

광 스트레스에 대한 고추 잎의 광합성 반응과 광 보호 메커니즘

이혜연* · 박연일¹⁾ · 김창기²⁾ · 홍영남³⁾

서울대학교 기초과학연구원, ¹⁾충남대학교 생명과학부, ²⁾한국생명공학연구원, ³⁾서울대학교 생명과학부
(2006년 3월 3일 접수, 2006년 5월 30일 수리)

Photosynthetic Responses and Photoprotection in Korean Hot Pepper (*Capsicum annuum* L.) against High Light Stress

Hae-Youn Lee*, Youn-Il Park¹⁾, Chang-Gi Kim²⁾, and Young-Nam Hong³⁾ (Seoul National University, Seoul, 151-742, Korea, ¹⁾Chungnam National University, Taejeon, 305-764, Korea, ²⁾Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon, 305-333, Korea, ³⁾Seoul National University, Seoul, 151-742, Korea)

ABSTRACT: Photoinhibition and photoprotection of PSII in the leaves of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) grown in Hoagland solution and Tap water were compared. Though changes in the rates of O₂ evolution as a function of photon fluence rate (PFR) were comparable, the rates of respiration in the dark was 3 times higher in the Hoagland solution grown leaves than in the Tap-water grown ones. Compared to Hoagland solution grown plants, PSII of Tap water grown pepper leaves were more susceptible to photoinhibitory light treatment. In order to inactivate functional PSII to the same extents, Hoagland solution grown plants required almost 2-fold high light (1600 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) treatment than those of Tap water (900 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Interestingly, the remaining fraction of PSII in Hoagland grown pepper was able to survive under prolonged illumination in the presence of lincomycin, which probably means that the growth condition of plant seemed to have an effect on the recovery of PSII from light stress. When PSII was severely photoinactivated at a chilling temperature, recovery was observed only if the residual functional PSII were not inhibited with DCMU, Nigericin and MV during recovery. In conclusion, PSII grown in the Hoagland solution was more resistant to excess light than in the Tap water grown one and the recovery of PSII from photodamage was more efficient in Hoagland grown pepper leaves than Tap water grown one, which means that the increased dark respiration may play a important role in the protection of PSII from photoinhibition by helping repair photosynthetic proteins (in particular, the D1 protein of PSII) degraded by photoinhibition.

Key Words: Photoinhibition, photoprotection, PSII, Tap water, Hoagland solution

서 론

빛은 광합성을 위한 에너지원이므로 광합성 생물의 생장에 필수적인 요소이나 과다해질 경우 광합성 기구에 손상을 미칠 수 있다¹⁾. 자연상태에서 식물은 광합성을 수행하는 빛보다 더 과도한 양에 노출되기 쉬우며 그러한 환경 하에서 광합성 효율은 감소되고 결국에는 생장이 저해된다. 광합성 생물에서 빛에 의해 광합성 능이 감소될 때 이러한 현상을 광억제라 하며²⁾ 광억제는 다른 환경적인 요인 예를 들면 저온³⁾, 고온⁴⁾, 수분 스트레스^{5,6)} 등이 함께 작용할 경우 상승효

과로 인해 더욱 심각하게 일어나는 것으로 보고되고 있다. 또한 광억제는 수선물이 광피해를 따라잡지 못할 때 일어나는 것으로도 알려져 있는데⁷⁾ 이는 약한 광량에서도 다른 요인이 수선 메커니즘을 제한할 경우에는 광억제가 일어날 수 있음을 나타낸다⁸⁾. 따라서 식물은 광에 의한 피해를 최소한으로 줄이기 위해 다양한 보호 전략을 개발시켜 왔는데 식물체 수준에서는 과도한 빛을 피하기 위한 잎의 방향 전환, 엽록체의 이동 그리고 scavenging system 등이 있으며, 생화학적 방법으로는 손상된 D1 단백질의 재합성, 크산토폴 싸이클을 통한 비올라크산틴(violaxanthin)의 제아크산틴(zeaxanthin)으로의 전환, water-water 회로를 통한 에너지 발산, 틸라코이드막을 가로 질러 형성되는 Δ pH 등이 있다⁹⁻¹²⁾. 1990년대 이르러서 Öquist 등¹³⁾에 의해 새로운 보호 전략이 제시되었는데 이 미 손상된 광계II가 과도한 에너지를 열로 분산시켜 이웃하는

*연락처:

Tel: +82-2-880-6679 Fax: +82-2-872-6881
E-mail: haeyoun@snu.ac.kr

광계II를 보호한다는 가설이며 이러한 증거를 찾기 위한 많은 연구가 진행되어 왔으나 이를 확인하지는 못했다. 그러나 최근 고추를 가지고 한 실험에서 Öquist의 가설을 증명할 수 있는 결과가 보고되었다¹⁴⁾. 즉 광에 의해 기능을 상실한 광계II가 초기에는 약한 수용체 역할을 하다가 지속되는 광 스트레스 하에서 흥분 에너지를 수용할 수 있는 강한 수용체 역할을 한다는 것이다. 이렇게 강한 광량 조건에서도 살아남아 있는 10-20%의 광계II는 여러 보호 메커니즘 중에서 가장 마지막의 전략 단계로 작용하며 틸라코이드막을 가로 질러 형성되는 pH의 변화, 식물의 영양 상태 등 다른 여러 가지 요인에 의해서도 영향을 받는 것으로 보인다.

손상된 광계II는 암상태나 저광 상태에서 회복된다^{15,16)}. 특히 손상된 D1 단백질의 분해와 재합성에 많은 에너지가 요구된다. 이때 필요한 에너지는 엽록체나 미토콘드리아 호흡에 의해서 공급되는 것으로 제안되었다¹⁷⁾. 광합성 전자전달 억제제인 DCMU나 짝풀립인자 (Nigericin) 처리에 의해서 손상된 D1 단백질 회복이 억제된다는 보고는 엽록체에서 광합성이 ATP를 제공함을 시사한다¹⁷⁾. 엽록체와 미토콘드리아 간에는 대사물질 뿐만 아니라 에너지 교환도 수반된다. 따라서 저광 혹은 암조건에서 미토콘드리아에서 생성된 ATP가 엽록체로 이동하여 D1 재생에 관여할 가능성이 큼에도 불구하고 이에 대한 연구는 수행된 바 없다.

