

嫌氣 또는 低溫處理에 따른 보리 幼植物體內 遊離아미노酸 및 遊離糖 含量의 變化

尹 聖 重* · 柳 南 熙*

Changes of Free Amino Acid and Free Sugar Contents in Barley Seedlings in Response to Anaerobic or Cold Treatment

Song Joong Yun and Nam Hee Yoo*

ABSTRACT : Effects of anaerobic, mechanical wounding and cold treatments on free amino acid and free sugar contents were examined in 7 day-old barley seedlings. In barley shoots under anaerobic condition, drastic changes in free amino acid content were observed. Alanine, γ -aminobutyric acid(GABA) and glutamic acid contents changed most prominently. Alanine and GABA contents increased rapidly with incubation time up to 10 hr. Glutamic acid content, however, decreased drastically during the first 5 hr of incubation, then increased thereafter. Barley shoots showed similar but smaller changes in amino acid contents in response to mechanical wounding. GABA content increased in shoots and roots in response to the cold treatment. But increase in GABA content was greater in anaerobic than cold treatment. In anaerobically treated shoots, changes in free sugar content were less prominent than those in amino acid content. Sucrose content changed relatively larger than glucose and fructose contents in excised shoots.

Key words : Free amino acid, Free sugar, Barley seedling, Anaerobic condition.

植物體가 酸素不足이나 低溫 등과 같은 異常環境에 처하게 되면 呼吸과 代謝作用이 攪亂되어 組織內的 各種 化合物 含量이 變하게 된다. 遊離아미노산은 식물체가 異常環境에 처하게 되면 含量이 크게 변하는 대표적인 化合物이다⁶⁾. 嫌氣狀態의 植物체에서 含量이 크게 변하는 아미노산은 γ -aminobutyric acid (GABA), alanine, glutamic acid, aspartic acid 등이다. Alanine과 GABA는 혐기상태에 있는 植物체의 앞에서 증가한다^{6,7)}. 이와는 대조적으로 glutamic acid와

aspartic acid는 혐기상태에서 含量이 크게 감소한다⁷⁾. 과습토양이나 수경재배시 수경액의 통기가 불량한 경우에는 뿌리에 아미노산이 축적된다^{3,4)}. 저온처리나 상처에 의해서도 植物체의 유리아미노산 含量이 변화한다. Wallace 등⁹⁾은 植物체나 摘採한 잎을 生育中인 온도보다 10℃ 이상 낮은 저온에 급속히 옮겨 놓았을 경우에 GABA含量은 증가하는 반면 glutamic acid含量은 감소하고, 잎에 상처를 입혀도 잎중의 GABA含量이 증가한다고 보고하였다.

* 전북대학교 농과대학 (College of Agriculture, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea)

〈95. 11. 25 接受〉

酸素缺乏 및 저온에 따른 식물체중 아미노산 함량변화에 대한 연구결과는 주로 雙子葉植物을 對象으로 하여 얻어졌으며, 禾本科 식물 특히 보리의 산소결핍 및 저온처리에 따른 반응 특성에 대한 연구는 매우 희귀하다. 보리는 생육초기에 저온의 영향을 자주 받게 되고, 논 재배의 경우에는 토양 과습에 의해 보리의 생육이 영향을 받게 된다. 본 연구에서는 보리의 이상환경에 대한 반응 특성을 조사하기 위한 연구의 일환으로 인위적으로 유기시킨 혐기상태와 저온 條件下에서 보리 幼植物體중 遊離아미노산 및 遊離糖 함량의 변화 양상을 조사하였다.

材料 및 方法

1. 試驗材料

시험에 사용한 보리 종자(올보리)는 作物試驗場에서 分讓받았다. Vermiculite를 채운 pot에서 발아 후 7일간 생육한 幼植物體를 試驗에 사용하였다. 嫌氣處理는 幼植物體(seedlings)의 地上部(shoots)를 切取하여 常溫의 삼각 플라스크에 넣고 密閉한 다음 플라스크 안의 공기를 질소가스로 置換하여 실시하였다. 저온처리는 切取한 지상부 또는 幼植物體가 자라고 있는 pot를 4℃의 生長床에 보관하여 실시하였다.

