

SO₂ 에 의한 들깨 (水原 8 號)의 葉綠體分解에 對하여

金 貞 圭* · 林 秀 吉**

(1987. 11. 9 접수)

The Effect of SO₂ on the Degradation of Chlorophyll in Green perilla (*Perilla frutescens* Suwon No. 8)

Jeonggyu Kim* and Sookil Lim**

Abstract

The effects of light, active oxygen, inorganic SO₃⁻² ion, SO₂ fumigation duration, SO₂ concentration on the degradation of photosynthetic pigments in Green perilla (*Perilla frutescens* Suwon No. 8) fumigated by SO₂ were investigated inside a phytotron. The results were as follows:

1. With the increase of the SO₂ dosage, visible injury and the degradation of chlorophyll increased.
2. The degradation of chlorophyll b was less than that of chlorophyll a and the carotenoid was more easily degraded than chlorophyll b.
3. The degradation of chlorophyll by SO₂ fumigation was induced directly by SO₂, itself.
4. Light is necessary to the degradation of chlorophyll. SO₂ and O₂⁻ made in the photolysis process of the water molecule were the major components in the degradation of chlorophyll.

緒 論

葉綠體는 光合成이 일어나는 場所이며 炭水化物的 合成, 이미노산 및 脂質代謝 그리고 단백질合成이 葉綠體의 반투막에서 일어난다. 이 葉綠體는 SO₂에 接觸되면 破壞된다. 光合成色素는 脂質과 단백질로 이루어진 葉綠體膜에 있을 때 安定하나, SO₂에 의해 膜의 脂質과 단백질이 變性되어 葉綠素安定성이 상실된 結

果로 分解가 始作된다.¹⁾ SO₂의 接觸으로 可視被害 以前에 色素가 破壞된다는 것은 많이 알려져 있으며,^{2),3),4)} 따라서 SO₂에 의한 初期被害의 指標로서 色素의 破壞 여부를 利用하기도 한다.⁵⁾

金等⁶⁾은 우리나라의 植物 中에서 들깨가 SO₂에 예민하다고 밝히고, 이의 指標種으로서의 活用 可能性을 시사하였다.⁶⁾ 本研究에서는 SO₂ 接觸에 의한 들깨의 光合成色素 變化를 보다 자세히 살펴보고자 하였다.

* 國立環境研究院(National Institute of Environmental Research, Bulkwangdong, Eunpyung-ku, 132, Seoul)

** 高麗大學校 農化學科(Dept. of Agricultural Chemistry, Korea Univ., Anam-dong 1, Seongbuk-ku, 132, Seoul)

材料 및 方法

1. 材料植物

들깨 水原 8號(*Perilla frutescens* Suwon No. 8)를 壤土와 腐植土가 5 : 2로 混合된 培養土에 復肥(20 : 15 : 15)를 40kg/10a 로 기비하고 파종하여 本葉이 2位까지 성장하였을 때 polyethylene pot(20cm, ϕ 25cm)에 移植하고 4位葉까지 자란들깨 苗를 使用하였다.

2. SO₂에 의한 葉綠素吸收 spectrum의 變化調査

들깨에 SO₂를 0.2, 0.4, 0.7 및 1.5 ppm의 濃度로 接觸시키면서 0, 2, 4, 8時間에 걸쳐서 生葉을 採取하여 Arndt²⁾에 따라 吸收 spectrum을 測定하였다.

3. 葉綠素分解에 對한 光의 影響 調査.

SO₂를 0.2, 0.4, 0.7 및 1.5 ppm 濃度로 2時間 接觸시킨 후 明暗條件에서 2, 4, 6, 8時間 放置하면서 葉綠素含量을 金等³⁾의 方法으로 測定하였다. 이때 光照射는 Shimazaki⁷⁾에 따라 實施하였다.

