

ORIGINAL ARTICLE

## 식물정화를 위한 중금속 내성 작물의 선발과 수수-수단그라스 교잡종의 구리와 아연 흡수능력

오순자<sup>1)</sup> · 고석찬\*

제주대학교 생물학과 · 기초과학연구소, <sup>1)</sup>농촌진흥청 국립원예특작과학원 온난화대응농업연구소

### Copper and Zinc Uptake Capacity of a Sorghum-Sudangrass Hybrid Selected for *in situ* Phytoremediation of Soils Polluted by Heavy Metals

Soon-Ja Oh<sup>1)</sup>, Seok-Chan Koh\*

Department of Biology & Research Institute for Basic Sciences, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

<sup>1)</sup>Agricultural Research Institute for Climate Change, RDA, Jeju 690-150, Korea

#### Abstract

As essential trace elements, copper and zinc play important roles in many physiological events in plants. In excess, however, these elements can limit plant growth. This study selected a heavy metal-tolerant plant by analyzing seed germination and biomass of alfalfa (*Medicago sativa*), canola (*Brassica campestris* subsp. *napus* var. *nippo-oleifera*), Chinese corn (*Setaria italica*), and a sorghum-sudangrass hybrid (*Sorghum bicolor* × *S. sudanense*), and determined heavy metal uptake capacity by analyzing biomass, chlorophyll a fluorescence, and heavy metal contents under high external copper or zinc levels. The seed germination rate and biomass of the sorghum-sudangrass hybrid were higher under copper or zinc stress compared to the other three plants. The plant biomass and photosynthetic pigment contents of the sorghum-sudangrass hybrid seedlings were less vulnerable under low levels of heavy metals ( $\leq 50$  ppm copper or  $\leq 400$  ppm zinc). The maximum quantum yield of PSII ( $F_v/F_m$ ) and the maximum primary yield of PSII ( $F_v/F_o$ ) decreased with increasing copper or zinc levels. Under high copper levels, the decline in  $F_v/F_m$  was caused only by the decline in  $F_m$ , and was accompanied by an increase in non-photochemical quenching (NPQ). The  $F_v/F_m$  declined under high levels of zinc due to both a decrease in the maximum fluorescence ( $F_m$ ) and an increase in the initial fluorescence ( $F_o$ ), and this was accompanied by a marked decrease in photochemical quenching (qP), but not by an increase in NPQ. Accumulations of copper and zinc were found in both above- and below-ground parts of plants, but were greater in the below-ground parts. The uptake capacity of the sorghum-sudangrass hybrid for copper and zinc reached 4459.1 mg/kg under 400 ppm copper and 9028.5 mg/kg under 1600 ppm zinc. Our results indicate that the sorghum-sudangrass hybrid contributes to the *in situ* phytoremediation of copper or zinc polluted soils due to its high biomass yield.

**Key words** : Biomass, Chlorophyll a fluorescence, Copper, Photosynthetic pigments, Seed germination, Sorghum-sudangrass hybrid, Zinc

Received 5 October, 2015; Revised 2 November, 2015;

Accepted 3 November, 2015

\*Corresponding author : Seok-Chan Koh, Department of Biology & Research Institute for Basic Sciences, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

Phone: +82-64-754-3528

E-mail: sckoh@jeju.ac.kr

© The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.

© This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## 1. 서 론

산업화와 도시화에 따라 다양한 중금속 물질들이 인위적으로 발생되고 외부로 방출되어 토양이나 지하수의 오염을 유발하고 있어 세계적으로 심각한 환경문제로 인식되고 있다. 중금속은 생태계의 오염을 가중시키고 있을 뿐만 아니라, 토양 입자에 흡착되어 토양 내 중금속 축적과 더불어 식물의 생육장해를 유발하는 등 농업부분에 있어서도 큰 위협이 되고 있으며, 먹이연쇄를 통해 생태계의 여러 영양단계로 전달되어 인간의 건강에도 심각한 영향을 미치게 된다(Nriagu and Panyina, 1988; Thounaojam *et al.*, 2012). 중금속은 비중 4 이상의 무거운 금속 원소를 총칭하며 구리(Cu), 아연(Zn), 카드뮴(Cd), 니켈(Ni), 크롬(Cr) 등을 포함하고 있으며 생물체 내에 고농도로 축적될 경우에는 독성물질로 작용할 수 있다. 따라서 중금속 오염을 감소시키거나 오염된 환경으로부터 중금속을 제거시키고자 하는 연구들이 활발하게 진행되고 있다. 중금속에 대한 초본성 식물의 반응은 대부분 이온의 흡수 저해, 엽록소 함량의 감소 및 측근과 뿌리의 생육 저해 등으로 나타난다(Kahle, 1993; Kelly *et al.*, 1979).

농업토양의 대부분은 각종 중금속을 함유한 농약, 퇴비나 비료의 반복적인 사용, 부적절한 관리 등의 농업적 관행으로 인해 구리나 아연이 상당량 축적되어 있을 것으로 사료된다(L'Herroux *et al.*, 1997; Legros *et al.*, 2013). 특히, 가축분뇨 퇴비나 액비를 활용한 영농이 활발한 지역의 농경지에서는 구리와 아연이 필요 이상으로 토양에 축적되고(L'Herroux *et al.*, 1997; Legros *et al.*, 2013; Penha *et al.*, 2015), 작물로 과잉 흡수되어 농산물의 안전성에 있어서도 문제될 수 있다. 따라서 중금속에 오염된 토양을 정화시키는 방법을 모색할 필요가 있으며, 그 대안 중에 하나인 식물정화(phytoremediation)는 다른 물리·화학적 처리기술보다 경제적이고 환경친화적으로 토양 내의 중금속을 제거하거나 감소시킬 수 있으며 토양 안정화, 오염토양 주변의 경관 조성 등의 부수적인 효과도 얻을 수 있어, 이에 대한 연구가 다양하게 시도되고 있다(Kumar *et al.*, 1995; Mousavi *et al.*, 2013).

