

고추 자엽에서 식물체 재분화의 품종간 차이

오명규* · 이영만¹ · 박문수
호남농업시험장, ¹전남대학교 농과대학

Varietal Difference in Plant Regeneration from Cotyledon Culture of *Capsicum annuum* L.

OH, Myung Kyu* · LEE, Young Man¹ · PARK, Moon Soo

National Honam Agricultural Experiment Station, Iksan, 570-080, Korea : and
¹College of Agric., Chonam Nat'l Univ., Kwangju, 500-757, Korea. *Corresponding author

Effects of genotype and culture medium on plant regeneration from cotyledon segments of red pepper (*Capsicum annuum* L.) was investigated. Among combinations of IAA (0.25 and 0.50 mg/L) and zeatin (2.0 and 4.0 mg/L) added to MS medium, combination of 2.0 mg/L zeatin and 0.25 mg/L IAA was shown to be the best for shoot differentiation from cotyledon segments. Shoot regeneration from cotyledon explants took 9 to 25 days, depending on genotypes and culture media. Early shooting was observed in Yeongyangjaelae, Putgochw, Karkovskij-A-35, Gris I-A-1 on MS medium containing 2.0 mg/L zeatin and 0.25 mg/L IAA. Percent of explants producing shoots, as also influenced by genotypes and culture media, were over 90% for 621, Yeongyangjaelae, Putgochw, Nikko Jacksacgmulgochw, Ch-6-Num-216, and Kajenskij-A-35 when cultured on MS medium supplemented with 2.0 mg/L zeatin and 0.25 mg/L IAA and for Fresno chile, PI 169126, Kajenskij-A-35, Jacksacgmulgochw, and PI 297438 on MS medium including 2.0 mg/L BA and 1.0 mg/L IAA.

Key words : *Capsicum annuum* L., tissue culture, regeneration.

고추는 국제적으로 중요한 채소작물의 하나이며, 전통적으로 우리 음식문화에 필수적인 조미료로 이용되어지고 있다. 그러나 재배시의 건해, 습해 등 환경스트레스 뿐만 아니라 병충해 등의 많은 문제점을 지니고 있다. 이러한 품종상의 문제점을 극복하고 현재의 재배종이 가지고 있는 유전자의 한계성 때문에 야생종이 보유하고 있는 유용 유전자인 내한성, 내습성, 내병성, 내충성 등의 고추의 주요형질과 관련된 유전자를 도입할 수 있다(Phillips and Hubstenberger, 1985 ; Dumas Devaulx et al., 1981).

세포나 분자 생물학적 방법의 이용에서 가장 문제가 되는 것은 식물체의 재분화로서 여러 작물종에서 연구되고 있으나(Black, 1972 ; Earle and Langhans, 1974 ; Eun et al., 1995 ; Jain et al., 1988) 아직도 재분화율이 낮으며 고추에서도 조직배양에 의한 식물체 재분화에 대한 연구가 일부 이루어져 자엽, 하배축, 혹은 원형질체로부터 기관 발생을 통하여 신초를 유도한 바 있으나 식물체 재분화는 품종 및 계통에 따라서 재분화 정도에 차이가 있고, 재분화를 위한 조건이 복잡하고, 대체적으로 재분화 빈도가 낮기 때문에

형질전환을 통한 외래 유전자를 도입한 새로운 품종 육종 방법의 실용화에 문제점으로 여겨지고 있다(Arroyo, 1991 ; Fari and Szaro, 1981 ; Guany and Rao, 1978 ; Yang et al., 1997). 최근의 연구는 재분화 식물체를 고빈도로 얻기 위한 노력에 집중되고 있으나, 품종 및 계통에 따른 재분화 유기 정도의 차이를 구명하는 연구는 소수에 불과하다(Arroyo, 1991 ; Dumas Devalue et al., 1991).

