

벼 오존가스 노출에 따른 초기 생육 및 안토시아닌 생합성 변화 분석 연구

이현석, 황운하, 양서영, 송영서, 임우진, 정회정, 이충근, 김주희, 최명구*
농촌진흥청 국립식량과학원 작물재배생리과
(2022년 11월 02일 접수; 2023년 03월 03일 수정; 2023년 06월 22일 수락)

Study of Growth and Anthocyanin Accumulation by Ozone Stress in Rice

HyeonSeok Lee, WoonHa Hwang, SeoYeong Yang, Yeongseo Song,
WooJin Im, HoeJeong Jeong, ChungGen Lee, Juhee Kim, MyoungGoo Choi*
*Division of Crop Physiology and Production, National Institute of Crop Science, Rural development
Administration, Hyeoksin-ro 181, Iseo-myeon, Wanju-gun, Jeollabuk-do, Republic of Korea*
(Received November 02, 2022; Revised March 03, 2023; Accepted June 22, 2023)

ABSTRACT

Recently, the concentration of fine dust causative substances (NO_x, VOC, etc.) in the atmosphere has increased, resulting in high concentrations of tropospheric ozone (O₃) and increased damage to crops. This study aimed to analyze the impact of high concentrations of ozone gas on the initial growth of rice plants and investigate the relationship between ozone damage resistance and anthocyanin biosynthesis. To achieve this, rice plants were exposed to elevated levels of ozone gas using an ozone chamber, and subsequent measurements were taken to assess changes in growth, the percentage of damaged leaves, and the anthocyanin content. The results revealed that varieties with a higher proportion of damaged leaves exhibited a relative increase in anthocyanin biosynthesis following ozone exposure. Notably, detrimental effects on growth, such as decreased biomass, were mitigated. Additionally, Anthocyanin biosynthesis genes in rice were listed by selecting homologous genes from Arabidopsis and Maize. The expression of OsF3H2, OsFLS1 and OsLDOX3 was induced during ozone treatment. This result is expected to contribute to the study of the protection mechanism of plants from ozone damage.

Key words: Rice, Ozone stress, Anthocyanin, Growth



* Corresponding Author : MyoungGoo Choi
(audrn2122@naver.com)

I. 서 론

최근 대기중 미세먼지 원인 물질(NOx, VOC등)의 농도가 높아지고, 이에 따라 고농도의 지표 오존가스(O3) 발생으로 인한 농작물 피해 우려가 확대되고 있다(Ramya *et al.*, 2021). 고농도의 지표 오존가스에 의해 벼 잎에는 무정형의 적갈색 반점이 발생하고, 심한 경우 잎의 고사, 엽록소의 파괴로 인한 광합성률 감소 등에 문제가 발생되고 있어 이에 대한 연구가 이루어 지고 있다(Mulchi *et al.*, 1988; Kittipornkul *et al.*, 2020; Ramya *et al.*, 2021). 또한 출수 전 잎의 오존 피해가 등숙기 동화산물 공급을 제한시켜 전분함량의 감소 시키고, 단백질 함량을 증가시켜 벼의 품질을 저하시킨다고 보고 되었다(Jing *et al.*, 2016). 국내 오존 연구는 단편적으로 이루어지고 있으나 중국, 일본에서는 오존농도 및 노출에 따른 수량감소 정도가 다양하게 연구되고 있으며 품종 간 차이가 큰 것으로 확인되었다(Tsukahara *et al.*, 2015; Shao *et al.*, 2021). 오존 저항성이 높은 품종은 Superoxide dismutase (SDO)와 Peroxidase (POD)의 활성이 높고 기공 저항성이 높으며 phenylalanine의 함량이 오존 처리시 높아지는 것으로 연구되었다(Choung *et al.*, 1999; Choung *et al.*, 2000). 또한 오존 노출에 따른 잎의 광합성효율 저하 및 Oxidative 피해 발생하였을 때 Abscisic acid (ABA) 처리할 경우, SOD의 활성이 증가하는 등 증상이 완화되는 것으로 보고되었다(Kim *et al.*, 2002).

식물의 2차 대사산물 중 하나인 안토시아닌(Anthocyanin)은 플라보노이드(Flavonoid)계 색소로 곤충과 동물을 유인하여 수분과 종자의 광범위한 퍼뜨림을 위한 시각적인 신호로서의 역할을 한다고 보고되었다(Holton and Cornish, 1995). 안토시아닌의 생합성은 phenylalanine 시작되며 Chalcone synthesis (CHS)의해 Naringenin chalcone으로 변환된다. 이후 Chalcone isomerase (CHI)의해 이성질화 되어 Naringenin이 된다. Flavanone 3-hydrolase (F3H)는 Naringenin을 dihydrokaempferol으로 변환시키며 이후 Flavanone 3'-hydrolase (F3'H)와 Flavanone synthesis (FLS)에 의해 Hydroxylation화 되어 Dihydroquercetin이 된다. Dihydroquercetin은 Dihydroflavonol reductase (DFR)에 의해 환원되어 Leucocyanidin이 만들어지고 Leucoanthocyanidin dioxygenase (LDOX)에 의해 Anthocyanidin으로 변

환된다. 이후 glycosyl transferase에 의해 Anthocyanin이 만들어지게 된다. 안토시아닌은 항산화작용을 하는 것으로 알려져 있으며 Reactive oxygen species (ROS)가 생성되는 스트레스 조건에서 안토시아닌 생합성 유전자의 발현이 증가하는 것으로 보고되었다(Xu *et al.*, 2017). 본 시험에서는 벼에서 품종별 오존 노출 시 생성되는 안토시아닌 생합성과 피해 정도와의 관계를 분석하고 오존의 의해 유도되는 안토시아닌 생합성 유전자를 구명하고자 한다.

