

## The Reverse Effect of Salicylic Acid on Cd-induced Growth, Chlorophyll, and Rubisco/Rubisco Activase in Tobacco

Yu Shan Wang and Kwang Soo Roh\*

Department of Biology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

Received March 15, 2012 / Revised April 6, 2012 / Accepted April 6, 2012

The influence of salicylic acid (SA) on growth, chlorophyll, and rubisco/rubisco activase and effect of denaturator on rubisco/rubisco activase activity were studied in tobacco plants grown *in vitro* with cadmium (Cd) treatment. In order to find out the optimum concentration of SA, tobacco plants treated with  $10^{-6}$  mM -  $10^2$  mM of SA were grown in MS medium for 9 weeks, respectively. The most pronounced effect on *in vitro* growth was found at  $10^{-4}$  mM SA. Among the control (not treated with Cd and SA), SA, Cd, and Cd + SA, the growth and content of chlorophyll were in the sequence of Cd < Cd + SA < control < SA, and significantly higher at SA compared with others. Similar results were also observed in the content and activity of rubisco and rubisco activase. These data suggest that inhibitory effect by Cd was reversed by SA. These results also indicate that SA has a positive effect on Cd. The effect of denaturants on rubisco activity showed in the sequence of Cd < Cd + SA < control < SA. Rubisco activity was promoted by L-cysteine and  $\beta$ -mercaptoethanol, not by urea, thiourea, and guanidium-HCl. These data suggest that urea, thiourea, and guanidium-HCl are able to act as denaturator, and L-cysteine and  $\beta$ -mercaptoethanol are not. None of the five denaturants affected the activity of rubisco activase.

**Key words** : Cadmium, denaturants, rubisco, rubisco activase, salicylic acid

### 서 론

중금속의 일종인 카드뮴(Cd)은 산업화의 부산물로서 생기는 환경오염원으로써, 자연생태계로 유입되면 인간에게 만성 중독을 유발시켜 건강을 위협할 뿐만 아니라 식물에게도 매우 유독한 것으로 알려져 있다[15]. 카드뮴은 식물의 생장에 필수적인 원소는 아니지만 뿌리를 통해 흡수되어 액포에 고농도로 축적되면[7], 탄수화물, 단백질, 지질 및 핵산 대사의 교란[29,40], 뿌리에서의 수분과 양분흡수 및 기타 이온들의 흡수 억제, 발생과 분화의 지연[35], 광합성, 광호흡 및 호흡을 저해함으로써, 궁극적으로 식물의 생장을 억제시킨다[2].

Salicylic acid(SA)는 페닐알라닌으로부터 시킴산 경로를 통해 합성되는 단순 페놀성 화합물로서, 카르복실기와 수산기를 가지고 있다. 식물에 병원체가 침입하면 저항성이 유도되어 그 후에 침입하는 동일하거나 다른 종류의 병원체에 대해 저항성이 증가하는 식물질병에 대한 전신획득저항성을 가지고 있는 것으로 추정하고 있으며[1,5,32], 오존, 자외선, 열 스트레스, 냉해, 가뭄, 염 스트레스에 관여한다[14,22,39].

SA는 ABA에 의한 성장 억제 효과를 반전시키며[28], 키네티틴, IAA, 지베렐린과 같은 식물성장 조절제와 같이 사용하면 개화를 촉진 하는 등의 효과를 나타낸다[19]. 또한 SA는 중금

속이온에 의한 손실효과를 개선하는 작용을 하는 것으로 알려져 있으며[21], 특히 SA는 카드뮴의 독성을 변형시키는 능력이 있는 것으로 보고되고 있다[9]. Panković 등[25]은 광합성의 암반응에서 RuBP (ribulose 1,5-bisphosphate) 재생에 카드뮴이 영향을 미치며, Lee와 Roh [18]는 카드뮴이 rubisco의 유도 및 활성화를 저해한다고 보고하였다. 이러한 SA와 카드뮴의 보고들은 카드뮴에 의한 엽록소 함량, rubisco와 rubisco activase의 함량과 활성의 억제가 SA에 의해 영향을 받을 수 있을 것이라는 가능성을 추측하게 한다.

이에 본 연구에서는 광합성과 관련된 물질에서 카드뮴의 효과에 대한 SA의 영향을 연구하기 위해 카드뮴에 의해 유도되는 담배 식물의 생장, 엽록소 함량, rubisco와 rubisco activase의 함량과 활성에 미치는 SA의 효과와 이에 대한 변성제의 효과를 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 시약

식물 배양의 MS 배지는 Duchefa 회사(Haarlem, Netherland) 제품을 사용하였으며, 이외의 모든 시약은 Sigma (ST. Louis, USA)로 부터 구입하여 사용하였다.

#### 식물재료 배양 및 생장 측정

본 실험에 사용한 식물 재료는 담배로서, SA의 최적농도를

#### \*Corresponding author

Tel : +82-53-580-5207, Fax : +82-53-580-5164  
E-mail : rks@kmu.ac.kr

찾기 위해 기내배양된 담배 식물의 줄기를 3 cm로 절단하여  $10^{-6}$  mM,  $10^{-5}$  mM,  $10^{-4}$  mM,  $10^{-3}$  mM,  $10^{-2}$  mM,  $10^{-1}$  mM, 1 mM, 10 mM 및  $10^2$  mM SA가 각각 함유된 MS [23]배지에 3개씩 접종하여 9주간 배양한 후 각 농도에 따른 담배 식물의 생장을 측정하였다.

최적농도인  $10^{-4}$  mM SA와 0.2 mM  $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$  [31]를 사용하여, 대조구(SA와 카드뮴 무첨가), SA 처리구, 카드뮴 처리구 및 카드뮴과 SA 혼합구로 구성된 MS배지 상에 각각 기내 배양된 3 cm의 담배식물 줄기를 치상하여 배양하였다. 11주 후, 4개 실험구들의 생장을 측정하였고, 잎을 사용하여 엽록소 함량 및 rubisco와 rubisco activase의 함량과 활성을 측정하였다.

#### 엽록소의 함량 측정

엽록소 함량의 측정은 Inskip과 Bloom [13]의 방법에 의해, 담배 식물 잎을 5°C에서 DMF 용액에 하루 밤 동안 정지한 후, 추출물을 8,000× g에서 5분간 원심분리하였다. 상등액을 664.5 nm와 647 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 식으로 엽록소 a와 b의 함량을 계산하였다.

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

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

#### Rubisco의 분리

Wang 등[42]의 방법을 이용하여 담배 식물 잎에서 rubisco와 rubisco activase가 함유된 용액을 분리하였다. 액체 질소를 가하여 마쇄한 잎 분말(20 g)에 grinding buffer (50 mM BTP pH 7.0, 10 mM  $\text{NaHCO}_3$ , 10 mM  $\text{MgCl}_2$ , 1 mM EDTA, 0.5 mM ATP, 10 mM DTT, 1 mM PMSF, 1 mM benzamidine, 0.01 mM leupeptin, 1.5% PVPP, 3 mM MBT)를 첨가하여 4°C에 교반하면서 4점의 거즈와 1점의 miracloth로 여과한 여과액을 16,000 rpm에서 40분간 원심분리 하였다. 상등액에 solid  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 를 포화 농도가 35%가 될 때까지 천천히 가하면서 4°C에서 30분간 교반하였고, 8,000 rpm에서 8분간 원심분리하여 상등액과 침전물로 분리하였다.

