

Cd²⁺에 의한 닭의장풀의 생리적 독성에 salicylic acid가 미치는 영향

이 준 상

상지대학교 생명과학과

The Effect of Salicylic Acid on Cd²⁺-induced Physiological Toxicity in *Commelina communis* L.

Joon Sang Lee

Department of Life Science, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

Abstract - The effect of salicylic acid (SA) on Cd²⁺-induced physiological toxicity in *Commelina communis* was investigated. 3-weeks old *Commelina communis* was transferred to and grown in Hoagland solution in the presence or absence of 100 μM Cd²⁺ and SA for 3 weeks. In the treatment of Cd²⁺ + SA, the length of stem was increased to 0.7 cm for 3 weeks (Cd²⁺, 2.1cm; control, 7.2 cm). Cd²⁺ + SA reduced total chlorophyll content up to 86%, and changed chlorophyll a/b ratio below 1.6. Cd²⁺ + SA also reduced about 40~78% of water potential, but Cd²⁺ increased 16~39% from 1 week to 3 weeks. Cd²⁺ + SA also inhibited 27% of Fv/Fm, but in case of Cd²⁺, Fv/Fm was not changed. The treatment of Cd²⁺ + SA showed about 37~58% inhibition of photosynthetic activity when measured at various light intensity (500~1000 μmol m⁻² s⁻¹). In the case of Cd²⁺ treatment, photosynthetic activity was inhibited to 12~15%. Similar effect was found in terms of stomatal conductance. Therefore, it could be concluded that the treatment of Cd²⁺ + SA into plant decrease or block various physiological activities and lead to die by double effects of both chemicals.

Key words : cadmium, photosynthesis, salicylic acid, stomatal conductance

서 론

깨끗하고 무기물이 풍부한 토양은 지구 생태계 유지에 매우 중요하다. 지구 생태계의 1차 생산자인 녹색식물은 토양 속에 존재하는 이들 무기물과 수분을 흡수함으로써 성장과 발달을 이룬다. 따라서, 토양 오염은 결국 생태계 피해를 초래하여 종 다양성에 치명적인 영향을

미친다(Lee 2000). Cd²⁺은 인간을 비롯한 동물에게 가장 해로운 중금속으로 알려졌고(Chaudri *et al.* 1995) 식물은 Cd²⁺의 농도가 높을수록 식물체의 지상부, 지하부 및 전체 식물의 생산량 감소와 낙화가 촉진되었다(Page *et al.* 1972; Kim 1982; Kim and Park 1992). Kim (1992)은 사르비아, 맨드라미, 채송화, 들나물(*Sedum sarmentosum* Bunge)에서 1 μg Cd²⁺ l⁻¹에 의해서 전체적으로 약 67% 이상의 생장억제가 일어났음을 관찰하였다. Cd²⁺을 비롯한 다른 중금속 및 오존, 이산화황을 비롯한 환경오염원은 식물의 광합성 기작 및 생장을 억제

* Corresponding author: Joon-Sang Lee,
Fax. 033-730-0430, E-mail: jslee@mail.sangji.ac.kr

하고 노화를 촉진하는 것이 공통적인 특성이다(Willmer 1983).

Lee (2000)는 3주간 자란 닭의장풀에 $\pm 5 \text{ mM Cd}^{2+}$ 을 처리한 Hoagland 용액에서 4일간 배양하였다. 카드뮴 처리는 70%의 엽록소 함량의 감소를 가져왔으며, 엽록소 *a/b* 비도 2로 감소하였다. Cd^{2+} 은 또한 20%의 수분 퍼텐셜을 감소시켰다. 처리는 여러 광도에서 광합성 활성을 약 60% 감소시켰으며, 기공전도도도 비슷한 반응을 보였다. 그는 식물의 Cd^{2+} 에 대한 반응은 Cd^{2+} 이 닭의장풀의 전반적인 생리적 활성을 감소시키거나 차단하여, 결과적으로 노화를 촉진하고, 식물의 고사를 유도하는 것으로 보았다.

