

보리 유식물에 처리한 수은의 분포 및 독성 연구

이춘환 · 장호식 · 정익교* · 전현식**
이진범** · 문병용*** · 이진애****

부산대학교 분자생물학과, *부산대학교 해양과학과, **동의대학교 생물학과,
인제대학교 생물학과, *인제대학교 환경학과
(1992년 6월 8일 접수)

Toxic Effects and Distribution of Mercury in Barley Seedlings

Choon-Hwan Lee, Hosik Chang, Ik Kyo Chung*, Hyun Sik Chun**,
Chin Bum Lee**, Byoung Yong Moon*** and Jin Ae Lee****

*Department of Molecular Biology and *Department of Marine Sciences, Pusan National University, Pusan, **Department of Biology, Donggeui University, Pusan, ***Department of Biology and ****Department of Environmental Science, Inje University, Kimhae, Korea.*
(Manuscript received 8 June 1992)

Abstract

The inhibitory effects of mercury ions on the growth of barley seedlings were studied and the distribution of metal elements in the organs of treated plants was investigated by using synchrotron radiation induced X-ray emission (SRIXE). Although the treatment of mercury ions caused growth inhibition, the mercury-specific increase in variable fluorescence and the abolishment of energy-dependent quenching in broken barley chloroplasts as shown by Moon *et al.* (1992) were not observed in the leaves of growth-inhibited seedlings. Instead the treatment of mercury decreased F_{max} and F_0 values. However, F_{max}/F_0 ratio and photochemical and nonphotochemical quenching coefficients were not affected significantly.

By SRIXE analysis of $10\mu\text{M}$ mercury chloride treated seedlings, accumulation of mercury in roots was observed after 1 hour of treatment and similar concentration was sustained for 48 hours. Relative contents of mercury was high in roots and underground nodes where seeds were attached, but was very low in leaves. Iron and zinc were also distributed mainly in the lower parts of the seedlings. However after 72 hours of treatment the contents of these metals in roots decreased and their distribution became more uniform, which may lead to death of the plants.

These results suggest that the observed inhibitory effects on barley seedlings upto 48 hours after the treatment is not due to direct damages in the photosynthetic apparatus, but due to its accumulation in roots and the consequent retardation of the growth of barley seedlings. The decrease in F_{max} and F_0 is probably due to the decrease in chlorophyll and protein contents caused by the retardation of growth. The observed slow expansion of primary leaves could be also explained by the retardation of growth, but the fluorescence induction pattern from the leaves did not show characteristic symptoms of leaves under water stress.

KEY WORDS: barley, heavy metal distribution, mercury, growth, chlorophyll fluorescence, photochemical quenching, non-photochemical quenching, SRIXE, X-ray emission

1. 서 론

공업 용수나 농약 등에 함유된 중금속 이온들은 일차적으로 담수나 해수에 녹아들어가 일차 생산자인 고등 식물과 해산 및 담수 조류에 흡수되며 (Dietz, 1972), 더 나아가 다음 단계의 포식자들에게 농축되어 환경 보호 또는 식량 자원 보존의 차원에서 심각한 문제로 대두되고 있다.

수은 이온은 생물체에 필수적인 미량원소가 아니며 식물의 성장을 억제하고, 식물의 광합성 과정 및 막구조에 있어서 아연 이나 구리 이온보다 억제효과가 크게 나타났다 (Moon *et al.*, 1992). 다양한 환경 변화에 대하여 식물 광합성 기구의 변화에 대한 연구는 식물 자원의 보호 및 식량증산의 차원에서 중요하고 이러한 연구에 최근 형광분석법이 널리 사용되고 있다 (Krause와 Weis, 1988; Lee, 1990; Lichtenthaler, 1988). 특히 형광 유도과정의 분석으로 엽록체안의 광합성 막구조 및 기능과 암반응의 미묘한 변화도 민감하게 측정할 수 있다. 이 방법은 매우 민감하고 간편하게 측정할 수 있을 뿐 아니라 시료에 영향을 거의 주지 않기 때문에 주요 stress 요인으로서 온도, 광, 염분, 대기 및 수질오염 등이 식물체에 미치는 영향의 연구에 빈번히 이용되고 있다 (Renger와 Schreiber, 1986).

식물체에 대한 대부분의 중금속들의 억제 효과는 여러 작용 부위에서 복잡한 기작을 통하여 일어나지만 형광유도 과정의 비교 연구를 통하여, Moon *et al.* (1992)은 보리 유식물(seedling)에서 분리한 엽록체에서 수은 이온의 억제효과가 아연 및 구리 이온과 달리 특이한 양상을 보임을 보고하였다. 즉 저농도 (50 μ M)의 수은 이온의 처리후 수분내에 형광유도과정에서 P (peak) 이후에 감소하던 variable fluorescence가 크게 증가하고 에너지-의존 형광 소멸계수(qE)가 거의 완전히 사라졌다. 그러나, 분리 엽록체에 직접 처리하지 않고 수은 이온을 성장 배지에 첨가하여 생장이 저해된 유식물의 잎에서 추출한 분리엽록체에서 형광 유도현상을 측정하였을 때에는 이와같은 수은 이온의 특이한 억제효과가 관찰되지 않았다 (미발표 결과). 이는 배지에 수은 이온을 첨가하였을 때 잎의 엽록체에 직접 영향을 미치는 수은 이온의 농도는 뿌리에서 흡수된 수은 이온의 농도보다 훨씬 낮음을 의미한다.

