

## 포도의 경정배양에 의한 다아체형성 및 신장에 미치는 생장조절제의 영향

서정해\* · 정재동<sup>1</sup> · 권오창<sup>2</sup>

경남정보대학, <sup>1</sup>경북대 원예학과, <sup>2</sup>동아대학교 원예학과

### Effect of Plant Growth Regulators on Multiple Shoot Formation and Elongation from Shoot Tip Cultures of Grape Species

SUH, Jung-Hae\* · CHUNG, Jae-Dong<sup>1</sup> · KWON, Oh-Chang<sup>2</sup>

Dept of Environmental Landscape Architecture, Kyungnam College of Information and Technology,  
Pusan, 617-701, Korea

<sup>1</sup>Dept of Horticulture, Kyungpook National University, Taegu, 702-701, Korea

<sup>2</sup>Dept of Horticulture, Dong-A University, Pusan, 604-714, Korea

**ABSTRACT** Shoot tips of grape were cultured *in vitro* and tried to identify optimal culture conditions for regeneration, multiple shoot formation from meristemoid tissue and those subsequent elongation of multi-shoots. Healthy growing shoots were taken in early May, rinsed with running tap water, soaked in a neutral detergent and washed with soft brushing, and washed out with tap water, then sterilized with 10g Ca(ClO)<sub>2</sub>/140 mL distilled water (Wilson's solution) for 5 min. Survival percentage of the cultures which were sterilized as above procedures was highly increased, compared with the other sterilized method. Propagation of multi-shoots from meristemoid showed a good response in 3/4 strength MS medium enriched with 0.1 mg/L NAA and 3.0 mg/L BA. Shoot elongation from multi-shooting clump well occurred in 3/4 strength MS medium supplemented with 80 mg/L adenine sulfate, 0.1 mg/L NAA and 1.0~2.0 mg/L BA.

**Key words:** *Vitis labruscana*, *V. vinifera*

## 서 론

포도의 번식은 삽목, 접목 등에 의해 이루어져 왔는데, 이와 같이 영양번식을 계속하게 되면 병원균에 의한 오염도가 높아지기 때문에 품질이 저하되고 수량성이 감소하게 된다. 특히 virus에 감염될 경우 수량은 30%, 당도는 5~6% 떨어지고, 산도는 오히려 높아지며, 착색은 불량하게 되므로 건전주를 재배하여 수량성 및 품질향상을 위한 노력이 이루어져야 할 것이다 (Sadamatsu 1987; 1989). 그러나 재배농가의 인식 부족과 무병묘 생산기술이 확립되지 않아 기존방법에 의존하고 있기 때문에 재배연륜이 길어질수록 수량 및 품질이 급격

히 저하되고 있는 실정이다.

포도나무를 열처리법과 경정배양법 (Engelbrecht and Human 1989) 또는 경정배양과 callus배양 (Takayama 1986)으로 무병주를 얻는데 성공하여 조직배양에 의한 무병주 생산 가능성을 제시하였고, 국내에서는 경정배양에 의한 유묘의 증식에 필요한 배지의 구성에 관한 실험 (Choi et al. 1988; Choi et al. 1992)을 수행한 바 있고, 미숙배주의 배양으로부터 체세포배 발생을 유도 (Park et al. 1993) 하였으나 무병주 생산에 관한 시도는 이루어지지 않았다. 지금까지 이용된 무병주 생산 방법으로는 열처리, 경정배양 또는 열처리 후 경정배양, callus 배양, 피막유전자를 이용한 형질전환 방법 등이 이용되어 왔으나, 그 효율성은 식물의 종에 따라 다르게 나타나고 있다 (Chung 1999).

본 연구에서는 몇 가지 포도 품종을 재료로 이용하여 무병주 생산에 필요한 실험을 수행하였는데 경정배양으로부터 무

\*Corresponding author. Tel 051-320-1353

E-mail suhjh@kit.ac.kr

병주 생산에 필요한 제반 요인을 검토하였다. 우선 본 논문에서는 virus 무병주 생산에 필요한 초기배양방법의 확립 및 다아체 유도과 신장에 필요한 배양조건이 확립되었기에 그 결과를 보고하고자 하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 살균제 비교실험

공시재료는 歐美雜種系 (*Vitis labruscana* Bailey.)의 'Campbell Early', 'Schuyler', 'Himrod Seedless', 'Pione', 'Delaware' 등 5품종과, 歐州系 (*Vitis vinifera* Linne.)의 'Muscat of Alexandria'와 'Gros Colman' 2품종을 사용하였다. 경정은 5월 초순 신초의 길이 10 cm 내외의 것을 채취하였다. 조제는 선단을 3 cm 정도로 다듬어서 수돗물에 1차 씻은 후 중성세제 액에 담구어 조직이 상하지 않도록 부드러운 솔로 씻은 다음 흐르는 수돗물에 재차 충분히 행구었다. 살균은 clean bench 내에서 Tween-20을 0.1%가 되도록 첨가한 1% NaOCl용액 또는 Wilson액 (10 g Ca(ClO)<sub>2</sub>/140 mL 증류수) 등 2종의 살균액에 넣어 자력교반기로 교반하면서 각각 10분간 또는 5분간 살균하였다. 살균 후 멸균수로 4회 행구어 낸 다음 이들을 배양 재료로 사용하였다.

### 경정의 초기배양

MS배지 (Murashige and Skoog 1962)에 adenine sulfate (이하 AdSO<sub>4</sub>로 표기) 80.0 mg/L, 6-benzyladenine (BA) 3.0 mg/L, sucrose 30 g/L, 한천 8 g/L씩 혼합하고 pH는 한천 용해 전 5.7로 조정하였다. 배지는 30 mL 시험관에 10 mL씩 분주하여 20분간 고압증기 멸균한 후 사면배지를 조제하였다. 경정의 크기는 엽원기 1~2매 부착된 길이 0.2 mm 내외의 것을 시험관에 1개씩 25절편을 처리별로 반복 접종하였다. 배양은 25°C 전후에서 3일간 암배양 후 1일 16시간씩 1,500 lux (형광등)하에서 명배양하였으며 생존율은 배양 6주 후 조사하였다.

