

## 원형질체 융합을 이용한 감자 육종

조광수 · 박태호

### Potato breeding via protoplast fusion

Kwang-Soo Cho · Tae-Ho Park

Received: 16 June 2014 / Revised: 20 June 2014 / Accepted: 26 June 2014  
© Korean Society for Plant Biotechnology

**Abstract** Plant cells from which the cell walls have been enzymatically or mechanically removed are called protoplasts. The protoplasts are theoretically totipotent and can be used as sources of somatic cell fusion in practical breeding programs. Wild *Solanum* species have often been used as sources of important agricultural traits including diverse disease resistance. However, they cannot often be directly applied to breeding programs due to their sexual incompatibility with *S. tuberosum*. Somatic hybridization via protoplast fusion is one of the ideal methods to overcome this limitation and to introgress certain traits into *S. tuberosum*. This technique has still widely been used in potato since the first fusion was reported in 1970s. Therefore, this review highlights general perspectives of protoplast fusion and discusses the application of protoplast fusion in potato breeding.

#### 서론

원형질체(protoplast)는 세포벽을 기계적으로 또는 효소에 의해 제거한 식물세포를 말한다. 이론적으로 원형질체는 탈분화할 수 있는 능력을 가지며, 세포주기로 진입하여 반복적인 유사분열을 진행함으로써 증식 또는 다양한 기관으로 재분화 하는 등의 전형성능을 갖는다. 이러한 성

질은 다양한 식물종을 대상으로 원형질체 융합을 이용한 실용적인 육종방법을 제공하며, 생식세포의 수정을 통해 이루어지는 접합자의 형성 전 또는 형성 후, 정상적인 접합자를 형성하는데 문제를 발생시키는 근연이종 식물체 간의 교잡능력 장벽을 피해 서로 다른 동형핵체(homokaryon) 또는 이핵접합체(heterokaryon)와 이형세포질 잡종(alloplasmic hybrids, cybrids)을 창출할 수 있는 기회를 제공한다.

4배체( $2n=4x=48$ )인 재배종 감자(*Solanum tuberosum* L.)는 전세계적으로 생산량이 네 번째에 이르는 가장 중요한 작물 중 하나이다. 재배종 감자는 역병, 풋마름병, 더덩이병 등 다양한 병에 대해 감수성을 보이며, 이러한 병들은 결과적으로 감자의 생산성에 영향을 줄 뿐 만 아니라 품질에도 큰 영향을 미친다. 따라서 다양한 감자 유전자원을 이용한 병저항성 감자품종의 육성은 다양한 병에 대해 저항성을 달성할 수 있는 가장 현실적이며 이상적인 방법으로 고려되고 있다(Jansky 2000). *Solanum* 속의 야생종은 이러한 생물학적인 요인 뿐 만 아니라 비생물학적 요인과 다양한 농업형질에 대한 가치를 지닌 중요한 유전자원으로 가치를 인정받고 있으며(Cardí et al. 1993; Helgeson and Haberlach, 1999), 다양한 야생종들이 실제 감자의 병저항성을 증대시키기 위한 육종 프로그램에 이용되고 있다. 하지만 많은 수의 야생종들이 재배종 감자와 생리적으로 불화합성이란 제한된 조건에서 육종에 활용되고 있다. 이는 교배양친의 배유의 계놈 구성비(endosperm balance number, EBN)에 의해 결정되며, 이에 따른 정상적인 배와 배유형성의 여부가 이종 및 이배수체 간 교잡의 성공을 결정하는 요인이 되고 있다(Ortiz and Ehlenfeldt 1992; Cho et al. 1997).

감자의 육종에 다양한 야생종을 활용하는데 발생하는 이러한 불화합성을 극복하기 위한 방법으로는 도입 유전자원의 EBN을 고려하여 교배가 가능한 유전자원들을 선제적으로 교배하여 재배종 감자와 교배가 가능한 새로운

K.-S. Cho  
국립식량과학원 고품질농업연구센터  
(Highland of Agriculture Research Center, National Institute of Crop Science, RDA, Pyongchang, 232-955, Republic of Korea)

T.-H. Park (✉)  
대구대학교 원예학과, 대구대학교 생명환경연구소  
(Department of Horticulture and Institute of Life and Environment, Daegu University, Gyeongsan 712-714, Republic of Korea)  
e-mail: thzoo@daegu.ac.kr

계통을 육성하는 방법(bridge crosses), 재배종 감자가 보유하고 있지 못한 유용 형질과 관련된 유전자를 근연야생종에서 찾아 클로닝하여 형질전환 방법을 이용하여 재배종 감자로 도입하는 방법(genetic modification, GM), 그리고 앞서 언급한 원형질체 융합을 이용한 체세포잡종을 유도하는 방법(somatic hybridization)이 있다(Ahn and Park 2013). 이중 bridge cross와 GM방법의 경우, 전자는 재배종 감자와 교배가 가능한 계통을 육성하기 위하여 교배조합을 구성하여 후대 식물체를 전개하고 도입하고자 하는 형질에 대한 선발 과정이 수 차례 반복되어야 하며, 후자는 우선적으로 도입하고자 하는 유용 형질과 관련된 유전자를 클로닝하는 작업이 필수적인 과정인 이유로 시간과 노력이 많이 들 뿐 만 아니라, 특히 GM방법의 경우 여전히 사회적으로 거부감을 나타내고 있어, 실질적인 감자 육종에 활용하는 데 많은 어려움이 있다. 반면에 체세포잡종을 이용한 감자 육종은 1970년대 후반 감자의 원형질체로부터 식물체의 재분화가 성공적으로 이루어지고 체세포잡종 육성 프로그램에 적용된 이래로 현재까지도 여전히 불화합성 감자 근연야생종으로부터 농업적으로 중요한 형질을 재배종 감자로 도입하는 시도가 이루어지고 있다(Shepard and Totten 1977; Binding et al. 1978; Melchers et al. 1978).

