

## 담배 유식물의 생장과 Rubisco에 미치는 카드뮴의 효과에 대한 질산염의 영향

노 광 수\*

계명대학교 생물학과

Received February 14, 2007 / Accepted April 23, 2007

**Influence of Nitrate Against Effect of Cadmium on Growth and Rubisco in Seedling of Tobacco.**  
Kwang Soo Roh\*. Department of Biology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea – This investigation was performed to study the influence of Cd and nitrate on growth, and chlorophyll and photosynthetic enzymes in seedling of tobacco. Growth inhibition by Cd was not recovered by nitrate. Chlorophyll levels were reduced by Cd. The combination of Cd and low concentration of nitrate decreased the chlorophyll content compared to that in plants exposed only to Cd. Activity and content of rubisco at Cd treatment was significantly lesser than in plants receiving no treatment. These data suggest that rubisco activity was associated with an amount of rubisco protein, and that the activation and synthesis of rubisco is inhibited by Cd. Both the activity and content of rubisco decreased by Cd were more decreased by nitrate. A similar change pattern was also observed in activity and content of rubisco activase. These results suggest that Cd- and nitrate-induced changes of rubisco could be correlated with rubisco activase, and that nitrate was concerned in not only the activation and synthesis of rubisco directly, but also rubisco activase leading to a large change in rubisco.

**Key words** – Cd, chlorophyll, nitrate, rubisco, rubisco activase

### 서 론

질소는 고등식물의 뿌리에 의해 토양으로부터 주로 질산염( $\text{NO}_3^-$ )이나 암모늄( $\text{NH}_4^+$ )의 형태로 흡수된다. 질산염은 고등식물이 가장 쉽게 이용할 수 있는 자연에 많이 존재하는 무기 질소원으로서, 흡수된 대부분은 증산류의 상태로 잎으로 상승하며, 식물의 발육과정에서 측근 생식의 자극과 같은 식물체내에서 중요한 조절 분자로 작용한다[34].

질산염은 또한 형태형성을 위한 유일한 질소원으로서 작용하며[5], 식물조직배양에 필수적인 질소 형태이다[27]. Nigra 등[16]은 *Solanum eleagnifolium*의 생장에 미치는 질소원의 연구에서 배지에 첨가하는 질산염과 암모늄의 농도비가 생장에 현저한 효과를 나타내는데, 두 질소원을 같이 사용했을 때 생장이 가장 양호한 반면, 분리하여 사용했을 때는 감소하였으며, 특히 암모늄보다는 질산염의 영향이 크다고 보고하였다.

많은 금속 원소 중에서 고농도의 카드뮴(Cd)은 가장 독성이 강한 중금속 오염물질의 하나로서 인식되고 있으며, 다른 필수 금속이온들을 비가역적으로 치환시키는 작용을 한다[22]. 카드뮴은 식물의 생장에 필수적인 성분은 아니지만, 뿌리를 통해 식물체내로 흡수된 후 통기기관으로 운반되어 주로 액포 내에 고농도로 축적된 다음, 식물체내에서 형태적이거나 생리적인 대사 체계를 혼란시키는 것으로 알려져 있다[2,

35]. 이외에도 RNA 합성과 RNase 활성[28], catalase와 ascorbate peroxidase 활성[29], 및 식물 세포막을 구성하는 지질과 각종 원소의 조성과 분포의 변화를 유도할[18] 뿐만 아니라, 기공 저항, 증산율과 상대적 수분함량의 감소와 같은 수분 스트레스의 변화에 관여하고[4], 산화적 현상을 자극하는 것으로 알려져 있다[17].

이와 같이 카드뮴의 의한 독성 효과와 생리적 작용 등에 대해서는 비교적 잘 알려져 있으나, 카드뮴과 질산염의 독성 효과를  $\text{CO}_2$  고정에 관여하는 효소들 차원에서 연구된 논문은 거의 없다. 이를 위해 본 연구에서는 담배의 생장, 엽록소, 특히 rubisco/rubisco activase에 대한 카드뮴의 독성과 질산염의 억제 효과를 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 담배 신탄 절편으로부터 기내 성장

70% (v/v) 에탄올과 3% (v/v) sodium hypochlorite 용액으로 살균시킨 담배(*Nicotiana tabacum* L.) 종자를 MS [15] 한천 (0.8%) 배지에서  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 암상태에서 무균적으로 발아시켰다. 4주간 성장시킨 2 cm 크기의 신탄 절편 5개를 3가지 실험 조건[1] 대조구(카드뮴 비처리구), 2) 카드뮴 처리구(0.2 mM  $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ [25]), 3) 카드뮴(0.2 mM  $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ )과 질산염(180 mM  $\text{KNO}_3$ ) 혼합 처리구)의 MS 배지가 들어있는 페트리접시에 옮겼다. 1)과 2)의 MS배지에는  $\text{KNO}_3$ 가 376 mM 함유되어 있다. 16 시간의 광주기( $800 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}$  PFD)와 8 시간의 암주기로  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 3 주 동안 생장시켰다. 완전

\*Corresponding author

Tel : +82-53-580-5207, Fax : +82-53-580-5164

E-mail : rks@kmu.ac.kr

히 퍼진 잎을 본 실험에 사용하였으며, 모든 실험은 각각 2번 반복하였다.

