

## 층층나무의 오존 내성 개체 선발

장석성<sup>1</sup> · 이재천<sup>1</sup> · 한심희<sup>1</sup> · 김홍은<sup>2</sup>

<sup>1</sup>임업연구원 산림유전자원부, <sup>2</sup>충북대학교 산림과학부  
(2003년 1월 4일 접수; 2003년 2월 20일 수락)

### Selection of Ozone Tolerant Individuals of *Cornus controversa*

Suk-Seong Jang<sup>1</sup>, Jae-Cheon Lee<sup>1</sup>, Sim-Hee Han<sup>1</sup>, and Hong-Eun Kim<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Forest Genetic Resources, Korea Forest Research Institute, Suwon 441-350, Korea

<sup>2</sup>School of Forest Resources, Chungbuk National University, Chungju 361-763, Korea

(Received January 4, 2003; Accepted February 20, 2003)

#### ABSTRACT

This study was conducted to select the ozone tolerant individuals of *Cornus controversa* Hemsl., and to use malondialdehyde (MDA) content as an indicator of plant damage level for several oxidative stress levels. Seeds of *C. controversa* were collected at 9 provinces in Korea. One-year-old seedlings were grown in greenhouses and exposed to 100 ppb ozone concentration for 8h day<sup>-1</sup> for 10 weeks. At the termination of ozone exposure, heights of seedlings were measured and MDA contents in the leaves were analyzed. Tolerant, intermediate, and sensitive individuals were selected using the standardized indices of height and MDA content. Height and MDA content of *C. controversa* exposed to ozone were significantly different among individuals and provinces. MDA content showed negative correlation ( $r=-0.531$ ,  $p \leq 0.001$ ) with height growth performance. Height and MDA content of tolerant individuals presented significant differences from those of sensitive individuals. As a result, MDA content may be suitable for the evaluation of the damage level of plants by oxidative stress.

**Key words** : malondialdehyde, MDA, indicator, oxidative stress, damage

#### I. 서 론

다양한 오염물질들은 종 조성, 임분 구조, 유전자 다양성을 변화시키는 것은 물론 산림식태에도 큰 영향을 준다. 자연상태에서 대기오염물질에 의한 수목 치사율은 오염물질의 내성 수종 및 개체보다 민감성 수종이나 개체가 더 높게 나타난다(Karnosky, 1989; Chappelka and Chevone, 1992). 이것은 대기오염물질에 대한 내성 개체들이 유전적 다양성이 높기 때문인데, 내성 개체들은 각종 환경 변화에 대한 적응 능력이 높은 것으로 보고되고 있다(Bergman and Scholz, 1987; Geburek *et al.*, 1987; Lee *et al.*, 1998). 즉

대기오염물질은 민감성 유전자형에 대해 강한 선발압(selection pressure)으로 작용한다(Karnosky, 1989). 따라서 각종 오염물질로부터 산림유전자원의 감소를 방지하고 훼손된 산림을 복원하기 위해서는 오염물질에 대한 내성을 지닌 유전자원을 확보하는 것이 급선무이다.

층층나무는 다양한 용도 개발이 기대되는 경제수종으로, 그 가운데 경관수종으로의 용도 개발이 유망한데, 층층나무가 대기오염이 심각한 도심지 등에 조경수로 심겨지기 위해서는 대기오염에 대한 내성을 보이는 개체를 선발하여 식재하는 것이 바람직하다.

그러나 각종 오염물질에 대한 내성을 판단하는 기준

은 매우 모호하다. 지금까지는 식물의 내성 여부를 판단하기 위해서 생장 특성과 내성 관련 물질에 의존해 왔다(Oksanen *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2002; Han *et al.*, 2002). 그러나 대기오염물질에 의한 막의 피해도 식물 세포의 초기 피해로서 매우 중요하다. 세포막을 구성하는 물질은 주로 지질과 단백질로 되어 있는데, 이 중 막 지질에 대한 작용으로서 지질을 구성하는 불포화지방산이 파괴되는 것으로 알려져 왔다(Takahama and Nishimura, 1976). 식물세포의 원형질막과 세포내의 막 지질을 구성하는 지방산에는 다불포화지방산이 다량 함유되어 있는데, 이는 막의 소수성 성분으로서 막 구조의 유지와 막의 유동성에 중요한 역할을 한다. 따라서 막 구조의 파괴는 세포내의 생리작용에 현저한 손실을 초래하며, 식물의 막 지질 합성계를 저해하기도 한다(Shimazaki and Sugahara, 1978). Malondialdehyde(MDA)는 생체 내에서 지질의 과산화반응에 의해, 즉 O<sub>2</sub>로부터 생성된 singlet oxygen(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)과 불포화지방산의 상호작용으로 형성되는 물질이다. 또한 MDA는 오존에 의해 생성된 자유기들로 인해 발생한 세포막의 손상 및 파괴 정도를 측정하는데 이용되며, 여러 가지 환경 스트레스에 의한 민감성을 결정하는데 이용되어 왔다(Kim and Lee, 1994; Davis and Swanson, 2001).

