

식물의 냉해에 대한 생체방어기구로서 항산소성 효소의 유도 : (I) 저온처리중 pyruvate의 세포내 축적과 상온환원후 항산소성 효소의 활성화

김종평 · 한창균 · 정진
서울대학교 농과대학 농화학과

초록 : 식물의 저온 스트레스와 이에 대한 방어체계의 기작론적 측면을 탐색하기 위하여, 냉해유발조건하에서 세워둔 식물(주로 3-4엽기의 벼 유묘)을 대상으로 하여 조직중 pyruvate 함량, superoxide(O_2^-) 수준 및 항산소성 효소들의 활성을 경시적으로 측정하였다. 저온($5^\circ C$)처리동안에 엽조직에는 현저한 pyruvate 축적이 일어났으며, 그 상대적 축적량은 처리시간의 경과에 따라 증가하였다. 그러나 저온처리된 식물을 상온하에 옮겨 놓았을 때 축적된 pyruvate는 곧 소진하기 시작하였으며 이와 동시에 조직내 superoxide(O_2^-)수준이 상승하기 시작하였다. 아울러, 몇시간 정도의 lag time을 가지며 superoxide dismutase(SOD)와 catalase의 활성도 증가하였다. 이에 반하여 또다른 항산소성 효소인 Glutathione peroxidase는 활성화 현상을 전혀 보이지 않았다. 뿌리를 통해서 외부로부터 공급된 superoxide(O_2^-)는 뿌리 조직내의 SOD와 catalase의 활성을 유도하였다. 한편 H_2O_2 공급이 조직내 catalase는 활성화시켰으나, 역시 glutathione peroxidase에 대해서는 어떤 영향도 미치지 않았다. 위의 모든 결과들은 저온처리중에 일어난 pyruvate의 세포내 축적이 상온으로 환원된 조직내에서 superoxide(O_2^-) 및 이로부터 이차적으로 생성된 활성산소를 과잉발생시키는 직접적 원인이라는 사실과, 두 항산소성 효소(SOD와 catalase)가 활성산소를 중간매체로 하여 일어나는 것으로 해석되는 식물냉해로부터 세포를 보호함에 있어서 결정적인 역할을 담당하고 있다는 사실을 강력히 시사하였다.

고등식물의 냉해기작에는 세포 생체막 특히 미토콘드리아막의 상전이(phase transition)를 최초과정으로 하여 세포 및 조직의 손상으로 나타나는 냉해발현의 말기적 과정에 연계되는 이차적 과정으로서 superoxide radical(O_2^-)의 비정상적 과잉생성 반응이 존재한다는 관찰사실을 토대로 하여 본 연구실에서는 다음과 같은 냉해기작을 제안한 바 있다¹⁾. 즉, 식물세포가 미토콘드리아막의 상전이 온도보다 낮은 온도 환경하에 놓이게 되면 미토콘드리아막에는 상전이가 일어나며^{2,3,4,5)}, 이러한 막의 상전이는 막결합 호흡계 효소의 활성전이를 일으킬 뿐만아니라 아울러 막수송활성의 저해를 일으켜 결과적으로 세포대사(glycolysis → TCA cycle → respiration)의 동적평형의 파괴를 초래하게 된다. 이와 같은 에너지 대사의 균형

파괴는 세포질에서 진행되는 해당반응계의 생성물들, 특히 최종 생성물인 pyruvate의 축적을 야기하게 된다. 저온처리된 식물세포가 상온하에 다시 놓이게 되면 막의 활성은 곧 정상으로 회복되며, 따라서 과다축적된 pyruvate는 미토콘드리아 내부로 들어가 TCA cycle을 거쳐 빠르게 산화되므로서 결과적으로 호흡계 전자공여체(NADH 및 succinate)가 짧은 시간내에 이용 가능수준 이상으로 생성된다. 따라서 전자공여체로부터 과잉으로 공급되는 전자들중 상당한 양은 호흡에 정상적으로 이용되는 대신 호흡계에서 일어나는 전자전달의 부분(Complex I, II 및 III를 통하여 일어나는 $O_2 + e^- \rightarrow O_2^-$)을 거쳐 소모됨으로써, 결국 O_2^- 의 과잉생성을 가져올 것이다. (여기서 O_2^- 의 과잉생성 이라함은 세포내에 내재되어 있는 O_2^- 제거 시스템 예

