

토마토 오존처리에 의한 에틸렌 생성과 가시 장해 발현과의 관계

Ethylene Evolution in Tomato Plants by Ozone in Relation to Leaf Injury

배 공 영 · 이 용 범¹⁾

쓰쿠바대학 응용생물화학연구소, ¹⁾서울시립대학교 환경원예학과
(1996년 3월 9일 접수, 1996년 7월 24일 채택)

Gong-Young Bae, Yong-Beom Lee¹⁾

Institute of Applied Biochemistry, Tsukuba University, Japan

¹⁾*Department of Environmental Horticulture, Seoul City University*

(Received 9 March 1996; accepted 24 July 1996)

Abstract

The relationship between ozone-induced damages and ethylene evolution was examined in tomato plants fumigated with ozone of 0.2 $\mu\text{l/l}$. The rate of evolution of ethylene by tomato plants was enhanced by ozone fumigation. Pretreatment of leaves with aminoethoxyvinylglycine (AVG), an inhibitor of ethylene evolution, significantly inhibited the evolution of ethylene that was induced by ozone and concomitantly reduced the extent of ozone-induced visible damage to leaves. Treatment with 2,5-norbornadiene (NBD), an inhibitor of the action of ethylene, strongly reduced the extent of visible damage caused by ozone, even though it did not suppress the evolution of ethylene. These results indicated that ethylene might play an important role in ozone-induced plant injuries at relatively short terms of ozone fumigation.

Next, we examined the effect of tiron, a scavenger of the free-radical, on evolution of ethylene and leaf injury caused by ozone. Tiron treatment strongly reduced the extent of ozone-induced injury, but had no inhibitory effect on the evolution of ethylene from tomato leaves. This result suggests the involvement of free-radical, such as superoxide radicals, in induction of injuries caused by ozone.

Key words : aminoethoxyvinylglycine, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ethylene evolution, ion leakage, ozone

1. 서 론

광화학옥시단트의 주성분인 오존(O₃)은 식물에 있어서 생화학 및 생리적인 변화를 유도하여 (Kangasjarvi *et al.*, 1994; Telewski, 1992; Langebartels *et*

al., 1991; Mehlhorn, 1990) 생체막을 손상시키고 막의 투과성을 증대시킴으로 (Heath, 1987) 잎표면에 수침(水浸) 증상이 나타나고 결국 백색 반점 혹은 암갈색 등의 가시 장해를 발생시킨다 (Beckerson and Hofstra, 1980). 이와 같은 장해 발현은 식물의 기공을 통해서 흡수된 대기오염 물질이 조직 중에 있는 물과

반응하여 독성 물질을 생성함으로써 시작된다. 이 장애 발현 과정에는 여러가지 반응이 개입되어 있다. 즉 대기 오염 물질의 침입 후 각종 활성 산소, 에틸렌 및 에탄 등의 2차 독성 물질이 생성되는데 (佐治 等, 1993; 近藤矩朗, 佐治光, 1992; Sakaki *et al.*, 1983) 특히 2차 독성 물질 중 활성 산소는 여러 가지 환경 스트레스에 의한 식물 장애와 밀접한 관계가 있으며 대기오염 물질에 의한 경우는 클로로필, 카로티노이드 및 지질의 과산화 분해 등을 유도시키는 가시 장애와 밀접히 관계하고 있다 (佐治 等, 1993; Saji *et al.*, 1983; Shimazaki *et al.*, 1980).

한편, 오존 및 이산화황 (SO_2) 등의 대기오염 물질이 에틸렌 생성을 촉진하여 (Wenzel *et al.*, 1995; Reddy *et al.*, 1993; Mehlhorn and Wellburn, 1987; Peiser and Yang, 1979) 대기오염에 의한 가시 장애와 에틸렌 생성량과는 높은 상관관계가 있음이 보고되었다 (Telewski, 1992; Langebartels *et al.*, 1991). 또한 콩과 식물에 오존을 처리할 경우 에틸렌 생성의 증가와 함께 가시 장애도 증가되었으나 에틸렌 생성 저해제인 aminoethoxyvinylglycine (AVG)를 처리했을 때 에틸렌 생성의 감소와 더불어 가시 장애도 현저히 감소하여 에틸렌이 오존유도 가시장애와 밀접히 관련하고 있다는 것을 시사했다 (Mehlhorn and Wellburn, 1987). 또한, Wenzel 등 (1995)은 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) 경로 중 S-adenosylmethionine (SAM)에서 ACC로의 전환 및 ACC에서 에틸렌으로의 전환을 억제시킴으로서 에틸렌 생성이 감소되고 그 결과 가시 장애도 감소됨을 밝혀내 오존에 의한 가시장애 발현에 에틸렌의 역할이 중요함을 역설했다.

