

# 人工酸性비 處理가 색비름(*Amaranthus tricolor* L.) 幼植物의 生長, 色素 및 葉表面形態에 미치는 影響

金貞淑 · 李在奭

## Effects of Simulated Acid Rain on Growth, Pigments and Leaf Surface Morphology of the Seedlings of *Amaranthus tricolor* L.

Jung-Sook Kim, Jae-Seog Lee

### Abstract

The experiment was performed to investigate the effects of simulated acid rain of several pH levels (2.0, 3.0, 4.0 and 5.0) on growth, injury, pigment compositions and leaf surface morphology of the seedlings of *Amaranthus tricolor* L. by foliar application. The growth of the tops and roots was markedly retarded below pH 3.0 and speck spots appeared on the leaf. Seven different peaks were detected by the absorption spectra of pigments of the leaf. But cv. Early splendor did not show the peaks at 473 nm and 535 nm, and nor did cv. Tricolor show the peaks at 476 nm and 546 nm. The pigment composition of leaves was affected by strong acid rain. As pH levels decreased, chlorophyll content increased. Leaf surface was eroded by acid rain, and leaf surface tissues were broken down and collapsed at the lower pH levels.

### I. 緒 言

산성비는 그 속에 들어 있는 SO<sub>x</sub>, NO<sub>x</sub> 등의 화합물이 식물과 토양에 직접, 간접으로 영향을 주므로 식물생태계를 파괴한다고 한다<sup>1)</sup>. 우리나라에서도 지역과 시기에 따라 차이가 있지만 pH 2.5의

산성비가 내린 예도 있다<sup>2)</sup>.

이와같은 산성비는 식물의 성장저해<sup>3)</sup>, 수량감소<sup>4)</sup>는 물론 토양의 염류용탈<sup>5)</sup>에 의한 산성화 내지는 척박화를 촉진시킨다. 특히 빗물은 직접 식물의 잎에 닿게 되므로 잎표면에 있는 털을 제거시키고<sup>6)</sup>, 다음으로는 왁스층을 침식시켜 얇게 하여 세포내부

\* 曉星女子大學校 自然大學 園藝學科(Dept. of Horticulture, Hyosung Women's University, Hayang 713-702, Korea)

의 염류가 용출되게 하고<sup>8)</sup>, 심하면 조직을 괴사시킨다<sup>9)</sup>. Purnell과 Preece<sup>10)</sup>에 의하면 미국 New York에서는 종자가 발아한 후 자엽의 왁스층이 발달하기 전인 이른봄에 산성비가 내려 유식물의 생장에 큰 지장을 준다고 하였다.

색비름은 노지재배 식물로 잎의 색상이 매우 다양하여 잎이 관상의 대상이므로 상기 문헌에서와 같은 산성비의 피해를 받으면 바로 관상가치를 상실할 것이 예상된다. 그러나 아직 국내·외에서 색비름을 대상으로 산성비에 의한 피해 양상이 조직적으로 연구된 바는 없다. 그래서 본 실험은 이 식물의 유묘시에 산성비를 처리했을 때, 생장, 잎의 장해정도, 색소발현 및 잎표면의 형태 등을 비교하여 관찰하였다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 供試品種

색비름(*Amaranthus tricolor* L.), Early splendor와 tricolor를 공시하였다.

### 2. 植物栽培

종자는 상토(Fison II, 흥농종묘사)를 넣은 128공의 프러그 묘판에 파종하여 온도 28°C, 습도 85%의 성장실에서 발아시켰다. 발아 후 자엽전개가 된 것을 낮 25°C, 야간 최저 15°C의 온실에 옮겨 본엽 1매가 전개 될 때까지 두었다. 이를 다시 흙:모래:퇴비를 3:2:5로 혼합한 상토를 넣는 직경 9cm 플라스틱 포트에 이식하여 성장시켰다.