2. 試 藥

분석용 시약은 HPLC용이나 특급시약을 사용하였으며, 사용전에 용매여과기(0.45 μm membrane filter)로 여과하였다. 유리아미노산 분석에 사용한 표준시약 및 크로마토그래피용 용매는 Pickering Lab(CA, USA)에서, glucose, fructose, sucrose 표준시약은 Sigma(MO, USA)에서 구입하였다.

3. 機器 및 分析條件

유리아미노산은 TSP(CA, USA)의 分析用 HPLC에 아미노산 誘導體化 장치(PCX3100, Pickering, USA)를 附着하여 분석하였다^{10,11)}. 유리당은 Ion chromatography(Dionex, USA)에

Pulsed Amperometric Detector를 부착하여 분석하였다. 移動相은 150 mM NaOH용액을, column은 CarboPac PA1 (4 × 250 mm, Dionex, USA)을 사용하였다.

4. 遊離아미노산 및 遊離糖의 抽出

冷却된 유발에 생체시료 1g과 5 ml의 4% sulfosalicylic acid를 넣고 시료를 곱게 갈아서 유리아미노산 분석용 粗試料液을 얻었다. 粗試料液을 4℃에 20분간 靜置시킨 다음 4℃에서 12,000 rpm으로 원심분리하였다. 원심분리하여 얻은 上澄液을 Uriprep(Pickering, USA)과 동일한 부피比로 혼합하여 상온에 5분간 靜置시킨 후 원심분리(12,000rpm, 4℃)하였다. 원심분리하여 얻은 상정액을 syringe filter (0.45 μm)로 여과하여 유리아미노산 분석용 試料液으로 사용하였다.

유리당 분석용 抽出液은 生體試料 1 g을 80% EtOH 50ml에 넣고 70℃에서 30분씩 2회 추출하여 준비하였다. 抽出液을 減壓乾燥시킨 후 건조된 추출물을 超純水에 용해시켜 試料前處理용 cartridge (Ongard A, Dionex)를 통과시켰다. Cartridge를 통과시켜 얻은 前處理 시료용액을 0.45 μm syringe filter로 여과하여 유리당 분석용 試料液으로 사용하였다.

結果 및 考察

발아후 1주일간 생육한 보리 幼植物體의 지상부 조직을 切取하여 혐기처리했을 경우 가장 뚜렷한 함량변화를 보인 아미노산은 alanine, GABA, glutamic acid였다 (Fig. 1, N₂). 切取 直後 혐기처리前 지상부 조직중 glutamic acid, alanine, GABA 함량은 각각 205.7, 37.3, 14.6 $\mu\text{g/g}$ FW였다. 切取후 질소가스를 이용한 혐기처리시간이 10시간까지 경과함에 따라 alanine과 GABA함량은 급속히 증가하였다. 혐기처리 5시간과 10시간 후 alanine함량은 각각 160.8과 375.7 $\mu\text{g/g}$ FW로 처리前 함량보다 각각 4배와 10배 정도 증가하였다. GABA함량도 혐기처리 5시간과 10시간후에는 각각 226.6과 275.5 $\mu\text{g/g}$ FW로 증가하여

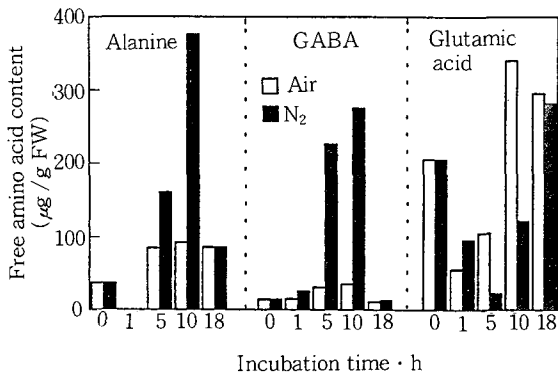


Fig. 1. Changes in alanine, GABA and glutamic acid contents in detached barley shoots under the incubation of air or nitrogen gas.

