

人工酸性雨의 處理에 따른 소나무와 곰솔 針葉의 葉綠素 螢光變化¹ 崔容璋² · 金鍾熙²

Change in Needle Chlorophyll Fluorescence of *Pinus densiflora* and *Pinus thunbergii* treated with Artificial Acid Rain¹

Yong-Bong Choi² and Jong-Hee Kim²

要 約

소나무와 곰솔 針葉을 酸性雨에 대한 葉綠素 螢光 變化를 調査하기 위하여 自然降雨로 調節한 人工酸性雨(pH2.0, 3.0, 4.0 및 5.0)과 pH6.5로 調節한 對照區를 1994年 5月부터 1994年 8月까지 週 1回 20ml씩 소나무와 곰솔 針葉에 處理하여 얻은 結果는 다음과 같다.

人工酸性雨의 處理 初期에 測定한 螢光指數값은 pH4.0과 pH5.0에서는 對照區 보다 增加하였으며 pH2.0과 pH3.0에서는 減少로 나타났다.

人工酸性雨의 處理가 進行됨에 따라 酸度水準이 높을수록 螢光指數값은 두 樹種 모두 減少하였으며 소나무가 곰솔보다 顯著하게 減少하였다.

螢光指數의 變化를 測定하는 것은 植生에 대한 酸性雨 被害를 早期 判斷할 수 있는 매우 效果的인 基準이라 判斷된다.

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effect of artificial acid rain(pH2.0, 3.0, 4.0 and 5.0) adjusted by natural rain fall and control group by pH6.5 on the change in needle chlorophyll fluorescence of *Pinus densiflora* and *Pinus thunbergii*.

This study was performed from May, 1994 to August, 1994, during which 20ml of artificial acid rain was used once a week. The results are as follows :

In the first treatment of artificial acid rain the measured indexes of fluorescence have increased in pH4.0 and pH5.0 treatments and decreased in pH2.0 and pH3.0 in comparison with those of the control group.

As the treatment of artificial acid rain was processed the fluorescence indexes of both *Pinus densiflora* and *Pinus thunbergii* have decreased as the degree of acidity increased higher and that of *Pinus densiflora* has decreased more significantly than *Pinus thunbergii*. The measurement of change in the numerical indexes of fluorescence was proved to be a very effective criterion to make an early decision of damage of the vegetation by acid rain.

Key words : Artificial acid rain, Chlorophyll fluorescence, Fmax/Fo, Pinus densiflora, Pinus thunbergii.

¹ 接受 1994年 12月 23日 Received on December 23, 1994.

² 慶南大學校 自然科學大學 College of Natu., KyungNam-Univ., Masan 630-701, Korea.

緒論

大氣污染으로 因한 酸性雨 現像은 地球 生態系에 대한 커다란 變化를 豫告하는 問題로 擴散되어 가고 있는데 特히 森林 生態系에서 種의 單純化와 生長減少, 陸水 生態系에서의 單純化 및 生產力 減少 等의 障害를 일으키며 人間生活에 커다란 問題로 擡頭되고 있다(Likens & Borman, 1974 ; Cowling & Dochinger, 1978 ; Lee & Weher, 1982 ; Irving, 1983).

酸性雨의 生成 原因 및 機作에 관한 研究에 의하면 酸性降雨(Acid precipitation)는 pH5.6 以下の 비나 눈을 意味하는데(Bache, 1980) 이는 實驗室 條件下에서 空氣內의 CO₂와 平衡狀態에 있는 蒸溜水의 pH 값이 5.65를 갖기 때문이다. 酸性降雨는 化石燃料의 燃燒로 부터 發生되는 黃酸化物(SO_x), 壓素酸化物(NO_x), Gas 像의 鹽化水素 等이 主要原因 物質이며 主供給源은 工場이나 自動車의 排氣 Gas이다(Carter, 1979 ; Galloway & Liken, 1981).

