

## 배 '신고'의 경정배양에 있어서 모수의 수세, 경정의 채취시기 및 생장조절제의 영향

이창후\* · 김정선 · 김성복  
고려대학교 원예과학과

### In Vitro Shoot Tip Culture of Pear 'Niitaka' as Related to Tree Vigor, Sampling Time and Plant Growth Regulators

LEE, Chang Hoo\* · KIM, Chung Sun · KIM, Sung Bok

Dept. of Horticultural Science, Korea University, Seoul, 136-701, Korea. \*Corresponding author.

In vitro shoot tip culture technique was established in pear (*Pyrus pyrifolia* 'Niitaka') as related to tree vigor, sampling time, and plant growth regulators and sucrose supplemented to medium. Shoot tips excised in June from the tree having medium-vigor developed good shoots. BA (1.0 and 2.0 mg/L) without NAA produced shoots suitable for proliferation, and NAA supplemented to medium resulted in poor shoot growth and excessive callus formation. BA of 2.0 mg/L combined with 0.01 mg/L NAA provided shoots suitable for rooting and sucrose of 30 g/L was recommended for proliferation medium. A fourth strength MS medium supplemented with 0.1 mg/L NAA produced plantlets in good quality of root number and root length.

**Key words :** Japanese pear, tree vigor, establishment, proliferation, rooting, micropropagation

과수류의 번식법으로는 주로 영양번식법이 이용되고 있으나, 기술상의 문제점은 물론 묘목생산기간의 장기화와 그에 따른 생산비의 상승, virus 병의 확산 등이 커다란 문제점으로 지적되고 있다. 접목으로 번식시키는 배나무에서도 대목용 실생묘의 확보에 소요되는 시간과 많은 품종에서 발견되는 수세약화 현상 등이 해결해야 할 과제로 대두되고 있다. 이러한 영양번식법의 단점을 해결하기 위한 수단으로 단기간에 저렴한 비용으로 묘목의 대량생산이 가능한 조직배양법이 많은 과수류에서 실용화되고 있다.

배나무의 조직배양은 Tukey(1934)에 의해 시도된 배배양이 시초였으며, 현재 정단분열조직을 이용한 대량증식법의 확립에 대한 연구가 다수 수행되어 왔다. 대량번식에 관한 초기의 연구에서는 배지에 첨가되는 cytokinin류(Cheng, 1979)와 auxin류(Lane, 1979; Singha, 1980), gibberrellin(Yotsuya, 1980) 등 생장조절제의 효과가 검토되었으며, 그 후 증식단계에서의 환경의 영향도 검토되었다(Singha, 1982; Singha, 1984). 그러나 이들 연구는 주로 서양배(*Pyrus*

*communis*)를 대상으로 한 것이며, 일본배(*P. pyrifolia*)에서는 연구가 미미했을 뿐만 아니라 배양시 발견되는 발근의 어려움(Banno et al., 1982) 등에 의해 아직 실용화 단계에 이르지 못하고 있다.

따라서, 본 실험은 국내에서 재배면적이 가장 많이 증가하고 있는 배 '신고'를 공시하여 1) 배양확립단계에서의 모수의 수세, 경정의 채취시기 및 배지에 첨가되는 생장조절제의 영향, 2) 기내급속증식단계에서의 배지의 생장조절제와 sucrose의 영향 및 3) 발근단계에서의 배지의 생장조절제의 영향을 구명하여 배의 미세번식법을 확립하고자 실시하였다.

#### 재료 및 방법

공시재료로는 원예연구소(수원)의 포장에 식재되어 있는 결실이 왕성한 15년생 배 '신고'의 신초선단을 사용하였다.

채취한 신초선단을 70% ethanol과 전착제 Tween-20(1~2방울/100 mL)을 첨가한 10% NaClO용액(유효염소농도 0.4%)으로 각각 1분과 15분간 소독한 후 멸균수로 세척하여 경정(2~3mm)을 절취하여 해당 배지에 치상하였다. 각각의 배지는 pH 5.8로 조절한 후 감압멸균(121°C, 1.2기압)하였다. 배양확립단계 및 신초증식단계의 배양은 25°C, 24시간 연속조명(1500 Lux)하에서 이루어졌으며, 모든 처리구는 각 처리당 10개체를 공시하여 4반복으로 실시하였고, 6주간 배양한 후 생육조사를 실시하였다.

