한국환경과학회지 제16권(제5호), 633~640, 2007
Journal of the Environmental Sciences

아열대성 식물 4종의 엽록소형광과 항산화효소 활성의 일주기적 변화

오 순 자 · 고 창 효* · 고 석 찬
제주대학교 생명과학과 · 기초과학연구소, *부산대학교 생명과학부
(*2006*년 *12*월 *5*일 접수; *2007*년 *4*월 *1*일 채택)

Diurnal Changes of Chlorophyll Fluorescence and Antioxidative Enzyme Activity of the Leaves from Four Subtropical Plants

Soon-Ja Oh, Chang-Hyo Goh* and Seok-Chan Koh
Department of Life Science & Research Institute for Basic Sciences, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea
**Department of Biological Sciences, Pusan National University, Busan 609-735, Korea*
(Manuscript received 5 December, 2006; accepted 1 April, 2007)

The diurnal changes of chlorophyll fluorescence and antioxidative enzyme activity were investigated in the leaves from four subtropical plant species (*Crinum asiaticum* var. *japonicum* Bak., *Osmanthus insularis* Koidz., *Asplenium antiquum* Makino and *Chloranthus glaber* Makino) under the natural habitats in summer and winter. The intensity of chlorophyll fluorescence was lower in O-, I-, J-, P-steps of O-J-I-P transient in winter than summer, and prominent diurnal change was not found in the fluorescence intensity of four subtropical plant species in winter. The activity and isoenzyme pattern of SOD and catalase did irregularly change seasonally and diurnally in four subtropical plant species. In contrast, the peroxidase activity and isoenzyme pattern was different depending on plant species and growth seasons; The activity increased slightly more in winter than in summer in four subtropical plant species, and several isoenzymes appeared in the leaves from *C. asiaticum* var. *japonicum*, *O. insularis* and *A. antiquum* in winter.

Key Words : Chlorophyll fluorescence, Antioxidative enzyme, O-J-I-P transients, Subtropical plant species

1. 서 론

식물은 환경요인의 계절적 변화에 따라 여러 가지 생리적 변화를 겪으면서 생장한다. 식물이 각종 환경스트레스를 받으면 생체 내 산소 (O_2)는 반응성이 높은 독성의 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS)으로 변하며[1], 이들은 강한 산화력을 가지고 있어 핵산, 단백질, 지질 등의 변성과 광합성 억제 등 심각한 생리적 장애를 일으키고, 결국 식물체를 고사시킨다[2]. 그러나 식물체가 정상적으로 생장을 유지할 수 있는 것은 독성의 활성산소종을 중화시키는 기능을 갖고 있기 때문이다[3]. 활성산소에 대한 식물의 방어기작은 활성산소의 형성을 억제하거나 생성된 활성산소를 제거하는 것인데, superoxide dismutase (SOD), peroxidase 등의 효소에 의한 방어기작과 ascorbic acid 등의 항산화물질에 의한 방어기작으로 구분할 수 있다[1,4]. 이러한 식물의 반응은 스트레스의 강도나 기간 뿐만 아니라 식물종에 따라서도 다르게 나타나므로 환경스트레스에 대한 식물의 환경적응성 또는 생리적 상태를 확인하는데 이용할 수 있다.

환경스트레스에 대한 식물의 생리적 상태는 광합성능의 변화를 분석하여 제시할 수 있다. 특히, 엽록소형광 분석법은 여러 가지 환경스트레스에 대한 광합성 기구의 구조 및 기능의 변화를 정량적으로

Corresponding Author : Soon-Ja Oh, Department of Life Science & Research Institute for Basic Sciences, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea
Phone: +82-64-754-2326
E-mail: osoonja@cheju.ac.kr

분석할 수 있어 식물의 생리적 반응이나 내성 등을 연구하는 데에 활용할 수 있다. 특히, 광계Ⅱ는 광합성 기구 중에서 환경스트레스에 가장 민감하여 환경스트레스에 대한 지표로 이용되고 있으며, 광계Ⅱ의 활성은 엽록소형광을 이용하여 빠르고 비파괴적으로 측정할 수 있다[5]. 엽록소형광을 이용한 광계Ⅱ 활성에 관한 연구로는 빛에 의한 억제[6], 일주기적 · 계절적 변화[7], 식물 생장과의 관계[8], 군집 유동성과의 관계[9] 등이 있으며, 엽록소형광을 이용한 분석법은 환경요인 변화에 대한 종간 반응성의 차이, 여러 가지 환경스트레스에 대한 식물의 생리적 반응이나 내성 등을 연구하는 데에 활용되고 있다.

