

# 植物細胞培養에 의한 除草劑抵抗性 變種選拔

金純哲 · 鄭根植

## Selection of Herbicide Tolerant Variant Through Cell Culture

S. C. Kim, and G. S. Chung

### ABSTRACT

An attempt was done at the Yeongnam Crop Experiment Station in 1986-'87 to obtain herbicide tolerant variant through cell culture. Immatured rice grain was more rapidly and efficiently formed callus in dehulled rice culture method for both rice cultivar types, Tongil type (Indica/Japonica) and Japonica-type. However, Japonica-type cultivar was generally superior than Tongil-type Cultivar in callus formation. Expression rate of herbicide tolerant variant varied depending upon rice cultivar, plant species and herbicide properties. In case of Nagdongbyeo (Japonica) at the first subculture, 46.3% of total callus pieces appeared as herbicide tolerant variant in herbicide media of CGA142464 and followed by NC-311 (11.6%), Butachlor (7.5%), 2,4-D (2.1%), Quinclorac (0.89%), and Propanil (0.25%), in order. This degree of appearance of herbicide tolerant variants rapidly increased as passage of subculture was advanced. Herbicide tolerant callus hardly regenerated as normal plant even though large variations exhibited among culture media.

Key words: Herbicide tolerant variants, cell culture, Dehulled rice culture method, Callus formation, Nagdongbyeo

### 緒 言

最近에 Glyphosate, Paraquat, Atrazine 等과 같은 除草劑를 10年 以上 계속해서 使用한 地域에서 이들 除草劑에 對해 抵抗性을 보이는 生態型 出現이 報告되고 있다. 1, 2, 3, 9, 19, 20, 22)

우리 나라에서는 아직 이와 같은 報告는 없으나, 單一除草劑의 連用比率이 어느 나라보다 높기 때문에<sup>17)</sup>, 抵抗性 生態型의 出現 危險性이 대단히 높다. 아니면 이미 抵抗性 生態型이 나타났을 가능성도 있다. 만일의 경우 抵抗性 變種이 나타나고 그리고 Triazine 系 除草劑와 같이 同一系統의 除草劑들에 對해서도 橫的인 抵抗性(Cross resistance)을 보인다면<sup>9)</sup> 대단히 深刻한 問題가 惹起될 수 있을 것이다.

現實的으로 볼 때 이와 같이 豫想되는 問題點을 事전에 막기 위해서는 特定 除草劑에 對한 變種이 나타나기 前에 性質이 다른 除草劑를 서로 바꾸어 使用하는 方法이 있고, 積極的인 方法으로는 根本的으로 特定 除草劑에 對해 抵抗性을 갖는 品種을 만들어 栽培하는 方法이 있을 것이다.

이와 같은 觀點에서 最近에는 植物組織 및 細胞培養方法을 利用하여 除草劑 抵抗性 細胞 및 抵抗性 品種 開發 努力이 試圖되고 있고<sup>24, 25)</sup>, 實際로 Strawberry, Potato, Soybean, Rapeseed, Sugarbeet, Sunflower, Safflower, Turnip rape, Cabbage, Tomato, 等の 作物에서 成果를 얻고 있으며<sup>4, 5, 6, 7, 11, 12, 13)</sup> 一部 또한 이미 栽培 되고 있다.<sup>14)</sup>

그리고 이들 作物에 使用되었던 除草劑로는 Terbutryn, Metobromuron, Bromoxynil, Chlorsulphuron,

嶺南作物試驗場  
(Yeongnam Crop Experiment Station, Milyang, Korea)

Sulphometuron methyl, Glyphosate, Amitrol, Picloram, Simazine, Atrazine, Bentazon, Phenmedipham, Paraquat, Diphenamid, 2,4-D, 2,4,5-T, 2,4-DB 등을 들 수 있다. 4,11,14,19,21,23)

本報告는 위와 같은 試圖가 벼에 對해서는 매우 未洽한 實情에 있어 前報<sup>16)</sup>에 이어 主要 除草劑들에 對한 細胞反應과 抵抗性 細胞 出現率을 調査한 結果를 要約 整理하였다.