이에 본 논문에서는 식물 원형질체 융합에 대한 전반적인 연구현황과 감자의 근연야생종이 가지고 있는 유용 형질을 원형질체 융합을 통하여 재배종 감자에 도입하고자 이루어진 감자육종 연구의 실례를 대상으로 실제 육종에 이용된 근연야생종, 목표형질, 선발방법 등을 조사하여 검토한 후 국내에서 이러한 육종 방법의 적용 가능성을 논의하고자 한다.

### 식물 원형질체 융합 및 선발 방법

원형질체 융합에 대한 이론은 이미 약 100년 여 전에 보고가 되었으며, 작물을 이용한 체세포잡종의 경우에는 담배를 이용한 중간 체세포잡종이 첫 번째 성공사례로 보고되었다(Carlson et al. 1972). 이후 다른 많은 식물종에서 원형질체를 이용하여 체세포잡종 창출이 시도되었고 이를 통해 성공적인 체세포잡종 식물체 재분화가 이루어졌으며, 최근까지도 다양한 식물종을 대상으로 지속적으로 연구가 진행되고 있다(Gamborg 2002; Eeckhaut et al. 2013; Shankar et al. 2013).

원형질체 융합의 방법으로는 식물의 종류에 따라 화학적 융합법과 전기적 융합법이 이용되고 있으며 거의 유사한 비율로 적용되고 있다. 두 가지 방법의 장점을 결합한 새로운 방법이 개발되기도 했으나, 이는 운향과(Rutaceae) 식물에서만 성공적으로 적용된 사례로 거의 이용되고 있

지는 않다(Olivares-Fuster et al. 2005). 또한 융합 대상 식물들의 유전적 기여 방식에 따라 대칭적 원형질체 융합(symmetric fusion)과 비대칭적 원형질체 융합(asymmetric fusion)으로 구분할 수 있다. 대칭적 원형질체 융합은 융합 대상 양친간의 완전한 게놈이 융합된 형태를 말하며, 이 경우 특정 염색체 간에 서로 거부 반응을 나타냄에 따라 유전자 충돌(gene conflict) 현상이 증가하게 된다. 뿐 만 아니라, 원하지 않는 유전적 특성이 도입되어 융합 식물체가 비정상적으로 또는 매우 느린 속도로 성장하거나 거의 불임인 식물체로의 재분화, 그리고 비정상적으로 다루기 힘든 캘러스로의 분화 등 부정적 효과가 나타나기도 한다(Eeckhaut et al. 2006). 이에 반해 비대칭적 원형질체 융합은 게놈 분절(genome fragmentation) 이후 하나의 제한된 게놈이 융합체로 전달되게 된다(Xia 2009). 이러한 비대칭 융합은 세포질 DNA와 핵 DNA의 융합에 적용될 수 있으며, 특히 세포질 웅성불임(cytoplasmic male sterility, CMS)와 같은 형질의 도입에 많이 이용되고 있다(Liu et al. 2005).

원형질체 융합을 육종에 이용하기 위한 초기 융합계통 육성 과정은 일반적으로 원형질체의 분리, 분절(비대칭 융합의 경우 적용), 융합, 재분화 그리고 선발의 과정을 거친다(Razdan 2003; Liu et al. 2005). 이중 융합 이후, 융합하고자 하는 서로 다른 식물체 간의 게놈이 실제 융합이 되었는지를 확인하고 융합체를 선발하는 과정은 육종을 위해서 가장 중요하다고 할 수 있다. 이를 위해 DNA 분자표지의 이용, 세포유전학적 기법 등 다양한 생명공학기술이 이용되고 있다. 많이 이용되는 분자표지로는 RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA), SSR (Simple Sequence Repeats), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence), SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) 등이 있으며, 이러한 분자표지를 적용하는데 사용되는 DNA 정보는 핵 내 DNA의 서열뿐만 아니라 세포질의 미토콘드리아나 엽록체 DNA의 서열이 활용되고 있다(Thieme et al. 2010; Patel et al. 2011; Saker et al. 2011; Wang et al. 2011a; Yu et al. 2012a). 이에 더해 최근에는 real time PCR, microarray, transcriptome, reverse transcription PCR, real-time reverse transcription PCR 분석 등과 같은 전사체 기반의 분석 기술과(Liu et al. 2012; Yu et al. 2012b; Wang et al. 2011b, 2013) proteome 분석과 같은 단백질체 기반의 분석 기술(Gancle et al. 2006; Wang et al. 2010) 또한 이용되고 있다. 세포유전학적 기법으로는 염색체수 검사, 유동 세포분석법(flow cytometry), GISH (Genomic in situ hybridization) 등이 이용되고 있으며(Xu et al. 2007; Lian et al. 2011; Wang et al. 2011a; Jiang et al. 2012), 기타 방법으로 동위효소 분석법(isozyme analysis), 식물조직학적 분석법(histological analysis) 등이 이용되고 있다(Wang et al. 2012; Yu et al. 2012a)

