

Cyclohexylamine과 Polyamine이 대두 자엽의 부정근 형성에 미치는 영향

韓泰鎭* · 趙炯一

翰林大學校 自然科學大學 生物學科

Effects of Cyclohexylamine and Polyamines on the Adventitious Root Formation from Soybean Cotyledons

Tae-Jin HAN* and Hyeong-Il JO

Department of Biology, Hallym University, Chunchon, 200-702. *Corresponding author.

In order to study the effect of cyclohexylamine (CHA) and polyamines during adventitious root formation, the correlation of adventitious root formation with endogenous polyamine content was investigated in inoculated soybean cotyledons at the rooting medium supplemented with CHA, spermidine and spermine. Adventitious root formation was inhibited in medium containing $10^{-3} - 10^{-2}$ M CHA. Adventitious root formation was not formed in treatment with 10^{-2} M CHA plus polyamine. It was inhibited in 2.5×10^{-3} M CHA alone and reversed in 2.5×10^{-3} M CHA plus 10^{-4} M spermine. Putrescine content was lower in 10^{-2} M CHA and 10^{-2} M CHA plus 10^{-4} M spermine treatment than in control after 3 days of incubation. However, it was higher in 2.5×10^{-3} M CHA and 2.5×10^{-3} M CHA plus 10^{-4} M spermine treatment than in control. Spermine content was higher in all CHA treatments than in control, while spermidine content was lower than in control.

Key words: spermidine, spermine

식물의 기관분화는 여러 가지 요인들에 의하여 조절되는데, 특히 식물 호르몬을 비롯한 식물체내에서 합성된 다양한 물질들에 의하여 조절된다(Bagni et al., 1980; Serafini-Fracassini et al., 1984; Evans et al., 1988). Polyamine은 이러한 조절물질중의 하나로 고등식물에서의 생리적 중요성은 1965년 Bertossi 등(1965)의 polyamine에 대한 연구 이후로 관심이 되어 왔으며, 식물의 생장, 발달, 분화 등의 생리적 과정에도 관여한다는 것(Palavan-Unsal and Galston, 1982; Shen and Galston, 1985)이 알려진 이후 많은 연구가 이루어지고 있다.

Polyamine은 식물의 기관분화에 관여하여 배발생(Feirer et al., 1984; Fienberg et al., 1984; Montague et al., 1978)을 비롯하여 화아유도(Kaur-Sawhney et al., 1988; Tran Thanh Van, 1973; Torrigiani et al., 1987), 묘조분화(Desai and Mehta, 1985) 등에 관여하며, 부정근 형성에도 관여하여 녹두의 하배측에서 부정근 형성(Jarvis, 1983; Friedman et al.,

1985)을 촉진한다. 또한 polyamine은 팔에서의 부정근 유기와 초기생장에 필수적이고(Jarvis et al., 1985), 담배의 줄기 절간에서 뿌리 분화를 촉진시키며(Torrigiani et al., 1989, 1993), 녹두의 줄기(Jarvis et al., 1983)나 양벚나무(Biondi et al., 1990)에서 부정근 형성을 촉진시키는 것으로 알려져 있다.

Cyclohexylamine (CHA)은 spermidine synthase 작용을 저해하여, spermidine의 합성을 억제하고 그 결과로 spermine의 합성도 억제되는 것으로 알려져 있다(Evans and Malmverg, 1989). Han 등(1994)의 실험 결과 대두 자엽 절편에서 polyamine 합성 억제제인 CHA와 methylglyoxal-bis (guanylhydrazone) [MGBG]이 부정근 형성을 억제한다고 하였다. 이 실험에서 부정근 형성이 더욱 억제되었던 MGBG에 putrescine이나 spermidine 또는 spermine을 첨가하는 경우 spermine 처리시 다소 부정근 형성이 회복되었는데, 본 실험에서는 MGBG보다는 다소 부정근 형성의 억제정도

가 낮았던 CHA를 처리함으로써 조직내 spermidine과 spermine의 함량을 제한하여 부정근 형성을 억제시키고, spermidine과 spermine을 각각 농도별로 동시 처리하여 spermidine과 spermine이 부정근 형성 회복에 미치는 영향을 확인한 다음, 이때의 조직내 polyamine의 항배와 함께 함량비를 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험에 사용된 대두(*Glycine max* L. cv '장엽') 종자는 강원도 농촌 진흥원으로부터 분양받아 사용하였다. 종자를 살균하여 암소에서 5일간 발아시킨 후 자엽을 폭 3 mm의 절편으로 만들어 실험구로 설정한 고행배지에 치상하여 25°C 암소에서 배양하였다.

