

배 ‘원황’의 재분화와 발근에 미치는 식물생장조절물질과 탄소원의 영향

김세희 · 박서준 · 조강희 · 이한찬

Effect of plant growth regulators and carbon source on the shoot regeneration and rooting of ‘Wonhwang’ pear (*Pyrus pyrifolia* L.)

Se Hee Kim · Seo Jun Park · Kang Hee Cho · Han Chan Lee

Received: 4 November 2016 / Revised: 10 November 2016 / Accepted: 11 November 2016

© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract The aim of this research is to establish shoot regeneration system for ‘Wonhwang’ pear (*Pyrus pyrifolia* L.) using various concentrations of 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 mg/L in combination with benzylaminopurine (BA) 3, 5, 10 mg/L. Medium containing 4.4 g/L of Murashige and Skoog (MS) medium with vitamins containing 8 g/L of plant agar and 30 g/L of sucrose with NAA 0.05 mg/L and BA 3 mg/L showed 13.3% of shoot regeneration rate. ‘Wonhwang’ showed no root growth on existing rooting media of *P. pyrifolia* cv. Niitaka, ‘Whangkeumbae’ and ‘Bae Yun No. 3’. We evaluated the effect of concentration and kinds of plant growth regulators and carbon source to establish efficient rooting condition for ‘Wonhwang’ pear. In the result of using various concentrations of NAA 0.5 mg/L and 1.0 mg/L in combination with indolebutyric acid (IBA) 3, 5, 10 mg/L, rooting rate of 24% was observed using 1/4 Linsmaier and Skoog (LS) medium supplemented with 7.5 g/L glucose as carbon source and IBA 1.0 mg/L with NAA 1.0 mg/L.

Keywords Tissue culture, Micropropagation, Root formation

서 언

목본성 영년생 원예작물인 배나무는 지리적 고립이나 종

간교잡 등과 같은 분화 과정을 거치면서 진화되어 종의 다양성을 이루었고, 현재 재배되고 있는 배나무속 식물로는 남방형 동양배(*Pyrus pyrifolia* Nakai), 북방형 동양배(*Pyrus ussuriensis* Maxim., *Pyrus bretschneideri* Rehd.) 그리고 서양배(*Pyrus communis* L.)로 크게 나뉜다(Challice and Westwood 1973). 우리나라에서 주로 재배되고 있는 품종은 남방형 동양배(*P. pyrifolia* Nakai)로 일본에서 도입한 ‘신고’가 80% 이상의 재배면적을 차지하고 있으며, 그 다음으로 국내 육성 품종인 ‘원황’이 뒤를 잇고 있다. ‘원황’은 1978년 ‘조생적’에 ‘만삼길’을 교배하여 1991년부터 지역적응성을 검토한 결과, 대과 고당도의 조생종으로 그 우수성이 인정되어 1994년 선발 명명되었다. 배 품종의 개발 목표는 시대와 사회 환경에 따라 많은 변화를 보이고 있으나 전통적인 배 교배 육종 방법은 다양한 형질이 집적되어 있는 목표형질을 얻기까지 많은 시간과 노동력이 요구된다. 효율적인 품종 개발을 위해 식물 조직배양 기술을 이용해서 우량 종묘 생산 및 목적 유전자 도입을 통한 새로운 기능을 갖춘 신 품종 개발에 노력하고 있으나, 배나무의 재분화 효율은 품종 및 배양재료에 따라 큰 차이를 나타낸다. 배나무의 재분화에 대한 연구결과는 배배양(Tukey 1934)을 시초로 경정 분열조직(Lane 1979), 원형질체 유래 캘러스(Ochatt and Power 1988), 잎 절편(Chevreau et al. 1989)을 이용하고 있으며, 식물체 정단부에 있는 어린 잎이 전개가 진행된 성숙한 잎보다 재분화에 효율적인 것으로 보고되었고(Chevreau and Leblay 1993; Kim et al. 2013; Nakajima et al. 2013), 식물생장조절물질의 종류와 농도(Cheng 1979; Yotsuya 1980), 배양배지에 첨가되는 지지체(Singha 1984)의 영향에 대한 연구결과도 보고되었다. 배 재분화 체계 및 형질전환 체계 구축에 관한 연구는 주로 서양배(*P. communis* L.)에서 연구가 많이 되어 있으며(Matsuda et al. 2005; Sun et al. 2011), 남방형 동양배(*P. pyrifolia* Nakai)에서는 일본에서 처음으로 ‘Agenosho Shinanashi’

