

질산카드뮴이 토마토 배축切片에 있어서 카루스形成 및 器官分化에 미치는 影響

保健行政科 金 秉 煥
助 教 授

I. 緒 論

植物組織培養法을 活用한 많은 研究에서 器官分化에 關한 報告를 볼 수 있으나 培養組織으로부터 器官分化의 誘導에 關한 諸般問題는 아직도 만족하게 밝혀내지 못하고 있다.

培地에 첨가된 옥옥신과 싸이토키닌이 器官分化의 主要 調節要因임은 Skoog & Miller¹⁾에 의해 밝혀졌다. 그 후 이와같은 현상은 여러 가지 植物의 組織培養을 통하여 認定된 바 있다. 그러나 器官分化의 誘導에 關한 要因은 培地에 첨가되는 ฮอร์โมน類 뿐만이 아니라 그 외의 成分 또는 物理的인 要因등 多樣한 것으로 알려졌다.²⁾ 그리고 경우에 따라서는 항옥옥신이 器官分化를 促進하는 例도 있으며¹⁶⁾ ABA(abscisic acid)에 의한 器官分化의 促進도 報告된 바 있다.¹⁸⁾

Bottino는 토마토를 材料로 한 組織培養에서 器官分化와 이로부터 植物體增殖에 關한 綜說을 내놓았다.

Behki와 Lesley¹⁾는 토마토의 잎 切片을 MS培地(Murashige and Skoog)⁸⁾에 培養하여 $5 \times 10^{-7}M$ NAA와 $1 \times 10^{-5}M$ BA에서 不定根分化를 그리고 $2.5 \times 10^{-6}M$ NAA와 $1 \times 10^{-6}M$ BA에서 不定芽分化를 誘導하였다. 한편 Kartha 등⁷⁾은 같은 材料植物에 비타민 B₅, $0.1\mu M$ Zeatin과 $10\mu M$ IAA, 그리고 $1\mu M$ Zeatin과 $0.1M$ IAA 처리로 不定根과 不定芽分化를 報告했다.

일반적으로 植物生長에 抑制效果를 나타내는⁴⁾ 카드뮴化合物이 低濃度에서 不定根分化를 促進하는 것으로 밝혀졌다.^{13,14)}

그러므로 本 研究에서는 토마토의 胚軸切片을 MS培地에 培養하여 이로부터 카루스形成과 카루스로부터의 器官分化에 IAA 및 Kinetin 및 低濃度の 카드뮴이 어떤 影響을 미치는가를 究明하고자 試圖하였으며 그 結果를 報告하고자 한다.

II. 材料 및 方法

本 實驗에서는 토마토 (*Lycopersicon esculentum* MILL)의 栽培品種 즉 市中에서 구입한 耐病長壽 토마토, VT-hy-23와 The Asian Vegetable Research and Development Center (水原, 韓國)에서 分讓받은 세 品種, L-166-1, AhTm² 및 ARC를 材料로 사용했다. 種子를 70% alcohol로 消毒하여 播種한 後 25 ± 1 °C에서 매일 12시간 약 5,000 Lux의 照射로 3週間 Hoagland용액으로 砂耕栽培하였다.

채취된 幼植物의 子葉으로부터 약 1.5cm 아래와 뿌리로부터 1.5cm 이상의 胚軸部位를 70% alcohol로 5분간 그리고 1% Sodium hypochlorite 용액으로 10分間 表面殺菌하고 水洗하여 切片의 두께를 2mm로 잘랐다.

培地는 MS培地에 질산카드뮴, IAA (3-indole acetic acid) 및 Kinetin(6-furfurylamino purine)의 濃度別로 여러가지 組合을 달리하였고, agar 0.6% (w/v)를 添加한 後 pH를 5.8로 調整하였다.

培地에 接種한 胚軸切片을 growth chamber (25 ± 1 °C)속에서 형광등으로 flask에 받은 光이 200 Lux가 되도록 하여 每日 16時間씩 照射하여 5주간 培養하였다.

카루스의 形成은 乾量으로 測定하였으며 器官分化는 그 數와 乾量으로 測定하였다.

III. 結 果

植物의 種에 따라서 카루스形成能 및 器官分化能이 다르고, 같은 種이라 할지라도 品種에 따라서 그 能力이 다른 경우가 많다. 그러므로 이와같은 能力에 대한 ホル몬의 영향과 다른 化合物들의 影響을 규명하기 위한 實驗에는 보다 效果的인 品種의 選定이 要望된다.

