

생육환경이 더덕(*Codonopsis lanceolata*)의 항산화효소 활성에 미치는 영향

정형진, 유정민, 광상수¹⁾, 우영명, 오세명, 김건우, 정규영
안동대학교 자연과학대학, ¹⁾KIST 생명공학연구소

The effect of Cultivated Environments on the Antioxidant Enzyme Activities of *Codonopsis lanceolata*

Jeong, Hyung Jin , Jung Min Yoo, ¹⁾Sang Soo Kwak, Young Mounng Woo, Sei Mounng Oh
Kun Woo Kim and Gyu Young Chung
Natural Science College, Andong National University Andong, 760-749, Korea
¹⁾Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, KIST

ABSTRACT

The activities of the antioxidative enzymes in the roots of *Codonopsis lanceolata* have been compared depending on the cultivated environments - wildness, cultivate paddy fields and cultivate dry fields - and the parts of the root. In the *Codonopsis lanceolata* raised in cultivate paddy fields, the activity of SOD was higher in 2 yrs old than 1 yr old, but the activity in 1 yr old was higher than in 2 yrs old for the plants raised in the cultivate dry fields. The specific activity of SOD in wildness plants 86,069unit/mg protein was the highest among plants studied. The tissue distribution of the SOD activity showed differences depending on the enviroment. The highest activity of SOD was shown in the upper part of the root for the cultivate paddy fields, the loewr parts for the cultivate dry fields and middle parts for the wildness. The specific activity of POD increased with ages of the plants, and that in the wildness was the highest 68 unit/mg protein among the plants studied. The activity of POD in the parts of the roots was shown as middle>lower>upper. The activity of POD in the middle part of the root, rasied in Soebick province was 85 unit/mg protein. The specific activity of CAT was decreased with ages of the plants. The activities of wildness and cultivate paddy fields was similar, but that in cultivate dry fields was lower than others. The tissue distribution in the parts of the roots was upper>lower>middle. The activity of CAT middle part of rasied in the Sebuck area was 5,359 unit/mg protein. The activities antioxidative in the cells cultured in MS1D(Murashige and Skoog + 2,4-D 1mg/ l) was followings; 1564 for CAT, 30 for POD and 22200 unit/mg protein for SOD. These figures were lower than that in *in vivo*.

Key words : Superoxide dismutase, Catalase, Peroxidase, *Codonopsis lanceolata*

緒言

산소는 식물을 포함하여 호기성 유기체의 대사과

정을 위해서 필수적이거나 생체조직내 과잉의 산소는 세포질 내에서 유해산소종을 생산하게 되며, 효소계는 이런 유해 산소 종의 생산을 제거하거나 제한시키는 것으로 발달되었다¹⁾.

1980년 Butt²¹⁾는 생체중 산소분자의 생물학적 상호 교환 모델인 물분자의 광 환원이나 Catalase(CAT)의 작용으로 생성되는 산소분자로부터 유독성 물질인 superoxide로 전환되며, 이때 Superoxide dismutase(SOD)의 작용으로 생성되는 과산화수소는 주로 CAT와 Peroxide(POD)에 의해 효소적으로 분해된다는 것을 제시하였다.

식물을 비롯한 대부분의 호기성 생물은 각종 스트레스를 받으면 생체내의 산소는 O₂, H₂O₂, OH 등의 반응성이 높은 활성산소종(active oxygen species)으로 변하여 세포막 분해, 단백질 분해, DNA 합성 억제, 광합성 억제 등에 심각한 생리적 장애를 유발하여 식물의 생산성을 저해시키거나 심하면 식물을 죽게 한다²²⁾. 생체는 이러한 활성 산소종의 독성으로부터 자기를 보호하기 위하여 SOD, POD, CAT 등의 항산화효소와 ascorbic acid, α-tocopherol, glutathione 등의 항산화물질을 생산한다²³⁾.

