

표준화 지수를 이용한 환경수목의 오존 내성 결정

한심희^{1,*}, 김두현¹

¹국립산림과학원 산림유전자원부

(2009년 3월 4일 접수; 2009년 3월 13일 수정; 2009년 3월 19일 수락)

Determination of Ozone Tolerance on Environmental Tree Species Using Standard Index

Sim-Hee Han^{1,*} and Du-Hyun Kim¹

¹Department of Forest Genetic Resources, Korea Forest Research Institute, Suwon 441-350, Korea

(Received March 4, 2009; Revised March 13, 2009; Accepted March 19, 2009)

ABSTRACT

Ozone tolerance of tree species was determined by standard index of physiological damages and biochemical defense responses under short-term ozone exposure. At the end of 150ppb O₃ fumigation, photosynthetic characteristics and antioxidative enzyme activities were analyzed in the leaves of five species (*Koelreuteria paniculata*, *Firmiana simplex*, *Styrax japonica*, *Fraxinus rhynchophylla*, *Viburnum sargentii*). Injury index was determined by the effect of ozone on photosynthetic parameters and malondialdehyde (MDA) content, and tolerance index was calculated using the rate of increase in superoxide dismutase (SOD), ascorbate-peroxidase (APX), glutathione reductase (GR) and catalase (CAT) activities. Apparent quantum yield (AQY), carboxylation efficiency (*C_e*) and photo-respiration rate (PR) decreased in the leaves of five species with increasing ozone exposure time. These parameters were considered as an appropriate indicator for stress evaluation. Antioxidative enzyme activities showed various results depending on the tree species, exposure time, and enzyme types. SOD activity of *K. paniculata* increased with ozone exposure time, and that of *F. rhynchophylla* increased only after 6 hours of ozone exposure. CAT activity of O₃-exposed *F. simplex* was lower than the control. Based on standard index, ozone tolerance ability of five species was determined as two tolerant species (*F. rhynchophylla* > *K. paniculata*) and three sensitive species (*S. japonica* > *F. simplex* > *V. sargentii*).

Key words : Physiological damage, Antioxidative enzyme, Photosynthetic parameters, Standard index

I. 서 론

최근 지구온난화 문제와 더불어 대기환경에서 가장 심각한 문제가 되고 있는 것이 오존(O₃)이다. 오존은 주로 질소산화물(NO_x), 탄화수소(HC), 메탄(CH₄), 일산화탄소(CO) 등과 같은 대기오염물질들이 태양 빛에 의해 광화학 반응을 일으켜 생성된다. 오존은 화석연료를 사용하는 지역에서는 어디에서나 발생될 수 있으며, 대기 중 확산이 쉬워 광범위하게 영향을 준다는데

더 큰 문제가 있다. 최근까지 우리나라의 대도시 오존 농도는 지속적으로 상승해 왔으며, 오존주의보(0.12ppm/시간) 발령일수 및 횟수도 계속 증가하고 있다. 2008년 한 해에는 오존주의보가 4월부터 9월까지 총 32일 101회 발령되었으며, 최고농도는 0.203ppm에 달했다. 지역별로 보면 서울지역이 8일 23회로 가장 많았다(Ministry of Environment, 2008).

오존이 식물체에 흡수되면 기공 폐쇄와 엽육세포 파괴 등을 유발하여 광합성 능력(Pääkkönen *et al.*,

* Corresponding Author : Sim-Hee Han (simhee02@forest.go.kr)

1996) 및 생리·생화학적인 과정의 저해를 통하여 수목의 생장을 감소시킨다(Pye, 1988). 오존이 식물 체내로 유입되었을 때 나타나는 반응을 두 가지로 나눌 수 있다. 하나는 체내로의 오존 유입을 차단하기 위하여 기공을 닫는 기피성 반응이고, 다른 하나는 세포 내에 유입된 오존에 의해 발생된 독성물질인 활성산소들을 항산화효소나 항산화물질을 이용하여 직접 해독하는 내성 반응이다(Heath, 1980).

그러나 스트레스에 대항하는 식물의 반응은 수종에 따라 매우 차이가 심하고(Han *et al.*, 2006), 같은 수종이라도 양분이나 광 같은 생육 환경 조건에 따라 내성 능력이 차이가 난다(Kim *et al.*, 2008). 또한 위의 두 가지 반응은 개별적으로 나타나는 것이 아니라, 오존에 노출된 식물 전체에서 복합적으로 상호 연계하여 일어나기 때문에, 어느 한 가지 현상만을 측정하여 오존에 대한 민감성 또는 내성을 결정하는 것은 바람직하지 않다.

최근까지 오존에 대한 수목의 반응에 관하여 많은 연구 결과가 제시되었으나(Lee *et al.*, 2006; Han *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2008), 앞서 언급한 바와 같이 오존에 대한 생리·생화학적인 반응들이 복합적으로 나타나기 때문에 오존과 수목의 내성에 대한 관계를 정확하게 밝혀내는데 어려움이 있었다. 따라서 오존에 대한 수목의 내성 및 민감성을 정확히 평가하기 위해서는 이들의 연관성을 종합적으로 고려할 필요가 있다(Bortier *et al.*, 2001).

식물의 오존에 대한 반응은 노출 강도와 노출 시간에 따라 다르게 나타나는데(Nie *et al.*, 1993; Pell *et al.*, 1997), 대부분의 오존관련 연구는 장기 노출에 대한 결과들이다. 오존의 장기 노출 연구는 야외에서 나타나는 수목의 생리 반응을 장기적인 측면에서 예측하고, 오존 스트레스 내성 수종 선발 등에는 적합하나, 장기 오존 노출에 의한 수목의 적응 능력이 증가하여 일시적으로 발생하는 정확한 생리적 변화를 찾아내기는 어렵다. 따라서 본 연구에서는 오존에 단기간 노출된 조정 수목을 대상으로 생리 지표들의 변화를 측정하고, 이들 측정 지표들을 표준화하여, 오존에 대한 수종 간 민감성 및 내성을 결정하는데 활용하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

2.1. 공시 재료

공시 재료는 모감주나무(*Koelreuteria paniculata*

LAXM.), 벽오동(*Firmiana simplex* W.F. WIGHT), 매죽나무(*Styrax japonica* S. et Z.), 물푸레나무(*Fraxinus rhynchophylla* HANCE), 백당나무(*Viburnum sargentii* KOEHNE)를 이용하였으며, 국립산림과학원 산림유전자원부(경기도 수원시 권선구 오목천동 44-3)의 온실에서 파종하여 양묘한 후 포트에 옮겨 심었다. 오존 처리 1주일 전에 생장이 균일하고 활력이 있는 묘목을 수종별로 10개체씩을 선발하여 산림유전자원부 환경제어실의 인공광 온실 내에서 적응시켰다. 인공광 온실의 광 조건은 $450\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 온도는 $25\pm 1^\circ\text{C}/\text{day}$, 20, 습도는 RH $70\pm 5\%$ 를 유지하였다.

