

多年生雜草로부터 Callus 誘導와 生長調節劑의 影響

金炳喆*·金吉雄*

Hormonal Effect on the Callus Induction from Perennial Weeds.

Kim B. C.* and K. U. Kim*

ABSTRACT

This experiment was conducted to evaluate effect of various hormones on callus induction, and on plantlet formation on various media, and to detect of Londax [Methyl 2-[[[(4,6-dimethoxy pyrimidin-2-yl) amino] carbonyl] amino] sulfonyl] methyl] benzoate] and Basta [Ammonium-(3-amino-3-carboxy-propyl)-methyl phosphinate] on callus growth and reaction of succinate dehydrogenase in callus against TTC, using various species such as *Eleocharis kuroguwai*, *Cyperus serotinus*, *Oryza sativa* (samgangbyeon) and *Echinochloa crusgalli* P. Beauv. var. *caudata* Kitagawa. The optimal levels of 2,4-D in MS medium seems to be different among species tested, 2.0 ppm for rice and *E. crusgalli*, 1.0 ppm for *Eleocharis kuroguwai*, and 4.0 ppm for *C. serotinus* derived callus from shoot-tip. In case of combination of 2,4-D with BA, 1.0 plus 0.3 ppm appeared the most appropriate level to induce callus from rice and *E. kuroguwai*, and 1.0 plus 0.1 ppm for *C. serotinus* and *E. crusgalli*. When 2,4-D treated with TIBA, 1.0 plus 0.5 ppm appeared the most appropriate rates to induce callus derived from seeds of rice, *E. crusgalli*, seeds of *C. serotinus* and *E. kuroguwai*, 1.0 plus 0.3 ppm for shoot-tip of *C. serotinus*. Positive reaction of succinate dehydrogenase against TTC was observed regardless of calli and herbicides tested, indicating that they all are alive, and these herbicides were not able to kill the calli tested within the short period of time 20 hrs treatment. Regardless of plant species used, the rate of plantlet formation from callus was very low. However, some plantlet formed from *E. crusgalli* at 0.8 ppm of 2,4-D plus 8.0 ppm of kinetin, and from *E. kuroguwai* at 1.6 ppm of 2,4-D plus 16.0 ppm of kinetin, showing effectiveness of 2,4-D with kinetin mixture treatment. No callus was induced from *C. serotinus* treated with Basta from 10^{-6} M to 10^{-3} M. In general, rice was the least susceptible to Basta among plant species tested, followed by *E. crusgalli*, and *E. kuroguwai*. In Londax treatment, rice showed the least inhibition rate in callus growth. Callus was induced from rice even at 10^{-3} M of Londax. However, 10^{-3} M of Londax completely inhibited callus induction from the test species. Rice showed most tolerant to both herbicides, indicating the existence of different responses among plant species.

Key Words: Londax [Methyl 2-[[[(4,6-dimethoxy pyrimidin-2-yl) amino] carbonyl] amino] sulfonyl] methyl] benzoate], Basta [Ammonium-(3-amino-3-carboxy-propyl)-methyl phosphinate], *Eleocharis kuroguwai*, *Cyperus serotinus*, Succinate dehydrogenase.

* 慶北大學校 農科大學 農學科

* Dept. of Agronomy, Kyungpook National University, Taegu 635, Korea

結 論

組織培養은 여러가지 目的으로 많은 植物을 對象으로 試圖되어 왔는데 時間이나 努力을 節約할 수 있고 室內에서 언제든지 試驗이 可能하다는 잇점을 갖고 있다.

培地造成에는 많은 物質이 含有되는데 그 중에서도 生長調節物質의 含量이 Callus 形成에 많은 影響을 미친다. Auxin은 Callus 誘導에 必須物質로 認定되어 왔으며 그 중에서도 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid)가 效果의 頂을 報告하였다.^{5, 10)}

Witham¹³⁾은 콩의 子葉組織과 담배의 節間組織을 外植片으로 하여 Callus를 誘導한 結果 2,4-D를 含有한 培地가 NAA (naphthaleneacetic acid)나 IAA (indoleacetic acid)를 含有한 培地보다 Callus 生體重量이 훨씬 많았으며 이때 使用한 2,4-D는 auxin과 cytokinin의 두 가지 技能을 同時에 할지도 모른다고 하였다.

曹⁸⁾은 高麗人蔘의 Callus 誘導에 BA(6-benzyl amino purine) 單獨處理로는 Callus가 誘導되지 않았으나 2,4-D와 組合處理할 경우 2,4-D의 效果에 의하여 Callus가 誘導되었고 일단 誘導된 Callus는 BA에 의하여 현저히 生長이 促進된다고 하였다.

Ku 등⁷⁾은 옥수수 葯培養에서 Callus 誘導에 TIBA (2,3,5-triiodobenzoic acid)가 다른 生長調節 物質에 비해 상당히 效果의 이라고 하였다.

