한국농화학회지 제38권 제3호(1995)
Agricultural Chemistry and Biotechnology
Vol. 38, No. 3, pp. 202~206(1995)

*Brassica*속 작물 유묘에서 생장억제제 Uniconazole 처리에 따른 생화학적 변화**

남민희[1]* · 박우철[2]

[1]농촌진흥청 영남농업시험장, [2]경북대학교 농화학과

초록 : 작물 내한성 기작구명을 위한 기초자료를 얻고자 우선 *Brassica*속 작물의 발아초기단계에서 생장억제제인 Uniconazole 처리에 따른 생화학적 변화를 분석해 본 결과, 발아초기의 peroxidase 활성도는 뿌리부위가 배축부위에 비해 3~4배 정도 더 높았으며 특히 내한성이 강한 산동채가 내한성이 약한 유채보다 모든 부위에서 2배 정도 더 높은 효소 활성도를 보였다. 그러나, catalase 활성도는 뿌리보다 배축부위가 3~4배 정도 더 높아 peroxidase와는 상반된 결과를 보였으며 H_2O_2 함량은 catalase 활성도에 거의 반비례하여 배축보다 뿌리부위가 더 높았고, 배축장은 내한성이 약한 유채가 산동채 보다 훨씬 더 길었다. 한편, 유채 3일유묘에 0.3~1.0 ppm의 Uniconazole 처리는 처리 3일후의 배축장을 약 43~46% 억제시켜 배축부위의 peroxidase 활성도를 65~73% 증가시켰고, Uniconazole 처리농도에 따른 배축장 단축율과 배축부위의 peroxidase 활성도 증가율과는 정의 유의상관을 보였다. 그러나, superoxide dismutase의 활성화는 관찰할 수 없었고, 단지 활성도가 자엽>뿌리>배축의 순서를 보이며 3개의 동위효소가 존재함을 확인하였다(1995년 3월 10일 접수, 1995년 5월 16일 수리).

서 론

세계적으로 보아 많은 농작물들이 저온피해를 받고 있으며, 이로 인해 해마다 막대한 생산량의 감소를 초래하여 인류의 식량문제에 큰 위협이 되고 있을 뿐만 아니라 경제적으로도 큰 손실을 주고 있다. 그러나 이러한 저온장해를 최소한으로 줄이기 위해 많은 연구노력을 기울이고 있어 앞으로의 연구성과에 큰 진전이 있을 것으로 기대된다. 작물의 내한성은 주요 농업형질 중의 하나이기 때문에 대부분의 연구가 주로 재배시험이나[1] 내한성 계통선발시험[2] 등에 치중되어 왔으나 내한성 관련인자 및 그 기작을 구명하기 위한 물리적, 생리생화학적 연구보문도 많이 보고되고 있으며[3,4] 조직배양시 ABA를 처리하거나 유묘에 ABA를 처리해도 내한성이 증가된다고 하였다.[5,7]

1980년 Butt[8]는 생체중 산소분자의 생물학적 상호교환 모델을 제시한 바 있다. 즉 물 분자의 광환원이나 catalase(EC 1.11.1.6, CAT)의 작용으로 생성되는 산소분자로부터 유독성 물질인 superoxide(O_2^-)로 전환되며, 이때 superoxide dismutase(EC 1.15.1.1, SOD)의 작용으로 생성되는 과산화수소는 주로 catalase와 peroxidase(EC 1.11.1.7, POD)에 의해 효소적으로 분해된다. 그러나 H_2O_2의 농도가 지나치게 높을 경우에는 지질과 같은 구조화합물들을 비효소적으로 산화시키기 때문에 과산화수소 또한 독성을 지닌다.

