

아로니아(*Aronia melanocarpa* Elliot) 5개 품종의 기내번식

곽명철 · 최충호 · 최응의 · 문흥규

Micropropagation of *Aronia (Aronia melanocarpa* Elliot, black chokeberry) and its 5 varieties

Myoung-Chul Kwak · Chung-Ho Choi · Yong-Eui Choi · Heung-Kyu Moon

Received: 6 July 2015 / Revised: 23 September 2015 / Accepted: 2 December 2015
© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract *Aronia (Aronia melanocarpa*, Black chokeberry) is an important cash crop in domestic agriculture. We investigated the effects of plant growth regulators on shoot proliferation and rooting using *in vitro* tissue culture. The most effective shoot multiplication was observed on WPM (woody plant medium) supplemented with 1.0 mg/L zeatin (8.3 ± 1.0 shoots/explant), while the highest rooting rate was obtained from half-strength WPM with 3.0 mg/L IBA (8.8 roots/explant). The rooted plantlets all survived in the artificial soil mixture (with a mixture of peat moss : perlite : vermiculite, 1:1:1, v/v/v) and grew up relatively uniform, ranging from 14 to 16 leaves, 8 to 10 cm in stem height, and 2.3 to 2.8 mm in stem diameter. While experimenting with 5 different varieties of *Aronia*, we found out that each variety had different characteristics of shoot proliferation and rooting. The total numbers of proliferated shoots per variety is as follows: 17.4 ± 0.8 for Nero, 14 to 15 for Purple and Mackenzie, and 10 for both Viking and Odamamachiko. Rooting rates were also various depending on the variety: 88% of Odamamachiko, 80% of Viking and Purple, and 76% of Nero and 60% of

Mackenzie shoots rooted. The survival rate of the rooted plantlets was from 92% to 100%, varying by type. Further growth appeared to be better in auxin-treated plantlets, compared to untreated ones. Our results showed the possibility of establishing an effective *in vitro* micropropagation system for *Aronia melanocarpa*.

Keywords shoot proliferation, rooting, soil acclimatization, mass propagation

서론

아로니아(*Aronia melanocarpa*, black chokeberry)는 장미과(Rosacea)에 속하는 다년생 관목으로 원산지는 북미 및 캐나다 동부 지방이다. 유럽으로의 이주는 1900년 경 독일을 경유하여 러시아로 들어갔으며 최근에는 동유럽의 여러 나라들과 독일에서 재배되고 있다. 아로니아 속의 이름은 초크베리(chokeberry)라는 일반명으로 불리며, 블랙초크베리(black chokeberry)로 불리는 *Aronia melanocarpa*와 레드초크베리(red chokeberry)로 불리는 *Aronia arbutifolia*가 있다. 또 다른 것으로는 *Aronia prunifolia* 인데 이것은 두 수종의 변종 혹은 교잡종으로 간주된다. 아로니아는 초크베리 이외에도 black apple berry와 rowan berry (*Sorbus aucuparia* L.)가 있는데, 후자는 아로니아와 rowan berry와의 잡종으로 추정된다(Kulling and Rawel 2008). 과실 생산에 이용되는 품종은 주로 *Aronia melanocarpa*로 열매가 큰 것으로 육성되거나 원예종으로 육성되었다. 아로니아는 해충 문제가 크지 않으며, 주로 블랙초크베리(black chokeberry)로 육성되었고, 어떤 것은 *Aronia* x *Sorbus*의 교잡종이다. 가장 중요한 품종으로는 “Nero” (체코공화국), “Rubina” (러시아산과 필란드산의 교잡종), “Viking” (필

M.-C. Kwak · C.-H. Choi
경기도산림환경연구소 나무연구팀
(Gyeonggi-do Forestry Environment Research Center, Osan, 447-290, Korea)

Y.-E. Choi
강원대학교 산림환경과학대학
(Department of Forestry, Kangwon National University, Chuncheon, 200-701, Korea)

H.-K. Moon (✉)
국립산림과학원 산림생명공학과
(Division of Forest Biotechnology, Korea Forest Research Institute, Suwon, 441-350, Korea)
e-mail: mhkmoon@korea.kr

란드), “Kurkumacki” (필란드), “Hugin” (스웨덴), “Fertodi” (헝가리), “Aron” (덴마크) 등이고, 이중 “Viking”과 “Nero”는 북미의 식물 목록에서 흔히 볼 수 있는 품종들이다(Kulling and Rawel 2008).

아로니아는 영하 40도의 추위와 강렬한 자외선을 받는 척박한 환경에서도 생장이 가능한 식물로 0.5~1.5 m 정도의 크기로 자란다. 4월 중순에서 5월 초에 산형화서의 백색의 꽃을 피우며 열매는 7월에서 8월에 장과로 익고 열매는 검정색으로 익는다. 수확은 8~9월에 기계로 하는데 5년생의 성숙기가 되면 ha 당 5~12톤의 열매가 기대된다. 아로니아의 열매는 과거 중세 동유럽에서 만병통치약으로 불리며 황족 또는 귀족만 먹는 귀한 식물이었다고 열매에는 시아닌 계열인 안토시아닌, 카데닌, 탄닌, 클로로게산, 베타카로틴 등의 식물활성물질이 다량 함유되어 있다. 특히 안토시아닌과 카데닌 함량은 현존하는 식물 중 최고를 자랑한다. 이로 인해 항산화 효능이 매우 높아서 동맥경화, 심혈관질환, 암, 당뇨병, 위염, 알러지성 피부질환 등에 효능이 좋은 것으로 보고되고 있다(Slimestad et al. 2005; Rop et al. 2010; Hellstrom et al. 2010; Jakobec et al. 2012; Girones-Vilaplana et al. 2012). 또한 적자색의 색소는 천연염료로도 손색이 없어 현재 유럽과 미국 등에서 천연염료로 인기가 많다(Strigl et al. 1995).

