

인공산성비가 봉선화(*Impatiens balsamina* L.)의 지방산 구성 및 항산화 작용에 미치는 영향

김 학 윤^{1*}

Effect of Simulated Acid Rain on Fatty Acid Composition and Antioxidant System in Garden Balsam (*Impatiens balsamina* L.)

Hak Yoon Kim^{1*}

ABSTRACT The effects of simulated acid rain (SAR) on fatty acid composition and biochemical defense responses of plant was investigated. Garden balsam (*Impatiens balsamina* L.) was exposed to four pH levels (5.6, 4.0, 3.0, 2.0) of SAR and placed in the growth chambers for 2 weeks. SAR drastically inhibited chlorophyll content of garden balsam. The level of H₂O₂ was significantly increased by SAR. As pH levels decreased from 5.6 to 2.0, the ratio of unsaturated to saturated fatty acids of garden balsam was increased. Changes of three major polyamines (putrescine, spermidine and spermine) of garden balsam leaves were observed. All of the polyamine contents were increased with SAR. Catalase activities of the plant affected by SAR were increased as the pH decreased. The results indicate that the application of SAR generates oxidative stresses from the garden balsam and retards the plant growth significantly. A biochemical protect mechanism might be activated to neutralize the oxidative stresses generated through SAR.

Key words: catalase; fatty acid; H₂O₂; polyamine; simulated acid rain.

서 언

1974년 스코틀랜드에서 pH 2.4의 산성비가 기록된 이래(Huh와 Huh 1998), 세계 여러 곳에서 산성비의 관측이 보고되고 있다. 최근 중국 동남부 지역의

급격한 공업화로 인해 다량의 산성 물질이 우리나라로 확산되고 있으며, 우리나라 지표에 떨어지는 전체 황(S) 성분 중 51~94%가 중국에서 발생하여 이동한 것으로 보고되어 있다(NIER 2007). 산성비는 직·간접적으로 식물에 악영향을 미친

¹ 계명대학교 지구환경학과, 704-701 대구광역시 달서구 신당동 1000번지(Department of Global Environment, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea).

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

(Received June 8, 2011; Examined June 17, 2011; Accepted June 20, 2011)

다. 식물 잎의 큐티클층을 손상시켜 Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^{+} 등과 같은 생체 유용성분들을 용출시키며(Luxmoore 등 1981), 엽육세포의 파괴로 비정상적인 생장을 초래한다(Evans와 Curry 1979). 산성비는 엽록소를 파괴하여 광합성을 억제하고, 각종 대사작용을 교란시켜 식물에 황화(chlorosis) 및 괴사(necrosis)를 일으킨다(Haines 등 1980). 또한 산성비는 토양 산성화를 유도하여 토양 영양염류를 용탈시키고 미생물의 생장변화를 조장하여 식물 생육환경을 악화시킨다(Nouchi 1991).

일부 식물에서 산성비에 의한 활성산소 생성과 이로 인한 산화스트레스의 가능성이 제기되고 있다(Koricheva 등 1997; Kim 2005). 식물체내에 활성산소가 생성되면 그 일차적인 표적은 생체막일 가능성이 높다(Foyer 등 1994; Zeeshan과 Prasad 2009). 특히 엽록체의 막 지질은 활성산소에 의해 쉽게 파괴 또는 변형되며(Yan 등 2010), 일부식물에서 환경스트레스에 의해 엽록체의 지질이 감소하고 개별 극성지질의 비율이 바뀌는 것으로 보고되어 있다(Zeeshan과 Prasad 2009). 식물은 각종 스트레스로부터 생성된 활성산소(O_2^- , H_2O_2 , $\cdot\text{OH}$, $^1\text{O}_2$)를 무독화하기 위한 생화학적 방어기구를 가지고 있으며, 여기에는 superoxide dismutase(SOD), catalase 등을 포함한 여러 종류의 항산화효소와 항산화물질들이 관여되어 있다(Wyrwicka와 Sklodowska 2006; Gao와 Zhang 2008).

