

SO₂에 노출된 4개 수종의 엽내 광색소 함량 및 SOD 활성 변화*

이재천¹ · 한심희¹ · 권기원² · 우수영³ · 최정호²

¹임업연구원, ²충남대학교 산림자원학과, ³서울시립대 환경원예학과

(2003년 1월 4일 접수; 2003년 2월 27일 수락)

Changes of Photosynthetic Pigment Contents and SOD Activity in the Leaves of Four Tree Species Exposed to SO₂

Jae-Cheon Lee¹, Sim-Hee Han¹, Ki-Won Kwon², Su-Young Woo³, and Jeong-Ho Choi²

¹Dept. of Forest Genetic Resources, Korea Forest Research Institute, Suwon 441-350, Korea

²Dept. of Forest Resources, Chungnam Nat'l Univ., Daejeon 305-764, Korea

³Dept. of Environmental Horticulture, The University of Seoul, Seoul 130-743, Korea

(Received January 4, 2003; Accepted February 27, 2003)

ABSTRACT

This study was conducted to compare physiological responses of *Pinus densiflora*, *Populus × tomentiglandulosa*, *Quercus acutissima* and *Eleutherococcus sessiliflorus* exposed to SO₂ by measuring photosynthetic pigment contents and SOD activity. Four woody plants were exposed to relatively high SO₂ concentration (500 ppb, 800 ppb) for 8h day⁻¹ for 7 days in a chamber. Photosynthetic pigment contents in the leaves of four species decreased with increase of SO₂ concentration; also chlorophyll a, chlorophyll b and total carotenoid content were significantly different among tree species and treatments. The ratio of chlorophyll b to chlorophyll a of *E. sessiliflorus* and *Q. acutissima* increased for 500 ppb treatment, but decreased at 800 ppb. This result showed that chlorophyll a was destroyed by 500 ppb SO₂ and chlorophyll b by 800 ppb SO₂. Therefore, the sensitivity of chlorophyll a to SO₂ may be higher than that of chlorophyll b. SOD activity differed significantly between species and treatments. SOD activity of *E. sessiliflorus* and *Q. acutissima* increased at 500 ppb but decreased at 800 ppb, but *P. densiflora* and *P. × tomentiglandulosa* maintained high SOD activity at both 500 ppb and 800 ppb. Based on the photosynthetic pigment contents and SOD activity in the leaves of four tree species, the tolerance of *P. × tomentiglandulosa* to SO₂ was the highest of four tree species.

Key words : SO₂, photosynthetic pigment, chlorophyll, carotenoids, SOD, resistance

I. 서 론

최근 고도의 산업화와 도시화로 인하여 화석연료의 수요가 급격히 급증하고 있으며, 이로 인한 오염물질의 배출량 또한 증가하여 오염물질의 확산이 광범위하게 이루어져 매우 심화된 문제가 초래되었다. 일반적으로 대기오염물질은 토양 및 수서 생태계의 산성화를

통해 일차적인 오염을 일으키며, 그 후 여러 가지 생물학적인 반응을 거쳐 이차적인 쇠퇴현상을 초래한다 (Bache, 1980; Freedman, 1989). 특히 SO₂는 일차 대기오염물질 중의 하나로 물에 매우 잘 녹는 무색의 자극성 불연성 가스로서, 주 배출원은 황을 함유하고 있는 석탄과 석유가 연소, 금속 제련과정, 기타 산업 공정 등이다. SO₂는 질소 산화물과 함께 산성비의 주

Corresponding Author : Ki-Won Kwon(kiwon@cnu.ac.kr)

*본 논문은 농촌진흥청의 바이오그린 21 사업에 의해 지원된 연구결과의 일부임

요 원인 물질이며, 토양, 호수, 하천의 산성화에 영향을 미친다. 최근 선진국들은 배출 규제를 통하여 SO₂ 배출량을 감소시켰다. 그러나 개발도상국의 배출이 증가하여 전세계적으로는 증가추세에 있다(Agrawal and Deepak, 2003).

