Korean Journal of Environmental Biology

Original article

https://doi.org/10.11626/KJEB.2021.39.3.354

Korean J. Environ. Biol.
39(3) : 354-361 (2021)
ISSN 1226-9999 (print)
ISSN 2287-7851 (online)

모델식물 애기장대에 대한 훈증제 메틸브로마이드의 약해발생 및 *N*-acetyl-L-cysteine, L-glutathione, indole-3-acetic acid의 약해억제 효과

김경남[1], 김채은[2], 박정은[2], 유진성[3], 김우성[4], 전황주[1], 김준란[3,*,†], 이성은[1,2,4,*,†]

[1]경북대학교 응용생명과학과, [2]경북대학교 농생명융합공학과, [3]농림축산검역본부 식물검역기술개발센터, [4]경북대학교 응용생명과학부

Reduction effects of *N*-acetyl-L-cysteine, L-glutathione, and indole-3-acetic acid on phytotoxicity generated by methyl bromide fumigation- in a model plant *Arabidopsis thaliana*

Kyeongnam Kim[1], Chaeeun Kim[2], Jungeun Park[2], Jinsung Yoo[3], Woosung Kim[4], Hwang-Ju Jeon[1], Jun-Ran Kim[3,*,†] and Sung-Eun Lee[1,2,4,*,†]

[1]Department of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea
[2]Department of Integrative Biology, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea
[3]Plant Quarantine Technology Center, Animal and Plant Quarantine Agency (APQA), Gimcheon 39660, Republic of Korea
[4]School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 41566, Republic of Korea

***Co-corresponding author**
Sung-Eun Lee
Tel. 053-950-7768
E-mail. selpest@knu.ac.kr
Jun-Ran Kim
Tel. 054-912-0681
E-mail. junrankim@korea.kr

† Authors equally contributed to this paper as corresponding authors.

Received: 31 August 2021
Revised: 11 September 2021
Revision accepted: 14 September 2021

Abstract: Understanding the phytotoxic mechanism of methyl bromide (MB), an essential fumigant during the quarantine and pre-shipment process, is urgently needed to ensure its proper use and reduce international economic losses. In a previous study, two main MB-induced toxic mechanisms such as reactive oxygen species (ROS) and auxin distribution were selected by analyzing transcriptomic analysis. In the study, a 3-week-old *A. thaliana* was supplied with 1 mM ROS scavengers [*N*-acetyl-L-cysteine (NAC) or L-glutathione (GSH)] and 1 μM indole-3-acetic acid (IAA) three times every 12 h, and visual and gene expression assessments were performed to evaluate the reduction in phytotoxicity by supplements. Phytotoxic effects on the MB-4h exposed group were decreased with GSH application compared to the other single supplements and a combination of supplements at 7 days post fumigation. Among these supplements, GSH at a concentration of 1, 2, and 5 mM was suppled to *A. thaliana* with MB-fumigation. During a long-term observation of 2 weeks after the fumigation, 5 mM GSH application was the most effective in minimizing MB-induced phytotoxic effects with up-regulation of *HSP70* expression and increase in main stem length. These results indicated that ROS was a main key factor of MB-induced phytotoxicity and that GSH can be used as a supplement to reduce the phytotoxicity of MB.

Keywords: quarantine and pre-shipment fumigant, phytotoxicity mechanism, reactive oxidative stress, glutathione

©2021. Korean Society of Environmental Biology.

서 론

메틸브로마이드(methyl bromide)는 피훈증물에 깊이 침투하는 속효성 훈증제로서 해충, 잡초, 선충 등의 방제에 광범위하게 사용되었다(Bond and Monro 1984). 그러나, 메틸브로마이드의 사용이 지구 온난화를 가속화시킬 수 있다는 가능성이 대두되었고, 1992년 몬트리올 의정서에 의하여 지구 온난화 주요 원인 물질 class 1로 분류되었다(Ristaino and Thomas 1997). 따라서 상업 목적의 사용은 금지되었으나 예외조항으로 식물검역의 용도로만 제한적으로 사용을 허용하고 있다(Cox 2017; UNEP 2019).

메틸브로마이드는 식물검역에 있어 가장 주되게 사용되는 훈증제이다. 점차적으로 메틸브로마이드 사용을 줄이기 위하여 포스핀, 에틸포메이트 등과 같은 메틸브로마이드 대체 훈증제의 개발 및 적용 중에 있으나(Kim *et al.* 2019; Park *et al.* 2020), 대다수의 품목에 대한 검역 기준으로 사용 중인 메틸브로마이드를 완전히 대체하기에는 더욱 많은 연구가 필요한 실정이다. 메틸브로마이드는 과실 및 채소류, 곡물류를 비롯한 번식이 가능한 묘목류에 이르기까지 대다수의 항목 검역 소독에 사용하고 있으며, 대체제의 사용이 정착되기 전까지 사용이 불가피한 실정이다. 이와 더불어 메틸브로마이드 훈증 후 식물 약해가 빈번히 발생하는 품목들도 다양하게 보고되고 있다. 특히, 포도, 만다린 그리고 묘목류 등에 있어서 메틸브로마이드 약해가 보고되고 있으며(Harman *et al.* 1990; Li *et al.* 2020), 이에 따른 경제적 손실이 발생하고 있으나 약해 기작 및 저감을 위한 연구는 부족한 실정이다.

