

## Sulfite가 보리(*Hordeum vulgare L.*) 유식물의 녹화에 미치는 영향

박 강 은 · 정 화 숙 · 송 승 달\* · 노 광 수\*\* · 송 종 석\*\*\*

경북대학교 생물교육과 · 경북대학교 생물학과

계명대학교 생물학과 · 안동대학교 생물학과

(1998년 1월 21일 접수)

## The Effects of Sulfite on the Greening of Etiolated Barley (*Hordeum vulgare L.*) Seedling

Kang-Eun Park, Hwa-Sook Chung, Seung-Dal Song\*,

Kwang-Soo Roh\*\*, and Jong-Suk Song\*\*\*

Dept. of Biology Education, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

\*Dept. of Biology, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

\*\*Dept. of Biology, Keimyong University, Taegu 704-701, Korea

\*\*\*Dept. of Biology, Andong National University, Andong 760-749, Korea

(Manuscript received 21 January 1998)

To investigate the effects of sulfite on the chloroplast development, etiolated barley seedlings were treated with 100 mM sulfite solution every 3 hour by spraying during 96 hours greening period. The effects were determined by chlorophyll a, b and carotenoids contents, photosynthetic electron transport activity, chlorophyll fluorescence yield and fluorescence quenching parameters.

The contents of chlorophyll a and carotenoids were decreased than that of control by treatment of sulfite over 48 hours greening. PS II is more sensitive to sulfite than PS I is. And by the addition of DPC to the chloroplasts of the barley seedling treated with sulfite, the photoreduction of DCPIP was not recovered. In greening with sulfite treated barley leaves, Fo, Fv and Fv/Fm ratio were decreased with little difference from that of control. But qP, qNP and qR were lowered in comparison with those of controls whereas qE was slightly higher than that of control. Especially, it is interesting that qR was decreased markedly compared to that of control. The results in the change of PS I activity, Fv/Fm and qP suggest that the site of inhibition by sulfite is carbon dioxide reduction cycle.

Key words : sulfite, barley seedling, chlorophyll fluorescence quenching

### 1. 서 론

황 함량이 많은 화석 연료의 사용으로 다량의 아황산 가스( $\text{SO}_2$ )가 대기 중으로 방출되고 있다.  $\text{SO}_2$ 는 산성비를 형성하여 토양에서 필수 원소를 소실시킬 뿐만 아니라 생물에 직접 작용해서 생리적 대사에 큰 피해를 준다.  $\text{SO}_2$ 는 식물 잎의 기공을 통해 내부로 들어가서 엽육 세포막의 액상에 용해된 후 세포막을 통과하여 확산되어 들어간다.  $\text{SO}_2$ 가 물에 용해되면 수화되었다가  $\text{HSO}_3^-$ (bisulfite),  $\text{SO}_3^{2-}$ (sulfite),  $\text{H}^+$ 로 분해되는데 이 중 황 음이온들은 엽록체 막의 phosphate translocator에 의해 엽록체 내부로 들어가서 광인산화와 광합성 전자전달에 영향을 미친다(Pfanz et al., 1987b; Madamanchi and Alscher, 1991). 특히 스트로마의 산도(pH 8)에서는 sulfite의 반응성이 높기 때문에(Pfanz et al., 1987a), 식물에 미치는  $\text{SO}_2$ 의 피해를 연구하기 위

한 모델 실험으로서 추출한 엽록체나 intact 잎에 sulfite를 처리하여 조사하는 방법을 많이 이용하여 왔다(Shimazaki and Sugahara, 1979; Ghisi et al., 1990; Veeranjaneyulu et al., 1992).

광조사된 틸라코이드막에  $\text{O}_2^-$ 가 생성되면  $\text{O}_2^-$ 와 sulfite가 연쇄적인 산화반응을 일으켜서 sulfite가 없을 때보다 superoxides( $\text{O}_2^-$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{OH}^-$ )를 많이 형성하는데 이러한 superoxides가 엽록소 a를 파괴하고 틸라코이드막의 지질을 광산화시키는 것으로 알려져 있다(Tanaka and Sugahara, 1980; Shimazaki et al., 1980). 또한 sulfite가 직접적으로 막단백질의 disulfide 결합과 반응하고(Bailey and Cole, 1959), sulfite의 산화과정에서 생성된 자유라디칼과 막단백질이 반응하기 때문에(Davies, 1987) 엽록체의 광합성 전자전달이 저해된다는 연구 결과가 있다. 반면, sulfite에 의한

전자전달 저해는 직접적으로 광계 II의 활성을 억제하기 때문이고 이것은 틸라코이드막의 지질 과산화에 진행하며, DCPIP를 이용한 실험에서 그 저해 부위는 광계 II의 반응중심 근처나 환원부위로 예상된다는 보고도 있어서(Shimazaki and Sugahara, 1979; Shimazaki and Sugahara, 1980; Covello et al., 1989) 전자전달을 억제하는 sulfite의 정확한 작용부위가 아직 명확하지 않다.