SO₂는 농도가 낮거나 식물 체 내에 황이 결핍되었을 경우, 식물 생장에 긍정적인 영향을 준다(Darrall, 1989). 그러나 일반적으로 SO₂가 식물체에 흡수되면 황산염이나 아황산염으로 축적되어 독성을 나타내고(Darrall, 1989; Agrawal and Verma, 1997), 체내 대사 작용이 방해받기 때문에 이를 회복하기 위한 에너지 생산으로 호흡이 증가하여 결국 생장이 감소하게 된다(Skärby et al., 1987). 그러나 SO₂와 같은 대기오염물질은 식물의 방어 작용에 의해 독성이 제거되기도 한다. 즉 대기오염물질들은 식물체내에 흡수되면 세포 내 각종 활성산소(activated oxygen)가 생성된다(Heath, 1980). 활성산소는 식물의 대사과정에서 필연적으로 발생하지만(Lidon and Henriques, 1993), 대기오염물질에 의해 발생한 활성산소는 각종 산화적 장해를 일으키며(Asada, 1999), 생체물질과 반응성이 높기 때문에 광합성 관련 색소들의 파괴, 핵산, 단백질, 지질 등의 변성을 일으킨다. 이러한 활성산소는 체 내 항산화효소와 항산화물질에 의해 제

거되는데 최근까지도 항산화 관련 연구는 국내외적으로 활발히 진행되고 있다. 또한 각종 대기오염물질에 대해 내성을 보이는 수종 또는 개체를 선발하기 위해 수목의 항산화 기능을 기준으로 이용하기도 한다.

따라서 본 연구는 SO₂에 노출된 목본 식물의 생리적 피해 및 내성을 비교하고, 각 수종의 내성 특성을 기준으로 내성 수종을 선발하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

2.1. 공시수종

공시수종은 소나무(*Pinus densiflora* S. et Z.), 오갈피나무(*Eleutherococcus sessiliflorus* Seem), 현사시(*Populus × tomentiglandulosa*), 상수리나무(*Quercus acutissima* Carruth)였다. 소나무는 2001년 파종한 후 생장시킨 2-0묘를 사용하였으며, 오갈피나무는 2년생 묘목을 사용하였다. 현사시는 3월 초에 삼수를 채취하여 4°C에 보관한 후, 4월 초에 포트에 삼목하였다. 상수리나무 종자는 젖은 모래와 섞어서 냉장고에 저장하여 발근을 유도한 후, 포트에 이식하여 생장시켜 실험 재료로 사용하였다.

