

관엽식물에서 SO₂ 처리에 의한 이차독성물질 생성 및 항산화효소의 유도

이영이* · 강연지 · 이용범

서울시립대학교 환경원예학과

(2001년 2월 4일 접수 · 2001년 3월 2일 수리)

The Induction of Secondary Toxic Substances and Antioxidative Enzymes by SO₂ Fumigation in Foliage Plants

Young Yi Lee* · Youn Ji Kang · Yong Beom Lee (Dept. of Environmental Horticulture, The Univ. of Seoul, Seoul 130-743, Korea, e-mail : rowina@hanmail.net)

ABSTRACT : To study whether the secondary toxic substances such as ethylene and reactive oxygen species(ROS) are induced by air pollutants in foliage plants, SO₂ was fumigated to *Pachira aquatica*, *Spathiphyllum patinii*, and *Hedera helix*. SO₂ was controlled to 1 μL/L and then fumigated to plants for 2 days(8 hrs/day). It resulted in visible injury in *P. aquatica* and *H. helix* while no symptom appeared in *S. patinii*. Photosynthetic rate and water use efficiency were most remarkably reduced in *P. aquatica* compared to other two species whereas least in *S. patinii*. Two days after SO₂ fumigation, ethylene evolution was quantified to 23.56, 10.43 and 4.79 nL/g/h in *P. aquatica*, *H. helix* and *S. patinii*, respectively. On the other hand, antioxidative enzymes were clearly activated by SO₂ treatment in all tested plant species implying ROS production. In conclusion, we could suggest that ethylene and ROS have been intimately related to the defense mechanism against SO₂ and their induction degree increased with plant susceptibility to SO₂. Furthermore, it was found that *S. patinii* was tolerant and *P. aquatica* sensitive to SO₂ on the basis of antioxidative enzyme activity and ethylene evolution.

Key words : reactive oxygen species, ethylene

서 론

최근 증가추세에 있는 도시형 대기오염물질은 O₃나 광화학 옥시던트류, 다이옥신 등의 탄소화합물과 질소화합물(NOx), 이산화황(SO₂) 또는 포름알데하이드, 벤젠 등과 같은 휘발성 유기화합물(VOCs; Volatile Organic Compounds) 등으로 이에 따른 식물반응에 관한 연구가 논의되고 있다. 대기오염에 의한 식물피해는 작은 크기의 식물종 및 오염원의 종류에 따라 차이가 있다. 오존(O₃)의 경우 주로 RubisCO의 활성을 저해함으로써 광합성의 CO₂ 고정단계를 방해한다고도 알려져 있으며 O₃ 그 자체가 갖는 강한 산화력으로 지질과산화물을 일으켜 막 투과성을 변화시킴으로써 피해를 유도한다^{1,2)}는 보고도 있다. 특히 화석연료의 급증으로 문제가 시되었던 SO₂의 경우 식물체 내에 흡수되었을 때 체내 H₂O와 반응하여 HSO₃⁻를 형성함으로써 식물조직에 피해를 준다고 알려져 있으나 SO₂의 S 성분이 식물에 영양원으로 사용되어 결과적으로 식물체내의 다량 및 미량원소간의 불균형을 초래하여 생리장해를 일으킬 가능성도 있다³⁾.

이와같이 대기오염 물질이 직접 피해유도 과정에 관여하기도

하지만 식물 체내에 흡수된 대기오염가스가 2차적인 부산물을 형성함으로써 이로 인한 피해가 유발되므로 이에 관여하는 물질을 2차 독성물질이라고 한다⁴⁾. 대기오염 피해를 유도하는 대부분의 과정에서 이러한 2차독성 물질이 알려져 왔으며 일반적으로 대기오염을 비롯한 많은 스트레스는 1차적인 피해보다 2차 독성물질에 의한 피해가 더 큰 것으로 알려져 있어 2차 독성물질의 제어에 관한 연구가 진행되고 있다⁵⁾.