Polyamine은 항노화물질로 알려져 있으며 생체막의 지질과산화 억제에 관여하는 것으로 보고되어 있다(Walters 2003). 특히 오존이나 저온과 같은 환경스트레스에 의한 식물 피해가 외부에서 주입된 polyamine에 의해 경감되는 것으로 나타났다(Velikova 등 2000; Wang 등 2007).

본 연구는 우리나라 어디에서나 자생하며, 산성비에 비교적 높은 감수성을 보이는 것으로 보고된(Kim 등 2000) 초본식물인 봉선화를 대상으로 H_2O_2 의 함량 변화와 생체막 지질의 조성 변화를 조사하여 산성비에 의한 산화스트레스 생성 여부와 이를 막기 위한 식물의 방어기작을 조사하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

공시식물

봉선화(*Impatiens balsamina* L.) 종자를 2% sodium hypochloride 용액으로 표면 살균하고 세척한 후, 500g의 배양상토(N : P_2O_5 : K_2O = 0.21g : 0.41g : 0.38g)를 넣은 플라스틱 포트에 1개체씩 파종하여 인공기상실에서 생육시켰다. 인공기상실 내의 온도는 낮(7시~19시)이 30℃, 밤(19시~7시)이 20℃이었으며, 습도는 주야간 공히 70±5%를 유지하였다. 3주 동안 생육시킨 건전한 식물체를 선발하여 공시식물로 사용하였다.

인공산성비 제조 및 처리

인공산성비의 제조는 Singh와 Agrawal(1996)의 방법에 따라 1N H_2SO_4 와 1N HNO_3 를 이용하여 pH가 각각 2.0, 3.0, 4.0인 용액을 만들어 사용하였으며, 대조구는 일반적으로 산성비의 기준이 되는 pH 5.6 용액을 제조하여 사용하였다.

인공산성비 처리는 각 pH 농도별 용액을 3일 간격으로 자연 강우와 같이 식물체가 완전히 젖을 정도로 처리하였다.

엽록소(Chlorophyll) 함량 측정

인공산성비가 봉선화 잎의 엽록소 함량에 미치는 영향을 조사하기 위하여, 2주간 산성비를 처리한 봉선화 잎 1g을 채취하여 99.5% ethanol에 넣고 4℃의 암상태에서 48시간 추출하였다. 엽록소 함량은 spectrophotometer(UV-1200, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 이용하여 Knudson 등(1977)의 방법에 따라 664nm 및 649nm에서 흡광도를 측정하여 함량을 조사하였다.

Hydrogen peroxide(H_2O_2) 정량 분석

2주간의 인공산성비 처리 후, 1g의 봉선화 잎을 채취하여 액체질소로 동결분쇄하고 5ml의 20mM K-phosphate buffer(pH 7.0)를 첨가하여 추가로 마쇄한 다음, 15분간 원심분리(12,000g)하여 그 상정액을 함량분석에 이용하였다. H_2O_2 의 정량분석은 Lee 등

(1999)의 방법의 따라 0.02% dianisidine 250ul, 5unit의 peroxidase(RZ3.1)/100mM potassium phosphate buffer(pH 6.0) 250ul 및 상징액 700ul를 혼합하여, 30°C에서 10분간 peroxidase와 dianisidine으로 반응을 시킨 뒤, 1N perchloric acid 200ul를 첨가하여 반응을 중지시켰다. 각각의 샘플은 재차 원심분리 후 그 상징액을 흡광도 436nm에서 UV-spectrophotometer로 측정하여 H₂O₂의 함량을 결정하였다.

Polyamine 함량 분석

Polyamine 함량 분석을 위하여 2주간의 인공산성비를 처리한 봉선화 잎 1g을 채취하여 10ml의 0.5M HClO₄를 넣어 추출한 후, Walters(2003)의 방법에 따라 HPLC(Shimadzu LC-6A)를 이용하여 분석하였다.

