

◆ 특 강 ◆
SL4(IA)

오존이 식물에 미치는 영향 - 식물생장상 및 오픈탑 챔버를 사용한 아스펜 포플러 반응을 중심으로

Ozone effects on plants - The responses of two aspen clones to chronic and dynamic exposures

윤성철

서울대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부

1. 서 론

오존은 대기오염원 중 식물에 가장 유해한 것으로 알려져 있다. 광화학 반응으로 생성되는 이차 대기 오염원인 대기권의 오존은 햇빛이 강한 여름철에 농도가 가장 높는데 이 시기는 왕성한 식물의 생육기간이며, 특히 기공을 열어 광합성을 하는 한낮 또는 이른 오후에 발생하는 대기의 오존 피크를 식물체로서는 피할 수 없다. 1950년대 로스엔젤레스 지역에서 고농도의 오존에 의해 포도 잎에 이상증상이 관찰된 후 오스트리아, 캐나다, 그리스, 인디아, 이스라엘, 일본, 멕시코 그리고 영국, 네덜란드, 독일 등을 포함한 대부분의 유럽국가에서 잎의 이상 증상이 관찰, 보고되었다(Krupa, 1997).

식물체에서 나타나는 오존에 대한 피해는 뚜렷한데, 단기간에 고농도의 오존에 노출된 경우에는 잎에 전형적인 이상증상이 식물체의 종류에 따라 다르게 나타나며 (Bronzing, chlorosis, bifacial necrosis, stipple, fleck), 비교적 낮은 농도에도 식물생장기간 전반에 걸쳐 장기간 노출이 되면 잎의 광합성 억제, 조기낙엽 등의 만성피해 증상이 생겨 궁극적으로는 성장 저해로 인한 작물 수량 감소가 초래된다. 특히 수목의 경우 수년 내지 수십년의 지속적인 오존으로 인한 광합성의 감소는 탄소 동화물질의 뿌리로의 전이를 억제하여 뿌리 생장의 저해로 인한 산림쇠퇴의 원인이 되기도 한다.



Fig. 1. The typical foliar O₃ symptoms on aspen The black necrosis was showing both sides of the leaf. 그림 1은 아스펜의 실내실험(처리농도는 그림 2참조)에서 발생한 전형적인 잎의 오존피해 증상이다. 기공을 통해 흡수된 오존은 식물의 세포벽과 세포막을 거치면서 물과 반응하여 Superoxide나 Hydrogen peroxide 등 강력한 산화제로 변하여 세포를 파괴시킨다. 이러한 피해에 대한 방어 기작으로 식물체에 따라서는 오존 농도가 증가시 기공을 일시적으로 닫거나, 세포막에 들어오기 전에 세포벽에서 ascorbic acid 등 항산화물질과 반응함으로써 해독작용을 한다. 또한 세포 내에서는 엽록체에서 생화학적 Asada-Halliwell pathway을 작동시켜 Superoxide dismutase 등을 활성화하여 산화력이 강한 오존의 유도체 들을 환원시키게 된다. 하지만 이러한 일련의 방어기작은 한계가 있으므로 과도한 오존에 노출된 잎은 정상적인 잎들과는 달리 다양한 생화학적, 생리적 변화를 보인다. 첫째로는 식물의 기능을 담당하는 고분자 물질의 기능 저해로서, 이산화탄소를 고정하는 RuBP carboxylase를 비활성화에 따른 광합성 능력을 저해와, 지질의 생합성 반응의 교란으로 인한 세포막 형성에 영향을 준다. 둘째로는, 식물 노화(성숙) 촉진 호르몬인 ethylene 생성을 증대시켜 세포의 노화를 촉진시킨다. 이러한 일련의 과정을 거쳐 오존에 과다로 노출된 잎은 식물의 광합성 능력 감소와 노화촉진으로 인한 조기낙엽의 현상이 나타나며, 궁극적으로는 식물의 성장감소를 초래하게 되는 것이다.

