아율은 2.1%, 고사율은 4.3%로 나타났다. 그러나 ‘설향’은 생장점을 총 38점 치상하여 12점이 발아하여 발아율은 31.6%, 미발아율은 63.2%, 고사율은 5.2%로 나타났다. 조직배양 실험에서 일반적으로 사용되는 1배 농도의 MS 배지에 생장점을 치상하였음에도 불구하고 본 실험에서는 품종에 따라 발아율이 크게 다르게 나타나는 것을 확인할 수 있었다(Table 2). Choi et al.(2009)은 딸기는 품종별로 생육 특성이 다르고 시비량에 따라 생육반응의 차이가 크게 나타난다고 보고하였는데, 본 실험에서도 같은 농도의 배지에서 ‘대왕’과 ‘설향’의 생육반응이 다르게 나타났다.

1배 농도의 MS 배지에서 발아율이 낮은 ‘설향’의 발아율 향상을 위하여 배지 염류농도별로 실험한 결과(Table 3), 1배 농도의 발아율은 31.6%, 미발아율은 63.2%, 고사율은 5.2%

Table 2. Comparison of sprouting rate according to cultivars in 1× MS medium for meristem culture of strawberry after 8 weeks of cultivation.

Cultivar	Sprouting rate (%)	Non-sprouting rate (%)	Withering rate (%)
Daewang	93.6	2.1	4.3
Seolhyang	31.6	63.2	5.2

Table 3. Sprouting rate of meristems according to MS medium strength of strawberry ‘Seolhyang’ after 8 weeks of cultivation.

Medium strength	Sprouting rate (%)	Non-sprouting rate (%)	Withering rate (%)
1×	31.6	63.2	5.2
1/2×	75.0	20.0	5.0
1/3×	94.4	5.6	0.0
1/4×	54.5	0.0	45.5

였으며, 1/2배 농도의 발아율은 75.0%, 미발아율은 20.0%, 고사율은 5.0%를 보였다. 1/3배 농도의 발아율은 94.4%, 미발아율은 5.6%, 고사율은 0.0%였으며, 1/4배 농도의 발아율은 54.5%, 미발아율은 0.0%, 고사율은 45.5%였다. 따라서 생장점 발아율은 1배 농도가 가장 낮았고 1/3배 농도가 가장 높았으며, 미발아율은 MS 배지 염류농도가 낮아질수록 감소하였다. 그리고 고사율은 1-1/3배 농도까지 감소하다가 1/4배 농도에서 급격히 상승하는 것을 볼 수 있었다. 그러나 1배 농도의 MS 배지에서 미발아한 생장점을 1/3배 농도의 MS 배지로 옮긴 결과, 총 24점 중에 18점이 발아되어 발아율이 75%로 나타나(Table 4), ‘설향’의 생장점이 MS 배지의 염류농도에 민감하게 반응한다는 것을 확인할 수 있었다.

생장점 배양 8주 후 MS 배지 염류농도 별 초장은 농도가 낮아짐에 따라 길어지는 경향을 보여, 1배 농도가 0.9cm로 가장 짧았고 1/4배 농도가 1.9cm로 가장 길었다. 또한 뿌리 길이도 MS 배지 염류농도가 낮아질수록 길어지는 것을 알 수 있었다. 그러나 MS 배지 염류농도별 잎수는 6.8-8.8개, 뿌리수는 5.0-5.6개로 통계적으로 유의성을 나타내지 않았다(Table 5 and Fig. 1).

Jeong et al.(1999)는 딸기 조직배양묘의 미세번식 연구에서 MS 배지 염류농도를 1/2로 줄여 더 좋은 효과를 보았다고 보고하였으며, Hwang and Jeong(2012)은 1배 농도의 MS 배지에 비해 1/2배 및 1/4배 농도의 MS 배지에서 초장이 유의성 있게 길어졌다고 보고하였는데, 본 실험의 ‘설향’ 조직배

Table 4. Sprouting rate of meristems according to change the medium strength of strawberry ‘Seolhyang’ after 8 weeks of cultivation. The meristem was non-sprouting in 1× MS medium.

Medium strength	Sprouting rate (%)	Non-sprouting rate (%)	Withering rate (%)
1× → 1/3×	75.0	25.0	0.0

Table 5. Growth characteristics of in vitro plantlets according to MS medium strength in meristem culture of strawberry ‘Seolhyang’ after 8 weeks of cultivation.

Medium strength	Shoot length (cm)	No. of leaves/plant	Root length (cm)	No. of roots/plant
1×	0.9 c ^z	6.8 a	0.7 b	5.0 a
1/2×	1.2 bc	7.8 a	1.0 ab	5.4 a
1/3×	1.6 ab	8.8 a	1.6 a	5.4 a
1/4×	1.9 a	8.4 a	1.5 a	5.6 a

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test ($P \leq 0.05$).

