

카드뮴 스트레스에 대한 수생식물 5종의 엽록소형광 반응

오순자·진국림·고석찬

제주대학교 생물학과/기초과학연구소

(2009년 6월 11일 접수; 2009년 8월 10일 수정; 2009년 9월 22일 채택)

Characterization of Chl a Fluorescence of Hydrophytes under Cadmium Stress

Soonja Oh, Kook Lhim Zhin and Seok Chan Koh

Department of Biology & Research Institute for Basic Sciences, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

(Manuscript received 11 June, 2009; revised 10 August, 2009; accepted 22 September, 2009)

Abstract

The effects of Cd^{2+} ions on the Chl a fluorescence of 5 hydrophytes (e.g. *Lemna*, *Salvinia*, *Ricciocarp*, *Nymph*, *Typha* plants) were investigated in order to select Cd^{2+} -sensitive plant species and to get informations on physiological responses of plants to Cd^{2+} stress. *Lemna* plants were most sensitive to cadmium stress, while *Nymph* plants were tolerant. However, in all Cd^{2+} -treated plants, Fv/Fm, the maximum photochemical efficiency of PS II, decreased in proportion to the increase of Cd^{2+} concentration and treatment time. The Chl a fluorescence transient O-J-I-P was also considerably affected by Cd^{2+} ions; the fluorescence yield decreased considerably in steps J, I and P in Cd^{2+} treated plants, although it followed a typical polyphasic rise in non-treated plants. In *Lemna* plants, the functional parameters, ABS/CS, TRo/CS와 ETo/CS and RC/CS, decreased in proportion to the increase of Cd^{2+} concentration, while N, Mo and Kn increased. The structural parameters, Φ_{po} , $\Phi_{po}/(1-\Phi_{po})$, Plabs, SFlabs, Kp and RC/ABS, also decreased according to the increase of Cd^{2+} concentration. Consequently, *Lemna* plants will be useful as a experimental model system to investigate responses of plants. And several functional or structural parameters could be applied to determine quantitatively the physiological states of plants under stresses.

Key Words : Chl a fluorescence, Hydrophytes, Cadmium stress, Fv/Fm, *Lemna* plants

1. 서 론

산업화와 인구증가, 그리고 도시화로 각종 오염 물질이 증가하고 이로 인한 환경오염이 심각한 사회문제가 되고 있다. 특히, 공장에서 배출되는 산업 폐기물과 폐수에 함유된 각종 중금속류가 생태계의

오염을 가중시키고 있으며, 식물의 생육장해는 물론, 먹이연쇄를 통해 생태계의 다양한 영양단계로 전달되어 인간의 건강에도 심각한 영향을 미치고 있다¹⁾. 중금속은 자연적으로 바위나 토양 광물의 풍화에 의해서도 발생되지만 대부분의 경우에는 생물이 이용할 수 없는 형태이며 낮은 농도로 존재한다. 그러나 공장에서 발생하는 산업폐기물을 비롯한 인간의 활동에 의해서 환경에 방출된 중금속들은 농도가 매우 높은 상태로 존재하는데, 최근 폐광지와

Corresponding Author : Soonja Oh, Department of Biology & Research Institute for Basic Sciences, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea
Phone: +82-64-754-2326
E-mail: osoonja@jejunu.ac.kr

소각로의 증가로 토양에 중금속 농도가 매우 높게 나타나 사회적으로 문제가 되고 있다. 따라서 이러한 중금속 오염을 감소시키거나 오염된 환경으로부터 중금속을 제거시키고자 하는 연구들이 활발하게 진행되고 있으며, 고마리, 수련, 개구리밥 등 수생식물을 이용한 연구들이 그러한 예들이라고 할 수 있다²⁾. 특히 개구리밥은 크기가 작고, 실험실에서 배양하기가 수월할 뿐만 아니라, 온대지역에서 열대지역에 걸쳐 넓게 분포하고 있어 환경변화를 감지하거나 식물의 생리 실험을 위한 재료로 적당하다. 중금속 중 일부는 식물에서 효소의 보조인자로 사용되는 등 필수 미량원소로 사용되기도 하지만, 세포내에 일정한 농도 이상으로 존재하게 되면 식물의 생리대사를 저해한다³⁾. 카드뮴(Cd), 수은(Hg), 납(Pb), 구리(Cu)와 같은 중금속 이온들은 뿌리를 통하여 식물에 흡수되고 줄기나 잎으로 전이되는데, 중금속에 대한 초본성 식물의 반응은 대부분 이온 흡수의 저해, 측근과 뿌리의 건량 감소 및 엽록소 함량의 감소로 나타나고⁴⁾, 그 독성은 먼저 뿌리의 생장 저해로 나타난다⁵⁾. 많은 금속 원소 중에서 카드뮴은 강력한 독성을 나타내는 것으로 인식되고 있으며, 다른 필수 금속이온들을 비가역적으로 치환시키는 작용을 한다⁶⁾. 카드뮴은 주로 액포 내에 고농도로 축적된 후에 식물체 내에서 형태적이나 생리적인 대사 체제를 혼란시키는 것으로 알려져 있다⁷⁾. 즉, 카드뮴은 식물 잎의 백화현상, 잎과 뿌리의 세포 파괴, 식물의 생장과 조직 크기에 영향을 주는 것으로 보고되었으며⁸⁾, 세포막 인지질의 산화적 인산화에 영향을 주며, 세포호흡의 손상, 효소활성의 억제, 단백질 변성의 원인이 될 뿐만 아니라 영양분 운반과정을 방해하는 것으로 보고되고 있다⁹⁾.

