

수수 지베렐린 함량의 일중변화에 미치는 일장효과

李仁中* · 金吉雄*

Effect of Photoperiod on Diurnal Change of Gibberellins Levels in Sorghum

In-Jung Lee* and Kil-Ung Kim*

ABSTRACT : The endogenous gibberellin(GA) levels of sorghum grown under different photoperiodic conditions were measured by GC-MS-SIM. The effect of photoperiods on the diurnal GA levels of the 13-hydroxylation pathway was investigated by sampling every 6 h for 1 day. Levels of GA₁₂, GA₅₃, GA₁₉, GA₂₀, GA₁ and GA₈ were not constant throughout sampling times but rather rhythmic in productions. Wild-type seedlings grown under short photoperiod contained more GA₂₀ and GA₁ than those of long photoperiod. Although plant height of *phyB-1* (phytochrome B mutant) was taller than wild-type under all photoperiods tested, GA₁ concentration of wild-type grown under 10 h photoperiod was higher than that of *phyB-1* grown under the same photoperiod. These results are compatible with the idea that phytochrome B changed seedling responsiveness to GAs.

Key words : Gibberellin, Photoperiod, Phytochrome.

환경 변화에 대한 식물 반응의 대부분은 식물호르몬의 변화와 관련이 있으며 그 결과 환경의 변화 또는 자극이 생리적인 반응으로 나타나게 된다. 식물호르몬 지베렐린의 생합성 또는 대사가 광(light)에 의해서 영향을 받는다는 것은 잘 알려진 사실이다^{7,13,14,15}. 시금치를 포함한 많은 장일 식물은 장일조건하에서 보다 많은 양의 지베렐린을 생합성한다^{13,14,15}. 즉 장일조건하에서 이들 장일 식물은 많은 양의 지베렐린을 생성하며 그 결과 개화가 유도된다고 보고하였다. 이와 같은 광에 의한 지베렐린 함량의 조절은 광수용색소의 하나인 피토크롬에 의한 광의 양, 광의 질, 광의 유무, 광 조사 시간 및 주야의 전환 등에 대한 인식의 결과로 추정된다.

단일식물인 수수의 개화와 관련하여 지베렐린의 역할은 많이 보고되었으며 이들 가운데 하나인 *ma₃^R* 식물체(현재 *phyB-1*로 명명되고 있는 피토크롬B 돌연변이종)는 야생종에 비해 급속한 지상부 건물 축적을 보일 뿐 아니라 키가 크고 분얼이 적으며 연한 잎 색깔을 보이고 있어, 야생종에 지베렐린을 외부에서 공급하였을 때와 유사한 표현형을 나타내고 있다^{3,11,12}). 야생종에 대한 *ma₃^R* 식물체의 가장 큰 특성은 일장에 거의 영향을 받지 않고 조기 개화한다는 점이다¹¹). 12시간 일장하에서 자란 이들 식물체의 지베렐린 함량을 조사한 결과, *ma₃^R* 식물체가 야생종보다 2~5배 많은 양의 생리활성 지베렐린(GA₁)을 함유하고 있는 것으로 나타나 *ma₃^R* 유전자는 지베렐린의 생합성

*慶北大學校 農科大學 農學科(Dept. of Agronomy, Coll. of Agric., Kyungpook Nat'l Univ., Taegu 702-701, Korea)

(97. 5. 20 接受)

