

環境汚染에 의한 酸化스트레스와 植物體의 防禦機作

沈相仁* · 姜炳華*

Oxidative Stress Resulting from Environmental Pollutions and Defence Mechanisms in Plants

Sang In Shim and Byeung Hoa Kang

Abstract

The environmental pollutions were a serious problem in Korea recently. So many researcher have studied the effect of environmental pollution on plants and agro-ecosystem, but the basic mechanisms of environmental stresses were various. One of the important mechanisms was oxidative stress caused by active toxic oxygen. The toxic oxygen was generated by several stresses, abnormal temperature, many xenobiotics, air pollutants, water stress, fugal toxin, etc. In the species of toxic oxygen which is primary inducer of oxidative stresses, superoxide, hydrogen peroxide, hydroxyl radical and singlet oxygen were representative species. The scavenging systems were divided into two groups. One was nonenzymatic system and the other enzymatic system. Antioxidants such as glutathione, ascorbic acid, and carotenoid, have the primary function in defense mechanisms. Enzymatic system divided into two groups; First, direct interaction with toxic oxygen(eg. superoxide dismutase). Second, participation in redox reaction to maintain the active antioxidant levels(eg. glutathione reductase, ascorbate peroxidase, etc.).

緒 論

오늘날 文明과 産業의 발달로 인하여 地球環境의 破壞가 심각한 問題로 대두되어지고 있다. 環境의 破壞는 人間을 포함한 動物뿐만아니라 植物에 있어서도 生存에 영향을 준다. 植物의 경우 그 자체의

特性 중 하나인 非移動性으로 인하여 局地的인 環境汚染에 인하여도 直接的으로 영향을 받는다. 특히 人間の 生存에 필수적인 食糧을 공급하는 作物의 경우에 있어서는 環境汚染은 수량의 감소로 인한 食糧부족을 초래할 뿐만 아니라 汚染된 食糧의 攝取로 인한 毒극물의 人體內 축적 피해와 같은 여러

*高麗大學校 自然資源大學 食糧資源學科

Dept. of Agronomy, College of Natural Resources, Korea Univ., Seoul 136-701, Korea

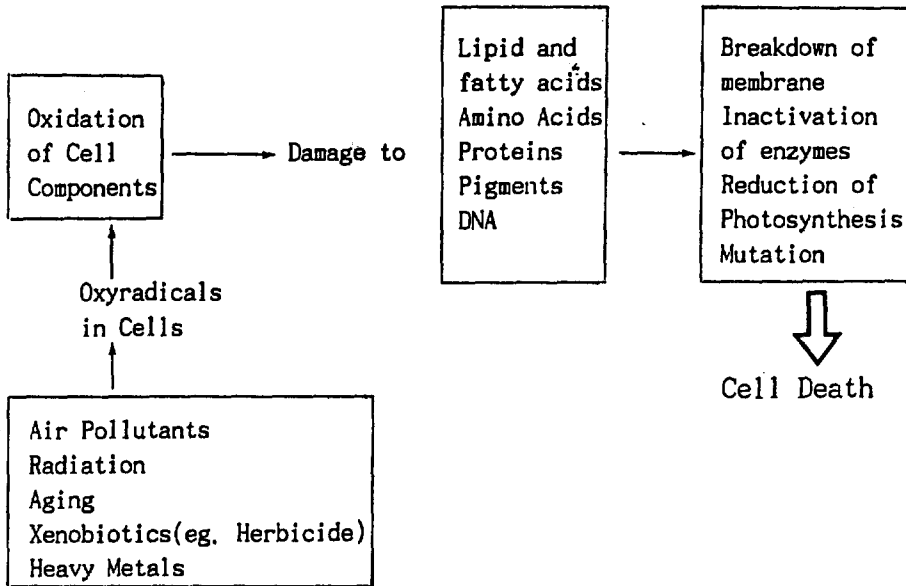


Figure 1. Initiation of oxidation in cells by pollutants, Aging, xenobiotics and physical stress.

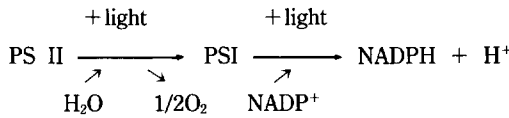
가지 문제점을 야기하고 있다. 作物의 生育에 있어서 環境의 汚染은 大氣汚染과 水質汚染 그리고 土壤汚染 등으로 나누어 볼 수 있으며, 이러한 여러종류의 環境汚染이 植物體에 미치는 영향은 여러가지 기작에 의하지만 요즘 주목받는 것 중의 하나가 酸化스트레스(oxidative stress)이다. 酸素는 호기호흡을 하는 生物體에 있어서 최종 電子受容體로 작용하여 많은 에너지를 생성하는 큰 잇점이 있으나 비정상적인 경로를 통하여 反應성이 큰 毒性 酸素(toxic oxygen; active oxygen; reactive oxygen)를 생성하여 酸化스트레스를 일으킨다. 酸化스트레스는 여러가지 원인에 의하여 발생이 되는데, 大氣汚染源 뿐만 아니라 水質이나 土壤汚染에 의한 여러가지 異生物質(xenobiotics)에 의하여 발생하고, 旱魃과 浸水와 같은 水分스트레스 그리고 熱害에 의하여도 발생하므로 모든 環境汚染이 酸化스트레스의 誘發源이 된다고 하여도 지나친 말이 아니다. 酸化스트레스는 環境汚染과 불리한 生育環境 下에서 植物體가 생산하는 正常的인 酸素분자(O₂)외에 singlet oxygen, hydrogen peroxide, hydroxy radical등 反應성이 강하고 毒性이

있는 酸素種들에 의해서 (i)光合成등에 관여하는 여러가지 酵素의 活性低下^{12),17),19)} (ii)葉綠素와 같은 植物色素의 파괴^{5),83),104),108)} (iii)植物體의 가장 중요한 構成分일 뿐만 아니라 光合成과 呼吸 그리고 物質透過등 중요한 작용을 하는 生體膜의 構造物인 脂質酸化를 통하여 生體膜의 機能을 破壞하여^{83),106)} 植物體의 代謝를 阻害하는 것이다.

酸化스트레스에 대한 연구는 環境의 파괴에 대한 위기감의 고조속에 이 분야의 연구에 대한 重要性이 부각되어 최근에 많은 review 論文과 실험결과가 보고되고 있다. 그러나 지금까지 몇 몇 作物種과 光合成細菌 등 제한된 生物種에 한하여 이루어져 왔기 때문에 이러한 결과를 여러 作物에 적용하는데 있어서는 여러가지 問題點이 있으나, 酸化스트레스의 發生 原因이 여러가지 요인에 의하고 複合的이나 本質적인 作用機作은 같다고 볼 수 있으므로 最近의 발표된 연구결과를 토대로 考察해보고자 한다.

毒性 酸素種의 生成과 特性

毒性酸素란 酸素分子가 還元이 되어 발생하는 反應性이 큰 種으로서 毒性酸素(toxic oxygen), 活性酸素(active oxygen), 反應性酸素(reactive oxygen)등으로 불리우는 것으로 일반적으로 光合成의 光반응 과정을 통해서 주로 생성이된다. 光合成은 생태계 내에서 一次生産者인 植物이 갖는 가장 중요한 특징으로서 다음과 같이 물을 光에너지를 이용하여 분해하여 酸素를 생성하고 NADP를 還元시켜 에너지원으로 쓰이는 NADPH를 생성시켜 탄산가스를 고정하게되는 것이다⁶⁾.



이 과정에서 생기는 酸素는 大氣의 20%가량을 차지하고 있고 대부분이 역학적으로는 안정한 O₂ 이나 강한 酸化能을 가지고 있어서 여러種의 생물은 이 강력한 酸化劑에 대한 適應을 하며 進化하여 왔으며 酸素를 酸化還元반응의 末端 電子受容體로서 이용하여 葉綠體내에서 酸素는 photoreduction을 통하여 탄산가스 固定에 필요한 ATP/NADPH 比率를 조정한다.

Ground state에 있는 酸素는 짝짓지 않은 두개의 전자를 가져(triplet state) 酸素가 다른 것들과 반응을 하지 못하도록한다. 그러나 짝진 전자를 갖는 singlet state의 酸素는 反應性이 이것보다 크다. triplet 분자와 singlet분자간의 반응을 위해서 이러한 spin의 방향이 변화되며 몇가지 毒性酸素種 들이 형성된다. 植物은 정상적인 조건 하에서 毒性酸素의 생성이 엄격하게 통제가 되지만 物理的, 化學的 스트레스에 의하여 이러한 調節이 破壞가 되는 것이다³¹⁾. 酸化 스트레스에 의하여 생기는 毒性 酸素種은 그림 2에서 보이는 것처럼 酸素분자가 4개의 전자를 받아 완전히 還元이 일어나지않고 일가씩 還元되거나 singlet state로 여기될 때 생긴다⁸⁶⁾.

