

인공산성비가 들깨의 생장 및 효소에 미치는 영향

허만규 · 서강태* · 허홍욱
부산대학교 생물교육과, *경성대학교 생물학과
(1995년 4월 3일 접수)

Effect of Simulated Acid Rain on the Morphology and Enzyme of *Perilla frutescens* var. *japonica* Hara

Man-Kyu HUH, Kang-Tae SUH and Hong-Wook HUH
Dept. of Biological Education, Pusan National University, Pusan, 609-735, Korea
*Dept. of Biology, Kyungseong University, Pusan, 609-735, Korea
(Manuscript received 3 April 1995)

This experiment was performed with the purpose of finding out the effect of simulated acid rain at various pH levels on the morphology and enzyme of *Perilla frutescens* var. *japonica* Hara. The pH levels of simulated acid rain ranged from pH 2.0 to pH 6.0. The experiment showed the anion concentrations in the order of SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- , and F^- . SO_4^{2-} was found out to be the main factor which contributed to the rainwater acidification. A general decrease of growth in *Perilla frutescens* var. *japonica* Hara growth was shown with the decrease of pH concentration. As acidity increases, a definite reduction in the rates of germination, height of plant, malate dehydrogenase, and 6-phosphogluconate dehydrogenase was observed, but the density of spots on the leaf apex was increased.

Key words : *Perilla frutescens*, simulated acid rain, enzyme

1. 서론

자연상태에서는 대기중에 CO_2 가 약 340 ppm 정도로 존재하며 수증기와 화학평형을 이루고 있다. 그러나 화산분출과 같은 자연오염원과 인간의 활동에 의한 인공오염원이 대기를 오염시킨 상태에서 비가 내리게 되면 산성의 오염물질이 빗물에 용해되어 빗물의 pH가 5.6보다 낮아지게 된다. 산성비라는 용어는 1872년 Smith에 의해 처음으로 쓰여졌다.

일반적으로 산성비의 원인은 황과 질소의 산화물로 주로 연료의 사용이 주요인이다. 황과 질소화합물이 생기는 원인은 가정연료, 산업폐기물, 운송

수단의 배기물 및 세차, 가정하수와 쓰레기 등 다양하다. pH 5.6이하의 산성비는 1974년 스코틀랜드에서 2.4를 기록한 것을 비롯하여 우리나라에서도 강산성비가 최근에 자주 내리고 있다(환경청, 1984).

산성비가 생태계에 미치는 영향은 토양과 식생에 영양분을 공급한다는 유익한 측면도 있으나(Evans, 1984), 토양산도를 높이고(Lee and Weber, 1979), 토양영양분을 세탈시키며(Cronan et al., 1978), 식물체로부터의 영양세탈(Cole and Johnson, 1977) 및 가지적인 피해유발(Lee et al., 1980), 식물체와 토양사이의 영양순환관계를 교란시키는 유해한 측면도 보고(Cole and Stewart, 1983)되었

으며, 식물종간 또는 영양계간에 산성비나 산성물질에 대한 내성차가 있음이 밝혀지고 있다. 보통 대기오염의 영향은 동물보다 식물에서 더욱 민감하게 나타난다고 인식되어왔다. 따라서 수목이나 도심과 공단주변의 가로수, 그리고 산림 생태계에 대한 그 피해상황과 연구결과는 다양하게 보고되어 있다 (Galloway et al., 1976; 김재봉, 1981; 김재봉, 1986; Matzner et al., 1986; 오중환, 1987; 이돈구, 1988; 이와 김, 1989; 유태철, 1990; 장남기, 1990). 그러나 자연 생태계와 식물체의 형태적 연구는 활발한 반면 식물체내의 생리 화학적 변화나 그로 인한 형태상의 변화에 관한 연구는 국내에서 그리 많지 않은 실정이다.

