

Effects of Ethylene Precursor, Auxin and Methyl Jasmonate on the Aerenchyma Formation in the Primary Root of Maize (*Zea mays*)

Jongyoon Ho[†], Sohyun Maeng[†] and Woong June Park^{*}

Department of Molecular Biology, Institute of Nanosensor and Biotechnology, Dankook University, Yongin 448-701, Korea

Received December 16, 2014 / Revised January 8, 2015 / Accepted January 8, 2015

We have investigated the effects of the ethylene precursor 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC), indole-3-acetic acid (IAA) and methyl jasmonate (MeJA) on the development of aerenchyma in the primary root of maize (*Zea mays*). Because plant hormones affected the longitudinal organization of the primary root, we need an indicator to direct the positions for comparison between control and hormone-treated roots. Therefore, the zones of the maize primary root were categorized as PR25, PR50 and PR75, where each value indicates the relative position between the root tip (PR0) and the base (PR100). Aerenchyma was not observed at PR25 and PR50 and rarely found at PR75 in the cortex of control roots. The aerenchymal area at PR75 increased in the presence of the ethylene precursor ACC or a natural auxin IAA. On the other hand, MeJA differentially acted on non-submerged and submerged roots. Exogenously applied MeJA suppressed the aerenchyma formation in non-submerged roots. When the primary root was submerged, aerenchymal area expanded prominently. The submergence-induced aerenchyma formation was amplified with MeJA. Lateral root primordia have been known to inhibit aerenchymal death of surrounding cells. All the three hormones stimulating aerenchyma formation as described above did not restore the inhibition caused by lateral root primordia, suggesting that the inhibitory step regulated by lateral root primordia can be located after hormonal signaling steps.

Key words : Aerenchyma, auxin, ethylene, lateral root primordia, methyl jasmonate

서 론

옥수수 뿌리는 배(embryo)가 발달하는 도중에 이미 형성된 원뿌리(primary root)와 수평 종자뿌리(lateral-seminal root) 그리고 추후에 지상부의 마디에서 발달하는 관뿌리(crown root) 등으로 구성되며, 이들 모든 유형의 뿌리들로부터 2차적으로 곁뿌리(lateral root)가 발달한다[16, 21]. 옥수수 돌연변이체 연구에 의하면 *lrt1* (lateral rootless 1) [15]과 *rum1* (rootless with undetectable meristems 1) [34]에서는 곁뿌리 발달이 결핍되고 *rtcs* (rootless for crown and seminal root 1) [14]에서는 지상부 마디에서 발달하는 관뿌리와 다른 지상부 기원의 뿌리들이 결핍되는 등, 전체 뿌리계의 구성은 강력한 유전적 조절 하에 있는 것으로 사료된다.

그러나 뿌리계의 기본 구성이 강력한 유전적 조절 하에 있는 것과 달리, 뿌리의 최종 형태는 항상 일정하게 발달되지

않으며 식물이 처한 환경에 따라 다양한 형태로 변화하며 완성된다[30]. 뿌리의 발달은 온도의 차이에 반응하며[8, 26], 뿌리 발달의 방향은 중력에 의해 설정되고[3] 빛에 의해서도 영향을 받는다[7]. 옥수수 뿌리는 산소 부족을 경험하면 통기조직(aerenchyma)을 형성하는데[12, 13], 이를 통하여 산소 공급의 통로를 확보하는 동시에 세포의 수를 감소시킴으로써 대사 요구량을 감소시킨다[24]. 옥수수 뿌리의 통기조직 발달은 물리적인 저항에 의해서도 증가한다[13].

통기조직의 발달은 식물호르몬 에틸렌에 의하여 촉진되므로[12], 토양의 조직이 치밀하거나 침수되는 경우 뿌리 내부에 축적되는 에틸렌이 통기조직 발달을 진행시키는 것으로 이해되었다. 통기 조직 발달에 미치는 다른 호르몬들의 작용은 아직 기초적인 정보만 보고되어 있거나 조사되지 않은 채 남아 있다. 옥수수의 부정근(adventitious root)에서 인공 옥신인 1-naphthaleneacetic acid (1-NAA)는 통기조직의 발달을 촉진하는 것으로 보고되었으며, 이는 1-NAA가 에틸렌 생합성을 촉진하기 때문인 것으로 해석되었다[19]. 옥신은 뿌리의 통기조직 발달을 촉진하지만 이와 동시에 뿌리의 생장을 억제하는 등 뿌리 발달에 복합적인 조절 작용을 나타낸다[19].

옥수수 뿌리의 단면 구조는 가장 내부로부터 관속조직(vascular tissue), 내초(pericycle), 내피(endodermis), 피층(cortex), 표피(epidermis)로 구성된다[16, 21]. 통기조직은 옥수수 뿌리의 여러 조직 중에서도 주로 피층의 세포가 사멸하

[†]Authors contributed equally.

^{*}Corresponding author

Tel : +82-31-8005-3192, Fax : +82-31-8021-7201

E-mail : parkwj@dku.edu

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

며 형성된다[12]. 이제까지 통기조직의 형성에 수반되는 피층 세포의 사멸은 형태학적 변화 등 기초적인 사항들만 알려져 있을 뿐[5], 통기조직 발생을 직접적으로 유도하는 신호와 그 이후의 조절단계가 어떻게 구성되어 있는지, 그리고 그 과정에서 구체적으로 어떠한 유전자 산물들이 어떠한 기능을 수행하는지는 아직 자세히 알려지지 않았다. 피층에서 발현되는 유전자들 중 575개는 침수에 의하여 발현이 변화하고, 그 변화는 에틸렌 작용 억제제에 의하여 방지되는 것으로 보고되어 [28], 이들 유전자 중 일부가 통기조직 발달에도 관여할 가능성이 있는 것으로 사료된다.

