

Salicylic acid가 닭의장풀의 광합성에 미치는 영향

이 준 상

(상지대학교 생명과학과)

적 요 - 살리실릭산(SA)이 닭의장풀의 잎의 성장, 엽록소 함량, 광합성능, 기공전도도에 미치는 영향을 조사하였다. Hoagland 용액에 SA를 처리한 후 3주 동안 배양한 닭의장풀은 잎의 길이, 너비, 면적이 크게 감소하였다. 1mM SA를 1, 2주 처리 시에 엽면적 생장이 약 10% 억제되었으며, 3주째에는 22% 억제하였다. SA는 또한 2주째는 47% 그리고 3주째는 53% 엽록소 함량을 감소시켰다. SA를 처리한 샘플의 엽록소 a/b는 3주째에 약 3으로 크게 증가하였다. SA를 분리 엽록체에 직접 처리하여 전자전달활성을 직접 측정하였다. PSII+PSI, PSII 그리고 PSI 활성에 SA가 영향을 주지 않았다. 이는 SA가 직접 광합성 기작에는 영향을 주지 않는다는 것을 나타낸다. 그러나, SA를 오랜 기간 처리하면 광합성의 감소는 매우 뚜렷하게 관찰되었다. Hoagland 용액에 SA를 처리한 후 3주 동안 배양한 닭의장풀에 다양한 빛 광도(100~1000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)를 조사하면 약 23~65%의 광합성능의 저하가 나타났다. 기공전도도도 유사한 반응을 보여주었다. SA 처리구의 기공은 거의 닫혔다. 여러 광조건에서 기공전도도가 같다는 것은 SA가 기공의 조절 기능을 상실하게 한 것으로 보여진다. 이들 결과들로부터 광합성능에 대한 SA의 효과는 SA 자체에 의한 것이 아니라 간접적인 대사 경로를 통해 매개되는 것으로 추측된다.

서 론

살리실릭산(SA)은 개화, 종자 발아, 기공 기작 등 식물의 다양한 대사에 영향을 주는 자연발생적인 신호전달물질이다(Malamy & Klessig 1992). 많은 논문들은 SA가 기공 닫힘을 유도하거나 기공 열림을 억제한다고 보고하고 있다(Bhatia *et al.* 1986; Larque-Saaverda 1978, 1979; Lee 1995, 1998; Manthe *et al.* 1992).

기공은 환경의 변화에 가장 민감하게 반응하여 식물의 신호전달 연구에 대표적으로 사용된다. 기공은 암처리시, 수분 스트레스시, 환경오염물질 및 중금속에 노출되었을 때 그리고 생체적 리듬에 의해 닫힌다. 그러나, 암처리시와 생체적 리듬에 의한 기공 닫힘 기작은 잘 알려져 있지 못하여 SA의 중요성이 새롭게 인식되었다.

Lee(1998)는 SA에 의한 기공 닫힘은 식물이 수분 스트레스를 받았을 때의 기작과 다르다는 것을 밝혔다. 식물이 수분 스트레스를 받으면 뿌리는 이를 감지하여 abscisic acid(ABA)를 합성, 분비하여 공변세포로 이동시킨다. 공변세포로 수송된 ABA는 세포질 내에 Ca^{2+} 의 농도를 증가시켜 이온에 대한 막 투과성에 영향을 준다. Ca^{2+} 농도의 증가는 막 전위 퍼텐셜을 분극화하여 K^{+} -

방출채널을 활성화하고 K^{+} -흡수채널을 불활성화한다.

그 결과 K^{+} 방출을 유도하여 공변세포가 팽압을 잃게 되어 기공이 닫힌다. 그러나, SA에 의한 기공 닫힘은 Ca^{2+} 을 매개로 하지 않음이 밝혀졌다. SA는 catalase의 활성을 억제하여 세포질 내의 H_2O_2 농도를 증가시키며(Lee 1998; Jones 1994), 그 결과 막의 산화가 촉진되어 막 투과성이 증가된다고 보고하였다(Lee 1998). 막 투과성의 증가는 K^{+} 의 방출을 촉진하여 기공 닫힘을 유도한다. Lee (1998)는 또한 1 mM SA가 200~1000 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 빛 강도에서 광합성활성을 억제하였음을 관찰하였다.

