

# 赤枯 및 胡麻葉枯 水稻葉中 Peroxidase와 Polyphenoloxidase의 活性

朴 薰\* · 全 在 根\*\*

Diversity in Activities of Peroxidase and Polyphenoloxidase in the Akagare or Helminthosporium-infected Rice Leaves

Hoon Park · Jae Kun Chun

## Summary

The activities of peroxidase and polyphenoloxidase were investigated in the rice leaves (the upper halves) diseased with Akagare or Helminthosporium oryzae. The activity of polyphenoloxidase was slightly lower than that of peroxidase in the healthy leaves but it increased 56% in the diseased leaves while peroxidase decreased 35%. It was expected that polyphenoloxidase is dominant in the oxidation of polyphenols, and hydrogen peroxide may accumulate to harmful level due to the decrease of peroxidase activity resulting in non-enzymatic oxidation of polyphenols in the diseased leaves.

## 緒 言

赤枯發生은 加里, 磷酸<sup>3,7)</sup> 亞鉛<sup>2)</sup>의 缺乏과 土壤 還元에 依한 Fe<sup>++</sup>, H<sub>2</sub>S, butyric acid, acetic acid<sup>3)</sup> 또는 iodine<sup>6)</sup> 등 여러有害物質에 基因하지만 代謝 機作은 cytochrome oxidase系의 機能이 弱화되고 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 生成되는 어떤系가 旺盛해짐과 同時에 Peroxidase活性이 增加하는 共通性을 가지고 있다<sup>3,6,7)</sup> 이러한 共通性은 Bronzing에 까지도 同一한 것으로 報告되고 있으며<sup>3,5)</sup> 稻熱病의 代謝機作과<sup>8)</sup> 同一한 것으로 看做하는것 같다<sup>3)</sup> 그러나 本試驗의 結果는 Polyphenol의 酸化가 Peroxidase에 主로 依存한다는 一般論<sup>3,8)</sup>이 再檢討되어야 하겠음을 強力히 보이고 있다.

## 材料 및 方法

水稻 水原82號로 1966년 7월 24일 採取하였으며

\*植物環境研究所(Institute of Plant Environment)  
\*\*서울大學校農科大學(College of Agriculture, Seoul National University) 1972. 12. 5 受理.

赤枯病葉은 早期栽培 出穗期의 것이고 胡麻葉枯病(Helminthosporium oryzae)葉은 適期栽培 幼穗形成期의 것이다. 赤枯試料는 加里 缺乏에 土壤還元이 약간 缺친 것으로 赤褐斑이 많고 약간 黃色을 띠우는 것으로 山口尙夫博士에 依하여 確認된 것이며 主로 下葉들이고 同一部位에서 健全葉을 採取하였다. 胡麻葉枯病葉도 同一포장에서 罹病葉과 健全葉을 採取하였다. 한시료에 200葉을 채취 即時 -3°C以下에 두고 葉身의 中央部에서 半分하여 上端部만을 잘게 썰어 사용하였다. 酵素液을 調製할 때 까지 모든 操作은 低溫室(-3°C)에서 하였다.

Peroxidase의 活性 測定: 新鮮試料 1g을 0.05 M Sørensen buffer (pH 7.0) 20ml와 sea sand를 加하여 乳鉢에 마쇄하고 綿布로 여과하여 冷凍 遠心分離器로 10,000rpm에서 20分間 분리후 上澄液을 효소액으로 하였으며 活性度の 測定은 Warburg의 直接法으로 檢壓法에 依하였다<sup>1)</sup> 卽 主室에 1%-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1ml와 5%-pyrogallol 0.5ml, 側室에 효소액 0.5ml와 副室에 10%-KOH 0.2ml를 (다른 한개의 檢압계에는 10%-KOH 대신 증류수)를 加하여 25°C에서 10分間 平衡 시킨후 5分間에 發生한 CO<sub>2</sub>의 量을 測定하였다.

Polyphenoloxidase의 活性測定: 新鮮試料 10g을 0.05M McIlvain buffer (pH 6.0) 20ml로 Peroxidase와 同一하게 효소액을 調製했으며 活性도는 檢壓法에 依하였다<sup>4)</sup>, 主室에 효소액 1ml, 側室에 0.01M-chlorogenic acid 혹은 0.05M-catechol 0.4 ml와 副室에 10%-KOH 0.2ml를 加하여 30°C에서 15分間 平衡시킨후 10分間에 吸收한 O<sub>2</sub>를 測定하였다.

## 結果 및 考察

赤枯 및 胡麻葉枯 罹病葉中 Peroxidase와 Polyphenoloxidase의 活性은 表1과 같다. 赤枯나 胡

麻葉枯에 관계 없이 罹病의 경우 Polyphenoloxidase는 증가하고 (56%) Peroxidase는 감소 (35%) 하였다. 健全葉에서는 Polyphenoloxidase의 活性보다 Peroxidase의 그 것이 약간 강한 편이나 큰 차이가 없으며 罹病葉에서는 Polyphenoloxidase의 活性이 Peroxidase의 그것보다 約 2 배가된다. Polyphenoloxidase는 catechol에서 보다는 chlorogenic acid에서 強하여 稻熱病<sup>8)</sup>에서와 같다. 이러한 결과는 水稻葉中에 Polyphenoloxidase가 없

