

Inula Sesquiterpene Lactone이 *Phaseolus vulgaris* L. 의 組織變化와 生長에 미치는 영향

權 寧 命
(서울대학교·生藥研究所)

Some Effects of Inula Sesquiterpene Lactones on the Growth and the Stem Anatomy of *Phaseolus vulgaris* L.

Kwon, Young Myung
(Natural Products Research Institute, Seoul National University)

ABSTRACT

The inhibitory effect of Inula sesquiterpene lactones on the growth of *Phaseolus vulgaris* was tested and the abnormality of the stem organization caused by the lactones was also examined.

The longitudinal growth of the young stem and the expansion of the young leaf were stopped by the application of the lactones. However, this inhibitory effect was appeared and strictly restricted within the treated area. So the young shoot was observed for possible bending as a result of the unilateral application of the lactones.

When the application of the lactones into the medium, the growth of the plant was entirely repressed. However, the growth of shoot and re-initiation of root were started after the plant was transferred to the lactone free medium. And partial reversal of inhibition of the stem growth was achieved by the additions of gibberelline and the lactones.

서 론

菊花科植物에는 精油成分이 比較的 많이 들어 있으며 특히 木香(*Inula helenium* L.)의 뿌리에는 alantolactone 과 isoalantolactone 等의 sesquiterpene lactone 들이 함유되어 있다.

이러한 lactone 化合物中에서, alantolactone 은 生物에 對한 毒性이 커서 驅虫劑로 使用되기도 하였고(Kim, et al., 1961), 박테리아(Yudovich, 1962), 곰팡이(Olechnowicz-Stepien & Stepien, 1963), yeast 와 HeLa 細胞(Woo & Kwon, unpublished data) 그리고 *Chlorella* (Kwon, et al., 1973)의 生長을 抑制하며, 高等植物의 경우 種子의 發芽와 seedling 의 生長도 모두 alanto-

lactone 에 依해서 抑制된다고 報告되어 있다(Dalvi & Salunke, 1971).

本實驗에서는 alantolactone 에 依한 生長抑制現像을 좀더 상세히 파악하려는 意圖에서 *Phaseolus vulgaris* 의 組織變化에 미치는 Inula sesquiterpene lactone 의 效果를 調査하였다.

재료 및 방법

Inula sesquiterpene lactone 의 抽出; *Inula helenium* L. 의 뿌리를 수증기증류하여 精油成分을 얻었고, 이것의 주성분이 alantolactone 과 isoalantolactone 일출 TLC*1 와 GLC*2 로 확인한후 Inula sesquiterpene lactone (이후 lactone 이라 기재함)으로 實驗에 사용하

※1. 12.5%의 AgNO₃가 칠가된 Silica gel G plate에서 benzene을 전개용매로 사용할 때 Rf는 alantolactone: 0.45, isoalantolactone: 0.2였다.

※2. Conditions: Column; 3% SE30(Chromosorb, 60-80mesh), 1.5m×4mm. Initial temp; 160°C, rise rate; 6°C/min, carrier gas; N₂(20ml/min), injector temp; 160°C. Rt: alantolactone;139°C, isoalantolactone; 142°C. Yanagimoto GCG-5DH

였다.

Lactone을 植物體 表面에 바른 경우에는 lactone(100 mg)을 lanolin paste(10g)와 混合하여 사용하였고, 培養液에 lactone을 첨가할 때에는 현탁액을 만들어 사용하였다.

種子の 發芽; *Phaseolus vulgaris* L.의 種子(品種名은 모름)를 10cm 샤페에서 發芽시켰고, 發芽한 種子の 뿌리가 2cm 程度되었을 때 실험에 사용하였다.

生長實驗; 배양토가 들어있는 화분에 seedling을 이식하고, Hoagland 培養液(Arnon & Hoagland, 1940)과 물을 주면서 常溫에서 培養하였다. 이때 光度는 400 燭光으로 유지하면서 하루에 15時間씩 조명하였다. 줄기의 生長이 계속되어 第二節間의 長이가 1.5~2.0cm에 도달하면 lactone이 들어있는 lanoline을 줄기의 頂端部, 잎, 줄기 등에 도포하였다. 한편 生長장이가 끝난 줄기와 잎에도 lactone 처리를 하였으며, 對照實驗으로서는 lanolin 만을 사용하였다.