본 연구는 전국 주요 산지에서 채집한 층층나무를 대상으로, 도심에서 흔히 발생하는 오존에 대해 내성을 보이는 개체를 선발하기 위해서, 인위적으로 오존을 노출시키고, 엽 내에서 측정된 MDA 함량을 기준으로 오존 내성 개체를 선발하고자 수행하였다. 또한 각종 오염물질에 대한 내성을 평가하기 위해 MDA 함량을 이용하는 것이 타당한지를 검토하고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 2.1. 공시재료

본 실험에 사용된 층층나무(*Cornus controversa* Hemsl.)는 오대산(5본), 치악산(5본), 점봉산(5본), 주왕산(1본), 태백산(1본), 지리산(5본), 소리봉(5본), 속리산(4본), 소백산(4본), 계방산(4본) 등 9개 지역에서 총 38본의 선발목으로부터 종자를 채취하여 이른 봄 온실에서 파종하여 사용하였다. 발아 후 가계당 10본씩 380본을 펠라이트와 피트모스를 1:1(v/v)로 혼합한 배양토를 채운 2l 포트에 이식하여 임업연구원

산림유전자원부 환경제어실내의 자연광 온실에서 5주간 육묘하였다. 오존 처리를 위하여 가계별로 생장과 활력이 고른 4개체에서 5개체를 선정하여 총 171본을 실험에 사용하였다.

### 2.2. 오존 처리 및 malondialdehyde(MDA) 함량 측정

오존 처리는 인공광 챔버를 이용하였으며(Lee *et al.*, 2002) 오존 처리는 우리나라 오존의 1시간 평균 환경기준인 100 ppb를 적용하였으며, 처리기간은 오전 9시부터 오후 5시까지 하루 8시간 씩 10주 동안(5월 20일~7월 28일) 계속하여 실시하였다. 실험기간 동안 처리구 챔버 내의 평균 오존 농도는 98±5 ppb로 기록되었다.

오존 처리가 종료된 후 층층나무의 수고와 MDA 함량을 측정하였다. 층층나무 엽 내 MDA 함량 측정은 45°C에서 N-methyl-2-phenylindole (NMPI)과 MDA와의 반응을 기초로 한 Esterbauer and Cheeseman (1990)의 방법을 따라 수행하였다. MDA 함량은 586 nm에서 상등액의 흡광도를 측정하여 결정하였다.

### 2.3. 수고와 MDA 함량간의 관계 및 오존 내성 개체 선발

실험 종료 후 측정된 층층나무의 수고와 MDA 함량간의 관계를 분석하기 위하여 상관분석과 회귀분석을 실시하였다. 오존 내성 개체 선발은 수고 생장과 MDA 함량을 기준으로 하였다. 수고와 MDA 함량의 전체 평균에서 각 측정값의 차이를 표준편차로 나누어 모든 측정값에 대한 표준화 지수를 구한 후, 수고와 MDA 함량을 기준으로 상위(내성), 중간, 하위(민감성) 30개체를 각각 선발하였다. 선발된 그룹간의 수고와 MDA 함량의 차이를 분석하기 위하여 분산 분석을 실시하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 3.1. 수고 생장과 MDA 함량의 가계간 및 지역간 차이

오존 처리된 층층나무의 수고 생장과 MDA 함량은 가계간 및 지역간에 차이를 나타냈다(Table 1). 수고 생장은 속리산, 계방산, 태백산의 층층나무가 높았으며, 치악산과 오대산의 층층나무 수고생장은 낮았다(Fig.

