

외생 살리실산과 일산화질소 처리가 고추묘의 저온 내성 및 병 저항성에 미치는 영향

박송이^{1,2} · 김흥태³ · 오명민^{1,2*}

¹충북대학교 축산·원예·식품공학부 원예학전공, ²생물건강소재산업회사업단, ³충북대학교 식물의학과

Effect of Exogenous Application of Salicylic Acid or Nitric Oxide on Chilling Tolerance and Disease Resistant in Pepper Seedlings

Song-Yi Park^{1,2}, Heung-Tae Kim³, and Myung-Min Oh^{1,2*}

¹Division of Animal, Horticultural and Food Sciences, Chungbuk National University, Cheongju, 361-763, Korea

²Brain Korea 21 Center for Bio-Resource Development, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

³Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Abstract. As an abiotic stress, chilling stress is one of the major factors limiting plant growth and increasing susceptibility to pathogens. Therefore, enhancing stress tolerance in plants is an important strategy for their survival under unfavorable environmental conditions. The objective of this study was to determine the effects of the exogenous application of salicylic acid (SA) or nitric oxide (NO) on chilling tolerance in pepper seedlings. Pepper (*Capsicum annuum* L. 'kidaemanbal') seedlings were grown under normal growing conditions (20/25°C, 15 hours photoperiod, 145±5 μmol·m⁻²·s⁻¹, fluorescence lamps) for 23 days after transplanting. The solution (3 mL) of 1 mM SA and 0.3 mM NO with surfactant triton 0.1% were sprayed two times a week, respectively. Right after the completion of chemical application, seedlings were subjected to chilling condition at 4°C for 6 hours under dark condition and then the seedlings were recovered at the normal growing conditions for 2 days. In order to assess plant tolerance against chilling stress, growth characteristics, chlorophyll fluorescence (Fv/Fm), and membrane permeability were determined after chilling stress imposition. Total phenolic concentration and antioxidant capacity were measured during the whole experimental period. Disease incidence for pepper bacterial spot and wilt was also analyzed. Pepper seedlings treated with SA or NO were maintained similar dry mass ratio, while the value in control increased caused by chilling stress suggesting relatively more water loss in control plants. Electrolyte leakage of pepper seedlings treated with SA or NO was lower than that of control 2 days after chilling treatment. Fv/Fm rapidly decreased after chilling stress in control while the value of SA or NO was maintained about 0.8. SA increased higher total phenolic concentration and antioxidant capacity than NO and control during chemical treatment. In addition, increase in total phenolic concentration was observed after chilling stress in control and NO treatment. SA had an effect on the reduction of bacterial wilt in pepper seedlings. The results from this study revealed that pre-treatment with SA or NO using foliar spray was effective in chilling tolerance and the reduction of disease incidence in pepper seedlings.

Additional key words: antioxidant capacity, bacterial spot, bacterial wilt, membrane permeability, total phenolic concentration

서 론

우리나라의 대표적인 양념채소인 고추(*Capsicum annuum* L.)의 재배 면적은 세계에서 3-4위이며 국내에서는 전체 채소재배면적의 1/4를 차지한다(Jang 등, 2011). 국내 고추 소비량은 국민 1인당 연간 1.7kg로 세계적으로 고추

소비량이 매우 높은 나라 중 하나이며, 농가 주요 소득 원이다(Oh, 2009). 고추에는 매운맛을 내는 캡사이신과 비타민 A, C 같은 인체 유용성분이 다량 함유되어 있어 영양학적 가치가 높고 특유한 맛과 식감으로 국내·외 소비가 지속적으로 증가하는 추세이다.

고추의 육묘는 플러그 재배가 가장 보편화 되어 있고 플러그 육묘는 공간에 제한적이라 재식밀도가 높아 식물의 생장이 균일하지 않을 수 있기 때문에 생육환경이 매우 중요하다(Yeoung 등, 2002). 따라서 고추 육묘기간

*Corresponding author: moh@cbnu.ac.kr

Received October 31, 2014; Revised November 7, 2014;

Accepted November 17, 2014

의 환경관리가 중요하며 건강한 묘를 생산하기 위한 방법이 필요하다. 또한, 건강한 묘는 정식 후 노지의 외부적인 환경 스트레스에 대해 저항성을 보이기 때문에 안정적인 생산량을 보장할 수 있다.

근래 문제 되는 지구 온난화로 인한 기상재해와 기후 변화는 고추의 불안정적인 생산과 품질변화를 일으킨다. 고추는 과채류 중에서도 높은 온도를 요구하는 호온성 작물로 저온에 민감하고, 생육환경이 적합하지 않으면 생육이 정지되거나 생장과 발달에 이상이 생길 수 있다 (Park 등, 2014). 따라서 정식시기에 저온에 의한 냉해를 받을 가능성이 커지고 있으므로 이에 대한 대책이 필요하다. 뿐만 아니라 고추는 높은 습도에 약하기 때문에 장마철이 지난 후 급격하게 증가되는 병 발생으로 인해 품질 저하가 빈번하게 일어나 이를 해결할 수 있는 기술 또한 요구된다.

