한작지(Korean J. Crop Sci.), 53(4): 440~446(2008)

담수조건하 벼 발아 및 입모단계시 항산화효소 및 Alcohol dehyrogenase활성 변화

손지영*† · 고종철* · 김우재* · 김보경* · 김정곤* · 정남진**

*국립식량과학원, **전북대학교

Changes of Antioxidative Enzymes and Alcohol Dehydrogenase in Young Rice Seedlings Submerged in Water

Ji-Young Shon*†, Jong-Cheol Ko*, Woo-Jae Kim*, Bo-Kyeong Kim*, Chung-kon Kim*, and Nam-Jin Jung**

*National Institute of Crop Science, R.D.A., Suwon 441-857, Korea

**Department of Agricultural Biology, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

ABSTRACT Successful germination and establishment of seedlings in flooded paddy are critical in direct seeding cultivation of rice. In this study, we examined the relationship between antioxidant enzymes and alcohol dehydrogenase (ADH) activities and coleoptile elongation under submergence of deep water with two rice cultivars, Iksan429 and Woodrose, which show characteristic coleoptile elongation under hypoxic condition. The growth of shoot under submerged in water was faster than the root. The survival duration was longer in Iksan429 than in Woodrose under submerged in water. The alcohol dehydrogenase (ADH) activities were significantly increased under hypoxia compared to in aerated condition. The ADH activity was increased in Iksan429 more than in Woodrose under hypoxia. The superoxide dismutase (SOD) activity in Iksan429 was gradually increased up to 5 days after treatment (DAT) then decreased slowly till 14 DAT under water, whereas in Woodrose it was dramatically decreased after 5 DAT. The peroxidase (POX) activity in Iksan429 was significantly increased until 7 DAT under hypoxia, whereas it was not significantly different in Woodrose during hypoxic treatment. However, in non-treated condition, POX activity in Woodrose was increased more than Iksan429. The changes of catalase (CAT) activities showed no differences in both cultivars. We suggest that the overexpression of ADH, SOD and POX activities is responsible for the hypoxic tolerance and plays an important role in the surviving of rice seedling.

Keywords : rice, hypoxia, submergence, seedling, alcohole dehydrogenase, antioxidant enzyme

†Corresponding author: (Phone) +82-31-290-6690
(E-mail) sonjy@rda.go.kr <Received October 6, 2008>

벼는 다른 작물에 비해 담수 하 에서도 발아가 잘 되지만 발아 후 계속 담수상태에 놓이게 되면 유아는 이상 신장하고 뿌리 생장이 저조하여 입모가 어려우며 심하면 괴사한다. 논은 지속적으로 담수하면 미생물의 호흡 증가로 혐기상태로 전환되고, 이 때 벼 유묘는 저산소 스트레스를 받게 되므로 호흡저하로 인한 에너지 부족으로 생장이 저조하게 된다.

식물은 여러가지 스트레스(병균 침입, 가뭄, 탈수, 과습, 저산소, 염해, 냉해, 고온, 중금속, 자외선 등)를 받았을 때 세포내에 활성 산소종(Reactive oxygen species: ROS)이 생성된다(Noctor *et al*., 1998). 이들 ROS(superoxide radical: $O_2^{\cdot -}$, hydroxyl radical: $OH^{\cdot}$, hydrogen peroxide: H_2O_2)의 생성은 스트레스의 강도나 세포의 물리화학적 상태(항산화물질, 산화환원 상태, pH)에 따라 다르며(Blokhina O. *et al*., 2000, 2001) 광합성 및 호흡과정에서 발생하는 정상상태의 ROS는 세포내 신호전달체계에도 참여하고(Mittler, 2002) 세포내 항산화물질과 산화환원상태를 조절하는 역할도 한다고 한다(Blokhina *et al*., 2003). 그러나 과도한 스트레스 하에서 생성된 ROS는 막 지질 산화, 단백질 산화, 효소 저해, 핵산손상 등을 일으켜 세포에 산화적 손상을 준다(Shewfelt *et al*., 1995).

식물에서 세포내 ROS를 제거하는 항산화효소로는 superoxide dimutase(SOD, EC 1.15.1.1), catalase(CAT, EC 1. 11.1.6), guaiacol peroxidase(POX, EC 1.11.1.7), ascorbate peroxidase(APX, EC 1.11.1.11)등이 있으며, 항산화효소와 결합하거나 직접적으로 라디칼을 제거하는 항산화물질로는 ascorbate, glutathione, β-carotene, α-tocopherol 등 여러 가지 폴리페놀 화합물이 있다. SOD는 plastid와 mitochondria

의 전자전달계에서 생긴 O_2^-를 H_2O_2로 전환시키고, H_2O_2는 catalase와 peroxidase에 의해 H_2O와 O_2로 분해된다. Catalase가 H_2O_2를 직접 분해시키는데 반해 peroxidase는 co-substrate를 필요로 하므로 peroxidase는 광합성이 일어나는 잎에서는 주로 ascorbate peroxidase(APX)활성이 높고 뿌리와 같이 엽록체가 없는 곳에서는 guaiacol peroxidase(POX)활성이 높다(Amako, K.1994). 벼는 저온, 염해, 제초제 및 가뭄 스트레스에 내성이 강한 품종이 과산화지질함량이 낮으며 SOD, CAT, APX, POX등의 효소활성이 높았다는 보고가 있다(Kuk *et al*., 2007, Kim *et al*., 2004, Sharma *et al*., 2004).

