

## 식물의 납과 아연의 내성에 관한 유전현상

윤정옥 · 이인숙  
이화여자대학교 생물학과

### Genetic Phenomena for the Pb and Zn Tolerance in Plants

Yun, Jeoung-Ok and In-Sook Lee

Department of Biology, Ewha Womans University

#### ABSTRACT

Pb, Zn tolerance of *Phaseolus multiflorus* was investigated, based on the elongation of root and stem, pollen germination and progeny quality in various Pb, Zn concentrations.

The result obtained by water culture showed that the growth of roots and stems of *Phaseolus multiflorus* from Pb-Zn mine site is less inhibited than that of the control site.

The flower of *Phaseolus multiflorus* from which pollen was taken were grown without added Pb, Zn and percent germination of pollen observed in a range of Pb, Zn concentrations. The percent germination of pollen from Pb-Zn mine site was higher than the control site.

*Phaseolus multiflorus* collected at a Pb-Zn mine site and the control site were grown at different Pb, Zn concentrations, its progeny was retreated with same concentrations of Pb, Zn, then compared by plant vigor. The result was shown that the progeny from Pb-Zn mine site was more vigorous than the control site.

Thus, Pb-Zn tolerance was able to expressed in both pollen and sporophytes.

#### 序 論

중금속에 대한 식물의 내성은 토양에 축적된 중금속의 농도와 밀접한 관련이 있다(Jowett, 1958 ; Greyory & Bradshaw, 1965). 광산이나 제련소 부근과 같이 납·아연 등이 높은 농도로 축적된 토양에서 자라는 식물은 이들 중금속에 대한 내성을 가지고 있으며 (Bradshaw, 1952 ; Coughtrey & Martin, 1977 ; Wu & Bradshaw, 1972) 이러한 내성은 유전되는 것으로 알려져 있다(McNeilly & Bradshaw, 1968).

식물에 있어서 유전자의 발현은 二倍體(diploid)인 영양체(sporophyte)와 화분(pollen) 양쪽에 나란히 나타나는데(Zamir, 1983), *Lycopersicon esculentum*의 경우, 영양체에 나타나는 유전자의 60%이상이 화분에도 나타나며 (Tankley, et al., 1981) 이것은 *Tradescantia reflexa*를 재료

로 연구한 Willing and Mascashenas(1984)의 보고에 의해 확인된바 있다. 그러므로, 만일 똑같은 유전자가 영양체와 화분 양쪽에 나타난다면 화분선택(pollen selection)은 다음 세대에서 유전자의 빈도를 변화시킬 수 있으며(Mulcahy, 1979) 특별한 환경조건에 대해 융통성 있는 기작을 제공할 수도 있다.

과거의 식물의 내성에 관한 연구는 주로 영양체에 대한 것이 대부분이었다. 중금속의 농도가 높은 토양에서 자라는 식물체내의 중금속의 흡수와 축적(Mathy, 1973 ; Sihiller, 1978 ; Wu and Antonovics, 1975 ; Baker, 1978), 중금속에 의한 식물체의 생장 억제(Jowett, 1963 ; Beckett and Brown, 1982), 중금속이외의 양이온에 의한 중금속의 독성에 대한 감소효과(Garland and Wilkins, 1981 ; Brown and Wilkins, 1984)등에 대한 연구가 활발하였으나 최근 들어 저온(Herrero and Johnson, 1980), Ozone(Fefer, 1968), 고농도의 염분(Eiskikowitch and Woodwell, 1975), 중금속(Searcy and Mulcahy, 1985)등 여러 가지 환경적 stress에 대한 반응이 화분과 영양체에 나란히 나타난다는 연구가 행해지고 있다.

따라서, 본 논문에서는 납·아연에 대한 내성이 화분과 영양체에 나타나는지를 조사하고 다음 세대의 식물에 생장에도 내성이 나타날 것이라는 가정 아래 납·아연 광산 지역과 대조구에서 붉은강낭콩을 채집하여 뿌리와 줄기의 신장 및 건량을 조사하고 화분의 발아율 및 화분선택(pollen selection)이 다음 세대의 식물의 생장에 미치는 영향을 조사하였다.

