

고추 (*Capsicum annuum* L.)의 재분화에 따른 Peroxidase와 Esterase 등위효소의 양상 변화

鄭賢淑·林仙禧*·金玲希·康榮燾**

(朝鮮大學校 遺傳工學科, *農村振興廳 園藝試驗場 羅州支場, **延世大學校 生物學科)

Changes in Isozyme Patterns of Peroxidase and Esterase during Regeneration of Pepper (*Capsicum annuum* L.)

Cheong, Hyeon Sook, Sun Hee Lim*, Young Hee Kim and Young Hee Kang**

(Department of Genetic Engineering, Chosun University, Kwangju, *Naju Branch Station,

Horticultural Experiment Station, Rural Development Administration, Naju and

**Department of Biology, Yonsei University, Seoul)

ABSTRACT

The plantlet was regenerated on MS medium containing BAP (2 mg/l) and IAA (1 mg/l) from leaf discs of pepper after 3 weeks of culture. And then, we investigated the activity of peroxidase and esterase and the pattern of their isozymes from leaf, stem and root in order to observe physiological and biochemical changes on the developmental stage, respectively. The peroxidase was expressed with tissue specificity because peroxidase activity according to the developmental stage of the tissue was not only highest in the leaf of the pepper at 10 days after it germinated but also 2 new bands of its isozyme were found in pI 7.2 and pI 5.2. However, a new pI 3.4 band was found in the leaf and root of the pepper after 14 days of germination, and in the stem was found out pI 5.2 band. As regeneration of leaf discs was progressed, its peroxidase activity was increased about 80% more than that of control after 14 days of culture and new pI 3.2 and 6.5 bands of its isozyme were found. The results suggested that peroxidase would be connected with regeneration of pepper. Also, esterase activity was increased about 50% more than that of control after 14 days of culture, the pattern of esterase isozyme was shown to be 3 cathodic bands and 1 anodic band after 7 days of culture.

서 론

식물은 조직부위, 기관 그리고 연령 등에 따라서 isozyme의 양상이 다양하며 그의 전기영동적 특성 및 이동도의 변화는 식물의 생리, 생화학적 상태를 판별하는데 이용될 뿐만 아니라 분화, 계통발생, 종에 따른 특성과 식물체의 육종 및 원형질체 융합 등을 판별하는 지표로 이용되고 있다(Scandalios, 1974; Wetter and Dyck, 1983).

Peroxidase는 1966년 horseradish 근에서 처음 분리된 후 세포의 성장과 생육 발생을 조절하는 주요 효소로 알려졌으며 (Seeni and Gnanam, 1981; Kochba *et al.*, 1977) Phenol 화합물 및 IAA와 NADH의 산화 뿐만 아니라 리

그닌과 슈베린의 합성, 질병에 대한 저항을 나타내는 등 (Pedreno *et al.*, 1987; Johnson-Flanagan and Owens, 1985; Ueng and Daly, 1985) 다양한 촉매 반응을 가진 것으로 보고되었다.

1970년대 이후 이들 peroxidase isozyme들간의 구조적 차이를 연구함으로써 peroxidase들의 생합성 양상과 이들 enzyme이 multiple form으로 존재해야 하는 중요성을 규명하려는 실험들이 진행되었다(Kim *et al.*, 1980; Van Huy-stee *et al.*, 1987). 그 결과 peroxidase isozyme은 구조적 차이를 기준으로 몇 가지 group으로 나누어지며 따라서 이들은 서로 다른 구조 유전자에 의해 발현 된다고 보고 하였다. 분화에 따른 peroxidase의 연구는 옥수수의 약,

자작나무의 측아, 담배의 묘조 분화 등에서 전기영동적인 변화를 조사하였으며 엉겅퀴와 목화 잎, 옥수수의 뿌리 등에서는 성장에 따른 변화를 관찰하였다(Delvallee and Dumas, 1988; Srivastava and Steinhauter, 1981; Seeni and Gnanam, 1981; Grison and Pilet, 1985).

옥수수의 isozyme 양상은 유전자 조절과 연관지어 보고하였으며 돌연변이체의 판별과 종간 잡종 형성에 관련되어 보고된 바 있다(Tanksley, 1984).

