

한라산 구상나무의 해발고도별 CO₂ 고정율과 엽록소형광의 분석 및 기후변화에 대한 반응기구 규명

Analysis of CO₂ Fixation Rate and Chlorophyll Fluorescence in Abies koreana, and its Response against Climate Change

주관연구기관	제주대학교 산학협력단
연구책임자	고석찬
발행년월	2012-06
주관부처	교육과학기술부
사업관리기관	한국연구재단
NDSL URL	http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/reportSearchResultDetail.do?cn=TRKO201300018713
IP/ID	14.49.138.138
이용시간	2017/11/03 17:56:35

저작권 안내

- ① NDSL에서 제공하는 모든 저작물의 저작권은 원저작자에게 있으며, KISTI는 복제/배포/전송권을 확보하고 있습니다.
- ② NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 상업적 및 기타 영리목적으로 복제/배포/전송할 경우 사전에 KISTI의 허락을 받아야 합니다.
- ③ NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 보도, 비평, 교육, 연구 등을 위하여 정당한 범위 안에서 공정한 관행에 합치되게 인용할 수 있습니다.
- ④ NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 무단 복제, 전송, 배포 기타 저작권법에 위반되는 방법으로 이용할 경우 저작권법 제136조에 따라 5년 이하의 징역 또는 5천만 원 이하의 벌금에 처해질 수 있습니다.

일반연구자지원사업 최종(결과)보고서

							양식A101		
① 부처사업명(대)		기초연구사업			보안등급(보안, 일반)		일반		
② 사 업 명(중)		일반연구자지원사업			공개가능여부(공개, 비공개)		공개		
③ 세부사업명(소)		기본연구_유형 I							
④ 과제성격(기초, 응용, 개발)		기초		④-1 실용화 대상여부(실용화, 비실용화)		실용화			
⑤ 과 제 명		국 문		한라산 구상나무의 해발고도별 CO ₂ 고정율과 엽록소형광의 분석 및 기후변화에 대한 반응기구 규명					
		영 문		Analysis of CO ₂ Fixation Rate and Chlorophyll Fluorescence in <i>Abies koreana</i> , and its Response against Climate Change					
⑥ 주관연구기관		제주대학교 산학협력단							
⑦ 협동연구기관									
⑧ 주관연구책임자		성 명		고 석 찬		직급(직위)		교수	
		소속부서		생물학과		전 공		식물환경생리학	
⑨ 연구개발비 및 참여연구원수 (단위: 천원, M·Y)									
년 도	정부출연금 (A)	기업채부담금			정부외 출연금 (B)	상대국 부담금 (F)	합계 G=(A+B+E)	참여 연구원수	
		현금 (C)	현물 (D)	소계 E=(C+D)					
1차년도	47,552			0			47,552	3	
2차년도	46,250			0			46,250	3	
3차년도				0			0		
4차년도				0			0		
5차년도				0			0		
합계	93,802	0	0	0	0	0	93,802	6	
⑩ 총연구기간		2010. 05. 01 - 2012. 04. 30 (24개월)							
⑪ 다년도협약연구기간		기재하지 않음							
⑫ 당해연도연구기간		2011. 05. 01 ~ 2012. 04. 30(12개월)							
⑬ 참여기업		중소기업수		대기업수		기타		계	
								0	
⑭ 국제공동연구		상대국연구기관수			상대국연구개발비		상대국연구책임자수		
관계 규정과 모든 지시사항을 준수하면서 국가연구개발사업에 따라 수행 중인 연구개발과제의 최종보고서를 붙임과 같이 제출 합니다.									
2012 년 6 월 23 일									
주관연구책임자 : 고 석 찬									
주관연구기관장 : 제주대학교 산학협력단장 이 남 호									
교 육 과 학 기 술 부 장 관 귀 하									

※ 전자접수이므로 주관연구책임자 및 주관연구기관장 서명(인, 직인)은 생략

< 목 차 >

I. 연구결과 요약문

II. 연구내용 및 결과

1. 연구과제의 개요	4
2. 국내·외 기술개발 현황	5
3. 연구수행 내용 및 결과	5
4. 목표 달성도 및 관련 분야에의 기여도	6
5. 연구결과의 활용 계획	6
6. 연구과정에서 수집한 해외 과학기술 정보	7

