

도심지역 은행나무 가로수의 엽록소 함량 및 유전변이

김판기¹, 이용섭¹, 구영본², 이재천², 정용문³

¹서울대학교 농업과학공동기기센터, ²임업연구원, ³공주대학교 조경학과

Chlorophyll Content and Genetic Variation of *Ginkgo biloba* L. Planted on Streets in Seoul

Pan-Gi Kim¹, Yong-Sub Yi¹, Yeong-Bon Koo², Jae-Cheon Lee² and Yong-Moon Cheong³

¹NICEM, Seoul National Univ., Suwon 441-744, Korea; ²Forest Research Institute, Suwon 441-350, Korea; ³Dept. Landscape Architecture, Kongju National Univ., Yesan, Chungnam 340-800, Korea

(Correspondence; yongyi@nicem.snu.ac.kr)

1. 서론

식물의 대사과정을 통하여 흡수된 대기오염물질은 많은 단계의 害毒過程을 거치게 된다. SO₂의 경우는 세포질에서 그 대부분이 SO₃²⁻로 용해되고 일부는 HSO₃⁻의 형태로 용해된다. 용해된 SO₃²⁻는 아황산산화효소에 의해서 엽록체에서 생성된 O₂⁻와 산화 반응하여 비교적 독성이 낮은 SO₄²⁻로 변화한다. 이 과정에서 부수적으로 생성되는 O₂⁻는 강력한 毒性을 나타내는데(近藤 1994), 세포내에 있는 SOD, GR 등의 효소에 의하여 H₂O₂로 되고, H₂O₂는 H₂O로 변환된다. 이러한 반응으로 독성이 높은 O₂⁻가 세포 내에서 낮은 수준으로 유지되는데, 다량의 SO₂가 식물체내로 흡수되면 세포내의 O₂⁻조절이 불가능하게 되어 엽록소가 파괴된다(Shimazaki *et al.* 1980). 이러한 현상은 NO₂와 O₃를 흡수한 식물체내에서도 SO₂와 마찬가지로 O₂⁻와 같은 2차 독성물질이 형성되고 이를 해독하는 효소의 기능이 활성화되어 2차 독성물질의 양을 조절하나, 체내에 흡수된 양이 과다한 경우 엽록소가 파괴되어 세포가 괴사하는 등의 가시적 피해증상이 나타난다(Hallgren 1987).

본 연구에서는 엽록소 함량을 지표로 하여, 대기오염물질에 의하여 가로수가 받는 생리적 장애를 조사하고, 엽록소 함량이 높은 내성 개체군과 낮은 민감성 개체군의 유전적 특성을 동위효소분석을 통하여 구명하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 엽록소 함량조사

본 연구는 교통량이 많아 대기오염물질의 농도가 비교적 높은 종로, 남산, 잠실을 조사 대상으로 선정하였다. 그리고 이들 지역과 비교하기 위하여 비교적 청정지역인 태능지역을 대조시험지로 설정하였다. 엽록소 함량 조사는 흉고직경 15cm 이상되는 개체를 대상으로 조사하였으며, 최근에 식재된 것으로 간주되는 개체는 본 조사에서 제외시켰다. 조사 개체수는 종로시험지가 교보문고를 중심으로 267본, 남산은 우회도로를 따라 204본, 잠실은 올림픽공원을 중심으로 162본, 태능은 91본이다. 엽록소 함량은 휴대용 엽록소계(SPDA-502, Minolta)를 사용하여 조사하였다. 측정 잎은 도로에 가장 인접한 측면의 樹冠의 잎으로 병충해에 의한 가시적인 피해가 없는 잎으로 개체 당 20매의 잎이다.

2.2 동위효소분석

조사한 개체 중에서 SPAD 값이 가장 높은 23개체(T)와 가장 낮은 23개체(S)의 종자를 채취하여, 1개월간 상온에서 성숙시킨 후, 공시하였다. Buffer는 0.2 M phosphate buffer, pH 7.5이다. 전

기영동은 starch gel(12%, sigma)를 이용하여 실시하고, 전기영동을 마친 젤은 수평절단한 다음, 각 동위효소별로 정색반응을 시켰다. 정색 반응에 사용한 동위효소는 GOT, E.C.2.6.1.1., PGI, E.C.5.3.1.9, PGM, E.C.2.7.5.1., ACON, E.C.1.1.1.1., MNR, E.C.1.6.4.2, MDH, E.C. 1.1.1.37, SKDH, E.C.1.1.1.25, 6PGD, E.C.1.1.1.44.으로 8 종류이다.