폴란드 임업연구소에서는 1978년 아로니아에 대한 연구를 시작하였고 국영회사를 설립하여 식품을 만들어 유럽 대부분의 지역에 이 과실이 소개되면서 수요가 급증되었다. 현재 전 세계 90% 이상의 공급량이 폴란드에서 생산되고 있다. 국내에서는 2000년대 후반부터 도입하여 일부 농가에서 고부가가치 작목으로 재배 중에 있으며(Sueiro et al. 2006) 충남 옥천지역에서 2010년부터 군 시범사업의 결과 최근 국내에 열매를 보급하기 시작하여 고가에 거래되고 있다.

국내 임목류의 미세증식 연구는 1978년 국립산림과학원(당시 임목육종연구소)에서 실험한 것을 시작으로 여러 수종에서 배양 조건의 적정화를 통한 대량증식 기술이 개발되었다(Kim et al. 1981; Kang and Moon 2001; Moon et al. 2010). 주요 결과로는 상수리 등 참나무류(Lee et al. 1985; Moon et al. 1987; 1997a), 자작나무류(Hong et al. 1989; Moon and Moon. 1999), 유실수종인 호두나무(Kwon et al. 1990), 밤나무(Lee et al. 1988), 희귀 멸종위기 수종인 산개나리(Moon et al. 1997b) 등 여러 수종에서 미세번식 기술이 개발되었다.

현재 아로니아의 번식은 실생묘나 삽목, 조직배양의 방법을 사용하고 있다(Kane et al. 1991; Brand and Cullina 1992; Colon-Guasp et al. 1996; Litwinczuk 2002). 실생묘의 경우 생장 및 결실주기가 고르지 못하여 선발된 개체의 품종 고정과 결실주기의 단축, 균일한 묘목의 육성을 위해서는 주로 삽목과 조직배양의 방법을 사용하였다(Litwinczuk 2002; Litwinczuk 2013). 하지만 육성된 품종을 대상으로 체계적인 조직배양 번식은 시도되지 못하고 있다. 본 연구는 국내에서 고부가가치 농가소득원으로 많이 재배하고 있는 아로니아 품종의

대량증식 기술 확립을 위해 기내 증식 및 발근을 시험하였으며, 특히 상업적으로 재배되고 있는 5개 품종을 대상으로 미세번식의 가능성을 비교 시험하였다.

재료 및 방법

줄기유도

절편은 온실에서 육성중인 3년생 묘목의 당년생 신초 액아를 절편으로 사용하였다. 표면살균을 위해 줄기를 5~8 cm로 절단하여 500 ml 삼각후라스크에 20개 내외를 넣고 표면 살균하였다. Tween 20을 몇 방울 첨가하여 수돗물로 거품을 내어 씻어낸 다음 무균상에서 70% 에탄올에 1분, 2% 차아염소산나트륨(NaClO) 수용액으로 10분간 살균하고 멸균 증류수로 3회 이상 씻어내었다. 다음 멸균수에 30분 정도 침지한 다음 절편을 조제하여 준비된 배지에 치상하였다. 배지는 WPM (Llyod and McCown, 1982)에 zeatin과 BA를 각각 0, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0 mg/l을 첨가하고 sucrose 3%, pH는 5.7로 조정된 다음 agar 0.6%를 첨가하여 고형화 시켰다. 배양용기는 유리배양병 CB400 (φ 6.5×13 cm)을 사용하였다. 절편은 액아가 1~2개씩 붙도록 약 2 cm로 조제하여 배양병 당 5개씩 치상하고 10반복 실시하였다. 6주간 배양 후 유도된 줄기수와 길이를 조사하였다. 배양은 온도 25±1°C로 유지되고 조도 40 μmol·m⁻²·s⁻¹의 냉백색 LED 형광등 하에서 1일 16시간 조명으로 유지하였다.

발근 및 토양이식 순화

초대배양 후 WPM 기본배지에서 6개월 정도 유지해온 줄기를 재료로 발근을 시험하였다. 배지는 1/2 WPM에 IBA와 NAA를 각각 0, 0.5, 1.0, 3.0, 5.0 mg/l 처리하였다. 탄소원으로 sucrose 3%, 고형화는 agar 0.6%로 하였고, pH는 5.6으로 조정하였다. 유리배양병(CB400, φ 6.5×13 cm) 당 다섯 개의 절편을 치상하여 10반복을 두었고 배양은 줄기유도와 같은 조건에서 실시하였다. 6주간 배양 후 발근여부, 뿌리수 및 길이를 측정하였다.