살리실릭산(SA)은 개화, 종자 발아, 기공 개폐 등 다양한 식물 반응에 영향을 주는 것으로 알려진 자연적으로 합성되는 페놀성 화합물이다(Malamy and Klessig 1992). SA에 의한 신호전달 기작이 Jones (1994)에 의해 발표되었다. SA는 카탈라아제 활성을 억제한다. 즉, 카탈라아제가 H_2O_2 를 H_2O 와 O_2 로 분해하는 기능을 차단하여 세포 내 반응성이 높은 H_2O_2 의 농도를 증가시킨다. 증가된 H_2O_2 는 효소 합성의 유전 정보를 가지고 있는 유전자의 promoter를 활성화한다. SA는 병원균의 침입을 감지하여 이에 대한 신호를 전달하여 내성을 갖도록 유도하는 물질이다. 식물은 중금속에 대해 저항성을 가지는 것은 식물에서 합성되는 (γ -Glu-Cys)nGly, 여기에서 $n=2\sim 11$ 인 구조의 phytochyletins(PCs)이 저항성과 관련되어 있는 것으로 알려 졌다(Rausser 1990; Steffens 1990). 식물이 중금속에 노출되면 PCs의 농도가 증가하여 중금속 내성을 보인다(Maitai *et al.* 1996; Rausser 1990).

따라서, 본 연구는 Cd^{2+} 과 함께 SA를 처리하였을 때, Cd^{2+} 의 작용에 신호전달 물질인 살리실릭산이 Cd^{2+} 의 내성에 어떠한 영향을 미치는 지 식물의 생리적인 반응을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 식물재료

닭의장풀(*Commelina communis* L.) 종자를 질석(蛭石), 토탄 그리고 양토 혼합물에 심어, 14시간의 명기와 10시간의 암기, 20°C 의 온도와 $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (metal halide lamp)의 광도 하에서 재배하였다. 일주일에 한 번 주기로 복합비료(원더그로 2호)를 1 g L^{-1} 의 농도로 주었으며, 발아 후 3주 동안 자란 식물을 실험에 사용하였다.

2. 생장율, 엽록소 함량 그리고 엽록소 형광의 측정

3주간 정상적으로 성장한 닭의장풀을 Hoagland 용액 ($\pm 100 \mu\text{M}$ cadmium chloride 1-hydrate, $100 \mu\text{M Cd}^{2+} + 100 \mu\text{M SA}$)에서 3주간 수경재배하였으며, 1주 간격으로 생장율을 측정하였다. 엽록소 함량의 측정은 Holden (1965)의 방법을 기초로 엽록소 함량 변화와 엽록소 *a/b* 비율을 조사하였다. 엽록소 형광(Fv/Fm) 측정은 Fim 1500(ADC)을 이용하여 측정하였다.

3. 수분퍼텐셜, 광합성능 및 기공전도도의 측정

3주간 자란 닭의장풀을 Hoagland 용액 ($\pm 100 \mu\text{M Cd}^{2+}$, $100 \mu\text{M Cd}^{2+} + 100 \mu\text{M SA}$)에서 3주간 배양하였다. 수분퍼텐셜은 수분퍼텐셜 측정기(PMS Instrument Com.)를 통해 1주 간격으로 측정하였다. 여러 광도에서 광합성능과 기공전도도는 LI-6400 Portable Photosynthesis System(LI-COR, Lincoln Nebraska)을 이용하여 측정하였다.

결과 및 고찰

3주간 정상적으로 성장한 닭의장풀을 Hoagland 용액 ($\pm 100 \mu\text{M}$ cadmium chloride 1-hydrate, $100 \mu\text{M Cd}^{2+} + 100 \mu\text{M SA}$)에서 3주간 수경재배 하였으며, 1주 간격으로 줄기 생장율을 측정한 것을 나타낸 것이다. Hoagland 용액에 Cd^{2+} 처리시 3주 동안 2.1 cm 성장했으나, 대조

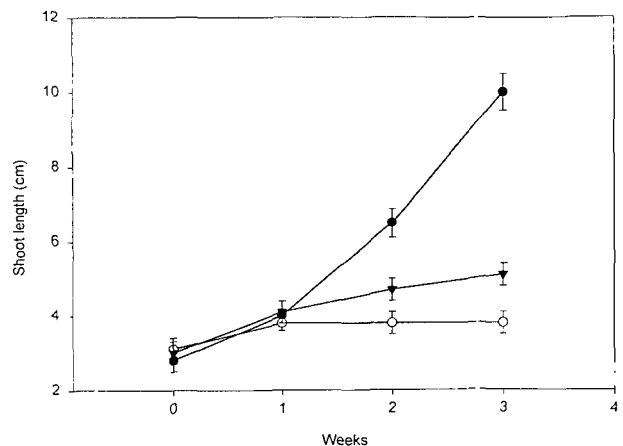


Fig. 1. The effect of $\text{Cd}^{2+} + \text{SA}$ on the length of stem of *Commelina communis* L. Each point is the mean (\pm s.e.m.) of 2 measurements. Closed circles, Control; closed triangle, Cd^{2+} ; open circles; $\text{Cd}^{2+} + \text{SA}$.

