

## 온주밀감(*Citrus unshiu* Marc. var. Okitsu) 미분화 종자로부터 callus 유기 및 증식

진성범<sup>\*</sup> · <sup>1</sup>홍경애 · 부경환 · 이도승 · 류기중

제주대학교 원예생명과학부

<sup>1</sup>제주대학교 방사능이용연구소

### 초 록

조직배양을 통한 기관분화나 식물체 재분화가 어려운 것으로 알려져 있는 온주밀감(*Citrus unshiu* Marc. var. Okitsu) 미분화 종자로부터 callus 유기 조건을 확립하였다. 온주밀감 성숙과실의 미분화 종자를 MT(Murashige and Tucker, 1969) 기본배지에 치상 6주 후에 미숙종자 양쪽 가장자리에 유기된 조그만 white callus를 gibberellin 1mg/L, adenine 25mg/L, malt extract 500mg/L가 첨가된 MT 기본배지에 치상하여 2주간격으로 계대배양하여 캘러스를 유지할 수 있었고, EME(Grosser and Gmitter, 1990a) 배지에 4주 간격으로 계대배양함으로써 증식시킬 수 있었다.

찾는 말: 온주밀감, callus, MT, 미숙종자, GA<sub>3</sub>

### 서 론

감귤류는 mandarin(*C. reticulata* Blanco and *Citrus unshiu* Marc.), sweet orange(*C. sinensis*[L.] Osb.), lemon(*C. limon* Burm. f.), lime(*C. aurantifolia* L.), 그리고 grapefruit(*C. paradisi* Macf.)등으로 구분되는데(Frederick S. Davies and L. Gene Albrigo, 1994), 이중 대부분의 제주감귤은 만다린류에 속하는 온주밀감(*Citrus unshiu* Marc.)으로 제주의 경우는 전체 재배면적의 98%를 차지하고 있다.

제주도의 산업은 감귤 및 채소류 생산을 중심으로 한 농업과 관광산업을 근간으로 하고 있으나 농산물 개방화에 따라 농업의 존립이 어느 때보다 심각하며, 또 이러한 국제화 개방화시대에 감귤의 국제 경쟁력을 높이기 위해서는 유통구조 개선이나 생산성 향상

을 통한 가격 경쟁력을 증진시킴과 동시에 품질면에서의 경쟁력 증진도 제고 해야 할 시점에 와 있다.

감귤 품질 개선을 위한 기존의 방법은 주로 생육환경(주로 수분조절)이나 재배기술(적과등)의 개선에 의존(정재혁, 1993)하여 왔다. 그러나 현재 재배되고 있는 품종은 대부분이 일본에서 도입된 것으로 우리나라의 기후 조건에서는 더 이상 품질을 향상시키는 데는 한계가 있기 때문에 새로운 품종의 개발은 무엇보다도 시급한 사안으로 지적되고 있다.

지금까지 감귤 신품종의 개발은 주로 유성적으로 유사한 감귤 품종인 *Citrus sinensis*와 *Poncirus trifoliata*(Ohgawara et al., 1985; Grosser et al., 1988a), *C. sinensis* 와 *Citrus unshiu* Marc.(Kobayashi et al., 1988), 그리고 *C. sinensis*와 *Citrus paradisi*(Ohgawara et al., 1989)의 원형질 융합에 의한 품종개발과, 유성적으로 유사하지 않은 *C. sinensis*와 *Severinia disticha*(Grosser et al., 1988b)와의 융합에 의한 품종개발이 이루어졌으나, 이는 재분화가 잘 일어나는 *C. sinensis*인 품종을 사용할때의 결과였다. 그러나 온주밀감과 같이 재분화가 잘 일어나지 않는 품종에 대한 연구는 *C. sinensis*의 미성숙 ovule로부터 embryogenic callus를 얻는데 성공한 예(Kochba and Spiegel-Roy, 1973; Kobayashi et al., 1983)를 기초로 'Satsuma' mandarin에 적용해 보았으나 성공하지 못하였다(Kunitaka et al., 1991). 그러나, 거의 비슷한 시기에 Ling et al.(1990)은 성숙과의 미발달 ovule로부터 embryogenic callus를 얻었다는 보고를 하였다.