상등액에 포화 농도가 55%가 될 때까지 solid  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 를 천천히 가하면서 4°C에서 30분간 교반한 후, 8,000 rpm에서 8분간 원심분리하여 얻어진 침전물에 dissolving buffer 용액 (50 mM tricine (pH 8.0), 10 mM  $\text{MgCl}_2$ , 10 mM  $\text{NaHCO}_3$ , 10 mM DTT, 2 mM MBT) 5 ml를 가하고, 17%가 되게 50% (w/v) PEG-10K를 첨가하여 4°C에서 5분간 교반하였다. 8,000 rpm에서 8분간 원심분리한 침전물에 DBR용액을 다시 넣고 다시 한번 8,000 rpm에서 8분간 원심분리 하였다. 얻어진 상등액을 20 mM tris (pH 7.5)로 평형화시킨 Q-Sepharose column에 loading한 후, 0.1-0.5 M NaCl 용액으로 2.5 ml 씩 용출하여 rubisco를 분리하였다.

#### Rubisco activase의 분리

Rubisco의 분리 방법 중, 35%  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  처리 후 8,000 rpm에서 8분간 원심분리하여 얻어진 침전물에 dissolving buffer 용액(20 mM BTP (pH 8.0), 0.2 mM ATP, 10 mM  $\text{MgCl}_2$ , 2 mM MBT) 5 ml로 현탁하고, 최종농도가 18%가 되게 50% (w/v) PEG-10K를 가하여 4°C에서 5분간 교반하였다. 8,000 rpm에서 8분간 원심분리하여 얻은 침전물을 2.5 ml DBA 용액으로 현탁하고 10,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 이 과정을 반복하여 얻어진 상등액을 모아 Q-sepharose column에 loading하여 20 mM BTP (pH 7.0) 용액으로 세척한 후, 0-0.5 M NaCl 용액으로 3 ml 씩 용출하여 rubisco activase를 분리하였다.

모든 분리과정은 4°C에서 수행하였으며, 분리한 rubisco와 rubisco activase 용액은 -80°C에 저장하였다.

#### Rubisco와 rubisco activase의 함량 측정

Rubisco와 rubisco activase의 함량은 ELISA로 측정하였다. Microplate well에 0.1 M sodium carbonate-bicarbonate buffer (pH 9.5) 용액으로 희석된 효소 용액을 넣은 후, 4°C에서 하루 밤 동안 반응시키고, 0.05% Tween 20이 함유된 0.01 M PBS (pH 7.4) 용액으로 세척하였다. 0.01 M PBS (pH 7.4)로 만든 0.1% BSA 용액을 사용하여 blocking시킨 후, 1차 항체로서 토끼 항 rubisco와 항 rubisco activase 항혈청을 각각 가하고, 2차 항체로서는 0.1% BSA가 들어있는 0.01 M PBS (pH 7.4)로 1:20,000 희석시킨 peroxidase-conjugated goat anti-rabbit IgG 용액을 가하였다. Peroxidase의 기질로서 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ 가 함유된 0.05 M citrate/0.1 M sodium phosphate buffer (pH 5.0)로 만든 OPD tablet 용액을 가하여 암 상태의 실온에서 20분간 반응시킨 후, 1 N HCl로 반응을 정지시켰다. ELISA microplate reader (Bio-Rad model 3550-UV)를 사용하여 492 nm에서 이들의 흡광도를 측정하여 함량을 계산하였다.

#### Rubisco의 활성 측정

Racker [26]의 방법으로 rubisco의 활성을 측정하였다. 1 M Tris (pH 7.8), 0.006 M NADH, 0.1 M GSH, 0.5 M  $\text{KHCO}_3$ , 0.5% glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, 0.025% 3-phosphoglycerate kinase, 0.05%  $\alpha$ -glycerophosphate dehydrogenase-triose phosphate isomerase, 0.025% ribulose biphosphate, 0.2 M ATP 및 0.5 M  $\text{MgCl}_2$ 로써 조제한 측정용액 0.94 ml에 rubisco 용액 0.06 ml를 가하여 1 ml의 측정용액으로 하였다.

UV-VIS spectrophotometer (Scinco S-100)를 이용하여 RuBP가 PGA (3-phosphoglycerate)를 형성하고, 이것이 GAP (glyceraldehydes 3-phosphate)를 형성할 때 산화되는 NADH 양을 340 nm에서 측정하였다. 1 unit는 1분당 1 mM RuBP를

분해시키는 효소의 양으로 정의하였다.

**Rubisco activase의 활성 측정**

Robinson과 Portis [30]의 방법으로 rubisco activase의 활성을 측정하였다. 0.4 ml reaction mixture [50 mM tricine (pH 8.0) 20 mM KCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 2.5 mM ATP, 1 mM PEP, 0.3 mM NADH, 40 units/ml pyruvate kinase, 40 units/ml lactate dehydrogenase]에 rubisco activase 용액 0.4 ml를 가하여 25°C에서 1분간 반응시킨 다음, 340 nm에서 흡광도를 측정 한 후, ATP로부터 ADP의 생성율을 계산하여 활성을 나타내었다.

**변성제에 의한 rubisco와 rubisco activase의 활성 측정**

L-cysteine, β-mercaptoethanol, urea, thiourea, guanidium-HCl을 사용하여 rubisco와 rubisco activase의 활성에 대한 이들 변성제의 영향을 측정하였다. Cd와 SA 및 변성제를 처리하지 않은 대조구의 활성을 100으로 하여 각 변성제의 활성을 %로 나타내었다.

**결 과**

**담배 식물의 생장에 대한 SA의 효과와 최적 농도**

SA의 최적농도를 조사하기 위하여, 기내 배양된 담배 식물의 줄기를 10<sup>-6</sup> mM - 10<sup>2</sup> mM SA가 각각 함유된 MS배지에서 9주간 배양하여 각 농도에 따른 담배 식물의 생장을 측정하였다.

SA처리 하지 않은 대조구와 10<sup>-6</sup> mM SA에서 10<sup>-1</sup> mM SA 처리구에서는 모두 담배 식물의 줄기로부터 식물체가 형성되었으며, 이 중 10<sup>-4</sup> mM SA에서 가장 양호하게 성장하였다. 그러나 1 mM SA와 10 mM SA에서는 줄기로부터 약간 잎이 형성되었으나, 10<sup>2</sup> mM SA에서는 완전하게 식물체가 형성되지 않았다(Fig. 1).