을 조절하는 역할을 하는 것으로 추측하였다¹⁾. 그러나 지베렐린의 생합성은 파이토크롬에 의해 조절된다고 알려져 있으며, 또한 ma_3^R 식물체가 보이는 표현형은 *Arabidopsis*를 포함한 다른 식물체의 파이토크롬 B 돌연변이체와 아주 유사하여 파이토크롬 변이의 가능성을 제기하였다. 뿐만 아니라 파이토크롬에 의해서 조절된다고 알려진 anthocyanin의 합성은 ma_3^R 식물체에서 지베렐린에 의해 조절되지 않고 파이토크롬에 의해 조절됨이 밝혀져 ma_3^R 식물체가 나타내는 표현형의 일차적인 원인은 파이토크롬이며 파이토크롬의 변화가 지베렐린의 대사를 변형시켜 그와 같은 표현형을 나타내게 되었다는 결론에 이르렀다⁴⁾. 그 후 Childs et al.²⁾은 면역학적인 방법으로 ma_3^R 식물체는 빛에 비교적 안정한 123KD의 type II 파이토크롬이 결여되었다는 것을 밝혔으며, 최근 이들 식물체는 파이토크롬 B 유전자 활성부위의 하나의 염기 결손으로 인한 돌연변이의 결과로 생리적 불활성의 파이토크롬 B가 합성되는 것으로 밝혀졌다³⁾. 따라서, 식물개화에 관여하는 유전자의 하나가(ma_3^R) 파이토크롬 B라는 것과 단일식물인 수수의 개화에 지베렐린이 관련됨을 입증하였다.

*Brassica*의 *ein*과 마찬가지로 수수의 파이토크롬 B 돌연변이종인 ma_3^R 은 야생종보다 많은 양의 생리 활성 지베렐린을 함유하고 있어 파이토크롬에 의한 지베렐린 과다 생합성 변이종으로 규정하였으나^{1,5)}, 최근 Foster & Morgan은 12시간 일장하에서 지베렐린 함량의 일일변화를 조사 보고하여 이들 변이종과 야생종 간의 차이는 단순한 지베렐린의 양에 의한 차이가 아니라 생합성패턴의 차이에 의한 것이라 결론지었다⁶⁾. 한편 Talon et al.¹³⁾과 Zeevaart & Gage는¹⁵⁾ 장일식물인 상추를 이용한 일장실험을 통해 장일조건이 이들 장일식물의 지베렐린 생합성을 촉진시켰다고 보고한 바 있으며, Wu et al.¹⁴⁾은 지베렐린의 생합성에 관련된 효소의 유전자 발현이 장일하에서 촉진된다고 보고하였다. 따라서 본 실험은 단자엽식물인 수수의 파이토크롬 B 변이종과 야생종을 이용하여 장일 또는 단일조건하에서 지베렐린 생합성의 일중리듬(diurnal rhythm)이 어떻게 변화하

며, 그리고 단일조건이 이들 단일식물의 지베렐린 함량에 어떠한 영향을 미치는지를 조사하였다. 아울러 수수의 파이토크롬 B 변이종(*phyB-1*)이 보이는 급속한 지상부 생육 증가현상이 지베렐린 과다생성에 의한 것인지 또는 지베렐린에 대한 반응 정도의 차이에 의한 것인지를 구명하고자 본 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

본 실험은 단일식물인 수수(*Sorghum bicolor* L.)의 파이토크롬 B 돌연변이종 *phyB-1*(ma_3^R)과 순계 야생종 (Ma_3)을 시료로 사용하여 실시하였다. 수수 포트 재배를 위해 개발된 혼합토양¹⁾을 사용하여 직경 19cm, 깊이 14cm의 포트에 충분한 양의 종자를 파종한 후 슈음질하여 생육이 균일한 14 개체씩 재배하였다. 발아 후 4일 마다 Hoagland 용액을 170ml 씩 공급하였으며 필요시 증류수로 부족량의 수분을 공급하였다. 식물은 포트표면에서 $250\sim 300\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (400~800nm)의 조도가 유지되는 성장상에서 재배하였다. 10, 14, 18시간의 일장조건하에서 식물체를 재배하였으며 이때의 온도는 주간 31℃와 야간 21℃이었다. 성장상간의 차이에 따른 미세기후의 변화에서 기인될 수 있는 실험오차를 최소화하기 위하여 각 일장 조건하에서 야생종과 변이종을 같은 성장상하에서 재배하였다. 모든 일장하에서 빛의 조사는 오전 8시(08:00)에 시작하였다.