Key words: Pyruvate accumulation, superoxide radical, activated oxygen, antioxygenic enzymes, low temperature stress, defense system

Corresponding author : J. Jung

컨대 항산화제나 superoxide dismutase(SOD) 등이 처리할 수 있는 수준이상의 생성을 의미한다). O_2^- 는 여러가지 세포성분물질들에 대한 강한 화학적 파괴력을 가지고 있으므로^{6,7,8)}, 과잉생성된 O_2^- 에 의한 세포독성을 냉해발현의 직접적 화학적 요인이라고 우리는 해석하였다.

본 연구는 이와같은 가정적 기작이 합리적인가를 밝히기 위하여 수행되었으며, 특히 저온처리중에 식물조직내에 pyruvate가 축적되었는가? 저온처리된 식물을 상온하에 옮기면 축적된 pyruvate의 수준이 감소함과 아울러 O_2^- 발생수준이 상승하는가? O_2^- 수준변화와 항산소성 효소 활성변화간에 상관성이 있는가? 따라서 항산소성 효소의 유도(또는 활성화)는 냉해에 대한 생체방어 수단인가? 등의 문제들에 초점을 맞추어 실험을 수행하였으며, 그에 대한 실험결과를 보고한다.

재료 및 방법

시료, 시약 및 기기

공시작물은 벼(원풍벼), 호박(중앙종묘 쥬키니 호박) 및 오이(홍농 백다다기 오이)였다. 3일간 침지시킨 벼 종자를 3점의 휴지 또는 논토양을 칸 tray에 파종하여 15일간 재배하였고, 호박과 오이의 경우는 pot 재배하여 5엽기때 실험에 이용하였다.

재배된 유묘를 암조건하의 5°C chamber 내에 24시간 또는 48시간 동안 세위원 다음 상온(~25°C)의 암소에 옮겨 방치하면서 경시적으로 시료(벼 유묘의 상부조직, 뿌리 및 호박과 오이의 잎)를 채취하였으며, 동시에 냉해발현여부를 육안관찰하였다. 시약은 EP 내지 GR grade의 Wako(Osaka, Japan), Fluka(Buchs, Switzerland) 및 Sigma(St. Louis, MO)사들의 제품이었으며, 효소들은 모두 Sigma사에서 구입하였다. 흡수 스펙트라와 흡광도 측정에는 Cary 118C spectrophotometer(Varian, Palo Alto, California)를, 그리고 효소(catalase 및 glutathione peroxidase) 측정에는 본 연구실에서 제작한 DC polarograph를 이용하였다⁹⁾.

Superoxide(O_2^-)의 분석

벼 유묘의 상부조직 5g을 절취하여 4°C 정도의 grinding medium(50mM K-phosphate, 0.1mM Na_2 -EDTA, pH 7.8) 50ml와 50mM KCN 5ml를 첨가하여 마쇄하고 cheese cloth로 짜낸 다음 원심분리(22,000g, 5분)하여 그 상정액을 즉시 O_2^- 분석에 사용하였다. O_2^- 의 분석은 introblue tetrazolium(NBT)을 이용하여¹⁰⁾ 다음과 같이 수행하였다. 0.1mM NBT 용액 0.5ml, grinding medium 0.8ml 및 조직추출액 1ml를 잘 섞은 다음 추

출액중의 O_2^- 에 의해 환원된 NBTH₂(formazan)를 5ml chloroform으로 추출(이때 수용액중과의 효율적인 층분리를 위해 10% NaCl 용액 2ml를 가하였다)한 후 530nm에서의 흡광수도를 측정하여 O_2^- 를 정량하였다.