고등 식물에 있어서 에틸렌은 L-methionine → S-adenosylmethionine (AdoMet) → 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) → ethylene의 경로 (ACC경로)로 생합성 된다 (Yang and Hoffman, 1984). 이와 같이 효소적으로 생성되는 에틸렌은 고등 식물의 생장 및 분화의 과정을 조절하는 식물호르몬으로 작용한다. 또한 중금속이온 및 화학 약제, 식물병원균 및 바이러스 감염, 저온처리 등의 다양한 스트레스 및 식물호르몬인 auxin처리, 혹은 auxin과 cytokinin, cytokinin과 Ca^{2+} 의 동시 처리에 의해서도 유도된다 (Yang *et al.*, 1994). 즉, 다양한 환경 스트레스에 의한 에틸렌 합성은 ACC회로에 의해 이루어지고 있다 (Kende, 1993).

ACC회로에 의해 생성된 오존 유도형 에틸렌은 오존 피해 유도와 밀접히 관여하고 있지만 오존 처리 전에 에틸렌을 처리하면 ascorbic acid peroxidase의 활성이 증가되어 오존에 대한 저항성이 증가된다 (Mehlhorn and Wellburn, 1987). 따라서, 오존 피해 유도에 관한 에틸렌의 역할은 에틸렌 그 자체에 의한 것보다는 또 다른 반응이 있을 것으로 추측되었다 (Elstner, 1987; Mehlhorn and Wellburn, 1987). 즉, 오존에 의해 생성된 에틸렌은 오존과 화학반응을 하여 과산화수소 (H_2O_2)와 포름알데하이드 (HCHO) 등과 같은 매우 강한 독성 물질을 생성하고 이 독성 물질이 식물 장애를 유도시킨다고 추측했다. 그러나, 대기오염 물질에 의한 장애 유도에 있어서 에틸렌의 관여에 대한 메카니즘은 아직 분명하지 않음 뿐만 아니라 SO_2 의 경우는 이 설명이 불가능하게 된다. 또한 대기오염에 의해 생성된 에틸렌 그 자체의 영향에 대해서는 전혀 검토되어 있지 않다. 그리고, 오존 및 SO_2 처리에 의한 에틸렌 생성은 매우 빨리 유도된 후 소실된다 (Bae *et al.*, 1996; Langebartels *et al.*, 1991). 따라서, 오존 등과 같은 대기오염에 의해 생성된 에틸렌은 대기오염에 의한 피해 유도의 초기 단계와 밀접히 관계하고 있을 것으로 추측되며 이 부분에 대해서도 검토의 필요성이 강조된다. 또한 실험의 결과로부터 알 수 있듯이 오존에 의한 가시 장애가 에틸렌 생성 및 작용 저해제에 의해 상당부분 감소되었지만 완전히는 억제되지 않아 에틸렌 이외의 반응이 존재할 것으로 추측되었다. 또한, 활성 산소의 소거제인 tiron처리와 환원제로 알려져 있는 ascoric acid에 의해서도 오존에 의한 가시 장애는 억제되었다 (Tanaka *et al.*, 1985; Sakaki *et al.*, 1983). 이것은 대기오염 물질에 의한 가시 장애 발현에는 에틸렌 및 활성 산소 등의 free-radical도 관여하고 있는 것을 시사한 것이다.

따라서, 본 연구에서는 오존에 대한 감수성이 잘 나타난 토마토식물에서 ACC회로에 의해 생성된 에틸렌이 오존 피해 과정 중 초기 과정에 미치는 영향 및 식물호르몬으로서의 에틸렌의 역할을 검토하였다. 또한, 오존은 그 자체가 강산화력을 가지고 있으므로 활성 산소 등의 free-radical의 관여에 대해서도 살펴보았다.

2. 재료 및 방법

2.1 식물 재료

토마토 (*Lycopersicon esculentum* Mill cv.

Fukuju No. 2)를 버뮤칼라이트, 피트모스, 펠라이트, 모래가 2:2:1:1의 비율로 구성된 배양토에 파종하여 주간 25±0.5°C, 야간 20±0.5°C, 상대습도 70±5%로 유지된 유리 온실에서 3~4주간 생육시킨 후 실험에 공시하였다. 관수는 매일 1회 실시하고 비료의 공급은 hyponex (0.1%, v/v; Hyponex Japan Liscensee, Tokyo)를 사용해 주 2~3회 실시하였다. 오존 처리는 균일한 크기의 식물을 선발하여 사용하였다.

2.2 오존 처리

자연광 유리 온실에서 3~4주간 생육시킨 토마토를 오전 10시경에 온도 25±0.5°C, 상대습도 70±5%로 제어된 인공광 생육실 (230×190×170 cm)로 옮겨 1~2시간 순화시킨 후 같은 환경 조건으로 설정된 가스 챔버로 옮겨 오존 처리를 행했다. 가스 처리 챔버의 광원은 24메탈 할라이드 램프 (400W, Yoko Lamp, Toshiba, Tokyo)를 사용했다. 광도는 4단위로 조절이 가능하며, 광 광도는 400 μEm-2s-1로 설정했다. 오존은 dry oxygen을 UV램프로 분리한 후 여과된 신선한 공기를 주입하여 분리된 산소원자와 산소를 결합하여 오존을 발생시킨다. 오존처리에는 photometric analyer (M9810 O₃, LEAR SIEGLER, Englewood, U.S.A)로 자동제어시켜 오존농도를 0.2 μℓ/ℓ로 유지하였다. 챔버의 풍속은 0.22 m/s 유지하여 오존의 순환을 원활히 하였다.