최근 염록소 형광에 대한 이해와 실용적인 사용이 현저하게 발전하여 식물 스트레스생리학, 생태생리학, 식물병리학 등의 응용 분야에 있어서 신속하고 정량적인 광합성 효율 측정 방법으로 형광 분석을 사용하고 있다(van Kooten and Snel, 1990). 광계 II의 색소에 흡수된 빛에너지는 광화학적 과정에 의해 광합성에 이용되고 일부는 열로 소실되거나 형광으로 방출되는데(Bolhr-Nordenkampf and quist, 1993), 광합성에 영향을 미치는 환경 요인이 변하거나 광합성 기구에 변화가 생기면 양자수율과 형광수율이 달라지므로 형광은 광계 II에 있어서 빛에너지 이용 효율을 측정하는데 유용한 지표로 사용될 수 있다(Weis and Berry, 1987).

본 연구에서는 염록소 형광 분석법을 이용하여 sulfite가 염록체 발달에 미치는 영향을 조사하기 위하여 암소에서 키운 보리 유식물을 녹화시키면서 sulfite 용액을 일정 시간마다 분무한 후 색소함량과 광합성 전자전달 활성 및 염록소 형광을 조사하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 식물 재료

성주군 농촌 지도소에서 분양 받은 보리(*Hordeum vulgare L. cv. Olbory*) 종자를 중류수에 세척한 후 1시간 동안 담가 두었다가 vermiculite에 파종하여 온도가  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 인 암소에서 5일간 키운 다음 실험 재료로 이용하였다. 측정에는 제 일엽을 끝에서 1 cm 제거한 후 2 cm 길이로 잘라서 사용하였다.

### 2.2 Sulfite 처리

Sulfite가 보리 유식물의 녹화에 미치는 영향을 알아보기 위해서 황백화된 보리 유식물을 생장실(온도:  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 광:  $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )에서 녹화시키면서 3시간마다 대조구에는 중류수를, 실험구에는 중류수에 용해시킨  $100 \text{ mM}$ 의  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ 용액을 50회씩 분무하였다.

### 2.3 색소 함량 측정

Sulfite 처리한  $0.1 \text{ g}$ 의 잎절편을 DMSO (dimethyl sulfoxide)  $10 \text{ ml}$ 가 들어 있는 시험관에 넣고  $65^{\circ}\text{C}$ 의 항온 수조에 3시간 동안 두어 염록소를 추출한 후(Hiscox and Israelstam, 1979), Double-beam Spectrophotometer UV-190(Shimadzu)을 사용하여 흡광도를 측정하였다. 염록소 a와 b의 함량은 Arnon(1949)의 방법에 따라  $645 \text{ nm}$ 와  $663 \text{ nm}$ 에서 흡광도를 측정하여 계산하고 카로티노이드 함량은 Liaaen-Jensen과 Jensen(1971)의 방법에 따라  $480 \text{ nm}$ 에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

### 2.4 틸라코이드 혼탁액 추출

Obokata(1987)의 방법을 변형하여 냉각시킨 막자사발에 sulfite를 처리한 잎절편  $1 \text{ g}$ 과 STN buffer (pH 8.0,  $0.4 \text{ M sucrose}$ ,  $0.05 \text{ M Tris}$ ,  $0.01 \text{ M NaCl}$ )  $10 \text{ ml}$ 를 넣어서 마쇄한 후 2겹의 거즈로 여과하였다. 이 여과액을  $300 \text{ g}$ 에서 1분간 원심분리하고 상정액을 다시  $600 \text{ g}$ 에서 10분간 원심분리하여 생긴 침전물에 STN buffer (pH 7.8)  $0.5 \text{ ml}$ 를 분주하였다. 모든 추출 과정은  $0-4^{\circ}\text{C}$ 에서 수행하였다.

