

PB5) 카드뮴에 노출된 수생식물 5종의 엽록소형광 분석

진국림, 고석찬, 오순자

제주대학교 생명과학과 · 기초과학연구소

1. 서 론

산업화와 인구증가, 그리고 도시화로 각종 오염물질의 증가하고 이로 인한 환경오염이 심각한 사회문제가 되고 있다. 특히, 수은, 납, 카드뮴 등의 중금속류는 수질과 토양 오염을 야기하고, 생명체에 축적되어 식물의 생산량 감소나 인간의 질병을 유발하고 심각한 경우에는 죽음을 초래하기도 한다. 이에 대한 방안으로 국외에서는 중금속물질에 대한 지표종(indicator species)의 선별 및 이를 제거하기 위하여 식물종의 중금속 흡수력, 오염된 환경에서 적응 등 다양한 연구가 이루어지고 있다(Scott, 1992; Bradshaw, 1984).

본 연구는 중금속에 대한 식물의 내성여부와 중금속 스트레스하에서 식물의 생리적 특성을 파악하기 위해 개구리밥, 생이가래, 은행이끼, 수련, 부들 등 5종의 식물을 대상으로 카드뮴 (Cd^{2+}) 처리시 광합성효율을 분석하였다.

2. 재료 및 실험 방법

2.1. 식물재료 및 배양

개구리밥, 생이가래, 은행이끼, 수련, 부들 등의 수생식물들을 대상으로 실험을 수행하였다. 배양용 배지는 Chollet (1993)의 방법에 의해 조제한 후, 멸균 소독하기 이전에 pH를 6.5로 조정하여 사용하였다. 배양액에 카드뮴 (Cd^{2+})의 농도 (0, 10, 50, 100, 200 μ M)를 달리하여 처리한 후 배양시간을 달리하여 $25\pm 1^{\circ}C$, 14L/10D 조건에서 배양하였다.

2.2. 광합성효율 분석

O-J-I-P 곡선(polyphasic rise of Chl a fluorescence transients)은 Strasser와 Strasser (1995)의 방법에 따라 Plant Efficiency Analyzer (PEA; Hansatech Instrument Ltd., UK)를 이용하여 측정하였다. 형광이미지분석은 Nedbal 등 (2000)의 방법에 따라 Imaging Fluorometer (FluorCam 700MF, Photon System Instruments, Czech)를 이용하여 측정하였다. 즉, 15분간 광을 차단하여 암적응시킨 식물의 앞에 $1,500 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$ 의 saturation light와 $100 \mu\text{mole}/\text{m}^2/\text{sec}$ 의 actinic light를 조사하고 quenching analysis에 의해 유도하였다. 이미지 확인 후 분석 프로그램을 사용하여 다양한 형광변수들을 산출하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 카드뮴 스트레스 하에서 수생식물 5종의 광합성효율

중금속에 대한 식물의 내성여부와 중금속 스트레스하에서 식물의 생리적 특성을 파악하기 위해 개구리밥, 생이가래, 은행이끼, 수련, 부들 등 5종의 식물을 대상으로 카드뮴 (Cd^{2+})의 농도를 달리하여 처리한 후 시간별로 식물의 광합성효율을 분석하였다. 그 결과, 개구리

