

Methylglyoxal bis-(Guanylhydrazone)과 Polyamine이 大豆 子葉 不定根 形成時 炭水化物 代謝에 미치는 影響

李 東 原 · 河 建 洙 · 李 舜 熙¹ · 韓 泰 鎮*
翰林大學校 自然科學大學 生物學科, ¹延世大學校 理科學大學 生物學科

Methylglyoxal bis-(guanylhydrazone)[MGBG]과 polyamine이 부정근 형성시 탄수화물 대사에 미치는 영향을 알아보고자 대두 자엽 절편을 이용하여 5×10^{-6} M NAA와 5×10^{-7} M kinetin으로 조성한 부정근 형성구에 10^{-3} M MGBG와 이 MGBG에 10^{-5} M의 putrescine, spermidine 및 spermine을 각각 혼합 처리하여 전분 및 수용성 당의 함량 변화와 함께 관련 효소의 활성도 변화를 조사하였다. 전분 및 maltose와 sucrose 함량은 대조구가 가장 낮았으며, MGBG를 포함하는 모든 처리구가 대체로 높게 나타났다. Glucose 함량 변화는 시차는 있으나 대조구와 spermine 동시 처리구가 유사하여 증가 후 감소하였으며 MGBG 처리구는 감소 후 증가하였다. Amylase의 활성은 대조구와 MGBG 처리구에서 유사한 양상을 나타내어 지속적으로 증가하였으며 maltase의 활성은 대조구에서 가장 높았고 invertase의 활성은 큰 변화가 없었다.

주요어: 부정근, polyamine, MGBG, 대두, 탄수화물

탄수화물은 부정근 형성과 밀접한 관련이 있으며(Davis and Potter, 1981; Haissig, 1989), polyamine도 녹두(Jarvis *et al.*, 1983)나 *Prunus avium*(Biondi *et al.*, 1990) 등에서 부정근 형성을 촉진하지만 이 두 물질이 부정근 형성에 미치는 원인에 대한 상호 연관성 유무는 잘 알려져 있지 않다. Karkar와 Rai (1987)는 녹두 하배축에서 IAA와 결합한 spermidine이 탄수화물의 함량을 증가시킨다고 보고한 바 있으나 탄수화물이 부정근 형성에 영향을 미치는 정도 차가 심하여(Veierskov *et al.*, 1982) 그 역할에 대한 논란의 여지가 많다. 더구나 식물의 기관 분화에 대한 polyamine의 명확한 역할에 대해서 언급하기 어려우므로(Tiburcio *et al.*, 1989) polyamine과 탄수화물 대사의 관련성에서 보다 상세한 연구가 필요하다.

Polyamine 저해제에는 α -difluoromethylornithine(DFMO), α -difluoromethylarginine(DFMA), cyclohexylamine(CHA), di-cyclohexylamine(DCHA) 및 methylglyoxal bis-(guanylhydrazone)[MGBG] 등이 있다. 그런데 대두 자엽 절편에 있어서 이들 polyamine 합성 저해제 중 MGBG가 부정근 형성을 가장 효과적으로 억제하는 한편, 이러한 MGBG에 의한 부정근 형성 억제가 spermine에 의하여 부분적으로 회복된다(Han *et al.*, 1994). 따라서 MGBG와 함께 각종 polyamine을 동시 처리한 후 탄수화물 함량 변화와 대사 관련 효소의 활성도 조사는 부정근 형성에 대한 polyamine과 탄수화물 대사의 관련성

규명을 위한 한 방법이 되리라고 생각된다.

이에 따라 본 실험은 MGBG에 의한 부정근 형성 억제에 대한 polyamine의 부분적 회복 효과와 함께 탄수화물 대사와 polyamine과의 연관성을 알아 보고자 부정근 형성이 용이한 대두 자엽 절편을 이용하여 전분 및 수용성 당의 함량 변화와 함께 탄수화물대사 관련 효소의 활성도 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

대두(*Glycine max* L. cv. 'Jangyup') 종자를 강원도 농촌진흥원으로부터 분양받아 살균하여 암소에서 5일간 무균 발아시킨 자엽을 장축에 수직 방향으로 폭 3 mm의 절편을 만들어 암소에서 6일간 배양하였으며, 배양일 경과에 따라 대두 자엽 절편 500 mg씩을 각 실험구에서 취하여 자엽내 탄수화물 함량 변화와 탄수화물대사에 관련한 효소의 활성도 조사에 사용하였다.