Fig. 1에서 나타난 결과를 확인하기 위해 각 SA 농도에 따라 배양된 담배 식물의 생체 중량을 측정하였다. SA의 농도가 증가할수록 담배 식물의 중량이 증가하여 10<sup>-4</sup> mM SA에서 가장 높은 함량을 보였으며, 이 이상의 농도에서는 농도가 증가함에 따라 함량은 감소하였다(Fig. 2).

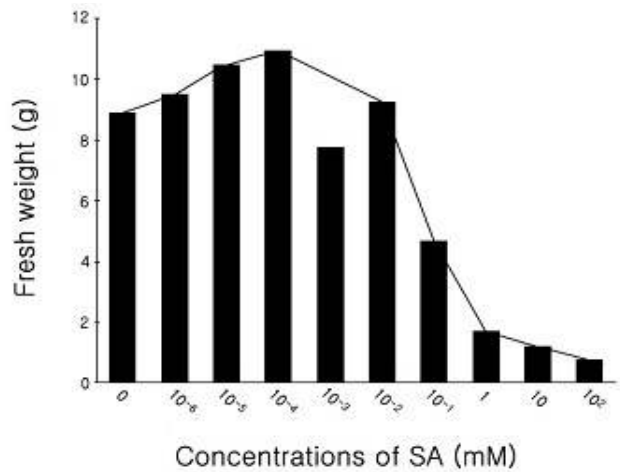


Fig. 2. The fresh weights of tobacco plants grown on MS medium containing 10<sup>-6</sup> mM - 10<sup>2</sup> mM SA for 9 weeks.



Fig. 1. *In vitro* induction of tobacco plants on MS medium containing 10<sup>-6</sup> mM - 10<sup>2</sup> mM SA for 9 weeks. Plants were grown on MS medium without SA (1), with 10<sup>-6</sup> mM (2), 10<sup>-5</sup> mM (3), 10<sup>-4</sup> mM (4), 10<sup>-3</sup> mM (5), 10<sup>-2</sup> mM (6), 10<sup>-1</sup> mM (7), 1 mM (8), 10 mM (9), and 10<sup>2</sup> mM SA (10).



Fig. 3. *In vitro* induction of tobacco plants grown on MS medium for 11 weeks. Plants were grown on MS medium without Cd and SA (1), with SA (2), Cd (3), and Cd and SA (4). Cd and SA concentration were 0.2 mM CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O, and 10<sup>-4</sup> mM SA, respectively.

담배 식물의 생장에 대한 카드뮴과 SA의 효과

Fig. 1과 Fig. 2에서 얻은 최적농도인 10<sup>-4</sup> mM SA를 사용하여, 대조구, SA 처리구, 카드뮴 처리구 및 카드뮴과 SA 혼합 처리구로 구성된 각각의 MS배지 상에 담배 식물 줄기를 배양한 후, 이들의 생장을 측정하여, 담배 식물의 생장에 미치는 SA와 카드뮴의 효과를 조사하였다.

생장은 카드뮴 처리구 < 카드뮴과 SA 혼합 처리구 < 대조구 < SA 처리구의 순서로서, 대조구와 비교하여 카드뮴 처리구가 낮았으며, 대조구와 SA 처리구를 비교하면 SA가 높게 나타났다. 또한 카드뮴 처리구와 비교하여 카드뮴과 SA 혼합 처리구가 높게 나타났으며, 카드뮴 처리구, 카드뮴과 SA 혼합 처리구 및 SA 처리구를 비교함으로써 생장 회복현상을 확인할 수 있었다(Fig. 3).

Fig. 3에서 나타난 생장의 결과를 확인하기 위해, 각 실험구에 대한 담배 식물 전체와 잎의 생체 중량을 측정하였다. 담배 식물과 잎 생체중량은 대조구가 각각 5.757과 33.9 g, SA 처리구가 6.425와 35.7 g, 카드뮴 처리구가 3.665와 26.8 g, 카드뮴과 SA 혼합 처리구가 3.698과 28.5 g 으로써(Table 1), 카드뮴 처리구 < 카드뮴과 SA 혼합구 처리구 < 대조구 < SA 처리구의 순서를 보여 Fig. 3의 결과와 일치하였다.

엽록소에 대한 카드뮴과 SA의 효과

광합성 색소인 엽록소에 미치는 카드뮴과 SA의 효과를 하

기 위해, 4개의 각 실험구에 대한 엽록소 a와 b의 함량을 측정하였다. 엽록소 a와 b 및 전체 엽록소 함량은 대조구가 각각 13.03, 20.53, 33.56 mg/g, SA 처리구가 13.2, 20.6, 33.78 mg/g, 카드뮴 처리구가 13.5, 13.79, 27.30 mg/g, 카드뮴과 SA 혼합 처리구가 13.37, 15.37, 28.94 mg/g으로써(Table 2), 엽록소 a에서 약간의 차이가 있었으나, 전체 엽록소 함량은 카드뮴 처리구 < 카드뮴과 SA 혼합구 < 대조구 < SA 처리구의 순서를 보였으며, 카드뮴에 의한 엽록소의 억제를 SA가 회복시켰음을 알 수 있었다.

Rubisco의 함량과 활성에 대한 카드뮴과 SA의 효과

Rubisco에 미치는 카드뮴과 SA의 효과를 조사하기 위해, 4개의 각 실험구에서 생장시킨 담배 식물의 잎으로부터 rubisco를 분리한 결과, 280 nm에서의 흡광도 peak와 활성의 peak가 한 분획에서 일치하여, 이 분획을 rubisco의 함량과 활성 측정에 사용하였다.

Rubisco의 함량은 대조구에서는 0.586 mg/ml, SA 처리구에서는 0.670 mg/ml, 카드뮴 처리구에서는 0.432 mg/ml, 카드뮴과 SA 혼합 처리구에서는 0.470 mg/ml로서(Fig. 4), 카드뮴 처리구 < 카드뮴과 SA 혼합구 < 대조구 < SA 처리구의 함량 순서를 보였다. SA 처리한 것과 카드뮴을 처리한 것이 각각 최고와 최저치를 보였으며, 대조구와 비교하여 Cd 처리

Table 1. Effect of Cd and SA on growth of tobacco plants

	fr. wt./plant (g)	fr. wt./leaf (g)
Control <sup>1</sup>	5.757	33.9
SA <sup>2</sup>	6.425	35.7
Cd <sup>3</sup>	3.665	26.8
Cd + SA	3.698	28.5

<sup>1</sup>no treated with Cd and SA

<sup>2</sup>10<sup>-4</sup> mM SA

<sup>3</sup>0.2 mM CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O

Table 2. Effect of Cd and SA on chlorophyll contents in tobacco leaves (mg/g fr. wt.)