따라서 본 논문에서는 Hoagland 용액을 통해 충분한 영양분이 공급된 고추와 수돗물로만 성장시킨 고추에서 광합성과 호흡의 특성을 알아본 후 광 스트레스에 대한 반응 및 회복에 관해 조사하였다.

재료 및 방법

시험 재료

본 실험에서는 재배용 품종인 새마을 금장 3호 고추 (*Capsicum annuum* L.)를 사용하였다. 4°C 암소에 보관한 종자를 크기와 형태가 비슷한 것을 선별하여 140 g의 불상토와 증류수가 포함된 폴리에틸렌 용기에 파종하여 발아시킨 후 크기와 모양이 비슷한 고추를 선별하여 각각의 화분에 옮겨 심었다. 16h/ 8h의 광/암주기를 주면서 25°C의 온도 및 $110 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 광양자선속밀도 조건의 실내 배양기에서 매일 물을 공급하여 성장 시켰다. 또한 다른 실험구로 일반 수돗물 대신 충분한 영양 공급이 제공되는 Hoagland 용액을 공급하여 위와 동일한 조건으로 성장시켰다.

광 스트레스 처리

항온 수조에 연결되어 일정한 온도를 유지할 수 있는 아크릴 통에 500 ml의 증류수를 넣은 후 원모양의 잎절편을 띄웠다. 광처리로 인한 열을 차단하기 위하여 수돗물이 흐르는 원통형의 유리 수조를 아크릴 통 위에 올려놓았다. 광 억제 처리를 위한 광원으로는 텅스텐 할로겐 램프(ITAMI

PROTEX CO. LTE., JAPAN)를 사용하였으며 $900 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 혹은 $1600 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 광량에서 광 스트레스를 유도하였다.

광 회복 처리

광억제를 $900 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 혹은 $1600 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 광량과 빠른 시간 내에 광억제를 유도하기 위하여 7°C에서 5시간 동안 유도하였다. 광 스트레스 후 광 억제로부터 광계II의 회복을 위하여 잎 절편을 25°C, $15 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 광량의 수조에 방치하면서 일정 시간 간격으로 잎 절편을 꺼내어 엽록소 형광을 측정하였다. 회복단계에서 다양한 억제제(Lincomycin, 1,1-dimethyl 1-(3,4-dichlorophenyl) urea(DCMU), Nigericin, Methyl viologen(MV))를 처리하여 위와 동일한 조건에서 엽록소 형광을 측정하였다.

다양한 화학 억제제 처리

Lincomycin 처리

잎 디스크를 진공 용기에 넣은 후 0.5 기압으로 대략 1분 동안 1 mM lincomycin 용액을 침투시켰다. 용액이 세포 내로 침투되고 암상태에서 증산을 활발히 유도하기 위하여 팬 처리와 함께 30분 동안 방치하였다.

Nigericin 처리

잎 디스크를 진공 용기에 넣은 후 0.5 기압으로 대략 1분 동안 10 μM Nigericin 용액을 침투시켰다. 용액이 세포 내로 침투되고 암상태에서 잎의 증산을 활발히 유도하기 위하여 팬과 함께 30분 동안 방치하였다. 광 회복시에는 잎 디스크를 5 μM Nigericin 용액에 띄웠다.

Methyl Viologen 처리

잎 디스크를 진공 용기에 넣은 후 0.5 기압으로 대략 1분 동안 300 μM Methyl Viologen 용액을 침투시켰다. 용액이 세포 내로 침투되고 암상태에서 증산을 활발히 유도하기 위하여 팬과 함께 30분 동안 방치하였다. 광 회복시에는 잎 디스크를 100 μM MV용액에 띄웠다.

산소 발생을 통한 기능성 광계II 수의 측정

기능을 수행하는 광계II의 수는 산소 전극(Hansatech, King's Lynn, UK)을 사용하여 측정하였다. 10분 동안 암상태에서 평형 상태를 유지하고, single-turnover, saturating xenon flash(10 Hz, 2.5 full μs width at half peak height)를 4분간 조사한 후 4분 동안 암상태를 유지하였다. 명상태와 암상태의 사이클을 두 번 정도 반복한 후 계산하였다. 이때 광계II에 의한 순환적 전자전달 시스템을 위해 far-red light을 조사하였다. 광계II의 수는 엽록소를 근거로 계산하며 엽록소 양은 Porra 등¹⁸⁾의 방법을 변형시킨 80% 아세톤으로 분석하였다.

산소 발생 측정

산소 발생은 잎절편을 Hansatech 산소 전극 chamber, Model LD2에 넣어 25°C기체 상태에서 측정하였다. 광합성을 위한 기질로 사용되는 이산화탄소는 1 M carbonate/bicarbonate 완충용액(pH 9)을 스폰지에 적셔 공급하였다¹³⁾. 산소전극 chamber에 잎절편을 넣고 30 분 동안 방치하여 산소 전극을 안정화시켰다. 이 때 나타나는 호흡 기율기를 통해 안정화된 상태를 확인하였으며 호흡 기율기 변화가 거의 없는 상태를 안정화된 상태로 보고 빛을 조사하여 산소 발생을 측정하였다. 산소 전극 chamber의 윗 부분은 산소 발생과 형광을 동시에 측정할 수 있게 하기 위하여 pulse amplitude modulation fluorometer(PAM system, H. Walz, Effeltrich, FRG)에 fiberoptic light guide가 맞도록 변형되어 있으므로 산소 발생을 위한 광원으로는 PAM system을 사용하였다. PAM system의 KL 1500 lamp에 Schott RG 630 필터를 사용하여 630 nm 이상의 적색광을 사용하며 동시에 형광을 측정하였다.

