

여러 가지 환경스트레스가 벼 유묘 퍼옥시다제 활성에 미치는 영향

이 정 애¹ · 신 현 응 · 이 미 영*

순천향대학교 생명과학부, ¹KIST 도핑콘트롤 센터

적 요 - 산성비의 주요 성분인 SO₂가 peroxidase 활성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 다양한 농도의 Na₂SO₃를 포함한 배지에서 벼 (*Oryza sativa*) seedling을 배양하였다. Na₂SO₃는 벼씨의 발아를 억제시켰으며, 벼씨의 발아율을 50% 감소시키는데 필요한 Na₂SO₃의 농도가 pH 7에서는 300 µg/ml, pH 5에서는 8 µg/ml이었으나, pH 3에서는 2 µg/ml에 불과하였다. Na₂SO₃에 의한 peroxidase의 활성변화를 조사했을 때 2 µg/ml Na₂SO₃ (pH 3)에 의하여 효소활성이 약 4배 증가하였고, 8 µg/ml Na₂SO₃ (pH 5)에 의하여 효소활성이 약 8배 증가하였다. 또한 환경오염원의 주요성분인 Cd과 Pb이 벼 peroxidase 활성과 엽록소 함량에 미치는 효과를 조사하였다. 0.03 mM Cd처리군의 경우 peroxidase 활성이 3.9배 증가하였으나 엽록소 함량은 대조군의 63%로 감소하였다. 0.04 mM Pb처리군의 경우 2.5배의 peroxidase 활성증가를 보였으나 엽록소 함량은 대조군의 72%로 감소하였다. 뿐만 아니라 세포내에서 활성산소의 생성을 유도함으로써 산화적 스트레스를 유발하는 물질인 Cu와 Fe이 peroxidase 활성에 미치는 효과를 살펴보았다. 0.5 mM CuSO₄와 0.5 mM FeSO₄에 의하여 벼 peroxidase 활성은 각각 57%와 65%씩 감소하였다. 그러나 라디칼 소거제인 ethanol에 의하여 Cu와 Fe에 의한 활성억제는 거의 완전하게 보호되었다. 이에 비해 dimethyl sulfoxide, mannitol, thiourea와 histidine은 Cu와 Fe에 의한 활성억제에 대하여 서로 다른 라디칼 소거효과를 나타냈다.

서 론

식물 peroxidase [E.C.1.11.1.7]는 indole-3-acetic acid의 산화, 환원형 pyridoxal과 관련된 화합물의 산화, methional의 ethylene으로의 전환, guaiacol, o-dianisidine, scopoletin 과 esculetin 등 phenol계 화합물들의 산화, lignification 및 세포벽 합성, 엽록체 분해, polysaccharide cross-linking, extensin monomer의 cross-linking, 병원체에 대한 방어 등 여러 가지 다양한 반응에 참여한다 (van Huystee and Cairns 1982; Padu *et al.* 1993; Sanchez *et al.* 1993). 이러한 기능상의 다양성과 함께 peroxidase는 세포의 성장과 분화를 조절하는 효소로서 (Fry 1986) isozyme pattern이 세포의 성장과 노화, 환경조건 등에 따라서 변화하기 때문에 어느 특수조건에서의 peroxidase isozyme의 패턴변화를 생리생화학적 기능과 연결시키고자 하는 노력이 많이 시도되었다 (Castillo 1992). Horseradish (Welinder 1991), Korean

radish (Lee 1994a, b, 1998a, b, c; Park and Kim 1996), 담배 (Kim *et al.* 1980) 등 다양한 식물에서 peroxidase가 정제되어 효소학적 특성이 규명되어 왔고, 유전자구조와 기능이 밝혀지고 있다. 특히 각종 스트레스에 따른 peroxidase isozyme의 pattern 변화를 스트레스의 지표 및 환경오염에 대한 지표로 사용하려는 연구가 많이 진행되고 있다. Peroxidase의 활성에 영향을 주는 요소로는 온도, 빛의 유무 손상 등의 주위환경과 저온(고온) 및 저(고)염분 등의 각종 스트레스, 그리고 auxin, cytokinin, gibberellin, ethylene 같은 호르몬 등을 들 수 있다 (van Huystee and Cairns 1982). 특히 대기 오염 등의 환경오염에 의한 특정 효소의 활성 변화 및 발현에 대한 연구는 최근에야 비로소 주목을 끌게 되어서, 소나무의 extracellular peroxidase가 O₃에 의해 생산되는 유독성 산화물에 대한 방어 기작으로 이해되고 있고 (Alonson *et al.* 1993), 전나무와 보리의 apoplastic peroxidase가 대기오염의 주범 중의 하나인 SO₂를 산화시켜서 무독화시키는 반응에 관여할 가능성이 제시되었다 (Kammerer *et al.* 1993). 대기 오염이 심한 곳에서 자라는 가로수일수록 세포질이나 subcellular organelle에 존재하

