

벼 組織 培養 에 關 한 研 究

鄭 根 植
作物試驗場

Studies on Tissue Culture in Rice, *Oryza sativa* L.

Gun Sik Chung

Crop Experiment Station, Suweon, Korea

ABSTRACT

In order to provide basic information for the application of tissue culture to a rice breeding program, experiments were carried out on the callus formation from seedlings and anthers and organ differentiation from the callus of rice varieties and their hybrids.

It appeared that in general the callus tissue was more easily induced in japonicas than in indicas with significant varietal differences.

A highly significant positive correlation ($r=0.896^{**}$) was obtained between the fresh weight of callus induced in NAA medium and in 2,4-D medium in the same variety. Callus formed on the medium with 2,4-D was more friable than that formed on the medium with NAA.

The callus formation from seedlings was better

than from anthers in upland rice varieties. The easiness of the callus formation appeared to be a dominant character in crosses of rice varieties. Varietal difference was also noticed in the organ differentiation from the callus and the root differentiation seemed to be easier than the shoot differentiation.

Most of the plants derived from the callus were albinos and the frequency of occurrence of albinos was greater in callus of seedlings than in that of anthers.

Greater amount of callus tissue was formed from anthers of F_1 plants than any one of their parents in remote-crosses but it was clear in close-crosses. A highly significant positive correlation ($r=0.504^{**}$) was found between the callus formation from seedlings and from anthers.

緒 言

組織培養은 器官, 組織片 또는 細胞群 등을 多細胞生物의 個體로 부터 無菌的으로 切取하여 이를 培地에서 生長, 増殖시키는 技術로서 動物을 비롯하여 植物에 있어서의 組織培養에 關한 研究와 技術은 急進展을 보아 最近 單一細胞의 狀態에서 増殖을 繼續시키는 培養에 까지 成功하였다. 이같이 組織培養이 任意의 材料에서 可能하게된 지금에 와서는 培養法 그 自體는 研究目的으로서는 없어지고 生理學·發生學·細胞學 뿐 아니라 遺傳·育種學의 利用에 이르기까지 넓은 領域의 有效한 研究手段이 되고 있으며 특히 遊離單細胞로 부터 完全한 植物體를 만들게 되므로써 어느 細胞에도 全能性이 實證되었고, 1966年 Datura의 花粉培養에서 半數體를 만든 것은 作物育種에 새로운 方向에서의 밝은 展望을 示唆해 주었다.

벼는 單子葉 植物로서 雙子葉 植物에 比해서 組織培養이 어려우므로 研究가 늦어지고 있다. 그러나 世界 食糧의 主軸이 되는 栽培稻에 對해서도 數年前 藥草에서 半數體 植物을 生成시키므로써 同質倍數體 育成에 迫事를 加했으며 水稻育種에 利用될 可能性을 示唆하고 있다. 이같은 成果는 現在 實施되고 있는 交雜育種에서의 複雜性을 덜어 주므로써 새로운 育種技術開發에 크게 貢獻할 것으로 믿는다.

本 研究은 多數의 벼 品種을 供試하여 發芽種子와 莖으로 부터의 callus形成, 그로부터 器官分化를 誘發시키는데 있어서의 培養方法 및 그 品種間差와, 雜種世代에서의 遺傳關係等을 밝히고 아울러서 種子및 莖으로 부터의 callus形成 相互間의 相關關係를 究明하여 組織培養을 利用한 育種의 基礎資料를 얻고자 實施하였다.

本 研究을 實施함에 있어서 諸般 便利와 機會를 提供해주신 農村振興廳 當局과 指導와 鞭達하여주시는 作物試驗長 崔鉉玉博士와 서울大學校 農科大學教授 李殷雄, 許文會, 李弘和博士에게 衷心으로 感謝를 드리며 試驗 過程을 通하여 여러모로 指導해 주신 日本國 農業技術研究所 新關宏夫博士와 遺傳生理 第1 研究室 諸位와 熱帶農業研究所 村上寬一博士에게 感謝를 드립니다.

本人이 學問을 닦는 過程에서 始終 鞭達과 激勵을 해주신 恩師 金寅煥博士에게 深甚한 謝意를 드립니다. 끝으로 本 試驗遂行에 있어서 協助해 주신 同僚 諸位에게 感謝를 드립니다.

I. 研究史

植物의 組織培養은 細胞, 組織, 器官의 構造의인 單位로 類別할 수 있고 組織, 營養, 生化學, 遺傳 및 育種學的으로 研究되어 왔다.

1958年 Steward等⁶⁸⁾은 당근 뿌리의 遊離細胞에서 完全한 植物體를 形成하는데 成功하므로써 植物體를 構成하고 있는 어느 任意의 細胞도 全能性을 갖고 있다는 것이 實證된 以來 植物의 組織培養法이 確立되어 活潑히 研究가 推進되고 있다.

벼는 寒冷한 一部地域을 除外한 全地域에서 栽培되고 있어 여러가지로 分化되어 있고 遺傳, 生理 및 生態의 特性에 關해서도 많은 研究가 이루어지고 있어 組織培養에 對한 研究材料로서 適合한 作物이다.

벼의 callus組織은 胚, 葉鞘, 뿌리, 節 및 莖에서 生기며 auxin이 含有된 培養基에서 얻을 수 있다^{9,28,47,73)} Furuhashi와 Yatazawa⁵⁾는 2mg/l의 2,4-D와 5%의 yeast extract를 添加한 Heller培養基에서 水稻의 莖節로 부터 最初로 callus形成과 繼代培養을 시키는데 成功하였다. Maeda²⁸⁾는 水稻의 發芽種子를 修正된 Murashige & Skoog培地에 2,4-D, NAA와 kinetin, yeast extract를 添加하여 callus를 形成했다고 報告하였다.

callus誘導에 主要한 auxin인 2,4-D, NAA, IAA에 對한 callus 形成作用의 強度는 2,4-D>NAA 또는 IAA의 順으로 差異가 있으며⁵⁰⁾ yeast extract는 callus의 發育을 위한 綜合 amino酸의 役割을 하는 重要한 營養源으로서 作用한다^{6,47,60)}. Yatazawa等⁸²⁾은 Heller의 修正培地에서 벼의 뿌리로 부터 callus를 形成하여 2年間 繼代培養을 한 結果 yeast extract와 2,4-D는 callus形成에 優秀한 物質이며, 3週間 培養된 重量은 約 5倍로 增加되었다. 또한 水稻의 胚起源 callus를 約 600日間 16~17世代에 걸쳐 繼代培養을 한 結果 Tetep은 繼代培養 初期에는 callus가 增加하나 後期에는 減少되었다. 그러나 Tanginbozu는 反對現象이었고 Konansen은 初期와 後期の 增加에 差異를 發見하지 못했다³⁷⁾.

Nishi⁵⁸⁾는 벼의 callus形成에 있어서 磷酸과 calcium의 吸收力에 對한 變化를 試驗하여 callus形成 機構를 理解하는데 첫번째로 接近하였고 callus 組織은 生理學 및 遺傳學的인 特性이 長期間 培養하므로 變化된다고 發表하였다. 이와 같은 變異는 植物細胞의 遺傳的인 安全性과 特異性과의 關係에 對해서 많은 問題點을 提示하고 있다.

callus의 形成量은 培地의 成分, 環境條件 및 品種에 따라 相異한 變異를 보인다. 水稻의 胚起源 callus는 좋은 條件下에서 4週間 培養한 結果 30倍의 增殖을 보였으며 品種에 따른 差異는 Tetep와 konansen은 顯著한 callus의 增加를 보였으나 Tanginbozu는 少量의 形成을 보였고 2,4-D의 低濃度에서는 全然 增殖되지 못하였다^{29,36}. auxin의 濃度에 依한 callus 形成量에 對해 Miller의 培地에 2,4-D 와 NAA를 添加하여 水稻品種에 處理하여 callus의 生成量을 調査한 結果 2,4-D는 $10^{-4}M$, NAA는 $2 \times 10^{-4}M$ 에서 良好하고 高濃度 條件에서는 callus를 形成하지 못하였고 低濃度에서는 形成량이 減少하였다¹⁾. Maeda³⁶⁾는 callus 培養의 好條件은 auxin과 kinetin이 適合한 比率로 含有되어 있어야 한다고 報告하였다.

amino 酸이 벼의 callus 形成에 唯一한 窒素의 源으로서 單獨으로 供給되었을 때 arginine, alanine, asparagine, glutamine 및 proline 의 5個의 amino 酸이 有効한 것으로 認定되었으며^{6,7)} 특히 各種 amino 酸을 混合使用하므로서 良好한 結果를 얻었음이 많은 研究者들에 의해 報告되었다^{6,66,83,84,85,86)}.

그러나 methionine 과 arginine 이 混合培地에서 除外되었을 때는 callus 形成은 急激히 減少되었고, shikimic 酸은 callus 形成에 效果가 없었으나 I-thoxy-9-ethyl-adenine hydroiodide (Y-96)는 多量의 callus를 形成하였다고 報告하였다^{35,81)}.

合成培地인 yeast extract, casein hydrolysate 및 gibberellic acid 을 添加한 培地에서는 反應이 發現되는데 이 反應은 yeast extract 에 14 種類의 amino 酸이 混合 含有되어 있어 顯著한 callus 生成效果를 나타내며 kinetin과 casein hydrolysate 培地에서는 callus와 莖葉形成에 促進效果를 나타내었다⁶⁶⁾.

callus生成에 對한 gibberellic acid의 效果는 yeast extract 나 casein hydrolysate와 混用할 때 callus 生成效果가 있으나, 單獨으로는 影響이 없었다⁶⁶⁾.

callus의 外部 形態는 friability와 compact한 것으로 區別할 수 있으며 品種에 따라 相異하다. Tetep은 compact한 callus의 形態로 하나의 큰 덩어리와 같고 Konansen은 friable한 品種으로 小型의 덩어리가 물려 있다. 이러한 現狀은 日本型과 印度型水稻의 차이에서 起因하는 것이 아니고 栽培地域別로 보아 日本에서 栽培된 벼가 어느程度 friable한 것이 많았다²⁹⁾.

水稻의 胚로부터 誘導되는 callus 組織의 組織學的인 樣相은 다른植物과 같이 表層에 있는 分裂細胞群에 依하여 callus 表面의 增大와 內部柔組織의 形成이

同時에 이루어지게 된다. friable한 callus는 表層의 分離細胞群에 依해 생긴 組織粒이 分離된 것이며 compact한 callus는 큰 callus塊를 形成함과 同時에 小粒狀의 分裂細胞群을 callus 表層과 內部에 分裂細胞群 維管束系 空隙을 形成하여 複雜한 組織像을 形成한다고 報告하였다⁸⁰⁾.

一般的으로 體細胞에서 얻은 callus는 染色體의 變異를 나타내고 있다. 벼의 染色體는 $2n=24$ 이나 뿌리에서 形成된 callus에서는 80%, 莖에서 생긴 callus에서는 57%가 染色體의 變異를 보였다고 發表하였다⁸⁰⁾. callus核의 크기에 對해서 數種의 水稻品種에 對한 調査에서 平均 5.5~7.4 μ 가 60.5%이며 巨大한 核은 11.0 μ 이상인 것도 0.5%였다는 報告가 있다^{21,23,24,29)}.

callus의 形成量은 品種에 따라 差異를 나타내고 있다. 發芽시킨 水稻品種을 30日間 30°C에서 培養한 結果 Tetep은 가장 많은 callus를 形成하였고, 다음은 Konansen, Kimmaze, Voshuho의 順이었으며 短稈種인 Tanginbozu와 Century partna는 가장 낮은 callus를 形成하였다²⁹⁾.

水稻 callus로 부터 器官分化가 形成된 것은 1968년에 많은 研究者에 依하여 報告되었다^{24,82,43,56,72)}. callus로 부터 植物體의 分化 機構는, 細胞에 있어서 auxin 과 cytokine의 相互作用에 依하여 誘發된다고 생각된다. 細胞에 있어서 植物生長 調節物質의 含量은 器官의 再分化에 있어서 서로 相異한 結果를 가져올 것이다. 만약 callus가 細胞內에 多量의 auxin을 含有하고 있으면 器官分化는 kinetin을 添加하든지 또는 auxin 含量을 減少하므로 分化가 誘起된 것이라고 하였다. Nishi⁵⁹⁾는 2,4-D의 各種 濃度를 callus分化培地에 添加하여 器官分化를 試驗한 結果 2,4-D를 添加하지 않은 處理에서는 90%의 器官分化가 되었으나 2,4-D $10^{-5}M$ 을 含有된 培地에서는 分化가 되지 않았다. IAA와 2,4-D를 各各 基本培地에 添加한 結果 2,4-D는 分化를 抑制하는 反面 IAA는 促進시켰다²⁴⁾.

callus로 부터 器官分化에 對한 效果에 있어 kinetin은 必須의 物質이라는 많은 報告가 있다^{13,21,32,42,47,51,57,64)}. 水稻 callus로 부터 植物體分化에 對한 kinetin과 他物質과의 相互關係에 對해 2,4-D $10^{-7}M$ 인 境週 kinetin 濃度는 增加할수록 莖葉의 形成이 促進됨이 認定되었고⁶⁴⁾ 또한 培地에 yeast extract 나 casein hydrolysate을 添加하므로써 kinetin의 效果는 더욱 顯著하였다.

callus의 繼代培養은 植物體의 分化에 障害要因이

된다고 Nishi⁵⁰⁾는 報告하였다. callus가 生成되어 2個月 以內는 器官分化가, 良好하나 2代 以上의 繼代培養에서는 分化가 減退되었다.

