

# 애기장대 (*Arabidopsis thaliana*) 잎 절편에서의 기관형성 특히 Naphthaleneacetic acid의 농도에 따른 부정근, 모용 및 캘러스 형성과 Determination Time

한태진\* · 김인현 · 김송림 · 김준철<sup>1</sup> · 임창진<sup>1</sup> · 진창덕<sup>1</sup>

한림대학교 생명과학부, <sup>1</sup>강원대학교 생명과학부

## Organ Formation—The Formation of Adventitious Roots, Trichomes and Calli from Leaf Segments of *Arabidopsis thaliana* by Naphthaleneacetic acid Concentrations, and Their Determination times

HAN, Tae Jin\* · KIM, In Hyeon · KIM, Song Lim · KIM, Joon Chul<sup>1</sup> · LIM, Chang Jin<sup>1</sup> · JIN, Chang Duck<sup>1</sup>

Division of Biology, Hallym University, Chucheon, 200-702, Korea

<sup>1</sup>Division of Biology, Kangwon National University, Chuncheon, 200-701, Korea

**ABSTRACT** The effect of auxins and cytokinins on the formation of adventitious shoots, adventitious roots, trichomes, and calli in MS basal medium was investigated in leaf segments from ecotype Columbia of *Arabidopsis thaliana*. Adventitious shoots, adventitious roots, trichome, and calli were formed from leaf segments by a wide range of hormone concentrations and combinations. Adventitious shoots were formed respectively in treatment with 0.1 mg/L IAA and 10 mg/L BA. Adventitious roots were formed in treatments with low concentration of IAA and NAA. Trichomes and calli were formed by increasing the concentration of IAA and NAA. The optimal combination was 0.5 mg/L NAA and 0.1 mg/L BA for trichome formation, 10 mg/L NAA and 10 mg/L BA for calli formation. When NAA was treated alone in culture media, adventitious roots were formed in 0.1 mg/L, trichomes were formed in 2.0 mg/L, and calli were formed in 10 mg/L. Inductive time for formation of adventitious roots, trichomes and calli were determined at 6, 7 and 18 days respectively by periodical transfer of leaf segments from NAA containing medium to NAA free medium.

**Key words:** Adventitious shoot, IAA, kinetin, BA, 2,4-D

### 서 론

애기장대 (*Arabidopsis thaliana*)는 십자화과에 속하는 식물로서 식물의 초파리라고 불리우는데, 게놈의 크기가 70,000 kbp 정도로 초파리의 155,000 kbp의 반 이하이며, 대장균의

15배이나 담배의 1/22에 불과한 크기를 가지고 있다 (Leutwiler et al. 1984). 또한 반복적인 DNA 염기 서열이 거의 없어서 유전자 지도 작성이 용이하며 (Pruitt and Meyerowitz 1986), 돌연변이의 유발과 선택이 용이하고 세대가 짧아 (Meyerowitz 1989) 분자생물학적 재료로 널리 사용되고 있다.

Conner 등 (1990)은 애기장대에서 auxin에 의하여 조절되는 유전자의 발현 기구를 구명하고자 하였는데, 특히 기관 분화에 관한 연구에는 식물생장조절물질에 의하여 묘조나 부정

\*Corresponding author. Tel 0361-240-1436

E-mail tjhan@sun.hallym.ac.kr

근 등이 결정되는 시간 구멍이 중요하다. 이때 조직이 탈분화하여 기관 형성이 결정되는 데 필요한 시간을 *determination time*이라고 하는데 (Christianson and Warnick 1983), 이러한 *determination time*은 식물생장조절물질이나 식물의 종류에 따라 상이하거나 정확한 경계가 불분명하다. *Determination time*은 묘조나 부정근 형성배지에 조직 절편을 치상하였다가 일정 기간이 지난 후 식물생장조절물질이 없는 배지에 옮겨 배양하면서 기관이 형성되는 식물생장조절물질 처리 기간을 조사하여 결정하는데, 이는 기관 형성배지에 조직 절편을 치상하면 조직은 기관 형성배지 내에서 일정 기간이 경과되어 탈분화된 후 기관 형성이 결정되기 때문이다 (Walker et al. 1979). 담배 수조직에서의 묘조, 캘러스 및 부정근의 형성은 auxin과 cytokinin의 함량비에 의하여 결정된다고 하였는데 (Skog and Miller 1957), 본 실험에서 사용한 애기장대 생태종인 'Columbia' 잎 절편의 경우 묘조 형성은 매우 저조한 반면 (Feldman and Marks 1986) 부정근의 경우는 NAA를 단독 처리한 경우에도 저농도에서 효과적으로 유도된다. 더욱이 일반적인 식물들이 각기 다른 식물생장조절물질 조성에서 부정근과 캘러스만 형성되는 것과는 달리 NAA 농도 증가에 따라 부정근과 캘러스가 형성되고 그 중간 농도에서는 모용이 형성되는 특징을 나타낸다.