이는 SA에 의한 기공 닫힘이 복잡하게 일어난다는 것을 의미한다. 광합성의 감소는 세포내강의 CO_2 농도를 증가시켜 기공 닫힘을 유도한다. 기공은 세포 내 엽록세포로 들어가는 농도를 조절함으로써 간접적으로 광합성 활성을 조절한다. 식물은 빛을 받으면 광합성을 위해 기공이 열린다. 그러나, 광합성 기작이 억제되면 CO_2 의 사용이 급격히 감소하여 세포내강 속의 CO_2 농도를 증가시켜 기공 닫힘을 유도한다.

SA에 의한 기공 닫힘 기작을 완전히 이해하기 위해서는 SA와 광합성과의 관계를 밝히는 것은 매우 중요하다. SA에 대한 광합성 기작의 연구는 미미하지만, 오

존에 의한 광합성 기작의 연구는 부분적으로 이루어졌다. SA와 오존은 식물체 내에서 공통적으로 매우 반응성이 높고 유독한 H_2O_2 와 $OH \cdot$ 를 생성한다. 식물에 하루 2~3시간 200 ppb 오존을 노출시키면 색소 분해 (Sakaki *et al.* 1983; Smith *et al.* 1990; Ruffner *et al.* 1975), 광합성 억제 (Black *et al.* 1982; Saxe & Murali 1989), 엽육세포의 막 손상 (Pell & Weissberger 1976), 잎 단백질 함량의 감소 (Price *et al.* 1990) 등이 일어난다. PSII 활성에는 큰 영향을 주지는 않았지만 형광 감소가 관찰되었다 (Barnes *et al.* 1990; Farage *et al.* 1992).

그러나, 광합성에 대한 세밀한 SA의 효과는 전혀 알려지지 않았다. 따라서, 본 연구는 SA가 닭의장풀의 성장과 광합성 활성에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 식물재료

닭의장풀 (*Commelina communis* L.) 종자를 질석과 부엽토 혼합물 (3:1)에 심어 11/13시간의 명암주기, 20°C, 60%의 습도, $80 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (metal halide lamp)의 광도로 재배하였다. 일주일에 한 번의 주기로 복합비료 (원더그로 2호)를 1g/L의 농도로 주었다.

2. 엽면적, 엽록소 함량의 측정 및 엽록체의 분리

일정한 크기의 유식물을 Hoagland solution을 이용하여 액중배양하면서 대조구와 SA의 처리구의 성장울을 시간에 따라 엽면적, 길이 그리고 너비를 엽면적 측정기 (Area meter, Leica)로 측정하였다.

엽록소 함량의 측정은 Holden (1965)의 방법을 기초로 하여 측정하였으며 엽록체의 분리는 Lee (1985)의 방법을 따랐다.

3. 분리엽록체의 전자전달활성의 측정

분리엽록체의 전자전달활성의 측정은 Lee (1985)의 방법을 기초로 하여 반응액 내의 O_2 변화량으로 측정하였다. PSII+PSI의 활성은 100 mM NaCl, 2 mM EDTA, 2 mM $MgCl_2$ 및 uncoupler로서 5 mM NH_4Cl 을 포함하는 HEPES-KOH 완충용액 (pH 7.6)에 엽록체 현탁액을 넣고 0.5 mM FeCy 및 0.1 mM DCPIP를 첨가한 후 발생하는 산소의 양을 측정하였다.

