

보리 엽록체의 광계 II에서 수은, 구리 및 아연의 저해효과 비교

全 鉉 植 · 權 寧 命* · 李 鎭 範

(東義大學校 自然科學大學 生物學科, *서울大學校 自然科學大學 生物學科)

Comparison of Toxic Effects of Mercury, Copper and Zinc on Photosystem II of Barley Chloroplasts

Chun, Hyun Sik, Young Myung Kwon* and Chin Bum Lee

(Department of Biology, Donguei University, Pusan and

*Department of Biology, Seoul National University, Seoul)

ABSTRACT

The room temperature fluorescence induction of chloroplasts was utilized as a probe to locate the site of inhibition by mercury, copper and zinc on PS II by mercury. Inhibitory effect of Hg^{2+} on electron transport activity was notable as compared with Cu^{2+} and Zn^{2+} . At concentrations of $HgCl_2$ over 50 μM , activities of PS II and whole-chain electron transport decreased more than 70%, while that of PS I decreased about 10~30%. This suggests that PS II is more susceptible to Hg^{2+} than PS I is. In the presence of diphenylcarbazide (DPC), 50 μM $HgCl_2$ inhibited the reduction of dichlorophenolindophenol (DCPIP) about 50%. Addition of heavy metals induced marked decrease in maximal variable fluorescence/initial fluorescence [(Fv)m/Fo], but no changes in Fo. With various concentrations of heavy metals, changes of chlorophyll a fluorescence emitted by PS II showed gradual decrease in photochemical quenching (qQ), which indicates an increase in reduced state of electron acceptor, Q_A . Especially, the addition of $HgCl_2$ caused a notable decrease of qQ. In the presence of 50 μM $HgCl_2$, energy-dependent quenching (qE) was completely reduced, whereas in the presence of 50 μM $CuCl_2$ and $ZnCl_2$ it was still remained. The above results are discussed on the effects of mercury in relation to water-splitting system and plastoquinone (PQ) shuttle system.

서 론

비생물계의 물리화학적 유해 환경요인은 생물계와의 비정상적인 순환을 초래시켜 생물에 심각한 피해를 입히게 된다. 특히 이동성이 적은 식물은 유해환경에 직접 노출 되므로 입게 되는 피해가 심하고(Singh and Rai, 1991), 비록 자정능력이 있다고는 할지라도 그 능력 이상의 강도에서는 회복이 불가능한 손상을 받게 된다(Hickey *et al.*, 1991). 이러한 손상은 일차적으로 식물의 광합성 기구에

장해를 줌으로써 생물계 전체로 확대되어 심각한 문제를 야기한다. 특히 유해 환경요인으로서 중금속 이온들은 직접 이온상으로 물에 녹아 축적됨으로써 조류나 남세균에 영향을 주며 수중 생태계의 환경문제를 야기시키고 있을 뿐만 아니라 고등 식물체에서는 물과 함께 흡수되어 광합성계에 손상을 입히게 된다(Singh and Rai, 1991; Hickey *et al.*, 1991).

수은, 납, 카드뮴 등은 비필수 원소로서 금속 이온 및 유기화합물 형태로 독성을 나타내지만 공업제품의 생산에 광범위하게 사용되고 있기 때문에 오래동안 환경 유해물질로 인식되어져 왔다. 구리 및 아연 등의 금속 이온들은 식물체의 대사과정에 중요한 미량원소로 작용하지만, 과

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구비(91-0500-16) 및 세포분화연구센터의 연구비(92-5-5) 지원에 의하여 수행된 것임.

량이 흡수될 경우 체내에 축적되고 이로 인하여 심각한 식물 대사활동의 저해와 생장의 저해가 일어난다(Park and Kwon, 1986; Rashid *et al.*, 1991). 이러한 금속의 독성은 금속 이온이 생체내의 단백질 복합체 분자들과 결합하여 입체적인 구조변화를 초래하고, 기능의 불활성화를 초래하거나 다른 금속을 치환하는 방법으로 저해작용을 나타내는 데서 비롯된다(Nieboer and Richardson, 1980). 수은은 광화합반응계의 광계 II의 활성(Murthy *et al.*, 1990)과 광계 I의 활성(Kojima *et al.*, 1987; Singh *et al.*, 1989)을 억제하며, 산소발생과 엽록소 형광을 저해하는 광계 II 반응중심의 불활성화는 Hg^{2+} 이온의 억제와 물의 광분해와 관련되어 있다고도 한다(Samson and Popovic, 1990). 구리는 엽록체의 전자전달계에 관여하는 플라스토시아닌의 구성성분인 동시에 여러 효소의 보조인자로 작용하며 부족할 경우 엽록소 합성억제로 인하여 식물체에 황화 현상이 나타나고(Park and Kwon, 1986), 과도한 축적은 고등식물의 광합성 기구의 활성을 저해하여 광계 I과 광계 II의 활성(Renganathan and Bose, 1990) 및 광인산화 과정을 억제할 수 있다(Uribe and Stark, 1982). 이러한 억제효과는 광이 존재하는 경우 더욱 촉진된다(Cedeno-Madonado and Swader, 1972). 그러나 아연의 경우 광계 I의 활성에는 무관하며 광계 II에만 억제효과를 나타냄을 보고하였다(Rashid *et al.*, 1991). 또한 이와 같은 금속 이온에 의한 광합성의 억제효과가 광계 II의 산화환원 반응계와 일차적인 관련을 가짐을 형광유도 실험 및 전자전달계 활성 측정으로 밝혀졌다(Murthy *et al.*, 1989, 1990).

