

Hydrogen Peroxide 처리가 여름철 시설오이의 수분 스트레스, 광합성, 내서성에 미치는 영향

우영회^{1*}·김형준²·김태영²·김기덕³·허윤찬²·전 회²·조일환²
남윤일²·고관달²·이관호¹·홍규현¹
¹한국농업전문학교, ²원예연구소, ³고령지 농업연구소

The Influence of Hydrogen Peroxide Treatment on Water Stress, Photosynthesis and Thermotolerance of Cucumber(*Cucumis sativus*) in Greenhouse Cultivation during Summer

Young Hoe Woo^{1*}, Hyung Jun Kim², Tae Young Kim², Ki Deog Kim³,
Yun Chan Huh², Hee Chun², Ill Hwan Cho², Yooun Il Nam²,
Kwan Dal Ko², Kwan Ho Lee¹, and Kue Hyon Hong¹

¹Korea National Agriculture College, Hwaseong 445-890, Korea

²National Horticultural Research Institute, Suwon 441-440, Korea

³National Institute of Highland Agriculture, Pyeongchang 232-955, Korea

Abstract. This studies were carried out in summer season to increase high temperature tolerance using hydrogen peroxide treatments on cucumber in greenhouse. The water stress of cucumber in greenhouse by the hydrogen peroxide treatments showed as control > 250 mM > 500 mM treatments in order. The photosynthesis rate of cucumber at 30°C did not show difference with each hydrogen peroxide treatment in temperature controlled greenhouse. However, the photosynthesis rate of cucumber in the control and hydrogen peroxide treatments at 40°C was significantly different. The photosynthesis rate of cucumber in combined treatment with 1,000 mg · L⁻¹ CO₂ supply and hydrogen peroxide was also higher than control, however, there was no different of photosynthesis in 250 mM and 500 mM treatment. The value of F_v/F_m and F_m/F_o of chlorophyll fluorescent in 500 mM hydrogen peroxide treatment at 40°C was highest. Also the activity of POD, the antioxidant enzyme, was higher with high hydrogen peroxide concentration than the other treatments. The high temperature limits for growth were 43°C in the control, 44°C in the 250 mM and 46°C in the 500 mM according to analyze chlorophyll fluorescent F_o. The high temperature tolerance in cucumber increased approximately 3°C by the hydrogen peroxide treatments under this experiment conditions.

Key words : antioxidant enzyme

, fluorescence, high temperature

*Corresponding author

서 언

여름철 온실의 작물재배 연구는 차광, 환기, fog system, pad & fan system, 근권냉방, 국소냉방, 히트펌프에 의한 냉방 등 시설 및 시스템 개발 분야에 관련된 연구가 많이 이루어지고 있다(Woo 등 1995, 1998). 그러나 온실 냉방을 위한 과도한 시설투자는 농가경영에 상당한 부담이 될 수 있으므로 대부분의 시설농가는 여름철 고온에 대한 적극적인 시설투자 대책보다는 휴작, 태양열에

의한 토양 소독, 작기조절 등 소극적인 재배적 방법으로 대처하고 있어 시설이용 제고에 많은 문제로 대두되고 있다(Woo 등, 1996). 또한 자연환기만을 이용할 경우 여름철 온실 내부의 최고기온은 약 45°C 정도로서 차광과 강제환기를 병행 하더라도 과채류의 최고생육한계 기온인 35°C 이하로 하강시키기에는 역부족이며(Woo 등, 1996), 물의 증발잠열능력을 이용한 fog system, pad & fan system이 도입되어야만 30°C 수준으로 하강시킬 수 있다(Woo 등, 1998). 그러나 이러한 물의 증발잠열 능력을 이용한 시스템은 야간에는 사용 할 수 없으며, 다습한 지역에서는 시스템의 효과가 상당히 감소되어 시설의 효율성이 없다. 또한 시스템 설치비용이 많이 소요되므로 경제적 측면에서 농가에 부담이 될 수 있다(Woo 등, 1998). 따라서 과다한 시설투자 없이 차광 및 강제 환기를 비롯한 기본적인 온도 하강장치(Woo 등, 1995)를 사용하여 여름철에 작물을 재배하고자 할 경우에는 재배작물의 자체적인 내서성을 향상 시킬 수 있는 기술 개발이 이루어져야 한다.

