

## 고마리를 사용한 중금속 처리

강 경 홍 · 김 인 성\*

전주대학교 생명과학부

\*전주대학교 대학원 생물학과

## Phytoremediation by *Persicaria thunbergii*

Kang, Kyung Hong · Kim in-sung\*

*School of life science, Jeonju Univ.*

*\*Dept. of biology, Graduate school, Jeonju Univ.*

## ABSTRACT

For the consideration of phytoremediation,  $Cd^{2+}$  and  $Pb^{2+}$  were analysed in the soil of the habitats and the leaf, stem and root of *Persicaria thunbergii* in the different localities of Bong-Dong river. In the soil and plant samples of research areas,  $Cd^{2+}$  was not detected but,  $Pb^{2+}$  detected as follows: about 7.8~12.6 $\mu g/g$  in the soil of habitats, about 11.7~18.4  $\mu g/g$  in the leaf, about 7.5~15.5 $\mu g/g$  in the stem and about 89.1~193.6 $\mu g/g$  in the root of *P. thunebergii* and the correlation coefficient value between the  $Pb^{2+}$  contents in soil and *P. thunbergii* was 0.814( $t_{12}$ , 0.01). After *P. thunbergii* was treated with  $Cd(NO_3)_2$  and  $Pb(NO_3)_2$  of 5 and 10mM, the bioaccumulation of  $Cd^{2+}$  and  $Pb^{2+}$  in the leaf of plant, the remaining mass of heavy metals and the variation of pH in the soil, and the increasing rate(%) of phytochelatin in plant were examined. The concentrations of  $Cd^{2+}$  and  $Pb^{2+}$  in the leaf as follows: in the case of  $Cd^{2+}$ , about 0.82~2.79 $\mu g/g$  and in  $Pb^{2+}$ , about 2.87~8.08 $\mu g/g$ . The remaining mass of heavy metals and the variation of pH in the cultured soil decreased as follows: about 77.1% and pH6.39 in  $Cd^{2+}$ 5mM, about 90.2% and

pH5.79 in  $Cd^{2+}$ 10mM, about 81.1% and pH6.00 in  $Pb^{2+}$ 5mM and about 85.7% and pH5.80 in  $Pb^{2+}$ 10mM. The phytochelatin were increased in plant samples treated with 10mM  $Cd(NO_3)_2$  and  $Pb(NO_3)_2$  as follows: about 259% by  $Cd^{2+}$  and about 305% by  $Pb^{2+}$  be compared with control, and the molecular weight(da) of these phytochelatin were estimated about 4,300~8,600da in the case of the treatment of  $Cd^{2+}$  and about 3,200~9,700 in  $Pb^{2+}$ .

**Key words** : Phytoremediation, Phytochelatin,  $Cd^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ , *Persicaria thunbergii*

## 요 약 문

고마리 서식지 토양 및 식물체 내의 중금속 함량을 조사한 결과, 서식처 토양 및 식물체 내에서  $Cd^{2+}$ 는 검출되지 않았으나 토양에서  $Pb^{2+}$ 는 약 7.8~12.6 $\mu$ g/g로 검출되었고, 고마리의 잎에서  $Pb^{2+}$ 는 약 11.7~18.4 $\mu$ g/g, 줄기에서 약 7.5~15.5 $\mu$ g/g 그리고 뿌리에서 약 89.1~193.6 $\mu$ g/g로 검출되었다. 토양 내의 중금속 함량과 식물체 내의 중금속 농축량 사이에 상관관계(r)는 0.814( $t_{12}$ , 0.01)로 정상관관계를 나타냈다. 고마리에  $Cd(NO_3)_2$ 와  $Pb(NO_3)_2$ 를 5와 10mM,로 처리한 후, 식물체의 잎에서 중금속 함량을 분석한 결과,  $Cd^{2+}$ 와  $Pb^{2+}$ 는 각각 약 0.82~2.79 $\mu$ g/g와 약 2.87~8.08 $\mu$ g/g로 검출되었다. 고마리 배양 후 실험토양 내의 중금속 잔류량은  $Cd^{2+}$ 의 경우 약 77.1~90.2%로 감소되었고,  $Pb^{2+}$ 의 경우 약 81.1~85.7%로 감소되었다. 고마리에 중금속 물질을 처리한 후 유도·생성되는 phytochelatin은 중금속 물질을 처리함에 따라 그 상대생성량이 증가하였다. 이들의 분자량은  $Cd^{2+}$ 를 처리한 경우 약 4,300~8,600da 그리고  $Pb^{2+}$ 를 처리한 경우 약 3,200~9,700da이었다.

**검색어** : Phytoremediation, Phytochelatin,  $Cd^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ , 고마리

## 1. 서 론

식물을 이용하여 중금속성 물질 및 생태 환경에 축적될 수 있는 여러 환경오염물질의 효과적인 처리방법(phytoremediation)을 위한 기초연구로 국외에서는 중금속 물질에 노출된 여러 식물종의 중금속 농축량의 차이<sup>14, 15, 29, 30, 31)</sup>, 서식지 토양의 중금속 함량과 식물의 농축량과의 상관관계<sup>5)</sup>, 독성 중금속 물질에 대한 식물의 적응양상<sup>4)</sup>, 식물체 내에서 중금속 물질에 의해 유도되는 phytochelatin<sup>7, 11, 12, 20)</sup> 및 이의 생성에 관계하는

methallothionein(MT) like gene<sup>16, 19, 37)</sup>에 대한 연구 등이 전세계적으로 활발히 진행되고 있다.