* Corresponding author: Mi-Young Lee, Tel. 041-530-1355, Fax. 041-530-1350

는 peroxidase보다 세포벽에 존재하는 peroxidase의 활성이 매우 높게 나타날 뿐만 아니라 특정 peroxidase isozyme의 pattern에 변화를 보였다(Wongkaew *et al.* 1991). 게다가 고염분 스트레스를 받은 토마토의 경우 peroxidase mRNA의 조직특이성 발현양상을 통하여 고염분 조건에서 토마토 뿌리에서 유도되는 TPX1 mRNA가 ligno-suberization에 관여할 것으로 추측되었다(Valpuesta *et al.* 1993). 고염분의 스트레스를 받은 무유묘와 소나무잎에서는 염분농도가 증가할수록 peroxidase의 비활성도도 증가하였다.

본 연구에서는 대기오염의 구성성분인 Cd, Pb 등의 중금속과 산성비의 주요 성분인 SO₂에 의한 벼 seedling peroxidase의 활성변화를 통하여 중금속과 SO₂에 대한 방어기작에 peroxidase가 관여할 가능성을 제시하였다. 또한 Cu와 Fe에 의한 peroxidase의 활성억제가 각종 라디칼소거제에 의해 보호되는 현상을 살펴보았다.

재료 및 방법

1. 실험식물

충남 아산시에서 구입한 동진벼씨(*Oryza sativa* cv. Dong-Jin)를 하루동안 침종시킨후 70% 에탄올에서 1분간 소독하였다. 멸균증류수로 세척한후 50% 락스에서 20분동안 교반소독하였고 다시 멸균증류수로 충분히 세척하였다. 멸균된 동진벼씨를 0.7% agar를 포함한 고체배지(MS)에 파종하여 발아시킨지 8~10일 후 유묘의 잎을 절취하여 실험재료로 사용하였다.

2. 엽록소 함량 측정

엽록소 함량은 엽록소 a와 엽록소 b의 최대흡수파장은 각각 663 nm와 645 nm이므로 663 nm와 645 nm에서의 흡광도를 측정하여 계산하였다.

3. 중금속 스트레스에 의한 peroxidase 비활성 변화

Cd과 Pb에 의한 peroxidase 비활성 변화를 측정하기 위하여 멸균된 동진벼씨를 최종농도가 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05 mM가 되는 CdCl₂ 혹은 PbCl₂을 포함한 고체배지에 파종하여 8일간 배양시킨후 유묘의 잎을 절취하여 peroxidase 비활성을 측정하였다.

Cu과 Fe에 의한 peroxidase 비활성 변화를 측정하기 위하여 멸균된 동진벼씨를 최종농도가 0.5 mM되는 CuSO₄ 혹은 FeSO₄을 포함한 고체배지에 파종하여 8일간 배양시킨 후 seedling을 절취하여 실험재료로 사용하였다. 라디칼 소거제(radical scavenger)에 의한 활성보

호현상을 관찰하기 위하여 최종농도 0.5%의 ethanol, dimethyl sulfoxide, mannitol, thiourea 혹은 histidine이 포함된 배지에 Cu혹은 Fe을 처리하여 peroxidase의 비활성을 측정하였다.

4. SO₂ 스트레스에 의한 peroxidase 비활성 변화

산성비의 주성분이 대기중의 SO₂ 기체가 빗물에 용해된 Na₂SO₃ 용액이므로 pH 3, pH 5, pH 7에서 다양한 농도의 Na₂SO₃를 포함한 배지에 멸균된 동진벼씨를 파종하였다. 이를 8일간 배양한 후 seedling을 절취하여 peroxidase 비활성을 측정하였다.

