

카드뮴과 비소처리가 상추의 polyamine함량 및 유효도에 미치는 영향

문광현* · 고문환 · 김원일 · 정구복 · 김경민¹⁾

농업과학기술원 환경생태과 · ¹⁾연세대학교 환경공학과

Changes of Polyamine Content and Phytoavailability in *Lactuca sativa* cultivated in Cadmium and Arsenic Treated Soil

Kwang-Hyun Moon, Mun-Hwan Koh, Won-Il Kim, Goo-Bok Jung, ¹⁾Kyung-Min Kim (National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon, Korea, 441-707, ¹⁾Dept. of Environmental Engineering, Yonsei University, Wonju, Korea, 220-710, E-mail : kh-moon@hanmail.net)

ABSTRACT : Absorption of Cadmium(Cd) and Arsenic(As) by lettuce following to the change of polyamine content in lettuce were examined to find the effect of these elements on lettuce growth and on the basic resistance mechanism. As the contents of Cd and As were increased in soil, the contents of these elements were significantly increased in lettuce but lettuce growth was decreased. Sequential fractionation experiment of the Cd and As treated soil was shown that exchangeable, dilute acid extractable, and organically bound form, which were more mobile and phyto-available, of Cd were increased by 5.6, 42.9, and 56.7% during a growing season whereas 17.6, 25.0, and 24.1% were increased in case of As, respectively. Specially, the Cd content of leaves and roots in lettuce was positively correlated with exchangeable, dilute acid extractable, and residual form of Cd in the treated soil. However, the As content of roots in lettuce was positively correlated with all chemical forms of As in the treated soil. The contents of putrescine and cadaverine, a kind of polyamine, were also increased in lettuce as both elements were increased in soil.

Key words : Lettuce, Cadmium, Arsenic, Polyamine, Sequential fractionation

서 론

토양의 유해 오염물질 중 중금속류는 식물에 독성을 일으켜 생육피해를 일으키거나 흡수 이행되고 식품연쇄를 통하여 인체에 장기간 축적될 경우 여러 가지 특수한 병해를 일으킨다고 한다. 토양 중금속 중 카드뮴과 비소는 식물의 생장억제, 잎의 황백화 현상, 엽맥과 선단의 적갈색화 및 잎고병 등 각종 독성 및 생육 피해 증상을 일으킨다¹⁾.

식물체내의 카드뮴은 금속유기 복합체를 형성하여 식물체로 쉽게 이동하고 뿌리 및 엽맥세포에 주로 축적되며 sulfhydryl group 복합체와 강한 친화력이 있어 식물체내 단백질에서 쉽게 발견된다고 하였다^{2,3)}. 비소는 다른 중금속류에 비하여 식물에 강한 독성을 일으키고 식물체내 흡수 축적에 따른 피해증상은 지상 부보다 지하부에서 먼저 일어나 뿌리의 비소축적은 수분의 흡수 저해, 인산대사의 저해로 생장저해 및 엽면의 증산작용 저해 등이 보고되었다^{4,5)}.

식물체내 중금속과 폴리아민의 관계는 일반적으로 정의 상관을 보이며 식물의 모든 유기체내에는 폴리아민 생합성 효소 및 전

구체가 존재하고 식물 및 동물의 성장과정에 다양하게 관여하고 있음이 보고되고 있다^{6,7)}. 또한 폴리아민은 식물생장에 있어 환경 조건과 식물 stress에 의하여 그 양이 크게 좌우되며 식물생장과 생육의 가장 중요한 조절자 역할을 한다고 하였다^{8,9,10)}. 식물체내 K^+ , Ca^{2+} 이온 결핍에 의한 이온 stress는 putrescine 함량을 증가시키고 낮은 pH와 높은 NH_4^+ , SO_4^{2-} 농도는 식물체내 putrescine 함량을 높이는 것으로 알려져 있다^{11,12)}.

따라서 본 시험에서는 토양의 카드뮴과 비소함량이 작물생육에 미치는 생화학적 특성 및 내성기작을 구명하기 위하여 토양에 처리한 카드뮴과 비소함량에 따른 작물의 흡수·축적양상 및 작물 stress반응으로 인한 polyamine함량을 분석 평가하였다.

