

다환방향족탄화수소가 콩과 벼의 생육에 미치는 영향

김영주* · 심두보* · 송선화* · 김석현* · 정종일* · 김민철* · 정정성* · 김형곤** · 심상인****[†]

*경상대학교 농업생명과학대학 농학과, **배재대학교 원예조경학부, ***경상대학교 생명과학연구원

Influences of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on Soybean and Rice Growth

Young-Ju Kim*, Doo-Bo Shim*, Sun-Hwa Song*, Seok-Hyeon Kim*, Jong-Il Chung*, Hyung-Gon Kim**,
Min-Chul Kim*, Jeong-Sung Chung*, and Sang-In Shim****[†]

*Department of Agronomy, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

**Department of Horticulture and Landscape, Paichai University, Daejeon 302-735, Korea

***Institute of Agriculture & Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

ABSTRACT Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are a group of ubiquitous hazardous pollutants derived from fossil fuel, various combustion sources and pyrolysis of a wide range of plastics. Because PAHs can be uptake into crop plants, the inhibitory effects on rice and soybean plants were examined in greenhouse and growth chamber experiment. Soil-applied PAHs (phenanthrene of 0, 10, 30, 100 ppm) slightly reduced the plant height and dry weight both in transplanted rice and soybean plant. The inhibitory effect on growth was greater in soybean than rice. Plant height of soybean plants treated by 100 ppm was 58.9 cm and this value was 87.2% of untreated plant. In rice plant, the plant height was less inhibited (96.0% of untreated plant) by 100 ppm at 80 days after treatment (DAT). However, leaf chlorophyll content and chlorophyll fluorescence were less inhibited by PAHs at late growth stage (after heading) although the photosynthesis-related parameters were slightly inhibited from 20 DAT to 70 DAT. In agar medium experiment with infant seedlings, inhibition of seedling length and fresh weight by phenanthrene at 100 ppm were greater as compared to the experiment with adult plant in pot. Seedling length and fresh weight were reduced by 54.2% and 33.3% for rice and 27.9% and 13.2% for soybean, respectively. The results reflected that PAHs were more inhibitory during juvenile stage than adult stage and more inhibitory to rice plant than soybean for juvenile stage.

Keywords : PAHs, Rice, soybean, phenanthrene

인간 활동에 의한 환경오염으로 인하여 오염된 토양에서 생육하는 식물의 피해가 종종 나타나며 작물의 경우도 환경 오염에 의해 영향을 받는다. 독성 오염원에 의한 피해는 단기적으로는 급성 생태 독성으로 나타나거나, 장기적으로는 만성 생태 독성으로 나타나 분자 수준에서부터 생태계 전체 수준까지 영향을 줄 수 있다. 환경 오염물질의 종류는 매우 다양하지만 대표적인 물질로는 유기성 오염물질인 다환탄화수소(polycyclic aromatic hydrocarbons; PAHs)와 중금속이 있다. 그 중 산업화가 계속될수록 유류오염에 의한 PAHs의 문제가 더욱 심각해질 것으로 보인다.

산업화와 경제성장에 따른 연료소비 증가로 인해 다량의 오염물질이 대량으로 방출되어 환경오염을 유발시키고 있는데, 특히 화석연료의 소비 증가로 인해 잔류 기간이 길며, 독성이 강한 지속성유기오염물질(persistent organic pollutants, POPs)의 배출이 늘어나고 있다. POPs에 속하는 다환방향족탄화수소(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)는 다양한 개별 종의 불완전 연소 혹은 유기물의 열분해로 발생 되는데, 자동차 배기가스 뿐만 아니라 유류 오염지에서도 높은 농도로 존재하여 문제가 된다.

PAHs가 생물체에 미치는 영향은 아직까지 잘 알려져 있지 않고 있으나, 식물에 대한 피해는 독성학 적인 측면에서 부분적으로 보고(Huang *et al.*, 1996)되어 있다. PAHs는 호기적 조건에서 생분해가 된다고 한다(Freitag *et al.*, 1985; Srivastava *et al.* 1990.; Wild *et al.*, 1990). 한편 식물은 근권의 작용 등으로 인하여 PAHs의 분해가 촉진되는 경우가 있어 PAHs와 식물 생육 간에 밀접한 관계가 있는 것으로