제주기상대에서 관측한 제주지역의 기상자료를 살펴보면, 계절적으로는 겨울철 4개월 (12월, 1~3월)에 걸쳐 월평균 온도가 10℃ 이하로 낮고 새벽과 밤에는 0℃ 이하를 나타내기도 하여, 아열대성 식물의 생육에 영향을 미칠 것으로 보인다. 열대 및 아열대성 식물들은 저온에 대한 적응성이 약해서 저온이 가해졌을 때 그에 적응하지 못하고 죽거나 심한 장애를 받게 되는데, 이는 저온이 가해졌을 때 발생하는 활성산소가 주된 역할을 하며[10], 광합성능에도 영향을 미치는 것으로 알려졌다[11]. 전보에서 문주란을 포함한 4종의 아열대성 식물을 대상으로 겨울철 저온에 의한 O-J-I-P 곡선의 분석을 통해 저온 하에서의 식물의 생리적 상태를 진단할 수 있는 형광변수를 제시한 바 있다[12].

본 연구는 제주도에 자생하는 아열대성 식물 4종을 대상으로 여름철과 겨울철에 엽록소형광과 항산화효소 활성의 일주기적 변화를 조사하여 낮시간의 높은 광도와 겨울철 저온에 의한 아열대성 식물의 생리적 상태를 살펴보고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

본 연구에서의 실험재료는 북제주군 구좌읍 하도리 토끼섬 (난도) 일대의 해변사구에 자생하고 있는 문주란 (*Crinum asiaticum* var. *japonicum* Bak.)과 제주도 수목시험소 내에 생육하고 있는 박달목서 (*Osmanthus insularis* Koidz.), 파초일엽 (*Asplenium antiquum* Makino), 죽절초 (*Chloranthus glaber* Makino)를 사용하였다. 양지식물인 문주란과 박달목서는 동령의 식물체를 선정하여 자연광을 받는 잎 중에서 엽색이 비슷하고 SPAD값이 각각 50~60, 60-70의 범위에 해당하는 균일한 상태의 잎을 실험재료로 사용하였다. 그리고 음지식물인 죽절초와 파초일엽은 그늘에서 자라고 엽색이 비슷하고 SPAD값이 각각 40~50, 40~50의 범위에 해당하는 성숙한 잎을 실험재료로 사용하였다.

2.2. 환경요인 조사

엽록소형광 측정 당시의 조사지역의 환경요인으로는 온도, 상대습도 및 광량을 조사하였다. 온도와 상대습도는 TR-72 Thermo Recorder (T&D Co. Ltd., Japan)를, 광량은 LI-250 Light Meter (LI-COR Inc., USA)를 이용하여 측정하였다. 이들 기상조사용 센서는 측정 대상 잎의 높이에 설치하였으며 10회 반복하여 측정하였다.

2.3. O-J-I-P 곡선의 분석 및 형광변수 산출

O-J-I-P 곡선 (polyphasic rise of Chl a fluorescence transients)은 15분간 광을 차단하여 암적응시킨 식물의 잎에 Plant Efficiency Analyzer (PEA; Hansatech Instrument Ltd., UK)를 이용하여 1,500 μmole/㎡/sec의 광량을 1초간 조사하여 유도하였으며[13], 새벽(06:00), 낮(12:00)과 밤(20:00)에 각각 20회 반복하여 측정하였다. Time scale은 10μs에서 1s의 범위로 설정하고, 10μs에서 2ms까지는 1μs 단위로, 2ms에서 1s까지는 1ms 단위로 인식하도록 설정하였으며, 50μs (O-단계), 2ms (J-단계), 30ms (I-단계), 300ms (P-단계)에서 엽록소형광 밀도를 분석하였다[14].

O-J-I-P 곡선의 분석으로 다양한 형광변수들을 산출하였으며[12], 그 중 14개의 형광변수(Fo, Fm, *Fv/Fo*, *Sm*, *N*, *Φpo*, *ABS/CS*, *TRo/CS*, *ETo/CS*, *Φpo/(1-Φpo)*, *Ψo/(1-Ψo)*)들을 중심으로 비교하였다.

2.4. 항산화효소 활성 분석

2.4.1. 조효소액의 제조

식물체의 잎을 1.0 g 씩 취하여 0.1 M Tris-HCl 완충용액 (pH 8.0; 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride, 25 μM polyvinyl-pyrrolidone, 0.1 mM ethylenediamine tetraacetic acid, 0.5% Triton X-100) 10 ㎖와 함께 얼음 위의 막자사발에서 마쇄한 후, 4℃에서 10,000 rpm으로 30분간 원심분리하여 얻은 상징액을 조효소액으로 사용하였다.

2.4.2. 전기영동

전기영동은 Laemmli[15]의 방법을 변형하여 native gel 조건에서 실시하였다. 전기영동 시료는 효소액을 동량의 시료용 완충용액 (125 mM Tris-HCl, pH 6.8; 0.005% bromophenol blue, 40% glycerol, 5% β-mercaptoethanol)과 혼합하여 사용하였다. 전기영동시 superoxide dismutase (SOD)는 10% running gel을, catalase와 peroxidase는 7.5%의 running gel을 사용하여 전개하였으며, stacking gel은

3% gel을 사용하였다. 시료를 vertical slab gel에 loading한 후 stacking gel에서는 50V, running gel에서는 100V로 전개하였다.