Callus로부터 植物體分化에도 生長調節物質은 必須인데 Krans 등⁶⁾은 큰조아재비의 Callus로부터 shoot와 root를 分化시키려면 Kinetin만 處理하거나 낮은 濃度の 2,4-D와의 組合處理가 가장 效果의 頂을 報告하였고 Zhuang 등¹⁴⁾은 밀의 葯培養으로부터 얻은 Callus를 植物體로 分化시키는데는 NAA와 Kinetin을 組合處理하는 것이 效果적이었다고 하였으며, Sears 등⁹⁾은 Callus로부터 植物體를 分化시키기 위해서는 繼代培養을 통해 分化能力이 있는 Callus의 選拔이 必要하다고 했다.

Hirono 등²⁾은 香附子, 大豆, 피, 바랭이 및 강아지풀 등에서 誘導한 Callus를 Alloxidum sodium [2-(1-allyloxyamino) butylidene -5,5-dimethyl-4-methoxycarbonylcyclohexane -1,3-dione -Na]이 處理된 培地에 넣고 長期培養을 한 結果 禾本科인 바랭이 및 강아지풀의 Callus 增殖이 大豆에 비하여 현저히 抑制되는 現象을 보여 植物間에 選擇

的 抑制效果가 있음을 報告하였으며 除草劑의 濃도가 增加될수록 Callus 增殖量이 抑制된다고 하였다.

金³⁾은 물피, 돌피, 강피 및 벼에서 誘導된 Callus의 生死를 判定하기 위하여 MS培地の 鹽類만을 넣은 溶液에 Butachlor (N-(butoxymethyl)-2-chloro-N-(2,6-diethylphenyl)acetamide)를 添加한 藥液中에 피의 種類別로 誘導된 Callus 및 벼의 Callus를 添加한 後 Succinate dehydrogenase의 活性을 調査한 結果 供試한 피의 種類間이나 Butachlor의 濃度間에 差異가 없이 全 Callus에서 TTC(2,3,5-Tri-phenyltetrazolium chloride)에 正反應을 보여서 酵素의 活性이 있고 誘導된 Callus가 生存해 있음을 判明할 수 있었으며 Butachlor 濃度間에는 TTC 反應단으로 酵素活性의 差異를 究明할 수 없었으나 Butachlor 濃度間 및 피 種類間에 Callus 增殖量에 差異가 있음을 報告하였다.

組織培養은 많은 植物을 對象으로 試圖되어 왔으나 多年生 雜草를 對象으로 組織培養을 試圖한 事例은 거의 없어서 本試驗은 논에서 문제가 되는 多年生 雜草인 올방개, 너도방동산이와 그의 물피, 삼강벼를 對象으로 여러 種類의 生長調節物質을 處理하여 Callus 誘導에 미치는 影響을 研究코자 本試驗을 遂行하여 얻어진 약간의 結果를 報告한다.

材料 및 方法

試驗 1. 生長調節物質이 Callus 誘導에 미치는 影響

供試培地로서 MS(Murashige and Skoog)基本培地에 2,4-D, BA 및 TIBA 등을 單獨 또는 混合處理하였다.

2,4-D 單獨處理로서는 2,4-D 含量을 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0, 16.0 ppm 씩 處理하였고 2,4-D와 BA 및 TIBA와의 混用處理區는 2,4-D 1.0 ppm에 BA 및 TIBA를 各各 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 ppm 씩 混合處理하였다.

供試植物로서는 多收系品種인 삼강벼(밀양 55호)와 一年生 雜草인 물피 및 多年生 雜草인 올방개와 너도방동산이를 使用하였다. 供試植物인 삼강벼와 물피는 충실한 種子를 選別하여 種皮를 除去한 後 8.0% NaOCl 殺菌溶液에 넣고, 올방개와 너도방동산이는 shoot-tip을 5mm 정도로 잘라 2.0% NaOCl 殺菌溶液에 넣고, 너도방동산이의 種子는 種皮에 약간 傷處를 준 後 10.0% NaOCl 殺菌溶液에 넣은 後

35°C 條件下에서 每分 180 回 往復運動하는 rotary shaker 에 40 分間 種子 및 shoot-tip 이 包含되어 있는 殺菌容器를 넣어 殺菌效果를 높였다. 殺菌效果를 높인 後 3 回 洗滌한 後 培養液을 15 ml 씩 넣은 試驗管에 種子是 5 粒씩, shoot-tip 은 2 株씩 넣어서 24°C로 調節된 恒溫室의 暗條件에서 25 日間 置床培養한 後 Callus 의 生體量을 調査하였다. 그러나 너도방동산의 種子를 置床培養한 것은 140 日間 暗條件下에서 培養한 後 調査하였다.

