

고마리와 소리쟁이에 의한 Cd²⁺와 Pb²⁺의 흡수 및 phytochelatin에 관한 연구

강 경 홍 · 김 인 성¹ · 구 정 숙²

(전주대학교 생명과학부, ¹전주대학교 대학원 생물학과, ²경북대학교 대학원 생물학과)

(2000년 3월 8일 접수, 2000년 4월 19일 채택)

적 요 - 고마리와 소리쟁이에 Cd²⁺와 Pb²⁺를 각각 5 및 10 mM로 5일간 처리한 결과, 고마리에서는 중금속 5 mM 처리구의 경우 Pb²⁺가 Cd²⁺보다 약 3.5배, 10 mM의 경우 약 2.9배로 Pb²⁺의 농축량이 높게 검출된 반면, 소리쟁이는 Cd²⁺ 5 mM에서 약 1.49 µg/g, 10 mM에서 약 2.90 µg/g 그리고 Pb²⁺ 5 mM에서 약 1.83 µg/g, 10 mM에서 약 2.73 µg/g로 검출되어 처리농도별 Cd²⁺와 Pb²⁺의 농축량은 비슷하였다. 고마리와 소리쟁이의 배양액(pH 6.5)에 Cd²⁺와 Pb²⁺를 5 및 10 mM로 혼합하여 처리한 후 각 실험구 토양의 중금속 잔류율과 pH는 대조구에 비해 고마리를 배양하며 Cd²⁺ 5 mM을 처리한 경우 약 77.1%와 pH 6.39, 10 mM을 처리한 경우 약 90.2%와 pH 5.97 그리고 Pb²⁺ 5 mM을 처리한 경우 약 81.1%와 pH 6.00, 10 mM을 처리한 경우 약 85.7%와 pH 5.80, 소리쟁이를 배양하며 Cd²⁺ 5 mM을 처리한 경우 약 83.9%와 pH 6.32, 10 mM을 처리한 경우 약 93.7%와 pH 6.12 그리고 Pb²⁺ 5 mM을 처리한 경우 약 88.6%와 pH 6.27, 10 mM을 처리한 경우 약 90.0%와 pH 6.02 정도였다. Phytochelatin은 고마리와 소리쟁이에서 모두 Cd²⁺와 Pb²⁺ 무처리구에 비해 5와 10 mM 처리구에서 유도되었음을 확인하였다. 또한, 각 식물재료 내에서 중금속에 의해 유도된 phytochelatin의 분자량은 고마리의 경우 Cd²⁺에 의해서는 약 4,300~8,600 da, Pb²⁺에 의해서는 약 3,200~9,700 da, 소리쟁이의 경우 Cd²⁺에서는 약 4,300 da, Pb²⁺에 의해서는 약 3,200~7,500 da 정도였다.

서 론

생태계 내의 오염 및 축적된 물질을 처리하고 이를 복구시키는 방법 중, 식물을 이용한 방법을 phytoremediation이라 한다. 특히, 생태계 내에서 먹이사슬을 통해 상위 단계로 축적되는 중금속 물질의 처리 방법은 여러 각도에서 연구가 진행되고 있다. 이에 대한 기초 연구로 국외에서는 중금속 물질에 대한 지표종(indicator species)의 선별 및 이를 제거하기 위한 여러 식물종의 중금속 흡수력의 차이(Keneta *et al.* 1983; Hardman *et al.* 1984; Sander *et al.* 1986; Jain *et al.* 1989; Sen & Mondal 1990; Scott 1992), 토양의 중금속 함량과 식물의 중금속 농축량과의 상관관계(Cambell *et al.* 1985), phytochelatin의 생성과 기능(Grill *et al.* 1988, 1991; De Kencht *et al.* 1994; Mehra & Muljandani 1995; Maitani *et al.* 1996), 중금속으로 오염된 환경에서 식물의 적응·진화 양상(Bradshaw 1984) 및 식물체 내의 중금속 결합 단백질의 생성에 관계하는 methallothionein (MT) like gene

(Jianmin & Goldsbrough 1994; Whitelaw *et al.* 1997) 등에 대한 연구가 다양한 각도에서 추구하고 있다. 이에 반해, 국내에서는 광산지역 토양내의 중금속 함량 분석(조 1995; 이 등 1997), 식물체 내에서 중금속 흡수량의 변화(정 등 1993; 이와 윤 1994; 김과 조 1995) 및 중금속 농도변화에 따른 phytochelatin의 상대생성량의 변화(Kang & Kim 1997) 등과 같이 phytoremediation의 기초 연구가 이제야 진행되고 있는 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 독성 중금속 오염물질인 Cd²⁺와 Pb²⁺를 서로 다른 식물에 처리하였을 때 식물에서 이를 얼마나 흡수·농축할 수 있으며, 식물체가 중금속 물질을 흡수하면서 발생하는 토양의 pH 변화가 어느 정도인지, 처리한 중금속 물질의 토양 잔류량이 식물체를 처리하였을 경우와 처리하지 않았을 경우 얼마나 차이를 나타내는지, 그리고 이러한 중금속 물질이 식물체에 흡수됨에 따라 생성되는 phytochelatin의 상대생성량 및 이의 양상에 대해 분석하여 식물을 이용한 토양 및 수계의 중금속 오염원을 효과적으로 제거하는데 이용효과를 증대시키기 위한 기초 자료를 제공하고자 수행하

였다.

재료 및 방법

1. 식물재료

마디풀과 고마리 (*Persicaria thunbergii*)와 소리쟁이 (*Rumex crispus*)를 균일한 입자의 마사토(9)와 질석(1)으로 배합시킨 실험 토양에 Hoagland 용액을 처리한 후 약 2주간 적응·성장시켜 사용하였다.

