UV-B가 강낭콩(*Phaseolus vulgaris* L.)의 지방산 구성, 지질과산화 및 polyamine 함량에 미치는 영향

김 학 윤*

대구광역시 달서구 신당동 1000번지 계명대학교 환경대학

Received March 21, 2006 / Accepted April 25, 2006

Effect of UV-B on Fatty Acid Composition, Lipid Peroxidation and Polyamine in Kidney Bean (*Phaseolus vulgaris* L.), Hak Yoon Kim*, *Department of Environmental Studies, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea.* – To investigate the effects of UV-B on fatty acid composition, lipid peroxidation and biochemical defense responses of plant, kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) was subjected to enhanced UV-B irradiation [daily dose : 0.02 (No UV-B) and 11.36 (enhanced UV-B) kJ m^{-2} ; $UV\text{-}B_{BE}$] for 3 weeks. UV-B drastically inhibited both height and dry weight of kidney bean. The content of malondialdehyde significantly increased by about 50% after 3 weeks of UV-B irradiation. The ratio of unsaturated to saturated fatty acids of kidney bean was increased by UV-B irradiation. Three major polyamines of kidney bean leaves : putrescine, spermidine and spermine, were observed. All of the polyamine contents were increased with UV-B irradiation. These results suggested that enhanced UV-B radiation caused oxidative stress on lipids and biochemical protection responses might be activated to prevent from damaging effects of oxidative stress generated by UV-B irradiation.

Key words – Fatty acid, kidney bean, malondialdehyde, polyamines, UV-B

서 론

오존층 파괴로 인한 자외선(UV-B; ultraviolet-B radiation, 280~320 nm) 증가가 심각한 지구환경 문제로 대두되고 있다[14]. UV-B의 증가는 식물의 생육뿐만 아니라 여러 가지 생리·생화학적 대사과정에 장해를 일으킨다. 특히 UV-B 증가는 광합성 억제, 호르몬 분해, DNA의 직접적인 손상, 지질과산화 등을 일으키며, 주요 농작물의 수량 감소를 초래한다[16]. 일부 식물에서 UV-B에 의한 활성산소 생성과 이로 인한 산화스트레스의 가능성이 제기되고 있다[11]. 식물은 각종 스트레스로부터 생성된 활성산소를 무독화하기 위한 생화학적 방어기구를 가지고 있으며, 여기에는 superoxide dismutase 등을 포함한 여러 종류의 항산화효소와 ascorbic acid와 glutathione 등과 같은 항산화물질들이 관여되어 있다[6]. 식물체내에서 환경스트레스에 의해 활성산소가 생성되면 그 일차적인 표적은 생체막일 가능성이 있다[7,12]. 특히 엽록체 막의 지질은 활성산소에 의해 쉽게 파괴 또는 변형되며[7], 일부식물에서 UV-B에 의한 엽록체 지질의 감소와 개별 극성지질의 비율이 바뀌는 것으로 보고되어 있다[12]. Polyamine은 항 노화물질로 알려져 있으며 생체막의 지질과산화 억제에 관여하는 것으로 알려져 있다[18]. 특히 오존이나 저온과 같은 환경스트레스 처리에 의한 식물 피해가 외부에서 주입된 polyamine에 의해 경감되는 것으로 나타났다[8].

본 연구는 강낭콩 식물을 이용하여 UV-B가 활성산소 생성에 의한 산화스트레스를 일으키는지 조사하기 위하여 활성산소의 일차적인 표적일 가능성이 있는 생체막 지질의 과산화 정도와 지질 조성의 변화를 조사함과 동시에 이를 막기 위한 식물의 방어기작을 조사하기 위하여 수행하였다.

*Corresponding author
Tel : +82-53-580-5918, Fax : +82-53-580-5385
E-mail : hykim@kmu.ac.kr

재료 및 방법

공시식물

강낭콩(*Phaseolus vulgaris* L.) 종자를 1일간 25℃의 광 상태에서 발아시킨 후, 1 kg의 배양상토(N : P_2O_5 : K_2O = 0.21 : 0.41 : 0.38)를 담은 플라스틱 포트에 1개체씩 파종하여 인공기상실에서 생육시켰다. 인공기상실 내의 온도는 낮(7시~18시)이 28℃, 밤(18시~7시)이 20℃였으며, 습도는 주야간 공히 70±5%를 유지하였다.