한편, 생체내에 1,000 mg/kg 이상의 구리 또는 10,000 mg/kg 이상의 아연을 축적할 수 있는 식물들 중

금속 과축적종(hyperaccumulators)으로 정의하며, 메꽃과의 *Ipomoea alpina*와 꿀풀과의 *Haumaniastrum katangense*는 구리를, 그리고 말냉이속의 *Thlaspi calaminare*, *T. caerulescens*와 제비꽃속의 *Viola calaminaria*는 아연을 가장 잘 축적하는 것으로 보고되었다(Baker and Brooks, 1989). 그러나 이들 식물들은 생육속도가 느리고 낮은 바이오매스를 갖기 때문에 식물체 내에 고농도의 중금속을 축적함에도 불구하고 식물을 이용한 중금속 추출로는 적합하지가 않다.

본 연구는 생육이 왕성하고 작물로 널리 재배되고 있는 알팔파, 유채, 조, 수수수단그라스 교잡종 등 4종을 대상으로 구리와 아연이 종자의 발아 및 초기 생육에 미치는 영향을 조사하여 중금속 내성 작물을 선발하고, 선발된 수수수단그라스 교잡종을 대상으로 구리와 아연의 흡수능력을 조사하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 공시작물

공시작물은 사료 또는 녹비 작물로 널리 재배되고 있는 알팔파(alfalfa; *Medicago sativa* L.), 유채(canola; *Brassica campestris* subsp. *napus* var. *nippo-oleifera* Makino), 조(Chinese corn; *Setaria italic* (L.) Beauv.), 수수수단그라스 교잡종(sorghum-sudangrass hybrid; *Sorghum bicolor* Moench × *S. sudanense* (L.) Moench cv. TE-Haygrazer) 등 4종을 선정하였으며, 이들 종자를 종묘사에서 구입하여 실험에 사용하였다.

### 2.2. 구리와 아연 내성 작물의 선발

외관상 상처가 없고 균일한 크기의 종자들을 선별하여 표면을 살균한 후 구리 또는 아연을 처리하여 발아시켰으며, 구리와 아연이 종자 발아 및 초기 생육에 미치는 영향을 조사하였다. 종자의 표면 살균은 알팔파, 유채, 조, 수수수단그라스 교잡종 종자를 각각 중성세제 2~3 방울을 넣은 증류수에서 15분간 표면을 세척한 후, 70% ethanol로 1분간, 1% sodium hypochlorite 용액으로 15분간 처리하고 멸균수로 3회 세척하였다. 소독된 종자는 멸균된 filter paper로 종자표면의 물기를 제거한 후, 발아시험에 사용하였다. 발아시험은 사각 petri-dish (72 x 72 x 100 mm)에 filter paper 2매를 깔고 다양한 농도의

구리(0, 25, 50, 100, 200, 400 ppm) 또는 아연(0, 100, 200, 400, 800, 1600 ppm)을 10 mL씩 주입한 다음 식물의 종자를 20립씩 치상하여 배양실(26±1 °C, 100 μmol/m<sup>2</sup>/s, 16h 명기/8h 암기)에서 7일간 성장시켜 발아율 및 초기 생육을 조사하였다. 발아는 유근이 종피를 뚫고 1 mm 이상 신장한 것을 육안으로 조사하고, 초기 생육은 지상부 길이, 뿌리길이, 생체량을 각각 측정하였으며, 대조구와 비교하여 구리 또는 아연 내성 작물을 선발하였다.

**2.3. 수수-수단그라스 교잡종 유식물체 생육 시 구리와 아연의 영향**

수수-수단그라스 교잡종 종자는 위와 동일하게 살균하고 파종하여 배양실(26±1 °C, 100 μmol/m<sup>2</sup>/s, 16h 명기/8h 암기)에서 10일간 배양하여 균일한 상태의 유식물체를 얻었다. 유식물체가 들어있는 용기에 다양한 농도의 구리(0, 25, 50, 100, 200, 400 ppm) 또는 아연(0, 100, 200, 400, 800, 1600 ppm)을 첨가하여 배양하면서 광계II 활성, 엽록소 및 카로티노이드 함량, 식물체 내에 축적된 구리와 아연의 함량을 분석하였다.

**2.4. 광계II 활성 분석**

광계II 활성은 엽록소형광분석기(Plant Efficiency Analyzer, Hansatech Instrument Ltd., King's Lynn, UK)를 이용하여 분석하였다(Strasser and Strasser, 1995). 중금속의 종류와 농도를 달리하여 배양 중인 수수-수단그라스 교잡종을 5일과 10일째에 각각 5개체씩을 무작위적으로 선택하여 2-3번째에 위치한 잎을 대상으로 15분간 광을 차단하여 암적응 후, 1,500 μmol/m<sup>2</sup>/s의 광량을 5초간 조사하여 F<sub>o</sub>, F<sub>m</sub>, F<sub>v</sub>/F<sub>o</sub>, F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>, qP, NPQ 등의 형광변수들을 측정하였다. 모든 실험은 4반복하여 평균값을 나타내었다.

**2.5. 엽록소 및 카로티노이드 함량의 분석**

엽록소와 카로티노이드 함량은 배양 후 7일째의 잎을 취하여 측정하였다. 채취한 잎은 dimethyl sulfoxide를 이용하여 광합성 색소를 추출하였으며, 663 nm, 645 nm 및 470 nm에서 흡광도를 측정하고 아래의 식을 이용하여 엽록소 a와 b, carotenoid의 함량을 산출하였다(Arnon, 1949; Lichtenthaler and Wellburn, 1983). 모든 실험은 4반복하여 평균값을 나타내었다.

$$\begin{aligned} \text{Chlorophyll a} &= 12.7 \cdot A_{663} - 2.69 \cdot A_{645} \\ \text{Chlorophyll b} &= 22.9 \cdot A_{645} - 4.68 \cdot A_{663} \\ \text{Total Chlorophyll (a+b)} &= 20.29 \cdot A_{645} + 8.02 \cdot A_{663} \\ \text{Total Carotenoid} &= (1000 \cdot A_{470} - 1.82 \cdot \text{Chl a} - 85.02 \cdot \text{Chl b})/198 \end{aligned}$$

**2.6. 식물체 내 중금속 축적량의 분석**

식물체 내 중금속 축적량은 각 처리구별로 10일간 배양한 식물체를 채취하여 증류수로 표면을 세척하고 물기를 제거하여 건조시킨 후 농촌진흥청 농업과학기술원 표준분석법에 준하여 분석하였다(NIAST, 2000). 식물체는 지상부와 지하부로 구분하여 충분히 건조시킨 후 잘게 마쇄하여 분석용 시료로 사용하였다. 시료에 분해용액(HNO<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:HClO<sub>4</sub>=10:1:4)을 첨가하여 전처리 및 여과과정을 거친 후 유도결합플라즈마 발광광도계(Inductively Coupled Plasma Spectrophotometry-Mass, ICP-Integra XL, GBC Scientific Equipment Pty Ltd., Victoria, Australia)를 이용하여 분석하였으며, 건물중 1 kg당 함량과 개체당 함량으로 나타내었다.