Fatty acid 분석

인공산성비를 처리한 봉선화 잎의 건조 시료 1g을 40ml의 ethyl ether와 표준물질로서 10mg의 tridecanoic acid(C_{13:0})를 넣고 30°C에서 5시간 동안 진탕한 후, 40°C에서 감압 농축하였다. 농축된 시료를 Norman 등(2001)의 방법에 따라 메틸화시킨 후 GC(Shimadzu GC-9A)를 이용하여 분석하였다.

Catalase 활성 측정

2주간의 인공산성비를 처리한 1g의 잎을 potassium phosphate buffer(pH 7.8)를 넣고 마쇄한 후, 4°C에서 20분간 원심분리(20,000g)하여 얻은 상등액을 효소 활성분석에 사용하였다. Catalase 활성도는 Chance와 Machiy(1955)의 방법에 따라 H₂O₂의 기질이 분해되는 흡광도 240nm(39.4mM⁻¹cm⁻¹)의 감소 값을 측정하여 산출하였다.

통계처리

측정치에 대한 통계처리는 one-way ANOVA에 의해 분석하고, 평균은 Tukey HSD에 의한 다중비교를 하였다(5% 유의수준).

결과 및 고찰

일반적으로 산성비는 식물 잎에 황화 및 괴사를 일으키는 것으로 보고되어 있다(Haines 등 1980). 본 실험에서 2주간의 인공산성비 처리는 봉선화에 극심한 가지피해와 생육억제를 초래하였으며, 인공산성비의 pH가 낮아질수록 피해는 심한 것으로 나타났다(그림 1). 특히 pH 3.0 이하의 인공산성비 처리에 의해 암회색 또는 적갈색의 괴사 반점이 생성되었으며, 이러한 결과는 초본식물의 경우 대부분 pH 3.5 이하에서 가지피해가 일어난다고 보고한 Lee 등(1981)의 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

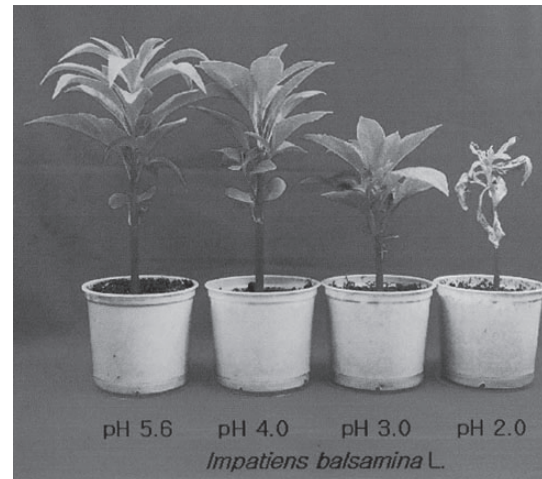


Fig. 1. Effects of simulated acid rain on the growth of garden balsam.

엽록소의 파괴 및 생합성 억제체는 산성비의 전형적인 피해 현상으로 분류된다(Ferenbaugh 1976). 오이를 이용한 실험에서 산성비에 의한 엽록소 함량 감소(Wyrwicka와 Sklodowska 2006)와 각 엽록소 단위당 광합성 활력 저하가 보고되어 있다(Neves 등 2009). 본 실험에서 인공산성비의 pH가 낮아짐에 따라 엽록소 함량이 감소하는 것으로 나타나 pH 2.0 처리에서는 대조구인 pH 5.6 처리에 비하여 약 50% 전후의 엽록소 함량 감소를 나타내었다(그림 2). 엽록소는 빛에너지를 흡수하는 광 수용체이므로, 인공산성비에 의한 엽록소 감소는 광합성 저하 및 건물생산의 저하로 이어질 것으로 추측된다.