[†]Corresponding author: (Phone) +82-55-772-1873 (E-mail) sishim@gsnu.ac.kr
<Received 3 April, 2014; Revised 7 May, 2014; Accepted 14 May, 2014>

보여 진다(MacLeod & Daugulis, 2005). 또한 PAHs는 생물체에 대해 PAHs가 일종의 photosensitizer로 작용하여 독성을 유발한다고 알려져 있으며(Ren *et al.*, 1996), 이로 인하여 광이 있는 조건에서는 문제를 일으켜 식물체의 잎에 독성을 띄게 하여 광합성을 억제하고 엽에 피해를 준다고 보고되었다(Huang *et al.*, 1996). 그러나 발아 과정에 있어서는 큰 영향을 주지 않는다고 한다(Ren *et al.*, 1996).

PAHs가 오염된 토양에서 작물을 재배할 경우 PAHs가 작물에 흡수된다고 보고되고 있다(Kipopoulou *et al.*, 1999). 식물에서 뿌리로부터 줄기로의 이행성을 보면 줄기부분에서 아주 적은 양이 이동하며, 여러 작물에서 작물별로 이행성을 알아본 연구에서 잎에서부터 뿌리로의 이행성 보다는 뿌리에서 잎으로의 이행성이 더 큰 것으로 나타났다(Durmishidze *et al.*, 1974). 콩의 경우 PAHs 중 anthracene은 뿌리에서 잎으로 이행되었으며, 잎을 통해 흡수된 anthracene의 경우 뿌리으로도 이행한다(Edward *et al.*, 1982). PAHs의 흡수·이행은 이 밖에도 작물의 종류, PAHs의 분자량 및 용해도, 처리 농도 및 재배토양의 차이에 의해서도 달라지는 것으로 알려져 있다(Binet *et al.*, 2000; Kipopoulou *et al.*, 1999).

국내 경우에는 PAHs에 대한 작물의 피해 정도 및 축적 정도에 대한 연구는 아직까지는 미흡한 실정이다. 그러나 오염이 심화됨에 따라 PAHs가 오염된 토양에서 작물이 재배될 수 있으며 이 경우 작물로 흡수될 수 있어 이에 대한 연구가 필요하다고 볼 수 있다. 본 연구는 PAHs에 속하는 phenanthrene을 토양에 처리하여 이에 따른 콩과 벼의 생육 변화와 체내축적 양상을 조사함으로써, 다른 작물에 대한 PAHs 피해 연구의 기초자료를 제공하고자 수행하였다.

재료 및 방법

공시재료

본 실험에서 실험 재료는 우리나라에서 육성된 콩 품종과 벼 품종인 태광콩과 동진1호를 이용하였고, 처리된 PAHs는 대표적인 종인 phenanthrene를 이용하였다.

생육조사

팟트시험

콩과 벼는 육묘 트레이에서 각각 2011년 5월 21일과 4월 21일 파종 후 13일과 43일 동안 육묘 후 팟트에 이식하였다. 각 각의 육묘들을 PAHs(phenanthrene)가 처리된 토양에 이식하였다. Phenanthrene 처리는 0, 10, 30, 100 ppm의 농도로써 최소량의 아세톤에 녹인 후 분무기로 토양에 골고루 섞어 준 다음 각 팟트 당 토양을 콩은 3 kg, 벼는 3.5 kg

을 충전하고 육묘들을 이식하였다. 이식 21일 후부터 초장, 엽록소 함량과 엽록소 형광을 10반복씩 10일 간격으로 측정하였다. 엽록소 함량은 SPAD-502(Minolta, Japan)을 사용하여 상위 2~3번째 잎에서 측정하였고, 엽록소 형광은 광차단 클립을 이용하여 30분간 암 조건을 준 후 OS-30P(Opti-sciences, USA)를 이용하여 상위 2~3번째 잎에서 측정하였다.

한천배지실험

PAHs 흡수량 측정을 위하여 8일 동안 키운 콩 육묘와 12일 동안 키운 벼 육묘를 이용하였다. 콩 육묘와 벼 육묘를 멸균한 증류수로 세척한 후 0, 10, 30, 100, 300 ppm 농도의 오염물질이 첨가된 1% MS배지에 이식하고 25°C/15°C (12 hr/hr)의 growth chamber에서 1주일간 키운 후 초장과 생체중, 엽록소 형광을 측정하였다. PAHs 처리는 MS 배지에 농도를 달리하여 첨가하였다.