파종후 14일째 빛의 조사(light on; 08:00)시작을 기점으로 매 6시간마다 하루 동안 시료를 채취하였다. 성장상의 문이 열려있는 시간을 최소한 줄이기 위해 신속히 포트를 성장상 밖으로 옮긴 후 시료를 빠른 시간내(2~3분)에 수확하여 액체 질소로 동결하였다. 또한 시료 채취시간이 야간(light off)일 경우는 파이토크롬에 전혀 영향을 미치지 않는 녹색광(green safe light) 손전등을 이용하여 포트를 성장상 밖으로 옮긴 후 녹색광하에서 시료를 수확하였다. 시료 채취시 식물체의 뿌리와 줄기 경계부분과 맨상단의 잎귀까지를 절단하여 줄기부분만을 분석시료로 사용하였다. 수

확한 모든 시료는 동결건조한 다음 초엽과 2, 3엽을 제거한 후 -20°C 냉장고에 보관하면서 지베렐린 분석시료로 사용하였다.

지베렐린의 추출은 냉동건조하여 마쇄한 시료에 내부표준물질로 25ng의 $^2\text{H}_2$ GA₁, $^2\text{H}_2$ GA₈, $^2\text{H}_2$ GA₁₂, $^2\text{H}_2$ GA₁₉, $^2\text{H}_2$ GA₂₀, $^2\text{H}_2$ GA₄₄, $^2\text{H}_2$ GA₅₃와 1500Bq [1,2- ^3H]GA₁와 [1,2- ^3H]GA₄를 더하였다. 즉 MeOH 추출후 C₁₈, celite, SiO₂ 및 PVPP column으로 분리된 조 지베렐린을 HPLC로 분획하여 GC-MS-SIM을 이용하여 내부표준물질 첨가법으로 정량하였다⁹⁾.

결과 및 고찰

단자엽식물인 수수는 벼를 포함한 많은 고등식물과 유사한 13-hydroxylation경로(*ent*-kaurene→GA₁₂→GA₅₃→GA₁₉→GA₂₀→GA₁→GA₈)로 지베렐린을 생합성한다¹⁾. 수수의 파이토크롬 B 변이종(*phyB-1*)과 야생종을 이용하여 여러 일장 조건 하에서 지베렐린 생합성의 일중리듬(*diurnal rhythm*)이 어떻게 변화하며, 또한 단일조건이 이들 단일식물의 특정한 지베렐린 함량에 어떠한 영향을 미치는지를 조사한 결과 모든 일장조건 하에서 지베렐린의 함량은 하루 동안 일정한 수준

을 유지하는 것이 아니라 시료 채취 시간에 따라 변화하고 있음을 보여주었다.

그림 1은 10, 14, 18시간의 일장하에서 각 시간별 GA₁₂ 함량을 나타낸 것으로 빛 조사(light on) 후 6시간 뒤인 14:00을 제외한 모든 조사시점에서 변이종은 야생종보다 많은 양의 GA₁₂를 함유하고 있는 것으로 나타났다. 이들 수수의 야생종과 변이종간의 GA₁₂ 함량 차이는 10시간 일장하에서 자란 시료를 20:00(light off 후 2시간 뒤)에 채취하였을 때 가장 적었으며, 18시간 일장하에서 자란 식물체를 20:00에 분석하였을 때에 가장 크게 나타났다.

그림 2는 GA₅₃의 함량 변화를 나타낸 것으로 야생종이 모든 조사시점에서 변이종보다 높은 양의 GA₅₃을 함유하고 있는 것으로 나타났다. 14시간 일장하의 광의 소등(light off) 전후(20:00)에서 이들 변이종과 야생종의 GA₅₃ 함량 차이가 가장 적게 나타났다. 이들 간 GA₅₃ 함량 차이는 단일조건(10시간 일장)하가 장일조건보다 현저하였으며, 특히 10시간 일장하의 광조사 시작과 끝시점(일출 또는 일몰 전후)에서 가장 크게 나타났다.

