

아미노산, polyamine 및 flavonoid 첨가가 복숭아 화분의 저온 발아에 미치는 영향

천병덕¹ · 최인수 · 강점순*

¹안성시 농업기술센터, 부산대학교 생명자원과학부

Received March 2, 2006 / Accepted April 6, 2006

Effect of Amino Acid, Polyamine, and Flavonoid on the Pollen Germination of Peach (*Prunus persica* SIEB.) under Low Temperature Conditions. Beong-Duck Cheon¹, In-Soo Choi and Jum-Soon Kang*.

¹Ansong City Office of Agricultural Development and Technology Center, Ansong, 456-870, Korea, School of Bio-Resources, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea – The objective of this study was focused on the enhancement of pollen germination frequency in peach (*Prunus persica* SIEB) under low temperature conditions. The effect of factors such as amino acid, polyamine, and flavonoid on the pollen germination was investigated, and the results are summarized as follows. When amino acid, polyamine or flavonoid was added to the germination medium at 10°C, pollen germination frequency was strongly promoted. Optimum concentration of each supplement for pollen germination enhancement was 100 mg · L⁻¹ H₃BO₃, 10 mM asparagine, 10 mM glutamine, 100 mM spermine, 1000 μM putrescine, and 1.0 μM kaempferol. The best combination of factors in pollen germination was 100 mg · L⁻¹ H₃BO₃ + 10 mM asparagine, followed by 100 mg · L⁻¹ H₃BO₃ + 10 mM glutamine, 100 mg · L⁻¹ H₃BO₃ + 200 mM spermine, and 10 mM asparagine. These combinations promoted pollen germination by 18% in 'Nagasawa-Hakuho', and 19% in 'Shuho' compared to their germination percentage on the basal medium.

Key words – Asparagine, glutamine, H₃BO₃, pollen germination, *Prunus persica*, putrescine, spermine

서 론

우리나라의 복숭아 시설재배는 조기출하에 따른 고소득이 보장된다고 알려지면서 1990년대 후반부터 2000년대 초반 들어 축성재배 작형으로 재배면적이 20 ha 정도로 늘어났으며, 또한 소득지수가 노지보다 437~466% 수준으로 높아 기존 비닐하우스 시설의 대체작목으로 주목받고 있다[11]. 그러나 복숭아의 시설재배와 노지 재배에서의 문제점 가운데 하나가 개화기 때 저온으로 인하여 화분발아가 불량하여 결실율을 확보하기가 어렵다는 것이다[7]. 또한 개화기 전후에 병해 방지를 위해 살균제나 살충제 등 농약살포는 방화곤충의 감소를 초래하며[4,5,13] 압살 주두의 기형화 유발, 화분발아 장애 및 화분관 신장을 억제하여 수정율을 저하시키는 원인이 되고 있다[12]. 따라서 저온조건에서 화분발아율을 높일 수 있는 대책이 강구되어야만 충분한 결실율을 확보할 수 있다. 과수작물에서 육종이나 생식생리를 구명하기 위해서 화분을 채취하여 인공 발아시키는 연구와 방법이 발달되어 왔으며, 최근에는 화분의 실용적 가치가 재인식되면서 연구 분야도 생리 및 생화학적으로 조직화되어 학술적으로 상당히 진전되어 있다.

지금까지 다양한 작물에서 화분수명 연장[3,12], 배지 첨가 물질의 조건 확립[1,3,6,9,18], 화분발아 생리[2,6,8,10,15]에 집

중적인 연구가 이루어져 왔으나, 저온에서 복숭아 화분의 발아성을 증진시키고자 한 예는 없었다. 저온에서 복숭아의 화분발아율을 증진시키기 위해서는 품종적인 측면에서 발아율이 높은 품종을 선발하는 것과 화분발아를 촉진할 수 있는 물질[8,16]을 처리해주는 방안이 고려될 수 있다. 화분발아를 촉진하는 물질로는 sucrose, 무기염류, 호르몬류, 아미노산류, polyamine류, 기타 flavonol류 등이 그 대상이 된다[3,9,18].

