

황금배(*Pyrus pyrifolia* Nakai) 잎 조직으로부터 기내 신초 재분화

천재안 · 도경란 · 김세희 · 조강희 · 김현란 · 황해성 · 신일섭

In vitro shoot regeneration from leaf tissue of “Whangkeumbae” pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai)

Jae An Chun · Kyung Ran Do · Se Hee Kim · Kang-Hee Cho · Hyun Ran Kim · Hae Sung Hwang · Il Sheob Shin

Received: 9 November 2012 / Accepted: 27 November 2012
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract In order to establish an efficient adventitious shoot regeneration conditions from leaf explants for Asian pear ‘Whangkeumbae’, the effect of concentration and kinds of plant growth regulator and carbon source was investigated. Leaf explants of cultures grown on Murashige and Skoog (MS) medium containing 8 g/L plant agar were used. When the medium contained 0.25 mg/L thidiazuron (TDZ) and 0.3 mg/L indolebutyric acid (IBA), the adventitious shoot regeneration rate (ASRR) was greater as 61.1% than others treated and higher TDZ concentrations (2.5 and 5 mg/L) treatment significantly reduced the ASRR. As the effect of IBA and indoleacetic acid (IAA) concentration on the ASRR, 0.5 mg/L TDZ plus different concentration of IAA exhibited relatively high ASRR and 0.5 mg/L TDZ plus 0.3 mg/L IAA showed the highest ASRR of 76.7%. Also the effect of sucrose and sorbitol as carbon source on regeneration was examined. The highest ASRR and the most shoots per explants averaged 94.4% and 3.49 by treatment of 30 mg/L sorbitol, respectably. Sorbitol is considered better carbon source than sucrose for shoot regeneration of ‘Whangkeumbae’ pear.

서론

배는 포도, 사과, 복숭아와 같이 주요 온대 과수로써 유럽과 미국에서 재배되는 서양배(*Pyrus communis*)와 한국,

일본, 중국 등에서 재배되는 동양배(*Pyrus pyrifolia*) 두 종류로 크게 나누어진다. ‘황금배’는 ‘신고’와 ‘이십세기’를 교배하여 1984년 최종 선발된 녹황색 품종으로 2007년 국내에서 384 ha의 재배면적을 차지한 대표적 품종이다. 전통적인 배 품종개발은 교배 육종방법이 주로 이용되어 왔으나 개화결실에 이르기까지 많은 시간이 요구되는 노동 집약적 작업이며 다양한 형질이 집적되어 있어 목표 형질을 보유한 개체를 얻기 위해서는 많은 수의 교배실생 개체를 관리해야 한다. 따라서 효율적인 품종개발을 위해 목적 유전자를 기존 우량품종에 직접 도입 할 수 있는 생명공학 기술을 이용한 유전자 전환은 전통육종의 대안으로 품종 개량에 있어서 커다란 잠재력을 가지고 있다 (Kim and Song 2010). 그러나 일반적으로 과수는 재분화가 어렵고 특히 배는 관련 연구 결과가 적으며, *Agrobacterium* 을 이용한 형질전환의 경우 형질전환체 재분화율은 배의 유전자형에 따라 차이가 있으며 전체적으로 2% 이하로 낮다(Bell et al. 2012). 따라서, 동양배 형질전환체를 얻기 위해서는 재분화 조건의 확립이 선행되어야 한다. 재분화 효율은 절편체의 종류와 유전형질, 성장 호르몬, 배지의 염류의 조성, 광 등과 같은 요인에 의해 많은 영향을 받으며(Garcia et al. 2011; Zhang et al. 2011; Hennayake et al. 2003), 또한 지지체와 항생제 같은 요인들도 재분화에 영향을 미친다(Chevreau et al. 1997). 신초 재분화에 있어서 절편체의 선택은 중요한 요소 중 하나이며, 사과에서는 원형질체(Saito and Suzuki. 1999), 성장점으로부터 유도된 callus(Caboni et al. 2000), 자엽과 배축(Keulemans and de Witte 1994), 엽 절편(Predieri and Fasolo 1989) 등을 배양재료로 재분화에 대한 연구가 보고되어 있으며, 배에서는 원형질체 유래 callus(Ochatt and Power 1988), 경정분열조직(Lane 1979), 엽 절편(Chevreau et al. 1979) 등을 재료로 하여 재분화에 대한 연구가 보고되어 있다. 배의 경우 주

J. A. Chun · K. R. Do · S. H. Kim · K.-H. Cho · H. R. Kim · H. S. Hwang · I. S. Shin (✉)
농촌진흥청 국립원예특작과학원
(National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA,
Suwon 440-706, Korea)
e-mail: shinis3@korea.kr

로 엽 절편체로부터 식물체 재분화에 관한 연구가 보고되어 있으며(Leblay et al. 1991; Hennayake et al. 2003; Lee et al. 2002; Chevreau et al. 1989), 식물체 정단부 끝 부분에 있는 어린 잎이 아래 부분에 있는 오래된 잎 보다 재분화에 효율적이라 보고되어 있다(Chevreau and Leblay 1993).

