

## 참當歸의 生育段階別 GA<sub>3</sub>, IAA 및 ABA 含量變化

趙善行\* · 申國鉉\* · 安相得\*\*

### Changes in GA<sub>3</sub>, IAA and ABA Contents at the Different Growth Stage of *Angelica gigas* NAKAI

Seon-Haeng Cho\*, Kuk-Hyon Shin\*, and Sang-Deuk Ahn\*\*

**ABSTRACT:** This study was carried out to observe the changes in gibberellin(GA<sub>3</sub>), indol-3-acetic acid(IAA) and abscisic acid(ABA) contents known as plant growth regulators in the leaves of *Angelica gigas* and to get the basic information for the establishment of cultural practice for the inhibition of floral induction. Changes in GA<sub>3</sub>, IAA and ABA contents were investigated at different growth stage in the young flag leaves of two year old plants.

The contents of GA<sub>3</sub> showed the highest value by 4.87mg/kg at early flowering stage, and those were gradually increased from vegetative stage to early flowering stage, but greatly decreased from early flowering stage to fruiting stage.

The contents of IAA were also the highest by 2.27mg/kg at early flowering stage. The contents of ABA were gradually increased along with the development of growth stage. In the fruiting stage those were the highest value by 0.37mg/kg and in early flowering stage the contents were decreased temporarily.

참當歸는 2~年生 宿根性 作物로서 播種後 二年次에는 대부분 꽃대가 나와 開花·結實하게 되는데 한번 抽臺가 되면 根이 木質化되어 藥用으로 使用할 수가 없다. 따라서 보다 效率的인 花成 抑制 栽培法의 모색이 요청되고 있는 實情이다.

이러한 문제점을 해결하고자 많은 노력이 있었는데 그간의 研究로는 種根의 크기, 光度와 施肥量<sup>3, 13)</sup>, 移植과 春化處理<sup>4)</sup> 등 주로 外的環境要因에 대한 研究가 있었으나 內的要因인 內生生長調節物質에

의한 추대기작에 대한 연구는 보고된 바 없다.

본 研究는 抽臺와 開花를 抑制하고 根의 生長을 促進하는 植物生長調節物質을 利用한다면 效果的인 生産性 向上 方案이 될 수 있을 것으로 생각되어 일반적으로 植物의 抽臺와 開花를 促進 및 調節하는 것으로 알려진 GA<sub>3</sub>와 IAA, 그리고 生長을 抑制하고 休眠을 誘導시키는 ABA의 含量을 生育段階別로 調査하여 식물체 내적요인에 의한 추대기작을 구명키 위해 본 연구를 수행하였다.

\* 서울 大學校 天然物科學研究所(Natural Products Research Institute, Seoul National Univ., Seoul 110-460, Korea)

\*\* 江原大學校 農科大學(Agri. college, Kangwon Nat'l Univ., Cnunchon, Korea)

이 論文은 1992年度 農林水産部支援 農業特定研究課題 研究開發費에 의해 遂行되었음.

<94. 1. 8.接受>

## 材料 및 方法

供試材料은 江原道 진부에서 慣行으로 移植栽培한 參當歸를 材料로 하여 生育 段階別로 內生長 調節物質을 定量分析하였다. 試料採取는 生育段階別로 營養生長期인 5月 初旬부터 結實期인 9月 下旬까지 7 段階로 구분하여 각 段階別로 100g씩의 頂葉을 채취한 後 즉시 75% MeOH 溶液에 침지마쇄하여 內生長調節物質의 抽出用 試料로 사용하였다.