식물의 혐기대사에 관한 연구는 많지 않으나 무산소 처리에서 Iris Germ, Tritivum aestivum은 SOD, CAT, APX, glutathione reductase(GR)활성이 감소하고 Iris pseudacorus, 귀리(Avena sativa), 벼(Oryza sativa)와 같은 내습성이 강한 식물은 항산화효소들의 활성이 증가하고 과산화지질함량은 상대적으로 낮았다고 한다(Blokhina, 2001). 벼 유묘는 호기상태에서 자란 유묘보다 항산화효소들(SOD, CAT, POX, GR 등)의 활성이 낮았으나 다시 호기상태로 처리하면 항산화효소의 활성이 높아지며(Ushimaru, 1992, 1999) 벼 유묘를 저산소 처리하면 내성이 강한 품종은 혐기호흡대사에 관여하는 alchohole dehydrogenase(ADH; EC1.1.1.1.), lactate dehydrogenase(LDH; EC1.1.1.27) 및 pyruvate decarboxylase (PDC: EC4.1.1.1)가 증가한다는 보고가 있다(Kato-Noguichi, 2006). ADH는 특히 혐기호흡대사와 관련되어 가장 많이 연구된 효소 중의 하나이며 저산소 또는 무산소처리시 많은 식물에서 증가한다고 한다(Kenney *et al*., 1992; Ricard *et al*., 1994; Tadege *et al*., 1999, Kato-Noguichi, 2006).

그러나 스트레스에 반응하는 식물체는 스트레스의 종류뿐 아니라 품종 및 생육시기에 따라서도 다른 결과를 나타낸다. 벼에서 저산소 스트레스는 침수내성에 관한 연구로 생육기의 침수시 에틸렌 생성을 억제하는 Sub1A 유전자가 밝혀졌고(Signaliw *et al*., 2003), 대부분 인디카품종이 자포니카품종보다 침수내성을 가진 품종이 많다고 한다(Toojina 등 2003). 한편 자포니카품종에 Sub1유전자를 도입하여 침수내성을 증가시켰다는 보고도 있다(Fukao 등, 2006). Sub1의 발견으로 벼의 혐기대사연구는 많은 진전이 있었으나 벼 종자의 무산소 발아 능력(Alpi and Beevers, 1983)을 Sub1 유전자로만 설명하기는 어렵다. 왜냐하면 대부분의 자포니카 품종은 담수상태에서 발아가 잘되고 저산소내성이 있다고 하나 ‘M202’나 ‘Nipponbare’와 같은 자포니카 품종에서 Sub1A유전자가 없는 것이 확인되었기 때문이다(Xu *et al*., 2006). 이와 같이 벼의 유묘기 저산소 내성 생리는 생육중기 이후와 다른 특성을 보이며 종자자체의 특성(탄수화물 함량, 건물중, 활력)과 발아기 초기의 호흡, anoxia tolerance, 알콜발효대사, 항산화대사 등이 중요한 요인일 것이라는 보고가 있으나(Settler *et al*., 1997) 아직 확실한 인자는 밝혀지지 않은 상태이다.

벼 담수직파재배는 이앙재배보다 노동력이 적게 드는 장점이 있으나 초기 입모불안과 잡초발생, 도복에 대한 우려로 재배면적이 크게 늘어나지 않고 있다. 그러나 현재 재배 또는 보급되고 있는 직파용 자포니카 품종은 저온발아성 및 도복관련 형질은 우수하나 담수 중 입모가 우수한 품종이 거의 없는 상태이다. 따라서 담수 중 입모가 우수한 유전자원을 찾고 이에 관한 생리적 연구를 토대로 담수 중 초기 발아 및 입모가 우수한 품종을 개발하는 것이 절실하다. 본 실험은 담수 중 입모가 우수한 유전자원을 찾던 중 비교적 담수입모가 우수한 익산429호와 저온발아성과 초기생육이 우수하여 직파용 교배모본으로 활용되었으나 담수 중 생존율은 매우 저조했던 Woodrose를 비교하여 담수 중 초기 발아 및 입모시의 생리적 변화를 비교해 보고자 하였다.

따라서 본 연구는 익산429호와 Woodrose 두 품종에서 벼 초기생육기간의 담수 처리가 벼 유묘 생육과 항산화효소 및 ADH활성의 변화에 미치는 영향을 조사하여 벼 초기 생육기의 저산소 스트레스에 관한 생리적 정보를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 처리방법

재료는 전년도에 수확한 자포니카 벼인 익산429(I.429)와 Woodrose를 사용하였다. 볍씨는 25 mM의 sodium hypochlorite에 15분간 살균한 다음 증류수로 4~5회 가량 세척하여 25℃에서 최아시켜 백체가 1 mm정도인 균일한 개체 100립씩을 3반복하여 치상하였다. 1% 아가배지 100 ml를 넣어 굳힌 유리병에 발아한 볍씨를 치상한 후 무 담수 처리는 증류수 10 ml을, 담수 처리는 끓여서 완전히 탈기시킨 증류수를 10 cm 높이까지 채웠다. 처리와 반복은 무작위로 배치하였으며 생육상(CNP4030, Conviron co.)내의 온도는 25℃, 빛은 12 h/12 h(명기/암기)으로 처리하였다. 처리 후 1, 3, 5, 7, 14일에 식물체를 채취하여 즉시 액체질소로 동결하고 -80℃에 보관하였다. 모든 데이터는 처리별 3반복 값의 평균값과 표준오차값으로 나타내었다.