PSI 활성 측정은 100 mM NaCl, 2 mM EDTA, 2 mM $MgCl_2$, 5 mM NH_4Cl 을 포함하는 HEPES-KOH 완충용액 (pH 7.6)에 PSII 활성억제제로서 10 μM DCMU, 100 μM NaN_3 , 50 μM MV, 전자공여체로는 0.3 mM DCPIP를 넣은 뒤 엽록체 현탁액을 넣고 10 mM ascorbate를 첨가

하고 소비되는 산소 양을 측정하였다.

PSII 활성 측정은 PSII+PSI의 활성 측정과 동일한 용액에 엽록체를 넣고, 전자수용체로 0.25p-PD와 0.5 mM FeCy를 첨가한 후 O_2 를 측정하였다. 빛 강도는 500W projector lamp를 사용하여 $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 백색광을 조사하였으며, 25°C에서 Clark type electrode로 O_2 변화량을 측정하였다.

4. 기공전도도와 광합성능의 측정

액중 배양은 어린 유식물을 뿌리 채 채취하여 SA를 포함하거나 포함하지 않은 Hoagland solution에서 생장시켰으며, 3주 후에 $100 \sim 1000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 광도에서 광합성능을 측정하였다. 기공전도도와 *in vivo* 광합성능은 L1-6400 Portable Photosynthesis System (LI-COR)을 사용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

어린 유식물을 Hoagland solution에서 생장시키면서 성장울에 미치는 SA의 효과는 Table 1에서 보듯이 시간에 따라 잎의 길이, 너비 그리고 엽면적의 차이가 뚜렷함을 알 수 있다.

SA는 *in vivo*와 *in vitro*에서 기공 닫힘을 촉진시킬 뿐만 아니라 (Lee, 1998), Table 1에서 보듯이 SA 처리는 전반적으로 성장울의 저하를 유도한 것을 알 수 있다. 1주와 2주 배양했을 때는 엽면적 생장이 10% 내외 (1주, 6%; 2주, 5%)에서 억제되었다. 그러나, 3주 때는 22%나 크게 억제되었다. 본 실험에서는 뿌리의 길이와 지름은 측정을 하지 않았지만 잎의 생장이 억제된 것으로 보아 SA가 유사한 효과를 보일 것으로 추측된다. 따라서, 인위적인 SA 처리는 식물의 성장을 억제한다 것을 알 수 있다.

Fig. 1은 SA 처리에 대한 엽록소 함량의 변화를 측정 한 것이다. 엽록소 함량의 변화는 2주 때부터 SA 효과가 뚜렷하게 나타났다. 2주 때는 47% 그리고 3주 때는 53% 엽록소 함량이 감소하였다. 이로 인해 SA 처리구에서는 잎의 황백화 현상이 일어났음을 알 수 있었다. 기공 닫힘에서 SA의 주된 효과는 SA가 catalase의 활성을 억제시켜 세포 내에 증가된 H_2O_2 에 의해 매개된 결과이다 (Lee, 1998). H_2O_2 는 반응성이 매우 높고, 가장 유해한 $OH \cdot$ 를 만들어 막의 산화 및 각종 세포 소기관과 단백질 손상을 초래하는 것으로 알려졌다. 따라서, SA에 의한 전반적인 세포 손상이 막의 투과성을 증가시켜 황백화를 유도하고 성장의 억제를 유도하는 것으로 보여진다.

Table 1. The effect of SA on the growth of the seedling of *Commelina communis* L.

Week		0	1	2	3
엽면적 (cm ²)	SA	68.44	82.97	95	98
	CON	67.85	88.44	100	125
길이 (cm)	SA	4.1	4.75	5.5	6.7
	CON	4.6	4.9	6.75	7.7
너비 (cm)	SA	1.5	1.6	1.8	1.8
	CON	1.7	2.03	2.3	2.2

