

IAA수준의 조절에 미치는 과산화수소의 영향

박 노 동·김 정 봉·박 창 규*

전남대학교 농화학과, *서울대학교 농화학과

초록: 저온에서 식물체중에 축적되는 과산화수소의 생리적 기능을 IAA수준의 조절과 관련하여 연구하였다. 과산화수소는 10mM 농도에서 완두의 발근과 귀리 초엽의 신장을 억제하였으며 IAA의 호르몬 효과도 억제하였다. 이 억제효과는 catalase를 첨가하면 해제되었다. 우리의 IAA는 과산화수소와 반응하여 Salkowski시약에 민감하지 않은 어떤 복합체를 형성하여 과산화수소에 의하여 불활성화되는 것처럼 보였다. 그러므로 저온에서 식물체내에 축적된 과산화수소는 IAA를 불활성화하여 세포의 유용한 IAA수준을 하향조절하였을 것으로 여겨졌다(1990년 1월 19일 접수, 1990년 5월 25일 수리).

미토콘드리아, 엽록체, microbody 등에서 생성되는 과산화수소는 세포내 막지질의 과산화반응과 자동산화반응을 유발하여 막구조를 파괴하고 세포의 미세구조 성분과 효소를 공격하는 등의 유해한 생리기능을 갖고 있다^{1, 2}. 과산화수소의 축적은 식물 호르몬 IAA(indole-3-acetic acid)를 산화적으로 분해시키고³ 단백질의 SH기를 산화시켜 조직의 노화와 성숙을 촉진하는 것으로 믿어진다⁴.

저온처리시에 겨울밀⁵, 오이유묘⁶, 완두유묘에서⁷ 과산화수소의 축적이 보고된 바 있다. 과산화수소의 축적은 catalase활성의 저하와 상관이 깊은데, 저온에서 H₂O₂ 함량의 상승은 IAA의 분해에 중요한 역할을 하는 IAA oxidase의 활성을 자극하여⁸ IAA수준을 하향조절한다^{9, 10}. 이는 세포내의 과산화수소 자체가 IAA의 대사에 관련되어 있음을 시사하는 것이다.

저자 등은 암실재배한 완두유묘에서, 저온처리시에 IAA의 수준이 감소하여¹¹ catalase의 활성이 저하하고 과산화수소가 축적됨을⁷ 보고하였다. 본 연구에서는 이렇게 축적된 과산화수소가 IAA수준의 조절에 어떠한 영향을 미치는지를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

시 약

IAA와 catalase는 미국 Sigma사에서 구입하였으며, IAA-glutamic acid복합체는 본 실험실에서 합성하였다¹². IAA는 Darbyshire의 방법에 준하여 Salkowski시

약으로 정량하였다¹³.

Avena 검정

귀리(*Avena sativa* L. var. *Chonjin*) 종자의 껍질을 벗겨 2.5% NaOCl용액에 담가 10분간 표면을 소독하고 흐르는 수도물에 2시간 침종시켜 물에 적신 종이 타월을 여러겹 간 묘상에 심었다. 25°C 항온기에서 처음 8시간은 적색등 아래서 기르다 다음 64시간은 암흑상태로 재배하여 약 3cm 자란 유묘를 선별하여 적색등 아래서 초엽의 말단부 3mm를 잘라버리고 이로부터 5mm의 길이로 microtome으로 절단하여 MnSO₄·H₂O용액(1mg/l)에 3시간 띄운 후, 이 절편 10개씩을 과산화수소와 IAA를 함유한 용액에 띄워 25°C의 항온기에서 24시간 배양한 다음 그 길이를 측정하였다¹⁴.

완두유묘의 발근 검정

Vermiculite 묘상에 심어 실내에서 가끔 별을 받으며 3주간 성장한 완두를 표토면에서 잘라 5% NaOCl 용액에 2~3분간 담가 소독하고 4개씩을 H₂O₂와 IAA를 함유한 4배로 희석한 Hoagland용액 200ml가 든 삼각 flask에 담가 세웠다. 이를 25°C의 생장조절 상자에 넣고 12시간 주기로 형광등(5,000Lux)을 쬐면서 매일 발근수를 조사하였다¹⁵.

