구리 내성 식물에 관한 연구

김 성 현 · 이 인 숙*
이화여자대학교 생명과학과

적 요: 본 연구는 구리 내성을 가진 식물을 선별하기 위한 기본 자료를 마련하기 위하여 피, 알팔파, 닭의장풀, 해바라기, 옥수수, 어저귀 등 6종 유식물의 토양 내 구리 농도별 생장율 및 구리 제거율 등을 조사하였다. 대조구 및 50, 100, 200, 300 mg-$CuCl_2$/kg 의 토양에 각 식물의 종자를 심어 14일 후 수거하여 발아율, 유식물의 생장 및 생체량, 구리 축적 및 제거력 등을 관찰하였다. 구리 농도에 따른 발아율 저해가 나타나지 않은 식물로는 피, 해바라기, 닭의장풀 등이었다. 그러나 해바라기의 경우 300 mg-$CuCl_2$/kg에서 유식물의 뿌리 및 지상부의 생장율이 대조구의 약 7% 수준으로 큰 저해를 받았으며 생체량도 대조구의 약 35%에 불과해 구리에 의한 생체량 저해가 가장 심한 종으로 나타났다. 이에 반해 피와 닭의장풀은 고농도의 구리 오염 토양에서도 생장률이 높아 구리에 대한 내성이 가장 뛰어난 식물로 나타났다. 특히 피의 경우, 토양 내 구리 제거율이 30% 이상이었으며, 토양 내 구리 농도가 증가할수록 축적량이 꾸준히 증가하여 300 mg-$CuCl_2$/kg에서 kg당 약 1020mg의 Cu를 축적하는 것으로 나타나 phytoremediation에 사용될 가능성 있는 종으로 사료된다.

검색어: 구리, 닭의장풀, 알팔파, 어저귀, 옥수수, 토양, 피, 해바라기, phytoremediation

서 론

구리는 미량 필수 원소로서 농업용 토양에는 미량의 구리가 함유되어 있으며 킬레이트를 첨가한 구리가 요구되어지기도 하나(Baker and Waker 1989), 토양 중에 그 함량이 많을 때에는 식물에 해를 끼치게 된다(Tomsett *et al*. 1988). 특히 토양 내 구리오염은 생태계 피해를 초래하여 종다양성에 치명적인 영향을 미친다(이2000). 토양 중 구리의 자연 부존량은 평균 3~4 mg/kg 정도이며, 우리나라 토양환경보전법에 따르면 논 토양에서 50 mg/kg 이상 지역은 오염우려지역, 125 mg/kg 이상 지역은 오염대책지역으로 규정하고 있다. 또한 토양 용액의 구리 농도가 0.1mg/kg 미만일 때는 식물 생육이 불가능해진다고 알려져 있다(환경부 2000). 토양에서 구리는 유기물과 강하게 결합되어 있어 이 금속의 이동 조절은 구리-organic complex 작용에 의해 일어나게 된다(Mengel and Kirkby 1987).

구리를 비롯한 다른 중금속은 식물의 광합성 기작 및 생장을 억제하고 노화를 촉진시키는 것이 공통된 특성이다(Willmer 1983). 그 중에서 구리는 인체 내 축적이 어려우므로 만성 중독을 일으키기는 어려우나 간 · 신장 손상, 중추신경 장애(우울증), 소화기계 장애 등을 유발한다.

중금속으로 오염된 토양의 복원을 위해 기존에 쓰이는 방법들로는 중금속의 토양 세척, 전기 정화 등 물리화학적 방법 등이 있다. 그러나 이러한 방법들은 높은 비용과 이차 오염 물질 유발 및 저 효율 등의 많은 문제점들로 인해 새로운 토양정화기술로 모색되고 있는 실정이다. 그 중에서 phytoremediation 기법은 식물을 이용해 오염물을 제거, 안정화, 무독화시키는 방법으로 매우 경제적인 환경친화적인 기법으로 최근 주목을 받고 있다(백 등 1999).

대부분의 식물이 구리를 축적할 수 있는 농도는 약 2~20ppm으로 낮은 편이나(Wallnofer and Engelhardt 1984), 축적종으로 알려진 식물들은 구리로 오염된 토양에서도 성장에 저해를 받지 않으며 높은 수준의 구리를 제거하는 것으로 알려져 있다(Antonovics *et al*. 1971). 구리에 내성을 가진 종으로 알려진 식물로는 *Silene cucubalus*(Jackson *et al*. 1990), *Mimulus guttatus* 등이 있다(Harper *et al*. 1997).