본 연구는 식물을 사용하여 환경오염물질 중 토양에 잔존하며 난분해성 중금속성 물질인  $Cd^{2+}$ 와  $Pb^{2+}$  효과적인 제거에 관한 것으로서 고마리 서식처 토양 내 중금속성 물질의 함량과 이러한 서식처에서 생장한 고마리에 흡수·농축된 중금속 함량, 및 고마리에 중금속 물질을 처리한 후 중금속 물질의 농축량 변화 그리고 식물체 내에서 중금속을 안정화시킬 수 있는 phytochelatin의 상대생성량에 대해 연구한 것이다.

## 2. 재료 및 방법

전라북도 전주근교에 위치한 봉동천의 상류의 양화(Yang-wha)교와 하류의 삼천(Sam-chun)물보에서 자생하는 고마리(*P. thunbergii*)와 서식지 토양 내의  $Cd^{2+}$ 와  $Pb^{2+}$ 의 함량을 각각 조사하였다. 또한, 실험실 조건에서 Hoagland용액에  $Cd(NO_3)_2$ 와  $Pb(NO_3)_2$ 을 각각 5와 10mM 농도로 혼합하여 식물체에 처리한 후 고마리 잎에 함유된 중금속 농축량과 고마리가 성장한 토양 내의 중금속 잔류량 및 pH 변화량을 조사하였다. 그리고 식물체 내에서 중금속 물질과 결합하는 phytochelatin의 상대생성량도 분석하였다.

### 2.1 중금속 추출 및 분석

서식지 토양과 식물재료 내의 중금속 함량을 분석하기 위해 토양시료는 지표면에서 약3~5cm 가량을 제거한 후 채토하였고, 식물 재료는 토양을 채토한 지역에 서식하는 고마리로부터 잎, 줄기 및 뿌리를 각각 수집하였다. 토양은 건조기에서 완전히 건조시킨 후 600 $\mu$ m 체로 세분하였고, 고마리는 잎, 줄기 및 뿌리 각각을 200 $^{\circ}$ C 이상에서 탄화시킨 후 마쇄하여 분석시료로 사용하였다. 토양 및 식물재료에서 중금속을 추출하기 위해 산분해<sup>9)</sup> 한 후 여과하여 검출용액으로 사용하였다. 또한 실험실에서 배양한 고마리와 배양 후 토양 내 중금속 잔류량을 분석하기 위해 같은 방법으로 산분해하여 검출용액으로 사용하였고 gel filtration 후 각 분획의 중금속 추출은 Franson(1989)의 방법으로 산분해 하였다.

중금속 측정은 Trace element analyser(TEA 3000, Camtronics Ltd., Australia)를 사용하였다.

### 2.2 수소이온농도(pH)

식물재료를 배양한 후 토양내의 수소이온농도(pH)를 측정하기 위해 각 실험구에서 일정량의 토양을 분취하여 건조시킨 후, 증류수를 첨가하여 교반한 후 측정하였다<sup>1)</sup>.

수소이온농도 측정은 Benchtop pH/ISE meter(ATI ORION, U.S.A.)를 사용하였다.

### 2.3 중금속 결합 단백질(phytochelatin)

식물재료로부터 중금속 결합 단백질의 추출은 추출용액[20mM Tris-HCl(pH8.0), 10mM  $\beta$ -mercaptoethanol]으로 homogenization한 후 100,000 $\times$ g로 15분간 원심분리한 후 상층액을 분리하여 Bradford방법<sup>10)</sup>에 의해 단백질을 정량하였다. 각각의 중금속 처리구와 무처리구의 식물재료로부터 분리한 상층액 내의 단백질 농도를 일정하게 하여, gel filtration 방법[Sephadex G-100, 2.5 $\times$ 50cm, 10mM Tris-HCl(pH8.0), 84ml/h, 4 $^{\circ}$ C]으로 분획을 수집한 후 254와 280nm에서 흡광도를 측정함으로써 phytochelatin의 상대생성량을 측정하였고, 각 분획의 중금속 분석도 병행하였다. 흡광도 측정은 Spectronic GENESYS 5(Milton Roy, U.S.A.)를 사용하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 서식지 토양과 식물체 내의 중금속 함량

전라북도 봉동천의 상류인 양화(Yang-wha)교와 하류인 삼천(Sam-chun)물보에서 채토한 토양과 그 지역에서 자생한 고마리 체내의  $Cd^{2+}$ 와  $Pb^{2+}$ 를 분석한 결과  $Cd^{2+}$ 는 서식지 토양과 식물체 내에서 검출되지 않았고  $Pb^{2+}$ 의 함량은 Table 1과 같다.

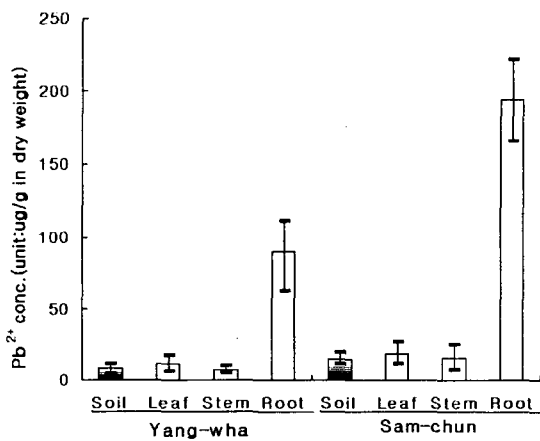
두 서식지에서 모두  $Pb^{2+}$ 는 고마리의 뿌리에서 가장 많은 양이 검출되었으며, 두 서식지 토양의 중금속 함량보다 식물체 내에 농축되어진 중금속

함량이  $Pb^{2+}$ 는 잎에서 약1.4~1.5배, 줄기에서 약 0.9~1.2배 그리고 뿌리에서 약11.4~15.3배로 나타났다(Fig. 1).