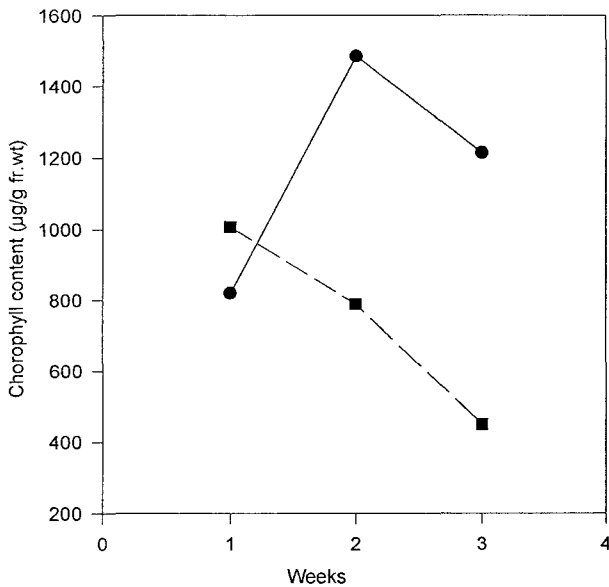


Fig. 1. Effect of SA on chlorophyll content in *Commelina communis* L. Each point is the mean (\pm s.e.m.) of 2 measurements (closed circle; control, closed square; 1 mM SA).

Fig. 2는 SA가 엽록소 a/b 비율에 미치는 영향을 살펴본 것이다. 정상적인 잎의 엽록소 a/b 비율은 일반적으로 2.5~3.5에 속한다. Fig. 2의 경우도 그 범주 내에서 엽록소 a/b 비율이 측정되었다. 1주와 2주 사이에는 큰 변화가 없었으나, 3주 후에는 SA 처리구에서는 엽록소 a/b 비율이 3.02였고 대조구에서는 2.34로 측정되었다. 노화가 진행됨에 따라 엽록소 a/b 비율은 갈수록 증가한다. 엽록소 a는 b보다 더 안정하며 그 함량도 많다. SA 처리구에서의 높은 엽록소 a/b의 비율은 SA가 엽록소 b에 더 민감하게 반응한다는 것을 알 수 있다. Oh & Lee (1996)는 잎의 노화되어 가는 과정의 엽록소 함량과 엽록소 a/b를 측정하였다. 그들의 결과는 SA에 의한 반응과 유사하게 나타났다. 즉, 초기 암처리시에는 엽록소 a/b가 약 3이었으나 4일째에는 4로 측정되었다. 따라서, SA에 의한 황백화 현상은 일반적인 노화와 같은 방

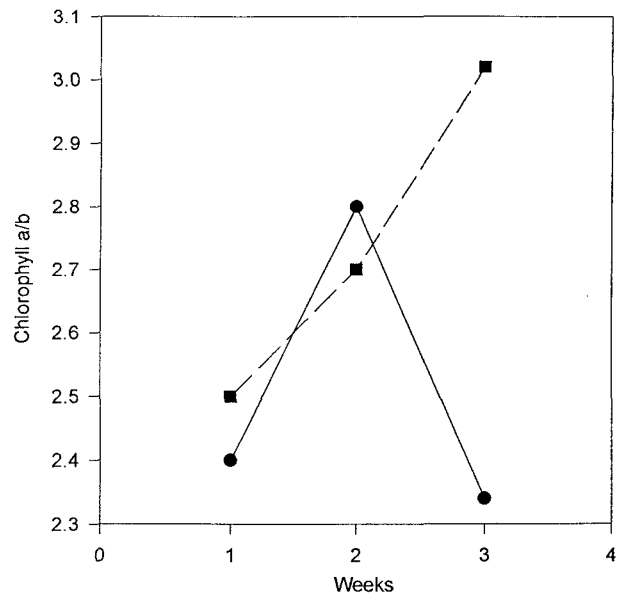


Fig. 2. Effect of SA on the chlorophyll a/b ratio in *Commelina communis* L. Each point is the mean (\pm s.e.m.) of 2 measurements.

Table 2. The effects of SA on the photosynthetic electron transport activity (μ mol O₂/mg chl/hr) of isolated chloroplasts of *Commelina communis* L.

