

# IBA 처리에 의한 이탈리아 라이그라스 줄기 절단면에서 뿌리 분화 유도

김기용 · 최기준 · 성병렬 · 임용우 · 박근제 · 장요순 · 조진기\*

## Root Initiation in Cut Italian ryegrass Stems by Treatment of IBA

K. Y. Kim, G. J. Choi, B. R. Sung, Y. W. Rim, G. J. Park, Y. S. Jang and J. Jo\*

### Abstract

When root initiation ratio of cut Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) stems was examined in several medium conditions containing different IBA concentration, most higher root initiation ratio was confirmed at 1.0 mg/ℓ of IBA and the ratio was 37.5%. When cut Italian ryegrass stems were treated in cold chamber at 4℃ for 40 days and incubated in growth chamber at 26℃ for 1 month, the root initiation result was 0.0% at MS-0 medium, 8.3% at MS-0.5IBA medium, 37.5% at MS-1.0IBA medium, 16.7% at MS-1.5IBA medium and 12.5% at MS-2.0IBA medium.

(Key words : Italian ryegrass, Root initiation, Plant regeneration)

### I. 서 론

이탈리안 라이그라스 (*Lolium multiflorum* Lam.)는 답리작으로 이용가치가 높은 일년생 또는 월년생 사료작물로서, 수량 및 사료가치가 높고 여러 번 베어 먹일 수 있는 장점이 있으나, 추위에 견디는 힘이 약해 우리 나라에서 재배지역은 대전이 남으로 국한되는 단점이 있다. Choi 등 (2000)의 보고에 의하면, 다교잡(polycross)법으로 개발된 내한성 이탈리아 라이그라스, 화산101호는 1월 평균 기온이 -9℃ 이상이고 해발 400 m 이하인 지역에서 재배가 가능할 뿐만 아니라, 내도복성, 풍엽성 및 건물 생산성이 우수한 품종인 것으로 나타났다.

지금까지 새로운 목초 품종을 육성하는 방법으로는 주로 선발이나 합성종 생산을 통해 이루어졌지만, 근래에 유전공학을 이용한 목초 개발이 국

내의 몇몇 기관과 대학에서 연구되어지고 있다. 유전자 재조합 기술의 발달과 함께, 분류학적으로 전혀 무관한 생물의 유전자를 각종 생명체에서 발현시킬 수 있으므로, 목초 및 사료작물에서 폭넓은 응용 가능성이 기대되고 있다. 물론 유전공학 기법을 이용한 목초 개발을 위해서는 조직배양을 통한 식물체의 재분화 체계가 확립되어야 한다. 또한 전통적인 육종방법으로 목초를 육종할 경우에도 여러 계통의 영양체 보존이 매우 중요한데, 너무 춥거나 더운 기후는 영양체 보존에 많은 어려움으로 작용하고 있다. 이러한 문제를 해결하기 위해 영양체의 줄기를 잘라 냉장보관 하였다가 필요한 시기에 뿌리를 유도하는 방법이나, 아니면 켈러스 형태로 보존하다가 다시 재분화시켜 이용하는 방법들이 연구되고 있다.

목초 및 사료작물의 조직배양에 있어서, 알팔파

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

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

등의 콩과 식물에 대한 연구는 다소 발표되고 있는 실정이지만 (Kim 등, 1999a; Kim 등, 1999b; Brown 및 Atanassov, 1985; Chen 및 Thompson, 1987; Stuart 및 Strikland, 1984; Walker 및 Sato, 1981), 화본과 식물에 대한 연구는 절대적으로 부족하다. 국내에서는 Kim 등 (1998)이 오차드그라스 재분화에 대하여 보고하였고, Rim 등 (2000)이 이탈리아 라이그라스의 재분화에 대하여 보고한 적이 있다.