2. 중금속 처리 및 분석시료 수집

식물재료에 중금속 처리는 배양액에 $Cd(NO_3)_2$ 와 $Pb(NO_3)_2$ 를 각각 5 및 10 mM이 되게 혼합하여 5일간 처리한 후, 식물재료에서 잎을 수집하여 중금속 함량과 phytochelatin을 분석하였고, 식물재료 배양구와 식물재료를 배양하지 않은 대조구 토양 내의 중금속 잔류량과 수소이온농도(pH) 변화를 비교·분석하기 위해 각 실험구에서 토양을 분취하여 풍건시킨 후 600 μ m채로 세분하여 분석시료로 사용하였다.

3. 중금속 추출 및 분석

200°C 이상에서 탄화시켜 마쇄한 식물재료와 채로 세분되어진 토양시료를 Franson방법(1989)으로 중금속을 추출하여 여과한 후, Trace Element Analyser (TEA 3000, Camtronics Ltd., Australia)를 사용하여 Cd^{2+} 와 Pb^{2+} 를 분석하였다.

4. 토양시료의 수소이온농도(pH) 측정

식물재료를 배양한 후 토양내의 pH를 측정하기 위해 일정량의 건조토양에 증류수를 첨가하여 교반한 후 상층액을 수집하여 pH를 측정하였다(환경처 1993). 수소이온농도(pH)의 측정은 Benchtop pH/ISE meter (ATI ORION, U.S.A.)를 사용하였다.

5. 식물재료에서의 phytochelatin 분석

식물재료에 추출용액 [20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 10 mM β -mercaptoethanol]을 혼합하여 균질화한 후 100,000 \times g로 4°C에서 15분간 원심분리하였고, 상층액을 분리하여 Bradford 방법(Bradford 1976)으로 단백질을 정량한 후, size exclusion chromatography 방법[Sephadex G-100, 2.5 \times 50 cm, 10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 84 ml/h, 4°C]으로 분획을 수집한 후 254와 280 nm에서 흡광도를 측정함으로써 phytochelatin의 상대생성량을 측정하였고 또한, 각 분획의 중금속 분석도 병행하였다. 흡광도 측정은 Spectronic GENESYS 5 (Milton Roy,

Table 1. The conc. of Cd^{2+} and Pb^{2+} in the leaf of *P. thunbergii* and *R. crispus* cultured with Cd^{2+} and Pb^{2+} for 5 days (mean \pm STD, unit: μ g/g in biomass)

	Leaf of <i>P. thunbergii</i>		Leaf of <i>R. crispus</i>	
	Cd^{2+}	Pb^{2+}	Cd^{2+}	Pb^{2+}
Control	ND	ND	ND	ND
Cd^{2+} 5 mM	0.82 \pm 0.065	ND	1.49 \pm 0.045	ND
10 mM	2.79 \pm 0.139	ND	2.90 \pm 0.082	ND
Pb^{2+} 5 mM	ND	2.87 \pm 0.093	ND	1.83 \pm 0.046
10 mM	ND	8.08 \pm 0.151	ND	2.73 \pm 0.135

ND means "not detected heavy metal".

U.S.A.)를 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 식물재료의 Cd^{2+} 및 Pb^{2+} 함량

고마리와 소리쟁이의 잎에서 Cd^{2+} 와 Pb^{2+} 를 분석한 결과 Table 1과 같았다.

두 식물재료에서 모두 Cd^{2+} 와 Pb^{2+} 의 함량이 고농도 처리구에서 높게 검출되었는데, 이 결과는 고농도의 중금속 처리구에서 성장한 부레옥잠에서 중금속 농축량이 높다는 연구결과(Muramoto & Oki 1983), *Eldoea nuttallii*의 잎과 뿌리에서 Cu와 Zn의 흡수량이 처리한 중금속의 농도에 비례한다는 연구결과(Werff & Ernst 1979) 및 식물체에 중금속을 농도별로 처리한 결과, 처리시간 및 농도의 증가에 따라 식물체의 각 기관별로 농축량이 증가한다는 연구결과(Park *et al.* 1995a, b; Kang & Kim 1996)와 일치하였다. 또한, 당근의 세포배양체에 농도별로 Cd를 처리한 결과 고농도의 처리구에서 중금속의 함량이 높게 검출된다는 연구결과(Di Toppi *et al.* 1998)와도 일치하여 식물체에서 중금속의 농축은 고농도의 환경에서 더 많은 중금속이 흡수·농축됨을 알 수 있었다. 고마리의 경우 단위 무게 당 Pb^{2+} 의 농축량이 Cd^{2+} 에 비해 5와 10 mM에서 모두 약 3.5배 가량 높게 검출된 반면, 소리쟁이에서는 Cd^{2+} 5 mM에서 약 1.49 μ g/g, 10 mM에서 약 2.90 μ g/g 그리고 Pb^{2+} 5 mM에서 약 1.83 μ g/g, 10 mM에서 약 2.73 μ g/g로 검출되어 두 종류 중금속의 처리농도별 농축량이 비슷한 수준이었다 (Fig. 1).

또한, Pb^{2+} 의 농축량이 소리쟁이에 비해 고마리에서는 5 mM 처리구의 경우 약 1.5배, 10 mM 처리구에서는 약 2.9배 가량 높게 검출되었는데, 이러한 차이는 같은 이온가를 나타내는 서로 다른 중금속이 같은 식물종에 흡수되거나, 또는 서로 다른 식물종에 동일한 이온가의

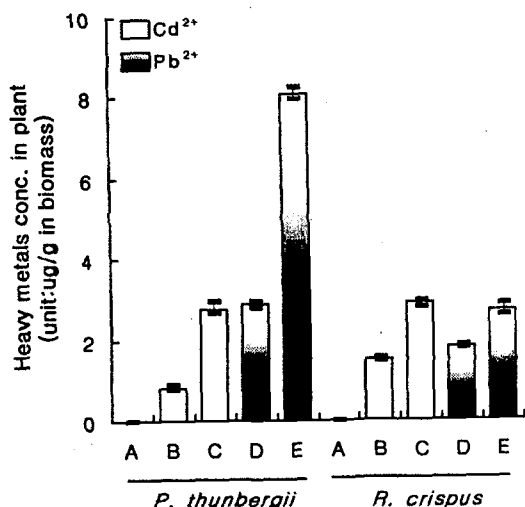


Fig. 1. The patterns of the mean values of the conc. of Cd²⁺ and Pb²⁺ in the leaf of *P. thunbergii* and *R. crispus* cultured with Cd²⁺ and Pb²⁺ for 5 days. A, control; B, Cd²⁺ 5 mM; C, Cd²⁺ 10 mM; D, Pb²⁺ 5 mM; E, Pb²⁺ 10 mM.