과산화수소를 기질로 하는 catalase는 일반적으로 catalase 활성을 나타내고 있으나 H_2O_2의 농도가 매우 낮고 수소공여체(일종의 환원제)의 농도가 높을 경우에는 peroxidase 활성을 보여 준다고 하였으나[9] catalase가 작물 내한성과 관련이 있다는 보고는 없다. 그러나 김 등[10]은 수도 냉해발현의 화학적 인자가 광조건하에서 축적되는 superoxide라고 보고한 바 있으며, O_2^-에 의해 유도되는 효소인 SOD는 O_2^-를 H_2O_2와 O_2로 dismutation 시킴으로써 유해산소에 대한 세포보호기능을 갖는다고 하였다. Tao 등[11]은 배(pear) 배자(embryo)의 저온처리시 peroxidase의 활성증가와 더불어 새로운 동위효소가 출현한다고 하였으며, McCown 등[12]도 나무의 경화(hardening) 처리시 줄기부위에서 위와 유사한 결과를 보고한 바 있다. 그럼에도 불구하고 작물 내한성과 관련된 peroxidase의 역할에 대해서는 아직까지 정확한 생화학적 기작이 구명되어 있지 않는 실정이며, 단지 peroxidase는 식물의 목질화를 촉진시킨다고 알려져 있어[13,14] 작물 내한성과 관련이 있을 가능성은 항상 내재하고 있었다 하겠다.

이러한 관점에서 본 연구는 내한성 정도가 서로 다른 작물간에는 저온 stress 등에 의한 superoxide 축적량이나 O_2^-의 독작용에 대한 방어능력이 서로 다를 것이며, 이때 SOD의 작용으로 생성·축적되는 과산화수소의 비효소적 산화작용에 의한 독성을 방지하기 위해 peroxidase나 catalase가 관여할 것이라는 가설을 설정하였다. 서 등[15]에 의하면 유채(*B. napus*)가 산동채(*B. campestris*)에 비해 배축장이 길어 월동기간중 생장점이 노

찾는말 : *Brassica*, Uniconazole, cold tolerance, peroxidase, superoxide dismutase, hydrogen peroxide
*연락저자
**본 논문은 "작물 내한성 기작규명을 위한 생화학적 연구"의 제1보임

출될 가능성이 높기 때문에 내한성이 약하다고 보고한 바 있다. 따라서 본 연구에서도 같은 *Brassica*속 작물에 속하나 내한성 정도가 크게 다른 유채와 산동채를 공시재료로 하여 우선 발아초기단계에서 강력한 생장억제제인 Uniconazole 처리에 따른 peroxidase, catalase 및 superoxide dismutase 활성도 변화 상호관계를 분석함으로써 생화학적 작물 내한성 기작구명을 위한 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

공시재료 및 생육방법

같은 *Brassica*속 작물인 내한유채와 군위산동채의 전년산 종자를 선별하여 본 실험의 공시재료로 이용하였다. 선별된 종자는 2% sodium hypochlorite 용액으로 살균처리한 후 증류수로 충분히 씻고 30℃ 항온기에서 15시간 침지하였다. 침지시킨 종자 약 0.5 g씩을 vermiculite로 채워진 소형 pot(1/50,000a)에 파종하여 낮에는 24℃에서 15시간의 광조건(2,000 lx), 밤에는 20℃로 조절(이하 정상생육조건으로 표시)된 발아기(Conviron사)에서 생육시켰다.

Uniconazole 처리

극소형 실험용 분무기를 이용하여 0.03~1.00 ppm으로 조절시킨 Unoconazole 용액 5 m*l*/pot씩을 각각 유채 3일 유묘에 엽면 살포한 다음 살포후 3일째(6일묘) 시료를 채취, 분석하였다.

효소의 추출

발아후 생육초기단계의 유식물을 뿌리, 배축 및 자엽의 3부위로 분리 채취한 다음 10 mM K-phosphate 완충액(pH 6.0)를 3배량(w/v)가하여 예냉한 유발에서 마쇄한 후 12,000Xg에서 15분간 원심분리시켜 얻어진 상징액을 효소조액으로 사용하였다.

효소 활성도 측정 및 단백질 정량

Peroxidase 활성도는 수소공여체로 o-dianisidine을 이용한 Worthington Enzyme Manual의 방법[16]에 따라 460 nm에서 반응초기의 흡광도 변화를 측정하여 효소활성을 구하였고, catalase 활성도는 Omran의 방법[17]에 따라 10분간 효소반응을 시킨 다음 2N-H_2SO_4로 효소반응을 중지시킨 후 Hugo의 방법[18]에 준하여 10 mM $KMnO_4$ 용액으로 적정하였다. 효소 활성도 단위는 30℃에서 분당 1 μmole의 과산화수소를 분해할 수 있는 효소의 량을 1 unit(U)로 정의하였으며 효소 활성도는 단백질 mg당 unit(U)인 비활성도로 나타내었다. 또한 superoxide dismutase 활성도는 등전점 전기영동한 후 염색하여 얻어진 band의 강도에 따른 상대적 활성도를 육안으로 비교 관찰하였고, 효소조액중의 단백질 함량은 표준물질로 BSA를 사용하여 Lowry법[19]으로 비색정량하였다.