2.4.3. 효소활성의 선별염색

Peroxidase활성의 검출은 Rao 등[16]의 방법을 변형하여 실시하였다. 전기영동이 끝난 겔을 50 mM potassium phosphate 완충용액 (pH 7.8; 10 mM H_2O_2)에 10분 동안 담근 후 염색액 (1.4 mM 3,3′-diaminobenzidine tetrahydrochloride)에 담가 어두운 곳에서 반응시켜 나타나는 밴드를 조사하였다. SOD활성의 염색은 Beauchamp와 Fridovich[17]의 방법을 변형한 riboflavin/nitro blue tetrazolium방법을 사용하여 실시하였다[18]. 전기영동이 끝난 겔을 2.45 mM nitro blue tetrazolium 용액에 넣어 어두운 곳에 20분간 둔 후, 반응용액 (36 mM potassium phosphate, pH 7.8; 28 mM TEMED, 28 μM riboflavin)에 넣어 암상태에서 15분간 진탕하고, 빛을 조사하면서 5~10분간 반응시켜 나타나는 밴드를 조사하였다. SOD isoenzyme 특성을 분석하기 위해서는 전기영동이 끝난 겔을 3 mM H_2O_2 또는 2 mM KCN 용액에 담가 30분간 진탕한 후 동일한 방법으로 SOD를 검출하였다. Catalase활성의 검출은 Woodbury 등[19]의 ferricyanide 염색법을 사용하여 실시하였다. 전기영동이 끝난 겔을 3.27 mM H_2O_2가 함유된 증류수에 넣어 암상태에서 10분간 반응시킨 후 반응용액 (3.7 mM ferric chloride, 3 mM potassium ferricyanide)에 넣어 5~10분간 반응시켜 나타나는 밴드를 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. O-J-I-P 곡선 및 엽록소형광 변수의 변화

문주란을 포함한 4종의 아열대성 식물을 대상으로 여름철과 겨울철의 O-J-I-P 곡선의 일주기적 변화를 조사하였다 (Fig. 1). 여름철에는 양지식물인 문주란과 박달목서의 O-J-I-P 곡선은 거의 유사한 양상을 보였는데, 형광세기는 낮에는 O-단계에서 증가하고 P-단계에서는 감소하였다 (Fig. 1A). 이러한 결과는 낮시간의 고광에 의해 광계II 반응중심의 전자수용체 quinone이 환원상태에 있음을 의미하며, 광계II의 광합성효율, 즉 Fv/Fm (= Φ_{PO})의 감소를 야기하는 결과이다[7]. 반면에 음지식물인 파초

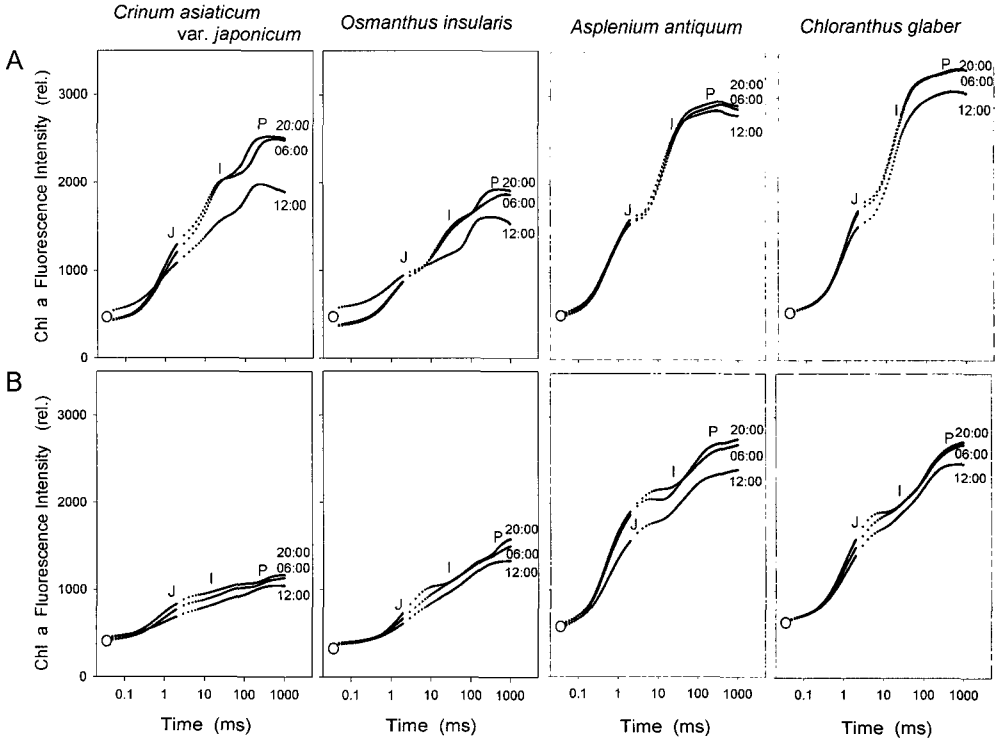

Fig. 1. The fluorescence transients recorded in leaves of 4 subtropical plant species (*Crinum asiaticum* var. *japonicum*, *Osmanthus insularis*, *Asplenium antiquum* and *Chloranthus glaber*) in summer (A) and winter (B). The presented transients were measured at dawn (06:00), midday (12:00) and night (20:00).