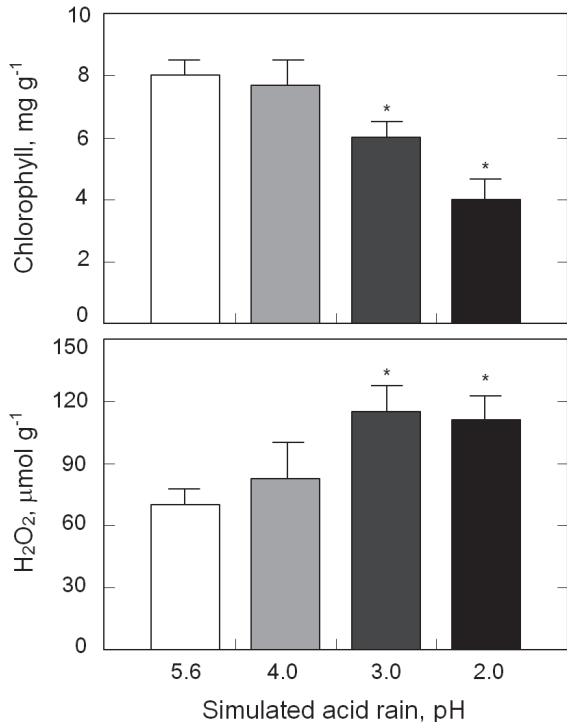


Fig. 2. Effects of simulated acid rain on contents of chlorophyll and H₂O₂ of leaves of garden balsam. Each value is mean ± SE of 6 plants. Asterisk(*) represents significant difference at p<0.05.

산성비는 식물에 유해한 활성산소를 생성시키는 것으로 추정되고 있다(Koricheva 등 1997; Kim 2005). 이를 확인하기 위해 인공산성비 처리에 의한 H₂O₂의 생성량을 조사하였다(그림 2). H₂O₂ 함량은 pH 4.0 처리부터 증가하였으며, pH 3.0 및 pH 2.0 처리에서 대조구인 pH 5.6 처리에 비하여 약 60% 정도 증가하였다(그림 2). H₂O₂는 superoxide를 SOD

가 소거한 결과로 생성된 것으로 그 자체로는 세포에 미치는 해는 적으나 Fe²⁺와 반응하여 산화력이 매우 높은 hydroxy radical을 생성하여 생체막의 과산화를 일으키는 것으로 알려져 있다(Lee 등 1999). 또한 산성비에 의한 지질과산화 산물인 malondialdehyde 함량 증가가 봉선화를 이용한 Kim(2005)의 실험에서 보고되어 있는데 이를 종합해볼 때 인공산성비에 의해 활성산소의 일종인 H₂O₂가 생성되고 이로 인해 생체 막 지질의 변화가 일어날 것으로 추측된다.

생체내의 막 지질은 활성산소 생성에 민감하게 반응하는 부분으로 알려져 있다(Foyer 등 1994; Zeeshan 과 Prasad 2009). 특히 활성산소에 의해 엽록체의 막 지질이 파괴 또는 변형되며, 이는 산성비에 의한 광합성 억제와 관련이 있을 것으로 사료된다(Zeeshan과 Prasad 2009; Yan 등 2010).

봉선화 잎의 지방산 구성에 미치는 인공산성비의 영향을 표 1, 2에 나타내었다. 당지질의 경우 포화지방산인 16 : 0의 비율이 pH 2.0 처리에서 8.41%를 나타내어 대조구인 pH 5.6 처리의 7.05%에 비해 약 20% 증가하였다. 또 다른 포화지방산인 18 : 0의 비율도 pH 2.0 처리에서 1.74%를 나타내어 pH 5.6 처리의 2.04%에 비하여 17% 증가한 것으로 나타났다. 한편 불포화지방산인 16 : 1 및 18 : 3의 비율의 경우 포화지방산과 반대의 경향을 나타내었다. 16 : 1의 비율이 pH 2.0 처리에서 1.05%를 나타내어 대조구인 pH 5.6 처리의 1.28%에 비해 약 22% 감소하는 것으로 나타났으며, 18 : 3의 비율도 pH 2.0 처리에서 83.00%를 나타내어 대조인 pH 5.6 처리의 85.12%에 비해 약 3% 감

Table 1. Effect of simulated acid rain on galactolipid fatty acid content and ratio of unsaturated to saturated (u/s) fatty acids in leaves of garden balsam.

