

해녀콩의 발아와 생장시 Canavanine의 이용과 Canavanase의 활성에 대하여

權寧命 · 鄭興采 · 高碩贊* · 洪英男

(서울大學校 自然科學大學 植物學科 · *濟州大學校 理科大學 生物學科)

On Utilization of Canavanine and Activity of Canavanase during Germination and Growth of *Canavalia lineata* (L.) DC

Kwon, Young Myung, Hung Chae Chung, Suck Chan Koh* and
Young-Nam Hong

(Department of Botany, Seoul National University, Seoul and

*Department of Biology, Cheju National University, Cheju)

ABSTRACT

Canavanine content of the cotyledons of *Canavalia lineata* decreased gradually during germination and growth of seedlings but continued to increase in roots and leaves. After abscission of cotyledons, canavanine content of leaves depleted completely. The activity of canavanase could be detected in leaves and roots, but not in cotyledons. High arginase activity was observed in the cotyledons of seeds at the early imbibition period. During the growth of seedlings, cotyledonary canavanine appeared to be transported to the growing portions of the seedlings where it could be utilized through nitrogen metabolic pathways. In crude cell-free extracts of leaves, maximum activities of canavanase or arginase appeared in 30mM Tris-HCl buffer (pH 9.0) or 30mM NaHCO₃ buffer (pH 10.0), respectively. The activities of these two enzymes differed from each other when treated with Co²⁺ or Mn²⁺. These results support the idea that canavanase and arginase might be different enzymes.

緒論

Canavanine은 jack bean의 자엽에서 처음 분리된 비단백질 성 아미노산으로 (Kitagawa and Tomiyama, 1929) *Canavalia*를 비롯한 Papilionideae 종자에 광범위하게 존재한다 (Bell et al., 1978; Bell, 1971). Canavanine은 arginine의 guanidino-oxy 유사체로서 박테리아는 물론 고등 동식물에 이르는 여러 생물에서 대사 저해 작용을 나타낸다 (Rosenthal, 1977, 1982). 그러나 canavanine을 함유하는 식물과 이러한 종자를 먹고 사는 일부 곤충은 오히려 canava-

본 논문은 1985년도 문교부연구비로 수행된 결과중의 일부(1)임.

nine을 탄소원이나 질소원으로 이용할 수 있다(Rosenthal *et al.*, 1976, 1977; Rosenthal and Janzen, 1983).

종자의 canavanine 함유량은 종에 따라 변이가 있으나(Bell, 1958; Rosenthal, 1982), jack bean의 경우 전 질소량의 55% 혹은 전 유리아미노산의 95%를 차지하고 있다(Rosenthal and Janzen, 1983). 자엽에 저장된 canavanine은 발아와 유식물의 생장에 이용되는데(Bell, 1960; Nakatu *et al.*, 1964; Rosenthal, 1970), jack bean에서는 줄기와 잎으로의 이동은 일어나지만 뿌리로의 이동은 일어나지 않는다고 한다(Rosenthal and Rhodes, 1984).

한편 canavanine이 생장에 이용되기 위해서는 특정 대사에 참여하여야 하는데 지금까지 알려진 내용을 보면 먼저 분해되어 canaline과 urea로 되며 다시 canaline은 homoserine으로 그리고 urea는 NH₃와 CO₂로 변한다(Damodaran and Narayanan, 1940; Rosenthal, 1983). 그러나 canavanine 분해에 관한 효소학적 연구는 비교적 정리가 되지 않은 실정이다.

