

〔報文〕

Solanum nigrum L. 의 药培養에 관한 研究 II

韓昶烈 · 金文子 · 李炳基*

原子力廳 放射線農學研究所

*全北大學校 農科大學

Studies on The Anther Culture of *Solanum nigrum L.* II

Harn, Chang yawl, Moon Ja Kim and Byung Ki Lee*

(Radiation Research Institute in Agriculture, Office of Atomic Energy,

*College of Agriculture, Chonpuk National University)

ABSTRACT

Haploid calli obtained from microspores of *Solanum nigrum* were cultured on two kinds of medium, "Callus-inducing medium" and "Differentiation medium", in order to conduct histological studies of callus and examine differentiation of plantlets.

On the callus-inducing medium the calli grew rapidly. The bulk of callus mass was light brown colored "Wet callus" covered on the surface with thin layers of rough and gleaming "White callus".

The wet callus was consisted of parenchyma and meristematic tissues, while the white callus had no meristematic tissues. Large parenchyma cells, by successive divisions, became multicellular or poly nucleate cells which developed later to be meristematic tissues.

The calli embedded on the differentiation medium quickly turned to dark brown color. Plantlets, however, came out later from these blackened callus mass. In the callus sectioned about ten weeks after imbedding on the differentiation medium, radially elongated tissue, concentric tissue, epidermis, tracheid-like structure, and plant primordia were observed.

緒論

材料 및 方法

*Solanum nigrum*의 药培養에 있어서 小孢子에서 多細胞體 또는 callus 가 形成되는 과정, 培養中 药組織의 變化, 및 半數性 callus로부터 植物體의 誘導 등에 대하여는 既往에 報告한 바 있다(韓昶烈, 高英瑞, 1970).

本實驗은 半數性 callus 가 增殖 또는 分化할 때 callus의 形態의 變化와 組織學의 知見을 얻고자 實施하였던 바 몇 가지 결과를 얻었기에 보고 하고자 한다.

材料는 *Solanum*의 药에서 나온 小孢子 由來의 callus 를 사용하였다.

callus의 增殖을 위하여는 药培養 할 때 사용했던 것과 동일한 組成의 培地(以下 增殖培地라 함)을 사용하였고, 植物體의 分化를 위하여는 增殖培地 中에서 NAA 와 2,4-D 를 완전히 除去한 것과 NAA 0.1~1.0mg/l, 2,4-D 0~0.5mg/l 로 한 것을 사용하였다(分化培地라 함).

增殖培地의 callus 는 25°C 内外의 incubator에서 暗黑狀態로 培養하였고 分化培地의 callus 는 25°C 内外의 照明 chamber에서 培養하였다.

組織의 관찰을 위해서 增殖維持해 온 callus 中 翁성한 增殖을 하고 있는 callus 의 一部를 增殖培地와 分化培地에 移植한 後 각각의 培地에서 일정한 時日을 두고 callus 를 採取하여 Farmer's fluid에 固定한 後 常法에 의하여 切片을 만들었다.

結果 観察

1) 增殖培地에서 培養된 callus

增殖培地에서 培養된 callus 小片은 처음 約 10日間은 완만한 生育을 하지만 그후부터 移植後 3—4週日 사이에 급속히 增殖하여 처음의 組織片의 數倍로 增加된다 (Fig. 1). callus 의 大部分은 淡黃褐色의 液狀 callus 로 되어 있지만 表面은 液胞로 가득찬 큰 細胞들이 粗結合되어 생긴 層으로 덮여 있어 callus 전체가 마치 白色光澤의 結晶體같이 보인다.

callus 的 組織들은 비교적 크고 둥근 細胞들로 되어 있어 다른 植物들의 callus에 比해 friable하고 單細胞들이 용이하게 游離된다.

callus 的 組織中 液狀 callus 는 비교적 均一하고 큰 細胞로 된 柔組織에大小의 分裂組織이 點在해 있고 (Fig. 2). 白色 結晶狀 callus 는 分化가 과도히 進行된 細色로 되어 있으며 分裂組織이 없다.

液狀 callus 的 分裂組織은 細胞가 비교적 크고 callus 各 部位에 散在해 있는데 이는 다른 植物들의 2倍性 callus 나 벼의 半數性 callus (韓範烈, 黃貞姬, 1970)의 分裂組織이 작은 細胞로 構成되어 있고 周緣部에 잘 생기는 것과는 對照的이다. 柔組織의 各 細胞들이 多細胞化, 多核化 (Figs. 3, 4) 등 여러 단계의 組織으로 變하는 것으로 보아 分裂組織은 分化가 상당히 進行된 柔組織의 細胞들이 다시 脫分化되어 생기는 것 같다. 組織內에는 두개의 柔組織이 壓縮되어 衰萎崩壞되는 組織들이 혼히 관찰된다.