분화에 관련한 식물생장조절물질에 의하여 발현되는 유전자 분리에 대한 노력은 계속되고 있으나 아직 뚜렷한 결과가 없으며, 더욱이 단일 식물생장조절물질의 농도나 처리 시간에 따른 기관 분화와 관련된 분자생물학적 연구는 매우 미흡한데, 이는 분화에 관련된 적절한 실험계가 미흡한 데도 기인한다. 그러므로 본 실험에 사용한 애기장대 생태종인 'Columbia'의 잎 절편은 묘조 유도는 어렵지만 NAA 단독 처리에 의하여 농도 증가에 따라 부정근, 모용 및 캘러스가 순차적으로 형성되므로 부정근과 모용 및 캘러스 형성에 관여하는 auxin의 역할을 구명하는 데 매우 적절한 재료이다.

이에 따라 본 실험은 애기장대 잎 절편의 묘조 또는 부정근 형성 양상이 분화 관련 연구에 적절한 실험계가 될 것인가를 조사하기 위하여 auxin과 cytokinin의 종류와 농도에 따른 분화 양상을 조사한 다음, 그 결과를 토대로 NAA 단독 처리에 의하여 부정근, 모용 및 캘러스가 단독으로 형성되는 보다 세밀한 NAA 농도를 조사하였다. 또한 NAA 농도와 처리 시간이 부정근, 모용 및 캘러스 형성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 각 NAA 농도에서의 부정근, 모용 및 캘러스 형성에 필요한 *determination time*과 NAA의 농도 차에 따른 NAA 처리 시간이 형태 변화에 미치는 영향을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 발아 및 유식물 육성

애기장대 (*Arabidopsis thaliana* L. Heynh)의 야생형인 'Columbia'의 종자를 70% (v/v) ethanol과 5% (v/v) NaOCl 용액에서 10분간 살균 처리한 후 멸균수로 5회 수세하였다. 종자는 식물생장조절물질이 첨가되지 않은 MS 고형배지에 20 mL 씩 들어 있는 100 mL flask에 치상하여  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , 명소에서 3~4주 육성한 후, 잎 절편을 각각 실험구로 설정한 MS 고체배지에 치상하여 암소에서 배양하였다.

### Auxin과 Cytokinin 영향 조사

Auxin과 cytokinin이 기관형성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 3~4주 된 애기장대 유식물의 잎을 각각 MS 기본 배지에 auxin은 2,4-D, IAA 및 NAA를, cytokinin은 kinetin과 BA를 0~10 mg/L 범위에서 단독 또는 혼용 처리하여 조성한 MS 고체배지에 치상하여  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , 명소에서 4주간 배양하면서 묘조, 부정근, 모용 및 캘러스 형성을 경시적으로 관찰하였으며, 모든 실험은 Petri dish (8×15 mm) 당 4~5개의 잎 절편을 치상한 실험을 5회 반복하여 시행하였다. 또한 NAA 농도에 따라 부정근, 모용 및 캘러스가 형성되는 것에 주목, 0~10 mg/L의 농도 범위를 더욱 세분하여 부정근과 모용 및 캘러스가 뚜렷하게 차별화되어 나타나는 NAA 농도를 조사하였다.

### Determination Time 조사

NAA 영향 조사 실험을 근거로 부정근 형성 농도인 0.1 mg/L, 모용 형성 농도인 2.0 mg/L, 캘러스 형성 농도인 10 mg/L NAA로 조성한 MS 고형 배지 각각에 잎 절편을 치상하여 부정근 형성은 0.5일, 모용은 1일, 그리고 캘러스의 경우는 2일 간격으로 식물생장조절물질을 첨가하지 않은 배지에 옮겨 각각의 총배양시간이 4주가 되도록 하여 부정근, 모용 및 캘러스 형성이 결정되는 *determination time*과 분화 양상을 조사하였다.

## 결 과

### Auxin과 Cytokinin의 영향

묘조의 경우는 Petri dish 당 치상한 잎 절편에서 묘조가 형성된 절편의 백분율로 나타낼 수 있었고, 부정근은 잎 절편으로부터 직접 유기된 1 cm 이상의 부정근 수를 나타낼 수 있었으나 모용과 캘러스는 처리구에 따라 증가 양상으로 나타났기 때문에 형성 빈도를 조사하기는 어려웠다.