不良한 環境이나 汚染原에 의하여 發生하는 여러 毒性酸素種에 의하여 生體膜, 色素, 酵素, 核酸 등이 피해 받아 궁극적으로 植物의 生育低下와 枯死가

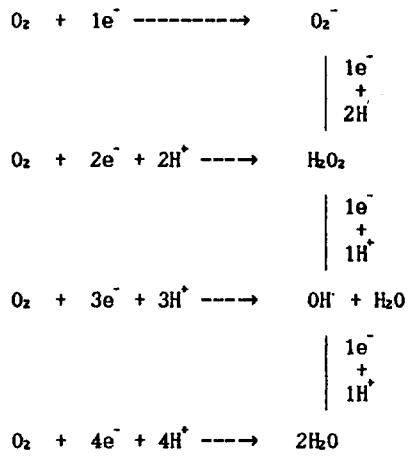


Figure 2. Pathway in oxygen reduction: formation of active oxygen intermediates⁸⁶⁾

일어난다.

1. 超酸素(superoxide; O₂⁻)

酸素분자는 삼중자(triplet)분자로서 두개의 짝짓지 않은 전자를 포함하는데 superoxide는 酸素분자의 일가의 還元이나, 過酸化水素(H₂O₂)의 일가의 酸化에 의하여 생겨난다⁸⁶⁾. 이것은 paraquat, flavin mononucleotide, adrenalin, dopamine 등과 같은 人工的인 PS I의 전자수용체에 의하여 酸素의 還元이 일어나거나³³⁾, 체내에서 몇가지 flavoprotein dehydrogenase의 작용에 의하거나⁸⁶⁾ ferredoxins⁶⁾, hydroquinone, thiols 그리고 還元된 hemoproteins의 autooxidation에 의하여 생겨난다. superoxide는 다른種의 毒性酸素 만큼 毒性을 갖지는 않으나 毒性이 큰 다른種의 毒性酸素로 변하므로⁴⁰⁾ 植物體에서 매우 위험한 존재이다. 이 superoxide가 관여하는 害作用은 脂肪의 過酸化, 生體膜의 파괴, DNA의 파괴 등이다. 특히 superoxide는 過酸化水素와 반응하여 毒性이 매우 큰 hydroxy radical을 생성하므로 더욱 위험하다¹¹⁾. 植物體는 superoxide radical에 노출되면 lipid-P가 유리되고 free fatty acids가 蓄積이 일어난다. 脂肪酸이 生體膜 특히 葉綠體膜의 70% 이상을 차지하는

것을 감안 할때 이러한 脂肪酸의 변화는 葉綠體의 光合成 機能에 많은 피해를 주는 것이다.

2. 過酸化水素(H₂O₂)

光呼吸 과정에서 glycolate oxidase에 의해서 생성되거나³²⁾, 一次的으로 생기는 superoxide가還元되어 발생이 되는 것으로 구조적으로 볼 때 두개의 外廓 orbital이 채워져 있고 radical의 특성을 갖고 있지 않아서 다른 酸素種들 중에서 가장 안정하며 酸化제로 뿐만 아니라 약한 還元劑로서도 작용한다. 특히 H₂O₂는 金屬觸媒에 의하여 hydroxyl radical의 형성이 촉진되어 毒性이 생기게 되는 것이다⁸⁶⁾. 過酸化水素는 植物體 内の 酵素가 가지고 있는 SH-group의 酸化를 促進하여 被害를 입게되는 것이다. 이 경우 fructose biphosphatase, sedoheptulose biphosphatase, ribulose phosphate kinase와 같은 酵素를 不活性化시키고 glucose-6-phosphate dehydrogenase는 活性化 시켜 植物體내 代謝의 균형을 깨뜨리게 되는 것이다. 또한 二酸化炭素의 固定에 관여하는 다른 酵素들의 活性에도 관여한다^{7),12),19)}.

3. Hydroxyl radical(OH·)

Hydroxyl radical은 강력한 酸化劑의 하나로서 대부분의 有機化合物과 반응한다. 이것은 물의 pulsed radiolysis나 350nm이하의 photolysis에 의하여 생겨나며²¹⁾ 植物體내에서는 轉移金屬에 의하여 過酸化水素로부터 주로 생긴다. 이 OH·는 酵素, 代謝物質, 核酸등과 반응하여 이들을 破壞하거나 突然變異를 일으키는 등 植物體에 치명적인 피해를 준다.

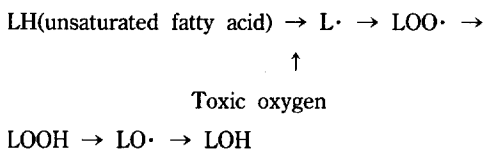
4. Singlet oxygen(¹O₂)

電氣的으로 들뜬 酸素種은 외관전자가 다음 orbital로 올라가고 방향(spin)이 뒤바뀌때 생성이되는 것으로, 强光과 낮은 二酸化炭素 濃度, 光合成 전자 전달의 uncoupling 그리고 NADP의 과도한 還元은 ¹O₂의 생성을 유발한다³¹⁾. singlet oxygen은 色素가 光子를 흡수하여 에너지를 酸素分子에 전달하여 생겨나고 다른 형태로 바뀌기 전에 머무는 시간이 길고,

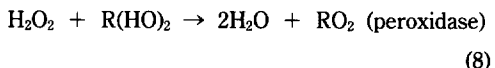
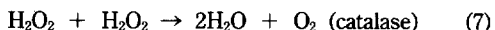
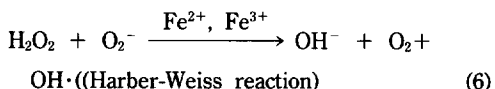
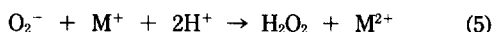
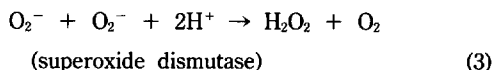
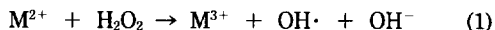
反應성이 매우 커 enes 및 dienes과 반응하여 hydroperoxides와 endoperoxides를 형성한다⁸⁶⁾. 生物體內에서는 脂肪을 peroxide시켜 膜을 약하게하거나 構造를 변화시켜 피해를 준다. 이 singlet oxygen은 carotenoid, 不飽和脂肪酸, tocopherol에 의해 직접적으로 無毒化된다^{31),52)}.

5. Lipid peroxides

毒性酸素 중에서 'long life' species로 분류를 하는 것으로 위에서 나타난 毒性酸素種 들과 마찬가지로 植物體내의 酵素와 DNA에 毒性을 나타낸다. 여기에는 lipid peroxiradical(LOO·), hydroperoxide(LOOH), alkoxy radical(LO·)가 속하는데, 다음의 과정을 통하여 脂肪酸으로부터 형성이 된다⁴⁾.



이들 毒性酸素種들은 다음과 같이 轉移金屬이나 酵素의 작용으로 변환이 일어난다.



毒性酸素의 發生原因과 被害様相

酸素는 非共有 電子雙과 쉽게 반응을 하는 경향을 갖고 있는데, 毒性酸素는 NADPH/NADP 비가 높은

조건에서 들뜬 葉綠素 또는 PS I의 구성분이 전자를 O₂로 전달할 때 일어나며, 乾燥한 상황에 놓인 植物體가 水分의 喪失을 막기위하여 氣孔을 닫았을때 光阻害(photoinhibition)와 光酸化(photooxidation)에 의하여 과도한 양의 毒性酸素가 생성이 된다⁸⁸⁾. 葉綠體는 酸素分子의 生産者일 뿐만 아니라 消費者이기도하다. 基質이 없을 때 酸素分子에 의하여 ferredoxin이 酸化되면서 superoxide가 발생한다¹⁷⁾. 또한 photosystem I에서도 non-heme Fe-S center로부터 oxyradical이 형성되며 mitochondria내에 있는 ubi-semiquinone의 autoxidation에 의해서도 superoxide가 발생한다¹⁹⁾. 이러한 free oxygen radical의 발생은 異常氣溫과 같은 불량한 環境條件과 紫外線, 除草劑, 病原體, 오존, 酸素過多 등에 의한다.

