

식물호르몬과 광이 인삼의 Polyamine 함량과 Arginine decarboxylase 활성도에 미치는 영향

조병구·조영동

인제대학교 이과대학 생화학과
(1989년 10월 7일 접수)

Effects of Phytohormones and Light on Polyamine Content and Arginine Decarboxylase Activity in Ginseng

Byung Goo Cho and Young Dong Cho

Department of Biochemistry, College of Science, Yonsei University Seoul 120-749, Korea

(Received October 7, 1989)

Abstract □ The effect of some phytohormones and light on the growth, ADC activity and polyamine content in ginseng was studies. In seedlings, the growth, ADC activity and putrescine content were increased by GA₃ treatment. ADC activity and putrescine content were slightly slightly decreased by ABA, but not changed by kinetin. Light treatment increased ADC activity and putrescine content greatly. In two year ginseng leaves treated by GA₃, the ADC activity reached maximum and the spermidine content reached maximum 2 days faster than in the control. These results suggest the possibility that these regulators are closely related to growth and polyamine content.

Keywords □ *Panax ginseng* C.A. Meyer, polyamine, putrescine, spermidine, arginine decarboxylase, GA₃, kinetin, ABA.

서 론

Polyamine의 함량은 대사적으로 활발한 조직에서 그 양이 증가한다.¹⁾ 동물이나 식물에서 polyamine의 양은 이들을 합성하는 여러 효소의 활성도에 의해 좌우되며, 이에 따라 생물의 성장과 조직의 분화가 아주 밀접히 연관되어 있다.²⁾ 동물의 경우 polyamine 생합성의 주된 효소인 ornithine decarboxylase와 s-adenosyl-methionine decarboxylase 활성도가 polyamine의 양과 아주 밀접히 연관되는데 이것은 간의 재생,³⁾ 쥐의 뇌발달,⁴⁾ 유도된 암조직⁵⁾ 등 성장이 활발한 조직에서 자주 관찰된다고 한다. 식물의 경우에도 생장점이 있는 곳¹⁾과 발아하는 종자,⁶⁾ 그리고 embryogenic cell 배양⁷⁾ 시 이러한 결과를 관찰할 수 있다.

그러데 최근 cytokinin과 광이 cucumber의 greening 시 polyamine 함량이 증가되며,⁸⁾ 난장이 식물을 이용 Gibberellin이 식물의 성장을 촉진시키는데, arginine decarboxylase(ADC) 활성도와 polyamine의 양도 함께 증가시킨다는 보고가 있다.⁹⁾

그래서 이러한 식물호르몬이 polyamine 대사에 미치는 영향을 살펴보고자 우리나라 고유식물인 고려인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)를 가지고 3가지 식물호르몬과 광을 처리하여 polyamine 대사와 성장과의 관계를 연구하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료와 생육조건

인삼은 종자와 1년 자란 인삼을 사용했으며, 종자의 경우 물에 하루 침지시킨 후 여러 가지 식물호르몬을 각각 20 ppm 씩 1시간 동안 침지하였다. 침지 후 15°C 재배상에서 암처리구와 광처리구를 각각 만들어 생육시켰다. 1년된 인삼은 GA₃만 100 ppm으로 1시간 침지 후 15°C 암처리 재배상에서 생육시켰다.

2. ADC 활성도 측정⁹⁾

채취한 인삼잎 또는 전체 seedling 을 1g 취하여 200 mM tris-HCl(pH 8.0), 10 mM dithiothreitol, 0.1 mM pyridoxal phosphate 0.1 mM EDTA로 조성된 grinding medium에서 마쇄한 뒤, 12,000×g에서 30분간 원심분리하여 그 상층을 효소원으로 사용했다. 위의 조작은 모두 4°C 이하에서 수행하였다. 반응액의 조성은 80 mM tris-HCl(pH 8.0), 1.6 mM DTT, 0.04 mM pyridoxal phosphate, 0.04 mM EDTA이며, L-Arginine은 최종 4 mM이 되게 하였다. 여기에 0.1 μCi(342 mCi/mmol) L-[U-¹⁴C] arginine을 넣은 뒤, 반응시 생성되는 CO₂를 포집하기 위해 methyl benze thonium hydroxide 20 μl를 여과지에 묻혀 반응용기의 고무마개에 매달고, 효소원으로 넣어 28°C에서 한시간 동안 반응을 시켰다. 2 N H₂SO₄ 0.5 ml를 넣어 반응을 중지시켰으며, 30분간 더 shaking 시켰다. 그 후 여과지만 vial에 넣고 liquid scintillation counter로 방사능을 측정하여 활성도를 계산했다.

