

활성산소종이 무궁화 꽃의 노화에 미치는 영향

서상규^{1*} · 김선형¹ · 이금표² · 강승원³

¹서울시립대학교 환경원예학과, ²중앙대학교 산업과학대학 식물응용과학과, ³쓰쿠바대학 대학원 생명환경과학연구과 유전자실험센터

Effect of reactive oxygen species on floral senescence in *Hibiscus syriacus* L.

Sang-Gyu Seo^{1*} · Sun-Hyung Kim¹ · Gung-Pyo Lee² · Seung-Won Kang³

¹Department of Environmental Horticulture, The University of Seoul, Jeonong-dong 90, Dongdaemun-gu, Seoul 130-734, Korea

²Department of Applied Plant Science, College of Industrial Science, Chung-Ang University, Anseong-Si, Gyeonggi-Do, 456-756, Korea

³Gene Research Center, Graduate School of Life and Environmental Science, University of Tsukuba, Tsukuba 305-0006, Japan

Abstract To understand the effect of reactive oxygen species (ROS) on floral senescence in *Hibiscus syriacus* L., we have investigated change in relative water potential, malondialdehyde (MDA) content, H₂O₂ content and the activity of antioxidative enzymes in the petals during flower opening and senescence. *Hibiscus* flowers were achieved full bloom at early morning and started to in-rolling and showed petal in-rolling over than 50% at 24 h and 36 h after full bloom, respectively. The flower was a decrease in fresh weight by 30% and showed water loss with floral senescence. MDA content and activity of antioxidative enzymes such as APX, GR and CAT were showed no significant change until 36 h after full bloom. In the flower 48 h after full bloom that showed complete petal in-rolling and wilting, however, activity of antioxidative enzymes and H₂O₂ content was greatly increased as compared with 0 h after full bloom. These results suggest that reactive oxygen species are related to accelerating the later senescence more than inducing the early senescence during *Hibiscus* flower senescence.

서 론

우리나라의 국화인 무궁화는 아욱과 부용속의 다년생 수목으로 세계각지의 열대, 아열대, 일부 온대지역을 중심으로 분포하여 현재 약 250 여 종이 존재하는 것으로 알려져 있다. 무궁화는 일반가정의 관상용 수목으로 이용될 뿐 만 아니라, 공원이나 도로주변, 각종 관공서 등에 식재되어 주변에서 자주 볼 수 있는 매우 친근한 수목으로 인식되고 있다. 무궁화의 개화는 60~100일 정도로 품종간의 다소 차이는 있지만 대체로 7월에서 10월까지 긴 시간 동안 꽃을 볼 수 있다. 그러나 꽃 하나하나의 수명은 매우 짧아 대표적인 단명화종의 하나이다. 무궁화의 꽃은 그 수명이 짧고, 개화 및 노화시간이 비교적 일률적이어서 단시간에 개화 및 노화에 따른 형태변화가 관찰가능하며, 또한 경시적인 생리생화학적 대사 변화를 관찰하기에 용이하다. 따라서 단명화의 꽃의 노화에 관한 연구

및 카네이션을 비롯한 장명화의 꽃의 노화기작과의 비교연구에 있어서 좋은 모델식물로 생각된다. 그러나 무궁화 꽃의 노화에 관한 연구는 미비한 실정이며, 노화과정중의 생리적 변화 및 미세구조적 변화 (Kwon 2002), 에틸렌과 폴리아민 대사의 변화 (Chae et al. 1995; Seo et al. 2007) 등에 관한 연구가 수행되어왔다.