	Chl a	Chl b	Total chlorophyll
Control <sup>1</sup>	13.03	20.53	33.56
SA <sup>2</sup>	13.20	20.60	33.78
Cd <sup>3</sup>	13.50	13.79	27.30
Cd + SA	13.37	15.37	28.94

<sup>1</sup>no treated with Cd and SA

<sup>2</sup>10<sup>-4</sup> mM SA

<sup>3</sup>0.2 mM CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O

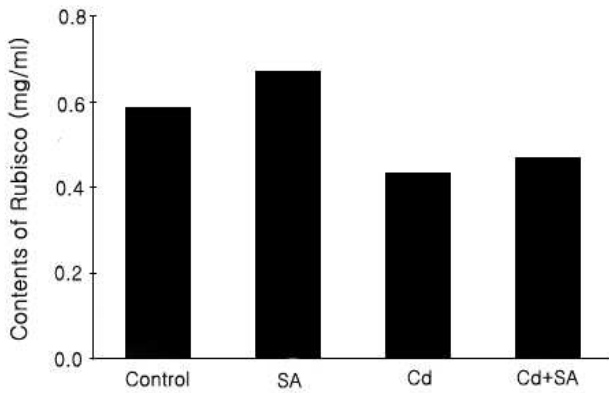


Fig. 4. Effects of Cd and SA on contents of rubisco in tobacco leaves. Plants were grown on MS medium without Cd and SA, with SA, Cd, and Cd and SA. Cd and SA concentration were 0.2 mM CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O, and 10<sup>-4</sup> mM SA, respectively.

구가 낮은 것은 카드뮴이 rubisco의 함량을 억제하였음을 나타내며, 대조구보다 SA 처리구가 높은 것은 SA가 rubisco의 함량을 촉진시켰음을 나타낸다. 또한 카드뮴 처리구와 카드뮴과 SA 혼합 처리구를 비교하면 카드뮴에 의한 rubisco의 함량 억제를 SA가 회복시켰음을 알 수 있었으며, 카드뮴 처리구, 카드뮴과 SA 혼합 처리구 및 SA 처리구를 비교한 결과, SA가 rubisco의 함량을 개선시키는 작용에 관여함을 알 수 있었다.

Rubisco의 활성을 측정한 결과, 대조구에서는 0.126 unit/ml, SA 처리구에서는 0.128 unit/ml, 카드뮴 처리구에서는 0.116 unit/ml, 카드뮴과 SA 혼합 처리구에서는 0.120 unit/ml로써(Fig. 5), 카드뮴 처리구 < 카드뮴과 SA 혼합 처리구 < 대조구 < SA 처리구의 활성 순서를 보였다. 대조구보다 카드뮴 처리구가 낮은 것은 카드뮴이 rubisco의 활성을 억제하였음을 나타내며, 대조구보다 SA 처리구가 높은 것은 SA가

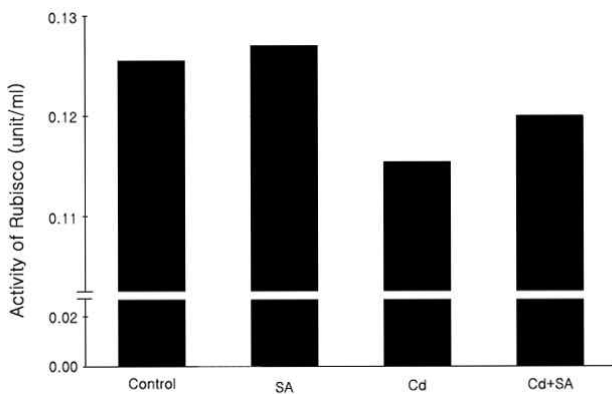


Fig. 5. Effects of Cd and SA on activities of rubisco in tobacco leaves. Plants were grown on MS medium without Cd and SA, with SA, Cd, and Cd and SA. Cd and SA concentration were 0.2 mM CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O, and 10<sup>-4</sup> mM SA, respectively.

rubisco의 활성을 촉진시켰음을 나타낸다. 또한 카드뮴 처리구와 카드뮴과 SA 혼합 처리구를 비교하면 카드뮴에 의한 rubisco의 활성 억제를 SA가 회복시켰음을 알 수 있었으며, 카드뮴 처리구, 카드뮴과 SA 혼합 처리구 및 SA 처리구를 비교함으로써 SA가 rubisco의 활성을 개선시키는 작용에 관여함을 알 수 있었다. 이 rubisco의 활성 결과들은 함량의 결과와 일치하였다.

#### Rubisco activase의 함량과 활성에 대한 카드뮴과 SA의 효과

Rubisco activase에 미치는 카드뮴과 SA의 효과의 영향을 보기 위하여, 4개의 각 실험구에서 생장시킨 담배 식물의 잎으로부터 rubisco activase를 분리하였다. 그 결과, 흡광도와 활성의 peak가 한 분획에서 일치하여 이를 rubisco activase의 함량과 활성 측정에 사용하였다.

Rubisco activase의 함량을 측정한 결과, 대조구에서는 0.111 mg/ml, SA 처리구에서는 0.161 mg/ml, 카드뮴 처리구에서는 0.104 mg/ml, 카드뮴과 SA 혼합 처리구에서는 0.108 mg/ml로써(Fig. 6), 카드뮴 처리구 < 카드뮴과 SA 혼합구 < 대조구 < SA 처리구의 함량 순서를 보였다. SA 처리한 것과 카드뮴을 처리한 것이 각각 최고와 최저치를 보였으며, 대조구와 비교하여 카드뮴 처리구가 낮은 것은 카드뮴이 rubisco activase의 함량을 억제하였음을 나타내며, 대조구보다 SA 처리구가 높은 것은 SA가 rubisco activase의 함량을 촉진시켰음을 나타낸다. 또한 카드뮴 처리구와 카드뮴과 SA 혼합 처리구를 비교하면 카드뮴에 의한 rubisco activase의 함량 억제를 SA가 회복시켰음을 알 수 있었으며, 카드뮴 처리구, 카드뮴과 SA 혼합 처리구 및 SA 처리구를 비교한 결과, SA가 rubisco activase의 함량을 개선시키는 작용에 관여함을 알 수 있었다.

Rubisco activase의 활성을 측정한 결과, 대조구에서는

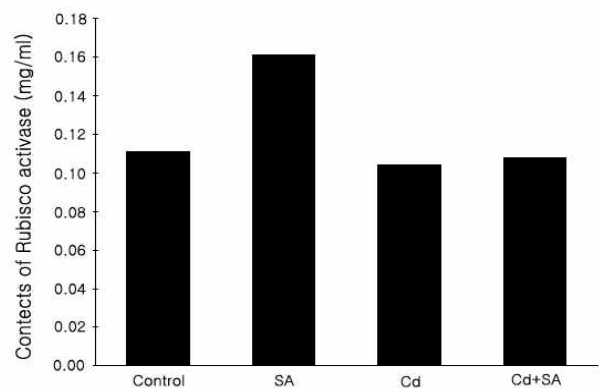


Fig. 6. Effects of Cd and SA on contents of rubisco activase in tobacco leaves. Plants were grown on MS medium without Cd and SA, with SA, Cd, and Cd and SA. Cd and SA concentration were 0.2 mM CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O, and 10<sup>-4</sup> mM SA, respectively.