밥, 생이가래, 은행이끼, 부들 등 4종은 카드뮴에 민감한 것으로 조사되었고, 수련은 다른 식물종에 비해 덜 민감한 것으로 조사되었다 (Figure 2). 한편, 개구리밥을 포함한 5종의 수생 식물을 대상으로 카드뮴 스트레스하에서의 O-J-I-P 곡선의 패턴을 비교하였다(데이터 미제시). 종에 따라 다소의 차이는 있으나 개구리밥, 생이가래, 은행이끼, 부들 등 4종의 식물은 카드뮴 농도가 증가할수록 J, I, P값이 크게 감소하는 것을 볼 수 있었다. 특히, P-단계에서의 형광세기가 큰 폭으로 감소하였고, 수련과 부들은 그 감소폭이 극히 낮거나 변화를 보이지 않았다. 이러한 결과는 개구리밥을 포함한 4종의 식물은 카드뮴에 의해 광계II 반응중심의 전자수용체 quinone이 환원상태에 있음을 의미하며, 광계II의 광합성효율, 즉 Fv/Fm의 감소를 야기하는 결과를 초래한다 (Figure 3). 특히 P-단계의 감소는 개구리밥에서 현저하게 나타나 다른 3종 보다 카드뮴에 민감한 것으로 보인다. Figure 3은 5종의 식물을 대상으로 카드뮴의 농도를 달리하여 5일동안 배양했을 때 광계II의 광합성효율 (Fv/Fm)의 변화양상을 보여주고 있다. 일반적으로 Fv/Fm값이 0.8보다 낮을때는 광계II의 반응중심이 손상을 입은 상태이거나 비가역적인 불활성상태에 처해있는 상태라고 볼 수 있다. 개구리밥과 생이가래는 카드뮴 농도가 50uM 이상에서는 배양 1일부터 Fv/Fm값이 급격하게 감소하고 있다. 그리고 은행이끼와 부들은 3일 이후부터 50uM 이상의 카드뮴 농도하에서 Fv/Fm값이 감소하였고, 수련은 큰 차이를 보이지 않았다. Figure 4는 카드뮴 스트레스하에서 개구리밥의 형광이미지자료를 보여주고 있으며, 현재 이러한 결과를 토대로 다양한 형광변수들을 산출하고 있다. 카드뮴은 식물의 잎조직에 영향을 미쳐 반응중심을 포함한 모든 엽록소분자들의 빛 흡수용량을 감소시키고 있다. 엽록소형광의 동력학적 변화 양상도 대조구와 10uM 카드뮴에서는 차이가 없으나 50uM 이상의 농도에서는 절대적인 엽록소형광 세기와 동력학적 변화양상이 대조구와 큰 차이를 보이는 것으로 나타났다 (Figure 2). Fig. 3은 카드뮴(Cd²⁺) 스트레스하에서 개구리밥의 O-J-I-P 곡선의 패턴을 비교하였다. 카드뮴 농도가 증가할수록 J, I, P값이 크게 감소하였으며, 특히 P-단계에서의 형광세기(Fp)가 큰 폭으로 감소하였다. 이는 개구리밥이 카드뮴에 의해 광계II 반응중심의 전자수용체 quinone이 환원상태에 있음을 의미하며, 광계II의 광합성효율, 즉 Fv/Fm의 감소를 야기하는 결과를 초래한다 (데이터 미제시). 일반적으로 Fv/Fm값이 0.8보다 낮을때는 광계II의 반응중심이 손상을 입은 상태이거나 비가역적인 불활성상태에 처해있는 상태라고 볼 수 있는데, 카드뮴 농도가 50uM 이상에서는 배양 1일부터 Fv/Fm값이 급격하게 감소하며, 10uM의 카드뮴하에서도 배양 5일째 점차적으로 감소하여 개구리밥이 카드뮴에 의한 영향을 받고 있음을 알 수 있다. O-J-I-P 분석을 통해 산출된 형광변수들 중에 Fo, Fm, Fv/Fo는 카드뮴 농도가 증가할수록 점차적으로 감소하였고, Sm과 N은 증가하였다 (Fig. 3B). 그리고, 엽면적 당 광계II 활성을 의미하는 변수들 중 ABS/CS, TRo/CS와 ETo/CS의 감소, 반응중심의 상대적 밀도를 의미하는 RC/CS와 초기 광화학적 반응의 최대 수득율을 의미하는 Φ_{PO} 는 카드뮴 농도의 증가에 따라 뚜렷하게 감소하였다 (Fig. 3C). 그리고 활력도를 나타내는 변수들 대부분이 카드뮴 농도의 증가에 따라 크게 감소하였다 (Fig. 3D). 100uM 카드뮴 처리하에서 개구리밥의 Fv/Fm과 NPQ 형광이미지를 살펴보면 배양기간이 길어질수록 식물의 잎조직에서 방출하는 형광이 점차적으로 감소하고 있음을 알 수 있다. 이러한 결과는 배양시간이 증가할수록 광계II 반응중심들이 상대적으로 더 환원되어 있음을 의미한다.