재료 및 방법

공시토양 및 작물

공시토양은 양토로 토양의 화학성분 및 중금속 함량은 표 1과 같다. 토양의 화학성분은 우리나라 일반 밭토양과 유사하였고, 연

Table 1. Chemical properties of soil before the experiment

pH (1:5)	OM (g kg ⁻¹)	T-N (g kg ⁻¹)	Av. P ₂ O ₅ (mg kg ⁻¹)	EC (dS m ⁻¹)	Ex. cation (cmol ⁺ kg ⁻¹)			Cd ------(mg kg ⁻¹)-----	As
					Ca	K	Mg		
5.49	7.8	1.11	194.1	0.375	3.06	0.21	0.39	0.09 [#] (0.99) [~]	0.11 [#] (0.43) [~]

0.1N-HCl extractable

* Total contents which was analysed after microwave digestion

구대상 중금속인 카드뮴과 비소함량은 비 오염지 발토양보다 낮은 수준이었다. 공시작물은 청상추(*Lactuca sativa* L.)를 재배하였다.

처리내용

포트시험을 위한 중금속처리는 토양환경보전법¹³⁾의 토양오염 우려 및 대책기준을 고려하여 카드뮴의 경우 CdCl₂를 이용하여 4, 10 mg kg⁻¹, 비소의 경우 Na₂HAsO₄를 이용하여 10, 20 mg kg⁻¹ 수준으로 처리하였다. 시험에 사용한 포트는 1/2000a 와그너 포트로 토양은 풍건 후 5mm 체로 쳐서 15kg를 기준으로 카드뮴 및 비소를 처리 한 후 충전하였다. 시비량은 농촌진흥청 표준시비량을 기준으로 N-P₂O₅-K₂O = 200-59-128 kg ha⁻¹로 처리하였고, 상추의 재배는 5월초 육묘한 묘를 5월 말에 이식하여 7월 중순에 수확하였다.

토양 및 식물체 분석

토양의 화학성분 분석은 농업과학기술원 토양화학분석법¹⁴⁾에 준하여 분석하였다. 토양의 가용성 카드뮴 및 비소 분석은 토양오염공정시험방법¹³⁾에 준하여 토양 10g을 100ml 삼각플라스크에 취하여 카드뮴은 0.1N-HCl, 비소는 1N-HCl을 50ml씩을 가하고 30°C에서 각각 1시간, 30분간 진탕한 후에 No. 6 여지로 여과하여 그 여액을 분석용 시료로 이용하였다. 토양의 총 카드뮴 및 비소 함량은 토양시료 0.5g을 정확히 달아 Conc. HNO₃ 5ml를 가하고 Microwave(Questron, QMAX 4000)로 분해 후 그 여액을 분석

Table 2. Chemical fractionation scheme for Cd and As in soil

Fraction	Reagent conditions*	Shaking time(hr.)
1. Exchangeable	16 mL 1 M MgCl ₂ (pH 7.0)	1
2. Dilute acid extractable	16 mL 1 M NaOAc adjusted to pH 5 with HOAc	5
3. Fe-Mn oxide bound	40 mL of 0.175 M (NH ₄) ₂ C ₂ O ₄ and 0.1 M H ₂ C ₂ O ₄	4
4. Organically bound	40 mL of 0.1 M Na ₄ P ₂ O ₇	24
5. Residual	Dry(in oven) 0.1 g of material remaining after step 4. Add 4 mL HNO ₃ , 0.1 mL HClO ₄ , and heat at 140°C for 3.5hr. Add 5.0 g boric acid and dilute to 100 mL volume	

* There volumes are for 1.00g oven-dried soil. Extractions 1 through 4 were performed at room temperature for the stated times. Separation between steps was by decantation of the centrifugate for 20min. at 1500 rpm.