따라서 본 연구에서는 3종의 관엽식물을 대상으로 SO₂에 대한 감수성 발현에 관여하는 요인을 구명하고 2차 독성물질인 에틸렌 및 활성산소(reactive oxygen species)가 이에 관여하는지를 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

공시식물

본 실험에 사용한 식물은 관엽식물 3종으로서, 정화능이 우수한 것으로 알려져 있는 스파티필름(*Spathiphyllum patinii* N.)과

대기오염 피해에 비교적 민감한 것으로 알려진 파키라(*Pachira aquatica* A.), 또한 벽면녹화 등 도시내에서 활용도가 높은 헤데라(*Hedera helix* L.) 1년생을 대상으로 수행하였다. 모든 식물들은 펄라이트, 버미큘라이트, 부엽토를 1:1:1(v/v/v)로 혼합한 배양토에 이식한 후 한랭사로 약 80%정도 차광($200 \pm 30 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{s}$)한 유리온실에서 광순화시켰으며 관수는 매일 2회, 비료는 시립대배양액⁶⁾을 1/2로 희석하여 주 1회 공급하였다.

SO₂ 처리

3종의 관엽식물을 내부 크기 $185 \times 140 \times 185 \text{ cm}^3$ 의 자연광 유리 챔버내에 각 15포트씩 고르게 배치하여 1일간 순화시킨 후 $1 \mu\text{L}/\text{L}$ 의 SO₂를 1일 8시간씩 2일간 처리하였다. SO₂ 처리는 N₂ 가스에 의해 SO₂가 0.1%로 희석된 가스를 이용하였으며 자외선형 광방식 SO₂ 자동측정기(368, KIMOTO, Japan)를 이용해 모니터링하였다.

에틸렌 정량 및 이온 유출량 분석

가스처리후 식물 잎의 주맥을 제거한 잎단편 0.5 g을 수분을 함유한 여과지가 들어 있는 50 mL 삼각플라스크에 넣은 후 실리콘 마개로 밀봉하여 30°C의 암상태로 2시간 동안 배양하였다. 가스 샘플은 주사기로 1 mL씩 취하여 가스크로마토그래피(GC-14B, Simadzu, Japan) 분석하였다.

이온유출 분석은 에틸렌 정량 후 잎단편이 남아있는 삼각플라스크에 H₂O 15 mL를 가하여 1시간 동안 교반한 후(0.5 r/s, 25°C) 전기전도도기(MC226, Mettler Toledo, England)를 이용하여 막 투과성 변화에 의한 이온의 유출량을 조사하였다. 모든 실험은 3반복 이상 수행되었다.

항산화 효소활성 분석

SO₂ 처리에 따른 항산화 효소활성을 측정하기 위하여 가스처리가 종료된 직후 동일한 생육상태의 식물을 3포트씩 선발하여 잎을 채취하였으며 엽위(葉位)는 생육이 양호한 중엽으로 하였다.

1) Ascorbate peroxidase(APX)

APX의 활성분석은 엽맥을 제거한 잎 단편 0.2g에 1M 아스코르빈산(AsA)과 pH가 7.4로 보정된 100 mM 인산칼륨 완충액(K-P buffer)을 함유한 추출용액 2 mL를 가하여 균질화하였다. 이를 12,000g에서 3분간 원심분리한 후 추출액을 60 μL 취하여 반응액(H₂O 2.34 mL, 1M K-P buffer (pH 6.5) 300 μL , 10 mM ascorbic acid 180 μL , 5mM H₂O₂ 120 μL)과 잘 혼합한 후 UV spectrometer (UV2100, Shimadzu, Japan)을 사용하여 290 nm에서 H₂O₂에 의한 30초간의 아스코르빈산 산화를 측정하였다. 측정시 환경조건은 온도 4°C 이하의 암상태이었으며 모든 실험은 5반복 이상 수행되었다. 단백질 정량은 Bradford⁷⁾가 기술한 바와 같이 Bio-Rad Protein assay (Bio-Rad Laboratories, U.S.A) 5배 희석액

에 엽 추출액을 100 : 1 로 가하여 반응시점후 595 nm에서의 흡광도를 측정하여 단백질 1 mg당 효소활성을 산정하였다.

