

광조건에서 Putrescine이 잘라낸 배추잎의 노쇠과정에 미치는 효과

趙亨澤·洪英男

(서울대학교 自然科學大學 植物學科)

Effects of Putrescine on Senescence in Detached Leaves of Chinese Cabbage in the Light

Cho, Hyung Taek and Young-Nam Hong

(Department of Botany, Seoul National University, Seoul)

ABSTRACT

Effects of putrescine on senescence in detached leaves of Chinese cabbage (*Brassica campestris* L.) in the light were investigated. The putrescine as a potent antisenesescence substance markedly inhibited chlorophyll and protein loss at the 10 mM concentration in the detached leaves during the dark incubation. In the light, however, putrescine showed the opposite effects to dark incubation. The chlorophyll loss by putrescine in the light was stopped with dark-transfer, and inhibited competitively by a divalent cation Ca^{2+} . In the light, putrescine reduced the protease activity. Putrescine, in the light, increased H_2O_2 content and reduced the activities of enzymes -superoxide dismutase (EC 1.15.1.1), peroxidase (EC 1.11.1.7), catalase (EC 1.11.1.6)- involved in inhibiting the accumulation of free radicals. These results suggest that the effects of putrescine on chlorophyll and protein loss in detached leaves of Chinese cabbage in the light are related to the cationic nature of putrescine and the accumulation of free radicals.

緒 論

Polyamine은 식물, 동물, 미생물 등 거의 모든 생물체에서 발견되는 진화상 매우 잘 보존된 저분자 유기양이온이다 (Galston, 1983). 식물체에 있어서 polyamine은 잎의 노쇠에 대한 강력한 억제효과, 생체고분자 합성과 체세포 분열의 촉진, 막 결합성 효소 (ATPase, peroxidase 등)의 활성 조절, 세포내 항상성의 유지, 환경 스트레스에 대한 반응 등 매우 다양한 생리적 기능을 지니고 있는 것으로 알려져 있다 (Slocum *et al.*, 1984). 특히 잘라낸 잎을 암처리하였을 때 유도되는 노쇠과정에 있어 외부에서 가한 polyamine은 RNA 및 단백질 가수분해 효소의 활성증가 억제 (Kaur-Sawhney and Galston, 1979; Shih *et al.*, 1982; Altman, 1982a), 세포내 물질의 유출방지 (Altman, 1982b; Srivastava and Smith, 1982), 에틸렌 합성의 억제 (Führer *et al.*, 1982), 엽록체 틸라코이드 막의 안정화 (Cohen *et al.*, 1979; Popovic *et al.*, 1979), 엽록소 및 단백질 함량의 유지 (Kaur-Sawhney and Galston, 1979; Shin and Hong, 1988; Kar and Choudhuri, 1986) 등의 효과를 보인다. 그러나 광조건하에서, polyamine은 암조건과는 반대

본 연구는 1986~1988년도 과학재단 기초연구 지원비로 이루어진 것임.

로 오히려 엽록소 및 단백질의 분해를 촉진시킨다 (Kaur-Sawhney and Galston, 1979; Kar and Choudhuri, 1986).

Polyamine은 생리적 pH에서 완전히 양성자첨가 (protonation)가 일어나 다가양이온 (polycation) 상태로 존재하게 되는데 (Kimberly and Goldstein, 1981) 양이온적 성질을 지닌 polyamine이 생체내의 음이온 부위와 정전기적인 상호작용을 함으로써 위와 같은 polyamine의 효과가 이루어진다고 해석된다 (Slocum *et al.*, 1984). 또한 polyamine의 효과는 양이온인 Ca^{2+} 에 의해 경쟁적으로 억제된다는 보고들 (Shih *et al.*, 1982; Shin and Hong, 1988)이 있는데 이는 polyamine의 작용이 그 양이온적 성질에 기인한다는 간접적인 증거가 된다. 그러나 노쇠와 관련된 polyamine의 작용메카니즘에 대해서는 아직 명확하게 밝혀지지 않았으며, 특히 polyamine의 효과가 광조건과 암조건에서 반대로 나타나는 이유에 대해서는 거의 알려진 바가 없다. 지금까지 광조건에서 polyamine의 이런 효과에 대한 설명으로, 엽록소 피롤고리의 Mg^{2+} 에 대한 polyamine의 chelating (Kaur-Sawhney and Galston, 1979; Shih *et al.*, 1982), superoxide 생성의 유도 (Satler and Thimann, 1983) 등이 제시되었으며, Blanck와 Egnéus (1983)는 몇가지 long-chained aliphatic amine이 빛에 의존한 O_2 의 흡수를 유도하고 아울러 H_2O_2 의 합성을 초래하여 엽록소를 파괴할 것이라는 제안을 하였다. 그러나 이들 설명중 polyamine이 EDTA 등의 chelator처럼 엽록소의 Mg^{2+} 를 제거한 후 엽록소를 광산화시킨다는 주장은 광조건에서 엽록소 파괴 외의 현상들에 대해 설명해 주지 못한다.

