

완두 발아시 Polyamine 함량 변화 및 Peroxidase Isozyme 양상

表炳植* · 李榮珠 · 康榮燾

(延世大學校 生物學科, *東新大學校 食品營養學科)

Peroxidase Isozyme Pattern and Polyamine Contents in Germinating Peas (*Pisum sativum*)

Pyo, Byoung Sik*, Young Ju Lee and Young Hee Kang

(Department of Biology, Yonsei University, Seoul and

*Department of Food and Nutrition, Dongshin University, Naju)

ABSTRACT

In germinating pea, contents of endogenous polyamine in the leaf and stem were determined, and protein content, peroxidase activity and pattern of isozymes were examined in the leaf treated with polyamines. During growth of the pea for 14 days in light condition, the polyamines in leaf and stem showed the highest level at the 5th day, and were decreased rapidly at the 7th day, kept almost constant level since then. The putrescine level was relatively higher than those of spermidine and spermine, and cadaverine was also detected. On the other hand, in the leaf treated with spermine (0.01 mM) protein content increased about 250% than that of the control, the peroxidase activity increased more than 100% in spermine of 0.01 mM and 0.1 mM. In treating with putrescine of 0.1 mM the pattern of peroxidase isozyme appeared 4 new cathodic bands (pI 4.8, 5.6, 5.9 and 6.8) compared with the control, the clear cathodic bands (pI 5.6, 5.9, 6.4 and 6.6) were also observed in spermine of 0.1 mM. These results suggest that polyamines were important factor in the differentiation of pea at the early stage of germination.

서 론

생장과 분화에 관여하는 생장조절 물질 중의 하나인 polyamine은 모든 생물체에 광범위하게 분포하는 것으로 알려져 있으며(Smith, 1985; Bagni *et al.*, 1982), 세포의 분화와 기능수행에 필수적이라고 보고된 바 있다(Tabor and Tabor, 1984). 또한 이를 뒷받침하는 많은 연구 결과에 의하면 polyamine이 세포 소기관의 분화 뿐만 아니라 기관분화 촉진에 관여한다고 밝혀져 있다(Cheng and Kao, 1983; Naik and Srivastava, 1978). Polyamine은 생리학적 pH에서 다가양이온으로 작용하여 음전하를 띠는 핵산과 강하게 결합함으로써 핵산을 안정화시켜 주고(Hung *et al.*,

1982; Basu and Marton, 1987), 핵산의 합성을 촉진하며(Altman *et al.*, 1982; Smith, 1985), 단백질 분해효소와 핵산 분해효소의 활성억제 및 노화억제 등의 다양한 기능을 하는 것으로 알려져 있다(Galston *et al.*, 1978). 특히 polyamine 중 spermidine과 spermine은 DNA의 이중나선과 강하게 결합하여 핵산의 구조를 안정화시킴으로써 DNA가 변성되는 것을 보호하며(Hung *et al.*, 1982; Basu and Marton, 1987; Sanjeev *et al.*, 1989), spermine은 세포분열과 식물의 분화 및 발생과정에 중요한 역할을 한다(Dumotier *et al.*, 1983; Kaur-Sawney *et al.*, 1985).

한편 polyamine이 대두 배의 발생과 생장시 체세포 발생에 관련되어 있고(Lin *et al.*, 1984), 세포분열과정과 생장과정 동안 대사과정에 작용하는 효소에 영향을 미치며(Valeria *et al.*, 1990), polyamine이 식물체내 농도에 따라 전반적으로 생장과 분화에 영향을 미친다는 것(Galston *et*

본 연구는 한국과학재단 세포분화연구센터의 연구비(92-5-4) 지원에 의해서 수행된 것임

al., 1978; Burtin et al., 1990; Rastogi and Davies, 1991)과 대두 발아시 단백질과 지질의 합성 및 DNA와 RNA의 함량을 증가시키는 것으로 알려져 있다(Lin et al., 1984).