효소추출 및 항산화효소활성도 측정

SOD, POX, CAT활성분석을 위한 시료는 액체질소로 마쇄한 시료에 5배액(v/w)의 1 mM EDTA, 1 mM DMSO를

포함한 0.1 M potassium phosphate buffer(KPB), pH 7.0 을 가하여 위와 같은 방법으로 상등액을 추출했다. SOD활성도 측정은 최종 부피 3 ml에 최종농도 13 mM methionine, 75 μM nitroblue tetrazolium(NBT), 0.1 mM EDTA가 되도록 섞은 후 25℃로 온도평형시키고 0, 30, 60, 90 μl의 상등액과 50 mM KPB(pH. 7.5)를 넣은 후 안정화시켰으며 마지막으로 riboflavin(최종농도 2 μM)을 넣고 섞은 후 형광박스 안에서 15분간 광 반응시킨 후 NBT 산화반응물의 양을 560 nm에서 측정했다. SOD 1 Unit의 양은 효소샘플을 가하지 않은 반응액이 나타낸 흡광도의 50% 를 억제하는 양(IC 50 = 1 Unit) 으로 정의한다(Wayne *et al*., 1987, Winterbourn *et al*., 1975).

Units/mg protein = 1000/ μg enzyme resulting in 1/2 max inhibition

POX 활성측정은 0.1 M KPB(pH 6.0) 2.7 ml, 18 mM guaiacol 0.1 ml와 88 mM hydrogen peroxide 0.1 ml을 3 ml 큐벳에 넣은 후 25℃로 온도평형한 뒤 상등액 0.1 ml를 가하고 436 nm에서 3분간 흡광도 변화를 측정했다. POX활성 1 Unit는 pH 6.0, 25℃에서 1 μmole의 H_2O_2를 분해시키는 양으로 정의한다(Bergmeyer, 1974). Catalase 활성측정은 59 mM hydrogen peroxide(Merck co. Superosol를 50 mM KPB(pH7.0)으로 희석) 1.0 ml와 증류수 1.9 ml를 혼합하여 25℃로 온도평형한 뒤 효소추출액 0.1 ml를 가하여 240 nm에서 3분간 흡광도 변화를 측정하였다. 직선감소구간의 1분간의 흡광도 변화 값으로부터 효소활성도를 계산하며 1 Unit는 pH 7.0, 25℃에서 1 μmole의 H_2O_2를 분해시키는 양으로 정의한다(Beers and Sizer 1952).

Units/mg tissue = (△ A240/min × 1000)/43.6 × mg enzyme/ml reaction mixture

효소추출 및 ADH활성도 측정

시료는 액체질소로 마쇄하여 5배액(v/w)의 homogenate buffer(10 mM Na-ascorbate, 10 mM DTT, 50 mg BSA, 15% glycerol을 포함한 100 mM Tris-HCl, pH 8.0)(Kato-Noguchi, 2006)를 가하고 30초간 교반한 다음 1시간 동안 얼음 속에 두면서 20분 간격으로 30초간 교반한다. 균질액을 15,000 xg로 20분간 원심분리하여 상등액을 취하여 ADH활성 측정에 사용하였다. ADH활성도는 3 ml 큐벳에 1.4 ml의 0.1 M pyrophosphate buffer, 기질로 0.5 ml의 2 M ethanol과 1 ml의 25 mM NAD를 넣은 후 25℃에서 온도평형시킨 후 0.1 ml의 상등액을 넣고 부드럽게 흔들어 섞은 후 340 nm에서 5분간 흡광도의 변화를 측정하여 일분당 흡광도변화율(△A340 / minute)을 구하여 역가를 계산하였다. ADH 1 Unit은 25℃에서 1 분간 NAD 1 μmole을 감소시키는 양으로 정의한다(Vallee and Hoch, 1955).

Units/mg protein = △A340/minute/(6.22×mg protein/ml reaction mixture)

단백질 정량

전체 soluble protein함량측정은 Bradford(1976) 방법에 따랐으며 Bio-rad사의 protein assay reagent 용액을 사용하였다. 단백질함량 표준곡선은 bovine serum albumin을 사용하여 검량하였다.

Nondenaturing PAGE 및 효소활성염색

Native polyacrylamide gel electrophoresis(PAGE)는 Gabriel (1971)의 방법을 수정하여 수행하였으며 vertical minigel system(Hoefer SE-260)을 사용하였다. 모든 시료의 단백질량이 50 μg이 되게 loading하고 4% stacking gel에서 80 V로, 10% resolving gel에서 120 V로 이동시켰으며 이동버퍼는 25 mM Tris-glycine buffer(pH8.3)를 사용하였고 전기영동 중 4℃를 유지하였다.