또한 체세포 배 발생의 marker로 알려져 있으며(Everett *et al.*, 1985) ester bond에 작용하는 esterase는 발생과 분화에도 관여하는 것으로 보고되어 있다.

따라서 본 실험에서는 고추의 품질 개량 및 생산력 증진과 유용한 식물체 창출을 위한 생리, 생화학적인 연구의 일환으로 고추 세포의 재분화를 유도하여 배양 세포의 분화 단계에 따른 isozyme 양상의 변화를 비교 분석함으로써 형태 발생에 따라 수반되는 isozyme의 검색과 조직 특이적 발현에 대한 정보를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

재분화 유도. 원예 시험장에서 분양 받은 고추 종자 (*Capsicum annum* L. cv sinhong)를 70% ethanol에 5분, 2% sodium hypochlorite 용액에 15분간 멸균한 후 무균수로 3회 세척하여 무균수가 첨가된 두점의 여과지를 칸 petri dish에 넣어 암상태(28°C)에서 발아된지 10일 된 고추잎을 직경 1 cm 정도의 크기로 잘라 BAP(2 mg/l)와 IAA(1 mg/l)가 첨가된 MS 배지에서 재분화를 유도하였다.

Peroxidase 추출 및 활성도 측정. 재분화 배지에서 유도된 각 조직 절편을 발달 단계에 따라 peroxidase 활성과 isozyme 양상을 조사하였다. Peroxidase 활성도는 Grison과 Pilet 등(1985)의 방법을 다음과 같이 수정하여 사용하였다. 시료 1g(생중량) 당 10 ml의 0.06 mM 인산 완충 용액(pH 6.0)과 소량의 석영사를 첨가하여 막자 사발에서 균질화 한 다음 18,000×g에서 15분간 원심분리하여 얻어진 상정액을 조효소원으로 사용하였다.

효소의 활성도는 40 mM 인산 완충용액(pH 6.5), 10 mM guaiacol, 100 μl의 조효소원을 넣어 전체 부피를 3 ml로 하여 30°C에서 10분 동안 반응을 시킨 다음 10 mM H₂O₂를 첨가하여 470 nm에서 흡광도를 측정하였으며 효소의 활성도는 분당 흡광도 변화로 정하였고, 단백질은 Lowry 등(1951)의 방법으로 정량하였다.

Esterase 추출 및 활성도 측정. Coppens와 Gillis(1987)의 방법에 따라 시료 1g 당 16.7% sucrose와 8.3% ascorbate(pH 7.4)용액 5 ml로 균질화 한 다음 15,000×g에서 5분간 원심분리하여 상정액을 조효소원으로 사용하였다. 효소 반응은 0.1 M phosphate buffer(pH 6.0)와 기

질로써 α-naphthyle acetate를 사용하고 fast blue RR salt를 첨가하여 흡광도의 변화를 측정하였다. 효소 1 unit는 1분 동안 단백질당 흡광도 변화가 0.01인 것으로 정하였다.

등전점 전기영동 및 activity staining. 등전점 전기영동은 Stegeman과 Park의 방법(1979)을 수정하여 0.1% ampholine을 포함하는 6% acrylamide gel 윗면에 10% sucrose가 첨가된 조효소원 200 μl와 5% sucrose가 첨가된 0.1% ampholine을 층이 분리되도록 첨가하여 100 V에서 1시간, 200 V에서 3시간 동안 전개시켰다. 양극 용액으로는 0.1 M H₂PO₄, 음극 용액으로는 0.2 M NaOH를 사용하였고, 등전점 전기영동이 끝난 gel은 효소의 activity staining 후 isozyme 변화 양상을 비교 분석하였다. gel의 pH 구배를 조사하기 위하여 1 cm 간격으로 절단하여 종류수(pH 7.0) 2 ml로 용출시킨 다음 pH 값을 조사하였다.

