

회화나무 8 가계간 오존 내성 차이에 대한 생리적 지표의 적합성

한심희* · 김두현 · 이재천

국립산림과학원 산림자원육성부

(2010년 7월 27일 접수; 2010년 9월 1일 수정; 2010년 9월 1일 수락)

Suitability of Physiological Indicators of Ozone Tolerance among 8 families of *Sophora japonica*

Sim-Hee Han*, Du-Hyun Kim and Jae Cheon Lee

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

(Received July 27, 2010; Revised September 1, 2010; Accepted September 1, 2010)

ABSTRACT

This study was conducted to investigate ozone sensitivity of physiological indicators and the difference in ozone tolerance of 8 families of *Sophora japonica* seedlings on the basis of the standardized physiological indicators. After ozone treatment, photosynthetic parameters, photosynthetic pigments and malondialdehyde (MDA) content, and antioxidative enzyme activities were analyzed from the leaves of *S. japonica* seedlings. Ozone tolerance indices among 8 families were calculated with the standardized physiological parameters. In addition, the reduction of carboxylation efficiency and apparent quantum yield were observed in the leaves of seven families, except for family No. 6 and 7, respectively. The apparent quantum yield varied from -27% to -61% of the control seedlings. Photosynthetic pigment content differed significantly among 8 families, but was not affected significantly by ozone treatment. Superoxide dismutase (SOD) activity increased from 7% to 64% after ozone exposure, and significant difference existed among 8 families. Ascorbate-peroxidase (APX) activity of 8 families increased by ozone treatment, and the activity of family No. 7 showed the highest increase (218%) in comparison to their respective control plants. On the basis of the standardized indices, family No. 6 showed the lowest tolerance by indicating higher reduction of both photosynthetic parameters and pigment content and lower increase of antioxidative enzyme activities. On the contrary, family No. 7 showed the highest tolerance as indicated by lower reduction of photosynthetic parameters, higher amounts of photosynthetic pigments, and higher enzyme activity.

Key words : Physiological indicator, Ozone tolerance, *Sophora japonica*, Antioxidative enzyme, Photosynthetic parameter

I. 서 론

인간의 산업 활동으로 오염된 지구의 대기 환경을 개선하려는 노력은 선진국을 비롯한 대부분의 나라에서 지난 수십 년 간 지속해 왔다. 이러한 노력에도 불구하고, 지구의 대기 환경은 크게 개선되지 않고 있

으며, 아직도 개발도상국을 포함한 세계 곳곳에서 배출하는 화석연료로 인해 지구의 환경은 더 악화될 가능성이 높은 것으로 보고되고 있다(Karnosky *et al.*, 2007; Cooper *et al.*, 2010).

우리나라의 경우, 공단지역에서의 이황산가스 농도는 배출 규제 및 저감 기술 개발 등으로 점차 감소하

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

고 있으나, 자동차 사용의 급증으로 대도시의 이산화 질소 농도가 매우 높은 수준이어서, 이차오염물질인 오존의 대기 중 농도 역시 매우 높게 나타나고 있다. 2008년 한 해에 오존주의보(0.12ppm/시간)는 4월부터 9월까지 총 32일 101회 발령되었으며, 당시 최고농도는 0.203ppm에 달했다. 지역별로 보면 서울지역이 8일 23회로 가장 많았다(Ministry of Environment, 2008).

오존은 가시적 잎 피해 유도(Schaub *et al.*, 2005), 엽록소 함량 감소(Reich, 1983), 조기 낙엽(Pell *et al.*, 1999), 광합성 감소(Coleman *et al.*, 1995b), 탄소 배분(Coleman *et al.*, 1995a), 병해충의 피해 증가(Karnosky *et al.*, 2002), 생장과 생산성 감소(Karnosky *et al.*, 1996) 등 직·간접적으로 식물에 피해를 준다. 그럼에도 불구하고, 식물은 여전히 대기 중 오존을 흡수해서 제거하는 정화 매체로서 매우 중요하다(Nowak and Dwier, 2007; Fares *et al.*, 2008). 따라서, 거대한 생체량을 가지고 있는 수목의 정화 기능에 대한 관심은 더욱 높아지고 있다.

수년 동안 많은 과학자들은 오존에 대한 수목의 반응 연구와 더불어 오존 정화 능력을 평가해 왔다(Loreto and Fares, 2007; Fares *et al.*, 2008). 이 결과를 종합해 보면, 오존에 대한 수목의 반응은 수종 간, 가계 간, 클론 간 다양하게 나타나는데(Han *et al.*, 2006, 2007), 이것은 형태적, 생리적, 생화학적, 유전적 특성에 따라 좌우된다고 보고되었다. 또한 수목의 반응은 오염물질의 종류와 노출 강도 또는 노출 기간에 따라서도 다양하게 나타난다(Nie *et al.*, 1993; Pell *et al.*, 1997). 이와 같이 복잡한 수목의 반응에도 불구하고, 더 높은 정화능력을 가지고 있고, 저항성이 더 높은 수목의 개발은 미래의 대기 환경 변화를 대비한 노력의 일환으로 현재에도 지속되고 있다(Gerosa *et al.*, 2008; Fares *et al.*, 2010).

