

고려인삼 (*Panax ginseng* C. A. Meyer) 조직배양에서 2,4-dichloro phenoxyacetic acid와 kinetin첨가가 Isoperoxidase 변이에 미치는 영향

김 명 원 · 강 영 희*

연세대학교 원주대학 생물학과, 연세대학교 이과대학 생물학과*
(1983년 5월 12일)

Effect of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid and Kinetin on Peroxidase Isoenzymes in Ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) Callus Cultures

Kim, Myong Won and Young Hee Kang*

Won-ju College, Yonsei University, College of Science, Yonsei University*

(Received May 12, 1983)

Abstract

This study was undertaken to investigate the influence of kinetin and 2, 4-dichloro-phenoxyacetic acid on the rate of growth, the contents of RNA, DNA, and protein. And also the effect of plant growth regulator on isoperoxidases in callus derived from root (root-callus) and petiole (petiolecallus) was investigated.

The rate of growth in petiole-callus was higher than the rootcallus at 0.1mg/l kinetin and 1mg/l 2,4-D. At 1mg/l kinetin, the rate of growth increased, but at high concentration the rate of growth decreased fast. The contents of RNA, DNA and protein also increased, but it did not coincide with the increase of the growth rate of callus.

The isoperoxidases of callus grown at various amounts of 2,4-D and kinetin occurred in an almost fashion, but those of root-callus appeared different from those of petiole-callus.

I. 서 론

Peroxidase는 1918년 Willstätter와 Stoll의 horseradish에서 처음으로 분리한¹⁾ 이후 많은 식물에서 연구되어 왔다²⁾.

특히 peroxidase는 기질에 대한 특이성이 다양하여 고등식물에서의 생리적 특성이나 기능에 대한 상세한 것에 대해서는 현재는 극히 제한된 몇가지 생리적 기능에 대해서만 연구 보고가 있는 정도이다.

Peroxidase는 ethylene 합성³⁾이나 lignification⁴⁻⁶⁾, pyridine nucleotide의 산화⁷⁾ 또는 oxaloacetate가 malonate로 전환⁸⁾하는데 있어 중요한 역할을 한다는 보고가 있다. 특히 Van Offenbeck는 peroxidase가 IAA를 산화시킨다고(Van Offenbeck, 1935) 보고하였고, 이후 peroxidase에관

한 대부분의 연구보고는 IAA oxidase로써 작용한다⁹⁾는 것에 관한 것이었다. 그러나 생체내에서 peroxidase는 여러가지 형태의 효소로 존재하기 때문에²⁾ peroxidase의 생체기구에 관한 많은 문제점이 있다.

조직배양에서는 callus 증식에 peroxidase가 대단히 중요한 역할을 하기 때문에 callus에서의 peroxidase에 관한 연구가 많은 학자들에 의해 이루어 지고 있다. Lavee 등은 담배조직 배양에서 callus의 peroxidase isoenzyme (isoperoxidase)에 관해 연구한 결과 담배 callus에는 12개의 서로 다른 isoenzyme이 있음을 밝혀내고¹⁰⁻¹²⁾, isoperoxidase의 수나 활성도는 담배 조직배양의 환경조건, 즉 식물생장 조절물질 종류, 농도, 온도, 광량등이 변함에 따라 달라진다고 하였고, 특히 IAA 농도가 높아짐에 따라 IAA oxidase의 새로운 isoenzyme이 형성되며¹³⁾, kinetin 첨가농도에 따라 isoperoxidase 비율이 달라짐을 보고하였고 Shao-Ling¹²⁾은 빛을 쬐여주는 양에 따라 담배 배양세포내의 isoperoxidase 양상이 달라진다고 하였다. 또한 Shapfer¹⁴⁾는 배지내의 Ca⁺ 농도에 따라 담배 배양 세포내에서 lignification을 억제함으로써 isoperoxidase의 활성도를 변화시킨다고 하였다. 이러한 연구보고들로 미루어 보아 peroxidase의 isoenzyme들은 생체내에서 존재하는 위치가 서로 다르고 기질에 대한 특이성도 서로 다르다는 것은 확실하다고 추상된다.

그러면 과연 peroxidase의 식물체내에서의 기능은 무엇이고, 식물의 종 및 식물생장 조절물질에 따라 isoperoxidase pattern이 다른 이유는 무엇이며, 또 왜 이렇게 많은 형태의 isoenzyme이 존재하게 되는가를 밝히기 위하여 많은 사람들이 순수 분리하여 각각에서의 기구를 밝히려 하였다.^{15-18, 45)} 그러나 이들은 단지 peroxidase를 순수 분리하여 각각 isoperoxidase의 몇가지 생화학적 성질을 추적했을 뿐 isoperoxidase의 생성기구 등에 대해서는 완전하게 설명하지 못했다.

또한 Chmielnicka 등도 horseradish에서 isoperoxidase를 순수 분리하여 각 isoenzyme의 분자량을 측정하고 isoenzyme의, subunit인 탄수화물과 아미노산을 분리하여 구성성분을 밝힘으로써 isoperoxidase의 생리적 기능을 밝히는데 기초를 세웠다.¹⁹⁻²⁴⁾

특히 pickering은 담배 배양세포 WR-132에서 isoperoxidase C₁와 C₂를 분리하여 분자량 및 생리적 특성, 활성기구 등을 조사한 결과 분자량이 isoperoxidase에 따라 서로 다를 뿐만 아니라 기질에 대한 특이성이 서로 다르고, isoperoxidase C₂는 60°C에서도 30분간이나 활성이 있을 만큼 안정한 상태여서 물리적 성질도 서로 다름을 보고하였다.²⁵⁾

이상에서 밝혀진 바와같이 같은 식물의 isoperoxidase라 하더라도 enzyme의 생리적 특성 및 활성기구가 전혀 다른 경우가 있는가 하면 어떤 식물의 경우는 enzyme의 생리적 특성 및 활성기구등이 거의 비슷한 경우도 있다.