III. 연구성과

I. 연구결과 요약문

본 연구는 한라산에 분포하고 있는 고산식물인 구상나무를 대상으로 한라산의 자생지의 고도별, 그리고 계절별로 엽록소형광의 분석, 특이적으로 유도되는 단백질들을 2-D 전기영동(IEF와 SDS-PAGE)과 MALDI-TOF Mass Spectrometer를 이용하여 분석함으로써 이들 조건에서 특이적으로 발현하는 식물 조직 내 단백질을 동정하고 생체내 작용을 살펴보고자 실시하였다.

한라산의 고도별(해발 1500m, 1671m, 1800m)로 구상나무의 엽록소형광의 계절적 변화를 살펴보았다. 구상나무 잎의 광계II의 광화학적 효율(F_v/F_m)은 계절별로 뚜렷한 차이를 보여 6~8월까지의 F_v/F_m 값이 0.82 이상의 높은 값을 나타내었고, 10월부터 점차 낮아져 1~2월에는 0.2 이하의 낮은 값을 보였다. 이는 겨울철 조건이 구상나무에 스트레스로 작용하고 있음을 말해준다. F_v/F_m 값의 계절별 변화 양상을 토대로 7월, 2월 그리고 4월의 구상나무 잎의 광합성 색소와 프로테옴의 변화를 분석하였다. Chl a/b 값은 고도별로는 차이가 없었으나 계절별로 뚜렷한 차이를 보여 7월 이후 계속 증가하여 2월에 최대가 되고 이후 감소하는 양상을 보였으며, 이는 저온으로 인해 전자전달 활성이 억제되어 광수집 복합체의 기능을 낮춘 때문으로 보인다. $(A+Z)/(V+A+Z)$ 값도 7월 이후 계속 증가하여 2월에 최대값을 보이는데, 겨울철 저온 조건에서 과다한 빛 에너지를 소산시키기 위하여 violaxanthin(V)을 antheraxanthin(A)과 zeaxanthin(Z)으로 전환시킨 때문이다. 2차원 전기영동으로 구상나무 잎의 프로테옴을 분석한 결과, 총 226개의 단백질 spot이 검출되었으며, 계절적인 차이가 많이 나타났다. 7월에는 9~36개의 단백질 spot이 검출되었으나 점차 증가하여 12월과 2월에는 각각 208~226개, 209~218개의 많은 단백질 spot이 검출되었다. 분리된 단백질 spot 중 계절적 변화가 큰 31개의 spot을 선정하여 TOF/TOFTM MS/MS 분석으로 단백질서열 결정을 시도하여 13개의 spot을 동정할 수 있었다. 그 중 6개의 단백질은 superoxide dismutase, peroxidase 등인 것으로 추정되어 겨울철 저온, 고광 등의 환경 스트레스에 대한 대응 메커니즘과 밀접한 관련이 있을 것으로 추정된다.

본 연구결과는 2011년도와 2012년도에 한국환경과학회, 환경생물학회 등의 국내 학회의 학술발표를 통해 다수의 결과물을 발표하였으며, 2012년도에 학술상을 수상하기도 하였다. 또한 2012년 7월에 독일 프라이부르크에서 열리는 Plant Biology Congress 2012에의 참석하여 2개의 연구결과를 발표할 예정이다. 또한, 고도별, 그리고 계절별 구상나무의 엽록소형광과 광합성 색소를 중심으로 구성된 1편의 논문이 *Arctic, Antarctic, and Alpine Research* (SCI 등재; Seasonal Photoprotective Responses in Needles of Korean Fir (*Abies koreana*) over an Altitudinal Gradient on Mt. Halla, Jeju Island, Korea)에 투고하여 심사 중에 있다. 그리고, 계절별 구상나무의 F_v/F_m 의 변화와 프로테옴 분석을 중심으로 구성된 또 다른 1편의 논문을 작성중에 있으며, 이 또한 SCI 등재 이상의 전문학술지에 투고할 예정이다.

