

환경일반-P5

NaCl에 의한 보리잎의 광합성 형광 분석

정화숙·박강은¹·임영진·서순정*

경북대학교 생물교육과, ¹진주교육대학교 과학교육학부

1. 서론

식물은 여러 환경 스트레스에 영향을 받아 생리활성에 능동적 또는 수동적으로 달라진다. 특히, 광합성은 식물세포의 가장 중요한 대사과정 중 하나로서 환경요인에 따라 매우 민감하게 반응한다. 염해를 입은 많은 식물에 있어서 생산량의 감소는 광합성 능력의 감소 때문이다. 환경스트레스에 의해서 가장 많이 손상을 입는 장소 중에 하나가 광계Ⅱ인 것은 초기에 보고된 바 있다(Baker, 1991). 광계Ⅱ의 광화학 효율성에 대한 염의 영향에 관한 보고는 제한되어져 있고 논쟁 중에 있다. 일부 연구에서 고등식물에 있어 염 스트레스는 광계Ⅱ 활성을 저해한다는 것을 보여 주었다(Bongi and Loreto, 1989). 반면에 다른 연구는 염이 광계Ⅱ활성에 영향을 미치지 않거나(Robinson *et al.*, 1982) 혹은 광계Ⅱ의 활성을 높혀준다고 하였다(Smilie and Nott, 1982).

황백화된 식물은 빛에 의해 광합성 기구가 발달하여 광합성능이 급속히 증진되므로 이 때 환경요인은 매우 중요하다. 황백화된 보리잎에 수은, 구리 및 아연(Chun *et al.*, 1993)등의 중금속과 산성전해수(Park *et al.*, 1999) 및 오존(Park *et al.*, 1996)등을 처리하여 광합성 기구의 발달에 미치는 영향을 살펴본 것이 있다. 그럼에도 불구하고 황백화된 보리 유식물을 녹화시킬 때 NaCl이 광합성에 미치는 영향과 녹화된 보리 유식물의 엽록체에 NaCl이 미치는 영향에 대한 연구는 거의 없었다.

따라서 본 연구에서는 NaCl이 보리 유식물의 광합성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 NaCl을 처리한 황백화된 보리 잎의 엽록소 함량과 엽록소 형광을 측정하여 NaCl이 엽록체 발달 과정에 미치는 영향을 알아보고, 녹화된 보리 잎에 NaCl을 처리하여 성숙한 엽록체에 미치는 영향을 엽록소 함량과 엽록소 형광측정을 통해 알아보고자 한다.

2. 재료 및 실험 방법

실험재료 : 보리(*Hordeum vulgare L.*) 종자를 6시간 동안 중류수에 담가 침전시킨 뒤, perite에 파종하여 온도는 $22\pm2^{\circ}\text{C}$, 상대습도는 $70\pm5\%$ 로 하여 키운 보리 유식물을 실험재료로 이용하였다. 측정 시에는 제 1엽을 끝에서 1cm 제거하고 난 후 2cm 만큼 잘라서 사용하였다. NaCl의 농도는 0.2 M에서 1.0 M까지 0.2 M 간격으로 처리하였다.

엽록소 함량 : 엽록소 추출은 Hiscox와 Israelstam(1979)의 방법에 따라 DMSO(dimethyl-sulfoxide) 10 ml에 잎 0.1 g을 넣고 항온수조(65°C)에 3시간 동안 두었다. 색소 함량 측정은 spectrophotometer(shimadzu)를 사용하여, 엽록소 a 와 b의 함량은 Arnon(1949)의 방법에 따라 663 nm, 645 nm에서 측정하였고, carotenoid 함량은 Jensen과

Jensen(1971)의 방법에 따라 480 nm에서 측정하여 각 색소의 함량을 정량하였다.