Pyruvate의 분석

벼 유묘의 상부조직 10g을 인산 buffer(50mM K-phosphate, pH 7.8) 50ml중에서 마쇄하여 cheese cloth로 짜낸 다음, 마이크로파 조사(100초간)로서 pyruvate 및 NADH를 소모시킬 수 있는 효소들을 일단 열불활성화시켰다. 이 것을 원심분리(22,000g×10분)한 후 그 상정액을 분석에 사용하였다. pyruvate의 분석은 조직 추출액에 NADH와 lactate dehydrogenase(LDH)를 첨가할 때 일어나는 NADH의 환원반응에 수반되는 340nm에서의 흡수도 감소를 측정하여 이로부터 pyruvate 양을 계산하였다^{11,12)}. 반응계의 조성 과 혼합순서는 조직추출액 1ml, 1.6mM NADH 0.1ml, 30 units / ml LDH 0.1ml 및 grinding buffer 0.8ml이었다.

효소 추출액의 준비 및 항산소성 효소의 활성측정

시료 5g을 grinding medium 50ml 중에서 마쇄하여 조음과처리(110micron, 20초×3회)한 다음 원심분리(18,000g×15분)하여 그 상정액(효소추출액)을 SOD, catalase 및 glutathione peroxidase의 활성측정에 사용하였다.

SOD의 활성측정 : grinding medium에 용해시킨 xanthine 용액(5×10^{-5} M) 0.6ml에 2mM NBT 0.2ml, 효소추출액 0.1ml 및 xanthine oxidase용액(0.03unit / ml) 0.1ml를 가한 후 NBT 환원속도를 530nm의 흡광도 변화를 이용하여 측정하고, 다시 상기 반응계의 조성에서 효소추출액 대신 grinding medium을 첨가한 혼합용액의 NBT 환원속도를 측정한 다음, 두 측정치의 차이로부터 SOD의 활성(상대적 활성)을 구하였다. SOD에 의한 O_2^- 의 dismutation때문에 NBT의 환원에 필요한 O_2^- 가 소모되므로 SOD의 활성이 클수록 그만큼 NBT의 환원량이 감소된다는 사실에 기초하여 Britton등¹³⁾이 기술한 과정에 따랐다.

Catalase의 활성측정 : Rigo와 Rotlio¹⁴⁾의 방법에 준하여 수행하였다. 질소 가스로 미리 산소를 제거한 인산 buffer(50mM K-phosphate, pH 7.0) 2ml, 조직추출액 50 μ l 및 0.1M H_2O_2 0.2ml를 polarographic cell에 넣고 질소로 다시 bubbling한 다음, catalase의 H_2O_2 분해반응 ($2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$) 결과 발생하는 O_2 의 생성속도를 20°C하에서 polarograph로 측정하였다.

Glutathione peroxidase의 활성측정: Colowick와 Kaplan¹⁵⁾이 기술한 과정을 약간 변형하여 다음과 같이 측정하였다. reaction medium(4mM NaN₃, 100 mM K-phosphate, 1mM Na₂-EDTA, pH 7.0) 0.5ml, 효소 추출액 0.5ml, 및 8mM glutathione(GSH) 0.5 ml를 섞고 37°C에서 10분간 세워둔 다음 10mM H₂O₂ 0.5ml를 첨가하여 정확히 3분간 반응시킨 후 1.2M HClO₄ 0.5ml를 가하여 반응을 정지시켰다. 이것을 다시 상온에 3분간 방치하여 식힌 후 3분동안 질소 bubbling으로 산소를 제거시킨 다음 이중 2ml를 취하여 polarograph cell에 넣고 -0.3V(vs. saturated HgSO₄ electrode, 0.1M K₂SO₄)에서 GSH농도에 비례하는 확산전류를 측정하므로써 반응하지 않고 남아있는 GSH 양([GSH]_t)를 구하였다. 상기한 반응계에서 효소 추출액 대신 reaction medium을, 그리고 incubation 전에 HClO₄와 H₂O₂를 첨가하여 측정한 확산전류로부터 zero time에서의 GSH 양([GSH]₀)을 구하였으며, 또한 비효소적 GSH 산화를 보정하기 위하여 단지 효소 추출액만을 reaction medium으로 대체시킨 후 위와 같은 방법으로 남아 있는 GSH 양([GSH]_s)을 구하고 이들로부터 다음식에 의하여 효소의 상대적 활성(A)을 계산하였다.