따라서, 본 실험에서는 온주밀감 재분화 조건을 확립하기 위하여 온주밀감(*Citrus unshiu* Marc. var. Okitsu)의 미분화 종자로부터 callus를 유기 및 증식 조건을 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 식물재료

공시재료는 제주도 남제주군 남원읍에서 재배된 온주밀감 홍진조생(*Citrus unshiu* Marc. var. Okitsu)을 시판하고 있는 농협 직판장에서 착색이 잘된 직경이 7-12cm 정도의 감귤 시료를 사용하였다.

### 미분화 종자 배양

감귤 시료를 70%(v/v)알콜로 표면소독(Ling et al, 1990)한 후 다른 오염원이나 세균이 유입되지 않도록 무균작업대에서 메스로 겉 표면을 자른 후 과실안 배축부근(Gautheret R, 1994)에 붙어 있는 1-2.5mm 정도의 미숙종자를 MT(Murashige and Tucker, 1969) 기본배지에 sucrose 3%, agar 0.8%, pH 5.8로 보정된 배지에 치상하여 배양 조건은 1일 광주기를 16시간으로 약 2000 Lux 이하의 광도로  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 배양하였다.

### 캘러스 유기 및 증식

미숙종자로부터 유기된 white callus를  $\text{GA}_3$  1mg/L, malt extract 500mg/L, sucrose 5% 그리고, agar 0.8%가 첨가된 MT 기본배지에 치상하여 2주간격으로 계대배양하였고, 캘러스를 증식을 위해 EME(Grosser and Gmitter, 1990a) 배지를 사용하였다.

## 결과 및 고찰

온주밀감(*Citrus unshiu* Marc. var. Okitsu)은 재분화가 잘 일어나지 않은 것으로 알려져 있으나, Ling (1990)등에 의하면 'Kanazawa-wase'와 'Ishizuka-wase' 두 품종은 MT 기본배지에 malt extract 40mg/L, adenine 185  $\mu\text{M}$  첨가된 배지에 치상한 결과 미분화종자로부터 직접 캘러스를 얻을수 있어으나 곧 갈변이 일어나 죽는 경향이 있어 캘러스를 증식시킬수 없었다. 그러나, 'Kusumoto-wase' 등 몇몇 품종들은 체세포배를 gibberellic acid( $\text{GA}_3$ ) 2.8  $\mu\text{M}$  첨가된 MT 기본배지에 치상한 결과, 몇몇 체세포배는 hypocotyl에서 캘러스를 유기할수 있었으며, 체세포배로부터 캘러스만 분리하여 같은 배지상에서 3-4주 간격으로 계속적인 계대배양 한 결과 sweet orange로부터 얻어진 embryogenic callus(Hidaka and kajiura, 1988; Kobayashi et al., 1983, 1981; Kochba and Spiegel-Roy, 1977a, 1977b)와 유사함을 보였다고 하였다. 본 실험에서는 미분화종자를 MT 기본배지에 치상 후 2달 후에 미분화종자로부터 체세포배를 얻을수 있었고 이 체세포배로부터 white callus를 얻을수 있었다(Fig. 1). 유기된 white 캘러스를 노화되지 않고

지속적인 캘러스만을 증식시키기 위해서 체세포배로부터 캘러스만을 분리하여 MT 기본배지에 malt extract 500mg/L, adenine 20mg/L, gibberellic acid( $\text{GA}_3$ ) 1mg/L, sucrose 5% 와 Gellan gum 0.2%가 첨가된 배지에 옮겨 2주 간격으로 3달 동안 지속적으로 계대배양함으로써 white callus 만을 유지시킬수 있었다(Fig. 2). 또한, 계속적인 증식을 위해서 EME(Grosser and Gmitter, 1990a) 배지로 캘러스를 옮겨 계대배양을 하여 증식시킬 수 있었다(Fig. 2).