### 3. 人工酸性비 調製 및 處理

산성비는 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>와 HNO<sub>3</sub>를 수도물로 희석한 것을 3:1로 혼합하여 pH 2.0, 3.0, 4.0 및 5.0 되게 만들고, 대조구는 수도물(pH 6.3~6.5)을 사용하였다. 산성비 처리는 각 pH 별로 손분무기에 넣어 2일에 1회씩 색비름 유식물이 완전히 젖고 물이 토양에 폭 스며들게 뿌렸다.

## 4. 色素抽出 및 計測

Anthocyanin은 1% HCl-MeOH로 일정량의 잎을 유발에 넣어 잘 갈아서 색소가 완전히 탈색될 때까지 반복해서 추출한 후 이를 비색계(UV-160A, SHIMADZU)로 파장별 흡광 spectrum을 측정하여 그 peak의 흡광도를 기록하였다.

그리고 이때 최대 흡광도치를 문헌<sup>11)</sup>에 의해 동정하여 색소종류를 동정하였으며 염색소는 Mackinney 방법<sup>12)</sup>에 따라 80% acetone으로 추출하여 다음 식에 의하여 Chlorophyll(g/l) 농도를 계산하였다.

$$\text{Chl. a} = 0.0127 E_{663} - 0.00259 E_{645}$$

$$\text{Chl. b} = 0.0229 E_{645} - 0.00467 E_{663}$$

$$\text{Chl. a} + \text{b} = 0.00805 E_{663} + 0.0203 E_{645}$$

## 5. 葉表面 觀察<sup>13)</sup>

잎 시료를 glutaraldehyde 0.1M phosphate buffer로 1차 고정한 후 다시 OsO<sub>4</sub> 2% 용액과 0.1M phosphate buffer를 1:1로 혼합한 액에 2차 고정하였다. 그리고 ethanol과 isoamyl acetate로 2회 탈수시킨 것을 질소 gas를 이용하여 critical point dryer로 탈수, 건조시켜 이 시료를 표면전도처리기로 coating하여 주사전자현미경(SEM)으로 관찰하였다.

## III. 結果 및 考察

### 1. 生長 및 障害程度

산성비의 pH 수준에 따른 지상부 및 뿌리의 생장을 비교한 것이 표 1이다. 초장은 대조구에 비하여 pH가 낮아질수록 단계적으로 작아졌으며 엽수, 생체중, 건물중 및 뿌리의 생장도 같은 경향이었다(그림 1). 그러나 잎에 나타난 피해정도를 보면 pH 4.0 이상에서는 육안으로는 피해증상이 전연 나타나지 않았다. 그러나 pH 3.0에서는 약간의 괴사 반점과 잎 끝이 말리는 증상이 보였는데 개체마다 차이가 있었다.

pH 2.0에서는 심한 피해를 입어 어린식물체가 더



Fig. 1. Growth response of *Amaranthus tricolor* L. treated with simulated acid rain.  
A : pH 2.0, B : pH 3.0, C : pH 4.0, D : Control(pH 6.5).

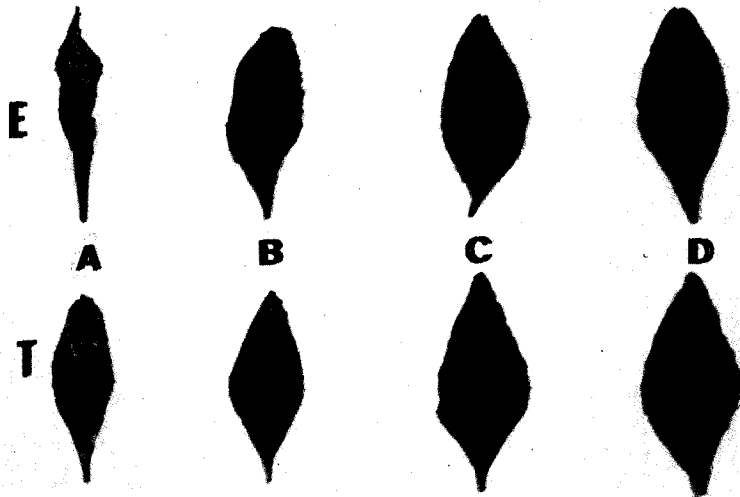


Fig. 2. Injury symptoms of simulated acid rain on the leaves of *Amaranthus* plants. cv.  
E : Early splendor, T : Tricolor.  
A : pH 2.0, B : pH 3.0, C : pH 4.0, D : Control(pH 6.5)