### 배양확립단계

경정채취 모수의 수세 및 채취시기의 영향을 평가하기 위하여 1994년 5월 17일, 6월 19일, 7월 30일에 15년생 배 '신고' 중에서 도장지가 많고 잎의 생장이 왕성한 수세가 강한 것, 가지의 생장이 충실한 수세가 적절한 것, 가지의 생장이 미약한 수세가 약한 것으로 구분하여 각 수세당 5주로부터 경정을 채취하여 배지에 치상하였다. 기본배지로는 BA 2.0 mg/L, sucrose 30 g/L, 한천 8 g/L를 첨가한 MS 배지(Murashige와 Skoog, 1962)를 사용하였다. 식물생장조절제의 적정농도 구명을 위하여 기본배지에 BA 0, 0.1, 1.0, 2.0 mg/L와 NAA 0, 0.1, 1.0 mg/L를 단독 또는 혼합하여 첨가하였다.

### 신초증식단계

배양확립단계에서 정상적으로 성장한 0.5~1.0cm 길이의 균일한 신초를 사용하여 식물생장조절제 및 sucrose의 적정농도를 구명하고자 하였다. MS배지를 기본배지로 하여 BA 1.0, 2.0, 5.0 mg/L의 단독처리구 및 BA 2.0 mg/L와 NAA 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 mg/L의 혼합처리구를 각각 준비하였다. 또한 BA 2.0 mg/L와 NAA 0.01 mg/L를 첨가한 MS배지에 sucrose 10, 20, 30, 40, 50 g/L를 포함하는 처리구도 준비하였다.

### 발근단계

신초증식단계에서 준비한 1.0~1.5 cm 길이의 균일한 신초를 골라 하부의 잎을 제거한 후 재료로 사용하였다. sucrose 30 g/L, 한천 7 g/L를 첨가한 1/4MS 배지에 NAA 0, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 mg/L를 포함하는 배지에 치상하였다. 배양초기 1주일 동안 암처리 후 24시간 연속조명 아래에서 배양하였다. 배양 6주 후 생장량, 발근율, 1, 2차 근수와 근장, callus 발생율을 조사하였다.

### 배양확립단계

배양초기에는 경정으로부터 비정상적인 잎이 나타나고 캘러스가 많이 형성되었으나 시간이 경과함에 따라 정상적인 잎이 출현하여 신초를 형성하였다. 신초의 채취시기 및 모수의 수세에 따라 경정의 생존율은 상이한 결과를 보였다. 6월에 채취한 경정들은 수세에 관계없이 70%이상의 높은 생존율을 나타내었으나, 5월과 7월에 채취한 경정들은 모수의 수세에 따라 약간의 차이는 있었지만 전체적으로 50% 이하의 낮은 생존율을 나타내었고, 생성된 신초의 상태도 불량하였다(Figure 1).

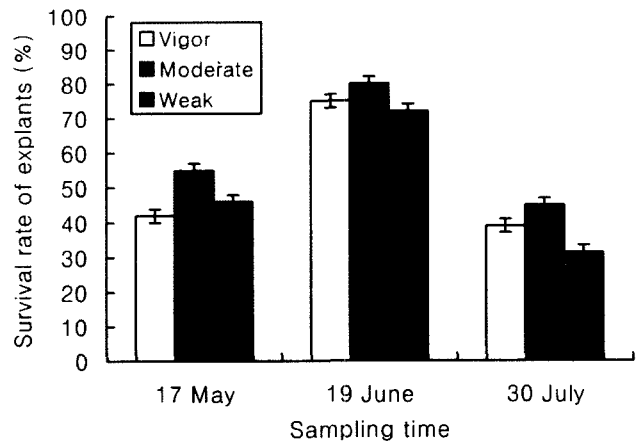


Figure 1. Effect of tree vigor and sampling time on culture establishment in shoot tip culture of pear (*Pyrus pyrifolia* 'Nittaka'). The bars on the graph show the standard error.

대부분의 배 품종들의 신초의 생장은 5월말에서 6월말까지 가장 왕성하며, 7월 중순에 과실비대의 최대기가 되면 신초의 신장은 거의 중지하게 된다. Banno et al.,(1982)도 일본배의 가장 활발한 성장기인 6월에 채취한 경정에서 양호한 결과를 얻었으며 7월에 채취한 경정에서는 절단면으로부터 유출된 phenol 유사물질로 인해 갈변화되어 생존율이 급격히 낮아진다고 보고하였다. 그러나, '신고' 배의 경우 절단면의 갈변화는 거의 문제가 되지 않았으나, 성장점 부근의 캘러스 형성으로 정상적인 신초가 형성되지 못하는 경우가 많았다. '신고' 배의 경정배양과 같은 시기에 배양한 '황금배'의 경우 절단면의 갈변화로 고사되는 경우가 많았는데, 이것은 품종마다의 특성으로 사료되었다(자료미제시).