	PSII+PSI	PSII	PSI
Control	0.833	0.130	0.716
1 mM SA	0.822	0.128	0.720

식으로 진행되는 것으로 추측된다.

Table 2는 분리한 엽록체의 광합성적 전달에 미치는 SA의 효과를 살펴본 것이다. 전자전달의 활성은 엽록체를 분리하여 빛을 처리한 후 발생하는 산소의 양과 소비되는 산소의 양을 측정하여 그 활성도를 산출한 것이다. SA 처리는 PSII+PSI, PSII, 그리고 PSI 활성에 영향을 주지 않았다. 이는 SA가 직접 광합성 기작에는 영향을 주지 않는다는 것을 나타낸다.

그러나, SA를 오랜 기간 처리하면 광합성의 감소는 매우 뚜렷하게 관찰되었다. Fig. 3은 3주간 Hoagland 용액에서 액중 배양한 닭의장풀에 빛을 광도별로 처리하여 광합성능을 측정하는 것이다. SA를 처리한 닭의장풀에 다양한 빛 광도(100~1000 μ mol m⁻²s⁻¹)를 조사하면 약 23~65%의 광합성능의 저하가 나타났다.

Fig. 4는 Fig. 3과 똑 같은 조건에서 기공전도도를 측정하는 것이다. SA 처리구의 기공은 거의 닫혔다. 여러 광조건에서 기공전도도가 같다는 것은 SA가 기공의 조절기능을 상실하게 한 것으로 보여진다. Fig. 3과 4에서의

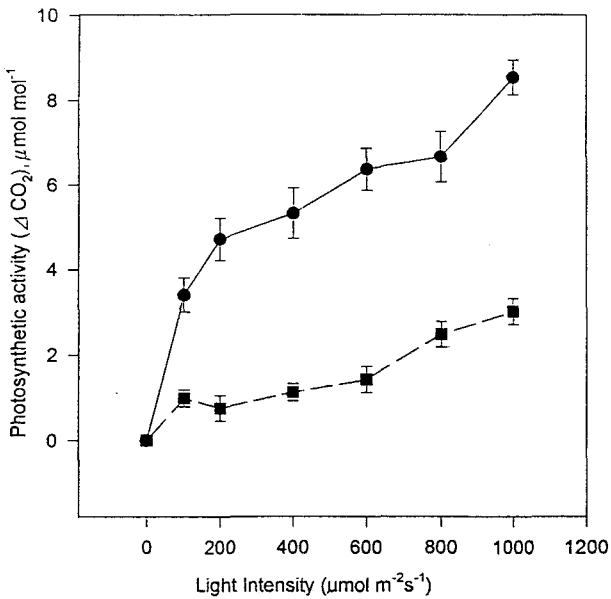


Fig. 3. Photosynthetic activity as a function of light intensities in 3 weeks-old *Commelina communis* L. Each point is the mean (\pm s.e.m.) of 2 measurements. The Plant was water cultured in Hoagland solution.

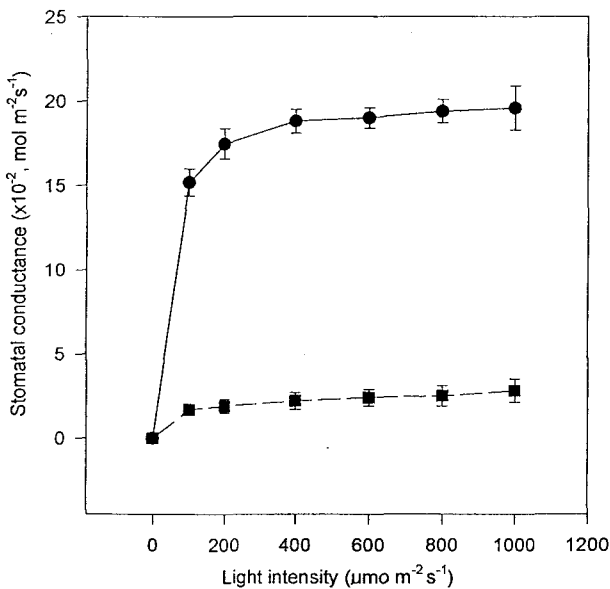


Fig. 4. Stomatal conductance as a function of light intensities in 3 weeks-old *Commelina communis* L. Each point is the mean (\pm s.e.m.) of 2 measurements. The Plant was water cultured in Hoagland solution.