Peroxidase activity staining은 등전점 전기영동이 끝난 gel을 1% guaiacol이 포함된 50 ml 인산 완충용액(pH 6.0) 8 ml에 30분간 방치한 다음에 0.2% H₂O₂ 용액 2 ml를 첨가하여 band를 조사하였다. 이때 band는 15분 이내에 확산되므로 발색되는 즉시 관찰했다(Chen *et al.*, 1970). 또한 esterase는 gel을 0.1 M Tris-HCl 완충용액 (pH 7.0)으로 3~4회 정도 세척한 다음 α-naphthyle acetate 5 mg, fast blue RR salt 5 mg, acetone 2 ml가 첨가된 0.1 M Tris-HCl 완충용액(pH 7.0) 10 ml에 담구어 35°C에서 15분간 방치하면 band가 나타나며, 7% acetic acid에 넣어 고정시킨 후 관찰하였다(Wetter and Dyck, 1983).

결과 및 고찰

고추잎 절편의 재분화. 고추의 재분화 조건이 매우 까다롭기 때문에 몇 가지 호르몬 조성에서 재분화를 시도한 결과 발아된 고추의 잎 절편을 BAP(2 mg/l)와 IAA(1 mg/l)가 첨가된 MS 배지에서 배양하였을 때 재분화가 가장 잘 이루어졌다. Fig. 1a는 재분화 배지에서 2주 배양한 후에 callus 화 되면서 shoot 분화가 이루어지는 모습이며, 줄기절편에서 분화를 유도할 경우에는 대부분 callus가 형성되지 않고 곧 바로 shoot가 형성되었다(Fig. 1b). 배양 3주 후에는 줄기가 나오기 시작하였으며, 고추에서 shoot와 root의 형성은 다른 분화유기 방법과는 달리 뿌리를 유도하기 위한 배지로 옮겨주지 않아도 동시에 이루어졌다(Fig. 1c, d). Fig. 2는 BAP(2 mg/l)와 IAA(1 mg/l)가 첨가된 재분화 배지에서 배양한 결과 얻어진 식물체로 40일 배양 후에도 성장을 계속해서 완전한 식물체가 이루어지고 있음을 관찰하였다.

Peroxidase의 조직별 활성도. Peroxidase들의 조직 특이적 발현에 대한 관련 여부를 조사하기 위해 발아시킨 후 배양 5일, 10일, 14일째 되는 고추의 잎, 줄기, 뿌리 등을



Fig. 1. Shoot and root formation from leaf discs and stem segments of pepper.

기관 별로 절취한 후 조직별 peroxidase 활성의 변화를 조사하였다(Fig. 3). 재분화가 진행됨에 따라 모든조직에서 peroxidase 활성이 점차 증가 하였으며 배양 10일째에 가장 높은 활성을 나타냈고 14일째에는 다소 감소하는 경향이 나타났다. 잎의 경우 전체적인 성장 기간에 걸쳐서 뿌리보다 약 2배 정도 활성이 높았고 뿌리와 줄기는 거의 같은 활성도를 나타냈다.

식물의 발아시 몇 가지 isozyme의 활성은 증가하다가 감소되는 것이 발아에 대한 하나의 특성으로 보고 (Srivastava and Steinhauter, 1981) 되었는데 본 실험에서도 peroxidase의 활성은 발아가 진행됨에 따라 증가되었고 10일 이후 감소되었으며 줄기에서는 10일 이후에도 조금씩 증가되는 것으로 볼 때 peroxidase는 식물의 발생시 일정한 단계에서 세포분열과 생리 대사에 강하게 작용 한다고 사료되어진다.

조직별 Peroxidase Isozyme의 양상. 조직별 peroxidase isozyme을 비교한 결과 배양 5일째의 잎과 줄기에서

A₄와 C₂ band가 나타났다(Fig. 4). 10일째에는 잎, 줄기 그리고 뿌리 모두에서 A₄와 C₃가 주요 band로 나타났으며, A₂ band (pI 6.9)와 A₃ band (pI 7.2)는 잎에서만 다량 존재하는 것으로 나타났다. 활성이 가장 높은 잎의 경우 3개의 cathodic band와 5개의 anodic band를 나타내고 있음을 전기영동상으로 확인할 수 있었다. 대부분 고등 식물에서 peroxidase 양상 변화는 조직 특이적이며 발생 단계에 따라 조절된다고 하였으며 (Powell *et al.*, 1975), 담배에서 기관 형성이 진행되는 동안 각 조직에 따라 peroxidase 함량과 band의 수가 변화하며 이러한 변이는 형태적인 변화와 밀접한 관련이 있다고 보고(Kim *et al.*, 1980)로 미루어 보아 본 실험에서 관찰된 잎의 A₂ band와 A₃ band가 잎의 분화에 영향을 주는 것으로 사료된다.