Table 1. Short description of chlorophyll fluorescence parameters used in the text, according to the O-J-I-P test.

| Abbreviation | Description |
|--------------|---|
| F_o | Initial fluorescence in dark adapted tissue |
| F_m | Maximum fluorescence in dark adapted tissue |
| F_v/F_o | Ratio of photochemical and non-photochemical de-excitation fluxes of excited chlorophyll |
| V_t | Relative variable fluorescence at time t |
| $(dv/dt)_o$ | Slope at the beginning of the transient $F_o \rightarrow F_m$, maximal fractional rate of photochemistry |
| S_m | Normalized area |
| N | Turn over number of Q_A |
| ABS/RC | Absorption flux of photons per active reaction center |
| TR_o/RC | Trapping of electrons per active reaction center |
| ET_o/RC | Electron flux per active reaction center beyond Q_A^- |
| Φ_{PO} | Maximum yield of primary photochemistry, equal to F_v/F_m |
| Ψ_o | Probability of a trapped exciton moving an electron beyond Q_A^- |
| Φ_{EO} | Probability of a absorbed exciton moving an electron beyond Q_A^- |
| RC/CS | Active reaction center per cross section |
| ABS/CS | Absorption flux of photons per cross section |
| TR_o/CS | Trapping of electrons per cross section |
| ET_o/CS | Electron flux per cross section |
| SFI_{PO} | Responds to structural and functional PSII events leading to electron transport within photosynthesis |
| PI_{PO} | Ratio of the two structure functional indexes (SFI_{po} and SFI_{no}) |