처리前 함량보다 각각 16배와 19배 증가하였다. 切取한 지상부 조직을 18시간동안 혐기처리했을 경우에는 alanine과 GABA함량이 크게 증가하지 않았다. Alanine함량은 처리前 보다 2배 정도 증가하였으나, GABA함량은 약간 감소하였다.

Alanine과 GABA와는 대조적으로 glutamic acid함량은 혐기처리에 의하여 크게 감소하였다. 혐기처리 5시간과 10시간후 glutamic acid함량은 처리前 보다 각각 9배와 1.7배 감소한 23.0과 121.8 µg/g FW였다. 18시간까지 혐기처리하였을 경우에는 함량이 처리前보다 증가하였다.

切取한 보리 유식물체의 지상부를 혐기처리하지 않고 질소가스 대신 공기로 처리하여도 유리아미노산 함량이 변화하였다(Fig. 1, Air). 이 경우 유리아미노산 함량의 변화는 대부분 지상부의 切取에 따른 機械的 傷處에 의해 나타난 반응이다. 處理 5, 10, 18시간 후 alanine함량은 처리前보다 2배 이상 증가한 84.9, 92.2, 85.6 µg/g FW이었다. GABA함량도 처리 5시간과 10시간 후에는 處理前보다 2배 이상 증가한 31.0, 35.0 µg/g FW 였으며, 처리 18시간 후에는 처리前보다 약간 감소하였다. Glutamic acid함량의 변화는 alanine이나 GABA함량 변화 양상과 달랐다. 처리 5시간까지는 처리前보다 감소하였으나 처리 10시간 이후에는 처리前보다 증가하였다.

切取한 지상부를 질소가스로 처리했을 경우에

는 공기처리 했을 때보다 alanine과 GABA함량의 변화가 더 컸다. 혐기처리 5시간과 10시간 후의 alanine함량은 공기처리에 비하여 각각 1.9배와 4배, GABA함량은 각각 7.3배와 7.9배 증가하였다. 그러나 glutamic acid함량은 혐기처리에 의해 공기처리에 비하여 4배에서 2배 이상 감소하였다.

식물체가 혐기적 상태에 놓이게 되면 유리아미노산 함량이 크게 변화한다는 사실은 여러 연구자에 의해 주로 쌍자엽식물을 대상으로 보고되어 왔다. 무우잎이나 메밀 幼植物體를 질소가스로 혐기처리 하면 alanine과 GABA가 증가하는^{2,7)} 반면 glutamic acid와 aspartic acid는 감소한다^{2,7)}. 토양 침수처리에 의해서도 토마토 잎의 GABA 함량이 증가하고³⁾, 수경재배액의 통기가 불량한 경우 목화의 뿌리와 목질부 수액중의 alanine과 GABA 함량이 증가한다⁴⁾. 본 연구에서의 혐기처리에 의한 아미노산 함량변화 樣相도 다른 쌍자엽 식물에서의 연구 결과와 일치하였다.

식물체에 대한 기계적 상처에 의해 식물체내 아미노산 함량이 변화한다는 보고는 매우 드물다. 콩잎을 따서 상처를 입히면 alanine과 GABA 함량이 증가하나⁹⁾, 상처에 의한 아미노산 함량의 변화 정도는 혐기적 처리에 의한 변화 정도보다 훨씬 낮다. 본 연구의 결과도 이미 보고된 결과와 마찬가지로 혐기적처리에 의한 변화 정도가 지상부의 切取에 따른 상처로 인한 변화 정도보다 훨씬 높았다.