현재 배 재분화에 대한 연구는 대부분 서양배에 대해서 많이 보고되어 있으며 동양배의 경우 재분화에 대한 연구가 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 황금배의 잎 절편체의 재분화에 영향을 미치는 여러 요인들 중 식물생장호르몬으로써 thidiazuron(TDZ), indolebutyric acid (IBA), indoleacetic acid(IAA) 그리고 탄소원, 삼투압제로써 sucrose와 sorbitol의 적정 농도를 구명하였다.

재료 및 방법

식물재료

본 연구에서는 농촌진흥청 국립원예특작과학원에서 보존중인 '황금배'를 기내 도입하여, 유지 증식시킨 식물체를 시험재료로 사용하였다. 1년생 휴면지를 채취하여 4°C에서 6주간 저온 처리를 하여 휴면을 타파시킨 후 신초를 유도하고, 유도된 신초를 3 cm 정도의 크기로 잘라 증성세제로 세척한 다음 1.0%의 sodium hypochlorite 용액에서 1분간 3회 반복하여 살균하고 멸균수로 3번 세척하였다. 멸균된 신초는 BA 1 mg/L, IBA 0.1 mg/L, sucrose 30 g/L, plant agar 8 g/L를 첨가하고 pH를 5.8로 조정하여 Murashige & Skoog(MS, 1962) 배지에 배양하여 신초의 증식을 유도하였다. 신초 배양은 16시간 광 처리와 8시간 암 처리 조건에서 2,000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$ 의 광도와 배양온도 25±2°C을 유지하였다. 신초는 8주 간격으로 1~3 cm 정도 길이의 신초들을 BA 1 mg/L, IBA 0.1 mg/L, sucrose 30 g/L, plant agar 8 g/L를 첨가하고 pH를 5.8로 조정하여 MS 기본배지에 계대 배양하였다.

식물체의 재분화에 미치는 생장조절물질의 영향

생장조절물질에 의한 식물체의 재분화율을 조사하기 위하여 먼저 cytokinin인 TDZ 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5 mg/L과 auxin인 IBA 0.3 mg/L 농도로 혼용 처리한 MS 기본배지를 사용하였다. 기내 도입된 식물체를 증식배지로 옮겨 3주 후부터 정단부에서 1~3번째의 전개된 잎을 채취하였으며 각각의 엽 절편체는 엽병을 제거한 후 사각으로 잘라내어 25 mL의 재분화 배지가 포함되어 있는 페트리 디쉬에 기공을 위로 향하게 하여 처리구당 30개씩 3반복으로 치상하였다. 그 다음 암상태에서 6주간 배양 후 16시간 광 주기로 옮겨 2주간 배양하고 각 처리당 신초의

재분화율을 조사하였다.

Auxin의 종류와 농도에 의한 재분화율을 조사하기 위해 선발된 TDZ의 농도를 0.25, 0.5 mg/L로 고정하고 auxin인 IAA와 IBA 농도를 각각 0.1, 0.3, 0.5 mg/L으로 혼용 처리한 MS 기본배지에 엽 절편체를 치상하였으며 선행된 실험과 동일한 방법으로 배양하여 신초의 재분화율을 조사하였다.

식물체의 재분화에 미치는 Sucrose와 sorbitol의 영향

탄소원의 종류와 농도에 의한 재분화율을 조사하기 위해 선발된 생장조절물질 TDZ 0.5 mg/L와 IAA 0.3 mg/L을 혼용 처리한 MS 기본 배지에 sucrose와 sorbitol을 각각 15, 30 g/L 농도로 하여 엽 절편체를 치상 하였으며 배양방법과 조건은 상기한 실험과 동일하였다.