외부로부터의 물리적, 생물학적 스트레스에 식물이 노출되었을 때, 식물체 내에서 천연의 2차대사산물의 합성이 촉진되어 이런 외부 공격으로부터 자신을 방어한다 (Kim, 2007). 식물의 2차 대사산물의 합성은 유도인자 (Elicitor)를 처리하게 되면 촉진된다고 알려져 있다 (Joe, 2002; Kim, 2007; Kwon과 Oh, 1999). SA(Salicylic acid)은 화학적 유도인자의 일종으로 식물체의 병원균에 대한 저항성 및 전신획득 저항성(system acquired resistance, SAR)에 중요한 신호물질로 알려져 있다. 외생 SA를 식물체에 처리하였을 때 생물적·비생물적 스트레스에 대한 내성을 증대시키는 실험이 많이 수행되었으며, 이를 통해 외생 SA 처리 효과가 규명되고 있다 (Elwan과 El-Hamamy, 2009; Khan 등, 2003; Sayyari, 2012). 또한, Janda 등(1999)의 실험에서 SA 전처리는 옥수수의 항산화 효소 활성 증가를 유도하여 냉해에 내성을 나타내었다. SA 처리는 옥수수와 콩에서 기공을 열어 광합성량을 증가시켜 엽면적과 건물중을 증가시켰고(Khan 등, 2003), 닭의장풀이나 수박묘에서 엽록소 함량을 증가시켰다(Lee, 1999; Sayyari 등, 2013). NO(nitric oxide)는 화학적 유도인자로 지난 몇 년 동안 식물체의 스트레스에 대한 NO의 역할을 밝히고자 많은 연구가 진행되었다(Esim과 Atici, 2014; Neill 등, 2003; Wendehenne 등, 2004; Wu 등, 2007; Zhao 등, 2008). 외생 NO 처리는 옥수수와 오이에서 냉해를 완화시킨다고 보고되었고, NO 스스로가 항산화물질 특성을 소유하고 있으며 비생물적 스트레스 조건하 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)를 소거하는 항산화 효소를 활성화시킨다고 알려져 있다(Saddiqui 등, 2011; Yang 등, 2011). 또한, Esim과 Atici (2014)에서는 NO가 식물체에서 방어유도, 식물 대사작용과 노화의 조절, 기공개폐 조절, 세포사 감소 등과 같은 다양한 생리적 기능에서

중요한 역할을 한다고 보고하였다.

따라서, 본 연구에서는 우리나라의 대표적 노지재배 채소인 고추묘에 외생 SA와 NO를 처리하였을 때 저온 내성과 병(점무늬병, 풋마름병) 저항성 유도효과를 규명하였다.

재료 및 방법

1. 재배환경

고추(*Capsicum annuum* L. cv. kidaemanbal) 종자(동부팜농, Korea)는 종자성장팩(DAIKI, Japan)에 파종하여 발아 시키기 위해서 30°C 암조건(습도 50%)에 3일간 두었다. 발아 후 뿌리를 활착시키기 위해 정상적인 재배 환경(25°C/낮, 20°C/밤, 광주기 15시간, 습도 50%, 형광 등 140±5μmol·m⁻²·s⁻¹)의 식물성장상(DS-51GLP, (주)다슬과학)으로 이동시켜 주었다. 파종 후 12일째 72공 플러그 트레이에 원예용 상토(‘명문’, 동부팜농, Korea)를 넣고 1개체씩 정식하여 추가로 33일간 재배하였다. 수분 공급은 72공 트레이를 별도로 제작한 용기(45×26×10cm, L×W×H)에 놓고, 2-3일 간격으로 2L씩 증류수로 저면 관수하였으며, 정식 후부터는 1주일 간격으로 Hoagland/Arnon solution(pH 6, EC 1.3dS·m⁻¹)을 2L씩 공급해 주었다. 식물위치에 따른 광분포의 불균일함을 줄이기 위하여 2일 마다 규칙적으로 위치를 변경시켰다.

2. SA와 NO 처리 후 저온 처리

SA와 NO를 이용하여 고추 묘의 저온 저항성에 대한 효과를 확인하기 위해 계면활성제 1%(Triton 100, Samchun, Korea)을 포함한 1mM SA(Samchun, Korea) 용액과 NO의 공여체 0.3mM Sodium Nitro Prusside(Sigma-Aldrich, USA) 용액을 정식 24일과 27일 된 고추 묘 전체에 3mL씩 골고루 2회 분사해주었다. SA와 NO의 농도는 이전 문헌을 참고하여 고추묘에 가장 효과적일 것이라고 판단되는 농도를 선택하였다 (Janda 등, 1999; Kang 등, 2003; Sayyari 등, 2013). 저온 환경이 SA과 NO 처리한 고추의 생육에 미치는 영향을 확인하기 위하여 2번째 SA와 NO처리 후 2일째에 4°C 암 상태의 식물성장상(BI-1000M, JeioTech, Korea)에서 6시간 동안 저온 처리해주었다. 그 후 정상적인 재배 환경의 식물성장상(DS-51GLP, (주)다슬과학, Korea)에서 2일동안 회복시켜 주었다.

3. 생육특성

저온에 따른 고추의 생육을 비교하기 위하여 저온 처리 전과 회복 2일 후에 각 처리구별로 생체중과 건물중, 엽록소 함량, 엽면적을 조사하였다. 전자저울(Si-234,

Denver Instrument, USA)로 지상부와 지하부의 생체중을 측정하였고, 건물중은 시료를 70°C 항온 건조기(FS-420, Advantec, Japan)에서 72시간 이상 말린 후 그 무게를 측정하였다. 엽록소 함량은 엽록소 측정기(SPAD-502, Minolta, Japan)을 이용하여 정단으로부터 3번째 잎을 측정하였고, 엽면적은 엽면적계(LI-2050A, LI-Cor, USA)를 이용하여 측정하였다.

4. 엽록소 형광

저온 처리에 의한 고추의 반응 및 생리적 상태를 확인하기 위해 식물의 스트레스 활성정도를 간접적으로 표현할 수 있는 엽록소 형광 값(Fv/Fm)을 측정하였다. 저온 처리 전과 저온 처리 후 1, 3, 6시간과 회복 2일 후 각 처리구별로 엽록소 형광 측정기(PAM 2000, HeinzWalz GmbH, Effeltrich, Germany)을 이용하여 측정하였다. 측정 30분전 고추의 기부에서부터 5번째 잎에 dark clip을 물려 30분 동안 암적응을 시킨 후 잎에 20kHz, 1100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PPF의 광을 조사하여 최대 형광값(Fm)과 초기 형광값(Fo)를 구하고, 광계II 최대 양자 수율(Fv/Fm)은 $(Fm - Fo)/Fm$ 으로 계산하였다.