이상 생장을 지속할 수 없었다. 피해증상은 먼저 잎 표면에 많은 피사 반점이 생기고, 잎 가장자리가 심하게 타들어가는 현상을 보였는데(그림 2) 잎에 반점이 생기는 것은 산성비 피해의 특징으로서 색 비름에서도 동일하게 나타남이 관찰되었다<sup>9)</sup>.

산성비 처리에 의하여 Ferenbaugh<sup>3)</sup>는 강남콩의 생장억제, Irving<sup>4)</sup>은 무의 중량감소 등을 보고한 바 있지만 표 1과 그림 1에서도 볼 수 있듯이 뿌리의

생장억제는 토양의 산성화에 따른 양분흡수저해와 염류용탈 등의 영향인 것으로 생각된다<sup>1,14)</sup>.

**2. 色素發現**

식물잎의 anthocyanin을 1% HCl-MeOH로 추출 하여 파장별 흡광 spectrum을 조사한 결과는 표 2 및 그림 3과 같다. 표 2에서 보면 품종별로 각기 5 개의 peak가 나타났는데 420, 539 및 653 nm은 다

**Table 1. Effects of simulated acid rains of varying pH levels on growth and leaf injury of *Amaranthus tricolor* L. cv. tricolor. <sup>Y</sup>**

pH level <sup>X</sup>	Plant height (cm)	No. of leaves (ea)	Fresh wt./plant (g)	Dry wt./plant (g)	Root length (cm)	Root wt. (g)	Root dry wt./plant (g)	Degree <sup>W</sup> of injury
2.0	2.23a <sup>Z</sup>	6.33a	0.16a	0.02a	8.30a	0.06a	0.01a	7
3.0	2.80b	8.00b	0.28b	0.04b	9.97b	0.22b	0.02b	3
4.0	3.63c	9.33b	0.77c	0.07c	11.70c	0.27b	0.02b	0
5.0	3.83c	9.67b	0.96c	0.11d	11.10c	0.41c	0.03c	0
Control	5.57d	10.35c	1.39d	0.14d	12.57d	0.33c	0.03c	0

<sup>Z</sup>Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, 5% level.

<sup>Y</sup>Data were taken at 45 days after sowing.

<sup>X</sup>Control plants were treated with tap water(pH 6.5).

<sup>W</sup>Degree ; 0 : healthy, 7 : severely damaged, 9 : dead.

**Table 2. Absorbance(O.D.) of pigments in the leaves of *Amaranthus* treated with varying levels of simulated acid rain.**

Cultivar	pH levels	Absorbance (O.D)						
		Wave length (nm)						
		420	473	476	535	539	546	653
Early splendor	2.0	1.605	—	—	—	—	0.759	0.368
	3.0	1.729	—	—	—	—	0.894	0.394
	4.0	2.093	—	0.273	—	0.499	0.498	0.451
	5.0	2.168	—	0.251	—	0.418	0.417	0.466
	Control	1.810	—	0.222	—	0.387	—	0.388
Tricolor	2.0	1.850	—	—	—	0.344	—	0.425
	3.0	1.425	—	—	—	0.288	—	0.413
	4.0	2.091	0.221	—	0.307	—	—	0.447
	5.0	1.938	0.210	—	0.273	—	—	0.411
	Control	1.852	0.169	—	0.269	—	—	0.404

Control : Tap water (pH 6.5)

같이 존재하였으나, Early splendor는 476, 546 nm에, Tricolor는 473 및 535 nm에 각각 새로운 peak를 보였다.

이들 색소의 종류를 문헌<sup>11)</sup>에 의해서 동정하면 476 nm의 peak는 apigenidin, 535 nm은 cyanidin, 546 nm은 delphinidin으로 anthocyanin 색소인 것으로 추측되나 473 nm과 539 nm의 것은 알 수 없었다.