最近 環境要因이 植物의 光合成에 미치는 影響을 研究하는데 螢光分析法이 脚光을 받고 있다(Smille & Hetherington, 1983). Satoh와 Fork(1982)는 螢光誘導 分析法을 環境要因 中 強한 光에 의한 光合成 影響을 알아 보는데 利用하였으며, 그의 溫度(Schreiber, 1979), pH(Dodds & Castenholz, 1990), 重金屬(Murthy 등, 1990), 除草劑에 의한 影響(Kirilovsky 등, 1990) 등의 研究에 使用되었다. 螢光分析法은 照射된 光 에너지 中에서 光合成에 利用되지 못해 나오는 螢光 形態의 에너지를 分析하는 것이며 in vitro 뿐만 아니라, in vivo 實驗이 可能하고 測定時 試料自體는 그 影響을 주지 않아 自然狀態와 보다 가까운 條件에서 測定할 수 있다. 또한, thylakoid 膜에서 放出되는 葉綠素 螢光은 매우 敏感하게 變化하기 때문에 光合成에 대한 微妙한 變化도 測定可能할 뿐만 아니라 技術上으로도 쉽게 行할 수 있는 利點을 가지고 있다.

暗適應한 試料에 弱한 光을 照射하여 나오는 螢光을 初期螢光(Fo)이라 하는데, 이것은 PSII 안테나에 있는 chl(chlorophyll)a 分子들의 에너지가 反應 中心으로 傳達되지 못하고 나오는 것으로, constant background fluorescence라고도 한다. 試料에 強한 單一光을 照射했을 때 나오는

螢光을 最大螢光(Fmax)이라고 하는데, 이것은 PSII의 初期電子受容體인 Q_A(plastoquinone A)가 모두 還元되었을 때 放出되는 螢光量의 値으로 試料의 光合成 能力의 最大值를 反映한다(Renger & Schreiber, 1986). 이때 最大螢光量과 初期螢光量의 比(Fmax/Fo)로 나오는 值은 植物體의 光合成 能力を 알려주는 指標로 植物에 미치는 環境要因의 影響을 알아보는데 널리 쓰이는 指標이다(Bose 등, 1988).

本 研究는 우리나라 森林의 代表的 針葉樹種인 소나무와 곰솔 苗木을 對象으로 人工酸性雨가 生長과 生理的活性의 滅害에 미치는 影響을 握하기 위해 人工酸性雨의 酸度別 處理에 의한 螢光 變化를 葉綠素 螢光分析法을 利用하여 研究하는데 目的이 있다.

材料 및 方法

1. 研究材料

本 實驗에 使用된 材料는 山林廳 林木育種研究 所 苗木場에서 養苗한 3年生 소나무(*Pinus densiflora*)와 곰솔(*Pinus thunbergii*)이며 각각 30個體의 苗木을 1993年, 9月 初旬에 混合土壤(Humus : Sand=1:1 v/v)을 채운 plastic pot(Φ250×180mm)에 移讓시켜 vinyl-house에서 8個月 동안 充分히 活着시킨 후 實驗材料로 使用하였다.

2. 人工酸性雨의 處理

人工酸性雨 製造는 유리로 만든 採水 병을 利用하여 自然狀態에서 採取한 自然降雨(pH6.6)에 黃酸(H₂SO₄)과 壓酸(HNO₃)을 3:1(V/V)의 比率로 混合한 溶液을 加하여 pH meter로 pH2.0, 3.0, 4.0 및 5.0으로 調節하였다. 對照區로는 自然降雨를 pH6.5로 調節하여 利用하였다. 酸性雨의 散布는 苗木 植栽 8個月 後인 1994年 5月 15日부터 8月 7日까지 週 1回씩 plastic 噴霧器로 20ml씩 針葉에 撒布하였으며 각 plot 당 3개씩의 plastic pot를 配置시켰다.

3. 葉綠素 螢光測定

人工酸性雨를 處理한 소나무와 곰솔의 針葉을 處理區當 各 5個씩 3回復으로 sample clip에 固定시킨 다음 in vivo 狀態에서 PAM chlorophyll