또한, 삼천물보의 고마리 자생지 토양 내의 중금속 함량과 고마리에 흡수된  $Pb^{2+}$  농축량과는 0.814( $t=12, 0.01$ )와 같이 정 상관관계가 있었다.

**Table 1. The conc. of  $Pb^{2+}$  in soil and plant parts(mean  $\pm$  STD, unit :  $\mu g/g$  in dry weight)**

Analysed heavy metal		Sampling site and materials		$Pb^{2+}$
Yang-wha	Soil			$7.8 \pm 3.70$
	P. thunbergii	Leaf		$11.7 \pm 5.85$
		Stem		$7.5 \pm 2.71$
		Root		$89.1 \pm 28.31$
Sam-chun	Soil			$12.6 \pm 6.49$
	P. thunbergii	Leaf		$18.4 \pm 7.70$
		Stem		$15.5 \pm 8.55$
		Root		$193.6 \pm 28.14$



**Fig. 1. The patterns of the mean values of  $Pb^{2+}$  conc. in the habitat soil and the plant parts of *P. thunbergii*.**

이는 식물이 서식하는 서식처 환경의 중금속 함량이 식물이 흡수·축적하는 중금속의 농도에 영향을 준다는 연구<sup>2, 5, 10, 36</sup>)와 유사한 결과를 나타내었다.

3.2  $Cd^{2+}$ 와  $Pb^{2+}$  처리 후 식물의 흡수 경향

고마리의 자생지에서 조사된 것과 같이 식물은 서식지의  $Pb^{2+}$  함량 변화에 따라 농축량이 달라짐을 알 수 있었다. 따라서, 고마리에  $Cd^{2+}$ 와  $Pb^{2+}$ 를 5와 10mM로 5일간 처리한 후 잎을 수집하여  $Cd^{2+}$ 와  $Pb^{2+}$ 를 분석한 결과 Table 2와 같았다.

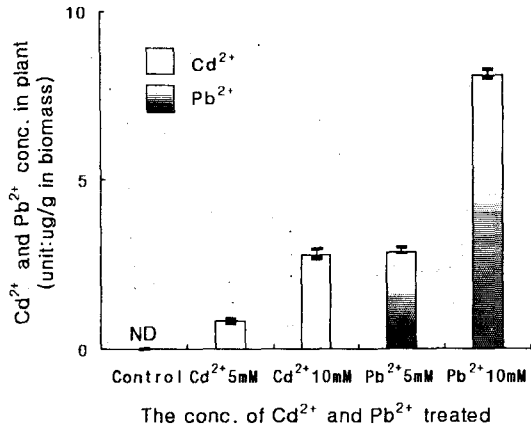
**Table 2. The conc. of  $Cd^{2+}$  and  $Pb^{2+}$  in the leaf of *P. thunbergii* being cultured with  $Cd^{2+}$  and  $Pb^{2+}$  for 5days(mean  $\pm$  STD, unit :  $\mu g/g$  in biomass)**

Conc. of heavy metal treated	Analysed heavy metal	
	$Cd^{2+}$	$Pb^{2+}$
Control	ND*	ND
$Cd^{2+}$ 5mM	$0.82 \pm 0.065$	ND
10mM	$2.79 \pm 0.139$	ND
$Pb^{2+}$ 5mM	ND	$2.87 \pm 0.093$
10mM	ND	$8.08 \pm 0.151$

\* : ND means "not detected heavy metal".

중금속을 5mM의 농도로 처리한 경우  $Cd^{2+}$ 에 비해  $Pb^{2+}$ 가 약3.5배 그리고 10mM의 경우 약2.9배로  $Pb^{2+}$ 의 농축량이 높게 나타났다. 또한, 고농도로 처리한 경우 저농도 보다  $Cd^{2+}$ 에서는 약3.4배,  $Pb^{2+}$ 는 약2.8배로 처리 농도가 높을수록 식물체에서 농축량이 증가하는 것을 알 수 있었다(Fig. 2).

이는 식물체를 직접 중금속에 노출시킬 경우 저농도에서보다 고농도에서 더 많이 농축된다는 여러 연구결과<sup>17, 23, 24, 25</sup>)와 일치하였다. 또한, 당근 세포



**Fig. 2.** The patterns of the mean values of Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> conc. in the leaf of *P. thunbergii* being cultured with Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> for 5 days. ND means “not detected heavy metal”.

배양체에 농도별로 Cd를 처리한 경우 시간과 농도의 변화에 따라 세포내의 중금속 함량도 높게 검출된다는 결과<sup>6)</sup>와도 일치하여 식물체 내에서 중금속 농축은 고농도의 환경에서 더 많은 중금속이 흡수·축적될 수 있음을 알 수 있었다. 식물의 단위 무게당 Pb<sup>2+</sup>의 농축량이 Cd<sup>2+</sup>에 비해, 고농도 및 저농도에서 모두 약3.5배 가량 높게 검출되었는데, 이는 식물체에 Pb<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> 및 Zn<sup>2+</sup>을 같은 농도로 처리하였을 때 중금속의 흡수량이 Cu<sup>2+</sup> < Pb<sup>2+</sup> < Zn<sup>2+</sup>의 순서로 증가하여 같은 2가 양이온의 중금속이지만 서로 다른 흡수량을 나타낸다는 연구결과<sup>17)</sup>와 같은 양상이다. 이러한 결과는 식물체 내로 흡수된 다른 중금속 이온이 같은 이온가를 가지더라도 식물체 내에서 이들의 독성을 감소시키기 위한 여러 작용 즉, phytochelatin에 의한 중금속 이온과 결합<sup>3, 28, 32)</sup>과 중금속 이온이 식물세포 내에서 용해 또는 불용해성 복합체를 형성하여 세포막 결합성 구획(membrane bound compartment)의 형성과

정에서의 차이<sup>20)</sup>등에 의한 것으로 생각된다.