II. 재료 및 방법

2.1. 벼 생육, 오존처리, 피해일 측정

본 실험은 자포니카 계열의 신동진 및 같은 자포니카 계열의 내열성 특성을 지닌 품종인 Gochi boro와, 인디카 계열의 IR72 및 같은 계열의 내한발성 특성을 지닌 품종인 IR79643-39-2-2-3(IR79)와 내열성 품종인 Nagina22(N22), WAB56-125(WAB56)를 사용하였다. 온도와 습도, 오존가스 농도가 조절되는 생육상에서 평균온도 25°C (최고 30°C, 최저 20°C)조건에서 1/5,000a 와그너 포트에 파종하여 21일간 생육 후, 같은 조건의 생육상에서 150ppb의 오존을 4일간 처리하였다. 오존의 발생은 오존발생기 CD-160 (Ambohr electric, CHINA)를 이용하였다. 오존 농도를 OZONE MONITOR MODEL 465L (TELEDYNE, USA) 실시간으로 모니터링 하였으며, 오존 발생 농도를 조절하여 150ppb로 조건을 설정하였다. 처리완료 1일 후 품종당 9개체에서 샘플링 당시 발생하고 있는 최선단의 잎 이전에 발생한 2~3엽을 샘플링하여, 안토시아닌 생합성량과 관련 유전자 발현을 조사하였다. 초장, 엽수, 건물중은 오존 처리완료 7일 후 품종 당 9개체에서 측정하였으며, 품종당 5개체의 최선단의 잎 이전에 발생한 2~4엽에서 갈색반점 생성, 황백화, 잎 조직의 괴사 등의 피해를 받은 잎의 개수를 조사하고 정상적인 잎을 포함한 전체 잎에 대한 피해를 받은 잎의 비율을 제시하였다.

2.2. 안토시아닌 측정

안토시아닌 생합성량은 0.1g의 샘플을 1% HCl-MEOH (v/v) 용액 500ul에 담겨 4°C 암소에서 12시간 추출하였다. 이후 클로로포름 500ul를 첨가하고 흔들어진 뒤 12,000rpm으로 5분간 원심분리하

여 상등액을 얻었다. 상등액을 분광광도계에서 530nm (A530)와 657nm (A657)에서의 흡광도를 측정하여 값을 얻었다(A530-0.33A657).

2.3. 벼의 안토시아닌 생합성 유전자 확인

벼의 안토시아닌 생합성 유전자 염기서열은 벼 게놈 데이터베이스에서 BLAST 검색을 통해 확인하였다. *Arabidopsis thaliana* 와 *Zea mays* 의 안토시아닌 생합성 유전자의 단백질 서열과 도메인을 정보로 하여 벼의 서열정보를 제공하는 Rice Genome Annotation project (<http://rice.uga.edu/>), Ensemble plants (<https://plants.ensembl.org/index.html>), The rice Annotation Project (<https://rapdb.dna.affrc.go.jp/>)에서 상동성이 높은 단백질 서열을 확인 후 명명하였다.

2.4. Total RNA 추출

RNA 추출 0.1g 의 종자를 액체 질소로 얼려 막자사발에 분쇄하여 Plant RNA extraction kit (MACHEREY-NAGEL, USA)를 사용하여 제조사에서 제공한 방법에 따라 추출하였다. Turbo Dnase (Invitrogen)를 사용하여 chromosomal DNA 를 제거

후 RNA clean-up kit (MACHEREY-NAGEL, USA)로 제조사에서 제공한 방법에 따라 정제하였다.

2.5. Quantitation Real-Time PCR 분석

정제된 RNA 1 μ g 을 cDNA 합성 kit (TaKaRa, JAPAN)를 이용하여 제조사에서 제공한 방법에 따라 합성하였다. 합성된 20 μ l 의 반응액을 Nuclease-free water 를 180 μ l 첨가하여 1/10 으로 희석하였다. 합성된 cDNA 중 4 μ l 를 주형으로 삼고 10pmole 의 상보적 primer 를 0.5 μ l 와 SYBR®Green Realtime PCR Master Mix (Toyobo, JAPAN)를 혼합하여 Quantitation Real-Time PCR 을 수행하였다. 각 유전자의 Ct 값을 reference 유전자인 Ubiquitin5 의 Ct 값으로 보정한 뒤 비교하였다.

III. 결과 및 고찰

3.1. 벼에서 오존 노출에 따른 생육 변화

오존 처리에 따른 벼의 생육 변화는 Fig. 1에 나타나 있었다. 먼저 초장의 경우에는, 모든 품종에서 오존 처리 시 다소 증가하는 경향을 보였으나, 통계적으로 유의