잎 절편의 분화 단계에 따른 peroxidase 활성도 및 isozyme 양상. 고추잎 절편의 재분화 단계에 따른 peroxidase 활성도의 변화를 고추잎을 대조구로 하여 조사하였다 (Fig. 5). 배양 3일째에는 대조구에 비해 20% 정도 효소



Fig. 2. The plantlet formation from pepper leaf discs after 40 days of culture.

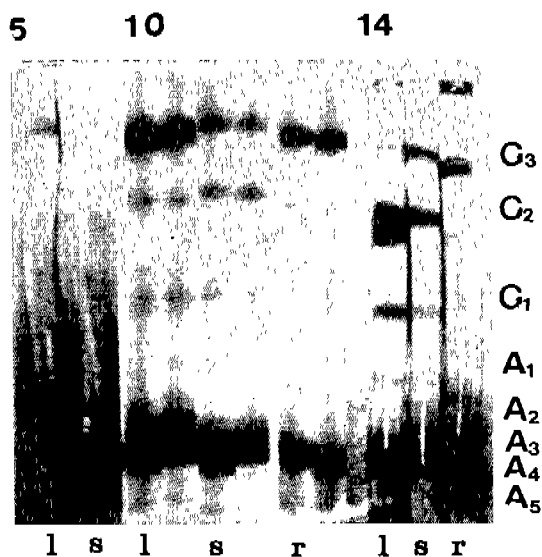


Fig. 4. The pattern of peroxidase isozyme of different tissues on the culture period. l, Leaf; s, Stem; r, Root. 5, 10, 14: the culture period days after germination on hormone free MS medium C_{1,2,3,4}: Cathodic band number A_{1,2,3,4,5}: Anodic band number

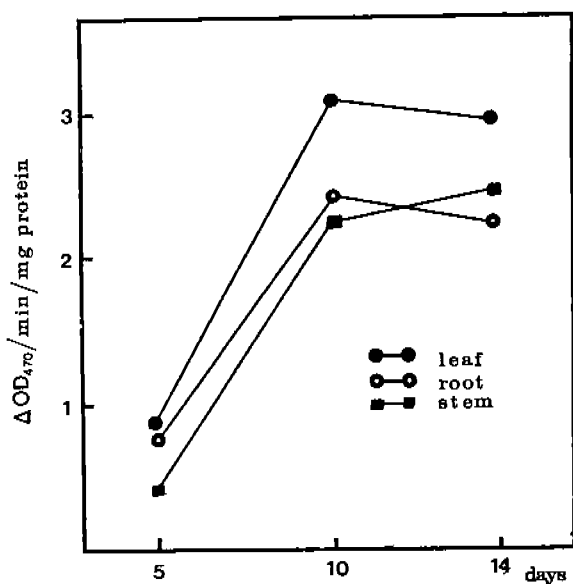


Fig. 3. Changes in peroxidase activity of different tissues germinated from pepper on the culture period.

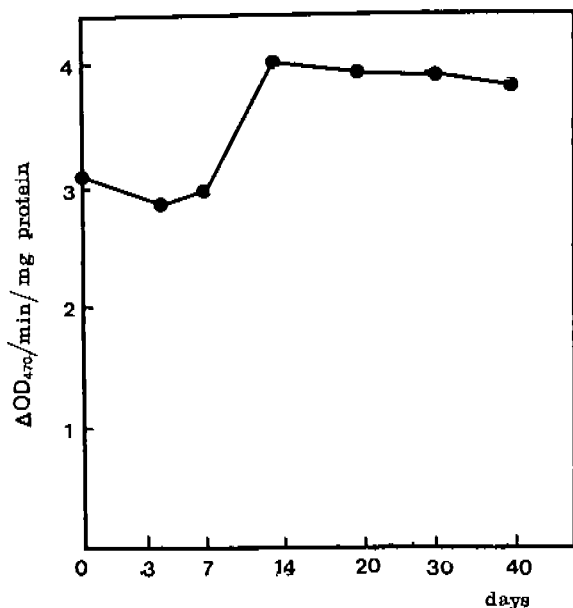


Fig. 5. Changes in peroxidase activity of leaf discs on the regeneration stage.