한편, 광합성의 변화를 분석하여 카드뮴과 같은 환경스트레스에 대한 식물의 생리적 상태를 진단할 수 있다. 광합성 기구 중에서 광계II 활성이 가장 민감하여 환경스트레스에 대한 지표로 이용되고 있으며 엽록소형광을 분석함으로써 측정할 수 있다¹⁰⁾. 엽록소형광을 이용한 광계II 활성의 연구로는 고온과 저온¹¹⁾, 과도한 빛 에너지¹²⁾, 낮은 수분 포텐셜¹³⁾, 일주기와 계절적 변화¹⁴⁾, 병원균의 감염¹⁵⁾ 등이 있다.

따라서 본 연구에서는 수생식물이면서 전 세계적으로 널리 분포하고 있는 쭈개구리밥, 생이가래, 은

행이끼, 수련, 부들 등 5종의 수생식물을 대상으로 카드뮴에 대한 엽록소형광 이미지와 O-J-I-P 분석을 통해 수생식물의 환경 적응성을 알아보고 환경지표로서의 활용가능성을 살펴보았다.

2. 재료 및 방법

2.1. 식물재료

쭈개구리밥(*Lemna paucicostata*), 생이가래(*Salvinia natans*), 은행이끼(*Ricciocarpus natans*), 수련(*Nymphaea tetragona*), 부들(*Typha orientalis*) 등 5종의 수생식물을 대상으로 실험을 수행하였다.

2.2. 배지제조 및 배양

수생식물을 배양하기 위한 배양액은 Chollet¹⁶⁾의 방법에 의해 조제한 후, 멸균 소독하기 이전에 pH를 6.5로 조정하여 사용하였다. 배지는 KNO₃ (202 mg/L), KH₂PO₄ (50.3 mg/L), K₂HPO₄ (27.8 mg/L), K₂SO₄ (17.4 mg/L), MgSO₄·7H₂O (49.6 mg/L), CaCl₂·2H₂O (11.1 mg/L), FeSO₄·7H₂O (6 mg/L), H₃BO₃ (5.72 mg/L), MnCl₂·4H₂O (2.82 mg/L), ZnSO₄·7H₂O (0.6 mg/L), (NH₄)MoO₄·4H₂O (0.043 mg/L), CuCl₂·2H₂O (0.078 mg/L), CoCl₂·6H₂O (0.054 mg/L) 등을 포함하고 있다. 배양은 25±1°C, 50 μmole/m²/sec의 14시간 광주기 하에서 배양하였으며, 2주 간격으로 계대 배양하였다.

2.3. 카드뮴 처리

식물체에 카드뮴 처리는 배양액에 카드뮴의 농도 (0, 10, 50, 100 μM)를 달리하여 처리한 후 25±1°C, 50 μmole/m²/sec의 14시간 광주기 하에서 5일간 배양하였다. 항온기에서 배양중인 쭈개구리밥, 생이가래, 은행이끼는 엽색이 균일한 상태의 식물체를 선별하여 실험재료로 사용하였다. 수련은 성숙한 잎으로부터 지름이 1.5 cm인 잎 disk를 만들어서 사용하였으며, 부들은 성숙한 잎을 일정한 길이로 잘라 사용하였다.

2.4. 광합성효율 분석

2.4.1. 형광이미지분석

형광이미지분석은 Nedbal 등¹⁷⁾의 방법에 따라 Imaging Fluorometer (FluorCam 700MF, Photon System Instruments, Czech)를 이용하여 측정하였다. 즉, 15

분간 광을 차단하여 암적응시킨 식물의 앞에 1,500 $\mu\text{mole/m}^2/\text{sec}$ 의 saturation light와 100 $\mu\text{mole/m}^2/\text{sec}$ 의 actinic light를 조사하고 quenching analysis에 의해 유도하였다. 형광이미지는 saturation light를 켜고 후 1,000 ms와 3,960 ms에서 방출되는 형광을 CCD 카메라로 포획하여 각각 F_0 와 F_m 의 형광이미지로 나타내었으며, 이로부터 F_v/F_m 의 형광이미지를 산출하여 제시하였다.