$$A = \log\left(\frac{[GSH]_0}{[GSH]_t}\right) - \log\left(\frac{[GSH]_0}{[GSH]_s}\right)$$

catalase에 의한 H₂O₂의 분해는 reaction medium에 들어 있는 N₃⁻에 의해 저해되었다.

결과 및 고찰

저온(5°C) 암소에서는 벼 유탄을 일주일 정도 방치하여도 외형상 냉해발현의 특징적 증상이 보이지 않는다^{1,16)}. 그러나 이동안에 잎조직에 pyruvate의 수준은 괄목할 만큼 상승하였으며, 저온처리 기간과 축적된 pyruvate의 함량간에는 정의 상관관계를 보여, 6일 처리구에서 대조구에 비하여 약 3배 정도의 증가가 관찰되었다(Fig. 1). 일단 저온처리된 유탄을 상온(25°C) 암소하에 옮긴 다음 조직내 O₂⁻ 수준이 최고치에 달하는 것으로 밝혀진¹⁾ 10시간후에 O₂⁻를 분석하였던 바, 저온처리기간에 따라 증가된 조직내 pyruvate 축적량과 상온하에서 생성된 O₂⁻발생수준간에는 거의 일차함수관계로 해석될 만한 상관관계가 성립되었다(Fig. 2). 이 두가지 실험결과는 저온하에서는 미토콘드리아막의 상전이에 따른 생리적 기능의 저해가 세포질에서 진행되는 해당반응과 미토콘드리아에서 진행되는 해당반응이후의 대사과정(TCA+호흡반응) 사이에 동적균형의 파괴를 초래하므로써 pyruvate가 정상수준이상으로 축적되었다가 상온으로 옮겨진 상황에서(서론에서 이미 가정하였던 대로) 고수준의 O₂

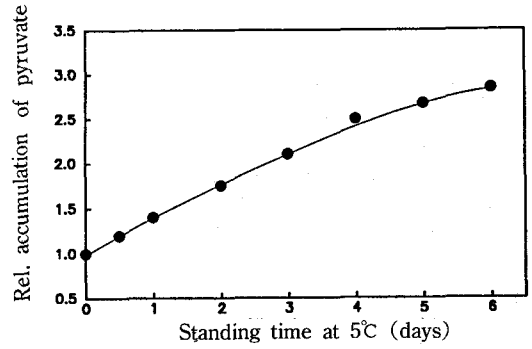


Fig. 1. Relative accumulation of pyruvate in the shoots of rice seedlings as a function of time cold treatment.

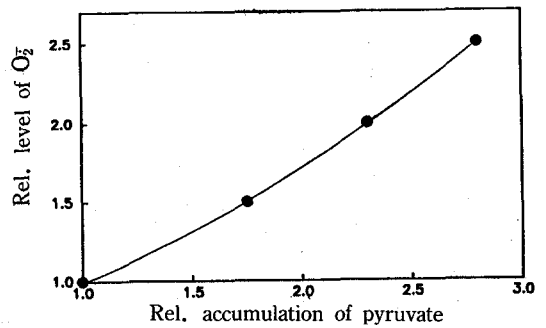
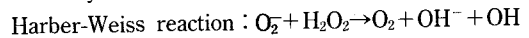
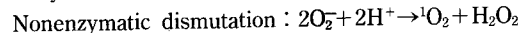
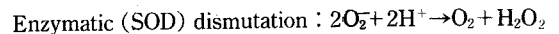


Fig. 2. Relationship between relative pyruvate accumulation in shoots during the cold treatment of rice seedlings and relative levels of O₂⁻ measured in 10 hrs after cold treatment.