이전 연구에서 메틸브로마이드에 의한 약해 기작 연구를 위하여 모델식물인 애기장대(*Arabidopsis thaliana*)를 이용한 전사체 분석(transcriptomic analysis)을 수행한 바 있다(Kim *et al.* 2021). 이를 통하여 메틸브로마이드는 식물체에 활성산소(reactive oxygen species, ROS)를 다량 발생시키며 훈증 후 24시간이 지나도 세포 내 산화적 스트레스가 지속되는 것을 확인하였다(Kim *et al.* 2021). 세포 내 ROS의 과발생은 핵산, 단백질, 지질에 이르기까지 산화적 스트레스를 주어 세포자연사(apoptosis)에 이르게 한다(Dauphinee *et al.* 2017).

세포 내에는 이를 방어하기 위한 효소 및 비효소적 방어 기작이 존재한다. 그중에서 비효소적 방어수단 중 하나인 glutathione (GSH)은 세 개의 아미노산(Gln, Cys, Gly)이 연결된 형태의 수용성이 높은 싸이올(thiol) 물질로 대부분의 식물조직에 분포하며 황산화 효과를 보이는 ROS scavenger 물질로 알려져 있다(Hasanuzzaman *et al.* 2017; Kumar and Chattopadhyay 2018). GSH를 외부에서 추가로 공급하여 식물에 고온, 염 스트레스 등 비생물학적 스트레스로부터 오는 산화적 스트레스에 대응하게 함으로써 약해를 경감시키는 연구 결과가 다수 발표되었으며, GSH의 전구체인 *N*-acetyl-L-cysteine (NAC)을 이용한 사례도 있다(Jahan *et al.* 2014; Ding *et al.* 2016; Zhou *et al.* 2018). 또한, 메틸브로마이드는 식물 생장 호르몬인 옥신(auxin)의 분배에 관여하는 다수의 수송체 유전자 발현이 일제히 저해를 유발시키며 이로 인하여 옥신이 잎에서 뿌리로 이동되지 못하고 잎에 지속적으로 축적되며 뿌리에는 옥신이 부족한 현상을 유도함을 확인한 바 있다(Kim *et al.* 2021). 옥신은 뿌리 발달의 핵심 식물호르몬으로 앱시스산(abscisic acid)의 합성에 영향을 끼치며, 두 호르몬의 항상성 균형은 생물학적/비생물학적 스트레스에 굉장히 중요한 역할을 한다(Du *et al.* 2013). 옥신을 처리하여 건조스트레스로 인한 약해를 경감한 사례도 보고되고 있다(Shi *et al.* 2014).

본 연구에서는 메틸브로마이드 훈증제에 의해 식물에 발생하는 주요 약해 기작인 ROS 과발생과 옥신 불균형을 해결하는 것을 통하여 식물 약해를 경감할 수 있을지 실험하고자 하였다. 모델식물 애기장대에 ROS scavenger 2종(NAC, GSH)과 옥신을 단독 혹은 복합 전처리한 뒤, 메틸브로마이드 훈증에 의한 약해 저감효과를 육안 및 유전자 발현 평가를 통해 분석하고 약해 저감 보조재로서 활용 가능성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 사용물질

메틸브로마이드는 영일엠비(98.5%) 제품을 ㈜농협케미컬(Seongnam, Republic of Korea)에서 구입하여 사용하였다. NAC와 GSH, Indole-3-acetic acid (IAA)는 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

2. 애기장대 및 성장 조건

애기장대는 Columbia (Col-0) 종자의 형태로 경북대학교

윤병욱 교수로부터 제공받아 사용하였다. 애기장대는 플라스틱 화분(7.5 cm × 7.5 cm × 7.5 cm)에 각기 다른 두 지점에 파종하였고 4°C에서 2일간 춘화처리 후, 23 ± 1°C 및 상대습도 60%에서 16 : 8 시간의 명암 주기로 재배하였다. 메틸브로마이드 훈증을 위해서 3주간 자란 애기장대를 사용하였으며, 훈증처리 후 식물 독성 평가기간 동안에도 동일한 환경 조건에서 유지되었다.