S. H. Kim (✉) · S. J. Park · K. H. Cho · H. C. Lee
농촌진흥청 국립원예특작과학원 과수과
(Fruit Research Division, National Institute of Horticultural and Herbal Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea)
e-mail: ezsee@korea.kr

에서 green fluorescent protein (GFP) 발현 신초에 대한 연구 결과(Nakajima et al. 2013)가 보고되었으나, 동양배의 수체 특성상 발근이 잘 되지 않는 어려움에 의해 실용화 단계에 이르지 못하고 있다. 본 연구에서는 국내 육성 품종인 ‘원황’의 재분화 조건을 구축하기 위해 식물생장조절물질로써 NAA, BA의 농도에 따른 결과를 조사하였고, 비타민의 종류와 탄소원으로써 sucrose와 sorbitol의 적정 농도 그리고 지지체로써 plant agar와 daishin agar의 효과를 규명하였다. 재분화 조건이 확립된 ‘원황’의 발근 체계를 구축하기 위해 ‘신고’, ‘황금배’, ‘배연3호’의 발근 배지 조성과의 비교 연구하여 식물생장조절물질로써 NAA와 IBA의 농도, 그리고 비타민의 구성 및 탄소공급원의 종류와 농도에 따른 발근율을 조사하여 ‘원황’의 발근을 효율적으로 유도할 수 있는 배지 조성에 대해 연구하였다.

재료 및 방법

식물 재료

본 연구에 사용한 식물재료는 농촌진흥청 국립원예특작과학원에 보존 중인 배 ‘원황’을 이용하였다. 1년생 휴면지를 채취하여 4°C에서 6주간 저온처리를 하여 휴면을

타파시킨 후 액아를 유도하고, 발생한 액아를 70% ethanol로 세척한 다음 3%의 sodium hypochlorite 용액에서 10분간 살균하고 멸균수로 5~10 회 반복하여 세척하였다. 멸균된 액아는 BA 1 mg/L, sucrose 30 g/L, plant agar 10 g/L를 첨가하고, pH를 5.8로 조정된 MS (Murashige & Skoog, 1962) 배지에 치상하여 기내 도입을 유도하였다. 신초 증식 배양은 25±2°C로 조절되는 배양실에서 2,000 μmol·m⁻²·sec⁻¹의 광도로 16시간 광주기, 8시간 암주기로 처리하였다. 8주간격으로 1~3 cm 정도 길이의 신초들을 BA 1mg/L, IBA 0.1 mg/L, sucrose 30 g/L, plant agar 10 g/L를 첨가하고 pH를 5.8로 조정된 MS 배지에 치상하여 계대배양 하였다.

재분화 배지 조성

생장조절물질에 의한 식물체의 재분화율을 조사하기 위하여 auxin인 NAA를 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 mg/L, cytokinin인 BA를 3, 5, 10 mg/L 농도로 혼용 처리하였다. 비타민의 영향을 보기 위해 비타민의 조성이 다른 MS 배지와 LS (Linsmaier and Skoog 1965) 배지를 사용하였다. 기내 도입된 식물체를 증식배지로 옮기고 나서 3주 후부터 정단부의 유엽을 채취하여 엽병을 제거한 후, 사각으로 잘라낸 잎 절편체를 24종의 재분화 배지에 처리구당 10개씩 6반복으로 치상하였다(Table 1). 탄소원의 종류와 농도에 의한 재분화

