

# Auxin 에 의한 벼 發芽種子的 Callus 形成

鄭 根 植 · 許 文 會

嶺南作物試驗場 서울大學校 農科大學

## Studies on the aseptic culture induced from rice seedlings treated with auxins

Gun-Sik CHUNG · Mun-Hue HEU

Milyang Crop Experiment Station

College of Agriculture, Seoul Nat. Univ.

### Abstract

The callus formation and shoot growth of germinating rice seedlings in the aseptic culture media treated with 2,4-D and N.A.A. were studied with 3 rice cultivars. Callus formation and shoot growth were the best in the media including  $10^{-4}$  M N.A.A.. Varietal differences also were significant in the formation of callus and shoot growth from the callus.

最近 高等 植物을 對象으로 한 組織培養에 關한 研究가 廣範圍하게 이루어지게 되어 많은 進歩를 가지 오게 되었다. 따라서 많은 植物이 Callus 의 形成과 組織 分化가 이루어 지 細胞 生理 遺傳 및 育種 分野에 많은 貢獻을 남기게 되었다. 특히 S. Guha 와 P. Maheshwari 等의<sup>1)</sup> 業績은 놀라운 程度로 發展을 가지 왔다. 그러나 이들 材料는 大部分이 雙子葉 植物이었다. 單子葉 植物은 雙子葉 植物에 비해 Callus 의 形成이 어려운 것으로 알려 졌다.

이에 對한 組織 培養은 古橋 谷田澤가 1964年<sup>1)</sup> 벼의 마디로부터 Callus 를 形成하여 繼代 培養에 成功했다.

Auxin 은 Callus 誘導에 있어서 重要한 物質로서 認定되어 왔다. 그중 2,4-D NAA 및 IAA 는 一般的으로 Callus 誘導 培地에는 必須 物質로 認定되어 왔다.<sup>2)</sup> 이들 Auxin 의 性能에 對해서는 거의 같으나 濃도에 따라 Callus 形成에 差異가 있다고 하였다.<sup>3)</sup> 또한 植物 種類에 따라서 Callus 形成이 相異할 뿐 아니라 品種 間에도 差異가 있음을 報告 하였다.

新關와 小野<sup>4)</sup>는 벼의 藥 培養에 있어서 2,4-D 濃度の 差異가 Callus 形成, 藥 數가 다르며  $10^{-5}$  M 인 境遇 가장 좋은 結果를 얻었다고 報告하였다.

本 試驗은 起源이 다른 3가지 水稻 品種과 Auxin 2種을 濃度を 달리 하였을 때의 Callus 形成量을 驗知하고자 實施하였다.

### 材料 및 方法

供試된 水稻 品種은 韓國 水稻 品種인 八紘 水原 82號와 印度型 品種으로 Usen 을 使用하였다.

培地는 基礎 培地로서 Miller 의 修正 培地(表1)에 Yeast Extract 5g/l 蔗糖 30g/l 및 寒天 10g/l 를 使用 했다 Auxin 은 2,4-D 와 NAA 를 使用 했으며 濃도는 表1과 같이 各各 5種의 濃도로 實施하였다.

種子の 消毒은 充實한 精粗를 玄米로 만들어 水洗을 6分間하고 70% Ethanol 에 6分間 담근 後 8% Ca (Cl)<sub>2</sub>에 20分間 殺菌 하였다. 培地上的 處理는 50cc 의 Erlenmeyer flask 에 20cc 의 培地를 넣어 flask 當

殺菌된 玄米 4粒을 4反覆으로 培地上에 均等하게 播種하였다. 處理된 玄米는 27°C±1 恒溫室에서 培養되었다. 處理後 30日에 Callus 形成의 形態의 調查와 4反覆 中 平均되는 2個의 Flask 를 計量하였다.

**Table 1** Composition of Miller's medium and various concentrations of auxins treated.

Reagents(Miller)	(mg/l)	Auxin (M)
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	300.0	
KNO <sub>3</sub>	1,000.0	2,4-D 10 <sup>-3</sup>
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1,000.0	5×10 <sup>-4</sup>
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	347.0	
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	35.0	2×10 <sup>-4</sup>
KCl	65.0	10 <sup>-4</sup>
KI	0.8	5×10 <sup>-5</sup>
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	1.5	
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	1.6	
MnSO <sub>4</sub> · 4H <sub>2</sub> O	4.4	NAA 5×10 <sup>-3</sup>
Glycine	2.0	10 <sup>-3</sup>
EDTA-Na-Fe · 2H <sub>2</sub> O	32.0	5×10 <sup>-4</sup>
Nicotinic Acid	0.5	2×10 <sup>-4</sup>
Pyridoxine HCl	0.1	10 <sup>-4</sup>
Thiamine HCl	0.1	

### 結果 및 考察

2,4-D 와 NAA 의 各 濃度에 따라 增殖된 Callus 量을 處理後 1個月에 調査한 結果는 表2와 같다.