토양이식은 기내발근묘를 조심스럽게 꺼내어 수돗물로 씻어 한천(agar)을 제거한 다음 시험하였다. 상토는 피트모스(peatmoss), 버미큘라이트(vermiculite), 펄라이트(perlite)가 1:1:1로 혼합한 토양을 원예용 삽목상자(35×50×18 cm)에 높이 10 cm까지 채워 사용하였다. 순화실은 조직배양실의 환경조건과 유사하게 유지하였다. 온도는 24±1°C, 조도는 냉백색 LED 형광등 하에서 조도 30 μmol·m⁻²·s⁻¹로 1일 16시간 조명하였다. 이식 후 처음 2주간은 주기적인 관수로 습도를 90%이상 높게 유지하였으며 점차 습도를 낮추어 주었다. 순화 4주 후 이식상자의 묘목을 10 x 8.5 cm의 포트에 옮겨

Table 1 Shoot proliferation when *Aronia melanocarpa* plants are cultured on WPM supplemented with zeatin and BA for 6 weeks

Conc. (mg/l)	Zeatin		BA	
	No. of shoots	shoot lengths (cm)	No. of shoots	shoot lengths (cm)
0	1.0±0d ^z	2.5±0.2d	1.0±0d	3.1±0.1d
0.5	7.3±0.8c	2.2±0.3c	3.7±1.2c	0.4±0.1c
1.0	8.3±1.0b	1.4±0.2b	5.3±1.1b	0.6±0.1b
3.0	6.9±1.1a	1.1±0.1a	7.0±1.1a	0.9±0.1a
5.0	6.2±0.9a	1.1±0.1a	7.4±0.8a	1.0±0.1a

^zMean values followed by the same letter do not differ significantly according to Duncan's multiple range test at $P < 0.01$

Table 2 *In vitro* rooting of *Aronia melanocarpa* cultured on 1/2 WPM supplemented with IBA and NAA for 6 weeks

Concentration (mg/l)	IBA		NAA	
	Rooting (%)	No. of roots	Rooting (%)	No. of roots
0	80	1.6±0.1c ^z	80	1.6±0.1b ^x
0.5	82	2.4±0.1bc	72	2.3±0.1b
1.0	82	3.6±0.1b	94	4.3±0.1a
3.0	98	8.8±0.2a	98	4.4±0.1a
5.0	98	8.4±0.1a	90	3.6±0.1a

^xValues are means ± standard error.

^zMean values followed by the same letter do not differ significantly according to Duncan's multiple range test at $P < 0.01$

온실에서 육묘하였다. 4주 후 활착율, 잎 수, 줄기길이 및 직경을 조사하였다(Table 3).

5개 품종의 증식

상업적으로 사용되고 있는 아로니아 5품종(오다마마치코, 맥켄지, 퍼플, 바이킹, 네로)을 재료로 증식실험을 실시하였다. 식물 재료는 3년생의 묘목을 경기도 화성시 소재 호트팜(주)에서 구입하여 온실에서 육묘하였다. 3월초 온실에서 자라는 신초 줄기를 절편으로 사용하였다. 절편의 표면살균은 70% ethanol에 3분, 2% NaOCl에 4분간 흔들여 살균하고 멸균수로 5회 세척하였다. 표면살균 후 멸균수에 30분 정도 침지한 다음 액아가 1~2개 붙도록 절편을 조제하여 준비된 배지에 치상하였다. 배지의 조건은 선행 시험결과 아로니아의 증식에 가장 효과적이었던 WPM에 zeatin 1.0 mg/l를 첨가하여 배지로 사용하였고, 배양환경은 상기의 줄기유도와 동일한 조건 하에서 수행하였다.

5개 품종의 발근 및 토양이식 순화

품종별 발근유도는 1/2 WPM에 IBA 1.0 mg/l를 처리하여 시

험하였다. 배양 용기는 유리배양병(CB400)에 100 ml의 배지를 주입하고, 병 당 5개의 절편을 치상하여 5반복을 두었다. 4주간 배양 후 발근율 및 뿌리수를 조사했다. 한편 순화된 묘목은 상기 2의 방법으로 동일한 인공상토에 이식하고 4주간 배양 후 생존율, 잎 수, 줄기길이 및 직경을 조사했다 (Table 6).

결과 및 고찰

줄기유도

치상 후 1주부터 액아로부터 신초 줄기의 생장이 관찰되었다. 줄기형성은 BA 3.0과 5.0 mg/l를 처리한 조건에서 가장 빠른 반응을 보였다. 치상 3주 후 부티는 무처리 배지를 제외하고 모든 cytokinin 처리구에서 줄기가 유도되었다. 두 가지 cytokinin 간의 차이는 현저하지 않았으나 각각 성장조절제의 농도 간에는 유의적인 차이를 보였다. 신초 줄기는 zeatin 1.0 mg/l 처리 시 8.3±1.0개로 가장 많이 유도되었으며, 3.0 mg/l 이상의 농도에서는 줄기수가 점차 감소하는 경향을 나타냈다. 반면 BA 처리 시에는 처리 농도가 높을수록 줄기의 발생 빈도 및 생장이 다소 증가하는 경향을 나타냈다 (Table 1).

기내증식은 식물체의 종류, 절편부위, 성장조절물질의 종류 및 농도에 따라 그 반응이 매우 다르다(George 1993). 본 실험에서는 BA와 zeatin을 농도별로 단용처리 하였다. BA는 일반적으로 식물 신초의 성장을 억제시켜 액아의 발달을 촉진하는 것으로 알려져 있고, zeatin은 천연 cytokinin으로 세포분열 및 잎과 결눈의 성장을 촉진하는데 매우 효과적이라고 보고되었다(George 1993). 상수리나무의 기내배양에서는 BA 0.5 mg/l 처리 시 액아를 이용한 증식에 가장 효과적이었고(Lee et al. 1985), 미선나무의 다경유도는 BA가, 줄기의 생장은 zeatin이 효과적이었으며(Moon et al. 1997b), 포플러의 기내증식에서 5종류의 cytokinin을 비교 한 결과 zeatin 처리 시 가장 효과적인 것으로 나타났다(Kim et al. 1982). 시로미의 기내증식에서도 zeatin이 BA보다 줄기유도에 효과적이라고 보고하였다(Han et al. 2010). 본 실험에서도 다경유도와 줄기생장 모두 zeatin이 BA보다 다소 효과적으로 나타났으며 농도는 1.0 mg/l에서 가장 효과적이었다. 하지만 허어리의 기내배양에서는 BA와 zeatin 공조처리 시에 줄기증식에 효과적이었으며(Moon et al. 2002), *Prunus armeniaca*와 *Prunus salicina*에서는 BA와 IBA의 공조처리가(Liu et al. 2007), *Sorbus aucuparia*에서는 BA와 NAA 공조처리 시(Lall et al. 2006) 좋은 증식효과를 보여 수종에 따른 차이를 보여주었다.