## 材料 및 方法

### 材 料

붉은강낭콩(*Phaseolus multiflorus* W.)은 콩과식물이며 보통 일년생이다. 꽃은 자가화합성(self-compatible)이며 꽃이 피기 하루전에 꽃 봉오리 안에서 자가수분된다.

본 실험에서는 납·아연 광산 지역과 대조구에서 붉은강낭콩을 채집하여 사용하였다. 광산지역은 경기도 화성군 봉담면 상2리의 삼보광산을 택하였는데 이곳은 1945년이전부터 납·아연·월정석을 생산해 오고 있던 곳으로 광산 부근의 지질은 편마암이 대부분이며 원광의 품위는 Zn 6.83%, Pb 2.94%, BaSO<sub>4</sub> 21.74%이다. 채광, 선광하고 남은 폐광물은 채광장 밑의 공터에 쌓여 있고 그 옆으로 흐르는 냇물은 논과 밭의 관개수로 공급되고 있었다. 이 지역의 토양은 평균 납 306.10ppm 아연 55.34ppm을 함유하고(김, 1983), 대부분의 밭에서는 붉은강낭콩을 수년간 계속하여 재배하여 식용으로 하고 있었으며 수확한 종자의 일부분을 저장했다가 다음해에 다시 심고 있었다.

대조구로는 경기도 광릉지역의 농가의 밭을 택하였으며 이곳은 비교적 보존이 잘된 지역으로 붉은 강낭콩을 계대재배하고 있었다.

### 方 法

#### 1. 납·아연농도에 따른 줄기 및 뿌리의 신장

두 지역에서 채집한 붉은강낭콩을 10% sodium hypochloride 용액에 10분간 담그어 소독한 후 여과지를 한 장씩 칸 샐레에서 발아시킨 후 시험관에 한 개체씩 옮겨 0.5g/l Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 영양액에서 4일간 생장시켰다.

PbCl<sub>2</sub>을 사용하여 0, 15, 25, 35ppm의 납용액과 ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O를 사용하여 0, 2.5, 5, 10ppm

의 아연용액을 만들어 처리하였으며, 용액은 3일마다 바꾸어 주었고, 3일간격으로 뿌리 및 줄기의 길이와 건량을 4번 측정하였다. 세반복으로 행해진 이 실험의 결과는 Wilkins(1957)에 의해 일반화된 내성지수(tolerance index)로 나타내었고 네가지 처리 농도에 따른 두 지역간의 식물의 생장을 이원분산분석(two-way ANOVA)을 통해 검정하였다.

$$\text{내성지수} = \frac{\text{처리용액에서의 뿌리와 줄기의 길이 (또는 건량)}}{\text{무처리 용액에서의 뿌리와 줄기의 길이 (또는 건량)}}$$

## 2. 납·아연의 농도에 따른 화분 발아율

두 지역에서 채집한 붉은강낭콩을 납이나 아연용액으로 처리하지 않고 Hoagland용액만으로 재배한 식물의 꽃에서 화분을 채취하여 발아실험에 사용하였다.

꽃밥이 터지자마자 화분을 slide glass위에 채취한 후 증류수로 적신 여과지를 한장 간 사이에 slide glass 를 넣어 25℃로 30분간 수화(hydration)시킨다 (Shivanna & Heslop-Harrison 1981). 10% sucrose, 0.01% H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0.03% Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O, 0.02% MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0.01% KNO<sub>3</sub>를 섞은 용액(Graybosch and Palmer, 1985)을, slide glass위에 한방울 떨어뜨리고 slide glass를 다시 사이에 넣어 25℃로 한시간동안 유지시킨다.

중금속 처리로는 PbCl<sub>2</sub>를 사용하여 0, 0.001, 0.01, 0.1, 0.24, 0.48mM의 납용액과 ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O를 사용하여 0, 0.001, 0.01, 0.1, 0.76, 1.5mM의 아연용액을 만들어 처리하였으며 화분발아율은 각 농도별로 400개의 화분립을 관찰해서 그 발아 percent를 구했다. 이때, 화분관의 길이가 화분립의 두배 이상 되는 것만 발아한 것으로 간주하였다. 실험의 결과는 납·아연의 농도에 따른 두 지역간의 화분발아율을 이원분산분석(two-way ANOVA)을 통해 검정하였다.

