

저온처리한 오이의 자엽에서 광합성 활성의 광의존성 저해

全 鉉 植 · 文 炳 鎔* · 李 春 煥** · 鄭 翼 教***
朴 仁 虎**** · 李 鎭 範

(동외대학교 생물학과, *인제대학교 생물학과, **부산대학교 분자생물학과,
부산대학교 해양과학과, *동아대학교 생물학과)

Light-Dependent Chilling Injury on the Photosynthetic Activities of Cucumber Cotyledons

Chun, Hyun Sik, Byoung Yong Moon*, Choon-Hwan Lee**,
Ik Kyo Chung***, In Ho Park**** and Chin Bum Lee

(Department of Biology, Donguei University, Pusan,

**Department of Biology, Inje University, Kimhae,*

***Department of Molecular Biology,*

****Department of Marine Science, Pusan National University, Pusan and*

*****Department of Biology, Dong-A University, Pusan)*

ABSTRACT

The photosynthetic activities in relation to oxygen evolution rates, quantum yield, CO₂ uptake rates and room temperature chlorophyll fluorescence were investigated in cotyledons of cucumber seedlings exposed to low temperature(at 4°C) for 24 h. Light-chilling caused more inhibition on light-saturated maximum oxygen evolution rates, quantum yield, and CO₂ uptake rates than dark-chilling did in the cucumber plant. Light-chilling induced more marked increase in F_o and decrease in (F_v)/F_m than dark-chilling did in the room temperature chlorophyll induction kinetics. The above results affected by chilling in the light are considered to be associated with the partial damage of the reaction center of PS II and the decreased photosynthetic activities. There occurred a large decrease in q_Q with little change in q_{NP} in the light-chilling plant. When light- and dark-chilled plants were recovered at room temperature for 24 h and their chlorophyll fluorescences were induced with light doubling technique, light-chilled plants showed more smaller magnitude and rate of fluorescence relaxation than dark-chilled plants. These suggest that light-chilling might cause some alterations in transthylakoid ΔpH formation, and that photosynthetic apparatus of cucumber cotyledons is more susceptible to light-chilling. In the fast fluorescence induction kinetics, F_R was decreased by 60% in the light-chilled plants with reference to 25°C light-grown plants, while the dark-chilled plants showed a decreased rate of only 20% with reference to 25°C dark-treated plants for 24h, indicating that cucumber seedling is very sensitive to chilling stress. So, it is certain that chilling injury to the photosynthetic apparatus is strongly dependent on the presence of light in cucumber seedlings.

서 론

온대지역에서 재배하는 일년생 작물 중에는 열대나 아열대 지역에서 도입된 종이 많다. 이들은 대체로 저온감수성이어서 12°C 이하에서 저온장해를 일으켜 생장과 생산성이 저하됨으로서 많은 문제를 안겨주고 있다(Hetherington *et al.*, 1989). 온대지역에서 주기적으로 나타나는 낮은 기온은 초봄에 파종하는 많은 작물에 피해를 초래할 수 있으며 특히 낮은 기온과 빛이 상호작용하는 조건에서는 저온의 피해를 가중시키게 된다.

식물이 저온에 노출될 때 우선 광합성과정이 먼저 영향을 받게 되고 특히 저온과 함께 빛이 조사될 때 식물의 광합성기구가 손상을 입게 되거나 저온의 저해효과를 상충시키게 된다. 저온의 광조건은 식물의 잎이 광저해(photoinhibition)를 받을 수 있는 조건을 마련하며 이로 인해 여러 광조건에서 측정된 광합성률이 저하되고 실온(Van Hasselt and Van Berlo, 1980)이나 77 K(Greer *et al.*, 1986)에서 측정된 엽록소 형광이 감소한다. 광합성조직이 광합성에 사용하는 수준보다 더 과다한 양의 빛에 노출되면 광계 II의 광화학반응의 효율이 감소하면서 광합성의 활성이 낮아지는데 이를 광저해(photoinhibition)라 한다. 저온에서의 광저해 과정은 특히 산소 의존성이라는 점에서 실온에서의 광저해와 비교할 때 그 작용기작이나 손상부위가 다를 것으로 여겨진다(Powles, 1984).

저온의 광저해에서는 암반응이 억제되고 이로 인해 전자수용체가 부족해짐에 따라 Mehler 반응에 의해 전자가 산소에 전달된다. 그 결과 활성상태의 superoxide ion(O_2^-)이 형성되며 또, 산소는 excited triplet state의 엽록소와 반응하여 singlet oxygen(O_2)을 형성하고 이들 라디칼이 D1 protein을 분해함으로써 틸라코이드 막에서 과산화 활성을 증가시키는 등의 현상을 초래한다(Richter *et al.*, 1990). 따라서 저온감수성 혹은 저항성의 여부는 그 식물이 자유라디칼의 과다한 생성과 같은 저온 스트레스를 견딜 수 있는 정도에 따라 판단될 수 있을 것이다. 이들 active oxygen에 대한 방어기체로서 식물체내에 ascorbate와 carotenoid의 pool이 존재하며 저온 저항성 식물일수록 이들의 pool이 크다. 특히 zeaxanthin은 과다한 들뜬 에너지상태에서 생기는 singlet excited state의 엽록소 분자를 들뜬 상태로부터 벗어나게 하거나 singlet oxygen과 반응함으로써 thermal energy dissipation을 증가시켜 광합성기구의 손상을 방지하는 주된 역할을 담당한다(Demmig-Adams and Adams III, 1992).