실험구의 설정

CHA가 대두 자엽절편의 부정근 형성에 미치는 영향을 조사한 다음, 부정근 형성 배지(Ha et al., 1991)를 대조구로 하여, 부정근 형성이 약 77% 억제된 2.5×10^{-3} M CHA와 부정근 형성이 완전히 억제된 10^{-2} M CHA 처리구 각각에 10^{-6} - 10^{-3} M의 spermidine과 spermine을 혼합 처리하여 6일간 배양하면서 조직내 polyamine 함량 변화를 조사하였다.

Polyamine의 추출과 정량

대두 자엽의 신선중 500 mg에 ice-cold 5% perchloric acid (PCA) 2.5 mL를 넣고 homogenizer로 균질화한 후 $12,000 \times g$ 로 20분간 원심분리하여 그 상정액을 시료원으로 사용하였으며, polyamine의 정량은 thin layer chromatography (TLC)를 이용하여 Goren 등(1982)의 방법에 따라 electronic photofluorimeter (excitation: 350 nm, emission: 500 nm)에서 형광강도를 측정하여 정량하였다.

결 과

부정근 형성에 미치는 CHA와 Polyamine의 영향

대두 자엽의 부정근 형성배지에 CHA와 polyamine을 농도별로 혼합처리하여 2주간 경시적으로 관찰하면서 부정근 형성 정도를 관찰하였다(Fig. 1, Table 1).

CHA 단독처리시는 10^{-3} M, 2.5×10^{-3} M 및 5×10^{-3} M 처리구에서 각각 79%, 82% 및 91% 정도로 부정근 형성이

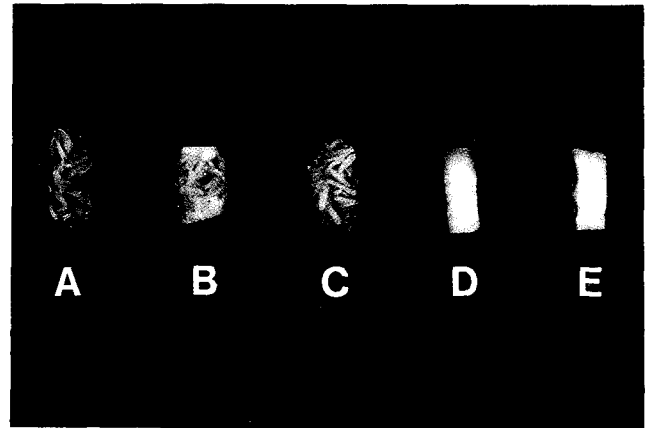


Figure 1. Effect of CHA and spermine on adventitious root formation from soybean cotyledonary segments after 2 weeks of incubation. A, Control: B, 2.5×10^{-3} M CHA: C, 2.5×10^{-3} M CHA + 10^{-4} M spermine: D, 10^{-2} M CHA: E, 10^{-2} M CHA + 10^{-4} M spermine.

억제되었고, 10^{-2} M 처리구에서는 부정근이 형성되지 않았다.

CHA와 spermidine 혼합처리시에는 10^{-3} M CHA에 spermidine을 농도별로 함께 처리한 경우 10^{-4} M spermidine 혼합처리구에서 부정근이 가장 많이 형성되어 약 39% 정도였으며, CHA 단독처리구보다는 약 18% 정도 부정근이 회복되었다. 2.5×10^{-3} M CHA의 경우도 10^{-4} M spermidine 동시처리구에서 CHA 단독 처리구보다 약 17% 부정근이 회복되었다. 또한 5×10^{-3} M CHA에 spermidine을 농도별로 함께 처리한 경우는 모든 처리구가 CHA 단독 처리구와 비슷하여 부정근 회복효과가 거의 없었고, 10^{-2} M CHA에 spermidine을 함께 처리한 경우는 단독 처리구와 마찬가지로 부정근이 형성되지 않았으며, 배지내로 미지의 물질이 방출되는 것이 관찰되었다.