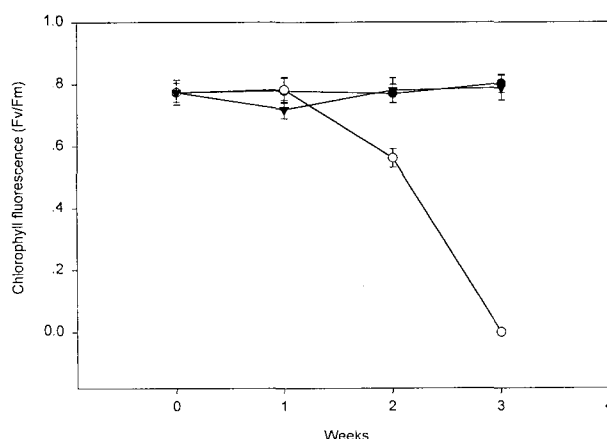
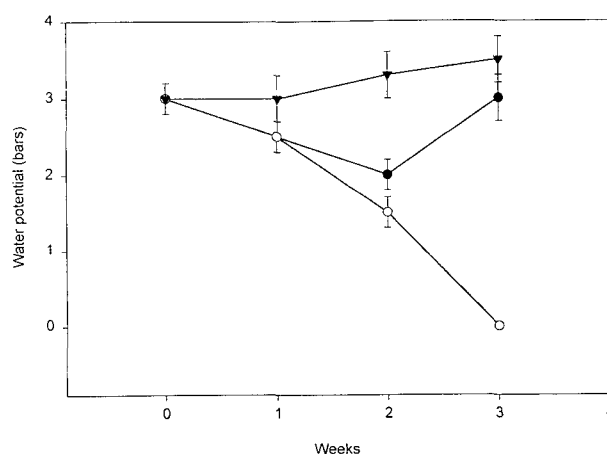
Table 1. The effects of Cd^{2+} + SA on chlorophyll content ($\mu\text{g/g}$ fr.wt) and chl *a/b* ratio in *Commelina communis* L. Parentheses indicates chl *a/b*.

| | 0 | 1 week | 2 weeks | 3 weeks |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Con | 440 (2.6) | 398 (2.7) | 400 (2.6) | 420 (2.7) |
| Cd^{2+} | 440 (2.6) | 380 (2.3) | 376 (2.5) | 395 (2.9) |
| Cd^{2+} + SA | 440 (2.6) | 220 (1.1) | 170 (1.6) | 60 (1.6) |

구는 7.2 cm 성장했다. 반면에 Cd^{2+} + SA 처리구는 1주 동안 0.7 cm 자랐으며, 2주 후에는 생장이 멈추거나 고사되었다 (Fig. 1). Lee (2000)는 3주간 성장한 닭의장풀을 Hoagland 용액 ($\pm 5 \text{ mM } Cd^{2+}$)에서 4일 동안 수경재배 한 후 식물의 대사활성이 억제되는 것을 관찰하였다. Hoagland 용액에 SA를 처리한 후 3주 동안 배양한 닭의장풀은 잎의 길이, 너비, 면적이 크게 감소하였다 (Lee 1999). 이러한 SA 효과는 SA가 카탈라아제 활성을 억제하여 세포질 내 H_2O_2 농도를 증가시켜 (Jones 1994; Lee 1999), 전반적인 대사 활성을 감소시키는 것으로 추측된다. 따라서, Cd^{2+} + SA 처리에 의한 줄기생장율의 억제와 고사는 Cd^{2+} 와 SA의 이중적인 생리 활성의 억제결과로 보인다.