5. 전해질 유출

저온에 의한 잎 조직의 세포 파괴 정도를 파악하기 위해 고추 잎의 전해질 유출을 측정하였다. 4°C에서 저온 처리 3시간 후와 회복 2일 후 고추 잎과 같은 시간에 대조구 고추 잎을 채취하고 잎을 3등분 하여 50mL 튜브에 넣은 뒤 15mL 증류수를 넣고 10시간 동안 상온에 보관하였다. 그 후 Vortex mixer(BV1000, Benchmark Scientific, USA)로 1분간 섞어준 후 Electric conductivity meter(Multi 3430, WTW, Germany)로 전기전도도를 측정하고(측정 I), 그 후 샘플을 80°C의 Water bath(MSB-2011D, MonoTech, Korea)에서 2시간 처리한 후 10시간 상온에 보관하였다. 그 후 1분 동안 Vortex mixer로 섞어준 뒤 전기전도도를 다시 측정하였다(측정II). 전해질 유출 정도는 측정I의 값을 측정II의 값으로 나누어 표현하였다.

6. 총 페놀 농도와 항산화도

총 페놀 농도를 분석하기 위하여 SA와 NO 첫 번째 처리 전후와 두 번째 처리 후 그리고 저온 처리 1시간째, 6시간째 각 처리구별 잎을 채취하였다. 채취한 잎(약 0.2g)은 액체질소로 동결시킨 후 분석 전까지 -70°C의 Deep Freezer(DF8524, Il-Shin, Korea)에 보관하였다. 고추의 총 페놀 함량은 Son과 Oh (2013)에서 기술한 방법처럼 Folin-Ciocalteu용액을 이용하여 분석하였다. 최종 반응물의 혼합물을 충분히 식혀준 후 흡광도는 분광광도계(UV-1800, Shimadzu, Japan)로 765nm에서 측정하였

으며, Standard curve는 Gallic acid(Sigma-Aldrich, USA)를 이용하였고 고추의 총 페놀 농도는 단위 생체중(g)당 gallic acid(mg)의 함량으로 표현하였다.

항산화도는 ABTS(Aminobenzotriazole; 2,2'-Azino-bis[3-ethyl benzothiazoline 6-sulfonic acid] diammonium salt)를 이용한 방법(Miller and Rice-Evans, 1996)을 약간 수정해서 Son과 Oh(2013)에서 기술한 방법으로 분석하였다. 총 페놀 농도와 동일하게 샘플을 채취하여 추출하였으며, 추출액은 암 상태의 -20°C에서 12시간 이상 보관하였다. 그 후 1000rpm에서 2분간 원심분리(CF-10, Daihan Science, Korea)하여 상층액을 얻었다. PBS(phosphate buffer saline, pH 7.4, ionic strength[150mM NaCl]) 용액과 희석하여 730nm에서 흡광도를 0.7 \pm 0.5로 맞춰진 1mL의 PBS용액을 큐벳에 넣은 후 추출물 100 μL 와 1분 동안 반응시킨 후 730nm에서 흡광도를 측정하였다. Standard curve는 trolox(6-Hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchromane-2-carboxyl acid)(Sigma-Aldrich, USA)를 이용하여 얻었고, 단위 생체중(g) 당 trolox(mM)로 표현하였다.

7. 식물병원균 저항성

실험에는 고추 세균점무늬병균과 풋마름병균을 사용하였다. 세균점무늬병균은 생명공학연구원에서 분양 받은 *Xanthomonas compestris vesicatoria* 1523을 실험에 사용하였으며, 풋마름병균으로는 서울대학교에서 분양 받은 *Ralstonia solanacearum* GMI1000을 사용하였다. 병원균은 28°C의 NB(nutrient broth) 배지에서 3일간 배양한 후, 멸균한 glucerol의 최종 농도가 20%가 되도록 첨가하여 -70°C에서 보관하며 실험에 사용하였다.

세균점무늬병에 대한 방제효과를 조사하기 위해서 NO와 SA를 처리한 고추 유묘에 병원균을 접종하였다. 냉동 보관하던 *X. compestris vesicatoria* 1523을 녹인 후에 NA배지에 접종하여 28°C에서 배양하고, 형성된 콜로니 하나를 NB 배지에 다시 접종하여 동일한 조건에서 3일간 배양한 후 수확하여 접종원으로 사용하였다. 수확한 병원균은 분광광도계를 사용하여 병원균 현탁액의 흡광도를 0.4로 조절한 후, 온실에서 고추의 잎 뒷면에 분무 접종하였다. 접종한 고추는 습도가 포화 상태로 유지

Table 1. Disease index of pepper bacterial spot.

Disease index	Investigation standard
0	No development of pepper bacterial spot
1	Diseased area on a leaf of pepper was 0.1 - 5%.
2	Diseased area on a leaf of pepper was 5 - 20%.
3	Diseased area on a leaf of pepper was 20 - 50%.
4	Diseased area on a leaf of pepper was more than 50%.

되는 비닐 상자(온도 30°C, 광주기 12시간)에 넣어 보관하며 발병을 유도하였다. 병 발생 정도는 Table 1의 발병지수에 의해서 조사하였다.