생성으로 연계되었음을 시사하는 것이다.

O₂⁻는 그 자체로서 세포성분에 대한 화학적 파괴력을 보유하지만 다음과 같은 반응을 통해서 또다른 활성 산소종, 예컨대 과산화수소(H₂O₂), hydroxyl radical (·OH) 및 singlet oxygen(¹O₂)의 전구물질이 된다^{6,17,18)}:



그러므로 설명 O₂⁻에 대해서는 상당한 안정성을 보이는 물질이라 할지라도 이와같이 이차적으로 생성된 다른 산소화합물들에 의한 산화적 파괴에 노출될 가능성은 매우 높다. 따라서 O₂⁻의 과잉생성은 세포 산소독성의 직접적 요인이 되며 이것이 곧 냉해증상이라는 종말적 현상으로 연계되는 세포구성물질의 변형, 파괴 및 기능상실을 야기한다고 볼 수 있겠다. 한편, 식물체는 이러한 활성산소의 과잉발생에 대처하기

위하여 어떤 대응 시스템을 갖추고 있을 것이며^{19,20)}, 이에는 항산화제를 이용한 일차적 방어와 항산소성 효소의 유도를 통한 보다 적극적인 대응을 상정할 수 있다. $\cdot OH$ 와 1O_2 에 대해서는, 이들을 기질로 하는 (소거하는) 효소가 존재하는지 여부가 아직까지 밝혀지지 않았을 뿐만 아니라 이들의 수명이 극히 짧기 때문에 효소적 대응을 기대하기는 어려우며 그대신 세포내 내재된 항산화제에 의한 화학적 소거가 방어 수단의 핵심을 이루리라고 상정되며, 항산화제의 생합성 효소계를 활성화함으로써 $\cdot OH$ 와 1O_2 에 대한 이차적인 효소적 대응도 물론 가정할 수 있다. 이에 반해 O_2^- 와 H_2O_2 에 대해서는 세포내에 잘 알려진 항산소성 효소들(예컨대 SOD, catalase, glutathione, peroxidase)이 존재하므로 이들이 아마도 대응수단의 요체가 될 가능성이 높다.

Fig. 3에 비 유묘의 온도처리(저온처리후 상온처리) 중 pyruvate의 함량, O_2^- 의 발생수준 및 항산소성 효소들의 활성의 경시적 변화를 도시하였다. 저온처리 시간의 경과에 따라 증가하 유묘 조직내 pyruvate의 양은 상온으로 옮김과 동시에 감소하기 시작하였으며 또한 이와 동시에 O_2^- 의 수준은 상승하기 시작하였다. 이는 Fig. 2의 결과가 이미 시사하였던 바 있듯이 저온

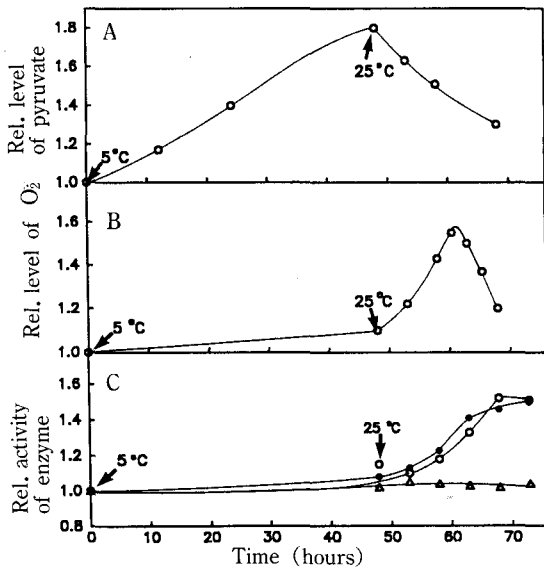


Fig. 3. Changes in relative level of pyruvate accumulation(A), superoxide radicals(B), and antioxidant enzyme activities(C) in the shoots of rice seedlings during the period of exposure to a low temperature followed by room temperature.