실은 엽록소 형광 측정

광계II에 의한 엽록소 형광 유도는 PAM fluorometer를 이용하여 측정하였다. 광억제 유도 후 잎절편을 잎 디스크 전극 chamber안에서 30 분 동안 암적응을 시켰다. 일정 형광 측정은 PAM 101로 조사하고, 광합성을 구동하는 활성광은 KL 1500 lamp에 Schott RG 630 필터를 사용하여 630 nm 이상의 적색광을 사용하였다. 포화광으로는 KL 1500 lamp를 사용하여 광계II의 일차적인 수용체인 QA를 완전히 환원시킬 수 있는 3700 μmol m⁻²s⁻¹의 광량을 PAM 103을 통하여 일정 시간 간격으로 조사하였다. 엽록소 형광 소산은 actinic light 조건에서 잎 절편이 지속적으로 광합성을 수행하는 동안 포화광을 조사하여 분석하였다. 환원되어 있던 QA가 산화되면서 엽록소 형광이 감소하는 성분을 광화학 소멸(photochemical quenching, qP)이라 하고, 틸라코이드 막의 에너지화에 의한 소멸을 에너지 의존성 소멸(energy-dependent quenching, qE), 광계II 복합체의 광저해에 따른 소멸을 광저해 소멸(photoinhibitory quenching, qI)이라 하며, 이때 qE와 qI를 함께 비광화학 소멸(non-photochemical quenching,

NPQ)이라 한다¹⁹⁾. 비광화학 소멸 계수는 Schreiber 등²⁰⁾의 정의에 따라 계산하였다.

$$qP(\text{photochemical quenching}) = (F'm-F)/(F'm-F'o)$$

$$NPQ(\text{nonphotochemical quenching}) = (Fm-Fm')/Fm'$$

$$\Phi_{PSII}(\text{effective quantum yield of PSII}) = (Fm'-F)/Fm'$$

Fm = maximal fluorescence(dark), 암상태에서 모든 광계II 반응 중심이 닫혀있을 때의 최대 형광

F = actual fluorescence, 광합성이 유도되고 있는 동안의 실제 형광

F'm = maximal fluorescence(light), 빛이 있는 상태에서 모든 광계II 반응 중심이 닫혀 있을 때의 최대 형광

F'o = 빛 조사 후 최소 형광

엽록소 정량

25mM HEPES가 포함된 80% 아세톤 완충용액을 사용하여 잎으로부터 엽록소를 추출하였고 Porra 등¹⁸⁾의 방법에 의하여 총 엽록소량을 계산하였다.

$$\text{총 엽록소량} = 19.54A_{646.6} + 8.29A_{663.6}$$

결과 및 고찰

생장 조건에 따른 고추의 생육조사

생장지의 영양 조건이 고추의 생장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 일반 수돗물과 충분한 영양소가 함유되어 있는 Hoagland 용액을 공급하여 고추를 성장시킨 후 생육 상태를 관찰하였다. 과중 60일 후 조사한 고추 식물의 높이는 수돗물을 공급하여 성장시킨 고추의 경우 37 cm인 정도에 비해, 영양액을 공급한 경우는 55 cm로 충분한 영양소를 공급했을 때 대략 49% 증가하는 것으로 나타났다. 잎의 폭은 수돗물로 성장시킨 경우 5 cm 이었으나, 영양액일 경우는 7 cm로 대략 40% 정도의 증가를 볼 수 있었으며, 잎의 길이의 경우도 수돗물로 성장시킨 고추에 비해 영양액이 공급된 고추의 경우 26% 증가되는 것을 볼 수 있었다(Table 1). 다음으로 엽록소 함량의 변화를 분석하였다. 총 엽록소량은 수돗

Table 1. Growth responses of pepper grown with Tap water and Hoagland solution

Traits	Growth Condition	
	Tap water	Hoagland solution
Plant height (cm)	37.85 ± 0.67 [†]	55.00 ± 1.08
Leaf width (cm)	4.95 ± 0.26	7.14 ± 0.22
Leaf length (cm)	10.8 ± 0.41	13.58 ± 0.15
Chl a/b	2.68 ± 0.04	3.09 ± 0.04
Chl content (μmol/m ²)	254 ± 10.24	322 ± 6.82

[†]Mean ± standard error (n=5).

물을 공급하여 성장시킨 고추의 경우 $254 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ 인 반면, 영양액이 공급된 고추의 경우 $322 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ 으로 대략 27% 증가하였다. 엽록소 a/b의 비는 수돗물로 성장시킨 고추는 2.68 였고, 영양액을 공급하여 성장시킨 고추는 3.09 였다 (Table 1). Anderson 등²¹⁾은 엽록소 a/b 와 총 엽록소 함량, 틸라코이드막을 구성하고 있는 구성 성분, 그리고 광합성 활성과의 관계를 조사한 결과 엽록소 a/b 가 증가할수록 광합성 기구의 구성성분과 광합성 능이 증가하는 것을 관찰하였고 파라미터간에 밀접한 상관관계가 있다고 보고했다. 또한 이러한 색소 양의 변화는 여러 가지 환경요인에 의해 영향을 받고 광합성 기구의 구성성분이 변화됨으로써 외부 환경에 대한 적응능력을 발달시키는 것으로 보고되고 있다²²⁾.

고추 잎의 광합성 반응

고추 잎에서 광양자전속밀도에 따른 광합성 특성을 조사하기 위하여 광량에 따른 산소 발생율의 변화를 조사하였다. 식물의 성장과 광합성 능에 영향을 미치는 여러 가지 요인으로 빛, 온도, 영양 조건 등 다양한 것들이 있는데 빛에 대한 영향

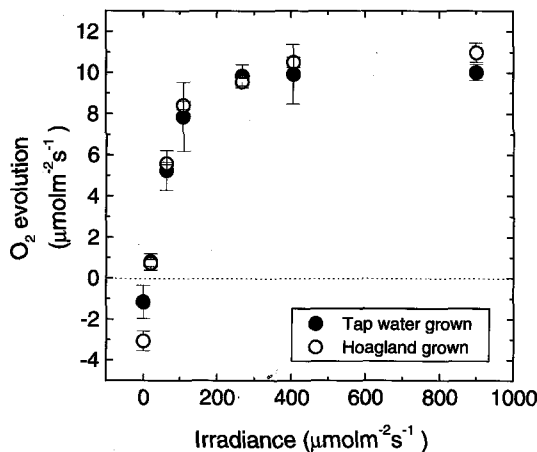


Fig. 1. Light response curves of net CO_2 -saturated rates of oxygen evolution from leaves of pepper grown with Tap Water (●) and Hoagland Solution (○) under an irradiance of $110 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$.