### 다아체(多芽體) 유도

보다 효과적인 기본배지를 규명하기 위하여 사용한 재료는 살균제 실험에서 생장이 양호한 'Schuyler'의 2품종의 다아체를 무게 100~120 mg씩 사면체로 절단하여 플라스크 당 5개씩 4반복 접종하였다. 기본배지의 종류는 전량의 MS배지, 무기염 농도를 3/4로 감량한 MS배지 (이하 3/4MS), 무기염 농도를 1/2로 감량한 MS배지 (이하 1/2MS)와, 수정 Hyponex배지 (Hyponex (6.5-6-19) 2.0 g/L, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 100.0 mg/L, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 100.0 mg/L, Fe-EDTA 30.0 mg/L,

Thiamine HCl 1.0 mg/L, Sucrose 30.0 g/L, Agar 8.0 g/L)를 조제하여 4종의 기본배지를 사용하였다. 각 배지의 pH는 5.7로 조제하였다. 식물 생장조절물질로는 AdSO<sub>4</sub> 80 mg/L, BA 3.0 mg/L 및 NAA 0.1 mg/L를 각각 첨가하였고, 400 mL 삼각후라스크에 100 mL씩 분주한 배지에서 배양 8주 후 신초 수와 생장 정도를 조사하였다.

### 생장조절물질이 다아체의 형성에 미치는 영향

다아체 (meristemoid)의 무게 50~80 mg이 되도록 사면체로 절단하여 3/4 MS배지에 플라스크 당 5개씩 4반복 접종하였다. 식물 생장조절물질로는 BA 3.0, 4.0과 5.0 mg/L 단용 배지와, NAA 0.1 또는 1.0 mg/L를 각각 혼용한 배지, BA와 AdSO<sub>4</sub> 80 mg/L 혼용한 배지, BA와 AdSO<sub>4</sub>에 NAA를 0.1 또는 1.0 mg/L 혼용한 배지 등, 모두 18종의 배지를 사용하였다. 배양조건은 초기배양과 동일하였으며, 배양 10주 후 신초 수, 초장, 엽 수, 마디 수 및 생장정도를 조사하였다.

### 증식된 다아체로부터 신초의 신장

다아체 무게 50~100 mg 정도의 사면체로 절단하여 3/4 MS배지에 후라스크 당 4반복 접종하였다. 생장조절물질은 BA농도를 0.5, 1.0, 2.0 mg/L의 단용 배지와 NAA를 0.1 또는 0.5 mg/L를 각각 혼용한 배지 및 BA와 NAA에 AdSO<sub>4</sub>를 80 mg/L씩 혼용한 19종의 배지를 조제하였다. 배양조건은 경정배양과 동일하였으며 배양 8주 후 신초 수, 초장, 엽 수 및 마디 수를 조사하였다.

## 결 과

### 살균제 효과

경정살균에 미치는 살균제의 영향은 2종의 살균제 중 1% NaOCl용액에서 10분간 침지살균했을 때 'Himrod seedless'는 85%, 'Campbell Early'는 80%의 생존율을 보였으나, 'Gros Colman'과 'Pione'는 20%와 25%의 저조한 생존율을 나타냈다 (Table 1). 한편 Wilson액에 5분간 침지살균한 'Muscat of Alexandria', 'Campbell Early' 및 'Schuyler'는 85% 생존율을 나타냈으나, 'Pione'는 생존율이 34.3%로 낮았으며 품종간 현저한 차이를 나타내었다. 평균 생존율은 Wilson액이 65.6%로서 NaOCl용액의 56.2%보다 다소 높아서 포도 경정배양용 살균제로서 효과적이었다.

### 다아체 형성

다아체를 증식재료로 사용하여 건전한 유묘생육에 가장 적

합한 기본배지를 규명하기 위하여 MS배지와 수정 Hyponex 배지를 사용하여 실험한 결과 (Table 2) MS배지의 무기염 농도를 3/4으로 감량한 배지에서 'Schuyler', 'Muscat of Alexandria'와 'Himrod Seedless'등 3품종 모두 지상부와 지하부의 생육이 가장 양호하였으며, 1/2 MS배지와 수정 Hyponex 배지에서도 양호한 경향이였다. 전량의 MS배지는 감량한 것에 비하여 생육이 부진하였다. 품종간 기본배지에 대한 반응은 'Schuyler'가 배지간 생육차이가 가장 적었고, 'Muscat of Alexandria'는 기본배지간 생육 차이가 많았다.

### 디아체 증식

경정배양으로부터 얻은 디아괴체의 증식에 미치는 식물 생장조절제의 영향을 보면 (Table 3), 'Schuyler'는 BA 3.0 mg/L와 NAA 0.1 mg/L 혼용배지에서 가장 양호하였으며 (Figure 1), BA 3.0 mg/L씩 함유된 배지에서는 전반적으로 증식이 이루어 졌으나, BA를 고농도로 혼합한 배지에서는 줄기의 신장상태가 부진하고, 대부분의 잎은 기형화하였다. 'Muscat of Alexandria'의 디아괴체 증식 정도는 BA 3.0 mg/L 단용 배지와, AdSO<sub>4</sub> 80 mg/L에 BA 3.0 mg/L와 NAA 0.1 mg/L 혼용배지에서는 양호하였으며 신초도 다소 신장되었다. 'Himrod Seedless'는 AdSO<sub>4</sub> 80 mg/L, BA 3.0 mg/L와 NAA 0.1 mg/L로 혼용한 배지에서 양호하였으며, BA를 3.0 mg/L가 함유된 조합에서만 정상적인 신초신장이 가능하였다.