실험구의 설정

5×10^{-6} M NAA와 5×10^{-7} M kinetin으로 조성한 부정근 형성구(Ha *et al.*, 1991)를 대조구로 하여 10^{-3} M MGBG 처리구에 부정근 형성 회복 효과가 있었던 10^{-5} M spermine

*교신저자: Fax (0361) 56-3421

농도(Han *et al.*, 1994)를 기준으로 하여 10^{-3} M MGBG에 putrescine, spermidine 및 spermine을 각각 10^{-5} M씩 혼합 처리한 후 부정근 형성 정도를 경시적으로 관찰하면서 부정근 형성과 탄수화물 대사와의 관련성을 조사하였다.

전분 및 수용성 당의 추출과 정량

전분의 추출은 Lustinec 등(1983)의 방법을 사용하였으며, phenol-sulfuric acid 방법(Dubois *et al.*, 1956)으로 490 nm에서 흡광도를 측정하여 전분 함량을 구하였다.

수용성 당인 sucrose, maltose, glucose, fructose 등은 Creelman 등(1990)의 방법을 사용하여 추출한 다음, thin layer chromatography(TLC)로 전개하여 10% isopropanol 1 mL에 용출한 후, phenol-sulfuric acid 방법(Dubois *et al.*, 1956)을 이용, 490 nm에서 흡광도를 측정하여 수용성 당의 함량을 구하였다.

효소의 활성도 측정과 단백질 정량

Amylase의 추출은 Okamoto와 Akajawa(1979)의 방법을 사용하였고, α -amylase(EC 3.2.1.1)의 반응액 조제와 활성도는 Chrispeel과 Varner(1967)의 방법을 사용, 620 nm에서 흡광도를 측정하여 효소의 활성을 구하였으며, β -amylase(EC 3.2.1.2)의 반응액 조제와 활성도는 Levi와 Preiss(1978)의 방법을 사용, 540 nm에서 흡광도를 측정하여 효소의 활성을 구하였다. Invertase(EC 3.2.1.26)와 maltase(EC 3.2.1.20)의 추출은 Levi와 Preiss (1978)의 방법을 사용하였으며, 효소 반응 산물을 TLC 방법으로 분리한 후 phenol-sulfuric acid 방법(Dubois *et al.*, 1956)을 이용, 490 nm에서 흡광도를 측정하여 효소 활성도를 구하였다.

단백질의 함량은 Lowry(Lowry *et al.*, 1951) 방법에 의하여 비색 정량하였다.

결 과

부정근 형성

10^{-3} M MGBG에 10^{-5} M의 putrescine, spermidine 및 spermine을 각각 첨가하여 조합 처리한 결과(Fig. 1) spermine 동시 처리구에서 부정근이 8개 정도 형성되어 부정근 회복 효과가 가장 크게 나타났다. 그리고 spermidine과 putrescine 동시 처리시에는 약 1-3개의 부정근이 형성되었으나 MGBG 단독 처리시에는 부정근 형성이 극히 억제되었다.

전분 함량 변화

부정근 형성구인 대조구에 비하여 10^{-3} M MGBG 처리구를

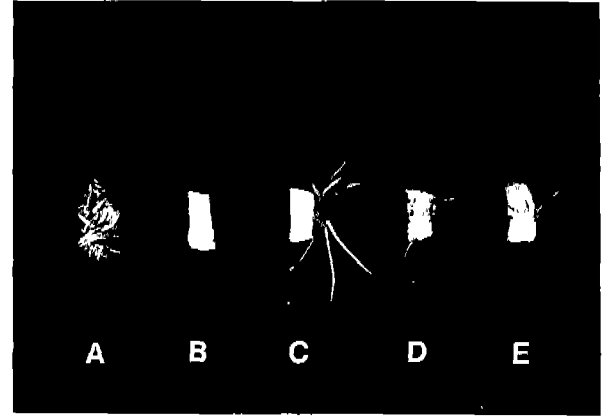


Fig. 1. Effect of MGBG and polyamines on adventitious root formation in soybean cotyledon. A, Control; B, 10^{-3} M MGBG; C, 10^{-3} M MGBG + 10^{-5} M spermine; D, 10^{-3} M MGBG + 10^{-5} M spermidine; E, 10^{-3} M MGBG + 10^{-5} M putrescine.

비롯한 모든 polyamine 동시 처리구에서 전분 함량이 매우 높게 나타났다(Fig. 2). 대조구는 전분 함량이 배양 5일까지 완만히 증가하다가 배양 6일에 다소 감소하였으나 MGBG 처리구 및 putrescine 동시 처리구는 그 변화 양상이 유사하여 배양 2일에 대조구에 비하여 각각 3.5배, 3.6배 정도 급증한 이후 점차 감소하여 배양 4일에 다시 증가하였으며, spermidine 동시 처리구는 증가 속도는 낮으나 다소의 증가 양상을 나타내었다. 한편 spermine 동시 처리구는 지속적으로 증가하여 배양 6일에 대조구에 비하여 전분 함량이 4.4배 정도 증가하여 각 처리구에 비하여 전분 함량이 가장 높았다.