세포내에서 superoxide 라디칼이나 H_2O_2 는 그 자신이 직접 산화 또는 환원제로 작용하거나, 강력한 파괴력을 지닌 hydroxyl 라디칼을 형성하여 세포에 따라 O_2 를 이용하는 세포들은 superoxide dismutase 그리고 catalase 또는 peroxidase를 지니고 있어 각각 superoxide와 H_2O_2 를 제거한다 (Fridovich, 1976). 그러므로 이들 효소의 활성 저하에 따른 superoxide 및 H_2O_2 의 축적은 세포내 분자의 파괴를 초래하게 될 것이다. 본 연구에서는 diamine인 putrescine이 광조건에서 엽록소 및 단백질 함량 변화와 H_2O_2 함량 및 자유 라디칼 축적 억제효소에 미치는 효과들을 조사함으로써 자유라디칼의 축적 가능성의 측면에서 putrescine의 작용을 규명코자 하였다.

材料 및 方法

식물재료의 생육조건 및 처리. 본 연구에서 식물재료로 사용한 배추는 재배용 품종인 서울 배추 (*Brassica campestris* L. cv. Seoul)로서 크기, 형태 및 색깔이 비슷한 종자를 선별하여 1% sodium hypochlorite 용액에 15분간 담그어 표면살균하고 씻어낸 후 질석이 든 투명한 폴리프로필렌 용기 (11.5×11.5×10 cm)에 49개씩 파종하여 25±1°C의 온도조건과 daylight 형광등 (General Electric, U.S.A.)을 사용한 20 W·m⁻²의 연속광 조건하의 배양기내에서 이틀마다 40 ml의 Hoagland용액을 공급해 주면서 생육시켰다. 파종 10일후 균일한 크기의 제1엽들을 잘라 clean bench에서 1% sodium hypochlorite용액으로 1.5분간 멸균한 후 투명한 petri dish (직경 5.5 cm) 상의 대조구 (10 mM K-phosphate 완충용액, pH 5.8)와 putrescine 처리구 (10 mM, pH 5.8의 K-phosphate완충용액에 녹임)에 잎의 뒷면이 윗쪽을 향하도록 띄우고 25±1°C에서 1~4일간 암처리 또는 20W·m⁻²의 연속광처리를 하였으며, 처리후 잎은 증류수로 완전히 씻어내어 모든 실험에 사용하였다.

처리용액의 농도 결정. Putrescine용액의 농도는 암조건에서 엽록소 함량의 감소를 최대로 억제시킨 10 mM을 사용하였다 (Table 1).

Table 1. Effect of putrescine concentrations on chlorophyll content in darkness

| Putrescine Concentrations (M) | Chlorophyll Content* (relative % of initial value)** |
|-------------------------------|--|
| 0 | 46.0 |
| 10 ⁻⁵ | 50.4 |
| 10 ⁻⁴ | 54.2 |
| 10 ⁻³ | 68.7 |
| 10 ⁻² | 100.0 |
| 10 ⁻¹ | 88.8 |

* Chlorophyll content was measured after dark incubation over 3 days.

** The initial value for chlorophyll content is 29.3 $\mu\text{g}/\text{leaf}$.

엽록소 및 수용성 단백질 함량의 측정. 엽록소 함량은 Hiscox와 Israelstam (1979)의 방법에 따라 잎의 엽록소를 dimethyl sulphoxide로 추출한 후 Arnon (1949)의 방법에 따라 계산하였다. 수용성단백질의 함량은 Lowry 등 (1951)의 방법에 따라 측정하였다.

H₂O₂의 함량의 측정. Peroxide reagent (o-dianisidine과 peroxidase용액)를 이용한 Bernt와 Bergmeyer (1974)의 방법에 따라 H₂O₂ 표준용액을 대조로 하여 측정하였다.

효소용액의 제조. Peroxidase와 catalase의 효소용액은 7개의 잎을 0.3g의 석영사와 3 ml의 70 mM K-phosphate 완충용액 (pH 8.0)과 함께 냉소에서 마쇄한 후 18,000×g에서 20분간 원심분리하여 얻었으며, superoxide dismutase의 효소용액은 7개의 잎을 3 ml의 50 mM K-phosphate 완충용액 (pH 7.0; 0.1 mM EDTA 포함)으로 마쇄한 후 위와 동일하게 원심분리하여 얻었다. 그리고 protease의 효소용액은 8개의 잎을 2 ml의 25 mM Na-phosphate 완충용액 (pH 7.0; 5 mM DTT 포함)으로 마쇄하고 위와 동일하게 원심분리하여 얻은 상정액을 Sephadex G-25로 desalting한 후 활성도 측정에 이용하였다.

Peroxidase의 활성도 측정. Chance와 Maehly (1955)의 방법에 따라 3 ml용량의 cuvette에 2.8 ml의 70 mM K-phosphate 완충용액 (pH 6.0; 0.6 mg guaiacol/ml 포함)과 효소용액 0.1 ml를 혼합한 다음 0.03% H₂O₂용액 0.1 ml를 첨가하고 430 nm에서 흡광도 증가를 측정하였다.