저온에서는 적당한 광도의 빛이라도 광합성이 억제됨으로서 과량의 들뜬에너지로 나타날 수 있으나 zeaxanthin 함량이 높게 유지 되는 조건이라면 thermal energy dissipation이 일어나 광합성기구를 보호할 수 있다(Demmig-

Adams *et al.*, 1989). 광저해가 가역적 현상이라면 과다한 빛 에너지의 피해로부터 광합성기구를 보호할 수 있으나 한계를 초과하는 장기간의 비가역적 광저해는 광합성기구를 영구손상시키고 엽록소를 분해하는 광산화(photooxidation)가 일어난다(Gilmore and Yamamoto, 1991).

본 연구에서는 저온 감수성 식물인 오이(*Cucumis sativus* L.) 유식물이 저온에 노출된 경우 광조건과 암조건에서 자엽의 수준에서 광합성활성, CO_2 고정능을 측정하고, 실온에서 엽록소 형광 유도 분석을 통해 저온이 광합성기구에 미치는 변화를 *in vivo* 상태에서 조사하고 특히 저온의 광조건에서 광저해의 여부를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

식물 재료. 7일간 vermiculite에서 100 $\mu\text{mol quanta m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (명주기 16 h : 암주기 8 h)의 PPFD(photosynthetically active photon flux density)를 조사하여 25°C에서 약 7일간 키운 오이(*Cucumis sativus* L. cv. Ilmichungjang)를 저온처리하고 그 자엽을 취하여 실험에 이용하였다.

자엽의 산소발생능 측정. 광합성적 산소발생과 quantum yield는 25°C에서 Hansatech LD-2 leaf disc O_2 -electrode unit와 Schott 1500 illuminator를 이용하여 CO_2 포화조건에서 측정하였다.

CO_2 고정능의 측정. 오이 유식물의 자엽을 식물체에 달린채로 leaf chamber에 넣고 350 vpm CO_2 기체를 200 mL/min의 유속으로 흘려주는 동시에 포화광(약 1,330 $\mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)을 조사하면서 CO_2 농도차를 Infrared Gas Analyzer system(Analytical Development Co., U.K.)로 측정하여 data logger에 기록하고 단위시간 단위면적당 흡수된 CO_2 양을 산출하였다.

실온에서의 엽록소 형광유도 과정과 형광소멸 요인의 분석. 엽록소 a의 형광은 pulse amplitude modulation fluorometer(model PAM 101, H. Walz, F.R.G.)를 사용하여 직경 1.3 cm의 자엽 disc를 Hansatech LD-2 leaf disc O_2 -electrode unit에 넣고 기체상의 CO_2 가 5% 정도 되도록 carbon buffer를 가하여 1분간 평형에 이르도록 한 후 25°C에서 측정하였다. 틸라코이드막 에너지회와 관련된 형광소멸을 충분히 relaxation 시킬 수 있도록 시료를 5분 동안 암처리한 후 modulation된 약한 적색광 ($2 \mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)으로 형광을 여기시켜 Fo(광계 II의 반응중심이 모두 열려있을 때의 형광) 수준을 구하였고, 광합성을 일으키기 위하여 지속적인 적색의 actinic light ($60 \mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)을 조사하였다. 최대 형광인 Fm(광계 II의 반응 중심이 모두 닫혀 전자수용체는 완전히 환원상태에 있을 때의 형광)은 포화광(약 3,000 $\mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)을 1초 동안 pulse 처리하여 구하였으며 형광소멸 요인을 분석하기 위하여 30초 간격

Table 1. Quantum yields and light-saturated rates of O₂ evolution in cucumber cotyledon discs

Materials	Quantum yield	O ₂ evolution
	Arbitrary Unit	μmol m ⁻² ·s ⁻¹
Control	0.100	6.07
Light-chilled	0.037	2.36
Dark-chilled	0.087	4.68

The plants were chilled in 100 μmol quanta m⁻²·s⁻¹ or in darkness for 24 h at 4°C. Control plants were grown at 25°C under 100 μmol quanta m⁻²·s⁻¹. Light saturated rates of O₂ evolution were recorded at CO₂ saturation and an incident PPF of 1,330 μmol m⁻²·s⁻¹. The values are the means of three separate experiments.

으로 1초 동안의 포화광 pulse를 처리하였고 (Fv)m(maximal variable fluorescence)은 Fm(maximal fluorescence)과 Fo(initial fluorescence)의 차로 나타났다.

엽록소 형광의 소멸 요인은 qE(energy-dependent fluorescence quenching), qNP(nonphotochemical fluorescence quenching), qQ(photochemical fluorescence quenching) 및 qR(fluorescence quenching that is not reversed by DCMU) 등의 값을 Oxborough와 Horton(1988)의 방법에 따라 light-doubling technique으로 구하여 산출하였다.