결과 및 고찰

귀리 초엽의 신장에 미치는 과산화수소의 영향

완두유묘를 5°C의 저온에서 재배하면 그 생장이 거의 정지하며^{7, 11)} 과산화수소의 축적과 함께 IAA 산화효소계의 강화로 유리의 IAA의 수준은 감소한다¹¹⁾. 여기에서는 저온에서 축적되는 과산화수소의 생리적인 기능을 IAA의 대사와 관련지어 규명하고자 하였다.

Table 1은 저온처리시에 축적될 수 있는 과산화수소가 귀리 초엽의 신장생장에 미치는 영향을 실험한 결과이다. IAA의 처리(5 μ m)는 무처리에 비하여 귀리의 생장을 1.5배 촉진시켰으며, 여기에 과산화수소(10mM)를 가하면 IAA의 효과는 뚜렷이 억제되었다. 과산화수소를 단독 처리하였을 때에는 약 30%의 신장 저해효과가 관찰되었으나, 여기에 catalase를 첨가하면 과산화수소의 저해를 해제시켰다. Catalase는 몇 가지 소기관에서 생성되는 과산화수소를 신속히 분해하므로 정상상태에서는 과산화수소가 별로 축적되지 않는다¹¹⁾. 저온에서는 과산화수소의 축적으로 IAA의 호르몬 활성이 억제될 수 있음을 이 결과는 제시하고 있다.

Table 1. Effect of hydrogen peroxide on the elongation of Avena shoots

Treatment			Elongation of Avena shoots ¹⁾	
IAA (μ m)	H ₂ O ₂ (mM)	Catalase (μ g/ml)	mm	%
0	0	0	2.1	100
0	0	50	2.2	105
0	10	0	1.4	67
0	10	50	2.6	126
5	0	0	3.2	152
5	0	50	3.1	148
5	10	0	2.2	105
5	10	50	3.1	148

1) Average of 4 separate experiments.

완두유묘의 발근에 미치는 과산화수소의 영향

Table 2는 완두유묘의 줄기를 잘라 발근을 유도하여 얻은 결과이다. 10일째를 기준할 때 IAA의 처리는 무처리에 비하여 완두의 발근을 2.1배 증가시켰으나 H₂O₂ 존재시에는 그 효과가 역시 뚜렷이 저해되었다. 그러나 과산화수소가 든 배양액에 catalase를 가하면 H₂O₂의 발근 저해효과가 제거되었다. 과산화수소를 단독 처리하였을 때에는 발근이 대단히 저해

되었다.

Table 2. Effect of hydrogen peroxide on the root initiation of pea cuttings

Treatment			Number of pea root formed ¹⁾	
IAA (μ m)	H ₂ O ₂ (mM)	Catalase (μ g/ml)	7day ²⁾	10day
0	0	0	7	10
0	0	50	12	13
0	10	0	1	3
0	10	50	6	11
5	0	0	18	21
5	0	50	15	117
5	10	0	0	1
5	10	50	17	17

1) Per 4 plants.

2) Days after treatment.

Table 1과 2를 비교할 때 과산화수소의 영향을 귀리 절편의 신장검정에서보다 완두 줄기 절단면의 발근 검정에서 더욱 뚜렷하였다. 이는 검정에 사용한 식물이 다른 때문일 수 있으며 또한 과산화수소에 의한 조직 절편면의 손상이 귀리 신장에 보다는 완두의 발근에 더 치명적인 탓일 수 있다.

과산화수소 존재시 일어나는 이와 같은 신장과 발근의 저해는 조직 절편면의 물리 화학적 손상과 함께 조직내로 침투한 H₂O₂에 의하여 유발된 세포막 지질과 단백질의 산화를 중심으로한 일련의 반응들에 기인하거나²⁾ IAA 산화효소의 활성화로 IAA수준이 저하되었거나⁸⁻¹⁰⁾ IAA수용체 단백질의 구실을 차단한 결과일 수 있다⁶⁾. 한편으로는 H₂O₂가 세포내의 IAA와 직접 결합하여 어떤 복합체(complex)를 형성함으로써 세포내의 유용한 IAA 수준을 저하시키거나 IAA의 작용을 방해하여^{15, 17)} 일어난 결과일 수도 있는데 다음은 그 가능성을 시사해 준다.