비록 중금속에 의해 영향을 받는 광화학 반응의 민감성에 대해서는 상기와 같이 많은 보고가 있으나, 아직 이들 중금속이 광합성 기구에 작용하는 부위와 작용방식에 대해서는 많은 논란이 있기 때문에 중금속의 영향에 관한 연구는 아직도 새로운 방법과 접근이 필요하다. 최근 형광 분석법은 광화학적 변화, 광효율성 및 틸라코이드막의 구조와 에너지의 전환과정까지도 해석 가능케 하고 있다(Falk *et al.*, 1992). 이 방법은 매우 민감하고 간편하게 측정할 수 있을 뿐 아니라 시료에 거의 영향을 주지 않기 때문에 온도, 광, 염분, 대기 및 수질오염 등의 주요 stress들이 식물체에 미치는 영향의 연구에 빈번히 이용되고 있다(Renger and Schreiber, 1986).

본 연구에서는 구리 및 아연과 비교하여 수은이 광합성의 전자전달계 활성에 미치는 영향을 보리 유식물의 분리 엽록체를 사용하여 조사하고, 아울러 엽록소 형광에 미치는 효과를 분석함으로써 광계 II의 광화학 반응계에 미치는 영향을 알아보고자 수행되었다.

재료 및 방법

재료의 준비. 보리(*Hordeum vulgare* L. cv, Alborti)는 종자를 영남작물 시험장에서 분양받아 냉장 보관한 것을 암처에서 2일간 발아시킨 후, 연속광($100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) 하의 growth chamber($25\pm 1^\circ\text{C}$)에서 7일간 자란 유식물의 잎을 사용하였다.

엽록체의 분리. Lee 등(1983)의 방법에 따라 시료 10 g를 0.33 M sorbitol, 5 mM $MgCl_2$, 10 mM NaCl, 0.1% BSA가 포함된 50 mM Tricine-KOH(pH 7.9)의 100 mL grinding medium에 넣고 고속 waring blender로 3초간 3회 마쇄한 후, 2겹의 miracloth로 여과하였다. 여과액을 처음 200 g로 3분간 원심분리하여 상정액을 취하고, 다시 1,300 g로 5분간 원심분리해서 침전된 시료를 2~3 mL의 0.33 M sorbitol, 5 mM $MgCl_2$, 2 mM $MnCl_2$ 가 함유된 50 mM HEPES-KOH(pH 7.6)에 적당량 현탁 회석($500\sim 1,000 \mu\text{g Chl}/\text{mL}$)시켜 분리엽록체로 사용하였다.

전자전달계 활성의 측정. 전광계의 활성은 전자공여체를 H_2O 로 하고 전자수용체로 $50 \mu\text{M}$ methylviologen (MV)를 사용하여 산소가 소비되는 산소변화량으로 측정하였으며, 광계 II의 활성은 H_2O 로부터 전자수용체인 phenyl-*p*-benzoquinone[PBQ(0.3 mM)]를 이용하여 산소발생량으로 측정하였고, 광계 I의 활성은 DCMU에 의해 광계 II로부터의 전자전달을 억제한 후, dichlorophenolindophenol(DCPIP) + ascorbate를 전자공여체로 사용하여 전자수용체인 MV를 이용하여 산소소비량을 측정하였다. 엽록소의 함량은 $40 \mu\text{g Chl}/\text{mL}$ 이 되게 하였으며, 반응액은 0.33 M sorbitol, 1 mM $MnCl_2$, 5 mM $MgCl_2$ 가 포함된 50 mM HEPES-KOH(pH 7.6) 용액이었다. 반응계 측정은 Clark type의 oxygen electrode(Hansatech, U.K.)로 측정하여 기록된 자료로써 산소변화량으로 계산하였다(Binder and Bachofen, 1979).

DCPIP 환원. 광계 II의 DCPIP의 환원을 측정하기 위한 반응액은 전자전달계 활성 측정시와 동일하게 사용하였으며, PBQ 대신 전자수용체로서 0.1 mM DCPIP, 전자공여체로서 1.0 mM diphenylcarbazide(DPC)를 대체하였다. 반응 혼합액은 빛을 쬐여주기 전에 3분간 25°C 에서 적응시킨 후, spectrophotometer에서 흡광도의 변화로 DCPIP의 환원된 양을 계산하였다.