꽃의 노화는 꽃잎의 in-rolling, 기관탈리, wilting, 화색의 변화 등의 가시적인 현상이 나타나는 한편, 조직·세포의 레벨수준에서는 생체막의 변화, 단백질 및 핵산의 손실, 탄수화물의 조성변동 및 세포벽의 구성변화 등이 일어난다 (Rubinstein 2000). 산화는 지질의 과산화나 막 투과성의 손실을 입히는 중요한 노화현상 중의 하나이다. 지질의 과산화에는 lipoxygenase나 활성산소종 등이 관여하며, 카네이션 (Sylvestre et al. 1989), daylily (Panavas and Rubinstein 1998), 국화 (Bartoli et al. 1995) 등에서 꽃의 노화시기에 지질의 과산화가 관찰되었다. 활성산소종은 정상적인 식물생육과정에 있어서도 생성되지만, 스트레스나 노화시에는 크게 증가해 식물조직에 피해를 입히게 된다. 꽃의 노화에 있어서도 활성산소종이 관여하고 있으며, 활성산소종 발생제인 paraquat 처리에 의한 카네이션의

*Corresponding author Tel 02-2210-5728 Fax 02-2210-2838

E-mail: atos13@hanmail.net

노화촉진 (Bartoli et al. 1996) 및 활성산소종의 소거제의 처리에 의한 노화지연 효과 (Baker et al. 1977) 가 보고되었다. 이에 더해, 대표적인 단명화인 daylily에서는 과산화 수소 (H_2O_2) 처리에 의해, 이온 유출의 증가와 함께 꽃잎 노화가 가속화되지만, 항산화 물질을 처리하면 H_2O_2 의 감소 및 노화지연이 관찰되었다 (Panavas and Rubinstein 1998). 이와 같이, 조직 내에서의 H_2O_2 의 증가는 노화를 촉진하기 때문에, H_2O_2 함량을 제거하는 항산화 효소의 활성은 식물 조직의 노화에 크게 영향을 미칠 수 있다. 실제 국화에서 항산화 효소인 ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT), peroxidase의 활성이 꽃의 노화시에 증가하는 것이 보고되었다 (Bartoliet al. 1995). 또한, ascorbate나 glutathione과 같은 항산화물질이 꽃잎의 노화에 수반해 노화가 억제될 때에는 높은 농도를 유지하고, 노화가 촉진될 때에는 감소하는 것이 관찰되었다 (Bartoli et al. 1996, Bartoli et al. 1997). 이와 같이, 활성산소종은 꽃의 노화를 촉진하는 중요한 요인이라고 생각된다.

본 연구에서는 무궁화 꽃의 노화와 활성산소종의 관련여부를 파악하기 위해서, 무궁화 꽃의 개화직전 단계에서부터 노화에 이르기까지 조직산화의 지표가 되는 malondialdehyde (MDA) 및 항산화 효소류의 활성 변화, 그리고 H_2O_2 함량 등을 측정하여 활성산소종이 무궁화 꽃의 노화에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

공시식물 및 시료채취

무궁화 (*Hibiscus syriacus* L. 'Diana')는 $25\pm 3^\circ\text{C}$ 으로 설정한 자연광 조건의 온실내에서 포트 재배하였으며, 수고 60~100 cm 정도의 식물체로부터 채취한 꽃봉오리 또는 꽃을 재료로 이용하였다. 무궁화 꽃이 완전히 개화하는 시간을 기점 (0 h)으로 하여, 개화 12시간 전부터 6시간 간격으로 꽃봉오리 또는 꽃을 채취했다. 채취한 꽃으로부터 꽃잎을 분리해, 상대수분함량, 항산화 효소 활성, MDA 함량의 측정에 이용했다. 또한, 개화 직후의 꽃(0 h)과 꽃잎이 시들어 탈수증상이 보이는 꽃 (48 h)에 대해서도 항산화 효소의 활성 및 H_2O_2 함량의 비교를 실시했다.

생체중 변화 및 상대수분함량 측정

꽃의 생체중 변화는 완전 개화 12시간전의 꽃봉오리를 채취해, 즉시 증류수 20 mL를 넣은 플라스틱용기에 고정된 후, growth chamber로 옮겨 6시간마다 생체중 변화를 측정하였다. Growth chamber는 명기 14시간 (25°C), 암기 10시간 (22°C), 상대습도 $65\pm 5\%$ 및 광 강도 $150 \mu\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 로 설정했다.