국내에서도, 오존에 대한 다양한 연구 결과가 보고되었는데, 주요 수종에 대한 수종 간 차이뿐만 아니라, 가계 간 내성 차이, 다양한 생리적인 변화들에 대한 연구가 수행되어왔다(Lee *et al.*, 2006; Han *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2008). 그러나 대부분의 연구결과들이 특정 수종에 한정된 결과들로서, 오존에 대한 수목의 생리적인 반응을 이해하는 데는 어느 정도 도움이 되었으나, 수종 간 차이가 너무 커서 기존의 결과를 모든 수종에 적용하는 데는 한계가 있었다. 또한 측정 인자들 각각을 별도로 평가하여 모든 수종의 민

감성, 기피성, 내성 또는 저항성을 결정하기에는 무리가 있는 것 같다. 즉, 오존과 같은 환경 스트레스에 대한 수목의 내성 및 민감성을 정확히 평가하기 위해서는 이들의 연관성을 고려할 필요가 있다(Bortier *et al.*, 2001). 이것은 환경 스트레스에 대한 생리적 반응을 평가하는데 새로운 기준이 설정되어야 함을 의미한다. 실제로 이러한 노력이 몇 가지 연구에서 시도되어 왔는데(Kim *et al.*, 2008; Han and Kim, 2009), 이들 연구결과에 따르면, 단 한 가지의 측정 인자를 이용한 내성 평가보다는 다양한 생리 반응을 종합적으로 평가하는 것이 바람직하다는 것이다. 즉, 각 측정인자들은 서로 상호 연관성을 가지고 있기도 하고, 서로 독립적이기도 하며, 같은 수종이라도 양분이나 광 같은 생육 환경 조건에 따라 내성 능력이 차이가 나는 것처럼(Kim *et al.*, 2008), 환경에 따라 변하는 인자들이 있는 반면에 그렇지 않은 인자들도 있기 때문에, 각 환경에 맞는 정확한 측정 지표를 찾는 것은 불가능하다. 따라서 최근에도 일관성 있는 결과를 얻기 위하여, 환경 스트레스에 대한 새로운 평가 지표를 찾는 노력이 계속되고 있다(Jones *et al.*, 2007; Dizengremel *et al.*, 2008).

본 연구는 환경 스트레스에 노출된 수목의 객관적 평가 기법을 제시하기 위한 것으로, 오존에 노출된 회화나무 8 가계에서 측정한 인자들을 대상으로, 오존에 대한 민감성을 평가하고, 이 결과들을 종합하여 가계 간 차이를 규명하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

2.1. 공시 재료 및 오존 처리

공시 재료는 조경수 및 가로수로 많이 식재되고 있는 회화나무(*Sophora japonica* L.)를 대상으로 하였다. 회화나무 종자는 울산공단지역내 가로수 8개체로부터 2007년 가을에 채취하여 4°C 냉장고에 보관하였으며, 2008년 국립산림과학원 산림자원육성부(경기도 수원시 권선구 오목천동 44-3)의 온실에서 3월에 파종하여 얻은 8 가계의 묘목을 얻었다. 오존 처리 1주일 전에 생장이 균일하고 활력이 있는 묘목을 가계별로 10개체씩을 선발하여 환경제어실의 인공광 온실 내에서 적응시켰다. 인공광 온실의 광 조건은 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 온도는 25 \pm 1°C/day, 습도(RH)는 70 \pm 5%를 유지하였다.

오존 처리는 인공광 챔버를 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 ± 1 ppb, 120 ± 15 ppb로 기록 되었다.

2.2. 광합성 특성 측정

광합성관련 모수들의 측정은 LI-6400 휴대용 광합성 측정기(LI-COR Inc., USA)를 이용하여 측정하였다. 광합성 모수 측정 시 잎 챔버는 온도 24°C, 상대 습도 60%로 유지하였으며, 줄기 끝에서 4~6번 잎을 측정에 이용하였다.

CO₂ 농도에 대한 광합성 반응은 엽육 내 CO₂ 농도 변화에 따른 광합성속도 변화를 이용하여 측정하였다. 광도 $1,100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 에서 잎 챔버에 공급되는 공기의 CO₂ 농도를 0, 50, 100, 200, 300, 360, 400, 500 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ air}$ 로 조절하면서 광합성을 측정하였으며, 엽육 내부의 CO₂ 농도는 Caemmerer and Farquhar(1981)의 식을 적용하여 산출하였다. 광합성 측정기의 잎 챔버에 공급되는 CO₂ 농도를 변화시켜 측정된 광합성 속도의 결과를 사용하여, 엽육 내 CO₂ 농도(C_i)와 광합성(A)의 관계를 나타내는 A-C_i 곡선을 작성하고, 이 결과에서 탄소고정효율(carboxylation efficiency), 광호흡속도를 산출하였다. 탄소고정효율은 C_i에 따른 광합성의 증가가 직선적으로 이루어지는 C_i = 150 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ 이하에서의 회귀직선($y = a + bx$)의 기울기(b)이다. 이 값은 광합성에서 CO₂ 고정계의 활성, 즉 rubisco의 활성에 관한 정보를 반영하고 있다(Farquhar *et al.*, 1980). 또한 이 회귀직선에서 y 절편인 a, 즉 C_i의 값이 0 Pa일 때의 CO₂교환 속도를 광호흡속도(photorespiration)로 하였다.

광도 변화에 대한 광합성 반응은 LED 광원의 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.

2.3. 광색소 함량 측정

엽 내 광색소 함량 측정은 dimethyl sulphoxide (DMSO)를 이용하여 추출하는 Hiscox and Israelstam (1979)의 방법을 사용하였다. 0.1g 생엽에 DMSO 10 ml를 첨가하고 70°C의 항온 수조에서 2시간 동안 유지하여 색소를 추출하였다. 추출액의 흡광도는 470, 645, 663nm에서 측정하였다.

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)의 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.

2.5. 표준화 지수 계산

회화나무 8가계의 오존 내성 능력은 위에서 측정된 모수들을 기초로 하여 Kim *et al.*(2008)의 방법에 따라 결정하였다. 각 모수들은 오존 노출 후 나타나는 반응에 따라 피해지수와 내성 지수로 구분하였다. 피해지수는 광합성, 엽록소 및 MDA 함량과 같이 오존 노출 후 생리적 피해를 측정할 수 있는 모수들을 이용하여 계산하였으며, 내성지수는 항산화효소와 같이 오존 노출에 의한 생리적 피해를 방지하는데 관여하는 모수들을 이용하여 계산하였다.