금속원소들의 분포의 조사에는 원자 흡광 분광분석

기(atomic absorption spectrophotometer)가 주로 이용되고 있으나 많은 양의 시료가 필요하고 여러 다른 원소의 분포 변화를 동시에 측정하기에 곤란한 단점이 있다. X-선 형광 분석 (X-ray fluorescence: XRF)법은 이미 잘 알려진 원소 분석법으로 동시에 여러가지 원소를 조사할 수 있기 때문에 널리 이용되고 있지만 일반적인 경우 X선 자체의 에너지가 낮아 미량원소의 경우 확인되지 않는 단점이 있다. 그러나 방사광을 이용한 X-선 원소 분석법 (Synchrotron Radiation Induced X-ray Emission: SRIXE)에서는 매우 강한 방사광을 사용할 수 있기 때문에 이 문제점을 극복할 수 있다. 이 방법은 시료내의 여러 미량 원소를 동시에 측정할 수 있을 뿐 아니라 생물 시료를 있는 그대로 사용할 수 있어 생물 시료내의 원소분석에 특히 유리하다 (Chung *et al.*, 1988). 이 방법은 또한 강한 collimated beam을 사용하여 수 micron의 좁은 지역을 조사할 수 있어 1-2차원 지역에서의 원소 분포를 조사할 수 있다. 그 예로 Bockman *et al.*(1990)은 이 방법으로 암환자의 뼈로부터 칼슘의 유실을 막는데 사용하는 갈리움 (gallium)의 작용 기작을 조사하기 위하여 횡으로 절단한 뼈 단편에서 갈리움의 분포를 조사하였다.

따라서 본 연구에서는 보리 유식물의 성장배지에 처리한 수은 이온에 의하여 생장이 억제된 잎의 광합성 활성을 형광유도과정을 통하여 조사하고, 유식물체 내의 금속원소들의 분포를 XRF법으로 조사하여, 배지에 처리한 수은 이온에 의한 광합성 기구의 억제 양상이 엽록체에 직접 처리할 때와 다른 원인을 밝히고자 시도하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험재료

실험에 사용한 보리 (*Hordeum vulgare* L. cv. Albori) 종자는 1% sodium hyperchloride로 15분 소독하고 증류수로 충분히 씻은 후, 25에서 2일간 어두운 곳에서 발아시킨 다음 연속광 (37 μ mol quata m².s⁻¹의 PAR) 하의 성장상자에서 증류수를 사용하여 수경재배하였다. 수은 이온의 영향은 이와같이 2일간 연속광에서 유식물을 성장시킨 후, 여러농도의 HgCl₂ 수용액을 첨가한 배지에 옮겨 조사하였다.

2.2 X-선 형광 (X-ray fluorescence: XRF)법

X-선 형광법은 Brookhaven National Laboratory (Upton, NY, USA)의 National Synchrotron Light Source X-26 x-ray microscopy (XRM) facility를 이용하였다. XRM은 collimator, sample stage, 및 Si(Li) x-ray detector로 구성되며 (Bockman *et al.*, 1990), probe의 spot size는 8 μ m \times 10 μ m를 사용하였다. single spot 분석에서 얻은 X-선 스펙트럼의 분석은 5-20 keV 범위에서 Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Sr, Pb, 및 Hg에 대하여 행하였고 수은을 제외한 각 원소의 경우 first line에 대한 second line의 band area의 비를 0.15로 고정하였고, 수은의 line들에 대한 band area의 비 ($L\alpha_1 : L\beta_1 : L\beta_2 : L\gamma$)는 수은을 함유한 시료들의 기초 분석 결과를 토대로 1 : 0.40 : 0.18 : 0.10의 비로 고정하여 분석하였다. single spot 및 2차원 분석은 MicroVax II 컴퓨터 (Digital Equipment Co.)와 ND9900 (Nuclear Data Co.) data acquisition system 용 프로그램들을 사용하여 행하였다.

2.3 엽록소 정량

엽록소는 80% acetone 용액으로 엽록소를 추출한 후 645nm와 663nm에서의 흡광도를 측정하여 Arnon (1949)의 공식에 따라 계산하였다.