2) Glutathione reductase activity(GR)

GR 활성 분석의 경우 또한 엽맥을 제거하여 0.2 g으로 정량한 후 추출용액(50 mM K-P buffer, 5% polyvinyl pyrrolidone, 5 mM ascorbic acid, 5 mM 1,4-dithiothreitol, 5 mM EDTA, 0.1 M NaCl 함유)을 2 mL 가하여 균질화하였다. 15,000 g에서 5분간 원심분리한 후 상정액 150 μL 를 취하여 반응액(H₂O 2.43 mL, 1M K-P buffer (pH 7.8) 300 μL , 10 mM GSSG 60 μL , 10mM NADPH)과 혼합하였다. 이때의 산화·환원 반응을 340 nm에서 90초간의 흡광도 변화로 측정하였으며 단백질 정량 및 효소활성 산정 역시 Bradford 방법에 따라 수행하였다.

광합성 및 생리활성 분석

가스 처리에 의한 식물 생리활성의 변화를 조사하기 위하여 가스처리 직후에 광합성 측정장치(Li-6200, Li-Cor, USA)를 사용하여 오전 11시부터 오후 2시 사이에 각 식물당 3엽 이상씩 측정하였다. 분석 항목은 광합성률(photosynthetic rate; Pn), 기공저항(stomatal resistance) 및 기공전도도(stomatal conductance; CS), 증산율(transpiration rate; TR)로서 가스처리 직후 측정하였다. 또한 수분 이용효율(water use efficiency; WUE)은 Malmstrom 등⁸⁾의 기술에 따라 (Ca-Ci)/TR (mmol/mol)의 식으로 산정하였다. 모든 측정은 기온 $28 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $50 \pm 5\%$, CO₂ 농도 $350 \pm 20 \mu\text{g}/\text{L}$, 광도 $200 \pm 30 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 의 조건에서 수행하였다.

결과 및 고찰

2일간 SO₂ 1 $\mu\text{L}/\text{L}$ 를 처리한 결과 파키라가 처리 1일만에 작은 반점들이 생기면서 잎전체가 하얗게 표백화되는 심각한 가시피해를 보였으며 처리 2일 후에는 헤데라의 유엽에서 탈수현상과 흑갈색의 큰 반점으로 나타나는 가시피해를 관찰할 수 있었다. 한편 스파티필름은 처리 종료시점까지 가시피해를 보이지 않았으며 이것은 SO₂ 가스에 대한 내성이 스파티필름에서 가장 높게 나타난 Park 등⁹⁾의 보고와 일치하였다. 일반적으로 SO₂에 대한 식물피해는 주로 상위 유엽에서 발현되는 것으로 알려져 있다⁹⁾. 본 실험에서도 파키라와 헤데라 모두 유엽에서 피해가 나타났으나 피해양상은 다소 다르게 나타났다. 이러한 차이는 식물종에 따른 차이에서 기인하는 것이지만 식물의 성장단계에 따라서도 좌우될 것으로 생각된다.

SO₂ 가스에 의한 이같은 피해 발현은 우선적으로 식물의 생리작용에 장애를 줌으로써 개시된다. Fig. 1A에서 나타난 바와 같이 SO₂ 가스를 처리한 결과 광합성과 수분이용 효율이 모두 급격히 감소함을 알 수 있다. 가스 처리전의 순광합성량은 3종의 관엽식물이 모두 $6.50 \sim 6.94 \mu\text{mol}/\text{cm}^2/\text{min}$ 정도로 비슷하였으나 SO₂

처리에 의한 광합성 저하율은 종간의 차이를 보였다. 즉 파키라가 처리전에 비해 순광합성률이 97% 감소하여 피해의 진전이 심각한 수준임을 나타내었고 헤데라와 스파티필름의 순광합성률은 각각 74%, 59% 감소하였다. 수분이용 효율의 경우도 마찬가지로 SO_2 처리에 의해 급격히 감소되었다(Fig. 1B). 파키라가 9.61 mmol $\text{CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$ 에서 3.06 mmol $\text{CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$ 로 68% 감소하였으며 헤데라가 14.37 mmol $\text{CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$ 에서 10.62 mmol $\text{CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$ 로 26%, 스파티필름이 12.92 mmol $\text{CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$ 에서 10.80 mmol $\text{CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$ 로 16% 감소하여 파키라가 장애를 가장 많이 받은 것으로 나타났다.