3. Polyamine 의 측정⁹⁾

전보⁹⁾의 방법으로 polyamine 을 정량하였다.

결과 및 고찰

1. 인삼종자의 식물성장 조절제에 따른 생육

인삼종자를 3가지 조절제를 처리하여 15°C growth chamber에서 생육시켰다. Fig.1은 암상태에서 자란 것인데 GA₃ 처리에서 가장 많이 생육하였다. GA₃³는 3일째부터 빠른 성장을 보이며, ABA 가 가장 생육이 나쁘다. Control과 kinetin은 별차이를 보이지 않았다. Fig.2는 광상태에서 키운 것인데, 12시간마다 광과 암처리를 바꾸어 주면서 키운 것이다. 역시 GA₃처리가 다른 처리보다 빠른 성장을 보이고 있다. 그러나 다른 3처리는 거의

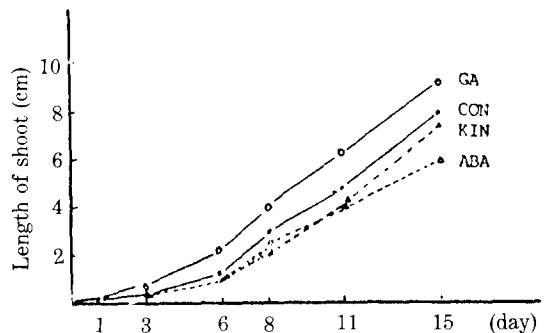


Fig. 1. The growth curve of ginseng seedlings in dark.

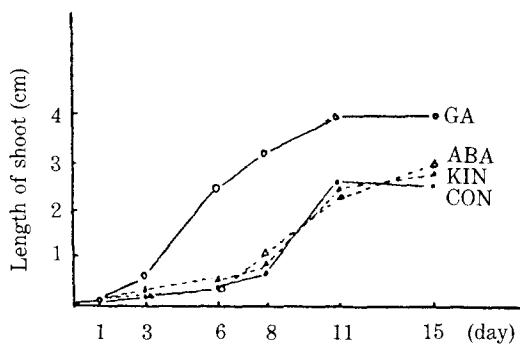


Fig. 2. The growth curve of ginseng seedlings in light.

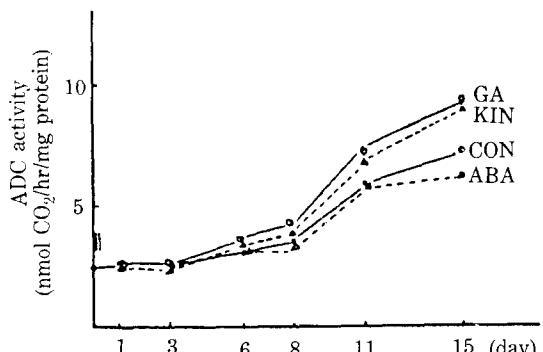


Fig. 3. The effect of phytohormones on the activity of ADC in ginseng seedling in dark.

같은 생육을 보였다. 광처리는 암처리보다 그 shoot의 길이가 작음을 알 수 있다.

2. 식물성장 조절제에 따른 ADC 활성도 변화

Fig.3은 조절제 처리별 ADC의 specific activity를 본 것이다. ADC는 식물의 polyamine 합성의 key enzyme이며,¹²⁾ Dai 등⁹⁾에 의한 실험에서 GA₃가 dwarf pea의 성장을 ADC 활성도의 증가

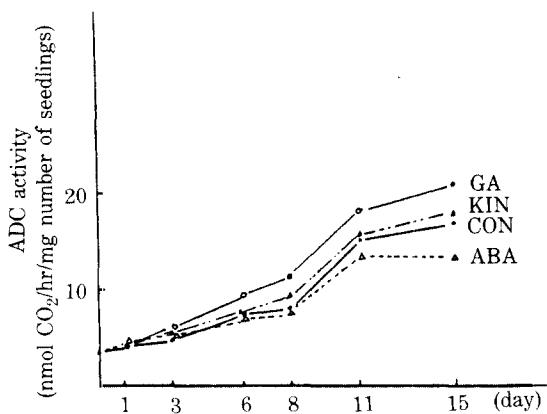


Fig. 4. The effect of phytohormones on the activity of ADC in ginseng seedling in dark.