植物體 分化過程은 callus를 分化 培地에 移植한 10日後에 callus로 부터 形成된 뿌리와 莖葉은 肉眼觀察이 可能하였다. 그러나 大部分은 未發達한 狀態로 停止되며 30日後에는 褐變하여 枯死되었으며, 形成된 莖葉의 一部는 正常個體로 伸張이되나 其中 約 半數는 葉綠素의 變異인 albino가 出現하였다⁶⁴⁾.

器官의 發育段階에 있어서 2,4-D, kinetin이 含有되어 있는 培地에서의 外部形態變化는 kinetin은 乾燥突起를 發生하나 綠色突起는 形成되지 않고, 2,4-D가 含有된 培地에서는 綠色은 發現하였으나 乾燥突起의 發生이 抑制되었다. 그러므로 callus의 綠化에는 2,4-D의 濃度を 높게하고 乾燥 突起를 誘起시키는데에는 kinetin의 濃度を lowered 한다^{18,43)}.

callus로 부터 莖葉이 形成되는 組織學的인 觀察에서 callus의 內部에는 多數의 痕跡이 觀察되었고 蕾芽의 先端은 基部에서 形成된다. 따라서 最初에 形成된 잎은 非正常的인 形態이며 生長이 中止되어 枯死한다. 正常葉의 始原體는 非正常的인 잎에 依하여 둘러싸여 있는 頂芽의 基部에서 形成되었으며 葉綠素를 含有한 正常葉으로 伸張하였다⁷²⁾.

callus를 IAA와 kinetin等 各種 物質을 配合 또는 濃度別 32種類의 培地에서 器官分化를 試驗한 結果 21種類의 培地에서 뿌리가 分化 되었고 葉의 分化는 17種의 培地에서 이루어졌다. 分化된 培地의 大部分은 IAA와 kinetin의 濃도가 높은데서 分化가 되었고 分化된 植物體는 albino의 出現이 많았다. 또한 11個 品種의 水稻에 對해 器官分化는 農林 11號가 葉의 形成이 良好하였고 供試品種中 約半數의 品種에 對해서는 器官이 出現되지 않았다⁷³⁾.

最近 葯培養에 關한 研究는 世界 各國에서 活潑히 進行하고 있다. 그 理由는 葯培養에 依해서 花粉을 分裂增殖하여 植物의 器官을 形成시켜 半數體를 誘導시킬 수 있기 때문이다. 따라서 遺傳 및 育種學者들은 以前까지 만들기 힘들었던 半數體 植物을 試驗管內에서 容易하게 育成 可能하게 되었다. 最初 成功한 印度의 Delhi 大學의 Guha와 Maheshwari는 1964年 Datura의 成熟花粉期의 葯을 滅菌後 Nitsch와 White의 基本培地에 IAA, kinetin을 添加하여 半數性의 embryoid를 얻었고, 1966년에 完全한 半數體를 만드는데 成功하였다^{9,10)}. 1968年 中田 와 田中^{45,74)}는 담배의 4分子期의 葯을 培養하여 半數體를 만들었고 또 新關은⁴⁷⁾ 水稻의 出穗 1~2日前의 葯으로 부

터 半數體를 만드는데 成功하였다.

callus를 形成하는 것은 培養基의 組成과 花粉發育 段階의 影響을 받는데 callus 形成의 適期는 花粉의 第2收縮期에서 1核期로서 出穗 1~3日前에 該當하며 花粉 4分子期 以前과 花粉完成期에는 全然 생기지 않는다^{13,27,47,48,49,50)70)}.

callus 形成을 위해서는 Miller^{12,47,48)}, Murashige and Skoog^{39,57)} Blaydes¹³⁾, Nitsch^{19,87)}의 基本 培地와 修正된 培地를 適用했으며 葯의 callus 誘導用으로 使用된 auxin은 $10^{-5}M$ 의 2,4-D, $5 \times 10^{-5}M$ 의 NAA가 添加되었다. 벼의 callus 誘導에서 主로 使用되는 auxin과 分化에 利用되는 kinetin의 要求量은 다른 植物에 比較 比較의 高濃度가 必要하였다^{13,47,73)}.

amino酸의 混合物質인 yeast extract와 casein hydrolysate의 效果는 良好하였고 高濃度에서는 阻害를 받았다⁴⁹⁾.

callus 形成은 葯을 培地에 移植後 約 2週日 前後하여 形成이 始作되고 2個月以內면 된다^{13,48,87)}. 品種에 따라 callus 形成率에 差異가 있으며 平均 6%程度의 callus 出現率를 나타내고 있다⁹⁾. 葯의 callus 染色體는 半數體였고 繼代培養을 繼續하면 染色體의 變異가 惹起되고 大部分의 半數體 細胞는 endomitosis이나 細胞 融合에 依하여 變異가 일어난다⁵¹⁾.

水稻의 葯 callus 生成에 對한 發生學的인 研究는 葯을 培地에 移植後 約 10日이 지나면 褐變되기 始作하여 20日이 經過하면 變色衰退되어 葯壁組織에서 細胞의 增殖이 있을 可能性은 없다^{13,15)}. 新關等⁴⁹⁾은 供試된 水稻 9品種中 農林 35號와 無葉舌稻가 callus 形成이 좋았고, 韓¹³⁾은 4品種中 재건이 良好하였고 IR 8은 全然 callus를 形成하지 않았다. Iyer¹⁹⁾等은 15品種中 4品種이 callus가 形成되었다고 報告한 點으로 보아 品種에 따른 callus 形成程度에 差異가 있음이 認定되고 있다.

分化 培地는 基本培地에 kinetin을 添加하여 分化를 시킨다^{13,49)}. 繼代培養에서의 分化의 減少는 顯著하며 또한 各種 amino 酸에 對한 效果에 對해서도 否定的이며, callus 誘導에서 效果가 있는 yeast extract도 分化에는 促進效果를 주지 못한다⁶⁴⁾.

韓等¹³⁾은 分化培地上的의 callus의 組織學的인 觀察에서 callus 增殖培地에서는 表面이 平坦하고 突起가 없으나 分化培地 表面에서는 小突起狀 皺曲을 形成하였고 增殖培地에서 생긴 callus는 極히 적고 均一하였다. 表面에는 分裂組織으로 되어 있고 內部에는 分化細胞로 된 柔組織狀態로 形成된다. 分化 培地에서 增大되는 callus를 2週以上 繼續두면 組織은 漸次

褐變하고 結局에는 崩壞되어 死滅하고 褐變하지 않은 部分은 小圓形의 分裂組織에서 callus를 新生하기 때 문이었다.

植物體 分化는 品種에 따라 相異하였다. 즉 農林 11號는 器官分化가 잘되나 오백조, Basilanon, Arroz, Portugues 등은 莖葉의 分化가 어려운 品種이었다⁴⁷⁾. Iyer 等¹⁰⁾은 callus가 形成된 4品種中 IARI 5788 品種이 分化가되며 外의 것은 植物體가 出現하지 않았다^{12,13,47)}.

藥으로 부터 分化된 植物의 染色體는 半數體, 2倍體^{47,57,60)}, 3倍體^{51,57,60)}, 4倍體^{51,54,60)} 및 5倍體⁵⁷⁾의 各種 倍數性 植物의 出現이 報告되었다.

分化된 植物中에는 葉綠素 變異인 albino가 相當히 많은 個體에서 出現되었다⁵⁹⁾.

以上에서 본 바와같이 組織培養은 最近에 研究가 始作되어 callus 形成에 關한 研究가 未洽할 뿐 아니라 器官分化에 있어서도 解決하지 못한 點이 많다.

本 研究는 이와같은 未備된 部分을 補完하고 雜種 世代의 組織培養의 利用性을 驗知하여 組織培養의 基礎 資料로 利用코자 實施된 것이다.

III. 研究 內容

1. 벼의 發芽 種子의 組織 培養

實驗 1. callus 形成의 品種間差異

材料 및 方法: 培養 培地 組成源에 따른 callus 形成에 있어서 水稻 生態型別 品種間 差異를 驗知하기 爲하여 日本型 水稻 37 品種, 印度型 水稻 20 品種 및 陸稻 4 品種 計 61 品種을 供試하였다.

培地는 Miller의 大豆 基本培地(表1)에 yeast extract 5g/l, 2,4-D 10⁻⁴M 및 NAA 2×10⁻⁴M(培養基 試驗으로 適正量 選定¹⁾)을 各各 添加하여 2,4-D와 NAA 와의 比較도 試圖하였다.

供試用 種子는 充實한 精租를 處理 直前에 小型 玄米機에서 玄米를 만들어 70%의 C₂H₅OH에 6分 浸漬後 8%의 Ca(ClO)₂에 20分間 殺菌하여 clean bench 에서 消毒된 玄米를 20ml의 培地를 넣은 50ml의 erlenmeyer flask에 4粒씩 播種하였다. 處理된 flask는 27±1°C의 恒溫 cabinet에서 30日間 暗條件下에 培養하였다.

callus의 形態 및 色彩는 達觀調查하였고 callus量은 4反覆中 平均되는 2個 flask에서 秤量하였다.

結果 및 考察: 2,4-D 및 NAA의 添加에 따른 形成量, 色彩 및 形態의 品種間 差異를 보면 表 2와 같다.

2,4-D와 NAA添加培地에서의 callus形成 過程을 보

Table 1. Composition of Miller's medium.

Reagents	(mg/l)
KH ₂ PO ₄	300
KNO ₃	1,000
NH ₄ NO ₃	1,000
Ca(NO ₃)·4H ₂ O	347
MgSO ₄ ·7H ₂ O	35
Kcl	65
KI	0.8
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	1.5
H ₃ BO ₃	1.6
MnSO ₄ ·4H ₂ O	4.4
Glycine	2.0
Thiamine Hcl	0.1
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine Hcl	0.1
Sodiumferric ethylen diamine-tetra acetate	32
Sucrose	30,000
Agar	10,000

PH: 6.0

면 2,4-D培地에서는 播種後 2~3日이 되면 發芽가 始作約 1週日後 胚起點으로 부터 callus의 形成이 始作되고 이어서 莖葉이 2~4cm程度 伸張되면 그 部分에서도 callus가 생긴다. 伸張된 葉鞘는 15日頃부터 褐變하기 始作하여 生育이 中止되고 callus는 繼續 增殖하게 된다. NAA培地에서는 2,4-D에서와 같이 發芽하여 callus가 形成되나 種子에서 出現한 植物體는 繼續伸長하여 30日頃에는 15cm의 草長과 出葉數 3葉에 達한다. 2,4-D培地에서는 種根만 伸張하나 NAA에서는 側根이 多數 發生한다(사진 1).

callus形成 部位는 auxin의 種類에 따라 서로 달라 2,4-D 培地에서는 表面上部에 形成되고 NAA는 培地의 下部까지 浸透하여 callus가 形成된다. 2,4-D培地에서의 callus形成은 各 品種에 따라 顯著的한 差異를 認定할 수 있었다. callus形成이 가장 良好한 浬 광은 生重이 2.58g이었고 다음은 浬 浬 9호 2.18g, 韓國在來種인 浬 산조 2.11g, 浬 浬 2.10g, Colina 2.08g 및 浬 浬 2.05g으로서 2g以上된 品種들은 모두 日本型이었다.

이와 反對로 callus의 形成이 極히 不良한 品種은 Usen 0.10g Bombon 0.19g, Kataktara 0.21g으로서 印度型 品種이 이에 屬했다. 그 外에 品種의 大部分은 1~2g의 callus를 形成하였다.

Table 2. Varietal differences in the formation of callus tissue and organs from callus tissue on 2,4-D and NAA media.