#### 엽록소 함량 측정

Inskeep and Bloom[9]의 방법을 사용하여 엽록소 함량을 측정하였다. 냉동시킨 잎을 5°C의 암 상태에서 DMF 용액에 담가 하루 밤 동안 둔 후, 추출물을 8,000xg에서 5분간 원심 분리 하였다. 상등액의 흡광도를 664.5 nm와 647 nm에서 측정 한 다음 아래의 식을 이용하여 엽록소 a 와 b의 함량을 계산하였다.

$$\text{Chlorophyll a (mg/g fw)} = 12.70 A_{664.5} - 2.79 A_{647}$$

$$\text{Chlorophyll b (mg/g fw)} = 20.70 A_{647} - 4.62 A_{664.5}$$

#### Rubisco와 rubisco activase의 분리

기내 배양된 담배의 잎에서 Wang 등[36]의 방법에 따라 rubisco와 rubisco activase를 분리하였다. Liquid nitrogen을 가하여 마쇄한 잎(100 g)의 powder에 extraction buffer(50 mM BTP(pH 7.0), 10 mM NaHCO<sub>3</sub>, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM EDTA, 0.5 mM ATP, 10 mM DTT, 1 mM PMSF, 1 mM benzamidine, 0.01 mM leupeptin, 1.5% PVPP and 3 mM MBT)를 첨가하여 0°C 이상으로 온도가 증가될 때까지 저어 준 다음, 4겹의 거즈와 1겹의 miracloth로 여과한 여과액을 30,000xg에서 40분간 원심분리 하였다.

상등액에 solid (NH<sub>2</sub>)SO<sub>4</sub>를 천천히 가하여 포화 농도가 35%가 될 때까지 30분 간 저어준 다음, 8,000xg에서 10분간 원심분리하여 rubisco가 함유된 상등액과 rubisco activase가 들어있는 침전물을 분리하였다.

상등액에 solid (NH<sub>2</sub>)SO<sub>4</sub>를 천천히 가하여 saturation 농도가 55%가 되게 한 다음, 10,000xg에서 10분간 원심분리하여 얻어진 침전물에 buffer A [20 mM BTP (pH 7.0), 0.2 mM ATP, 10 mM MgCl<sub>2</sub> and 2 mM MBT (buffer A)]를 가하고, 여기에 최종농도가 18%되게 50% (w/v) PEG-10,000을 첨가하여 10분간 저어주었다. 8,000xg에서 10분간 원심분리하여 얻은 침전물을 buffer A로 현탁한 다음, 이 현탁액을 20 mM Tris(pH 7.5), 10 mM NaHCO<sub>3</sub>, 10 mM MgCl<sub>2</sub>로 평형된 Q-Sepharose column상에 loading하여 0.1 M NaCl이 들어있는 동일 buffer로 세척시킨 후, 0.1 - 0.5 M NaCl로 분당 1 mL의 속도로 용출시켰다. 가장 높은 rubisco의 활성을 가지고 있는 3 mL 분획을 모아 -80°C에 저장하였다.

위에서 얻어진 rubisco activase가 들어있는 침전물을 buffer A로 현탁하고, 여기에 최종농도가 18%되게 50% (w/v) PEG-10,000을 첨가하여 5분간의 저어준 다음, 8,000xg에서 10분간 원심분리하였다. 얻은 침전물을 buffer A로 현탁하고 20,000xg에서 10분간 재 원심분리 하였다. 상등액을 Q-Sepharose column상에 loading하여 20 mM BTP (pH 7.0) 용액으로 세척한 후, 0 - 0.5 mM NaCl 용액으로 분당 1 mL의

속도로 용출시켰다. 가장 높은 rubisco activase의 활성을 가지고 있는 3 mL 분획을 모아 -80°C에 저장하였다.

모든 분리과정은 4°C에서 수행하였다.

#### Rubisco와 rubisco activase의 활성 측정

Rubisco의 활성은 1 M Tris buffer (pH 7.8), 0.006 M NADH, 0.1 M GSH, 0.5% glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, 0.025 M 3-phosphoglycerate kinase, 0.05% α-glycerophosphate dehydrogenase-triose phosphate isomerase, 0.025 M RuBP, 0.2 M ATP, 0.5 M MgCl<sub>2</sub>, 0.5 M KHCO<sub>3</sub>에 분리한 rubisco 용액을 첨가한 후, 340 nm에서 흡광도를 측정하여 NADH 산화율로부터 계산하였다[23]. 1 unit는 분당 1 μM의 RuBP가 만들어지는 효소의 양으로 정의하였다.

