식물학회지 제36권 제1호 (1993)
Korean J. Bot. 36(1) : 1~8

포플라 잎절편의 부정아 분화와 Polyamine 함량의 연관성

金 成 鎬*·金 明 苑**·康 榮 熹·李 舜 熙
(延世大學校 理科大學 生物學科, *西南大學校 生物學科, **延世大學校 文理大學 生物學科)

Correlations Between Polyamine and Adventitious Shoot Regeneration from *Populus* Leaf Segments

Kim, Sung Ho*, Myeong Won Kim, Young Hee Kang and Sun Hi Lee**
(Department of Biology, Yonsei University, Seoul,
**Department of Biology, Seonam University, Namweon and*
***Department of Biology, Yonsei University, Wonju)*

ABSTRACT

Polyamine contents and the activities of their main biosynthetic enzymes, arginine decarboxylase (ADC) and ornithine decarboxylase(ODC), were investigated in *Populus* leaf segments during adventitious shoot regeneration with the addition of 1 millimolar polyamine synthesis inhibitors. From the study of polyamine synthesis inhibitors, ODC was found to be the principal route of polyamine biosynthesis in adventitious shoot regeneration of *Populus* leaf segments. The ADC inhibitor difluoromethyl arginine(DFMA) and ODC inhibitor difluoromethyl ornithine(DFMO) strongly reduced the putrescine content. On the contarary, DCHA, an inhibitor of spermidine synthase, increased it. Spermidine content was decreased with the treatment of each polyamine synthesis inhibitors, but the inhibitory effect of DCHA was stronger than any other polyamine inhibitor. The decreased polyamine level by polyamine synthesis inhibitors was restored with the exogenously applied polyamine. Comparing the polyamine contents with the adventitious shoot regeneration rate, we observed a close correlation between spermidine content and adventitious shoot regeneration of *Populus* leaf segments.

서 론

식물 조직배양을 통한 분화 과정에는 몇가지 유형의 극성(polarity)이 존재한다(Paterson, 1983). 그중의 하나는 식물의 잎이나 잎의 절편에서 식물의 각 기관이 재생되는 것인데, 이러한 재생은 대부분 잎의 절단면에서 방향성 있게 일어난다. 그러나 그 방향성이 일정한 것은 아니고 식물의 종에 따라 상이하며, 포플라(*Populus nigra* var. *betulifolia*×*P. trichocarpa*)는 잎절편의 기부 절단면에서 여러 기관의 분화가 일어나는 대표적인 식물로 알려져 있다(Douglas, 1985; Rutledge and Douglas, 1988; Cheema, 1989; Colemann and Ernst, 1989).

조직배양을 통한 기관분화 과정에서 식물 호르몬의 중요성은 널리 인식되어 있는 사실이다. 특히, cytokinin은 shoot의 분화를 촉진하는 반면 뿌리의 형성을 억제하고 옥신은 그 반대의 작용을 하는 것으로 알려져 있다(Paterson and Rost, 1981; Lee-Stadelmann *et al.*, 1989). 또한, 옥신과 cytokinin의 비율이 기관분화 과정에서 중요한 역할을 하여 auxin에 대한 cytokinin의 상대값이 클 때에는 shoot가 분화되며, 그 값이 작을 때에는 뿌리가 분화된다는 것이 일반적인 견해이다(Skoog and Miller, 1957; Paterson, 1983). 그러나 최근 이와같은 식물 호르몬 이외에도 생체내에서 합성되는 여러 종류의 물질들이 식물의 기관분화 과정에서 또한 중요한 역할을 한다고 보고되고 있다(Smith, 1985; Evans *et al.*, 1988). 이러한 물질 중의 하나로서 식물,

본 연구는 1991년도 교육부 기초과학육성연구비 지원에 의한 것임.

동물 및 미생물에 모두 존재하는 것으로 확인된 polyamine은 생명현상의 유지에 필수적이며 또한 이들의 생장과 분화 과정에 깊이 연관되어 있는 것으로 알려져 있다(Altman *et al.*, 1982; Phillips *et al.*, 1987; Sanjeev *et al.*, 1989). 특히, polyamine은 식물의 경우 분화와 발생 과정에 관여하여 세포분열 촉진(Torrigiani *et al.*, 1987; Walker *et al.*, 1988), 발근 촉진(Jarvis *et al.*, 1985), 화분관 생장 촉진(Bagni *et al.*, 1981; Prakash *et al.*, 1988), 배 발생 유도(Montague *et al.*, 1978; Feirer *et al.*, 1984) 등의 기능도 나타낸다.

Polyamine 생합성의 조절효소는 arginine decarboxylase (ADC)와 ornithine decarboxylase(ODC)로 알려져 있으며, diamine oxidase(DAO)와 polyamine oxidase(PAO)에 의하여 pyrroline과 H_2O_2 그리고 ammonium 이온으로 분해된다 (Smith, 1985; Hashimoto *et al.*, 1990).

Polyamine의 생합성을 억제하는 물질에는 difluoromethyl arginine(DFMA), difluoromethyl ornithine(DFMO), dicyclohexylamine(DCHA), 그리고 methylglyoxal bisguanylhydrazone(MGBG) 등이 있다. DFMA와 DFMO는 각각 arginine decarboxylase와 ornithine decarboxylase의 비가역적 억제 물질이며(Smith, 1985; Tiburico *et al.*, 1987), DCHA와 MGBG는 각각 spermidine synthase와 S-adenosylmethionine decarboxylase의 활성에 대한 비가역적 억제 물질로 알려져 있다(Kaur-Sawney *et al.*, 1985; Evans and Malmberg, 1989). 이들 억제 물질은 polyamine의 생리적 기능과 합성 경로를 밝히는 데 효과적으로 사용되고 있다.