試驗 2. 生長調節物質이 誘導된 Callus 의 分化에 미치는 影響

MS 基本培地에 2,4-D와 Kinetin, NAA와 Kinetin 의 비율은 0.1+1.0, 0.2+2.0, 0.4+4.0, 0.8+8.0, 1.6+16.0 ppm 씩으로 1 對 10 의 比率로 混用處理하였다.

MS 培地에서 繼代培養된 올방개, 너도방동산이 및 물피의 Callus 를 50mg 씩 取하여 上記의 生長調節物質이 含有된 分化培地에 置床培養하였다. 이때 恒溫室의 溫度는 25°C로 調節하였으며 光條件下에서 50 日間 培養한 後 分化率을 調査하였다.

試驗 3. 除草劑 Londax와 Basta가 Callus 重量增加에 미치는 影響

2,4-D 2.0 ppm 을 處理한 MS 培地에 Londax(Methyl-2-[[[[(4,6-dimethoxy pyrimidin-2-yl) amino] carbonyl] amino] sulfonyl] benzoate)와 Basta [Ammonium-(3-amino-3-carboxy-propyl)-methyl phosphinate] 를 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M 씩 處理하였다.

供試植物은 올방개, 너도방동산이 및 삼강벼와 물피를 使用하였으며 여타方法은 試驗 1 과 同一하게 하였다. 그 後 25°C로 調節된 恒溫室의 暗條件下에서 30 日間 培養한 後 誘導된 Callus 의 重量을 調査하였다.

試驗 4. 誘導된 Callus 의 活力檢定

Callus 의 生死 및 活力을 檢定하기 위하여 MS 培地의 鹽類만을 殺菌한 後 Londax 및 Basta 를 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} M 씩을 milipore filter 로 殺菌하여 添加한 後 이 溶液의 10 ml 씩을 30 ml 삼각후라스크에 넣고 繼代培養된 올방개, 너도방동산이, 피 및 벼의 Callus 의 小片을 取하여 藥液中에 添加한 後 삼각후라스크를 振盪培養器에 넣고 30°C

條件下에서 每分 약 100 회 의 回轉數로 약 20 時間 振盪培養 後 Callus 를 包含한 藥液 全部를 호모게나이저로 磨碎한 後 Supernatant 을 약 3 ml Thunberg tube 主室에 넣고 副室에는 Phosphate buffer 와 基質인 Succinate 및 TTC 를 包含한 TTC 試藥을 4.5 ml 넣고 眞空펌프로 3 分間 減壓을 시켜 37°C로 測定된 恒溫水槽에서 Succinate dehydrogenase 의 活性을 TTC 反應으로 調査하여 Callus 의 生死를 判定하여 正反應은 “+”로 表示하였으며 TTC 試藥은 2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride(1%): Succinate-Na₂(0.2M) 2: Phosphate buffer 溶液(0.1 M pH 7.6)₂ 의 比率로 組成하였다.

結果 및 考察

生長調節物質과 Callus 誘導

MS 基本培地에 2,4-D 單獨處理, 2,4-D 와 BA 및 TIBA 의 混用處理에 對한 結果는 表 1, 2, 3 과

Table 1. Effect of various 2,4-D rates on callus induction from several plants¹⁾

2,4-D (ppm)	Fresh weight of callus ²⁾				
	O. s		E. c		E. k
	(mg/seed)	(mg/seed)	(mg/seed)	(mg/shoot-tip)	(mg/shoot-tip)
0.1	0.0 ^a	0.51 ^d	0.0 ^a	0.0 ^d	0.0 ^d
0.5	1.52 ^a	10.96 ^c	0.0 ^a	11.47 ^{bc}	15.47 ^{abc}
1.0	28.60 ^a	29.08 ^a	2.01 ^a	11.28 ^{bc}	24.21 ^a
2.0	33.42 ^a	31.30 ^a	0.35 ^a	16.95 ^{ab}	22.37 ^{ab}
4.0	31.14 ^a	24.55 ^{ab}	0.0 ^a	19.92 ^a	20.69 ^{ab}
8.0	17.40 ^a	15.80 ^b	0.0 ^a	10.45 ^{bc}	13.47 ^{bc}
16.0	11.64 ^a	17.59 ^{bc}	0.0 ^a	7.47 ^{cd}	5.89 ^{cd}

- 1) E. c: *Echinochloa crusgallis* P. Beauv. var. *caudata* Kitagawa,
C. s: *Cyperus serotinus*,
E. k: *Eleocharis kuroguwai*,
O. s: *Oryza sativa* (samgangbyeon)

- 2) Fresh weight of callus: average of 30 seeds or 16 shoot-tips.
Determined at 25 days after incubation (DAI), but for seeds of *Cyperus serotinus* at 140 DAI, and average of 30 seeds or 16 shoot-tips.
Means within a column with the same letters are not significantly different at 0.05 level. (Duncan's multiple range test)

같다.