Rubisco activase의 활성은 반응 혼합액(50 mM Tricine-KOH(pH 8.0), 20 mM KCl, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM ATP, 1 mM phosphoenolpyruvate, 0.3 mM NADH, 40 units/mL pyruvate kinase, 40 units/mL lactate dehydrogenase)에 rubisco activase 용액을 가한 다음, 340 nm에서 흡광도를 측정하여 NADH 산화율로부터 ADP의 생성율을 계산하였다[24]. 분당 1 μM ATP가 ADP로 분해되는 양을 1 unit로 정의 하였다.

#### Rubisco와 rubisco activase의 함량 측정

Rubisco와 rubisco activase의 함량은 항체를 이용한 ELISA법에 의해 측정하였다[3]. 이는 단백질이나 효소의 함량을 측정하는데 가장 감도가 높고 비교적 빠른 방법이다. Microplate의 well에 0.1 M sodium carbonate-bicarbonate buffer 용액(pH 9.5)으로 희석된 두 효소 용액을 각각 가한 다음, 4°C에서 하루 밤 동안 반응시키고, 0.05% Tween 20이 들어있는 0.01 M PBS (pH 7.4)용액으로 3번 세척하였다. Blocking을 위해 0.01 M PBS (pH 7.4)로 만든 0.1% BSA 용액을 사용하였다. 1차 항체로서 토끼 항 rubisco와 항 rubisco activase 항혈청을 각각 사용하였으며[25], 2차 항체로서는 0.1% BSA가 함유된 0.01 M PBS (pH 7.4)로 1:20,000 희석시킨 peroxidase-conjugated goat anti-rabbit IgG 용액을 사용하였다. Peroxidase의 기질[30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 함유된 0.05 M citrate/0.1 M sodium phosphate buffer (pH 5.0)로 만든 OPD tablet 용액]을 가하여 암상태의 실온에서 20분간 반응시킨 후, 1 N HCl로 반응을 정지시켰다. ELISA microplate reader (Bio-Rad model 3550-UV)를 사용하여 492 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 결과 및 고찰

담배 신초 절편을 376 mM KNO<sub>3</sub>가 함유된 대조구와 카드뮴 처리구 그리고 카드뮴과 180 mM KNO<sub>3</sub>가 함유된 질산염 처리구에서 3주간 생장시킨 다음, 카드뮴과 질산염에 의한

담배의 생장을 관찰하기위해 생체 중량, 신초와 뿌리의 길이를 측정하였다. 카드뮴만을 처리한 담배의 생체중량은 대조구에 비해 현저히 감소하였으며, 질산염(180 mM KNO<sub>3</sub>)을 처리하였을 때는 더욱 더 감소하였다(Fig. 1). 잎 chlorosis는 카드뮴에 의한 영향에 의해 나타나는 현상 중의 하나로서 [37], 본 연구에서도 잎이 노란색으로 변화였다. 질산염 처리구에서는 잎이 성숙되지 못하고 쪼그라짐과 백화 현상이 나타났으며 발육이 거의 되지 않았다(미공개).

대조구와 비교하여 카드뮴만을 처리한 신초의 길이는 현저히 감소하였으며, 카드뮴과 질산염 혼합 처리구에서는 더 감소하였다. 이와 같은 양상은 뿌리에서도 나타났는데, 특히 질산염 처리구에서는 뿌리가 생성되지 않았으며, 신초와 뿌리에 미치는 영향을 비교하면 뿌리에 대한 억제 효과가 더 크게 나타났다(Fig. 2). 이 결과로부터 질산염이 신초보다는 뿌리의 생장에 더 영향을 미친다는 것을 알 수 있으며, 질산염의 부족은 카드뮴의 억제 효과를 상승시킴을 의미하는 것

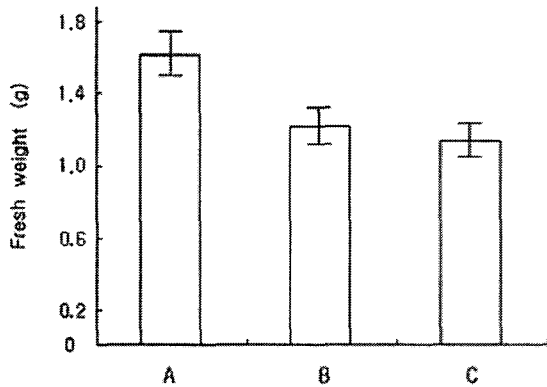


Fig. 1. Effects of cadmium and nitrate on fresh weight in tobacco seedling. A, 376 mM KNO<sub>3</sub> without Cd; B, 376 mM with 0.2 mM CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O; C, 180 mM KNO<sub>3</sub> with Cd.