Simulated acid rain (pH)	Galactolipid fatty acids ¹⁾ (%)						Ratio u/s
	16 : 0	16 : 1	18 : 0	18 : 1	18 : 2	18 : 3	
5.6	7.05	1.28	1.74	0.61	4.20	85.12	10.38
4.0	7.68	1.22	1.80	0.60	4.31	84.39	9.55
3.0	8.23	1.08	1.92	0.65	4.83	83.20	8.77
2.0	8.41	1.05	2.04	0.63	4.85	83.00	8.57

¹⁾Each value is mean of 4 plants.

Table 2. Effect of simulated acid rain on phospholipid fatty acid content and ratio of unsaturated to saturated (u/s) fatty acids in leaves of garden balsam.

Simulated acid rain (pH)	Phospholipid fatty acids ¹⁾ (%)						Ratio u/s
	16 : 0	16 : 1	18 : 0	18 : 1	18 : 2	18 : 3	
5.6	25.88	6.28	3.19	4.98	10.12	49.55	2.44
4.0	26.06	6.26	3.24	5.01	10.11	49.32	2.41
3.0	27.45	5.67	3.33	5.13	10.22	48.20	2.25
2.0	27.98	5.42	3.45	5.30	10.10	47.75	2.18

¹⁾Each value is mean of 4 plants.

소하는 것으로 나타났다. 즉 당지질의 경우 인공산성비 처리에 의해 포화지방산(16 : 0, 18 : 0) 비율이 증가하는 것에 반해, 불포화지방산(16 : 1과 18 : 3 등) 비율의 감소를 보였으며, 이에 따라 포화지방산에 대한 불포화지방산의 비율이 pH 2.0 처리에서 8.57을 나타내 대조구인 pH 5.6 처리의 10.38에 비해 약 17.5% 감소한 것으로 나타났다(표 1).

인공산성비에 의한 인지질의 구성도 당지질의 구성 변화와 유사한 경향을 나타내었다(표 2). 인지질의 포화지방산인 16 : 0 및 18 : 0의 비율이 pH 5.0 처리에서 각각 25.88% 및 3.19%를 나타내었으나, pH 2.0 처리에서 각각 27.98% 및 3.45%를 나타내어 인공산성비의 pH가 낮아짐에 따라 증가하는 것으로 나타났다. 또한 불포화지방산인 16 : 1 및 18 : 3의 비율은 pH 5.6 처리에서 각각 6.28% 및 49.55%를 나타내었으나 pH 2.0 처리에서 각각 5.42% 및 47.75%를 나타내어 인공산성비의 pH가 낮아짐에 따라 감소하는 것으로 나타났다. 이에 따라 인지질의 포화지방산에 대한 불포화지방산의 비율이 pH 2.0 처리에서 2.18을 나타내어 대조인 pH 5.6 처리의 2.44에 비해 약 11% 감소하는 것으로 나타났다(표 2).

인공산성비에 의한 지방산의 비율 변화와 포화지방산에 대한 불포화지방산의 감소는 콩과 밀을 이용한 UV-B 실험 결과와 유사한 경향을 나타내고 있으며(An 등 2000; Kim 2006), 인공산성비 처리가 생체막 지질에 직접적인 영향을 미치는 것으로 사료된다.

