

저농도 오존처리에 따른 다섯 가지 유묘의 기공 변화, 엽록소 함량 및 항산화 효소 활성

양수진¹ · 우수영^{1*} · 제선미²

¹서울시립대학교 환경원예학과, ²국립산림과학원 산림환경부

Antioxidant Enzyme, Chlorophyll Contents and Stomatal Changes of Five Tree Species under Ozone Stress

Soo Zin Ryang¹, Su Young Woo^{1*} and Sun Mi Je²

¹Department of Environmental Horticulture, University of Seoul, Seoul 130-143, Korea

²Department of Forest Environment, Korea Forest Research Institute, Seoul 130-712, Korea

요 약: 튜립나무, 산수유, 은행나무, 느티나무, 단풍나무 등, 총 다섯 수종을 대상으로 phytotron에서 저농도 오존을 처리한 후 이에 따른 식물의 반응을 고찰하였다. 엽록소함량, 잎 기공저항, 잎 증산량, 항산화효소인 APX(Ascorbate peroxidase)를 통해 분석하였고, 이에 따른 결과는 수종마다 각기 다르게 나타났다. 본 실험기간동안 가시피해현상이 나타난 수종은 튜립나무와 산수유 뿐이었지만 가시피해현상이 없는 수종도 포함, 전 수종이 저농도 오존에 의해 엽록소함량, 기공저항, 기공전도도, 항산화효소 활성에서 낮은 생리적 활성을 보임을 확인할 수 있었다.

Abstract: This study is conducted to identify responses of plants to low O₃ concentration. Five species, *Liriodendron tulipifera*, *Cornus officinalis*, *Ginkgo biloba*, *Zelkova serrata*, and *Acer palmatum*, were exposed to low ozone concentration from June 9 to July 8 in the phytotron. We measured chlorophyll contents, leaf diffusion resistance, leaf transpiration, and antioxidant enzyme activities; ascorbate peroxidase(APX). Especially, *Liriodendron tulipifera* and *Cornus officinalis* showed sensitive responses to ozone treatment as visible injuries, while other four species relatively showed tolerant responses. However, we noticed that almost all species under ozone treatment were lower physiological activities such as chlorophyll contents, leaf diffusion resistance, leaf transpiration, and antioxidant enzyme activities with time even without any visible injury.

Key words : ozone, chlorophyll contents, leaf diffusive resistance, transpiration, antioxidant enzyme activities, ascorbate peroxidase, *Liriodendron tulipifera*, *Cornus officinalis*, *Ginkgo biloba*, *Zelkova serrata*, and *Acer palmatum*

서 론

대기에서 광화학반응으로 생성되는 2차 오염물질인 오존은 오존층의 오존과 달리 지표 생물권에 악영향을 끼치는 주범 중 하나이다. 이러한 2차 대기 오염물질은 자동차 배기가스 등에서 배출되는 NO_x, SO_x, 일산화탄소 등의 1차 대기 오염물질을 바탕으로 생성되기 때문에 도시형 오염물질이라고도 불리며, 도시에서 생육하고 있는 도시림 및 가로수의 생리적 활력을 크게 저해할 수 있다.

식물에 있어 활력을 검정하기 위해서는 크게 세 가지 방향으로 접근해 볼 수 있다. 첫 번째는 광합성기구를 조사하는 것이고 두 번째는 식물에게 양분이 공급되고 오염물

질이 유입되는 통로를 조사하는 것이고, 마지막으로 오염물질을 해독하는 기구를 조사하는 것이다.

엽록소는 식물이 광합성을 하는데 필수적인 색소로서 엽록소 함량을 분석해서 광합성 효율을 간접적으로 추정하면 식물이 대기오염과 여러 환경적 스트레스에 피해를 받고 있는지 알 수 있다(Baczek and Koscielniak, 2003). 또한 엽록소 전체 함량과 성분비는 광합성과 밀접한 관계를 지니면서 생태학적으로 중요한 요인으로 간주되며, 산림 내 수목 군락의 광조건과 임분의 생리,생태학적 구조 분석에 자주 이용되고 있다(최정호와 정진철, 2002; 김영모 등, 1990).

기공은 식물이 수분을 배출하는 동시에 엽내 탄수화물 동화작용을 위하여 필요한 탄소를 유입시키는 통로다. 식물의 생활력을 결정짓는 필수 조건인 수분과 이산화탄소

*Corresponding author
E-mail: wsy@uos.ac.kr

를 조절하는 곳인 만큼 식물이 기공을 어떻게 조절하는지에 따라 그 식물의 생리 활성의 질이 결정된다고 할 수 있다. 따라서 가스 형태인 오염물질의 유입 통로로도 쓰이는 기공을 연구함으로써 식물의 상태를 간접적으로 판단할 수 있으며, 스트레스에 대한 지표로도 이용할 수 있다.

