

생장억제제 처리가 기내 배양한 나도풍란 (*Sedirea japonica*) 유묘의 유리당 및 단백질 함량에 미치는 영향

조동훈¹, 지선옥^{2*}

¹경북대학교 원예학과, ²중부대학교 생명공학과

Effect of Growth Retardants on Free Sugar and Protein Content of *Sedirea japonica* Seedlings Cultured In Vitro

Dong Hoon Cho¹, Sun Ok Jee^{2*}

¹Department of Horticulture, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

²Department of Biotechnology, Joongbu University, Chungnam 312-702, Korea

ABSTRACT This experiment was conducted to identify the effect of several plant growth retardants on changes of endogenous free sugar and protein content in seedlings of *Sedirea japonica* cultured in vitro. The content of free sugar in the leaf was decreased as the treated growth retardant concentration was increased. Glucose content was higher than fructose and sucrose content in the leaf. Free sugar content of the root was increased as concentrations of growth retardants were increased. Sucrose content was higher compared with the content of fructose and glucose. The content of protein in the leaf was decreased as the growth retardants concentration was increased, but the tendency of protein content in the root was contrary to that in the leaf.

Key words: Free sugar, Growth retardant, *Sedirea japonica*

서 론

나도풍란 (*Sedirea japonica*)은 소형의 착생, 단경성란으로 한국 및 일본의 남부지역에 자생하고 있다 (Bechtel et al. 1992). 우리나라에서는 제주도, 홍도, 흑산도 등 서남해안 도서지방에 분포하고 있으며, 잎은 두껍고 윤기가 있으며 7~8월경에 줄기 기부에서 화경이 발생하여 6~10개의 향기가 우수한 꽃이 피는 것으로 알려져 있다 (Lee 1985; Lee 1989).

식물생장억제제는 식물체의 절간 및 잎의 생장을 억제하고 뿌리를 굵어지게 한다 (Graebe 1987; Larson 1985). 이와 같은 현상은 생장억제제가 주로 성장촉진 호르몬인 지베렐린 생합성을 억제하는 anti-gibberellin으로 작용

하기 때문에 발생하는 것으로 알려져 있으며 (Steffens et al. 1985), 이러한 생리적 변화는 세포의 형태적 특징 및 해부학적 특성의 변화를 가지고 오는 것으로 보고되었다 (Jee et al. 2000; Park 2000).

식물생장억제제 처리에 의한 내생물질 함량의 변화는 탄수화물 및 유리당의 경우 춘란에서 잎과 위구경 모두 생장억제제인 Uniconazole을 처리하였을 때가 처리하지 않았을 때 보다 높았다고 하였으며, 특히 춘란의 저장기관이라 할 수 있는 위구경의 탄수화물 및 당 함량은 상당히 높았던 것으로 알려져 있다 (Park 2000; Park et al. 2001). 생장억제제인 Paclobutrazol 처리에 의한 땅콩의 단백질 함량 변화에 대한 연구 (Lee 1987)에서 땅콩의 품종에 따라서 다소 차이는 있었으나 조생 및 중생종 품종에서 Paclobutrazol 엽면 살포에 의해 땅콩의 단백질 함량이 대조구에 비하여 높아졌다고 보고하였다.

*Corresponding author Tel 041-750-6713 Fax 041-750-6380

E-mail: sojee@joongbu.ac.kr

본 연구는 식물생장억제제인 Uniconazole, Ancymidol, Paclobutrazol을 배지에 몇 가지 농도로 첨가하여 생장억제제의 종류 및 농도에 따른 나도풍란 유묘의 내생물질 중 유리당, 탄수화물, 단백질의 함량을 조사함으로써 나도풍란에 있어서 식물생장억제제의 시용이 내생물질의 함량 변화에 미치는 영향을 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 배양조건