이상의 결과로 보아, BA의 농도를 3.0 mg/L씩 첨가한 배지에서는 경엽의 분화와 디아괴체의 증식이 양호하였으나, 4.0 mg/L 이상의 고농도로 혼합한 배지에서는 모두 기형적인 디아괴체로 분화하면서 생육도 부진하여 증식의 재료로 사용하기에는 부적합하였다. 또한 NAA 혼용배지에서도 0.1 mg/L의 저농도에서는 다소 촉진적이었으나 1.0 mg/L씩 고농도로 첨가한 배지에서는 지상부의 신장이 거의 이루어지지 않았다. AdSO<sub>4</sub>와 혼용배지에서는 잎이 기형화하고 callus의 생장이 촉진되었다. 동일 배지 내에서의 품종간 차이는 'Schuyler'가 가장 양호하였으며 'Muscat of Alexandria'는 부진하였다.

### 신초의 신장

디아체로부터 신초의 신장에 미치는 NAA와 BA 또는 AdSO<sub>4</sub>의 영향을 보면 figure 2, 3, 4와 같다. NAA와 BA를 첨가한 배지에서의 'Schuyler' (Figure 2, left) 신초수는 BA 2.0 mg/L 단용 처리한 배지에서 전반적으로 많았으며, NAA 0.1 mg/L에 BA 2.0 mg/L와 NAA 0.5 mg/L에 BA 1.0 mg/L 혼용배지에서도 다소 많았다. 초장은 BA 0.5 mg/L 단용 배지에서 가장 길었으나, 1.0 mg/L 단용 배지와 NAA 0.1 mg/L에 BA를 0.5~1.0 mg/L 혼용배지에서도 양호한 편이었다. 엽 수와 마디 수는 NAA 0.1 또는 0.5 mg/L에 BA를 0.5~1.0

mg/L씩 혼용한 배지에서 많았으며, BA를 2.0 mg/L씩 고농도로 혼용한 배지에서는 대조구보다도 적었고 대부분의 잎은 기형화하였다. 이상의 결과로 보아 'Schuyler'의 경우 신초수가 BA 2.0 mg/L에서, 초장은 BA 0.5 mg/L 단용 배지에서 촉진적이었으며, 엽 수와 마디 수는 NAA와 BA를 0.5 mg/L씩 혼용한 배지에서 많았다. NAA와 BA 혼용배지에 AdSO<sub>4</sub> 80 mg/L를 첨가한 배지에서 'Schuyler' (Figure 2, right)의 신초신장을 보면, 신초 수는 AdSO<sub>4</sub> 80 mg/L에 BA를 농도별로 혼용한 배지에서, 신초 수는 BA 1.0 mg/L와 NAA 0.5 mg/L 또는 BA 2.0 mg/L에 NAA 0.1 mg/L를 활용한 배지에서 가장 많았다. BA를 저농도로 첨가한 배지에서도 대조구보다는 신초 수가 많았다. 초장은 BA를 1.0 또는 2.0 mg/L에 NAA를 0.1 또는 0.5 mg/L 혼용배지에서 길었으며, BA를 0.5 mg/L 혼용배지도 대조구보다는 양호하였다. 엽 수는 NAA 0.1 mg/L에 BA 0.5 또는 1.0 mg/L 혼용배지에서 생장이 양호하였고, BA 2.0 mg/L씩 고농도로 혼용한 배지에서는 대조구와 비슷하였다. 마디 수는 BA 1.0 mg/L에 NAA 0.1 mg/L를 혼용배지에서 가장 많았고 기타 혼용배지에서는 대조구와 비슷하거나 적었다. 이상의 결과로 보아 지상부의 신장이 양호한 배지로는 BA 1.0 mg/L에 NAA 0.1 mg/L와 AdSO<sub>4</sub> 80 mg/L를 혼용한 배지가 적합한 것으로 판단된다.

NAA와 BA를 첨가한 배지에서의 'Muscat of Alexandria' (Figure 3, left)의 신초 수는 BA 2.0 mg/L 단용 배지와 NAA를 0.1 또는 0.5 mg/L씩 혼용배지에서는 양호하였다. 초장은 NAA 0.1 또는 0.5 mg/L에 BA를 1.0 mg/L 혼용배지에서 대조구보다 10배 이상 신장하였다. 엽 수와 마디 수는 NAA 0.5 mg/L에 BA를 1.0 mg/L 혼용배지에서 1.4개와 1.6개로 가장 많았으나, BA를 저농도로 첨가한 배지에서는 감소하는 경향이였다. 이상의 결과로 보아 신초 수와 초장은 BA 2.0 mg/L의 단용 배지나 NAA 0.1 또는 0.5 mg/L 혼용배지에서, 엽 수와 마디 수는 BA 1.0 mg/L 배지와 NAA 0.5 mg/L 배지에서 양호하였다. NAA와 BA 혼용배지에 AdSO<sub>4</sub> 80 mg/L를 첨가한 배지에서 'Muscat of Alexandria' (Figure 3, right)의 신초 수는 BA 2.0 mg/L에 NAA를 0.1 또는 0.5 mg/L 혼용한 모든 배지에서 모두 많았으며, 기타 처리구에서도 대조구보다 많았다. 초장은 BA 1.0 mg/L와 NAA 0, 0.1 mg/L 혼용배지에서 가장 길었고, 그 외 배지에서도 대조구보다 약 5배 촉진되었다. 엽 수와 마디 수는 BA 1.0 mg/L 단용 배지에서 가장 많았고, BA 2.0 mg/L에 NAA 0.1 또는 0.5 mg/L 혼용배지에서도 증가하였다. 이상의 결과로 보아 'Muscat of Alexandria'의 지상부 신장은 BA 1.0 mg/L 단용 배지에서 촉진적이였다.