일엽과 죽절초의 O-J-I-P 곡선을 보면, 낮에는 P-단계에서의 엽록소형광이 다소 감소하였지만 일주기적 변화 양상은 큰 차이를 보이지 않았다. 겨울철에는 4종 모두 낮시간에 O-J-I-P 곡선의 J, I, P-단계에서 엽록소형광이 다소 감소함으로써 겨울철 저온과 광에 의한 영향을 받고 있음을 나타내고 있다 (Fig. 1B). 그러나 파초일엽을 제외한 3종은 일주기적 변화 양상에 있어서 큰 차이를 보이지 않았다. 이는 이들 식물이 겨울철의 저온 스트레스에 의해 비가역적인 손상을 입은 결과로 생각되며, 여름철에 비해 겨울철에 P-단계에서의 형광세기가 현저하게 감소하는 것으로 알 수 있다.

Fig. 1의 O-J-I-P 곡선으로부터 엽록소형광의 주요 변수들을 산출하였다 (Fig. 2). 그 결과, 형광변수의 일주기적 변화는 종에 따라 차이를 보이는데, 여름철 문주란과 박달목서는 낮시간에 Fo와 ABS/CSo가 증가하였으며, Fv/Fo, Φpo/(1-Φpo) 등은 감소하였다. 파초일엽은 낮시간에 Sm, N, Ψo/(1-Ψo), ETo/CSo, ETo/CSm이 감소하였으며, 죽절초는 Ψo/(1-Ψo), ETo/CSo, ETo/CSm이 낮시간에 증가하여 자연조건 하에서 식물 종에 따라 빛에 대한 반응양상이 다르게 나타났다. 일반적으로 식물이 스트레스를 받으면 Fo값이 증가하는데, 이는 PSII 반응중심에 에너지를 전달할 수 없는 불활성 상태의 엽록소분자들이 증가한 결과라고 해석될 수 있다[20]. 문주란과 박달목서인 경우 낮시간에 Fo의 증가와 더불어 광계II의 광합성 효율을 나타내는 변수인 Φpo값이 다소 감소하고 있어 만성적인 광억제현상이 일어나고 있음을 알 수 있다[21]. 하지만 파초일엽과 죽절초는 Φpo값의 변화가 거의 없어 광억제가 일어나지 않은 것으로 보인다. 반면에 겨울철에는 4종 모두에서 광계II의 광합성 효율을 나타내는 변수인 Φpo값의 일주기적 변화가 없는 것으로 나타나고 있다. 하지만 Fig. 1에서 보는 바와 같이 겨울철에는 O-J-I-P 곡선의 형광량이 여름철에 비해서 크게 낮기 때문에, 문주란, 박달목서, 파초일엽, 죽절초의 Φpo값이 여름철 새벽의 0.83±0.01, 0.80±0.01, 0.83±0.01, 0.82±0.01에 비해 크게 낮아져서 겨울철 새벽에는 0.53±0.02, 0.72±0.02, 0.73±0.01, 0.76±0.01을 보여 겨울철 저온의 영향을 크게 받고 있는 것을 알 수 있다 (자료 미제시). 그러나, 겨울철에도 종에 따라 형광변수들의 일주기 변화를 나타내어 박달목서와 죽절초는 Sm과 N이 낮시간에 감소하고, 문주란과 파초일엽은 각각 Ψo/(1-Ψo)와 ETo/CSm의 일주기적 변화가 큰 것으로 나타났다.

3.2. 항산화효소 활성의 변화

제주도에 자생하는 문주란, 박달목서, 파초일엽, 죽절초 등 아열대성 식물 4종을 대상으로 여름철과 겨울철의 peroxidase, SOD, catalase의 isoenzyme 패턴의 일주기적 변화를 전기영동으로 살펴보았다 (Figs. 3~5).

Peroxidase isoenzyme 패턴을 전기영동으로 살펴보면 (Fig. 3), 4종의 아열대성 식물 모두에서 겨울철에 활성이 증가하여 뚜렷한 차이를 보였으며, 겨울철에 특이적으로 검출되는 isoenzyme들도 관찰할