용 시료로 이용하였다. 토양의 형태별 중금속 추출은 표 2와 같이 5단계 추출방법을 이용하여 치환성, 묶은산 추출, Fe-Mn 산화물 결합, 유기 결합형 및 잔류물(규산염 형태)로 분류하여 순차적으로 추출하였다^{15,16)}.

상추의 카드뮴 및 비소분석은 수확한 상추를 흐르는 물에 깨끗이 씻어 음건 후 50°C로 조절된 열풍건조기에서 건조한 다음 분쇄기로 분쇄하여 분석시료로 이용하였다. 식물체 분해는 분해액인 삼상용액(HNO₃:HClO₄:H₂SO₄=10:4:1)을 사용하여 열판상에서 분해 후 여과하여 그 여액을 분석용 시료로 이용하였다¹⁴⁾. 전처리한 토양의 가용성 및 총 중금속, 형태별 중금속함량, 식물체의 중금속함량은 유도결합플라즈마 발광광도분석기(ICP-OES, GBC Integra XMP)를 이용하여 분석하였다¹³⁾.

작물의 polyamine 분석

작물의 폴리아민 분석은 Kim과 Heinrich⁷⁾의 방법에 준하여 생체시료 1g을 냉각시킨 후 5% HClO₄ 5ml를 혼합하여 1시간 정치한 후 24,000 x g로 20분간 원심분리한 후 상정액을 취하여 추출하였다. Conjugated polyamine은 상정액 1ml를 6N-HCl 용액 4ml에 흡수한 후 상온에서 20분간 방치한 후 10μl benzoyl chloride를 첨가 30초간 vortexing하여 benzoylation하였다. Benzoylation한 후 20분간 상온에서 방치하여 2ml 포화 NaCl과 4°C의 2ml diethylether 순서로 혼합, 격렬하게 vortexing한 다음 상층 ether층 1ml를 취하여 진공 건조하였다.

건조된 폴리아민 시료들은 2ml absolute methanol에 용해시킨 후 HPLC (Waters, C-18 column)로 분석하였다. 분석결과는 총 free amine과 conjugated amine의 총량으로 합산하였고 폴리아민 계산은 254nm에서 흡광도를 측정하여 peak area를 고려하여 정량하였다.

결과 및 고찰

토양의 카드뮴 및 비소처리 농도에 따른 상추 잎과 뿌리의 생체중은 표 3과 같다. 상추 잎은 무처리구가 카드뮴 처리구보다 생체중이 높았으며 생체중 감소는 비소보다 카드뮴 처리구에서 높게 나타났다. 뿌리의 생체중도 잎의 경향과 유사하여 비소처리보다 카드뮴 처리구에서 생체중 감소가 큰 것으로 나타났다. 비소의 경우 10 mg kg⁻¹처리구의 잎과 뿌리 생체중이 무처리구와 유사하여 생육저해현상이 카드뮴에 비하여 높은 농도에서도 적은 것으로 나타났다.

Table 3. Lettuce yield at the cadmium and arsenic treated soil

Treatment	Leaves	Roots
	(g pot ⁻¹ , FW)	
Control	31.52	7.56
Cd 4	23.33	5.96
Cd 10	21.98	4.80
As 10	31.68	7.86
As 20	26.60	6.50

Table 4. Contents of cadmium and arsenic of lettuce grown at the cadmium and arsenic treated soil (Unit : mg kg⁻¹)

Plant parts	Cd treatment			As treatment		
	0	4	10	0	10	20
Leaves	0.22	16.56	39.24	N.D	0.11	0.26
Roots	0.06	6.77	14.87	N.D	0.20	0.47

* N.D : not detected

카드뮴 및 비소처리 농도에 따른 상추의 카드뮴과 비소함량은 표 4와 같다. 카드뮴 처리로 잎과 뿌리의 카드뮴 함량은 처리농도에 비례하여 높았으며 뿌리보다 잎중의 농도가 높은 것으로 보아 뿌리에서 흡수되어 잎으로의 흡수축적이 큰 것을 알 수 있었다.