발근

신초로부터 뿌리를 유도하기 위해 IBA 0.3 mg/L, sucrose 15 g/L, plant agar 8 g/L를 첨가하고 pH를 5.8로 조정하여 1/2 MS Macro-Micro 배지 + Vitamins(Thiamin HCl 0.1 mg/L, Glycine 2 mg/L, Nicotinic acid 0.5 mg/L, Pyridoxin HCl 0.5 mg/L, Myo-inositol 200 mg/L)에 옮겨 발근을 유도하였다.

결과 및 고찰

신초 재분화를 위한 TDZ의 효과

TDZ는 식물조직배양에 있어서 신초의 증식과 재분화에 효과적인 cytokinin으로 기내번식을 위해 널리 이용되고 있다(Huetteman and Preece 1993). 황금배의 신초 재분화에 적합한 TDZ 농도를 찾기 위해 증식배지에서 3주간 배양한 식물체의 정단부 끝 부분 3개의 자엽 절편체를 채취하여 IBA 0.3 mg/L를 공통으로 첨가하고 TDZ를 다양한 농도로 처리하였다. 배양 2주 후 부터 절편체의 절단면 조직이 조금씩 부풀어 오르기 시작하여 약간의 callus가 유도되었으며, 3주 후에는 몇 개의 절편체에서 신초가 분화되기 시작하였다. 배양 4주일 후부터는 여러 절편체에서 신초가 분화되기 시작하였으며 신초의 재분화는 대부분 절편체의 절단면에서 유도되었고 배양 기간이 길어짐에 따라 신초의 수가 증가하였다(Fig. 1). TDZ 농도에 따른 식물체 재분화는 TDZ 0.1 mg/L의 낮은 농도에서는 32.2%의 낮은 재분화율을 보인 반면, TDZ 0.25 mg/L에서 61.1%의 가장 높은 재분화율을 보였다(Table 1). 조직 절편체당 신초의 재분화 수는 TDZ 0.25 mg/L 처리구에서 평균 2.3개로 가장 높았고, TDZ 0.5 mg/L에서는 TDZ 0.25

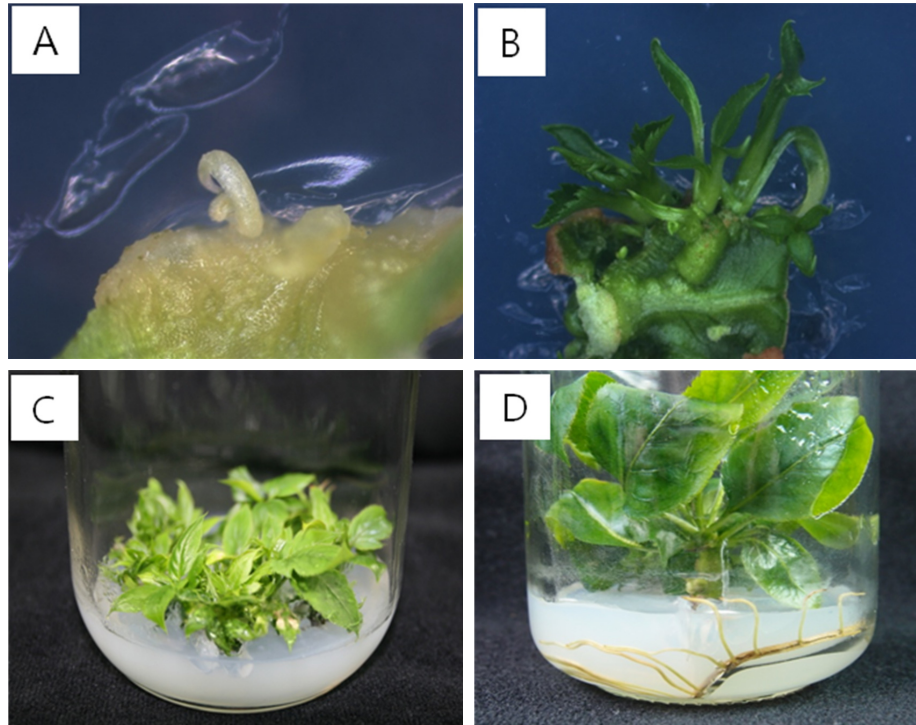


Fig. 1 Adventitious shoots from leaf segment of ‘Whangkeumbae’ on shoot induction medium. A. 3 weeks of culture; B. 8 weeks of culture; C. proliferating on the MS medium supplemented with BA 1 mg/L + IBA 0.1 mg/L; D. rooting on the MS medium supplemented with IBA 0.3 mg/L