2.2. 오존 처리 및 시료 채취

오존 처리는 인공광 chamber를 이용하였으며, 처리 구분은 대조구인 오존 비처리구와 오존 처리구로 구분하였다. 오존 처리 농도는 우리나라 오존 주의보 발령 기준인 1시간 평균 120ppb로 정하였으며, 실험기간 동안의 대조구와 처리구 챔버내의 평균 오존 농도는 각각 $5\pm 1\text{ppb}$, $120\pm 20\text{ppb}$ 로 기록 되었다.

오존 노출에 대한 특성 분석을 위하여, 오존 처리 전과 오존 처리 1시간, 3시간, 6시간 후에 광합성 특성을 측정하고, 광합성 특성을 측정한 잎을 채취하여, 항산화효소 활성과 MDA 함량 측정에 이용하였다.

2.3. 광합성 특성 측정

광합성관련 파라미터들의 측정은 LI-6400 휴대용 광합성 측정기(LI-COR Inc., USA)를 이용하여 측정하였다. 광합성 측정 시 leaf chamber의 조건은 온도 25°C , 상대 습도 60%로 고정하였으며, 줄기 끝에서 4~6번 잎을 10분간 측정하여 평균치를 이용하였다.

광도 변화에 대한 광합성 반응은 LED light source의 광량을 0, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, $1500\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 로 조절하면서 각 광량에 따른 광합성 속도를 측정하고, 광도에 따라서 광합성 속도가 직선적으로 증가하는 PPFD $100\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이하의 값을 이용하여 회귀식($y=a+bx$)을 산출하였다(Kim and Lee, 2001). 회귀식에서 y의 절편인 a는 암호흡속도이며, x의 절편인 -a/b는 광보상점(light compensation point)이다. 기울기 b는 흡수한 단위 광양자의 광합성 양을 나타내며, 순양자수율(apparent quantum yield)이라 부른다(Kim and Lee, 2001).

CO_2 농도에 대한 광합성 반응은 엽육 내 CO_2 농

도 변화에 따른 광합성속도 변화를 이용하여 측정하였다(Kim and Lee, 2001). 광도 $1,100\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 leaf chamber에 유입되는 공기의 유량과 온도는 위와 동일한 조건에서 수행하였다. Leaf chamber에 공급되는 공기의 CO_2 농도를 0, 50, 100, 200, 300, 360, 400, $500\mu\text{mol CO}_2\text{mol}^{-1}$ air로 조절하면서 광합성을 측정하였으며, 엽육 내부의 CO_2 농도는 Caemmerer and Farquhar(1981)의 식을 적용하여 산출하였다. 광합성 측정기의 leaf chamber에 공급되는 CO_2 농도를 변화시켜 측정된 광합성 속도의 결과를 사용하여, 엽육 내 CO_2 농도(C_i)와 광합성(A)의 관계를 나타내는 A- C_i curve를 작성하고, 이 결과에서 탄소고정효율(carboxylation efficiency), 광호흡속도를 산출하였다. 탄소고정효율은 C_i 에 따른 광합성의 증가가 직선적으로 이루어지는 C_i $150\mu\text{mol CO}_2 \mu\text{mol}^{-1}$ 이하에서의 회귀직선($y=a+bx$)의 기울기(b)이다. 이 값은 광합성에서 CO_2 고정계의 활성, 즉 rubisco의 활성에 관한 정보를 반영하고 있다(Farquhar *et al.*, 1980). 또한 이 회귀직선에서 y절편인 a, 즉 C_i 의 값이 0Pa일 때의 CO_2 교환속도를 광호흡속도(photorespiration)로 하였다(Ro *et al.*, 2001).

2.4. 항산화효소 활성 및 MDA 함량 측정

항산화효소의 활성 측정을 위하여 신선한 잎 0.1g의 시료를 채취하여 50mM phosphate buffer(pH 7.0), 10mM ascorbic acid(AsA)와 1.0%(w/v) polyvinylpyrrolidone(PVP) 혼합액 1.5mL를 넣고 균질화시킨 후, 20,000×g에서 30분 동안 원심분리한 후 상등액을 효소 활성 분석에 사용하였다. 항산화효소인 superoxide dismutase(SOD), ascorbate-peroxidase(APX), glutathione reductase(GR) 및 catalase(CAT) 활성 분석은 Han *et al.*(2007)과 Kim *et al.*(2008)의 방법을 따랐다.

스트레스에 의한 조직의 손상 정도를 알아보기 위한 malondialdehyde(MDA) 함량은 Heath and Parker (1968)의 방법을 따랐다. 신선한 잎 0.1g에 62.5mM phosphate buffer(pH 7.8)를 넣고 균질화시킨 후, 12,000×g에서 20분간 원심분리를 실시하였다. 추출액 1mL와 0.5% 2-thiobarbituric acid 1mL를 첨가하여 15분간 가열한 후 빠르게 냉각시켰다. 흡광도는 532nm와 600nm에서 측정하여 MDA 함량을 결정하였다.

2.5. 표준화 지수 계산

5개 수종의 오존 내성 능력은 위에서 측정된 파라미터들을 기초로 하여 Kim *et al.*(2008)의 방법에 따라 결정하였다. 각 파라미터들은 오존 노출 후 나타나 반응에 따라 피해지수와 내성 지수로 구분하였다. 피해지수는 광합성과 MDA 함량과 같이 오존 노출 후 생리적 피해를 측정할 수 있는 파라미터들을 이용하여 계산하였으며, 내성지수는 항산화효소와 같이 오존 노출에 의한 생리적 피해를 방지하는데 관여하는 파라미터들을 이용하여 계산하였다.