광합성능의 현저한 감소와 기공 조절 기능의 상실은 오존, H₂O₂와 같은 화합물의 작용과 같은 방식에 의한 것

으로 추측된다. Lee & Jun (1997)는 H₂O₂ 10 ppm을 분리 표피에 처리하면, 3시간만에 기공 닫힘이 55%나 촉진되었다고 보고하였다. 그들은 또한 Plant Efficiency Analyser를 이용하여 형광을 측정된 결과 H₂O₂ 10 ppm에서 Fv/Fm이 4% 그리고 H₂O₂ 100 ppm에서는 8%가 감소되었음을 관찰하였다.

H₂O₂는 오존 대응으로 실험에 사용된다. 오존은 생체막의 탄화수소 이중결합에 반응하여 이중결합을 깨고 탄화수소 사슬을 절단하며, 그 결과 H₂O₂와 OH·를 생성한다. 오존에 의해서 일어나는 일반적인 현상들, 예를 들면 색소 분해 (Sakaki *et al.* 1983; Smith *et al.* 1990; Ruffner *et al.* 1975), 광합성 억제 (Black *et al.* 1982; Saxe & Murali 1989), 엽육세포의 막 손상 (Pell & Weissberger 1976), 잎 단백질 함량의 감소 (Price *et al.* 1990) 등이 SA에 의해서도 일어나는 것으로 추측된다.

위 결과들로부터 SA에 의한 광합성능의 감소는 SA가 기공닫힘에 미치는 방식과 매우 유사하게 일어나는 것으로 추측된다. 즉, SA가 직접 광합성 기작에 영향을 주기보다는 SA가 catalase 활성을 저해하여 세포질 내 H₂O₂ 농도를 증가와 관련되어 광합성능의 저하가 일어나는 것으로 추측된다.

사 사

본 연구는 1998년 상지대학교 교내연구비의 지원을 받아 수행되었습.

참 고 문 헌

- Barnes JD, D Velissariou, AW Davison & CD Holevas (1990) Comparative ozone sensitivity of old and modern Greek cultivars of spring wheat. *New Phytol.* **116** : 707-714.
- Bhatia DS, V Jindal & CP Malke (1986) Effect of salicylic acid and tannic acid on stomatal aperture and some enzyme changes in isolated epidermal peelings of *Euphorbia hirta* L. *Biochem. Physiol. Pflanzen.* **181** : 262-264.
- Black VJ, DP Omrod & MH Unsworth (1982) Effects of low concentration of ozone, singly and in combination with sulphur dioxide on net photosynthesis rates of *Vicia faba* L. *J. Exp. Bot.* **33**: 1302-1311.
- Farage PK, SP Long, EG Lechner & NR Baker (1991) The sequence of change within the photosynthetic apparatus of wheat following short-term exposure to ozone. *Plant Physiol.* **95** : 529-535.
- Jones AM (1994) Surprising signals in plant cells. *Science*

