

오존에 노출된 덩굴식물류, 쇠뜨기, 썩의 광색소 함량과 SOD 활성 변화

박은희¹ · 김종갑¹ · 이재천² · 한심희²

¹경상대학교 산림과학부

²임업연구원 임목육종부

(2002년 8월 5일 접수; 2002년 9월 6일 수락)

Photosynthetic Pigment Concentrations and Changes of SOD Activities on Liana, *Equisetum Arvense* and *Artemisia Princeps* Exposed to Ozone

Eun-Hee Park¹, Jong-Kab Kim¹, Jae-Cheon Lee² and Sim-Hee Han²

¹Faculty of Forest Science, Cyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

²Korea Forest Research Institute, Suwon 441-350, Korea

(Received August 5, 2002; Accepted September 6, 2002)

ABSTRACT

This study was analyzed to photosynthetic pigment concentrations and changes of SOD activities on seven species of liana of *A. heterophylla*, *P. scandens*, *V. thunbergii*, *P. tricuspidata*, *C. trilobus*, *L. japonica* and *T. kirilowii*, and two species of *E. arvense* and *A. princeps* of non climbing plants. Concentrations of chlorophyll a and b, total chlorophylls and total carotenoids of *P. tricuspidata* in 100 ppb ozone site were the most increased. It was the most increased to *P. scandens* in ratio of chlorophylls and carotenoids, and *E. arvense* in ratio of chlorophyll a and b. There was difference to ratio of chlorophyll a and b of liana and non liana. At ratio of chlorophyll a and b of 100 ppb ozone site and the control it was more sensitive to chlorophyll a than chlorophyll b, and *P. tricuspidata* was the most sensitive at comparing with species, and it was more sensitive to liana than non liana. In SOD activities *A. princeps* was the most increased to 3535.7 unit/g, and *P. scandens* was the fewest increased to 109.3 unit/g, and *A. heterophylla* was only decreased to 131.7 unit/g in comparing to 100 ppb ozone sites and the control.

Key words : photosynthetic pigment, SOD activities, liana, non liana, 100 ppb ozone

I. 서 론

근세기에 들어 고도의 산업화와 도시화로 인한 화석 연료의 수요 급증과 광범위한 오염물질의 확산은 매우 심화된 대기오염의 문제를 초래하게 되었다. SO₂, NO₂, O₃ 등과 같은 대기오염물질로 인한 자연생태계의 오염은 일차적으로 토양 및 수서 생태계의 산성화를 가져오며, 그 이후에 여러 생물학적인 반응과 함께

이차적인 쇠퇴현상을 초래하게 되었다(Bache, 1980; Freedman, 1989).

특히, 오존은 광화학 산화물의 90% 이상을 차지하고 있으며, 강한 독성을 가진 이차 대기오염물질 중의 하나로 식물의 생장에 해로운 효과를 나타낸다. 오존이 식물체에 흡수되면 기공 폐쇄와 엽육 세포를 손상시켜 광합성 능력을 감소시키고(Pääkkönen *et al.*, 1996), 체내 대사 작용이 방해받기 때문에 이를

회복하는데 필요한 에너지 생산을 위해 호흡율이 증가하므로 결국 생장이 감소한다(Skärby *et al.*, 1987). 오존의 체내 유입에 대응하는 식물의 반응은 크게 두 가지로 볼 수 있다. 하나는 체내로의 오존 유입을 차단하기 위하여 기공을 닫는 것이고, 다른 하나는 세포 내에 유입된 오존을 해독하는 과정에서 발생한 각종 활성산소를 제거하는 것이다(Heath, 1980). 활성산소(activated oxygen)는 식물의 대사과정에서 필연적으로 발생하지만(Lidon and Henriques, 1993), 오존과 같은 대기오염물질에 의해 세포내에서 발생한 활성 산소는 각종 산화적 장애를 일으킨다(Asada, 1999). 또한 활성 산소는 O_3 자체보다도 생체물질과 반응성이 높기 때문에 광합성 관련 색소들의 파괴, 핵산, 단백질, 지질 등의 변성을 일으키고, 산림에서 흔히 예측될 수 있는 또 다른 오염인자인 중금속이나 산성우 등으로 심각해진 토양오염 등과 복합적으로 작용하여 산림 전체의 활력을 쇠퇴시키고 있는 것으로 보고되고 있다.