활성이 감소하지만 배양 기간이 경과함에 따라서 급격히 증가하기 시작하여 배양 14일째에는 대조구에 비해 80% 까지 효소 활성이 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 결

과는 배양한 고추잎 절편에서 14일째 shoot가 분화되는 시기와 효소 활성 증가가 일치함을 알 수 있었다.

Fig. 6는 등전점 전기영동을 한 peroxidase isozyme 양

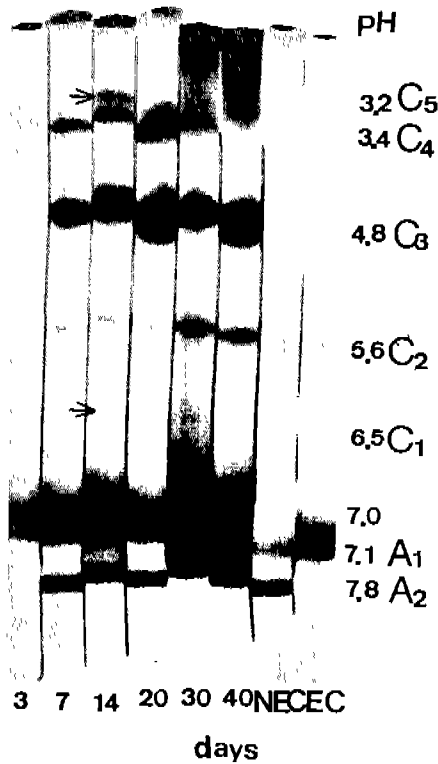


Fig. 6. The pattern of peroxidase isozyme of leaf discs during regeneration.

3, 7, 14, 20, 30, 40: the culture period of pepper leaf discs on MS medium containing BAP (2 mg/l) and IAA (1 mg/l). C_{1,2,3,4}: Cathodic band number. A_{1,2,3,4}: Anodic band number.

상을 조사한 것이다. 1주 배양한 고추잎 절편에서 2개의 anodic band와 3개의 cathodic band가 관찰되며 2주 이상 배양하여 유도된 shoot에서는 새로운 C₄ band와 A₁ band가 뚜렷하게 나타났으며 C₃의 band양이 증가하기 시작했다. 이들 peroxidase isozyme 각각의 등전점은 pI 3.4, 4.8, 5.6, 7.1, 7.8이며, 또한 배양 2주 이상의 고추잎 절편에서 나타나는 새로운 peroxidase isozyme의 등전점은 pI 3.2와 pI 6.5이었다.

식물체의 분화가 유도되는 과정에 있어서 영양과 hormone이 peroxidase 활성도 변화에 영향을 미치는데, 특히 auxin은 분화시에 필요한 효소 단백질 합성의 전사에 관여하여 peroxidase 활성을 변화시킨다고 보고하였다(Katsuaki, 1982; Nanda and Kaur, 1973). 또한, 담배 배양 세포에서 0.01 μM의 IAA와 10 μM의 Kinetin을 처리하여 shoot 형성을 유도하였을 때 배양 7일 후에 peroxidase의 활성이 증가되고 새로운 band가 관찰되었으며(Kim *et al.*,