비소처리도 카드뮴과 같이 처리농도에 비례하여 잎과 뿌리의 농도가 높았으며 카드뮴과는 달리 잎보다 뿌리의 카드뮴 농도가 높게 나타났다. 위의 결과 카드뮴은 생육저해 및 흡수축적이 비소보다 매우 크고 특히 잎의 카드뮴 축적정도가 높게 나타났는데 일반적으로 카드뮴은 생육저해보다 식물체의 흡수축적이 높아 식품안전성의 문제가 되는 것으로 알려진 성분이다. 비소의 경우 카드뮴보다 생육저해 및 흡수축적이 매우 낮았으며 잎보다 뿌리중의 비소함량이 높았다. 이는 비소의 경우 논토양과 같이 환원 상태에서 생육피해가 큰 것으로 보고¹⁷⁾되었는데, 본 실험에 이용된 토양은 산화상태인 밭토양이기 때문에 상대적으로 생육피해가 적었던 것으로 사료되었다. Machlis¹⁸⁾는 식물에 의한 비소 흡수축적될 때 지상부보다 지하부에서 피해증상이 크게 나타나고 수분흡수 장애를 일으킨다고 보고하였다.

카드뮴 및 비소 처리토양에서 재배한 상추의 polyamine 함량은 그림 1, 2와 같다. 토양의 카드뮴 처리농도가 높을수록 잎의 putrescine 및 cadaverine 함량이 증가하였고 비소의 경우도 무처리구보다 비소처리구에서 잎의 putrescine 및 cadaverine 함량이 높게 나타났다. 일반적으로 독성중금속질에 의하여 식물자체의 내성으로 식물체의 polyamine 함량은 증가하는데 김 등⁷⁾은 카드뮴 처리로 인하여 중금속 내성식물인 미나리와 감수성인 밀에서

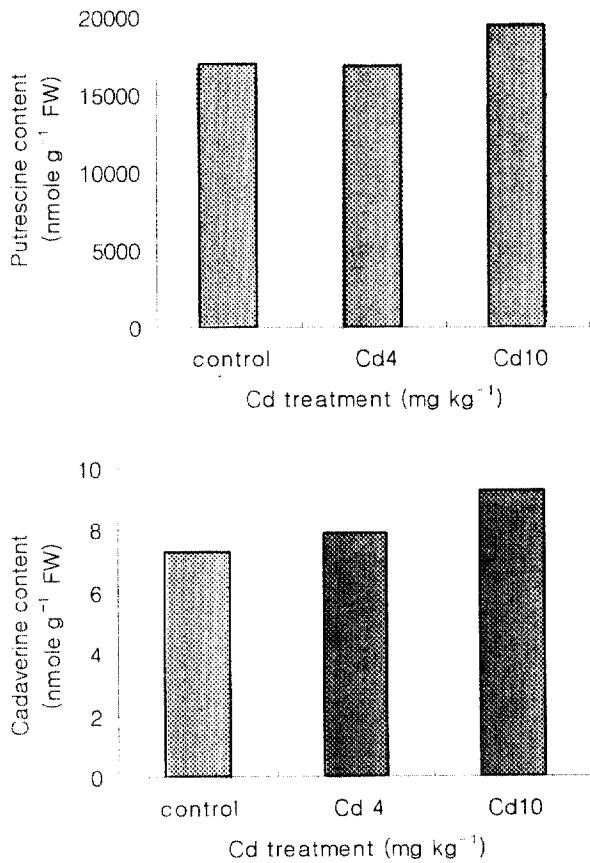


Fig. 1. Content of putrescine and cadaverine of lettuce grown the cadmium treated upland soil