오존에 의한 식물의 수량감소의 피해를 알아보기 위하여 미국에서는 1980년대에 환경청 주도로 대대적인 오존 노출 실험을 실시하였다(USEPA, 1996). 미국 전역의 5-6개의 연구소가 참여한 실험에서는 오픈탑 챔버를 사용하여 실제 포장에서 발생한 오존 수준 뿐만 아니라 장차 악화될 높은 오존 수준을 예상하여 처리 수준을 정하고, 경제적으로 중요한 작물들을 선발하여 전 생육기간에 걸쳐 실험을 실시함으로써 밀, 콩 등이 오존에 민감하다고 보고하였다. 이 때, 오존 노출량과 식물의 피해간의 상호 관계를 구명하면서, 실험실계 초기에 고안된 하루 7시간(9:00-16:00)의 평균농도(기공이 열려 오존에 노출된 양)를 사용하였는데, 이 평균치는 정량적인 오존 노출량으로 적절치 못하였다. 그 후 지속적인 retrospective analysis를 통해 제안된 여러 지수(index)의 비교결과, 일정 한계농도 이상의 오존의 함이 dose-response 관계를 적절하게 설명하는 노출지수로 평가되었다.

고농도가 저농도의 오존에 비해 식물에서 피해가 크지만, 아직도 실제 대기에서 발생하는 다이나믹한 오존의 패턴들(높은 피크가 자주 발생하는 것과 중간정도의 피크가 지속되는 것 등)에 의한 식물체의 피해 정도는 많이 연구되지 않았다. 특히 현재 시간당 오존농도가 120ppb를 넘을 경우에 한해 주의보가 발생되고 있는데, 식물체에서는 이 농도보다 낮아도 오존에 의한 피해가 발생한다. 본 연구는 오존에 민감한 아스펜에 장, 단기간에 걸쳐 식물생장상과 실험포장에서 오픈탑 챔버를 사용하여 다양한 패턴의 오존을 처리하여 이에 따른 포플러의 피해 정도를 가지고 어떤 패턴이 식물에 가장 치명적인가를 알아보고자 실험을 실시하였다. 특히 현재의 오존 주의보 발령 기준치인 120ppb보다 낮은 농도에서 피해를 확인함으로써 식생보호를 위해서는 이 보다 더 낮은 농도가 고려되어야 한다는 것을 보이고자 하였다.

2. 연구 방법

본 연구에 사용한 포플러는 아스펜(*Populus tremuloides* Michx.)으로써 미국의 Maine주에 있는 Acadia National Park에 자생하는 11개의 클론들 중에서 오존 노출에 의해 오존에 가장 민감한 것과 저항성이 있는 두 가지의 클론을 선발하여 실험에 사용하였다. 포플러는 수목 중에서 생장이 빠르기 때문에 오존 등과 같은 환경 스트레스에 대한 반응이 뚜렷하므로 본 연구의 목적에 적절한 것이었다. 본 연구는 일련의 세가지 다른 연구들이 상호보완적으로 연관되어 진행되었다

2.1 오픈탑 챔버를 사용한 실험포장 실험

장기간에 걸친 오존에 대한 아스펜의 반응을 연구하기 위하여, 실험포장(Boyce Thompson Institute for Plant Research at Ithaca, NY)에서 12개의 오픈탑 챔버에 앞서 언급한 두 클론의 아스펜(96개체)을 두고, 대기 중 오존 수준의 1.0배, 1.7배, 3.0배로 처리수준을 조절하여 성장 전 기간에 (98일간) 오존을 처리하였다. 생장이 지속된 노출 기간 중 10 차례에 걸쳐 잎에 나타나는 이상 증상여부를 확인하였고, 5 차례에 걸쳐 각 개체당 3개의 잎에서 gas-exchange parameters를 측정함으로써 광합성, 기공개폐 여부 등을 조사하였다. 또한 오존처리가 끝난 성장 후에는 처리한 전 식물을 수확하여 biomass를 측정하였다.

