

## UV-B가 보리(*Hordeum vulgare* L.)잎의 광합성 전자전달에 미치는 영향

박 강 은 · 정 화 숙 · 송 승 달<sup>\*</sup> · 노 광 수<sup>\*\*</sup> · 송 종 석<sup>\*\*\*</sup>  
경북대학교 생물교육과 · 경북대학교 생물학과  
<sup>\*</sup>계명대학교 생물학과 · <sup>\*\*</sup>안동대학교 생물학과  
(1997년 1월 20일 접수)

## The Effects of UV-B Radiation on Photosynthetic Electron Transport of Barley (*Hordeum vulgare* L.) Leaves

Kang-Eun Park, Hwa-Sook Chung, Seung-Dal Song<sup>\*</sup>,  
Kwang-Soo Roh<sup>\*\*</sup>, and Jong-Suk Song<sup>\*\*\*</sup>

<sup>\*</sup>Dept. of Biology Education, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

<sup>\*\*</sup>Dept. of Biology, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

<sup>\*\*\*</sup>Dept. of Biology, Keimyong University, Taegu 704-701, Korea

<sup>\*\*\*\*</sup>Dept. of Biology, Andong National University, Andong 760-749, Korea

(Manuscript received 20 January 1997)

The effects of various intensity of UV-B on barley seedling were investigated by PS I and II activities and chlorophyll fluorescence. The inhibitory effect of UV-B radiation on electron transport activity was increased as the intensity of UV-B irradiation was increased. Especially, PS II is more sensitive to UV-B radiation than PS I is. By the addition of artificial electron donor, DPC, to the chloroplasts of the barley seedlings treated with UV-B, the photoreduction of DCPIP was recovered by only 11% on electron transport activity. However, the activity of PS II was inhibited by 45% by the treatment with UV-B, but recovered it only 11% by the addition of DPC. These suggest that other sites besides the oxidation site of PS II may be affected more by UV-B irradiation. As the intensity of UV-B was increased,  $F_0$  was increased while  $F_v$  was decreased, and thus  $F_v/F_m$  was decreased. This means that photochemical efficiency was reduced. With this parameters, it might be that UV-B radiation affected adversely to around PS II.

Key words : UV-B, barley seedling, chlorophyll fluorescence, PS II

### 1. 서 론

식물은 광합성을 하기 위해 태양 복사를 이용하기 때문에, 햇빛 속에 존재하는 자외선을 받게 된다. 가시광선과 적외선은 태양 복사의

90% 이상을 차지하며, 자외선은 약 8%를 차지한다(Frederick *et al.*, 1989). 일반적으로 UV 복사는 UV-A, UV-B, UV-C의 3종류로 나뉜다. UV 스펙트럼 중 280 nm 이하의 파장인

UV-C는 성층권에 있는 오존이 효과적으로 흡수하기 때문에 지구 표면에 도달하는 햇빛에는 존재하지 않는다. 대조적으로, 280-320nm의 파장 범위를 가지는 UV-B는 지구 표면에 도달한다. 특히, 성층권의 오존 농도가 감소함에 따라 이 스펙트럼 영역의 조사가 증가되고 있기 때문에 햇빛 중 UV-B 영역은 최근 많은 주목을 받고 있다(McFarland and Kaye, 1992). 320-400nm의 파장 범위를 가지는 UV-A는 오존에 의해서 차단되지 않기 때문에 오존층의 감소에 의해 영향을 받지 않고 지구 표면에 도달한다(Stapleton, 1992). UV-B 복사는 총 태양 에너지 복사의 약 1.5%를 차지하지만(Frederick *et al.*, 1989) 태양각, 위도, 운량, 대기의 혼탁도, 성층권의 오존 농도와 같은 많은 요인에 따라 그 양이 변화될 수 있다. Murali와 Teramura(1985)는 대기오염으로 인해 성층권의 오존 농도가 1% 감소하면 지구 표면에 도달하는 UV-B 복사량이 2%나 증가되어 지상에 있는 많은 생물에 유해한 영향을 미친다고 보고했다. UV-B는 DNA, 단백질, 광합성 색소와 전자전달 매개체(quinone) 같은 다양한 생체 분자의 빛 흡수능에 영향을 미쳐서 대사경로, 생물 구조와 발달 및 유전 정보를 변화시키고, 개체 생태계에 있어서 종들 간의 상호 작용도 변화시킨다(Yuichi *et al.*, 1993; Melis *et al.*, 1992). 또한 UV-B 복사로 인해서 관찰되는 변화로는 생체량 감소, 화분 발아율의 감소, 표피의 변형, 큐티클의 왁스조성 변화와 플라보노이드 양의 증가 등이 있는데, 이들은 DNA의 손상, 직접적인 광합성의 손상, 막변화, 단백질의 파괴 및 호르몬의 불활성에 기인한다(Stapleton, 1992). 위와 같은 많은 식물에 대한 손상 중에서 UV-B는 주로 광합성을 저해한다(Sisson, 1981). 일반적으로 식물의 광합성 과정에서 UV-B에 가장 민감한 부위는 광계 II라고 보고되고 있지만(Tevini and Pfister, 1985) 정확한 표적 부위에 대해서는 아직도 일치하는 견해가 없다.