Table 1 Effect of NAA in combination with BA and carbon source and gelling material on shoot regeneration from leaf explants of ‘Wonhwang’ pear. Six petri dishes were evaluated for 24 treatments with 10 leaf explants per dish

Medium (g/L)	NAA (mg/L)	BA (mg/L)	Carbon source (g/L)	Gelling agents (g/L)	Formation of callus (%)	Formation of shoots (%)
MS	0.01	3	sucrose 30	Plant agar 8	50.0±5.4	5±5.5
MS	0.05	3	sucrose 30	Plant agar 8	71.7±5.8	13.3±5.2
MS	0.1	3	sucrose 30	Plant agar 8	73.3±5.2	0
MS	0.5	3	sucrose 30	Plant agar 8	68.3±5.6	0
MS	0.01	5	sucrose 30	Plant agar 8	41.7±2.0	6.7±5.2
MS	0.05	5	sucrose 30	Plant agar 8	41.7±2.8	0
MS	0.1	5	sucrose 30	Plant agar 8	90±3.5	0
MS	0.5	5	sucrose 30	Plant agar 8	53.3±3.6	0
MS	0.01	10	sucrose 30	Plant agar 8	66.7±3.6	0
MS	0.05	10	sucrose 30	Plant agar 8	63.3±4.2	0
MS	0.1	10	sucrose 30	Plant agar 8	80±3.9	3.3±5.2
MS	0.5	10	sucrose 30	Plant agar 8	63.3±4.6	0
LS	0.01	3	sorbitol 30	Daishin agar 7	85±2.8	0
LS	0.05	3	sorbitol 30	Daishin agar 7	95±2.1	0
LS	0.1	3	sorbitol 30	Daishin agar 7	91.7±1.4	0
LS	0.5	3	sorbitol 30	Daishin agar 7	95±3.5	0
LS	0.01	5	sorbitol 30	Daishin agar 7	65±3.4	0
LS	0.05	5	sorbitol 30	Daishin agar 7	71.7±2.2	0
LS	0.1	5	sorbitol 30	Daishin agar 7	58.3±2.0	0
LS	0.5	5	sorbitol 30	Daishin agar 7	63.3±3.1	0
LS	0.01	10	sorbitol 30	Daishin agar 7	80±1.9	3.3±5.2
LS	0.05	10	sorbitol 30	Daishin agar 7	73.3±2.4	0
LS	0.1	10	sorbitol 30	Daishin agar 7	66.7±2.7	0
LS	0.5	10	sorbitol 30	Daishin agar 7	55±2.6	0

Table 2 Effect of NAA in combination with IBA and vitamin and carbon source on root formation of ‘Wonhwang’ pear. Seventy-five plants were evaluated for 5 treatments with 25 plants per treatment. The experiment was repeated three times

Medium (g/L)	IBA (mg/L)	NAA (mg/L)	Carbon source (g/L)	Mean No. of root per plant	Formation of roots (%)
1/2MS	0.3	-	Sucrose 15	0	0
1/2MS	1.0	-	Sucrose 15	0	0
1/2MS	0.5	0.5	Sucrose 15	1±1.0	4±4.0
1/4LS	1.0	1.0	Glucose 7.5	6±1.0	24±4.0
1/2LS	1.0	1.0	Glucose 15	1±0.0	4±0.0

을 조사하기 위해 MS 기본 배지에 sucrose와 sorbitol을 30 g/L로 첨가하였고, 지지체의 종류와 농도 조건을 알아보기 위해 plant agar 8g/L와 daishin agar 7 g/L의 처리구에 잎 절편체를 치상하여 암처리에서 6주간 배양 후 16시간 광주기로 옮겨 배양하면서 각 처리당 신초의 재분화율을 조사하였다.

