

## 항산화 물질이 UV-B에 대한 콩의 감수성에 미치는 영향

김학운·박이상·이인중·신동현·김길웅\*  
경북대학교 농업과학기술연구소·경북대학교 농학과  
(1998년 4월 29일 접수)

## Effects of Antioxidants on UV-B Susceptibility in Soybean

Hak-Yoon Kim, Yi-Sang Park\*, In-Jung Lee  
Dong-Hyun Shin\*, and Kil-Ung Kim\*

*Institute of Agricultural Sciences and Technology, Kyungpook National University, Taegu, 702-701, Korea.*

*\*Department of Agronomy, Kyungpook National University, Taegu, 702-701, Korea.*

*(Manuscript received 29 April 1998)*

To determine whether the enhanced UV-B causes oxidative stress, and to test the relationship between plant growth response and biochemical defense response to UV-B, two soybean plants, Keunolkong, a highly UV-B susceptible cultivar, and Danyebkong, a less UV-B susceptible cultivar, were subjected to the enhanced UV-B [daily dose : 0.06 (control) and 11.32 (enhanced UV-B)  $\text{kJ m}^{-2}$  ; UV-B<sub>BE</sub>] for 3 weeks. Contents of malondialdehyde and total carotenoid were increased in Keunolkong compared with Danyebkong by UV-B. In control plants, ascorbate level of Danyebkong was 3 times higher than that of Keunolkong. The ratio of dehydroascorbate/ascorbate was highly increased in Keunolkong by UV-B. The activities of antioxidative enzyme such as superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, monodehydroascorbate reductase and glutathione reductase were increased in both cultivars by UV-B. This results indicate that enhanced UV-B caused oxidative stress in both two cultivars, especially in Keunolkong. Susceptibility of two soybean cultivars to UV-B is closely related to the levels of antioxidants such as carotenoid and ascorbate.

Key words : antioxidants, antioxidative enzymes, malondialdehyde, UV-B, soybean

### 1. 서 론

최근 오존층 파괴로 인한 자외선(UV-B; ultraviolet-B radiation, 280~320 nm) 증가가 심각한 지구환경 문제로 대두되고 있다(Madronich et al., 1995).

지금까지 UV-B가 식물에 미치는 영향에 대해서는 수많은 연구가 수행되어 왔다. UV-B 증가는 식물의 생리·생화학적 대사에 영향을 미치며 특히 광합성억제, DNA 손상, 지질과산화 등의 악영향을 일으키는 것으로 보고되어 있다(Teramura, 1993). 또한 UV-B에 대한 식물의 반응은 종간뿐만 아니라 종내에서도 다르게 나타나는데, 벼와 오이를 이용한 실험에서도 UV-B에 대한 성장반응 차이가 보고되어 있다(Murali and Teramura, 1986; Kim et al., 1996). 그러나 UV-B에 대한 감수성 차이의 원인에 대해서는 아직 명확히 밝혀져 있지 않으며, 종간 또는 종내에서의 UV-B에 대한 방어능력의 차이에 의한 것으로 추측된다. 예를 들어, 잎 두께의 증가나 UV-흡수물질의 증가는 생체내의 UV-B 침투량을 감소시켜 주는 역할을 하며, UV-B에 대한 감수성과 깊은 관련이 있는 것으로 보고되어 있다(Baggs

et al., 1986).

최근, 벼와 오이 등을 포함한 일부 식물에서 UV-B에 의한 활성산소 생성과 이로 인한 산화스트레스의 가능성이 제기되고 있다(Kim et al., 1996). 식물은 각종 스트레스로부터 생성된 활성산소를 해독하기 위한 생화학적 방어기구를 가지고 있으며, 여기에는 superoxide dismutase (SOD) 등을 포함한 여러 종류의 항산화효소와 ascorbic acid 등과 같은 항산화물질들이 관여되어 있다(Elstner, 1982). 따라서 이러한 식물의 생화학적 방어능력 차이에 의해서도 UV-B에 대한 감수성 정도가 달라질 것으로 추측된다.