본 연구는 활엽 초본 식물로서 생리 화학적 변화에 따른 형태적 변화가 두드러지게 나타나리라 예상되어지는 들깨 (*Perilla frutescens var. japonica* Hara)에 대한 산성비의 영향을 연구하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1 산성비의 제조를 위한 음이온분석

인공산성비는 허와 허 (1994)의 방법 ($H_2SO_4 : HNO_3 = 3 : 1, V/V$)을 개량하기 위하여 산성도에 영향을 미치는 음이온을 분석하여 보완하였다. 분석에 사용된 기기는 Water사의 제품 (IC-PAK ANION HR)으로 borate/gluconate gradient용리액을 사용하였다. 사용시간은 20분간으로 하였으며 같은 회사의 430전도도를 병행하여 검출효과를 높였다. 이들의 분석결과를 이용하여 pH 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 그리고 대조군으로 pH 5.6을 제조하여 처리하였다. 살포방법은 빗물 굵기가 배출될 수 있는 플라스틱 nozzle ($\phi : 3 \text{ mm}$)를 설치하여 지상 1 m에서 떨어뜨렸고, 분무량은 실험기간동안 부산시내 평균 강수량에 준해서 분무하되 성장정도에 따라 조절하여 건조 및 토양내 이온의 세탈을 막았다.

2.2 발아율

본 실험은 우리나라 농가에서 보통 식용으로 재배하는 들깨 (*Perilla frutescens var. japonica* Hara)를 재료로 사용하였으며 교락법 (confounding)으로 집구효과를 높였다.

petri dish에 여과지를 두겹으로 깔고 임의로 들깨종자 100립씩을 선정하여 그룹별로 5개의 petri dish에 20립씩 파종하여 상온에서 발아시켜 동일 그룹의 petri dish의 발아된 종자를 합산하여 각농도별 발아율을 측정하였다.

2.3 신장생장의 변화

vermiculite에 들깨종자를 파종 (농도별 20립씩)하여 농도별 산성비를 처리한 후, 본엽이 출현하였을 때 부엽토에 이식하여 일정기간 (일주일) 간격으로 신장생장을 조사하였다.

2.4 가시 피해

농도별 산성비를 처리한 vermiculite에 종자를 파종하여 발아시킨 후, 부엽토에서 성장시켜 본엽이 4~5잎 나왔을 때 나타나는 반점의 수 및 색깔을 조사하였다. 또한 반점의 크기가 균일하지 않기 때문에 아래와 같이 반점의 밀도를 산출하였다.

$$\text{밀도} = \frac{\text{반점의 면적}}{\text{조사한 잎의 총면적}}$$

밀도에 의한 값을 백분율로 환산하여 무피해 : 0점, 1~10% : 1점, 11~20% : 2점, 21~30% : 3점, 31~40% : 4점, 41~50% : 5점, 51~60% : 6점, 61~70% : 7점, 71~80% : 8점, 81~90% : 9점, 91~100% : 10점으로 부여하였다.

2.5 효소의 변화

들깨의 잎을 hole block에서 gel buffer (0.06 ml)를 넣고 유리봉으로 잘 마쇄하여 sample로 준비하였다.

전분 전기영동장치는 허 외 (1994)의 방법을 개량하여 사용하였다. 0.062 M citrate, 0.01 M EDTA를 함유하는 buffer solution (pH 8.0)으로 12% starch mixed solution을 사용하였다. 수평 전기영동은 electrode buffer (0.2 M Tris, 0.62 M citric acid and 0.01 M EDTA, pH 8.0)를 사용하여 marking dye (Bromophenol Blue)가 origin에서 8~10 cm 영동할 때까지 5°C에서 5~6시간 동안 일정 전압 (100 V, 5 V/cm)을 유지하면서 전기영동시켰다. 전기영동된 각각의 gel은 gel slicer를 사용하여 cutting-plate에서 얇게 slice 하여 허 외 (1994)의 방법에 따라 alcohol dehydrogenase (ADH, EC 1.1.1.1), NAD dependent malate dehydrogenase (MDH, EC 1.1.1.37), 그리고 6-phosphogluconate dehydrogenase (6-PGDH, EC 1.1.1.44) 등 3개의 동위효소에 대하여 염색하였다. 이들 염색액들을 각각 slice된 gel과 함께 staining dish에 넣고 band가 나타날 때까지 약 1~2시간 incubation시켰다.