4. 葉綠素分解에 對한 活性酸素의 影響 調査

葉綠素 抽出液에 ascorbic acid (10, 1 mM), hydroquinone (0.1, 1 mM), methionine (10 mM), histidin (10 mM)을 各各 加하여 2時間 및 4時間에 걸쳐 3의 方法으로 光을 照射한 후 葉綠素含量을 測定하였다.^{5,7)}

5. 葉綠素分解에 對한 無機 SO₃⁻² ion의 影響 調査

完全하게 成葉의 形態를 갖춘 들깨의 잎 중에서 2번째의 잎을 0.8 M-sucrose, 20 mM-Tricine, 10 mM-NaCl, 5 mM-ascorbic acid 및 pH 7.8의 NaOH 溶液이 含有된 溶液을 grinding 溶液으로 하여 homogenize 시켰고, 이液을 4 겹가야게로 여과하여 濾液을 원심분리하고(1500×g/30 min), 상등액을 다시 원심분리하고(1500×g/7min), grinding 용액에 재현탁시켰다.

50 mM-Tricine, NaOH (pH 8.5), 5 mM-Mg₂Cl, 2.5 mM ADP, 2 mM-Na₂SO₃ 및 50 μ M-pyrocyanine 이 혼합된 反應液에 約 200 μ g의 葉綠體가 혼합되도록 하며 3의 方法으로 5,000 Lux의 光을 1時間 조사하여 葉綠素a의 破壞程度를 金等³⁾에 따라 測定하였다.⁸⁾

結果 및 考察

1. 葉綠素吸收 Spectrum의 變化

0.2 및 0.4 ppm의 SO₂ 接觸으로는 8時間內에 큰 變化가 없었고, 0.7 및 1.5 ppm의 SO₂ 接觸에서는 變化가 뚜렷하였다(Fig. 1, 2). 즉, peak의 移動이나 새로운 peak의 出現은 없었고 450 nm 부근에서 굴곡이 선명하게 나타나는 것으로 chlorophyll b보다는 carotinoid가 더 變化되기 쉽다는 것을 알 수 있었다.⁹⁾

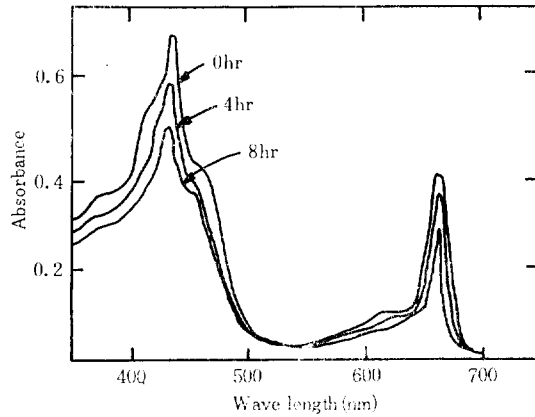


Fig. 1. Effect of 0.7ppm SO₂ fumigation on the absorption of photosynthetic pigments in *Perilla frutescens* (Suwon No. 8) leaves.

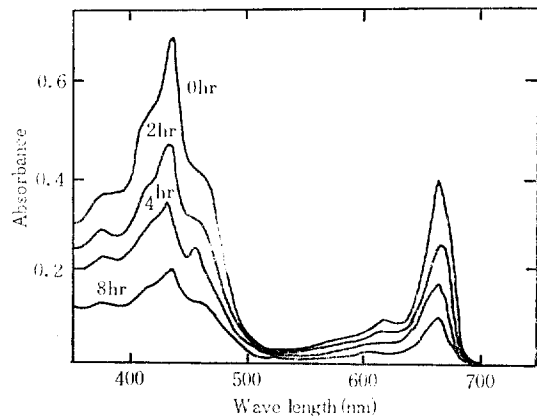


Fig. 2. Effect of 1.5 ppm SO₂ fumigation on the absorption spectra of photosynthetic pigments in *Perilla frutescens* (Suwon No. 8) leaves.

Table 1. Degradation of chlorophyll a and b by SO₂ fumigation.

Fumigation	Chlorophyll (μ g)/10cm ² of leaf					
	a			b		
	SO ₂ concentration (ppm)					
Time (hr)	0.4	0.7	1.5	0.4	0.7	1.5
0	21.2	21.4	21.2	6.3	6.3	6.2
2	21.2	21.3	20.8	6.4	6.3	6.4
4	21.0	20.9	14.9	6.3	6.2	6.2
6	20.8	19.8	9.2	6.3	6.3	6.0
8	20.1	15.4	8.8	6.3	6.2	5.9

葉綠素 spectrum의 變化와 關聯지어 初期 8時間 동안의 葉綠素 a와 b의 變化를 Table 1에 나타냈다.