그리고 420 nm은 MeOH에 녹아나온 Chlorophyll인 것으로 추측된다.

색소의 존재에 있어서 pH 수준별 색소함량에 차이가 뚜렷하지 않았으나 Early splendor에 delphinidin(546nm)은 pH가 높을수록 함량이 적었고, 대조구에서는 전연 나타나지 않았다. 그리고 Early splendor는 473 nm과 535 nm의 peak가 나타나지 않았고, Tricolor는 476 nm과 546 nm의 peak가 나오지 않았다.

그리고 473 nm과 535 nm의 peak는 Tricolor에서 pH 4.0 이상에서, 539 nm은 pH 3.0 이하에서 나타났으며 Early splendor는 476 nm과 539 nm의 peak는 pH 4.0 이상에서 peak가 보였다.

이 실험 결과 산성비의 pH 수준이 색소의 발현에 큰 영향을 미친다는 것과 이런 현상은 품종에 따라 다르다는 사실도 알 수 있었다. 이것은 색비름과

같이 잎의 색이 관상의 대상인 식물에서는 매우 중요하다고 생각된다.

그림 3은 Tricolor 품종의 색소에 대한 흡광 spectrum인데 pH 2.0(A)은 3개의 peak가 보이나 대조구(B)는 뚜렷한 것만이 4개가 있었다(표 2 참조). 이 결과로 보아 강산성비는 잎의 색소조성에 영향을 미친다는 것을 알 수 있었다.

Chlorophyll(Chl.)은 acetone으로 추출한 후 수용성 flavonoids를 제거하고 정량하였는데 표 3과 같다. 총 엽록소(Chl. a+b) 함량은 pH 수준이 낮을수록 높은 함량을 보였는데 Chl.b는 처리간의 차이가 없었으나 Chl.a는 대조구(0.53mg/g)에 비하여

Table 3. Effects of simulated acid rain on the content of chlorophyll in leaves of *Amarantus tricolor* L.

pH level	Chlorophyll content (mg/g, F.W.)		
	a	b	a+b
2.0	1.04	0.28	1.32a <sup>2</sup>
3.0	0.97	0.27	1.24b
4.0	0.93	0.27	1.20b
5.0	0.94	0.26	1.20b
Control	0.53	0.25	0.78c

<sup>2</sup>Mean separation within a column by Duncan's multiple range test, 5% level.

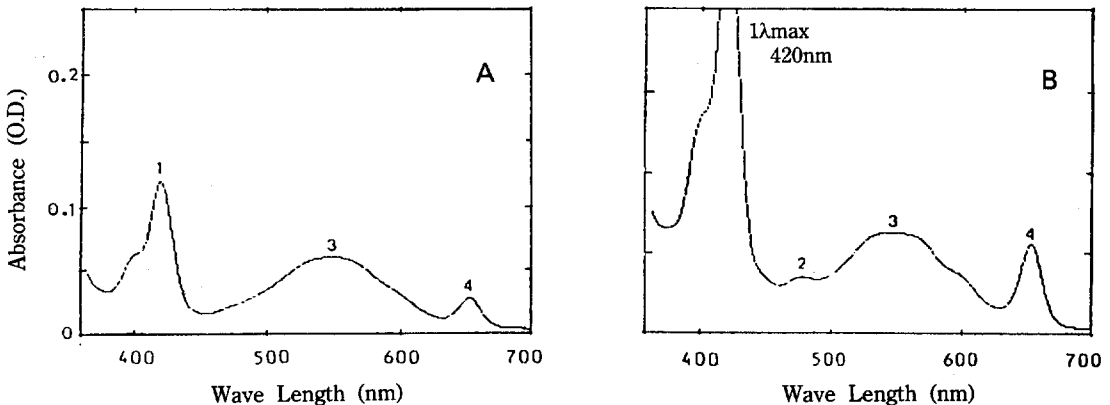


Fig. 3. Absorption spectra of pigments in leaves of *Amaranthus tricolor* treated with acid rain. A : pH 2.0, B : Control(pH 6.5)