중금속이 흡수되더라도 식물세포 내에서 이들의 독성을 감소시키기 위한 여러 작용 즉, metal-binding protein에 의한 중금속 이온과의 결합작용 (Bartolf *et al.* 1980; Robinson & Jackson 1986; Steffens 1990) 및 중금속 이온이 식물세포 내에서 용해 또는 불용해성 복합체를 형성하는 membrane bound compartment의 형성 과정 (Mullins *et al.* 1985) 등이 식물종에 따라 차이가 있어 고마리와 소리쟁이에서 Cd²⁺의 농축량은 비슷한 수준이었으나 Pb²⁺의 농축량이 달라진 것으로 사료된다. 또한, 고마리에서 Cd²⁺에 비해 Pb²⁺의 농축량이 높게 검출된 것은 식물체에 Pb²⁺, Cu²⁺ 및 Zn²⁺ 등을 같은 농도로 처리하였을 때 중금속의 흡수량이 Cu²⁺ < Pb²⁺ < Zn²⁺의 순서로 같은 이온가를 나타내는 양이온의 중금속 속에서도 서로 다른 흡수량을 나타낸다는 연구결과 (Kang & Kim 1996) 등과 같은 양상을 나타내었다.

2. 식물재료 배양 후 Cd²⁺ 및 Pb²⁺의 잔류량

고마리와 소리쟁이를 배양하며 Cd²⁺와 Pb²⁺를 각 5 및 10 mM로 처리한 실험구와 식물재료를 배양하지 않고 중금속만을 처리한 대조구에서 토양시료를 수집하여 중금속의 잔류량을 분석한 결과 Table 2와 같았다.

대조구에 비해 고마리를 배양하며 Cd²⁺ 5 mM을 처리한 경우 약 77.1%, 10 mM을 처리한 경우 약 90.2% 그리고 Pb²⁺ 5 mM을 처리한 경우 약 81.1%, 10 mM을 처리한 경우 약 85.7%, 소리쟁이를 배양하며 Cd²⁺ 5 mM을 처리한 경우 약 83.9%, 10 mM을 처리한 경우 약

Table 2. The remaining conc. of Cd²⁺ and Pb²⁺ in the soil of cultured pot and control after treatment of heavy metals for 5 days (mean ± STD, unit: µg/g in dry weight)

Analysed heavy metal		Cd ²⁺	Pb ²⁺
The treatment of pot			
Control	Cd ²⁺ 5 mM	3.36 ± 0.085	ND
	10 mM	5.24 ± 0.124	ND
	Pb ²⁺ 5 mM	ND	6.17 ± 0.178
	10 mM	ND	11.21 ± 0.235
<i>P. thunbergii</i> cultured pot	Cd ²⁺ 5 mM	2.59 ± 0.227	ND
	10 mM	4.73 ± 0.316	ND
	Pb ²⁺ 5 mM	ND	5.01 ± 0.349
	10 mM	ND	9.61 ± 0.544
<i>R. crispus</i> cultured pot	Cd ²⁺ 5 mM	2.82 ± 0.341	ND
	10 mM	4.91 ± 0.378	ND
	Pb ²⁺ 5 mM	ND	5.47 ± 0.412
	10 mM	ND	10.09 ± 0.743

ND means "not detected heavy metal".

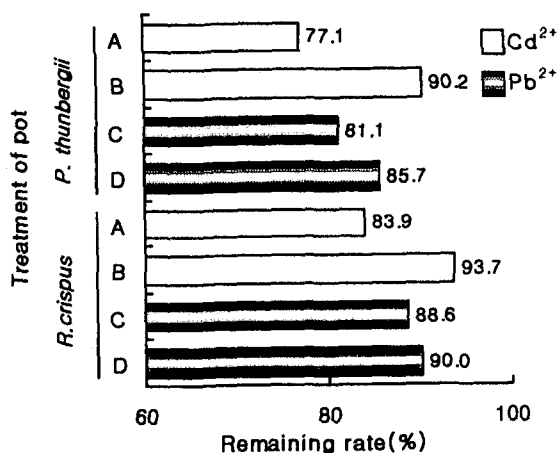


Fig. 2. The remaining rate (%) of Cd²⁺ and Pb²⁺ in soil after being cultured with *P. thunbergii* and *R. crispus* as compared with that of control (100%). A, Cd²⁺ 5 mM; B, Cd²⁺ 10 mM; C, Pb²⁺ 5 mM; D, Pb²⁺ 10 mM.

93.7% 그리고 Pb²⁺ 5 mM을 처리한 경우 약 88.6%, 10 mM을 처리한 경우 약 90.0% 정도로 식물재료 배양 후 토양 내의 중금속 잔류량을 검출할 수 있었다 (Fig. 2). 고마리와 소리쟁이 모두 Cd²⁺와 Pb²⁺의 고농도 보다 저농도 처리구에서 중금속 잔류율이 적게 검출되었다. 또한, 소리쟁이보다 고마리에서 중금속을 흡수·농축할 수 있는 능력이 높게 나타나, 식물의 종에 따라 중금속의 흡수양상이 다름을 알 수 있었다. 이러한 결과로 식물은 서식 환경의 중금속 농도가 고농도 보다 낮은 저농도의 환경에서 더 많은 비율로 중금속을 흡수·농축할 수

있다는 사실을 확인하였다. 이처럼 자연생태계에서 우점종을 차지하는 여러 식물종의 생장에 따른 체내 중금속 농도 범위에 대한 연구가 진행되어짐으로서 식물체가 생장에 저해 받지 않는 수준에서 phytoremediation에 대한 효과적인 monitoring을 할 수 있을 것으로 생각된다.