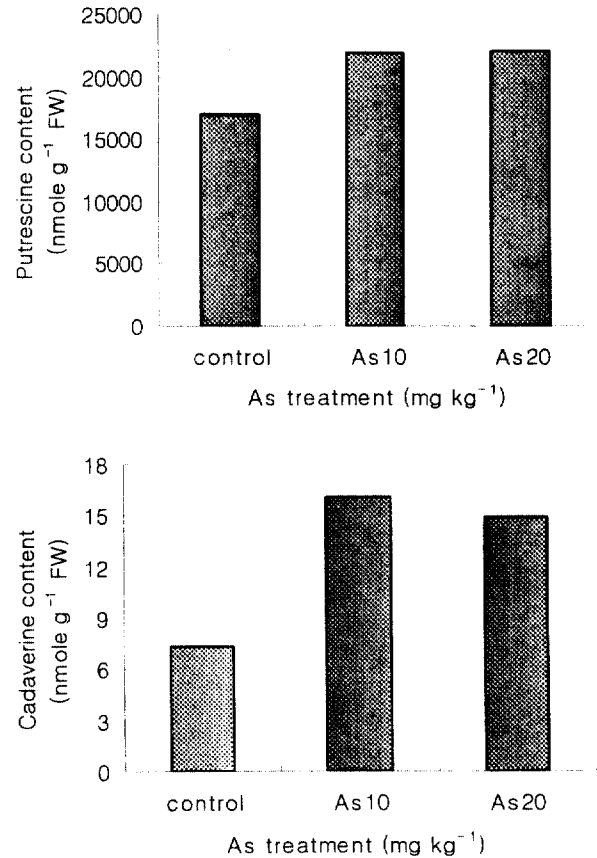


Fig. 2. Content of putrescine and cadaverine of lettuce grown the arsenic treated upland soil

Table 5. Cadmium and arsenic contents in sequential fractionation of the cadmium and arsenic treated upland soil after lettuce harvest (mg kg⁻¹)

Fraction	Cadmium treatment			Arsenic treatment		
	0	4	10	0	10	20
Exchangeable	0.044	1.660	4.371	0.012	0.130	0.361
Dilute acid-extractable	0.014	0.004	1.191	0.008	0.075	0.192
Organically bound	0.033	0.078	0.127	0.041	0.213	0.372
Fe-Mn oxide bound	0.022	0.044	0.068	0.067	0.831	2.064
Residual	1.506	2.273	4.277	0.219	0.426	0.854

모두 잎과 엽록체내 polyamine 함량이 증가하였고 미나리는 엽록체내에 다량의 polyamine을 함유하기 때문에 thylakoid막 주변에서 polyamine 비공유결합 능력이 상대적으로 높고 막 단백질에 비특이적인 중금속 결합을 억제한다고 하였다. 비소의 경우도 카드뮴보다 상대적으로 흡수축적 및 생육저해는 적지만 비소독성에 대한 식물자체의 내성으로 상추 잎의 polyamine 함량이 증가된 것으로 생각된다. Putrescine과 같은 아민종류들은 건조 및 한발스트레스를 받으면 증가하여¹⁰⁾ 본 실험결과처럼 중금속에 의한 수분흡수장애가 최종적으로 세포내 염류의 농도를 증가시키면서 내성기작이 작동되는 것으로 보였다.

상추를 수확한 후 토양에 잔류한 카드뮴을 형태별 추출순서에 따라 분석한 결과는 표 5와 같다. 토양의 카드뮴 처리량과 비례하여 잔류농도가 높았으며 처리량이 높을수록 토양에서 이동성이 크고 식물에 흡수되기 쉬운 형태인 치환형, 묽은산 추출형 및 유기물 결합형의 함량이 무처리, 4, 10 mg kg⁻¹처리구에서 각각 5.6, 42.9, 56.7%로 처리농도에 비례하여 증가하였다.

비소의 경우 토양의 비소처리량에 비해 형태별 함량의 합이 매우 낮게 나타났으며 비소 처리량 증가에 따른 토양 이동성이 크고 식물에 흡수가 용이한 형태인 치환성, 묽은산 추출형, 유기물 결합형 함량이 어떤 뚜렷한 경향이 없었다. 특히 철-망간 산화형과 잔류형(규산염 형태)의 함량이 무처리구 82%, 처리구 75% 정도로 처리구에서 비율이 낮게 나타났으나 식물에 흡수 용이한 형태보다 상대적으로 많은 함량비율로 식물체로의 흡수 이행이 낮은 원인이라고 생각된다.