1. 光阻害

氣象環境 중 불량한 溫度에 의하여 熱害⁷⁹⁾와 같은 高溫에 의한 障害나 低溫害^{42),73),74),94)}에 의하여 발생하는 것으로 植物體에 흡수된 에너지의 양이 과도하여 非正常的인 경로를 통할 때 일어나는 것으로^{5),11)} 熱害의 경우는 thiol pool의 고갈로 酵素의 合成 및 活性이 低下되어 體內 代謝가 이루어지지 못하고 低溫에 의한 冷害는 體內 모든 代謝가 溫度가 낮아짐에 따라서 효율이 낮아지고 그 결과로서 ATP에 대한 要求度 또한 낮아져 光에 의하여 여기된 葉綠素의 에너지가 酸素분자로 전달되어 毒性酸素의 생성이 일어나는 것이다. 光阻害는 光系 II에서 전자의 유입을 받는 光系 I이 영향을 덜 받는다⁸²⁾.

2. 除草劑 및 異生物質(xenobiotics)

農業의 側面에서 가장 중요한 것으로 酸化스트레스의 原因 중 가장 연구가 많이 이루어진 분야이다. bipyridyl계 除草劑인 paraquat의 경우 photosensitizer로 작용하여 電子傳達이 교란되고^{15),20),41),71),104)}, 이 과정에서 singlet oxygen, superoxide 또는 自動酸化能力이 큰 물질이 형성되어 피해가 일어나며⁸³⁾, DCMU의 경우는 光合成電子傳達(PET)을 막아 毒性酸素가 생성이된다. 이 밖에 diphenylether계 除草

劑인 oxyfluorfen과 acifluorfen의 경우 photodynamic tetrapyrrole을 형성하여 植物體내의 色素와 脂質을 파괴시켜 酸化스트레스를 일으킨다^{34),51),54),60)}.

3. Biotic stress

곰팡이가 생산하는 毒素 중 cercosporin은 photosensitizer로써 作用하는데, 酸素가 존재하는 조건에서 光이 조사될 때 cholesterol과 반응하여 cholesterol의 5 α -hydroperoxide를 형성한다. Cercosporin과 같은 photosensitizer는 光을 흡수하여 triplet state로 올라가고 이것이 酸素와 반응하여 毒性酸素種인 superoxide을 형성하는 것이다²³⁾. Biotic stress 중 곰팡이나 바이러스에 의한 感染도 酸化스트레스를 유발한다⁶⁸⁾.

4. 大氣汚染源

大氣汚染源 중 오존과 二酸化황도 酸化스트레스를 유발하는데^{13),58),96)}, 오존은 그 자체가 superoxide, hydrogen peroxide, hydroxy radical 등으로 分解가 되고⁴⁶⁾ terpenes와 반응하여 hydrogen peroxide를 형성한다⁸⁾. 二酸化황은 superoxide, hydroxy radical 그리고 SO₃를 형성하므로 SOD에 의해서 피해가 경감이 된다¹⁰²⁾. 이 밖에 linoleic acid와 linolenic acid를 酸化시켜 細胞에 피해를 준다⁷⁰⁾.

5. 水分스트레스

浸水는 酸素의 부족과 炭酸가스 濃度의 증가로 蛋白質 合成의 변화를 일으켜 정상조건에서 일어나는 수준의 光合成(暗反應) 뿐만 아니라 여러가지 代謝가 일어나지 못하여 ATP 요구도가 낮아지고 酸素의 消耗가 적어져 光反應의 剩餘 에너지가 毒性酸素의 생성을 유발한다. 毒性酸素의 생성은 anoxia 후 酸素의 공급이 원활해질 때 특히 많아지며⁵⁰⁾, 이와 더불어 SOD의 활성이 증대되어진다⁶⁷⁾. 旱魃은 polyamine의 合成과 새로운 蛋白質의 合成을 야기하고 ABA의 증가를 일으키는데, ABA는 氣孔을 닫아서 水分의 상실을 막지만 光合成에 있어서 炭酸가스의 이용도를 낮추어 反應성이 큰 酸素種의 생성을 조

장한다. 그러므로 oxidative stress를 줄이는 것은 早魘抵抗性的의 二次的인 機能을 부여하는 것이다.

6. 重金屬

重金屬의 경우는 위에서 언급한 것들과는 약간 성격이 다른 것으로서 지금까지는 重金屬이 직접적으로 毒性酸素를 형성하지는 않는다고 알려져 왔다. 그러나 植物體가 重金屬을 無毒化시키기 위하여 phytochelatine을 형성하는 과정에서 植物體내의 thiol을 사용하기 때문에 植物體의 중요한 抗氧化劑의 하나인 glutathione과 thiol요구에 대한 競爭이 생기고 植物體는 glutathione의 合成이 阻害되어 酸化스트레스를 받게된다는 연구결과들이 발표되고 있다(65,66,81,90,101,105). 重金屬은 아니지만 Al의 경우도 植物體에 과량일 경우 毒性을 나타내는데, 脂質의 酸化를 일으켜 生體膜을 破壞시킨다¹⁸.

7. 老化

植物體가 老化가 진전이 될때 不飽和脂肪酸이 유리되는데 여기에 lipoxigenase가 작용하여 free oxy-radical이 형성되어 酸化스트레스를 일으킨다. 이 밖에 老化에 따른 體內 protease에 의한 酵素의 분해가 일어나 體內의 代謝低下와 더불어 SOD 와 glutathione reductase의 活性이 감소하여 酸化스트레스에 대한 抵抗性이 떨어진다^(25,53,77,78).

이 밖에 物理的 스트레스⁸⁷, 紫外線⁹⁵, 弱光下의 弱酸性條件⁹³, 높은 酸素分壓條件¹¹⁰등도 毒性酸素를 발생시킨다는 보고가 있다.

毒性酸素에 대한 植物體의 防禦機作

植物體는 毒性酸素에 대하여 여러가지 防禦機作을 가지는데, 酵素를 이용한 防禦와 抗氧化劑를 이용한 두가지 기작으로 나누어 볼 수 있다⁸⁸.

抗氧化劑에 의한 防禦

抗氧化劑는 그림 3과 같이 細胞膜과 細胞質에 위치하여 毒性酸素를 제거하는데, 대표적인 것으로는

水溶性의 ascorbate와 glutathione이 있으며 이들은 植物體내에서 millimolar의 낮은 濃度로서 抗氧化劑의 작용을 하여 毒性酸素種들로 부터 植物細胞를 보호하고 生體膜에 주로 위치하는 脂溶性의 α -tocopherol과 β -carotene은 lipid peroxy radical, chlorophyll triplet state, singlet oxygen을 除去한다¹⁰⁸. 이들의 작용은 그림 4과 같은 Halliwell-Asada pathway로 대표되는 일련의 酸化-還元과정을 통하여 體內에서 발생이 많은 毒性酸素인 過酸化水素의 除去를 통해 잘 나타나 있다. 이외에도 cystein, hydroquinone, mannitol, flavonoid등도 抗氧化작용을 한다^(2,55).

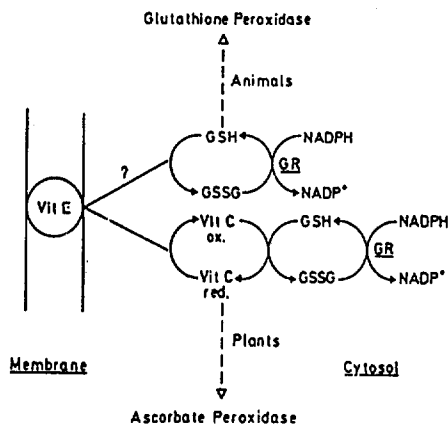


Figure 3. Proposed cellular interaction of vitamin E with vitamin C and glutathione to prevent peroxidation of lipids⁹².

1. Glutathione

Glutathione은 植物體에 고루 분포하는 物質로서⁸⁰, tripeptide(glu-cys-gly)로 이루어져 있고, 酸化形(GSSG)과 還元形(GSH) 두가지 形態로 존재하는데⁶⁴, 無毒化機能은 還元形이 갖는다. 오존, 二酸化황과 같은 大氣汚染物質 뿐만 아니라 除草劑와 같은 xenobiotics에 의해서도 induction되어 생겨난다⁶⁰. Glutathione은 植物體가 低溫스트레스를 받았을 때 量이 증가하여 抗氧化作用을 하고¹⁰⁰ 高溫, 旱魘, 水分스트레스를 받았을 때에도 중요한 作用을 한다^(16,24).