Catalase의 활성도 측정. Chance와 Maehly (1955)의 방법에 따라 3 ml의 cuvette에 2.8 ml의 50 mM K-phosphate 완충용액 (pH 7.0)과 효소용액 0.1 ml를 혼합한 다음 50 μl 의 기질용액 (0.03% H₂O₂)을 첨가하여 반응시켰다. 효소 활성도는 H₂O₂의 분해량을 240 nm에서의 흡광도 감소로 측정하였으며, H₂O₂의 몰흡광계수 $0.44 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ 을 이용해 산출하였다.

Superoxide dismutase의 활성도 측정. Giannopolitis와 Ries (1977)의 방법 및 Dhindsa 등 (1981)의 방법을 수정하여 실시하였다. 반응 혼합액 내에는 50 mM K-phosphate 완충용액 (pH 7.8), 13 mM methionine, 75 μM NBT, 0.1 mM EDTA (disodium salt), 2 μM riboflavin과 0

~50 μ l의 효소용액을 포함시켰다. 반응혼합액이 포함된 유리시험관을 20 W 형광등 2개로 구성된 광원 앞에서 10 cm 떨어진 위치에 놓고 형광등을 켜서 반응을 개시하고 5분후 형광등을 꺼서 반응을 종결시킨 다음 560 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 효소 활성도의 단위는, 효소용액의 양에 따른 V/v (V : 효소용액 부재시의 흡광도, v : 효소용액 존재시의 흡광도)를 얻어 NBT의 광환원을 50% 억제시키는 효소용액의 양을 구하여 1 unit로 나타내었다.

Protease의 활성도 측정. Wittenbach (1978)의 방법을 수정하여 사용하였다. 반응혼합액은 acid protease의 경우 0.4 ml의 0.2 M citrate 완충용액 (NaOH-citrate, pH 5.0), 0.2 ml의 기질용액 (1% azocazein), 그리고 0.4 ml의 효소용액으로 이루어졌으며, neutral protease는 완충용액만 0.2 M Na-phosphate 완충용액 (pH 7.0)으로 바꾸었다. 반응은 40°C의 진탕수조에서 2시간 동안 진행시킨후 30% TCA용액 0.5 ml를 가하여 종결시켰다. 이를 4°C에서 15시간 방치한 후 1,000 \times g에서 20분간 원심분리한 상정액의 흡광도를 340 nm에서 측정하였다. 효소 활성도의 단위는 위의 반응조건에서 0.1의 흡광도 차이를 1 unit로 취하였다.

結果 및 考察

Putrescine의 농도별 효과. 암조건에서 엽록소의 손실을 억제하는 데에는 10 mM의 putrescine이 가장 효과적이었다 (Table 1). 그러나 광조건에서는 이와 동일한 농도에서 현저한 엽록소의 손실 (3일후 80%손실)을 보였으며, 100 mM에서는 더욱 심한 엽록소 손실 (98% 손실)이 있었다 (Table 2). 또한 광조건에서 putrescine에 의해 초래되는 엽록소 손실은 잎의 백화현상을 동반하였다. 이에 반하여 0.01~1.0 mM의 putrescine은 대조구와 비슷한 수준의 엽록소 함량 (약 10% 손실)을 유지하였으며, 노쇠가 진행된 후에도 잎의 색깔 역시 대조구와 같이 노란색을 띄었다.

Table 2. Effect of putrescine concentrations on chlorophyll content in the light

| Putrescine Concentrations (M) | Chlorophyll Content* (relative % of initial value) |
|-------------------------------|--|
| 0 | 83.3 |
| 10 ⁻⁵ | 88.3 |
| 10 ⁻⁴ | 92.1 |
| 10 ⁻³ | 88.0 |
| 10 ⁻² | 20.4 |
| 10 ⁻¹ | 1.6 |

* Chlorophyll content was measured after light incubation over 3 days.

엽록소 함량의 변화. 암조건에서 잘라낸 배추잎은 대조구의 경우 띄운지 1일째부터 엽록소 함량이 감소하기 시작하여 4일째에는 배양조기의 35%수준을 유지한 반면, 10 mM putrescine의 처리는 전 배양기간 동안 암처리에 의해 유도되는 엽록소 손실을 완전히 억제하였다 (Fig. 1). 광조건에서의 대조구는 암조건보다 완만한 엽록소 손실을 나타내었는데 4일째까지도 70%

의 엽록소 함량을 유지하였다. 광조건의 putrescine처리구에서는 1일째까지는 대조구와 같은 수준을 보였으나 2일째에 대조구보다 약간 낮은 수준을 유지하다가 3일째에 급격한 엽록소의 손실과 함께 잎의 백화현상을 동반하였으며 4일째에는 처음의 약 5% 수준을 나타내었다 (Fig. 1). 그러나 광조건에서의 이러한 현상은 putrescine처리구를 암조건으로 옮김으로써 거의 정지하였으며, 그 이후의 엽록소 함량 변화의 양상도 배양초기부터 암처리한 putrescine처리구의 그것과 유사하였다 (Fig. 2). Kaur-Sawhney와 Galston (1978)이 언급했듯이, 이런 결과는 광조건에서 putrescine에 의한 엽록소 파괴가 전적으로 빛에 의존하는 반응임을 나타내는 것이다.

