

http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2019.5.1.413

JCCT 2019-2-53

마디배양과 다양한 호르몬을 이용한 효율적인 알스트로메리아 캘러스 유도 시스템 체계 확립

Establishment of efficient *Alstroemeria* callus induction system using node culture and various hormones

양환래*, 이상희** 김종보***

Hwan Rae Yang, Sang Hee Lee, Jong Bo Kim*

요약 알스트로메리아는 절화 국제 시장에서 가장 중요한 작물 중 하나이다. 특히 긴 개화기간, 다양한 꽃 색깔, 그리고 저온적응성이 높고 배양기간 동안 낮은 에너지를 필요로 한다. 알스트로메리아는 낮은 증식률, 긴 시간이 걸리는 배양 과정, 높은 바이러스 감염을 때문에 기내 배양 기술이 오늘날까지 계속해서 발전해왔다. 캘러스 유도는 직접적인 식물체 발생 방법에 비해 다양한 배양 부위를 가지고 있고 캘러스만 유지를 잘한다면 캘러스를 유지하면서 식물체 분화를 동시에 할 수 있어 대량 증식에 많은 이용이 가능하다. 본 연구에서는 효율적인 캘러스 유도를 위한 다양한 호르몬과 품종을 비교하여 실험을 진행하였다. 마디 및 마디사이를 배양하여 실험을 진행한 결과, 8주 후부터 캘러스가 발생하기 시작하였고, 마디사이에 비해 마디에서의 캘러스 발생율이 높게 측정되었다. 또한 2,4-D와 picloram을 비교한 실험에서는 2,4-D를 처리한 배지에서 캘러스 발생율이 최대 2배 이상 높게 측정되었다. 이러한 결과를 이용하여 알스트로메리아 대량증식 시스템 체계 확립 및 신품종 육성에 도움을 줄 것이라 생각되어진다.

주요어 : 알스트로메리아, 캘러스, 대량증식, 마디배양, 조직배양

Abstract *Alstroemeria* (Alstroemeriaceae) is one of the most important cut flowers in international market. Especially, characteristics like long vase-life, various colors, tolerance to low temperature and a low energy requirement during cultivation have stimulated this success. Because of its characteristics such as low multiplication rates, time-consuming process and high risk of carrying viral disease, in vitro propagation techniques based on rhizome meristems culture have been developing nowadays. The callus induction has various cultivation sites compared with the direct plant generation method, and if the callus is maintained well, the plant differentiation can be performed simultaneously while maintaining the callus, so that it can be used for mass proliferation. In this study, we tested various hormones and cultivars for efficient callus induction. As a result of culturing between the nodes and the internodes, the callus began to be formed after 8 weeks, and the calli incidence in the nodes was higher than that between the internodes. Also, in the comparison of 2,4-D and picloram, the callus incidence rate was up to 2 times higher in the medium treated with 2,4-D. Using these results, it is thought that it will help establish the system of mass propagation system of *Alstroemeria* and cultivate new varieties.

Key words : *Alstroemeria*, Callus, Mass propagation, Node culture, Tissue culture

*학생회원, 건국대학교 생명공학과 (제1저자)

**학생회원, 건국대학교 생명공학과 (참여저자)

***정회원, 건국대학교 생명공학과 (교신저자)

접수일: 2018년 10월 17일, 수정완료일: 2018년 11월 23일

게재확정일: 2018년 12월 28일

Received: October 17, 2018 / Revised: November 23, 2018

Accepted: December 28, 2018

*Corresponding Author: jbhee1011@kku.ac.kr

Dept. of Biotechnology, Konkuk Univ, Korea

I. 서 론

알스트로메리아(*Alstroemeria*)는 세계 10대 절화 중 하나로 경제적인 가치가 매우 큰 절화 작물이다 [1]. 본 연구의 소재로 사용된 알스트로메리아(*Alstroemeria*)는 알스트로메리아과(*Alstroemeriaceae*)에 속하는 단자엽 식물로, Inca lily 또는 Peruvian lily 라고도 알려져 있다 [2]. 알스트로메리아는 칠레와 브라질과 같은 남미를 중심으로 하여 약 100여 종이 넘는 자생종이 분포하고 있다 [3].

알스트로메리아는 화색이나 화형이 다양하고 화려하여 국내 및 해외에서도 인기가 증가하고 있는 추세이다. 국내에서는 2005년부터 시장규모가 지속적으로 증가하고 있고, 절화 수명과 개화기간이 길어 소비자들에게도 각광받고 있다 [4].