Maltose 함량 변화

Maltose의 함량은 모든 처리구에서 대조구보다 높게 나타났다(Fig. 2). 대조구는 maltose 함량이 배양 1일째 잠시 감소한 후 배양 2일에 증가하여 이후 지속적으로 감소하는 경향을 보였다. MGBG 처리구는 계속 증가하였는데, 대조구에 비하여 배양 4일에 4배 정도 급증한 이후 배양 6일까지 계속 증가하여 배양 6일에는 대조구에 비하여 8.4배, spermidine과 spermine 동시 처리구보다는 2.8배, putrescine 동시 처리구보다는 1.6배 정도 높았다. Putrescine 동시 처리구는 배양 1일부터 증가한 후 다소의 양적인 변화는 있었으나 배양 3일에 대조구에 비하여 3배 정도 증가하는 것을 정점으로 점차 감소하는 경향을 보였다. 한편 MGBG 처리구와 spermidine 동시 처리구는 배양 2일에 대조구에 비하여 1.8배 정도 증가한 후 점차 감소하는 양상을 나타내었으며, spermine 동시 처리구는 배양 5일에 대조구에 비하여 약 3.3배 급증한 이후 감소하였다.

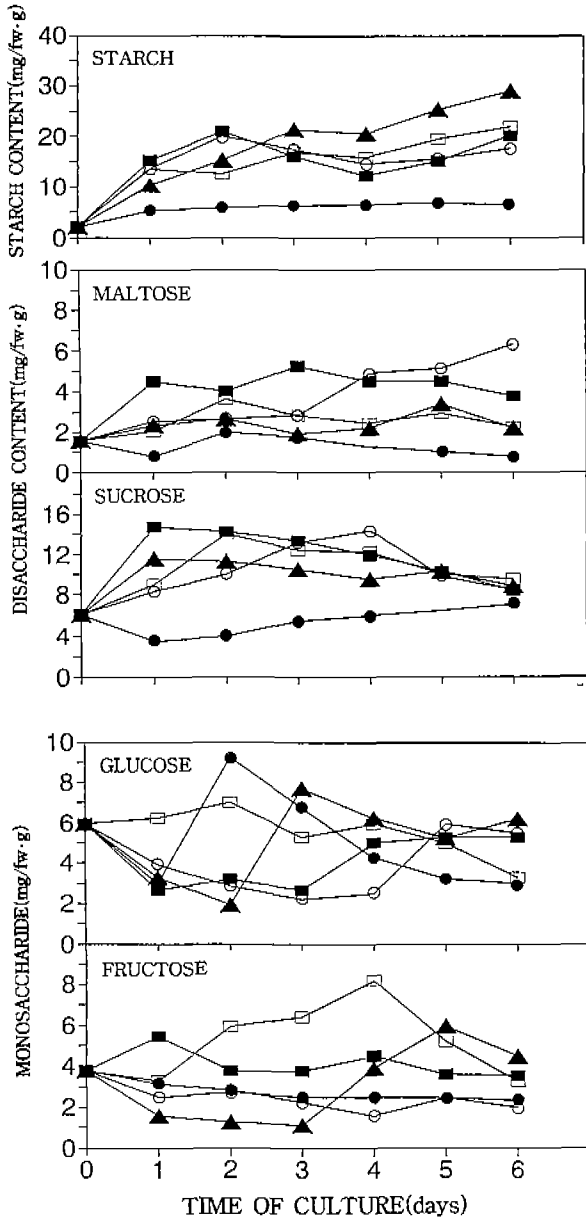


Fig. 2. Effect of 10^{-3} M MGBG and 10^{-5} M polyamines on the starch and soluble carbohydrate content during formation of adventitious roots in soybean cotyledon. Values plotted are means of three duplicate experiments. ●, Control; ○, 10^{-3} M MGBG; ▲, 10^{-3} M MGBG + 10^{-5} M spermine; □, 10^{-3} M MGBG + 10^{-5} M spermidine; ■, 10^{-3} M MGBG + 10^{-5} M putrescine.

Sucrose 함량 변화

Sucrose의 함량은 모든 처리구가 대조구와 반대 양상을 나타내어 대조구의 경우 감소 후 계속 증가하는데 반하여 모든 실험구에서 배양 초기에 급증한 후 계속 감소하는 양상을

나타내었다(Fig. 2). 대조구는 sucrose 함량이 배양 초기인 1일에 43% 감소한 후 계속 증가하여 배양 6일에 배양 개시일 수준 이상으로 회복되었으나, MGBG 처리구는 배양 4일까지 2.4배 정도 급격히 증가한 이후 다시 감소하였다. Putrescine 동시 처리구는 배양 1일에 2.4배 정도 증가 후 계속 감소하였으며, spermidine 동시 처리구는 배양 2일까지 2.3배 정도 증가한 후 역시 감소하였다. 한편 spermine 동시 처리구는 배양 1일에 1.9배 정도 급격히 증가한 이후 감소하였다.