0.089 unit/ml, SA 처리구에서는 0.161 unit/ml, 카드뮴 처리구에서는 0.078 unit/ml, 카드뮴과 SA 혼합 처리구에서는 0.085 unit/ml로써(Fig. 7), 카드뮴 처리구 < 카드뮴과 SA 혼합 처리구 < 대조구 < SA 처리구의 활성 순서를 보였다. 카드뮴 처리구가 대조구보다 낮은 것은 카드뮴이 rubisco activase의 활성을 억제하였음을 나타내며, 대조구보다 SA 처리구가 높은 것은 SA가 rubisco activase의 활성을 촉진시켰음을 나타낸다. 또한 카드뮴 처리구와 카드뮴과 SA 혼합 처리구를 비교하면 카드뮴에 의한 rubisco activase의 활성 억제를 SA가 회복시켰음을 알 수 있었으며, 카드뮴 처리구, 카드뮴과 SA 혼합 처리구 및 SA 처리구를 비교함으로써 SA가 rubisco activase의 활성을 개선시키는 작용에 관여함을 알 수 있었다.

Rubisco의 활성에 대한 변성제의 영향

대조구, SA 처리구, 카드뮴 처리구 및 카드뮴과 SA 혼합 처리구의 각각 생장시킨 담배 식물의 잎으로부터 분리한 rubisco의 활성에 대한 변성제의 영향을 조사한 결과, 본 연구에 사용한 모든 조절제는 카드뮴 처리구 < 카드뮴과 SA 혼합구 < 대조구 < SA 처리구의 순서로 활성이 증가되었으며, 이 순서는 변성제의 처리 유무와 상관없이 변화가 없었다.

L-cysteine과  $\beta$ -mercaptoethanol은 비처리구에 비해 카드뮴과 SA 처리구가 3-4배 정도 활성이 높게 나와 카드뮴과 SA 조건하에서도 rubisco의 활성을 촉진시켰으며, 특히 SA에 대한 효과가 매우 컸다. Urea와 thiourea는 비처리구에 비해 활성이 약간 낮게 나타난 반면, guanidium-HCl은 매우 낮게 나타나 rubisco의 활성을 억제시키는 효과가 있음을 알 수 있었다(Table 3).

Rubisco activase의 활성에 대한 변성제의 영향

카드뮴과 SA 조건하에서 rubisco activase의 활성에 대한

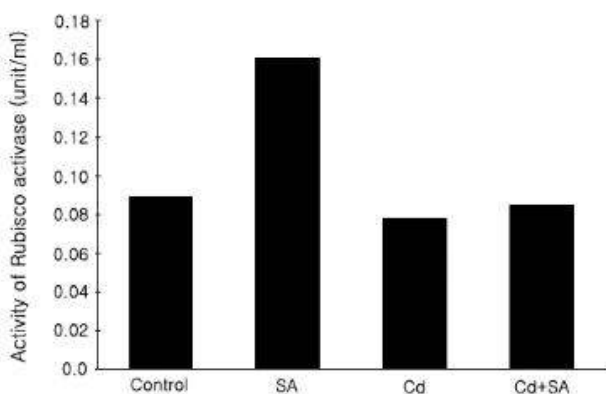


Fig. 7. Effects of Cd and SA on activities of rubisco activase in tobacco leaves. Plants were grown on MS medium without Cd and SA, with SA, Cd, and Cd and SA. Cd and SA concentration were 0.2 mM CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O, and 10<sup>-4</sup> mM SA, respectively.

Table 3. Effect of denaturants on rubisco activity

	Rubisco activity (%)			
	Control <sup>1</sup>	SA <sup>2</sup>	Cd <sup>3</sup>	Cd + SA
No treatment	100	114	84	87
L-Cysteine	347	375	333	337
$\beta$ -Mercaptoethanol	358	382	302	325
Urea	96	123	83	86
Thiourea	92	101	77	80
Guanidium-HCl	73	77	70	71

<sup>1</sup>no treated with Cd and SA

<sup>2</sup>10<sup>-4</sup> mM SA

<sup>3</sup>0.2 mM CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O

Table 4. Effect of denaturants on rubisco activase activity

	Rubisco activase activity (%)			
	Control <sup>1</sup>	SA <sup>2</sup>	Cd <sup>3</sup>	Cd + SA
No treatment	100	106	82	99
L-Cysteine	91	111	84	93
$\beta$ -Mercaptoethanol	102	119	93	93
Urea	79	101	84	91
Thiourea	104	109	100	106
Guanidium-HCl	109	91	91	107

<sup>1</sup>no treated with Cd and SA

<sup>2</sup>10<sup>-4</sup> mM SA

<sup>3</sup>0.2 mM CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O

변성제의 영향을 조사하였다. 대조구, SA 처리구, 카드뮴 처리구 및 카드뮴과 SA 혼합 처리구 모두에서 L-cysteine,  $\beta$ -mercaptoethanol, urea, thiourea 및 guanidium-HCl은 비처리구와 비교하여 약간 높거나 낮은 수치를 보였으나 큰 차이가 없어 rubisco activase의 활성에 효과가 없는 것으로 나타났다(Table 4).

고 찰

SA는 식물체 내에서 합성되는 이차대사 산물이면서 생장 조절제로서 작용하며, 식물에 대한 항병원성 방어물질로써 식물의 다양한 신호전달 경로 등의 생리적 과정에 중요한 역할을 하는 것으로 추측되고 있다[8]. 식물의 개화, 뿌리에 의한 이온의 흡수, 기공의 개폐 뿐만 아니라[27], 과일 및 성숙 억제와 굴중성의 조절에도 관여하는 것으로 알려져 있다[36]. 또한 abiotic stress에 대응하는 물질로서의 기능을 하는 것으로도 보고되고 있다[4].

SA는 오이 잎에서 산화적 스트레스와 UV-B 저항성에 대한 효과가 있으며[12], 오이 종자의 발아 시 삼투 스트레스에 대한 개선 효과 있다고[17] 알려져 있다. 백합에서는 SA가 염발생의 자연적 유도제로서의 역할을 하는 것으로 생각하고 있다[33]. 또한 SA는 카드뮴의 독성에 의해 나타나는 손실효과를 개선하는 작용을 하는 것으로 보고되고 있다[9].