2.2 다양한 오존 처리를 위한 식물생장상에서의 노출 실험

현재 대기 중에 나타나는 다양한 오존 패턴 중 식물체에 유해한 것이 어떤 것인지를 알아보기 위해 오존 농도의 조절이 용이한 Walk-in growth chamber(식물생장상)를 사용하여 실험을 실시하였다. 오존의 처리 수준을 결정하기 위해서 1988-89년의 미국의 10개 도시들의 오존 데이터를 분석하여 흔히 발생하는 패턴을 정리하여 이를 바탕으로 오존 처리수준과 기간을 결정하였다(그림 2). 처리 1에서는 두 개의 오존 피크 기간을 3주로 하였고, 처리 2에서는 1주로 하였으며, 처리 3은 당시 우리나라와 미국의 법적기준치인 120ppb를 넘지않게 오존을 처리하였다. 결국 처리 1과 2의 비교로 오존 피크의 기간이 식물에 미치는 영향을 알 수 있고 처리 1, 2와 처리 3의 비교로 오존 피크가 다양할 때와 같은 피크가 지속될 때의 차이를 알 수 있다. 특히 처리 3과 처리 4(무처리)의 차이로는 120ppb는 식생보호에는 너무 고농도의 기준치임을 보일 수 있다. 오존을 처리한 처리 1, 2, 3의 오존 노출량은 오존 지표인 SUM06(the sum of hourly O3 concentration greater than 0.06ppm)가 2.0 ppm*hr이 되도록 맞추었다. 처리는 하루에 8시간씩 (8:00-4:00) 일주일에 5일간 4주간 실시하였으며 각 챔버에는 감수성과 저항성 아스펜 클론 4주씩 8개체를 두었다. 반복을 위해 같은 조건으로 실험을 3차례(2, 4, 6월) 실시하였다.

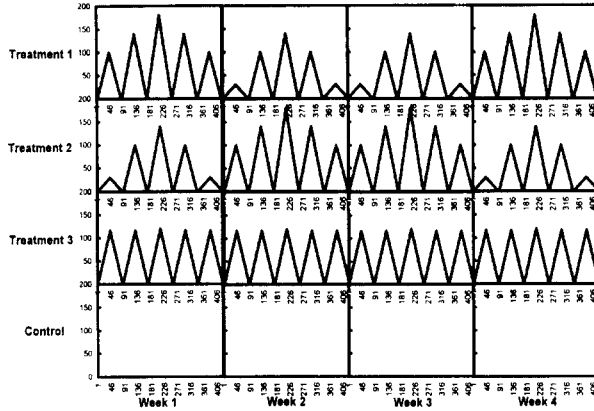


Fig 2. The four different ozone treatment levels in growth chambers.

처리 기간 중 이틀에 한번씩 매일의 오존 처리가 끝난 후에 식물체당 각 3엽씩 gas-exchange를 측정하여 광합성과 기공 개폐를 오존 처리의 시간에 따른 변화를 알아보았다. 또한 매 주별로 잎에서의 이상 증상을 나무당 병든 잎 수(Incidence)와 각 병든 잎의 이상 조직의 비율(Severity)을 측정하고, 오존 처리가 완결된 후 분산분석 및 회기분석으로 처리간의 수준을 알아보았다.

2.3 오존의 피해 정도가 다른 두 아스펜 클론의 저항성 기작연구.

앞선 두 오존 노출 실험에 사용된 두 클론의 아스펜은 잎에서 발생하는 오존 피해 정도가 통계적으로 유의하게 달랐는데, 이 두 가지 클론의 상이한 저항성 기작을 알아보기 위하여 항산화물질인 ascorbic acid와 glutathione 농도를 분석하였다. 각 실험에서 오존에 노출된 잎을 처리과정 중에 샘플링하여 조직을 분쇄하여 효소반응(Foyer, 1983; Anderson, 1985)을 시켜 분광광도기로 농도를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 오픈탑 챔버를 사용한 실험포장 실험

그림 3은 오존처리기간 중에 gas-exchange를 측정한 것이다.