각 모수들의 표준화 지수는 $(X - X_{\text{avg}}) / \text{SD}$ 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 모수들에 가중치를 부여하여 표준화 지수를 곱하였다. 단, 유사한 특성을 가진 모수는 동일한 가중치를 부여하였으며,

피해지수와 내성지수는 동일한 수준으로 간주하였다. 두 지수의 합을 구하여 최종적으로 수종별 내성 능력을 결정하였다.

III. 결 과

3.1. 광합성 특성

오존에 노출된 회화나무 8 가계의 광합성 특성 변화는 Table 1에 나타났다. 광합성 특성 중 탄소고정 효율과 광호흡 속도, 순양자수율은 오존 처리 간 차이가 뚜렷하게 나타났으나, 가계 간 및 가계와 처리 간 상호작용은 나타나지 않았다. Table 1에서 보는 바와

같이, 탄소고정효율은 6번 가계를 제외한 모든 가계에서 오존 처리 후 뚜렷하게 감소하였으며, 탄소고정효율의 감소율은 -38%에서 -67%의 범위를 보였다. 광호흡 속도는 모든 가계에서 오존 처리 후 감소하는 경향을 보였지만, 5번 가계와 7번 가계에서만 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 광호흡 속도의 감소율은 -17%에서 -50%였다. 또한 순양자수율은 7번 가계를 제외한 모든 가계에서 오존 처리 후 뚜렷한 감소를 보였으며, 감소율은 -27%에서 -61%를 나타냈다. 한편 암호흡 속도는 3번, 4번 및 6번 가계에서만 오존 처리 후 감소하였으며, 다른 가계에서는 통계적으로 유의한 변화를 보이지 않았다. 광보상점은 오존 처

Table 1. Changes (%) in photosynthetic parameters on 8 families of *Sophora japonica* seedlings under ozone fumigation

Family No.	Treatment	Carboxylation efficiency (mmol CO ₂ mol ⁻¹)	Photo respiration rate (imol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	Apparent quantum yield (mmol CO ₂ mol ⁻¹)	Dark respiration rate (imol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)	Light compensation point (imol m ⁻² s ⁻¹)
1	Control	0.027±0.008a	1.461±0.313a	0.027±0.006a	0.23±0.07a	7.7±0.4a
	O ₃ 150 ppb	0.017±0.005b	1.207±0.316a	0.018±0.004b	0.21±0.07a	11.0±2.2a
	%	-38	-17	-36	-8	42
2	Control	0.026±0.005a	1.472±0.293a	0.027±0.004a	0.21±0.13a	7.7±4.1a
	O ₃ 150 ppb	0.015±0.005b	1.133±0.185a	0.017±0.005b	0.23±0.13a	10.9±6.8a
	%	-43	-23	-38	6	41
3	Control	0.025±0.004a	1.513±0.252a	0.027±0.004a	0.22±0.07a	7.8±1.7a
	O ₃ 150 ppb	0.014±0.008b	1.120±0.415a	0.013±0.005b	0.06±0.05b	4.5±2.0a
	%	-46	-26	-53	-71	-43
4	Control	0.023±0.007a	1.404±0.389a	0.026±0.005a	0.28±0.10a	9.1±4.5a
	O ₃ 150 ppb	0.014±0.004b	1.059±0.252a	0.014±0.003b	0.12±0.03b	8.2±1.9a
	%	-41	-25	-47	-56	-9
5	Control	0.028±0.006a	1.706±0.314a	0.028±0.006a	0.08±0.05a	2.8±1.6b
	O ₃ 150 ppb	0.009±0.001b	0.857±0.326b	0.011±0.003b	0.14±0.10a	12.8±3.9a
	%	-67	-50	-60	78	353
6	Control	0.028±0.012a	1.664±0.584a	0.028±0.006a	0.25±0.02a	9.6±1.5a
	O ₃ 150 ppb	0.015±0.004a	1.131±0.163a	0.013±0.002b	0.17±0.04b	12.8±3.1a
	%	-46	-32	-53	-31	34
7	Control	0.031±0.005a	1.839±0.230a	0.032±0.004a	0.17±0.07a	5.8±2.9a
	O ₃ 150 ppb	0.011±0.002b	0.930±0.171b	0.023±0.023a	0.13±0.13a	3.5±1.1a
	%	-65	-49	-27	-23	-39
8	Control	0.027±0.004a	1.767±0.230a	0.028±0.003a	0.34±0.17a	12.8±5.8b
	O ₃ 150 ppb	0.013±0.008b	1.407±0.982a	0.011±0.002b	0.37±0.11a	33.6±4.0a
	%	-52	-20	-61	7	163
Pr > F	Family (F)	ns	ns	ns	**	***
	Ozone (O ₃)	***	***	***	ns	***
	F × O ₃	ns	ns	ns	ns	***

All the values are means of five replicates ± SD; Values with the different letter indicate significant differences ($p \leq 0.05$) between control and ozone treatment. ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$, and n.s.: non-significance.

리 후 5번과 8번 가계에서 큰 증가를 나타냈으며, 가계 간에도 뚜렷한 차이를 보여 주었고, 가계와 처리 간 상호작용도 나타났다.

