

과제구분	기본 Code : LS0109	수행시기	전반기	연구기간	2003
연구과제명	수출용 선인장 신품종 육성연구			과제책임자	임 성 희
세부과제명	비모란 무병종묘 생산기술 개발				
색인용어	비모란, 액아배양, 탄소원, 배양온도, 열처리, 항바이러스제, 자구형성				
연구원별 임무					
구분	소속	성명	전화번호	담당임무	
세부과제책임자	경기도원 선인장시험장	임성희	(031)229-6173	시험연구 추진	
공동연구자	"	이상덕	(031)229-6171	시험설계	
	"	박홍배	(031)229-6172	시험연구 관련 문헌조사	
	"	김순재	(031)923-8338	결과평가	

## ABSTRACT

This experiment was conducted to establish efficient culture conditions for mass production in *Gymnocalycim mihanovichii* "Achim3ho", "Fire" and "Mujigaelho".

A proper carbon source to form tubercles from axillary buds was glucose in "Achim3ho", and "Fire" and sucrose in "Mujigaelho". A Suitable culture temperature to form tubercles from axillary buds was 30°C in "Achim3ho" and "Fire". But, "Mujigaelho" wasn't different in 30, 33, 36°C.

In heat and vidarabine treatment, tubercles from axillary buds weren't formed. So, this method was impossible to use practically.

If cutting size of axillary bud of offshoot is less than 0.1mm, tubercle formation efficiency is low. Therefore, the optimum cutting size was including above 2 axillary buds for mass production of *Gymnocalycim mihanovichii*

**Key words:** *Gymnocalycium*, axillary culture, culture temperature, glucose, sucrose, fructose, heat treatment, vidarabine treatment, tubercle formation

### 1. 연구목표

비모란은 목단옥에서 엽록소가 없는 적색의 실생이 분리되면서 재배되기 시작되었고 자급영양이 불가능하여 접목하여 재배되고 있으며 영양번식 방법으로 증식

되어져 왔다. 그러나 이런 계속적인 접목과 영양번식에 의해 바이러스 감염이 만연하게 되어 접목활착율이 저하되고 생육이 지연되는 문제가 야기되고 있다. 그럼에도 불구하고 비모란을 종자로 번식하는 것은 선인장이 계속된 무작위적인 교배로 인해

유전자 조성이 헤테로하여 분리가 일어나고 액아번식 보다 생육이 느리므로 현실적으로 불가능하다.

김 등(1997)은 대목용 삼각주는 Cactus virus X(CVX)에 91% Sammons opuntia virus(SOV)에 60% 감염되어 있으며 대부분이 복합 감염이 되어있다고 보고하였고 열처리에 의해 종자를 받아시킨 신초에서 생장점을 채취한 후 열처리+생장점배양 + 기내바이라졸 10ppm처리에 의해 무병주를 생산하였다고 보고하였다. 그러나 이것은 자구자체를 이용한 무병주 생산 방법이 아니므로 자구자체를 이용하여 무병종묘를 생산할 수 있는 기술이 요구되고 있다.

윤 등(1997)은 비모란을 기내 액아 접목 방법을 이용하여 대량번식 시키는 기술을 개발하였다. 그러나 액아 접목에 의한 대량 번식은 증식효율이 낮고 매번 접목과정을 거쳐야 하는 번거로움이 있어 기내증식 효율을 높이고 자구생산 노력을 절감할 수 있는 기술개발이 요구되고 있는 실정이다.

이에 본연구는 접목과정을 거치지 않고 자구를 효율적으로 증식시킬 수 있는 배양 조건 구명과 액아배양시 열처리 및 항바이러스제 처리에 의한 무병종묘 생산 가능성을 검토하고자 수행하게 되었다.

## 2. 재료 및 방법

대량증식 조건을 구명하기 위한 시험은 포장에서 생육되고 있는 비모란 "파이어" (2002년 선인장시험장 육성), "아침3호" (1998년 선인장시험장 육성), "무지개1호" (1999년 선인장시험장 육성)를 공시재료로

하였으며 기본배지는 2002년도 선인장시험장의 "접목선인장 비모란 무병종묘 대량 증식 기술개발"이라는 용역과제에서 선발된 1/2MS, TDZ 2mg/l, NAA 0.01mg/l, agar 0.8%, 당원 6%로 조성하였으며 pH는 5.5로 조정하였다. 자구는 1~1.5cm크기의 것을 채취하였으며 가시는 뽑지 않고 짧게 자른 후 70% 에탄올에 1분, 2% NaOCl 용액에 15분간 소독하고 멸균수에 3회 세척하여 자구 상부 액아를 1~2개 포함하여 자른 후 절단면을 배지에 닿도록 치상하였다.