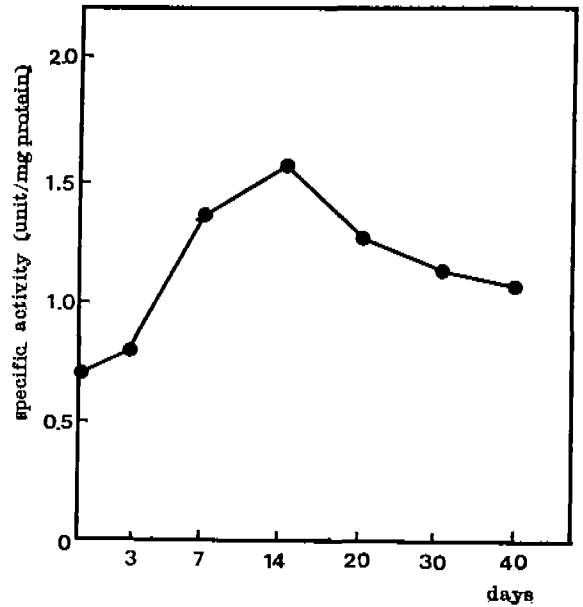


Fig. 7. Changes of esterase activity of leaf discs during regeneration.

1983), peroxidase는 목질화 과정에 작용을 하며(Mader and Fussl, 1982), 분화초기 근원조직이 형성될 때 사부의 유도적 세포 분화가 유도되며 목질소의 합성이 증가하고 동시에 peroxidase가 증가되며(Chandra and Worley, 1973)오렌지의 배형성 과정에서 효소의 활성이 2배 이상 증가되고 새로운 isozyme이 유도되며(Kochba *et al.*, 1977), 녹두(Chandra and Worley, 1973), 영경귀(Chen *et al.*, 1970), 밀(Padma and Redoy, 1970) 등의 경우에도 분화시 형태적인 변화와 peroxidase의 활성이 증가하는 것으로 알려져 있다. 새로운 isozyme band를 분화의 증거로 간주한다는 보고(Wolter and Gordon, 1975)로 미루어 보아 본 실험의 결과(Fig. 5 and 6)에서 배양 2주 이후에 나타나는 pI 3.2와 pI 6.5의 새로운 peroxidase isozyme band는 고추의 분화 과정에 밀접하게 관련된 isozyme이 발현된 것으로 사료된다.

Esterase isozyme 활성도. Fig. 7은 잎의 분화에 다른 esterase의 효소 활성을 나타낸 것으로 배양 3일에는 거의 변함이 없다가 7일째에는 급격히 증가하였고 shoot가 형성되는 14일째에는 2배 이상의 효소 활성의 증가를 보였으며 그 이후에는 감소되는 것으로 나타났다. Esterase는 당근 세포의 embryo 형성 단계에 따라 esterase 활성을 조사하여 체세포 배발생 marker로 보고(Chibbar *et al.*, 1988) 한 바 있다.

따라서 본 실험에서 esterase 활성이 7일에 급격히 증가하며 배양 14일 이후에 약간 감소하는 경향을 보이는

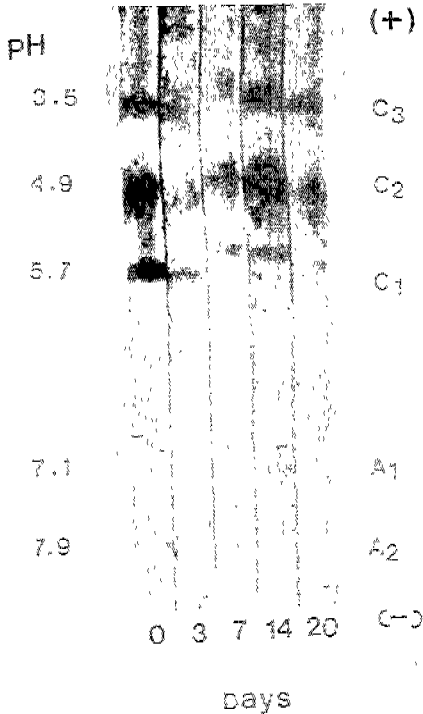


Fig. 8. The pattern of esterase isozyme of leaf discs during regeneration.

0, 3, 7, 14, 20: culture period of pepper leaf discs on MS medium containing BAP (2 mg/l) and IAA (1 mg/l). C_{1,2,3}: Cathodic band number. A_{1,2}: Anodic band number.

것은 esterase가 분화 발생에 따라 생리적으로 구분할 수 있는 중요한 marker로 작용함을 알 수 있었다.