나도풍란 (*Sedirea japonica*) 유묘 육성용 배지 (Chung et al. 1983)인 Hyponex 3 g/L, peptone 2 g/L, 활성탄 0.5 g/L, 바나나 30 g/L, 사과 30 g/L, 감자 20 g/L, sucrose 30 g/L, 한천 8 g/L인 배지의 pH를 5.2로 조정된 배지에서 배양한 유식물체 (엽장 : 23.8 mm, 엽폭 : 8.0 mm)를 실험재료로 사용하였다. 배양은 100 mL의 배지를 분주한 750 mL 사각 배양병에 Table 1과 같은 생장억제제[Ancymidol (A-Rest : DowElanco), Paclobutrazol (Bonzi : Uniroyal Chemical Co.), Uniconazole (Sumagic : Vlent U.S.A Corporation)]를 농도별로 혼용한 배지에 8개체씩 각 7반복으로 이식하여 배양하였으며, 매 4주 간격으로 4회에 걸쳐 계대 배양하였다. 배양은 온도 $24 \pm 1^\circ\text{C}$, 광도 2,000 lux, 광주기는 명기 16시간, 암기 8시간이었으며, 최초 이식일로부터 16주간 배양하였다.

유리당 함량 분석

유리당 함량 분석을 위하여 HPLC (High Performance Liquid Chromatography)를 이용하였다. 나도풍란의 지상부 및 지하부를 각각 생체중 10 g씩 채취하여 균질분쇄기 (homogenizer)를 이용하여 80% MeOH 100 mL과 함께 분쇄하였고, 분쇄 후 48시간동안 진탕 (50 rpm)하였다. 진탕 후 여과지 (Toyo No. 1)를 통해 1차 여과를 하였고, 여과액을 다시 원심분리 (3,000 rpm, 10분)시켜 그 상등액을 취하여 Sep-Pak cartridge와 membrane filter (0.2 μm)를 이용하여 여과시키고 여과액을 ampule에 넣어 (Table 1)과 같은 조

건으로 HPLC를 실시하여 glucose, fructose, sucrose의 함량을 조사하였다.

단백질 함량 분석

식물체내 단백질 함량을 조사하기 위해 Lowry 등 (1951)의 방법에 의해 분석을 실시하였다. 유리당 함량 분석의 방법과 같이 시료를 준비하여 시험관 (1.5 cm \times 15 cm)에 시료용액 0.1 mL와 단백질 표준용액 (bovine serum albumin standard)에 2N NaOH를 0.1 mL씩을 각각 첨가하고 100°C 에서 10분간 가수분해 후 상온에서 용액이 완전히 식을 때까지 방치하였다가 혼합시약 (2% Na_2CO_3 : 1% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: 2% sodium potassium tartrate = 100 : 1 : 1)을 1 mL씩 첨가한 후 실온에서 10분간 방치하고 folin 시약 0.1 mL를 첨가 후 vortex mixer로 잘 혼합하여 실온에서 30분간 방치하였다. 이 시료를 30분 후 UV-VIS spectrophotometer (UV-1201, Shimadzu)를 이용해 550 nm에서 흡광도 (Optical Density)를 측정하였고, 단백질 표준용액의 흡광도로 단백질 함량 표준곡선을 작성하여 각각의 처리별 단백질 함량을 조사하였다.

결과 및 고찰

유리당 함량

식물생장억제제의 종류별, 농도별 처리에 의한 식물체 지상부의 유리당 함량 (Table 2)에서 fructose는 생장억제제의 종류 및 농도에 따른 함량의 차이가 거의 없었으며, Glucose의 경우 대조구와 비교하여 Uniconazole 처리는 0.05 mg/L 처리에서는 다소 높았으나 0.5 mg/L 처리에서는 오히려 낮아지는 경향이였다. Ancymidol은 0.2 mg/L 처리에서 함량이 높았고, 0.6 mg/L와 1.0 mg/L 처리에서는 대조구보다 낮았다. Paclobutrazol 처리는 모든 농도에서 대조구보다 낮았으나 처리농도 별로 볼 때 농도가 높아짐에 따라 함량은 낮아지는 경향이였다. Glucose 함량은 Uniconazole 0.05 mg/L처리에서 가장 높았고, Ancymidol 처리에서는 0.6 mg/L와 1.0 mg/L 처리에서 낮았다. Paclobutrazol은 모

Table 1. The operating conditions of HPLC for free sugar analysis

Item	Conditions
HPLC	Waters, Model 510
Column	ID4.6 \times 250mm carbohydrate column (waters co.)
Detector	RI detector (Model 410, Waters)
Column Temperature	32°C
Flow rate	10 μl , 1.0 ml/min
Mobil phase	80% acetonitrile (isocratic)