그러나 전통 육종방법으로는 번식기간이 길고 증식률이 낮으며 바이러스 감염율이 높아 대량증식이 어렵고 또한 이와 관련된 연구현황은 미미한 실정이다 [5]. 따라서 식물조직배양 기술을 이용한 알스트로메리아 대량증식 시스템 구축이 필요하고 또한, 이를 응용하여 신품종 및 우량 품종을 개발하는 것이 필요하다.

직접적인 식물체 발생이 아닌 간접적 식물체 발생은 캘러스 유도를 통해 이루어 진다 [6]. 단자엽 식물인 알스트로메리아는 직접적인 식물체 발생의 다양한 어려움으로 캘러스 유도를 통한 간접적인 식물체 발생에 많은 연구 결과들이 존재한다 [7-8]. 캘러스 유도는 직접적인 식물체 발생 방법에 비해 다양한 배양 부위를 가지고 있고 캘러스만 유지를 잘한다면 캘러스를 유지하면서 식물체 분화를 동시에 할 수 있어 대량 증식에 많은 이용이 가능하다.

따라서, 본 연구에서는 품종 출원 예정인 알스트로메리아 교잡 계통 C269 및 D187의 마디 배양을 바탕으로 효율적인 캘러스 유도를 구명하기 위해 실험을 진행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 식물체 재료

전남대학교 화훼원예학 연구실에서 품종 출원 예정인 알스트로메리아 교잡계통 C269 및 D187의 마디 및

마디사이를 실험 재료로 사용하였다. C269 및 D187 품종은 절화로서 상업가치가 높다고 판단되는 우량 육종 계통으로, 외래 품종과 비교하였을 때 꽃과 초장이 크고 줄기 또한 비대한 것이 특징이다 [9].

먼저, C269 및 D187의 근경을 살균 후 수세하여 MS Medium [10] salts, 3% sucrose, 0.25% gelite, 6-Benzylaminopurin 2.0 mg/L, pH 6.0±0.1에 치상하여 초대배양 하였다. 배양체는 기온 20±1℃인 배양실에서 명기 16시간과 암기 8시간의 조건 하에서 배양하였다. 초대 배양 이후 4주에 한번 계대배양을 실시한 후 근경에서 자라난 줄기의 마디와 마디사이를 이용해 실험을 위한 식물 재료를 준비하였다.

2. 마디배양을 이용한 캘러스 유도 실험

효율적인 캘러스 유도 실험을 진행하기 위해 두 품종의 근경으로부터 자라난 줄기의 마디와 마디사이를 1cm 크기로 잘라 실험에 사용하였다. 각각의 식물 재료들은 SIM(Shoot Induction Medium) 배지와 CIM(Callus Induction Medium) 배지 두 종류의 배지에 차례대로 치상하여 실험을 진행하였다.

각 배지는 Petri dish(90 × 15, SPL)에 약 30 mL 분주하여 준비하였고 배양체는 품종별로 Petri dish당 30개의 마디 및 마디사이를 치상하여 각각의 처리구 당 총 150개씩 3반복 실험을 진행하였다.

먼저 SIM 배지는 기본 MS 배지에 TDZ 2.2 mg/L 와 0.25% gelrite를 첨가하여 일주일 동안 명배양을 실시하였다. SIM 배지에서 일주일간 배양 한 후에 CIM 배지로 옮겨 암배양을 실시하였다. 기본 CIM 배지는 SH powder 3.1 g/L, 3% sucrose, 2,4-D 2.0 mg/L, 0.25% gelrite를 첨가하여 실험에 사용되었다. 또한 2,4-D 호르몬 외에도 picloram을 이용하여 2.0 mg/L, 4.0 mg/L 를 CIM 배지에 첨가하여 실험을 진행하였다.

조사항목으로는 2주마다 캘러스 발생율을 조사하였고 총 12주 후의 결과를 조사하였다.

III. 결과 및 고찰

품종별 캘러스 유도 효율 비교

알스트로메리아 마디배양을 통한 품종별 캘러스 유도 효율 비교 실험을 진행하였다. Kim et al. (2013)은

axil tissue가 부착된 마디를 배양함으로써 Compact Embryogenic Callus (CEC)와 Friable Embryogenic Callus (FEC)를 얻을 수 있었다고 보고하였다. 본 실험에서도 각 품종의 마디 및 마디사이를 배양한 결과,

배양 8주 후부터 마디 및 마디사이에 캘러스가 발생되는 것을 확인할 수 있었다(Figure 1).