오존과 같은 독성대기오염물질이 식물체내로 들어오게 되면 식물은 hypersensitive responses(HR)의 하나로 과다한 활성산소를 발생시키게 된다. 이러한 활성산소종에 대하여 식물은 α -tocopherol, ascorbate, carotenoid, glutathione, phenolic compound 등의 항산화 물질을 생산하거나, SOD(superoxide dismutase), POD(peroxidase) 등의 효소를 생산하여 방어기작을 나타낸다(Shannon and Mulchi, 1974). 따라서 항산화 효소 활성은 식물의 스트레스에 반응하는 정도를 알 수 있는 지표이며 또한 외부 스트레스에 대한 방어 정도를 판단하는 기준이기도 하다. 특히 ascorbate peroxidase(APX)는 주로 활성산소의 독성을 완화하는 항산화효소로서 대기오염에 노출된 식물체의 생장과 관계가 있다(우수영 등, 2004; Woo *et al.*, 2003; Kangasjarvi *et al.*, 1994; Winner, 1994).

현재까지 오존에 의한 식물의 피해현상 등에 관하여 다양한 보고들이 있었지만 대부분 고농도에서 단시간 오존 처리를 시킨 후 변화한 양상을 고찰한 것들이다. 따라서 이러한 결과들은 생태적 고찰을 요구하는 식물의 반응, 예를 들어 일반 대기의 오존 농도에서 장시간 노출되는 수목들에게 일괄 적용하기가 어렵다.

따라서 본 연구의 목적은 일반 대기 오존 농도와 거의 비슷한 수준의 저농도의 오존을 처리함에 따라 각 수종마다 어떻게 생리적인 반응이 나타나는지 알아보기 위함이다. 특히 가스교환의 통로인 기공의 생리적 분석과 함께 수목 활력도의 추정 지표인 엽록소 함량, 스트레스에 대한 반응을 알 수 있는 항산화효소 분석을 통한 생리적 접근을 실시하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 공시재료 및 오존 처리

서울시에서 현재 널리 분포하고 있는 수목 중 현재 가로수로 쓰이고 있거나 앞으로 가로수 혹은 도시림에 적합 수종으로써 가능성이 있다고 판단되는 수종 중 튜립나무(*Liriodendron tulipifera*), 산수유(*Cornus officinalis*), 은행나무(*Ginkgo biloba*), 느티나무(*Zelkova serrata*), 단풍나무(*Acer palmatum*) 다섯 종을 대상으로 하였다. 약 60일 동안 온실 내에서 순화시킨 다음 오존 폭로 전 phytotron(가스폭로온실)에서 재순화 과정을 거친 후 오존처리를 실시하였다. 처리시간은 여름철 식물이 광합성을 하는 시간대인 오전 9시부터 오후 5시까지로 하였고, 총 처리기간

Table 1. Duration and concentration of ozone treatment.

Treatment (days)	0-10	11-20	21-30
O ₃ concentration (ppb)	50	70	90

은 6월 9일부터 7월 8일까지 30일 동안 1.5m×1.5m×2m의 가스폭로온실(26±1.0°C/day, 22±1.0°C/night, 70±10.0%RH)에서 50 ppb에서 90 ppb까지 10일마다 20 ppb씩 오존의 농도를 증가시켰다. 광은 자연광을 이용하였다. 위치에 따른 오존 노출의 차이를 없애고자 처리기간 동안 1일마다 무작위로 위치를 바꾸었다. 엽록소함량과 항산화 효소 분석은 각각 3반복으로, 기공의 확산저항 및 증산율은 6반복으로 실험을 수행하였다.

2. 엽록소 함량

수종 당 3개체에서 무작위로 3-5엽씩 샘플링하여 3반복씩 80% 아세톤 용액에 넣어 추출한 후, UV spectrophotometer(Optizen 2120UV & Optizen III, Mecasys, Korea)를 사용하여 파장 663nm와 645nm에서 측정하여 다음의 식으로 환산(Arnon, 1949) 하였다.

$$\text{Chlorophyll a} = 12.7 A_{663} - 2.69 A_{645}$$

$$\text{Chlorophyll b} = 22.9 A_{645} - 4.68 A_{663}$$

$$\text{Total Chlorophyll}(a + b) = 20.29 A_{645} + 8.02 A_{663}$$

3. 기공의 확산 저항 및 증산율

기공의 확산 저항과 증산율을 알아보기 위하여 처리후 10일부터 5일 간격으로 steady state porometer(Li-1600, Li-Cor Inc., NE, USA)를 이용하여 총 5회 측정하였다. 측정시간은 오전 10시부터 5시까지로써 수종별로 동일한 시간대에서 상위 3-5엽을 택하여 실험을 수행하였다. 계산식은 다음과 같다.