으로는 낮은 광량에서 자란 완두는 $200 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ 의 광량에서, 중간 정도와 높은 광량에서 자란 완두는 $450 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ 정도에서 광합성 능이 포화되는 것으로 보고된 바 있다. 또한 Tompson 등²³⁾은 Hoagland 용액을 통해 충분한 영양이 공급된 경우와 그렇지 못한 경우의 유향과 유식물의 성장을 비교한 결과 충분한 영양이 공급될 때 유식물이 최대 성장율과 광합성 능을 보이는 것을 관찰하였다. 본 실험에서는 수돗물로 자란 고추와 영양액이 공급된 고추의 최대 광합성능이 $400 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ 에서 포화되었으며 최대 광합성 능은 유사한 것으로 나타났다(Fig. 1). 그러나 암 상태에서의 호흡율은 수돗물로 키운 고추의 경우는 $1.16 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ 인 반면, Hoagland로 키운 고추는 $3.06 \mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ 으로 영양액으로 키운 고추가 3 배 정도 높은 것으로 나타났다(Fig. 1). 식물은 광합성을 통해 탄수화물을 만들고 호흡 과정에 의해 탄수화물을 소비하면서 식물의 성장과 발달 그리고 유지에 필요한 에너지를 얻게 된다. 따라서 식물에게 있어서 광합성과 더불어 호흡 과정은 중요한 과정이며 식물의 생산량과도 밀접하게 관련이 있다. 본 실험의 결과에서도 수돗물과 Hoagland 용액을 공급하여 키운 고추의 최대 광합성 능은 유사하나 호흡율에서 차이를 보이는 것으로 나타나는데 이는 위의 결과에서 나타난 것처럼(Table 1) 증가된 호흡에 의해서 얻어진 에너지(ATP, 탄소 골격 그리고 환원 당량 등)가 고추의 성장과 발달에 더 많이 이용되었던 것으로 보인다.

엽록소 형광 파라미터 분석

주로 엽록소 a에서 방출되는 엽록소 형광과 광합성 메커니즘 사이의 관계는 1931년 Kautsky가 암적응된 잎에 빛이 조사될 경우에 독특한 양상으로 형광이 방출된다는 것을 밝힘으로써 연구되기 시작한 이후 광합성의 생물·물리학적 측면을 측정하는데 편리하게 사용되어져 왔다²⁴⁾. 반응중심이 열려 있을 때의 최소 형광을 F_0 라고 하며 광계 II에 있는 엽록소 a 분자가 들뜬 후 에너지가 반응중심으로 이동하기 이전에 나오는 형광을 말한다. Q_A 를 완전히 환원시킬 수 있는 포화광을 조사했을 때 유도되는 최대 형광을 F_m 이라 하며 F_m 에서 F_0 를 빼준 값을 F_v 라 한다. F_v/F_m 은 광계II의 활성을 나타내주는 지표로 사용되며 들뜬 에너지 포획 능력을

Table 2. Photosynthetic parameters of pepper grown with Tap Water and Hoagland solution

Fluorescence Parameter	Growth Condition	
	Tap Water	Hoagland Solution
F_0	$2.21 \pm 0.09^{\dagger}$	2.27 ± 0.06
F_m	11.14 ± 0.28	11.37 ± 0.26
F_v/F_m	0.80 ± 0.01	0.80 ± 0
qP	0.33 ± 0.06	0.62 ± 0.02
NPQ	1.55 ± 0.06	1.29 ± 0.04
QY (Φ_{PSII})	0.16 ± 0.03	0.33 ± 0.01

[†]Mean \pm standard error (n=7).

나타내준다. 따라서 본 실험에서도 수돗물 또는 영양액이 공급된 고추에서 나타나는 광계II 반응 중심의 들뜬 에너지 포획능의 변화를 알아보기 위하여 형광 파라미터를 조사하였다. Table 2 에서 보는 바와 같이 Fv/Fm 값은 수돗물로 생장시킨 경우 0.8로 영양액을 공급한 경우와 거의 차이가 없었다. 광계II의 광양자 수율을 나타내주는 Φ_{PSII} 는 수돗물인 경우 0.16인 반면, 영양액을 공급한 경우 0.33으로 충분한 영양소가 공급되었을 때 대략 100% 증가했다. 광합성 과정에서 전자 전달 경로는 물로부터 NADP⁺로의 비순환적 전자전달 뿐만 아니라 밀러 반응²⁵⁾을 포함한 광계II을 통한 순환적 전자 전달과 광계III를 통한 순환적 전자전달 그리고 질산염 동화의 대체적 전자 흐름 등이 있다. water-water 회로는 O₂와 H₂O₂를 소거하는 기능뿐만 아니라 틸라코이드막을 가로질러 형성되는 ΔpH 를 증가시켜 비광화학적 소산(NPQ)을 통해 과도한 빛 에너지를 분산시킨다. 따라서 위의 결과에서 Hoagland 용액으로 생장시킨 고추의 광계II의 광양자 수율이 증가한 반면, NPQ는 증가하지 않는 것으로 보아 전자 전달의 흐름이 water-water 회로나 광계II의 순환적 전자 전달을 통해 산소로 전달되어 산소가 환원되어지는 것 보다 광계III를 통한 전자 전달이 증가한 것으로 생각된다.

엽록소 형광 소멸의 변화

식물은 흡수된 빛을 광화학 반응에 이용하거나 비광화학적 과정을 통해 에너지를 발산 시키기 때문에 광화학적 소멸과 비광화학적 소멸을 측정하여 고추의 에너지 분산의 변화를 조사하였다. 환원되어 있던 Q_A가 산화되면서 엽록소 형광이 감소되는 성분을 광화학 소멸이라하며 이것은 광화학적 반응을 통한 들뜬 에너지의 재분배를 촉진한다. 비광화학적 소멸은 엽록체의 루멘과 스트로마간의 pH의 차이를 나타내 주며 잎의 에너지 상태나 광계II의 광양자 효율을 조절하는데 중요한 역할을 하고 광억제로 인한 손상으로부터 광계III를 보호한다고 보고되고 있다²⁶⁾. 따라서 잎의 빛 스트레스에 대한 민감성을 말해주는 (1-pP)/NPQ의 비를 조사한 결과, 수돗물로 생장시킨 고추는 0.43 이었고 Hoagland 용액을 공급하여 생장시킨 고추는 0.29 였다(Table 2). 이러한 결과는 수돗물로 생장시킨 고추가 영양액으로 생장시킨 고추보다 빛에 더 민감하다는 것으로 의미하며 상대적으로 값이 낮아진 이유는 수돗물로 생장시킨 고추의 광합성 전자 전달이 감소되어 그 결과 틸라코이드 막을 가로 질러 형성되는 pH 차가 감소했기 때문이다.