### 1. GA<sub>3</sub>, IAA 및 ABA의 抽出分劃

채취된 試料를 Scheme 1과 같이 75% methanol 300ml로 48時間씩 常溫에서 2回 抽出하고 最終回에는 2-4℃에서 1回 抽出하여 여과한 것을 합하여 50℃ 이하에서 減壓濃縮시켜 200ml로 조정하였다. 여기에 NaHCO<sub>3</sub>를 가하여 pH 8.0으로 조절한 다음 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 200ml로 3回 抽出하고, 水層은 citrate buffer(pH 3.5)로 산성화시킨 後 다시 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 200ml로 3回 抽出, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 層을 IAA 및 ABA fraction으로 하였다. 水層은 다시 HCl로 pH 2.5로 조절한 다음 ethylacetate 200ml로 3回 抽出하여 ethylacetate 層을 GA<sub>3</sub> fraction으로 하였다<sup>2,10)</sup>

### 2. GA<sub>3</sub>, IAA 및 ABA의 分析方法

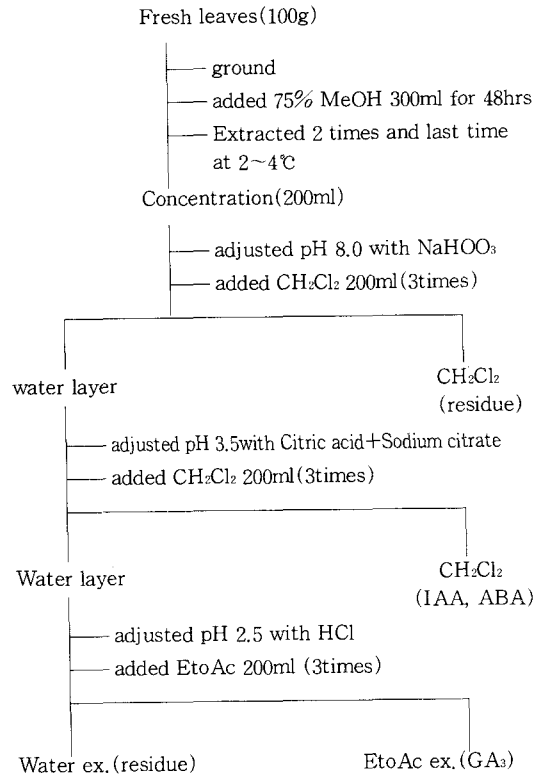
Scheme 1에 의하여 얻은 각 fraction의 GA<sub>3</sub>, IAA 및 ABA의 확인 및 定量法을 기존의 文獻<sup>2,7,10,14,15,17)</sup>을 참고하여 다음과 같이 확립하였다.

먼저 fraction을 濃縮하여 5ml로 만든 後 500μl를 chromatography paper에 點滴하고 isopropylalcohol:NH<sub>4</sub>OH:H<sub>2</sub>O=8:1:1의 용매에서 展開시킨 後 UV lamp(360nm, long wave)로 확인하고 Rf=0.7(GA<sub>3</sub>), 0.5(IAA), 0.8(ABA)에 해당하는 部位를 절취하여 methanol로 抽出한 다음 증발건조하고 TMS化劑 BSA 20μl 씩을 加하여 TMS化한 다음 CHCl<sub>3</sub> 100μl에 용해시킨 液을 GC column(OV-1, 25m)에 주입하여 gas chromatography를 실시하였다.(表1,2).

### 3. 標準檢量線의 作成

植物生長調節物質의 標準品으로서 GA<sub>3</sub>, IAA

및 ABA를 美國 Sigma Chem. CO.로부터 구입하여 一定量을 각각 methanol에 溶解하여 앞에서 說明한 分析方法과 同一하게 PC에 전개하고 해당 Rf 部位를 절취하여 용해 및 TMS化시켜 각 標準



Scheme 1. Flow diagram of the extraction of GA<sub>3</sub>, IAA and ABA from *A. gigas*.

Table 1. Development of PC and TMS.

Developer	: i-PrOH:NH <sub>4</sub> OH:H <sub>2</sub> O=8:1:1
Temp.	: 18-23℃
Time	: 16-17 hrs
Chromatography paper	:Whatman, Cat. No. 3001 502 (40cm×2mm)
Elution volume	:500μl among 5ml
Rf	: GA <sub>3</sub> (0.7), IAA(0.5), ABA(0.8)
Detection	: UV long wave(360nm)
TMS reagent	: N, O-bis(trimethylsilyl)acetamide(BSA)

Table 2. Analytical condition of GC for the determination of GA<sub>3</sub>, IAA, and ABA.