$$W_{wv} = (W_{leaf} - W_{air}) / (r_{stm} + r_{bl})$$

(W_{wv} : 식물 잎의 증산속도, W_{leaf} : 포화수증기밀도, W_{air} : 대기 중의 수증기밀도, r_{stm} : 기공 확산저항, r_{bl} : 엽면 경계층 확산저항)

$$m_{wi} = V_{ao} \cdot W_{wo}$$

$$J_{wv} = m_{wi} / A$$

(m_{wi} : 잎의 증산작용에 의하여 증가된 수증기, V_{ao} : 측정기에서 배출한 공기의 유량, W_{wo} : 그 공기에 함유된 수증기, J_{wv} : 증산속도, A : 엽면적(2.0 cm²))

$$r_{stm} = (W_{leaf} - W_{wo}) / (J_{wv} - r_{bl})$$

(r_{stm} : 기공확산저항, W_{leaf} : 잎의 포화수증기밀도, W_{wo} : 측정기가 배출한 공기의 수증기, J_{wv} : 증산 속도, r_{bl} : 엽면 경계층의 확산저항(0.2 s · cm⁻¹))

4. 항산화 효소활성 분석

Ascorbate peroxidase(APX)의 활성분석은 잎 단편 0.2 g에 1 M 아스코르빈산(AsA)과 pH가 7.4로 보정된 100 mM 인산칼륨 완충액(K-P buffer)을 함유한 추출용액 2 mL를 가하여 균질화하였다. 이를 16,000 rpm에서 30분간 원심분리한 후 추출액 60 μ L를 취하여 반응액[H₂O 2.34 mL, 1M K-P buffer(pH 6.5) 300 μ L, 10 mM AsA 180 μ L, 5 mM H₂O₂ 120 μ L]과 잘 혼합한 후 UV spectrophotometer (Optizen 2120UV & Optizen III, Mecasys, Korea)를 사용하여 파장 290 nm에서 H₂O₂에 의한 30초간의 아스코르빈산 산화도(extinction coefficient of 2.8 mM⁻¹ cm⁻¹)를 측정하였다. 모든 효소활성은 단백질 1 mg을 기준으로 산정하였으며, 단백질 정량은 Bradford(1976)가 기술한 바와 같이 Bio-Rad Protein assay(Bio-Rad Laboratories, U.S.A) 5배 희석액에 엽 추출액을 100:1로 가하여 반응시킨 후 파장 595 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 가시적 피해

식물체의 피해를 판단할 수 있는 일차적인 방법은 가시적 피해를 관찰하는 것이다. 일반적인 오존피해현상으로 알려져 있는 잎의 수침상 발현, 황화, 백화, 낙엽화의 발현 유무로 가시피해 현상을 판단하였다(Pääkkönen *et al.*, 1998).

처리 기간동안 가시피해현상이 나타난 수종은 튼릿나무와 산수유였다(Figure 1). 두 수종 모두 70 ppb에서 가시피해현상이 나타났지만 튼릿나무가 산수유보다 3-4일 앞서 피해가 발현하였다(튼릿나무 처리후 14일, 산수유 처리후 17일). 튼릿나무의 경우 잎의 앞면이 전체적으로 붉은색 계열로 변하면서 점차 고사되었고 낙엽화 되었다. 산수유는 잎의 주맥을 중심으로 대칭상으로 황화되면서 피해가 발현하기 시작하였다. 나머지 수종은 뚜렷한 가시피해현상을 확인할 수 없었다. 피해개체 앞에서 발현한 황화현상과 고사현상은 광합성 색소의 분해와 탈수작용의 결과라고 생각된다(Heath, 1980).

2. 엽록소함량

오존에 의한 가시피해의 지표로서 엽록소 함량의 조사가 유효한 방법임은 Davis와 Coppolono(1976)에 의해 보고된 바 있으며, 박재주 등(1987)은 오존 접촉으로 엽록소 활성이 감소된다고 보고한 바 있다.

10일마다 20 ppb씩 오존의 농도를 증가시키면서 각 농도별 엽록소 함량을 측정하였는데 시간, 농도에 따른 변화 정도는 수종마다 차이가 있었지만 전체적으로 단풍나무를 제외한 다섯 수종에서 농도를 높일수록 엽록소 함량