2.3 AVG, ACC, 2,5-Norbonadiene (NBD) 및 Tiron처리

에틸렌 생성을 저해하기 위해 에틸렌 생성 억제제인 AVG 및 에틸렌 생성 기질인 ACC를 수용액 상태로 토마토 잎에 스프레이 하여 약 1시간 정도 인큐베이트 한 후 오존 처리를 행했다. 대조구는 AVG와 ACC를 처리했던 같은 부위의 잎에 증류수를 스프레이 한 후 오존 처리와 동일 환경 조건인 챔버에서 동일시간 인큐베이트를 했다. AVG와 ACC의 농도는 각각 0.1 mM 및 1 mM로 하였다. NBD처리는 0.2 μℓ/ℓ의 오존에 1시간 처리한 후 오존이 없는 챔버로 옮겨 약 30 μℓ/ℓ의 NBD를 광조건에서 4시간 처리했다.

또한, 활성 산소의 소거물로 알려져 있는 tiron처리에는 10 mM 수용액으로 토마토 잎에 스프레이 하여 약 1시간 정도 인큐베이트한 후 오존 처리를 행했다.

2.4 에틸렌 측정

오존 처리 후 토마토의 잎에서 콜코보라를 사용해

leaf disc (φ=10 mm, 40 discs)를 취한 후 여과지가 들어 있는 (물에 젖어 있는 상태) 30 ml 삼각 플라스크에 넣어 실리콘 고무로 밀폐하여 가스 처리와 같은 광 및 온도 조건에서 2시간 인큐베이트를 했다. 가스분석은 주사기를 사용해 삼각 플라스크에서 1 ml 가스를 채취하여 가스크로마토그래피 (島津, GC-7A, FID 검출기)로 측정했다.

분석용 칼럼은 활성 알루미늄으로 충전된 110×0.32 cm의 유리 칼럼을 사용했다. 오븐의 온도는 70°C, carrier gas (N₂)의 유속은 50 ml/min으로 유지했다. 가스의 정성, 정량분석은 시료와 표준 가스의 피크 유지 (保持)시간과 피크의 면적을 비교하여 실시했다.

2.5 전기전도도의 변화

오존 처리에 의한 세포막 투과성의 변화를 조사하기 위해 오존 처리했던 토마토 잎의 leaf discs로 부터 유출된 전해질의 양을 전기전도도의 변화로서 측정했다. 전기전도도 측정은 에틸렌 측정에 사용했던 시료를 40 ml의 증류수가 들어 있는 100 ml 비이커로 옮겨 30°C에서 30분간 진탕한 후, 물의 전기전도도를 전기전도도계 (TOA, CM-15A)로 측정했다. 각각의 실험은 최소 3회 이상 반복 실시하였다.

3. 결 과

3.1 AVG와 ACC처리가 에틸렌 생성, 전해질 유출 및 가지 장해에 미치는 영향

오존에 의해 생성된 에틸렌이 오존 피해에 영향을 미치는가를 규명하기 위해 에틸렌 생성 억제제인 AVG와 에틸렌 생성 촉진 기질인 ACC를 오존 처리전에 토마토 잎에 스프레이한 후 0.2 μℓ/ℓ 오존을 4시간 처리했다. 오존 처리에 의한 에틸렌 생성은 대조구에 비해 약 4배 이상 증가되었으며 AVG 전 처리의 경우 오존 처리에 의한 에틸렌 생성은 크게 억제되었다. 또한, 토마토 잎의 leaf disc로부터 전해질 유출도 오존 처리의 경우 대조구에 비해 약 2배 정도 증가되었으나 에틸렌 생성 억제제인 AVG 전 처리에 의한 전해질의 유출은 오존 처리구에 비해 크게 감소되었다 (표 1). 즉, 에틸렌 생성 억제제 처리는 오존 유도형 에틸렌 생성을 감소시킬 뿐만 아니라 전해질 유출도 억제시켜 오존 처리에 의해 생성된 에틸렌이 막투과성의 변화에도 영향을 미치는 것으로 판단된다.

또한, 에틸렌 생성 기질인 ACC를 처리할 경우 에틸렌 생성의 증가가 오존 처리에 의한 전해질 유출에 영향

Table 1. Effects of ozone fumigation on the evolution of ethylene and leakage of ions by tomato leaves in plants that were either sprayed or were not sprayed with AVG before ozone fumigation.