2.4.2. O-J-I-P분석 및 엽록소형광변수 산출

O-J-I-P 곡선은 Plant Efficiency Analyzer (PEA; Hansatech Instrument Ltd., UK)를 이용하여 10회 반복하여 측정하였다¹⁸⁾. 즉, 15분간 광을 차단하여 암적응시킨 식물의 앞에 1,500 $\mu\text{mole/m}^2/\text{sec}$ 의 광량을 1초간 조사하여 유도하였다. Time scale은 10 μs 에서 1 s의 범위로 설정하고, 10 μs 에서 2 ms까지는 1 μs 단위로, 2 ms에서 1 s까지는 1 ms 단위로 인식하도록 설정하고, 50 μs (O-단계), 2 ms (J-단계), 30 ms

(I-단계), 300 ms (P-단계)에서 엽록소형광 밀도를 분석하였다¹⁹⁾. O-J-I-P 곡선의 분석으로 8개의 기본적인 형광변수(F_0 , F_m , F_v/F_0 , V_i , V_i , M_o , S_m , N)들을 제시하였으며, 이를 토대로 다시 구조적 변수(structural parameters: RC/CS , Φ_{PO} , Ψ_o , Φ_{EO} 등)와 기능적 변수(functional parameters: ABS/RC , TRo/RC , ETo/RC , ABS/CS , TRo/CS , ETo/CS 등)들을 산출하여 제시하였다(Table 1).

3. 결과 및 고찰

3.1. 카드뮴 스트레스에 의한 수생식물 5종의 형광이미지의 변화

환경스트레스에 대한 식물의 반응을 정확하고 간편하게 측정할 수 있는 방법으로는 엽록소형광 분석, 엽록소형광 이미지 분석, 잎의 반사율 이미지 분석, 그리고 열이미지 분석 등이 있으며, 이들 분석 방법을 통해 환경스트레스에 의한 식물의 광합성효

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

Abbreviation	Description
F_0	Initial fluorescence in dark adapted tissue
F_m	Maximum fluorescence in dark adapted tissue
F_v/F_0	Ratio of photochemical and non-photochemical de-excitation fluxes of excited chlorophyll
V_t	Relative variable fluorescence at time t
M_o	Slope at the beginning of the transient $F_0 \rightarrow F_m$, 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
TRo/RC	Trapping of electrons per active reaction center
ETo/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
TRo/CS	Trapping of electrons per cross section
ETo/CS	Electron flux per cross section
SFI_{PO}	Responds to structural and functional PS II events leading to electron transport within photosynthesis
PI_{PO}	Ratio of the two structure functional indexes (SFI_{PO} and SFI_{NO})
K_n	Non-photochemical de-excitation fluxes
K_p	Photochemical de-excitation fluxes

을, 구조적인 변화, 수분상태 등을 분석할 수 있어, 환경스트레스에 대한 식물의 생리적 상태를 조기에 진단할 수 있다²⁰⁻²². 본 연구에서는 엽록소형광 분석과 형광이미지 분석을 통해 카드뮴 스트레스 하에서 식물의 내성 여부와 생리적 특성을 파악하기 위해 잠개구리밥, 생이가래, 은행이끼, 수련, 부들 등 5종의 수생식물을 대상으로 카드뮴(Cd^{2+})의 농도를 달리하여 처리하고 5일 동안 배양하면서 Fv/Fm 형광이미지와 PS II의 광화학적 효율을 분석하였다 (Fig. 1과 2).

배양 5일 후 5종의 수생식물을 대상으로 Fv/Fm 형광이미지를 분석한 결과, 카드뮴에 민감한 종은 잠개구리밥, 생이가래, 은행이끼, 부들 순이며 수련은 다른 종에 비해 덜 민감한 것으로 조사되었다 (Fig. 1). 즉, 5종의 수생식물 모두 10 μM 카드뮴에서는 Fv/Fm 형광이미지가 대조구와 큰 차이를 보이지 않았으며, 빛을 쬐어주었을 때 방출되는 형광이 많아 적색의 이미지로 나타났다. 그러나 50 μM 이상의 농도에서는 종에 따라 다소의 차이는 있지만 방출되는 형광이 적어 적색 이미지에서 전반적으로 녹색 또는 파란색 이미지로 변화를 감지할 수 있다. 특히 잠개구리밥은 50 μM 이상의 카드뮴 농도에서