Table 1 Effect of TDZ in combination with 0.3 mg/L IBA on shoot regeneration from leaf explants of ‘Whangkeumbae’ pear

TDZ (mg/L)	Formation of explants with shoots (%)	Mean No. of shoot per explants	Callus formation (%)
0.1	32.2±1.9 ^z	1.6±0.2	98.9
0.25	61.1±0.2	2.3±0.2	100
0.5	56.7±2.1	2.1±0.2	100
1.0	48.9±6.9	2.1±0.5	96.7
2.5	6.7±3.3	1.1±0.2	100
5.0	1.1±1.9	0.3±0.6	97.8

^zStandard error

mg/L와 재분화율과 신초의 재분화 수에 있어서 크게 차이가 나지는 않았지만 TDZ 1 mg/L에서 재분화율이 48.9%로 감소하다가 TDZ 2.5 mg/L에서 재분화율이 6.7%로 현저히 낮아졌으며 TDZ 5 mg/L에서는 일부 재분화가 일어난 것 외에는 거의 재분화가 일어나지 않아 고농도의 TDZ는 신초 재분화를 저해하였다.

본 연구와 마찬가지로 배 재분화에 TDZ가 효과적이라는 연구결과가 보고되어 있으며 서양배의 경우 ‘Seckel’과 ‘Louise’의 재분화에 있어서 3 μM의 TDZ 농도에서 가장 높은 재분화율을 보였으며(Chevreau et al. 1989), ‘Conference’, ‘Passe-Crassane’, ‘Williams’, ‘Comice’의 경우 5 μM의 TDZ 농도에서 가장 높은 재분화율을 보였다(Leblay et al. 1991). 동양배의 재분화에 대한 보고로는 ‘풍수’와 ‘행수’는 TDZ 5 mg/L의 농도에서 가장 높은 재분화율을 보였으며(Hennayake

et al. 2003) ‘신고’의 경우 TDZ 1.0 mg/L에서 가장 높은 재분화율을 보인다고 하였다(Lee et al. 2002). 본 연구에서 ‘황금배’는 TDZ 0.25 mg/L 농도에서 가장 높은 재분화율을 보였는데 이러한 차이는 유전자형에 따라 서로 다른 최적 TDZ의 농도를 가지는 것으로 보인다(Bell et al. 2012; Lane et al. 1998). callus 형성은 전체 처리구에서 96.7%~100%로 높았으며 다량의 신초가 발생한 절편과 몇 개의 절편체에서 유리화 같은 비정상적인 신초가 발생하였으나, BA 1 mg/L와 IBA 0.1 mg/L이 첨가된 증식배지에 옮겨 배양한 결과, 정상적인 식물체로 성장하는 것이 관찰되었다. BA보다 TDZ가 식물체의 유리화 발생을 촉진시킨다는 보고가 있으며(Kadota and Niimi 2003; Caboni et al. 1999) 본 연구에서도 일부 절편체로부터 유도된 신초의 유리화는 신초의 재분화에 있어서 TDZ 처리에 기인한

것으로 보여진다.

Auxin 처리에 따른 식물체 재분화

선발된 TDZ 최적 농도에 적합한 auxin 종류와 농도를 조사하기 위하여 TDZ 농도를 0.25, 0.5 mg/L로 고정한 후 IBA, IAA 농도를 0.1, 0.3, 0.5 mg/L로 하여 배양한 결과, 재분화율에서 많은 차이를 보였다(Table 2). Auxin의 종류와 농도에 따른 신초 재분화율은 TDZ 0.25 mg/L + IAA 0.1 mg/L 처리구와 TDZ 0.5 mg/L + IBA 0.5 mg/L 처리구에서 33.3%로 가장 낮았으며 전체적으로 낮은 농도의 cytokinin과 낮은 농도의 auxin의 혼용처리, 그리고 높은 농도의 cytokinin과 높은 농도의 auxin의 혼용처리는 신초의 재분화에 있어서 효과적이지 않은 것으로 나타났다. TDZ와 IBA 혼용 처리구에서는 TDZ 0.25 mg/L + IBA 0.3 mg/L 처리구에서 58.9%의 가장 양호한 재분화율을 나타내었으며 TDZ 0.5 mg/L + IBA 0.3 mg/L 처리구에서도 유사한 재분화율을 보였다. TDZ와 IAA 혼용처리에서는 TDZ 0.5 mg/L + IAA 0.3 mg/L 처리구에서 76.7%의 가장 높은 재분화율을 나타내었으며 TDZ 0.5 mg/L와 IAA 혼용 처리구에서 다른 처리구에 비해 높은 신초 재분화율을 보여주었다. 식물 조직 배양에서 재분화는 배지의 종류와 배지에 첨가되는 호르몬 조성, 작물, 유전자형, 식물 절편체 등의 여러 가지 요소에 따라 영향을 받으며 auxin과 cytokinin의 내생 그리고 외생 비율이 재분화에 있어서 중요한 역할을 하고 있다(Bell 2003). Lee 등(2002)은 ‘신고’의 재분화에 IBA가 효과적인 auxin이라고 보고 하였으나 본 연구에서는 ‘황금배’의 경우 신초의 재분화에 IBA보다 IAA가