## 3. 납·아연 농도에 따른 후대검정

두 지역에서 채집한 붉은강낭콩을 질석과 모래(1:1)를 섞어 일정량을 채운 화분에 한 개체씩 심고 영양액으로 1/2 Hoagland용액을 일주일에 두번씩 공급하였고, 중금속처리는 3일 간격으로 행하였으며 화분들은 random design으로 배열하였다.

PbCl<sub>2</sub>를 사용하여 0, 250, 500ppm의 납용액과, ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O를 사용하여 0, 50, 100 ppm의 아연용액을 만들었으며 대부분의 식물에서 첫번째 잎이 나왔을때 처리를 시작하였다.

열매가 익은 후 수확하여 일주일간 냉장처리 한 뒤 앞의 방법과 똑같은 농도로 처리하여 3주일간 냉장시키면서 잎과 가지의 수, 줄기의 길이, 줄기와 뿌리의 건량을 측정했다.

실험은 세반복으로 행해졌고 5일간격으로 4번 측정된 결과는 처음세대에서의 처리농도와 다음세대의 처리농도, 두 지역간에 따른 식물의 생장에 대한 유의성을 삼원분산분석(three-way ANOVA)을 통해 검정하였다.

## 結果 및 考察

### 납·아연에 대한 영양체의 내성

납·아연 광산지역과 대조구에서 채집한 붉은강낭콩을 납·아연의 농도별로 처리하여 수경재배한 결과를 줄기와 뿌리의 길이 및 건량의 내성수지로 나타낸 것은 Table 1, 2와 같다. 내성지수는 농도가 증가함에 따라 작아지며 건량에 대한 내성지수가 길이에 대한 내성지수보다 크게

**Table 1.** Tolerance indices for length at different Pb, Zn concentrations in *Phaseolus multiflorus*

Treatment (ppm)	Stem		Root		
	Control	Mine	Control	Mine	
Pb	15	0.75	0.80	0.25	0.30
	25	0.67	0.70	0.17	0.25
	35	0.41	0.48	0.10	0.25
Zn	2.5	0.32	0.37	0.57	0.63
	5.0	0.25	0.27	0.45	0.57
	10.0	0.17	0.19	0.20	0.30

**Table 2.** Tolerance indices for dry weight at different Pb, Zn concentrations in *Phaseolus multiflorus*

Treatment (ppm)	Stem		Root		
	Control	Mine	Control	Mine	
Pb	15	0.75	0.94	0.34	0.45
	25	0.45	0.72	0.26	0.40
	35	0.30	0.48	0.17	0.30
Zn	2.5	0.62	0.96	0.47	0.87
	5.0	0.40	0.58	0.36	0.78
	10.0	0.31	0.49	0.26	0.48

나타났다.

### 납·아연에 대한 화분의 내성

두 지역에서 채집한 붉은강낭콩을 납이나 아연으로 처리하지 않고 Hoagland용액만으로 재배한 꽃에서 화분을 채취하여 납이나 아연농도에 따른 화분 발아율을 비교하였다.

납의 농도별 처리의 경우, 화분 발아율이 두 지역간에 유의적인 차이 ( $F=6.99, p<0.05$ )를 나타내었고 (Fig. 1), 아연의 농도별 처리의 경우도 화분 발아율이 두 지역간에 유의적인 차이 ( $F=19.13, p<0.01$ )를 나타내었다. (Fig. 2)

납의 경우, 두 지역으로부터의 화분 모두 0.001 mM에서 최대발아율을 나타내었고 0.1 mM이상에서 크게 감소하기 시작하였으며 0.48 mM에서 대조구로부터의 화분은 3%로 거의 억제되었으며 0.48 mM에서 대조구로부터의 화분은 9%로 약간 덜 억제되었다.

아연의 경우 대조구로부터 화분은 0 ppm에서 59%로 최대의 발아율을 나타냈으며 0.1 mM이상에서 크게 감소하여 1.5 mM에서 완전히 억제되었다. 납·아연광산지역으로부터의 화분의 경우, 0.001 mM에서 58%의 최대발아율을 보여 0 ppm에서보다 크게 감소하였고 1.5 mM에서는 4%의 발아율을 나타냈다.