2.4 엽록소 형광유도 과정의 연구

분리 엽록체의 엽록소 형광은 PAM chlorophyll fluorimeter (Walz Co., West Germany)를 사용하여 보리 유식물의 잎에서 직접 측정하였고, IBM compatible 개인용 컴퓨터에 장착한 DAS16G (Metrabyte Co., USA) data acquisition board를 사용하여 얻은 data는 Basic 및 Assembly 언어를 사용한 프로그램을 사용하여 분석하였다. 형광 유도 변화에 따른 형광 소멸 계수 (quenching coefficient)는 Oxborough와 Horton(1988)의 방법에 따라 계산하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 보리 유식물에 미치는 수은 이온의 효과

어두운 곳에서 2일간 발아후 3일간 수경재배한 보리 유식물체에 여러농도의 HgCl₂ 용액의 처리가 그 생장에

미치는 효과를 조사하였다. Fig. 3(A)와 Moon *et al.* (1992)에 나타난 바와 같이 수은 이온의 처리에 의한 생장의 저해 효과는 10 μ M이상의 수은이온의 처리로 뚜렷이 나타났다.

또한 여러농도의 수은이온의 처리 후, 시간 경과에 따라 보리 유식물로부터 엽질편을 취하여 형광유도과정을 조사하였을 때, 10 μ M이상의 농도에서 48시간이상 두었을 때 Fmax 및 Fo의 감소가 나타났으나 (Fig. 1),

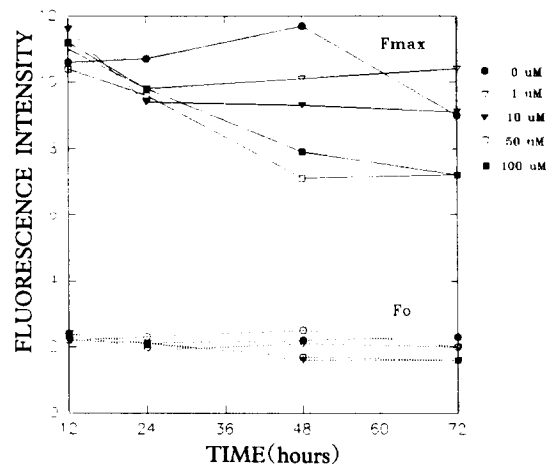


Fig. 1. Fmax and Fo values of barley leaves treated with various concentrations of HgCl₂.

Fmax/Fo의 비율에 있어서 큰 차이를 보이지 않았고 광화학 형광 소멸 계수 (qQ: photochemical quenching)와 비광화학 형광 소멸 계수 (qN: nonphotochemical quenching)에 있어서도 Moon *et al.* (1992)에서 보인 바와 같은 수은 특이적인 뚜렷한 억제 효과가 관찰되지 않았다 (Table. 1). 50~100 μ M의 수은이온을 72시간 동안 처리한 경우 잎의 끝이나 가장자리 부분에서 황록화 현상이 관찰되지만, 유식물 수준에서 Fmax/Fo 비율이 차이를 보이지 않고 형광소멸 계수들에도 큰 차이가 없음을 광합성 기구에 큰 손상이 입지 않았음을 의미한다. Fmax 및 Fo의 감소는 Moon *et al.* (1992)에서 보인 바와 같은 생장의 저해와 엽록소 함량의 감소에 기인한 것으로 보인다. 수은이온의 처리로 대조구에 비하여 12시간이후의 거의 모든 경우에서, 성장 속도가 느려지고 또 말려 있던 잎이 퍼지는 속도가 느려졌으며 이는 수은 이온 처리에 의한 성장저해 효과로 보이며, 수분결핍에 의하여 잎이 어느 정도 시들었을 가능성도

Table 1. Fmax/Fo ratio, qQ, and qN of barley leaves treated with various concentrations of HgCl₂ *

		Concentration of HgCl ₂ (μ M)				
Hours of Treatment		0	1	10	50	100
Fm/Fo	12	4.7(0.5)	4.6(0.1)	4.8(0.2)	4.7(0.2)	4.7(0.0)
	24	4.7(0.1)	4.6(0.2)	4.7(0.2)	4.6(0.4)	4.6(0.2)
	48	4.6(0.1)	4.6(0.1)	4.5(0.2)	4.4(0.1)	4.5(0.2)
	72	4.4(0.1)	4.6(0.1)	4.6(0.1)	4.4(0.1)	4.4(0.2)
qQ (x10)	12	7.7(0.4)	8.2(0.2)	8.0(0.3)	8.0(0.3)	7.9(0.1)
	24	7.7(0.3)	8.1(0.3)	7.8(0.4)	8.0(0.5)	8.0(0.1)
	48	8.0(0.4)	8.1(0.1)	8.0(0.1)	8.2(0.1)	8.3(0.1)
	72	8.3(0.2)	8.0(0.2)	8.0(0.4)	8.0(0.5)	8.0(0.3)
qN (x10)	12	3.9(0.3)	4.3(0.5)	4.0(0.9)	4.6(0.5)	4.2(0.1)
	24	4.2(0.3)	4.3(0.2)	4.1(0.2)	3.6(1.3)	4.3(0.6)
	48	4.8(0.2)	5.0(0.6)	4.2(0.8)	3.5(0.3)	3.9(0.5)
	72	5.2(0.6)	5.1(0.4)	4.5(0.4)	3.9(0.3)	4.0(0.4)

* values are the means from three independent measurements and one standard deviation values are written inside the parentheses.