한편, 식물의 성장과 분화에 관련되어지는 효소로 알려진 peroxidase는 조직과 기관에 따라 특이하게 나타나며(Armison, 1975; Bassiri and Calson, 1978; Kuroda et al., 1990), 이는 세포질과 미토콘드리아, 엽록체에 존재하고 식물의 기관 부위에 따라 특유한 동위효소 양상을 나타낸다(Srivastava and Steinhauer, 1981). 그러므로 기관 발달시 peroxidase는 다양한 형태의 동위효소로 합성되며, 식물 성장 조절물질들이 peroxidase 활성을 조절하여 성장을 촉진시키거나 억제하여 결국 기관 분화를 유도한다(Kay and Basil, 1987; Grison and Pilet, 1985)고 생각된다. 이를 뒷받침하는 연구결과로서 Aspen(*Populus tremuloides*) 캄루스에 auxin과 cytokinin을 처리할 경우 peroxidase 활성과 성장속도가 비례하여 나타난 사실이 밝혀졌으며 이는 peroxidase가 성장과 분화의 marker임을 암시하고 있다(Wolter and Gordon, 1975). 또한 오이를 이용한 연구에서도 ethylene이 peroxidase 동위효소를 유도하여, 뿌리, 줄기, 잎 및 자엽에서 peroxidase 활성을 증가시킨 것으로 보고되었다(Abeles et al., 1989).

본 연구에서는 명소에서 발아 성장한 완두(*Pisum sativum* L.)의 잎과 줄기절편에 내재해 있는 polyamine 함량의 변화를 살펴보고, 잎 절편에 성장조절 물질인 polyamine을 처리하였을 때 polyamine이 단백질 함량의 변화와 peroxidase의 활성 및 동위효소 양상에 어떠한 영향을 미치는지를 밝히고자 한다.

재료 및 방법

실험 재료 및 생육 조건. 실험에서 사용한 재료로는 종자상에서 구입한 sparkle 종의 완두(*Pisum sativum* L.)를 이용하였으며, 종자를 파종하기 이전부터 명소에서 증류수에 8시간 동안 담근 후, 27°C에서 발아를 유도시킨 다음 파종하였다. 이렇게 해서 발아된 완두를 14일 동안 생육시켜 본엽이 나오기 시작한 파종한 후 5일부터 14일까지 평균 2.5 cm에서 8 cm 정도의 신장을 보인 완두 잎과 줄기 절편을 실험 재료로 사용하였다. Peroxidase 활성과 동위효소 양상에 관한 실험은 파종한 후 14일 동안 키운 완두 잎의 절편에 polyamine을 농도별로 처리한 각각의 처리구와 polyamine이 포함되지 않은 대조구를 명소에서 8시간 동안 진탕배양한 다음 실험 재료로 사용하였다. 명조건의 경우 빛 조사는 하루에 12시간으로 하였다.

Polyamine의 추출 및 정량. Goren 등(1982)의 방법을 변형하여 다음과 같이 시행하였다. 시료에 5% perchloric acid를 가하고, 4°C에서 막자사발로 마쇄하였다. 마쇄된

용액을 12,000 g로 20분간 원심분리하여 그 상정액을 시료원으로 하였다. 정량은 시료원 200 μ L에 dansylchloride (100 mg/mL in acetone) 400 μ L와 과포화된 Na_2CO_3 200 μ L를 첨가한 후 잘 섞어 16시간 이상 상온에서 암처리하여 실시하였다. 처리된 시료에 proline(100 mg/mL) 100 μ L를 첨가하여 30분간 암소에 방치한 후, benzene 500 μ L로 dansyl 유도체를 추출하여 이 중에 100 μ L를 TLC plate에 점적하였다. 전개용매 조성은 chloroform과 triethylamine을 10과 9의 비율(v/v)로 하였으며, 전개된 polyamine을 ethylacetate 4 mL로 용출시켜 Electron Photofluorometer ($\lambda_{\text{Ex}}=350$, $\lambda_{\text{Em}}=500$)로 형광 광도를 측정하였다.