본 연구에서는 이탈리아 라이그라스의 영양체 보존에 역점을 두고, 이탈리아 라이그라스 줄기를 절단하여 4℃에 보관하였다가 다시 뿌리를 유도하는 연구를 수행하였다. 이에 대한 결과는 영양체의 보존이나 증식 또는 목초 형질전환 시 재분화 실험에서도 매우 유용하게 적용되리라 기대된다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 식물재료

식물재료로는 이탈리아 라이그라스 (*Lolium multiflorum* Lam.) 품종 중 국내에서 개발한 화산 101호 (Choi 등, 2000)를 공시하였다. 6월초에 생육이 양호한 개화전 식물체의 줄기부분을 2 마디씩 포함되도록 절단하여, 멸균수로 먼저 깨끗이 세척한 다음, 0.1%(v/v) Tween 80/50% Sodium Hypochlorite 용액에서 30분간 살균처리한 후, 다시 멸균수로 2회 세척하여 뿌리 유도를 위한 식물재료를 준비하였다.

### 2. 사용배지

이탈리안 라이그라스 뿌리 유도를 위한 기본배지로는 MS 배지(Murashige와 Skoog, 1962)를 이용하였으며, 표 1과 같이 IBA를 첨가하지 않은 MS-0 배지, IBA를 0.5 mg/ℓ 농도로 첨가한 MS-0.5IBA 배지, IBA를 1.0 mg/ℓ 농도로 첨가한 MS-1.0IBA 배지, IBA를 1.5 mg/ℓ 농도로 첨가한 MS-1.5IBA 배지, IBA를 2.0 mg/ℓ 농도로 첨가한 MS-2.0IBA 배지 등 5종의 배지를 제조하여 사용하였다. 모든 배지는 pH 5.8, agar 농도 0.8%로 조절하여 50 ml tube에 15~20 ml씩 넣고 멸균하였다.

Table 1. The medium conditions for root initiation in cutted Italian ryegrass stems

Medium	Added IBA (mg/ℓ)
MS-0	0
MS-0.5IBA	0.5
MS-1.0IBA	1.0
MS-1.5IBA	1.5
MS-2.0IBA	2.0

### 3. 뿌리유도 처리

포장에서 재배중인 이탈리아 라이그라스 화산 101호 (Choi 등, 2000)의 줄기부분을 6월초 (개화전 생육이 양호한 상태)에 2 마디씩 포함되도록 절단하여, 살균처리한 다음, IBA의 농도별로 제조한 배지 (표 1)에 한 처리당 20개씩 꽃아 4℃ 냉장실에 암상태로 40일간 보관하였다. 배지에 줄기부분을 꽃을 때에 아래쪽 마디가 살짝 묻히도록 꽃아 주었다. 40일간 4℃ 냉장실에서 처리한 줄기를 꺼내어 실온에 하루동안 두었다가, 26℃로 유지되는 생장실에서 배양하며 관찰하였다.

## III. 결과 및 고찰

이탈리안 라이그라스 (*Lolium multiflorum* Lam.) 품종 중 국내에서 개발한 화산 101호 (Choi 등, 2000)의 절단한 줄기를 살균처리한 다음, IBA를 첨가하지 않은 MS-0 배지, IBA를 0.5 mg/ℓ 농도로 첨가한 MS-0.5IBA 배지, IBA를 1.0 mg/ℓ 농도로 첨가한 MS-1.0IBA 배지, IBA를 1.5 mg/ℓ 농도로 첨가한 MS-1.5IBA 배지, IBA를 2.0 mg/ℓ 농도로 첨가한 MS-2.0IBA 배지 등 5종의 배지에 20개씩 꽃아서 4℃ 암상태에서 40일간 보관하였다가, 실온에 하루동안 둔 다음, 26℃로 유지되는 생장실에서 배양하며 뿌리가 유도되는 정도를 관찰하였다.

