

NaCl 처리에 따른 멀꿀과 다정큼나무의 내염성 평가

최수민¹ · 신현철¹ · 김인혜² · 허근영^{2*} · 김대일³

¹국립산림과학원 남부산림자원연구소, ²경남과학기술대학교 조경학과, ³충북대학교 원예학과

Salt Tolerance Assessment with NaCl of *Stauntonia hexaphylla* (Thunb.) Decene. and *Raphiolepis indica* var. *umbellata* (Thunb.) Ohashi

Su Min Choi¹, Hyeon Cheol Shin¹, Inhea Kim², Keun Young Huh^{2*}, and Daeil Kim³

¹Southern Forest Resource Research Center, Korea Forest Research Institute, Jinju 660-300, Korea

²Department of Landscape Architecture, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 660-758, Korea

³Department of Horticultural Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Abstract. *Stauntonia hexaphylla* and *Raphiolepis indica*, cold-tolerant broadleaved evergreens ranging through the southern region of South Korea, were assessed on salt tolerance with NaCl treatment using visual damage, chlorophyll fluorescence image, and malondialdehyde (MDA) analysis. As NaCl concentrations increased, the soil pH decreased and EC increased, and the soil of *S. hexaphylla* was affected more strongly by the treatment than that of *R. indica*. In visual damage, *S. hexaphylla* withered above 200 mM NaCl at 20 days after the treatment. All individuals of *R. indica* survived during the experiment though the leaves of *R. indica* showed visual damages up to 400 mM NaCl. The color changes in chlorophyll fluorescence showed a strong correlation with the degree of visual damage. As NaCl increased, the red color of the leaves of *S. hexaphylla* was distinctly changed to blue and chlorophyll fluorescence decreased starting from the margin to the middle of a leaf. *R. indica* showed subtle color changes and remained in red color during the experiment. At five days after the NaCl treatment, the MDA of *S. hexaphylla* was above $4.56 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ when plants showed the highest visual damage and EC. The MDA of *R. indica* in all treatments showed below $1.5 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ except 400 mM NaCl treatment during the experiment.

Additional key words: chlorophyll fluorescence image, F_v/F_m , MDA concentration, visual damage

서 언

서남해안지역 임해매립지 등에서 관상수 또는 조경수 이 식 시 고사의 주요한 원인은 내염성, 양분요구도 등과 관련된 것으로 알려져 있다(Park, 2008). 도시 가로변 조경수는 겨울철과 이른 봄 적설 시 염화물계 화합물(NaCl, KCl, K_2SO_4 , Na_2SO_4 , MgCl_2)로 이루어진 도로 제설제 살포로 상당한 염해가 우려되고 있다(Sung et al., 2010). 국내에서 염분이 수목에 미치는 영향에 대한 그 동안의 연구는 임해매립지 등에 묘목을 식재하여 성장량과 생존율, 토양의 변화를 조사하는 것이 대부분이며, 내염성 수종의 선발에 대한 자료는 상당 부분이 미국, 일본 등의 연구결과에 의존하고 있고, 국

내의 관련 연구는 극히 일부 수준에 불과하다(Kim, 2010b). 뿐만 아니라 내염성에 관한 생리적인 실험은 초본성 작물들에 대한 연구가 대부분이며(Koca et al., 2007; Misra and Gupta, 2005), 최근 국내에서 목본식물의 내염성 연구가 일부 수행되고 있으나 아직 미흡한 실정이다(Kim, 2007, 2010a; Park, 2008; Yeo et al., 2010).

환경 스트레스에 견디는 식물의 내성 평가는 스트레스 노출 후 나타나는 반응에 따라 생장, 엽록소함량, 광합성속도 등 생리적 피해를 측정할 수 있는 인자들의 피해지수와 항산화 효소 및 항산화 물질 함량과 같은 스트레스를 완화시켜 생리적 피해를 방지하는데 관여하는 인자들의 내성지수로 결정할 수 있다(Han, 2011). 식물은 과다한 염에 노출되

*Corresponding author: sumoto@gntech.ac.kr

※ Received 14 March 2013; Revised 11 April 2013; Accepted 12 April 2013.

© 2013 Korean Society for Horticultural Science

면 수분결핍 현상을 초래하거나 특정 이온(Na^+ , Cl^- , Mg^{2+} 등)의 과다축적에 의해 세포 내 이온의 불균형으로 결핍현상이 일어나며, 팽압 감소로 기공폐쇄가 일어나 CO_2 고정을 억제하고 이로 인해 수분과 이온의 불균형이 생겨 수분부족, 엽록소 감소, 효소 활성 저하로 동화작용이 저해되며, 탄수화물 생성이 감소된다(Bernstein, 1975). 엽록소는 빛 에너지를 흡수하게 되면 분자가 들뜬 상태가 되고 안정된 상태의 바닥상태로 되돌리는 과정에서 붉은 빛의 형광 상태로 광자를 방출하게 되는데, 엽록소 형광방출은 빛을 흡수하는 광계의 기능뿐만 아니라 광합성 전체의 기능과 스트레스에 대한 민감한 지표로 이용할 수 있다(Sung et al., 2010). 엽록소 형광이미지 분석은 비파괴적으로 식물피해가 잎의 어느 부분에서 시작되어 어떻게 진행되었는지, 즉 식물의 생물학적 스트레스에 대한 연구와 식물세포의 손상에서 야기되는 생리적 변화를 규명하는 연구에 폭 넓게 적용되고 있다(Lichtenthaler and Miehe, 1997; Nedbal and Whitmarsh, 2004; Sung et al., 2010). 또한 염해로 인한 광합성, 호흡, 물질대사 등의 생리적 불안정(Alian et al., 2000; Hurkman and Tanaka, 1987)이 진행되는 과정 중에 세포 내 팽압(turgor)이 감소하며 활성산소 발생이 증가하고(Bohnert and Jensen, 1996), 그 과정에서 세포 지질막이 파괴되면서 malondialdehyde (MDA)가 발생되므로 MDA 함량 분석은 식물 스트레스를 정량적으로 평가하기 위해 활용될 수 있다(Hegedüs et al., 2001; Lin and Kao, 2000; Rodriguez et al., 1999).