수수는 다른 지베렐린과 비교하여 상대적으로 많은 양의 GA₁₉를 함유하고 있었으며(그림 3) 야생종이 변이종보다 전 조사시점에서 모두 높은

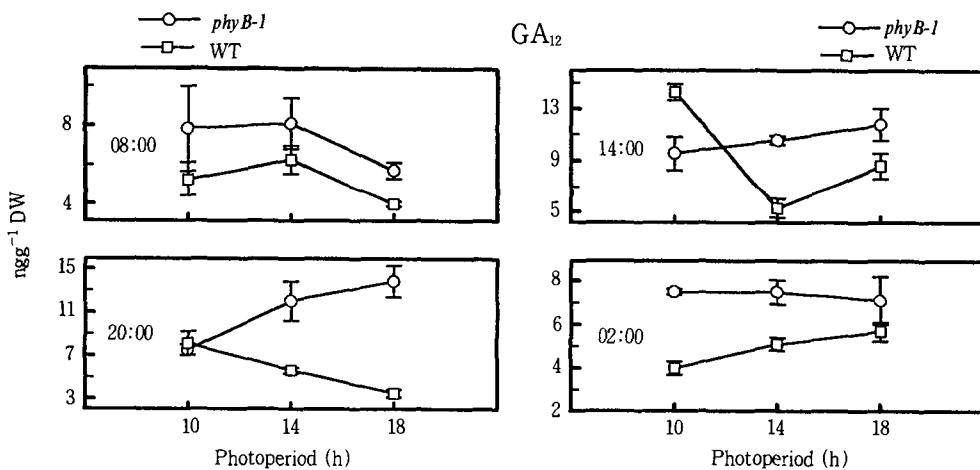


Fig. 1. Variation of endogenous GA₁₂ in shoots of wild type and *phyB-1* sorghum seedlings under different photoperiodic conditions. GA levels were measured by GC-MS-SIM. The data are the average of 2 samples.

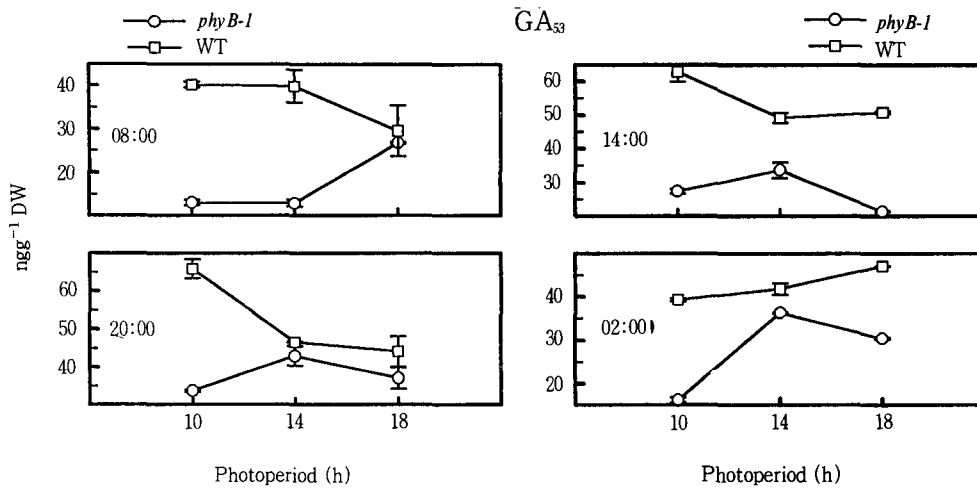


Fig. 2. Variation of endogenous GA₅₃ in shoots of wild type and *phyB-1* sorghum seedlings under different photoperiodic conditions. GA levels were measured by GC-MS-SIM. The data are the average of 2 samples.