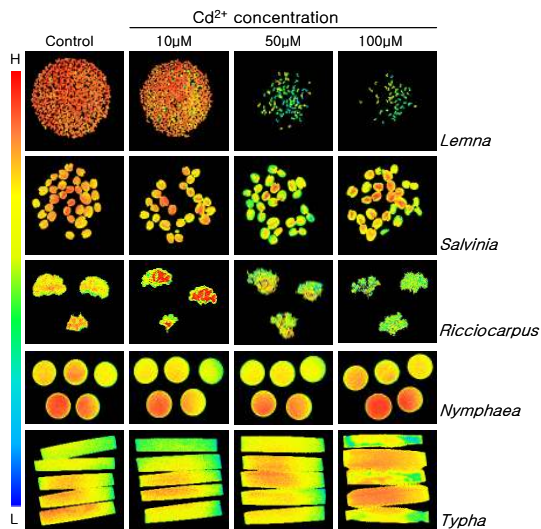


Fig. 1. Chlorophyll fluorescence imaging of five plants under cadmium stress. Plants and leaf segments were treated with 0~100 μM cadmium, and the images were taken at 5 days after the cadmium treatment.

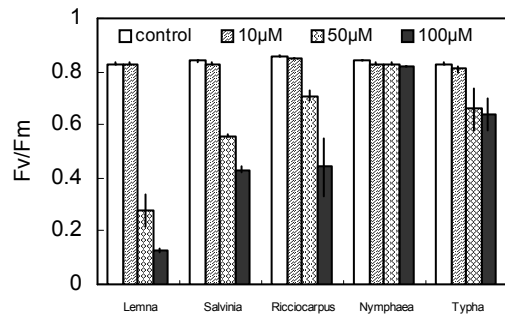


Fig. 2. Photochemical efficiencies of PS II (Fv/Fm) of 5 hydrophytic plant species under cadmium stress. Plant samples were treated with 0~100 μM cadmium at 5 days after the cadmium treatment.

형광이미지가 전체적으로 파란색을 띄고 있어 식물이 스트레스를 받고 있음을 알 수 있다. 이는 카드뮴이 식물의 잎조직에 영향을 미쳐 반응중심을 포함한 모든 엽록소분자들의 빛 흡수용량을 감소시킨 결과로 볼 수 있으며, 종에 따라 그 영향이 다른 것으로 보인다. 이처럼 엽록소를 포함하고 있는 모든 식물들은 빛을 쬐어주었을 때 붉은 형광을 방출한다. 따라서 엽록소형광은 비파괴적으로 광합성과정의 생리적 또는 구조적 변화를 조사하는데 이용될 수 있다²³.

광계 II의 광화학적 효율, 즉 Fv/Fm의 변화로 살펴본 5종 수생식물의 카드뮴 민감도는 잠개구리밥이 카드뮴의 농도가 높아질수록 가장 민감하게 반응하는 것으로 나타났으며, 수련은 카드뮴 농도에 관계없이 Fv/Fm값의 변화가 없어 카드뮴에 대한 내성을 가지고 있는 것으로 보인다(Fig. 2). 즉, 잠개구리밥은 10 μM 카드뮴에서는 대조구와 차이를 보이지 않아 Fv/Fm값이 0.83으로 높게 나타났으며, 50 μM 과 100 μM 에서는 각각 0.28과 0.13으로 크게 감소하여 카드뮴이 스트레스로 작용하고 있음을 알 수 있다. 그리고, 생이가래도 10 μM 카드뮴에서는 대조구와 차이를 보이지 않아 Fv/Fm값이 0.83~0.84로 높게 나타났으며, 50 μM 이상의 카드뮴에서는 0.56과 0.43으로 그 값이 크게 감소하였음을 확인할 수 있다. 은행이끼와 부들도 50 μM 의 카드뮴에서 Fv/Fm값이 각각 0.71과 0.66으로 감소하여 카드뮴의 영향을 받고 있으나 잠개구리밥과 생이가래에 비해 감소폭은 적었다. 수련은 카드뮴 농도에 관계없이

Fv/Fm값이 0.8 이상의 높은 값을 유지하고 있어 카드뮴에 대한 내성을 가지고 있는 것으로 보인다. 일반적으로 Fv/Fm값이 0.8보다 낮을 때는 광계II의 반응중심이 손상을 입은 상태이거나 비가역적인 불활성상태에 처해있다고 볼 수 있다²⁴⁾. 따라서 좁개구리밥, 생이가래, 은행이끼 등은 50 μM 이상의 카드뮴 농도에서는 Fv/Fm값이 급격하게 감소하여 카드뮴이 광합성효율에 영향을 미침을 알 수 있으며, 수련은 100 μM 의 카드뮴 하에서도 광합성 명반응에 저해를 입지 않은 것으로 생각된다.