In (C), SOD : ●-●, catalase : ○-○, and glutathione peroxidase : △-△

하에서 축적된 pyruvate가 상온으로 환원된 식물체 내에서 O_2^- 과잉발생의 직접적 요인이 되었음을 다시 확인시킨 결과이다. 상온으로 옮긴 다음 약 10시간 전후하여 최고치에 도달한 O_2^- 수준이 그후 크게 하락하는 현상은 SOD의 유도에 의한 O_2^- 의 효소적 dismutation에 결과로 해석되는 것은 전보¹⁾에서 보고한 바와 같으나, catalase의 경우도 SOD와 유사한 양상의 활성화변화곡선을 보이는 것은(Fig. 3(C)) dismutation을 통해 이차적으로 생성된 H_2O_2 (catalase의 기질)에 의해 catalase가 유도된 결과일지도 모른다는 가정을 가능케 한다. 한편 catalase의 유도(또는 활성화)가 SOD의 그것보다 약 2-3시간 늦게 일어나는 현상도 같은 측면에서 해석할 수도 있다. glutathione(GSH)를 과산화시킴으로써 H_2O_2 를 소거하는 항산소성 효소인 glutathione peroxidase는 SOD와 catalase와는 달리 저온처리과정에 걸쳐 전혀 활성변화를 보이지 않았다. 이는 이 효소가 기질유도성 효소가 아님을 뜻한다고 해석된다. 항산소성 효소들의 온도처리에 따른 경시적 활성변화 양상은 호박잎과 오이잎에서도 비 유묘의 경우와 매우 유사하였다(Fig. 4).

앞에서 저온처리된 식물체를 상온하에 옮겨둘때 보여준 SOD 및 catalase의 활성화 현상을 기질에 의한 효소 유도라고 잠정적으로 해석하였으나 이를 지지할 직접적 증거는 아직 없다. 따라서 이러한 잠정적 해석의 타당성을 확인하기 위하여 O_2^- 및 H_2O_2 를 뿌리 흡수를 통해 직접 식물체에 공급할 때 뿌리조직중에서 항산소성 효소들이 유도되었는지를 조사하였다. O_2^- 는

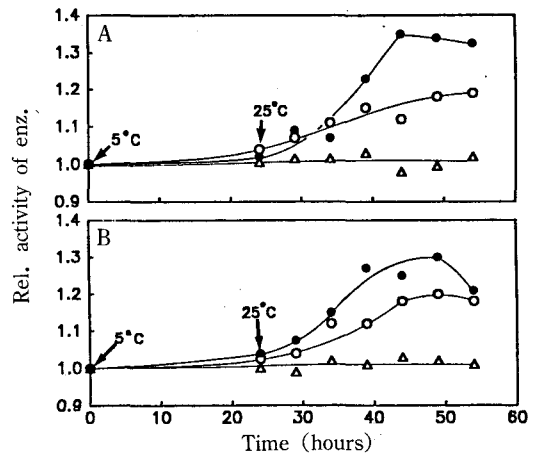


Fig. 4. Changes in relative activities of antioxidant enzymes in the leaves of zucchini(A) and cucumber (B) during the period of exposure to low temperature followed by room temperature.