인삼의 경우도 *Panax ginseng*과 *Panax qiunquefulium*이 시기에 따라 부위별로 isoperoxidase pattern 서로 다르게 나타나는 사실²⁶⁾로 보아 인삼조직 배양에서 callus가 유래된 부위에서 2,4-D와 kinetin의 농도에 따라 isoperoxidase pattern이 달라 질 수도 있을 것으로 생각되어 Davidonis 등²⁷⁾이 대두의 자엽과 잎에서 각각 유래된 callus의 생리적 성질이 서로 다르다는 보고등을 기초로 하여 인삼엽병과 뿌리에서 유래된 callus에 2,4-D와 kinetin의 농도를 각각 달리하여 isoperoxidase pattern을 조사하려 하였다.

인삼(*Panax ginseng*)은 옛날부터 만병통치의 약초로 전해내려오는 오가피과에 속하는 식물로서 재배조건이 까다롭고 장기간 재배해야 되는 재배가 난이한 식물인 만큼 여러면에서 연구자들의 관심을 끌고있는 식물이다. 그러면서도 고려인삼(*P. ginseng*)은 여러가지 난이한 문제로

아직 품종은 확정되어 있지않고 그 생리적 특성도 정립되어 있지 않은 상태일 뿐만 아니라 조직배양에서도 타 식물에 비하여 배양세포의 성장율이 10-20% 정도 밖에 미치지 못하고 또한 재현성도 적다.

또한 인삼의 약효성분이라고 하는 saponin의 분포양상이 뿌리와 지상부가 달라서 뿌리에는 protopanaxatriol계 ginsenoside가 protopanaxadiol계 ginsenoside보다 많고 지상부는 양상이 이와 반대로 분포되어 있고 조직배양할 경우 뿌리에서 유래된 callus와 지상부에서 유래된 callus의 성장율이 다른점등으로 미루어 보아, 뿌리유래 callus와 엽병유래 callus가 생리적 특성이 서로 달라지지 않는가를 보기 위하여 우선 두 callus의 2,4-D와 kinetin 첨가농도가 증가함에 따라 배양세포내 RNA, DNA, protein등이 어떻게 변하며 또한 isoperoxidase의 양상이 어떻게 변하는가를 관찰하였다.

II. 실험재료 및 방법

공시재료 :

고려인삼 (*Panax ginseng* C. A. Meyer) 6년근과 그 엽병을 사용하였다.

Callus 배양 :

6년생 인삼뿌리를 중성세제로 깨끗이 세척한 후 2.5cm 정도 되게 잘라 95% ethyl alcohol에 3-4초간 담그었다가 7% calcium hypochlorite 수용액에 30분간 살균하여 무균실에서 살균수로 3-4회 세척하여 사용하였다.

살균된 뿌리는 두께 1-2mm, 직경 5mm 정도의 크기로 잘라 접종하였다. 기본 배지로 modified Murashige and Skoog 배지²⁷⁾를 사용하였으며 2,4-D와 kinetin의 영향을 보기 위하여 2,4-D 농도 0.1, 1.0, 10.0, 100.0mg/l와 kinetin을 각각 0.1, 1.0, 10.0mg/l씩 첨가하여 사용하였다. 배지를 굳히기 위하여 Agar (Difco)를 1.0% 첨가하였고 pH는 고압 멸균 전 6.0이 되도록 조절하였다. 접종한 것은 25±1°C의 암상태의 배양실 내에서 배양하였으며 1년간 한달에 한번씩 계대배양해 준것을 시료로 사용하였다.

세포 현탁 배양 :

Modified Murashige and Skoog 기본 배지에 식물 성장조절 물질을 첨가하지 않고 callus를 이식하여 stock culture로 사용하였다. stock culture는 세포를 균일하게 하기 위하여 120RPM으로 진탕하여 1주일후 재료로 사용하였다.

세포현탁배양을 위한 배지로는 상기와 같은 배지를 Agar만 빼고 사용하였다.

배지는 100ml Erlenmeyer flask에 각각 20ml씩 일정하게 분주한 후 stock culture를 균일하게 하여 5ml씩 이식하고 25±1°C 항온 진탕기 배양기 내에서 배양하여 25일과 50일에 각각 fresh weight를 측정하여 세포증식율을 비교하고 RNA, DNA, protein을 정량하였다.

Protein 정량 :

배양한 세포를 Fig 1과 같이 추출하여 Lowry 방법²⁸⁾에 따라 spectrophotometer(상기와 같음)로 750nm에서 측정하였고 단백질 표준시약은 Bovine Serum Albumine (Sigma Chem Ltd.)을 사용하였다.

DNA와 RNA 정량 :

배양한 세포는 여과하여 Schmidt-Thanhanser²⁹⁾의 방법³⁰⁾을 이용하여 Fig 1 과 같이 추출한 다음 RNA는 665nm에서 spectrophotometer (Double Beam Spectrophotometer, uv-200s, Schimadzu)로 측정하였고 DNA Diphenylamine method에 의해 595nm에서 측정하여 정량하였다. standard로는 Yeast RNA (BDH Chem. Ltd.)와 Calf Thymus DNA (Sigma Chem. Ltd.)를 사용하였다.

Electrofocusing :

Agar 배지에서 1년동안 배양한 callus 2g을 0.05M phosphate buffer (ph 7.0) 5ml로 homogenize하여 15,000g로 4℃에서 30분간 원심분리한 후 상등액을 시료로 사용하였고 callus와 비교하기 위하여 엽병조직을 0.5cm 길이로 잘라 10% sucrose 용액에 2,4-D와 kinetin의 농도를 callus 배양배지의 농도와 같이 첨가하여 1주일간 shaking incubator에서 배양후 시료로 사용하였다.

Electrofocusing에 사용하는 gel은 Wrigley 방법³¹⁾에 의하여 Acrylamide gel을 제조하였고 running solution으로 상층에 0.1% phosphoric acid (pH 2.9)의 강산을 사용하였고 하층은 saturated calcium hydroxide solution의 강알칼리를 사용하였다. 이때 전기는 강산층에 “-” 강알칼리층에 “+”를 연결하여 처음 1시간은 100V로 각 tube 당 전류가 1mA 정도되게 조절하였고 1시간후 200V로 고정하여 2시간 30분간 전압을 일정하게 하였다. 염색은 0.06% H₂O₂와 2% Benzidin solution을 혼합하여 사용하였으며 염색후 나타난 band를 비교하였다.