우리 나라 최대의 공업도시인 울산광역시 온산공단은 1960년대 이후 공장이 가동되어 국가 경제성장에 크게 기여했지만, 대규모 공단개발에 대한 경험이 축적되지 않는 상태에서 건설되고 석유화학 계열의 공장 과 제련, 비료공장이 들어선 석유화학 공업도시로 발전하여 대기오염에 큰 영향을 끼치고 있다. 따라서 대기오염에 의한 산림의 피해를 경감시키고 오염물질에 대한 저항력이나 완충 역할을 높이기 위해서 많은 연구가 지속되어야 할 것이다.

본 연구는 울산광역시 온산공단내 상층식생에 해충 임분이 우점하고 있는 지역(Kim, 1992)이 10년이 지난 후 대부분의 해충이 피해를 받아 고사되고 산림이 나지상태로 변하고 있는데 비하여 일부 덩굴식물은 높은 생존력을 나타내어 잠재적인 우점 현상을 보여주고 있는 것에 주목하여, 상층식생이 없는 나지상태에서 잠재적인 우점 현상을 보이고 있는 덩굴식물이 장기적으로 정착하여 지속적으로 우점도를 유지할 수 있을 것인지에 대하여 오존의 민감성을 비교하여 성장반응을 알아보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

2.1. 조사지 개황

연구대상지인 울산광역시 온산공단지역은 우리 나라 최대의 석유화학공업단지로서 1980년 초부터 공장 가동

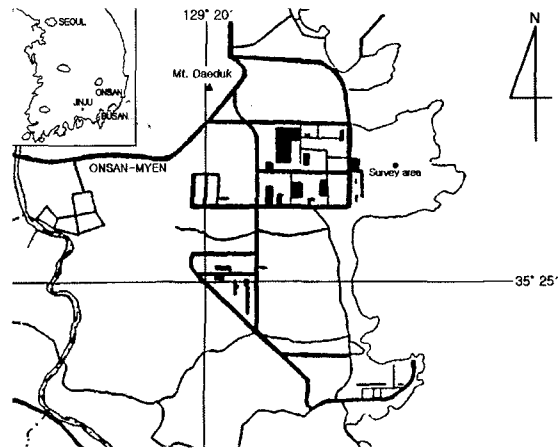


Fig. 1. Sampling sites at Onsan industrial complex.

을 시작하여 현재는 70여 개의 크고 작은 공장들이 가동 중이며, 특히 비료화학, 동 및 아연제련소, 펄프 제지, 정유 및 석유화학공업단지들이 주를 이루고 있다(Fig. 1). 조사지역의 최근 10년간(1991년~2000년) 기후는 주변 산지가 겨울 복서풍을 막아주고 동해에 난류가 흘러들어 연평균 기온은 14.1°C 로 비교적 온화한 기후를 나타내고 있으며, 연평균 강우량은 1338 mm로서 우리 나라의 전형적인 여름철 집중 강우특성을 나타내는 지역이다. 주변 산림은 상층에서는 주로 해송이 우점하고 있으며, 중·하층에서는 아까시나무, 사방오리나무, 산철쭉, 청미래덩굴이 우점하고 있고, 초본류에는 억새, 전동싸리, 기름새 등이 출현하고 있었다.

2.2. 공시재료

본 실험에 사용한 덩굴식물은 개머루(*Ampelopsis heterophylla*), 계요등(*Paederia scandens*), 까마귀머루(*Vitis thunbergii*), 담쟁이덩굴(*Parthenocissus tricuspidata*), 땀덩이덩굴(*Cocculus trilobus*), 인동덩굴(*Lonicera japonica*), 하늘타리(*Trichosanthes kirilowii*) 등 7수종이며, 덩굴식물이 아닌 쇠뜨기(*Equisetum arvense*), 쑥(*Artemisia princeps*) 등 2수종으로 총 9수종을 이용하였다. 위 수종을 2001년 10월 초순에 1년생 가지를 채취하여 길이 15 cm로 잘라 삼수를 조제하였다. 삼수는 $1.8 \times 3.6 \text{ m}$ 전열온상을 설치하여 온도 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도 $60 \pm 10\%$ 조건을 유지하여 매일 관수하였다. 잎이 4~5장 이상 자란 후 퍼얼라이트와 피트모스를 1:1(v/v)로 혼합한 배양토를 직경 13 cm 포트에 채우고 1수종 당 50개씩 총 450개(50개 \times 9수종)의 삼목묘를 만들었다.