본 연구는 UV-B에 대한 감수성 차이를 보인 콩을 대상으로 UV-B가 콩에 활성산소 생성에 의한 산화스트레스를 일으키는지, 또한 UV-B에 대한 감수성 차이와 생화학적 방어능력과 관련성을 조사하고자 수행하였다.

### 2. 재료 및 방법

#### 2.1 식물 재료

본 실험의 공시 식물로 김 등(1998)의 실험에서 UV-

Table 1. Average daily integral of UV-B<sub>BE</sub><sup>a)</sup> during the irradiation period. The UV-B irradiation was conducted for 6 hours daily (from 10:00 to 16:00 h)

Treatments	Mean daily integral UV-B <sub>BE</sub> (kJ m <sup>-2</sup> )
Control	0.06
UV-B treatment	11.32

a) UV-B<sub>BE</sub> : biologically effective UV-B radiation.

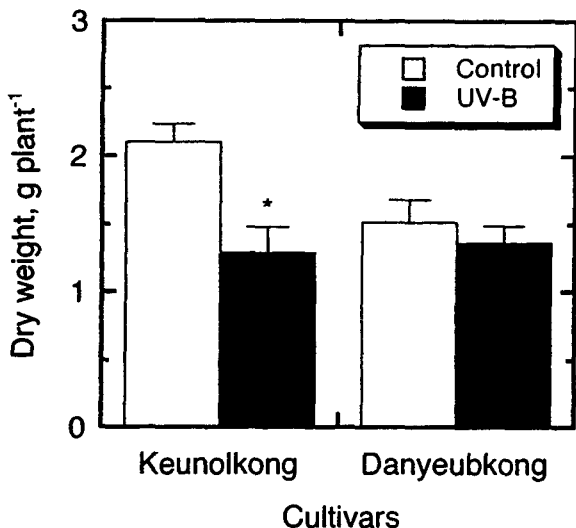


Fig. 1. Effect of UV-B irradiation on dry weight of whole plant of two soybean cultivars. Each value is the mean of 4 plants and vertical bar represents the standard error for the mean. Statistically significant differences between the means are indicated by "\*" (p < 0.05).

B에 대하여 높은 감수성을 보인 큰울콩과 비교적 낮은 감수성을 보인 단엽콩을 이용하였다. 콩(*Glycine max* (L.) Merrill) 종자를 24시간 25℃의 광 상태에서 발아시킨 후, 500 g의 배양토(N : P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> : K<sub>2</sub>O = 0.21 : 0.41 : 0.38)를 담은 플라스틱 포트(면적 100 cm<sup>2</sup>, 깊이 10 cm)에 1개체씩 파종하여 자연광 이용 온실에서 생육시켰다.

## 2.2 UV-B 조사

본 실험에 사용된 UV-B 조사장치는 Kim 등(1996)에 의해 고안된 자외선 조사장치를 사용하였다. 각 처리구는 8개의 자외선 램프(Toshiba sunlamp, FL 20 SE)로 구성되어 있으며, 이 자외선 램프는 UV-B (280~320 nm) 영역뿐만 아니라 UV-C (200~280 nm) 영역의 광도 포함하고 있기 때문에 무처리구에는 0.13 mm 두께의 Mylar D 필름을 램프에 감아 313 nm 이하의 자외선을 제거하였으며, UV-B 처리구에는 0.13 mm 두께의 cellulose diacetate 필름을 램프에 감아 290 nm 이하의 자외선을 제거하였다. 이들 필름은 광에 의해 변색되므로 1주일에 1회 교환하였다. UV-B 조사는 파종 10일 후부터 1일 6시간(10시~16시)씩 3주간 수행하

였으며, 자외선 램프와 식물체와의 간격은 식물 생장에 맞추어 40 cm를 유지시켰다. UV-B의 강도는 분광방사계(MSR-7000, OptResearch Co., Tokyo, Japan)로 측정하여, Caldwell (1971)에 의해 제시된 UV-B의 생물학적 영향량(UV-B<sub>BE</sub>, biologically effective UV-B)으로 환산하여 나타내었다.

