

식물 성장 조절물질이 페레니얼 라이그라스의 재생에 미치는 영향

김미혜 · 이효신 · 김기용* · 조진기

Effects of Plant Growth Regulators on the Regrowth of Perennial Ryegrass (*Lolium perenne* L.)

M. H. Kim, H. S. Lee, K. Y. Kim* and J. Jo

Abstract

Plant growth regulators were treated on the cut perennial ryegrass (*Lolium perenne* L. cv. Reveille) to investigate the effect on the regrowth after cutting. The growth showed better result when 0.1 or 0.5 mg/L cytokinin were treated. Among cytokinins, kinetin or 2iP gave the better effect on the growth than BAP. In 2,4-D as an auxin, cut plants grew best at the concentration of 0.1 mg/L. The initial regrowth was very vigorous when GA₃ was treated as a growth regulator, but the growth was retarded after 2 weeks later of cutting. Co-treatment of kinetin as a cytokinin and 2,4-D as an auxin showed synergistic effect on the regrowth of cut perennial ryegrass. Both plant growth regulators gave the same result at the same concentrations in the suspension culture of perennial ryegrass cells.

(Key words : Perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), Plant growth regulators, Regrowth)

I. 서 론

페레니얼 라이그라스 (*Lolium perenne* L.)는 토양에 대한 적응성이 강하고 방목하거나 예취한 다음에 재생력이 우수하여 방목을 위한 혼파초지 조성시 많이 이용되고 있으며, 방목용으로는 초장이 20cm 정도일 때 예취를 하여 수량증진 및 잡초방제를 도모하게 된다.

식물은 생육특성 중의 하나인 고착성 때문에 다양한 생물학적 또는 비생물학적 환경스트레스에 노출되어 있다. 사료작물의 예취는 비생물학적인 스트레스 중의 하나인 wounding에 해당하는 것으

로서, 식물은 이러한 스트레스를 극복하기 위해 다양한 방어기작을 가지고 있다. 아직 식물의 방어기작에 대한 정확한 경로는 밝혀져 있지 않지만, Bögre 등 (1997)은 식물이 예취되면 wounding이라는 외부 신호가 핵으로 전달되고 이들에 의해 특정 유전자들이 활성화되어, 상처를 치유 할 뿐만 아니라 재생 특이적인 단백질들이 합성되어 재생하게 된다고 하였다.

한편, 식물 성장 조절물질인 cytokinin, auxin 및 gibberellin은 세포분열을 촉진하여 식물체의 생장 및 분화 발달을 유도한다 (Skoog와 Miller, 1957). 밀에서 wounding에 의한 cytokinin 및 gibberellin 관

경북대학교 농과대학 (College of Agriculture, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea)

* 축산기술연구소 (National Livestock Research Institute, Suwon 441-350, Korea)

런 유전자들의 활성으로 이들 생장 조절물질들의 합성이 조절되는 것으로 확인되었다(Sano와 Youssefian, 1994; Kuo 등, 1996). 쿠리에서는 손상된 식물세포로부터 gibberellin 관련 유전자가 발현되며, 손상된 식물세포에 gibberellin을 처리했을 때 세포분화 및 분열이 촉진되었다(Huttly와 Phillips, 1995). 또한 wounding에 해당하는 충해 (insects)에 대한 cytokinin의 역할을 조사하기 위하여 cytokinin 생합성 유전자인 isopentenyl transferase (*ipt*)로 형질전환된 담배에서, *ipt*의 축적에 의해 충해에 대한 방어력이 비형질전환 담배에 비하여 70% 이상 증가된 결과를 나타내었다(Smigocki 등, 1993).

본 실험에서는 목초의 재생활력을 증대시킴으로써 예취를 통하여 수량을 높이기 위하여, 재생에 관여하는 식물 생장 조절물질인 cytokinin류, auxin류 및 gibberellin류를 예취한 페레니얼 라이그라스에 처리하여 재생력을 관찰하였고, 특히 cytokinin과 auxin이 세포분열에 미치는 경합을 조사하기 위하여 예취한 페레니얼 라이그라스의 절단면과 현탁배양세포에 각각의 생장 조절물질을 처리하여 생육을 관찰하였다.

