

저온처리에 따른 완두 유묘의 IAA Oxidasee 活性的 변화

朴魯東 · 徐鎔澤 · 申容光

전남대학교 농과대학 농화학과
(1983년 4월 20일 수리)

Changes in the Activity of IAA Oxidase during Chilling Pea Seedlings

Ro-Dong Park, Young-Tack Suh and Yong-Kwang Shin

Dept. of Agricultural Chemistry, College of Agriculture, Chon-nam
National University, Kwanju, Korea

Abstract

The indole-3-acetic acid (IAA) oxidase activity of shoot and root tips of etiolated pea seedlings (*Pisum sativum* L. var. Sparkle) during and after chilling was determined. The IAA oxidase level of root tips was 4 to 15 times as high as that of shoot tips. During chilling the seedlings apical and subapical 5 mm shoot sections increased in IAA oxidase activity but apical and subapical 5 mm root sections decreased. When chilled plants were returned to 25°C to recover, the enzyme activity had a tendency to restore to the activity level of controlled plants.

서 론

低溫障礙의 원인을 生體膜의 物理的 生化學的 성질의 변화에서 찾으려는 시도는 계속되고 있다^{1~4)}. 저온에 약한 식물에서 관찰되는 膜의 相轉移는⁵⁾ 膜에 결합된 酵素의 活性化 에너지를 높여 ATP 공급의 감소와 원형질 流動의 정지를 유발할 뿐만 아니라 膜에 결합된 효소계와 세포질내의 효소계 사이에 代謝의 不均衡을 초래함으로써 저온장애에 의해 유발되는 諸現象의 시초가 되는 것으로^{3~5)} 알려졌다. 이는 저온장애를 받은 조직중의 효소계는 다소간에 그 활성이 변할 수 있다는 것을 의미하며, 이러한 변화는 생체내에 有毒物質을 蓄積시키거나 주요代謝物質의 缺乏을 초래하게 할 지도 모른다^{2,5,6)}. 저온처리의 결과 그 활성이 증

가하는 효소에는 invertase, phenylalanine ammonia lyase, tyrosine ammonia lyase, catalase, alcohol dehydrogenase 등^{7~10)} 다수가 있으며. 그 활성이 감소하는 것으로는 amylase, malate dehydrogenase 등^{7,11)}이 있다.

한편 인돌초산 산화효소 (indole-3-acetic acid oxidase, IAAO)는^{12,13)} 天然 식물호르몬인 인돌초산 (indole-3-acetic acid, IAA)의 分解代謝에 직접 관여하여 식물 生長을 調節하는 것으로 알려졌다. IAAO는 여러 동질효소로 구성되어 있으며^{14~18)} peroxidase 활성과 관련지어 peroxidative형과 non-peroxidative 형으로 구분하는데 최근의 보고에¹⁸⁾ 따르면 종래의 견해와는 달리 後者が 주된 활성을 갖는다고 한다.

생체내 IAA 수준은 IAAO에 의한 分解, 生合成 그리고 여러 不活性型으로의 전환에 의해서 調

節約되지만^{19, 20} IAAO의 활성과 IAA 함량 사이에 역비례 관계가 있음은 오래전부터 관찰된 사실로써²¹⁻²³ 이것은 IAAO에 의한 IAA의 分解反應이 IAA 수준을 조절하는 데 중요한 徑路임을 가리키는 것이다.

그러므로 환경의 변화에 따른 IAAO의 활성변화에 대한 연구는 식물의 適應生長과 관련하여 매우 중요한 과제로 간주된다. 그러나 이에 관한 연구는 미미하여 저온처리나 水分障礙를 유도한 식물체의 抽出物에서 IAAO의 활성과 동질효소의 변화에 대한 보고가 약간 있을 뿐이다^{20, 24, 25}.

본실험에서는 低溫이 IAAO 활성에 미치는 영향을 구명하기 위하여 완두를 저온(5°C)과 정상생육 온도(25°C)에서 栽培하면서 줄기와 뿌리를 잘라 in vivo IAAO의 활성을 測定하였고, 필요에 따라 효소를 추출하여 그 활성도 조사하였다.

재료 및 방법

1. 완두의 재배와 처리

완두(*Pisum sativum* L. var. Sparkle) 種子를 2.5% Clorox 용액에 10분간 담가 消毒하고 12시간 동안 浸種하였다가 催芽시켜 쟁반에 담은 vermiculite에 심었다. 暗室조건에서 25±1°C로 유지한 항온기에서 6일 동안 재배하고 그 일부를 5±2°C의 저온 항온기에 옮겼다. 일정시간 저온처리한 것의 일부를 다시 25±1°C의 항온기에 옮겨 성장을 회복토록 하였다.