Peroxidase 활성 측정 및 등전점 전기영동. Peroxidase 활성은 Grison 등(1985)의 방법을 변형하여 시행하였다. 시료를 50 mM 인산완충용액(pH 6.0)에서 마쇄한 후 원심분리(24,000 g, 20분, 4°C)하여 상정액을 조효소원으로 사용하였다. 조효소원 10 μ L에 40 mM phosphate buffer (pH 6.5)와 10 mM guaiacol을 첨가하여 전체 부피가 3 mL가 되도록 하고, 10분간 반응시킨 후 10 mM H_2O_2 를 첨가하여 470 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 효소의 활성을 관찰하였으며, 이때 효소의 활성은 1분간의 흡광도 변화로 정했다.

등전점 전기영동은 Stegeman과 Park(1979)의 방법을 변형하여 실시하였다. 0.1% ampholine을 첨가한 6% acrylamide gel에 10% sucrose와 조효소원 200 μ L를 첨가하여 loading시키고, 100 V에서 1시간, 200 V에서 3시간 동안 4°C에서 진행하였다. 양극용매로는 0.01 M H_3PO_4 , 음극용매로는 0.2 M NaOH를 사용하였다. 등전점 전기영동이 끝난 gel을 activity staining하여 peroxidase 동위효소 양상을 관찰하고, 각 band는 1 cm 간격으로 절단하여 pH 7.0 증류수에 용출시킨 다음 pH 구배를 측정하였다. Peroxidase의 발색은 등전점 전기영동이 끝난 gel을 1% guaiacol이 포함된 50 mM 인산 완충용액(pH 6.0) 8 mL에 30분 동안 방치한 다음 0.2% H_2O_2 용액 2 mL를 첨가하여 band를 조사하였다.

단백질의 추출 및 정량. 단백질의 추출은 Schneider (1957)의 방법을 일부 변형하여 시행하였다. 시료 500 mg에 2.0 mM NaCl, 10 mM EDTA를 포함한 10 mM Tris-HCl 완충용액(pH 7.0) 5 mL를 가하여 마쇄한 후 10% trichloroacetic acid 30 mL를 가하고 10,000 g에서 10분간 원심분리하여 침전물을 얻었다. 이 침전물을 10% trichloroacetic acid와 chloroform-methanol 혼합용액(2:1, v/v)으로 각각 세 번씩 세척한 후 0.4 N KCN 10 mL를 가하여 37°C에서 18시간 동안 가수분해하였다. 가수분해한 후 진한 염산 3.4 mL와 10% trichloroacetic acid 10 mL를 가하여 혼합한 다음 0~4°C에서 침전이 생길 때까지 방치한 후 10,000 g에서 10분간 원심분리한 다음 이때 생긴 침전물에

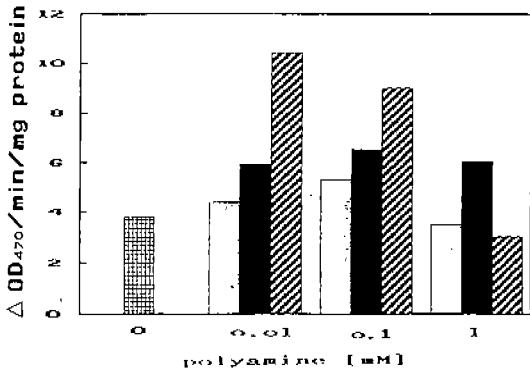


Fig. 4. Peroxidase activity in pea leaf treated with polyamine. Control; Putrescine; Spermidine; Spermine.