본 연구에서는 우리나라 복숭아 재배에 있어서 가장 큰 문제점의 하나인 초봄 개화기의 저온에 의한 화분발아 불량과 이에 따른 수정장애를 극복하기 위해 실내에서 저온조건을 부여한 배지에 아미노산, polyamine, flavonoid를 첨가하여 화분발아율 증진 효과를 모색하여 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

공시 재료 및 실험방법

본 실험에 사용된 화분은 수원시 원예연구소 과수육종과 핵과류 포장에 재식되어 있는 '장택백봉'(Nagasawa Hakuho)과 '수봉'(Shuho) 복숭아 수체에서 4월 18일부터 4월 26일에 걸쳐 채취하여 사용하였다. 화분채취는 개화 직전의 꽃 봉우리를 채집하여 꽃 봉우리로부터 약을 이탈시킨 후 petridish (내경 12 cm)에 유산지를 깔고 약을 올려놓은 후 뚜껑을 반쯤 연 상태로 25°C 배양실에서 24시간 건조하여 개약시켰다. 개약 후 채취된 화분은 화분병에 담아 밀봉하여 실험에 사용

*Corresponding author

Tel : +82-55-350-5523, Fax : +82-55-350-5529

E-mail : kangjs@pusan.ac.kr

할 때까지 4℃ 냉장고에 보관하였다. 화분 배양배지로는 증류수에 sucrose 10%를 첨가하여 완전히 용해시킨 후 pH를 5.5로 조정 한 후 여기에 1%의 agar를 첨가한 것을 기본 배지로 하였으며, 완성된 배양액은 응고전 petridish(내경 5 cm)에 5 ml씩을 분주하여 배양액을 응고시킨 후 화분을 가는 붓으로 배지상에 고르게 살포하여 발아시험을 실시하였다.

화분발아 조사는 광학 현미경하에서 80배율로 검경하여 화분관의 길이가 화분의 직경 이상으로 신장한 것을 발아한 것으로 간주하였다. 발아율은 1시야 당 30±10립을 기준으로 10시야를 1반복으로 하고, 각 처리 당 3반복으로 하여 이들 반복들의 평균값을 백분율로 환산하여 발아율로 나타내었다.

아미노산과 polyamine의 첨가 효과

배지에 첨가된 아미노산과 polyamine이 저온에서 화분발아율에 미치는 영향을 조사하기 위해 기본배지(sucrose 10% + 1% agar, pH 5.5)를 끓인 후 배양액의 온도를 70~75℃까지 식힌 상태에서 3 종류의 아미노산(asparagine; 0, 0.5, 1.0, 5.0, 10 mM, glutamine; 0, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 mM, proline; 0, 0.2, 2.0, 5.0 mM)과 2종류 polyamine (spermine; 0, 10, 100, 500, 1,000 μM, putrescine; 0.50, 200, 500, 1000 μM)를 농도별로 배지에 첨가한 후 여기에 화분을 치상하여 이들 첨가물들이 화분발아에 미치는 효과를 조사하였다.

Flavonoid의 첨가 효과

Flavonol인 kaemferol의 처리수준을 0, 0.5, 1.0, 2.0 μM로 조정 한 후 기본 배지에 위의 방법으로 첨가하여 10℃의 저온에서 화분발아율을 조사하였다.

H₃BO₃, 아미노산, polyamine의 혼용 효과

H₃BO₃, 아미노산 및 polyamine을 이용하여 이들의 단독 처리와 혼용처리가 화분발아에 미치는 영향을 조사하였다.

결과 및 고찰

아미노산과 polyamine 첨가가 화분발아에 미치는 영향

아미노산의 첨가효과

복숭아 화분에는 asparagine과 glutamine, alanine, valine, leucines, proline등의 유리 아미노산과 asparatic acid, serine, glutamic acid 등의 유기산을 함유하고 있으므로 아미노산이 화분발아에 중요한 역할을 할 것으로 예측되어 asparagine, glutamine, proline 등을 화분발아 배지에 첨가하여 10℃의 저온에서 그 효과를 조사하였다(Table 1, 2, 3).

