

엽록소형광 이미지 분석을 이용한 Kiwifruit 과육의 생체정보 수집

오순자, 김성철¹⁾, 고석찬*

제주대학교 생명과학과 · 기초과학연구소: ¹⁾농촌진흥청 난지농업연구소

요약

본 연구는 kiwifruit 과일의 생체정보를 얻고 그 활용 가능성을 모색하고자 엽록소형광 이미지 분석을 수행하였다. Kiwifruit 과일의 표면과 중과피의 형광유도곡선은 유사한 양상을 보였으며, 표면과 중과피의 엽록소형광 변수들 중에 F_0 , F_v/F_m , F_0' , F_v/F_m' , qP , qN 은 5% 수준에서 동일한 것으로 분석되었다. 이는 kiwifruit 과일의 표면과 횡단면의 엽록소형광 이미지 분석으로도 확인할 수 있었는데, 표면의 F_0 와 F_m 의 이미지는 중과피의 이미지와 유사하였다. 광계 II의 광화학적 효율, 즉 F_v/F_m 의 이미지는 표면과 중과피 부위에서 다소 다르나 두 부위의 F_v/F_m 값은 통계적으로 동일하였다. 이로부터 과일의 표면에서 측정된 형광 이미지는 중과피 부위에서의 이미지를 반영한다고 할 수 있으며, 과일의 생리적 상태나 상품성을 평가하는데 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

주요어 : Kiwifruit (*Actinidia delisiosa* var. 'Heyward'), 엽록소형광 이미지, 엽록소형광 변수

서론

광합성 조직에서 방출하는 엽록소형광은 그 조직의 광합성능을 나타내는 신호를 제공한다 (Govindjee, 1995). 광합성능의 양적 측정은 상이한 빛의 노출 하에서 엽록소형광의 상대적인 세기를 측정함으로써 가능하다. 엽록소형광의 동력학적 분석은 고온과 저온 (Lang *et al.*, 1996), 과다한 빛 에너지 (Gilmore and Govindjee, 1999), 낮은 수분 포텐셜 (Osmond *et al.*, 1999), 병원균의 감염 (Bowyer *et al.*, 1998) 등 여러 가지 스트레스에 민감한 광계 II를 측정하는데 사용할 수 있다. 지난 20년 동안 다양한 형광 분석기의 개발에 힘입어 엽록소형광 방출이 식물, 조류, 그리고 남세균의 광합성능을 측정하는데 사용되어 왔다. 형광 측정을 토대로 한 광합성능을 평가하는 기술들 중에 간단한 것이 F_0 , F_m , F_t 등 형광 변수의 상대적인 세기를 측정하는 것이다. 이들 3개

의 형광변수를 토대로 동력학적 분석을 함으로써 광계 II의 광화학적 수율을 나타낼 수 있다 (Govindjee, 1995). 그 예로 식물이 스트레스 하에 있을 때 변이형광(F_v) 또는 F_v/F_m 의 감소는 식물이 스트레스에 의해 손상되었음을 나타내는 지표가 된다 (Chakir and Jensen, 1999).

대다수의 형광분석기들은 녹색 식물조직, 즉 엽록소 함량이 높은 식물조직으로부터 엽록소형광을 측정하기 위해 개발되었으나, 엽록소 함량이 낮은 비녹색 식물조직에서도 측정이 가능하다. 즉, 표피조직의 엽록체가 분해되는 과일의 성숙과정에서도 측정이 가능하다. 사과, 토마토와 같은 비녹색의 과일일지라도 엽록체가 있어서 과일 표면의 엽록소형광을 분석함으로써 다양한 생체정보를 얻을 수 있다. 따라서, 엽록소형광의 측정은 과일의 품질을 분석하는데 유용하게 사용될 수 있으며 (Ciscato *et al.*, 2001), 엽록소형광 변수를 이미지화하는 기술은 과일 표면의 광합성능을 비롯한 여러 가지 생체정

보를 비파괴적으로 제시할 수 있다 (Nedbal *et al.*, 2000).