Putrescine의 작용에 미치는 Ca^{2+} 의 효과. 2가 양이온인 Ca^{2+} 을 putrescine과 함께 또는 시간 간격을 두고 처리하였을 때 Ca^{2+} 은 광조건에서의 putrescine의 효과를 다양하게 억제하였다 (Table 3). 1 mM의 Ca^{2+} 은 putrescine (10 mM)에 대해 거의 억제 효과를 보이지 않았으나

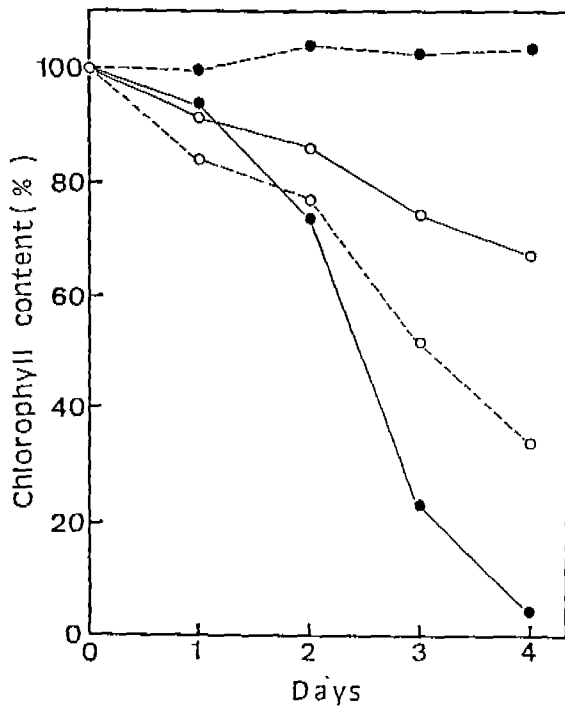


Fig. 1. Changes of chlorophyll content during senescence in detached leaves of Chinese cabbage. ○, Control; ●, putrescine (10 mM); —, in the light; - - - -, in darkness. The chlorophyll content is relative % of initial value.

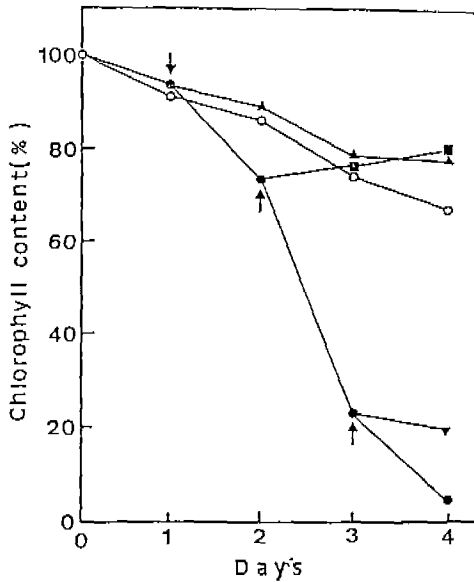


Fig. 2. Changes of chlorophyll content of detached leaves of Chinese cabbage in the transfer from light to darkness. ○, Control, continuous light; ●, putrescine, continuous light; ▲, putrescine, transfer in day 1; ■, putrescine, transfer in day 2; ▼, putrescine, transfer in day 3. putrescine concentration is 10 mM. Arrows indicate the transfer from light to darkness.

Table 3. Ca^{2+} -antagonism against putrescine action

| Treatments | Chlorophyll Content* (relative % of initial value) |
|---|---|
| Control | 70.47 |
| Putrescine, 10 mM | 24.30 |
| CaCl_2 , 1 mM | 73.41 |
| CaCl_2 , 10 mM | 82.90 |
| Putrescine, 10 mM + CaCl_2 , 1 mM | 26.04 |
| Putrescine, 10 mM + CaCl_2 , 10 mM | 53.90 |
| Putrescine, 10 mM for 24 h followed by CaCl_2 , 10 mM for 48 h | 41.90 |
| CaCl_2 , 10 mM for 24hr followed by putrescine, 10 mM for 48 h | 60.60 |

* Chlorophyll content was measured after light-incubation over 3 days.

10 mM의 Ca^{2+} 은 putrescine의 엽록소 파괴 효과를 현저히 억제하였다. Ca^{2+} 의 putrescine작용에 대한 이런 억제 효과의 정도는 Ca^{2+} 이 putrescine보다 먼저 잎조직내에 들어갈 수 있는 시간적인 기회의 정도에 비례하였다. 즉 Ca^{2+} 을 전처리하고 putrescine을 후처리한 경우 가장 큰 억제 효과를 보였고, 그 다음 동시 처리의 경우, 그리고 putrescine으로 전처리하고 Ca^{2+} 을 후처리한 경우 가장 낮은 억제 효과를 보였다.