Temp. programming	GA <sub>3</sub>	IAA	ABA
Temp. 1(°C)	190	185	210
Time 1 (min.)	1	1	1
Rate (°C/min).	1	1	1
Temp. 2(°C)	290	290	270
Time 2 (min.)	1	1	5
Inj. Temp. (°C)	280	280	280
FiD Temp. (°C)	320	320	320

물질의 mg/kg 농도 범위내의 단계별 농도를 취하여 GC column에 주입하여 그림1과 같은 GC chromatogram을 얻었다.

標準物質 GA<sub>3</sub>, IAA 및 ABA에 대한 각각의 농도別 chromatogram들로부터 area에 대한 농도를

Plot하고 세 물질에 대한 calibration curve와 regression equation을 얻은 결과는 그림2와 같다.

한편 前述한 分析方法으로 얻은 試料중의 GA<sub>3</sub>, IAA 및 ABA fraction을 GC column에 주입하여 그림3과 같은 GC chromatogram을 얻었다. 이 chromatogram과 標準物質 chromatogram의 major peak와의 tR 比較 및 標準物質 添加實驗으로 同一物質 peak를 確認한 結果 각 物質의 tR=GA<sub>3</sub>, 4.92min.; IAA, 4.60min.; ABA, 4.75min. 이었다.