보리 幼植物體나 切取한 지상부 또는 뿌리를 4℃로 저온처리하였을 경우에도 지상부와 뿌리의 GABA함량이 크게 변화하였다(Fig. 2). 切取한 지상부 조직을 4℃에 5시간 처리하였을 경우 GABA함량은 切取한 지상부 조직을 공기처리했을 경우보다 4.3배 증가한 150 µg/g FW였으며, 이는 切取 직후 저온처리 前의 GABA함량보다 10배정도 많은 量이었다. 지상부를 자르지 않고 幼植物體가 자라고 있는 pot를 4℃ 성장상에 5시간 동안 옮겨 놓았을 경우에 지상부의 GABA함량은 切取한 지상부를 공기처리했을 경우보다 3.1배(切取直後 보다 7.5배) 증가하였다. 저온처리에 의한 GABA 증가정도는 온전한 식물체를 처

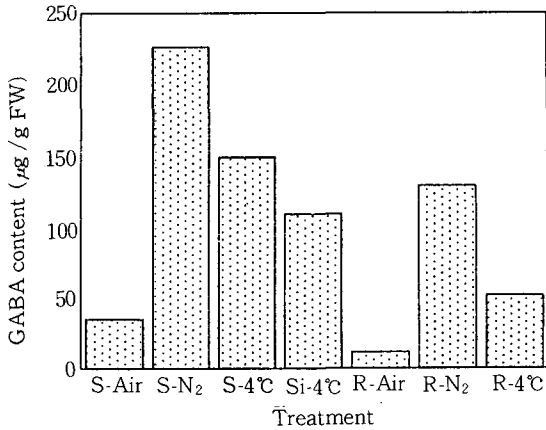


Fig. 2. Effects of anaerobic(N₂) or low temperature(4°C) treatment for 5 h on GABA content in the detached or intact(I) shoots(S) or roots(R) of barley seedlings.

리하는 경우보다 切取한 지상부조직을 처리했을 경우에 더 높았다. 그러나 저온처리에 의한 GABA함량 변화정도는 혐기처리에 의한 증가 정도보다 2배 이상 낮았다.

뿌리에서도 지상부에서와 마찬가지로 혐기처리 및 저온처리에 따라서 아미노산 함량이 크게 변화하였다. 뿌리의 GABA함량은 5시간 동안의 혐기처리에 의해 공기처리한 경우보다 11배 이상 많은 130.1 µg/g FW로 증가하였다. 저온처리에 의해서도 뿌리의 GABA함량이 공기처리보다 4.5배 증가하였다. 뿌리의 경우에도 GABA함량 증가에 미치는 영향은 저온처리보다 혐기처리가 2배 이상 높았다. 뿌리의 GABA함량은 지상부에 비하여 약 3배 정도 낮지만 혐기처리와 저온처리에 의한 GABA함량 증가 정도는 지상부보다 높았다.

저온처리에 의한 아미노산함량의 변화에 대해서는 주로 식물의 내한성과 관련하여 연구되었다. 보리의 경우 저온에서 alanine이 증가하고⁶⁾, 33°C에서 자라던 보리를 22°C에 15분간 變溫처리하여도 GABA함량이 2.5배 정도 증가한다⁹⁾. 본 연구에서 사용한 처리온도와 처리시간이 다른 연구에서와 다르지만 온도처리에 대한 GABA함량 변화 양상은 다른 연구자들의 보고와 일치하였다.