뿌리가 활착된 후 임목육종부 환경제어실내의 자연광 형실내로 옮겨 온도 25±2°C, 습도 60±10% 조건을 유지하며 포트의 상태에 따라 관수를 하였다.

2.3. 오존처리

오존처리는 인공광챔버를 이용하였다(Lee et al., 1999, 2002). 환경변화의 충격을 완화하기 위하여 오존처리 1주일전 각 클론별로 50본 중에서 생장이 고르고 활력이 있는 20본씩 총 180본(20본×9수종)을 먼저 선별하였다. 대조구로 사용하기 위한 clean room 과 우리 나라 오존의 1시간 평균 환경기준인 100 ppb 처리구로 구분하였으며, 처리구별로 각각 10본씩 총 90본(10본×9수종)을 chamber 내로 옮겼다. 처리기간 중 550 μmolm⁻²s⁻¹의 광 조건과 온도 25±1°C, 습도 60±5%를 유지하였다. 오존처리는 오전 9시부터 오후 5시까지 하루 8시간 씩 6월 10일부터 6월 24일까지 2주간 계속하여 실시하였다.

2.4. 잎내 광색소 함량과 Superoxide dismutase (SOD) 활성 측정

잎내의 색소 함량은 dimethyl sulphoxide(DMSO) 방법에 의하여 측정되었다(Hiscox and Israelstam, 1979). 광합성이 측정된 잎을 사용하였다. 0.1 g 생엽에 DMSO 10 ml를 첨가하고 70°C의 항온 수조에서 2시간 동안 유지하여 색소를 추출하였다. 추출액의 흡광도는 470, 645, 663 nm에서 Unicam UV Series spectrophotometer(ATI, USA)를 이용하여 측정하였으며, 색소함량은 Lichtenthaler(1987)의 식에 의해 계산하였다.

SOD 활성의 측정은 nitro blue tetrazolium(NBT)-xanthine oxidase 법에 따라 수행되었다(Kim et al., 1991). SOD 활성은 Asada et al.(1974)에 따라 V/v-1의 식에 의해서 계산하였다. V와 v는 각각 SOD가

없을 때와 존재할 때, NBT의 환원 속도를 나타낸다.

III. 결과 및 고찰

3.1. 수종별 광색소 함량

덩굴식물류 7수종과 쇠뜨기, 쪽의 광색소 함량을 분석한 결과 앞에서 측정된 색소함량은 수종별로 다른 차이를 보였다(Table 1)

엽록소 a는 개머루, 계요등, 땀쟁이덩굴, 쇠뜨기, 쪽, 인동덩굴의 100 ppb 처리구에서 감소하였으며, 까마귀머루, 담쟁이덩굴, 하늘타리의 100 ppb 처리구에서 증가하였다(Fig. 2). 특히, 담쟁이덩굴의 100 ppb 처리구에서 가장 큰 폭으로 증가하였으며, 쇠뜨기의 대조구와 100 ppb 처리구는 변화가 없었다. 엽록소 b는 개머루, 계요등, 땀쟁이덩굴, 인동덩굴, 하늘타리, 쇠뜨기, 쪽의 100 ppb 처리구에서 감소하였으며, 까마귀머루, 담쟁이덩굴의 100 ppb 처리구에서 증가하였다. 엽록소 b는 수종간의 큰 차이를 보였다(Table 1). 또한 총 엽록소 함량은 수종간과 처리간 큰 차이를 보였다(Table 1).

카로테노이드 함량은 개머루, 계요등, 땀쟁이덩굴, 인동덩굴, 하늘타리, 쇠뜨기, 쪽의 100 ppb 처리구에서 감소하였으며, 까마귀머루, 담쟁이덩굴의 100 ppb 처리구에서 증가하였다. 특히 계요등의 100 ppb 처리구에서 크게 감소하였으며, 담쟁이덩굴의 100 ppb 처리구에서 크게 증가하였다.