### 2.5 전자전달 활성 측정

광계 I의 전자전달 활성을 알아보기 위하여 Clark형의 산소전극을 이용하여  $20^{\circ}\text{C}$ 에서 산소 소모량을 측정하였다. 반응액에는  $50 \text{ mM Hepes buffer}$  (pH 7.8,  $100 \text{ mM sucrose}$ ,  $2 \text{ mM MgCl}_2$ ,  $10 \text{ mM NaCl}$ )와  $2 \text{ mM methyl-viologen}$ ,  $2 \text{ mM NaN}_3$ ,  $1 \mu\text{M DCMU}$ ,  $0.1 \text{ mM DCPIP}$ ,  $5 \text{ mM ascorbate-Na}$ ,  $2 \text{ mM NH}_4\text{Cl}$ ,  $25 \mu\text{g/ml}$  염록소가 포함되었다(Atal et al., 1991).

광계 II의 전자전달 활성을 측정하기 위하여 Spectrophotometer를 사용해서 DCPIP 광환원율을 구하였다.  $50 \text{ mM Hepes buffer}$  (pH 7.8)에  $30 \mu\text{M DCPIP}$ 와  $25 \mu\text{g/ml}$  염록소가 포함된 반응액을 cuvette에 넣어  $1.330 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 광을 수조를 통하여 조사한 후  $600 \text{ nm}$  파장에서 흡광도 변화를 측정하여 광환원율을 계산하였다(Terashima et al., 1989). 광계 II 전자 공여체인 DPC (1,5-diphenylcarbazide)는 최종 농도가  $0.15 \text{ mM}$ 이 되도록 하여 광계 II 활성 회복을 조사하였다(Vernon and Show, 1969).

### 2.6 염록소 형광 측정

염록소 형광 측정은 Chlorophyll Fluorometer (PAM, Walz Co.)를 이용하였으며, 15분간 암적응시킨 잎절편에 변조된 약한 측정광( $0.1 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )을 조사하여  $\text{Fo}$ (광계 II의 반응중심이 모두 열렸을 때 안테나 색소로부터 방출되는 형광)를 구하고, 포화광( $3,000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )을 조사하여  $\text{Fm}(Q_A)$ 가 환원 상태에 있을 때의 형광)을 구하였으며  $\text{Fv}$ 는  $\text{Fm}$ 과  $\text{Fo}$ 의 차이로 계산하였다. 그리고  $\text{Fv}/\text{Fm}$  비를 광계 II의 광화학 효율 지표로 이용하였다(Driesenaar et al., 1994). 지속적인 활성광( $1,330 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )을 조사하면서 동시에 포화광을 20초 주기로 1초간 pulse 처리하여 형광 소멸 요인을 분석하였다. 형광 소멸 계수는 Oxborough와 Horton(1988)의 방법에 따라 광화학적 형광 소멸인  $\text{qP}$ 와 비광화학적 형광 소멸인  $\text{qNP}$ 를 구하였다.  $\text{qNP}$ 는  $\text{qE}$ (에너지·의존적 소멸)와  $\text{qR}$ (나머지 소멸)로 나눌 수 있으며,  $\text{qE}$ 는 비광화학적 형광 소멸의 주요 요인으로 틸라코이드막의 에너지화에 의한 소멸이고  $\text{qR}$ 은 그 외의 다른 경로를 통한 소멸이다.

## 3. 결과 및 고찰

황백화된 식물에 광조사를 하면 염록소가 생성되고 대사물 생합성이 급격히 증가되어 염록체의 형성과 함께 광합성 기구가 발달됨으로써 광합성 활성이 증진된

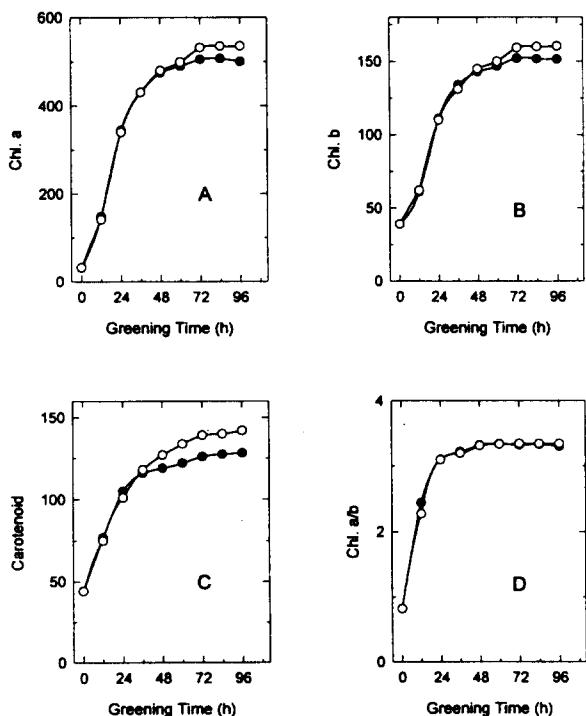


Fig. 1. Effects of sulfite on the contents of chlorophyll a, b, and carotenoids, and Chl a/b ratio. Barley seedlings were treated with 100 mM sulfite solution every 3 hour by spraying during 96 hours greening period. A, Chl a content ( $\mu\text{g/g fr wt}$ ); B, Chl b content ( $\mu\text{g/g fr wt}$ ); C, carotenoid content ( $\mu\text{g/g fr wt}$ ); D, Chl a/b ratio. ○, control; ●, 100 mM sulfite-treated. The values are the means of three independent experiments with three measurements.