## 結果 및 考察

### 1. GA<sub>3</sub>의 含量 變化

참當歸의 生長段階에 따른 GA<sub>3</sub>의 含量을 調査

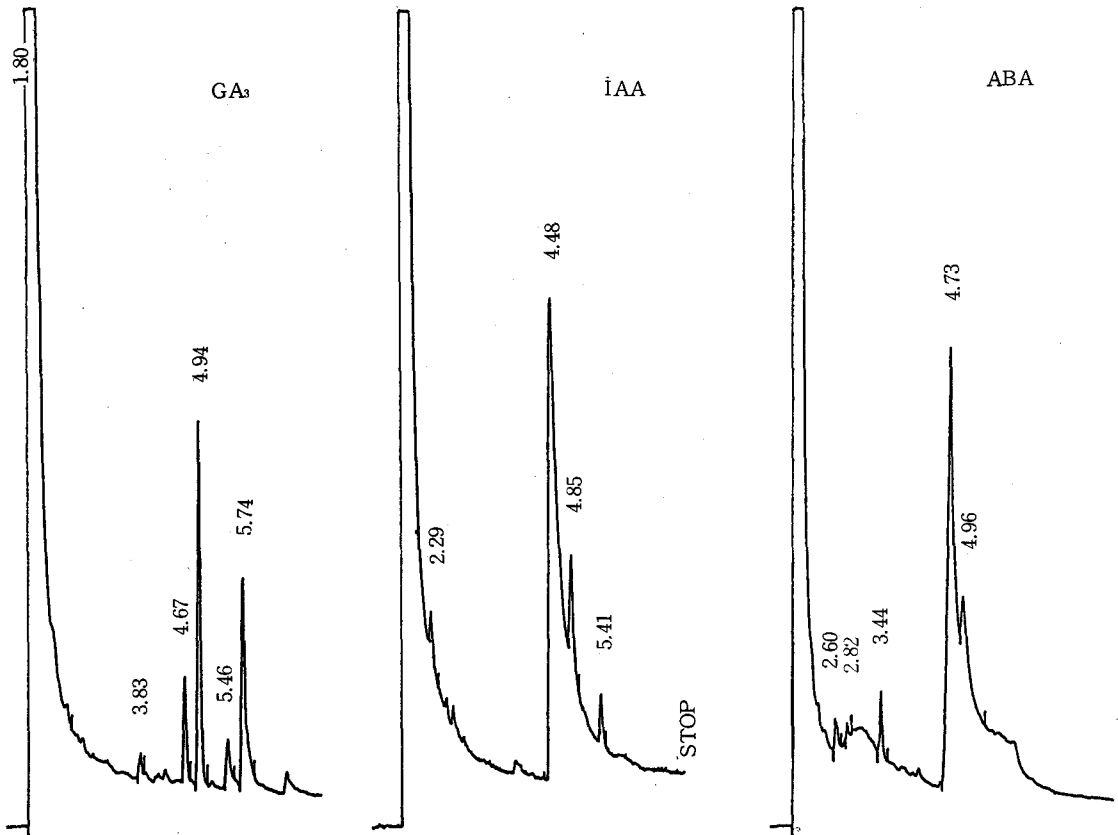


Fig 1. Typical GC chromatogram of GA<sub>3</sub>, IAA and ABA for standard calibration curve.

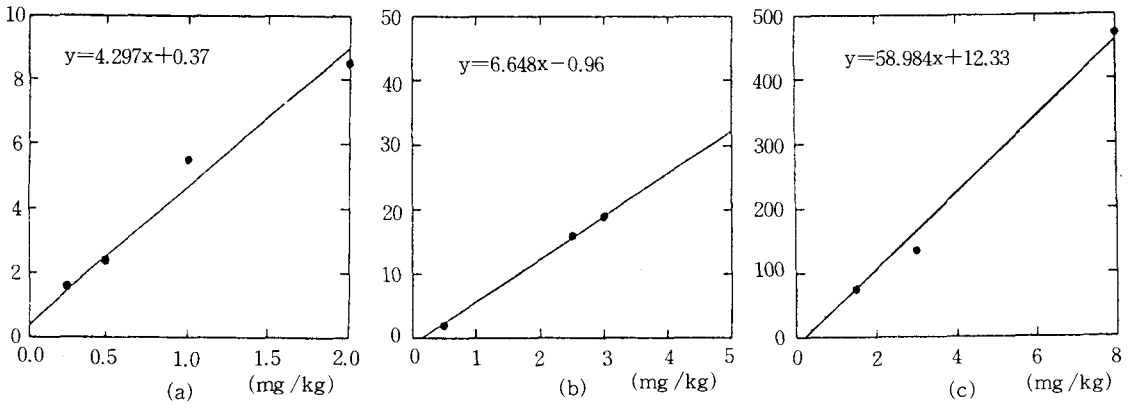


Fig 2. Calibration curves for GA<sub>3</sub>, IAA and ABA (a) : GA<sub>3</sub>, (b) : IAA, (c) : ABA