각 파라미터들의 표준화 지수는 $(X-X_{avg})/SD$ 의 계산식을 사용하였으며, 여기서 X는 각 수종의 무처리구와 오존 처리구간 변화량[$\%=(\text{무처리}-\text{처리})/\text{무처리}\times 100$]의 평균값, X_{avg} 는 모든 수종에 대한 무처리구와 오존 처리구간 변화량[$\%=(\text{무처리}-\text{처리})/\text{무처리}\times 100$]의 평균값, SD는 모든 수종의 변화량에 대한 표준 편차를 의미한다.

피해지수 및 내성지수를 구하기 위하여, 각 파라미터들에 가중치를 부여하여 표준화 지수를 곱하였다. 가중치는 피해지수(50)와 내성지수(50)에 동일한 값을 부여하여 합이 100이 되도록 하였으며, 피해지수와 내성지수의 파라미터 개수에 따라 가중치를 동등 배분하되, 유사한 특성을 가진 파라미터(탄소고정효율, 광호흡속도, 순양자수율)에는 동일한 가중치를 주었다. 두 지수의 합을 구하여 최종적으로 수종별 내성 능력을 결정하였다.

III. 결 과

3.1. 광합성 특성

광-광합성 곡선을 이용하여 산출한 5개 조경 수목의 오존 처리시간별 순양자수율, 암호흡속도 및 광보상점은 Table 1과 같다. 순양자수율은 수종 간, 처리 간 차이를 보였으며($p<0.05$), 수종과 처리 간 상호작용도 존재하였다. 모감주나무, 때죽나무, 물푸레나무의 순양자수율은 오존 처리 1시간 후에 가장 높았으며, 모감주나무와 벽오동의 순양자수율은 오존 처리 6시간 후에 가장 낮은 반면, 때죽나무와 물푸레나무의 순양자수율은 무처리에서 가장 낮았다. 대부분 수종의 순양자수율은 오존 처리 시간이 길어짐에 따라 감소하는 경향을 보였다. 그러나 백당나무의 순양자수율은 오존 처리 시간에 따른 차이가 없었다.

Table 1. Changes in photosynthetic parameters of five environmental tree species with ozone exposure time

Species	Treat	Apparent quantum yield (mmol CO ₂ mol ⁻¹)	Dark respiration rate (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	Light compensation point (μmol m ⁻² s ⁻¹)	Carboxylation efficiency (mmol CO ₂ mol ⁻¹)	Photo respiration rate (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)
<i>Koelreuteria paniculata</i>	Control	0.034 ± 0.004 ab	0.524 ± 0.167 a	15.1 ± 3.2 a	0.033 ± 0.004 ab	1.73 ± 0.22 ab
	T1	0.038 ± 0.004 a	0.860 ± 0.378 a	22.2 ± 7.9 a	0.037 ± 0.005 a	2.05 ± 0.21 a
	T3	0.028 ± 0.002 bc	0.569 ± 0.190 a	20.0 ± 6.1 a	0.025 ± 0.004 b	1.51 ± 0.18 b
	T6	0.025 ± 0.006 c	0.575 ± 0.301 a	23.2 ± 9.4 a	0.024 ± 0.007 b	1.46 ± 0.30 b
<i>Firmiana simplex</i>	Control	0.027 ± 0.002 a	0.583 ± 0.281 a	21.1 ± 9.0 a	0.027 ± 0.002 a	1.48 ± 0.36 a
	T1	0.024 ± 0.002 ab	0.350 ± 0.099 a	14.4 ± 2.8 a	0.022 ± 0.002 b	1.23 ± 0.40 ab
	T3	0.026 ± 0.002 ab	0.390 ± 0.216 a	14.7 ± 7.1 a	0.021 ± 0.002 b	1.15 ± 0.09 ab
	T6	0.022 ± 0.002 b	0.476 ± 0.120 a	21.5 ± 4.7 a	0.013 ± 0.002 c	0.79 ± 0.27 b
<i>Styrax japonica</i>	Control	0.014 ± 0.002 c	0.511 ± 0.185 a	34.9 ± 10.3a	0.024 ± 0.002 b	1.33 ± 0.22 ab
	T1	0.026 ± 0.004 a	0.589 ± 0.386 a	21.6 ± 10.5ab	0.031 ± 0.002 a	1.66 ± 0.04 a
	T3	0.024 ± 0.004 ab	0.233 ± 0.082 a	9.7 ± 1.9 b	0.021 ± 0.002 b	1.17 ± 0.31 b
	T6	0.016 ± 0.004 bc	0.265 ± 0.103 a	15.7 ± 2.7 b	0.016 ± 0.003 c	0.94 ± 0.26 b
<i>Fraxinus rhynchophylla</i>	Control	0.035 ± 0.001 b	0.324 ± 0.064 c	9.3 ± 1.4 b	0.028 ± 0.001 bc	1.47 ± 0.25 a
	T1	0.046 ± 0.003 a	0.706 ± 0.048 a	15.5 ± 1.9 a	0.041 ± 0.002 a	2.07 ± 0.34 a
	T3	0.041 ± 0.002 ab	0.528 ± 0.081 b	12.8 ± 2.2 ab	0.035 ± 0.004 ab	1.87 ± 0.33 a
	T6	0.040 ± 0.005 ab	0.655 ± 0.093 ab	16.5 ± 3.6 a	0.026 ± 0.008 c	1.61 ± 0.83 a
<i>Viburnum sargentii</i>	Control	0.039 ± 0.006 a	0.233 ± 0.231 a	5.6 ± 5.1 a	0.039 ± 0.003 a	1.69 ± 0.15 a
	T1	0.034 ± 0.002 a	0.488 ± 0.010 a	14.4 ± 1.0 a	0.024 ± 0.008 b	1.73 ± 0.30 a
	T3	0.033 ± 0.001 a	0.308 ± 0.034 a	9.4 ± 1.3 a	0.024 ± 0.004 b	1.33 ± 0.41 ab
	T6	0.030 ± 0.001 a	0.376 ± 0.179 a	12.3 ± 5.5 a	0.016 ± 0.004 b	1.04 ± 0.11 b
Pr > F	Species (S)	***	*	**	***	***
	Treat (O ₃)	***	n.s.	n.s.	***	***
	S×O ₃	**	n.s.	**	***	n.s.