액아배양에 의한 자구 대량증식에 적합한 당원종류를 선발하기 위하여 glucose, sucrose, fructose를 종류별로 첨가하여 30℃ 인큐베이터에서 배양하였고 배양온도를 선발하기 위하여 30, 33, 36℃로 처리하여 인큐베이터에서 배양하였으며 배양시 광도는  $15\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 이었다.

바이러스 무병종묘 생산방법을 구명하기 위한 시험은 비모란 "파이어"와 "무지개1호"를 공시재료로 하여 자구를 RIPA(항체 여과진단법)방법으로 바이러스 검정 후 이병된 시료를 선발하여 시험에 사용하였고 치상시에는 자구를 한개 액아만 포함되도록 최대한 작게 채취하였다.

처리는 기외열처리, 기외열처리 후 항바이러스제 처리, 기내열처리, 기내열처리 후 접목, 기내열처리 후 항바이러스제 처리, 접목 후 기내열처리, 항바이러스제 단독 처리 등 7처리로 하였다. 기내 및 기외 열처리는 38℃에서 30일간 처리 하였으며 항바이러스제는 비바라딘을 20mg/l 농도로 배지 멸균 후 배지가 80℃이하로

식었을 때 필터를 이용하여 첨가하였다.

접목에 사용한 대목은 종자에서 받아 되어 기내에서 생육된 무병삼각주를 사용하였으며 배양조건은 Glucose 6%, 배양 온도 30℃로 하였다.

### 3. 결과 및 고찰

탄소원 종류가 자구유기 및 생장에 미치는 영향을 조사해 본 결과 비모란 적색계인 "파이어"는 glucose를 사용하였을 경우 sucrose와 fructose를 이용하였을 경우보다 34% 자구발생율이 우수하였다. 비모란 적색계인 "아침3호"는 sucrose나 glucose를 이용하였을 경우 자구발생율이 각각 76.7%, 77.5%로 효과가 비슷하였고 fructose를 이용하였을 경우는 30%로 자구발생율이 낮았다. 비모란 흑색계인 "무지개 1호"는 sucrose를 이용하였을 때 glucose와 fructose를 이용하였을 경우보다 16% 정도 자구발생이 우수하였다.

품종별로 자구발생율을 비교해 보면 비모란 "아침3호", "파이어", "무지개1호"

순이었고, sucrose를 이용하였을 경우는 glucose나 fructose를 이용하였을 경우보다 켈러스 발생율이 높았으며 fructose를 이용하였을 경우는 고사율이 높은 경향을 보였다. 액아를 1mm 내외로 채취하였을 경우는 켈러스와 자구 생성율이 매우 낮았으며 유기된 자구도 정상적으로 생육되지 못하여 대량증식을 위해서는 액아를 2개 정도 포함시켜 채취하는 것이 좋은 것으로 나타났다.

자구유기를 위한 적정 배양온도를 조사해 본 결과 "파이어"는 30℃에서 배양시 33℃보다는 40%, 36℃보다는 53.3% 자구발생율이 우수하였으며 "아침3호"도 30℃에서 배양시 33℃보다는 40%, 36℃보다는 30% 자구발생율이 우수하였다. 그러나 "무지개 1호"는 자구발생율이 3.3%로 낮았으며 온도별로 차이가 없었다.

이와같은 결과로 탄소원을 glucose로 하고 배양온도를 30℃로 하여 선인장 시험장에서 육성된 신품종을 대량증식하였을 경우 자구수량이 320% 증대되고 접목활착율이 133%이상 향상될것으로 생각되었다.

표 1. 탄소원 종류별 자구유기율

품종	탄소원 <sup>1)</sup>	치상수	자구발생수(%)	켈러스발생수(%)	고사수(%)
파이어	Sucrose	30	0(0)	13(43.3)	17(56.7)
	Fructose	20	0(0)	0(0)	16(80)
	Glucose	50	17(34)	10(20)	38(76)
아침3호	Sucrose	30	23(76.7)	23(76.7)	6(20)
	Fructose	50	15(30)	12(24)	38(76)
	Glucose	40	31(77.5)	26(65)	14(46.7)
무지개1호	Sucrose	40	8(20)	19(47.5)	21(52.5)
	Fructose	30	1(3.3)	4(13.3)	26(86.7)
	Glucose	50	2(4)	0(0)	48(96)