한편, 통기조직 발달에 수반되는 세포 사멸은 발생하는 결 뿌리의 원기(primordia) 주변에서 억제되므로[19, 31], 옥수수 뿌리 내에서 통기조직의 발달은 뿌리 다른 부분의 발달 조건에 따라 상호작용하며 조절되는 것으로 사료된다.

본 연구에서는 침수(submergence)에 의해 형성된 저산소 조건에서 옥수수 원뿌리의 피층에서 통기조직이 발달하는 것을 확인하고, 통기조직 발달에 미치는 에틸렌 전구체와 옥신의 영향을 조사하였으며, 에틸렌 및 옥신에 영향을 미치는 것으로 알려진[10, 32] methyl jasmonate (MeJA)가 통기조직의 발달에 미치는 영향을 조사하였다. 그리고 이들 식물호르몬들이 옥수수 원뿌리의 통기조직 발달에 미치는 결뿌리 원기의 발달 억제작용을 상쇄할 수 있는지 알아보고자 하였다

재료 및 방법

식물재료의 준비 및 식물호르몬 처리

옥수수(*Zea mays*) 종자를 1차 증류수로 세척한 다음 새로운 1차 증류수에 담가 26°C로 유지되는 성장상에서 18시간 동안 불렸다. 증류수에 불린 옥수수 종자는 Hetz 등이 사용한 방법 [14]을 활용하여 paper roll에서 발아시키고 성장시켰다. 이를 위하여, 페이퍼타올(가로 60 cm × 세로 11.8 cm)의 상단으로부터 0.5 cm 아래 부분에 옥수수 종자를 배(embryo)가 하단을 향하도록 일렬로 배열하였으며, 이 때 종자간의 간격은 약 5 cm로 조절하였다. 옥수수를 배열한 페이퍼타올을 원통형으로 말아 처리하고자 하는 식물 호르몬이 포함된 50 ml의 배양액에 종자가 위쪽 방향에 위치하도록 수직으로 세워 26°C로 유지되는 성장상(낮 16시간, 밤 8시간)에서 3일간 배양하였다. Paper roll을 처음 준비하였을 때 배양액의 깊이는 약 1 cm였으며, 식물을 키우는 동안 배양액이 점차 흡수되어 발달하는 뿌리는 배양액 속에 침수되지 않았다.

옥신 처리는 배양액에 시험하고자 하는 농도의 indole-3-acetic acid (IAA)를 포함하여 배양하였으며 에틸렌 처리가 필요한 경우에는 에틸렌의 전구체인 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC)를 배양액에 포함하였다.

Methyl jasmonate (MeJA) 처리 시에는 페이퍼타올 대신에 한지(가로 60 cm × 세로 11.8 cm)를 이용한 paper roll system

[18]을 사용하였으며 40 ml의 배양액을 사용하였다. 침수의 효과를 관찰하기 위해서는 동일한 한지 paper roll을 170 ml의 배양액에 세움으로써 발생하는 뿌리를 배양액에 침수시켜 저산소 조건을 준비하였다. 배양액 40 ml이 이루는 깊이는 약 1.5 cm로 점차 흡수되는 반면, 배양액 170 ml의 깊이는 10 cm로서 발생하는 뿌리가 배양액에 침수되어 저산소 조건을 경험하도록 하였다. 침수되지 않는 식물들도 상대습도를 포화시켜 뿌리가 건조되지 않도록 하였다. 물에 녹지 않는 IAA와 MeJA는 100% 메탄올에 녹인 후 사용하였으며, 호르몬 최종 농도 처리 시 메탄올 농도는 0.1%로 통일하고 대조군의 배양액에도 0.1%의 메탄올을 첨가하였다.

Free-hand sectioning에 의한 현미경 관찰

통기조직을 관찰하기 위하여 옥수수 원뿌리를 free-hand sectioning 방법[25]으로 절단하여 횡단면 시료를 준비하였다. 옥수수 원뿌리는 처리 조건에 따라 길이 생장에 차이가 생기므로 비교 가능한 절단부위를 선정하기 위해 옥수수 원뿌리의 정단으로부터 가장 위쪽의 기부에 이르는 구간을 상대적 위치에 따라 몇 개의 부분으로 구분하였다. 뿌리의 정단 부분을 PR0, 가장 위 부분을 PR100으로 명명하였으며 중간이 되는 부위를 PR50이라 하였다(Fig. 1A). 이러한 비례의 원칙에 따라 PR25, PR50, PR75 부분을 구분하였으며, 각 부분에서 약 5 mm 길이로 원뿌리의 절편을 분리하고 3차 증류수에 띄워 관찰 시까지 건조되지 않도록 유지하였다. 횡단면 관찰을 위해 이들 원뿌리 절편을 얇은 면도날을 이용하여 0.5 mm 이하의 두께로 free-hand sectioning하였다. 원뿌리 미세 절편은 분리한 즉시 0.25% toluidine blue O로 1분 염색한 후 1xPBS로 옮겨 10분 이상 세척하였다. 세척이 끝나면 원뿌리 미세절편을 슬라이드 글라스 위에 점적된 증류수 방울 위로 옮겨 광학 현미경(Axiostar Plusm, Zeiss)으로 관찰하고 디지털 이미지를 촬영하였다(PowerShot G6, Canon). 기록된 옥수수 원뿌리의 횡단면 이미지에 나타난 통기조직의 면적은 ImageJ software (NIH)를 이용하여 측정하였다. 면적의 측정 결과는 산술 평균과 표준편차로 표시하였으며 유의성은 t-test를 통하여 검증하였다.

