

植物의 癌腫誘發에 관한 研究 (第 1 報)

Agrobacterium tumefaciens 의 野外接種實驗에 關하여

李 敏 載 · 洪 淳 佑 · 崔 榮 吉

(서울大學校 文理科大學 植物學科)

Studies of Plant Tumor Induction (Part 1)

Experiments on the Inoculation of *Agrobacterium tumefaciens* in out Field

Lee, Min Jai., Hong, Soon Woo. and Choi, Yong Keel.

(Dept. of Botany, Seoul National University).

Abstract

As a part of studies of plant tumor induction, this experiment was prepared for the purpose of studying the ability of tumor induction and the tendency of tumor initiation in some Korean plants using the various *Agrobacterium tumefaciens* strains.

Results obtained from this experiment are as follows. The virulences of five strains used in this experiment were gradually decreased in order of strain A6K1, B6, 11BV7, T37 and 11BNV6.

Especially strain T37 which is known to the host limited strain showed virulent effect to the most of plants given for the materials as well as strain A6K1, B6 and 11BV7.

Concerning the grade of tumor development, in plants which has tough stem, for example, *Glycine max* Meer, tumor induction was not well developed after the inoculation of all strains. Particullary in *Ricinus communis* Linne all strains showed virulent effect but tumor tissues were declined in relation to the development of lignification.

It was also confirmed that the induction of tumor tissues on plants is to delay according to the increase of the age of host plants.

緒 論

一般의으로 植物體에 癌腫組織을 誘發시키는 要因으로서는 植物體內에 侵入, 寄生하는 virus, nematode, 및 土壤細菌等이 이미 잘 알려져 있으며 그 以外에도 植物體가 放射線處理를 受後, 癌腫組織이 誘發되었다는 事實(Sparrow et al, 1959), 또는 生長物質인 indole-3-acetic acid (IAA)로서 여러 가지 植物體에 人爲의 處理를 함으로서 癌腫을 誘發한다는 報告(Braun, 1958., Galston, 1960) 및 담배에서 나타나는 特異한 現象으로서, 雜種形成에 나타나는 Kostoff(Horsfall 1959) 癌腫等을 우선 列擧할 수 있다.

이러한 諸 要因은 研究의 目的에 따라서 材料로서의 選擇性을 지니고 있는데 著者들은 今般 土壤細菌의 一種인 *Agrobacterium tumefaciens* 에 依하여 誘發되는 植物의 癌腫을 材料로하여 癌腫誘發機構에 對한 生理學的인 問題, 特히 誘發原因을 推究코저하는 研究目的의 基礎的 一環으로서 우리 周邊에서 흔히 볼수 있는 韓國野生植物을 對象으로 하여 第 1 次的으로, 금번 著者들이 保有하고 있는 몇가지 *A. tumefaciens* 의 strain 別로 癌腫誘發能力과 癌腫組織形成에 對한 傾向性을 調査하였으며 마침내 그 實驗의 一部結果가 大略 整理되었으므로 이에 第 1 報로서 報告하는 바이다.

本實驗에 使用된 *Agrobacterium tumefaciens* 의 菌

種의 一部는 美國 New York Manhattan 大學의 植物形態發生研究室의 Lipetz 博士로 부터, 또 어떤것은 Wisconsin 大學 植物病理學科의 Riker 教授로부터 分讓 받았으며 이를 分讓해 주신 上記 두분에게 深深한 謝意를 表한다.

材料 및 方法

- 菌種 및 培地 :** *Agrobacterium tumefaciens*
 strain A6K1
 strain B6
 strain 11BNV6
 strain 11BV7
 strain T37

上記 菌種을 dextrose agar nutrient 에서 培養시켰으며 이 培地의 組成은 다음과 같다. (Difco manual, 1953)

- Bacto-beef extract3gr
- Bacto-tryptose10gr
- Bacto dextrose.....10gr
- Sodium chloride5gr
- Bacto agar15gr
- Dist. water1l.