상대수분함량을 측정하기 위해서 꽃으로부터 분리한 꽃잎의 생체중 (FW)을 측정한 후, 증류수에 12시간 침지하여 포화 습윤중 (turgid weight, TW)을 구했다. 그 후, 80°C 건조기에서 2일간 건조시켜, 건물중 (DW)을 측정하였다. 상대수분함량의 산출은 다음의

식과 같이 구하였다.

$$\text{상대수분함량 (\%)} = (\text{FW} - \text{DW}) / (\text{TW} - \text{DW}) \times 100$$

항산화 효소 활성의 측정

동결 보존한 꽃잎 0.5 g을 마쇄한 후, 0.4 mM EDTA, 1 mM ascorbic acid, 2% (W/V) polyvinylpyrrolidone (PVPP)가 포함된 25 mM K-P buffer (pH 7.8) 5 mL를 가해, 조직분쇄기로 약 30초간 균질화한 후, 원심분리 (4°C , $15,000\times\text{g}$, 20분간)를 하였다. 상청액을 이중의 miracloth여과 한 것을 조효소액으로 하여, catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), glutathione reductase (GR) 활성 측정에 이용하였다. 효소 활성의 측정은 분광 광도계 UV-2450 (Shimadzu, Japan)을 이용해, 단위시간 내의 흡광도의 변화로부터 이뤄졌다.

CAT 활성의 측정은 Aebi (1974) 방법에 준해 실시하였다. 조효소액 0.05 mL를 10 mM H_2O_2 가 포함된 50 mM K-P buffer (pH 7.0) 0.95 mL에 첨가해, H_2O_2 의 분해를 240 nm의 흡광도 감소속도로부터 구했다.

APX 활성의 측정은 Nakano와 Asada (1981) 방법에 준해 실시하였다. 조효소액 0.05 mL에 100 mM ascorbic acid 0.25 mL, 0.4 mM EDTA 0.25 mL, 10 mM H_2O_2 0.01 mL, 100 mM K-P buffer (pH 7.0) 0.25 mL, 증류수 0.19 mL를 첨가해, 290 nm의 흡광도 감소로부터 산출하였다.

GR활성의 측정은 Halliwell과 Foyer (1978)의 방법에 준해 수행하였다. 조효소액 0.05 mL에 1 mM NADPH 0.12 mL, 100 mM K-P buffer (pH 7.8) 0.25 mL, 증류수 0.48 mL를 첨가했다. 반응은 GSSG의 첨가에 의해 개시되었으며, NADPH의 분해를 340 nm의 흡광도 감소 속도로부터 구했다.

Malondialdehyde (MDA) 측정

MDA의 분석은 Heath와 Packer (1968)의 thiobarbituric acid (TBA) 반응을 이용해 실시하였다. 동결 보존한 꽃잎 0.5 g을 동결 마쇄한 후, 0.1% trichloroacetic acid (TCA) 5 mL를 가해 조직분쇄기로 30초간 균질화하고, 원심분리 (4°C , $10,000\times\text{g}$, 10분간)를 하였다. 상청액 1 mL에 0.5% TBA를 포함한 20% TCA 5 mL를 가해 교반하였다. 그 후 95°C 에서 30분간 가열한 후 빙냉하여 반응을 중지시켰다. $10,000\times\text{g}$ 로 10분간 재차 원심분리한 후 532 nm에서의 흡광도를 측정했다. MDA함량은 흡광계수 $155 \text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ 를 이용해 산출했다.