**Table 1.** F-values for analysis of variance and significance levels for height and MDA content of *C. controversa* exposed to 100 ppb ozone for 10 weeks

Source	df	F value	
		Height	MDA
Families	37	3.76***	4.83***
Sites	8	12.76***	10.13***

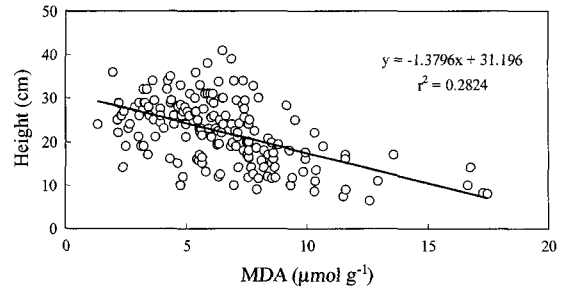
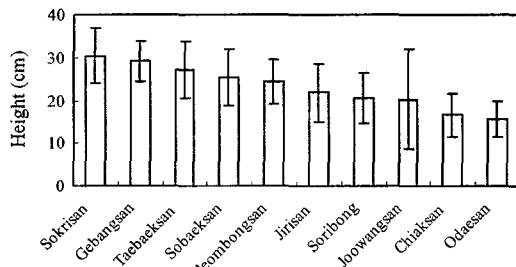
\*\*\* is represented significant differences at  $p \leq 0.001$

1). 반면 MDA 함량은 계방산, 속리산, 소백산의 층층나무가 낮게 나타났으며, 치악산 오대산, 주왕산의 MDA 함량은 높게 나타났다(Fig. 1). 즉 오존 처리 후 수고 생장이 비교적 높은 지역의 층층나무는 MDA 함량이 낮은 반면, 수고 생장이 낮은 지역의 층층나무는 MDA 함량이 높은 것으로 나타나 지역간 오존에 대한 내성 차이가 있음을 보여 주었다. 이것은 오존에 노출된 층층나무가 잎 내 유입된 오존의 독성을 제거하는 능력이 지역간, 가계간에 차이가 있음을 보여주는 것이며, 내성이 낮은 가계들은 오존에 대한 피해로 MDA 함량이 증가한 것으로 판단된다(Kim and Lee, 1994; Oksanen *et al.*, 2001).

### 3.2. 수고와 MDA 함량간의 관계

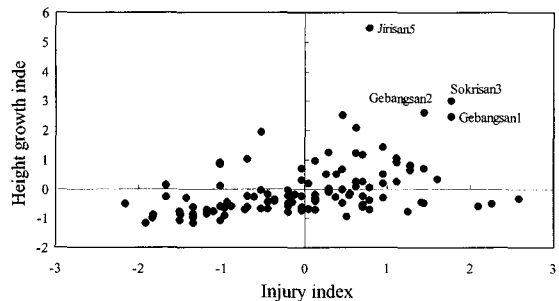
오존에 노출된 층층나무의 수고 생장과 MDA 함량은 역상관( $r = -0.531$ ,  $P \leq 0.001$ )을 보여 주었다(Fig. 2). 즉 수고 생장은 MDA 함량의 증가로 감소한 것으로 판단되는데, 이것은 식물의 세포막을 구성하는 막 지질의 변성 및 파괴로 인하여 정상적인 대사작용이 저해되고, 엽 조직의 파괴로 인하여 광합성 능력이 크게 감소하여 수고 생장이 저해되었기 때문인 것으로 판단된다(Asada, 1999).

대부분 식물의 경우 오존에 의해 피해를 받으면 잎

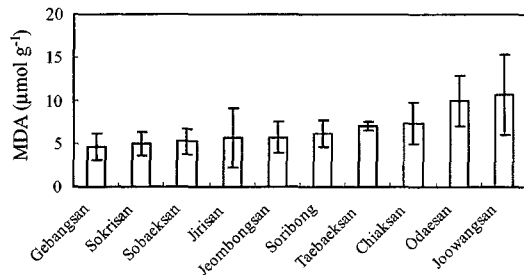


**Fig. 2.** Regression equation between height and MDA content of *C. controversa* exposed to 100 ppb ozone for 10 weeks ( $n=171$ ,  $p \leq 0.001$ ).