따라서 본 실험은 고추 자엽으로 부터의 식물체 재분화에 적합한 배지, 성장조절제의 종류와 농도를 찾고 품종에 따른 식물체 재분화의 차이를 구명하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

고추 자엽 배양의 적정배지 선정

고추 종자는 시판되는 F1 종자인 거성고추를 사용하였다. 고추 종자를 2% sodium hypochlorite로 15분간 소독한 후 멸

균수로 5~6회 잘 씻어 배지에 치상하였다. 치상 배지는 ½ MS 기본배지에 sucrose 3%와 agar 0.8%를 첨가하여 PH 5.8로 조절된 발아용 배지에 멸균된 종자를 10립씩 치상하였다. 치상한 종자는 발아전까지 전일 암상태에 둔 후, 발아직 후 부터 2,500 Lux, 25±1°C, 일장 16시간을 유지하였다.

고추 본엽이 출현하기 직전에 엽병이 1~2mM 포함되게 절단한 자엽을 줄기유기배지인 MS기본배지(MS salts, sucrose 3%, agar 0.8%, PH 5.8)와 MS기본배지에 각각 IAA 3수준(0.00, 0.25, 0.50 mg/L), zeatin 3수준(0.00, 2.00, 4.00 mg/L)의 가능한 모든 조합 9개 처리로 하여 250mL flask에 6개의 절편을 4반복으로 치상하였다.

배양조건은 25±1°C, 2,500 Lux, 일장 16시간이었으며, 치상 4주후에 절편으로부터 재분화 정도를 조사하였다.

고추 자엽 배양에서의 재분화의 품종간 차이

고추종자는 순천 대학교와 농촌진흥청 종자은행에서 분양 받은 29개 품종을 사용하여 위와 같은 방법으로 살균, 배양하였다. 재분화배지는 두가지로 하였는데 첫 번째 재분화배지는 MS기본배지에 zeatin 2.0 mg/L, IAA 0.25 mg/L, sucrose 3% 그리고 agar 0.8%, PH를 5.8에 맞춘후 29개 품종을, 두번째 재분화배지는 MS기본배지에 BA 2.0 mg/L, IAA 1.0 mg/L, sucrose 3% 그리고 agar 0.8%, PH를 5.8로 맞춘후 21개 품종을 공시하였다. 치상방법은 본엽 출현 직전의 자엽을 생장점이 제거된 상태로 엽병이 1~2mM 포함되게 하여 품종별로 각 배지에 6개씩 4반복으로 치상하였다.

배양조건은 25±1°C, 2,500 Lux, 일장 16시간으로 하였고, 4주 후에 재분화 정도를 조사하였다.

결과 및 고찰

고추자엽배양의 적정배지 선정

고추자엽배양에서 식물체 재분화의 품종간 차이를 검정하기 위하여 우선 검정에 사용한 적정 배지를 선정하기 위하여 IAA와 zeatin을 조합한 9개 처리에서 신초 유기율을 그림 1에 나타내었다. 생장조절제가 혼합되지 않는 무 처리구와 IAA 0.25 mg/L, IAA 0.5 mg/L의 단독 처리구에서는 신초가 전혀 유기 되지 않았고 캘러스만 형성되었다. MS기본배지에 zeatin 2.0 mg/L 또는 zeatin 4.0 mg/L을 첨가한 처리구에서는 재분화율이 각각 50%와 38%로 IAA와 zeatin 혼용 처리구인 IAA 0.25 mg/L + zeatin 2.0 mg/L와 IAA 0.5mg/L + zeatin 4.0 mg/L 처리구의 63%와 59%보다는 낮게 나타났다. 이것은 종이나 품종에 따라 cytokinin 단독처리나 cytokinin과 auxin의 양적 균형이 신초유기에 영향을 미치는 정도에 차이가 있는 것으로 생각된다(Skoog and

Miller, 1957). 캘러스형성은 치상 2주부터 약간씩 형성되었는데, 이것은 품종 차이에 따라 캘러스형성의 유기가 다른 것으로 알려져 있다(Lee et al., 1993).