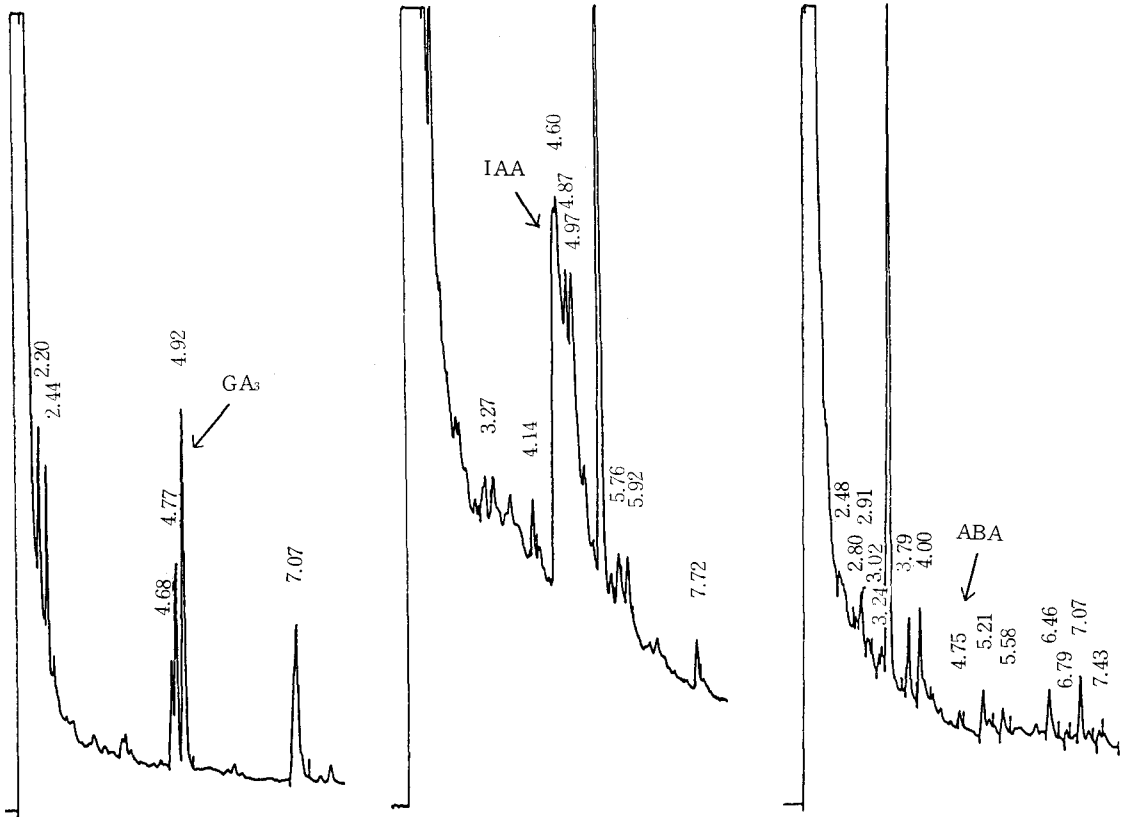


Fig 3. Typical GC chromatogram of GA<sub>3</sub>, IAA and ABA from the young flag leaves of *A. gigas*.

한 결과를 보면 表 3 및 그림 4와 같다. GA<sub>3</sub>는 開花前期인 8월 15日頃에 가장 높은 含量을 보였고 이 時期를 중심으로 前·後段階로 갈수록 점차 減少하는 傾向을 보였다. 즉 營養生長期에는 約

1.5mg/kg 水準을 유지하다가 抽臺前期와 後期에 각각 2.05, 2.98mg/kg까지 增大되어 營養生長期보다 約 2倍의 含量增加를 보였고, 다시 開花前期에는 가장 數値가 높은 4.87mg/kg까지 급격히 상

Table 3. Contents of plant hormone at different growth stage.

(unit:mg /kg)			
Stage	GA <sub>3</sub>	ABA	IAA
A	1.49	0.22	0.15
B	1.24	0.23	0.17
C	2.05	0.25	0.19
D	2.98	0.34	0.20
E	4.87	0.33	2.27
F	2.46	0.36	0.33
G	1.59	0.37	0.17

A: Vegetative stage      E: Early flowering stage  
 B: Late vegetative stage      F: Late flowering stage  
 C: Early bolting stage      G: Maturing stage  
 D: Late bolting stage

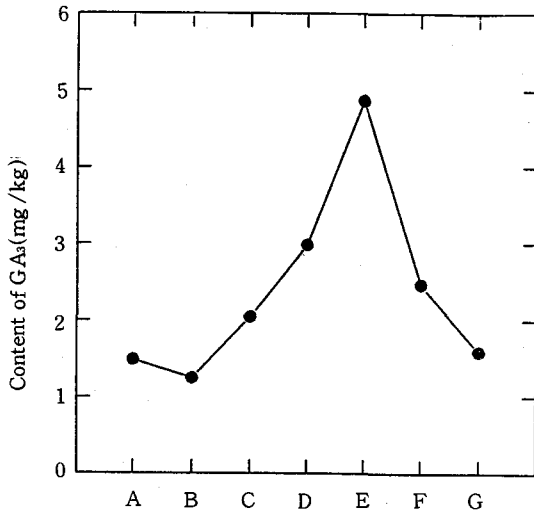


Fig 4. Changes in GA<sub>3</sub> hormone concentration.