### 3.3 고마리 배양 후 토양내의 잔류량

5일간 중금속 처리와 동시에 고마리를 배양한 실험구와 중금속만을 처리한 대조구 토양 내의 중금속 잔류량을 분석한 결과는 Table 3과 같다.

중금속을 처리하며 고마리를 배양한 실험구와 무배양 대조구 내의 중금속 잔류량을 비교하면, 대조구에 비해 고마리를 배양한 실험구 중 Cd<sup>2+</sup> 5mM의 경우 약22.9%, 10mM의 경우 약9.8%, Pb<sup>2+</sup> 5mM의 경우 약18.9%, 10mM의 경우 약14.3% 가량 처리된 중금속량이 감소되었음을 알 수 있었다(Fig. 3).

이것은 식물체에 중금속이 고농도보다 저농도의 환경에서 더 많은 비율로 흡수·농축되어질 수 있다는 사실로 식물체의 생장에 저해 받지 않은 상태에서 식물을 이용하여 토양으로부터 중금속 물질을 제거시킬 수 있다는 가능성을 제시할 수 있다.

**Table 3.** The remaining conc. of Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> in cultured pot and control after treatment of Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> for 5days(mean ± STD, unit : µg/g in dry weight)

Analysed heavy metal		The treatment of pot	
		Cd <sup>2+</sup>	Pb <sup>2+</sup>
Control	Cd <sup>2+</sup> 5mM	3.36 ± 0.085	ND*
	10mM	5.24 ± 0.124	ND
	Pb <sup>2+</sup> 5mM	ND	6.17 ± 0.178
	10mM	ND	11.21 ± 0.235
<i>P. thunbergii</i> cultured pot	Cd <sup>2+</sup> 5mM	2.59 ± 0.227	ND
	10mM	4.73 ± 0.316	ND
	Pb <sup>2+</sup> 5mM	ND	5.01 ± 0.349
	10mM	ND	9.61 ± 0.544

\* : ND means “not detected heavy metal”.

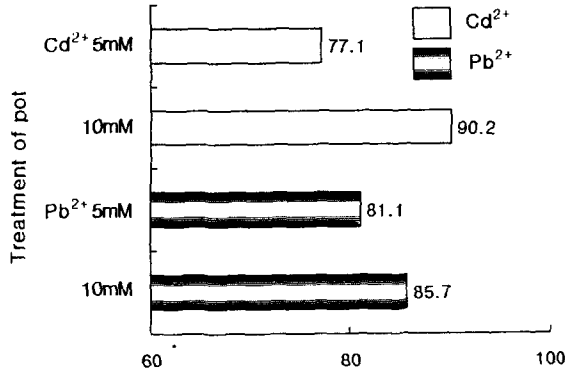


Fig. 3. The remaining mass (%) of Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> in soil after being cultured with *P. thunbergii* as compared with that of control(100%).

3.4 고마리 배양 후 토양내의 수소이온농도(pH)

배양액(pH 6.5)에 Cd<sup>2+</sup>와 Pb<sup>2+</sup>를 5와 10mM로 조제하여 고마리 배양한 실험구와 무배양 대조구에 5일간 처리한 후 각 실험구에서 토양을 수집하여 pH의 변화량을 측정한 결과 Fig. 4와 같다.

본 실험에서 5일간 Cd<sup>2+</sup>와 Pb<sup>2+</sup>을 처리하며 고마리를 배양한 결과, 토양내의 pH는 고마리를 배양하지 않은 대조구보다 산성화되었음을 알 수 있었다. 이는 식물체가 많은 양의 중금속 이온에 노출될 경우 식물체의 뿌리로부터 분비된 다양한 유기산이 토양 내의 중금속 이온과 결합하여 중금속 이온이 자유 이온(free ion) 상태에서 나타낼 수 있는 활성계수(activity coefficient)를 감소시키므로 결국 이온의 독성작용을 감소시킴과 동시에 pH를 낮춘다는 연구결과<sup>33)</sup> 및 식물이 뿌리로부터 중금속과 같은 무기이온을 흡수하기 위해 유기산을 분비한다는 연구결과<sup>35)</sup> 등과 일치한 것으로 토양의 pH가 낮아진 것은 이러한 유기산에 의한 영향이라 생각된다.

결과에서 나타난 것처럼 식물체를 처리하지 않

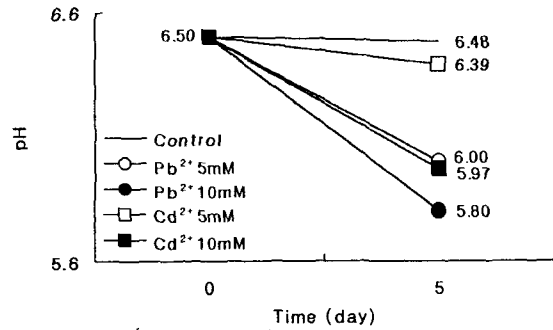


Fig. 4. The variation of pH in the soil after being cultured with *P. thunbergii* as compared with the that of control.