과산화수소에 의한 IAA의 불활성화

Fig.1A은 과산화수소와 IAA의 상호작용을 Salkowski시약을 사용하여 시험한 결과인데, 이때 Salkowski시약은 IAA뿐만 아니라 IAA-amino acid 복합체와도 정량적인 반응을 하는 시약이다. Fig. 1A에서 보듯이 과산화수소는 이 시약과 IAA의 정상적인 반응을 저해하였다. 그러나 반응액에 catalase를 가하면 이러한 저해효과가 해제되었다. Catalase 대신 crude horseradish peroxidase(50 μ g/ml)와 guaiacol

(10mM)을 가하였을 때에도 이와 동일한 결과를 얻었다. 한편, IAA 대신 IAA-glutamic acid를 사용하여 동일한 실험을 하였을 때에는 이와 다른 결과를 얻었

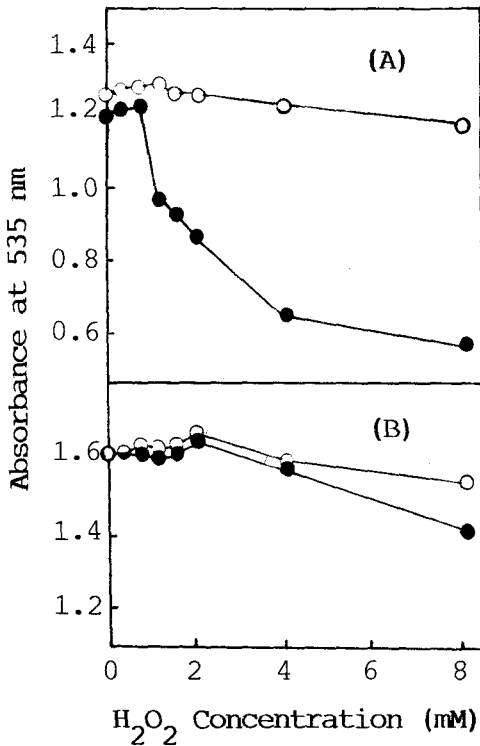


Fig. 1. Reaction of hydrogen peroxide with free or conjugated IAA.

- (A) Incubation medium contained hydrogen peroxide indicated and 1 mM IAA with(○—○) or without(●—●) 25μg/ml catalase in 50mM phosphate buffer(pH 6.0).
- (B) Incubation medium contained hydrogen peroxide indicated and 1 mM IAA-glutamic acid conjugate with(○—○) or without(●—●) 25μg/ml catalase in the same buffer as in (A). IAA or IAA conjugate was estimated with Salkowski reagent after incubation for 10min.

다(Fig. 1B). H₂O₂는 이 IAA-amino acid의 Salkowski시약에 대한 반응을 거의 저해하지 않았다.

이것은 H₂O₂가 오직 유리 IAA와 어떤 복합체를 형성하여 IAA의 화학적 특성을 가린 결과 과산화수소 존재하에 IAA가 정상적으로 Salkowski시약과 반응하지 못한 것으로 여겨진다^{15, 17}. Carboxylic acid는 H₂O₂와 혼합하면 peroxy acid를 형성하며¹⁸ IAA 용액에 H₂O₂를 가하면 IAA의 형광이 감소하나 여기에 catalase를 가하면 형광강도가 회복된다는¹⁵ 점을 고려할 때, 이 복합체는 Salkowski시약에 민감하지 아니한 어떤 것으로 보인다¹⁵. 이는 IAA의 파괴과정이라기 보다는 불활성화 과정이며 IAA의 생리작용을 저하시키는 과정이라고 할 수 있다^{15, 17, 19}. 이 과정에서 catalase와 peroxidase의 역할이 중요해 보인다.