5. Peroxidase의 활성측정 및 단백질 정량

Peroxidase의 활성은 guaiacol과 hydrogen peroxide를 기질로 하여 470 nm에서 흡광도의 증가를 UV/VIS spectrophotometer를 사용하여 측정하였다(Kim *et al.* 1980). 효소반응액은 50 mM sodium phosphate buffer(pH 6.0), 15 mM guaiacol, 5 mM H₂O₂와 효소 용액을 포함하여 최종부피가 1 ml가 되도록 하였다. 효소반응은 H₂O₂를 마지막으로 가한 후 측정하였다. 효소 활성도 1 unit은 470 nm에서 1분간 흡광도 1이 증가하는 효소의 양으로 정하였으며, 비활성도는 단백질량에 대한 효소 활성(unit)으로 결정하였다.

효소액의 단백질은 Lowry 방법을 변형하여 측정하였다(Lowry *et al.* 1951).

결과 및 고찰

1. SO₂ 스트레스에 의한 peroxidase 활성증가

Table 1에서는 SO₂기체가 용해된 Na₂SO₃ 용액이 산성비의 주성분이라는 사실에 근거하여 Na₂SO₃가 벼씨의 발아에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과 Na₂SO₃에 의하여 pH 의존적으로 벼씨의 발아가 현저하게 억제되었다. 벼씨의 발아율을 50%로 감소시키는데 필요한 Na₂SO₃의 농도가 pH 7에서는 300 µg/ml이었으나 pH 5에서는 8 µg/ml이었다. 특히 pH 3에서는 pH 7에 비하여 약 1/150인 2 µg/ml의 Na₂SO₃에 의하여 발아율이 50% 감소하였다. 이러한 결과는 Na₂SO₃에 의한 벼 발아억제 효과가 산성 pH로 갈수록 매우 심화된다는 것을 보여준다. 벼 발아율을 50% 이상 유지할 수 있는 Na₂SO₃의 농도조건에서 pH 변화에 따른 벼 seedling의 peroxidase 활성변화를 조사하였다(Table 2). 그 결과 pH 3에서는 2 µg/ml의 Na₂SO₃에 의하여 peroxidase의 비활성이 약 4 배 증가하였고 pH 5에서는 8 µg/ml의 Na₂SO₃에 의하여

peroxidase의 비활성이 약 8배 증가하였다. pH 7에서는 200 µg/ml의 Na₂SO₃에 의하여 peroxidase의 비활성이 약 2배 증가하였으며 300 µg/ml 이상의 Na₂SO₃에 의하여 peroxidase의 비활성이 감소하기 시작하였다. 이와 같이 산성조건에서 Na₂SO₃ 처리에 의해 벼 seedling peroxidase의 활성이 현격하게 증가하였고 이러한 활성 증가현상은 Na₂SO₃에 대한 세포내 방어체계에 peroxidase가 관련되어 있음을 뜻한다. SO₂는 식물체에 직접 작용하여 물리적 손상을 일으킬 뿐만 아니라, 대기중에서 물과 결합하여 산성비의 원인이 되기도 한다. SO₂는 기공폐쇄를 일으키고 CO₂ 교환율의 저하, 엽록소의 파괴, 틸라코이드 막의 부풀림, RuBP carboxylase 등의 광합성효소의 불활성화 등을 일으킨다고 보고되어 있다 (Pfan and Oppmann 1991). SO₂가 식물체에 흡수되면 엽육세포의 표면에서 물에 용해되어 H₂SO₃가 형성되고 다시 이물질이 해리되어 HOS₃⁻, SO₃²⁻, H⁺가 형성되었다 (Pfan 등 1992). 식물의 SO₂에 대한 저항성은 아주 달라서 아주 약한 종과 아주 강한 종이 있으나 그 구체적인 내성기작은 거의 알려져 있지 않다. 그러나 SO₂ 등의 대기 오염이 심한 곳에서 자라는 가로수, 전나무, 소나무와 보리의 세포벽 및 세포외부의 peroxidase 활성이

증가하였을 뿐만 아니라 peroxidase가 대기오염에 의해 생성되는 유독성 산화물에 대한 방어기능을 수행할 것으로 추측되고 있다 (Alonson *et al.* 1993).