아연에 대해 내성을 가지고 있는 *Silene dioica*의 경우 0부터 0.01  $\mu\text{M}$ 사이에서 화분발아율이 높았으며 100  $\mu\text{M}$ 이상에서 크게 감소하여 500  $\mu\text{M}$ 에서 완전히 억제되었으며 아연에 대해 내성이 없는 *Silene alba* (Mill.) Kraus의 경우는 0에서 최대의 발아율을 보이다가 1.0  $\mu\text{M}$ 이상에서 크게 감소하여 250  $\mu\text{M}$ 에서는 화분의 발아율이 완전히 억제되었다 (Searcy and Mulcahy, 1985). 즉

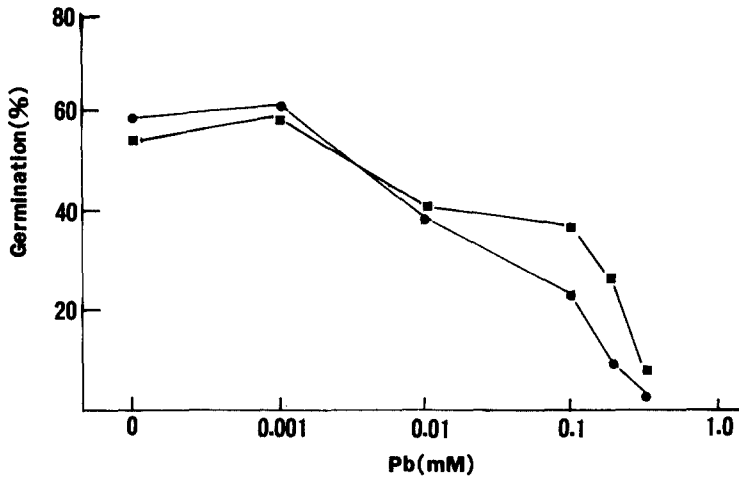


Fig. 1. The effect of increasing Pb concentration on percent germination of *Phaseolus multiflorus*  
 ● : control site    ■ : mine site.

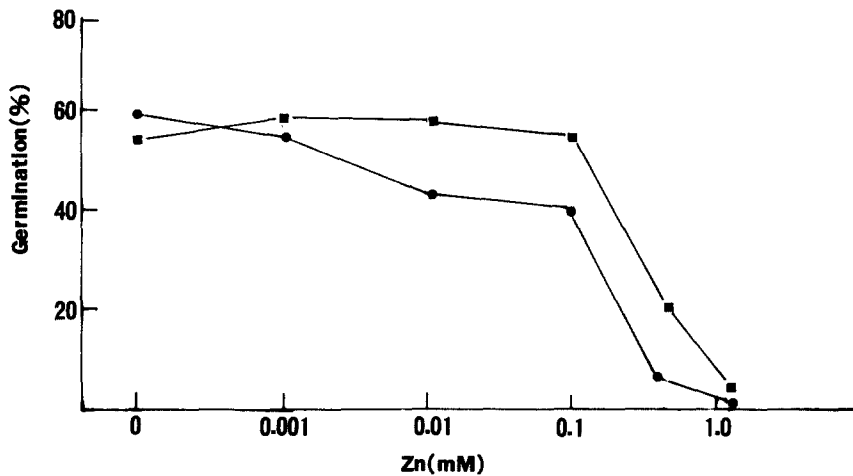


Fig. 2. The effect of increasing Zn concentration on percent germination of *Phaseolus multiflorus*  
 ● : control site,    ■ : mine site.

아연에 대해 내성이 있는 *S. dioica*는 아연에 대해 내성이 없는 *S. alba*에 비해 중금속(Zn)의 영향을 적게 받으므로 화분 발아율에 있어서 높은 농도의 중금속에서도 덜 억제되었다는 보고로 설명되며 식물체의 내성이 화분에 발현됨을 알 수 있다.

구리에 대해 내성을 가지고 있는 *Mimulus guttatus*의 경우, 화분의 발아율은 0.01  $\mu$ M과 10  $\mu$ M 두 곳에서 정점을 이루므로 pollen group 중에서 구리에 대해 민감한 두 개의 subpopulation이 있다(Searcy & Mulcahy, 1985)는 보고가 있으나 본 실험에서는 화분의 발아율이 하나의 정점

을 이루므로 subpopulation은 없는 것으로 보인다.

