

## 식물체 잎표면의 열화상 분석을 통한 오존 피해 조기 진단

허재선\* · 이충일

산업과학기술연구소 환경에너지연구부문 생태환경연구팀

### Early Detection of Foliar Damage Caused by Ozone Exposure with Thermal Image Analysis

Jae Seoun Hur\* and Chool Il Lee

Ecological Environment Research Team, Research Institute of Industrial Science and Technology, Kwangyang-shi 544-090, Korea

**ABSTRACT :** Early response of morning glory (*Ipomoea purpurea*) leaves to ozone exposure was examined by infrared thermography monitoring trace changes of thermal distribution of the leaves fumigated with 0.3 ppm O<sub>3</sub> for 8 hours a day. No significant changes in the pattern of thermal distribution of the 3rd leaf were shown during the first day exposure. On the second day, 2-hr-exposure induced thermal changes on the leaf area, where the first visible injury developed about 4 hours later. The occurrence of the first visible injury following significant changes in thermal distribution suggests that the early changes in thermal distribution of the exposed leaf may be the indication of the development of visible damage at the later stage of ozone exposure. Therefore, it may be possible to use thermal image analysis of the ozone-exposed leaves for the detection of invisible damage of ozone early before visible injury occurs.

**Key words :** morning glory, ozone, infrared thermography, biosensor.

대기환경 관리를 위하여 필수적인 대기오염 측정은 주로 이화학적 방법으로 행하고 있지만, 한편으로는 대기오염원에 민감한 지표식물을 이용한 생물학적 대기 환경 평가도 시도되어 왔다(4, 5, 7, 10). 지표식물에 의한 대기환경평가에서는 특정 대기 오염원에 의하여 유발되는 생리, 생화학적 변화를 조사하기보다는 주로 육안으로 식별이 가능한 형태적 이상, 특히 가지 피해를 판단 기준으로 많이 이용하고 있다(11, 14, 19). 하지만 대부분의 가지피해는 대상 지표식물에 대한 대기오염원의 노출량이 식물체의 해독 대사 능력을 넘어서는 경우에 발생하므로(2), 실제로 지표식물이 나타내는 가지피해는 과거 시간에 존재했던 대기환경(episode)에 대한 반응에 불과하다고 하겠다. 그러므로 지표식물을 이용한 생물학적인 측정방법으로는 비교적 오랜 시간 동안 지역 대기에 존재했던 대기오염원의 종류나 농도에 대한 정보 및 생체에 대한 지역 대기오염원의 위해성은 판정할 수 있으나, 이화학적 측정방법에 비하여 반응시간이 매우 길어 즉각적인 대

기오염 배출관리를 해야하는 경우에 적용하기에는 한계가 있다.

대기오염원에 의한 가지피해는 대기오염원에 노출된 지표식물체 안에서 일어나는 피해의 최종적인 결과이며 가지피해 발현 이전에는 기공 작동의 이상과 광합성 저하(1, 9, 12), 세포막의 파괴(3), 효소작용 억제(5, 16, 17), 엽록소 파괴(6, 18) 등 일련의 생리 생화학적 장애가 발생하는 것으로 알려지고 있다. 그러므로 대기오염원에 노출된 지표식물에서 가지피해 발현 이전에 진행되고 있는 생리 생화학적 변화를 판독해 내고, 변화 정도를 표준화한다면 대기오염원에 대한 생체반응시간을 단축시킬 수 있다. 하지만 이와 같은 목적으로 현재까지 개발된 방법은 극히 제한되어 있으며 효소활성 측정과 같은 생화학적 방법은 대부분이 파괴적 방법이어서 지속적인 측정을 하기가 어렵다. 생리적 반응을 측정하는 방법으로 증산량 측정이나 광합성 측정을 실시하고 있으나 대부분이 실험적 목적에 이용되고 있을 뿐만 아니라 현장에서 장기간 유지 관리하면서 식물반응을 측정하기에는 불편한 점이 많다. 그러므로 비파괴적이면서 특별한 유지 관리

\*Corresponding author.