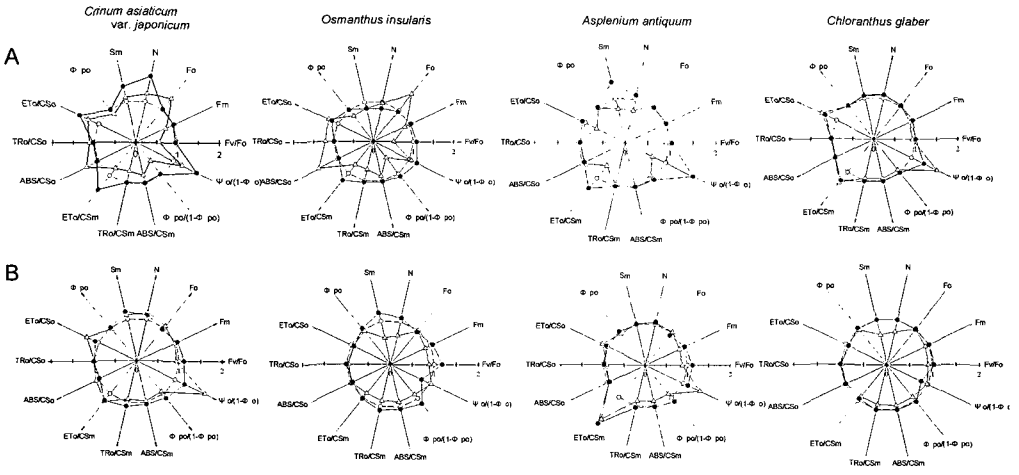

Fig. 2. Diurnal chnages of chlorophyll fluorescence parameters of PSII from leaves of 4 subtropical plant species (*Crinum asiaticum* var. *japonicum*, *Osmanthus insularis*, *Asplenium antiquum* and *Chloranthus glaber*) in summer (A) and winter (B). The presented transients were measured at dawn (06:00, white circle), midday (12:00, white triangle) and night (20:00, black circle).

수 있었다. 문주란 잎은 전체적으로 4개의 밴드가 검출되었다. 이 중 peroxidase 1은 효소활성에서는 차이가 있지만 여름철과 겨울철 모두에서 검출되었으며, 3개의 isoenzyme (peroxidase 2~4)은 겨울철에만 특이적으로 검출되었다. 그리고 여름철에는 낮시간에 다소 높은 활성을 보였으나, 겨울철에는 낮시간 보다는 새벽과 밤에 높은 활성을 보였다. 박달목서 잎은 전체적으로 5개의 밴드가 검출되었으며, 문주란 잎에서 관찰된 것과 같이 여름철보다는 겨울철에 높은 활성을 보였다. 여름철에는 낮시간에 다소 높은 활성을 보였고, 겨울철에는 새벽과 밤에 높은 활성을 보여주었다. Peroxidase 4와 5는 겨울철에만 특이적으로 나타났다. 파초일엽의 peroxidase isoenzyme 양상은 문주란이나 박달목서와 유사하게 여름철보다는 겨울철에 높은 활성을 보였고, 전체적으로 3개의 밴드가 검출되었다. 여름철과 겨울철의 일주기적 특성을 살펴보면, 여름철에는 낮시간에 다소 높은 활성을 보였고, 겨울철에는 낮시간에 다소 높았으나 일주기적 변화에 있어서는 큰 차이를 보이지 않았다. 죽절초 잎의 peroxidase는 단일 밴드로 검출되었으며, 여름철과 겨울철 모두 새벽과 밤에 활성을 보였는데, 겨울철에는 밤에 다소 높은 활성을 보였다. 4종 모두에서 peroxidase는 여름철보다는 겨울철에 높은 활성을 보였으며 문주란, 박달목서, 파초일엽에서는 겨울철에만 특이적으로 나타나는 isoenzyme들도 관찰할 수 있었다. 이와 유사한 결과로는 강낭콩 (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Contender) 유묘를 저온 처리했을 때 발달단계에 따라 다소의 차이가 있지만, 10℃ 저온 처리에 의해 peroxidase 활성이 증가하였으며[22] 아열대성 식물인 Ixora (*Ixora coccinea* cv. 'Big Red')도 저온 스트레스에 의해 peroxidase 활성이 증가하였다고 보고된 바 있다[23]. 일주기적 변화에 있어서는 문주란과 박달목서인 경우 겨울철 낮시간에 활성이 낮아지고, 파초일엽은 반대로 낮시간에 높은 활성을 나타내었다. 죽절초는 겨울철 낮시간에 peroxidase 활성이 발현되지 않았다.

SOD isoenzyme 패턴을 보면 (Fig. 4), SOD는 죽절초를 제외한 3종의 식물에서만 검출되었으며, 박달목서는 문주란과 파초일엽과는 달리 겨울철에 뚜렷하게 증가하는 양상을 보이고 있어 겨울철 환경변화에 대해 4종간에 차이를 보이고 있다. 문주란 잎은 전체적으로 7개의 isoenzyme이 검출되었으며, 이들 isoenzyme은 1개의 Mn-SOD와 6개의 CuZn-SOD로 구분할 수 있었다. 여름철과 겨울철에 있어서 문주란의 SOD isoenzyme은 큰 차이를 보이지 않았고 일주기적 변화에 있어서도 뚜렷한 차이를 보이지 않았다. 박달목서 잎의 SOD isoenzyme은 5개의 CuZn-SOD로 구성되어 있으며, 여름철에는 활성을 매우 낮았으나 겨울철에는 높게 나타났다. 겨울철에는 새벽보다 낮과 밤에 높은 활성을 보였다. 파초일엽은 전체적으로 3개의 밴드가 관찰되었으며, 1개의 Mn-SOD와 2개의 CuZn-SOD로 구성되어 있었다. 일주기적 변화에 있어서 여름철에는 낮시간에