Treatment	Rate of evolution of ethylene (nl cm ⁻² h ⁻¹)	Ion leakage (μS ⁻¹)
Control	0.08±0.04	35.9±4.5
AVG	0.03±0.02	34.7±5.4
Ozone	0.40±0.06	63.9±5.8
AVG+Ozone	0.09±0.01	44.4±8.7

Plants were either fumigated with ozone for 4 h or were not fumigated with ozone and then leaf discs were excised. Leaf discs were incubated for 2 h in the light prior to quantitation of evolution of ethylene and these discs were incubated at 30°C for 30 min to measurement of ion leakage. Means±SE of 3 sets of samples.

을 미치는가를 조사했다(표 2). ACC 처리에 의한 에틸렌 생성은 대조구 및 오존 처리구 모두 증가되었다. 그러나, ACC 처리 후 오존 처리한 경우의 에틸렌 생성은 ACC 처리 후 오존 처리하지 않은 구와 오존만을 처리한 구의 합계와 거의 같은 수준을 나타내 ACC 처리로 인한 오존 유도형 에틸렌 생성은 증가되지 않았음을 알 수 있었다. ACC 처리에 의한 전해질의 유출은 약간 증가되는 정도로 큰 차이는 볼 수 없었다. 즉 ACC 처리로 인한 에틸렌 생성의 증가는 유도되지 않아 전해질 유출의 증가에는 큰 영향을 미치지 않은 것으로 판단된다.

Table 2. Effects of ozone fumigation on the evolution of ethylene and leakage of ions by tomato leaves in plants that were either sprayed or were not sprayed with ACC before ozone fumigation.

Treatment	Rate of evolution of ethylene (nl cm ⁻² h ⁻¹)	Ion leakage (μS ⁻¹)
Control	0.19±0.08	24.3±5.5
ACC	0.49±0.11	26.4±4.8
Ozone	0.51±0.14	40.7±6.0
ACC+Ozone	1.05±0.16	49.4±7.8

Plants were either fumigated with ozone for 4 h or were not fumigated with ozone and then leaf discs were excised. Leaf discs were incubated for 2 h in the light prior to quantitation of evolution of ethylene and these discs were incubated at 30°C for 30 min to measurement of ion leakage. Means±SE of 3 sets of samples.

오존에 의한 가지 장애 발현은 오존 처리 2시간부터 잎표면에 흰 반점이 나타나 오존 처리 4시간 경에는 잎 전반에 탈수증상이 일어나고 처리 경과 시간과 더불어 탈수 증상은 점점 심해져 처리 6시간 이후부터는 잎 가장자리에 건조 현상이 관찰되었다(data not shown). 이와 같은 가지 장애 발현에 에틸렌 생성이 영향을 미치는가를 살펴보기 위해 AVG 및 ACC을 오존 처리 전에 토마토 잎에 스프레이한 후 오존을 4시간 처리했다. 오존 처리에 의한 가지 장애는 이전반에 chlorosis가 현저히 나타났으나 AVG 전처리의 경우는 chlorosis가 크게 억제되었다(그림 1). 또한, 에틸렌 생성 기질인 ACC



Control O₃ 4 h (a)



O₃ 4 h AVG, O₃ 4 h (b)

Fig. 1-(a),(b). Effects of AVG on visible injuries caused by ozone in tomato leaves. Tomato plants were either treated with AVG or not treated and then fumigated with ozone for 4 h. Plants were transferred to an ozone free cabinets and then incubated for additional 15 h in fresh air in the light.

처리에 의한 가지 장애 발현은 오존 처리구에 비해 증가된 경향을 나타내 (data not shown) 오존 처리에 의해 유도된 에틸렌은 오존 피해 유도와 밀접히 관계하고 있는 것을 알 수 있다.

3.2 NBD 처리가 에틸렌 생성, 전해질 유출 및 가지 장애에 미치는 영향

전해질 유출에 대한 에틸렌 작용 저해제인 NBD의 영향을 조사하기 위해 오존을 1시간 처리한 토마토 식물을 오존이 없는 가스챔버로 옮긴 후 NBD를 4시간 처리하였다. 오존 1시간 처리 직후의 전해질 유출은 대조구에 비해 약 2배 정도 증가되었으며 그 증가는 인큐베이션 시간과 비례하여 증가되었다. 그러나, 오존 1시간 처리 후 NBD를 처리한 경우의 전해질 유출은 오존 1시간 처리 후 4시간 인큐베이션 한 경우와 비교하여 크게 억제되었다 (표 3).

Table 3. Effects of NBD on evolution of ethylene and leakage of ions.

Treatment	Rate of evolution of ethylene (nl cm ⁻² h ⁻¹)	Ion leakage (μS ⁻¹)
Control	0.05 ± 0.02	33.5 ± 4.2
Ozone ^{a)}	0.17 ± 0.01	67.5 ± 3.8
Ozone + 4 h ^{b)}	0.21 ± 0.01	86.7 ± 7.8
Ozone + NBD 4 h ^{c)}	0.36 ± 0.06	69.8 ± 6.5

Tomato plants were fumigated with ozone for 1 h (a) and then transferred to an ozone-free chamber. The tomato plants were either treated with 30 μℓ/ℓ of NBD for 4 h (c) or were not treated with NBD (b). Means ± SE of 3 sets of samples.