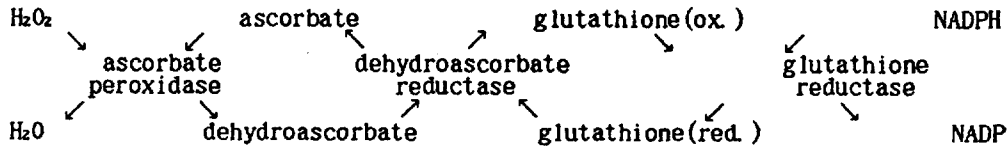


Figure 4. Oxidation-reduction pathways involved in scavenging of H₂O₂(Halliwell-Asada Pathway)

^{35),91),108)}. Glutathione은 mRNA로부터의 합성에 의해서 생성되기 보다는 γ -glutamylcystein의 합성과 glycine의 添加過程에 관여하는 酵素作用으로 생겨나는데 10-30mM의 Mg⁺濃도와 光條件 下에서의 葉綠體의 stroma내의 pH(8.5-9.0정도)條件 下에서 活性을 보인다^{1),56),64),80)}. 生合成過程은 光이 있을 때에만 일어나며, 이 過程에서 중요한 作用을 하는 glutathione synthetase는 細胞質보다는 葉綠體에 더 많이 存在한다^{45),98)}. 過酸化水素는 glutathione과 glutathione peroxidase에 의하여 還元되어져 毒性을 잃게된다. 특히 glutathione은 fructose 1,6-bisphosphatase와 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase와 같이 SH를 포함하는 다른 중요한 물질보다 쉽게 酸化劑의 영향을 받아 生理的으로 중요한 酵素들의 活性을 維持시켜주는 것이다⁴⁴⁾. GSSG와 GSH의 관계에서 보면 GSH가 GSSG로 酸化가 될때 glutathione의 生合成이 誘發되고 catalase와 같이 抗酸化작용에 관여하는 酵素의 合成이 줄어들 때에도 合成이 일어난다. 또한 植物이 暗條件에 놓여있을때에는 過酸化水素가 생기지 않으므로 glutathione 生合成이 중지된다⁹⁹⁾. 이외에도 glutathione은 植物代謝의 調節機能이 있는데, GSSG는 루메에 처한 이끼류에서 蛋白質의 合成을 억제시키고 fructose 1,6-bisphosphatase와 같은 葉綠體내 酵素를 SH기의 酸化로 不活性化시키고 還元形의 GSH는 活性化 시킨다¹⁰⁰⁾. Glutathione은 이 밖에 植物體의 耐性에 관여하는 phenylalanine ammonium lyase(PAL)과 phytoalexin pathway에 관여하는 酵素의 mRNA 合成을 誘導한다¹⁰⁷⁾. Ascorbic acid는 dehydroascorbate로 酸化되면서 過酸化水素를 還元시켜 물로 바꾸어 주는데 glutathione은 NADPH에서 水素를 받아 還元된 후 還元

劑로서 ascorbate의 酸化還元에 관여하여 無毒化機能을 갖는 Ascorbate의 濃度を 維持시킨다³⁸⁾. 抗酸化 機能외에 glutathione은 chloracetanilide계 除草劑와 결합하여 除草劑를 無毒化시키는 機能도 가지고 있다^{28),29)}.

2. Ascorbate

Vitamine C로 인간의 營養學的인 側面에서 많이 알려진 ascorbate는 C₆H₈O₆의 水溶性 물질로서 過酸化水素의 無毒化에 작용하는 것외에 tocopheroxy radical을 還元시켜 α -tocopherol의 水準을 유지시키는 機能도 갖는다^{17),92)}. 그러나 植物體내의 抗酸化作用에 있어서는 glutathione 만큼 연구가 많이 되어있지 않다. 植物의 경우 大氣汚染物에 노출되었을 때 ascorbate의 濃도가 증가에 의하여 過酸化水素가 제거되어 耐性이 생기고 다른 過酸化水素 發生原에 대한 피해도 輕減된다⁵⁸⁾.

3. α -tocopherol

基本 骨格이 isoprenoid 構造를 갖고 있으며 주로 細胞膜에 위치하여 lipid radical과 반응하여 tocopheroxy radical을 형성하여 lipid radical과 반응하여 tocopheroxy radical을 형성시켜 無毒化시키는 機能을 갖고있는 脂溶性의 抗酸化劑이다^{17),92)}. Lipid peroxy radical을 형성하는 redox-active herbicide인 diphenyl ether계 除草劑인 acifluorfen의 피해는 α -tocopherol의 前處理로 輕減이 된다^{61),75)}.

4. Carotenoids

Carotenoids는 基本 構造가 α -tocopherol과 같이 isoprenoid構造를 갖고 있는것으로서 植物이 여러種

의 색을 나타내게하는 色素로서의 機能 뿐만 아니라 光合成의 에너지원이 되는 태양에너지 중 葉綠素가 수집하지 못하는 光을 수집하여 葉綠素로 전달하는 機能을 갖고 있으며 thylakoid 膜에 위치하여 singlet oxygen을 제거하여 과도한 太陽光線과 毒性 酸素種으로 부터 光合成조직을 보호하는 機能을 갖고 있다⁴⁾ 17),27),96),110). 특히 carotenoid 前驅物質이 스트레스와 가장 밀접한 관련이 있는 ABA의 生合成의 前驅體라는 흥미로운 보고도 있다⁷⁶⁾. Excited chlorophyll (triplet state)은 에너지를 여러가지 원인에 의하여 비정상적인 경로로 ground state의 酸素에 전달하여 毒性을 갖는 singlet oxygen을 형성한다. 그러나 電子가 carotenoid로 전달되는 과정에서 singlet oxygen이 triplet oxygen으로 바뀌고 carotenoid는 熱을 放出하면서 ground state로 떨어진다⁵²⁾. $^3\text{Chl}^*$ 은 half life가 400 ns로 비교적 壽命이 길고 다른 化合物과 쉽게 반응을 하여 反應性的 이온을 형성하며 $^1\text{O}_2^*$ 는 half life가 18 μs 로 더욱길어 심각한 피해를 주는데, 生體膜의 不飽和脂肪酸, aromatic amino acid와 purines와 반응하여 細胞의 異常을 招來하므로 carotenoid의 機能은 光수집 機能만큼 毒性酸素除去 機能이

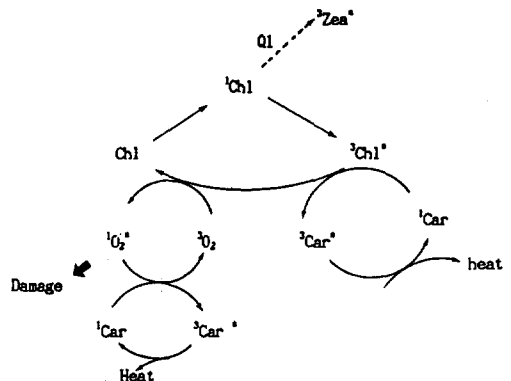


Figure 5. Schematic representation illustrating the photosensitized production of singlet oxygen via triplet chlorophyll, and the involvement of carotenoids in protecting the chloroplast from damage¹¹⁾

重要한 것이다³⁶⁾.

抗酸化에 관여하는 酵素

抗酸化 酵素는 植物에 있어서 여러가지가 있고 각

Table 1. Abtioxidant enzyme systems in higher plants⁹⁵⁾

Organelle	Type of Active O ₂ species	Source of Active O ₂ species	Enzymatic scavenging system	Products	Nonenzymatic scavenging system
Chloroplast	Superoxide	PSII	SOD	H ₂ O ₂	Fd
	H ₂ O ₂	Enzymatic	AP	DHA GSH NADP ⁺	Carotenoids Xanthophylls
Mitochondria	Superoxide	Electron transport and enzymatic	SOD	H ₂ O ₂	H ₂ O, O ₂
	H ₂ O ₂		POX	H ₂ O	
			CAT		
Cytosol	Superoxide	Enzymatic	SOD	H ₂ O ₂	
	H ₂ O ₂		CAT	H ₂ O ₂ O ₂	
			POX	H ₂ O	
Glyoxysome and Peroxisome	H ₂ O ₂	β-Oxidation		CAT	H ₂ O, O ₂ Photorespiration

SOD: superoxide dismutase, AP; ascorbate peroxidase, POX; peroxidase, CAT; catalase

기관의 위치와 毒性 酵素種의 種類에 따라 다른 酵素가 작용한다.