Polyamine은 일반적으로 항 노화물질로 알려져 있으며, 생체막의 지질과산화물을 억제하는 것으로 알려

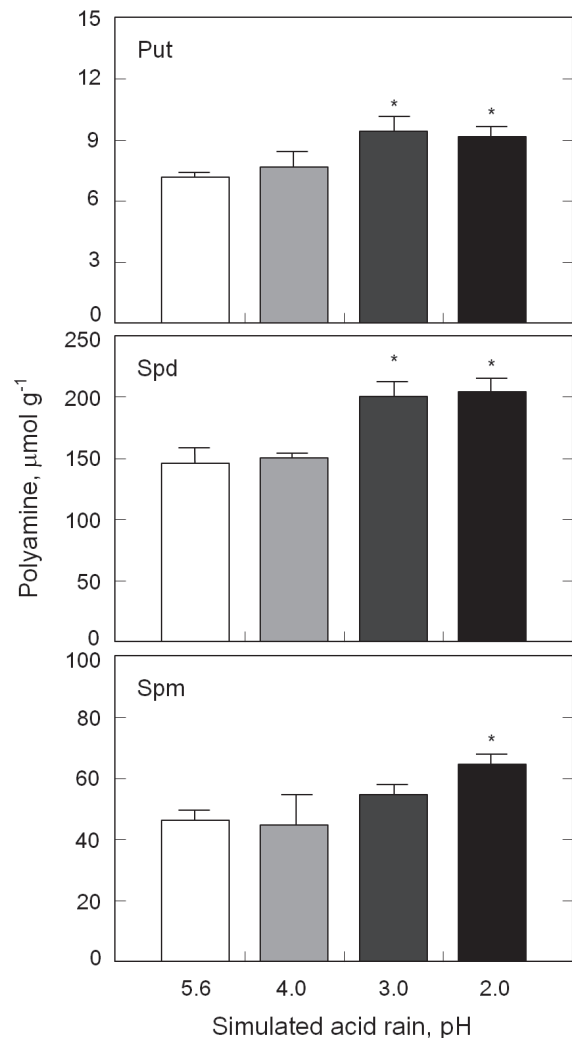


Fig. 3. Effects of simulated acid rain on polyamine levels in garden balsam. Each value is mean \pm SE of 4 plants. Asterisk(*) represents significant difference at $p < 0.05$. Put, putrescine; Spd, spermidine; Spm, spermine.

저 있다(Walters 2003). 본 실험 결과 봉선화 잎에는 putrescine(Put), spermidine(Spd), spermine(Spm)의 3종류의 polyamine이 존재하는 것으로 나타났다(그림 3). 3종류의 polyamine 모두 인공산성비의 pH가 낮아짐에 따라 증가하는 경향을 보였다. 특히 봉선화에 가장 많이 존재하는 Spd의 경우 pH 5.6 처리가 pH 2.0 처리에 비해 약 40% 정도의 함량 증가를 나타내었다. Polyamine의 항산화작용은 외부에서 투입한 polyamine에 의해 오존과 저온해 등에 의한 피해가 경감된다는 보고에서 잘 나타나 있으며(Velikova 등 2000; Wang 등 2007), polyamine의 피해 경감효과는 막구조의 안정화, 지질과산화의 억제와 깊은 관련이 있는 것으로 보고되어 있다(Walters 2003). 따라서 봉선화를 이용한 본 실험에서 polyamine 함량의 증가는 인공산성비에 의한 지질과산화 피해를 경감시키기 위한 방어 작용으로 사료된다.

Catalase는 SOD 등과 함께 대표적인 활성산소 소거에 관여하는 효소로 알려져 있다(Turrens 2010). 본 실험에서 pH 4.0, 3.0, 2.0의 인공산성비 처리에 의해 Catalase의 활성이 pH 5.6에 비해 크게 증가하는 것으로 나타났다. Catalase의 활성 증가는 오존이나 UV-B 등에 의해서도 일어난다고 보고되어 있으며(Mcclung 1997; Yan 등 2010), 인공산성비에 의해 생성된 H₂O₂ 등의 활성산소의 무독화를 위해 증가한

것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 인공산성비는 활성산소 생성에 의한 생육억제, 및 지방산 변화를 일으키는 것으로 추정되며, polyamine 함량 증가와 catalase 활성 증가는 산성비의 피해를 최소화하기 위한 방어기작이 작용한 것으로 사료된다.