다(Lee et al., 1983). 암소에서 발아시켜 5일간 키운 보리 유식물을 녹화시키면서 주기적으로 100 mM sulfite 용액을 분무하여 엽록체 발달과 광합성 활성에 미치는 sulfite의 영향을 조사한 결과는 다음과 같다.

### 3.1 색소 함량

암소에서 키운 보리 유식물을  $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 의 빛

으로 96시간 동안 녹화시키면서 sulfite 용액을 3시간마다 분무하였고 12시간 간격으로 엽록소 함량 변화를 측정하였다(Fig. 1). 대조구의 엽록소 a, b, 및 카로티노이드 함량은 광조사 후 48시간까지 급격하게 증가하다가 72시간 이후에는 더 이상 증가하지 않았고, 엽록소 a/b 비는 24시간까지 급격히 증가한 후 거의 변화가 없었다. 100 mM의 sulfite 용액을 분무한 처리구의 엽록소 a와 b는 60시간이 지나서야 대조구에 비해 함량이 적게 나타났고 카로티노이드 함량은 48시간부터 차이가 났으며 엽록소 a/b 비는 48시간부터 약간 감소하였다. 녹화 시작 후 96시간이 되었을 때 엽록소 a, b, 및 카로티노이드의 함량이 각각 6%, 2%, 12% 감소하였으므로 엽록소 b 보다는 엽록소 a와 카로티노이드에 미치는 영향이 커졌다. 황백화된 보리 유식물의 녹화시 엽록소와 카로티노이드의 합성이 활발하게 일어나는 48시간까지는 (Park et al., 1995) 대조구와 처리구가 비슷한 경향을 보였으나 그 이후에 차이가 나타나기 시작하였으므로 sulfite를 48시간 이상 지속적으로 처리했을 때 색소 함량에 영향이 나타났다. 이상의 결과는 광조건에서 시금치 잎에  $\text{SO}_2$ 용액을 fumigation하였을 때 엽록소 a와 카로티노이드의 파괴가 크게 일어나고 엽록소 b는 영향이 적었다는 보고(Shimazaki and Sugahara, 1980)와 상응하지만 엽록소 a 보다 카로티노이드의 함량 감소가 크게 나타난 것은 다르다.

### 3.2 전자전달 활성

Sulfite가 광합성 전자전달 활성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 96시간 동안 녹화하면서 sulfite를 처리한 잎에서 틸라코이드 혼탁액을 추출하여 광계 I과 II의 활성을 구하였다. 광계 I은 Clark형 산소전극으로 산소 소모량을 측정하였고 광계 II는 DCPIP 광환원을 이용하여 측정하였다(Table 1).

황백화된 유식물을 녹화하면서 sulfite를 처리했을 때 광계 I의 활성은 약간 저해되었고(2%) 광계 II는 약 6% 감소하였으므로 sulfite를 처리하였을 때 광계 II의 전자전달 활성이 광계 I 활성 보다 미소하지만 많이 억제되었다. 그러나 광계 II 반응중심으로 전자를 직접 공여하는 DPC를 첨가하여도 DCPIP의 광환원율은 거의 회복되지 않았다. 이것은 Shimazaki 와 Sugahara (1980)가 성숙한 잎에 sulfite 용액을 분무했을 때 sulfite에 의한 광계의 억제 부위는 광계 II의 산화부위 보다는 광계 II 반응중심에 가깝거나 광계 II의 환원부위라고

Table 1. Effects of sulfite on PS I and PS II electron transport activity ( $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{DCPIP}$ ) of chloroplasts isolated from barley leaves. Barley seedlings were treated with 100 mM sulfite solution every 3 hour by spraying during 96 hours greening period. The DCPIP and DPC concentration were 30  $\mu\text{M}$  and 0.15 mM, respectively. The values are the means of three independent experiments with three measurements