오존에 1시간 처리된 토마토 식물을 오존이 없는 챔버로 옮겨 15시간 정도 광조건에서 인큐베이션하면 chlorosis 등의 가지 장애가 유도된다. 그러나, 오존 1시간 처리 후 NBD를 처리하면 그림 2에 나타나 있는 것처럼 가지 장애는 크게 감소되었다. 즉, 이 결과는 오존 처리에 의한 가지 장애 유도는 오존 처리에 의해 생성된 에틸렌 그 자체가 관여하고 있다는 것을 시사하고 있다. NBD 처리에 의한 가지 장애의 감소가 에틸렌 생성 억제에 의한 가능성이 있어 NBD 처리에 의한 에틸렌 생성을 조사했다. NBD 처리에 의한 에틸렌 생성은 오존 처리구에 비해 증가되어 이는 에틸렌 작용 저해제인 NBD가 에틸렌 생성을 저하시키지 않은 것으로 나타내고 있다 (표 3).

3.3 Tiron 처리가 에틸렌 생성, 전해질 유출 및 가지 장애에 미치는 영향

대조구의 경우 free-radical의 소거 물질인 tiron 처리로 인한 에틸렌 생성은 약간 감소되는 경향을 나타내고 있으나 background level (측정시 챔버내의 공기 + G.C에러범위)이 ±0.04로 큰 차이를 보이지 않았다. 또한 오존 처리에 의한 경우도 tiron 처리에 의해 에틸렌 생성은 약간 감소하는 경향을 나타냈지만 유의한 감소효과는 없었다. 그러나 tiron 처리가 오존 처리로 인한 전해질의 유출을 크게 억제시켜 에틸렌 생성 억제와는 상반되는 결과를 나타냈다 (표 4).

Table 4. Effects of ozone fumigation on the evolution of ethylene and leakage of ions by tomato leaves in plants that were either sprayed or were not sprayed with tiron before ozone fumigation.

Treatment	Rate of evolution of ethylene (nl cm ⁻² h ⁻¹)	Ion leakage (μS ⁻¹)
Control	0.09 ± 0.03	35.9 ± 5.0
Tiron	0.06 ± 0.02	33.2 ± 2.3
Ozone	0.38 ± 0.02	63.9 ± 7.6
Tiron + Ozone	0.31 ± 0.02	40.3 ± 6.7

Plants were either fumigated with ozone for 4 h or were not fumigated with ozone and then leaf discs were excised. Leaf discs were incubated for 2 h in the light prior to quantitation of evolution of ethylene and these discs were incubated at 30°C for 30 min to measurement of ion leakage. Means ± SE of 3 sets of samples.

Tiron 처리에 의한 가지 장애 발현을 조사하기 위해 tiron을 토마토 잎에 스프레이한 후 오존에 4시간 처리했다. 오존 처리의 경우 가지 장애는 잎 전반에 chlorosis 등이 관찰되었으나 tiron 전처리의 경우 가지 장애는 크게 감소되었다 (그림 3). 즉, 오존에 의한 가지 장애 발현에는 free-radical과 같은 물질도 관여하고 있다고 추측된다.

4. 고 찰

대기오염 물질에 의한 가지 장애 발현 과정은 대기오염 물질의 종류 등에 따라 각각의 특이적인 반응이 존재하지만 공통된 반응도 존재한다 (近藤矩朗, 1992). SO₂와 오존 등의 대기오염 물질 처리는 처리 개시 후 일정 시간이 경과되면 식물에서 가지장애가 발생하는데 이 가지 장애 발현에는 활성 산소가 관여되어 있다(Sakaki

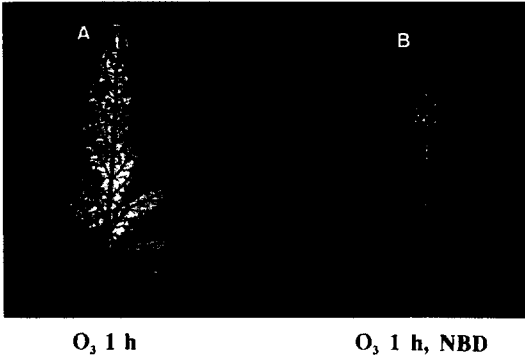


Fig. 2. Effects of NBD on visible injuries caused by ozone in tomato leaves. Plants that had been treated with ozone for 1 h were transferred to an ozone free cabinets and then fumigated or not with $30 \mu\text{l/l}$ NBD for 4 h in the light.