ADH활성염색을 위해 시료는 ADH활성분석과 다른 추출버퍼(50 mM Tris(pH8.0), 5 mM EDTA, 5 mM β-mercaptoethanol, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride)로 추출하여 15,000 ×g에서 30분간 원심분리하여 상층액을 분리하여 사용하였다. 샘플은 모두 단백질 함량이 20 μg되게 gel에 loading하여 native-PAGE를 수행하였다.

전기영동이 끝난 겔은 Ricard 등(1986)의 방법에 따라 130 ml의 0.1 M Tris-HCl(pH 8.5), 0.5 ml의 1 M MgCl, 3 ml의 absolute ethanol, 10 mg의 NAD, 10 mg의 NBT와 2.5 mg의 phenazine methosulfate를 혼합한 용액을 붓고 실온에서 20분간 배양한 후 발색정도를 관찰하였다.

결과 및 고찰

벼는 무산소 조건에서도 발아가 잘 되는 식물로 알려져 있지만(Alpi and Beevers, 1983) 발아 이후 지속적인 저산소 담수상태에서 계속 생장하는 경우는 결국 죽게 된다. 발아직후 14일까지 담수 처리 시 무처리에 비해 현저히 생장

이 느리며 초엽만 신장하고 뿌리는 신장하지 못하였다. 익산429는 담수 처리 후 7일까지 계속 생장하나 Woodrose는 생장이 현저히 느리다가 7일 이후에 생장하지 못하고 점차 괴사하였다(Fig. 1). 무 담수 처리시 발아 후 14일까지 초엽의 신장은 Woodrose가 빨랐으나 뿌리의 신장은 익산429가 더 빨랐으며 담수 처리시 뿌리는 두 품종 모두 신장하지 못하였다. Woodrose는 일반적으로 저온 초기생육이 빠른 특성이 있어 직파용 교배모본으로 많이 이용되어 왔으나 초기생육과정의 저산소 담수 처리에는 매우 민감한 특성을 나타냈고 오히려 익산429호는 무처리시에는 Woodrose보다 초기생육이 약간 느리지만 저산소 담수 처리시에는 생존력이 우수한 것으로 나타났다.

식물이 담수 및 무산소에 처하면 혐기대사과정에 관련된 단백질의 발현이 증가하고 특히 ADH는 혐기대사에서 가장 뚜렷하게 증가하는 효소이며(Ricard, 1986, Kennedy *et al*., 1992, Lasanthi-Kudahettige, 2007) 혐기내성(anoxia-tolerant) 식물 또는 품종에서 ADH활성이 높게 나타난다고 한다(Gibbs, 2000, Kato-Noguichi, 2006).

본 실험에서도 담수 처리시 무 담수 처리에 비해 ADH활성이 7일까지는 급격하게 증가하였으며 담수시 생육이 우수한 익산429는 7일째까지 증가하고 이후에도 Woodrose보다 활성이 높게 유지되었으며 무처리와 처리간의 활성차이도 더 컸다. Woodrose는 5일까지 ADH활성이 증가하다가 이후 급격히 감소하였는데 이는 담수 처리 7일 이후 생장이 저조하고 생존개체가 감소하였기 때문이라고 본다. 두 품종 모두 무 담수 처리 시 3일까지 ADH활성이 약간 증가하다가 감소하였는데 이는 ADH가 혐기호흡과 무관하게 초기 발아 기작에 관여한 것으로 보인다. 담수 처리에서는 ADH 활성이 3일 이후 7일째 급격한 상승을 보였다(Fig. 2). ADH는 약간씩 다른 역할을 하는 3가지 동위효소가 있는데 ADH 1은 주로 발아 시 증가하고 ADH 2는 혐기호흡시 증가하였으며 담수시 7일까지 ADH 2 활성이 증가하였다는 보고가 있는 것으로 보아(Lasanthi-Kudahettige, 2007) 담수 처리시 증가한 ADH는 ADH 2일 가능성이 높다. 또한 Native-PAGE시 7일 이후 처리에서 ADH가 한 밴드만 나타난 것으로 보아 혐기호흡과 관련되어 ADH 2가 발현된 것으로 생각된다. 이와 같이 혐기상태에서 에너지를 생산하기 위해 ADH활성이 높게 나타나며 더 높게 나타난 품종이 생육기간이 오래 지속되는 것은 담수 처리시 산소부족으로 인해 알콜발효대사로 에너지를 생산하기 때문인 것으로 보인다.