PS activity	Addition	Control	Sulfite
O <sub>2</sub> uptake ( $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{mg Chl}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ )	-	218.0(100%)	214.0( 98%)
DCPIP photoreduction ( $\mu\text{mol} \cdot \text{mg Chl}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ )	-	165.5(100%)	156.0( 94%)
	+ DPC	178.0(100%)	169.3( 95%)

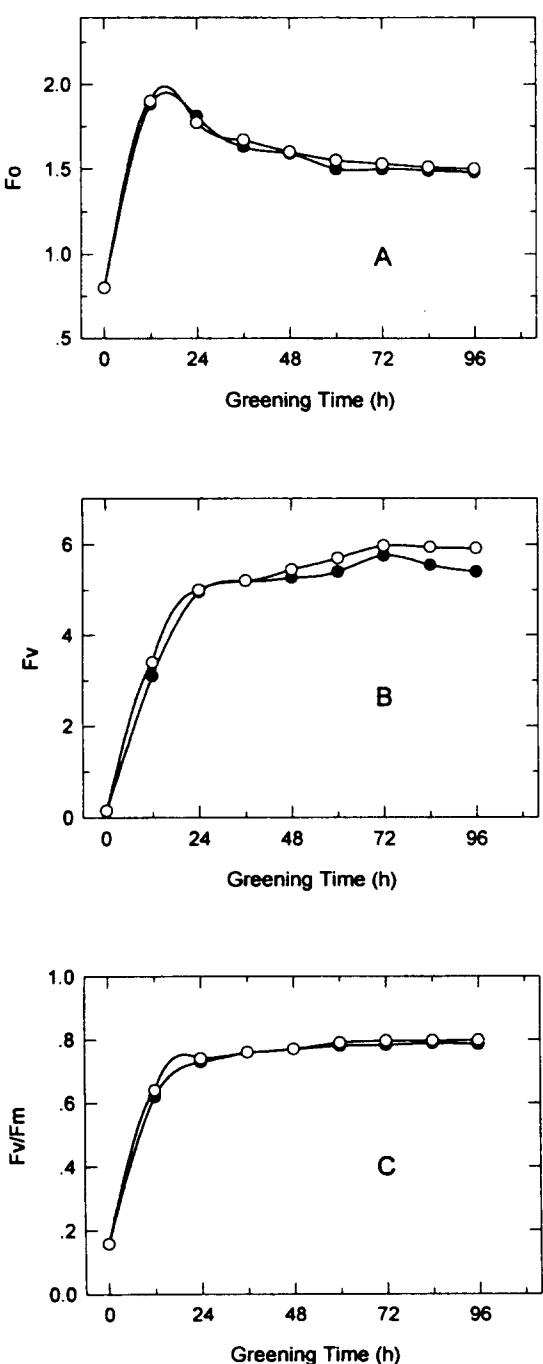


Fig. 2. Effects of sulfite on the yield of chlorophyll fluorescence. Barley seedlings were treated with 100 mM sulfite solution every 3 hour by spraying during 96 hours greening period. A, Fo; B, Fv; C, Fv/Fm ratio. ○, control; ●, 100 mM sulfite-treated. The values are the means of three independent experiments with three measurements.

보고한 것과 일치하였다. 그러나 본 실험에서 sulfite에 의한 저해 정도가 미약하여 좀더 정확한 저해 부위를 알아보기 위해서는 엽록소 형광 측정 방법을 이용하였다.

### 3.3 엽록소 형광

Fig. 2는 보리 유식물을 녹화하면서 sulfite를 처리하였을 때의 엽록소 형광 변화를 나타낸 것이다. 황백화된 보리 유식물을 녹화했을 때 Fo는 녹화초기에 급격히 증가하였으며 그 후 점차 감소하였다. Fv와 Fv/Fm는 녹화초기에 Fo의 증가보다 완만한 증가를 보였으며 그 후 비교적 일정한 수치를 유지하였다. 황백화된 보리 유식물을 녹화하면서 sulfite를 처리했을 때 Fo와 Fv 그리고 광계 II 반응중심의 광화학적 효율을 지표인 Fv/Fm (Bohr-Nordenkampf and quist, 1993)의 비도 대조구와 유사하게 나타났다. Fo는  $Q_A$ 가 완전 산화 상태에 있을 정도의 약한 측정광을 조사할 때 나타나며 광계 II 안테나 색소의 여기 에너지가 반응중심으로 전달되지 못하고 형광으로 방출되는 것이므로(Harris and Heber, 1993), sulfite 처리시 Fo가 대조구와 유사한 것으로 보아 안테나 색소에서 반응중심으로의 에너지 전달이 억제되지 않았음을 알 수 있다. Sulfite 처리시 Fo와 같이 Fv/Fm 비도 대조구와 차이가 없었으므로 sulfite 분무에 의해서는 반응중심으로부터  $Q_A$ 까지의 전자전달 효율에 거의 영향을 미치지 않은 것으로 생각된다. 이와 같은 결과는 Table 1에서 전자전달활성 변화에서 나타난 결과와 일치하였다. 황백화된 보리 유식물을 녹화하면서 UV-B (Park and Chung, 1998)를 처리했을 때에는 처리구의 엽록소 함량과 Fo 그리고 Fv는 녹화시간이 지속됨에 따라 대조구 보다 크게 차이가 나타났으나 오존 (Park and Chung, 1996)을 처리했을 때 엽록소 함량과 Fo 그리고 Fv가 대조구와 차이가 거의 나타나지 않았으며 본 실험에서 sulfite를 처리했을 때에도 대조구와 차이가 거의 나타나지 않았다. 이것으로 보아 황백화된 보리 유식물의 엽록체가 발달할 때 UV-B는 엽록소와 광계 II에 영향을 많이 주는데 비해 오존과 sulfite는 엽록소와 광계 II에 미치는 영향이 적다는 것을 알 수 있다.