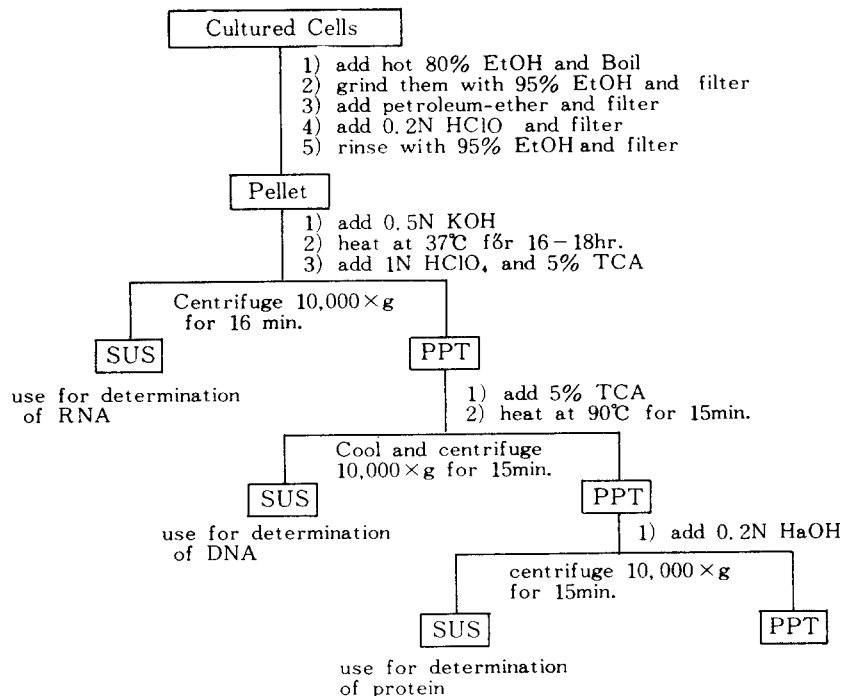


Fig. 1. Extraction procedure of RNA, DNA and protein from cells in suspension culture.

III. 결과 및 고찰

증식율 :

인삼 배양세포의 증식률은 2,4-D와 kinetin의 첨가농도에 따라 달라지는데 뿌리에서 유래된 callus에서는 kinetin을 첨가하지 않을 경우에는 2,4-D 10mg/l 첨가하였을 때 가장 증식이 좋았으나 kinetin을 첨가한 경우에는 2,4-D 1.0mg/l 첨가 배지에서 callus 증식이 가장 좋았으며 2,4-D 첨가농도나 kinetin 첨가농도가 높아질수록 증식율이 약간씩 떨어지는 경향이였다 (Fig 2~ Fig 5).

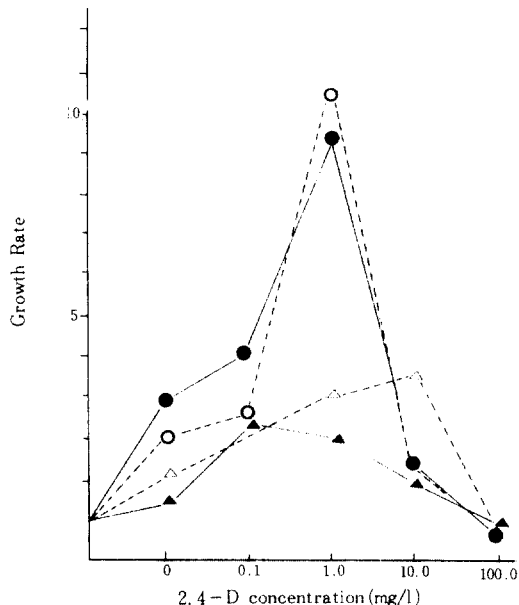


Fig. 2. Changes in the growth rate of cells grown with 2,4-D in suspension culture for 25 and 50 days.

●—● Root-derived callus cultured for 25 days;
○---○ Root-derived callus suspension cultured for 50 days; ▲—▲ Petiole-derived callus cultured for 25 days; △---△ Petiole-derived callus cultured for 50 days.

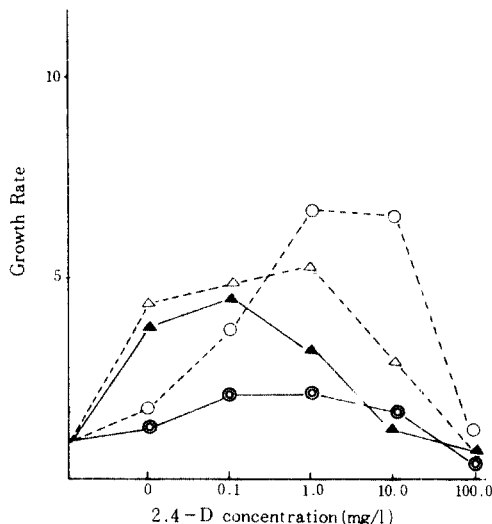


Fig. 3. Changes in the growth rate of cells grown with 2,4-D and 0.1mg/l of kinetin in suspension culture for 25 and 50 days.

◎—◎ Root-derived callus cultured for 25 days;
○---○ Root-derived callus suspension cultured for 50 days; ▲—▲ Petiole-derived callus cultured for 25 days; △---△ Petiole-derived callus cultured for 50 days.