### 원형질체 융합을 이용한 감자의 육종

생식세포의 융합(유성생식 잡종, sexual hybridization)에 반대적 개념이라고 할 수 있는 체세포 융합은 종내 또는 종간 두 개의 서로 다른 전체 계통을 합치기 위한 시도로 체세포로부터 분리된 두 가지의 원형질체를 무성적으로 융합(무성생식 잡종, asexual hybridization)하는 방법이다. 이러한 방법은 감자의 육종에서 유성적 융합(교잡에 의한 고전적 육종) 과정에서 나타나는 불화합성과 주요한 형질의 도입을 위해 이용되는 이배체 야생종과 재배종 감자의 EBN 차이에 의한 유성적 융합의 제한을 극복하

기 위한 방법으로 이용되고 있다. 즉, 원형질체 융합은 이배체와 재배종 감자의 이배성 반수체(dihaploid)로부터 새로운 사배체(tetraploid) 유전자원을 새롭게 창출하는 과정에서 많이 이용된다.

### 감자에서의 원형질체 융합

감자의 원형질체 융합에는 약 3-4주 간 기내에서 배양된 식물체가 이용되고 있으며, 원형질체 분리를 위해서는 효소 처리에 의한 세포벽 제거 방법이 주로 이용되고 있다. 융합의 방법에는 앞서 언급한 바와 같이 전기적 방법

**Table 1** Progress in protoplast fusion in potato during the last decade (2004-2013)

Species	Aim	Fusion tool	Reference
<i>S. acaule</i>	Glycoalkaloid aglycone	EF	Rokka et al. (2005)
<i>S. berthaultii</i>	Tolerance to salinity	EF	Bidani et al. (2007)
<i>S. brevidens</i>	Resistance to soft rot, early blight and PLRV	PEG	Tek et al. (2004)
<i>S. brevidens</i>	Resistance to common scab	EF, PEG	Ahn & Park (2013)
<i>S. bulbocastanum</i>	Resistance to late blight	PEG	Boltowicz et al. (2005)
<i>S. bulbocastanum</i>	-	EF	Iovene et al. (2012)
<i>S. bulbocastanum</i> <i>S. pinnatisectum</i>	Resistance to late blight, soft rot, nematode, heat and drought	EF	Greplova et al. (2008)
<i>S. bulbocastanum</i> , <i>S. cardiophyllum</i> , <i>S. chacoense</i> , <i>S. pinnatisectum</i>	Resistance to late blight, Colorado potato beetle	EF	Chen et al. (2008)
<i>S. cardiophyllum</i>	Resistance to late blight	EF	Shi et al. (2006)
<i>S. cardiophyllum</i>	Resistance to Colorado potato beetle, PVY and late blight	EF	Thieme et al. (2010)
<i>S. chacoense</i>	Resistance to bacterial wilt	EF, PEG	Chen et al. (2013)
<i>S. chacoense</i>	-	EF, PEG	Cai et al. (2004)
<i>S. circaefolium</i>	Resistance to late blight	PEG	Espejo et al. (2008)
<i>S. commersonnii</i>	Resistance to bacterial wilt	EF	Kim-Lee et al. (2005)
<i>S. etuberosum</i>	Resistance to PVY	EF	Tiwari et al. (2010)
<i>S. melongena</i>	Resistance to bacterial wilt	EF, PEG	Yu et al. (2013)
<i>S. michoacanum</i>	Resistance to late blight	PEG	Szczerbakowa et al. (2010)
<i>S. michoacanum</i>	Resistance to late blight	EF	Smyda et al. (2013)
<i>S. phureja</i>	-	EF	Lightbourn & Veilleux (2007)
<i>S. pinnatisectum</i>	Resistance to late blight	EF	Polzerova et al. (2011)
<i>S. pinnatisectum</i>	Resistance to late blight	EF	Sarkar et al. (2011)
<i>S. stenotomum</i>	Resistance to bacterial wilt	EF	Fock et al. (2007)
<i>S. tarnii</i>	Resistance to PVY and late blight	EF	Thieme et al. (2008)
<i>S. tuberosum</i>	-	PEG	Przetakiewicz et al. (2007)
<i>S. tuberosum</i>	Resistance to PVY and <i>Pythium aphanidermatum</i>	EF	Nouri-Ellouz et al. (2006)
<i>S. vernei</i>	-	PEG	Trabelsi et al. (2005)
<i>S. villosum</i>	Resistance to late blight	PEG	Tarwacka et al. (2013)

\* All species were fused with *S. tuberosum*.

\* Aim indicated with ‘-’ was not precisely reported in the reference.

\* For fusion methods, EF and PEG indicate using electrofusion and polyethylene glycol as fusion agent, respectively.

과 PEG를 이용한 화학적 방법이 이용되고 있으나, Table 1에서 제시된 바와 같이 전기적 방법이 더욱 보편적으로 이용되고 있다. 전기적 방법에 의한 실험법(Thieme et al. 2008; Symda et al. 2013)과 PEG를 이용한 화학적 방법에 의한 실험법(Trabelsi et al. 2005; Espejo et al. 2008)은 각각의 문헌에 제시된 바와 같이 비교적 자세히 기술되어 있으며, 그 방법에 있어서 연구자에 따라 약간의 차이를 보이나 대다수의 연구에서 보편적으로 이용되고 있다.