황백화된 보리 유식물을 녹화하면서 sulfite를 처리했을 때 엽록체의 대사적 변화를 알아보기 위하여 엽록소 형광소멸을 분석하였다(Fig. 3). 형광 소멸 중에서 광합성이 가속되어 여기 에너지의 광화학적 이용이 증가됨으로써 형광이 감소되는 것을 qP라고 하고 비광화학적인 여러 메커니즘에 의한 소멸을 qNP라고 한다 (Horton and Hague, 1988; van Kooten and Snel, 1990).

대조구에서 qP는 녹화를 시작한 후 36시간까지 증가한 후 감소하였고 qNP는 48시간까지 증가하였다가 그 후 감소하였다. 녹화시 sulfite를 처리했을 때 qP와 qNP는 96시간까지 처리하였을 때 각각 27%와 13% 감소하였다. 이러한 결과로 보아 sulfite를 지속적으로 처리하면 광화학적 소멸과 비광화학적 소멸에 미치는 영향이 모두 커지며, 특히 광화학적 소멸에 영향을 크게 미치는 것을 알 수 있었다. qP는  $Q_A$ 의 산화상태를 나타

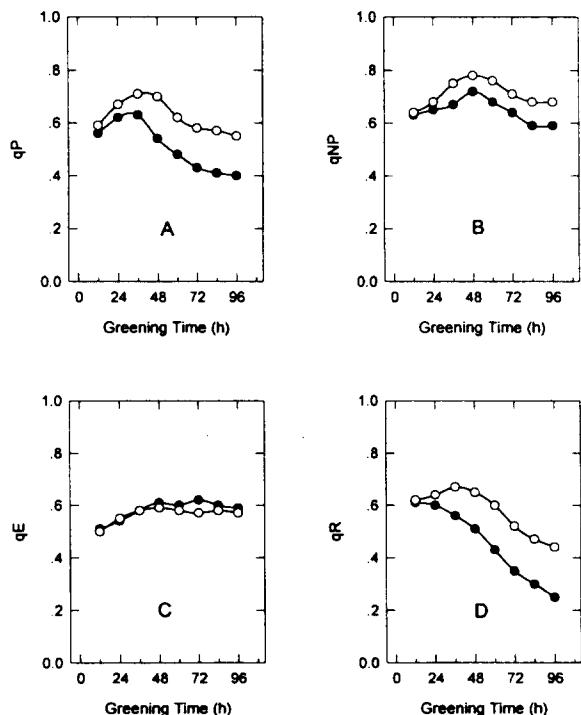


Fig. 3. Effects of sulfite on fluorescence quenching coefficients of barley seedlings during 96 hours greening period. A, qP; B, qNP; C, qE; D, qR. ○, control; ●, 100 mM sulfite-treated. The values are the means of three independent experiments with three measurements.