A: Vegetative stage      F: Late flowering stage  
 B: Late vegetative stage      G: Maturing stage  
 C: Early bolting stages  
 D: Late bolting stage  
 E: Early flowering stage

승하여 抽臺後期보다 約 1.6倍, 抽臺前期보다 約 4倍的 含量增加를 나타내었다. 그후 開花後期和 結實期로 進展됨에 따라 2.46, 1.59mg/kg로 점차 減少하는 傾向이었다.

이와 같이 참깨歸가 抽臺期和 開花前期에 GA<sub>3</sub>에 含量이 급격히 增加하는 樣相을 보인 것은 一般적으로 GA<sub>3</sub>가 植物의 細胞生長을 促進하는 物質

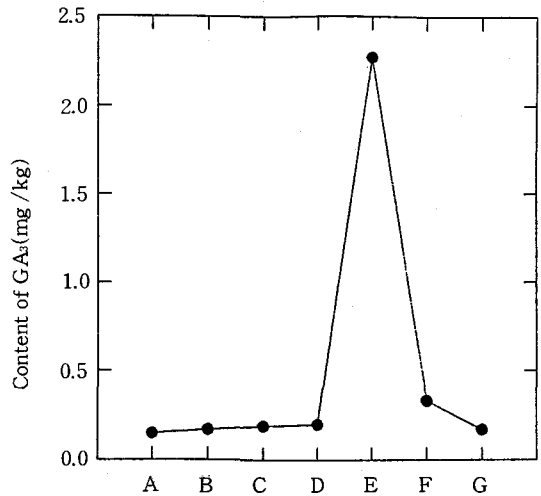


Fig 5. Changes in IAA hormone concentration in terms of the growth stage.

A: Vegetative stage      E: Early flowering stage  
 B: Late vegetative stage      F: Late flowering stage  
 C: Early bolting stages      G: Maturing stage  
 D: Late bolting stage

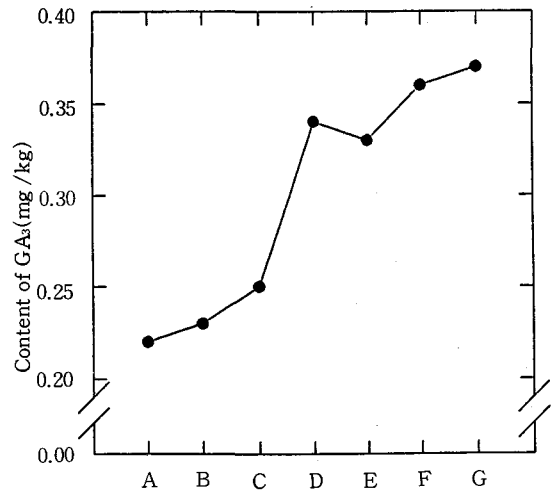


Fig 6. Changes in ABA concentration in terms of the growth stage.

A: Vegetative stage      E: Early flowering stage  
 B: Late vegetative stage      F: Late flowering stage  
 C: Early bolting stages      G: Maturing stage  
 D: Late bolting stage

로 알려져 있으며 Wittwer<sup>20)</sup>, Jones<sup>9)</sup> 및 Sachs<sup>16)</sup>가 왜성콩, 해바라기 및 사리풀을 대상으로 GA<sub>3</sub>가 植物의 節間을 伸長시킨다는 報告와 Lang<sup>11)</sup>, Lang등<sup>12)</sup>이 당근과 Hyoscyamus에 대한 開花研究에서 GA<sub>3</sub>가 開花를 誘導하는 物質이라는 報告와 一致하는 結果였다. 따라서 參當歸는 營養生長에서 生殖生長으로 전환하면서 GA<sub>3</sub> 含量이 점차 增加한다는 事實을 알 수 있었다.

## 2. IAA의 含量變化

그림5는 生育段階에 따른 IAA의 含量變化를 調査한 結果이다. IAA의 含量變化도 GA<sub>3</sub>와 비슷한 樣相을 보여 開花前期에 가장 높은 數値를 보였고 前·後段階로 갈수록 점차 減少하는 傾向이었다.