이러한 여름철 시설채소의 내서성향상에 관련하여 화학물질처리(Dat 등 2000)와 CO₂사용(Taub 등, 2000)등 연구가 일부 보고되고 있으나 실용적인 측면에서 미흡한 실정이다 .

작물의 고온장해 발생 요인은 온도만이 아니라 다른 환경인자 또는 작물 자체의 내서성과 밀접한 관계가 있으며, 고온산화스트레스는 두 가지 반응 즉 고온 산화작용억제를 위한 신호 로서, 또는 고온장해원인으로 작용한다(Dat 등, 2000; Yordanov 2000). 고온장해를 받은 작물은 강한 산화물질을 생성하고 이들 산화물질들은 세포막지질, 단백질, DNA등에 작용하여 세포를 파괴한다. 그러나 정상적인 조건하에서는 SOD(superoxide dismutase), CAT(catalase), POD(peroxidase)등의 항산화 효소들은 산화물질들의 독성과 축적을 막는 분해작용 역할을 하여 세포의 스트레스를 방지한다(Dat 등, 2000; Yordanov 2000).

최근 환경이나 병해에 대한 작물자체의 적응성 향상을 위해 eu-stress 개념이 도입되고 있다. 즉 인위적으로 환경에 의한 장해나 병해를 미약하게 발생시켜 작물이 이에 대한 적응성을 키움으로써 이를 방제에 이용하고 있다(Dat 등, 2000; Yordanov 2000). 일반적으로 산화제인 과산화수소를 전 처리하면 저온장해(Prasad 등, 1994) 및 병해 방제 등(Chamnongpol 등, 1998)에 효과가 있는 것으로 보고는 되고 있으나 과산화수소를 이용한 고온장해 연구는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구는 여름철 시설재배시 고온장해 극복을 위한 경제적인 작물재배방법 일환으로 내서성 향상을 위한 과산화수소 처리효과를 구명하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

실험 1. 여름철 시설오이 수분장해 분석

농가보급형 플라스틱 온실 100평에서 은색차광망 40%를 이용하여 외부일사량이 650W m⁻² 일 때 자동 수시차광 하는 온실에서 실험하였으며, 공시재료로 반백계인 은침백다다기, 은성백다다기 오이를 이용하였다. 파종은 4월 22일, 정식은 5월 21일 하였다. 오이 재배방법은 관행에 준하였다.

과산화수소 처리 농도는 무처리, 250mM, 500mM 3수준으로 하여 6월부터 일주일에 한번씩 오전 9시경에 품종 및 처리농도별로 구분한 이랑전체를 오이 잎이 충분히 적실 정도로 분무하였다. 실험구 배치는 은성, 은침 두 품종을 각 농도별로 완전임의배치법 3반복으로 하였다. 이랑 재식주수는 50주로 하였다. 과산화수소 처리에 따른 오이의 수분상태를 조사하기 위하여 실험온실의 기온, 상대습도, 일사량 등 기상환경을 측정하였으며, 습공기선도(psychrometric chart)에 관련된 항목을 SAS(statistical analysis system)로 작성한 model식에 적용하고, 계산된 VPD(vapour pressure deficit)값과 생체정보인 엽온을 측정한 수치와의 관계를 구명하여 고온에 의한 오이의 수분장해 변화를 조사하였다(Idso 1982; Jackson 등, 1981; Woo 등, 2000). 엽온 조사는 대사활동이

활발한 엽령 15일 정도의 건전한 잎을 품종별 및 과산화수소 처리농도별로 3개체(처리농도별 반복당 1개체)를 선정 조사하여 평균값을 이용하였다. 환경조사는 온실을 3등분하여 지상 1.2m에 환경측정 센서를 3개소 설치하여 측정된 자료의 평균값을 적용하였다. 온실내 미기상 환경조사는 CR-10 data logger(Campbell, Inc.)과 HOBO(Onset Inc.)를 이용하였다. 엽온은 작물 생체정보측정기인 Phytomonitoring System(Phytech, Inc.)으로 측정하였다.