NAA와 BA를 첨가한 배지에서의 'Himrod Seedless' (Figure 4, left)의 신초 수와 초장은 NAA 0.1 mg/L에 BA 1.0 mg/L 혼용배지에서 가장 많았으며, 신초 수는 고농도의 BA가 함유된 배지에서 증가하는 경향이였고, 초장은 NAA 0.1 mg/L에 BA 1.0 mg/L 혼용배지에서도 촉진적이였다. 엽 수

**Table 1.** The contamination and survival percentage by to different disinfectants in shoot-tip cultures of grapes.

| Cultivars               | 1% NaOC 1 (10 min) |              | Wilson's solution (5 min) |              |
|-------------------------|--------------------|--------------|---------------------------|--------------|
|                         | Contamination (%)  | Survival (%) | Contamination (%)         | Survival (%) |
| <i>V. vinifera</i> L.   |                    |              |                           |              |
| Muscat of Alexandria    | 25.0               | 75.0         | 15.0                      | 85.0         |
| Gros Colman             | 80.0               | 20.0         | 55.0                      | 45.0         |
| <i>V. labruscana</i> B. |                    |              |                           |              |
| Himrod Seedless         | 15.0               | 85.0         | 25.0                      | 75.0         |
| Campbell Early          | 20.0               | 80.0         | 15.0                      | 85.0         |
| Schuyler                | 25.0               | 75.0         | 15.0                      | 85.0         |
| Delaware                | 66.7               | 33.3         | 50.0                      | 50.0         |
| Pione                   | 75.0               | 25.0         | 65.7                      | 34.3         |
| Mean (%)                | 43.8               | 56.2         | 34.4                      | 65.6         |

**Table 2.** The growth of shoots from shoot tip cultures derived-meristemoid of grapes in several culture media containing 80 mg/L adenine sulfate, 3.0 mg/L BA and 0.1 mg/L NAA.

| Basal media | Cultivars            | No. of shoots/clump | Growth * |
|-------------|----------------------|---------------------|----------|
| MS          | Schuyler             | 0.8                 | ++       |
|             | Muscat of Alexandria | 0.3                 | ±        |
|             | Himrod Seedless      | 0.2                 | +        |
| 3/4MS       | Schuyler             | 1.5                 | +++      |
|             | Muscat of Alexandria | 1.4                 | +++      |
|             | Himrod Seedless      | 1.0                 | +++      |
| 1/2MS       | Schuyler             | 0.6                 | ++       |
|             | Muscat of Alexandria | 0.6                 | ++       |
|             | Himrod Seedless      | 0.1                 | +        |
| H           | Schuyler             | 0.8                 | ++       |
|             | Muscat of Alexandria | 0.2                 | +        |
|             | Himrod Seedless      | 0.4                 | +        |

\*; ± ; very bad, + ; bad, ++ ; moderate, +++ ; good.

**Figure 1.** Multiple shooting from initial cultures in 3/4 MS medium containing, 0.1 mg/L NAA and 3.0 mg/L BA.**Table 3.** Organogenesis from shoot tip cultures of grapes at the different combinations of NAA and BA, alone or in combination, with or without adenine sulfate.

| Growth regulator (mg/L) |     |     | No. of shoots |     |     | Shoot length(mm) |      |      | No. of leaves |      |      | No. of nodes |     |      |
|-------------------------|-----|-----|---------------|-----|-----|------------------|------|------|---------------|------|------|--------------|-----|------|
| AdSO <sub>4</sub>       | NAA | BA  | Sc            | MA  | HS  | Sc               | MA   | HS   | Sc            | MA   | HS   | Sc           | MA  | HS   |
| 0.0                     | 0.0 | 3.0 | 1.7           | 0.6 | 1.3 | 45.0             | 33.0 | 7.0  | 16.0          | 5.8  | 14.5 | 8.5          | 5.5 | 12.5 |
| 0.0                     | 0.0 | 4.0 | -             | -   | -   | -                | -    | -    | -             | -    | -    | -            | -   | -    |
| 0.0                     | 0.0 | 5.0 | -             | -   | -   | -                | -    | -    | -             | -    | -    | -            | -   | -    |
| 0.0                     | 0.1 | 3.0 | 1.8           | 0.3 | 1.3 | 40.0             | 8.8  | 66.0 | 20.0          | 0.8  | 16.0 | 15.0         | 0.8 | 12.5 |
| 0.0                     | 0.1 | 4.0 | -             | -   | -   | -                | -    | -    | -             | -    | -    | -            | -   | -    |
| 0.0                     | 0.1 | 5.0 | -             | -   | -   | -                | -    | -    | -             | -    | -    | -            | -   | -    |
| 0.0                     | 1.0 | 3.0 | 0.8           | -   | -   | 3.5              | 36.0 | -    | 4.0           | 11.0 | 3.0  | 10.0         | -   | 3.5  |
| 0.0                     | 1.0 | 4.0 | -             | -   | -   | -                | -    | -    | -             | -    | -    | -            | -   | -    |
| 0.0                     | 1.0 | 5.0 | -             | -   | -   | -                | -    | -    | -             | -    | -    | -            | -   | -    |
| 80.0                    | 0.0 | 3.0 | 1.1           | -   | 0.5 | 26.0             | -    | 48.0 | 12.0          | -    | 5.5  | 10.5         | -   | 5.5  |
| 80.0                    | 0.0 | 4.0 | -             | -   | 3.0 | -                | -    | 33.5 | -             | -    | 5.0  | -            | -   | 5.5  |
| 80.0                    | 0.0 | 5.0 | -             | -   | -   | -                | -    | -    | -             | -    | -    | -            | -   | -    |
| 80.0                    | 0.1 | 3.0 | 1.7           | 0.2 | 0.8 | 83.0             | 47.5 | 73.0 | 11.0          | 4.5  | 18.5 | 10.0         | 3.5 | 18.0 |
| 80.0                    | 0.1 | 4.0 | -             | -   | 0.6 | -                | -    | 31.3 | -             | -    | 6.0  | -            | -   | 6.0  |
| 80.0                    | 0.1 | 5.0 | -             | -   | -   | -                | -    | -    | -             | -    | -    | -            | -   | -    |
| 80.0                    | 1.0 | 3.0 | 0.6           | -   | 0.3 | 67.0             | -    | 38.8 | 9.0           | -    | 3.5  | 8.5          | -   | 5.0  |
| 80.0                    | 1.0 | 4.0 | 0.4           | -   | -   | 47.5             | -    | -    | 3.0           | -    | -    | 4.0          | -   | -    |
| 80.0                    | 1.0 | 5.0 | -             | -   | -   | -                | -    | -    | -             | -    | -    | -            | -   | -    |