이러한 피해를 유도하는 많은 과정에서 에틸렌 및 활성산소의 생성이 동반되었고¹⁰⁻¹²⁾ 이러한 물질은 2차 독성물질로 분류되고 있다⁹⁾. 따라서 SO_2 처리에 따른 식물피해 정도를 규명하기 위해 에틸렌을 정량하였다(Table 1). Bae와 Lee⁵⁾에 의하면 토마토에 대기오염 스트레스로서 O_3 및 SO_2 처리를 하였을 때 특이적인 에틸렌이 생성된다고 하였으며 또한 이는 가시피해가 발생되기 직전에 최대치를 나타낸다고 하였다. 이는 에틸렌이 가시피해를 유도하는 직접적인 요인임을 시사한다. 본 실험에서도 마찬가지로 파키라의 경우 가시피해가 발생한 처리 1일째에 에틸렌이 대조구보다 약 16배 높게 생성되었으나 처리 2일 후에는 대조구의 약 4배로 생성량이 줄어 피해의 진전이 매우 빠르게 진행됨을 알 수 있었다. 즉 가시피해가 출현한 처리 1일만에 에틸렌 생성이 최대치를 보이다가 피해가 급진전됨에 따라 에틸렌 생성이 감소한 것으로 보인다. 반면 스파티필름의 경우 처리 1일째에는 대조구의 2배, 처리 2일째에 대조구의 8배로 처리일수의 증가에 따라 에틸렌 생성량이 증가하는 것으로 보아 가시피해는 발생되지 않았으나 일련의 장애를 받고 있음을 확인할 수 있었다. 이는 광합성 및 생리활성 분석결과에서도 분명히 나타났다(Fig. 1). 또한 헤데라의 경우 가시피해를 보이지 않았던 처리 1일째에는 대조구와 차이를 보이지 않다가 가시피해가 나타난 처리 2일째에 대조구에

Table 1. Change of ethylene evolution in SO_2 fumigated foliage plants. SO_2 was fumigated to plants with $1 \mu\text{L}/\text{L}$ for 2 days. Leaf discs were incubated at 30°C for 2 hours in the dark.

Species	Treatment	Ethylene evolution (nL/g/h)	
		1 day	2 days
<i>P. aquatica</i>	Control	3.67 ± 0.30^z	5.04 ± 0.81
	SO_2	49.27 ± 2.02	23.56 ± 2.64
<i>S. patinii</i>	Control	0.54 ± 0.00	0.56 ± 0.11
	SO_2	1.09 ± 0.21	4.79 ± 1.68
<i>H. helix</i>	Control	1.52 ± 0.01	2.27 ± 0.59
	SO_2	1.53 ± 0.08	10.43 ± 7.40

^zMeans \pm SE of result from 3 sets of 5 samples are shown for each species.