식물체내 phenanthrene 축적량 분석

Phenanthrene 처리 후 채취한 생엽 0.5 g에 동량의 anhydrous sodium sulphate을 첨가하고 마쇄한 후 dichloromethane:acetone(1:1)을 3 mL을 넣고 sonicator에 넣어 3분간 추출하였다. 추출 후 이 추출액을 3000rpm에서 원심분리 하였다. 이 과정을 2회 반복한 다음 추출한 용액(9 mL)을 합친 후, 이 용액을 회전농축기에서 약 0.5 mL 정도 남도록 휘발시키고 질소가스로 말린 후 dichloromethane(1 mL)을 가하여 녹인 다음 0.2 µm PTFE filter로 거른 후 분석하였다(Flavia *et al.*, 2005).

추출된 PAH는 GC-MS를 이용하여 분석하였다. GC-MS는 HP6890(Hewlett Packard Cop. USA)에 JMS-GC mate 2가 부착된 것을 이용하였다. 컬럼은 HP-5 column(50 m × 0.32 mm × 0.25 µm)를 사용하였고, injector 온도는 240°C로 유지, 오븐은 초기 온도 100°C에서 5분간 유지 한 다음 분당 4°C의 속도로 240°C까지 온도를 올린 후 10분간 유지 하였다. Phenanthrene은 1~50 mg/L의 농도로 표준 용액을 만들고 회귀식을 구한 후 시료의 값을 환산하였다(Ga & Zhu, 2004).

통계분석

통계처리는 SAS 프로그램(SAS ver. 9.1)을 이용하여 분산 분석 실시 후 DMRT(Duncan's multiple range test)를 수행하여 평균 간 비교를 하였다.

결과 및 고찰

생육 조사

풋트실험

Phenanthrene이 처리된 토양에 작물을 이식하고 21일 후에 생육조사를 실시하였다. 초장변화를 살펴보면 Table 1과 같이 콩과 벼 모두 처리 농도에 따른 차이를 보였다. Fig. 1에서도 콩의 초장은 100 ppm 처리 시 58.9 cm로 대조구 67.6 cm 보다 12.8% 감소하는 결과를 보였고, 벼 초장 또한 100 ppm 처리 시 75.3 cm로 대조구 78.4 cm 보다 4% 감소하는 경향을 보였다. 콩에서 초장은 이식 후 87일, 대조구에서 67.6cm로 가장 컸으며, 0 ppm > 10 ppm > 30 ppm > 100 ppm 순으로 나타났다. 벼 또한 이식 후 87일, 대조구에서 78.4 cm로 가장 컸으며, 0 ppm > 10 ppm > 30 ppm > 100 ppm 순으로 나타났다.

식물종의 오염원 검정에 있어서 end point로서 이용될 수 있는 생리적 형질 중 하나가 광합성 관련 형질이다. 엽록소 형광은 광합성의 명반응 효율을 나타내는 것으로서 식물 연

구에 대표적인 스트레스 지표로 이용되는 형질이다. 본 연구에서 엽록소 형광은 Fv/Fm 값을 기준으로 나타냈다. 엽록소 형광도 초장과 마찬가지로 농도와 재배 일수 간에 유의성이 있는 것으로 나타났고(Table 1), Fig. 1에서와 같이 콩의 엽록소 형광은 100 ppm 처리 시 Fv/Fm이 0.8064로 대조구 0.8099보다 미약하게 낮아지는 결과를 보였고, 벼의 엽록소 형광 또한 100 ppm 처리 시 0.8041로 대조구 0.8100보다 조금 낮은 경향을 보였다.

일반적으로 식물의 경우 엽록소 함량은 광합성과 직접 연관이 있어 엽록소 함량이 높아질수록 광합성 능력이 커지는 경향이 있다. 엽록소 함량도 Table 1에서 보는 것과 같이 농도별과 재배 일수 간에 유의성이 있었고, Fig. 1에서와 같이 콩은 엽록소 함량이 100 ppm 처리 시 34.6으로 대조구 35.7보다 3.1% 감소하는 경향을 보였고, 벼의 엽록소 함량 또한 100 ppm 처리 시 38.0으로 대조구 38.6보다 4.6% 감소하는 경향을 보였다.