3. 결과 및 고찰

3.1 葉綠素含量

지역별 엽록소 함량은 남산지역이 47.9으로 가장 높게 나타났으며, 종로는 46.9, 태능은 48.8, 잠실은 40.9로 나타났다(Table 1.). 각 지역별 흉고직경은 종로, 남산, 태능(23.4cm, 23.8cm, 23.3cm)으로 3개 시험지역의 흉고직경이 거의 일치하였으나, 잠실지역만이 21.6cm으로 다른 3개 시험지에 비하여 낮았다. 일반적으로 대기오염물질의 농도가 높은 대기환경에서는 엽록소 함량이 저하되는 것으로 알려져 있으나(김갑태 1988, Shimazaki *et al.* 1980), 본 연구에서는 은행나무 가로수의 엽록소함량과 환경부가 발표한 대기오염도와와의 상관성이 인정되지 않았다. 이것은 수목의 대기오염에 의한 외형적, 내재적인 반응의 차이 때문이라고 여겨진다. 또한 대기오염의 노출실험의 경우 일반적으로 고농도에서 장기간 처리에 의한 방법의 차이 때문이라고 여겨진다.

Table 1. Chlorophyll contents of *Ginkgo biloba* L. planted on the four streets in Seoul

Region	No. of trees	DBH	SPAD502 Value
Cheong-ro	267	23.4±0.07	46.88±0.46
Mt.Nam	204	23.8±0.02	47.90±0.51
Tanung	91	23.3±0.02	45.77±0.77
Jamsil	162	21.6±0.02	40.92±0.65

± : Standard deviation

Table 2. The ratio of factors to content of chlorophyll between sites and individuals.

Sources	Mean square	Variance component	Percent of total
Total	75.94	76.98	100.00
Region	2706.42	8.88	11.53
Individuals	171.52	54.71	71.08
Error	13.39	13.39	17.39

Umbach와 Davis(1984)에 의한 연구에 의하면 SO₂에 의한 葉組織의 피해를 57개 수종에서 조사하여 樹種間 내성차이가 있음을 밝혔다. Pasuthova(1981)는 침엽의 buffer capacity로 SO₂에 대한 내성이 있음을 발표했으며, 또한 소나무류(*Pinus* spp.)에서 수종간 개체간에 내성차이가 있음을 밝혔다. Scholy와 Reck(1977)은 針葉樹의 가계간 산성물질에 대한 내성차이가 있음을 발표하였다. 이러한 연구결과를 생각하면 동일한 수종이라도 그 수종 특유의 내재적인 유전적인 차이로 인하여 대기오염이라는 stress에 대한 수목반응의 차이를 인정할 수 있다. 따라서 본 연구에서 조사한 엽록소함량은 대기오염이라는 인자만이 아닌 다른 내재적인 요인도 수목의 활력에 기여한다고 보여진다. Muller(1985), Scholy and Bergman (1984)의 연구에 의하면 대기오염에 대한 수종의 적응성은 유전 특성에 의하여 많은 영향을 받으며, 대기오염에 강한 수종이 민감한 수종보다 유전적 다양성이 15%이상 높음으로서 극한 환경에서도 잘 생육한다고 하였다. 즉 각각의 수목이 생육환경에 적응하면서 나타나는 현상은 단지 환경인자에 의한 영향뿐만 아니라, 유전적인 형질이 매우 중요한 역할을 한다는 것을 보여준다.

조사지역과 개체가 엽록소 함량에 영향을 주는 정도를 분석하였다(Table 2). 그 결과 은행나무 가로수의 엽록소함량은 생육지역에 따른 차이보다는 개체간 차이가 큰 것을 알 수 있다. 조사 개체 전체 100%중에서 집단(지역)이 엽록소 함량의 요소에 기여하는 정도는 11.53%에 불과하나, 개

체의 차이가 기여하는 정도는 71.08%를 차지하고 있음을 알 수 있다. 이것은 은행나무의 엽록소 함량이 각 개체의 능력에 따라서 대기오염에 대한 반응이 다를 수 있음을 나타내며, 식물체가 생화학적 산화환원과정을 통해 葉組織이 酸度を 조정하는 기능을 가지고 있기 때문으로 추측할 수 있다(Smith and Raven 1979). 葉組織의 酸度 조정기능은 동일 수종 내에서도 유전적 형질에 따라서 차이가 발생한다(Scholy and Reck 1977).