All the values are means of five replicates ± SD; Values with the different letter indicate significant differences ($p \leq 0.05$) according to Duncan's multiple range test. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$ and n.s.: not significant

암호흡속도는 수종 간 차이는 있었지만, 물푸레나무를 제외한 모든 수종에서 오존 처리 시간에 따른 차이가 나타나지 않았다(Table 1). 물푸레나무의 암호흡속도는 오존 처리 1시간 후에 가장 높았으며, 무처리가 가장 낮았다.

5개 수종의 광보상점은 수종 간 차이가 컸으나, 오존 처리 시간에 따른 차이는 크지 않았다. 때죽나무의 광보상점은 무처리에서 가장 높았고, 오존 처리 3시간 후에 가장 낮았다. 그러나 물푸레나무의 광보상점은 무처리가 오존 처리구보다 낮게 나타났었다(Table 1). 모감주나무, 벽오동, 백당나무의 광보상점은 오존 처리 시간에 따른 차이를 보이지 않았다.

엽육 내 CO₂ 농도에 대한 광합성 반응(A-C_i 곡선)을 이용하여 계산한 5개 조경 수목의 탄소고정효율과 광호흡속도는 Table 1과 같다.

탄소고정효율은 수종 간 뚜렷한 차이를 보였으며 ($p < 0.05$), 오존 처리 시간과 상호작용도 존재하였다. 모감주나무, 때죽나무, 물푸레나무의 탄소고정효율은

순양자수율과 마찬가지로 오존 처리 1시간 후에 가장 높았으며, 벽오동과 백당나무의 탄소고정효율은 무처리에서 가장 높았다. 반면 5개 수종의 탄소고정효율은 오존 처리 6시간 후에 가장 낮은 값을 나타냈으며, 오존 처리 후 시간에 경과함에 따라 탄소고정 효율은 감소하였다. 모감주나무, 때죽나무, 물푸레나무의 광호흡속도도 탄소고정효율과 마찬가지로 오존 처리 1시간 후에 가장 높은 값을 보여 주었으며, 벽오동은 무처리에서 가장 높았다. 반면 물푸레나무를 제외한 모든 수종에서 오존 처리 6시간 후에 가장 낮은 광호흡속도를 나타냈으며, 오존 처리 시간이 경과함에 따라 광호흡속도는 감소하였다.

3.2. 항산화효소 활성 및 MDA 함량 변화

항산화효소 활성은 수종 및 처리 시간에 따라 다양한 반응을 나타냈다(Table 2). 모감주나무의 경우, SOD와 APX는 오존 처리 시간에 따라 활성 차이를 보였지만, GR과 CAT는 활성 차이를 보이지 않았다.

Table 2. Changes in antioxidative enzyme activities of five environmental tree species with ozone exposure time

Species	Treat	SOD (unit g ⁻¹)	APX (μ mol g ⁻¹)	GR (nmol g ⁻¹)	CAT (unit g ⁻¹)
<i>Koelreuteria paniculata</i>	Control	4327 \pm 503 b	429 \pm 44 a	2920 \pm 1265 a	1475 \pm 146 a
	T1	5634 \pm 343 a	545 \pm 117 a	2364 \pm 609 a	1393 \pm 197 a
	T3	5734 \pm 124 a	288 \pm 31 b	2863 \pm 142 a	1598 \pm 221 a
	T6	5279 \pm 174 a	452 \pm 57 a	1530 \pm 131 a	1679 \pm 227 a
<i>Firmiana simplex</i>	Control	860 \pm 79 ab	226 \pm 19 a	374 \pm 37b	617 \pm 32 a
	T1	682 \pm 124 b	166 \pm 32 a	913 \pm 7 a	472 \pm 77 b
	T3	938 \pm 56 a	134 \pm 62 a	406 \pm 42 b	522 \pm 22 ab
	T6	728 \pm 118 b	203 \pm 63 a	344 \pm 183 b	523 \pm 71 ab
<i>Styrax japonica</i>	Control	272 \pm 28 a	3079 \pm 234 a	112 \pm 72 a	766 \pm 121 a
	T1	247 \pm 66 a	2672 \pm 87 b	525 \pm 257 a	617 \pm 9 a
	T3	254 \pm 32 a	3065 \pm 52 a	336 \pm 86 ab	822 \pm 387 a
	T6	227 \pm 17 a	3017 \pm 229 a	211 \pm 80 b	609 \pm 2 a
<i>Fraxinus rhynchophylla</i>	Control	962 \pm 254 b	466 \pm 119 a	349 \pm 45 a	840 \pm 84 a
	T1	552 \pm 80 b	497 \pm 38 a	262 \pm 108 a	797 \pm 105 a
	T3	609 \pm 95 b	452 \pm 90 a	308 \pm 38 a	796 \pm 85 a
	T6	1499 \pm 318 a	459 \pm 43 a	490 \pm 312 a	796 \pm 17 a
<i>Viburnum sargentii</i>	Control	455 \pm 162 a	429 \pm 44 a	215 \pm 76 ab	686 \pm 79 a
	T1	329 \pm 106 a	545 \pm 117 a	242 \pm 56 a	460 \pm 16 b
	T3	377 \pm 72 a	288 \pm 31 b	83 \pm 46 c	596 \pm 61 ab
	T6	346 \pm 18 a	452 \pm 57 a	117 \pm 9 bc	770 \pm 156 a
Pr > F	Species (S)	***	***	***	***
	Treat (O ₃)	**	n.s.	n.s.	*
	S×O ₃	***	***	**	n.s.

All the values are means of five replicates \pm SD; Values with the different letter indicate significant differences ($p \leq 0.05$) according to Duncan's multiple range test. * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$ and n.s.: not significant

모감주나무의 SOD 활성은 오존처리구가 무처리보다 높았으나, 오존 처리 시간의 경과에 따른 차이는 뚜렷하지 않았다. 반면 모감주나무의 APX 활성은 오존 처리 1시간 후와 6시간 후에 무처리보다 증가하였으나, 3시간 후에는 오히려 무처리보다 낮은 값을 나타내었다.