Glucose 함량 변화

대조구의 glucose 변화 양상은 MGBG 처리구와 spermine 동시 처리구와 유사한 반면, 다른 처리구와는 상이하게 나타났다(Fig. 2). Glucose 함량은 MGBG 처리구와 spermidine 동시 처리구를 제외하고 모든 처리구와 대조구에서 배양 1일째 감소하는 경향을 보였는데, 대조구와 spermine 동시 처리구가 1일간의 시차를 두고 유사한 양상을 나타내었다. 즉 대조구는 배양 1일에 49% 감소한 후 배양 2일에는 1일에 비하여 3배 정도 급증하였다가 감소하였으며, spermine 동시 처리구는 대조구에 비하여 1일 늦은 배양 2일까지 53% 감소한 후 배양 3일에 배양 2일에 비하여 4배 정도 급증하는 양상을 보였다. 한편 MGBG 처리구에서는 4일까지 지속적으로 감소하다가 배양 5일에 대조구에 비하여 1.8배, 배양 4일에 비하여 2.4배 정도 증가하였고, putrescine 동시 처리구는 배양 1일 이후 지속적으로 증가하는 경향을 보였으며, spermidine 동시 처리구는 대조구 및 기타 다른 처리구와 상이한 양상을 보여서 배양 1일부터 다소 증가하여 2일까지 증가한 후 점차 감소하는 경향을 나타내었다.

Fructose 함량 변화

Fructose 함량은 대조구와 MGBG 처리구 및 putrescine 동시 처리구에서 유사하였으며, spermidine 동시 처리구와 spermine 동시 처리구는 서로 상이한 양상을 나타내었다(Fig. 2). 대조구와 MGBG 처리구는 전반적으로 배양 6일까지 지속적으로 감소하는 경향을 보였으나 putrescine 동시 처리구는 이와는 다소 달라서 배양 1일에 1.4배 정도 증가한 이후 대조구와 변화 양상이 유사하였다. 한편 spermidine 동시 처리구는 배양 4일까지 대조구에 비하여 3.3배 급증한 이후 감소하였으며, spermine 동시 처리구는 배양 3일까지 감소한 후 4일부터 증가하여 배양 5일에 대조구에 비하여 2.4배 정도 증가한 후 다시 감소하였다.

Amylase 활성도

부정근 형성구인 대조구와 MGBG 처리구의 α -amylase의

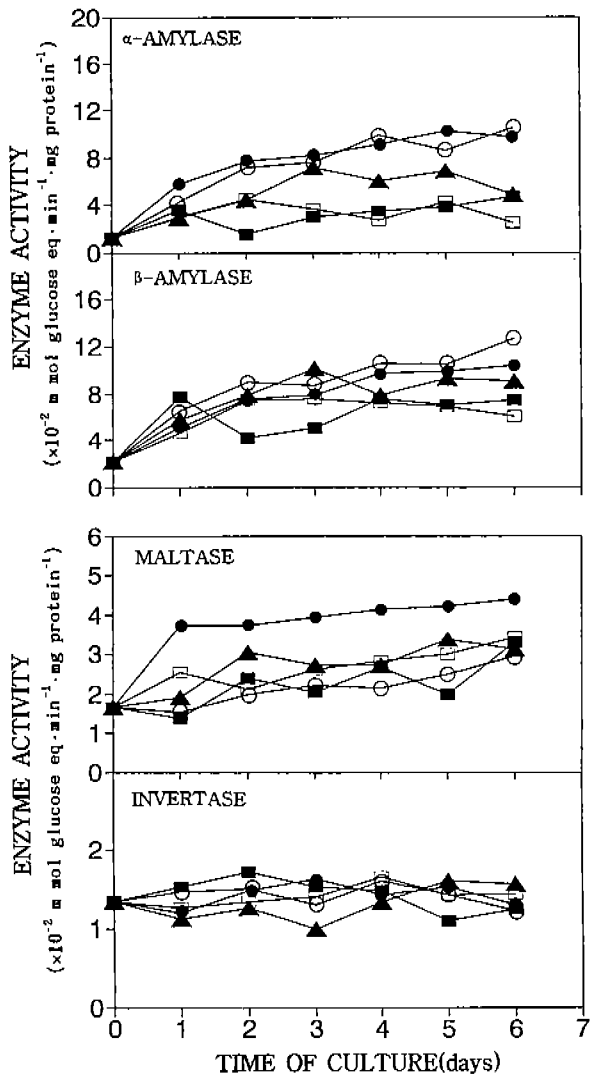


Fig. 3. Changes in the activity of various exzymes related with carbohydrate metabolism during formation of adventitious roots in soybean cotyledon. Values plotted are means of three duplicate experiments. ●, Control; ○, 10^{-3} M MGBG; ▲, 10^{-3} M MGBG + 10^{-5} M spermine; □, 10^{-3} M MGBG + 10^{-5} M spermidine; ■, 10^{-3} M MGBG + 10^{-5} M putrescine.