Table 2. Effect of growth retardants on free sugar content of leaf of *Sedirea japonica* cultured in vitro

Treatment	Concentration (mg/L)	Leaf (%)		
		Fructose	Glucose	Sucrose
Control	0.0	0.010±0.001 ^w	0.192±0.005	0.058±0.002
Uniconazole ^z	0.05	0.012±0.000	0.206±0.012	0.060±0.003
	0.2	0.010±0.002	0.194±0.007	0.052±0.000
	0.5	0.009±0.001	0.184±0.004	0.040±0.001
Ancymidol ^y	0.2	0.012±0.001	0.200±0.018	0.064±0.004
	0.6	0.011±0.000	0.142±0.007	0.052±0.000
	1.0	0.010±0.001	0.138±0.009	0.048±0.000
Paclobutrazol ^x	0.1	0.012±0.000	0.174±0.011	0.084±0.005
	0.3	0.010±0.001	0.168±0.001	0.072±0.001
	0.5	0.009±0.001	0.154±0.003	0.041±0.000

Trade name ; ^zSumagic, ^yA-Rest, ^xBonzi

^wFigures were represented as mean value±standard error.

Table 3. Effect of growth retardants on free sugar content of root of *Sedirea japonica* cultured in vitro

Treatment	Concentration (mg/L)	Root (%)		
		Fructose	Glucose	Sucrose
Control	0.0	0.036±0.002 ^w	0.086±0.003	0.132±0.010
Uniconazole ^z	0.05	0.028±0.002	0.068±0.005	0.114±0.009
	0.2	0.034±0.003	0.088±0.002	0.118±0.007
	0.5	0.042±0.002	0.140±0.010	0.130±0.005
Ancymidol ^y	0.2	0.032±0.001	0.092±0.009	0.104±0.006
	0.6	0.038±0.001	0.136±0.010	0.132±0.010
	1.0	0.052±0.003	0.176±0.008	0.144±0.008
Paclobutrazol ^x	0.1	0.040±0.005	0.128±0.001	0.108±0.004
	0.3	0.044±0.001	0.136±0.003	0.130±0.007
	0.5	0.048±0.000	0.168±0.005	0.190±0.001

Trade name ; ^zSumagic, ^yA-Rest, ^xBonzi

^wFigures were represented as mean value±standard error.

든 처리 농도에서 다른 종류의 생장억제제 처리보다 비교적 낮은 편이었으며 농도별 차이도 크지 않았다. Sucrose 함량은 모든 처리에서 대조구 보다는 다소 높았으며, Paclobutrazol 0.1 mg/L 처리에서 가장 높았다. 위의 조사된 3가지 종류의 유리당 중 지상부에서는 glucose의 함량이 가장 높았고, 다음이 sucrose, fructose의 순이었다.

지하부의 유리당 함량 (Table 3)은 fructose의 경우 대조구와 비교해 다소 높은 함량을 나타내었고, 식물생장억제제의 종류별, 농도별 처리에서는 Ancymidol 1.0 mg/L 처리에서 비교적 높은 함량을 나타내었으며, Paclobutrazol 처리는 다른 처리에 비하여 대체적으로 높은 편이었다. Fructose의 경우 지상부의 함량보다 3배 이상 높았다. Glucose의 함량은 Ancymidol 1.0 mg/L 처리에서 가장 높았으며 처리농도가 높아짐에 따라 함량도 높아지는 경향이었다. Sucrose

의 함량은 Paclobutrazol 0.5 mg/L 처리에서 가장 높았다. 지하부의 경우는 지상부의 유리당 함량과는 달리 sucrose 함량이 비교적 가장 높았고, 다음이 glucose, fructose의 순이었으며, fructose 함량은 지상부의 경우와 마찬가지로 가장 낮았으나 지상부의 fructose 함량보다 3배 이상 높았다. 그러나 Uniconazole 0.05 mg/L과 Ancymidol 0.1 mg/L에서는 오히려 glucose가 sucrose 함량보다 높아 억제제 종류 또는 농도별로 함량의 변화를 보였다. 이상의 결과로 볼 때 식물체내 유리당 함량은 지상부의 경우 처리농도가 높아질수록 낮아지는 반면 지하부는 농도가 높아짐에 따라 함량도 높아지는 경향이었다. Paclobutrazol 처리가 사과나무 부위별 전분축적 양상에 관한 연구에서 Byun 등 (1984)은 Paclobutrazol 처리는 과실에, 무처리구는 잎에 보다 많은 탄수화물을 함유하였다고 하였으며, 춘란에 있어 광합성 산