본 연구에서는 UV-B가 엽록체의 활성화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 보리 유식물의 잎에 6시간 UV-B를 조사한 후 광계 I과 광계 II의 활성화, 엽록소 형광을 측정하여 UV-B가 보리 엽록체의 광합성 활성화에 미치는 영향을

조사하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 식물 재료

성주군 농촌지도소에서 분양받은 보리(*Hordeum vulgare* L. cv. Olbori) 종자를 증류수에 세척한 후 vermicullite에 파종하여 온도는  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 상대습도는  $70 \pm 5\%$ 로 하여  $100 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 의 광에서 7일간 키운 보리 유식물을 실험재료로 이용하였다. 측정에는 제일 엽을 끝에서 1 cm 제거하고 난 후 2 cm 길이만큼 잘라서 사용하였다.

### 2.2 UV-B 처리

UV-B (Ultraviolet radiation : 280-320 nm)가 엽록체의 광합성 활성화에 미치는 영향을 알아보기 위해서 보리잎에 0.1, 0.2 및 0.4  $\text{W m}^{-2}$ 의 UV-B를 명과 암조건에서 6시간 동안 조사하였으며, 그리고 UV-B 처리후 지연된 영향을 알아보기 위하여 UV-B 처리한 후 각각 명과 암에서 24시간 둔후 엽록소 형광을 측정하였다. UV-B 광원은 15W-BLE-1T158(SPECTRONICS CORP, Westburg, New York) UV-B lamp를 사용하였다. UV-B 처리 및 녹화는 식물생장실(KGW-1400-S1)에서 하였으며 온도는  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 상대습도는  $70 \pm 5\%$ 로 하였다.

### 2.3 엽록체 추출

Obokata(1987)의 방법을 변형하여 냉각한 증류수로 세척한 보리잎 1 g과 STN buffer (pH 8.0, 0.4 M sucrose, 0.05 M Tris, 0.01 M NaCl) 10 ml를 냉각시킨 막자사발에 넣어서 마쇄하여 2점의 거즈로 여과하였다. 이 여과액을 300 g에서 1분간 원심분리하여 침전물은 버리고 상정액을 다시 600 g에서 10분간 원심분리한 후 침전물에 STN buffer (pH 7.8) 10 ml를 분주하여 현탁한 후 1,000 g에서 10분간 원심분리하였다. 모든 추출과정은 0-4°C에서 행하였다.

### 2.4 전자전달 활성 측정

광합성의 광계 I과 광계 II의 전자전달 활성은 Clark형의 산소전극을 이용하여 20°C에서 각각 산소 발생량과 소모량을 측정하였다. 광

계 I의 전자전달 활성은 50 mM Hepes buffer (pH 7.8, 100 mM sucrose, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM NaCl)와 2 mM methylviologen, 2 mM NaN<sub>3</sub>, 1 μM DCMU, 0.1 mM DCPIP, 5 mM ascorbate-Na, 2 mM NH<sub>4</sub>Cl, 25 μg/ml 엽록소가 포함된 반응액으로 산소 소모량을 측정하였다(Atal *et al.*, 1991). 광계 II의 전자전달 활성은 50 mM Hepes buffer (pH 7.8)와 0.5 mM *p*-phenylenediamine, 2 mM K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>], 0.05% BSA, 2 mM NH<sub>4</sub>Cl, 50 μg/ml의 엽록소가 포함된 반응액으로 산소의 발생량을 측정하였으며(Critchley, 1981), 또한 DCPIP 광환원율에 의한 광계 II의 활성측정은 50 mM Hepes buffer (pH 7.8)와 30 μM DCPIP, 10 μg/mL의 엽록소가 포함된 반응액으로 20 °C에서 측정하였다(Terashima *et al.*, 1989). 광계 II 전자 공여체인 DPC는 Vernon과 Show(1969)가 사용한 방법을 따랐으며 반응액의 최종 농도는 0.15 mM이 되도록 하였다. 이때 엽록소 함량은 Arnon(1949)의 방법에 따라 80% acetone으로 652 nm에서 전체 엽록소의 함량을 측정하였다.

### 2.5 엽록소 형광 측정

엽록소 a 형광 측정은 PAM (Walz Co.)을 이용하였으며, intact한 잎을 20분간 암적응시킨 뒤 0.3×0.9 cm 크기의 sample hold를 통해 측정광(1.6 kHz로 변조된 약한 적색광; 0.1 μmol · m<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup>)을 조사하여 Fo(광계 II의 반응중심이 모두 열려있을 때의 형광)를 구하고, 포화광(3,000 μmol · m<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup>)을 조사한 뒤 Fm(광계 II의 반응중심이 모두 닫혀 전자 수용체 quinone이 완전히 환원 상태에 있을 때의 형광)를 측정해서 광계 II 활성의 지표로 이용하였다. Fm-Fo에 의해 Fv를 구하여 Fv/Fo 비를 구하여 비교 분석하였다(Driesenaar *et al.*, 1994).