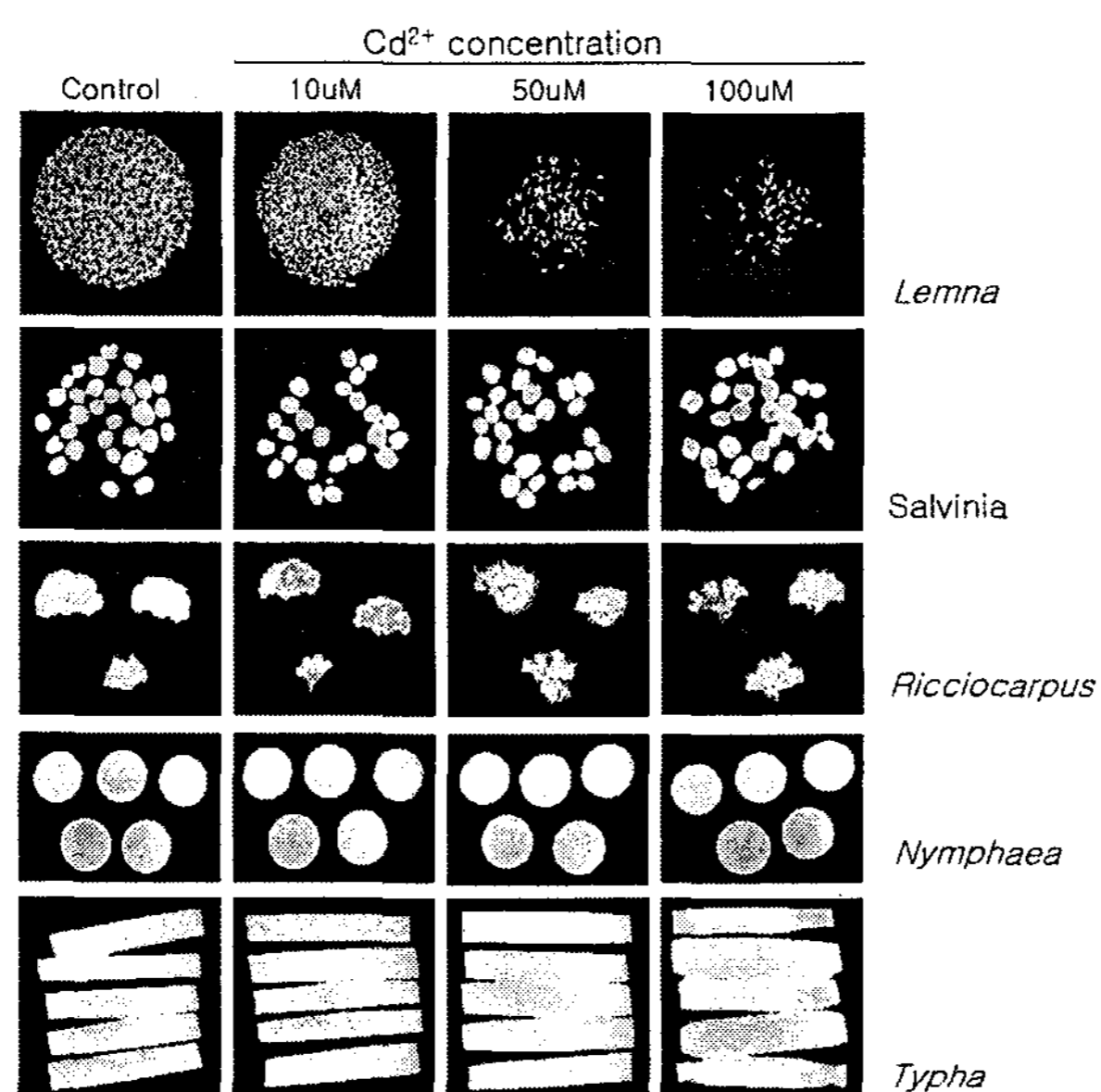


Fig. 1. Chlorophyll fluorescence imaging of five plants under cadmium stress. Plants and leaf segments were treated with 0~100uM cadmium, and the images were taken at 5d after the cadmium treatment.