營養生長期인 5月 中旬부터 抽臺期인 7月 下旬까지는 IAA 含量이 0.15~0.20mg/kg 정도로 각 生育段階間에 큰 差異없이 점진적으로 增加하다가 開花前期인 8月 15日에는 2.27mg/kg으로 급격한 增加를 보여 抽臺後期보다 무려 11배의 含量變化를 나타내었고, 다음 段階인 開花後期和 結實期에는 각각 0.33, 0.17mg/kg으로 점차 低下하였다.

이상의 結果를 考察해보면 參當歸의 內生生長調節物質 IAA도 GA<sub>3</sub>와 抽臺 및 開花期에는 營養生長期보다 월등히 많은 量을 含有한다는 事實을 알 수 있었는데, 이러한 事實은 IAA가 開花 및 受精에 關여한다는 Fitting<sup>8)</sup>의 報告와 植物生育에서 IAA의 濃度の 差異로 生育促進部位가 變한다는 Thiamann<sup>18)</sup>의 研究內容과 一致하였다. 또한 GA<sub>3</sub>와 같은 樣상으로 變化를 보였는데 GA의 作用機作的 하나인 IAA 含量을 增大시킨다는 Jones<sup>9)</sup>의 實驗結果도 同一하였다.

그리고 參當歸가 抽臺 및 開花로 進行됨에 따라 根의 生育이 低下되고 木質化가 促進된다는 研究<sup>3, 4)</sup>와 關連시켜 볼 때 GA<sub>3</sub>와 IAA의 含量이 增加하면 根의 生育이 저지되고 地上部의 生育이 增大되는 生體內的 어떤 代謝作用이 關여할 것으로 생각되었다. 한편 GC에 의한 IAA의 含量을 調査할 때는 抽出 및 前處理 過程에서 IAA의 일부분이 分解하여 約 60% 정도 回收率을 보인다는 文獻上的 報告<sup>10)</sup>를 감안하면 參當歸 生體內的 실제 含量을 나타낸 數値보다 높을 것으로 推定된다.

## 3. ABA의 含量變化

ABA의 含量變化를 調査한 結果는 그림6과 같다. 初期生育段階부터 開花期를 거쳐 結實期로 進行함에 따라 ABA의 含量은 점진적으로 增加하는 傾向을 보였으나 開花前期에는 일시적으로 減少現象을 나타내었다.

抽臺前期까지의 生育初期에는 0.22-0.25mg/kg 정도의 水準을 유지하였으나 抽臺後期부터 結實期까지는 0.33-0.37mg/kg의 水準까지 增加하였다. 가장 含量이 높은 結實期에는 0.37mg/kg으로 生育初期보다 約 1.7배의 增加를 보여 GA<sub>3</sub>나 IAA의 段階別 含量差異보다는 적었다.

일반적으로 ABA는 植物體內에서 生育을 抑制하는 hormone으로 休眠을 誘導하고 落葉을 促進시키는 物質로 알려져 있다<sup>1,6,19,21)</sup> 이러한 事實에 비춰볼 때 參當歸에서도 結實期로 갈수록 種子結實 및 體內 老化現象의 反應으로 ABA의 含量이 增加되는 것으로 思料된다.

또한 앞에서 살펴본 GA<sub>3</sub>와 IAA의 변화와 關連시켜 考察해보면 GA<sub>3</sub>와 IAA의 含量이 가장 높은 開花期에 ABA는 상대적으로 低下되며 結實期로 갈수록 GA<sub>3</sub>와 IAA의 含量은 低下되는 반면에 ABA는 增加하여 서로 相反되는 現象을 나타내었다. 이와 같은 結果는 ABA가 다른 生長促進 hormone과 拮抗作用이 있다는 Chrispeels<sup>5)</sup>의 研究報告와 一致하였다.

