

PB4) 애기장대의 안토시아닌 생성에 미치는 Salicylic acid 와 온도의 영향

김태윤*, 김효진, 조명환, 홍정희
부산대학교 자연과학대학 생물학과

1. 서 론

안토시아닌(Anthocyanin)은 고등식물이 생성하는 이차대사산물의 일종으로 꽃, 채소, 과실 등에 많이 함유되어 있으며, 수분매개자인 곤충, 조류 등을 유인하여 화분의 수정 및 종자의 전파에 기여하고 식물 동물의 상호 진화관계에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 안토시아닌의 생합성 경로는 phenylpropanoid 대사계와 flavonoid 대사계로 나뉘어져 있는데, 이들 경로를 최초로 매개하는 효소는 Phenylalanine ammonia lyase (PAL)로서 색소 생합성 외에도 방어기작관련 단백질의 유도 및 물관부 형성 그리고 개화반응 등 다양한 생리작용에 관여하고 있다.

환경요인 중 광선이 안토시아닌 합성에 미치는 영향으로서 사과나무에서 광선을 받는 쪽의 과실부위에 안토시아닌 생성이 촉진되어 더 붉게 되는 현상을 볼 수 있으며, phytochrome / UV-A receptor와 UV-B receptor 의 협동작용에 의해서도 효과적으로 유도된다. 안토시아닌은 저온에 의해 그 축적이 촉진되며, 가을 잎과 고산식물에서 뚜렷하게 나타나는 현상이다. 한편, 온도와 광선의 질에 의하여 유식물의 배측부위에서의 안토시아닌 축적양상과 phytochrome 분포에서 뚜렷한 차이가 나타났다. 어떤 식물에서는 질소 및 수분 부족시, 인 또는 유황 결핍시 안토시아닌 생성이 증가되는 것으로 보고되고 있다.

최근 안토시아닌의 기능에 대한 많은 학자들의 가설이 제기되고 있는데, 포착된 광선의 양과 질의 변화, UV-B·초식동물 그리고 photoinhibition으로부터의 보호, 스트레스 환경 하에서 반응산소 중간대사물의 scavenging 등이 있다.

Salicylic acid (SA)는 다양한 생리적 과정과 관련되어 있는데, SA 처리에 의해 보리 잎의 성장 억제, 엽록소 및 단백질 함량의 감소, Hill반응 활성의 억제, 전 광합성 효율과 카로티노이드 및 당 함량 감소 등이 보고되었다. 또한 SA는 병원균 침범, 산화적 스트레스 및 각종 환경스트레스에 반응하여 식물체에 축적됨으로써 보호기능을 하는 것으로 알려져 있다.

본 연구는 SA와 온도가 안토시아닌 축적에 어떠한 영향을 미치는지 조사하기 위하여 애기장대에 다양한 농도의 SA와 온도를 처리함으로써 시간적 경과에 따른 안토시아닌 함량과 PAL 활성의 변화를 조사하였다.

2. 재료 및 실험 방법

2.1. 재료 식물 및 배양 조건

애기장대(*Arabidopsis thaliana* L.)의 생태형인 Col-O의 종자를 실험재료로 사용하고 배

양은 종자를 2일 동안 암하에서 4°C 저온처리 후 perlite와 vermiculite 혼합물에서 발아시키고 growth chamber에서 배양하였다. 애기장대의 생육조건은 perlite와 vermiculite가 1 : 1로 혼합된 토양에 MS 배지를 처리하고 22°C/18°C 낮/밤을 16시간 광주기로 하였다. 빛의 세기는 $100 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 로 유지하였다. 발아 후 3일간의 영양생장단계 거친 애기장대에 5일 동안 SA를 0, 5, 10, 25, 50, 100 μM 농도로 각각 처리하였다. 온도 처리는 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C의 5개 처리구로 구분하여 실시하였다.

2.2. 안토시아닌 및 엽록소 함량 측정

애기장대의 잎과 뿌리 200 mg을 채취하여 5 ml의 1 % HCl / methanol를 사용하여 4°C에서 24시간 동안 암소에서 냉침 추출 후 535 nm에서의 흡광도를 측정한 후 Fuleki와 Francis 방법(1982)에 의해 안토시아닌 함량을 측정하였다. 엽록소 함량은 Hasvaux 등(2000)의 방법을 이용하였다.

2.3. PAL 활성 측정

PAL 활성은 trans-cinnamic acid의 생성량을 290 nm에서 UV-spectrophotometer로 측정하는 Khan와 Vaidyanathan 방법(1986)을 이용하였다.