2.2. SO₂ 처리 방법

SO₂ 처리는 Fig. 1의 모식도에서 보여 주는 것과

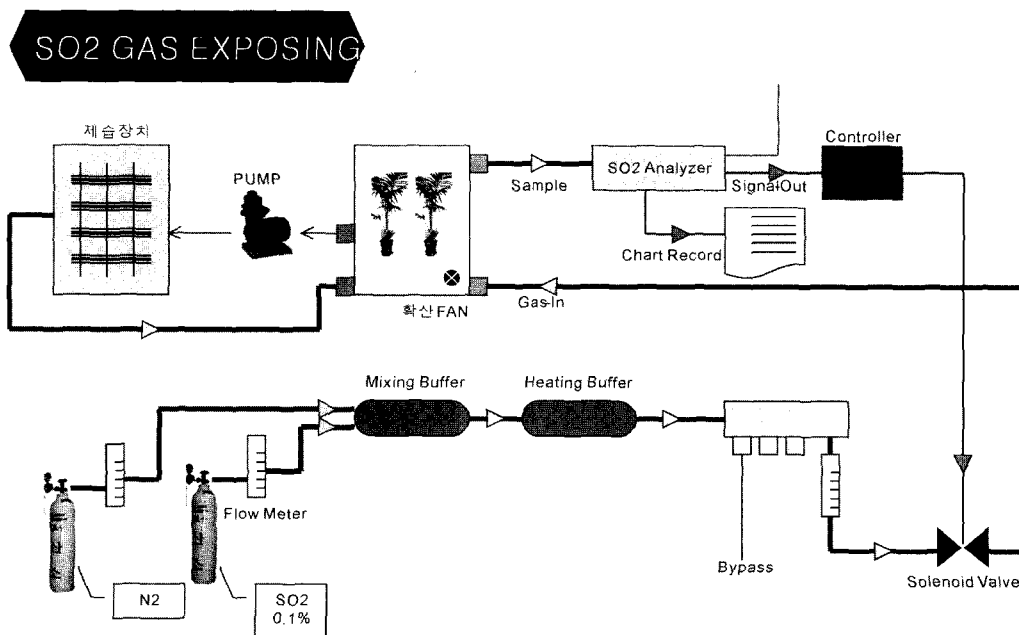


Fig. 1. Figure of SO₂ treatment system.

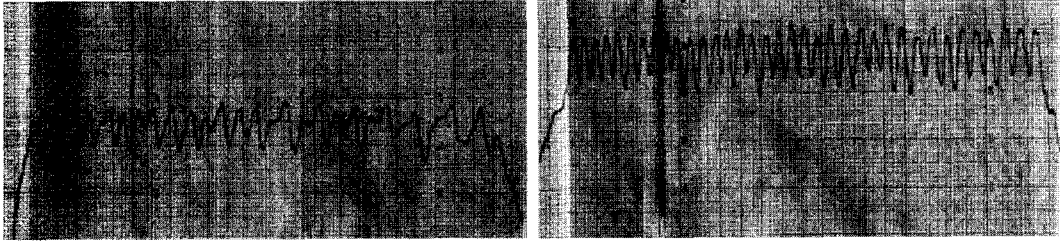


Fig. 2. The change of SO₂ concentration at 500 ppm(left) and 800 ppm(right).

같은 시스템을 구성하여 챔버 내에서 실시하였다. 처리농도는 대조구와 500 ppb, 800 ppb로 하루에 8시간씩 7일간 연속으로 노출하였다. SO₂ 노출이 종료된 묘목 중 잎을 채취하여 광색소 함량과 SOD 활성을 분석하였다. SO₂ 처리기간 동안의 500 ppb와 800 ppb의 농도 변화는 Fig. 2와 같이 나타났다.

2.3. 엽 내 광색소 함량

엽 내 광색소 함량 측정은 dimethyl sulphoxide (DMSO)를 이용하여 추출하는 Hiscox and Israelstam (1979)의 방법을 사용하였다. 0.1 g 생엽에 DMSO 10 ml를 첨가하고 70°C의 항온 수조에서 2시간 동안 유지하여 색소를 추출하였다. 추출액의 흡광도는 470, 645, 663 nm에서 측정하였다.

2.4. Superoxide dismutase(SOD) 활성 측정

SOD 활성의 측정은 nitro blue tetrazolium(NBT)-xanthine oxidase 법에 따라 수행하였다(Beauchamp and Fridovich, 1971). 모든 작업은 0-4°C에서 수행하였으며, 0.1 g의 신선한 시료에 1.5 ml의 완충액을 넣고 균질화시켰다. 완충액은 3.72 mg의 EDTA(ethylenediamine tetraacetic acid)와 1 g의 PVP(polyvinylpyrrolidone)을 50 mM KH₂PO₄(pH 7.8) 100 ml에 용해시켜 제조하였다. 균질화된 시료는 20,000×g에서 15분 동안 원심 분리한 후 상등액은 완충액을 이용하여 15배로 희석하였다. 0.3 ml의 상등액은 200 μM의 NBT 0.6 ml와 53 μM의 xanthine 1.8 ml로 구성된 반응액에 첨가하였다. 60 μg ml⁻¹의 xanthine oxidase 0.3 ml를 반응 혼합물에 첨가하여 반응을 개시하고, 환원 속도는 530 nm에서 120초 동안의 흡광도의 증가를 측정하여 결정하였다. SOD 활성은 Asada *et al.* (1974)에 따라 V/v-1의 식에 의해서 계산하였다. V와 v는 각각 SOD가 없을 때와 존재할 때, NBT의 환원 속도

를 나타낸다.