일찌기 *Canavalia ensiformis*와 *C. obtusifolia*의 자엽에서 canavanase가 있다고 하였으며(Damodaran and Narayanan, 1940), 그 후 같은 자엽에서 canavanase와 arginase가 분리 경제 되었다(Downum *et al.*, 1983). 그러나 canavanine을 이용하는 곤충(bruchid beetle larva)에서는 arginase에 의하여 canavanine이 분해되며(Rosenthal *et al.*, 1977), Fabaceae의 자엽에서도 arginase에 의하여 분해 된다고 한다(Toepfer *et al.*, 1970). Jack bean 자엽에서 canavanine이 arginase에 의하여 분해 된다는 보고(Rosenthal, 1970)가 있는 반면, 자엽에서는 분해되지 않고 잎으로 이동된 후 잎의 arginase에 의하여 분해 된다는 ¹⁴C-canavanine의 실험 결과도 보고되어 있다(Rosenthal and Rhodes, 1984). 박테리아(Kihara and Snell, 1957)와 동물의 간과 신장(Kaysen and Strecker, 1673)에서 분리된 arginase가 canavanine의 존재로 활성이 저해되는 것은 canavanine이 arginine과 경쟁적으로 작용하기 때문이라 하였는데 이들 반응 생성물의 측정 결과로 부터 arginase가 canavanine을 기질로 이용할 수 있는 가능성 있는 것으로 해석될 수 있다. 한편 jack bean 자엽으로부터 분리 정제된 효소 실험 결과에서(Downum *et al.*, 1983) canavanase는 arginine-을, arginase는 canavanine을 기질로 이용할 수 없음이 밝혀졌고, 또한 대두(大豆)에서 분리된 arginase가 canavanine을 기질로 이용할 수 없음이 알려져면서(Downum *et al.*, 1983) canavanase와 arginase의 동일성 여부를 가려 내는데 요구되는 보다 많은 자료가 필요하게 되었다. 또한 발아와 유식물의 생장중, 저장된 canavanine의 이용에 있어서 가장 중요한 단계인 canavanine의 분해가 식물체의 어느 부위에서 일어나며 그리고 어떤 효소에 의하여 분해가 촉매되는지에 대한 정확한 내용이 밝혀져 있지 않은 실정이다. 그래서 본 연구에서는 해녀콩 종자의 발아와 유식물의 생장에 있어 자엽에 있는 canavanine의 이용에 관한 기초적인 지식을 얻기 위하여 유식물의 각 부위에서 canavanine 함유량, 전조량, 총 질소량, 그리고 총 유리아미노산량을 측정하고 cell free extract에서 canavanase와 arginase 및 urease의 활성을 조사 하였으며, 특히 canavanase와 arginase가 같은 효소인지에 대한 새로운 정보를 얻고자 하였다.

材料 및 方法

제주도 토끼섬 일대의 서식지에서 채취(1985년)한 해녀콩(*Canavalia lineata* (L.) DC) 종

자를 4°C 에 보관하면서 모든 실험에 사용하였다. 크기가 비슷한 종자를 선별하여 하루 동안 실온에서 침윤시킨 후, plastic 용기 ($11.8 \times 11.8 \times 10.9\text{cm}$) 안에 12개씩 과종하여 25°C growth chamber에서 2일 동안 암 발아시켰다. 발아된 유식물의 유근을 plastic 용기의 상단에 고정시킨 1cm 두께의 polyurethane foam에 끓고 다자 2일 동안 암조건에 두었다가 7,000lux ($16:8$) 하에서 배양액에 연속적인 통기를 하면서 배양하였다. 생장에 따른 자엽의 canavanine 이동 변화를 조사하는 실험은 중류수에서 생육시켰으며, 효소의 생화학적 성질을 비교하는 시료의 배양은 Hoagland 액에서 실시하였다.

발아후 생장중인 유식물에서 canavanine, 총 유리아미노산과 총 질소량의 측정은 3일 간격으로 실시하였다. Canavanine의 추출 및 정량은 Rosenthal (1976)의 방법을 따랐으며, 유리아미노산의 정량은 glycine을 표준으로 한 ninhydrin법 (Plummer, 1978)으로 하였고, 총 질소의 함량은 microkjeldahl 법으로 측정하였다.

Canavanase, arginase 및 urease의 활성 측정에는 부위별로 채취한 시료에서 얻은 cell-free extract를 사용하였다 (Polacco, 1977). Canavanase의 활성은 (Downum et al., 1983) 0.1ml의 30mM Tris-HCl의 완충액 (pH 9.0), 0.1ml의 1mM DTT (dithiothreitol), 0.1ml의 1mM MnCl₂ 및 0.4ml의 중류수를 혼합한 뒤 여기에 0.2ml의 효소액을 첨가하여 15분간 40°C 에서 활성화시킨 후에 0.1ml의 30mM canavanine (pH 9.0)을 가하여 30분간 반응시켰다. Arginase의 활성은 (Downum et al., 1983) 0.1ml의 30mM NaHCO₃ 완충액 (pH 10.0), 0.1ml의 1mM DTT, 0.1ml의 1mM MnCl₂에 효소액 0.1ml를 첨가한 후 중류수를 넣어 0.9ml가 되게 한 후 15분간 40°C 에서 활성화시켰다. 그리고 여기에 0.1ml의 50mM arginine (pH 10.0)을 가하여 20분간 반응시켰다. 일정한 시간이 경과한 후 각 반응액에 1ml의 2N H₂SO₄를 넣어 반응을 중지시켰고 이때 생성된 urea량을 측정하여 효소의 활성을 산출하였다. Urease의 활성은 Polacco (1976)의 방법을 기초로 하였으며, 가용성 단백질의 함량 측정은 Bensadoun과 Weinstein (1976)의 방법을 따랐다. Canavanase와 arginase의 효소학적 성질로부터 두 효소의 독립성 여부를 판단하기 위하여 각 효소의 물리 화학적인 성질과 2가 양이온에 대한 활성 변화도 조사하였다.