고추 잎에서 병이 발생한 정도를 발병지수로 조사한 후, 아래와 같이 발병도를 구하는 식으로 발병도를 계산하여 비교하였다.

$$\begin{aligned} \text{발병도}(\%) = & \{[(\text{발병지수가 1인 고추 잎 합} \times 1) \\ & + (\text{발병지수가 2인 고추 잎 합} \times 2) \\ & + (\text{발병지수가 3인 고추 잎 합} \times 3) \\ & + (\text{발병지수가 4인 고추 잎 합} \times 4)] \\ & \div (\text{전체 조사 잎의 수} \times 4)\} \times 100 \end{aligned}$$

꽃마름병균인 *R. solanacearum* GMI-1000을 28°C의 TTC 배지에서 3일간 배양한 후, 원심분리하여 수확하고 살균증류수로 2회 세척하여 만든 세균 현탁액을 접종원으로 사용하였다. 병원균 현탁액의 흡광도는 600nm에서 1.0이 되도록 조절하여 사용하였다. 병원균의 접종은 고추묘의 뿌리를 가위로 자른 후, 병원균 현탁액에 1시간 침지하여 접종하였다. 접종한 고추묘는 32°C인 항온기의 비닐 상자에 넣어 관리하였으며, 12시간 간격으로 광을 조사하였다. 병의 발생은 병원균을 접종하고 10일 후에 아래와 같은 발병지수(Table 2)를 기준으로 조사한 후에 발병도를 계산하였다.

또한 각 반복 당 발병주율을 조사하여 발병지수를 조사하여 구한 발병도와 비교하였다.

Table 2. Disease index of pepper bacterial wilt.

Disease index	Investigation standard
1	No symptom
2	On leaf or less than half of all leaves have wilting
3	More than half of all leaves have wilting
4	All leaves of a plant have wilting
5	A plant was wilt

Table 3. Growth characteristics of pepper plants treated with SA and NO at 4 weeks of transplanting (n=5).

Treatment ²	Shoot		Root		Leaf area (cm ² /plant)	SPAD value
	Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)	Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)		
Control	2.466	0.187	0.525	0.034	96.358	36.98
SA ³	2.387	0.188	0.525	0.030	89.842	38.54
NO ⁴	2.561	0.216	0.703	0.045	93.316	36.32
Significance	NS	NS	NS	NS	NS	NS

²SA and NO were treated twice at 3 weeks of transplanting.

³: Salicylic acid.

⁴: Nitric oxide.

8. 통계처리

생육 특성 조사, 전해질 유출, 기능성 물질 분석은 각 처리구별 5반복, SPAD Value와 엽록소 형광 값은 4반복, 식물병원균에 대한 저항성 조사는 각 접종원 농도별 10개체씩 3반복으로 실시하였다. 데이터 분석은 SAS (Statistical Analysis System, 9.2 Version)을 이용하여 분산분석(Analysis of variance, ANOVA)을 실시하였고, 처리 간 비교는 LSD(Least significant difference) 검정을 이용하였다.

결과 및 고찰

1. 생장특성

Table 3은 1mM의 SA와 0.3mM의 NO를 정식 후 3주째에 2번 3일 간격으로 처리한 후 생장량과 엽록소 함량을 나타내는 결과이다. NO 처리에서는 대조구와 SA 처리구에 비해 지상부와 지하부 생체중과 건물중에서 수치적인 증가를 보였지만, 유의적 차이는 보이지 않았다. 엽면적과 엽록소함량 또한 대조구와 처리구 간에 유의적 차이는 존재하지 않았다.

이전의 몇몇 연구에서는 적정 농도의 SA와 NO 처리는 식물의 생장 증대 효과를 보였다(Elwan과 El-Hamahmy, 2009; Neill 등, 2003; Sayyari, 2012). 하지만 고농도의 SA와 NO 처리는 식물의 엽록소 함량 감소와 광합성 저하, 세포 손상 및 생장을 억제한다(Kim and Kwang, 2014; Lee, 1999; Siddiqui 등, 2011). 본 연구 결과에서는 유의적 차이는 없지만, NO 처리구에서 지상부와 지하부의 생체중과 건물중이 증가된 것으로 보아, 본 실험에서 사용한 SA와 NO의 농도는 고추의 생육에 저해되지 않는 적당한 농도라고 판단된다.

Fig. 1은 SA와 NO가 처리된 고추묘를 4°C 저온에 6시간 노출시킨 후 정상적인 조건에서 회복시켰을 때 전체 생체중에 대한 건물중의 비율을 나타낸다. 대조구의 경우 저온 전보다 후에 값이 증가하였지만, SA와 NO처

리는 그 값의 변화가 크지 않았다. 이 결과는 2일 동안의 건물중의 증가가 크지 않다고 가정할 경우 대조구 외의 수분 손실을 통한 생체중의 감소를 의미한 반면, 그 변화가 없는 SA와 NO 처리구의 경우 수분손실이 발생되지 않았음을 의미한다. Lee 등(2011)의 연구 결과에 따르면 봄배추를 5°C 저온에 노출시켰을 때 배추묘의 생체중은 처리기간이 길어짐에 따라 감소되었다.

2. 엽록소 형광

대조구와 비교하여 저온처리 동안에 SA와 NO가 처리된 고추묘의 엽록소 형광값(Fv/Fm) 값의 변화 패턴은 달랐다(Fig. 2). 대조구의 경우 저온에 노출되지마자 1시간 만에 Fv/Fm 값이 0.757까지 떨어졌으며, 저온 처리 내내 0.8이하의 값을 보였고, 회복 후 2일째에는 가장 낮은 값

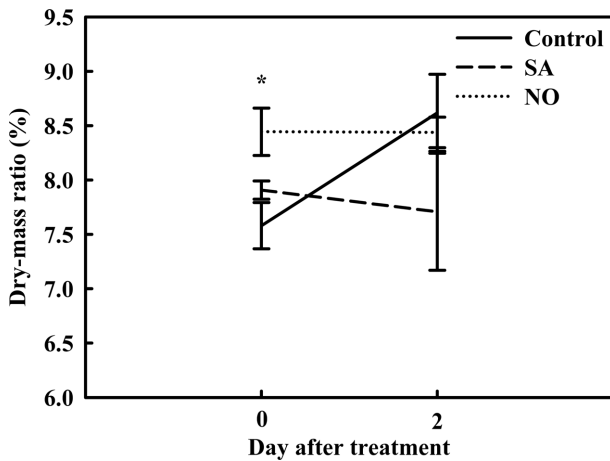


Fig. 1. Dry mass ratio of pepper plants exposed to 4°C temperature after SA and NO treatments right before and two days after low temperature treatment. Significant at * $p=0.05$.