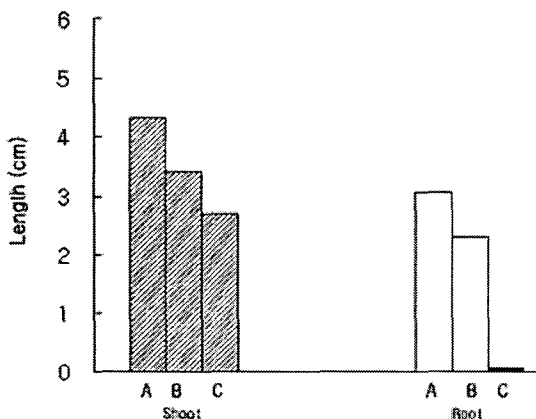


Fig. 2. Effects of cadmium and nitrate on length of shoot and root in tobacco seedling. A, 376 mM KNO<sub>3</sub> without Cd; B, 376 mM with 0.2 mM CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O; C, 180 mM KNO<sub>3</sub> with Cd.

이다. 또한 담배의 생장이 질산염에 의해 회복되지 않는 것으로 보아, 질산염은 칼슘과는 달리 카드뮴에 대한 detox-  
 -idant나 trigger[25]로서 작용하지 않는 것으로 추측된다.

엽록소 a는 엽록체 틸라코이드 막에 존재하는 광계의 반응 중심에 위치하고 있으며, 엽록소 b는 반응 중심보다는 오히려 LCH 복합체에 주로 존재하는[11] 광합성 색소이다. 광합성에 미치는 카드뮴의 negative한 효과는 광합성 색소들의 함량의 감소에 기인되는데[30], 본 연구에서도 대조구와 비교하여 카드뮴 처리구에서의 엽록소 a와 b의 함량은 현저히 감소하였다(Fig. 3). 이는 카드뮴에 의해 엽록소의 생성에 관여하는 aminolevulinic acid의 합성과[32] protochlorophyllide의 광환원 반응이[1] 억제되었기 때문으로 해석되며, 카드뮴의 독성이 엽록소 수준의 현저한 감소와 연관되어 있음을 추측하게 한다. 본 연구에서의 결과와 같이 Dubé와 Bornman [7], 그리고 Larsson 등[10]은 각각 카드뮴을 처리한 전나무와 유채 잎에서 엽록소 함량이 감소됨을 관찰하였으며, 또한 Sandalio 등[26]도 완두 잎에서 Cd에 의해 엽록소의 농도가 현저하게 감소된다고 보고하였다.

카드뮴과 질산염 혼합 처리구에서는 카드뮴 처리구에서보다 엽록소 a와 b의 함량이 더 감소하였다(Fig. 3). 이는 질산염이 카드뮴의 작용을 억제시켰기 때문으로 생각된다. 질소원의 공급을 증가시켜 질소가 풍부해지면 엽록소의 함량이 증가한다는 Yamashita의 보고[38]로 미루어 보아, 질산염의 농도를 증가시키면 Fig. 3 C와 B에서 보는바와 같은 회복 현상이 일어난다. 엽록소 a와 b에 미치는 영향을 비교하면 엽록소 a보다 b에 대한 억제 효과가 더 크게 나타났다. 이 결과로부터 카드뮴과 질산염이 엽록소 a보다는 b에 더 영향을 미친다는 것을 알 수 있다.

불활성 상태로 엽록체 내에서 조립되어 만들어진 rubisco가 기질인 CO<sub>2</sub>를 고정하기 위해서는, large subunit의 활성 부위에 있는 201번 lysine 잔기의 ε-amino group에 activator

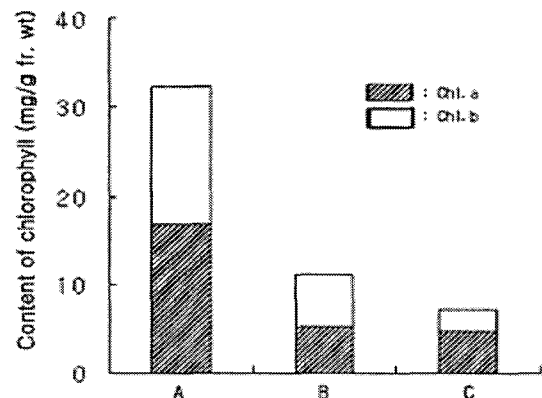


Fig. 3. Effects of cadmium and nitrate on content of chlorophyll a and b in tobacco seedling leaves. A, 376 mM KNO<sub>3</sub> without Cd; B, 376 mM with 0.2 mM CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O; C, 180 mM KNO<sub>3</sub> with Cd.