형광유도 과정과 형광소멸 계수의 계산. 엽록소 형광은 Horton과 Hague(1988)의 방법과 유사하게 Hansatech fluorometer(Hansatech, U.K.)와 PAM Chlorophyll fluorometer(H. Walz, Effeltrich, Germany)를 이용하여 산소소비와 동시에 측정하였다. 매우 약한 LED광(light emitting diode, $1 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 이하)을 조사하여 initial fluorescence(F_0)를 구하였으며, 포화광($3,000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)을 조사시켜 maximal fluorescence(F_m)를 구하였고, maximal

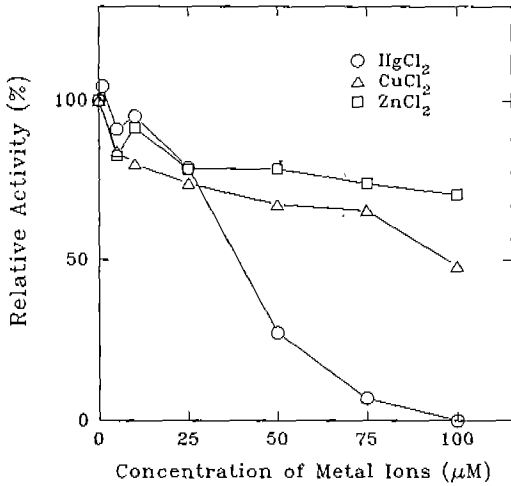


Fig. 1. Effect of mercury, copper and zinc on electron transport activity in broken chloroplasts isolated from barley. Light intensity was $1,330 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PFD. Control rate was $104 \mu\text{mol O}_2\cdot\text{mg Chl}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

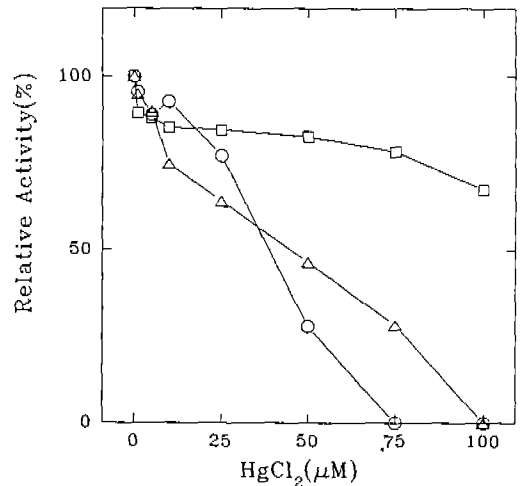


Fig. 2. Effects of mercury on electron transport activities of PS I (□), PS II (△) and PS II+I (○) in barley chloroplasts. Light intensity was $1,330 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PFD. Control rate of PS I, PS II and PS II+I were 264, 75 and $104 \mu\text{mol O}_2\cdot\text{mg Chl}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ each.

variable fluorescence $[(F_v)m]$ 은 $(F_m - F_0)$ 로 계산하였다. 유도과정은 엽록소 함량이 $40 \mu\text{g Chl}/\text{mL}$ 인 1.2 mL 반응액으로 하여 시료를 5분간 암상태에서 적응시킨 후에 측정하였다. 사용된 actinic light는 KL 1500-T(Schott, Germany) halogen lamp 광을 RG610 glass filter와 Ealing 680 nm short pass interference filter에 통과시켜 neutral density filter를 써서 $1,330 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 의 photon flux density(PFD)를 사용하였다. 포화광의 펄스(1초)는 project lamp(Novamat 515 AF, Braun, Germany) 광을 제작된 Timer에 연결하여 제어되는 Uniblitz shutter에 30초 주기 간격으로 통과시켜 사용하였다. 형광유도 변화에 따른 형광소멸 계수는 Oxborough와 Horton(1988)의 방법에 따라 qQ(fluorescence quenching due to Q_A oxidation) 및 qE(fluorescence quenching due to high energy)를 계산하였다.

엽록소 함량 측정. 엽록소의 정량은 Holden(1965)법에 따라 645 nm와 663 nm에서 spectrophotometer(Spectronic 88, Baush & Lomb, U.S.A)로 흡광도를 측정하여 산출하였다.

중금속 이온의 처리. $\text{HgCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, ZnCl_2 를 cuvette chamber내 반응용액에 Hamilton syringe를 이용하여 1~100 μM 의 농도로 직접 주입 처리하였다.

결과 및 고찰

전자전달 활성에 미치는 영향. 수은, 구리 및 아연을 보리로부터 분리한 엽록체에 농도별로 처리하여 전광계에

대한 전자전달 활성을 MV를 이용한 산소소비량으로 상호비교하였다(Fig. 1). 25 μM 이하의 농도에서는 처리한 세 가지 중금속 이온이 거의 비슷한 억제 효과를 보였으나, 100 μM 농도의 경우 수은 처리는 전자전달 활성을 거의 소멸시키는데 반해 구리는 43.4%, 아연은 70.4%의 활성을 나타냈다. 전반적으로 수은이 보리 엽록체의 전자전달 활성에 가장 민감하였으며, 그 다음은 구리, 아연의 순이었다. 실제 구리와 아연은 수은과는 달리 식물체의 생육 및 발달에 적은 양으로는 필요하지만(Walker, 1953; Rashid *et al.*, 1991), 과량으로 존재할 때는 식물체에 해를 주고, 특히 전자전달계의 단백질 복합체와 결합하거나 작용하여 전자전달을 억제하는 것으로 알려져 있다(Katoh and Takamiya, 1964).