II. 연구내용 및 결과

- ◎ 1. 연구과제의 개요 ~ 6 기타사항을 항목에 따라 작성함
- ◎ 제목 14point, 소제목 12point, 본문내용은 10point로 작성하며, 줄 간 간격은 조정 가능함
- ◎ 내용 작성과 관련한 설명내용(청색 박스로 표시된 부분)은 내용 작성 시 제거하고 기술함

※ II. 연구내용 및 결과의 작성분량은 3페이지 내외로 핵심내용 중심으로 간결하게 작성함

1. 연구과제의 개요

- 구상나무(*Abies koreana* Wilson)는 소나무과 전나무속에 속하며 한국특산종으로서 제주도의 한라산, 전라 북도의 지리산과 덕유산 등의 남부지역의 아고산지대에 분포하는 상록침엽교목의 고산수종이다. 지리적으로는 러시아 극동의 해안에서 한반도의 고산을 따라 제주도까지 분포하고 있으나(Lee, 1996; IUCN, 2006), 대부분 숲을 형성하지 못하고 있을 뿐만 아니라 소수의 개체만이 드물게 발견되고 있어서 IUCN은 멸종위기종으로 지정하고 있다. 하지만 한라산천연보호구역에는 광대한 면적에 순림을 형성하고 있어서 세계 최대 규모의 구상나무림으로 평가받고 있다.
- 동북아에 분포하고 있는 *Abies*속 식물들은 대부분 아고산 또는 아한대의 주요 구성종으로 이 지역의 주경관요소이기도 한데 최근 문제가 되고 있는 지구온난화에 의해 구상나무림이 쇠퇴하게 될 것이라는 보고들이 있고(Kim, 2000; Koo *et al.*, 2001), 실제 한라산 아고산지대에 분포하고 있는 구상나무들은 다른 고산수종에 비하여 활력이 낮고 고사목 출현빈도가 높아지고 있어 이에 대한 대책이 시급한 상황이다. 한라산의 구상나무 북사면에서는 해발 1290m부터, 남사면은 1410m, 서사면은 1430m, 그리고 동사면은 1300m부터 나타나며 1950m의 한라산 정상까지 단속적으로 대상 또는 반점상으로 분포하고 있어서, 사면에 따라 최저 분포지역과 최고 분포지역 간에 520~660m의 고도별 차이가 있다. 따라서, 1950m의 고지대에 분포하는 개체보다 1290~1430m의 낮은 지역에 분포하는 개체는 겨울철 또는 여름철의 고온 스트레스에 노출될 가능성이 높고, 기후변화로 인한 고온에 가장 크게 반응할 것으로 생각된다.
- 환경 스트레스에 대한 식물의 반응 및 변화는 외부 형태상의 피해, 향산화기구의 발현, 광합성의 변화, 특이적인 단백질이나 유전자 수준에서의 조절 등을 분석함으로써 파악할 수 있다(Mckersis and Leshem, 1994). 식물의 생장이나 외부형태상의 피해는 생육장애, 병징, 세포내용물의 변형 또는 파괴 등을 조사함으로써 판정할 수 있으나, 가시적으로 증상이 나타나지 않을 때에는 그 영향을 평가하기가 쉽지 않아서 식물의 생리·생화학적 반응을 토대로 평가하여야 한다. 그 중 비교적 객관적으로 그 영향을 제시할 수 있는 방법이 향산화기구의 발현이나 광합성효율의 변화 등을 분석하는 것이다.
- 따라서 본 연구는 한라산에 분포하고 있는 고산식물인 구상나무를 대상으로 한라산의 자생지의 고도별, 그리고 계절별로 엽록소형광의 분석, 특이적으로 유도되는 단백질들을 2-D 전기영동(IEF와 SDS-PAGE)과 MALDI-TOF Mass Spectrometer를 이용하여 분석함으로써 이들 조건에서 특이적으로 발현하는 식물조직

내 단백질을 동정하고 생체내 작용을 살펴보고자 하였다.