CHA와 spermine 혼합처리구에서 10^{-3} M CHA에 spermine을 농도별로 함께 처리한 경우 10^{-6} M spermine에서 부정근이 가장 많이 형성되어 약 19% 회복되었고, 농도가 높아질수록 부정근 회복 효과가 없어서 10^{-3} M spermine에서는 부정근이 형성되지 않았다. 2.5×10^{-3} M CHA에 spermine을 농도별로 함께 처리한 경우는 10^{-4} M spermine에서 약 32% 부정근이 회복되었다. 5×10^{-3} M CHA에 spermine을 농도별로 함께 처리한 경우는 10^{-5} M spermine에서만 부정근 회복이 다소 관찰되었고, 그 밖의 농도에서는 단독처리구와 비슷하게 부정근이 형성되었다. 10^{-2} M CHA에 spermine을 농도별로 함께 처리한 경우는 단독 처리구와 마찬가지로 부정근이 형성되지 않았고 배지내로 미지의 물질들이 방출되는 것이 관찰되었다.

Putrescine 함량변화

Table 1. Effect of CHA, spermidine and spermine on adventitious root numbers formed from soybean cotyledonary segments after 2 weeks of incubation (No. of adventitious roots*).

Treatment		Concentration (M)			
		10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³
Control	71.0 ± 2.3	-	-	-	-
10 ⁻³ M CHA	15.5 ± 3.6	-	-	-	-
10 ⁻³ M CHA					
+ Spermidine	-	18.6 ± 2.3	19.2 ± 3.3	28.0 ± 2.8	13.2 ± 2.7
+ Spermine	-	29.3 ± 4.2	18.6 ± 2.7	12.3 ± 3.7	2.1 ± 0.7
2.5 × 10 ⁻³ M CHA	12.3 ± 2.5	-	-	-	-
2.5 × 10 ⁻³ M CHA					
+ Spermidine	-	17.3 ± 5.1	19.2 ± 3.1	24.2 ± 3.8	10.2 ± 3.4
+ Spermine	-	23.6 ± 5.0	26.7 ± 4.2	35.2 ± 5.0	2.6 ± 1.0
5 × 10 ⁻³ M CHA	5.0 ± 1.8	-	-	-	-
5 × 10 ⁻³ M CHA					
+ Spermidine	-	6.3 ± 1.2	7.6 ± 1.2	8.1 ± 3.0	7.4 ± 1.9
+ Spermine	-	8.5 ± 2.6	14.6 ± 4.0	13.2 ± 1.8	1.2 ± 0.79
10 ⁻² M CHA	none	-	-	-	-
10 ⁻² M CHA					
+ Spermidine	-	0	0	0	0
+ Spermine	-	0	0	0	0

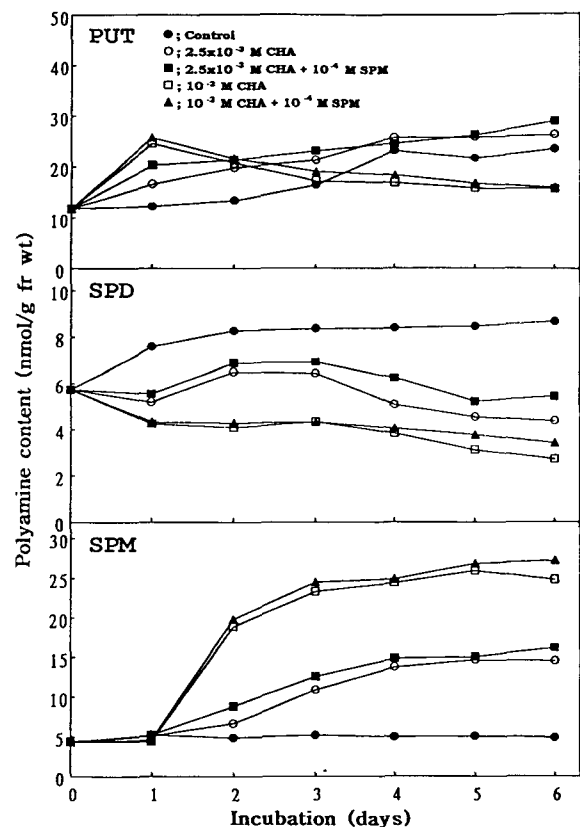
*Mean ± S.E.

대조구와 2.5 × 10⁻³ M CHA 처리구는 지속적으로 putrescine 함량이 증가하였으며, 10⁻² M CHA 처리구는 배양초기에 급증하였다가 감소하였다(Fig. 2). 대조구는 배양 1일 이후 4일까지 계속 증가하다가 배양 5일 이후 다소 감소하였으며, 2.5 × 10⁻³ M CHA 처리구는 배양 1일부터 대조구보다 putrescine 함량이 지속적으로 증가하였다. 2.5 × 10⁻³ M CHA와 10⁻⁴ M spermine 혼합 처리구에는 배양 1일에 2.5 × 10⁻³ M CHA 처리구보다 증가하여, 배양 5일 이후에는 다른 처리구보다 높은 경향을 보였다.