C269 및 D187 두 품종 모두 마디사이보다 마디에서의 캘러스 발생율이 더 높게 측정되는 것을 확인하였고, 품종별 캘러스 유도 효율면에 있어서는 D187 품종이 C269 품종에 비해 20% 이상 높게 발생하는 것을 확인하였다(Table 1).

호르몬 종류에 따른 캘러스 유도 효율 비교

일반적으로 캘러스 유도에 사용되어지는 2,4-D 호르몬 외에도 picloram을 CIM 배지에 첨가하였을 때 캘러스 유도에 효율적이라는 보고가 있다.

본 실험에서는 2,4-D 2.0 mg/L 외에도 picloram 2.0 mg/L, 4.0 mg/L를 CIM 배지에 첨가하여 알스트로메리아 마디배양에 있어서 효율적인 캘러스 유도 효율 비교 실험을 진행하였다. 총 12주 후에 캘러스 발생율을 측정하였는데, 두 품종 모두 picloram을 첨가한 CIM 배지보다 2,4-D를 첨가한 CIM 배지에서 최대 2배 이상 좋은 효율을 나타내는 것을 확인하였다(Table 1). 그러나 전체적인 효율면에 있어서는 두 호르몬 모두 높은 효율을 나타내지 못하였기 때문에 추가적인 실험을 통한 효율적인 캘러스 유도 실험을 필요로 한다.

IV. 적 요

알스트로메리아는 세계 10대 절화 작물 중 하나로 경제적으로 매우 가치가 있는 중요한 작물이다. 그러나 기존의 전통적인 육종 방법으로는 낮은 증식률, 긴 번식기간, 높은 바이러스 감염율 등으로 인한 대량 증식이 어렵기 때문에 기내 식물조직배양 기술을 통하여 대량증식 시스템 체계를 확립하는 것이 중요하다. 따라서 본 실험에서는 국내 품종 출원 예정인 알스트로메리아 C269 및 D187의 마디배양을 통한 효율적인 캘러스 유도 효율 비교 실험을 진행하였다. 단자엽 식물인 알스트로메리아는 직접적인 식물체 발생의 다양한 어려움

이 존재하기 때문에 캘러스 유도를 통하여 대량증식을 유도하는 것이 효율적인 방법이다. 캘러스 유도는 직접적인 식물체 발생 방법에 비해 다양한 배양 부위를 가지고 있고, 캘러스를 유지하면서 식물체 분화를 동시에 할 수 있기 때문에 대량증식에 있어서 많은 장점을 가지고 있다. 본 실험에서는 마디와 마디사이 배양을 통하여 두 재료간의 캘러스 유도 효율을 비교하였고, 2,4-D 및 picloram을 CIM 배지에 첨가하여 두 호르몬간의 캘러스 유도 효율을 비교하였다. 12 주 간의 캘러스 유도 효율을 비교한 결과, 8주 후부터 캘러스가 조금씩 발생하기 시작하였다. 특히 마디와 마디사이에 있어서는 마디에서의 효율이 높게 측정되었는데 이는 마디사이보다 마디에서의 성장점이 많이 분포되어있기 때문에 효율이 높게 측정되었음을 확인하였다. 또한 호르몬 종류에 따른 캘러스 유도 효율 비교 실험에서는 2,4-D를 사용하였을 때 picloram보다 최대 2배 이상 좋은 효율을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 두 호르몬 외에도 Akutsu (2002)는 NAA와 BA 혼합 배지를 통해 캘러스를 유도 할 수 있었고, Seyyed (2013) 또한 picloram 및 BA 혼용처리를 통하여 FEC의 형성이 두 배가 되었다고 보고한 바 있다. 따라서 2,4-D 및 picloram을 이용한 캘러스 유도 효율 실험에 있어 여러 가지 호르몬을 혼용처리 하였을 때 캘러스 획득에 긍정적인 영향을 줄 것이라 기대되어진다.

이러한 연구 결과를 통하여 알스트로메리아 기내 배양과 대량 증식 시스템 구축에 도움을 주어 우량 품종 개발 및 보급에 큰 영향을 줄 것으로 기대된다.