白色 結晶狀 callus 는 液狀 callus 의 외곽細胞들이 점차 巨大化 되므로 생기는 것 같다. 이 callus 内에는 分裂組織이나 多細胞化 現象이 없는 것으로 보아 이런 callus 를 構成하는 細胞들은 과도히 分化되어 脱分化 能力を 잃어버렸다고 생각된다.

2) 分化培地에서 培養된 callus

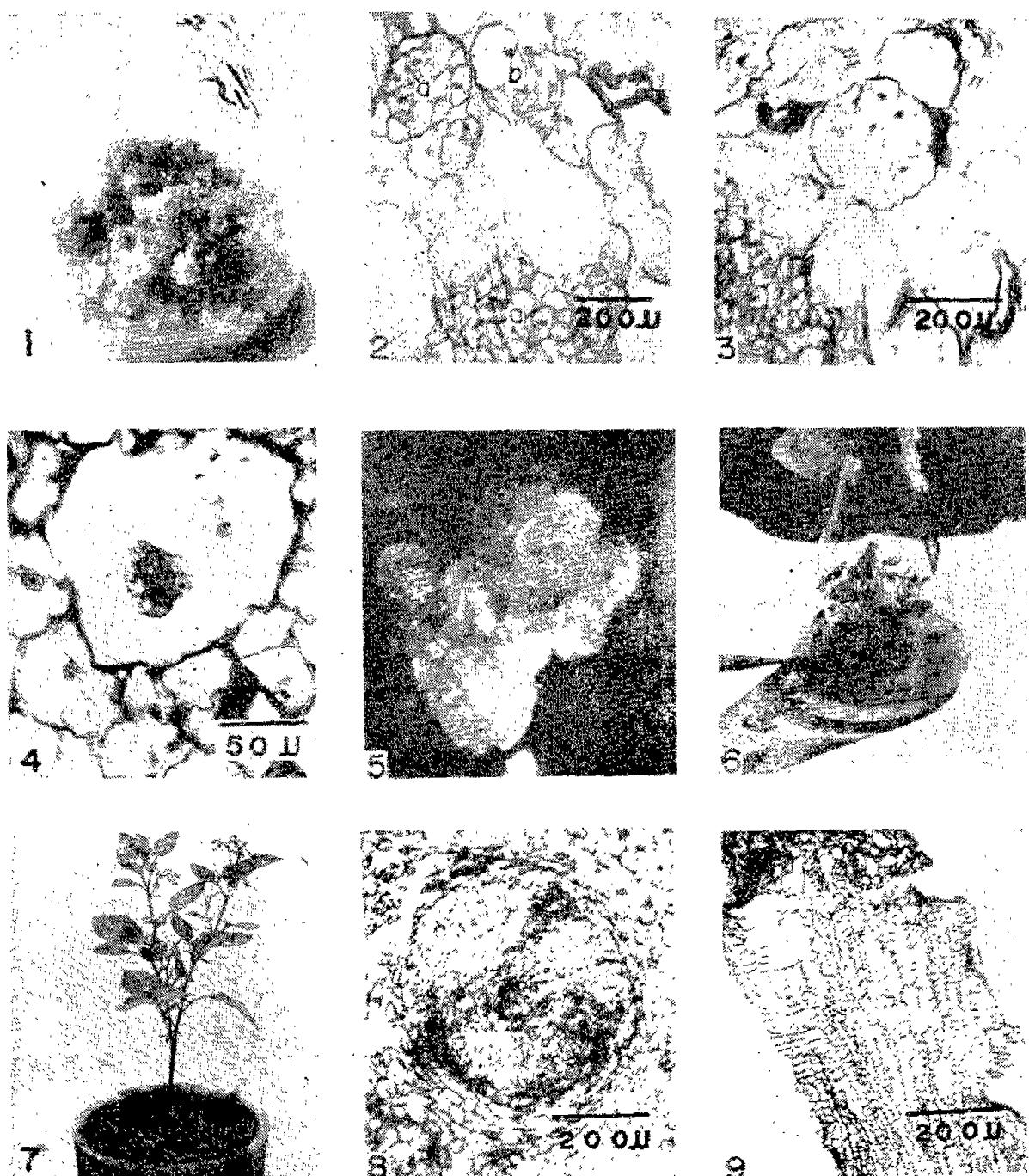
分化培地에 移植한 callus 小片은 처음 1週日間은 增殖培地에서와 별다른 差異가 없다. 培養約 1週日後부터는 褐變하는 程度가 심하여 3週日頃부터는 大部分의 callus 小片들은 黑褐色으로 된다. 生育도 대단히 완만하여 增殖培地의 callus 는 3週일 사이에 급속히 增殖되어 表面이 白色 callus 를 덮이게 되지만 分化培地의 callus 는 一部分에서 細密하게 結合된 突起狀의 白色 callus 가 생겨나거나 淡黃褐色의 突起가 생겨나며 그 경도도 매우 느린다.