## 2.3 성장 측정

3주간의 UV-B 조사 후 각 처리구별 6개체를 수확하여, 70℃에서 72시간 건조시킨 후 건물중량을 측정하였다.

## 2.4 Malondialdehyde (MDA) 함량 측정

UV-B가 지질과산화에 미치는 영향을 조사하기 위하여 3주간의 UV-B 조사 후, Heath와 Packer (1968)의 방법에 의해 MDA 함량을 조사하였다. 제 3분엽 약 1 g을 채취하여 3 ml의 증류수를 넣어 마쇄한 후, 20% trichloroacetic acid와 0.5% thiobarbituric acid를 포함한 반응용액 5 ml을 넣고, 50℃의 항온수조에서 30분간 반응시킨 후, 15,000×g에 10분간 원심분리를 거친 상정액을 분광광도계(UV-1200, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)로 532 nm와 600 nm에서의 흡광도를 조사하여 그 함량을 측정하였다.

## 2.5 Total carotenoid 함량 측정

Total carotenoid 함량은 제 3분엽 0.5 g을 채취하여 99.5%의 에탄올에 넣고 암 상태에서 48시간 추출한 후, 분광광도계를 이용하여 470 nm, 648 nm 및 664 nm에서의 흡광도를 측정하여 Lichtenthaler (1987)의 등식에 의해 함량을 계산하였다.

## 2.6 Ascorbic acid 함량 측정

Ascorbic acid 함량은 1 g의 제 3분엽을 채취하여 막자사발에 넣고 7.5 ml의 추출용액(50 g L<sup>-1</sup> metaphosphoric acid)을 넣어 추출한 다음, 15,000×g에서 10분간 원심분리한 후, 상정액을 이용하여 Bolin과 Book (1974)의 방법에 의해 환원형인 ascorbic acid (AsA)와 산화형인 dehydroascorbic acid (DHA)의 함량을 측정하였다.

## 2.7 항산화효소의 활성 측정

제 3분엽 약 1 g을 채취하여 막자사발에 넣고 0.5 mM의 ascorbic acid와 1 mM의 환원형 glutathione을 포함하는 potassium phosphate buffer (pH 7.8) 10 ml을 넣어 추출하였다. 추출액을 10분간 원심분리(15,

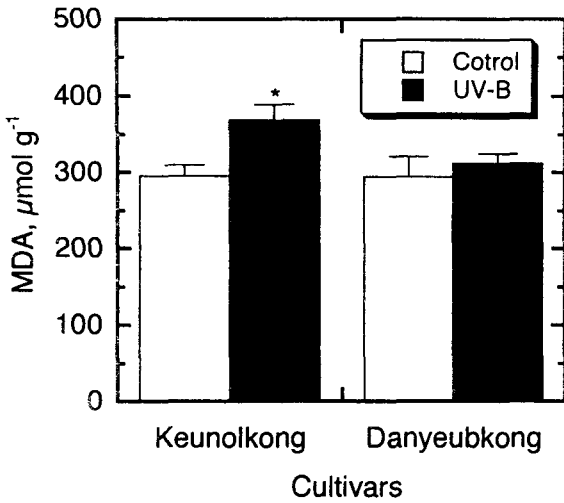


Fig. 2. Effect of UV-B irradiation on malondialdehyde (MDA) content of two soybean cultivars. Each value is the mean of 6 plants and vertical bar represents the standard error for the mean. Statistically significant differences between the means are indicated by "\*" ( $p < 0.05$ ).

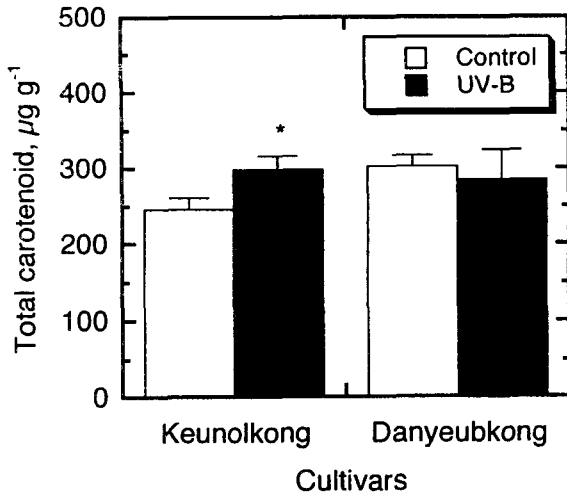


Fig. 3. Effect of UV-B irradiation on total carotenoid content of two soybean cultivars. Each value is the mean of 4 plants and vertical bar represents the standard error for the mean. Statistically significant differences between the means are indicated by "\*" ( $p < 0.05$ ).