SOD 형태는 superoxide anion에 의해 반응이 높은 산

소종에 대응하는 유기체 방어기작의 한부분으로 독성을 나타내는 환원종에 대한 감수성을 향상시킨다²⁴⁾. 또한 superoxide에 의해 유도되고, superoxide anion radical (O₂⁻)을 제거시키는 작용을 하는 효소로서 유해산소에 대해 세포보호기능을 갖는다²⁵⁾. SOD는 식물을 포함한 모든 생물에 존재하며, 현재 SOD는 사람과 동물, Bacillus, Escherichia coli로 부터 생산되어²⁶⁾ 항산화제로서 화장품, 식품 및 의약품의 첨가제로 사용되고 있으며, 항염증 작용이 있어 류마티스 관절염 등 각종 퇴행성 질병 치료제로 개발되고 있어 상업적으로 중요한 효소이다²⁷⁾.

POD는 prokaryotes와 eukaryotes 모두에서 알려져 있으며 H₂O₂를 이용하는 heme- containing protein이다²⁸⁾. POD는 고등 식물에서 세포의 성장과 분화에 관여하는 중요한 효소로서 과산화수소 존재에서 각종 기질을 산화시키는 반응이 민감하여 임상 실험의 진단시약, 화학분석용시약, 유기화합물의 산화 반응 외에도 의학분야, 식품분야에도 사용되는 상업적으로

Table 1. Collection places and position of *Codonopsis lanceolata*

Geographical zone · Years	Position
Seobyuok, 1 year (cultivate paddy fields)	Whole (R1)
	Upper (R1u)
	Middle (R1m)
	Lower (R1L)
Seobyuok, 2 years (cultivate paddy fields)	Whole (R2)
	Upper (R2u)
	Middle (R2m)
	Lower (R2L)
Seobyuok, 2 years (wildness)	Whole (R3)
	Upper (R3u)
	Middle (R3m)
	Lower (R3L)
Teoungyang, 1 year (cultivate dry fields)	Whole (R4)
	Upper (R4u)
	Middle (R4m)
	Lower (R4L)
Teoungyang, 2 years (cultivate dry fields)	Whole (R5)
	Upper (R5u)
	Middle (R5m)
	Lower (R5L)

Callus

매우 중요한 효소이며^{8,10)}, 목질화, IAA의 분해, cell wall polymers의 cross-linking, ethylene 생합성, 병원균 방어 그리고 상처 치료에 관여한다⁹⁾. POD는 최근 폐수 중의 phenol 및 방향족 화합물 제거에도 이용될 수 있음이 보고되어 있다¹¹⁾.

CAT는 과산화수소의 분해반응($2H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H_2O$)을 촉매하는 효소로서 동물, 식물, 미생물 등 거의 모든 호기성세포에 존재하며, 식품중의 과산화수소의 제거와 산업체에서 사용하고 남은 과산화수소의 처리 등에 사용되는 상업적으로 가치가 높은 효소이다¹²⁾.

더덕(*Codonopsis lanceolata* Bentham et Hooker fil.)은 초롱꽃과에 속하는 방추형의 뿌리를 가진 속근성 다년생식물(15)로 사삼, 백삼 등 여러 가지 이름으로 불리지며, 한국을 중심으로 일본의 북해도 지방, 중국의 북부지방, 아무르 지방에 분포하고 있다. 더덕의 뿌리에는 saponin, leiothin, penosane, phytoderin, vitamin B₁, B₂, protein, carbonhydrate, 정유 등이 함유되어 있음이 확인되었으며, 그중 항산화물질에 관한 연구는 *in vitro* 상태의 에탄올 추출물에서 항산화효과가 높게 나타난다는 보고가 있을 뿐¹³⁾ 미비한 상태이다. 따라서, 본 연구에서는 더덕 생체 뿌리를 지역별(재배지·야생지), 년근별 및 부위별로 생육환경에 따른 항산화효소의 활성을 조사하였다.

材料 및 方法

재 료

항산화효소 활성 측정 재료는 Table 1에서 표시한 재배 및 야생지로부터 채취한 더덕 뿌리를 년근별 및 부위별로 구분하여 생체 상태로 사용하였다.