형광 소멸 계수를 구하기 위해서는 지속적인 actinic light(1,330 μmol · m<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup>)를 조사하면서 포화광을 20초 주기로 1초간 pulse 처리하였다. 형광 소멸 계수는 Oxborough와 Horton(1988)의 방법에 따라 qP (photochemical quenching), qNP (nonphotochemical quenching), qR (fluorescence quenching that is not

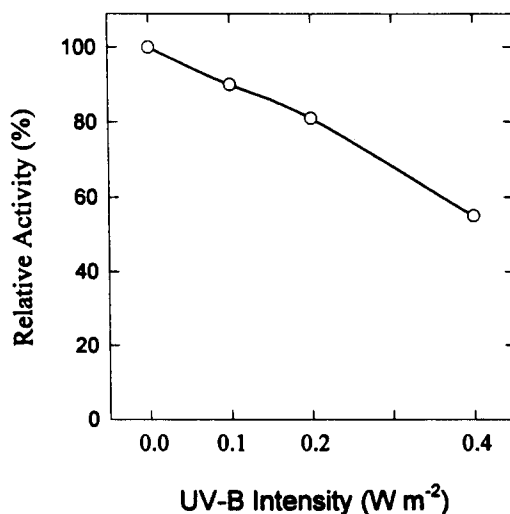


Fig. 1. Effects of the various intensity of UV-B on PS I electron transport activity of the chloroplasts isolated from barley leaves. The value corresponding to 100% was 270 μmole O<sub>2</sub> · mg Chl<sup>-1</sup> · h<sup>-1</sup>.

reversed by DCMU) 그리고 qE (energy-dependent fluorescence quenching)를 구하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1 광계 I 활성 변화

UV-B가 광계 I 활성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 보리잎에 UV-B를 세기별로 처리하였을 때 광계 I에 대한 전자전달 활성의 변화는 Fig. 1과 같다. 광계 I의 활성은 UV-B의 세기에 따라 미소한 감소를 보였다. 특히, 0.4 W m<sup>-2</sup>의 UV-B 처리구의 광계 I의 활성은 대조구에 비해 23% 정도 억제를 보였다. 이것은 Teramura와 Sullivan(1994)도 PAR (photosynthetically active radiation)이 없는 조건하에서 높은 UV-B 복사에 노출되면 광계 I의 활성이 감소될 수 있다고 보고한 것과 일치하였다. 그러므로 본 실험에서 광계 I 활성이 UV-B 조사로 인해 23% 감소한 것은 배경광이 없는 조건하에서 높은 UV-B 복사에 노출되었기 때문인 것으로 생각된다.

#### 3.2 광계 II 활성 변화

Fig. 2는 보리잎에 UV-B를 세기별로 처리한 후 추출한 엽록체로 산소발생량을 측정하여 광계 II 활성을 나타낸 것이다. 처리한 UV-B의 세기에 따라 광계 II의 활성이 감소하였으며  $0.4 \text{ W m}^{-2}$ 의 UV-B에서 대조구보다 45%의 억제를 보였다.  $0.4 \text{ W m}^{-2}$ 의 UV-B 처리로 광계 I 활성은 대조구 보다 23% 감소하였으나 광계 II 활성은 45%의 억제를 보였으므로 UV-B 처리로 인해서 광계 II가 많이 영향을 받은 것으로 생각된다. 이 결과는 Teramura와 Sullivan(1994)이 UV-B 복사로 인해 광계 I 활성보다는 광계 II의 활성이 크게 감소되었다는 것과 일치하며, 그리고 추출한 시금치 엽록체에 UV-B를 시간별로 처리한 후 DCPIP 광환원율로 광계 II의 전자전달 활성을 측정한 결과 UV-B가 광계 II에 민감하게 작용한다고 보고한 Tevini와 Pfister(1985)의 견해와 일치하였다.

### 3.3 광계 II 활성에 미치는 여러 가지 이온과 BSA의 영향

$0.4 \text{ W m}^{-2}$ 의 UV-B를 6시간 동안 처리한 후 엽록체를 분리하여 광계 II의 전자공여체를 첨가하여 DCPIP 광환원율로 광계 II 활성

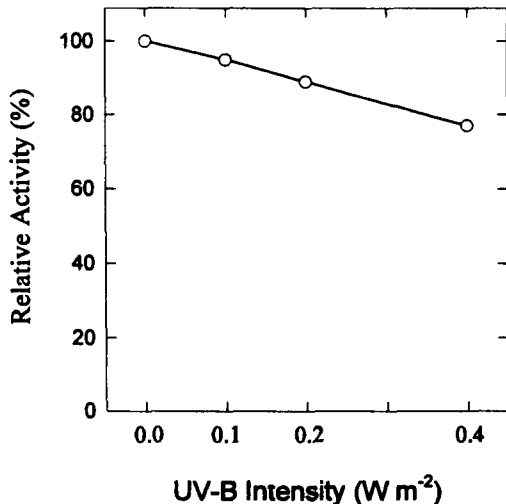


Fig. 2. Effects of the various intensity of UV-B on PS II electron transport activity of the chloroplasts isolated from barley leaves. The value corresponding to 100% was  $125 \mu\text{mole O}_2 \cdot \text{mg Chl}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ .

을 측정하였다(Table 1). 대조구에 DPC를 첨가했을 때 광계 II 활성이 약 9% 증가한 것에 비해  $0.4 \text{ W m}^{-2}$ 의 UV-B 처리구에 DPC를 첨가했을 때는 55%에서 75%로 회복되어 실질적으로 약 11%가 회복됨을 볼 수 있었다. 이것은 UV-B 처리로 인해 광계 II의 산화부위가 억제된 정도를 반영한다. 따라서 UV-B가 광계 II 산화 부위 중 물분해 기구에 미치는 영향을 알아보기 위하여  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ 과 BSA를  $0.4 \text{ W m}^{-2}$ 의 UV-B 처리구에 첨가하여 광계 II 활성을 측정하였다(Table 1).  $\text{Mn}^{2+}$ 의 경우는 대조구에서 억제 현상을 나타냈으나 처리구에서는 변화가 없었다. 이 결과는  $\text{Mn}^{2+}$ 의 소실로 인해 광계 II 산화부위가 불활성화되었을 때 외부에서  $\text{Mn}^{2+}$ 를 첨가하면 활성이 회복된다고 보고한 Rashid 등(1991)의 보고와 달랐다. Renger 등(1989)은 시금치의 광계 II 막 단편을 장시간에 걸쳐 UV-B를 처리하므로 산소 발생 능력이 완전히 저해된 경우에만  $\text{Mn}^{2+}$  함량이 감소한다고 보고하였다. 그러므로 이 결과는 UV-B 처리로 인해  $\text{Mn}^{2+}$ 가 물분해 기구의 막단백질로부터 방출되거나 소실되지 않았음을 나타낸다.  $\text{Mg}^{2+}$ 은 대조구와 처리구 둘 다에서 거의 변화가 없었다. 대조구에  $\text{Ca}^{2+}$ 를 첨가했을 때 광계 II 활성이 약 1% 증가한 것에 비해 UV-B 처리구에  $\text{Ca}^{2+}$ 를 첨가했을 때는 활성이 55%에서 69%로 회복되었다. Miyao와 Murata(1984)는 NaCl 처리로 인해 24 KDa 단백질이 소실되었을 경우 10 mM의  $\text{Ca}^{2+}$ 를 첨가하면 산소 발생 능력이 회복된다고 보고하였다. 따라서  $\text{Mn}^{2+}$ 를 첨가해도 회복되지 않았던 광계 II 활성이 외부에서 첨가된  $\text{Ca}^{2+}$ 에 의해 회복된 것은  $\text{Ca}^{2+}$ 이 UV-B로 인해 손상된 물분해 기구에 관련된 막단백질을 대체하기 때문인 것으로 생각된다. 또한 엽록체 틸라코이드막을 안정화시키는 BSA를 UV-B 처리구에 첨가했을 때에도 광계 II 활성이 68%로 회복되었다. UV-B 처리로 인해 억제된 광계 II 활성이 DPC를 첨가하므로 약 11%,  $\text{Ca}^{2+}$  첨가로 약 13% 회복 효과를 나타냈으므로 이것은 광계 II의 산화부위 중 물분해 기구가 손상된 것을 의미한다. 그러나  $0.4 \text{ W m}^{-2}$ 의 UV-B 처리구에서 광계 II 활성이 45%의 억제를 나타낸 반면 DPC 첨가로 약 11%만 회복되었으므로 광계 II 산화부위 이외에도 영향을 크게 준다는

UV-B가 보리(*Hordeum vulgare* L.)잎의 광합성 전자전달에 미치는 영향

Table 1. Effects of DPC, Mn<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, and BSA on the DCPIP photoreduction activity of chloroplasts of barley leaves exposed to 0.4 W m<sup>-2</sup> UV-B radiation for 6 hours

Addition	DCPIP photoreduction ( $\mu\text{mole} \cdot \text{mg chl}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ )	
	Control (%)	UV-B treatment (%)
None	75 (100)	41 (55)
DPC	82 (109)	56 (75)
Mn <sup>2+</sup> (1 $\mu\text{M}$ )	67 (89)	42 (56)
Ca <sup>2+</sup> (10mM)	76 (101)	52 (69)
Mg <sup>2+</sup> (10mM)	77 (103)	45 (60)
BSA (0.05%)	80 (107)	51 (68)

Ca<sup>2+</sup>, CaCl<sub>2</sub>; Mn<sup>2+</sup>, MnCl<sub>2</sub>; Mg<sup>2+</sup>, MgCl<sub>2</sub>

Table 2. Chlorophyll fluorescence characteristics of barley leaves exposed to the various intensity of UV-B radiation for 6 hours

UV-B Intensity (W m <sup>-2</sup> )	Fluorescence parameters (relative units)			
	F <sub>o</sub>	F <sub>m</sub>	F <sub>v</sub>	F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub> (%)
Control	1.46	7.30	5.84	0.80 (100)
0.1	1.53	6.65	5.12	0.77 (96)
0.2	1.59	6.36	4.77	0.75 (94)
0.4	1.70	5.87	4.17	0.71 (89)

것을 알 수 있었다. 그러므로 엽록소 형광을 측정하여 그 저해 부위를 밝히고자 한다.