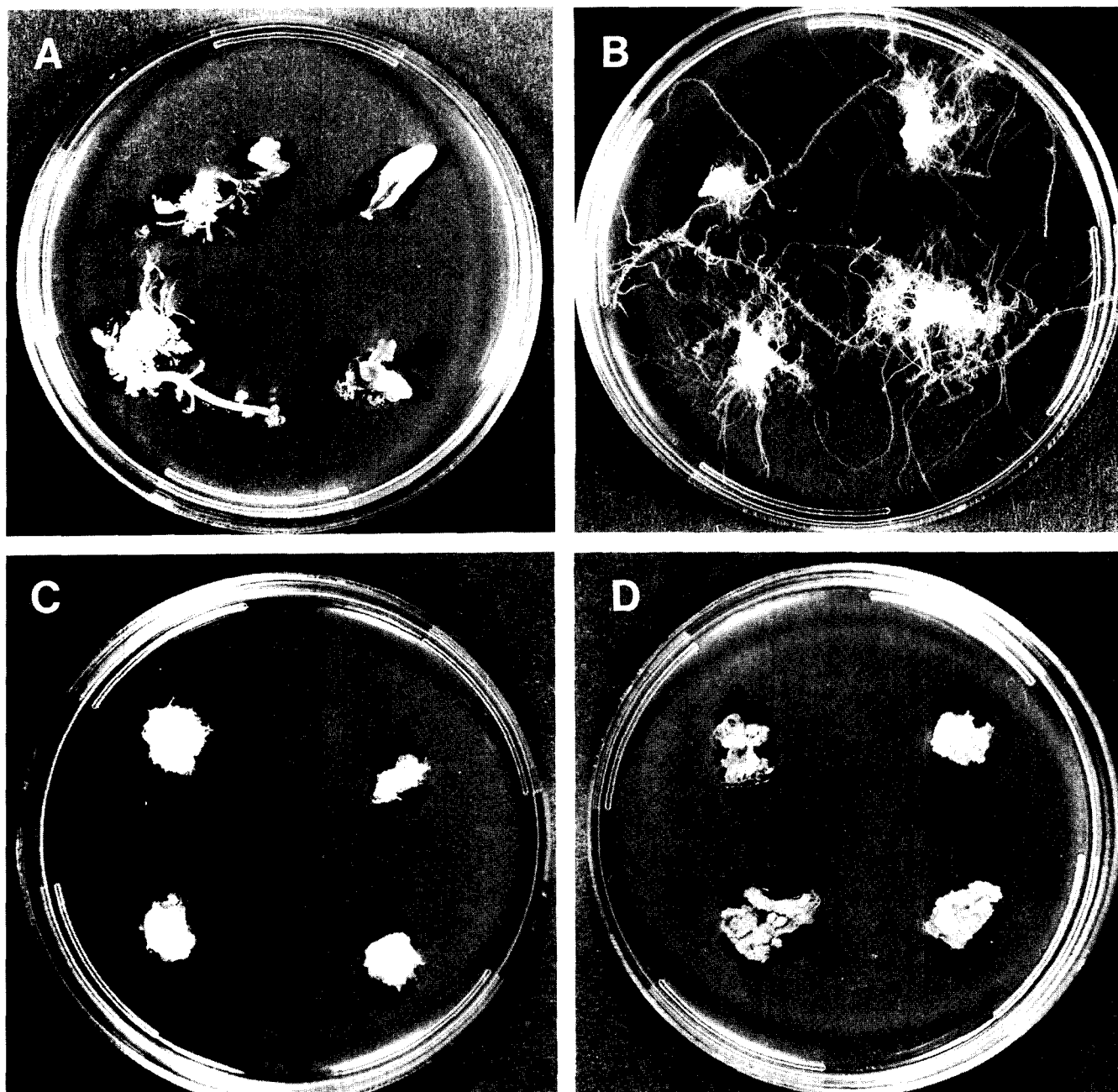
Auxin은 2,4-D, IAA 및 NAA를 사용하고, cytokinin은 kinetin과 BA를 사용하여 기관 형성을 조사한 결과 묘조는 IAA와 cytokinin 혼합처리구에서만 형성되었으며, 부정근과

**Table 1.** Effect of auxins and cytokinins on the formation of adventitious shoots, adventitious roots, trichomes, and calli from leaf explants of *Arabidopsis thaliana* on MS agar medium for 4 weeks.