Sc; Schuyler, MA; Muscat of Alexandria, HS; Himrod Seedles.

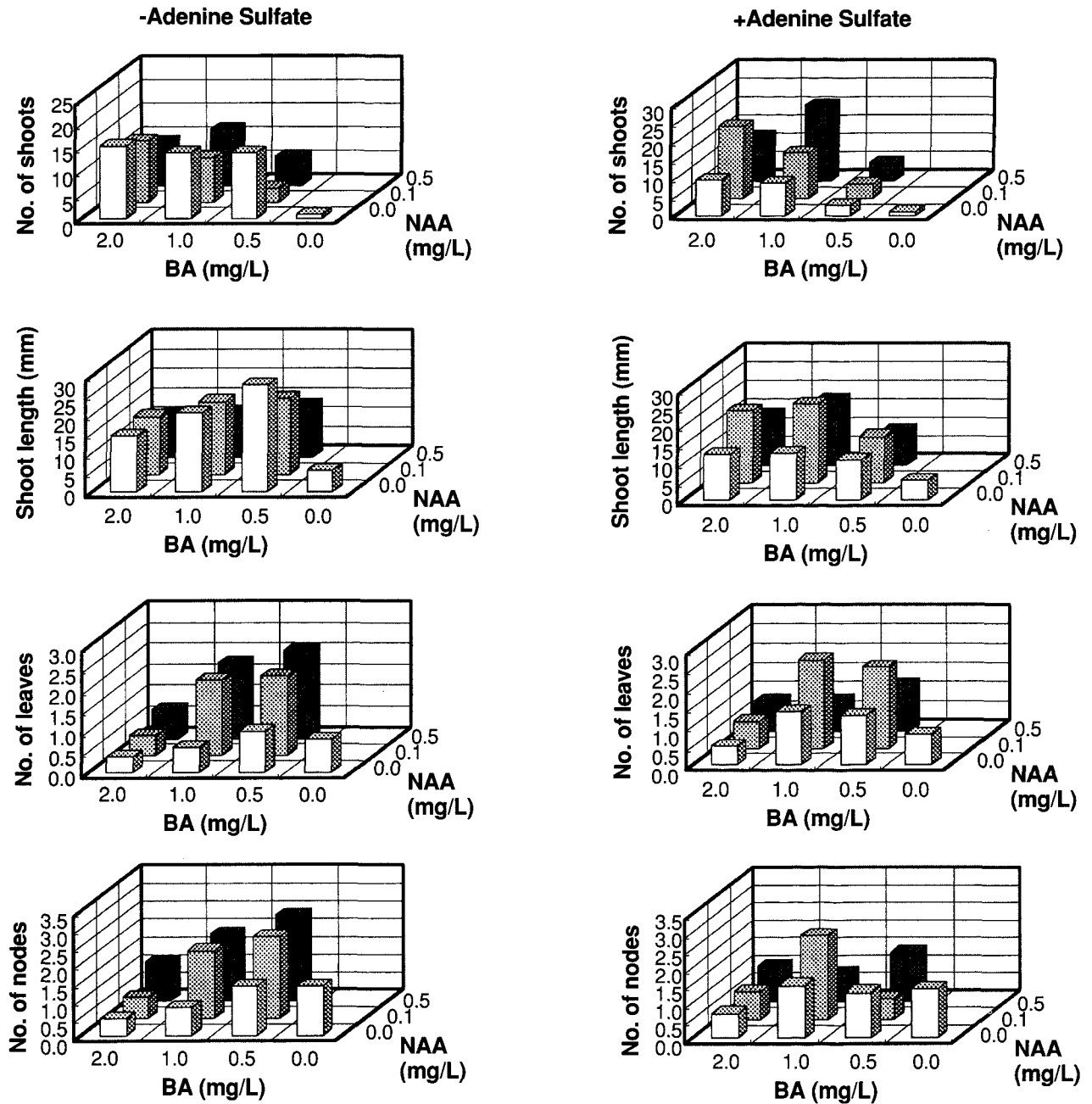


Figure 2. The growth of shoots from meristemoid-like structure of *V. labruscana* cv. "Schuyler" in 3/4 strength MS medium with various PGRs.