### 3.4 엽록소 형광에 미치는 영향

형광은 빛 에너지에 의해 여기된 엽록소 분자가 인접한 엽록소 분자로 또는 반응 중심으로 에너지를 전달하지 못하면, 그 엽록소 분자에서 여기된 전자가 바닥상태로 되돌아가면서 흡수된 빛 에너지를 재 방출하는 한 형태이다 (Bolhr-Nordenkampf and quist, 1993). 최근 형광 분석법은 광화학적 변화, 광효율성 및 틸라코이드막의 에너지 전환과정까지도 해석 가능케 할 뿐만 아니라, 매우 민감하고 간편하게 측정할 수 있으며 시료에 거의 영향을 주지 않기 때문에 온도, 광 등의 주요 스트레스들이 식물체에 미치는 영향의 연구에 많이 이용되고 있다(Falk et al., 1992). 광계 II에 작용하는 UV-B의 특이한 영향을 조사하기 위해 광합성을 수행하는 동안 엽록소에서 방출되는 형광을 측정하였다. 실온에서 거의 모든 형광은 광계 II로부터 방출되며, 광계 II의 반응중심으로 여기자(exciton)의 전이가 일어나기 전의 광계 II 안테나에 있는 엽록소 a 분자에서 방출되는 형광뿐만 아니라 광계 II의 환원부위에 있는 Q<sub>A</sub>의 산화환원 상태를 알 수 있기

때문에 광계 II 주변에서 일어나는 변화를 민감하게 감지할 수 있다(Chun et al., 1993). Table 2는 UV-B를 처리한 보리잎의 광합성 기구의 변화를 신속히 알아내기 위하여 실온에서 엽록소 형광을 유도하여 형광 parameter들을 계산한 것을 나타낸 것이다. F<sub>o</sub>는 들뜬 에너지가 광계 II 반응 중심으로 이동하기 전 광계 II 안테나의 들뜬 엽록소 a 분자들이 발하는 형광으로 Q<sub>A</sub>가 완전 산화 상태에 있을 정도의 미약한 측정광을 조사함으로써 나타난다. F<sub>m</sub>은 포화광을 조사함으로써 Q<sub>A</sub>가 완전 환원 상태에 있을 때 나타나는 형광이며, F<sub>v</sub>는 Q<sub>A</sub>의 환원과 재산화율의 차이에 의해 형성되는 형광으로 광계 II의 에너지 전달율이나 광화학 반응의 실질 정도에 따라 형성된다(Bolhr-Nordenkampf and quist, 1993). Table 2에서 볼 때, F<sub>o</sub> 값은 UV-B 세기에 따라 대조구보다 신속히 증가하기 시작하여 0.4 W m<sup>-2</sup>의 처리구에서는 대조구에 비해 16%나 증가했으며, F<sub>m</sub> 값도 현저히 감소하여 F<sub>m</sub>과 F<sub>o</sub>의 차이 값인 F<sub>v</sub>는 UV-B 0.4 W m<sup>-2</sup> 처리구에서 29%나 감소하였다. 이것은 UV-B를 처리하면 F<sub>v</sub>값이 낮아진다는 이전의 보고들(Strid et al., 1990; Melis et al., 1992; Larkum and Wood, 1993; Teramura and Sullivan, 1994)과 일치하였다. 들뜬 에너지가 광계 II 안테나에 의해

Table 3. Reversal of UV-B effect on the Chlorophyll fluorescence. Barley leaves exposed to 0.2 W m<sup>-2</sup> UV-B radiation for 6 hours at supplementary light (PAR; 100 μmol · m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>) or dark. Recovery time was 24 hours at PAR(100 μmol · m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>) or dark

UV-B Treatment	Supplementary light (PAR)	Recovery time	Fluorescence parameters (relative units)			
			F <sub>o</sub>	F <sub>v</sub>	F <sub>m</sub>	F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub> (%)
-	-	Light (6 h)	1.46	5.84	7.30	0.80 (100)
-	-	Dark (6 h)	1.50	6.00	7.50	0.80 (100)
6 h	6 h	-	1.67	4.30	5.97	0.72 ( 90)
6 h	-	-	1.70	4.17	5.87	0.71 ( 89)
6 h	6 h	Light (24 h)	1.95	3.96	5.91	0.67 ( 84)
6 h	6 h	Dark (24 h)	1.90	4.43	6.33	0.70 ( 88)
6 h	-	Light (24 h)	2.00	3.13	5.13	0.61 ( 76)
6 h	-	Dark (24 h)	1.96	3.64	5.60	0.65 ( 81)

수확된 후 광계 II 반응 중심으로 전달되어 광화학 반응에 이용되는 효율을 의미(Kitajima and Butler, 1975)하는 Fv/Fm 값은 처리한 UV-B의 세기가 증가함에 따라 점차 감소하였다. 0.1 W m<sup>-2</sup>의 UV-B 처리구에서는 대조구에 비해 광화학 효율이 4% 정도 감소하였으나, 0.2 W m<sup>-2</sup>의 UV-B 처리구는 6%, 0.4 W m<sup>-2</sup>의 UV-B 처리구는 11% 감소하였다. 이와 같은 현상은 UV-B 처리에 의해 Fo가 증가하고, Fv도 감소했기 때문이다. Fo가 증가한 것은 안테나 엽록소에서 광계 II 반응 중심으로 에너지가 전달되는 경로 중 어느 부위가 손상되어, 반응 중심으로 들뜬 에너지의 전달이 크게 영향을 받아 그 에너지가 엽록소에서 형광으로 방출되었기 때문이다. 또한 Fv의 감소와 Fv/Fm의 감소는 안테나 엽록소에서 광계 II 반응 중심으로 에너지가 전달되는 경로 중에 있는 물분해 기구 부위의 손상이나 반응 중심 부위가 손상되었기 때문인 것으로 추정해볼 수 있다. 따라서 0.4 W m<sup>-2</sup>의 UV-B 처리구에 DPC를 첨가한 후 DCPIP 광환원율을 측정했을 때 전자전달 활성이 약 11%만 회복된 것(Table 1)으로 보아 광계 II 반응 중심 부위가 주로 손상된다는 것을 알 수 있다.