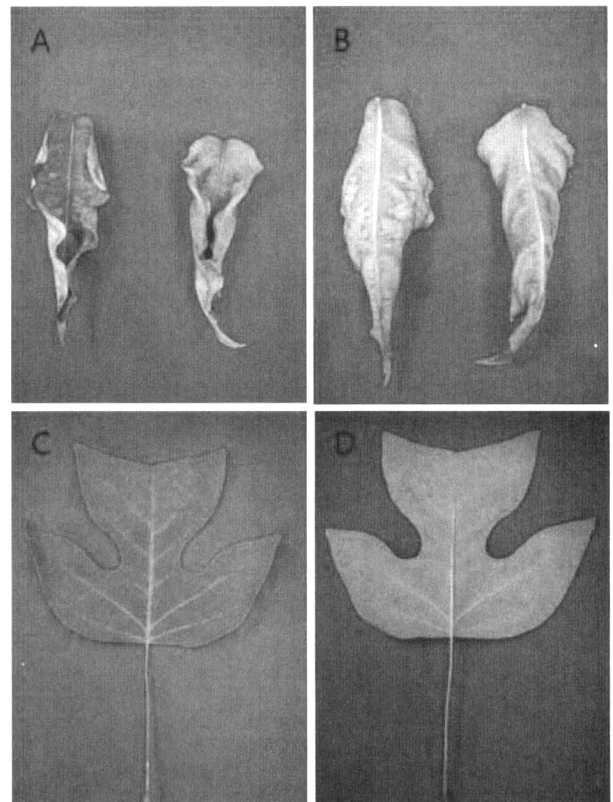


Figure 1. Visible injuries in *Cornus officinalis*(A and B) and *Liriodendron tulipifera*(C and D) under ozone exposure. A and C are adaxial surfaces and B and D are abaxial surfaces of each species.

의 처리간 차이가 커졌다(Table 2). 예외적으로 단풍나무의 경우 처리 초기에는 오존처리구가 대조구보다 높은 엽록소함량을 나타냈지만 90 ppb(처리 후 30일) 처리가 끝난 이후에는 처리간 함량이 역전되어 오존처리가 단풍나무의 엽록소 함량에 영향을 미치고 있음을 알 수 있었다.

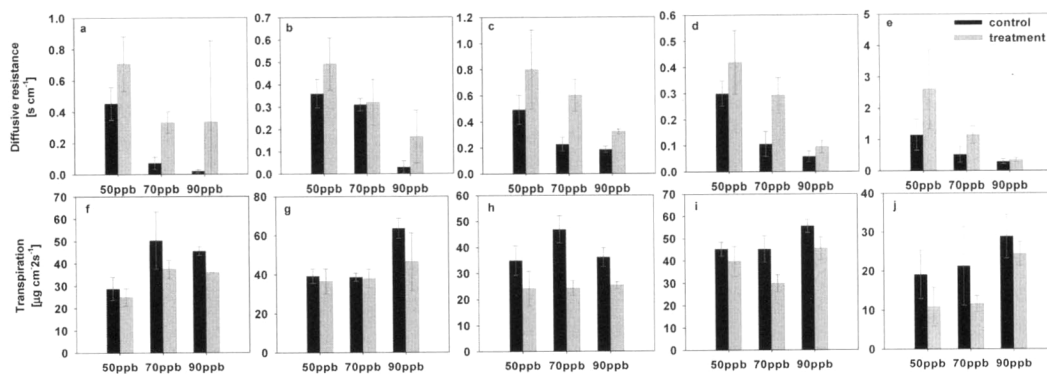
엽록소 함량의 처리간 차이가 커지는 것은 농도 변화의 누적이 각각 단독 요인으로 작용한 것으로 생각되지만 두 요인간 상호작용에 있어서는 유의성이 보이지 않았다. 튼릿나무와 산수유의 경우, 가시피해 현상이 70 ppb(처리 후 20일)에서 나타났는데 이때 엽록소 함량의 처리간 차이도 가장 컸다. 이는 70 ppb(처리 후 20일)에서 증가한 기공저항과도 관련이 있는 것으로 보인다(Figure 2). 즉, 기공이 일정기준 이상의 오존이 체내에 들어오는 것을 막기 위해 기공을 닫음으로써 기공 저항이 증가하고 따라서 이산화탄소의 체내 유입이 대량 통제가 되면서 광합성율이 낮아지고 이것이 물질대사능력을 감소시켜 결국 엽록소 함량의 감소에 영향을 끼친 요인중에 하나일 것으로 생각된다.

엽록소 a:b 비율의 처리간 차이가 극명하게 나타난 것은 튼릿나무와 산수유였다. 이 두 수종은 대조구의 엽록소 a/b 값이 처리 기간동안 거의 일정하게 유지된 것과 달리 70 ppb(처리 후 20일)에서 엽록소 b의 함량이 증가하면

Table 2. Chlorophyll total, a and b content (mg·g⁻¹ DW), and chlorophyll a/b of each species in 3 different ozone concentrations. Three-way ANOVA was performed to identify the significance of each measurement values with chlorophyll content and a/b ratio, respectively (significance: 0.05, conc.: concentration, sp.: species, p: provability).