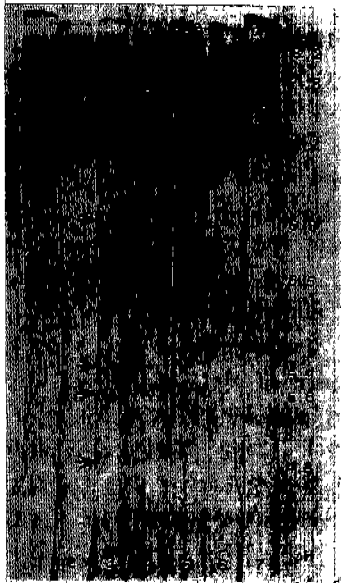


Fig. 5. Isozyme patterns of peroxidase in pea leaf treated with putrescine and spermidine. 1. Control; 2, 0.01 mM putrescine; 3, 0.1 mM putrescine; 4, 1 mM putrescine; 5, 0.01 mM spermidine; 6, 0.1 mM spermidine; 7, 1 mM spermidine.

1978), 귀리의 엽육조직에서 분리한 원형질체에서 polyamine이 단백질의 합성을 촉진시킨다고 알려진 사실들(Altman *et al.*, 1977; Igarish *et al.*, 1981)을 고려해 볼 때 본 실험에서 polyamine 처리에 따른 완두 잎에서의 단백질 함량의 증가는 polyamine의 적정 농도 처리시 생장과 분화에 따른 결과라고 사료된다.

Polyamine이 peroxidase 활성 및 동위효소 양상에 미치는 영향. Peroxidase 활성은 명소에서 14일간 받아

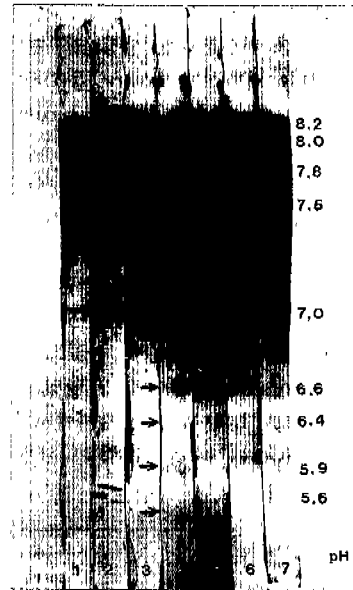


Fig. 6. Isozyme patterns of peroxidase in pea leaf treated with spermine. 1, control; 2, 3, 1 mM spermine; 4, 5, 0.1 mM spermine; 6, 7, 0.01 mM spermine.

생장시킨 완두의 잎 절편에 polyamine을 농도별로 처리하여 진탕배양했을 때 0.1 mM과 0.01 mM의 spermine 처리구가 대조구에 비해 각각 110%와 280% 이상의 활성을 증가시켰다. 또한 0.1 mM과 0.01 mM의 spermidine 처리구는 대조구에 비해 100% 이상의 활성을 촉진시켰다(Fig. 4). 이러한 결과에서 spermine(0.01 mM)이 효소활성 증가에 가장 높은 효과를 나타내었으며, 이는 담배 배양세포의 shoot 형성에서 peroxidase 활성이 증가하며(Berger *et al.*, 1985; Kochba *et al.*, 1977) peroxidase가 분화의 marker(Kuroda *et al.*, 1990)인 점을 고려해 볼 때 본 연구에서 polyamine이 전반적으로 잎의 peroxidase 활성을 증가시킨 결과는 polyamine이 잎의 발달에 관계가 있음을 시사해 주고 있다.