## 材料 및 方法

### 1. Callus 誘起

細胞培養에 必要한 Callus는 玄米培養方法을 利用하였는데, 培地는 그동안 嶺南作物試驗場에서 開發한  $N_6-Y_1+2,4-D(2mg/\ell)+Kinetin(0.2mg/\ell)$ <sup>19)</sup> 培地를 使用하였다. 種子의 熟度와 Callus 誘起速度 또는 誘起程度를 比較하기 위해 統一型 品種(Indica/Japonica)인 伽倻벼, 三剛벼, 太白벼, 七星벼, 漢江찰벼와 日本型 品種(Japonica)인 洛東벼, 秋晴벼, 新新찰벼를 對象으로 5月 25日, 6月 10日, 6月 25日에 移秧된 試驗圃에서 各 品種別로 熟度가 다른 籼을 골라 玄米를 만들어 70% 알콜에 1~2分間 浸漬한뒤 滅菌수로 2~3回 洗滌하는 方法으로 消毒하여 試驗管에 置床하였다.

置床된 試驗管은 暗狀態에서 培養하였는데 數時로 Callus 誘起率은 置床後 30日에 調査하였다.

### 2. 除草劑 抵抗性 變種

Callus 誘導培地에서 誘起된 Callus를 充分히 增殖시킨 後 除草劑別로 必要濃度( $10^{-5}M$ )로 調整된 培地(除草劑 +  $N_6-Y_1+2,4-D 2mg/\ell + kinetin 0.2mg/\ell$ )에 直徑 1mm, 生體重 0.5~1.0mg 程度의 Callus 덩이를 샐레(直徑 9mm) 當約 50개 程度로 移植하여 光狀態(1,500lux, 25°C)에서 30日間 培養하였다. 抵抗性 細胞덩이의 判定은 肉眼으로 平均되는 Callus 덩이보다 2倍 以上 뚜렷하게 큰 것을 抵抗性 Callus 덩이로 看做하였다. 1次繼代培養(Subculture)에서 얻어진 抵抗性 Callus 덩이는 다시 2次와 3次 繼代培養을 같은 方法으로 實施하여 抵抗性 Callus 出現率을 調査하였다.

한편 抵抗性 Callus 덩이 出現率의 品種間 또는 種間의 差異를 알기 위해 各 品種으로는 密陽 23號, 三剛벼와 日本型 品種인 秋晴벼, 印度型 品種인 IR 36을, 그리고 野生稻인 쌀사레와 몽근사레를, 雜草

種類로는 강괴(*Echinochloa crus-galli* P. Beauv) 물피(*Echinochloa crus-galli* P. Beauv. var. *caudata* Kitagawa)와 자귀풀(*Aeschynomene indica* L.)을 함께 使用하여 앞에서와 같은 方法으로 檢定하였다.

### 3. 植物體 再分化

洛東벼의 抵抗性 Callus를 1次, 2次, 3次 繼代培養하면서 抵抗性 Callus 덩이 出現率이 90% 程度된다고 判斷되었을 때 이들 抵抗性 Callus 덩이는 6種類의 分化培地에 옮겨 植物體 再分화를 試圖하였다. 이들 6種의 培地組成은 아래와 같다.

A:  $N_6-Y_1$

B: A + kinetin (0.2mg/ℓ)

C: A + kinetin (1.0mg/ℓ) + IAA (0.2mg/ℓ)

D: A + 2,4-D (0.2mg/ℓ) + kinetin (2.0mg/ℓ)

E: A + 2,4-D (0.4mg/ℓ) + kinetin (4.0mg/ℓ)

F: A + 2,4-D (0.8mg/ℓ) + kinetin (8.0mg/ℓ)

各 培地種類로 1986年 9月 2日에 抵抗性 Callus 덩이를 移植하고 1986年 10月 27日에 調査를 하였는데 調査項目으로는 Callus 增殖程度, 地下部 뿌리 및 地上部 分化程度, 그리고 葉綠素形成程度도 아울러 調査하였다. 培養條件은 1,500 lux 程度의 밝은 狀態로  $25 \pm 1^\circ C$ 를 維持하였다.

## 結果 및 考察

### 1. Callus 誘起

細胞培養에 必要한 Callus를 얻기 위해서는 우선 年中 材料使用이 可能하여야 하는데 植物體 部位中에서 種子만이 年中保管이 可能하다. 따라서 本 研究에서도 Callus 誘起源으로서 種子를 利用하였는데 Callus 誘起率을 높이고 汚染을 막기 위해 外穎과 內穎을 除去한 玄米狀態로 使用하였다.