Species	Conc.(ppb)	Chl. total content (mg·g ⁻¹ DW)		Chl. a (mg·g ⁻¹ DW)		Chl. b (mg·g ⁻¹ DW)		Chl a/b	
		Cont.	Trt.	Cont.	Trt.	Cont.	Trt.	Cont.	Trt.
<i>Liriodendron tulipifera</i>	50	9.445	9.357	7.079	7.077	2.368	2.283	2.989	3.100
	70	9.410	5.645	7.204	4.130	2.207	1.516	3.263	2.724
	90	6.215	4.572	4.726	3.347	1.491	1.226	3.169	2.731
<i>Cornus officinalis</i>	50	7.635	7.258	5.456	5.310	2.181	1.950	2.534	2.727
	70	9.395	4.340	6.586	2.295	2.812	2.046	2.558	1.145
	90	6.780	2.892	5.071	2.093	1.710	0.800	2.965	2.615
<i>Ginkgo biloba</i>	50	6.151	6.815	4.620	5.102	1.533	1.714	3.013	2.976
	70	7.789	6.641	5.096	4.063	2.695	2.581	1.890	1.616
	90	7.421	4.693	5.646	3.472	1.777	1.223	3.178	2.837
<i>Zelkova serrata</i>	50	4.068	4.218	3.078	3.189	0.991	1.030	3.109	3.097
	70	5.476	4.318	3.614	2.626	1.863	1.694	1.940	1.523
	90	4.622	3.436	3.605	2.539	1.018	0.898	3.546	2.827
<i>Acer palmatum</i>	50	0.773	2.685	0.560	1.994	0.214	0.692	2.632	2.927
	70	1.966	2.394	0.779	0.806	1.188	1.589	0.664	0.509
	90	1.051	1.424	0.753	1.011	0.298	0.413	2.528	2.460

	p values							
	conc.	spp.	O ₃	conc.*O ₃	spp.*O ₃	conc.*spp.	conc.*O ₃ *spp.	
chlorophyll content	0.8991	0.0028	0.0003	0.0333	1.4900	0.8958	0.8030	
chlorophyll a/b	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.1782	<.0001	<.0001	



Parameters	Source	p values		
		50	70	90
Diffusive resistance	Ozone	0.0009	<.0001	0.0144
	Species	<.0001	<.0001	0.0313
	Ozone*species	0.0002	0.0089	0.4725
Transpiration	Ozone	0.0003	<.0001	<.0001
	Species	<.0001	<.0001	<.0001
	Ozone*species	0.3406	0.1943	0.3392

Figure 2. Plant leaf diffusive resistance (s·cm⁻¹) and transpiration (mg·cm⁻¹·s⁻¹) of each species. Each row represents plant species: a and f are *Liriodendron tulipifera*, b and g are *Cornus officinalis*, c and h are *Ginkgo biloba*, d and i are *Zelkova serrata*, and e and j are *Acer palmatum*. The table below is the significance of O₃, species and their interaction, analysed two-way ANOVA at the significance of 0.05 (p is provability).

서 a/b 값이 낮아졌다. 하지만 90 ppb(처리 후 30일)에서 튜립나무 처리구의 엽록소 a/b값이 오존처리구가 대조구

에 비해 낮게 나타난것에 비해, 산수유는 90 ppb처리에서 두 처리간의 차이가 70 ppb(처리 후 20일)보다 크지 않았

다. 은행나무와 느티나무는 70 ppb(처리 후 20일)에서 a/b 값이 처리구와 대조구 모두 감소했다가 90 ppb(처리 후 30일)에서 증가하는 경향을 보였고, 농도가 증가할수록 처리간 차이가 더 커졌다. 단풍나무에서는 농도변화에 따라 은행나무와 느티나무와 유사한 경향을 보였지만 처리간의 유의차는 없었다.

최정호와 정진철(2002)과 Thornber(1974)에 의하면 엽록소 a:b 비율에 있어 보통 a와 b의 비율은 3정도이고, 잎의 노화와 생육이 정지되는 시기에는 b의 함량이 증가하면서 a/b 비율이 낮아진다고 보고한 바 있다. 산수유와 튜립나무의 경우 70 ppb(처리 후 20일)에서 대조구에 비해 오존 처리구의 a/b 값이 50 ppb(처리 후 10일)에서 보다 큰 폭으로 감소한 것을 볼 수 있다. 오존처리에 따른 가지적 피해가 나타나면서 처리구의 잎이 더디게 생육한 것을 볼 수 있었는데 여기에 엽록소 b의 증가가 그 원인일 것이라고 생각된다. 한편, 90 ppb(처리 후 30일)에서는 이 두 수종의 a/b 함량의 처리간 차이가 줄어들었는데(Table 2) 이는 식물이 생육이 왕성한 시기를 이용하여 회복을 하는 과정이라 판단된다. 이 시기에 기공저항 값이 낮아지고 증산율이 높아졌는데(Figure 2), 식물이 초기의 피해를 극복하기 위하여 CO₂ 흡수를 위해 기공을 연 것이라고 판단된다. 나머지 수종에서 엽록소 a/b 함량 비율이 70 ppb(처리 후 20일)에서 낮아진 것은 대조구와 처리구 모두 나타났기 때문에 오존처리에 의한 것이라고 생각되지 않으며 기공저항과 증산률과도 상관성을 찾기 어려웠다. 따라서 이는 유묘가 성장하면서 나타나는 수종 고유의 성장 특성이라 생각된다.