Cytokinins (mg/L)		Auxins (mg/L)													
		IAA						NAA							
		0	0.1	0.5	1.0	5.0	10.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0	10.0		
Kinetin	0	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	R	-	+	+	++	++	+++	-	+++	++	-	-	-	-	
	T	-	-	-	-	+	++	-	-	++	++	++	-	-	
	C	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	+++	-	
	0.1	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	R	-	-	-	+	++	-	-	++	++	-	-	-	-	
	T	-	-	-	-	+	++	-	-	++	++	++	-	-	
	C	-	-	-	-	+	+	-	-	++	++	+++	+++	-	
	0.5	S	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	
	R	-	-	-	-	++	-	-	++	++	-	-	-	-	
	T	-	-	-	-	+	-	-	-	++	+	-	-	-	
	C	-	-	-	-	+	+	-	-	++	++	+++	+++	+++	
	1.0	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	R	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	T	-	-	-	-	+	+	-	-	++	+	-	-	-	
	C	-	-	-	-	+	+	-	++	++	++	+++	+++	+++	
	5.0	S	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	R	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	C	-	+	-	+	+	++	-	+	+	+++	+++	+++	+++	
	10.0	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	C	-	-	-	-	+	++	-	-	-	-	++	+++	+++	
BA	0	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	R	-	+	+	++	++	+++	-	+++	++	-	-	-		
	T	-	-	-	-	+	++	-	-	++	++	++	-		
	C	-	-	-	-	-	++	-	-	-	-	+++	+++		
	0.1	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	R	-	+	+	++	++	++	-	+++	-	-	-	-		
	T	-	-	-	+	+	+	-	-	+++	++	+	-		
	C	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++		
	0.5	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	R	-	+	+	+	+	+	-	++	++	-	-	-		
	T	-	-	-	+	+	+	-	-	+++	++	++	-		
	C	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+++	+++		
	1.0	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	R	-	+	+	+	-	-	-	++	+	-	-	-		
	T	-	+	++	++	++	++	-	-	++	+	+	-		
	C	-	-	-	-	++	++	-	++	+	++	+++	+++		
	5.0	S	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	R	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-		
	T	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-		
	C	-	-	+	++	++	++	-	++	++	+++	+++	+++		
	10.0	S	-	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-		
	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	C	-	-	-	+++	+++	+++	-	++	++	+++	+++	+++		

S: Shoot; R: Root; T: Trichome; C: Callus.

+++ : excellent; ++ : good; + : moderate; - : none.



**Figure 1.** Photographs of adventitious shoots, adventitious roots, trichomes, and calli from the leaf segments of *Arabidopsis thaliana* treated with IAA, NAA, and BA. A: Adventitious shoots (0.1 mg/L IAA+10 mg/L BA); B: Adventitious roots (0.1 mg/L NAA); C: Trichome (0.5 mg/L NAA+0.1 mg/L BA); C: Calli (10 mg/L NAA+10 mg/L BA).

**Table 2.** Effect of IAA treated with kinetin and BA on the formation of adventitious shoots from leaf segments of *Arabidopsis thaliana* cultured on MS agar medium for 4 weeks.

IAA (mg/L)	Cytokinins (mg/L)												
	Kinetin						BA						
	0	0.1	0.5	1.0	5.0	10.0	0	0.1	0.5	1.0	5.0	10.0	
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.5	-	-	8.3±2.7	-	8.5±3.3	8.6±2.5	-	-	-	-	-	-	-
1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5.0	-	-	83±2.4	-	-	-	-	8.3±3.5	-	-	-	-	-
10.0	-	-	-	-	-	-	-	16.7±4.5	8.3±2.5	-	-	-	-

Each value represents the means ± SE of five replicated petri-dishes with four or five explants. - represents no response.

모용 및 캘러스는 auxin과 cytokinin 조합에 따라 광범위하게 형성되었다 (Table 1, Figure 1). 묘조는 0.1 mg/L IAA와 10 mg/L BA 혼합처리구에서 가장 많이 형성되어 묘조가 형성된 다른 처리구의 약 8.3%에 비하여 약 16.7%로 2배 정도 증가하였다 (Table 2).