은 대조구 토양의 pH는 처음 배양액의 pH(6.5)와 거의 유사한 값으로 측정되었으나, 중금속과 동시에 식물 재료의 배양구에서는 pH가 현격히 낮아졌음을 알 수 있었다. 더욱이, Cd<sup>2+</sup> 처리구보다는 Pb<sup>2+</sup> 처리구에서, 그리고 저농도에서 보다는 고농도의 처리구에서 pH의 변화량이 크게 나타났다. 또한 식물 재료에서 중금속의 농축량이 Pb<sup>2+</sup>의 경우 Cd<sup>2+</sup>보다 약3.5배 가량 높게 농축되어진 것과 비교해 볼 때 Pb<sup>2+</sup> 처리구의 pH가 Cd<sup>2+</sup> 처리구보다 더 낮게 측정된 것은 식물체가 보다 많은 중금속을 농축하기 위해 나타난 상승효과(synergistic effect)로 생각된다.

3.5 고마리 내의 phytochelatin

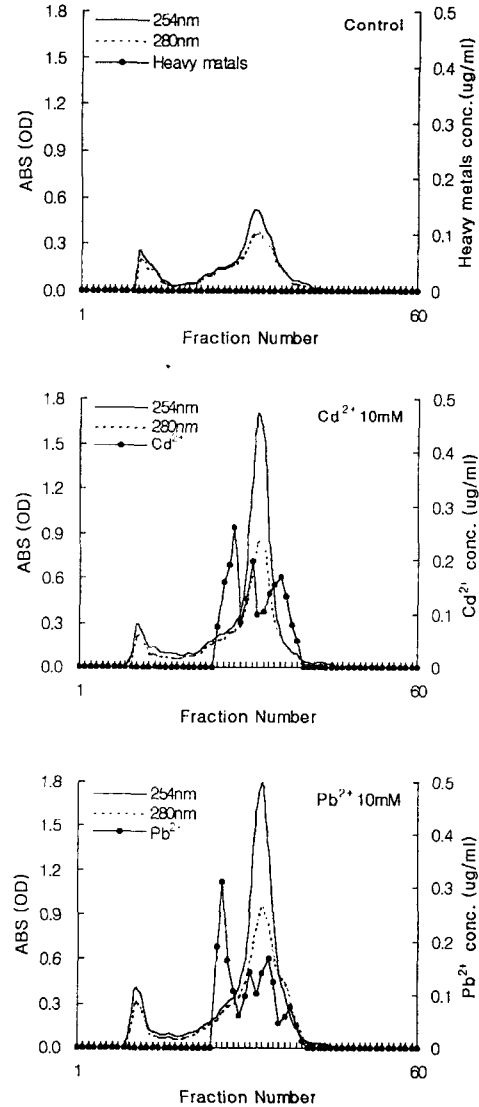
생물은 자연상태에서 중금속과 같은 환경오염물질에 노출되거나 흡수하였을 경우 발생하는 독성작용을 감소시키기 위해 중금속 흡착 단백질과 같은 생화합물을 체내에서 합성하여 중금속 물질의 이온 상태(radical state)를 중화시킴으로서 중금속 이온의 독성작용을 무력화한다. 이러한 생화합물은 동물과 미생물에서는 metallothionein(MT), 식물에서는 phytochelatin(Pc)이라 한다.

Phytochelatin은 다른 구조단백질 또는 peptide에 비해 cystein(-SH)이 다량 포함되어있고, 이것에 의해 disulfide bond를 형성하여 중금속 이온과 결합하는 구조적인 특성을 가지고 있으며, 280보다 254nm에서 더 큰 흡광도를 나타낸다<sup>6</sup> (11, 12, 26, 28, 32, 34). 따라서 고마리에서 Cd<sup>2+</sup>와 Pb<sup>2+</sup>에 의해 유도된 phytochelatin의 상대적인 생성양상을 분석하기 위해 중금속 무처리구와 Cd<sup>2+</sup>와 Pb<sup>2+</sup> 10mM 처리구에서 성장한 고마리 앞에서 단백질을 추출하여 gel filtration 방법을 이용하여 분리한 후 각 분획의 흡광도와 Cd<sup>2+</sup> 및 Pb<sup>2+</sup>의 농도를 측정된 결과는 Fig. 5와 같다.

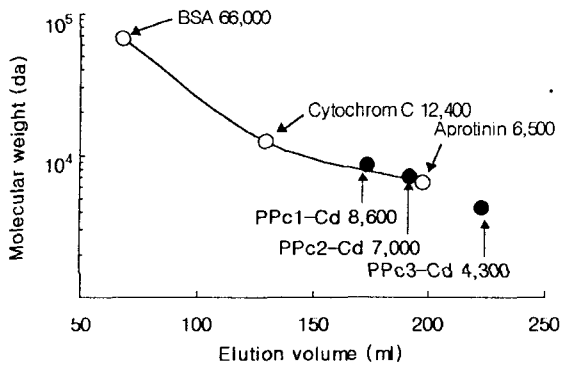
각 분획의 중금속을 분석한 결과 Pb<sup>2+</sup>의 경우 25번부터 40번까지, Cd<sup>2+</sup>의 경우 25번부터 39번까지의 분획에서 중금속이 검출되었다. 또한, 중금속 무처리구에 비해 중금속이 측정된 분획의 흡광도는 280보다 254nm에서 더 큰 흡광도를 나타내었고, 중금속이 검출된 분획의 면적을 254nm에 기준하면 Cd<sup>2+</sup>의 경우 무처리구에 비해 약259%, Pb<sup>2+</sup>의 경우 약305% 가량 증가하였다. 이것은 *Agrostis gigantea*<sup>26, 27)</sup>, *Spinach oleracea*<sup>34)</sup> 그리고 토마토<sup>3)</sup> 등의 식물이 중금속성 물질에 노출되었을 때 나타난 phytochelatin의 상대적인 증가양상과 유사하였다.