3. 기공 활성

기공은 가스교환의 중요한 통로인 동시에 대기오염물질의 1차 유입장소이기도 하다. 잎에서의 증산은 잎 공간과 외기와의 수증기 농도의 차이, 그리고 이 경로의 확산저항(diffusive resistance)이라는 두 가지 주요한 요인에 의존한다(Lincoln and Eduardo, 2005). 확산저항은 잎 기공저항(leaf stomatal resistance, r_s)과 잎의 경계층저항(boundary layer resistance, r_b)으로 나뉘는데, 전자는 기공을 통한 확산과 관련된 저항을 뜻하며, 후자는 수증기가 대기의 교란층에 도달하기 위해서 확산 통과해야만 하는 잎 표면 주위의 정체층에 의한 저항을 뜻한다. 기공저항의 변화는 식물이 수분 소실을 조절하고, 광합성 도중에 지속적인 CO₂ 고정에 필요한 이산화탄소의 흡수율을 통제하는 데 중요한데 이는 경계층 저항이 생물학적으로 조절할 수 없는 반면 기공 저항은 기공의 열림과 닫힘으로 조절될 수 있기 때문이다. 따라서 phytotron 내 일정하게 유지되는 환경조건에 따라 경계층 저항값이 일정하다고 했을 때, steady state porometer로 측정된 확산저항으로 간

접적으로 기공 저항값을 추정할 수 있다.

Figure 2는 각 수종별로 steady state porometer(Li-1600, Li-cor, NE, USA)로 측정된 기공의 확산저항과 증산률을 나타낸 것이다. 기공저항과 오존처리의 관계를 살펴보면 처리 후 15일(70 ppb)까지는 오존처리에 의해 저항값이 변하였지만 그 이후로는 오존이 저항값에 미치는 유의성을 찾을 수 없었다. 수종간의 차이 역시 시간이 지나면서 값의 유의차가 나타나지 않았다. 전체적으로 오존처리구의 저항값이 높으면서 대조구와 처리구 모두 시간이 지나면서 저항값이 감소하는 경향을 보였는데 예외적으로 튜립나무와 산수유의 경우 70 ppb, 즉 오존 처리 기간인 처리 후 20일에 측정된 저항값이 증가하였다.

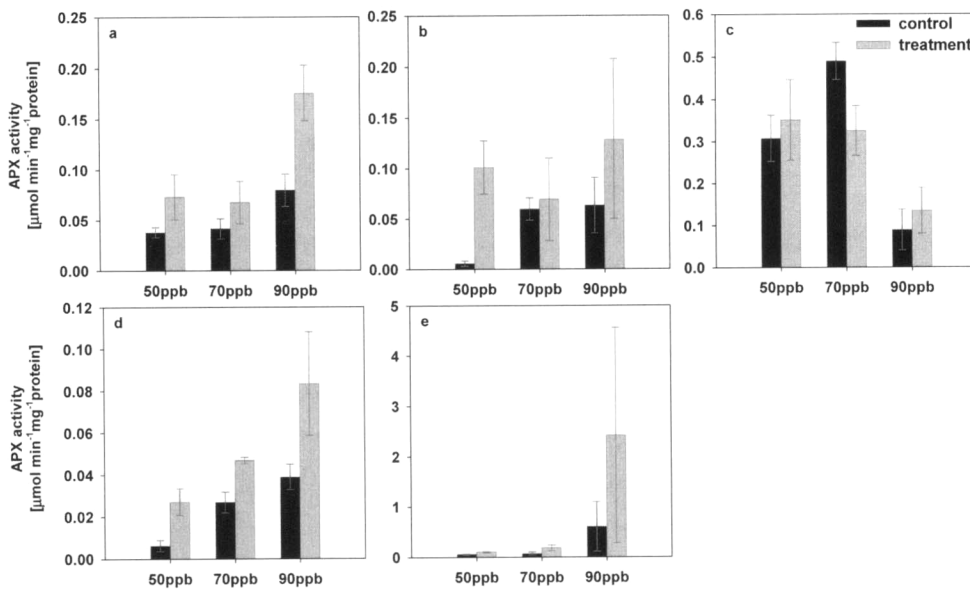
증산율의 경우 대조구의 증산율이 처리구보다 높았으며 대조구와 처리구가 거의 같은 경향을 보였다. 예외로써 처리간의 유의차는 기공저항이 처리간 유의성을 나타내지 않는 시점인 처리후 20일부터 유의차가 나타나며 점점 증산율이 증가하는 경향을 보였다. 전 수종에서 시간이 지남에 따라 증가하는 증산율은 식물이 생육하면서 나타나는 일반적인 경향이라 보여진다. 하지만 처리간의 유의차로 보아 오존의 영향이 식물의 증산량 감소에 영향을 미치는 것으로 생각된다.