3. 결과 및 고찰

애기 장대에 SA를 다양한 농도로 첨가하여 성장시켰을 때 애기장대의 생장은 대조구와 비교하였을 때 현저한 형태학적 차이를 나타내었다. 안토시아닌 합성은 10 μM 이하의 SA 첨가구에서는 큰 변화가 없었으나 10 μM 이상의 첨가구에서는 색소의 합성이 크게 증가하였다. 특히 25 μM 살리실산을 처리하였을 경우에는 5일째에 색소의 합성이 약 3.3배 증가하였다. 그러나 100 μM 이상의 SA 첨가구에서는 안토시아닌의 합성이 점차적으로 감소하는 경향을 보여 주었다. 엽록소의 함량변화 양상을 보면, SA 전 처리구에서 엽록소 함량이 전반적으로 감소하는 경향을 보여 주었으며, 2일 경과시까지 큰 폭으로 감소하였다. 특히, 5일 경과시 100 μM SA 처리구에서는 엽록소의 함량이 대조구에 비해 약 17배 감소되었다. 이러한 결과는 SA가 광합성 활성을 저해한 결과 엽록소 함량이 감소된 것으로 추측된다.

다양한 농도의 SA 처리에 의한 PAL 활성 변화를 조사한 결과, 25 μM SA를 처리했을 경우 점차 효소 활성의 증가를 나타내면서 3일째에 가장 높은 활성을 보였다가 이후 서서히 감소하였다. 50 μM SA 처리구에서는 2일째부터 높은 효소 활성 증가를 나타내었다가 4일째부터 감소하는 경향을 보였다. 이와 같은 결과는 SA 처리에 의해 일차 대사산물의 생산량이 감소되고 이차 대사과정의 활성화를 통해 PAL활성이 증가됨으로써 안토시아닌 합성이 촉진되었음을 시사해 준다.

온도조건이 애기장대의 안토시아닌 생성에 미치는 영향을 조사한 결과, 10°C와 15°C 처리구에서 안토시아닌의 함량이 크게 증가하는 것으로 나타났는데, 따라서 10°C-15°C 범위의 저온에서 안토시아닌 생성이 매우 촉진되었음을 알 수 있었다. 한편, 온도가 상승함에 따라 점차 안토시아닌의 합성이 억제되어 30°C의 고온에서는 현저히 저하되는 경향을 보여 주었다.

이상과 같은 결과를 종합해 보면, 애기장대에 있어서 SA 및 온도처리에 의해 형성된 스트레스에 반응하여 잎조직내에 안토시아닌 합성이 유도된 것으로 추측되며, 안토시아닌이 스트레스환경으로부터의 보호기능과 관련이 있음을 시사해 준다.

4. 요약

SA와 온도가 애기장대의 안토시아닌 생성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 여러 농도의 SA와 다양한 온도를 처리하여 시간적 경과에 따른 안토시아닌 함량변화와 PAL 활성을 조사하였다. 10 μM 이하의 SA 처리구에서는 안토시아닌 함량에 있어서 큰 변화가 없었으나 100 μM 이상의 처리구에서는 크게 증가하였다. 25 μM SA 처리구에서 안토시아닌 함량이 가장 높았으며 5일째에는 약 3.3배 증가하였다. 그러나 100 μM 의 고농도 SA 처리구에서는 감소하는 경향을 나타내었다. PAL 활성은 25 μM SA 처리시 점차 증가하여 3일째에 가장 높은 활성을 보였다가 이후 서서히 감소하였다. 그러나 100 μM 이상의 SA 처리구에서는 PAL 활성이 점차 감소하는 경향을 보여 주었다. 온도조건에 따라 안토시아닌 축적은 다소 차이를 보여 주었는데, 10 $^{\circ}\text{C}$ 및 15 $^{\circ}\text{C}$ 에서 안토시아닌 생성이 촉진되었으나, 온도가 상승함에 따라 점차 감소되어 30 $^{\circ}\text{C}$ 의 고온에서는 현저하게 저하되었다. 따라서 본 연구결과로부터 애기장대의 안토시아닌 축적현상은 SA의 외적 처리와 온도요인에 의해 형성된 스트레스에 반응하여 유도된 것으로 추측되며 일종의 보호기능과 관련이 있음을 시사해 준다.

참 고 문 헌

- Borsani, O., V. Valpuesta and M. A. Botella, 2001. Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Physiol.* 126, 1024-1030.
- Chalker-Scott, L., 1999. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Photochem. Photobiol.* 70, 1-9.
- Gould, K. S., K. R. Markham, R. H. Smith and J. J. Goris, 2000. Functional role of anthocyanins in the leaves of *Quintinia serrata* A. Cunn., *Jour. of Exp. Bot.* 51, 1107-1115.
- Leyva, A., J. A. Jarillo, J. Salinas and J. M. Martinez-Zapater, 1995. Low temperature induces the accumulation of phenylalanine ammonialyase and chalcone synthase mRNAs of *Arabidopsis thaliana* in light-dependent manner. *Plant Physiol.* 108, 39-46.
- Senarata, T., D. Touchell, T. Bunn and K. Dixon, 2000. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress to tolerance in bean and tomato plant. *Plant Growth Regul.* 30, 157-161.
- Yamaguchi, F., M. Nozue, H. Yasuda and H. Kubo, 2000. Effects of temperature on the pattern of anthocyanin accumulation in seedlings of *Polygonum cuspidatum*. *Jour. of Plant Research.* 113, 71-77.