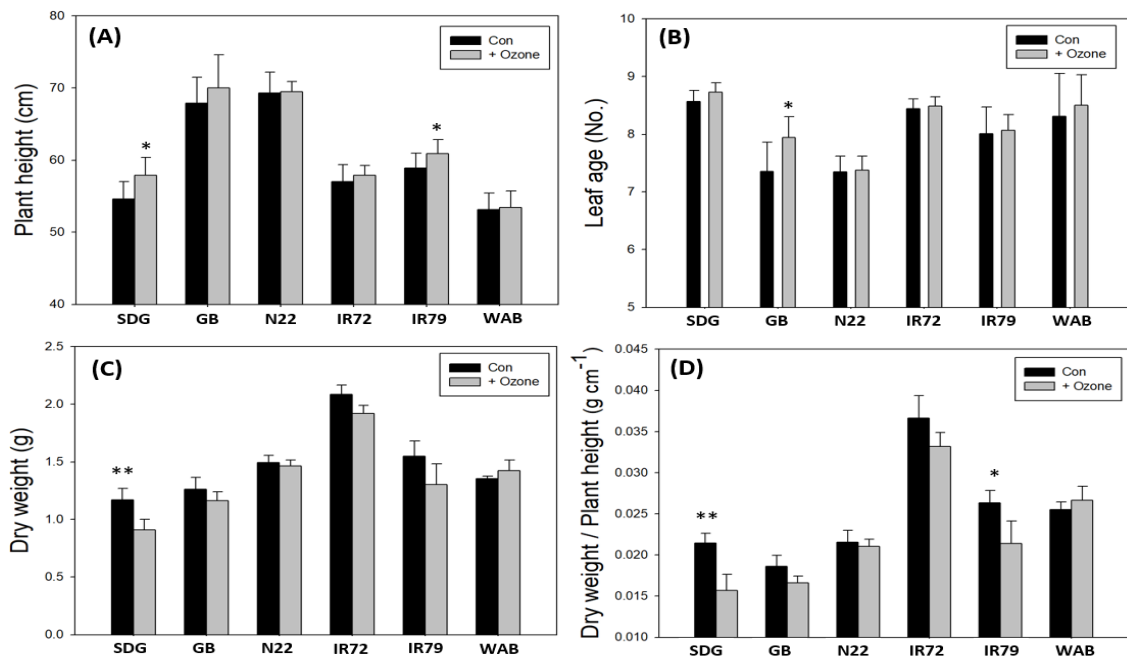


Fig. 1. Plant height(A), leaf age(B), Dry weight(C), and Dry weight/plant height(D) of rice plants exposed to 150ppb ozone for 4 days. Data are mean \pm standard error ($p < 0.05$, $n = 9$). SDG : Shindongjin, GB : Gochi boro, IR79 : IR79643-39-2-2-3, WAB : WAB56-125.

한 차이를 보인 품종은 신동진과 IR79였다(Fig. 1A). 엽수의 경우에는 오존 처리에 따른 차이가 거의 보이지 않았으며, Gochi boro 품종만 엽수가 약 0.5엽 정도 증가하였으며, 통계적으로 유의한 차이를 보였다(Fig. 1B). 건물중은 WAB를 제외한 모든 품종에서 오존 처리 시 다소 감소하는 경향을 보였으나, 신동진 품종만 통계적으로 유의한 차이를 보였다(Fig. 1C). 건물중/초장의 경우에는 건물중의 결과(Fig. 1C)와 동일한 경향으로 오존 처리 시 다소 감소하였으며, 신동진, IR79 품종에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다(Fig. 1D). 이는 저일조 시 벼 초장의 증가 대비 건물 생산량이 감소하여 도복의 위험이 증가하는 결과(Lee et al., 2016)와 유사하였다.

3.2. 벼에서 오존 피해와 안토시아닌 생합성

오존 처리 후의 벼의 잎의 갈색반점 생성, 황백화,

잎 조직의 괴사 등의 피해를 입은 잎의 비율을 조사하였다. Fig. 2A은 오존 처리 후 피해 잎의 비율을 품종별로 비교한 것이다. 인디카 계열의 N22와 자포니카 계열의 Gochi boro의 피해 잎 비율이 80%로 가장 높았으며 같은 자포니카 계열인 신동진의 경우 53% 정도의 피해 잎 비율을 보였다(Fig. 2A). 인디카 계열인 IR72와 IR79, WAB56은 각각 40%, 46% 60%의 피해 잎 비율을 보여 자포니카 및 인디카 계열에 따른 차이 대비 품종 간 차이가 더 큰 것을 확인하였다(Fig. 2A). 한편 내열성 품종인 Gochi boro, N22, WAB56가 오히려 오존에 따른 갈색반점 피해 발생에 취약한 모습을 보였다. 잎의 갈색반점 피해는 오존처리에 따른 건물중/초장 감소 정도와 음의 상관성을 보였으며(Fig. 3A), 오존처리에 따른 잎 갈색반점 피해율과 수량 감소 정도가 양의 상관성을 보이지는 않는다는 결과(Sawada & Kohno, 2009)와 유사하였다. 이와 관련하

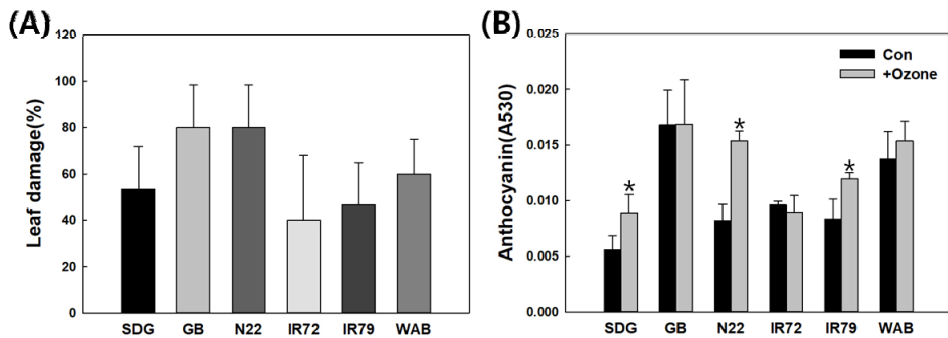


Fig. 2. Damaged leaf ratio(A) and anthocyanin biosynthesis(B) of rice plants exposed to 150ppb ozone for 4 days. Data are mean \pm standard error ($p < 0.05$, $n = 3 \sim 5$). SDG : Shindongjin, GB : Gochi boro, IR79 : IR79643-39-2-2-3, WAB : WAB56-125.

