

04-2-30

기내 파종한 고추 실생의 유아로부터 체세포배발생의 유도

김진화, 한중술*, 오대근, 우종규, 김창길¹

원예연구소 원예생명공학과, ¹상주대학교

목적

기존의 고추 형질전환 기법은 대부분 고빈도의 신초 재분화 체계를 이용하고 있지만 형질전환 효율은 만족할 만한 수준에 이르지 못하고 있다. 최근의 체세포배발생을 이용한 다수 작물에서의 성공적 형질전환 사례를 고추에 적용하기에 앞서, 고추의 간편한 체세포배발생 체계를 탐색코자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 재료

AVRDC 도입 육종계통 '#26', '#27', '#28', '#29', '#30' 및 시판 일대잡종 '금탑', '녹광'의 종자

2. 방법

수정 MS 반고체 배지에 고추 7점의 표면 살균된 종자를 직파하고 6주 후 발아율과 캘루스 형성률을 조사하여 가장 양호한 2개 인자형을 선발하였다. 이 2개 계통을 기본배지, 식물생장조절제 및 탄소급원을 달리한 6개 반고체배지에 직파하여 명(일장: 16h L/8 h D) 또는 연속 암배양 하였다. 6주 후, 캘루스가 부착된 모조직을 생장조절제가 첨가되지 않거나 zeatin이 미량 첨가된 MS(P) 반고체배지에 이식하여 명 또는 암배양 하였다. 8주 후 실체현미경으로 확인 가능한 심장형 이상의 발육상에 이른 체세포배를 조사하였다. 유도된 체세포배는 생장조절제가 첨가되지 않은 MS(P) 반고체배지에 이식하여 명배양 함으로써 상배축 신장 및 발근을 유도하였다.

결과 및 고찰

고 삼투압 배지에서 7개 인자형의 고추 중 발아율은 #28이 암배양에서 93.6%, 명배양에서 40.4%로 가장 높았고 callus 형성율은 #29이 암배양에서 3.9%, 명배양에서 57%로 가장 높았다. 이 2개 계통의 종자를 다시 6개 배지에 파종하여 캘루스를 유도한 결과, 두 계통 모두 2,4-D 2mg/L, BA 3mg/L 및 sucrose 30g/L가 첨가된 MS(P)3 반고체배지에서 각각 50% 및 75%로 callus가 다량 형성되었고, 명배양 보다 암배양이 양호하였다. MS 배지와 MS(P) 배지는 첨가물 중 비타민에서 큰 차이를 보인다. 이 배지를 이용한 캘루스 유도 실험을 통해 비타민이 고추 종자 실생으로부터 캘루스 형성에 관여한다는 것을 확인할 수 있었다. 8주 후 배양물 전체를 배발생 유도 배지로 계대 배양한 결과, sucrose 80g/L 첨가 배지에서 유래한 배양물에서만 체세포배가 유도되었다. #28은 생장조절제 무첨가 MS(P)에서 14개 모조직으로부터 28개의 체세포배가 형성되었고 #29는 생장조절제 무첨가 MS(P) 및 zeatin 첨가 MS(P)에서 각각 6개 모조직으로부터 14개 체세포배가 형성되었다. 특이하게, 이 체세포배는 모두 실생의 성장점에서만 관찰되었으며 생장조절제가 첨가되지 않은 MS(P) 배지에 이식하였을 때 녹화된 기형적 떡잎 성장을 나타내었다. 그러나, 다수의 비정상 체세포배는 형태적으로 정상적인 상배축을 신장시켰고 본잎을 분화시켰다.

* 연락처: 한중술, 전화: 031-290-6196, E-mail: harnjs@rda.go.kr