의 불편이 없고 원거리 측정 및 자료의 자동 처리가 용이한 측정 방법의 개발이 필요하다. 열화상 분석 방법은 현재 산업현장에서 작업자가 접근하기 어려운 극한 조건의 온도 측정 등의 비접촉식 온도 측정에 이용되고 있지만 식물과 같은 생체에 대한 응용의 예는 극히 드물다. 최근에는 관련 기기 및 소프트웨어의 개발에 힘입어 0.1°C의 온도차도 구별해낼 수 있는 정도로 정밀하며 식물체 잎표면의 증산작용에 따른 온도 변화를 감지해 내기에 충분하여 대기오염원에 의한 기공작용 이상에 따른 증산작용의 변화를 온도로 변환시켜 측정할 경우 대기오염에 의한 식물체의 조기 피해 측정에 응용이 기대된다.

아황산가스나 질소산화물과 같은 점배출원 대기오염원과는 달리 오존은 질소산화물이나 탄화수소에 의하여 광산화적으로 발생하는 2차 오염원으로 점배출원 오염원과는 다른 확산형 대기오염원이지만 제철소나 화력발전소와 같은 대규모 배출원에서 1차 오염원 배출관리를 통한 간접적인 오존농도 관리가 가능하므로 지표식물의 생체반응을 이용한 생물학적 방법에 의하여 오존을 포함한 대기오염관리를 대규모 배출원 현장에도 적용할 수 있으며, 이럴 경우 단순한 수치개념의 대기오염관리를 넘어선 생태환경 친화적인 대기오염 배출관리가 가능하다.

본 연구에서는 대기오염원에 노출된 지표식물에서 진행되는 비가시적 피해인 생리 생화학적 반응에 근거한 생체반응기(biosensor)를 찾아내고, 이를 이용하여 제철소나 화력발전소와 같은 대규모 배출원에서 즉각적인 대기배출체계 구축을 위한 기초연구로 실시하였다. 우선 대기오염원의 유입구이며 1차 피해 부위인 기공과 주변세포의 반응을 가시피해 발현 이전에 나타나는 생체반응 부위로 설정하고 대기오염원에 의한 기공작용과 관련된 증산작용 이상에 따른 잎표면 온도(열) 분포 변화를 연속적으로 조사하였다. 잎표면의 온도 분포 변화는 적외선 열화상장치에 나타난 열화상(thermal image)을 분석하여 판독하였으며 이를 기준으로 대기오염원에 의하여 지표식물에 나타나는 비가시적 피해발생 및 피해진전을 판정하였다. 또한 잎표면 온도 분포에 대한 열화상 분석기법을 이용한 대기오염 피해 조기진단 가능성에 대해서도 살펴보았다.