부위별로는 더덕 생체를 3등분하여 각각 상(Upper), 중(Middle), 하(Low)로 하였다.

방 법

배양세포주 및 배양

더덕(*Codonopsis lanceolata*) 배양세포는 더덕의 잎 절편을 0.5% NaOCl에 20분간 소독한 후 DDH₂O 4회 수세하여 물기를 제거한 후 사용하였다. 잎 절편체를 2.4-D가 1mg/l 함유된 MS(Murashige and Skoog)¹⁴⁾ 고체배지에 치상하여 25℃ 암소에서 배양하여 callus를

유도하였다.

조효소액의 조제

생체중 0.5g 더덕(*Codonopsis lanceolata*)을 0.1mM EDTA를 포함한 0.05M 인산완충액(pH7.8) 2ml와 함께 마쇄한 후 4℃, 14,000rpm에서 20분간 원심분리하여 얻어진 상등액을 조효소액으로 사용하였다.

SOD 활성측정

McCord와 Fridovich¹⁵⁾의 방법에 따라 superoxide radicals의 공급원으로서 xanthine / xanthine oxidase system을 이용하여 superoxide radicals에 의한 cytochrome c의 환원속도를 측정하였다. 효소 반응액(1mM xanthine 2.5 ml, 1mM cytochrome c 0.5ml, 0.1mM EDTA를 포함한 0.05M 인산완충액(pH 7.8) 47ml의 혼합액)을 조제하여, 반응액 중 cytochrome c의 농도를 일정하게 유지하기 위하여 550nm에서 sodium dithionite로 보정하였다. 효소 활성 측정은 효소반응액 1ml와 조효소액(20~80μl)과 함께 0.1mM EDTA를 포함한 인산완충액(pH 7.8)으로 25배 희석한 xanthine oxidase 10μl를 첨가하여 측정하였다. 효소활성의 1unit는 25℃에서의 반응을 550nm에서 150 분간의 흡광도변화를 조사하여 xanthine oxidase 활성이 50% 억제되는 것으로 정의하였다.

POD 활성측정

POD 활성은 pyrogallol을 기질로 사용하는 Sigma사의 방법에 따라서 조효소액 100μl를 assay buffer (100mM Kpi buffer (pH 6.0) 3.2ml, 147mM H₂O: 1.6 ml, 5% pyrogallol 3.2ml, 증류수 21ml 혼합액) 2.9ml를 첨가하여 상온에서 20초간 420nm에서 흡광도 변화를 측정하였다.

CAT 활성측정

Acbi¹⁶⁾ 방법에 따라 과산화수소를 기질로 사용해서 과산화수소의 감소량을 측정하였다. 효소 반응액 (30% 과산화수소 150μl와 0.05M 인산완충액(pH 7.0) 25ml 혼합액) 1ml, 0.05M 인산완충액(pH 7.0) 1998μl와 효소액2μl를 혼합해서 상온에서 70초간 240nm에서 흡광도 변화를 측정하였다.

단백질의 정량

Bovine Serum Albumin을 표준물질로 하는 Bradford¹⁾ 방법으로 측정하였다.

結果 및 考察

SOD Activity

더덕 뿌리를 생육 환경 및 부위별로 SOD의 활성을 비교 조사한 결과(Fig. 1), SOD 활성(unit/g fresh wt.)이 100 이상인 지역이 3개 지역, SOD 비활성도(unit/mg protein)가 50,000 이상인 지역이 3개 지역으로 나타났다. SOD 활성은 지역간에 큰 차이를 나타내었으며, 서벽재배지와 야생지간에는 차이를 나타내지 않았으며, 야생종의 경우 SOD 활성과 비활성 모두 높은 활성은 나타내었고, 논 재배의 경우 50unit/g fresh wt. 이하로 가장 낮은 활성을 나타내었다. MS1D 배지에서 배양된 배양세포는 더덕 생체에 비해 낮은 활성을 나타내었다. 생육환경에 따른 SOD 활성은 재배지 2년생이 173, 서벽야생종이 172unit/g fresh wt.로 가장 높은 활성을 나타내었으며, 서벽재배 1년생, 배양세포주, 논재배 1, 2년생 순으로 높게 나타났고, 비활성도의 경우 서벽야생더덕, 서벽재배 2, 1년생, 배양세포주, 논재배 1, 2년생 순으로 나타났고, 특히 서벽야생더덕이 86,069unit/mg protein로 가장 높게 나타났다.