UV-B 조사

UV-B 조사는 Kim 등에 의해 고안된 자외선 조사 장치를 사용하였다[11]. UV-B 조사장치는 각 처리구 당 8개의 자외선램프(Toshiba sunlamp, FL 20 SE, Japan)로 구성되어 있다. 자외선램프는 UV-B (280~320 nm) 영역뿐만 아니라 UV-C (200~280 nm) 영역의 광도 포함하고 있기 때문에 무처리구에는 0.13 mm 두께의 Mylar D 필름(DuPont Co., Wilmington, DE, USA)을 램프에 감아 313 nm 이하의 자외선을 제거하였으며, UV-B 처리구에는 0.13 mm 두께의 cel-

lulose diacetate 필름(Cadillac Plastics Co., Baltimore, MD, USA)을 램프에 감아 290 nm 이하의 자외선을 제거하였다. 필름은 1주에 1회 교환하였으며 파종 7일후부터 1일 6시간(10시~16시) 씩 3주간 UV-B 조사 실험을 수행하였다. 자외선 램프와 식물체와의 간격은 식물 생장에 맞추어 40 cm를 유지시켰다. UV-B의 강도는 분광방사계(MSR-7000, OptResearch Co., Tokyo, Japan)로 측정하여, Caldwell에 의해 제시된 UV-B의 생물학적 영향량(UV-B_{BE}, biologically effective UV-B)으로 환산하여 나타내었다[4].

생장측정

3주간의 UV-B 처리 후 각 처리별 6개체를 수확하여 초장, 건물중 및 엽면적을 조사하였다.

Malondialdehyde (MDA) 함량 측정

MDA 함량은 Heath와 Packer의 방법에 따라 1 g의 제 3본엽을 채취하여 6 ml의 증류수를 넣어 마쇄한 후, 20% trichloroacetic acid와 0.5% thiobarbituric acid로 반응시킨 후, 532 nm와 600 nm에서의 흡광도를 조사하여 그 함량을 측정하였다[9].

Ascorbic acid 및 glutathione 함량 측정

약 10 cm^2의 제 3본엽을 채취하여 10 ml의 methaphosphoric acid 용액으로 추출하여 Bolin과 Book의 방법에 의해 환원형인 ascorbic acid (AsA)와 산화형인 dehydroascorbic acid (DHA)의 함량을 측정하였다[3]. Glutathione 함량은 Law 등의 방법에 따라 환원형 glutathione (GSH) 및 산화형 glutathione (GSSG)의 함량을 측정하였다[13].

Polyamine 분석

Polyamine 함량은 1 g의 제 3본엽을 채취하여 10 ml의 0.5M $HClO_4$를 넣어 추출한 후, *Flores*와 *Galston*의 방법에 따라 HPLC(Shimadzu LC-6A)를 이용하여 분석하였다[17].

Fatty acid 분석

약 1 g의 건조 시료를 40 ml의 ethyl ether와 표준물질로서 10 mg의 tridecanoic acid ($C_{13:0}$)를 넣고 30℃에서 5시간 동안 진탕한 후, 40℃에서 감압 농축하였다. 농축된 시료를 Metcalfe 등의 방법에 따라 메틸화시킨 후 GC (Shimadzu GC-9A)를 이용하여 분석하였다[15].

결과 및 고찰

각 처리구별 일일 평균 UV-B_{BE}량을 Table 1에 나타내었다. 무처리구는 0.02 kJ m^{-2}, UV-B 처리구는 11.36 kJ m^{-2}로 나타났으며, UV-B 처리구에서의 UV-B_{BE} 강도를 Björn과 Murphy의 모델에 의해 계산하면, 서울 상공 오존층의 약 35% 감소 시에 지상에 도달하는 UV-B 량에 상응한 것으로 나타났다[2].

본 실험에서 UV-B는 강낭콩 식물의 생장억제 및 극심한 황백화현상(chlorosis)을 일으키는 것으로 나타났다. 3주간의 UV-B 처리 후 각 처리별 6개체를 선발하여 초장, 엽면적 및 건물중을 조사한 결과를 Table 2에 나타내었다. 초장의 경우 UV-B 처리에 의해 약 22% 정도 감소하는 것으로 나타났으며, 엽면적 및 건물중도 약 30% 정도 감소하는 것으로 나타났다. UV-B에 의한 강낭콩 식물의 생장 감소는 벼를 이용한 3주간의 UV-B (13.0 kJ m^{-2} d^{-1}) 실험에서 약 20%의 엽면적 및 건물중 감소를 보인 Dai 등[5]의 결과보다 감소율이 큰 것으로 나타났으나, 오이를 이용한 UV-B (11.6 kJ m^{-2} d^{-1}) 조사 실험에서 약 60% 전후의 엽면적 및 건물중 감소를 보인 김 등[10]의 결과보다 적은 감소를 나타내었다.