고추 잎에서 형광 파라미터 1/Fo-1/Fm와 광계III 수와의 상관관계

엽록소 형광은 광계II의 활성을 빠르게 측정할 수 있다는 장점이외에도, Russell 등²⁷⁾은 애기장대에서 형광 파라미터인 Fv/Fm와 산소 발생을 통해 측정되는 광계III의 수가 상관관계가 있다고 보고한 바 있다. 따라서 single-turnover flash

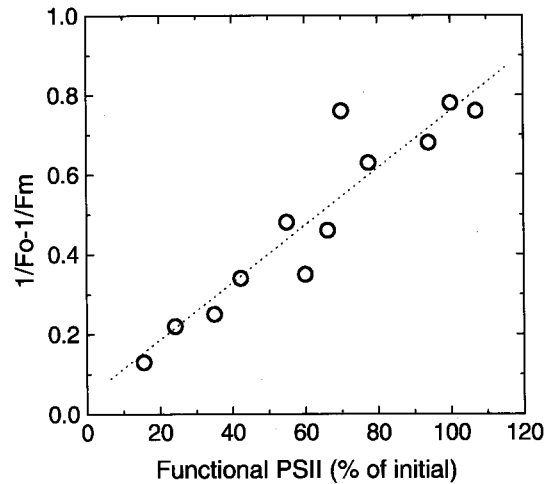


Fig. 2. Linear correlation of 1/Fo-1/Fm with functional PSII content in pepper leaf discs. The straight line is obtained by linear regression, with the constraint that it passes through the origin.

를 통한 산소 발생은 측정하는데 상당한 시간이 걸리는 단점이 있기 때문에 Havaux 등²⁸⁾은 엽록소 형광 파라미터인 1/Fo-1/Fm과 산소 발생과의 일치성을 제시하였고 고추에서도 확인된 바 있다¹⁴⁾. 따라서 본 실험에서도 산소 발생을 통한 광계II의 수와 형광 파라미터인 1/Fo-1/Fm의 관계를 조사한 결과 거의 일직선상에 위치하는 것을 관찰할 수 있었고 산소 발생을 대신에 측정이 간단하고 신속한 형광 파라미터를 본 실험에서 사용하였다(Fig. 2).

광계III의 광억제 광양자 수율의 변화

Fig. 3은 수돗물을 공급하여 생장시킨 고추의 광계III의 광억제 현상을 관찰한 결과이다. 광계III의 수가 광스트레스가 진행됨에 따라 감소되는 경향을 보이며 900 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 광량을 5시간 처리하였을 때 0.62 정도로 스트레스를 가하지 않았던 잎에 비해 38% 정도 감소되는 경향을 보였다(Fig. 3a). 반면 D1 단백질의 합성을 억제하는 lincomycin을 처리하여 광스트레스를 유도한 고추에서는 광계III의 수가 0.32 정도로 스트레스를 가하지 않았던 잎에 비해 68% 정도 감소되었다(Fig. 3b). 이러한 결과를 통해 광 억제가 진행되는 동안 D1 단백질의 재합성이 광 스트레스 회복으로부터 중요한 역할을 한다는 것을 확인할 수 있었다. 다음으로 Hoagland 용액을 공급하여 생장시킨 고추를 가지고 위와 동일한 방법으로 광계III의 광억제 반응을 관찰한 결과 1600 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 높은 광량을 시간에 따라 처리하였을 때 광 억제가 진행됨에 따라 광계III의 수가 지속적으로 감소되어 5시간 처리하였을 경우 광계III의 수가 0.61 정도로 감소되는 경향을 보였다(Fig. 4a). 한편 D1 단백질 합성 억제제인 lincomycin을 처리한 고추에서도 광 스트레스가 진행됨에 따라 지수함수적으로 감소되었으며 5시간 처리했을 때 여전히 기능을 나타내는

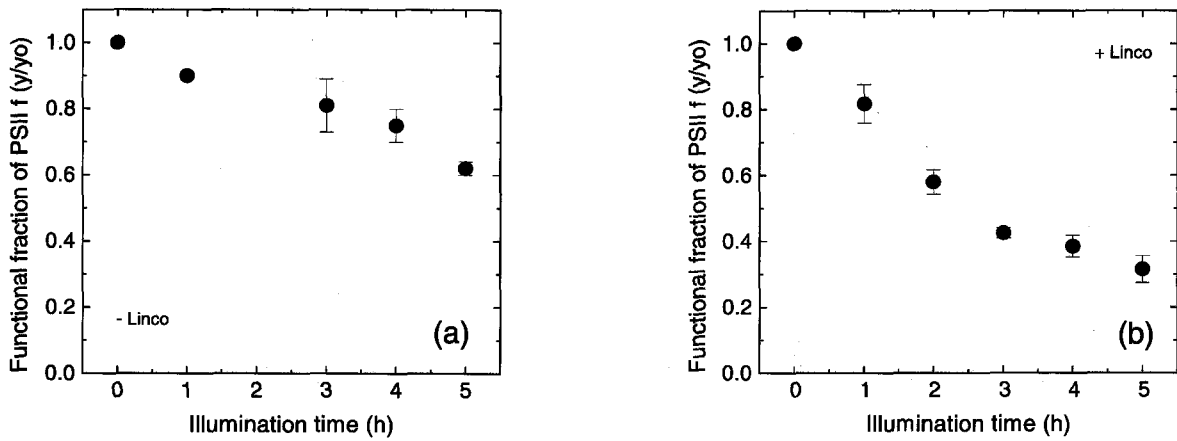


Fig. 3. Time course of changes in the functional PSII (f) in pepper leaf segments during illumination at 900 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ at 25°C in the absence of lincomycin (a) and in the presence of lincomycin (b). The pepper was grown with Tap Water.