엽록소 b와 a의 비는 하늘타리 한 수종을 제외하고 모든 수종의 100 ppb 처리구에서 증가하였으며, 카로테노이드와 총 엽록소 함량의 비도 엽록소 b와 a의 비와 같이 나타났다.

일반적으로 고등식물에서 엽록소 a와 b의 비율은 대략 1~3이지만, 성장조건과 특수 환경은 엽록소 a와 b의 비율을 변화시킨다. 엽록소 b와 a의 비에서 보면 엽록소 b보다 엽록소 a가 더 민감한 차이를 보였으며,

Table 1. F-values for analysis of variance and significance levels for photosynthetic pigments and superoxide dismutase of seven vine plants, *E. arvense*, and *A. princeps* exposed to 100 ppb ozone for 2 weeks

Source	df	F value(week)					
		Chla	Chlb	Tchl	Chlb/a	Car/Tchl	SOD
Species(S)	8	3136***	1355***	6717***	78***	4.19**	140***
Ozone(O)	1	1057***	53***	1750***	121***	0.45	154***
S × O	8	402***	125***	796***	12***	1.97	49***

** and *** are represented significant differences at 0.01 and 0.001 respectively.
 Chla : Chlorophyll a, Chlb : Chlorophyll b, Tchl : Total chlorophylls, Chlb/a : Chlorophyll b/a, Car/Tchl : Carotenoids/Total chlorophylls.

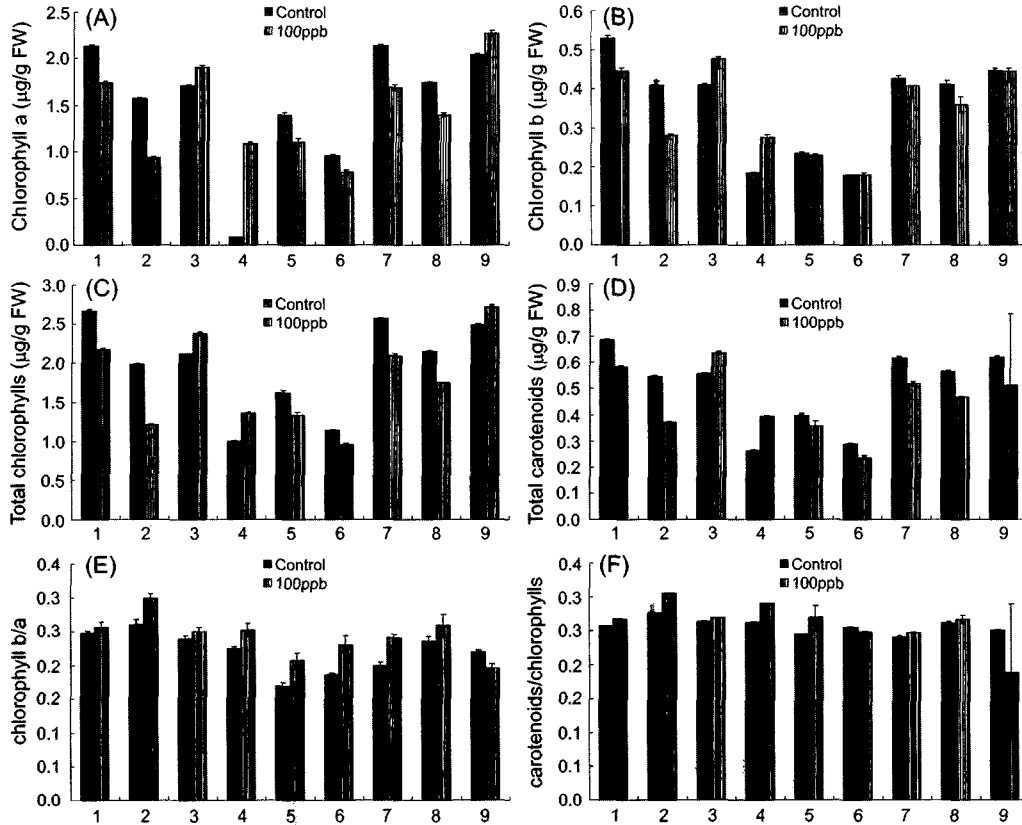


Fig. 2. Photosynthetic pigment concentrations in the leaves of seven vine plants, *E. arvensis*, and *A. princeps* exposed to 100 ppb ozone for 2 weeks. Each bar represents the mean of 10 replicates \pm SD. A : Chlorophyll a, B : Chlorophyll b, C : Total chlorophylls, D : Total carotenoids, E : Chlorophyll b/a, F : Carotenoids chlorophylls. 1. *A. heterophylla* 2. *P. scandens* 3. *V. thunbergii* 4. *P. tricuspidata* 5. *C. trilobus* 6. *E. arvensis* 7. *A. princeps* 8. *L. japonica* 9. *T. kirilowii*.