항산화효소들 중 SOD활성도 변화는 무처리는 처리 5일

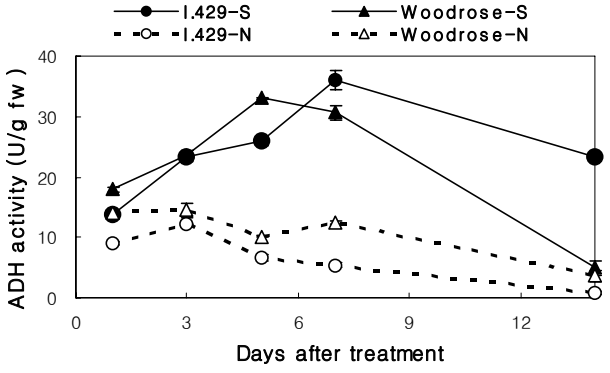
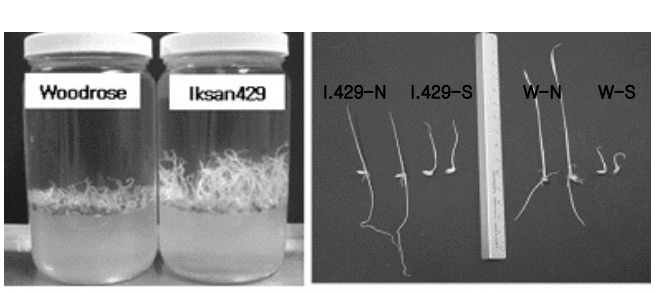
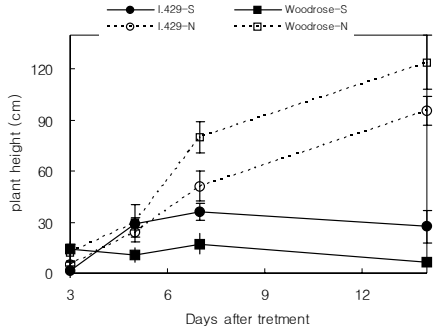


Fig. 2. Changes in ADH activities of the two rice cultivars, Woodrose and Iksan429 under submerged(S) and air grown (non submerged, N) conditions. Values are mean ±SE.



(A)



(B)

Fig. 1. Variations in coleoptile elongation of the two rice cultivars, Woodrose and Iksan429 under submerged (S) and air grown (non submerged, N) condition. A; Submerged 7-day old seedlings under water (left). Difference between submerged and air grown 7-day old seedlings of two cultivars (right) B; Changes in coleoptile growth under submerged or air grown of Woodrose and Iksan429. Values are mean±SD.

까지 증가하다가 처리 14일까지 점차 감소되는 반면, 담수 처리시 두 품종 모두 무 처리보다 SOD활성이 감소하였고 익산429가 Woodrose보다 높은 활성을 유지하였으며 무 처리에 비해서도 크게 활성이 떨어지지 않았으나 처리 7일 이후부터는 활성이 감소하였다. Woodrose는 처리 5일 이후부터 급격히 SOD활성이 떨어졌다(Fig. 3).

POX활성은 무 담수 처리시 발아 이후 5일까지 지속적으로 증가하였으며 생육이 빠른 Woodrose는 익산429에 비해 더 증가하였다. 담수 처리 시 두 품종 모두 처리 1일 이후 크게 증가하지 않았으며 무 담수보다 50% 가량 상대적 활성도가 낮았다. 하지만 익산429는 7일째까지 지속적으로 POX활성이 증가하였고 Woodrose는 거의 증가하지 않는

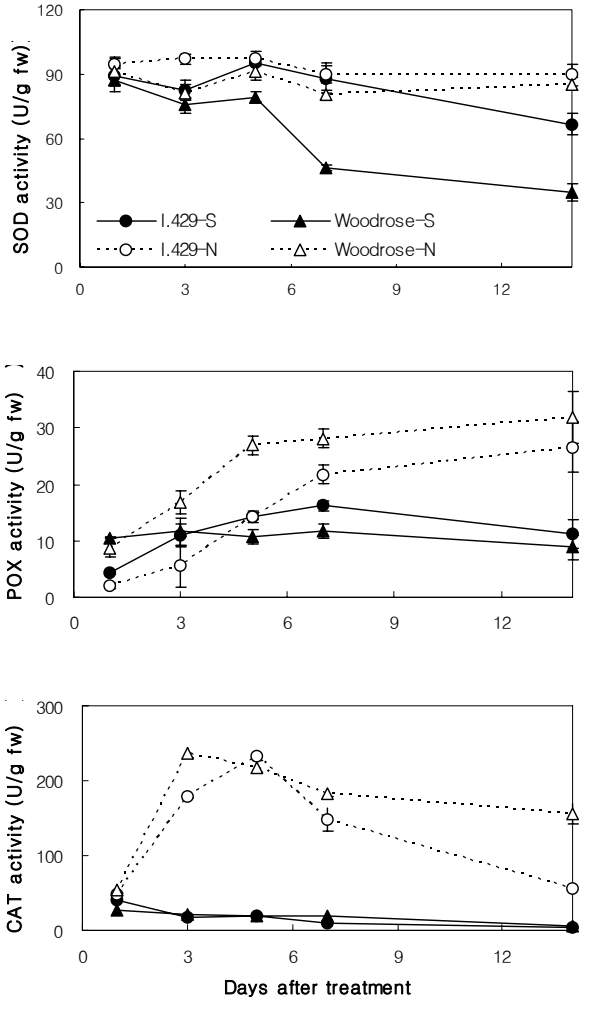


Fig. 3. Effects of submergence on the SOD, POX, CAT acitivities in two rice cultivars, Iksan429 and Woodrose under submerged (S) and air grown (non submerged, N) conditions. Values are mean±SE.