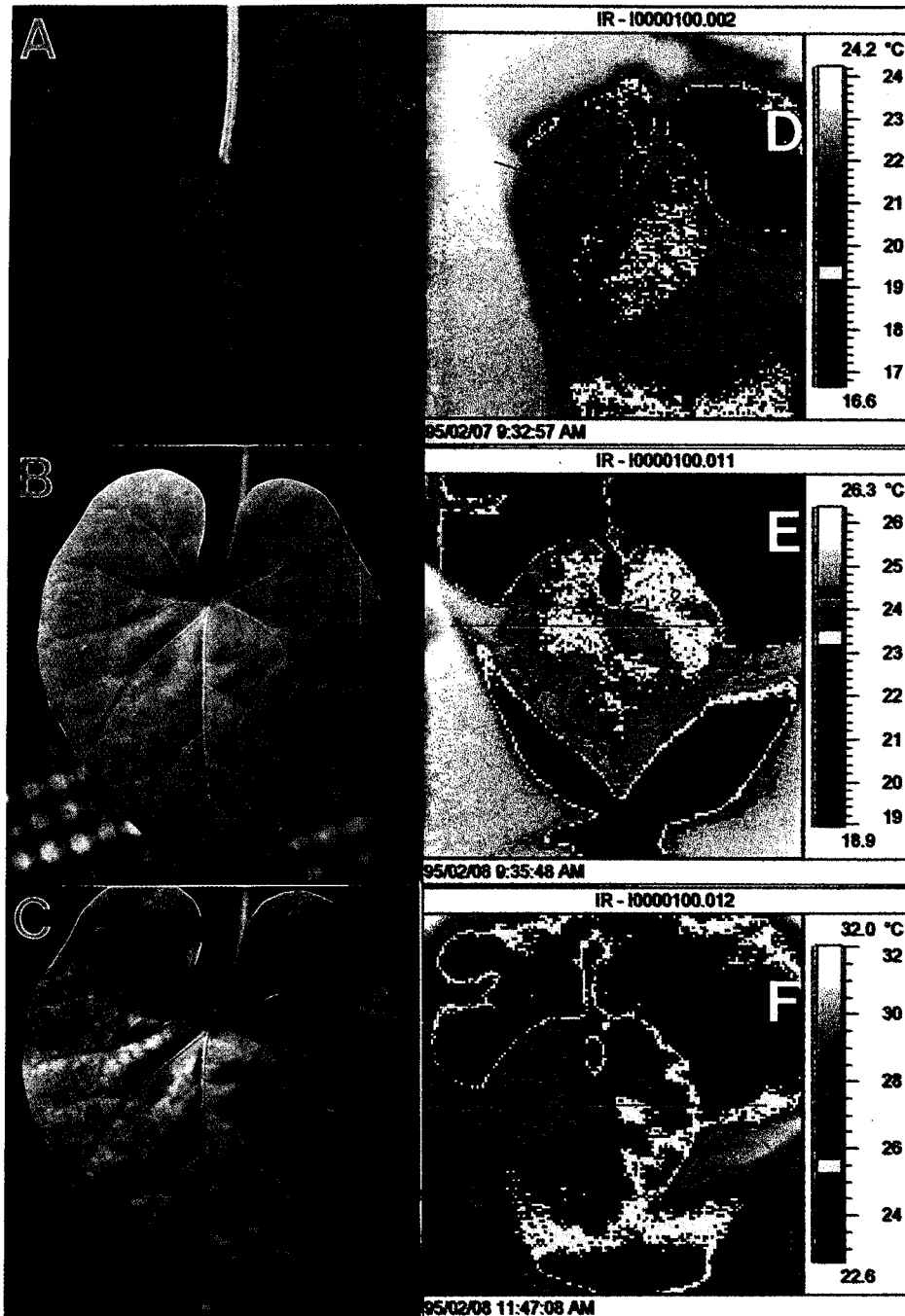
오존 노출 및 열화상 분석. 본 실험에 이용된 오존의 지표식물로는 자체적으로 선발한 나팔꽃(*Ipomoea purpurea*)을 이용하였으며 오존에 대하여 매우 민감하게 반응하는 것으로 조사되었다(20, 21). 부엽토, 모래 및 질석을 3:1:1(v/v)로 섞어서 조제한 혼합토양을 채운 직경 21 cm 화분에 파종하여 본엽이 6~8엽 정도

자란 식물을 이용하였다. 식물 준비 및 관리에 관한 자세한 사항은 이미 보고된 것과 같다(21). 오존에 노출하기 전에 24시간 동안 가스노출상(fumigation chamber)에서 적응시킨 후 오존 노출을 실시하였다. 오존은 오존발생기를 이용하여 산소가스를 방전시켜 사용하였으며 산소량 및 노출상 내로의 오존 유입량은 유량조절기(500 cc/min)를 이용하여 조절하였다. 노출상 내의 오존 농도는 KIMOTO ozone analyzer (Model 806)를 이용하여 측정하였으며 농도자동조절장치를 이용하여 시간당 평균농도 0.3 ppm 오존을 오전 9:00부터 오후 5:00까지 하루 8시간 노출하였다. 오존노출과 농도조절 및 노출장치에 관한 자세한 기술은 이미 보고된 바 있다(21). 오존노출시간에 따른 잎표면의 온도분포변화 및 가시피해 발현과의 상관성을 조사하기 위하여 완전히 자란 제3엽을 선택하여 적외선 열화상장치(infrared thermography; THERMOVISION<sup>®</sup> model 470, AGEMA, Sweden)로 촬영하고 분석 프로그램(IRWIN2R)을 이용하여 잎표면의 열화상을 분석하였다.

가시피해발현. 오존 노출을 실시한 첫날 8시간 동안에는 뚜렷한 가시피해를 찾아볼 수 없었지만(Fig. 1A) 둘째 날에 노출 시작 6시간 30분이 경과한 후에(15:30) 전형적인 오존 피해인 백화현상(chlorosis)이 중앙부에서 엽맥간에 발생하는 것을 볼 수 있었다(Fig. 1C). 노출 3일째에는 거의 모든 잎에서 일전체에 걸쳐 엽맥간에 백화현상이 나타났다.