CO<sub>2</sub>와 Mg<sup>2+</sup>가 결합하여 활성 상태가 되어야만 한다[14]. Rubisco에 대한 카드뮴과 질산염의 효과를 연구하기 위해, 담배 유식물의 잎으로부터 Q-Sepharose column 상에서 0.1 - 0.5 M NaCl로 용출시켜 rubisco를 분리한 다음, 이의 활성과 함량을 각각 분광분석기와 항체를 사용한 면역학적 방법을 이용하여 측정하였다.

카드뮴 처리구는 대조구와 비교하여 rubisco의 활성이 현저히 감소되었는데(Fig. 4), 이는 rubisco의 활성부위에 존재하는 시스테인의 SH 기에 카드뮴이 비가역적으로 결합하여 [31] 이 효소의 활성을 억제시켰기 때문이다. Panković 등 [19]은 Calvin회로에서 RuBP 재생성에 카드뮴이 관여한다는 것을 보고하였으며, Mendelsohn 등[13]은 생장 배지에 존재하는 카드뮴에 의해 광합성이 현저히 감소된다는 사실을 확인하였다. 카드뮴과 질산염 혼합 처리구에서도 대조구와 비교하여 rubisco의 활성이 현저히 감소하였는데(Fig. 4), 이는 질소원의 결핍에 의한 현상으로 해석되며, 카드뮴 처리구와 비교하면 약간 감소하였다. Yamashita[38]는 뽕나무 잎에 질소의 공급을 증가시키면 RuBPCase의 활성이 증가한다고 하였는데, 대조구가 질산염 처리구에서 보다 높게 나타난 것으로 보아, 질산염의 농도를 증가시켜 주면 활성이 증가할 것으로 추측된다. 또한 광합성물의 변화가 rubisco 활성의 변화와 관계가 있다는 보고[33]로 보아, 질산염에 의한 rubisco의 활성 증가는 광합성물을 증가시킬 것으로 추측된다.

카드뮴 처리구는 대조구와 비교하여 rubisco의 함량이 현저히 감소하였고, 카드뮴과 질산염 혼합 처리구에서도 대조구와 비교하여 rubisco의 함량이 현저히 감소하였으며, 카드뮴과 질산염 혼합 처리구에서도 카드뮴 처리구와 비교하여 rubisco의 함량이 감소하였다(Fig. 5). 이는 질소원의 결핍에 의해 나타나는 현상으로 해석된다. 본 연구 결과와는 다르게 Huffaker[8]와 Makino 등[12]은 각각 보리와 벼의 잎에 질소

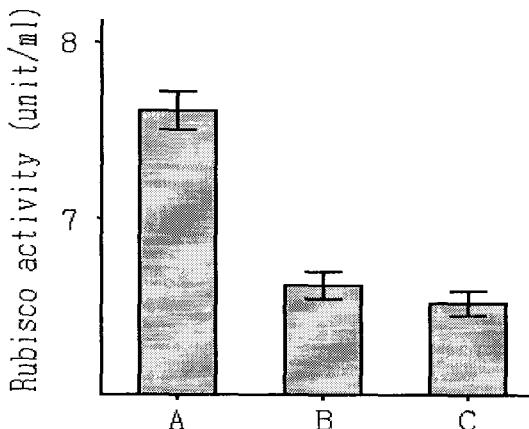


Fig. 4. Effects of cadmium and nitrate on the activity of rubisco in tobacco seedling leaves. A, 376 mM KNO<sub>3</sub> without Cd; B, 376 mM with 0.2 mM CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O; C, 180 mM KNO<sub>3</sub> with Cd.

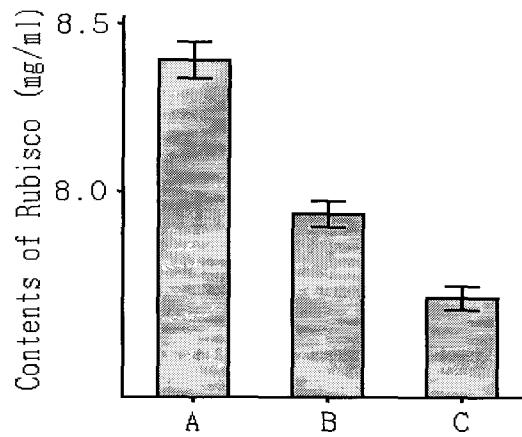


Fig. 5. Effects of cadmium and nitrate on the content of rubisco in tobacco seedling leaves. A, 376 mM KNO<sub>3</sub> without Cd; B, 376 mM with 0.2 mM CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O; C, 180 mM KNO<sub>3</sub> with Cd.