발근 배지 조성

기내 도입된 식물체를 증식배지로 옮기고 나서 조직배양묘의 활성이 좋은 단계에 5가지 조성의 발근 배지에 처리구당 25개씩 3반복으로 치상하여 발근율을 조사하였다(Table 2). 배지 종류와 비타민 조성이 발근에 미치는 영향을 보기 위해 MS 배지와 LS 배지로 나누어서 발근율을 조사하였고 LS 배지의 농도는 1/2과 1/4로 나누어서 비교 조사하였다(Table 2). 식물생장조절물질에 의한 배 ‘원황’의 발근율을 조사하기 위해 auxin인 IBA의 농도를 0.3, 0.5, 1.0 mg/L, NAA의 농도를 0.5, 1.0 mg/L로 혼용 처리하였다. 탄소원의 종류에 따른 발근율을 조사하기 위해 MS 배지에 sucrose 15 g/L로 첨가하였고, LS 배지에는 glucose 7.5 g/L, 15 g/L 두 가지 농도로 탄소원을 첨가하였다. 지지체는 plant agar 8 g/L를 5종의 발근 배지에 동일하게 사용하였다(Table 2).

결과 및 고찰

식물생장조절물질과 탄소원에 따른 재분화율

대표적인 식물생장조절물질인 auxin과 cytokinin의 농도 비율에 따라서 식물체의 재분화 및 신초의 기관이 형성된다(Huetteman and Preece 1993). 식물체 재분화율은 절편체의 부위와 품종에 따라서도 달라지는데(Moon et al. 2000), 남방형 동양배의 재분화에 관한 연구결과에서 ‘풍수’(*Pyrus pyrifolia* cv. Housui)와 ‘행수’(*Pyrus pyrifolia* cv. Kousui)는 IBA 5 mg/L의 높은 auxin 농도에서 재분화율이 높았다(Hennayake et al. 2003). 국내에서 보고된 남방형 동양배 품종 중 ‘황금배’는 IAA 0.3 mg/L, TDZ 0.5 mg/L 배지 조성

에서 재분화율 76.7% (Chun et al. 2012)를 보였고, ‘신고’는 NAA 0.01mg/L, BA 5mg/L 배지 조성에서 재분화율 20% (Kim et al. 2013)로 각 품종에 적합한 배지 조성으로 식물생장조절물질의 농도와 비율이 다르다. 배 ‘원황’의 신초 재분화에 적합한 auxin의 농도를 찾기 위해서 NAA의 농도를 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 mg/L, cytokinin인 BA의 농도를 3, 5, 10 mg/L로 조합한 24종의 배지에 잎 절편체를 10개씩 6반복으로 치상하였다(Table 1). 배양 2주 후부터 절편체의 절단면에서 소량의 캘러스가 발생하였으며, 3주 후에는 신초가 분화되기 시작하였고, 4주가 지나면 잎 절편체에서 신초의 형성을 관찰할 수 있었다(Fig. 1A). 24종의 처리구에서 가장 높은 재분화율을 보인 배지 조성은 NAA 0.05 mg/L, BA 3 mg/L로 재분화율 13.3±5.2%로 나타났다(Table 1). Auxin인 NAA의 농도는 0.01 ~ 0.1 mg/L에서 신초가 발생하였으며 0.5 mg/L의 농도에서는 캘러스는 형성되었지만 신초 발생은 일어나지 않았다. Cytokinin인 BA의 농도는 3, 5, 10 mg/L 각각의 농도에서 신초는 발생하였지만 3 mg/L 농도에서 신초 발생률이 가장 높았다. 재분화 실험 결과 BA의 농도는 ‘원황’의 재분화에 크게 영향을 미치지 않지만 3 mg/L 농도에서 저농도의 NAA 0.01 ~ 0.1 mg/L와 혼합하였을 때 재분화율이 높아지는 것을 확인할 수 있었다. 조직배양에서 탄소원과 삼투압 조절제로 sucrose와 sorbitol을 많이 사용하고 있으며 ‘황금배’의 재분화 실험에서 탄소원 30 g/L의 농도가 15 g/L의 농도보다 높은 신초 생성률을 보여주어서(Chun et al. 2012) 탄소원의 농도는 30 g/L로 고정하고 sucrose와 sorbitol의 영향을 비교한 결과 sucrose에서 신초 재분화율이 높게 나타났다(Table 1). 식물 조직배양에서 plant agar를 지지체로 많이 사용하는데 본 연구에서는 재분화가 잘 되지 않는 ‘원황’의 신초 발생을 위해 plant agar와 daishin agar를 처리하였다. Daishin agar는 gel strength가 min. 700 ~ 800 g/cm²이고 plant agar는 min. 1,100 g/cm²로 차이가 나며 재분화율은 plant agar에서 재분화된 신초가 더 많이 발생하는 것으로 보아 ‘원황’의 재분화에는 plant agar가 더 효과적인 것으로 판단된다. 배양된 잎 절편체로부터 유기된 신초에서 정상적인 개체로 성장한 식물체를 증식배지 (BA 1 mg/L, IBA 0.1 mg/L, sucrose 30 g/L, plant agar 10 g/L)로 옮긴 후 2주차, 4주차 (Fig. 1B, C)에 관찰하였다. 신초