表 1 은 2,4-D의 濃度를 달리하여 Callus 誘導에 미친 結果로서 Callus 形成量이 가장 많은 處理區는 벼와 물피에서 2,4-D 2.0 ppm을 處理한 區로서 벼는 33.42 mg/seed, 물피는 31.30 mg/seed 이고 올방개는 2,4-D 1.0 ppm을 處理한 區가 24.21 mg/shoot-tip 이었고 2.0 ppm을 處理한 區에서는 22.37 mg/shoot tip에서 類似하였으며 너도방동산이는 shoot-tip에서 2,4-D 4.0 ppm을 處理한 區가 19.92 mg/shoot-tip 으로 나타났다. 특히 너도방동산이 種子를 置床培養한 경우에도 置床後 140 日째에 2,4-D 1.0 및 2.0 ppm 處理區에서 少量의 Callus가 形成되었다는 것은 너도방동산이가 種子로도 繁殖可能함을 立證해 주고 있다. Callus 誘導에 미친 2,4-D의 影響을 以上の 結果로 綜合해 보면 Callus 誘導에 適定한 2,4-D 水準은 1.0에서 4.0 ppm 범위일 것으로 思料된다.

表 2 는 2,4-D의 濃度를 1.0 ppm으로 固定하고 BA의 濃度만 달리했을 경우 Callus 增殖量에 미친

Table 2. Combining effects of 2,4-D plus BA on callus induction from several plants¹⁾

Growth regulators 2,4-D + BA (ppm)	Fresh weight of callus ²⁾				
	O. s	E. c	C. s		E. k
	(mg/seed)	(mg/seed)	seed	shoot-tip	(mg/shoot-tip)
1.0+0.0	28.60 ^a	29.08 ^a	2.01 ^a	11.28 ^a	24.21 ^a
1.0+0.1	28.88 ^a	39.19 ^a	8.17 ^a	0.0	14.14
1.0+0.3	33.74 ^a	32.80 ^{ab}	0.0 ^a	0.0	29.17 ^b
1.0+0.5	31.88 ^a	26.58 ^b	0.0 ^a	0.0	12.86 ^a
1.0+0.7	26.59 ^a	24.25 ^b	0.0 ^a	0.0	11.30 ^a
1.0+0.9	22.62 ^a	16.63 ^c	0.0 ^a	0.0	4.74 ^a

- 1) E. c: *Echinochloa crusgalli* P. Beauv. var. *caudata* Kitagawa,
C. s: *Cyperus serotinus*,
E. k: *Eleocharis kuroguwai*,
O. s: *Oryza sativa* (samagangbyeon)

- 2) Fresh weight of callus: average of 30 seeds or 16 shoot-tips.

Determined at 25 days after incubation (DAI), but for seeds of *Cyperus serotinus* at 140 DAI, and average of 30 seeds or 16 shoot-tips.

Means within a column with the same letters are not significantly different at 0.05 level. (Duncan's multiple rang test)

影響을 調査한 것이다. 올방개는 2,4-D와 BA를 1.0+0.3 ppm으로 混用處理에서 가장 높았으며 다른 處理와 有意성이 認定되었다. 너도방동산이는 shoot-tip으로부터 誘導된 것은 BA가 添加되지 않는 處理區였고 種子로부터는 BA가 添加되지 않거나 0.1 ppm에서만 誘導되었다. 삼강벼나 물피는 2,4-D와 BA를 1.0+0.3 ppm 및 1.0+0.1 ppm을 各各 處理한 區에서 33.74 mg/seed 및 39.19 mg/seed로 2,4-D 1.0 ppm 處理區보다 높게 나타났으나 다른 混用處理區와 有意성은 인정되지 않았다.

以上の 結果로 보아 禾本科의 물피나 삼강벼의 경우는 BA의 含量이 0.1 ppm 및 0.3 ppm 添加時는 2,4-D 1.0 ppm 單獨處理보다 效果的이나 그 以上으로 BA 濃度가 增加할수록 오히려 抑制的이었다. 그러나 올방개의 경우는 2,4-D 1.0 ppm과 BA 0.3 ppm을 添加混用處理하면 效果的이고 너도방동산이의 경우는 BA 處理의 效果가 거의 없는 것 같다.