2. in vivo IAAO의 활성 측정

Galston과 Dalberg의 方法을²¹ 변개하여 다음과 같이 in vivo IAAO의 활성을 측정하였다.

줄기와 뿌리에서 각각의 끝에서부터 차례로 5mm의 길이로 잘라 IAA(40µg/ml)와 2,4-dichlorophenol(DCP, 10⁻⁵M)을 함유한 인산완충액(0.1M, pH 6.0) 10 ml에다 동일 部位의 것을 10개씩 넣고 어두운 곳의 30°C 수욕조에서 자주 흔들어주면서 1시간 동안 배양하였다. 배양이 끝나면 배양액 1.0 ml에다 Salkowski 試藥(증류수 500ml에다 300ml의 진한 황산과 15ml의 0.5M FeCl₃를 혼합하여 조제하였음)¹² 2.5ml를 가하여 어두운 곳에서 1시간 동안 발색시키고 波長 535nm에서 吸光度를 측정하여 既知의 IAA 용액으로 作成한 표준곡선에 따라 殘餘 IAA 함량을 구하였다. 한편 배양액 속에 든 식물체 조각의 생체중을 측정하였다.

3. 酵素抽出과 IAAO의 활성 측정

幼苗를 줄기, 자엽, 뿌리로 잘라 나누고 필요한 부위를 취하여 미리 차게한 막자사발에서 1:10(w/v)의 비로 인산완충액을 가하고 마쇄한 다음 濾液를 조효소로 사용하였다²⁰.

조효소액 1.0ml에 IAA 용액(180µg/ml) 2.0ml와 인산완충액 7.0ml를 가하고 어두운 곳의 수욕조(30°C)에서 배양하면서 上記와 같은 方法으로 발색시켜 흡광도를 측정하였다.

모든 실험은 赤色の 셀로판지로 遮光한 실험실에서 3반복으로 수행하였으며 효소에 의하여 분해된 IAA 함량도 3반복으로 정량하였다. 효소활성은 생체중을 기준하여 표시하였다.

결과 및 고찰

줄기의 끝 5mm와 그 아래 5mm를 잘라서 조사한 IAAO의 활성을 Fig. 1에 나타냈다. IAA의 함량이 높고 생장이 왕성한 줄기끝의 IAAO 활성이 그 아래 부분의 그것보다 2~3배 낮은 값을 보였다. 저온 처리시 IAAO 활성은 增加하였으며 이때 줄기의 생장은 대조와 비교하여 생체중은 25~50%, 길이는 30~60% 억제되었다. 저온처리를 받은 幼苗를 다시 25°C의 정상생육온도로 옮겼을

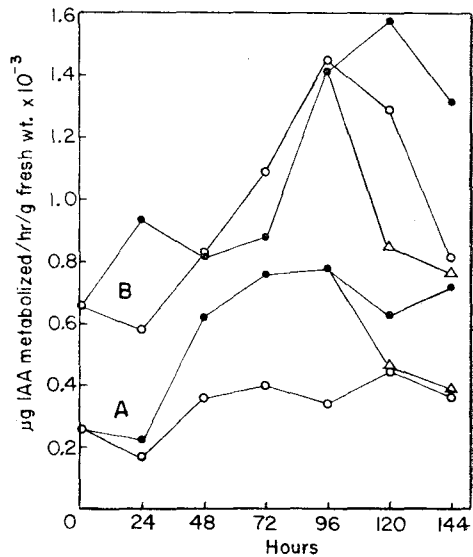


Fig. 1. Effects of chilling on IAA oxidase activities of apical(A) and subapical(B) 5mm shoot sections of pea seedlings. (●—●) chilling(5°C), (△—△) recovery(25°C), (○—○) control(25°C)

때 곧 대조와 같은 수준으로 그 활성이 회복되었고 성장도 빠르게 증가하였다.