우선 種子의 熟期程度에 따라 Callus 誘起에 미치는 影響을 알기 위해 몇개의 日本型 品種과 統一型 品種을 使用하여 3時期(5月 25日, 6月 10日, 6月 25日)로 移秧된 圃場에서 熟期程度가 다른 籼을 골라 Callus 誘起試驗을 實施하였다.

種子의 熟度와 Callus 誘起와는 대단히密接한 關係가 있었는데 그 程度는 品種類型間에도 影響이 있었다. 그림 1은 各 品種의 出穗後 日數와 Callus 誘起率과의 關係를 나타낸 것으로서 出穗後 10~15日 程度의 種子가 가장 높은 Callus 誘起率을 보였

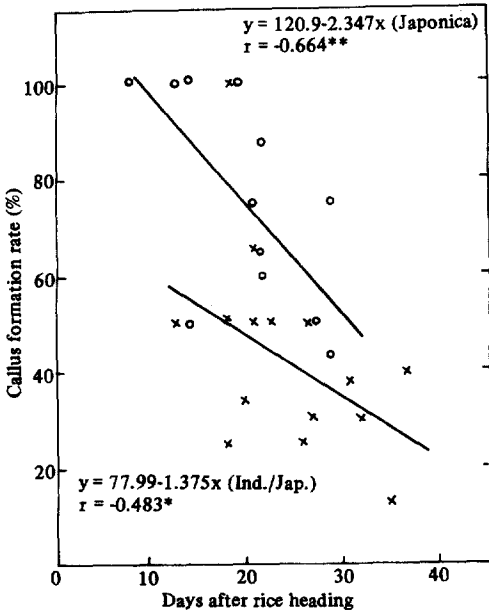


Fig. 1. Relationship between callus formation rate and maturity of rice grain.

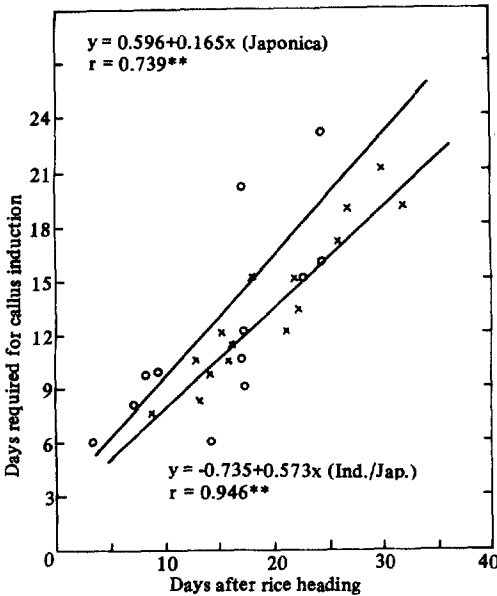


Fig. 2. Relationship between duration for callus induction and maturity of rice grain.

으며 그 이후부터는急速度로 減少하였는데 그程度는 日本型品種에서 더욱 뚜렷하였다. 그러나 一般的인 絶對 Callus 誘起率은 統一型品種이 日本型品種보다 根本的으로 낮았다.

다음으로 種子熟度는 Callus 誘起率 뿐만 아니라 Callus 誘起期間과도 高度의 有意相關이 認定되었는

데(그림 2) 특히 統一型品種이 더 높았다. 出穗後 10~15日 程度된 種子는 置床後 約 6~7日 頃부터 Callus 가 誘起되기 始作하나 出穗後 35日 以上된 種子는 Callus 誘起까지 19~23日의 期間이 所要되었다.

## 2. 除草劑 抵抗性 變種 選抜

除草劑 抵抗性 細胞選抜을 위해서는 우선 充分한 量의 Callus 가 必要한데 豫備試驗結果 供試品種中에서 洛東벼와 秋晴벼만이 Callus 分化率도 높고 分化量도 많았다.

이들 두品種中에서도 嶺南地域에 가장 널리 栽培되고 있는 洛東벼를 對象으로 除草劑抵抗性細胞選抜試驗을 實施하였다.