Fluorometer(PAM 101, Walz Co., Germany)를 사용하여 8회와 12회 처리 후에 각각 测定하였다. 試料는 测定前 30분 동안 暗適應期를 준 후에 光(actinic light)을 주어 나온 螢光을 data acquisition board(DAS16G, Metrobyto Co., USA)에 의해 personal computer로 分析하였다. 螢光誘導過程은 暗所에 適應된 針葉에 光照射後 螢光의 變異過程을 말하며(Lee, 1990), 그時間에 따른 變異를 初期 數秒間의 빠른 反應과 數分間에 걸친 느린 反應으로 나누어 分析하였다. Fig. 1(上段)에 나타난 바와 같은 빠른 反應은 暗適應시킨 試料에 光(actinic light)을 照射한 後 3初間 15,000개의 데이터를 취하였고, 이 데이터를 5個씩 平均하여 3,000개로 줄인 後(1 millisecond per point) 圖示化하여 使用하고, 다시 20개씩 平均값을 취하여 smoothing 後, 그 값들의 一次 微分值을 구하였다. 初期 螢光 F_0 (original fluorescence) 값은 暗適應 시킨 後 弱한 光(略 $5\mu\text{M m}^{-2}\text{s}^{-1}$)을 照射하여決定하였고 F_{max} (maximum fluorescence)는 饱和光($1095\mu\text{M m}^{-2}\text{s}^{-1}$)을 照射하여 测定하였으며 各 phase의 變化와 $(F_v)_m$ (Maximal variable fluorescence) 과

F_{max}/F_0 比의 值을 指標로 使用하였으며 Fig. 1(下段)의 느린 反應에서 MB(measuring beam)을 키면 F_0 로 되고, SL(saturating light pulse)을 줄 때 F_{max} 가 测定된다. 다시 AL(actinic light)을 키면 螢光誘導 樣相이 觀察되는데, 光合成 明反應이 進行됨에 따라 螢光消滅(fluorescence quenching) 現像이 觀察되며 螢光消滅 係數들은 Schreiber 등(1986)과 Horton & Hague(1988)의 方法에 준하여 標示하였다.

螢光消滅은 葉綠素의 功起光에너지가 일부 光合成에 使用되어 일어나는 데 이를 qQ (photochemical quenching)이라고 하며, 그 以外의 消滅을 qN (non-photochemical quenching)이라고 한다.

qN 은 다시 proton gradient 形成에 起因한 qE (energy-dependent quenching)와 그 外의 qR (remaining quenching)으로 나누어지며, qR 은 qT (state transition-related quenching), qI (photoinhibitory quenching) 등에 의한다. Fig. 1에 나타난 steady state에서 이들 消滅係數들은 아래와 같이 구하였다.

$$qQ = 1 - (F_v)/F_0$$

$$qN = 1 - (F_v)_s/(F_v)_m$$

$$qR = 1 - (F_v)_e/(F_v)_m$$

$$qE = 1 - (F_v)_s/(F_v)_e$$

4. 資料分析

對照區와 人工酸性雨 處理區의 分散分析은 Duncan의 多重分散 分析法으로 하였다.

結果 및 考察

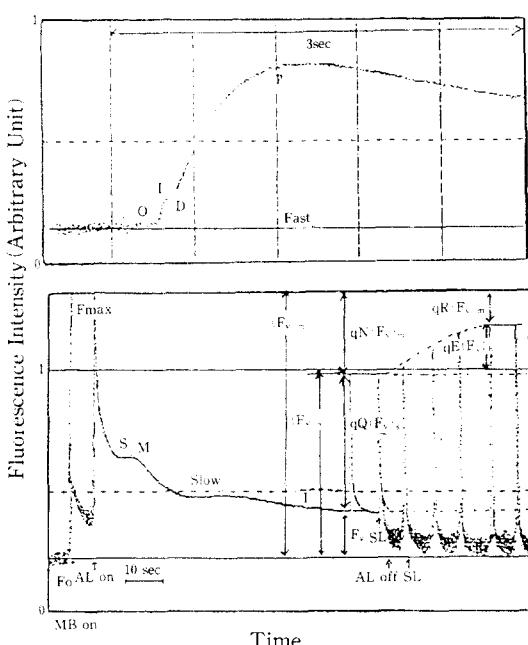


Fig. 1. Representative fast and slow kinetics in the fluorescence induction.