Fig. 2에는 뿌리의 IAAO의 활성변화를 나타내고 있는데 그 활성이 줄기에 비하여 4~15배의 수준이었다. IAAO의 활성은 배양액중의 잔여 IAA를 측정하여 비교한 것이므로 이러한 차이가 배양액에 노출된 뿌리조직과 줄기조직의 IAA에 대한 吸收能力의 차이에서 (일반적으로 뿌리조직이 可溶性 化合物의 吸收가 용이하므로) 연유되었을지도 모른다는 생각이 들었다. 그러나 배양후에 IAA의 分解産物을 抽出 定量하였을 경우에도 뿌리조직의 배양액중의 3-methylene oxindole 含量이 줄기조직 배양액의 그것보다 3~10배 높게 나타나 조직에 따른 IAA에 대한 흡수능력의 차이가 배양액중의 IAA 감소의 制限因子로 作用하였을 것 같지는 않았다. 뿌리의 큰 IAAO 활성은 뿌리중의 IAA 含量을 줄기에 비하여 보다 낮게 유지시키는 데 기여하리라고 본다. 뿌리의 끝 5mm 부위와 그 다음 5mm 부위의 효소 활성은 줄기에서처럼 뚜렷한 차이가 없었다. 저온 처리시에는 줄기와 대조적으로 IAAO 활성이 억제되는 경향이였다. 이때 뿌리의 생장은 대조구에 비하여 생체중은 25~50%, 길이는 10~40% 억제되었다.

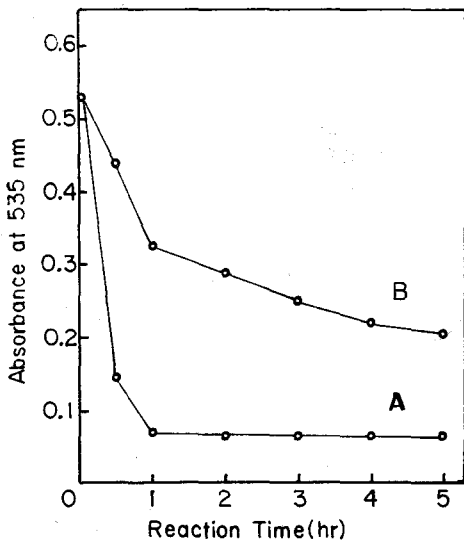


Fig. 2. Effects of chilling on IAA oxidase activities of apical(A) and subapical(B) 5mm root sections of pea seedlings. (●-●) chilling (5°C), (△-△) recovery (25°C), (○-○) control (25°C)

저온 처리한 식물을 정상생육온도로 옮겼을 때 IAAO 활성은 신속하게 대조구의 수준으로 회복하

는 경향을 보였는데 조효소를 추출하여 시험하였을 때에도 동일한 결과를 주었다²⁵⁾. 저온장애의 한 과정이 저온접촉에 의하여 毒性物質의 蓄積 및 주요 代謝物質의 缺乏과 관련되는 듯 하며^{2,5,6)} 이와 같은 신속한 효소활성의 회복은 특정물질들을 제거시키거나 부족한 대사물질을 補充시켜서 저온장애를 감소시킬 수 있다고 생각되었다. 실제로 식물이 오랫동안 저온상태에 놓이더라도 가끔 정상생육온도에 2~3일 동안 있게 되면 저온장애가 감소되었다는 보고가^{6,27)} 있다.

저온 처리시에 줄기와 뿌리의 효소활성의 변화 양상이 다른 점은 특기할만 하였다. 즉, 줄기에서는 IAAO 활성이 증가한 반면 뿌리에서는 감소한 경향이 그것이다. 이는 식물이 저온에 놓이게 되면 IAAO의 서로 다른 調節機構에 따라 줄기에서는 효소활성을 증가시켜서 IAA 수준을 낮추는 데 반하여 뿌리에서는 그 활성을 억제하여 오히려 IAA 수준을 약간 높여 환경변화에 適應하려는 것으로 해석되었다. 식물의 뿌리 성장을 억제하는 seselin은 풀나무의 뿌리에만 分布하며 abscisic acid는 그 줄기에서만 同定되었다는 보고는^{26,28,29)} IAA 含量의 調節機構가 줄기와 뿌리에서 서로 다를 수 있음을 시사하는 것으로 보인다.