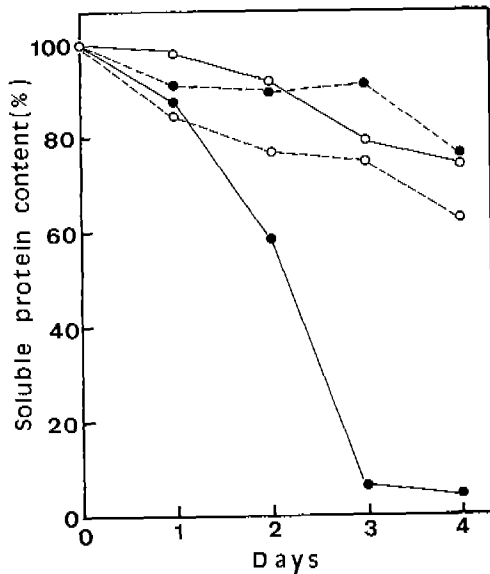


Fig. 3. Changes of soluble protein content during senescence of detached leaves of Chinese cabbage. ○, Control; ●, putrescine (10 mM); —, in the light; ·····, in darkness. The soluble protein content is relative % of initial value. The initial value of soluble protein content is 0.324 mg/leaf.

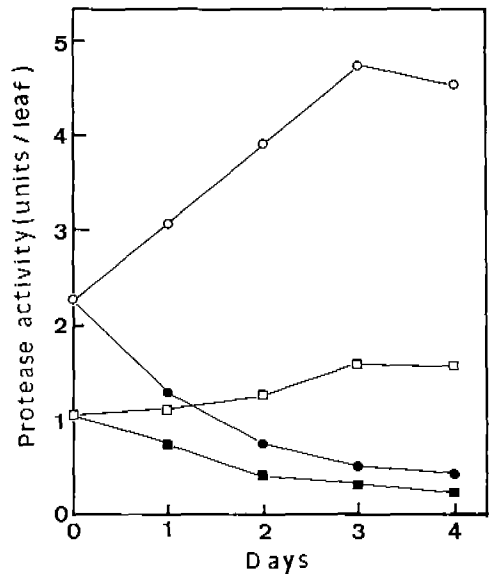


Fig. 4. Changes of acid or neutral protease activities in detached leaves of Chinese cabbage during senescence in the light. ○, Control, acid protease; □, Control, neutral protease; ●, putrescine, acid protease; ■, putrescine, neutral protease. Putrescine concentration is 10 mM.

Polyamine은 생리적 pH에서 완전히 양성자 첨가가 되어 (Kimberly and Goldstein, 1981) 양이온적 성질을 띄게 된다. 양이온으로서의 polyamine은 핵산, 막 또는 효소, 구조단백질의 음이온 부위와 정전기적인 상호작용을 함으로써 생물학적 효과를 나타내게 된다 (Slocum *et al.*, 1984). 본 연구 결과에서 Ca^{2+} 의 putrescine 작용에 대한 경쟁적 억제 효과는 광조건에서 putrescine에 의한 엽록소 파괴가 putrescine의 양이온적 성질에 기인한다는 가정에 간접적인 증거가 된다.

수용성단백질 함량 및 protease의 활성도의 변화. 암조건에서 putrescine은 단백질의 손실 역시 억제하였으나 광조건에서는 엽록소의 경우와 마찬가지로 매우 현저한 단백질의 손실을 초래하여 배양 3, 4일째에는 초기의 4~5% 정도만이 잔존하였다 (Fig. 3). 광조건에서 putrescine에 의한 단백질 손실의 속도는 엽록소의 손실보다 빨라서 2일째에 엽록소가 75%를 유지한데 반하여 단백질은 60% 정도이었으며, 3일째에는 엽록소가 20% 유지하였고 단백질은 5%만이 남아 있었다.

일반적으로 잎의 노쇠가 진행되는 동안 단백질의 가수분해 증가와 아울러 protease (혹은 proteinase, peptidase)의 활성도가 증가한다 (Anderson and Rowan, 1965). 여러 식물에서 잎의 노쇠중 산성 pH와 중성 pH에서 활성을 나타내는 protease들 - 각각 acid protease와 neutral protease-이 발견되는데 (Graeme and Dalling, 1980), 본 연구에서도 단백질의 가수분해와

관련하여 이들 protease의 활성도를 조사하였다.