1. Superoxide dismutase(SOD)

SOD(EC1.15.1.1)는 活性部位에 金屬이 붙어있는 metalloenzyme으로 superoxide 분자를 過酸化水素로 바꾸어주는 酵素로서⁶²⁾ 여러種의 植物體에 다양하게 분포하고³⁷⁾ 함유하는 金屬의 종류에 따라서 Cu, Zn-SOD, Mn-SOD 그리고 Fe-SOD의 3가지 종류로 나눌수 있으며 植物體 小器官의 종류에 따라서도 存在하는 形態가 다르며 酵素들의 분류는 KCN과 過酸化水素에 대한 감수성으로 분류한다. SOD는 植物의 老化가 進行되면 SOD는 catalase, glutathione reductase와 더불어 活性의 감소가 일어난다. 種別 분포를 보면 정상적 잎에서는 葉綠體에 많이 존재하나 幼苗期 잎이나 白화된 기관에서는 細胞질이나 mitochondria에 많이 존재한다¹¹⁾. 이들의 작용은 앞의 반응 [4]와 [5]가 일어나 전체적으로 [3]의 반응이 일어나는 것이다.

1) Cu,Zn-SOD

이 형태의 酵素는 眞核生物에서 많이 발견되고 植物體에서 葉綠體에서 가장 많이 발견되는 것으로 33kDa의 dimer형태로 CN-과 過酸化水素에 의해서 活性이 억제된다⁸⁶⁾. 이 酵素는 주로 stroma에 존재하고 intrathylakoid space에도 존재한다.

2) Mn-SOD

두개 또는 4 개의 subunit로 구성된 46또는 92 kDa의 크기가 種에 따라서 발견이 되고 CN-에 非感受性이며 過酸化水素에 의하여도 不活性化되지 않는 특성을 가져 過酸化水素 발생시 그 活性이 유지가 되므로 抗酸化작용에 있어 매우중요하다¹¹⁾. 存在하는 위치는 植物體에서 mitochondria와 연관되어 있고, glyoxysome에서도 발견이 되지만 이것이 葉綠體내에도 존재하는지는 현재 연구가 진행중이다⁸⁶⁾.

3) Fe-SOD

Mn-SOD와 마찬가지로 CN-에는 非感受性이나 過酸化水素에는 감수성이고 36-46kDa크기의 dimer이다. 이 種류의 酵素는 과거에는 原核生物에만 존재하는

것으로 알려졌으나 은행나무, 수련, 무우, 배추와 같은 몇가지 植物種에서 존재가 보고되었다. 이 種은 葉綠體와는 연관되어 있으나 mitochondria에는 존재하지 않는다^{14),59)}.

2. Catalase와 peroxidase

Catalase(EC 1.11.1.6)와 peroxidase(1.11.1.7)는 生體內的 過酸化水素를 제거하는 酵素로서 heme을 포함하는 蛋白質이다. 이들의 크기는 각각 240kDa와 40kDa이며 각각 [7]과 [8]번의 반응이 일어난다.

Catalase는 植物體에 고루 분포하나 葉綠體에는 존재하지 않으며 peroxisome에 주로 존재하고 光呼吸 동안 脂肪酸의 β -oxidation에 의해 생기는 過酸化水素를 제거하는 機能을 갖는다^{11),103),106)}. peroxidase는 植物體내에 많은 양이 존재하고 있으며 리그닌 합성에 관여하며 葉綠體內的 過酸化水素를 제거하는 機能을 갖고 있다⁴³⁾.

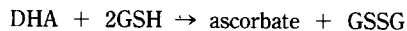
3. Glutathione와 Ascorbic acid의 작용에 관여하는 酵素들

이들 酵素는 위의 酵素들과는 달리 직접적으로 抗酸化작용을 하지는 않으나 抗酸化劑를 活性이 있는 형태로 維持시키는 중요한 작용을 한다.

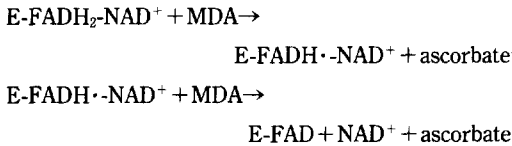
Glutathione reductase : NADPH의 還元力을 이용하여 酸化形의 glutathione을 還元형의 glutathione으로 바꾸어 抗酸化作用을 나타내게하고^{30),89)}, 이 과정에서 NADPH를 소비하여 細胞內 NADPH/NADP ratio를 낮추어 酸化스트레스를 줄이는 酵素로서 SOD와 더불어 抗酸化作用의 가장 중요한 酵素로 인정받고 있다^{39),100)}.



Dehydroascorbate reductase : dehydroascorbate를 還元형의 glutathione을 이용하여 過酸化水素의 제거에 직접적으로 작용하는 ascorbate의 수준을 유지시킨다^{48),49)}.



Monodehydroascorbate(MDA) reductase : FADH₂의 還元力을 이용하여 ascorbate의 수준을 유지시키는 酵素이다^{9),47)}.



Ascorbate peroxidase : 植物體의 抗酸化에 있어서 가장 SOD와 더불어 직접 毒性酸素를 제거하는 機能을 갖는 酵素로서 還元형의 ascorbate가 過酸化水素를 물로 바꾸어서 無毒化되도록 한다^{22),69)}.

Glutathione peroxidase : ascorbate peroxidase가 植物에서 過酸化水素의 無毒化 작용에 이용되는 반면 glutathione peroxidase는 動物에서 過酸化水素의 無毒化에 주로 이용된다⁹²⁾.

植物과 抗酸化劑와의 關係

酸化스트레스에 대한 抵抗性은 植物의 生育에 매우 중요하며 植物體의 種에 따라서 차이가 있다. 種간의 抵抗性의 차이가 植物體내의 抗酸化劑의 수준차이와 抗酸化酵素인 SOD, glutathione reductase 등의 活性差異에 의한다고 볼 때, 한 種류의 環境스트레스에 대한 내성은 그 형질의 pleiotropic effe-

cts에 의하여 다른 種류의 스트레스에 대한 交叉抵抗性을 부여한다¹¹⁾. 표 2는 이러한 cross-tolerance의 몇가지 예를 보여주는 것이다.

病原體의 침입에 대한 植物體의 耐性과 抗酸化 작용과의 관계는 최근에 들어 매우 흥미로운 몇가지 사실을 제공하고 있는데, 첫째로 植物體가 病原體의 침입에 의하여 lipoxygenase의 活性이 증가되어 lipid peroxidation이 일어나고 이 때 발생한 毒性酸素는 elicitor⁸⁴⁾ 내지는 second messenger로 작용하여 植物體내의 peroxidase의 活性을 증가시켜 lignin合成을 유도하여 耐性이 증가하고 phytoalexin의 生合成을 유도하는 것이다. 이 밖에 毒性 酸素에 의하여 glucanase, chitinase, peroxidase, proteinase inhibitors와 같은 pathogenesis-related(PR) proteins를 合成을 惹起시킨다⁶³⁾. 이 경우 oxidative stress에 대한 중복되는 酵素들의 細胞내 防禦力은 떨어지게 되는 것이다²⁶⁾. 그러나 抵抗性 品種은 SOD와 같은 抗酸化酵素의 活性이 感受性 品種보다 높아 peroxidase나 catalase가 病抵抗性에 관여할지라도 毒性酸素의 제거능력이 저하되지 않는다. Superoxide anion은 특히 細菌에 대한 抗生效果⁸⁵⁾를 갖고 있어 病原體에 대한 耐性에 관여하고 free-radical이 ethylene을 형성을 촉진한다는 보고⁵⁷⁾도 있다.

抗酸化酵素들 중 SOD와 ascorbate peroxidase의 작용에 있어서 後者의 경우는 毒性酸素를 물로 바

Table 2. Summary of the cross-tolerances found in different plant cultivars¹¹⁾

Species	Selection	Cross-tolerance	Enzymes involved
<i>Ceratopteris</i>	acifluorfen	paraquat	?
<i>Conyza binariensis</i>	paraquat	atrazine acifluorfen, SO ₂ photoinhibition	SOD, GR, AP
<i>Gossypium hirsutum</i>	drought	paraquat	GR
<i>Lolium perenne</i>	paraquat SO ₂	SO ₂ paraquat	SOD, GR SOD, GR
<i>Nicotiana tabacum</i>	ozone paraquat	paraquat SO ₂ cercospora	SOD, GR SOD
<i>Zea mays</i>	drought	paraquat SO ₂ , acifluorfen	SOD, GR

꾸어 無毒化 시키나 SOD의 경우는 酵素작용의 산물이 역시 毒性을 띄는 過酸化水素 이므로 이 두가지 酵素의 높은 活性이 均衡을 이루면서 증가할 때 植物體가 이상적으로 酸化스트레스에 대한 耐性を 나타낸다고 볼 수 있다.

生長段階와 抗酸化 酵素의 관계를 볼때, 다른 대부분의 酵素가 老化가 진행됨에 따라 活性이 감소하는 것처럼 SOD, catalase, glutathione reductase 등도 活性이 감소하여 毒性酸素의 發生에 대한 抵抗이 약해져 더욱 老化를 가속화한다.