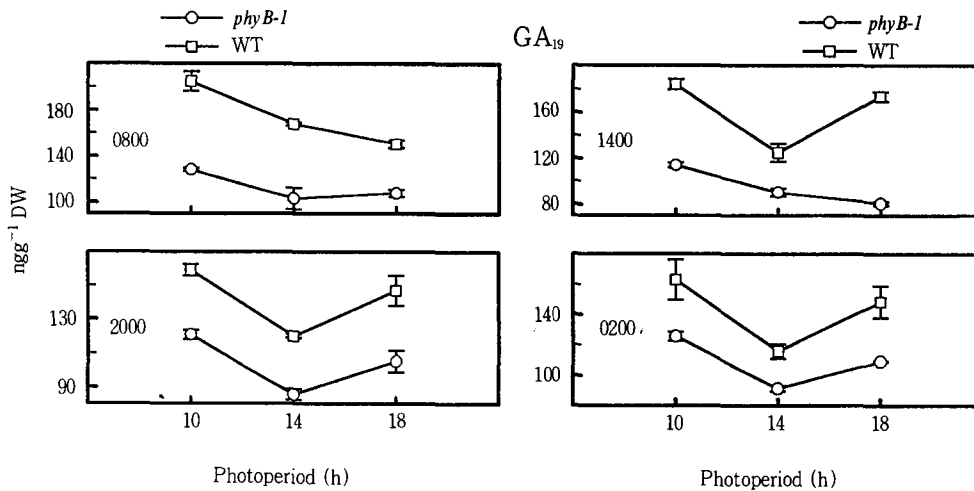


Fig. 3. Variation of endogenous GA₁₉ in shoots of wild type and *phyB-1* sorghum seedlings under different photoperiodic conditions. GA levels were measured by GC-MS-SIM. The data are the average of 2 samples.

양의 GA₁₉를 함유하고 있었다. 그러나 단일 또는 장일조건에 따른 GA₁₉ 함량의 변화에는 뚜렷한 일관성이 없는 것으로 나타났다.

그림 4는 GA₂₀ 함량의 일중 변화를 나타낸 것으로 변이종이 야생종보다 한 조사지점(10시간 일장하의 14:00)을 제외하고는 많은 양의 GA₂₀을 함유하고 있었다. 이들 변이종과 야생종간의

GA₂₀ 함량차이는 10시간 일장하의 08:00에서 가장 크게 나타났으며, 10시간하의 20:00에서 가장 적게 나타났다. 단일식물인 수수 야생종은 단일조건에서 장일보다 많은 양의 GA₂₀을 생합성하는 것으로 나타나 일장에 따른 GA₂₀ 함량변화를 뚜렷히 보여주었다. 이와 같은 결과는 Talon et al.¹³⁾과 Zeevaart & Gage가¹⁵⁾ 장일식물인 상추를

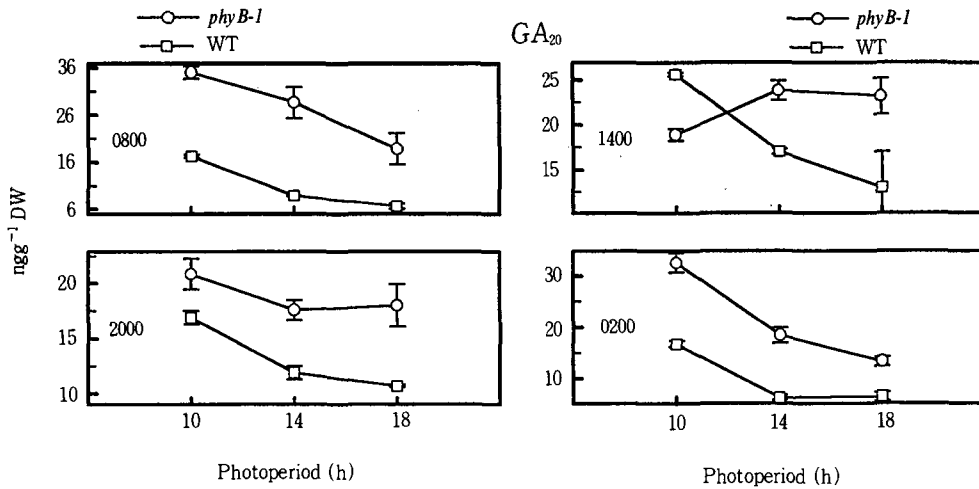


Fig. 4. Variation of endogenous GA₂₀ in shoots of wild type and *phyB-1* sorghum seedlings under different photoperiodic conditions. GA levels were measured by GC-MS-SIM. The data are the average of 2 samples.