벽오동의 SOD, GR 및 CAT 활성은 오존 처리 간 차이를 보였으며, APX 활성은 차이가 없었다. 벽오동의 SOD 활성은 오존 처리 3시간 후에 가장 높았으나, 오존처리 1시간 후와 6시간 후에는 무처리보다 낮았다. 반면, GR 활성은 오존 처리 1시간 후에 가장 높았다가 오존 처리 시간이 경과함에 따라 점차 감소하여 오존 처리 6시간 후에는 무처리보다 낮은 값을 나타냈다. 또한 CAT 활성은 오존 처리구가 무처리보다 낮은 값을 나타냈으며, 오존 처리 시간이 경과하면서 약간 상승하는 경향을 보였다.

매죽나무의 SOD와 CAT 활성은 오존 처리 간 차이를 없었지만, APX와 GR 활성은 오존 처리 간 차

이를 보였다. 매죽나무의 APX 활성은 오존 처리 1시간 후에 가장 낮았으며, 오존 처리 기간 중 무처리보다 낮은 활성을 나타냈다. GR 활성은 오존 처리에 따라 증가하여, 오존 처리 1시간 후에 가장 높은 값을 보여 주었으나, 이후 오존 처리 시간이 경과하면서 점차 감소하였다.

오존 처리에 따른 물푸레나무의 항산화효소 활성 변화는 SOD에서만 관찰되었다. 물푸레나무의 SOD 활성은 오존 처리 1시간 후에 무처리보다 크게 감소하였으나, 오존 처리 시간이 경과하면서 점차 증가하여 오존 처리 6시간 후에는 무처리의 1.6배까지 증가하였다.

백당나무의 SOD 활성은 처리 간 차이가 없었으나, APX 활성은 오존 처리 1시간 후에 증가한 반면, 3시간 후에는 무처리보다 낮았다. GR 활성은 오존 처리 3시간과 6시간 후에 무처리보다 낮은 값을 보였고, CAT 활성은 오존 처리 1시간 후 무처리보다 낮았으나, 이후 점차 증가하여 오존 처리 6시간 후에는 가장 높은 값을 보여 주었다.

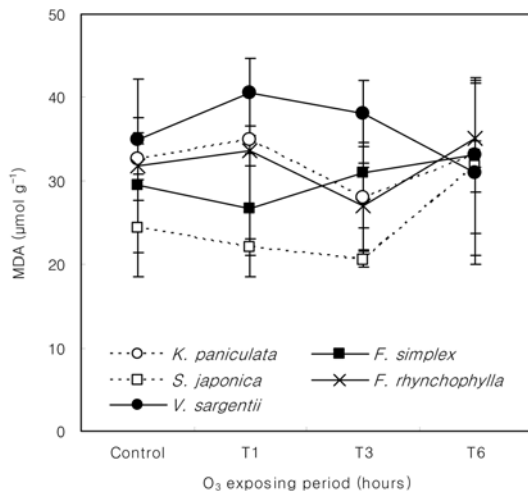


Fig. 1. Changes in MDA content in the leaves of five environmental tree species with ozone exposure time. All the values are means of five replicates \pm SD.

MDA 함량은 수종 간 차이도 적었으며, 처리 간 및 상호작용도 모감주나무를 제외하고는 나타나지 않았다(Fig. 1). 모감주나무의 MDA 함량은 오존 처리 3시간 후에 무처리보다 낮은 값을 보였다.

3.3. 수종별 내성수준 평가

Table 3에 나타난 값들은 수종 별 오존에 대한 피해지수와 내성지수로서, 피해지수는 오존 노출 시 피해 반응으로 간주되는 지표들인 광합성 파라미터와 MDA 함량 변화를 이용하여 계산하였으며, 내성지수는 오존 노출 시 내성 반응으로 간주되는 지표들인 항산화효소 활성 변화를 이용하여 계산하였다. 두 지수의 점수가 높을수록 내성이 높은 수종으로 간주하였다.

Table 3. Injury index and tolerance index of O₃-exposed five tree species

Species	Injury index	Tolerance index	Total
<i>Koelreuteria paniculata</i>	0.115	0.287	0.403
<i>Firmiana simplex</i>	-0.330	-0.329	-0.659
<i>Styrax japonica</i>	-0.263	-0.090	-0.352
<i>Fraxinus rhynchophylla</i>	0.278	0.200	0.479
<i>Viburnum sargentii</i>	-0.022	-0.652	-0.674

The differences between the values of O₃-exposed plant and unexposed one in terms of photosynthetic parameters and MDA content were evaluated for injury index, and four antioxidative enzyme activities were used for tolerance index.

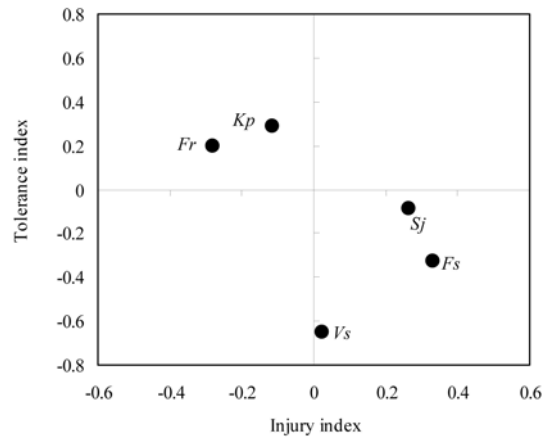


Fig. 2. Correlation of tolerance and injury indices. Data for this figure were obtained from the same measurements as in Table 1, 2 and Figure 1. *Kp*: *Koelreuteria paniculata*, *Fs*: *Firmiana simplex*, *Sj*: *Styrax japonica*, *Vs*: *Viburnum sargentii*, *Fr*: *Fraxinus rhynchophylla*.