酸化스트레스를 인간이 유용하게 이용하는 것은 역시 除草劑 분야로 paraquat과 acifluorfen과 같은 除草劑는 作物의 收量增大에 많은 기여를 하였다. Paraquat에 대한 耐性的의 차이가 抗酸化 능력의 차이⁴¹⁾라는 것을 고려할 때 paraquat를 인위적 酸化스트레스 誘發原으로 사용하여 많은 학문적 진보가 가능하게 하였는데, 여러 種의 植物體를 이용한 검정에서 표 3에서 처럼 망초를 비롯한 몇가지 植物體에서 耐성이 발견되었다. 이 밖에 酸化스트레스 부여에 의한 種子休眠의 打破도 酸化스트레스의 農業적으로 이용할 분야이다⁴⁰⁾.

최근에 스트레스와 연관된 연구 중 heat shock protein(HSP)에 대한 것이 많이 연구되었는데, 이

蛋白質은 過酸化水素와 같은 酸化스트레스의 매개체, 카드뮴과 같은 重金屬, 細胞내 thiols의 수준을 낮추는 물질에 의하여 合成이 일어난다는보고가 있어 HSP과 抗酸化酵素와는 깊은 관계가 있는 것으로 思料된다⁷²⁾.

結 論

여러가지 環境汚染 및 不良環境에 의하여 발생하는 毒性酸素는 植物體에 매우 심한 毒性을 끼치므로 이에 대한 연구는 環境의 파괴에 따라 발생의 가능성이 높아지므로 그 중요성이 더욱 부각되고 있다. 環境의 汚染은 현재 뿐만 아니라 앞으로 그 정도가 심해질 가능성이 커지므로 이러한 酸化스트레스에 대한 연구는 人間の 食糧이 되는 作物의 정상적인 生育을 誘導하는데 있어서 반드시 필요하다.

毒性 酸素種의 발생과 植物體내의 無毒化 體系는 여러가지 작용에 의하여 이루어지나 많은 基本的인 共通點이 있어 현재까지 밝혀진 사실을 土臺로 作物의 生育과 연관시킨 연구가 要望되고, 최근 진보된 分子生物學的의 技法³⁾의 導入도 고려할 사항이다. 현재까지 이루어진 연구가 다른 분야에 비하여는 부족하고 栽培되는 作物에 미치는 影響과 그 對策에

Table 3. Plants species in which biotypes, cultivars, or mutants have resistance to paraquat⁴¹⁾

Species	Origin	Approximate resistance factor	Inheritance
<i>Arctotheca ca lendula</i> (L.)Levyns	Australia
<i>Ceratopteris richardii</i> Brongn.	U. States	10-40	Single gene, recessive
<i>Conyza bonariensis</i> (L.)Cronq.	Egypt	100	Single gene, dominant
<i>Conyza canadensis</i> (L.)Cronq.	Hungary	170-450	...
<i>Erigeron canadensis</i> L.	Japan	> 100	...
<i>Erigeron philadelphicus</i> L.	Japan	250	Single gene, dominant
<i>Erigeron sumatrensis</i> Retz.	Japan
<i>Hordeum glaucum</i> Steud.	Australia	250	Single gene, semi-dominant
<i>Hordeum leporinum</i> Link	Australia
<i>Lolium perenne</i> L.	U. Kingdom	6-10	Polygenic
<i>Poa annua</i> L.	U. Kingdom	4-8	...
<i>Youngia japonica</i> (L.)DC.	Japan

대해서는 미비한 실정이다. 毒性酸素에 의한 피해는 여러 원인에 의하지만 그 基本的인 작용기작은 毒性酸素의 강한 酸化力에 의한 植物體 구성물의 酸化에 의한 것이므로 毒性酸素의 발생원인에 대한 연구와 더불어 피해를 경감시키는 抗酸化劑에 대한 연구도 앞으로 많은 연구가 이루어져야 할 분야이다.

마지막으로 酸化스트레스에 있어서 抗酸化劑와 抗酸化酵素에 의한 防禦는 植物에 있어서 효과적이기는 하지만 한계가 있으므로 環境의 汚染과 破壞를 막는 것이 더욱 중요한 것이라고 思料된다.

參考文獻

- Alscher, R.G.(1989): Biosynthesis and antioxidant function of glutathione in plants, *Physiol. Plant.*, **77**, 457.
- Ames, B.(1983): Dietary carcinogens and anticarcinogens, Oxygen radicals and degenerative diseases, *Science*, **221**, 1256.
- Aono, M., Kubo, A., Saji, H., Natori, T., Tanaka, K. and Kondo, N.(1991): Resistance to active oxygen toxicity of transgenic *Nicotiana tabacum* that expresses the gene for glutathione reductase from *Escherichia coli*, *Plant Cell Physiol.*, **32**, 691.
- Asada, K., Takahashi, M.(1987): Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis, In *photoinhibition*, ed. D. J. Kyle, C. B. Osmond, C. J. Arntzen, pp. 227-287. Amsterdam: Elsevier Science.
- Asami, S., Akazawa, T.(1978): Phytooxidation damage in photosynthetic activities of *Chromatium vinosum*, *Plant Physiol.*, **62**, 981.
- Badger, M.R. 1985. Photosynthetic oxygen exchange, *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **36**, 27.
- Badger, M.R., Andrews, T.J., Calvin, D.T. and Lorimer, G.H.(1980): Interactions of hydrogen peroxide with ribulose bisphosphate carboxylase oxygenase, *J. Biol. Chem.*, **255**, 7870.
- Becker, K.H., Brockmann, K.J. and Bechara, J. (1990): Production of hydrogen peroxide in forest air by reaction of ozon with terpenes, *Nature*, **346**, 256.
- Borraccino, G., Dipierro, S. and Arrigoni, O. (1986): Purification and properties of ascorbate free-radical reductase from potato tubers, *Planta*, **167**, 521.
- Boveris, A., Varasavsky, A.I., Goncalves da Silca, S. and Sanchez, R.A.(1983): Chemiluminescence of soybean seeds: spectral analysis, temperature dependence and effect of inhibitors, *Photochem. Photobiol.*, **38**, 99.
- Bowler, C., Montagu, M.V. and Inz, D.(1992): Superoxide dismutase and stress tolerance, *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **43**, 83.
- Brennan, T., Anderson, L.E.(1980): Inhibition by catalase of dark-mediated glucose-6-phosphate dehydrogenase activation in pea chloroplasts, *Plant Physiol.*, **66**, 815.
- Bressan, R.A., Le Cureux, L., Wilson, L.G. and Filner, P.(1979): Emission of ethylene and ethane by leaf tissue exposed to injurious concentration of sulfur dioxide or bisulfite ion, *Plant Physiol.*, **63**, 924.
- Bridge, S.M. and Salin, M.L.(1981): Distribution of iron containing superoxide dismutase in vascular plants, *Plant Physiol.*, **68**, 275.
- Brooks, A., Portis, A.R.J. and Sharkey, T.D. (1988): Effects of irradiance and methyl viologen treatment on ATP, ADP, and activation of ribulose bisphosphate carboxylase in spinach leaves, *Plant Physiol.*, **88**, 850.
- Burke, J.J., Gamble, P.E., Hatfield, J. and Quisenberry, J.E.(1985): Plant morphological and biochemical responses to field water deficits, *Plant Physiol.*, **79**, 415.