4. 항산화 효소 활성

Ascorbate Peroxidase(APX)는 대표적인 항산화효소로서 식물 잎의 광합성 기구인 엽록체 틸라코이드막, 그리고 엽록체의 기질인 스트로마에 존재한다. 이 중 엽록체는 water-water cycle을 통해 활성산소종을 소거시키게 되고 여기에서 APX는 광환원 반응을 통해 틸라코이드막에서 CuSOD에 의해 변한 H₂O₂를 물로, 그리고 틸라코이드에서 소거되지 못한 H₂O₂를 스트로마에서 물로 최종적으로 제거시키는 역할을 한다(Asada, 1999). 따라서 APX의 활성은 스트레스 산물인 활성산소종의 발생량을 간접적으로 가늠할 수 있는 지표가 된다(Ashraf and Harris, 2004, Bernardi et al., 2004, Zhou et al., 2004).

Figure 3은 각 수종별 농도에 따른 항산화효소의 활성도를 나타낸 것이다. 농도변화에 따라 APX 효소활성 역시 모두 변화하였고 변화의 정도는 수종에 따라 다르게 나타났다. 은행나무를 제외하고 대체적으로 시간이 지남에 따라 대조구와 처리구 모두 활성도가 증가하는 것으로 나타났다. 이는 식물이 더 이상의 광합성 기구의 손실을 막기 위하여 항산화물질, 그 중에서도 Ascorbate의 pool을 늘림에 기인한 것으로 판단된다(Kronfuß et al., 1998).

은행나무의 경우 90 ppb(처리 후 30일)에서 급격하게 APX의 활성이 대조구와 처리구 모두에서 감소한 모습을 보였는데 이는 은행나무의 항산화 체계가 다른 수종과 다르다는 것을 제시해볼 수 있다. 이에 관해서 Xingyuan et



Parameter	Source	p values		
		50	70	90
APX activity	Ozone	0.6748	0.1592	0.5528
	Species	0.0197	<.0001	0.0377
	Ozone*species	0.0054	0.9222	0.8163

Figure 3. APX activity ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein) of 6 species: a is *Liriodendron tulipifera*, b is *Cornus officinalis*, c is *Ginkgo biloba*, d is *Zelkova serrata*, and e is *Acer palmatum*. The table below is the significance of O_3 , species and their interaction, analysed two-way ANOVA at the significance of 0.05 (p is provability).

al.(2006)가 장기간 오존을 처리했을 때 처음에 APX의 활성이 증가했지만 오랜 이후 은행나무의 Ascorbate의 양이 줄어들면서 이에 따라 APX 활성이 같이 감소한 것을 보고한 바 있다. 처리간 활성도는 가시적인 피해가 나타난 튼잎나무와 산수유에만 국한되지 않고 전 수종에서 오존 처리구가 더 높았지만 오존 처리간 유의성은 찾을 수 없었다. 이를 볼 때 식물마다의 스트레스의 정도를 지표하기 위해서는 항산화 체계를 조사하는 것이 요구되며, 이를 위해서는 한 두 종의 항산화효소에만 국한하는 것이 아닌 항산화물질까지 범위를 넓혀 전체적인 항산화 사이클을 정량적으로 조사하는 것이 필요하다고 판단된다.

결론

저농도 오존 처리에 따른 식물의 성장반응을 알아보기 위해 도침에 많이 식재되는 다섯 가지 수종인 튼잎나무, 산수유, 은행나무, 느티나무, 단풍나무를 phytotron에서 6월 9일부터 7월 8일까지 약 한달동안 10일마다 20 ppb씩 단계적으로 농도를 증가시키면서 엽록소 함량, 항산화효소인 APX의 활성도, 기공저항과 증산률을 측정, 분석하였다.