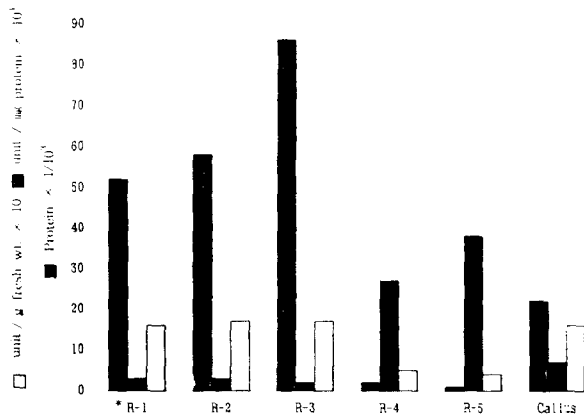


Figure 1. SOD activity and protein content in roots of *Codonopsis lanceolata*.

* Refer to Table 1.

각 지역별로 더덕 뿌리 개체를 upper, middle, lower 로 3등분해서 부위별로 SOD 활성을 비교 조사한 결과(Fig. 2), SOD 활성(unit/g fresh wt.)이 가장 높게 나타났고 서벽재배 1년생의 upper가 227unit/g fresh wt.이었으며, 서벽재배 1년생 upper, middle, 야생종 middle, 서벽재배 2년생 middle순으로 높았다. SOD 비활성도는 야생종 middle이 14,3637unit/mg protein로 가장 높게 나타났고, 서벽재배 1년생 upper, 서벽재배 2년생 upper, 야생종 lower, 서벽재배 1년생 middle 순으로 높게 나타났다. 생육환경에 따라 더덕의 뿌리를 부위별로 비교해보면 재배종은 upper>middle>lower 순으로, 논재배시는 lower>upper>middle 순으로, 야생종은 middle>lower, upper 순으로 높게 나타내어 생육환경에 따른 부위별로의 SOD 활성에 영향을 미치는 것으로 나타났다.

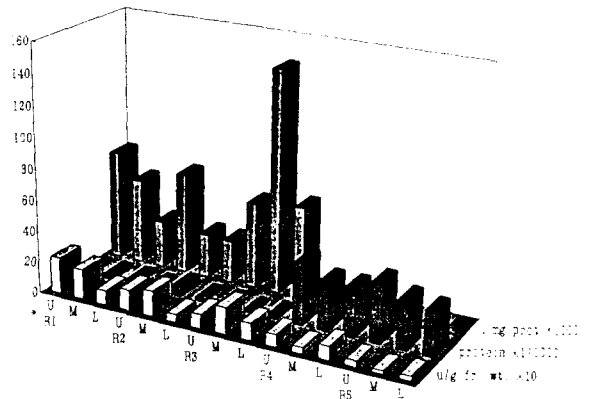


Figure 2. SOD activity and protein content in upper, middle, low of roots of *Codonopsis lanceolata*.

* Refer to Table 1.