Esterase isozyme 양상. 재분화를 유도시킨 고추잎 절편에서 추출한 조효소원을 등전점 전기영동 한 후 esterase의 isozyme 양상을 조사하였다(Fig. 8). 모든 배양 기간에 걸쳐 3개 cathodic band가 관찰 되었으며 배양 7일 경과 후 새로운 A₂ band가 나타나고, 14일 경과 후에는 새로운 A₁ band가 뚜렷이 나타나며 모든 band의 양이 증가 하였으며 A₂ band는 관찰되지 않았다. 고추잎 절편에서 배양 7일째에 새로운 pI 7.9의 band가 나타나고 14일 경과 후에 pI 7.1의 band가 새롭게 나타났으며, pI 7.9의 band는 관찰되지 않은 것으로 보아 새롭게 나타난 각각의 band가 shoot 형성에 생리적으로 중요한 작용을 하는 것으로 사료된다.

Esterase isozyme 양상을 보면, 새로운 band들이 식물체의 생육 시기나 분화 정도에 따라 유도되었는데 존재하지 않던 효소가 새로이 형성되었는지 아니면 불활성이던 효소가 활성화 된 것인지는 밝혀지지 않았다. 그러나 이러한

isozyme 양상의 변화는 분화의 결과로써가 아니라 형태적인 변화에 선행되어 나타나는 현상으로 보고되었다(Thorpe, 1982). 또한 esterase는 체세포 배 발생의 marker로 알려져 있으며(Everett *et al.*, 1985) 배 발생과 shoot 형성간의 구별을 위해 이용되며, 보리와 옥수수에서는 배 형성시에, 강낭콩은 배양 조건에 따라 esterase의 전기영동적 양상이 다르다고 보고된 바 있다(Coppens and Gillis, 1987).

적 요

고추의 잎 절편을 BAP(2 mg/l)와 IAA(1 mg/l)가 첨가된 MS 배지에서 분화를 유도하여 40일 후에 완전한 식물체를 얻을 수 있었다. 또한 분화 단계에 따라 peroxidase와 esterase의 효소 활성과 isozyme 양상을 조사하였는데, 조직별 peroxidase 활성은 발아 10일째의 잎에서 가장 높았으며, isozyme 양상은 10일째에 잎에서 pI 7.2와 pI 6.9의 새로운 band가 나타났고, 14일째에는 잎과 뿌리에서 새로운 pI 3.4 band가, 줄기에서는 pI 5.2의 새로운 band가 나타나 peroxidase의 조직 특이적 발현을 알 수 있었다. 또한, 잎의 재분화가 진행됨에 따라 peroxidase 효소 활성이 증가하기 시작하여 배양 14일째에는 대조구에 비해 80% 정도 높은 효소 활성을 나타냈으며, 분화가 진행됨에 따라 band의 양이 증가하며 배양 14일째에는 pI 3.2와 pI 6.5의 새로운 isozyme이 유도되어 peroxidase가 분화와 발생에 관여하고 있음을 시사하였다.

한편, esterase 활성은 14일째에 대조구보다 2배 이상 높은 활성을 보였으며 esterase isozyme 양상은 배양 7일째에 3개의 cathodic band와 1개의 anodic band가 나타남으로써, 이들 isozyme이 분화 시기와 밀접하게 연관되었음을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

- Chandra, K.H. and J.F. Worley. 1973. Effect of 6-benzyladenine on the initiation of adventitious roots on mung bean hypocotyl. *Plant & Cell Physiol.* 77: 211-214.
- Chen, S.L., R. Towill and J.R. Loewenberg. 1970. Isozyme patterns in developing *Xanthum* leaves. *Physiol. Plant.* 23: 434-443.
- Chibbar, R.N., J. Shyluk, F. Georges, C.S. Mallard F. Constabel. 1988. Esterase isozymes as markers of somatic embryogenesis in culture carrot cells. *J. Plant Physiol.* 133: 956-958.
- Coppens, L. and E. Gillis. 1987. Isozyme electrofocusing as a biochemical marker system of embryogenesis and organogenesis in callus tissues of *Hordeum vulgare* L. *J. Plant Physiol.* 127: 153-158.