3. 식물재료 배양 후 토양내의 수소이온농도 (pH)

고마리와 소리쟁이 배양을 위한 배양액 (pH 6.5)에 Cd^{2+} 와 Pb^{2+} 의 농도를 5 및 10 mM로 조제하여 식물재료 배양 실험구와 무배양 대조구에 5일간 처리한 후 각 실험구 토양의 pH를 측정된 결과 Fig. 3과 같았다. 본 실험에서 5일간 중금속을 처리하며 고마리와 소리쟁이를 배양한 결과 토양내의 pH는 고마리와 소리쟁이를 배양하지 않은 대조구보다 pH가 낮아졌다.

이러한 결과는 식물체가 많은 양의 중금속 이온에 노출될 경우 식물체의 뿌리로부터 분비된 다양한 유기산과 토양 내의 중금속 이온이 결합함으로써 중금속 이온이 자유 이온 (free ion) 상태에서 나타낼 수 있는 활성계수 (activity coefficient)를 감소시켜 결국 토양 내에서 중금속 이온의 독성 작용을 감소시키고 동시에 pH를 낮춘다는 연구결과 (Thurman 1981)와 식물이 뿌리로부터 중금속과 같은 무기이온을 흡수하기 위해 유기산을 분비한다는 연구결과 (Waisel & Agami 1991)와 일치한 것으로 실험구 토양의 pH가 낮아진 것은 식물체로부터 분비된 유기산의 영향에 의한 것이라 생각한다. 결과에서 나타난 것처럼 식물체를 처리하지 않고 중금속만을 처리한 대조구 토양의 pH는 처음 배양액의 pH 6.5와 거의 유사한 값인 pH 6.4로 측정되었으나, 식물 재료를 배양한 실험구에서는 pH가 현저히 낮아졌음을 알 수 있었다. 더욱이, 같은 농도에서 Cd^{2+} 처리구보다는 Pb^{2+}

처리구에서 그리고 저농도에서 보다는 고농도의 처리구에서 pH의 변화량이 크게 나타났음을 알 수 있었다. 또한 소리쟁이를 배양한 토양보다 고마리를 배양한 토양에서 pH의 변화의 폭이 크게 나타났음을 알 수 있었다.

이러한 결과는 고마리에서 중금속의 농축량이 Pb^{2+} 의 경우 Cd^{2+} 보다 약 3.5배 가량 높게 농축되어진 것과 Pb^{2+} 처리구의 pH가 Cd^{2+} 처리구 보다 더 낮게 측정된 것을 비교해 볼 때 식물체에 더 많은 중금속이 농축되기 위해 나타난 상승효과 (synergistic effect)로 생각된다.

4. 고마리와 소리쟁이 내의 phytochelatin

생물은 자연상태에서 중금속과 같은 환경오염물질에 노출되거나 이러한 물질을 흡수한 경우 이의 독성을 상쇄시키기 위해 체내에서 metal-binding protein과 같은 생화합물을 합성하여 중금속 물질의 이온상태를 중화시킴으로서 중금속 이온의 독성작용을 무력화시킨다. 이러한 생화합물을 동물과 미생물의 경우 metallothionein (MT)이라 하고, 식물의 경우 phytochelatin (Pc)이라 한다. 또한, 이러한 phytochelatin의 기본 구조에는 기타 다른 단백질 또는 peptide에 비해 cystein (-SH)이 다량 포함되어 있고, 이러한 cysteine에 의해 disulfide bond를 형성하여 중금속 이온과 결합하는 구조적인 특성을 가지고 있어서 280보다 254 nm에서 더 큰 흡광도를 나타낸다 (Casterline & Baenett 1982; Tukendorf *et al.* 1984; Rauser & Glover 1984a; Rauser 1984b; Grill *et al.* 1985a, 1991; Robinson & Jackson 1986; Steffens 1990). 본 실험에서는 고마리와 소리쟁이 체내에서 Cd^{2+} 와 Pb^{2+} 에 의해 유도되는 이러한 phytochelatin의 생성 양상을 분석하기 위해 Cd^{2+} 와 Pb^{2+} 무처리구 및 10 mM 처리구에서 배양한 식물재료의 잎으로부터 단백질을 추출하여 size exclusion chromatography 방법으로 추출액을 분리한 후 각 분획의 흡광도와 Cd^{2+} 및 Pb^{2+} 의 농도를 측정된 결과 Fig. 4 및 Fig. 5와 같았다.

각각의 분획 중 중금속이 검출된 분획은 고마리는 Cd^{2+} 의 경우 3곳, Pb^{2+} 의 경우 4곳에서 발견할 수 있었고, 소리쟁이는 Cd^{2+} 의 경우 1곳, Pb^{2+} 의 경우 2곳에서 발견할 수 있었는데, 이것은 단일 식물종에서 단일 중금속과 결합하기 위한 phytochelatin은 (γ -Glu-Cys) $_n$ -Gly, (γ -Glu-Cys) $_n$ 및 (γ -Glu-Cys) $_n$ -Glu 등과 같이 여러 가지로 합성된다는 연구결과 (Gupta & Goldsbrough 1991; Meuwly *et al.* 1995; Maitani *et al.* 1996)와 유사하였다.