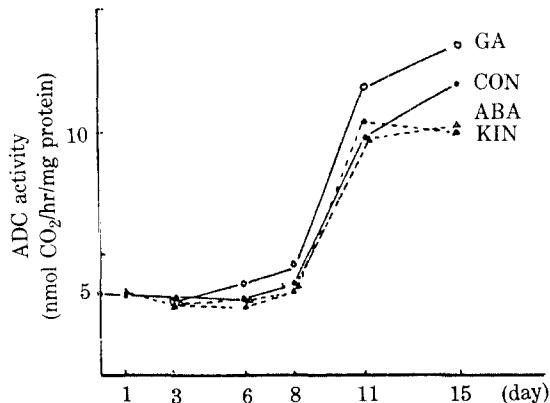


Fig. 5. The effect of phytohormones on the activity of ADC in ginseng seedling in light.

를 통해 매개한다고 하였다. 본 실험에서도 그 결과를 보면, GA₃가 다른 처리구보다 ADC 활성도가 증가됨을 보이며, Fig.4의 seedling 갯수당 활성도는 더 현저히 그 결과를 알 수 있었다. 그러나 cytokinin인 kinetin은 예상과 달리 그렇게 효과적이지 못했는데, 이는 인삼의 특징인 것 같다.

또한 일반적으로 식물의 성장을 저해하는 abscisic acid는 인삼에서도 역시 성장과 ADC의 활성도를 감소시키고 있다. Fig.5와 6은 광을 처리한 것인데, 역시 GA₃가 가장 ADC 활성도를 증가시키고, kinetin과 ABA는 control과 비슷한 경향을 보인다. 광처리와 암처리간의 비교는 8일 이후에 급격히 광처리구에서 ADC 활성도가 증가함을 알 수 있다. 이는 광이 식물의 여러 기작을 modulation하는 현

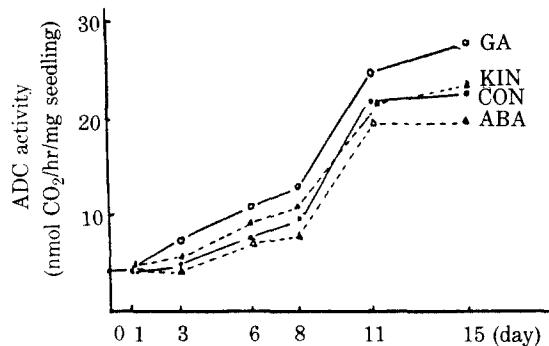


Fig. 6. The effect of phytohormones on the activity of ADC in ginseng seedling in light.

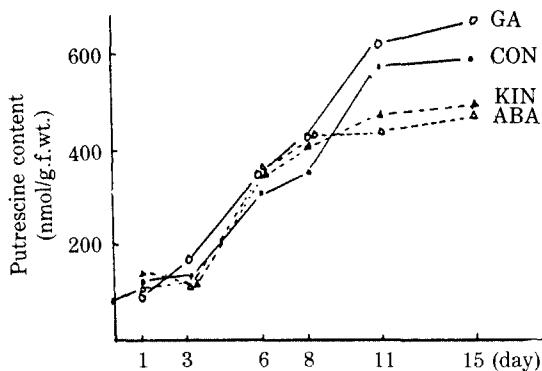


Fig. 7. The effect of phytohormones on the content of putrescine in ginseng seedling in dark.

상으로 미루어 당연함을 짐작할 수 있다.

3. 식물성장 조절제에 따른 putrescine 함량변화

Fig.7은 암상태에서 조절제 처리에 따른 putrescine 함량을 본 것이다. Putrescine만을 data화한 것은 seedling에서는 putrescine이 주된 polyamine이기 때문이었다.¹⁰⁾ GA₃처리가 ADC 활성도의 결과와 같이, putrescine 함량을 증가시켰다. Fig.8은 seedling 갯수당 그 함량을 나타낸 것인데, 그 상대적 함량증가를 분명히 알 수 있다. Fig.9와 10은 광조건下에서 조절제를 처리한 것인데, GA₃의 효과가 암상태보다 더욱 현저함을 알 수 있으며, 이는 생장곡선과 ADC 활성도와 아주 일치하고 있음을 알 수 있다. 또한 광처리가 암처리보다 putrescine의 함량도 ADC의 활성도와 같이 8일째부터 현저히 증가하고 있다.