Kiwifruit은 중국 양자강 부근에서 분포하던 아열대성 식물로 뉴질랜드에서 개량되어 전 세계적으로 재배되고 있는 작물이다. 우리나라에는 1977년 뉴질랜드로부터 도입되어 제주도를 포함한 남해안 지역에서 대량으로 재배되고 있고 생산량도 증가하고 있는 추세이다. 그러나, kiwifruit 과일은 수확 후 저장조건이나 저장기간 등에 따라서 과육이 쉽게 물러지고, 저장 중 과일의 부패, 신선도 저하 등이 문제되고 있다. 본 연구는 과일의 유통과정 중에 중요한 상품가치 분석에 필요한 kiwifruit 과일의 생체정보를 수집하는데 활용하고자, kiwifruit 과일의 다양한 형광변수들을 측정하고 엽록소형광 이미지를 분석하여 그 활용가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용한 kiwifruit (*Actinidia delisiosa* var. 'Heyward') 과일은 크기가 균일하고 신선한 상태의 성숙한 것을 시장에서 구입하여 사용하였다. Kiwifruit 과일은 표면과 횡단면으로 구분하여 조사하였으며,

횡단면은 중과피, 내과피, 태좌 3부분으로 구분하여 조사하였다.

엽록소형광 곡선 및 형광이미지 분석

엽록소형광 곡선과 형광이미지는 FluorCam 700.MF (PSI, Czech Republic)를 이용하여 조사하였다. 엽록소형광 곡선은 User's Guide의 quenching analysis 방법에 따라 유도하였다. 15분간 암적응시킨 kiwifruit 과일의 표면 또는 횡단면에 첫번째 포화광 (1.500 $\mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$)을 비추고 actinic light (100 $\mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$) 하에서 다시 포화광을 일정 간격으로 3회 연속적으로 비추어서 형광곡선을 유도하였다. 그리고, 이를 토대로 F_o , F_m , F_v/F_m 등 다양한 형광 변수들을 산출하였다 (Table 1). 엽록소형광 이미지는 첫 번째 포화광 (1.500 $\mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$)을 쏘인 후 1.000ms와 3.960ms에서 방출되는 형광을 CCD 카메라로 포획하여 각각 F_o 와 F_m 의 형광이미지로 나타내었으며 이로부터 F_v/F_m 의 형광이미지를 산출하여 제시하였다.

통계 분석

과일의 각 부위별로 측정된 엽록소형광 변수들은 SPSS program (SPSS Inc., Release 7.5, 1996)으로 분석하였으며, 5% 수준에서 유의성 검정을 하였다.

Table 1. Short descriptions of chl fluorescence (CF) parameters used in the text

Abbreviation	Description
F_o	Minimum CF in dark-adapted tissue
F_m	Maximum CF in dark-adapted tissue
F_v	Variable CF in dark-adapted tissue
F_m/F_o	Indicator of the physiological state of the photosynthetic apparatus in dark-adapted tissue
F_v/F_m	Photochemical efficiency of PS II in dark-adapted tissue
F_o'	Minimum CF in light-adapted tissue
F_m'	Maximum CF in light-adapted tissue
F_v'	Variable CF in light-adapted tissue
F_m'/F_o'	Indicator of the physiological state of the photosynthetic apparatus in light-adapted tissue
F_v'/F_m'	Photochemical efficiency of PS II in light-adapted tissue
F_p	Fluorescence intensity at the P level in Kautsky nomenclature
F_t	Fluorescence intensity at the steady-state T level in Kautsky nomenclature
Rfd	Relative fluorescence density at the steady-state level
qP	Photochemical quenching
qN	non-photochemical quenching, $(F_v - F_v')/F_v$
NPQ	non-photochemical quenching, $(F_m/F_m' - 1)$