한편 명소에서 자란 완두 잎 절편에 polyamine을 처리했을 때 peroxidase 동위효소 양상의 변화를 관찰한 결과 0.01~1 mM의 putrescine과 spermidine 처리구에서 새로운 4개의 cathodic band(pI 6.8, 5.9, 5.6, 4.8)를 보였으며(Fig. 5), 같은 농도의 spermine 처리시에도 4개의 새로운 cathodic band(pI 6.6, 6.4, 5.9, 5.6)가 형성되었다(Fig. 6). 이렇게 새롭게 나타난 peroxidase 동위효소는 조직 발달 및 특이성을 가지고 발현된다는 보고(Scandalio, 1974; Bassiri and Calson, 1978)와 일치하며, 밀(Padma and Redoy, 1970), 녹두(Chandra and Worley, 1973) 등의 많은 식물에서 분화를 유도시킨 경우에 새로운 peroxidase 동위효

0.2 N NaOH 10 mL를 가하고 90°C에서 15분간 증탕한 후 10,000 g에서 15분간 원심분리한 상청액을 단백질 정량의 시료로 사용하였다. 단백질은 Lowry 등(1951)의 방법에 따라 정량하였으며, 표준시료는 bovine serum albumin을 사용하였다.

결과 및 고찰

완두의 잎과 줄기에서 polyamine 함량 변화. 명소에서 파종한 후 14일간 발아시켜 성장한 완두 줄기 절편에서 polyamine의 함량은 잎보다는 높았으며, 잎과 줄기 절편 모두에서 putrescine 함량이 가장 높았고 cadaverine 또한 검출되었다(Figs. 1, 2). 이러한 결과에서 콩과 식물의 특징인 cadaverine(Goren *et al.*, 1982)이 완두의 잎과 줄

기에서 확인되었으며, 생육 초기 명소에서 자란 잎과 줄기절편에서 putrescine 함량이 높은 것은 putrescine이 주로 세포 신장에 관계한다는 보고(Evans and Malmberg, 1989; Tiburcio *et al.*, 1987)에서와 같이 putrescine이 완두 발아시 세포 분열에 따른 세포 신장에 중요한 역할을 하는 것으로 사료된다.

한편 식물의 분화시 polyamine의 함량이 증가하고(Kaur-Sawney *et al.*, 1985), 대두 유식물의 경우 발아 후 지속적인 성장과 더불어 감소를 나타냈다는 보고(Valeria *et al.*, 1990)와 본 실험 결과를 비교해 볼 때 파종 후 5일째 이후 계속 성장함에 따라 polyamine의 함량이 감소하는 것과 일치함을 보여주고 있지만 이들의 상호 연관관계는 정확히 규명되어 있지 않은 실정이다. 또한 spermidine과 spermine이 줄기보다 잎에서의 함량이 높은 것은 putrescine이 주로 세포신장에 관계하며, spermidine은 세포분열과 기관분화 형성에 관여한다는 기존의 연구결과(Evans and Malmberg, 1989)를 뒷받침하고 있다. 이와 더불어 spermine과 spermidine이 DNA의 변성을 보호하며, 세포분열과 식물의 분화 및 발생과정 동안 중요한 역할을 한다는 보고(Hung *et al.*, 1982; Basu and Marton, 1987; Kaur-Sawney *et al.*, 1985)와 비교해 볼 때 생육 초기에 spermidine과 spermine이 잎의 발달에 중요한 역할을 하리라고 추정된다.

Polyamine이 단백질 함량에 미치는 영향. Fig. 3은 완두를 파종 후 명소에서 14일 동안 생육시킨 후 잎을 떼어내어 잎 절편에 polyamine을 처리한 다음 8시간 동안 진탕 배양한 후 단백질 함량을 살펴 본 것으로 0.01 mM과 0.1 mM의 spermine 처리구는 대조구에 비해 200% 이상 증가하였으며, putrescine과 spermidine 역시 단백질 함량을 증가시켰다. 이러한 결과는 polyamine이 DNase와 RNase 등의 핵산 분해효소와 단백질 분해효소의 활성을 억제할 뿐만 아니라 합성을 억제하기도 하며(Galston *et al.*,

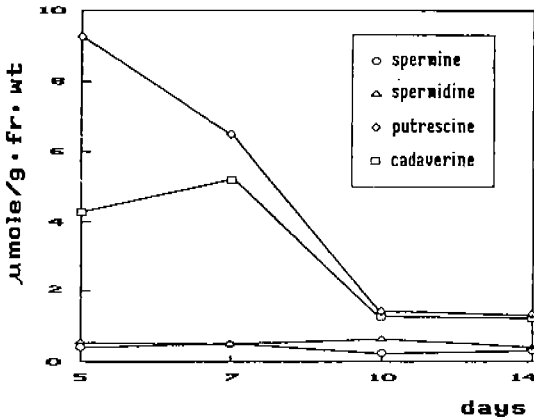


Fig. 1. Changes of polyamine contents in pea stem during light growth.