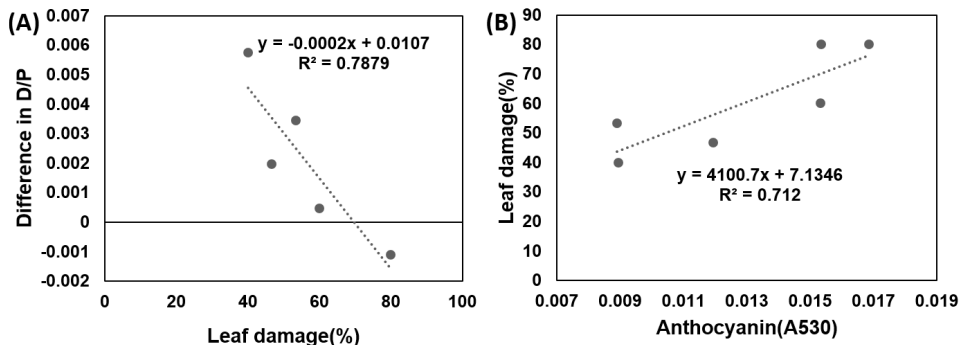


Fig. 3. The relationship between the leaf damage and difference in D/P(A) and the relationship between Anthocyanin content and leaf damage according to ozone treatment (150ppb, for 4 days). D/P : Dry weight/Plant height(g/cm^{-1}).

여 오존처리에 따른 잎에서의 갈색반점 피해 발생과 생육 발달에 미치는 영향에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

오존 저항성이 높은 벼는 SOD와 POD의 활성도가 높으며 phenylalanine의 함량이 오존 처리구에 증대된다는 연구보고(Choung *et al.*, 1999; Choung *et al.*, 2000)가 있어 phenylalanine으로 시작되는 플라보노이드 생합성 과정 중 여러가지 스트레스 저항성 물질로 알려진 안토시아닌의 생합성량(Fig. 1B)을 측정하였다. 오존 처리 후 신동진은 1.6배 증가한 안토시아닌 함량을 보이며 N22는 1.9배, IR79는 1.4배 높은 안토시아닌 함량을 보였다(Fig. 2B). Gochi boro와 WAB56은 오존에 의한 안토시아닌 생합성량의 증가가 나타나지는 않으나 오존을 처리하지 않아도 다른 품종의 비해 높은 안토시아닌 함량을 보이며, IR72는 오존 처리 후에도 안토시아닌 함량의 변화가 없었다(Fig. 2B). 오존 처리시 안토시아닌 생합성의 증가 정도가 오존 저항성을 보이는 것이 아니라, 오존 처리 후 피해 잎의 비율이 높은 품종에서 안토시아닌 생합성량이 높은 상관관계 결과를 보였다(Fig. 3B).

3.3. 벼 안토시아닌 생합성 유전자들의 동정

벼에서 애기장대의 플라보노이드 생합성 과정에 속하는 안토시아닌 생합성 유전자들과 유사한 유전자를 찾기 위하여 벼 게놈 데이터베이스를 검색하여 단백질 유사성이 높은 유전자를 찾았다. Table 1은 벼의 안토시아닌 생합성 유전자들을 단백질의 유사성에 따라 동정하고 유사도의 따라 번호를 붙여 명명한 것이다. 안토시아닌 생합성 단계의 초반을 촉매하는 칼콘 합성효소(CHS)는 애기장대의 CHS와 단백질 서열 유사성을 비교하여 4종의 유전자를 동정하였고(Fig. 4), 유사도(%)에 따라 *OsCHS1* (93%), *OsCHS2* (86%) *OsCHS3* (71%), *OsCHS4* (65%)로 명명하였다(Table 1). 안토시아닌 생합성 단계의 두번째에서 기능을 하는 칼콘 이성질체화효소(CHI)에서는 3종의 유전자를 동정하였고 *OsCHI1* (73%), *OsCHI2* (50%), *OsCHI3* (49%)로 명명하였다(Table 1). 색이 존재하지 않은 안토시아닌의 전구체를 생성하는 플라본 3-히드록실라아제(*F3H*)는 3종의 유전자를 동정하였고 *OsF3H1* (77%), *OsF3H2* (54%), *OsF3H3* (50%)로 명명하였다(Table 1). 플라보노이드 3'-히드록실라아제(*F3'H*)는 1종을 동정하였으며 *OsF3'H* (75%)로 명명하였다(Table 1).