이상의 결과는 IAA가 H₂O₂와 복합체를 형성하여 불활성화 되거나 H₂O₂의 효소적 제거로 다시 활성화될 수 있을 것임을 시사한다. 그러므로 세포내 H₂O₂ 수준에 따라 다소간에 유용한 IAA수준이 조절되어질 것으로 보인다¹⁵. 즉 낮은 catalase 활성과 높은 H₂O₂ 생성능을 보이는 조직은 IAA의 불활성화로 낮은 IAA활성을 나타낼 것이며, 높은 catalase 활성과 낮은 H₂O₂ 생성능을 갖는 경우에는 높은 IAA활성을 보일 것이다. 저온에서 catalase활성의 저하와 함께 과산화수소의 축적으로 세포내의 유용한 IAA수준이 감소될 수 있을 것이다. 저온에서 활성화되는 대표적인 유도효소인 IAA 산화효소는 세포내 IAA의 수준을 조절하는 중심적인 역할을 담당한다^{8~10, 13}. 이와 함께 과산화수소와 IAA의 상호작용은 세포내의 유용한 IAA수준의 조절에 한 몫을 하였을 것으로 보였다.

그러나 본 연구에서 관찰된 외부에서 첨가한 과산화수소의 영향이 식물체중에 축적되는 과산화수소의 생리적 영향과 동일한 것인지에 대하여는 더 연구하여야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. Duve, C.D. : Sci. Amer., 248(5) : 74 (1983)
2. Delvin, J.M. : In "Textbook of Biochemistry with Clinical Correlation", pp. 482~483, Wiley Medical, New York (1982)
3. Siegel, S.M. and Galston, A.W. : Arch. Biochem. Biophys., 54 : 102 (1955)
4. Brennan, T. and Frenkle, C. : Plant Physiol., 59 : 411 (1977)
5. Bolduc, R.J., Cherry, J.H. and Blair, B.O. : Plant Physiol., 45 : 461 (1970)
6. Omran, R.G. : Plant Physiol., 65 : 407 (1980)
7. 박노동, 신용광, 김광식, 박창규 : 한국농화학회지, 33(2) : 125 (1990)
8. 박노동, 서용택, 신용광 : 한국농화학회지, 26 : 132 (1983)
9. Mader, M. and Amberg-Fisher, V. : Plant Physiol.

- 70 : 1128 (1982)
10. Warm, E. and Laties, G.G. : *Phytochemistry*, 21 : 827 (1982)
11. 박노동, 안승희, 김광식, 박창규 : *한국농화학회지*, 33 : 68 (1990)
12. 박창규, 박노동 : *한국환경농학회지*, 4 : 43 (1985)
13. Darbyshire, B. : *Plant Physiol.*, 47 : 65 (1971)
14. Nitsch, J.P. and Nitsch, C. : *Plant Physiol.*, 31 : 94 (1956)
15. Omran, R.G. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 78 : 970 (1977)
16. McLellan, K.M. and Robinson, D.S. : *Phytochemistry*, 22 : 645 (1983)
17. Schneider, J. and Gunter, G. : *Biochem. Physiol. Plantz.*, 167 : 151 (1975)
18. Davies, A.G. : *Organic peroxides*. pp. 55~58, Butterworths, London (1961)
19. Siegel, S.M. and Weintraub, R.L. : *Physiol. Plant*, 5 : 241 (1952)

Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of IAA level in plants

Ro-Dong Park, Jeong-Bong Kim and Chang-Kyu Park* (Department of Agricultural Chemistry, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea, *Department Agricultural Chemistry, Seoul National University, Suwon 440-744, Korea)

Abstract : The role of hydrogen peroxide which is accumulated in plants under low temperature has been studied with respect to the regulation of physiological IAA level. At 10 mM of H_2O_2 , accelerating effects of IAA on the elongation of *Avena* coleoptiles and the root initiation of pea cuttings have been greatly inhibited. These inhibitions were reversed by introduction of catalase. The reaction of free IAA with Salkowski reagent was inhibited in the presence of H_2O_2 , but that of IAA-glutamic acid was not, suggesting the inactivation of free IAA by H_2O_2 . The data support that increase in the content of hydrogen peroxide under low temperature partially down-regulates the available IAA through inactivation of IAA.