결과 및考察

Canavanine의 이용. 본 연구에 사용된 해녀콩 자엽에는 전량의 10%에 상당하는 canavanine이 함유되어 있으며 발아 시작 후 9~18일 사이에 자엽에서 그 양이 크게 저하되었으나 자엽이 떨어지는 시기 (21~23일)부터는 비록 자엽이 떨어지지 않았어도 canavanine 함량의 감소가 미미하였으며, 잎에서 canavanine이 완전히 소멸된 후에도 자엽에는 상당량의 canavanine이 남아 있었다 (Fig. 1a). 이러한 canavanine의 양적 변화는 등나무, 작두콩 및 아카시아 종자에서와 같은 경향임을 알 수 있다 (Nakatsu et al., 1964). 그리고 잎, 뿌리 및 줄기에서 canavanine 함량의 변화를 보면, 잎의 canavanine 총량은 생장에 따라 잎의 전조량의 증가와 함께 증가하였으나 자엽이 떨어지는 시기부터는 그 양이 감소되어 결국 완전히 소실되었으며, 줄기에서의 canavanine 함량은 극히 낮았고 잎과 같은 시기에 완전 소실되었다. 그러나 뿌리에 있는 canavanine 양은 잎에 비하여 낮은 편이나 자엽의 탈락과 관계없이 실험기간 동안에 커다란 양적 저하는 일어나지 않았다 (Fig. 1a).

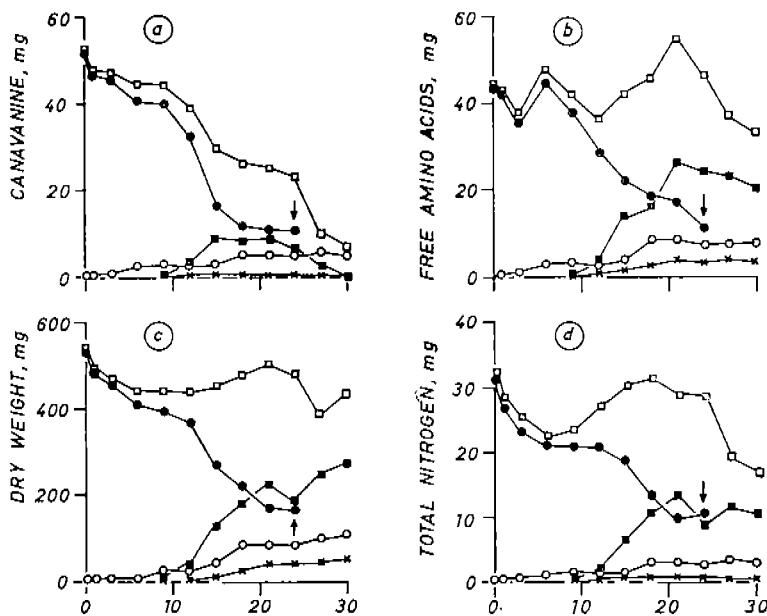


Fig. 1. Dry weight(c) and contents of canavanine(a), free amino acid(b), and total nitrogen(d) in each plant part during germination and growth of *Canavalia lineata*. The arrows indicate that cotyledons were detached. •, cotyledons; □, leaves; ○, root; ×, stems; ▨, whole plant. Free amino acids were estimated using glycine as a standard. Each value represents the mean of three separate determinations performed with nine seedlings.