表 3 은 2,4-D의 濃度를 1.0 ppm으로 固定하고 TIBA의 濃度를 달리 하였을 때 TIBA 0.5 ppm을

Table 3. Combining effects of 2,4-D plus TIBA on callus induction from several plants¹⁾

Growth regulators 2,4-D + TIBA (ppm)	Fresh weight of callus ²⁾				
	O. s	E. c	C. s		E. k
	(mg/seed)	(mg/seed)	seed	shoot-tip	(mg/shoot-tip)
1.0+0.0	28.60 ^a	29.08 ^a	2.01 ^a	11.28 ^a	24.21 ^a
1.0+0.1	33.62 ^{ab}	30.99 ^a	0.0 ^a	9.97 ^a	15.79 ^b
1.0+0.3	40.52 ^{ab}	31.02 ^a	0.0 ^a	6.87 ^a	25.18 ^a
1.0+0.5	47.88 ^a	50.76 ^a	0.14 ^a	3.03 ^a	26.63 ^a
1.0+0.7	37.73 ^{ab}	35.30 ^a	0.09 ^a	2.53 ^a	22.29 ^a
1.0+0.9	31.52 ^b	31.81 ^a	0.02 ^a	2.37 ^a	11.55 ^b

- 1) E. c: *Echinochloa crusgalli* P. Beauv. var. *caudata* Kitagawa,
C. s: *Cyperus serotinus*,
E. k: *Eleocharis kuroguwai*,
O. s: *Oryza sativa* (samgangbyeon)

- 2) Fresh weight of callus: average of 30 seeds or 16 shoot-tips.

Determined at 25 days after incubation (DAI), but for seeds of *Cyperus serotinus* at 140 DAI, and average of 30 seeds or 16 shoot-tips.

Means within a column with same letters are not significantly different at 0.05 level. (Duncan's multiple range test)

添加하였을 때 물피 50.76 mg/seed, 삼강벼 47.88 mg/seed, 올방개 26.33 mg/seed 으로 Callus 形成이 가장 높았으며 2,4-D 1.0 ppm 單獨處理보다 높았기 때문에 2,4-D 의 存在下에 TIBA 의 處理는 試驗에 供試한 植物의 Callus 形成이나 誘導에 效果의 임을 알 수 있었다. 너도방동산이의 경우는 種子 또는 shoot-tip 에서 共히 TIBA를 添加한 것이 2,4-D 1.0 ppm 單獨處理보다 抑制를 보여 供試植物間에 相異한 反應을 나타냈다.

以上과 같이 生長調節物質이 Callus 誘導形成에 미친 影響의 結果를 綜合해 보면 適定 2,4-D 含量은 벼, 물피는 2,4-D 2.0 ppm, 올방개 1.0 ppm, 너도방동산이 4.0 ppm 및 삼강벼와 물피는 2.0 ppm 이었고 2,4-D에 BA와 TIBA 添加時 BA의 效果는 없었으나 TIBA는 다소 效果의 임을 알 수 있었다. 2,4-D 의 濃度 4 效果는 Kim⁴⁾ 등의 研究結果와 類似하다.

Ku 等⁷⁾은 옥수수의 藥으로부터 Callus 를 誘導하기 위하여 BA, 2,4-D, TIBA 等の 生長調節物質을 使用하였는데 그 가운데서 TIBA가 Callus 誘導에 가장 效果의 이었으며 誘導率이 가장 높았다고 報告하여 本試驗의 供試作物과 서로 相異하고 培養部位가 다르긴 하나 本試驗의 結果와 유사한 것 같다.

誘導된 Callus 의 分化와 生長調節物質

MS 基本培地에 2,4-D-Kinetin, NAA+Kinetin 의 各 濃度를 달리하여 만든 培地에 供試材料로 올방개, 너도방동산이, 삼강벼, 물피의 Callus 50mg 을 넣어 50 日間 置床培養하여 얻은 結果는 表 4 와 같다.

2,4-D+Kinetin 處理區에서는 물피의 分化率은 16.7~50%였으며 2,4-D 와 Kinetin 의 含量은 0.8+8.0 ppm 에서 50.0%가 分化되어 分化率이 가장 높았고 올방개는 2,4-D 와 Kinetin 含量이 0.8+8.0 ppm 과 1.6+16.0 ppm 에서 各各 16.7 및 33.6%의 分化를 보였으나 他處理에서는 分化가 되지 않았고 너도방동산이는 모든 處理區에서도 分化되지 않아 雜草種에 따라 다른 反應을 나타냈다. 그리고 NAA+Kinetin 處理區에서는 물피의 分化率은 2,4-D+Kinetin 의 0.1+1.0 ppm 에서 33.3%, 0.8+8.0 ppm 處理區에서만 16.7%를 分化시켰고 他處理에서는 分化되지 않아 NAA의 效果가 2,4-D 보다 저조하였고 너도방동산이와 올방개는 NAA+Kinetin 處理區에서 전혀 分化되지 않았다.