부정근은 0.1 mg/L NAA 처리구에서 가장 많이 형성되었고, NAA 농도가 증가함에 따라 모용이 증가하기 시작하여 1.0 mg/L에서 가장 많은 모용이 형성되었으며, NAA 농도가 더욱 증가함에 따라 캘러스가 형성되기 시작하여 10 mg/L에서 가장 많이 형성되었다. IAA의 경우도 비슷한 경향을 나타내었으나 0.5 mg/L NAA와 5.0 mg/L IAA와 비슷한 경향을 나타내어 NAA가 IAA에 비하여 묘조를 제외한 부정근, 모용 및 캘러스형성에 효과적이었다. 그리고 전체적으로 동일한 auxin 농도일 때 cytokinin 농도가 증가함에 따라 부정근이나 모용 및 캘러스 형성이 촉진되는 경향을 나타내었다. 특히 0.1 mg/L와 0.5 mg/L BA를 0.5 mg/L NAA와 조합 처리하는 경우 0.5 mg/L NAA 단독처리구보다 많은 모용이 형성되었으나 대체로 캘러스와 함께 형성되는 경향을 나타내었다.

**NAA의 영향**

NAA 농도 증가에 따라 부정근, 모용 및 캘러스 형성의 경계가 되는 농도를 결정하기 위하여 농도 구간을 좀 더 세분하여 처리한 결과 NAA 농도 증가에 따라 부정근, 모용 및 캘러스가 중복 또는 단독으로 형성되었다 (Table 3). NAA 농도가 0.1 mg/L일 때 가장 많은 부정근이 단독으로 형성되었으며, NAA 농도 증가에 따라 부정근 수가 감소하면서 모용이 증가하기 시작하여 2.0 mg/L 농도일 때 부정근 없이 모용이 가장 많이 형성되었다. 또한 2.0 mg/L 농도 이상의 경우 모용이 점점 감소하고 캘러스 형성이 증가하다가 10.0 mg/L일 때 모용 형성 없이 가장 많은 캘러스가 형성되었다. 이처럼 부정근이나 모용 또는 캘러스가 혼재 없이 나타나는

**Table 3.** Effect of NAA on the formation of adventitious roots, trichomes, and calli from the leaf segments of *Arabidopsis thaliana* cultured on MS agar medium for 4 weeks.

NAA (mg/L)	Induced forms		
	Adventitious root	Trichome	Callus
0	+	-	-
0.1	+++	-	-
0.5	++	+	-
1.0	+	++	-
2.0	-	+++	+
4.0	-	++	+
6.0	-	+	+
8.0	-	-	++
10.0	-	-	+++

+++ : excellent; ++ : good; + : moderate; - : none.

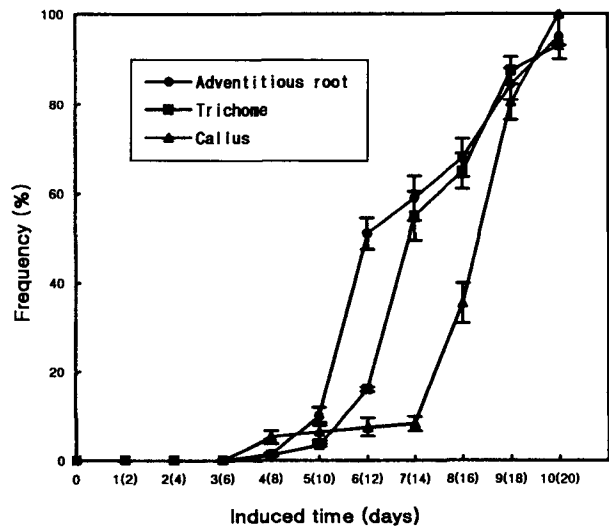
NAA의 농도는 부정근의 경우 0.1 mg/L였으며, 모용은 2.0 mg/L, 그리고 캘러스는 10 mg/L로 나타났다.