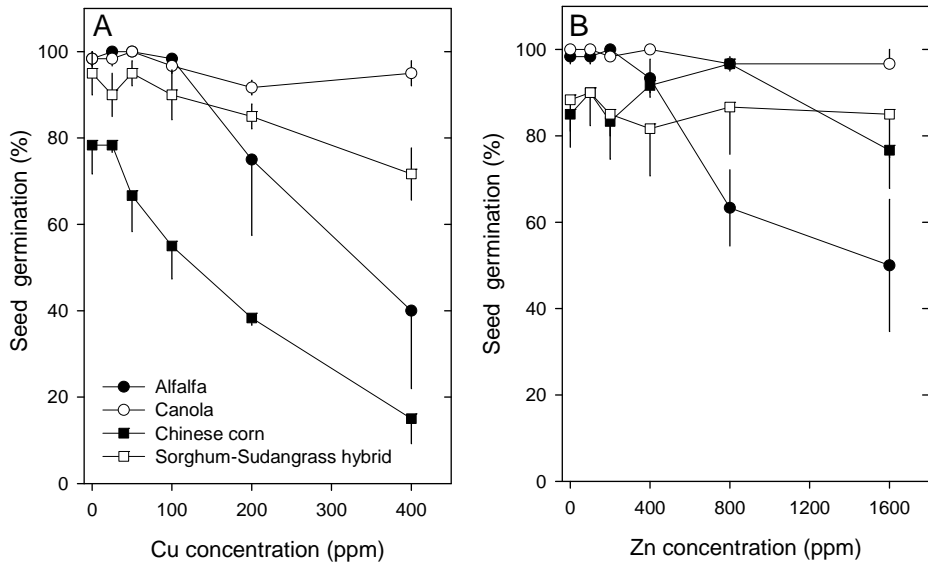
**2.7. 통계분석**

모든 통계분석은 SPSS 통계 패키지 18.0(SPSS, Chicago, IL, USA)를 이용하여 수행하였으며, ANOVA에 이어서 Duncan의 다중검정(p < 0.05)으로 평균치간의 차이에 대한 유의성을 검정하였다.

**3. 결과 및 고찰**

**3.1. 구리와 아연 내성 작물의 선발**

다양한 농도의 구리와 아연을 처리하였을 때 유채와 수수-수단그라스 교잡종이 알팔파와 조에 비해 고농도의 구리와 아연 하에서도 높은 발아율을 보였다(Fig. 1). 유채와 수수-수단그라스 교잡종은 400 ppm의 고농도 구리에서도 대략 70% 이상 발아하였으나, 알팔파는 200 ppm까지는 유채나 수수-수단그라스 교잡종과 유사하지만 그 이상의 농도에서는 발아율이 급격하게 감소하였으며, 조는 100 ppm 이상의 구리에서 발아율이 50% 이하로 급격하게 감소하여 구리에 매우 민감한 것으로 나타났다(Fig. 1A). 아연을 처리하였을 때에는 유채, 수수-수단그라스 교잡종과 조는 1600 ppm의 고농도 아연에서도 대략 80% 이상이 발아하였는데 반해, 알팔파는 800



**Fig. 1.** Effects of copper and zinc on seed germination of four crop plants (alfalfa, canola, Chinese corn, sorghum-sudangrass hybrid) 7 days after sowing under different concentration of copper or zinc. Each symbol and error bar represents the mean  $\pm$  SD of four replicates.

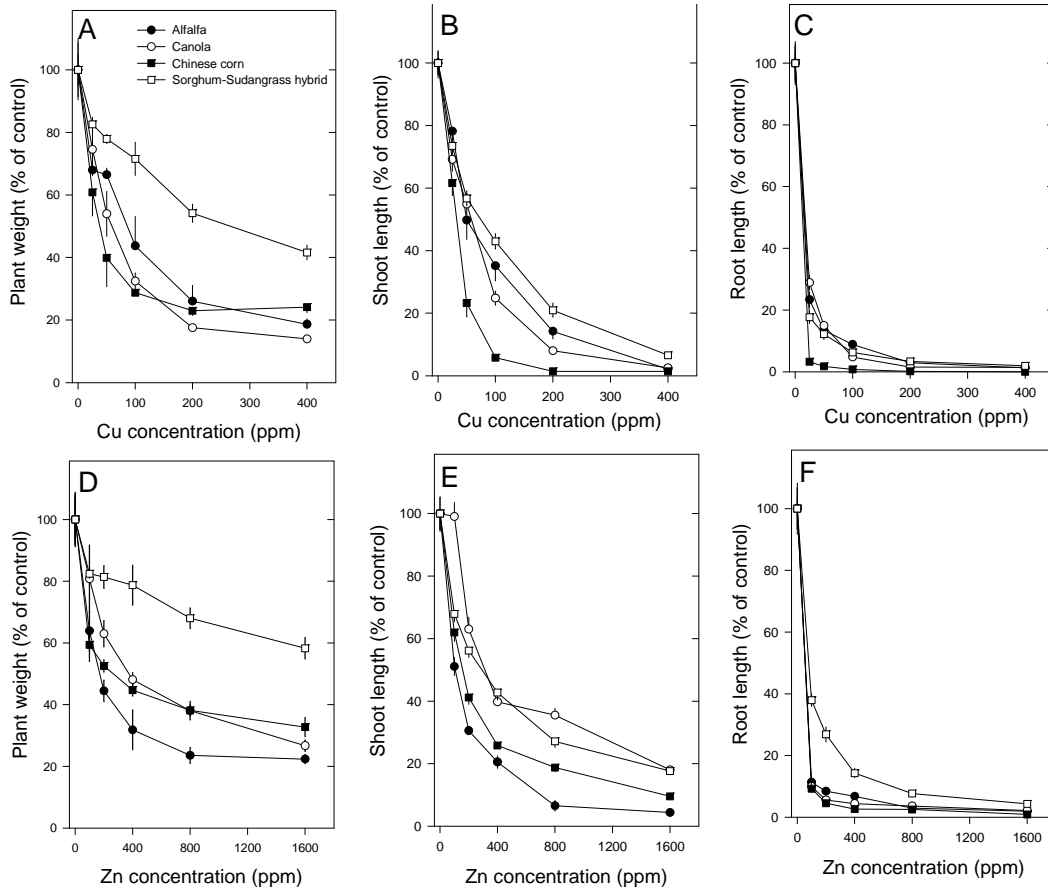
ppm 이상의 아연에서 발아율이 60% 이하로 급격하게 낮았다(Fig. 1B).