Table 1은 엽록소 함량 및 엽록소 *a/b*에 대한 Cd^{2+} 와 SA 처리의 효과를 살펴본 것이다. 엽록소 함량의 변화는 Cd^{2+} 처리구와 Cd^{2+} + SA 처리구에서 모두 뚜렷하게 관찰되었다. Cd^{2+} 처리구는 대조구에 비해 3주 때 7% 억제되는 것으로 보아 그 효과가 미미하였다. Cd^{2+} + SA 처리구는 3주 때 86% 억제되었다. 정상적인 잎의 엽록소 *a/b* 비율은 일반적으로 2.5~3.5에 속한다 (Oh and Lee 1996). 본 실험에서 엽록소 *a/b* 범위는 1.1에서 2.9로 다양하게 나타났다. 대조구와 Cd^{2+} 처리구는 1주와 2주 때를 제외하고는 정상적인 엽록소 *a/b* 비율을 보여주었으나, Cd^{2+} + SA 처리구는 1.6 이하를 보여주었다. 따라서, SA는 엽록소 *a*에 더 민감하게 반응하는 것으로 추측된다. Cd^{2+} 도 엽록소 *a*에 민감한 것이 관찰되었다 (Lee 2000).

Fv/Fm 비율은 광화학 반응의 광자 비율에 비례하며 (Demmig and Bjorkman 1987), 또한 광계 II 반응 중심의 수와 비례하는 것으로 보고되었다 (Oquist *et al.* 1992). Fv/Fm 측정 결과 Cd^{2+} 처리는 Fv/Fm 값에 큰 영향을 주지 않았으나, Cd^{2+} + SA 처리구는 대조구에 비해 2주간 처리한 경우 27% 억제하였으며, 3주 때는 식물이 고사하여 측정이 불가능하였다 (Fig. 2). Lee (2000)는 Cd^{2+} 이 광합성 활성 ($\Delta CO_2 \mu\text{mol mol}^{-1}$)을 약 60% 억제한다고 발표하였다. 따라서, Cd^{2+} 에 의한 광합성 활성 억제는 광계 II 시스템의 억제와는 무관한 것으로 사료

**Fig. 2.** The effect of Cd^{2+} + SA on the chlorophyll fluorescence (Fv/Fm) in *Commelina communis* L. Each point is the mean (\pm s.e.m.) of 2 measurements. Closed circles, Control; closed triangle, Cd^{2+} ; open circles; Cd^{2+} + SA.**Fig. 3.** The effect of Cd^{2+} + SA on water potential of the stem in *Commelina communis* L. Each point is the mean (\pm s.e.m.) of 2 measurements. Closed circles, Control; closed triangle, Cd^{2+} ; open circles; Cd^{2+} + SA.

된다. 반면에 Cd^{2+} + SA 처리구는 Fv/Fm 값이 2주 때 27% 억제되었으며, 광합성 활성도 크게 억제되었다. 이는 SA를 Cd^{2+} 과 함께 처리할 때에는 광계 II에도 손상을 입히며 기타 다른 광합성 기구에도 영향을 주어 전반적인 광합성 활성 억제로 이어지는 것으로 추측된다.

수분퍼텐셜에 대한 Cd^{2+} 와 SA 처리의 효과는 Cd^{2+} 처리구에서 대조구에 비해 1주, 2주, 3주에서 16~39% 증가되었다. Cd^{2+} + SA 처리구에서는 수분퍼텐셜이 40~78% 억제되었으며, 3주 때는 식물이 고사하였다 (Fig. 3).

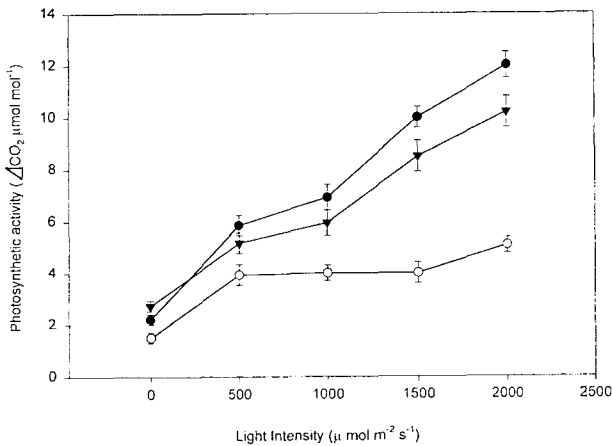


Fig. 4. Photosynthetic activity as a function of light intensities in *Commelina communis* L. Each point is the mean (\pm s.e.m.) of 2 measurements. Closed circles, Control; closed triangle, Cd²⁺; open circles; Cd²⁺+SA.