宿主植物 및 接種 : 1966 年 7 月初부터 同月末까지 學校周邊에서 栽培하여 接種實驗한 植物은 다음과 같다.

- 도 마 도 · *Lycopersicon esculentum* Mill
- 해바라기 · *Helianthus annus* Linne.
- 봉 송 아 · *Impatiens Balsamina* Linne.
- 콩 · *Glycine max* Meer.
- 상 추 · *L. Scariola* L.
- 百日紅 · *Zinnia elegans* Jacq.
- 피 마 주 · *Ricinus communis* Linne
- 명 아 주 · *Chenopodium album* Linne var. *Centrorubrum* Makino
- 파 리 · *Physalis Francheti* Masters.
- 망 초 · *Erigeron canadensis*

上記 各植物의 莖節間部位마다 人爲的인 傷處를 내어준後 24 時間 培養된 *A. tumefaciens* strain 1 needle 을 接種하고 bacteria 의 activation 을 維持시키기 爲하여 phosphate buffer(pH 5.0) 0.1cc 를 注入해준다. 그리고 昆蟲에 依한 混合感染의 防止와 植物體液의 漏出로 因한 bacteria 의 游離를 막기 위하여 各 傷處部位를 glycerin 으로 封했다.

結果 및 考察

이미 *A. tumefaciens* 가 植物體內에 寄生하여 癌腫을 誘發시킬수 있는 宿主植物의 範圍에 對해서는 報告된바 있으나(Horsfall 1959) 韓國 野生植物에 對한 各 strain 別癌腫誘發能力 및 傾向性을 觀察한 結果는 Table 1 과 같다.

Table 1. Host ranges of *Agrobacterium tumefaciens* strains to some plants grown in field.

| Host plant | A.t.strain | A6K1 | B6 | T37 | 11BNV6 | 11BV7 |
|---|------------|------|----|-----|--------|-------|
| 도 마 도 <i>Lybopersicon esculentum</i> Mill. | | + | + | + | - | + |
| 해 바 라 기 <i>Helianthus annus</i> Linne | | + | + | + | + | + |
| 봉 송 아 <i>Impatiens Balsamina</i> Linne | | + | + | + | + | + |
| 피 마 주 <i>Ricinus communis</i> Linne | | + | + | + | + | + |
| 명 아 주 <i>Chenopodium album</i> Linne var. <i>Centrorubrum</i> Makino | | + | + | + | - | + |
| 백 일 홍 <i>Zinnia elegans</i> Jacq. | | + | + | + | - | + |
| 파 리 <i>Physalis Francheti</i> Masters | | + | + | + | - | + |
| 콩 <i>Glycine max</i> Meer. | | - | - | - | - | - |
| 상 추 <i>L. Scariola</i> L. | | - | + | - | - | - |
| 망 초 <i>Erigeron canadensis</i> Linne | | + | + | + | - | + |

Notes; + : pathogenic effective
 - : non-pathogenic effective.

가장 癌腫誘發能力이 강한 bacteria strain 으로서는 strain A6K1 과 B6 이며 以後 strain 11BV7, T 37, 11BNV6 의 順으로 되어 있다. strain T37 은 宿主植物의 種에 따라 選擇적으로 癌腫을 誘發시키는 이른바 host limited strain 이며, strain 11BV7 에서 由來한 strain 11BNV6 는 avirulent 한 것으로 되어 있다.

Table 1 의 結果를 檢討하면 本實驗에 使用된 韓國產 몇 가지 植物의 大部分의 境遇 strain A6K1 B6, T37, 및 11BV7 은 virulent 한 strain 임을 나타내고 strain 11BNV6 가 오히려 host limited strain 임을 보여 주었다.