신초가 유기되지않은 절편에서는 부분적으로 캘러스형성이 양호하였는데, 이것은 캘러스형성이 왕성한 절편에서는 신초유기 정도가 미약하다는 바(Phillips and Hubstenberger, 1985)와 같이 본 실험에서도 같은 현상이 관찰되었다.

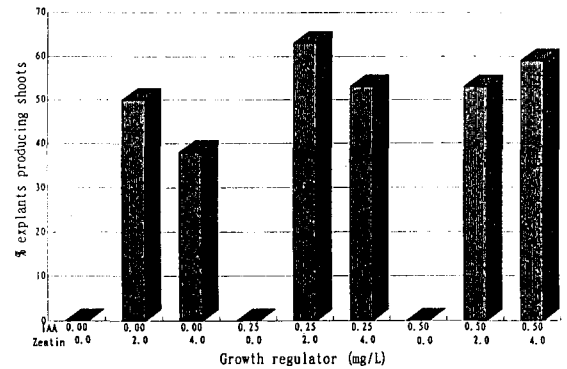


Figure 1. Effects of growth regulators on shoot regeneration from cotyledonary explants of Gersung pepper(*Capsicum annum* L.)

고추 자엽 배양의 품종간 재분화 차이

식물의 종에 따라서 신초 유기율 및 신초 유기시기는 다르며 심지어는 같은 종이라 할지라도 품종 및 계통에 따라서 기내배양을 통한 식물체 재분화 능력에 차이가 있기 때문에 유전자형에 관계없이 재분화가 가능한 배지를 찾는 것은 어렵다. 그러나 몇몇 식물의 경우 품종의 차이는 있지만 많은 품종을 재분화시킬 수 있는 배지가 밝혀졌고 실제로 이를 토대로 재분화를 통한 식물체 대량 생산이 이루어지고 있다. 본 실험을 수행하기전 Phillips와 Hubstenberger, (1985)에 의해서 밝혀진 배지(M1)와 앞의 실험에서 선정한 적정배지(M2)의 두가지 배지에서 품종간의 기관 재분화율 차이를 조사하였다.

치상후 신초가 유기될 때 까지의 기간은 각 품종에 따라 또는 배지조성에 따라 차이가 인정되고 있다(Table 1). 치상후 신초 유기시기는 zeatin 2.0 mg/L + IAA 0.25 mg/L 처리구에서는 9일~22일 사이에 분포하였는데, 치상 후 10일 이내 유기된 것은 621등 16개 품종으로 전체의 약 55%에 해당하였으며, 치상 후 15일~17일 이내 유기된 것으로는 풍각재래, 남지재래, Fresno Chile, Daganotougarashi(たかの唐辛), COO485 Long Hot P5-3, Local Medium Long등 6개 품종이었고, 치상 후 17일이 지나서 유기된 것으로는 광주재래, Kamiyamasaci(神山さし), Jalapeno, Karkovskij등 4개 품종이었다. BA 2.0 mg/L + IAA 1.0 mg/L 처리구에서는 품종에 따라 11~25일 사이에 신초가 유기되었는데, COO485

Long Hot P5-3, Gris I-A-1, Saski 5-TF, COO489 Long Green, Ch-6Num-216, 적색물고추의 6품종은 13일 이내에 유기되었고, 김장고추에서는 약25일이 소요되었다. 또한 품종에 따른 처리간의 신초 유기 시기의 차이는 Gris I-A-1, 621, 남지재래, PI 169126, Nikko(日光), COO299 PI 171553, Saski 5-TF, PI 297438에서는 1일이내로 차이는 크지 않았으나, 김장고추에서는 zeatin 2.0 mg/L + IAA 0.25 mg/L처리구에서는 처상후 14일만에 유기된 반면 BA 2.0 mg/L + IAA 1.0 mg/L처리구에서는 약25일만에 유기되어 두처리간에 약10일의 차이를 보였으며, Kamiyamasaci(神山さし)와 Jalapeno에서는 처리간에 약 4일간의 차이를 보였다.