과산화수소 함량 분석

Superoxide dismutase를 불활성화시키기 위해[20] 5 mM KCN 2배량(w/v)을 예냉한 유발에 가하여 마쇄한 후 13,000Xg에서 20분간 원심분리하여 얻어진 상징액(조직추출액)을 즉시 superoxide 및 과산화수소 분석에 사용하였다. H_2O_2 함량은 조직추출액 0.5 m*l*에 2N-H_2SO_4 3 m*l*와 증류수 5 m*l*를 첨가한 후, Hugo의 방법[18]에 따라 2 mM $KMnO_4$ 용액으로 적정하여 그 값을 조직추출액 중의 H_2O_2 함량으로 환산 표시하였으며, 종말점은 분홍색이 나타난 후 5분 동안 그 색이 사라지지 않는 점으로 하였다. 모든 실험은 최소한 3반복 이상 수행되었으며, 분석값들은 평균성적으로 나타내었다.

등전점 전기영동 및 염색법

등전점 전기영동은 우선 gel mould(24×6 cm)의 gel bond film상에 6% polyacrylamide 용액과 1% Ampholine (LKB사) 등을 이용하여 slab gel을 조제한 후 Righetti의 방법[21]을 다소 변형시킨 수평식 polyacrylamide gel isoelectric focusing(PAGIF) 방법에 따랐다. Catholyte로는 Ca$(OH)_2$ 과포화용액을, anolyte로는 0.1% 인산용액을 이용하여 처음에는 20 V/cm에서 30분간 전기영동시킨 후 sample piece를 제거하고 다시 80 V/cm의 일정한 전압을 가하면서 4시간 정도 전기영동시켰다.

Peroxidase isozyme band의 확인은 Tao 등[11]의 방법에 따라 전기영동시킨 gel을 1.0 M sodium acetate buffer(pH 5.0)에서 30분간 고정시킨 후, 2.4 mM H_2O_4와 0.4 mM o-dianisidine이 함유된 50 mM potassium phosphate buffer(pH 6.0)의 효소반응액에서 1시간 정도 발색시켰다. 또한 superoxide dismutase는 Beauchamp 등[22]의 방법에 따라 먼저 gel을 2.45 mM NBT 용액에서 20분 동안 침지시킨 다음, 다시 36 mM K-phosphate buffer(pH 7.8), 28 mM TEMED, 28μM riboflavin을 포함하는 혼합용액에 15분간 반응시킨 후 꺼내어 10~15분간 형광을 가하면서 negative 염색시켰다.

결과 및 고찰

발아초기의 생화학적 변화

전 생육기간중 생화학적 변화가 가장 왕성하게 일어난다는 발아후 생육초기 단계에서의 peroxidase 및 catalase 활성도와 과산화수소 함량의 경시적 변화를 분석해 본 결과는 Table 1 및 Fig. 1과 같다.

Peroxidase 활성도의 경시적 변화를 보면, 유채와 산동채 둘다 모든 부위에서 발아가 진행됨에 따라 POD 활성도는 증가하는 경향이었다. 또한 부위별 효소활성도는 4.6~35.6 정도의 비활성도를 보인 뿌리부위가 1.1~7.0 정도의 배축부위에 비해 3~4배 정도 더 높았으며, 단백질 함량이 높았던 자엽부위에서 가장 낮은 비활성도를 보였다. 특히 내한성이 강하다고 알려져 있는 산동채가 그렇지 못한 유채에 비해 모든 부위에서

Table 1. Time course of peroxidase activity during germination of *Brassica* seed

Days after germination	POD activity (U/mg of protein)					
	Root		Hypocotyl		Cotyledon	
	BN	BC	BN	BC	BN	BC
3	4.6	9.7	1.1	3.0	0.3	0.9
6	10.7	24.9	1.8	4.5	1.0	1.5
9	12.5	35.6	2.2	5.1	1.2	2.4
12	16.7	34.8	2.9	7.0	1.3	3.7

BN and BC indicate *B. napus* cv. Naehanyuchae and *B. campestris* cv. Gunwisandongchae, respectively. Plants were grown in a growth chamber at 20℃ with 12 hours photoperiods.