결과 및 고찰

옥수수 원뿌리의 통기조직 발달에 미치는 에틸렌의 효과

일반적으로 에틸렌은 통기조직의 형성을 촉진하는 것으로 알려져 있지만[12] 통기조직의 형성이 에틸렌과 무관한 경우도 있으므로[17], 옥수수 원뿌리에서 통기조직의 발달을 관찰하고자 하는 본 테스트 시스템에서 에틸렌이 어떠한 영향을 나타내는지 확인하였다(Fig. 1). 에틸렌은 가스 상태의 호르몬으로 그 자체를 처리하면 대기 중으로 확산되어 그 효과를 관찰하기 어려우므로 밀폐형 배양기를 사용하지 않은 본 연구

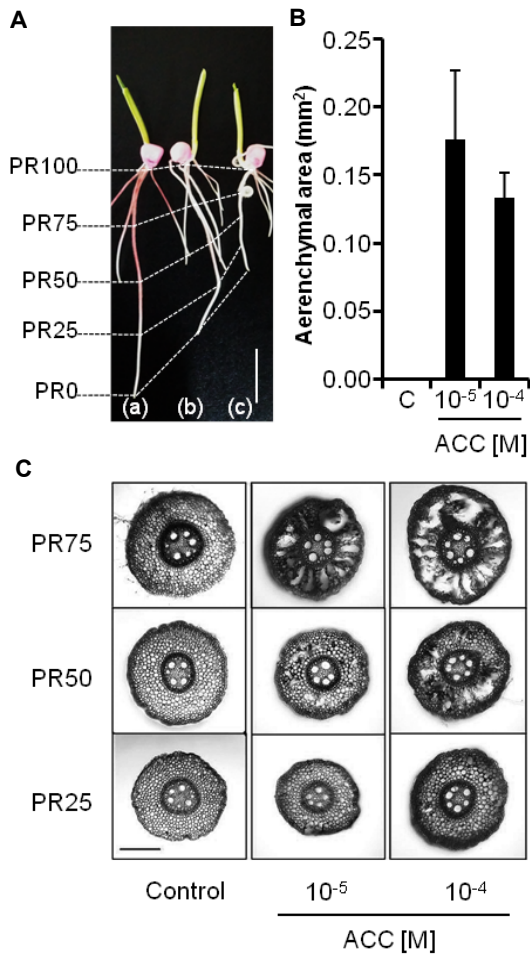


Fig. 1. Effects of the ethylene precursor, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC), on the growth and aerenchyma formation in the primary root of maize. A. The primary root of control (a), 10⁵ M ACC (b) and 10⁴ M ACC-treated (c) maize. The tip and the base are defined as PR0 and PR100, respectively. Terms of PR25, PR50 and PR75 indicate the relative positions between PR0 and PR100. B. The area occupied by aerenchyma at PR75 in the cross section of the primary root. Data are presented as mean with standard deviations. C. Cross sections of the primary roots of control, 10⁵ M ACC and 10⁴ M ACC-treated maize. Size bars indicate 10 mm (A) or 250 μm (C).

에서는 ACC oxidase에 의하여 에틸렌으로 전환되는 전구체인[33] 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC)를 사용하였다. 옥수수 원뿌리에 10⁵ M 또는 10⁴ M의 ACC를 처리하였을 때, 옥수수 원뿌리의 길이는 control에 비하여 농도 의존적으로 감소하였다(Fig. 1A). ACC에 의한 원뿌리 길이 감소로 인하여 종축 방향의 구성이 수축되었으므로, 원뿌리의 정단으로부터 일정한 절대 거리에 위치한 통기조직은 단순 비교가 불가능하였다. 그러므로 ACC에 의한 원뿌리의 통기조직 변화를 비교하고자 할 때 원뿌리의 종축상에서 상대적인 위치를 정하여 동일한 부위의 통기조직을 비교할 필요가 있었다. 이

를 위하여 원뿌리 정단을 PR0으로, 상단을 PR100으로 각각 정의한 후 그 사이의 상대적 위치를 비례로 표시하였다(Fig. 1A). Gunawardena 등은 발아 후 매일 일정한 시간에 옥수수 원뿌리의 가장 위쪽 부분을 활성탄으로 표시하였는데 control 뿌리와, 산소 부족에 의해 길이가 감소된 원뿌리에서 표시된 각 부분간 길이의 절대치는 달라도 비례치가 서로 동일하였다[9]. 이는 본 실험에서 사용한 방법처럼 비례 구간에 따른 비교가 타당한 것임을 뒷받침하는 것이다.

Control 뿌리의 PR25, PR50 부위에서는 통기조직이 관찰되지 않았고 PR75 부위에서는 통기조직이 발견되기도 하였으나 그것이 차지하는 면적은 매우 작았다(Fig. 1C). 통기조직이 관찰되지 않는 PR25에서 10⁵ M ACC의 효과는 뚜렷하게 나타나지 않았고, 10⁴ M ACC의 존재 하에서는 일부 통기조직이 발견되었다. PR50 부위에서는 ACC 처리에 의한 통기조직의 발달이 더 뚜렷하게 관찰되었고 10⁵ M ACC의 효과보다 10⁴ M ACC의 효과가 더 크게 나타나는 농도 의존성을 보였다(Fig. 1C). PR75부위에서는 ACC 처리에 의하여 통기조직 발달이 현저하게 증가하였으며, 원뿌리 단면에서 관찰되는 통기조직의 면적을 측정된 결과 control에서는 0.006±0.012 mm²였고 10⁵ M ACC 존재 하에서는 0.176±0.050 mm², 10⁴ M ACC 존재 하에서는 0.133±0.018 mm²로 기록되어 ACC 처리에 의하여 통기조직의 면적이 약 20배 이상 증가한 것으로 나타났다(Fig. 1B). ACC 농도를 10⁵ M에서 10⁴ M로 증가시켰을 때 PR75부위의 통기조직 면적 변화는 유의성이 인정되지 않았으므로(p>0.05), PR75 부위에서는 ACC 농도 10⁵ M 이상에서 이미 에틸렌의 효과가 포화된 것으로 해석되었다. 이상의 결과들로부터 본 연구에 사용된 옥수수 원뿌리에서는 보고된 바와 같이[12], 에틸렌이 통기조직의 발달을 촉진한다는 것을 확인 하였으며, 통기조직의 발달을 정량적으로 평가하기에 PR75 부분이 적합하다는 사실을 발견하였다.