본 연구자들은 전보(Kim *et al.*, 1992)에서 polyamine의 생합성 억제물질인 DFMA, DFMO 및 DCHA의 처리에 의하여 포플라 잎절편의 부정아 분화율 감소와 분화시기의 지연이 일어났으며, 이러한 억제효과는 DCHA 처리시 가장 강하게 나타났고 그다음 DFMO, DFMA의 순서로 나타난다고 보고한 바 있다. 또한, polyamine 생합성 억제제에 의한 부정아 분화의 억제 현상이 polyamine의 처리시 회복 내지는 상쇄되었고 이 과정에서 spermidine이 가장 효과적으로 작용하는 결과로부터 spermidine은 포플라 잎절편의 부정아 분화시 하나의 필수적인 요소로 작용할 것이라고 시사한 바 있다. 따라서 본 연구에서는 polyamine 생합성 억제제에 의한 부정아 분화의 억제 현상이 실질적으로 내생 polyamine의 함량 변화와 어떻게 연관되어 있는지를 알아보기 위하여 polyamine 생합성 억제제의 처리에 의한 내생 polyamine의 함량과 ADC와 ODC의 활성도 변화, 또한 polyamine 생합성 억제제와 polyamine을 함께 처리하였을 때 내생 polyamine의 함량 변화에 대하여 조사함으로써 포플라 잎절편으로부터 부정아 분화시 polyamine의 연관성 여부를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료. 실험재료는 전보(Kim *et al.*, 1992)와 동일하게 포플라(*Populus nigra* var. *betulifolia*×*P. trichocarpa*)를 온실에서 재배하여 정아로부터 아래쪽 3번째 잎 중 길이 3 cm 정도의 어린 잎을 부정아 분화의 재료로 사용하였다.

부정아 유도. 부정아는 전보(Kim *et al.*, 1992)와 같은 방법으로 포플라 잎에서 취한 절편을 무기염류와 vitamin 그리고 NAA, BA 등의 호르몬을 포함하는 목본식물 배양배지(Russel and McCown, 1986)에서 배양하면서 유도하였다. 절편의 제조는 포플라 잎을 70% ethanol과 0.5% sodium hypochlorite로 멸균 처리하고 증류수로 세척한 후 주맥을 중심으로 0.8 cm×1.7 cm의 절편을 취한 다음 절편 3개를 30 mL의 배지에서 배양하였다. 배양 조건은 18시간의 광기와 6시간의 암기로 하였으며 온도는 27± 1℃로 유지하였다.

Polyamine 생합성 억제제의 처리. Polyamine 생합성 억제제의 처리는 Feirer 등(1984)의 방법과 전보(Kim *et al.*, 1992)에서 부정아 분화에 대한 억제 효과의 결과를 근거로 목본식물 배양배지에 DFMA, DFMO, DCHA를 각각 1 mM씩 처리하였고 배양조건은 부정아 유도시와 같게 하였다.

Polyamine의 처리. Polyamine의 처리는 전보(Kim *et al.*, 1992)에서 polyamine 생합성 억제제의 부정아 억제효과를 효과적으로 회복 내지는 상쇄시켰던 0.1 mM, 0.5 mM의 putrescine과 spermidine을 각각 목본식물 배양배지에 처리하였다.

Polyamine의 추출 및 정량. TLC에 의한 polyamine의 추출 및 정량은 Kim 등(1990)과 같은 방법으로 시행하였다.

ADC, ODC의 추출 및 활성도 측정. Arginine decarboxylase와 ornithine decarboxylase의 추출 및 활성도 측정은 Kim 등(1990)과 같은 방법으로 시행하였다.

결과 및 고찰

Polyamine 생합성 억제제에 의한 polyamine의 함량 변화. 포플라(*Populus nigra* var. *betulifolia*×*P. trichocarpa*) 잎절편으로부터 부정아의 분화는 polyamine 생합성 억제제들에 의하여 상당히 억제된다(Kim *et al.*, 1992). 따라서 이러한 부정아 분화의 억제 현상이 내생 polyamine의 함량 변화와 직접적으로 연관되어 있는지를 알아보기 위하여 DFMA, DFMO, DCHA 등의 polyamine 생합성 억제제를 부정아 분화에 대한 억제 효과가 가장 효율적이었던 1 mM의 농도로 각각 목본식물 배양배지에 처리하고 부정아가 분화되는 절편 하단 부위에서 내생 polyamine의 함량 변화를 조사하였다.