Callus 의 色은 大部分이 黃白色을 띠고 있으나 印度型 品種인 Usen 은 2,4-D 處理에서 暗黃色이었고

NAA 處理에서는 白黃色이었다. 또한 Callus 形成의 初期와 後期에 있어서 色의 變化는 없었다.

Callus 의 形成에 있어서 크기를 達觀으로 調査한 結果 品種別 또는 各 濃度의 差異에 따라 顯著한 差異를 觀察할 수 있었다. 또한 Callus 形成 過程에서의 差異點으로 2,4-D 는 培地의 表面에서 Callus 가 增加되나 NAA 는 培地의 表面부터 下部까지 Callus 가 增殖되며 形成 過程에 差異가 있었다.

Callus 의 形成은 培地에 玄米를 播種後 1週日 頃부터 始作되었다. 即 Callus 의 形成은 種子의 發芽와 더불어 胚軸과 葉鞘과 葉身의 밑 部分에서 始作된다. 그러나 高濃度로 因해 發芽의 障害를 입어 發芽하지 않은 種子에서는 Callus 의 形成이 되지 않았다.

Callus 形成時 種子에서 出現한 뿌리와 줄기의 伸長에 差異가 있었다. 2,4-D 는 種子가 發芽하여 葉鞘가 2~3cm 程度로 伸長하며 뿌리는 種根만 1~2cm 차라고 冠根은 나오지 않았다. 發芽 初期에는 白色으로 若干 肥大 伸長하였고 15日 頃에는 褐色으로 變하여 枯死 되었으나 Callus 는 繼續 增加 되었다.

NAA 處理에 있어서는 發芽와 發根의 初期는 2,4-D 와 같으나 後期에 있어서는 Callus 의 增加와 더불어 뿌리와 줄기가 繼續 伸長하여 莖은 10~15cm 가 되며 뿌리도 冠根이 茂盛하게 자라게 되는 것은 2,4-D 와 相異한 點이었다.

品種 間의 差異는 八紘이 뿌리와 줄기의 伸長이 가장 많고 Usen 과 水原 82號는 적었다.

處理後 30日에 2個의 Flask (8粒)의 Callus 量을 計量한 結果는 圖1과 같다. 2,4-D 와 NAA 를 比較하면 八紘에서는 NAA 가 形成量이 많으나 水原 82號

**Table 2.** The degree of callus formation and shoot growth under different concentrations of two different auxins in the media.

Varieties	concentration	color of callus	degree of* observed callus formation	degree of** shoot and root grown from seed	fresh weight of callus
Palkweng	2,4-D 10 <sup>-3</sup>	Y	—	0	0.02
	5×10 <sup>-4</sup>	Y	±	0	0.20
	2×10 <sup>-4</sup>	Y	±	0	0.63
	10 <sup>-4</sup>	Y	≡	0	1.62
	5×10 <sup>-5</sup>	Y	≡	0	0.93
	NAA 5×10 <sup>-3</sup>		—	—	0
	10 <sup>-3</sup>	Y	±	0	0.56
	5×10 <sup>-4</sup>	Y	±	0	0.63
	2×10 <sup>-4</sup>	Y	≡	2	3.06
	10 <sup>-4</sup>	Y	≡	2	2.30