Table 4. Combining effects of 2,4-D plus kinetin, and NAA plus kinetin or plantlet formation rate derived from callus of several plants¹⁾

Growth regulators	Conc. (ppm)	Weed species		
		E.c	C.s	E.k
		— % —		
2,4-D + kinetin	0.1+1.0	16.7	0.0	0.0
	0.2+2.0	16.7	0.0	0.0
	0.4+4.0	33.3	0.0	0.0
	0.8+8.0	50.0	0.0	16.7
NAA + kinetin	1.6+16.0	33.3	0.0	33.3
	0.1+1.0	33.3	0.0	0.0
	0.2+2.0	0.0	0.0	0.0
	0.4+4.0	0.0	0.0	0.0
	0.8+8.0	16.7	0.0	0.0
	1.6+16.0	0.0	0.0	0.0

- 1) E. c : *Echinochloa crusgalli* P. Beauv. var. *caudata* Kitagawa,
C. s : *Cyperus serotinus*,
E. k : *Eleocharis kuroguwai*
Basic medium used : MS.
Time of incubation : 50 days
Average of 6 replications.
Callus used : 50 mg / tube

이상의 結果로 2,4-D 와 Kinetin 의 組合이 올방개와 물피의 分化에 NAA와 Kinetin 의 組合보다 有效하나 너도방동산이에서는 어느 組合에서도 分化되지 않아 계속 試驗中이다. Ahloowalia¹⁾는 植物體 分化에 2,4-D가 반드시 必要하다고 하였다.

除草劑 處理와 Callus 生體重量 反應

Londax와 Basta를 MS培地에 添加하여 供試植物을 30 日間 置床培養한 後 Callus 生體重量抑制率을 無添加培地의 Callus 誘導量에 對한 無添加區의 Callus 誘導量에서 添加區의 Callus 誘導량을 除外한 값의 百分率로 表示하였다(表 5).

Londax 10⁻³M 處理區에서는 삼강벼를 除外한 全供試植物에서 Callus가 誘導되지 않았고 10⁻⁴M 을 處理한 區에서는 모든 植物에서 Callus가 誘導되었으나 삼강벼는 36.4%만의 抑制를 보여 他供試植物에 비하여 抑制率이 낮아서 삼강벼가 물피, 올방개, 너도방동산이에 비하여 Londax 高濃度인 10⁻³M 과 10⁻⁴M에서 根本的으로 耐性을 갖고 있는 것으로 思料된다.

Londax 10⁻⁵M에서는 삼강벼가 18.6%의, 올방개가 25.8%, 너도방동산이가 36.5%의 抑制를 보

Table 5. Effects of DPX and basta on growth of callus derived from several plants

Plant species	Conc. (M)	% inhibition ¹⁾								Fresh weight (mg/seed, mg/shoot-tip) of untreated control
		10 ⁻⁶		10 ⁻⁵		10 ⁻⁴		10 ⁻³		
		herbicide	LON ²⁾ Basta ²⁾	LON	Basta	LON	Basta	LON	Basta	
<i>Oryza sativa</i> (samgangbyeon)		10.6	40.7	18.6	83.4	36.4	94.7	81.4	100	48.9
<i>Echinochloa crusgalli</i> P. Beauv. var. <i>caudata</i> Kitagawa		47.5	70.9	72.0	93.2	81.8	100	100	100	41.3
<i>Eleocharis kuroguwai</i>		4.0	21.8	25.8	100	60.0	100	100	100	22.5
<i>Cyperus serotinus</i>		30.5	100	36.5	100	70.2	100	100	100	10.4

1) % inhibition = $\frac{\text{callus weight of untreated control} - \text{callus weight of treatment}}{\text{callus weight of untreated control}} \times 100\%$

2) Londax : (Methyl 2-4, 6-dimethoxy-pyrimidine-2-yl) amino-carboxyl aminosulfonylmethyl benzoate

Basta : DL-Homoalanine-4-Methyl phosphate Ammonium ion

Determined at 30 days after herbicide treatment, herbicide applied through MS medium.

인 반면 물피는 72.0%의 억제율을 보여 물피가 다른 供試植物에 비해 가장 Londax에 민감한 感受性植物로 나타났다. Londax 10⁻⁶M에서는 올방개에 抑制率이 4.0%인데 비하여 삼강벼는 10.6%, 물피는 47.5%, 너도방동산이는 30.5%을 보여 低濃度에서는 올방개의 Callus 增殖抑制가 不可能하나 禾本科 雜草인 물피는 삼강벼보다 훨씬 感受性임을 나타내고 있어서 植物과 雜草間에 選擇的인 反應을 나타내고 있음을 Callus 狀態에서 立證할 수 있었다. 圃場狀態에서도 Londax에 대한 올방개의 防除가 가장 어려운 것으로 나타나 Callus와 類似한 反應을 보이는 것으로 思料된다.¹²⁾ 非選擇性除草劑인 Basta 10⁻³M에서는 모든 植物體에서 Callus가 誘導되지 않았으나 10⁻⁴M에서는 삼강벼만 少量의 Callus가 形成되어 他供試植物에 비하여 耐性이 있지 않나 思料된다. Basta 10⁻⁵M에서는 벼와 물피만 多少 Callus가 形成되었으나 너도방동산이나 올방개는 Callus가 誘導되지 않았다. Basta 10⁻⁶M에서는 물피와 너도방동산이가 47.5% 및 100%의 抑制를 보여 感受性이고 삼강벼와 올방개는 40.7% 및 21.8%의 抑制를 보여 물피와 너도방동산이에 비해 抑制率이 多少 낮았다.