이러한 결과는 최초로 인삼 조직배양을 시작한 Butenko^{32,46}의 결과와는 다르지만 1969년 Kita등³³의 실험과는 일치된다. 그러나 1974년 우리나라에서 처음으로 인삼조직배양을 시도한 한³⁴·이³⁵ 등은, 인삼뿌리에서 callus가 유기되기 위해서는 2,4-D가 5mg/l 필요하다고 하였으나 2,4-D 5mg/l를 첨가할 배지에 callus를 계속 계대 배양하게 되면 증식이 오래 계속되지 못하고 쉽게 되어 버리는 것이 김³⁶의 실험에서 밝혀졌고 문³⁷등의 실험결과 2,4-D 1mg/l 에 kinetin 0.1mg/l, GA 0.1mg/l 첨가함으로써 노쇠현상을 어느정도 억제할 수 있다고, 하였고, 한·이 등도 callus는 유지시켰으나 1974년 경에는 callus를 계속 유지시키지 못했던 것등으로 미루어 보아 인삼 callus는 유기시킬때는 2,4-D 5mg/l를 첨가해 주고 일단 유기된 callus는 2,4-D농도를 낮추어 주고 kinetin을 0.1mg/l 이하로 첨가해 주는것이 인삼 callus증식에 가장 좋은 것으로 생각된다.

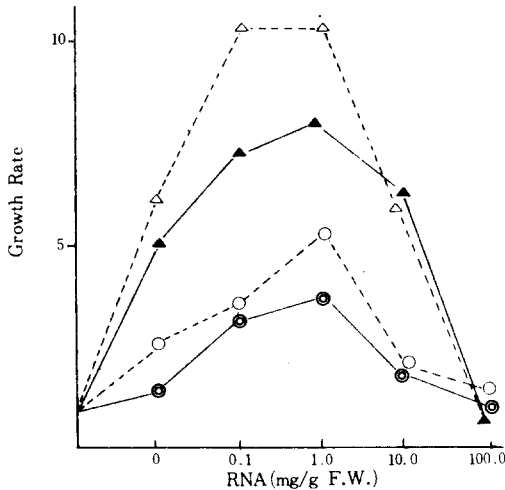


Fig. 4. Changes in the growth rate of cells grown with 2.4-D and 1.0mg/l of kinetin in suspension culture for 25 and 50 days.

◎-◎ Root-derived callus cultured for 25 days; ○-○ Root-derived callus suspension cultured for 50 days; ▲-▲ Petiole-derived callus cultured for 25 days; △-△ Petiole-derived callus cultured for 50 days.

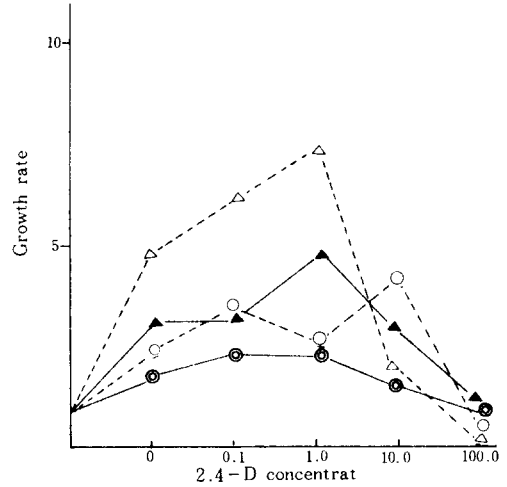


Fig. 5. Changes in the growth rate of cells grown with 2.4-D and 10.0mg/l of kinetin in suspension culture for 25 and 50 days.

◎-◎ Root-derived callus cultured for 25 days; ○-○ Root-derived callus suspension cultured for 50 days; ▲-▲ Petiole-derived callus cultured for 25 days; △-△ Petiole-derived callus cultured for 50 days.

Fig. 2 - Fig. 5에서 볼 수 있는 바와 같이 엽병에서 유래된 callus는 뿌리에서 유래된 callus 보다 증식율이 훨씬 좋아서 가장 증식이 좋을 때는 뿌리 callus보다 2배가량 증식율이 더 높았고, 엽병-callus는 kinetin 첨가농도와 상관없이 모두 2,4-D 1mg/l 첨가배지에서 증식이 가장 좋았으며 2,4-D농도가 높아지면 증식율이 급격히 떨어짐을 볼 수 있다. 또한 kinetin 첨가농도가 10mg/l의 고농도가 되면 엽병-callus 역시 모든 실험구에서 증식율이 떨어졌다.

이와같이 callus 배양배지의 최적 조건이 callus 유기부위에 따라 달라진 것이 Davidonis등²⁷⁾과 Feung등³⁸⁻⁴¹⁾의 실험에서 callus가 유기된 부위와 종에 따라 세포내 2,4-D대사가 달라진다는 보고와 일치하는 것인지에 대해서는 앞으로 더 자세한 연구가 필요하다. 또한 인삼 callus는 엽병과 뿌리에서 유기된 callus 모두 50일까지 계속 증식이 계속되는 것은 담배, 당근³⁹⁾ 등이 2주 정도면 안정기 내지 쇠퇴기에 들어가는 것등에 비해 특이하게 대수 성장기가 긴 것으로 생각된다. 50일 이후에는 조사해 보지 않아 확실히 알 수는 없으나 인삼 callus는 다른 callus에 비해 증식율이 늦은 반면 대수 성장기가 길어진 것이 아닌가 생각된다.

인삼 callus의 증식에 관한 실험은 1959년 이래 많은사람에 의해 시도되어 왔으나 아직까지 최적조건이 결정되지 않은 상태인 것은 인삼식물 자체가 생육이 느리고 재배조건이 까다로운 것으로 보아 인삼 callus도 유전인자의 영향으로 callus 증식이 늦어지는 등의 어려운 문제점들이 많고, 특히 배양세포의 노화현상이 쉽게 일어나는 것을 억제한다든지, 인삼 유효성분의 수율을 높인다든지 하는 등의 아직도 해결되지 않은 많은 문제점들을 안고 있기 때문이다. 이러한 문제들은 앞으로도 더욱 더 연구되어야 할 것으로 생각된다.

RNA, DNA, 단백질 함량 :

일반적으로 핵산의 작용과 단백질 합성은 callus가 증식하는데 중요한 역할을 하며 callus가 증

식하기 위해서는 반드시 식물 성장조절 물질을 필요로하고 또 식물생장 조절물질을 식물에 따라 RNA나 DNA 단백질 합성등을 증가시킨다.¹⁰⁻¹¹⁾ 이러한 점을 감안하여 인삼 callus 내에서 callus가 유기된 부위에 따라 2,4-D와 kinetin 첨가 농도에 따라 RNA, DNA 단백질 함량이 어떻게 변하는 가를 조사한 결과는 Fig. 6 및 7 과 같다.