USEN	2,4-D	10 <sup>-3</sup>		-	-	0
		5×10 <sup>-4</sup>		-	-	0
		2×10 <sup>-4</sup>		-	0	0.04
		10 <sup>-4</sup>		-	0	0.06
		5×10 <sup>-5</sup>	YD	-	0	0.13
	NAA	5×10 <sup>-3</sup>		-	-	0
		10 <sup>-3</sup>		-	-	0
		5×10 <sup>-4</sup>		-	-	0
		2×10 <sup>-4</sup>	Y	-	1	0.18
	10 <sup>-4</sup>	Y	-	2	0	
Suweon 82	2,4-D	10 <sup>-3</sup>	Y	-	0	0.01
		5×10 <sup>-4</sup>	Y	-	0	0.09
		2×10 <sup>-4</sup>	Y	±	0	0.27
		10 <sup>-4</sup>	Y	±	0	0.90
		5×10 <sup>-5</sup>	Y	±	0	0.52
	NAA	5×10 <sup>-3</sup>	Y	-	-	0
		10 <sup>-3</sup>		-	-	0
		5×10 <sup>-4</sup>	Y	±	0	0.30
		2×10 <sup>-4</sup>	Y	±	1	0.60
	10 <sup>-4</sup>	Y	±	1	0.50	

\* Degree of Callus - :none Callus    ±:small callus    #:large callus  
 \*\* Degree of Shoot & Root 0:Dead    1:Medium Length    2:Large Length

와 Usen 에서는 2,4-D 가 좋았다.

品種別 Callus 形成量은 八紘이 2,4-D 와 NAA 의 各 濃度에서 Callus 形成이 많았고 다음은 水原 82號였다. Usen 은 極히 낮았다.

各 濃度別 Callus 形成量은 2,4-D 에 있어서 濃度가 가장 높은 10<sup>-3</sup> M 에서는 發芽에 障害를 받고 Callus 形成이 거의 이루어 지지 않았다.

5×10<sup>-4</sup> M 濃度에서는 八紘이 0.2gr 水原82號가 0.09gr 으로 若干의 Callus 가 形成되었으나 Usen 은 全然 形成되지 않았다. Callus 의 形成量이 가장 좋은 濃度는 10<sup>-4</sup> M 으로 八紘과 水原82號는 크게 增加되었으나 Usen 은 낮은 濃度인 5×10<sup>-5</sup> M 에서 10<sup>-4</sup> M 보다 Callus 形成이 若干 높았다.

NAA 處理에서는 高 濃度인 5×10<sup>-3</sup> 에서 3品種이 全然 形成되지 않았고 10<sup>-3</sup> 에서는 八紘이 Callus 가 若干 形成되었으나 水原82號와 Usen 은 全然 形成되지 않았다. Callus 의 形成이 가장 많은 濃度는 2×10<sup>-4</sup> 로 3品種이 一致하였다.

특히 Usen 은 이 濃度를 除外하고는 Callus 形成이 거의 이루어 지지 않았다.

Callus 의 色에 關해서 Maeda 氏<sup>3)</sup>는 品種에 따라 相異한 色을 나타낸다고 하였다. 卽 Tetep 에서 黃色이었고 金南風은 白色이었다고 報告하였다. 이것

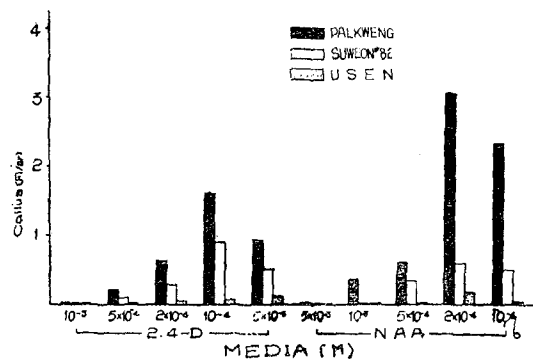


Fig. 1 Effect of various concentrations of auxins on callus formation induced from rice seedlings

은 本 驗에서 Indica 型인 Usen 이 暗黃色이었고 日本型 稻에서 白色인 것은 같은 結果였다.

Callus 形成에 있어서 Auxin 의 定量이 植物 種類에 따라서 差異가 있는 것이 여러 學者들에 依하여 밝혀 졌다.