활성 변화 양상은 유사하였으나 기타 다른 처리구와는 서로 상이하게 나타났다(Fig. 3). α -amylase의 활성은 대조구와 MGBG 처리구에서 배양 6일까지 계속 증가하여 배양 6일에 MGBG와 spermine, putrescine 동시 처리구보다는 2배, spermidine 동시 처리구보다는 4배 정도 높았다. Spermine 동시 처리구는 배양 3일을 기점으로 감소하는 경향을 나타내었고, spermidine 동시 처리구는 배양 2일까지 증가한 후 다소 감소하는 경향을 나타내었으며, putrescine 처리구는 배양 2일째 감소한 후 점차 증가하는 양상을 나타내었다.

β -amylase의 활성 변화 양상은 대조구와 MGBG 처리구가 유사하였으며, 기타 다른 처리구와는 상이하게 나타났다(Fig. 3). 즉 대조구와 MGBG 처리구에서 배양 6일까지 계속 증가하였고, 특히 MGBG 처리구에서 가장 높게 나타나서 배양 6일에 대조구에 비하여 1.4배 정도 높았으며, spermidine 동시 처리구보다는 2.4배, spermine 동시 처리구보다는 1.6배 정도 높았다. 한편 putrescine 동시 처리구는 배양 2일에 감소하여 점차 증가하였고, spermidine 동시 처리구는 배양 2일까지 spermine 처리구와 유사한 활성을 보였으나 그 이후 감소하였으며, spermine 동시 처리구는 배양 3일까지 증가한 후 점차 감소하는 양상을 나타내었다.

Maltase 활성도

Maltase의 활성은 대조구가 타 처리구에 비하여 현저히 높았으며, 기타 다른 처리구는 서로 유사한 양상을 나타내었다 (Fig. 3). 대조구에서의 maltase 활성은 배양 1일에 2.2배 급증한 이후 배양 6일까지 완만히 증가하였으며, 기타 처리구들은 다소의 증감과 함께 계속 증가하여 배양 6일까지 MGBG 처리구는 1.8배, putrescine 동시 처리구는 2배, spermidine 동시 처리구는 2.1배 그리고 spermine 동시 처리구는 1.9배 정도 각각 증가하였다.

Invertase 활성도

대조구를 비롯한 모든 처리구의 invertase의 활성 변화 양상은 급격한 변화 없이 일정한 수준을 유지하였다(Fig. 3). 대조구는 배양 3일까지 증가한 후 점차 감소하였으며, MGBG 처리구는 배양 기간 동안 전반적으로 감소하였다. 한편 spermine 동시 처리구는 배양 3일까지 감소한 후 점차 증가하였으며, putrescine 동시 처리구는 배양 2일까지 다소 증가한 후 감소하였다. 한편 spermidine 동시 처리구는 배양 4일까지 계속 증가하다가 감소하였으며, spermine 동시 처리구는 효소 활성이 비교적 낮았다.

고 찰

대두 자엽 절편에서의 10^{-3} M MGBG에 의한 부정근 형성 억제 효과는 10^{-5} M 전후 농도의 polyamine 처리시 putrescine이나 spermidine 처리구에서보다 spermine 처리구에서 어느 정도 회복되었는데(Fig. 1) 이는 Jarvis 등(1985)이 *Phaseolus aureus* 줄기에서 spermine 처리가 부정근의 수를 증가시킨다는 실험 결과와 일치하였다. 이에 따라 MGBG에 의하여 억제된 부정근 형성이 spermine에 의하여 부분적으로 회복

(Fig. 1)되는 원인을 조사하고자 전분과 수용성 당의 함량 변화 (Fig. 2)와 관련 효소의 활성도 변화(Fig. 3)를 함께 조사하였다.