Table 3은 UV-B 처리시 배경광의 유,무에 따른 전자전달 활성의 영향과 회복시킬 때 명과 암의 영향을 엽록소 형광을 측정하여 알아 보았다. 100μmol · m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>(PAR)의 배경광이 있을 때와 없을 때 0.4 W m<sup>-2</sup>의 UV-B를 6시간 처리한 후 전자전달이 억제된 보리의 저해 부위를 검증하기 위하여 UV-B를 처리한 보리를

원래의 생장 조건(100μmol · m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>의 광조건)에 복귀시켜 24시간 후 전자전달 활성을 실온에서 엽록소 형광으로 조사하였다(Table 3). 대조구의 경우 24시간 동안 암에서 둔 후 측정하므로 Fo와 Fm이 경미한 증가를 보였으나 Fv/Fm의 비는 변화가 없었다. UV-B 처리시 배경광이 없을 때보다 있을 때 Fo는 적었고 Fv와 Fm 그리고 Fv/Fm의 비는 경미하지만 크게 나타났다. 이것으로 보아 PAR은 UV-B로 인한 식물의 손상을 줄인다는 것을 알 수 있었다. Teramura와 Sullivan(1994)도 UV-B 복사로 인해 PAR (photosynthetically active radiation)이 없는 조건하에서 높은 UV-B 복사에 노출되면 광계 I의 활성이 감소될 수 있다고 보고하였고, Adamse and Britz(1992)는 높은 PAR 하에서 UV-B로 인한 식물의 손상이 줄어들며, Strid 등(1990)도 높은 PAR하에서 UV-B가 보충되면 광회복 메커니즘과 광보호 메커니즘이 동시에 작용하므로 UV-B로 인한 손상을 줄일 수 있다고 보고했다. 그러나 어떻게 빛이 식물의 UV-B 복사에 대한 민감성에 영향을 미치는지는 거의 알려진 바가 없다.

UV-B를 처리한 보리를 명(100μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>의 광조건)과 암조건에 24시간 둔 후 측정된 엽록소 형광변화는 UV-B를 처리한 직후보다 Fo의 증가와 Fv와 Fm 그리고 Fv/Fm의 감소를 명확히 볼 수 있었다. 그리고 24시간 회복시 암조건에 두는 것 보다 명조건에 두는 것이 Fo가 높았으며 Fv와 Fm 그리고 Fv/Fm의 비는 감소하였다. 그러므로 UV-B 처리후 명조건(PAR)에 두므로 암조건에 두는 것 보다 추가적으로

## UV-B가 보리(*Hordeum vulgare* L.)잎의 광합성 전자전달에 미치는 영향

전자전달계가 손상됨을 알 수 있다.

배경광이 없을 때 UV-B를 처리한 후 광조건에서 24시간 회복시켰을 때 특히 Fv가 43%의 감소를 보였다. Fv의 감소 원인을 알아보기 위해 Fo의 증가 비와 Fm의 감소 비를 계산해 본 결과, Fm은 30% 감소하였고, Fo는 37% 증가한 것으로 나타나 Fm의 감소보다는 Fo의 증가로 인해 Fv가 감소한 것으로 나타났다. 따라서 광화학 효율을 나타내는 Fv/Fm 비가 낮아진 것은 Fo의 증가 요인이 더 우세하게 작용하는 것으로 보아 UV-B 처리는 안테나 엽록소에 부가적으로 영향을 준다는 것을 알 수 있다. 그러나 엽록소에 UV-B가 미치는 억제 메커니즘을 알아보기 위해서는 보충 실험이 수행되어야 할 것으로 사료된다.

위와 같은 결과로 볼 때 UV-B로 인한 과도한 손상은 UV-B 처리 직후나 UV-B 처리 후 시간이 경과함에 따라서 Fo의 증가와 Fv의 감소를 보이는 양상을 나타내면서 실제적인 회복이 이루어지지 않는다는 점에서 UV-B로 인한 식물의 손상은 치명적이라고 할 수 있다.

### 3.5 형광소멸 요인의 분석

UV-B를 처리한 보리잎에 actinic beam( $1, 330 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )을 가함으로써 광합성을 수행하는 동안 방출되는 엽록소 형광소멸 요인 중 광화학적 형광소멸인 qP와 비광화학적 형광소멸인 qNP, 그리고 비광화학적 형광소멸에 속하는 qR과 에너지 의존적 형광소멸인 qE에 대해 조사하였다(Table 4). 엽록소 형광은 크게 두 가지로 분류된다. qP는 여기 상태를 광화학적으로 이용하여 광합성을 가속화시키므로 형광이 소멸되는 것이며, qNP는 여러 가지 비광화학적 메커니즘에 의해 여기상태가 분산되므로 형광이 소멸되는 것을 말한다(Horton and Hague, 1988). qP는 엽록소 형