이상의 결과로 볼 때, '신고' 배의 경정배양시 신초 채취는 수세가 적절한 상태의 모수로부터 6월에 실시하는 것이 중요함을 알 수 있었다. 배지에 첨가된 생장조절제 BA와 NAA의 적정농도 구명을 위한 결과는 Table 1과 같았다. BA 단독처리에서 전반적으로 신초생장이 양호하였으며, 그 가운데 BA 1.0, 2.0 mg/L 처리구에서 신초수, 엽수, 엽장 등이 가장 좋은 결과를 나타

**Table 1.** Effect of NAA and BA supplemented to MS medium on culture establishment in shoot tip culture of pear (*Pyrus pyrifolia* 'Nuitaka').

BA (mg/L)	NAA (mg/L)	Shoot number	Leaf number	Leaf length(cm)	Callus (%)
0	0	1.0±0.2	22±1.0	1.2±0.8	33.3±0.3
	0.1	1.0±0.2	1.5±0.5	0.8±0.1	33.3±0.3
	1.0	1.0±0.1	1.0±0.5	0.6±0.2	50.0±0.2
0.1	0	1.2±0.4	4.8±1.4	2.1±0.2	50.0±0.2
	0.1	1.3±0.3	5.8±0.7	1.9±0.2	33.3±0.3
	1.0	0.8±0.1	2.7±0.6	0.9±0.1	75.0±0.5
1.0	0	2.3±0.5	7.3±2.3	2.9±0.9	25.0±0.5
	0.1	1.2±0.2	2.0±0.6	2.1±0.3	100.0±0.0
	1.0	0.5±0.2	1.0±0.3	0.6±0.3	100.0±0.0
2.0	0	4.3±0.3	11.8±2.0	3.3±0.2	16.7±0.4
	0.1	2.5±0.4	8.5±0.9	1.1±0.2	100.0±0.0
	1.0	1.8±0.2	7.0±0.6	0.7±0.3	75.0±0.5

<sup>a</sup>Mean±SE.

내었다. NAA 단독처리 및 BA와의 혼합처리에서는 신초수, 엽수 등의 신초생장이 불량하였으며 과도한 callus가 발달하였다. 배양확립단계에서 NAA가 좋지 않은 영향을 미치는 사실은 Singha(1980)에 의한 서양배 'Seckel' 경정배양에서도 보고된 바 있으나, Lane(1979)은 서양배 'Bartlett'에서 BA 2.0 mg/L와 IBA 0.2 mg/L의 혼용처리가 효과적이라고 보고하기도 하였다. 이와 같이 auxin류 첨가에 대한 상이한 반응은 품종의 차이에서 기인하는 것으로 사료되나, 채취한 경정의 크기에서도 그 원인을 찾아볼 수 있을 것으로 여겨진다. Auxin 합성부위인 엽원기의 포함 정도에 따라 내생 auxin의 수준이 변화할 수 있으며, 그에 따른 외생 auxin에 대한 요구도가 변할 수 있기 때문이다(Davies, 1987). 본 실험에서 사용한 경정의 크기가 2-3 mm인 반면, auxin류의 첨가가 양호한 결과를 보인 Lane의 실험에서는 0.2 mm의 경정을 사용한 것이 좋은 예로 사료되었다.

### 신초증식단계

신초증식에 미치는 BA 단독처리 및 NAA와의 혼합처리의 효과를 Table 2와 Table 3에 나타내었다. BA 단독처리에서는 BA 농도가 증가함에 따라 신초수는 증가하고, 엽장과 엽폭은 감소하는 경향을 보였다. 한편, 신초수는 BA 2.0 mg/L에서 가장 많았으나, 1cm 이상인 신초는 2개에 불과해 발근단계에 사용 가능한 적당한 크기의 신초를 대량생산하기에는 부적절한 것으로 여겨졌다(Table 2).

BA 2.0 mg/L과 NAA의 혼합처리의 경우(Table 3), BA 단독처리에 비하여 생장은 왕성하였으나, NAA 농도가 0.1 mg/L 이상인 처리구에서는 오히려 신초수가 감소하였다. 신초수는 BA 2.0 mg/L와 NAA 0.01 mg/L를 혼합처리구에서, 신초장은 BA 2.0 mg/L와 NAA 0.5 mg/L의 혼합처리구에서 가장 양호하였다. 그러나 1 cm 이상의 신초를 7개 이상 획득한 BA 2.0 mg/L + NAA 0.01 mg/L 처리구가 신초