식물은 여러 가지 환경스트레스에 노출되었을 때 활성산소 생성에 의한 산화스트레스를 일으키는 것으로 보고되어 있다[6,7,11]. 특히 생체막의 구성성분인 지질은 산화스트레스에 민감하게 반응하는 부분으로 알려져 있다[12]. 본 실험에서 지질과산화 산물인 MDA 함량이 UV-B 처리에 의해 약 50% 정도 증가하는 것으로 나타났다(Table 3). 이 결과는 생체막의 지질이 UV-B의 잠재적인 표적임을 시사하며, UV-B 조사 증가가 강낭콩 잎에 산화스트레스를 일으켜 그로 인해 막지질의 과산화가 일어난 것으로 사료된다.

Ascorbate acid 와 glutathione은 여러 종류의 환경스트레스에 의해 생성된 활성산소(O_2^- 또는 H_2O_2 등)의 무독화에 관여하는 항산화물질로 알려져 있다[6]. 일부 식물에서 항산화물질의 함량 차이는 환경스트레스에 대한 감수성

Table 1. Average daily integral of UV-B_{BE}[a] 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_{BE} (kJ m^{-2})
No UV-B	0.02
UV-B	11.36

[a]UV-B_{BE} : biologically effective UV-B radiation

Table 2. Effects of UV-B irradiation on growth parameters of kidney bean plants

Parameters	UV-B treatments	
	No UV-B	UV-B
Plant height, cm	31.1±2.2	24.2±1.9*
Leaf area, cm^2	422.7±25.3	295.1±18.6*
Plant dry weight, g	2.5±0.2	1.8±0.1*

Each value is mean±SE of 6 plants.
*represents significant difference at $p < 0.05$.

Table 3. Effects of UV-B irradiation on malondialdehyde (MDA), glutathione and ascorbic acid contents of kidney bean plants

Treatment	MDA ($\mu g\ g^{-2}$)	Ascorbic acid ($\mu g\ cm^{-2}$)			Glutathione ($\mu g\ cm^{-2}$)		
		AsA	DHA	DHA/AsA	GSH	GSSG	GSSG/GSH
No UV-B	35.8±3.4	4.3±0.2	7.7±0.4	1.8±0.5	4.7±0.4	5.3±0.6	1.1±0.5
UV-B	53.1±4.5*	3.5±0.3*	8.6±0.4*	2.5±0.4*	3.7±0.4*	6.0±0.5*	1.6±0.4*

Each value is mean±SE of 4 plants.
*represents significant difference at $p < 0.05$.
AsA, ascorbic acid; DHA, dehydroascorbic acid; GSH, reduced glutathione ; GSSG, oxidized glutathione.

Table 4. Galactolipid fatty acid content and ratio of unsaturated to saturated (u/s) fatty acids of kidney bean plants

Treatments	Galactolipid fatty acids (%)						Ratio
	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	u/s
No UV-B	7.10	1.31	1.73	0.59	4.23	85.06	10.33
UV-B	8.31	1.18	1.87	0.56	4.76	83.34	8.83

Each value is mean±SE of 4 plants.

Table 5. Phospholipid fatty acid content and ratio of unsaturated to saturated (u/s) fatty acids of kidney bean plants

Treatments	Phospholipid fatty acids (%)						Ratio
	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	u/s
No UV-B	26.09	6.24	3.25	4.54	10.18	49.70	2.41
UV-B	27.45	5.67	3.30	5.14	10.23	48.21	2.25

Each value is mean±SE of 4 plants.

차이와 깊은 관련이 있는 것으로 보고되어 있다[11]. 본 실험에서 UV-B 처리에 의해 환원형인 AsA의 함량이 감소하고 산화형인 DHA 함량이 증가하는 것으로 나타났으며, 산화스트레스에 의한 피해 정도를 나타내는 DHA/AsA의 비율이 UV-B 처리에 의해 약 45% 정도 증가된 것으로 나타났다(Table 3). 이와 같은 DHA/AsA 비율의 증가는 UV-B에 의해 활성산소가 생성되어 산화스트레스가 일어남을 시사하며, 이를 무독화하기 위해 AsA가 산화된 것으로 사료된다.