大部分은 1mg/l 内外이나 Ginko, Biloba L. Sugar Cane 등은 6mg/l 의 濃度에서 Callus 의 誘導가 이루어 졌다고 하였다.<sup>7)</sup>

水稻에 있어서는 1~11mg/l 로서 比較的 높은 濃度

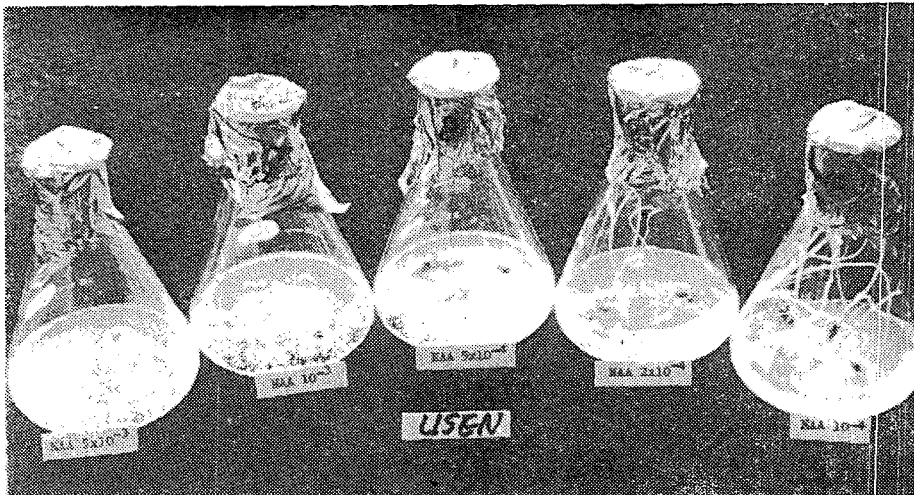