담쟁이덩굴이 가장 민감하였고, 덩굴식물이 아닌 쇠뜨기, 쪽보다 덩굴식물이 더 민감한 것으로 나타났다.

3.2. 수종별 SOD 활성 변화

덩굴식물류 7수종과 쇠뜨기, 쪽에서 측정된 SOD 활성은 대조구와 100 ppb 처리구에서 수종별 차이를 보였다(Table 1, Fig. 3).

SOD 활성은 쪽이 대조구의 8배 가량 증가하는 변화를 나타냈으며, 개머루를 제외한 대부분의 수종에서 증가하였다. 특히 덩굴식물 중 담쟁이덩굴은 대조구의 4.5배로 가장 높은 증가폭을 나타냈고, 인동덩굴은 1.9배, 까마귀머루 1.7배, 하늘타리 1.4배, 쇠뜨기 1.5배로 나타났다. SOD는 식물을 포함한 모든 생물에 존재한다. 식물체에서 SOD의 활성은 병균의 침입, 저온 등 여러 가지 환경적, 화학적 자극에 의해 증가되는

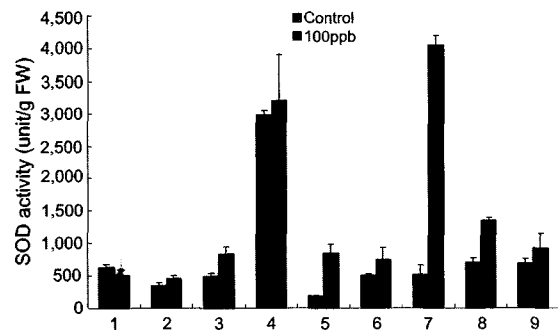


Fig. 3. SOD activity of seven vine plants, *E. arvensis*, and *A. princeps* exposed to 100 ppb ozone for 2 weeks. Each bar represents the mean of 10 replicates \pm SD.

것으로 알려져 있으며(Huttunen and Heiska, 1988), 일반적으로 다양한 스트레스 하에서 내성 수종들의 SOD

활성은 증가하지만(Sen Gupta *et al.*, 1991; Sheng *et al.*, 1997; Park *et al.*, 1998), 스트레스가 장기간 지속되거나 과도한 스트레스가 가해지면 SOD 활성은 감소하게 된다(Han, 2000).

IV. 적 요

덩굴식물 개머루, 계요등, 까마귀머루, 담쟁이덩굴, 맹대이덩굴, 인동덩굴, 하늘타리 등 7수종과 덩굴식물이 아닌 쇠뜨기, 쪽 등 2수종을 이용하여 광색소 함량과 SOD 활성에 대하여 분석한 결과는 다음과 같다.

100 ppb 처리구에서 볼 때 엽록소 a, 엽록소 b, 총 엽록소 함량, 카로테노이드에서 담쟁이덩굴이 가장 많이 증가하였으며, 엽록소 b와 a의 비에서는 쇠뜨기, 카로테노이드와 총 엽록소의 비에서는 계요등에서 가장 많이 증가하였다. 덩굴식물과 덩굴식물이 아닌 쇠뜨기, 쪽의 비교에서는 엽록소 b와 엽록소 a의 비에서 확실한 차이를 보였다.

엽록소 a와 b의 비에서보면 엽록소 b보다 엽록소 a가 더 민감한 차이를 보였으며, 수종에서는 담쟁이덩굴, 덩굴식물과 덩굴식물이 아닌 쇠뜨기, 쪽의 비교에서는 덩굴식물이 민감한 것으로 나타났다.