**Determination Time 조사**

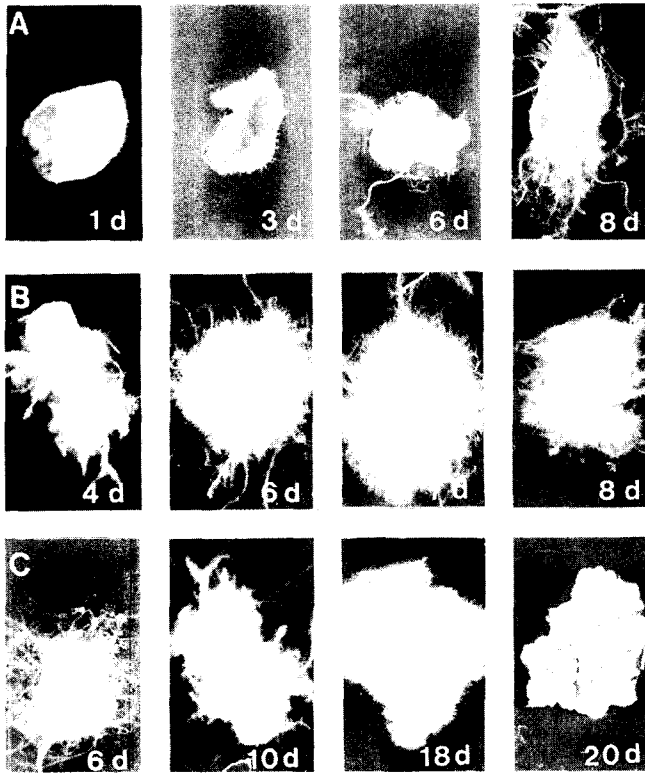
NAA 영향 조사 실험을 근거로 부정근, 모용 및 캘러스 형성을 위한 determination time을 조사한 결과 0.1 mg/L NAA 처리에 의한 부정근 형성 결정 시간은 약 6일이었으며, 2.0 mg/L NAA 처리에 의한 모용 형성 결정 기간은 약 7일, 그리고 10 mg/L NAA 처리에 의한 캘러스 형성 결정 기간은 약 18일로 나타났다 (Figure 2, Figure 3).

**고 찰**

애기장대 형질전환시 묘조의 재분화는 보통 식물들과는 달리 잎 절편 대신 주로 뿌리 절편을 이용한다 (Valvekens et al. 1988). 이는 잎 절편에서는 묘조의 재분화가 어렵거나 그 빈도가 매우 낮기 때문이다. 잎이나 뿌리 절편을 사용하는 경우 캘러스 유도배지에서 묘조 유도배지로 옮기는 2단계 과정을 거치며 그 분화 양상은 애기장대의 생태종에 따라 다르다. 즉 'Columbia' 잎 절편에서는 거의 묘조가 형성되지 않으나 'Wassilewskija'에서는 성공적으로 묘조가 재분화된다 (Feldman and Marks 1986). 그러나 본 실험에서는 'Columbia'의 잎 절편에서 캘러스 유도과정을 거치지 않고 직접 묘조를 분화시킬 수 있었는데, 뿌리에서 재분화시킨 것에 비하여 상대적으로 재분화율이 낮았으나 0.1 mg/L IAA와 10 mg/L BA 혼합처리구에서 16.7%로 나타났다 (Table 2).



**Figure 2.** Frequency of the formation of adventitious roots, trichomes, and calli from leaf segments of *Arabidopsis thaliana* after 4 weeks on NAA free medium followed by different periods of preculture on agar medium. Bars represent standard error.



**Figure 3.** Morphological observation of adventitious roots, trichomes, and calli from leaf segments of *Arabidopsis thaliana* after 4 weeks on NAA free medium followed by different periods of preculture on agar medium. (A) Course of the formation of adventitious roots treated with 0.1 mg/L NAA; (B) Course of the formation of trichomes treated with 2.0 mg/L NAA; (C) Course of the formation of calli treated with 10 mg/L NAA.

이러한 결과는 Chaudhury와 Signer (1989)가 'Columbia'의 잎 절편을 묘조 형성 배지로 0.15 mg/L IAA와 2-isopentenyl adenin을 이용하여 2단계 과정을 거쳐 재분화시킨 것이 7.7%에 불과한 것에 비하면 단순한 과정을 통하여 2배 이상 높은 재분화율을 나타낸 것이다. 그러나 'Wassilewskija'에서 58~100%의 묘조 재분화율을 나타낸 것 (Feldman and Marks 1986)에 비하면 현저히 낮은 것이다. NAA는 애기장대 자엽을 이용하는 경우에는 묘조가 형성되나 (Patton and Meinke 1988) 잎 절편에서는 전혀 묘조가 형성되지 않아 IAA가 NAA가 묘조 분화에 적합한 것으로 나타났다 (Table 1).