각각의 분획에서 중금속이 검출된 분획은 Cd<sup>2+</sup>의 경우 3곳, Pb<sup>2+</sup>의 경우 4곳에서 발견할 수 있는데, 이것은 단일 식물종에서 단일 중금속과 결합하기 위한 phytochelatin의 종류가( $\gamma$ -Glu-Cys)n-Gly, ( $\gamma$ -Glu-Cys)n 그리고( $\gamma$ -Glu-Cys)n-Glu 등과 같이 여러 가지로 합성되어진다는 연구결과<sup>13, 21)</sup>와 유사한 것으로 본 실험에 사용된 고마리에서도 Cd<sup>2+</sup>에 의해서는 약3종류, Pb<sup>2+</sup>에 의해서는 약4종류의 phytochelatin이 처리한 중금속에 의해 유도된 것으로 생각된다.

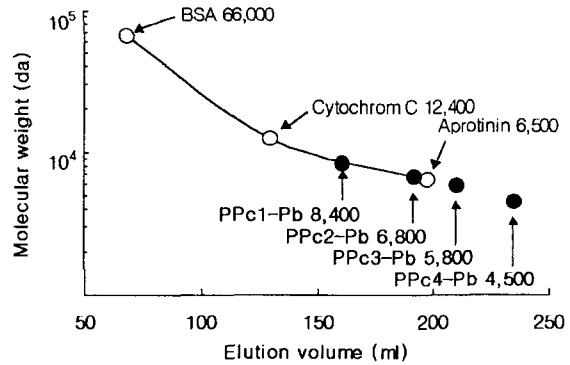
고마리에서 생성된 phytochelatin의 분자량 측정은 BSA(66,000da), cytochrome C(12,400da)



**Fig. 5.** Sephadex G-100 column chromatography[ 2,5 × 50cm, 10mM Tris-HCl(pH8.0), 84 ml/h, 4 °C ] of the tissue extract from leaf of *P. thunbergii* being cultured with Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup> for 5days. The fractions of 6.2ml were collected and analysed for Cd<sup>2+</sup> and Pb<sup>2+</sup>, and absorbance at 254 and 280nm.



**Fig. 6.** Molecular weight(da) estimation of phyto -chelatin in *P. thunbergii* being cultured with  $Cd^{2+}$ . Analytical gel filtration on Sephadex G-100 superfine[ 2,5 × 50cm, 10mM Tris-HCl(pH8.0), 18ml/h and 4℃ ].



**Fig. 7.** Molecular weight(da) estimation of phyto -chelatin in *P. thunbergii* being cultured with  $Pb^{2+}$ . Analytical gel filtration on Sephadex G-100 superfine[ 2,5 × 50cm, 10mM Tris-HCl(pH8.0), 18ml/h and 4℃ ].

그리고 Aprotinin(6,500da)을 기준으로 측정한 결과 Fig. 6 및 Fig. 7과 같다. 이러한 결과로  $Cd^{2+}$ 에 의해 유도된 phytochelatin은 약 4,300~8,600da,  $Pb^{2+}$ 에 의해 유도된 것은 약 3,200~9,700da정도였음을 확인할 수 있었고, 이것은 지금까지 보고된 여러 식물체에서 유도된 phytochelatin의 분자량인 약1,500~16,000da 내에 포함되는 것으로 이러한 phytochelatin은 중금속 종류, 중금속의 이온가 및 식물의 종(species) 등에 따라 여러 종류로 생성되어 식물체 내에 흡수된 이온 상태(radical state)의 중금속에 의한 독성을 상쇄하는 기능을 하는 세포내 생합성 물질로서 본 실험에서도 처리 중금속의 종류에 따라 여러 종류의 phytochelatin이 유도된 것으로 생각된다.

본 연구결과에서 볼 때 자연상태에서 식물의 중금속 농축량이 그 서식지의 중금속 함량과 밀접한 관계를 가짐을 알 수 있고 또한, 이러한 식물체로

에 임의적으로 중금속 물질을 처리하였을 때 식물의 성장에는 영향을 주지 않으면서 상당량의 중금속을 농축하였음을 알 수 있었다. 또한, 중금속을 농축하면서 발생하는 토양의 산성화에 의한 다른 생물의 생태 환경에의 영향은 미미한 정도의 변화로 크게 영향하지는 않는다는 것을 확인하였다. 그리고 중금속 처리에 따라 식물체 내에서는 중금속을 안정화시키는 phytochelatin이 급격히 유도된다는 사실을 확인하였다. 따라서 중금속과 같은 난분해성 물질을 보다 효과적으로 제거하기 위해서는 중금속 종에 대한 식물의 반응 및 이를 농축정도와 중금속이 농축된 식물의 효과적인 제거 방법 등에 대한 깊이 있는 연구가 절실히 필요하다.