상록활엽수는 수형이 좋고 활용도가 높아 최근에 관심이 더욱 증가하고 있는데 생육이 빠르고 단위면적당 생산밀도가 높으며 환경오염에 비교적 강한 내성을 가짐으로 난·온대림지역에서 관상수 또는 조경수로서 수요가 증가할 것이다(Kang, 2010). 본 연구는 상록활엽 조경소재 연구개발의 일환으로써, 기후변화에 대응하여 내한성이 우수한 남부지역 상록활엽수 중에서 멸꿀과 다정큼나무를 선발하여 내염성을 평가하고자 하였다. 내염성 평가는 토양분석을 포함하여 가시적 피해, 엽록소 형광이미지 분석을 통한 피해분석과 MDA(malondialdehyde) 농도 분석을 통한 내성분석으로 구분하여 수행하였다. 멸꿀은 남부해안지역에서 자생하는 으름덩굴과 상록덩굴식물(Ikuta, 1989)로 잎은 남부지역에서 월동이 가능하고 육질이 두꺼우며 관상가치가 높아 정원용, 피콜라용 등으로 이용하고 있어 묘목 생산이 증가하고 있다(Park, 2008). 다정큼나무는 장미과에 속하는 상록활엽 관목으로 옥상녹화 및 생활타리용 정원용 등으로 이용되며 전국 각지에 분포하나 바닷가의 산록은 해변의 산기슭 양지 쪽 해발 700m 이하 지역에서 자생하고 있다(Kim and Park, 1998).

식물재료 및 NaCl 처리

2011년 4월에 진주에 위치한 남부산림자원연구소 가좌묘포장에 파종한 2년생 멸꿀(*Stauntonia hexaphylla*(Thunb.) Decne.)과 다정큼나무(*Raphiolepis indica* var. *umbellata* (Thunb.) Ohashi) 중에서 생육이 양호하고 균일한 묘목을 선발하였고, NaCl 처리 전, 두 수종의 묘목 규격은 Table 1과 같았다. 묘목은 마사토(모래 98%, 미사 2%)를 담은 15cm 화분으로 2012년 7월에 이식되었고 유리온실에서 2012년 9월 실험 시작 전까지 활착을 유도하며 순화재배하였다. 실험구는 남부산림자원연구소 묘포장에 설치한 비닐하우스에서 각 처리구별 3개체씩 3반복으로 완전임의 배치하여 조성되었고, NaCl 처리는 바닷물의 염분농도에 해당되는 최고농도인 400mM을 기준으로 0, 50, 100, 200, 400mM의 5단계로 구분하여 9월 21일부터 10월 17일까지 포트 당 100mL씩 3일 간격으로 총 10회 관수하였다(Lee et al., 1999). 실험 중 토양의 pH와 EC(electrical conductivity) 변화는 NaCl 처리 후 0일, 5일, 20일, 30일이 경과한 시점에서 각 처리구에서 토양을 3반복으로 채취하여 그늘에서 건조시킨 후 각각 5g을 취하여 증류수 25mL과 함께 교반기(SI-900R, Jeio Tech, Korea)에서 분당 120rpm으로 24시간 진탕 추출하여 분석하였다. 실험 기간 중 비닐하우스 내부의 온도와 습도는 온습도계(HOBO Pro V2 U23-002, Onset, USA)를 이용하여 2시간 간격으로 측정하였고, 9월 평균온도와 평균습도는 각각 $22.3 \pm 6.4^\circ\text{C}$ 와 $85.3 \pm 17.3\%$, 10월 평균온도와 평균습도는 각각 $17.4 \pm 10.1^\circ\text{C}$ 와 $75.3 \pm 21.3\%$ 로 나타났다(Fig. 1).

Table 1. Mean height and root collar diameter of *S. hexaphylla* and *R. indica* at different NaCl treatment plots at the beginning of experiments.

Species	NaCl (mM)	Height (cm)	Root collar diameter (mm)
<i>S. hexaphylla</i>	0	11.0 ± 2.5^z	2.9 ± 0.8
	50	8.6 ± 3.1	3.1 ± 0.4
	100	9.4 ± 2.6	2.9 ± 0.4
	200	9.8 ± 1.6	2.6 ± 0.4
	400	9.0 ± 2.5	2.8 ± 0.4
<i>R. indica</i>	0	11.9 ± 5.1	2.9 ± 1.3
	50	8.8 ± 4.1	2.1 ± 0.9
	100	6.8 ± 3.5	1.6 ± 0.8
	200	6.7 ± 3.2	1.6 ± 0.8
	400	6.3 ± 3.0	1.5 ± 0.7

^zValues are means \pm SD of nine replications.

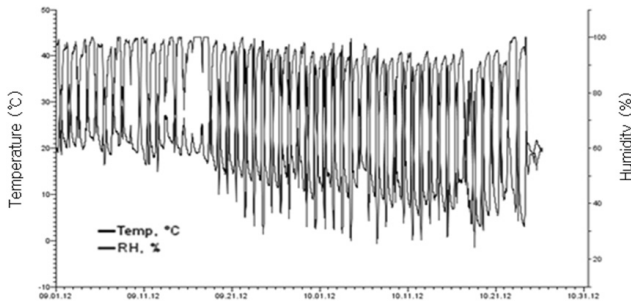


Fig. 1. Daily temperature and relative humidity changes during experiments in the plastic house located in Jinju.

내염성 평가방법

가시적 피해

먼저 잎의 황화현상(chlorosis)과 고사(blight) 정도를 기준으로 하여 시각적도를 5점으로 구분하였는데, 1점은 피해가 없거나 10% 미만 피해, 2점은 11-50% 피해, 3점은 51-90% 피해, 4점은 90% 이상 피해, 5점은 전체 잎의 고사로 결정하였다. 그 기준에서 따라서 실험기간 동안 몇 가지 NaCl 농도 처리를 실시하며 각 식물체 내 전체 잎을 대상으로 가시적 피해(visual damage)를 정량하고 분석하였다.