3.2. 광색소 함량

엽록소 a를 비롯한 광색소 함량의 가계 간 차이는 크게 나타났으나, 오존 처리 효과는 나타나지 않았다 (Table 2). 오존 처리 후, 광색소 함량이 감소한 가계는 3, 5, 6번이었으며, 나머지 가계에서는 광색소 함량이 오히려 증가하였거나 대조구와 유사한 수준을 보였다. 카로테노이드 함량은 가계 간은 물론 처리 간에도 뚜렷한 차이를 나타냈으며, 가계와 처리 간 상호작용도

보였으나, 8 가계 중, 1번 가계의 카로테노이드 함량만이 처리 간 유의성이 인정되었다. 비록 통계적 유의성은 없었으나, 2, 4, 7번 가계의 카로테노이드 함량은 대조구에 비해서 크게 증가하였다. 엽록소 a와 b의 비율은 1번 가계와 5번 가계에서 뚜렷한 차이를 보였는데, 오존 처리 후 엽록소 a와 b의 비율은 두 가계 모두 증가하였다. 1번 가계의 엽록소 a와 b의 비율이 증가한 것은, 오존 처리 후 엽록소 a의 함량이 엽록소 b의 함량 보다 더 많이 증가했기 때문이다. 이외는 대조적으로, 5번 가계의 엽록소 a와 b의 비율이 증가한 것은, 오존 처리 후 엽록소 a의 함량 감소가 엽록소 b의 함량 감소보다 적었기 때문이다. 한편

Table 2. Changes (%) in photosynthetic pigment contents on 8 families of *Sophora japonica* seedlings under ozone fumigation

Family No.	Treatment	mg g ⁻¹				Chl a/b	Chl/Car
		Chl a	Chl b	Chl a+b	Car		
1	Control	0.98±0.18a	0.24±0.04a	1.23±0.23a	0.23±0.03b	4.03±0.18b	5.36±0.35a.
	O ₃ 150 ppb	1.16±0.14a	0.26±0.02a	1.42±0.15a	0.30±0.02a	4.47±0.31a	4.77±0.27b
	%	18	7	16	31	11	-11
2	Control	1.00±0.07a	0.24±0.01a	1.24±0.08a	0.22±0.01a	4.16±0.16a	5.54±0.10a
	O ₃ 150 ppb	1.60±0.76a	0.36±0.14a	1.96±0.90a	0.39±0.18a	4.42±0.41a	5.01±0.33b
	%	60	48	58	74	6	-10
3	Control	1.08±0.50a	0.29±0.13a	1.37±0.63a	0.29±0.13a	3.77±0.17a	4.78±0.16a
	O ₃ 150 ppb	0.89±0.18a	0.24±0.07a	1.13±0.25a	0.24±0.03a	3.78±0.25a	4.76±0.53a
	%	-18	-16	-17	-18	0	0
4	Control	0.54±0.14a	0.15±0.03a	0.69±0.17a	0.15±0.03a	3.63±0.20a	4.54±0.31a
	O ₃ 150 ppb	0.68±0.14a	0.18±0.04a	0.86±0.18a	0.19±0.03a	3.77±0.12a	4.45±0.21a
	%	26	22	25	27	4	-2
5	Control	0.83±0.15a	0.22±0.04a	1.05±0.19a	0.20±0.03a	3.74±0.21b	5.26±0.46a
	O ₃ 150 ppb	0.76±0.06a	0.18±0.02a	0.94±0.08a	0.21±0.01a	4.11±0.23a	4.39±0.22a
	%	-9	-17	-10	8	10	-17
6	Control	0.91±0.43a	0.25±0.11a	1.16±0.54a	0.24±0.11a	3.65±0.06b	4.85±0.17a
	O ₃ 150 ppb	0.74±0.04a	0.19±0.01a	0.93±0.05a	0.22±0.01a	4.00±0.33a	4.28±0.23b
	%	-18	-25	-20	-9	10	-12
7	Control	0.77±0.29a	0.21±0.07a	0.98±0.36a	0.19±0.05a	3.62±0.17a	4.98±0.59a
	O ₃ 150 ppb	0.94±0.03a	0.26±0.03a	1.20±0.06a	0.24±0.01a	3.63±0.40a	5.09±0.39a
	%	23	25	23	23	0	2
8	Control	1.13±0.45a	0.29±0.11a	1.42±0.56a	0.26±0.09a	3.93±0.25a	5.38±0.77a
	O ₃ 150 ppb	1.14±0.22a	0.36±0.10a	1.50±0.31a	0.26±0.05a	3.26±0.55a	5.89±1.04a
	%	0	26	6	0	-17	9
Pr > F	Family (F)	***	***	***	**	***	***
	Ozone (O ₃)	ns	ns	ns	*	*	**
	F × O ₃	ns	ns	ns	*	**	*

All the values are means of five replicates ± SD; Values with the different letter indicate significant differences ($p \leq 0.05$) between control and ozone treatment. ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$, and n.s.: non-significance.

총 엽록소와 카로테노이드 함량의 비는 1번, 2번, 6번 가계에서 오존 처리 후 뚜렷하게 감소하는 것으로 나타났으며, 이들 가계의 평균 감소율은 -11%였다. 1번과 2번 가계의 총 엽록소와 카로테노이드 함량 비가 감소한 것은 Table 2에서 보여 주는 바와 같이, 오존 처리 후 카로테노이드 함량의 증가가 총 엽록소 함량의 증가보다 컸기 때문이다. 반대로, 6번 가계의 총 엽록소와 카로테노이드 함량의 비가 감소한 것은 오존 처리 후 총 엽록소 함량의 감소가 카로테노이드 함량의 감소보다 더 컸기 때문이다.