2. 중금속 Cd과 Pb 스트레스에 의한 peroxidase 활성 증가

본 연구에서는 Cd 혹은 Pb에 의한 벼 seedling peroxidase의 비활성도 변화와 엽록소 함량을 조사하였다 (Table 3). 동진법씨를 최종농도가 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05 mM가 되는 CdCl₂ 혹은 PbCl₂을 포함한 고체배지에 파종한 후 8일 후 seedling의 peroxidase 비활성을 조사한 결과 Cd의 최종농도가 0.03 mM인 경우 약 3.9배의 peroxidase 활성증가를 나타냈으나 엽록소함량은 대조군의 약 36%에 불과하였다. 0.04 mM Pb처리군의 경우 약 2.5배의 peroxidase 활성증가를 보였으나 엽록소함량은 대조군의 72%로 감소하였다. 식물 peroxidase의 활성에 영향을 주는 요인으로 온도, 빛, 손상 등의 주위환경과 저온(고온), 저(고)염분 및 중금속 등의 각종 스트레스를 들 수 있는데 특히 중금속에 의한 식물 peroxidase의 활성변화를 이용하여 식물의 중금속오염에 대한 지표로서 식물 peroxidase의 활성변화가 제안되어 왔다 (Siegel and Siegel 1986). 또한 Cd, Ni, Zn, Mo 등의 중금속에 의하여 여러 가지 식물 peroxidase의 활성변화 및 isozyme pattern 변화가 보고되어 왔다 (Baycu *et al.* 1999a, b). Peroxidase 뿐만 아니라 최근 중금속 스트레스에 대한 식물의 방어단백질 및 유전자에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 특히 중금속에 대한 세포내 무독화 peptide로 최근 밝혀진 phytochelatin의 경우 γ-GluCys synthetase, glutathione synthetase, phytochelatin synthetase, phytochelatin transporter 등의 효소에 의해 Cd 등의 중금속과 복합체를 형성함으로써 무독화 반응을 수행한다는 사실이 돌연변이체 실험을 통하여

Table 1. Na₂SO₃ concentration needed for 50% germination inhibition of rice seeds on the media containing various concentrations of Na₂SO₃ at different pHs

pH	Na ₂ SO ₃ (µg/ml)
3	2
5	8
7	300

Table 2. Effect of SO₂ solution (Na₂SO₃) on the specific activity of peroxidase from rice seedlings*

pH	Na ₂ SO ₃ (µg/ml)	Peroxidase activity (DOD/min/mg)
3	0	100
	0.5	160 ± 9
	1	250 ± 12
	2	400 ± 18
5	0	100
	4	200 ± 10
	6	300 ± 14
	8	800 ± 18
7	0	100
	100	160 ± 8
	200	200 ± 11
	300	64 ± 7

* Rice seedlings were grown on the media containing various concentrations of Na₂SO₃ at pH 3, pH 5 and pH 7.

Table 3. Effect of Cd or Pb on the specific activity of peroxidase and chlorophyll content of rice seedlings

Addition	Concentration (mM)	Peroxidase activity (ΔOD/min/mg)	Chlorophyll content (µg/g.fr.wt)
Cd	0	100	670
	0.01	180	520
	0.02	240	465
	0.03	390	422
	0.04	375	420
Pb	0	100	670
	0.01	140	600
	0.02	178	540
	0.03	205	490
	0.04	254	485

밝혀졌다(Ross Howden *et al.* 1995). 뿐만 아니라 *CAD2*, *CAD1*, *HMT1*, *ADE2*, *ADE6*, *ADE7*, *ADE8* 등의 관련유전자가 확인되었다(Ha *et al.* 1999). 따라서 무독화반응에 관련된 유전자가 삽입된 형질전환식물체를 이용한 phytoremediation이 중금속에 오염된 식물체 및 주변환경 복원에 사용될 수 있게 되었다. *Pinus*와 *Cedrus*의 경우 토양에 과량 축적된 Cd과 Pb에 의해 peroxidase의 활성이 10배 이상 증가했다고 보고되었다(Bayçu *et al.* 1999a, b). 따라서 Table 3에서 알 수 있듯이 Cd과 Ni 스트레스에 대한 벼 peroxidase의 활성증가도 중금속 스트레스에 대한 세포내 방어체계에 peroxidase가 관여할 가능성을 제시한다.