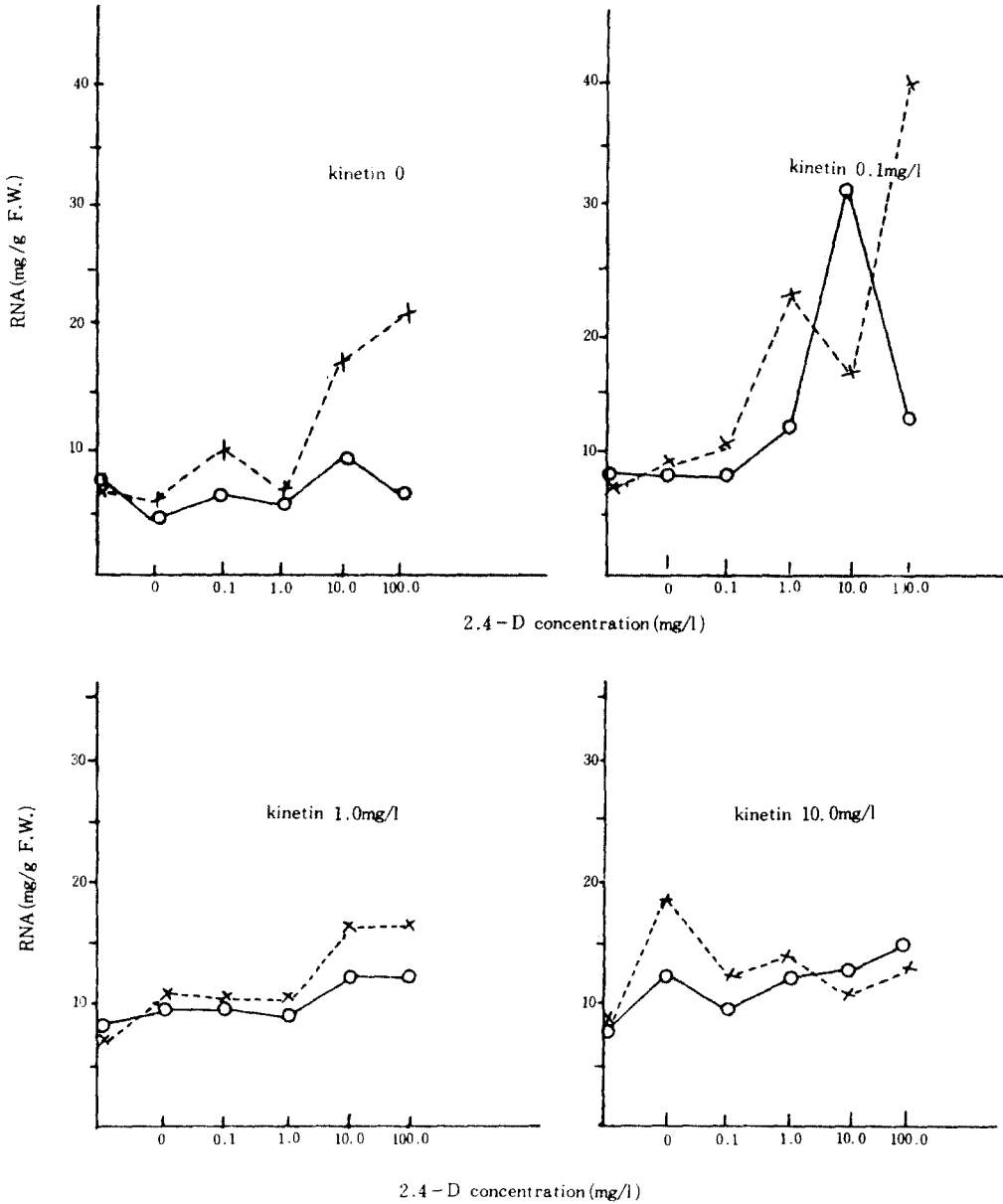


Fig. 6. Changes in the RNA contents of cells grown with 2,4-D and kinetin in suspension culture for 50 days.

○-○ Root-derived callus ×··× petiole-derived callus.