일반적으로 카드뮴은 식물 잎의 백화현상, 잎과 뿌리의 세포파괴, 식물의 성장과 조직 크기에 영향을 미치는 것으로 보고되었으며⁸⁾, 본 실험에서도 카드뮴 처리구에서 좁개구리밥, 생이가래, 은행이끼 등은 카드뮴의 농도가 높거나 배양기간이 길어질수록 점차적으로 황백화현상이 나타났다. 그러나 수련의 잎은 카드뮴 농도와 배양기간에 관계없이 그대로 녹색 상태를 유지하고 있어 종에 따라 그 영향이 다른 것으로 보인다. 특히 좁개구리밥은 수생식물중에서도 크기가 작고, 전세계적으로 담수에 광범위하게 분포하고 있을 뿐만 아니라 Fig. 1과 2에서 보는 바와 같이 다른 수생식물에 비해 카드뮴에 민감하게 반응하여 카드뮴 스트레스에 대한 지표식물로서 활용이 가능할 것으로 보인다.

3.2. 카드뮴 스트레스에 의한 좁개구리밥의 엽록소형광의 변화

일정한 배양환경에서 생육하고 있는 좁개구리밥을 대상으로 카드뮴의 농도(0, 10, 50, 100 μM)를 달리하여 처리한 후 Fo, Fm, Fv/Fm 형광이미지의 변화를 살펴보았다(Fig. 3). 그 결과, 10 μM 카드뮴에서는 Fo, Fm, Fv/Fm 형광이미지 모두 대조구와 큰 차이를 보이지 않았으나 50 μM 이상의 농도에서는 빛을 쬐여주었을 때 방출하는 형광이 크게 감소하였으며 전체적으로 파란색을 띄고 있어 식물이 스트레스를 받고 있음을 알 수 있다(Fig. 3). 이는 카드뮴의 독성이 식물의 잎조직에 영향을 미쳐 엽록소를 분해하거나 합성을 저해하여 잎의 황백화 현상을 유도할 뿐만 아니라, 반응중심을 포함한 모든 엽록소분자들의 빛 흡수용량을 감소시킨 결과로 볼 수 있다. Fo는 약한 빛을 쬐여주었을 때 초기 전자수용체인 Q_A 가 산화상태에 있을 때의 형광으로 여기된

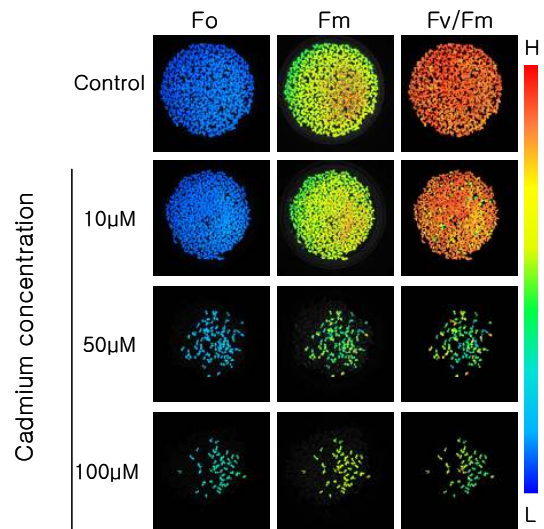


Fig. 3. Chlorophyll fluorescence imaging of *Lemna paucicostata* under cadmium stress. The images were taken at 5 days after the cadmium treatment. Each plant is colored in a relative scale based on the fluorescence intensities of the parameter such as Fo, Fm, and Fv/Fm.

에너지가 광계II 반응중심으로 이동하기 전 광계II 안테나의 여기된 엽록소분자들이 방출하는 값이다. 좁개구리밥의 Fo 형광이미지는 전체적으로 파란색을 나타내고 있는데, 10 μM 카드뮴에서는 대조구와 차이를 보이지 않았으나 카드뮴의 농도가 높아질수록 식물체에 독성으로 작용하여 파란색의 형광을 방출하는 식물 개체가 감소하였으며, 이는 여기된 엽록소분자들의 감소를 의미한다. Fm은 Q_A 가 완전히 환원된 상태의 형광으로 카드뮴의 농도가 높아질수록 Fm 형광이미지는 파란색을 나타내어 방출되는 형광이 낮음을 알 수 있다. 그리고 Fv/Fm 형광이미지는 Fm과 유사한 양상을 나타내어 카드뮴 스트레스에 의한 좁개구리밥의 Fv/Fm의 감소는 Fm의 감소에 기인하였음을 알 수 있다.