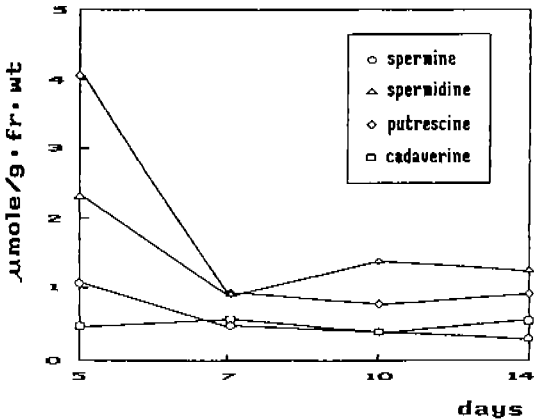


Fig. 2. Changes of polyamine contents in pea leaf during light growth.

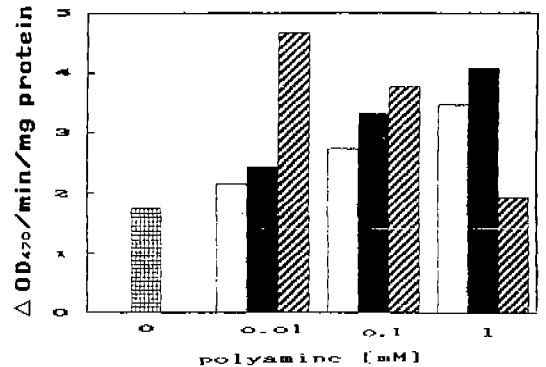


Fig. 3. Comparison of protein content in pea leaf treated with polyamine. Control; Putrescine; Spermidine; Spermine.

소가 관찰되었다는 보고에 근거하여 polyamine이 잎의 발달에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

결과적으로 새로이 형성된 peroxidase 동위효소와 활성의 증가는 식물 성장조절 물질인 polyamine과 상호 밀접한 관계가 있으며, 특히 spermine은 세포분열과 식물의 분화 및 발생과정에 중요한 역할을 한다는 보고(Dumotier *et al.*, 1983; Kaur-Sawney *et al.*, 1985)에서와 같이 본 연구결과도 0.01 mM spermine의 처리구에서 단백질의 함량 증가와 peroxidase의 활성이 가장 높게 나타난 것과 새로운 동위효소가 나타난 점으로 미루어 보아 polyamine 중 spermine이 가장 효과적으로 잎의 발달에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

적 요

완두 발아시 잎과 줄기에 내재하는 polyamine의 함량과 polyamine 처리시 단백질 함량의 변화, peroxidase 활성 및 peroxidase 동위효소의 양상을 관찰하였다. 완두를 파종 후 명소에서 14일 동안 생육시켜 시기별로 줄기 절편과 잎에서 polyamine의 함량을 조사한 결과 잎보다 줄기 절편에서 그 함량이 높았으며, 5일째에 가장 높았고 7일째에는 급격한 감소를 보이다가 그 이후로는 거의 일정한 양을 유지하였다. Polyamine 중 putrescine 함량이 상대적으로 높았고, 반면에 spermidine과 spermine의 함량은 낮았으며, cadaverine 또한 검출되었다. 한편, 잎 절편에 polyamine 처리시 잎에서의 단백질 함량은 spermine(0.01 mM) 처리구가 대조구에 비해 250% 정도 증가하였으며, peroxidase 활성은 0.01 mM과 0.1 mM의 spermine 처리구에서 100% 이상 증가하였다. 또한 peroxidase 동위효소는 0.1 mM putrescine 처리시 대조구에 비해 4개의 새로운 cathodic band(pI 4.8, 5.6, 5.9과 6.8)가 나타났으며 0.1 mM의 spermine 처리시에도 pI 5.6, 5.9, 6.4, 6.6에서 뚜렷한 band를 확인할 수 있었다. 이상의 결과는 polyamine이 발아 초기의 잎 발달에 중요한 인자로 작용할 수 있음을 암시한다.