17. Cadenas, E.(1989): Biochemistry of oxygen toxicity, *Annu. Rev. Biochem.*, **58**, 79.
18. Cakmak, I. and Horst, W.J.(1991): Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean(*Glycine max*), *Physiol. Plant.*, **83**, 463.
19. Charles, S.A. and Halliwell, B.(1980): Effects of hydrogen peroxide on spinach(*Spinacia oleracea*) chloroplast fructose-bisphosphatase, *Biochem. J.*, **189**, 373.
20. Chia, L. S., McRae, D.G. and Thompson, J.E. (1982): Light-dependence of paraquat-initiated membrane deterioration in bean plants, Evidence for the involvement of superoxide, *Physiol. Plant.*, **56**, 492.
21. Czapski, G.(1984): Reaction of $\cdot\text{OH}$, *Methods Enzymol.*, **105**, 209.
22. Dalton, D.A., Hanus, F.J., Russell, S.A. and Evans, H.J.(1987): Purification, Properties, and distribution of ascorbate peroxidase in legume Root nodules, *Plant Physiol.*, **83**, 789.
23. Daub, M.E. and Hangarter, R.P.(1983): Light-induced production of singlet oxygen and superoxide by the fungal toxin, Cercosporin, *Plant Physiol.*, **73**, 85.
24. De Kok, L. and Oosterhuis, F.A.(1983): Effects of frost-hardening and salinity on glutathione and sulfhydryl levels and on glutathione reductase activity in spinach leaves, *Physiol. Plant.*, **58**, 47.
25. Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T.A.(1981): Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase, *J. Exp. Bot.*, **32**, 93.
26. Dixon, R. A. and Lamb, C.J.(1990): Molecular communication in interactions between plants and microbial pathogens, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **41**,339.
27. Dorothera, S.-H.(1987): The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membrane, *Physiol. Plant.*, **69**, 561.
28. Edward, R. and Owen, W.J.(1986): Comparison of glutathione S-transferase Of *Zea mays* responsible for herbicide detoxification in plants and suspension-cultured cells, *Planta*, **169**, 208.
29. Edward, R. and Owen, W.J.(1988): Regulation of glutathione S-transferase of *Zea mays* in plants and cell cultures, *Planta*, **175**, 99.
30. Edwards, E.A., Rawsthorne, S. and Mullineaux, P.M.(1990): Subcellular distribution of multiple forms of glutathione reductase in leaves of pea (*Pisum sativum L.*), *Planta*, **180**, 278.
31. Elstner, E.F.(1982): Oxygen activation and oxygen toxicity, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **33**, 73.
32. Elstner, E.F. and Heupel, A.(1974): On the decarboxylation of -keto acid by isolated chloroplasts, *Biochim. Biophys. Acta*, **325**, 182.
33. Elstner, E.F. and Kramer, R.(1973): Role of the superoxide free radical ion in photosynthetic ascorbate oxidation and ascorbate-mediated photophosphorylation, *Biochim. Biophys. Acta*, **314**, 340.
34. Ensminger, M.P. and Hess, F.D.(1985): Photosynthesis involvement in the mechanism of action of diphenyl ether herbicides, *Plant Physiol.*, **78**, 46.
35. Esterhauer, H. and Grill, D.(1978): Seasonal variation of glutathione and glutathione reductase in needles of *Picea abies*, *Plant Physiol.*, **61**, 119.
36. Farmilo, A. and Wilkinson, F.(1973): On the mechanism of quenching of singlet oxygen in solution, *Photochem. Photobiol.*, **18**, 447.

37. Foster, J.G., and Edwards, G.E.(1980): Localization of superoxide dismutase in leaves of C₃ and C₄ plants, *Plant Cell Physiol.*, **21**, 895.
38. Foyer, C.H. and Halliwell, B.(1976): The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism, *Planta*, **133**, 21.
39. Foyer, C., Lelandais, M., Galap, C. and Kunert, K.J.(1991): Effects of elevated cytosolic glutathione reductase activity on the cellular glutathione pool and photosynthesis in leaves under normal and stress conditions, *Plant Physiol.*, **97**, 63.
40. Fridovich, I.(1978): The biology of Oxygen radicals, *Science*, **210**, 875.
41. Fuerst, E.P. and Vaughn, K.C.(1990): Mechanisms of paraquat resistance, *Weed Tech.*, **4**, 150.
42. Greer, D.H., Ottander, C. and quist, G.(1991): Photoinhibition and recovery of photosynthesis in intact barley leaves at 5 and 20°C, *Physiol. Plant.*, **81**, 203.
43. Gross, G. G.(1980): The biochemistry of lignification, *Adv. Bot. Res.*, **8**, 25.
44. Halliwell, B.(1984): *Chloroplast metabolism*, Clarendon Press. Oxford,
45. Hell, R. and Bergmann, L.(1988): Glutathione synthetase in tobacco suspension cultures: Catalytic properties and localization, *Physiol. Plant.*, **72**, 70.
46. Hoigné, J. and Bader, H.(1975): Ozonation of water: Role of hydroxyl radicals as oxidizing intermediates, *Science*, **190**, 782.
47. Hossain, M.A. and Asada, K.(1985): Monodehydroascorbate reductase from cucumber is a flavin adenine dinucleotide enzyme, *J. Biol. Chem.*, **260**, 12920.
48. Hossain, N.A. and Asada, K.(1984): Purification of dehydroascorbate reductase from spinach and its characterisation as a thiol enzyme, *Plant Cell Physiol.*, **25**, 85.
49. Hossain, N.A., Nakano, Y. and Asada, K.(1984): Monodehydroascorbate reductase in spinach chloroplasts and its participation in the regeneration of ascorbate for scavenging hydrogen peroxide, *Plant Cell Physiol.*, **25**, 385.
50. Hunter, M.I.S., Hetherington, A.M. and Crawford, R.M.M.(1983): Lipid peroxidation - a factor in anoxia intolerance in *Iris* species? *Phytochemistry*, **22**, 1145.
51. Kenyon, W. H. and Duke, S.O.(1985): Effects of acifluorfen on endogeneous antioxidants and Protective enzymes in cucumber(*Cucumis sativus* L.) cotyledon, *Plant Physiol.*, **79**, 862.
52. Knox, J. P. and Dodge, A.D.(1985): Singlet oxygen and plants, *Phytochemistry*, **24**, 889.
53. Kumer, G.N.M. and Knowles, N.R.(1993): Changes in lipid peroxidation and lipolytic and free-radical scavenging enzyme activities during aging and sprouting of potato(*Solanum tuberosum*) seed-tubers, *Plant Physiol.*, **102**, 115.
54. Kunert, K.J., Homrighausen, C., B hme, H. and B ger, P.(1985): Oxyfluorfen and lipid peroxidation: protein damage as a phytotoxic consequence, *Weed Sci.*, **33**, 766.
55. Larson, R.A.(1988): The antioxidants of higher plants, *Phytochemistry*, **27**, 969.
56. Lee, M.Y. and Halliwell, B.(1986): Purification and properties of glutathione synthetase from spinach(*Spinacia oleracea*) leaves, *Plant. Sci.*, **43**, 185.
57. Legge, R.L., Thompsom, K.E. and Baker, K.E. (1982): Free radical mediated formation of ethylene from 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid: a spin trap study, *Plant Cell Physiol.*, **23**, 171.
58. Luwe, M.W.F., Takahama, U. and Heber, U.

- (1993): Role of ascorbate in detoxifying ozone in the apoplast of spinach(*Spinacia oleraceae* L.) leaves, *Plant Physiol.*, **101**, 969.
59. Martin, M.E., Byers, B.R., Olson, M.O.J., Salin, M.L., Arceneaus, J.E.L. and Tolbert, C.(1986): A *Streptococcus mutans* superoxide dismutase that is active with either manganese or iron as a cofactor, *J. Biol. Chem.*, **261**, 9361.
 60. Matringe, M. and Scalla, R.(1988): Studies on the mode of action of acifluorfen-methyl in nonchlorophyllous soybean cells, Accumulation of tetrapyrroles, *Plant Physiol.*, **86**, 619.
 61. McCay, P.(1985): Vitamin E: Interactions with free radicals and ascorbate, *Annu. Rev. Nutr.*, **5**, 323.
 62. McCord, J.M. and Fridovich, I.(1969): Superoxide dismutase: an enzymatic function for erythrocuprein(hemocuprein), *J. Biol. Chem.*, **244**, 6049.
 63. Mehlhorn, H., Seufert, G., Scgmidt, A. and Kurnert, K.J.(1986): Effect of SO₂ and O₃ on production of antioxidants in conifers, *Plant Physiol.*, **82**, 336.
 64. Meister, A.(1988): Glutathione metabolism and its selective modification, *J. Biol. Chem.*, **263**, 17205.
 65. Mendum, M.L., Gupta, S.C. and Goldsbrough, P.B.(1990): Effect of glutathione on phytochelatin synthesis in tomato cells, *Plant Physiol.*, **93**, 484.
 66. Meuwly, P and Rauser, W.E.(1992): Alteration of thiol pools and shoots of maize seedlings exposed to cadmium, *Plant Physiol.*, **99**, 8.
 67. Monk, L.S., Fagerstet, K.V. and Crwford, R.M. M.(1987): Superoxide dismutase. as an anaerobic polypeptide. A key factor in recovery from oxygen deprivation in *Iris pseudacorus*? *Plant Physiol.*, **85**, 1016.
 68. Montalbini, P., Koch, F., Burba, M. and Elstner, E.F.(1978): Increase in lipid-dependent carotene destruction as compared to ethylene formation and chlorophyllase activity following mixed infection of sugar beet(*Beta vulgaris* L.) with beet yellows virus and beet mild yellowing virus, *Physiol. Plant Pathol.*, **12**, 211.
 69. Nakano, Y. and Asada, K.(1981): Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast, *Plant Cell Physiol.*, **22**, 867.
 70. Navari-Izzo, F., Quartacci, M.F., Izzo, R. and Pinzino, C.(1992): Degradation of membrane lipid components and antioxidant levels in *Hordeum vulgare* exposed to long-term fumigation with SO₂, *Physiol. Plant.*, **84**, 73.
 71. Neuhaus, H.E. and Stitt, M.(1989): Perturbation of photosynthesis in spinach leaf discs by low concentrations of methyl viologen. Influence of decreased thylakoid energisation on ATP synthesis, electron transport, energy dissipation, light-activation of the Calvin-cycle enzymes, and control of starch and sucrose synthesis, *Planta*, **179**, 51.
 72. Nieto-Sotelo, J. and Ho, T-H D.(1986): Effect of heat shock on the metabolism of glutathione in maize roots, *Plant Physiol.*, **82**, 1031.
 73. Okuda, T., Matsuda, Y., Yamanaka, A. and Sagsaka, S.(1991): Abrupt increase in the level of hydrogen peroxide in leaves of winter wheat is caused by cold treatment, *Plant Physiol.*, **97**, 1265.
 74. Omran, R.G.(1980): Peroxide levels and the activities of catalase, peroxidase and indolacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings, *Plant Physiol.*, **65**, 407.
 75. Orr, G.L. and Hess, F.D.(1982): Mechanism of action of the diphenyl ether herbicide acifluor-