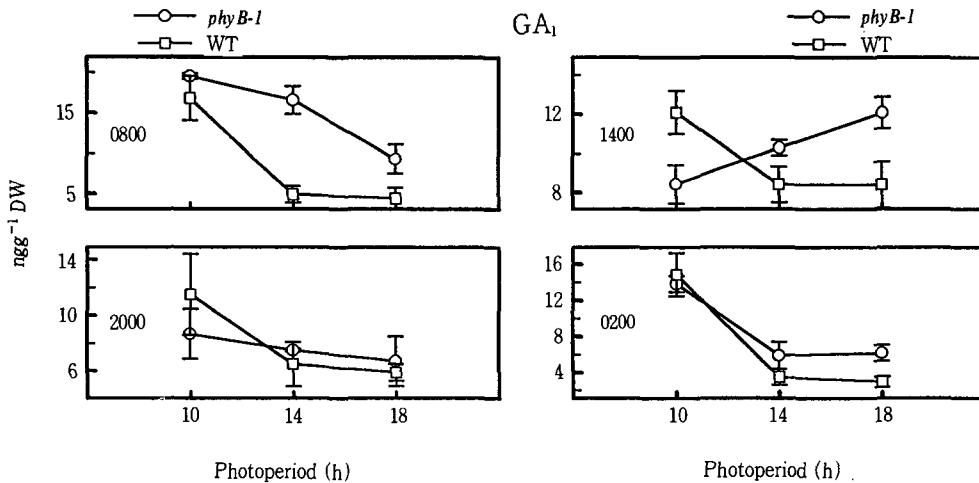


Fig. 5. Variation of endogenous GA₁ in shoots of wild type and *phyB-1* sorghum seedlings under different photoperiodic conditions. GA levels were measured by GC-MS-SIM. The data are the average of 2 samples.

이용한 일장실험을 통하여 장일조건이 이들 장일 식물의 *ent*-kaurene과 GA₂₀의 생합성을 촉진시켰다고 보고한 것과, Wu et al.¹⁴⁾이 gibberellin 20-oxidase mRNA의 발현이 장일조건에서 촉진되었다고 보고한 것과 유사하였다. 그러나 변이종은 시료 채취시간에 따라 서로 다른 경향을 나타내어 파이토크롬 B가 일장 인식과정에서 지배

린의 대사를 조절함을 나타내었다.

일장에 따른 GA₁의 일중변화를 살펴보면(그림 5) 변이종의 GA₁ 함량이 야생종보다 장일조건하에서는 높았으나 단일조건하에서는 낮거나 비슷하였다. Beall et al.¹⁾은 하루중 단 한 시점(오전)의 시료를 채취 분석하여 수수 파이토크롬 B 변이종인 *phyB-1*가 야생종보다 생리활성이 높은 GA₁

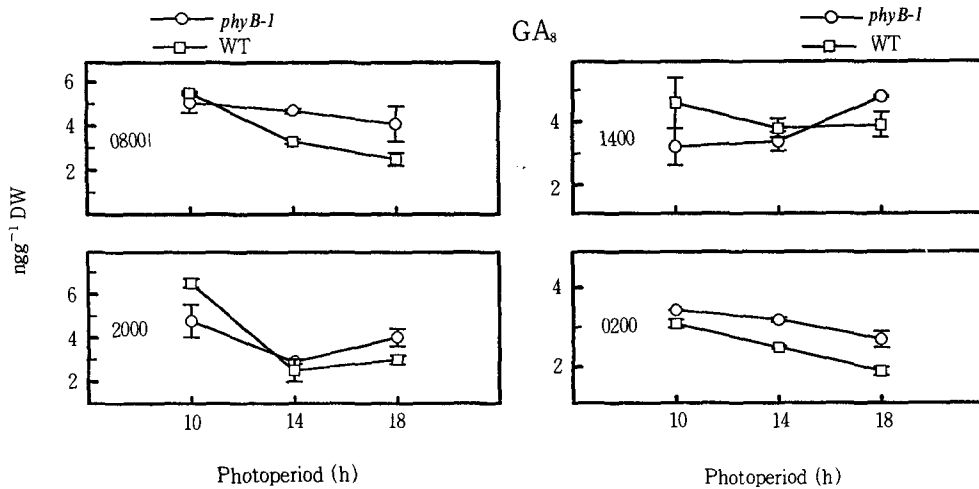


Fig. 6. Variation of endogenous GA₈ in shoots of wild type and *phyB-1* sorghum seedlings under different photoperiodic conditions. GA levels were measured by GC-MS-SIM. The data are the average of 2 samples.