효과적인 auxin으로 나타났다. 조직 절편체당 재분화된 신초의 수는 신초의 재분화율이 가장 낮은 TDZ 0.25 mg/L + IAA 0.1 mg/L 처리구에서 1.7개로 가장 낮았으며 재분화율이 가장 높은 TDZ 0.5 mg/L + IAA 0.3 mg/L 처리구에서 2.7개로 가장 높게 나타났다. 이러한 결과는 재분화율이 높은 처리구에서 절편체당 재분화되는 신초의 수도 증가하는 것으로 보여진다. callus의 생장은 TDZ 0.25 mg/L + IAA 0.5 mg/L 혼용 처리구를 제외한 모든 처리구에서 auxin 농도가 높아짐에 따라 callus의 생장이 비대해졌으나 신초 재분화율은 떨어졌으며, 특히 IBA 처리구가 IAA 처리구 보다 callus의 증식이 왕성하고 재분화율은 반대로 감소하였다. 이러한 결과는 auxin 농도 증가는 callus 생장을 유도하며 신초의 재분화에 있어서 불리한 조건을 가지고 있는 것으로 보여진다. callus 생성은 TDZ 0.25 mg/L + IAA 0.1 mg/L 처리구에서 90%로 가장 낮았으며 대부분 처리구에서 96% 이상이었다.

Sucrose와 sorbitol 처리에 따른 식물체 재분화

탄수화물은 담배 callus의 신초 재분화에 있어서 에너지와 탄소공급원 그리고 삼투압제로서 중요한 역할을 한다고 보고되어 있다(Brown et al. 1979). 따라서 본 실험에서도 sucrose와 sorbitol의 농도에 따른 신초의 재분화율을 조사한 결과 큰 차이를 보였다(Table 3). TDZ 0.5 mg/L + IAA 0.3 mg/L을 첨가한 배지에 sucrose 30 mg/L와 15 mg/L 농도로 처리한 결과, 30 mg/L 처리구에서 73.3%의 재분화율을 나타내었으나 15 mg/L 처리구에서는 2.2%로 신초의 재분화율이 현저히 감소하였다. Sorbitol의 경우 30 mg/L

Table 2 Effect of IAA or IBA concentrations in combination with TDZ concentrations on shoot regeneration from leaf explants of ‘Whangkeumbae’ pear

Plant growth regulator (mg/L)			Formation of explants with shoots (%)	Mean No. of shoot per explants	Callus formation (%)
IAA	IBA	TDZ			
0.1	-	0.25	33.3±3.3 ^z	1.7±0.2	90.0
0.3	-	0.25	47.8±3.8	2.3±0.1	96.7
0.5	-	0.25	53.3±2.4	2.4±0.3	98.9
-	0.1	0.25	42.2±1.9	1.9±0.1	97.8
-	0.3	0.25	58.9±3.8	2.2±0.1	98.9
-	0.5	0.25	35.6±5.1	2.0±0.2	100
0.1	-	0.5	63.3±3.3	2.2±0.4	96.7
0.3	-	0.5	76.7±1.9	2.7±0.5	98.9
0.5	-	0.5	50.0±5.8	2.2±0.4	98.9
-	0.1	0.5	50.0±3.3	2.3±0.3	98.9
-	0.3	0.5	57.8±1.9	2.2±0.4	100
-	0.5	0.5	33.3±3.3	2.0±0.3	100