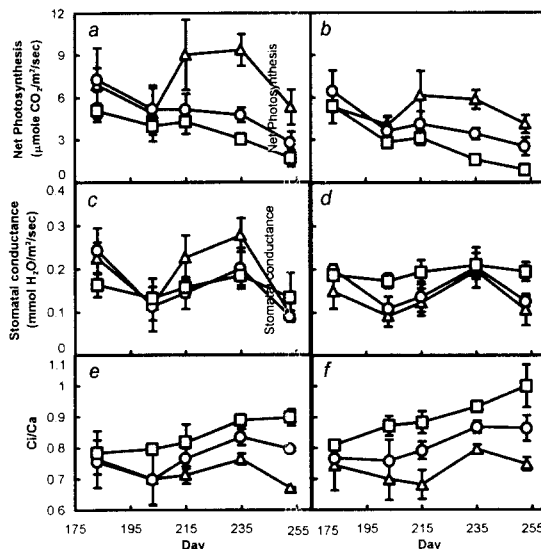


Fig 3. The gas-exchange variables during the course of the O₃ exposures

그림 4는 실험포장에서 장기간 오존 노출에 따른 포플러의 성장감소를 수확후 처리별로 나타낸 것이다.

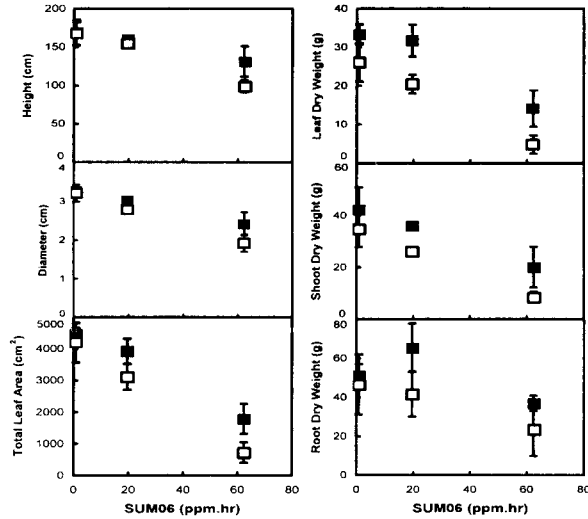


Fig. 4. Growth variables and dry weights of each organ at the harvest in the tolerant (■) and the sensitive (□) clones. SUM06 is the sum of the total part-per-million hours exposure when the ozone concentration exceeds 60ppb.

포장 실험 결과, 성장 전반에 걸친 gas-exchange 측정은 생장의 후반부일 수록 광합성의 저해가 뚜렷하였다. 또한 오존이 아스펜의 성장을 저해하였으며 고농도 처리의 경우 정상적인 성장에 비해 40%도 채 안되었다. 그러나 기공개폐는 오존 처리와 관계없이 일정하므로 기공개폐는 저항성 기작이 아니었다.

3.2 다양한 오존 처리를 위한 식물생장상에서의 노출 실험.

오존의 처리는 뚜렷한 잎의 이상 증상을 보였는데, 3가지 처리의 SUM06은 같았지만 처리들간의 잎의 반응이 달랐다. 오존 피크가 있는 것(처리1,2)가 없는 것(처리 3)에 비해 피해가 컸고, 피크간의 기간이 긴 것(처리 1)이 짧은 것(처리 2)보다는 피해가 작았다. 특히 오존에 민감한 아스펜 클론에서는 오존 농도가 주의보 발령 기준치 이하(처리 3)라 할지라도 무처리(처리 4)에 비해 통계적으로 뚜렷이 다르므로 120ppb 이하에서도 오존의 가시 피해가 심각함을 보였다.