表 1은 代表的인 水稻用 除草劑인 Butachlor와 最近에 開發된 優秀한 除草劑인 Pyrazolate, DPX-5384 등 10種의 除草劑가  $10^{-5}M$  濃度로 含有된  $N_6-Y_1+2, 4-D(2mg/l) + kinetin(0.2mg/l)$  培地에서 一次的으로 나타난 Callus 反應을 要約한 것이다. 抵抗性變種發現率은 除草劑種類間에 뚜렷한 差異를 보이고 있는데 Sulfonyl urea系 除草劑인 CGA 142464와 NC-311이 各各 46.3%와 11.6%로 가장 높은 抵抗性發現率을 보였고 그 다음으로 Butachlor가 7.5%로 比較的 높은 發現率을 보였다. 本實驗에서 전혀 抵抗性變種이 나타나지 않은 除草劑는 Bentazon, Chlornitrofen, Pyrazolate와 DPX-5384였다.

다음으로는 1次培養에서 얻어진 抵抗性 Callus 덩이는 다시 同一 除草劑로서  $10^{-3}M, 10^{-4}M, 10^{-5}M$ 로 조절된 培地에서 2次 繼代培養을 實施하여 抵抗性變種 發現樣相을 調査하였는데 그 結果는 表 2와 같다.

除草劑 抵抗性 發現率은 繼代培養 回數가 늘어남에 따라 急速度로 增加되는데 增加速度는 除草劑種類에 따라 달랐다. 한편 1次培養에서 抵抗性變種으로 選抜된 Callus 덩이는 2次培養에서 本來濃度보다 10倍 및 100倍가 높은 培地에서도 抵抗性變種發現率이 相當히 높게 나타났다. 이와 같은 關係를 除草劑種類別로 살펴보면, Butachlor의 경우 1次培養에서 抵抗性變種發現率이 7.5%에 지나지 않던 것이 2次培養에서는 73.1%로 增加하였고 除草劑濃度가 10倍 및 100倍가 增加된  $10^{-4}M$ 과  $10^{-3}M$ 에서도 各各 63.8%, 45.4%의 抵抗性發現率을 보여 주었다. 그러나 3次 繼代培養에서는 抵抗性

**Table 1.** Expression rate of resistant callus mass (R-type) in callus culture in several herbicide media

Herbicide	Number of callus pieces				Expression rate of R-type (%)
	Total	Alive	Death	Resistant variant (R-type)	
Control	578	578	0	0	0
Butachlor	385	381	4	29	7.5
Propanil	394	394	0	1	$2.5 \times 10^{-3}$
Bentazon	401	399	2	0	0
2,4 - D	340	340	0	7	2.1
Chlornitrofen	286	284	2	0	0
Quinclorac	336	336	0	3	$8.9 \times 10^{-3}$
Pyrazolate	384	384	0	0	0
DPX - 5384	382	382	0	0	0
NC - 311	353	275	78	41	11.6
CGA 142464	335	313	22	155	46.3

\* Cultivar : Nagdongbyeo                      \* Herbicide concentration :  $10^{-5}M$   
 \* Callus growth at placing : diameter = 1 mm, Fresh weight = 0.5 - 1.0 mg  
 \* Placing date : Sep. 28, 1986                      \* Observation : Oct. 27, 1986  
 \* Medium :  $N_6 - Y_1 + 2.4-D (2mg/l) + Kinetin (0.2 mg/l)$

**Table 2.** Expression rate of resistant callus mass (R-type) at second subculture in several herbicide media

Herbicide	Number of callus pieces				Expression rate of R-type (%)	
	Total	Alive	Death	Resistant variant (R-type)		
Control	104	104	0	0	0	
Butachlor	$10^{-5}M$	130	119	11	95	73.1
	$10^{-4}M$	130	116	14	83	63.8
	$10^{-3}M$	130	115	15	20	45.4
NC-311	$10^{-5}M$	78	77	1	66	84.6
	$10^{-4}M$	52	52	0	43	82.7
	$10^{-3}M$	78	69	9	48	61.5
CGA 142464	$10^{-5}M$	130	129	1	127	97.7
	$10^{-4}M$	130	130	0	127	97.7
	$10^{-3}M$	104	104	0	95	91.3
Quinclorac	$10^{-5}M$	26	26	0	20	76.9
	$10^{-4}M$	26	26	0	16	61.5
	$10^{-3}M$	26	26	0	0	0

\* Cultivar : Nagdongbyeo  
 \* Placing : October 31 - November 1, 1986  
 \* Observation : November 25, 1986  
 \* Medium :  $N_6 - Y_1 + 2.4-D (2mg/l)$