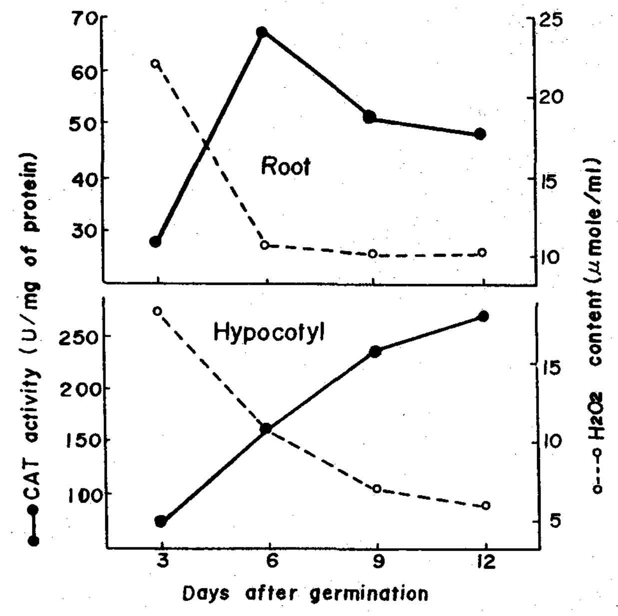

Fig. 1. Time course of catalase activity and hydrogen peroxide content in *B. napus* cv. Naehanyuchae seedling.

약 2배 정도 더 높은 효소 활성도를 보여 peroxidase가 작물 내한성과 관련이 있을 것으로 추측되었다(Table 1).

Fig. 1에서 보는 바와 같이 작물 내한성과 관련이 깊을 것으로 추찰되는 내한유채의 뿌리와 배축부위에서의 catalase 활성도 및 H_2O_2 함량의 경시적 변화를 분석해 본 결과, 뿌리부위에서의 catalase 활성도는 생육 6일째까지는 급격하게 증가하다가 그 이후 다소 감소하는 경향이었으나 배축부위는 계속 증가하였는데 그 증가속도도 peroxidase에 비해 다소 높았다. 또한 배축 및 뿌리부위에서의 효소 활성도는 catalase가 peroxidase보다 월등히 높았으며, 부위별 catalase 활성도 역시 배축부위가 뿌리보다 3~4배 정도 더 높아 peroxidase와는 상반된 결과를 보였다. 그러나 생체중 과산화수소 함량은 발아가 진행됨에 따라 감소하는 경향이었는데, 이러한 경향은 catalase 활성도 증가와는 거의 반비례하여 생육 12일째의 H_2O_2 함량이 뿌리부위에서는 조직추출액 ml당 10.5 μmole 정도인데 비해 catalase 활성도가 높았던

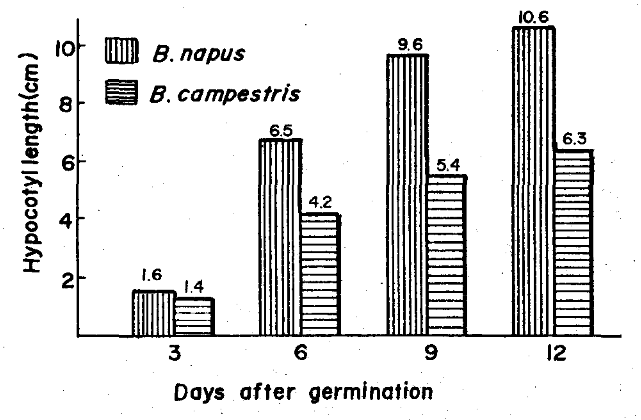

Fig. 2. Change of hypocothyl length during germination of *Brassica* seed. *B. napus*, Naehanyuchae; *B. campestris*, Gunwisandongchae.