特記해야 할 事實로서는 上記 植物中에서 堅固하게 木質化한 植物, 例로서 콩의 줄기에서는 癌腫組

織이 誘發되지 않았으며, 그중에서도 상추의 줄기와 같은 白色의 植物體液을 分泌하는 植物에서는 strain B6 外에는 癌腫誘發現象을 보여 주지 않는 것으로 보아 植物體液中の 特殊한 成分이 bacteria 의 生活作用을 抑制하는 것으로 보여진다. 또한 피마주의 줄기에서는 모든 bacteria strain 이 virulent 한 現象을 나타냈으나 宿主植物의 生長으로 因한 木質化에 따라서 癌腫組織이 退化되는 것을 볼 수 있었다. 이로 미루어 보아 正常의 植物細胞가 癌腫細胞로 轉換되기에 容易한 時期는 細胞膜의 肥厚化以前, 即 木化, 木栓化, 角皮化以前의 柔細胞時期인 것으로 간주된다.

同實驗期間의 平均最高氣溫은 27°C 였으며 平均 最低氣溫은 20°C 로서 癌腫誘發에 미치는 溫度의

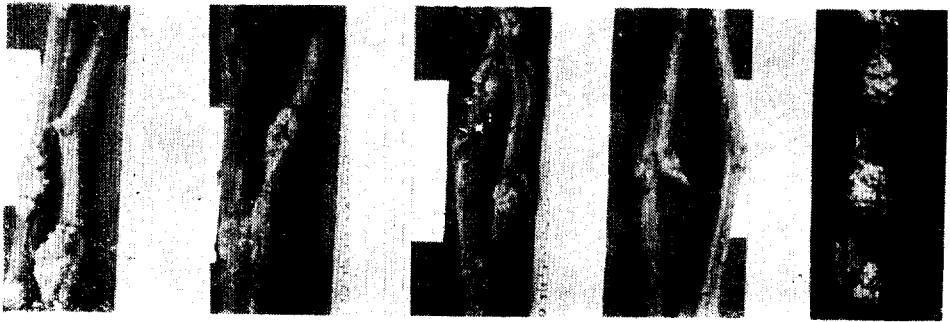


Fig. 1. 2. 3. 4. 5

- Fig. 1. Crown-gall tumors developed on tomato stem infected with *A.t.* strain B6 (After 3 weeks)
- Fig. 2. Crown-gall tumors developed on tomato stem infected with *A.t.* strain 11BV7 (After 3 weeks)
- Fig. 3. Crown-gall tumors developed on toamto stem infected with *A.t.* strain T37 (After 3 weeks)
- Fig. 4. Non-pathogenic effect of tomato stem infected with *A.t.* strain 11BNV6 (After 3 weeks)
- Fig. 5. Crown-gall tumors of tomato stem infected with the most virulent strain A6 K1 (After 5 weeks)

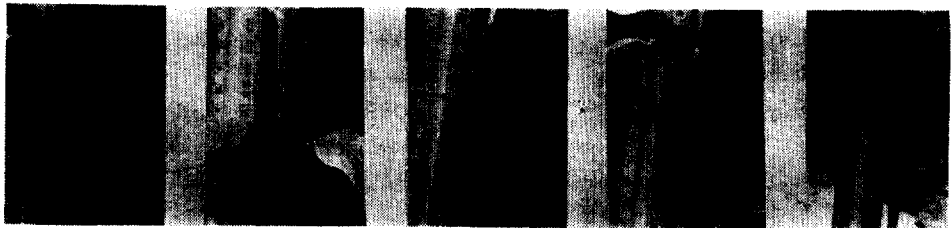


Fig. 6. 7. 8. 9. 10

The initial stages of crown-gall tumors developed on sunflower's internode infected with *A.t.* strain B6 (Fig. 6), T37(Fig. 7), 11BV7(Fig. 8) 11BNV6 (Fig. 9), A6 K1. (Fig. 10)

These figures wese obtained after a week

條件은 最適에 가까운 狀態였다고 할수 있다. (Braun, 1947.)