와 마디 수는 NAA와 BA를 0.5 mg/L로 혼합한 배지에서 가장 양호하였으며, 기타 배지에서는 대조구보다도 감소하였다. 이상의 결과로 보아 신초 수와 초장은 BA 1.0 mg/L와 NAA 0.1 mg/L에서, 엽 수와 마디 수는 BA 0.5 mg/L와 NAA 0.5 mg/L에서 양호하였다. NAA와 BA 혼용배지에 AdSO<sub>4</sub> 80 mg/L를 첨가한 배지에서 'Himrod Seedless'(Figure 4, right)의 신초 수는 BA를 2.0 mg/L에 NAA 0.1, 0.5 mg/L 혼용배지에서 많았으며, BA를 저농도로 첨가한 배지에서는 감소하였다. 초장은 BA 0.5 또는 1.0 mg/L에 NAA 0.1 mg/L 혼용배지에서 길게 신장하였다. 엽 수와 마디 수는 BA 0.5, 1.0 mg/L에 NAA 0.1 mg/L 혼용배지에서 양호하였으며 타

배지에서는 대조구보다 적었다. 이상의 결과로 보아 'Himrod Seedless'의 지상부의 신장에 적합한 배지는 AdSO<sub>4</sub> 80 mg/L, BA 0.5 또는 1.0 mg/L에 NAA 0. mg/L이었다.

이들의 결과를 종합해 보면 AdSO<sub>4</sub> 80 mg/L에 NAA와 BA를 혼용한 배지에서 다아체체로부터 유묘를 생산하기 위한 배지로 'Schuyler'와 'Himrod Seedless' 품종에서는 BA 1.0 mg/L에 NAA 0.1 또는 0.5 mg/L 혼용배지가, 'Muscat of Alexandria'는 BA 1.0 mg/L 배지에서 신초의 신장이 촉진적이었다 (Figure 5). 그리고 AdSO<sub>4</sub>의 무첨가와 첨가배지에서의 생육은 품종간 차이를 나타내었는데, AdSO<sub>4</sub>의 혼용배지에서 'Muscat of Alexandria'와 'Himrod Seedless'는 촉진

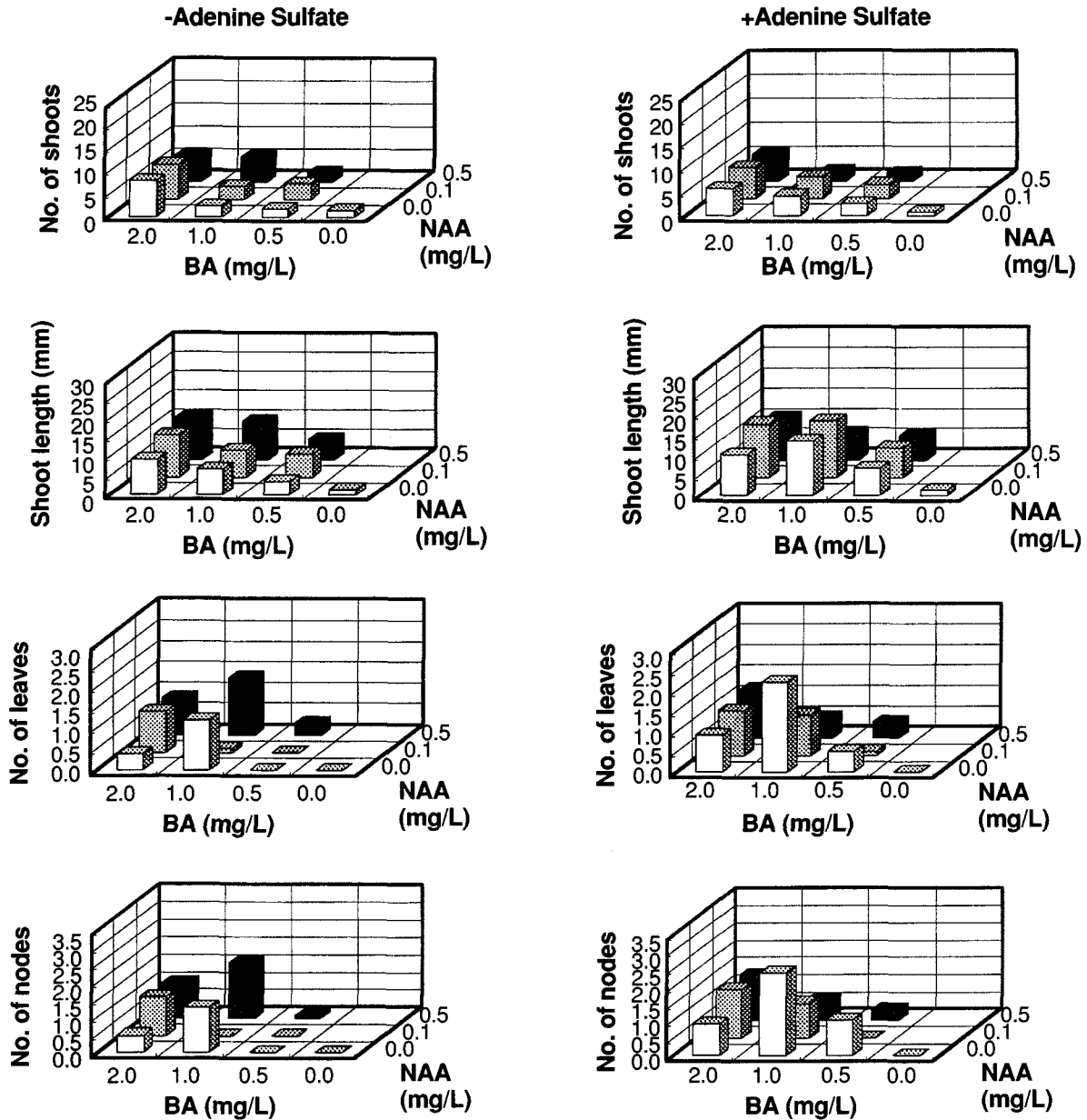


Figure 3. The growth of shoots from meristemoid-like structure of *V. labruscana* cv. "Muscat of Alexandria" in 3/4 strength MS medium with various PGRs.

적이었으나, 'Schuyler'는 무첨가 배지에서 촉진되었다.