따라서 토마토 栽培品種間의 카루스形成能 및 器官分化能力을 比較하기 위하여 IAA 2 (mg/l), IAA 2 (mg/l) + Kinetin 2 (mg/l), 및 Kinetin 2 (mg/l)를 添加한 MS培地에 토마토의 胚軸切片을 接種하였고 이를 5週동안 培養한 結果는 Table 1과 같다.

카루스形成能에 있어서 栽培品種 VT-hy-23은 IAA處理區가 9.7 (mg)을, 그리고 IAA + Kinetin處理區는 IAA處理區에 比해 약 2배인 23.5 (mg)의 카루스形成을 보였고, Kinetin處理區는 全然 카루스가 形成되지 않았다. 그리고 AhTm² 品種은 IAA 처리구에서 7.3 (mg)을, IAA + Kinetin 처리구에서는 IAA 처리구에 비하여 약 2배인 17.8 (mg)의 形成을 보였고, Kinetin 처리구에서는 全然 형성되지 않았다.

마찬가지로 L-166-1과 ARC 두 品種 또한 IAA와 IAA + Kinetin 처리구에서만 VT-hy-23 品種에 比해 약 1/3의 카루스가 形成되었고 Kinetin 처리구에서는 全然 形成되지 않았다. 따라서 IAA와 IAA + Kinetin 처리구에 있어서 이 品種들의 카루스形成能 順位는

Table 1. Comparison of the callus and adventitious root formation abilities in the hypocotyl segments* of four cultivars of *Lycopersicon esculentum* MILL. on MS media complemented with IAA, IAA + kinetin and kinetin.

Cultivar No.	MS medium complemented with		
	IAA (2mg/ℓ)	IAA + Kinetin (2mg/ℓ) (2mg/ℓ)	Kinetin (2mg/ℓ)
VT-hy-23	9.7 ** (14)	23.5 (0)	0.0 (0)
Ah Tm ²	7.3 *** (10)	17.8 (0)	0.0 (0)
L-166-1	3.4 (19)	6.3 (0)	0.0 (0)
ARC	3.1 (11)	5.8 (0)	0.0 (0)

*: They are cultured for 5 weeks under $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fluorescent light, 200lux, 16 hours photoperiod.

** : Dry weight (mg) of callus.

***: The numbers in parenthesis indicate the mean numbers of adventitious roots induced from callus.

VT-hy-23 > AhTm² > L-166-1 = ARC 이었다.

그리고 器官分化에 있어서는 네 品種 모두 IAA 처리구에서는 不定根의 分化만 보여 주었는데 반해 IAA + Kinetin 와 Kinetin 처리구에서는 어떤 器官分化도 보여 주지 않았다. IAA 처리구에 있어서 L-166-1 品種이 19개로 가장 많은 不定根의 分化를 보였고, 그 다음이 VT-hy-23 品種으로 14개를, 그리고 AhTm² 와 ARC는 다같이 10개 정도의 비교적 적은 不定根의 分化를 보여 주었다.

카루스 및 기관형성에 대한 IAA와 Kinetin의 濃度別 效果를 보기 위하여 VT-hy-20의 胚軸切片을 IAA와 Kinetin의 여러가지 濃度組合으로 添加된 MS培地에 5주간 培養한 結果는 Table 2와 같다.

Table 2에서 보는 바와 같이 對照區에서는 전혀 카루스가 形成되지 않았는데 반해 IAA 처리구에 있어서의 카루스 形成은 1(mg/l)와 2(mg/l) 처리는 3(mg/l)와 4(mg/l) 처리 보다 더 많은 카루스가 形成되었고 또한 不定根分化도 더 많이 일어났다.

IAA와 Kinetin을 1 : 1로 給合하여 처리한 區에서는 카루스만 形成되었고 器官分化는 되지 않았다. 그 중에서 IAA 2(mg/l) + Kinetin 2(mg/l) 처리구가 가장 많이 카루스 形成을 보였고 나머지 組合區에 있어서는 앞의 경우 보다는 조금 적게 形成되었다.

그리고 IAA와 Kinetin을 2 : 1로 組合한 처리구에서는 IAA 2(mg/l) + Kinetin 1(mg/l) 처리구가 가장 많은 카루스의 形成을 보였고 그 다음이 IAA 1(mg/l) + Kinetin

Table 2. Effects of IAA + Kinetin and Kinetin on callus formation and organogenesis in the hypocotyl segments* of *Lycopersicon esculentum* MILL. (VT-hy-23)

Callus formation and Organogenesis	IAA (mg/l)					IAA+Kinetin, (1:1) (mg/l)				IAA+Kinetin, (2:1) (mg/l)				Kinetin (mg/l)			
	0	1	2	3	4	2.0	4.0	6.0	8.0	1.5	3.0	4.5	6.0	1	2	3	4
Callus	—	++	++	+	+	++	+++*	++	++	++	+++	++	+	—	—	—	—
Root	—	++	++	+	+	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—
Shoot	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

*: They were cultured for 5 weeks on MS medium complemented with above different hormone concentrations under $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fluorescent light, 200 lux, 16 hours photoperiod.