결과 및 고찰

수확 후 과일의 품질을 측정하는 것은 과일의 유통과정에서 재배농가, 상인, 구매자들에게 매우 중요한 문제이다. 과일의 상품가치는 외형상태, 맛(당도, 산도), 색깔, 신선도 등으로 판단할 수 있다. 그러나 과일의 상품가치를 분석하기 위해서는 생체조직을 파괴하여야 하고 분석시간이 길기 때문에 주로 크기나 형상에 치중하고 있다. 따라서, 짧은 시간에 비파괴적으로 과일의 품질을 평가할 수 있는 방법을 개발할 필요가 있는데 엽록소형광 이미지 분석이 그 중 하나가 될 수 있다 (DeEll and Toivonen, 2003).
성숙한 kiwifruit 과일의 형태적 특성을 살펴보면,

표면은 황갈색의 짧은 털로 덮혀 있으나, 내부는 전체적으로 밝은 녹색으로 되어 있고, 태좌, 내과피, 중과피, 외과피로 구분할 수 있다 (Fig. 1A). 태좌는 횡단면의 중앙에 위치하며 녹색이 열게 가미된 흰색이고, 내과피는 수백 개의 작고 까만 종자들이 촘촘히 박혀있으며 녹색의 색깔을 나타낸다. 그리고, 과육의 많은 부분을 차지하고 있는 중과피는 밝은 녹색으로 보인다. 외과피는 식용하지 않는 부위로서 녹색이며 표면에 황갈색의 짧은 털을 가지고 있다. Kiwifruit 과일의 표면과 횡단면에서 방출하는 엽록소형광의 동력학적 변화를 제시하였다 (Fig. 1B), 그 결과, 과일의 중과피, 내과피, 태좌 부분의 엽록소형광의 동력학적 변화 양상이 서로

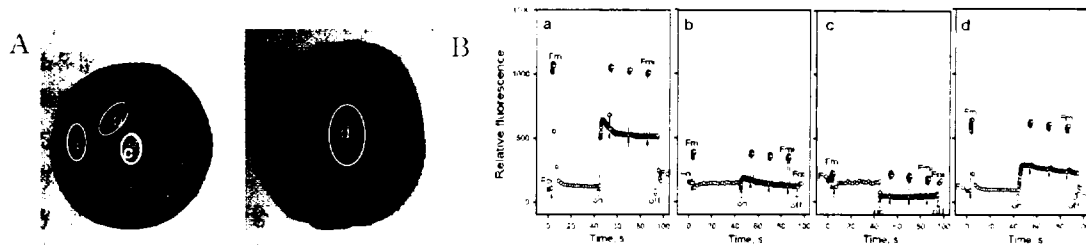


Fig. 1. The photographs (A) and chl fluorescence kinetics (B) of the cross-section and surface of a fruit. a. mesocarp; b. endocarp; c. placenta; d. surface. The thin arrows indicate the positions of saturating flashes and the open arrows indicate the position of continuous actinic light on and off.

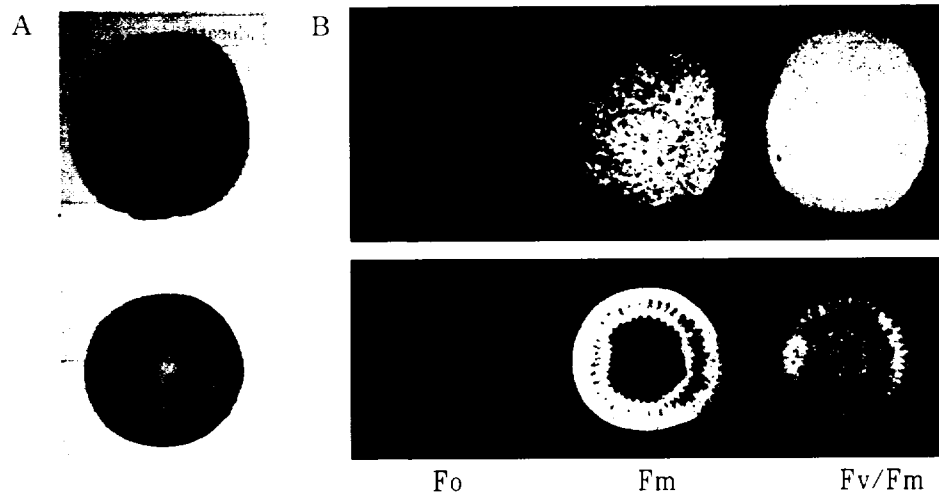


Fig. 2. The photographs (A) and chl fluorescence images (B) of the surface and cross-section of a fruit. The chl fluorescence images are shown in false colours where blue represents the weakest and red the highest fluorescence signals.

