

## 벼의 생육시기에 따른 일부 광호흡효소의 활성변화

권영명 · 이진범 · 이순희\* · 조영동\*\*

(서울대 식물학과 · \*연세대 생물학과 · \*\*생화학과)

### Activities of Catalase, Glycolate Oxidase, Hydroxypyruvate and NADPH-Glyoxylate Reductases at Different Growing Stages in the Leaves of Rice Plants

Kwon, Young Myung, Jin Bum Lee, Sun Hi Lee\* and Young Dong Cho\*\*

(Department of Botany, Seoul National University, Seoul, and \*Department of Biology, and \*\*Department of Biochemistry, Yonsei University, Seoul)

#### ABSTRACT

Catalase, glycolate oxidase, hydroxypyruvate and NADPH-glyoxylate reductases activities in cell free extracts from leaves of 3 cultivars, Suwon 264, IR 36 and Jin Heung of rice plants were studied at different growing stages. Catalase and glycolate oxidase shows inclining activities toward the maximum vegetative growth whereas declining activities in either the enzymes were noticed during the maturing stage. After the photoperiodic condition exhibit increasing hydroxypyruvate and NADPH-glyoxylate reductases activities with time until maturing stage. No significant differences were found in the enzyme activities, and in analytical data of nitrogen, chlorophyll contents, dry weight and soluble proteins among the 3 cultivars.

광호흡에서는 glycolate가 기질로 이용되면서 CO<sub>2</sub>가 생성되기 때문에 순광합성 효율을 저하시키는 결과를 초래한다(Tolbert, 1977). 광호흡대사에는 엽록체, 미토콘드리아 및 peroxisome이 관여하며, 여기서 peroxisome이 가장 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Tolbert and Ryan, 1976).

세포에서 peroxisome의 양적변화와 peroxisome내의 광호흡 관련효소들의 활성변화에 관해서는 많은 연구가 되어 있으나 아직 정확한 광호흡기작은 밝혀지지 못하고 있다. 현재까지는 흔히 열매의 성숙과정이나 개체에서 엽위엽 효소활성을 비교하고, 생화학적으로 이들 효소의 성질들을 밝히고 있지만 생체내에서 이들 효소의 정확한 기능과 개체의 생장시기와의 관계 등에 대하여는 알려진 것이 적다(Kisaki 등, 1973; Martin 등, 1979).

본 실험에서는 벼의 이앙시기부터 성숙 및 결실과정에 이르는 전생육과정에 있어서 catalase (EC, 1, 11,

1, 6), glycolate oxidase (EC, 1, 1, 3, 1), hydroxypyruvate reductase (EC, 1, 1, 1, 29) 및 NADPH-glyoxylate reductase 등의 환성은 조사하여 그 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

본 연구에 사용된 벼(*Oryza sativa* L.)는 현재 우리나라에서 재배되고 있는 품종인 진흥과 수원 264, 그리고 재배시험종인 IR 36의 3품종으로 능춘진홍정 작물시험장으로부터 분양받아 1978년 11월부터 1979년 3월까지 온실에서 재배하였으며, 이앙시기를 기점으로 하여 10일간격으로 시료를 채취하였다. 재배중 장일처리는 이앙후 55일부터 65일 사이에 실시하였고 기타 재배조건은 상법에 의하였다.

실험에 사용된 효소액은 잎맥을 제거하고 잘게 자른 후 1g을 빻아진 교반기에 넣고, 2% PVPP를 포함하는 pH 8.0, 0.02M HEPES완충용액에서 10분간 마쇄한 후 600g로 5분간 원심분리하여 얻은 상등액을 다시

6000g에서 30분간 원심분리하여 얻은 상등액을 cell free extract로 사용하였다.