Table 1. Analysis of variance for the effect of PAHs treatment on plant height, chlorophyll fluorescence and chlorophyll content (SPAD value) of soybean and rice plant.

	Source	d.f.	Mean square	F-value	p-value
Plant height of soybean	Concentration (C)	3	500.2	45.3	<.0001
	Day (D)	7	7574.2	685.4	<.0001
	C × D	21	20.4	1.9	0.0148
Plant height of rice	Concentration (C)	3	231.9	46.0	<.0001
	Day (D)	7	8686.2	1722.5	<.0001
	C × D	21	8.1	1.6	0.045
Chlorophyll fluorescence of soybean	Concentration (C)	3	2389.0	21.6	<.0001
	Day (D)	7	10010.9	90.3	<.0001
	C × D	21	127.6	1.2	0.2963
Chlorophyll fluorescence of rice	Concentration (C)	3	365.7	7.5	<.0001
	Day (D)	7	4153.6	84.7	<.0001
	C × D	21	49.9	1.0	0.4412
Chlorophyll content of soybean	Concentration (C)	3	136.1	31.4	<.0001
	Day (D)	7	187.7	43.2	<.0001
	C × D	21	5.7	1.3	0.1642
Chlorophyll content of rice	Concentration (C)	3	80.7	20.8	<.0001
	Day (D)	7	910.7	234.6	<.0001
	C × D	21	4.1	1.1	0.3773