Table 2. Effect of Uniconazole on peroxidase activity in *B. napus* cv. Naehanyuchae seedling

Conc. of Uniconazole (ppm)	POD activity (U/mg of protein)		
	Root	Hypocotyl	Cotyledon
Control	10.04 (100)	1.04 (100)	0.51 (100)
0.03	9.73 (97)	1.33 (128)	0.57 (119)
0.10	8.77 (87)	1.53 (147)	0.55 (108)
0.30	11.58 (115)	1.72 (165)	0.60 (118)
1.00	10.33 (103)	1.80 (173)	0.59 (116)

Parenthesis indicates percentage against control. Uniconazole (5 ml/pot) was treated to 3 days old seedlings. Peroxidase activity was analyzed at 3 days after Uniconazole treatment. All seedlings were grown under normal growth condition such as 24±1℃ during the day (15 hrs. photoperiod) and 20±1℃ at night.

Table 3. Effect of Uniconazole on hypocotyl length and protein content in *B. napus* cv. Naehanyuchae seedling

Conc. of Uniconazole (ppm)	Hypocotyl length (cm)	Protein content (mg/ml)		
		Root	Hypocotyl	Cotyledon
Control	7.4	0.82	0.72	8.34
0.03	7.0	0.92	0.80	8.22
0.10	4.7	0.98	0.84	8.73
0.30	4.2	1.00	0.93	9.45
1.00	4.0	0.95	0.99	9.80

All experimental conditions of Uniconazole treatment were the same as described in Table 2.

배축부위에선 6.0 μmole로 훨씬 더 낮았다. 이러한 결과로 미루어 보아 정상대사과정에서의 H_2O_2 분해에는 peroxidase 보다 catalase가 주로 담당하고 있음을 시사해 주었으며, 이는 Butt[8]에 의해서도 보고된 바 있다.

가장 저온장해의 영향을 받기 쉬울 것으로 예상되는 배축부위의 신장속도를 발아초기단계에서 분석해 보면, Fig. 2에서와 같이 유채와 산동채의 배축장이 생육 3일째에는 각각 1.6 cm와 1.4 cm로 거의 비슷하였으나 생

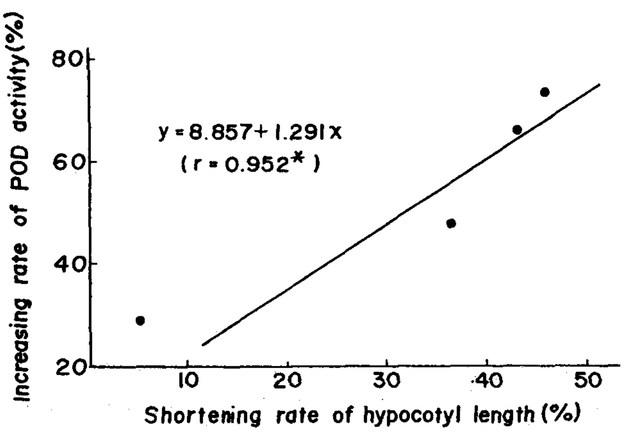

Fig. 3. Correlation of the shortening rate of hypocotyl length and the increasing rate of peroxidase activity by Uniconazole treatment in the hypocotyl of *B. napus* cv. Naehanyuchae seedlings.

육이 진전됨에 따라 배축장 신장속도가 내한성이 약하다고 알려져 있는 유채가 산동채 보다 월등하여 생육 12일째에는 산동채의 배축장이 6.3 cm인데 비해 유채는 10.6 cm로 내한성이 강한 산동채 보다 무려 4.1 cm나 더 길었다. 이는 월동기간중 생장점이 노출될 가능성이 유채가 산동채 보다 높기 때문에 내한성이 약하다는 서 등[15]의 보고를 뒷받침해 주는 결과로 생각되었다.