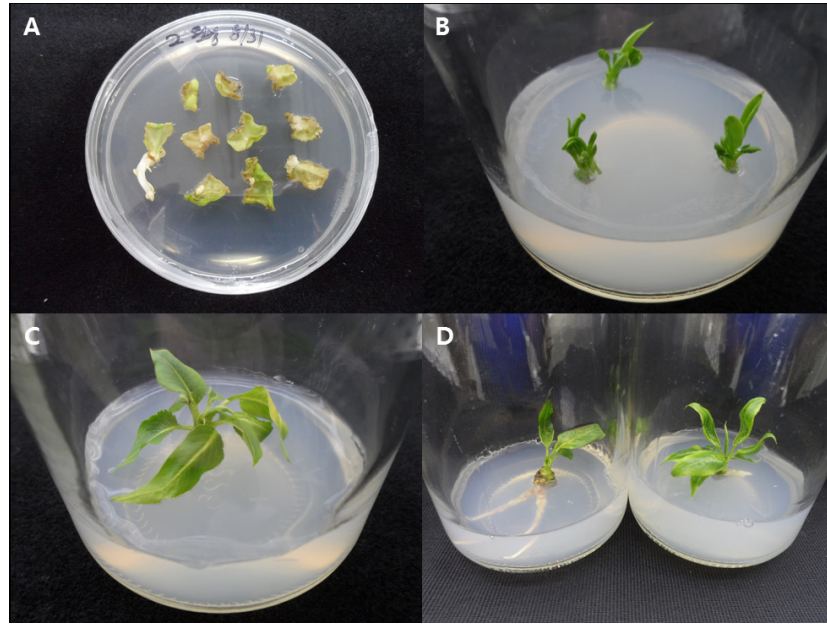


Fig. 1 Plant regeneration and rooting from the leaf explants of ‘Wonhwang’ pear A. Adventitious shoot on MS medium supplemented with NAA 0.05 mg/L, BA 3 mg/L, sucrose 30 g/L, and plant agar 8 g/L B. Two weeks after transfer proliferation on the MS medium supplemented with BA 1 mg/L, and IBA 0.1 mg/L C. Four weeks after transfer proliferation on MS medium D. Rooting on the 1/4 LS medium supplemented with 7.5 g/L glucose as carbon source and IBA 1.0 mg/L with NAA 1.0 mg/L

로부터 뿌리를 유도하기 위해 1/2 MS 배지에 IBA 0.3 mg/L, sucrose 15 g/L, plant agar 8 g/L를 첨가하고 pH를 5.8로 조정 한 기존의 ‘황금배’와 ‘신고’의 발근 배지에 옮겨 발근을 유도하였으나 발근이 되지 않았다.