내며  $Q_A$ 의 산화여부는 광합성 탄소환원회로에 의해 영향을 받으며(Chun et al., 1993). 또한 본 실험에서 sulfite를 처리했을 때  $Fv/Fm$  대조구와 거의 차이가 없었으므로 qP의 감소는  $Q_A$  이후의 전자전달 경로가 억제되었기 때문이라고 생각할 수 있다. Veeranjaneyulu, K. 등(1992)은 콩 잎에 sulfite를 처리 했을 때 광인산화 또는 광계 I 부근의 순환적전자전달이 억제된다고 보고한 바 있다. 비광화학적인 소멸을 다시 나누면 텔리코이드 막의 에너지화에 의한 소멸인 qE와 단백질 인산화에 의한 구조적 변형이나 광저해로 인한 손실 등 다른 요인들에 의한 소멸인 qR이 있다(Horton and Hague, 1988; Schreiber and Bilger, 1993). 녹화를 시작한 후 qE는 녹화시간이 지남에 따라 경미한 증가를 보였으며, 녹화시 sulfite를 처리하였을 때 qE는 대조구와 유사하였는데 96시간 지난 후에는 대조구에 비해 약 5% 증가하였다. 이와같이 Sulfite 처리구의 qE가 대조구 보다 경미하지만 증가한 것은 텔라코이드 막을 경계로 한  $H^+$ 의 농도차이가 대조구에서 보다 크다는 것을 의미하므로 sulfite 처리로 인해 물분해계와 PQ pool의 전자전달은 억제되지 않았으며 ATP 합성이 원활히 이루어 지지 않았음을 알 수 있다. 황백화된 보리 유식물을 녹화할 때 qR은 녹화시작한 후 36시간 까지 경미하지

만 증가하다가 그 후 감소하였으며, sulfite 처리했을 때에는 녹화초기에 미소한 감소가 있었지만 지속적으로 감소하여 96시간이 지난후에는 대조구 보다 42% 감소하였다. 그러므로 sulfite 처리로 인해 qR이 대조구 보다 크게 감소한 것이 특징이며 qP가 대조구 보다 크게 감소하였으며 경미하지만 qE는 대조구보다 증가하였고 광계 I 활성은 경미한 감소를 보인 것으로 보아 탄소환원 회로에 영향을 많이 준 것으로 생각된다. 황백화된 보리 유식물을 녹화하면서 오존을 처리했을 때에도  $Fo$ 와  $Fv$ 는 대조구와 유사하였으나 qE는 대조구보다 상대적으로 크게 감소하였으며 qR은 대조구에 비해 경미하지만 증가한 것(Park and Chung, 1996)과 본 실험에서 sulfite 처리에 의해 qE는 대조구에 비해 경미하지만 증가하였고 qR은 대조구에 비해 크게 감소한 것이 큰 차이점으로서 황백화된 보리 유식물의 엽록체가 발달할 때 오존은 광계 II에 영향을 많이 주지만 본 실험에서 sulfite 처리하므로 탄소환원 회로에 영향을 많이 주며 또한 qR이 대조구에 비해 크게 감소한 것이 특징이다.

#### 4. 결 론

엽록소 형광 분석법을 이용하여 sulfite가 엽록체 발달에 미치는 영향을 조사하기 위하여 암소에서 키운 보리 유식물을 96시간 동안 녹화시키면서 100 mM sulfite 용액을 분무한 후 색소함량과 광합성 전자 전달 활성 및 엽록소 형광을 측정하였다.

보리 유식물을 녹화하면서 sulfite를 지속적으로 분무하였을 때 48시간 이상의 처리에서 색소 함량이 감소되었고 특히 엽록소 b 보다는 엽록소 a와 카로티노이드의 함량 감소가 크게 나타났다. 광계 I 보다는 광계 II 활성에 sulfite가 미치는 영향이 커으며, DPC에 의해서 광계 II 활성은 거의 회복되지 않았다.  $Fo$ 와  $Fv$  및  $Fv/Fm$ 는 대조구와 비슷한 양상을 보였으나 형광 소멸을 분석한 결과 sulfite 처리구에서 qNP 보다는 qP가 대조구 보다 크게 감소하였고 qNP 중에서 qE는 극미하지만 대조구에 비해 높게 나타났고 qR은 대조구 보다 크게 감소하였다. 광계 I 활성과 엽록소 형광을 분석한 결과로 보아 sulfite 처리에 의해 탄소환원회로가 억제되었으며 또한 qR이 크게 감소한 것이 특징이다.

#### 감사의 글

이 연구는 1996년도 교육부 기초과학육성연구비 BSRI-'96-4404의 지원에 의하여 연구되었습니다. 이에 대하여 감사드립니다.