3.3. 항산화효소 활성 및 MDA 함량

항산화효소인 SOD 활성은 오존 처리 후 증가하는

경향을 나타냈다(Table 3). 오존 처리 후, SOD 활성의 증가율은 7%(4번 가계)에서 64%(7번 가계)로, 가계 간 차이가 뚜렷하였다. APX 활성은 모든 가계에서 오존 처리 후 증가하였으며, 7번 가계가 가장 큰 활성 증가율(218%)을 보였고, 5번 가계의 APX 활성 증가율은 5%로 대조구와 큰 차이가 없었다. GR 활성은 가계 간 차이가 뚜렷하였으나, 처리 간 차이는 뚜렷하지 않았다. 다른 효소와는 달리 GR 활성은 일부 가계에서 감소하는 경향을 보였으며, 특히, 8번 가계의 GR 활성 감소가 가장 뚜렷하였다. CAT 활성은 8번을 제외한 모든 가계에서 증가하였으며, 처리 간 차이보다 가계 간 차이가 더 뚜렷하게 나타났다. CAT의 활성 증가율은 4%에서 28%로 비교적 낮은

Table 3. Changes (%) in antioxidative enzyme activities on 8 families of *Sophora japonica* seedlings under ozone fumigation

Family No.	Treatment	SOD (unit g ⁻¹)	APX (μmol g ⁻¹)	GR (nmol g ⁻¹)	CAT (unit g ⁻¹)
1	Control	69±18a	1609±492a	938±250a	818±115a
	O ₃ 150 ppb	87±22a	1775±715a	694±286a	856±174a
	%	25	10	-26	5
2	Control	101±14a	876±171b	740±153a	790±119a
	O ₃ 150 ppb	114±51a	1673±606a	731±117a	1010±185a
	%	13	91	-1	28
3	Control	115±39a	871±370a	430±150a	712±146a
	O ₃ 150 ppb	137±30a	839±90a	462±151a	757±124a
	%	20	177	7	6
4	Control	109±69a	627±102a	474±147a	556±49a
	O ₃ 150 ppb	116±35a	819±231a	533±239a	690±148a
	%	7	31	12	24
5	Control	119±41a	1023±408a	488±166a	720±116a
	O ₃ 150 ppb	130±20a	1078±498a	416±118a	767±168a
	%	9	5	-15	7
6	Control	69±19a	857±158a	485±98a	652±69a
	O ₃ 150 ppb	83±29a	1002±239a	436±228a	689±156a
	%	20	17	-10	6
7	Control	72±33a	760±193b	620±262a	834±141a
	O ₃ 150 ppb	118±42a	2416±665a	950±208a	864±101a
	%	64	218	53	4
8	Control	86±36a	965±395a	718±339a	769±115a
	O ₃ 150 ppb	123±50a	2936±1707a	343±97b	713±117a
	%	44	204	-52	-7
Pr > F	Family (F)	*	ns	***	***
	Ozone (O ₃)	*	**	ns	*
	F × O ₃	ns	ns	*	ns

All the values are means of five replicates ± SD; Values with the different letter indicate significant differences ($p \leq 0.05$) between control and ozone treatment. ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$, and n.s.: non-significance.

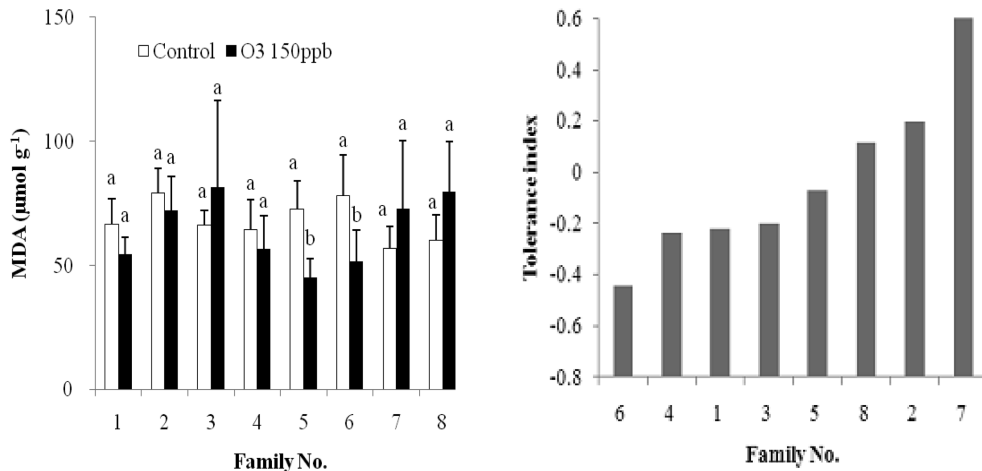


Fig. 1. MDA content (left) and tolerance index (right) of 8 families of *Sophora japonica* seedlings under ozone fumigation. All the values are means of five replicates \pm SD, and values with the different letter indicate significant differences ($p \leq 0.05$) between control and ozone treatment.

수준이었다.

MDA 함량은 가계 간 및 처리 간 차이를 보여 주지 않았다. 다만, 5번과 6번 가계에서 오존 처리 후 MDA 함량이 증가하는 경향을 보였다(Fig. 1).

3.4. 내성 순위

피해 지수와 내성 지수를 고려한 회화나무 8 가계의 내성순위는 Fig. 1과 같다. 내성 수준이 가장 낮은 가계는 6번 가계였다. 6번 가계는 오존 처리 후 탄소 고정효율을 비롯한 광합성 특성의 감소율과 광색소 함량의 감소율이 높게 나타난 반면, 내성을 나타내는 항산화효소의 활성 증가가 매우 적었다. 반대로 내성 수준이 높은 7번 가계는 오존 처리 후 광합성 특성의 감소율이 다른 가계에 비해 적었으며, 광색소 함량은 오히려 오존 처리 후 증가하였고, 항산화효소의 증가율도 다른 가계에 비해 높게 나타났다.

IV. 고 찰

본 연구에서 많은 스트레스 평가 지표들이 오존 처리에 대해 가계 간 차이가 있음을 보여 주었다. 그러나 탄소고정효율 등과 같은 일부 스트레스 평가 지표들은 오존 처리 간 차이는 뚜렷하였지만, 가계 간 차이는 없었다. 이러한 결과는 측정 지표들의 스트레스에 대한 민감성 차이 때문인 것으로 판단된다. 즉, 탄소고정효율과 같은 광합성 모수는 오존 스트레스에 대

해 매우 민감하게 반응하는데, 이러한 이유 때문에 탄소고정효율과 같은 지표들이 스트레스에 대한 유용한 측정 지표로서 추천되어 왔다(Lee *et al.*, 2006, Kim *et al.*, 2008).