결과 및 고찰

자엽의 산소발생능 및 CO₂ 고정능. 저온에 노출된 오이 유식물에서 자엽의 산소발생능을 조사하기 위하여 4°C의 저온실에서 100 μmol quanta m⁻²·s⁻¹ 정도의 형광등을 조사한 광조건과 암조건으로 24시간 동안 처리한 후 그 자엽을 절취하여 disc를 만들어 CO₂ 및 광포화 조건에서 산소발생량을 측정하였다(Table 1). 광조건에서 4°C 처리한 식물은 25°C의 대조구 식물에 비하여 산소발생률이 61%까지 저하되었고 암조건에서 4°C 처리한 식물은 23% 저하되어 저온 효과는 광조건에서 더욱 뚜렷하게 나타났다. 낮은 광도에서 측정된 산소발생률을 기초로 산출한 quantum yield(Φs) 역시 암조건에서(13%) 보다 광조건에서(63%) 현저히 억제됨을 볼 수 있었다. 5°C 광조건에서 5시간 동안 처리한 옥수수 잎에서 quantum yield가 50%가량 저하되었고(Ortiz-Lopez *et al.*, 1990), 5°C의 광조건에서 4일간 처리한 호박유식물의 잎에서도 산소발생이 68%, quantum yield가 52% 감소된 바 있다(Mäenpää *et al.*, 1988).

4°C의 광조건에서 24시간 처리한 오이 유식물의 자엽에서 CO₂ 고정능을 측정된 결과(Table 2), 25°C의 대조구에

Table 2. Photosynthetic CO₂ uptake rates of cucumber cotyledons after chilling at 4°C for 24 h in the light

	Photosynthetic CO ₂ uptake rates (CO ₂ μmol m ⁻² ·s ⁻¹)
Control	6.14
Light-chilled	0.89

The plants were grown in the growth chamber, 25°C and were chilled in moderate light (100 μmol quanta m⁻²·s⁻¹) for 24 h at 4°C. The values are the means of three separate experiments.

비하여 86% 억제되었다. 다른 보고에 의하면 72시간 동안 16시간 광주기하에 2°C에서 처리한 토마토 식물의 잎에서 CO₂ 고정능이 43% 감소되었고 24시간 실온에서 회복시켜도 32% 감소된 값을 보였는데 이 때 기공저항이 증가하였다고 한다(Walker *et al.*, 1991). 그러나, 잎의 internal CO₂의 농도는 변화가 없었기 때문에 저온의 광조건에서 광합성이 감소한 것은 기공저항의 증가와는 관련없이 광합성기구의 기능 손상이나 광합성반응이 억제된 데서 기인한 것으로 해석되었다(Peeler and Naylor, 1988). 본 실험에서도 저온의 광조건에서 (Fv)m이 크게 감소하는 것으로 보아(Fig. 2) 광합성기구의 손상이 일어났을 것으로 생각된다(Musser *et al.*, 1984). 저온에 의한 형광의 신속한 감소는 광계 II의 산화 side에서의 전자전달 억제 때문일 것이다(Critchley and Smillie, 1981). 상기한 바와 같은 quantum yield의 감소와 광합성활성의 저하는 저온의 광조건에 노출된 오이유식물에 광저해가 있었음을 시사하는 결과라 할 수 있겠다.

Fig. 1은 광의 세기에 따른 오이 자엽의 산소발생물을 나타낸 것이다. 25°C 광조건에서 생장 중인 자엽의 산소발생률은 측정시 조사한 광도의 세기에 따라 높은 기울기로 비례하여 증가하였고 4°C 광조건에서 24시간 처리한 자엽의 경우 직선의 기울기가 대조구 보다 낮아져 저온에 노출된 식물은 측정시의 광도에 반응하는 광합성 활성이 저하되었음을 알 수 있었다. 또한, 4°C 암조건에서 24시간 처리한 오이 유식물의 자엽에 대하여 포화광 이하의 낮은 광도에서 산소발생률을 측정된 결과, 저온에 의한 억제정도가 포화광에서 측정된 경우의 산소발생률 억제에 비하여 (Table 1) 현저하지는 않았다(Fig. 1). 4°C 광조건에서 24시간 처리 후 25°C에 옮겨 24시간 동안 회복실험한 식물의 경우 산소발생률은 저온 광처리구보다 높았지만 기울기는 보다 완만하게 나타남으로서 저온 광조건에서의 광합성 저해가 실온에서도 완전히 회복되지 않고 있음을 나타냈다.