토양의 단계별 추출방법에 따라 순차적으로 추출 분석한 형태별 카드뮴 함량과 상추 중 카드뮴 함량의 관계는 표 6과 같다. 상추 잎 및 뿌리 모두 식물에 흡수 용이한 형태로 알려진 치환형

Table 6. Correlation coefficient(n=15) between the cadmium content in sequential fractionation of the soil and cadmium content in lettuce

Part of plant	Exchangeable	Dilute acid - extractable	Organically bound	Fe-Mn oxide bound	Residual
Leaves	0.984**	0.958**	0.246 ^{ns}	0.394 ^{ns}	0.734**
Roots	0.970**	0.927**	0.292 ^{ns}	0.468 ^{ns}	0.759**

* : p<0.05, ** : p<0.01, ns : not significant

Table 7. Correlation coefficient(n=15) between the arsenic content in sequential fractionation of the soil and arsenic content in lettuce

Part of plant	Exchangeable	Dilute acid - extractable	Organically bound	Fe-Mn oxide bound	Residual
Leaves	0.244 ^{ns}	0.324 ^{ns}	0.307 ^{ns}	0.048 ^{ns}	0.260 ^{ns}
Roots	0.953**	0.926**	0.903**	0.755**	0.649**

* : p<0.05, ** : p<0.01, ns : not significant

및 묽은산 추출형과 고도의 정의 상관관계를 보였고, 유기물결합형 및 철-망간 산화결합형과는 유의성이 없었다. 위의 결과 잎과 뿌리의 카드뮴함량이 치환형과 묽은산 추출형과 고도의 정의 상관관계를 보여 김 등¹⁸⁾의 결과와 일치하였고 상추의 경우 뿌리에 흡수된 카드뮴이 잎으로의 전이가 용이한 작물이라고 생각되었다. 그러나 작물에 흡수되기 어려운 형태인 잔류형과의 상추의 카드뮴함량이 유의적인 상관관계를 보여 다른 결과와 상이하고 뿌리와 잎 모두에서 같은 경향을 보여 중금속 종류 및 작물별로 더 깊은 연구가 필요하다고 생각되었다.

토양의 단계적 추출방법에 따라 순차적으로 추출 분석한 형태별 비소함량과 상추중 비소함량의 관계는 표 7과 같다. 토양의 모든 형태별 함량과 상추 뿌리는 고도의 정의 상관관계를 보였고 잎의 경우 유의적인 관계가 없는 것으로 나타났다. 위의 결과 비소의 경우 카드뮴과 상이하게 잎에서도 작물에 흡수되기 용이한 치환형 및 묽은산 추출형과도 일정한 관계가 없어 뿌리로 흡수된 비소가 지상부인 잎으로 전이가 적은 것으로 생각할 수 있었다. 위의 결과는 뿌리의 비소함량이 작물에 흡수되기 어려운 형태인 철-망간 산화형 및 잔류형과 상관관계를 보인 것은 김 등¹⁸⁾의 결과와 상이하나 비소가 식물에 흡수될 경우 지하부에 축적되고 수분흡수 저해 등 피해증상이 지하부에서 일어난다는 Machlis¹¹⁾의 결과와 일치하는 것으로 생각된다.

요 약

토양의 카드뮴과 비소함량이 작물생육에 미치는 영향을 구명하기 위해서 작물의 흡수 및 중금속 stress로 인한 polyamine함량 변화를 조사하여 작물의 중금속 내성기작의 기초자료를 얻고자 수행하였다.

토양의 카드뮴과 비소처리로 작물의 생체중은 감소하였고 상추의 흡수량도 중금속처리량에 비례하여 증가하였으며 특히 비소보다 카드뮴처리로 생체중 감소 및 흡수축적양상이 크게 나타났다. 상추의 polyamine함량은 카드뮴 및 비소처리에 따라 증가하였고 카드뮴보다 비소처리에서 putrescine 및 cadaverine 함량이 높게 나타났다. 시험후 토양의 형태별 중금속함량은 치환형, 묽은산 추출형, 유기결합형이 카드뮴처리구에서 5.6, 42.9, 56.7 %, 비소처리구에서 17.6, 25.0, 24.1 %가 증가하였다. 카드

몹 처리구에서 토양의 치환형, 흡착형 및 잔류형 카드뮴 함량은 잎과 뿌리의 카드뮴함량과 고도의 정의 상관관계를 보였고 비소처리구에서는 토양의 모든 형태가 뿌리의 비소함량과 정의 상관관계를 보였다.