III. 결과 및 고찰

3.1. 수종별 광색소 함량 변화

소나무, 오갈피나무, 현사시, 상수리나무의 광색소 함량은 수종간, 처리간에 뚜렷한 차이를 보였다(Table 1). SO₂에 노출된 4개 수종의 엽록소 a, b, 카로티노이드 함량은 SO₂의 처리 농도가 증가함에 따라 감소하였다. Fig. 3A에 나타난 바와 같이, 소나무의 엽록소 a는 SO₂ 농도가 증가함에 따라 뚜렷하게 감소하였고, 오갈피나무의 엽록소 a는 SO₂ 처리구에서 대조구보다 크게 감소하였으나, 500 ppb와 800 ppb 간의 차이는 없었다. 현사시의 경우, 500 ppb 처리구의 엽록소 a는 대조구와 큰 차이가 없었으나, 800 ppb 처리구에서는 감소하였다. 상수리나무의 엽록소 a는 500 ppb 처리구에서 대조구보다 크게 감소하였으나, 오갈피나무와 마찬가지로 800 ppb 처리구의 엽록소 a는 500 ppb 처리구와 큰 차이가 없었다. 엽록소 b는 Fig. 3B에 나타난 바와 같이, 오갈피나무를 제외한 모든 수종에서 감소하였고, 특히 상수리나무의 경우 다른 수

Table 1. F-values for analysis of variance and significance levels for photosynthetic pigment contents of *P. densiflora*, *P. × tomentiglandulosa*, *Q. acutissima* and *E. sessiliflorus* exposed to 500 ppb and 800 ppb SO₂

Source	df	F value				
		Chla	Chlb	Chlb/a	Car	Car/Tchl
Species(S)	3	412***	2598***	21921***	7715***	299***
SO ₂ (T)	2	351***	233***	1157***	1345***	10***
S×T	6	37***	37***	975***	120***	73***

** and *** are represented significant differences at 0.01 and 0.001 respectively.

Chla : Chlorophyll a, Chlb : Chlorophyll b, Chlb/a : Chlorophyll b/a, Car/Tchl : Carotenoids/Total chlorophylls.