위의 실험 결과로 미루어 납이나 아연의 내성에 대한 화분선택(pollen selection)이 일어났다고 생각할 수 있다.

### 납·아연에 대한 내성의 후대검정 (Progeny test)

두 지역에서 채집한 붉은강낭콩을 납·아연을 농도별로 처리해서 재배한 후 얻은 다음 세대를 다시 똑같은 농도별로 처리한 후 식물의 생장을 관찰했다.

두 지역으로부터의 식물의 생장을 잎의 수, 가지 수, 줄기의 길이, 건량 등으로 비교 평가하였다.

관찰된 식물의 생장중 가장 현저하게 나타나는 잎의 수에 대한 분산분석 결과 처음 세대의 처리 농도와 두 지역간의 내성의 차이 다음 세대의 처리 농도간의 각 주효과 및 2인자 상호작용 및 3인자 상호작용 모두 유의적인 차이가 있는 것으로 나타났다(Table 3, 4). 즉 잎의 수로 관찰한 두 지역으로부터의 식물의 생장에 있어, 처음세대의 처리농도, 다음세대의 처리농도간의 상호작용이 이루어 졌다고 볼 수 있다.

**Table 3.** ANOVA table for leaf number of progeny on Pb treatment in *Phaseolus multiflorus*

Anova table		df	SS	MS	Fs
Source of variation					
A	Parent treatment	2	31.14	15.57	8.65**
B	Site	1	12.25	12.25	6.81*
C	Progeny treatment	2	17.88	8.94	4.97*
A×B	F <sub>1</sub> ×S	2	17.12	8.56	4.76*
A×C	F <sub>1</sub> ×P	2	15.12	7.56	4.20*
B×C	S×P	4	35.28	8.82	4.90*
A×B×C	F <sub>1</sub> ×S×P	4	28.0	7.00	3.89*
F <sub>0.01</sub>	(1,24)=7.82	F <sub>0.05</sub>	(1,24)=4.25	F <sub>0.05</sub>	(2,24)=3.40

\*P<0.05

\*\*P<0.01

**Table 4.** ANOVA table for leaf number of progeny on Zn treatment in *Phaseolus multiflorus*

Anova table		df	SS	MS	Fs
Source of variation					
A	Parent treatment	2	26.16	13.08	6.23*
B	Site	1	15.30	15.30	7.29*
C	Progeny treatment	2	21.04	10.52	5.01*
A×B	F <sub>1</sub> ×S	2	28.98	14.09	6.90*
A×C	F <sub>1</sub> ×P	2	26.08	13.04	6.21*
B×C	S×P	4	49.88	12.47	5.94*
A×B×C	F <sub>1</sub> ×S×P	4	41.88	10.47	4.99*
F <sub>0.05</sub>	(1,24)=4.25	F <sub>0.05</sub>	(2,24)=3.40		

\*P<0.05

그러므로, 남·아연광산지역과 대조구의 붉은강낭콩의 남·아연에 대한 내성은 화분선택(pollen selection)에 의해서 다음 세대의 식물의 생장에 발현된다고 할 수 있다.

## 要 約

붉은강낭콩(*Phaseolus multiflorus* W.)의 남·아연에 대한 내성이 화분과 영양체에 다같이 나타나는지를 조사한 결과는 다음과 같다.

남·아연광산지역과 대조구에서 채집한 붉은강낭콩을 남·아연 농도별로 수경재배한 결과, 광산지역에서 채집한 붉은강낭콩이 대조구보다 뿌리 및 줄기의 신장이 덜 억제되었다.

남·아연광산지역과 대조구에서 채집한 붉은강낭콩을 남·아연처리를 하지 않고 재배한 꽃에서 채취한 화분의 발아율을 농도별 남·아연 배지에서 비교한 결과 남·아연광산지역에서 채집한 붉은강낭콩의 화분 발아율이 대조구보다 더 높게 나타났다.

남·아연광산지역과 대조구에서 채집한 붉은강낭콩을 남·아연농도별로 처리하여 다음 세대를 얻은 뒤 같은 농도로 재 처리하여 식물의 생장을 비교한 결과 처음 세대의 처리농도, 두 지역 간의 내성의 차이등 3인자 상호작용이 광산지역에서 채집한 붉은강낭콩에서 다음세대의 식물의 생장이 대조구보다 더 왕성하였다.