가시피해가 먼저 나타난 수종은 튼잎나무와 산수유로

써 이 시기에 엽록소 함량과 기공저항이 오존의 영향을 받은 것으로 추정된다. 기존에 오존에 강하다고 알려져 있는 나머지 세 수종에서는 처리 기간 동안 뚜렷한 가시적 피해는 확인 할 수 없었지만 오존 처리가 이들의 생리적 활성을 점점 감소시키고 있음을 위의 분석을 통해 확인하였다. 따라서 이 네 수종에 대해서 저농도의 오존처리가 장기간 지속된다면 전체적인 식물 활력도의 저하가 나타날 것이라고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2005년도 서울시 산학연 협력사업(2005-10632)과 2006년 정부(교육인적자원부)재원으로 한국학술진흥재단의 지원(KRF-2006-C00118)을 받아 수행하였습니다.

인용문헌

1. 김영모, 한상섭, 이성재. 1990. 잣나무 채종목의 클론별 침엽의 엽록소 함량의 연간변동. 임목육종연보 26: 97-103.
2. 박재주, 김재봉, 이우길, 배정오, 고경석, 이경재, 이용범,

- 김정규, 최만식. 1987. 환경오염 식물지표법의 개발연구 (I). 국립환경연구원보고서. pp. 1-195.
3. 우수영, 이성환, 권기원, 이재천, 최정호. 2004. 오존스트레스에 대한 몇 수종의 생장, 광합성, Ascorbate peroxidase 활성반응. 한국임학회지 93(5): 409-414.
 4. 최정호, 정진철. 2002. 생육시기에 따른 무궁화 및 품종의 엽록소 함량 변화. 생명자원과학연구 24: 28-34.
 5. Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenol-oxidase in *Betula vulgaris*. Plant Physiology 24: 1-15.
 6. Asada K. 1999. The water-water cycle in chloroplast: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. Annual review, Plant physiology, Plant molecular biology. 50: 601-639.
 7. Ashraf M. and P.J.C. Harris. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant science 166: 3-16.
 8. Baczek K.R. and J. Koscielniak. 2003. Antioxidative effect of elevated CO₂ concentration in the air on maize hybrids subjected to severe chill. Photosynthetica 41(2): 161-165.
 9. Bernardi, R., C. Nali, P. Ginestri, C. Pugliesi, G. Lorenzini and M. Durante. 2004. Antioxidant enzyme isoforms on gels in two poplar clones differing in sensitivity after exposure to ozone. Biologia plantarum 41(2): 161-165.
 10. Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry 72(2): 248-254.
 11. Davis D.D. and J.B. Coppolono. 1976. Ozone susceptibility of selected woody shrubs and vines. *Plinsu dis. repr* 60: 876-878.
 12. Heath R.L. 1980. Initial events in injury to plants by air pollutant. Plant physiology 31: 395-431.
 13. Kangasjarvi J., J. Talvinen, M. Utriainen and R. Karjalainen. 1994. Plant defence systems induced by ozone. Plant Cell and Environment 17: 783-794.
 14. Kronfuß G., A. Polle, M. Tausz, W.M. Havranek, and G. Wieser. 1998. Effects of ozone and mild drought stress on gas exchange, antioxidants and chloroplast pigments in current-year needle of young Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst]. Trees 12: 482-489.
 15. Lincoln T. and Z. Eduardo. 2005. Plant Physiology. Life science. pp. 54-59.
 16. Pääkkönen E., J. Vahala, M. Pohjola, T. Holopainen, and L. Karenlampi. 1998. Physiological, stomatal, and ultrastructural ozone responses in birch (*Betula pendula* Roth.) are modified by water stress. Plant, Cell and Environment 21: 671-684.
 17. Shannon J.G. and, C.L. Mulchi. 1974. Ozone damage to wheat varieties at anthesis. Crop Science 14: 335-337.
 18. Thornber, J.P. 1975. Chlorophyll proteins : Light harvesting and reaction center components of plants, Annual. Review. Plant Physiology 26: 127-158.
 19. Winner W.E. 1994. Mechanistic analysis of plant responses to air pollution. Ecological Applications 4(4): 651-661.
 20. Woo, S.Y., K.W. Kwon, J.C. Lee, J.H. Choi and B.S. Kang. 2003. Recovery of net photosynthetic rate after SO₂ Fumigation in *Quercus acutissima*, *Pinus densiflora*, *Populus alba* x *P. glandulosa*, and *Acanthopanax sessiliflorus*. Photosynthetica 41(2): 319-320.
 21. Xingyuan H.E., Y. Ruan, W. Chen, and T. Lu. 2006. Responses of the anti-oxidative system in leaves of *Ginkgo biloba* to elevated ozone concentration in an urban area. Botanical Studies 47: 409-416.
 22. Zhou, Y.H., J.Q. Yu, L.F. Huang and S. Nogus. 1994. The relationship between CO₂ assimilation, photosynthetic electron transport and water-water cycle in chill-exposed cucumber leaves under low light and subsequent recovery. Plant, Cell and Environment 27: 1503-1514.

(2007년 8월 3일 접수; 2007년 8월 22일 채택)