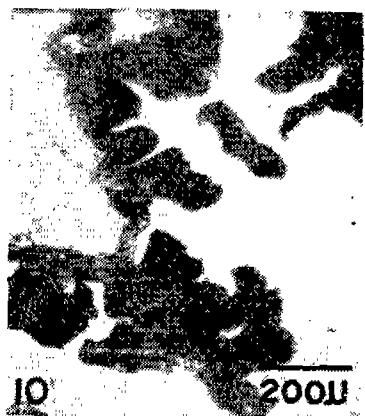
約 10週가 되면 表面이 平滑하게 된 綠色의 球形小體가 생겨나기 시작하는데 (Fig. 5) 이들의 大部分은 黑色으로 되어 枯死한 것처럼 보이는 callus 組織으로부터 생겨나며 비교적 활발히 增殖되고 있는 callus 組織으로부터는 생겨나지 않는다. 綠色小體들은 용이하게 幼植物로 分化되어 幼植物이 分化된 callus 組織으로부터는 계속하여 分化가 이루어져 하나의 callus 組織으로부터는 여러개의 幼植物이 생겨나게 된다 (Fig. 6). 幼植物의 分化는 low-auxin 分化培地에서 約 7週 경과한 後 auxin-free 分化培地에 移植된 callus 組織으로부터 생겨나며 auxin-free 分化培地에서만 培養된 callus 組織에서는 생겨나지 않는다. 그러나 繼代培養을 하지 않은 初期의 callus 가 auxin-free 分化培地에서 約 3週만에 分化되었던 것으로 보아 幼植物의 分化는 外部로부터의 充給에 의하거나 callus 自體에 含有된 것에 의하거나 auxin의 量에 의해 지배되는 것으로 생각되며 그 경도는 callus 로서의 增殖은 역제되어 外部의 callus는 枯死되지만 內部에서는 分化가 이루어 질수 있는 극히 少量인 것으로 생각된다. 分化된 幼植物은 사용된 培地에서는 잘 發根되어 암지반 화분에 移植하면 용이하게 發根되어 정상적인 生育을 하게 된다 (Fig. 7).

分化培地에 移植後 3週까지의 組織을 보면 inoculum이나 新生 callus 나柔組織 및 分裂組織이 增殖培地에서와 같다. 단지 分裂組織의 分布가 增殖培地의 것에 比해 대단히 적을 뿐이다.

그러나 그後の callus 는 縱으로 길어진 細胞로 構成된 放射狀으로 伸長한 組織과 同心圓狀 分化組織으로 構成되어 있고 表皮狀 細胞層 및 假導管狀 構造가 發達되어 있다 (Figs. 8, 9). 그리고 이와같이 分化된 組織들 사이는 崩壘된 callus 의 殘存物로 되어 있다. 約 10週가된 組織들에서는 發生과 形態가 植物體

의 生長點 形成時와 비슷한 植物體의 原基들이 관찰된다(Fig. 10).





摘要

*Solanum nigrum*의 藥培養에 의해 생긴 半數性 callus를 사용하여 增殖培地와 分化培地에 接種하였을 때 생기는 callus의 發生 및 分化를 究明한 바 그 결과는 다음과 같다.

1. 增殖培地에서增殖된 callus는 淡黃褐色의 液狀 callus로 되어 있고 表面은 白色 callus로 되어 있다.
2. 液狀 callus는 彙交적 均一하고 큰細胞로 된 柔組織에 分裂組織이 點在해 있고 白色 callus는 分裂組織이 없다.
3. 分裂組織은 柔組織의 細胞들이 다시 脱分化되어 생긴다.
4. 分化培地에 移植한 callus는 黑褐色으로 變하여增殖은 매우 느린다.
5. 分化培地에 移植後 10週가 되면 植物體의 分化

寫眞說明

Figs. 1-4. Vigorously growing callus in "Callus-inducing medium." Callus mass (Fig. 1), meristematic (a) and parenchyma (b) tissues (Fig. 2), parenchyma cell changing into multicellular tissue (Fig. 3), and poly-nucleate cell (Fig. 4).

Figs. 5-6. Differentiation of plantlet.

Fig. 7. Potted haploid plant.

Figs. 8-10. Callus in "Differentiation medium". Concentric (Fig. 8), radially elongated (Fig. 9) tissues, and initiation of plant primordia (Fig. 10).

가 이루어지며 이들은 사용된 培地에서는 發根되지 않는다.

6. 分化培地의 callus에는 放射狀으로 伸長한 組織, 同心圓狀組織, 表皮狀 細胞層, 假導管狀 構造 등이 發達되어 있다.

參考文獻

1. 韓昶烈·高英瑞, 1970. *Solanum nigrum L.*의 藥培養에 관한 研究. 육종지, 2:29-35.
2. _____·黃貞姬, 1970. 甞의 藥培養에 관한 研究. Haploid callus의 發生 및 分化에 관하여. 護天李容夏 教授回甲記念論文集, 71-74.
3. _____·_____, 1970. 甞의 藥培養에 관한 研究. 2分化培地에 移植한 Haploid callus의 發生 및 分化. 植物學會誌, 13(3): 17-19.