Table 1. Anthocyanin biosynthesis genes in rice

Categoris	Proteins	Rice		Arabidopsis
		Genes	Locus	gene
Structural genes	Chalcone synthesis (CHS)	<i>OsCHS1</i>	<i>LOC_Os11g32650</i>	AT5G13930 (CHS/TT4)
		<i>OsCHS2</i>	<i>LOC_Os07g11440</i>	
		<i>OsCHS3</i>	<i>LOC_Os04g01354</i>	
		<i>OsCHS4</i>	<i>LOC_Os05g12210</i>	
	Chalcone isomerase (CHI)	<i>OsCHI1</i>	<i>LOC_Os03g60509</i>	AT3G55120 (CHI/TT5)
		<i>OsCHI2</i>	<i>LOC_Os11g02440</i>	
		<i>OsCHI3</i>	<i>LOC_Os12g02370</i>	
	Flavanone 3-hydrolase (F3H)	<i>OsF3H1</i>	<i>LOC_Os04g56700</i>	AT3G51240 (F3H/TT6)
		<i>OsF3H2</i>	<i>LOC_Os10g39140</i>	
		<i>OsF3H3</i>	<i>LOC_Os04g57160</i>	
	Flavanone 3'-hydrolase (F3'H)	<i>OsF3'H</i>	<i>LOC_Os10g17260</i>	AT5G07990 (F3'H/TT7)
		<i>OsFLS1</i>	<i>LOC_Os03g03034</i>	
Flavanone synthesis (FLS)	<i>OsFLS2</i>	<i>LOC_Os02g52840</i>		
	<i>OsFLS3</i>	<i>LOC_Os10g41020</i>		
		Dihydroflavonol reductase (DFR)	<i>OsDFR1</i>	<i>LOC_Os01g44260</i>
<i>OsDFR2</i>			<i>LOC_Os08g40440</i>	
	Leucoanthocyanidin dioxygenase (LDOX)	<i>OsLDOX1</i>	<i>LOC_Os01g27490</i>	AT4G09820 (LDOX/TT8)
		<i>OsLDOX2</i>	<i>LOC_Os06g42130</i>	
		<i>OsLDOX3</i>	<i>LOC_Os03g18030</i>	
		<i>OsUGT1</i>	<i>LOC_Os06g09240</i>	
UDP-glycosyl transferase (UGT)	<i>OsUGT2</i>	<i>LOC_Os07g05420</i>		

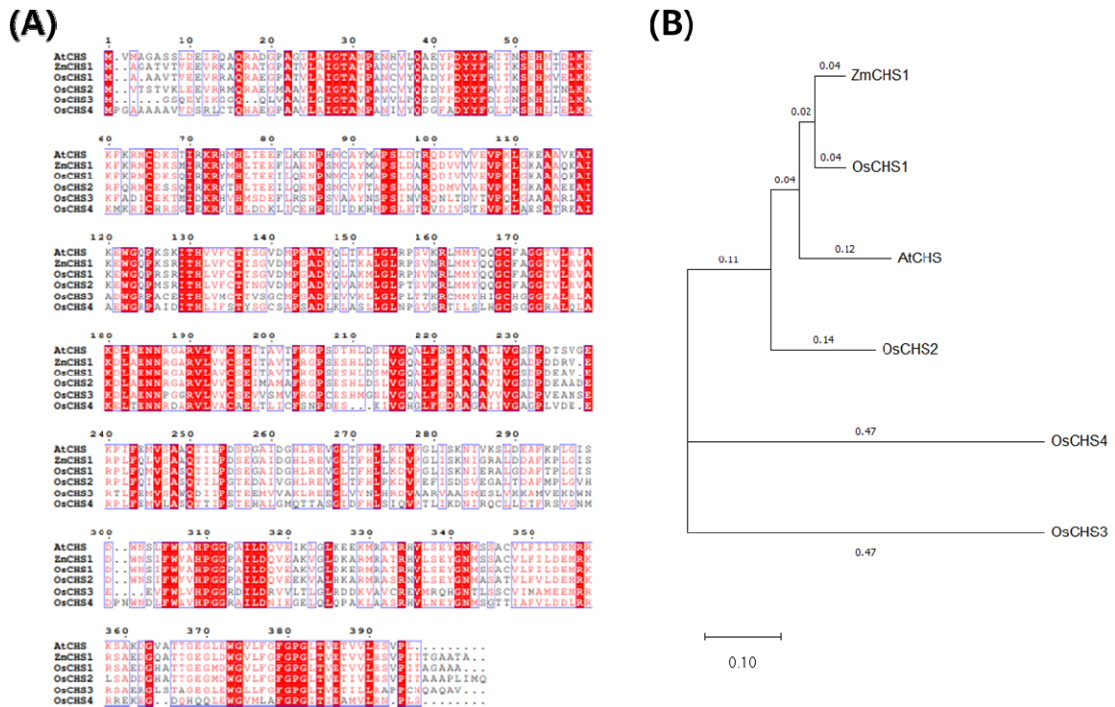


Fig. 4. Multiple sequence alignment(A) and phylogenetic analysis(B) of rice, arabidopsis, maize CHS protein.

이후 플라보노이드 생합성 과정은 플라보놀과 안토시아닌을 합성하는 두가지 경로로 나뉜다. 플라보놀 합성효소(*FLS*)는 3종을 동정하고 *OsFLS1* (55%), *OsFLS2* (70%), *OsFLS3* (56%)로 명명하였다(Table 1). 안토시아닌을 생합성하는 경로의 디히드로플라보놀 환원효소(*DFR*)는 2종을 동정하고 *OsDFR1* (79%), *OsDFR2* (63%)로 명명하였다(Table 1). 안토시아닌 마지막 생합성 효소인 류코안토시아닌 다이옥시지나아제(*LDOX*)는 3종을 동정하고 *OsLDOX1* (71%), *OsLDOX2* (69%), *OsLDOX3* (54%)로 명명하였다(Table 1). 마지막으로 안토시아닌에서 안토시아닌으로 당쇄화 시키는 포도당 전달효소(*UGT*)는 2종을 동정하고 *OsUGT1* (46%), *OsUGT2* (44%)로 명명하였다(Table 1).