본 연구에서는 카드뮴과 SA에 의해 유도되는 담배 식물의 성장, 엽록소 함량, rubisco와 rubisco activase의 함량과 활성에 대한 결과를 비교하여 카드뮴의 효과에 대한 SA의 영향과, 이에 대한 변성제의 효과를 연구하였다. SA는 세포분열의 촉진과 세포의 팽창을 통해 식물의 성장을 자극하는 효과를 가지며[33], SA의 농도에 따라 식물의 생장의 양상이 다르게 나타난다[41]. SA는 식물체내에 존재하는 endogenous 성장조절제이기 때문에 성장에 미치는 SA의 영향을 연구하는 것은 매우 중요하다. 이에 담배 식물의 성장에 대한 SA의 최적농도를 찾기 위하여,  $10^6$  mM -  $10^2$  mM SA가 각각 함유된 MS배지에서 배양하여 각 농도에 따른 성장을 측정된 결과,  $10^4$  mM SA에서 가장 높은 성장을 보였으며, 1 mM 이상에서는 식물체가 거의 형성되지 않았다. 또한 식물체의 생체 중량도 같은 결과를 보였다. Shakirova 등[33]은 0.05 mM SA는 밀 종자의 발아와 유식물의 성장을 촉진시킨다고 하였다. Shin 등[34]은 1  $\mu$ M 이하의 농도에서는 포도 현탁배양 세포의 생장은 어떤 영향도 받지 않았으며, 5  $\mu$ M 이상에서는 세포의 생장이 억제되고, 20  $\mu$ M에서는 생장이 정지된다고 하였다. 또한 Gutierrez-Coronado 등[11]은  $10^8$  M에서 대두의 신초와 뿌리의 생장이 현저하게 증가한다고 보고하였다 이러한 차이점들은 식물 재료와 배양 조건이 다르기 때문으로 추측된다.

대조구, SA 처리구, 카드뮴 처리구 및 카드뮴과 SA 혼합 처리구로 구성된 각각의 MS배지 상에 담배 식물 줄기를 배양한 후, 담배 식물의 성장에 대한 카드뮴과 SA의 결과를 비교하여 카드뮴의 효과에 대한 SA의 영향을 연구하였다. 생장은 카드뮴 처리구 < 카드뮴과 SA 혼합 처리구 < 대조구 < SA 처리구의 순서로써, 측정된 식물체와 잎 생체중량의 결과도 같았다. 대조구와 비교하여 카드뮴 처리구가 낮았는데, 이는 카드뮴이 성장을 억제한 결과이며, 대조구와 SA 처리구를 비교하면 SA가 성장을 촉진시켰음을 알 수 있었다. 또한 카드뮴 처리구, 카드뮴과 SA 혼합 처리구 및 SA 처리구를 비교한 결과는 카드뮴에 의해 억제되었던 생장이 SA에 의해 회복되었음을 보여주고 있다. 대두 유식물 앞에서 카드뮴에 의한 생장은 SA의 존재 하에서는 현저하게 감소되며, 이는 SA가 카드뮴의 효과를 완화시킨 결과이다[9]. 이는 보리 유식물에서 SA가 카드뮴의 독성을 완화시킨다는 Metwally 등[20]의 결과와 일치한다.

카드뮴은 엽록소의 합성을 저해하는데[16], 이는 aminolevulinic acid의 합성[38]과 protochlorophyllide 광환원 반응과 관련되어 있다[3]. 광합성 색소인 엽록소에 미치는 카드뮴과 SA의 효과를 하기 위해, 엽록소의 함량을 측정한 결과, 엽록소 a에서 약간의 차이가 있었으나, 전체 엽록소 함량은 카드뮴 처리구 < 카드뮴과 SA 혼합구 < 대조구 < SA 처리구의 순서로 증가하였는데, 이는 카드뮴에 의한 엽록소의 억제를 SA가 회복시켰음을 보여 주고 있다. Drazic과 Mihailovic [9]은 대두 유식물 잎의 전체 엽록소 함량은 카드뮴에 의해 감소

하며 SA가 존재하여도 카드뮴은 엽록소 함량 감소를 유도한다고 하여 농도에 따라 SA가 카드뮴에 의한 영향을 감소시키는 효과가 있음을 보고하였으며, Pancheva 등[24]은 보리 잎에서 100  $\mu$ M - 1 mM SA에 의해 엽록소 함량이 감소된다고 하여 본 연구 결과와 차이를 보였다.

Catalase, superoxide dismutase, ascorbate peroxidase 및 glutathione reductase와 같은 항산화 효소 수준에서의 SA와 카드뮴의 연구가 수행되었으며[6], SA는 식물체내에서 카드뮴의 독성에 의해 나타나는 손실효과를 완화시키는 것으로 보고되고 있다. 이와 같이 카드뮴과 같은 중금속에 의한 피해를 줄이는 차원에서 SA와 관련하여 광합성의 CO<sub>2</sub> 고정반응을 촉매하는 rubisco와 이의 활성화 효소인 rubisco activase에 대한 연구는 매우 중요하다.

이에 본 연구에서는 카드뮴과 SA에 의해 유도되는 rubisco의 함량과 활성에 대한 자료를 비교하여 카드뮴의 효과에 대한 SA의 영향을 조사한 결과, 카드뮴 처리구 < 카드뮴과 SA 혼합구 < 대조구 < SA 처리구의 순서로 함량과 활성이 증가하였다. 대조구와 비교하여 카드뮴 처리구가 낮은 것은 카드뮴이 rubisco의 함량과 활성을 억제하였음을 나타내는 것으로, rubisco의 활성부위에 존재하는 시스테인의 SH 기에 카드뮴이 결합하여 이 효소의 활성을 억제하였기 때문이다[37]. 대조구보다 SA 처리구가 높은 것은 SA가 rubisco의 함량과 활성을 촉진시켰음을 나타낸다. 또한 카드뮴 처리구와 카드뮴과 SA 혼합 처리구를 비교하면 카드뮴에 의한 rubisco의 함량과 활성 억제를 SA가 회복시켰음을 알 수 있었으며, 이는 결합되어 있던 카드뮴이 SA에 의해 제거되었기 때문으로 해석된다. 4개의 실험구를 비교한 결과는 SA가 rubisco의 함량과 활성을 개선시키는 작용에 관여함을 보여주고 있다.

Rubisco에 대한 카드뮴과 SA의 결과가 rubisco activase와 관련되어 기인되는지의 여부를 밝히기 위해 rubisco activase의 함량과 활성을 측정된 결과, rubisco의 결과와 같은 순서로 함량과 활성을 보였다. 대조구와 비교하여 카드뮴 처리구가 낮은 것은 카드뮴이 rubisco activase의 함량과 활성을 억제하였음을, 대조구보다 SA 처리구가 높은 것은 SA가 rubisco activase의 함량과 활성을 촉진시켰음을 나타내는 것으로서, 4개 실험구를 비교함으로써 카드뮴에 의해 억제된 rubisco activase의 함량과 활성이 SA에 의해 회복됨으로써 SA가 개선 효과가 있음을 의미한다. 이러한 카드뮴에 대한 SA의 완화 현상은 보리 유식물[20], 대두 유식물[9]에서 보고되고 있으며, 애기장대 유식물에서 NaCl에 의한 손상에 SA가 중요한 역할을 한다는 보고도 있다[4]. Rubisco와 rubisco activase에 대한 결과가 같다는 것은 SA가 독립적으로 각각 rubisco와 rubisco activase 수준에서 작용하기도 하며, 또한 이 두 효소가 연관되어 작용한다는 것을 의미하는 것으로 해석된다.