II. 재료 및 방법

1. 식물 재료 및 식물 생장 조절물질 처리

식물 재료로는 페레니얼 라이그라스의 Reveille 품종을 사용하였고, 25°C day/20°C night cycle (16 시간/8시간), 350 μ Em²S⁻¹의 광조건에서 생장시켰다. 식물 생장 조절물질의 처리는 발아 후 30일령 된 식물체 pot당 15주를 한 처리구로 하여 식물체의 지상부 5cm 부위를 잘라 그 단면에 분무법을 이용하여 식물 생장 조절물질을 처리하였다. 처리한 식물 생장 조절물질로 cytokinin류는 BAP (N⁶-benzyl amino purine), kinetin (6-furfuryl amino purine), 2iP (N⁶-iso-pentenyl amino purine)와 auxin류로는 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid), 그리고 gibberellin류로는 GA₃를 0.1% (v/v) Tween-20 용액에 희석하여 각각 0.1, 0.5, 2.5 mg/L 농도로 하루에 4차례씩 분무하였고 대조구는 0.1% (v/v)

Tween-20 용액만을 분무하였다.

2. 현탁 배양세포 준비 및 식물 생장 조절물질 처리

페레니얼 라이그라스 종자의 까끄러기를 제거하고 1% sodium hypochloride 용액에서 30분간 살균한 다음, 멸균수로 3회 수세하였다. 종자는 10 mg/L 2,4-D, 30 g/L sucrose, 3 g/L gelrite가 첨가된 MS 배지 (Murashige와 Skoog, 1962)에 치상한 다음, 24°C, 암상태에서 4주 동안 캘러스를 유도하였다. 현탁배양 세포를 유도하기 위하여 캘러스를 잘게 부순 후, 2 mg/L 2,4-D, 30 g/L sucrose가 첨가된 MS 배지에서 28°C, 100rpm으로 배양하였으며, 7일간격으로 계대 배양하였다. 식물 생장 조절물질의 처리를 위하여 2,4-D를 첨가하지 않은 현탁배양 배지에서 4일간 배양한 다음, 각각의 식물 생장 조절물질 0.5 mg/L이 첨가된 배지로 옮겨 배양하면서 압축세포량 (PCV)을 측정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. Cytokinin, auxin, gibberellin이 재생에 미치는 영향

식물 생장 조절물질이 예취한 페레니얼 라이그라스의 재생에 미치는 영향을 조사하기 위하여 30일령 된 식물체의 지상부 5cm 부위를 자른 다음, cytokinin 류로는 BAP, kinetin 및 2iP를, auxin으로는 2,4-D를 그리고 gibberellin으로는 GA₃를 각각 0.1, 0.5, 2.5 mg/L의 농도로 예취한 단면에 분무한 다음, 재생에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과, cytokinin류의 경우 BAP 처리구에서는 대조구와 유의적인 차이가 없었으나, kinetin과 2iP 처리구에서는 0.1 및 0.5 mg/L 농도에서는 대조구보다 각각 8~21%, 30~36% 이상 증가된 재생력을 나타내었다 (Fig. 1). Hall (1973)은 다양한 cytokinin류의 생장촉진 효과에 있어서 식물유래의 2iP가 합성 cytokinin인 BAP, BA (Benzyladenine) 및 PBA

(Tetrahydroxylbenzyladenine)보다 성장촉진에 효과적이었다고 보고하였다. 본 연구결과에서도 BAP는 다른 2가지 성장 조절물질들과는 달리 재생에 미치는 영향이 거의 없는 것으로 나타났는데, 이는 BAP가 합성된 cytokinin인 반면 kinetin과 2iP는 본래 식물에 존재하는 cytokinin이기 때문에 식물체 내에서의 활성이 더 좋은 것으로 생각된다.