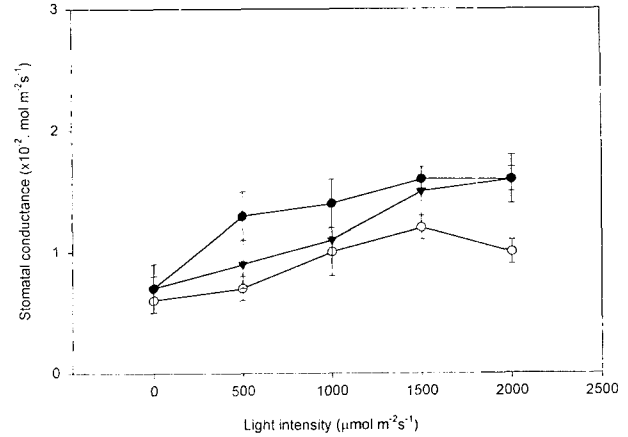


Fig. 5. Stomatal conductance as a function of light intensities in *Commelina communis* L. Each point is the mean (\pm s.e.m.) of 2 measurements. Closed circles, Control; closed triangle, Cd²⁺; open circles; Cd²⁺+SA.

Cd²⁺ 처리구에서 관찰된 수분퍼텐셜의 증가는 의외였다.

Fig. 4는 CO₂ 농도의 차이에 따른 광합성 활성 변화에 따라 Cd²⁺와 SA 처리의 효과를 살펴본 것이다. Cd²⁺ 처리구는 대조구에 비해 모든 광 조건에서 12~15%내에서 광합성 활성이 억제되었다. 반면에 Cd²⁺+SA 처리구는 37~58% 억제되었다. 형광분석기를 통한 광합성 전자전달 활성에 비해 전체 광합성 활성은 Cd²⁺ 처리구와 Cd²⁺+SA에서 더 높았음을 알 수 있다. 이는 Cd²⁺이 광계 II 외에 다른 광합성 기작에도 영향을 주는 것으로 사료된다. 광합성 활성의 억제는 식물 생장의 억제와 연관되는 것으로 보고되었다(Taiz and Zeiger 1991). 그러나, Cd²⁺ 처리구에서 광합성 활성 억제는 생장률 억제에 비해 그 효과가 적었다.

기공전도도에 대한 Cd²⁺와 SA 처리는 Cd²⁺ 처리구는 대조구에 비해 500과 1,000 μmol m⁻² s⁻¹ 광도에서 21%와 31% 각각 기공전도도가 억제되었으며, Cd²⁺+SA 처리구는 모든 광조건에서 14~46% 기공전도도가 억제되었다(Fig. 5). 이는 광합성 활성과 비슷한 양상을 보여주었다.

Cd²⁺ 처리는 식물의 생장을 크게 억제시켰으나, 광합성 등 일반적인 생리적인 기능은 비교적 정상적이었다. 이는 Cd²⁺이 식물의 생장을 억제시켜 Cd²⁺에 대한 내성 시스템을 작동시키는 것으로 추측된다. 이러한 Cd²⁺에 의한 내성 시스템에 신호전달 물질인 SA가 PCs 합성에 영향을 주지 않는 것으로 추측된다. 따라서, Cd²⁺+SA 처리구는 두 화합물의 이중 효과에 의해 전반적인

생리 활성을 억제하여, 결국에는 식물의 고사를 유도하는 것으로 사료된다.

적 요

3주간 성장한 닭의장풀을 Hoagland 용액에서 3주 동안 수경배양하면서, 100 μM Cd²⁺과 100 μM salicylic acid(SA)를 처리한 후 성장, 엽록소 함유량, 수분퍼텐셜, 엽록소 형광, 광합성능 및 기공전도도를 조사하였다. Hoagland 용액에 Cd²⁺ 처리시 3주 동안 2.1 cm 성장했으나, 대조구는 7.2 cm 성장했다. 반면에 Cd²⁺+SA 처리구는 1주 동안 0.7 cm 자랐으며, 2주 후에는 생장이 멈추거나 고사되었다. 엽록소 함량은 Cd²⁺ 처리구는 대조구에 비해 3주 때 7% 그리고 Cd²⁺+SA 처리구는 86% 억제되었다. 대조구와 Cd²⁺ 처리구는 1주와 2주 때를 제외하고는 정상적인 엽록소 a/b 비율을 보여주었으나, Cd²⁺+SA 처리구는 1.6 이하를 보여주었다. Fv/Fm 측정 결과 Cd²⁺ 처리는 Fv/Fm 값에 큰 영향을 주지 않았으나, Cd²⁺+SA 처리구는 대조구에 비해 2주간 처리한 경우 27% 억제하였다. 수분퍼텐셜을 살펴 보면 Cd²⁺ 처리구는 대조구에 비해 1주, 2주, 3주에서 16~39% 증가되었다. Cd²⁺+SA 처리구에서는 수분퍼텐셜이 40~78% 억제되었다. CO₂ 농도의 차이에 따른 광합성능은 대조구에 비해 모든 광 조건에서 Cd²⁺ 처리구는 12~15%내에서 억제되었으나, Cd²⁺+SA 처리구는 37~58% 억제되었다. 기공전도도는 대조구에 비해 500과 1,000 μmol