열화상 분석. 오존 노출 후에 조사된 나팔꽃 잎표면의 열화상이미지는 Fig. 1의 D, E, F와 같다. 열화상 그림의 오른쪽 막대는 열화상 그림에 나타난 색깔에 해당하는 온도를 표시하고 있으며 초록색과 노란색 수평 막대 부분은 0.3°C를 등온선대로 설정한 경우에 같은 온도분포대를 표시한 것이다. 열화상이미지 분석에 의하면 오존 노출 직후인 전전한 잎의 경우(Fig. 1D), 잎주변부의 온도가 대체로 내부보다 높게 나타났으며 내부의 경우 엽병을 중심으로 좌측부위(+1로 표시)가 우측부위(+2로 표시)보다 약간 높게 나타났다. 같은 시간에 있어서의 잎상태는 Fig. 1의 A에서 볼 수 있듯이 정상이었으며 전전하게 유지되었다. 노출 첫날 동안에 조사된 잎표면의 온도분포는 절대 온도에는 다소 차이가 있었으나 비슷한 경향으로 나타났다.

노출 이틀째의 경우 노출 직후의(9:30) 잎표면 온도 분포는 Fig. 1의 E와 같다. 전날의 같은 시간대의 온도분포(Fig. 1D)와 비교하여 절대온도에는 차이가 있었지만 대체적으로 비슷하였으며 엽병을 중심으로 파란색 직선의 양쪽간에는 거의 동일한 온도분포를



**Fig. 1.** Visible symptoms and thermal images of the 3rd leaves of morning glory exposed to 0.3 ppm O<sub>3</sub>. A. No visible damage at the beginning of exposure; B. No visible damage at the beginning of the 2nd day exposure; C. The first visible injury of interveinal chlorosis was shown in the left and middle area of the leaf 6 and half hours after exposure (at 15 : 30) on the 2nd day; D~F. Thermal images of the leaves corresponding to A~C. There were no noticeable changes in thermal distribution in D and E. However, significant increase in leaf temperature appeared at the site of (+1) 2 and half hours after exposure on the 2nd day in F, and the first visible damage was shown at the same area 4 hours later since then.

나타냈다. 이때 식물체에는 어떠한 가시피해도 나타나지 않았으며 잎 상태는 전날과 비교하여 육안으로 구별하기 힘들 정도로 거의 비슷하였다(Fig. 1B). 이후 2시간이 경과한 상태에서 동일 잎의 온도분포에서 커다란 차이를 찾아 볼 수 있었다(Fig. 1F). 즉 엽병을 중심으로 좌측 상부의 온도가 우측 상부의 온도보다 현저하게 높게 증가한 것을 볼 수 있었는데 최고 3.3°C 정도의 온도 차이가 발생했다. 흥미로운 것은 현저하게 높은 온도분포를 보인 부분을 중심으로 약 4시간이 경과한 후에(15:30) 최초의 가시피해인 백화현상이 나타나 육안으로 구별되기 시작했으며 9:30 경에 비하여 잎전체가 전반적으로 탄력성이 없었으며 탈수현상을 보였다(Fig. 1C).

여과된 대기에서 자란 나팔꽃의 경우에도 노출 시간 경과에 따른 잎표면의 절대온도에는 차이가 있었지만 오존 피해를 보인 나팔꽃 부위에서 볼 수 있었던 온도분포의 급격한 변화나 온도 분포 반전 부위는 나타나지 않았다. 또한 오존에 민감한 'L8' 담배 품종을 이용하여 반복 실험을 한 결과, 노출 2일째 아침 11:00경부터 가시피해가 나타났다. 노출 첫날 동안 가시피해 발생부위의 온도는 건전부위에 비하여 최고 1.5°C 정도 낮았으나 가시피해 발현 1시간 전에 약 0.5°C 정도 높게 조사되었다. 하지만 나팔꽃에서 볼 수 있었던 현격한 온도변화나 차이는 나타나지 않았다(자료 제시되지 않음).

위의 실험 결과에서 볼 수 있듯이 나팔꽃 잎의 현저한 온도분포변화가 가시피해 발현 이전에 발생하였고, 온도변화를 보인 부분을 중심으로 동일한 지점에서 최초의 가시피해가 발생한 점으로 미루어 보아 오존 유입구인 기공과 주변부 세포들에서 피해가 발생하여 초기에 기공작동 이상에 따른 증산작용이 저하하여 피해가 발생하지 않은 부분보다 온도가 높게 나타났고, 그 후 오존이 세포막과 반응하여 생성된 유리기(遊離基) (free radicals)에 의한 세포막의 파괴가 진전되어 세포질 내에 존재하는 엽록소를 비롯한 세포 구성 물질에 피해를 일으켜 최종적으로 조직 고사로 이어진 것으로 판단된다(2, 3). 이것이 사실이라면, 열화상이미지 분석에 따른 온도분포변화를 실제로 육안으로 구별 가능한 가시피해 발현 이전의 미세한 초기 피해로 판정할 수 있고, 이럴 경우 잎표면의 온도분포를 조사함으로써 오존에 대한 식물의 건전성 여부를 초기에 판정할 수 있으며, 이를 이용하여 대기환경관리를 위한 조기경보 시스템 구축이 가능하리라 여겨진다.

