韓作誌 (Korean J. Crop Sci.) 34(3) : 270~273

벼의 冠水時 Peroxidase 活性度 및 Banding Pattern의 品種間 差異

姜良淳* · 南玟熙**

Varietal Differences of Peroxidase Activites and Banding Pattern of Rice Plants under Flooding

Yang Soon Kang* and Min Hee Nam**

ABSTRACT

This study was carried out to know the physiological characteristics related to flooding tolerance of rice plants. Peroxidase specific activities and banding pattern of peroxidase isozyme of 24 days old seedlings were analyzed after 3 days of flooding treatment in the artificial flooding tank.

Peroxidase activities of japonica rice varieties which were relatively susceptible to submergence were higher in comparison to those of Tongil and indica rice varieties. And a peculier band of peroxidase isozyme which was not shown in any part of rice plant if not flooded, was appeared at the around 9 of isoelectric point in the leaf blade of japonica rice varieties when flooded.

緖 言

벼는 浸水되더라도 葉先에서 뿌리까지 通導組織을 通하여 酸素의 移動이 可能하므로 다른 作物 보다는 濕害나 酸素 缺乏에 의한 障害를 덜 받는다. 그러나 稻體 全體가 물속에 完全히 잠기게 되는 冠水下에서는 大氣 酸素의 供給이 遮斷되어 물속에 녹아있는 溶存酸素와 體內의 組織에 貯藏되어 있었던 酸素에 依存하다가 그들이 점차 枯渴되면 體內 呼吸基質을 消耗하는 無機呼吸에 들어간다. 冠水抵抗性이 强한 벼 品種들은 冠水時 어느 生育段階 까지는 酸素를 消耗하는 것보다 放出하는 特性을 갖는 것으로 알려져 있다.[1,2]. 벼는 glycolic acid를 CO_2로 酸化하는 過程(glycolic acid pathway)에서 生成되는 H_2O_2를 Catalase에 의해서 H_2O와 O_2로 分解시켜 O_2를 生成하는 反面 Peroxidase(POD)는 H_2O로만 分解시켜 O_2 生成없이 H_2O_2量만 줄이게 되므로 O_2 生成面으로 보아 높은 POD 活性度는 冠水抵抗性에 不利한 條件으로 作用될 것이다. 따라서 本 硏究에서는 벼 品種의 冠水抵抗性 差異를 POD 比活性度와 POD Isozyme의 Banding Pattern 面으로 檢討코자 實施하였다.

材料 및 方法

統一型, 日本型, 印度型 벼 品種을 各各 5品種씩 Vat(38×48×9cm)에서 24日間 育苗하여 冠水處理施設에서 3日間 冠水處理한 後 뿌리와 葉身(上位葉)으로 分離 採取하였다. 採取한 各 試料에 10mM의 phosphate buffer(pH 6.0)를 磨碎한 다음 12,000×g에서 15分間 遠心分離하여 얻은 上澄液을 蛋白質含量, POD 比活性度 및 POD Isozyme 分析用 粗酵素液으로 利用하였다. 蛋白質含量은 Lowry 等의 方法[5]에 準하였으며 이때 使用된 標準蛋白質은 bovine serum albumin이었다. 또한 P-

*麥類硏究所(Wheat & Barley Research Institute, Suwon 440-440, Korea)
**嶺南作物試驗場(Yeongnam Crop Experiment Station, Milyang 627-130, Korea) 〈'89. 5. 6. 接受〉

OD 比活性度는 Worthington enzyme manual[8] 에 따라 水素供與體로 o-dianisidine을 使用하여 波長 460 nm에서 吸光度의 變化를 酵素活性度로 換算하였으며 酵素活性度 單位(Unit)는 30℃에서 1分當 1 μmol의 H_2O_2를 分解할 수 있는 酵素의 量을 1 Unit (U)로 表示하였다. POD Isozyme은 水平式 Slab Polyacrylamide Gel Isoelectric Focusing (PAGIF) 電氣泳動으로 하였다. 電氣泳動法은 pH Carrier로 1% Ampholine(LKB社)을 利用하였으며 Catholyte로는 $Ca(OH)_2$ 過飽和溶液을, Anolyte로는 0.1% 燐酸溶液을 各各 使用하였다. P-OD Isozyme Band의 確認은 TaO 等의 方法[7] 에 따라 電氣泳動한 後 Gel을 먼저 0.1 M Sodium Acetate Buffer(pH 5.0)에서 30分間 前處理한 다음 2.4 mM H_2O_2, 0.4 mM o-dianisidine이 含有된 50 mM Potassium phosphate buffer(pH 6.0)의 酵素 反應液에서 1時間 程度 發色시켰다.

