

## 212. 담배 종양켈루스와 정상켈루스의 혼합배양에 미치는 식물호르몬의 영향

한국인삼연구소, 경희대학교

양덕준\*, 최광택, 이정명

Effect of phytohormone on the growth of calli co-cultured with tobacco tumor and normal calli

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

Dept. of Horti., Kyunghee Univ.

D.C. Yang and K.T. Choi

J.M. Lee

### 실험목적

식물형질전환용 운반체인 Ti-plasmid의 T-DNA가 식물세포의 핵내로 삽입되면 phytohormone autonomy gene의 발현으로 과잉 식물호르몬이 생성되기 때문에 형질전환된 조직을 배양할때 정상조직과는 판이하게 외생호르몬에 대해서 반응하게 된다. 또한 식물호르몬이 전혀 첨가되지 않은 배지에서도 teratoma shoot가 왕성히 형성되기 때문에 완전히 성숙된 식물체로 재분화 시키기가 무척 어려운 실정이다.

그래서 본 연구는 정상켈루스와 종양켈루스를 혼합배양 했을때 식물호르몬에 대한 반응을 조사하고 특히 재분화 가능성을 진단하고자 수행하였다.

### 재료 및 방법

1. 재료 : *Nicotiana tabacum* var. NC2326의 줄기에 상처를 주고 *Agrobacterium tumefaciens* C58을 감염시켜 유기시킨 crown gall tumor 조직을 식물호르몬 무첨가 배지에 접종하여 왕성히 성장한 이배체 종양켈루스와, 약배양에 의해 유기된 반수체 식물체에 동일 균주를 감염시켜 유기시킨 반수체 종양켈루스, 그리고 *N. glauca*와 *N. langsdorffii*의 상호교잡에 의해 형성된 종자로부터 유기된 genetic tumor 조직에서 탈분화된 종양켈루스를 재료로 사용하였다.
2. 방법 : 식물호르몬이 전혀 첨가되지 않은 배지에서 왕성히 성장한 종양켈루스와 정상켈루스를 각각 1:1로 혼합하여 2,4-D 0.5, 2.0mg/l와 BA, Kinetin을 각각 0.5mg/l 첨가된 배지에 접종배양한후 켈루스 성장반응과 재분화 가능성을 조사하였으며, 혼합배양후 2,4-D 0.5mg/l에서 왕성히 성장한 혼합켈루스를 다시 분화배지에 옮겨 성장반응을 조사하였다.

### 실험결과 및 고찰

1. 2배체 종양켈루스는 BA 0.5mg/l에서 전혀 shoot가 형성되지 않았으나 반수체 종양켈루스는 재분화율이 34%이었다.
2. 2배체 종양켈루스에서는 teratoma shoot가 형성되었으나 반수체에서는 전혀 형성되지 않았다.
3. 종양켈루스와 정상켈루스를 혼합배양시에는 Kinetin, BA 0.5mg/l에서 각각 100% 재분화가 되었다.
4. 식물호르몬 무첨가 배지에서는 혼합배양시 2배체일 경우 재분화가 되었으나 반수체에서는 전혀 되지 않았다.
5. 종양켈루스와 정상켈루스를 혼합배양후 (2,4-D 0.5mg/l) 다시 재분화 배지에 접종한 결과 BA 0.5mg/l에서 재분화율이 반수체일경우 100% 이었으나, 2배체일 경우 89%로 감소되었다.
6. 종양켈루스와 정상켈루스는 1:29의 비율로 혼합 배양시에도 생장은 거의 비슷하였다.

Table Effect of cytokinins on the shoot formation of tobacco NC2326 tumor callus

	Kinetin 0.5mg/l (%)	BA 0.5mg/l (%)
Diploid tumor callus	0	0
Haploid tumor callus	0	34
Diploid normal callus	100	100

Table Effect of cytokinins on the shoot formation of tobacco NC2326 tumor callus co-cultured with normal callus

	Diploid tumor callus(%)	Haploid tumor callus(%)
Kinetin 0.5mg/l	100	100
BA 0.5mg/l	100	100
Phytohormone free	100	0

Table Effect of phytohormone on the growth of tobacco NC2326 tumor callus co-cultured with normal callus

Unit : Fresh weight(g)

Phytohormone	Haploid tumor callus		Diploid tumor callus	
	30 days	70 days	30 days	70 days
0.5 mg/l 2,4-D	4.884	5.386	2.063	4.963
2.0 mg/l 2,4-D	0.496	6.000	0.355	5.435
0.5 mg/l BA	2.800	4.253	2.065	5.022
0.5 mg/l Kinetin	1.262	3.224	2.093	3.512
Phytohormone free	0.700	4.016	0.793	3.821

Table Effect of combination ratio of tumor and normal calli on the growth of haploid tumor callus of tobacco NC2326

Ratio *	Fresh weight (g)	Ratio *	Fresh weight (g)
7:1	7.42±0.658	1:3	8.54±0.637
3:1	8.61±0.417	1:7	7.49±0.196
1:1	9.66±0.238	1:15	7.63±0.238

\* Ratio : tumor callus : normal callus