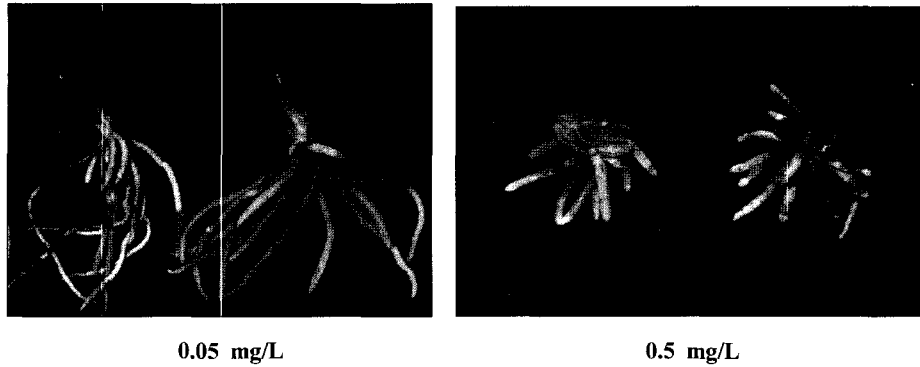


Figure 1. Effect of Uniconazole on the morphological changes of *Sedirea japonica* cultured in vitro.

물인 당의 부위별 함량은 화기, 위구경, 엽신, 엽초의 순으로 화기와 위구경의 당 함량이 다른 기관에 비해 월등히 많았다고 보고하였고 (Paek et al. 1995), Kim과 Suzuki (1989)는 Uniconazole 처리에 의해 지상부 억제부위의 유리당 함량이 감소하고 지하부의 함량은 대조구에 비해 증가한다고 하였는데 Figure 1에서 보는 바와 같이 저농도 처리에서는 지상, 지하부 모두 생육이 왕성하였으나 고농도 처리에서는 지상부의 생육은 매우 억제되는 모습을 보였으며, 지하부의 생육도 억제되었으나 뿌리의 직경은 늘어나고 길이는 줄었으며, 뿌리의 수는 다소 늘어나는 경향을 보여 이상의 보고와 일치하는 경향을 나타내었다. 또한 Park (2000)과 Park 등 (2001)도 춘란에 Uniconazole을 처리했을 때 잎에는 탄수화물 함량이 감소하였으나 저장기관인 위구경에서는 오히려 탄수화물 함량이 크게 증가하였다고 하여 저장기관인 뿌리의 유리당 함량이 증가된 본 연구의 결과와 유사하였다.

단백질 함량

단백질 함량 (Figure 2)은 지상부의 경우 대조구와 비교할 때, 비교적 높은 경향을 나타내었고, Ancymidol 0.1 mg/L 처리에서 0.591%로 함량이 가장 높았으며, Uniconazole은 0.05 mg/L에서 가장 높았으나 0.5 mg/L에서는 함량이 처리 중 가장 낮았다. Ancymidol 처리에서는 0.2 mg/L에서 단백질 함량이 가장 높았으며, 0.6 mg/L와 1.0 mg/L 처리에서는 함량이 비슷하였다. Paclobutrazol 처리에서는 0.1 mg/L에서 가장 높았고, 0.5 mg/L 처리에서 가장 낮았다. 지하부의 단백질 함량은 Uniconazole 0.5 mg/L 처리에서 가장 높았고, Ancymidol은 1.0 mg/L 처리에서 전체 처리 중 0.614%로 가장 높았다. Paclobutrazol 처리는 0.1 mg/L와 0.3 mg/L 처리가 각각 0.600%와 0.602%로 거의 비슷하였으며, 0.5 mg/L에서는 0.613%로 다소 높아지는 경향이였다.