Variety	2,4-D media			NAA			Origin
	Color	Friab.	Weight (fresh)	Color	Friab.	Weight (fresh)	
1 Baetal	B Y	E	0.58	B Y	M	0.86	Korea
2 Caloro	Y	M	1.80	Y	M	2.75	U.S.A
3 Chianung 242	Y	M	1.25	Y	M	1.95	Taiwan
4 Chockjebichal	Y	E	1.43	Y	H	2.30	Korea
5 Chodongji	Y	E	1.40	Y	M	2.12	Korea
6 Chugoku 52	Y	E	1.79	Y	M	2.26	Japan
7 Chugoku 56	Y	E	1.00	Y	M	1.90	Japan
8 Chukey 314	Y	E	1.38	Y	E	1.52	Japan
9 Colina	Y	E	2.08	Y	M	3.30	Spain
10 Huksanjo	Y	M	1.25	Y	M	2.28	Korea
11 Jaekeun	Y	E	1.25	Y	E	1.77	Korea
12 Jinheung	Y	M	1.32	Y	H	2.50	Korea
13 Kanchuk 9	Y	M	2.18	Y	M	2.80	Korea
14 Kimmaze	Y	E	1.80	Y	M	2.80	Japan
15 Kusabue	Y	E	1.20	Y	M	2.00	Japan
16 Kwanok	Y	M	0.97	Y	M	1.25	Korea
17 Maeckjo	Y	M	1.25	Y	H	3.26	Korea
18 Mankyung	Y	E	1.33	Y	E	1.77	Korea
19 Milyang 10	Y	E	1.64	Y	E	2.11	Korea
20 Milsung	Y	E	1.68	Y	E	2.60	Korea
21 Nahda	Y	M	0.28	Y	M	0.37	Egypt
22 Noinjo	Y	M	1.41	Y	H	2.08	Korea
23 Nongbaek	Y	E	1.25	Y	M	1.20	Korea
24 Norin 25	Y	E	1.80	Y	M	2.10	Japan
25 Norin 29	Y	E	1.97	Y	E	3.10	Japan
26 Palkweng	Y	E	2.05	Y	M	2.80	Korea
27 Paltal	Y	E	1.82	Y	M	1.41	Korea
28 Pungkwang	Y	E	2.58	Y	H	2.80	Korea
29 Pungok	Y	E	2.10	Y	E	2.75	Korea
30 Suksanjo	Y	E	2.11	Y	M	3.10	Korea
31 Susung	Y	E	1.85	Y	M	2.30	Korea
32 Suweon 82	Y	E	0.92	Y	M	0.55	Korea
33 Suweon 118	Y	M	1.23	Y	M	1.48	Korea
34 Suweon 224	Y	E	1.45	Y	E	1.42	Korea
35 Tamakum	D Y	E	0.95	D Y	M	1.41	Korea
36 Unbangju	Y	E	1.88	Y	M	2.20	Korea
37 Yungchunjo	Y	E	1.93	Y	M	1.63	Korea
38 Yukara	Y	E	0.93	Y	M	1.30	Japan
39 Sensho	Y	H	0.23	Y	H	0.52	Japan
40 Oubackjo	Y	H	0.52	Y	H	0.15	Korea
41 Yukdo Norin mochi 1	D Y	H	0.43	Y	H	0.25	Japan
42 Yukdo Norin 24	Y	M	0.22	Y	H	0.12	Japan
43 Baiilla	Y	M	0.49	Y	M	0.67	Italy
44 Blue Bonnet	Y	M	0.30	Y	M	0.33	U.S.A

45 Bomobon	D Y	M	0.19	D Y	M	0.18	Spain
46 Cody	D	M	0.30	D	M	0.20	U.S.A
47 DE 192	D Y	M	0.57	D Y	M	0.80	Bangladesb
48 IR 8	D Y	M	0.55	Y	M	0.19	Philippines
49 IR 24	Y	M	0.25	Y	M	0.15	Philippines
50 IR 262	Y	M	0.42	Y	H	0.70	Philippines
51 IR 1317-266	Y	E	1.25	Y	M	1.45	Philippiaes
52 IR 781	D Y	M	0.24	Y	H	0.11	Philippines
53 Kataktara	Y	M	0.21	Y	H	0.60	Pakistan
54 Milfor 6	Y	E	1.17	Y	M	1.20	Philippines
55 Mudgo	D Y	M	0.70	Y	M	1.50	India
56 Pusur	Y	H	0.78	Y	H	1.10	India
57 Tadukan	Y	M	0.68	Y	M	0.56	Philippines
58 Tetep	M	M	1.13	Y	M	1.37	Vietnam
59 TN 1	D Y	M	0.62	D Y	M	0.75	China
60 Tongil	Y	M	0.80	Y	M	0.57	Korea
61 Usen	D Y	M	0.10	Y	M	0.50	China

color : Y: yellow
 BY: brownish yellow
 DY: dark yellow

friability : E: friable
 M: medium
 H: compact

NAA培地에서 callus形成량이 3g以上인品種은 Colina(Italy)가 3.3g으로서 最高의 callus生成量이었 고, 맥조(在來種) 3.26g, 석산조(在來種) 3.1g, Norin 29(日本) 3.1g으로서 比較의 多量의 callus를 形成하였다. callus形成 能力이 적은品種은 IR 781 0.11g, IR24 0.15g, Bombon 0.18g 및 IR8 0.10 g으로서 2,4-D培地와 같이 大部分 印度型 品種들이 었다.

2,4-D와 NAA培地에서의 callus形成량은 NAA가 2,4-D에서 보다 若干 많은 便이며, 品種에 따라 反對되는 傾向도 있으나 大體로 2,4-D와 NAA는 同一한 auxin系로서 callus形成 能力은 비슷하여, 이 둘간의 品種들의 callus形成에 對한 相關關係를 보던 그림 1에서와 같이 $r=0.896^{**}$ 으로 高度의 有意의인 相關이 있었다.

한편 水稻品種의 育成地別 또는 生態型別로 callus

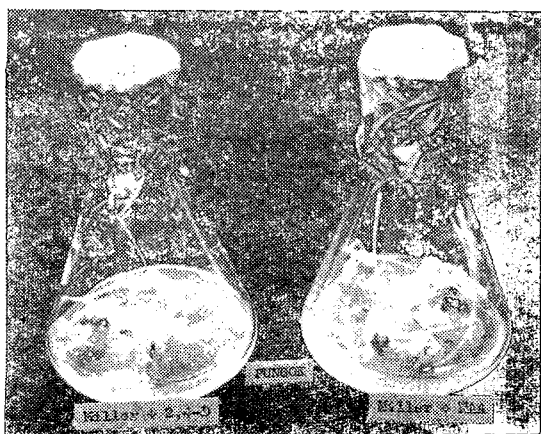


Photo. 1. Callus tissue developed from seedlings.

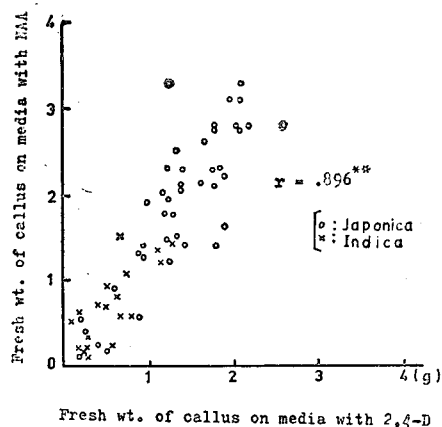


Fig. 1. Effect of NAA and 2,4-D in media on the callus formation from seedlings in two groups of rice varieties.

形成을 比較해 보면 Egypt品種인 Nahda가 가장 적었고, 우리나라品種이 良好하며 특히 在來種中에서 形成量이 많았다. Italy品種인 Colina가 最上位의 形成能力을 보였으며 大部分의 日本型品種이 1.0~2.5g의 높은 形成量을 보이고 있다. 反對로 印度型品種은 大體로 1.0g 以下로 낮은 形成量을 보여 生態型에 따른 顯著한 差異를 볼 수 있었다. 한편 陸稻은 0.5g 以下의 낮은 callus形成을 나타내고 있었다

callus의 色은 大部分이 黃白色을 띠고 있으나 品種에 따라 褐色인 것이 있었다. 이와같은 傾向은 日本型品種보다 印度型에서 많으며, callus形成量의 多少에 있어서는 callus形成이 不良한 品種에서 褐色을 띠는 傾向이 많았다. 褐色 callus는 NAA培地보다 2,4-D培地가 若干 많은 便이었다.

callus의 外部形態로서 friability를 調査한 結果 2,4-D培地에서는 NAA培地에서보다 friable한 것이 많았다. 2,4-D培地에서 日本型의 大部分은 friable하나 陸稻과 印度型品種에서는 compact한 狀態의 callus를 形成하고 friable한 品種은 極히 적었다. NAA가 含有된 培地에서는 2,4-D에 비해 compact한 傾向으로서 日本稻에서도 數品種을 除外하고는 中程度 또는 完全히 compact하였다.

callus誘導用 培地는 本試驗에 앞서 callus形成 能力別로 數品種에 對해 2,4-D와 NAA의 濃度別試驗을 實施하여 適正培地를 選擇하였는데¹⁾, 그 濃度는 담배에서 使用된 것보다 越等히 높은 濃度인 것으로 보아 水稻에서는 callus誘導가 담배보다 어려운 것이 라고 생각된다. 2,4-D와 NAA를 많은 研究者들이 callus形成培養基로서 利用하였으며 Nishi⁵⁰⁾는 2,4-D가 NAA에 비해 callus形成強度가 높다고 報告하였다. 그러나 本試驗에서 使用된 培地 組成에서는 NAA添加培地가 2,4-D添加培地보다 形成이 좋은 便이었다. 그러나 品種에 따라서는 2,4-D가 오히려 NAA보다 良好한 callus形成을 보이기도 하였다.

品種別 callus形成量에 對해 Maeda²⁰⁾는 15個 品種中에서 Tetep가 가장 많은 callus를 形成하였다고 報告하였다. 本試驗에서는 Tetep가 印度型 品種中에서는 良好한 便이었으나 日本型 品種에서는 Tetep보다 形成量이 많은 것이 多數있었다. 이와같은 品種의 差가 顯著하다는 것은 callus形成에 있어서 顯著하게 多量으로 增殖될 수 있는 品種이 存在할 수 있다는 것으로 推定되며, 특히 韓國의 在來種 品種에서 callus形成이 良好하다는 것은 앞으로의 研究할 課題인 것으로 믿는다.

實驗 2. callus로 부터의 器官分化和 그 品種間 差異

材料 및 方法 : 供試品種은 日本型 水稻 35, 印度型 5 및 陸稻 2品種 計 42品種을 使用하였다.

器官分화에 使用된 callus는 2,4-D $10^{-4}M$ 를 添加한 培地에서 處理後 35日되는 callus를 使用하였다.

分化用 培地는 Miller의 修正 培地(表 1)에 NAA 0.2mg/l, kinetin 5mg/l 및 蔗糖 30g/l를 添加한 寒天培地로서 pH는 6.0으로 調整하였다. 培地는 試驗管에 10ml를 分注하여 斜面培地를 만들어 利用했다.

callus誘導 培地에서 形成된 callus는 30mg程度의 小片을 分化用 培地에 移植하여 $27 \pm 1^{\circ}C$ 의 恒溫器에서 每日 12時間 照明하였다. 處理數는 진흥, 수원 82호, 석산조, Chianung 242에서는 各各 40個의 試驗管을 使用했고 其他的 品種에서는 各各 10個의 試驗管을 使用했다.

結果 및 考察 : 移植된 callus의 小片이 初期에는 漸次 增殖되나 後期에는 增加速度가 減少되고 2週日이 經過하면 뿌리와 莖葉이 分化하기 始作하고 callus의 基部에서 부터 뿌리가 出現 伸長하여 培地內로 들어가게 된다.

이때 根長은 3~15cm程度 伸長한다. 뿌리는 側根이 생기는 境遇와 생기지 않는 때도 있다. 또한 뿌리층에는 1~5mm程度로서 褐色을 띠고 枯死되는 것도 多數있었다.

地上部가 出現할 때 正常的 綠色 個體인 境遇는 分化될 部分이 綠色으로 될 때도 있고 그렇지 않고 本葉이 出現後에 綠色을 띠을 때도 있다.

뿌리의 分化에 對한 結果는 表 3에서 보는 바와 같이 42品種中에 뿌리의 出現은 19品種으로서 全 供試品種에 對해 47%가 分化되었고 分化時期는 大部分 置床後 30日以內이나 60日까지도 分化가 繼續되는 것도 있었다.

뿌리가 形成된 後期에는 褐色으로 變하여 伸長은 中止되나 側根과 新根이 出現하게 된다.

品種別 뿌리의 分化는 수원 82호가 40個의 試驗管에서 17個가 分化되었고(42.5%), Yukara, 조동지, TN 1 및 IR 8은 各各 10個의 試驗管에서 4個體의 뿌리가 形成되었으며 그 밖에 14品種은 30~10%의 뿌리의 分化比率를 보였다. 地上部의 分化率은 地下部보다 顯著히 낮았다. 處理後 30日 前後에 大部分이 分化하나 60日이 되어 培地가 乾燥한 狀態에 있어서도 分化가 이루어지기도 했다.

莖葉 分化의 品種間 差異를 보면 Tetep이 가장 높아 40個의 試驗管중 4個가 莖葉을 分化시켜 10%의

Table 3. Varietal differences in the differentiation of organs from callus tissue derived from rice seedlings.

Variety	No. of test tubes	Rooted		Shooted	
		30 DAT	60 DAT	30 DAT	60 DAT
1. Baetal	10	1	1	—	—
2. Chianung 242	40	1	1	—	—
3. Chockjebichal	10	—	—	—	—
4. Chugoku 52	10	—	—	—	—
5. Chungoku 56	10	1	1	—	—
6. Chuhei 314	10	—	—	—	—
7. Caloro	10	1	1	—	—
8. Huksanjo	10	—	—	—	—
9. Jaekeun	10	—	—	—	—
10. Jinheung	40	—	—	—	—
11. Jodongji	10	2	3	—	—
12. Kanchuk 9	10	—	—	—	—
13. Kimmaze	10	—	—	—	—
14. Kusabue	10	—	—	—	—
15. Kwanok	10	1	1	—	—
16. Mankyung	10	—	—	—	—
17. Milsung	10	—	—	—	—
18. Milyang 10	10	—	—	—	—
19. Noinjo	10	2	4	—	—
20. Nongbaek	10	1	1	—	—
21. Nerin 25	10	—	—	—	—
22. Norin 29	10	—	—	—	—
23. Palkweng	10	—	—	—	—
24. Paltal	10	—	—	—	—
25. Pungkwang	10	—	—	—	—
26. Pungok	10	—	—	—	—
27. Suksanjo	40	5	8	1	2 green:1 albino:1
28. Susung	10	—	1	—	—
29. Suweon 82	40	12	17	1	1 albino:1
30. Suweon 118	10	3	3	—	—
31. Suweon 224	10	—	—	—	—
32. Tadukan	10	—	—	—	—
33. Unbangju	10	—	—	—	—
34. Yukara	10	3	4	—	—
35. Yungchunjo	10	1	1	—	—
36. Oubaekjo	10	—	—	—	—
37. Yukdo Norin mochi 1	10	1	3	—	—
38. IR 8	10	4	4	—	—
39. Kataktara	10	—	—	—	—
40. Mudgo	10	—	—	—	—
41. Tetcp	40	5	5	3	4 green
42. TN 1	10	1	1	—	—

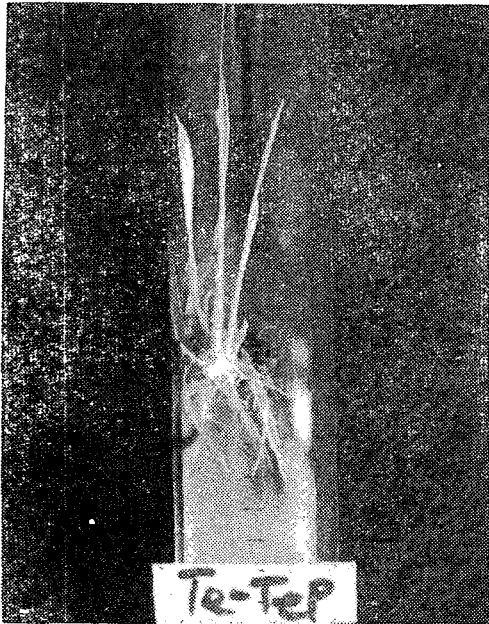


Photo. 2. Organ differentiation from callus tissue derived from seedlings.