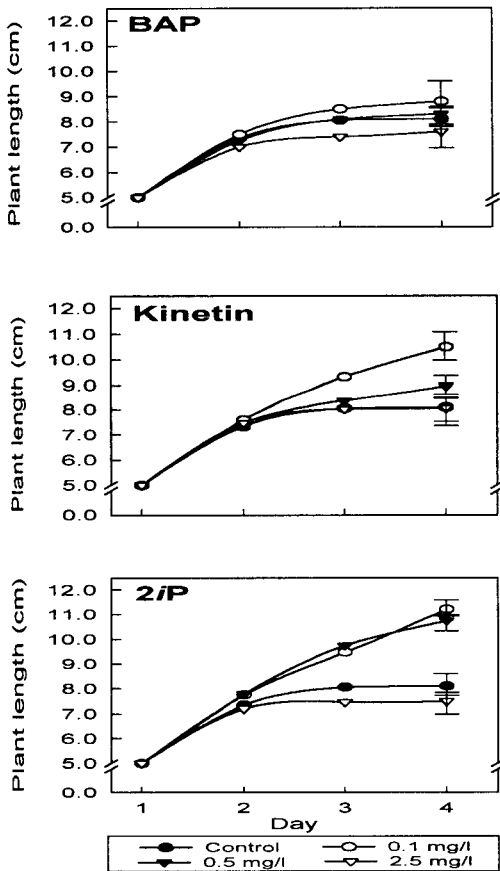


Fig. 1. Effects of cytokinins on the regrowth of cut *Lolium perenne* L. cv. Reveille.

Auxin류로서 2,4-D를 처리한 경우, 모든 농도에서 대조구보다 좋은 재생력을 나타내었으며, 0.5 mg/L의 농도에서 가장 높은 재생력을 나타내었다 (Fig. 2). 그러나, 예취 후 4일까지의 초기 재생력

을 비교했을 때 auxin보다는 cytokinin이 재생에 더 좋은 영향을 미치는 것으로 나타났다.

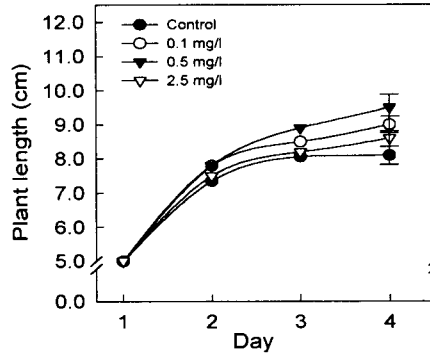


Fig. 2. Effect of 2,4-D on the regrowth of cut *Lolium perenne* L. cv. Reveille.

식물 성장 조절물질 중에서 길이 생장에 중요한 영향을 미치는 것으로 알려진 gibberellin (GA₃)을 처리한 결과, Fig. 3에 나타낸 바와 같이 0.1 mg/L 농도에서 대조구보다 67% 이상 증가된 재생력을 나타내었다. 그러나, GA₃ 처리시 초기 재생력은 높게 나타났으나 예취 2주 이후의 생장이 더디게 진행되는 것으로 나타났는데 (결과 미제시), 이는 GA₃에 대한 페레니얼 라이그라스의 감수성이 생장이 진전됨에 따라 감소하여 나타난 결과로 생각된다.

예취한 페레니얼 라이그라스의 재생에 미치는 영향을 요약하면, cytokinin이 다른 성장 조절물질보다 빠른 재생력을 보였고 이중 kinetin 처리구에서 재생된 식물의 상태가 가장 양호하였다. 또한 4일 이후의 생장도 다른 cytokinin류보다 양호하였다. Auxin과 gibberellin 처리구의 경우, 0.1 mg/L의 농도에서 재생력이 증가되었으나 다른 처리 농도에서는 대조구와 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 재생된 식물의 길이 생장뿐만 아니라 재생된 식물체의 포기수를 조사하여 본 결과에서도 동일한 결과를 나타내었다. 식물체 내에서 cytokinin과 auxin은 각각 세포분열을 촉진하지만, 이들 물질이 공존시 세포분열이 더욱 촉진되는 것으로 알려져

있다(Skoog와 Miller, 1957; Moore, 1989). 따라서, kinetin과 2,4-D를 0.5 mg/L의 농도로 각각 또는 조합으로 처리하여 재생력을 관찰한 결과, 단독으로 처리하였을 때보다 조합으로 처리시 더 높은 재생력을 나타내었다 (Fig. 4).