중금속에 대한 식물의 내성을 조사하기 위하여 발아현상을 이용하는데, 이는 발아되지 않은 종자는 불리한 환경에서도 잘 견딜 수 있지만 발아기간 중에는 외부의 환경 스트레스에 매우 민감하여 이 시기의 내성 현상이 그 식물의 내성 정도를 대표할 수 있기 때문이다(Wang 1991). 유식물의 시기 또한 외부의 환경에 매우 민감하기 때문에 이때의 생장을 내성의 지표로 사용할 수 있는 것이다(Turner *et al*. 1991). 이처럼 발아와 유식물의 성장조사는 비교적 간편하고 경제적이며 항상 이용 가능한 방법으로 널리 사용되고 있으나 아직도 단일화된 표준방법이 정립되지 못한 실정이다(Mohan and Hosetti 1991).

본 연구는 구리로 오염된 토양을 식물을 이용하여 정화하기 위한 기초 단계로, 그 동안 본 연구실에서 카드뮴 및 납 등 중금속 제거능이 있는 것으로 연구된 피, 알팔파, 닭의장풀, 해바라기, 옥수수, 어저귀 등 6종을 대상으로 수행하였다. 토양 내 구리

* Corresponding author; Phone: 82-2-3277-2375, e-mail: islee@ewha.ac.kr

농도에 대한 발아율, 뿌리와 지상부의 생장율 및 생체량을 조사하여 구리 내성종을 선별했으며, 이를 토대로 phytoremediation의 기초를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

식물의 종자

2003년 2월에 농촌진흥청(수원 소재)으로부터 어저귀, 피, 알팔파, 닭의장풀 등 4종의 국내산 종자를 분양 받았다. 옥수수와 해바라기는 종자 상회에서 구입하여 사용하였다(Table 1).

구리 내성실험

구리 용액은 $CuCl_2$을 1 strength hoagland's 용액에 0, 50, 100, 200, 300 mg/L의 농도로 첨가하여 조제하였다. 농도별로 오염시킨 토양 150 g을 pot에 담은 뒤, 각 식물의 종자를 10개씩 심었다. 이 pot들은 온도 25℃, 습도 60%로 유지되는 생장실에서 명과 암조건을 각각 16시간과 8시간으로 하여, 각 식물의 발아상태를 확인하였다. 14일 후 농도별 종자 발아율과 최장 뿌리와 지상부의 길이 및 생체량을 측정하였고, 모든 실험은 3반복으로 수행하였다(David *et al*. 1995).

토양 분석

토양의 분석은 풍건한 토양 0.1 g에 왕수(aqua regia: 65% HCl 3 mL + 37% HNO_3 1 mL)를 가하고 microwave에서 분해시킨 후 20 mL로 희석하였다. Flame AAS를 통하여 구리의 농도를 측정하였다. 중금속 분석 방법의 신뢰도는 캐나다의 NRS-CNRC (National Research Council of Canada)에서 공인된 표준물질인 MESS-2(Marine Sediment)의 분석을 통해 확인하였으며 표준물질과 blank도 시료와 같은 방법으로 분석하였다.

식물체 분석

식물은 증류수로 깨끗이 씻은 후, 60℃ 건조기에서 항량이 될 때까지 건조한다. 이 시료 0.5 g에 37% HNO_3 5 mL을 가하여 microwave에서 분해시킨 후, 10 mL로 희석하여 Flame-AAS를 이용하여 구리의 농도를 측정하였다. 중금속 분석 방법의 신뢰도는 일본의 NIES(National Institute for Environmental Studies)에서 공인된 표준물질인 No.10-c(Rice Flour)의 분석을 통해 확인하였다.

Table 1. Plants for toxicological tests

Scientific name	Korean name	Family	Life form
Commelina communis	닭의장풀	Commelinaceae	Annual
Medicago sativa	알팔파	Leguminosae	Annual
Echinochloa frumentancea	피	Gramineae	Annual
Zea mays	옥수수	Gramineae	Annual
Helianthus annuus	해바라기	Compositae	Annual
Abutilon avicennae	어저귀	Malvaceae	Annual

결과 및 고찰

구리 내성식물

식물의 발아에 미치는 구리의 영향을 알아보기 위하여, 여러 농도 구배의 구리 오염 토양에 각 식물 종자를 심어 발아율을 조사하였다(Table 2).