000×g) 한 후, 상징액을 이용하여 ascorbate peroxidase (AP), dehydroascorbate reductase (DHAR), monodehydroascorbate reductase (MDHAR)의 활성을 측정하였으며, 나머지 상징액을 potassium phosphate buffer (pH 7.8)로 24시간 투석한 다음 SOD, guaiacol peroxidase (GP), glutathione reductase

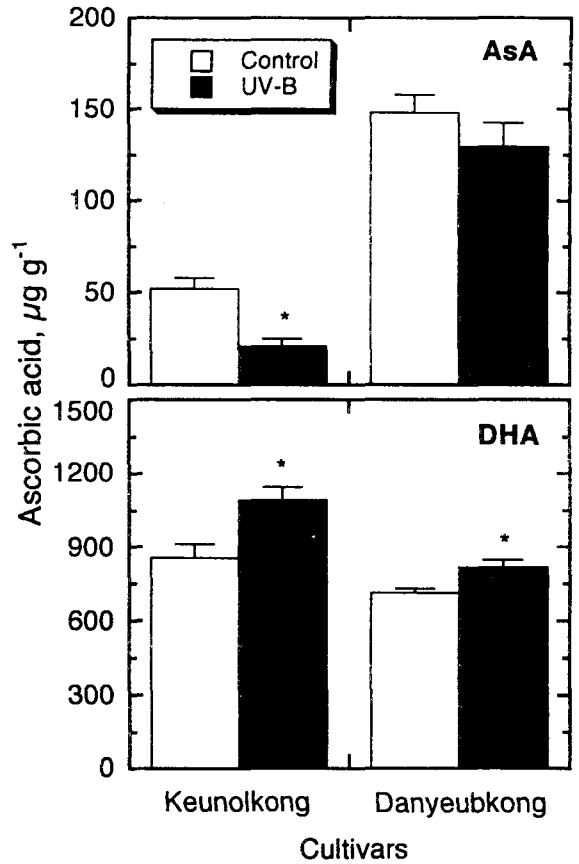


Fig. 4. Effect of UV-B irradiation on the contents of ascorbic acid (AsA) and dehydroascorbic acid (DHA) of two soybean cultivars. Each value is the mean of 4 plants and vertical bar represents the standard error for the mean. Statistically significant differences between the means are indicated by "\*" ( $p < 0.05$ ).

(GR)의 활성을 측정하였다.

SOD의 활성은 Schoner과 Krause (1990)의 방법에 따라 cytochrome c의 감소를  $A_{550}$ 에서 측정하였으며, AP의 활성은  $A_{290}$  ( $2.8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )에서  $\text{H}_2\text{O}_2$ 에 의한 ascorbate의 산화를 조사하였다(Nagano and Asada, 1981). MDHAR의 활성은 Hossain 등(1984)의 방법에 의해  $A_{340}$  ( $6.2 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )에서 NADH의 산화를 조사하였으며, DHAR의 활성은  $A_{290}$  ( $2.8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )에서 dehydroascorbate에서 ascorbate로의 환원을 조사하는 Tanaka 등(1982)의 방법에 따라 측정하였다. GR의 활성은 Tanaka 등(1982)의 방법에 따라  $A_{340}$  ( $26.6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )에서 NADPH의 감소량을 측정하였으며, GP의 활성은  $\text{H}_2\text{O}_2$  존재 하에서의 guaiacol의 산화를  $A_{470}$  ( $26.6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )에서 측정하였다(Tanaka and Sugahara, 1980).