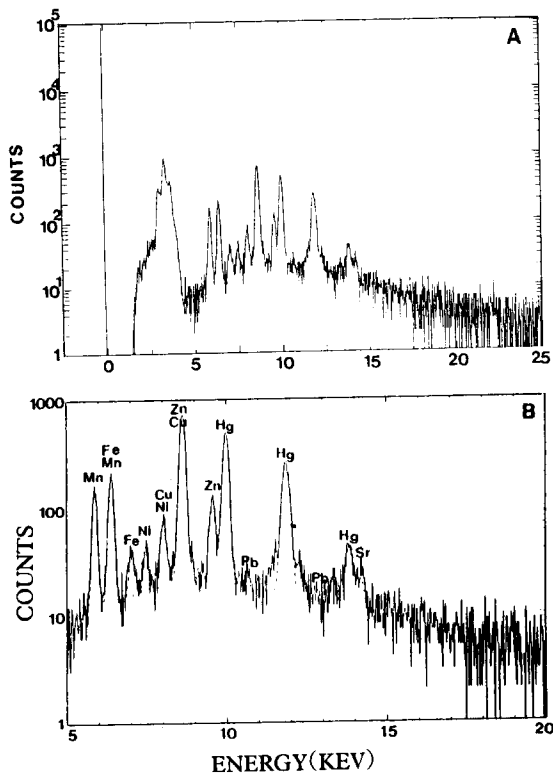


Fig. 2. X-ray fluorescence spectra from roots of bar-

ley seedlings treated with 10 μ M of HgCl₂ for three days. A, raw spectrum, and B, spectrum after fitting.

있으나, 수분 결핍시 나타나는 qE의 증가 및 qQ의 감소 (Renger and Schreiber, 1986)가 관찰되지 않기 때문에 그 가능성은 없다고 본다.

3.2 금속원소의 분포

Moon *et al.* (1992)의 분리 엽록체 수준의 연구에서, 수은 이온의 억제 효과는 처리후 수분내에 관찰되었고, 50 μ M에서 qQ는 60%, qE는 거의 100% 억제 하였으며, 엽절편에서 엽표면을 수분투과가 용이하도록 석영가루와 함께 교반기에서 수분 간 상처를 낸 엽절편의 연구에서도 유사하게 저농도에서의 저해 효과를 관찰할 수 있었다 (미발표 결과). 그러나 보리 유식물체에서는 엽록체나 엽조직에 직접 처리에 의한 억제 효과에 비하여 수은 이온에 의한 광합성 억제 효과가 거의 나타나지 않기 때문에 그 원인을 밝히기 위하여 3일간 광하에서 키운 유식물에 0 - 100 μ M HgCl₂를 처리한 후 총 3일간 시간의 경과에 따라 식물체의 기관별 미량