광처리하였을 때 잘라낸 배추잎의 protease는, 대조구의 경우 acid protease와 neutral protease 모두 노쇠가 진행함에 따라 그 활성도가 증가하는 양상을 보였는데, acid protease의 활성도 증가가 neutral protease보다 더 높았다 (Fig. 4). 반면에 putrescine 처리에 의해서는 acid protease와 neutral protease 모두 초기부터 활성도가 감소하기 시작하여 4일째에 acid protease는 초기의 20%, neutral protease는 15%의 활성도만을 나타내었다. Kar와 Choudhuri (1986)는 *Hydrilla*와 시금치 잎에 1 mM의 spermine을 빛과 함께 처리 하였을 때 현저한 단백질의 손실은 protease의 활성도 증가에 의한다고 보고하였으나, 귀리 잎을 가지고 실험한 Kaur-Sawhney와 Galston (1979)은 protease의 활성도 감소를 보고하였다. 그러나 본 연구의 결과에 따르면 배추 잎의 경우, 광조건에서 putrescine에 의해 유도되는 단백질의 손실은 protease의 활성도와 무관하며 그외의 다른 요인에 의해 일어난다고 할 수 있다.

H₂O₂ 함량의 변화. H₂O₂는 직접 산화 또는 환원제로 작용하거나 금속촉매하에서 superoxide 라디칼과 반응하여 매우 파괴성 높은 hydroxyl라디칼을 생성한다 (Elstner, 1982). 따라서 비정상적인 H₂O₂ 대사에 따른 세포내 H₂O₂의 축적은 세포에 유해한 효과를 미치게 된다. Blanck와 Egnéus (1983)는 시금치 잎의 엽록체에 long-chained aliphatic amine을 처리하였을 때, 광에 의존한 O₂의 소비와 함께 H₂O₂의 형성이 초래되었으며 이때의 전자 공여체가 페레독신일 것이라고 보고하였다. 본 연구에서 광조건하의 노쇠중 배추 잎의 H₂O₂ 함량 변화를 조사한 바에 따르면, putrescine 처리구는 전 배양기간 동안 대조구보다 H₂O₂ 함량을 높게 유지하였으며 특히 3일째에 큰 증가를 나타내었다 (Fig. 5). 그리고 4일째 다시 감소를 보였는데, 이것은 일조조의 외해에 따른 유출의 결과일 것으로 생각된다. putrescine 처리구에서 이러한 H₂O₂

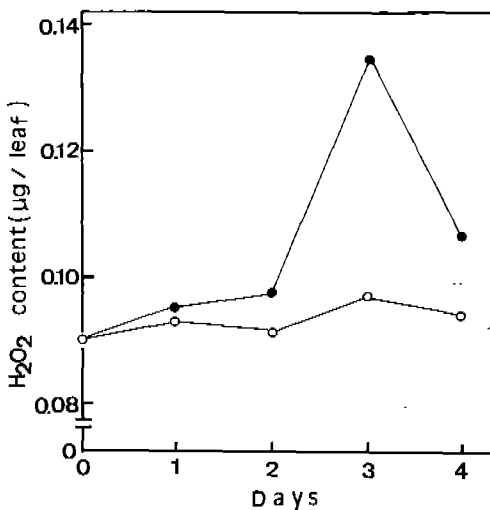


Fig. 5. Changes of H₂O₂ content in detached leaves of Chinese cabbage during senescence in the light. ○, Control; ●, putrescine (10 mM).

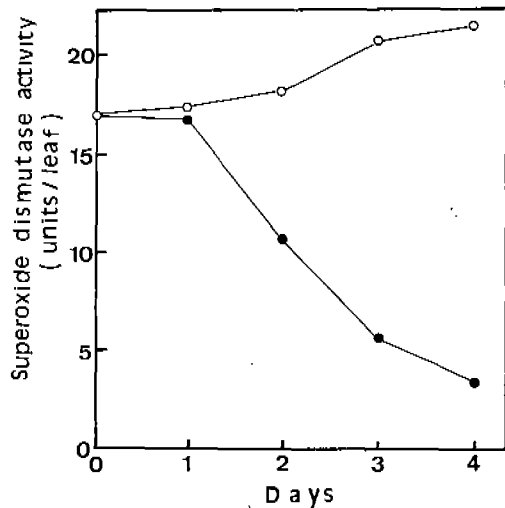


Fig. 6. Changes of superoxide dismutase activity in detached leaves of Chinese cabbage during senescence in the light. ○, Control; ●, putrescine (10 mM).

의 증가는, 생성이나 H_2O_2 대사의 단절에 따른 축적 또는 이들 두가지 모두에 의한 결과일 수 있다.

Superoxide dismutase의 활성도 변화. 산소를 이용하는 모든 세포는 세포 환경에 유해한 superoxide 라디칼을 생성하게 되며, 이에 대한 방어체계로서 superoxide dismutase를 지닌다 (Fridovich, 1976). Fig.6은 광조건에서 배추 잎의 superoxide dismutase의 활성도 변화를 나타낸 것이다. 대조구의 경우 배양기간 동안 점진적인 활성도의 증가를 보였다. 반면에 putrescine 처리구는 1일까지 대조구와 비슷한 수준을 유지하였으나, 2일째부터는 현저히 활성도가 감소하기 시작하여 3, 4일째 계속 감소하였다. 이런 결과는 광조건에서 putrescine처리에 의해 세포들이 superoxide 라디칼에 대한 방어능력을 상실해 감을 나타낸다.