지상부의 경우 식물생장억제제를 저농도로 처리했을 때

단백질 함량이 높았고, 고농도 처리에서 낮아져 저농도 처리에 의해 지상부의 단백질 함량이 높아지는 결과를 나타내었다. 지하부는 전반적으로 대조구보다 단백질 함량이 높았으며 고농도 처리에서 상당히 증가되었다. 즉 지하부는 식물생장억제제 농도가 높아질수록 단백질 함량이 높아져 지상부와 대조적인 결과를 나타내었다.

생장억제제인 Paclobutrazol 처리에 의한 땅콩의 단백질 함량 변화에 대한 연구에서 Lee (1987)는 땅콩의 품종에 따라서 다소 차이는 있었으나 조생 및 중생종 품종에서 Paclobutrazol 엽면 살포에 의해 땅콩의 단백질 함량이 대조구에 비하여 높아졌다고 보고하였다. Kim과 Suzuki (1989)도 *Zinnia elegans*에 대한 식물생장억제제 Uniconazole 처리가 식물체내 효소활성변화에 미치는 영향을 알아보기 위한 단백질 함량조사에서 지상부인 줄기에서의 단백질 함량은 낮았으며, 지하부의 함량은 오히려 증가하였다고 하였는데, 이는 생장억제제 처리가 저장기관인 열매와 뿌리에 단백질의 함량을 증가시킨다는 것을 뒷받침하는 증거로서 단자엽 식물인 나도풍란에서도 식물생장억제제 처리가 지하부의 단백질 함량 증가에 영향을 미치는 것으로 생각되었다.

적 요

본 연구는 나도풍란의 기내 배양에서 몇 가지 종류의 식물생장억제제의 농도별 처리가 식물체 내 유리당 및 단백질 함량에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실시되었다. 잎의 유리당의 함량은 생장억제제의 처리 농도가 높아짐에 따라 감소하는 경향이었고, 분석된 유리당 중 glucose의 함량이 가장 높았다. 뿌리의 유리당 함량은 잎과는 반대로 생장억제제 처리 농도가 높아짐에 따라 함량도 같이 높아지는 경향이였으며, 조사된 유리당 중 sucrose의 함량이 비교적 가장 높았다. 잎의 단백질 함량은 생장억제제 처리농도가 높아짐에 따라 감소하는 경향이였으나, 뿌리에서는 증가하는 경향을 나타내었다.