### 고 찰

과수류의 조직배양시 살균제로는 초본식물과 마찬가지로 NaOCl (Gray and Benton 1991; Kuroi and Sawada 1985; Ochatt and Caso 1983)과 Ca(ClO)<sub>2</sub> (Lee and Weyzstein 1990)를 주로 사용해 왔고 간혹 ethyl alcohol (Sanjose et al. 1984), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Kim and Park 1990) 등이 살균 보조제로서 사용되어 왔으며, 농도는 0.5~6%이었고, 시간은 5~30분이었으며, 과수류의 종류에 따라 1단계 살균방법 또는 2~3단계 살

균방법을 사용하였으며, 특히 단감의 경우는 ethanol 70%, NaOCl 2%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 2%를 사용하여 3단계로 살균하였다 (Kim and Park 1990). 본 실험에서는 Wilson액으로 5분간 살균하였을 때 최고 85%까지 생존하였는데 공시품종간 차이가 심하였다. 이와 같이 과수류의 종류에 따라 살균제의 종류, 살균 농도 및 살균시간에 차이가 있으므로 대상식물에 따른 살균제 및 살균시간 등이 충분히 고려되어야 할 것으로 생각된다.

기본배지의 경우 MS배지를 주로 사용하였으며 MS배지의 무기염 농도는 공시재료에 따라 차이가 있었는데, 전량을 사용했거나, 1/2로 감량한 배지 (Fukui et al. 1990) 질산태질소 원만 1/10으로 낮추어서 사용한 배지도 있다 (Kuroi and Sawada 1985). 성장조절물질은 초기, 증식, 신초신장, 발근 등

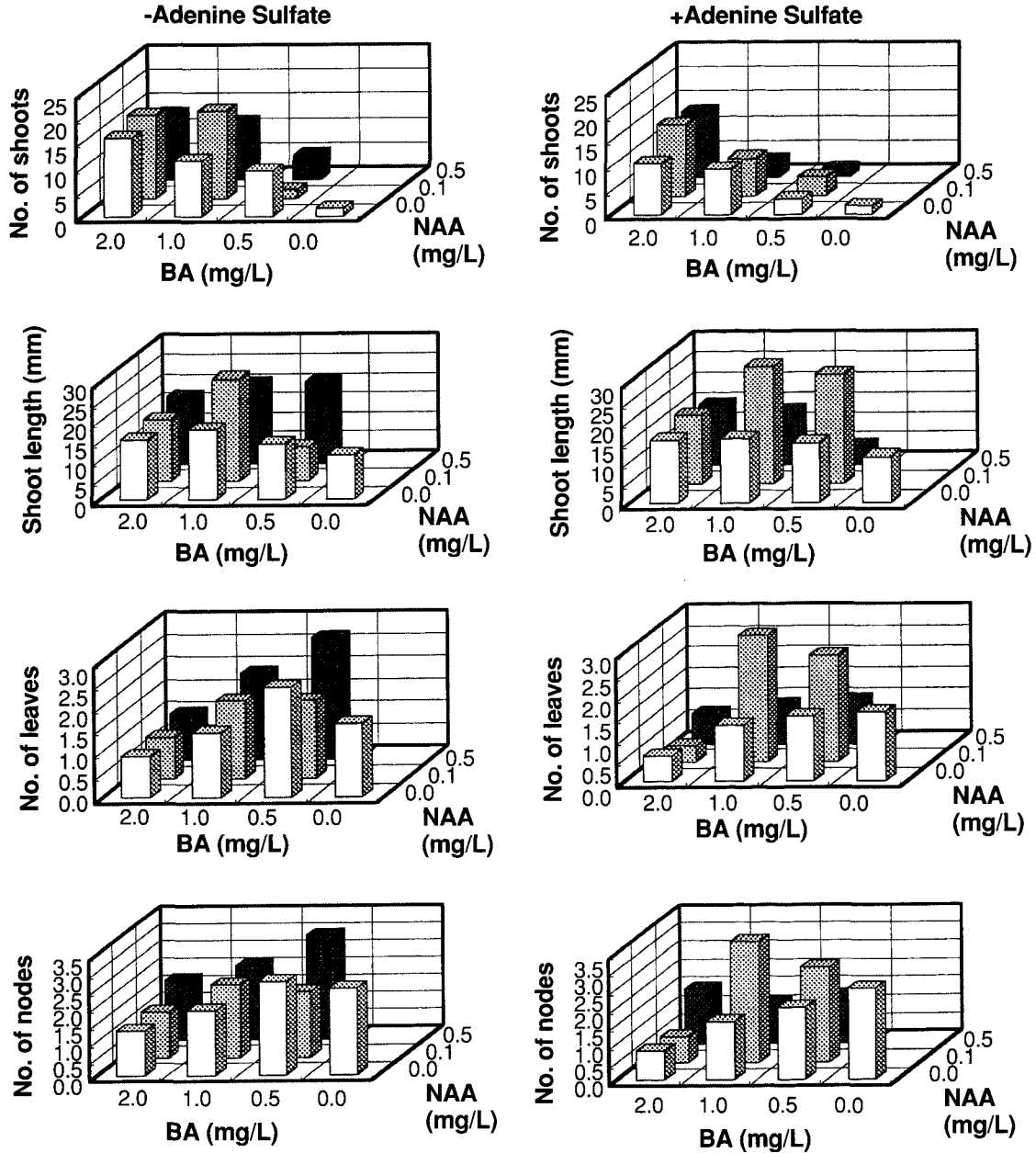


Figure 4. The growth of shoots from meristemoid-like structure of *V. labruscana* cv. "Himrod seedless" in 3/4 strength MS medium with various PGRs.