發現率를 보여 가장 많은 分化을 하였다(사진 2). 다음은 TN 1으로서 10個中 1個體(10%), 석산조는 40個中 2個體(5%), 수원 82호는 40個中 1個體(2.5%)가 分化되었는데 分化된 植物體中에는 수원 82호와 석산조 2個體中에서 1個體가 albino植物은 初期에는 培養基의 養分을 吸收하여 伸長하나 後期에 이르러 枯死하게 된다.

植物體의 器官分化에는 2,4-D를 添加한 培地에서 形成된 callus를 2,4-D 代身 kinetin을 添加한 培地에 移植하므로써 이루어졌다^{8,33,50,78}. Saka⁶⁴) 등은 kinetin의 濃度에 따라 器官分化가 相異하다고 報告하였고, Tetep은 器官形成이 良好하나 Tanginbozu는 전혀 分化되지 않고 農林 11호가 各種 培地에서 器官分化能力이 가장 優秀하였다고 報告하였다⁷³). 이러한 現象은 本試驗에서도 同一한 結果로써 Tetep, TN 1 석산조 등은 分化能力이 良好하였으나 全然 分化하지 않은 品種도 많았다. 이와 같은 結果는 앞으로 多數의 品種들에 對한 器官分化를 試圖함으로써 分化能力이 강한 品種을 索出할 수 있음을 示唆해준다. 뿌리의 分化는 地上部의 分化보다 容易하다는 것은 研究者들의 共通的인 報告로서^{8,33,50,78}) 本試驗에서 같은 結果였다.

器官分化 過程에서 植物體가 形成되는 callus의 形態의 面을 觀察한 結果 分化 培地에 移植後 callus

色이 移植 當時의 色인 黃白色이 漸次 淡褐色으로 變色되는 callus에서 器官分化가 쉽게 이루어지는 傾向이었다. 또한 分化培地에 移植後 callus의 增殖이 良好한 것 보다 緩慢한 增加를 하는 callus에서 植物體分化가 比較的 良好하였다.

實驗 3. 交雜 種子의 callus形成과 器官分化

材料 및 方法 : 供試 交配 組合은 팔굉 × Usen, 팔굉 × 통일, Norin 29 × 통일, 통일 × IR 24 및 IR 781 × Usen의 5組合으로서 各各 相互交雜을 實施하였다. 交配된 種子는 callus를 誘導하고 形成된 callus로 부터 器官分化도 시켰다. 本試驗에서 使用된 培地와 方法은 實驗 1 및 實驗 2와 같다.

callus의 形態와 形成量의 調査는 다음과 같은 基準을 두어 觀察하였다. 즉 ①; callus의 크기가 玄米의 크기보다 작은것 ②; callus의 크기가 玄米의 크기의 2~3배인것 ③; callus의 크기가 2~3배인것 ④; callus의 크기가 玄米 3~5배인것 ⑤; 5倍以上인 것으로 區分하였다.

結果 및 考察 : 交雜種子와 兩親의 callus形成 程度는 表 4에서와 같다. callus形成量이 많은 팔굉과 적은 Usen과의 交雜 種子의 callus形成은 많은 쪽의 어버이와 같았고 母²호의 callus形成이 良好한 品種과 中程度의 形成 能力을 가지는 品種間 組合인 팔굉 × 통일 및 Norin 29 × 통일의 交雜種子의 callus形成量도 많은 쪽의 어버이와 같았으며 兩親이 中程度의 callus形成을 보인 통일 × IR 24의 交雜種子에서는 兩親보다 많은 callus의 生成量을 보였다. 그러나 兩親의 callus形成 能力이 적은 IR 781 × Usen의 交雜種子에서는 callus形成이 적은 것을 認定할 수 있었다. 한편 相互交雜의 callus形成에서는 아무런 差異를 認定할 수 없었다.

以上과 같은 結果를 表 5와 같이 兩親에 對한 F₁ 表現型 發現의 強度를 (F₁/P)/D值로 求한 結果, 交雜 種子는 callus의 形成量이 많은 것이 優性 또는 超越 優性的 傾向을 보였다.

뿌리의 分化는 莖葉의 分化에 비해 顯著히 많으며 그 傾向은 같았다(表 6).

器官分化가 中程度의 能力을 가지는 팔굉과 Usen과의 交雜種子는 뿌리와 莖葉의 分化率은 兩親보다 增加되고, IR 781 × Usen, 팔굉 × 통일, Norin 29 × 통일의 交雜種子에서는 兩親의 平均値보다 上向能力을 가지며, 통일 × IR 24에서는 分化能力이 적은 片親 IR 24와 같거나 若干 높은 分化率을 보였다.

以上과 같은 結果에서 器官分化能力은 優性 또는 部分優性인 것으로 推定된다(表 7).

Table 4. Callus tissue formation from seedlings of hybrids and their parents.

Parents and F ₁ s	No. of seeds	Degree of Callus Formation					Mean
		1	2	3	4	5	
Palkweng	10					10	5.0
Usen	10		10				2.0
Palkweng × Usen	10			1	3	6	4.5
Usen × Palkweng	10			2	3	5	4.3
Palkweng	10					10	5.0
Tongil	10			8	2		3.2
Palkweng × Tongil	6					6	5.0
Tongil × Palkweng	4					4	5.0
Norin 29	10				3	7	4.7
Tongil	10			8	2		3.2
Norin 29 × Tongil	7					7	5.0
Tongil × Norin 29	2					2	5.0
Tongil	10			8	2		3.2
IR 24	8		4	4			2.5
Tongil × IR 24	5			1	2	2	4.2
IR 24 × Tongil	6		2	1	2	1	4.0
IR 781	10	10					1.0
Usen	10		10				2.0
IR 781 × Usen	7	5	2				1.3
Usen × IR 781	10	6	3	1			1.5

Table 5. Heterosis in Callus formation of hybrid seedlings.

Crosses	Callus formation				
	P ₁	P ₂	E ₁	D*	(F ₁ -P)/D
Palkweng × Usen	5.0	2.0	4.5	3.0	0.83
Usen × Palkweng	2.0	5.0	4.3	3.0	0.77
Palkweng × Tongil	5.0	3.2	5.0	1.8	1.00
Tongil × Palkweng	3.2	5.0	5.0	1.8	1.00
Norin 29 × Tongil	4.7	3.2	5.0	1.5	1.20
Tongil × Norin 29	3.2	4.7	5.0	1.5	1.20
Tongil × IR 24	3.2	2.5	4.2	0.7	2.43
IR 24 × Tongil	2.5	3.2	4.0	0.7	2.14
IR 781 × Usen	1.0	2.0	1.3	1.0	0.30
Usen × IR 781	2.0	1.0	1.5	1.0	0.50

*D: Difference between the parents,

Table 6. Organ differentiation from the callus tissue in crosses of rice varieties.

Parents and F ₁ s	No. of test tubes	Rooted		Shooted		Color	
		No.	Index	No.	Index	Green	Albino
Palkweng	50	20	40.0	2	4.0	2	
Usen	19	7	36.8	1	5.3	1	

Palkweng×Usen	50	49	98.0	8	16.0	7	2
Usen×Palkweng	50	47	94.0	12	24.0	12	
Palkweng	50	20	40.0	2	4.0	2	
Tongil	47	43	91.4	6	12.8	5	1
Palkweng×Tongil	50	42	84.0	4	8.0	4	
Tongil×Palkweng	50	48	96.0	12	24.0	12	
Norin 29	50	1	2.0	—	—		
Tongil	47	43	91.4	6	12.8	5	1
Norin 29×Tongil	63	47	74.6	5	7.9	5	
Tongil×Norin 29	41	29	70.7	5	12.2	5	
Tongil	47	43	91.4	6	12.8	5	1
IR 24	49	35	71.4	1	2.0	1	
Tongil×IR 24	50	42	84.0	2	4.0	2	
IR 24×Tongil	50	42	84.0	1	2.0	1	
IR 781	—	—	—	—	—		
Usen	19	7	35.8	1	5.3	1	
IR 781×Usen	19	12	63.2	—	—		
Usen×IR 781	23	17	69.6	1	4.3	1	

Table 7. Heterosis of organ differentiation from the callus tissue derived from hybrid seedlings.

Crosses	Rooted(%)					Shooted(%)				
	P ₁	P ₂	F ₁	D*	(F ₁ -P)/D	P ₁	P ₂	F ₁	D*	(F ₁ -P)/D
Palkweng×Usen	40.0	36.8	98.0	3.2	19.13	4.0	5.3	16.0	1.3	9.23
Usen×Palkweng	36.8	40.0	94.0	3.2	17.88	5.3	4.0	24.0	1.3	15.38
Palkweng×Tongil	40.0	91.4	84.0	51.4	0.86	4.0	12.8	8.0	8.8	0.45
Tongil×Palkweng	91.4	40.0	96.0	51.4	1.09	12.8	4.0	24.0	8.8	2.27
Norin 29×Tongil	2.0	91.4	74.6	89.4	0.81	0	12.8	7.9	12.8	0.62
Tongil×Norin 29	91.4	2.0	70.7	89.4	0.77	12.8	0	12.2	12.8	0.95
Tongil×IR 24	91.4	71.4	84.0	20.0	0.63	12.8	2.0	4.0	10.8	0.19
IR 24×Tongil	71.4	91.4	84.0	20.0	0.63	2.0	12.8	2.0	10.8	0.0
IR 781×Usen	0	36.8	63.2	36.8	1.72	0	5.3	0	5.3	0.0
Usen×IR 781	36.8	0	69.6	36.8	1.89	5.3	0	4.3	5.3	0.81

*D: Difference between the parents

callus형성과 그로부터의 器官分化와의 關係를 보면 callus형성이 많은 팜핑과 Norin 29는 器官分化가 不良하고 callus형성이 中程度인 Usen, 통일은 器官分化가 良好하였다.

器官分化에서 發生한 植物體의 大部分이 綠色인 正常 植物體이었으며 albino의 發生은 極히 적었다.

2. 母의 藥培養

實驗 4. callus形成의 品種間 差異

材料 및 方法: 供試品種은 日本型 25品種, 印度型 13品種 및 陸稻 3品種 計 41品種으로서 可能한 限 形態의 相異한 品種을 供試하였다.

培地는 Miller의 修正培地(表 1)에 2,4-D 10⁻⁴M와 庶糖 30g/l를 添加한 寒天培地로서 PH는 6.0으로 調整하여 10ml를 試驗管에 分注한 後 120°C의 殺菌器에서 20分間 殺菌하여 斜面培地를 만들었다.

使用된 藥은 出穗期에의 降雨로 因한 菌의 自然感染을 避하기 爲하여 溫室에서 栽培된 것이요, 材料採取는 出穗 2~3日前의 이삭에서 採取하였다. 이 時期는 第一收縮期의 1核期로서 檢鏡으로 時期를 把握하였다. 顯花의 內部는 一般의 無菌狀態이므로 顯의 先端을 消毒된 가위로 잘라 殺菌된 pincette로 藥을 끼집어내어 試驗管에 20~30個의 藥을 置床하였

다. 處理試驗管數는 品種當 40個로 約 1,000個의 葯을 置床하였다. 培養은 27±1°C의 恒溫器에서 暗狀態로 實施하였다. 調査는 處理後 30日, 60日 및 90日에 實施하였다.

結果 및 考察: 葯은 處理後 1~2週 經過하여 黃白色의 葯이 褐色에서 黑褐色으로 變色하였으며 그 中 몇개는 置床當時의 色 그대로 維持하는 것도 있었다. 葯은 色이 變함과 同時에 縱으로 開裂되어 內部에는 작은 花粉粒을 顯微鏡下에서 볼 수 있었다.

花粉粒은 漸次 膨脹하여 葯壁 外部로 出現되는 境 遇가 많았고 callus는 葯內에서 葯外로 球型的 突起로 增殖하였다.

callus의 形成時期는 葯을 置床한 後 60일까지 大部分이 callus形成이 되었으나 90일까지도 약간씩 形成되는 것을 認定할 수 있었다(사진 3). 特히 60日以後의 培養基의 條件은 水分蒸發로 因해 乾燥된 狀態이므로 後期의 callus 形成量은 적었다. 品種別 callus形成 結果는 表 8과 같다.

Table 8. Varietal differences in the induction of callus tissue in rice anthers.