효소는 열과 같은 물리적 요인이나 화학적 물질에 의해 변성되어 활성을 상실하지만 이러한 요인을 제거하면 다시 복귀

되어 활성을 유지한다. 이 두 작용은 단백질의 3차 구조를 결정하는 결합력과 밀접한 관계를 가지고 있다. 이러한 점으로 미루어 보아 본 연구에서의 L-cysteine,  $\beta$ -mercaptoethanol, urea, thiourea, guanidium-HCl은 rubisco와 rubisco activase의 활성에 영향을 미칠 것으로 사료된다. 카드뮴과 SA에 의한 rubisco의 활성과 SA에 의한 카드뮴의 영향에 대한 5종의 변성제의 효과를 조사한 결과, 모든 변성제는 카드뮴 처리구 < 카드뮴과 SA 혼합구 < 대조구 < SA 처리구의 순서로 활성을 보였으며, 이 순서는 변성제의 처리 유무와 상관없이 변화가 없었다.

L-cysteine과  $\beta$ -mercaptoethanol은 SH 기를 가지고 있어 S-S 결합을 절단함으로써 변성을 유도하는데, 카드뮴과 SA 조건하에서도 rubisco의 활성을 촉진시키는 효과를 나타내어 촉진시키는 결과를 보였으며, 특히 SA에 대한 효과가 매우 컸다. 이는 rubisco의 활성부위의 SH기에 결합된 카드뮴[37]의 제거에 관여하는 SA의 작용을 L-cysteine과  $\beta$ -mercaptoethanol이 촉진시킨 결과로 추측된다.

Urea, thiourea, guanidium-HCl은 단백질 내에 존재하는 수소결합 보다 더 강하게 단백질과 수소결합을 형성하는 물질이다. Urea와 thiourea는 비처리구에 비해 활성이 약간 낮게 나타나 효과가 거의 없다. 반면 guanidium-HCl은 매우 낮게 나타나 rubisco의 활성을 억제시키는 효과가 있음을 알 수 있었다. 이는 소수성 상호작용의 파괴에 기인되어 변성이 된 결과로 추측된다. DTT가 열에 의한 rubisco의 변성에 대해 아주 높은 저항성을 가진다는 보고가 있다[10].

카드뮴과 SA 조건하에서 rubisco activase의 활성이 rubisco와 연관되어 있으므로, rubisco activase의 활성에 대한 변성제의 영향을 조사하였다. L-cysteine,  $\beta$ -mercaptoethanol, urea, thiourea 및 guanidium-HCl은 rubisco activase의 활성에 효과가 없는 것으로 나타났다. Rubisco activase는 rubisco와는 다르게 변성제에 의해 크게 영향을 받지 않는 것으로 나타나 변성제가 rubisco activase와 연관되어 rubisco의 작용에 관여하지 않는 것으로 추측된다. 이는 rubisco activase가 열에 의해 변성된 rubisco의 활성을 회복시킬 수 있는 능력을 가지고 있지 않다고 한 Eckardt와 Portis [10]의 결과와 일치한다.

결론적으로, SA는 담배 식물의 기내생장, 엽록소 및 rubisco/rubisco activase에 대한 카드뮴의 손실 효과를 개선시키는 작용을 하는 것으로 추측되며, 이 작용에 변성제 중의 일부가 관여하는 것으로 생각된다. 본 연구의 결과는 중금속에 의한 식물 생장 억제의 개선과 동시에 이 개선 과정을 전산화특저항성과 연관시킨 연구에 접목할 수 있을 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 2010년도 계명대학교 비사연구기금으로 이루어

졌음.

## References

- Alvarez, M. E. 2000. Salicylic acid in the machinery of hypersensitive cell death and disease resistance. *Plant Mol. Biol.* **44**, 429-442.
- Barcelo, J., Vazquez, M. D. and Poschenrieder, C. 1988. Cadmium-induced structural and ultrastructural changes in the vascular system of bush bean stems. *Bot. Acta* **101**, 254-261.
- Böddi, B., Oravec, A. R. and Lehoczi, E. 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.
- Borsani, O., Valpuesta, V. and Botella, M. A. 2001. Evidence for a role of salicylic acid in the oxidative damage generated by NaCl and osmotic stress in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Physiol.* **126**, 1024-1030.
- Chandra, A. and Bhatt, R. K. 1998. Biochemical and physiological response to salicylic acid in relation to the systemic acquired resistance. *Photosynthetica* **35**, 255-258.
- Chen, Z., Ricigliano, W. and Klessig, D. F. 1993. Purification and characterization of a soluble salicylic acid-binding protein from tobacco. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 9533-9537.
- Choudhary, M., Bailey, L. D. and Grant, C. A. 1994. Effect of zinc on cadmium concentration in the tissue of durum wheat. *Can. J. Plant Sci.* **74**, 549-552.
- Delaney, T. P., Uknes, S., Vernooij, B., Friedrich, L., Weymann, K., Negrotto, D., Gaffney, T., Gut-Rella, M., Kessmann, H., Ward, E. and Ryals, J. 1994. A central role of salicylic acid in plant disease resistance. *Science* **266**, 1247-1250.
- Drazic, G. and Mihailovic, N. 2005. Modification of cadmium toxicity in soybean seedlings by salicylic acid. *Plant Sci.* **168**, 511-517.
- Eckardt, N. A. and Portis, Jr. A. R. 1997. Heat denaturation profiles of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (rubisco) and rubisco activase and the inability of rubisco activase to restore activity of heat-denatured rubisco. *Plant Physiol.* **113**, 243-248.
- Gutierrez-Coronado, M. A., Trejo-Lopez, C. and Larque-Saavedra, A. 1998. Effects of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. *Plant Physiol. Biochem* **36**, 563-565.
- Hong, J. H. and Kim, T. Y. 2007. Effects of salicylic acid on oxidative stress and UV-B tolerance in cucumber leaves. *J. Environ. Sci.* **16**, 1345-1353.
- Inskeep, W. P. and Bloom, P. R. 1985. Extinction coefficients of chlorophyll a and b in *N,N*-dimethylformamide and 80% acetone. *Plant Physiol.* **77**, 483-485.
- Kang, H. M. and Saltveit, M. E. 2002. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid. *Physiol. Plant* **115**,