일정한 배양환경에서 생육하고 있는 좁개구리밥을 대상으로 카드뮴의 농도(0, 10, 50, 100 μM)를 달리하여 처리한 후 O-J-I-P 곡선의 패턴을 비교하고 이를 토대로 형광변수들을 산출하여 제시하였다(Fig. 4). 여러 카드뮴(Cd^{2+}) 농도에서 좁개구리밥의 O-J-I-P 곡선의 패턴을 나타낸 그래프를 보면, 카드

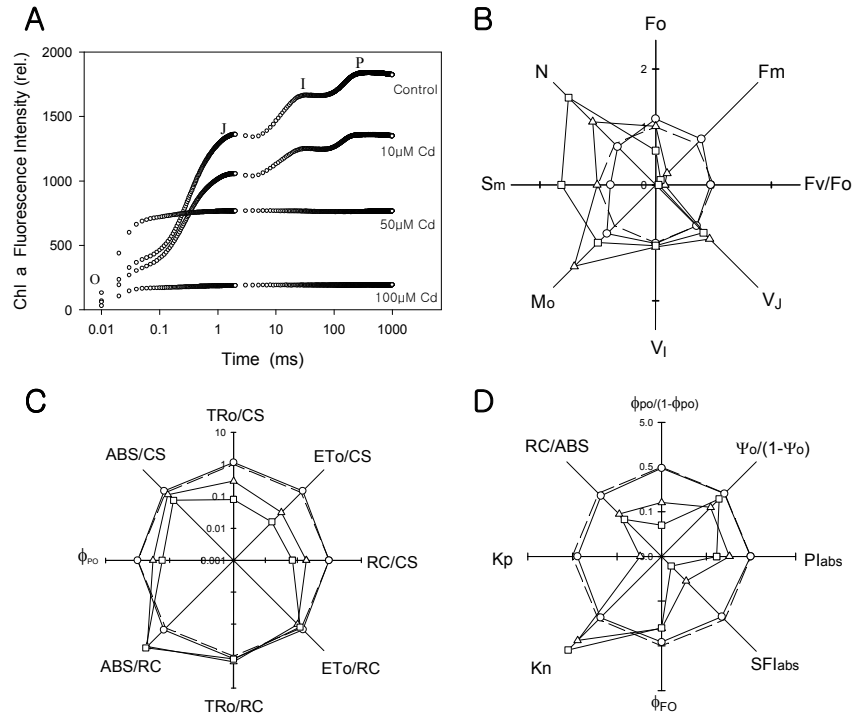


Fig. 4. Chlorophyll fluorescence transients O-J-I-P and spider plots of selected parameters quantifying the behaviour of PS II from leaves of Lemna plants under cadmium stress. (A) fluorescence transients O-J-I-P, (B) Extracted and technical fluorescence parameters, (C) Quantum efficiencies, activities per reaction centre, effective absorption per cross section, and (D) Vitality indexes (structure-function and performance indexes). Control, long dash; 10 μM Cd, circle; 50 μM Cd, triangle; 100 μM Cd, square.

플 농도가 증가할수록 J, I, P값이 크게 감소하고 있으며, 특히 P-단계에서는 형광세기(Fp)가 큰 폭으로 감소하고 있다(Fig. 4A). O-J-I-P 곡선은 암적응된 잎에 빛을 비추어 유도해 낼 수 있는데 크게 3단계로 구분할 수 있다²⁵. 먼저 O (50 μs)와 J (2 ms)로 연결되는 O-J구간은 광계II의 반응중심에서 초기 전자수용체인 QA의 광화학적 환원, 즉 QA·QB의 축적을 의미하며, J (2 ms)와 I (60 ms)로 연결되는 J-I구간은 광계II의 반응중심에서 QA·QB의 축적을 반영하는 것으로 광계II의 donor 부분(water splitting activity)에 의해 조절되며 형광소멸이 관찰된다. 마지막으로 I (60 ms)와 P (300 ms)로 연결되는 I-P구간에서는 광계II의 반응중심에서 plastoquinone pool (PQ pool)로의 전자전달활성, 즉 QA·QB²의 축적을 의미하며 형광소멸이 관찰된다²⁶. 식물체가 빛, 온도, 건조 또는 화학적 스트레스 등에 의해 영향을 받았을

때, O-J-I-P 곡선의 양상은 변하게 된다. 이는 좁게구리밥이 카드뮴에 의해 광계II 반응중심의 전자수용체 quinone이 환원상태에 있음을 의미하며, 광계II의 광합성효율, 즉 Fv/Fm의 감소를 야기하는 결과를 초래한다. 일반적으로 Fv/Fm값이 0.8보다 낮을 때는 광계II의 반응중심이 손상을 입은 상태이거나 비가역적인 불활성상태에 처해있는 상태라고 볼 수 있는데, 10 μM의 카드뮴 농도에서도 0.5 ms 이후부터 점차적으로 낮아져 전자전달이 억제되었음을 확인할 수 있으며, 50 μM 이상의 카드뮴 농도에서는 0.1 ms 이후부터 Fv/Fm값이 급격하게 감소하여 개구리밥이 카드뮴에 의한 영향을 받고 있음을 알 수 있다.