감자 체세포융합의 가장 중요한 목표는 재배종 감자가 가지고 있지 않은 병저항성, 환경스트레스 내성과 같은 주요 형질을 야생종으로부터 도입하는 것이다. 이를 달성하기 위한 가장 효과적인 방법으로는 이배체의 야생종과 이배성 반수체 감자의 대칭적 융합이 가장 많이 이용된다. 이러한 방법은 추가적인 염색체의 배가 과정을 거치지 않고 바로 사배체를 육성할 수 있게 한다. 이후 야생종으로부터 유래된 원하지 않는 유전적 특성을 배제시키기 위해서는 추가적인 여교배(backcross)가 요구된다. 하지만 여기서 요구되는 여교배 세대는 2-3세대로 제한된 반면 고전육종에 의해 융합이 이루어질 경우에는 6-7세대까지 이루어져야 하는 것을 감안하면 매우 효율적이라 할 수 있다.

1960년대 초 Chase (1963)는 감자의 육종에서 사배체를 대신하여 이배성 반수체를 이용하는 것을 제안하였다. 이후 이는 감자육종 프로그램에서 체세포융합 기술이 새로운 품종을 육성하기 위한 효율적 수단이 될 수 있게 하였다(Frei et al. 1998). 앞서 서론에서 언급했던 바와 같이, 감자에서 원형질체를 이용한 체세포 잡종 생산이 1970년대에 성공적으로 이루어진 이후 다양한 야생종을 대상으로 여러 유용형질들을 감자에 도입하고자 하는 시도가 이루어지고 있다. 하지만 최근 약 10년여 간 이루어진 감자 원형질체 융합 사례를 보면(Table 1), 유용형질 도입을 위해 이용된 야생종의 수가 제한적이며, 대다수의 도입형질이 역병저항성을 대표적으로 한 병저항성에 국한되어 있음을 확인할 수 있다. 또한 이러한 방법을 적용하여 새로운 감자품종을 육성하는 것이 감자 육종가들과 상업적인 감자 육종기업에 의해 받아들여지기까지는 많은 시간이 걸렸으며, 유럽과 미국의 감자 육종회사에서 원형질체 융합을 통하여 성공적인 감자품종 육성이 이루어지고 있음에도 불구하고, 최근 한국에서 체세포 잡종법을 이용하여 감자 품종을 육성한 예가 있으나(Kim et al. 2013), 한국을 포함한 중국, 인도 등과 같은 대다수의 개발도상국 국가에서는 그다지 많이 이용되고 있지 않다. 따라서 원형질체를 이용한 체세포잡종의 육성과 고전육종 방법의 조합은 여전히 성공적인 감자품종 육성의 기회가 되고 있으며, 이를 통한 지속적인 감자의 생산성 증가와 재배종 감자의 유전적 다양성을 확보하는 기회를 제공할 것이다.

## 감자 체세포 융합의 문제점 및 전망

체세포 융합은 다양하고 폭넓은 유전자원을 대상으로 유전적 기능을 결합하고자 하는 매우 정교한 방법이라 할 수 있다. 여기에는 원형질체의 분리, 융합, 배양, 재분화, 선발, 체세포잡종의 형질 평가 등을 필요로 하며 이를 이용한 감자육종에는 육성된 체세포잡종 재료를 육종프로그램으로 도입하는 것이 필요하다. 이를 위해 무엇보다도 효율적이고 효과적인 체세포 융합을 위해서는 많은 비용과 시간이 필요할 뿐 만 아니라 장비와 기술을 필요로 한다. 가장 중요한 제한적인 요인으로는 원형질체의 분리와 배양 및 재분화 과정에서의 유전자형 효과(genotype effects)이다(Rokka 2009). 감자의 원형질체 융합에 대한 다양한 정보가 생산되고 있으나, 여전히 그 방법적인 측면에서는 경험에 의존하는 경우가 많다. 지금까지 많은 수의 계통들에 반복적으로 적용할 수 있는 유전자형에 독립적으로 실험이 가능한 융합법이나 재분화 방법이 확립되어 있지 않다. 융합법의 경우 최근까지도 여전히 PEG를 이용한 화학적 융합법과 전기적 융합법이 거의 이용되고 있으나(Table 1), 이 중 전기적 융합법의 사용 빈도가 더 많으며, 이는 두 가지의 방법을 비교해 볼 때 융합 효율적인 측면에는 큰 차이를 보이지 않으나, 융합 이후의 세포성장과 캘러스의 분화 등에서 전기적 융합법이 더 나은 결과를 보이기 때문인 것으로 사료된다(Cai et al. 2004). 결론적으로 원형질체의 분리, 융합, 배양, 재분화 실험 방법에 대해서는 유전자형에 따라 여전히 최적화 과정이 필요하며, 많은 노동력과 자원을 필요로 한다.

추가적인 문제점으로는 원형질체 융합체에 대한 빠르고 효율적인 선발에 관한 것으로 대다수의 융합 실험에서 표면적으로 쉽게 구별이 가능한 형태적 표지인자가 없어, 실질적인 육종 프로그램에서 각각의 목적에 따른 제한적인 방법이 적용되고 있다. Table 2에 나타난 바와 같이, DNA 분자표지를 이용한 방법과 세포유전학적 방법이 많이 이용되고 있으며, 대부분의 연구에서는 복수의 방법을 선택하여 활용하고 있다. 다만 최근 10여년 전체적인 흐름을 고려해 볼 때, 감자의 전체 유전체 해독이 완료되고(The Potato Genome Sequencing Consortium 2011) 체세포 잡종 선발과 특성 구명에 많은 이점이 있는 DNA 기반의 분자표지 기술의 활용 빈도가 더 많은 것을 확인할 수 있다. 그러나 이 또한 분석을 위해서는 체세포 잡종 개체들을 대상으로 재분화하는데 소요되는 시간이 길다는 점과 분자표지 분석에 필요한 충분한 재료의 양적 확보를 위하여 잡종 개체들을 무균상태에서 어느 정도 일정기간 지속적인 유지 및 증식이 필요하다는 것이다.