구리농도에 따른 발아율의 저해가 크지 않은 종은 피, 해바라기, 닭의장풀이었다. 특히 대조구와 비교해서 모든 농도에서 해바라기와 피는 90% 이상의 높은 발아율을 나타냈으며, 300 mg-$CuCl_2$/kg의 고농도에서도 비슷한 발아율을 보였다. 이에 반해 알팔파와 옥수수는 구리 농도가 높아질수록 발아율이 크게 저해를 받는 것으로 나타났다. 특히 알팔파는 50 mg-$CuCl_2$/kg에서부터 저해가 뚜렷이 나타났다. 옥수수와 어저귀의 경우 200 mg-$CuCl_2$/kg 까지는 대조구와 비슷한 발아율을 나타내었으나 그 이상에서는 발아율이 감소하였으며 어저귀는 300 mg-$CuCl_2$/kg의 농도일 때 31%의 낮은 발아율을 보였다. 어저귀는 60-80mg TNT/L 농도에서 종자의 발아에 영향을 미치지 않아 TNT에 내성을 지닌 것으로 나타난 반면(배 등 2001) 구리 오염에는 민감하게 반응하였다.

식물 생장에 대한 토양 내 구리의 영향을 살펴보기 위하여, 구리 노출 14일 후 각 유식물의 뿌리와 지상부의 길이를 측정한 결과(Fig. 1), 구리농도가 증가할수록 대체로 생장율이 감소한 것을 알 수 있었다. 특히, 300 mg-$CuCl_2$/kg에서 옥수수의 뿌리는 대조구의 약 4%, 해바라기는 약 7% 수준으로 큰 저해를 받았다. 반면, 피와 닭의장풀, 알팔파는 각각 대조구의 50%, 52%, 68%로 50% 이상의 생장율을 유지하였다. 또한 지상부 생장을 살펴보면, 어저귀와 해바라기, 옥수수의 지상부 길이는 각각 대조구의

Table 2. Seed germination rate(%) of plant species in Cu treatment soil after 14 days

Species \ Concentration	0	50	100	200	300
	mgCu/kg				
Medicago sativa	100	60	60	57	64
Abutilon avicennae	80	98	93	91	31
Commelina communis	85	90	93	83	70
Echinochloa frumentancea	80	93	96	93	100
Zea mays	79	86	83	75	66
Helianthus annuus	100	93	100	93	90

15%, 16%, 19% 수준으로 큰 저해를 받는 반면, 피와 닭의장풀, 알팔파는 각각 61%, 96%, 86%로 300 mg-$CuCl_2$/kg에서도 높은 생장율을 보였다.

Fig. 2는 구리 농도 증가에 따른 유식물의 생체량을 조사한 것이다. 토양의 구리 농도가 증가할수록 대체적으로 생체량이 감소하는 경향을 보였으며, 특히 해바라기는 300 mg-$CuCl_2$/kg에서 대조구 생체량의 약 35%에 불과해 구리에 의한 생체량 감소가 가장 큰 식물이었으며, 피와 닭의장풀은 각각 67%, 85%의 생체량을 유지하였다. 또한 알팔파와 어저귀는 300 mg-$CuCl_2$/L에서도 독성효과가 크게 나타나지 않았다.

이처럼 토양 내 구리에 의한 유식물 내 독성 효과를 살펴본 결과, 옥수수는 뿌리에서 구리에 의한 영향이 민감하게 나타났으며 어저귀의 경우는 상대적으로 지상부에서 민감한 반응이