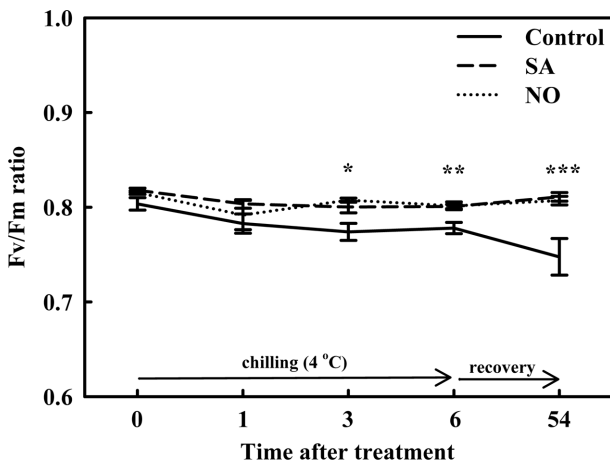


Fig. 2. Fv/Fm ratio of pepper plants during 4°C temperature and recovery. Significant at * $p=0.05$, ** $p=0.01$, and *** $p=0.001$.

인 0.711를 기록하였다. 반면, SA와 NO는 저온에 노출된 고추묘의 Fv/Fm 값을 0.8이상으로 유지시켰다.

광합성 기구에 미치는 영향은 광계II의 광화학적 효율을 의미하는 Fv/Fm의 변화로 예측할 수 있다(Oh, 2002). Fv/Fm은 식물의 외부환경의 스트레스 지표로 사용이 되며(Baker와 Rosenqvist, 2004), 일반적으로 정상적인 환경에서 식물의 Fv/Fm 값은 0.8-0.84으로 대조구의 0.7대의 값은 저온에 민감하게 반응하여 고추묘가 스트레스를 받았음을 보여준다. 그리고 SA와 NO 처리된 고추묘는 스트레스를 받지 않았음을 알 수 있다.

3. 전해질 유출

저온 처리 후 고추묘 외의 세포붕괴도를 대조구와 두 처리구의 고추잎 전해질 유출 정도로 비교하였다(Fig. 3). 저온 처리 직후에는 대조구와 SA 처리구에 비해 NO 처리한 고추 잎의 세포 붕괴도가 상대적으로 낮았으며, 저온 처리 완료 후 회복 2일째에는 그 경향이 더욱 명확해져, 대조구에 비해 SA와 NO 처리가 상대적으로 약 2.2~2.6배 낮은 세포붕괴도를 보였다. 이 결과는 SA와 NO처리된 고추묘가 저온에 대한 저항성을 보였다는 것을 의미한다.

저온스트레스는 세포막의 불포화지방산과 활성산소가 반응하여 지질과산화이 일어나 세포막 투과성을 증가시키기 때문에(Campos 등, 2003), 전해질 유출의 측정은 세포막 손상에 따른 세포의 붕괴 정도를 평가하는데 사용된다 (Sayyari, 2012). 본 실험 결과와 비슷하게 바나나묘와 수박묘에 SA처리와 오이에서 NO 처리는 대조구와 비교하여 전해질유출을 크게 감소시켰다(Kang 등, 2003; Sayyari, 등 2013; Yang 등, 2011). NO 처리는 리폭시디아제(Lipoxygenase) 활성을 감소시켜 과산화지질

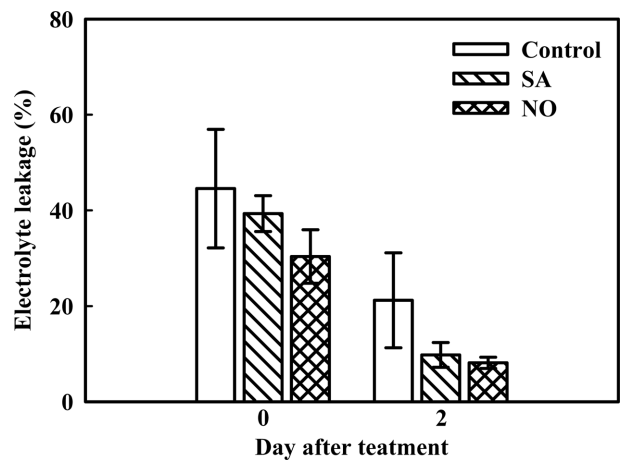


Fig. 3. Electrolyte leakage of pepper plants exposed to 4°C temperature after SA and NO treatments right before and two days after low temperature treatment.

생성을 막으로써 저온 저항성을 증대시킨다는 보고가 있다(Zhao 등, 2008).

4. 총 페놀 농도와 항산화도

SA와 NO 처리 및 저온처리는 총 페놀 농도와 항산화 활성에 영향을 주었다(Fig. 4). 첫 번째 SA 처리 후, 총 페놀 농도는 대조구와 NO에 비해서 증가하였으며, 4°C 저온 처리는 SA 처리구와 대조구 고추묘의 총 페놀 농도를 증가시켰다. NO 처리구의 경우 저온 처리에 민감하게 반응하지 않았다. 항산화도 또한 총 페놀 농도와 비슷한 경향을 보였다.