엽록소 형광 : 엽록소 형광 측정은 PAM Chlorophyll Fluorometer(PAM 101, H.Walz, Effeltrich, Germny)을 이용하였다. 약 20분간 암적용 시킨 잎 절편에 변조된 약한 측정광 ($0.1 \mu \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)을 조사하여 F_0 (광계II의 반응중심이 모두 열렸을 때 안테나 색소로부터 방출되는 형광)를 구하고, 포화광($3,000 \mu \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)을 조사하여 F_m (Q_A 의 환원상태에 있을 때의 형광)을 구하였으며, F_v 는 F_m 과 F_0 의 차이로 계산하였다. 그리고 F_v/F_m 는 광계II의 광화학 효율 지표로 이용하였다(Driesnaar *et al.*, 1994). 지속적인 활성광($1,330 \mu \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)을 조사하면서 포화광을 20초 주기로 1초간 pulse 처리하여 형광소멸요인을 분석하였다. 형광소멸요인으로는 quinone의 산화환원 상태를 나타낸 것으로 광계II 반응중심의 열림 상태를 반영하는 qP(photochemical fluorescence quenching), 비광화학적 형광소멸인 qNP(nonphotochemical fluorescence quenching), 고에너지에 기인한 형광소멸인 qE(energy-dependent fluorescence quenching), 그리고 비광화학적 형광소멸인 중 여기된 에너지를 열로 방출하는 경로 qR을 구하였다(Schreiber *et al.*, 1986).

3. 결과 및 고찰

NaCl이 황백화된 보리 잎의 녹화에 미치는 영향과 녹화된 보리 잎에 미치는 영향을 알아보기 위하여 NaCl를 0.2 M에서 1.0 M까지 0.2 M간격으로 농도별로 보리잎에 처리하여 6시간마다 엽록소 함량과 엽록소 형광을 분석하였다.

황백화된 보리잎의 NaCl을 농도별로 처리했을 때 엽록소 a, b의 함량은 시간이 지남에 따라 증가하였으며, 0.2 M에서 0.4 M으로 증가할수록 대조구에 비해 급격히 감소하였다. 그러나 0.6 M 이상의 NaCl 처리구에서는 엽록소 함량의 변화가 거의 일어나지 않았다. F_0 와 F_v 는 0.2 M과 0.4 M에서 30시간까지 대조구와 유사한 양상을 보이다가 30시간 이후에는 감소의 폭이 크게 나타났고, 0.6 M 이상 처리구에서는 녹화시간이 지나도 거의 F_0 와 F_v 가 형성되지 않아, 광수집 색소의 발달이 심각하게 억제되었다는 것을 알 수 있다. F_v/F_m 비는 0.2 M과 0.4 M은 30시간까지 녹화하였을 때 대조구와 유사한 양상을 보였으므로 광계II 전자전달 효율은 대조구에 비해 낮으며, 특히 30시간 이후에는 영향을 더욱 크게 받는다는 것을 알 수 있다. 0.6, 0.8 M NaCl 처리구에서는 42시간까지는 0.2, 0.4 M NaCl 처리구와 유사한 양상을 보였지만, 그 뒤 급격히 감소하였으며 54시간에서는 거의 0에 도달하였으므로 광계II 반응중심의 전자전달효율도 거의 0이라는 것을 알 수 있었다. qP는 NaCl 처리구가 상대적으로 대조구보다 낮게 나타난 것으로 보아 NaCl이 광계의 전자전달 뿐만 아니라 Calvin cycle에도 영향을 주어 Quinone의 산화환원 상태를 억제한 것으로 생각된다. qE는 18시간까지 감소한 뒤 시간이 지남에 따라 경미하지만 증가하였다. 0.6 M 이상의 처리구에서 처리한 농도에 비례해서 전자전달이 억제되었다.