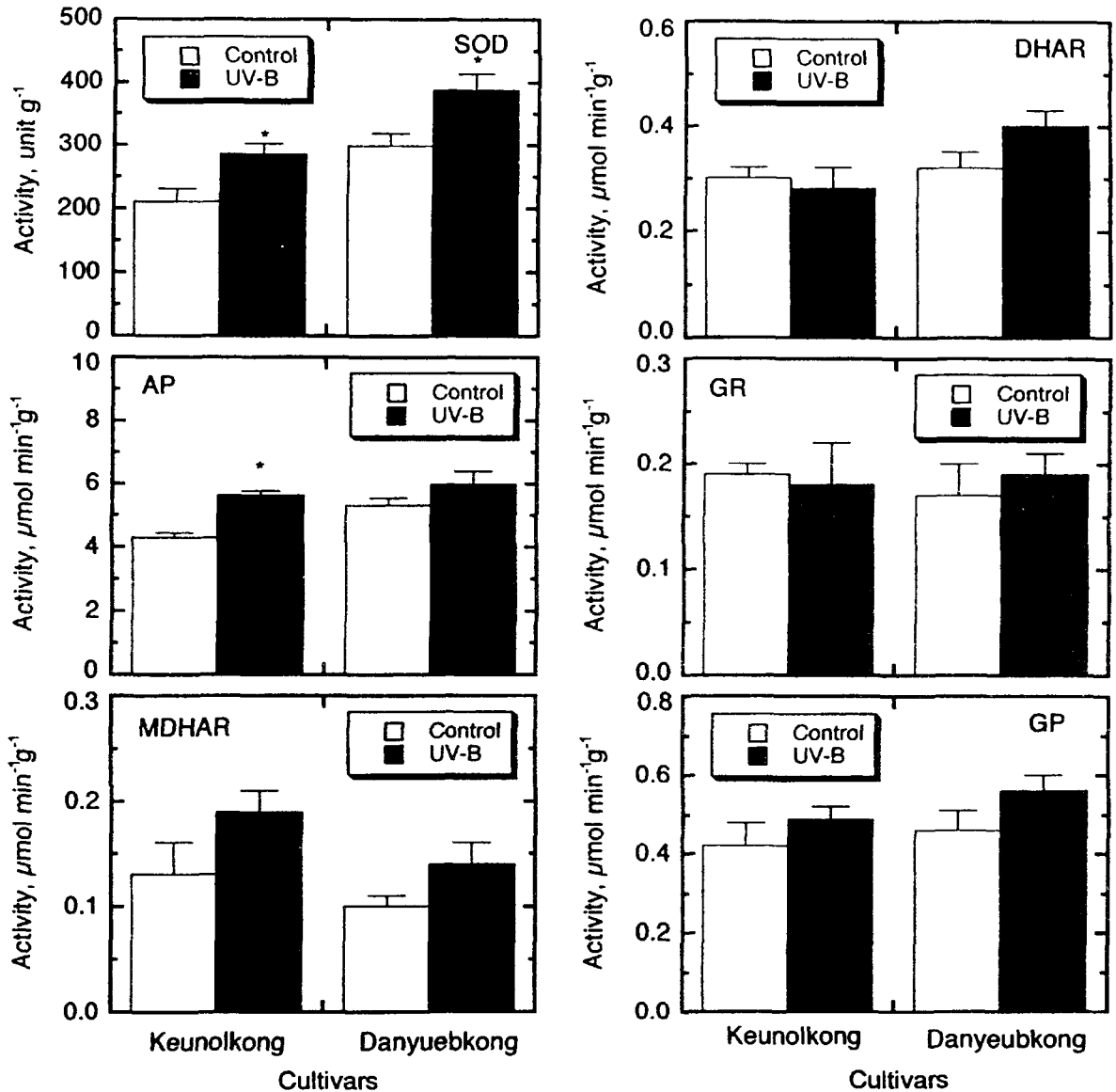


Fig. 5. Effect of UV-B irradiation on activities of superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (AP), monodehydroascorbate reductase (MDHAR), dehydroascorbate reductase (DHAR), glutathione reductase (GR) and guaiacol peroxidase (GP) of two soybean cultivars. Each value is the mean of 4 plants and vertical bar represents the standard error for the mean. Statistically significant differences between the means are indicated by "\*" ( $p < 0.05$ ).