타지역에 비해 야생종의 비활성도가 높게 나타난 것은 저온 스트레스에 의해 pyruvate의 세포내 축적이 상온으로 환원된 조직내에서 superoxide 및 이로부터 이차적으로 생성된 활성산소를 과잉발생시켜서 SOD 활성을 유도시킨다는 보고¹¹⁾와 밀접한 관련이 있는 것으로 생각된다. 또한 여러 가지 SOD의 금속 cofactor들 중의 하나인 Mn²⁺의 처리는 저온처리 후 상온으로 환원된 조직에서 현저한 SOD의 활성화를 유도한다고 보고 되어 있다¹²⁾. 따라서 SOD 활성 종류중 야생더덕의 생육환경에 의한 저온 스트레스로부터 생체내 냉해억제를 효과를 보이는 Mn SOD의

활성과 밀접한 관계가 있는 것으로 보인다. 본 연구에서 조사한 SOD의 활성은 지금까지 보고된 식물체와 배양세포주의 활성이 수천 단위 이내인 것¹⁶에 비해 상당히 높은 것으로 나타났다.

POD Activity

년근별로, 생육별로, 부위별로 POD 비활성(unit/mg protein)을 비교 조사한 결과(Fig. 3), 년근별로는 년근수가 높을수록, 생육환경별로는 재배지(밭·논재배)에 비해 야생지역이, 부위별로는 middle 부위가 타 부위에 비해 높은 활성을 나타내었다. POD 활성(unit/g fresh wt.)을 지역별로 비교해 보면 논재배 2년생이 0.24로 가장 높았다. 배양세포주는 0.20unit/g fresh wt.로 생체보다 낮은 활성을 나타내었다. POD 활성은 지역간의 큰 차이가 없었으나 비활성도(unit/mg protein)에서는 야생더덕의 활성이 68unit/mg protein로 논재배 1년생 0.7에 비하여 높은 활성을 나타내었다. 이는 야생지에서 생육한 더덕보다 논재배 더덕의 높은 단백질 함량 때문인 것으로 여겨진다.

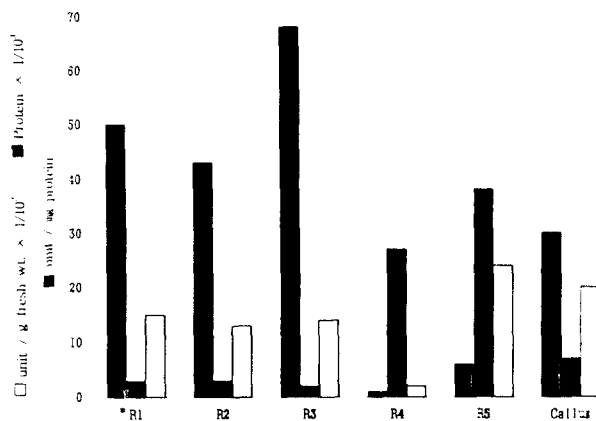


Figure 3. POD activity and protein content in roots of *Codonopsis lanceolata*.

* Refer to Table 1

POD 활성은 식물의 계통분류와 무관하며 식물의 형태적 특성과도 관계가 없다는 연구 보고로 미루어 보아¹⁰ 지역간의 차이는 생육환경 스트레스에 의한 반응으로 여겨진다. 따라서 추후 더덕 뿌리의 생육에 미치는 토양온도, 수분, pH, 중금속의 함유, 미생물, 바이러스 서식과 POD 활성과의 상관관계가 검토 되

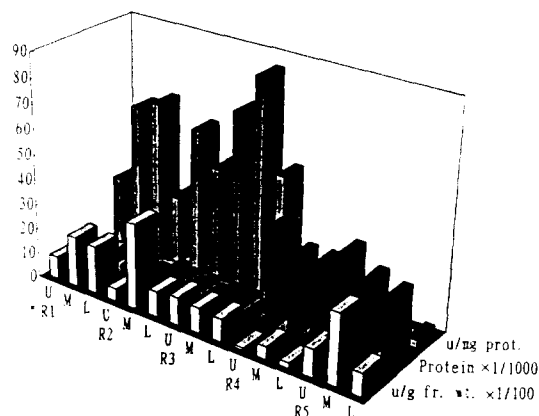


Figure 4. POD activity and protein content in upper, middle, low of roots of *Codonopsis lanceolata*.

* Refer to Table 1

어야 할 것으로 여겨진다.