#### 참 고 문 헌

- Arnon, D., 1949, Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase 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 flu-

- orescence yield, *Plant Cell Physiol.*, 32(7), 943-951.
- Bailey, J.L. and R.D. Cole, 1959, Studies on the reaction of sulfite with proteins, *J. Biol. Chem.*, 234, 1733-1739.
- Bolhr-Nordenkampf, 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. Bolhr-Nordenkampf, 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.
- Covello, P.S., A. Chang, E.B. Dumbroff and F.E. Thompson, 1989, Inhibition of photosystem II precedes thylakoid membrane lipid peroxidation in bisulfite-treated leaves of *Phaseolus vulgaris*, *Plant Physiol.*, 90, 1492-1497.
- Davies, K.F.A., 1987, Protein damage and degradation by oxygen radicals, *J. Biol. Chem.*, 262, 9895-9901.
- 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.
- Ghisi, R., A.P.M. Dittrich and U. Heber, 1990, Oxidation versus reductive detoxification of SO<sub>2</sub> by chloroplasts, *Plant Physiol.*, 92, 846-849.
- Harris, G.C. and U. Heber, 1993, Effects of anaerobiosis on chlorophyll fluorescence yield in spinach (*Spinacia oleracea*) leaf discs, *Plant Physiol.*, 101, 1169-1173.
- Hiscox J.D. and G.F. Israelstam, 1979, A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration, *Can. J. Bot.*, 57, 1332-1334.
- 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.
- Lee, C.B., Y.N. Hong and Y.M. Kwon, 1983, Formation of chlorophyll-protein complexes in greening rape cotyledons, *Korean J. Bot.*, 26(2), 91-99.
- Liaaen-Jensen, S. and A. Jensen, 1971, Quantitative determination of carotenoids in photosynthetic tissues, In, *Method in Enzymology*. Vol.23, Academic Press, New York, 586-602.
- Madamanchi, N.R. and R.G. Alscher, 1991, Metabolic bases for differences in sensitivity of two pea cultivars to sulfur dioxide, *Plant Physiol.*, 97, 88-93.
- 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, *Biochim. Biophys. Acta.*, 934, 135-143.
- Park, K.E., H.S. Chung, S.D. Song, K.S. Roh and J.S. Song, 1995, Effects of ozone on photosynthetic activity in chloroplast of barley (*Hordeum vulgare L.*), *Kor. J. Plant Biol.*, 38(4), 399-407.
- Park, K.E. and H.S. Chung, 1998, Effects of UV-B Radiation on Chl Fluorescence of Greening Barley (*Hordeum vulgare L.*) Seedling, *J. Plant Biol.*, 41(1),
- Pfanz, H., E. Martinoia, O.L. Lange and U. Heber, 1987a, Flux of SO<sub>2</sub> into leaf cells and cellular acidification by SO<sub>2</sub>, *Plant Physiol.*, 80, 928-933.
- Pfanz, H., E. Martinoia, O.L. Lange and U. Heber, 1987b, Mesophyll resistances to SO<sub>2</sub> fluxes into leaves, *Plant Physiol.*, 85, 922-927.
- Schreiber, U. and W. Bilger, 1993, Progress in chlorophyll fluorescence research: major developments during the past years in retrospect, *Progress in Botany*, 54, 152-173.
- Shimazaki, K., T. Sakaki, N. Kondo and K. Sugahara, 1980, Active oxygen participation in chlorophyll destruction and lipid peroxidation in SO<sub>2</sub>-fumigated leaves of spinach, *Plant & Cell Physiol.*, 21(7), 1193-1204.
- Shimazaki, K. and K. Sugahara, 1979, Specific inhibition of photosystem II activity in chloroplasts by fumigation of spinach leaves with SO<sub>2</sub>, *Plant & Cell Physiol.*, 20(5), 947-955.
- Shimazaki, K. and K. Sugahara, 1980, Inhibition site of the electron transport system in lettuce chloroplasts by fumigation of leaves with SO<sub>2</sub>, *Plant & Cell Physiol.*, 21(1), 125-135.
- Tanaka, K. and K. Sugahara, 1980, Role of superoxide dismutase in defense against SO<sub>2</sub> toxicity and an increase in superoxide dismutase activity with SO<sub>2</sub> fumigation, *Plant &*

Sulfite가 보리(*Hordeum vulgare L.*) 유식 물의 녹화에 미치는 영향

- Cell Physiol., 21(4), 601-611.
- 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.
- van Kooten, O. and J.F.H. Snel, 1990, The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology, Photosynth. Res., 25, 147-150.
- Veeranjaneyulu, K., D. Charlebois, C.N. N'soukpo-Kossi and R.M. Leblanc, 1992, Sulfite inhibition of photochemical activity of intact pea leaves, Photosynth. Res., 34, 271-278.
- 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, 1645-1649.
- Weis, E. and J.A. Berry, 1987, Quantum efficiency of photosystem II in relation to 'energy'-dependent quenching of chlorophyll fluorescence, Biochim. Biophys. Acta., 894, 198-208.