Glycolate oxidase의 활성은 HPO법으로 측정하였으며(de Jong, 1973), 1분간에 흡광도가 0.1 변하는 것을 1단위(unit)로 표시하였다. Catalase의 활성은 Chance와 Maehly(1955)의 방법에 따랐고, hydroxypyruvate reductase와 NADPH-glyoxylate reductase의 활성은 glyoxylate와 NADH 또는 NADPH를 각각 기질로 사용하여 측정하였다(Zelitch, 1978). 이상의 효소활성 실험에서 반응은 실온에서 진행시켰으며, 흡광도의 변화는 Shimadzu UV-360 recording spectrophotometer로 측정하였다. 효소용액의 단백질함량은 Lowry법(Lowry 등, 1951)으로, 일조직의 염록소함량은 645nm와 663nm에서 측정 계산하였고(Harborne, 1973), 총질소량은 micro-Kjeldahl 법으로(Jackson, 1958) 정량하였으며 아울러 건조량도 함께 조사하였다.

Catalase의 활성은 이양후 60일에서 가장 높게 나타났으며, 개화시기에도 증가함을 알 수 있다(Fig. 1-A). 이는 glycolate oxidase의 경우처럼 커다란 활성의 증가는 보이지 않았으나 두효소의 활성변화가 비슷한 양상을 보여주는 것이라 하겠다. 이같은 결과는 시금치 제 1엽의 생육시기별 조사결과와 일치하는 것이며(權 등, 1979), 토마토의 엽위별 조사결과와도 부합되는 결과이다(Kisaki 등, 1973). 한편 버잎에서 엽연령에 따른 엽위별 효소활성조사에서 성장과 더불어 catalase의 활성이 감소한다는 보고도 있고(Kar과 Mishra, 1976), 열매에서도 형성초기에 catalase의 활성이 가장 높고 성숙하면서 급격히 저하된다는 보고도 있다(Martin 등, 1979).

본 실험결과가 다른 결과들과 일치하지 않는 경우란 아마도 일정시기의 개체에서 잎의 부착위치에 따라 연령을 정하는 것과 생육과정에 있어서 개체의 연령과의 차이가 있기 때문이라 사려된다.

Glyoxylate oxidase의 활성은 세물종에서 모두 이양기때가 가장 낮았으며 성장과 더불어 급격히 증가하였고, 특히 장일처리기간에 가장 높은 활성을 보였다. 장일처리후 효소활성은 저하되다가 개화시기에 다시 증가하는 경향을 보였고 결실과 더불어 더욱 저하되었다(Fig. 1-B). 이처럼 glycolate oxidase의 활성이 벼의 생육이 가장 활발한 시기에 높다는 것은 시금치 잎의 경우에서도 관찰된 사실이며(權 등, 1979) 담배잎의 실험 결과와 부합된다고 하겠다(Kisaki 등, 1973). 한편 토마토의 경우 열매성숙과정에서 catalase와 glycolate oxidase의 활성변화는 서로 다른데(Martin 등, 1979) 이러한 차이에 관한 원인은 알 수 없으나 토마토의 성숙과 벼의 성숙에 따른 잎의 생리학적 변화와

는 커다란 차이가 있기 때문이라 사려된다.

Hydroxypyruvate reductase는 이양후 약 30일간은 별다른 활성의 변화가 없었지만, 그후 서서히 증가하다 장일처리가 끝난 시기부터 급격한 증가를 하였다. 이러한 증가는 glycolate oxidase의 활성이 최고에 달한후에 나타난 것으로(Fig. 1-B 및 C) 토마토에서도 같은 현상이 보이며(Martin 등, 1979) 아마도 serine의 대사와 일련의 관계가 있지 않나 생각되기도 한다.

NADPH-glyoxylate reductase의 활성은 hydroxypyruvate reductase의 경우와 비슷하게 변함을 알 수 있다(Fig. 1-D). 즉 장일처리 말기에 뚜렷한 효소활성의 증가가 일어난 후 증가된 활성은 20일간이나 지속되었다. 이 효소는 엽록체에 있으면서 peroxisome에서 생성된 glyoxylate가 옮겨오게 되면, NADPH를 소비하면서 다시 glycolate로 만들어 결과적으로 광호흡을 촉진하는 기능을 가진 것으로 알려져 있으며(Tolbert 등, 1970), 이 결과 조건에 따라 엽록체내에 과다하게 축적하는 NADPH를 소비하여 엽록체의 내적 조건을 적절히 유지하는 것으로도 알려졌다(Tolbert, 1971). NADPH-glyoxylate reductase의 활성이 성장말기 즉 벼가 성숙한 시기에도 성장전반기에 비해 높은 것은, 엽록소가 감소하는 성장말기의 생리조건에서도 매우 안정하다는 표시이며, 이러한 결과는 시금치 잎에서도 볼 수 있었다(權 등, 1979).