10⁻² M CHA 처리구는 배양 1일까지 증가하다가 그 이후 계속 감소하는 경향을 보였으며, 배양 3일 이후는 대조구보다 putrescine 함량이 낮게 나타났다. 10⁻² M CHA와 10⁻⁴ M spermine 혼합 처리구는 10⁻² M CHA 처리구에서와 유사한 경향을 보였으며, putrescine 함량은 다소 높게 나타났다.

Spermidine 함량변화

전 배양기간을 통하여 대조구에서 spermidine 함량이 가장 높았다(Fig. 2). 대조구는 배양 1일 이후 계속 증가하는 경향을 나타낸 반면, 2.5 × 10⁻³ M CHA 처리구는 대조구보다 spermidine 함량이 낮았고 배양 3일까지는 증가하다가 감소하였다. 2.5 × 10⁻³ M CHA와 10⁻⁴ M spermine 혼합 처리구는 배양 3일까지 증가하다가 그 이후 감소하였으며, 10⁻² M CHA 처리구는 배양 1일 이후 계속 감소하는 경향을 보여서 모든 처리구중에서 spermidine 함량이 가장 낮게 나타났다. 10⁻² M CHA와 10⁻⁴ M spermine 혼합처리구는 배양

**Figure 2.** Changes in putrescine (PUT), spermidine (SPD), and spermine (SPM) content on the effect of CHA and spermine during the formation of adventitious root from soybean cotyledonary segments.

1일에 급격하게 감소한 이후 지속적으로 감소하였다.

Spermine 함량변화

모든 처리구중에서 배양 1일을 제외하고 대조구가 spermine 함량이 가장 낮게 나타났다(Fig. 2). 2.5×10^{-3} M CHA 처리구는 배양 2일 이후 spermine 함량이 계속 증가하였으며, 2.5×10^{-3} M CHA와 10^{-4} M spermine 혼합처리구는 배양 1일 이후 계속 증가하였다. 10^{-2} M CHA와 10^{-4} M spermine 혼합처리구의 spermine 함량은 10^{-2} M CHA보다 높게 나타났는데, 배양 2일에 대조구보다 4배, 2.5×10^{-3} M CHA 처리구보다는 2배 정도 급격히 증가하였다.

고찰

CHA에 spermidine과 spermine을 각각 처리하여 부정근 형성정도를 조사한 결과(Fig. 1, Table 1) 2.5×10^{-3} M CHA와 spermine 혼합처리구에서 부정근 형성 회복능이 가장 높았다. 이처럼 2.5×10^{-3} M CHA 처리에 의하여 부정근 형성이 억제시 spermidine보다 spermine이 상대적으로 부정근 형성 회복 효과가 큰 것으로 미루어 1차적으로 spermidine보다는 spermine이 직접 부정근 형성에 관여한 것으로 추정할 수 있었다. 또한 spermidine에 의해서도 상당수의 부정근이 회복되었는데, 이러한 결과는 spermidine이 spermine으로 전환되어 부정근 형성을 회복시킨 것임을 짐작하게 한다. 그러나 10^{-3} M의 고농도 spermine 처리시에는 부정근 형성이 CHA 단독 처리시보다 현저히 억제되는 것으로 나타났는데, 이것은 부정근 형성이 polyamine의 농도에 따라 증가하는 것이 아니라 polyamine의 종류와 그 적정 농도가 중요하다는 것을 의미한다. 이에 따라 부정근 형성 정도에 따른 조직내부의 polyamine 종류와 함량 변화가 부정근 형성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 대두 자엽내 polyamine 함량을 조사하여(Fig. 2) competent time인 배양 4일(Han et al., 1994)을 중심으로 고찰하였다.