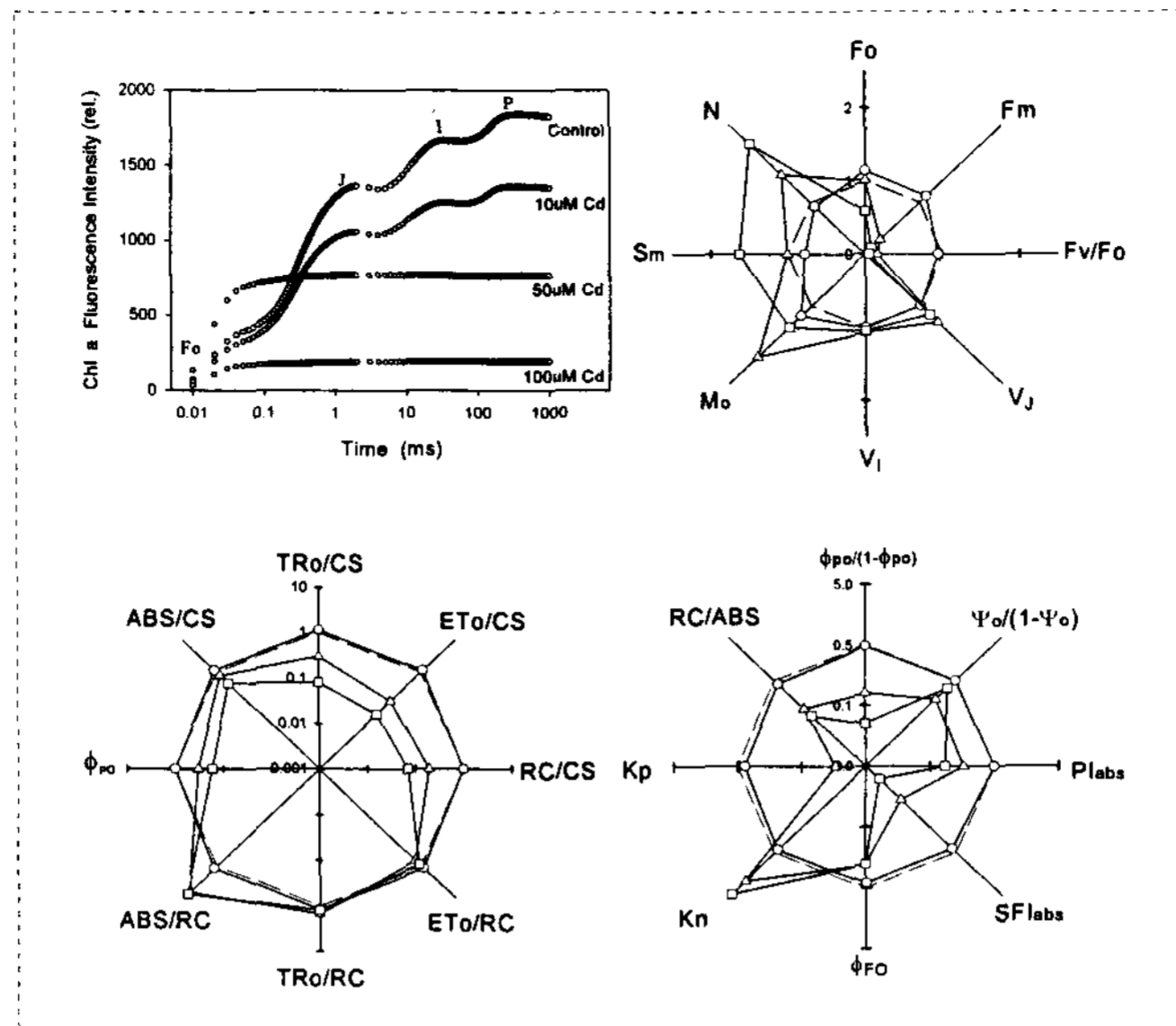


Fig. 3. Chlorophyll fluorescence transients O-J-I-P and spider plots of selected parameters quantifying the behaviour of PSII from leaves of Lemna plants under cadmium stress. (A) fluorescence transients O-J-I-P, (B) Extracted and technical fluorescence parameters, (C) Quantum efficiencies, activities per reaction centre, effective absorption per cross section, and (D) Vitality indexes (structure-function and performance indexes). Control, long dash; 10uM Cd, circle; 50uM Cd, triangle; 100uM Cd, square.

4. 요약

개구리밥, 생이가래, 은행이끼, 수련, 부들 등 5종의 식물을 대상으로 카드뮴 (Cd^{2+})의 농도를 달리하여 처리한 후 시간별로 식물의 광합성효율을 분석하였다. 그 결과, 개구리밥, 생이가래, 은행이끼, 부들 등 4종은 카드뮴에 민감한 것으로 조사되었고, 수련은 다른 식물종에 비해 덜 민감한 것으로 나타났다. O-J-I-P 곡선의 패턴을 살펴보면, 종에 따라 다소의 차이는 있으나 개구리밥, 생이가래, 은행이끼, 부들 등 4종의 식물은 카드뮴 농도가 증가할수록 J, I, P값이 크게 감소하는 것을 볼 수 있었다. 특히 P-단계의 감소는 개구리밥에서 현저하게 나타나 다른 3종 보다 카드뮴에 민감한 것으로 보인다. 광계II의 광합성효율 (F_v/F_m) 변화양상을 보면, 개구리밥과 생이가래는 카드뮴 농도가 50uM 이상에서는 배양 1일부터 F_v/F_m 값이 급격하게 감소하였으며, 은행이끼와 부들은 3일 이후부터 50uM 이상의 카드뮴 농도하에서 F_v/F_m 값이 감소하였다. 수련은 큰 변화를 보이지 않았다.

5. 감사의 글

본 연구는 2004년도 학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었으며 (KRF-2004-003-D00164), 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Bradshaw, A.D. 1984. Adaptation of plants to soils containing toxic metals a test for conceit. pp.4-19. Inorgins and development of adaptation (Evered D & GM Collins eds).
- Scott, C.D. 1992. Removal of dissolved metals by plant tissue. *Biotechnology and Bioengineering*. 39:1064-1068.
- Chollet, R. 1993. Screening inhibitors (antimetabolites) of the biosynthesis or function of amino acids or vitamins with Lemna assay. In: Böger, P., Sandmann, G. (eds.), *Target Assay of Modern Herbicides and Related Phytotoxicity Compounds*. Lewis, London, UK, pp.143-149.
- Nedbal L., J. Soukupová, D. Kaftan, J. Whitmarsh, and M. Trtílek. 2000. Kinetic imaging of chlorophyll fluorescence using modulated light. *Photosynth Res* 66;3 12.