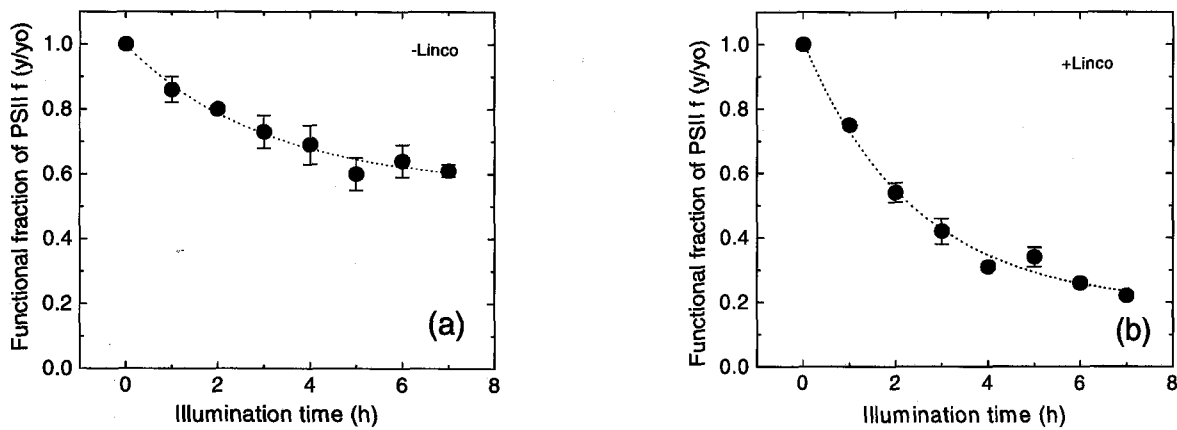


Fig. 4. Time course of changes in the functional PSII (f) in pepper leaf segments during illumination at 1600 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ at 25°C in the absence of lincomycin (a) and in the presence of lincomycin (b). The pepper was grown with Hoagland solution.

광계II의 수가 0.22 정도였다(Fig. 4b). Hassan 등²⁹⁾에 의하면 다양한 농도의 Hoagland 용액과 수돗물로 여러 종류의 약초를 성장시킨 후 일정 기간 동안의 성장과 항산화 활성을 조사한 결과, 종에 따라 약간의 차이가 있지만 대체적으로 50% Hoagland 용액으로 식물을 성장시켰을 때 수돗물이나 혹은 100% 고농도의 Hoagland 용액으로 성장시켰을 때 보다 약용 식물의 성장(잎의 수, 식물의 높이 그리고 생체량)과 항산화 활성이 증가한 것으로 나타났다. 따라서 본 실험에서 수돗물을 공급하여 성장시킨 고추에서는 강한 광량에서 여전히 기능을 수행하는 20% 정도의 광계II가 관찰되지 않았으나 충분한 영양성분이 공급된 고추의 경우 20% 정도의 광계II가 기능을 수행하는 것으로 보아 비 기능성 광계II가 과도한 열 에너지 sink 로써 역할을 하기 위해서는 식물의 성장시 영양 조건과도 밀접한 관련이 있는 것으로 보이며 이 때 Hoagland로 성장시킨 고추가 광 스트레스에 덜 민감한 이유로 위에서 언급한 바와 같이 항산화 물질이 증가되어 산화적인 스트레스가 감소되었을 가능성이 있을 수 있다.

이미 손상된 광계II가 광계II의 광회복에 미치는 영향

광계II의 광억제는 자연 상태에서 꾸준히 일어나는 현상이며 광억제 되는 정도는 식물이 받은 총 광자 수에 의존한다. 특히 높은 광량에서 광계II는 광억제에 민감하기 때문에 이러한 광피해를 최소한으로 줄이기 위해 식물은 다양한 보호 전략을 진화시켜왔다. 이러한 전략 중에는 틸라코이드 막을 가로질러 형성되는 pH에 의한 들뜬 에너지의 소산, 크산토펜 싸이클, water-water 회로와 광계 II의 D1 단백질 재합성 등이 과도한 에너지를 분산시키는 역할을 하며 이때 pH가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다⁹⁻¹²⁾. 이전의 실험 결과에서 보면, 초기에는 광에 의해 손상된 광계II가 약한 quencher였다가 계속되는 광 스트레스에 의해 강한 quencher가 되는 것으로 보였다¹⁴⁾. 따라서 본 실험에서는 생육 시의 영양 상태와 비기능성 광계II가 광계II의 광 회복에 어떠한 영향을 미치는 지를 조사하기 위하여 광 스트레스 후 회복되는 조건에서 다양한 억제제를 처리하여 광계II의 회복을 억제하였고 이 때 광계II의 수를 조사하였다.

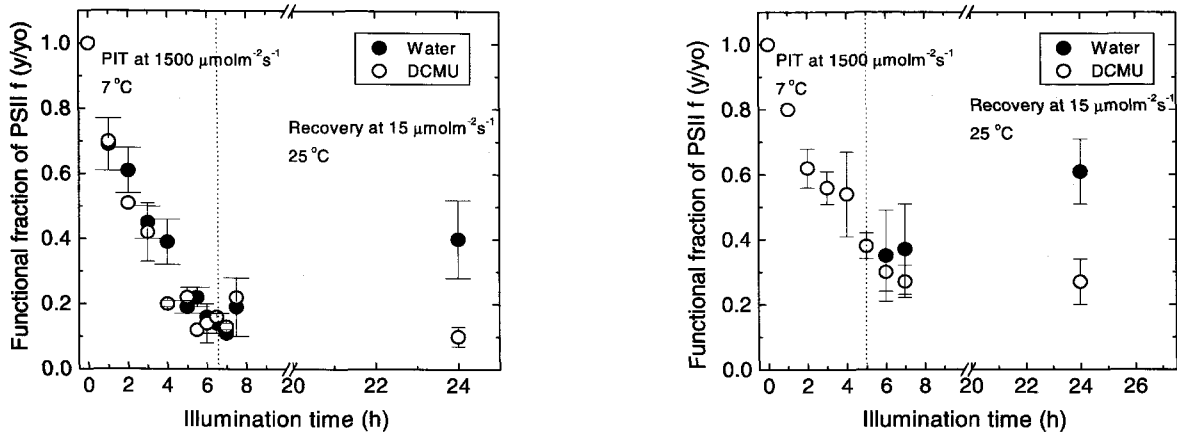


Fig. 5. Photoinactivation of PSII during illumination at $1600 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ and 7°C in the absence of lincomycin and the subsequent lack of recovery in the presence of DCMU, despite favourable irradiance conditions ($15 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 25°C). Tap Water (a) and Hoagland grown pepper (b).