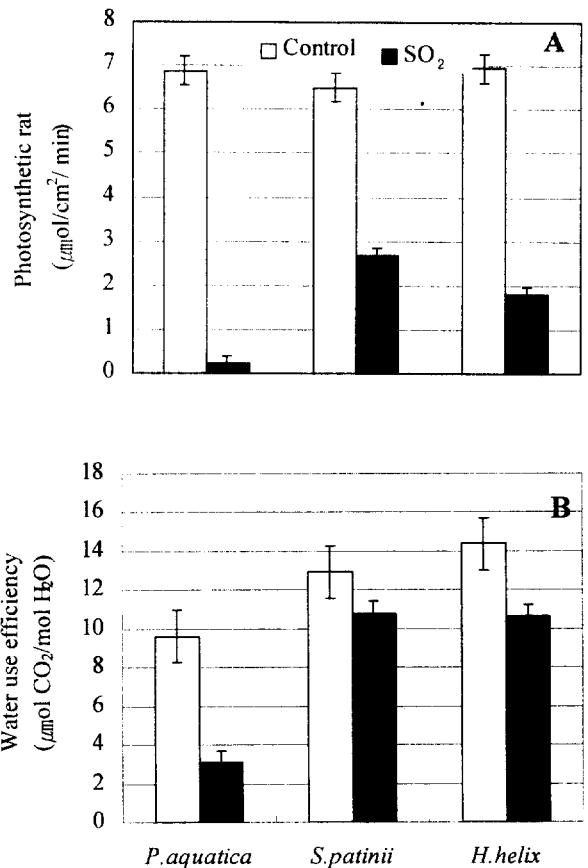


Fig. 1. Decline of photosynthetic rate(A) and water use efficiency(B) in SO_2 fumigated foliage plants. SO_2 was fumigated to plants with $1 \mu\text{L}/\text{L}$ for 2 days. This experiment was executed at $28 \pm 2^\circ\text{C}$ and under the light intensity of $200 \pm 30 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$. Symbols and error bars represent the means of results of three sets of samples and standard errors of three means, respectively.

비해 약 5배의 에틸렌을 생성하여 에틸렌이 SO_2 가스에 의한 식물피해 유도에 깊이 관여함을 알 수 있었다. 이러한 결과는 에틸렌을 정량함으로써 식물의 대기오염 피해정도를 진단하고, 가시피해의 출현시기를 모델링할 수 있는 가능성을 제시한다.

한편 식물피해를 유도하는 또 다른 2차 독성물질인 활성산소는 여러 환경스트레스에 의한 식물장애와 밀접한 관계가 있다고 보고되었다^{4,13,14)}. 즉 활성산소는 스트레스 조건에서 생성되는 강한 반응성을 갖는 물질로서 조직을 산화시켜 식물에 직접적인 피해를 초래한다. 따라서 산화피해를 경감시키는 효소 ascorbate peroxidase(APX)와 glutathione reductase(GR)의 활성을 조사하였다(Fig. 2). APX의 경우 식물 종간의 고유한 활성이 파키라와 스파티필름은 각각 $26.55 \mu\text{mol ascorbate oxidized}/\text{min}/\text{mg protein}$, $30.65 \mu\text{mol ascorbate oxidized}/\text{min}/\text{mg protein}$ 로 비슷하였으나 헤데라의 경우 $55 \mu\text{mol ascorbate oxidized}/\text{min}/\text{mg protein}$ 로 약간 높은 편이었다. 이는 식물 고유의 활성이 높을수록 내성이 강할 것이라는 기대와 다소 어긋나는 결과이었으나 활성이 가장 낮게 나타난 파키라가 SO_2 가스에 대해 민감종으로 대