3.4. 벼에서 오존 노출에 따른 안토시아닌 생합성 유전자의 발현 변화

동정된 유전자의 complementary DNA (cDNA) 서열을 확인후 quantitation real-time PCR (qRT-PCR)을 수행하기 위한 프라이머(Table 2)를 제작하였다. Fig. 5은 제작된 프라이머를 사용하여 품종별로 오존

처리 후 qRT-PCR을 수행한 결과이다. 벼의 *OsCHS* 전 자군의 경우 *OsCHS2*만 발현량을 비교할 수 있었으며, 나머지 유전자는 발현량이 매우 낮았다. IR79는 오존을 처리하여도 *OsCH2*의 발현량에 큰 차이가 없었으나 나머지 품종에서는 발현량이 41~74% 감소하였다 (Fig. 5). *OsCHI* 유전자군의 경우에는 *OsCHI1*은 발현량이 매우 적어 품종간 비교가 어려웠다. *OsCHI2*는 오존처리시 특별한 경향성을 보이지 않았으나 Gochi boro와 IR72에서 54%, 23% 감소한 발현량을 보이며 IR79와 WAB56 품종에서는 1.9, 2.7배 증가한 발현량을 보였다(Fig. 5). *CHI3*는 오존처리시 안토시아닌 생합성이 증가한 결과와는 다르게 발현량이 감소하는 경향성을 보였다(Fig. 5). 신동진과 Gochi boro, IR72에서 59~77% 감소된 발현량을 보였다(Fig. 5). *OsF3H* 유전자군의 경우에는 *OsF3H2*에서만 발현량 값을 비교할 수 있었으며 *OsF3H1*과 *OsF3H3*는 발현량이 낮아 비교가 어려웠다. *OsF3H2*는 모든 품종에서 오존 처리시 1.5배에서 많게는 73배까지 높은 발현량 증가를 보였다(Fig. 5). *OsF3H*는 신동진과 Gochi boro, IR72에서 90% 이상 발현량이 감소하는 경향성을 보였다(Fig. 5). *OsFLS* 유전자군의 경우 *OsFLS1*는 모든

Table 2. Primers used in this study

qRT-PCR					
Primer	Direction	Sequence(5'→3')	Primer	Direction	Sequence(5'→3')
OsCHS1	F	CGAACTGCGTGTACCAGG	OsFLS1	F	CCTTCAGGGAGATCATAAGCAC
	R	GCATGTACCTCTTCCTGATCTG		R	GATGTAGTCCTGTTCCAAGCC
OsCHS2	F	TGTACCAGACCGACTACCC	OsFLS2	F	ATAAGATCAACTTCTACCCGCC
	R	CCTCAGTAAGATGCGTGTACC		R	CCATCCTTGAATACCTGGAGG
OsCHS3	F	TTTCCAACCTCCAATCACCTCC	OsFLS3	F	GTGGCTTCGACAAACTGAAAG
	R	CGCTTGTCGATCATTGTCTTC		R	GGAGCTTCTGATGGTGTCTG
OsCHS4	F	ACCCGGCAAATATCGTCTATC	OsDFR1	F	ATGGCTCGTCATGAAGCTC
	R	AAGGTGGATGTAGCGTTTCTC		R	TCAGCCTCTCCTTCTACCC
OsCHI1	F	TCCATCCTCTTCACCCACTC	OsDFR2	F	ACGAAGTTCACCATGTACGG
	R	GAATCCAGCACCGCCTC		R	AAGGTGACCAGTTCGTTGAC
OsCHI2	F	CACCTTCCACTTTCCTACCAC	OsLDOX1	F	ACGCAAGCTGTTTCGAGAAG
	R	TCATCTCGGCCACATTCTTG		R	AGTTCTCATTCCGTTTCGATGC
OsCHI3	F	CCTCACCTTCCACTTTCCTAAC	OsLDOX2	F	TCGCCATCCTCTCCCTC
	R	TCATCTCGGCCACATTCTTG		R	CGGGTAGTAGTTGATCTTGAGC
OsF3H1	F	GTACCATCACGCTCCTCC	OsLDOX3	F	GTTCCCGACGCCTTCATC
	R	AACCTCCCATTGCTCAGATAG		R	CTCCACGCTCTGTACACC
OsF3H2	F	CACGGCTTCTTCCAGGTG	OsUGT1	F	AGTTGCAGGCGAAGGTG
	R	GAGTAGAGCTTCGCCTTCTC		R	AGATTATCTCGACGAAGTGGC
OsF3H3	F	AGCATCTCACTGCCAATATGG	OsUGT2	F	CCTATTTCCGCAAGAACGATC
	R	GCTTAGGATTTCAACATGCCAAG		R	AGGAGAAGGTGGCGGAG
OsF3'H	F	GCGAAAAGATCACCGAAACTG			
	R	TGTCAAGCTCATGCTGGG			