위의 결과를 볼 때, GA₃가 인삼 seedling의 성장을 촉진시키는데, 이 때 ADC의 활성도와 pu-

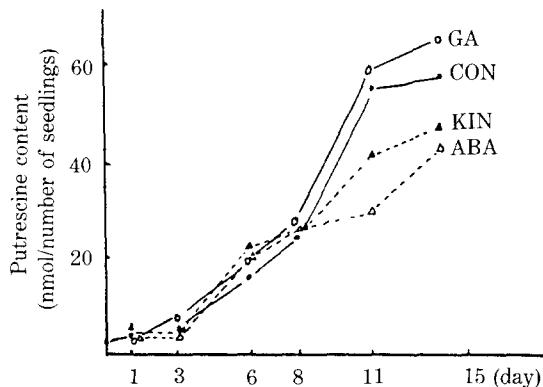


Fig. 8. The effect of phytohormones on the content of putrescine in ginseng seedling in dark.

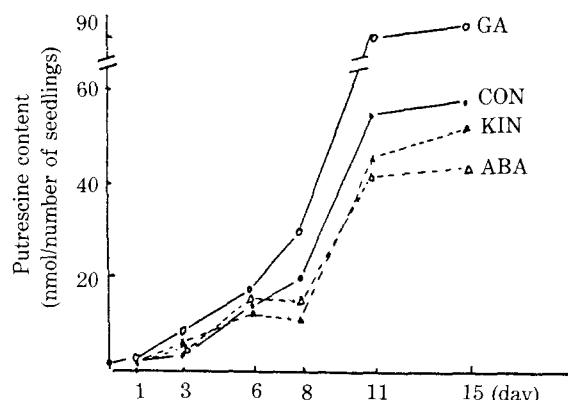


Fig. 10. The effect of phytohormones on the content of putrescine in ginseng seedling in light.

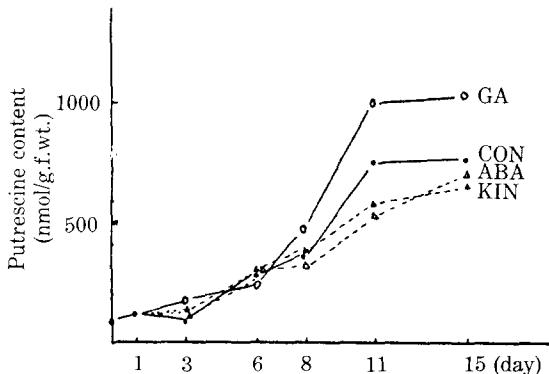


Fig. 9. The effect of phytohormones on the content of putrescine in ginseng seedling in light.

trescine의 양도 증가시킴을 보여서 polyamine 대사에 GA_3 의 조절기능을 시사하고 있다. 또한 광처리는 cucumber를 사용한 Walker⁸⁾ 등의 실험과 일치되게 ADC의 활성도와 putrescine을 증가시키고 있음을 알 수 있었다.

4. 2년생 인삼의 생육과 ADC 활성도에 미치는 GA_3 의 영향

Fig.11은 2년생 인삼에 GA_3 를 처리하여 15°C 암상태로 키운 성장곡선인데, seedling과 같이 GA_3 가 shoot의 길이성장을 촉진하였다. 그림 12는 ADC 활성도를 관찰한 것인데, 그 결과가 2일째 최대 활성도를 GA_3 처리구에서 보이며, control에서는 4일째 최대 활성도를 보이고 있다. Fig.13에서는 ADC 활성도를 실험에 사용된 뿌리수당으로 표시했는데, 그 차가 더욱 분명히 알 수 있다.

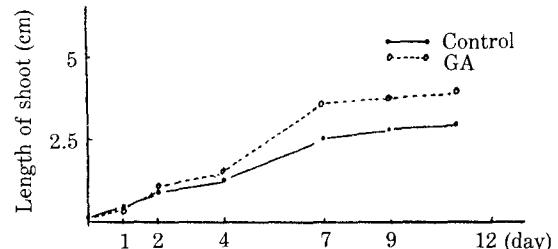


Fig. 11. The growth curve of two years ginseng.

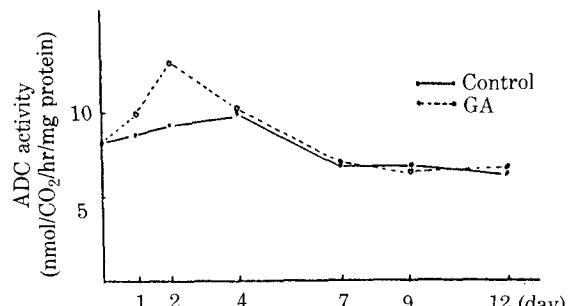


Fig. 12. The effect of GA on the activity of ADC in two years-ginseng leaves.