부위별로의 POD 비활성(unit/mg protein)은 서벽야생 middle 부위가 85unit/mg protein로 가장 높게 나타났으며, 서벽야생 upper, 서벽재배 1년생 lower, middle, 서벽재배 2년생 middle 순으로 높게 나타났다. POD 비활성은 지역간에는 큰 차이가 없었으나 부위별로는 middle>lower>upper 순으로 높게 나타났다(Fig. 4).

CAT Activity

더덕 뿌리를 생육 환경에 따라 항산화효소 CAT 활성을 비교 조사한 결과(Fig. 5), CAT 활성(unit/g fresh wt.)은 POD 활성과는 달리 년근수가 낮을수록 활성은 증가하였고, 논재배 1년생이 13.8unit/g fresh wt.로 가장 높게 나타났다. 비활성도(unit/mg protein)에서는 POD와 마찬가지로 논재배의 경우 그 활성이 상

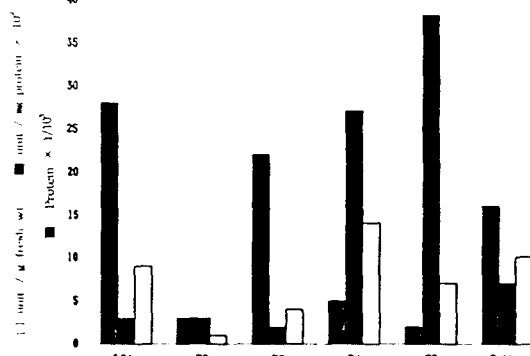


Figure 5. CAT activity and protein content in roots of *Codonopsis lanceolata*.

* Refer to Table 1

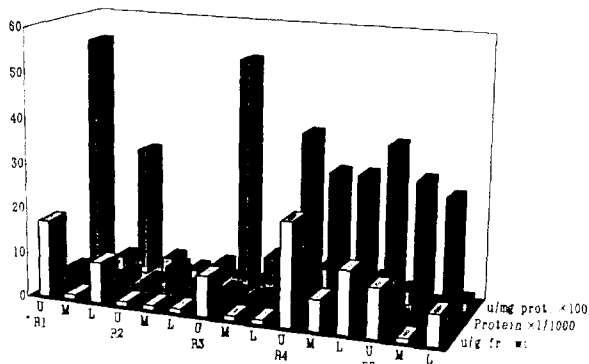


Figure 6. CAT activity and protein content in upper, middle, low of roots of *Codonopsis lanceolata*. * Refer to Table 1

당히 낮게 나타났다. CAT 비활성도를 지역별은 서벽 재배 1년생이 2,830unit/mg protein로 가장 높았으며, 야생종, 배양세포주 순으로 높은 활성을 나타내었다.

부위별로는 POD와는 달리 upper>lower>middle 순으로 높은 활성을 나타내었고, 특히 서벽재배 1년생의 upper가 5351unit/mg protein으로 가장 높은 활성을 나타내었다(Fig. 6).

각 항산화효소 종류별 활성을 비교해 본 결과 SOD가 상대적으로 높은 활성을 나타내었고 CAT, POD 순으로 나타났다. 이는 superoxide에 의해 유도되는 SOD는 O_2^- 를 H_2O_2 와 O_2 로 dismutation시키고 이때 생성된 H_2O_2 가 CAT를 유도한다^{11,12}는 보고와 일치 하였다. 또한 정상대사과정에서의 H_2O_2 분해에는 POD보다 CAT가 주로 담당하고 있음을 시사해 준다.

맹¹³ 등은 더덕 에탄올 추출물의 항산화성을 비교하기 위하여 재배더덕과 야생더덕을 상온추출, 가온추출하여 항산화효과를 측정한 바 있다.

에탄올 추출물에서의 항산화작용은 추출물 모두에서 나타났으며, 특히 재배더덕의 가열추출물에서 가장 높은 효과를 나타내는 보고와는 달리 생체내에서는 야생종에서 항산화효과가 가장 높은 것으로 나타났다.