3. 훈증처리

메틸브로마이드 훈증처리는 농림축산검역본부 식물검역기술센터에서 검역 기준에 따라 엄격하게 통제된 환경 아래에서 수행되었다. 메틸브로마이드에 의한 약해 유도를 위해 55 L 데시케이터를 사용하였으며, 3주차 애기장대에 메틸브로마이드 30 및 40 mg L^{-1} 농도를 처리하여 4시간 훈증처리하였다. 대조군은 55 L 데시케이터에 동일하게 넣은 뒤, 메틸브로마이드 훈증처리를 하지 않은 조건으로 설정하였다. Concentration-time (CT) 계산을 위해 훈증 후 각각 0.5, 1, 2 및 4시간에 1 L Tedlar bag (SKC, Dorset, UK)을 사용하여 가스를 샘플링하였다. 샘플링된 가스는 gas chromatography (Agilent GC 7890A, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)와 flame ionization detector (FID)를 이용하여 분석하였다. 검량선 작성을 위해 Tedlar bag에 1 L의 air를 채우고 주입되어야 할 기체 용량만큼 air를 실린지를 이용하여 뽑아내 준 뒤, 메틸브로마이드를 동량 주입하여 농도구배하였다. CT값 계산은 기존 연구를 참조하여 아래와 같은 Eq. 1을 사용하였다(Bond and Monro 1984). CT 수식에서의 '*C*'는 분석된 훈증제 농도(mg L^{-1})를 의미하며, '*t*'는 훈증 시간(h), '*i*'는 측정한 순서를 의미한다.

$$CT = \sum (C_i + C_{i+1})(t_{i+1} - t_i)/2 \quad \text{(Eq. 1)}$$

4. 약해평가 및 물질처리

약해평가는 메틸브로마이드 훈증 후 21일동안 수행되었다. 훈증 후 7일차까지는 잎의 상태를 평가하기 위하여 카피스탠드를 이용하여 그룹별 대표사진을 촬영하였다. 주경 길이 평가를 위해서 그룹별 20개체에 대하여 훈증처리 후 7일, 14일, 21일차에 주경의 시작점부터 끝점까지의 길이를 측정하였다. 메틸브로마이드에 의한 약해를 저감하기 위한 물질처리는 훈증처리 전 12시간째부터 총 3회 12시간 간격으로, ROS scavenger 2종(NAC, GSH)의 경우 1 mM로(Ramirez *et al.* 2013; Xue *et al.* 2015), 식물 생장호르몬인 IAA이 경우 1 μM로 농도(Shi *et al.* 2014)로 포트당 20 mL 처리하여 약해 저감효과를 스크리닝하였다. 추가적으로 GSH의 경우, 1, 2, 그리고 5 mM 농도로 위와 동일한 방법으로 처리하여 약해 저감효과를 평가하였다.

5. RNA 추출 및 유전자 발현 분석

메틸브로마이드 훈증이 끝난 직후 애기장대를 개체별로 샘플링하여 드라이아이스를 이용하여 급속 냉동시켰다. 애기장대의 경우 액체질소로 균질화해준 뒤, TRIzol reagent (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 이용하여 제조사의 권장사항에 따라 total RNA를 추출하였다. Total RNA는 μDrop™ Plate (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)을 이용하여 A260/280 비율(1.8~2.0)과 2% agarose gel에 전기영동하여 추출한 RNA의 상태를 확인하였다. Total RNA 5 μg을 Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit with dsDNase를 사용하여 Complementary DNA (cDNA)를 합성하고 하였다. 유전자 발현 분석을 위하여 Luna Universal qPCR Master Mix (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA) 및 QuantStudio 3 Real-Time PCR (Applied Biosystems, Foster City, CA)을 사용하여 quantitative reverse transcription PCR (qRT-PCR)을 수행하였다. 유전자의 발현 수준은 beta-actin2 (*ACT2*) 유전자 발현 수준으로 표준화하였으며, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 방법을 이용하여 상대정량하였다. qRT-qPCR 분석에 사용된 primer는 이전연구에서 사용한 동일 primer를 사용하였다(Kim *et al.* 2021). 또한, 결과는 SPSS 통계 프로그램을 사용하여 One-way ANOVA 및 Dunnett's test 통계처리하였다.

결과 및 고찰

1. 메틸브로마이드 훈증에 의해 유도된 식물 약해 저감물질 스크리닝

애기장대를 이용한 메틸브로마이드 약해가 발생하는 농도인 30, 40 mg L^{-1} 농도에서 4시간 훈증처리 7일 후 약해 저감 후보 물질들의 효과를 육안평가한 결과는 다음과 같다(Fig. 1a). 옥신의 뿌리 내 결핍을 보완하는 효과를 확인하기 위한 IAA 단독처리구의 경우, distilled water (DW) 처리군과 비교했을 때 육안으로 차이가 없었으며, 14일째

 ©2021. Korean Society of Environmental Biology.