Fig. 2는 분리 엽록체에서 각 광계별 전자전달 활성에 대한 수은이 미치는 영향을 보여준다. 수은이 광합성 기구에 미치는 효과는 매우 다양하여 그 작용부위 역시 여러가지 제안된 바 있다. 수은은 광계 II의 oxidizing side인 물 분해기구의 활성을 저해하고(Samson and Popovic, 1990), 광계 II에 작용하여 plastoquinone(PQ)과 cytochrome f 사이의 coupling site에 작용하며(Bradeen and Wignat, 1973), 광계 I의 전자전달 역시 저해한다(Kojima *et al.*, 1987). 본 실험에서도 수은 이온의 농도가 증가할수록 광계 II($\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{PBQ}$) 및 전광계($\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{MV}$)의 활성은 급격히 감소하였으며, 광계 I($\text{Asco} + \text{DCPIP} \rightarrow \text{MV}$)의 활성 역시 점진적인 감소를 보였다(Fig. 2). 이는 Kojima 등(1987)이 100 μM 농도의 수은이 Fe-S center에 작용하여 광계 I의 활성을 저해한다고 한 사실과 부합한다. 그러나 50 μM

Table 1. Effects of Hg²⁺ on reduction of DCPIP in isolated chloroplasts from barley. The values are the means of 3 replicates of the representative experiment

Additions	H ₂ O → DCPIP	DPC → DCPIP
	mol·mg Chl ⁻¹ ·h ⁻¹	
Control	367.6 (100)	419.1 (100)
50 μM HgCl ₂	178.5 (49)	213.2 (51)

이상의 농도에서 광계 II 및 전광계는 70% 이상의 억제를 보이고 광계 I은 10~30% 정도 억제함을 알 수 있듯이 수은이 광계 I보다는 광계 II에 더욱 민감하게 작용함을 보여준다.

광계 II의 산소발생복합체에 미치는 수은의 영향을 조사하기 위하여 광계 II의 전자전달 활성을 DCPIP 환원을 이용하여 측정하였다(Table 1). 수은의 첨가에 의한 H₂O로부터 DCPIP로의 전자전달은 51%의 억제를 보였다. 만일 수은이 물분자를 산화하고 산소분자를 방출하는 산소발생 복합체에만 영향을 미친다면, 산소발생 부위를 우회하여 전자를 광계 II에 전달하는 DPC 존재시 DCPIP 환원은 전혀 억제현상을 보이지 않을 것이다. 그러나 DPC의 존재시에도 수은의 첨가는 49%의 억제를 보였다. 전자공여체로서 NH₂OH를 이용하였을 경우 초기 형광유도 과정에서 peak fluorescence(FP)의 상승을 보여줌에 따라 수은의 광계 II 활성의 저해부위가 산소발생복합체에 일차적으로 있음을 보고한 바 있다(Lee *et al.*, 1992b). 따라서 이 결과는 수은의 광계 II의 저해부위가 산소발생복합체외에도 존재함을 시사한다.

엽록소 형광에 미치는 영향. 대체로 중금속 이온들은 광합성 기구에서 복합적인 영향을 미치기 때문에 주로 광계 II에 작용하는 이들의 특이한 영향을 비교하기 위하여 광합성을 수행하는 동안 발생하는 엽록소에서 방출되는 형광을 측정하였다. 실온에서 거의 모든 형광은 광계 II로부터 방출되며, 광계 II의 반응중심으로의 exciton의 전이가 일어나기전의 광계 II 안테나에 있는 엽록소 a분자에서 방출되는 형광 뿐만 아니라 광계 II의 reducing side에 있는 Q_A의 산화환원 상태를 알수 있기 때문에 광계 II 주변에서 일어나는 변화를 민감하게 감지할 수 있다(Walker, 1988). Fig. 3은 7일 동안 자란 보리 유식물에서 엽록체를 분리하여 수은 이온과 구리 이온을 처리하거나, 4일 동안 자란 보리 유식물의 배양액에 3일 동안 수은 이온을 농도별로 처리하여 7일간 자란 식물체에서 분리한 엽록체로 엽록소 형광의 (Fv)m/Fo를 알아본 결과이다. (Fv)m/Fo는 안테나색소의 파괴나 손실 정도에 따라 영향받는 Fo와 광계 II의 에너지 전달률이나 광화학 반응의 소실 정도에 따라 형성되는 (Fv)m(Björkman, 1987)에 의해 나타내어진다. (Fv)m