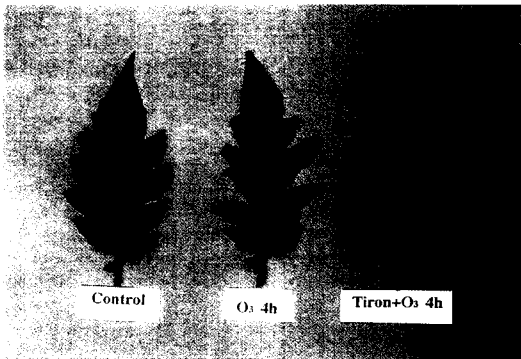


Fig. 3. Effects of tiron on visible injuries caused by ozone in tomato leaves. Plants were either treated with tiron or not treated before ozone fumigation.

et al., 1983). 즉, superoxide (O_2^-)는 광합성 전자 전달 반응물로서 생성될 뿐만 아니라 O_2 에서 과산화수소 (H_2O_2), singlet oxygen ($^1\text{O}_2$), OH radical 등의 각종 활성 산소분자 종이 생성한다(Robinson, 1988). 이와 같은 활성 산소는 지질과 클로로필, 카로티노이드 등의 색소의 분해 등을 유도시키며(Tanaka *et al.*, 1985; Sakaki *et al.*, 1983) 이 과정을 분해의 단계로 분류하고 있다. 한편 대기오염 물질에 의한 식물 장애의 과정 중 가시 장애(분해의 단계)가 발생하기 이전인 “대사 변화”의 초기 단계가 있다(Sakaki *et al.*, 1983). 즉, 오존 처리하였던 조직에 지질의 대사 변화

가 발생하면 막을 구성하는 지질이 감소함으로 식물은 저항성이 약해져서 오존 등의 공격을 받기 쉽게 되어 결국 막은 파괴되고 세포는 수분을 잃고 죽게 된다(Sakaki *et al.*, 1985). 그러므로 대기오염 물질 처리에 의한 초기의 대사 변화를 판단하는 것은 오존에 의한 가시 장애 유도의 메카니즘을 규명하는데 매우 중요하다고 생각된다.

본 실험에서는 가시 장애가 나타나기 이전의 피해 판단으로 전해질 유출을 측정했다. 이 전해질 유출은 오존 처리 2시간 이후 급격히 증가하고(표 1, 2, 3, 4) 처리 시간과 비례하여 증가했다. 세포에서 이온 유출의 증가는 막을 구성하는 지질 조성의 변화와 지질 과산화가 진행하여 막의 투과성이 증대된다(Beckerson and Hofstra, 1980). 또한, 최근 Bae 등(1996)은 대기오염 처리로 인한 전해질의 유출 즉 막의 투과성의 변화를 유도시키는 것은 에틸렌 생성이 밀접히 관여하고 있다고 보고했다. 토마토에 오존을 처리하면 단시간 내에 에틸렌 생성이 촉진되고 잎의 탈수 증상을 관찰할 수 있다. 그러나, 에틸렌 생성 저해제인 AVG 처리에 의해서는 에틸렌 생성이 억제되고 동시에 잎의 탈수증상과 가시 장애가 감소되었다. 에틸렌 생성의 감소가 가시 장애를 억제시킨다는 결과는 콩과 식물 및 담배 식물 등에서도 보고했다(Wenzel *et al.*, 1995; Mehlhorn *et al.*, 1991; Mehlhorn and Wellburn, 1987). 한편, 에틸렌 단독 처리에 의한 식물 피해는 유도되지 않았다. 또한 오존 처리 전에 에틸렌을 처리하면 ascorbic acid 등과 같은 활성 산소 대사계의 효소 활성이 증가되어 오존에 대한 내성이 나타난다(Mehlhorn, 1990). 따라서 오존 피해 유도의 에틸렌의 관여에 대한 메카니즘은 오존에 의해 생성된 에틸렌이 오존과 화학 반응하여 과산화수소(H_2O_2)와 포름알데하이드(HCHO) 등을 생성함으로써 이 물질이 오존 피해를 유도시킨다고 추측했다(Elstner, 1987; Mehlhorn and Wellburn, 1987). 그러나 이 가설을 증명할 결과는 아직 보고되지 않고 있을 뿐만 아니라 에틸렌 그 자체의 역할에 대해서도 전혀 검토되지 않았다. 따라서, 본 연구에서는 에틸렌 작용 저해제인 NBD 처리가 에틸렌 생성 및 오존 피해 유도에 미치는 영향에 대해 조사했다. NBD는 에틸렌 수용체(receptor)의 에틸렌 결합 부위에 결합함으로써 에틸렌 작용을 저해하는 것으로 알려져 있다(Sisler and Yang, 1984). NBD 처리에 의한 에틸렌 생성은 오히려 촉진되었음에도 불구하고 오존 피해는 현저히 억제되었다(표 3, 그림 2). 이 결과는 오존에 의해 생성된 에틸렌이 오존과 반응해서 2차독성물질(H_2O_2 , HCHO)

