

양상추 유묘의 생육, 항산화물질 및 무기이온의 함량에 미치는 NaCl 스트레스의 영향

김주성^{1*} · 현대경²

¹제주대학교 식물자원환경전공, ²경상대학교 응용생명과학부

Effect of NaCl Stress on the Growth, Antioxidant Materials, and Inorganic Ion Content in Head Lettuce Seedlings

Ju-Sung Kim^{1*} and Tae Kyung Hyun²

¹Majors in Plant Resource Sciences and Environment, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

²Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Abstract. In head lettuce seedlings, NaCl stress was treated with hydroponic culture containing 0, 50, or with 100 mM NaCl in the seedling grown up to two leaf stages. Our focus was on the effect of NaCl on fresh and dry weights, antioxidant materials, and inorganic ion level. Fresh and dry weights of head lettuce seedlings increased with the increase in salinity while the optimal growth occurred at 50 mM NaCl. The chlorophyll a (Chl a), total Chl and Chl a/b ratio increased 6 days after treatment with 100 mM NaCl. However, the Chl b content decreased. Total glutathione increased only in the root of head lettuce seedlings, whereas significant increase of total ascorbate content was observed in both shoot and root after the treatment with 100 mM NaCl. In addition, the NaCl treatment resulted in the decreased level of spermidine content, and an increased spermine content. Furthermore, Na⁺ content in shoot and root increased significantly while K⁺, Ca²⁺, and Mg²⁺ content decreased. The alteration of inorganic ion level after treatment with NaCl caused the reduction of K⁺/Na⁺, Ca²⁺/Na⁺, and Mg²⁺/Na⁺ ratio with the increase of NaCl concentration. Taken together, these findings indicate that the treatment of NaCl causes the induction of oxidative stress, and results in the alteration of metabolic mechanism in head lettuce seedlings.

Additional key words: ascorbate, glutathione, growth promotion, hydroponic culture, polyamine

서 언

한발, 건조, 고온, 저온, 강광, 고염 및 환경오염과 같은 환경 스트레스는 스트레스의 지속 시간이나 강도 및 식물의 연령 등에 따라 활성 산소를 증가시킨다(Lee and Oh, 1994). 발생한 활성 산소는 세포 내 여러 소기관을 과산화시켜 세포를 파괴시킨다. 특히, 막의 주요 구성성분인 불포화지방산 과산화지질로 바꾸며 세포에 손상을 주게 된다. 한편, 식물은 superoxide dismutase, peroxidase 및 glutathione reductase 등과 같은 항산화 효소와 ascorbate, glutathione, α -tocopherol 및 carotenoids 등과 같은 저분자 항산화제에 의해 체내·외에서 발생하는 각종 스트레스에 대하여 보호된다(Bowler et

al., 1992; Foyer et al., 1994).

식물이 고염에 노출되면 세포 내 삼투압의 불균형과 이온 농도의 불균형이 일어나게 되며, 이어서 이온 독성, 영양 결핍 및 산화 스트레스를 받게 된다(Cheong and Yun, 2007). 염스트레스에 의한 삼투압 불균형은 고염 처리 초기단계에 발생하는 현상으로써, 식물체내의 수분함량 감소에 따른 수분스트레스를 일으키게 된다. 이러한 수분스트레스는 NaCl 또는 sorbitol 처리 식물에서 공통으로 나타나는 현상으로써 식물체의 광계I(photosystem I)과 광계II(photosystem II)의 활성 억제를 통한 식물체 광합성률 감소의 주요 원인으로 보고 되었다(Allahverdiev et al., 2000). 수분스트레스에 반하여 늦게 나타나는 이온농도의 불균형은 식물체내의 Na⁺ 이온농도의 증가로 나타나는 현상으로 식물체내 영양결핍, 대사장애 등의 중요 원인으로 알려져 있다(Singh and Prasad, 2009). 이러한 현상은 나아가 식물의 생장과 발육에 저해를

*Corresponding author: aha2011@jejunu.ac.kr

※ Received 4 April 2011; Accepted 4 September 2011.

주게 되며, 심해지면 고사하게 된다. NaCl 스트레스에 의한 식물 성장 억제는 모든 식물체에서 관찰되지만, NaCl에 대한 내성 수준은 식물 종간에 따라 다르게 나타난다(Choi et al., 2003; Parida and Das, 2005).