한편 NADPH-glyoxylate reductase에 대해서는 생체내에서 실제로 활성을 나타내고 있는지의 여부는 아직 확실치 않다고 하기도 하나(Tolbert, 1977), glyoxylate 대사와 밀접한 관련이 있다고도 하고 있다(Lawyer와 Zelitch, 1978; Zelitch, 1978). 그러나 관심을 가져야 할 것은 이 효소의 활성이 hydroxypyruvate reductase와 더불어 일정효과의 영향을 받는 것 같다는 사실이다(Criff, 1973). 그리고 이들 광호흡 관련 효소들의 활성이 동시적인 변화를 보이는 것이 아니라는 점이다(Feierabend, 1975).

지금까지 벼의 3품종이 보여준 효소 활성을 비교해 보면, 대개 진홍의 경우가 항상 높았으며, *indica*와 *japonica*계열의 잡종인 수원 264가 모든 경우에서 낮았다(Fig. 1-A, B, C, D). 즉 벼의 cultivar에 따른 광호흡활성의 뚜렷한 차이는 없는 것으로 해석된다.

생육시기에 따른 벼의 일반적인 생리학적 변화의 기초를 알기 위하여 조사한 건조량 및 단백질량 등의 결과를 보면(Table 1), 이양시기부터 잎의 건조량은 점진적인 증가를 보였고, 총질소량은 이양후 뿌리의 활착과 더불어 생장이 가장 왕성할때 최대치를 보이다가 성장 후반기는 거의 일정한 값을 유지하였다. 한편, 용해성단백질의 양은 성장속진과 함께 증가하다 개화