참 고 문 헌

Abeles, F.B., C.L. Biles and L.J. Dunn. 1989. Hormonal regulation and distribution of peroxidase isoenzyme in the Cucurbitaceae. *Plant Physiol.* **91**: 1609-1612.

Altman, A., R. Kaur-Sawhney and A.W. Galston. 1977. Stabilization of oat leaf protoplasts through polyamine mediated inhibition of senescence. *Plant Physiol.* **60**: 570-574.

Altman, A., R. Friedman, D. Amir and N. Liwin. 1982. Polyamine effects and metabolism in plant under stress con-

dition. *In*, Plant Growth Substance. P.F. Wareing (ed.). Academic Press, New York. pp. 483-494.

Arnison, P.G. 1975. Isoenzymatic characterization of cell cultures of bush bean (*Phaseolus vulgaris* cv. Contender). Ph. D. Thesis, McGill University, Montreal.

Bagni, N., D. Serfini-Fracassini and P. Torrigini. 1982. Polyamines and cellular growth processes in higher plants. *In*, Plant Growth Substances. P.F. Wareing (ed.). Academic Press, New York. pp. 473-482.

Bassiri, A. and P.S. Carlson. 1978. Isoenzyme patterns and differences in plant parts and their callus cultures in common bean. *Crop Sci.* **18**: 955-958.

Basu, H.S. and L.J. Marton. 1987. The interaction of spermine and pentamines with DNA. *Biochem. J.* **224**: 243-246.

Berger, R.G., F. Drawert, A. Kinzkofer, C. Kunz and B.J. Radola. 1985. Protein and peroxidase in callus and suspension cultures of apple. *Plant Physiol.* **77**: 211-214.

Burtin, D., J.M. Tanguy, M. Paynot, M. Caree and N. Rossin. 1990. Polyamines, hydroxycinnamoylputrescines, and root formation in leaf explants of tobacco cultured *in vitro*. *Plant Physiol.* **93**: 1398-1404.

Chandra, G.R. and J.F. Worley. 1973. Effects of 6-benzyladenin on the initiation of adventitious roots on mung bean hypocotyl. *Plant Cell Physiol.* **14**: 1209-1212.

Cheng, S.H. and C.H. Kao. 1983. Localized-effect of polyamines on chlorophyll loss. *Plant Cell Physiol.* **24**: 1463-1467.

Dumotier, F.M., H.E. Flores, N.S. Shekhawat and A.W. Galston. 1983. Gradients of polyamines and their biosynthetic enzymes in coleoptiles and roots of corn. *Plant Physiol.* **72**: 915-918.

Evans, P.T. and R.L. Malmberg. 1989. Do polyamine have roles in plant development? *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **40**: 235-269.

Galston, A.W., A. Altman and T. Kaur-Sawney. 1978. Polyamines, ribonuclease and the improvement of oat protoplasts. *Plant Sci. Lett.* **11**: 69-70.

Goren, R., N. Palavan, H. Flores and A.W. Galston. 1982. Changes in polyamine titer in etiolated pea seedlings following red light treatment. *Plant Cell Physiol.* **23**: 19-26.

Grison, R. and P.E. Pilet. 1985. Cytoplasmic and isoperoxidase in growing maize roots. *J. Plant Physiol.* **118**: 189-199.