양묘도 1배 농도보다 저농도의 배지에서 초장이 유의성 있게 길어지는 결과를 보였다. 이렇게 1배 농도의 MS 배지에서 생육이 불량한 이유는 딸기 소식물체가 내염성이 약한 식물이기 때문에 염류 과다에 따른 생육장해인 것으로 판단되며, 1/4배 농도에서 생장점 발아율이 낮은 이유는 생장점 발아에 필요한 영양분이 부족하였던 것으로 생각된다. 이와 같은 결과는 딸기(Kozai, 1991, 1998; Lee et al., 2010b), 콩(Nonami et al., 1995), 카네이션(Jeong et al., 1996)에서도 보고된 바 있다. 높은 수준의 EC는 수경재배에서 삼투포텐셜 감소에 따른 수분부족을 야기시키며, 뿐만 아니라 발달을 어렵게 만들어 수분부족 하에 나타나는 여러 가지 증상들을 만들어내게 된다. 식물에서 염류피해는 삼투압 피해 및 특정 이온독성과 같은 몇 가지 복합적 원인으로 만들어진다(Munns et al., 1995). Nandwal et al.(2000)는 이러한 염류피해가 식물에게 생리적, 물질대사적 과정에 다양하게 영향을 미친다고 보고하였고, Dewir et al.(2005)는 기내 대량증식된 *Spathiphyllum*을

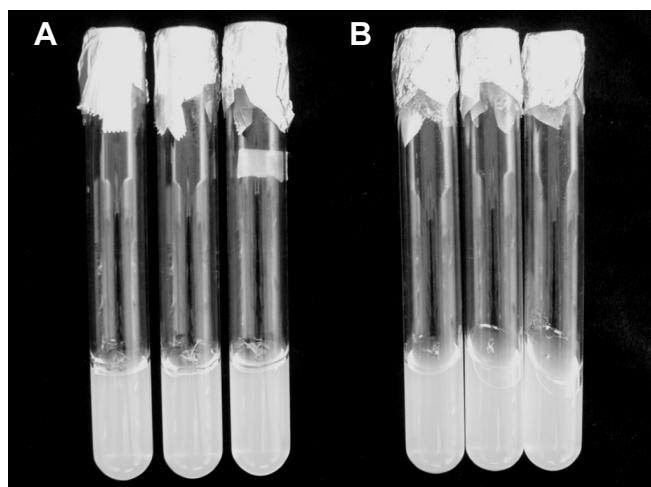


Fig. 1 Comparison of sprouted plantlets according to strawberry cultivars after 8 weeks of cultivation. A, ‘Daewang’ ; B, ‘Seolhyang’ in 1× MS medium.

순화할 때 순화용토의 높은 수준의 EC는 산화적 스트레스를 야기시킨다고 보고한바 있다. 또한 Jun et al.(2011)은 ‘설향’의 포트재배 시 배양액의 농도가 높아짐에 따라 뿌리의 노화가 빨라지고 흰색의 새로운 뿌리가 잘 발달하지 않는다고 보고하였으며, Kang et al.(1995)은 국화의 수경재배에서 배양액의 농도가 낮을 때 뿌리 신장이 빠르고 균량이 많아지며 세균의 신장이 두드러진다고 보고한 바, 배양액의 농도가 뿌리발달에 영향을 미친다는 것을 알 수 있었다. 따라서 본 실험에서도 EC가 높은 배지일수록 삼투포텐셜이 감소해 수분 부족 현상이 나타나고, 그로 인해 뿌리발육을 저해해 고농도의 배지 즉, EC가 높은 배지에서 발아율 및 생육이 저조했던 것으로 판단된다.

따라서 일계성 딸기 ‘설향’의 조직배양묘 생산을 위한 생장점 배양 시 생존율이 향상되고, 생육이 우수한 1/3배 농도의 MS 배지가 적당한 것으로 판단되었다.

초 록

본 실험은 일계성 딸기 ‘설향’의 조직배양묘 생산 시 발아율 향상을 위해 MS 배지의 적정 농도를 구명하기 위하여 실시하였다. 딸기 생장점은 엽원기가 1매 붙은 0.2mm-0.3mm 크기로 적출하였으며, MS 배지 농도는 1/4, 1/3, 1/2, 1배 등 4 수준으로 실시하여 배양 8주 후 발아율 및 생육 특성을 조사하였다. 일계성 딸기 ‘설향’과 ‘대왕’의 생장점을 1배 농도의 MS 배지에 치상한 결과, ‘대왕’의 발아율은 93.6%인 반면에 ‘설향’의 발아율은 31.6%로 매우 낮았다. ‘설향’의 발아율을 향상시키기 위하여 MS 배지 농도별 실험한 결과, 1배 농도의 발아율은 31.6%, 1/2배 농도는 75.0%, 1/3배 농도는 94.4%로 배지 농도가 낮아질수록 발아율이 향상되었으나, 1/4배 농도에서 발아율이 54.5%로 낮아졌다. 생장점 배양 8주 후 MS 배지 농도별 생육을 비교한 결과, 초장은 1배 농도에서 0.9cm, 1/2배 농도에서 1.2cm, 1/3배 농도에서 1.6cm, 그리고 1/4배 농도에서 1.9cm로 배지 농도가 낮아질수록 초장이 길어졌으나, 잎수 및 뿌리수는 큰 차이를 보이지 않았다. 본 실험의 결과 일계성 딸기 ‘설향’의 생장점 배양 시 1/3배 MS 배지에서 발아율이 가장 높고, 생육이 우수하였다.