경향이었다(Fig. 3).

CAT활성은 두 품종 모두 무 담수 처리에서는 발아 1일 이후 3일까지 5배가량 증가하는 반면 담수 처리에서는 두 품종 모두 활성이 처리 직후부터 낮아지는 경향을 보였으며, 담수 처리 할 때 다른 항산화효소들에 비해 가장 활성이 낮았다. CAT활성은 다른 효소들에 비해 담수시 특히 낮아지는데 벼 발아기에 무산소 처리시 Catalase 유전자 발현이 아주 낮았으며 호기상태에서는 3일까지 급격히 유전자 발현이 증가하다가 이후 점차 낮아진다는 보고(Lasanthi-Kudahettige, 2007)및 무산소 및 저산소 스트레스에서 CAT 활성이 감소한다고 하는 보고(Alpi & Beevers, 1983)가 있다.

담수-저산소처리를 하였을 때 호기생육시보다 항산화효소들의 활성이 모두 낮아진다는 보고(Ushimaru *et al*., 1992)가 있으나 이후 호기생육상태에서 일시적으로 저산소처리를 하면 오히려 CAT, APX등은 증가한다는 보고(Ushimaru *et al*., 1999)도 있다. 그러나 Iris germanica나 I. pseudacorus와 같은 무산소-내성(anoxia-tolerant) 종에서 SOD는 무산소시 오히려 증가한다고 한다고 한다(Monk *et al*., 1987). 본 실험에서도 항산화효소들은 담수 처리 시(담수-저산소 스트레스) SOD, POX, CAT 모두 무 담수에 비해 효소활성도가 낮아졌으나, SOD는 POX, CAT에 비해 담수 처리 시에도 무 담수에 비해 크게 떨어지지 않는 활성을 나타냈다.

담수 처리 7일째 각 효소활성도를 비교해보면 SOD 활성도가 POX, CAT에 비해 는 담수 처리시 무 처리에 비해 덜 낮아졌고 특히 익산429는 Woodrose에 비해 담수 처리시 무처리 대비 감소율이 낮았으며, POX 활성도 역시 담수 처리시 무 담수보다 낮아졌으나 익산429가 Woodrose보다 담수 처리시 활성도 감소율이 덜 낮아진 것으로 나타났다. CAT는 담수 처리 시 익산429는 14배, Woodrose는 9.6배 감소하여 항산화효소 중 가장 담수 스트레스에 민감한 효소로 나타났다(Fig. 4).

한편 ADH는 오히려 담수 처리 시 현저히 증가하였는데 익산429는 무처리에 비해 6.7배, Woodrose는 2.5배 증가하여 담수 시 저산소로 인해 유묘의 알콜발효가 크게 증가하였고(Fig. 4, Fig. 5) 이로 인한 에너지공급량과 담수 생존율이 높은 관련이 있을 것으로 생각된다.

이러한 결과로 볼 때 벼 유묘기 담수 처리에 의한 저산소 스트레스에는 SOD가 일차적으로 발생한 $O_2^{\cdot-}$를 소거하며 이 때 발생한 H_2O_2는 POX의 소거역할이 CAT 보다 더 큰 것으로 생각된다. 손 등(2006)은 발아 및 초기생육이 빠른 품종과 CAT활성도 증가율의 상관이 POX보다 높게 나타난다고 하였는데 담수 처리 시에는 POX보다 CAT활성의 감소가 더 큰 것으로 보아 두 효소 모두 H_2O_2를 기질로 이용

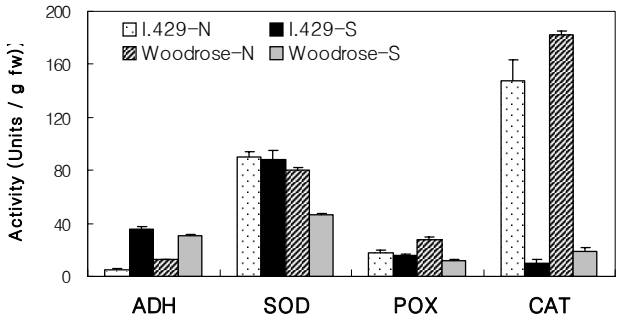


Fig. 4. Difference in each enzyme activities of two rice cultivars, Iksan429 and Woodrose under hypoxia conditions (Non-: N, and Submerged: S) at 7 days after treatment.

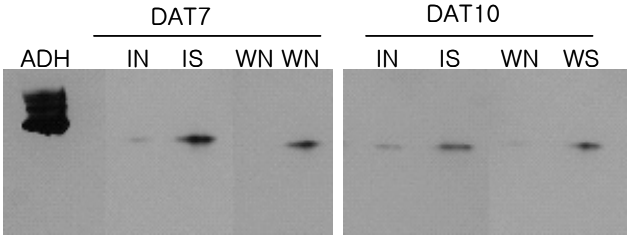


Fig. 5. ADH acitivities on native PAGE. ADH in lane 1 is purified yeast ADH from Sigma. IN (non-submerged Iksan429), IS (Submerged Iksan429), WN (non-submerged Woodrose), WS (submerged Woodrose), DAT7 (day after treatment), DAT10 (10 day after treatment).