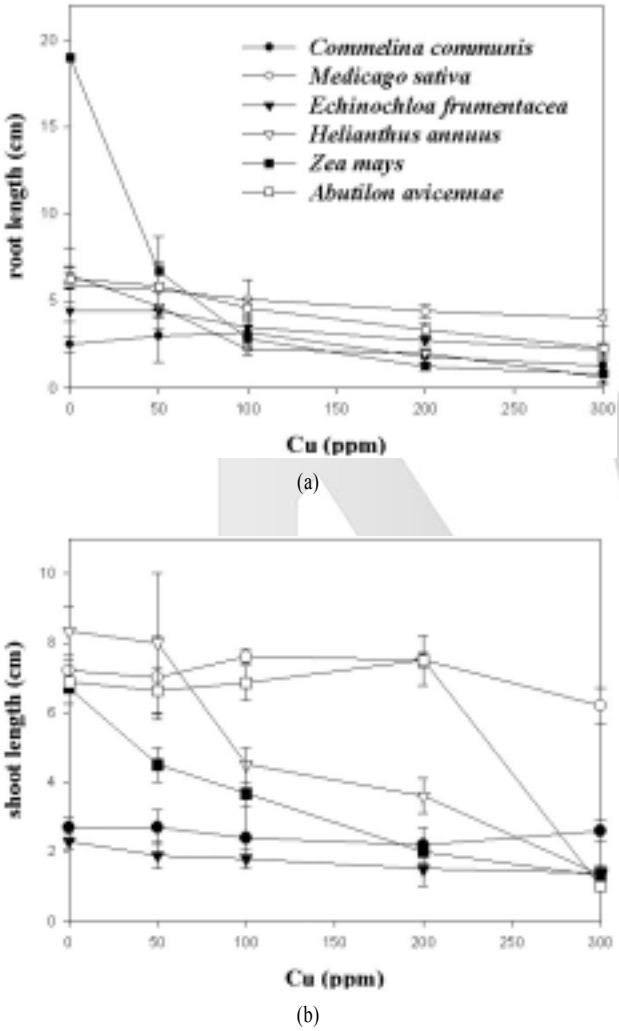

Fig. 1. Root length(cm) – (a) and shoot length(cm) – (b) of *Commelina communis, Medicago sativa, Echinochola frumentacea, Zea mays, Helianthus annuus* and *Abutilon avicennae* grown in Cu-contaminated soil for 14 days.

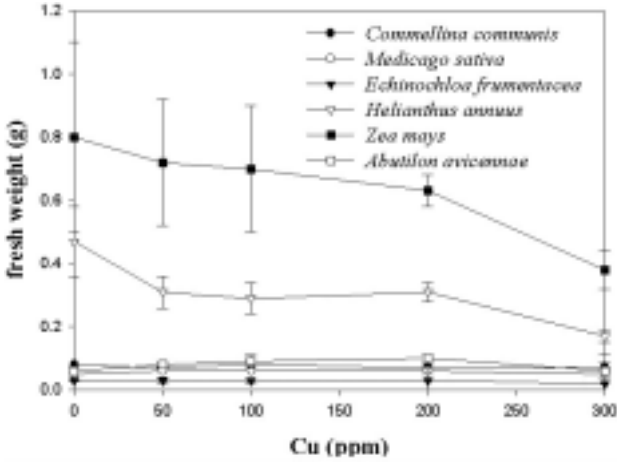

Fig. 2. The biomass(fresh weight) of *Commelina communis, Medicago sativa, Echinochola frumentacea, Zea mays, Helianthus annuus* and *Abutilon avicennae* grown in Cu-contaminated soil for 14 days. Bars represent standard errors of mean.

나타났다. 반면에 해바라기는 뿌리와 지상부 모두에서 구리농도에 민감하게 반응하였으며, 닭의장풀 및 피는 뿌리와 지상부 모두 구리에 의한 저해를 가장 적게 받는 식물로 나타났다.

식물에 의한 토양 내 구리 흡수 능력

각 유식물의 토양 내 구리 제거 능력을 조사하기 위해, 각 오염 토양 및 식물체 내에서의 구리 농도 변화를 측정하였다. 토양 내 구리 함량을 조사하기 위하여 총 구리 함량 (Table 3) 및 exchangeable 구리를 측정하였다(Table 4). Ure(1995)의 연구에 의하면 토양 중금속의 생물에 대한 독성 효과에 대한 가장 직접적인 척도로 사용될 수 있는 것 중 하나가 토양의 총 중금속 함량 중 exchangeable 부분이라고 제시한 바 있다. Table 3에서 보는 바와 같이, 각 식물이 식재된 토양의 중금속 함량은 초기 오염 농도에 비해 모든 식물 종의 경우에서 감소한 것을 확인할 수 있었다. 특히 닭의장풀, 옥수수, 피는 300 mg-$CuCl_2$/kg에서 각각 47%, 46%, 31% 이상의 구리 함량 감소를 볼 수 있었다. exchangeable 구리의 농도 또한 첨가시킨 구리 농도가 높을수록 그 양이 증가하는 것을 볼 수 있었다. 이처럼 생물 유용한(bioavailable) 구리 농도가 높아짐에 따른 각 식물이 흡수 및 축적한 양의 변화를 살펴보기 위하여 식물체 내에서의 구리 함량을 분석하였다(Table 5)

식물체가 축적한 구리의 양 또한 노출 농도가 높아짐에 따라 증가한 것을 확인할 수 있었다(Table 5). 특히 해바라기는 100 mg-$CuCl_2$/kg이상에서 2,000mgCu/kg 이상의 높은 축적량을 보였다. 이로서 Kumar *et al.*(1995)에 의해 납과 우라늄 제거에 효과적으로 알려진 해바라기는 구리도 높은 양을 축적하는 것으로 나타났다. 피는 토양 내 구리 농도가 증가할수록 축적량이 꾸준히 늘어 났으며, 300 mg-$CuCl_2$/kg에서 kg당 약 1,020 mg의 Cu를 축적하는 것으로 나타났다.