1 mM의 DFMA, DFMO, DCHA를 각각 배지에 처리하

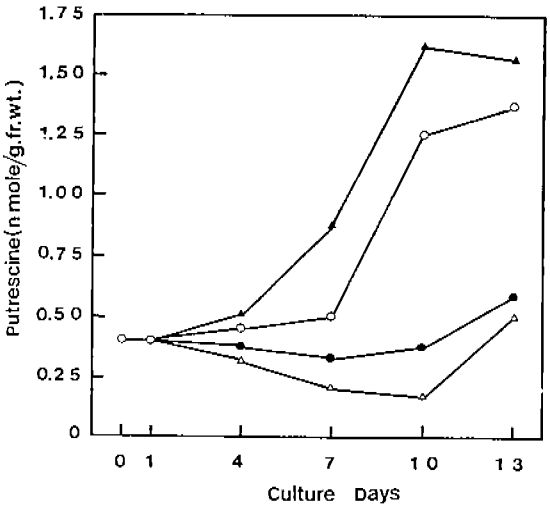

Fig. 1. Effects of 1 mM polyamine inhibitors on putrescine titers during adventitious shoot regeneration in the proximal parts of *Populus* leaf segments. -○-, control; -●-, DFMA; -△-, DFMO; -▲-, DCHA

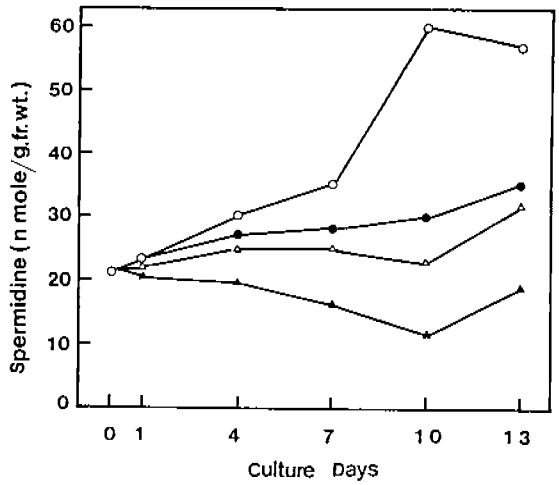

Fig. 2. Effects of 1 mM polyamine inhibitors on spermidine titers during adventitious shoot regeneration in the proximal parts of *Populus* leaf segments. -○-, control; -●-, DFMA; -△-, DFMO; -▲-, DCHA

였을 때 DFMA와 DFMO에 의해서는 대조구보다 배양 전기간 동안 putrescine의 함량이 감소하였으나 DCHA에 의해서는 putrescine의 함량이 대조구보다 증가하였다(Fig. 1). 한편, DFMA 보다는 DFMO에 의하여 putrescine의 함량이 더욱 억제되었는데 이는 포플라 잎절편으로부터 부정아의 분화시 putrescine의 합성은 ADC의 경로보다는 주로 ODC의 경로에 의하여 이루어 진다는 것을 의미한다. 이러한 결과는 부정아가 유도되는 동안 부정아가 유도되는 절편 하단 부위에서 ODC의 활성도가 ADC의 활성도보다 높게 나타난 것(Kim *et al.*, 1990)과 전보(Kim *et al.*, 1992)에서 DFMA보다는 DFMO에 의하여 분화율이 더 억제되는 것을 뒷받침해주는 결과라고 생각된다. 동물과 미생물의 경우 diamine인 putrescine은 대부분 ODC에 의하여 L-ornithine으로부터 합성되며(Bachrach, 1970; Pegg and McCann, 1982), putrescine으로부터 spermidine과 spermine이 합성된다(Cohen et al., 1982; Smith, 1985). 한편, 식물에 있어서는 ADC의 경로를 통해서 putrescine이 합성된다는 것이 일반적인 견해이다(Heimer, 1979; Torrigiani *et al.*, 1987). 그러나, 세포분열이 활발히 일어나는 식물조직에서는 주로 ODC에 의하여 putrescine이 합성된다고 알려져 있다(Cohen *et al.*, 1984; Tiburcio *et al.*, 1987). 또한, Cohen 등(1982)은 토마토와 감자의 경우 ODC의 경로가 성장과 분화에 큰 영향을 미친다고 하였다. 한편, DCHA 처리구에서는 putrescine의 함량이 대조구보다 증가하였는데, 이것은 DCHA에 의하여 spermidine synthase의 활성이 억제됨에 따라 putrescine이 축적됨으로 인한 결과라고 사료된다. 그러나, 이렇게 DCHA에 의하여 putrescine의 함량이 대조구보다 더 증가하여도 전보(Kim *et al.*, 1992)에 의하면 부정아의 분화율은 DCHA에 의하여 감소하였다. 이것은 부정아의 분화 과정에서 putrescine의 함량 증가는 큰 의미를 가지지 않는다는 것을 시사한다.

Polyamine의 생합성 억제제인 DFMA, DFMO, DCHA를 각각 1 mM씩 배지에 처리하였을 때 spermidine의 함량은 각 처리구에서 모두 억제되었으나 그중 DCHA의 억제 효과가 가장 강하게 나타났다(Fig. 2). DCHA에 의하여 spermidine의 함량이 감소하는 것은 DCHA가 spermidine synthase의 활성을 비가역적으로 억제하는 물질이기 때문이며(Kaur-Sawney, 1985; Evans and Marmberg, 1989), 또한 DFMA와 DFMO의 처리에 의해서도 spermidine의 함량이 감소하는 것은 DFMA와 DFMO에 의하여 putrescine이 감소하기 때문에 putrescine에서 spermidine으로 전환되는 양이 적어지기 때문인 것으로 생각된다. 특히, 전보(Kim *et al.*, 1992)에서 DCHA가 부정아 분화에 대한 억제 효과가 가장 강하게 나타났고 실제로 Fig. 2에서 DCHA에 의하여 spermidine의 함량이 급격하게 감소하는 것으로 볼 때 포플라 잎절편의 부정아 분화 기구에는 spermidine이 밀접히 연관되어 있는 것으로 사료된다. 또한 이러한 사실은 putrescine은 세포신장과 연관이 있고 spermidine은 세포분열과 식물의 분화와 발생 과정에서 중요한 역할을 한다는 보고(Dumotier *et al.*, 1983; Kaur-Sawney *et al.*, 1985; Shen and Galston, 1985)와도 일치하는 결과라고 사료된다.