UV-B 조사에 의한 glutathione 함량 변화도 ascorbate acid와 유사한 경향을 나타내었다. 3주간의 UV-B 처리에 의해 환원형인 GSH 함량이 감소하고 산화형인 GSSG 함량이 증가하는 것으로 나타나, GSSG/GSH의 비율이 높아지는 것으로 나타났다.

UV-B에 의한 식물의 피해는 광합성 억제와 관련이 있다[16]. 특히 UV-B 조사는 일부 식물에서 엽록체의 막 구조를 변화시키는 것으로 나타났으며[7], UV-B 조사에 의해 엽록체 총 지질의 감소와 개별 극성 지질의 비율 변화를 야기한다고 보고되고 있다[12]. 본 실험에서 강낭콩 잎의 지방산 구성에 미치는 UV-B의 영향을 Table 4, 5에 나타내었다. 당지질의 경우 UV-B 처리에 의해 포화지방산(16:0, 18:0)이 증가하는 것에 반해, 불포화지방산(16:1과 18:3 등)이 감소하는 것으로 나타나, 포화지방산에 대한 불포화지방산의 비율이 감소하는 것으로 나타났다(Table 4).

UV-B 조사에 의한 인지질의 구성도 당지질 구성변화와 유사한 경향을 나타내었다. UV-B 조사에 의해 포화지방산(16:0, 18:0)이 증가하고 불포화지방산(16:1, 18:3 등)이 감소하는 것으로 나타나, 포화지방산에 대한 불포화지방산의 비율이 감소하는 것으로 나타났다(Table 5). UV-B 조사에 의한 지방산 구성의 변화는 밀을 이용한 An 등[1]의 실험에서 포화지방산에 대한 불포화지방산이 감소한 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 본 실험 결과로 볼 때, UV-B 조사는 생체막 지질에 직접적인 영향을 미치는 것으로 나타났으며, UV-B 조사에 의한 지질과산화 지표물질인 MDA 함량의 증가와 불포화 지방산의 감소와는 밀접한 관련이 있는 것으로 나타났다.

Polyamine은 일반적으로 항 노화물질로 알려져 있으며, 생체막의 지질과산화를 억제하는 것으로 알려져 있다[18]. 본 실험 결과 강낭콩 잎에는 주로 3종류 putrescine (Put), spermidine (Spd), spermine (Spm)의 polyamine이 존재하는 것으로 나타났다 (Fig. 1). 3종류의 polyamine 모두 UV-B 조사에 의해 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 가장 많이 존재하는 Spd의 경우 약 34%의 함량 증가를 나타내었다. Polyamine의 항산화작용은 외부에서 투입한 polyamine에 의해 ozone 및 chilling에 의한 피해가 경감된다는 보고에서 잘 나타나 있으며[8], polyamine의 피해 경감효과는

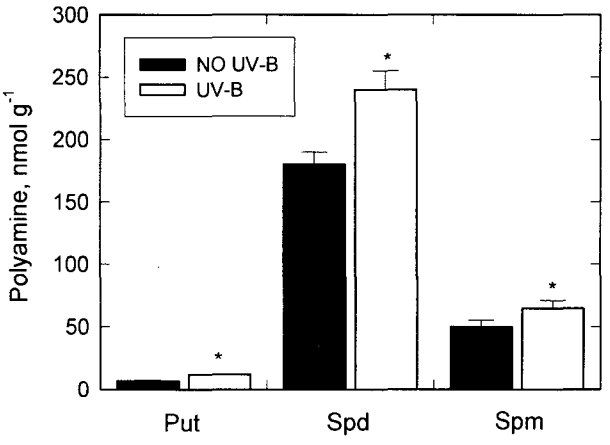

Fig. 1. Effects of UV-B irradiation on polyamine levels in kidney bean plants. Each value is mean±SE of 4 plants.
*represents significant difference at $p < 0.05$.
Put, putrescine; Spd, spermidine; Spm, spermine.

막구조의 안정화, 지질과산화의 억제와 깊은 관련이 있는 것으로 보고되어 있다[18]. 따라서 강낭콩을 이용한 본 실험에서 UV-B 조사에 의한 polyamine 함량의 증가는 UV-B에 의한 지질과산화 피해를 경감시키기 위한 방어작용으로 사료된다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, UV-B 조사는 강낭콩의 생육억제, 지질과산화 및 지방산 구성 변화를 일으키는 것으로 나타났으며, ascorbate acid와 glutathione, polyamine 등의 항산화 물질들이 피해를 최소화하기 위한 방어기작으로 작용하는 것으로 나타났다.