Catalase 및 peroxidase의 활성도 변화. Catalase와 peroxidase는 세포내에 유해한 H_2O_2 의 축적을 방지하는데 반드시 필요한 효소들이다 (Fridovich, 1976). 본 연구의 결과에 따르면, 광조건에서 catalase의 활성도는 대조구에서 배양초기 이후 약간 증가하는 경향을 보였으나, putrescine처리구에서는 1일째부터 현저한 활성도의 감소가 나타났고 2일째부터는 초기의 10% 이하로 활성도가 감소하였다 (Fig. 7). 광조건에서 peroxidase의 활성도 역시 대조구에서는 노쇠가 진행함에 따라 증가하는 양상을 나타내었으나, putrescine처리구에서는 1일부터 활성도가 계속 감소하여 4일째에는 거의 활성도가 나타나지 않았다 (Fig. 8). 따라서 광조건에서 putrescine처리에 의한 catalase와 peroxidase의 활성도 감소는 세포내에 H_2O_2 의 축적을 유도하였을 것으로 생각된다 (Fig. 5).

Superoxide 라디칼 및 H_2O_2 제거에 관련된 효소 활성도의 결과로부터, 광조건시 putrescine에 의한 엽록소 및 단백질 손실이 자유 라디칼의 생성 또는 축적과 연관되어 있음을 추측할 수 있다.

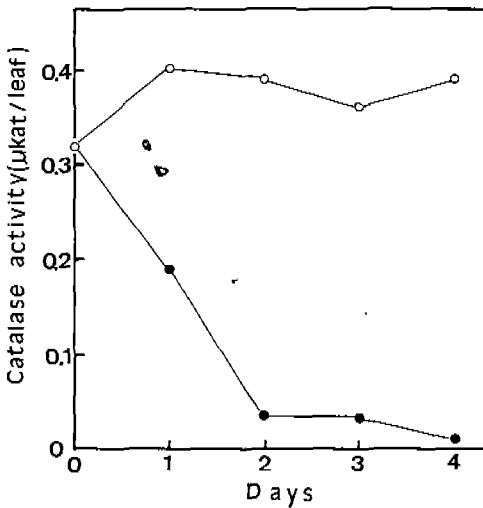


Fig. 7. Changes of catalase activity in detached leaves of Chinese cabbage during senescence in the light. ○, Control; ●, putrescine (10 mM).

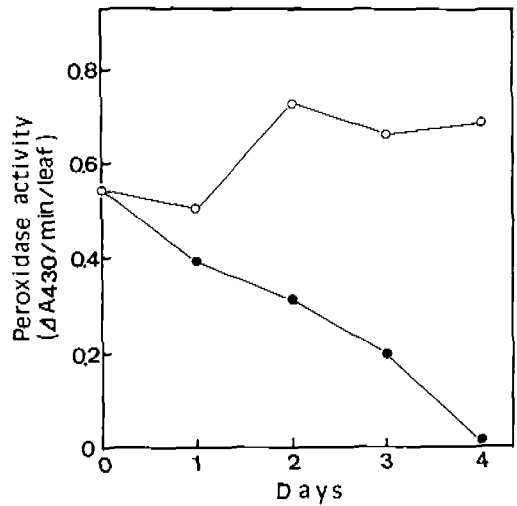


Fig. 8. Changes of peroxidase activity in detached leaves of Chinese cabbage during senescence in the light. ○, Control; ●, putrescine (10 mM).

摘 要

광조건하에서, polyamine의 일종인 putrescine이 잘라낸 배추 잎의 노쇠 과정에 미치는 효과를 조사하였다. 암조건에서 putrescine (10 mM)은 강력한 노쇠 억제물질로 작용하여, 잎의 엽록소와 단백질 함량 감소를 현저히 억제하였으나, 광조건에서는 오히려 이와 반대의 효과를 보였다. 광조건에서 putrescine에 의한 엽록소 파괴 현상은 암조건으로 전환하였을 때 정지되었으며 또한 2가 양이온인 Ca^{2+} 에 의해 경쟁적으로 억제되었다. 그리고 putrescine에 의한 단백질 함량감소가 효소반응과 무관함을 putrescine에 의한 protease의 활성도 감소의 결과를 통하여 알수 있었다. 광조건에서 putrescine은 H_2O_2 의 함량을 증가시켰고, superoxide dismutase (EC 1. 15. 1. 1.), peroxidase (EC 1. 11. 1. 7), catalase (EC 1. 11. 1. 6) 등 자유 라디칼 축적 억제와 관련된 효소들의 활성도도 아울러 감소시켰다. 이상의 결과로 볼 때 광조건에서 배추 잎의 노쇠과정중 putrescine에 의한 엽록소 및 단백질 분해 현상은 putrescine 분자의 양이온적 성질 및 자유 라디칼의 축적과 관련될 것으로 추측된다.