본 실험에 사용된 고마리와 소리쟁이에서도 Cd^{2+} 에 의해 각각 약 3종류와 1종류 그리고 Pb^{2+} 에 의해서는 약 4종류와 2종류의 phytochelatin이 유도되어진 것으로

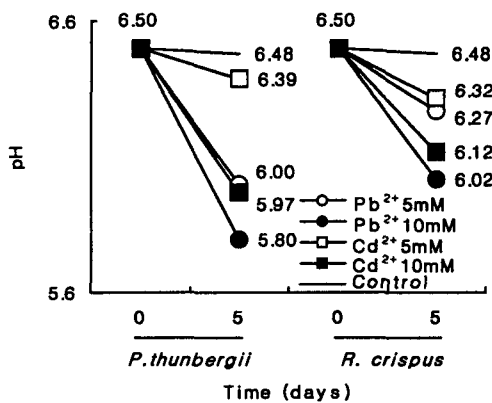


Fig. 3. The variation of pH in the soil after incubation with *P. thunbergii* and *R. crispus*.

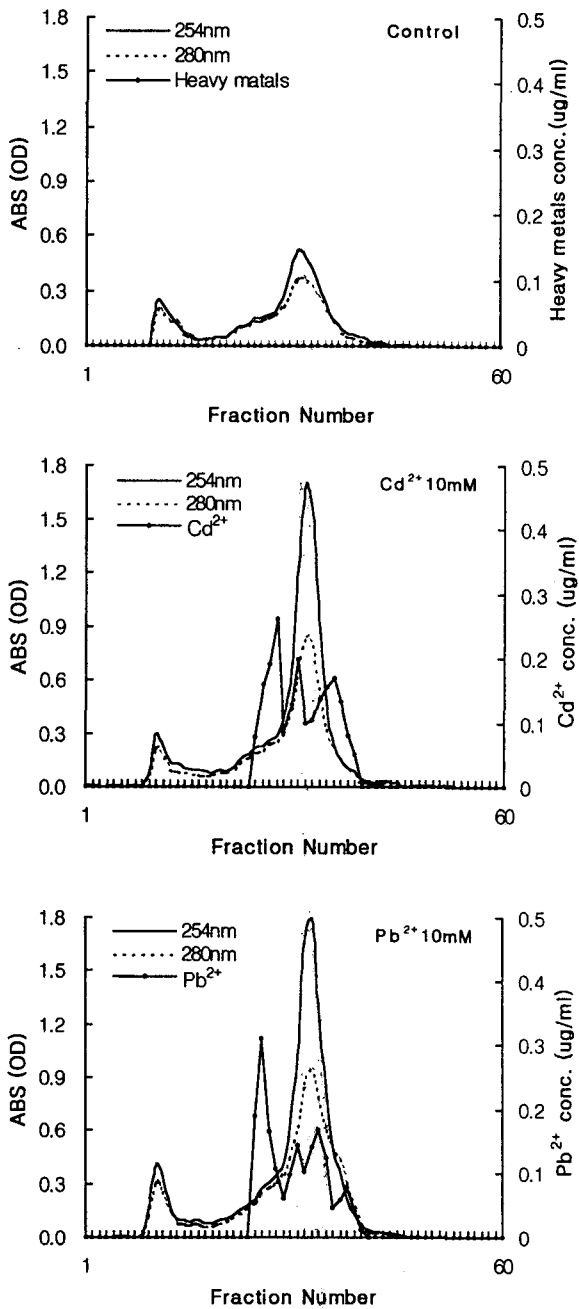


Fig. 4. Size exclusion chromatography of the tissue extract from leaf of *P. thunbergii*. The column ($\phi 2.5 \times 50$ cm) was operated at 4°C and eluted with 10 mM Tris-HCl (pH 8.0) at a flow of 84 ml/h.

로 생각된다. 또한, 고마리와 소리쟁이 모두 중금속 처리구의 분획에서 중금속이 검출되었고, 이와 동시에 중금속이 검출된 분획에서 A₂₅₄가 증가하여, 겨이삭속의 *Agrostis gigantea* (Rausser 1984a, b), *Spinach oleracea* (Tukendorf et al. 1984) 그리고 토마토 (Bartolf et al. 1980) 등의 식물에 중금속을 처리하였을 때 나타난 phytochelatin

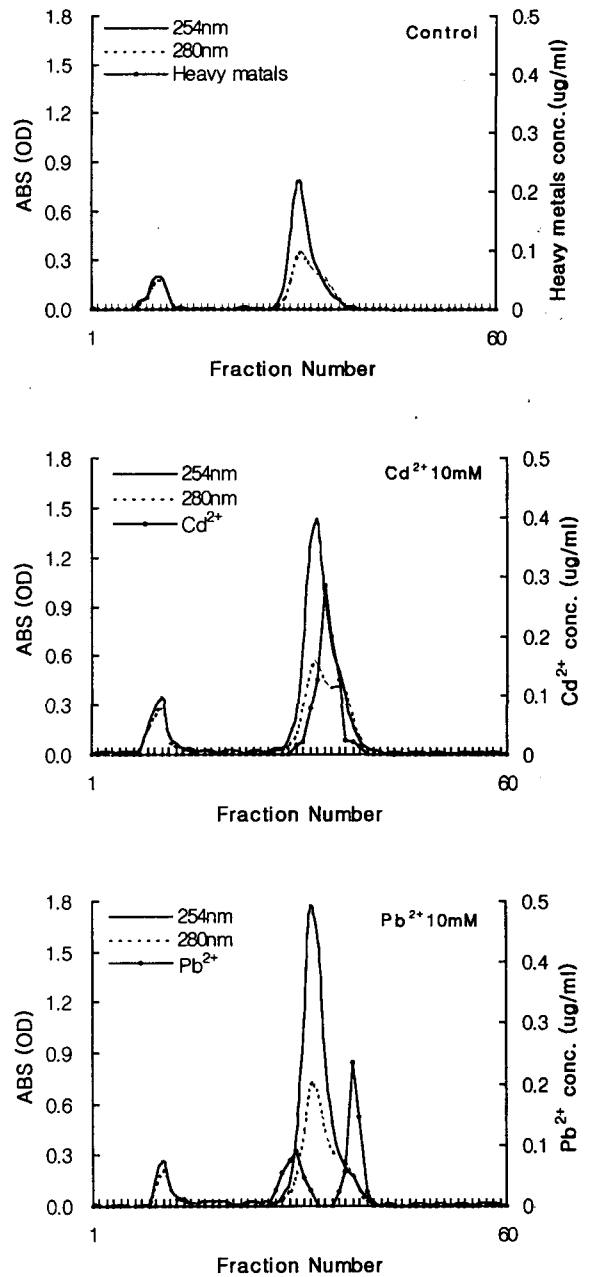


Fig. 5. Size exclusion chromatography of the tissue extract from leaf of *R. crispus*. The column ($\phi 2.5 \times 50$ cm) was operated at 4°C and eluted with 10 mM Tris-HCl (pH 8.0) at a flow of 84 ml/h.