變種發現率이 79.8%에 머무르고 있어(表 3) 多少 抵抗性發現增加率이 停滯되는 減이 있는데 이것은 몇몇 研究者들이 指摘한<sup>10, 15)</sup> 바와 같이 Callus 덩이가 자랄 때 培地에 直接的으로 接觸되지 않은 部分의 Callus 가 移植된데 原因이 있지 않나 생각된다. 다음으로 NC-311의 경우 1次培養에서 抵抗性

Callus 發現率이 不過 11.6%에 지나지 않던 것이 2次 繼代培養에서는 約 85%로 急速히 增加하였다. 마찬가지로  $10^{-4}M$ 과  $10^{-3}M$ 에서도 各各 82.7%와 61.5%를 보여 대단히 높은 發現率을 보여 주었다. NC-311과 같은 Sulfonyl urea 系統인 CGA 142464에 있어서는 NC-311보다 越等히 높은 發

**Table 3. Expression rate of resistant callus mass (R-type) at third subculture in several herbicide media**

Herbicide (10 <sup>-5</sup> M)	Number of callus pieces				Expression rate of R-type (%)
	Total	Alive	Death	Resistant variant (R-type)	
Butachlor	104	99	4	79	79.8
CGA 142464	156	151	5	145	92.9
NC-311	135	129	6	118	87.4
Quinclorac	95	90	5	78	82.1

\* Cultivar : Nagdongbyeo

\* Placing : November 3, 1986

\* Observation : December 26, 1986

\* Medium : N<sub>6</sub>-Y<sub>1</sub>+2.4-D (2mg/l)

現率을 보였고 Quinclorac 의 경우는 Butachlor 와 비슷한 結果를 가져왔으나 10<sup>-3</sup> 에서는 전혀 抵抗性 Callus 가 나타나지 않았다. 이들 除草劑의 3次 繼代培養 結果는 表 3에서 보는 바와 같이 앞의 Butachlor 의 경우와 마찬가지로 抵抗性 Callus 發現率이 그다지 크게 向上되지 못한 것은 Butachlor 경우에서 言及한바와 같은 原因에 기인하는 것으로 보여진다.

지금까지 얻어진 結果를 면밀히 檢討하여 보면 禾本科 植物에 對한 殺草效果가 多少 떨어지는 Sulfonyl urea 系 除草劑에 대해서는 抵抗性 Callus 發現이 빨라지는 傾向이었다.

그리고 繼代培養 回數를 거듭하게 되면 抵抗性 Callus 發現率이 急速度로 增加되는데 除草劑 種類에 따라 差異는 있지만 3回 繼代培養으로 80% 以上の 抵抗性 Callus 를 얻을 수 있었다.

다음으로는 除草劑에 對한 抵抗性變種 出現相을 벼 品種間 또는 主要 雜草種類間 反應을 보기 위해 統一型 品種인 '密陽 23號'와 三剛벼, 日本型 品種인

秋晴벼, 野生稻인 쌀사레와 몽근사레, 그리고 雜草인 물피, 강피 및 자귀풀을 供試하여 檢討한 結果 表 4와 같이 品種間 및 種(species)間的 뚜렷한 差異를 볼 수 있었다. 물론 對象 除草劑에 따라 差異가 있지만 一般적으로 秋晴벼가 橫적으로 가장 높은 抵抗性變種出現率을 보였고 그 다음으로 자귀풀, 쌀사레의 順으로 나타났다.

本實驗의 窮極의인 目的이 特定 除草劑에 對해 抵抗性을 갖는 植物體를 만들어 내는 것이기 때문에 抵抗性細胞를 얻은 다음에는 選拔된 細胞가 植物體로 再分化되었을 때도 抵抗性을 보이는지를 確認할 必要가 있다. 지금까지 研究된 結果들에 의하면 除草劑抵抗性 Callus 의 再分化能力은 繼代培養 回數가 늘어날수록 크게 低下된다고 하며<sup>15,20</sup> 또한 再分化된 植物體에서도 抵抗性을 보일 경우와 보이지 않는 경우가 있다고 하였고<sup>10,15</sup> 비록 抵抗性을 보이는 植物體라 하더라도 世代가 經過될 수록 抵抗性이 사라지는 경우도 있는 것으로 報告되었다.<sup>10,15</sup>