실험 2. 고온수준에 따른 광합성 및 엽록소형광발현과 항산화효소활성 분석

기온 및 습도 조절이 가능한 자연광 정밀인공 기상온실에서 은성백다다기 오이를 5월21일에 와그너 포트(1/2000a)를 이용하여 3개의 cell에 각각 9주씩 정식하였다. 정식 40일 후 14일 동안 11시부터 15시까지 cell별로 기온을 각각 30°C, 35°C, 40°C로 조절하여 재배하였으며, 이때 모든 처리구의 습도는 60~70% 수준으로 자동 조절하여 유지하였다. 과산화수소는 각 cell별로 일주일에 한번씩 오전에 무처리, 250mM, 500 mM로 처리하였다. 광합성은 매일 오전에 측정하였다. 실험구 배치는 기온수준별 3개 cell에서 과산화수소처리농도에 따라 완전임의배치 3반복으로 반복당 1개체로 하여 cell당 9개체를 배치하였다. 광합성측정은 엽령이 15일 정도인 왕성하게 활동하는 건전한 잎을 선택하여 1개체 당 3엽을 선정하여 농도별로 3개체 9엽을 측정 조사하였다.

과산화수소와 CO₂ 동시처리 효과를 분석하기 위하여 자연광 정밀인공 기상온실에서 11시부터 15시까지 14일간 45°C에서 CO₂농도를 1,000mg · L⁻¹으로 공급하면서 과산화수소 농도에 따른 광합성을 조사하였다. 실험구 배치는 과산화수소처리농도에 따라 완전임의배치 3반복으로 반복당 1개체로 하였다. 광합성측정은 엽령이 15일 정도인 왕성하게 활동하는 건전한 잎을 선택하여 1개체 당 3엽을 선정하여 농도별로 3개체 9엽을 측정 조사하였다. 기타 재배 및 처리 방법은 실험 1과 같다. 본 실험에 이용된 광합성 측정기기는 LCpro⁺ system (ADC, Inc.)을 사용했다.

위 처리와 같은 방법으로 인공광원이 최대 5만 Lux가 되는 인공광 정밀인공 기상 온실에서 40°C 수준에서 과산화수소 처리농도에 따른 엽록소 형광 발현과 항산화효소 POD활성을 조사하였다. 엽록소형광은 암흑상태에서 측정 조사하였으며, 항산화효소는 처리농도별로 엽령이 5일 이내인 생장점부근의 왕성하게 활동하는 건전한 어린잎을 선택하여 1개체 당 2엽을 선정하여 3개체를 조사하였다. 엽록소 형광측정기기는 Handy FluorCam(Photon system, Inc.)을 이용하였으며 항산화효소분석은 Yamane 등(1999)이 사용한 방법에 준하여 분석하였다.

실험 3. 과산화수소 처리농도에 따른 오이의 고온 한계 분석

인공광원이 최대 5만 lux가 되는 인공광 정밀인공 기상 온실에서 기온수준을 60분씩 순차적으로 38°C에서 49°C로 상승시키면서 암흑상태에서 엽록소형광 F₀ (initial fluorescence)반응을 조사하였다. 과산화수소 처리는 오전에 무처리, 250mM, 500mM로 처리하였다. 과산화수소 처리는 3개체로 하였으며, 엽록소형광 F₀측정부위는 엽령이 15일 정도인 왕성하게 활동하는 건전한 잎을 선택하여 1개체 당 3엽을 선정하여 측정 조사하였다. 기타 처리방법은 실험 1, 2와 같다.