水耕法에 의한 뿌리의 發生과 生長에 미치는 lactone의 영향은 다음과 같이 조사하였다. lactone이 첨가된 培養液에 seedling을 移植하고, 수시로 뿌리의 生長을 조사하였다. 이때 培養液에 光線이 투입되지 못하지 하였으며, 每 2日에 한번씩 배양액을 새것으로 교환하였다.

組織變化의 觀察; Lactone이 도포된 부위의 줄기를 常法으로 固定하고, paraffin에 包埋하였다. 이와같이 處理된 組織의 切片을 만들고, 切片을 safranin과 fast green으로 二重染色하여 현미경하에서 lactone에 의한 영향을 조사하였다.

결 과

Lactone을 頂端部에 도포하면 줄기의 生長이 크게 抑制되는데 이와같은 効果는 줄기가 어릴수록 현저하였다. 한편 生長중인 줄기의 어느 한쪽에 lactone을 도포하면 3~4時間後부터 불균일한 生長이 일어나게되나 줄기의 phototaxis는 正常일이 나타났다(표-1). 그러나 줄기물체에 lactone을 도포하면 줄기의 生長에 는 別영향이 나타나지 않았다.

어린잎(면적약 2~4cm²)에 lactone을 바른면 2~3時間後부터 lactone 처리부위의 生長이 중단되어서 약 2日後에는 잎이 떨어졌다(사진 1-B). 그러나 잎의 일 부에만 lactone을 도포하면 잎의 形態가 變形되거나 결코 줄기로부터 떨어지는 않았다.

한편 生長이 끝난 잎에 lactone을 도포하면 처리부

Table 1. Inhibitory effects of Inula sesquiterpene lactones on the growth of *Phaseolus vulgaris*

Areas	Dose	Characteristic symptom
1. Shoot apex, young	1.5mg	Ceased the growth of shoot and initiated lateral bud formation.
2. Shoot, young, unilateral	2.0mg	After 3 hours, curvature of shoot was observed.
3. Shoot, matured	10mg	Colorization of treated area.
4. Leaf, young	5mg	After 3 hours, shrinkage of leaf was observed and abscission of the leaf was occurred 3 days later.
5. Leaf, matured		Decolorization of the treated area within 3 days and tissue content was disappeared.
6. Root, in the medium	2×10 ⁻⁴ M	See in Result and plate 1-D.

Table 2. Effects of the lactones and gibberelline on the growth of *Paseolus vulgaris*

Addition	Conc. M.	Height of internodes, mm.			Growth of leaf
		1st	2nd	3rd	
None	—	52	14	0.5	Normal
Lactone	2×10 ⁻⁴	18	0.3	—	Repressed
Gibberelline	1.2×10 ⁻⁶	80	36	14	Normal
Lactone and gibberelline	2×10 ⁻⁴ & 1.2×10 ⁻⁶	41	11	0.3	Repressed

All values were mean from 10 determinations after 5 days treatment. There were big variations in height of each groups, so the statistical significance of the mean difference between the control and treated groups could not be calculated.

위의 조직은 죽어서 內容物을 잃게 되지만, 처리부위와 인접된 組織은 lactone의 영향을 받는것 같지 않았다(사진 1-C).

水耕培養에서 뿌리의 發生과 生長 및 줄기와 잎등 植物全體의 生長이 lactone에 의하여 극도로 抑制되었다(표-2, 사진 1-D). 그러나 배양액에서 lactone을 제거하면 줄기의 生長은 즉시 회복되었으나 잎의 生長은 회복되지 못하였다. 뿌리의 發生도 회복되었으나 상당한 時間(40~60時間)이 경과한 후에 새로운 뿌리가 나타났고, 發生部位도 약간 上部로 이동되었다(사진 1-D).

Gibberelline (GA)은 lactone에 의한 生長抑制의 일부를 회복시켰다. 즉 배양액에 GA를 공급하면 줄기의

生長은 어느정도 볼 수 있었으나 잎의生長은 여전히 억제되었다(표-2). 이와같이 배양액에 GA를 첨가하여도 줄기에 lactone을 도포하면 줄기의 생장은 억제됨을 볼 수 있었다.