## 引用文獻

- 김옥경. 1983. 식물체에 미치는 Pb, Zn의 영향, 이화여자대학교 대학원 석사학위 논문
- Baker, A.J.M. 1978. The uptake of zinc and calcium from solution culture by zinc-tolerant and non-tolerant *Silene maritima*(With.) in relation to calcium supply. *New Phytol.* 81:321-330.
- Bekett, R.P. and D.H. Brown. 1982. Natural and experimentally induced zinc and copper resistance in the Lichen genus *Peltigera*. *Ann. Bot.* 52(11) : 43-50
- Bradshaw, A.D. 1952. Population of *Agrostis tenuis* resistant to lead and zinc poisoning. *Nature (London)*. 169: 1098
- Brown, M. T. and D. A. Wilkins. 1985. Zinc tolerance in *Betula*. *New Phytol.* 99:91-100
- Coughtrey, D.J. and M.H. Martin. 1977. Cadmium tolerance of *Holcus lanatus* from a site contaminated by aerial outfall. *New Phytol.* 79:273-280
- Eisikowitch, D. and S.R.J. Woodell. 1975. Some aspects of pollination ecology of *Armeria maritima* (Mill.) wild in Britain. *New Phytol.* 74:307-322.
- Feder, W.A. 1968. Reduction in tobacco pollen germination and tube elongation induced low levels of ozone. *Science*. 160:1122
- Garland, C.J. and D.A. Wilkins. 1981. Effect of calcium on the uptake and toxicity of lead in *Hordeum Vulgare* L. and *Festuco ovina* L. *New phytol.* 87:581-593
- Graybosch, R.A. and R.G. Palmer. 1985. Male sterility in soybean (*Glycine max*). II. Phenotypic expression of the ms4 mutant. *Amer. J. Bot.* 72(11):1751-1764

- Gregory, R.P.G. and A.D. Bradshaw, 1965. Heavy metal tolerance in populations of *Agrostis tenuis*. *New Phytol.* 64:131-143
- Herrero, M.P. and R.R. Johnson, 1980. High temperature stress and pollen viability in maize. *Crop Sci.* 20:796-800
- Jowett, D. 1958. Adaptation of a lead-tolerance population of *Agrostis tenuis* to low soil fertility. *Nature.* 184:43
- Jowett, D. 1963. Population studies on lead-tolerant *Agrostis tenuis*. *Evolution.* 18:70-81
- Mcneilly, T. and A.D. Bradshaw. 1968. Evolutionary processes in populations of copper tolerant *Agrostis tenuis* Sibth. *Evolution* 22:108-118
- Wu, L. and A.D. Bradshaw. 1972. Aerial pollution and the rapid evolution of copper tolerance. *Nature (London)* 238:167-169
- Wu, L., and J. Antonovics. 1975. Zinc and copper uptake by *Agrostis Stolonifera*, tolerant to both zinc and copper. *New phytol.* 75:231-237
- Searcy, K.B. and D.L. Mulcahy. 1985. The parallel expression of metal tolerance in pollen and sporophytes of *Silene dioica* (L.) Clairr, *S. alba* (Mill.) Krause and *Mimulus guttatus* DC. *Theor. Appl. Genet.* 69:597-602
- Shivanna, K.R. and J. Heslop-Harrison. 1981. Membrane state and pollen viability. *Ann. Bot.* 47:579-770
- Tanksley, S.D., D. Zamer and C.M. Rick. 1981. Evidence for extensive overlap of sporophytic and gametophytic gene expression in *Lycopersicon esculentum*. *Science* 213:453-455
- Wilkins, D. A. 1957. A technique for the measurement of lead tolerant in plants. *Nature* 180:37
- Zamir, D. 1983. Pollen gene expression and selection: Applications in plant breeding. In S.D. Tanksley and T.J. Orton (eds.), *Isozymes in plant genetics and breeding, Part A*, pp. 313-330. Elsevier, Amsterdam.
- Zamir, D., and E.C. Vallejos. 1983. Temperature effects on haploid selection of tomato microspores and pollen grains. In D.L. Mulcahy and E. Dttaviano (eds.), *Pollen: Biology and implications for plant breeding*. Pp. 335-341. Elsevier, New York.

(1992年 4月 29日 接受)