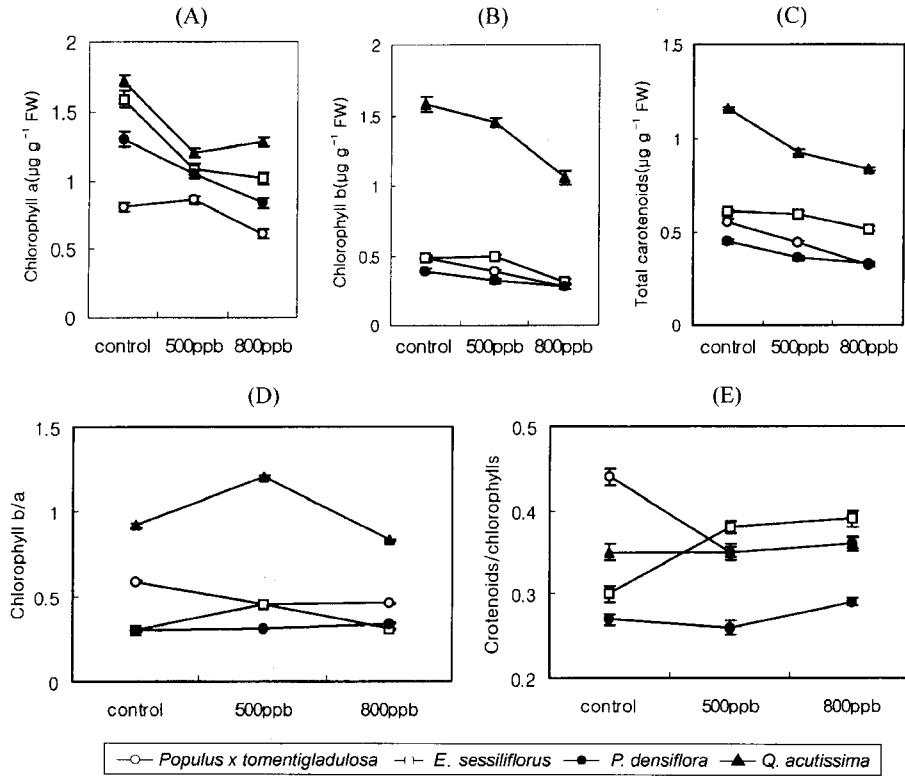


Fig. 3. Photosynthetic pigment concentrations in the leaves of *P. densiflora*, *Q. acutissima*, *E. sessiliflorus*, and *P. x tomentiglandulosa*. Each data point represents the mean of 3 replicates \pm SD. A : Chlorophyll a, B : Chlorophyll b, C : Chlorophyll b/a, D : Total carotenoids, E : Carotenoids/chlorophylls. There was significant difference among species and among treatments ($p < 0.001$).

종보다 민감하게 반응하는 것을 알 수 있었다. Fig. 3D에는 엽록소 b와 a의 비를 나타냈는데, 오갈피나무와 상수리나무의 경우 500 ppb에서 엽록소 b와 a의 비가 증가하였으나, 800 ppb에서는 엽록소 b와 a의 비가 감소하였다. 이것은 500 ppb의 SO₂에 노출된 오갈피나무와 상수리나무의 잎 내 엽록소 a가 파괴되었음을 나타내는 것이며, Fig. 3A와 3B에서도 볼 수 있듯이 800 ppb의 SO₂에 노출될 경우 엽록소 a 뿐만 아니라 엽록소 b도 파괴되었음을 알 수 있다. 이러한 경향으로 볼 때, 엽록소 a와 결합된 단백질복합체가 엽록소 b와 결합된 단백질복합체보다 조기에 파괴되는 것으로 생각된다(Park et al., 2002). 일반적으로 대기 오염물질에 식물이 노출되면 잎 내 엽록소 a는 엽록소 b보다 민감하게 반응하여 쉽게 파괴되어 엽록소 b와 a의 비가 증가하는 것으로 알려져 있다(Hallgren, 1978; Sane et al., 1996). SO₂에 의한 엽록소 a의 감

소 경향으로 판단해 볼 때, 본 연구에 이용한 4개 수종은 SO₂에 대해 매우 민감한 반응을 보이는 것으로 나타났다.

카로티노이드의 경우, Fig. 3C에 나타난 바와 같이 소나무, 현사시, 상수리나무는 500 ppb 처리구와 800 ppb 처리구 모두에서 SO₂에 의해 큰 영향을 받아 카로티노이드 함량이 감소하였다. 그러나 오갈피나무는 500 ppb 처리구에서 SO₂에 의한 영향이 나타나지 않았으며, 800 ppb 처리의 영향도 적었다. 카로티노이드와 총 엽록소 함량의 비는 카로티노이드와 엽록소간의 민감성 차이를 알 수 있는데(Fig. 3E), 일반적으로 엽록소가 카로티노이드보다 민감한 것으로 나타난다. 카로티노이드와 엽록소의 비는 수종간 큰 차이를 나타냈다. 소나무와 오갈피나무는 카로티노이드와 엽록소의 비가 증가하였으나, 현사시의 카로티노이드와 엽록소의 비는 감소하였다. 광색소 함량의 변화에 따라 SO₂

민감성을 비교해 볼 때, 처리 농도에 따라 엽록소와 카로티노이드 함량이 감소하는 소나무가 가장 민감하며, 엽록소 500 ppb 처리구에서 엽록소 함량이 유지되는 것으로 보이는 현사시가 가장 저항성이 높은 수종으로 판단된다.