저온처리에 따른 자엽의 엽록소 형광 변화. 저온에 노출된 오이 유식물에서 자엽의 광합성 기구 변화를 신속히

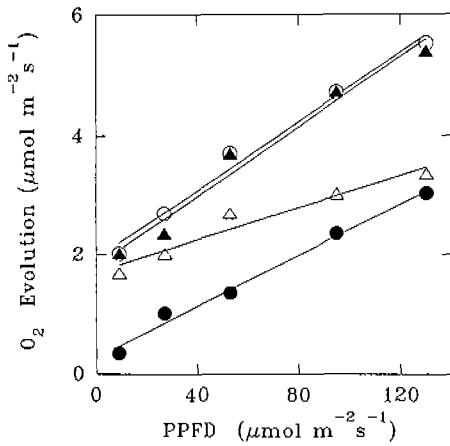


Fig. 1. Initial slopes of the light-response curves of O₂ evolution in cucumber cotyledon discs. O₂ evolution was measured at CO₂ saturation, 25°C. Control cotyledons from cucumber plants of 25°C growth chamber (○-○), cotyledons from plants chilled in light for 24 h at 4°C (●-●), cotyledons from plants chilled in darkness for 24 h at 4°C (▲-▲), and cotyledons from plants light-chilled and subsequently 24 h-recovered at 25°C (△-△).

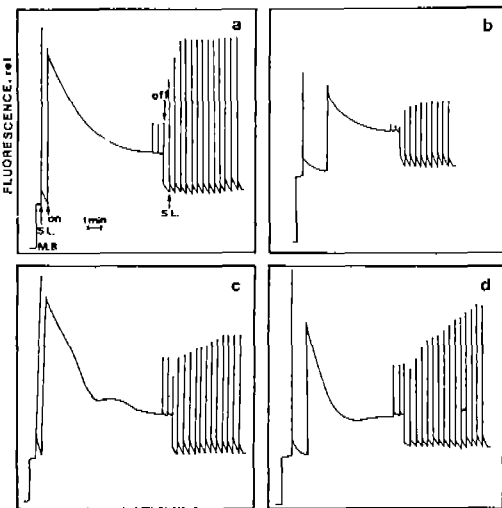


Fig. 2. Changes in chlorophyll fluorescence induction transients of cotyledons from cucumber plants exposed to chilling temperature in light or darkness. a, control plants grown at 25°C in light; b, light-chilled plants at 4°C for 24 h; c, dark-treated plants at 25°C for 24 h; d, dark-chilled plants at 4°C for 24 h. The measuring beam (M.B.) was turned on at zero time and actinic light (on and off) were turned on and off where indicated by arrow. The saturating light pulse (S.L.) were also applied where indicated by arrow.

Table 3. Chlorophyll fluorescence characteristics of cucumber cotyledons measured at room temperature. The cucumber seedlings were grown in the growth chamber of 100 μmol quanta m⁻²·s⁻¹, 25°C and were treated under different temperature regimes in light or dark for 24 h. The values are the means of three replicates of the representative experiment

Materials	Fluorescence parameters (relative units)			
	F _o	(F _v)m	F _m	(F _v)m/F _m
25°C Light	2.6	10.4	13.0	0.80
25°C Dark	2.8	12.5	15.3	0.82
4°C Light	4.3	6.7	11.0	0.61
4°C Dark	3.1	12.0	15.1	0.79

알아내기 위하여 실온에서 열록소 형광을 유도하여 형광 parameter들을 계산하였다(Table 3). F_o는 들뜬 에너지가 광계 II의 반응중심으로 이동하기 전 광계 II 안테나의 들뜬 chlorophyll a 분자들이 발하는 형광으로 Q_A가 완전 산화 상태에 있을 정도의 미약한 유도광을 조사함으로써 나타난다. F_m은 Q_A가 완전히 환원된 상태에서의 형광이며 F_v는 Q_A의 환원과 재산화율의 차이에 의해 형성되는 형광으로 Q_A와 plastoquinone 사이에 일종의 준평형상태(quasi-equilibrium)의 여부에 따라 달라진다(Walker, 1988). (F_v)m/F_m의 비는 들뜬에너지가 PS II 안테나에 의해 수확된 후 광계 II 반응중심으로 전달되어 광화학반응에 이용되는 효율을 의미한다(Kitajima and Butler, 1975).

4°C 광조건에서 24시간 처리한 오이유식물의 경우 F_o의 증가와 (F_v)m, F_m, (F_v)m/F_m의 감소가 뚜렷하였는데 4°C 암조건인 경우보다 그 효과가 더욱 두드러지게 나타났다(Table 3). 저온의 광조건에서 오이 자엽의 F_o가 증가한 것은 광저해에 의해 광계 II 반응중심의 일부가 손상된에서 기인한 것으로 보이며(Cleland *et al.*, 1986), (F_v)m이 감소한 것은 저온의 광조건에서 광계 II 환원 부위의 활성이 낮아져 Q_A의 재산화율이 감소함으로써 광화학반응이 감소한 때문으로 해석된다(Greaves, 1989). (F_v)m/F_m비는 24% 감소하였는데 이는 광계 II의 일차 quinone 수용체인 Q_A의 광화학적 환원 효율이 감소하였음을 나타낸다. (F_v)m/F_m의 비는 광저해에 대한 주요지표로 사용하며(Björkman, 1987) Hetherington 등(1989)은 저온감수성 식물에서 (F_v)m/F_m의 감소와 광저해 사이에 직선적 관계가 있음을 보고하였다. 광저해가 발생하는 것은 광계 II의 반응중심이 손상을 입어 광계 II의 광화학반응의 속도상수가 감소하거나 혹은 들뜬에너지를 열에너지로 소산시키는(thermal energy dissipation) 반응의 속도상수가 증가하기 때문이다. 위 두 가지 현상이 복합되어 일어나도 광저해가 나타난다(Demmig and Björkman, 1987).