의 생성에 의한 것이 아니고 에틸렌 그 자체가 장해 유도에 직접 관여하고 있다는 것을 시사한 것이다. NBD 처리에 의한 에틸렌 생성의 촉진은 feed-back 현상으로 설명할 수 있다. 에틸렌은 ACC 합성 효소 (SAM에서 ACC로의 전환 효소)를 억제함으로써 에틸렌 생성을 조절하게 된다. 따라서 NBD 처리는 에틸렌 작용을 억제시키고 그 결과 ACC 합성 효소를 제어할 기능이 손실되어 결국 에틸렌 생성이 억제되기보다는 촉진되게 된다 (Imaseki *et al.*, 1988). 이상의 결과에 의하면 오존 처리에 의해 촉진된 에틸렌은 식물호르몬으로서 오존 피해를 야기시키는 필수 인자라는 것을 알 수 있다.

오존 처리에 의한 에틸렌 생성은 오존 처리 1시간 이내에 유도되어 4시간 경에 최대에 달하고 그 이후 급격히 감소한다 (Bae *et al.*, 1996). 그러므로 오존 처리의 단시간 내에 유도된 에틸렌은 가시 장해가 일어나기 이전의 대사 변화에 밀접히 관여하고 있음을 알 수 있다. 즉 오존에 의해 촉진된 에틸렌은 막투과성의 증대를 유도함으로써 식물 세포는 오존에 대해 감수성이 증가되어 피해는 더욱 증가된다고 생각된다. Suttle과 Kende (1980)는 에틸렌이 식물 조직에 있어서 여러 가지 생리생화학적인 변화를 유도하며 그 중 하나가 막투과성의 증대 (Hoekstar and Weges, 1986)라고 보고했다.

한편 초기의 오존 피해 유도에는 에틸렌의 역할이 중요하나 에틸렌 생성 억제제, 촉진제 및 작용 저해제의 처리로 인한 오존 피해는 현저히 감소되었지만 완전히는 억제되지 않아 (표 2, 3) 오존 피해 유도 과정에는 에틸렌 이외의 반응이 존재할 것으로 판단된다. 따라서 활성 산소의 소거제인 tiron 처리로 인한 에틸렌 생성 및 가시 장해에 대해서도 조사했다. Tiron 처리에 의한 에틸렌 생성 억제 효과는 나타나지 않았으나 가시 장해는 현저히 억제되어 위의 가설을 확인해 주고 있다 (표 4, 그림 3). 그러므로 오존에 의한 식물 피해는 오존에 의해 촉진된 에틸렌의 관여, free-radical과 같은 활성 산소의 영향 및 오존 그 자체의 영향이 공존하는 것을 판단된다. 오존, SO₂, NO_x 등의 대기오염에 의한 에틸렌 생성은 수목 및 고등식물에서 잘 일어나는 현상이며, 에틸렌 생성이 촉진된 식물은 대기오염에 대한 감수성을 나타내 (data not shown) 대기오염에 의한 에틸렌 생성이 대기오염 피해 평가의 지표물질로서 가능하리라 판단한다.

5. 결 론

0.2 μl/l의 오존 처리에 의한 토마토 식물의 장해 유

도에 에틸렌이 관여하고 있는가를 밝히기 위해 오존 처리했던 토마토 식물에 에틸렌 생성과 가시 장해의 관계를 검토했다. 에틸렌 생성은 오존 처리에 의해 촉진되었으나 에틸렌 생성 억제제인 aminoethoxyvinylglycine (AVG) 처리에 의한 에틸렌 생성 및 가시 장해는 현저히 감소했다. 또 에틸렌 작용 억제제인 2,5-norbornadiene (NBD) 처리에 의한 가시 장해는 현저히 억제되었으나 에틸렌 생성은 감소되지 않았다. 이 결과는 에틸렌이 가시 장해 발현에 필수 인자로서 작용하고 있다는 것을 시사하고 있다.

한편 free-radical의 소거 물질인 tiron 처리에 의해서도 오존에 의한 가시 장해는 감소하였지만 에틸렌 생성은 감소되지 않았다. 이 결과는 오존에 의한 가시 장해 유도에 에틸렌 이외의 물질도 관여하고 있다는 것을 시사하고 있다.