혐기처리에 의해 아미노산함량이 변화하는 機作 중의 하나는 혐기처리에 의해 세포내 微小器官의 膜이 파괴되어 세포질이 酸性化되기 때문인 것으로 생각되고 있다. 대부분의 아미노산 합성 및 대사과정에 관여하는 효소는 細胞質에 존재하고 있기 때문에 세포질의 pH변화는 아미노산의 합성과 대사과정에 관여하는 효소계의 활성에 영향을 미치게 된다¹⁾. GABA의 합성에 관여하는 glutamic acid decarboxylase(GAD)의 最適 pH는 5.9인 반면 GABA의 NH₂기 전이에 관여하는 γ-aminobutyrate:pyruvate transaminase의 最適 pH는 8.9이다⁸⁾. 따라서 세포가 산성화되면 GABA형성에 관여하는 GAD의 활성은 증가하지만 transaminase의 활성은 억제되어 결과적으로 GABA가 축적되게 된다. 더우기 GABA는 glutamic acid가 GAD에 의해 脫炭酸되는 한 단계의 반응^{5,8)}에 의해 형성되므로, 혐기상태에서의 GABA의 증가는 glutamic acid의 감소를 가져오게 된다. 혐기처리 이외에 기계적 손상이나 저온처리에 따른 아미노산 함량 변화 機作에 대해서는 잘 알려져 있지 않지만, 아미노산 생합성 및 대사과정이 미생물에서 고등동물에 이르기 까지 크게 다르지 않기 때문¹⁾에 혐기처리 이외의 처리에 의한 아미노산 함량의 변화도 혐기처리의 경우와 유사한 機作에 의해 나타날 것으로 推測된다. 따라서 혐기처리에 의한 유리아미노산 함량 변화 반응상이 보리에서도 다른 쌍자엽식물에서와 유사하게 나타나는 이유도 아미노산 생합성 및 대사과정의 공통점 때문인 것으로 생각된다.

하지만 조직의 특성과 혐기처리시간에 따라 세포환경의 변화 정도와 변화의 종류가 크게 다를 수 있기 때문에 세포의 산도변화에 따른 관련효소의 활성변화로 아미노산의 함량변화를 설명하기에 부족한 경우도 많다. 본 연구에서 보리의 切取된 지상부를 18시간 혐기처리한 경우에 GABA의 증가 정도가 10시간 처리에서 보다 크게 감소하였으며, glutamic acid도 10시간 처리 보다 18시간 처리에서 오히려 더 증가하였다. 이의 설명을 위해서는 처리시간에 따른 세포환경 및 관련효소의 활성변화와 관련 대사산물의 함량변화에 대한 자세한 연구가 필요하리라 생각된다.

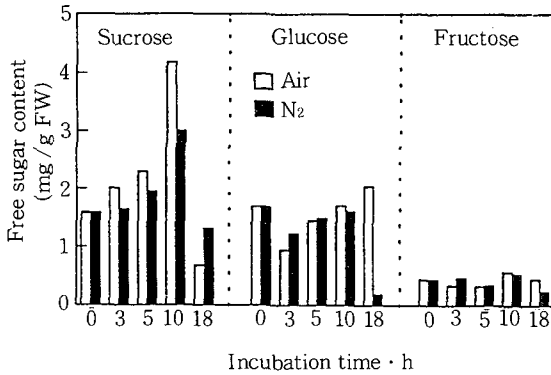


Fig. 3. Changes in free sugar content in the detached barley shoots under the incubation of air or nitrogen gas.

협기처리에 의해 切取한 지상부의 遊離糖 함량도 변화하였다. 조사한 유리당 중에서 sucrose 함량의 변화가 가장 컸으며, glucose와 fructose 함량은 크게 변하지 않았다 (Fig. 3). 협기처리前 지상부의 sucrose, glucose, fructose 함량은 각각 1.57, 1.68, 0.44 $\mu\text{g/g}$ FW였다. 처리 5시간과 10시간 후 지상부의 sucrose 함량은 협기처리에 의해 공기처리보다 15~28% 감소하였다. 협기처리에 의해 조직내 산소농도가 급격히 저하하여 sucrose 생합성이 저하된 것으로 추측되나 자세한 원인은 협기상태가 sucrose 생합성과 대사에 미치는 영향 등에 대한 추후의 연구에 의해 구명되어야 할 것으로 생각된다. 처리시간이 18시간까지 길어지면 sucrose 함량이 협기처리와 공기처리에서 모두 감소하였다. 처리 종류에 관계없이 처리 10시간까지는 조직내 sucrose 농도가 증가하는 이유는 적체된 지상부내의 sucrose가 지하부로 이행되지 않기 때문인 것으로 생각된다. Glucose와 fructose 함량은 협기처리와 공기처리간에 크게 다르지 않았다. 협기처리에 의한 유리당의 함량변화가 alanine, GABA, glutamic acid와 같은 유리아미노산의 함량변화보다 작은 원인은 이들 물질의 생합성 및 대사경로의 특성과 깊은 관련이 있을 것으로 생각된다.