葉綠素 a의 破壞가 더 뚜렷한 점으로 보아 葉綠素의 pheophytin 化에 의한 破壞라기보다는 SO₂에 의한 직접 파괴에 의해 葉綠素가 分解된다고 생각된다.

2. 葉綠素分解에 對한 光의 影響.

光이 照射될 때는 SO₂接觸이 끝난 후에도 계속되어 分解가 進行되지만 暗條件에서는 葉綠素破壞가 進行되지 않았다(Table 2). 暗條件에서 破壞가 멈추는 것은 가스의 出入이 氣孔閉鎖로 인하여 阻害되고, 반대로 光條件에서는 氣孔開放이 유지되어 단순히 SO₂의 出入이 자유롭도록 하는 것인지, 또는 光이 SO₂에 의한 葉綠體의 破壞를 다른 기작에 의하여 誘導하는 것인지는 分明하지 않다. 그러나, 光照射로 暗條件에서보다 SO₂에 對해 感受성이 높다는 事實은 오래전부터 알려져 왔으며^{9,10} 본 研究와도 一致한다.

Table 2. Degradation of chlorophyll a of *Perilla frutescens* (Suwon No. 8) fumigated by 1.5ppm of SO₂ at dark and light condition.

Time after 2hr Fumigation(hr)	Chlorophyll a (μg)/10cm ²	
	light	dark
0	20.8	20.2
2	20.8	19.4
4	16.4	19.9
6	12.3	20.0
8	9.7	19.7

3. 無機 SO₃⁻² ion의 影響.

分離葉綠體에 對한 SO₃⁻² ion의 影響은 Table 3과 같다. 2mM-Na₂SO₃의 處理가 光條件에서는 29%의 葉綠素가 分解되고, 暗條件에서는 22%가 分解되어 이 역시 光照射로 葉綠體 分解가 더 많았다. 近藤等¹²도

Table 3. The effect of Na₂SO₃ (2mM) on the homogenate from *Perilla frutescens* (Suwon 8).

2mM Na ₂ SO ₃	Light Condition	Chlorophyll destroyed (% to control)
Control	0 min	0
Treat	D. 60 min	22
Treat	L. 60 min	29
none	D. 60 min	0
none	L. 60 min	4

D : Dark

L : Light (5,000Lux)

같은 結果를 얻었고, 또한 Peiser와 Yang¹¹도 O₂의 葉綠素分解에의 참여 가능성을 시사한 바 있다.

4. 活性酸素의 影響.

SO₂接觸에 의해 生成되는 毒性物質에 關하여는 많은 研究者들이 報告하고 있다. 氣孔을 通하여 들어온 SO₂에 의한 毒性物質의 生成에 對해선 몇가지의 說이 있다. 즉 H⁺에 의한 葉綠素의 pheophytin으로의 轉換¹²과 낮은 pH에서의 SO₃⁻²의 酸化力에 의한 葉綠素의 分解,¹³ 및 O₂ 등의 free-radical에 의한 分解¹⁴가 그것이다.

Table 1, 2에서 光에 의한 葉綠素分解에 대한 影響을 알아보았으나 이 反應에 過酸化物이나 free-radical의 介入이 이루어졌는지는 確實치 않아서, 活性酸素의 參與 여부를 알아보기 위하여 活性酸素 scavenger 效果를 調査하였다(Table 4). 'O₂ scavenger인 ascorbic acid와 hydroquinone의 첨가로 피해가 進行되었으나 O₂의 scavenger인 methionine과 histidine의 첨가로는 큰 變化가 없었다.

Table 4. The effects of ascorbic acid, hydroquinone, methionine and histidine on the change of chlorophyll a contents in *Perilla frutescens* (Suwon No. 8) fumigated with SO₂.