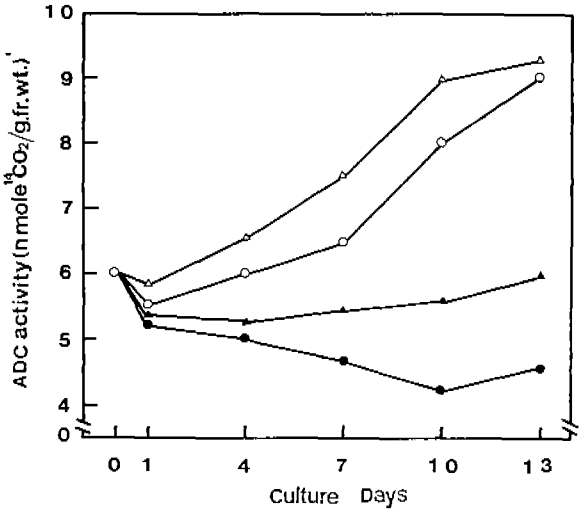

Fig. 3. Effects of 1 mM polyamine inhibitors on ADC activities during adventitious shoot regeneration in the proximal parts of *Populus* leaf segments. −○−, control; −●−, DFMA; −△−, DFMO; −▲−, DCHA

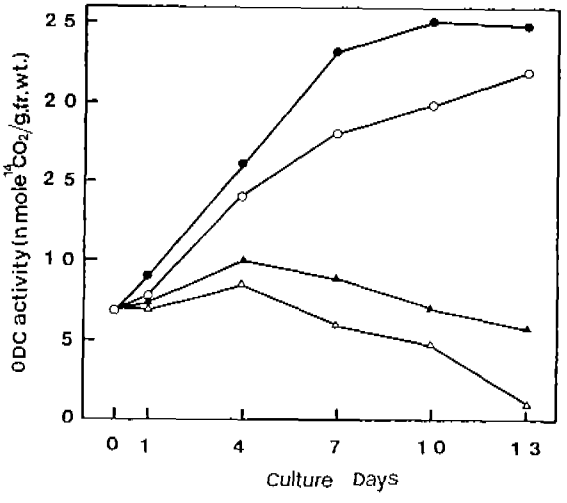

Fig. 4. Effects of 1 mM polyamine inhibitors on ODC activities during adventitious shoot regeneration in the proximal parts of *Populus* leaf segments. −○−, control; −●−, DFMA; −△−, DFMO; −▲−, DCHA

Polyamine 생합성 억제제에 의한 ADC, ODC의 활성도 변화. 이상에서 포플라 잎절편의 부정아 분화시 polyamine 생합성 억제제에 의한 부정아 분화의 억제 현상이 실질적으로 내생 polyamine의 함량 변화와 직접적으로 연관되어 있다는 것이 확인되었다. 따라서 polyamine 생합성 억제제가 부정아 분화시 polyamine의 생합성 효소인 ADC와 ODC의 활성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 DFMA, DFMO, DCHA를 각각 1 mM씩 처리하고 부정아가 분화되는 포플라 잎절편의 하단 부위에서 ADC와 ODC의 활성도 변화를 조사하였다. DFMA, DFMO 및 DCHA를 배지에 각각 1 mM의 농도로 처리하였을 때 DFMA와 DCHA에 의해서는 ADC의 활성도가 억제되는 반면, 1 mM DFMO의 처리에 의해서는 ADC의 활성도가 약간 증가하였다(Fig. 3). DFMA에 의한 ADC의 활성의 억제 현상은 DFMA가 ADC 활성의 억제 물질이기 때문이며(Smith, 1985; Tiburcio *et al.*, 1987) DCHA에 의하여 ADC의 활성이 억제되는 것은 DCHA에 의하여 putrescine이 축적되기 때문에 과도한 양의 putrescine이 조직 내에 축적되는 것을 막기 위한 조절 기작에 의한 것으로 생각된다. 한편, DFMO를 처리하였을 때에는 ADC의 활성도가 증가하였는데 이것은 DFMO에 의하여 ODC의 경로가 차단됨으로써 부족되는 putrescine을 보충하기 위한 기작에 의한 것으로 생각된다. ODC 활성도의 경우 1 mM의 DFMA, DFMO 및 DCHA를 처리하였을 때 ODC의 억제 물질인 DFMO에 의하여 가장 억제가 심하게 일어났으나 1 mM DCHA에 의해서도 ODC의 활성도는 상당히 억제되었다. 한편, DFMA 처리구에서는 배양 전기간 동안 ODC의 활성이 증가하였다(Fig. 4). DCHA에 의하여 ODC의 활성이 억제되는 것은 DCHA에 의하여 ADC의 활성도가 억제되는 것과 같은 개념으로 이해될 수 있다. 또한, DFMA에 의해서 ODC의 활성도가 대조구보다 약간 증가하였는데 이는 DFMA에 의하여 ADC의 경로를 통한 putrescine의 합성이 억제됨에 기인하는 것으로 사료된다. 특히, DFMO에 의한 ADC의 활성도 증가보다 DFMA에 의한 ODC의 활성도 증가가 더 높게 나타났는데 이것 또한 ODC의 경로가 포플라 잎절편에서 부정아가 유도되는 동안 polyamine pool의 rate-limiting step이 된다는 것을 시사하여 준다.