신초 유기율은 품종간에 차이도 많았지만 배지조성에 의한 차이도 있었다(Table 1). zeatin 2.0 mg/L + IAA 0.25 mg/L처리구에서 신초 유기율은 621, 영양재래, Nikko(日光), 적색물고추, Ch-6Num-216, 풋고추, Karkovskij-A-35등 7개 품종에서 90%이상 높게 나타났으나 COO489 Long Green은

Table 1. Effects of different media and genotypes on shoot regeneration from cotyledonary explants of *Capsicum annuum* L.

Genotype	M ₁ ^a		M ₂ ^a	
	A	B	A	B
342	11.3	33.3	na	na
Putgochw	9.1	100	"	"
C 01123 cap11//76redcluster	16.9	20.0	"	"
Local Medium Long	17.0	70.0	"	"
Karkovskij	18.0	84.0	"	"
Karkovskij-A-35	11.2	90.0	"	"
PI 164677	15.3	50.0	"	"
PI 21312	12.8	55.5	"	"
621	13.5	100	15.0	11.0
Punggakjaelae	15.6	25.0	14.0	50.0
Yeongyangjaelae	12.7	92.0	0.0	0.0
Namjaijaelae	15.5	60.0	15.0	50.0
Kwangjujaelae	19.1	66.6	0.0	0.0
Fresno chile	17.4	86.3	14.3	100
PI 169126	14.0	83.3	13.2	90.0
Kimjanggochw	14.0	66.6	24.6	33.3
Nikko	14.2	91.3	14.8	77.7
Kamiyama	21.8	50.0	17.7	83.3
Daganotougarashi	17.0	12.5	0.0	0.0
Jalapeno	18.0	15.7	14.0	85.7
Jacksaegmulgochw	13.9	100	12.5	100
COO299 PI 171553	13.4	81.3	13.3	81.8
COO489 Long Green	0.0	0.0	13.0	75.0
COO787B Siau-Fong-Tsong	15.9	55.5	0.0	0.0
COO485 Long Hot P5-3	12.5	61.6	11.0	66.6
Saski5-TF	13.0	28.5	12.3	88.8
Ch-6 Num-216	14.0	100	12.5	75.0
Gris I-A-1	11.3	70.0	12.0	40.0
PI 297438	14.0	83.3	13.9	100

^aM₁ and M₂ indicate MS medium supplemented with 2.0 mg/L zeatin + 0.25 mg/L IAA and 2.0 mg/L BA + 1.0 mg/L IAA, respectively.

A : Days to first shooting from inoculation of cotyledonary explants.

B : Shoot regeneration frequency (%) from cotyledonary explants.

na : not available

전혀 재분화가 되지 않았고, 풍각재래, Daganotougarashi(たかの唐辛), Jalapeno, Saski 5-TF, CO1123cap // 76 Red Cluster에서는 30%이하로 저조했다.

BA 2.0 mg/L + IAA 1.0 mg/L가 첨가된 배지에서는 Fresno Chile, PI 169126, 적색물고추에서 90%이상으로 신초가 유기되었으나 621, 영양재래, 광주재래, Daganotougarashi(たかの唐辛), COO787B Siau-Fong-Tsong에서는 0~11%와 풍각재래, 김장고추, Gris I-A-1은 12~50%이하로 신초 유기가 저조했다. 한편 zeatin 2.0 mg/L + IAA 0.25 mg/L처리구에서 90%이상 높은 신초 유기를 보였던 621, 영양재래 두 품종은 BA 2.0 mg/L + IAA 1.0 mg/L처리구에서는 각각 11%와 0%를 보였고, 광주재래, 김장고추, Kamiyama(神山さし), Jalapeno, COO489 Long Green, COO787B Siau-Fong-Tsong, Saski 5-TF, Gris I-A-1등 8품종은 두 처리간의 신초 유기율이 30%이상의 차이가 있었으나, 적색물고추에서는 신초 유기율이 모두 100%로 같았고, 남지재래, PI 169126, COO299 PI 171553, COO485 Long Hot P5-3도 두처리간의 신초 유기 차이가 10%이하로 큰 차이가 없었다.