엽록소 형광이미지

NaCl 농도 처리 후 5일, 20일에 각 처리구의 식물체 잎을 대상으로 15분간 암적응 시킨 후, CCD(Charge-Coupled Device) 카메라와 비디오보드를 엽록소 형광측정에 적합한 Portable HandyCam(FluorCam, Photon System Instruments Ltd., Brno, Czech Republic)을 이용하여 엽록소 형광 반응을 이미지화 하였다. 이 때 실험오차를 최소화하기 위해서 렌즈 주변에 고정클립을 설치하여 측정 시 빛을 차단하였으며, 렌즈와 잎 표면이 일정거리를 유지하도록 하였다. 엽록소 형광이미지에 대한 정성 평가와 함께 정량 평가를 위해서 FluorCam 소프트웨어의 F_v/F_m 측정을 위한 프로토콜 템플릿을 이용하여(10s pulses intensity 약 $0.003 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) 낮은 광에서 최초 측정되는 값을 F_0 로 설정하고 그 후 지속적인 actinic saturating light(aprox. $2000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)로 측정되는 최고 형광 값 F_m 을 설정하여 F_m 에서 F_0 를 빼준 값으로써 $F_v(=F_m - F_0)$ 를 산출하였다.

MDA 농도 분석

NaCl 용액을 처리하고 0일, 5일, 10일, 20일, 30일이 경과한 시점에서 각 처리구에서 3반복으로 식물체 잎을 채취하여 Heath and Pacher(1968)의 방법에 준하여 MDA 농도로 분석하였다. 생체시료 0.2g을 5mL의 5% trichloroacetic acid (TCA) 용매에 균질화한 후 4°C에서 20분간 원심분리(5810R,

Eppendorf, Germany)한 후에 2mL의 상등액에 2mL의 0.6% thiobarbituric acid(TBA) 용매를 첨가한 뒤 15분 동안 80°C 항온수조에 끓여서 추출 용매를 다시 4°C에 10분 원심분리한 후 분광광도계(UV-1800, Shimadzu, Japan)로 450, 532, 600nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 MDA 농도를 산출하였다. $\text{MDA}(\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}) = 6.45 \times (A_{532} - A_{600}) - 0.56 \times A_{450}$

분석

수집된 데이터는 SPSS(SPSS Inc., 2003)를 활용하여 먼저 몇 가지 NaCl 농도 처리와 처리일수에 따른 토양 내 pH 및 EC의 변화에 대하여 이원배치 분산분석(two-way ANOVA)을 실시하였고, 가시적 피해 및 MDA 농도 분석은 Duncan's multiple range test로 5% 유의수준에서 평균간 비교를 실시하였다. 엽록소 형광이미지 분석은 먼저 이미지 자체에 대하여 정성 분석을 실시하며 F_v/F_m 산출값으로 정량 분석을 실시하였다.

결과 및 고찰

토양 염 집적 및 시각적 피해

멸꼴과 다정큼나무가 생육 중인 토양에서 몇 가지 NaCl 농도 처리에 따른 pH의 변화를 5일, 20일, 30일이 경과한 시점에서 분석한 결과는 Table 2와 같았으며, NaCl 농도 및 처리일수에 대한 pH 변화의 이원배치 분산분석을 통한 유의성 분석 결과는 Table 3과 같다. 멸꼴과 다정큼나무가 생육 중인 토양은 NaCl 농도가 높아지고 처리일수가 증가할수록 pH가 감소하였으며, NaCl 농도, 처리일수, 두 변수들의 상호작용 모두는 매우 유의성 있는 변수들로 나타났다. 동일한 NaCl 농도에서 pH의 감소 경향은 멸꼴이 생육 중인 토양에서 더욱 뚜렷하게 나타났으며, 특히 400mM NaCl 농도 처리 후 30일에서 pH는 6.59로 가장 낮은 값을 나타냈다. 다정큼나무가 생육 중인 토양의 pH는 상대적으로 변화의 폭이 적었다.

EC는 전반적으로 NaCl 농도가 높아지고 처리일수가 증가할수록 멸꼴과 다정큼나무가 생육 중인 토양에서 높아지는 결과를 나타냈고(Table 4), NaCl 농도, 처리일수, 두 변수들의 상호작용 모두는 매우 유의성 있는 변수들로 나타났다(Table 5). 이것은 NaCl 농도가 높아질수록 토양 내에 축적되는 염의 증가로 인해 EC가 증가했다는 Maggio et al.(2004), Park(2005, 2008)의 결과와 일관성이 있다. 멸꼴이 생육 중인 토양은 처리 후 20일에 100mM, 200mM, 400mM NaCl 농도 처리구에서 $2 \text{ds} \cdot \text{m}^{-1}$ 이상을 나타냈으며 잎이 모두 고사하는 현상을 나타냈다. 다정큼나무가 생육 중인 토양은 $3 \text{ds} \cdot \text{m}^{-1}$ 이상이 되는 400mM NaCl 농도 처리구에서 일부 잎의 피해만을 나타냈다.

Table 2. Soil pH changes according to NaCl concentrations and treatment days in the experimental plots.

Species	NaCl (mM)	Soil pH		
		5 days	20 days	30 days
<i>S. hexaphylla</i>	0	7.44 ± 0.23 ²	7.43 ± 0.16	7.29 ± 0.05
	50	7.32 ± 0.13	7.27 ± 0.07	6.89 ± 0.04
	100	7.19 ± 0.02	7.04 ± 0.09	6.65 ± 0.21
	200	7.05 ± 0.08	7.03 ± 0.08	6.82 ± 0.03
	400	7.09 ± 0.07	6.93 ± 0.21	6.59 ± 0.13
<i>R. indica</i>	0	7.09 ± 0.03	7.37 ± 0.15	6.96 ± 0.14
	50	7.48 ± 0.18	6.77 ± 0.09	7.03 ± 0.06
	100	7.53 ± 0.10	6.87 ± 0.22	6.90 ± 0.11
	200	7.24 ± 0.10	6.87 ± 0.09	6.91 ± 0.09
	400	7.16 ± 0.31	6.88 ± 0.13	7.27 ± 0.27

²Values are means ± SD of three replications.

Table 3. Two-way ANOVA test of soil pH changes according to NaCl concentrations and treatment days in the experimental plots.