Polyamine 처리의 효과. 전보(Kim *et al.*, 1992)에 의하면 포플라 잎절편으로부터 부정아 분화시 polyamine 생합성 억제제의 처리에 의하여 분화율이 감소하였고, polyamine 생합성 억제제와 polyamine을 같이 처리하였을 때 분화율이 회복되었는데 Figs. 1과 2의 결과로부터 polyamine 생합성 억제제의 처리시 부정아 분화 양상과 상응하는 내생 polyamine의 함량 변화가 확인되었다. 따라서 polyamine 생합성 억제제에 의한 polyamine의 함량 감소가 polyamine의 처리에 의하여 회복되는 양상에 대하여 조사하였다.

1 mM DFMA에 0.1 mM putrescine, 0.5 mM putrescine, 0.1 mM spermidine, 0.5 mM spermidine을 각각 배지에 처리하였을 때 spermidine은 1 mM DFMA에 의한 putrescine 함량의 억제 효과에 큰 영향을 미치지 못했지만 putrescine은 1 mM DFMA의 억제효과를 상당히 회복시켜 0.5

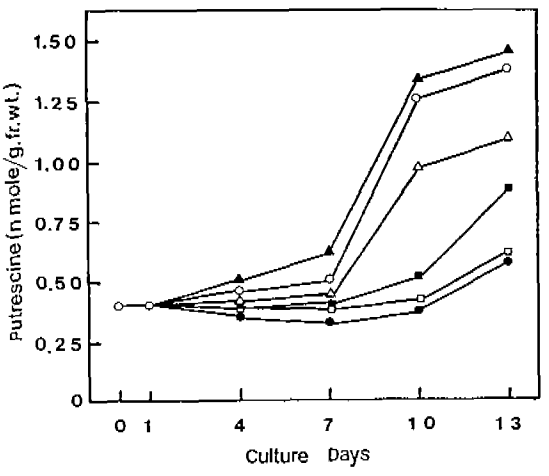

Fig. 5. Effects of 1 mM DFMA and polyamines on putrescine titers during adventitious shoot regeneration in the proximal parts of *Populus* leaf segments. −○−, control; −●−, DFMA; −△−, DFMA+0.1 mM putrescine; −▲−, DFMA+0.5 mM putrescine; −□−, DFMA+0.1 mM spermidine; −■−, DFMA+0.5 mM spermidine.

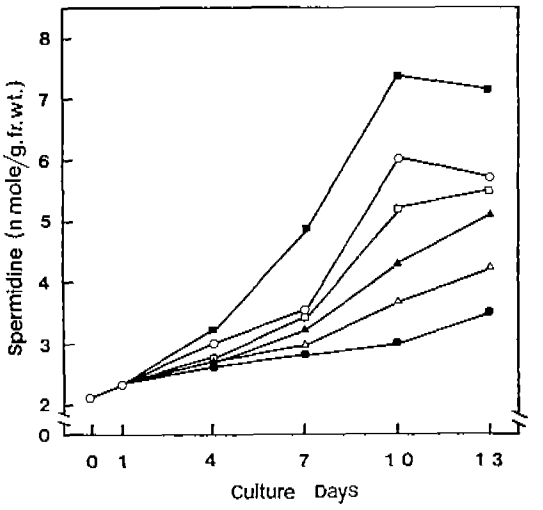

Fig. 6. Effects of 1 mM DFMA and polyamines on spermidine titers during adventitious shoot regeneration in the proximal parts of *Populus* leaf segments. −○−, control; −●−, DFMA; −△−, DFMA+0.1 mM putrescine; −▲−, DFMA+0.5 mM putrescine; −□−, DFMA+0.1 mM spermidine; −■−, DFMA+0.5 mM spermidine.

mM putrescine을 1 mM DFMA와 같이 처리하였을 때에는 1 mM DFMA의 억제 효과가 완전히 상쇄되어 오히려 대조구보다 putrescine 함량이 배양 전기간 동안 약간 증가하였다(Fig. 5). 또한, 1 mM DFMA와 polyamine을 같이 처리하였을 때 1 mM DFMA에 의한 spermidine의 함량 억제 현상이 0.1 mM putrescine, 0.5 mM putrescine, 0.1 mM spermidine, 0.5 mM spermidine 모두에 의하여 회복되었다(Fig. 6). 특히 전보(Kim *et al.*, 1992)에서 1 mM DFMA의 처리에 의해서 억제되었던 부정아의 분화율이 0.1 mM putrescine, 0.5 mM putrescine, 0.1 mM spermidine, 0.5 mM spermidine의 순서로 회복되는 정도가 증가하였는데, spermidine의 함량도 같은 순서로 회복되는 것으로부터 부정아의 분화 과정과 spermidine의 함량 변화와는 긴밀한 상호관계가 존재한다는 것을 알 수 있다. 1 mM DFMO와 polyamine을 같이 처리하였을 때에는 1 mM DFMO에 의한 putrescine의 함량 억제가 크게 회복되지 못하였으며 0.5 mM putrescine만이 대조구와 유사한 정도로 putrescine 함량을 회복시켰다(Fig. 7). Spermidine 함량에 대한 1 mM DFMO의 억제 효과는 0.1 mM putrescine, 0.5 mM putrescine 및 0.1 mM spermidine에 의해서는 크게 회복되지 않았지만 0.5 mM spermidine에 의해서는 spermidine 함량이 대조구보다 높게 나타나 0.5 mM spermidine은 1 mM DFMO의 억제 효과를 완전히 상쇄시켰다(Fig. 8). 1 mM DFMA와 polyamine을 같이 처리하였을 때와 1 mM DFMO와 polyamine을 같이 처리하였을 때를