** : The callus formation of this combination was better than the other combinations.

— : none, + : 1 ~ 10(mg), ++ : 11 ~ 20(mg), +++ : more than 20(mg) (dry weight).

0.5 (mg/l) 처리와 IAA 3 (mg/l) + Kinetin 1.5 (mg/l) 처리로 비슷하게 形成되었고, IAA 4 (mg/l) + Kinetin 2 (mg/l) 처리가 가장 적게 形成되었다. IAA 1 (mg/l) + Kinetin 0.5 (mg/l) 처리에서의 不定根 分化는 되지 않았는데 반해 나머지 組合의 처리는 비교적 비슷하게 형성되었다. 不定芽는 어느 처리구에서도 形成되지 않았고 특히 Kinetin 처리구에서는 카루스 形成과 器官形成이 전혀 일어나지 않았다.

이상과 같은 結果로 綜合해 볼 때 카루스 形成과 器官分化는 正의 相關을 갖기 때문에 카루스 形成을 가장 많이 誘發시킨 ฮอร์โมน의 組合인 IAA 2 (mg/l) + Kinetin 2 (mg/l) 처리구에 있어서 카르뎀 처리가 카루스 形成과 器官形成에 미치는 영향을 究明하고자 한다.

IAA 2 (mg/l) + Kinetin 2 (mg/l)의 組合 處理된 MS 培地에 질산카르뎀의 농도를 달리하여 5주간 培養한 結果는 Table 3과 같다.

질산카르뎀의 농도에 따른 카루스의 形成은 對照區에서는 24.72 (mg/l)을 나타내었고 10^{-8}M 처리에서는 가장 많이 形成되어 35.43 (mg)을 나타내었고, 10^{-7}M 처리구에 있어서 대조구와 비슷한 25.17 (mg/l)을, 그리고 10^{-6}M 처리구에서는 24.16 (mg/l)을 나타내었다. 10^{-5}M 처리구에 있어서는 약간 감소를 나타내었고 (18.84 mg/l) 10^{-4}M 처리구에서는 더 감소되었다 (16.72 mg/l) 더우기 10^{-3}M 처리구에서는 전혀 카루스가 形成되지 않았다.

不定根의 分化는 대조구에서는 培養期동안 分化되지 않았는데 반해 카루스 形成과 마찬가지로 10^{-8}M 처리에서는 가장 많은 不定根이 分化되었고 (2.71 mg), 10^{-7}M 과 10^{-6}M 처리에서는 不定根이 조금 적게 分化되었으며 (1.6 mg), 10^{-5}M 과 10^{-4}M 처리에서는 아주 적게 分化되었다 (0.78 mg 과 0.32 mg). 그러나 10^{-3}M 처리에 있어서는 전혀 형성되지 않았다.

Table 3. Effects of cadmium nitrate on callus formation and organogenesis in the hypocotyl segments* of *Lycopersicon esculentum* MILL. (VT-hy-23) on the MS medium complemented with 2mg/l IAA and 2mg/kinetin

Callus formation and Organogenesis	Cadmium nitrate concentrations						
	0	10^{-8} M	10^{-7} M	10^{-6} M	10^{-5} M	10^{-4} M	10^{-3} M
Callus	24.72**	35.43	25.17	24.18	18.84	16.72	0
Root	0	2.71	1.52	1.74	0.78	0.32	0
Shoot	0	0	0.53	0.35	0.30	0	0

*: They were cultured for 5 weeks under $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, fluorescent light, 200 Lux, 16 hours photoperiod.

** : Dry weight (mg)

IV. 考 察

組織培養 中에 카루스 및 器官分化能은 植物의 種, 品種 또는 크론에 따라서 다른 경우가 많다¹⁷⁻²⁰⁾ 本 實驗에서는 VT-hy-23 品種이 다른 品種에 비하여 카루스 形成能이 뚜렷했고 不定根形成은 L-166-1 品種에서 더욱 뚜렷이 보였고 그 다음 VT-hy-23의 順이었다 (Table 1)

VT-hy-23의 胚軸初片의 培養에서 IAA 2mg/l + Kinetin 2mg/l 을 處理했을 때 가장 카루스 形成이 잘 되었고 IAA만을 處理했을 때는 Kinetin과 混合 處理했을 때 보다 카루스가 적게 形成되었으며 kinetin만을 處理할 경우에는 전혀 카루스가 나타나지 않았다 (Table 2)

카루스 形成은 一般的으로 培地에 auxin, cytokinin 또는 auxin + cytokinin의 첨가를 必要로 하는데¹⁹⁾ 本 實驗의 結果는 카루스 形成에 auxin + cytokinin을 必要要因으로 들 수 있다.