<sup>1)</sup> 탄소원 농도 : 6%

표 2. 배양온도별 자구 유기율

품 종	배양온도	치상수	자구발생수(%)	켈러스발생수(%)	고사수(%)
파이어	30℃	30	16(53.3)	19(63.3)	11(36.6)
	33℃	30	7(23.3)	14(46.7)	16(53.3)
	36℃	30	1(3.3)	4(13.3)	25(8.3)
아침3호	30℃	30	15(50)	22(73.3)	8(26.7)
	33℃	30	5(16.7)	16(53.3)	14(46.7)
	36℃	30	6(20)	9(30)	12(40)
무지개1호	30℃	30	2(6.7)	13(43.3)	17(56.7)
	33℃	30	3(10)	23(76.7)	7(23.3)
	36℃	30	3(10)	16(53.3)	14(46.7)

기외열처리만으로는 바이러스 제거에 효과가 없었으며 파이어와 무지개1호 모두 열처리와 항바이러스제 처리시 자구형성이 되지 않아 바이러스제거 여부를 확인할

수 없었다. 더군다나 삼각주는 비모란에 비해 열처리시 무르는 정도가 심하여 삼각주에 접목한 상태에서 열처리를 하는 것은 불가능하였다.

표 3. 열처리 및 항바이러스 처리별 자구 유기율

<파이어>

처 리	치상수 (개)	켈러스 형성(%)	자구형성 (%)	생존율 (%)	바이러스 제거율(%)
기외열처리	16	-	-	12(75)	0
기외열처리 → 항바이러스제 처리	60	0	0	14(23.3)	-
기내열처리	50	10(20)	0	20(40)	-
기내열처리 후 접목	50	0	0	36(72)	-
기내열처리 → 항바이러스제 처리	50	11(22)	0	16(32)	-
접목후 기내열처리	50	0	0	0	-
항바이러스제 처리	50	12(24)	0	17(34)	-

<무지개1호>

처 리	치상수 (개)	켈러스 형성(%)	자구형성 (%)	생존율 (%)	바이러스 제거율(%)
기외열처리	20	-	-	17(85)	0
기외열처리 → 항바이러스제 처리	50	0	0	16(32)	-
기내열처리	40	11(27.5)	0	21(52.5)	-
기내열처리 후 접목	50	0	0	30(60)	-
기내열처리 → 항바이러스제 처리	50	5(10)	0	20(40)	-
접목후 기내열처리	50	0	0	0	-
항바이러스제 처리	50	13(26)	0	24(48)	-

#### 4. 적 요

- 가. 비모란 적색계인 "파이어"는 glucose를, "아침3호"는 sucrose나 glucose를 흑색계인 "무지개 1호"는 sucrose를 이용하였을 때 자구발생이 우수하였다.
- 나. 자구유기를 위한 적정 배양온도는 적색계인 "파이어"와 "아침3호" 모두 30°C가 효과적이었으며 "무지개 1호"는 30, 33, 36°C에서 차이가 없었다.
- 다. 액아를 1mm 내외로 채취하였을 경우 캘러스와 자구 생성율이 매우 낮았으며 유기된 자구도 정상적으로 생육되지 못하였다.
- 라. 열처리 및 항바이러스제 처리에 의한 무병종묘 생산은 자구발생이 되지 않아 실제적으로 이용하기 어려웠다.

#### 5. 인용문헌

김광수, 성낙술, 김명원, 표병식, 황백. 1997. 액아배양을 통한 쇠무릎(*Achyranthes japonica*)의 대량증식. 한국식물조직배양학회지. 24(6):357-360

김재영, 정명일, 정봉남. 1997. 수출용 선인장의 무병주생산 및 바이러스 검정. 농촌진흥청 원예연구소 연구보고서. pp. 224-454

Escobar, H.A., V.M Villalobos., and A. Vullegas. 1986. *Opuntia* micropropagation by axillary proliferation. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 7:269-277

윤재길, 강성해, 방혜련. 1997. 선인장 조직배양기술 개발연구. 경기도진흥원 선인장시험장 연구보고서. pp. 874-878

최수옥, 이은모, 신동기, 우인식, 최홍수, 정재동. 1996. 열대산 심비디움의 생장점 배양 및 Ribavirin 처리에 의한 바이러스 제거. 식물조직배양학회지. 23(4):217-222

서상영, 안민실, 최소라, 임희춘, 류정. 1999. 나리 LSV제거를 위한 약제 및 열처리 효과. 식물조직배양학회지. 26(1):65-69

#### 6. 연구결과 활용제목

- 비모란 기내 대량증식을 위한 적정 배양조건(2003, 영농활용)