2. 국내외 기술개발 현황

- 환경 스트레스에 대한 식물의 반응 및 변화는 외부 형태상의 피해, 항산화기구의 발현, 광합성의 변화, 특이적인 단백질이나 유전자 수준에서의 조절 등을 분석함으로써 파악할 수 있다(Mckersis and Leshem, 1994). 식물의 생장이나 외부형태상의 피해는 생육장애, 병징, 세포내용물의 변형 또는 파괴 등을 조사함으로써 판정할 수 있으나, 가시적으로 증상이 나타나지 않을 때에는 그 영향을 평가하기가 쉽지 않아서 식물의 생리·생화학적 반응을 토대로 평가하여야 한다. 그 중 비교적 객관적으로 그 영향을 제시할 수 있는 방법이 항산화기구의 발현이나 광합성효율의 변화 등을 분석하는 것이다.
- 유럽과 미국 등지에서는 산림쇠퇴에 따른 고산수목을 보호하기 위한 연구가 이루어지고 있으며, 우리나라에서도 한라산 자생 구상나무의 부분적인 쇠퇴현상이 보고되고 있다(김, 1994). 더군다나, 아고산대에 자생하는 구상나무를 포함한 침엽수는 등산로개설, 등산객의 탐방 등의 각종 인위적 간섭으로 교란되고 있으며, 이외에도 건조, 산성비, 산불, 해충, 지구온난화 등으로 교란받기 쉬우며, 한번 파괴되면 복원이 매우 어렵다. 로키산맥의 1,800m에서 고산 수목한계선인 3,325m에 분포하고 있는 침엽수 5종(*Abies lasiocarpa*, *Picea engelmannii*, *Pinus flexilis*, *Pinus ponderosa*, *Pseudotsuga menziesii*)을 대상으로 자생지의 고도별, 그리고 계절별로 환경요인과 광합성의 관계를 분석하여 보고되었다(Koh *et al.*, 2009).

3. 연구수행 내용 및 결과

1) 자생지 고도별 엽록소형광의 계절적 변화

한라산의 고도별(해발 1500m, 1671m, 1800m)로 구상나무의 엽록소형광의 계절적 변화를 살펴보았다(Fig. 1). 구상나무 잎의 광계II의 광화학적 효율(F_v/F_m)은 계절별로 뚜렷한 차이를 보여 6~8월까지의 F_v/F_m 값이 0.82 이상의 높은 값을 나타내었고, 10월부터 점차 낮아져 1~2월에는 0.2 이하의 낮은 값을 보였다. 이는 겨울철 조건이 구상나무에 스트레스로 작용하고 있음을 말해준다. 일반적으로 F_v/F_m 값이 0.8보다 낮을 때는 광계II의 반응중심이 손상을 입은 상태이거나 비가역적인 불활성상태에 처해있는 상태라고 할 수 있다(Bolh r-Nordenkamp *et al.*, 1989). F_m 과 F_o 의 변화도 F_v/F_m 과 유사한 양상을 보였다.

F_v/F_m 값의 계절별 변화 양상을 토대로 7월과 2월, 그리고 4월을 선정하여 구상나무 잎의 광계II에서의 에너지 전이과정을 분석하였다. 그 결과, 7월에는 흡수된 에너지 (TR_o/ABS)의 59%가 전자전달 (ET_o/ABS)에 이용되고 열 등의 형태로 버려지는 에너지(DI_o/ABS)는 16%에 불과하였다. 반면 2월에는 ET_o/ABS 가 9%로 낮아지고, DI_o/ABS 는 89%로 증가하여 겨울철 저온 스트레스로 인하여 흡수된 에너지의 대부분이 광합성에 이용되지 못하고 버려지고 있는 것으로 나타났다. 이는 계절별 자생지 온도의 저하가 구상나무에 스트레스로 작용하고 있음을 반영한다고 할 수 있다. 반면에 이듬해 4월에는 ET_o/ABS 가 41%로 증가하고 DI_o/ABS 가 32%로 감소하여 흡수된 에너지 중 많은 양이 전자전달에 이용되어 저온 스트레스에서 점차 회복되고 있음을

보여준다.