카루스로부터 器官形成에 대하여는 이미 많은 綜說이 나와 있으며^{3,5,9,10,12,15)} 주로 식물생장조절 물질의 역할이 다뤄졌다. Skoog and Miller¹¹⁾에 의하면 auxin:cytokinin비가 높을 경우에 不定根形成이 반면에 그 比率이 낮을 때 不定芽의 形成이 일어나는 것으로 알려졌는데 本 研究에서도 같은 경향을 보였으나 auxin만을 處理했을 경우에는 不定根이 形成되나 cytokinin만을 處理했을 때는 器官形成이 일어나지 않았다 (Table 2).

低濃度の 카드뮴은 강낭콩의 胚軸이나 子葉培養에서 不定根形成이 促進된다는 것이 報告된 바 있다^{13,14)}. 토마토의 胚軸으로부터 카루스 形成이나 非體制系인 카루스에서의 器官分化를 觀察한 本 研究에서도 低濃度の 질산카드뮴은 $10^{-8} \sim 10^{-7}$ M에서 카루스 形成이 促進되었으며 $10^{-8} \sim 10^{-4}$ M에서 不定根 形成이 그리고 $10^{-7} \sim 10^{-5}$ M에서 不定芽 形成이 促進되었다. (Table 3). 이와 같은 低濃度の 카드뮴에 의한 카루스 및 器官形成 誘導의 機作은 아직 분명치 않다. 한편 황산카드뮴 處理에 의한 효모균의 脫水素酵素 活性의 促進이 報告⁶⁾된 바 있으

므로 高等植物의 경우에 있어서 酵素活性과 카드뮴에 대한 研究結果는 低濃度の 카드뮴에 依한 카루스 및 器官形成 誘導의 機作을 理解하는데 도움이 될 것으로 보인다.

V. 摘 要

토마토 (*Lycopersicon esculentum* MILL.) 胚軸初片에 있어서 카루스 形成 및 器官分化에 미치는 질산카드뮴의 영향을 究明하기 위하여 砂耕栽培한 네 가지 토마토 品種, 卽 VT-hy-23, AhTm², L-166-1 및 ARC의 幼植物로부터 切斷된 胚軸切片을 IAA, Kinetin 및 질산카드뮴을 여러가지 組合으로 添加한 MS培地에서 각각 5주간 배양한 結果는 다음과 같다.

1. 네 가지 品種 가운데 VT-hy-23 品種이 다른 品種에 비해 가장 많은 카루스 形成을, 그리고 L-166-1 品種은 많은 수의 不定根 形成을 보였다.

2. IAA와 Kinetin의 여러 가지 濃度別 組合處理에 있어서 IAA 2(mg/l) + Kinetin 2(mg/l) 處理가 다른 組合 처리에 비해 가장 많은 카루스를 形成하였다.

3. 低濃度の 질산카드뮴, 특히 $10^{-8} \sim 10^{-7}$ M의 질산카드뮴은 카루스 形成을 促進시킨데 반해 10^{-6} M 이상의 高濃度에서는 抑制시켰다. 또한 $10^{-8} \sim 10^{-4}$ M 질산카드뮴은 器官形成을 促進시킨데 반해 10^{-3} M 이상의 질산카드뮴은 그것을 抑制시켰다.

引用文獻

1. Behki, R.M. and Lesley, S.M. 1976. *In vitro* plant regeneration from leaf explants of *Lycopersicon esculentum*(tomato) *Can. J. Bot.* 54:2409~2413.
2. Buttion, P.J. 1981. Vegetable crops, in Cloning Agricultural Plants *via In Vitro* Techniques (B.V. Conger ed.) CRC Press Inc., Boca Roton Florida U.S.A.
3. Dodds, J.H., Roverts, L.W., and Heslop Harrison, J. 1982. Experiments in Plant Tissue culture, Cambridge Univ. Press. Cambridge, England.
4. Huang, C.Y., Brazzaz, F.A. and Vanderhoef, L.N. 1974. The inhibition of soybean metabolism by cadmium and lead. *Plant Physiol.* 54:122~124.
5. Hussey, G. 1980. *In vitro propagation*. in Tissue Culture Methods for Plant Pathologists. (Ingram, D.S., and Helgeson, J.P. ed) Blackwell Scientific Publications, Oxford, England.
6. Joho, M., Matsumoto, H., Tohoyama, H. and Murayama, T. 1979. Stimulation of dehydrogenase synthesis by cadmium-resistant strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochemica et Biophysica Acta.* 585:383~388.
7. Kartha, K.K., Champous, S., Gamborg, O.L. and Phai, Phai, K. 1977. *In vitro propagation* of tomato by shoot apical meristem culture, *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 102:346~349.
8. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plantarum* 15:473~479.