한편 아로니아의 기내배양 선행연구에서도 적정 증식조건은 연구자에 따라 다소 다르게 보고되었다. Litwinczuk (2013)는 최근의 연구에서 아로니아의 줄기 증식은 1/2 MS

혹은 MS 배지에 BA 0.5 ~ 1.0 mg/l, IBA 0.05 mg/l 공조처리로 2개 마디의 절편에서 9개 이상의 줄기 증식이 가능하였으며, Brand와 Cullina (1992)는 MS 배지에 BA 농도별 시험 결과 0.5 ~ 1.0 mg/l 범위에서 증식이 양호하여 red chokeberry는 8.8개, black chokeberry는 5.6개의 줄기형성을 보고했다. Kane et al. (1991)은 red chokeberry의 기내배양에서 MS 및 WPM 배지에 BA 처리로 효과적인 증식이 가능하며, BA 0.5 mg/l, NAA 0.1 mg/l, GA₃ 0.5 mg/l 공조처리로 2개 마디 절편에서 절편 당 13개의 줄기형성이 가능함을 보고했다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 아로니아의 기내배양은 MS나 WPM을 사용하고 BA 등의 사이토키닌의 저농도 처리로 효과적인 증식이 가능함을 보여주는 결과로 본 실험 결과와 크게 다르지 않음을 보여주었다.

발근유도

6주간 배양한 결과 모든 처리구에서 발근이 이루어졌다. 두 가지 auxin 처리에서 IBA가 NAA보다 다소 양호한 결과를 보였으며 IBA 처리 시 평균 5.8개, NAA 처리 시 평균 3.6개의 뿌리가 유도되었다. 가장 좋은 결과는 IBA 3.0 mg/l 처리 시 발근율 98%, 절편 당 8.8개의 뿌리가 유도되었다(Table 2). 흥미롭게도 오옥신에 따라 뿌리의 형태나 발달이 다르게 나타나, IBA 처리 시에는 모든 농도에서 1차근과 세근 발달이 양호한 정상적인 뿌리가 유도된 반면, NAA 처리 시에는 저농도에서만 정상적인 뿌리가 유도되었다. 특히, NAA 5.0 mg/l 농도에서는 기부에 캘러스가 크게 형성되고, 짧은 기형의 뿌리가 발생하였으며, 절편에 따라서는 뿌리가 배지 속으로 내리지 못하고 air-root 형태로 배지 위로 나오는 것이 관찰되었다.

기내 식물체의 정상적인 발근은 토양 순화를 위해 매우 중요하다. 기내 배양에서의 발근율 향상을 위해서는 보통 배지의 염류농도를 1/2로 줄이고 auxin을 처리한다(George 1993). *Stevia rebaudiana*에서는 MS배지와 1/2MS배지에 동일한 농도의 IBA를 처리하였을 때 1/2MS 배지의 발근율이 2배 이상 증가하여 염류농도가 발근에 크게 영향을 보여주었다(Latha et al. 2003). 물박달나무의 기내발근에서는 NAA 처

리로 80%의 발근율을 얻었고(Moon et al. 1999), 상수리나무에서는 1/2GD배지에 IBA 처리로 90% 이상이 발근되었다(Greshoff et al. 1972). 발근제의 효과는 식물종 및 농도에 따라 차이가 크게 나타나는데, 박주가리(*Tylophora indica*)의 기내 발근에서는 IBA 0.5 µm 처리로 90%가 발근되어 본 실험과 유사하였지만(Faisal et al. 2007), *Pinus roxburghii*에서는 NAA 5.0 µm 처리구에서 가장 효과가 있어(Kalia et al. 2007) 수중에 대한 차이를 보여주었다. 본 실험에서는 두 오옥신에서 3.0 mg/l 처리 시 가장 좋은 결과를 보였으나 유도된 뿌리의 발달을 이 수종의 발근유도는 NAA보다 IBA처리가 효과적인 것으로 사료된다.