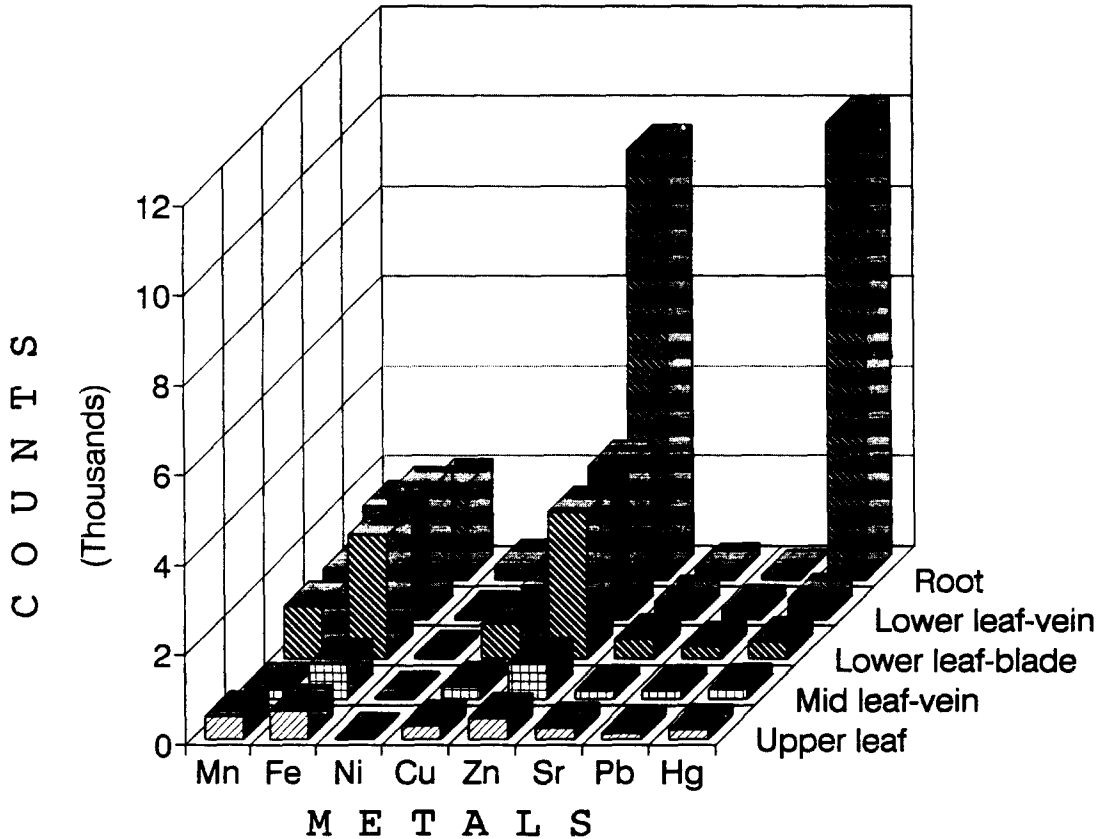


Fig. 3. Metal contents in various organs of barley seedlings treated with 10µM of HgCl₂ for 48 hours.

원소의 분포를 X-선 형광 (X-ray fluorescence: XRF)의 분석에 의하여 이용하여 조사하였다.

Fig. 2(A)는 10µM의 수은 이온을 48시간동안 처리한 식물체에서 뿌리에서 측정된 X-선 스펙트럼을 보여 주며, Fig. 2(B)의 점선 부분은 원소들의 에너지에 따른 fitting 결과를 나타낸다. 이 결과로부터 얻은 각 원소의 band area를 구하여 원소들의 식물체의 부위별 양을 비교할 수 있으므로, Fig. 3과 4에서와 같이 10 g의 수은 이온을 48시간 및 72 시간동안 처리한 식물체에서 뿌리와 잎으로 나누고, 잎을 상부, 중부, 하부로, 또 엽맥과 엽신 부분으로 나누어 금속원소들의 분포 양상을 조사하였다. 48시간후 수은은 대부분 뿌리와 종피에 싸여 있던 배축의 마디(node) 부분(이하 '배축마디'라 함)에 주로 분포하고 잎에는 거의 존재하지 않았으며, 작은 차이이지만 잎의 경우 하단부가 상단부보다 많이, 엽

맥이 엽신보다 수은을 많이 포함하고 있었다. 철이나 아연의 경우도 식물체의 하부에 주로 분포하였다. 같은 농도에서 72시간이 될 때 뿌리에서의 수은의 농도는 크게 감소하고 잎의 경우 그 분포가 훨씬 고르게 나타났다 (Fig. 4). 이 분석법에 사용한 probe의 spot size는 8µm×10µm의 좁은 지역에서 각 원소들의 양을 보여 주기 때문에 전체 엽면적을 고려하면 이 결과가 수은 이온의 전체량이 감소하는 것을 의미하지는 않는다. 철이나 아연의 경우도 72시간후에는 식물체 전체에 보다 고르게 분포하였다.

3.3 수은의 분포

이러한 수은의 분포를 재확인 하기 위하여 10µM에서 24시간 처리한 유식물의 뿌리에서 잎의 하단부까지의 부분 (Fig. 5(B-c))와 잎의 상단부 (Fig. 5(B-b)), 100