신초유기는 중, 속간 뿐만아니라 동일종의 품종에도 많은 차이가 있는데, 이것은 식물에 따라 생리적 요건 및 배양환경에 차이가 있는 것 (Phillips and Hubstenberger, 1985)과 같이 본 실험에서도 품종간에 이러한 현상이 뚜렷히 나타났다.

적 요

자엽으로 부터 신초 유기율은 MS기본배지와 MS기본배지에 IAA 0.25 mg /L또는 0.50 mg/L과 zeatin 2.0 mg/L 또는 4.0 mg/L를 단독 및 조합 처리한 배지중에서 MS배지에 IAA 0.25 mg/L + zeatin 2.0 mg/L첨가된 배지가 63%로 가장 양호하였다. 신초 유기시기는 품종 및 배지에 따라 처상후 9~25일의 차이가 있었는데 MS배지 + zeatin 2.0 mg/L + IAA 0.25 mg/L배지에서 영양재래, 풋고추, 342, Karkovskij-A-35, Gris I-A-1가 빠르게 유기 되었으며, MS배지 + BA 2.0 mg/L + IAA 1.0 mg/L배지에서 COO485 Long Hot P5-3, Gris I-A-1에서 유기가 빨랐다. 신초 유기율도 품종 및 배지에 따라 달랐는데 MS 배지 + zeatin 2.0 mg/L + IAA 0.25 mg/L 배지에서는 621, 영양재래, Nikko(日光), 적색물고추, Ch-6Num-216, 풋고추, Karkovskij-A-35가, MS배지 + BA 2.0 mg/L + IAA 1.0 mg/L 배지에서는 Fresno Chile, PI 169126, 적색물고추, PI 297438가 90%이상으로 높았다.

인 용 문 헌

- Arroyo R** (1991) *In vitro* plant regeneration from cotyledon and hypocotyl segments in two bell pepper cultivars. *Plant Cell Rep* **10**:414-416
- Black DK** (1972) The influence of shoot origin on the rooting of Douglas fir stem cuttings. *ProcInt Plant Prop Soc* **22**:142-159
- Dumas Devaulx R, Chambonnet D, Pochard E** (1981) Culture *in vitro* d' antheres de piment(*Capsicum annuum* L.): Amelioration des taux d' obtention de plante, chez differents genotypes par traitements at 35° C. *Agronomic* **1**:859-864
- Earle ED, Langhans RW** (1974) Propagation of chysanthemum *in vitro*. I. Multiple plantlets from shoot tips and the establishment of tissue cultures. *J Amer Soc Hort Sci* **9**:128-132
- Eun JS, Ko JA, Kim YS** (1995) Plantlet regeneration by cotyledon and petiole cultures of *Cyclamen persicum* Mill. *Kor J Plant Tiss Cult* **24**:55-59
- Fari M, Szaro M** (1981) Relationship between position and morphogenetic response of pepper hypocotyl explants cultured *in vitro*. *Hort Sci* **15**:207-213
- Guany AL, Rao PS** (1978) *In vitro* plant regeneration from hypocotyl and cotyledon explant of red pepper(*Capsicum*). *Plant Sci Lett* **11**:365-372
- Jain RK, Chowdhury JB, Friedt W** (1988) Genotypic and media effects on plant regeneration from cotyledon explant cultures of some *Brassica* species. *Plant Cell Tiss Org Cult* **19**:167-174
- Phillips GC, Hubstenberger JF** (1985) Organogenesis in pepper tissue cultures. *Plant Cell Tiss Org Cult* **4**:261-269
- Skoog F, Miller CO** (1957) Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro* *Symp Soc Exp Biol* **11**:118-130
- Yang DC, Lee KY, Yoo YS, Choi KH, Lim HT** (1997) Plant regeneration and expression of mouse adenosine deaminase gene in transgenic hot pepper(*Capsicum annuum* L.) plants. *Kor J Plant Tiss Cult* **24**:37-41

(1997년 9월 18일 접수)