Table 4. Fluorescence quenching coefficients derived from the chlorophyll fluorescence induction curves of cucumber cotyledons. The cucumber seedlings were grown in the growth chamber of 100 $\mu\text{mol quanta m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 25°C and were treated under different temperature regimes in light or dark for 24 h. The values are the means of three replicates of the representative experiment

Materials	Fluorescence quenching parameters (relative units)			
	qQ	qE	qR	qNP
25°C Light	0.36	0.53	0.001	0.54
25°C Dark	0.57	0.23	0.330	0.48
4°C Light	0.13	0.32	0.290	0.52
4°C Dark	0.59	0.42	0.180	0.52

Kitajima와 Butler(1975)의 모델에 따르면 광계 II 반응 중심이 손상되면 즉, 광계 II 광화학반응의 반응속도 상수가 감소하면 Fo의 증가를 가져온다고 한다. 반대로 thermal energy dissipation의 반응속도 상수가 증가하면 Fo의 감소와 동시에 Fm의 감소가 나타난다고 한다. 이와 같은 thermal energy dissipation의 증가는 과도한 들뜬에너지가 광합성기구를 손상시키지 않고 dissipation되도록 하는 안전판의 역할을 하므로 잠재적으로 광합성 기구를 보호할 수 있는 과정이라고 볼 수도 있다. 따라서 광저해 현상에는 광합성의 활성을 감소하는 측면과 더불어 다른 측면 즉, 광합성기구를 보호하는 기작으로서의 효과를 가지는 양면성이 있는 것이다. 본 실험 결과에서는 저온의 광조건에서 Fo의 증가와 Fm의 감소를 관찰할 수 있었다(Table 3). 이는 광계 II의 반응중심에 광저해에 의한 손상이 있었음을 알게 한다. 식물은 보통 강한 광조건에서 LHC II가 인산화되어 틸라코이드막의 non-appressed region으로 이동함으로써 광계 II의 반응중심이 과도하게 들뜨지 않도록 상전이를 일으키는 기작이 존재하나(Moll and Steinback, 1986) 저온에 노출된 감수성 식물에서는 LHC II 인산화반응이 저해됨으로서(Moll *et al.*, 1987) state I-state II의 상전이 일어나지 않고 plastoquinone pool이 고도의 환원상태에 처하게 된다. 이로 인하여 저온에서 Q_A의 재산화가 낮아지고 광저해가 생기며 이는 광계 II에 손상을 미칠 수 있을 것으로 생각된다. 한편, 4°C 암조건에서 24시간 처리한 경우에는 25°C 암조건에 비하여 Fo와 (Fv)m의 변화는 크지 않았으며 (Fv)m/Fm 역시 감소하지 않았다(Table 3). 이는 광계 II의 반응 중심을 손상시키는 저온의 광조건과 달리 암처의 저온에서는 광계 II의 반응 중심에 대한 영향이 적은데서 기인한 것으로 생각된다.

엽록소 형광유도 과정과 형광 소멸의 relaxation 과정은

Fig. 2와 같다. 저온의 광조건에서 처리한 식물의 형광유도시 광화학활성의 감소에(Fig. 1) 의한 것으로 생각되는 steady state에서의 상대적인 (Fv)t(variable fluorescence at time t)의 상승을 볼 수 있었다(Fig. 2b). (Fv)t의 상승은 Q_A의 재산화가 제한된데서 기인하는 것 같다(Walker, 1988). 한편, 25°C의 암조건에서 24시간 처리한 경우 뚜렷하게 나타났던 M-peak가 4°C 암조건에서는 약해졌다(Fig. 2c, d). M peak는 암적응된 잎에 낮은 광도의 빛을 조사할 때 보이는데 이는 탄소환원 회로의 대사 및 ATP/ADP ratio의 영향을 받는다(Walker, 1988). 저온에서 M peak가 나타나지 않는 것은 탄소환원 회로의 대사산물의 이용과 ATP의 소모의 변화에 기인하는 것 같다(Greaves, 1989). 흥미롭게도, 엽록소 형광 소멸의 relaxation에서 대조구 식물의 경우 1.5분내에 qQ 및 qE의 relaxation이 완료되었으나(Fig. 2a) 암조건(Fig. 2c) 및 저온처리구에서는(Fig. 2b and d) 형광의 relaxation이 대조구에 비하여 완전하지 않았으며 회복도 느리게 일어났다. 이는 저온과 암조건에서 틸라코이드막의 ΔpH 생성능이 저해되고 relaxation 과정에서의 ΔpH 소실속도가 낮아진 바 틸라코이드막에 대한 영향도 있었음을 시사한다. 저온에서는 막지질의 점도가 변화되고 이로 인하여 전자전달 단백질의 활성이 변할 수 있다(Greaves, 1989).