화분발아 배지에 asparagine 첨가농도가 높아질수록 화분발아율은 증진되었고 '장택백봉'과 '수봉' 모두 10 mM의 asparagine 처리구에서 화분 발아율이 대조구보다 13~18% 향

Table 1. Effect of asparagine on pollen germination after 4 hrs. incubation at 10℃

Asparagine conc. (mM)	Cultivar	
	Nagasawa Hakuho	Shuho
0	21.6 c [*]	16.0 c
0.5	28.3 b	22.3 bc
1.0	29.2 b	21.3 bc
5.0	33.9 ab	24.4 b
10.0	39.6 a	29.3 a

*Means in columns were separated by Duncan's multiple range test at P=0.05.

Table 2. Effect of glutamine on pollen germination after 4 hrs. incubation at 10℃

Glutamine conc. (mM)	Cultivar	
	Nagasawa Hakuho	Shuho
0	26.2 c [*]	14.9 d
0.5	26.5 c	21.5 c
1.0	27.4 c	23.1 b
5.0	30.2 b	24.0 b
10.0	34.0 a	28.3 a

*Means in columns were separated by Duncan's multiple range test at P=0.05.

Table 3. Effect of proline on pollen germination after 4 hrs. incubation at 10℃

Proline conc. (mM)	Cultivar	
	Nagasawa Hakuho	Shuho
0	22.2 a [*]	15.0 ab
0.2	24.3 a	16.7 a
2.0	19.3 b	14.0 b
5.0	7.4 c	4.5 c

*Means in columns were separated by Duncan's multiple range test at P=0.05.

상되었다(Table 1).

Glutamine도 화분발아를 촉진하였고, 본 실험의 상한 농도인 10 mM 수준으로 처리농도를 높이면 이에 비례하여 화분발아율도 향상되었다. Glutamine 첨가에 의한 화분발아율은 증진 효과는 '수봉'이 '장택백봉' 보다 뚜렷하였는데, 10 mM glutamine 처리구는 대조구보다 '수봉'은 13%, '장택백봉'은 7.8%의 화분발아율을 향상시켰다. 그러나 proline의 첨가는 두 품종 모두 0.2 mM에서 경미하게 화분발아가 촉진되었으나, 대조구에 비해 유의적인 차이는 인정되지 않았고, 첨

가능도가 높아지면 오히려 화분발아는 현저하게 감소되었다 (Table 3).

Proline은 종자번식 작물의 화분발아에 필요 성분이나 복숭아 화분발아에는 proline의 효과는 인정되지 않았다. 이는 작물에 따른 차이이거나, 또는 본 실험에 사용된 proline의 농도와 관련되었을 것으로 추측된다. 그러나 배나 사과보다 개화기가 빨라 저온 피해가 심각한 복숭아에서 glutamine 및 asparagine 등의 아미노산을 화분발아 배지에 첨가하면 화분발아를 촉진하여 결실을 증진에 유용하게 적용될 수 있을 것으로 기대된다.

Polyamine의 첨가 효과

폴리아민 화합물들은 노화를 억제하며, 화분의 발육촉진 및 세포의 수분결핍을 최소화하는 작용을 한다[18]. Table 4는 폴리아민류인 spermine과 putrescine을 화분발아 배지에 첨가하여 저온조건에서 화분발아를 증진 효과를 조사한 결과이다. Spermine을 첨가하면 '장택백봉', '수봉' 두 품종 모두 100 μM까지는 농도가 증가할수록 화분 발아율이 향상되었고, spermine 100 μM 첨가처리는 대조구에 비해 화분발아율이 '장택백봉'은 9.5%, '수봉'은 4.4% 향상되었다. 그러나 500 μM 이상의 농도에서는 오히려 화분발아를 저해하였다.

Putrescine은 첨가농도가 높을수록 화분발아율이 증가되었고, 본 실험에서의 상한 농도인 1000 μM 처리구에서 '장택백봉'은 28.3%, '수봉'은 20.5%의 화분발아율을 보여 대조구에 비해 각기 5.8%, 7.4% 발아증진 효과가 있었다(Table 5). Putrescine 첨가에 의한 저온에서 화분발아 증진 효과는 발아가 저조한 '수봉'에서 더욱 현저하였다.