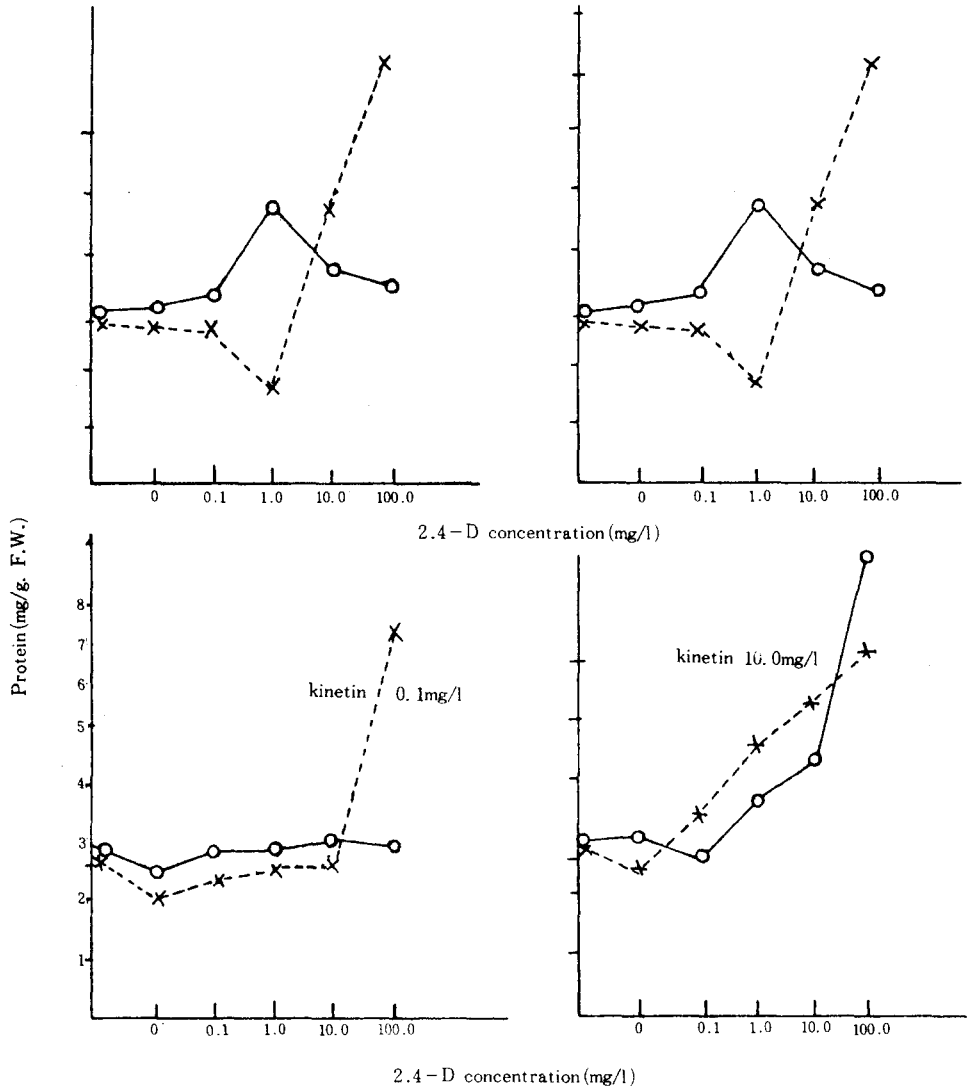


Fig. 7. Change in the protein contents of cells grown with 2,4-D and kinetin in suspension culture for 50 days.

○-○ Root-derived callus ×···× petiole-derived callus.

Fig. 6 및 7에서 볼 수 있는 바와 같이 RNA와 protein 함량이 2,4-D와 kinetin 첨가농도에 따라 약간씩 변하기는 하였으나 callus 증식과는 상관이 없게 변화였고 비교적 kinetin 0.1mg/l 첨가 배지에서 RNA 함량이 많았고 단백질 함량도 높게 나타나 문등³⁷⁾의 실험과 일치하였으나 Fig. 7에서 볼 수 있는 바와 같이 단백질 함량이 callus 증식이 전혀 안되는 2,4-D 100mg/l 첨가배지에서 아주 높게 나타났다. 이는 세포내 단백질이 배양하는 동안 파괴되지 않고 세포는 증식되지 않아 fresh weight에 대한 mg 단백질로 계산되었기 때문이 아닌가 생각된다.

또한 2,4-D 100mg/l 첨가배지의 배양세포는 다른 배지의 배양세포에 비해 수분이 상당히 적게 함유되어 있었던 것도 원인일 것으로 생각된다.

DNA 함량 모든 배지에서 거의 변화를 보이지 않아 인삼 배양세포에서는 2,4-D나 kinetin 이 DNA 함량에는 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

전체적으로 배양세포내 RNA, DNA 단백질 함량변이에 대한 2,4-D와 kinetin의 영향이 비례적으로 나타나지 않은 것은 현탁 배양한 세포의 Fresh weight 측정방법이 좋지 않기 때문인 것으로 생각된다.

이러한 문제도 앞으로는 더 보완해서 방사성 동위원소를 이용하여 합성 내지 파괴에 대한 더 자세한 연구가 필요할 것 같다.

Isoperoxidase :

Fig. 8 및 9에서 볼 수 있는 바와 같이 본 식물체는 시기에 따라, 부위에 따라 isoperoxidase 양상이 다르게 나타나는데 비해 callus에서 뿐만 아니라 엽병조직과 뿌리조직을 일주일간 2,4-D와 kinetin을 처리한 세포내에서도 isoperoxidase의 양상이 다르게 나타나지 않았다. 담배 callus에서는 IAA, 2,4-D, kinetin, GA 등의 농도에 따라 isoperoxidase의 양상이 달라질 뿐만 아니라 활성화도에서도 차이가 있음⁴⁸⁻⁵⁰⁾을 보고하였고 또 pelargonium의 배양세포에서도 IAA, kinetin의 첨가에 따라 peroxidase 활성화도가 달라짐을 보고하고 IAA 2mg/l, kinetin 0.2mg/l 첨가배지에서 활성화도가 제일 높다고 하였다.

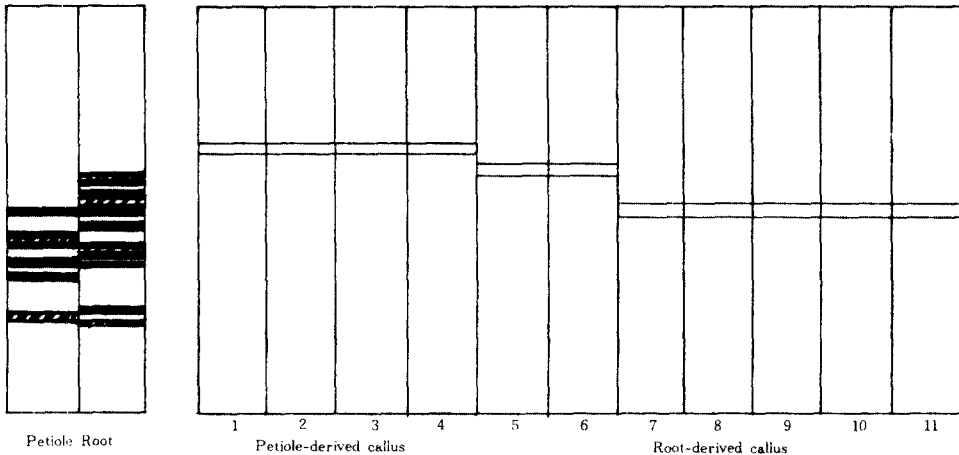


Fig. 8. Diagram of isoperoxidase of plant and grown with 2.4-D and kinetin.