摘 要

발아후 일주일간 생육한 보리 유식물체를 이용하여 협기처리, 저온처리 및 기계적 상처에 대한 보리 식물체의 반응양상을 유리아미노산과 유리당 함량의 변화를 분석하여 조사하였다. 협기적처리에 반응하여 함량의 변화가 뚜렷하게 나타나는 아미노산은 alanine, GABA, glutamic acid였다. Alanine과 GABA함량은 10시간까지의 협기처리에 의해 급속히 증가하였으나 glutamic acid 함량은 크게 감소하는 경향을 나타내었다. 상처에 의한 alanine, GABA, glutamic acid 반응 양상은 협기처리와 유사하였으나, 함량변화 정도는 협기처리에서 보다 훨씬 낮았다. 저온처리에 의하여 지상부와 뿌리 중의 GABA 함량이 증가하였다. 협기적 처리에 의하여 지상부의 유리당함량이 변화하였으며, glucose나 fructose보다는 sucrose의 함량변화가 상대적으로 크게 나타났다.

引用文獻

1. Bryan, J.K. 1976. Amino acid biosynthesis and its regulation. In Plant Biochemistry (J. Bonner, J.E. Varner ed.) pp525-560.
2. Effer, W.R. and S.L. Ranson. 1967. Respiratory metabolism in buckwheat seedlings. Plant Physiol. 42:1042-1052.
3. Fulton, J.M., A.E. Erickson and N.E. Tolbert. 1964. Distribution of C¹⁴ among metabolites of flooded and aerobically grown tomato plants. Agron. J. 56:527-529.
4. Guinn, G. and L.A. Brinkerhoff. 1970. Effect of root aeration on amino acid levels in cotton plants. Crop Sci. 10:175-178.
5. Narayan, V.S. and P.M. Nair. 1986. The 4-aminobutyrate shunt in *Solanum tuberosum*. Phytochem. 25:997-1001.

6. Stewart, G.R. and F. Larher. 1980. Accumulation of amino acids and related compounds in relation to environmental stress. In *The Biochemistry of Plants* (P. K. Stumpf and E.E. Conn ed.). Vol. 5. pp. 609-635.
7. Streeter, J.G. and J.F. Thompson. 1972. Anaerobic accumulation of γ -aminobutyric acid and alanine in radish leaves (*Ralphanus sativus* L.). *Plant Physiol.* 49: 572-578.
8. Streeter, J.G. and J.F. Thompson. 1972. *In vivo* and *in vitro* studies on γ -aminobutyric acid metabolism with the radish plant (*Ralphanus sativus* L.). *Plant Physiol.* 49:579-584.
9. Wallace, W, J. Secor and L. E. Schrader. 1984. Rapid accumulation of γ -aminobutyric acid and alanine in soybean leaves in response to an abrupt transfer to lower temperature, darkness, or mechanical manipulation. *Plant Physiol.* 75:170-175.
10. Willians, A. P. 1988. Determination of amino acids. In: *HPLC in Food Analysis*. Academic Press, San Diego, CA, USA. pp441-470.
11. 윤성중. 이완주. 1995. 蠶桑物質中 藥理成分 實用化 研究. 2. 병잎중 γ -aminobutyric acid(GABA) 함량과 혐기적 처리가 GABA 함량에 미치는 영향. *농업과학논문집* 37:207-214.