잎과 뿌리의 canavanine양을 전조중량을 기준으로 하여 비교해 보면 (Fig. 1a, c) 뿌리의 canavanine 함량이 훨씬 높음을 알 수 있다(21일, 뿌리 : ~58mg/g dry wt. 잎 : ~40mg/g dry wt.). 이와 같이 각 부위에서 canavanine의 양적 증감과는 별도로 canavanine 총량은 생장에 따라 감소되었다. 그러므로 생장동안 잎, 줄기 및 뿌리에 존재하는 canavanine은 차염으로부터 이동된 것으로 해석함이 타당하다(Rosenthal, 1970; Rosenthal and Rhodes, 1984). 즉 의부에서 질소의 공급이 없이 생육되고 있는 조건에서 식물체내의 canavanine의 총량은 생장과 더불어 저하 되었으나, 유리아미노산의 총량(Fig. 1b)은 실험기간 동안 개체 차이에서 나타나는 변이 이상의 큰 변화가 없는 것으로 나타났다. 이러한 유리아미노산의 총량은 식물의 전조량이나 생중량을 기준으로 하면 생장과 더불어 감소하는 것인지만, canavanine의 총량변화와 비교되는 결과라 하겠다. 그리고 각 부위에서의 변화도 잎의 경우를 제외하면 대개가 canavanine의 양적변화와 유사한 패턴을 보였다. 그렇지만 잎에서 canavanine양과 유리 아미노산양의 변화에는 서로 다른 원인이 있는 것으로 해석된다. 즉, 21일 이후 잎에서 일어나는 canavanine양의 감소는 차염으로부터의 공급증단이 원인이고, 유리 아미노산의 감소는 종류수에서 생육되는 관계로 생장에 필요한 질소성분(canavanine을 포함)의 공급부족에서 나타난 것으로 볼 수 있다. 한편 차염에서 canavanine의 양적 감소가 가장 크게 일어난 시기에(9~18일) 잎과 뿌리 생장이 가장 활발하였고(Fig. 1c와 미발표 생중량 증가 측정치), 식물체 전체에서 총 유리아미노산의 변화가 현저하지 않으면서도 생장이 지속된 것을 보아 차염의 canavanine은 다른 부위로 이동되었으며 또한 다른 질

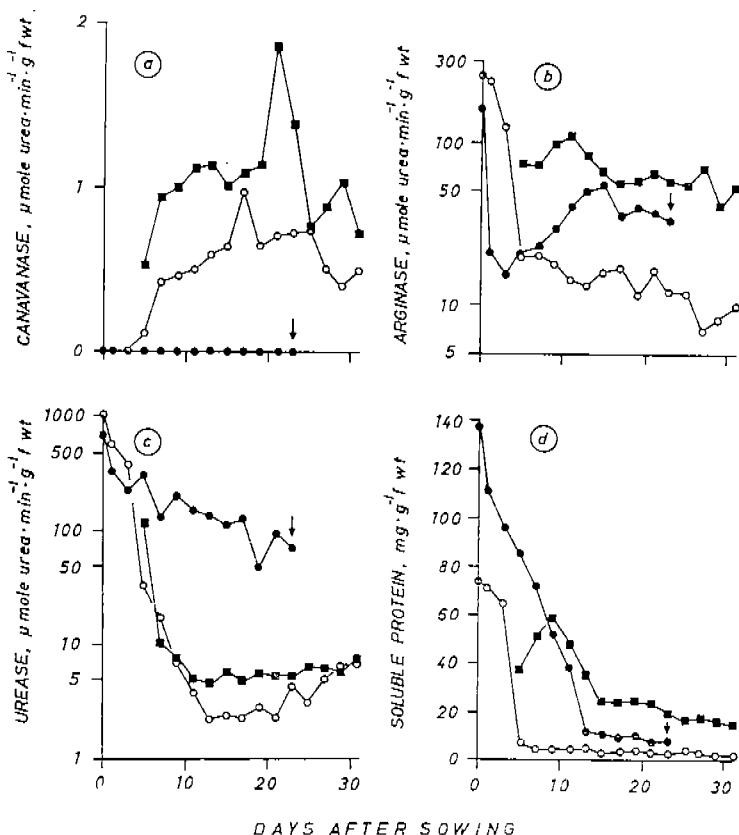


Fig. 2. Activities of canavanase(a), arginase(b) and urease(c) and content of soluble protein(d) from plant parts during germination and growth of *Canavalia lineata*. The arrows indicate that cotyledons were detached. —●—, cotyledons; —○—, roots; —■—, leaves. Each value represents the mean of three independent assays.

소화합물로 전환되었음이 분명하다(Rosenthal and Janzen, 1983; Rosenthal and Rhodes, 1984).

Canavanase, arginase 및 urease의 활성변화. 밭아와 생장중 canavanine의 이동과 대사에 관한 보다 정확한 내용을 알기 위하여 생장중인 유식물의 각 부위에서 canavanase, arginase 및 urease 활성을 조사하였다. 그 결과 canavanase의 활성(Fig. 2a)은 자엽에서 결코 측정되지 않았으나 잎과 뿌리에서는 모두 측정되었다. 잎에서 canavanase의 활성이 뿌리에서보다 항상 높은 것으로 나타났는데 이러한 높은 활성 때문에 잎의 canavanine 함량이 뿌리보다 낮았으며 또한 자엽이 떨어진 후 잎의 canavanine량이 뿌리와는 달리 모두 없어지게 되는 결과를 가져오게 한 것으로 해석된다. Arginase의 활성을 보면 자엽에서는 초기에 가장 높았다가 1일 째부터 크게 떨어졌으며 생장에 따라 활성이 높아지기는 하였으나 결코 초기의 활성과는 비교되지 못하였다(Fig. 2b). 이러한 결과는 감두와 *Vicia faba* 자엽에서 arginase의 활성이 밭아와 더불어 절진적인 증가를 보인다는 결과와 크게 다르며(Ruiter and Kollöffel, 1983; Kollöffel and Dijke, 1975), 뿌리에서도 유근일때 가장 높은 활성을 보