생체량, 지상부와 지하부 길이 등 작물의 초기 생육에 있어서 4종 모두 구리와 아연에 의한 독성 영향이 나타났으며, 지상부보다 지하부가 더 심각하게 영향을 받는 것으로 나타났다(Fig. 2). 하지만, 알팔파, 유채, 조는 100 ppm의 구리와 400 ppm의 아연에서 생체량이 50% 이상 크게 감소하는데 반하여 수수-수단그라스 교잡종의 생체량은 다른 3종에 비해 고농도의 구리와 아연에서도 20~30%의 감소에 지나지 않았다(Fig. 2A, 2D). 지상부의 생장은 조는 50 ppm의 구리 또는 200 ppm의 아연에서, 알팔파는 200 ppm의 아연에서 크게 억제되어 조는 구리와 아연 모두에, 알팔파는 아연에 특히 민감하였으며, 수수-수단그라스 교잡종은 비교적 고농도인 100 ppm의 구리 또는 400 ppm의 아연에서도 저해의 정도가 낮았다(Fig. 2B, 2E). 뿌리의 생장은 4종의 사료작물 모두 구리와 아연의 농도가 증가함에 따라 크게 억제되었으나, 구리에서는 유채, 알팔파, 수수-수단그라스 교잡종이, 아연에서는 수수-수단그라스 교잡종이 상대적으로 저해의 정도가 낮았다(Fig. 2C, 2F). 이러한 결과는 우리나라 토양환경보전법령에서 제시한 농경지 내 구리와 아

연의 토양오염 우려기준 150 mg/kg와 300 mg/kg 정도의 범위 내에서는 수수-수단그라스 교잡종이 다른 3종의 작물에 비해 내성을 갖는 것으로 판단된다(ME, 2014).

### 3.2. 수수-수단그라스 교잡종 유식물체 생육시 구리와 아연의 영향

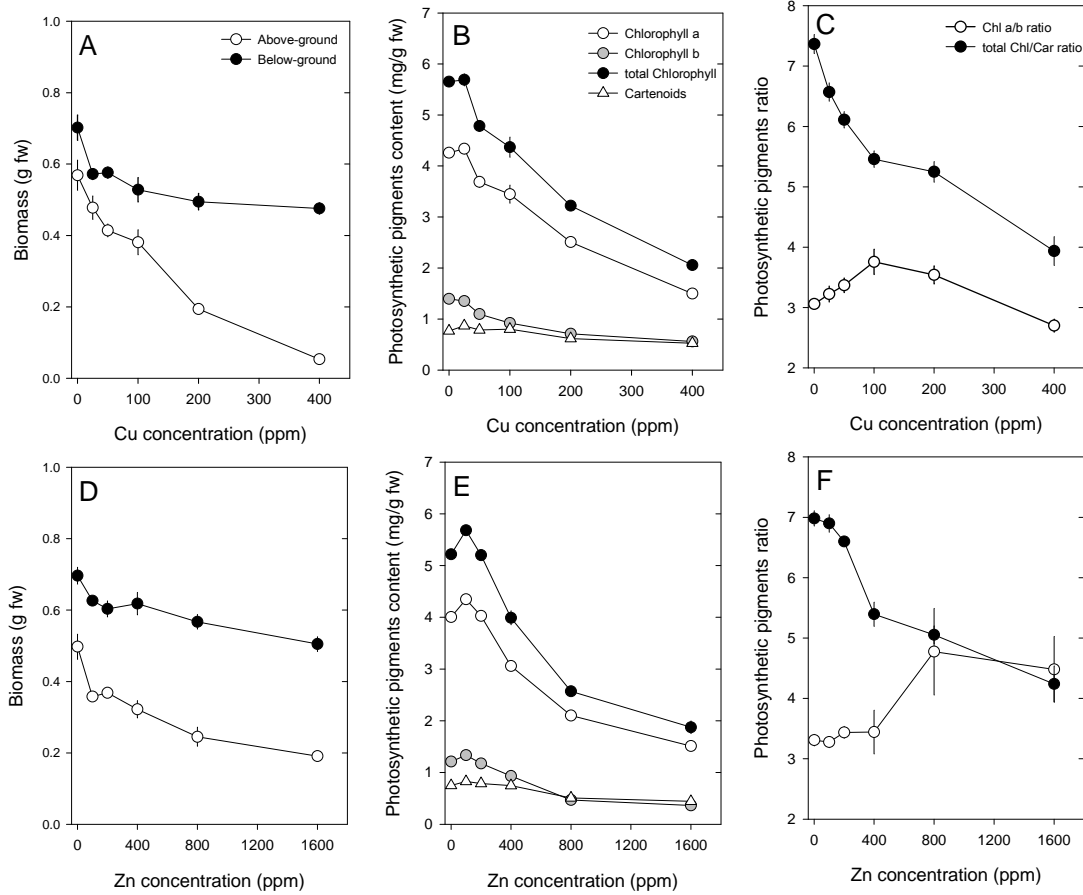
구리와 아연의 존재 하에서 수수-수단그라스 교잡종 유식물체가 생육하는 동안 잎의 생장 감소, 황백화 현상, 폐놀성 물질로 보이는 적갈색 색소 등이 나타나 생육장해가 크게 나타났다(테이타 미제시). 이러한 증상은 중금속 오염 토양에서 흔히 나타나는데 토양 pH값이 낮아짐에 따라 토양 내 Cu, Pb 및 Zn의 가용성이 증가하고 중금속의 이동성과 유효도가 증가한 결과로 독성이 유발되었다고 할 수 있다(Martinez and Motto, 2000). 구리와 아연의 농도를 인위적으로 높이고 과잉피해의 증상을 조사한 결과 농도가 증가함에 따라 생체량이 대조구인 정상 식물체와 비교하였을 때 지하부 보다 지상부에서 더 급격하게 감소하였고(Fig. 3A, 3B), 배양기간이 길어짐에 따라 하위엽 전체의 갈변 및 괴사 증상도 관찰되었다(테이타 미제시). 이러한 가시적 피해 현상은 수수(*Sorghum bicolor* Moench)에서 Cu가 과다하게 시비되



**Fig. 2.** Effects of copper and zinc on the biomass of four crop plants (alfalfa, canola, Chinese corn, sorghum-sudangrass hybrid) 7 days after sowing under different concentrations of copper or zinc. Each symbol and error bar represents the mean  $\pm$  SD of 10 replicates.