대부분의 페놀릭 물질은 높은 항산화 활성을 띄며, 저온과 같은 외부 환경스트레스에 의해 식물이 노출되었을 때 그 함량이 증가하여 정상시보다 많이 생성된 활성산소종을 소거하여 환경 내성을 유도한다(Zielinski와 Kozłowska, 2000). SA 처리가 항산화 페놀릭 물질을 증가시켜 저온에 노출 되었을 때 저온 내성을 띤 것으로 판단된다. 겨울 밑에 SA 처리가 항산화 관련 효소를 증대시켰다는 Yordanova와 Popova (2007)의 보고는 우리의 결과와 일치한다. 반면, NO 처리에 의한 결과는 NO 처리가 총페놀릭농도와 항산화도를 증가시킨다고 보고한

Esim와 Atici (2014)의 결과와는 달랐다. 하지만 세포붕괴도의 결과를 통해서 다른 기작으로 저온에 대한 저항성을 향상시킨 것으로 판단된다. 이전 NO의 또 다른 연구에서는 저온처리에 의해 산화적으로 손상된 세포막의 과산화지질 생성을 막기 위한 리폭시다아제의 활성이 NO 처리에 의해 증대되었다(Yang 등, 2011).

5. 식물병 저항성

육묘 과정 중에서 SA를 처리한 고추묘는 Table 4에서 보는 것과 같이 풋마름병균을 접종하였을 때 시들음 증상이 나타나지 않아 방제효과가 인정되었지만, 세균점무늬병을 일으키는 *X. compestris vesicatoria*를 접종하였을 경우에는 40.0% 병이 발생하여 대조구 고추묘에서 발병도와 유의성 있는 차이가 나지 않았다. 육묘 시에 NO를 처리하였을 경우에는 세균점무늬병과 풋마름병 모두에 대해서 억제효과가 전혀 나타나지 않았다.

WRKY 단백질은 병원균이 침입할 경우 식물체에서 저항성을 발현시키는데, *Arabidopsis*, 벼, 오이 등에서 알려져 있다(Eulgem과 Somssich, 2007; Pandey와 Somssich, 2009). 최근 Dang 등(2013)은 병 저항성 관련 WRKY 단백질의 일종인 *CaWRKY27*가 외부에서 처리한 SA나 methyl jasmonic acid(MeJA), ethephone 등에 의해서 조절되며, 고추와 형질전환 담배에서 *R. solanacearum*에 대한 저항성을 유도하였다고 보고하였다. 본 실험에서는 SA를 처리하고 고추 육묘에서 병 저항성 관련 유전자 발현을 조사하지 않았기 때문에, Dang 등(2013)이 보고한 *CaWRKY27*이 발현되었는지는 정확히 알 수 없지만, 외부에서 처리한 1mM의 SA가 고추 내부의 병 저항성 관련 대사경로에 작용하여 외부에서 침입하는 병원균에 대해서 저항성이 발현되었다고 생각한다. 하지만 앞에 발생하는 세균점무늬병에 대해서는 방제효과가 전

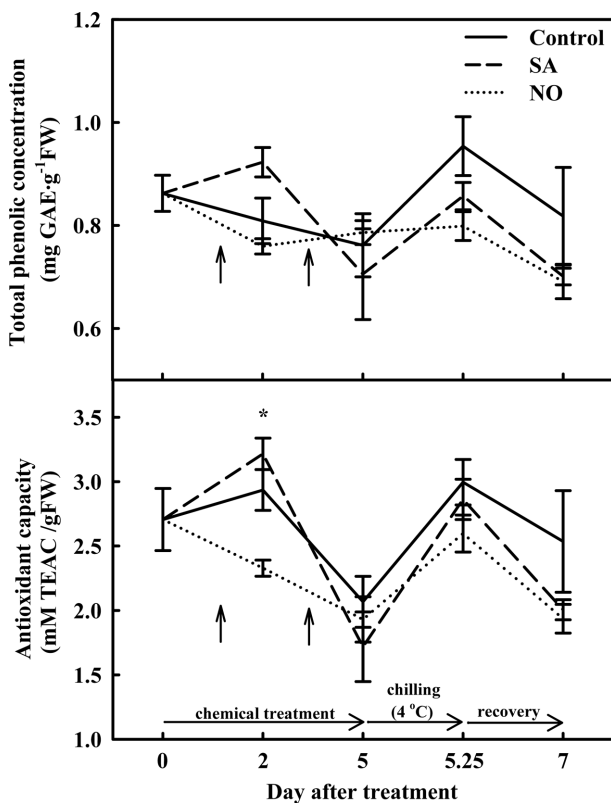


Fig. 4. Total phenolic concentration (A) and antioxidant capacity (B) of pepper plants during the experiment. Arrows indicate the time of SA or NO treatments. Significant at **p* = 0.05.

Table 4. Effect of exogenous salicylic acid (SA) and nitric oxide (NO) on the occurrence of pepper bacterial leaf spot and bacterial wilt caused by *Xanthomonas compestris vesicatoria* and *Ralstonia solanacearum*, respectively.

Treatments	Bacterial leaf spot		Bacterial wilt
	Disease incidence	Disease incidence	Percentage of diseased plants
Untreated control	31.3 a	25.0 a	33.3 a
SA ^z	40.0 a	0.0 c	0.0 b
NO ^y	40.5 a	15.0 b	26.7 a

Values are means ± standard error. Different letters in the same column denotes statistical difference at *p*<0.05 according to the least significant difference (LSD).

^z: Salicylic acid.

^y: Nitric oxide.

혀 나타나지 않는 것을 보아, 병원균이 다를 경우 병 저항성에 관련되는 유전자와 경로가 다르거나, 저항성을 유지시키는 SA의 농도가 다를 수 있을 것으로 생각한다. SA와 다르게 NO의 경우에는 고추 묘에서 병원세균의 침입에 대한 저항성이 발현되지 않았다.