Flavonoid류의 kaemferol이 화분발아에 미치는 영향

Flavonoid는 피자식물의 화분과 나자식물 등에 존재하며, 이핵성 화분의 성숙 소요일수를 단축시키는 물질이다[18]. Table 6은 flavonoid류가 복숭아의 화분발아에 미치는 효과를 구명하고자 kaemferol을 배지에 첨가하여 화분발아 반응을 검정한 결과이다. 두 품종 모두 1.0 μM까지 농도가 증가할수록 화분발아율이 향상되었으나, 그 이상의 농도에서는 화분발아율이 오히려 감소하는 경향이였다. 이는 저농도의 flavonoid가 화분발아에 효과적이었다는 Ylstra 등[18]의 보고와 유사한 결과였다(Table 6). Flavonoid가 화분발아를 촉진하는 기작은 명확하게 구명되지 않았으나, flavonoid가 화분관 신장의 촉진 호르몬인 auxin이 산화되거나 누출되는 것을 억제하여 화분관 신장을 촉진하는 것으로 해석된다.

H₃BO₃, 아미노산, polyamine의 혼용처리가 화분발아에 미치는 영향

저온에서 복숭아 화분발아력을 증진시킬 수 있는 최적모형을 설정하고자 단독적으로 화분발아 증진에 효과적이었던 H₃BO₃, 아미노산, 폴리아민 등의 적정 농도를 조합하여 최적

Table 4. Effect of spermine on pollen germination after 4 hrs. incubation at 10°C

Spermine conc. (μM)	Cultivar	
	Nagasawa Hakuho	Shuho
0	23.9 c*	16.3 c
10	28.2 b	18.3 b
100	33.4 a	20.7 a
500	4.2 d	2.4 d
1000	0.0 e	0.0 e

*Means in columns were separated by Duncan's multiple range test at P=0.05.

Table 5. Effect of putrescine on pollen germination after 4 hrs. incubation at 10°C

Putrescine conc. (μM)	Cultivar	
	Nagasawa Hakuho	Shuho
0	25.5 b*	13.1 c
50	25.9 b	16.8 b
200	27.2 b	17.1 b
500	27.9 ab	18.3 b
1000	28.3 a	20.5 a

*Means in columns were separated by Duncan's multiple range test at P=0.05.

Table 6. Effect of kaemferol on pollen germination after 4 hrs. incubation at 10°C

Kaemferol conc. (mM)	Cultivar	
	Nagasawa Hakuho	Shuho
0	27.7 c*	16.0 b
0.5	29.7 b	18.7 a
1.0	32.5 a	21.4 a
2.0	25.4 c	19.4 a

*Means in columns were separated by Duncan's multiple range test at P=0.05.

처리조건을 구명하고자 하였다(Table 7 및 8). H₃BO₃ 및 아미노산의 단독첨가 그리고 H₃BO₃ + 아미노산 혼용처리들은 대조구인 기본배지에 비해 화분 발아율을 크게 증진시켰다. 단독처리는 asparagine>H₃BO₃>glutamine 순으로 화분발아를 촉진하였다. 대체적으로 화분발아 증진에는 H₃BO₃ + asparagine 및 H₃BO₃ + glutamine 혼용처리가 이를 단용첨가한 것보다 좋았다. 이중 H₃BO₃ + asparagine 혼용처리가 '장택백봉'과 '수봉'에서 각각 43.5%(대조구 대비 18% 증진)와 33.3%(대조구 대비 19% 증진)의 발아율을 보여 복숭아 화분발아의 최적조건이었다.

H₃BO₃, glutamine 및 asparagine의 단용처리들도 화분발

Table 7. Effect of the H₃BO₃ and amino acid combination on pollen germination of two peach cultivars 'Nagasawa Hakuho' and 'Shuho' after 4 hrs. incubation at 10°C

Medium*	Cultivar	
	Nagasawa Hakuho	Shuho
Control	25.4 f**	13.9 d
H ₃ BO ₃ (B)	34.8 d	29.4 bc
Glutamine(G)	32.7 e	28.2 c
Asparagine(A)	39.0 b	31.6 ab
B + A	43.5 a	33.3 a
B + G	37.1 c	30.6 c

*Treatment: Control, Basal medium; 100 mg · L⁻¹ H₃BO₃; 10 mM Glutamine; 10 mM Asparagine; B + A (100 mg · L⁻¹ H₃BO₃ + 10 mM Asparagine); B + G (100 mg · L⁻¹ H₃BO₃ + 10 mM Glutamine).