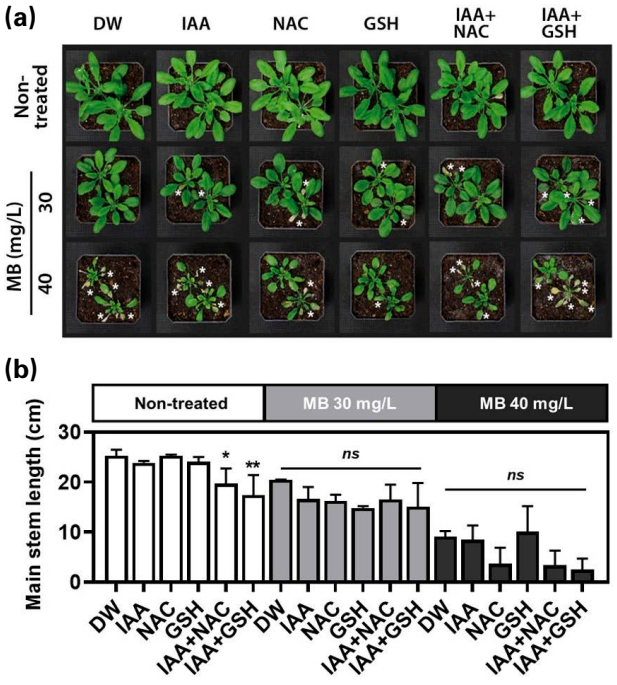

Fig. 1. Screening of supplements capable of reducing methyl bromide (MB) fumigation-induced phytotoxicity. (a) Photographs of *Arabidopsis thaliana* treated with different supplements (DW, Distilled water; IAA, 1 μM indole-3-acetic acid; NAC, 1 mM *N*-acetyl L-cysteine; GSH, and 1mM L-glutathione) at 7-day post-fumigation. The star mark (*) indicates leaves that were affected by MB. (b) Main stem length at 14 days post-fumigation. Statistic differences were analyzed using one-way ANOVA and Dunnett's test as a post-hoc test compared to each distilled water (DW) control in each group.

주경 길이 비교에서도 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 1b). 반면, 메틸브로마이드에 의해 발생하는 활성산소 저감을 위한 ROS scavenger인 NAC와 GSH 단독처리구에서는 육안평가에서 눈에 띄는 감소효과가 나타났으며, 특히 GSH의 경우 훈증 후 7일차 가장 약해가 감소하였으며 이는 주경 길이 평가에서도 확인되었다(Fig. 1a, b). NAC와 GSH의 약해 저감효과는 IAA와 복합처리 시 오히려 감소하는 것을 확인하였다. 메틸브로마이드에 의해 발생하는 뿌리에서의 옥신 농도 감소를 보완하기 위해 IAA를 전처리하여 메틸브로마이드에 의한 약해를 저감하려 하였으나, 이는 오히려 잎에서의 옥신 농도의 증가를 유도한 것으로 추측된다. 옥신의 경우 식물체 내 농도에 따라 성장을 증진시키는 식물호르몬이기도 하지만, 높은 농도로 존재할 경우 에틸렌의 합성을 직접적으로 증진시켜 오히려 노화를 촉진하는 부작용을 일으킬 수 있다(Burg and Burg 1966). 옥신을 약해 저감제로 이용하기 위해서는 처리농도 및 기간에 따른 약해 저감효과 평가 실험이 추가적으로 필요할 것으로 판단된다.

메틸브로마이드에 의해 발생하는 약해에 대한 저감물질의 효과를 추가적으로 평가하기 위해 유전자 발현 분석을 수행하였다(Fig. 2). 열 및 비생물학적 스트레스와 관련된 유전자 전사 cascade의 주요 조절인자인 *MBF1c*의 경우(Suzuki *et al.* 2008), NAC와 GSH 단독처리구에서 메틸브로마이드 처리 전에 이미 높게 발현하는 것을 확인할 수 있다(Fig. 2a). 반면, IAA 단독처리군의 경우 메틸브로마이드 처리 전에는 발현 차이가 확인되지 않았고 훈증 후 발현이 4배 이상 증가한 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2a). 세포 내 산화스트레스와 관련 있는 *HSP70* 유전자 발현에서는 GSH가 포함된 단독처리군 혹은 IAA+GSH 복합처리군에서 메틸브로마이드 처리 전에도 유전자 발현이 증가하는 것을 확인할 수 있다(Fig. 2a). *HSP70*은 대표적인 Heat shock protein로서, 스트레스에 의해 손상된 단백질의 구조를 회복 및 복구하는 데 관여한다고 알려져 있으며 복구가 불가능할 경우 분해하여 제거되어 세포를 보호하는 역할을 담당하다고 알려져 있다(Kumar and Chattopadhyay 2018). 이러한 역할을 담당하는 *HSP70* 유전자의 GSH 처리군에서의 발현 증가는 육안평가에서의 약해 저감효과와 깊이 연관이 있으며, 메틸브로마이드 처리 전 세포의 스트레스에 방어 준비를 하는 역할을 하였다고 판단된다(Figs. 1, 2).