Putrescine 함량의 변화 양상은 대조구보다 CHA 처리구가 배양 3일까지 모두 높게 나타났으며, 배양 4일부터는 부정근 형성 억제가 심하지 않은 2.5×10^{-3} M CHA 단독 처리구와 2.5×10^{-3} M CHA와 spermine 혼합처리구는 외부 처리된 spermine의 농도에 관계 없이 대조구보다 putrescine 함량이 증가하였다. 이러한 결과는 담배 조직 박편을 이용한 CHA(Altamura et al., 1991)나 polyamine(Torrigiani et al., 1993) 처리 실험에서와 마찬가지로 부정근 형성시에는 배양 후기에 putrescine 함량이 대조구보다 CHA 처리구가 높다는 결과와 일치하는데, 이것은 CHA가 spermidine synthase를 억제한 결과(Evans and Malmberg, 1989)인 것으로 생각된다. 한편 본 실험에서 부정근 형성이 심하게 억제된 10^{-2}

Table 2. Ratios of polyamines during adventitious root formation from soybean cotyledonary segments treated with CHA and spermine for 6 days of incubation. PUT, Putrescine; SPD, spermidine; SPM, spermine.

Treatment	Incubation Days						
	0	1	2	3	4	5	6
PUT/SPD+SPM							
Control	1.17	0.95	1.02	1.21	1.73	1.62	1.75
2.5×10^{-3} M CHA	1.17	1.62	1.50	1.22	1.37	1.36	1.40
2.5×10^{-3} M CHA + 10^{-4} M SPM	1.17	1.89	1.35	1.18	1.16	1.31	1.35
10^{-2} M CHA	1.17	2.83	0.90	0.62	0.60	0.55	0.58
10^{-2} M CHA + 10^{-4} M SPM	1.17	2.87	0.90	0.66	0.63	0.55	0.52
PUT/SPD							
Control	2.06	1.60	1.61	1.96	2.76	2.59	2.74
2.5×10^{-3} M CHA	2.06	3.21	3.04	3.29	5.08	5.76	6.11
2.5×10^{-3} M CHA + 10^{-4} M SPM	2.06	3.67	3.08	3.32	3.93	5.11	5.40
10^{-2} M CHA	2.06	5.78	5.09	3.96	4.38	5.13	5.85
10^{-2} M CHA + 10^{-4} M SPM	2.06	5.95	5.06	4.41	4.52	4.48	4.71
PUT/SPM							
Control	2.70	2.34	2.74	3.14	4.65	4.32	4.86
2.5×10^{-3} M CHA	2.70	3.27	2.96	1.95	1.87	1.78	1.82
2.5×10^{-3} M CHA + 10^{-4} M SPM	2.70	3.91	2.40	1.83	1.65	1.77	1.80
10^{-2} M CHA	2.70	5.54	1.10	0.74	0.69	0.61	0.64
10^{-2} M CHA + 10^{-4} M SPM	2.70	5.54	1.09	0.78	0.74	0.63	0.59
SPD/SPM							
Control	1.31	1.46	1.70	1.61	1.68	1.67	1.77
2.5×10^{-3} M CHA	1.31	1.02	0.97	0.59	0.37	0.31	0.30
2.5×10^{-3} M CHA + 10^{-4} M SPM	1.31	1.07	0.78	0.55	0.42	0.35	0.33
10^{-2} M CHA	1.31	0.96	0.22	0.19	0.16	0.12	0.11
10^{-2} M CHA + 10^{-4} M SPM	1.31	0.93	0.22	0.18	0.16	0.14	0.13

M CHA 처리구는 spermine 처리와 관계 없이 배양 3일 이후에 대조구보다 putrescine 함량이 감소되었는데, 이러한 사실로 미루어 과도한 CHA 처리는 오히려 putrescine 함량을 저하시키며, spermine 첨가에도 불구하고 부정근이 회복되지 못하는 것은 과도한 CHA 처리에 의한 putrescine 감소와 관련이 있는 것으로 판단되었다.

Spermidine 함량의 변화양상은 모든 처리구에서 대조구보다 spermidine의 함량이 낮게 나타났는데, 이러한 spermidine의 함량 변화에 따른 부정근 형성은 Altamura 등(1991)과 Torrigiani 등(1993)의 결과와 역시 일치한다. 그리고 부정근 형성 회복능이 가장 활발한 2.5×10^{-3} M CHA와 spermine

혼합처리구에서 대조구 다음으로 spermidine의 함량이 높고, 그 다음이 2.5×10^{-3} M CHA 단독처리구였는데, 이로써 부정근 형성시 spermidine의 함량에 비례하여 부정근이 형성됨을 알 수 있었다.