## 摘 要

參當歸의 生育段階에 따른 GA<sub>3</sub>, IAA 및 ABA의 含量變化를 究明하여 生長調節物質을 利用한 抽臺抑制方法의 確立을 위한 基礎資料로 活用하고자 實驗한 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. GA<sub>3</sub>의 含量은 開花前期에 4.87mg/kg으로 가장 높은 數値를 보였으며 이 時期를 中心으로 하여 前·後段階로 갈수록 減少하는 傾向이었다.
2. IAA의 含量도 開花前期에 2.27mg/kg으로 가장 높은 傾向이었고 그 前·後段階로 갈수록 0.15-0.33mg/kg 水準으로 減少하였다.
3. ABA는 生育段階가 進展됨에 따라 漸進적으로 增加하여 結實期에 0.37mg/kg으로 가장 높았

다. 그리고 開花期에는 一時的으로 減少現象을 보였다.

## 引用文獻

1. Addicott, F.T. and Lyon, T.L., 1969. Physiology of abscisic acid and related substances. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 20:139-164.
2. 趙匡衍, 1989. 植物 hormone 및 生長調節劑의 分析技術. 韓作誌 34別號 26-32.
3. 趙善行, 1992. 參當歸의 花成抑制와 藥效成分含量과의 關係 및 發芽率向上에 關한 研究. 建國大學校 大學院 博士學位論文.
4. 趙善行, 金基駿, 1991. 根頭徑의 크기와 施肥가 參當歸의 生育 및 收量에 미치는 影響. 韓作誌 36(3)251-255.
5. Chrispeels, M.J. and Varner, J.E. 1967. Hormonal control of enzyme synthesis: on the mode of action of gibberellic acid and abscisin in aleurone layers of barley, *Plant Physiol.* 42:1008-1016.
6. Davis, L.A. and Addicott, F.T. 1972. Abscisic acid: correlations with abscission and with development in the cotton fruit. *Plant Physiol.* 49:644-648.
7. Davis, L.A., Heinz, D.E. and Addicott, F.T. 1968. *Plant Physiol.* 43:1389
8. Fitting, H. 1909. Die beeingflussung der orchideenbluten durch die beestanolung und durch anders umstande. *Z. Bot.* 1:1-86.
9. Jones, R.L. and Phillips, I. D. J. 1966. Organs of gibberellin synthesis in light-grown sunflower plants. *Plant Physiol.* 41:1381-1386.
10. 倉石普. 1981. 農藥實驗法(除草劑論). 소프트サイエンス社. 146-159
11. Lang, A. 1957. The effect of gibberellin upon flower formation. *Proc. Nat'l. Acad. Sci.* 43:709-714
12. ———, Sandoval, J.A. and Bedri, A. 1957. Induction bolting and flowering in *Hyoscyamus* and *Samolus* by a gibberellin-like material from a seed plant. *proc. Nat'l. Acad. Sci.* 43:960-964.
13. 이승택, 유홍섭, 박춘근, 연구복. 1992. 參當歸 抽臺抑制 栽培技術. 韓藥作會 學術發表要旨 25.
14. Little, C.H.A., Strunz, G.M., France, R.L. and Bonga, J.M. 1972. *Phytochem.* 11:3536-3536.
15. Perez, A.T. and Lachman, W.H., 1971. *Phytochem.* 10:2799-2802.
16. Sachs, R.M., 1965. Stem elongation. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 16:73-96.
17. Sweeley, C.C., Bentley, R., Makita, M. and Wells, W.W., 1963. *J. Am. Chem. Soc.* 85:2497.
18. Thimann, K.V, 1956, Promotion and inhibition: twin themes of physiology. *Am. Natur.* 90:145-162.
19. Wareing, P.F. and Saunders, P.F. 1971. Hormones and dormancy. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 22:261-288.
20. Wittwer, S.H. and Bukovac, M.J. 1957. Gibberellins: New chemicals for crop production. *Mich. Agri. Exp. Stn. Q. Bull.* 39:469-494.
21. Wright, S.T.C. 1975. Seasonal change in the levels of free and bound abscisic acid black currant (*Ribes nigrum*) buds and beech (*fagus sylvatica*) buds. *J. Exp. Bot.* 26:161-174.