組織切片의 관찰 결과를 보면, lactone과 접촉한表皮는 強度가 상당히 컸고, 形成層과 篩管部 組織을 하나의 band狀 構造物로 變形시켰으며, 그 결과로 cortex의 發達이 전혀 이루어지지 못하였다(사진 1-E,F). 그러나 lactone과 접촉하지 않은 部位의 表皮나 形成層 등은 아무 異常이 없었다.

고 찰

Lactone은 *Phaseolus vulgaris*의 根發生, 줄기와 잎의生長, 빛 形成層의 機能 등을 抑制할 뿐만 아니라 生活中인 모든 細胞를 死滅시킬 수 있었다.

잎과 줄기에서 lactone에 依한 抑制효과가 항상 처리 부위에 국한된 것은 이물질이 體內에서 移動하기 어려움을 나타낸 것이다. 故로 줄기 髓에 lactone을 도포할 시엔 生長억제가 없는것 같은 것은, 줄기 한쪽에 lactone을 도포하는 경우(사진 1-A)와는 달리, 生長抑制가 줄기 주변에서 均一하게 일어나므로, 줄기가 直立生長을 할 수 있고, 또한 lactone의 처리부위가 좁아서 처리부위의生長이 억제된다 하여도 전체 줄기의 길이에 별 영향이 나타나지 않기 때문에 마치 lactone의 抑制효과가 없는 것처럼 관찰될 수 있는 것이다.

水耕培養에서 lactone이 全植物體의 生長을 抑制한 것은, lactone이 植物體內 各組織으로 移動된 結果는 아닐 것이며, 根部表面 全部가 lactone과 접촉되면, 表皮를 비롯하여 形成層等과 같은 內部組織의 致死나 原形質의 變化가 일어나고, 細胞膜의 투과성이 變化되어 養分의 공급이 불량하게 되므로 그 결과 全體生長이 크게 저해되는 것으로 생각된다.

한편 lactone의 作用효과가 GA에 依해서 일부 상쇄되었으나 lactone을 anti-GA로 인정할 수는 없으며 (Dalvi & Salunke, 1971), 이 문제는 더 많은 實驗을 통해서 해명될 수 있을 것이다.

以上과 같은 lactone의 作用効果는 alantolactone과 isoalantolactone의 α -methylene- γ -lactone部(基) 때문에 나타나는 것으로 사료된다(Marshall & Cohen, 1964) 즉 α -methylene- γ -lactone部를 가진 sesquiterpene lactone은 *in vitro*에서 cysteine(Kupchan, et al., 1970; Lee, et al., 1971)이나 amine(Steele, et al., 1959)等과 adduct를 形成할 수 있어서 體內에서도 細胞의

致死를 일으키며 酵素의 thiol基와도 反應하여 酵素活性을 저하시킬 수도 있다(Hanson, et al., 1970). 故로 γ -lactone의 cysteine adduct(Shibaoka, et al., 1967; Kupchan, et al., 1971)나, alantolactone과 cysteine을 동시에 生物에 공급하면 sesquiterpene lactone의 作用性이 감소되거나 소실된다(Dalvi & Salunke, 1971). 故로 本實驗에 使用된 lactone도 α -methylene- γ -lactone部를 가진 alantolactone과 isoalantolactone의 혼합물임으로 植物體內에서 아미노酸이나 蛋白質(Mitchell, et al., 1970) 또는 nucleotide들과 結合할 수 있을 것이니 그 結果로 生長이 旺盛한 細胞나 組織이 더 큰 피해를 받는 것으로 생각된다.

한편 體內에 투입된 lactone의 一部는 體內에서 移動할 수 있을 가능성이 있다. 그러나 本實驗에서는 증명되지 않았으며 實驗期間을 연장해서 開花와 結實까지 觀察한다면 lactone의 移動과 축적에 관한 보다 精確한 해석을 할 수 있을 것으로 사료된다.

이제까지의 고찰로부터 결론할 수 있는 것은 Inula sesquiterpene lactone은 植物體內에서 移動하기는 어렵으나 접촉부위의 細胞나 組織의 生長은 크게 억제하며 特別 뿌리에 투입했을 경우 植物體全部의 生長이 저해되는 것으로 보아서 lactone을 含有하는 *Compositae*의 分布는 生態學的으로 重要な 의의를 가질 수 있을 것이라 하겠다.

본 실험 도중 많은 기술적인 조력을 해 준 朴敏哲氏에게 감사하며, 시종 여러가지로 도움의 말씀을 해주신 禹源植교수님께 사의를 표하는 바이다.