과산화 수소 (H_2O_2) 측정

동결 보존한 꽃잎 0.5 g을 동결 마쇄한 후, 10 mL의 추출액 (0.25 M의 염산을 포함한 50% 메탄올)을 가해 다시 균질화했다. $35,000$



Figure 1. Morphological change of *H. syriacus* L. 'Diana' petals during flower opening and flower senescence

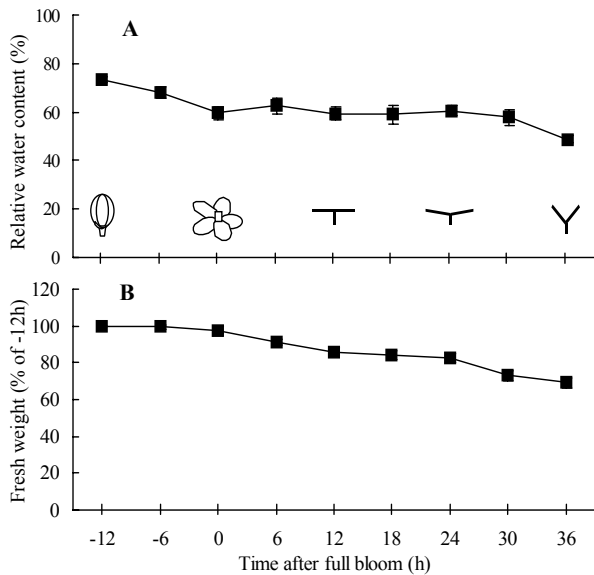


Figure 2. Changes in relative water content of the petals (A) and relative fresh weight of the whole flower (B) during flower opening and senescence in *H. syriacus* L. Fresh weight of a flower at -12h was 3.4 ± 0.15 g. Vertical bars indicate the mean \pm standard error (A, n=10; B, n=5)

× g로 25분간 원심분리하여, 상청액을 H₂O₂ 함량 분석에 이용했다. H₂O₂ 함량의 측정에는 과산화물 측정지 (Reflectoquant test strips 0.2-20 mg H₂O₂/L, Merck Chemicals, Germany)와 Reflectometer (RQflex, Merck Chemicals)를 이용하였다.

결과 및 고찰

개화 및 노화에 수반하는 형태적 변화 및 수분함량변화

무궁화는 현재 매우 많은 품종이 육성되고 있으며, 개화 시기나 꽃의 노화시기에 있어서도 품종간에 큰 차이를 보이고 있다. 본 실험

험에 이용한 무궁화 'Diana'는 화폭이 12-13 cm 정도의 백색 대형 홑꽃으로 밤 10시경부터 서서히 개화하기 시작해 익일 아침 6시경에는 완전하게 개화하였다. 개화 24시간 후부터 in-rolling이 시작되어 다음날의 저녁이 되면 대부분의 꽃이 50% 이상의 in-rolling 현상이 나타났다 (Figure 1). 본 연구 기간을 통해서 꽃의 개화 시간에는 거의 변동이 없었지만, 꽃잎의 노화 시간에 관해서는 연차간 차이나 시기 (계절)에 의한 차이가 보였다 (데이터 생략). 선행 연구에 의하면, 'Diana'는 개화하고 나서 화폭이 50%가 될 때까지의 시간(노화시간)이 20시간 정도였으나 (Shim et al. 1999), 본 실험에서는 'Diana'의 노화 시간은 시기나 연차간에 차이는 있으나, 대략 30~36시간을 나타냈다. 이와 같은 차이는 시험에 사용한 무궁화의 재배 조건이나 기상 조건 등과 같은 다양한 환경요인들이 관계하고 있을 것으로 판단된다.