O-J-I-P 분석을 통해 산출된 형광변수들 중에 Fm, Fv/Fo는 카드뮴 농도가 증가할수록 점차적으로 감소하였고, N과 Mo는 증가하였다(Fig. 4B). Fm은 QA가 완전히 환원된 상태의 형광이며, 스트레스를 받

은 식물에서는 Fm 값이 낮아진다. 카드뮴 처리하에서 좁개구리밥의 Fm 값은 농도가 증가할수록 큰 폭으로 감소하는 것으로 나타나, 카드뮴이 스트레스로 작용을 하고 있음을 알 수 있다. 그리고 카드뮴 농도의 증가에 따라 엽면적 당 광계II 활성을 의미하는 변수들 중 ABS/CS, TRo/CS와 ETo/CS, 반응중심의 상대적 밀도를 의미하는 RC/CS와 초기 광화학적 반응의 최대 수득율을 의미하는 Φ_{po} 는 카드뮴 농도의 증가에 따라 뚜렷하게 감소하였다(Fig. 4C). 또한 활력도를 나타내는 변수들 중에 $\Phi_{po}/(1-\Phi_{po})$, PIabs, SFIabs, Kp, RC/ABS의 5변수는 카드뮴 농도의 증가에 따라 크게 감소하였으나 Kn은 증가하였다(Fig. 4D).

이러한 결과를 토대로 좁개구리밥은 다른 수생식물에 비해 카드뮴에 가장 민감하게 반응하여 환경지표식물로 활용이 가능할 것으로 보인다. 그리고, 스트레스 하에서 뚜렷하게 증가하거나 감소하는 형광변수들을 이용하여 카드뮴 스트레스에 대한 식물의 생리적 상태를 정량적으로 진단할 수 있을 것으로 보인다.

4. 결 론

중금속에 대한 내성을 갖는 식물을 선별하고 중금속 스트레스하에서 수생식물의 생리적 특성을 파악하기 위해 좁개구리밥, 생이가래, 은행이끼, 수련, 부들 등 5종의 수생식물을 대상으로 카드뮴의 농도를 달리하여 처리한 후 시간별로 식물의 광합성 효율을 분석하였다. 그 결과, 좁개구리밥은 카드뮴에 가장 민감하게 반응하였으며, 수련은 다른 식물중에 비해 민감하지 않은 것으로 나타났다. 좁개구리밥은 카드뮴 농도가 증가할수록 정상적인 O-J-I-P 곡선에서 J, I, P의 값이 큰 폭으로 떨어지고 있으며, 이는 카드뮴 농도가 증가할수록 명반응 중심이 손상을 입거나 불활성화 됨으로써 광합성 효율 즉 Fv/Fm의 감소를 일으키기 때문이다. 좁개구리밥에서 카드뮴 농도가 증가할수록 산출된 형광변수들 중에 Fm, Fv/Fo, ABS/CS, TRo/CS와 ETo/CS, RC/CS, Φ_{po} , $\Phi_{po}/(1-\Phi_{po})$, PIabs, SFIabs, Kp, RC/ABS는 점차적으로 감소하였고, N, Mo과 Kn는 증가하였다. 이러한 결과를 토대로 좁개구리밥은 다른 수생식물에 비해 카드뮴에 가장 민감하게 반응하여 환경지표식

물로 활용이 가능할 것으로 보인다. 그리고, 스트레스 하에서 뚜렷하게 증가하거나 감소하는 형광변수들을 이용하여 스트레스에 대한 식물의 생리적 상태를 정량적으로 진단할 수 있을 것으로 보인다.

감사의 글

이 논문은 2003년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었으며(R03-2003-000-10029-0), 이에 진심으로 감사드립니다.