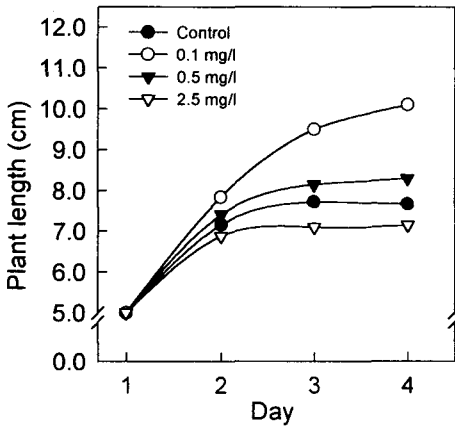


Fig. 3. Effect of GA₃ on the regrowth of cut *Lolium perenne* L. cv. Reveille.

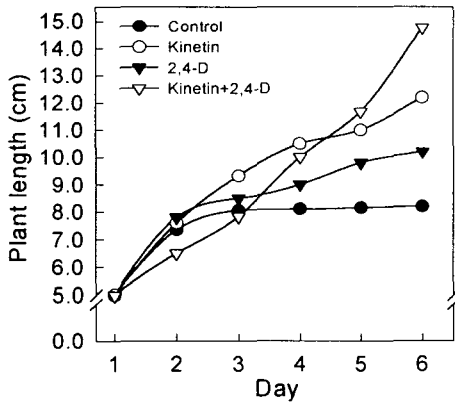


Fig. 4. Effect of kinetin and 2,4-D combinations on the regrowth of cut *Lolium perenne* L. cv. Reveille.

2. Cytokinin과 auxin이 세포분열에 미치는 영향

식물 세포수준에서 cytokinin과 auxin이 세포분열에 미치는 영향을 조사하기 위하여 페레니얼 라이그라스의 현탁배양 세포에 0.5 mg/L의 성장 조절물질을 각각 또는 조합으로 하여 처리한 다음, 압축세포량을 조사하였다. 그 결과 식물체 수준에서의 결과와 동일하게 각각의 성장 조절물질을 단독으로 처리했을 때보다 cytokinin과 auxin을 함께 처리했을 때 세포분열이 왕성하게 진행되는 것으로 나타났다(Fig. 5). 이러한 결과는 auxin에 의한 cytokinin 유도 효과에 기인한 것으로 생각되며, 담배의 줄기조직 배양에서 auxin 단독 첨가시 배양조직의 세포분열이 일어나지 않고 세포만 현저히 커지며 auxin이 첨가되지 않은 상태에서 cytokinin은 세포분열을 촉진하는 효과가 없었다는 Skoog와 Miller (1957)의 보고와 일치하는 결과이다.

Faiss 등 (1997)은 *ipt* 유전자의 형질전환 담배에서 극소량의 *ipt* 유전자 산물이 식물체의 형태학적인 변화를 가져올 수 있다고 하였고, Singh 등 (1992)은 뿌리에서 합성된 cytokinin이 잎의 노화가 진행됨에 따라 빠른 속도로 잎으로 이동하는 것을 관찰하였다. 이것은 cytokinin의 항상적 메카니즘에 기인한 것으로, 식물체 내의 cytokinin 농도가 조금만 변해도 이를 항상적으로 유지하려는 식물 자체의 방어 기작의 일환으로 여겨진다. 또한 Faiss 등 (1997)은 뿌리에서 여분의 cytokinin 합성은 잎의 노화지연에 영향을 미치지 못했으나, 잎에서의 여분의 cytokinin 합성은 국부적으로 노화지연에 영향을 미쳤다고 하였다. 이러한 결과를 종합하면, 예취한 페레니얼 라이그라스의 재생에 있어 뿌리에서 주로 합성되는 cytokinin이 예취라는 외부 신호에 대하여 일차적으로 반응하는 성장 조절물질일 것으로 추정된다. 따라서, 본 실험결과를 기초로 하여 예취에 일차적으로 반응하는 유전자를 클로닝하여 이것의 합성 및 발현을 조절한다면 보다 빠른 재생력을 가진 목초를 개발할 수 있을 것으로 기대된다.