Uniconazole 처리에 따른 생화학적 변화

Fig. 2에서 보는 바와 같이 유채가 산동채보다 배축장이 훨씬 더 길어, gibberellin 생합성을 저해시킴으로써 식물의 생장을 강력하게 억제한다는 Uniconazole[23]을 내한유채 3일유묘에 처리해 본 결과(Table 2,3), 처리 3일후의 배축장은 처리농도에 거의 반비례하는 반면 배축부위의 peroxidase 활성도 및 단백질 함량은 비례적으로 증가하였으나 뿌리 및 자엽부위에서는 일정한 경향을 보이지 않았다. 특히, 0.3～1.0 ppm 처리로 배축장이 약 43～46% 억제되어 거의 산동채 무처리 수준에 도달되었으며(Fig. 2참조), peroxidase 활성도는 65～73%, 단백질 함량은 29～38% 정도 증가하였다. 또한 Fig. 3에서와 같이 Uniconazole 처리에 따른 배축장 단축율과 배축부위에서의 peroxidase 활성도 증가율과는 정의 유의상관을 보였다. 이러한 결과를 유채의 월동율과 배축장과는 부의 유의상관을 보인다는 서 등[15]의 보고로 유추해 보면, peroxidase는 작물 내한성과 밀접한 관련이 있을 것임을 쉽게 추론할 수 있었고, ABA가 배축부위의 peroxidase 활성도를 증가시킨다는 이[24]의 보고와도 거의 유사한 결과라고 생각되었다.

한편, Uniconazole 처리에 따른 동위효소 pattern 변화를 보면(자료 미제시), peroxidase와 superoxide dismutase 둘다 새로운 동위효소의 출현은 없었으며 단지 처리농도가 증가함에 따라 배축부위에서 peroxidase 동위효소 band의 강도가 다소 강해짐을 관찰할 수 있었다. 또한 superoxide dismutase의 활성도는 peroxidase와는 달리 자엽>뿌리>배축의 순서를 보였으며 모든 부위에서 3개의 동위효소만이 출현되었다. 이러한 결과는 작물 내한성에 영향을 미치는 생리적 인자로 체내수분과 단백질 및 당분함량, 세포액의 삼투압 및 점성, 그리고 원형질의 탈수 및 수분 투과성 등이라는 Salisbury 등[25]의 보고를 감안할 때 단백질 함량 등 세포질의 농도가 높을 것으로 추정되는 자엽>뿌리>배축의 순서대로 효소 활성도가 높게 나타났으며, 냉해 발현의 화학적 인자가 superoxide라는 보고[10]로 보아 superoxide dismutase 역시 작물 내한성과 깊은 연관이 있을 것으로 생각되었다.

참 고 문 헌

1. Fowler, D. B. and L. V. Gusta (1979) Selection for winterhardiness in wheat. *Crop Sci.* **19**, 769-772.
2. Hoard, K. G. and T. M. Crosbie (1985) S_1-line recurrent selection for cold tolerance in two maize populations. *Crop Sci.* **25**, 1041-1045.
3. Guy, C. L. and D. Haskell (1987) Induction of freezing tolerance in spinach is associated with the synthesis of cold acclimation induced proteins. *Plant Physiol.* **84**, 872-878.
4. Levitt, J. (1962) A sulfhydryl-disulfide hypothesis of frost injury and resistance in plants. *J. Theor. Biol.* **3**, 355-391.
5. Keith, C. N. and B. D. McKersie (1986) The effect of abscisic acid on the freezing tolerance of callus cultures of *Lotus corniculatus* L. *Plant Physiol.* **80**, 766-770.
6. Orr, W., W. A. Keller and J. Singh (1986) Induction of freezing tolerance in an embryogenic cell suspension culture of *Brassica napus* by abscisic acid at room temperature. *J. Plant Physiol.* **126**, 23-32.
7. Lang, V., P. Heino and E. T. Palva (1989) Low temperature acclimation and treatment with exogenous abscisic acid induce common polypeptides in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Theor. Appl. Genet.* **77**, 729-734.
8. Butt, V. S. (1980) In 'The Biochemistry of Plants', Direct oxidases and related enzymes, Vol.2, pp.81-123, Academic press, New York.
9. John, R. W. (1972) In 'Principles of Enzymology For the Food Sciences', Catalase and peroxidase, Vol.2, pp.591-605, Marcel Dekker, Inc., New York
10. Kim, J. P., I. Hyun and J. Jung (1987) Postchilling accumulation of superoxide in cells and chilling injury in rice plant. *J. Kor. Agr. Chem. Soc.* **30**, 364-370.
11. Tao, K. L. and A. A. Khan (1976) Changes in isoperoxidases during cold treatment of dormant pear embryo. *Plant Physiol.* **57**, 1-4.
12. McCown, B. H., R. C. McLeester, G. E. Beck and T. C. Hall (1969) Environment-induced changes in peroxidase zymograms in the stems of deciduous and evergreen plants. *Cryobiology* **5**, 410-412.
13. Lipetz, J. and A. J. Garro (1965) Ionic effects on lignification and peroxidase in tissue culture. *J. Cell Biol.* **25**, 109-116.
14. Glumoff, T., P. H. Harvey, S. Molinari, M. Goble, G. Frank, J. M. Palmer, J. D. G. Smit and M. S. A. Leisola (1990)