전분의 함량은 부정근 형성구인 대조구에서 배양 1일에 급격히 증가한 후 일정하게 유지되는 양상을 보였다(Fig. 2). 이러한 결과는 *Cymbidium*의 protocorm 묘조 형성시(Han *et al.*, 1988)나 담배 callus에서의 묘조 형성시(Thorpe *et al.*, 1986)에 전분이 증가하며, 삼목시 삼수내 전분 함량이 높을 때 삼목에 의한 부정근 형성능이 높다는 실험 결과(Bertram and Veierskov, 1989) 등으로 미루어 전분의 축적은 기관 형성과 밀접한 관련이 있는 것으로 추정된다. 즉 부정근 형성시나 묘조 형성시 두 경우 마찬가지로 전분이 조직내에 축적되는 것으로 미루어 전분은 부정근 형성시에만 증가하는 것이 아니라 모든 기관 형성에 관여하며, 기관 형성시 원기의 형성에 직접 관계하기 보다는 원기 형성 이후 에너지원이 탄소 공급원(Thorpe *et al.*, 1986)으로 이용되어 묘조나 부정근의 생장에 관여할 것으로 생각되어진다. 한편 부정근이 형성되는 대조구에서 다른 실험구에 비하여 전분 함량이 급격히 증가하지 않은 것은 대조구의 경우 부정근 형성과 함께 전분이 사용되었기 때문(Miyamoto *et al.*, 1985)으로 생각되며, 이와는 달리 모든 처리구에서 전분 함량이 대조구에 비하여 전배양 과정에서 월등히 높게 나타난 것은 스트레스에 의하여 전분이 축적된다는 Azcon-Bieto(1986)의 보고처럼 polyamine 저해제인 MGBG가 일종의 스트레스 요인으로 작용하여 전분이 축적됨과 동시에 MGBG에 의하여 부정근 형성이 억제되어 전분이 이용되지 못한 결과인 것으로 추정된다. 그러나 spermine 동시 처리구의 경우 부분적인 부정근 형성에도 불구하고 전분 함량이 가장 높은 것으로 나타났다.

Haissig(1982)는 부정근 형성은 특정 탄수화물에 의하여 촉진된다고 하였으며, Bertram과 Veierskov(1989)는 식물 조직내 수용성 탄수화물 함량이 높으면 삼목시 부정근 형성능이 높으나 이때 각 단당류들의 함량 변화 양상은 매우 다르다고 하였다. 본 실험의 결과 maltose의 함량은 부정근 형성구인 대조구에서 가장 낮게 나타났으며, 부분적으로 부정근이 형성되는 polyamine 동시 처리구의 경우 부정근이 육안으로 확인되는 배양 6일(Ha *et al.*, 1991)에 다소 감소한 반면 MGBG 처리구는 지속적으로 증가하였는데 이러한 결과는 부정근의 형성 정도와 관련 효소들의 활성도 변화로도 뒷받침된다. 즉 amylase의 활성이 높아서 maltose의 함량이 높게 나타날 것으로 예상되는 대조구에서 maltose의 함량이 낮게 나타난 것은 생성된 maltose가 maltase 활성 증가에 의하여 신속히 분해되어 부정근 형성에 사용되었기 때문으로 추정되며, 이와 반대로 대조구와 비슷한 amylase의 활성을 보인 MGBG 처리구에서 maltose 함량이 증가한 것은 amylase에 의하여 생성된

maltose가 maltase의 활성이 낮아서 glucose로 분해되지 못하여 부정근 형성에 사용되지 못하고 축적되었기 때문으로 생각된다.

Sucrose는 타식물은 물론 특히 콩과식물의 생장에 필요한 저장물질의 주요한 탄소 공급원(Duffus and Cochrane, 1982)이며, 식물의 생장시 필요 부위로 이동하는 탄소원(Komor, 1977)으로서 그 기능이 매우 중요하다. 자엽 배양시 자엽 절편은 배지에 공급된 sucrose를 활발히 흡수하는데 많은 경우 약 85% 정도를 흡수하는 것으로 알려져 있다(Cardemil *et al.*, 1990). 이렇게 흡수된 많은 양의 sucrose는 대체로 전분으로 전환되는 것이 알려져 있으나 전체적인 대사 작용은 완전히 이해되지 못하고 있다(Duffus and Binnie, 1990). Sucrose는 invertase에 의하여 분해되며(Walker and Pollock, 1993) 배축을 제거하면 invertase의 활성은 자엽의 초기 생장에 있어서 영향을 끼치지 못하는 것으로 알려져 있는데(Glavier, 1991), 본 실험에서 다른 효소의 활성도와 비교하여 invertase의 활성에 큰 변화가 없는 것도 이러한 연유 때문인 것으로 생각된다. 또한 sucrose의 함량이 모든 처리구에서 대조구보다 높게 나타나는 것은 자엽에 의하여 흡수된 sucrose가 대사에 사용되지 못하고 동시에 Azcon-Bieto(1986)의 보고와 같이 스트레스 요인에 의하여 sucrose가 축적된 것으로도 생각해 볼 수 있는데, 이러한 스트레스는 주로 MGBG에 의한 것으로 추정된다.