人工酸性雨의 濃度別 處理에 따른 소나무와 곱슬 針葉의 光合成能의 變化를 螢光誘導過程을 통하여 調査하였다. 人工酸性雨로 8回 處理한 後 pH濃度差異에 따라 나타난 F_0 값은 크게 變化를 보이지 않았으며 F_{max} 값은 소나무와 곰슬 모두 對照區에서는 變化的 差異가 微弱하나 pH濃度가 낮을수록 減少하였고 특히 소나무가 곰슬보다 낮게 나타났으며 12回 處理後 测定한 소나무의 값은 pH2.0에서는 顯著하게 減少하였다. F_{max} 값은 光合成能力의 最大值를 反影한다는 Renger(1986)의 報告 結果와 같이 pH의濃度가 낮을수록 F_{max} 값이 낮게 나타난 것은 人工酸性

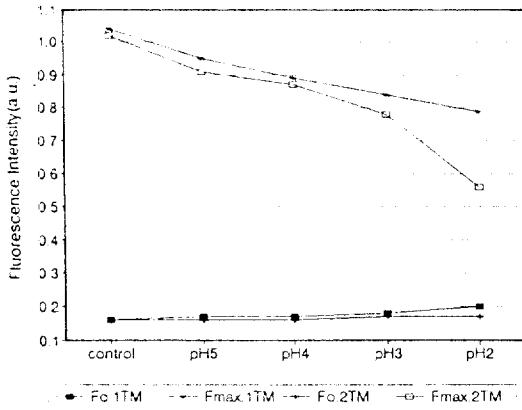


Fig. 2. Change in the F_o and F_{max} values of *Pinus densiflora* after treatment with artificial acid rain.

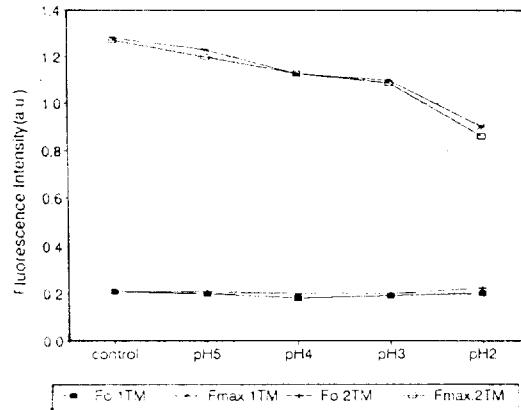


Fig. 3. Change in the F_o and F_{max} values of *Pinus thunbergii* after treatment with artificial acid rain.

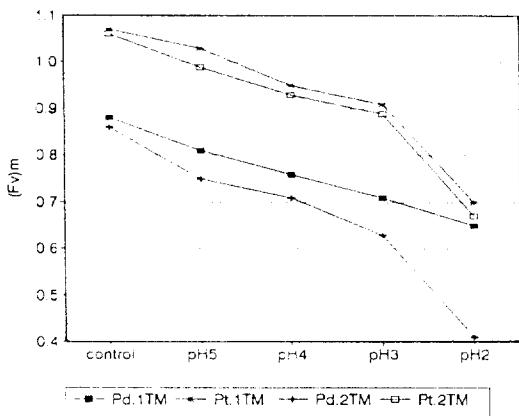


Fig. 4. Change in the $(F_v)_m$ values of *Pinus densiflora* (Pd) and *Pinus thunbergii* (Pt) after treatment with artificial acid rain.

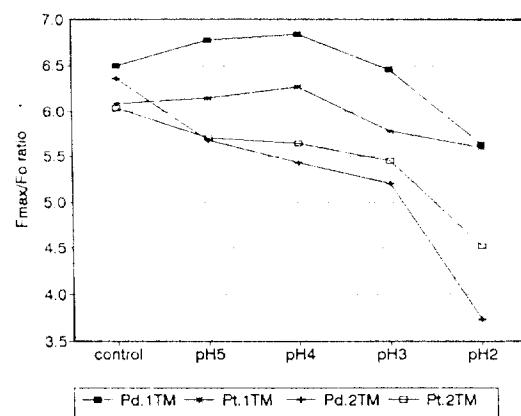


Fig. 5. Change in the F_{max}/F_o ratio of *Pinus densiflora* (Pd) and *Pinus thunbergii* (Pt) after treatment with artificial acid rain.

雨의 Stress가 PSII의 光合成能力의 低下를 나타내고 있음을 알 수 있으며 Fig. 2와 Fig. 3의 一次(1TM) 測定과 二次(2TM) 測定에서 소나무가 곰솔보다 damage가 더 크게 나타났다.