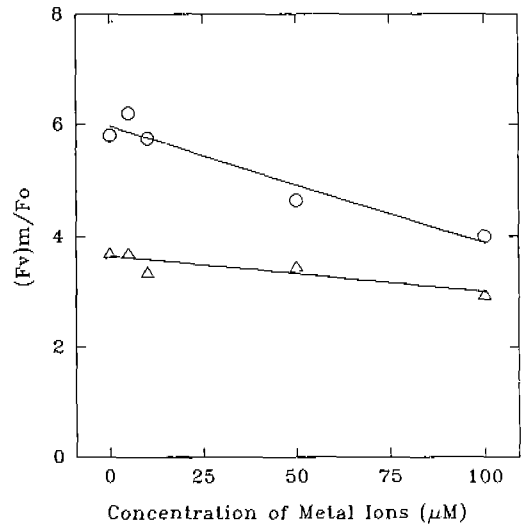


Fig. 3. Changes of (Fv)m/Fo in broken chloroplasts of barley treated with mercury and copper, respectively. (○), HgCl₂-treated chloroplasts isolated from barley seedlings grown for 7 days; (△), CuCl₂-treated chloroplasts isolated from barley seedlings grown for 7 days.

/Fo가 처리한 중금속 이온의 농도가 증가함에 따라 점차 감소하였다. 이와 같은 현상은 Fo는 중금속 처리에 의해 거의 변하지 않았으나, (Fv)m의 감소에서 기인된 것이었다. 산소발생(Fig. 1)과 형광(Fig. 3)의 동시감소는 유입된 들뜬 에너지가 다른 경로를 통해 소멸됨이 증가하는 결과임을 제시한다. Fo가 변하지 않음은 광수확 안테나 색소에서, 그리고 광계 II 반응중심으로의 들뜬 에너지의 전달이 크게 영향을 받지 않음을 나타낸다(Hsu and Lee, 1988). (Fv)m의 감소는 광계 II의 반응중심이 닫힘에 따른 에너지 전달의 막힘과 광화학 반응의 소실에서 나타난 결과일 것이다(Baker and Horton, 1987). 엽록체에 직접 수은이온을 처리한 결과와 성장하는 유식물에 처리한 결과를 비교해 볼 때, (Fv)m의 감소와 Fo의 상승으로 (Fv)m/Fo의 값은 수은 농도의 증가에 따라 엽록체에 직접 처리했을 때 더욱 감소하였다. 이는 이전의 보고(Lee *et al.*, 1992a)에서 유식물 생장시 수은을 처리하였을 때, 대부분 뿌리와 배측마디에 분포하고, 잎에는 거의 존재하지 않았으며, 작은 차이지만 잎의 경우 하단부가 상단부보다 많이, 엽맥이 엽신보다 많은 수은을 포함하고 있었으며, 72시간 후에야 잎에 어느 정도 존재하는 것으로 미루어 보아, 엽록체에 직접 수은을 처리하였을 때 더 심한 영향을 주는 것으로 여겨진다.

형광소멸 요인에 대한 영향. 각기 다른 농도의 중금속 이온을 처리한 분리 엽록체에 actinic beam(1,330 μmol·m⁻²·s⁻¹)을 가함으로써 광합성을 수행하는 동안 방출되는 엽

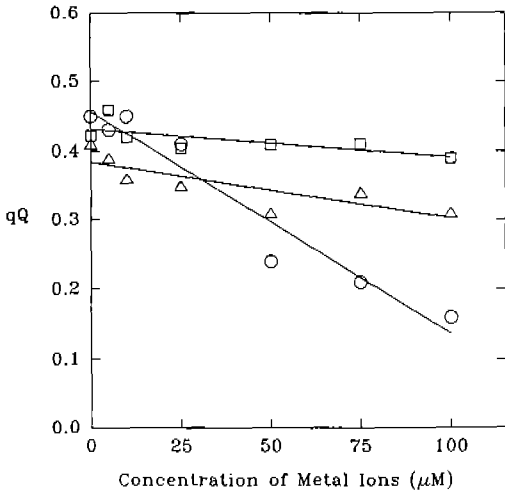


Fig. 4. Changes of photochemical quenching (qQ) in broken chloroplasts of barley at various concentrations of HgCl₂ (○), CuCl₂ (△) and ZnCl₂ (□). Light intensity was 1,330 μmol·m⁻²·s⁻¹ PFD.