어 식물체의 흡수량이 증가하면 Fe 부족과 유사한 엽맥간 황화현상이 발생되고 엽맥 사이에 직선형태의 황화현상과 함께 잎의 가장자리에 직선형태의 붉은색 줄이 형성되는 것으로 보고된 바 있다(Clark *et al.*, 1981). 특히, 신엽의 엽맥간 황화현상은 본 연구의 결과와 매우 유사하며, 잎 가장자리가 붉은색으로 변하는 것도 본 연구의 하위엽이 주황색으로 변하는 증상과 유사한 것으로 판단된다. 엽록소 a와 b의 함량은 50 ppm 이상의 구리, 400 ppm 이상의 아연에 노출되었을 때 중금속의 농도가 증가함에 따라 크게 감소하였다. Carotenoid는 200 ppm 이상의 구리 또는 800 ppm 이상의 아연에 의하여 다소 감소하였다(Fig. 3C, 3D). 또한, 엽록소 a/b 비는 구리

100 ppm과 아연 800 ppm까지는 중금속의 농도가 증가함에 따라 증가하였으며, 그 이상의 농도에서는 감소하는 양상을 보였다. 그리고, Chl a+b/carotenoid 비는 중금속의 농도가 증가함에 따라 크게 감소하였다(Fig. 3E, 3F). 중금속은  $\delta$ -aminolevulinic acid 탈수소효소와 protochlorophyllide 환원효소를 억제하여 엽록소의 생합성을 저해하는 것으로 보고되고 있다(Ouzounidou, 1995). 특히, 식물체가 고농도의 구리 이온에 노출되었을 때 철 이온이 구리로 치환되기 때문에 독성이 나타난다(Daniels *et al.*, 1972). 이는 앞서 설명한 바와 같이 고농도의 구리에 의한 황화 현상이 철분 결핍에 의해 나타나는 증상과 유사한 것으로도 알 수 있다.



**Fig. 3.** Effects of copper and zinc on the biomass (A and D), and the contents (B and E) and the ratios (C and F) of photosynthetic pigments in sorghum-sudangrass hybrid 7 days after exposure to different concentrations of copper or zinc. Each symbol and error bar represents the mean  $\pm$  SD of four replicates.

### 3.3. 수수-수단그라스 교잡종 유식물체의 엽록소형광 반응에 미치는 구리와 아연의 영향

수수-수단그라스 교잡종의 유식물체에 다양한 농도의 구리 또는 아연을 처리한 후 5일, 10일째의 잎을 가지고 엽록소형광 반응을 살펴보았다(Table 1). 광계II의 광화학적효율( $F_v/F_m$ )은 처리 후 5일에는 구리나 아연의 농도에 따라 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 10일간 배양하였을 때에는 구리 200 ppm 이상 또는 아연 800 ppm 이상에서  $F_v/F_m$  값이 크게 감소하였고, 이는 고농도의 중금속에 의해 광계II 반응중심의 손상을 야기하고 광계II에서 광계 I 으로의 전자전달이 감소하거나 부분적으로 차

단됨으로써 quinone A(QA)의 재산화가 억제되는 때문으로 보인다(Mallick and Mohn, 2003). 광계II의 잠재적 광합성능( $F_v/F_0$ ; 활성상태의 반응중심의 크기와 밀도) 또한  $F_v/F_m$  값의 변화 패턴과 유사하였다. 이러한  $F_v/F_0$ 의 급격한 감소는 광계II의 반응중심이 불활성상태에 처해 있음을 나타내며(Kriedemann *et al.*, 1985),  $F_v/F_m$ 의 감소와 마찬가지로 식물체가 스트레스를 받고 있음을 나타낸다. 구리( $Cu^{2+}$ ), 니켈( $Ni^{2+}$ ), 카드뮴( $Cd^{2+}$ ), 코발트( $Co^{2+}$ ) 등 다른 중금속에 노출된 녹조류에서도  $F_v/F_m$ ,  $F_m$ ,  $F_0/F_v$  등의 형광변수들이 감소하는 것으로 보고되었다(Mallick and Mohn, 2003). 최소형광  $F_0$ 는 200 ppm

이상의 구리에서 5일간 배양하였을 때 다소 감소하였으나 10일째에는 영향이 없었으며, 아연 처리 5일째에는 영향이 없었으나 10일째에 다소 증가하였다. 그러나 그 경향성은 명확하지 않았다. 그리고 최대형광  $F_m$  값도 구리나 아연의 농도가 증가함에 따라 감소하였다. 처리 후 5일에는 구리나 아연의 농도에 따라 큰 차이를 보이지 않았으나 10일간 배양하였을 때에는 이들 중금속의 농도가 증가함에 따라 크게 낮아졌다. 따라서 위의  $F_v/F_m$ ,  $F_v/F_0$  의 감소는  $F_m$ 의 감소로부터 기인한 결과로 보인다.