Feldmann과 Marks (1986)는 묘조 형성 후 12 mg/L IBA와 0.1 mg/L kinetin에서 부정근을 유도하였으나, 본 실험에서는 0.1 mg/L NAA 농도에서 캘러스 형성 없이 가장 많은 부정근이 유도되었는데 (Table 1, Figure 1B), 이는 묘조와 잎 절편이 서로 다른 기관인 데서 오는 차이로 생각된다. 모용은 부정근이나 캘러스 유기 과정에서 식물생장조절물질 조합에 따라 다양하게 유기되었는데, IAA나 NAA 처리구 모두에서 광범위하게 나타났으나 0.5 mg/L NAA와 0.1 mg/L BA 혼합 처리구에서 가장 많이 유기되었다 (Figure 1C). 캘러스는

auxin의 농도가 증가함에 따라 auxin 단독 또는 cytokinin 혼합처리구 모두에서 유기되었으나 10 mg/L NAA와 10 mg/L BA 혼합처리구에서 가장 많이 유기되었으며 (Figure 1D), 2,4-D 처리시에는 묘조, 부정근, 모용 등의 기관 분화 없이 캘러스만 유기되었다 (결과 미제시). 그런데 IAA의 경우는 농도 증가에 따라 부정근, 모용, 캘러스가 형성되었으나 부정근과 모용 또는 모용과 캘러스가 동시에 유기되어 IAA 농도에 따른 한계가 불분명하였다. 그러나 NAA 단독 처리의 경우는 농도 증가에 따라 부정근, 모용 및 캘러스 형성의 경계가 비교적 명확하였다. 이에 따라 NAA의 효과를 좀 더 구체적으로 확인하기 위하여 NAA 농도를 세분하여 처리, 부정근, 모용 및 캘러스 형성이 단독으로 이루어지는 농도를 조사하였다 (Table 3). 그 결과 부정근만 형성되는 NAA 농도는 0.1 mg/L였고, 부정근 없이 주로 모용만 유기되는 농도는 2.0 mg/L였으며, 10 mg/L에서는 캘러스만 유기되었다. 이처럼 애기장대가 부정근 형성 농도와 캘러스 형성 농도 사이에서 모용이 유기되는 것은 부정근과 캘러스만 형성되는 일반적인 식물과는 다른 특징이라고 할 수 있다. 아직 식물의 기관 분화에 관여하는 분자생물학적 연구는 본격적으로 이루어지지 못하고 있는데, 애기장대 잎과 줄기에 형성되는 모용 형성 유전자가 일부 밝혀져 있지만 (Marks and Feldmann 1989), 애기장대에서 부정근, 모용 및 캘러스가 유기되는 본 실험 결과는 단순한 모용 형성에 대한 분자생물학적 접근을 넘어서 NAA 농도 증가에 따른 부정근, 모용 및 캘러스 형성 기구와 그 유전자에 대한 연구에 이용할 수 있을 것이다.

부정근이나 묘조 등의 기관 분화시 일정 기간 동안의 식물생장조절물질 처리에 의한 determination time은 대두 자엽에서의 부정근 형성에는 5일 (Han 1994), 담배 잎 절편에서의 부정근 형성에는 3일 (Jeon et al. 1998) 그리고 담배 묘조 형성에는 9일 (Han et al. 1996)이 필요하였는데, 애기장대의 부정근, 모용 및 캘러스 형성시의 determination time은 부정근은 약 6일, 모용은 약 7일 그리고 캘러스는 약 18일로 나타나서 동일한 애기장대 잎 절편에 NAA 단독으로 농도만 증가함에도 불구하고 부정근과 모용 및 캘러스 형성에는 각각 다른 NAA 처리 기간이 소요되었다 (Table 3). 그런데 이러한 determination time 조사 과정에서 부정근 형성 농도에서는 부정근만 형성되었으나 (Figure 3A), 모용 형성구에서는 determination time 이전에는 부정근이 먼저 형성되었으며 (Figure 3B), 캘러스 형성구에서는 캘러스 형성 이전에 부정근과 모용이 함께 형성되어 (Figure 3C), 명확한 determination time 결정에 어려움이 있었다. 이처럼 동일한 재료에서 동일한 식물생장조절물질인 NAA 농도에 따라 부정근, 모용 및 캘러스가 형성되며, 또한 그 각각의 determination time이 다르게 나타난 것은 탈분화 및 재분화에 있어서 NAA 농도에 따라 부정근, 모용 및 캘러스를 형성시키는 각각 다른 유전자가 독립적으로 발현된 것이거나, NAA에 의하여 동일한 유전자가 발현되어 만들어지는 산물

이 NAA 양에 따라 달라져서 부정근이나 모용 또는 캘러스 분화 유전자를 발현하게 한 결과일 것으로 추정하게 한다. 특히 모용 형성구와 캘러스 형성구의 경우 determination time 이전에 부정근이나 모용이 함께 형성된 것은 후자일 가능성을 강력히 시사한다.