Variety	No. of treated anther	30days after incubation		60days after incubation		90days after incubation	
		No. of anthers	%	No. of anthers	%	No. of anthers	%
1 Chianung 242	1,349	16	1.19	26	1.93	30	2.22
2 Chodongji	1,149	4	0.35	7	0.61	9	0.78
3 Chockjebichal	1,195	3	0.25	16	1.34	22	1.84
4 Chugoku 52	633	19	3.00	23	3.63	26	4.11
5 Chugoku 56	511	3	0.59	10	1.96	12	2.35
6 Chukey 314	1,027	24	2.34	38	3.76	44	4.28
7 Colina	1,100	7	0.64	12	1.45	16	1.45
8 Jinheung	1,479	4	0.27	9	0.61	9	0.61
9 Kimmaze	734	16	2.18	18	2.45	23	3.13
10 Kusabue	1,003	7	0.70	16	1.60	18	1.80
11 Maekjo	478	1	0.21	3	0.63	6	1.26
12 Mankyung	1,050	12	1.14	29	2.76	29	2.76
13 Milsung	1,266	4	0.32	13	1.03	20	1.58
14 Milyang 10	1,143	9	0.79	26	2.27	33	2.89
15 Norin 25	1,030	29	2.82	44	4.27	45	4.37
16 Norin 29	1,445	17	1.18	23	1.59	26	1.80
17 Palkweng	1,224	25	2.04	36	2.94	43	3.51
18 Paltal	1,121	22	1.96	24	2.14	24	2.14
19 Pungkwang	1,160	35	3.02	109	9.40	122	10.52
20 Pungok	1,030	49	4.76	58	5.63	61	5.92
21 Suweon 82	1,033	5	0.48	12	1.16	12	1.16
22 Suweon 118	1,081	32	2.96	40	3.70	43	3.98
23 Suweon 224	1,140	0	0	0	0	3	0.26
24 Unbangju	1,144	8	0.70	26	2.36	32	2.80
25 Yungchunjo	1,053	24	2.28	38	3.61	40	3.80
26 Blue Bonnet	1,005	3	0.30	8	0.80	9	0.90
27 Cody	1,125	8	0.71	18	1.60	21	1.87
28 IR 8	776	0	0	0	0	0	0
29 IR 24	1,132	2	0.18	3	0.27	6	0.53
30 IR 781	1,196	0	0	0	0	10	0.84
31 IR 1317	1,097	1	0.09	1	0.09	1	0.09
32 Kataktara	1,275	0	0	0	0	0	0
33 Milfor 6	389	2	0.51	3	0.77	3	0.77
34 Tadukan	1,258	1	0.08	1	0.08	1	0.08

35 Tetep	1,055	4	0.38	9	0.85	10	0.95
36 TN 1	1,063	0	0	0	0	0	0
37 Tongil	1,144	0	0	0	0	1	0.09
38 Usen	1,248	1	0.08	1	0.08	1	0.08
39 Sensho	1,240	30	2.42	41	3.31	46	3.71
40 Oubaekjo	974	12	1.23	17	1.75	20	2.05
41 Yukdo Norin mochi 1	1,057	57	5.39	66	6.24	67	6.34

즉 供試된 日本型 品種中 callus의 形成이 가장 優秀한 品種은 풍광으로 1,160個의 藥에 112個의 callus가 形成되어(10.5%) 他品種에 比해 顯著하게 많았다. 다음은 풍옥으로 1,030粒中 61個의 callus가 形成되었으며(5.9%) Norin 25는 4.4%, Chukei 314는 4.3%, Chugoku 52는 4.1%, 수원 118호는 4.0%로 이들도 callus形成이 比較的 良好한 品種들이었다. 이와 反對로 callus形成이 不良한 品種으로는 수원 224호가 1,140個의 藥에서 60日까지 全然 形成되지 않고 60日乃至 90日사이에 3個의 callus가 生成되어 0.3%의 낮은 比率를 나타내었고 진흥은 0.6%, 조동지는 0.8%의 callus形成率을 보였다.

以上과 같이 藥으로부터 callus形成은 發芽種子로부터 callus를 誘導하는 것과 마찬가지로 品種間의 差異를 認定할 수 있었다.

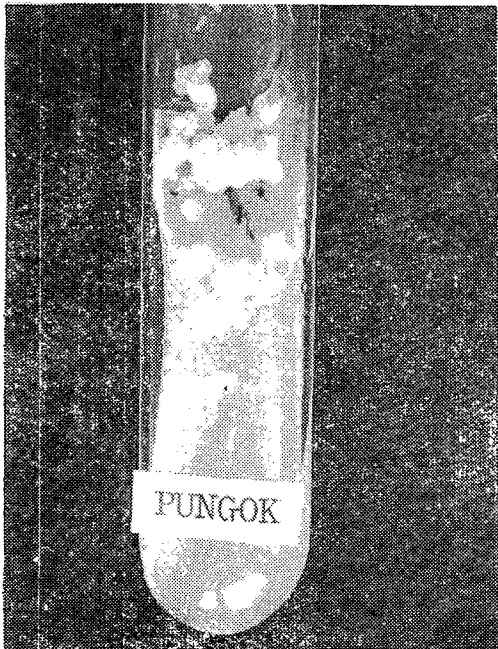


Photo.3. Callus tissue formation from anthers.

印度型 品種에 對한 callus形成은 一般的으로 日本型 品種에 比해 顯著히 낮았고 供試된 13品種中 Cody

가 比較的 良好하였으며 1,125個의 藥에서 21個의 callus를 形成하여 1.9%의 出現率을 보였으나 日本型에 比하면 下位에 屬한다. 다음은 Tetep으로 1%未滿의 出現率을 나타내고 있다.

本 試驗에 供試된 全 41個 品種中에서 callus가 全然 形成되지 않은 品種으로는 印度型品種인 IR 8, TN 1, Kaktara의 3品種이었다. 此外 Tadukan, Usen, 통일도 1個의 callus가 形成되었다. 그러므로 1%以上의 callus形成力을 가지는 Cody와 Tetep 以外의 11品種이 1.0% 以下의 極히 낮은 callus를 形成하였다. 本 試驗에서는 많은 數의 藥을 置床하였으므로 置床藥數의 不足으로 因한 callus形成의 機會를 逸失하지는 않은 것으로 믿는다.

한편 陸稻에서의 callus形成을 보면 農林糯 1號는 1,057個의 藥에서 67個를 形成, 6.3%의 良好한 出現率을 보여 水稻에서 가장 良好한 풍광 다음으로多數의 callus形成이 되었으며, 가장 낮은 品種은 오백조로서 974粒中 20個의 分化가 되어 日本型에서는 中程度였으나 印度型 品種에 比하면 그 어느것 보다 上位의 出現率을 보였다.

發芽種子培養이 藥培養에 比하여 callus形成도 容易하면서 그 生成量도 많았다. 本 試驗에서 38品種에 對한 種子로부터의 callus形成量과 藥培養으로부터의 callus形成量間의 相關關係를 求해 본 結果는 그림 2와 같다. 즉 NAA를 添加한 培地에서는 이들間의 相關係數가 $r=0.488^{**}$ 로서 高度의 有意性이 있었으며, 發芽種子培地에는 2,4-D를 添加시키고 藥培養에는 NAA를 添加했을 때의 相關係數는 $r=0.685^{**}$ 로서 다 같이 高度의 有意相關을 나타내었다.

以上의 結果를 綜合해보면 日本型品種이 印度型品種에 比하여 顯著하게 callus形成이 良好하다는 것을 알 수 있었고 陸稻에 있어서는 供試品種數가 적어 結論을 明白히 할 수는 없으나 本 試驗結果로 보아 callus形成이 大體로 良好한 것이었다. 또한 發芽種子에서의 callus形成은 極히 不良한데 比해 藥으로부터의 callus形成은 比較的 良好한 것으로 미루어 發芽種子와 藥으로부터의 callus形成은 各各 그 樣相이 相異

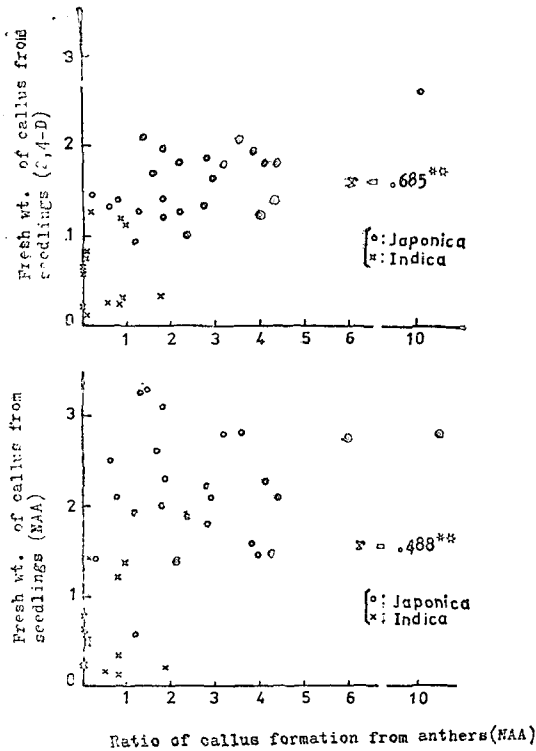


Fig. 2. Correlation between the formation of callus tissue from seedlings and from anthers.

한 것이 아닌가 생각된다.

本試驗에서 callus의 색이 시간이 經過함에 따라 褐色에서 黑褐色으로 變色되는 것을 볼 수 있었는데 이 같은 傾向은 다른 研究者들의 研究報告와도 一致하고 있었으며^{29,64,65} 黑褐色으로 變色되는 것은 藥壁이 變色되어 機能이 없어진 것으로서 藥壁으로부터 callus가 發生할 可能性은 稀薄한 것으로 생각된다¹⁹.

callus가 形成된 때는 葯의 中央部가 縱으로 開裂되면서 小胞子가 漸次 膨脹하여 藥壁 밖으로 나오게 되는데 callus가 開裂된 속으로 부터 생기는 것으로 보아 半數적인 花粉粒에서 생기는 것으로 믿어진다. 組織培養의 最終目標인 器官分化는 第1段階로 callus의 誘發은 通히 器官分化過程으로 들어가게 됨으로 callus誘發이 容易한 品種을 選拔한다는 것은 先行되어야 할 重要한 課題로 된다.

callus 形成能力의 品種間 差異에 關하여 新關等⁴⁹은 日本型 水稻 10品種과 印度型 2品種에 對한 callus 誘發試驗에서 日本型品種인 農林 35號와 紫稻(1)에서 callus形成이 良好하였고 印度型 品種은 不良하였다고 報告하였으며, Iyer等¹⁹은 供試한 15品種에서 4

個品種만 callus가 形成되었고 TN I을 비롯한 나머지 品種들은 callus가 形成되지 않았다고 報告하였다.

本試驗에서 나타난 바와 같이 日本型和 印度型 品種間의 callus形成에 있어서의 差異는 앞으로 生化學的인 면에서 研究되어야 할 課題로 생각되며 지금까지 研究되어 있지 않은 陸稻에 對한 試驗에서 意外로 많은 callus形成이 이루어진 것으로 미루어 앞으로 callus誘發의 品種間差異를 檢討함에 있어서 陸稻는 注目할만한 것이라고 생각된다.

實驗 5 : callus로 부터의 器官分化和 그 品種間 差異

材料 및 方法 : 供試品種은 實驗 3에서 形成된 callus를 利用한 것으로 日本型水稻 25品種, 印度型 5品種 및 陸稻 3品種 計 33品種을 供試하였다.

培地는 Miller의 修正培地(表 1)에 NAA 0.2mg/l, kinetin 5mg/l 및 蔗糖 30g/l를 添加한 寒天培地로서 pH를 6.0으로 調節하고 培養液 10ml를 試驗管에 分注 殺菌하여 斜面培地를 만들었다.

形成된 callus를 30mg程度의 小片으로 하여 分化用培地에 移植하였다. 處理된 試驗管은 溫度 27±1°C 恒溫器에서 3,000Lux의 光度로 每日 12時間씩 照明하였다.

器官分化程度의 調査는 移植後 30日과 60日에 實施하였다.

結果 및 考察 : callus는 分化培地에 移植한 後 漸次 增殖됨에 따라 黃白色에서 褐色으로 變色되는데 分化用培地에서 增殖된 callus의 形態는 突起狀인데 비해 誘導培地에서의 callus는 圓型으로 表面形態에 差異가 있었다. 또한 分化培地에서의 callus는 大部分이 小粒狀의 小塊가 集積된 friable한 狀態로서 쉽게 흩어진다. callus로 부터 植物體의 器官分化는 2~3週頃부터 始作되었으며 分化培地에서는 callus는 간혹 綠色인 것이 形成되는 수가 있었으나 誘導用培地에서는 이러한 現象을 볼 수 없었다. 分化에 있어서는 뿌리만 分化되거나 뿌리와 莖葉이 同時에 分化되기도 하나 莖葉만 分化되고 뿌리가 生기지 않는 境遇는 없었다.

時期別 器官分化程度는 callus移植後 30日以內에 大部分이 分化되나 60日까지도 相當히 많은 分化를 하고 있었다(表 9).

뿌리와 莖葉의 伸張度는 初期에 分化된 器官에 비해 後期에 생긴 뿌리와 莖葉의 生育은 떨어졌다. 이것은 培地가 時間이 經過함에 따라 水分蒸發로 因하여 分化된 植物體의 伸長에 障害가 되는 것으로 생각된다.

Table 9. Varietal differences in the differentiation of organs from callus tissue derived from anthers in rice.