저온에 노출된 오이 유식물에서 광합성기구의 변화 여부를 알기 위하여 실온에서 엽록소 형광을 유도한 후 형광 소멸 요인을 분석하였다(Table 4). 25°C 광조건에서 재배한 식물의 자엽을 대조구로 할 때 4°C의 광조건에서 24시간 동안 처리한 식물의 자엽에서는 qQ 값이 크게 감소하고 qNP는 변하지 않았다. 그러나 qNP의 대부분을 차지하는 qE는 감소되고 오히려 qR이 증가하면서 양자는 비슷한 값을 갖게 됨으로써 ΔpH 에 의해 생성되는 qE보다 qR이 상대적으로 높은 비율을 차지하게 되었다. 이는 저온의 광조건에서 Q_A의 환원력이 약화되고 틸라코이드막의 xanthophyll cycle의 반응이 느려짐으로 말미암아 광계 II의 반응중심이 손상되는 광저해가 생기고 이로 인하여 qR이 변화되었을 가능성을 시사한다(Demmig-Adams *et al.*, 1990). 한편, 25°C 암조건에 24시간 처리한 경우 qQ 값이 증가하고 qNP가 감소하였고 4°C 암조건에서는 qQ 역시 증가하였으나 qNP는 변화가 없었다. qQ는 Q_A의 산화상태를 나타내고 Q_A의 산화 여부는 광합성 탄소환원회로의 직접적 영향을 받으므로 암처리한 식물에서의 qQ의 증가는 탄소환원회로의 대사산물의 변화와 관련된 것으로 보인다(Walker, 1988).

오이 유식물의 저온에 대한 저항성 여부를 결정하기 위하여 저온에 노출된 오이 유식물을 다시 정상 기온에 복귀시켜 일정시간 후 광합성 활성의 회복 여부를 실온에서 엽록소 형광으로 조사하였다(Fig. 3). 4°C 광조건에서 24

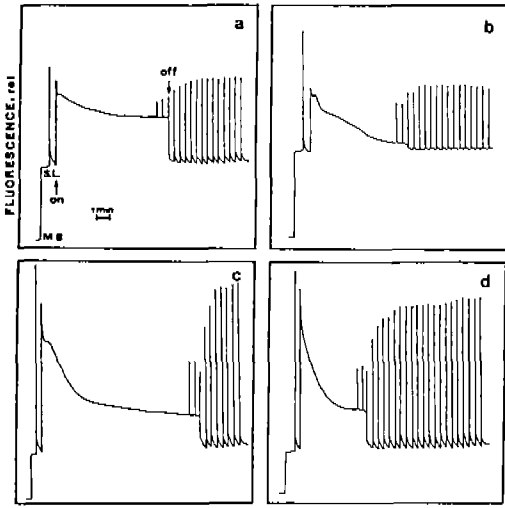


Fig. 3. Recording traces changes in fluorescence yield of cotyledons from plants recovered for 24 h after chilling at 4°C in light or darkness. a, light-recovered plants after light-chilling for 24 h (4L → 25L); b, dark-recovered plants after light-chilling for 24 h (4L → 25D); c, light-recovered plants after dark-chilling for 24 h (4D → 25L); d, dark-recovered plants after dark-chilling for 24 h (4D → 25D).

시간 처리한 식물을 25°C 광조건으로 24시간 옮긴 경우 F_0 의 회복은 없었으나 qQ 가 일부 회복됨을 볼 수 있었고 저온 처리식물을 25°C 암조건에 24시간 옮긴 경우 역시 F_0 의 회복이 없었고 엽록소 형광의 relaxation도 매우 적어 저온 stress로부터의 회복이 적음을 알 수 있었다.

그러나, 4°C 암조건에서 24시간 처리한 후 25°C 광조건과 암조건으로 24시간 옮긴 식물의 경우 엽록소 형광의 relaxation이 거의 완전하게 이루어져 저온 stress로부터의 식물의 회복이 순조로움을 알 수 있었다. 이러한 결과는 광조건에서 저온에 노출된 식물의 경우 암조건에서 노출되었을 때보다 저온 stress가 광합성기구에 더욱 심하게 작용하여 광저해가 유발되고 이로 인하여 광합성기구의 기능이 손상된 결과 저온 stress로부터의 회복이 원활하지 못한 것으로 생각된다(Carlberg *et al.*, 1992).

초기 형광유도에 미치는 저온의 영향. 저온처리한 오이 유식물에서 stress indicator로서 자엽의 fast fluorescence induction curve를 기록하고 F_R (maximal rate of the induced rise in chlorophyll fluorescence)을 나타냈다(Fig. 4). 4°C 광조건에서 24시간 처리한 식물의 경우 F_R 은 25°C 광조건에 있는 식물에 비해 약 60% 감소하였고 4°C 암조건에서 24시간 처리한 식물은 25°C 암조건에 24시간 처리한 경우보다 20% 정도 감소하였으나 전체적으로 암