^zStandard error

와 15 mg/L를 처리한 결과, 30 mg/L 처리구에서 sucrose 처리 보다 높은 94.4%의 높은 재분화율을 나타내었으며 15 mg/L 처리구에서는 sucrose 처리와 마찬가지로 신초의 재분화율이 21.1%로 급격히 감소하였지만 sucrose 15 mg/L 처리구보다는 양호한 재분화율을 보였다. 따라서 황금배 신초의 재분화에 sorbitol이 sucrose보다 효과적이었다. Feng 등(2011)은 sorbitol이 탄소원, 삼투압제로써의 역할 뿐만 아니라 화학신호로써 유전자 발현의 변화에 직접적으로 또는 간접적으로 영향을 미치며 복잡한 전사체계를 통하여 callus로부터 식물체를 재분화하는데 효과적으로 작용한다고 보고하였으며, 옥수수(Swedlund and Loey 1993), 쌀(Geng et al. 2008), 밀(Hassan et al. 2009) 등의 재분화에 효과적이라는 보고가 있다. 배의 경우 sorbitol이 신초의 증식에 효과적이라는 보고가 있으며(Kadota et al. 2001; Kadota et al. 2003), 사과(Sotiropoulos et al. 2006), 살구(Marino et al. 1993), 복숭아(Ahmad et al. 2007)에서도 신초 증식에 있어서 sorbitol이 sucrose보다 효과적이라고 하였다. 조직 절편체 당 재분화된 신초 수는 sorbitol 30 mg/L 처리구에서 3.5개로 가장 높았으며 재분화율이 높을수록 재분화된 신초의 수가 증가하였다. callus의 성장에서 sucrose와 sorbitol의 처리 농도가 낮아짐에 따라 callus가 비대해졌는데 특히 sucrose 15 mg/L 처리구에서 callus의 생장이 활발한 것을 확인 할 수 있었다(Fig. 2). Lemos와 Baker (1998)는 포도의 재분화에서 sorbitol보다 sucrose 처리 시 callus가 왕성하게 증식하였으며 재분화율 또한 감소하였

다고 보고하였는데, 본 연구에서도 유사한 결과를 보였으며 이러한 callus의 생장이 신초의 재분화에 영향을 미치는 것으로 생각되었다. 일반적으로 auxin과 cytokinin의 농도 비율은 기관발생을 결정하는 주요한 요인으로 작용하며 auxin의 농도가 높고 cytokinin 농도가 낮으면 callus가 형성되고 cytokinin 수준이 상대적으로 높아지면 신초가 발생하게 된다. 따라서 callus의 과도한 생장은 내생 auxin의 cytokine에 대한 비율이 높아지는 것을 의미하며 이러한 내생호르몬의 변화가 재분화를 저해하는 것으로 생각된다. 가지(*Solanum melongena* L.)에서 낮은 농도의 당과 낮은 삼투압이 신초에 재분화에 있어서 유리하다고 보고되어 있으나(Mukherjee et al. 1991), 본 연구에서는 낮은 농도의 당과 삼투압은 신초의 재분화율을 감소시키는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 삼투압의 변화가 식물체 재분화에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되며 ‘황금배’의 경우에도 sucrose와 sorbitol의 15 mg/L 농도에서 급격한 신초의 재분화율 감소는 낮아진 삼투압에 의해 신초의 재분화가 크게 영향을 받는 것으로 보여진다. 본 연구에서는 ‘황금배’의 잎 절편체로부터 재분화 조건을 구명하였으며 이러한 결과들은 현재 국내에서 재배되고 있는 ‘신고’와 같은 주요 품종의 배 조직배양 효율향상에 이용될 수 있을 뿐만 아니라 *Agrobacterium*을 이용한 형질전환 효율 향상을 위해 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

Table 3 Effect of concentrations of sucrose and sorbitol on shoot regeneration from leaf explants of ‘Whangkeumbae’ pear

Carbon source	Concentration (mg/L)	Formation of explants with shoots (%)	Mean No. of shoot per explant	Callus formation (%)
Sucrose	30	73.3±8.8 ^z	2.5±0.2	100
	15	2.2±0.2	1.9±0.2	97.7
Sorbitol	30	94.4±1.9	3.5±0.2	98.8
	15	21.1±5.1	1.3±0.3	98.8