Species	Dependent variable	Independent variable	SS	MS	F-value	P-value
<i>S. hexaphylla</i>	pH	Treatment days × concentration	0.381	0.048	2.971	0.006
		Treatment days	2.313	1.156	72.130	0.000
		Concentration	3.090	0.772	48.180	0.000
		R ² = 0.828				
<i>R. indica</i>	pH	Treatment days × concentration	2.359	0.295	13.896	0.000
		Treatment days	1.826	0.913	43.04	0.000
		Concentration	1.146	0.286	13.499	0.000
		R ² = 0.770				

Table 4. Soil EC changes according to NaCl concentrations and treatment days in the experimental plots.

Species	NaCl (mM)	Soil EC (ds·m ⁻¹)		
		5 days	20 days	30 days
<i>S. hexaphylla</i>	0	0.06 ± 0.01 ²	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01
	50	0.50 ± 0.02	1.21 ± 0.22	0.77 ± 0.15
	100	1.08 ± 0.16	2.60 ± 0.97	2.03 ± 0.46
	200	2.31 ± 0.52	3.57 ± 0.65	3.14 ± 0.36
	400	2.60 ± 0.03	6.79 ± 0.33	4.79 ± 0.86
<i>R. indica</i>	0	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.02	0.03 ± 0.00
	50	0.55 ± 0.02	1.00 ± 0.06	0.76 ± 0.13
	100	0.79 ± 0.21	2.44 ± 0.73	1.59 ± 0.51
	200	1.80 ± 0.16	2.86 ± 0.42	2.85 ± 0.89
	400	3.66 ± 0.10	3.56 ± 0.35	3.10 ± 0.45

²Values are means ± SD of three replications.

Table 5. Two-way ANOVA test of soil EC changes according to NaCl concentrations and treatment days in the experimental plots.

Species	Dependent variable	Independent variable	SS	MS	F-value	P-value
<i>S. hexaphylla</i>	EC	Treatment days × concentration	29.672	3.709	19.665	0.000
		Treatment days	37.002	18.501	98.092	0.000
		Concentration	237.993	59.498	315.459	0.000
		R ² = 0.932				
<i>R. indica</i>	EC	Treatment days × concentration	7.704	0.963	6.966	0.000
		Treatment days	4.728	2.364	17.102	0.000
		Concentration	130.219	32.555	235.490	0.000
		R ² = 0.956				

가시적인 피해 변화를 분석한 결과에서 멀푼은 처리 후 3일에 200mM, 400mM NaCl 농도 처리구에서 잎 끝부분이 갈변하기 시작하면서 잎이 말리는 피해증상을 보였다(Table 6). 특히, 400mM NaCl 농도 처리구에서는 잎의 90% 이상이 피해증상을 보였고, 9일 이후에는 피해 정도가 증가하였

며, 처리 후 15일 이후에는 400mM NaCl 농도 처리구에서 모든 잎이 고사하였다. 처리 후 21일에는 대조구와 50mM NaCl 농도 처리구를 제외한 3가지 처리구에서 모든 잎이 고사하였다. 이것은 생육 중인 토양 내 염 농도가 증가하면 잎 내 Na^+ 가 축적되고 수분의 함량이 감소되면서 잎의 위조, 황

Table 6. Visual damage of *S. hexaphylla* and *R. indica* at different NaCl concentrations and treatment days.

Species	NaCl (mM)	Visual damage				
		3 days	9 days	15 days	21 days	27 days
<i>S. hexaphylla</i>	0	1.11 ± 0.33 c ^z	1.11 ± 0.33 c	1.33 ± 1.00 c	1.67 ± 1.32 c	1.78 ± 1.30 b
	50	1.00 ± 0.00 c	1.11 ± 0.33 c	1.89 ± 0.93 c	3.67 ± 0.87 b	4.33 ± 1.00 a
	100	1.67 ± 0.71 bc	2.11 ± 0.93 b	3.78 ± 1.09 b	5.00 ± 0.00 a	5.00 ± 0.00 a
	200	2.11 ± 1.17 b	2.78 ± 1.39 b	4.44 ± 0.88 ab	5.00 ± 0.00 a	5.00 ± 0.00 a
	400	3.78 ± 0.83 a	4.11 ± 0.33 a	5.00 ± 0.00 a	5.00 ± 0.00 a	5.00 ± 0.00 a
<i>R. indica</i>	0	1.00 ± 0.00 b	1.00 ± 0.00 b	1.00 ± 0.00 b	1.00 ± 0.00 c	1.11 ± 0.33 b
	50	1.11 ± 0.33 ab	1.11 ± 0.33 b	1.22 ± 0.44 b	1.78 ± 0.44 b	2.00 ± 0.71 b
	100	1.33 ± 0.50 ab	1.33 ± 0.50 b	1.44 ± 0.53 b	1.56 ± 0.53 bc	1.78 ± 0.83 b
	200	1.33 ± 0.50 b	1.33 ± 0.50 b	1.33 ± 0.50 b	1.67 ± 0.87 bc	2.00 ± 1.32 b
	400	1.56 ± 0.73 a	1.89 ± 0.60 a	2.11 ± 0.93 a	3.00 ± 1.00 a	3.89 ± 1.05 a

^zValues are means ± SE of nine replications. Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

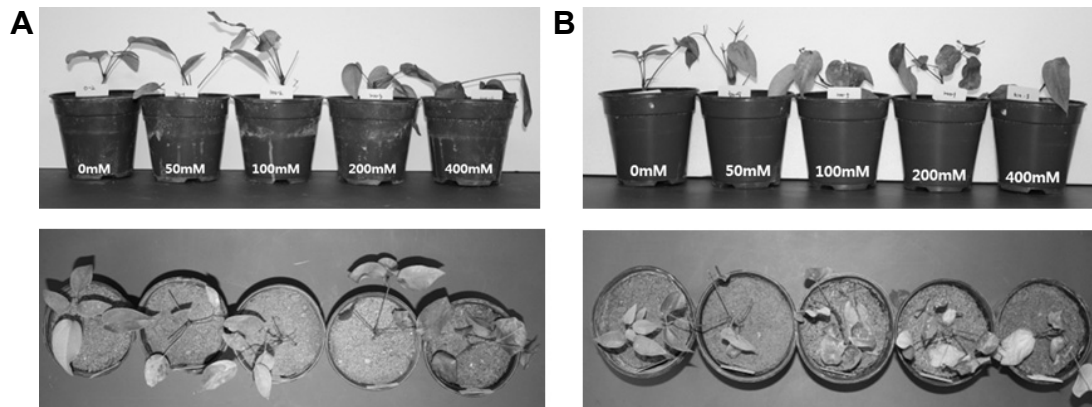


Fig. 2. Visual damages of *S. hexaphylla* at in different NaCl concentrations at 12 days (A) and 30 days (B) after treatment.