Spermine 함량의 변화양상은 대조구에 비하여 모든 처리구에서 크게 증가하였는데, 이것은 Altman 등(1983)의 CHA 처리시 spermine이 증가한 실험결과와 일치한다. 그러나 본 실험결과는 부정근 형성구인 대조구와는 달리 spermine 함량이 대조구보다 많았던 2.5×10^{-3} M CHA 처리구나 2.5×10^{-3} M CHA와 spermine 혼합처리구의 부정근 형성은 이보다 적었다. 특히 10^{-2} M CHA 처리구나 10^{-2} M CHA와 spermine 혼합처리구에서는 이보다 월등히 spermine 함량이 많았음에도 불구하고 부정근이 형성되지 않은 것으로 미루어 spermine 증가가 곧 CHA에 의하여 억제된 부정근 형성을 회복시키는 것이 아니라 적절한 함량의 spermine이 부정근 형성 회복에 관여하고 있음을 시사한다고 하겠다. Han 등(1994)은 MGBG에 의한 부정근 형성 억제시 polyamine중 spermine만이 부정근 회복효과가 있으며, 이때 대조구에 비하여 putrescine과 spermidine 함량은 낮았던 반면 spermine 함량은 높다고 하였는데, 이로써 MGBG나 CHA 등에 의하여 대두 자엽의 부정근 형성이 억제될 때 부정근 회복을 위하여서는 polyamine 중 spermine 첨가가 효과적이며, 이에 따른 조직내 적정 spermine 함량 유지가 수반되어야 한다는 것을 알 수 있었다. 그러나 이처럼 spermidine이나 spermine 첨가에도 불구하고 부정근 형성이 대조구 수준으로 회복되지 않는 것은 CHA나 polyamine의 첨가가 단순히 polyamine 함량 변화이외의 다른 영향을 미치는 까닭인 것으로 추정된다.

Santos 등(1993)은 식물의 기관분화시 각 polyamine 함량비와 관련하여 체세포배 형성시 spermidine과 spermine 총량에 대한 putrescine 함량비를 조사하였으며, Friedman 등(1982)은 녹두 하배축 부정근 형성시 competent time인 24시간(Dhindsa, et al., 1987) 이후의 spermidine에 대한 putrescine의 함량비를 조사하였는데, 이를 근거로 가장 부정근 형성이 좋은 대조구를 기준으로 각 실험구의 부정근 형성정도에 따른 polyamine의 함량비를 조사하여(Table 2) competent time인 4일부터의 함량비를 중심으로 고찰하였다.

Spermidine과 spermine 총량에 대한 putrescine 함량비(PUT/SPD + SPM)가 대조구에서는 큰 변화가 없었다. 부정근 형성이 없었던 10^{-2} M CHA 및 spermine 첨가구에서는 1/2 수준으로 현저히 감소하였으나 부정근 억제정도가 낮았던 2.5×10^{-3} M CHA 및 spermine 첨가구에서는 대조구에 비하여 다소 낮은 수준이었는데, 이는 담배에서 부정근 형성시 Putrescine 함량비가 높았던 것(Tiburcio et al., 1989)과 일치한다. Spermidine에 대한 putrescine 함량비(PUT/SPD)는 대조구에서 역시 큰 변화가 없었던 것에 비하여 CHA를 포함하는 실험구는 현저히 증가하였으며, 부정근 형성 정도

에 따른 일관성은 발견할 수 없었다. Spermine에 대한 putrescine 함량비(PUT/SPM)는 대조구에서 그 비율이 높고 배양 경과에 따라 증가하였는데, 부정근 억제정도가 낮았던 2.5×10^{-3} M CHA 단독 또는 spermine 첨가구에서는 대조구에 비하여 1/3-1/2 수준으로 부정근 형성이 없었던 10^{-2} M CHA를 포함하는 실험구가 1/8-1/6 수준인 것에 반하여 대조구에 근접하였다. 한편 spermine에 대한 spermidine 함량비(SPT/SPM)는 가장 부정근 형성이 좋았던 대조구가 함량비가 제일 높았으며, 또한 대체로 일정 수준을 유지하였다. 그 다음 부정근 형성 순서에 따라 2.5×10^{-3} M CHA와 spermine 혼합처리구, 2.5×10^{-3} M CHA 단독처리구, 10^{-2} M CHA와 spermine 혼합처리구 및 10^{-2} M CHA 단독처리구 순이었다. 이처럼 spermidine에 대한 putrescine 함량비가 부정근 형성정도와 일관성이 없는 데 반하여 spermine을 기준으로 한 함량비는 대체로 일관성이 있었으며, 특히 spermine에 대한 spermidine의 함량비가 부정근 형성 정도와 일치하였다. 이러한 결과는 녹두를 이용한 Jarvis 등(1983)과 Tiburcio 등(1989)의 부정근 형성과 polyamine 저해제 실험결과나 Kaur-Sawhney 등(1985)의 실험결과와 대체로 일치하였다. 즉 putrescine이나 spermidine에 대한 각 polyamine의 함량비는 부정근 형성과 관련하여 일관성이 없는 반면 spermine에 대한 spermidine의 함량비는 부정근 형성정도에 따라 감소하여 최상의 부정근 형성구에서 가장 낮았으며, 부정근 형성이 낮을수록 증가하였다.