의 상대적인 증가양상 및 Kang과 Kim (1997)에 의해 보고된 결과와도 같은 결과였다. 이러한 phytochelatin의 분자량은 약 1,500~16,000 da 정도로 효소반응에 의해 합성되며, 효소반응은 phytochelatin보다 분자량이 작은 전구물질을 필요로 한다 (Tukendorf et al. 1984; Steffens 1990).

고마리와 소리쟁이에서 유도된 phytochelatin의 분자

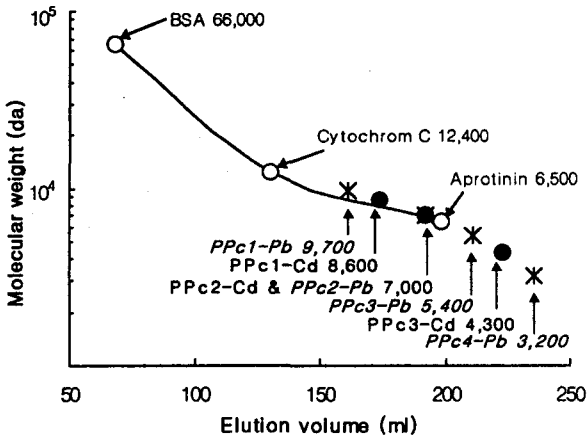


Fig. 6. Molecular mass (da) estimation of phytochelatin induced Cd^{2+} and Pb^{2+} in *P. thunbergii*. Analytical gel filtration using Sephadex G-100 superfine was operated at $4^{\circ}C$ and eluted with 10 mM Tris-HCl (pH 8.0) at a flow rate of 18 ml/h.

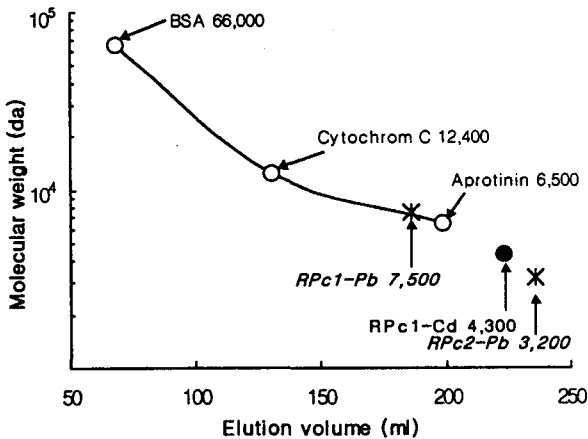


Fig. 7. Molecular mass (da) estimation of phytochelatin induced Cd^{2+} and Pb^{2+} in *R. crispus*. Analytical gel filtration using Sephadex G-100 superfine was operated at $4^{\circ}C$ and eluted with 10 mM Tris-HCl (pH 8.0) at a flow rate of 18 ml/h.

량을 측정하기 위해 BSA (66,000 da), cytochrome C (12,400 da) 그리고 aprotinin (6,500 da)을 기준으로 측정 한 결과 Fig. 6 및 Fig. 7과 같았다.

각 식물재료 내에서 Cd^{2+} 와 Pb^{2+} 에 의해서 유도된 phytochelatin의 분자량을 측정 한 결과, 고마리의 경우 Cd^{2+} 에 의해서는 약 4,300~8,600 da, Pb^{2+} 에 의해서는 약 3,200~9,700 da, 소리쟁이의 경우 Cd^{2+} 에서는 약 4,300 da, Pb^{2+} 에 의해서는 약 3,200~7,500 da 정도로 측정되었다. 이러한 결과는 지금까지 여러 식물체 내에서 유도되는 phytochelatin의 분자량에 대한 연구내용

과 유사한 것으로, 중금속 종류 및 이온가 그리고 식물의 종 등에 따라 여러 종류의 분자량을 나타내는 이러한 phytochelatin이 유도되어 식물체 내에 흡수된 이온 상태의 중금속에 의한 독성을 상쇄하는 기능을 하는 세포 내 생합성물질로 본 실험에서도 처리 중금속 종류 및 식물의 종에 따라서 여러 종류의 phytochelatin이 유도 된 것으로 생각된다.

5. 식물의 중금속 처리능력에 따른 이용성

본인의 지난 연구결과(Kang & Kim 1996)와 본 실험의 식물재료인 고마리 한 개체당 농축되어지는 Pb^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} 그리고 Fe^{2+} 의 농축량이 각각 약 0.66~2.09 mg, 약 2.33~5.34 mg, 약 5.20~16.21 mg 그리고 약 9.50~29.41 mg 가량을 흡수·제거할 수 있다는 것을 연계시켜보면, 식물을 이용하여 토양 내의 중금속을 제거하는 phytoremediation으로서의 이용 가능성을 고려할 수 있다고 생각된다.