9. Narayanswamy, S. 1977. Regeneration of plants from tissue cultures, in Plant Cell, Tissue, and Organ Culture (Reinert, J. and Bajaji, Y.P.S. ed) Springer-Verlage, Berlin, Germany.
10. Reinert, J., Bajaji, Y.P.S. and Zbell, B. 1977. Aspects of organogenesis, embryogenesis, cytodifferentiation. in Plant Tissue and Cell Culture (Street, H.E. ed.) Univ. of Calif, Press. Berkeley, U.S.A.
11. Skoog, F. and Miller, C.D. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. Symp. Soc. Exp. Biol. 11:118~130.
12. Soh, W.Y. and Cho, D.Y. 1973. Control of organogenesis in tissue culture. *Korean J. Plant Tissue Cult.* 1:23~29.
13. Soh, W.Y., K.B. Jeon, U.D. Yeu and D.Y. Cho, 1980a. Effect of cadmium on the chlorophyll production and organ differentiation in the cotyledon culture of *Phaseolus vulgaris* L. *Korean J. Plant Tissue Cult.* 7:39~42.
14. Soh, W.Y., Jeon, K.B. and Cho, D.Y. 1980b. The effects of cadmium and auxin on the adventitious root formation in hypocotyl segments of *Phaseolus vulgaris* L. *Korean J. Plant Tissue Cult.* 7:43~48.
15. Street, H.E. 1979. Embryogenesis and chemically induced organogenesis, in Plant Cell and Tissue Culture-Principles and Applications-(Sharp et al., ed.) Ohio State Univ. Press, Columbus, U.S.A.
16. Thomas, E. and Street, H.E. 1970. Organogenesis in suspension cultures of *Atropa belladonna* L. and *Atropa belladonna* cultivar Iutea Doll. *Ann. Bot.* 34:657~669.
17. Walker, K.A., Yu, P.C., Sato, S.J. and Jaworski, E.G. 1978. The hormonal control of organ formation in callus of *Medicago sativa* L. cultured *in vitro*. *Amer. J. Bot.* 65:654~659.
18. Yamaguchi, T. and Nakajima, T. 1973. Hormonal regulation of organ formation in cultured tissues derived from root tuber of sweet potato in Plant Growth Substances (Proc. 8th Intern Conf. Plant Growth Subs.) 1121~1127.
19. Yeoman, M.M. and Macleod, A. J. 1977. Tissue (Callus) Culture-techniques. In Plant Tissue and Cell Culture, 2nd ed. (Street, H.E. ed.) pp.31~59. Oxford, Blackwell Scientific Publ.
20. 韓昶烈, 1982. 植物組織培養, 一潮閣.

**Effects of Cadmium Nitrate on Callus Formation and
Organogenesis in the Hypocotyl Segments of
Lycopersicon Esculentum MILL.**

Byong Hwan Kim

Dept. of Health Administration

Kwangju Health Junior College

>Abstract<

In order to investigate the effects cadmium nitrate on callus formation and organogenesis of tomato(*Lycopersicon esculent um* MILL.) hypocotyl segments, the seeds of four tomato cultivars (No. VT-hy-23, AhTm¹, L-166-1, and ARC) were germinated by sand culture.

The hypocotyl segments incised from the seedling were cultured on MS media complemented with different concentrations of IAA, Kinetin and cadmium nitrate in growth chamber for 5 weeks ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, under fluorescent light, 200lux, 16hours photoperiod).

The results obtained are as follows :

1. VT-hy-23 and L-166-1 were more successful than others in callus formation and adventitious root formation respectively.
2. The callus formation was induced very well on the MS medium complemented with IAA 2(mg / l) and Kinetin 2(mg / l).
3. In low concentrations of cadmium nitrate, especially 10^{-8} ~ 10^{-7} M promoted callus formation, while the high concentrations(beyond 10^{-6} M) inhibited it. Also 10^{-8} ~ 10^{-4} M cadmium nitrate promoted organogenesis, while beyond 10^{-3} M cadmium nitrate inhibited it.