식물생장조절물질과 비타민 조성에 따른 발근율

발근 배지는 주로 auxin을 농도별, 조합별로 사용하여 뿌리의 생성을 촉진한다. Auxin은 세포벽을 신장시켜 길이 생장 촉진, 결논의 생장 억제, 과실의 생장과 낙엽 및 낙과 방지, 발근 촉진에 관여하는 식물생장조절물질로 생장을 촉진하는 최적 농도는 식물체의 기관에 따라 다르다. 줄기의 생장이 촉진되는 증식배지에서의 auxin 농도에서는 뿌리의 생성이 억제된다. 배 ‘원황’의 발근에 적합한 auxin의 농도를 찾기 위해서 NAA의 농도를 0.5, 1.0mg/L, IBA의 농도를 0.3, 0.5, 1 mg/L로 조합한 5종의 배지에 25개체씩 3반복으로 식물체를 치상하였다(Table 2). 기존의 ‘신고’와 ‘황금배’의 발근 배지에는 IBA 0.3 mg/L 조성으로 두 품종 모두 이 배지 조성에서 70% 이상의 발근율을 나타내었으나 ‘원황’은 전혀 발근되지 않았다. ‘배연3호’는 ‘장성콩배’×‘복지콩배’의 교배실생에 ‘화산’을 접목하여 생리장해 저항성 대목으로 선발된 품종으로 ‘배연3호’의 발근 배지는 기존의 ‘신고’와 ‘황금배’의 발근 배지와 비교하였을 때 IBA의 농도가 0.3 mg/L에서 1 mg/L으로 높아졌으며 ‘배연3호’는 80% 이상의 발근율을 보였지만 ‘원황’은 발근이 되지 않았다. NAA 농도에 따른 식물체

발근율은 NAA를 첨가하지 않은 배지에서는 ‘원황’의 발근이 전혀 이루어지지 않았지만 0.5 mg/L, 1.0 mg/L의 배지 조성에서는 발근이 되었다. IBA의 농도를 0.5 mg/L, NAA의 농도를 0.5 mg/L로 조성한 배지에서는 ‘원황’ 75 개체 중 3개체가 발근함으로써 4±4.0%의 발근율을 나타내었다. ‘원황’ 75개체 중 18개체가 발근함으로써 24±4.0%의 발근율을 보인 배지 조성은 LS 배지를 1/4 농도로 사용하고, IBA 1.0mg/L, NAA 1.0mg/L로 하였고, 탄소원을 sucrose 대신 glucose로 변경하고 농도를 1/2로 줄였다. MS 배지와 LS 배지의 다른 점은 비타민의 조성으로 MS 배지는 myo-inositol과 thiamine HCl 외에 glycine, nicotinic acid, pyridoxine HCl 함유하나 LS 배지는 myo-inositol과 thiamine HCl만을 함유하며, thiamine HCl의 농도가 MS 배지는 0.1 mg/L, LS 배지는 0.4 mg/L로 차이가 있다. Thiamine이 발근에 미치는 영향에 관한 연구결과는 복숭아나무에서 보고 되었으며, 고농도의 thiamine과 IBA의 조합에서 발근 개체수가 대조구에 비해 높게 나왔다(Sepahvand et al. 2012). ‘원황’은 배양 4주 후부터 식물체의 하단부에서 발근 전 비대현상이 시작되었으며 6주 후에는 주근이 나오기 시작하여 8주가 지나면 주근에서 잔뿌리가 나와 발근이 정상적으로 이루어지게 된다(Fig. 2D). IBA 처리구에서도 0.3 mg/L의 농도에서는 발근이 되지 않았지만 0.5 mg/L, 1.0 mg/L의 농도에서 NAA와 혼용 처리하였을 때 발근이 되었으며, 이는 기존의 발근 배지보다 높은 auxin농도에서 배 ‘원황’의 발근이 일어나고 있음을 보여준다. ‘원황’ 75 개체 중 3개체가 발근함으로써 4±0.0%의 발근율을 보