피해지수는 물푸레나무>모감주나무>백당나무>때죽나무>벽오동 순으로 나타났으며, 내성지수는 모감주나무>물푸레나무>때죽나무>벽오동>백당나무 순이었다. 두 지수를 합산한 결과, 5개 수종의 내성은 물푸레나무>모감주나무>때죽나무>벽오동>백당나무 순으로 나타났으며, Fig. 2에서 보여주는 바와 같이 물푸레나무와 모감주나무는 피해도 적고 저항성도 높은 내성 그룹에 속하며, 때죽나무, 벽오동, 백당나무는 피해가 많고 저항성도 낮은 민감성 그룹에 속하는 것으로 나타났다.

IV. 고 찰

수목의 스트레스에 대한 생리적 반응은 수종뿐만 아니라, 스트레스의 종류, 노출 강도 및 노출 기간에 따라 매우 다르게 나타난다(Coleman *et al.*, 1995; Oksanen *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2002). 이러한 생리적 반응 차이는 스트레스에 대한 내성능력이 수종 간 다르기 때문이다(Kolb *et al.*, 1997; Öncel *et al.*, 2004; Han *et al.*, 2006). 이제까지 많은 연구를 통해서, 오존에 대한 장기 만성 반응으로부터 단기 급성 반응에 이르기까지 다양한 수종들을 대상으로 생리적 결과들이 보고되었으나, 수종 간 생리적 반응 차이에 대한 명확한 답은 얻지 못하고 있다.

위의 보고들을 종합해 보면, 장기적으로 스트레스에

노출된 수목들 중 비교적 스트레스에 민감한 수종들은 스트레스 노출 초기부터 피해가 누적되어 결국 고사하게 되지만, 스트레스에 대해 어느 정도 내성을 보유한 수목들은 스트레스에 적응하면서 생명을 유지해 나간다. 그러나 이러한 패턴은 일정하지 않고, 스트레스의 강도와 기간에 따라 변화가 심하기 때문에 어떤 수종에 대한 민감성 또는 저항성 여부를 판단하는 것은 매우 어렵다.

지금까지 오존뿐만 아니라 각종 스트레스에 대한 수목의 민감성 또는 내성을 평가하는데 다양한 생리생화학적인 지표들이 사용되어 왔다. 그러나 이러한 지표들 또한 스트레스의 강도와 기간에 따라 쉽게 변하기 때문에 일정한 패턴을 찾는다는 것은 거의 불가능하다.

현재까지 오존 스트레스의 생리적 민감성 및 내성 평가에 가장 널리 사용된 지표들이 광합성 관련 파라미터들이다(Calatayud *et al.*, 2002; Lee *et al.*, 2005). 이 지표들은 비교적 스트레스에 대해 민감하게 반응하며, 장기적으로 노출되었을 때 뿐만 아니라 단기 노출에서도 신뢰성이 높은 것으로 보고되었다(Lee *et al.*, 2005, 2006). 본 연구 결과에서도 알 수 있듯이 순양자수율, 탄소고정효율, 광호흡속도와 같은 파라미터들은 대부분의 수종에서 오존 노출 시간이 경과함에 따라 감소하는 특성을 보여줌으로써(Table 1), 오존의 단기 노출에서도 민감성을 평가하는 지표로 적당함을 알 수 있었다. 반면, 암호흡속도와 광보상점 같은 파라미터들은 수종 간 또는 처리 간 매우 불균일한 반응을 나타내, 스트레스 평가 지표로서 적당하지 않은 것으로 판단된다.

항산화효소의 활성 또한 스트레스의 내성을 평가하는데 널리 사용되고 있는 생화학적 지표 중의 하나이다(Paoletti *et al.*, 2003; Han *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2008). 지금까지 스트레스에 노출된 식물들은 세포 내 활성 산소의 양이 증가하며(Asada and Takahashi, 1987; Mehlhorn *et al.*, 1990), 이들 활성산소는 항산화효소나 항산화물질에 의해 제거되어 세포의 손상이 방지된다고 보고되어 왔다(Noctor and Foyer, 1998; Conklin and Barth, 2004).

이러한 결과는 오존 노출된 수목을 대상으로 항산화효소들의 활성 변화를 분석한 우리의 연구에서도 찾아볼 수 있었는데, 항산화효소 및 항산화물질의 반응 역시 수종 간 차이가 심하게 나타났으며, 항산화효소의 종류에 따라서 오존에 대한 민감도가 다르게 나타남을

알 수 있었다(Sheng *et al.*, 1997; Han *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2008). 또한 이번 연구에서도 오존 처리 시간에 따른 특정 항산화효소의 활성 변화가 모든 수종에서 유사하게 나타나지 않았다(Table 2). 즉, 모감주나무의 SOD와 같이 모든 오존 처리 기간에 대해 활성이 증가한 효소가 있는 반면, 물푸레나무의 SOD처럼 오존 노출 6시간 후에서만 활성이 증가하는 경우도 있었으며, 벽오동의 CAT와 같은 효소는 오존 처리구가 무처리보다 낮은 활성을 보이는 경우도 있었다. 이러한 결과는 오존에 대한 항산화효소들의 민감성이 다르기 때문으로 판단되는데, Bennet *et al.* (1984)은 오존의 노출 강도가 강하거나 노출 기간이 길어지면, 효소의 활성이 손상되거나 변성을 일으켜 항산화효소의 활성이 저하될 수 있다고 보고하였으며, 단기간에 오존 노출 강도가 식물의 해독 및 회복 기능의 한계점을 넘을 경우, 효소 활성 감소에 의한 광합성 감소가 나타나며(Pell *et al.*, 1994), 낮은 농도의 오존에서 장시간 처리될 경우에 잎의 노화가 촉진될 수 있다(Nie *et al.*, 1993).

또한 항산화효소의 활성을 좌우하는 기질의 함량이 수시로 변하면서 측정시기에 따라 활성 차이가 발생할 가능성도 배제할 수는 없다. 따라서 이러한 항산화효소의 활성 변화만을 기준으로 오존과 같은 스트레스의 민감성을 평가하는 것은 부적절하다고 판단된다.