추가 주요어 : 대왕, *Fragaria × ananassa*, 엽원기, 최적, 초장

인용문헌

- Chi, S.H., K.B. Ahn, S.W. Park, and J.J. Chang. 1998. Effect of ionic strength of nutrient solution on the growth and fruit yield in hydroponically grown strawberry plants. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 39:166-169.
- Choi, J.M., S.K. Jeong, and K.D. Ko. 2009. Characterization of symptom and determination of tissue critical concentration for diagnostic criteria in ‘Maehyang’ strawberry as influenced by phosphorus concentrations in the fertigation solution. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 27:55-61.
- Dewir, Y.H., D. Chakrabarty, M.B. Ali, E.J. Hahn, and K.Y. Paek. 2005. Effects of hydroponic solution EC, substrates, PPF and nutrient scheduling on growth and photosynthetic competence during acclimatization of micropropagated *Spathiphyllum* plantlets. *Plant Growth Regulat.* 46:241-251.
- Hwang, S.J. and B.R. Jeong. 2012. Growth of strawberry plantlets cultured in vitro in the agar or commercial plug medium as affected by ionic strength. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 30:201-207.
- Jeong, B.R., M.Y. Lim, and S.J. Hwang. 1999. Development of a mechanizable micropropagation method for strawberry plants. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 40:297-302.
- Jeong, B.R., C.S. Yang, and E.J. Lee. 1996. Photoautotrophic growth of *Dianthus caryophyllus* in vitro as affected by photosynthetic photon flux and CO₂ concentration. *Acta. Hort.* 44:611-615.
- Jun, H.J., M.S. Byun, S.S. Liu, and M.S. Jang. 2011. Effect of nutrient solution strength on pH of drainage solution and root activity of strawberry ‘Sulhyang’ in hydroponics. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 29:23-28.
- Kang, J.G., S.U. Chon, and S.J. Chung. 1995. Effects of cultural system, root zone temperature and ionic strength on morphological and anatomical changes of chrysanthemum root. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 36:548-554.
- Kim, H.J., J.N. Lee, K.D. Kim, J.S. Im, H.T. Lim, and Y.R. Yeoung. 2011. Suitable hormone-free medium for in vitro mass propagation via bioreactor culture of ever-bearing strawberry. *J. Plant Biotechnol.* 38:221-227.
- Kozai, T. 1991. Micropropagation under photoautotrophic conditions, p. 447-469. In: P.C. Debergh and R.H. Zimmerman (eds.). *Micropropagation*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Kozai, T. 1998. Autotrophic (sugar-free) tissue culture for promoting the growth of plantlets in vitro and for reducing biological contamination. *Intl. Symp. Application of Biotechnology for Small Industries*, Bangkok, Thailand. p. 1-21.

- Lee, J.N., H.J. Kim, K.D. Kim, Y.S. Kwon, J.S. Im, H.T. Lim, and Y.R. Yeoung. 2010. In vitro mass propagation and economic effects of bioreactor culture in ever-bearing strawberry 'Goha'. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 28:845-849.
- Ministry for Food, Agriculture, Forestry, and Fisheries (MIAFF). 2011. Protected vegetable of greenhouse present state and production results of vegetables. www.miaff.go.kr
- Munns, R., P.D. Schachtman, and A.G. Condon. 1995. The significance of a two-phase growth response to salinity in wheat and barley. Aust. J. Plant Physiol. 22:561-569.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15:473-479.
- Nandwal, A.S., M. Godara, A. Sheokand, D.V. Kamboj, B.S. Kundu, M.S. Kuhad, B. Kumar, and S.K. Sharma. 2000. Salinity induced changes in plant water status, nodule functioning and ionic distribution in phenotypically differing genotypes of *Vigna radiata* L. J. Plant Physiol. 156:350-359.
- Nonami, H., K. Tanimoto, and A. Tabuchi. 1995. Salt stress under hydroponic conditions causes change in cell wall extension during growth. Acta Hort. 396:91-98.
- Udagawa, Y., C. Dogi, and H. Aoki. 1988. Studies on the practical use of nutrient film technique in Japan. (3) Concentration of nutrient solution and quality of strawberry seedling. Bull. Chiba. Agr. Exp. Stn. 29:37-47.