반면, 세포자연사와 관련 있다고 알려진 *BAG6* 유전자의 경우 IAA와 ROS scavenger 2종의 복합처리 시 오히려 물질별 단일처리구 및 컨트롤 대비 메틸브로마이드 훈증 시 높게 증가하는 것을 확인할 수 있다(Fig. 2b). 이는 육안평가에서 NAC와 GSH의 약해 저감효과가 IAA 복합처리 시 오히려 감소한 이유와 연관된 결과라고 판단된다(Figs. 1, 2b). 그리고 옥신 수송체와 관련된 *AUX1*과 *PIN7* 유전자 발현의 경우, 처리한 모든 물질에 의해 메틸브로마이드 처리 이전에 유전자 발현은 차이가 없었으며, 메틸브로마이드 처리 시에도 일부 처리구를 제외한 대부분의 처리구에서 통계적인 유의미한 차이를 보이지 않았다(Fig. 2c). 이를 종합적으로 평가하였을 때, 메틸브로마이드에 의해 유도되는 약해의 경우 세포 내 ROS에 의한 스트레스가 주요한 약해 원인으로 판단하였으며 이를 저감하기 위한 물질로 GSH의 가능성을 추가적으로 평가하고자 하였다.

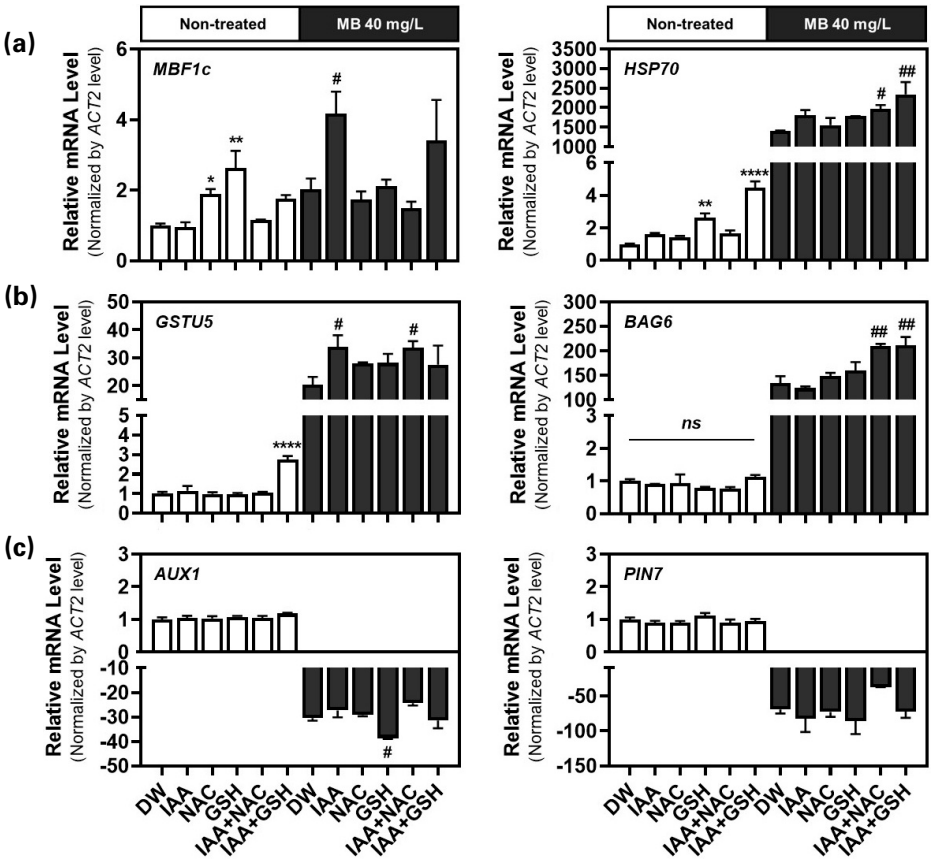

Fig. 2. Prediction of reducing phytotoxic effect by gene expression levels using quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). Gene expressions related to cellular stress (a), Glutathione metabolism/apoptosis (b), and auxin (c) were expressed as fold change normalized by actin 2 (*ACT2*). Statistic differences were analyzed using one-way ANOVA and Dunnett's test as a post-hoc test compared to non-treated distilled water (DW) (*) and MB 40 mg L^{-1} treated DW group (#).

2. GSH 농도에 따른 약해 저감효과 검증

메틸브로마이드에 의해 유도된 약해를 저감하는 효과를 보인 GSH를 1, 2, 그리고 5 mM로 농도구배하여 전처리한 뒤, 메틸브로마이드 40 mg L^{-1}에서 4시간 훈증 후 14일간 육안평가한 결과는 다음과 같다(Fig. 3). 메틸브로마이드 처리 1일 후, GSH 무처리구와 대비하여 육안으로는 큰 차이를 보이지 않았으나 7일 후부터 큰 차이를 보이기 시작하였다(Fig. 3). 그리고 14일차에는 GSH 농도가 증가함에 따라 약해가 저감되는 것을 확연하게 확인할 수 있었다(Fig. 3). GSH를 5 mM까지 고농도를 처리하였을 때도 훈증을 하지 않은 무처리군에서는 모두 유의미한 약해는 보이지 않았으며, 주경의 길이에서도 차이를 보이지 않아 GSH에 의한 약해는 없다고 판단하였다(Fig. 4a). 반면, 메틸브로마이드 처리한 그룹에서는 훈증 후 7일차 주경이 GSH 2, 5 mM 처리군에서는 자라기 시작하였고 14, 21일