Variety	No. of test tubes	30 days after incubation					60 days after incubation				
		Rooted %	Shooted %	Color	Rooted %	Shooted %	Color				
1 Chianung 242	58	1	1.7	—	—	—	2	3.4	—	—	—
2 Chodongji	10	1	10.0	—	—	—	1	10.0	—	—	—
3 Chockjebichal	42	3	7.1	—	—	—	4	9.5	—	—	—
4 Chugoku 52	51	1	2.0	—	—	—	3	5.9	1	2.0	ab
5 Chungoku 56	15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6 Chukey 314	120	10	8.3	3	2.5	ab	13	10.8	3	2.5	ab
7 Jinheung	50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8 Kimmaze	40	—	—	—	—	—	2	5.0	—	—	—
9 Kusabue	36	3	8.3	2	5.6	ab	4	11.1	2	5.6	ab
10 Maekjo	26	3	11.5	1	3.8	ab	5	19.2	3	11.5	2ab 1g: g
11 Mankyung	86	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12 Milsung	65	1	1.5	1	1.5	ab	2	3.1	1	1.5	ab
13 Milyang 10	103	17	16.5	3	2.9	ab	21	20.4	3	2.9	ab
14 Norin 25	109	6	5.5	—	—	—	6	5.5	1	0.9	ab
15 Norin 29	74	6	8.1	1	1.4	ab	12	16.2	1	1.4	ab
16 Palkweng	103	28	27.2	5	4.9	ab	33	32.0	5	4.9	ab
17 Paltal	79	1	1.3	—	—	—	4	5.3	—	—	—
18 Pungkwang	148	10	6.8	2	1.4	ab	13	8.8	2	1.4	ab
19 Pungok	120	7	5.8	6	5.0	ab	9	7.5	7	5.8	ab.
20 Suweon 82	37	1	2.7	—	—	—	3	8.1	—	—	—
21 Suweon 118	88	6	6.8	1	1.1	ab	11	12.5	2	2.3	ab
22 Suweon 224	8	—	—	—	—	—	1	12.5	—	—	—
23 Unbangju	82	—	—	—	—	—	1	1.2	—	—	—
24 Yungchunjo	95	21	22.1	3	3.2	ab	23	24.2	3	3.2	ab
25 Blue Bonnet	18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
26 Cody	36	1	2.8	—	—	—	3	8.3	—	—	—
27 Colina	57	2	3.5	2	3.5	ab	2	3.5	2	3.5	ab
28 IR 1317-266	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
29 Sensho	92	—	—	—	—	—	1	1.1	—	—	—
30 Milfor 6	10	—	—	—	—	—	1	10.0	1	10.0	ab
31 Oubackjo	86	1	1.2	1	1.2	ab	2	2.3	1	1.2	ab
32 Tetep	45	6	13.3	5	11.1	ab	10	22.2	5	11.1	ab
33 Yukdo Norin mochi 1	137	9	6.6	2	1.5	ab	14	10.2	2	1.5	ab

ab: albino
g: green

品種別 뿌리의 分化에 있어서 팔공은 103개의 供試試驗管中에서 33個(32%)가 分化되어 가장 많은 分化를 보였으며 다음은 영천조(在來種)로서 95個處理中 23個(24.2%)가 分化되었고 Tetep(印度型)은 22.2%, 밀양 10호는 20.4%, 맥조는 19.2%로서 이들 品種은 比較的 많은 뿌리의 分化를 보였다.

이와 反對로 뿌리의 分化가 이루어지지 않은 品種

들은 Chugoku 56, 진흥, 만경, IR 1317-266 및 Blue-bonnet等이며 이들 品種들의 callus增殖과 그 形態의 面에서는 他品種과 全然 다른 點이 없었다. 뿌리의 分化가 極히 적게되는 品種들로는 Colina 3.5%, 밀성은 3.1%, 오백조는 2.3%, 은방주는 1.2%, Sensho는 1.1%等이었다. 以上과 같은 結果는 品種에 따라 器官分化에 顯著한 差異가 있음을 示唆해 주

는 것으로 解釋된다.

한편, 莖葉의 分化는 뿌리의 分化에 比較 顯著히 어려운 便이었다. 莖葉의 分化가 良好한 品種은 맥조로서 26個의 供試試驗管中에서 3個가 分化되어 11.5%의 分化率을 보였고 Tetep은 45個 處理中 5個의 分化로 11.1% 그리고 Milfor 6는 10%로서 이들은 莖葉의 分化가 比較의 좋은 品種들이었다. 地上部의 分化가 전혀 되지 않은 品種으로는 Chugoku 56, Chianung 242, 진홍, 팔달, 수원 82호, 만경, Kim-maze, 은방주, 죽계비찰, 조동지, IR 1317-266, Blue bonnet, Cody 및 Sensho等 14品種으로 全供試品種의 42%에 該當하는 品種이 分化되지 않았다.

뿌리의 分化와 莖葉의 分化와의 關係는 大部分의 境遇 뿌리의 分化가 많은 品種에서 地上部의 分化도 많은 傾向이었으나 그렇지 않은 것도 있었다. 即 팔광, 풍옥, 맥조, Tetep等은 地上部와 地下部의 分化가 同時에 많은 品種들로 前者에 屬하며 뿌리의 分化는 比較의 많으나 莖葉의 分化가 되지 않은 品種은 팔달, 수원 82호, 죽계비찰 등으로 後者に 屬한다.

藥으로 부터의 callus形成의 多少와 器官分化와의 關係를 보면 一定한 傾向이 없었다. 즉 맥조와 Tetep은 藥으로 부터 callus形成은 不良한 便이나 器官分化는 良好하며 풍광과 풍옥은 callus의 形成과 器官分化가 다같이 良好한 品種들이었다.

分化된 植物體中에는 葉綠素變異體인 albino의 出現이 많았다. 즉 藥으로부터 由來되는 45個 分化植物體에서 1個體만이 正常인 綠色植物이었고 44個 植物은 albino였는데 發芽種子에서 誘導된 callus로부터 器官分化를 시킨 試驗 2에 있어서는 albino가 25%에 不過하였다.

藥 callus로 부터 分化된 植物體의 albino의 出現에 對해서는 여러 研究者들에 依하여 報告되어 왔다^{14, 19, 51}). 이와같은 葉綠素變異가 생기는 原因으로는 callus가 形成되어 增殖되기까지 auxin에 依한 抑制와 培養에 依한 染色體異常, 二外的 變異에 依한 葉綠體 形成能力의 消失 및 培養基의 營養要素와 其他 物質 存在에 依한 것으로 생각되어 왔다.

實驗 6 : 雜種 第 1 世代(F_1)에 있어서의 callus形成과 器官分化

材料 및 方法 : 雜種世代에서의 callus形成과 器官分化를 兩親의 그것과 比較하기 위하여 表 10에 表示된 바와 같이 溫室에서 兩親 및 雜種(F_1) 植物을 養成하고 그 藥을 培養하여 callus를 誘導하고 器官을 分化시켰다. callus誘導 및 器官分化에 使用된 培地는 實驗 4 및 實驗 5에서 使用된 것과 같으며 母

本品種들의 供試藥數는 約 1,000個를 處理했고 F_1 植物의 藥은 1,000~2,000個를 使用하여 供試藥數를 늘리므로서 誤差를 最少限 減少시키는데 努力하였다. callus의 培養 및 器官分化의 條件도 上記 實驗 4 및 實驗 5에서와 같았다.

調査는 處理後 30日과 60日에 callus의 形成과 植物體의 分化에 對해 實施하였다.

結果 및 考察 : F_1 植物의 藥의 callus形成 程度는 表 10과 그림 4에 表示된 바와같이 Norin 25×Tetep, 수원 224호×Chuhei 314, 밀양 10호×Chugoku 56, Kusabue×Tetep等이 5%以上の callus 形成率을 보여 兩親에 比較 顯著히 높았는데 이들 雜種은 大概 遠緣間交雜 또는 前代의 遠緣交雜된 品種과의 雜種들이었다. 수원 224호×IR 1317-266組合에서도 兩親의 callus形成이 極히 낮은데 比較 F_1 은 顯著히 많은 callus를 形成하였다. 수원 224호×Chugoku 52, Norin 25×진홍, 팔달×Norin 25, 풍옥×Kusabue 및 풍옥×진홍은 兩親의 中間程度로서 比較의 높은 形成率을 나타내었다.

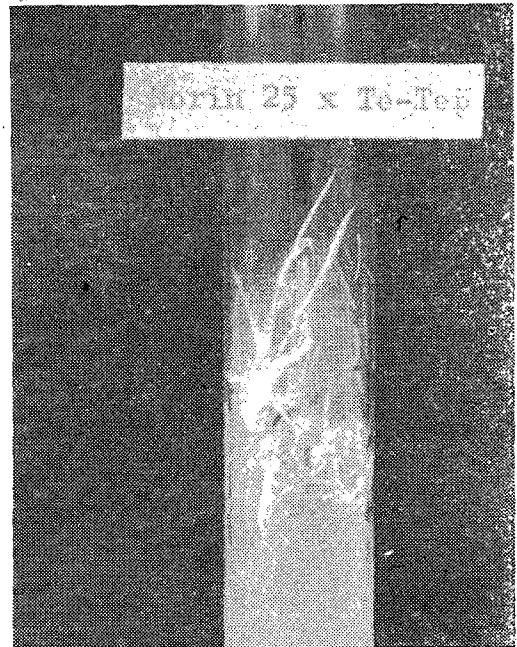


Photo. 4. Organ differentiation from callus tissue derived from anthers.

以上の 結果로 보아 F_1 植物의 藥에서 誘導되는 callus形成程度는 超越優性 乃至 部分 優性이라고 推定된다(表 11).

表 12는 器官 分化를 調査한 것으로 callus形成의 境遇와 같이 大部分의 F_1 植物이 兩親보다 分化率

이 높으나 수원 224호×Chukei 314와 수원 224호×Chugoku 52 조합에서는 兩親보다 낮은 分化率을 보였다.

뿌리의 分化能力도 大部分의 조합은 (F₁-P)/D值가 1 以上으로 分化能力이 높은것이 超越優性 乃至 部分優性으로 推定되나 조합에 따라서는 抑制되는 境遇도 있었다.

地上部の 分化(表12)는 兩親에 비해 大體로 良好하나 풍옥×Kusabue의 F₁에서는 兩親보다 낮은 分化

를 보였다. 特히 Norin 25×Tetep(사진 4), 수원 224호×Chukei 314, 밀양 10호×Chugoku 56 및 Norin 25와 진흥은 (F-P)/D值가 1 以上으로 兩親보다 顯著히 높은 分化能力을 나타내었으며 此外의 雜種에서도 比較的 많은 植物體가 分化되어 分化能力이 높은 것이 優性인 傾向이었다(表 13).

本試驗에 있어서도 實驗 5에서와 마찬가지로 albino 가 많이 發生되었다. 즉 分化된 植物體 86個體中에서

Table 10. Callus tissue formation from anthers of hybrid and their parent plants.

Parents and F ₁ s	No. of anthers tested	No. of calli formed	%
Kusabue	1003	18	1.8
Tetep	1055	10	0.9
Kusabue×Tetep	1038	56	5.4
Norin 25	1030	45	4.4
Tetep	1055	10	0.9
Norin 25×Tetep	2266	147	6.5
Suweon 224	1140	3	0.3
IR 1317-266	1097	1	0.1
Suweon 224×IR 1317-266	1132	15	1.3
Suweon 224	1140	3	0.3
Chukei 314	1027	44	4.3
Suweon 224×Chukei 314	1125	73	6.5
Suweon 224	1140	3	0.3
Chugoku 52	633	26	4.1
Suweon 224×Chugoku 52	1146	43	3.8
Pungok	1030	61	5.9
Kusabue	1003	18	1.8
Pungok×Kusabue	2349	72	3.1
Pungok	1030	61	5.9
Jinheung	1479	9	0.6
Pungok×Jinheung	2008	55	2.7
Norin 25	1030	45	4.4
Jinheung	1479	9	0.6
Norin 25×Jinheung	2218	25	1.1
Paltal	1121	24	2.1
Norin 25	1030	45	4.4
Paltal×Norin 25	2360	65	2.8
Milyang 10	1143	33	2.9
Chugoku 56	511	12	2.3
Milyang 10×Chugoku 56	1228	71	5.8

Table 11. Heterosis of callus tissue formation from anthers of hybrids.

Cross	Callus formation (%)				
	P ₁	P ₂	F ₁	D*	(F-P)/D
Kusabue × Tetep	1.8	0.9	5.4	0.9	5.00
Norin 25 × Tetep	4.4	0.9	6.5	3.5	1.60
Suweon 224 × IR 1317-266	0.3	0.1	1.3	0.2	6.00
Suweon 224 × Chukey 314	0.3	4.3	6.5	4.0	1.55
Suweon 224 × Chugoku 52	0.3	4.1	3.8	3.8	0.92
Pungok × Kusabue	5.9	1.8	3.1	4.1	0.32
Pungok × Jinheung	5.9	0.6	2.7	5.3	0.40
Norin 25 × Jinheung	4.4	0.6	1.1	3.8	0.13
Paltal × Norin 25	2.1	4.4	2.8	2.3	0.30
Milyang 10 × Chugoku 56	2.9	2.3	5.8	0.6	5.83

D: Difference between the parents.

Table 12. Organ differentiation from the anther callus derived from the hybrids and their parent plants.