아로니아의 선행연구에서 Kane et al. (1991)은 red chokeberry 기내배양체 발근은 WPM에 IBA 1.0 mg/l 처리로 84%의 발근이 가능하며 IBA와 NAA 처리시 뿌리수는 유의적인 차이가 없었으나, IBA 처리 발근묘가 비교적 균일하게 생장하고 NAA 처리 발근묘는 묘목의 생장이 느린 것으로 관찰하였다. Brand와 Cullina (1992)는 두 종류의 아로니아 발근에서 기내발근 보다는 기외삽목이 약 10% 정도 발근이 잘 됨을 관찰했는데, 기내발근은 1/2 MS 배지에 IBA 4.9 µm 처리로 red chokeberry 87%, black chokeberry 83%의 발근을 얻었다. 한편 Litwinczuk (2013)는 아로니아의 발근에서 1/2 MS + IBA 0.05 mg/l 처리로 90% 이상 발근이 가능하며, 정아줄기가 액아줄기보다 발근이 양호하고, 기외삽목에서도 IBA 처리로 70% 정도의 발근을 얻었다. 이 같은 선행연구로 볼 때 아로니아의 기내발근은 염류를 반감시킨 1/2 MS, 1/2 WPM 배지에 오옥신의 처리로 효과적인 발근유도가 가능하고, 절편은 정아가 있고 잎이 잘 전개된 줄기를 사용하면 무난할 것으로 사료된다. 본 실험에서도 이와 유사한 결과를 관찰한 바 있으며 아로니아의 미세번식은 배양과정의 성력화와 비용절감을 위해서 기외삽목의 방법을 사용함이 좋을 것으로 판단되었다.

한편 발근묘는 토양에 이식하여 100% 활착되었다. 발근제의 종류와 농도에 따른 생장 차이가 크지 않았으며, 잎 수는 15 ~ 16개, 줄기길이 8 ~ 10 cm, 줄기직경 2.3 ~ 2.7 mm의 범위에서 비교적 비슷한 생장을 보였다(Table 3). Litwinczuk (2013)는 아로니아의 기내발근에서 NAA 처리보다는 IBA

Table 3 Comparison of soil survival rate and growth of rooted plantlets given two auxin treatments

Conc. (mg/l)	IBA				NAA			
	Survival (%)	No. of leaves	Shoot length (cm)	Shoot diameter (mm)	Suival (%)	No. of leaves	Shoot length (cm)	Shoot diameter (mm)
0	100	15.3±2.7	8.6±1.7	2.4±0.4	100	15.3±2.7	8.6±1.7	2.4±0.4
0.5	100	15.5±1.9	8.8±1.5	2.7±0.2	100	15.9±1.4	9.1±1.1	2.5±0.2
1.0	100	15.6±1.7	9.2±1.8	2.6±0.1	100	14.8±1.0	8.6±1.2	2.4±0.1
3.0	100	15.6±1.6	10.2±1.4	2.8±0.2	100	15.2±1.2	9.1±0.9	2.4±0.2
5.0	100	16.1±1.8	10.5±1.2	2.7±0.1	100	16.3±2.1	8.9±1.4	2.3±0.2

처리로 유도된 발근묘가 더 생장이 양호하다고 하였는데, 이 같은 결과는 뿌리의 발달상태에 기인한다고 하였다. 하지만 본 실험에서는 IBA와 NAA 처리간 발근묘의 성장차이는 현저하지 않은 것으로 관찰되었다.

품종별 줄기증식

아로니아 5개 품종별 기내 증식의 차이를 알아보기 위해 선형연구에서 증식에 가장 효과가 좋았던 WPM + zeatin 1.0 mg/l 배지를 사용하였다. 배양 2주 후부터 신초 줄기가 유도되었으며, 6주 후에는 네로에서 가장 많은 줄기가 유도되었다. 반면 오다마마치코는 줄기발생이 가장 저조하였다. 줄기의 생장은 5개 품종에서 모두 평균 3.5 cm 내외를 보여 비슷하였다. 그중 메킨지가 3.8 cm로 가장 생장이 양호하였고, 증식이 저조하였던 오다마마치코는 줄기 생장에 있어서도 3.3 cm로 가장 저조하였다(Table 4). 이러한 품종 간 기내증식의 차이는 감귤(*Citrus limonia*)에서도 관찰되었는데, BA 농도별 차이는 없었으나 품종에 따른 차이를 보였다. 줄기 증식은 'Foster' 품종에서 가장 좋았으며, BA 1.0 mg/L 처리 조건에서 'Pera'보다 0.5배, 'Cravo'보다 약 4배 많은 줄기가 유도 되어 품종에 따른 차이를 보여주었다(Costa et al. 2003).

북아메리카 참나무류인 *Quercus alba*, *Q. bicolor*, *Q. rubra*의 기내배양에서도 줄기증식 및 발근에 대한 차이가 품종별로 관찰되었으며(Vieitez et al. 2009), 클라우드베리(*Rubus chamaemorus*)의 배양에서도 'Apollen' 품종이 'Fjellgull' 보다 다경유도에 효율적이어서 품종에 따른 차이를 보여주었다(Martinussen et al. 2004). 본 실험에는 네로품종이 줄기증식에 가장 효율적 이었고, 그 다음 메킨지, 퍼플, 바이킹, 오다마마치코 순으로 나타났다. 이 같은 결과들은 같은 품종이라 할지라도 적정배양 조건의 확립이 필요하며, 최적 조건의 구명을 통해 품종에 따른 대량 생산 체계가 수립될 수 있음을 시사해 준다(McCown 2000). 한편 아로니아의 선형연구를 보면 red chokeberry (*Aronia arbutifolia*)와 black chokeberry (*Aronia melanocarpa*)의 증식 및 발근에 차이가 있었다. 대체로 red chokeberry가 양호한 기내반응을 보여 적정조건 하에서 줄기는 8.8개, 발근은 87~96%를 보인 반면, black cjokeberry는 줄기는 5.6개, 발근은 83~95%를 나타내었다(Brand and

Cullina 1992). 따라서 앞으로 아로니아의 품종에 따른 최적의 배지선정 및 성장조절제 처리 조건은 더 이상의 실험이 요구된다.