배양단계별로 종류와 농도 (Sadamatsu 1987)를 달리하였는데 초기배양시는 고농도의 cytokinin류와 저농도의 auxin류를 주로 사용하였으며 (Choi et al. 1992; Lane and Mcdogald 1982), 신초신장 및 발근유도시는 저농도의 cytokinin류와 auxin류가 주로 첨가 (Sasahara et al. 1981; Takayama 1986)되었는데 특히 발근시는 저농도의 auxin류, 혹은 생장조절물질을 첨가하지 않은 배지를 사용하였다 (Kuroi and Sawada 1985). 이와 같은 생장조절물질의 적응정도는 배양 식물의 종류에 따라 차이를 나타내었으며, 재분화율, 증식정도, 생장능력, 즉 배양효율은 상당한 차이를 나타내었다. 특히 포도의 경우 배양단계별 무기염의 농도는 차이가 없었으나 생장조절물질의 조성에는 현저한 차이가 있었고 기본배지로서 MS배지



Figure 5. Elongated shoots in 3/4 MS medium containing 0.1 mg/L NAA, 1.0 mg/L BA and 80 mg/L AdSO<sub>4</sub>.

를 주로 사용하고 있지만 무기염의 농도를 감량한 배지를 사용하여야만 배양효율을 높일 수 있을 것으로 판단되었다. 본 실험에서도 MS배지의 무기염 농도를 3/4로 감량한 배지를 기본배지로 하여 배양단계별로 적절한 종류와 농도의 생장조절물질을 공급해 주어야만 배양효율을 높일 수 있었는데 이 결과는 포도를 재료로 실험한 여타결과 (Sadamatsu 1989; Sasahara et al. 1981; Takayama 1986)와 일치하였으나 생장조절물질의 적정농도와 종류에는 다소 차이가 있었는데 이는 실험에 이용된 재료의 배치적응성의 차이인 것으로 추정된다.

## 적 요

우리 나라 주요 과수류중 하나인 포도의 경정배양을 통하여 증식재료로 이용할 수 있는 다아체의 형성 및 이들의 신장에 미치는 생장조절물질의 영향에 관해 검토하였다. 경정배양 시 재료의 살균은 5월 초순에 생육이 왕성한 신초를 채취하여 NaOCl 1% 용액에 10분간 살균한 것에 비해 Wilson액에 5분간 침지 살균했을 때 생존율이 높았다. 다아체의 증식은 3/4 MS 기본배지에 NAA 0.1 mg/L와 BA 3.0 mg/L에서 良好하였다. 다아체로부터 신초의 신장은 3/4 MS배지에 AdSO<sub>4</sub> 80 mg/L, NAA 0.1 mg/L와 BA를 1.0~2.0 mg/L 혼합한 배지에서 양호하였으며 품종간 생장조절물질의 적정농도 차이는 거의 없었다.

## 인용문헌

- Choi IM, Hyung NI, Kim SB (1992) Effects of medium compositions and on shoot multiplication and rooting in shoot tip cultures of 'Kyoho' and 'Campbell Early' grapes. *Kor J Plant Tiss Cult* 19:59-66
- Choi SY, Oh JY, Kim JS, Park DM, Lim JH, Lee SB, Choi DY, Kim GH, Kim YH (1988) Studies on the meristem culture in grapevine (*Vitis*). *J Kor Soc Hort. Abstracts* 6(2):164-165
- Chung JD (1999) *Advanced Plant Biotechnology* (1). Kyungpook National University Publisher:144-170
- Engelbrecht DJ, Human R (1989) Absence of grapevine virus a correlated with elimination of leafroll disease. *ICVG*:159-163
- Fukui H, Nishimoto K, Nakamura M (1990) Varietal differences in shoot tip culture of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.). *J Jap Soc Hort Sci* 59(1):51-57
- Gray DJ, Benton CM (1991) *In vitro* micropropagation and plant establishment of muscadine grape cultivars (*Vitis rotundifolia*). *Plant Cell, Tiss Organ Cult* 27:7-14
- Kim JH, Park YG (1990) Mass propagation of japanese persimmon by *in vitro* culture. *Kor J plant Tiss Cult* 17(1):9-15
- Kuroi I, Sawada Y (1985) Appropriate concentration of a-naphthaleneacetic acid and 6-benzylaminopurine for the apex culture of axillary buds of 'Kyoho' vines. *J Jap Soc Hort Sci* 58(1):1-8
- Lane WD, Mcdougald JM (1982) Shoot tissue culture of apple:Comparative response of five cultivars to cytokinin and auxin. *Can J Plant Sci* 62:689-694
- Lee N, Weyzstein HY (1990) *In vitro* propagation of 'Muscadine' Grape by axillary shoot proliferation. *J Amer Soc Hort Sci* 115(2):324-329
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol.* 15:473-497
- Ochatt SJ, Caso OH (1983) *In vitro* meristem culture of 'M.4' apple (*Malus pumila* Mill.). I. Optimal nutrient medium. *Plant Cell, Tiss Org Cult* 2:39-48
- Park HB, Choi EG, Park BM (1993) Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature ovule of *Vitis flexuosa* Thunberg. *Kor J Plant Tiss Cult* 20(3):109-112
- Sadamatsu MO (1987) Virus free stock production by shoot-tip culture of grape. *Plant production* 41(6):418-422
- Sadamatsu MO (1989) Virus free stock production of grape. 'Gyoho' Biohort 1:109-113
- Sanjose MC, Vieitez AM, Vieitez E (1984) *In vitro* plantlet regeneration from adventitious buds of chestnut. *J Hort Sci* 59(3):359-365
- Sasahara H, Tada K, Iri M, Takezawa T, Tazaki M (1981) Regeneration of plantlets by meristem tip culture for virus free grapevine. *J Jap Soc Hort Sci* 50(2):169-175
- Takayama S (1986) *Biotechnology Plactical Use for Vegetable, Flower, Fruit*. Agriculture Book Co. 132-139. Tokyo

(접수일자 2000년 11월 11일)