스트레스에 노출된 식물은 가시적인 피해가 나타나기 전에 잎 내 세포 막 손상이 증가된다. 세포 막의 건강 상태는 지질 과산화 정도를 판단할 수 있는 MDA 함량의 측정을 통해 간접적으로 추정할 수 있다. 일반적으로 오존 노출과 같은 스트레스 하에서 MDA 함량은 증가하므로, MDA는 스트레스 평가 지표로서 많이 이용되어 왔다(Yoshida *et al.*, 1994; Ranieri *et al.*, 1996; Iglesias *et al.*, 2006). 또한 우리의 연구에서도 유사한 결과를 확인할 수 있었으나, 언제나 같은 결과를 보여주는 것은 아니었다(Han *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2008). 본 연구에서도 MDA 함량은 수종 간 뿐만 아니라 오존 처리 간에도 뚜렷한 차이가 나타나지 않았다(Figure 1). 즉, MDA 함량은 스트레스 민감성 및 내성을 평가하는 지표로서 적당하지 않은 것으로 판단되는데, 이것은 TBA를 이용한 MDA 함량 측정법의 문제이기도 하다. 즉 MDA는 다른 물질과도 반응할 수 있으며, TBA도 MDA에 특이적으로 반응하는 것이 아니기 때문에 스

트레스 평가 지표로서 MDA의 사용이 제한되어야 된다는 지적이 있다(Janero, 1990).

단일 생리 지표를 이용하여 수목의 민감성을 결정할 때 혼동을 일으키는 또 다른 문제는 본 연구 결과에서 보여주는 바와 같이, 모감주나무, 때죽나무, 물푸레나무의 순양자수율과 탄소고정효율 등 일부 파라미터들의 값들이 오존 노출 초기에 무처리보다 증가하는 현상이다(Table 1). 이러한 현상은 스트레스에 노출된 식물에서 종종 관찰되는 일시적인 반응으로 일종의 보상 반응으로 불리어지는데, 수목과 같이 비교적 내성이 높은 식물에서는 스트레스에 장기간 노출된 경우에도 관찰된다(Oksanen and Rousi, 2001; Lee *et al.*, 2002, 2005).

이제까지의 결과를 종합해 볼 때, 단일 생리 지표를 이용하여 어떤 수종의 오존에 대한 민감성 또는 내성을 결정하는 것은 어렵다고 판단된다. 따라서 어떤 수목의 오존 내성을 결정하기 위해서는 여러 가지 생리 지표들의 상호 연관성을 고려하여 종합적으로 분석하는 것이 바람직하다. 본 연구에서는 측정 지표들을 오존 노출 시 생리적 피해로 볼 수 있는 지표들과 오존 노출 시 스트레스 피해를 해소시키는데 관여하는 지표들로 각각 구분하고, 이들에 대해 가중치를 적용하여 피해지수와 내성지수를 계산하여, 오존에 노출된 5개 조경수종의 민감성 및 내성을 결정하였다(Table 3, Fig. 2). 이러한 방법은 Kim *et al.*(2008)의 결과에서 보여주듯이 여러 가지 생리 지표들에 대한 종합적인 결론을 이끌어낼 수 있을 뿐만 아니라 어느 정도 객관성을 보여 준다. 따라서 생리 지표들의 지수화 방법은 본 연구에서와 같이 어떤 식물의 스트레스에 대한 민감성 및 내성을 평가하는데 용이하게 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

적 요

수목의 오존 내성을 단기 노출 후 나타난 생리적 피해와 생화학적 반응들의 표준화 지수로 결정하였다. 모감주나무, 벽오동, 때죽나무, 물푸레나무, 백당나무를 150ppb 오존 노출 시킨 후, 광합성 특성, MDA 함량 및 항산화효소의 활성을 측정하여 피해지수는 광합성 파라미터와 MDA 함량 변화를 이용하여 계산하였으며, 내성지수는 항산화효소의 활성 변화를 측정하여 산출하였다. 순양자수율, 탄소고정효율, 광호흡속도는 오존

노출시간에 따라 감소하여, 스트레스 평가지표로 적당한 것으로 판단되었다. 항산화효소의 활성은 수종, 노출시간 및 효소 종류에 따라 다양한 결과를 보여 주었다. 모감주나무 SOD 활성은 오존 노출시간에 따라 증가하였고, 물푸레나무의 SOD 활성은 오존 노출 6시간 후에 증가하였으며, 벽오동의 CAT 활성은 무처리보다 낮았다. 표준화 지수를 기초로 한 5개 수목의 오존 내성은 두 내성 수종(물푸레나무>모감주나무)과 세 민감성 수종(때죽나무>벽오동>백당나무)으로 구분되었다.

REFERENCES

- Asada, K., and M. Takahashi, 1987: Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. *Photoinhibition: Topics in Photosynthesis IX*, D. J. Kyle, C. B. Osmond, and C. J. Arntzen (Eds.), Elsevier, Amsterdam, 227-287.
- Bennet, J. H., E. H. Lee, and H. E. Heggstad, 1984: Biochemical aspect of plant. *Gaseous Air Pollutants and Plant Metabolism*, Koziol, M. J., and F. R. Whitley (Eds.), Butterworth England, 413-424.
- Bortier, K., K. Vandermeiren, L. D. Temmerman, and R. Ceulemans, 2001: Growth, photosynthesis and ozone uptake of young beech (*Fagus sylvatica* L.) in response to different ozone exposures. *Trees* **15**, 75-82.
- Caemmerer, S. von, and G. D. Farquhar, 1981: Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchanges of leaves. *Planta* **153**, 376-387.
- Calatayud, A., J. W. Ramirez, D. J. Iglesias, and E. Barreno, 2002: Effects of ozone on photosynthetic CO₂ exchange, chlorophyll a fluorescence and antioxidant systems in lettuce leaves. *Physiologia Plantarum* **116**, 308-316.
- Coleman, M. D., J. G. Isebrands, R. E. Dickson, and D. F. Kamosky, 1995: Photosynthetic productivity of aspen clones varying in sensitivity to tropospheric ozone. *Tree Physiology* **15**, 585-592.
- Conklin, P. L., and C. Barth, 2004: Ascorbic acid, a familiar small molecule inter-wined in the response of plants to ozone, pathogens, and the onset of senescence. *Plant Cell Environment* **27**, 959-970.
- Farquhar, G. D., von S. Caemmerer, and J. A. Berry, 1980: A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* **149**, 78-90.
- Han, S. H., D. H. Kim, K. Y. Lee, J. J. Ku, and P. G. Kim, 2007: Physiological damages and biochemical alleviation to ozone toxicity in five species of genus *Acer*. *Journal of Korean Forest Society* **96**, 551-560.
- Han, S. H., J. C. Lee, W. Y. Lee, Y. Park, and C. Y. Oh, 2006: Antioxidant characteristics and phytoremediation potential of 27 taxa of roadside trees at industrial complex