參 考 文 獻

- Altman, A. 1982a. Retardation of radish leaf senescence by polyamines. *Physiol. Plant.* **54**: 189-193.
- Altman, A. 1982b. Polyamines and wounded storage tissues inhibition of RNase activity and solute leakage. *Physiol. Plant.* **54**: 194-198.
- Anderson, J.W. and K.S. Rowan. 1965. Activity of peptidase in tobacco leaf tissue in relation to senescence. *Biochem. J.* **97**: 741-746.
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts—Polyphenol oxidases in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* **24**: 1-15.
- Bernt, E. and H.U. Bergmeyer. 1974. Inorganic peroxides. In, *Methods of Enzymatic Analysis*. H.U. Bergmeyer (ed.), Vol. 4, Academic Press, N.Y. pp. 2246-2248.
- Blanck, H. and H. Egneus. 1983. Effect of long-chained aliphatic amines on photosynthetic reactions in isolated spinach chloroplasts. *Physiol. Plant.* **59**: 120-126.
- Chance, B. and A.C. Maehly. 1955. Assay of catalase and peroxidase. *Methods Enzymol.* **2**: 764-775.
- Cohen, A.C., R.B. Popovic and S. Zalik. 1979. Effects of polyamines on chlorophyll and protein content, photochemical activity, and chloroplast ultrastructure of barley leaf discs during senescence. *Plant Physiol.* **64**: 717-720.
- Dhindsa, R.S., P. Plumb-Dhindsa and T.A. Thorpe. 1981. Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and catalase. *J. Exp. Bot.* **52**: 93-101.
- Elstner, E.F. 1982. Oxygen activation and oxygen toxicity. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **33**: 73-96.
- Fridovich, I. 1976. Oxygen radicals, hydrogen peroxides, and oxygen toxicity. In, *Free Radicals in Biology*. W.A. Pryor (ed.), Academic Press, N.Y. pp. 239-277.
- Fuhrer, J., R. Kaur-Sawhney, L.-M. Shih and A.W. Galston. 1982. Effects of exogenous 1,3-diaminopropane and spermidine on senescence of oat leaves. *Plant Physiol.* **70**: 1597-1600.
- Galston, A.W. 1983. Polyamines as modulators of plant development. *Bioscience* **33**: 382-388.
- Giannopolitis, C.N. and S.K. Ries. 1977. Superoxide dismutases. 1. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* **59**: 309-314.

- Graeme, J.T.F. and M.J. Dalling. 1980. The role of peptide hydrolase in leaf senescence. *In*, Senescence in Plants. K.V. Thimann(ed.), CRC, Florida. pp. 117-130.
- Hiscox, J.D. and G.F. Israelstam. 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Can. J. Bot.* **57**: 1332-1334.
- Kar, P.K. and M.A. Choudhuri. 1986. Effects of light and spermine on senescence of *Hydrilla* and spinach leaves. *Plant Physiol.* **80**: 1030-1033.
- Kaur-Sawhney, R. and A.W. Galston. 1979. Interaction of polyamines and light on biochemical processes involved in leaf senescence. *Plant, Cell and Environ.* **2**: 189-196.
- Kimberly, M.M. and J.H. Goldstein. 1981. Determination of pKa values and total proton distribution pattern of spermidine by carbon-13 nuclear magnetic resonance titrations. *Anal. Chem.* **53**: 789-793.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
- Popovic, R.B., D.J. Kyle, A.S. Cohen and S. Zalik. 1979. Stabilization of thylakoid membranes by spermine during stress-induced senescence of barley leaf discs. *Plant Physiol.* **64**: 721-726.
- Satler, S.O. and K.V. Thimann. 1983. Metabolism of oat leaves during senescence. VII. The interaction of carbon dioxide and other atmosphere gases with light in controlling chlorophyll loss and senescence. *Plant Physiol.* **71**: 67-74.
- Shih, L.-M., R. Kaur-Sawhney, J. Fuhrer, S. Samanta and A.W. Galston. 1982. Effects of exogenous 1,3-diaminopropane and spermidine on senescence of oat leaves. *Plant Physiol.* **70**: 1592-1596.
- Shin, J.L. and Y.-N. Hong. 1988. Effects of spermidine on the senescence in leaf disc of Chinese cabbage. *Korean J. Bot.* **31**: 155-164.
- Slocum, R.D., R. Kaur-Sawhney and A.W. Galston. 1984. The Physiology and biochemistry of polyamines in plants. *Arch. Biochem. Biophys.* **235**: 283-303.
- Srivastava, S.K. and T.A. Smith. 1982 The effect of some oligo-amines and guanidines on membrane permeability in higher plants. *Phytochem.* **21**: 997-1008.
- Wittenbach, V.A. 1978. Breakdown of ribulose biphosphate carboxylase and changes in proteolytic activity during dark-induced senescence of wheat seedlings. *Plant Physiol.* **62**: 604-608.

(1988. 6. 5. 接受)