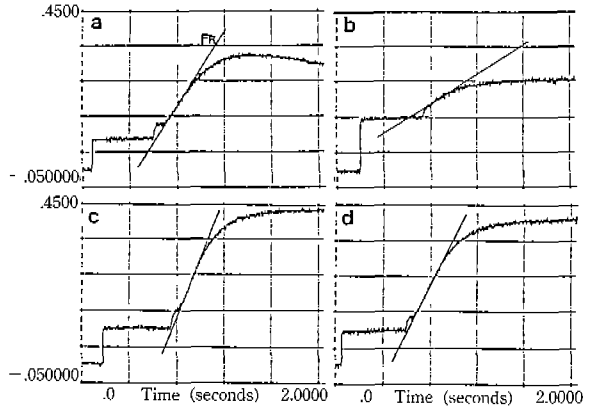


Fig. 4. Recording traces of changes in fast induction kinetics of chlorophyll fluorescence of cotyledons from cucumber plants chilled in light or darkness. F_R means the maximal rate of the induced rise in chlorophyll fluorescence. a, control plants grown at 25°C in light; b, light-chilled plants at 4°C for 24 h; c, dark-treated plants at 25°C for 24 h; d, dark-chilled plants at 4°C for 24 h.

조건에서 F_R 은 높게 나타났다. 이는 광조건보다 암조건에 있는 식물이 stress를 덜 받기 때문인 것 같다. Smillie와 Hetherington(1983)은 저온감수성인 오이의 잎을 0°C 처리시 4.3시간만에 F_R 이 50% 감소됨을 보고한 바 있다. 이로부터 저온에서 오이가 매우 민감하게 stress를 받음을 알 수 있고 이러한 엽록소 형광유도를 통하여 그 stress의 정도를 조기에 알아낼 수 있었다.

이상의 결과로부터 저온에 노출된 오이 유식물의 자엽에서 산소발생률, quantum yield, CO_2 고정능 및 variable fluorescence가 감소하였고 그 효과는 광조건에서 더욱 뚜렷함을 알 수 있었다. 저온의 광저해에 따라 F_0 의 증가를 볼 수 있는데 이는 저온에서의 광저해에 따른 광계 II의 반응중심 일부의 손상과 관련된 것으로 생각된다. 이와 더불어 저온에서 암조건보다 광조건에서 광합성 parameter들의 뚜렷한 감소와 $(F_v)/F_m$ 의 감소를 상관지어 볼 때 저온의 광조건에서의 광합성의 저하는 광저해에 의한 광계 II의 광화학 활성의 감소 때문임을 알 수 있었다(Powles, 1984). 즉, Q_A 의 환원력 감소와 zeaxanthin에 의한 thermal energy dissipation이 원활하지 못함으로서 광계 II의 반응중심 손상의 가능성을 생각할 수 있겠다. 저온처리한 후 실온에 옮겨서 하루 생장시킨 식물의 엽록소 형광의 relaxation kinetics를 볼 때, 저온의 광조건에 노출된 식물은 암조건에서 저온에 노출된 식물보다 형광의 relaxation이 낮았으므로 광조건에서 광합성기구가 더욱 심한 장애를 입었음을 알 수 있었다. 특히 fast fluorescence induction에서 구한 F_R 은 저온에 노출된 식물의 광합성기구에

미치는 손상을 조기에 알아낼 수 있는 저온장해의 stress indicator로서 널리 활용될 수 있을 것이다.

적 요

저온에 노출된(4°C에서 24시간) 오이 유식물에서 자엽의 산소 발생률 및 quantum yield, CO₂ 고정능, 실온에서 측정된 엽록소 형광유도의 변화 등을 조사하였다. 저온의 광조건에 노출된 오이 유식물에서 자엽의 최대 산소 발생률, quantum yield, CO₂ 고정능, variable fluorescence가 현저히 감소하였다. 특히 저온의 광조건은 엽록소 형광유도에서 Fo를 증가시키고 (Fv)m/Fm을 감소시켰는데 이는 광저해로 인하여 광계 II의 반응중심이 손상되고 광합성 활성이 감소된데서 기인한 것으로 생각된다. 또한 저온처리 동안 엽록소 형광소멸에서도 암조건보다 광조건에서 qQ가 크게 감소하였으나 qNP는 차이가 없었고, 저온처리 이후의 회복과정에서도(24시간) 암조건보다 광조건에서 엽록소 형광의 relaxation이 느리고 낮게 나타나 오이 잎의 광합성 기구가 저온의 광처리에 의해 보다 심하게 저해되었음을 알 수 있었다. 특히 stress indicator인 F_R은 저온의 암조건에서 20% 감소한 반면, 광조건에서는 60%나 감소하여 오이의 광합성기구가 저온에 매우 민감하게 반응하는 것으로 생각되었으며 이는 광합성기구에 대한 저온장해가 뚜렷하게 광의존성을 나타낸다.