요 약

식물생장에 미치는 Inula lactone의 억제효과를 조사하였다.

1. lactone은 生長증인 *Phaseolus vulgaris*의 줄기와 잎의 生長을 크게 억제하였으나 그 효과는 처리부위에만 국한되었다.
2. lactone을 뿌리부위에 처리하면 식물 전체의 生長이 억제되었다.
3. lactone과 접촉된 줄기의 표피는 검게 변색되었고, 피층의 발달은 중단되며, 형성층과 사관부는 band상의 구조물로 변질되었다.
4. GA는 lactone에 의한 生長억제를 경우에 따라 일부 회복시킬 수 있었다.
5. lactone은 체내 이동이 대단히 어렵고, 생활력이 활발한 세포에 대해서 더욱 큰 작용성을 나타내었다.

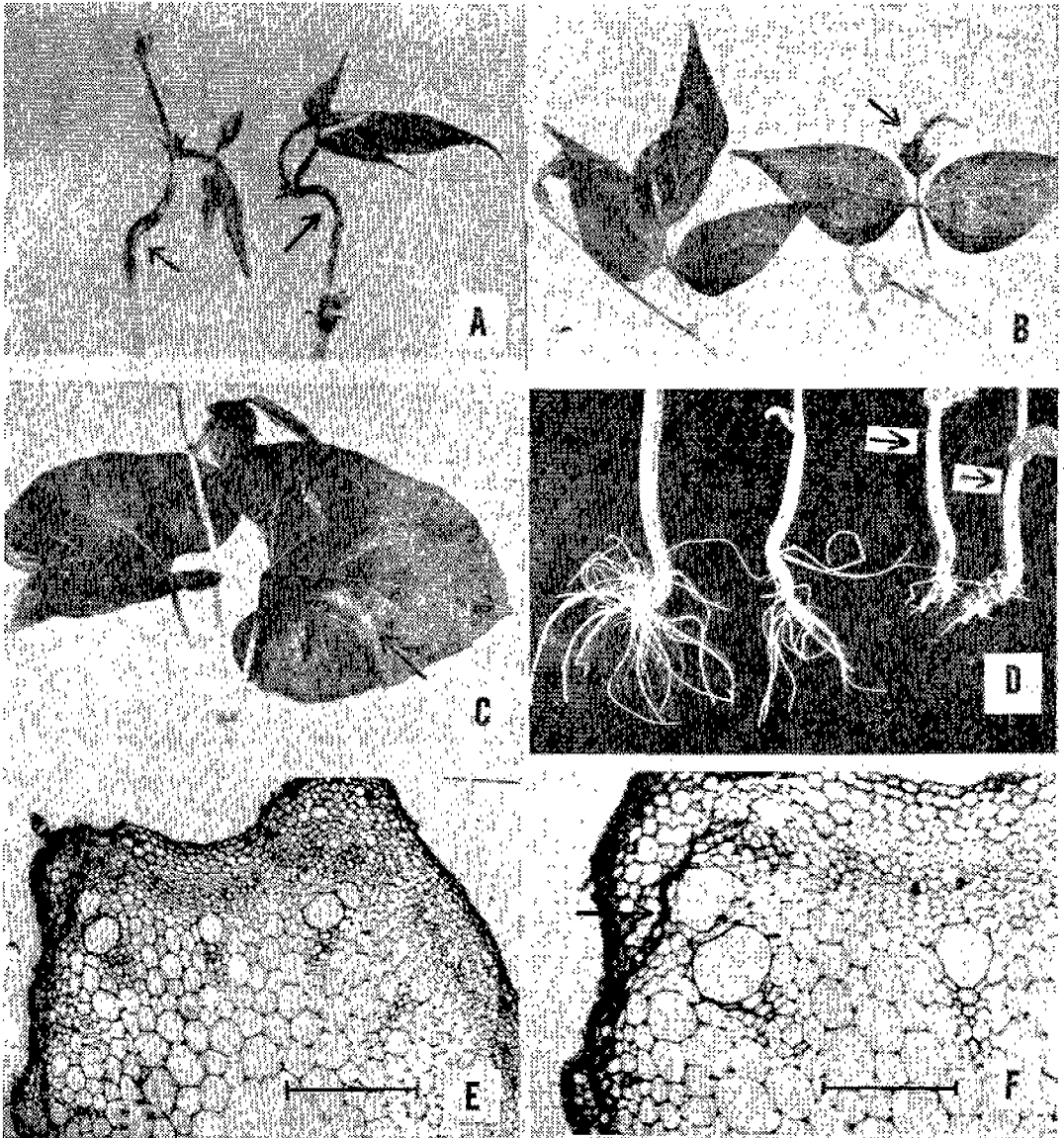


Plate 1. Inhibitory effect of the Inula sesquiterpene lactones in different parts of *Phaseolus vulgaris*