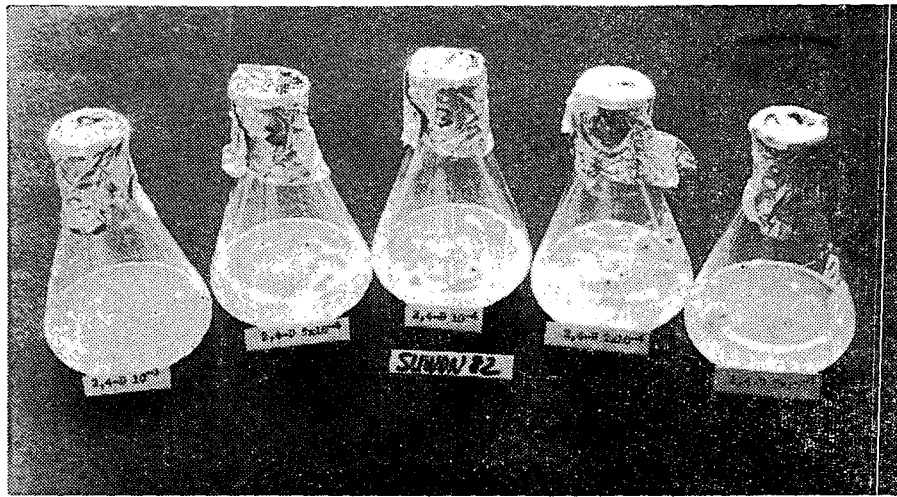
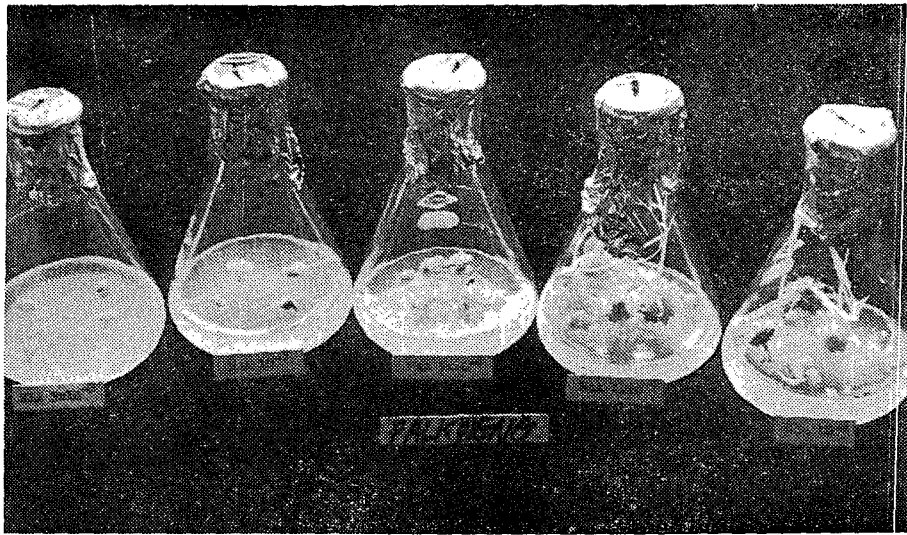
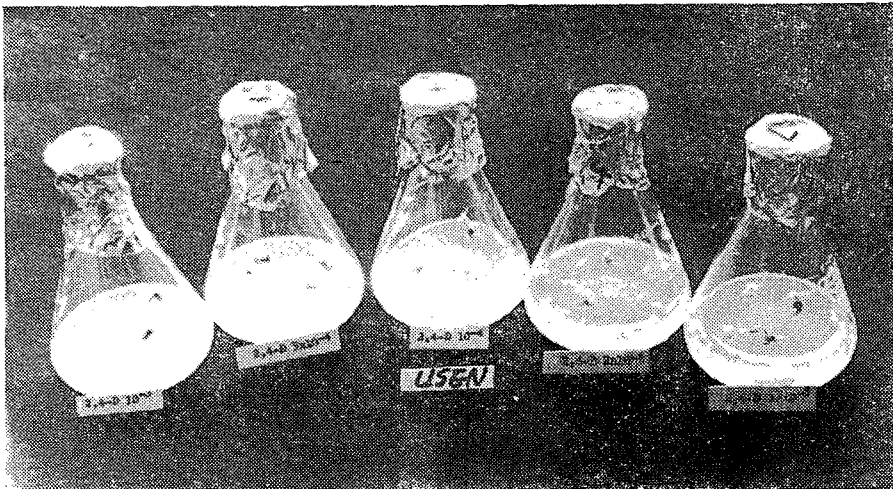
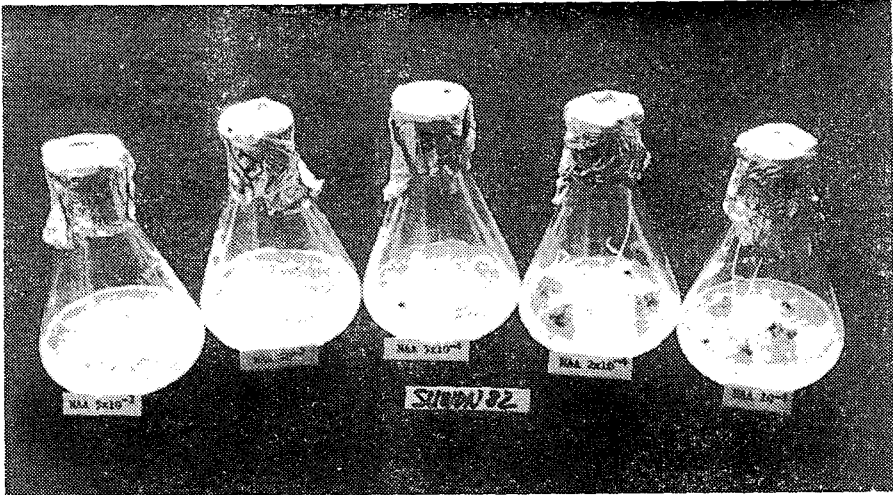
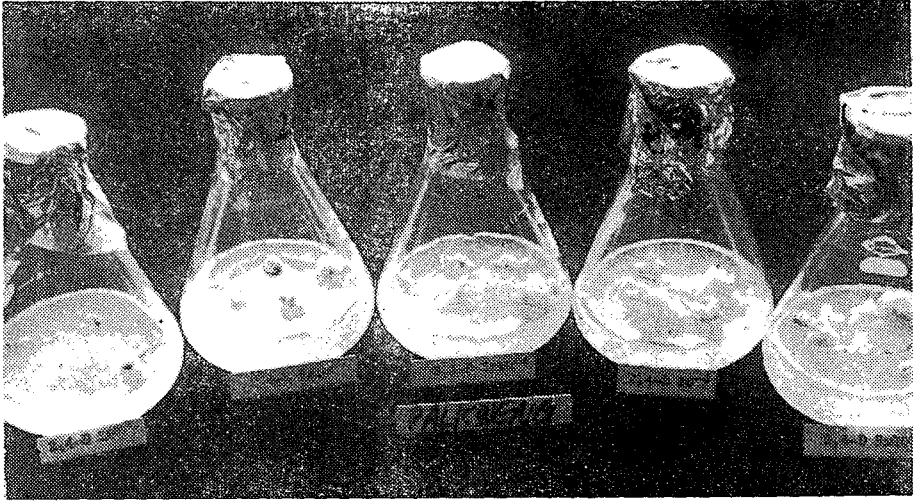