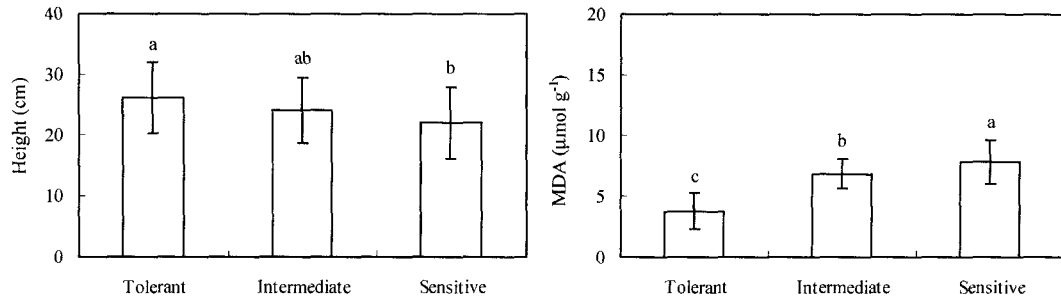
에 가시적 피해가 뚜렷하게 관찰된다(Pääkkönen *et al.*, 1993; Lee *et al.*, 2002). 그러나 어떤 식물은 가시적 피해 증상을 구별하기 어려운 경우도 있다. MDA는 여러 가지 오염물질에 의해 나타나는 피해 정도를 측정하는데 이용할 수 있는 물질로, 가시적 피해의 산정이 가능한 경우는 물론 가시적 피해의 정도를 판단하기 어려운 경우에도 피해 정도를 정량화하여 내성 구분에 이용할 수 있을 것으로 판단된다(Cho and Park,



**Fig. 3.** Height growth and injury(MDA content) index of *C. controversa* exposed to 100 ppb ozone for 10 weeks.



**Fig. 1.** Comparison of average height(left) and MDA content(right) among 9 sites of *C. controversa* exposed to 100 ppb ozone for 10 weeks. Each data point represents mean  $\pm$  sd. Height and MDA content showed significant differences among sites at  $p \leq 0.001$ .



**Fig. 4.** Comparison of average height(left) and MDA content(right) among tolerant, intermediate and sensitive groups of *C. controversa* exposed to 100 ppb ozone for 10 weeks. Each data point represents mean  $\pm$  sd. The different letters indicate significant differences among groups at  $p \leq 0.05$  by Duncan's multiple range test.

1999; Kiyoshi et al., 1999).

### 3.3. 오존 내성 개체 선발

오존 처리된 층층나무의 내성 구분은 수고와 MDA 함량을 기준으로 실시하였다. Fig. 3은 개체별 수고와 MDA 함량의 표준화 지수를 나타낸 것으로, 표준화 지수를 이용하여 내성그룹, 중간그룹, 민감성그룹을 각각 30개체씩 선발하였다. 이와 같이 수고와 MDA 함량을 기준으로 선발한 내성 개체는 지리산5, 속리산3, 계방산2, 지리산1, 계방산1 등이며, 민감성 개체는 오대산1(2개체), 오대산3, 오대산2, 치악산7 등이었다.

표준화 지수를 이용하여 선발한 내성그룹과 민감성 그룹간 수고와 MDA 함량은 큰 차이를 보여 주고 있다(Fig. 4). 특히 오존에 대한 처리 효과는 수고보다 MDA 함량에서 더 큰 효과를 나타내어, MDA 함량은 향후 오존에 대한 민감성을 평가하거나 내성 개체를 찾아내는데 유용하게 이용될 수 있음을 보여 주었다(Kim and Lee, 1994; Velikova et al., 2000).

## IV. 적 요

본 연구는 층층나무를 대상으로, 엽 내에서 측정된 MDA 함량을 기준으로 오존 내성 개체를 선발하고자 수행하였다. 또한 각종 오염물질에 대한 내성을 평가하기 위해 MDA 함량을 이용하는 것이 타당한지를 검토하고자 하였다.

실험에 사용된 층층나무는 오대산(5본), 치악산(5본), 점봉산(5본), 주왕산(1본), 태백산(1본), 지리산(5본), 소리봉(5본), 속리산(4본), 소백산(4본), 계방산(4본) 등 9개 지역에서 채취한 종자를 이용하였으며, 오존 처리

는 100 ppb에서 하루 8시간 씩 10주 동안 실시하였다. 오존 처리가 종료된 후, 층층나무의 수고와 MDA 함량을 측정하였고, 수고와 MDA 함량간의 관계를 분석하였으며, 수고와 MDA 함량의 표준화 지수를 이용하여 오존에 대한 내성그룹, 중간그룹, 민감성그룹을 각각 30개체씩 선발하였다.