인후 5일째 부터는 낮은 핍을 유지 하였다. 즉 자엽과 유근에서 arginase는 종자 형성시기부터 있었던 것으로 생각되며(Dilworth and Dure III, 1978), canavanase와 arginase의 활성 변화 패턴서 특히 자엽과 뿌리에서 비교할 수 없을 정도로 다르며 일에서 이 두 효소의 활성비율이 1:45인데 비하여 뿌리에서는 1:25인 점과 자엽의 cell free extract가 결코 canavanine을 기질로 이용하지 못한다는 사실은 이들 두 효소의 체내분포가 다르고 arginase가 canavanine을 기질로 이용하지 못함을 알 수 있다.

Urease의 활성변화를 보면(Fig. 2c) arginase의 경우와 같고 그리고 목화씨(Dilworth and Dure III, 1978)와 대두(Polacco *et al.*, 1982)의 경우처럼 종자때부터 자엽과 유근에 urease가 있었던 것이 분명하며, 발아후 생장에 따라 점차 효소활성이 증가한다는 완두(Kollöffel and Dijke, 1975)와는 urease의 활성변화 패턴이 크게 달랐다. 한편 자엽에서 urease의 활성이 발아초기와는 달리 자라면서 크게 저하되었으나, 일과 뿌리의 urease 활성과 비교하면 전반적으로 높게 유지되었다. 그런데 질소대사의 활성이 왕성한 일과 뿌리에서 이 효소의 활성이 낮은 것으로 보아, 자엽에서 urease의 활성이 높은 것이 생장중의 canavanine 대사에 꼭 필요하기 때문은 아닌 것 같다. 그리고 자엽에서 가용성 단백질양이 발아후 15일때부터 최저수준으로 되었으나(Fig. 2d), 자엽의 총질소량중 30% 정도가 끝까지 남아 있는 것으로 보아(Fig. 1d), 자엽에서 canavanine을 비롯한 저장성분 전부가 유식물 생장에 이용되지 못함을 알 수 있다.

Jack bean(Rosenthal and Rhodes, 1984)에서는 자엽의 canavanine이 일으로 이동된 후 arginase에 의하여 대사된다고 하였으나, 본 실험에서는 자엽의 canavanine이 일과 뿌리로 이동되고, 또한 자엽을 제외한 각 부위에서 arginase가 아닌 canavanase에 의하여 대사가 시작되는 것으로 해석된다. 그리고 자엽의 canavanine이 일과 뿌리로 이동된 후 대사되는 것은 allelopathic한 면에서도 매우 유리할 것으로 사료된다(Whittaker and Feeny, 1971).

Canavanase와 arginase의 성질비교. 성숙한 일에서 얻은 cell-free extract의 canavanase와 arginase의 물리 화학적 성질과 몇가지 2가 양이온에 의한 활성변화를 알아 보았다. Canavanase와 arginase는 공히 40°C에서 최대의 활성을 나타냈는데(Table 1) 이러한 결과는 *Canavalia ensiformis*와 *C. obtusifolia*의 자엽에서 두 효소를 37°C에서(최적 온도인지는 알 수 없음) 측정한 보고(Damodaran and Narayanan, 1940; Downum *et al.*, 1983)와 거의 일치하였으나, 25°C에서 최적 온도를 갖는 *Helianthus tuberosus*의 arginase와는 크게 달랐다(Wright *et al.*, 1981). 한편 최적 pH을 보면 canavanase는 9.0에서 그리고 arginase는 10.0에서 각각 최대의 활성을 나타냈다. 이러한 canavanase의 특성은 최적 pH가 7.7이라는 jack bean의 canavanase(Damodaran and Narayanan, 1940; Downum *et al.*, 1983)와는 크게 달랐다. 한편 arginase는 jack bean과 *Vicia faba*에서 pH 9.7이라는 보고(Downum *et al.*, 1983; Kollöffel and Dijke, 1975)와는 일치하는 것으로 보인다. K_m 과 V_{max} 을 보면 canavanase는 22.2mM과 2.89 μ mole urea \cdot min $^{-1}$ \cdot g $^{-1}$ f wt였으며 arginase는 16.13mM과 20.62 μ mole \cdot urea \cdot min $^{-1}$ \cdot g $^{-1}$ f wt로 기질에 대한 두 효소의 성질에 차이가 보였다. 또 canavanase는 Tris-HCl 완충액에서 그리고 arginase는 NaHCO₃ 완충액에서 각각 최대의 활성을 나타냈고, ionic strength는 공히 30mM이 최적으로 나타났는데, 이러한 결과는 jack bean 자엽의 canavanase가 50mM Tricine 완충액, arginase가 50mM glycine-KOH 완충액에서 최대의 활성을 나타낸다는 보고(Downum *et al.*, 1983)와는 달리 식물에 따라 효소의 성질이 서로 다름을 알