적 요

저온은 식물 생장을 저해하는 주된 요인이며 병원균에 대한 감수성을 증가시킨다. 그러므로 식물체에서 스트레스 내성을 증대시키는 것은 불리한 환경 조건에서 살아 남기 위한 중요한 전략이다. 본 실험의 목적은 고추 묘에서 저온 내성과 식물병 발생에 대한 외생 살리실산(SA)과 일산화질소(NO) 처리의 효과를 밝히는 것이다. 정식 후 23일 동안 고추 묘(*Capsicum annuum* L. '기대만발')는 온도 20/25°C(낮/밤), 광주기 15시간, 광도 $145 \pm 5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 의 정상적인 생육환경에서 자랐다. 1주일에 2번 계면활성제 0.1%를 포함한 SA와 NO 3mL을 고추 묘에 각각 분사 해주었다. 처리 후 고추 묘는 암 상태에서 6시간 동안 4°C 저온에 노출시킨 후 정상적인 생육환경에서 2일 동안 회복시켜주었다. 저온 스트레스에 대한 식물 내성을 평가하기 위해 저온 처리 후 생육특성, 엽록소 형광 값, 세포막 투과성을 측정하였다. 총 페놀릭 농도와 항산화도는 실험하는 동안 측정하였다. 또한, 고추의 점무늬병과 풋마름병 발생 정도도 조사하였다. 저온 처리 전·후를 비교하여 대조구 고추묘에서는 저온에 의해 상대적으로 많은 수분을 손실하여 건물율이 높지만 SA와 NO 처리 된 고추 묘는 비슷한 건물율을 유지하였다. 저온 처리 후 대조구에 비해 SA와 NO 처리구의 전해질 유출 값은 더 낮았다. 저온 처리 동안 SA와 NO 처리구의 엽록소 형광값은 약 0.8 수준으로 유지하였지만 대조구는 빠르게 감소하였다. 화학적 처리 동안 SA 처리구의 총 페놀릭 농도와 항산화도는 NO 처리구보다 높았다. 또한 저온 처리 후 대조구와 NO 처리구의 총 페놀릭 농도는 증가하였다. 고추에서 풋마름병에 대한 저항성은 SA가 보다 효과적이었다. 본 실험의 결과는 SA와 NO의 외생처리는 고추 묘의 저온 내성을 증대시켰고 병 발생 정도를 감소시키는 데 효과적임을 보여준다.

추가주제어 : 항산화도, 점무늬병, 풋마름병, 전해질유출, 총페놀농도

사 사

본 연구는 농촌진흥청 연구개발사업(과제번호: PJ0102942014)의 지원에 의하여 이루어진 것임.

Literature Cited

- Baker, N.R. and E. Rosenqvist. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J. Exp. Bot.* 55:1607-1621.
- Campos, P.S., V. Quartin, J.C. Ramalho, and M.A. Nunes. 2003. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. plants. *J. Plant Physiol.* 160:283-292.
- Dang, F., Y. Wang, J. She, Y. Lei, Z. Liu, T. Eulgem, Y. Lai, J. Lin, L. Yu, D. Lei, D. Guan, X. Li, Q. Yuan, and S. He. 2013. Overexpression of CaWRKY27, a subgroup IIe WRKY transcription factor of *Capsicum annuum*, positively regulates tobacco resistance to *Ralstonia solanacearum* infection. *Physiol. Plant.* 150:397-411.
- Elwan, M.W.M., and M.A.M. El-Hamahmy. 2009. Improved productivity and quality associated with salicylic acid application in greenhouse pepper. *Sci. Hort.* 122:521-526.
- Esim, N.T. and O. Atici. 2014. Nitric oxide improves chilling tolerance of maize by affecting apoplastic antioxidative enzymes in leaves. *Plant Growth. Regulat.* 72:29-38.
- Eulgem, T. and I.E. Somssich. 2007. Networks of WRKY transcription factors in defense signaling. *Curr. Opin. Plant Biol.* 10:366-371.
- Gouvea, C.M.C.P., J.F. Souza, A.C.N. Magalhaes, and I.S. Martins. 1997. NO-releasing substances that induce growth elongation in maize root segments. *Plant Growth. Regulat.* 21:183-187.
- Heo, C.M. 2011. Physiological changes induced by temperature stress in poplar. Master thesis. Gyeongsang National University.
- Janda, T., G. Szalai, I. Tari, and E. Paldi. 1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize plants. *Planta* 208:175-180.
- Joe, J.Y. 2002. Study on the production of isoflavone in the plant cell cultures of *Pueraria mirifica* using cyclodextrin and elicitors. Master thesis. Kangwon National University. (in Korean)
- Kang, G., C. Wang, G. Sung, and Z. Wang. 2003. Salicylic acid changes activities of H₂O₂-metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. *Environ. Expt. Bot.* 50:9-15.
- Khan, W., P. Balakrishnan, and L.S. Donald. 2003. Photosynthetic responses of corn and soybean to foliar application of salicylates. *J. Plant Physiol.* 160:485-492.
- Kim, H.Y. 2007. In vitro mass propagation of *Oplopanax elatus* Nakai and biological activities by using elicitor. Master thesis. Kangwon National University. (in Korean)
- Kim, S.A. and S.R. Kwang. 2014. Effect of p-coumaric acid, benzoic acid, and salicylic acid on the activity of glutathione reductase and catalase in in vitro grown tobacco plants. *J. Life Sci.* 24:227-233.