3.2 내성개체와 감수성개체 그룹간 유전적 구조의 특성

분석된 8개의 유전자좌 중 유전자에선 Pgi-2와 Mdh가, 대립유전자에선 Pgi-2와 Pgm에서 각각 통계적인 유의성($P < 0.01$)이 인정되었다(Table 3). T그룹과 S그룹간 대립유전자빈도와 유전자 빈도에 있어서 주목할 만한 차이는 나타나지 않았으나, 유전자좌당 유전자수는 T그룹이 4.25개로 S그룹 3.5개보다 높게 나타났다. 또한 특이적인 유전자는 T그룹에서 6개가 나타난 반면 S그룹에서는 나타나지 않았으며, 특이적인 대립유전자는 T그룹의 Mnr-1에서만 나타났다.

Table 3. Comparisons of the genetic structure at 8 polymorphic loci and of the numbers of alleles and genotypes between the tolerant(T) and the sensitive(S) groups of *Ginkgo biloba* plant on the street in Seoul.

Gene locus	Genetic structures G-test of homogeneity		Number of alleles		Number of genotypes		(Frequencies) of unique alleles and genotypes			
	Alleles	Genotypes	T	S	T	S	alleles		genotypes	
							T	S	T	S
Got-2	1.83	3.69	3	3	6	6	-	-	-	-
Pgi-2	7.27*	12.76*	3	3	6	4	-	-	2b2c(1) 2c(6)	-
Pgm	5.24	8.08*	3	3	4	3	-	-	1a1b(6)	-
Acon	1.41	3.29	3	3	4	4	-	-	-	-
Mnr	4.82	4.34	3	2	5	3	1c(4)	-	1b1c(2) 1cc(1)	-
Mdh	6.42*	4.25	2	2	3	3	-	-	-	-
Skdh	0.34	3.60	2	2	3	3	-	-	-	-
6Pgd	0.52	2.05	2	2	3	2	-	-	1b(2)	-
Mean(AL and GL)			2.63	2.5	4.25	3.5				

前述한바와 같이 두 그룹간 대립 유전자빈도에서 유의성이 인정된 것은 Pgi-2와 Mdh-1의 유전자좌로, 이 중 Pgi-2의 유전자좌의 경우 Pgi-2c의 유전자는 T그룹이 S 그룹보다 7 배 정도 높게 나타났다. 그러나 Mdh-3의 경우에 Mdh-3a의 대립유전자빈도는 S그룹보다 T그룹에서 높게 나타난 반면 Mdh-3b의 대립유전자빈도는 상반되는 경향을 나타내었다. 또한 두 그룹간 유전자빈도에서 유의성이 인정된 것은 Pgi-2와 Pgm-1의 유전자좌로 T그룹에서 3개 (Pgi-2b2c, Pgi-2c2c, Pgm-1a1b)의 특이적인 유전자가 발견되었다. 유전자 빈도 분포에 있어 유의적인 차이는 인정되지 않았으나 T그룹에서

Mnr-1b1b, Mnr-1c1c 및 6Pgd-1b1b의 특이적인 유전자형을 가지는 효소 유전자좌가 나타났다. 이 형접합체 Pgi-2a2b와 Mdh-1b1c는 S그룹보다 T그룹에서 더 높은 빈도를 나타내었으며, 동형접합체 Pgi-1a1a, Mdh-1c1c 및 Mdh-3b3b는 상반되는 경향을 나타내었다. 대립유전자 빈도와 유전자 빈도를 토대로한 유전자 거리(genic distance)는 0.058에서 0.248의 범위로 나타났으며, 유전적 거리(genotype distance)는 0.071~0.409로 다양하였다. 특히, Pgi-1과 Mdh 유전자좌는 유전자 거리와 유전적 거리에 있어 높은 비율을 나타내었다. 유전적 다양성은 두 그룹간에 고도의 유의적인 차이가 인정되었으며, S그룹에서는 1.253에서 2.571의 범위를 보인 반면 T그룹에서는 1.416에서 2.825의 범위로 나타났다. 이것은 같은 오염지역에 은행나무가 노출되어도 개체간의 차이가 있을 수 있음을 나타내는 것이다(Scholy and Reck, 1977).