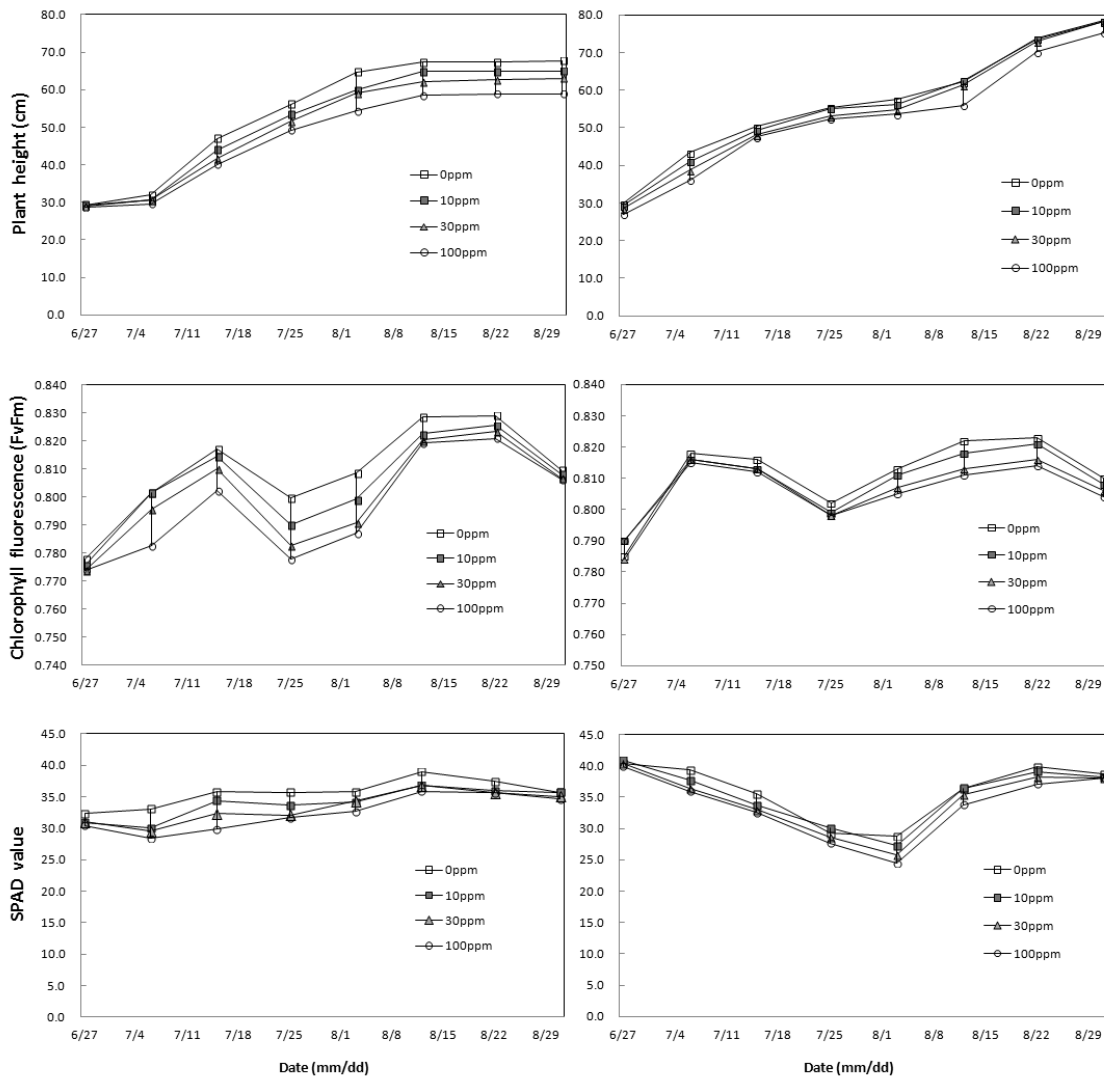


Fig. 1. Influences of phenanthrene on plant height, chlorophyll fluorescence and chlorophyll content of soybean (left) and rice (right) plant at 21 days after treatment.

한천 배지 실험

본 실험은 무균 상태에서 행해졌으므로 다른 미생물이나 기타 다른 요인들에 의해 간접적인 영향을 받지 않는 조건에서 이루어진 실험 결과이다. 한천 배지 실험에서 처리 7일 후 초장과 생체중을 포트 실험과 비교하면 처리농도에 따라 차이가 크게 나타났다. Fig. 2에서 보는 것과 같이 콩은 100 ppm 처리와 비교하였을 때 대조구보다 초장은 27.9%, 생체중은 13.2%로 감소하는 경향을 보였고, 벼의 경우 Fig. 2에서 보는 것과 같이 100 ppm 처리에서 대조구보다 초장은 54.2%, 생체중은 33.3% 감소하는 경향을 보였다. 이러한 생체중 감소 결과는 phenanthrene 처리 농도가 증가 할수록 생육 저해 정도가 빠르고 뚜렷하게 나타났다. 이식 7일 후 광합성에 대한 PAHs의 영향을 알아보기 위

하여 엽록소 형광 특성을 확인한 결과, 콩의 엽록소 형광은 Fig. 2에서 보는 것과 같이 전 처리 모두 유의성이 없었으나 벼의 엽록소 형광은 콩과 달리 유의성 있는 차이를 나타내었다. 콩의 경우 통계적 유의성을 보이지는 않았으나 전반적으로 PAHs 농도 증가에 따라 Fv/Fm 값이 낮아지는 결과를 보였다.

식물체내 phenanthrene 축적량 분석

오염물질 농도와 체내 축적 및 축적 정도와 내성 정도간의 관계를 알아보고자 체내 축적된 phenanthrene 농도를 분석하였다. 토양 내 콩과 벼의 phenanthrene 흡수량을 GC-MS를 통해 분석한 결과, 포트에서 65일과 91일간 키운 식물체내에서는 검출되지 않은 결과를 보였다. 이와 같은 결