Glucose는 에너지원이나 탄소골격원으로 실제 이용되는 물질로서 본 실험에서의 glucose 함량은 부정근 형성구인 대조구에서 2일째 급속히 증가하였다가 점차 감소한 반면, 부정근 형성이 억제된 MGBG 처리구에서는 이와는 달리 배양 초기에 감소한 후 증가하는 양상을 보였다. 그런데 이러한 양상은 배양 초기에 대조구는 maltase의 활성도가 급증한 반면 MGBG 처리구는 상대적으로 낮았던 까닭으로 생각된다. 한편 부정근이 형성되는 배양 후기에는 대조구의 경우 생성된 glucose가 부정근 형성에 사용된 반면 MGBG 처리구의 경우는 maltase의 활성도 증가에도 불구하고 부정근 형성에 사용되지 못한 까닭으로 사료되며, spermine 동시 처리구에서 부분적이거나 부정근 형성능이 회복된 것은 시차는 있으나 glucose 함량 변화가 부정근 형성구인 대조구와 유사하게 증가 후 감소하는 양상을 나타내는 것과 관련이 있을 것으로 추정된다.

이상의 결과와 추론을 통하여 MGBG에 의한 부정근 형성 억제는 대두 자엽 절편내의 전분과 maltose의 축적과 함께 glucose의 항배가 관여할 것으로 추정되는데, 이는 낮은 maltase 활성과 함께 glucose가 부정근 형성에 이용되지 못하고 축적되어지는 결과로 이해된다. 또한 MGBG에 의하여 억제된 부정근 형성능이 spermine 처리구에서 다소 회복되는 것은

glucose의 함량 변화가 비록 시차는 있으나 대조구와 유사한 양상을 나타낸 것과 관련이 있을 것으로 생각되나 그 구체적인 증거로서는 미흡하므로 탄수화물과 기관 분화에 관한 좀더 심도 있는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 1993년도 교육부 기초과학육성연구비 지원에 의한 것임.

인 용 문 헌

- Azcon-Bieto, J.**, 1986. The control of photosynthetic gas exchange by assimilate accumulation in wheat. *In*, Biological Control of Photosynthesis. R. Marcell, H. Clijsters and M. Van Poucke, (eds.). Martinus Nijhoff, Dordrecht. pp. 231-240.
- Bertram, L. and B. Veierskov.** 1989. A relationship in cuttings of *Pisum sativum*. *Physiol. Plant.* 76: 81-85.
- Biondi, S., T. Diaz, I. Iglesias, G. Gamberini and N. Bagni.** 1990. Polyamines and ethylene in relation to adventitious root formation in *Prunus avium* shoot cultures. *Physiol. Plant.* 78: 474-483.
- Cardemil, L., R. Lozada and M. Cortés.** 1990. Sucrose uptake and anatomical studies in relation with sucrose uptake of *Araucaria araucana* cotyledons. *Plant Physiol. Biochem.* 28: 761-772.
- Chrispeels, M.J. and J.E. Varner.** 1967. Gibberellic acid-enhanced synthesis and release of α -amylase and ribonuclease by isolated barley aleurone layers. *Plant Physiol.* 42: 398-406.
- Creelman, R.A., H.S. Mason, R.J. Bensen, J.S. Boyer and J.E. Mullet.** 1990. Water deficit and abscisic acid cause differential inhibition of shoot versus root growth in soybean seedlings. *Plant Physiol.* 92: 205-214.
- Davis, T.D. and J.R. Potter.** 1981. Current photosynthate as a limiting factor in adventitious root formation on leafy pea cuttings. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 106: 278-282.
- Dubois, M., K. Gilles, J. Hamilton, P. Rebers and F. Smith.** 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.* 28: 350-356.
- Duffus, C.M. and J. Binnie.** 1990. Sucrose relationships during endosperm and embryo development in wheat. *Plant Physiol. Biochem.* 28: 161-165.
- Duffus, C.M. and M.P. Cochrane.** 1982. Carbohydrate metabolism during cereal grain development. *In*, The Physiology and Biochemistry of Seed Development, Dormancy and Germination. A.A. Khan (ed.). Elsevier Biomedical Press, Amsterdam. pp. 43-66.
- Glavier, V., F. Perez-Alfocea, P. Bourgeais-Chaillou and G. Guerrier.** 1991. Influence of cotyledons upon sucrose metabolism in axis of germinating pea. *J. Plant Physiol.* 138: 421-428.
- Ha, K.S., T.J. Han and S.H. Jo.** 1991. Effects of nitrogen sources and auxin on the formation of adventitious root and callus in soybean (*Glycine max* L.) tissue culture. *Korean J. Plant Tissue Culture* 18: 33-37.
- Haissig, B.E.** 1982. Carbohydrate and amino acid concentrations during adventitious root primodium development in *Pinus banksiana* Lamb. cuttings. *Forest Science* 28: 813-821.
- Haissig, B.E.** 1989. Removal of the stem terminal and application of auxin change carbohydrates in *Pinus banksiana* cuttings during propagation. *Physiol. Plant.* 77: 179-184.
- Han, T.J., Y.H. Kang and E.S. Kim.** 1988. Effects of GA3 and ABA on endogenous starch content during shoot differentiation in *Cymbidium* spp. protocorm. *Korean J. Bot.* 31: 249-258.
- Han, T.J., D.W. Lee and S.H. Lee.** 1994. Effects of polyamine inhibitors and polyamines on the adventitious root formation from soybean cotyledons. *Korean J. of Plant Tissue Culture* 21: 105-110.
- Jarvis, B.C., P.R.M. Shannon and S. Yasmin.** 1983. Involvement of polyamines with adventitious root development in stem cuttings of mung bean. *Plant Cell Physiol.* 24: 677-683.
- Jarvis, B.C., S. Yasmin and M.T. Coleman.** 1985. RNA and protein metabolism during adventitious root formation in stem cuttings of *Phaseolus aureus* cultivar berkin. *Physiol. Plant.* 64: 53-59.
- Kakkar, R.K. and V.R. Rai.** 1987. Effects of spermine and IAA on carbohydrate metabolism during rhizogenesis in *Phaseolus vulgaris*. I. Hypocotyl cuttings. *Indian J. Exp. Biol.* 25: 476-478.
- Komor, E.** 1977. Sucrose uptake by cotyledons of *Ricinus communis* L. Characteristics, mechanism and regulation. *Planta* 137: 119-131.
- Levi, C. and J. Preiss.** 1978. Amylopectin degradation in pea chloroplast extracts. *Plant Physiol.* 61: 218-220.
- Lowry, O.H., N.J. Robertson, A.L. Farr and R.J. Randall.** 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Lustinec, J., V. Hadacova, M. Kaminec and Z. Prochazka.** 1983. Quantitative determination of starch, amylose and amylopectin in plant tissues using glass fiber paper. *Anal. Biochem.* 132: 265-271.
- Miyamoto, J., T. Nakajima and K. Matsuda.** 1985. Isolation and characterization of starch from suspension cultured soybean cells. *Plant Cell Physiol.* 26: 193-199.
- Okamoto, K. and T. Akazawa.** 1979. Enzymic mechanisms of starch breakdown in germinating rice seeds. 7. Amylase formation in the epithelium. *Plant Physiol.* 63: 336-340.
- Thorpe, T.A., W.J. Richard and W.M.L. David.** 1986. Starch turnover in shoot-forming tobacco callus. *Physiol. Plant.* 66: 58-62.
- Tiburcio, A.F., C.A. Gendy and K. Tran Thanh Van.** 1989.