이상의 결론과 추론을 통하여 애기장대의 묘조 분화에는 IAA와 BA가 효과적이었으며, 부정근과 모용 및 캘러스 형성에는 IAA와 NAA가 모두 효과적이었다. 그러나 NAA를 단독 처리하는 경우는 농도 증가에 따라 부정근, 모용 및 캘러스가 단독으로 형성되었으며, 그에 따른 determination time도 달랐다. 또한 캘러스 형성 농도인 고농도 NAA에서는 처리 시간 경과에 따라 determination time 이전에 부정근과 모용이 형성되는 것으로 나타나 애기장대의 부정근, 모용 및 캘러스 형성에 미치는 식물생장조절물질의 영향과 그 분화 기구 규명에 매우 유용하리라 생각된다.

## 적 요

애기장대 (*Arabidopsis thaliana*) 생태종 'Columbia' 잎 절편에서의 묘조, 부정근, 모용 및 캘러스 형성에 미치는 auxin과 cytokinin의 효과를 조사하였다. 광범위한 식물생장 조절물질 농도와 조합에서 묘조, 부정근, 모용 및 캘러스가 형성되었다. 묘조는 0.1 mg/L IAA와 10 mg/L BA에서 형성되었고, 부정근은 저농도의 IAA와 NAA에서 모두 형성되었다. 모용과 캘러스는 IAA와 NAA의 농도 증가에 따라 형성되었으나 모용은 0.5 mg/L NAA와 0.1 mg/L BA 혼합처리구에서 가장 많이 형성되었으며, 캘러스는 10 mg/L NAA와 10 mg/L BA 혼합처리구에서 가장 많이 형성되었다. NAA의 단독 영향을 조사한 결과 부정근 형성은 0.1 mg/L, 모용은 2.0 mg/L, 캘러스는 10 mg/L가 가장 효과적이었으며, NAA 배지에 각각 일정 기간 잎 절편을 치상하였다가 NAA 무처리 배지에 옮긴 결과 부정근, 모용 및 캘러스를 형성하는 determination time은 각각 6, 7, 18일이었다.

사사 - 본 연구는 1998년도 교육부 학술조성비 (BSRI-98-4439)에 의하여 연구되었으며 연구비 지원에 감사드립니다.

## 인용문헌

- Chaudhury MA, Signer ER (1989) Relative regeneration proficiency of *Arabidopsis thaliana* ecotypes. *Plant Cell Rep* 8:368-369
- Christianson ML, Warnick DA (1983) Competence and determination in the process of *in vitro* shoot organogenesis. *Dev Biol* 95:288-293
- Conner TW, Goekjian VH, LaFayette PR, Key JL (1990) Structure and expression of two auxin-inducible genes from *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol* 15:623-632
- Feldmann JH, Marks MD (1986) Rapid and efficient regeneration of plants of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci* 47:63-69
- Han TJ (1994) Changes in specific protein profiles during initiation of adventitious roots in soybean (*Glycine max* L.) cotyledon. *Kor J Plant Tiss Cult* 21(2):123-129
- Han TJ, Lee DW, Lee SH (1994) Effects of polyamine inhibitors and polyamines on adventitious root formation from soybean cotyledons. *Kor J. Plant Tiss Cult* 21(2):106-110
- Jeon MG, Jo HI, Han TJ (1998) Effect of polyamines on adventitious root formation from tobacco (*Nicotiana tabacum*) leaf segments. *J Plant Biol* 41(1):31-36
- Leutwiler SL, Haugh-Evans RB, Meyerowitz ME (1984) The DNA of *Arabidopsis thaliana*. *Mol Gen Genet* 194:15-23
- Marks MD, Feldmann KA (1989) Trichome development in *Arabidopsis thaliana*. I. T-DNA tagging of the GLABOUS1 Gene. *The Plant Cell* 1:1043-1050
- Meyerowitz ME (1989) *Arabidopsis*, a useful weed. *Cell* 56:263-269
- Patton AD, Meinke WD (1988) High Frequency plant regeneration from cultured cotyledons of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Rep* 7:233-237
- Pruitt RE, Meyerowitz EM (1986) Characterization of the genome of *J Mol Biol* 187:169-183
- Skoog F, Miller CO (1957) Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. *Symp Soc Exp Biol* 11:118-140
- Valvekens D, Montagu MV, Lijsebettens MV (1988) *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation of *Arabidopsis thaliana* root explants by using kanamycin selection. *Proc Nat Acad Sci* 85:5536-5540
- Walker KA, Wendeln ML, Jaworski EG (1979) Organogenesis in callus tissue of *Medicago sativa*. The temporal separation of induction processes from differentiation processes. *Plant Sci Lett* 16:23-30

(접수일자 1999년 6월 22일)