요 약

UV-B에 의한 강낭콩 식물의 피해양상, 지질과산화, 지질조성 변화와 UV-B에 대한 식물의 방어기작 등을 조사하기 위하여 3주간 UV-B 조사 실험을 수행하였다. UV-B 처리에 의해 초장이 약 22% 정도 감소하는 것으로 나타났다. MDA 함량은 UV-B 처리에 의해 약 50% 정도 증가하는 것으로 나타났다. Glutathione 및 ascorbate acid 함량은 UV-B 조사에 의해 산화형이 증가하고 환원형이 감소하는 것으로 나타났다. UV-B 조사에 의한 지방산 구성 변화를 조사한 결과 당지질 및 인지질 모두 UV-B 조사에 의해 포화지방산이 증가하는 것에 반해, 불포화지방산이 감소하는 것으로 나타났다. 강낭콩 잎에는 주로 3종류의 polyamine이 존재하는 것으로 나타났으며, 3종류 모두 UV-B 조사에 의해 증가하는 것으로 나타났다.

본 실험 결과로 볼 때, UV-B 조사는 활성산소를 생성하여 생체막 지질에 직접적인 영향을 미치는 것으로 나타났으며, ascorbate acid, glutathione, polyamine 등의 항산화물질들이 이에 대한 피해를 최소화하기 위하여 작용하는 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2004년도 계명대학교 비사연구기금으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. An, L., H. Feng, X. Tang and X. Wang. 2000. Changes of microsomal membrane properties in spring wheat leaves (*Triticum aestivum* L.) exposed to enhanced ultraviolet-B radiation. *J. Photochem. Photobio.* **57**, 60-65.
2. Björn, L. O. and T. M. Murphy. 1985. Computer calculation of solar ultraviolet radiation at ground level. *Physiol. Veg.* **23**, 555-561.
3. Bolin, D. W. and L. Book. 1974. Oxidation of ascorbic acid to dehydroascorbic acid. *Science* **106**, 451.
4. Caldwell, M. M. 1971. Solar UV radiation and the growth and development of higher plants. pp. 131-177. In Photophysiology (Giese, A. C. ed.). Vol. **6**, Academic Press, N.Y..
5. Dai, Q., V. P. Coronel, B. S. Vergara, P. W. Barnes and A. T. Quintos. 1992. Ultraviolet-B radiation effects on growth and physiology of four rice cultivars. *Crop Sci.* **32**, 1269-1274.
6. Elstner, E. F. 1982. Oxygen activation and oxygen toxicity. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **33**, 73-96.
7. 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.
8. Groppa, M. D., L. T. Maria and M. P. Benavides. 2001. Polyamines as protectors against cadmium or copper-induced oxidative damage in sunflower leaf discs. *Plant Sci.* **161**, 481-488.
9. 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.
10. Kim, H. Y., I. J. Lee, D. H. Shin and K. U. Kim. 1998. Effects of different UV-B levels on the growth, photosynthesis and pigments in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Kor. J. Life Sic.* **8**, 272-278.
11. Kim, H. Y., K. Kobayashi, I. Nouchi and T. Yoneyana. 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.
12. Kramer, G. F., H. A. Norman, D. T. Krizek, R. M. Mirecki. 1991. Influence of UV-B radiation on polyamines, lipid peroxidation and membrane lipid in cucumber. *Phytochemistry* **30**, 2101-2108.
13. Law, N. Y., S. A. Charles and B. Halliwell. 1983.

Glutathione and ascorbic acid in spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplasts. The effect of hydrogen peroxide and paraquat. *Biochem. J.* **210**, 899-903.
14. Madronich, S., R. L. Nckenzie, M. M. Caldwell and L. O. Björn. 1995. Changes in ultraviolet radiation reaching the earth' s surface. *AMBIO* **24**, 143-152.
15. Norman H. A., D. T. Krizek and R. M. Mirecki. 2001. Changes in membrane lipid and free fatty acid composition during low temperature preconditioning against SO_2 injury in coleus. *Phytochemistry* **58**, 263-268.
16. Tevini, M. 1990. Molecular biological effects of ultraviolet radiation. pp. 125-154. In UV-B radiation and ozone depletion. Lewis Publisher.
17. Velikova, V., I. Yordanova and A. Edrevab. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. *Plant Sci.* **151**, 59-66.
18. Walters, D. R. 2003. Polyamines and plant disease. *Phytochemistry* **64**, 97-107.