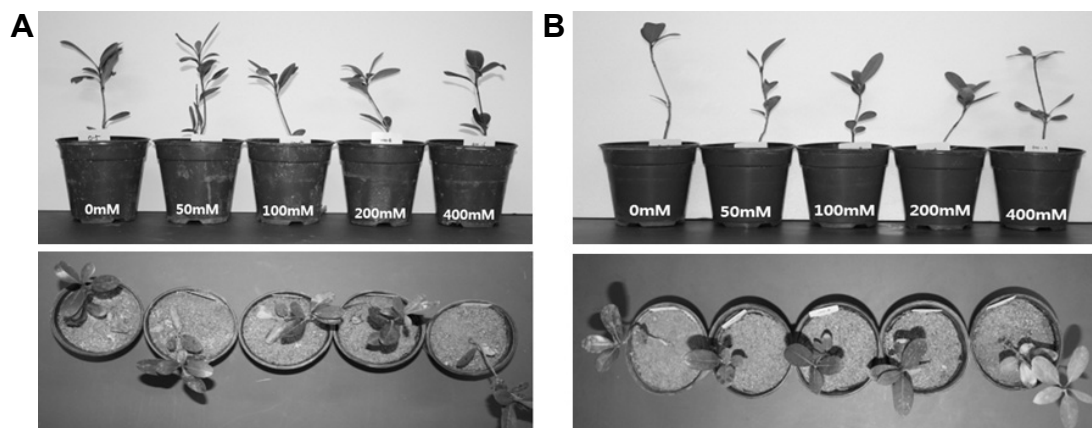


Fig. 3. Visual damages of *R. indica* at different NaCl concentrations at 12 days (A) and 30 days (B) after the treatment.

백화, 백수 등의 현상을 일으키는 것으로 Sixto et al.(2005)의 결과와 일관성이 있다. 다정큼나무는 멸꼴과 비교하여 NaCl 농도 처리에 덜 민감하게 반응하였다. 처리 후 3일에는 200mM과 400mM NaCl 농도 처리구 간에 통계적 유의차를 나타냈지만 NaCl 농도 증가에 따른 일관성 있는 경향을 나타내지 않았다. 처리 후 9일 이후에 모든 처리구에서 10% 이하의 피해를 나타냈고, 처리 후 21일 이후부터 400mM NaCl 농도 처리구에서 50% 이상의 피해를 나타내기 시작하였다. 처리 후 27일 이후에는 0-200mM NaCl 농도에서 50% 정도의 피해 그리고 400mM NaCl 농도에서 90%에 가까운 피해를 나타냈지만, 멸꼴과 같이 모든 잎이 고사하는 현상은 나

타나지 않았다. 다정큼나무는 비교적 내염성이 높은 것으로 평가되었다. 처리 후 12일과 30일에 멸꼴과 다정큼나무의 시각적으로 확인되는 가시적 피해는 Fig. 2와 Fig. 3과 같으며, 이것은 Table 6의 결과 고찰과 일관성을 나타내고 있다.

엽록소 형광이미지

처리 후 5일, 20일에 각 처리구에서 잎을 채취하여 15분간 암 적응 시킨 후 최소 형광값(F_0)에 의한 형광이미지 결과는 Fig. 4와 Fig. 5와 같이 두 수종 모두 NaCl 농도가 높아짐에 따라 붉은색이 점차 사라지고 낮은 형광값인 푸른색을 띄는 것을 볼 수 있었다. 멸꼴은 처리 후 5일에 400mM

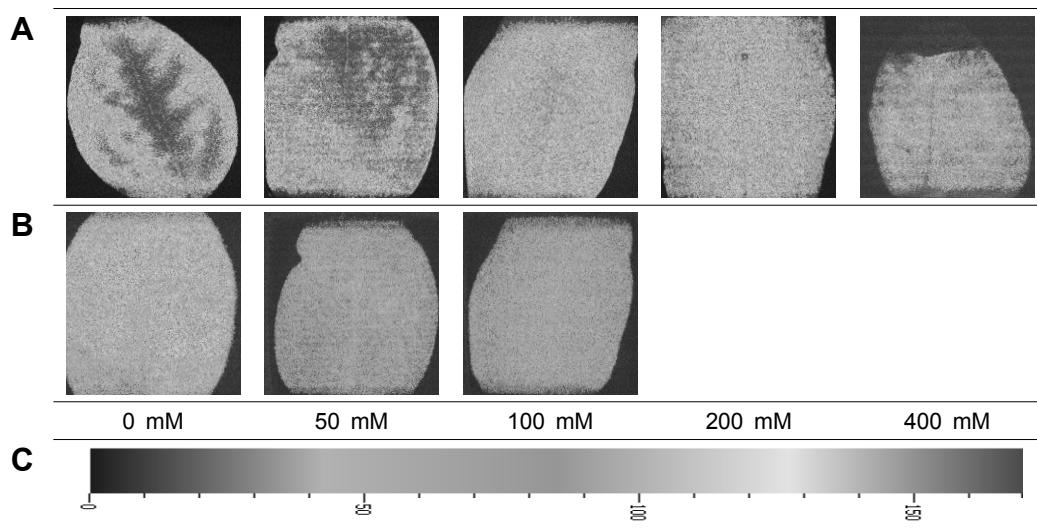


Fig. 4. Representative fluorescence image in the leaves of *S. hexaphylla* at 5 days (A) and 25 days (B) after NaCl treatment. (C) is standard fluorescence image including fluorescence values ($F_V = F_M - F_0$, minimum fluorescence in dark-adapted state).