이상의 실험결과와 추론을 통하여 대두 자엽에서 CHA에 의한 부정근 형성억제는 spermine 첨가에 의하여 회복되며, competent time 이후의 putrescine의 증가가 부정근 형성을 증가시킨 반면 spermidine의 감소와 spermine 증가는 부정근 형성을 억제하였다. 그리고 spermine 함량이나 spermine에 대한 spermidine의 함량비는 부정근 형성에 있어서의 중요 지표가 될 수 있을 것으로 기대된다.

적 요

Cyclohexylamine(CHA)에 의한 부정근 억제가 spermidine과 spermine에 의한 부정근 형성 회복에 미치는 영향을 알아 보고자 대두 자엽 절편을 이용하여 조직내의 polyamine 함량을 조사하였다. 부정근 형성 배지에 CHA를 처리한 결과 10^{-2} M CHA 처리시에는 spermidine이나 spermine을 혼합처리함에도 불구하고 부정근이 형성되지 않았다. 또한 2.5×10^{-3} M CHA 단독처리시에는 부정근 형성이 억제되었으나, 10^{-4} M spermine 혼합처리시에는 부정근 형성능이 회복되었다. Putrescine 함량은 부정근이 형성되지 않았던 10^{-2} M CHA 단독 처리구 및 10^{-2} M CHA와 10^{-4} M spermine 혼합처리구에서는 배양 3일 이후 대조구보다 감소하였지만 부정근이 다소 형성되었고, 부정근 회복능이 가장 높았던 25

$\times 10^{-3}$ M CHA와 10^{-4} M spermine 혼합처리구에서는 대조구보다 높은 함량을 나타내었다. Spermidine 함량은 모든 처리구에서 대조구보다 낮아서 함량이 낮을수록 부정근 형성이 억제되었으며, spermine의 함량은 대조구에 비하여 모든 처리구에서 급격히 증가되어 대조구에 비하여 함량이 높을수록 부정근 형성이 억제되었다.