$m^{-2} s^{-1}$ 광도에서 Cd^{2+} 처리구는 21%와 31% 각각 기공 전도도가 억제되었으며, $Cd^{2+}+SA$ 처리구는 모든 광조건에서 14~46% 기공전도도가 억제되었다. 이들 결과로부터 Cd^{2+} 에 대한 내성 시스템은 미미하게나마 작동되나, $Cd^{2+}+SA$ 처리구는 두 화합물의 이중 효과에 의해 전반적인 생리 활성을 억제하여, 결국에는 식물의 고사를 유도하는 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 2000년 상지대학교 교내 연구비와 2000년 한국과학재단의 목적기초연구(과제번호 2000-1-20300-3)의 부분적 지원을 받아서 수행되었음.

인 용 문 헌

- Chaudri AM, FJ Zhao, SP McGrath and AR Crosland. 1995. The cadmium content of British wheat grain. *J. Environ. Qual.* 24:850-855.
- Demmig B and O Bjorkam. 1987. Comparison of the effect of excessive light of chlorophyll fluorescence (77k) and photon yield of O_2 evolution in leaves of higher plants. *Planta* 171:171-184.
- Kim BW. 1982. Studies on the effect of heavy metal on the growth of various plants. *Korean J. Ecology* 5(4):176-186.
- Kim BW and JS Park. 1992. Study on the resistance of various herbaceous plants to the effects of heavy metals - Responses of plants to soil treated with cadmium and lead. *Korean J. Ecol.* 15(4):433-449.
- Kim BW. 1992. Ecological study on the effect of heavy metals to the vascular plants. *상지대학교 자연과학논총*, 1-8.
- Holden M. 1965. Chlorophylls. pp. 461-468. In *Chemistry and biochemistry of plant pigments* (Goodwin TW ed). Academic Press, New York.
- Jones AM. 1994. Surprising signals in plant cells. *Science* 263:183-184.
- Lee JS. 1999. Salicylic acid가 닭의장풀의 광합성에 미치는 영향. *환경생물학회지* 17(3):359-364.
- Lee JS. 2000. 닭의장풀 내 Cd^{2+} 의 분포와 생리적 독성. *환경생물학회지* 18(1):63-67.
- Maitani T, H Kubota, K Sato and T Yamada. 1996. The composition of metal bound to class III metallothionein (phytochelatin and its desglycyl peptide) induced by various metals in root cultures of *Rubia tinctorum*. *Plant Physiol.* 110:1145-1150.
- Malamy J and DF Klessig. 1992. Salicylic acid and plant disease resistance. *The Plant J* 2:643-654.
- Oh MH and CH Lee. 1996. Disassembly of chlorophyll-protein complex in *Arabidopsis thaliana* during dark-induced foliar senescence. *J. Plant Biology* 39(4):301-307.
- Oquist G, WS Chow and JM Anderson. 1992. Photoinhibition of photosynthesis represents a mechanism for the long-term regulation of photosystem II. *Planta* 186:450-460.
- Page AL, FT Bingham and C Nelson. 1972. Cadmium absorption and growth of various plant species as by solution cadmium concentration. *J. Environ. Quality* 1: 288-291.
- Rausser WE. 1990. Phytochyletins. *Annu. Rev. Biochem.* 59: 61-86.
- Steffens JC. 1990. The heavy metal-binding peptides of plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41: 553-575.
- Taiz L and E Zeiger. 1991. *Plant Physiology*. The Benjamin Cumming Publishing Co. Inc., USA.
- Willmer CM. 1983. *Stomata*. Longman Inc., New York.

(Received 28 November 2001, accepted 28 February 2002)