3. 결 과

3.1 산성비의 음이온 분석결과

음이온 분석결과는 Fig. 1과 같다. 가장 많은 음이온은 SO_4^{2-} 로서 산성비의 주된 성분으로 나타났다. 그 다음으로는 Cl^- 이온이 1.30 ppm으로 나타났으며 NO_3^- , F^- 순이었다.

3.2 발아율

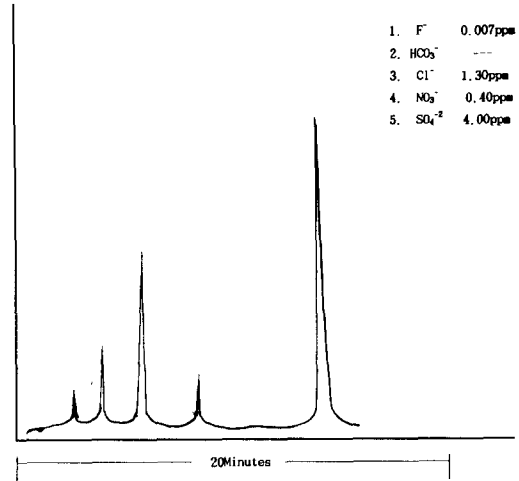


Fig. 1. Contribution of anions to pH for acid rain.

Table 1은 산성비가 들깨의 발아에 미치는 영향을 조사한 결과이다. 100개체중 50% 이상이 4일째에 발아하였는데 특히 6일째에는 86% 이상의 높은 발아율을 나타내었다. 처리 그룹별로는 pH 6.0이 가장 높은 발아율을 나타내었다. 그 다음은 pH 5.6이었으며 pH 4이하에는 약간 낮은 발아율을 나타내었다.

3.3 신장생장의 변화

종자가 발아하면 유근, 줄기의 성장 및 쌍자엽이 돌아나고 자엽의 출현이후 2~3주가 경과하면 본엽이 자엽과 90도로 대생한다. 전체적인 성장량은 Table 2와 같다. 시기적으로는 발아후 약 보름이 경과하면 저해의 정도가 나타난다. 그룹간에는 산

Table 1. The germination rates in *Perilla frutescens* var. *japonica* Hara

(unit: %)

Days Groups	1	2	3	4	5	6	7
pH 2.0	0	1	20	41	60	92	92
pH 3.0	0	2	28	40	58	90	93
pH 4.0	0	2	30	43	66	87	99
pH 5.0	0	1	44	62	73	86	98
pH 5.6	0	1	40	64	74	94	100
pH 6.0	0	3	44	64	77	97	100

Table 2. Effect of simulated acid rain on early growth of *Perilla frutescens* var. *japonica* Hara (unit : mm)

Days groups	4	8	16	24	32
pH 2.0	1.4	19.7	44.0	57.2	70.0
pH 3.0	1.6	32.12	42.8	60.1	80.2
pH 4.0	1.8	40.2	54.0	63.0	84.1
pH 5.0	2.4	46.2	72.0	80.5	108.0
pH 5.6	2.1	52.3	78.0	100.0	116.5
pH 6.0	2.5	49.7	80.9	102.7	120.0

Table 3. Injury degree of simulated acid rain on *Perilla frutescens* var. *japonica* Hara (unit : mm)

Injury groups	Injured part of leaf	Injured position of leaf	Color of spot	Density	Character
pH 2.0	whole	cotyledon 1~10 leaf	black, brown	6	not growth after 30 days
pH 3.0	leaf apices leaf margin	1~8 leaf	yellow brown	4	crack of stem
pH 4.0	leaf apices leaf margin	1~7 leaf	light brown	3	crack of stem
pH 5.0	leaf margin	1~4 leaf	light	2	brown
pH 5.6	—	—	—	1	
pH 6.0	—	—	white	0	

성이 강할수록 성장량이 저해됨을 볼 수 있었다.