을 2~3배 많이 함유하고 있다고 보고하였으나, Foster & Morgan⁶⁾의 결과와 본 실험의 결과는 수수의 *phyB-1* 변이종을 지베렐린 특히 GA₁의 과다 생성 변이종으로 규정하는 것은 재고해야 할 것으로 판단하였다. 모든 일장조건하에서 변이종의 초장과 절간장이 야생종보다 컸으며, 특히 장일조건하에서는 그 차이가 더욱 크게 나타나 수수의 절간 신장에 크게 관여하는 것으로 알려진 GA₁의 함량은 모든 일장 조건과 시료 채취 시기에 관계없이 변이종에서 높을 것으로 추측하였으나 본 실험의 결과는 이와 일치하지 않았다. 즉 10시간 일장조건 하에서 자란 야생종의 GA₁ 함량은 14:00와 20:00 채취 시료에서 변이종보다 높게 나타나 식물체의 초장이나 절간장과 GA₁ 함량은 다소 무관함을 보였다. 이는 이들 변이종과 야생종의 표현형(초장과 절간장)의 차이가 단순한 GA₁ 함량의 차이에 의한 것이 아니라 GA₁에 대한 이들 간의 반응성의 차이에 의한 것임을 시사하였다. 단일식물인 수수의 GA₁ 함량은 GA₂₀과 유사하게 야생종의 경우 모든 조사 시점에서 단일조건일수록 증가하는 경향을 보였으며, 변이종의 경우도 14:00 시료 채취시의 감소경향을 제외하고는 모두 증가하는 경향을 보였다. GA₁의 불활성화 지베렐린인 GA₈ 함량의 변화는 전구체인

GA₁의 경향과 유사함을 보여 GA₁의 불활성화 반응은 일장에 의해 크게 영향을 받지 않음을 시사하였다.

이와 같이 단일식물인 수수의 GA₂₀과 GA₁ 함량에 미치는 일장효과는 장일식물인 상추와 유사하였다. 즉 장일식물인 상추는 장일조건에서, 단일식물인 수수는 단일조건에서 많은 양의 GA₂₀과 GA₁을 생합성하였다. 그러나 상추와 수수의 지베렐린 생합성경로(13-hydroxylation pathway)는 동일함에도 불구하고 어떠한 기작으로 이들 식물이 서로 반대되는 신호(input; 장일 또는 단일)를 동일한 생리 생화학반응(output; 지베렐린 생합성 촉진)으로 인식하는지는 밝혀지지 않아 차후의 연구분야로 사료된다. 따라서 식물호르몬의 효과와 관련한 호르몬의 함량 분석시에는 이와 같은 리듬현상을 고려하여야 할 것으로 사료되었다.

적 요

단일식물인 수수의 파이토크롬 B 돌연변이종(*phyB-1*)과 순계 야생종을 이용하여 *phyB-1* 변이종의 표현형에 미치는 지베렐린의 역할을 구명하고, 단일조건이 단일식물의 지베렐린 생합성 또

는 대사를 어떻게 조절하는지를 조사한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 지베렐린의 생합성 양은 하루 동안 일정한 수준을 유지하는 것이 아니라 주기를 가지고 변화하는 경향을 나타내어 식물호르몬 지베렐린은 리듬을 가지고 생합성되는 것으로 나타났다.
2. 단일식물인 수수의 야생종은 단일조건에서 보다 많은 양의 GA₂₀과 GA₃을 함유하고 있어 단일조건은 이들 지베렐린의 생합성을 촉진하는 것으로 나타났다.
3. 지베렐린의 함량은 같은 일장조건하에서도 시료채취 시기에 따라 큰 차이를 보여 파이토크롬B 변이종과 야생종간의 일관성있는 고유한 차이는 나타나지 않아 이들이 보이는 표현형의 차이는 지베렐린의 절대량의 차이보다는 지베렐린에 대한 반응의 차이에 의한 것으로 나타났다.