Parents and F ₁ s	No. of test tubes	Rooted		Shooted		Remarks
		Number	%	Number	%	
Kusabue	36	4	11.1	2	5.6	albino
Tetep	45	10	22.2	5	11.1	albino
Kusabue × Tetep	84	15	17.9	6	7.1	green: 3 albino: 3
Norin 25	109	6	5.5	1	0.9	albino
Tetep	45	10	22.2	5	11.1	albino
Norin 25 × Tetep	247	73	29.6	26	10.5	green: 1, albino: 25
Suweon 224	8	1	12.5	0	0	
IR 1317-266	8	0	0	0	0	
Suweon 224 × IR 1317-266	72	10	13.9	3	4.2	albino
Suweon 224	8	1	12.5	0	0	
Chukey 314	120	13	10.8	1	0.8	albino
Suweon 224 × Chukey 314	166	9	5.4	2	1.2	albino
Suweon 224	8	1	12.5	0	0	
Chugoku 52	51	3	5.9	1	2.0	albino
Suweon 224 × Chugoku 52	74	2	2.7	1	1.4	albino
Pungok	120	9	7.5	7	5.8	albino
Kusabue	36	4	11.1	2	5.6	albino
Pungok × Kusabue	202	26	12.8	3	1.5	green: 1, albino: 2
Pungok	120	9	7.5	7	5.8	albino
Jinheung	50	0	0	0	0	
Pungok × Jinheung	133	9	6.8	4	3.0	green: 2, albino: 2
Norin 25	109	6	5.5	1	0.9	albino
Jinheung	50	0	0	0	0	

Norin 25×Jinheung	54	6	11.1	1	1.9	albino
Paltal	79	4	5.1	0	0	
Norin 25	109	6	5.5	1	0.9	albino
Paltal×Norin 25	164	14	8.5	0	0	
Milyand 10	103	21	20.4	3	2.9	albino
Chugoku 56	15	0	0	0	0	
Milyang 10×Chugoku 56	119	22	18.5	4	3.4	albino

Table 13. Heterosis of organ differentiation from the anther callus tissue derived from hybrids and their parent plants.

Cross	Organ differentiation									
	Rooted(%)					Shooted(%)				
	P ₁	P ₂	F ₁	D*	(F ₁ -P)/D	P ₁	P ₂	F ₁	D*	(F ₁ -P)/D
Kusabue×Tetep	11	22	18	11	0.64	6	11	7	5	0.20
Norin 25×Tetep	6	22	30	16	1.50	1	11	11	10	1.00
Suweon 224×IR 1317-266	13	0	14	13	1.08	0	0	4	0	—
Suweon 224×Chukey 314	13	11	5	2	-3.00	0	1	1	1	1.00
Suweon 224×Chugoku 52	13	6	3	7	-0.43	0	2	1	2	0.50
Pungok×Kusabue	8	11	13	3	1.67	6	6	2	0	—
Pungok×Jinheung	8	0	7	8	0.88	6	0	3	6	0.50
Norin 25×Jinheung	6	0	11	6	1.83	1	0	2	1	2.00
Paltal×Norin 25	5	6	9	1	4.00	0	1	0	1	0.0
Milyang 10×Chugoku 56	20	0	19	20	0.95	3	0	3	3	1.00

*D: Difference between the parents.

7個體가 正常인 綠色植物이었고 79個體가 albino였다. 이와같은 現象은 위에서 記述한 바와 같이 여러 研究者들에 의해서도 報告된 바와 같다.

雜種植物에 對한 callus形成과 器官分化에 對한 試驗은 新關等^{47,49,50,51}에 依하여 實施되었으나 雜種과 兩親에 對한 遺傳關係는 取扱하지 않았다. 本 試驗 結果에서 雜種第一世代와 이들 兩親에 對한 callus誘導 및 器官分化에 對한 成績을 檢討해보면 兩親에 比해 F₁에서 callus와 植物體分化가 많은 것은 育種家로서는 興味롭고 多幸한 일이다. 特히 이와같은 半數體植物이 實驗室에서 試驗管中 藥培養을 通하여 育成誘導되었다는 것은 効果인 染色體倍加에 依하여 短時間에 純系를 만들어 낼 수 있는 可能性을 示唆해주는 것으로서 實際育種에의 利用이 期待되는 일이라 하겠다^{52,70}.

Ⅲ. 綜合考察

Furuhashi等⁵¹은 벼의 節間에서 最初로 callus를 形成시키는데 成功하였고 Tamura⁷²는 callus로부터 뿌리와 莖葉을 分化시켜 正常的인 植物을 만들어 냈으며 新關等⁵⁴은 半數體인 花粉에서 callus를 形成시켜 半數體 및 2倍體植物을 만들어 내는데 成功하였다. 그러나 水稻의 實際育種에 이 技術을 利用할 수 있을만큼 任意로 器官分化를 시킬 수 있도록 發展시키지는 못했다.

callus誘導에 auxin이 培地組成物質로서 必要하다는 것은 잘 알려진 事實로서 本試驗에서 2,4-D와 NAA를 處理하여 兩者가 다같이 callus形成에 크게 影響을 미치며 위의 두種類의 auxin 混合培地에 61品種을 培養하여 2,4-D添加培地에서의 callus形成量과 NAA添加培地에서의 callus 形成量間의 相關關係가 高度의 有意 相關을 보여 兩 auxin添加에 의한 callus形成能力이 같다는 것을 알 수 있다.

callus形成 및 callus로부터 器官分化를 시킴에 있어서 培地組成에 對한 研究改良도 必要하나 生態型이 相異한 많은 品種을 供試하여 callus形成과 그로부터의 器官分化能力이 큰 品種을 廣範圍하게 探索하는 것도 重要한 일이다. 本試驗의 結果는 生態型別 品種別로 顯著한 差異가 있음을 提示하여 組織培養過程에서 先行되어야 할 한가지 課題를 解決한 것으로 믿어진다.

發芽種子培養이 藥培養에 比하여 callus形成도 容易하며 그 生成量도 많았는데 種子로부터의 callus形成量과 藥培養으로부터의 callus形成量間에는 高度의 相關關係가 있었다. 이와같은 結果는 半數體인 花粉이나 2倍體인 種子에서 誘導되는 callus는 品種別로 同一한 形成能力이 있음을 立證해 주는 것으로 解析되며 藥培養이 體細胞 callus培養에 比해 作業의 複雜性이 介在되고 있으므로 簡單하게 遂行할 수 있는 體細胞 callus培養으로 藥培養의 結果를 推定할 수도 있을 것이다.

大部分의 品種은 callus形成이 可能하나 品種間 差異가 있었으며 callus로부터의 植物體 器官分化는 아직 品種의 差를 論할만큼 發展시키지 못하였으며, 本試驗에서도 多數의 供試品種中에서 約 半에 가까운 品種이 分化를 하지 못하였는데 이와같은 事實은 다른 研究者들의 報告와 비슷하였다^{20,73}.

各種 高等植物에 있어서 callus形成이 되면서 器官分化가 可能한 植物이 아직 少數밖에 알려지지 않은 것으로 미루어⁶³ 器官分化가 容易한 品種의 選拔과 適한 器官分化 培地組成의 究明은 時急한 課題라고 본다.

植物體 分化에서 發生하는 albino의 出現은 本試驗과 그 외 여러 研究者들에 依하여 論議되었다^{14,19,60}. 특히 同一한 種類의 培地에서 種子 callus에 比하여 藥 callus에서 分化된 植物體에서 多數의 albino가 發生한 것을 認定할 수 있었는데 이에 對한 原因究明과 아울러 培地組成에 對한 研究가 同時에 이루어져야 할 것으로 믿는다.

本試驗에서 얻어진 새로운 事實의 하나는 callus形成과 器官分化能力이 相異한 品種들 間의 交配組合에서 얻어진 雜種第 1世代에 對한 遺傳關係를 分析한 結果 callus形成이 잘되는 것이 잘되지 않는 것에 對해 優性이며 callus로부터 形成되는 器官分化에 있어서도 分化가 良好한 것이 分化가 안되거나 不良한 것에 對해 優性이었다는 것이다. 이와같은 結果는 組織培養 育種過程에 있어서 callus形成과 器官分化의 能力이 있는 母本의 選定과 組合作成에 있어 有用

한 情報가 될 뿐 아니라 今後 育種에의 利用可能性을 提示하는 것으로 생각된다.

IV. 摘 要

벼의 組織培養을 통한 育種的 利用을 目的으로 生態型이 다른 多數의 品種을 供試하여 2,4-D와 NAA를 添加한 培地條件에서 發芽種子和 藥으로부터의 callus形成 및 器官分化의 品種間 差異를 究明하고 callus形成 및 器官分化能力이 相異한 品種間 交雜에서 雜種 第1世代의 callus形成 및 器官分化의 相關關係를 調査하였다. 그 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 벼 發芽種子로부터의 callus形成은 顯著한 品種間 差異를 認定할 수 있었다. 供試된 培地에서는 大體로 日本型 水稻는 印度型에 比하여 callus形成이 좋았다.
2. 培地組成物質로서의 2,4-D와 NAA가 callus形成에 미치는 影響을 比較한 바 大部分의 品種들은 NAA添加培地에서 callus形成量이 많았다. NAA添加培地에서와 2,4-D添加培地에서의 callus形成量의 相關關係는 高度의 有意性($\gamma=0.896^{**}$)이 認定되었다.
3. 2,4-D添加培地에서 形成된 callus는 NAA添加培地에서 形成된 callus보다 푸실푸실(friable)한 것이 많았다.
4. 陸稻는 發芽種子로부터의 callus形成은 不良하나 藥으로부터의 callus形成은 良好하였다.
5. callus로부터의 器官分化는 뿌리의 分化가 莖葉의 分化보다 容易하였다. 또한 品種에 따라 器官分化 程度에도 差異가 있었다.
6. 交雜種子로부터의 callus形成은 兩親이 callus形成이 良好하면 F_1 도 良好하고 兩親中 片親만이 良好하더라도 交雜種子の callus形成은 良好하였다. 따라서 callus 形成이 잘되는 便이 優性이었다.
7. 兩親의 器官分化보다 雜種의 器官分化가 良好한 便이었다. 그러나 器官分化의 難易와 callus形成의 難易와는 相關이 없었다.
8. 藥으로부터의 callus形成은 品種에 따라 顯著한 差異가 있어 最高 10.5%에서 부터 全然 形成되지 않은 品種까지 있었다. 日本型品種은 大部分이 2~4%였으나 印度型 品種은 大部分이 1%以下였다.
9. 藥에서 形成된 callus로부터의 器官分化에도 品種間 差異를 認定할 수 있었다.
10. callus로부터 器官이 分化되었을때 albino變異體

의 出現이 많았는데 發芽種子의 境遇보다 葯의 境遇에 그 出現頻度가 높았다.

11. F₁植物의 葯으로 부터의 callus形成 및 그로부터의 器官分化는 遠緣間交雜에서는 F₁植物이 兩親에서보다 좋았고 近緣間交雜에서는 兩親과 같거나若干높은 傾向이었다.
12. 發芽種子로 부터의 callus 形成과 葯으로 부터의 callus形成과의 相關關係는 $r=0.504^{**}$ 로서 高度의 有意性이 認定되었다.

引 用 文 獻

1. CHUNG, GUN SIK, and MUN HUE HEU. 1974. Studies on the aseptic culture induced from rice seedlings treated with auxins. J. Korean Crop 15:135-140.
2. CLAPHAM, D. 1971. In Vitro development of callus from the pollen of Lolium and Hordeum. Z. Pflanzenzüchtg. 65:285-292.
3. FUJII, TARO. 1970. Callus formation in wheat anthers. WIS No. 31:1-2.
4. 藤井太郎, 木俣美樹男, 阪本寧男. 1971. コムギおよびエギロプス屬의 葯培養. 葯培養シンポジウム, 葯培養研究會: 8-9.
5. FURUHASHI, K., and M. YATAZAWA. 1964. Indefinite culture of rice stem node callus (In Japanese). Kagaku 34:623.
6. _____, and _____. 1970. Amino acids as nitrogen sources for the growth of rice callus tissue. Plant & Cell Physiol. 11:559-567.
7. _____, and _____. 1970. Methionine-lysine-nethreonine-isoleucine interrelationships in the amino acid nutrition of rice callus tissue. Plant & Cell Physiol. 11:569-578.
8. GRESSHOFF, P.M., and C.H. DOY. 1972. Haploid arabkopsis thaliana callus and plants from anther culture. Sudy. J. Biol. Sci. 25:259-264.
9. GUHA, SIPRA, and S.C. MAHESHWARI. 1964. In Vitro production of embryos from anthers of Datura. Nature 204:497.
10. _____, and _____. 1966. Cell division and differentiation of embryos in the pollen grains of Datura in Vitro. Nature 212:97-98.
11. _____, and _____. 1967. Development of embryoids from pollen grains of Datura In Vitro. Phytomorphology Vol. 17, No. 1-4:454-461.
12. _____, R.D. IYER, N. GUPTA, and M.S. SWAMINATHAN. 1970. Totipotency of gametic cells and the production of haploid in rice. Current Sci. 39:174-176.
13. HARN, C. 1969. Studies on the anther culture of rice. Korean J. Breeding 1:1-11.
14. _____, and J. HWANG. 1970. Studies on the anther culture of rice. —Histological observation of haploid callus. Thesis Collection of Prof. Lee's Memorial of Birthday: 71-74.
15. _____, and _____. 1970. Studies on the anther culture of rice. 2. Histological observation of haploid callus inoculated on differentiation medium. Korean J. Bot. 13:121-123.
16. _____. 1972. Induction of callus from anthers of Prunus armeniaca, Korea J. Breeding 40:49-53.
17. HILDEBRANDT, A.C. 1971. Haploid cell culture, Tissue Culture Assoc., Lake Phacik, N.Y. 6:363.
18. 井上貢, 前田英三. 1972. イネカルスの綠化に關する諸條件の檢討. 植物組織培養シンポジウム 3:37.
19. IYER, R.D., and S.K. RAINS. 1972. The early autogeny of embryoids and callus from pollen and subsequent organogenesis in anther culture of Datura metel and rice. planta (Berl.) 104:146-156.
20. KADOTANI, NAOTO. 1969. Studies on the haploid method of breeding by anther culture in Tobacco. I. Production of diploid plants from haploid by pith and root tissue culture. Bul. Iwata Tobacco Exp. Sta. 2:73-77.
21. KATAYAMA, T. 1966. Cytogenetical studies on the genus Oryza. 2. Chromosome pairing in the interspecific hybrid with the ABC genomes. Japan J. Genetics 41:309-316.
22. _____, and MASAO TANAKA. 1969. Studies on the haploidy in relation to plant breeding. V. Further proposal of haploid method in plant breeding. Seiken Zihō 21:37-44.
23. KAWATA, S. 1957. Appearance of ear and flowering in the aseptic culture of excised stem tips in rice and wheat plants. Proc. Japan Ac-