원을 외부에서 공급해 주면 RuBPCase의 농도가 촉진됨을 보고하였다. 따라서 이러한 차이는 질소원의 종류와 농도에 따라 다르기 때문에 나타나는 현상으로 추측된다. 본 연구에서 rubisco의 함량이 rubisco의 활성과 같은 경향을 보인 것으로 보아, rubisco의 함량이 활성과 상호 연관되어 있으며 [6], rubisco의 활성화와 합성이 카드뮴에 의해서는 저해되나, 이 저해 현상이 질산염에 의해서는 회복되지 못하는 것으로 해석된다. 따라서 카드뮴은 negative effector로 작용하나, 카드뮴에 대해 저농도의 질산염은 positive effector로 작용하지 못하는 것으로 생각된다.

Rubisco activase는 rubisco의 활성을 조절하는 효소로서 [20], ATP와 RuBP의 존재 하에서[33] rubisco의 촉매 활성을 유지시키고 촉진시켜주는 역할을 하는 새로운 형태의 chaperone[21]이다. Rubisco activase의 조절은 두개의 isoform 중에서 large isoform의 카복시 말단에서 thioredoxin-f에 의해 매개되는 산화환원반응의 변화를 통해 일어난다[39]. 이러한 rubisco activase의 특성과 연관시켜, 본 연구에서는 카드뮴과 질산염에 의해 유도되는 rubisco의 활성과 함량 변화가 rubisco activase와 관련되었을 것이라는 가정 하에, rubisco에 대한 카드뮴과 질산염의 영향의 원인을 규명하기 위해 Q-Sepharose를 이용한 anion exchange chromatograph에 의해 분리한 rubisco activase의 활성과 함량을 측정하였다.

카드뮴 처리구의 rubisco activase 활성은 대조구에서의 활성과 비교하여 현저히 감소되었고, 카드뮴과 질산염 혼합 처리구의 rubisco activase 활성도 대조구와 비교하여 현저히 감소하였으며, 또한 카드뮴과 질산염 혼합 처리구의 rubisco activase도 카드뮴 처리구와 비교하여 활성이 감소하였다(Fig. 6). Rubisco activase의 함량도 대조구, 카드뮴 처리구, 및 카드뮴과 질산염 혼합 처리구 모두에서 활성과 같은 경향을 나타내었다(Fig. 7). 이와 같은 rubisco activase의 활성과

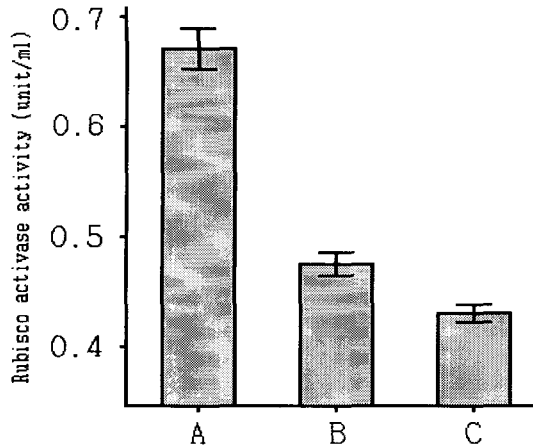


Fig. 6. Effects of cadmium and nitrate on the activity of rubisco activase in tobacco seedling leaves. A, 376 mM KNO<sub>3</sub> without Cd; B, 376 mM with 0.2 mM CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O; C, 180 mM KNO<sub>3</sub> with Cd.

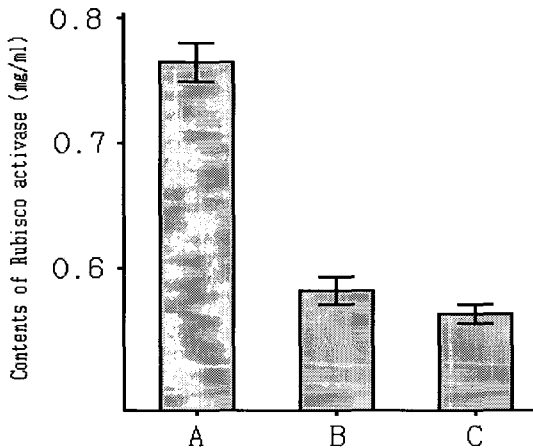


Fig. 7. Effects of cadmium and nitrate on the content of rubisco activase in tobacco seedling leaves. A, 376 mM KNO<sub>3</sub> without Cd; B, 376 mM with 0.2 mM CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O; C, 180 mM KNO<sub>3</sub> with Cd.

함량 변화 경향이 rubisco의 활성과 함량과 같은 경향을 보였다는 것은 카드뮴과 질산염이 rubisco activase를 통해서 rubisco의 활성화와 합성에 관여한다는 것을 의미한다.

이상의 결과를 종합하면, rubisco와 rubisco activase의 활성과 함량은 카드뮴에 의해 감소되면서 질산염에 의해 회복되지 못하고, 질산염의 부족은 카드뮴의 억제효과를 증가시키는 것으로 생각된다. 이 과정에서 질산염은 직접적으로 rubisco의 활성화와 합성에 관여 할 뿐만 아니라 rubisco activase를 통해서도 rubisco의 작용에 관여하는 것으로 해석된다.