**Means in columns were separated by Duncan's multiple range test at P=0.05.

Table 8. Effect of H₃BO₃ and polyamine combination on pollen germination of two peach cultivars 'Nagasawa Hakuho' and 'Shuho' after 4 hrs. incubation at 10°C

Medium*	Cultivar	
	Nagasawa Hakuho	Shuho
Control	21.5 b**	16.7 d
H ₃ BO ₃ (B)	30.0 a	26.3 c
Spermine(S)	26.1 a	23.1 c
B + P	28.4 a	23.9 c
B + S	32.3 a	34.4 a
B + S + P	31.8 a	29.6 b

*Control was of basal medium conditioned 1% agar, 10% sucrose, pH 5.5. Other treatments were those of added to basal medium separately with follows: 100 mg · L⁻¹ H₃BO₃; 200 μM Spermine; B + P (100 mg · L⁻¹ H₃BO₃ + 1000 μM Putrescine); B + S (100 mg · L⁻¹ H₃BO₃ + 200 μM Spermine); B + S + P (100 mg · L⁻¹ H₃BO₃ + 200 μM Spermine + 1000 μM Putrescine).

**Means in columns were separated by Duncan's multiple range test at P=0.05.

아에 효과적이거나 이들 물질을 혼용하면 발아촉진 효과를 상승시킬 수 있었다. 이 뿐만 아니라 식물성 호르몬제, 비타민류, 아미노산, 유기산, 무기물질 등을 첨가하면 화분발아를 촉진할 것으로 기대된다. 따라서 본 실험에서 얻어진 유용 결과들을 복숭아 재배의 영농현장에서 활용한다면 문제점으로 지적되어 온 저온에 의한 발아장애 문제를 극복하여 결실율을 향상시킬 수 있을 것으로 판단된다.

Table 8은 H₃BO₃와 폴리아민 두 종류를 조합하여 그 효과를 조사한 것이다. 단용, 혼용처리 모두 대조구에 비해 화분

발아율의 증진 효과가 현저하였다. 발아율이 높았던 순서는 H₃BO₃ + spermine > H₃BO₃ + spermine + putrescine > H₃BO₃의 순이었다. 화분발아 배지에 H₃BO₃ 및 폴리아민의 단독첨가와 혼용첨가 효과는 저온발아가 불량한 '수봉'이 '장택백봉'보다 높았다. 두 품종 모두 H₃BO₃ 및 폴리아민을 화분발아 배지에 첨가하면 저온조건에서 화분발아율 증진시켰지만 두 물질을 혼용함으로써 그 효과가 배가되었다.

화분발아율을 증진시킬 수 있는 H₃BO₃와 폴리아민 최적 조합은 100 mg · L⁻¹ H₃BO₃ + 200 μM spermine 이었다. 따라서 이러한 효과들이 포장실험에서도 증명된다면 복숭아의 수정불량 문제를 극복함과 동시에 착과율을 높여 수량의 증대를 기할 수 있는 효과적인 방안이 될 수 있을 것이다.

요 약

복숭아는 다른 과수에 비하여 개화기가 빨라 저온으로 인한 화분발아 장애로 결실율이 저하되고 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 저온에서 복숭아의 화분 발아를 증진시킬 수 있는 방법을 강구하고자 화분발아 배지에 아미노산, polyamine, flavonoid 등을 첨가하여 일련을 실험을 수행하였다. 저온에서 배지내 첨가물질로써 asparagine, glutamine, spermine, putrescine, kaemferol이 유효하였으며, 이들의 적정농도는 asparagine과 glutamine는 10 mM, spermine 100 mM, putrescine 1000 μM, kaemferol은 1.0 μM 이었다.