IAA에 의한 통기조직의 발달 변화

인공 옥신인 1-naphthaleneacetic acid (1-NAA)를 처리하면 옥수수 원뿌리에서 통기조직이 감소한다는 보고가 있었으나[22], 이는 옥신에 의한 뿌리의 생장 감소를 적용하지 않은 채 단순 비교하여 얻은 결론일 뿐, 뿌리의 생장 감소를 적용하여 비교부위를 선정해 측정했을 때 1-NAA는 통기조직의 발달을 촉진한다는 재검토 결과도 발표되었다[19]. 옥신은 에틸렌 생합성을 유도하므로[20] 옥신이 통기조직의 발달을 촉진한다는 가설은 예측 가능한 것이었지만, 본 테스트 시스템에서도 동일한 결과가 얻어지는지 확인하고자 하였다. 이를 위하여 천연 옥신인 indole-3-acetic acid (IAA)를 처리하여 뿌리의 생장 변화와 통기조직의 발달을 동시에 관찰하였다(Fig. 2). 옥수수 원뿌리에 10⁷ M 및 10⁶ M의 IAA를 처리했을 때 옥수수 뿌리의 길이 생장이 농도에 비례하여 감소했으므로(Fig. 2A), 3일간 옥수수를 배양한 본 실험에서도 인공 옥신인 1-NAA가 아

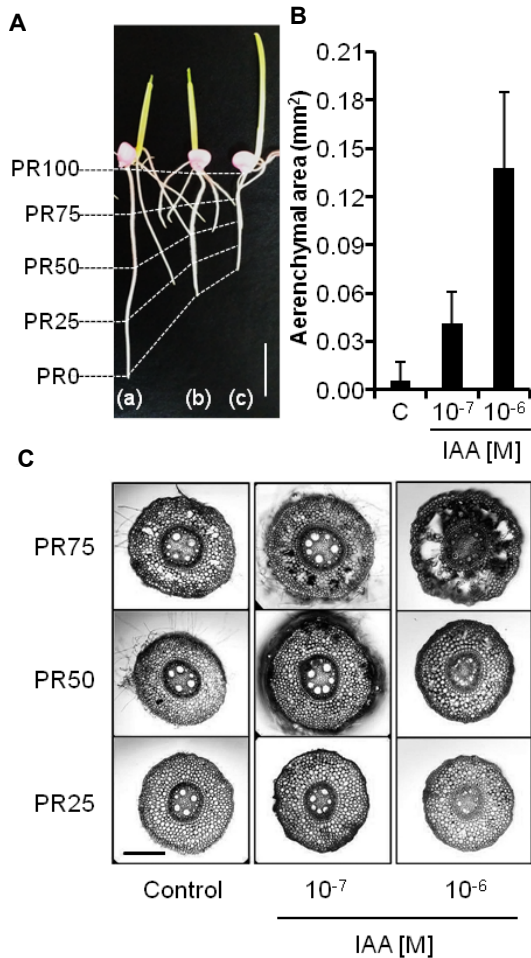


Fig. 2. Influence of indole-3-acetic acid (IAA) on the elongation and aerenchyma development. A. The shape of the primary roots of control (a) and of others in the presence of 10⁻⁷ M (b) or 10⁻⁶ M (c) IAA after three days. B. The aerenchymal area at PR75 in the cross section of the primary root. Data are shown as mean with standard deviations. C. Cross sections of the control and 10⁻⁷ M or 10⁻⁶ M IAA-treated primary roots. Size bars show 10 mm (A) or 250 μm (C).

닌, 천연 옥신인 IAA를 사용해도 산화에 의하여 그 효과가 모두 소실되지 않고 유효한 작용을 나타낸다는 점을 확인하였다. PR25부위에서 10⁻⁷ M과 10⁻⁶ M의 IAA에 의한 통기조직의 발달 촉진은 뚜렷하지 않았으므로(Fig. 2C), 뿌리의 신장과 PR25 부위의 통기조직 발달은 10⁻⁷ M과 10⁻⁶ M의 IAA에 대하여 서로 다른 감수성을 나타내는 것으로 확인되었다. 반면 PR75 부분에서는 10⁻⁷ M과 10⁻⁶ M IAA 농도에 비례하여 통기조직이 차지하는 면적이 control에 비하여 각각 6배($p < 0.05$), 22배($p < 0.01$) 증가하였으므로(Fig. 2B) PR75 부분에서 옥신은 농도에 비례하여 통기조직을 촉진하는 것으로 나타났다. 뿌리의 성장 변화를 반영할 수 있도록 비교 부위를 상대적 위치로 정의한 본 연구 시스템에서 얻어진 결과는 천연 옥신인 IAA가

통기조직의 발달을 촉진한다는 것이었다. 그러므로 본 연구 결과에 의하면 통기조직의 발달에 미치는 옥신의 영향을 조사할 때, 옥신에 의한 뿌리의 성장 억제 효과를 함께 고려하여 비교할 부위를 적절히 선택해야 한다는 지적[19]은 타당한 것으로 인정되었다.