본 연구에서, 탄소고정효율이 오존 처리 간 차이는 뚜렷하게 나타냈지만, 가계 간 차이를 보여 주지 않은 것은, 오존 처리 후 나타난 반응, 즉, 탄소고정효율의 감소율이 가계 간 큰 차이를 보여 주지 않았기 때문인 것으로 판단된다. 이러한 결과는 광호흡 속도와 순양자수율에서도 동일하였다(Table 1).

반면, 오존 처리에 대한 효과가 전혀 나타나지 않은 엽록소 함량은 처리 간 차이는 뚜렷하게 보여 준다(Table 2). 기존 연구들에서, 엽록소 함량은 스트레스 평가 지표로서 매우 널리 이용해 왔으며, 현재에도 많이 이용되고 있다(Han *et al.*, 2007, 2009; Kim *et al.*, 2008). 그러나 엽록소 함량은 본 연구에서 보여주는 바와 같이 오존 처리 후 일부 가계에서는 감소하였으나, 일부 가계에서는 오히려 증가하는 것을 확인할 수 있었다(Table 2). 일반적으로 오존과 같은 스트레스에 노출되면, 잎 내에 엽록소 함량은 감소하는 것으로 알려져 있다(Ribas *et al.*, 2005; Iglesias *et al.*, 2006; Han *et al.*, 2007). 그러나 일부 실험에서는 반대의 결과도 보여 준다. 이러한 현상은 일종의 보상반응으로 해석되고 있는데, 보상 반응은 수목과 같이 비교적 내성이 높은 식물에서는 스트레스에 장기간 노출된 경우에도 관찰된다(Oksanen and Rousi,

2001). 따라서 스트레스에 노출된 식물의 내성 수준에 따라서 엽록소 함량은 큰 차이를 보여 준다. 본 연구에서, 엽록소의 가계 간 차이가 뚜렷하게 나타난 것은 이러한 원인으로 해석된다. 그러나 엽록소 a와 b의 비율과 총 엽록소와 카로테노이드 함량의 비는 가계 간은 물론 처리 간에도 뚜렷한 차이를 보여 준다. 즉, 광색소를 이용한 스트레스 평가 시 이들의 비를 이용하는 것이 가장 바람직하다고 볼 수 있다.

일반적으로 항산화효소의 활성은 수종 간 매우 다양하게 나타나며(Han *et al.*, 2006, 2007), 스트레스에 노출된 수목의 경우, 항산화효소 활성은 증가하는 것으로 알려져 있다(Iglesias *et al.*, 2006; Han *et al.*, 2007; Kim *et al.* 2008). 우리의 연구에서, SOD 활성은 가계 간 차이는 물론 처리 간 차이도 뚜렷하게 나타났으나, APX는 모든 가계에서 오존 처리 후에 활성이 증가했음에도 불구하고, 가계 간 차이가 없는 것으로 나타났다. 반대로, GR의 활성 증가는 3번, 4번, 7번에서만 관찰되었고, 나머지 가계에서는 활성이 오히려 감소하였으며, 가계 간 차이가 없었다. CAT는 8번 가계를 제외한 모든 가계에서 활성이 증가하여, 가계 간 및 처리 간 차이를 보였다. 이와 같이 일부 가계에서 항산화효소의 활성이 감소하는 것은 스트레스에 대한 효소의 반응 수준이 다르기 때문인 것으로 판단된다. 즉, 저농도 스트레스의 초기 노출에서 대부분의 효소 활성은 증가하지만, 스트레스 수준이 증가하거나 노출시간이 길어지면, 단백질의 변성 및 손상으로 효소 활성이 감소하게 된다(Bennet *et al.*, 1984; Han *et al.*, 2007). 또한 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). 이러한 결과는 기존 연구에서도 제시되었는데, 단풍나무속 5수종에 대해 4주간의 오존 노출 결과, GR과 APX의 활성 감소가 일부 수종에서 감소하였으며(Han *et al.*, 2007), 참나무속에 대한 오존 노출 연구에서도 같은 연구 결과를 보였다(Kim *et al.*, 2008).

본 연구에서도 항산화효소의 활성은 가계 간뿐만 아니라 효소의 종류에 따라서 다양하게 나타났다(Table 3). 특히 GR과 CAT의 활성은 가계의 스트레스 내성에 따라 민감하게 변화되는 것으로 생각된다. 따라서 항산화효소를 이용하여 수목의 스트레스 내성을 평가

할 경우, 가계 간 내성 특성은 물론, 효소들의 스트레스 민감성도 고려해야 한다. 본 연구에서는 회화나무의 가계 간 오존 스트레스 평가 지표로서 SOD가 가장 적합한 것으로 판단된다.

일반적으로, 스트레스 하에서 MDA 함량은 증가하는 것으로 알려져 있지만(Iglesias *et al.*, 2006), 본 연구에서는 일부 가계에서만 증가하였고, 통계적 유의성은 없었다. 이러한 결과는 기존 연구에서도 나타났는데, 참나무속 5수종의 4주간 오존 처리에서 갈참나무와 대왕참나무의 MDA 함량이 오존 처리 후 감소한 것으로 나타났다(Kim *et al.*, 2008). 이와 같은 MDA 함량의 수종 간 차이는 스트레스에 대한 수종 간 내성 능력 즉, 세포막을 파괴하는 활성산소의 제거 능력이 다르기 때문인 것으로 판단된다. 따라서, MDA 함량은 스트레스 민감성 및 내성을 평가하는 지표로서 적당하지 않은 것으로 판단되는데, 이는 TBA를 이용한 MDA 함량 측정법의 문제이기도 하다. 즉 MDA는 다른 물질과도 반응할 수 있으며, TBA도 MDA에 특이적으로 반응하는 것이 아니기 때문에 스트레스 평가 지표로서 MDA의 사용이 제한되어야 된다는 지적이 있다(Janero, 1990).