Lignin peroxidase from *Phanerochaete chrysosporium*. Molecular and kinetic characterization of isoenzymes. *Eur. J. Biochem.* **187**, 515-520.
15. 서형수, 곽재균, 권일찬, 이덕승, 서득룡, 성재덕, 문율호 (1988) *Brassica*속의 종간교잡에 의한 새로운 유지작물 개발, p.147, 과기처 특정연구개발사업 연구보고서.
16. Worthington Biochemical Co. (1972) Worthington Enzyme Manual, pp.41-45, Freehold, New Jersey.
17. Omran, R. G. (1980) Peroxide levels and the activities of catalase, peroxidase, and indoleacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings. *Plant Physiol.* **65**, 407-408.
18. Hugo, A. (1974) In 'Methods of Enzymatic Analysis', Catalase, 2nd Ed., pp.673-683, Academic press, London.
19. Lowry, O. H., N. J. Rosegrough A. L. Farr and R. J. Randal (1951) Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
20. Asada, K., M. Takahashi and M. Nagate (1974) Assay and inhibitors of spinach superoxide dismutase. *Agr. Biol. Chem.* **38**, 471-473.
21. Righetti, P. G. (1986) Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology; Vol. II. Isoelectric Focusing: Theory, Methodology and Applications, 4th Ed., p.386, Elsevier Biochemical Press, Amsterdam.
22. Beauchamp, C. and I. Fridovich (1971) Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* **44**, 276-287.
23. Sumitomo Chemical, Plant Protection Division (1985) S-3307 D, a new plant growth regulator, pp.1-18, Technical inform., Japan.
24. Lee, S. K. (1987) The changes in peroxidase activity and the purification and characterization of its isozyme from mung bean(*Phaseolus aureus* Roxb.) seedling, Ph. D. thesis, p.83, Kyungpook Natl. University.
25. Salisbury, F. B. and C. W. Ross (1991) Plant Physiology, 4th Ed., p.682, Wadsworth Publishing Company Inc., California.

Biochemical Changes in *Brassica* Seedlings Due to Uniconazole Treatment**

Min-Hee Nam[1]* and Woo-Churl Park[2] ([1]*National Yeongnam Agricultural Experiment Station, Milyang, 627-130, Korea;* [2]*Dept. of Agricultural Chemistry, Kyungpook National University, 702-701, Korea*)

Abstract: In order to obtain the basic data for clarifing the mechanism of cold tolerance in crops, we analyzed various biochemical changes according to the Uniconazole treatment in *Brassica* seedling. Peroxidase activity in the root fraction of *Brassica* seedling was about 3 to 4 times higher than that in hypocotyl fraction, while catalase activity in those fractions showed opposite trend to the peroxidase activity. The content of hydrogen peroxide in root fraction was higher than that of hypocotyl fraction as being a reciprocal proportion with catalase activity. Especially in all fractions, peroxidase activity of "Sandongchae" (*B. campestris*) seedling, known as cold tolerant, was two-fold higher than that of cold sensitive rape(*B. napus*). The elongation rate of hypocotyl after germination was faster in *B. napus* than in *B. campestris*. The application of Uniconazole at 0.3 to 1.0 ppm to B. napus suppressed 43 to 46% of hypocotyl elongation and increased 65 to 73% of peroxidase activity in hypocotyl fraction. The shortening rate of hypocotyl length due to Uniconazole treatment was positively correlated with the increasing rate of peroxidase activity in hypocotyl fraction. Superoxide dismutase was not induced upon Uniconazole treatment and has only 3 isozymes in any fractions. Its activity was observed in the order of cotyledon>root>hypocotyl fraction.

---

*Corresponding author

**This is the first paper of a series, "Biochemical Studies for the Mechanism of Cold Tolerance in Crops".