- Morphogenesis in tobacco subepidermal cells: Putrescine as a marker of root differentiation. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* **19**: 43-54.
- Veierskov, B., A.S. Andersen and E.N. Eriksen. 1982. Dynamics of extractable carbohydrates in *Pisum sativum*. I. Carbohydrate and nitrogen content in pea plants and cuttings grown at two different irradiances. *Physiol. Plant.* **55**: 167-173.
- Walker, R.P. and C.J. Pollock. 1993. The purification and characterization of soluble acid invertase from coleoptiles of wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Avalon). *J. Exp. Bot.* **263**: 1029-1037.

(1994. 1. 31 接受)

Effects of Methylglyoxal bis-(Guanyldiazide) and Polyamines on Carbohydrate Metabolism during Adventitious Root Formation in Soybean Cotyledons

Lee, Dong-Won, Keon-Soo Ha, Sun Hi Lee¹ and Tae-Jin Han*
Department of Biology, Hallym University, Chuncheon 200-702, Korea; and
¹*Department of Biology, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea*

ABSTRACT

In order to study the effects of polyamine inhibitors and polyamines on adventitious root formation, the correlation between adventitious root formation and carbohydrate metabolism was investigated in inoculated soybean (*Glycine max* L.) cotyledons at the concentration of 10^{-3} M methylglyoxal bis-(guanyldiazide)[MGBG], and 10^{-3} M MGBG plus 10^{-5} M polyamines (putrescine, spermidine and spermine), respectively, for the adventitious root formation medium. The contents of starch, maltose and sucrose were lower in control and were higher in the treatments containing 10^{-3} M MGBG, and 10^{-3} M MGBG plus 10^{-5} M polyamines during culture. It was shown that the soluble sugar levels, except glucose, were higher than that of control in most of the treatments and the change in glucose contents tended to be similar to that control. The amylase activity increased in control and MGBG treatment, the maltase activity was higher in control and the invertase activity showed less substantial changes during culture.

Key words : adventitious root, polyamines, MGBG, *Glycine max*, carbohydrates

*Corresponding author : Fax +82-361-56-3421