3.4 가시피해

토양에 재배한 들깨의 자엽의 경우는 갈색 및 백색의 반점이 나타나지 않지만 vermiculite에 재배한 들깨의 경우는 자엽에 갈색 반점이 나타났다. 본잎의 경우에는 잎가장자리에 약간의 갈색의 반점이 나타났다. 본잎의 경우는 주로 잎가장자리에 반점이 나타나며 점점 커지면서 잎끝이 일그러지고 주름이 지게 된다. 시일이 경과하면 잎중앙 및 잎자루 쪽으로 향해 확산이 일어난다. Table 3에 나타난 것과 같이 산성도가 2일 때는 잎 전체면적의 절반이상이 반점으로 나타났으며 산성도에 비례하여 반점이 매우 뚜렷하게 나타났다.

Table 3은 반점의 밀도를 환산점으로 표시하여

나타낸 것이다. 산성도가 2.0일 때는 6점, 산성도가 3.0일 때에는 4점, 산성도가 4.0일 때에는 3점, 산성도가 5.0일 때에는 2점, 산성도가 6.0일 때에는 1점(백색반점)으로 나타났다.

3.5 효소의 변화

잎의 세포내에 존재하는 알코올 분해효소인 alcohol dehydrogenase는 anodal side에 강한 활성을 나타내는 일련의 밴드가 나타났으나 산성도에 따른 뚜렷한 차이는 나타나지 않았다 (Fig. 2).

TCA cycle내의 말산 분해효소인 malate dehydrogenase의 경우, 효소의 밴드 형태가 대단히 복잡하게 나타나는데 pH 2.0에서는 대조군에 비해 효소의 활성이 저해되었다 (Fig. 3). 그 외의 산성도에는 커다란 변화는 보이지 않았다.

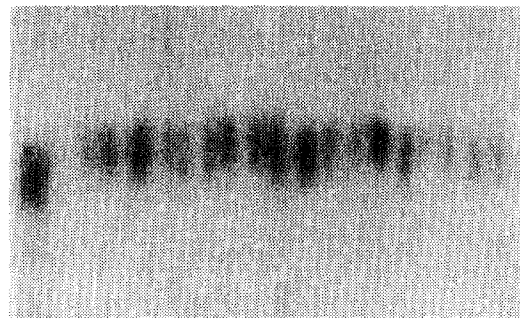
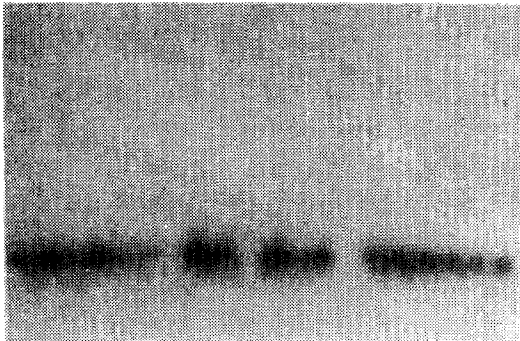
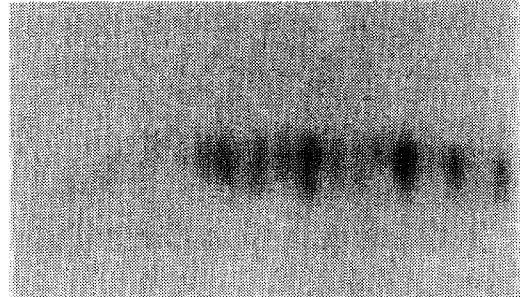
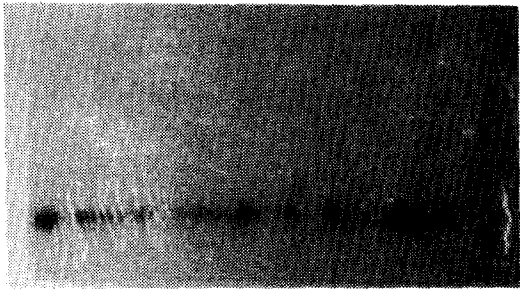


Fig. 2. Photograph of ADH banding patterns in *Perilla frutescens* var. *japonica* Hara. Treat group (pH 2.0) is at the high and control group is at the below of the figure.