무궁화의 꽃의 개화 및 노화 과정 중에 일어나는 수분 변화를 측정된 결과 (Fig. 2), 꽃잎의 상대 수분 함량은 개화시에 감소해 그 이후는 큰 변화가 없었지만, 꽃잎 노화기인 36시간째에 수분함량이 감소하였다 (Figure 2A). 한편, 꽃의 생체중은 개화시에는 변화를 보이지 않았으나, 개화 후 서서히 감소하여 36시간째에는 개화기와 비교해 약30% 감소하였다 (Figure 2B). 이 실험결과로 볼 때, 무궁화 꽃은 노화가 진행되면서 수분손실이 크게 일어난다는 것을 알 수 있었다. 일반적으로 꽃의 노화는 꽃잎의 in-rolling, wilting, 화색의 변화, 기관탈리 등의 가시적인 현상이 나타나며, 꽃잎의 수분 손실은 대표적인 노화현상 중의 하나이다. 노화에 수반해서 일어나는 수분손실은 daylily (Rubinstein 2000), 무궁화 (Kwon 2002) 등에서 볼 수 있었으며, 꽃봉오리에서 개화하는 동안에 생체중이 증가하고, 노화가 진행되면서 생체중이 감소한다. 한편, 개화시의 꽃잎의 상대수분 함량의 감소는 꽃잎의 급속한 신장과 관련하고 있는 것으로 생각된다. 꽃봉오리에서 완전개화가 일어나는 짧은 시간 동안에 각각의 꽃잎의 사이즈는 크게 증가하는 것에 비해, 생체중의 증가는 관찰되지 않았다 (Figure 2B). 즉 꽃잎의 용적은 증가하였으나 수분함량은 증가가 이뤄지지 않아, 포화습윤중에 대한 생체중의 비율이 감소하여 이와 같은 결과가 나타난 것으로 판단된다.

개화, 노화에 수반하는 항산화계 효소의 활성 및 MDA 함량의 변화

무궁화의 꽃 노화에 대한 활성 산소종의 관여를 조사하기 위해, 활성 산소종을 제거하는 항산화 효소로서 알려진 CAT, APX, GR의 활성을 측정하였다 (Figure 3). 그 결과GR의 활성은 시험 기간을 통해서 낮았으며, 또한 CAT, APX의 활성 역시 다소의 변동은 있었지만, 완전 개화 후 36시간까지는 이들 효소 활성에 큰 변화는 볼 수 없었다 (Figure 3). 한편, 지방질 과산화의 지표가 되는 MDA 함량에 있어서도 개화 및 꽃잎 노화에 수반하는 큰 변화는 관찰되지 않았다 (Figure 4).

꽃잎의 노화는 일반적으로 막투과성의 손실을 수반하는 것이 알려져 있으며, 이것에는 지방질의 과산화 반응이 관계하고 있다

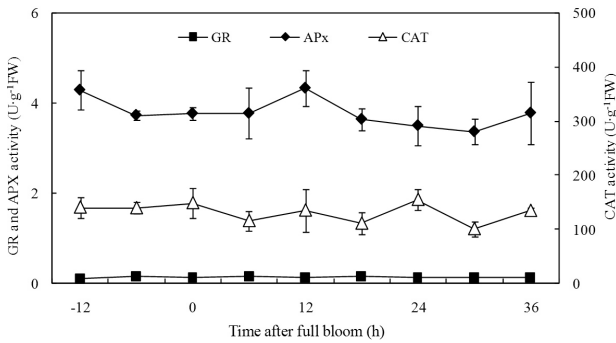


Figure 3. Changes in glutathion reductase (GR), ascorbate peroxidase (APX) and catalase (CAT) activities of the petals during flower opening and senescence in *H. syriacus* L. Vertical bars indicate the mean ± standard error (n=3)