하지만 산화스트레스 방어기작 이외에 조건에 따라 생육에 관여하는 역할이 다른 것으로 보이며 이에 관한 생리적 연구는 아직 미흡한 편이다.

이와 같이 담수 처리 시 초기생육이 비교적 우수한 익산429는 담수 중 생육 및 생존율이 낮았던 Woodrose에 비해 담수 처리시 ADH활성이 크게 증가하였으며 SOD와 POX 활성도의 감소율이 Woodrose에 비해 낮은 것으로 보아 담수 중 생존율이 높고 입모확보가 가능한 벼 담수직파 품종을 육성하기 위한 생리적 지표로 담수 처리 시 ADH활성이 오래 유지되어 에너지를 지속적으로 공급할 수 있어야하며 항산화효소인 SOD, POX활성이 비교적 높게 유지되는 품종을 선발하는 것이 유리하다고 생각된다. 그러나 담수 중 벼 입모에 관한 연구는 앞으로 더 우수한 유전자원을 찾아내야하며 이에 관한 생리적 연구가 더 필요하다.

적 요

상시담수 하에서 발아 및 안정적인 입모를 확보하는 것은 담수직파에서 매우 중요한 일이다. 일반적으로 담수 조건에서는 유묘생장이 억제되지만, 담수 처리 시 초기생육이 우수한 익산429와 담수 처리 시 생육이 저조하며 생존율이 낮은 Woodrose 2품종에 대해 발아 및 초기생육기간 담수 처리하여 혐기대사와 관련된 ADH활성과 항산화효소들의 변화를 관찰하였다.

1. 담수 처리 시 벼는 유아만 신장하며 뿌리는 신장하지 못했고, 익산429가 Woodrose보다 담수상태에서 생존기간이 길었고 생장도 빨랐다. 그러나 무 처리에서는 Woodrose의 생육이 빨랐다.

2. ADH활성은 담수 처리 시 무 담수에 비해 급격히 증가하였고, 익산429가 Woodrose보다 활성이 오래 유지되었는데, 처리 7일째는 익산429가 무처리에 비해 약 7배, Woodrose는 약 2.5배 증가하였다.

4. SOD, POX, CAT 활성 모두 담수 처리에서 무 담수보다 낮았다. 그러나 SOD는 담수시 무 담수에 비해 크게 활성이 낮지는 않았으며 품종 간에는 익산429의 활성이 무 담수 및 담수 처리 모두 Woodrose보다 높았고 담수 시에도 익산429가 Woodrose보다 높게 유지되었다. POX 활성변화는 담수시 익산429가 지속적으로 증가한 반면 Woodrose는 큰 변화가 없었다. CAT활성은 담수 처리 초기부터 아주 낮은 활성을 보여 처리기간 동안 거의 증가하지 않았으나 무 담수시에는 3일까지 활성이 크게 증가하였다.

따라서 담수 처리 시 발아 및 초기생육기간 동안 담수내성이 약한 품종에서 SOD와 POX의 역할이 크고 ADH활성이 높게 유지되어 에너지를 공급할 수 있는 품종이 담수 시 초기생육에 유리할 것으로 사료된다.

인용문헌

Alpi, A. and Beever, H. 1983. Effects of O^2 concentration on rice seedling. Plant Physiol. 71 : 30-34.

Amako, K., G. Chen, and K. Asada. 1994. Separate assays specific for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase in plants. Plant Cell Physiol. 35(3) : 497-504.

Beers, R., and I. Sizer. 1952. A Spectrophotometric Method for Measuring the Breakdown of Hydrogen Peroxide by Catalase. J. Biol. Chem.. 195 : 133.

Bergmeyer, H. U. 1974. Methods of enzymatic analysis 1, 2nd Ed.; Academic Press : New York. pp 495.

Blokhina, O. 2000. Anoxia and oxidative stress: Lipid peroxidation, antioxidant status and mitochondrial functions in