- 1. kinetin 0.1mg/l 2. kinetin 1.0mg/l 3. 2.4-D 1.0mg/l +kinetin 1.0mg/l
- 4. 2.4-D 10mg/l +kinetin 1.0mg/l 5. kinetin 10.0mg/l
- 6. 2.4-D 10mg/l +kinetin 10mg/l 7. 2.4-D 1mg/l
- 8. 2.4-D 0.1+kinetin 0.1mg/l 9. 2.4-D 1mg/l +kinetin 01mg/l
- 10. 2.4-D 1mg/l +kinetin 1mg/l 11. 2.4-D 1mg/l +kinetin 10mg/l

인삼 callus에서도 엽병유래 callus나 뿌리 유래 callus 모두 peroxidase 활성화도가 2,4-D와 kinetin 첨가농도에 따라 약간씩 달라지는듯 하였으나 활성화도가 너무 작아서 비교하기가 곤란하였다. 처음시도는 2,4-D와 kinetin의 첨가농도에 따라 peroxidase의 활성화도가 달라짐은 물론 isoperoxidase의 양상이 달라지고 또 callus가 유기된 부위에 따라 2,4-D와 kinetin에 대한 반응이 다르게 나타나 isoperoxidase양상이 달라질 것으로 기대했으나 Fig. 8에서 볼 수 있는 바와 같이 2,4-D와 kinetin 첨가농도에 무관하게 isoelectrofocusing 결과 band는 하나 밖에 나타나지 않았고 단지 callus 유기부위에 따라서는 조금씩 차이가 있는듯 하였으나 이 결과만으로는 2,4-D와 kinetin 또는 callus 유기부위에 따라 isoperoxidase가 달라진다고 단언할 수는 없을 것

같다.

인삼 본 잎이나 줄기, 뿌리등 모두 elotrophoresis하여 쉽게 isoperoxidase가 분리되어 부위별로, 시기별로 5 - 7개의 isoperoxidase를 분리할 수 있었으나 인삼 callus는 electrophoresis한 결과 isoperoxidase가 분리되지 않아 pH에 따른 isoelctrophocusing을 하여 band를 1 혹은 2개 밖에 얻을 수가 없었다.

이상의 결과로 보아 인삼 callus에서 molecular size에 의한 isoperoxidase 분리방법은 다른 callus나 식물체와는 다른 방법을 써야 될것 같고, 또 인삼 callus는 다른 callus에 비해 증식이 느린만큼 enzyme의 활성도도 상당히 약한데 문제점이 있고 혹시 인삼 callus내의 peroxidase는 다른물질과 견고하게 결합되어 있어 쉽게 gel내를 통과할 수 없기 때문인지 하는 것등도 생각해 볼 문제라 생각되며 인삼 callus의 여러 문제점과 함께 electrophoresis를 이용한 isoenzyme의 분리에 관한 것은 좀더 연구해 보아야 한다고 생각된다.

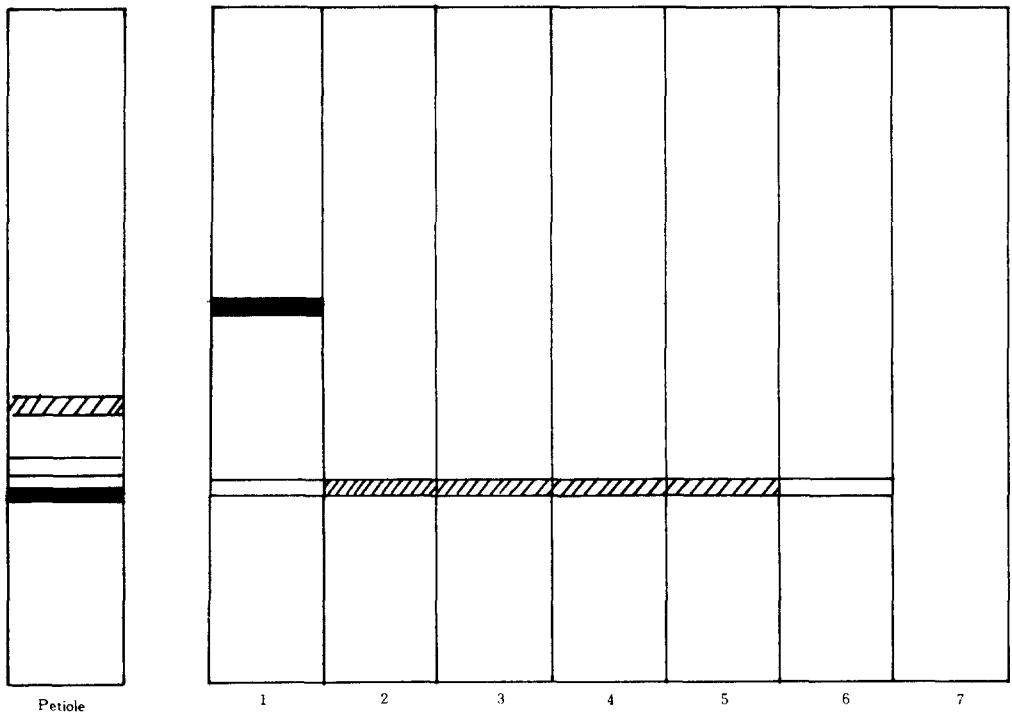


Fig. 9. Diagram of isoperoxidase bands of petiole cultured with 2,4-D and kinetin for 5 days.

- | | | |
|-----------------|------------------|----------------------------------|
| 1. control | 2. 2,4-D 0.1mg/l | 3. 2,4-D 1mg/l |
| 4. 2,4-D 10mg/l | 5. 2,4-D 10mg/l | 6. 2,4-D 10mg/l + kinetin 1mg/l |
| | | 7. 2,4-D 10mg/l + kinetin 10mg/l |

IV. 요약

인삼의 성장율과 RNA·DNA 및 단백질함량에 미치는 2,4-dichloro phenoxy acetic acid와 kinetin의 영향 및 뿌리와 엽병으로 부터 유래된 조직 isoperoxidase 변이에 미치는 이들 성장 조절제의 영향을 검토하였다.