결과 및 고찰

실험 1. 여름철 시설오이 수분스트레스 분석

과산화수소 농도에 따른 VPD(Vapor Pressure Deficit)와 엽기온차에 의한 변화를 보면 수분스트레스 정도는 $500\text{mM} < 250\text{mM} < \text{무처리}$ 순으로 무처리가 고온에 의한 수분스트레스 수준이 가장 높았으며 500mM 처리가 가장 낮았다(Fig. 1). VPD는 포화수증기압과 수증기압의 차이로써 VPD 값은 작물의 증산작용과 고도의 유의성이 인정되어 VPD 값이 높아질수록 증산작용은 활발하게 일어나게 되며, 증산작용이 활발하게 일어난다는 것은 엽온(leaf temperature)이 낮아진다는 것을 의미한다(Idso 1982; Jackson 등, 1981, Woo 등, 2000). 엽기온차는 엽온(leaf temperature)에서 대기온도(air temperature)를 뺀 값으로 일반적으로 증산작용이 원활하게 일어나면 엽온은 낮아지게 되어 엽온-기온의 값은 마이너스(-)가 된다. 엽온-기온의 값이 마이너스(-)가 되면 그 작물은 non stress 상태가 된다는 것을 의미한다. 엽온-기온의 값이 플러스(+)가 되면 증산작용이 억제되어 엽온이 기온보다 높아진 상태이며 이런 상태를 stress를 받았다고 할 수 있다(Idso 1982; Jackson 등, 1981).

따라서 마이너스(-)값이 클수록 오이의 수분 스트레스 정도는 낮다고 할 수 있으며 플러스(+)값이 높을수록 오이 수분스트레스는 높다고 할 수 있다.

본 연구에서 VPD와 엽기온의 차의 관계에서 엽온이 기온보다 낮은 -방향에서는 non stress이며, 엽온이 기온보다 높은 +상태에서는 stress 상태로 설정한 Idso (1982)과 Jackson 등(1981)의 연구결과를 근거로 분석해보면 500 mM 처리가 고온에 의한 수분스트레스정도가 낮음을 알 수 있었다(Fig. 1).

실험 2. 고온수준에 따른 광합성 및 엽록소형광발현과 항산화효소활성 분석

고온 수준에 따른 광합성 분석결과 30°C 온도 조건하에서는 과산화수소 농도에 따른 광합성율은 뚜렷한 차이가 없었으나 기온이 높아질수록 과산화수소 농도에 따른 오이 엽의 광합성율이 차이나 나타났으며, 특히 40°C에서는 과산화수소 처리농도에 따른 광합성률은 유의하게 차이가 발생하였으며, 무처리는 광합성률이 급격히 낮아졌다(Fig. 2).

인공광 정밀인공 기상온실에서 45°C의 고온 조건하에서 CO₂ 시용 및 과산화수소 처리를 병행할 경우 광합성에 미치는 영향을 분석한 결과 1,000mg · L⁻¹ CO₂시용은 과산화수소 250mM, 500mM 처리효과를 무처리에 비하여 상가적으로 증대 시켰으나(Fig. 3), 과산화수소 250mM, 500mM의 두 처리간에는 광합성율 차이는 인정되지 않았다.

여름철 시설채소 재배시 CO₂ 시용은 고온적응성 향상에 기여한다는 보고가 있으며(Taub 등, 2000; Weis 등, 1988; Jordanov 2000), 과산화수소와 병행할 경우 더 효과적이라 판단되나 추후 더 세부적으로 연구 할 과제라고 생각된다.

과산화수소 농도별 엽록소 형광을 측정된 결과 F_v/F_m , F_m/F_o 은 500mM 처리가 타 처리에 비하여 높았으며 F_o 은 낮았다. 이는 500mM의 과산화수소 처리는 다른 처리에 비하여 고온적응성이 높아 고온장해가 작았음을 보여 주고 있다(Fig. 4, 5). 일반적으로 작물이 고온스트레스를 받으면 F_o 값은 증가하고 F_m (maximum fluorescence) 값은 감소하여 F_m/F_o 값은 작물의 스트레스 지표로 사용한다(Weis 등, 1988; Yamane 등, 1997). $F_m - F_o$ 값은 F_v (Variable fluorescence)이며 F_v/F_m (Photochemical efficiency)는 광합성효율을 나타낸다. 이 값은 잎이 광합성을 수행할 수 있는 최대값, 즉 잠재력을 의미한다(Yamane 등, 1997; Weis 등, 1988). Yamane 등(1997)은 고온장해에 의해 광계(PS)를 통한 전자전달계가 가장 민감하게 손상을 받아 F_o 값이 증가한다고 보고했다.