품종별 발근유도

아로니아 5 품종의 발근, 순화 및 성장결과는 Table 5와 같다. 발근은 치상 2주 후부터 시작되었다. 6주 후의 발근율은 오다마마치코가 88%로 가장 좋았고 다음은 바이킹과 퍼플이 80%, 네로 76%, 맥켄지는 60%로 가장 저조하였다. 개체당 뿌리수는 퍼플이 4.7±0.4로 가장 좋았고, 바이킹, 네로, 오다마마치코, 맥켄지 순으로 3~4개의 뿌리가 유도되었다(Table 5). 이 같은 결과는 각각의 품종마다 적정 발근에 요하는 오옥신의 요구도가 차이를 보여주는 것이다. 한편 어느 품종에서나 품종에 따라서는 뿌리가 배지 속으로 내리지 못하고 배지 위로 나오는 air-root 형태가 동일하게 관찰되었다. 이것은 한천(agar) 배지의 환경이 아로니아 기내줄기의 발근에 부적당하다는 것을 보여주는 것인데, 이로 인해 Liwinczuk (2013)의 선형 연구에서는 기내발근 보다는 기외삽목의 방법이 아로니아의 발근에 더 좋은 것으로 시사한바 있다. *Rubus chamaemorus*의 발근에서는 품종에 따라 0~35.7%까지 발근율의 차이를 나타낸다고 하였다(Martinussen et al. 2004). 따라서 차후 이 수종의 대량증식을 위해서는 각 품종에 적합한 성장조절물질 및 농도를 구명 할 필요가 있다. 한편 발근에 늦게 이루어지거나 기부에 캘러스만 형성되는 것, 혹은 뿌리가 배지로 내리지 못하고 공중뿌리가 형성되는 것은 발근에 부적당한 조건 즉 잎이나 줄기가 과수화(hyper hydricity)된 절편을 사용하거나 통기성이 나쁜 배양 용기의 사용에 기인할 수 있다. 따라서 발근율 제고를 위해서는 과수화가 없고, 잎이 잘 발달한 정아지를 절편으로 사용하고, 기내발근의 경우 통기성이 양호한 배양병을 사용하거나, 배양병에 membrane filter가 부착된 것을 사용하면 보다 발근율 향상을 가져올 수 있을 것이다.

토양이식 및 순화

기내발근묘는 인공상토에 이식하여 온실에서 순화 후 92~100% 생존되었다(Table 6, Fig. 1, 2). 특히 식물에 따라 일부 과수

Table 4 Shoot proliferation of 5 *Aronia* varieties cultured on WPM supplemented with 1.0 mg/l zeatin for 6 weeks

Varieties	Zeatin 1.0 mg/l	
	No. of shoots	Shoot length (cm)
Mackenzie	15.0±0.9	3.8±0.9
Nero	17.4±0.8	3.6±0.7
Viking	10.6±0.5	3.5±0.5
Odamamachiko	10.0±0.9	3.3±1.0
Purple	14.2±0.5	3.5±0.5

Table 5 *In vitro* rooting of 5 *Aronia* varieties cultured on 1/2 WPM supplemented with 1.0 mg/l IBA after 4 weeks

Varieties	Rooting (%)	No. of roots
Mackenzie	60	2.9±0.4
Nero	76	4.3±0.5
Viking	80	4.4±0.6
Odamamachiko	88	3.7±0.3
Purple	80	4.7±0.4

Table 6 Comparison of survival rate and growth of 5 Aronia variety rooted plantlets after 4 weeks of acclimatization

Varieties	Survival (%)	No. of leaves	Shoot length (cm)	Shoot diameter (mm)
Mackenzie	98.0	16.8±0.4	10.5±1.1	2.7±0.2
Nero	98.0	16.2±2.6	10.4±1.5	2.6±0.2
Viking	100.0	15.3±0.8	10.6±1.0	2.7±0.2
Odamamachiko	92.0	16.2±1.3	9.7±2.5	2.6±0.2
Purple	100.0	15.3±1.9	9.4±1.3	2.7±0.1

화가 되어 나온 개체라 할지라도 토양순화 후에는 정상적으로 생육하는 것으로 나타났다. 순화묘의 생장은 4주 후에 잎수 15~16개, 줄기길이 9~10 cm, 줄기직경 2.6~2.7 mm로 비교적 균일하게 성장하였다. 발근제의 사용에 따라 발근묘의 생장이 다소 차이가 있는 것으로 관찰되었는데 NAA 처리 발근묘보다는 IBA처리 발근묘가 다소 양호한 성장을 보였다. 이것은 다소 양호한 뿌리발달에 기인하는 것으로 보인다(미발표 자료).

한편 5개 품종의 평균 순화율은 97.6%로 조사되었다(Table

6). 바이킹과 퍼플은 100%, 메킨지와 네로가 각각 98%, 오다마치코가 가장 적은 92%의 순화율을 나타냈다. 하지만 품종간의 순화율 차이는 인공상토 순화 시 작업자의 부주의나 건전하지 못한 개체가 이식되어 나타난 것으로 추정되어 건전하게 발근된 개체를 적정하게 이식한다면 아로니아 기내배양묘의 토양 이식 순화는 크게 문제가 없을 것으로 생각되었다.