SOD 활성에서는 100 ppb 처리구에서 덩굴식물류 7수종과 쇠뜨기, 쪽의 처리전과 처리후의 차이는 쪽에서 3535.7 unit/g로 매우 크게 증가하였으며, 계요등이 109.3 unit/g로 가장 적게 증가하였고, 개머루 한 수종에서 131.7 unit/g로 감소했다.

인용문헌

Asad, K.M. Takahashi and M. Nagate, 1974: Assay and inhibitors of spinach superoxide dismutase. *Agricultural and Biological Chemistry*, **38**, 471-473.
 Asada, K., 1999: The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Analytical Biochemistry*, **44**, 276-287.
 Bache, B.W., 1980: The acidification of soil. Plenum Press, New York and London. 202p.
 Freedman, B., 1989: Environmental Ecology. Academic Press, Inc. San Diego. 424p.
 Han, S.H., 2000: Tolerance of *Populus* species to heavy metals in contaminated soils and changes in CD tolerance by mycorrhizal inoculation with *Pisolithus tinctorius*. Ph.D. Thesis, Seoul National University, 152p.
 Heath, R.L., 1980: Initial events in injury to plants by air

pollutants. *Annual Review of Plants Physiology*, **31**, 395-431.
 Hiscox, J.D. and G.F. Israelstam, 1979: A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal Botany*, **57**, 1332-1334.
 Huttunen, S. and E. Heiska, 1988: Superoxide dismutase (SOD) activity in scots pine(*Pinus sylvestris* L.) and Norway spruce(*Picea abies* L. Karst) needles in northern Finland. *Eur. J. For. Path.* **18**, 343-350.
 Kim, J.K., 1992: Study on Herbs Vegetation in the Vicinity of Onsan Industrial Complex. *Korean J. Ecology*, **15**(3), 247-255.
 Kim, J.P., C.K. Hahn, and J. Jung, 1991: Induction of antioxidative enzymes as defence systems in plant cells against low temperature stress: (I) Accumulation of pyruvate in cells during post-chilling period. *J. Korean Agric. Chem. Soc.* **34**, 162-167.
 Lee, J.C., J.M. Skelly, K.C. Steiner, J.W. Zhang and J.E. Savage, 1999: Foliar response of black cherry(*Prunus serotina*) clones to ambient ozone exposure in central Pennsylvania. *Environment Pollution*, **105**, 325-331.
 Lee, J.C., K.C. Steiner, J.W. Zhang, and J.M. Skelly, 2002: Heritability of Ozone Sensitivity in Open-Pollinated Families of Black Cherry(*Prunus serotina* Ehrh.). *Forest Science*, **48**, 111-117.
 Lidon, F.C. and F.C. Henripues, 1993: Oxygen metabolism in higher plant chloroplasts. *Photosynthetica*, **29**, 249-279.
 Lichtenthaler, H.K., 1987: Chlorophylls and carotenoids : pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, **148**, 350-382.
 Pääkkönen, E., J. Vahala, T. Holopainen, R. Karjalainen and L. Karenlampi, 1996: Growth responses and related biochemical and ultrastructural changes of the photosynthetic apparatus in birch(*Betula pendula* Roth.) saplings exposed to low concentrations of ozone. *Tree Physiology*, **16**, 597-605.
 Park, Y.G., Sul, I.W., Kim, H.Y., Chung, I.K. and Shin, D.I., 1998: Changes in SOD Activity and Expression of SOD Gene in Two Hybrid Poplars Exposed to Short-term Ozone Treatment. *Korean J. Breed.* **30**(1), 36-41.
 Seb Gupta, A., R.G. Alscher and D. McCune, 1991: Response of photosynthesis and cellular antioxidants to ozone in *Populus* leaves. *Plant Physiology*, **96**, 650-655.
 Sheng, Y., G.K. Podila and D.F. Karnosky, 1997: Differences in O₃-induced superoxide dismutase and glutathione antioxidant expression in O₃ tolerant and sensitive trembling aspen(*Populus tremuloides* Michx.) clones. *Forest Genetics*, **80**, 45-52.
 Skärby L., E. Troeng and C.A. Bostrom, 1987: Ozone uptake and effects on transpiration, net photosynthesis, and dark respiration in Scotch pine. *Forest Science*, **33**, 801-808.