지금까지 보고된 바에 의하면 배양세포로부터의 항산화효소 활성은 배양세포주가 높은 산화적 스트레스 상태에서 배양되므로 이를 극복하기 위해서 높은 효소활성을 나타낸다고 하였으나^{9,10,25}, 더덕 배양세포주에서는 생체 상태에 비하여 낮은 활성을 나타내었다.

이는 계대배양의 시기에 따른 항산화활성의 pattern은 SOD와 POD의 경우 계대배양 직후와 생장 후기에 높은 활성을 나타내고 CAT의 경우 세포생장 곡선과 같은 pattern을 가지며 세포생장이 좋은 대수 증식기에 가장 높게 나타난다¹⁰는 보고로 미루어 보아 더덕 배양세포를 생장시기별로 항산화효소의 활성 변화를 조사하여 생체와 비교할 필요가 있으며, 특히 항산화효소 활성을 높게 나타내는 야생종의 방어체계 기작을 규명함으로써 더덕 내의 항산화효소 활성을 높일 수 있을 것으로 생각된다.

摘要

더덕 뿌리 내에 함유되어 있는 항산화효소를 생육 환경에 따라 조사하기 위하여 경북 서벽지역의 1·2년생 발더덕, 야생더덕 및 논에서 재배되는 1·2년생 더덕을 채취하여 사용하였고, 부위별 비교는 각 더덕 뿌리를 upper, middle, low로 나누어서 사용하였다. 이들을 O₂ radical cascade인 SOD, POD, CAT activity를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. SOD 활성은 발재배조건인 경우 1년생보다는 2년생이, 논재배지는 1년생이 2년생보다 높은 활성을 나타내었으며, 야생종의 비활성이 86069u/mg protein으로 가장 높은 활성을 나타내었다. 부위별로 비교해보면 재배종은 upper>middle>lower 순으로 논재배지는 low>upper>middle 순으로 야생종은 middle>lower, upper 순으로 생육환경에 따라 차이를 나타내었다.
2. POD 비활성(u/mg protein)은 년근수가 높을수록 활성은 증가하며, 야생지역이 68 u/mg protein로 가장 높은 활성을 나타내었다. 부위별로는 middle>lower>upper 순으로 활성이 나타났으며, 서벽야생의 middle 부분이 85 u/mg protein를 나타내었다.
3. CAT 활성은 POD 활성과는 달리 년근수가 낮을수록 높게 나타났으며, 발재배지와 야생지의 활성은 비슷하며 논재배지는 상대적으로 그 활성이 낮았다. 부위별로는 upper>low>middle 순으로 upper 부위가 상당히 높은 활성을 나타내며, 서벽재배 1년생의 upper가 5359 u/mg protein으로

로 가장 높게 나타났다.