인 배지 조성은 LS 배지를 1/2 농도로 사용하고 IBA 농도를 1.0mg/L, NAA 1.0mg/L로 하였고 탄소원을 sucrose 대신 glucose로 변경하였다. 선행 연구결과에서 ‘신고’(Kim et al. 2013)와 ‘황금배’(Chun et al. 2012)에서는 IBA 0.3 mg/L에서 70% 이상의 높은 발근율이 보고되었다. 이러한 차이는 품종에 따라 재분화뿐만 아니라 발근율에 있어서도 서로 다른 최적 auxin 농도를 가지는 것으로 보인다.

배 탄소원의 종류와 농도에 따른 발근율

Sucrose와 glucose는 식물 조직배양에서 신초 재분화 및 기관 발생에 필요한 에너지와 탄소원 그리고 삼투압 조절제로서 많이 사용되고 있다(Brown et al. 1979). 기존의 ‘신고’, ‘황금배’, ‘배연3호’의 발근 배지에서는 sucrose를 사용하였으며 glucose 농도를 7.5g/L, 15g/L의 두 가지로 사용한 배지에서 발근율을 조사한 결과 배 ‘원황’의 발근율은 glucose 7.5 g/L의 농도에서 24±4.0%로 15 g/L의 농도에서 발근율인 4±0.0%보다 높게 나타났다. 기내 도입한 식물체에서 뿌리가 분화되는 과정을 보면 발근 배지에 이식 후 3~4주까지는 뿌리의 분화가 일어나지 않고 하단부의 비대현상이 관찰되며 배양 6주 후부터 주근의 분화가 일어난다. 배양 8주 후에는 주근으로부터 세근이 전개된 다음 정상적인 발근이 이루어진다(Fig. 1D). 그러나 ‘원황’ 품종의 발근 속도는 개체마다 1~2주 정도 차이가 나며, 발근이 되지 않는 개체는 지상부의 잎이 고사되는 현상을 보인다. 본 연구에서는 국내에서 육성한 주요 품종인 배 ‘원황’의 재분화 배지 조성 및 발근 조건을 규명하였으며, 이러한 결과들은 배의 조직배양 효율 향상에 직접 이용될 수 있을 뿐만 아니라 조직배양 기법을 이용한 무병묘 생산 및 배의 형질전환 효율 향상에 매우 유익하게 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

적 요

본 연구의 목적은 배 ‘원황’의 효율적인 재분화 조건을 규명하기 위해 NAA 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 mg/L과 BA 3, 5, 10 mg/L을 조합하여 처리한 결과, NAA 0.05 mg/L, BA 3 mg/L의 조성에 plant agar 8 g/L와 sucrose 30 g/L의 MS 배지에서 재분화율이 13.3%로 나왔다. 기존의 ‘신고’와 ‘황금배’의 발근에 사용하였던 배지 조성 및 ‘배연3호’의 발근 배지 조성에서는 ‘원황’ 품종의 발근이 전혀 이뤄지지 않았다. 식물생장조절물질이 ‘원황’의 발근에 미치는 영향을 알아보기 위하여 NAA 0.5, 1.0 mg/L, IBA 0.3, 0.5, 1.0 mg/L을 조합하여 처리한 결과 IBA 1.0 mg/L와 NAA 1.0 mg/L의 조합에 1/4 LS vitamin이 포함된 배지에서 발근률이 24%로 나타났으며 효율적인 ‘원황’의 발근을 위해서는

탄소원으로 glucose 7.5 g/L가 사용되었다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 연구과제(세부과제번호:PJ01045002)의 지원에 의해 이루어진 것이다.