참 고 문 헌

- Björkman, O. 1987. Low-temperature chlorophyll fluorescence in leaves and its relationship to photon yield of photosynthesis in photoinhibition. *In*, Photoinhibition, Kyle, D.J., C.B. Osmond, and C.J. Arntzen (eds.). Elsevier, Amsterdam. pp. 123-144.
- Carlberg, I., S. Bingsmark, F. Vennigerholz, U.K. Larsson and B. Anderson. 1992. Low temperature effects on thylakoid protein phosphorylation and membrane dynamics. *Biochim. Biophys. Acta* **1099**: 111-117.
- Cleland, R.E., A. Melis, and P.J. Neale. 1986. Mechanism of photoinhibition: photochemical reaction center inactivation in system II of chloroplasts. *Photosynth. Res.* **9**: 79-88.
- Critchley, C. and R.M. Smillie. 1981. Leaf chlorophyll fluorescence as an indicator of high light stress (photoinhibition) in *Cucumis sativus* L. *Aust. J. Plant Physiol.* **8**: 133-141.
- Demmig, B. and O. Björkman. 1987. Comparison of the effect of excessive light on chlorophyll fluorescence (77 K) and photon yield of O₂ evolution in leaves of higher plants. *Planta* **171**: 171-184.
- Demmig-Adams, B. and W.W. Adams III. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **43**: 59-626.
- Demmig-Adams, B., W.W. Adams III, U. Heber, S. Neimanis, K. Winter, A. Kruger, F. Czygan, W. Bilger, and O. Björkman. 1990. Inhibition of zeaxanthin formation and of rapid changes in radiationless energy dissipation by dithiothreitol in spinach leaves and chloroplasts. *Plant Physiol.* **92**: 293-301.
- Gilmore, A.M. and H.Y. Yamamoto. 1991. Zeaxanthin formation and energy-dependent fluorescence quenching in pea chloroplasts under artificially-mediated linear and cyclic electron transport. *Plant Physiol.* **96**: 635-643.
- Greaves, J.A. 1989. Effect of chilling temperatures on re-oxidation of photosystem II primary electron acceptor Q_A in maize measured by chlorophyll fluorescence *in vivo*. *In*, Current topics in plant biochemistry and physiology, Randall, D.G. and D.G. Blevins (eds.). Vol. 8, Univ. of Missouri-Columbia. pp. 291.
- Greer, D.H., J.A. Berry, and O. Björkman. 1986. Photoinhibition of photosynthesis in intact bean leaves. *Planta* **168**: 253-260.
- Hetherington, S.E., J. He, and R.M. Smillie. 1989. Photoinhibition at low temperature in chilling-sensitive and -resistant plants. *Plant Physiol.* **90**: 1609-1615.
- Kitajima, M. and W.L. Butler. 1975. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone. *Biochim. Biophys. Acta* **376**: 105-115.
- Mäenpää, P., E.-M. Aro, S. Somersalo, and E. Tyystjärvi. 1988. Rearrangement of the chloroplast thylakoid at chilling temperature in the light. *Plant Physiol.* **87**: 762-766.
- Moll, B.A. and K.E. Steinback. 1986. Chilling sensitivity of *Oryza sativa*. The role of protein phosphorylation in protection against photoinhibition. *Plant Physiol.* **80**: 420-423.
- Moll, B.A., M. Eilmann, and K.E. Steinback. 1987. Phosphorylation of thylakoid proteins of *Oryza sativa*. *In vitro* characterization and effects of chilling temperatures. *Plant Physiol.* **83**: 428-433.
- Musser, R.L., S.A. Thomas, R.R. Wise, T.C. Peeler, and A.W. Naylor. 1984. Chloroplast ultrastructure, chlorophyll fluorescence, and pigment composition in chilling-stressed soybeans. *Plant Physiol.* **74**: 749-754.
- Ortiz-Lopez, A., G.Y. Nie, D.R. Ort, and N.R. Baker. 1990. The involvement of the photoinhibition of photosystem II and impaired membrane energization in the reduced quantum yield of carbon assimilation in chilled maize. *Planta* **181**: 78-84.
- Peeler, T.C. and A.W. Naylor. 1988. A comparison of the effects of chilling on leaf gas exchange in pea (*Pisum*

- sativum* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Physiol.* **86**: 143-146.
- Powles, S.B. 1984. Photoinhibition of photosynthesis induced by visible light. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **35**: 15-44.
- Oxborough, K. and P. Horton. 1988. A study of the regulation and function of energy-dependent quenching in pea chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* **934**: 135-143.
- Richter, M., W. Ruhle, A. Wild. 1990. Studies on the mechanism of photosystem II photoinhibition. I. A two-step degradation of D1-protein. *Photosynth. Res.* **24**: 229-235.
- Smillie, R.M. and S.E. Hetherington. 1984. A screening method for chilling tolerance using chlorophyll fluorescence *in vivo*. In, *Advances in Photosynthesis Research*, C. Sybesma (ed.). Vol. 4, The Hague: Martinus Nijhoff. pp. 447-450.
- Van Hasselt, P.R. and H.A.C. Van Berlo. 1980. Photooxidative damage to the photosynthetic apparatus during chilling. *Physiol. Plant.* **50**: 52-56.
- Walker, D.A. 1988. The use of the oxygen electrode and fluorescence probes in simple measurements of photosynthesis. Oxygraphics, Sheffield. 188 p.
- Walker, M.A., B.D. McKersie, K.P. Pauls. 1991. Effects of chilling on the biochemical and functional properties of thylakoid membranes. *Plant Physiol.* **97**: 663-669.
- (1993. 1. 20 接受)