통기조직 발달에서 환경에 따른 methyl jasmonate (MeJA) 효과의 차등성

Jasmonates는 일반적으로 초식동물이나 병원균 등에 의해 유발되는 생물학적 스트레스에 대한 저항성 반응에 관여하는 것으로 알려져 있다[4]. 그 중 MeJA는 옥신 반응성을 변화시켜 벼 자엽초의 굴중성 반응에 관여하며[10], 복숭아 열매의 숙성 과정에서는 에틸렌 생합성과 옥신 반응성 및 수송을 저해하는 것으로 보고되었다[32]. 옥수수 원뿌리에서는 MeJA 처리에 의하여 aldehyde oxidase의 활성과 IAA 함량이 증가하였으므로 [11], MeJA가 통기조직 발달과정에 어떠한 영향을 미치는지 조사하고자 하였다.

Paper roll system에서 옥수수 뿌리를 침수시키지 않고 키웠을 때나, 침수시키고 키웠을 때 모두 MeJA는 옥수수 원뿌리의 신장에 별다른 영향을 미치지 않았다(Fig. 3A). 침수시키지 않은 옥수수 원뿌리의 PR75 부분에서 통기조직이 관찰되었는데(Fig. 3D), 통기조직의 면적은 control과 비교하였을 때 10⁻⁷ M 및 10⁻⁶ M MeJA에 의해 농도 의존적으로 감소하는 것처럼 보였으나 10⁻⁷ M의 MeJA 효과는 유의하지 않았으며 10⁻⁶ M MeJA에 의한 48%의 감소만 통계적 유의성($p < 0.05$)이 인정되었다(Fig. 3B).

옥수수 원뿌리를 침수시켰을 때에는 침수되지 않은 원뿌리에 비하여 PR75 부분에 존재하는 통기조직의 면적이 약 2배 증가하였으며($p < 0.001$; Fig. 3B, C, D 그리고 E), 침수조건하에서 측정된 이 통기조직의 면적은 10⁻⁶ M MeJA에 의하여 다시 0.4배 증가하였다($p < 0.05$; Fig. 3C). PR50에 존재하는 통기조직도 10⁻⁷ M 및 10⁻⁶ M MeJA에 의하여 증가하는 것으로 관찰되었다(Fig. 3E).

옥수수 원뿌리가 침수되지 않았을 때와 침수되었을 때 MeJA의 효과가 다르게 나타나는 이유는 아직 이해되지 않았다. Jasmonates의 신호 전달 과정은 에틸렌 등 다른 호르몬들의 신호전달과정과 중간 단계를 공유하거나 상호작용 하는 것으로 알려져 있다[4, 27]. 그러므로 침수조건에서 변화하는 에틸렌 생합성 및 반응성, 옥신과의 상호작용 모드 변화, 기타 다른 식물호르몬 및 저산소 조건에 따른 방어작용 등이 통기조직 발달에 미치는 MeJA의 반응에 영향을 미칠 가능성을 탐색할 필요가 있을 것이다.

에틸렌, 옥신, MeJA의 효과와 결뿌리 원기에 의한 통기조직 발달 억제

통기조직 형성에 수반되는 세포사멸은 새로 발달하는 결뿌

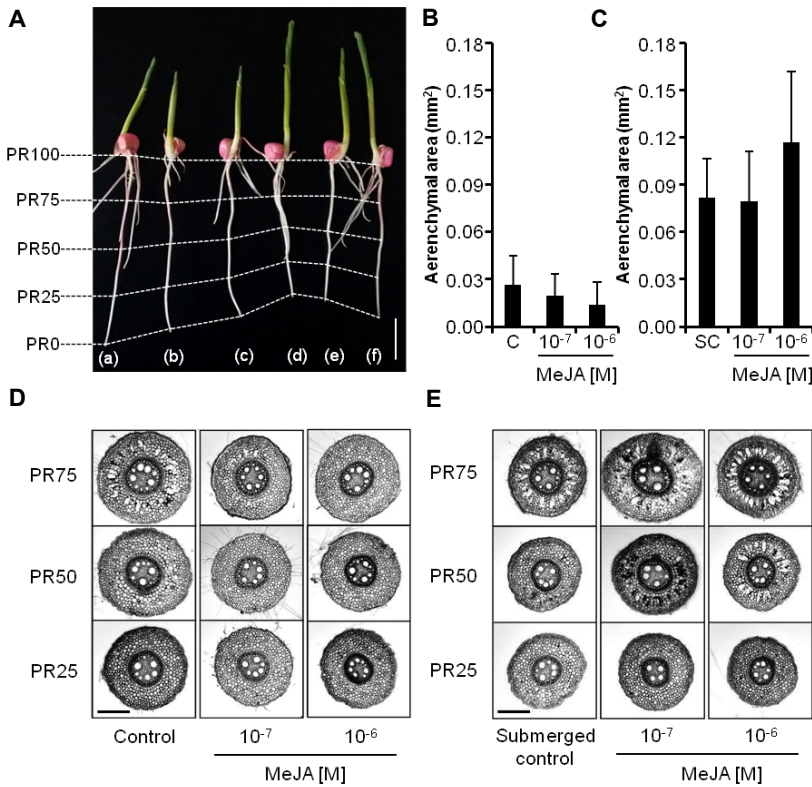


Fig. 3. Differential effects of methyl jasmonate (MeJA) on the root growth and aerenchyma formation under non-submerged and submerged conditions. A. Appearance of the primary roots under non-submerged (a, b, c) and submerged (d, e, f) conditions. Control (a), 10^{-7} M (b) and 10^{-6} M (c) MeJA-treated roots, submerged control (d), 10^{-7} M (e) and 10^{-6} M (f) MeJA-treated roots under submerged conditions are shown. Aerenchymal area at PR75 under non-submerged (B) and submerged (C) are presented with standard deviations. Cross sections of non-submerged (D) and submerged (E) primary roots. Size bars indicate 10 mm (A) or 250 μ m (D, E).