IAAO의 활성 조절에 관여하는 因子들에는 天然에 널리 分布하는 케놀류, coumarin, scopoletin, seselin, catechol, flavonols, peroxide, 기타 자유

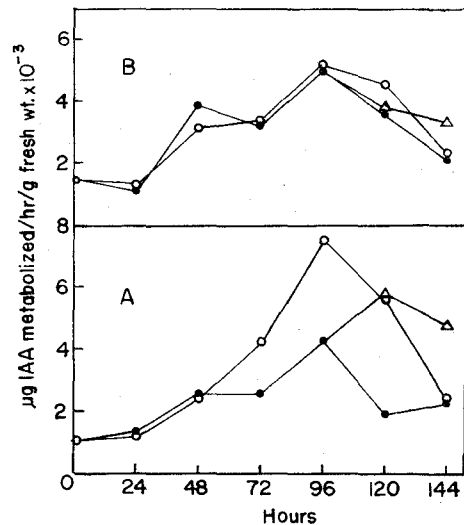


Fig. 3. Kinetics of IAA oxidation by IAA oxidase in shoot extracts. A; 10⁻⁵M DCP, B; 0M DCP

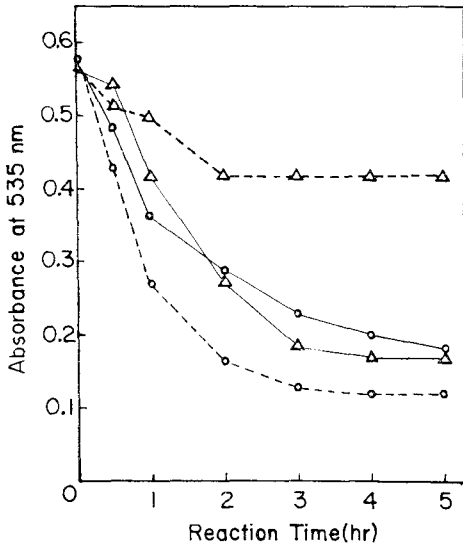


Fig. 4. Effects of DCP on IAA oxidation by cotyledon extracts of recovery(△) and control (○) plants. Broken line; 10⁻⁵M DCP, Solid line; 0M DCP

라디칼을 갖는 化合物 등 多數가 있다^{30~33}. 赤色光은 암실재배한 완두에서 줄기의 끝부분에서는 IAAO의 저해제인 quercetin의 生合成을 촉진시켜 성장을 빠르게 하지만, 그 아래 부분에서는 IAAO의 補助酵素인 kaempferol의 生合成을 촉진시켜 성장을 억제시킨다고¹⁹ 한다. 그러므로 천연에 존재하는 넓은 의미의 페놀류 化合物이 in vivo IAAO의 활성에 직접 영향을 미칠 수 있으리라고 예상되었다.

Fig. 3은 줄기에서 추출한 조효소액과 IAA를 임의의 시간 동안 배양한 다음 잔여 IAA를 측정 한 결과이다. 10⁻⁵M의 DCP가 줄기와 뿌리(Fig. 3에는 나타나지 않았음)에서 추출한 IAA의 활성을 뚜렷이 증가시켰으나 저온 처리에 따른 차이는 인정되지 않았다.

Fig 4.는 자엽부에서 추출한 조효소의 활성을 나타낸 것으로서, DCP의 수준이 Fig. 3에서와 동일함에도 불구하고 효소활성에 미치는 效果는 판이하게 달랐다. 즉 DCP를 가하였을 때에 대조구에서는 활성이 增加한 데에 비하여 회복구와 저온처리구(Fig. 4에는 나타나지 않았음)에서는 오히려 억제되었다. 저온에 놓였던 식물 조직에서 탄닌, tyrosine과 dopa, chlorogenic acid와 total polyphenol이 蓄積되었다는 보고^{34~36}를 미루어볼 때, 이는 低溫에 의하여 유도된 페놀 化合物의 含量과

상대적 組成의 변화에서 유래된 결과이리라고 생각되었다. 그러므로 조직 부위에 따른 효소활성의 차이와 저온 처리에 대해 줄기와 뿌리가 서로 상반된 IAAO 활성 변화를 보인 데에는 페놀 化合物류가 보조인자로서 일부관계하였다고 볼 수 있었다.

요 약

저온이 IAAO의 활성에 미치는 영향을 구명하기 위하여 暗室에서 재배한 완두(*Pisum sativum* L. var. Sparkle)의 幼苗를 재료로 저온처리 기간과 그 후의 IAAO의 활성변화를 測定하였다.

줄기의 끝 5mm 부위의 IAAO 활성이 그아래 5mm 부위의 그것보다 2~3배 낮았으며, 뿌리의 IAAO 활성은 줄기의 그것보다 4~15배 높았다. 저온 처리시 줄기의 IAAO 활성은 증가하였으나 뿌리에서는 오히려 抑制되는 경향을 보였다. 저온 처리를 받은 幼苗를 다시 정상생육 온도(25°C)로 옮기면 IAAO 활성은 대조구의 수준으로 회복하는 경향이였다.