요 약

산성비에 대한 봉선화의 피해양상과 지질조성 변화 및 방어기작 등을 조사하기 위하여 2주 동안 여러 농도(pH 2.0, 3.0, 4.0, 5.6)의 인공산성비 실험을 수행하였다. 인공산성비의 pH가 낮을수록 생육피해가 심하게 나타났다. 인공산성비의 pH가 낮을수록 엽록소 함량은 감소하였으며 H₂O₂ 함량은 증가하였다. 인지질과 당지질 모두 인공산성비에 의해 포화지방산이 증가하고 불포화지방산이 감소하는 것으로 나타났다. 봉선화에는 주로 3종류의 polyamine이 존재하며 이들 모두 인공산성비의 pH가 낮을수록 증가하는 것으로 나타났다. Catalase의 활성도 인공산성비의 pH가 낮을수록 증가하였다. 이상의 결과를 종합해 볼 때, 인공산성비에 의해 활성산소 생성되고, 지방산의 변화를 일어나며, polyamine 증가와 catalase 활성 증가는 산성비의 피해를 최소화하기 위한 방어기작이 작용한 것으로 사료된다.

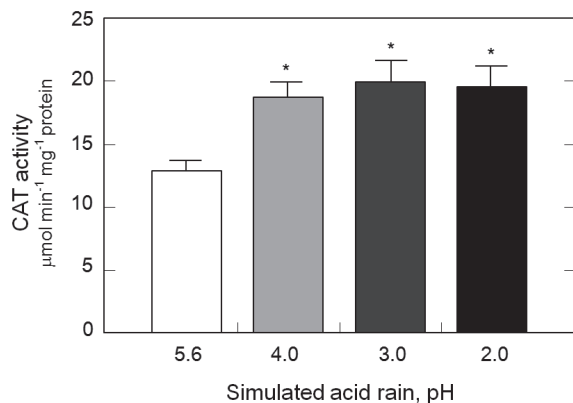


Fig. 4. Effects of simulated acid rain on activities of catalase in garden balsam. Each value is mean ± SE of 4 plants. Asterisk(*) represents significant difference at p<0.05. Put, putrescine; Spd, spermidine; Spm, spermine.

인용 문헌

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. and Photobiol.* 57(1):60-65.

Chance, B., and A. C. Machiy. 1955. Assay of catalases and peroxidases. *Meth. Enzymol.* 2: 764-775.