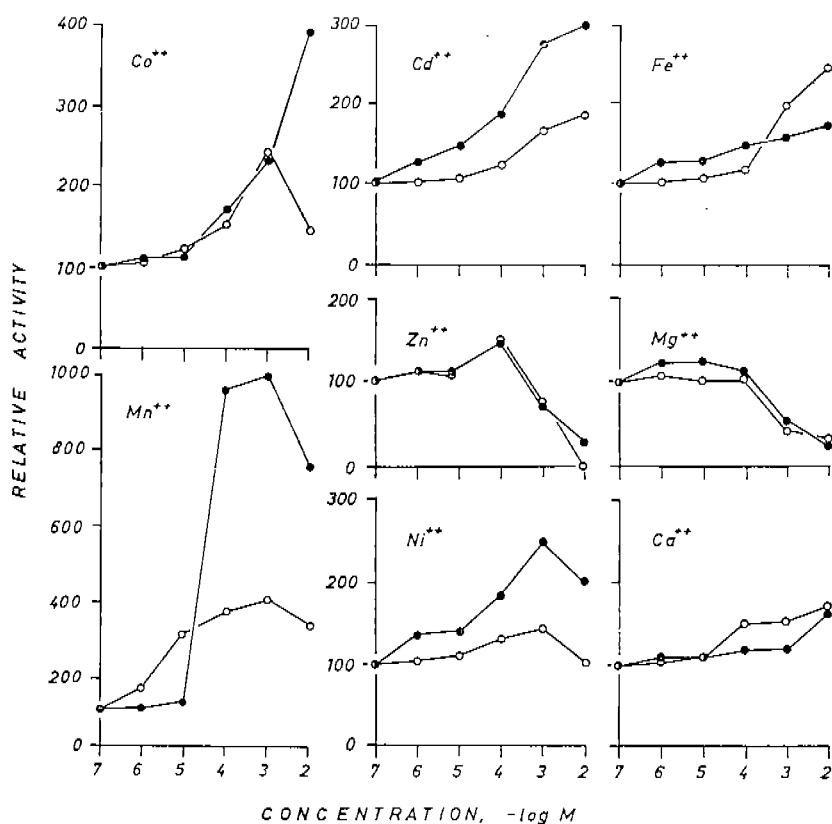


Fig. 3. Effects of divalent cations on the activities of canavanase (●) and arginase (○) in cell-free extracts from leaves of *Canavalia lineata* grown in Hoagland solution.

Table 1. Some properties of canavanase and arginase in cell-free extracts of *Canavalia lineata* leaves

| | Canavanase | Arginase |
|----------------------|------------------------|-----------------------------------|
| Optimum temperature | 40°C | 40°C |
| Optimum buffer (pH) | 30mM Tris-HCl (pH 9.0) | 30mM NaHCO ₃ (pH 10.0) |
| K _m | 22.20mM | 16.13mM |
| V _{max} | 2.89* | 20.63* |
| Rate of inactivation | | |
| at 0°C, 2hr | 20% | 18% |
| at 40°C, 2hr | 32% | 40% |

*unit; $\mu\text{moles urea} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ fresh weight

수 있다.