결론적으로 아로니아는 기내배양을 통해 효과적인 증식이 가능하며 품종에 따라 잘 전개된 정아지를 재료로 발근제 처리로 미세삼목을 실시하면 발근유도 및 순화에 큰 어려움이 없을 것으로 생각된다. 순화묘는 비교적 균일한 생장을 하며 실생묘에서 나타나는 성장차이나 품종고정의 문제가 없을 것으로 보이고, 품종으로 고정된 것은 온실에서 모본을 재료로 미세삼목이 가능하므로 아로니아 품종의 번식상의 문제는 없을 것으로 기대된다. 더욱이 최근에는 아로니아를 재료로 기내배양을 통한 유용한 약리 활성물질의 탐색에 좋은 결과(Szopa et al. 2013; Szopa and Ekiert 2014)가 있는 만큼 아로니아를 이용한 산업화 이용기술도 전망을 밝게 하고 있다.



Rooted plants with IBA



Rooted plants with NAA

Fig. 1 Acclimatized plants in the greenhouse after 3 weeks in culture



Fig. 2 Growth of acclimatized plants in the greenhouse after 8 weeks in culture

결론

본 연구는 국내 농가소득원으로 유망한 아로니아(*Aronia melanocarpa*, black chokeberry)의 기내 대량증식을 위해 시험하였다. 배지는 WPM을 기본으로 성장조절물질의 종류 및 농도에 따른 줄기 및 발근 유도 효과를 조사하였다. 줄기유도는 WPM + zeatin 1.0 mg/l 배지에서 절편 당 평균 8.3±1.0개로 가장 많은 줄기가 유도되었다. 기내발근은 1/2 WPM + IBA 3.0 mg/l 배지에서 98% 발근율을 보였고, 뿌리는 절편 당 8.8개가 유도 되었다. 발근모는 인공상토에 이식하여 100% 활착되었으며 묘고는 15 cm 내외, 줄기 생장 8~10 cm, 직경 2.4~2.8 mm로 비교적 균일하게 성장하였다. 한편 아로니아 5 품종의 기내증식을 시험한 결과 품종에 따라 증식 및 발근율에 차이를 나타냈다. 줄기의 증식은 WPM + zeatin 1.0 mg/l 배지에서 네로(Nero)에서 17.4±0.8개로 가장 좋았고, 퍼플(Purple)과 맥켄지(Mackenzie)는 14~15개, 바이킹(Viking)과 오다마마치코(Odamamachiko)는 10개 내외의 줄기가 유도되었다. 발근은 1/2 WPM + 1.0 mg/l IBA 처리에서 오다마마치코 88%, 바이킹과 퍼플 80%, 네로 76%, 맥켄지는 60%로 발근율을 보였다. 한편 발근된 식물체는 인공상토에서 순화되어 품종에 따라 92~100% 활착되었으며 오옥신 처리로 발근된 개체의 생장이 더 좋게 나타났다. 이상의 결과는 기내배양을 통해 아로니아 품종의 효율적인 번식이 가능함을 보여주었으며, 품종에 따른 최적 배양 조건의 확립은 추후 연구가 필요하다.

References

- Brand MH, Cullina WG. (1992) Micropropagation of red and black chokeberry (*Aronia* spp.). HortScience 27(1):81
- Colon-Guasp W, Nell TA, Kane ME, Barrett JE. (1996) Effects of abscisic acid on ex vitro acclimatization of *Aronia arbutifolia* (L.) Pers. J Amer Soc Hort Sci 121(1):101-104
- Costa MGC, Alves VS, Lani ERG, Mosquim PR, Carvalho CR, Otoni WC. (2003) Morphogenic gradients of adventitious bud and shoot regeneration in epicotyl explants of *Citrus*. Scientia Horticulturae 99:72-79
- Faisal M, Ahmad N, Anis M. (2007) An efficient micropropagation system for *Tylophora indica*: an endangered, medicinally, important plant. Plant Biotechnol Rep 1:155-161
- George EF. (1993) Plant propagation by tissue culture. The technology. part 1:574
- Girones-Vilaplana A, Valentao P, Andrade PB, Ferreres F, Moreno DA, Garcia-Viguera C. (2012) phytochemical profile of a blend of black chokeberry and lemon juice with cholinesterase inhibitory effect and antioxidant potential. Food chem 134. 4:2090-2096
- Greshoff PM, Doy CH. (1972) Haploid *Arabidopsis thaliana* callus and plants form anther culture. Aust J Biol Sci 25:259-264
- Han MS, Park SY, Moon HK, Kang YJ. (2010) Micropropagation of a rare species, *Empetrum nigrum* var. *japonicum* K. Koch via axillary bud culture. J Korea For Soc 99:568-572
- Hellstrom JK, Shikov AN, Makarova MN, Pihlanto AM, Pozharitskaya ON, Ryhanen EL, Kivijarvi P, Makarov VG, Mattila PH. (2010) Blood pressure lowering properties of chokeberry (*Aronia mitchurinii*, var Viking). J Funct Foods 2. 2:163-169
- Hong SH, Shim SY, Park HS, Kwon SW, Lee SJ. (1989) *In vitro* plantlet regeneration from adventitious buds induced on cutting of peeled twigs of *Betula costata* Traut. Res Rep Inst For Gen Korea 22:35-39
- Jakobek L, Drenjancevic M, Jukic V, Seruga M. (2012) Phenolic acids, flavonols, anthocyanins and antiradical activity of “Nero”, “Viking”, “Galicianka” and wild chokeberries. Scientia Hort 147. 12:56-63
- Kalia RK, Arya S, Kalla S, Arya ID. (2007) Plantlet acids, flavonols, anthocyanins and antiradical activity of “Nero”, “Viking”, “Galicianka” and wild chokeberries. Scientia Hort 147. 12:56-63
- Kane ME, Dehgan B, Sheehan TJ. (1991) *In vitro* propagation of florida native plants : *Aronia arbutifolia*. Proc Fla State Hort Soc 104:287-290
- Kim JH, Lee SK, Chun YW. (1981) Mass propagation of tree species through in vitro culture I. Bud culture of *Populus alba* × *P glandulosa* F1. Res Rep Inst For Kor 17:57-63
- Kim JH, Shim SY, Noh EW, Park JI. (1982) Mass production of selected poplar clones through bud culture. Res Rep. Inst For Gen Korea 18:80-85
- Kwon YJ, Youn Y, Lee SK, Hyun YI, Lee JJ, Lee MH. (1990) *In vivo* rooting of shoots propagated by bud culture on *Juglans*. Res Rep Inst For Gen Korea 26:63-68
- Kulling SE, Rawel HM. (2008) Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) - a review on the characteristic components and potential health effect. Planta Med 74:1625-1634
- Lall S, Mandegar Z, Roberts A. (2006) Shoot multiplication and adventitious regeneration in *Sorbus aucuparia*. Plant Cell Tissue and Organ Culture (Impact Factor: 2.61). 85(1):23-29
- Latha S, Usha M. (2003) *In vitro* culture studies on *Stevia rebaudiana*. In vitro cell. Dev. Bio-Plant 39:520-523
- Lee BC, Kim JH, Park JI. (1985) Induction of plantlets by bud culture in *Quercus acutissima*. Res Rep Inst for Gen Korea 21:104-108
- Lee BC, Shim SY, Lee SK. (1988) Mass propagation and germination of somatic embryos in *Juglans regia* L. (English walnut). Res Rep Inst For Gen Korea 24:99-106
- Litwinczuk W. (2002) Propagation of black chokeberry (*Aronia melanocarpa* Elliot) through in vitro culture. Electronic J Polish Agricultural Universities. 5(2):06
- Litwinczuk W. (2013) Micropropagation of chokeberry by in vitro axillary shoot proliferation. Methods in Molecular Biology vol 11013:179-186
- Liu W, Liu D, Zhang A, Feng C, Yang J, Yoon J, Li S. (2007) Genetic diversity and phylogenetic relationships among plum germplasm resources in china assessed with inter-simple sequence repeat markers. Journal of American Society for