### 3. 결과 및 고찰

각 처리구별 일일 평균 UV-B<sub>BE</sub> 강도는 UV-B 조사구에서 11.32 kJ m<sup>-2</sup> 이었고, 무처리구에서 0.06 kJ m<sup>-2</sup> 이었다(Table 1). UV-B 조사구에서의 강도를 Bjrn과 Murphy (1985)의 모델에 의해 계산하면, 서울 상공 오존층의 약 35% 파괴시에 지상에 도달하는 UV-B량에 상응했다.

3주간의 UV-B 조사 후 건물중량을 조사한 결과, 단엽콩에서 약 8%의 감소하는 경향을 보인 반면, 큰울콩에서는 40% 정도의 큰 감소를 보여(Fig. 1), 두 재배종

간의 UV-B에 대한 감수성 차이가 뚜렷이 나타났으며, 특히 단엽콩은 UV-B에 비교적 감수성이 낮은 것으로 나타났고 큰울콩은 감수성이 높은 것으로 나타났다.

UV-B는 일부 식물에 있어서 활성산소의 생성에 의한 산화스트레스를 일으키는 것으로 보고되어 있으며, 특히 생체의 막지질은 산화스트레스에 민감하게 반응하는 부분으로 알려져 있다(Heath and Packer, 1968). 본 실험에서 지질과산화 산물인 MDA 함량은 단엽콩에서 UV-B에 의한 변화는 나타나지 않았으나, 큰울콩에서는 약 25%의 함량 증가를 보였다(Fig. 2). 환경스트레스에

의한 MDA 함량 증가는 일부식물에서도 보고되어 있으며(Kramer et al., 1991), 이러한 결과는 생체 막지질이 UV-B의 잠재적인 표적임을 시사하며, 또한 큰울콩에서 UV-B에 의해 막지질의 조성이 크게 변화되었다는 것을 시사한다. 따라서 UV-B에 대한 감수성 차이와 지질과 산화 정도와는 관련이 있는 것으로 추측된다.

Fig. 3은 UV-B 조사에 의한 total carotenoid의 함량 변화를 나타내고 있다. 본 실험에서 큰울콩은 단엽콩에 비해 total carotenoid 보유 함량이 20% 정도 적은 것으로 나타났으나, UV-B 조사에 의해 단엽콩과 거의 같은 수준으로 증가하였다. Carotenoid는 광 산화작용으로부터 막지질을 보호하는 항산화물질로 알려져 있으며(Foyer et al., 1994; Campos et al., 1991), 두 재배종간의 total carotenoid 함량의 차이는 UV-B에 대한 감수성 차이와 관련이 있는 것으로 추측된다.

AsA는 대기오염물질이나 건조 등의 환경스트레스에 의해 생성된 활성산소(O<sub>2</sub><sup>-</sup> 또는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 등)의 무독화에 관여하는 항산화물질로 알려져 있으며(Foyer et al., 1994; Larson and Berenbaum, 1988), 일부 식물에서 AsA 함량의 차이와 환경스트레스에 대한 감수성 차이와는 관련이 있는 것으로 알려져 있다(Kim et al., 1996). 본 실험에서 단엽콩의 AsA 함량은 큰울콩보다 3배 정도 높은 것으로 나타났으며, UV-B 조사에 의해 큰울콩에서는 AsA 함량이 약 60%의 감소를 보인 반면, 단엽콩에서는 10% 정도 감소하는 경향을 보였다(Fig. 4). 또한 DHA 함량은 UV-B 조사에 의해 두 재배종에서 모두 증가하였으며, 특히 큰울콩에서 약 30%의 증가를 보인 반면, 단엽콩에서는 15% 정도의 증가를 보여, 산화스트레스에 의한 피해 정도를 나타내는 DHA/AsA의 비율이 단엽콩보다 큰울콩에서 크게 증가한 것으로 나타났다. 이와 같은 DHA/AsA 비율의 증가는 UV-B에 의한 활성산소 생성으로 산화적 스트레스가 일어났으며, 이를 무독화시키기 위해 AsA가 산화되었다는 사실을 나타내는 것으로 생각된다. 따라서 단엽콩보다 큰울콩에서 UV-B에 의한 산화적 스트레스가 크게 나타났으며, 이들 두 재배종간의 감수성 차이도 AsA 함량과 관련이 있는 것으로 사료된다.