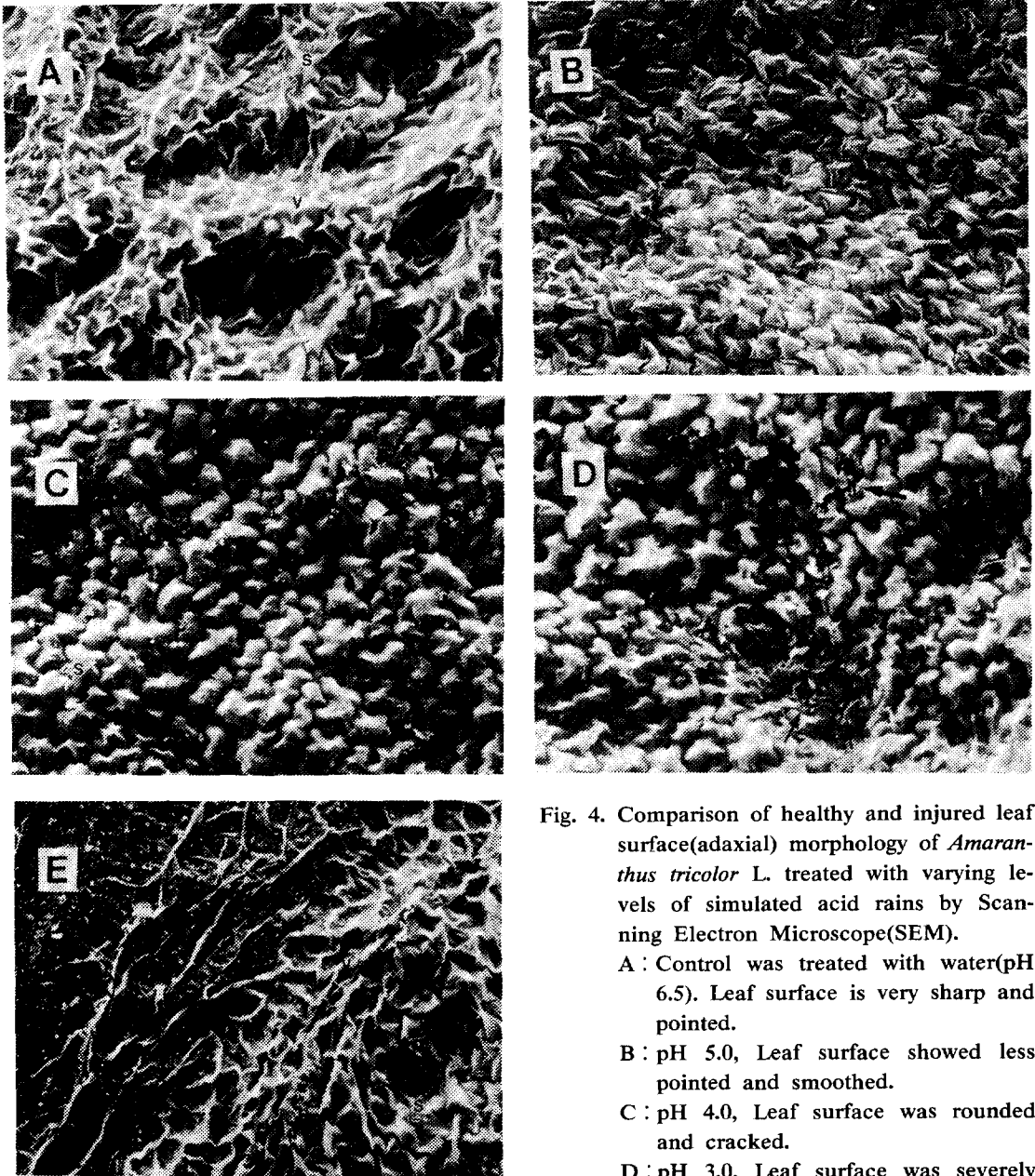


Fig. 4. Comparison of healthy and injured leaf surface(adaxial) morphology of *Amaranthus tricolor* L. treated with varying levels of simulated acid rains by Scanning Electron Microscope(SEM).