Hung, D.T., L.J. Marton, D.F. Deen and R.H. Shafer. 1982. Depletion of intracellular polyamines may alter DNA conformation in 9L rat brain tumor cells. *Science* **221**: 368-370.

Igarish, K., K.T. Kashiwagi and S. Horose. 1981. Increase of spermine stimulation of polypeptide stynthesis in presence of phosphate. *Arch. Biochem. Biophys.* **207**:

- 125-134.
- Kaur-Sawney, R., N.S. Shekhawat and A.W. Galston. 1985. Polyamine levels as related to growth, differentiation and senescence in protoplast-derived cultures of *Vigna aconitifolia* and *Avena stavia*. *Plant Growth Regul.* **3**: 329-337.
- Kay, L.E. and D.V. Basile. 1978. Specific peroxidase isoenzymes are correlated with organogenesis. *Plant Physiol.* **84**: 99-105.
- Kochba, J., S. Lavee and P. Spiegel-Roy. 1977. Differences in peroxidase activity and isoenzymes in embryogenic and non-embryogenic 'Shamouti' orange ovular callus lines. *Plant Cell Physiol.* **18**: 463-467.
- Kuroda, M., T. Ozawa and H. Imagawa. 1990. Changes in chloroplast peroxidase activities in relation to chlorophyll loss in barley leaf segments. *Physiol. Plant.* **80**: 555-560.
- Lin, P.C., D.B. Egli, G.M. Li and L. Meckel. 1984. Polyamine titer in the embryonic axis and cotyledons of *Glycine max* (L.) during seed growth and maturation. *Plant Physiol.* **76**: 366-371.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.L. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
- Naik, B.I. and S.K. Srivastava. 1978. Effect of polyamines on tissue permeability. *Phytochemistry* **17**: 1885-1887.
- Padama, A. and C.M. Redoy. 1970. Peroxidase isoenzymes in developing endosperm of maize. *J. Heredity* **61**: 252-254.
- Rastogi, R. and P.J. Davies. 1991. Polyamine metabolism in ripening tomato fruit. *Plant Physiol.* **95**: 41-45.
- Sanjeeve, K., G. Zon and M. Sandarlingam. 1989. Base only binding spermine in the deep groove of the A-DNA octamer (GIGTACAC). *Biochemistry* **28**: 2360-2364.
- Scandalio, J.G. 1974. Isozymes in development and differentiation. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **25**: 255-258.
- Schneider, W.C. 1957. Determination of nucleic acid in tissues by pentose analysis. *Methods Enzymol.* **3**: 680-684.
- Smith, T.A. 1985. Polyamines. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **36**: 117-143.
- Srivastava, P.S. and A. Steinhauer. 1981. Isoenzymes in differentiating shoot bud cultures of *Betula pendular* Ruth. *Zeitschrift fur Pflanzen Physiol.* **130**: 341-436.
- Stegeman, H. and W.M. Park. 1979. Rice protein patterns. Comparison by various PAGE-technique in slabs. *Acker Dflanzen.* **148**: 446-454.
- Tabor, C.W. and H. Tabor. 1984. Polyamines. *Ann. Rev. Biochem.* **53**: 749-790.
- Tiburcio, A.F., R. Kaur-Sawney and A.W. Galston. 1987. Effect of polyamine biosynthetic inhibitors on alkaloids and organogenesis in tobacco callus cultures. *Plant, Cell, Tissue & Organ Cult.* **9**: 111-120.
- Valeria, S., P. Torrigiani and N. Bagni. 1990. Distribution of diamine oxidase activity and polyamine pattern in bean and soybean seedlings at different stages of germination. *Physiol. Plant.* **80**: 515-519.
- Wolter, K.E. and J.C. Gordon. 1975. Peroxidase as indicators of growth and differentiation in Aspen callus cultures. *Physiol. Plant.* **33**: 219-223.

(1992. 6. 25 接受)