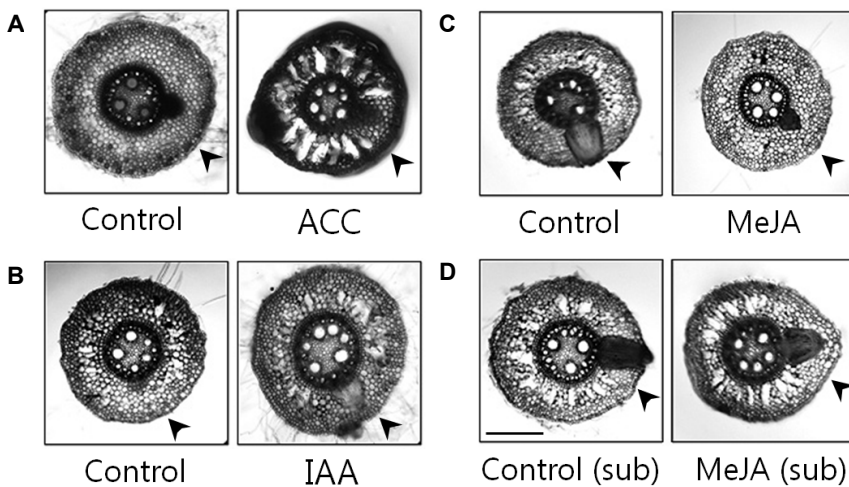


Fig. 4. Cross sections showing lateral root primordia (LRP) and their surrounding cortical cells. A. Control and 10^{-4} M ACC-treated roots. B. Control and 10^{-6} M IAA-treated roots. C. Non-submerged control and 10^{-6} M MeJA-treated roots. D. Submerged (sub) control and 10^{-6} M MeJA-treated submerged roots. Size bar shows 250 μ m and arrow heads indicate the location of LRP.

리 원기의 주변에서 억제되는 것으로 보고되었다[2, 19, 31]. 이에 본 연구에서는 결뿌리 원기에 의하여 억제된 통기조직 발달이 에틸렌, 옥신, MeJA에 의하여 회복되는지 확인하고자 하였다. 침수되지 않은 control 뿌리의 내피로부터 발달하는 결뿌리 원기 주변에서는 통기조직의 발달 억제가 관찰되었으며, 에틸렌 전구체와 옥신에 의하여 피층의 세포가 사멸하며 통기조직이 형성되는 조건에서도 결뿌리 원기 주변의 세포들은 원형 그대로 남아 있었다(Fig. 4A 그리고 B). 침수되지 않은 조건에서 결뿌리 원기 주변의 피층세포들은 MeJA 유무에 관계 없이 유지되었으며(Fig. 4C), MeJA가 통기조직의 발달을 촉진하는 침수 조건에서도 결뿌리 원기 주변에는 통기조직이

형성되지 않고 피층세포들이 남아 있었다(Fig. 4D). 침수에 의한 저산소 조건이 감지되면 여러 식물호르몬들의 합성과 상호작용이 이루어지고 이어 세포 사멸이 이루어지면서 통기조직이 형성되는 것으로 알려져 있다[1, 6]. 본 실험에서 얻은 결과들은(Fig. 4) 통기조직 형성과 관련된 일련의 반응 중, 결뿌리 원기가 억제하는 과정이 에틸렌, 옥신, MeJA가 작용한 이후의 단계일 가능성을 제시하는 것이다(Fig. 5). 이제까지 이해된 바에 따르면 식물호르몬들의 작용 이후에 세포 사멸이 이루어지고[6], 최종적으로 세포벽 성분이 분해되어 사라질 것으로 생각된다[12, 29]. 결뿌리 원기에서 유래하는 억제 물질 또는 다른 미지의 영향력이 에틸렌, 옥신, jasmonates 작용을 동시

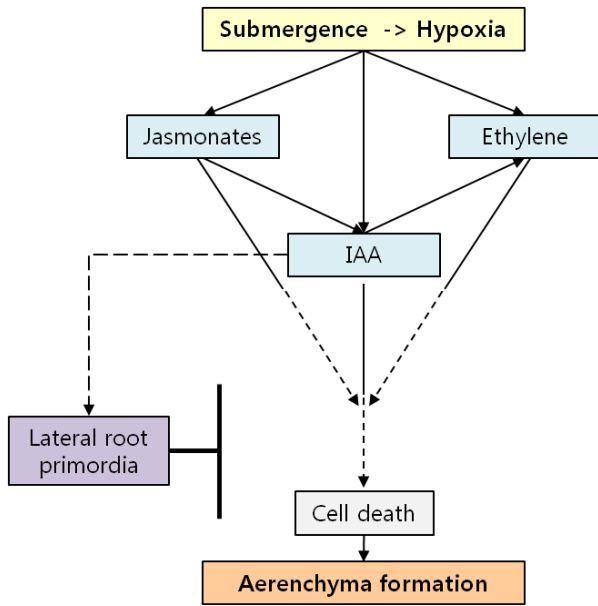


Fig. 5. Schematic illustration showing the action network among plant hormones and lateral root primordia during the formation of aerenchyma in the primary root of maize. Hypoxia caused by submergence has been known to increase ethylene, auxin and jasmonates [1, 12]. Jasmonates can stimulate the synthesis of auxin [11], which induces ethylene biosynthesis. Auxin promotes the formation of lateral root primordia [23] that inhibits aerenchyma formation, consisting of a complex regulatory network.