수종 간, 가계 간 또는 클론 간 스트레스에 대한 내성 차이는 많은 연구에서 보고되었으나, 이들의 내성 수준을 결정하는 것은 쉽지 않다. 이것은 수종은 물론 가계에 따라서 스트레스에 대한 반응이 다양하기 때문이며, 각 스트레스 평가 지표들의 민감성 또한 서로 다르기 때문이다. 따라서 수종 간 또는 가계 간 내성 수준을 평가하기 위해서, 한 가지 종류의 지표만을 적용하는 것은 잘못된 결과를 가져올 수 있다. 어떤 수목의 오존 내성을 결정하기 위해서는 여러 가지 생리지표들의 상호 연관성을 고려하여 종합적으로 분석하는 것이 바람직하다(Kim *et al.*, 2008; Han and Kim, 2009). 본 연구에서는 통계분석 결과, 가계 간 차이를 보이는 모수들만을 이용하여 표준화 지수를 구하고, 그들을 이용하여 가계 간 내성 수준을 결정하였다. 그 결과, 표준화 지수에 의한 회화나무 8가계의 내성 수준은 생리적인 특성이 반영되어 명확하게 구분되었다.

결론적으로, 스트레스 평가 지표들은 목적에 따라 적절하게 선정되어야 할 것으로 판단된다. 즉 스트레스에 민감한 반응을 나타내는 지표의 탄소고정효율과 같은 평가 지표들은 처리 간 차이를 평가하기에는 매

우 효과적이나, 스트레스 처리 내에서 가계 간 차이를 구분하기에는 적당하지 않은 것으로 판단된다. 반면, 엽록소와 같이 스트레스의 노출에도 민감하게 반응하지 않는 지표들은 처리 간 차이를 평가하기에는 적당하지 않지만, 가계 간 차이를 구분하기에 적당한 것으로 판단된다.

적 요

본 연구는 오존에 노출된 회화나무 8 가계에서 측정된 생리적 지표들을 대상으로, 오존에 대한 민감성을 평가하고, 이 결과들을 종합하여 가계 간 차이를 구명하고자 실시하였다. 회화나무(*Sophora japonica* L.) 8가계를 대상으로 오존 처리 후, 광합성 특성, 엽록소 함량, 항산화효소 활성 및 MDA 함량을 측정하였고, 각 측정 지표들의 표준화 지수를 이용하여 내성 순위를 결정하였다. 탄소고정효율은 6번 가계를 제외한 모든 가계에서 오존 처리 후 뚜렷하게 감소하였으며, 탄소고정효율의 감소율은 -38%에서 -67% 범위를 보였다. 또한 순양자수율은 7번 가계를 제외한 모든 가계에서 오존 처리 후 뚜렷한 감소를 보였으며, 감소율은 -27%에서 -61%를 나타냈다. 엽록소 a를 비롯한 광색소 함량의 가계 간 차이는 컸으나, 오존 처리 효과는 나타나지 않았다. 오존 처리 후, SOD 활성의 증가율은 7%에서 64%로, 가계 간 차이가 뚜렷하였다. APX 활성은 모든 가계에서 오존 처리 후 증가하였으며, 7번 가계가 가장 큰 활성 증가율(218%)을 보였다. 표준화 지수를 기준으로 할 때, 6번 가계의 내성 수준이 가장 낮았으며, 7번 가계의 내성 수준이 가장 높았다. 6번 가계는 오존 처리 후 탄소고정효율을 비롯한 광합성 특성의 감소율과 광색소 함량의 감소율이 높게 나타난 반면, 내성을 나타내는 항산화효소의 활성 증가가 매우 적었다. 반대로 내성 수준이 높은 7번 가계는 오존 처리 후 광합성 특성의 감소율이 다른 가계에 비해 적었으며, 광색소 함량은 오히려 오존 처리 후 증가하였고, 항산화효소의 증가율도 다른 가계에 비해 높게 나타났다.

REFERENCES

Alonso, R., S. Elvira, F. J. Castillo, and B. S. Gimeno, 2001: Interactive effects of ozone and drought stress on