품종에서 3배에서 24배까지 높은 발현량 증가를 보였으나, OsFLS2는 발현량이 매우 낮아 비교하기 어려웠다(Fig. 5). OsFLS3는 N22와 IR79, WAB56에서 2배에서 4.4배 높은 발현량을 보였으나 신동진에서는 33% 감소된 발현량을 보였다(Fig. 5). OsDFR 유전자군의 경우 OsDFR1의 발현량이 매우 낮아 비교하기 어려웠다. OsDFR2의 경우 IR79와 WAB56에서 1.5배에서 4배 증가하였으나 IR72에서는 60% 감소된 발현량을 보였다(Fig. 5). OsLDOX 유전자군의 경우 OsLDOX1, OsLDOX2는 발현량이 매우 낮아 비교하기 어려웠다. OsLDOX3는 오존 처리시 모든 품종에서 2.7에서 5.4배 높은 발현량을 보였다(Fig. 5). OsUGT의 유전자군의 경우 2종 유전자 모두 발현량이 낮아 비교하기 어려웠다. 오존처리 후 모든 품종에서 발현량이 증가한 유전자는 OsF3H2와 OsFLS1, OsLDOX3

였다(Fig. 5). F3H는 UV-B나 한발스트레스 하에서 항산화 능력을 높이기 위하여 효소의 활성의 증가와 발현이 증가한다고 보고되었다(Liu *et al.*, 2013). 벼의 3종 존재하는 OsF3H 유전자군중 OsF3H2만이 오존에 반응하여 전체 플라보노이드 생합성량의 증가가 이루어지는 것으로 생각된다. 플라보놀 배당체 또한 항산화 물질로서의 역할 수행하는데, F3H의 의해 dihydrokaempferol로 변환시킨 전구체를 FLS가 dihydroquercetin로 hydroxylation 시킨다(Xu *et al.*, 2020). 이후 당쇄화된 후 액포로 이동하여 플라보놀 배당체항산화 물질로서의 역할을 하게 된다. 벼의 3종 존재하는 OsFLS 유전자군중 OsFLS1이 주로 오존에 반응하여 플라보놀 배당체의 함량을 증가시키는 것으로 생각된다. 스트레스로 인한 ROS 생성시 안토시아닌 생합성 유전자중 후반에 관여하는 유전자의 발현이 증가한다는 연구결

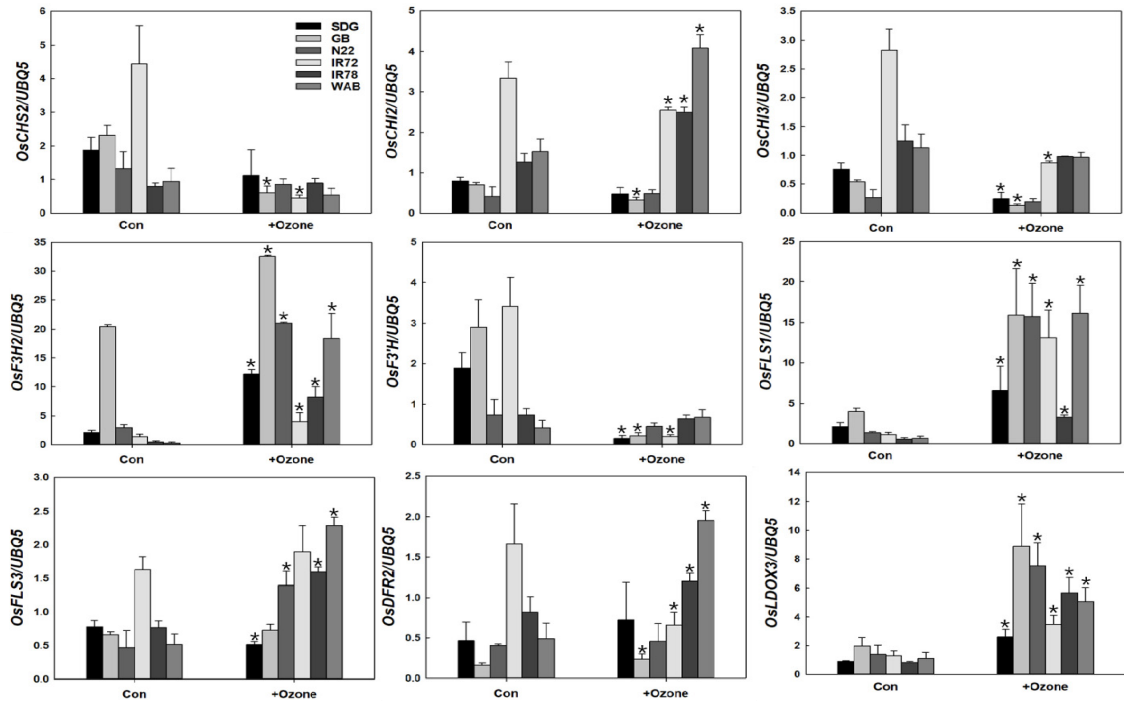


Fig. 5. Difference in relative expression of genes associated with Anthocyanin biosynthesis gene of rice plants exposed to 150ppb ozone for 4 days. Data are mean \pm standard error ($p < 0.05$, $n = 3$). SDG : Shindongjin, GB : Gochi boro, IR79 : IR79643-39-2-2-3, WAB : WAB56-125.

과(Xu *et al.*, 2017)와 마찬가지로 안토시아닌 생합성 유전자중 후반부에 속하는 OsLDOX중 OsLDOX3가 오존에 의해 유도되어 안토시아닌 생합성을 증가시키는 것으로 생각된다.

로 발현이 상승한 OsF3H 유전자는 오존 저항성 마카로 활용이 가능할 것으로 생각된다.