식물은 각종 환경스트레스에 의해 생체내의 산소가 superoxide radical 등의 반응성이 높은 활성산소로 변하여 생체내의 생리적 장애를 나타내는 것으로 알려져 있으며(Elstner, 1982), 최근 UV-B에 의한 활성산소 생성과 이로 인한 산화스트레스의 가능성이 제기되고 있다(Kim et al., 1996). 식물은 SOD, AP, MDHAR, DHAR, GR 등의 항산화효소에 의해 체내에 생성된 활성산소를 제거하는 방어기구를 가지고 있다(Elstner, 1982). 본 실험에서 UV-B 조사에 의해 두 재배종 모두 SOD의 활성 증가를 보였는데(Fig. 5), UV-B에 의해 체내에 superoxide가 생성되고 이를 무독화시키기 위해 SOD의 활성이 증가한 것으로 사료된다. AP의 활성도 UV-B 조사에 의해 증가하는 경향을 보였으며, 특히 큰울콩에서 30% 정도의 증가를 보여, SOD에 의해 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 무독화시키기 위하여 AP의 활성이 증가된 것으로 사료된다. 또한 GR과 DHAR의 활성은 UV-B에

의한 큰 변화는 나타나지 않았으나, MDHAR과 GP의 활성은 두 재배종 모두에서 UV-B에 의해 증가하는 경향을 보였다. 이와 같은 항산화효소의 활성 증가는 UV-B에 의해 활성산소가 생성되고 이를 무독화시키기 위해 식물의 생화학적 방어반응이 작용한 것으로 사료된다. 그러나 본 실험에서 항산화효소의 활성 증가와 UV-B에 대한 감수성 차이와의 관련성은 명확히 나타나지 않았다.

이상의 결과로 볼 때, UV-B 조사는 콩에서 활성산소 생성에 의한 산화스트레스를 일으키는 것으로 나타났으며, 특히 단엽콩에 비해 큰울콩이 크게 영향을 받았고, 두 재배종간의 UV-B에 대한 감수성 차이는 항산화물질인 carotenoid나 AsA 함량과 관련 있는 것으로 사료된다.

#### 4. 결 론

UV-B가 콩에서 활성산소 생성에 의한 산화스트레스를 일으키는지, 또한 UV-B에 대한 감수성 차이와 생화학적 방어능력과의 관련성을 조사하기 위하여 UV-B에 대해 감수성의 차이를 보이는 큰울콩과 단엽콩을 대상으로 UV-B 조사 실험을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

UV-B 조사에 의해 큰울콩에서만 MDA 함량이 증가하였다. 큰울콩은 단엽콩에 비해 total carotenoid 보유 함량이 적은 것으로 나타났으며, UV-B 조사에 의해 단엽콩과 같은 수준으로 증가하였다. 단엽콩은 큰울콩에 비하여 AsA의 함량이 3배정도 높은 것으로 나타났으며, UV-B 처리에 의해 DHA/AsA의 비율이 큰울콩에서 크게 증가하였다. SOD, AP, MDHAR, GR 등 항산화효소의 활성은 두 재배종에서 모두 증가하였다. 따라서 UV-B 조사는 콩에서 활성산소 생성에 의한 산화적 스트레스를 일으키는 것으로 나타났으며, 두 재배종간의 감수성 차이는 항산화물질인 carotenoid나 AsA 함량과 관련 있는 것으로 사료된다.