마지막으로 원형질체를 이용한 체세포 융합, 잡종은 고전육종이나 유전자 변형을 통한 GM 품종 육성에 대해

**Table 2** Approaches for somatic hybrid selection or characterization used during the last decade (2004-2013)

Tools	References
Isozyme analysis	Trabelsi et al. (2005), Nouri-Ellouz et al. (2006)
Flow cytometry analysis	Cai et al. (2004), Tek et al. (2004), Trabelsi et al. (2005), Bidani et al. (2007), Greplova et al. (2008), Thieme et al. (2010), Tiwari et al. (2010), Polzerova et al. (2011), Sarkar et al. (2011), Ahn & Park (2013), Yu et al. (2013)
Chromosome counting	Tek et al. (2004), Boltowicz et al. (2005), Nouri-Ellouz et al. (2006), Shi et al. (2006), Przetakiewicz et al. (2007), Chen et al. (2008), Espejo et al. (2008), Szczerbakowa et al. (2010), Ahn & Park (2013), Tarwacka et al. (2013), Yu et al. (2013)
SSR marker	Cai et al. (2004), Tek et al. (2004), Trabelsi et al. (2005), Nouri-Ellouz et al. (2006), Bidani et al. (2007), Lightbourn & Veilleux (2007), Thieme et al. (2010), Tiwari et al. (2010), Polzerova et al. (2011), Sarkar et al. (2011), Iovene et al. (2012), Ahn & Park (2013), Chen et al. (2013), Smyda et al. (2013), Yu et al. (2013)
AFLP marker	Tek et al. (2004), Thieme et al. (2010), Ahn & Park (2013)
RAPD marker	Cai et al. (2004), Boltowicz et al. (2005), Rokka et al. (2005), Trabelsi et al. (2005), Shi et al. (2006), Przetakiewicz et al. (2007), Chen et al. (2008), Espejo et al. (2008), Greplova et al. (2008), Szczerbakowa et al. (2010), Tiwari et al. (2010), Polzerova et al. (2011), Sarkar et al. (2011), Ahn & Park (2013), Smyda et al. (2013), Tarwacka et al. (2013)
RFLP marker	Tek et al. (2004), Przetakiewicz et al. (2007)
CAPS/SCAR marker	Nouri-Ellouz et al. (2006), Sarkar et al. (2011), Smyda et al. (2013), Yu et al. (2013)
DNA sequence analysis	Bidani et al. (2007)
Fluorescence in situ hybridization (FISH)	Tek et al. (2004)
Genomic in situ hybridization (GISH)	Tek et al. (2004), Iovene et al. (2012), Tarwacka et al. (2013), Yu et al. (2013)

대체가 되는 방법을 의미하는 것은 아니다. 앞서 언급한 바와 같이, 원형질체 융합을 통하여 얻어진 체세포 잡종 개체는 지속적인 선발과 여교잡과 같은 고전적 육종 방법이 적용되어야 한다. 이 뿐 만 아니라, 앞으로는 형질전환 방법까지도 여기에 함께 적용하여 유전자 집적(gene pyramiding, gene stacking)의 목표를 달성하는데 도움이 되어 다양한 형질에 대해 우수한 형질을 보유한 우량한 감자 품종을 육성할 수 있을 것이다.

**결론**

원형질체를 이용한 체세포잡종 육성은 다양한 유전체적 조합을 통해 새로운 계통을 육성할 수 있는 육종의 한 방법이라 할 수 있다. 이는 다른 다양한 육종 방법과 비교해 보았을 때 매우 다른 특성을 지니고 있다. 기본적으로는 불화합성 유전자원의 좋은 형질을 한 개체로 모을 수 있다는 장점을 가지고 있으며, 특히 형질전환 방법을 이용한 육종과 비교했을 때 클로닝되지 않은 다양한 유전자를 도입할 수 있다는 측면과 형질전환에 의해 생산된 GM작물에 대한 사회적, 정치적 반감을 회피할 수 있다는 등의 다양한 장점을 가지고 있다. 하지만 체세포잡종에 의해 일반적으로 나타나는 현상이라고 할 수 있는 불화합성 유전자원 간의 융합에 따른 염색체 재배열, 염

색체 배수성화에 따른 불안정한 임성, 융합 이후의 낮은 식물체 재분화 효율 등과 같은 문제점을 여전히 가지고 있다. 따라서 앞으로의 연구는 원형질체 융합을 통하여 발생하는 이러한 문제점들을 개선할 뿐 만 아니라, 불화합성을 이유로 형질도입이 어려웠던 유전자원을 활용하여 농업적으로 중요한 더욱 더 다양한 형질들을 도입하고 선발할 수 있는 육종이 이루어져야 할 것이다.