- A : Control was treated with water(pH 6.5). Leaf surface is very sharp and pointed.
- B : pH 5.0, Leaf surface showed less pointed and smoothed.
- C : pH 4.0, Leaf surface was rounded and cracked.
- D : pH 3.0, Leaf surface was severely cracked and collapsed(arrow).
- E : pH 2.0, Leaf surface was completely broken and eroded the waxes.

S=stoma, V=vein.

pH 2.0은 1.04mg/g으로 두 배 가까이 증가하였다. 그래서 a : b의 비율도 pH 2.0 처리의 3.71 : 1에서 대조구(pH 6.5)는 3.12 : 1로 낮아졌다.

산성비를 처리한 식물의 염록소함량에 관한 조사

는 그 결과가 매우 상이한 것이 많은데 김과 김<sup>5)</sup>은

몇가지 농작물에서 4.8~27.6%의 엽록소 감소가 있었다고 하였으며, 작물의 건물중 감소는 엽록소 감소에 의한 광합성 능력의 저하도 하나의 원인이 될 수 있다<sup>4)</sup>. 그런데 이번 조사에서는 강한 산성의 처리구에서 엽록소가 증가한 것은 잎의 생장이 억제되어 엽록체 밀도가 높아졌기 때문인 것으로 추측된다.

### 3. 葉表面의 電子顯微鏡觀察

잎표면의 형태를 주사전자현미경(SEM)으로 관찰한 결과는 그림 4의 A~E까지 이다. 대조구(A)는 엽맥(V)이 뚜렷하고 표면은 매우 날카롭고 뾰족 뾰족한 형태를 하고 있으나 pH 5.0(B)에서 날카로운 면이 줄어들었고, pH 4.0(C)는 표면이 깎이어서 매끈한 면을 보였고 군데군데 함몰하여 피사한 것을 볼 수 있다.

그리고 pH 2.0(E)에서는 표면의 왁스질이 완전히 녹아내려 엽맥이 노출되어 있는 것을 볼 수 있었으며 pH 3.0 이상에서는 식물체가 외견상으로 보아 천연 피해가 없는 것 같았으나 전자현미경으로 본 결과는 표면에 심한 변화가 일어나고 있는 것이 확인되었다.

Adams<sup>16)</sup> 등은 산성비는 잎표면의 왁스질을 유실시키고, 엽육세포를 파괴시킨다고 하였고 Pappozzi와 Tukey<sup>7)</sup>는 산성비로 인해 잎표면의 털이 상하고 왁스질이 녹아내리면 표피가 연약해져서 빗물이 쉽게 스며들고 증발되어 팽창과 수축이 연속적으로 일어난다고 하였다. 그리고 Adams<sup>8)</sup>는 산성비에 의해 세포내 염류가 용출되어 나온다고 하였는데 이것은 Baker와 Hunt<sup>15)</sup>는 표피의 왁스가 침식된 때문이라고 하였다<sup>17)</sup>.

이와 같이 본 시험에서도 잎표면의 왁스가 유실되고, 조직의 파괴는 pH가 낮을수록 심하였는데, pH 4.0 이상에서도 육안으로 구별이 안되나 실제로는 상당한 피해를 입게 된다는 것을 알 수 있었다.

이상의 실험결과를 종합하여 보면 pH 3.0 이하에서는 생장이 심하게 억제되었으며 잎에는 피사반점이 생기고 엽선단이 고사되는 피해가 나타났다.

그리고 색소는 산성비의 pH 수준에 따라 존재양상이 달라지며 대부분 낮은 pH에서 색소가 존재하지 않은 경향이 많았다. 그래서 앞으로 완숙된 식물체에서의 산성비에 대한 색소의 발현에 대하여 더욱 상세한 연구가 필요한 것으로 사료된다.