Fig. 4의 $(F_v)_m$ 값은 소나무와 곰솔 針葉이 人工酸性雨의 濃度變化에 대한 PSII의 反應中心과 反應中心周圍에서 非光學的螢光消滅을 나타내는 것으로 人工酸性雨의 濃度가 낮을수록 두 樹種 모두 螢光消滅이增加함을 나타내고 있다. 특히 소나무가 곰솔보다 螢光消滅의 增加가 큰 것으로 나타났다. Fig. 5의 F_{max}/F_o 값은 植

物體에 미치는 環境要因의 影響을 나타내는데 널리 쓰이는 指標를 나타내는 것으로 두 樹種 모두 一次 測定에서 pH4.0과 pH5.0에서 對照區 보다 葉綠素 螢光量이增加하였고 pH3.0과 pH2.0에서는減少하였다. 二次 測定에서는 소나무와 곰솔 모두 一次 測定 때 보다 全體的으로減少하였다. 이結果로 미루어 볼때 一次 測定值에서는 pH4.0과 pH5.0에서는 두 樹種 모두 光合成障害를 일으키기 보다는 光合成活動을促進시키는 것으로作用하였으나 그以後부터는 酸性雨處理가 障害를 일으키는 것으로 나타났다. 이結果는 Lee等(1984)의 研究報告에 따르면 人工酸

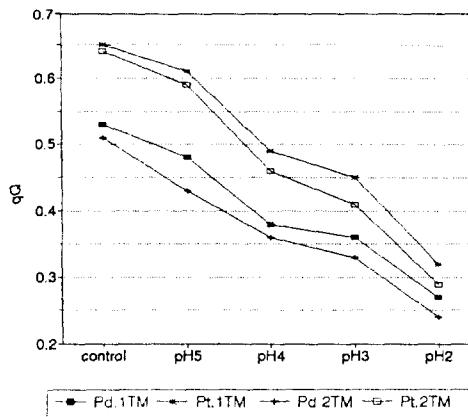


Fig. 6. Change in photochemical quenching coefficients(qQ) of *Pinus densiflora*(Pd) and *Pinus thunbergii*(Pt) after treatment with artificial acid rain.

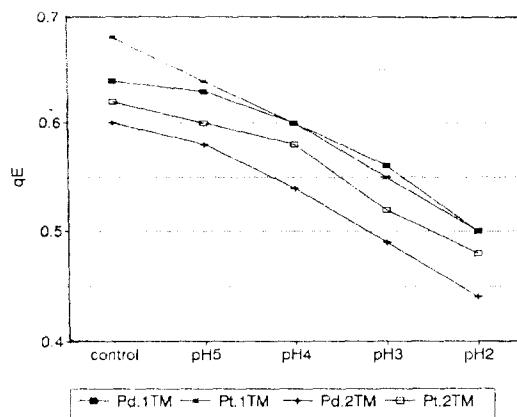


Fig. 7. Change in energy-dependent quenching coefficients(qE) of *Pinus densiflora*(Pd) and *Pinus thunbergii*(Pt) after treatment with artificial acid rain.

性雨處理에 의해 초기에는生理的活動이促進되었으나 4回以後障害를 일으킨다는報告와一致하였다.本實驗에서도 F檢定結果 소나무는 $22.19^{**} > 7.01 = F_{0.01}$, 곱술은 $26.38^{**} > 7.01 = F_{0.01}$ 으로 두樹種 모두 1%水準에서統計的有意性이認定되었다.還元되어있던 Q_A 가酸化됨에 따라葉綠素螢光이減少하는成分인 qQ 값도對照區에비해 pH濃度가낮을수록减少하였으며(Fig. 6), 光合成明反應遂行에 따른 thylakoid膜內, 外部의 pH濃度의變化에 의해 생기는 qE 값의 경우 두樹種 모두 크게减少하였으며 이를 parameter들로 stress에 의한針葉이光合成能의沮害를 나타내며 곱술이強했고 소나무가弱한 것으로 나타났다(Fig. 7).

pH別螢光量의差異는本實驗의結果를보아 두樹種 모두 pH stress에 대한障害를일으키는것으로 나타났으며酸性雨의被害을 F(v)m, qQ , qE 및 F_{max}/F_0 ratio와 같은螢光指數로도早期判斷할 수 있는根據를마련하였다는것이本研究의成果로思料된다.