광 중에 광화학 반응에 의해 소멸되는 것으로서,  $Q_A$ 의 산화 상태를 반영한다(Balhr-Nordenkampf and quist, 1993). UV-B의 세기가 증가할수록 qP는 점진적으로 감소하여 대조구에 비해  $0.4 \text{ W m}^{-2}$ 의 UV-B 처리구에서는 19% 감소하였다. Table 4에서 나타낸 바와 같이, 대조구의 경우  $Q_A$ 의 산화율이 70%라고 볼 수 있다. 이에 반해  $0.4 \text{ W m}^{-2}$ 의 UV-B 처리구에서는  $Q_A$ 의 산화율이 57%이므로  $Q_A$ 의 환원율이 대조구에 비해 13% 정도 증가하였다. UV-B 처리에 의한 qP의 감소는 결국 광계 II의 수용체인  $Q_A$ 의 환원상태의 증가를 의미하며  $Q_A$  이후의 전자전달이 원활하게 이루어지지 못하므로  $Q_A$ 의 재산화가 제한되었음을 나타낸다.

qNP는 다양한 비광화학적 메커니즘에 의해 여기 상태가 분산되므로 형광이 소멸되는 것을 말한다. 이 비광화학적 형광소멸은 여러 가지 요소들로 구성되어 있는데 가장 주된 것이 qE이다. Table 4에서 보듯이 qNP와 qR 값은 UV-B의 세기에 따라 경미하지만 감소하는 것으로 나타났다. 이것은 UV-B에 노출되면 비광화학적 요인에 의해서도 형광이 많이 소멸되지 않음을 의미한다.

qE는 비광화학적 형광소멸 중에서 양성자 구동력의 형성과 관련된 틸라코이드 내강의 산성화로 인해서 유도되는 것으로 틸라코이드막을 가로지른  $\Delta\text{pH}$ 에 의해 생기는 에너지 의존적인 형광소멸이다(Ruban et al., 1994; Noctor et al., 1991). UV-B의 세기가 증가할수록 qE 값은 qP 값과 마찬가지로 감소하여  $0.2 \text{ W m}^{-2}$ 의 UV-B 처리구에서는 qE 값이 대조구에 비해 17% 정도 감소하였다. 이상과 같은 결과는 UV-B 처리에 의해 틸라코이드막 내외의 pH 구배형성이 억제되었기 때문이라고 해석된다. Mills(1986)는 틸라코이드막 사이의  $\Delta\text{pH}$  형성이 PQ pool과 물의 광분해에 의해 생성된다고

Table 4. Fluorescence quenching coefficients of barley leaves exposed to the various intensity of UV-B radiation for 6 hours

UV-B Intensity ( $\text{W m}^{-2}$ )	Fluorescence parameters (relative units)			
	qP	qNP	qR	qE
Control	0.70	0.65	0.45	0.59
0.1	0.68	0.63	0.44	0.57
0.2	0.64	0.64	0.43	0.54
0.4	0.57	0.60	0.41	0.49

보고하였으므로 형광소멸 요인 중 qE에 의한 소멸의 상실은 광계 II의 물분해 기구와 PQ pool의 기능이 억제된 것으로 생각할 수 있으나 Ca<sup>2+</sup> 첨가로 13% 회복 효과를 보였으므로 PQ pool 기능의 손상보다는 광계 II 물분해 기구가 손상된 것으로 사료된다.

#### 4. 결 론

UV-B가 엽록체의 활성화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 보리 유식물의 잎에 6시간 동안 UV-B를 조사한 후 광계 I과 광계 II의 활성화 및 엽록소 형광 pattern을 조사하였다.

UV-B가 광합성전자전달 활성화에 미치는 영향은 광계 I 보다는 광계 II에 미치는 영향이 크게 나타났다. 또한 UV-B 처리한 보리잎의 광계 II 활성화는 광계 II의 전자공여체인 DPC 첨가로 11%, 광계 II 물분해 기구에 관여하는 Ca<sup>2+</sup> 첨가로 13% 회복 효과를 보였다. 이것은 UV-B가 광계 II 산화부위에 미치는 영향을 나타낸다. 그러나 UV-B 처리구에서 광계 II 활성화가 45%의 억제를 나타낸 반면 DPC 첨가에 의해서는 약 11%만 회복되어 광계 II 산화 부위 이외에 미치는 영향이 더욱 크다는 것을 알 수 있다. 엽록소 형광 측정에서 Fo가 증가하고 Fv가 감소하여 Fv/Fm 값이 낮아졌다. 이와같은 결과로 볼 때 광계 II 산화부위가 크게 손상된다는 것을 나타낸다. 또한 qP 값이 19% 감소하여 광계 II 환원부위도 손상됨을 알 수 있었다. 그러므로 UV-B로 인한 손상은 주로 광계 II 부분이 억제되었으며, 다른 스트레스와는 달리 저해 부위가 광범위하게 나타났다.

#### 감사의 글

이 연구는 1995년도 교육부 기초과학육성 연구비 BSRI-95-4404의 지원에 의하여 연구되었습니다. 이에 대하여 감사드립니다.