Phytoremediation에 이용할 수 있는 여러 식물종 중에서도 고마리와 같이 습생식물인 경우, 토양에 뿌리를 내리고 하천의 가장자리에 군락을 형성하므로 수중에 뿌리가 직접 노출될 때 뿌리에 영향을 미치는 여러 환경요인 즉, 수온의 변화, 태양의 조사시간 및 조사량 등과 같은 계절적인 변화에 의한 뿌리의 생장 저해 현상이 적으며, 토양내의 환경이 수중의 환경보다 변화 정도가 적으므로 뿌리의 생장에 유리하고, 식물체 뿌리에서 영양물질 및 중금속 물질과 같은 무기이온을 흡수하는 효과가 우수하기 때문(Waisel & Agami 1991; Baker et al. 1983)에 하천으로 유입되는 유입수 내의 중금속 및 하천 토양으로부터 직접 중금속 물질을 제거 할 수 있는 유리한 점을 갖추고 있는 식물로 생각된다. 또한, 소리쟁이는 비교적 습한지역에서 생장이 왕성하나 건조한 조건에서도 그 생장이 유리하고, 개체의 생장속도가 빠르며 다른 식물체에 비해 엽육세포가 발달되어 식물체 내로 흡수된 중금속과 같은 오염물질을 저장 할 수 있는 능력이 큰 것으로 생각한다. 중금속과 같은 환경오염물질의 처리 문제를 해결해 나가기 위해서는 오염물질로서의 중금속에 대한 식물의 반응 및 이의 농축정도 그리고 중금속이 농축된 식물의 효과적인 제거 방법 등에 대한 연구가 절실히 필요하다.

사 사

이 논문은 1999학년도 전주대학교 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

참고 문헌

- 김호준, 조도순(1995) 수중 초본 식물의 중금속 내성에 관한 연구. *Korean J. Ecol.* **18**: 147-156.
- 이도경, 정영덕, 이규승(1997) 구봉광산 주변 중금속의 분포 양상 및 인근농경지와 하천수계에 미치는 영향. *Journal of KoSES.* **2**: 69-80.
- 이호준, 윤영진(1994) Mn과 Zn이 소리쟁이(*Rumex crispus* L.)의 발아 및 유식물의 생장에 미치는 영향. *Korean J. Environ. Biol.* **12**: 77-86.
- 정기채, 김복진, 한상국(1993) 아연광산 인근지역 야생식물중의 중금속 함량 조사. *Korean J. Environ. Agric.* **12**: 105-111.
- 조영호(1995) 달성 폐광산의 식생에 미치는 토양 중금속의 영향. *Korean J. Environ. Biol.* **13**: 21-26.
- 환경처(1993) 수질오염·폐기물 공정시험방법. 도서출판 동화기술.
- Baker AJM, RR Brooks, AJ Pease & F Malaisse (1983) Studies on copper and cobalt tolerance in three closely related taxa within the genus *Silene* L. (Caryophyllaceae) from Zaire. *Plant and Soil.* **73**: 377-385.
- Bartolf M, E Brennan & CA Price(1980) Partial characterization of a cadmium binding protein from the roots of cadmium treated tomato. *Plant Physiol.* **66**: 438-441.
- Bradford MM(1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**: 248-254.
- Bradshaw AD(1984) Adaptation of plants to soils containing toxic metals a test for conceit. pp. 4-19. In *Orgins and development of adaptation* (Evered D & GM Collins eds).
- Campbell PGC, A Tessier, M Bisson & R Nougie(1985) Accumulation of copper and zinc in yellow water lily, *Nuphar variegatum* : Relationships to metal partitioning in the adjacent lake sediments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **42**: 23-32.
- Casterline JL & NM Barnett(1982) Cadmium binding components in soybean plants. *Plant Physiol.* **69**: 1004-1007.
- De Knecht JA, MV Dillen, PLM Koevoets, H Schat, JAC Verkleij & WHO Ernst(1994) Phytochelatin in cadmium sensitive and cadmium tolerant *Silene vulgaris*. *Plant Physiol.* **104**: 225-261.
- Di Toppi LS, M Lambardi, L Pazzagli, G Cappugi, M Durrante & R. Gabbrielli(1998) Response to cadmium in cattrot in vitro plants and cell suspension cultures. *Plant Science.* **137**: 119-129.
- Franson NAH(1989) Standard method (for the examination of water and waste water). 17th ed. American Public Health Association. pp. 321-331.
- Grill E, EL Winnacker & MH Zenk(1985a) Phytochelatin : The principal heavy metal complexing peptides of higher plants. *Science.* **230**: 674-676.
- Grill E, EL Winnacker & MH Zenk(1988) Occurrence of heavy metal binding phytochelatin in plants growing refuse area. *Experientia.* **44**: 539-540.
- Grill E, EL Winnacker & MH Zenk(1991) Phytochelatin. *Method in enzymology.* **205** : 333-341.
- Gupta & PB Goldsbrough(1991) Phytochelatin accumulation and cadmium tolerance in selected cell lines. *Plant Physiol.* **97**: 306-312.
- Hardiman RT, B Jacoby & A Banin(1984) Factors affecting the distribution of cadmium, copper and lead and their effect upon yield and zinc content in bush beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Physiol.* **81**: 17-27.
- Jain SK, GS Gujral, P Vasudevan & NK Jha(1989) Uptake of heavy metals by *Azolla pinnata* and their translocation into fruit bodies of *Pleurotus sajor-caju*. *Journal of fermentation and bioengineering.* **68**: 64-67.
- Jianmin Z & PB Goldsbrough(1994) Functional Homologs of Fungal Metallothionein Genes from Arabidopsis. *Plant Cell.* **6**: 875-884.
- Kaneta M, H Hikichi, S Endo & N Sugiyama(1983) Isolation of a cadmium-binding protein from cadmium-treated rice plants (*Oryza sativa* L.). *Agric. Biol. Chem.* **47**: 417-418.
- Kang KH & IS Kim(1996) Study on the elimination of heavy metal pollutants in the soil by vascular plant in the river area. *Journal of KOESE.* **1**: 23-34.
- Kang KH & IS Kim(1997) The relationship of Cu content and Phytochelatin in *Persicaria thunbergii*. *Korean J. Environ. Biol.* **15**: 157-164.
- Maitani T, H Kubota & T Yamada(1996) The composition of metals bound to class III. metallothionein (phytochelatin and its desglycyl peptide) induced by various metals in root cultures of *Rubia tibctorum*. *Plant Physiol.* **110**: 1145-1150.
- Mehra RK & P Mulchandani(1995) Glutathione-mediated transfer of Cu(I) in to phytochelatin. *Biochem. J.* **307**: 697-705.
- Meuwly P, P Thibault, AL Schwan & WE Rauser(1995) Three families of thiol peptides are induced by cadmium in maize. *Plant Journal.* **7**: 391-400.
- Mullins M, K Hardwick & DA Thurman(1985) Heavy metal location by analytical electron microscopy in conventionally fixed and freeze-substituted roots of metal tolerant and non tolerant ecotypes. In *Lekkas, T. D. In heavy metals in environment. CEP conceltants*