녹화된 보리잎에 NaCl을 농도별로 처리하였을 때 엽록소 함량은 대조구와 유사하게 시간이 지속됨에 따라 감소하였다. 그리고 F_0 도 대조구와 유사하게 감소한 것으로 보아 NaCl이 엽록소의 전자전달에는 크게 영향을 주지 않는 것으로 생각된다. F_v 는 NaCl의

처리 농도가 높을수록 감소의 폭이 크게 나타난 것으로 보아 NaCl의 농도가 높아질수록 광계Ⅱ의 전자전달을 많이 억제함을 알 수 있었다. 그리고 Fv/Fm비가 시간이 지속될수록, 농도가 높을수록 대조구에 비해 크게 감소한 것으로 보아 광계Ⅱ의 반응중심의 효율이 NaCl 처리시간이 지속될수록 그리고 처리농도가 높을수록 심각하게 억제되었음을 알 수 있다. NaCl 처리구의 qNP는 대조구에 비해 낮게 나타났으며, 특히 0.4 M이상의 농도에서 6시간동안 처리했을 때 대조구보다 가장 낮게 나타났으며 30시간 이후에는 처리시간이 지속되어도 대조구와의 차이는 거의 변화가 없었다. NaCl 처리구에서 qR은 시간이 지속될수록 점차적으로 감소하였으며, qE는 NaCl처리 농도가 높을수록 감소하였다. 이것은 틸라코이드막을 경계로한 H⁺의 농도차이가 감소하였다는 것을 나타내므로, 광계Ⅱ의 물분해계와 plastoquinone의 기능이 억제되었다는 것을 알 수 있다.

NaCl이 황백화된 보리잎의 광합성에 미치는 영향은 0.4 M이상의 NaCl처리농도에서 광수집 색소의 발달을 심각하게 억제하고, NaCl이 광계의 전자전달 뿐만이 아니라 Calvin cycle에도 영향을 주어 Quinone의 산화환원 상태를 억제한 것으로 생각된다. 녹화된 보리잎에 미치는 영향은 NaCl이 엽록소의 전자전달에는 크게 영향을 주지 않는 것으로 생각된다. 그러나 NaCl의 농도가 높아질수록 광계Ⅱ의 전자전달을 많이 억제하는 것으로 사료되며 특히 광계Ⅱ의 물분해계와 plastoquinone의 기능이 심각하게 억제되었다는 것을 알 수 있었다. 앞으로 NaCl이 엽록소 분자에 미치는 영향을 좀 더 정확하게 알아볼 필요가 있다고 생각한다.

참고문헌

- Arnon, D., 1949, Copper enzymes in isolated chloroplasts Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*, *Plant Physiol.* 24: 1-15.
- Baker N. R., 1991, A possilble role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis, *Physiologia Plantarum* 81: 563-570.
- Bongi G. F. Loreto, 1989, Gas-exchange properties of salt-stressed olive(*Olea europaea* L.) leaves, *Plant Physiol.* 90: 1408-1416.
- Chun, H.S., Kwon, Y.M. and Lee, C.B., 1993, Comparison of Toxic Effects Mercury, Copper and Zinc on Photosystem II of Barley Chloroplasts, *Korean J. Bot.* 36(3): 195-201.
- Driesenaar, A.R.J., U. Schreiber and S. Malkin, 1994, The use of photothermal radiometry in assessing leaf photosynthesis: II. Correlation of energy storage to photosystem II fluorescence parameters, *Photosynth. Res.* 40: 45-54.
- Falk, S., J.W. Leverenz, G. Samuelsson and G. Öquist, 1992, Changes in photosystem II fluorescence in *Chlamydomonas reinhardtii* exposed to increasing levels of irradiance in relationship to the photosynthetic response to light, *Photosynth. Res.* 31: 31-40.
- Hiscox J.D. and G.F. Israelstam, 1979, A method for the extraction of chlorophyll

- from leaf tissue without maceration, *Can. J. Bot.* 57: 1332-1334.
- Horton, P. and A. Hague, 1998, Studies on the induction of chlorophyll fluorescence in isolated barley protoplasts. IV. Resolution of non-photochemical quenching, *Biochim. Biophys. Acta* 932, 107-115.
- Jensen S.L. and A. Jensen, 1971, Quantitative determination of carotenoids in photosynthetic tissues. In, Method in Enzymology. Vol. 23 (Academic Press, New York), pp. 586-602.