적 요

최근 지표 오존의 증가로 농작물 피해 우려가 확대되고 있다. 본 시험에서는 오존처리 후 안토시아닌 생합성이 증가하는 품종은 오존 저항성이 높을 것이라 예상했으나 오히려 잎의 갈색반점 피해율이 증대된 것으로 나타났다. 오존에 따른 잎에서의 피해율이 벼의 수량 감소와 무조건적으로 상관성을 보이는 것은 아니기 때문에(Sawada & Kohno, 2009), 안토시아닌 등과 같은 스트레스 반응 물질과 잎에서의 피해 정도, 생육 반응 등의 상관성을 확인하는 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다. 오존으로 인한 잎의 피해는 나타나기까지 수일이 걸리지만 안토시아닌의 경우 처리 후 1일이면 확인할 수 있어 조기 검정 방법으로 개발이 가능할 것으로 보인다. 또한 오존에 의하여 특이적으

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 아젠다 사업(과제번호: PJ01501301)의 지원에 의해 이루어진 결과로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

Chung, M., K. Kim, and B. Kang, 2000: Change of SOD, POD Activity and Stomata Resistance for Ozone on Rice (*Oryza sativa L.*). *Korea Journal of Environmental Agriculture* **19**, 160-165.
 Chung, M., K. Kim, D. Song, and B. Kang, 1999: Physiological Responses of Rice (*Oryza sativa L.*) Varieties to Ozone. *Korea Journal of Environmental Agriculture* **18**, 11-17.
 Holton, T. A., and E. C. Cornish, 1995: Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. *Plant*

- Cell 7, 1071-1083.
- Jing, L., V. Dombinov, S. Shen, Y. Wu, L. Yang, Y. Wang, and M. Frei, 2016: Physiological and genotype-specific factors associated with grain quality changes in rice exposed to high ozone. *Environ Pollut* **210**, 397-408.
- Kim, J., T. Son, J. Cho, and S. Lee, 2002: Effects of Abscisic acid on Ozone Injury in Rice. *Korean Journal of Crop Science* **47**(3), 174-185.
- Kittipornkul, P., C. Treesubuntorn, and P. Thiravetyan, 2020: Effect of exogenous catechin and salicylic acid on rice productivity under ozone stress: the role of chlorophyll contents, lipid peroxidation, and antioxidant enzymes. *Environ Sci Pollut Res Int* **27**(20), 25774-25784.
- Lee, S., E. Son, S. Hong, S. Oh, J. Lee, J. Park, S. Woo, and C. Lee, 2016: Growth and yield under low solar radiation during the reproductive growth stages of rice plants. *Korean Journal of Crop Science* **61**(2), 87-91.
- Liu, M., X. Li, Y. Liu, and B. Cao, 2013: Regulation of flavanone 3-hydroxylase gene involved in the flavonoid biosynthesis pathway in response to UV-B radiation and drought stress in the desert plant, *Reaumuria soongorica*. *Plant Physiology and Biochemistry* **73**, 161-167.
- Mulchi, C. L., E. Lee, K. Tuthill, and E. V. Olinick, 1988: Influence of ozone stress on growth processes, yields and grain quality characteristics among soybean cultivars. *Environmental Pollution* **53**(1-4), 151-169.
- Ramya, A., P. Dhevagi, S. S. Rakesh, M. Maheswari, S. Karthikeyan, R. Saraswathi, C. N. Chandrasekhar, and S. Venkataramanie, 2021: Detection of ozone stress in rice cultivars using spectral reflectance. *Environmental Advances* **6**, 100129.
- Sawada, H., Y. Kohno, 2009: Differential ozone sensitivity of rice cultivars as indicated by visible injury and grain yield. *Plant Biology* **11**, 70-75.
- Schoenbohm, C., S. Martens, C. Eder, G. Forkmann, and B. Weisshaar, 2000: Identification of the *Arabidopsis thaliana* flavonoid 3'-hydroxylase gene and functional expression of the Encoded P450 enzyme. *Biol. Chem* **381**, 749-753.
- Shao, Z., Y. Zhao, Y. Zhang, Y. Wang, Y. Wang, and L. Yang, 2021: Effect of ozone stress on yield characteristics of indica-japonica hybrid rice Yongyou 538 in two consecutive growing seasons. *Environmental and Experimental Botany* **186**, 104447.
- Shirley, B.W., W. L. Kubasek, G. Storz, E. Bruggemann, M. Koornneef, F. M. Ausubel, and H. M. Goodman, 1995: Analysis of *Arabidopsis* mutants deficient in flavonoid biosynthesis. *The Plant Journal* **8**, 659-671.
- Tsukahara, K., H. Sawada, Y. Kohno, T. Matsuura, I. C. Mori, T. Terao, I. Masanori and M. Tamaoki, 2015: Ozone-Induced Rice Grain Yield Loss Is Triggered via a Change in Panicle Morphology That Is Controlled by ABERRANT PANICLE ORGANIZATION 1 Gene. *PLoS One* **10**(4), e0123308.
- Xu, Z., K. Mahmood, and S. J. Rothstein, 2017: ROS Induces Anthocyanin Production Via Late Biosynthetic Genes and Anthocyanin Deficiency Confers the Hypersensitivity to ROS-Generating Stresses in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiology* **58**(8), 1364-1377.
- Xu, Z., H. Yang, M. Schaufelberger, X. Li, Q. Cao, H. Xiao, and R. Zhen, 2020: Role of Flavonol Synthesized by Nucleus FLS1 in *Arabidopsis* Resistance to Pb Stress. *Journal of Agricultural Food Chemistry* **68**, 9646-9653.