結果 및 考察

1. Peroxidase 比活性度

稻體의 代謝過程에서 酸素 生成을 적게 하여 冠水抵抗性을 不利하게 할 것으로 보이는 POD 比活性度를 보면 表 1에서와 같이 冠水處理 與否에 關係없이 葉身部位에서 보다 뿌리部에서 훨씬 높은 特性을 보였다. 그러나 冠水處理에 따른 뿌리部와 葉身部에서의 POD 反應은 相異하여 冠水하지 않은 正常環境에서 보다 冠水處理된 稻體의 뿌리에서는 약간 낮아지는 경향을 보인 반면에 葉身에서는 현저히 높아졌다. 葉身은 冠水되지 않은 正常環境下에서 大氣酸素의 擴散이 容易하여 組織中 酸素含有量이 가장 높은 好氣狀態에 있는데 반하여 뿌리는 항시 地下 및 湛水條件인 嫌氣狀態로 있어 湛水로 因한 酸素供給이 遮斷될 때 뿌리에서 보다 葉身部에서는 酸素缺乏에 對한 耐性이 적어질 것이고 P-OD 活性도 增加되어 酸素缺乏을 加重시켜 冠水抵抗性을 줄이는 한 要因으로 作用할 것이다.

한편 品種別로는 冠水抵抗性이 相對的으로 弱한 日本型品種들이[4] 統一型이나 印度型品種들보다 冠水處理 與否에 關係없이 POD 比活性度가 높았고 特히 葉身部位에서 현저하였다. 또한 冠水抵抗性이 極히 强한 것으로 알려진 "FR-13A" 品種[2,3]은 뿌리 部位에서 無冠水時에는 아주 높은 POD 活性을 갖게 되나 冠水時에는 현저히 낮아지는 特性을

Table 1. Peroxidase specific activity of rice varieties at 24 days old seedling according to the submerging

Variety	POD activity (U/mg of protein)			
	Root		Leafblade	
	Not submer ged	Submerged	Not submerged	Submerged
Ind. x Jap. varieties				
Namyeongbyeo	3.75	3.10	0.21	0.93
Singwangbyeo	2.82	2.24	0.17	0.60
Samgangbyeo	3.51	2.59	0.31	1.18
Gayabyeo	4.30	3.58	0.16	0.98
Taebagbyeo	2.74	2.73	0.16	0.59
Average	3.42	2.85	0.20	0.86
Jap. varieties				
Dongjinbyeo	4.55	3.46	0.32	1.46
Seomjinbyeo	4.32	3.90	0.38	1.35
Nagdongbyeo	4.39	3.86	0.34	1.24
Palgongbyeo	3.57	3.00	0.45	1.63
Chucheongbyeo	3.82	4.93	0.37	1.30
Average	4.13	3.83	0.37	1.40
Ind. varieties				
Khaodawk mali-105	3.00	2.43	0.21	1.03
RD-7	4.06	4.00	0.20	0.64
IR 60	3.40	3.56	0.16	0.78
IR 42	4.14	2.12	0.13	0.57
FR 13A	5.00	2.50	0.22	0.92
Average	3.92	2.92	0.18	0.79

보였다.

2. Peroxidase Isozyme의 Banding pattern

前述한 바와 같이 冠水抵抗性이 强한 品種은 冠水處理 與否에 關係없이 POD 比活性度가 낮은 特性을 보였는데 이러한 結果는 品種 固有의 特性으로 볼 수도 있을 것이므로 그림 1에서는 冠水處理 與否에 따른 POD 同位酵素의 Banding pattern으로서 品種間 冠水抵抗性 差異를 POD 活性과 關聯하여 檢討하였다. 그 結果 冠水處理된 葉身部의 POD 同位酵素는 그림에서와 같이 진하게 染色되어 活性이 높음을 알 수 있고 뿌리部에서는 약간 活性이 떨어져 POD 比活性度와 거의 같은 경향을 보였다. 品種別로 POD Isozyme의 Banding pattern을 보면 無冠水時 稻體의 뿌리部와 葉身部 모두 日本型品種들은 統一型이나 印度型品種에서 보다 活性이 높은 同位酵素가 等電點이 낮은 Major band (←表示)로 出現되었으나 冠水處理時 뿌리部에서는 日本型品種에서만 나타나고 葉身部位에서는 모든 供試에서 똑같이 出現되었다. 따라서 이 Band는 모든 品種에서 遺傳的으로 存在함을 알 수 있고 다만 冠水處理에 따른 Activation 程度를 달리하는 것으로 나타나서 冠水抵抗性의 弱化와 關聯이 있을 것으로 推定할 수는 있겠으나 이 Band의 出現 與否 만으로는 品種間 抵抗性의 差異를 區分키는 어려웠다. 그러나 冠水處理된 日本型品種들의 葉身部에서는 統一型과 印度型品種에서는 나타나지 않았던 特異 Band(← 表示)가 pH 9 附近의 높은 等電點을 가지면서 活性이 强하게 나타나서 冠水反應에 對한 POD 同位酵素의 Banding pattern에 있어서 明確한 差異를 보였다.