- 571-576.
15. Kneer, R. and Zenk, M. H. 1991. Phytochelatins protect plant enzymes from heavy metal poisoning. *Phytochemistry* **31**, 2663-2667.
  16. Larsson, E. H., Bornman, J. F. and Hakan, A. 1998. Influence of UV-B radiation and Cd<sup>2+</sup> on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in *Brassica napus*. *J. Exp. Bot.* **323**, 1031-1039.
  17. Lee, G. S., Kim, T. Y. and Hong, J. H. 2002. Salicylic acid and water stress effects on growth and proline of cucumber seedlings. *J. Environ. Sci.* **11**, 1165-1172.
  18. Lee, K. R. and Roh, K. S. 2003. Influence of cadmium on rubisco activation in *Canavalia ensiformis* L. leaves. *Biotechnol. Bioeng.* **8**, 94-100.
  19. Lee, T. T. and Scoog, F. 1965. Effect of substituted phenols on bud formation and growth of tobacco tissue culture. *Physiol. Plant* **18**, 386-402.
  20. Metwally, A., Finkemeier, I., Georgi, M. and Dietz, K.-J. 2003. Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in barley seedlings. *Plant Physiol.* **132**, 272-281.
  21. Mishra, A. and Choudhuri, M. A. 1999. Effects of salicylic acid on heavy metal induce membrane degradation mediated by lipoxygenase in rice. *Biol. Plant* **42**, 409-415.
  22. Munné-Bosch, S., Penuelas, J. and Llusia, J. 2007. A deficiency in salicylic acid alters isoprenoid accumulation in water-stressed *NahG* transgenic *Arabidopsis* plants. *Plant Sci.* **172**, 756-762.
  23. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant* **15**, 473-497.
  24. Pancheva, T. V., Popova, L. P. and Uzunova, A. N. 1996. Effects of salicylic acid on growth and photosynthesis in barley plants. *J. Plant Physiol.* **149**, 57-63.
  25. Panković, D., Plesničar, M., Arsenijević-Maksimović, I., Petrović, N., Sakač, Z. and Kastori, R. 2000. Effects of nitrogen nutrition on photosynthesis in Cd-treated sunflower plants. *Ann. Botany* **86**, 841-847.
  26. Racker, E. 1962. Ribulose diphosphate carboxylase from spinach leaves. *Methods Enzymol.* **5**, 266-270.
  27. Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* **43**, 439-463.
  28. Ray, S. D. 1986. GA, ABA, phenolic interaction and control of growth: phenolic compounds as effective modulators of GA-ABA interaction in radish seedlings. *Biol. Plant* **28**, 361-369.
  29. Reese, E. N. and Roberts, L. W. 1984. Cadmium uptake and its effects on growth of tobacco cell suspension cultures. *Plant Cell Rep.* **3**, 91-94.
  30. Robinson, S. P. and Portis, A. R. Jr. 1989. Adenosine triphosphate hydrolysis by purified rubisco activase. *Arch. Biochem. Biophys.* **268**, 93-99.
  31. Roh, K. S. and Chin, H. S. 2005. Cadmium toxicity and calcium effect on growth and photosynthesis of tobacco. *J. Life Sci.* **15**, 453-460.
  32. Ryals, J. A., Neuenschwander, U. H., Willits, M. G., Molina, A., Steiner, H. Y. and Hunt, M. D. 1996. Systemic acquired resistance. *Plant Cell* **8**, 1809-1819.
  33. Shakirova, F. M., Sakhabutdinova, A. R., Bezrukova, M. V., Fatkhutdinova, R. A. and Fatkhutdinova, D. R. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Sci.* **164**, 317-322.
  34. Shin, D. H., Yu, S. R. and Choi, K. S. 1995. Effect of salicylic acid on anthocyanin synthesis in cell suspension cultures of *Vitis vinifera* L. *Kor. J. Plant Tissue Culture* **22**, 59-64.
  35. Somashekaraiyah, B. V., Padmaja, K. and Praead, A. R. K. 1992. Phytotoxicity of cadmium ions on germinating seedlings of mung bean (*Phaseolus vulgaris*): involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation. *Physiol. Plant* **85**, 85-89.
  36. Srivastava, M. K. and Dwivedi, U. N. 2000. Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid. *Plant Sci.* **158**, 87-96.
  37. Stiborova, M. 1988. Cd<sup>2+</sup> ions affect the quaternary structure of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase from barley leaves. *Biochemia Physiol. Pflanzen* **183**, 371-378.
  38. Stobart, A. K., Griffiths, W. T., Ameen-Bukhari, I. and Sherwood, R. P. 1985. The effect of Cd<sup>2+</sup> on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. *Physiol. Plant* **63**, 293-298.
  39. Vahala, J., Keinänen, M., Schutzendubel, A., Polle, A. and Kangasjarvi, J. 2003. Differential effects of elevated ozone on two hybrid aspen genotypes predisposed to chronic ozone fumigation. Role of ethylene and salicylic acid. *Plant Physiol.* **132**, 196-205.
  40. Vogelli-Large, R. and Wagner, G. J. 1990. Subcellular localization of cadmium and cadmium-binding peptides in tobacco leaves. *Plant Physiol.* **92**, 1086-1093.
  41. Wang, D., Karolina, P.-M., Angela, H. C. and Dong, X. 2007. Salicylic acid inhibits pathogen growth in plants through repression of the auxin signaling pathway. *Current Biology* **17**, 1784-1790.
  42. Wang, Z. Y. and Portis, Jr. A. R. 1992. Dissociation of ribulose 1,5-bisphosphate bound to ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and its enhancement by ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activase-mediated hydrolysis of ATP. *Plant Physiol.* **99**, 1348-1353.

초록 : 카드뮴에 의해 유도된 담배 식물의 생장, 엽록소와 rubisco/rubisco activase에 대한 salicylic acid의 전환 효과

王玉珊·노광수\*

(계명대학교 생물학과)

카드뮴에 의해 유도되는 담배의 생장, 엽록소 함량, rubisco와 rubisco activase에 미치는 SA의 영향과, 이에 대한 변성제의 효과를 연구하였다. 담배 기내생장에 대한 SA의 최적농도를 찾기 위해,  $10^{-6}$  mM -  $10^2$  mM SA를 처리하여 9주간 생장시킨 결과,  $10^{-4}$  mM SA에서 가장 높은 생장을 보였다. SA와 카드뮴을 4개의 실험구(대조구, SA, 카드뮴, 카드뮴 + SA)로 하여 생장, 엽록소 함량 및 rubisco와 rubisco activase의 함량과 활성을 측정된 결과, 카드뮴 > 카드뮴 + SA < 대조구 < SA 순서였으며, 대조구보다 카드뮴을 처리했을 때 낮았고, 대조구보다 SA에서 높았으며, 카드뮴 보다 SA에서 높게 나타났다. 이는 카드뮴에 의해 유발된 억제 현상이 SA에 의해 반전되었음을 의미하는 것으로, SA는 담배 식물의 기내생장, 엽록소 및 rubisco/rubisco activase에 대한 카드뮴의 손실 효과를 개선시키는 positive effect 작용을 하는 것으로 나타났다. Rubisco의 활성에 대한 변성제 들은 카드뮴 > 카드뮴 + SA < 대조구 < SA 순서로 효과를 나타냈으며, 이 중 L-cysteine과  $\beta$ -mercaptoethanol은 활성을 촉진시켰으며, urea, thiourea, guanidium-HCl은 억제시켰다. 이는 L-cysteine과  $\beta$ -mercaptoethanol은 변성에 관여하지 않으며, urea, thiourea, guanidium-HCl은 변성에 관여하였음을 의미한다. Rubisco activase의 활성에 대한 변성제들의 영향을 조사한 결과, 5종 모두는 비처리구와 비교하여 현저한 영향은 나타내지 않았다.