Additives	Chlorophyll a contents (%)	
	Illumination time (hr)	
	2	4
None (Control)	100	100
Ascorbic acid, 1 mM	84	69
10 mM	40	29
Hydroquinone, 0.1 mM	14	51
1 mM	0	26
Methionine, 10 mM	100	95
Histidine, 10 mM	100	91

이 현상은 SO₂의 葉內 蓄積으로 生成된 O₂가 葉綠素를 破壞시키는 原因이며 또한 脂質過酸化를 일으키는 'O₂를 生成시킨다는 것을 뜻한다.' 따라서 O₂가 SO₂에 의한 들깨의 葉綠素破壞 즉, 可視被害를 誘發시키는 데 中心的인 역할을 한다고 할 수 있겠다.

要 約

들깨 水原 8號(*Perilla frutescens* Suwon No. 8)에 SO₂를 接觸시켰을 때 일어나는 光合成色素의 變化에 對한 SO₂ 濃度, 接觸時間, 光, 活性酸素와 無機 SO₃⁻²

ion의 影響을 觀察分析한 結果는 다음과 같다.

1. SO₂ 濃度가 높아지고 接觸時間이 길어질수록 被害가 심해져 葉綠素의 破壞도 많았다.
2. SO₂ gas 접촉에 의하여 葉綠素 a 가 葉綠素 b 보다 쉽게 分解되었으며 또한 carotinoid도 葉綠素 b 보다 쉽게 分解되는 것으로 추정된다.
3. 들개의 SO₂ 에 의한 葉綠素破壞는 SO₂ 에 의한 直接的인 影響으로 파악되었고, 이 때에 光이 必須적으로 필요하며, 물의 光分解로 生成되는 O₂ 가 SO₂ 와 함께 葉綠素分解에 中心的인 역할을 하는 물질이었다.

參 考 文 獻

1. 近藤矩明·度邊恒雄·島崎研一郎·榊剛(1984): 可視障害發現の仕組み—光合成色素分解について, 國立公害研究所研報 64 : 21~41.
2. Arndt, U. (1971): Air pollution induced leaf pigment concentration changes. A contribution to the discussion of pigment analysis. *Environ Pollut.* 2(1) : 37~48.
3. 菅原淳·內田節子·瀧本道明(1979): 亞硫酸イオンの水溶性クロロフィルタンパク質に及ぼす影響, 國立公害研究所報告 10 : 35.
4. 島崎研一郎·菅原學(1978): 二酸化イオウの植物影響の作用機序に関する研究(1)光合成電子傳達反應阻害とクロロフィル分解との關連について, 國立公害研究所報告 R-2 : 35~46.
5. Worf, D.L. (1980): *Biological Monitoring for Environmental Effects*. Lexington Books, Toronto, p. 227.
6. 金貞圭·金在鳳·裴貞伍·高康錫(1987): 環境汚染生物指標法の開發研究, 國立環境研究院, p. 195.
7. Shimazaki, K., T. Sakaki, N. Kondo and K. Sugahara (1980): Active oxygen participation in chlorophyll destruction and lipid peroxidation in SO₂-fumigated leaves of spinach. *Plant and Cell Physiology*, 21(7) : 1193~1204.
8. Ryrie, I.J. and Jagendorf, T. (1971): Inhibition of photophosphorylation in spinach chloroplasts by inorganic sulfate. *J. Biol. Chem.* 246 : 582~588.
9. Setterstrom, C. and P.W. Zimmerman (1939): Factors influencing susceptibility of plants to sulfur dioxide injury, I. *Cont. Boyce Thompson Inst.* 10 : 155~181.
10. Zimmerman, P.W. and W. Cracker (1934): Toxicity of air containing sulfur dioxide gas. *Cont. Boyce Thompson Inst.* 6 : 455~470.
11. Peiser, G.D. and S.F. Yang (1977): Chlorophyll destruction by the Bisulfite-Oxygen system, *Plant Physiol.* 60 : 277~281.
12. Rao, D.N. and B.F. LeBlanc (1965): Effects of sulfur dioxide on the Lichen alga with special reference to chlorophyll. *The Bryologist*, 28 : 69~75.
13. Pucket, K.J., E. Neiboer, W.P. Flora and D.H.S. Richardson (1973): Sulfur dioxides: its effect on photosynthetic ¹⁴C fixation in lichens and suggested mechanisms of phytotoxicity. *New Phytol.* 72 : 141~154.