Evans, L. S., and T. M. Curry. 1979. Differential

- response of plant foliage to simulated acid rain. *Amer. J. Bot.* 66(3):953-962.
- Ferenbaugh, R. W. 1976. Effects of simulated acid rain on *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae). *Amer. J. Bot.* 63(1):238-288.
- 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.
- Gao, Q., and L. Zhang. 2008. Ultraviolet-B induced oxidative stress and antioxidant defense system responses in ascorbate-deficient *vtc1* mutants of *Arabidopsis thaliana*. *J. Plant Physiol.* 165 (1):138-148.
- Haines, B., M. Stefani and F. Hendrix. 1980. Acid rain : threshold of leaf damage in eight plant species from a southern Appalachian forest succession. *Water, Air and Soil, Pollut.* 114(2): 403-407.
- Huh, H. W., and M. K. Huh. 1998. The effect of simulated acid rain on the growth of important crops. *Kor. J. Environ. Sci.* 7(2):123-131.
- Kim, H. Y. 2005. Effect of simulated acid rain on antioxidants and related enzymes in garden balsam (*Impatiens balsamina* L.). *Kor. J. Life. Sci.* 15(3):382-386.
- Kim, H. Y. 2006. Effect of UV-B on fatty acid composition, lipid peroxidation and polyamine in kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Kor. J. Life. Sci.* 16(3):522-526.
- Kim, H. Y., I. J. Lee, D. H. Shin and M. S. Chio. 2000. Effect of simulated acid rain on germination, growth, acid buffering capacity and nutrient leaching in *Impatiens balsamina* L. and *Tagetes patula* L. *Kor. J. Life. Sci.* 10(6):598-604.
- Knudson, L. L., T. W. Tibbitts and G. E. Edwards. 1977. Measurement of ozone injury by determination of chlorophyll concentration. *Plant Physiol.* 60(3):606-608.
- Koricheva, J., S. Roy, J. A. Vranjic and P. R. Hughes. 1977. Antioxidant responses to simulated acid rain and antioxidant responses to simulated acid rain and heavy metal deposition in birch seedlings. *Environ. Pollut.* 95(2):249-258.
- Lee, J. J., G. E. Neely, S. C. Perrjean and L. C. Grothaus. 1981. Effects of simulated sulfuric acid rain on yield, growth and foliar injury of several crops. *Environ. Exp. Bot.* 21(2):171-185.
- Lee, J. J., M. S. Moon and H. Y. Kim. 1999. Effects of Mg-deficiency on oxidative stress and protein pattern in pumpkin seedlings. *Kor. J. Weed Sci.* 19(2):121-128.
- Luxmoore, R. J., T. Gizzard and R. H. Strand. 1981. Nutrient translocation in the outer canopy and understory of an eastern deciduous forest. *For. Sic.* 27(3):505-518.
- Mcclung, C. R. 1997. Regulation of catalases in *arabidopsis*. *Free Radic. Biol. Med.* 23(3):489-496.
- NIER. 2007. More than 50% of sulfur in precipitation over Korean peninsula came from China. Release Copy. National Institute of Environmental Research. 2007/03/01.
- Neves, N. R., M. A. Oliva, D. C. Centeno, A. C. Costa, R. F. Ribas and E. G. Pereira. 2009. Photosynthesis and oxidative stress in the restinga plant species *Eugenia uniflora* L. exposed to simulated acid rain and iron ore dust deposition. *Sci. Total Environ.* 407:3740-3745.
- 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 SO₂ injury in coleus. *Phytochemistry* 58(2):263-268.
- Nouchi, I. 199. Acid rain and plant damage. *J. Agr. Met.* 47(1):165-175.
- Singh, A., and M. Agrawal. 1996. Response of two

- cultivars of *Triticum aestivum* L. to simulated acid rain, *Environ. Pollut.* 91(1):161-167.
- Turrens, J. F. 2010. Superoxide Dismutase and Catalase. *Comprehen. Toxicol.* 4(12):219-227.
- Velikova, V., I. Yordanov and A. Edreva. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. *Plant Sci.* 151(1): 59-66.
- Walters, D. R. 2003. Polyamines and plant disease. *Phytochemistry* 64(1):97-107.
- Wang, X., G. Shi, Q. Xu and J. Hu. 2007. Exogenous polyamines enhance copper tolerance of *Nymphoides peltatum*. *J. Plant Physiol.* 164(8): 1062-1070.
- Wyrwicka, A., and S. M. Sklodowska. 2006. Influence of repeated acid rain treatment on antioxidative enzyme activities and on lipid peroxidation in cucumber leaves. *Exp. Bot.* 56 (1):198-204.
- Yan, K., W. Chen, X. He, G. Zhang, S. Xu and L. Wang. 2010. Responses of photosynthesis, lipid peroxidation and antioxidant system in leaves of *Quercus mongolica* to elevated O₃. *Environ. Exp. Bot.* 69(2):198-204.
- Zeeshan, M., and S. M. Prasad. 2009. Differential response of growth, photosynthesis, antioxidant enzymes and lipid peroxidation to UV-B radiation in three cyanobacteria. *S. African. J. Bot.* 75(3):466-474.