SOD : ●-●, catalase : ○-○, and glutathione peroxidase : △-△

xanthine/xanthine oxidase system을 이용하여 벼 유묘를 수경재배하는 수용액중에서 생성시키고 H₂O₂는 묽은 용액을 직접 첨가하므로써 이를 활성산소가 뿌리가 흡수하도록 한 다음(1시간 처리) 뿌리조직 추출액중 항산화 효소들의 활성을 경시적으로 측정하였던 바, Fig. 5(A)에서 보여주는 바와같이 O₂ 공급구에서는 먼저 SOD가 10시간후에 최대치(약 25%)의 활성 증가를 보인 후 서서히 낮아졌다. catalase의 활성화가 SOD보다 늦게 일어나는 현상은 Fig. 4(C)

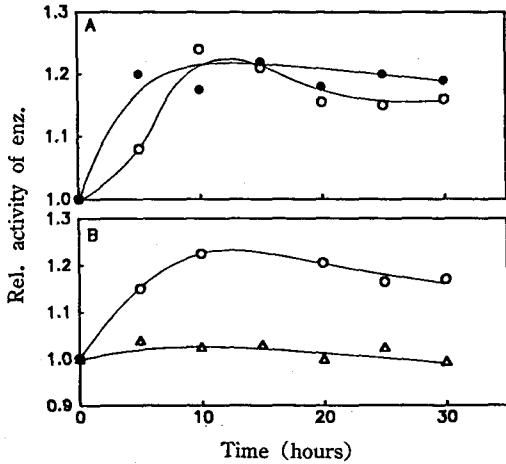


Fig. 5. Effect of O₂(A) and H₂O₂ on the activities of SOD : ●-●, catalase : ○-○, and glutathione peroxidase : △-△ in the roots of the water-cultured rice seedlings.

O₂ was supplied by xanthine(5×10⁻⁵ M)/xanthine oxidase(1.6 unit/ℓ) system to the root, and H₂O₂ solution(10 mM) was directly added to the water pot.

에서 보인 결과와 유사하며, 이로서 O₂의 효소적 dismutation에 의해 생성된 H₂O₂가 catalase를 유도한다는 앞에서의 가정은 상당한 신빙성을 갖는 것으로 보인다. 한편 뿌리에 직접 공급된 H₂O₂는 예상한대로 catalase의 활성화를 유도하는데 반해, 역시 glutathione peroxidase의 활성화에는 어떤 영향을 미치지 않았음을 Fig. 5(B)의 결과가 보여준다. 따라서 최소한 식물세포중에 glutathione peroxidase는 기질 유도성 효소가 아니며, 냉해에 대해 능동적으로 대응하는 방어 시스템의 구성요소가 아니라는 사실이 분명한 듯하다.

이상의 모든 결과들을 종합하여 다음과 같은 몇가지 결론을 내릴수 있을 것이다. 미토콘드리아막의 상전이 가 일어나는 저온에 노출된 식물세포내에 pyruvate의 축적이 일어난다. 이 축적이 상온으로 환원된 (따라서 막은 다시 정상상태의 액체결정상으로 바뀐) 세포에서 O₂ 과잉생성의 직접적 요인이 된다. 과잉 생성된 O₂는 그 자체로서 뿐만 아니라 다른 종류의 활성산소로 변형된 후에 세포 구성물질들에 대한 강력한 화학적 파괴인자로 작용함으로써 세포기능의 저해 및 상실을 초래하여 결과적으로 냉해발현이라는 가시적 증상을 야기시킨다. 식물세포는 과잉생성된 O₂ 및 이로부터 이차적으로 생성된 H₂O₂에 대하여 SOD 및 catalase의 유도로서 대응한다. 따라서 이들 항산화 효소는 냉해에 대한 생체방어기구의 요체일 것이라는 잠정적 제안을 할 수 있겠다.

감사의 말

본 연구는 '88년도 대학발전기금 대우학술연구비의 지원에 의하여 이루어졌으며, 이에 감사의 말씀을 드립니다.