^zStandard error

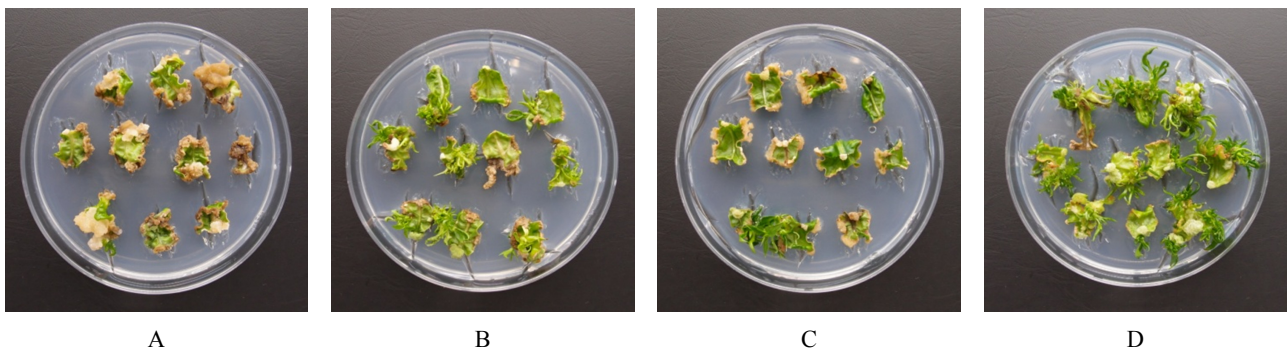


Fig. 2 Effect of sucrose and sorbitol on regeneration of ‘Whangkeumbae’. A. Sucrose 15 mg/L; B. Sucrose 30 mg/L; C. Sorbitol 15 mg/L; D. Sorbitol 30 mg/L

적 요

본 연구는 ‘황금배’(‘Whangkeumbae’)의 엽 절편체로부터 형질전환 체계 확립을 위한 효율적인 재분화 체계 확립을 위해 식물 성장조절제와 주요 탄소원인 sucrose, sorbitol이 식물체 재분화에 미치는 영향을 조사하기 위해 수행되었다. 잎 절편체를 MS 배지에 TDZ 농도를 각각 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5 mg/L로 하여 IBA 0.3 mg/L을 혼용 처리한 결과 TDZ 0.25 mg/L 농도에서 61.1%의 가장 양호한 재분화율을 보였으며 TDZ 2.5 mg/L 이상의 농도에서는 신초의 재분화율이 급격히 감소하였다. IBA와 IAA 농도에 의한 신초의 재분화율은 TDZ 0.5 mg/L와 IAA 혼용 처리한 구에서 전체적으로 높은 신초의 재분화율을 보였으며 특히 TDZ 0.5 mg/L + IAA 0.3 mg/L 처리구에서 76.7%의 가장 높은 재분화율을 보였다. 서로 다른 탄소원으로 sucrose와 sorbitol의 영향에 대하여 15 g/L, 30 g/L 농도로 처리한 결과 sorbitol 30 mg/L에서 가장 높은 재분화율을 보였고 또한 절편체 당 신초의 수도 3.5개로 가장 양호하였다. 따라서 sorbitol이 sucrose보다 ‘황금배’의 신초의 재분화에 있어서 효과적이었다.

사 사

본 연구는 2012년 농촌진흥청 원예연구사업(PJ006595 2012)의 지원에 의해 이루어진 것임.