각 20개씩 처리한 것 중에서 미생물이나 곰팡이 등의 오염으로 인해 뿌리 유도를 조사할 수 없는 것이 여러 개 나타났다. MS-0 처리구에서 11개, MS-0.5IBA 처리구에서 8개, MS-1.0IBA 처리구

에서 12개, MS-1.5IBA 처리구에서 14개, MS-2.0 IBA 처리구에서 12개가 오염으로 인해 조사할 수 없었기에, 이들을 조사대상에서 제외시켰다. 화분과 목초의 줄기는 여러 겹으로 쌓인 형태이고, 줄기 속이 비어 있기 때문에, 살균처리가 제대로 되기가 대단히 어려운 문제점이 있다. 영양체의 보존을 조직배양 방법으로 확립코자 할 경우에는 가장 신경을 써야 되리라 생각된다.

4℃ 암상태에서 꺼내어 26℃로 유지되는 생장실에서 배양한지 7일째에 MS-1.0IBA 처리구에서 처음으로 뿌리 유도가 관찰되었다. 각 처리별로 뿌리 유도 정도는 생장실에서 배양한 지 1개월째에 조사하였다. 뿌리 유도의 정도는 MS-0 처리구에서 0개 (0.0%), MS-0.5IBA 처리구에서 1개 (8.3%), MS-1.0IBA 처리구에서 3개 (37.5%), MS-1.5IBA 처리구에서 1개 (16.7%), MS-2.0IBA 처리구에서 1개 (12.5%)의 뿌리유도가 확인되어, MS 배지에 1.0 mg/ℓ의 IBA를 첨가한 처리구에서 뿌리유도 정도가 37.5%로서 가장 좋았다. 따라서 이탈리아 라이그라스 줄기로부터 뿌리를 유도할 경우에는 IBA를 첨가해 주는 것이 뿌리 유도 효율을 높일 수 있는 것으로 판단되며, 1.0 mg/ℓ의 IBA를 첨가해 줄 때 뿌리 유도 효율이 가장 좋을 것으로 예상된다. 하지만, 본 실험에서 오염율이 50% 이상으로 높았을 뿐만 아니라, 처리 반복수 또한 낮았으므로 영양체 보존을 위한 실험에서나 재분화 실험 시에는 줄기의 살균처리에 좀 더 신경을 쓰고, 반복수도 더 늘리는 좋을 것으로 사료된다.

Table 2. Root initiation of cutted Italian ryegrass stems in several medium conditions.

Medium	No. of treated stems	Root initiation (%)
MS-0	9	0.0
MS-0.5IBA	12	8.3
MS-1.0IBA	8	37.5
MS-1.5IBA	6	16.7
MS-2.0IBA	8	12.5

Fig. 1은 1.0 mg/ℓ의 IBA를 첨가한 MS-1.0IBA 배지에서 뿌리가 유도되는 모습으로서, 본 실험에서 이탈리아 라이그라스의 줄기로부터 뿌리를 유

도할 수 있다는 것을 확인하였으므로, 교잡육종을 비롯한 전통 육종법으로 이탈리아 라이그라스 계통을 영양체로 보존하거나, 외래의 유용유전자를 도입하여 형질전환 이탈리아 라이그라스를 생산할 경우, 식물체 재분화 효율을 월등히 높일 수 있을 것으로 확신한다.

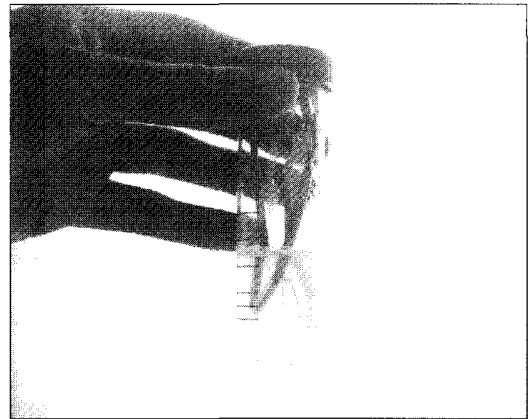


Fig. 1. Root initiation of cutted Italian ryegrass stems.