참 고 문 헌

近藤矩朗, 佐 治光 (1992) 植物の大氣汚染耐性, 大氣汚染學會誌, 27(6), 273-288.
 佐治光, 青野光子, 海老沼宏安, 松永悦子 (1993) 大氣汚染耐性植物の開発, 植物細胞工學, 5(4), 29-35.
 Bae, G.Y., N. Nakajima, K. Ishizuka, and N. Kondo, (1996) The role in ozone phytotoxicity of the evolution of ethylene upon induction of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase by ozone fumigation in tomato plants, *Plant Cell Physiol.*, 37(2), 129-134.
 Beckerson, D.W. and G. Hofstra, (1980) Effect of sulphur dioxide and ozone, single or in combination, on membrane permeability, *Can. J. Bot.*, 58, 451-457.
 Elstner, E.F. (1987) Ozone and ethylene stress, *Nature*, 328, 482.
 Hoekstar, F.A. and R. Weges, (1986) Lack of control by early pistillate ethylene of the accelerated wilting of *Petunia hybrida* flowers, *Plant Physiol.*, 80, 403-408.
 Heath, R.L. (1987) The biochemistry of ozone attack on the plasma membrane of plant cells, *Adv Phytochem.*, 21, 29-54.
 Imaseki, H., N. Nakajima, and I. Todaka, (1988) Biosynthesis of ethylene and its regulation in plants, in *Biosmechanisms Regu-*

- lating Growth and Development*, Edited by T.S. Ramsy and C.L., Steffens, Kluwer Academic Press, Dordrecht, 205-227.
- Kangasjarvi, J., J. Talvinen, M. Utriainen, and R. Karjalainen, (1994) Plant defence systems induced by ozone, *Plant Cell Environ.*, 17, 783-794.
- Kende, H. (1993) Ethylene biosynthesis, *Annu. Rev., Plant Physiol., Plant Mol. Biol.*, 44, 283-307.
- Langebartels, C., K. Kerner, S. Leonardi, M. Schraudner, M. Trost, W. Heller, and H. Sandermann, (1991) Biochemical plant responses to ozone, I. Differential induction of polyamine and ethylene biosynthesis in tobacco, *Plant Physiol.*, 95, 882-889.
- Mehlhorn, H. and A.R. Wellburn, (1987) Stress ethylene formation determines plant sensitivity to ozone, *Nature*, 327, 417-418.
- Mehlhorn, H. (1990) Ethylene-promoted ascorbate peroxidase activity protects plants against hydrogen peroxide, ozone and paraquat, *Plant Cell Environ.*, 13, 971-976.
- Mehlhorn, J., T.M. O'shea, and A.R. Wellburn, (1991) Atmospheric ozone interacts with stress ethylene formation by plants to cause visible plant injury, *J. Exp. Bot.*, 42, 17-24.
- Peiser, G.D. and S.F. Yang, (1979) Ethylene and ethane production from sulfur dioxide-injured plants, *Plant Physiol.*, 63, 142-145.
- Reddy, G.N., R.N. Arteca, Y.R. Dai, H.E. Flores, F.B. Negm, and E.J. Pell, (1993) Changes in ethylene and polyamines in relation to mRNA levels of the large and small subunits of ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase in ozone-stressed potato foliage, *Plant Cell Environ.*, 16, 819-826.
- Robinson, J.M. (1988) Does O₂ photoreduction occur with on chloroplasts in vivo, *Physiol. Plant.* 72, 666-680.
- Sakaki, T., N. Kondo, and K. Sugahara, (1983) Breakdown of photosynthetic pigments and lipids in spinach leaves with ozone fumigation: role of active oxygens, *Plant Physiol.*, 59, 28-34.
- Sakaki, T., J. Ohnishi, N. Kondo, and M. Yamada, (1985) Polar and neutral lipid changes in spinach leaves with ozone fumigation: triacylglycerol synthesis from polar lipids, *Plant Physiol.*, 94, 781-787.
- Shimazaki, K., T. Sakaki, N. Kondo, K. Sugahara, (1980) Active oxygen participation in chlorophyll destruction and lipid peroxidation in SO₂-fumigated leaves of spinach, *Plant Cell Physiol.*, 21(7), 1193-1204.
- Sisler, E.C. and S.F. Yang, (1984) Anti-ethylene effects of cis-2-butene and cyclic olefins, *Phytochemistry*, 23, 2765-2768.
- Suttle, J.C. and H. Kende, (1980) Ethylene action and loss of membrane integrity during petal senescence in *Tradescantia*, *Plant Physiol.*, 65, 1067-1072.
- Tanaka, K., N. Kondo, K. Sugahara, (1985) Accumulation of hydrogen peroxide in chloroplasts of SO₂-fumigated spinach leaves, *Plant Cell Physiol.*, 23, 999-1007.
- Telewski, R.W. (1992) Ethylene production by different age class ponderosa and jeffery pine needles as related to ozone exposure and visible injury, *Trees*, 6, 195-198.
- Wenzel, A.A., H. Schlautmann, C.A. Jones, K. Koppers, and H. Mehlhorn, (1995) Amino ethoxyvinylglycine, cobalt and ascorbic acid all reduce ozone toxicity in mung beans by inhibition of ethylene biosynthesis, *Physiologia Plantarum*, 93, 286-290.
- Yang, S.F. and N.E. Hoffman, (1984) Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants, *Annu. Rev. Plant Physiology*, 35, 155-189.
- Yang, C., W. Wilksch, and A. Wild, (1994) 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, its malonyl conjugate and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase activity in needles damaged and undamaged norway spruce trees, *J. Plant Physiol.*, 143, 389-395.