**사사**

본 연구는 농림축산식품부, 해양수산부, 농촌진흥청, 산림청 Golden Seed 프로젝트(세부과제명: 수출용 감자 품종 육성 효율 증진을 위한 분자표지 및 유용 유전자 개발, 세부과제번호: 213001-04-2-SB540) 및 농촌진흥청 연구사업(세부과제명: 감자 육종능력 증진을 위한 감자 유전자원 관리, 세부과제번호: PJ008573042014)에 의해 이루어진 것임

**References**

Ahn YK, Kim HY, Choi, HS, Kim K-T, Park HG (2001a) Production of interspecific somatic hybrids between the cultivated potato (*Solanum tuberosum*) and the wild species

- (*S. brevidens*). J Korean Soc Hort Sci 24:420-424
- Ahn YK, Kang JC, Kim HY, Lee SD, Park HG (2001b) Resistance to blackleg and tuber soft rot in interspecific somatic hybrids between *S. brevidens* and *S. tuberosum* ('Superior', 'Dejima, and dihaploid of 'Superior'). J Korean Soc Hort Sci 24: 430-434
- Ahn Y-K, Ghislain M, Choi H-S, Park H-G (2002) Selection of somatic hybrids of potato using molecular marker and chloroplast number. Korean J Breed 34:188-194
- Ahn YK, Park T-H (2013) Resistance to common scab developed by somatic hybrids between *Solanum brevidens* and *Solanum tuberosum*. Acta Agric Scand Sect B-Soil & Plant Sci 63: 595-603
- Bidani A, Nouri-Ellouz O, Lakhoua L, Sihachakr D, Cheniclet C, Mahjoub A, Drira N, Gargouri-Bouزيد R (2007) Interspecific potato somatic hybrids between *Solanum berthaultii* and *Solanum tuberosum* L. showed recombinant plastome and improved tolerance to salinity. Plant Cell Tiss Organ Cult 91: 179-189
- Binding H, Nehls R, Schieder O, Sopory SK, Wenzel G (1978) Regeneration of mesophyll protoplasts isolated from dihaploid clones of *Solanum tuberosum* L. Physiol Plant 43:52-54
- Boltowicz D, Szczerbakowa A, Wielgat B (2005) RAPD analysis of the interspecific somatic hybrids *Solanum bulbocastanum* (+) *S. tuberosum*. Cell Mol Biol Lett 10:151-162
- Cai X, Liu J, Xie C (2004) Mesophyll protoplast fusion of *Solanum tuberosum* and *Solanum chacoense* and their somatic hybrid analysis. Acta Hort Sinica 31:623-626
- Carlson PS, Smith HH, Dearing RD (1972) Parasexual interspecific plant hybridization. Proc Natl Acad Sci USA 69:2292-2294
- Cardi T, Amborsio FD, Consoli D, Puite KJ, Ramulu KS (1993) Production of somatic hybrids between frost-tolerant *Solanum commersonii* and *S. tuberosum*: characterization of hybrid plants. Theor Appl Genet 87:193-200
- Chase SS (1963) Analytical breeding scheme in *Solanum tuberosum* L.- A scheme utilizing parthenotes and other diploid stocks. Can J Genet Cytol 5:359-363
- Chen Q, Li HY, Shi YZ, Beasley D, Bizimungu B, Goettel MS (2008) Development of an effective protoplast fusion system for production of new potatoes with disease and insect resistance using Mexican wild potato species as gene pools. Can J Plant Sci 88:611-619
- Chen L, Guo X, Xie C, He L, Cai X, Tian L, Song B, Liu J (2013) Nuclear and cytoplasmic genome components of *Solanum tuberosum* + *S. chacoense* somatic hybrids and three SSR alleles related to bacterial wilt resistance. Theor Appl Genet 126:1861-1872
- Cho HM, Kim-Lee HY, Om YH, Kim JK (1997) Influence of endosperm balance number (EBN) in interploidal and interspecific crosses between *Solanum tuberosum* dihaploids and wild species. Korean J Breed 29:154-161
- Eeckhaut T, van Laere K, de Riek J, van Huylenbroeck J (2006) Overcoming interspecific barriers in ornamental plant breeding. In: Teixeira da Silva J (ed), Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology: Advances and Topical Issues, Global Science Books, London, pp 540-551
- Eeckhaut T, Lakshmanan PS, Deryckere D, van Bockstaele E, van Huylenbroeck J (2013) Progress in plant protoplast research. Planta 238:991-1003
- Espejo R, Cipriani G, Rosel G, Golmirzaie A, Roca W (2008) Somatic hybrids obtained by protoplast fusion between *Solanum tuberosum* L. subsp. *tuberosum* and the wild species *Solanum circaeifolium* Bitter. Rev Peru Biol 15:73-78
- Fock I, Collonnier C, Lavergne D, Vaniet S, Ambroise A, Luisetti J, Kodja H, Sihachakr D (2007) Evaluation of somatic hybrids of potato with *Solanum stenotomum* after a long-term in vitro conservation. Plant Physiol Biochem 45:209-215
- Frei U, Stattmann M, Lössel and Wenzel G (1998) Aspects of fusion combining ability of dihaploid *Solanum tuberosum* L.: Influence of the cytoplasm. Potato Res 41:155-162
- Gamborg OL (2002) Plant tissue culture. Biotechnology. Milestones. In Vitro Cell Dev Biol Plant 38:84-92
- Gancle A, Grimplet J, Sauvage F, Ollitrault P, Brillouet J (2006) Pre-dominant expression of diploid mandarin leaf proteome in two *citrus* mandarin-derived somatic allotetraploid hybrids. J Agr Food Chem 54:6212-6218
- Greplová M, Polzerová, Vlastníková H (2008) Electrofusion of protoplasts from *Solanum tuberosum*, *S. bulbocastanum* and *S. pinnatisectum*. Acta Physiol Plant 30:787-796
- Helgeson JP, Kaberlach GT (1999) Somatic hybrids of *Solanum tuberosum* and related species. In: Altman A, Ziv M, Izhar S (eds), Plant biotechnology and in vitro biology in the 21<sup>st</sup> century, Kluwer, Dordrecht, pp 151-154
- Iovene M, Aversano R, Savarese S, Caruso I, Di Matteo A, Cardi T, Frusciantè L, Carputo D (2012) Interspecific somatic hybrids between *Solanum bulbocastanum* and *S. tuberosum* and their haploidization for potato breeding. Bio Plant 56: 1-8
- Jansky S (2000) Breeding for disease resistance in potato. In: Janick J (ed), Plant breeding reviews, Wiley, New York, pp 69-155
- Jiang L, Cai Y, Xia G, Xiang F (2012) Introgression of the heterologous nuclear DNAs and efficacious compositions from *Swertia tetraptera* Maxim. into *Bupleurum scorzonrifolium* Willd. via somatic hybridization. Protoplasma 249:737-745
- Kim SR, Ahn YK, Kim TG, Kang HS, Song SW, Kim BC, Kang SG (2013) Breeding of a new cultivar 'Jeseo' with resistance to common scab. Kor J Breed Sci 45:468-473
- Kim-Lee H, Moon JS, Hong YJ, Kim MS, Cho HM (2005) Bacterial wilt resistance in the progenies of the fusion hybrids between haploid of potato and *Solanum commersonii*. Amer J of Potato Res 82:129-137
- Lakshmanan PS, Eeckhaut T, Deryckere D, van Bockstaele E, van Huylenbroeck J (2013) Asymmetric somatic plant hybridization: Status and applications. Amer J Plant Sci 4:1-10
- Lian Y, Lin G, Zhao X, Lim H (2011) Production and genetic characterization of somatic hybrids between leaf mustard (*Brassica juncea*) and broccoli (*Brassica oleracea*). In Vitro Cell Dev Biol Plant 47:289-296
- Lightbourn GJ, Veilleux RE (2007) Production and evaluation of somatic hybrids derived from monoploid potato. Amer J of