#### 4. 결 론

고마리의 서식지 토양과 그곳에 서식하는 고마리의 잎, 줄기 및 뿌리 내의  $Cd^{2+}$ 와  $Pb^{2+}$ 함량을 분



석한 결과 양화교와 삼천물보의 토양과 고마리에서  $Cd^{2+}$ 는 불검출되었고, 반면에 양화교의 토양에서  $Pb^{2+}$ 는 약  $7.8 \pm 0.37 \mu\text{g/g}$ , 고마리의 잎, 줄기 및 뿌리에서는 각각 약  $11.7 \pm 0.59 \mu\text{g/g}$ , 약  $7.5 \pm 0.57 \mu\text{g/g}$  그리고 약  $89.1 \pm 2.83 \mu\text{g/g}$ 로 검출되었고, 삼천물보의 토양에서  $Pb^{2+}$ 는 약  $12.6 \pm 0.657 \mu\text{g/g}$ 로 검출되었고 고마리의 잎, 줄기 및 뿌리에서는 각각 약  $18.4 \pm 0.77 \mu\text{g/g}$ , 약  $15.5 \pm 0.86 \mu\text{g/g}$  그리고 약  $193.6 \pm 2.81 \mu\text{g/g}$ 로 각각 검출되어 두 서식지 토양의  $Pb^{2+}$  함량에 비해 식물체 내에 농축된  $Pb^{2+}$  함량은 잎에서 약 1.4~1.5배, 줄기에서 약 0.9~1.2배 그리고 뿌리에서 약 11.4~15.3배로 나타났다. 토양과 식물체 내의  $Pb^{2+}$  농축량과는 0.814( $\times 12.0.01$ )와 같이 정 상관관계가 있었다.

고마리에  $Cd^{2+}$ 와  $Pb^{2+}$ 를 각각 0, 5와 10mM의 농도로 처리하였을 때, 잎에서의 농축량은 5mM 처리구에서  $Cd^{2+}$ 는 약  $0.82 \pm 0.065 \mu\text{g/g}$ ,  $Pb^{2+}$ 는 약  $2.87 \pm 0.093 \mu\text{g/g}$ 이었고, 10mM 처리구에서  $Cd^{2+}$ 는 약  $2.79 \pm 0.139 \mu\text{g/g}$ ,  $Pb^{2+}$ 는 약  $8.08 \pm 0.151 \mu\text{g/g}$ 으로  $Cd^{2+}$  보다는  $Pb^{2+}$ 의 농축량이 약 3.5배 높았고, 저농도에서보다 고농도에서 농축량이  $Cd^{2+}$ 는 약 3.4배,  $Pb^{2+}$ 는 약 2.8배로 높았다.

고마리를 배양한 후 실험구 토양에 잔류한 중금속 함량은 대조구에 비해  $Cd^{2+}$  5mM 처리구에서는 약 77.1%, 10mM 처리구에서는 약 90.2%,  $Pb^{2+}$  5mM 처리구에서는 약 81.1%, 10mM 처리구에서는 약 85.7%로 검출되었고, 토양의 pH를 측정할 결과  $Cd^{2+}$  5mM 처리구에서는 pH 6.39, 10mM 처리구에서는 pH 5.97, 그리고  $Pb^{2+}$  5mM 처리구에서는 pH 6.00, 10mM 처리구에서는 pH 5.80로 측정되었다.

중금속을 흡수·농축한 고마리 내에서 유도된 phytochelatin을 분석한 결과  $Cd^{2+}$ 의 경우 약 3종류,  $Pb^{2+}$ 의 경우 약 4종류의 phytochelatin을 검출할 수 있었고, 분자량은  $Cd^{2+}$ 의 경우 약 4,300~8,600da,  $Pb^{2+}$ 의 경우 약 3,200~9,700da

정도였다.

## 사 사

이 논문은 2000학년도 전주대학교 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

## 참 고 문 헌

1. 환경처, 수질오염·폐기물 공정시험방법, 도서출판 동화기술, 서울, pp.317~319(1993).
2. Aulio, K. "Accumulation of copper in fluvial sediments and yellow water lilies(*Nuphar lutea*) of varying distance from a metal processing plant", *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **25**, pp.713~717(1980).
3. Bartolf, M., Brennan, E., and Price, C. A. "Partial characterization of a cadmium-binding protein from the roots of cadmium-treated tomato", *Plant Physiol.*, **66**, pp.438~441(1980).
4. Bradshaw, A. D. "Adaptation of plants to soils containing toxic metals - a test for conceit", *In Evered, D., and Collins, G. M. "Orgins and development of adaptation"*, PITMAN, LONDON, pp.4~19(1984).
5. Campbell, P. G. C., Tessier A., Bisson M., and Nougie, R. "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**, pp.23~32(1985).
6. Casterline, J. L., and Barnett N. M. "Cadmium-binding components in soybean plants", *Plant Physiol.*, **69**, pp.1004~1007(1982).
7. De Knecht, J. A., Dillen, M. V., Koevoets, P. L. M., Schat, H., Verkleij J. A. C., and Ernst, W. H.