2) 광합성색소의 계절적 변화

Fv/Fm 값의 계절별 변화 양상을 토대로 7월, 2월 그리고 4월의 구상나무 잎의 광합성 색소와 프로테옴의 변화를 분석하였다. Chl a/b 값은 고도별로는 차이가 없었으나 계절별로 뚜렷한 차이를 보여 7월 이후 계속 증가하여 2월에 최대가 되고 이후 감소하는 양상을 보였으며, 이는 저온으로 인해 전자전달 활성이 억제되어 광수집 복합체의 기능을 낮춘 때문으로 보인다. (A+Z)/(V+A+Z) 값도 7월 이후 계속 증가하여 2월에 최대값을 보이는데, 겨울철 저온 조건에서 과도한 빛 에너지를 소산시키기 위하여 violaxanthin(V)을 antheraxanthin(A)과 zeaxanthin(Z)으로 전환시킨 때문으로 보인다(Figure 2).

3) 프로테옴 분석 및 동정

2차원 전기영동으로 구상나무 잎의 프로테옴을 분석한 결과, 총 226개의 단백질 spot이 검출되었으며, 계절적인 차이가 많이 나타났다. 7월에는 9~36개의 단백질 spot이 검출되었으나 점차 증가하여 12월과 2월에는 각각 208~226개, 209~218개의 많은 단백질 spot이 검출되었다(Figure 3). 분리된 단백질 spot 중 계절적 변화가 큰 31개의 spot을 선정하여 TOF/TOFTM MS/MS 분석으로 단백질서열 결정을 시도하여 13개의 spot을 동정할 수 있었다(Table 1). 그 중 6개의 단백질은 superoxide dismutase, peroxidase 등인 것으로 추정되어 겨울철 저온, 고광 등의 환경 스트레스에 대한 대응 메커니즘과 밀접한 관련이 있을 것으로 추정된다.

4. 목표 달성도 및 관련 분야에의 기여도

- 구상나무는 세계적으로 분포면적이 극히 협소하고 격리된 섬인 제주도에 집중 분포하고 있어 인위적인 간섭이나 기후변화, 지구온난화 등으로 인해 고사목의 출현이 증가하는 등 쇠퇴하고 있는 바, 그 보존이 시급하다. 따라서 본 연구를 통해 제주도의 한라산에 분포하고 있는 구상나무의 생육현황, 광합성 특성 및 생리적 특성 등을 종합적으로 분석함으로써 한국의 특산식물인 구상나무의 보존을 위한 자료로 활용할 수 있다.
- MALDI-TOF Mass Spectrometer를 이용하여 고온 등의 스트레스에 의해 식물조직 내에서 특이적으로 발현 또는 유도되는 단백질의 동정을 통해 이들 단백질들의 생체내에서의 작용 기작을 밝힐 수 있을 것이며, 그 정보가 생화학, 분자생물학, 생리학, 의학, 병리학 등의 생명과학 전반에 걸쳐 이용될 수 있을 것이다.

5. 연구결과의 활용계획

- 구상나무는 관상적 가치가 높아 정원수나 조경수목으로 애용되고 있는 바, 자생지에서 식물의 엽록소형광과 O-J-I-P분석 등의 연구결과는 구상나무의 조림지 육성, 생태숲 조성 등에 있어서 식재 관리에 중요한 자료로 활용할 수 있을 것이다. 더군다나, 구상나무는 산악지역에 식재할 수 있는 대표적인 수종의 하나로

서 환경임업적인 차원에서의 가치도 높다고 할 수 있다.

- 또한, 엽록소형광과 O-J-I-P분석 등은 환경변화에 대한 식물의 피해현황을 정량적으로 제시할 수 있을 것이다. 따라서, 기온, 대기습도, 광도 등 자연 환경요인 분석에 이용하여 환경오염과 지구환경의 변화(이산화탄소, 오존, 온도, 자외선 등) 등에 의한 자연생태계의 변화를 모니터링하고 자연 생태계를 보호하는데 활용할 수 있을 것이다. 그리고, 토양오염, 대기오염, 수질오염 등에 의한 환경영향을 평가하는데 이용할 수 있을 것이다.
- 자연계열과 인문·사회계열 학생들을 대상으로 대학에서 운영되고 있는 교양과정, 즉 「환경생물학」, 「생물과 환경」, 「생명의 신비」 등의 과목에 본 연구결과를 활용함으로써 학생들이 환경문제의 심각성을 인식하고 문제해결에 적극적으로 참여하는 즉, 바람직한 시민적 자질을 함양하도록 교육시킬 수 있을 것이다.