과산화수소 농도에 따른 항산화효소 POD의 변화를 보면 은성, 은침 두 품종 모두 500mM 처리구에서 활성정도가 높았으며 품종간에도 차이가 있었다(Fig. 6). 이는 과산화수소 처리는 내한성(Prasad 등, 1994) 및 내병성 향상(Chamngpol 등, 1998)에 관련이 있다는 일련의

연구결과와 유사한 경향을 보였다. POD나 CAT는 작물의 세포구성요소에 유해한 독성 활성 산소종을 물분자와 산소분자로 분해함으로써 산화 스트레스를 경감시키는 것으로 알려져 있다(Chamnongpol 등, 1998; Dat 등, 2000; Prasad 등, 1994; Yordanov 2000). Sairam와 Saxena(2000)는 품종에 따라 수분 스트레스에 의한 항산화효소 활성의 차이를 보고 하였으며, 본 연구에 사용된 백침계 백다가기인 은침품종이 흑침계 백다가기인 은성품종에 비하여 수량 및 상품성이 높아 내서성이 우수한 것으로 판단되나(미발표) 보다 더 연구 검토해야할 것으로 생각된다. 또한 Chamnongpol 등(1998)은 작물의 종류에 따라서는 과산화수소처리에 의해 병에 대한 유도저항성이 형성될 뿐만 아니라 과산화수소는 작물조직에 흡수되더라도 POD나 CAT와 같은 항산화효소의 작용에 의해 빠르게 분해되므로 수확 후 과실에 잔류하지 않으며 기존의 농약과는 달리 강한 산화작용을 통하여 살균력을 나타내므로 저항성 균주 출현빈도가 적다고 하였다(Lu와 Higgins 1999). 이와 같이 일련의 연구결과를 종합해보면 과산화수소 처리는 작물체에 항산화 효소의 생성을 유도함으로써 고온장해에 대한 방어시스템을 형성하여 내서성이 향상되는 것으로 추찰되며, 현재 파프리카를 비롯한 여러 시설채소작물에서 과산화수소 처리가 내서성 향상뿐만 아니라 흰가루병 방제에도 효과(미발표)가 인정되어 시설재배농가에서 실용적으로 이용되고 있다.

실험 3. 과산화수소 처리농도에 따른 오이의 고온 한계 분석

일반적으로 엽록소 형광은 F_0 값이 높을 수록 광합성 효율이 떨어진다. 고온 조건하에서 엽록소 형광 F_0 값은 고온장해 정도에 따라 점차 증가하였다가 어느 시점에서 급격하게 상승하는 비가역적인 현상이 나타나는데 이 시점의 값을 작물이 고온장해로 인해 회복될 수 없는 시점으로서의 한계 값을 표현하는데 이용하고 있다(Weis 등, 1988; Yamane 등, 1997). 본 연구 조건하에서 고온 한계 시점을 분석하기 위하여 기온 처리별 F_0 를 조사한 결과 무처리구에는 43°C, 250mM은 44°C, 500mM은 46°C이었다(Fig. 7). 이 결과를 보면 과산화수소 처리는 확실히 작물의 고온 한계온도를 최고 약 3정도 높이므로 내서성이 향상된 것으로 판단되었다.

본 연구결과를 종합해보면 과산화수소 처리는 작물체에 항산화 효소의 생성을 유도하여 고온장해에 대한 방어시스템 형성으로 광계(PS)를 통한 전자전달계 손상을 어느 정도 보호하는 것으로 추찰되었으나 더 세부적인 연구가 필요하다고 생각된다.

적 요

오이 시설재배시 여름철 내서성 향상을 위한 과산화수소 처리효과를 분석한 결과, 여름철 시설재배 기간동안 과산화수소 처리농도에 따른 수분스트레스 정도는 500mM < 250mM < 무처리 순으로 무처리가 수분스트레스 수준이 가장 높았으며 500mM 처리가 가장 낮았다. 기온이 30°C인 조건하에서 광합성률은 과산화수소 처리농도에 따른 차이가 없었으나 고온으로 기온이 높아질수록 과산화수소 농도에 따른 차이가 나타나 40°C에서는 유의성이 인정되었다. 45°C 고온 조건하에서 1,000mg \cdot L⁻¹ CO₂ 사용은 광합성율에서 과산화수소 처리효과를 상가적으로 증대 시켰으나 500mM과 250mM 두 농도차이에 따른 광합성율 차이는 인정되지 않았다. 40°C 고온조건하에서 엽록소 형광 F_v/F_m 과 F_m/F_0 의 상대값은 500mM 처리가 타 처리에 비하여 높았으며, 항산화 효소인 POD 활성도 과산화수소 처리 농도가 높을수록 은성, 은침 두 품종 모두 높아졌다.