Table 3. Total Cu concentration(mg/kg dry soil) at each soil

Concentration / Species	0	50	100	200	300
	mgCu/kg DW				
Commelina communis	13.4±2.0	37.6±5.0	108.5±0.2	132.2±1.2	158.5±1.5
Medicago sativa	15.7±1.4	70.5±2.5	201.2±5.0	180.1±7.0	251.4±2.2
Echinochloa frumentancea	12.9±2.7	69.2±4.0	120.1±7.5	160.2±1.0	206.7±8.0
Helianthus annuus	14.8±0.9	70.4±5.0	106.9±7.0	103.8±15	222.5±2.0
Zea mays	15.9±2.0	48.1±1.0	92.3±2.0	163.5±5.0	162.9±20

Table 4. Exchangeable Cu concentration(mg/kg dry soil) at each soil

Concentration / Species	0	50	100	200	300
	mgCu/kg DW				
Commelina communis	0.01	5.0±2.0	15.1±3.0	20.4±0.5	33.4± 0.5
Medicago sativa	0.01	0.02	20.7±0.4	34.6±2.0	74.2± 0.6
Echinochloa Frumentancea	0.01	19.6±2	43.2±0.3	97.9±0.2	120.6± 0.4
Helianthus annuus	3.3±0.4	7.7±0.7	22.6±0.6	29.1±0.4	86.1±12
Zea mays	3.6±0.1	8.3±0.3	16 ±1.5	48.8±6.0	73.3±10.2

Table 5. Cu concentrations(mg/kg dry weight) in plant species

Concent-ration / Species	0	50	100	200	300
	mgCu/kg DW				
Commelina communis	10±1	90±20	80±5	50±4	40±3
Medicago sativa	0	41.1±2	110±5	140±3	200±5
Echinochloa frumentancea	68±3	261±2	448.5±60	499±50	1019±100
Helianthus annuus	25.7±7	1151±300	2172±500	2183±200	2002±70
Zea mays	20±0.5	65±1	79.5±10	69±50	191.5±20

결 론

본 연구는 식물의 내성의 지표로 사용할 수 있는 발아 test 및 유식물의 생장 연구를 통해 구리에 내성을 가진 야초류를 선정하고자 하였으며, 이들 유식물의 토양 내 구리 제거율 연구를 통해 구리로 오염된 지역에 phytoremediation을 적용하기 위한 기초 자료로 사용하고자 하였다.

1. 해바라기와 피, 닭의장풀의 발아율은 구리 농도(0~300 mg-$CuCl_2$/kg)에 크게 영향을 받지 않았다.
2. 어저귀와 알팔파는 토양 내 구리 농도가 높아질수록 발아에 저해를 받지만, 생체량 및 생장에는 크게 독성 효과를 받지 않았다.
3. 해바라기는 식물체 내 중금속 축적 능력이 뛰어나지만 고농도에서 생체량 및 생장에 저해를 심하게 받았다.
4. 피는 발아율과 생장에 크게 독성 효과를 받지 않았으며 50 mg-$CuCl_2$/kg 이상에서는 중금속 축적 능력도 다른 식물에 비해 뛰어난 것으로 나타났다.
5. 이상의 연구를 통해 국내산 토착 야초류 중 피와 닭의장풀, 해바라기는 구리에 내성을 가진 종으로 판명되었다.
6. 유식물에서 토양 내 구리 제거율이 높은 피의 경우, phytoremediation적용 가능성을 확인하기 위해 성체를 이용하여 구리 흡수실험을 수행중이다.

인용문헌

배범한, 김선영, 이인숙, 장윤영. 2001. 2,4,6-trinitrotoluene에 대해 내성을 지닌 토착 식물종 선정에 대한 연구. 한국지하수토양환경학회지 6: 3-11.

백승식, 장순응, 이시진. 1999. 식물학적 복원 공정. 산업기술종합연구소 논문집 18(1): 77-84.