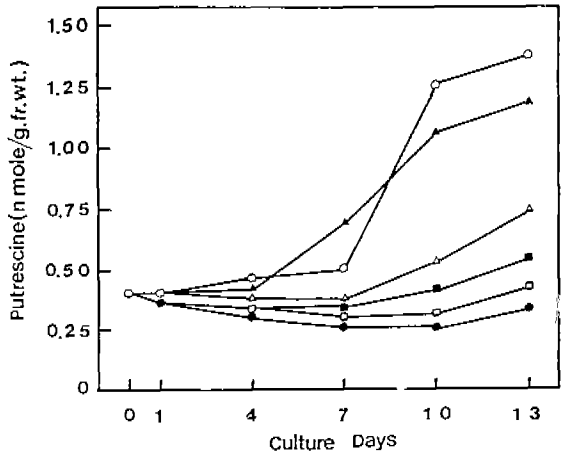

Fig. 7. Effects of 1 mM DFMO and polyamines on putrescine titers during adventitious shoot regeneration in the proximal parts of *Populus* leaf segments. −○−, control; −●−, DFMO; −△−, DFMO+0.1 mM putrescine; −▲−, DFMO+0.5 mM putrescine; −□−, DFMO+0.1 mM spermidine; −■−, DFMO+0.5 mM spermidine.

비교하면, 1 mM DFMO와 polyamine을 같이 처리하였을 때가 1 mM DFMA와 polyamine을 같이 처리했을 때보다 putrescine과 spermidine의 회복이 낮았다. 이러한 결과는 전보(Kim *et al.*, 1992)의 DFMO의 억제 효과가 DFMA보다

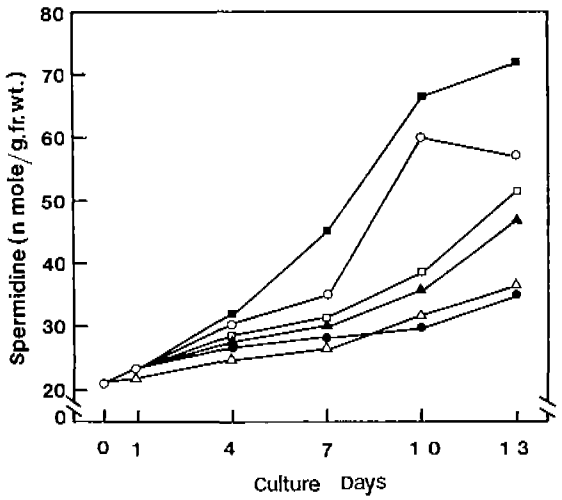

Fig. 8. Effects of 1 mM DFMO and polyamines on spermidine titers during adventitious shoot regeneration in the proximal parts of *Populus* leaf segments. −○−, control; −●−, DFMO; −△−, DFMO+0.1 mM putrescine; −▲−, DFMO+0.5 mM putrescine; −□−, DFMO+0.1 mM spermidine; −■−, DFMO+0.5 mM spermidine.

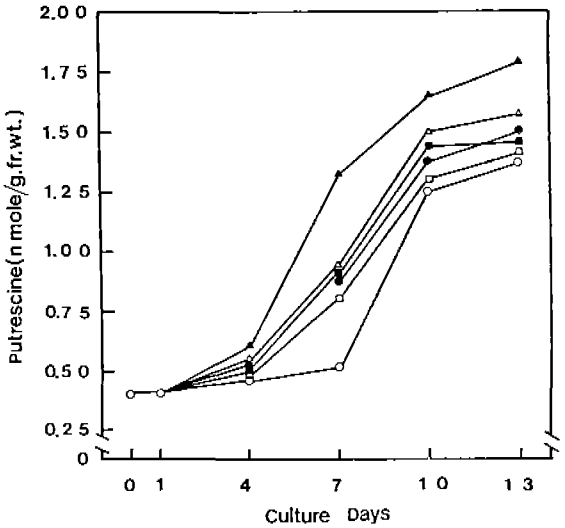

Fig. 9. Effects of 1 mM DCHA and polyamines on putrescine titers during adventitious shoot regeneration in the proximal parts of *Populus* leaf segments. −○−, control; −●−, DCHA; −△−, DCHA+0.1 mM putrescine; −▲−, DCHA+0.5 mM putrescine; −□−, DCHA+0.1 mM spermidine; −■−, DCHA+0.5 mM spermidine.