첫째로 광회복 조건에서 DCMU를 잎에 처리하여 광계II에 의한 전자전달을 억제한 후 광계II의 회복되는 정도를 관찰하였다. DCMU는 광계III에서 전달되는 전자의 흐름을 차단하여 틸라코이드 막을 가로질러 형성되는 pH차이를 파괴하는 역할을 하며 결국에는 D1단백질이 재합성되는데 영향을 미쳐 광계III의 광억제를 가속화시킨다. 수돗물로 성장시킨 고추의 광억제를 lincomycin이 없는 상태에서 신속히 유도하기 위하여 저온(7°C)에서 강한 광($1600 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)을 처리하였고, 광계III의 수가 80%감소되는 지점에서 광계III가 회복되기 좋은 조건 즉 $15 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 광량과 25°C 에서 잎을 띄웠다. 대조구 잎은 물에, 실험구 잎은 DCMU 용액에 띄워 회복되는 정도를 관찰하였다. 그 결과 물에 띄운 잎은 40% 까지 광계III의 수가 회복되었으나 DCMU를 처리한 잎은 거의 회복되지 않았다(Fig. 5a). 한편 일정간격을 두고 Hoagland 용액을 공급하여 성장시킨 고추에서 위와 같은 방법으로 동일한 실험을 유도한 결과, 물에 띄운 고추 잎의 경우 60% 까지 회복되어 수돗물로만 성장시킨 고추에 비해 회복되는 정도가 증가하였으며, DCMU를 처리한 경우도 물에 띄운 잎과 비교하여 회복이 거의 일어나지 않았으나 20% 정도의 광계III의 수가 유지되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 5b). 이는 Fig. 1의 결과에서 본 바와 같이 영양액을 공급하여 성장시킨 고추의 암호흡율이 수돗물로 키운 고추보다 증가되었는데 Atkin 등³⁰⁾에 의하면 암호흡은 생합성 과정에 필요한 탄소, 환원력 그리고 ATP를 공급할 뿐만 아니라 과도한 광합성 환원 당량을 산화시켜 광에 의한 손상으로부터 광합성 기구를 보호한다고 하였다. 더욱이 호흡과정은 광 스트레스에 의해 손상된 광합성 단백질, 즉 광계III의 D1 단백질을 수선하는데 도움을 주는 것으로 보고되고 있다¹⁷⁾. 따라서 본 실험에서 Hoagland 용액으로 성장시킨 고추가 광 스트레스에 대해 덜 민감한 이유로 상대적으로 증가한 호흡율과 효율적인 광계III의 전자 전달과정 그리고 생육시의 영양

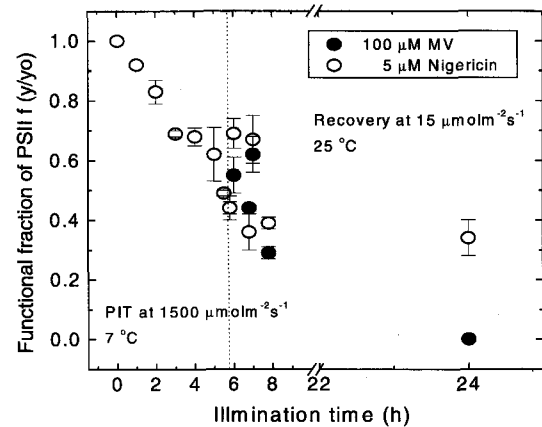


Fig. 6. Photoinactivation of PSII during illumination at $1600 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ and 7°C in the absence of lincomycin and the subsequent lack of recovery in the presence of Nigericin and Methyl Viologen (MV), despite favourable irradiance conditions ($15 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 25°C).

조건 등이 광계III가 광 스트레스로부터 회복하는데 영향을 미친 것으로 생각된다.

Nigericin은 빛이 조사되는 동안 틸라코이드막을 가로질러 형성되는 pH를 감소시킬 때 사용된다. 들뜬 에너지의 일부가 소멸되는 방식으로 사용되는 NPQ에는 pH가 중요한 역할을 하기 때문에 결국에는 Nigericin에 의해 NPQ가 감소된다. Fig. 6에서 lincomycin을 처리하지 않고 광계III의 광억제를 유도한 후 광계III가 회복되는 조건에서 회복을 관찰한 결과 Nigericin을 처리한 경우 광계III의 회복이 거의 일어나지 않았다(Fig. 6). 한편 MV의 경우 시간에 따른 회복을 관찰한 결과 24시간 처리 시 광계III의 수가 거의 0에 가까이 감소하였다(Fig. 6). MV는 광계III의 acceptor side를 산화된 상태로 유지하여 thioredoxin이 환원되는데 방해가 되며

그 결과 D1 단백질의 재합성을 활성화시키는데 문제가 된다. 따라서 본 실험에서 광계II의 수가 거의 제로에 가까이 감소하는 것을 보아 광계II로부터 광계I으로의 원활한 전자 전달과 이에 수반되는 pH의 차이가 D1 단백질의 재합성에 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다. 또한 이 때에는 비 기능성 광계II의 역할도 제한되는 것으로 보인다.

감사의 글

이 논문은 2004년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음(KRF-2004-050-C00020).