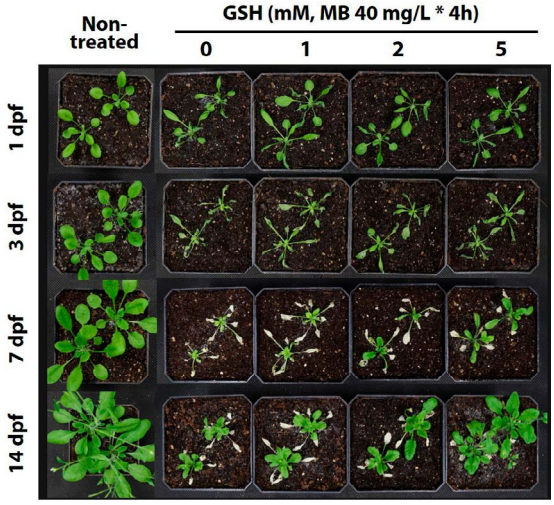

Fig. 3. Representative photographs of *Arabidopsis thaliana* for 14 days post-fumigation (dpf) with 40 mg L^{-1} methyl bromide (MB) for 4 h and co-treatment with 1, 2, and 5 mM L-glutathione reduced (GSH).

 ©2021. Korean Society of Environmental Biology.

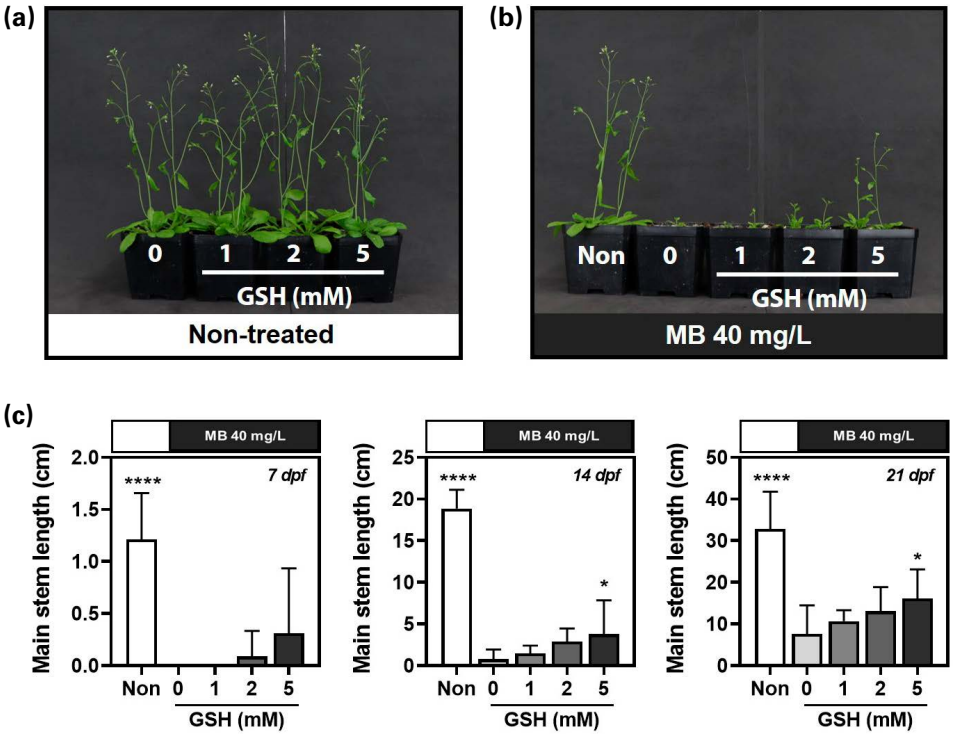

Fig. 4. A comparison of main stem length after co-treatment of 1, 2, and 5 mM L-glutathione reduced (GSH) and methyl bromide (MB) fumigation. (a) Photographs of MB non-treated group treated with 1, 2, and 5 mM GSH at day 14 post-fumigation (dpf). (b) Representative photographs of *Arabidopsis thaliana* co-treated with MB 40 mg L^{-1} and 1, 2, and 5 mM GSH 14 dpf. Non, Non-treated group. (c) Main stem length at 7, 14, and 21 dpf.