**Table 4. Expression rate of resistant callus mass (R-type) in several species in association with herbicide.**

Species	Expression rate of R-type					
	Butachlor	Propanil	2.4-D	Quinclorac	NC-311	CGA 142464
<b>RICE</b>						
Milyang 23	1.9	1.3	2.6	1.9	0	3.8
Samgangbyeo	0	0	6.4	0	0	0
Chucheongbyeo	8.3	3.5	9.6	7.8	14.1	6.4
IR 36	0	0	0	0	0	0
<b>WILD RICE</b>						
Salsare	10.2	1.9	3.8	4.5	1.3	2.9
Monggunsare	1.3	1.3	3.2	1.9	5.8	5.8
<b>WEED</b>						
<i>E. crus-galli</i> var. <i>caudata</i>	0	0.6	0	0	0.6	1.0
<i>E. crus-galli</i>	1.3	0	2.6	0	1.3	0
<i>Aeschynomene indica</i>	0.6	6.5	1.9	15.4	10.9	5.1

\* *E. Echinochloa*

\* Herbicide concentration : 10<sup>-5</sup>M

\* Placing : Dec. 2, 1986

\* Observation : Jan. 20, 1987

\* Medium : N<sub>6</sub>-Y<sub>1</sub>+2.4-D (2mg/l)

\* Culture condition : 1,500 lux, 25 ± 1 C

Table 5. Regeneration ability of resistant callus (R-type) mass in association with media and herbicide regime.

Origin of R-type callus	Item	Media						Media composition(mg/l)
		A	B	C	D	E	F	
Control	Rooting	++	+	+	+	+	+	A ; N <sub>6</sub> -Y <sub>1</sub>
	Shooting	-	-	-	-	-	-	B ; A+Kinetine(0.2)+IAA(0)
	Callus growth	-	-	-	+	+	+	C ; A+Kinetin(1.0)+IAA(0.2)
Butachlor (10 <sup>-5</sup> M)	Rooting	+	+	+	+	+	+	D ; A+2,4-D(0.2)+Kinetine(2.0)
	Shooting	+(-chl.)	-	-	-	-	-	E ; A+2,4-D(0.4)+Kinetine(4.0)
	Callus growth	-	-	-	+	+	+	F ; A+2,4-D(0.8)+Kinetine(8.0)
Propanil (10 <sup>-5</sup> M)	Rooting	-	+	+	++	+	+	
	Shooting	-	-	-	-	-	-	* + ; positive response
	Callus growth	-	-	-	+	+	+	- ; negative response
Bentazon (10 <sup>-5</sup> M)	Rooting	+	+	+	+	+	+	-chl ; albino
	Shooting	-	-	-	+	-	-	* placing ; Sept. 2, 1986
	Callus growth	-	-	-	+	+	+	* Observation ; Oct. 27, 1986
2,4-D (10 <sup>-5</sup> M)	Rooting	+	+	+	+	+	+	* Cultivar ; Nagdongbyeon
	Shooting	-	-	-	+	-	-	
	Callus growth	-	-	-	+	+	+	
Chlornitrofen (10 <sup>-5</sup> M)	Rooting	-	+	+	-	-	-	
	Shooting	-	-	-	-	-	-	
	Callus growth	-	-	-	+	+	+	
Pyrazolate (10 <sup>-5</sup> M)	Rooting	+	+	+	++	+	+	
	Shooting	-	-	-	+	-	-	
	Callus growth	-	-	-	-	-	-	
Quinclorac (10 <sup>-5</sup> M)	Rooting	-	-	+	-	-	+	
	Shooting	-	-	-	-	-	-	
	Callus growth	-	-	-	+	+	+	
DPX-5384 (10 <sup>-5</sup> M)	Rooting	-	-	-	+	-	-	
	Shooting	-	-	-	-	-	-	
	Callus growth	-	-	-	-	-	-	
NC-311 (10 <sup>-5</sup> )	Rooting	+	++	++	+	+	+	
	Shooting	-	-	-	-	-	-	
	Callus growth	-	-	-	+	+	+	
CGA 142464 (10 <sup>-5</sup> M)	Rooting	-	-	-	-	-	-	
	Shooting	-	-	-	-	-	-	
	Callus growth	-	-	-	-	-	-	

이와 같은 점들을 念頭에 두고 本 實驗에서 얻어진 抵抗性 Callus 에 對해 植物體 再分化를 試圖하였다.