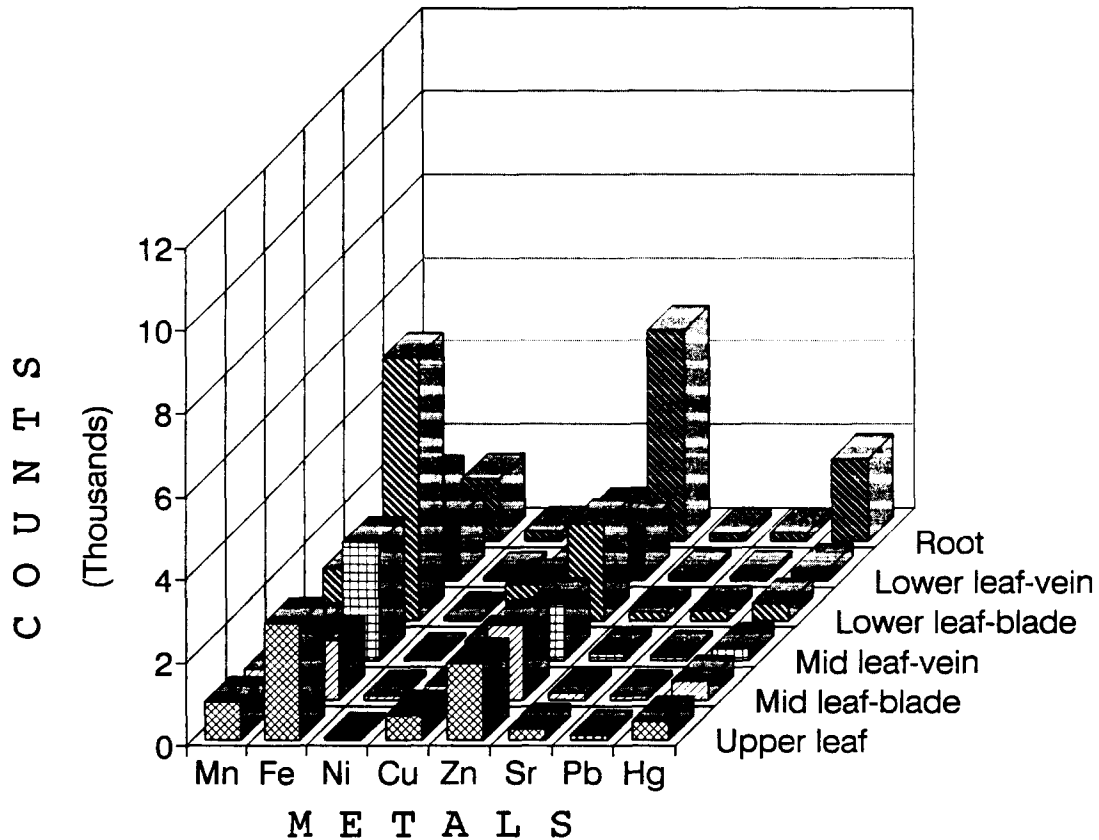


Fig. 4. Metal contents in various organs of barley seedlings treated with 10µM of HgCl₂ for 72 hours.

µM에서 72시간 처리한 잎의 상단부 (Fig. 5(B-a))를 Fig. 5(B)와 같이 slide holder에 부착하여 2차원 (2-D) scan에 사용하였다. 측정 beam에 의한 2-D scan 범위는 sample stage에 위치한 현미경을 통하여 결정하였고 Fig. 5(B, D)에서 보이는 바와 같이 종축 window는 21 mm로 21등분하고, 횡축 window는 9.2mm로 46등분하여 2-D scan 하였다. 그 결과는 원하는 각 원소에 따라 Fig. 5(C)와 같이 3차원 그래프 또는 Fig. 5(D)와 같은 2차원 색상대비 그래프로 나타내었다.

그 결과 수은 이온은 뿌리와 배측마디에서 높은 농도를 나타내며 자엽초 및 잎으로 갈수록 그 농도가 낮아졌다. 72시간 된 잎에서는 24시간 경우의 잎 보다 훨씬 높은 농도를 보였다. 이 경우 배측마디에서 농도가 특히 높게 보이지만 그 두께가 뿌리 조직보다 두꺼운 것을 고려하여야 한다. 아연 및 구리 이온은 배측마디,

자엽초와 뿌리, 잎의 순으로 분포하였고 72시간된 잎과 24시간 된 잎에서의 차이는 뚜렷하지 않았다. 구리는 배측마디의 두께를 생각하면 분포에 있어서 큰 차이를 보이지 않으며 철과 망간은 배측마디와 자엽초에 크게 분포하였다.

이 결과는 형광 유도 현상 연구 결과와 종합하여 볼 때 48시간 까지의 수은 이온의 효과가 광합성 기구의 직접적인 억제 보다는 수은 이온이 뿌리에 축적되고 잎으로의 수송이 저해됨과 동시에 식물체의 성장을 지연 시키고 색소 및 단백질 합성을 억제하는 것으로 보인다 (Moon *et al.*, 1992). 수은은 Chlorella의 성장을 저해하고 단백질의 thiol기와 결합하는 것으로 알려져 있다 (Kessler, 1986).