#### 참 고 문 헌

- 김학운, 이천호, 이인중, 신동현, 김길웅, 1998, 콩 [*Glycine max(L.) Merrill*] 품종간의 UV-B에 대한 감수성의 차이, 한국환경과학회지 7(4) 487~492.
- Baggs, C.J., U. Schneider-Ziebert and E. Wellmann, 1986, UV-B radiation adaptive mechanism in plants, In Stratospheric Ozone Reduction, Solar Ultraviolet Radiation and Plant Life (Worrest, R.C. and M.M. Caldwell eds.), Vol. 8, pp 235~250, Springer-Verlag, Berlin.
- Björn, L.O. and T.M. Murphy, 1985, Computer calculation of solar ultraviolet radiation at ground level, *Physiol. Veg.*, 23, 555~561.
- Bolin, D.W. and L. Book, 1974, Oxidation of ascorbic acid to dehydroascorbic acid, *Science*, 106, 451.
- Caldwell, M.M., 1971, Solar UV radiation and the

- growth and development of higher plants, In *Photophysiology* (Giese, A.C. ed.), Vol. 6, pp 131~177, Academic Press, N.Y..
- Campos, J.L., X. Figueras, M.T. Pinol, A. Boronat and A.F. Tiburcio, 1991, Carotenoid and conjugated polyamine levels as indicators of ultraviolet-C induced stress in *Arabidopsis thaliana*, *Photochem. Photobiol.*, 53, 689~693.
- Elstner, E.F., 1982, Oxygen activation and oxygen toxicity, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 33, 73~96.
- Foyer, C.H., P. Descourvieres and K.J. Kunert, 1994, Protection against oxygen radicals an important defense mechanism studied in transgenic plants, *Plant Cell Environ.*, 17, 507~523.
- Heath, R.L. and L. Packer, 1968, Photoperoxidation in isolated chloroplasts, 1. Kinetic and stoichiometry of fatty acid peroxidation, *Arch. Biochem. Biophys.*, 125, 189~198.
- Hossain, M.A., Y. Nakano and K. Asada, 1984, Monodehydroascorbate reductase in spinach chloroplasts and its participation in regeneration of ascorbate for scavenging hydrogen peroxide, *Plant Cell Physiol.*, 25, 385~395.
- Kim, H.Y., K. Kobayashi, I. Nouchi and T. Yoneyama, 1996, Differential influences of UV-B radiation on antioxidants and related enzymes between rice (*Oryza sativa* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.) leaves, *Environ. Sci.*, 9, 55~63.
- Kramer, G.F., H.A. Norman, D.T. Krizek and R.M. Mirecki, 1991, Influence of UV-B radiation on polyamines, lipid peroxidation and membrane lipids in cucumber, *Phytochemistry*, 30, 2101~2108.
- Larson, R.A. and M.R. Berenbaum, 1988, Environmental phototoxicity, Solar ultraviolet radiation affects the toxicity of natural and man-made chemicals, *Environ. Sci. Technol.*, 22, 354~360.
- Lichtenthaler, H.K., 1987, Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthesis, *Methods Enzymol.*, 148, 305~352.
- Madronich, S., R.L. McKenzie, M.M. Caldwell and L.O. Bjrn, 1995, Changes in ultraviolet radiation reaching the earth's surface, *AMBIO*, 24, 143~152.
- Murali, N.S. and A.H. Teramura, 1986, Intraspecific differences in *Cucumis sativus* sensitivity to ultraviolet-B radiation, *Plant Physiol.*, 74, 475~480.
- Nagano, Y. and K. Asada, 1981, Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts, *Plant Cell Physiol.*, 22, 867~880.
- Schoner, S. and G.H. Krause, 1990, Protective systems against active oxygen species in spinach: response to cold accumulation in excess light, *Planta*, 180, 383~389.
- Tanaka, K., N. Kondo and K. Sugahara, 1982, Accumulation of hydrogen peroxide in chloroplasts of SO<sub>2</sub> fumigated spinach leaves, *Plant Cell Physiol.*, 23, 999~1007.
- 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 Cell Physiol.*, 21, 601~611.
- Teramura, A.H., 1993, Effect of ultraviolet-B radiation on the growth and yield of crop plant, *Physiol. Plant.*, 58, 415~427.