참고문헌

- Aro, E. M., Virin, I., and Andersson, B. (1993) Photoinhibition of photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover, *Biochim. Biophys. Acta* 1143, 113-134.
- Powles, S. B. (1984) Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light, *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35, 15-44.
- Boese, S. R. and Huner, N. P. A. (1992) Developmental history affects the susceptibility of spinach leaves to *in vivo* low temperature photoinhibition, *Plant Physiol.* 99, 1141-1145.
- Park, Y. I., Young, D. J., and Hong, Y. N. (1993) Influence of high temperature on the photosynthesis of *Anacystis nidulans*, *Korean J. Limnol.* 26, 53-60.
- Boyer, J. S. (1985) Water transport. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 36, 473-516.
- Ludlow, M. M. and Bjorkman, O. (1984) Para-heliotropic leaf movement in *Siratro* as a protective mechanism against drought induced damage to primary photosynthetic reactions: damage by excessive light and heat, *Planta* 161, 505-518.
- Greer, D. H., Berry, J. A., and Bjorkman, O. (1986) Photoinhibition of photosynthesis in intact bean leaves: role of light and temperature and requirement for chloroplast-protein synthesis and recovery, *Planta* 168, 253-260.
- Somersalo, S. and Krause, G. H. (1990) Photoinhibition at chilling temperatures and effects of freezing stress on cold acclimated spinach leaves in the field; a fluorescence study, *Physiol. Plant.* 79, 617-622.
- Prásil O., Adir, N., and Ohad, I. (1992) Dynamics of photosystem II: mechanism of photoinhibition and recovery processes, In 'The photosystems: structure, function and molecular biology', J. Barber(ed), Elsevier, Amsterdam. p.295-348.
- Chow, W. S. (1994) Photoprotection and photoinhibitory damage. *Advances in Molecular and Cell Biology* 10, 151-196.
- Anderson J. M., Park, Y. I., and Chow, W. S. (1997) Photoinactivation and photoprotection of photosystem II in nature, *Physiol. Planta.* 100, 214-223.
- Niyogi, K. K. (1999) Photoprotection revisited: genetic and molecular approaches. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50, 333-359.
- Öquist, G., Chow, W. S., and Anderson, J. M. (1992) Photoinhibition of photosynthesis represents a mechanism for the long-term regulation of photosystem II, *Planta* 186, 450-460.
- Lee, H. Y., Chow, W. S., and Hong, Y. N. (1999) Photoinactivation of photosystem II in leaves of *Capsicum annuum*. *Physiol. Plant.* 105, 377-384.
- Aro, E. M., McCaffery, S., and Anderson, J. M. (1994) Recovery from photoinhibition in Peas (*Pisum sativum* L.) acclimated to varying growth irradiances, *Plant Physiol.* 104, 1033-1041.
- Baroli, I. and Melis, A. (1996) Photoinhibition and repair in *Dunaliella salina* acclimated to different growth irradiances, *Planta* 198, 640-646.
- Hoefnagel, M. H. N., Atkin, O. K., and Wiskich, J. T. (1998) Interdependence between chloroplasts and mitochondria in the light and the dark, *Biochim. Biophys. Acta* 1366, 235-255.
- Porra, R. J., Thompson, W. A., and Kriedemann, P. E. (1989) Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophyll and b with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll by atomic absorption spectroscopy, *Biochim. Biophys. Acta* 975, 384-394.
- Krause, G. H., and Weis, E. (1984) Chlorophyll fluorescence as tool in plant physiology. II. Interpretation of fluorescence signals. *Photosynth. Res.* 5, 139-157.
- Schreiber, U. (1986) Detection of rapid induction kinetics with a new type of high-frequency modulated chlorophyll fluorometer, *Photosynth. Res.* 9, 261-272.
- Anderson, J. M., Chow, W. S., and Goodchild, D. J. (1988) Thylakoid membrane organization in

- Sun/Shade Acclimation. In *Ecology of photosynthesis in Sun and Shade*, J. R. Evans, S. von Caemmerer and W.W. Adams III (eds), CSIRO, Melbourne. p.11-26.
22. Aro, E. M., Korhonen, E. P., and Mäenpää, P. (1986) Relationship between chloroplast structure and O₂ evolution rate of leaf discs in plants from different biotypes in south Finland, *Plant Cell Environ.* 9, 87-94.
23. Tompson, W. A., Stocker, G. C., and Kriedemann, P. E. (1988) Growth and photosynthetic response to light and nutrients of *Flindersia brayleyana* F. Muell., a rainforest tree with broad tolerance to sun and shade, In *Ecology of photosynthesis in Sun and Shade*, J. R. Evans, S. von Caemmerer and W.W. Adams III (eds), CSIRO, Melbourne. p.299-315.
24. Holzwarth, A. R. (1987) Picosecond fluorescence spectroscopy and energy transfer in photosynthetic antenna pigments, In *the Light Reactions*, J. Bafber (ed.), Elsevier, Amsterdam. p.95-158.
25. Mehler, A. H. (1957) Studies on reactions of illuminated chloroplasts. I. Mechanism of the reduction of oxygen and other Hill reagents, *Arch. Biochem. Biophys.* 33, 65-77.
26. Demmig, B. and Klaus, W. (1988) Characterization of three components of non-photochemical quenching and their response to photoinhibition, In *Ecology of photosynthesis in Sun and Shade*, J. R. Evans, S. von Caemmerer and W.W. Adams III (eds), CSIRO, Melbourne. p.163-177.
27. Russell, A. W., Critchley, C., Robinson, S. A., Franklin, L. A. Seaton, G. G. R., Chow, W. S., Anderson, J. M., and Osmond, C. B. (1995) Photosystem II regulation and dynamics of the chloroplast D1 protein in Arabidopsis leaves during photosynthesis and photoinhibition, *Plant Physiol.* 107, 943-952.
28. Havaux, M., Strasser, R. J., and Greppin, H. (1991) A theoretical and experimental analysis of the qP and qN coefficients of chlorophyll fluorescence quenching and their relation to photochemical and nonphotochemical events. *Photosynthesis Research* 27, 41-55.
29. Hassan, A., Predrag, L., Irina, P., Omar, S., Uri, Cogan, and Arieh, B. (2005) Fertilization-induced changes in growth parameters and antioxidant activity of medicinal plants used in traditional arab medicine, *Advance Access Publication* 2(4), 549-556.
30. Atkin, O. K., Evans, J. R., Ball, M. C., Lambers, H., and Pons, T. L. (2000) Leaf respiration of Snow Gum in the light and dark interactions between temperature and irradiance, *Plant Physiol.* 122, 915-923.