이준상. 2000. 닭의장풀 내 Cd^+ 의 분포와 생리적 독성, 환경생물학회지 18(1):63-67.

환경부. 2000. 환경백서 2000.

Antonovics, J., A.D. Bradshaw and R.G. Turner. 1971. Heavy metal tolerance in plants. Adv. Ecol. Res. 7:1-85.

Baker, A.J.M. and P.L. Walker. 1990. Heavy metal tolerance in plant. *In* A.J. Shaw(ed.), Evolutionary Aspects, CRC Press, Boca Raton. pp. 155-165.

David, J.H., B.A. Rattner, G.A. Burtor Jr and J. Cairns Jr. 1995. Handbook of Ecotoxicology.

Harper, F.A., S.E. Smith and M.R. Macnair. 1997. Where is the cost in copper tolerance in *Mimulus guttatus*: Testing the trade-off hypothesis. Funct. Ecol. 11: 764-774.

Jackson, P.J., P.J. Unkefer, E. Delhaize and N.J. Robinson. 1990. Mechanisms of trace metal tolerance in plants. *In* katterman F(ed.) Environmental inquiry to plants, Academic Press, San Diego. pp. 231-258.

Kumar, P.B., A.N. Dushenkov, H.V. Motto and I. Raskin. 1995. Phytoremediation: A novel strategy for the removal of toxic metals from environment using plants. Biotechnol. 13: 1332-1238.

Mengel, K. and E.A. Kirby. 1987. Principles of plant nutrition.

International Potash Institute, Berne.

Mohan, B.S. and B.B. Hosetti. 1991. Aquatic plants for toxicity assessment. Environ. Res. A.81: 259-274.

Tomsett, A.B. and D.A. Thurman. 1988. Molecular biology of metal tolerances of plants. Plant Cell Environ. 11: 383-394.

Turner, A.P., N.M. Dickinson and N.W. Lepp *et al*. 1991. Indices of metal tolerance in tress. Water Air Soil Poll. 57-58: 617-625.

Ure, A.M. 1995. Methods of Analysis for Heavy Metals in Soils. *In* B.J. Alloway(ed.), Heavy Metals in Soil, 2nd Ed. Chapman and Hall, New York. pp. 58-60.

Wallnofer, P.R. and G. Engelhardt. 1984. Schadstoffe, die aus dem Boden aufgenommen werden. *In* Hock B. and Elstner E. F.(eds.), Pflanzentoxikologie. BIWissenschaftsverlag, Mannheim. pp. 96-117.

Wang, W. 1991. Literature review on higher plants for toxicity testing. Water Air Soil Poll. 59: 381-410.

Willmer, C.M. 1983. Stomata, Longman Inc., New York.

(2003년 10월 10일 접수; 2004년 1월 10일 채택)

A Study on the Copper Tolerance of Herbaceous Plants

Kim, Sung-Hyun and In-Sook Lee*

Department of Life Science, Ewha Womans University, Seoul, Korea

ABSTRACT : This research was investigated to prepare basic data in a study on the copper tolerance of herbaceous plants through the growth rate and the elimination rate dependent on Cu concentration of 6 species; *Commelina communis, Medicago sativa, Echinochloa frumentancea, Zea mays, Helianthus annuus* and *Abutilon avicennae*. We examined the germination rate, root and shoot growth of seedling and fresh biomass of 6 species (*Commelina communis, Medicago sativa, Echinochloa frumentancea, Zea mays, Helianthus annuus* and *Abutilon avicennae*) palnted to Cu contaminated soil (50, 100, 200, 300-$CuCl_2$/kg) and control for 14 days. The germination rate of *H. annuus, E. frumentancea* and *C. communis* were not affected by Cu concentration. However, root and shoot growth of *H. annuus* was about 7% of control and the biomass was 35% of control at 300mg-$CuCl_2$/kg. *E. frumentancea* and *C. communis* that showed good growth rate at higher Cu contaminated soil (>200 -$CuCl_2$/kg), were the most tolerant plant to Cu concentration. Especially, *E. frumentancea* eliminated over 30% of Cu in soil and the amount of Cu uptake increased with increasing Cu concentration; 1,020mg Cu per 1kg of soil at 300mg-$CuCl_2$/kg. From these results, we concluded that *E. frumentancea* would be used for phytoremediation.

Key words : *Abutilon avicennae, Commelina communis*, Cu, *Echinochloa frumentancea, Helianthus annuus, Medicago sativa*, Soil, Phytoremediation, *Zea mays*