**Table 2.** Effect of BA on shoot proliferation in shoot tip culture of pear (*Pyrus pyrifolia* 'Nuitaka').

BA (mg/L)	Leaf width (cm)	Leaf length (cm)	Shoot length (cm)	No. of shoots
1.0	1.42±0.3 <sup>a</sup>	2.26±0.5	1.34±0.2	1.43±0.2
2.0	1.17±0.6	1.75±0.4	1.58±0.7	3.85±0.4
5.0	0.98±0.7	1.51±0.6	2.85±0.5	1.58±0.5

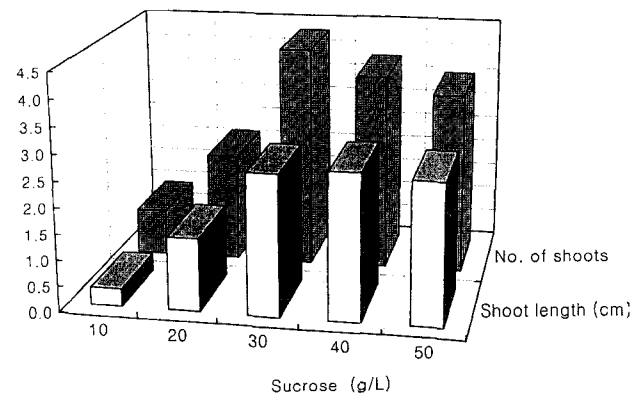
<sup>a</sup>Mean±SE.

**Table 3.** Effect of NAA supplemented to MS medium on shoot proliferation in shoot tip culture of pear (*Pyrus pyrifolia* 'Nuitaka'). MS medium supplemented with 2.0 mg/L BA was used.

NAA(mg/L)	Shoot number <sup>a</sup>	Shoot length (cm)	Shoot weight (g)
0	3.2±0.3 <sup>a</sup>	2.1±0.3	2.4±0.1
0.01	7.3±0.7	2.6±0.5	2.3±0.4
0.05	5.3±0.6	2.3±0.3	2.5±0.2
0.1	2.8±0.7	2.7±0.2	2.3±0.4
0.5	2.3±1.1	4.5±0.7	2.4±0.3
1.0	1.2±0.7	1.8±0.3	1.9±0.5

<sup>a</sup>Shoots above 1.0cm were counted after 6 weeks in culture.

<sup>b</sup>Mean±SE.



**Figure 2.** Effect of sucrose on shoot proliferation in shoot tip culture of pear (*Pyrus pyrifolia* 'Nuitaka'). MS medium contained 2.0 mg/L BA and 0.01 mg/L NAA was used.

증식과 신장이 모두 양호하여 신초증식에 가장 적절하였다. 배양확립단계에서와 같이 신초증식단계에서도 Lane(1979)은 IBA의 사용을 추천하고 있으나, Singha(1980)는 NAA 첨가는 오히려 억제적이라고 하였다. 이와 같이 신초증식단계에서 auxin이 상이한 결과를 나타낸 것은 NAA와 IBA의 상이한 효과라기 보다는 품종 특유의 내생 auxin의 수준의 차이에 기인한 것으로 생각되었다.

신초증식에 미치는 sucrose의 효과를 Figure 2에 나타내었다. sucrose 30 g/L 처리구에서 신초수, 신초장 등의 생장이 가장 양호하였다. 그러나, 10 g/L 처리구에서는 줄기가 과도

**Table 4.** Effect of NAA supplemented to MS medium on rooting in shoot tip culture of pear (*Pyrus pyrifolia* 'Niitaka').

NAA(mg/L)	Percentage of rooting (%)	Primary root		Secondary root		Callus formation (%)
		No. of roots	Root length(cm)	No. of roots	Root length(cm)	
0	0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0
0.1	96.0	4.3±0.5 <sup>a</sup>	10.8±2.1	20.5±1.9	2.0±1.0	25.0
0.5	88.0	7.1±0.9	8.3±0.8	8.5±1.6	1.2±1.0	25.0
1	72.0	2.8±1.2	7.8±2.6	6.5±3.8	0.4±0.2	100.0
2	50.0	1.3±1.3	6.2±1.1	3.1±0.9	0.3±0.2	100.0

<sup>a</sup>Mean±SE. Each data was measured after 6 weeks in culture.

하게 비대하다가 생장이 중지되었으며, 잎에서는 황화현상이 발견되었으며, 20 g/L 처리구에서도 줄기의 과도한 비대와 생장저조가 현저하였다. Dutcher와 Powell(1972)도 역시 비교적 고농도(30~50 g/L)의 sucrose의 첨가가 생장에 효과적임을 보고한 바 있다. 이와 같은 결과들은 신초증식단계에서는 반드시 sucrose의 첨가가 필요하며 다소 고농도에서도 생장 저해없이 증식이 가능함을 시사하는 것으로 사료되었다.