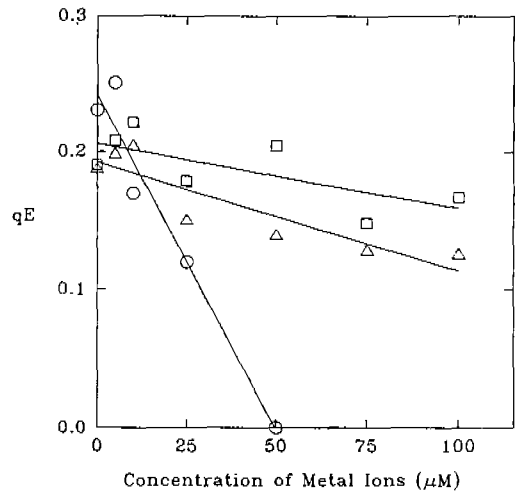


Fig. 5. Changes of energy-dependent quenching (qE) of non-photochemical quenching in broken chloroplasts of barley at various concentrations of HgCl₂ (○), CuCl₂ (△) and ZnCl₂ (□). Light intensity was 1,330 μmol·m⁻²·s⁻¹ PFD.

록소 형광의 소멸 요인 중 photochemical quenching인 qQ (Fig. 4)와 energy-dependent quenching인 qE(Fig. 5)에 대해 조사하였다. qQ는 quinone의 산화환원 상태를 나타낸 것으로 광계 II 반응중심의 열림 상태를 반영한다. Mohanty 등(1989)은 구리 이온이 광계 II의 2차 quinone 전자수용체인 Q_B에 영향을 줄을 보고하였으며, 광계 II의 반응중심의 불활성화로 광계 II의 quantum yield를 감소시킨다는 보고(Samson *et al.*, 1988)는 광화학 반응계와 밀접히 관련된 형광소멸 요인에도 영향되어질 것으로 믿어진다(Shreiber *et al.*, 1986). 아연의 경우 거의 qQ에 영향을 주지 못하였고, 구리는 농도에 따라 점진적으로 qQ가 감소하였으나, 수은의 경우 농도가 점차 증가함에 따라 qQ에 의한 형광소멸이 매우 극심하게 나타났다(Fig. 4). 이러한 결과는 Fig. 1의 산소발생에 대한 각 중금속 이온들의 억제 현상과 거의 일치한다. qQ의 감소는 결국 광계 II의 수용체인 Q_A의 환원 상태를 반영하는 1-qQ의 증가를 의미하며, 수은의 경우 대략 50% 환원상태를 보이는 0.5의 1-qQ값이 50 μM 정도의 농도에서 보여준다. 중금속, 특히 수은에 의한 광계 II의 reducing side에 있는 Q_A의 환원상태가 증가함의 의미는 Q_B를 포함한 PQ shuttle에 의한 Q의 재산화가 제한되었음을 나타낸다(Walker, 1988). 구리의 경우 Q_B에 영향을 주어 광계 II의 광화학 활성을 억제한다는 보고가 있다(Mohanty *et al.*, 1989).

Energy-dependent quenching 인 qE에 대한 중금속 이온들의 영향은 Fig. 5에서 볼 수 있다. 구리, 아연의 경우 qE의 감소가 완만한 반면 수은 처리구에서는 qE의 형성에

매우 심한 영향을 받음을 알 수 있다. 특히 수은의 농도가 50 μM 이상에서는 qE가 완전히 사라짐을 볼 수 있다. Moon 등(1992)은 보리 유식물에서 분리한 엽록체에서 수은의 억제효과가 구리 및 아연과 달리 특이한 양상을 보임을 보고하였는데, 50 μM의 농도처리시 수분내에 형광유도 과정에서 peak 이후에 감소하던 Fv가 크게 증가하고 qE가 거의 완전히 사라짐을 보였다. 이상과 같은 결과는 중금속 이온에 의해 틸라코이드막 내외의 pH 구배 형성이 억제되었기 때문이라고 해석된다. 틸라코이드막 사이의 ΔpH 형성은 PQ pool과 물의 광분해에 의해 생성됨(Walker, 1988)으로 미루어 보아 형광소멸 요인 중 qE에 의한 소멸의 상실은 산소발생복합체나 PQ pool 부위가 이들 중금속 이온의 억제부위인 듯하다. 그러나 최근 qE가 틸라코이드막에서 violaxanthin이 zeaxanthin으로 전환되는 반응에 의해서도 활성화된다고 알려졌으며(Noctor *et al.*, 1991), violaxanthin de-epoxidase의 강력한 억제제인 dithiothreitol(DTT)가 시금치에서 qE 형성을 억제한 결과에서 high-energy state의 틸라코이드막이 conformational change를 일으키면 zeaxanthin은 엽록소와 용이하게 결합함으로써 형광 quencher로 작용할 수 있을 것으로 제시하였다(Demmig-Adams *et al.*, 1990). 이러한 점에서 볼 때, 이들 중금속, 특히 수은이 보리의 틸라코이드막에서 일어나는 violaxanthin cycle을 억제함으로써 qE 형성을 저해할 가능성도 배제할 수 없으며, 이러한 방향으로의 지속적인 연구가 요구된다.