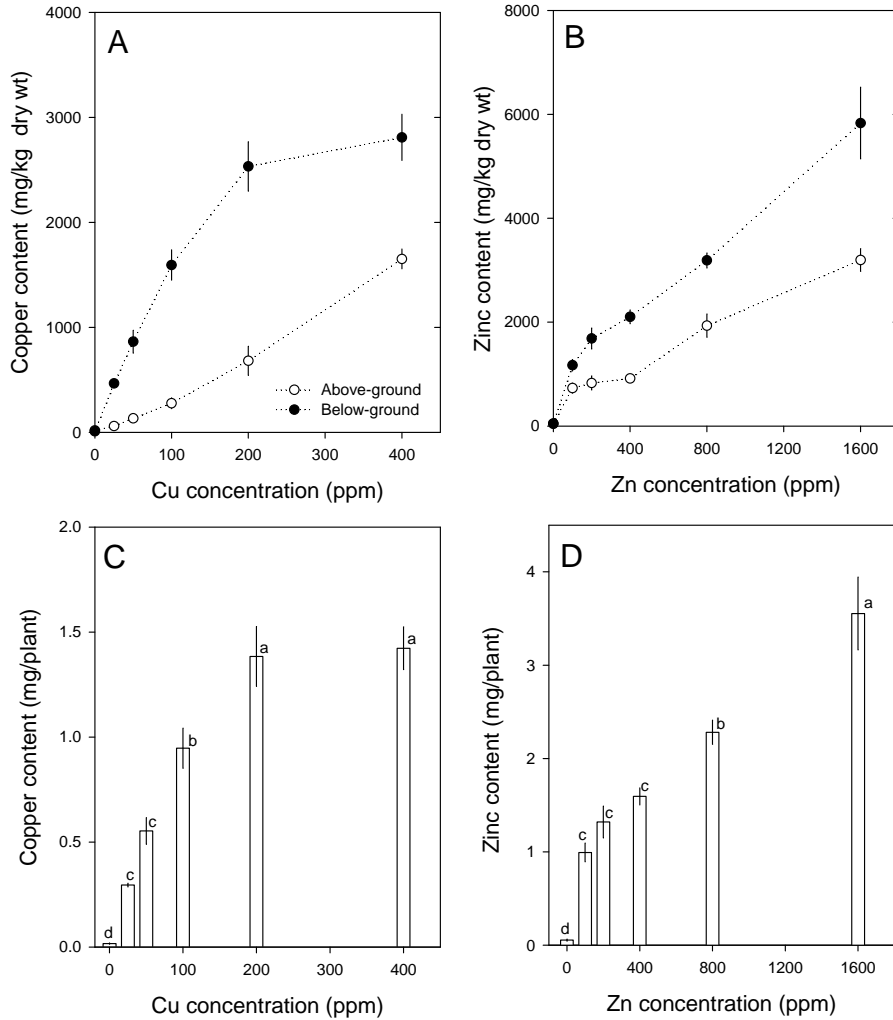
비광화학적 소멸(NPQ; Non-Photochemical Quenching)은 구리 농도가 증가함에 따라 증가하였으며 처리 후 5일째와 10일째 모두 400 ppm에서 유의한 차이를 보였다. 아연에서는 10일째에만 아연 농도가 증가함에 따라 유의한 차이를 보였다. 광화학적 소멸(qP; photochemical quenching)은 구리를 처리하였을 때 배양 농도나 기간에 관계없이 차이를 보이지 않았으나, 아연을 처리하였을 때에는 10일째에 800 ppm 이상에서 크게 감소하였다. 특히, 이들 변수는 10일간 배양하였을

**Table 1.** Effects of copper and zinc on chlorophyll a fluorescence parameters of sorghum-sudangrass hybrid 5 or 10 days after exposure to different concentrations of copper or zinc

Metal	Days	Concentration (ppm)	$F_v/F_m$	$F_v/F_0$	$F_0$	$F_m$	NPQ	qP		
Cu	5	0	0.76 a <sup>z</sup>	2.98 a	390 a	1661 a	0.60 b	1.79 a		
		25	0.76 a	2.91 a	395 a	1648 a	0.61 b	1.76 a		
		50	0.77 a	2.98 a	378 ab	1620 a	0.62 b	1.84 a		
		100	0.76 a	2.98 a	377 ab	1608 a	0.63 b	1.85 a		
		200	0.77 a	2.99 a	364 b	1567 a	0.64 b	1.91 a		
		400	0.75 a	2.73 a	357 b	1445 b	0.70 a	1.89 a		
	10	0	0.73 ab	2.49 a	414 a	1561 a	0.65 b	1.59 a		
		25	0.76 a	2.80 a	381 a	1574 a	0.64 b	1.79 a		
		50	0.73 ab	2.49 a	378 a	1439 ab	0.71 b	1.73 a		
		100	0.72 ab	2.37 ab	359 a	1319 bc	0.78 b	1.79 a		
		200	0.66 b	1.93 b	418 a	1259 c	0.81 b	1.52 a		
		400	0.56 c	1.37 c	360 a	911 d	1.48 a	1.58 a		
		Zn	5	0	0.75 a	2.84 a	398 a	1636 a	0.62 a	1.73 a
				100	0.77 a	2.97 a	379 a	1619 a	0.62 a	1.84 a
200	0.76 a			2.92 a	382 a	1609 a	0.63 a	1.82 a		
400	0.77 a			3.04 a	382 a	1661 a	0.60 a	1.83 a		
800	0.76 a			2.88 a	379 a	1581 a	0.64 a	1.82 a		
1600	0.76 a			2.94 a	388 a	1638 a	0.62 a	1.80 a		
10	0		0.73 a	2.42 a	419 ab	1532 a	0.66 c	1.60 a		
	100		0.73 a	2.41 a	379 b	1380 abc	0.73 bc	1.78 a		
	200		0.73 a	2.38 a	359 b	1319 bc	0.76 bc	1.79 a		
	400		0.74 a	2.59 a	373 b	1447 ab	0.70 c	1.78 a		
		800	0.64 b	1.60 b	458 ab	1280 c	0.82 b	1.25 b		
		1600	0.54 c	1.11 c	472 a	1044 d	0.98 a	1.06 b		

<sup>z</sup> The data are represented as the mean of 20 replicates, which were analyzed with ANOVA and Duncan's multiple range test at  $p \leq 0.05$

<sup>y</sup> The different letters in the same column indicate statistically significant difference among different concentrations of copper or zinc



**Fig. 4.** Copper and zinc accumulation in above and below parts of sorghum-sudangrass hybrid 10 days after exposure to different concentrations of copper or zinc. Each symbol and error bar represents the mean  $\pm$  SD of four replicates.