LITERATURE CITED

1. Beall F.D, Morgan P.W, Mander L.N, Miller F.R and Babb K.H. 1991. Genetic regulation of development in *Sorghum bicolor*. V. The *ma₃^R* allele results in gibberellin enrichment. *Plant Physiol.* 95: 116-125.
2. Childs K.L, Cordonnier-Pratt M.M, Pratt L.H and Morgan P.W. 1992. Genetic regulation of development in *Sorghum bicolor*. VII. *ma₃^R* flowering mutant lacks a phytochrome that predominates in green tissue. *Plant Physiol.* 99: 765-770.
3. _____, Miller F.R, Cordonnier-Pratt M, Pratt L.H, Morgan P.W and Mullet J.E. 1997. The *Sorghum bicolor* photoperiod sensitive gene, *Ma₃*, encodes a phytochrome B. *Plant Physiol.* 113: 611-619.
4. _____, Pratt L.H and Morgan P.W. 1991. Genetic regulation of development in *Sorghum bicolor*. VI. The *ma₃^R* allele results in abnormal phytochrome physiology. *Plant Physiol.* 97: 714-719.
5. Devlin P.F, Rood S.B, Sormers D.E, Quail P.H. and Whitelam G.C. 1992. Photophysiology of the elongated internode (*ein*) mutant of *Brassica rapa*. *ein* mutant lacks a detectable phytochrome B-like polypeptide. *Plant Physiol.* 100: 1442-1447.
6. Foster K.R and Morgan P.W. 1995. Genetic regulation of development in *Sorghum bicolor*. IX. The *ma₃^R* allele disrupts diurnal control of gibberellin biosynthesis. *Plant Physiol.* 108: 337-343.
7. Gilmour S.J, Zeevaart J.A.D, Schwenen L and Graebe J.E. 1986. Gibberellin metabolism in cell-free extracts from spinach leaves in relation to photoperiod. *Plant Physiol.* 82:190-195.
8. Kendrick R.E. and Kronenberg G.H.M. 1994. Photomorphogenesis in plants. Kluwer Academic, Dordrecht, The Netherlands.
9. Lee I.J, Kim K.U and Morgan P.W. 1997. Effect of gibberellin and phytochrome B on internode elongation in *Sorghum bicolor* L. *Korean J. of Crop Sci.* (submitted) 42:548-555
10. Lopez-Juez E, Kobayashi M, Sakurai A, Kamiya Y and Kendrick R.E. 1995. Phytochrome, gibberellin, and hypocotyl growth. A study using the cucumber (*Cucumis sativus* L.) long hypocotyl mutant. *Plant Physiol.* 107: 131-140.
11. Pao C.I and Morgan P.W. 1986a. Genetic regulation of development in *Sorghum bicolor*. I. Role of the maturity genes. *Plant Physiol.* 82: 575-580.
12. _____ and _____. 1986b. Genetic regu-

- lation of development in *Sorghum bicolor*. II. Effect of the *ma₃^R* allele mimicked by GA₃. Plant Physiol. 82: 581-584.
13. Talon M.J, Zeevaart A.D and Gage D.A. 1991. Identification of gibberellins in spinach and effect of light and darkness on their levels. Plant Physiol. 97: 665-672.
 14. Wu K, Li L, Gage D.A. and Zeevaart J.D. A. 1996. Molecular cloning and photo-period-regulated expression of gibberellin 20-oxidase from the long-day plant spinach. Plant Physiol. 110: 547-554.
 15. Zeevaart J.A.D and Gage D.A. 1993. *ent*-Kaurene biosynthesis is enhanced by long photoperiod in the long-day plant *Spinacia oleracea* L. and *Agrostemma githago* L. Plant Physiol. 101: 25-29.