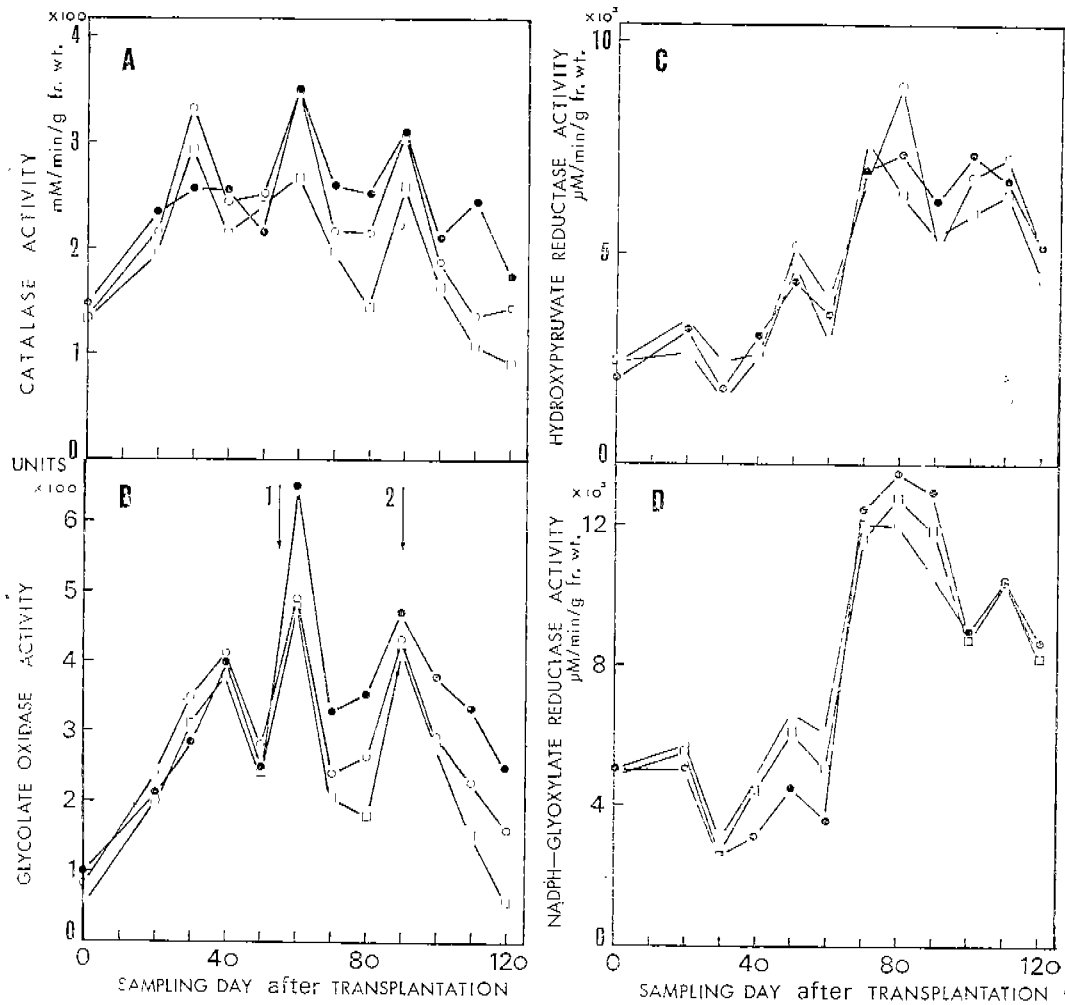


Fig. 1. Changes of catalase, glycolate oxidase, hydroxypruvate and NADPH-glyoxylate reductases in rice leaves at different stages. Long day treatment was shown as ↓1 and flowering stage was as ↓2. ●—● : Jin Heung, ○—○ : IR36, □—□ : Suwon 264.

Table 1. Measurement of dry weight, total nitrogen, soluble protein and chlorophyll contents in leaves of rice plant at different growing stages

Measurement	Cultivar	Sampling days after transplantation											
		0	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
Dry weight mg/g-f wt	JH	287.0	260.2	312.6	385.3	326.9	337.4	299.0	347.1	422.5	361.5	366.1	339.2
	Su-264	273.4	297.0	289.8	390.5	280.0	348.7	329.2	354.2	402.4	408.8	505.3	415.6
	IR-36	302.6	287.6	342.0	350.8	328.3	364.2	327.8	410.0	449.1	442.0	550.1	451.9
Total nitrogen mg/g-d wt	JH	37.4	42.6	44.6	48.8	51.2	38.0	44.0	41.2	44.8	43.4	46.6	43.0
	Su-264	35.6	51.2	50.2	48.6	45.2	39.8	37.6	33.2	32.6	34.6	30.0	29.0
	IR-36	34.2	50.0	51.8	47.8	41.4	37.6	41.0	35.6	45.0	40.8	44.6	33.8
Soluble protein mg/g-f wt	JH	32.9	37.4	48.0	54.1	52.8	63.0	58.6	55.6	72.4	55.9	64.2	54.0
	Su-264	36.9	42.1	52.5	63.9	52.3	56.7	52.8	43.0	62.2	65.3	56.4	50.8
	IR-36	43.0	48.6	57.4	60.6	49.4	62.4	56.1	63.9	75.4	63.1	65.6	71.3
Chlorophyll µg/g-f wt	JH	2367.3	3347.3	4423.7	4381.2	4566.9	4514.1	4262.3	4596.1	5006.1	5251.5	5468.3	5367.1
	Su-264	3084.9	4922.9	4762.7	5190.9	4659.6	3995.4	4491.4	3794.1	4939.3	4919.9	6129.6	4922.5
	IR-36	2930.6	4167.4	5342.4	4756.6	4343.2	5198.0	4391.2	5372.6	6356.7	6411.2	8680.3	7191.1

JH:Jin Heung, Su-264:Suwon-264

이후부터 점차 감소되었다. 전반적으로 가용성단백질의 양식변화는 지었으나 여기에 존재하는 효소들의 활성변화폭은 대단히 컸다고 하겠다. 엽록소의 양은 IR-36에서 다른 두품종보다 약간 높은 것 같았으나 엽록소 a와 b의 비율은 3품종 모두에서 3:1의 값을 보이므로 엽록소의 질적인 차이는 아닌 것 같다.