적 요

실온의 엽록소 형광을 통하여 수은, 구리 및 아연의 광계 II에서의 저해효과를 보리 분리엽록체를 이용하여 조사하였다. 중금속 이온의 전자전달 활성에 대한 억제 정도는 수은이 가장 심하고 그 다음이 구리, 아연 순이었다. 수은의 경우 50 μM 이상의 농도에서 광계 II 및 전광계는 70% 이상의 억제를 보이고 광계 I은 10~30% 정도 억제하여, 수은이 광계 I보다는 광계 II에 더욱 민감하게 작용함을 보여주었다. 한편 diphenylcarbazide(DPC) 존재시 dichlorophenolindophenol(DCPIP)의 환원 역시 수은에 의해 50% 정도 억제하였다. Maximal variable fluorescence/initial fluorescence[(Fv)m/Fo]는 중금속 처리에 의해 감소하였는데, Fo는 거의 변하지 않았다. 광계 II의 엽록소 a로부터 방출되는 형광에 있어 photochemical quenching(qQ)에 의한 형광소멸은 중금속, 특히 수은의 농도별 처리에 의해, 전자수용체인 Q_A의 환원상태의 증가를 의미하는 감소가 뚜렷이 나타났다. 또한 틸라코이드막을 가로질러 형성되는 ΔpH 를 반영하는 energy-dependent quenching(qE)에 의한 형광소멸이 50 μM 농도의 수은처리에서 완전히 사라지는 반면에 구리와 아연은 qE에 의한 형광소멸이 여전히 남아있었다. 상기의 결과들에 대하여 산소발생복합체와 plastoquinone(PQ) shuttle계와 관련하여 수은의 효과를 논의하였다.

참 고 문 헌

- Baker, N.R. and P. Horton. 1987. Chlorophyll fluorescence quenching during photoinhibition. *In*, Photoinhibition, Topics in Photosynthesis, Kyle, D.J., C.B. Osmond and C.J. Arntzen (eds.). Elsevier, Amsterdam. pp. 145-168.
- Binder, A. and R. Bachofen. 1979. Oxygen evolution and uptake as a measure of the light-induced electron transport in spinach chloroplasts. *In*, Membrane Biochemistry; A Laboratory Manual on Transport and Bioenergetics, Carafori, E. and G. Semenza (eds.). Springer-Verlag, Berlin. pp. 144-153.
- Björkman, O. 1987. Low-temperature chlorophyll fluorescence in leaves and its relationship to photon yield of photosynthesis in photoinhibition. *In*, Photoinhibition, Topics in Photosynthesis, Kyle, D.J., C.B. Osmond and C. J. Arntzen (eds.). Elsevier, Amsterdam. pp. 123-144.
- Bradeen, D.A. and G.D. Wignet. 1973. Site-specific inhibition of photophosphorylation in isolated spinach chloroplasts by mercuric chloride. *Plant Physiol.* 55: 680-682.
- Cedeno-Maldonado, A. and J.A. Swader. 1972. The cupric ion as an inhibitor of photosynthetic electron transport in isolated chloroplasts. *Plant Physiol.* 50: 698-701.
- Demming-Adams, B., W.W. Adams III, U. Heber, S. Neimann, K. Winter, A. Kruger, F.-C. Czygan, W. Bilger and O. Björkman. 1990. Inhibition of zeaxanthin formation and rapid changes in radiationless energy dissipation by dithiothreitol in spinach leaves and chloroplasts. *Plant Physiol.* 92: 293-301.
- Falk, S., J.W. Leverenz, G. Samuelsson and G. Quist. 1992. Changes in photosystem II fluorescence in *Chlamydomonas reinhardtii* exposed to increasing levels of irradiance in relationship to the photosynthetic response to light. *Photosynth. Res.* 31: 31-40.
- Hickey, C.W., C. Blaise and G. Costan. 1991. Microtesting appraisal of ATP and cell recovery toxicity end points after acute exposure of *Selenastrum capricornutum* to selected chemicals. *Environ. Toxicol. Water Quality* 6: 383-403.
- Holden, M. 1965. Chlorophylls. *In*, Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments, Goodwin, T. W. (ed.). Academic Press, New York. pp. 461-488.
- Horton, P. and A. Hague. 1988. Studies on the induction of chlorophyll fluorescence in isolated barley protoplasts. IV. Resolution of non-photochemical quenching. *Biochim. Biophys. Acta* 932: 107-115.
- Hsu, B.-D. and J.-Y. Lee. 1988. Toxic effects of copper on photosystem of spinach chloroplasts. *Plant Physiol.* 87: 116-119.
- Katoh, S. and A. Takamiya. 1964. Nature of copper-protein binding in spinach plastocyanin. *J. Biochem.* 55: 378-387.
- Kojima, Y., Y. Niinomi, S. Tsuboi, T. Hiyama and H. Sakurai. 1987. Destruction of photosystem I iron-sulfur centers of spinach and *Anacystis nidulans* by mercurials. *Bot. Mag. Tokyo* 100: 243-253.
- Lee, C.H., H. Chang, I.K. Chung, H.S. Chun, C.B. Lee, B.Y. Moon and J.A. Lee. 1992a. Toxic effects and distribution of mercury in barley seedlings. *J. Korean Environ. Sci. Soc.* 1: 13-21.
- Lee, C.H., H. Chang, S.B. Ha, B.Y. Moon and C.B. Lee. 1992 b. Mercury-induced light-dependent alterations of chlorophyll fluorescence kinetics in barley leaf slices. *In*, Research in Photosynthesis, N. Murata (ed.). Vol. 4, Kluwer, Netherlands. pp. 623-626.
- Lee, C.B., Y.N. Hong, Y.D. Cho, S.H. Lee and Y.M. Kwon. 1983. Development of electron transport and photophosphorylation in greening barley seedlings. *Korean Biochem. J.* 16: 61-71.
- Moon, B.Y., H.S. Chun, C.H. Lee and C.B. Lee. 1992. Mercury-specific effects on photosynthetic apparatus of barley chloroplasts compared with copper and zinc ions. *J. Korean Environ. Sci. Soc.* 1: 1-11.
- Mohanty, N., I. Vass and S. Demeter. 1989. Copper toxicity affects photosystem II electron transport at the secondary quinone acceptor, Q_B. *Plant Physiol.* 90: 175-179.
- Murthy, S.D.S., N.G. Bukhov and P. Mohanty. 1990. Mer-