3. Cu와 Fe 스트레스에 의한 peroxidase 활성억제와 라디칼 소거제에 의한 활성보호작용

Table 4에서는 Cu와 Fe에 의한 벼 seedling peroxidase의 활성억제를 살펴보고, 라디칼 소거제가 활성억제에 미치는 영향을 조사하였다. 0.5 mM CuSO₄에 의하여 벼 peroxidase 활성은 대조군에 비하여 약 57%로 감소하여 43%의 활성을 나타내었다. 그러나 0.05%의 ethanol에 의하여 Cu에 의한 활성억제는 완벽하게 보호되어 대조군의 99%의 활성을 회복할 수 있었다. 뿐만 아니라 0.15% ethanol 존재하에서 peroxidase 활성은 오

Table 4. Effect of CuSO₄ or FeSO₄ on the specific activity of peroxidase from rice seedlings in the presence of radical scavenger ethanol

Addition (0.5 mM)	Ethanol (%)	Peroxidase activity (ΔOD/min/mg)
CuSO ₄	0	43
	0.05	99
	0.15	150
FeSO ₄	0	35
	0.05	80
	0.15	135

Table 5. Effect of various radical scavengers on the inhibition of peroxidase activity from rice seedlings in the presence of CuSO₄ or FeSO₄*

Scavenger (0.05%)	CuSO ₄	FeSO ₄
None	43	30
Ethanol	99	95
Dimethyl sulfoxide	100	70
Mannitol	80	65
Thiourea	38	31
Histidine	67	72

* The peroxidase activity without addition of 0.5 mM CuSO₄ or 0.5 mM FeSO₄ was determined to be 100.

히려 대조군보다 1.5배 증가하여 150%의 활성을 나타내었다. 0.5 mM FeSO₄를 처리한 경우 벼 peroxidase 활성은 대조군의 35%로 감소되었으나, 0.05% ethanol에 의하여 약 80%의 활성을 회복할 수 있었다. 이러한 결과는 Cu와 Fe에 의한 peroxidase의 활성억제현상은 활성산소를 포함한 라디칼이 매개하는 산화적 스트레스에 의한 것임을 보여준다. Table 5에서는 ethanol을 포함한 다양한 라디칼소거제가 Cu와 Fe에 의한 peroxidase 활성억제에 미치는 영향을 조사하였다. Cu에 의한 peroxidase의 활성억제현상은 ethanol 뿐만 아니라 dimethyl sulfoxide에 의하여 완벽하게 회복되었으나, thiourea는 오히려 활성저해현상을 심화시켰다. Fe에 의한 peroxidase 활성억제의 경우 ethanol에 의하여 완벽하게 보호되었으나 Cu에 의한 활성억제보호와는 달리 dimethyl sulfoxide는 mannitol, histidine과 함께 효소활성을 어느정도 밖에 회복시키지 못하였다. 이러한 결과는 Cu와 Fe에 의한 산화적 스트레스가 서로 다른 라디칼에 의하여 수행될 가능성이 있음을 보여준다. 금속이 식물세포에 작용하게 되면 특정효소를 불활성화시킬 뿐만 아니라 새로운 효소형성을 유도하기도 한다. 즉 식물 원형질막에 작용하여 세포의 산화스트레스(oxidative stress)에 대한 일련의 방어기작을 일으켜서 세포를 금속에 의한 독성으로부터 부분적으로 보호하기도 한다(Garia *et al.* 1996). 따라서 식물체의 외형적 손상이 발생하기 이전단계로서 특정효소의 활성변화는 금속오염에 대한 지표로 사용될 수 있다. Cu와 Fe은 세포내에서 일련의 Fenton 반응을 수행함으로써 산화적 변형을 일으킨다고 알려져 왔다(Luna 등 1994). 산화적 변형을 받은 세포에서는 효소의 활성억제 뿐만 아니라 활성산소에 의한 단백질 분해와 DNA분해가 일어나게 된다. 식물세포에서도 Cu와 Fe이 산화스트레스를 유발할 뿐만 아니라 고농도의 Cu와 Fe는 효소의 불활성화와 함께 단백질의 분해를 유발한다고 보고되었다(Lee and Kim 1998b). 따라서 본 연구에서 보여준 Cu와 Fe에 의한 peroxidase의 활성억제현상은 활성산소를 포함한 라디칼이 매개하는 산화적 스트레스에 의한 것이며 이러한 산화적 스트레스가 서로 다른 라디칼 소거제에 의하여 제거됨을 알 수 있었다.