- Delvallee, I. and C. Dumas. 1988. Anther development in *Zea Mays*: Changes in protein, peroxidase and esterase pattern. *J. Plant Physiol.* **132**: 210-217.
- Everett, N.P., N.J. Wach and J. Asworth. 1985. Biochemical markers of embryogenesis in tissue cultures of the maize inbred. *Plant Sci.* **41**: 133-140.
- Grison, R. and P.E. Pilet, 1985. Cytoplasmic and isoperoxidase in growing maize roots. *J. Plant Physiol.* **118**: 189-199.
- Johnson-Flanagan, A.M. and J.N. Owens. 1985. Peroxidase activity in relation to suberization and respiration in white spruce (*Picea glauca* Voss) seedling roots. *Plant Physiol.* **79**: 103-107.
- Katsuaki, I. 1982. Isozyme polymorphism of peroxidase of *Eucalyptu* callus in relation to plant hormone contents. In, Plant Tissue Culture, A. Fujiwara (ed.). pp. 215-216.
- Kim, S.S., S.H. Wender and E.C. Smith. 1980. Comparisons of tryptic peptide maps of eight isoperoxidase from tobacco tissue cultures. *Phytochemistry* **19**: 169-171.
- Kochba, J., S. Laavee and J. Spiegel-Roy. 1977. Differences in peroxidase activity and isozyme in embryogenic and non-embryogenic 'Shamout' orange ovular callus lines. *Plant & Cell Physiol.* **18**: 463-467.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.L. Randall. 1951. Protein measurement with the reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
- Mader, M. and R. Fussl. 1982. Role peroxidase in lignification of tobacco cells II. Regulation by phenolic compound. *Plant Physiol.* **70**: 1132-1134.
- Nanda, N.N. and N.P. Kaur. 1973. Effect of morpectin peroxidase and its relationship rooting hypocotyl cuttings *Impatiens balsamina*. *Plant & Cell Physiol.* **14**: 207-211.
- Padma, A. and C.M. Redoy, 1970. Peroxidase in developing endosperm of maize. *J. Heredity* **61**: 252-254.
- Powell, B.L., J.W. Pickering and E.C. Smith. 1975. Isoperoxidases from potato tissue cultures. *Phytochemistry* **14**: 1715-1717.
- Pedreno, M.A., F. Sabater, R. Munoz and F. Garoia-Carmona. 1987. Effect of different phenol on the NADH-oxidation catalyzed by a peroxidase from lupin. *Phytochemistry* **26**: 3133-3136.
- Scandalos, J.G. 1974. Isozymes in development and differentiation. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **25**: 225-258.
- Seeni, S. and A. Gnanam. 1981. Isozymes of glucose-6-phosphate dehydrogenase and NAD⁺-malate dehydrogenase in shoot forming foliar discs of tobacco. *Plant & Cell Physiol.* **22**: 969-977.
- Stegeman, H. and W.M. Park. 1979. Rice protein patterns. Comparison by various PAGE-technique in slabs. *A. Acker. Dflanzen.* **148**: 446-454.
- Srivastaba, P.S. and A. Steinhauter. 1981. Isozyme in differentiating shoot bud cultures of *Betula pendula* roth. *Z. Dflanzenphysiol.* **103**: 341-345.
- Tanksley, S.D. 1984. Linkage relationships and chromosomal locations of enzyme coding genes in pepper *Capsicum annum*. *Chromosome* **89**: 352-360.
- Thorpe, T.A. 1982. Physiological and biological aspect organogenesis in vitro. In, Plant Tissue Culture, A. Fujiwara (ed.). pp. 121-124.
- Ueng, P.P. and J.M. Daly. 1985. Comparison of indole-3-acetic acid oxidation in peroxidase from rust-infected resistant wheat leaves. *Plant & Cell Physiol.* **26**: 77-87.
- Van Huystee, R.B. 1987. Some molecular aspects of plant peroxidase biosynthetic studies. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **38**: 205-219.
- Wetter, L. and J. Dyck. 1983. Isozyme analysis of cultured cells and somatic hybrids. In. Handbook of Plant Cell Culture. pp. 607-628.
- Wolter, K.E. and J.C. Gorden. 1975. Peroxidases as indicators of growth and differentiation in aspen callus culture. *Physiol. Plant.* **33**: 219-223.

(1991. 9. 3 接受)