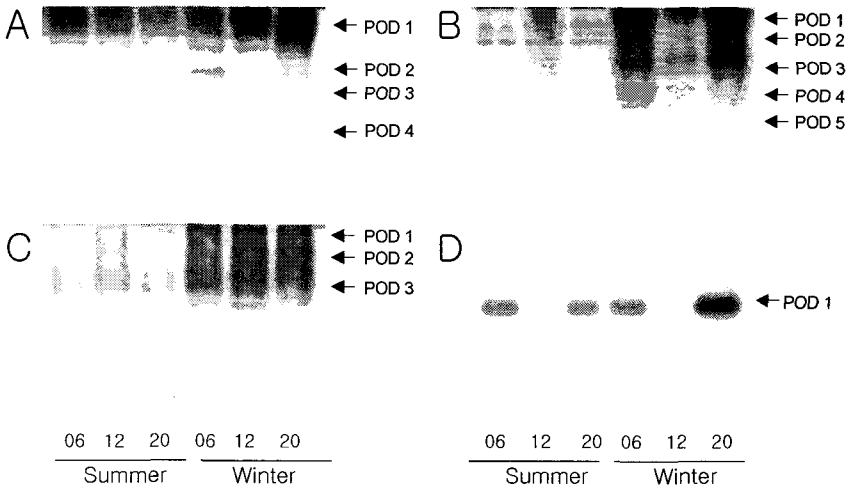

Fig. 3. Isoenzyme profiles of peroxidase from leaves of *Crinum asiaticum* var. *japonicum* (A), *Osmanthus insularis* (B), *Asplenium antiquum* (C) and *Chloranthus glaber* (D) at dawn (06:00), midday (12:00) and night (20:00) in summer and winter.

다소 높았는데, 즉 2개의 CuZn-SOD 활성이 낮시간에 높게 나타났다. 겨울철에는 새벽과 밤에 활성이 높았는데 특히 Mn-SOD 활성이 높게 나타났다. 각각의 일주기적 변화에 있어서 여름철에는 낮시간에, 겨울철에는 새벽과 밤에 다소 높은 활성을 보였다. 이러한 결과는 저온감수성 식물인 오이를 4℃ 저온에서 배양했을 때 SOD 활성이 증가하였으며[24], 열대성 식물인 *Coleus blumei*을 10℃의 온도에서 배양하였을 때 SOD 활성이 증가하였다는 보고와 유사하다[25].

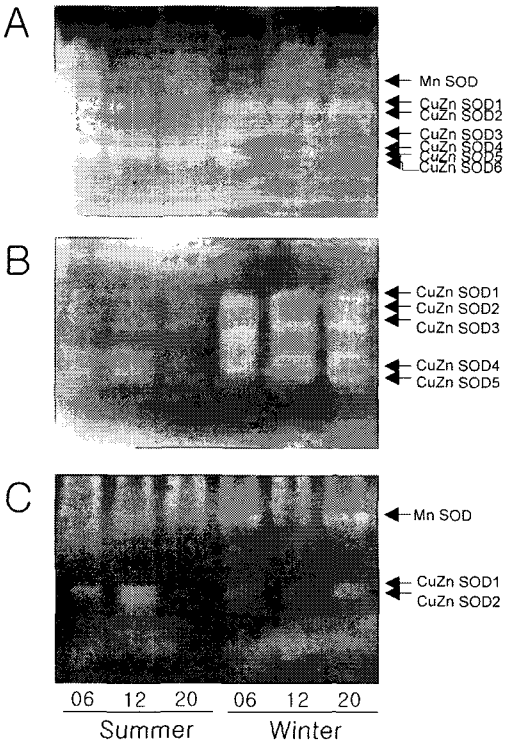

Fig. 4. Isoenzyme profiles of superoxide dismutase from leaves of *Crinum asiaticum* var. *japonicum* (A), *Osmanthus insularis* (B), and *Asplenium antiquum* (C) at dawn (06:00), midday (12:00) and night (20:00) in summer and winter.

Catalase는 문주란, 박달목서, 파초일엽의 잎에서 단일밴드로 나타났으나, 죽절초에서는 검출되지 않았다 (Fig. 5). 그 발현 양상은 종에 따라 차이를 보였는데, 문주란 잎에서는 겨울철에 비해 여름철에 높은 활성을 보여주었으나, 박달목서와 파초일엽은 겨울철에 높은 활성을 보였다. 각각의 일주기적 변화에 있어서 문주란의 catalase 활성은 여름철에는 큰 차이를 보이지 않았으나, 겨울철에는 새벽과 밤에 낮은 활성을 보였다. 박달목서와 파초일엽은 여름철에 낮은 활성을 보였으나 일주기적 변화 양상에는 차이가 없었다. 그러나 겨울철에 박달목서는 낮시간에 다소 높은 활성을 나타내어 문주란과 유사한 양상을 보였으나, 파초일엽은 오히려 새벽과 밤에 높은 활성을 보였다.