- pigments and activities of antioxidative enzymes in *Pinus halepensis*. *Plant, Cell & Environment* **24**, 905-916.
- Bennet, J. H., E. H. Lee, and E. H. Heggestad, 1984: Biochemical aspect of plant. *Gaseous Air Pollutants and Plant Metabolism*. Koziol, M.J. and Whatley, F.R. (ed.) 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.
- Coleman, M. D., R. E. Dickson, J. G. Isebrands, and D. F. Karnosky, 1995a: Carbon allocation and partitioning in aspen clones varying in sensitivity to tropospheric ozone. *Tree Physiology* **15**, 593-604.
- Coleman, M. D., J. G. Isebrands, R. E. Dickson, and D. F. Karnosky, 1995b: Photosynthetic productivity of aspen clones varying in sensitivity to tropospheric ozone. *Tree Physiology* **15**, 585-592.
- Cooper, O. R., D. D. Parrish, A. Stohl, M. Trainer, P. Nedelec, V. Thouret, J. P. Cammas, S. J. Oltmans, B. J. Johnson, D. Tarasick, T. Leblanc, I. S. McDermid, D. Jaffe, R. Gao, J. Stith, T. Ryerson, K. Aikin, T. Campos, A. Weinheimer, and M. A. Avery, 2010: Increasing springtime ozone mixing ratios in the free troposphere over western North America. *Nature* **463**, 344-348.
- Dizengremel, P., D. L. Thiec, M. Bagard, and Y. Jolivet, 2008: Ozone risk assessment for plants: Central role of metabolism-dependent changes in reducing power. *Environmental Pollution* **156**, 11-15.
- Fares, S., F. Loreto, E. Kleist, and J. Wildt, 2008: Stomatal uptake and stomatal deposition of ozone in isoprene and monoterpene emitting plants. *Plant Biology* **10**, 44-54.
- Fares, S., J. H. Park, E. Ormeno, D. R. Gentner, M. McKay, F. Loreto, J. Karlik, and A. H. Goldstein, 2010: Ozone uptake by citrus trees exposed to a range of ozone concentrations. *Atmospheric Environment* **44**, 3404-3412.
- 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.
- 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)
- Gerosa, G., R. Marzuoli, R. Desotgiu, F. Bussotti, and A. Ballarin-Denti, 2008: Visible leaf injury in young trees of *Fagus sylvatica* L. and *Quercus robur* L. in relation to ozone uptake and ozone exposure. An Open-Top Chambers experiment in South Alpine environmental conditions. *Environmental Pollution* **152**, 274-284.
- Han, S. H., and D. H. Kim, 2009: Determination of ozone tolerance on environmental tree species using standard index. *Korean Journal of Agricultural and Forest Meteorology* **11**, 3-12. (in Korean with English abstract)

- 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 in the leaves of 14 coniferous trees under field conditions. *Journal of Korean Forest Society* **95**, 209-215.
- 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.
- Hiscox, J. D., and G. F. Israelstam, 1979: A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. *Canadian Journal of Botany* **57**, 1332-1334.
- 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 Radical Biology and Medicine* **9**, 515-540.
- Jones, M. L. M., F. Hayes, G. Mills, T. H. Sparks, and J. Fuhrer, 2007: Predicting community sensitivity to ozone, using Ellenberg Indicator values. *Environmental Pollution* **146**, 744-753.
- Karnosky, D. F., Z. E. Gagnon, R. E. Dickson, M. D. Coleman, E. H. Lee, and J. G. Isebrands, 1996: Changes in growth, leaf abscission, and biomass associated with seasonal tropospheric ozone exposures of *Populus tremuloides* clones and seedlings. *Canadian Journal of Forest Research* **26**, 23-37.
- Karnosky, D. F., K. E. Percy, B. Xiang, B. Callan, A. Noormets, B. Mankovska, A. Hopkin, J. Sober, W. Jones, R. E. Dickson, and J. G. Isebrands, 2002: Interacting elevated CO₂ and tropospheric O₃ predisposes aspen (*Populus tremuloides* Michx.) to infection by rust (*Melampsora medusae* f. sp. *tremuloidae*). *Global Change Biology* **8**, 329-338.
- Karnosky, D. F., J. M. Skelly, K. E. Percy, and A. H. Chappelka, 2007: Perspectives regarding 50 years of research on effects of tropospheric ozone air pollution on US forests. *Environmental Pollution* **147**, 489-506.
- Kim, D. K., S. H. Han, J. J. Ku, K. Y. Lee, and P. G. Kim, 2008: Physiological and biochemical responses to ozone toxicity in five species of genus *Quercus* seedlings. *Korean Journal of Agricultural and Forest Meteorology* **10**, 47-57.
- 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.
- Loreto, F., and S. Fares, 2007: Is ozone flux inside leaves only a damage indicator? Clues from volatile isoprenoid studies. *Plant Physiology* **143**, 1096-1100.
- 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.
- Nowak, D. J., and J. F. Dwier, 2007: Understanding the benefits and costs of urban forest ecosystems. *Urban and Community Forestry in the Northeast*. Kuser, J.E. (ed.) Springer Netherlands. 25-44.
- Oksanen, E., and M. Rousi, 2001: Differences of *Betula* origins in ozone sensitivity based on open-field 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 Finnish hybrid aspen (*Populus tremuloides* × *P. tremula*) to elevated tropospheric ozone concentration. *Tree Physiology* **21**, 1171-1181.
- Panek, J. A., 2004: Ozone uptake, water loss and carbon exchange dynamics in annually drought-stressed *Pinus ponderosa* forests: measured trends and parameters for uptake modeling. *Tree Physiology* **24**, 277-290.
- 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.
- Pell, E. J., C. D. Schlagnhauser, and R. N. Artega, 1997: Ozone-induced oxidative stress: Mechanisms of action and reaction. *Physiologia Plantarum* **100**, 264-273.
- Pell, E. J., J. P. Sinn, B. W. Brendley, L. Samuelson, C. Vinten-Johansen, M. Tien, and J. Skillman, 1999: Differential response of four tree species to ozone-induced acceleration of foliar senescence. *Plant, Cell & Environment* **22**, 779-790.
- Reich, P. B., 1983: Effects of low concentrations of O₃ on net photosynthesis, dark respiration, and chlorophyll contents in aging hybrid poplar leaves. *Plant Physiology* **73**, 291-296.
- Ribas Á., J. Peñuelas, S. Elvira, and B. S. Gimeno, 2005: Ozone exposure induces the activation of leaf senescence-related processes and morphological and growth changes in seedlings of Mediterranean tree species. *Environmental Pollution* **134**, 291-300.
- Schaub, M., J. M. Skelly, J. W. Zhang, J. A. Ferdinand, J. E. Savage, R. E. Stevenson, D. D. Davis, and K. C. Steiner, 2005: Physiological and foliar symptom response in the crowns of *Prunus serotina*, *Fraxinus americana* and *Acer rubrum* canopy trees to ambient ozone under forest conditions. *Environmental Pollution* **133**, 553-567.