## IV. 要 約

색비름(*Amaranthus tricolor* L.) 유식물에 인공산성비 pH 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 및 수도물(pH 6.5)을 엽면처리하여 생장, 색소 및 엽표면의 형태에 미치는 영향을 조사하였다.

pH 3.0 이하에서는 지상부 및 근부가 다같이 생장이 심하게 억제되었으며 잎에는 피사반점이 나타났다. 색소의 흡광 spectrum은 7개의 peak가 나타났는데 Early splendor는 473nm과 535nm에 peak가 없었고, Tricolor는 476nm 및 546nm에 peak가 보이지 않았다. 강산성비는 식물색소 발현에 관여하였고 엽록소는 pH가 낮을수록 증가하였다.

주사현미경에 의한 엽표면 관찰에서는 pH 5에서도 이상이 관찰되기 시작하고 pH 4 이하에서는 피사가 급격히 진행되고 있었다.

## V. 引 用 文 獻

1. Jacobson, J. S. (1980) : Experimental studies on the phytotoxicity of acidic precipitation: the United States experience. In. T. C. Hutchinson and M. Havas, (eds). Effects of acid precipitation on terrestrial ecosystems. Plenum, N. Y.
2. 박봉규, 이인숙, 최형선. (1983) : 서울시에서의 산성강우에 대한 연구. 한국생활과학연구소논집 32 : 137-142.
3. Ferenbaugh, R.W. (1976) : Effects of simulated acid rain on *Phaseolus vulgaris* L. *Amer. J. Bot.* 63(3)2 : 283-288.
4. Irving, P. M. (1985) : Modeling the response

- of greenhouse-grown radish plant to acid rain. *Environ. Exp. Bot.* **25** : 327-338.
5. 김복영, 김규식. (1988) : 농작물에 대한 인공산성비의 영향. *한토비지* **21(2)** : 161-167.
  6. 김갑태. (1987) : Effects of simulated acid rain on a growth and physiological characteristics of *Ginkgo biloba* L. seedlings and on chemical properties of the tested soil. 박사학위논문. 서울대학교.
  7. Paparozzi, E. T. and H. B. Tukey, Jr. (1983) : Developmental and anatomical changes in leaves of yellow birch and red kidney bean exposed to simulated acid precipitation. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **108(6)** : 890-898.
  8. Adams, C. M. and T. C. Hutchinson. (1984) : A comparison of the ability of leaf surfaces of three species to neutralize acidic rain drops. *New Phytol.* **97** : 463-478.
  9. Evans, L. S. and T. M. Curry. (1979) : Differential responses of plant foliage to simulated acid rain. *Amer. J. Bot.* **66(8)** : 953-962.
  10. Purnell, J. J. and T. F. Preece. (1971) : Effects of foliar washing on subsequent infection of leaves of swede, *Brassica napus*. *Physiol. Plant Pathol.* **1** : 123-132.
  11. 林 孝三 編. (1980) : 植物色素. pp. 151-201. 養賢堂.
  12. Mackinney, G. (1941) : Absorption of light by chlorophyll solution. *J. Biol. Chem.* **140** : 135-140.
  13. 田中敬一, 永谷隆編. (1982) : 圖說走査電子顯微鏡-生物試料製作法-朝食書店.
  14. Conan, C. S., R. C. Reynolds, and G. E. Long. (1978) : Forest floor leaching: contributions from mineral, organic and carbonic acids in New Hampshire subalpine forests. *Science* **200** : 309-311.
  15. Baker, E. A. and G. M. Hunt. (1986) : Erosion of waxes from leaf surfaces by simulated acid rain. *New Phytol.* **102** : 161-172.
  16. Adams, C. M., N. G. Dengler, and T. C. Hutchinson. (1984) : Acid rain effects on foliar histology of *Artemisia tilesii*. *Can. J. Bot.* **62** : 463-474.
  17. Leece, D. R. (1978) : Foliar absorption in *Prunus domestica* L. I. Nature and development of the surface wax barrier. *Austral. J. Plant Physiol.* **5** : 749-766.