에 억제한다고 가정하여도 Fig. 4와 동일한 관찰 결과를 기대할 수 있으나, 결뿌리 원기가 서로 다른 3종의 식물호르몬 작용을 직접적으로 동시에 억제할 가능성 보다는 세 가지 호르몬 신호의 흐름이 통합된 이후 어느 과정을 차단하여 억제효과를 나타낼 가능성이 더 높을 것으로 사료된다. 옥신의 경우 본 연구결과에 의하면 통기조직의 발달을 촉진하지만, 이와 동시에 통기조직의 발달을 억제하는 결뿌리 원기의 발달을 촉진하는 것으로 알려져 있으므로 [23] 그 작용은 매우 복잡적으로 조절될 것으로 예상된다. 발달하는 결뿌리에 의한 통기조직 발달 억제가 어떠한 기전에 의하여 이루어지는지 아직 이해되지 않고 있으므로 그 메커니즘에 관한 추가 연구가 필요한 실정이다.

감사의 글

본 연구는 수도권대학 특성화 사업(CK-II), 단국대학교 캠퍼스 바이오 글로벌 전문인력양성 사업의 일환으로 수행되었음.

References

1. Arbona, V. and Gómez-Cadenas, A. 2008. Hormonal modulation of citrus response to flooding. *J. Plant Growth Regul.*

27, 241-250.
 2. Armstrong, W. 1971. Oxygen diffusion from the roots of rice grown under non-waterlogged conditions. *Physiol. Plant.* **24**, 242-247.
 3. Baldwin, K. L., Strohm, A. K. and Masson, P. H. 2013. Gravity sensing and signal transduction in vascular plant primary roots. *Am. J. Bot.* **100**, 126-142.
 4. Ballaré, C. L. 2011. Jasmonate-induced defenses: a tale of intelligence, collaborators and rascals. *Trends Plant Sci.* **16**, 249-257.
 5. Campbell, R. and Drew, M. C. 1983. Electron microscopy of gas space (aerenchyma) formation in adventitious roots of *Zea mays L.* subjected to oxygen shortage. *Planta* **157**, 350-357.
 6. Drew, M. C., He, C. J. and Morgan, P. W. 2000. Programmed cell death and aerenchyma formation in roots. *Trends Plant Sci.* **5**, 123-127.
 7. Feldman, L. J. and Briggs, W. R. 1987. Light-regulated gravitropism in seedling roots of maize. *Plant Physiol.* **83**, 241-243.
 8. Fortin, M. C. and Poff, K. L. 1991. Characterization of thermotropism in primary roots of maize: dependence on temperature and temperature gradient, and interaction with gravitropism. *Planta* **184**, 410-414.
 9. Gunawardena, A. H. L. A. N., Pearce, D. M., Jackson, M. B., Hawes, C. R. and Evans, D. E. 2001. Characterisation of programmed cell death during aerenchyma formation induced by ethylene or hypoxia in roots of maize (*Zea mays L.*). *Planta* **212**, 205-214.
 10. Gutjahr, C., Riemann, M., Müller, A., Düchting, P., Weiler, E. W. and Nick, P. 2005. Cholodny-Went revisited: a role for jasmonate in gravitropism of rice coleoptiles. *Planta* **222**, 575-585.
 11. Han, D., Oh, Y. and Park, W. J. 2015. Methyl jasmonate increases activities of aldehyde oxidase and auxin contents in maize (*Zea mays*). *J. Anim. Plant Sci.* **25**, (in press).
 12. He, C. J., Morgan, P. W. and Drew, M. C. 1996. Transduction of ethylene signal is required for cell death and lysis in the root cortex of maize during aerenchyma formation induced by hypoxia. *Plant Physiol.* **112**, 463-472.
 13. He, C., Finlayson, S. A., Drew, M. C., Jordan, W. R. and Morgan, P. W. 1996. Ethylene biosynthesis during aerenchyma formation in roots of maize subjected to mechanical impedance and hypoxia. *Plant Physiol.* **112**, 1679-1685.
 14. Hetz, W., Hochholdinger, F., Schwall, M. and Feix, G. 1996. Isolation and characterization of *rtcs*, a maize mutant deficient in the formation of nodal roots. *Plant J.* **10**, 845-857.
 15. Hochholdinger, F. and Feix, G. 1998. Early post-embryonic root formation is specifically affected in the maize mutant *lrt1*. *Plant J.* **16**, 247-255.
 16. Hochholdinger, F., Park, W. J., Sauer, M. and Woll, K. 2004. From weeds to crops: genetic analysis of root development in cereals. *Trends Plant Sci.* **9**, 42-48.
 17. Jackson, M. B., Fenning, T. M. and Jenkins, W. 1985. Aerenchyma (gas-space) formation in adventitious roots of rice (*Oryza sativa L.*) is not controlled by ethylene or small partial pressures of oxygen. *J. Exp. Bot.* **36**, 1566-1572.
 18. Jung, S., Hwang, I., Hochholdinger, F., Oh, Y. J., Lee, Y.,