- Ltd. Edinburgh*. 2 : 43-46.
- Muramoto S & Y Oki (1983) Removal of some heavy metals from pollutoin water by water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* **30**: 170-177.
- Park KN, KH Kang & IS Kim (1995a) Studies on the biological magnification of heavy metal and the assay of heavy metal pollution levels in the area of rivers by vascular plants. II. The biological magnification of lead, copper, zinc and iron in vascular plants; *Persicaria thunbergii* and *Nymphoides peltata*. *Korean J. Environ. Biol.* **13**: 175-188.
- Park KN, KH Kang & IS Kim (1995b) Studies on the biological magnification of heavy metal and the assay of heavy metal pollution levels in the area of rivers by vascular plants. III. The removal of lead, copper and zinc from the soil of hebitat by *Persicaria thunbergii*. *Korean J. Environ. Biol.* **13**: 189-202.
- Rauser WE & J Glover (1984a) Cadmium-binding protein in roots of maize. *CAN. J. BOT.* **62**: 1645-1650.
- Rauser WE (1984b) Copper-binding protein and copper tolerance in *Agrostis gigantea*. *Plant Science Letters.* **33**: 239-247.
- Robinson NJ & PJ Jackson (1986) "Metallothio-like" metal complex in angiosperms; Their structure and function. *Physical. Plant.* **67**: 499-506.
- Sanders JR, SP McGrath & TM Adams (1986) Zinc, copper and nickel concentrations in Rye grass grown on sewage sludge- contaminated soils of different pH. *J. Sci. Food. Agric.* **37**: 961-968.
- Scott CD (1992) Removal of dissolved metals by plant tissue. *Biotechnology and Bioengineering.* **39**: 1064-1068.
- Sen AK & NG Mondal (1990) Removal and uptake of copper (II) by *Salvinia natans* from waste water. *Water, Air and Soil pollution.* **46**: 1-6.
- Steffens JC (1990) The heavy metal-binding peptides of plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **41**: 553-575.
- Thurman DA (1981) Mechanism of metal tolerance in higher plants. pp. 239-304. *In* Effect of heavy metal pollution on plants. Vol. 2. Metals in the environment (Lepp NW eds) Applied Science Publishers.
- Tukendorf A, S Lyszcz & T Baszy ski (1984) Copper binding proteins in spinach tolerant to excess copper. *J. Plant Physiol.* **115**: 351-360.
- Waisel Y & M Agami (1991) Ecophysiology of roots of submerged Aquatic plants. pp. 887-905. *In* Plant roots (Waisel Y, A Eshel & U Kafkafi) Marced Dekker. New York.
- Werff MM & WHO Ernst (1979) Kinetics of copper and zinc uptake by leaves and roots of on aquatic plant, *Elodea nuttallii*. *Z. Pflanzsenphysiol. B.* **92**: 1-9.
- Whitelaw CA, JA Le Huquet, DA Thurman & AB Tomsett (1997) The isolation and characterisation of type II metallothionein-like genes from tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Plant Mol. Biol.* **33**: 503-511.

The Study on Absorption of Cd²⁺ and Pb²⁺ by *Persicaria thunbergii* and *Rumex crispus*, and Their Phytochelatin

Kyung Hong Kang, In Sung Kim¹ and Jeung Suk Koo²

(School of life science, Jeonju Univ., ¹Dept. of biology, Graduate school, Jeonju Univ.,
²Dept. of biology, Graduate school, Kyungpook National Univ.)

Abstract – When *Persicaria thunbergii* and *Rumex crispus* were treated with Cd(NO₃)₂ and Pb(NO₃)₂ of 5 or 10 mM for 5 days, the amount of bioaccumulation of Pb²⁺ in the leaf of *P. thunbergii* was 2.87~8.08 µg/g and that of Cd²⁺ was 0.82~2.79 µg/g. In the case of *P. thunbergii*, the concentration of Pb²⁺ in the leaf was higher than that of Cd²⁺. On the other hand, in *R. crispus*, the concentration of Cd²⁺ and Pb²⁺ were similar as follows; 1.49 µg/g in Cd²⁺ 5 mM, 2.90 µg/g in Cd²⁺ 10 mM, 1.83 µg/g in Pb²⁺ 5 mM and 2.73 µg/g in Pb²⁺ 10 mM. The remaining rate of heavy metals and the variation of pH in the cultured soil decreased as compared with control (100 % and pH 6.48) after 5 days as follows; to 77.1% and pH 6.39 in Cd²⁺ 5 mM, 90.2% and pH 5.79 in Cd²⁺ 10 mM, 81.1% and pH 6.00 in Pb²⁺ 5 mM, and 85.7% and pH 5.80 in Pb²⁺ 10 mM. The result of size exclusion chromatography, several phytochelatins were separated from the extract of the leaf of both plants treated with heavy metals. The molecular mass of these phytochelatins were estimated as follows; in the case of *P. thunbergii*, about 4,300~8,600 da by Cd²⁺ and about 3,200~9,700 da by Pb²⁺, and in *R. crispus*, about 4,300 da by Cd²⁺ and about 3,200~7,500 da by Pb²⁺. In addition, A₂₅₄ of these phytochelatins were higher than A₂₈₀. [Phytochelatin, *Persicaria thunbergii*, *Rumex crispus*]