#### 발근단계

발근단계에서 발근 및 근생장에 미치는 배지내 NAA의 영향은 Table 4와 같았다. NAA 0.1~0.5 mg/L의 낮은 농도 처리구에서 발근이 양호하여, 1, 2차 근수 및 근장이 높은 수치를 나타내었다. 그러나 NAA 무처리구에서는 전혀 발근이 되지 않았으며, NAA 1.0 mg/L 이상의 농도에서는 근수는 많았으나 과도한 callus가 발달하였다. NAA의 농도에 따른 뿌리 형태를 보면, 고농도(1.0 mg/L)에서는 굵고 짧은 뿌리가 발생하였으며, 0.1~0.5 mg/L의 농도에서는 가늘고 긴 뿌리가 다수 발생하였다. 배양초기 암처리 기간인 7일간은 변화가 거의 없었으며 8일째에 NAA 0.1 mg/L의 처리구에서 최초의 근발생이 관찰되었으나 발근율이 7.8%로 저조하였고, 2주 이후 50% 정도의 발근율을 나타내었다. 조직배양을 이용한 배나무의 급속증식에 있어서 낮은 발근율이 문제점으로 거론되고 있으나(Banno 1982; Bhojwani et al., 1984), 본 실험에서는 NAA 0.1mg/L가 첨가된 1/4MS배지에서 96%의 발근율과 양호한 1, 2차근을 가진 개체를 얻을 수 있었다.

이상의 결과로부터 경정의 채취단계부터 모수의 상태, 채취시기 등을 고려하고, 적절한 생장조절제를 선택하면 경정배양에 의한 배 '신고'의 대량증식이 가능함을 알 수 있었다.

#### 적 요

배 '신고'의 경정배양을 통한 급속대량증식법을 개발하기 위하여 모수의 수세와 채취시기 및 배지에 첨가되는 생장조절제 NAA와 BA, sucrose가 경정배양의 각 단계의 생육에 미치는 영향을 구명하고자 하였다. 신초를 채취하는 모수의 수세와 채취시기에 있어서, 중 정도의 수세를 가진 모수로부터 6월에 채취한 경정이 배양확립단계에 가장 적합하였다. 신초생장은 BA 1.0, 2.0 mg/L의 단독처리구에서 가장 좋았으며, NAA의 첨가는 저조한 신초생장과 과도한 callus 발생을 야기하였다. 신초증식단계에서는 BA 단독처리로는 신초의 대량증식이 불가능하였으며, BA 2.0 mg/L와 NAA 0.01 mg/L의 혼합처리구에서 발근단계에 필요한 크기의 신초를 다량으로 얻을 수 있었고, 30 g/L의 sucrose 첨가가 효과적이었다. 발근단계에는 NAA 0.1 mg/L를 첨가한 1/4MS배지에서 높은 발근율(96%), 1, 2차 근수와 근장을 나타내었으며, 이상의 과정을 통하여 정상적인 소식물체를 얻을 수 있었다.

#### 인용문헌

- Banno K, Yoshida K, Hayashi S, Tanabe K (1982) *In vitro* propagation of Japanese pear cultivars. J Japan Soc Hort Sci 58: 37-42
- Bhojwani SS, Mullins K, Cohen P (1984) *In vitro* propagation of *Pyrus pyrifolia*. Sci Hort 23: 247-254
- Cheng TY (1979) Micropropagation of clonal fruit tree rootstocks. Compact Fruit Trees 12:127-137
- Davies PJ (1987) The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. Martinus Nijhoff Pub., The Netherlands pp 1-11
- Dutcher RE, Powell LE (1972) Culture of apple shoots from buds *in vitro*. J Amer Soc Hort Sci 97: 511-514
- Lane WD (1979) Regeneration of pear plants from shoot meristems. Plant Sci Lett 16: 337-342
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15: 473-497

- Singha S** (1980) *In vitro* propagation of 'Seckel' pear. In: Proc. Conf. Nursery Production of Fruit Plants Through Tissue Culture-Applications and Feasibility. USDA Sci Educ, Adm ARR-NE-11 pp 59-63
- Singha S** (1982) Influence of agar concentration *In vitro* shoot proliferation of *Malus* sp. 'Almey' and *Pyrus communis* 'Seckel'. J Amer Soc Hort Sci **107**: 657-660
- 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
- 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 GA<sub>4+7</sub> and BA on the *In vitro* growth of 'Kosui' leaf bud. Sci Rep Fac Kobe Univ **14**: 45-49

(1997년 11월 21일 접수)