때에 구리와 아연에 따라 뚜렷한 차이를 보였고, 전반적으로 이들 중금속의 농도가 증가함에 따라 NPQ는 증가하고 qP는 감소하는 양상을 보였다. 즉, 고농도의 구리에서는 NPQ의 증가가 qP의 감소보다 더 커서 전자전달이 제한받기는 하지만 과도한 빛을 열의 형태로 소비함으로써 광합성기구의 손상을 어느 정도 완화시키는 것으로 보인다(Maxwell and Johnson, 2000). 이에 반해 고농도의 아연에서는 NPQ의 증가보다 qP의 감소가 더 커서 광화학적 반응과 전자전달이 심하게 억제되고 있음을 알

수 있다. 애기장대(*Arabidopsis thaliana* L. cv. Heynh) 유묘에서도 100  $\mu$ M의  $\text{Cu}^{2+}$ 에 노출되었을 때 시간이 경과함에 따라 NPQ는 증가하고 qP는 크게 감소하였다고 한다(Maksymiec *et al.*, 2007). 이처럼 중금속의 종류에 따라 작물체내에서의 반응기작은 달라질 수 있는데, 수수단grass 교잡종은 고농도의 구리와 아연에 대해서도 다른 기작에 의한 광억제를 받고 있으며 구리에 대한 내성이 좀 더 큰 것으로 보인다. 즉, 고농도의 구리에서는  $F_v/F_m$  값의 감소가  $F_m$ 의 감소에 기인하고 있고,



NPQ의 증가가 나타나고 있는데 반해 아연에서는 Fv/Fm 값의 감소가 F<sub>o</sub>의 증가와 F<sub>m</sub>의 감소를 동반하고 있고 qP의 감소가 더 큰 데서 짐작해볼 수 있다.

### 3.4. 수수-수단그라스 교잡종 체내 구리와 아연의 축적

수수-수단그라스 교잡종 유식물체에 다양한 농도의 구리와 아연을 처리하여 식물부위별 구리 또는 아연의 축적은 모두 지상부보다 지하부에 축적되는 양이 더 많았으며, 그 양은 처리한 중금속의 농도가 높을수록 크게 증가하였다(Fig. 6). 고농도(400 ppm)의 구리에서 수수-수단그라스 교잡종의 전체 구리 축적량은 4459.1 mg/kg이며, 지상부와 지하부에서 각각 1650.9 mg/kg와 2808.2 mg/kg으로 지하부의 구리 함량이 지상부에 비해 대략 1.7배 더 높았다(Fig. 6A). 그리고 식물체당 구리 함량은 대조구에서는 0.02 mg으로 아주 낮았는데 반해 구리의 농도가 증가함에 따라 식물체 내로 흡수되는 구리의 함량이 점차 증가하여 200 ppm 이상의 농도에서는 식물체당 1.0 mg 이상의 높은 값을 보였다(Fig. 6C). 고농도(1600 ppm)의 아연에서 수수-수단그라스 교잡종의 전체 아연 축적량은 9028.5 mg/kg이며, 그 중 지상부는 3196.4 mg/kg이며, 지하부는 5832.1 mg/kg으로 지하부에서 대략 1.8배 더 높았다(Fig. 6B). 그리고 식물체당 아연 함량은 대조구에서는 0.05 mg으로 아주 낮았는데 반해 용액 내 아연의 농도가 증가함에 따라 식물체 내로 흡수되는 아연의 함량이 점차 증가하여 800 ppm 이상의 아연용액에서 식물체당 2.0 mg 이상의 높은 값을 보였다(Fig. 6D). 본 연구에서 고농도의 구리와 아연을 처리하였을 때 수수-수단그라스 교잡종 뿌리에서 중금속 축적량이 높게 나타났으며, 이러한 결과는 식물학적 복원 기술 중 중금속의 근권부 고정 기술에 활용될 수 있음을 시사한다. 중금속이 식물체 내로의 흡수 및 반응기작은 중금속의 종류, 작물의 종류 및 생육시기 등에 따라 크게 차이가 있다. 아연광산 인근지역에서 자생하는 식물들 중에 고마리(*Persicaria thunbergii* H. Gross)와 쇠뜨기(*Equisetum arvense* L.)는 구리와 아연 함량이 높아 중금속 제거효과가 큰 식물종으로 보고되었으며(Jung *et al.*, 1993), 아연 및 구리오염 농경지에서 식물복원종으로 담배(*Nicotiana tabacum* L.)의 이용가능성이 제시된 바 있다(Lee and Kang, 2001). 수단그라스(*Sorghum bicolor* (L.) Moench)는 녹비 또는 사료작물로 널리 이

용되고 있는 화본과 작물종의 하나이며, 여름철 기온과 고온에 강하고 척박한 토양에서도 잘 자라기 때문에 남부 및 제주지역에서도 많이 재배하고 있다. 더군다나 수단그라스는 스트레스에 강한 저항성을 가지고 있고, 다양한 중금속에 대해서도 내성을 가지고 있는 것으로 알려지고 있다(Mousavi *et al.*, 2013). 본 연구에 사용된 수수-수단그라스 교잡종도 구리와 아연에 내성을 가지고 있고 건물생산량이 크기 때문에 오염된 토양내에서 효율적으로 중금속을 제거할 수 있을 것으로 보인다. 그러나 실용적인 활용에 앞서, 장기간 재배실험을 통한 생리적 반응에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 판단된다.

## 4. 결 론

작물 4종(알팔파, 유채, 조, 수수-수단그라스 교잡종)의 종자 발아 및 초기 생육에 미치는 고농도의 구리와 아연이 영향을 조사하여 중금속 내성 작물을 선발하고, 선발된 수수-수단그라스 교잡종을 대상으로 구리와 아연의 흡수능력을 살펴보았다. 종자 발아와 생체량, 지상부와 뿌리 길이 등의 초기 생육 특성을 토대로 수수-수단그라스 교잡종이 다른 3종의 작물에 비해 구리와 아연에 상대적으로 내성을 갖는 것으로 나타났다. 선발된 수수-수단그라스 교잡종은 유식물체 상태로 구리와 아연을 처리하였을 때에는 지상부와 뿌리의 생체량이 농도가 증가함에 따라 다소 감소하였으며, 엽록소 a와 b의 함량은 50 ppm 이상의 구리, 400 ppm 이상의 아연에 노출되었을 때 크게 감소하였다. 엽록소형광 변수들 중에 Fv/Fm, Fv/F<sub>o</sub>이 중금속 농도가 증가함에 따라 감소하였다. 특히, 고농도의 구리에서 Fv/Fm 값의 감소는 F<sub>m</sub>의 감소에 기인하고 있고, NPQ의 증가가 나타났다. 반면에 아연에서 Fv/Fm 값의 감소는 F<sub>o</sub>의 증가와 F<sub>m</sub>의 감소를 동반하고 있고, NPQ의 증가보다는 qP의 감소가 더 크게 나타나고 있어서 수수-수단그라스 교잡종은 아연보다는 구리에 대한 내성이 좀 더 큰 것으로 보인다. 식물부위별 구리 또는 아연의 축적은 지상부보다 지하부에 축적되는 양이 더 많았으며, 그 양은 처리한 중금속의 농도가 높을수록 크게 증가하였다. 구리와 아연 축적량은 용액 내 농도가 증가함에 따라 식물체내로 흡수되는 양이 점차 증가하여 400 ppm의 구리용액에서는 4459.1 mg/kg이 축적되었으며, 1600 ppm의 아연용액에서는 9028.5 mg/kg이 축적되