Fig. 3. Photograph of MDH banding patterns in *Perilla frutescens* var. *japonica* Hara. Treat group (pH 2.0) is at the high and control group is at the below of the figure.

6-phosphogluconate dehydrogenase의 경우는 두 개의 독립된 밴드가 나타나는데 좀더 빠르게 이동하는 밴드를 *pgdh-1*이라고 할 때, 느린 밴드인 *pgdh-2*의 효소가 산성비에 매우 민감한 반응을 나타내었다 (Fig. 4). 강산성비의 경우 세포내 phosphogluconate acid의 대사작용이 크게 저해된다고 생각된다.

4. 고 찰

환경오염은 대기오염, 수질오염, 토양오염으로 대별할 수 있다. 이와 같은 환경오염의 실태를 파악하는 데에는 대기, 수질, 토양 등을 직접 분석하는 방법 외에 환경에 생존생육하는 동식물의 영

향을 정성적, 정량적으로 해석하는 방법이 효과적인 환경분석의 수단이 될 수 있다. 최근 육상환경에 있어서 식물이 환경오염의 지표종으로써 많이 사용되고 있다. 대도시에는 공원내 녹지대를 많이 조성하여 가능한 한 많은 수목을 육성하는 것이 바람직하나 최근 잎과 가지의 고사, 이상 낙엽 등에 의해서 눈에 띄게 많이 나타나고 있다. 그 원인은 여러가지가 있겠지만 대기오염이 직, 간접으로 크게 작용하고 있는 것으로 생각된다. 대부분의 대기오염물질에는 종류도 다양하고 이들 물질이 단독 혹은 복합적으로 작용하여 피해가 유발되지만 그 중에서도 유황산화물이 가장 중요한 오염물질이라 생각된다. 왜냐하면 유황산화물이 때로는 인체나 식물에 영향을 미칠 수 있는 농도 이상으로 발생할 때가 많고, 또 저농도의 유황산화물일지라도 그 피해가 나타날 경우에는 대기중의 유황산화물의 영

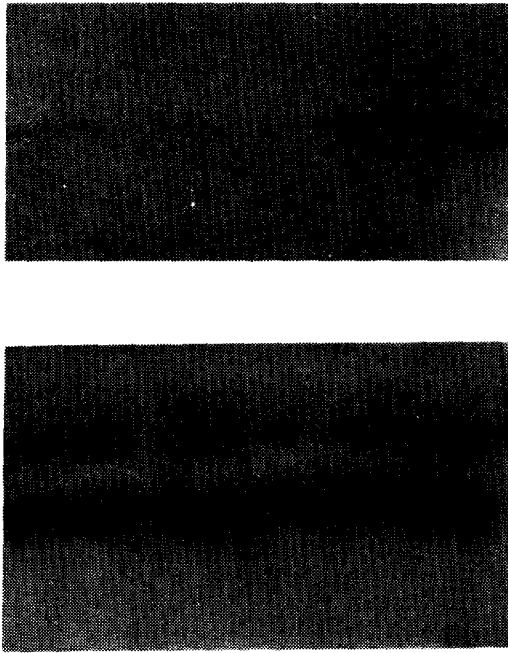
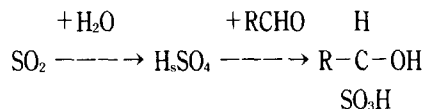


Fig. 4. Photograph of 6-PGDH banding patterns in *Perilla frutescens* var. *japonica* Hara. Treat group (pH 2.0) is at the high and control group is at the below of the figure.