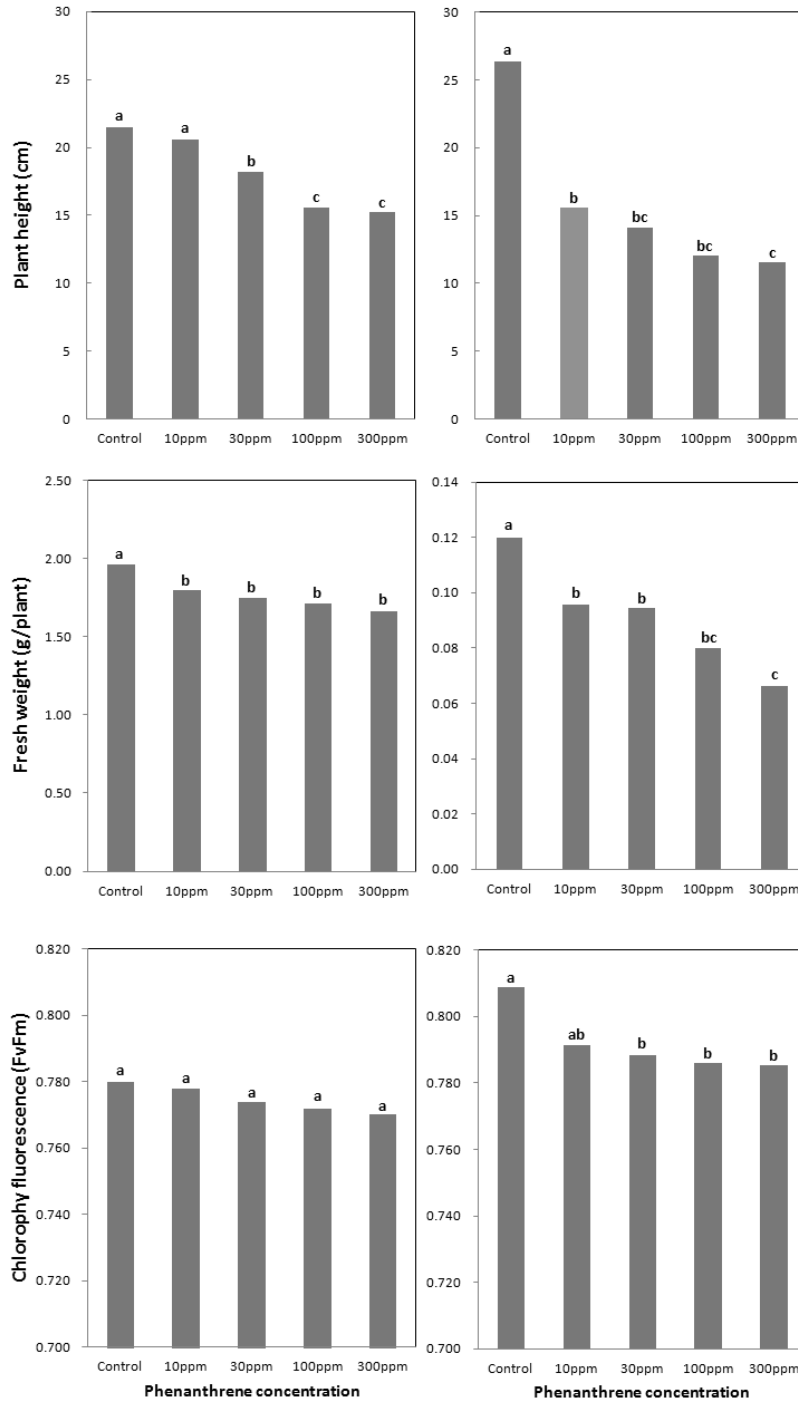


Fig. 2. Influences of phenanthrene on plant height, fresh weight and chlorophyll fluorescence of soybean (left) and rice (right) plant grown for 7 days in agar medium containing phenanthrene. Same letters are not significantly different at 0.05 probability.

과는 작물이 자라는 동안 흡수된 PAHs가 체내에서 분해되었기 때문으로 보이며, 토양에 처리한 PAHs는 토양 내에서 흡수되기 전 화학적 변환이 일어났기 때문인 것으로 보여진다. Linehan *et al.*(1985)과 Romheld & Marschner(1986)가

보고한 것에 따르면 식물의 뿌리에서 분비되는 물질은 토양 입자 구조 및 특성을 변화시키고 부식산의 특성을 변화시키는 것으로 알려져 있다. 식물 뿌리의 역할은 대부분 토양 내 존재하는 미생물의 수를 증가시키거나 서식 미생물을 변화

시킴으로서 이루어질 뿐만 아니라(Reilley *et al.*, 1996), 뿌리에서 분비하는 일비물이 토양의 물리적 화학적 성분을 변화시키거나 일비물의 성분이 대사 과정을 자극하거나 오염 물질의 부식이나 흡착 등에 영향을 주어 미생물이 이용 가능하도록 할 수 있다는 보고가 있다(Gunther *et al.*, 1996). 따라서 뿌리 성장과 이에 따른 미생물 활성이 phenanthrene의 토양 내 함량 변화와 밀접한 관련이 있는 것으로 보인다.