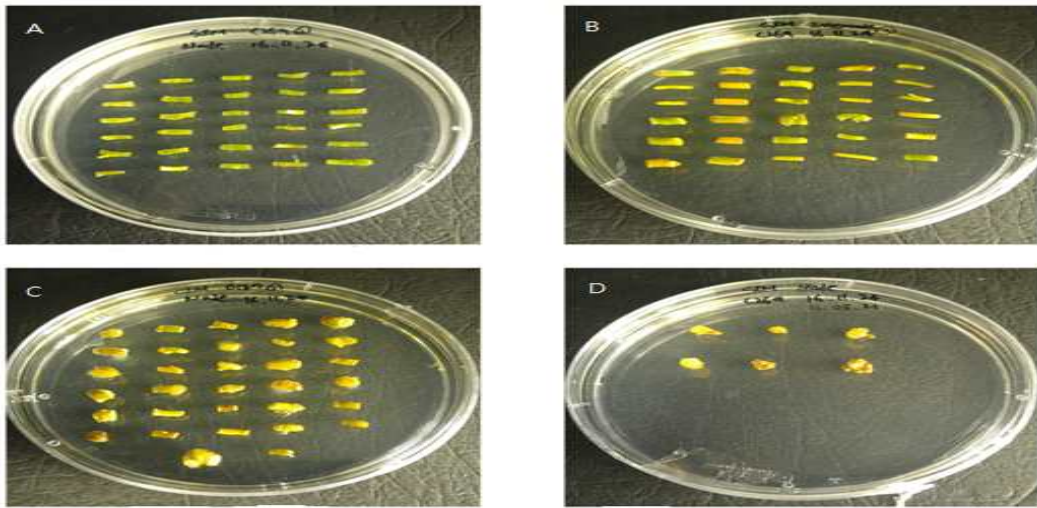


그림 1. 알스트로메리아 마디로부터 발생된 캘러스 발생 과정
 Figure 1. Production process of callus from *Alstroemeria* nodes
 (A: SIM medium culture B: CIM medium culture C: After 8 weeks of culture D: Induction of callus from nodes)

표 1. 배양 부위 및 호르몬 조성에 따른 캘러스 유도 효율 비교
 Table 1. Comparison of callus induction efficiency according to cultivation and hormone composition of *Alstroemeria*

Medium	Callus induction (%)			
	C269		D187	
	Node	Internode	Node	Internode
CIM	8.9±0.3	0.3±0.1	11.6±0.4	3.1±0.3
CIMP2	6.1±0.5	1.3±0.2	8.7±0.3	5.2±0.3
CIMP4	6.2±0.3	5.1±0.2	8.3±0.3	5.5±0.3

References

- [1] Park Sung-Wha, Han Subum, Park Hyungbin, An Joo Hee, Han Tae-Ho, "Breeding of *Alstroemeria* Cultivar 'Cnalshope' with White Color", Flower Research Journal Vol.23 No.3 pp.212-216, 2015.
- [2] Bridgen MP, "*Alstroemeria*", The Ball Red Book. 16:341-348, 1997.
- [3] Aker S, Healy W, "The phylogeography of the genus *Alstroemeria*", *Herbertia (USA)* 46:76-87, 1990.
- [4] Altpeter F, Fang Y-D, Xu J, Ma XR,, "Comparison of transgene expression stability after Agrobacterium mediated or biolistic gene transfer into perennial ryegrass", In: Hopkins A, Wang ZY, Mian R, Sledge M, Barker R (eds), *Molecular Breeding of Forage and Turf*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 255-260, 2004.
- [5] Van Schaik CE, Posthuma A, De Jeu MJ, Jacobsen E, "Plant regeneration through somatic embryogenesis from callus induced on immature embryos of *Alstroemeria* spp", *L. Plant Cell Rep* 15:377 - 380, 1996.
- [6] Seyyedyousefi S. R, Kaviani B, Dehkaei N. P. and Salehzadeh A, "Callus induction in *Alstroemeria* using NAA and BAP", *European Journal of Experimental Biology.*, 3(5): 137-140, 2013.
- [7] Kim J. B., Raemakers C. J. J. M., Jacobsen E., Visser R. G. F, "Efficient somatic embryogenesis in *Alstroemeria*". *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 86: 233-238, 2006.
- [8] Akutsu M. and Sato H, "Induction of proembryos in liquid culture increases the efficiency of plant regeneration from *Alstroemeria* calli", *Plant science* 163: 475-479, 2002.
- [9] Park Sung-Wha, Lee Sang-Hyun, Kim Jong Bo, Jung Hyo Jin, Wi Seong-Gon, and Han Tae-Ho , "Development of Mass Propagation System via Rhizome Culture in Elite Breeding Line C269 of *Alstroemeria*". *Flower Res. J.* 25(4) : 232-239, 2017.
- [10] Murashige T, Skoog F, "Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture", *Physiol Plant* 15:473-497, 1962.

※ 본 연구는 농림축산식품부 농생명산업기술 개발사업 (과제번호: 116092-3)에 의해 이루어진 것임.