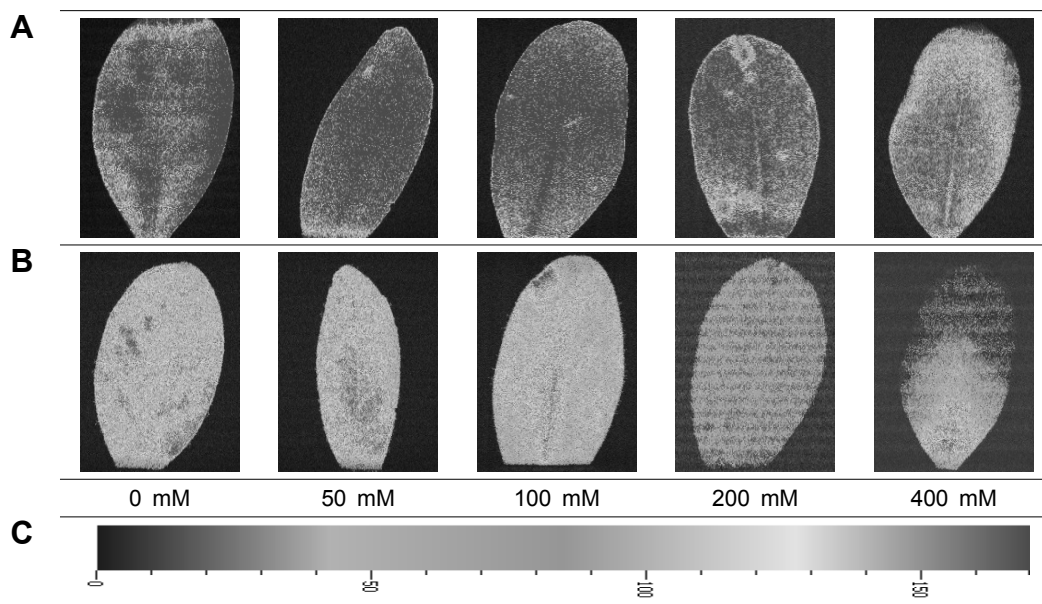


Fig. 5. Representative fluorescence image in the leaves of *R. indica* at 5 days (A) and 25 days (B) after NaCl treatment. (C) is standard fluorescence image including fluorescence values ($F_V = F_M - F_0$, minimum fluorescence in dark-adapted state).

NaCl 농도 처리구에서 잎의 가장자리가 피해를 입어 반응하지 않거나 푸른색을 보였다. 이것은 Table 6의 가지적 피해에서 육안으로 관찰된 것과 일관성 있게 잎의 가장자리부터 피해가 나타났고 있음을 의미한다. 처리 후 20일에 200mM 과 400mM NaCl 농도 처리구에서 멀꿀의 모든 잎이 고사하였고, 그 결과로 형광반응을 관찰할 수 없었다. 다정큼나무는 처리 후 5일에 200mM NaCl 농도까지 붉은색이 많이 분포하였고 400mM NaCl 농도 처리구에서 잎의 가장자리에 피해가 진행되었음을 알 수 있었다. 처리 후 20일에 200mM NaCl 농도 이상에서 낮은 형광반응인 푸른색을 나타내어 스트레스를 받고 있음을 확인할 수 있었지만, 모든 처리구에서 잎의 형광반응을 관찰할 수 있었다.

형광이미지 측정값은 광계II의 광합성 효율의 혼란, 특히 생리장애 또는 질병이 발달된 지점과 관계되는데(Ladislay et al., 2009), NaCl에 민감한 수종들은 엽록소 형광 변수들에 대하여 F_v/F_m 이 감소한다고 보고된 바 있다(Lu et al., 2002; Maricle et al., 2007). 엽록소 형광 반응을 활용하여 스트레스를 정량 평가하기 위해서 F_v/F_m 을 처리 후 5일과 20일에 분석한 결과는 Table 7과 같이 멀꿀과 다정큼나무 모두 NaCl 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타냈다. 대조구를 100%으로 보았을 때 대조구와 NaCl 농도 처리구들을 비교한 결과에서 멀꿀은 처리 후 5일에 모든 처리구들에서 70% 이상의 값을 나타냈지만, 처리 후 20일에는 100mM NaCl 농도까지 60% 이상의 값을 나타냈고 200mM NaCl 농도 이상에서 모든 잎이 고사하여 그 값을 측정할 수 없었다. 다정큼나무는 처리 후 5일에 멀꿀과 비슷한 경향을 보였지만, 처리 후 20일에는 5일 전보다 더 높은 값을 나타냈다. 상대적으로 NaCl 농도에 따른 F_v/F_m 의 감소폭이 적었고 100mM NaCl 농도까지 97% 이상, 400mM NaCl 농도 처리구에서 67%의 값을 나타냈다. 결과를 종합하여 보

면 멀꿀은 초기 염 피해에 대한 적응능력이 낮으며, 다정큼나무는 초기 염 처리에 대한 스트레스를 나타냈지만 처리일수가 경과함에 따라서 내성 반응을 나타내고 있는 것으로 이해할 수 있다. 내염성에 관련한 선행연구들에서 F_v/F_m 이 염 농도가 증가함에 따라서 감소한다고 보고하였으며(Glynn et al., 2003; Sung et al., 2010), 한편으로 엽생식물 또는 내염성이 강한 식물은 염 농도가 증가함에 따라서 F_v/F_m 의 변화가 뚜렷하지 않다고 보고하였다(Maricle et al., 2007). 멀꿀은 앞서 언급한 전자와 같은 경향을 나타냈고, 시각적 피해와 엽록소 형광이미지 분석에서 내염성이 강한 것으로 평가된 다정큼나무는 100mM NaCl 농도까지는 후자와 같이 F_v/F_m 의 변화가 거의 없는 것으로 나타났다.