본 실험에서 적외선 화상장치를 사용함에 있어서 한 식물체의 특정 부분에 고정하여 경시적 변화를 조

사해야 하는 제약 때문에 조사 대상 식물체에서 가시피해가 발현 때까지는 real-time 개념의 반복 실험을 수행할 수 없었다. 하지만 여과대기 상태에서 조사한 나팔꽃 열화상분석 결과, 오존에 노출되어 가시피해를 보인 나팔꽃 잎표면의 현격한 온도변화나 온도분포 반전 등은 관찰되지 않아 나팔꽃에서의 가시피해 발현과 가시피해 발현 이전의 급격한 온도분포 변화간의 상관성을 추정할 수 있었다. 또한 나팔꽃보다 오존에 민감하게 조사된(20, 21) 'L8' 담배품종의 경우 가시피해 발현 부위에서의 온도분포변화는 나팔꽃과 동일한 반응을 보였지만 온도 변화 폭은 나팔꽃에 비하여 뚜렷하지 않아 식물 종류나 품종에 따른 차이가 있을 것으로 예상되어 열화상분석 방법을 적용하는데 있어서 지표식물의 민감 정도에 대한 신중한 고려와 이에 관련한 연구가 앞으로 진행되어야 할 것으로 판단된다.

식물체 잎표면의 온도분포는 단순히 대기오염 피해 뿐만 아니라 식물체의 특성, 주변 대기온도, 잎표면의 풍속, 광량 등에 의하여 변화할 수 있다. 본 실험에서 광량에 대한 제어가 완전하지 못했고 대기오염원에 의한 기공반응을 여러 연구 결과에 근거하여 가정함으로써 직접적인 피해 유무를 밝히지는 않았지만 초기 가시피해 발현 부위와 오존노출 경과에 따른 온도분포에서 상반된 반응을 보인 부위가 일치하는 점으로 미루어 보아, 온도분포 변화를 가시적 피해 발현 이전에 일어나는 식물체의 반응으로 간주할 수 있으며, 대기오염에 의한 식물체 피해에 대한 비파괴적 조기진단 방법으로 잎표면 온도분포에 대한 열화상 분석기법 이용 가능성은 충분히 인정될 수 있겠다. 이에 대한 보다 정밀한 표준화 작업 및 인과관계 규명이 뒷받침된다면, 생물학적으로 안정된 대기환경관리를 신속하게 실시하기 위하여 식물체 잎표면의 열화상 분석기법을 적용할 수 있을 것이다.

## 요 약

오존에 의한 식물체의 가시피해 발현 이전에 나타나는 비가시적 피해를 찾아내기 위하여 적외선 열화상장치(infrared thermography)를 이용하여 하루 8시간씩 0.3 ppm 오존에 노출된 나팔꽃(*Ipomoea purpurea*) 잎표면의 온도분포 변화를 조사하였다. 노출 첫날에는 온도분포의 뚜렷한 변화를 볼 수 없었다. 노출 2일째, 오존 노출 2시간 경과후, 완전히 자란 제3엽의 특정 부분에서 급격한 온도분포 변화를 보였으며, 그로부터 약 4시간 경과 후에 동일 지점에서 최초의 가시

적 피해가 발생했다. 급격한 온도분포 변화를 보인 부분과 최초 가시피해가 발생한 부분이 일치한 점은 가시피해 발생과 그 이전의 온도분포 변화가 밀접하게 상관되어 있다는 것을 의미한다고 하겠다. 잎표면의 열화상 분석방법을 대기오염원에 의한 식물체의 가시피해 발현 이전에 진행되고 있는 비가시적 반응의 조기진단에 적용할 수 있으며 생태환경 친화적인 대기환경관리를 위한 대기오염원 배출조절용 생체반응기(biosensor)로 이용 가능하겠다.