지금까지의 실험결과는 개체내의 일의 연령에 따른 효소활성의 변화를 조사하여 얻은 것이 아니라, 생장에 따른 개체의 생리학적 상태를 그 개체가 갖고 있는 연령 조건이 서로 다른 잎들의 생리학적 조건들을 혼합하여 정립된 것과 같으며, 그 결과 종래 얻을 수 없었던 결과물 갖게 되었다는 사실에 의의를 둘 수 있겠다. 또한 일장효과와 효소활성의 관계, 그리고 NADPH-glyoxylate reductase의 생체내 활성에 대하여는 많은 연구가 요구된다고 사려된다.

### 참 고 문 헌

- Cerff, R. 1973. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and glyoxylate reductase. *Plant Physiol.* 51: 76-81.
- Chance, B. and A.C. Maehly. 1955. Assays of catalases and peroxidases. *In Methods of Enzymology II.* Academic Press, N.Y. pp.764-769.
- De Jong, D.W. 1973. Modification of tobacco leaf glycolate oxidase activity by chlorogenic acid and other polyphenols. *Physiol. Plant.* 29: 150-156.
- Feierabend, J. 1975. Developmental studies on microbodies in wheat leaves. III. On the photocontrol of microbody development. *Plants.* 123: 63-77.
- Harbone, J.B. 1973. *In Phytochemical Method.* Chapman and Hall, England. pp.204-208.
- Jackson, M.L. 1958. *In soil Chemical Analysis.* 1st ed. Prentice Hall, New Jersey. p.498.
- Kar, M. and D. Mishra. 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiol.* 57: 315-319.
- Kisaki, T., S. Hirabayashi and N. Yano. 1973. Effect of the age of tobacco leaves on photosynthesis and respiration. *Pl. and Cell Physiol.* 14: 505-514.
- Kwon, Y.M., Y.D. Cho and S.H. Lee. 1979. Mechanism of photorespiration on photosynthetic products. *Report for Korea Science and Engineering Foundation.*
- Lawyer, A.L. and I. Zelitch. 1978. Inhibition of glutamate-glyoxylate aminotransferase activity in tobacco leaves and callus by glycidate, an inhibitor of photorespiration. *Plant Physiol.* 61: 242-247.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Martin, B.A., J.A. Gauger and N.E. Tolbert. 1979. Changes in activity of ribulose-1,5-diphosphate carboxylase/oxygenase and three peroxisomal enzymes during tomato fruit development and ripening. *Plant Physiol.* 63: 486-489.
- Tolbert, N.E., R.K. Yamazaki, and A. Oeser. 1970. Localization and properties of hydroxypyruvate and glyoxylate reductase in spinach leaf particles. *J. Biol. Chem.* 245: 5129-5136.
- Tolbert, N.E. 1971. Microbodies-peroxisome and glyoxysome. *Ann. Rev. Pl. Physiol.* 22: 45-74.
- Tolbert, N.E. and F.J. Ryan. 1976. Glycolate biosynthesis and metabolism during photorespiration. *In CO<sub>2</sub> Metabolism and Plant Productivity.* ed Burns, R.H. and C. C. Black. University Park Press. pp.141-159.
- Tolbert, N.E. 1977. Regulation of products of photosynthesis by photorespiration and reduction of carbon. *In Ecological Solar Energy Conversion.* Academic Press. pp.243-263.
- Zelitch, I. 1978. Effects of glycidate, an inhibitor of glycolate synthesis in leaves, on the activity of some enzymes of the glycolate pathway. *Plant Physiol.* 61: 236-241.

(1979년 8월 16일 접수)