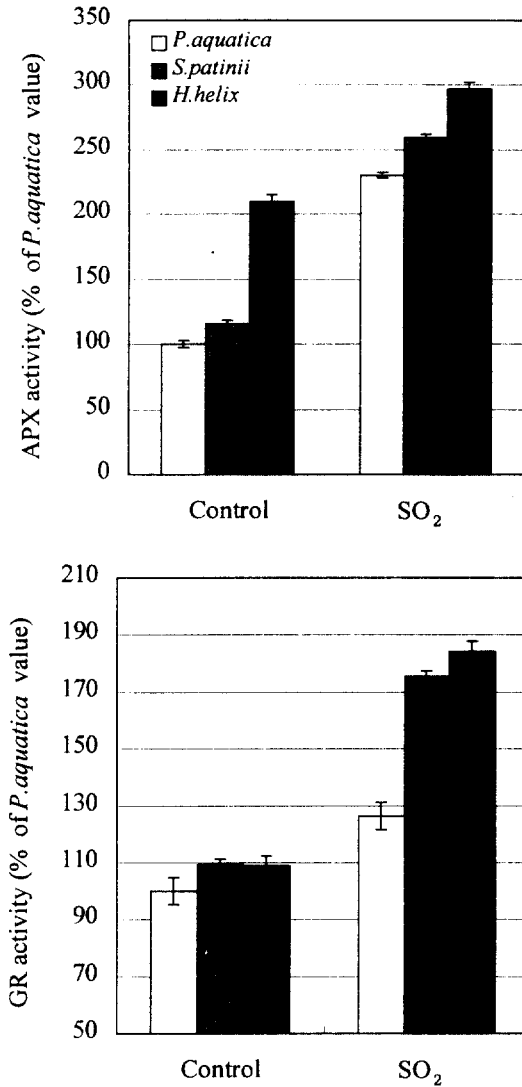


Fig. 2. Induction of ascorbate peroxidase (APX) and glutathione reductase (GR) activity in SO₂ fumigated foliage plants. Upper is APX activity (μmol ascorbate oxidized/min/mg protein) and lower is GR activity (μmol NADPH oxidized/min/mg protein). SO₂ was fumigated to plants with $1\mu\text{L/L}$ for 2 days. Measurement was executed at $\leq 4^\circ\text{C}$ in the dark. Symbols and error bars represent the means of results of three sets of samples and standard errors of three means, respectively.

별되어 항산화 효소활성이 정화수종 선발에 중요한 요인이 될 수 있음을 시사하였다. GR의 경우 또한 파키라와 스파티필름, 헤데라의 활성이 각각 76.73, 83.80, 83.52 μmol NADPH oxidized/min/mg protein 로 비슷하였으나 파키라가 역시 활성이 가장 낮아 SO₂에 대한 내성발현에 이들 효소활성이 관여함을 알 수 있었다.

이러한 식물 각각의 고유한 효소활성은 SO₂에 의해서 크게 유도되었다(Fig. 2). APX의 경우 파키라와 스파티필름이 약 2.3배로 활성이 증가되었으며 헤데라가 1.4배 증가하였다. 반면 GR은 파

Table 2. Change of ion leakage in SO₂ fumigated foliage plants. SO₂ were fumigated to plants with $1\mu\text{L/L}$ for 2 days. Leaf discs were shaken with 90 rpm for 1 hr after incubating at 30°C for 2 hours in the dark.

Species	Treatment	Ion leakage ($\mu\text{s/cm}$)	
		1 day	2 days
<i>P. aquatica</i>	Control	40.95 ± 3.61^2	44.40 ± 1.41
	SO ₂	163.20 ± 9.32	217.50 ± 7.68
<i>S. patinii</i>	Control	22.25 ± 0.35	27.65 ± 0.07
	SO ₂	22.35 ± 0.64	36.60 ± 5.37
<i>H. helix</i>	Control	39.95 ± 9.69	67.90 ± 2.12
	SO ₂	42.90 ± 3.25	77.85 ± 2.76

²Means \pm SE of result from 3 sets of 5 samples are shown for each species.

키라가 1.3배로 가장 적게 유도되었으며 스파티필름과 헤데라가 각각 1.6배, 1.7배의 비슷한 정도로 유도되었다. 특히 GR 활성은 피해가 가장 많이 발현된 파키라가 활성이 적게 유도된 반면, 스파티필름과 헤데라가 활성이 높게 유도되어 APX보다 GR이 SO₂ 피해에 깊게 관여하는 것으로 나타났으며 이는 SO₂ 내성에 관여하는 주된 효소가 GR이라는 보고¹⁵⁾와 일치하였다. 이는 고농도 SO₂ 처리에 따른 급격한 피해진전으로 인해 광합성 저해(Fig. 1)가 심화되면서 전자전달계에 이상이 초래되고 그로 인한 NADPH의 공급이 원활히 이루어지지 않은 결과라고 생각된다. GR의 경우 광합성의 전자전달계에서 유래된 NADPH에 의해 전자를 공급받아 항산화제인 글루타치온(glutathione)을 환원시키는 효소이기 때문에 NADPH의 공급에 변화가 생길 경우 많은 영향을 받을 것으로 생각된다(Fig. 3). 따라서 SO₂에 의한 순광합성률 감소가 GR활성의 유도를 저해시킨 것으로 판단되었다.