참고문헌

1. 김종평, 현일, 정진 : 한국농화학회지, 30(4): 364 (1987)
2. J.K. Raison, J.M. Lyons, R.J. Melhorn, and A.D. Keith : J. Biol. Chem., 246: 4036 (1971)
3. J.K. Raison, J.M. Lyons, and W.W. Thomson : Arch. Biochem. Biophys., 142: 83 (1971)
4. J.M. Lyons : Ann. Rev. Plant Physiol., 24: 445 (1973)
5. J.M. Lyons, J.K. Raison, and P.L. Stopnikus : In 'Low temperature stress in crop plant' (J.M. Lyons, D.Graham, and J.K. Raison, ed.), pp.1-24 (1979)
6. E.F. Elstner : Ann. Rev. Plant Physiol., 33: 73 (1982)
7. I. Fridovich : Science, 201(8): 875 (1978)
8. Y.A. Vladimiro, V.I. Olenev, T.B. Suslova, and Z.P. Cheremisina : Adv. Lipid Res., 17: 173 (1980)
9. 정진, 박상규, 이상기, 김세호 : 한국농화학회지, 28(4): 171 (1985)
10. C. Auclair, M. Torres, and J. Haikim : FEBS Letters, 89(1): 25 (1978)
11. P. Dawkins and F. Dickens : Biochem. J., 94: 353 (1965)

12. P. M. Simcox, E. E. Reid, and D. T. Dennis : *Plant Physiol.*, 59 : 1128 (1977)
13. L. Britton, D. P. Malinowski, and I. Fridovich : *J. Bacteriol.*, 134 : 229 (1978)
14. A. Rigo and G. Rotlio : *Anal. Biochem.*, 81 : 151 (1977)
15. S. P. Colowick and N. O. Kaplan : *Meth. Enz.*, 105 : 114 (1984)
16. 한창균 : 서울대학교 석사학위논문 (1988)
17. W. H. Koppenol : *Nature*, 262 : 420 (1976)
18. B. H. J. Bielski, R. L. Arudi, and M. W. Sutherland : *J. Biol. Chem.*, 258 : 4759 (1983)
19. R. R. Wise and A. W. Waylor : *Plant Physiol.*, 83 : 278 (1987)
20. E. W. Kellogg III and I. Fridovich : *J. Biol. Chem.*, 250 : 8812 (1975)

Induction of antioxygenic enzymes as defense systems in plant cells against low temperature stress : (I) Accumulation of pyruvate in cells during cold treatment and activation of antioxygenic enzymes during post-chilling period

Jong-Pyung Kim, Chang-Kyun Hahn and Jin Jung (Department of Agricultural Chemistry, Seoul National University), Suwon 441-744, Korea)

Abstract : In an attempt to explore the mechanistic aspects of chilling injury in plants and their defensive measures against the low temperature stress, the time sequential measurements of pyruvate, superoxide radicals(O_2^-) and antioxygenic enzymes during whole period of injury-inducing treatment were performed using mostly rice seedlings. Pyruvate was substantially accumulated in leaf tissues during the exposure period to $5^\circ C$ of the seedlings ; the relative extent of the accumulation was increased with increasing time of the cold treatment. When the cold-treated plants were translocated to ambient temperature($\sim 25^\circ C$), the accumulation started to dissipate, concomitantly accompanying a remarkable increase in the O_2^- level of tissues. Superoxide dismutase(SOD) and catalase were also activated during post-chilling period, although they showed a considerable lag time for activation. In contrast, glutathione peroxidase, another antioxygenic enzyme in cells, was not activated at all by preceding cold treatment of plants. The uptake of exogenous O_2^- by the roots of rice seedlings resulted in increase in the activities of SOD and catalase in root tissues. The supply of H_2O_2 to plants brought about the activation of catalase *in situ*, while failing to exert any effect on the activation state of glutathione peroxidase. The results obtained in this work suggest that pyruvate accumulation in cells is the direct cause of the overproduction of O_2^- and thereby other toxic activated oxygen species, and that SOD and catalase may play a crucial role in the protection of plant cells against active oxygen-mediated chilling injury.