#### IV. 적 요

이탈리안 라이그라스 (*Lolium multiflorum* Lam.)의 절단한 줄기를 살균처리한 다음, IBA를 첨가한 농도별로 5종의 배지에 처리별로 각각 20개씩 절단한 줄기를 꽂은 후, 4℃ 암상태에서 40일간 보관하였다가, 실온에 하루동안 둔 다음, 26℃로 유지되는 생장실에서 배양하며 뿌리가 유도되는 정도를 관찰하였다. 생장실에서 배양한 지 1개월째에 뿌리유도 정도를 조사한 결과, MS-0 처리구에서 0.0%, MS-0.5IBA 처리구에서 8.3%, MS-1.0IBA 처리구에서 37.5%, MS-1.5IBA 처리구에서 16.7%, MS-2.0IBA 처리구에서 12.5%의 뿌리 유도를 확인하였다. MS 배지에 1.0 mg/ℓ의 IBA를 첨가한 처리구에서 뿌리 유도 정도가 37.5%로서 가장 좋았다. 따라서 이탈리아 라이그라스 줄기로부터 뿌리를 유도할 경우에는 IBA를 첨가해 주는 것이 뿌리 유도 효율을 높일 수 있는 것으로 판단되며, 1.0 mg/ℓ의 IBA를 첨가해 줄 때 뿌리 유도 효율이 가장 좋을 것으로 사료된다.

## V. 인 용 문 헌

1. Brown, D.C.W. and A. Atanassov. 1985. Role of genetic background in somatic embryogenesis in *Medicago*. Plant Cell Tissue Organ Culture 4:111-122.
2. Chen, T.H. and B.G. Thompson. 1987. Genotypic effects on somatic embryogenesis and plant regeneration from callus culture of alfalfa. Plant Cell Tissue Organ Culture 8:73-78.
3. Choi, G.J., Y.W. Rim, K.Y. Kim, S.H. Choi, B.R. Sung, W.H. Kim, D.E. Shin and Y.C. Lim. 2000. A cold-tolerant and high-yielding italian ryegrass (*Lolium multiflorum* L.) new variety "Hwasan 101". J. Korean Grassl. Sci. 20(1):1-6.
4. Kim, K.Y., Y.W. Rim, K.J. Choi, J.S. Shin, J.G. Kim and J. Jo. 1998. Rapid regeneration of plants on N6 medium from orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) calli. J. Korean Grassl. Sci. 18(3):267-272.
5. Kim, K.Y., Y.W. Rim, K.J. Choi, Y.S. Jang, W.H. Kim, S. Seo, B.H. Lee and J. Jo. 1999a. Callus formation from alfalfa (*Medicago sativa* L.) seed and plant regeneration from alfalfa calli. J. Korean Grassl. Sci. 19(1):23-30.
6. Kim, K.Y., Y.W. Rim, K.J. Choi and B.R. Sung. 1999b. Callus induction from seeds of birdsfoot trefoil and plant regeneration on BOi2Y medium. J. Korean Grassl. Sci. 19(4):303-308.
7. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plant 15:71-78.
8. Rim, Y.W., K.Y. Kim, K.J. Choi, B.R. Sung and J.S. Shin. 2000. Callus induction from seeds of italian ryegrass and plant regeneration. J. Korean Grassl. Sci. 20(1):25-30.
9. Stuart, C.A. and S.G. Strikland. 1984. Somatic embryogenesis from cell cultures of *Medicago sativa* L. Plant Sci. Lett. 34:165-174.
10. Walker, K.A. and S.J. Sato. 1981. Morphogenesis in callus tissue of *Medicago sativa*: The role of ammonium ion in somatic embryogenesis. Plant Cell Tissue Organ Culture. 1:109-121.