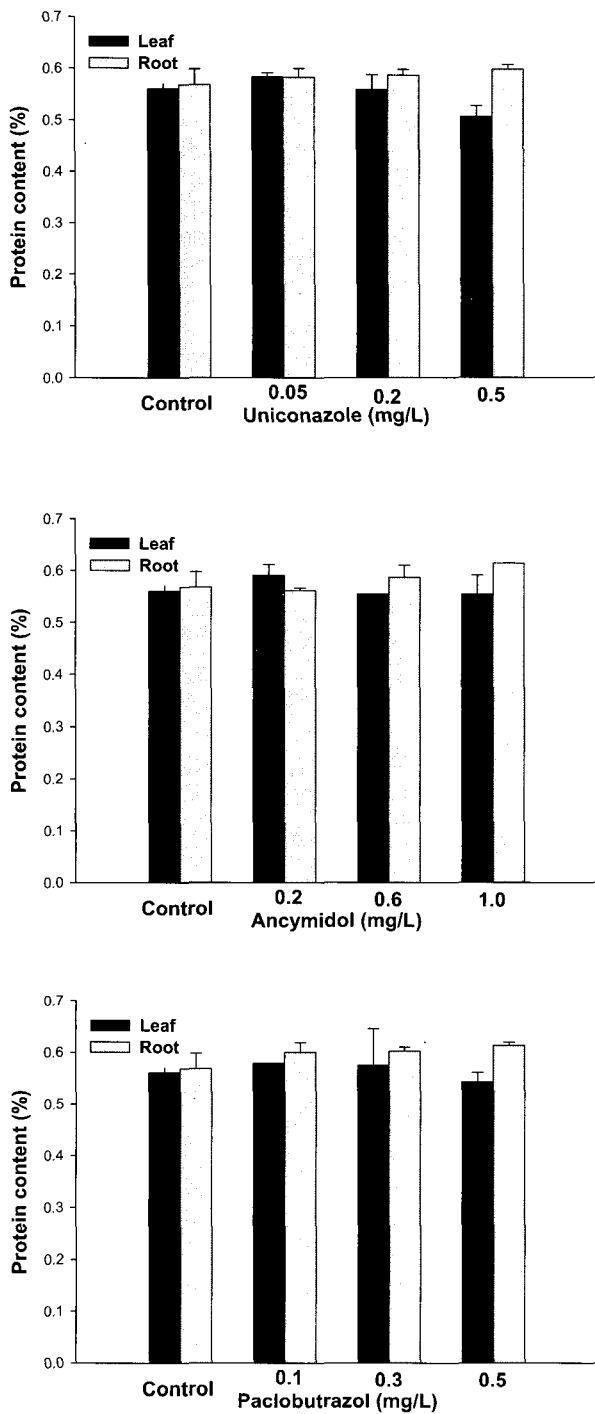


Figure 2. Effect of growth retardants on protein content of *Sedirea japonica* cultured in vitro.

인용문헌

Bechtel H, Cribb P, Launert E (1992) The manual of cultivated orchid species. 3rd ed pp 512 Blandford London

- Byun JK, Wang SY, Steffens GL (1984) Controlling Plant Growth Via the Gibberellin Biosynthesis System; II. Carbohydrates Alterations by GA₃ and Paclobutrazol in Apple Seedlings, HORTICULTURE ABSTRACTS Vol. 2 No. 2, pp 68-69
- Chung JD, Chun CK, Kim SS (1983) Asymbiotic Germination and Plant Culture of *Aerides japonicum* (I) Selection of Suitable Medium and Culture Condition for Germination and Effect of Hyponex, Peptone, and Several Nutrient Supplements on Growth of Seedlings. HORTICULTURE ABSTRACTS Vol. 1 No. 2, pp 52-53
- Graebe JE (1987) Gibberellin biosynthesis and control. Annu Rev Plant Physiol 318: 419-465
- Jee SO, Chung JD, Park YK, Kim HY (2000) Effects of growth retardants on the morphogenesis and GA-like substance activity of *Bletilla striata* in vitro. J Kor Soc Hort Sci 41: 409-414
- Kim HY, Suzuki Y (1989) Changes in assimilated ¹³C distribution and soluble acid invertase activity of *Zinnia elegans* induced by uniconazole an inhibitor of gibberellin biosynthesis. Plant physiol 90: 316-321
- Larson RA (1985) Growth regulators in floriculture. Hort Rev 7: 399-481
- Lee CB (1989) Illustrated flora of Korea. Hyangmunsa, Seoul, pp 246
- Lee HS (1987) Effects of a growth retardant Paclobutrazol on the oil, protein content and fatty acid composition of peanut (*Arachis hypogaea* L.). KJWS 9: 250-261
- Lee J (1985) The wild orchid of Korea. Jangsung publisher, Seoul, pp 201-204
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AI, Randall RJ (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem 193: 265-275
- Paek KY, Kim HY, Kim TJ, Park SK, Son KC, Suh JH (1995) From beginning to management of *Cymbidium* culture. The nongmin press, Seoul, pp 150
- Park JS (2000) Studies on habitat environment and flowering physiology of *Cymbidium goeringii*. PhD thesis, Kyungpook national university, Daegu
- Park JS, Chung JD, Kim HY (2001) Influence of Uniconazole and GA on Flower bud formation, carbohydrate content and GA-like substance activity of *Cymbidium goeringii*. J Kor Soc Hort Sci 42: 591-595
- Park YK (2000) Effect of plant growth retardants on the growth of *Aerides japonicum* and *Bletilla striata* cultured in vitro. MS thesis, Kyungpook national university, Daegu
- Steffens GL, Wang SY, Faust M, Byun JK (1985) Controlling plant growth via the gibberellin biosynthesis system. I. Growth parameter alterations in apple seedlings. Physiol Plant 63: 163-168

(접수일자 2005년 6월 2일, 수리일자 2005년 6월 8일)