한천 배지 내 콩과 벼의 phenanthrene 흡수량을 GC-MS를 통해 분석한 결과 Fig. 3과 Fig. 4에서 보는 바와 같이 10 ppm 처리에서는 콩과 벼에서 미량으로 검출되었고, 30 ppm, 100 ppm, 300 ppm 처리에서 콩은 각각 $30.6 \mu\text{g g}^{-1}$, $33.8 \mu\text{g g}^{-1}$, $14.8 \mu\text{g g}^{-1}$ 흡수한 것을 볼 수 있으며, 벼는 각각 $13.2 \mu\text{g g}^{-1}$, $18.7 \mu\text{g g}^{-1}$, $5.6 \mu\text{g g}^{-1}$ 흡수한 것을 볼 수 있다. 다른 농도들에 비해 300 ppm 처리에서 흡수량이 급격히 낮았는데 이는 지나친 고농도의 phenanthrene이 식

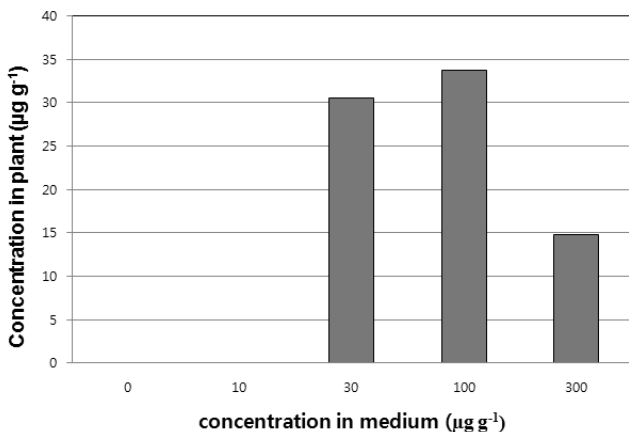


Fig. 3. Concentration of phenanthrene accumulated in soybean plant grown in phenanthrene-treated soil.

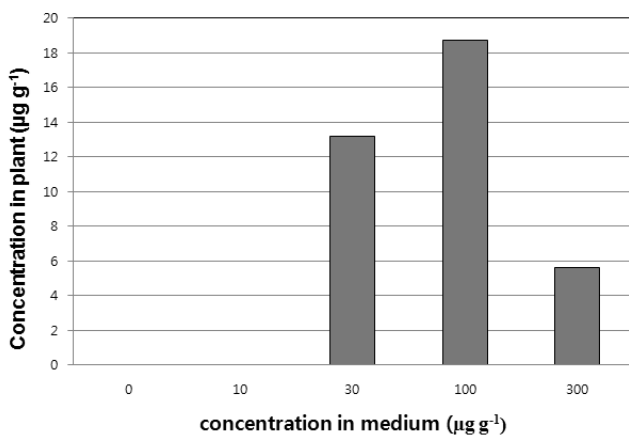


Fig. 4. Concentration of phenanthrene accumulated in rice plant grown in phenanthrene-treated soil.

물체의 뿌리조직을 파괴하여 식물의 양분 흡수 및 phenanthrene 흡수를 방해하여 초장이 급격히 낮아지는 반면에 phenanthrene 흡수가 미비한 결과를 나타낸 것으로 사료된다. 그리고 벼 보다는 콩에서 phenanthrene을 더 많이 흡수한 것을 볼 수 있는데 체내에 축적된 농도만 본다면 벼 보다는 콩이 강한 내성을 보인 것으로 판단되었다.

적 요

화석연료의 연소나 유류 오염 등으로 인해 발생하는 PAHs는 우리 주변 어디에서나 존재하는 위험한 오염물질 중 하나로, 생태계에 영향을 끼치며 작물 생육에도 영향을 준다. PAHs는 작물에서도 흡수가 가능하기 때문에, 작물 생육에 대한 저해 효과를 알아보기 위해 콩과 벼에 대한 영향을 유묘기부터 검정하였다. PAHs가 처리된 토양에서 자란 벼와 콩의 초장과 건물중은 다소 감소하였고, 벼보다 콩에서 성장 저해가 강하게 발생되었다. 토양에 100 ppm 농도에서 처리된 경우 콩의 초장은 58.9 cm로 처리되지 않은 콩의 87.2% 값을 보였다. 벼의 경우, 처리 후 80일 100 ppm에서 자란 벼가 처리되지 않은 벼의 96.0% 값을 보여, 초장에 있어서 저해 효과가 낮게 나타났다. 광합성과 관련된 엽록소 함량과 엽록소 형광은 PAHs 처리 후 20일부터 70일까지 저해가 약간 되었지만, 출수기 이후는 저해 정도가 약하게 나타났다. 어린 유묘의 한천 배지 실험은 100 ppm phenanthrene 농도일 때, 성숙한 작물의 포트 실험과 비교시 유묘 길이와 생체중의 저해가 높게 나타났다. 벼에서는 유묘 길이와 생체중이 각각 54.2%, 33.3% 감소하였고, 콩에서는 각각 27.9%, 13.2% 감소되었다. 이러한 결과를 통하여 PAHs는 성숙기보다 영양 성장 초기에 저해가 높게 발생하며, 영양생장기의 피해는 콩보다 벼에서 저해가 높게 발생하였다.