조직 부위에 따른 효소 활성의 차이와 저온에 대한 줄기와 뿌리의 서로 다른 효소 활성 변화 양상은 同質酵素인 IAAO의 調節機構가 조직에 따라 相異할 수 있음을 시사하는 것이었으며 植物界에 널리 分布하는 IAAO 補助因子인 페놀 化合物류의 消長과 일부 관계가 있는 것처럼 보였다.

참 고 문 헌

1. Singer, S.H.: In 'Structure and Function of Biological Membrane,' L.I. Rothfield(ed), p.145-222, Academic Press, N.Y.(1971).
2. Lieberman, M., Craft, C.C., Audia, W.V. and Wilcox, M.S.: Plant Physiol., 33 : 307 (1958).
3. Lyons, J.M. and Raison, J.K.: Plant Physiol., 45 : 386(1970).
4. Mussell, H. and Staples, R.C.: In 'Stress Physiology in Crop Plants,' 143-196, John Wiley & Sons, N.Y.(1979).
5. Lyons, J.M.: Ann. Rev. Plant Physiol., 24 : 445(1973).
6. Smith, W.H.: Nature, 159 : 541(1847).
7. Chapar, H.S., Mattoo, A.K. and Modi, V.V.: Phytochemistry, 10 : 1007(1971)

8. Kozukue, N., and Ogata, K.: J. Jap. Soc. Hort. Sci., 40 : 400(1971).
9. Murata, T. and Ku, H.S.: J. Food Sci. Technol., 13 : 466(1866).
10. Yoshioka, K. and Honda, K.: J. Food Sci. Technol., 17 : 486(1970).
11. Uritani, I., Hyodo, H. and Kuwano, M.: Agr. Biol. Chem., 35 : 1248(1971).
12. Tang, Y.W. and Bonner, J.: Arch. Biochem. Biophys., 13 : 11(1947).
13. Ray, P.M.: Ann. Rev. Plant Physiol., 9 : 81(1958).
14. Frenkel, C.: Plant Physiol., 49 : 759(1972).
15. Lee, T.T.: Plant Physiol., 48 : 56(1971).
17. Lee, T.T.: Plant Physiol., 49 : 957(1972).
18. Bryant, S.D. and Lane, F.E.: Plant Physiol., 63 : 696(1979).
19. Moore, T.C.: In 'Biochemistry and Physiology of Plant Hormones,' Chapter 2, Springer-Verlag, N.Y.(1979).
20. Darbyshire, B.: Plant Physiol., 47 : 65(1971).
21. Galston, A.W. and Dalberg, L.Y.: Amer. J. Bot., 41 : 373(1954).
22. Galston, A. W.: Amer. Scientist, 55 : 2(1967).
23. Kerstetter, R.E. and Keitt Jr. G.W.: Plant Physiol., 41 : 903(1966).
24. Bolduc, R.J., Cherry, J.H. and Blair, B.O.: Plant Physiol., 45 : 461(1970).
25. Omran, R.G.: Plant Physiol., 65 : 407(1980)
26. Goren, R. and Tomer, E.: Plant Physiol., 47 : 312(1971).
27. Smith, A.J.M.: J. Hort. Sci., 25 : 132(1959).
28. Tomer, E., Goren, R. and Monselise, S.P.: Phytochemistry, 8 : 1315(1969).
29. Goldschmidt, E.E. and Monselise, S.P.: Plant Physiol., 43 : 113(1968).
30. Sirois, J.C. and Miller, R.W.: Plant Physiol., 49 : 1012(1972).
31. Waygood, E.R., Oak, A. and MacLachlan, G.A.: Can. J. Bot., 34 : 905(1956).
32. Goldacre, P.L., Galston, A.W. and Weintraub, R.L.: Arch. Biochem. Biophys., 43 : 358(1953).
33. Goldschmidt, E.E., Goren, R. and Monselise, S.P.: Planta, 72 : 213(1967).
34. Barnell, H.R. and Barnell, E.: Ann. Bot., 9 : 77(1945).
35. Kozukue, N. and Ogata, K.: J. Jap. Soc. Hort. Sci., 40 : 300(1971).
36. Lieberman, M., Craft, C.C. and Wilcox, M. S.: Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 74 : 642(1959).