### 요 약

담배 유식물의 성장, 엽록소 및 광합성 효소에 대한 카드뮴과 질산염의 영향에 대해 연구하였다. 카드뮴에 의한 억제

된 생장은 질산염에 의해 회복되지 않았다. 엽록소 a와 b의 함량은 카드뮴에 의해 감소하였으며, 카드뮴과 질산염 혼합 처리구는 카드뮴 처리구보다 엽록소 함량이 감소하였다. 카드뮴 처리구에서의 rubisco의 활성과 함량은 대조구에서의 함량보다 현저히 작았다. 이는 rubisco의 활성이 함량과 연관되어 있으며, rubisco의 활성화와 합성이 카드뮴에 의해 저해된다는 것을 의미한다. 카드뮴에 의해 감소된 rubisco의 활성과 함량은 질산염에 의해 더욱 더 감소되었다. 이와 비슷한 변화가 rubisco activase의 활성과 함량에서도 관찰되었다. 이 결과들은 카드뮴과 질산염에 의해 유도되는 rubisco의 변화가 rubisco activase와 서로 연관되어 있음을 의미하며, 질산염은 직접적으로 rubisco의 활성화와 합성에 관여 할 뿐만 아니라 rubisco activase를 통해서도 rubisco의 수준에 관여하는 것으로 해석된다.

### 참 고 문 헌

- Böddi, B., A. R. Oravec and E. Lehoczi. 1995. Effect of cadmium on organization and photoreduction of protochlorophyllide in dark-grown leaves and etioplast inner membrane preparations of wheat. *Photosynthetica* **31**, 411-420.
- Catalado, D. A., T. R. Garland and R. E. Wildung. 1981. Cadmium distribution and chemical fate in soybean plants. *Plant Physiol.* **68**, 835-839.
- Catt, J. W. and P. Millard. 1988. The measurement of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase concentration in the leaves of potato plants by enzyme linked immunosorbition assays. *J. Exp. Bot.* **39**, 157-164.
- Chen, Y. and A. J. Huerta. 1997. Effect of sulfur nutrition on photosynthesis in cadmium-treated barley seedlings. *J. Plant Nutrition* **20**, 845-856.
- Cousson, A. and K. Van Tran Thanh. 1993. Influence of ionic composition of the culture medium on *de novo* flower formation in tobacco thin cell layers. *Can. J. Botany* **71**, 506-511.
- Downton, W. J. S., O. Bjorkman and C. S. Pike. 1980. Consequences of increased atmospheric concentrations of carbon dioxide for growth and photosynthesis of higher plant. pp 143-151, In Pearman, G. I. (ed.), *Carbon Dioxide and Climate*, Australian Research, Australian Academy of Science, Canberra, Australia.
- Dubé, S. L. and J. F. Bornman. 1992. Response of spruce seedlings to simultaneous exposure to ultraviolet-B radiation and cadmium. *Plant Physiol. Biochemistry* **30**, 761-767.
- Huffaker, R. C. 1982. Biochemistry and physiology of leaf protein. pp 370-400, In Boulter, D. and Parthier (eds.), *Encyclopedia of Plant Physiology*, New Series Vol. 14A, Springer-Verlag, Berlin.
- Inskeep, W. P. and P. R. Bloom. 1985. Extinction coefficients of chlorophyll a and b in *N, N*-dimethylformamide and 80% acetone. *Plant Physiol.* **77**, 483-485.
- Larsson, E., H. Bornman and H. Asp. 1998. Influence of