사 사

이 연구는 2013년도 경상대학교 연구년제연구교수 연구 지원비에 의하여 수행되었음.

인용문헌(REFERENCES)

- Binet, P. H., J. M. Portal, and C. L. Leyval. 2000. Fate of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), in the rhizosphere and mycorrhizosphere of ryegrass. *Plant Soil*. 227 : 207-213.

- Durmishidze, S. V., T. V. Devdorian, L. K. Kavtaradze, and L. S. Kuartskhave 1974. Assimilation and conversion of 3, 4-benzopyrene by plants under sterile conditions. Dokl. Akad. Nauk SSSR. 218 : 1368-1471.
- Edwards, N. T., R. M. Ross-Todd, and E. G. Garver. 1982. Uptake and metabolism of ^{14}C anthracene by soybean (*Glycine max*). Environ. Exp. Bot. 22 : 349-357.
- Freitag, D., L. Ballhorn, H. Geyer, and F. Korte. 1985. Environmental hazard profile of organic chemicals : An experimental method for the assessment of the behaviour of organic chemicals in the ecosphere by means of simple laboratory tests with ^{14}C labelled chemicals. Chemosphere 14 : 1589-1616.
- Flavia, D. N., M. Giulia., V. P. Maria, and A. Anna. 2005. Temporal variations in PAH concentrations in *Quercus ilex* L. (holm oak) leaves in an urban area. Chemosphere 61 : 432-440.
- Ga, Y. and L. Zhu. 2004. Plant uptake, accumulation and translocation of phenanthrene and pyrene in soils. Chemosphere 55 : 1169-1178.
- Gunther, T., U. Domberger, and W. Fritsche. 1996. Effect of ryegrass on biodegradation of hydrocarbon in soil. Chemosphere 33 : 203-215.
- Huang, X. D., L. F. Zeiler, D. G. Dixon, and B. M. Greenberg. 1996. Photoinduced toxicity of PAHs to the foliar regions of *Brassica napus* (Canola) and *Cucumis sativus* (Cucumber) in simulated solar radiation. Ecotox. Environ. Safe. 35 : 190-197.
- Kipopoulou, A. M., E. Manoli, and C. Samara. 1999. Bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables grown in an industrial area. Environ pollut. 106 : 369-380.
- Linehan, D. J., D. Vaughan, and R. E. Malcolmeds. 1985. In Soil organic matter and biological activity. pp. 403-421.
- MacLeod, C. T. and J. A. Daugulis. 2005. Interfacial effects in two-phase partitioning bioreactor : Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by a hydrophobic Mycobacterium. Process Biochem. 40 : 1799-1805.
- Reilley, K. A., M. K. Banks, and A. P. Schwab. 1996. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. J. Environ. Qual. 25 : 212-219.
- Ren, L., L. F. Dixon, and B. M. Greenberg. 1996. Photoinduced effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on *Brassica napus* (Canola) during germination and early seeding development. Ecotox. Environ. Safe. 78 : 73-80.
- Romheld, V. and H. Marschner. 1986. Evidence for a specific uptake system for iron phytosiderophores in roots of grasses. Plant Physiol. 80 : 175-180.
- Srivastava, A. K. and F. J. Wiebel. 1990. Arylamine N-acetyltransferase activities in cell lines of mouse, rat, hamster and man differing in their sensitivity to 1,6-dinitropyrene. Toxicol. Lett. 54 : 71-76.
- Wild, S. R., S. P. Mcgrath, and K. C. Jones. 1990. The polynuclear aromatic hydrocarbon (PAH) content of archived sewage sludges. Chemosphere 20 : 703-716.