강하게 나타난 결과와 일치하는 것이며 또한 DFMO가 포플라 잎절편의 부정아 분화 과정에서 polyamine pool의

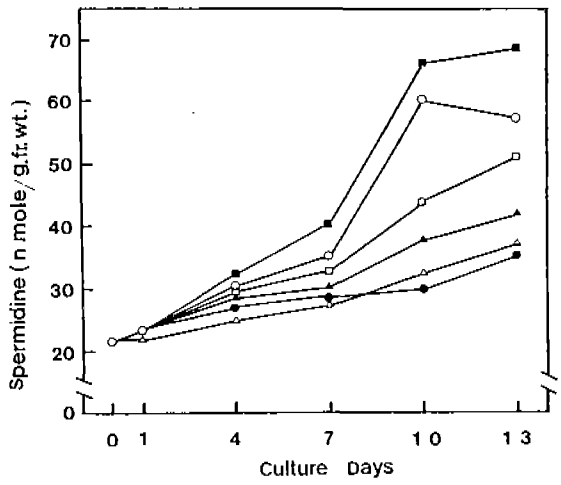

Fig. 10. Effects of 1 mM DCHA and polyamines on spermidine titers during adventitious shoot regeneration in the proximal parts of *Populus* leaf segments. −○−, control; −●−, DCHA; −△−, DCHA+0.1 mM putrescine; −▲−, DCHA+0.5 mM putrescine; −□−, DCHA+0.1 mM spermidine; −■−, DCHA+0.5 mM spermidine.

rate-limiting step이 된다는 사실을 뒷바침해 준다. 1 mM의 DCHA를 처리하였을 때 putrescine의 함량은 배양 전기간 동안 약간 증가하였는데 1 mM DCHA와 polyamine을 같이 처리하였을 때 putrescine 함량의 증가폭은 더욱 커졌으며 특히, 0.5 mM putrescine이 가장 효과적이었다(Fig. 9). 1 mM의 DCHA에 의한 spermidine의 함량 감소는 polyamine의 처리에 의하여 다시 회복되어 0.1 mM putrescine, 0.5 mM putrescine, 0.1 mM spermidine의 순서로 spermidine의 함량을 회복시켰으나 대조구의 수준까지는 미치지 못하였다. 한편 1 mM DCHA와 0.5 mM spermidine을 함께 처리하였을 때 spermidine의 함량은 배양 전기간 동안 대조구보다 높은 수준을 유지하였다(Fig. 10). 이러한 결과는 전보(Kim *et al.*, 1992)에서 1 mM DCHA에 의한 부정아 분화율의 감소가 polyamine에 의하여 회복되는 양상과 유사하다. 따라서 포플라 잎절편으로부터 부정아가 유도되는 과정에는 spermidine이 직접적으로 연관되어 있다고 사료된다.

적 요

포플라(*Populus nigra* var. *betulifolia*×*Populus trichocarpa*) 잎절편의 부정아 분화시 polyamine 생합성 억제제의 처리에 의한 내생 polyamine의 함량과 ADC와 ODC의 활성도 변화, 또한 polyamine 생합성 억제제와 polyamine을 함께 처리하였을 때 내생 polyamine의 함량 변화에 대하여

조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다. ADC와 ODC에 대한 polyamine 생합성 억제제의 효과로 볼 때 포플라 잎절편의 polyamine pool은 ODC의 경로에 의하여 조절되는 것으로 사료되었다. 1 mM의 DFMA, DFMO 및 DCHA를 각각 배지에 처리하였을 때 DFMA와 DFMO에 의해서는 putrescine 함량이 감소하였으나 DCHA에 의해서는 대조구 보다 증가하였다. Spermidine의 함량은 각 처리구에서 모두 억제되었으나 그중 DCHA의 억제 효과가 가장 강하게 나타났다. Polyamine 생합성 억제제에 의한 부정아 분화 양상과 polyamine 함량과의 상관성을 비교해볼 때 포플라 잎절편의 경우 부정아 분화는 putrescine의 함량 변화보다는 spermidine의 함량 변화와 밀접히 연관되어 있는 것으로 나타났다. 전보에 의하면 polyamine 생합성 억제제에 의한 부정아 분화율의 감소와 분화 시기의 지연 효과가 putrescine과 spermidine의 처리에 의하여 회복 내지는 상쇄되었는데 실질적으로 polyamine 생합성 억제제에 의한 내생 polyamine의 함량 감소가 polyamine의 처리에 의하여 회복되는 것이 확인되었다.

참 고 문 헌

Altman, A., R. Friedman, D. Adir and N. Nevin. 1982. Polyamine effects and metabolism in plants under stress conditions. *In*, Plant Growth Substances. Academic Press, New York. pp. 483-494.

Bagni, N., P. Adamo, D. Serafini-Fracassini and V. R. Villanueva. 1981. RNA, proteins and polyamines during tube growth in germinating apple pollen. *Plant Physiol.* **68**: 727-730.

Bachrach, U. 1970. Metabolism and function of spermine and related polyamines. *Ann. Rev. Microbiol.* **24**: 109-134.

Cheema, G.S. 1989. Somatic embryogenesis and plant regeneration from cell suspension and tissue cultures of mature himalian *Populus*. *Plant Cell Reports* **8**: 124-127.

Cohen, E., S. Ard, Y. Heimer and Y. Mizrahi. 1984. Polyamine biosynthetic enzymes in the cell cycle of *Chlorella*. Correlation between ornithine decarboxylase and DNA synthesis at different light intensities. *Plant Physiol.* **74**: 385-388.

Cohen, E., Y. Heimer and Y. Mizrahi. 1982. Ornithine decarboxylase and arginine decarboxylase activities in meristematic tissues of tomato and potato plants. *Plant Physiol.* **70**: 544-546.

Colemann, G.D. and S.G. Ernst. 1989. In vitro shoot regeneration of *Populus deltoides*: effect of cytokinin and genotype. *Plant Cell Reports* **8**: 459-462.

Dumotier, F.M., H.E. Flores, N.S. Shekhawat and A.W. Galston. 1983. Gradients of polyamines and their biosynthetic enzymes in coleoptiles and roots of corn. *Plant Physiol.* **72**: 915-918.