References

- Brown DCW, Leung DWM, Thorpe TA (1979) Osmotic requirement for shoot formation in tobacco callus. *Physiol Plant* 46:36-41
- Challice JS, Westwood MN (1973) Numerical taxonomic studies of the genus *Pyrus* using both chemical and botanical characters. *Bot J Linn Soc* 67:121-148
- Cheng TY (1979) Micropropagation of clonal fruit tree rootstocks. *Compact Rruit Trees* 12:127-137
- Chevreau E, Skirvin RM, Abu-Qaoud HA, Korban SS, Sullivan JG (1989) Adventitious shoot regeneration from leaf tissue of three pear (*Pyrus sp.*) cultivars in vitro. *Plant Cell Rep* 7:688-691
- Chevreau E, Leblay C (1993) The effect of mother plant pretreatment and explants choice on regeneration from in vitro pear leaves. *Acta Hort* 336:263-268
- Chun JA, Do KR, Kim SH, Cho KH, Kim HR, Hwang HS, Shin IS (2012) In vitro shoot regeneration from leaf tissue of ‘Whangkeumbae’ pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) *J Plant Biotechnol* 39:288-294
- Hennayake CK, Dissanayake K, Matsuda N, Takasaki T, Nakanishi T (2003) An Efficient and reproducible in vitro plant regeneration from leaf discs in pear cultivars (*Pyrus spp.*). *Plant Biotechnol* 20:283-289
- Huetteman CA, Preece JE (1993) Thidiazuron: A potent cytokine for woody plant tissue culture. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 33:105-119
- Kim SH, Shin IS, Cho KH, Kim DH, Kim HR, Kim KO, Lee HB, Do KR, Chun JA, Hwang HS (2013) Shoot regeneration via culture of leaf explants in pear (*Pyrus pyrifolia* cv. Niitaka). *J Plant Biotechnol* 40:203-209
- Lane WD (1979) Regeneration of pear plants from shoot meristem-tips. *Plant Sci Lett* 16:337-342
- Linsmaier EM, Skoog F (1965) Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 18:100-127
- Matsuda N, Gao M, Isuzugawa K, Takashina T, Nishimura K (2005) Development of an Agrobacterium-mediated transformation method of pear (*Pyrus communis* L.) with leaf-section and axillary shoot-meristem explants. *Plant Cell Rep* 24:45-51
- Moon JG, Choo BK, Doo HS, Kwon TH, Yahn MS, Ryu JH (2000) Effect of growth regulators on plant regeneration from the cotyledon explants in oriental melon (*Cucumis melo* L.). *Kor*

- J Plant Tiss Cult 27:1-6
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15:473-497
- Nakajima I, Sato Y, Saito T, Moriguchi T, Yamamoto T (2013) Agrobacterium-mediated genetic transformation using cotyledons in Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*). *Breeding Science* 63:275-283
- Ochatt SJ, Power JB (1988) Plant regeneration from mesophyll protoplasts of Williams' Bon Chretien (syn. Bartlett) pear (*Pyrus communis* L.). *Plant Cell Rep* 7:587-589
- Sepahvand S, Ebadi A, Kamali K, Ghaemmaghami SA (2012) Effects of myo-inositol and thiamine on micropropagation of GF677 (Peach×Almond Hybrid). *J Agricult Sci* 4:275-280
- Singha S (1984) Influence of two commercial agars on in vitro shoot proliferation of 'Almey' crabapple and *Pyrus communis* 'Seckel'. *Hort Science* 19:227-228
- Sun Q, Sun H, Bell RL, Li H, Xin L (2011) Variation of phenotype, ploidy level, and organogenic potential of in vitro regenerated polyploids of *Pyrus communis*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* doi:10.1007/s11240-011-9965-z
- Tukey HB (1934) Artificial culture methods for isolated embryos of deciduous fruits. *Proc Am Soc Hort Sci* 32:630-665
- Yotsuya D (1980) Effects of GA₄₊₇ and BA on the in vitro growth of 'Kosui' leaf bud. *Sci Rep Fac Kobe Univ* 14:45-49