달랐다. 반면에, 과일의 표면과 증과피의 절대적인 엽록소형광 세기는 서로 다르지만 두 부위에서 방출하는 엽록소형광의 동력학적 변화 양상은 서로 유사하였다. Fig. 1의 엽록소형광의 동력학적 변화로부터 kiwifruit 과일의 표면과 횡단면의 형광이미지를 분석하여 제시하였다 (Fig. 2). 그 결과, 표면의 Fo와 Fm의 이미지는 증과피와 유사하였다. 즉, 표면의 Fo 형광이미지는 전체적으로 옅은 파란색을 나타내며, 횡단면에서는 태좌와 내과피는 진한 파란색을, 그리고 증과피는 옅은 파란색을 보였다. 표면의 Fm 형광이미지는 다소 적색이 가미된 노란색을 띄고 있으며 가장자리는 녹색으로 나타났다. 그리고, 횡단면에서는 태좌와 내과피는 녹색을, 증과피는 적색이 가미된 노란색을 띄었다. 그러나 Fv/Fm의 형광이미지를 살펴보면, 표면은 전체적으로 노란색을 띄었으며, 태좌는 녹색, 내과피는 파란색, 증과피는 노란색이 다소 가미된 적색을 나타내었다. 과일의 표면과 증과피의 Fo, Fm의 형광이미지가 서로 유사한데 반하여 Fv/Fm 이미지는 다소 다르게 나타났다.

Fig. 1의 엽록소형광의 동력학적 변화로부터 여러 가지 형광변수들을 산출하고 부위별로 유의성을 검

정하였다 (Table 2). 그 결과, kiwifruit 과일의 표면에서 측정된 엽록소형광 변수들 중에 Fo, Fv/Fm, Fo', Fv'/Fm', qP, qN 등의 값은 5% 수준에서 횡단면의 증과피의 값과 동일한 것으로 분석되었다. 더욱이, Fig. 2에서 형광이미지가 다소 다르게 나타났던 과일의 표면과 증과피의 Fv/Fm도 동일한 것으로 분석되었다. 반면에, 과일 표면의 형광변수들과 횡단면의 태좌 또는 내과피의 형광변수들 간에는 qP를 제외한 모든 변수들 값이 서로 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 엽록소형광 이미지 분석이 과일의 품질 측정에 이용되었던 사례로서 사과와 수확 또는 저장 시 품질의 측정 (Sowinska *et. al.*, 1998), 레몬의 표면 손상이나 병징의 검출 (Nedbal *et. al.*, 2000) 등이 있다. 그러나 이들은 단순히 과일 표면의 엽록소형광을 분석하는 방법이라고 할 수 있다. 반면에 본 연구에서는 표면의 엽록소형광을 측정하므로써 우리가 식용으로 하는 증과피의 생체정보를 얻을 수 있었다. 따라서 다양한 조건에서 측정된 형광변수들과 당도, 경도 등과의 관련성을 분석한다면 과일의 상품성을 객관적으로 판단하는데 좋은 지표로 사용될 수 있을 것으로 보인다.