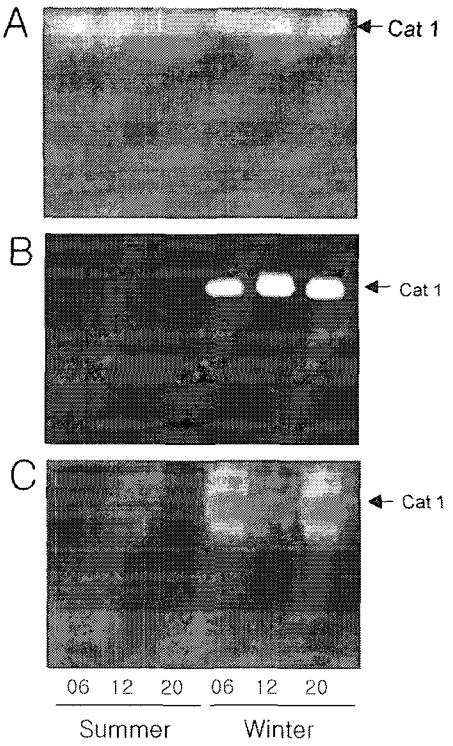

Fig. 5. Isoenzyme profiles of catalase from leaves of *Crinum asiaticum* var. *japonicum* (A), *Osmanthus insularis* (B), and *Asplenium antiquum* (C) at dawn (06:00), midday (12:00) and night (20:00) in summer and winter.

이들 항산화효소들은 각종 스트레스에 의해 과다하게 생성되는 활성산소종을 제거하는 기능을 가지고 있으며, 저분자 항산화제와 마찬가지로 스트레스 하에서 식물의 생존 또는 내성과 관련이 있다[26]. 본 연구에서 항산화효소의 패턴을 살펴보면, SOD와 catalase는 문주란, 박달목서, 파초일엽에서는 관찰되었으나 죽절초에서는 검출되지 않았으며, 계절과 일주기적 변화에 대한 종간의 공통적인 경향성을 찾기가 어려웠다. Peroxidase의 활성과 isoenzyme 패턴이 식물종이나 환경조건에 따라 가장 다양하게 나타났으며, 4종 모두에서 여름철보다 겨울철에 활

성이 높았다. 더욱이 문주란, 박달목서, 파초일엽에서는 겨울철에 특이적으로 검출되는 isoenzyme들도 관찰할 수 있었다.

이상의 결과를 종합해 보면, 식물종에 따라 다소의 차이는 있으나 4종 모두 겨울철에 O-J-I-P 곡선의 전 단계에서 엽록소형광이 감소하여 겨울철 저온스트레스의 영향을 받고 있는 것으로 볼 수 있는데, 종에 따라 다소 다르지만 겨울철에 항산화효소 활성이 대체로 높아지는 경향이 있는 것으로도 알 수 있다. 특히, 문주란은 다른 3종 보다 O-J-I-P 곡선의 엽록소형광 감소폭이 커서 겨울철 저온 스트레스에 민감한 것으로 나타났다. 이는 다른 식물과 같이 겨울철에 peroxidase 활성과 isoenzyme이 특이적으로 나타나지만 박달목서와 파초일엽과 달리 catalase 활성이 겨울철에 낮고, SOD도 뚜렷한 차이를 보이지 않아 겨울철 환경의 변화에 효율적으로 대처하지 못하는 것으로 보인다. 이에 반해 박달목서와 파초일엽은 O-J-I-P 곡선의 변화폭이 적을 뿐만 아니라 Φ_{PO}가 겨울철에 대략 0.73의 범위에 존재하는데, 이는 SOD, peroxidase, catalase 활성이 겨울철에 높아 문주란에 비해 겨울철 저온에 의해 생길 수 있는 산화적 스트레스에 의한 손상을 제한함으로써 나타나는 결과로 사료된다.

4. 결 론

아열대성 식물 4종 (문주란, 박달목서, 파초일엽, 죽절초)을 대상으로 여름철과 겨울철 자연 환경요인의 변화에 의한 엽록소형광과 항산화효소 활성의 변화를 조사하였다. 겨울철에는 4종 모두 여름철에 비해 O-J-I-P 곡선의 전 단계에서 엽록소형광이 다소 감소하였으나 일주기적 변화 양상은 크게 차이를 보이지 않았다. SOD와 catalase의 활성과 isoenzyme 패턴은 4종에서 계절적 그리고 일주기적 변화에 있어서 뚜렷하게 공통적인 경향성을 보이지 않았다. 반면에, peroxidase의 활성과 isoenzyme 패턴은 4종 모두에서 계절에 따라 뚜렷한 경향성을 나타났다. 즉, peroxidase의 활성은 4종 모두에서 여름철보다 겨울철에 다소 증가하였으며, 문주란, 박달목서, 파초일엽에서는 일부 isoenzyme이 겨울철에 특이적으로 나타났다.