오존 처리된 층층나무의 수고와 MDA 함량은 개체간, 지역간 차이를 보여주었으며, MDA 함량은 수고 성장과 역상관( $r = -0.531$ ,  $p \leq 0.001$ )을 나타냈다. 개체별 수고와 MDA 함량을 기준으로 선발한 층층나무는 내성그룹과 민감성 그룹간 수고와 MDA 함량 차이가 뚜렷하였다. 따라서 MDA 함량은 오존에 대한 내성 및 민감성을 구분하는데 유용하게 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

## 인용문헌

- Asada, K., 1999: The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **50**, 601-639.
- Bergmann, F. and F. Schloz, 1987: The impact of air pollution on the genetic structure of Norway spruce. *Silvae Genetica*, **36**, 80-83.
- Cho, U.-H. and J.-O Park, 1999: Changes in hydrogen peroxide content and activities of antioxidant enzymes in tomato seedlings exposed to mercury. *Journal of Plant Biology*, **42**, 41-48.
- Davis, D. G. and H. R. Swanson, 2001: Activity of stress-related enzymes in the perennial weed leafy spurge (*Euphorbia esula* L.). *Environmental Experimental Botany*, **46**, 95-108.
- Esterbauer, H. and K. H. Cheeseman, 1990: Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde

- and 4-hydroxynonenal. *Methods in Enzymology*, **186**, 407-421.
- Geburek, T., F. Scholz, W. Knabe and A. Vornweg, 1987: Genetic studies by isozyme gene loci on tolerance and sensitivity in an air polluted *Pinus sylvestris* field trial. *Silvae Genetica*, **36**, 49-53.
- Han, S.-H., J.-C. Lee, S.-S. Jang and Y.-P. Hong, 2002: Comparison of the ozone sensitivity of four *Betula* species based on carbon allocation and partitioning patterns. *Journal of Korean Forest Society*, **91**, 449-456.
- Karnosky, D. F., 1988: Air pollution induced population changes in North American forests. Proceedings of the 14th International Meeting for Specialists in Air Pollution Effects on Forest Ecosystems, Interlaken, Switzerland, p. 315-317.
- Kim, M. H. and S. W. Lee, 1994: Injury responses of landscape woody plants to air pollutants - malondialdehyde content. *Journal of Korean Forest Society*, **83**, 25-31.
- Kiyoshi, T., Y.-G. Shon, S.-H. Lee, H.-Y. Kim, M.-S. Moon and J.-J. Lee, 1999: The response to oxidative stress induced by magnesium deficiency in kidney bean plants. *Journal of Plant Biology*, **42**, 294-298.
- Lee, J.-C., S.-H. Han, C.-S. Kim and S.-S. Jang, 2002: Visible foliar injuries and growth responses of four *Betula* sp. exposed to ozone. *Korean Journal of Agricultural and Forest Meteorology*, **4**, 29-37.
- Lee, S. W., S. Y. Woo, Y. B. Koo and S. K. Lee, 1998: Genetic differences between the tolerant and the sensitive trees in an air polluted *Prunus sargentii* stand. *Journal of Korean Forest Society*, **87**, 74-81.
- Oksanen, E., G. Amores, H. Kokko, J. M. Santamaria and L. Kärenlampi, 2001: Genotypic variation in growth and physiological responses of Finish hybrid aspen(*Populus tremuloides* × *P. tremula*) to elevated tropospheric ozone concentration. *Tree Physiology*, **21**, 1171-1181.
- Pääkkönen, E., T. Holopainen and L. Kärenlampi, 1997: Differences in growth, leaf senescence and injury, and stomatal density in birch(*Betula pendula* Roth.) in relation to ambient levels of ozone in Finland. *Environmental Pollution*, **96**, 117-127.
- Shimazaki, K. and K. Sugahara, 1978: Studies on mechanisms of sulfur dioxide phytotoxicity. I. Effects of sulfur dioxide on photosynthetic electron transport and chlorophyll breakdown in higher plants. Studies on Evaluation and Amelioration of Air pollution by Plants. progress report in 1976-1977. R-2-78, 35-46.
- Takahama, U. and M. Nishimura, 1976: Effects of electron donor and acceptors electron transfer mediators, and superoxide dismutase on lipid peroxidation in illuminated chloroplast fragments. *Plant and Cell Physiology*, **17**, 111-118.
- Velikova, V., I. Yordanov and A. Edreva, 2000: Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants - Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, **151**, 59-66.