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

※ 기 추진한 연구관련 해외과학기술정보 기술

*Pinus sylvestris*의 침엽에서도 겨울철에 Fv/Fm 값이 낮아지고, xanthophyll-cycle pool (violaxanthin + antheraxanthin + zeaxanthin)과 lutein의 함량은 반대로 겨울철에 증가하는 패턴을 보여 본 연구인 자생지 구상나무의 계절적 변화에서도 이와 유사한 양상은 보였다. 그리고, *Pinus sylvestris*의 단백질 함량도 여름철보다 겨울철에 증가하였는데, 이는 구상나무에서도 유사하다. 또한 침엽수에 대한 MALDI-TOF Mass Spectrometer를 이용한 연구가 전반적으로 미비하여, 구상나무에서 계절별로 특이적으로 유도되는 단백질들에 대한 연구결과가 구상나무뿐만 아니라 침엽수의 생체내 작용을 살펴보는데 활용할 수 있을 것으로 생각된다..

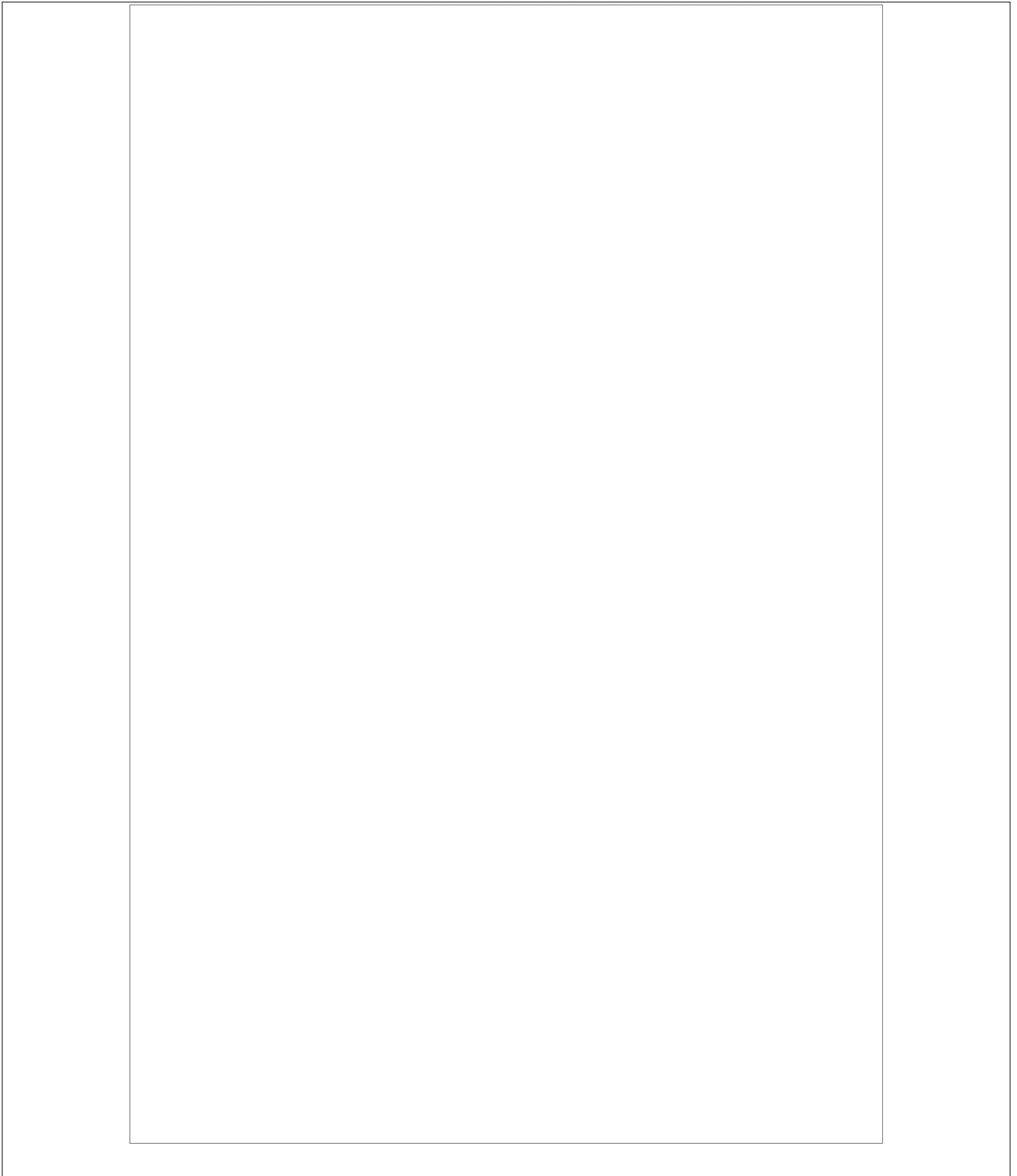
Ⅲ. 연구성과

사업명	기본연구지원사업	연구책임자	고석찬	주관기관	제주대학교
과제번호	2010-0010529	과제명	한라산 구상나무의 해발고도별 CO2 고정율과 엽록소형광의 분석 및 기후변화에 대한 반응기구 규명		

과학기술/학술적 연구성과(단위 : 건)													
전문학술지 논문게재				초청 강연 실적	학술대회 논문발표		지식재산권				수상 실적	출판실적	
국내논문		국외논문			국내	국제	출원		등록			저역서	보고서
SCI	비SCI	SCI	비SCI				국내	국외	국내	국외			
0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	1	0	0

학술대회 논문발표 성과정보						
과제번호	발표년월	학술대회명	저자	논문제목	학술대회구분	개최국
2010-0010529	201106	2011년 한국환경생물학회 하계학술대회	오순자, 고제환, 고석찬	엽록소형광 분석을 통한 한라산 구상나무의 저온 스트레스에 대한 대응 메커니즘 분석	국내학술대회	대한민국