두 除草劑 共히 蛋白質合成 阻害劑로서 Londax는 Valine과 Isoleucine의 合成을 防害하는, 즉 Acetolactate synthase의 活性을 阻害하여 感受性植物을 枯死시키나 耐性植物은 쉽게 Londax을 分解시킨다.¹¹⁾ Basta는 Glutamin과 Ammonia의 結合을 觸

媒하는 Glutamin synthase의 活性을 阻害하여 植物體內 Ammonia가 蓄積되어 植物體를 枯死시킨다. 이들 除草劑間의 Callus 生體重量增加에 미치는 效果를 比較해보면 除草劑 處理濃度 관계없이 Basta 處理區가 Londax 處理區보다 抑制力이 훨씬 높아 供試한 植物體가 除草劑種類에 따라 相異한 反應을 보였으며 同一 除草劑에 對해서도 濃度差에 따라 다른 反應을 보였다. 金⁴⁾ 등에 의하면 Callus 增殖을 통한 벼, 피, 바랭이 등의 Metolachlor 및 Butachlor에 對한 反應은 피 및 파랭이가 벼보다 感受性을 보여서 植物間에 細胞水準에서 差異가 있음을 報告하였다.

本試驗을 통하여 얻어진 結果는 새로운 作物에 適用 確大普及시킬 때 室內에서 간단히 Callus 增殖反應으로 作物과 雜草間의 選擇的 反應을 일단 점검해 볼 수 있는 除草劑選拔에 도움이 되는 資料가 될 것으로 생각된다.

Succinate dehydrogenase의 反應

供試한 全 Callus를 20時間 除草劑에 短期處理한 後 Succinate dehydrogenase의 反應을 TTC 反應에 의하여 檢定하였다(表 6). 供試한 全 Callus를 TTC에 對하여 Succinate dehydrogenase 反應檢定한 結果 全供試 Callus가 正反應(+)을 보여 全 Callus가 生存해 있음을 알 수 있다.

金³⁾ 및 金等⁴⁾에 依하면 MS培地의 鹽類만을 넣은 溶液에 Butachlor 및 Metolachlor를 添加한 藥

Table 6. Reaction of succinate dehydrogenase in callus culture treated with DPX and Basta

Plant species	Untreated control	10 ⁻⁶		10 ⁻⁵		10 ⁻⁴		10 ⁻³	
		LON ¹⁾	Basta ¹⁾	LON	Basta	LON	Basta	LON	Basta
<i>Oryza sativa</i> (samgangbyeon)	+ ²⁾	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Echinochloa crusgalli</i> P. Beauv. var. <i>caudata</i> Kitagawa	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Eleocharis kuroguwai</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Cyperus serotinus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+

1) Londax : (Methyl 2-4,6-dimethoxy-pyrimidine-2-yl)amino-carboxyl aminosulfonylmethyl benzoate

Basta : DL-Homoalanine-4-Methyl phosphate Ammonium ion

2) + : Positive reaction to TTC.

Duration of herbicide treatment : 20 hrs.

液中에 피의 種類別로 誘導된 Callus 및 벼의 Callus를 添加한 後 Succinate dehydrogenase의 反應을 調査한 結果 全 Callus가 TTC에 正反應을 보여서 全 Callus가 生存해 있음을 立證할 수는 있었으나 本檢定으로는 除草劑 種類間이나 濃度間의 差異는 檢定할 수 없었다고 報告한 것과 마찬가지로 本試驗에서도 類似한 結果를 얻었다.

Londax와 Basta의 10⁻³M과 같은 高濃度에서도 20時間 短期間 處理時는 供試한 Callus의 Succinate dehydrogenase 反應은 正反應을 나타내는 것으로 보아 20時間 短期間 處理만으로는 Callus를 枯死시킬 수 없는 것 같고 Londax와 Basta의 濃度 差에 따른 Succinate dehydrogenase의 活性의 差異는 어느 程度인지는 本試驗을 통해 檢定할 수가 없으며 이 部分에 對한 今後의 繼續的인 研究는 이들 除草劑의 選擇性 또는 作用機作을 理解하는데 有效한 資料를 提供해 주리라고 믿는다.