3.2. 수종별 SOD 활성 변화

SOD는 식물을 포함한 모든 생물에 존재한다. 식물체에서 SOD의 활성은 병균의 침입, 저온 등 여러 가지 환경적, 화학적 자극에 의해 증가되는 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(Eickhoff *et al.*, 1995; Han, 2000). 소나무, 오갈피나무, 현사시, 상수리나무에서 측정된 SOD 활성은 수종별, 처리별 큰 차이를 보이고 있다(Fig. 4). 소나무의 경우 SO_2 의 농도가 올라감에 따라 SOD의 활성이 증가하였으며, 오갈피나무와 상수리나무는 500 ppb에서는 증가하였으나 800 ppb에서는 대조구보다 낮게 나타났다. 현사시의 SOD 활성은 500 ppb 처리구와 800 ppb 처리구 모두에서 대조구의 SOD 활성보다 높게 나타났으나, 500 ppb와 800 ppb 간에는 큰 차이를 나타내지 않았다. 즉 오갈피나무와 상수리나무는 500 ppb 처리구에서는 SOD 활성이 증가하다가 더 높은 농도에서는 내성이 상실됨을 알 수 있었으며, 소나무와 현사시의 경우는 500 ppb 처리와 800 ppb 처리에서 높은 SOD 활성을 유지하여 내성을

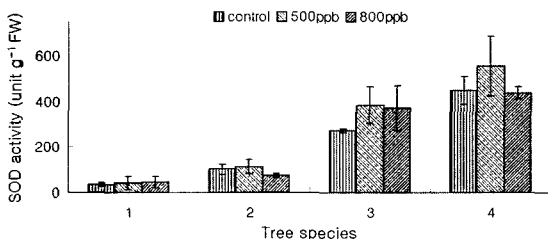


Fig. 4. SOD activity of *P. densiflora*, *Q. acutissima*, *E. sessiliflorus*, and *P. x tomentiglandulosa*. Each bar represents the mean of 3 replicates \pm SD. 1. *P. densiflora*, 2. *E. sessiliflorus*, 3. *P. x tomentiglandulosa*, 4. *Q. acutissima*. There was significant difference among species ($p < 0.001$) and among treatments ($p < 0.01$).

보이는 것으로 판단된다. 그러나 Fig. 3에서 살펴본 바와 같이 높은 SO_2 농도에서는 엽록소 함량의 감소가 내성 관련 물질의 생산에 필요한 에너지의 생산에 영향을 미쳐 장기간 노출이 지속될 경우 피해가 발생될 것으로 판단된다. 또한 광색소와 SOD 활성을 기준으로 판단해 볼 때, 현사시가 SO_2 에 대해 가장 높은 저항성을 가졌다고 볼 수 있는데, 이러한 특성은 생장이 비교적 빠른 속성수에 주로 나타난다(Cox and Rains, 1972; Godbold *et al.*, 1998; Han, 2000).

IV. 적 요

목본 식물을 대상으로 SO_2 에 의해 나타나는 생리적인 반응을 구명하기 위하여 소나무, 오갈피나무, 현사시, 상수리나무를 대상으로 SO_2 를 500 ppb, 800 ppb로 하루에 8시간씩 7일간 처리하여 잎의 광색소 함량과 SOD 활성을 비교 분석한 결과는 다음과 같았다.