한편 $10^{-3}M$ Mn^{2+} 은 canavanase와 arginase의 활성을 각각 최대로 촉진시켰으며, Co^{2+} 도 농도증가에 따라 두 효소의 활성을 촉진시켰으나 $10^{-2}M$ 에서는 arginase의 활성이 오히려 $10^{-3}M$ 일때보다 저하 되었다. Cd^{2+} , Fe^{2+} 및 Ca^{2+} 은 각각 정도의 차이는 있으나 모두 두 효소의 활성의 증가를 가져 왔으며, Zn^{2+} , Mg^{2+} , 및 Ni^{2+} 은 다같이 농도증가에 따라 두 효소의 활성이 증가되었다가 더 높은 농도에서는 다시 활성의 저하를 보였다. 이와같이 해녀콩 잎의 arginase는 동물의 arginase가 Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} 및 Fe^{2+} 에 의하여 활성이 촉진되는 것과(Damodaran and Narayanan, 1940; Greenberg et al., 1956) 같은 양상을 보였고, 고농도에서 일어난 활성의 저해는 생물학적 법위의 농도가 아닌 것의 효과로 간주할 수 있다. 한편 canavanase도 원칙적으로 arginase와 같은 활성의 변화를 보였으며, 특히 Mn^{2+} 에 의해서는 효소활성이 가장 크게 촉진되어 모든 canavanase의 실험에서 Mn^{2+} 이 첨가되는 이유를 알 수 있었다(Downum et al., 1983). 그러므로 이온에 의한 활성변화실험으로는 canavanase와 arginase가 서로 다른 존재인지를 말할 수 없으나, $10^{-2}M$ Co^{2+} 의 효과와 Mn^{2+} 의 효과가 두 효소에서 다른점은 주목해도 좋을것 같다.

온도에 따른 두 효소의 안정성을 보면 $0^{\circ}C$ 에서 2시간 동안에 canavanase와 arginase의 활성은 각각 20%와 18%의 속으로, 그리고 $40^{\circ}C$ 에서는 32%와 40%의 속으로 활성의 감소를 보여서, 이들 두 효소는 서로 약간의 차이는 있으나 저온에서 보다 오히려 고온에서 안정성이 높은 것을 알 수 있다.

결론적으로 잎과 뿌리에서는 canavanase와 arginase의 활성이 측정되었으나 자엽에서는 canavanase의 활성이 측정되지 않았다는 사실과, 이를 두 효소의 최적 pH, K_m , 및 V_{max} 가 달랐고 또한 Co^{2+} 와 Mn^{2+} 에 대한 두 효소의 반응이 달랐다는 사실과 함께, 이것이 canavanase와 arginase가 서로 다른 존재임을 입증할 수 있을 것으로 사료된다. 그러나 보다 명백한 사실은 앞으로의 연구에서 상세하게 규명되어 질 것이다.

摘要

해녀콩(*Canavalia lineata* (L.) DC) 자엽의 canavanine은 발아와 생장하는 동안 그 양이 점차로 저하 되었으나 뿌리와 잎에서는 오히려 그 양이 증가하였다. 그러나 잎의 canavanine도 자엽이 펼어지는 시기부터 감소되다가 결국 완전히 소실되었다. 유식물이 생장하는 동안 canavanase의 활성이 자엽에서는 나타나지 않았으나 잎과 뿌리에서는 측정된 반면에 arginase의 활성은 꽤종초기부터 높게 나타났던 것으로보아 생장하는 동안에 자엽의 canavanine은 각 부위로 이동된 후 대사되는 것 같다. Cell-free extract의 canavanase는 30mM Tris 완충용액(pH 9.0)에서, 그리고 arginase는 30mM NaHCO₃ 완충용액(pH 10.0)에서 각각 최대의 활성을 보였으며, Co^{2+} 와 Mn^{2+} 에 의하여 두 효소의 활성은 촉진되었으나 그 정도와 내용에 있어서 차이가 있었다. 이러한 두 효소의 성질차이와 자엽에서 canavanase의 활성이 측정되지 않은 사실에서 이들 두 효소는 서로 별개의 존재임을 알 수 있다.

参考文献

- Bell, E.A. 1958. Canavanine and related compounds in Leguminosae. *Biochem.* 70:617-619.
 Bell, E.A. 1960. Canavanine in the Leguminosae. *Biochem. J.* 75:618-620.