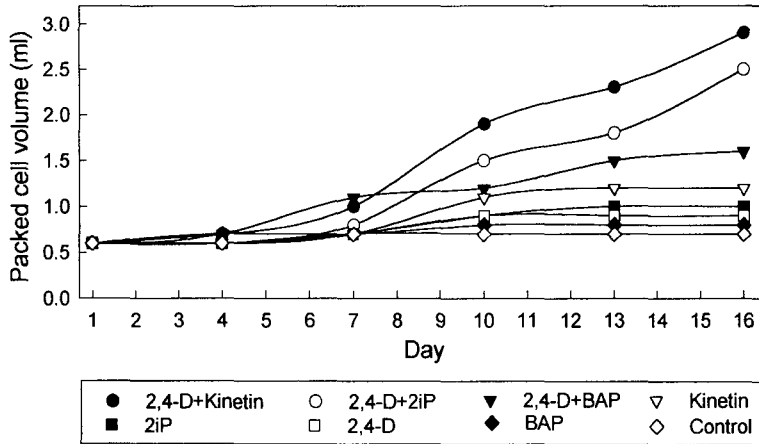


Fig. 5. Effect of cytokinin and auxin composition on the suspension cultured cell of *Lolium perenne*. cv. Reveille.

IV. 적 요

예취한 페레니얼 라이그라스의 재생에 미치는 식물 성장 조절물질의 영향을 조사한 결과, 0.1, 0.5 mg/L의 cytokinin 처리시 가장 높은 재생력을 나타내었으며, kinetin과 2iP가 BAP보다 재생에 보다 좋은 영향을 미쳤다. 2,4-D의 경우, 0.1 mg/L에서 가장 높은 재생력을 나타내었으며, GA₃은 초기 재생력은 왕성하였으나 예취 2주 이후의 생장이 느린 것으로 나타났다. Cytokinin과 auxin의 세포분열에 미치는 경합을 조사한 결과, kinetin과 2,4-D를 단독으로 처리했을 때보다 두 성장 조절물질을 함께 처리했을 때 더 좋은 재생력을 나타내었다. 페레니얼 라이그라스의 현탁 배양세포에서도 cytokinin과 auxin을 단독으로 처리했을 때보다 함께 처리했을 때 세포분열이 왕성한 것으로 나타났다.

V. 인 용 문 헌

- Bögre, L., W. Ligterink, I. Meskiene, P.J. Barker and E.H. Bors. 1997. Wounding induces the rapid and transient activation of a specific MAP kinase pathway. *The Plant Cell* 9:75-83.
- Faiss, M., J. Zalubílová, M. Strnad and T. Schmölling. 1997. Conditional transgenic expression of the *ipt* gene indicates a function for cytokinins in paracrine signaling in whole tobacco plants. *The Plant Journal*. 12(2):401-415.
- Hall, R.H. 1973. Cytokinins as a probe of developmental processes. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 24:414-445.
- Huttly, A.K. and A.L. Phillips. 1995. Gibberellin-regulated expression in oat aleurone cells of two kinases that show homology to MAP kinase and a ribosomal protein kinase. *Plant Molecular Biology* 27:1043-1052.
- Kuo, A., S. Cappelluti, M.C. Cervantes, M. Rodriguez and D.S. Bush. 1996. Okadaic acid, a protein phosphatase inhibitor, blocks calcium changes, gene expression, and cell death induced by gibberellin in wheat aleurone cells. *The Plant Cell* 8:259-269.
- Moore, T.C. 1989. *Biochemistry and physiology of plant hormones* (2nd ed.) Springer-Verlag.
- Murashige, Y. and F. Skoog. 1962. A revised

- medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant* 15:71-78.
8. Sano, H. and S. Youssefian. 1994. Light and nutritional regulation of transcripts encoding a wheat protein kinase homolog is mediated by cytokinins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 2582-2586.
 9. Singh, S., D.S. Letham and L.M.S. Palni. 1992. Cytokinin biochemistry in relation to leaf senescence. VIII. Translocation, metabolism and biosynthesis of cytokinins in relation to sequential leaf senescence of tobacco. *Physiol. Plant*. 86:398-406.
 10. Skoog, F. and C.O. Miller. 1957. Chimeric regulation of growth and organ formation in plant tissue culture *in vitro*. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 11:118-131.
 11. Smigochi, A., J. W. Neal, Jr., I. McCanna and L. Douglass. 1993. Cytokinin-mediated insect resistance in *Nicotiana* plants transformed with the *ipt* gene. *Plant Molecular biology*. 23:325-335.