SO_2 의 처리 농도가 증가할수록 4개 수종의 잎 내 엽록소 함량은 감소하였으며, 엽록소 a와 엽록소 b, 카로티노이드 함량의 변화는 수종별, 처리별로 다른 경향을 보였다. 오갈피나무와 상수리나무의 엽록소 b와 a의 비는 SO_2 는 500 ppb 처리구에서는 증가하다가 800 ppb 처리구에서는 감소하였다. 즉 500 ppb에서는 엽록소 a가 파괴되며, 800 ppb에서는 엽록소 b도 파괴될 수 있음을 보여 주었으며, SO_2 에 대한 민감성은 엽록소 a가 엽록소 b보다 높은 것으로 나타났다. 4개 수종의 잎 SOD 활성은 수종별, 처리별 큰 차이를 나타냈다. 오갈피나무와 상수리나무는 500 ppb 처리구에서는 SOD 활성이 증가하다가 더 높은 농도에서는 활성이 감소하였으며, 소나무와 현사시의 경우는 500 ppb 처리와 800 ppb 처리에서 높은 SOD 활성을 유지하여 내성을 보인다. 그러나 광색소와 SOD 활성을 기준으로 판단해 볼 때, SO_2 에 대한 저항성은 현사시가 가장 높은 것으로 판단된다.

인용문헌

- Agrawal, M. and M. Verma, 1997: Amelioration of sulphur dioxide phytotoxicity in wheat cultivars by modifying NPK nutrients. *Journal of Environmental Management*, **49**, 231-244.
- Agrawal, M. and S. S. Deepak, 2003: Physiological and biochemical responses of two cultivars of wheat to

- elevated levels of CO₂ and SO₂, singly and in combination. *Environmental Pollution*, **121**, 189-197.
- Asada, K., 1999: The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. *Analytical Biochemistry*, **44**, 276-287.
- Asada, K., M. Takahashi and M. Nagate, 1974: Assay and inhibitors of spinach superoxide dismutase. *Agricultural and Biological Chemistry*, **38**, 471-473.
- Bache, B. W., 1980: The acidification of soil. Plenum Press, New York and London. 202p.
- Beauchamp C. and I. Fridovich, 1971: Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, **44**, 276-287.
- Cox, W. J. and D. W. Rains, 1972: Effects of lime on lead uptake by five plant species. *Journal of Environmental Quality*, **1**, 167-169.
- Darrall, N. M., 1989: The effect of air pollutants on physiological processes in plants. *Plant, Cell and Environment*, **12**, 1-30.
- Eickhoff, J., E. potts, J. Valtos and E. C. Niederhoffer, 1995: Heavy metal effects on *Proteus mirabilis* superoxide dismutase production. *FEMS Microbiology Letters*, **132**, 271-276.
- Freedman, B., 1989: Environmental Ecology. Academic Press, Inc. San Diego. 424p.
- Godbold, D. L., G. Jentschke, S. Winter and P. Marschner, 1998: Ectomycorrhizas and amelioration of metal stress in forest trees. *Chemosphere*, **36**, 757-762.
- Hallgren, J. E., 1978: Physiological and biochemical effects of sulfur dioxide on plants. In *Sulfur in the Environment*. J. O. Nriagu, (Eds.) John Wiley & Sons, 163-209.
- 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 Plant 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 of 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. *European Journal of Forest Pathology*, **18**, 343-350.
- Lidon, F. C. and F. C. Henriques, 1993: Oxygen metabolism in higher plant chloroplasts. *Photosynthetica*, **29**, 249-279.
- Park, E. H., J. K. Kim, J. C. Lee and S. H. Han, 2002: Photosynthetic Pigment Concentrations and Changes of SOD activities on Liana, *Equisetum arvense* and *Artemisia princeps* exposed to Ozone. *Korean Journal of Agricultural and Forest Meteorology*, **4**, 159-163.
- Park, Y. G., I. W. Sul, H. Y. Kim, I. K. Chung and D. I. Shin, 1998: Changes in SOD Activity and Expression of SOD Gene in Two Hybrid Poplars Exposed to Short-term Ozone Treatment. *Korean Journal of Breeding*, **30**, 36-41.
- Sane, P. V., M. Yunus and R. D. Tripathi, 1996: Impact of ozone on carbon metabolism in plants. *Plant Response to Air Pollution*. M. Yunus and M. Iqbal, (Eds.), John Wiley & Sons, 295-318.
- Sen 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.