저온에서 발아율이 높았던 처리는 100 mg · L⁻¹ H₃BO₃ + 10 mM asparagine 혼용조합이었고, 다음이 100 mg · L⁻¹ H₃BO₃ + 10 mM glutamine 혼용조합, 100 mg · L⁻¹ H₃BO₃ + 200 μM spermine 혼용조합 순이었다. 기본배지에 치상된 '장택백봉'의 화분 발아율은 25.4%, '수봉' 13.9% 불과하였으나, 100 mg · L⁻¹ H₃BO₃ + 10 mM asparagine 첨가된 배지는 두 품종 모두 대조구보다 화분 발아율이 18~19% 증진되었다. 아미노산과 폴리아민 첨가에 의한 화분발아율 증진 효과는 '장택백봉' 보다는 '수봉'에서 더욱 현저하였다.

감사의 글

이 논문은 부산대학교 자유과제 학술연구비(2년) 지원에 의하여 연구되었음

참 고 문 헌

1. Ahn, M. S., J. H. Jo, S. R. Choi, H. C. Lim, D. C. Choi and Y. J. Park. 2003. Pollen germination of *Hemerocallis spp.* affected by media type and storage temperature. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* **21**, 359-361.
2. Birrenkott, B. A. and E. J. Stang. 1989. Pollination and pollen tube growth in relation to cranberry fruit development.

- J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **114**, 733-737.
3. Brewbaker, J. L. and B. H. Kwack. 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. *Amer. J. Bot.* **50**, 859-865.
 4. Bristow, P. R. and A. Y. Shawa. 1981. The influence of fungicides on pollen germination and yield of cranberry. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **106**, 290-292.
 5. Bristow, P. R. and G. E. Windom. 1987. Effect of selected fungicides, insecticides, and adjuvants on in vitro germination of in vitro germination of highbush blueberry pollen. *Plant Dis.* **71**, 326-328.
 6. Cho, H. M., Y. H. Kim and K. C. Ko. 1982. Studies on the pollen physiology of filberts (*Corylus spp.*). *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **23**, 32-42.
 7. Choi, Y. K. 1968. Studies on the storage peach and apricot pollen. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **4**, 9-14.
 8. Iwanami, Y. and Y. Yamada. 1984. Pollen. p.14-26.
 9. Kwack, B. H. 1965. On the action of Ca in pollen growth as influenced by interaction of the different Ca concentrations, acidity and temperature. *Kor. J. Bot.* **8**, 19-23.
 10. Kwack, B. H. 1968. On the pollen cytology of various horticultural plants in Korea. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **3**, 69-76.
 11. Lim, S. C., S. K. Kim, Y. O. Kim, C. K. Youn, B. A. Lee, T. Youn and T. S. Kim 2003. Effect of forcing culture system on blooming and fruit growth of peaches. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **44**, 70-75.
 12. Polito, V. S. and J. G. Luza. 1988. Longevity of pistachio pollen determined by in vitro germination. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **113**, 214-217.
 13. Shawa, A. Y. 1981. The influence of fungicides on pollen germination and yield of cranberry. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **106**, 290-292.
 14. Shim, K. K., B. K. Seo, D. C. Lee and S. H. Park. 1991. Identification of prunus species by pollen exine pattern. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* **32**, 52-59.
 15. Stauffer, C., R.M. Bentito Moreno and E. Heberle-Bors. 1991. Seed set after pollination with in vitro matured, isolated pollen of *Triticum aestivum*. *Theor. Appl. Genet.* **81**, 576-580.
 16. Vicente, O., R. M. Bentito Moreno and E. Heberle-Bors. 1991. Pollen cultures as a tool to study plant development. *Cell Biol. Rev.* **25**, 295-305.
 17. Wetzstein, H. Y. 1990. Stigmatic surface degeneration and inhibition of pollen germination with selected pesticidal sprays during receptivity in pecan. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **115**, 656-661.
 18. Ylstra, B., A. Touraev, R. M. Bentito Moreno, E. Stoger, A.J. Van Tunen, O. Vicente, J. N. M. Mol and E. Heberle-Bors. 1992. Flavonols stimulate development, germination, and tube growth of tobacco pollen. *Plant Physiol.* **100**, 902-907.