결론적으로 두 항산화 효소활성이 모두 SO₂ 처리에 의해 크게 유도된 사실은 첫째, SO₂ 처리에 의해 활성산소가 생성됨을 분명히 보여주는 결과이다. 즉 에틸렌과 마찬가지로 활성산소 역시 SO₂ 피해를 유도하는 중요한 2차 독성물질임을 알았다. 또한 두 번째로 SO₂ 처리에 의한 APX 및 GR 활성의 유도는 독성물질을 해독하는 식물체내 대사가 존재함을 나타내었다. 따라서 이러한 해독능의 식물종간 차이를 검증하기 위해서는 SO₂ 농도의 저하나 SO₂에 둔감한 식물종 선택 외에도 효소활성 측정의 시간간격을 24시간에서 12시간이나 8시간으로 단축하여 측정한다면 보다 정확한 유도경향이 구명될 것으로 보인다.

이상과 같이 SO₂ 처리로 유도된 2차 대사산물인 에틸렌과 활성산소는 강한 독성으로 막 구조에 손상을 주어 지질과산화물 초래함으로써 가시피해를 진전시킨다^{45,16)}. 실제로도 많은 종의 식물이 대기오염 이외의 저온 및 진균류의 침입과 같은 스트레스 하에 있게 되어도 활성산소류의 생성 및 지질과산화로 인한 피해를 받게 된다고 보고된바 있다^{17,18)}. 이러한 막 구조의 손상은 막 투

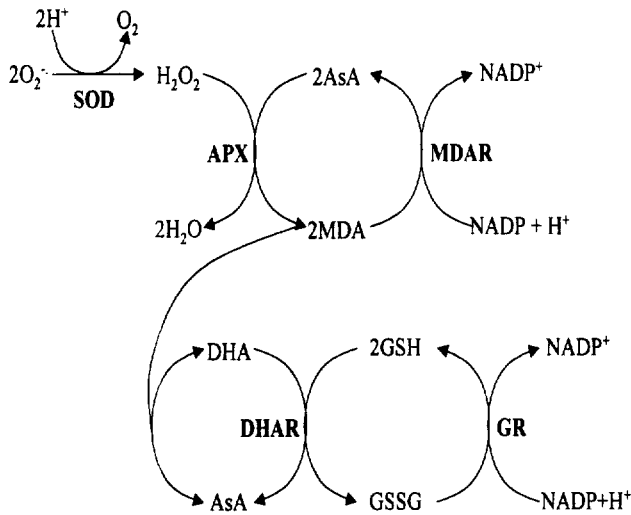


Fig. 3. Schematic diagram of the enzymatic detoxification in chloroplast(Asada, 1992). AsA, ascorbate; DHA, dehydroascorbate; GSH, reduced glutathione; GSSG, oxidized glutathione; MDA, mono dehydroascorbate; APX, ascorbate peroxidase; DHAR, dehydroascorbate reductase; GR, glutathione; MDAR, mono dehydroascorbate reductase; SOD, superoxide dismutase.

과성의 변화로 인한 이온 유출량의 변화로 확인되었다. Table 2에서 나타난 바와 같이 피해정도가 가장 심했던 파키라가 SO₂ 처리 일수가 경과함에 따라 이온 유출량이 대조구의 약 4배에서 5배로 증가하였다. 그 다음으로는 헤데라가 이온 유출량이 많았고, 스파티필름이 가장 낮아 가시피해의 진전율과 일치하였다.

요 약

식물의 대기오염 피해에 이차독성물질이 관여하는지를 조사하기 위하여 관엽식물 파키라(*Pachira aquatica*), 스파티필름(*Spathiphyllum patinii*) 및 헤데라(*Hedera helix*)에 1 μL/L의 SO₂를 2일간 처리한 결과, 광합성 및 수분이용효율과 같은 생리활성 변화에 있어 파키라가 저감율이 가장 높았으며, 스파티필름이 가장 낮게 나타났다. 가시피해 역시 파키라, 헤데라의 순으로 발현되었으며 스파티필름에서는 가시피해가 나타나지 않아 SO₂에 대한 감수성이 파키라가 내성종, 스파티필름이 민감종으로 대별되었다. 한편, 에틸렌과 활성산소 모두 SO₂ 처리에 의해 파키라에서 높게 유도되었으며 그 다음으로 헤데라, 스파티필름의 순으로 나타나 SO₂에 대한 식물반응의 중간차이에 이차독성물질이 관여함을 알 수 있었다. 이같은 대기오염물질에 의한 식물체내 이차독성물질 생성은 대기오염에 대한 지표로서 이용될수 있으며 이를 제어함으로써 피해의 진전을 저감시킬수 있을 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. Reddy, G. N., Arteca Y. N., Dai, H. E., Flores, H. E.,