향을 고려하지 않으면 안된다. 식물은 잎의 기공으로부터 흡수된 유해가스에 의해서 효소작용의 각란, 각종대사의 저해, 체내성분의 분해, 결합 등을 일으키고, 세포나 조직을 침해한다. 이산화유황의 경우에는 연반(반점, spot)상의 chlorosis를 발생시키기 쉽다. 이산화유황에 의한 피해발생기작에는 독일의 Wilicenus와 일본의 米丸에 의한 α -hydroxysulfonic acid설이 유명하다. 이산화유황은 식물체내 유기산의 분해에 의하여 먼저 체내 수분에 용해되어 아황산이 되고 이것과 탄소동화작용의 초기 생성물질인 Aldehyde류(RCHO), 혹은 체내 유기물의 분해에 의하여 생성된 Aldehyde류와 다음 식과 같이 반응하여 α -hydroxysulfonic acid를 생성하고, 이것이 독성을 나타내는 것으로 되어 있다.



α -hydroxysulfonic acid의 일부 생성 이외에 식물체내에 흡수된 이황화물이 물에 용해되어 생성된 아황산의 대부분은 체내에서 산화되며, 황산이 되어 축적되는 것을 미국의 Thomas가 처음으로 황[³⁵S]으로 표시된 이산화황 [³⁵S₂]을 사용하여 그의 Antoradioram에 의하여 확인하였다. 그런데 식물의 대기오염물질인 SO₂ 가스에 의한 일차적인 피해는 직접 측정 가능한 식물잎중 유황함량으로서, 식물이 흡수, 흡착할 수 있는 물질의 양을 검출하는 방법이 가능하여 김재봉(1981)에 의한 보고가 있다. 또한 松島과 原田(1965)은 대기 중에 SO₂ 가스의 농도가 높으면 잎중 유황함량도 높다고 보고하였고, 松竹(1975)도 수목피해에 의한 연구결과 SO₂에 접촉을 받은 수목 잎은 유황함량의 증가가 뚜렷하다고 하였다. 이는 탄소 동화작용의 억제를 나타낸다는 대두를 재료로한 보고(정순주, 1986)가 있었고 엽록소의 파괴(콩잎) 엽조직의 형성억제 기공개폐의 개도가 작아진다는 Wellburn(1988)의 보고를 감안할 때 기공을 통한 가스의 출입 억제와 이로 인해 엽조직의 형성이 불완전하여 탄소 동화작용이 원활하게 이루어지지 않음으로 성장량의 저해가 일어난 것으로 생각된다.

그 외 가시적인 현상으로 산성도가 증가할수록 줄기의 하단부에 그 중앙이 갈라지는 현상의 정도가 심하게 나타났다. 이 사실은 메밀의 경우에도 발생하는 것으로 대비, 보완 실험 결과 드러난 새로운 현상으로 관찰된다. 그 원인은 밝혀진 바 없으나 물질수송이 줄기를 통해 이루어진다는 점을 고려할때 수분 및 영양분의 이동에 저해가 나타날 것으로 사료된다.

결론적으로 SO₂ 성분의 증가는 주로 잎에 관여하여 성장량의 저해 및 억제, 대사작용에 관여하는 효소의 작용을 교란 또는 저해하는 것으로 사료된다.

5. 결 론

산성비에 함유된 음이온은 황산이온이 가장 많

이 내포되어 있었다. 산성비가 발아에 미치는 영향은 발아 5일째부터 현저하게 나타났으며 산성도 4.0이하부터 발아율이 약간 감소하였다. 발아후 2일째에 산성도 5.6에서는 116.5 mm가 성장한 반면 산성도 4.0이하에서는 84.1 mm, 산성도 2에서는 70 mm 정도 성장했다. 산성도 2.0에서는 흑갈색 반점이 나타나고 산성도 5.0에서는 갈색 반점으로 나타났으며 산성도가 강할수록 반점의 수가 많았다. 반점의 크기에 따른 밀도에서 산성도가 2.0일 때 6점으로 가장 높았으며 반점의 밀도는 산성도의 정도에 대단히 밀접한 관계가 있었다 산성도가 증가할수록 줄기의 하단부에 그 중앙이 갈라지는 현상이 심하게 나타났다. 조사한 3종류의 효소 중에서 현저하게 저해를 나타내는 효소는 *pgdh-1*와 *pgdh-2*였다.