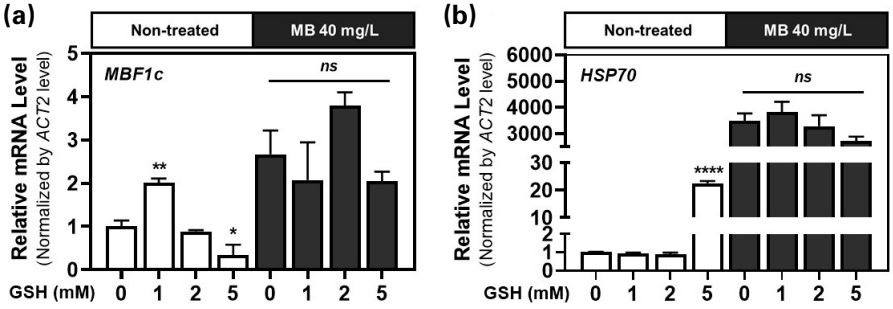

Fig. 5. Gene expression levels related to cellular stress after co-treatment with 1, 2, and 5 mM L-glutathione reduced (GSH) and MB fumigation. Gene expression levels of (a) multiprotein bridging factor 1c (*MBF1c*) and (b) Heat shock protein 70 (*HSP70*) were expressed as fold change normalized by actin 2 (*ACT2*).

차에는 통계적으로 유의미한 결과를 보였다(Fig. 4c). 또한, 앞서 유전자 평가에서 유의미한 결과를 보였던 *MBF1c*와 *HSP70* 유전자 발현을 메틸브로마이드 처리 직후 분석한 결과 *MBF1c*의 유전자 발현은 메틸브로마이드 무처리 시 GSH 1 mM에서 가장 높고, 5 mM 처리군에서 낮은 유전자 발현을 보였다(Fig. 5a). 이는 *MBF1c*의 경우 전사 cascade의 상위 주요 조절인자이기 때문에 유전자 발현 분석을 하는 시간대에 따라 차이를 보일 수 있으며 GSH 5 mM 처리군의 경우 GSH의 농도가 높아 처리 초기 시간대에 *MBF1c*의 유전자 발현이 최고치를 찍고 시간이 지난 후 본 실험을 하여 오히려 감소한 경향을 보이는 것으로 판단된다. 그리고 *HSP70* 유전자 발현이 메틸브로마이드 무처리 시, GSH

5 mM 처리군에서 컨트롤 대비 20배 이상 발현이 증가하였다(Fig. 5b). 그리고 통계적으로 유의미하지는 않지만, GSH 5 mM 처리 후 메틸브로마이드 훈증 시 *HSP70*이 오히려 낮은 유전자 발현을 보이는 것을 확인할 수 있다(Fig. 5b). 이를 통해 GSH 5 mM 처리 시 가장 높은 약해 저감효과를 보였으며, 메틸브로마이드 훈증처리 전 GSH에 의해 유도된 *HSP70* 유전자 발현 증가를 통하여 메틸브로마이드에 의한 산화적 스트레스에 사전에 방어 준비를 하는 역할을 하여 약해가 저감되었다고 판단된다. 이는 고온, 염, 가뭄 스트레스 등과 같은 비생물학적 스트레스로부터 오는 약해를 경감시키기 위하여 GSH를 이용한 사례들과 유사하게 메틸브로마이드 훈증제로부터 유도된 약해 저감에도 적용되는 결과로 사료된다(Jahan *et al.* 2014; Ding *et al.* 2016; Zhou *et al.* 2018).

적 요

본 연구는 식물검역 분야에서 주요하게 사용되고 있는 메틸브로마이드 훈증제로 인해 발생하는 약해를 저감하기 위한 물질을 모델식물인 애기장대를 이용하여 스크리닝하였다. 사전연구를 통하여 메틸브로마이드 훈증제의 식물 독성 메커니즘으로 활성산소발생와 식물 성장 호르몬인 옥신의 식물체 내 분배억제효과가 발생하는 것을 바탕으로 하여, 약해 저감물질후보군으로 활성산소를 제거하는 역할을 하는 ROS scavenger 2종(NAC, GSH)과 옥신을 훈증제 처리 전 애기장대에 처리한 후 약해의 저감 정도를 육안평가와 더불어 관련 유전자의 발현을 확인하였다. 연구 결과 메틸브로마이드에 의해 유도된 약해는 옥신보다는 활성산소를 저감시키는 물질후보군들에서 약해 저감효과가 나타났다. 이 중 GSH을 이용하여 농도구배하여 전처리하였을 때, 5 mM GSH 전처리 후 메틸브로마이드 훈증 시 약해 저감효과가 두드러졌다. GSH 전처리 시 식물체 내에 *MBF1c*와 *HSP70* 유전자 발현이 증가하는 것을 확인하였으며, 이는 메틸브로마이드 훈증으로 유도되는 약해를 방어하는 역할을 담당하였을 것이라고 평가된다. 따라서, 식물검역 훈증제 메틸브로마이드에 의해 발생하는 약해를 저감하는 데 GSH의 사용가능성을 평가하였으며, 이를 기반으로 다양한 식물체에 적용하여 수출입 시 약해로 인한 경제적 손실을 감소시킬 수 있기를 기대한다.

사 사

본 연구는 농림축산검역본부 학술연구용역과제(Z-1543086-2020-22-01)연구비를 지원받아 수행되었습니다.