- Potato Res 84:425–435
- Liu J, Xu X, Deng X (2005) Intergeneric somatic hybridization and its application to crop genetic improvement. *Plant Cell Tiss Org Cult* 82:19–44
- Liu C, Li S, Wang M, Xia G (2012) A transcriptomic analysis reveals the nature of salinity tolerance of a wheat introgression line. *Plant Mol Biol* 78:159–169
- Melchers G, Sacristan MD, Holder AA (1978) Somatic hybrid plants of potato and tomato regenerated from fused protoplasts. *Carlsberg Res Comm* 43:203–218
- Nouri-Ellouz O, Gargouri-Bouزيد R, Sihachkr D, Triki MA, Ducreux G, Drira N, Lakhoua L (2006) Production of potato intraspecific somatic hybrids with improved tolerance to PVY and *Pythium aphanidermatum*. *J Plant Physiol* 163:1321–1332
- Olivares-Fuster O, Duran-Vila N, Navarro L (2005) Electrochemical protoplast fusion in *Citrus*. *Plant Cell Rep* 24:112–119
- Ortiz R, Ehlenfeldt MK (1992) The importance of endosperm balance number in potato breeding and the evolution of tuber-bearing *Solanum* species. *Euphytica* 1992:105–113
- Patel D, Power J, Anthony P, Badakshi F, Heslop-Harrison J, Davey M (2011) Somatic hybrid plants of *Nicotiana x sanderae* + *N. debneyi* with fungal resistance to *Peronospora tabacina*. *Ann Bot* 108:809–819
- Polzerová H, Patzak J, Greplová M (2011) Early characterization of somatic hybrids from symmetric protoplast electrofusion of *Solanum pinnatisectum* Dun. and *Solanum tuberosum* L. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 104:163–170
- Przetakiewicz J, Nadolska-Orczyk A, Kuć D, Orczyk W (2007) Tetraploid somatic hybrids of potato (*Solanum tuberosum* L.) obtained from diploid breeding lines. *Cell Mol Biol Lett* 12:253–267
- Razdan M (2003) Somatic hybridization. In: Razdan M (ed), *Introduction to plant tissue culture*, Science Publishers, Enfield, pp 147–175
- Rokka V-M (2009) Potato haploids and breeding. In: Touraev A, Forster BP, Jain SM (eds), *Advances in haploid production in higher plants*, Springer Science + Business Media B.V., Dordrecht, pp 199–208
- Rokka V-M, Laurila J, Tauriainen A, Laakso I, Larkka J, Metzler M, Pietilä (2005) Glycoalkaloid aglycone accumulations associated with infection by *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* in potato species *Solanum acaule* and *Solanum tuberosum* and their interspecific somatic hybrids. *Plant Cell Rep* 23:683–691
- Sarkar D, Tiwari J, Sharma S, Sharma Poonam S, Gopal J, Singh B, Luthra S, Pandey S, Pattanayak D (2011) Production and characterization of somatic hybrids between *Solanum tuberosum* L. and *S. pinnatisectum* Dun. *Plant Cell Tiss Org Cult* 107:427–440
- Shepard JP, Totten RE (1977) Mesophyll cell protoplasts of potato. Isolation, proliferation, and plant regeneration. *Plant Physiol* 60:313–316
- Shi YZ, Chen Q, Li HY, Beasley D, Lynch DR (2006) Somatic hybridization between *Solanum tuberosum* and *S. cardiophyllum*. *Can J Plant Sci* 86:539–545
- Smyda P, Jakuczun H, Dębski K, Śliwka J, Thieme R, Nachtigall M, Wasilewicz-Flis I, Zimnoch-Guzowska E (2013) Development of somatic hybrids *Solanum x michoacanum* Bitter. (Rydb.) (+) *S. tuberosum* L. and autofused 4x *S. x michoacanum* plants as potential sources of late blight resistance for potato breeding. *Plant Cell Rep* 32:1231–1241
- Szczerbakowa A, Tarwacka J, Oskiera M, Jakuczun H, Wielgat B (2010) Somatic hybridization between the diploids of *S. x michoacanum* and *S. tuberosum*. *Acta Physiol Plant* 32:867–873
- Tarwacka J, Polkowska-Kowalczyk L, Kolano B, Śliwka J, Wielgat B (2013) Interspecific somatic hybrids *Solanum villosum* (+) *S. tuberosum*, resistance to *Phytophthora infestans*. *J Plant Physiol* 170:1541–1548
- Tek AL, Stevenson WR, Helgeson JP, Jiang J (2004) Transfer of tuber soft rot and early blight resistances from *Solanum brevidentis* into cultivated potato. *Theor Appl Genet* 109:249–254
- The Potato Genome Sequencing Consortium (2011) Genome sequence and analysis of the tuber crop potato. *Nature* 475:189–197
- Thieme R, Rakosy-Tican E, Gavrilenko T, Antonova O, Schubert J, Nachtigall M, Heimbach U, Thieme T (2008) Novel somatic hybrids (*Solanum tuberosum* L. + *Solanum tarnii*) and their fertile BC<sub>1</sub> progenies express extreme resistance to potato virus Y and late blight. *Theor Appl Genet* 116:691–700
- Thieme R, Rakosy-Tican E, Nachtigall M, Schubert J, Hammann T, Antonova O, Gavrilenko T, Heimbach U, Thieme T (2010) Characterization of the multiple resistance traits of somatic hybrids between *Solanum cardiophyllum* Lindl. and two commercial potato cultivars. *Plant Cell Rep* 29:1187–1201
- Tiwari JK, Poonam, Sarkar D, Pandey SK, Gopal J, Kumar SR (2010) Molecular and morphological characterization of somatic hybrids between *Solanum tuberosum* L. and *S. etuberosum* Lindl. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 103:175–187
- Trabelsi S, Gargouri-Bouزيد R, Vedel F, Nato A, Lakhoua L, Drira N (2005) Somatic hybrids between potato *Solanum tuberosum* and wild species *Solanum vernei* exhibit a recombination in the plastome. *Plant Cell Tiss Org Cult* 83:1–11
- Wang L, Pan Z, Guo W (2010) Proteomic analysis of leaves from a diploid cybrid produced by protoplast fusion between Satsuma mandarin and pummelo. *Plant Cell Tiss Org Cult* 103:165–174
- Wang GX, Tang Y, Yan H, Sheng XG, Hao WW, Zhang L, Lu K, Liu F (2011a) Production and characterization of interspecific somatic hybrids between *Brassica oleracea* var. *botrytis* and *B. nigra* and their progenies for the selection of advanced pre-breeding materials. *Plant Cell Reports* 30:1811–1821
- Wang J, Zhao C, Liu C, Xia G, Xiang F (2011b) Introgression of *Swertia mussotii* gene into *Bupleurum scorzonrifolium* via somatic hybridization *BioMedCentral Plant Biol* 11:71
- Wang M, Peng Z, Hong S, Zhi D, Xia G (2012) Hybrid inflorescences derived from gamma-fusion of *Arabidopsis thaliana* with *Bupleurum scorzonrifolium*. *Protoplasma* 249:197–205