감사의 글

본 연구는 1999년도 농촌진흥청 박사후 연수과정 선정과제의 일부입니다.

참고 문헌

- Kabata-Pendias, A. and Pendias H. 1984. Trace Elements in Soils and Plants, CRC Press. Inc.
- Dabin, P., Marafante, E., Mousny, J. M., and Myttenaere, C., 1978. Adsorption distribution and binding of cadmium and Zinc in irrigated rice plants, Plant Soil, 50, 329
- Braude, G. L., Nash, A. M., Wolf, W. J., Carr, R. L., and Chaney, R. L., 1980. Cadmium and lead content of soybean products, J. Food Sci., 45, 1187
- Machlis, L. 1941. Accumulation of arsenic in the shoots of sudan grass and bush beans. Plant Physiol. 16. 521-544
- Bonner, J. 1950. Arsenate as a selective inhibitor of growth substance action. J. Plant. Physiol. 25. 181-184
- Kim, T. W., and G. Heinrich. 1995. Strontium metabolism in higher plants : Effect of strontium on the polyamine biosynthesis during germination of wheat(*Triticum aestivum* L.). Korea J. Environ. Agr. 14. 55-71
- Kim, T. W., H. Y. Heo, W. H. Yeh., and J. C. Ryu. 1997. Change of protein and polyamine metabolism in chloroplast by heavy metal contamination : polyamine localization in chloroplast, thylakoid and photosystem II after Cd-treatment in *Triticum aestivum* and *Oenantha javanica*. RDA J. Agr. Sci. 38. 29-36
- Arthur, W. Galston and Ravindar K. Sawhey. 1990. Polyamines in Plant Physiology. Plant Physiol, 94, 406-410
- Altman, A. and Bachrach, U. 1981. Involvement of polyamines in plant growth and senescence. - In Advances in polyamine Research, Vol. 3, (Caldarera, C. M., Zappia, V. & Bachrach, U., eds), pp. 365-375. Raven Press, New York. ISBN 0-89004-621-2.
- Galston, A. W. and Kaur-Sawhney, R. 1980. Polyamines in plants and plant cells. - What's New in Plant Physiology 11 : 5-8.
- Coleman, R. G. and F. J. Richards. 1956. Physiological studies in plant nutrition. XVIII. Some aspects of nitrogen metabolism in barley and other plants in relation to potassium deficiency. Ann. Bot. NS 20. 393-409
- Priebe, A. H. Klein, H-J Jager. 1978. Effects of polyamines on tissue permeability. Phytochemistry. 17. 1885-1887
- Ministry of Environment. 1996. Standard Test Method for soil pollution
- NIAST(National Institute of Agricultural Science and Technology). 1988. Methods of Soil Chemical Analysis
- Elliott, H. A., Dempsey B. A. and Maille, P. J. 1990. Content and Fractionation of Heavy Metals in Water Treatment Sludges, J. Environ. Qual., 19(3) : 330-334
- Gibson, J. J. and Farmer, J. G. 1986. Multi-step sequential chemical extraction of heavy metals from urban soils, Environ. pollut. Ser., B 11 : 117-135
- Tensho, K. 1973. Studies on behavior of trace elements in flooded soil-rice system by radio-isotope technique, studies on Soils and Fertilizers in Modern Agriculture, No.4. 65-71
- Kim, S. J., S. H. Baek, K. H. Moon. 1996. Fractionation of Heavy Metals and Correlation with Their Contents in Rice Plant Grown in Paddy near Smelter Area. Korea J. Environ. Agr., 15(1) : 1-10