- cury-induced alterations of chlorophyll a fluorescence kinetics in cyanobacteria: Multiple effects of mercury on electron transport. *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.* **6**: 373-380.
- Murthy, S.D.S., S.C. Cabat and P. Mohanty. 1989. Mercury-induced inhibition of photosystem II activity and changes in the emission of fluorescence from phycobilisomes in intact cells of the cyanobacterium, *Spirulina platensis*. *Plant Cell Physiol.* **30**: 1153-1157.
- Nieboer, E. and D.H.S. Richardson. 1980. The replacement of the nondescript term "heavy metal" by a biologically and chemically significant classification of metal ions. *Environ. Pollution* **1**: 3-26.
- Noctor, G., D. Rees, A. Young and P. Horton. 1991. The relationship between zeaxanthin, energy-dependent quenching of chlorophyll fluorescence and trans-thylakoid pH gradient in isolated chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* **1057**: 320-330.
- Oxborough, K. and P. Horton. 1988. A study of the regulation and function of energy-dependent quenching in pea chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* **934**: 135-143.
- Park, I.H. and Y.M. Kwon. 1986. Effects of cupric sulfate on the chlorophyll fluorescence in isolated chloroplasts from chinese cabbage. *Korean Biochem. J.* **19**: 207-212.
- Rashid, A., M. Bernier, L. Pazdernick and R. Carpentier. 1991. Interaction of Zn^{2+} with the donor side of photosystem II. *Photosynth. Res.* **30**: 123-130.
- Renganathan, M. and S. Bose. 1990. Inhibition of photosystem II activity by Cu^{2+} ion. Choice of buffer and reagent is critical. *Photosynth. Res.* **23**: 95-99.
- Renger, G. and U. Schreiber, 1986. Practical application of fluorometric methods to algae and higher plant research. *In*, Light Emission by Plants and Bacteria, Govindjee, J.A. and D.C. Fork (eds.). Academic Press, New York. pp. 539-583.
- Samson, G., J.-C. Morissette and R. Popovic. 1988. Copper quenching the variable fluorescence in *Dunaliella tertiolecta*. New evidence for a copper inhibition effect on PS II photochemistry. *Photochem. Photobiol.*, **48**: 329-332.
- Samson, G. and R. Popovic. 1990. Inhibitory effects of mercury on photosystem II photochemistry in *Dunaliella tertiolecta* under *in vivo* conditions. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **5**: 303-310.
- Schreiber, U., U. Schliw and W. Bilger. 1986. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynth. Res.* **10**: 51-62.
- Singh, D.P., P. Khare and P.S. Bisen. 1989. Effect Ni^{2+} , Hg^{2+} and Cu^{2+} on growth, oxygen evolution and photosynthetic electron transport in *Cylindrospermum* IU 942. *J. Plant Physiol.* **134**: 406-412.
- Singh, A.K. and L.C. Rai. 1991. Cr and Hg toxicity assessed *in situ* using the structural and functional characteristics of algal communities. *Environ. Toxicol. Water Quality* **6**: 97-107.
- Uribe, E.C. and B. Stark. 1982. Inhibition of photosynthetic energy conversion by cupric ion. *Plant Physiol.* **69**: 1040-1045.
- Walker, D. 1988. Fluorescence. *In*, The Use of the Oxygen Electrode and Fluorescence Probes in Simple Measurements of Photosynthesis, Res. Inst. for Photosynth. (ed.). Univ. of Sheffield, Sheffield, U. K. pp. 17-46.
- Walker, J.B. 1953. Inorganic micronutrient requirements of *Chlorella*. I. Requirements of calcium, copper and molybdenum. *Arch. Biochem. Biophys.* **46**: 1-11.

(1993. 1. 20 接受)