- Horticultural Science vol 132 no.5:619-628
- Martinussen I, Nilsen G, Svenson L, Junttila O, Rapp K (2004) *In vitro* propagation of cloudberry (*Rubus chamaemorus*). plant cell tissue and organ culture 78:43-49
- McCown BH. (2000) Recalcitrance of woody and herbaceous perennials plants: dealing with genetic predeterminism. In Vitro Cell Dev Biol plant 36:149-154
- Moon HK, No EU, HA YM, Sim KG (2002) Micropropagation of juvenile and mature tree of *Corylopsis coreana* by Axillary bud culture. Journal of plant biotechnology. 29(2):117-121
- Moon HK, Kim JH, Park JI (1987) Position effect of axillary bud on shoot multiplication and rooting in bud culture of *Quercus acutissima*. J Kor For Soc 76:370-375
- Moon HK, Youn Y, Yi JS. (1997) Micropropagation of juvenile and mature trees of sawtooth oak (*Quercus acutissima*). J Korea For Soc 86:391-398
- Moon HK, Suk JY, Kim CS. (1997) Micropropagation of a rare species, *Forsythia saxatilis* N. through tissue culture. J Korea For Soc 86:430-434
- Moon JH, Moon HK. (1999) Micropropagation of Mature *Betula davurica* by bud cultures. Journal of plant biotechnology. 26(4):271-274
- Moon HK, Kim YW, Park SY, Han MS, Yi JS. (2010) A review of forest trees micropropagation and its current status in Korea. Journal of plant biotechnology. 37(4):343-356
- Rop O, Mlcek J, Jurikova T, Valsikova M, Sochor J, Reznicek V, Kramarova D. (2010) Phenolic content, antioxidant capacity, radical oxygen species scavenging and lipid peroxidation inhibiting activities of extracts of five black chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) cultivars. J Med Plants Research 4(22):2431-2437
- Slimestad R, Torskangerpoll K, Nateland HS, Johannessen T, Giske NH. 2005. Flavonoids from black chokeberries, *Aronia melanocarpa*. J Food Composition and Analysis 18:61-68
- Strigl AW, Leitner E, Pfannhauser W. (1995) Qualitative and quantitative analysis of the anthocyanins in black chokeberry (*Aronia melanocarpa* Michx Ell.) by TLC, HPLC, and UV/VIS-spectrometry. Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung 201. 3:266-268
- Sueiro L, Yousef GG, Seigler D, De Mejia EG, Grace MH, Lila MA. (2006) Chemopreventive potential of flavonoid extracts from plantation-bred and wild *Aronia melanocarpa* (black chokeberry) fruit. J Food Sci 71(8):480-488
- Szopa A, Ekiert H, Muszynska B. (2013) Accumulation of hydroxybenzoic acids and other biologically active phenolic acids in shoot and callus cultures of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott (black chokeberry). Plant Cell Tissue Organ Culture 113:323-329
- Szopa A, Ekiert H. (2014) Production of biologically active phenolic acids in *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott in vitro cultures cultivated on different variants of the Murashige and Skoog medium. Plant Growth Regul 72:51-58
- Vieitez AM, Corredoira E, Ballester A, Munoz F, Duran J, Ibrara M. (2009) In vitro regeneration of the important North American oak species *Quercus alba*, *Quercus bicolor* and *Quercus rubra*. plant cell tiss organ cult 98:135-145