#### 참 고 문 헌

- Adamse, P. and S.J. Britz, 1992, Amelioration of UV-B damage under high irradiance. I: Role of photosynthesis, *Photochem. Photobiol.*, 56, 645~650.
- Arnon, D., 1949, Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*, *Plant Physiol.*, 24, 1~15.
- Atal, N., P.P. Saradhi and P. Mohanty, 1991, Inhibition of the chloroplast photochemical reactions by treatment of wheat seedling with low concentrations of cadmium: Analysis of electron transport activities and changes in fluorescence yield, *Plant Cell Physiol.*, 32, 943~951.
- Barhr-Nordenkamp, H.R and G. quist, 1993, Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In, *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*, D.O. Hall, J. M.O. Scurlock, H. R. Barhr-Nordenkamp, R. C. Leegood and S. P. Long (eds.), Chapman & Hall, London, 193~206.
- Chun, H.S., B.Y. Moon, C.H. Lee, I.K. Chung, I.H. Park and C.H. Lee, 1993, Light-dependent chilling injury on the photosynthetic activities of cucumber cotyledons, *Korean J. Bot.* 36, 133~140.
- Critchley, C., 1981, Studies on the mechanism of photoinhibition in higher plants. I. Effects of high light intensity on chloroplast activities in cucumber adapted to low light, *Plant Physiol.*, 67, 1161~1165.
- Driesenaar, A.R.J., U. Schreiber and S. Malkin, 1994, The use of photothermal radiometry in assessing leaf photosynthesis: II. Correlation of energy storage to photosystem II fluorescence parameters, *Photosynth. Res.*, 40, 45~54.
- 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.
- Frederick, J.E., H.E. Snell and E.K. Haywood, 1989, Solar ultraviolet radiation at the earth's surface, *Photochem. Photobiol.*, 50, 443~450.
- 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.
- Kitajima, M. and W.L. Butler, 1975, Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone, *Biochim. Biophys. Acta.*, 376, 105~115.
- Larkum, A.W.D and W.F. Wood, 1993, The effect of UV-B radiation on photosynthesis and respiration of phytoplankton, benthic macroalgae and seagrasses, *Photosynth. Res.*, 36, 17~23.
- McFarland, M. and J. Kaye, 1992, Chlorofluorocarbons and ozone, *Photochem. Photobiol.*, 55, 911~929.
- Melis, A., J.A. Nemson and M.A. Harrison, 1992, Damage to functional components and partial degradation of photosystem II reaction center proteins upon chloroplast exposure to ultraviolet-B radiation, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1100, 312~320.
- Mills, J. D., 1986, Photophosphorylation. In, *Photosynthesis energy transduction a practical approach*. Hipkins, M. F. & N. R. Baker (eds.), IRL PRESS, Oxford, Washington DC., 147~167.
- Miyao, M and N. Murata, 1984, Calcium ions can be substituted for the 24-kDa polypeptide in photosynthetic oxygen evolution, *FEBS.*, 168, 118~120.
- Murali, N.S. and A.H. Teramura, 1985, Effects of ultraviolet-B irradiance on soybean. VI. Influence of phosphorus nutrition on growth and flavonoid content, *Physiol. Plant.*, 63, 413~416.
- 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.
- Obokata, J., 1987, Synthesis and assembly of the polypeptides of photosystem I and II in isolated etioplasts of wheat, *Plant Physiol.*, 84, 535~540.
- Oxborough, K. and P. Horton, 1988, A study of the regulation and function of energy-dependent quenching in pea chloroplasts, *Biochimica et Biophysica Acta.*, 934, 135~143.
- Rashid, A., M. Bernier, L. Pazdernick and R. Carpentier, 1991, Interaction of Zn<sup>2+</sup> with the donor side of photosystem II, *Photosynth. Res.*, 30, 123~130.
- Renger, G., M. Volker, H-J. Eckert, R. Fromme, S. Hohm-veit and P. Graber, 1989, On the mechanism of photosystem II deterioration by UV-B irradiation, *Photochem. Photobiol.*, 49, 97~105.
- Ruban, A.V., A.J. Young, A.A. Pascal and P. Horton, 1994, The effects of illumination on the xanthophyll composition of the photosystem II light-harvesting complexes of spinach thylakoid membranes, *Plant Physiol.*, 104, 227~234.
- Sisson, W.B., 1981, Photosynthesis, growth, and ultraviolet irradiance absorbance of *Cucurbita pepo* L. leaves exposed to ultraviolet-B radiation(280-315nm), *Plant Physiol.*, 67, 120~124.
- Stapleton, A.E., 1992, Ultraviolet radiation

- and plants; Burning questions, The Plant Cell, 4, 1353~1358.
- Strid ., W.S. Chow and J.M. Anderson, 1990, Effects of supplementary ultraviolet-B radiation on photosynthesis in *Pisum sativum*, Biochim. Biophys. Acta., 1020, 260~268.
- Teramura, A.H. and J.H. Sullivan, 1994, Effects of UV-B radiation on photosynthesis and growth of terrestrial plants, Photosynth. Res., 39, 463~473.
- Terashima, I., L.K. Huang and C.B. Osmond, 1989, Effects of leaf chilling on thylakoid functions, measured at room temperature, in *Cucumis sativus* L. and *Oryza sativa* L, Plant Cell Physiol., 30, 840~850.
- Tevini, M. and K. Pfister, 1985, Inhibition of photosystem II by UV-B radiation. Z Naturforsch, 40, 129~133.
- Vernon, L.P. and E.R. Show, 1969, Photoreduction of 2,6-dichlorophenol-indophenol by diphenylcarbazide. A photosystem II reaction catalyzed by tris-washed chloroplasts and subchloroplast fragment, Plant Physiol., 44, 1645~649.
- Yutichi, T., S. Ikeda and H. Kasahara, 1993, Dependence on wavelength and temperature of growth inhibition induced by UV-B irradiance, Plant Cell Physiol., 34, 913~917.