참 고 문 헌

- 1) Nriagu J. O. and J. M. Pacyna, 1988, Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals, *Nature*, 333, 134-139.
- 2) Maleva M. G., G. F. Nekrasova and V. S. Bezel, 2004, The response of hydrophytes to environmental pollution with heavy Metals, *Russian J. Ecol.*, 35(4), 230-235.
- 3) Benavides M. P., S. M. Gallego and M. L. Tomaro, 2005, Cadmium toxicity in plants, *Braz. J. Plant Physiol.*, 17(1), 21-34.
- 4) John R., P. Ahmad, K. Gadgil and S. Sharma, 2009, Heavy metal toxicity: Effect on plant growth, biochemical parameters and metal accumulation by *Brassica juncea* L., *Int. J. Plant Production*, 3(3), 65-76.
- 5) Kahle H., 1993, Response of roots of trees to heavy metals, *Environ. Exp. Bot.*, 33(1), 99-119.
- 6) Prasad M. N. V., 1995, Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants, *Environ. Exp. Bot.*, 35(4), 525-545.
- 7) Vögeli-Lange R. and G. J. Wagner, 1990, Subcellular localization of cadmium and cadmium-binding peptides in tobacco leaves, *Plant Physiol.*, 92(4), 1086-1093.
- 8) Baryl A., P. Carrier, F. Franck, C. Coulomb, C. Sahut and M. Havaux, 2001, Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. *Planta*, 212, 696-709.
- 9) Sandalio L. M., H. C. Dalurzo, M. Gomez, M. C. Romero-Puertas and L. A. del Rio, 2001, Cadmium induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants, *J. Exp. Bot.*, 52, 2115-2126.
- 10) Baker N. R., 1991, A possible role for photosystem II in environmental perturbations of photosynthesis, *Physiol. Plant.*, 81, 563-570.
- 11) Lang M., H. K. Lichtenthaler, M. Sowinska, F. Heisel

- and J. A. Miehé, 1996, Fluorescence imaging of water and temperature stress in plant leaves, *J. Plant Physiol.*, 148, 613-621.
- 12) Gilmore A. M. and Govindjee, 1999, How higher plants respond to excess light: Energy dissipation in photosystem II, *In*: Singhal G. S., Renger G., Irrgang K. D., Govindjee (ed.), *Concepts in photobiology: Photosynthesis and Photo-morphogenesis*, New Delhi, India, 513-548.
 - 13) Osmond C. B., D. Kramer and U. Lüttge, 1999, Reversible, water stress induced non-uniform chlorophyll fluorescence quenching in wilting leaves of *Potentilla reptans* may not be due to patchy stomatal responses, *Plant Biol.*, 1, 618-624.
 - 14) 오순자, 고석찬, 2004, 겨울철 자연환경에 노출된 문주란 잎의 엽록소형광과 항산화효소 활성에 관한 연구, *한국환경생물학회지*, 22(1), 233-241.
 - 15) Guidi L., S. Mori, E. Degl'Innocenti and S. Pecchia, 2007, Effects of ozone exposure or fungal pathogen on white lupin leaves as determined by imaging of chlorophyll a fluorescence, *Plant Physiol. Biochem.*, 45, 851-857.
 - 16) Chollet R., 1993, Screening inhibitors (antimetabolites) of the biosynthesis or function of amino acids or vitamins with Lemna assay, *In* Böger P., Sandmann G. (ed.), *Target assay of modern herbicides and related phytotoxicity compounds*, Lewis, London, UK, 143-149.
 - 17) Nedbal L., J. Soukupová, J. Whitmarsh and M. Trtílek, 2000, Postharvest imaging of chlorophyll fluorescence from lemons can be used to predict fruit quality, *Photosynthetica*, 38(4), 571-579.
 - 18) Strasser B. J. and R. J. Strasser, 1995, Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP test. *In* Mathis P. (ed.), *Photosynthesis: From Light to Biosphere*, Kluwer Academic, Dordrecht, 977-980.
 - 19) Srivastava A., B. Guissé, H. Greppin and R. J. Strasser, 1997, Regulation of antenna structure and electron transport in PSII of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll a fluorescence transient: OKJIP, *Biochem. Biophys. Acta.*, 1320, 95-106.
 - 20) Nilsson H. E., 1995, Remote sensing and image analysis in plant pathology, *Ann. Rev. Phytopathol.*, 33, 489-527.
 - 21) Peuelas J. and I. Filella, 1998, Visible and near-infrared reflectance techniques for diagnosing plant physiological status, *Trends Plant Sci.*, 3, 151-156.
 - 22) Lichtenthaler H. K. and J. A. Miehé, 1997, Fluorescence imaging as a diagnostic tool for plant stress, *Trends Plant Sci.*, 2, 316-320.
 - 23) Krause G. H. and E. Weiss, 1991, Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 42, 313-349.
 - 24) Bolhar-Nordenkamp H. R., S. P. Long, N. R. Baker, G. Öquist, U. Schreiber and E. G. Lechner, 1989, Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation, *Functional Ecol.*, 3(4), 497-514.
 - 25) Strasser R. J. and Govindjee, 1992, The Fo and the O-J-I-P fluorescence rise in higher plants and algae, *In* Argyroudi-Akoyunoglou J. H. (ed.), *Regulation of Chloroplast Biogenesis*, Plenum Press, New York, 423-426.
 - 26) Stürbet A., Govindjee, B. J. Strasser and R. J. Strasser, 1998, Chlorophyll a fluorescence induction in higher plants: Modelling and numerical simulation, *J. Theor. Biol.*, 193, 131-151.