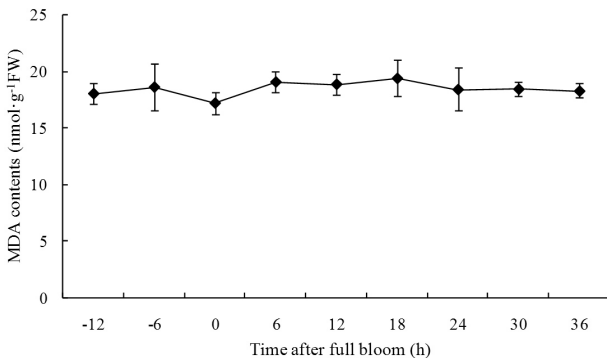


Figure 4. Change in Malondialdehyde (MDA) content of the petals during flower opening and senescence in *H. syriacus* L. Vertical bars indicate the mean ± standard error (n=4)

(Rubinstein 2000). 막투과성의 손실이나 지방질의 과산화는 조직내에서의 활성 산소종의 발생과 밀접하게 관련하기 때문에, 꽃의 노화와 활성 산소종과의 관계에 대한 보고는 많다. 예를 들면, 단명화인 daylily의 노화에 있어서는 H₂O₂가 개화 전부터 급격하게 증가해 지방질 과산화나 이온 유출을 일으킨다는 보고가 있으며 (Panavas and Rubinstein 1998), 장명화인 국화에서도 꽃잎의 노화 초기에 항산화 효소인 SOD나 CAT, APX, peroxidase 활성의 증가 (Bartoli et al. 1995)가 관찰되는 것으로부터 조직 내에서 활성 산소의 발생이 개화 후의 노화 유도나 노화의 촉진에 중요한 역할을 하

고 있다고 추측되고 있다. 그러나 본 실험에서의 항산화 효소활성의 변화나 MDA 함량 변화를 살펴볼 때, 무궁화 꽃의 초기 노화 단계에 있어서 활성산소의 관여는 없거나 미비할 것으로 생각된다.

개화기와 노화 후기의 항산화계 효소의 활성 및 H₂O₂ 함량

무궁화 꽃이 완전히 개화하여 36시간이 지나면서 꽃잎은 50% 이상 in-rolling 현상이 나타남에도 불구하고, 꽃잎의 항산화 효소의 활성 및 MDA 함량의 변화는 볼 수 없었다. 따라서 꽃잎이 완전하게 시들어 꽃잎의 선단에 탈수증상이 나타나는 노화의 후기 (개화 후 48h)에 있어서 개화기와 항산화 효소의 활성을 비교했다. 그 결과, 노화 후기의 꽃잎의 항산화 효소의 활성은 개화 직후에 비해 증가해, CAT의 활성은 2.7배, APX의 활성은 1.8배 증가하였다 (Table 1). 또한 H₂O₂ 함량도 개화직후에 비해 8배 이상으로 현저하게 증가했다. 이와 같은 H₂O₂ 함량 증가는, 카네이션에서의 활성산소종 발생제인 paraquat 처리에 의한 노화촉진 (Bartoli et al. 1996)과 daylily에서의 H₂O₂ 처리에 의한 이온 유출의 증가와 노화가 가속화 (Panavas and Rubinstein 1998) 등으로 볼 때 무궁화 꽃의 노화 후기에 발생하는 노화현상과 밀접한 관련이 있으리라고 생각된다.

식물체내에서의 내생 H₂O₂의 증가는 노화를 촉진하기 때문에, H₂O₂ 함량을 조절하는 효소들의 활성은 식물 조직의 노화에 있어서 매우 중요하다. H₂O₂가 ascorbate-glutathion cycle의 APX에 의해 제거 되는 사실은 매우 잘 알려져 있으며 (Asada 1992), 세포질, 피육시즘 등에서는 CAT에 의해 H₂O로 분해된다 (Scandalis 1993). 식물조직 내에서 활성산소종의 발생이 증가하면 이를 해독하기 위해서 APX, CAT, GR 등과 같은 항산화 효소의 활성이 증가를 하게 된다. 실제, 장명화인 국화의 꽃잎에서 노화가 진행되면서 APX와 CAT의 활성이 증가가 보고되었다 (Bartoli et al. 1996). 단명화인 daylily에서는 활성산소종과 지질과산화에 대한 관계를 보다 명확히 볼 수 있다. Dalily가 개화하기 시작하면서 H₂O₂의 뚜렷한 증가가 관찰되고, 지질과산화물의 증가와 함께 이온유출량이 증가했으며, 생체중이 감소하는 결과를 나타냈다 (Rubinstein 2000). 한편, 대표적인 에틸렌 감수성 꽃인 카네이션에서는 에틸렌 생성과 활성산소종의 발생이 밀접히 관련하고 있다는 보고가 있으며 (Borochoy et al. 1997), Baker 등 (1977)은 활성산소 소거제의 처리에 의해 에틸렌 발생이 억제되어 카네이션의 노화가 지연되었다고