- UV-B radiation and Cd<sup>2+</sup> on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in *Brassica napus*. *J. Exp. Bot.* **49**, 1031-1039.
11. Leong, T. Y. and J. Anderson. 1984. Adaptation of the thylakoid membranes of pea chloroplasts to light intensities. I. Study on the distribution of chlorophyll-protein complexes. *Photosynth. Res.* **5**, 105-115.
  12. Makino, A., T. Mae and K. Ohira. 1983. Photosynthesis and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase in rice leaves. Changes in photosynthesis and enzymes involved in carbon assimilation from leaf development through senescence. *Plant Physiol.* **73**, 1002-1007.
  13. Mendelssohn, I. A., K. L. Mckee and T. Kong. 2001. A comparison of physiological indicators of sublethal cadmium stress in wetland plants. *Environ. Exp. Bot.* **46**, 263-275.
  14. Miziorko, H. M. and G. H. Lorimer. 1983. Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase- oxygenase. *Annu. Rev. Biochem.* **52**, 507-535.
  15. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant* **15**, 473-497.
  16. Nigra, H. M., M. A. Alvarez and A. M. Giulietti. 1990. Effect of carbon and nitrogen source on growth and solasodine production in batch suspension cultures of *Solanum elaeagnifolium* Acv. *Plant Cell Tissue Organ Culture* **21**, 55-60.
  17. Olmos, E., J. R. Martinez-Solano, A. Piqueras and E. Hellin. 2003. Early steps in the oxidative burst induced by cadmium in cultured tobacco cells (BY-2 line). *J. Exp. Bot.* **54**, 291-301.
  18. Ouariti, O., N. Boussama, M. Zarrouk, A. Cherif and M. H. Ghorbal. 1997. Cadmium- and copper-induced changes in tomato membrane lipids. *Phytochemistry* **45**, 1343-1350.
  19. Panković, D., M. Plesničar, I. Arsenijević-Maksimović, N. Petrović, Z. Sakač and R. Kastori. 2000. Effects of nitrogen nutrition on photosynthesis in Cd-treated sunflower plants. *Annals Botany* **86**, 841-847.
  20. Portis, A. R. Jr. 1992. Regulation of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activity. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **43**, 415-437.
  21. Portis, A. R. Jr. 2003. Rubisco activase: Rubisco 's catalytic chaperone. *Photosynth. Res.* **75**, 11-27.
  22. Prasad, M. N. V. 1995. Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. *Environ. Exp. Bot.* **35**, 525-545.
  23. Racker, E. 1962. Ribulose diphosphate carboxylase from spinach leaves. *Methods Enzymol.* **5**, 266-270.
  24. Robinson, S. P. and A. R. Portis Jr. 1989. Adenosine triphosphate hydrolysis by purified rubisco activase. *Arch. Biochem. Biophys.* **268**, 93-99.
  25. Roh, K. S. and H. S. Chin. 2005. Cadmium toxicity and calcium effect on growth and photosynthesis of tobacco. *J. Life Science* **15**, 453-460.
  26. Sandalio, L. M., H. C. Dalurzo, M. Gómez, M. C. Romero-Puertas and L. A. Del Río. 2001. Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *J. Exp. Bot.* **52**, 2115-2126.
  27. Sathyanarayana, B. N. and J. Blake. 1994. The effect of nitrogen sources and initial pH of the media with or without buffer on *in vitro* rooting of jack fruit. pp 77-82, In Lumsden, P. J., J. R. Nicholas and W. J. Davies (eds.). *Physiology, Growth and Development of Plants in Culture*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
  28. Shah, K. and R. S. Dubey. 1995. Effect of cadmium on RNA level as well as activity and molecular forms of ribonuclease in growing rice seedlings. *Plant Physiol. Biochem.* **33**, 577-584.
  29. Shaw, B. P. 1995. Effects of mercury and cadmium on the activities of antioxidative enzymes in the seedlings of *Phaseolus vulgaris*. *Biologica Plantarum* **37**, 587-596.
  30. Siedlecka, A. and Z. Krupa. 1996. Interaction between cadmium and iron and its effects on photosynthetic capacity of primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol. Biochem.* **34**, 833-841.
  31. Stiborova, M. 1988. Cd<sup>2+</sup> ions affect the quaternary structure of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase from barley leaves. *Biochimica Physiologia Pflanzen* **183**, 371-378.
  32. Stobart, A. K., W. T. Griffiths, I. Ameen-Bukhari and R. P. Sherwood. 1985. The effect of Cd<sup>2+</sup> on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. *Physiol. Plant* **63**, 293-298.
  33. Streusand, V. J. and A. R. Portis Jr. 1987. Rubisco activase mediates ATP- dependent activation of ribulose bisphosphate carboxylase. *Plant Physiol.* **85**, 152-154.
  34. Trewavas, A. J. 1983. Nitrate as a plant hormone. In Jackson, M. B. (ed.), *British Plant Growth Regulator Group Monograph* Vol. 9, Oxford, British.
  35. Vögeli-Lange, R. and G. J. Wagner. 1990. Subcellular localization of cadmium and cadmium-binding peptides in tobacco leaves. *Plant Physiol.* **92**, 1086-1093.
  36. Wang, Z. Y., G. W. Snyder, B. D. Esau, A. R. Portis Jr. and W. L. Ogren. 1992. Species-dependent variation in the interaction of substrate-bound ribulose-1,5- bisphosphate carboxylase/oxygenase and rubisco activase. *Plant Physiol.* **100**, 1858-1862.
  37. Woolhouse, H. W. 1983. Toxicity and tolerance of plants to heavy metals. *Encycl. Plant Physiol.* **12**, 246-300.
  38. Yamashita T. 1986. Changes in ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase concentration due to external nitrogen supply. *Annals Botany* **58**, 277-280.
  39. Zhang, N. and A. R. Portis Jr. 1999. Mechanism of light regulation of rubisco: A specific role for the larger rubisco activase isoform involving reductive activation by thio-redoxin-f. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 9438-9443.