인용문헌

- Ahmad T, Abbasi NA, Hafiz IA, Ali A (2007) Comparison of sucrose and sorbitol as main carbon energy sources in micropropagation of peach rootstock GF-677. *Pak J Bot* 39:1269-1275
- Bell RL (2003) Interaction of genotype and auxin affecting regeneration of pear. *Hortscience* 38:750
- Bell RL, Scorza R, Lomberg D (2012) Adventitious shoot regeneration of pear (*Pyrus* spp.) genotypes. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 108:229-236
- Brown DCW, Leung DWM, Thorpe TA (1979) Osmotic requirement for shoot formation in tobacco callus. *Physiol Plant* 46:36-41
- Caboni E, Tonelli MG, Lauri P, Angeli SD, Damiano C (1999) In vitro shoot regeneration from leaves of wild pear. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 59:1-7
- Caboni E, Lauri P, D'Angeli S (2000) In vitro plant regeneration from callus of shoot apices in apple shoot culture. *Plant Cell Rep* 19:755-760
- Chevreau E, Leblay C (1993) The effect of mother plant pre-treatment and explants choice on regeneration from in vitro pear leaves. *Acta Hort* 336: 263-268
- Chevreau E, Mourgues F, Martine N, Chevalier M (1997) Effect of gelling agents and antibiotics on adventitious bud regeneration from in vitro leaves of pear. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 33:173-179
- Chevreau E, Skirvin RM, Abu-Qaoud HA, Korban SS, Sullivan JG (1989) Adventitious shoot regeneration from leaf tissue of three pear (*Pyrus* sp.). *Plant Cell Rep* 7:688-691
- Feng X, Zhao P, Hao J, Hu J, Kang D, Wang H (2011) Effects of sorbitol on expression of genes involved in regeneration of upland rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Tissue Organ Cult* 106:455-463
- Garcia R, Pacheco G, Falcaño G, Borges G, Mansur E (2011) Influence of type of explant, plant growth regulators, salt composition of basal medium, and light on callogenesis and regeneration in *Passiflora suberosa* L. (Passifloraceae) Renata. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 106:47-54
- Geng P, La H, Wang H, Stevens EJC (2008) Effect of sorbitol concentration on regeneration of embryogenic calli in upland rice varieties (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Tissue Organ Cult* 92:303-313
- Hassan MU, Ahmed Z, Munir M, Malik SI and Shahzad K (2009) Effect of sorbitol in callus induction and plant regeneration in wheat. *Afr J Biotechnol* 8:6529-6535
- 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
- Kadota M, Imizu K, Hirano T (2001) Double-phase in vitro culture using sorbitol increases shoot proliferation and reduces hyperhydricity in Japanese pear. *Sci Hort* 89:207-215
- Kadota M, Niimi Y (2003) Effect of cytokinin types and their concentrations on shoot proliferation and hyperhydricity in in vitro pear cultivar shoots. *Plant Cell Tissue Organ Cult* 72:261-265
- Keulemans J, de Witte K (1994) Plant regeneration from cotyledons and embryonic axes in apple: Sites of reaction and effect of pre-culture in the light. *Euphytica* 77:135-139
- Kim JH, Song KJ (2010) Current status and outlook on genetic transformation of fruit trees in Korea. *J Plant Biotechnol* 37:408-413
- Lane WD (1979) Regeneration of pear plants from shoot meristem-TIP. *Plnat Sci Lett* 16:337-342
- Lane WD, Iketani H, Hayashi T (1998) Shoot regeneration from cultured leaves of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*). *Plant Cell Tissue Organ Cult* 54:9-14
- Leblay C, Chevreau E, Raboin LM (1991) Adventitious shoot regeneration from in vitro leaves of several pear cultivars (*pyrus communis* L.). *Plant Cell Tissue Organ Cult* 25:99-105
- Lee CH, Kim CS, Kim SB, Noh YM, Han DH, Ban SJ, Kang SK, Kang SJ (2002) Development of efficient regeneration system for *Pyrus pyrifolia* cv. Nitaka from leaf segments. *J Kor Soc*

- Hort Sci 43:271-274
- Lemos EEP, Baker DA (1998) Shoot regeneration in response to carbon source on intermodal explants of *Annona muricata* L. Plant Growth Regul 25:105-112
- Marino G, Bertazza G, Magnanini E, Altan AD (1993) Comparative effects of sorbitol and sucrose as main carbon energy sources in micropropagation of apricot. Plant Cell Tissue Organ Cult 34:235-244
- Mukherjee SK, Rathinasabapathi B, Gupta N (1991) Low sugar and osmotic requirements for shoot regeneration from leaf piece of *Solanum melongena* L. Plant Cell Tissue Organ Cult 25:13-16
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15:473-497
- 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
- Predieri S, Fasolo F (1989) High-frequency shoot regeneration from leaves of the apple rootstock M26 (*Malus pumila* Mill). Plant Cell Tissue Organ Cult 17:133-142
- Saito A, Suzuki M (1999) Plant regeneration from meristem-derived callus protoplasts of apple (*Malus x domestica* cv. 'Fuji'). Plant Cell Rep 18:549-553
- Sotiropoulos TE, Molassiotis AN, Mouhtaridou GI, Papadakis I, Dimassi KN, Therios IN, Diamantidis G (2006) Sucrose and sorbitol effects on shoot growth and proliferation in vitro, nutritional status and peroxidase and catalase isoenzymes of M9 and MM 106 Apple (*Malus domestica* Borkh.) rootstocks. Europ J Hort Sci 71:114-119
- Swedlund B, Locy RD (1993) Sorbitol as the primary carbon source for the growth of embryogenic callus of *Maize*. Plant Physiol 103:1339-1346
- Zhang P, Yu ZY, Cheng ZM, Zhang Z, TAO JM (2011) In vitro explants regeneration of the grape 'Wink' (*Vitis vinifera* L.) J Plant Breed Crop Sci 3:276-282