Table 1 Anti-oxidative enzyme activities and hydrogen oxide content of the petals at full bloom (0h) and senescence (48h) in *H. syriacus* L

	CAT activity (U·g ⁻¹ FW)	GR activity (U·g ⁻¹ FW)	APX activity (U·g ⁻¹ FW)	H ₂ O ₂ content (mol·g ⁻¹ FW)
Full bloom (0h)	68.5 ± 3.5 ²	0.084 ± 0.013	3.26 ± 0.16	0.08 ± 0.015
Senescence (48h)	186.0 ± 8.5	0.105 ± 0.004	5.87 ± 0.40	0.66 ± 0.026
Significance	**	NS	*	***

²Data indicate the mean ± standard error (n=3).

NS, *, **, *** not significant, significant at P < 0.05, 0.01 and 0.001, respectively.

보고하였다. 무궁화의 노화 역시 에틸렌 발생과 밀접하게 연관되어 있으나 (Seo et al. 2007), 에틸렌 감수성인 카네이션 뿐 만 아니라 에틸렌에 비감수성인 daylily, 국화 등의 노화에도 활성산소종이 관여하는 것으로부터 활성산소종의 발생이 무궁화 노화에 주요한 요인이 될 수도 있다. 그러나 본 실험에서는 약 50%의 in-rolling이 일어나는 개화 후 36h까지 항산화 효소활성의 변화가 없었으며, 지질과산화의 지표인 MDA 역시 함량의 변화가 없는 것으로 볼 때 (Figure 3, 4), 활성산소종이 무궁화 꽃의 초기 노화 미치는 영향은 거의 없거나 미비할 것으로 생각된다. 무궁화의 노화는 활성산소종이 초기 노화를 유도하는 daylily (Panavas and Rubinstein 1998) 나 국화 (Bartoli et al. 1995)와는 차이가 있는 것으로 생각된다. 한편, 꽃잎에 탈수증상이 나타나는 후기 노화단계에 항산화 효소의 활성이 증가하였으며, H₂O₂ 함량 또한 크게 증가하였다. 이러한 결과로 볼 때, 무궁화 꽃의 노화에 있어서 활성산소종은 초기 노화를 유도하기 보다는 후기 노화기에 노화를 촉진시키는 역할을 할 것으로 판단된다.

적 요

활성산소종이 무궁화 꽃의 노화에 미치는 영향을 알아보기 위해, 무궁화 꽃의 개화직전 단계에서부터 노화에 이르기까지 가시적인 꽃잎의 형태 변화를 경시적으로 관찰함과 동시에, 그에 따르는 꽃잎의 수분 함량이나 조직의 산화 지표가 되는 MDA, 항산화 효소 활성의 변화 및 H₂O₂ 함량 등에 대해서 조사하였다. 그 결과 무궁화 꽃은 개화 후 24시간이 지나면서부터 꽃잎의 in-rolling이 시작되며 36시간 경과하면 50% 이상의 in-rolling이 관찰되었다. 꽃의 생체중은 개화직후에 비교하여 약 30% 정도 감소하여 노화에 수반해 수분 손실이 관찰되었다. 개화 후 36시간에 이르기까지, 지질과산화의 지표인 MDA나 항산화 효소인 CAT, APX, GR의 활성은 크게 변화가 없었다. 그러나 꽃잎이 완전하게 탈수증상을 나타내는 노화 후기 (48h)에 항산화 효소의 활성 증가가 관찰되었으며, H₂O₂ 함량이 크게 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 결과로부터, 무궁화 꽃의 노화에 있어서 활성산소종은 초기 노화의 유도보다는 꽃잎에 탈수증상이 나타나는 노화 후기에 관여하여 노화를 가속화하는 것으로 판단된다.