사 사

본 연구는 과학기술부 정책연구사업(환경 99-3)으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Alonson R, V Bermejo, S Elvira and FJ Castillo. 1993. Change in extracellular peroxidase activity induced by natural levels of ozone in Estern Spain. *Plant Peroxidases: Biochemistry and Physiology III International Symposium*. pp. 393-396.
- Bayçu G, E Eruz, H Caner and B Gönençgil. 1999. Heavy metal stress and peroxidases: I. peroxidase activity and chlorophyll content in response to cadmium and lead in *Pinus Pinea*. *Plant Peroxidase Newsletter* 12:13-21.
- Bayçu G, E Eruz, H Caner and B Gönençgil. 1999. Heavy metal stress and peroxidases: II. peroxidase activity and chlorophyll content in response to cadmium and lead in *Cedrus Libani*. *Plant Peroxidase Newsletter* 12: 23-35.
- Castillo FJ. 1992. Peroxidase and stress. pp. 187-203. *In Plant Peroxidases, Topics and Detailed Literature on Molecular, Biochemical, and Physiological Aspects* (Penel C, TH Gaspar and H Greppin eds.) Univ of Geneva.
- Fry SC. 1986. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 37:165-186.
- Garia A, P Navarro and FJ Castillo. 1996. Peroxidase and NADPH oxidase activities in leaves and root of sunflower plants as markers of heavy metals toxicity. pp. 369-373. *In Plant Peroxidases: Biochemistry and Physiology*. University of Geneva.
- Kammerer S, W Praznik, G Jessner, R Ebermann and SA Korori. 1993. Seasonal change of peroxidase isozymes and activity of fructan containing plants. *Plant Peroxidase: Biochemistry and Physiology III International Symposium*. pp. 397-400.
- Kim SS, SH Wender and EC Smith. 1980. Isolation and characterization of two isoperoxidases from tobacco tissue cultures. *Phytochemistry* 19:165-168.
- Kim SS, SH Wender and EC Smith. 1980. Comparison of tryptic peptide maps of eight isoperoxidases from tobacco tissue cultures. *Phytochemistry* 19:169-171.
- Lee MY and SS Kim. 1994. Characteristics of six isoperoxidases from Korean radish root. *Phytochemistry* 35: 276-290.
- Lee MY and SS Kim, 1994. Purification and immunological relationships of six radish isoperoxidases. *Plant Physiol. Biochem.* 32:259-265.
- Lee MY and SS Kim. 1998a. Characteristics of a low molecular weight minor anionic isoperoxidase A_{3n} from radish. *J. Biochem. Mol. Biol.* 31:548-553.
- Lee MY and SS Kim. 1998b. Inactivation and cleavage of radish peroxidase by various reducing agents. *Phytochemistry* 49:23-27.
- Lee DJ and SS Kim. 1998. The regulation of 5' upstream region of a Korean radish cationic peroxidase gene by gibberellic acid and abscisic acid. *Plant Science* 139: 105-115.
- Lowry OH, NJ Rosebrough, AL Farr and RJ Randall. 1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 93:265-275.
- Luna CM, A Gonzalez and V Trippi. 1994. Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves. *Plant Cell Physiol.* 35:11-15.
- Padu E, E Hansen and A Tanav. 1993. Changes in soluble and cell wall associated peroxidase during the lignification of wheat xylem cells. *Plant peroxidase: Biochemistry and Physiology III. International Symposium*. pp. 287-290.
- Park JH and SS Kim. 1996. Isolation, restriction mapping, and promoter sequence analysis of an isoperoxidase gene from Korean radish, *Raphanus sativus* L. *J. Biochem. Mol. Biol.* 29:52-57.
- Pfanz H and B Oppmann. 1991. The possible role of apoplastic peroxidases in detoxifying the air pollutant sulfur dioxide. pp. 401-407. *In Biochemical, Molecular and Physiological aspects of plant peroxidases* (Lobazewski J, H Greppin, C Penel, Gaspar Th, eds.). University M. Curie-Sklodowska, Lublin, Poland and University of Geneva, Switzerland.
- Pfanz H, G Würth, B Oppmann and G Schultz. 1992. Sulfite oxidation in and sulfate uptake from the cell wall of leaves. *In muro studies. Phytol(A)* 32:87-90.
- Howden R, PB Goldsbrough, CR Andersen and SC Cobbett. 1995. Cadmium-Sensitive, Cad1 mutants of *Arabidopsis thaliana* are phytochelantin deficient. *Plant Physiol.* 107:1059-1066.
- Sanchez M, G Revilla and I Zarra. 1993. Role of cell wall peroxidases in the cessation of growth in pine hypocotyls. *Plant peroxidase: Biochemistry and Physiology III International Symposium*. pp. 283-286.
- Siegel SM and BZ Siegel. 1986. Peroxidase activity and stress: A complex relationship. *In: Molecular and physiological aspects of plant peroxidases*. pp. 427-431.
- Ha SB, AP Smith, H Howden, WM Dietrich, S Bugg, MJ O'Connell, PB Goldsbrough and CS Cobbett. 1999. Phytochelatin synthase genes from *Arabidopsis* and the yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *The Plant Cell* 11:1153-1163.
- Valpuesta V, MA Quesada, F Pliego, PM Hasegawa and MA Botella. 1993. *Plant Peroxidases: Biochemistry and*