뿌리에서의 농축된 질대량의 계산은 standard로 사용한 Pb로 부터 구할 수 있었으며 1시간 후 뿌리에

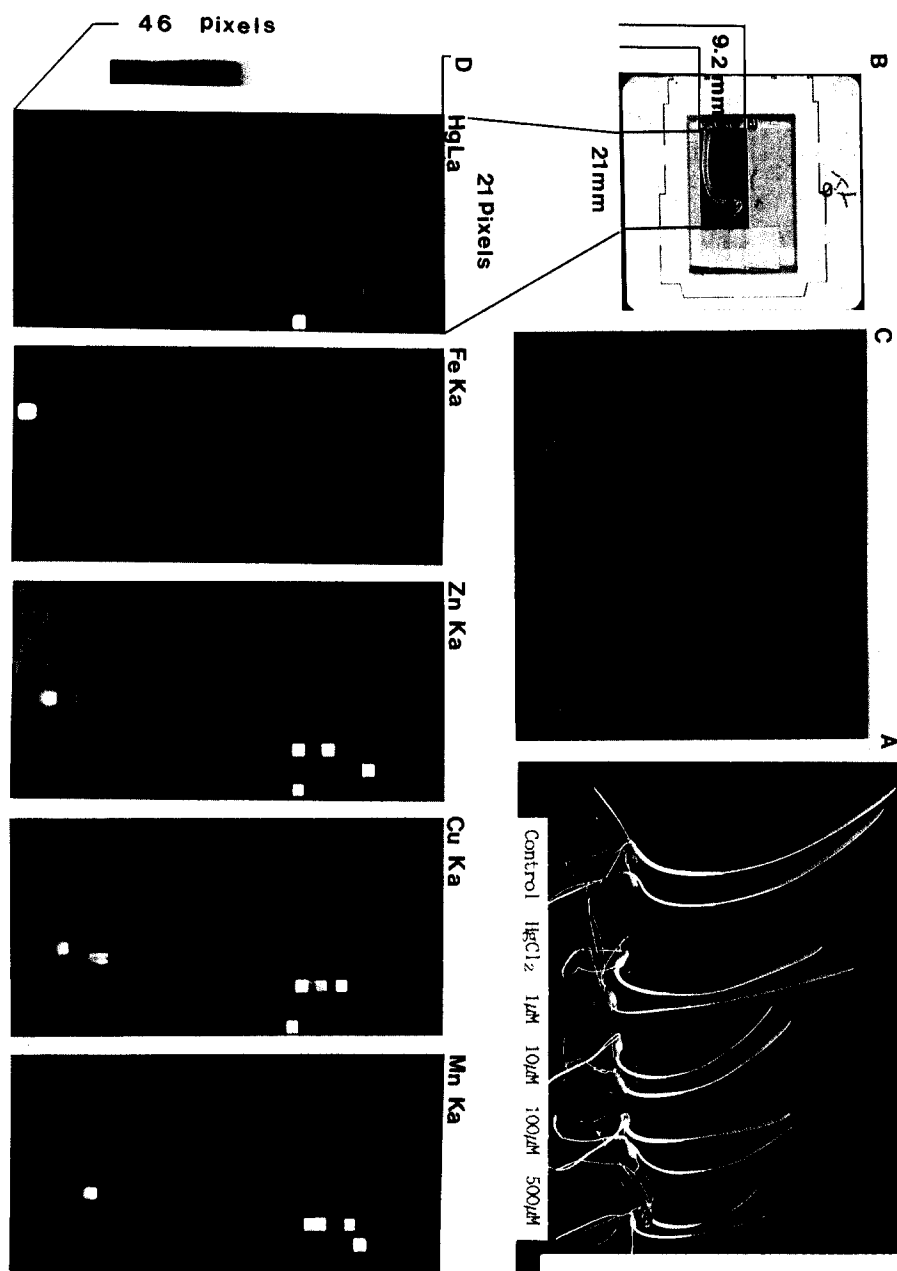


Fig. 5. Photographs of barley seedlings treated with various concentrations HgCl_2 for a week (A) and metal distribution in barley seedlings treated with HgCl_2 (B-D).

B. Photographs of the sample used for 2-D scan: (a) lower parts with roots and coleoptile and (b) a upper leaf segment of a seedling treated with $10\mu\text{M}$ of HgCl_2 for 24 hours, (c) a upper leaf segment of a seedling treated with $100\mu\text{M}$ of HgCl_2 for 72 hours, C, a 3-dimensional graph showing the distribution of mercury (L line), D, 2- dimensional graphs showing the distribution of Hg, Fe, Zn, Cu, and Mn in color.

외부 보다 10배 이상의 수은이 농축되었고 48시간 까지는 유사한 농도를 유지하다가 72시간에는 1/3-1/4로 감소하는 것으로 나타났다. 뿌리에서 수은이온의 농축 현상은 단순한 흡착이거나 stress시에 유도되는 metallothionein에 의한 것 (Hamer, 1986; Steffens, 1990)으로 유추되어 이러한 방향으로의 계속 연구가 요구된다. 72시간의 경우 수은 뿐만 아니라 다른 금속 원소들이 보다 고르게 분포하는 것은 노화 또는 죽어가는 과정에 따른 결과로 사료된다. 72시간 후 잎에 수은 이온이 어느 정도 존재하지만 수은 특이적인 형광 유도 현상이 관찰 되지 않는 것으로 보아 잎에 수송된 수은 이온이 엽록체에 전달되기 전에 앞서 언급한 metallothionein이나 막구조물 또는 어떤 단백질 흡착되었을 것으로 사료된다.