plants. Academic dissertation : University of Helsinky.
Blokhina, O., T. V. Chirkova and K. V. Fagerstedt. 2001. Anoxic stress leads to hydrogen peroxide formation in plant cell. J. Exp. Botany 52(359) : 1179-1190.
Blokhina, O., E. Virolainen, and K. V. Fagerstedt. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annals of Botany 91(2) : 179-194.
Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive for the quatitation of microgram quantitites of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72 : 248-254.
Fukao, T., K. N. Xu, P. C. Ronald, and J. Bailey-Serres. 2006. A variable cluster of ethylene response factor-like genes regulates metabolic and developmental acclimation responses to submergence in rice. Plant Cell 18 : 2021-2034.
Gabriel, O. 1971. Analytical disc gel electrophoresis. In W.B. Jakoby (ed), Methods in Enzymology, vol. 22; Academic Press : New York. pp. 565-577.
Gibbs, J., S. Morrell, A. Valdez., T. L. Setter, and H. Greenway, 2000. Regulation of alcoholic fermentation in coleoptile of two rice cultivars differing in tolerance to anoxia. J. Exp. Botany. 51(345) : 785-796.
Kato-Noguichi, H. and M. Morokuma. 2006. Ethanolic fermentation and anoxia tolerance in four rice cultivars. J. Plant Physiol. 164 : 168-173.
Kennedy, R. A., M. E. Rumpho, and T. C. Fox. 1992. Anaerobic metabolism in plants. 100 : 1-6.
Kim, K. Y., B. K. Kim, M. S. Shin, J. I. Chung, J. K. Ko, J. K. Kim, J. H. Lim, and S. J. Yun. 2004. Activity and isozyme profile of antioxidative enzymes at booting stage of rice treated with cold water. Kor. J. Crop Sci. 49(4) : 89-294.
Kuk, Y. I. and J. S. Shin. 2007. Cross-tolerance and responses of antioxidative enzymes of rice to various environmental stress. Kor. J. Crop Sci. 52(3) : 264-273.
Lasanthi-Kudahettige, R., L. Magneshi, E. Loreti, S. Gonzali, and F. Licausi. 2007. Transcript profiling of the anoxic rice coleotile. Plant Physiol. 144 : 218-231.
Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science. 7(9) : 405-410.
Monk, L. S., K. V. Fagerstedt, and R. M. M. Crawford. 1987. Superoxide dismutase as an anaerobic polypeptide: A key factor in recovery form oxygen deprivation in Iris pseudacorus?. Plant Physiol. 85 : 1016-1020.
Noctor, G., A. C. M. Arisi, L. Jouania, K. J. Kunert, H. Rennenberg, and C. Foyer. 1998. Glutathione: Biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants. J. Exp. Bot. 49 : 623-647.
Ricard, B., I. Couee, P. Raymond, P. H. Saglio, V. Saint-Ges, and A. Pradet. 1994. Plant metabolism under hypoxia and anoxia. Plant Physiol. Biochem. 32 : 1-10.
Ricard, B., B. Mocquot, A. Fournier, M. Delseny, and A. Pradet. 1986. Expression of alcohol dehydrogenase in rice embryo under anoxia. Plant Mol. Bio. 7 : 321-329.
Settler, T. L., M. Ellis, E. V. Laureles, E. S. Ella, D. Senadhira, S. B. Mishra, S. Sarkarung, and S. Datta. 1997. Physiology and genetics of submergence tolerance in rice. Annals of Botany 79(supplement A): 67-77.
Sharma, P. and R. S. Dubey. 2004. Ascorbate peroxidase from rice seedlings: properties of enzyme isoforms, effects of stresses and protective roles of osmolytes. Plant Science 167 : 541-550.
Shewfelt, R. L. and A. C. Purvis. 1995. Toward a comprehensive model for lipid peroxidation in plant tissue disorders. Hortic. Sci. 30 : 213-218.
Siangliw, M., T. Toojinda, S. Tragoonrung, and A. Vanavichit. 2003. Thai jasmine rice carrying QTLch9 (SubQTL) is submergence tolerant. Ann. Bot. (Lond) 91 : 255-261.
Toojinda, T., M. Siagliw, S. Tragoonrung, and A. Vanavicht. 2003. Molecular genetics of submergence tolerance in rice : QTL analysis of key traits. Ann. Bot. (Lond) 91 : 243-253.
Tadege, M., I. Dupuis, and C. Kuhlemeier. 1999. Ethanolic fermentation, new functions for an old pathway. Trends plant. Sci. 4 : 320-325.
Ushimaru, T., M. Shibasaka, and H. Tsuji. 1992. Changes in levels of heme a, protoheme and protochlorophyll (ide) in submerged rice seedlings after exposure to air. Plant Cell Physiol. 33 : 771-778.
Ushimaru, T., S. Kanematsu, M. Shibasaka, and H. Tsuji. 1999. Effect of hypoxia on the antioxidative enzymes in aerobically grown rice (*Oryza sativa*) seedlings. Physiol. Plant 107 : 181-187.
Vallee, B. and F. Hoch. 1955. Zinc, A Component of Yeast Alcohol Dehydrogenase , Proc. Natl. Acad. Sci. USA 41, 327-338.
Wayne, F., Jr. Beyer, and I. Fridovich. 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. Anal. Biochem. 161 : 559-566.
Winterbourn, C. C., R. E. Hawkins, M. Brian, and R. W. Carrell. 1975. The Estimation of Red Cell Superoxide Dismutase Activity. J. Lab. Clin. Med. 85 : 337.
Xu, K., X. Xu, T. Fukao, and P. Canlas, R. Maghirang-Rodrigquez, S. Heuer, A. M. Ismail, J. Bailey-Serres, P. C. Ronald, and D. J. Mackill. 2006. Sub1A is an ethylene-response factor like gene that confers submergence tolerance to rice. Nature 442 : 705-708.
손지영, 백만기, 고종철, 김보경, 신서호, 정진일, 이재길, 김정곤. 2006. 초기생육 동안 벼 품종간 peroxidase와 catalase 활성 변화, 한국작물학회, 304.