- Eun, M. Y. and Park, W. J. 2005. Progress in the genetic studies on root development in *Oryza sativa*. *JNBT* **2**, 66-70.
19. Justin, S. H. F. W. and Armstrong, W. 1991. A reassessment of the influence of NAA on aerenchyma formation in maize roots. *New Phytol.* **117**, 607-618.
20. Kang, B. G., Newcomb, W. and Burg, S. P. 1971. Mechanism of auxin-induced ethylene production. *Plant Physiol.* **47**, 504-509.
21. Kiesselbach, T. A. 1999. The structure and reproduction of corn. pp. 16-25, 50th Anniversary edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
22. Konings, H. and de Wolf, A. 1984. Promotion and inhibition by plant growth regulators of aerenchyma formation in seedling roots of *Zea mays*. *Physiol. Plant* **60**, 309-314.
23. Lavenus, J., Goh, T., Roberts, I., Guyomarc'h, S., Lucas, M., De Smet, I., Fukaki, H., Beeckman, T., Bennett, M. and Laplaze, L. 2013. Lateral root development in *Arabidopsis*: fifty shades of auxin. *Trends Plant Sci.* **18**, 450-458.
24. Lenochová, Z., Soukup, A. and Votrubová, O. 2009. Aerenchyma formation in maize roots. *Biol Plant* **53**, 263-270.
25. Lux, A., Morita, S., Abe, J. and Ito, K. 2005. An improved method for clearing and staining free-hand sections and whole-mount samples. *Ann. Bot.* **96**, 989-996.
26. Pahlavanian, A. M. and Silk, W. K. 1988. Effect of temperature on spatial and temporal aspects of growth in the primary maize root. *Plant Physiol.* **87**, 529-532.
27. Pérez, A. C. and Goossens, A. 2013. Jasmonate signaling: a copycat of auxin signalling? *Plant Cell. Environ.* **36**, 2071-2084.
28. Rajhi, I., Yamauchi, T., Takahashi, H., Nishiuchi, S., Shiono, K., Watanabe, R., Mliki, A., Nagamura, Y., Tsutsumi, N., Nishizawa, N. K. and Nakazono, M. 2011. Identification of genes expressed in maize root cortical cells during lysigenous aerenchyma formation using laser microdissection and microarray analyses. *New Phytol.* **190**, 351-368.
29. Saab, I. N. and Sachs, M. M. 1996. A flooding-induced xyloglucan *endo*-transglycosylase homolog in maize is responsive to ethylene and associated with aerenchyma. *Plant Physiol.* **112**, 385-391.
30. Schiefelbein, J. W. and Benfey, P. N. 1991. The development of plant roots: new approaches to underground problems. *Plant Cell* **3**, 1147-1154.
31. Smirnov, N. and Crawford, R. M. M. 1983. Variation in the structure and response to flooding of root aerenchyma in some wetland plants. *Ann. Bot.* **51**, 237-249.
32. Soto, A., Ruiz, K. B., Ziosi, V., Costa, G. and Torrigiani, P. 2012. Ethylene and auxin biosynthesis and signaling are impaired by methyl jasmonate leading to a transient slowing down of ripening in peach fruit. *J. Plant Physiol.* **169**, 1858-1865.
33. Wang, K. L. C., Li, H. and Ecker, J. R. 2002. Ethylene biosynthesis and signaling networks. *Plant Cell (Suppl.)* **S131-151**.
34. Woll, K., Borsuk, L. A., Stransky, H., Nettleton, D., Schnable, P. S. and Hochholdinger, F. 2005. Isolation, characterization and pericycle-specific transcriptome analyses of the novel maize (*Zea mays* L.) lateral and seminal root initiation mutant *rum1*. *Plant Physiol.* **139**, 1255-1267.

초록 : 옥수수(*Zea mays*) 원뿌리의 통기조직 발달에 미치는 에틸렌 전구체, 옥신, 메틸자스몬산의 효과

호종윤[†] · 맹소현[†] · 박응준*

(단국대학교 분자생물학과 및 나노센서바이오텍연구소)

옥수수(*Zea mays*) 원뿌리에서 에틸렌 전구체인 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC), indole-3-acetic acid (IAA) 그리고 methyl jasmonate (MeJA)가 통기조직의 발달에 미치는 영향을 조사하였다. 식물호르몬 처리는 원뿌리의 종단 구성에 영향을 미치므로 control과 호르몬 처리된 뿌리의 비교 가능한 위치를 정할 필요가 있었다. 이를 위하여 원뿌리의 정단을 PR0, 기부를 PR100이라 정의하고 이 두 지점 사이를 길이에 비례하여 PR25, PR50, PR75로 구분하였다. 대조군 뿌리의 PR25와 PR50 부분에서는 통기조직이 관찰되지 않았으며 PR75 부분에서는 드물게 통기조직이 나타나기도 하였다. PR75 부위의 통기조직 면적은 ACC 또는 IAA가 존재할 때 증가하였다. 반면, MeJA는 옥수수 원뿌리가 침수되지 않았을 때와 침수되었을 때 서로 다른 차등 효과를 나타내었다. 뿌리가 침수되지 않았을 때 MeJA는 통기조직의 발달을 억제하였다. 반면, 뿌리를 침수 시키면 통기조직의 면적이 증가하는데 그 면적은 MeJA에 의하여 더욱 증가되었다. 한편, 결뿌리 원기는 그 주변 피층세포의 통기조직 발달에 수반되는 세포사멸을 억제하는 것으로 알려져 있었다. 결뿌리 원기에 의해 억제되는 통기조직의 발달은 위에 기술한 바와 같이 통기조직의 발달을 촉진하는 세 가지 호르몬들에 의해서도 회복되지 않았다. 이는 발달하는 결뿌리 원기가 억제하는 통기조직 발달 조절의 세부 단계는 식물호르몬들이 작용한 이후 단계일 가능성을 보여주는 것이다.