- A: Second internode of treated plant. The arrow indicated treated region.
- B: Leaf of second internode. Treated young leaf is indicated by the arrow.
- C: Matured leaf. Treated area is indicated by the arrow.
- D: Comparison of growth of root under the treatment of the lactone for 3 days. The region of root re-initiation after the plant was transferred to the normal medium is indicated by the arrow. Right; normal, left; treated.
- E: Cross section of treated shoot. The bar indicated 250 μ distance.
- F: Cross section of treated stem. Degeneration of cambial and phloem tissues is indicated by the arrow. The bar indicated 120 μ distance.

REFERENCES

Arnone, D. I. and D. R. Hoagland 1940. Crop production in artificial solutions and in soil with special reference to factors influencing yields and absorption of inorganic nutrients. *Soil Sci.*, 5. 463—9.

Dalvi, R. R. and D. K. Salunke 1971. A study of phytotoxicity of alantolactone. *Chem-Biol. Interactions.* 3. 13—8.

- Hanson, R.D., Lardy, H. A. and S. M. Kupchan 1970. Inhibition of phosphofructokinase by quinone method and α -methylene lactone tumor inhibitors. *Science*. 168. 378—80.
- Kim, C. S., T. K. Suh and J. Y. Park 1961. The paracitidal action of *Inula heleniun* and alantolactone on *Faciola hepatica in vitro*. *J. Tagu Med. Soc.* 3. 171—175.
- Kupchan, S. M., D. C. Fessler, A. M. Eakin and T. J. Giacobbe 1970. Reaction of alpha methylene tumor inhibitor with model biological nucleophiles. *Science*. 168. 376—8.
- Kupchan, S. M., M. A. Eakin and A. M. Thomas 1971. Tumor inhibitors 69. Structure-cytotoxicity relationships among the sesquiterpene lactones. *J. Med. Chem.* 14. 1147—52.
- Kwon, Y. M., W. S. Woo, L. K. Woo and M. J. Lee 1973. Effect of the Inula Sesquiterpene Lactones on the Respiration of Plants. *Korean Biochem. J.* 6. 82—91.
- Lee, K. H., E. S. Huang, C. Piantadosi, J. S. Pagino and T. A. Geissman 1971. Cytotoxicity of sesquiterpene lactones. *Cancer Res.* 31. 1649—54.
- Marshall, J. A. and N. Cohen 1964. The structure of alantolactone. *J. Org. Chem.* 29. 3727—9.
- Mitchell, J. C., B. Fritig, B. Singh and G. H. N. Towers 1970. Allergic contact dermatitis from *Frullania* and *Compositae*. *J. invest Dermatol.* 54. 233—9.
- Olechnowicz-Stepien, N. and S. Stepien 1963. *In vitro* and *in vivo* studies on the activity of helenine and its components against some species of dermatophytes. *Dissertation Pharm.* 15. 17—22.
- Shibaoka, H., M. Shimokoriyama, S. Iriuchijima and S. Taruma 1967. Promoting activity of terpenic lactones in *Phaseolus* rooting and their reactivity toward cysteine. *Plant & Cell Physiol.* 8. 297—305.
- Steele, J. B. Stenlake and W.D. Williams 1959. Adducts of alantolactone and isovalantolactone with bases. *J. Chem. Soc.* 2627—8.
- Yudovich, E. A. 1962. Essential oil in underground organs of *Inula grandis*. *Tr. Tashikentsk, Farmatsevti. Inst.* 3. 145—54. *From Chem. Abst.* Vol. 59, 407F.
- Woltz, S. S. 1963. Growth-modifying and antimetabolite effects of amino acids on *Chrysanthemum*. *Pl. Physiol.* 38. 93—9.

(1973. 3. 30 접수)