4. 결론

보리 유식물의 수경재배 배지에 처리한 수은이온은 유식물의 성장을 저해하였으나, 생장이 저해된 유식물의 잎에서 Moon *et al.* (1992)의 분리 엽록체 수준의 연구에서와 같은 수은 이온의 특이적 억제 효과 즉 variable fluorescence의 증가와 에너지 의존 형광소멸 계수가 크게 감소하는 현상이 관찰되지 않았다. 10 μM 이상의 농도에서 48시간 이상 처리시 F_{max} 및 F_0 의 감소가 나타났으나, F_{max}/F_0 의 비율에 있어서 대조구에 비하여 큰 차이를 보이지 않았고 광화학 형광소멸 계수와 비광화학 형광소멸 계수에서도 뚜렷한 억제 효과가 관찰되지 않았다. 이는 광합성 기구에 큰 손상이 입지 않았음을 의미하며 F_{max} 및 F_0 의 감소는 생장의 저해에 따른 엽록소 함량의 감소에 기인한 것으로 보이며 말린 잎이 늦게 퍼지는 현상도 생장 저해 효과로 보이며, 잎에서의 형광유도양상으로 보아 수분결핍에 직접 기인하지 않은 것으로 보인다. X-선 형광 분석 결과 10 μM 의 수은 이온을 처리한 식물체에서 기관별 금속원소들의 분포 양상을 조사하였다. 1시간 후 뿌리에 외부 보다 10배 이상의 수은이 농축되었고 48시간 까지는 유사한 농도를 유지하였고, 대부분 뿌리와 배축마디에 주로 분포하고 잎에는 거의 존재하지 않았으며, 작은 차이이지만 잎의 경우 하단부가 상단부보다 많이, 엽맥이 엽신 보다 수은을 많이 포함하고 있었다. 철이나 아연의 경우도 식물체의 기저부에 주로 분포

하였다. 같은 농도에서 72시간이 될 때 뿌리에서의 수은의 농도는 크게 감소하고 잎의 경우 그 분포가 훨씬 고르게 나타났다. 철이나 아연의 경우도 72시간후에는 식물체 전체에 보다 고르게 분포하였다.

이 결과는 형광 유도 현상 연구 결과와 종합하여 볼 때 48시간 까지의 수은 이온의 효과가 광합성 기구의 직접적인 억제 보다는 수은 이온이 뿌리에 축적되어 잎으로 수송이 저해됨과 동시에 식물체의 성장을 지연시키고 색소 및 단백질 합성을 억제하는 것으로 보인다.

감사의 글

연구 수행한 보리씨를 충분히 공급하여 준 영남작물시험장에 감사드리고, 방사광 이용 및 기술적 지원을 하여준 BNL의 Synchrotron Light Source의 Dr. K. W. Jones와 Dr. M.L. Rivers에게 고마움을 표한다. BNL 방문 연구는 일부 포항 가속기 연구소 (PLS)의 방사광 이용 공동연구지원으로 이루어졌다.

참고 문헌

- Arnon, D.I., 1949, Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*, *Plant Physiol.*, 24, 1-15.
- Bockman, R. S., M. A. Repo, R. P. Warrel, Jr., J. G. Pounds, G. Schidlovsky, B. M. Gordon, and K. W. Jones, 1990, Distribution of trace levels of therapeutic gallium in bone as mapped by synchrotron x-ray microscopy, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 87, 4149-4153.
- Chung, I. K., B. H. Brinkhuis, and G. Schidlovsky, 1988, Investigations on elemental analysis in *Laminaria saccharina* (L.) Lamour, *Kor. J. Phycology*, 3, 147-163.
- Dietz, F., 1972, The enrichment of heavy metals in submerged plants, In, *Advances in water pollution research*, S.H. Jenkins (ed.), 6th. ed., pp 53-62, Pergamon, New York.
- Hamer, D. H., 1986, Metallothionein, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 55, 913-951.

- Kessler, E., 1986, Limits of growth of five *Chlorella* species in the presence of toxic heavy metals, *Arch. Hydrobiol. Suppl.*, 73, 123-128.
- Krause, G. H., and E. Weis, 1988, The photosynthetic apparatus and chlorophyll fluorescence. An introduction, In, *Applications of chlorophyll fluorescence*, H. K. Lichtenthaler (ed.), Kluwer Acad. Pub., Dordrecht, pp3-11.
- Lee, C.-H., 1990, Application of chlorophyll fluorescence in photosynthetic research, *Saengwhahak nyusu*, 10, 199-205.
- Lichtenthaler, H. K., 1988, *Applications of Chlorophyll Fluorescence*, Kluwer Acad. Pub., Dordrecht, 366pp.
- Moon, B. Y., H. S. Jun, C.-H. Lee, and C. B. Lee, 1992, Mercury-specific effects on photosynthetic apparatus of barley chloroplasts compared with copper and zinc ions, *J. Korean Environ. Sci. Soc.*, 1, 1-11.
- Oxborough, K. and P. Horton, 1988, A study of the regulation and function of energy-dependent quenching in pea chloroplasts, *Biochim. Biophys. Acta*, 934, 135-143.
- Renger, G., and U. Schreiber, 1986, Practical applications of fluorometric methods to algae and higher plant research, In, *Light emission by plants and bacteria*, Govindjee, J. Ames, and D. C. Fork (eds.), Academic Press, N. Y., 539-583.
- Steffens, J. C., 1990, The heavy metal-binding peptides of plants, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 41, 553-575.