Fig. 1~5 까지는 도마도 줄기에 여러가지 bacteria strain 을 感染시킨후에 나타난 癌腫組織의 形成을 보여 주는데 특히 Fig. 4에서 strain 11BNV6에 感染된 도마도줄기에서는 全然 癌腫 誘發現象을 보여 주지 않았으며 Fig. 1~5까지 virulent한 程度에 따라 癌腫組織의 크기를 달리함을 보여준다.

또한 해바라기의 莖節間部位에 接種한後 癌腫組織을 形成하는 初期(感染後 1週)의 狀態를 나타내는 Fig. 6~10를 보면 接種後 第1週에는 別로 癌腫 誘發現象의 差異를 볼수 없었다.

植物의 培養條件에 따라서 癌腫組織의 誘發에 이르는 差異를 보여주는 가를 알아 보기爲하여 上記의 여러가지 植物中에서 도마도를 擇하여 growth chamber(光度 8,660Lux/m², 濕度 75±1%, 溫度 26°±1C)內에서 接種實驗해본 結果는, 一般적으로 癌腫組織의 誘發이 野外에서 栽培한 植物에서 나타나는 現象보다도 不振한 結果를 보여 주었다. 이는 growth chamber 內의 光度가 8,660 Lux/m²인데 비

하여 野外에서의 境遇는 40,000Lux를 上廻하는 光度에 差異가 있는 것이 아닌가 생각된다. 이로 미루어보아 癌腫組織의 發達度(크기)는 宿主植物의 代謝條件에도 크게 影響을 받는 것으로 보인다.

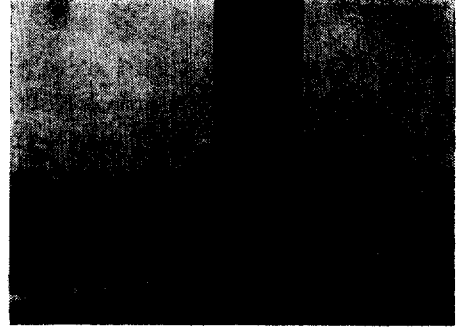


Fig. 11

Growth chamber (Temp.; 26°±1C, humidity; 75±1%, intensity of light; 8,660Lux/m²) for the culture of plants.

摘 要

*Agrobacterium tumefaciens*의 5 strain 그 各各에 對한 癌腫組織誘發能力 및 그 傾向性을 알고 저 韓國産 몇가지 植物에 接種하였던 結果는 다음과 같다.

(1) Strain A6K1, B6, 11BV7, T37, 11BNV6의 順으로 visulent한 影響을 보여 주었으며, 특히 strain A6K1, B6, 11BV7에 接種된 植物에서는 癌腫組織誘發이 顯著히 빨랐다.

(2) 堅固히 木質化된 植物, 例로서 콩 (*Glycine max* Meer)의 줄기에서는 모든 bacteria strain이 癌腫誘發을 나타내지 못하였으며 상추 (*L. Scariola*, L.)에서는 strain B6外에는 역시 癌腫誘發을 나타내지 못했다.

(3) 피마주 (*Ricinus Communis* Linne)의 줄기에서 모든 bacteria strain이 癌腫誘發을 보여 주었으나 줄기가 木化함에 따라 癌腫組織이 退化해감을 볼수 있었다.

References.

1. BRAUN, A.C. 1947. Thermal studies on the factors responsible for tumor initiation in crown gall. *Am. J. Botany* 34 : 234--240.
2. BRAUN, A.C. 1958. Morphology and physiology of plant tumors. *Protoplasmatologia* × (5a) 1~93.
3. Difco manual. 1953. pp. 125
4. GALSTON, A.W. 1960. The mechanism of action of auxin. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 11 : 239--276.
5. HORSFALL, J.G. and DIMOND, A.E. 1959. Plant pathology. Vol.1 Academic press. chapt.6.
6. SPARROW, A.H. and SCHAIRE, L.A. 1959. Some factors influencing radio-resistance and tumor induction in plant. *Progress in Nuclear Energy*. Ser. VI 351--358.