- 263 : 183-184.
- Holden M (1965) Chlorophylls. pp. 461-488. In Chemistry and biochemistry of plant pigments. Vol. 17. Academy press. New York.
- Larque-Savedra A (1978) The antitranspirant effect of acetylsalicylic acid on *Phaseolus vulgaris*. *Physiol. Plant.* **43** : 126-128.
- Larque-Savedra A (1979) Stomatal closure in response to acetylsalicylic acid treatment. *Z. Pflanzenphysiol. Bd.* **93** : 371-128.
- Lee JS (1985) Effects of dimethipin on the growth of barley seedlings and the electron transport activity of isolated barley chloroplasts. M.S. Thesis. Seoul National Univ. Seoul. 35pp.
- Lee JS (1995) Effect of salicylic acid and its analogues on stomatal closing in *Commelina communis* L. *J. Kor. Enviro. Sci. Soc.* **4**(4) : 317-321
- Lee JS & BO Jun (1997) The mechanism of stomatal closing by in epidermal strips of *Commelina communis* L. *J. Kor. Enviro. Sci. Soc.* **6** (2): 125-131.
- Lee JS (1998) The mechanism of stomatal closing by salicylic acid in *Commelina communis* L. *J. Plant Biology.* **41**(2) : 97-102.
- Manthe B, M Schulz & H Schnable (1992) Effects of salicylic acid on growth and stomatal movements of *Vicia faba* L.: Evidence for salicylic acid metabolism. *J. Chem. Ecology* **18** : 1525-1539.
- Oh MH & CH Lee (1996) Disassembly of chlorophyll-protein complex in *Arabidopsis thaliana* during dark-induced foliar senescence. *J. Plant Biology.* **39**(4) : 301-307.
- Pell EJ & WC Weissberger (1976) Histopathological characterization of ozone injury to soybean foliage. *Phytopathology* **66** : 856-861.
- Price AH (1990) A possible role for calcium in oxidative plant stress. *Free radical Research Communication* **10** : 345-349.
- Rufner R, FH Witham & HJ Cole (1975) Ultrastructure of chloroplasts of *Phaseolus vulgaris* leaves treated with Benomyl and ozone. *Plantpathology* **65**: 345-349.
- Sakai T, N Kondkk & K Sugahara (1983) Breakdown of photosynthetic pigments and lipids in spinach leaves with ozone fumigation: role of active oxygen. *Physiol. Plant.* **59** : 28-34.
- Saxe H & NS Murali (1989) Diagnostic parameters for selecting against novel spruce (*Picea abies*) decline: III. Response of photosynthesis and transpiration to O₃ exposures. *Physiol. Plant.* **76**: 356-361.
- Smith G, C Neyra & E Brennan (1990) The relationship between foliar injury, nitrogen metabolism, and growth parameters in ozonated soybeans. *Environ Pollution* **63** : 79-93.

The Effect of Salicylic Acid (SA) on the Photosynthetic Activity in *Commelina communis* L.

Joon Sang Lee

(Department of Life Science, Sangji University, Wonju 220-702, Korea)

Abstract - The effect of Salicylic acid (SA) on the leaf growth, chlorophyll content, photosynthesis, stomatal conductance in *Commelina communis* L. was investigated. *C. communis* which was grown in Hoagland solution containing 1 mM SA during 3 weeks resulted in a significant reduction of leaf length, width and area. 1 mM SA reduced about 10% of the leaf area at 1 week and 2 weeks, but inhibited 22% of the leaf area at 3 weeks. SA also showed great effect on the reduction of chlorophyll content. SA reduced 47% and 53% of chlorophyll content each at 2 weeks and 3 weeks when it was compared with the control. Chlorophyll a/b ratio in SA treated sample was increased at 3 weeks representing that SA was sensitive to chlorophyll b. The treatment of SA did not inhibit the activity of PSII+PSI, PSII and PSI. This result indicates that SA did not show direct effect on the photosynthetic electron transport activity. However, when *C. communis* was grown in Hoagland solution containing 1mM SA for long period, SA showed clear inhibition of photosynthesis in intact leaves. The treatment of SA for 3 weeks showed about 23~65% inhibition of photosynthetic activity at various light intensity ($100\sim 1000\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Similar effect was found on stomatal conductance. The treatment of SA caused an almost closure of stomata. Similar effects of stomatal conductance at various light intensity indicate a loss of normal control on stomatal mechanism. These results indicate that the effect of SA on photosynthetic activity was not by SA itself but by indirect metabolic pathway. [photosynthesis, salicylic acid, stomatal conductance].