0.1mg/l의 kinetin과 1mg/l의 2.4-D를 처리시 전반적으로 생장율이 증가하고 특히 엽병조직의 경우가 뿌리조직보다 생장율이 높았다. 그러나 그 이상의 농도로 처리시 생장율은 급격히 감소하였다. RNA·DNA 및 단백질 함량도 증가하였으나 callus 생장율의 증가에는 미치지 못하는 듯하였다. 2.4-D와 kinetin을 농도를 달리하여 조직배양시 isoperoxidase는 거의 같았는데 뿌리에서 유래된 callus는 엽병의 것과 다르게 나타났다.

인 용 문 헌

1. Willstatter, R. and A. Stoll. *Ann. Chem. Liebigs.* **246**, 21(1918)
2. Shannon, L. M. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **19**, 187(1968)
3. Mapson, L. W. and A. Mead. *Biochem. J.* **108**, 875(1968)
4. Giere, J. and A. E. Opara. *Acta. Chem. Scand.* **27**, 2919(1973)
5. Harkin, J. M. and J. R. Obst. *Science.* **180**, 296(1973)
6. Stafford, H. A. *Plant Physiol.* **39**, 350(1964)
7. Akazawa, T. and E. E. Conn. *J. Biol. Chem.* **232**, 403(1958)
8. Pattee, H. E., Shannon, L. M. and J. Y. Lew. *Nature.* **201**, 1328(1964)
9. Hare, R. C. *Bot. Rev.* **30**, 129(1964)
10. Lavee, S. and A. W. Galston. *Plant Physiol.* **43**, 1760(1968)
11. Rocker, W. and B. J. Radola. *Planta.* **99**, 192(1971)
12. Shao-Ling, K. L. masters Thesis, Univ. of Oklahoma, Norman. (1974)
13. Lee, T. T. *Plant physiol.* **47**, 181(1971)
14. Schafer, P. L. Ph. D. dissertation, Univ. of Oklahoma, Norman(1971)
15. Hosoya, T. *J. Biochem.* **47**, 794(1960)
16. Mazza, G., Job, C. and M. Bouchet. *Biochem. Biophys. Acta.* **22**, 218(1973)
17. Moriata, Y., Yoshida, C. and Y. Macda. *Agr. Biol. Chem.* **35**, 1074(1971)
18. Reigh, D. L., Wender, S. H. and E. C. Smith. *Phytochem.* **12**, 1265(1973)
19. Chmielnicka, J., Ohlsson, P. I., Paul, K. G. and T. Stigbrand. *FEBS Letters.* **17**, 181(1971)
20. Iordachescu, D., Cumitur, I. F. and S. Niculescuc. *Experientia.* **29**, 1215(1973)
21. Kay, E., Shannon, L. M. and J. Y. Lew. *J. Biol. Chem.* **242**, 2470(1967)
22. Lew, J. Y. and L. M. Shannon. *Plant physiol.* **52**, 462(1973)
23. Marklund, S., Ohlsson, P-I., Opara, A. and K-G. Paul. *Biochem. Biophys. Acta.* **350**, 304(1974)
24. Shih, J. H. C., Shannon, L. M., Kay, E. and J. Y. Lew. *J. Biol. Chem.* **246**, 4546(1971)
25. Pickering, J. W. Ph. D. Thesis, Univ. of Oklahoma, Norman. (1974)
26. 안상득 : Personal communication. (1982)
27. Davidonis, G. G. H., Hamilton, R. H. and Ralph O. Mumma. *Plant physiol.* **65**, 94(1980)
28. Lowry, L. H., Rosebough, N. J., Farr, A. L. and R. L. Randall. *J. Biol. Chem.* **193**, 265(1951)
27. Murashige, T. and F. Skoog. *Physiol. Plant.* **45**, 473(1962)
29. Schmidt, G. and S. Thanhauser. *J. Biol. Chem.* **161**, 83(1945)

30. Smillie, R. M. and G. Krotkov, *Can. J. Bot.* **38**, 31(1960)
31. Wrigley, C. W. "Method in Enzymology" Vol. 22 Academic Press London and New York, 559 (1968)
32. Butenko, R. G. *Vopr. Farmakogn.* **21**(4), 184 (1967)
33. Kita, K. and M. Sugi. *Yakugaku Zasshi.* **89**, 1474 (1969)
34. Harn, C. *Proc. Intern. Ginseng Symp.* **9** - 22 (1974)
35. Lee, C. D. *Kor. Ginseng Sci. Symp.* (Seoul) 69 - 80 (1974)
36. 김명원 : 박사학위논문, 연세대학교 (1980)
37. 문현옥, 김명원, 이순희 : 연세대학교 자연과학연구소, (1982)
38. Feung, G. S., R. H. Hamilton and R. O. Mumma. *J. Agr. Food Chem.* **21**, 637 (1973)
39. 황 백 : 박사학위논문 연세대학교 (1981)
40. Bendana, F. and A. W. Galston. *Science.* **150**, 69 (1958)
41. Galston, W. and Peter J. Davies. *Science.* **163**, 1288 (1969)
42. Simpson, S. F. *Plant Physiol.* **59**, 4 (1977)
43. Srivastava, B. J. and G. Ware. *Plant Physiol.* **40**, 62 (1965)
44. Szweykowska, A. Academic Press london and New York, ed. by H. E. Street. 461 (1974)
45. Misawa, M. and S. M. Martin. *Can. J. Bot.* **50**, 1245 (1972)
46. Butenko, R. G., R. V. Grushvitsky and L. I. Slepyan. *Bot. Zh.* **53**(7), 906 (1968)
47. Feung, C. S., R. H. Hamilton and R. O. Mumma. *J. Agr. Food Chem.* **23**, 373 (1975)
48. Lee, T. T. *Plant physiol.* **48**, 56 (1971)
49. Lee, T. H. *Plant physiol.* **49**, 957 - 960 (1972)
50. Stafford, H. A. and A. W. Galston. *Plant Physiol.* **46**, 763 (1970)