- area. *Korean Journal of Agricultural and Forest Meteorology* **8**, 159-168.
- Heath, R. L., 1980: Initial events in injury to plants by air pollutants. *Annual Review of Plants Physiology* **31**, 395-431.
- Heath, R. L., and L. Parker, 1968: Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **125**, 189-198.
- Iglesias, J. D., Á. Calatayud, E. Barreno, E. Primo-Millo, and M. Talon, 2006: Responses of citrus plants to ozone: Leaf biochemistry, antioxidant mechanisms and lipid peroxidation. *Plant Physiology and Biochemistry* **44**, 125-131.
- Janero, D. R., 1990: Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med.* **9**, 515-40.
- Kim, D. H., S. H. Han, K. Y. Lee, and P. G. Kim, 2008: Interactive effects of ozone and light intensity on *Platanus occidentalis* L. seedlings. *Journal of Korean Forest Society* **97**, 508-515.
- Kim, P.-G., and E.-J. Lee, 2001: Ecophysiology of photosynthesis I: Effects of light intensity and intercellular CO₂ pressure on photosynthesis. *Korean Journal of Agricultural and Forest Meteorology* **3**, 126-133. (in Korean with English abstract)
- Kolb, T. E., T. S. Fredericson, K. C. Steiner, and J. M. Skel, 1997: Issues in scaling tree size and age responses to ozone: a review. *Environmental Pollution* **98**, 195-208.
- Lee, J. C., C. Y. Oh, S. H. Han, and P. G. Kim, 2006: Photosynthetic inhibition in leaves of *Alianthus altissima* under O₃ fumigation. *Journal of Ecology and Field Biology* **29**, 41-47.
- Lee, J. C., C. Y. Oh, S. H. Han, and P. G. Kim, 2005: Changes on photosynthesis and SOD activity in *Platanus orientalis* and *Liriodendron tulipifera* according to ozone exposing period. *Korean Journal of Agricultural and Forest Meteorology* **7**, 156-163 (in Korean with English abstract).
- 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. (in Korean with English abstract).
- Mehlhorn, H., J. M. O'Shea, and A. R. Wellburn, 1990: Electron spin resonance evidence for deformation of free radicals in plants exposed to ozone. *Physiologia Plantarum* **79**, 377-383.
- Ministry of Environment, 2008: *Annual Report of Ambient Air Quality in Korea*. 393pp.
- Nie G. Y., M. Tomasevic, and N. R. Baker. 1993: Effects of ozone on the photosynthetic apparatus and leaf proteins during leaf development in wheat. *Plant, Cell and Environment* **16**, 643-651.
- Noctor, G., and C. H. Foyer, 1998: Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* **49**, 249-279.
- Oksanen, E., and M. Rousi, 2001: Differences of *Betula* origins in ozone sensitivity based on open-filed experiment over two growing seasons. *Canadian Journal of Forest Research* **31**, 804-811.
- 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.
- Öncel, I., E. Yurdakulol, Y. Keles, L. Kurtm, and A. Yildiz, 2004: Role of antioxidant defence system and biochemical adaptation on stress tolerance of high mountain and steppe plants. *Acta Oecologia* **26**, 211-218.
- Pääkkönen, E., J. Vahala, T. Holopainen, R. Karjalainen, and L. Kärenlampi, 1996: Growth responses and related biochemical and ultrastructural changes of the photosynthetic apparatus in birch (*Betula pendula*) saplings exposed to low concentrations of ozone. *Tree Physiology* **16**, 597-605.
- Paoletti, E., C. Nali, R. Marabottini, G. Della Rocca, G. Lorenzini, A. R. Paolacci, M. Ciaffi, and M. Badiani, 2003: Strategies of response to ozone in Mediterranean evergreen species. *Establishing Ozone Critical Levels II*. UNECE Workshop Report. IVL report B 1523, IVL, P.E. Karlsson, G. Séllden, and H. Pleijel (Eds.), Swedish Environmental Research Institute, Göteborg, Sweden, 336-343.
- Pell, E. J., C. D. Schlagnhauser, and R. N. Arteca, 1997: Ozone-induced oxidative stress: Mechanisms of action and reaction. *Physiologia Plantarum* **100**, 264-273.
- Pell, E. J., N. A. Eckardt, and R. E. Glick, 1994: Biochemical and molecular basis for impairment of photosynthetic potential. *Photosynthesis Research* **39**, 453-462.
- Pye, J. M., 1988: Impact of ozone on the growth and yield of trees: a review. *Journal of Environmental Quality* **17**, 347-360.
- Ranieri, A., G. D'Urso, C. Nali, G. Lorenzini, and G. F. Soldatini, 1996: Ozone stimulates apoplastic antioxidant systems in pumpkin leaves. *Physiologia Plantarum* **97**, 381-387.
- Ro, H. M., P. G. Kim, I. B. Lee, M. S. Yiem, and S. Y. Woo, 2001: Photosynthetic characteristics and growth responses of dwarf apple (*Malus domestica* Borkh. cv. Fuji) saplings after 3 years of exposure to elevated atmospheric carbon dioxide concentration and temperature. *Trees* **15**, 195-203.
- Sheng, Y., G. K. Podila, and D. F. Karnosky, 1997: Differences in O₃-induced superoxide dismutase and glutathione

- antioxidant expression in O₃ tolerant and sensitive trembling aspen (*Populus tremuloides* Michx.) clones. *Forest Genetics* **4**, 25-33.
- Yoshida, M., Y. Nouchi, and S. Toyama, 1994: Studies on the role of active oxygen in ozone injury to plant cells. I. Generation of active oxygen in rice protoplast exposed to ozone. *Plant Science* **95**, 197-205.