表 5는 6種類의 分化培地에서 洛東벼의 抵抗性 Callus 를 移植하여 얻은 結果이다. 全體의으로 볼 때 N<sub>6</sub>-Y<sub>1</sub>의 基本培地에 2,4-D가 0.2mg/l, 그리고 kinetine 이 2.0mg/l이 含有된 培地에서 가장 높은 分化能力을 보였는데 大部分의 경우 뿌리만 分化되고 幼芽部는 Bentazon, 2,4-D, 및 Pyrazolate 抵抗性 Callus 에서 겨우 分化가 되었으나 正常的인 生育을 하지 못하였다. 그 外 培地中에서는 N<sub>6</sub>-Y<sub>1</sub> 基本培地에서 Butachlor 抵抗性 Callus 가 分化되었으나 白色體(albino) 植物이었다. 또 한편으로는

植物體 再分化能力을 向上시키기 위해 抵抗性 Callus 를 2,4-D가 含有되지 않은 培地에서 2~3回 增殖시킨 後 分化培地에 옮겨 試圖해 보았지만 별로 뚜렷한 差異點을 發見할 수가 없었다.

以上的 結果로 미루어 보아 除草劑 抵抗性 Callus 의 再分化能力 向上이 앞으로의 主要 研究課題가 될 것으로 보여진다.

### 摘 要

細胞培養方法을 利用하여 除草劑抵抗性細胞를 選拔하고 나아가서는 抵抗性 植物體를 얻기 위해 數種

의水稻用除草劑를 사용하여 1986年~'87年嶺南作物試驗場生命工學實驗室에서實驗을實施하였던結果는 다음과 같다.

1. 細胞培養에 必要한 Callus 는 玄米를 通하여 얻을 수 있으며, 置床當時 玄米의 熟度가 Callus 誘起速度와 誘起率에 크게 영향을 미쳤는데, 出穗後 10~15日된 種子가 Callus 誘起速度가 빠르면서 誘起率도 높았다. 또한 出穗後 日數가 經過함에 따라 直線的으로 그 效果가 低下되었다

한편 一般的인 Callus 誘起率은 統一型 品種보다 日本型 品種이 높았다.

2. 除草劑에 對한 抵抗性 Callus 出現率은 除草劑種類와 對象品種 또는 植物의 種에 따라 差異를 보였다. 洛東벼의 경우 第1次培養에서 CGA 142464 除草劑가 含有된 培地에서 가장 높은 抵抗性 Callus 出現率(46.3%)을 보였고 다음으로는 NC-311, 11.6%, butachlor 7.5%, 2,4-D 2.1% Quinclorac 0.89%, Propanil 0.25%의 順이었다. 또한 이들 抵抗性 Callus 出現率은 繼代培養 回數가 進展되면서 急速度로 增加될 뿐 아니라 本來의 濃度보다 10倍, 100倍나 높은 濃度에서도 相當한 Callus가 抵抗性을 보였다.

3. 除草劑 抵抗性 Callus 의 植物體 再分化能力은 培地 種類와 除草劑 種類에 따라 달랐으나 대체로 N<sub>6</sub>-Y<sub>1</sub>의 基本培地에 2,4-D와 kinetine 이 各各 0.2mg 과 2mg(ℓ當)이 含有된 培地에서 幼芽部와 幼根部가 다같이 分化가 되었을 뿐 그의 培地에서는 뿌리만 分化되거나, Callus 만 增殖되었다. 한편 幼芽와 幼根이 함께 分化된 것은 正常的인 植物體로 生長되지 못하였다.