Negm, F. B. and Pell, E. J. (1993) Changes in ethylene and polyamines in relation to mRNA levels of large and small subunits of ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase in ozone stressed potato foliage. *Plant, Cell and Environ.* 16, 819-826.

2. Pell, E. J., Landary, L. G., Eckardt, N. A. and Glick, R. E. (1994) Air pollution and RubisCO: effect and implications. p.239-253. In: R. G. Alscher, A. R. Wellburn (eds). *Plant responses to the gaseous environment*. Chapman & Hall. London.

3. Runnenberg, H. and Polle, A. (1994) Metabolic consequences of atmospheric sulphur influx into plants. p.165-180. In: R. G. Alscher and A. R. Wellburn (eds). *Plant response to the gaseous environment*. Cambridge univ. Press, London, Ltd.

4. Kondo, N and Saji, H. (1992) Tolerance of plants to air pollutants, *J. Japan Soc. Air Pollut.* 27(6), 273-288.

5. Bae, G. Y. and Lee, Y. B. (1996) Ethylene evolution in tomato plants by ozone in relation to leaf injury, *J. of Korea Air Pollution Res. Asso.* 12(3), 333-340.

6. Park, S. H., Lee, Y. Y., Bae, G. Y. and Lee, Y. B. (1998) Comparison of absorption ability by difference of physiological response in three foliage plants exposed to O₃ and SO₂ in combination, *J. of Korea Air Pollution Research Association.* 14(1), 35-42.

7. Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.* 72, 248-254.

8. Malmstrom, C. M. and Field, C. B. (1997) Virus-induced differences in the response of oat plants to elevated carbon dioxide, *Plant, Cell and Environment.* 20, 178-188.

9. Barrett, T. W. and Benedict, H. W. (1970) Sulfur dioxide. p.1-17. In: J. S. Jacobson and A. C. Hil l(eds). *Recognition of air pollution injury to vegetation*. Air Pollut. Contr. Ass., Pittsburgh, Pa.

10. Elster, E. F. (1987) Ozone and ethylene stress, *Nature.* 328, 482

11. Mehlhorn, H. and Welburn, A. R. (1991) Stress ethylene formation determines plant sensitivity to ozone, *Nature.* 327, 417-418.

12. Peiser, G. D. and Yang, S. F. (1979) Ethylene and ethane production from sulfur dioxide-injured plants, *Plant Physiol.* 63, 142-145.

13. Asada, K. (1992) Ascorbate peroxidase-a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants, *Plant Physiol.* 85, 235-241.

14. Saji, H., Aono, H., Kairo, U. and Song, Y.J. (1993) The

- development of the plant tolerant for air pollutants, *The plant cell eng.* 5(4), 29-35.
15. Aono, M., Saji, H., Fujiyama, K., Sugita, M., Kondo, N. and Tanaka, K. (1995) Decrease in activity of glutathione reductase enhances paraquat sensitivity in trasgenic *Nicotiana tabacum*, *Plant Physiol.* 107, 645-648.
 16. Robinson, (1988) Does photoreduction occur within chloroplast *in vivo*, *Physiol. Plant.* 72, 666-680
 17. Doulis, A. G., Debian, N., Kingston-smith, A. H. and Foyer, (C. H.) (1997) Differential localization of antioxidants in maize leaves, *Plant Physiol.* 114, 1031-1037.
 18. Kiba, A., Miyake, C., Toyoda, K., Ichinose, Y., Yamada, T. and Shiraishi, T. (1997) Superoxide generation in extracts from isolated plant cell wall is regulated by fungal signal molecules, *Phytopathology.* 87, 846-852.