Fig. 2. The callus formation and shoot growth of 3 cultivars in the culture media treated with 5 levels of concentrations of 2 different auxins.



에서 Callus를 培養하고 있으나<sup>5,7)</sup> 本 試驗에서의 Callus 形成의 適正量은  $10^{-4}M(22-1mg/l)$ 로서 높은 濃度에서 形成량이 많다는 것을 알수 있었다.

또한 品種別 Callus 形成량의 差異는 甚하나 各 品種 間의 適正 濃度는  $10^{-4}M$ 으로 差異가 없다는 것은 興味있는 結果였다.

NAA에 對해서는 報告가 極히 적으나 數種의 植物에서는  $0.1\sim 2mg/l$ 를 使用하고 있고<sup>7)</sup> 水稻의 藥 培養에서 Callus 誘導에  $10^{-5}M$ 을 使用하고 있다.<sup>5)</sup> 그러나 本 試驗에서의 適正 濃度는  $2\times 10^{-4}M(37.2mg/l)$ 의 높은 濃度에서 Callus의 形成이 좋은 結果를 얻었으며 品種間의 Callus 形成의 差異는 크나 適正濃度는 2,4-D와 같이 各 品種이  $2\times 10^{-4}M$ 에서 最適量이었다. 따라서 Callus 形成이 낮은 品種에 對해서는 根本적으로 培地의 組成을 改良하지 않고는 多量 誘導에는 問題가 있을 것으로 보인다.

## 摘 要

水稻 品種 八紘, 水原82號 Usen을 供試하여 2,4-D와 NAA의 各 5濃度에서 Callus 形成량을 調査한 結果

1. 品種間 Callus 形成은 2,4-D와 NAA에서 다같이 八紘이 가장 높고 다음은 水原82號였으며 Usen은 極히 낮았다.

2. 2,4-D의 濃度別 Callus 形成은 八紘과 水原82號는  $10^{-4}M$ 에서 Usen은  $5\times 10^{-5}M$ 에서 가장 높았고 그보다 높은 濃度에서는 Callus가 形成되지 않았다.

3. NAA 培地의 適量 濃度는  $2\times 10^{-4}M$ 이었다. 그러나 높은 濃度에서는 Callus가 形成되지 않았고 低濃度에서도 形成率이 낮았다.

4. Callus의 色은 大體로 黃白色이나 Usen은 2,4-D 處理에서 暗黃色이었다.

## 引 用 文 獻

1. Furuhashi, K., M. Yatsujawa. 1964. Subculture of callus from nodes in rice. Kagaku 34 : 623.
2. Guha, S., S.C. Maheshwari. 1964. In vitro production of embryos from anther of Datura. Nature 204 : 496.
3. Maeda, Eizo. 1967. Varietal difference in callus formation of rice seeds under sterile culture. Proc. Crop Sci. Soc. Japan 36 : 233-239.
4. Niizeki, H., K. Oono. 1968. Induction of haploid plant from anther culture. Proc Japan Acad. 44 : 554-557.
5. 新關宏夫 小野清春 : 藥培養 技術의 確立에 關する 研究. 農技研報告 1~17
6. Tamura, Shin. 1969. Aseptic culture of callus originated from rice seedlings and organ regeneration from callus. Niigata Agr. Forest Res. 21 : 43-51.
7. 山田康之 1967 植物に する 칼스 誘導 與 組織 培養 生物의 化學 調節 2(1) : 7-14

## Summary

The callus formation and shoot growth of germinating rice seedlings in the aseptic culture media which treated with 2,4-D and N.A.A. were studied with 3 rice cultivars.

The results were summarized as follows;

1. The varietal differences were significant in the amount of callus formation and shoot growth from the callus. The largest amount of callus formation was observed in the variety Palkweng and the least in the variety Usen. The shoot growth was the best in the variety Usen and the worst was in Suwon 82.

2. Generally N.A.A. was better than 2,4-D for the callus formation and specially for the shoot growth.

3. For the concentration of 2,4-D in the media, the largest amount of callus formation was observed in the  $10^{-4}M$  with Palkweng and Suwon 82 but in the  $5\times 10^{-5}M$  with Usen. For the concentration of N.A.A.,  $10^{-4}M$  was the best for the callus formation of all 3 varieties.

4. The colour of callus was yellow generally, but the variety Usen had darker yellow in the 2,4-D treated media.