3.3 Tolerant(T)와 Sensitive(S) 그룹간 유전적 이형접합도

T그룹은 평균 이형접합도의 관측치와 기대치가 S그룹보다 높게 나타났다(Table 4). 이러한 결과로 T그룹은 S그룹보다 유전적인 변이가 큰 것을 알 수 있다. Got-1과 Pgi-2 유전자좌는 두 그룹간에 있어 어떤 다른

효소 유전자좌보다 유전적 변이가 높은 특이적인 유전자좌인 것으로 나타났다. 유전자좌 Got-2, Pgi-2 및 Pgm-1은 T그룹에서 이형접합도의 기대치와 관측치에서 높은 값을 나타내었으며, 유전자좌 Acon과 Mhd-3은 S그룹에서 높은 이형접합도를 나타내었다. 또한 이형접합체 Got-2a2c, Pgi-1a1b 및 Skdh-3a3b는 2~3배 정도 T그룹에서, 동형접합체 Got-2b2b, Mnr-1a1a 및 Skdh-3b3b는 S그룹에서 더 높게 나타나 이형접합체는 S그룹보다 T그룹에서 더 높게 나타났다. 결론적으로, T와 S 그룹간 유전적 다양성(V_{gam})은 각각 35.49와 28.44로 나타났으며, 그룹간 이러한 차이는 대기오염물질, 고온, 수분부족 등의 여러 가지 환경 스트레스에 대한 식물의 적응성의 차이로 생각된다.

Table 4. Heterozygosities and genetic diversities for the tolerant(T) and the sensitives(S) groups of *Ginkgo biloba* in an air-polluted trees

Gene Locus	Heterozygosities				Genetic diversities(v)	
	<i>Ho</i>		<i>He</i>		T	S
	T	S	T	S		
Got-2	0.643	0.611	0.636	0.629	2.662	2.571
Pgi-2	0.286	0.167	0.658	0.567	4.667	3.767
Pgm-1	0.520	0.056	0.425	0.208	2.825	2.227
Acon	0.321	0.556	0.490	0.541	4.356	2.746
Mnr	0.429	0.444	0.564	0.457	1.717	1.253
Mdh-3	0.179	0.222	0.321	0.508	2.292	1.256
Skdh-3	0.250	0.056	0.493	0.513	1.929	2.111
6Pgd	0.250	0.278	0.321	0.246	2.904	2.842

Ho : observed heterozygosity

He : Nei's unbiased expected heterozygosity

인용문헌

- 김갑태, 1988: SO₂에 대한 내성수종선발을 위한 기초연구 -엽조직실험. 한국임학회지 77: 223-228.
- 近藤矩朗, 1994: 植物の大氣汚染耐性の仕組み. 植物細胞工學 別冊 1: 59-68.
- Hallgren, J. E., 1987: Physiological and biochemical effects of sulphur dioxide on plants. In sulfur in the environmental. Edited by J. O. Nriagu. pp.163-209. wily-Interscience publication. willy & Sons. U.S.A.
- Hallgren, J. E., Linden, S., Richter, A., Troeng, E. and L. Granat, 1982: Uptake of SO₂ in shoots of Scots pine : field measurements of net flux of sulphur in relation to stomatal conductance. *Plant Cell Environ.* 5: 75-83.
- Muller-Stack, G., 1985: Genetic difference between tolerant and sensitive beeches(*Fagus sylvatica* L.)in an environmentally stressed forest stand. *Silvae Genetica* 34: 241-247.
- Pasuthova, J., 1981: Buffer capacity of spruce needles as as indicator of SO₂ resistance. *Prace Vyzkumneho Ustavu Lesniho Hospodarstvia Myslivosti* 58: 139-151.
- Scholy, F. and F. Bergmann, 1984: Selection pressure by air pollution as studied by Isozyme-gene-systems in Norway spruce exposed to sulphur dioxide. *Sil. Gen.* 33: 228-241.
- Scholy, F. and S. Reck, 1977: Effects of acids on forest trees as measured by titration in vitro, inheritance of buffering capacity in *Picea abies*. *water, Air & Soil Poll.* 8: 41-45.
- Shimazaki, K., Sakaki, T. and K. Sugahara, 1980: Active oxygen participation in chlophyll destruction and lipid peroxidation in SO₂ fumigated leaves of spnich. *Res. Rep. Natl. Environ. Stud. Jpn.* 11: 91-101.
- Umbach, D. M. and D. D. Davis, 1984: Severity and frequency of SO₂-induced leaf-necrosis on seedlings of 57 tree species. *Forest Sci.* 30: 587-596.