따라서 POD 同位酵素의 Banding pattern과 POD 比活性度를 關聯시켜 볼 때 모든 供試品種中에서도 日本型品種의 冠水處理된 葉身에서만 나타난 特異 Band 以外에는 거의 같은 Banding pattern을 보였으므로 冠水抵抗性이 낮은 日本型 品種들의 높은 POD 比活性度는 이 特異 Band의 活性에 基因된 것으로 보이므로 이 Band의 出現 與否로 冠

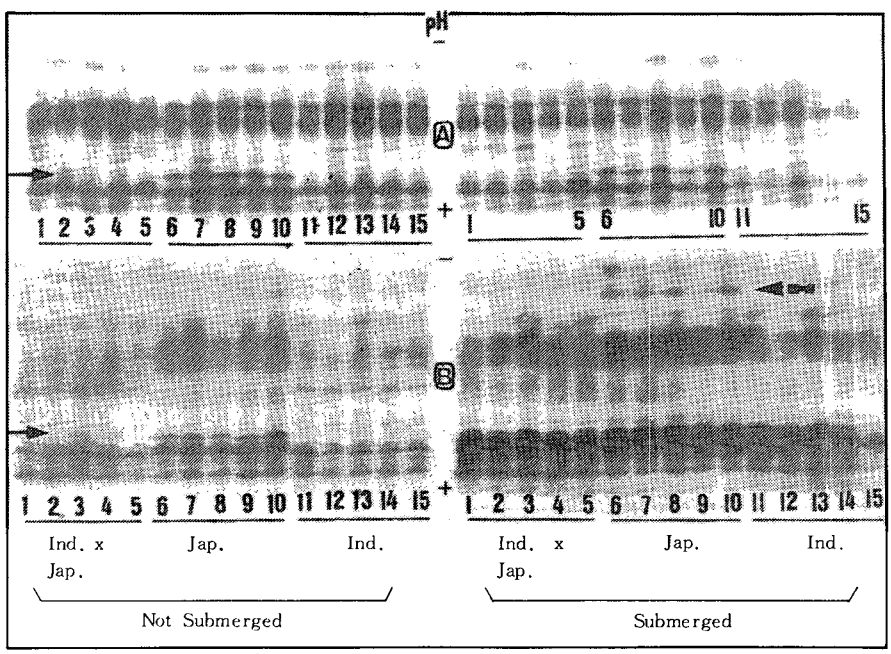

Fig. 1. Varietal differences in PAGIF patterns of peroxidase isozymes (pH 3.5-9.5) of the rice plants when 24 days old seedlings were submerged for 3 days.
A : Root B : Leaf blade
1. Namyeongbyeo 6. Dongjinbyeo 11. Khaodawk mali-105
2. Singwangbyeo 7. Seomjinbyeo 12. RD-7
3. Samgangbyeo 8. Nagdongbyeo 13. IR 60
4. Gayabyeo 9. Palgongbyeo 14. IR 42
5. Taebagbyeo 10. Chucheongbyeo 15. FR 13A

水抵抗性 判斷이 可能할 것으로 보이나 今後 이 B-and의 出現 與否에 關해서는 더 깊은 硏究가 이루어져야 할 것으로 본다.

摘 要

벼 品種의 冠水抵抗性 關聯 特性을 檢討코자 24日苗를 3日間 冠水處理하여 뿌리와 葉身의 POD 比活性度 및 POD 同位酵素들을 PAGIF法으로 電氣泳動하여 본 結果 冠水抵抗性이 相對的으로 弱한 日本型品種들은 統一型이나 印度型品種들보다 POD 比活性度가 높았으며 또한 冠水處理로 日本型品種들의 葉身部에서는 無冠水時 어느 部位에서도 나타나지 않았던 POD 同位酵素의 特異 Band가 等電點 9 附近에서 出現하였다.

引 用 文 獻

1. International Rice Research Institute, 1985. Factors affecting elongation of deepwater rice under sumbergence. IRRI. Annual report. 92-94.
2. IRRI [Int. Rice Res. Inst.] 1982. Annual report 1981. Los Banos, Philippines. 117p.
3. IRRI [Int. Rice Res. Inst.]. 1983. Annual report 1982. Los Banos, Philippines. 111p.
4. Kang, Y.S., E.S. Yang, Y.T. Jung and G. S. Chung 1988. Effects of flooding treatment on physiological characteristics of rice cultivars. Korean J. Crop Sci. 33(2) : 189-194.
5. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A. L., and R.J. Randall. 1951. Protein measurment with folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193 : 265-275.
6. Mazaredo, A.M. and B.S. Vergara. 1981. Physiological differences in rice varieties tolerant of and susceptible to complete submergence. Proceedings of the 1981 international deepwater rice workshop. LosBanos, Laguna, Phillippines. 327-341 in IRRI.
7. Tao, K.L. and A.A. Khan. 1976. Changes in isoperoxidases during cold treatment of dormant pear embryo. Plant physiol., 57 : 1-4.
8. Worthington enzyme manual 1972. Worthington Biochemical Crop. Freehold, New Jersey. pp. 41-45.
9. Yamada, N., Y. Ota and A. Osada. 1953. Physiological basis of resistance of rice plants for submersion under water. Jap. J. Crop Sci. 23(3) : 155-161.