사 사

이 논문은 2008년도 정부재원 (교육인적자원부 학술연구조성사업비)으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 연구되었음 (KRF-2008-355-F00006)

인용문헌

Aebi H (1974) Catalase. In: Bergmeyer HU, Weinheim VC, (eds), Methods of Enzymatic Analysis, Academic Press, New York, pp

673-683
 Baker JE, Wang CY, Lieberman M, Hardenburg R (1977) Delay of senescence in carnations by a rhizobitoxine analog and sodium benzoate. HortScience 12:38-39
 Bartoli CG, Simontacchi M, Guiamet J, Montaldi E, Puntarulo S (1995) Antioxidant enzymes and lipid peroxidation during aging of *Chrysanthemum morifolium* RAM petals. Plant Sci 104:161-168
 Bartoli CG, Simontacchi M, Montaldi E, Puntarulo S (1996) Oxidative stress, antioxidant capacity and ethylene production during ageing of cut carnation (*Dianthus caryophyllus*) petals. J Exp Bot 47:595-601
 Bartoli CG, Simontacchi M, Montaldi E, Puntarulo S (1997) Oxidants and antioxidants during ageing of chrysanthemum petals. Plant Sci 129:157-165
 Borochoy A, Spiegelstein H, Philosoph-Hadas S (1997) Ethylene and flower petal senescence: interrelationship with membrane lipid catabolism. Physiol Plant 100:606-612
 Chae Y, Lee Y, Son KC (1995) Changes in ethylene production, polyamine levels and activities of SAM decarboxylase, ACC synthase and EFE during flower senescence of *Hibiscus syriacus* L. cv. Yeonggwang. J Kor Soc Hort Sci 36:113-120
 Halliwell B, Foyer CH (1978) Properties and physiological function of a glutathione reductase purified from spinach leaves by affinity chromatography. Planta 139:9-17
 Heath RL, Packer L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch Biochem Biophys 125:189-198
 Kwon HJ (2000) Physiological and ultrastructural change during the senescence in petals of *Hibiscus syriacus* L. PhD Thesis, Seoul National University, Seoul
 Nakano Y, Asada K (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiol 22:867-880
 Panavas T, Rubinstein B (1998) Oxidative events during programmed cell death of daylily (*Heimerocallis* hybrid) petals. Plant Sci 133:125-138
 Rubinstein B (2000) Regulation of cell death in flower petals. Plant Mol Biol 44:303-318
 Scandalios JG (1993) Oxygen stress and superoxide dismutases. Plant Physiol 101:7-12
 Seo SG, Kobayashi K, Fujihara S (2007) The possible relationship between ethylene and polyamine metabolism during the flower opening and senescence, and their effect on flower longevity in *Hibiscus syriacus* L. Hort Res (Japan) 6:471-477
 Shim KK, Kim KH, Seo BK (1999) Top growth, flowering, cold hardiness, and aphids resistance of *Hibiscus syriacus* cultivars. J Kor Soc. Hort Sci 40:99-106
 Sylvestre I, Droillard MJ, Bureauand JM, Paulin A (1989) Effects of the ethylene rise on the peroxidation of membrane lipids during the senescence of cut carnations. Plant Physiol Biochem 27:407-413

(접수일자 2009년 6월 8일, 수리일자 2009년 6월 23일)