**Table 1.** Peroxidase and polyphenoloxidase activities in Akagare or Heminthosporium-rice leaves (the upper halves).

Samples	Peroxidase		Polyphenoloxidase	
	*CO <sub>2</sub> /μl	%	**O <sub>2</sub> /μl	%
Akagare-Healthy	26	100	9.5	100
Akagare-Diseased	16	62	15.1	158
Helminthosporium-Healthy	22	100	8.7	100
Helminthosporium-Diseased	15	68	13.4	154

\* CO<sub>2</sub>/μl 10min<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> fresh weight at 30°C using pyrogallol as substrate

\*\*O<sub>2</sub>/μl 5 min<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> fresh weight at 25°C using chlorogenic acid as substrate

고<sup>8)</sup> 罹病에 의하여 Peroxidase活性이 증가한다는<sup>3,8)</sup> 一般論과는 全然反對되는 結果이다. Polyphenol oxidase가 없다고 하는 것은<sup>8)</sup> Unboiled나 Boiled homogenate間에 活性의 差異가 없다는 事實때문이나 감염될수록 活性이 增加한 事實 (Table 1)과 Boiled sample에서의 Peroxidase活性은 거론되지 아니하였으며 基質이 높아진 경우 Unboiled에서 活性이 상당히 증가한 것 (Table 2)으로 보아 Polyphenoloxidase가 없다고 斷定할수는 없는것 같다. 특히 15,000g의 上澄液에서만 活性이 測定된 것을 cellophane膜透折 外液에서 3/4의 活性이 나타나므로 非酵素的 酸化라고 하나 Hydroquinone以外的 基質에 關한 검토나 Peroxidase活性에 關하여 언급된바없다. 一般的으로 3,000rpm에서 調査하는 것이 보통인데 本實驗에서는 10,000rpm으로 15,000g의 경우와 유사한 것으로 3,000rpm의 경우와는 酵素液調製上的 差異도 있을 것이 예상되며 Polyphenoloxidase가 없다고 하기에는 이른것 같다. Polyphenoloxidase는 이상의 보고 때문인지 赤枯에서 조사된바 없는 것 같으며 이 data<sup>8)</sup>에 依하면 Unboiled의 경우 감염부로부터 3 cm 떨어진 部位에서 Peroxidase는

健全葉의 그것과 差異가 거의 없지만 Polyphenoloxidase는 2 배의 차가 있어 罹病葉全體를 本實驗에서와 같이 함께 磨碎한 경우에는 Polyphenoloxidase活性이 더 클것으로 예상된다. Peroxidase活性이 下位葉 卽 老化에 따라 增加하는 것으로 보던<sup>6,7)</sup> 罹病葉도 老化의 경우와 類似할 수 있겠으나 上位葉에서 더 큰 경우<sup>5)</sup>도 있어 一定하지 않다. Peroxidase나 Catalase의 機能弱화는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 蓄積을 가져오며 그 結果로 非酵素的 Polyphenol酸化가 일어날 수 있을 것이다. 本實驗은 이러한 可能性을 뒷받침 하며 Polyphenoloxidase에 依한 Polyphenol類의 酸化가 Peroxidase에 依하여 보다 褐班形成에 더 크게 作用할 可能性을 보여 주고 있다.

摘 要

赤枯 및 胡麻葉枯罹病葉(葉身上半部位)中の Peroxidase와 Polyphenol oxidase의 活性을 檢壓法으로 測定하였다. 健全葉에서는 Polyphenol oxidase의 活性이 Peroxidase의 活性보다 약간 낮지만 罹病葉에서는 Polyphenoloxidase의 活性이 56% 增加하는데 反하여 Peroxidase의 活性은 35% 減少하였다. 이러한 사실에서 罹病葉中の Polyphenol類의 酸化에 Polyphenol oxidase가 主役을 담당하며 Peroxidase 活性의 減少로 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 有毒水準까지 集積하여 Polyphenol類의 非酵素的 酸化가 예상된다.

引 用 文 獻

1. 赤堀四郎 編 1955 酵素研究法 I, 551. 朝倉書店
2. Ann. Rep. 1965 IRRI p.45-58 Observations on mineral nutritional disturbances in Asia.
3. Baba, I. Inada, K. and Tajima, K. I. 1965 Mineral nutrition and the occurrence of physiological diseases. In "The mineral nutrition of rice plant" IRRI Los Banos Laguna, Philipines.
4. 富田英夫 : 玉置英之助 1962 日農化 36:704.
5. Oda, Y. 1968. Studies on the occurrence of the physiological disease of rice called "Bronzing" Bull. Nat. Inst. Agr. Sci. D.18. 31-104.
6. Tajima, K.I. 1971. Studies on the physiological disease of rice. Bull. Nat. Inst. Agr. Sci. D 22:71-143.
7. Takahashi, Y. 1970 Studies on the nutrition of the rice plant with reference to the occurrence of the so-called akagare disease. Bull. Nat. Inst. Agr. Sci. D. 21:1-59.
8. Toyoda, S. and Suzuki, N. 1960 Histochemical studies on rice blast lesions caused by Piriculari oryzae Cav. IV changes in the activity of oxidases in infected tissues. Ann. Phytopathol. Soc., Japan, 25:172-77.