MDA 농도

NaCl 농도 처리에 따른 피해수준, 즉 세포막의 안정성 정도를 파악하기 위해서 잎의 MDA 농도를 분석한 결과는 Table 8과 같이 멀꿀과 다정큼나무 모두에서 NaCl 처리 농도가 높아질수록 잎의 MDA 농도가 증가함을 나타냈다. 멀꿀은 처리 후 5일에 400mM NaCl 농도 처리구에서 MDA 농도가 $4.56 \pm 0.13 \text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 로 모든 측정값들 중에서 가장 높은 값을 나타냈다. 처리 후 20일부터 대조구를 제외한 모든 처리구에서 MDA 농도가 $2.5 \text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 이상으로 분석되었다. MDA 함량은 처리 후 20일까지 급속한 증가를 보이다가 30일에는 증가폭이 둔화되는 경향을 보였다. 다정큼나무는 NaCl 처리 농도 증가에 따른 MDA 농도의 증가폭이 상대적으로 뚜렷하지 않았다. 처리 후 20일에 400mM NaCl 농도 처리구에서 $1.84 \text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 을 제외하고는 모두 $1.5 \text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 이하의 값을 나타내었다. 일반적으로 산화 스트레스에 의해 생성된 활성산소종이 세포막의 불포화지방산에 과산화물 일으켜 발생하는 최종 산물인 MDA는 막지질 산화 정도의 지표로 사용되며(Scandalios, 1993), 스트레스로 유발된 고온과 건조 등에 의해서 식물의 잎에서 지질 산화가 증가한다고 하였는데(Liu et al., 2008), 멀꿀과 다정큼나무도 NaCl 처리 농도 증가에 따라 MDA 농도가 증가하여 선행연구들과 일관성을 나타냈으며(Park, 2005), 특히 멀꿀이 염에 대한 내성이 상대적으로 더욱 약한 것으로 평가되었다.

최종으로 앞서 제시된 결과들을 종합해 보면 멀꿀은 임해 매립지나 염 성분이 높은 지역에 이식 시 초기부터 피해가 현저하게 나타날 것으로 예상되며, 100mM NaCl 농도 이하의 지역에서는 우수 내염성 개체를 선발하여 식재한다면 생육이 가능할 것이다. 다정큼나무는 염에 대한 강한 내성을 가지고 있다고 평가되며 염 농도가 높은 임해매립지나 가로변에서 활용가치가 높을 것으로 판단된다.

Table 7. The F_v/F_m measured at 15 minutes after dark adaption on the leaves of *S. hexaphylla* and *R. indica* after NaCl treatments.

Species	NaCl (mM)	F_v/F_m (% of control value)	
		5 days	20 days
<i>S. hexaphylla</i>	0	100	100
	50	72	74
	100	100	64
	200	87	0
	400	77	0
<i>R. indica</i>	0	100	100
	50	75	99
	100	77	97
	200	89	87
	400	74	67

Table 8. Effects of NaCl on the MDA accumulation in the leaves of *S. hexaphylla* and *R. indica* after NaCl treatments.

Species	NaCl (mM)	MDA (nmol·g ⁻¹)			
		0 days	5 days	20 days	30 days
<i>S. hexaphylla</i>	0	1.03 ± 0.00 b ²	1.12 ± 0.18 c	0.96 ± 0.11 c	0.96 ± 0.20 c
	50	0.87 ± 0.00 c	1.26 ± 0.23 c	3.20 ± 0.67 b	3.66 ± 0.62 a
	100	1.12 ± 0.00 a	0.98 ± 0.22 c	3.86 ± 0.36 a	3.64 ± 0.60 a
	200	0.89 ± 0.00 c	1.66 ± 0.34 b	2.76 ± 0.40 b	2.78 ± 0.91 b
	400	0.92 ± 0.00 c	4.56 ± 0.13 a	3.08 ± 0.24 b	2.48 ± 0.29 b
<i>R. indica</i>	0	0.67 ± 0.00 b	0.79 ± 0.22 b	0.66 ± 0.12 b	0.78 ± 0.09 b
	50	0.58 ± 0.01 e	0.94 ± 0.10 ab	1.32 ± 0.23 ab	0.98 ± 0.27 b
	100	0.66 ± 0.01 c	1.01 ± 0.05 ab	0.96 ± 0.24 ab	0.75 ± 0.08 b
	200	0.77 ± 0.00 a	0.95 ± 0.12 ab	1.31 ± 0.45 ab	0.93 ± 0.21 b
	400	0.62 ± 0.00 d	1.09 ± 0.26 a	1.84 ± 1.33 a	1.45 ± 0.49 a

²Values are means ± SE of three replications. Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at *P* = 0.05.

초 록

상록활엽 조경소재 연구개발의 일환으로써, 기후변화에 대응하여 내한성이 우수한 남부지역 상록활엽수 중에서 멀꿀과 다정큼나무에 대하여 가시적 피해, 엽록소 형광이미지, MDA(malondialdehyde) 농도 분석으로 내염성을 평가하였다. NaCl 농도가 증가함에 따라서 토양 pH는 감소하고 EC는 증가하였으며 멀꿀이 생육 중인 토양은 다정큼나무가 생육 중인 토양보다 더 강하게 영향을 받았다. 시각적 피해에서 멀꿀은 처리 후 20일에 200mM NaCl 농도 이상에서 고사하였다. 다정큼나무는 비록 400mM NaCl 농도에서 잎의 피해를 나타냈지만 실험기간 동안 모두 생존하였다. 엽록소 형광이미지에서 색상변화는 시각적 피해 결과와 강한 일관성을 보였다. NaCl 농도가 증가함에 따라서 멀꿀 잎의 적색은 유의성 있게 낮은 형광 값인 청색으로 변화하였고 변화는 가장자리에서 중앙으로 옮겨갔다. 다정큼나무의 형광이미지 반응은 NaCl 처리일이 증가할수록 잎의 가장자리에 변화가 나타났으나 여전히 실험기간 동안 적색을 나타냈다. 가장 높은 시각적 피해와 EC를 보였던 처리 후 5일에 멀꿀의 MDA 농도는 4.56nmol·g⁻¹였다. 다정큼나무의 MDA 농도는 400mM NaCl 농도 처리구를 제외한 모든 처리구들에서 1.5nmol·g⁻¹ 이하를 나타냈다.