## 引用文獻

- Arntzen, C. J., C. L. Ditto, and P. E. Brewer. 1979. Chloroplast membrane alterations in triazine-resistant *Amaranthus retroflexus* L. biotypes. Proc. Nat. Acad. Sci. 76: 126-128.
- Bandeen, J. D., J. V. Parochetti, G. F. Ryan, B. Maltais, and D. V. Peabody. 1979. Discovery and distribution of triazine resistant weeds in North America. Abstr. Weed Sci. Soc. Am. 108.
- Bandeen J. D., Stephenson G. R., Cowett E. R. 1982. Discovery and distribution of herbicide resistant weeds in North America. In Baron Le H. Gressel, J. (eds) Herbicide resistance in Plants. Wiley and Sons, New York.
- Bright, S. W. J., G. Doms, D. Foulger, A. Karp, and N. Evans, 1986. Mutation and tissue culture. p. 431-450. In plant tissue culture and its agricultural applications. L. A. Withers and P. G. Alderson. Butterworths. London. 526.
- Chaleff, R. S. 1981. Genetics of higher plants. Applications of cell culture. Cambridge University Press.
- Chaleff, R. S. 1983. Isolation of agronomically useful mutants from plant cell cultures. Science. 219: 676-682.
- Chaleff, R. S. and Ray, T. B. 1984. Herbicide-resistant mutants from tobacco cell cultures. Science. 223: 1148-1151.
- 鄭根植·孫再根. 1986. 葯 및 花粉培養에 의한 半數體育者. p. 11~30. 慶北大 開校 40周年紀念 Symposium 特輯號. 植物組織培養의 農業的利用 및 産業化. 1986. 7. 216.
- Craig, R. S. and A. R. Martin. 1985. *Kochia scoparia* growth response to triazine herbicides. Weed science. 34: 40-42.
- Crocomo, O. J. and N. Ochoa-Alejo. 1983. Herbicide tolerance in regenerated plants. p. 770-781. In Handbook of plant cell culture. Techniques for prepagation and breeding. D. A. Evans, W. R. Sharp, P. V. Ammirato and Y. Yamada. Macmillan Publ. Co. New York: 970.
- Cseplo, A., P. Medgyesy and L. Marton. 1986. In vitro induction, isolation and transfer of chloroplast mutation in Nicotiana. p. 137-146. In Proc. Symposium, Nuclear techniques and in vitro culture for plant improvement, Vienna, 19-23 August 1985 jointly organized by IAEA and FAO. 529.
- De Block, M., Herrera Fstrella, L., Van Montagu, M., Schell, J. and Zambryzki, P. 1984. Expression of foreigners in regenerated plants and in their progeny. EMBO J. 3: 1681-1691.
- Dix, P. J. 1985. Cell line Selection. In plant cell culture technology, (M. Yeomann, Ed.) p. 141-199. Oxford, Blackwell Scientific.
- Genetic engineering of plants. 1984. Board on

- Agriculture National Research Council. National Academy Press. Washington, D. C. 83.
15. Hughes, K. 1983. Selection for herbicide resistance. p. 443-460. In Handbook of plant cell culture; Techniques for propagation and breeding. D. A. Evans, W. R. Sharp, P. V. Ammirato and Y. Yamada. Macmillan Publ. Co. New York. 970.
  16. 金純哲・李壽寬・鄭根植, 1986. 組織培養 方法을 利用한 除草劑 作用性 및 除草劑 抵抗性 檢定 方法 研究. 韓雜草誌, 6(2): 174~190.
  17. 慶尙北道, 1987. 叫栽培環境 및 물管理. p. 51~65. 쌀 多收穫技術教材, 慶尙北道.
  18. Le Baron, H. and J. Gressel. 1982. Herbicide resistance in plants. New York, Wiley.
  19. Malone, R. P. and P. J. Dix. 1986. Selection for herbicide resistance in tissue cultures of *Rragaria* and *Nicotiana*. p. 479-486. In Plant tissue culture and its agricultural applications. L. A. Withers and P. G. Alderson. Butterworths. London. 526.
  20. Meredith, C. and P. S. Carlson. 1982. p. 275-293. In Herbicide resistance in Plants, H. LeBaron and J. Gressel. New York, Wiley.
  21. 農藥實驗法: 除草劑編, 1981. ソフトサイエンス社. Tokyo. 499.
  22. Thomas, B. and D. Pratt. 1982. Isolation of paraquat-tolerant mutants from tomato cell cultures. Theoret. Appl. Genet. 63: 169-176.
  23. Yadav, N. and S. A. Benard. 1984. Mutations in cloned *E. Coli* gene for acetolactate synthase. II. Confer resistance to sulfometuron methyl herbicide by enzyme alteration. In Proc. of 11th Katzir-katchalsky conf.: Plant Molecular Biology, Jerusalem, Abstract. D-11.
  24. Zilkah, S. and J. Gressel. 1977. Cell cultures vs. whole plants for measuring phytotoxicity. III. Correlations between phytotoxicity in cell suspension cultures, calli and seedlings. Pl. Cell physiol. 18: 815-820.
  25. Zilkah, S., P. F. Bocion, J. Gressel. 1977. Cell cultures vs. whole plants for measuring phytotoxicity II. Correlations between phytotoxicity in seedlings and calli. Pl. Cell Physiol., 18: 657-670.