Douglas, G.C. 1985. Formation of adventitious buds in stem internodes of *Populus* hybrid TT32 cultured *in vitro*. Effects of sucrose, zeatin , IAA and ABA. *J. Plant Physiol.* **121**: 225-231.

Evans, P.T., B.L. Holaway and R.L. Malmberg. 1988. Biochemical differentiation in the tobacco flower probed with monoclonal antibodies. *Planta* **175**: 259-269.

Evans, P.T. and R.L. Malmberg. 1989. Do polyamines have roles in plant development ? *Ann. Rev. Plant Physiol.* **40**: 235-269.

Feirer, R., G. Mignon and J. Litvay. 1984. Arginine decarboxylase and polyamines required for embryogenesis in the wild carrots. *Science* **223**: 1433-1435.

Goren, R., N. Palavan, H. Flores and A.W. Galston. 1982. Changes in polyamine titer in etiolated pea seedlings following red-light treatment. *Plant Cell Physiol.* **23**: 19-26.

Hashimoto, T.A., Mitani and Y. Yamada. 1990. Diamine oxidase from cultured roots of *Hyoscyamus niger*. *Plant Physiol.* **93**: 216-221.

Heimer, Y.Y. Mizrahi and U. Bachrach. 1979. Ornithine decarboxylase activity in rapidly proliferating plant cells. *FEBS Lett.* **104**: 146-149.

Jarvis, B.C., S. Yasmin and M.T. Ccoleman. 1985. RNA and protein metabolism during adventitious root formation in stem cuttings of Phaseolus aureus cultivar berkin. *Physiol. Plant.* **64**: 53-59.

Kaur-Sawney, R., N.S. Shekhawat and A.W. Galston. 1985. Polyamine levels as related to growth, differentiation and senescence in protoplast-derived cultures of *Vignia aconitifolia* and *Avena sativa*. *Plant Growth Regulation* **3**: 329-337.

Kim, S.H, M.W. Kim, Y.H. Kang, B.G. Kang and S.H. Lee. 1990. Changes in endogenous polyamine levels during polar regeneration from *Populus* leaf segments. *Korean J. Bot.* **33**: 243-251.

Kim, S.H, M.W. Kim, Y.H. Kang, B.G. Kang and S.H. Lee. 1992. Effects of polyamines on adventitious shoot regeneration from *Populus* leaf segments. *Korean J. Bot.* **35**: 17-23.

Lee-Stadelmann, O.Y., S.W. Lee, W.P. Hackett and P.E. Read. 1989. The formation of adventitious buds *in vitro* on micro-cross sections of hybrid *Populus* leaf mid veins. *Plant Sci.* **61**: 263-272.

Montague, M., J. Koppenbrink and E. Jaworski. 1978. Polyamine metabolism in embryogenic cells of *Daucus carota*. I. Changes in intracellular content and rates of synthesis. *Plant Physiol.* **62**: 430-433.

Paterson, K. 1983. Polarity of regeneration in excised leaves of *Crassula argenteal*. A role of auxin. *Can. J. Bot.* **61**: 1058-1063.

Paterson, K.E. and T.L. Rost. 1981. Callus formation and

organogenesis from cultured leaf segments of *Crassula* argentea: cytokinin induced developmental pattern changes. *Am. J. Bot.* **68**: 965-972.

Pegg, E.A. and P.P. McCann. 1982. Polyamine metabolism and function. *Am. J. Physiol.* **12**: 212-221.

Phillips, R., M.C. Press and A. Eason. 1987. Polyamines in relation to cell division and xylogenesis in cultured explants of *Helianthus tuberosus*. *J. Exp. Bot.* **38**: 164-172.

Prakash, L., P. John, G.M. Nair and G. Prathapasenan. 1988. Effect of spermidine and MGBG on *in vitro* pollen germination and tube growth in *Catharanthus roseus*. *Ann. Bot.* **61**: 373-375.

Russell, J.A. and B.H. McCown. 1986. Culture and regeneration of *Populus* leaf protoplasts isolated from non-seedling tissue. *Plant Sci.* **46**: 133-142.

Rutledge, C.B. and G.C. Douglas. 1988. Culture of meristem tips and micropropagation of 12 commercial clones of poplar *in vitro*. *Physiol. Plant.* **72**: 367-373.

Sanjeev, J., G. Zon and M. Sundarlingam. 1989. Base only binding of spermine in the deep groove of the A-DNA octamer d(GTGTACAC). *Biochemistry* **28**: 2360-2364.

Shen, H.J. and A.W. Galston. 1985. Correlations between polyamine ratios and growth patterns in seedling roots. *Plant Growth Regulation* **3**: 353-363.

Skoog, F. and C.O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. *Symp. Soc. Exp. Biol.* **11**: 118-131.

Smith, T.A. 1985. Polyamines. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **36**: 117-143.

Tiburcio, A.F., R. Kaur-Sawney and A.W. Galston. 1987. Effect of polyamine biosynthetic inhibitors on alkaloids and organogenesis in tobacco callus cultures. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* **9**: 111-120.

Torrigiani, P, D. Serafini-Fracassini and N. Bagni. 1987. Polyamine biosyn-thesis and effect of dicyclohexylamine during the cell cycle of *Helianthus tuber*. *Plant Physiol.* **84**: 148-152.

Walker, M.A., D.R. Roberts and E.B. Dumbroff. 1988. Effects of cytokinin and light on polyamines during the greening response of cucumber cotyledons. *Plant Cell Physiol.* **29**: 201-205.

(1992. 9. 28 接受)