引用文獻

- Bache, B.W. 1980. The acidification of soils. in Effects of acid rain precipitation on terrestrial ecosystems. Plenum Press. New York. pp. 183-202.
- Bose, S., S.K. Hurbert and D.C. Fork. 1988. Fluorescence characteristics of photoinhibition and recovery in a sun and a shade species of the red algal genus *Porphyre*. Plant Physiol. 86 : 946-950.
- Carter, and J. Larry. 1979. Uncontrolled SO₂ emissions bring acid rain. Sci. 204 : 1179-1182.
- Cowling, E.B. and L.S. Dochinger. 1978. The changing chemistry of precipitation and its effects on vegetation and materials. Amer Inst. Chem. Eng. 74(175) : 134-142.
- Dodds, W.K. and R.W. Castenholz. 1990. Sulfide and pH effects on variable fluorescence of photosystem II in two strain of the cyanobacterium *Oscillatoria amphigranulata*. Photosynthesis Res. 24 : 265-271.
- Galloway, J.N. and G.E. Liken. 1981. Acid precipitation: The importance of nitric acid. Atmospheric Environ. 15(6) : 1081-1085.
- Horton, P., and A. Hague. 1988. Studies on the induction of chlorophyll fluorescence in isolated barley protoplasts. IV. Resolution of non-photochemical quenching. Biochim. Biophys. Acta 932 : 107-115.
- Irving, P.M. 1983. Acidic precipitation effects on crops: A review and analysis of research. J. Environ. Qual. 12(4) : 442-453.
- Kirilovsky, D., J.M. Ducruet, and A.L. Etienne. 1990. Primary events occurring in photoin-

- hibition in *Synechocystis* 6714 wild-type and an atrazine-resistant mutant. *Biochim. Biophys. Acta.* 1020 : 87-93.
10. Lee, C.H. 1990. Application of chlorophyll fluorescence in photosynthetic research. *Saeng-whahak nyusu.* 10 : 199-205.
 11. Lee, D.K., G.T. Kim., J.H. Shin. and K.Y. Joo. 1984. Effects of artificial acid on the needle chlorophyll contents of *Pinus densiflora* and *P. koraiensis* seedlings. *Seoul Univ. Agric. Res.* 9(2) : 16-18.
 12. Lee, J. and D.E. Weber. 1982. Effects of sulfuric acid on major cation and sulfate concentrations of water percolating through two model hardwood forests. *J. Environ. Qual.* 11 : 57-64.
 13. Likens, G.E. and F.H. Bormann. 1974. Acid rain : A serious regional environmental problem. *Sci.* 184 : 1176-1179.
 14. Murthy, S.D.S., N.G. Bukhov and P. Mohanty. 1990. Mercury-induced alterations of chlorophyll fluorescence kinetics in cyanobacteria : Multiple effects of mercury on electron transport. *J. Photochemistry Photobiology.* 6 : 373-380.
 15. Renger, G. and U. Schreiber. 1986. Practical application of fluorometric methods to algae and higher plant research. In *Light emission by Plants and Bacteria*, Govinjee, J. Amesz and D. C. Fork (eds.). Academic Press, N.Y., pp. 587-615.
 16. Satoh, K. and D. Fork. 1982. Photoinhibition of reaction centers of Photosystems I and II in intact *Bryopsis* chloroplast under Anaerobic conditions. *Plant Physiol.* 70 : 1004-1008.
 17. Schreiber, U. 1979. Cold-induced uncoupling of energy transfer between pycobilins and chlorophyll in *Anacystis nidulans*. *FEBS letters.* 107 : 4-9.
 18. Schreiber, U., U. Schliwa, and W. Bilger. 1986. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynt. Res.* 10 : 51-62.
 19. Smillie, R.M. and S.E. Hetherington. 1983. Stress tolerance and stress induced injury in crop plants measured by chlorophyll fluorescence in vivo. Chilling, freezing, ice cover, heat and high light. *Plant Physiol.* 72 : 1043-1050.