REFERENCES

Bond EJ and HAU Monro. 1984. Manual of Fumigation for Insect Control. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.

Burg SP and EA Burg. 1966. The interaction between auxin and ethylene and its role in plant growth. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 55:262–269.

Cox D. 2017. Quarantine and Pre-shipment Uses of Methyl Bromide. The Australian Government Department of the Environment and Energy. Canberra, Australia.

Dauphinee AN, JI Fletcher, GL Denbigh, CR Lacroix and A Gunawardena. 2017. Remodelling of lace plant leaves: antioxidants and ROS are key regulators of programmed cell death. Planta 246:133–147.

Ding X, Y Jiang, L He, Q Zhou, J Yu, D Hui and D Huang. 2016. Exogenous glutathione improves high root-zone temperature tolerance by modulating photosynthesis, antioxidant and osmolytes systems in cucumber seedlings. Sci. Rep. 6:35424.

Du H, N Wu, Y Chang, X Li, J Xiao and L Xiong. 2013. Carotenoid deficiency impairs ABA and IAA biosynthesis and differentially affects drought and cold tolerance in rice. Plant Mol. Biol. 83:475–488.

Harman JE, M Lay-Yee, DP Billing, CW Yearsley and PJ Jackson. 1990. Effects of methyl bromide fumigation, delayed cooling, and controlled atmosphere storage on the quality of 'Redgold' and 'Fantasia' nectarine fruit N. Z. J. Crop Hortic. Sci. 18:197–203.

Hasanuzzaman M, K Nahar, TI Anee and M Fujita. 2017. Glutathione in plants: biosynthesis and physiological role in environmental stress tolerance. Physiol. Mol. Biol. Plants 23:249–268.

Jahan S, A Zahra, U Irum, N Iftikhar and H Ullah. 2014. Protective effects of different antioxidants against cadmium induced oxidative damage in rat testis and prostate tissues. Syst. Biol. Reprod. Med. 60:199–205.

Kim K, C Kim, J Park, HJ Jeon, YJ Park, YH Kim, JO Yang and SE Lee. 2021. Transcriptomic evaluation on methyl bromide-induced phytotoxicity in *Arabidopsis thaliana* and its mode of phytotoxic action via the occurrence of reactive oxygen species and uneven distribution of auxin hormones. J. Hazard.

 ©2021. Korean Society of Environmental Biology.

Mater. 419:126419.

Kim K, YH Lee, G Kim, BH Lee, JO Yang and SE Lee. 2019. Ethyl formate and phosphine fumigations on the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* and their biochemical responses. Appl. Biol. Chem. 62:50.

Kumar D and S Chattopadhyay. 2018 Glutathione modulates the expression of heat shock proteins via the transcription factors BZIP10 and MYB21 in Arabidopsis. J. Exp. Bot. 69:3729–3743.

Li L, G Zhang, B Li, JO Yang, MG Park and T Liu. 2020. Postharvest treatment of mandarin fruit using a combination of methyl bromide and phosphine against *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). Pest Manag. Sci. 76:1938–1943.

Park MG, CG Park, JO Yang, GH Kim, Y Ren, BH Lee and DH Cha. 2020. Ethyl formate as a methyl bromide alternative for phytosanitary disinfestation of imported banana in Korea with logistical considerations. J. Econ. Entomol. 113:1711–1717.

Ramirez L, CG Bartoli and L Lamattina. 2013. Glutathione and ascorbic acid protect Arabidopsis plants against detrimental effects of iron deficiency. J. Exp. Bot. 64:3169–3178.

Ristaino JB and W Thomas. 1997. Agriculture, methyl bromide, and the ozone hole: Can we fill the gaps? Plant Dis. 81:964–977.

Shi H, L Chen, T Ye, X Liu, K Ding and Z Chan. 2014. Modulation of auxin content in Arabidopsis confers improved drought stress resistance. Plant Physiol. Biochem. 82:209–217.

Suzuki N, S Bajad, J Shuman, V Shulaev and R Mittler. 2008. The transcriptional co-activator MBF1c is a key regulator of thermotolerance in *Arabidopsis thaliana*. J. Biol. Chem. 283:9269–9275.

UNEP. 2019. Handbook for the Montreal Protocol on Substances that Deplete the Ozone Layer, thirteenth ed. United Nations Environment Programme. Nairobi, Kenya.

Xue J, D Luo, D Xu, M Zeng, X Cui, L Li and H Huang. 2015. CCR1, an enzyme required for lignin biosynthesis in Arabidopsis, mediates cell proliferation exit for leaf development. Plant J. 83:375–387.

Zhou Y, M Diao, JX Cui, XJ Chen, ZL Wen, JW Zhang and HY Liu. 2018. Exogenous GSH protects tomatoes against salt stress by modulating photosystem II efficiency, absorbed light allocation and H_2O_2-scavenging system in chloroplasts. J. Integr. Agric. 17:2257–2272.