인 용 문 헌

- Altman A, Friedman R, Levin N** (1983) Alternative metabolic pathways for polyamine biosynthesis in plant development. *In* U Bachrach, A Kaye, R Chayen, eds, *Advances in Polyamine Research*, Vol 4. Raven Press, New York, pp 395-408
- Altamura MM, Torrigiani P, Capitani F, Scaramagli S, Bagni N** (1991) *De novo* root formation in tobacco thin layers is affected by inhibition of polyamine biosynthesis. *J Exp Bot* 42: 1575-1582
- Bagni N, Malucelli B, Torrigiani P** (1980) Polyamine storage substances and abscisic acid-like inhibitors during dormancy and very early activation of *Helianthus tuberosus*. *Physiol Plant* 49: 341-345
- Berotossi FN, Bagni GM, Calderara CM** (1965) *Experientia* 21: 81
- Biondi S, Diaz T, Iglesias I, Gamberini G, Bagni N** (1990) Polyamines and ethylene in relation to adventitious root formation in *Prunus avium* shoot cultures. *Physiol Plant* 78: 474-483
- Desai HV, Mehta AR** (1985) Changes in polyamine levels during shoot formation, root formation, and callus induction in cultured *Passiflora* leaf discs. *J Plant Physiol* 119: 45-53
- Dhindsa SR, Dong G, Lalonde L** (1987) Altered gene during expression a auxin-induced root development from excised mung bean seedling. *Plant Physiol* 94: 1148-1153
- Evans PT, Holaway BL, Malmberg RL** (1988) Biochemical differentiation in the tobacco flower probed with monoclonal antibodies. *Planta* 175: 259-269
- Evans PT, Malmberg R** (1989) Do polyamine have role in plant development? *Annu Rev Plant Physiol and Plant Mol Biol* 40: 235-269
- Feirer R, Mignon G, Litvay J** (1984) Arginine decarboxylase and polyamines required for embryogenesis in the wild carrot. *Science* 223: 1433-1435
- Fienberg AA, Choi JH, Lubich WP, Sung ZR** (1984) Developmental regulation of polyamine metabolism in growth and differentiation of carrot culture. *Planta* 162: 532-539
- Friedman R, Altman A, Bachrach U** (1982) Polyamines and root formation in mung bean hypocotyl cuttings. I. Effects of exogenous compounds and changes in endogenous polyamine content. *Plant Physiol* 70: 844-848
- Friedman R, Altman A, Bachrach U** (1985) Polyamines and root formation in mung bean hypocotyl cuttings. II. Incorporation of precursors into polyamines. *Plant Physiol* 79: 80-83
- Goren R, Palavan N, Flores H, Galston AW** (1982) Changes in polyamine titer in etiolated pea seedlings following red-light treatment. *Plant Cell Physiol* 23: 19-26
- Ha Keon-Soo, Han TJ, Jo SH** (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
- Han TJ** (1994) Changes in specific protein profiles during initiation of adventitious roots in soybean (*Glycine max* L.) cotyledons. *Korean J Plant Tissue Culture* 21: 123-129
- Han TJ, Lee DW, Lee SH** (1994) Effects of polyamine inhibitors and polyamines on adventitious root formation from soybean cotyledons. *Korean J Plant Tissue Culture* 21: 106-110
- Jarvis BC, Shannon PRM, Yasmin S** (1983) Involvement of polyamines with adventitious root development in stem cuttings of mung bean. *Plant Cell Physiol* 24: 677-683
- Jarvis BC, Yasmin S, Coleman MT** (1985) RNA and protein metabolism during adventitious root formation in stem cuttings of *Phaseolus aureus* cultivar berkin. *Physiol Plant* 64: 53-59
- Kaur-sawhney R, Shekhawat N, Galston AW** (1985) polyamine levels as related to growth, differentiation and senescence in protoplast-derived cultures of *Vigna aconitifolia* and *Avena sativa*. *Plant Growth Regulation* 3: 329-337
- Kaur-Sawhney R, Tiburcio AE, Galston AW** (1988) Spermidine and flower-bud differentiation in thin-layer explants of tobacco. *Planta* 173: 282-284
- Montague M, Koppenbrink J, Jaworski E** (1978) Polyamine metabolism in embryogenic cells of *Daucus carota*. I. Changes in intracellular content and rates of synthesis. *Plant Physiol* 62: 430-433
- Palavan-Unsal N, Galston AW** (1982) Polyamine biosynthesis and titer during various development stages of *Phaseolus vulgaris*. *Physiol Plant* 55: 438-444
- Santos M, Claparols I, Torne JM** (1993) Effect of exogenous arginine, ornithine, methionine and γ -amino butyric acid on maize (*Zea mays* L.) embryogenesis, and polyamine content. *J Plant Physiol* 142: 74-80
- Serafini-Fracassini D, Torrigiani P, Branca C** (1984) Polyamines bound to nucleic acids during dormancy and activation of tuber cells of *Helianthus tuberosus*. *Physiol Plant* 60: 351-357
- Shen HJ, Galston AW** (1985) Correlation between polyamine ratios and growth patterns in seedling roots. *Plant Growth regulation* 3: 353-363
- Tiburcio AE, Gendy CA, VAn KTT** (1989) Morphogenesis in tobacco subepidermal cells: putrescine as marker of root differentiation. *Plant Cell, Tissue and organ Culture* 19: 43-54
- Torrigiani P, Serafini-Fracassini D, Bagni N** (1987) Polyamine biosynthesis and effect of dicyclohexylamine during the cell cycle of *Helianthus tuber*. *Plant Physiol* 84: 148-152
- Torrigiani P, Altamura MM, Capitani F, Serafini-Fracassini D, Bagni N**

(1989) *De novo* root formation in thin cell layers of tobacco: changes in free and bound polyamines. *Physiol Plant* 77: 294-301

Torrigiani P, Altmura MM, Scaramagli S, Capitani F, Falasca G, Bagni N (1993) Regulation of rhizogenesis by polyamines in tobacco thin layers. *J Plant Physiol* 142: 81-87

Tran Thanh Van KM (1973) Direct flower neof ormation from superficial tissues of small explants of *Nicotiana tabacum*. *Planta* 115: 87-92

(1994년 6월 15일 접수)