- ad. 33:474-476.
24. _____, and AIYA ISHIHARA. 1968. The regeneration of rice plant, *Oryza sativa* L., in the callus derived from the seminal root. Proc. Japan Acad. 44:549-553.
 25. KAWATA, S., AIYA ISHIHARA, and S. TSUNODA. 1968. On the growth ability of the excised seminal roots of rice plant in Vitro. Proc. Crop Sci. Soc. Japan 37:442-446.
 26. _____, _____, and _____. 1968. On the culture of the rice seminal roots with scutella in Vitro. Proc. Crop Sci. Soc. Japan 37:447-453.
 27. 木原均. 1942. 稲花粉粒の發達・農及園 17:1-5.
 28. MAEDA, E. 1965. Callus formation and isolation of single cells from rice seedlings. Proc. Crop Sci. Soc. Japan 34:139-147.
 29. _____. 1967. Varietal difference in callus formation of rice seeds under sterile culture. Proc. Crop Sci. Japan 36:233-239.
 30. _____. 1967. Histology of aseptic callus tissues derived from rice embryos. Proc. Crop Sci. Soc. Japan 36:369-376.
 31. 前田英三. 1968. 振とう培養によるイネ細胞の増殖と脂質體植物. 組織培養シンポジウム講演要旨: 8.
 32. MAEDA, E. 1968. Subculture and organ formation in the callus derived from rice embryos in Vitro. Proc. Crop Sci. Soc. Japan 37:51-58.
 33. _____. 1968. Lipid granules in free cells in suspension culture of rice. Proc. Crop Sci. Soc. Japan 37:551-556.
 34. 前田英三. 1968. 植物組織の無菌培養と溫度光條件. 生物環境調節 5(2):57-63.
 35. MAEDA, E. 1969. Variation in nuclear size of rice callus tissues under the aseptic subculture. Japan J. Genetics 44:285-289.
 36. _____. 1969. Multiplication of rice cells freely suspended in Vitro. Proc. Crop Sci. Soc. Japan 38:535-546.
 37. _____. 1971. Growth of rice callus derived from embryo under the subculture condition. Proc. Crop Sci. Soc. Japan 40:141-149.
 38. _____. 1971. Microspectro-photometry of nuclear DNA in rice cells cultured the aseptic conditions. Proc. Crop Sci. Soc. Japan 40:431-438.
 39. MEHRA, P.N., and ASHA MEHRA. 1971.. Morphogenetic studies in PTEROTHECA FALCONERI. Phytomorpholog June-Sept. 174-191.
 40. MELCHERS, GEORG. 1972. Haploid higher plants for plant breeding. Z. Pflanzenzüchtg. 67: 19-32.
 41. _____, and GUDRUN LABIB. 1970. Die Bedeutung haploider höherer Pflanzen für Pflanzen Physiologie und Pflanzen Züchtung. Ber. Dtsch. Bot. Ges. Bol. 83, H, 3/4, 129-150.
 42. NAKANO, H., and E. MAEDA. 1974. Histology of development and root differentiation from rice callus. Proc. Crop Sci. Soc. Japan 43(3); 345-353.
 43. _____, and _____. 1974. Morphology of the process of shoot formation in the rice callus culture. Proc. Crop Sci. Soc. Japan 43(2): 151-160.
 44. 中田和男, 田中正雄. 1968. タバコの組織培養とその育種學的役割. 化學と生物 6(11): 609-615.
 45. _____, _____. 1968. 菸の組織培養によるタバコ半数體の育成. 葉たばこ研究 47: 81-86.
 46. _____, _____. 1968. 花粉の組織培養によるタバコ半数體の染色體倍加處理について. 遺傳雜 44: 47-54.
 47. NIIZEKI, H. 1968. Induction of haploid plant from anther culture. Jap. Agric. Res. Quart. 3: 41-45.
 48. _____, and K. OONO. 1968. Induction of haploid rice plant from anther culture. Proc. Japan Acad. 44: 554-557.
 49. 新關宏夫, 大野清春. 1969. 菸培養技術の確立に關する研究. 農技研 生理遺傳部 特別報告.
 50. _____, _____. 1970. 菸培養技術の確立に關する研究. 農技研 生理遺傳部 特別報告.
 51. MIIZEKI, H., and K. OONO. 1970. Rice plants obtained by anther culture. Second Inter. Conf. on Plant Tissue Culture, Strasbourg (in press)..
 52. 新關宏夫. 1970. 菸培養と育種. 育種學最近の進歩第11集: 45-51.
 53. _____. 1971. 菸培養技術の確立に關する研究.. 農技研 生理遺傳部 特別報告.
 54. 新關宏夫. 1972. 菸培養. 植物と化學調節 7(2): 14-22.

55. NIIZEKI, MINORU., and WILLIAM F. GRANT. 1971. Callus, plantlet formation and polyploidy from cultured anthers of *Lotus* and *Nicotiana*. *Can. J. Bot.* 49: 2041-2051.
56. NISHI, T., Y. YAMADA, and E. TAKAHASHI. 1968. Organ redifferentiation and plant restoration in rice callus. *Nature*. 219: 508-509.
57. _____, and S. MITSUOKA. 1969. Occurrence of various ploidy plants from anther and ovary culture of rice plant. *Japan J. Genetics* 44: 341-346.
58. _____, 1970. Changes in uptake capacities of phosphorus and calcium during callus induction in rice. *Physiol. Plant* 23: 561-563.
59. 西豊行. 1970. 水稻の組織培養に関する研究, 研究報告.
60. _____, 光岡祐彦. 1971. 水稻の薬培養から得られた種々の倍数性植物について. 薬培養シンポジウム, 薬培養研究会: 14-15.
61. NITZSCHE, W. 1970. Herstellung haploider Pflanzen aus *Festuca-Lolium*-Bastarden. *Die Naturwissenschaften* 4: 199-200.
62. NITSCH, S.P. 1972. Haploid plants from pollen. 2. *Pflanzenzüchtg.* 67: 3-18.
63. 大野清春. 1972. 薬培養研究の現況と将来. 農及園 47: 1370-1374.
64. SAKA, H., and E. MAEDA. 1969. Effect of kinetin on organ formation in callus tissue derived from rice embryos. *Proc. Crop Sci. Japan* 38: 668-674.
65. _____, and _____. 1971. Requirement of gibberellic acid for callus growth of dwarf and normal varieties of *Oryza sativa* L. *Proc. Crop Sci. Soc. Japan* 40: 27-33.
66. _____, and _____. 1972. Amino Acids as complementary factors for the growth and redifferentiation of callus tissues. *Proc. Crop Sci. Japan* 41: 15-21.
67. SHARP, W.R., D.K. DOUGALL, and E.F. PADDOCK. 1971. Haploid plantlets and callus from immature pollen grains of *Nicotiana* and *Lycopersicon*. *Bull. Torrey Bot. Club* 98: 219-222.
68. STEWARD, F.C., M.O. MAPES, and K. MEARS. 1958. Growth and organized development of culture cells. II. Organization in culture grown from freely suspended cells. *Amer. J. Bot.* 45: 705-708.
69. SUNDERLAND, N., F.M. WIDES. 1969. Cultivation of haploid plants from tobacco pollen. *Nature* 224(5225):1227-1229.
70. _____, 1971. Anther culture: a progress report. *Sci. Prog. Oxf.* 59: 527-549.
71. 多田洋. 1970. 花粉および薬の培養による半数體植物の育成. 甲子園大學 紀要 1: 43-55.
72. TAMURA, S. 1968. Shoot formation in calli originated from rice embryo. *Proc. Japan Acad.* 44: 544-548.
73. TAMURA, S. 1969. Aseptic culture of callus originated from seedlings and organ regeneration from callus. *Res. Niigata Agr. No.* 21: 43-51.
74. 田中正雄. 中田和男. 1968. 薬培養によつて得られたタバコの種類と半数體の染色体倍加處理について. 遺傳雜 44:47-54.
75. WANG, PO-JEN, and BENG-KHOON CHUA. 1972. Induction of callus from stem section of *CRYPTOMERIA JAPONICA*. *Bot. Bul. Academia Sinica* 13: 118-120.
76. WATANABE, Y., K. ASADA, and Z. KASAI. 1971. The growth promoting effect of phytic acid on callus tissues of rice seed. *Plant & Cell Physiol.* 12: 161-164.
77. WOO, WHIU-CHU, and ING-JIUNN TUNG. 1972. Induction of rice plants from hybrid anthers of *Indica* and *Japonica* cross. *Bot. Bull. Academia Sinica* 13: 67-69.
78. _____, HSIU-YUANG SU, CHI-MING NG, and ING-JIUNN TUNG. 1973. Seed formation on induced haploid plant and cytology of anther callus from hybrid rice. *Bot. Bull. Academia Sinica* 14: 61-64.
79. WU, L., and H.W. LI. 1970. Esterase isozyme pattern in rice somatic organs and the 2,4-D induced callus tissues. *Bot. Bull. Academia Sinica*. 11: 113-117.
80. YAMADA, Y., T. NISHI, T. YASUDA, and E. TAKAHASHI. 1967. The sterile culture of rice cells, *Oryza sativa* L. and its application. *Gnotobiotic Life in Vetical and Biological Res-*

- earch (edit. by Luckey, T.D.), pp. 383-392.
81. _____, K. TANAKA., and E. TAKAHASHI. 1967. Callus induction in rice *Oryza sativa* L. Proc. Japan Acad. 43: 156-160.
82. YATAZAWA, M., K. FURUHASHI, and M. SHIMIZU. 1967. Growth of callus tissue from rice-root in Vitro. Plant & Cell Physiol. 8: 363-373.
83. 山田康之, 1967. 植物におけるカルス誘導と組織培養. 植物の化学調節 2(1): 1-14.
84. YATAZAWA, M., and K. FURUHASHI. 1969. Availability of various kinds of nitrogen sources for the growth of rice callus tissue. Dojohiryogakuzasshi 40: 101-106.
85. 山田康之. 1970. 最近における組織培養の研究の現状. 育種学最近の進歩. 第11集: 53-59.
86. YIE, SHI-TAO, and JUI-SEN YANG. 1973. On the nutrition of excised rice embryo. Bull. Academia Sinica 14: 10-22.
87. ZENKTELER, MACIEJA. 1971. In Vitro culture: A useful method for obtaining haploid plants. Genetica polonica 12(3): 267-273.

SUMMARY

Experiments were carried out in order to obtain basic information on the callus tissue formation and organ differentiation from the callus of rice varieties and their hybrids. The primary objective of the study was to provide basic knowledge for the application of tissue culture to a rice breeding program. Varietal difference was investigated in the induction of callus and the relationship between callus formation and organ differentiation from the callus was also studied in F_1 seeds of several cross combinations. Miller's media with 2,4-D and with NAA were used for the incubation to induce callus tissue.

Results obtained are summarized as follows:

1. A significant varietal difference was observed in the formation of callus tissue from seedlings of rice varieties. It appeared that in general the callus tissue was more easily induced in japonicas than in indicas.
2. Most of the varieties tested yielded heavier fresh weight of callus tissue in a medium with NAA than that with 2,4-D. Highly significant positive correlation ($r=0.896^{**}$) was obtained between the fresh weight of callus tissue induced in NAA medium and that of induced in 2,4-D medium. This indicates a variety in which the formation of callus tissue is easily induced tends to give more callus tissue either in a medium with NAA or with 2,4-D.
3. Callus tissue formed on the medium with 2,4-D was more friable than that formed on the medium with NAA.
4. In upland rice varieties, callus tissue formation from seedlings was poor but from anthers was good.
5. The differentiation of the root seemed to be easier than the shoot from the callus of seedlings. Varietal difference in root and shoot differentiation was also noticed.
6. If the callus tissue formation was easily induced in any one of the parents, the induction of callus tissue formation in F_1 s was also easy. Therefore the easiness of the callus tissue formation in crosses of rice varieties appeared to be a dominant character.
7. There was no clear relationship between the easiness of the callus tissue formation and that of root and shoot differentiation from the callus. Root and shoot differentiation from the callus in hybrid seeds appeared to be better than in any one of the parents.
8. Significant varietal difference was noticed in the callus tissue formation (10.5-0.0%) from anthers. About 2-4% of the anthers tested was induced to the formation of callus tissue in most japonicas and less than 1% of the anthers was induced in most indicas.
9. Varietal difference was recognized in the organ differentiation from the callus of anthers.
10. Most of the plants derived by the root and shoot differentiation were albinos and the frequency

of occurrence of albinos was greater in callus of seedlings than in that of anthers.

11. Greater amount of callus tissue was formed from anthers of F_1 plants than any one of their parents in remote-crosses. This tendency, however, was not clear in close-crosses.
12. There was highly significant correlation ($r=0.504^{**}$) between the callus tissue formation from seedlings and from anthers.