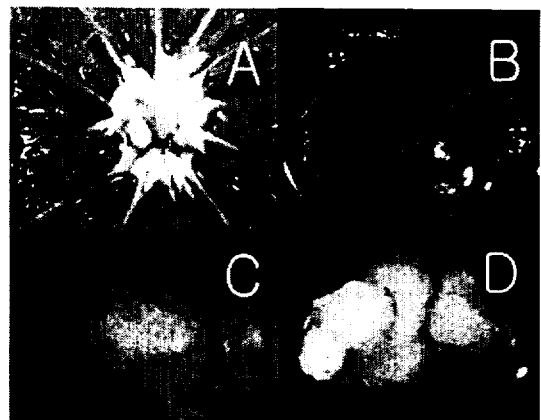


Fig. 1. Callus induced from undeveloped seed of *Citrus unshiu* Marc. var. Okitsu.

A : Cross-section of mature fruit, B : Seed, C-D : Callus induction after 2 months of culture.

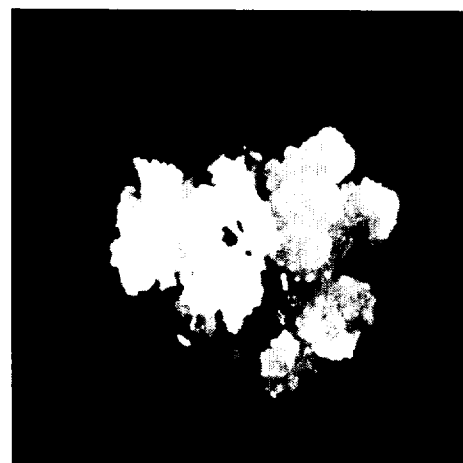


Fig. 2. Growth of callus after 4 weeks under the EME medium

참고문헌

- Grosser, J. W., F.G. Gmitter, Jr., and J.I. Chandler(1988a) Intergeneric somatic hybrid plants of *Citrus sinensis* ov. Hamlin and *Poncirus trifoliata* ce. Flying Dragon. *Plant Cell Rpt.* 7:5-8.
- Grosser, J. W., F.G. Gmitter, Jr., and J.I. Chandler(1988b) Intergeneric somatic hybrid plants from sexually incompatible woody species: *Citrus sinensis* and *Severima drsncha*. *쏘택. Applied Genet.* 75:397-401.
- Kobayashi, S., H. Uehimiya, and I. Ikeda(1983) Plant regeneration from 'Trovita' orange protoplasts. *Jpn. J. Breed.* 33:119-122.
- Kobayashi, S. and T. Ohgawara. 1988. Production of somatic hybrid plants through protoplast fusion in *Citrus*. *J. Agr. Rev. Quart.* 22: 181-188.
- Ling JT, Nito N, Iwanmsa M, Kunitake H(1990) Plant Regeneration from Protoplasts Isolated from Embryogenic Callus of Satsuma. *Hort Science*, 25(8):970-972.
- Murashige, T. and Tucker, D.P.H(1969) Growth factor requirements of citrus tissue culture. *Proc. 1st Intl. Citrus Symp.* 3, 1155-1161.
- Frederick S. Davies and L. Gene Albrigo(1994) *Citrus*, Cab International, 23.
- Ohgawara, T., S. Kobayashi, E. Ohgawata, H. Uehimiya, and S. Ishii.(1985) Somatic hybrid plants obtained by protoplas fusion between *Citrus sinensis* and *Poncirus trifoliata*. *쏘택. Applied Genet.* 71: 1-4.
- Ohgawara, T. Kobayashi S, Ishii S, Yoshinaga D & Oiyama I(1989) Somatic hybrid ization in *Citrus*: navel orange(*C. sinensis* Osb.) and grapefruit(*C. paradisi* Macf.). *쏘택. Appl. Genet.* 78:609-612