추가 주요어 : 엽록소 형광이미지, F_v/F_m, MDA 농도, 시각적 피해

인용문헌

Alian, A., A. Altman, and B. Heuer. 2000. Genotype difference in salinity and water stress tolerance of fresh market tomato

cultivars. *Plant Sci.* 152:59-65.
 Bernstein, L. 1975. Effect of salinity and sodicity on plant growth. *Amer. Rev. Phytopathol.* 13:295-312.
 Bohnert, I.J. and R.G. Jensen. 1996. Metabolic engineering for increased salt tolerance - the next step. *Austral. J. Plant Physiol.* 23:661-667.
 Glynn, C.P., A.F. Gillia, and G. Oxenham, 2003. Foliar salt tolerance of *Acer* genotypes using chlorophyll fluorescence. *J. Arboriculture* 29:61-65.
 Han, S.H. 2011. Weak and strong trees for environmental stress. *J. For. Info.* Mar. 2011.
 Heath, R.L. and L. Pacher. 1968. Photo peroxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 125:189-198.
 Hegedüs, A., S. Erdei, and G. Horváth. 2001. Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. *Plant Sci.* 160:1085-1093.
 Hurkman, W.J. and C.K. Tanaka. 1987. Effects of salt on the pattern of protein synthesis in barely roots. *Plant Physiol.* 83:517-524.
 Ikuta, A. 1989. The triterpenes from *Stauntonia hexaphylla* call tissues and their biosynthetic significance. *J. Nat. Prod.* 52: 623-628.
 Kang, D.W. 2010. A study on the growth characteristics of evergreen broadleaf trees according to the change of salinity. Master thesis. Suncheon Natl. Univ., Suncheon, Korea.
 Kim, D.G. 2007. Root growth characteristics of *Zelkova serrata* Makino. after replanting in the reclaimed land from the sea: on the root structure and spatial distribution of fine root phytomass. *J. Kor. Inst. Landscape Arch.* 35:46-55.
 Kim, D.G. 2010a. Native tree species of tolerance to saline soil and salt spray drift at the coastal forests in the west-sea, Korea. *Kor. J. Environ. Ecol.* 24:209-221.
 Kim, D.G. 2010b. Soil salinity and salt spray drift tolerance of native trees on the coastal windbreaks in the south-sea, Korea. *Kor. J. Environ. Ecol.* 24:14-15.
 Kim, J.H. and H.Y. Park. 1998. An effect of coloring and dye stuffs extraction from *Rhaphiolepis umbellata*. *J. Kor. Soc. Craft.* 1:113-127.

- Koca, H., M. Bor, F. Özdemir, and İ. Türkan. 2007. The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. *Environ. Expt. Bot.* 60: 344-351.
- Ladislav, C., D.G. Gabriele, M. Karel, B. Diana, R. Benedetto, and O. Julie. 2009. Pre-symptomatic detection of *Plasmopara viticola* infection in grapevine leaves using chlorophyll fluorescence imaging. *Eur. J. Plant Pathol.* 125:291-302.
- Lee, I.K., G.Y. Lee, C.S. Kim, Y.J. Kang, and E.J. Jeong. 1999. Responses of some evergreen broad-leaved tree species to salt stress. *Proc. 99 Mtg. Kor. For. Soc.* 1:79-82.
- Lichtenthaler, H.K. and J.A. Miehe. 1997. Fluorescence imaging as a diagnostic tool for plant stress. *Trends Plant Sci.* 2:316-320.
- Lin, C.C. and C.H. Kao. 2000. Effect of NaCl stress on H₂O₂ metabolism in rice leaves. *Plant Growth Regul.* 30:151-155.
- Liu, J., X. Xie, J. Du, J. Sun, and X. Bai. 2008. Effects of simultaneous drought and heat stress on Kentucky bluegrass. *Scientia Hort.* 115:190-195.
- Lu, C.M., N.W. Qiu, Q.T. Lu, B.S. Wang, and T.Y. Kuang. 2002. Does salt stress lead to increased susceptibility of photosystem to photoinhibition and changes in photosynthetic pigment composition in halophyte *Suaeda salsa* grown outdoors? *Plant Sci.* 163:1063-1068.
- Maggio, A., S. De Pascale, G. Angelino, C. Ruggiero, and G. Barbieri. 2004. Physiological response of tomato to saline irrigation in long-term salinized soils. *Eur. J. Agron.* 21:149-159.
- Maricle, B.R., R.W. Lee, C.E. Hellquist, O. Kiirats, and G.E. Edwards. 2007. Effects of salinity on chlorophyll fluorescence and CO₂ fixation in C4 estuarine grasses. *Photosynthetica* 45:433-440.
- Misra, N. and A.K. Gupta. 2005. Effect of salt stress on proline metabolism in two high yielding genotypes of green gram. *Plant Sci.* 169:331-339.
- Nedbal, L. and J. Whitmarsh. 2004. Chlorophyll fluorescence imaging of leaves and fruits, p. 389-407. In: C.G. Papageoriou and C.G. Govindjee (eds.). *Chlorophyll a fluorescence: A signature photosynthesis*. Springer, Dordrecht.
- Park, E.J. 2005. Effect of NaCl on the growth and the physiological responses of green papper 'Nokwang' and bell pepper 'Newace'. PhD. Diss., Geongsang Natl. Univ., Jinju, Korea.
- Park, W.J. 2008. Effect of NaCl treatment on the growth and the physiological responses of several tree species. PhD. Diss., Chonbuk Natl. Univ., Jeonju, Korea.
- Rodriguez, A.B., G. Nogales, J.M. Marchena, E. Ortega, and C. Barriga. 1999. Suppression of both basal and antigen-induced lipid peroxidation in ring dove heterophils by melatonin. *Biochem. Pharmacol.* 58:1301-1306.
- Scandalios, J.G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiol.* 101:7-12.
- Sixto, H., J.K. Grau, N. Alba, and R. Alía. 2005. Response to sodium chloride in different species and clones of genus *Populus* L. *For.* 78:93-104.
- Sung, J.H., S.M. Je, S.H. Kim, and Y.K. Kim. 2010. Effect of calcium chloride (CaCl₂) on chlorophyll fluorescence image and photosynthetic apparatus in the leaves of *Prunus sargentii*. *J. Kor. For. Soc.* 99:922-928.
- Yeo, J.G., J.H. Park, Y.B. Koo, H.C. Kim, and H.N. Kim. 2010. Effects of NaCl concentration on the growth of native willow species collected in a coastal reclaimed land. *Kor. J. Soil Sci. Fert.* 43:124-131.