Table 2. Comparison of the chl fluorescence parameters values between the surface and cross-section of fruits

chl fluorescence parameter	Fruit surface	Cross-section		
		Mesocarp	Endocarp	Placenta
Fo	90.6 ^a	98.1 ^a	157.0 ^b	161.2 ^b
Fm	690.8 ^b	959.7 ^c	275.0 ^a	211.9 ^a
Fv	600.1 ^b	861.6 ^c	118.0 ^a	50.7 ^a
Fm/Fo	7.7 ^b	10.3 ^c	1.9 ^a	1.9 ^a
Fv/Fm	0.87 ^c	0.90 ^c	0.23 ^b	-0.33 ^a
Fo'	119.1 ^a	133.2 ^a	153.8 ^b	161.3 ^b
Fm'	659.4 ^b	865.6 ^c	245.9 ^a	180.7 ^a
Fv'	540.3 ^c	732.4 ^d	92.1 ^b	19.4 ^a
Fm'/Fo'	5.56 ^b	7.15 ^c	1.74 ^a	1.72 ^a
Fv'/Fm'	0.82 ^c	0.84 ^c	0.16 ^b	-0.58 ^a
Fp	326.2 ^b	644.0 ^c	176.7 ^a	184.2 ^a
Ft	273.7 ^b	488.7 ^c	137.5 ^a	142.9 ^a
Rfd	0.20 ^a	0.40 ^{bc}	0.31 ^{ab}	0.45 ^c
qP	0.72 ^a	0.51 ^a	-0.84 ^a	1.36 ^a
qN	0.10 ^a	0.14 ^a	0.72 ^b	-0.22 ^a
NPQ	0.05 ^a	0.11 ^b	0.12 ^b	0.19 ^c

Means within a row followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Duncan's multiple-range test.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 결과의 일부입니다. 연구비 지원에 감사드립니다.

참고 문헌

- Bowyer, W.J., L. Ning, L.S. Daley, G.A. Strobel, G.E. Edwards, and J.B. Callis. 1998. *In vivo* fluorescence imaging for detection of damage to leaves by fungal phytotoxins. *Spectroscopy* 13(11): 36-44.
- Chakir, S. and M. Jensen. 1999. How does *Lobaria pulmonaria* regulate photosystem II during progressive desiccation and osmotic water stress? A chlorophyll fluorescence study at room temperature and at 77K. *Physiol. Plant.* 105:257-265.
- Ciscato, M., M. Sowinska, M. vandeVen, F. Heisel, T. Deckers, J. Bonany and R. Valcke. 2001. Fluorescence imaging as a diagnostic tool to detect physiological disorders during storage of apples. *Acta Hort.* 553:507-512.
- DeEll J.R. and P.M.A. Toivonen. 2003. Use of chlorophyll fluorescence in postharvest quality assessments of fruits and vegetables. In: DeEll J.R. and P.M.A. Toivonen (eds.), *Practical Applications of chlorophyll fluorescence in plant biology*. pp.203-242.
- Gilmore, A.M. and Govindjee. 1999. How higher plants respond to excess light: Energy dissipation in photosystem II. In: Singhal, G.S., Renger, G., Irrgang, K.D. and Govindjee (eds.), *Concepts in photobiology: Photosynthesis and Photo-morphogenesis*. pp.513-548.
- Govindjee. 1995. Sixty-three years since Kautsky: chlorophyll a fluorescence. *Aust. J. Plant Physiol.* 22:131-160.
- Lang, M., H.K. Lichtenthaler, M. Sowinska, F. Heisel and J.A. Miehe. 1996. Fluorescence imaging of water and temperature stress in plant leaves. *J. Plant Physiol.* 148:613-621.
- Nedbal, L., J. Soukupová, J. Whitmarsh and M. Trtílek. 2000. Postharvest imaging of chlorophyll fluorescence from lemons can be used to predict fruit quality. *Photosynthetica* 38(4):571-579.
- Osmond, C.B., D. Kramer and U. Löttge. 1999. Reversible, water stress induced non-uniform chlorophyll fluorescence quenching in wilting leaves of *Potentilla reptans* may not be due to patchy stomatal responses. *Plant Biol.* 1:618-624.
- Sowinska, M., T. Deckers, C. Eckert, F. Heisel, R. Valcke and J. Miehe. 1998. Evaluation of nitrogen fertilization effect on apple-tree leaves and fruit by fluorescence imaging. In: R.M. Narayanan and J.E. Kalshoven (eds.), *Proc. SPIE* (3382). *Advances in laser remote sensing for terrestrial and hydrographic applications*. pp.100-110.