摘 要

生長調節物質이 Callus 誘導에 미치는 影響을 究明키 위하여 植物體의 種子 또는 Shoot-tip 으로부터 Callus 誘導를 檢定, 誘導된 Callus로부터 植物體分化, 除草劑가 Callus 生體重量增加에 미치는 影響 및 Succinate dehydrogenase의 TTC 反應檢定을 하여 얻어진 結果는 다음과 같다.

1. MS 基本培地에 2,4-D 含量은 올방개와 너도방동산의 種子는 1.0 ppm, 너도방동산의 shoot-tip은 4.0 ppm, 삼강벼와 물피에서는 2ppm 이 Callus 誘導를 위한 適定濃度였다.

2. MS 基本培地에다 2,4-D와 BA와 TIBA를 添加時 BA는 2,4-D 單獨處理보다 抑制的이나 TIBA 處理는 0.3 또는 0.5 ppm 添加區가 2,4-D 單獨處理區보다 效果的이었다.

삼강벼, 물피, 너도방동산의 種子 및 올방개 shoot-tip에서는 2,4-D 1.0 ppm + TIBA 0.5 ppm, 너도방동산의 shoot-tip에서는 2,4-D 1.0 ppm + TIBA 0.3 ppm 일 때가 가장 높았다.

3. Callus로부터 植物體分化率은 2,4-D에 Kinetin 添加區가 NAA에 Kinetin 添加區보다 效果的이었다고 물피는 2,4-D 0.8 ppm + Kinetin 8.0 ppm에서 50%, 올방개는 2,4-D 1.6 ppm + Kinetin 16.0 ppm에서 33.3%가 分化가 되었으나 너도방동산이는 分化가 되지 않았다.

4. 除草劑 Londax 및 Basta는 濃度가 增加될수록 삼강벼, 물피, 올방개 및 너도방동산의 Callus 誘導 또는 增殖을 抑制시켰고 10⁻³M에서는 거의 100%가 抑制되었으나 低濃度에서는 植物體間에 相異한 反應을 보였으며 兩除草劑에서 삼강벼가 물피나 너도방동산이보다 耐性을 보였다.

5. TTC에 對한 Succinate dehydrogenase의 反應은 供試植物의 全 Callus가 모든 處理區에서 正反應(+)을 보여서 Callus가 生存해 있음을 알 수 있었다.

引 用 文 獻

1. Ahloowalia, B. S. 1982. Plant regeneration from callus in wheat, Crop Science, 22: 405-410.

2. Hirono, Y. and H. Ishikawa. 1981. Selective activity of a herbicide, *Weed Science*, 30: 281-285.
3. Kim, Kil Ung. 1985. Herbicide resistance in plant tissue culture, *K. J. Weed Science*, 5(1): 9-13.
4. Kim, Kil Ung, Sang Ho Kim and Dong Hyun Shin. 1985. Development of a Herbicide Screening Method through Tissue culture, *Proceedings of 10th Asian pacific Weed Science Society*, 2: 50-58.
5. Kim, C. S., J. S. Jo and C. Y. Choi. 1981. Effects of the phytohormones on the organ differentiation and the callus induction from the meristem tip and the segment of the leaf and stem of potato by in vitro culture, *K. J. Crop Science* 26(4): 344-349.
6. Krans, J. V., V. T. Henning and K. C. Torres. 1982. Callus induction maintenance and plant-let regeneration in creeping bentgrass, *Crop Science*, 22: 1193-1197.
7. Ku, Mingkuang, Chen Wangchen, Kuo Lichuan Yulan, An Hsipei and Huang Chaio Hsiang. 1978. Induction factors and morpho-cytological characteristic of pollen-derived plants in maize, *Plant Tissue Culture-proceedings of the Beijing (Peking) Symposium*, pp. 35-42.
8. Jo, Jae Sung. 1981. Studies on the tissue culture of Korean-Ginseng, *K. J. Crop Science*, 26(1): 110-114.
9. Sear, R. G. and E. L. Deckard. 1982. Tissue culture variability in wheat, Callus induction and plant regeneration, *Crop Science*, 22: 546-550.
10. Sharma, S. G., L. L. Bello, V. T. Sapra and C. M. Peterson. 1981. Callus induction and plant regeneration from triticale embryos, *Crop Science*, 21: 113-117.
11. Takeda, S., P. B. Sweetser, D. L. Erbes, T. Yuyama. 1985. Mode of selectivity of Londax herbicides (DPX-F5384) in paddy rice. *Proceeding of 10th Asian Pacific Weed Science Society*. 1: 156-161.
12. Technical Bulletin of DuPont Inc. 1985. Londax herbicide (Du Pont Testing Code DPX-F 5384.)
13. Witham, F. H. 1968. Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the tobacco stem pith callus tissue, *Plant Physiology*, 43: 1455-1457.
14. Zhuang, Jia Jin and Jia Xu. 1983. Increasing differentiation frequencies in wheat pollen callus, *Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal Crop Improvement*, pp. 431-432.