- Bell, E.A. 1971. Comparative biochemistry of non-protein amino acids. In, *Chemotaxonomy of the Leguminosae*, Harborne, J.B., D. Boulter and B.L. Turner (eds.), pp. 179-206. Academic Press, London and New York.
- Bell, E.A., J.A. Lackey and R.M. Polhill. 1978. Systematic significance of canavanine in the Papiliononideae (Faboideae). *Biochem. Syst. Ecol.* 6:201-212.
- Bensadoun, A. and D. Weinstein. 1976. Assay of proteins in the presence of interfering materials. *Anal. Biochem.* 70:241-250.
- Damodaran, M. and K.G.A. Narayanan. 1940. A comparative study of arginase and canavanase. *Biochem. J.* 34:1449-1459.
- Dilworth, M.R. and L. Dure III. 1978. Developmental biochemistry of cotton seed embryogenesis and germination. *Plant Physiol.* 61:698-702.
- Downum, K.R., G.A. Rosenthal, and W.S. Cohen. 1983. L-Arginine and L-canavanine metabolism in jack bean, *Canavalia ensiformis* (L.) DC and soybean, *Glycine max* (L.) Merr. *Plant Physiol.* 73:965-968.
- Greenberg, D.M., A.E. Bagot, A. Oliver, and J.R. Roholt. 1956. Liver arginase III—Properties of highly purified arginase. *Arch. Biochem. Biophys.* 62:446-453.
- Kayser, G.A. and H.J. Strecker. 1973. Purification and properties of arginase of rat kidney. *Biochem. J.* 133:779-788.
- Kihara, H. and E.E. Snell. 1957. The enzymatic cleavage of canavanine to O-ureidohomoserine and ammonia. *J. Biol. Chem.* 226:485-495.
- Kitagawa, M. and T. Tomiyama. 1929. A new amino compound in the jack bean and a corresponding new ferment. *Biochem. J.* 75:618-620.
- Kollöffel, C. and H.D. Dijke. 1975. Mitochondrial arginase activity from cotyledons of developing and germination seeds of *Vicia fava* L. *Plant Physiol.* 61:698-702.
- Nakatsu, S., S. Haradake, Z. Sakurai, N. Zyo, Z. Mishihara, and M. Hayasida. 1964. The change of quantity of canavanine in leguminous plants in the process of germination, growth and fructification. *Seikagaku* 36:467-741.
- Plummer, D.T. 1978. The quantitative estimation of amino acids using the ninhydrin reaction. In *Introduction to practical biochemistry* (ed.), p. 144. McGraw-Hill, London.
- Polacco, J.C. 1976. Nitrogen metabolism in soybean tissue culture. *Plant Physiol.* 58:350-357.
- Polacco, J.C. 1977. Nitrogen metabolism in soybean tissue culture. *Plant Physiol.* 59:827-830.
- Polacco, J.C., B. Robert and J.R. Sparks. 1982. Patterns of urease synthesis in developing soybeans. *Plant Physiol.* 70:189-194.
- Rosenthal, G.A. 1970. Investigations of canavanine biochemistry in jack bean plant, *Canavalia ensiformis* (L.) DC. *Plant Physiol.* 46:273-276.
- Rosenthal, G.A. 1976. Preparations and colorimetric analysis of L-canavanine. *Anal. Biochem.* 77: 147-151.
- Rosenthal, G.A. 1977. The biological effects and mode of action of L-canavanine, a structural analogue of L-arginine. *Q. Rev. Biol.* 52:155-178.
- Rosenthal, G.A. 1982. Toxic constituents and their related metabolites. In, *Plant nonprotein amino and imino acids* (ed.), pp. 56-156. Academic Press, London and New York.
- Rosenthal, G.A. 1983. Biochemical adaptations of the bruchid beetle, *Caryedes brasiliensis* to L-cana-

- vanine, a higher plant allelochemical. *J. Chem. Ecol.* 9:803-815.
- Rosenthal, G.A., D.L. Dahlman, and D.H. Janzen. 1976. A novel means for dealing with L-canavanine, a toxic metabolite. *Science* 192:256-258.
- Rosenthal, G.A. and D.H. Janzen. 1983. Avoidance of nonprotein amino acid incorporation into protein by the seed predator, *Caryedes brasiliensis* (Bruchidae). *J. Chem. Ecol.* 9:1353-1361.
- Rosenthal, G.A., D.H. Janzen, and D.L. Dahlman. 1977. Degradation and detoxification of canavanine by a specialized seed predator. *Science* 196:658-660.
- Rosenthal, G.A. and D. Rhodes. 1984. L-Canavanine transport and utilization in developing jack bean, *Canavalia ensiformis* (L.) DC. *Plant Physiol.* 76:541-544.
- Ruiter, H.D. and C. Kollöffel. 1983. Arginine catabolism in the cotyledons of developing and germination pea seeds. *Plant Physiol.* 73:525-528.
- Toepfer, R., J. Miersch, and H. Reinbothe. 1970. Studies on canavanine degradation in Fabaceae. *Biochem. Physiol. Pflanz.* 161:231-242.
- Whittaker, R.H. and P.P. Feeny. 1971. Allelochemics: Chemical interaction between species. *Science* 171:757-770.
- Wright, L.C., C.J. Brady, and R.W. Hinde. 1981. Purification and properties of the arginase from Jerusalem artichoke tubers. *Phytochemistry* 20:2641-2645.

(1981. 3. 30. 接受)