2010-0010529	201111	2011년 한국환경과학회 정기학술발표회	오순자, 양승훈, 고석찬	엽록소형광 분석을 통한 한라산 구상나무의 겨울철 저온스트레스에 대한 대응 메커니즘 분석	국내학술대회	대한민국
2010-0010529	201112	2011년 한국환경생물학회 동계학술대회	오순자, 양두영, 강석주, 고석찬	엽록소형광, 광합성색소 조성 및 프로테오믹의 분석을 통한 한라산 구상나무의 저온스트레스에 대한 대응 메커니즘 분석	국내학술대회	대한민국
2010-0010529	201205	2012년 한국자원식물학회 춘계학술발표회	오순자, 양승훈, 고석찬	Seasonal Photoprotective Responses in the Needles of Korean Fir (Abies koreana Wils.) over an Altitudinal Gradient on Mt. Halla	국내학술대회	대한민국
2010-0010529	201205	2012년 한국자원식물학회 춘계학술발표회	오순자, 현명선, 고석찬	한라산 구상나무의 보전을 위한 엽록소형광 및 프로테오믹 분석	국내학술대회	대한민국
2010-0010529	201206	2012년 한국환경생물학회 하계학술대회	양승훈, 오순자, 고석찬	Seasonal Photoprotective Responses in the Needles of Korean Fir over an Altitudinal Gradient on Mt. Halla	국내학술대회	대한민국
2010-0010529	201206	2012년 한국환경생물학회 하계학술대회	오순자, 양두영, 강석주, 고석찬	Seasonal Changes in Chlorophyll Fluorescence and Protein Composition of the needles of Korean Fir on Mt. Halla	국내학술대회	대한민국

수상실적 성과정보							
과제번호	수상연월	수상명	수상자		시상기관	시상국가	수상사유
			성명	소속기관			
2010-0010529	201206	학술상 (제 2012-2호)	고석찬	제주대학교	한국환경생물학회	대한민국	2012년 하계학술대회 우수 학술발표로 학술상 수상자로 선정됨



Arctic, Antarctic, and Alpine Research(SCI 등재)에 투고 중임을 보여주는 자료