- fen-methyl in excised cucumber (*Cucumis sativa* L.) cotyledons. Light activation and the subsequent formation of lipophilic free radicals, *Plant Physiol.*, **69**, 502.
76. Parry, A.D. and Hogan, R.(1991): Carotenoids and abscisic acid(ABA) biosynthesis in higher plants, *Physiol. Plant.*, **82**, 320.
77. Pauls, K.P. and Thompson, J.E.(1980): Evidence for the accumulation of peroxidized lipids in membranes of senescencing cotyledons, *Plant Physiol.*, **75**, 1152.
78. Polle, A., Krings, B. and Rennenberg, H.(1989): Superoxide dismutase activity in needles of Norwegian spruce trees(*Picea abies* L.), *Plant Physiol.*, **90**, 1310.
79. Rabinowitch, H.D. and Sklan, D.(1980): Superoxide dismutase: a possible protective agent against sunscald in tomatoes(*Lycopersicon esculentum* Mill.), *Planta*, **148**, 162.
80. Renneberg, H.(1982): Glutathione metabolism and possible biological roles in the higher plant, *Phytochemistry*, **21**, 2771.
81. Ric De Vos, C.H., Vonk, M.J., Vooijs, R. and Schat, H.(1992): Glutathione depletion due to copper-induced phytochelatin synthesis causes oxidative stress in *Silene cucubalus*, *Plant Physiol.*, **98**, 853.
82. Richter, M., R hle, W. and Wild, A.(1990): Studies on the mechanism of photosystem II photoinhibition, II. The involvement of toxic oxygen species, *Photosyn. Res.*, **24**, 237.
83. Ridley, S.M.(1977): Interaction of chloroplasts with inhibitors, Induction of chlorosis by diuron during prolonged illumination *in vitro*, *Plant Physiol.*, **59**, 724.
84. Rogers, K.R., Albert, F. and Anderson, A.J. (1988): Lipid peroxidation is a consequence of elicitor activity, *Plant Physiol.*, **86**, 547.
85. Rosen, H. and Klebanoff, S.J.(1979): Bactericidal activity of a superoxide anion generating system, *J. Exp. Med.*, **149**, 27.
86. Salin, M.L.(1987): Toxic oxygen species and protective systems of the chloroplast, *Physiol. Plant.*, **72**, 681.
87. Salin, M.L. and Bridges, S.M.(1981): Chemiluminescence in wounded root tissue. Evidence for peroxidase involvement, *Plant Physiol.*, **67**, 43.
88. Scandalios, J. G.(1983): Oxygen stress and superoxide dismutase, *Plant Physiol.*, **101**, 7.
89. Schaedle, M. and Bassham, J.A.(1977): Chloroplast glutathione reductase, *Plant Physiol.*, **59**, 1011.
90. Scheller, H.V., Huang, B., Hatch, E. and Goldsbrough, P.B.(1987): Phytochelatin synthesis and glutathione levels in response to heavy metals in tomato cells, *Plant Physiol.*, **85**, 1031.
91. Schmidt, A. and Kunert, K.J.(1986): Lipid peroxidation in higher plants: The role of glutathione reductase, *Plant Physiol.*, **82**, 700.
92. Schmidt, A. and Kunert, K.J.(1987): Antioxidative systems: defense against oxidative damage in plants, In *Molecular strategies for crop protection*, ed. Alan R. Liss, pp401-413.
93. Schobert, B., Elstner, E.F.(1980): Production of hexanal and ethane by *Phaeodactylum tricorutum* and its correlation to fatty acid oxidation and bleaching of photosynthetic pigments, *Plant Physiol.*, **66**, 215.
94. Sch ner, S. and Krause, G.H.(1990): Protective systems against active oxygen species in spinach: response to cold acclimation in excess light, *Planta*, **180**, 383.
95. Shibata, H., Baba, K. and Ochiai, K.(1991): Near-UV irradiation induced shock proteins in *Anacystis nidulans* R-2; possible role of active

- oxygen, *Plant Cell Physiol.*, **32**, 771.
96. Shimazaki, K.I., Sakaki, T., Kondo, N. and Sugahara, K.(1980): Active oxygen participation in chlorophyll destruction and lipid peroxidation in SO₂-fumigated leaves of spinach, *Plant Cell Physiol.*, **21**, 1193.
97. Siefermann-Harms, D.(1987): The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes, *Physiol. Plant.*, **69**, 561.
98. Smith, I.K.(1985): Stimulation of glutathione synthesis in photorespiring plants by catalase-deficient mutant of barley(*Hordeum vulgare L.*), *Plant Sci. Lett.*, **37**, 29.
99. Smith, I.K., Kendall, A.C., Turner, A.J. and Lea, P.J.(1985): The regulation of the biosynthesis of glutathione in leaves of barley(*Hordeum vulgare L.*), *Plant Sci.*, **41**, 11.
100. Smith, I.K., Vierheller, T.L. and Thorne, C.A. (1989): Properties and function of glutathione reductase in plants, *Physiol. Plant.*, **77**, 449.
101. Somashekaraiyah, B.V., Padmaja, K. and Prasad, A.R.K.(1992): Phytotoxicity of cadmium ions on germinating seedlings of mung bean (*Phaseolus vulgaris*): Involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation, *Physiol. Plant.*, **85**, 89.
102. Tanaka, K. and Sugahara, K.(1980): Role of superoxide dismutase in defense against SO₂ toxicity and an increase in superoxide dismutase activity with SO₂ fumigation, *Plant Cell Physiol.*, **21**, 601.
103. Van Ginkel, G. and Brown, K.S.(1978): Endogenous catalase and superoxide dismutase activities in photosynthetic membranes, *FEBS Lett.*, **94**, 284.
104. Van Rensen, J.J.S.(1975): Lipid peroxidation and chlorophyll destruction caused by diquat during photosynthesis in *Scenedesmus*, *Physiol. Plant.*, **33**, 42.
105. Vögeli-Lange, R. and Wagner, G.J.(1990): Subcellular localization of cadmium-binding peptides in tobacco leaves, *Plant Physiol.*, **92**, 1086.
106. Whitehouse, D.G., Ludwig, L.J. and Walker, D.A.(1971): Participation of the Mehler reaction and catalase in the oxygen exchange of chloroplast preparations, *J. Exp. Bot.*, **22**, 772.
107. Wingate, V.P.M., Lawton, M.A. and Lamb, C.J. (1988): Glutathione causes a massive and selective induction of plant defense genes, *Plant Physiol.*, **87**, 206.
108. Wise, R.R. and Naylor, A.W.(1987): Chilling-enhanced photooxidation . Evidence for the role of singlet oxygen and superoxide in the breakdown of pigments and endogenous antioxidants, *Plant Physiol.*, **83**, 278.
109. Wolosiuk, R.A. and Buchanan, B.B.(1977): Thioredoxin and glutathione regulate photosynthesis in chloroplasts, *Nature*, **266**, 565.
110. Yost, F.J., Fridovich, I.(1976): Superoxide and hydrogen peroxide in oxygen damage, *Arch. Biochem. Biophys.*, **175**, 514.
111. Young, A.J.(1991): The photoprotective role of carotenoids in higher plants, *Physiol. Plant.*, **83**, 702.