Table 1. ANOVA of foliar injury at the final assessment and t-tests of linear comparisons.

| | Incidence | | Severity | |
|--|-------------|-------------|------------|------------|
| | Tolerant | Sensitive | Tolerant | Sensitive |
| Treatment Effect | 0.0300 | <0.001 | 0.0300 | 0.0010 |
| Mean square for treatment | 0.0291 | 0.0027 | 0.2157 | 0.0225 |
| Mean square error | 0.0048 | 0.0004 | 0.0071 | 0.0011 |
| Block Effect | 0.0770 | 0.1420 | 0.2910 | 0.2450 |
| Mean and its treatment number | 13.75 (2) | 60.82 (2) | 0.94 (2) | 6.02 (2) |
| | 6.74 (1) | 57.96 (1) | 0.39 (1) | 4.78 (1) |
| | 5.81 (3) | 43.51 (3) | 0.26 (3) | 2.79 (3) |
| | 1.94 (4) | 9.45 (4) | 0.06 (4) | 0.27 (4) |
| Linear Comparisons | | | | |
| Ozone vs. Non-ozone (trts 1, 2, 3 vs. trt 4) | 0.0151 | 0.0001 | 0.0181 | 0.0003 |
| Change vs. Non-Change (trts 1, 2 vs. trt 3) | 0.1633 | 0.0361 | 0.0989 | 0.0253 |
| Long vs. Short Duration (trt 1 vs. trt 2) | 0.0838 | 0.6855 | 0.0915 | 0.3320 |
| Under standard vs. Non-ozone (trt 3 vs. trt 4) | 0.1166 | 0.0010 | 0.1829 | 0.0043 |

3.3 두가지 다른 아스펜 클론의 저항성 기작.

그림 5는 식물생장상에서 처리된 두 품종에서 ascorbic acid(AA)와 glutathione(GSH)의 수준을 샘플링 시간을 달리하면서 측정한 것이다.

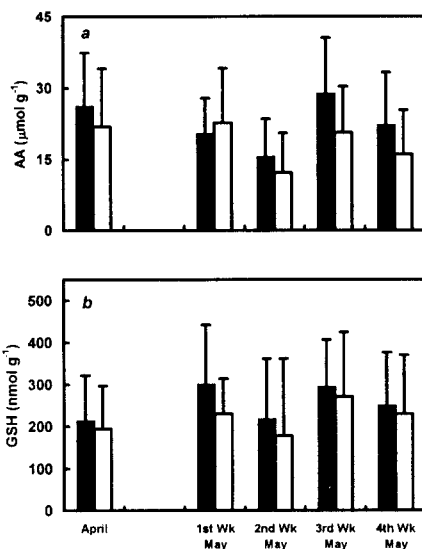


Fig 5. Differences in ascorbic acid (AA) levels (a) and glutathione (GSH) levels (b) between tolerant (■) and sensitive (□) clones of aspen

Ascorbic acid와 Glutathione은 오존의 처리에 따라 급격히 증가하거나 감소하기 보다는 측정기간 중에는 일정한 수준으로 유지되었으며 샘플간의 변이가 심해 두 품종간의 통계적으로 유의한 차이는 없었으나 측정기간 전반에 걸쳐 저항성 클론의 두 항산화 물질의 수준이 감수성 클론의 수준보다 언제나 높은 것으로 나타나 아스펜 클론의 저항성 기작으로서 세포내의 높은 항산화물질의 수준을 제시할 수 있었다.

참 고 문 헌

- Anderson, M.E. 1985. Glutathione. *Methods in Enzymology*. 113:548-551.
- Foyer, C.W., Rowell J. and Walker, D. 1983. Measurement of the ascorbate content of spinach leaf protoplasts and chloroplasts during illumination. *Planta* 157:239-244.
- Krupa, S.V. 1997. *Air pollution, People, and Plants: An Introduction*, APS Press, MN 197pp.
- USEPA. 1996. Air quality criteria for ozone and other photochemical oxidants. EPA-600/P-93/004 a,b,cF. National Center for Environmental Assessment, Research Triangle Park, NC, USA.
- Yun, S.C. 1998. Studies of the pathological, ecophysiological, and biochemical responses of two aspen clones to chronic and dynamic ozone exposures. Cornell University. Ph.D. Dissertation. 137pp.