4. MS1D(MS + 2,4-D 1ppm)에 배양한 배양세포의 항산화효소의 활성은 CAT는 1564, POD는 30, SOD는 22200 u/mg protein로 생체에 비해 낮은 활성을 나타내었다

引用文獻

1. Aebi H (1984) Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 105 : 121 - 126.
2. Alscher RG, Hess JL (1993) Antioxidants in Higher Plants. CRC Press, Boca Raton. 1-174.
3. Asada K (1992) Ascorbate Peroxidase - a Hydrogen peroxide Scavenging Enzyme in Plants. *Physiol Plants.* 85 : 235 - 241.
4. Bannister JV, Bannister WH, Rotilio G (1987) Aspects of the structure, function and applications of superoxide dismutase. *CRC Critical Reviews in Biochemistry.* 22 : 111 - 180.
5. Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem.* 72 : 248 - 254.
6. Butt, V. S. (1980) In 'The Biochemistry of Plants'. Direct oxidases and related enzymes. Academic press, New York. 2 : 81 - 123.
7. Gaspar Th, Penel C, Hagege D, Greppin H (1991) Peroxidases in plant growth, differentiation, and development processes. In J Lobarzewski, H Greppin, C Penel, T Gaspar, eds, *Biochemical, Molecular, and physiological Aspects of plant peroxidases.* University of Geneva, Geneva, Switzerland. 249 - 280.
8. Henning D, Nielsen K (1987) Peroxidase - labelled monoclonal antibodies for use in enzyme - immunoassay. *J Immunoassay.* 8 : 297 - 308.
9. 장문식, 허경혜, 김석원, 박일현, 유장렬, 광상수 (1996) 다양한 식물배양세포주에서 catalase 활성과 다른 항산화효소 활성의 비교. *식물조직배양학회지.* 23 : 157 - 160.
10. 김수경, 광상수, 정경희, 민성란, 박일현, 유장렬 (1994) Peroxidase 고생산 식물세포주의 선발. *한국생화학회지.* 27 : 132 - 137.
11. 김종평, 한창균, 정진 (1991) 식물의 냉해에 대한 생체방어기구로서 항산화 효소의 유도 : (1) 저온처리중 pyruvate의 세포내 축적과 상온 환원 후 항산화 효소의 활성. *한국농화학회지* 34 : 162- 167.
12. 김종평, 한창균, 정진 (1991) 식물의 냉해에 대한 생체방어기구로서 항산화 효소의 유도 : (2) Mn +2이온에 의한 세포내 SOD의 활성화와 벼 유묘의 내냉성 향상. *한국농화학회지* 34 : 168 - 173.
13. Klibanov AH, Albert BN, Norries ED, Felshin LM (1980) Enzymatic removal of toxic phenols and anilines from waste waters. *J Appl Biochem.* 2 : 414 - 421.
14. Krell HW (1991) Peroxidase : an important enzyme for diagnostic test kits. In Lobarzewski J, Greppin H, Penel C, Gaspar T, eds, *Molecular, and physiology Aspects of plant peroxidase.* Univ Geneva. 469 - 478.
15. 이덕봉 (1981) *한국 동식물도감 식물편(유용식물).* 삼화출판사. 15권 264, 419.
16. Lynne H. Pitcher and Barbara A. Zilinskas (1996) Overexpression of Copper/Zinc Superoxide Dismutase in the cytosol of Transgenic Tobacco Confers Partial Resistance to Ozone - Induced Foliar Necrosis. *Plant Physiol.* 110 : 583 - 588.
17. 맹연선, 박혜경 (1991) 더덕 에탄올 추출물의 항산화효과. *Korean J. Food Sci. Technol.* 23 : 311 - 316.
18. McCord JM, Fridovich I (1969) Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (Hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244 : 6049 - 6055.
19. Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.* 15 : 473 - 497.
20. 남민희, 박무철, 박경배 (1995) Brassica 속 작물 유묘에서 저온처리에 따른 생화학적 변화. *한국농화학회지.* 38 : 207 - 211.
21. Oyanagui Y (1989) SOD and Active Oxygen Modulators

- : pharmacology and clinical trials. Nihon - Igakukan, Tokyo. 1 - 859.
22. Packer L, Glazer AN (1993) Oxygen Radicals in Biological systems : Oxygen Radicals and Antioxidants. Academic Press, San Diego. 1 - 855.
23. Tottenpudi K. Prasad, Nare D, Anderson, and Cecil R. Stewart (1995) Localization and Characterization of Peroxidases in the Mitochondria of Chilling Aclimated Maize Seedlings. Plants Physiol. 108 : 1597 - 1605.
24. Win Van Camp, Chris Bowler, Raimundo Villarroel, Ed W. T. Tsang, Marc Van Montagu and Dirk Inze (1990) Characterization of iron superoxide dismutase cDNAs from plants obtained by genetic complementation in Escherichia coli. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 87 : 9903 - 9907.
25. 유순희, 김석원, 김상호, 유장렬, 팍상수 (1996) Superoxide dismutase 고생산식물배양 세포주의 선발 및 Isoenzyme 분석. 식물조직배양학회지. 23 : 103 - 106.
- (접수일 : 1996년 10월 15일)