- O. "Phytochelatin in cadmium-sensitive and cadmium-tolerant *Silene vulgaris*", *Plant Physiol.*, **104**, pp225~261(1994).
8. Di Toppi, L. S., Lambardi, M., Pazzagli, L., Cappugi, G., Durrante, M., and Gabbriellini, R. "Response to cadmium in cattrot in vitro plants and cell suspension cultures", *Plant Science.*, **137**, pp119~129(1998).
9. Franson. N. A. H. Standard method, 17th Edition, American Public Health Association(1989).
10. Franzin, W. G., and MeFarlane, G. A. "An analysis of the aquatic macrophyte, *Myriophyllum exalbescens*, as an indicator of metal contamination of aquatic ecosystems near a base metal smelter", *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **24**, pp597~605(1980).
11. Grill, E., Winnacker, E. L., and Zenk, M. H. "Phytochelatin the heavy metal sequestering peptides of plant". *In abstracts of the second international meeting on metallothionein and pther low molecular weight metal binding protein. Zurich.* (1985a).
12. Grill, E., Winnacker, E. L., and Zenk, M. H. "Phytochelatin", *Method in enzymology.*, **205**, pp333~341(1991).
13. Gupta, and Goldsbrough, P. B. "Phytochelatin accumulation and cadmium toleranced in selected cell lines", *Plant Physiol.*, **97**, pp306~312(1991).
14. Hardiman, R. T., Jacoby, B., and Banin, A. "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**, pp17~27(1984).
15. Jain, S. K., Gujral, G. S., Vasudevan, P., and Jha, N. K. "Uptake of heavy metals by *Azolla pinnata* ans their translocation into fruit bodies of *Pleurotus sajor-caju*", *JOURNAL of FERMENTATION and BIOENGINEERING.*, **68**(1), pp64~67(1989).
16. Jianmin, Z., and Goldsbrough, P. B. "Functional Homologs of Fungal Metallothionein Genes from Arabidopsis" , *The Plant Cell.*, **6**, pp875~884(1994).
17. Kang, K. H., and Kim, I. S. "Study on the elimination of heavy metal pollutants in the soil by vascular plant in the river area", *Journal of KoESE.*, **1**(2), pp23~34(1996).
18. Kaufman, P. B., Wu, W., Kim, D., and Cseke, L. J. Hand book of Molecular and Cellular Methods in Biology and Medicine. CRCPress, LONDON. (1995).
19. Maitani, T., Kubota, H., Sato, K., and Yamada, T. "The composition of metals bound class III metallo -thionein(phytochelatin and its desglycyl peptide) induced by various metals in root cultures of *Rubia tinctorum*", *Plant Physiol.*, **110**, pp1145~1150(1996).
20. Mehra, R. K., and Mulchandani, P. "Glutathione-mediated transfer of Cu(I) in to phytochelatin", *Biochem. J.*, **307**, pp697~705(1995).
21. Meuwly, P., Thibault, P., Schwan, A. L., and Rauser, W. E. "Three families of thiol peptides are induced by cadmium in maize", *The Plant Journal.*, **7**(3), pp391~400(1995).
22. Mullins, M., Hardwick, K. and Thurman, D. A. "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**, pp43~46(1985).
23. Muramoto, S., and Oki, Y. "Removal of some heavy metals from pollutoin water by water

- Hyacinth(*Eichhornia crassipes*)", *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, **30**, pp170~177(1983).
24. Park, K. N., Kang, K. H., and Kim, I. S. "I. The biological magnification of Pb, Cu, Zn and Fe in water chwstnut, *Trapa japonica* and relationship to metal contents in the adjacent river soil or water column", *J. NSBI, JEONJU UNIV.*, **8**(1), pp25~31(1995a).
25. Park, K. N., Kang, K. H., and Kim, I. S. "II. The biological magnification of lead, copper, zinc and iron in vascular plants ; *Persicaria thunbergii* and *Nymphoides peltata*", *Korean J. Environ. Biol.*, **13**(2), pp172~188(1995b).
26. Rauser, W. E. "Copper-binding protein and copper tolerance in *Agrostis gigantea*", *Plant Science Letters.*, **33**, pp239~247(1984a).
27. Rauser, W. E. "Isolation and partial purification of cadmium-binding protein from roots of the grass *Agrostis gigantea*", *Plant Physiol.*, **74**, pp1025~1029(1984b).
28. Robinson, N. J., and Jackson, P. J. "Metallothio-like" metal complex in angiosperms ; Their structure and function", *Physical. Plant.*, **67**, pp499~506(1986).
29. Sanders, J. R., McGrath, S. P., and Adams, T. M. "Zinc, copper and nickel concentrations in Rye grass grown on sewage sludge-contaminated soils of different pH", *J. Sci. Food. Agric.*, **37**, pp961~968(1986).
30. Scott, C. D. "Removal of dissolved metals by plant tissue", *Biotechnology and Bioengineering.*, **39**, pp1064~1068(1992).
31. Sen, A. K., and Mondal, N. G. "Removal and uptake of copper(II) by *Salvinia natans* from waste water", *Water, Air and Soil pollution.*, **46**, pp1~6(1990).
32. Steffens, J. C. "The heavy metal-binding peptides of plants", *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **41**, pp553~575(1990).
33. Thurman, D. A. "Mechanism of metal tolerance in higher plants", *In Lepp, N. W., Edition, "Effect of heavy metal pollution on plants", Vol. 2, "Metals in the environment", Applied Science Publishers, LONDON and NEW JERSEY(1981).*
34. Tukendorf, A., Lyszcz, S., and Baszy ski, T. "Copper binding proteins in spinach tolerant to excess copper", *J. Plant Physiol.*, **115**, pp351~360(1984).
35. Waisel, Y., and Agami, M. "Ecophysiology of roots of submerged Aquatic plants". *In Waisel, Y., Eshel, A., and Kafkafi, U. "Plant roots", Marced Dekker. Inc.(1991).*
36. Welsh, P., and Denny, P. "The uptake of lead and copper by submerged aquatic macrophytes in two english lakes", *J. Ecology.*, **68**, pp443~455(1980).
37. Whitelaw, C. A., Le Huquet, J. A., Thurman, D. A., and Tomsett, A. B. "The isolation and character -isation of type II metallothionein-like genes from tomato(*Lycopersicon esculentum* L.)" . *Plant Molecular Biology.*, **33**, pp503~511(1997).