- Physiology III International Symposium. pp. 405-412.
- van Huystee RB and WL Cairns. 1982. Progress and prospects in the use of peroxidase to study cell development. *Phytochemistry* 21:1843-1847.
- Veitch NC, DJ Gilfoyle, CG White and AT Smith. 1996. Structural characterization of site-directed mutants of horseradish peroxidase by NMR spectroscopy: implications for binding of aromatic donor molecules. pp. 1-7. *In Plant peroxidase: Biochemistry and Physiology* (Oblinger C, U Burner, R Eberman, C Penel, H Grep-pin eds.). University of Geneva.
- Welinder KG. 1991. The plant peroxidase superfamil. pp. 3-13. *In Biochemical, Molecular and Physiological Aspects of Plant Peroxidases* (Lobarzewski J, H Grep-pin, C Penel and Th Gaspar, eds.), University M. Curie-Sklodowska, Lublin, Poland and University of Geneva, Switzerland.
- Wongkaew W, L Meksongsee and P Harinasut. 1991. Peroxidase of road trees that survive in polluted atmosphere. *Biochemical, Molecular, and Physiological Aspects of Plant Peroxidases*. University of M. Curie-Sklodowska, Poland and University of Geneva, Switzerland, pp. 459-462.

Effects of Various Environmental Stresses on the Peroxidase Activities from Rice Seedlings

Jeong-Ae Lee¹, Hyun-Woung Shin and Mi-Young Lee*

Department of Life Science, Soonchunhyang University, Asan, Choongnam, 336-745, Korea,

¹Doping control center, Korea institute of science and technology, P.O. Box 131, Haweolgok-dong, Soungbuk-gu, Korea)

is the major component of acid rain, on the peroxidase activity, rice (*Oryza sativa*) seedlings were grown on the media containing various concentrations of Na₂SO₃. Na₂SO₃ concentrations needed for the 50% inhibition of rice seed germination were determined to be 300 µg/ml at pH 7, 8 µg/ml at pH 5 and 2 µg/ml at pH 3. Notably, about 8 fold and 4 fold increase of the specific activity of the enzyme were observed with the seedlings treated with 8 µg/ml Na₂SO₃ at pH 5 and 2 µg/ml Na₂SO₃ at pH 3, respectively. The effects of Cd and Pb on the peroxidase activities and chlorophyll contents were also examined. About 3.9 fold higher peroxidase activities were found at 0.03 mM Cd, and the chlorophyll contents were reduced to 63% of the control seedlings. At 0.04 mM Pb, 2.5 fold higher enzyme activities were found and the chlorophyll contents were reduced to 72%. Therefore, the increases of rice peroxidase activities might be involved in the defense mechanism of the cell against various environmental stresses such as Na₂SO₃, Cd and Pb. The effects of Cu and Fe, which are the inducers of oxidative stresses by the generations of reactive oxygen species, on the peroxidase activities were also investigated. About 57% and 65% activity losses were found at 0.5 mM CuSO₄ and 0.5 mM FeSO₄, respectively, and radical scavenger ethanol almost completely protected both inactivations. However, dimethyl sulfoxide, mannitol, thiourea and histidine showed different radical scavenging effects one another against Cu and Fe inactivation.

Key words : Environmental stresses, Rice seedling, Peroxidase activity

Abstract - In order to examine the effect of SO₂, which

(2000년 7월 15일 접수, 2000년 8월 25일 채택)