참 고 문 헌

- 김재봉, 김동완, 서정현, 정인명, 정연보, 오재기, 강덕희, 1981, 지표생물을 이용한 서울주변 환경오염 조사 연구, 국립환경연구보, 3, 227~238.
- 김재봉, 배정오, 고강석, 김정규, 박재주, 지준성, 1986, 대기오염이 식물체에 미치는 영향에 관한 실험적 연구 (Ⅲ), 국립환경연구보, 8(3), 331~349.
- 오종환, 1987, 인공산성우가 수목 생장과 토양에 미치는 영향, 석사학위논문 경희대학교 대학원 이수옥, 1989, 대기오염 및 산성우가 산림 생태계의 토양산도 및 양료분포에 미치는 영향, 한국 임학회, 78(1), 11~25.
- 이돈구, 김갑태, 1988, 인공산성우가 몇 수종의 종자발아와 묘목생장에 미치는 영향, 서울대학교 농학 연구, 11(2) 별책.
- 유태철, 1990, 인공산성 빗물의 산도에 따른 토양과 식물로부터 이온 세탈량의 변화, 서울대학교 대학원 석사학위 청구논문.
- 장남기, 이운상, 신은영, 1990, 서울지역의 대기오염이 강수와 생물에 미치는 영향, Korean. J. Ecol., 131~142.
- 정순주, 오복래, 박종성, 1986, 인공산성 강우가 대두 (*Glycine max L. Merr*)의 생장과 수량에 미치는 영향, 농어촌개발연구보, 21, 49~55.
- 허만규, 허홍욱, 1994, 인공산성비가 민물새우의 형태 및 단백질합성에 미치는 영향, 환경연구보, 12, 81~86.
- 허만규, 정수동, 허홍욱, 1994, 한국 자귀나무 집단의 allozyme변이에 관한 연구, 한국유전학회지, 16(3) 별책.
- 환경청, 환경보전, 1984.
- Cronan, C. S., R. C. Reynolds and G. E. Lang, 1978, Forest floor leaching: Contributions from mineral, organic and carbonic acids in New Hampshire subalpine forests, Science, 200, 309~311.
- Cole, D. W. and D. W. Johnson, 1977, Atmospheric sulfate additions and cation leaching in a Douglas-fir ecosystem, Water Resource Reserch, 13, 313~317.
- Cole, C. V. and J. W. B. Stewart, 1983, Impact of acid deposition on Pcycling, Environ. Exp. Bot. 23, 235~241.
- Evans, L. S., 1984, Botanical aspects of acidic precipitation, Bot. Rev. Vol. 50, 449~490.
- Galloway, J. N., G. E. Likens and E. S. Edgerton, 1976, Acid precipitations in the northeastern United States: pH and acidity, Science, 194, 722~724.
- Lee, J. J. and D. E. Weber, 1979, The effect of simulated acid rain on seedling emergence and growth of eleven woody species, Forest Sci. 25(3), 393~398.
- Lee, J. J., G. E. Neely and S. C. Perrigan, 1980, Sulfuric acid rain effects on crop yield and foliar injury, Environ. Res. Lab., EPA-600/3-80-016, 20 pp.
- Matzner, E., D. Murach and H. Fortann, 1986, Soil acidity and its relationship to root growth

- in declining forest stands in Germany, *Water, Air, and Soil Pollution*, 31, 273~282. 松島二良, 原田學, 1965, 果樹の亞黃酸ガスによる煙害(第2報), *日本園藝學雜誌*, 34(3), 25~32.
- Wellburn, A, 1988, *Air Pollution and Acid Rain: The Biological Impact*, Longman Science & Techincal, Inc., 48~51 pp. 松竹召一, 1975, 指標植物-環境汚染を染啓示する, 講談社, 東京