감사의 글

이 논문은 2004년도 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행되었으며(KRF-2004-003-D00164), 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1) Alscher R. G., Hess J. L., 1993, Antioxidants in higher plants. CRC Press, Boca Raton, 1-174pp.
2) Asada K., 1999, The water-water cycle in chloroplast: Scavenging of active oxygen an dissipation of excess photons, Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 50, 601-639.
3) Lidon F. C., Henniques F. S., 1993, Oxygen metabolism in higher plant chloroplasts, Photosynth., 29, 249-279.
4) Inze D., Van Montagu M., 1995, Oxidative stress in plants, Curr. Opin. Biotechnol., 6, 153-158.
5) Ball M. C., Butterworth J. A., Roden J. S., Christian R., Egerton J. G., 1994, Applications of chlorophyll fluorescence to forest ecology, Aust. J. Plant Physiol., 22, 311-319.
6) Osmond C. B., 1994, What is photoinhibition? Some insights from comparisons of shade and sun plants. Baker N. R., Bowyer J. R.(ed.), Photoinhibition of photosynthesis: From molecular mechanism to the field. 4BIOS Scientific Publ., Oxford, 1-24pp.
7) 오순자, 고정군, 김응식, 오문유, 고석찬, 2001, 한라산 구상나무 잎의 엽록소형광의 일변화와 계절적 변화, 한국환경생물학회지, 19(1), 43-48.
8) Lovelock C. E., Jebb M., Osmond C. B., 1994, Photoinhibition and recovery in tropical plant species: Response to disturbance, Oecologia, 97, 297-307.
9) Kamaluddin M., Grace J., 1992, Photoinhibition and light acclimation in seedings of *Bischofia javanica*, a tropical forest tree from Asia, Ann. Bot., 69, 47-52.
10) Hodges D. M., Andrews C. J., Johnson D. A., Hamilton R. I., 1997, Antioxidant enzymes responses to chilling stress in differentially sensitive inbred maize lines, J. Exp. Bot., 48, 1105-1113.
11) Hetherington S. E., He J., Smillie R. M., 1989, Photoinhibition at low temperature in chilling-sensitive and resistant plants, Plant Physiol., 90, 1609-1615.
12) 오순자, 고석찬, 2005, 저온스트레스 지표 선발을 위한 아열대성 식물 4종의 O-J-I-P 곡선 분

석, 한국환경과학회, 14(4), 389-395.
13) Strasser B. J., Strasser R. J., 1995, Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP test. In Photosynthesis: From Light to Biosphere, Mathis, P.(ed.) Kluwer Academic, Dordrecht, 977-980pp.
14) Srivastava A., Guissé B., Greppin H., Strasser R. J., 1997, Regulation of antenna structure and electron transport in PS II of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll a fluorescence transient: OKJIP, Biochem. Biophys. Acta., 1320, 95-106.
15) Laemmli U. K., 1970, Cleavage of structural proteins during the assembley of the head of bacteriophage T_4, Nature, 277, 680-685.
16) Rao M. V., Paliyath G., Ormrod D. P., 1996, Ultraviolet-B and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*, Plant Physiol., 110, 125-136.
17) Beauchamp C,. Fridovich I., 1971, Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels, Anal. Biochem., 44, 276-287.
18) 오순자, 고정군, 김응식, 오문유, 고석찬, 1999, 두릅나무과 식물의 SOD활성과 광계 II의 광화학적 효율에 미치는 온도스트레스와 paraquat의 영향, 한국환경생물학회지, 17(2), 199-204.
19) Woodbury W., Spencer A. K., Sthamann M. A., 1971, An improved procedure using ferricyanide for detecting catalase isoenzyme, Anal. Biochem., 44, 301-305.
20) Bolhàr-Nordenkampf H. R., Öquist G., 1993, Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In Photosynthesis and Production in a Changing Environment: A Field and Laboratory Manual, Hall D. O., Scurlock J.M.O., olhàr-Nordenkampf H.R., Leegood R.C., Long S.P.(eds.), Chapman and Hall, London, 193-206pp.
21) Long S. P., Humpries S., Falkowski P. G., 1994, Photoinhibition of photosynthesis in nature, Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 45, 633-662.
22) El-saht H. M., 1998, Responses to chilling stress in French bean seedlings: Antioxidant compounds, Biologia Plantarum, 41(3), 395-402.
23) Michaeli R., Philosoph-Hadas S., Riov J., Shahak Y., Ratner K., Meir S., 2001, Chilling-induced leaf abscission of *Ixora coccinea* plants. III. Enhancement by high light via increased oxidative processes, Physiologia Plantarum, 113, 338-345.
24) Lee D. H., Lee C. B., 2000, Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: In gel enzyme activity assays, Plant Sci., 159, 75-83.
25) Peltzer D., Dreyer E., Polle A., 2002, Differential temperature dependencies of antioxidative enzyme in two contrasting species.: *Fagus sylvatica* and *Coleus blumei*, Plant Physiol. Biochem., 40, 141-150.
26) Foyer C. H., Lelandais M., Edwards E. A., Mullineaux P. M., 1991, The role of ascorbate in plant, interactions with photosynthesis and regulatory significance, In Active Oxygen/ Oxidative Stress and Plant Metabolism, Pell E. J., Steffen K. L., Current Topics in Plant Physiol., American Society of Plant Physiologists, 131-144pp.