5. 2년생 인삼의 spermidine 함량에 미치는 GA_3 의 영향

Fig.14은 spermidine의 변화를 본 것인데, ADC의 활성도와 같이 GA_3 처리에서 2일째의 최대 함량을 보이고 있으며, control에서는 4일째에서 최대함량을 보인다. 이는 ADC의 활성도 변화와 일치된 결과이며, 초기에 생성된 polyamine이 인삼의 생육에 사용되는 것 같다. Spermidine만을

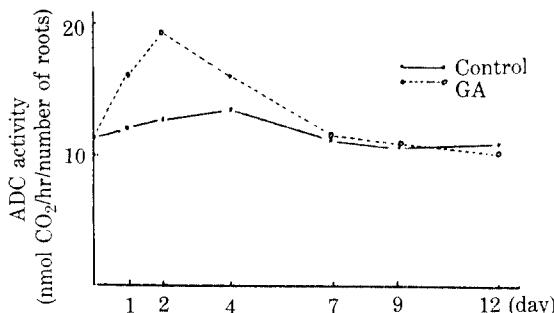


Fig. 13. The effect of GA on the activity of ADC in two years-ginseng leaves.

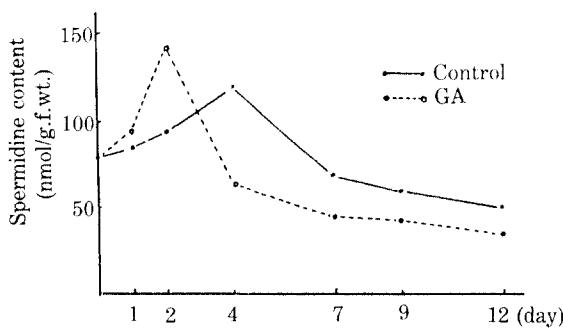


Fig. 14. The effect of GA on the content of spermidine in two years-ginseng leaves.

data화 한 것은 2년생 잎의 경우 spermidine의 주된 polyamine이기 때문이다.¹⁰⁾

위의 결과를 보면 GA₃에 의해 인삼의 성장이 촉진되는데, 이 때 ADC 활성도, polyamine의 함량도 증가됨을 알 수 있었다. 최근 protein phosphorylation을 GA₃에 의해 polyamine을 매개체로 하여 증가됨이 관찰되어서,¹³⁾ polyamine의 second messenger로서의 가능성을 시사해주고 있다. 그래서 인삼에서도 polyamine의 이런 역할을 생각해 볼 수 있겠다.

요 약

GA₃ 등 3종의 식물성장 조절제와 빛이 인삼의 성

장과 ADC 활성도와 polyamine 함량에 미치는 영향을 조사하였다. 종자의 경우, GA₃가 control보다 shoot의 길이 성장과 ADC 활성도와 putrescine 함량을 증가시키며, 다른 두 조절제는 비슷하거나 약간의 감소를 관찰할 수 있었다. 또 광처리가 ADC 활성도와 putrescine의 함량을 현저히 증가시키고 있음을 알 수 있었다. 2년생 인삼의 경우에도 GA₃처리가 control보다 ADC 활성도나 spermidine 함량을 2일 정도 앞당겨서 최대치에 이르게함이 관찰되었다.

Literature Cited

- Palavan, N. and Galston, A.W.: *Physiol. Plant.*, **55**, 438 (1982).
- Cohen, S.S.: Introduction to Polyamines, Prentice-Hall, New Jersey 179 (1971).
- Raina, A., Janne, J., Hannonen, P. and Holtta, E.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **171**, 697 (1970).
- Anderson T.R. and Schanberg, S.M.: *J. Neurochem.*, **19**, 1471 (1972).
- Russell, D.H.: *Life Sci.*, **13**, 1635 (1973).
- Walker, M.A., Roberts, D.R., Shih, C.Y. and Dumbroff, E.B.: *Plant Cell Physiol.*, **26**, 967 (1985).
- Feirer, R.P., Mignon, G. and Litvay, J.D.: *Science*, **223**, 1433 (1984).
- Walker, M.A., Koberts, D.R. and Dumbroff, E.B.: *Plant cell Physiol.*, **29**, 201 (1988).
- Dai, Y.-R., R. Kaur-Sawhney and A.W. Galston: *Plant Physiol.*, **69**, 103 (1982).
- 조명근, 조영동: 고려인삼학회지 13, 19 (1989).
- Farr, A.L., O.H. Lowry, R.J. Randall and Rosebrough, N.I.: *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951).
- Bachrach, U.: Function of naturally occurring polyamines, Academic Press.
- Polya, G.M. and Micucci, V.: *Plant Physiol.*, **79**, 968 (1985).