- Kim, Y.B., J.H. Kim, and M.H. Park. 2011. Effects of supplemental lighting on growth and yield of pepper (*Capsicum annuum* L.) in hydroponic culture under low levels of natural light in winter. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 29:317-325. (in Korean)
- Kim, Y.H. 2009. Salt-stress tolerance of rice (*Oryza sativa* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.) affected by nitrogen and salicylic acid. Master thesis. The University of Seoul. (in Korean)
- Kroon, P.A. and G. Williamson. 1999. Hydroxycinnamates in plants and food: current and future perspectives. *J. Sci. Food Agric.* 79:355-361.
- Kwon, S.T. and S.M. Oh. 1999. Elicitor inducible phytoalexin from cell suspension culture of pepper. *Kor. J. Life. Sci.* 9:408-413. (in Korean)
- Lee, J.G., J.W. Lee, S.H. Park, Y.A. Jang, S.S. Oh, T. C. Seo, H.K. Yoon, and Y.C. Um. 2011. Effect of low night-time temperature during seedling stage on growth of spring Chinese cabbage. *J. Bio-Environ. Con.* 20:326-332.
- Lee, J.H., S.W. Kwon, M.J. Uhm, J.J. Lee, and Y.J. Song. 2011. Effects of eco-friendly materials treatment of raising seedlings before transplanting on growth and development of pepper. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 29 (SUPPL. I). (in Korean)
- Lee, J.S. 1999. The effect of salicylic acid on the photosynthetic activity in *Commelina communis* L. *Kor. J. Environ. Biol.* 17:359-364.
- Lee, S.H., I.H. Heo, K.M. Lee, S.Y. Kim, Y.S. Lee, and W.T. Kwon. 2008. Impacts of climate change on phenology and growth of crops: In the case of Naju. *J. Kor. Geo. Soc.* 43:20-35. (in Korean)
- Mahdavian, K., M. Ghorbanli, and K.M. Kalantari. 2008. Role of salicylic acid in regulating ultraviolet radiation-induced oxidative stress in pepper leaves. *Russian J. Plant Physiol.* 55: 560-563.
- Miller, N.J. and C.A. Rice-Evans. 1996. Spectrophotometric determination of antioxidant activity. *Redox report* 2:161-171.
- Mutlu, S., O. Atici, and B. Nalbantoglu. 2009. Effects of salicylic acid and salinity on apoplastic antioxidant enzymes in two wheat cultivars differing in salt tolerance. *Biologia. Plant.* 53:334-338.
- Neill, S.J., R. Desikan, and J.T. Hancock. 2003. Nitric oxide signaling in plants. *New Phytologist* 159:11-35.
- Oh, S.J. 2002. Studies on the changes in antioxidative enzyme activities and chlorophyll fluorescence parameters in a subtropical plant, *Crimumasiaticum* var. *japonicum* under low temperature stress. PhD Diss., Jeju National University. (in Korean)
- Oh, S.S. 2009. Effects of night temperature and electrical conductivity on the growth and physiological response of grafted pepper seedling in protected cultivation. PhD Diss., Gyeongsang National University. (in Korean)
- Pandey S.P. and I.E. Somssich. 2009. The role of WRKY transcription factors in plant immunity. *Plant Physiol.* 150:1648-1655.
- Park, E.J., Y. Heo, B.G. Son, Y.W. Choi, Y.J. Lee, Y.H. Park, J.M. Suh, J.H. Cho, C.O. Honh, S.G. Lee, and J.S. Kang. 2014. The Influence of abnormally low temperatures on growth and yield of hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *J. Environ. Sci. Intl.* 23:781-786. (in Korean)
- Rivero, R.M., J.M. Ruiz, P.C. Garcia, L.R. Lopez-Lefebvre, E. Sanchez, and L. Romero. 2001. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant Sci.* 160:315-321.
- Sayyari, M. 2012. Improving chilling resistance of cucumber seedlings by salicylic acid. *Amer-Eurasian. J. Agric. Environ. Sci.* 12:204-209.
- Sayyari, M., F. Ghanbari, S. Fatahi, and F. Bavandpour. 2013. Chilling tolerance improving of watermelon seedling by salicylic acid seed and foliar application. *Not. Sci. Biol.* 5:67-73.
- Saddiqui, M.H., M.H. Al-Wahaibi, and M.O. Basalah. 2011. Role of nitric oxide in tolerance of plants to abiotic stress. *Protoplasma* 248:447-455.
- Son, K.H. and M.M. Oh. 2013. Leaf shape, growth, and antioxidant phenolic compounds of two lettuce cultivars grown under various combinations of blue and red light-emitting diodes. *HortScience* 48:988-995.
- Uchida, A., A.T. Jagendorf, T. Hibino, T. Takabe, and T. Takabe. 2002. Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Sci.* 16:515-523.
- Wendehenne, D., J. Durner, and D.F. Klessig. 2004. Nitric oxide: a new player in plant signaling and defence responses. *Curr. Opinion Plant Biol.* 7:449-455.
- Wu, C.H., R.K. Tewari, E.J. Hahn, and K.Y. Paek. 2007. Nitric oxide elicitation induces the accumulation of secondary metabolites and antioxidant defense in adventitious roots of *Echinacea purpurea*. *J. Plant Biol.* 50:636-643.
- Yang, E.Y., C.S. Choi, M.C. Cho, H.B. Jeong, S.Y. Chae, S.O. Jang, and H.S. Choi. 2009. Determination of critical temperature to pepper seedlings in a cold season. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 27 (SUPPL. I). (in Korean)
- Yang, H., F. Wu, and J. Cheong. 2011. Reduced chilling injury in cucumber by nitric oxide and the antioxidant response. *Food Chem.* 127:1237-1242.
- Yeoung, Y.R., J.Y. Jeon, and S.Y. Shim. 2002. Characteristics of root development and seedling quality during pepper seedling growth in copper-coated plug trays. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 43:151-154. (in Korean)
- Yordanova, R., and L. Popova. 2007. Effect of exogenous treatment with salicylic acid on photosynthetic activity and antioxidant capacity of chilled wheat plants. *Gen. Appl. Plant Physiol.* 33:155-170.
- Zhao, L., H. Wang, and L. Zhang. 2008. Nitric oxide protects against polyethylene glycol-induced oxidative damage in two ecotypes of reed suspension cultures. *J. Plant Physiol.* 165:182-191.
- Zielinski, H. and H. Kozłowska. 2000. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *J. Agric. Food Chem.* 48:2008-2016.