었다. 수수-수단그라스 교잡종은 건물생산량이 크기 때문에 오염된 토양 내에서 중금속을 제거하는데 이용될 수 있을 것으로 보인다.

### 감사의 글

본 연구는 2014년도 제주녹색환경지원센터의 지원에 의해서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

### REFERENCE

- Arnon, D., 1949, Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*, Plant Physiol., 24, 1-15.
- Baker, A. J. M., Brooks, R. R., 1989, Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements-a review of their distribution, ecology and phytochemistry, Biorecovery, 1, 81-126.
- Clark, R. B., Pier, P. A., Knudsen, D., Maranville, J. W., 1981, Effect of trace element deficiencies and excesses on mineral nutrients in sorghum, J. Plant Nutri., 3, 357-374.
- Daniels, R. R., Stuckmeyer, B. E., Peterson, L. A., 1972, Copper toxicity in *Phaseolus vulgaris* L. as influenced by iron nutrition. I. An anatomical study, J. Amer. Soc. Hort., 9, 249-254.
- Jung, K. C., Kim, B. J., Han, S. G., 1993, Survey on heavy metals content in native plant near old zinc - mining sites, Kor. J. Environ. Agric., 12, 105-111.
- Kahle, H., 1993, Response of roots of trees to heavy metals, Environ. Exp. Bot., 33, 99-119.
- Kelly, J. M., Parker, G. R., McFee, W. W., 1979, Heavy metal accumulation and growth of seedlings of five forest species as influenced by soil cadmium level, J. Environ. Qual., 8, 361-364.
- Kriedemann, P. E., Graham, R. D., Wiskich, J. T., 1985, Photosynthetic dysfunction and *in vivo* changes in chlorophyll a fluorescence from manganese-deficient wheat leaves, Aust. J. Agric. Res., 36, 157-169.
- Kumar, P. N., Dushenkov, V., Motto, H., Raskin, I., 1995, Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils, Environ. Sci. Technol., 29, 1232-1238.
- L'Herroux, L., Le Roux, S., Appriou, P., Martinez, J., 1997, Behaviour of metals following intensive pig slurry applications to a natural field treatment process in Brittany (France), Environ. Pollu., 97, 119-130.
- Lee, S. G., Kang, B. H., 2001, Feasibility of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) for phytoremediation of soil contaminated with Zn and Cu, Kor. J. Environ. Agric., 20, 211-217.
- Legros, S., Doelsch, E., Feder, F., Moussard, G., Sansoulet, J., Gaudet, J. P., Bottero, J. Y., 2013, Fate and behaviour of Cu and Zn from pig slurry spreading in a tropical watersoilplant system, Agri. Ecos. Environ., 164, 70-79.
- Lichtenthaler, H. K., Wellburn, A. R., 1983, Determinations of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extracts in different solvents, Biochem. Soc. Trans., 603, 591-592.
- Maksymiec, W., Wjcik, M., Krupa, Z., 2007, Variation in oxidative stress and photochemical activity in *Arabidopsis thaliana* leaves subjected to cadmium and excess copper in the presence or absence of jasmonate and ascorbate, Chemosphere, 66, 421-427.
- Mallick, N., Mohn, F. H., 2003, Use of chlorophyll fluorescence in metal-stress research: a case study with the green microalga *Scenedesmus*, Ecotox. Environ. Saf., 55, 64-69.
- Martnez, C. E., Motto, H. L., 2000, Solubility of lead, zinc and copper added to mineral soils, Environ. Pollution, 107, 153-158.
- Maxwell, K., Johnson, G. N., 2000, Chlorophyll fluorescence-a practical guide, J. Exp. Bot., 51, 659-668.
- Ministry of Environment (ME), 2014, Soil Environment Conservation Law, The Korean warning standard for agricultural land, Korean Ministry of Environment, Seoul, Korea.
- Mousavi, S. R., Galavi, M., Rezaei, M., 2013, Zinc (Zn) importance for crop production, Intl. J. Agron. Plant Prod., 4, 64-68.
- National Institute of Agricultural Science and Technology (NIAST), 2000, Analytical methods of soil and plant, NIAST, Rural Development Administration, Sammi Publishing Co., Suwon, Korea.
- Nriagu, J. O., Panyina, J. M., 1988, Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals, Nature, 333, 134-139.

- Ouzounidou, G., 1995, Cu-ions mediated changes in growth, chlorophyll and other ion contents in a Cu-tolerant *Koeleria splendens*, *Biologia plantarum*, 37, 71-78.
- Penha, H. G. V., Menezes, J. F. S., Silva, C. A., Lopes, G., de Andrade Carvalho, C., Ramos, S. J., Guilherme, L. R. G., 2015, Nutrient accumulation and availability and crop yields following long-term application of pig slurry in a Brazilian Cerrado soil, *Nutri. Cycling Agroeco.*, 101, 259-269.
- Strasser, B. J., Strasser, R. J., 1995, Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: The JIP test, in: Mathis, P. (ed.), *Photosynthesis: From Light to Biosphere*, Kluwer Academic, Dordrecht, 977-980.
- Thounaojam, T. C., Panda, P., Mazumdar, P., Kumar, D., Sharma, G. D., Sahoo, L., Panda, S. K., 2012, Excess copper induced oxidative stress and response of antioxidants in rice, *Plant Physiol. Biochem.*, 53, 33-39.