엽록소형광 F_o 로 분석한 고온 한계 시점은 과산화수소 무처리구에는 43°C, 250mM은 44°C, 500mM은 46°C이었다. 이 결과를 보면 본 실험 조건하에서 과산화수소 처리는 오이의 고온한계온도를 최고 약 3정도 높이므로 고온에 더 잘 견디게 하는 것으로 판단되었다.

주제어 : 고온, 항산화효소, 형광

인 용 문 헌

1. Chamnongpol S., H. Willekens, W. Moeder, C. Langebartels, H. Jr. Sandermann, and M. van Montagu. 1998. Defens activation and enhanced pathogen tolerance induced by H_2O_2 in transgenic plants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:5818-5823.
2. Dat J., S. Vandenabeele, E. Vranová, M. Van Montagu, D. Inzé, and F. Van Breusegem. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. Cell. Mol. Life Sci. 57:779-795
3. Idso, S.B. 1982. Non-water-stressed baselines: a key to measuring and interpreting plant water stress. Agricultural Meteorology 27:59-70.
4. Jackson, R.D., S.B. Idso, R.J. Reginato, and P.J. Pinter Jr. 1981. Canopy temperature as a crop water stress indicator. Water Resources Research 17:11-33.
5. Lu, H. and V.J. Higgins. 1999. The effect of hydrogen peroxide on the viability of tomato cells and of the fungal pathogen *Cladosporium fulvum*. Physiol. Mol. Plant Pathol. 54:131-143.
6. Prasad T.K., M.D. Anderson, and C.R. Stewart. 1994. Acclimation, hydrogen peroxide, and abscisic acid protect mitochondria against irreversible chilling injury in maize seedlings. Plant Physiol. 105:619-627.
7. Sairam, R.K. and D.C. Saxena. 2000. Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: Possible mechanism of water stress tolerance. J. Agronomy & Crop Science. 184:55-61.
8. Taub, D.R., J.R. Seemann, and J.S. Coleman 2000. Growth in elevated CO_2 protects photosynthesis against high-temperature damage. Plant, Cell and Environment 23:649-656.
9. Weis, E. and J.A. Berry. 1988. Plants and high temperature stress. Experimental Biology. 1004:329-346.
10. Woo, Y.H., H.J. Kim, Y.I. Nam, and Y.S. Kwon. 1998. Analysis of cooling efficiency and required number of air changes and amount of water to set point of inside air temperature at evaporative cooling system in summer glasshouse. RDA. J. Horti. Sci. 40(2):209-215.
11. Woo, Y.H., H.J. Kim, Y.I. Nam, I.H. Cho, and Y.S. Kwon. 2000. Predicting and measuring transpiration based on phytomonitoring of tomato in greenhouse. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 41(5):459-463.
12. Woo, Y.H., J.M. Lee, H.J. Kim, and Y.I. Nam. 1995. Forced ventilation number of air changes to set point of inside air temperature in summer glasshouse. J. Bio-Environment Control. 4(2):223-231.
13. Woo, Y.H., J.M. Lee, H.J. Kim, and Y.S. Kwon. 1996. Prediction of maximum air temperature and cooling load of glasshouse during summer. J. Kor. Soc. Hort. Sci. 37(3):479-485.
14. Yamane, K., S. Kawabata, and N. Fujishige. 1999. Change in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase during senescence of gladiolus florets. J. Jpn. Soc. Hort. Sci. 68:798-802.
15. Yamane, Y., Y. Kashino, H. Koike, and K. Satoh. 1997. Increases in the fluorescence F_o level and reversible inhibition of Photosystem reaction center by high-temperature treatments in higher plants. Photosynthesis Research 52:57-64.
16. Yordanov L., V. Velikova, and T. Tsonev. 2000. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. Photosynthetica 38(1):171-186.