### 감사의 말씀

적외선 화상장치 운영과 분석에 기술적인 도움을 주신 포항제철 기술연구소의 제상국, 박봉수 연구원에게 감사드립니다.

### 참고문헌

1. Darrrell, N. M. 1989. The effects of air pollutants on physiological processes in plants. *Plant, Cell and Environment* 12 : 1-30.
2. Heath, R. L. 1980. Initial events in injury to plants by air pollutants. *Annual Review of Plant Physiology* 31 : 395-431.
3. Heath, R. L. 1988. The biochemistry of ozone attack on the plasma membrane of plant cells. *Advances in Phytochemistry* 21 : 29-54.
4. Heggstad, H. E. 1991. Origin of Bel-W3, Bel-C and Bel-B tobacco varieties and their use as indicators of ozone. *Environmental Pollution* 74 : 264-291.
5. Hur, J. S. and Wellburn, A. R. 1993. Effects of atmospheric SO<sub>2</sub> on *Azolla* and *Anabaena* symbiosis. *Physiologia Plantarum* 88 : 65-72.
6. Khan, A. A. and Malhotra, S. S. 1977. Effects of aqueous sulphur dioxide on pine needle glycolipids. *Phytochemistry* 16 : 539-543.
7. Krupa, S. V. and Nosal, M. 1993. Use of tobacco cultivars as biological indicators of ambient ozone pollution: an analysis of exposure-response relationships. *Environmental Pollution* 81 : 137-146.
8. Mansfield, T. A. and Freer-Smith, P. H. 1981. Effects of ozone on foliar nitrogen metabolism of *Pinus taeda* L. and implications for carbohydrate metabolism. *New Phytologist* 121 : 623-633.
9. Moldau, H., Kull, O., Sober, J. and Norby, R. J. 1991. Differential response of CO<sub>2</sub> uptake parameters of soil- and sand-grown *Phaseolus vulgaris* L. plants to absorbed ozone flux. *Environmental Pollution* 74 : 251-261.
10. Nouch, I and Aoki, K. 1979. Morning glory as a photochemical oxidant indicator. *Environmental Pollution* 18 : 289-303.
11. Podani, J. 1992. Monitoring system. In: *Biological Indicators in Environmental Protection*, ed. by M. Kovacs, pp. 12-15. Ellis Horwood, Chichester, U.K.
12. Saxe, H. and Murali, N. S. 1989. Diagnostic parameters for selecting against novel spruce (*Picea abies*) decline: III. Response of photosynthesis and transpiration to O<sub>3</sub> exposures. *Physiologia Plantarum* 76 : 356-361.
13. Seaward, M. R. D. 1992. Large-scale air pollution monitoring using lichens. *GeoJournal* 28 : 403-411.
14. Soares, A., Ming, J. Y. and Pearson, J. 1995. Physiological indicators and susceptibility of plants to acidifying atmospheric pollution: A multivariate approach. *Environmental Pollution* 87 : 159-166.
15. Steubing, L. and Jager, H. L. 1982. *Monitoring of Air Pollutants by Plants: Methods and Problems*. Dr. W. Junk Publication, Hague.
16. Wellburn, A. R. 1982. The influence of atmospheric pollutants and their cellular products upon photophosphorylation and related events. In: *International Symposium on Gaseous Air Pollutants and Plant Metabolism*, ed. by M. J. Koizol and F. R. Whatley, pp. 203-230. Butterworths, London.
17. Wellburn, A. R. 1990. Why are atmospheric oxides of nitrogen usually phytotoxic and not alternative fertilizers? *New Phytologist* 115 : 395-429.
18. Wellburn, A. R., Majernik, O. and Wellburn, F. A. M. 1972. Effects of SO<sub>2</sub> and NO<sub>2</sub> polluted air upon the ultrastructure of chloroplasts. *Environmental Pollution* 3 : 37-49.
19. 국립환경연구원. 1990. 대기오염물질과 식물. I. 아황산가스(SO<sub>2</sub>). 국립 환경연구원. 환경생물연구담당관실.
20. 이충일. 1994. 대기오염물질과 농업생산성연구: 환경지표식물을 이용한 지역대기평가 (보고서). 산업과학기술연구소. 대기환경연구팀
21. 허재신, 허용균, 이충일. 1995. 아황산가스와 오존에 대한 지표식물의 가시적피해 발현시간 조사. 한국식물병리학회지 11 : 107-115.