- Wang X, Zhou J, Yang Y, Yu F, Chen J, Yu C, Wang F, Cheng Y, Yan C, Chen J (2013) Transcriptome analysis of a progeny of somatic hybrids of cultivated rice (*Oryza sativa* L.) and wild rice (*Oryza meyeriana* L.) with high resistance to bacterial blight. *J Phyto Pathol* 161:324-334
- Xia G (2009) Progress of chromosome engineering mediated by asymmetric somatic hybridization. *J Genet Genomics* 36: 547-556
- Xu XY, Hu ZY, Li JF, Liu JH, Deng XX (2007) Asymmetric somatic hybridization between UV-irradiated *Citrus unshiu* and *C. sinensis*: Regeneration and characterization of hybrid shoots. *Plant Cell Rep* 26:1263-1273
- Yu Y, Li Z, Wang P, Xiang F (2012a) Genetic and biochemical characterization of somatic hybrids between *Bupleurum scorzonerifolium* and *Gentianopsis paludosa*. *Protoplasma* 249:1029-1035
- Yu X, Chu B, Liu R, Sun J, Brian J, Wang H, Shuijin Z, Sun Y (2012b) Characteristics of fertile somatic hybrids of *G. hirsutum* L. and *G. trilobum* generated via protoplast fusion. *Theor Appl Genet* 125:1503-1516
- Yu Y, Ye W, He L, Cai X, Liu T, Liu J (2013) Introgression of bacterial wilt resistance from eggplant to potato via protoplast fusion and genome components of the hybrids. *Plant Cell Rep* 32:1687-1701