90% 이상이 샐러드용으로 이용되고 있는 양상추(*Lactuca sativa* L.)는 수분 95.4%, 단백질 0.9%, 지질 0.1%, 탄수화물 2.9%, 회분 0.4%, 무기질 79mg, 그리고 소량의 비타민 등을 함유하고 있으며, 소비자들의 웰빙식품에 대한 관심도의 증가에 따라 매년 생산량의 증가 추세를 보이고 있는 쌈채소류 중 한 작물이다(Cha et al., 2007; Peter et al., 2004). 현재까지 양상추에 관한 연구는 저장 그리고 유통 중 신선도 유지, 농약살포시 품질변화 등의 연구가 수행되어 왔으나(Kim et al., 1995; Youn et al., 2009), 양상추 재배시 NaCl 스트레스에 따른 생리적 변화에 관한 체계적 연구가 진행되어 있지 않은 실정이다. 따라서 본 연구는 수경재배에서 2엽기까지 자란 양상추 유묘에 각각 다른 농도의 NaCl 처리 후 양상추 유묘의 성장 및 항산화물질과 무기이온의 변화를 조사하여 염스트레스에 따른 생리적변화 연구를 위한 기초 자료를 얻고자 수행하였다.

재료 및 방법

생육조건

버미클라이트를 충전시킨 포트에 양상추 종자(*Lactuca sativa* L. cv. Sisuko)를 발아시켜 자엽이 완전하게 나왔을 때 수경액이 담긴 포트(3cm × 3cm × 10cm)로 이식하였다. 생육상의 환경 조건은 광 강도 270 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ Photosynthetic Photon Flux(PPF), 온도 25 $^{\circ}\text{C}/15^{\circ}\text{C}$ (주간/야간), 일장 16시간, 그리고 상대습도 60-80%로 유지하였다. 담액식 수경재배시, 배양액은 2일마다 교환하였으며 연속적으로 공기를 주입하였다. 제 2엽이 완전히 전개된 시기에 NaCl를 이용해 0, 50 및 100mM이 되도록 1/2강도의 배양액(20mg $\cdot\text{L}^{-1}$ (NH₄)₂SO₄, 20mg $\cdot\text{L}^{-1}$ NaNO₃, 40mg $\cdot\text{L}^{-1}$ Na₂HPO₄·12H₂O, 40mg $\cdot\text{L}^{-1}$ KCl, 40mg $\cdot\text{L}^{-1}$ CaCl₂·2H₂O, 10mg $\cdot\text{L}^{-1}$ MgSO₄·7H₂O, 5mg $\cdot\text{L}^{-1}$ EDTA-Fe, 0.5mg $\cdot\text{L}^{-1}$ MnCl₂·4H₂O, 0.5mg $\cdot\text{L}^{-1}$ H₃BO₃, 0.05mg $\cdot\text{L}^{-1}$ (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O, 0.02mg $\cdot\text{L}^{-1}$ CuSO₄·5H₂O, 0.05mg $\cdot\text{L}^{-1}$ ZnSO₄·7H₂O, pH 5.6-6.0)을 조정하였다(Kasugai, 1939). 시험구 크기는 15cm × 25cm(40개체)이며, 완전임의 배치법으로 3 반복으로 실시하였다. 처리 개시일로부터 6일간 생육시켰으며 제 1엽과 뿌리를 이용하여 성장, 항산화물질 및 무기이온의 변화를 측정하였다.

생육조사

NaCl 처리 후 3일과 6일째, 지상부와 지하부로 나누어 생

체중과 건물중을 각 시험구당 3개체씩 선발하여 4 반복 측정하였다.

클로로필 분석

클로로필 추출 및 측정은 Chappelle et al.(1992)의 방법에 준하였다. 시료 0.5g을 dimethyl sulfoxide(DMSO) 10mL에 침지하여 30 $^{\circ}\text{C}$ 의 암조건에서 48시간 동안 색소를 추출한 후 분광 광도계(UV-2450, Shimadzu, Japan)를 이용하여 664와 648nm에서 흡광도를 측정하였다.

클로로필의 함량은 각 파장에서의 흡광도를 다음 식에 대입하여 계산하였다:

$$\text{Chlorophyll a}(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}) = 12.25A_{664\text{nm}} - 2.79A_{648\text{nm}}$$

$$\text{Chlorophyll b}(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}) = 21.50A_{648\text{nm}} - 5.10A_{664\text{nm}}$$

$$\text{Total chlorophyll}(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}) = \text{Chlorophyll a} + \text{Chlorophyll b}$$

글루타치온 정량

글루타치온의 추출은 Gronwald et al.(1987)의 방법에 준하여 실시하였다. 0.5g의 샘플을 막자사발을 이용하여 분쇄하고 5% trichloroacetic acid(TCA; w/v)를 5mL 첨가한 후 homogenizer로 균질화하였다. 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 8,000 × g로 10분간 원심분리한 후 상정액을 2매의 미라크로스(miracloth)를 이용하여 여과시키고 여액을 2mL씩 나누어 총글루타치온(GSH + GSSG)과 산화형 글루타치온(glutathione disulphide; GSSG) 함량을 측정하는데 이용하였다.

총글루타치온 정량용 추출액은 동량의 diethyl ether를 첨가하여 TCA를 제거하는 작업을 3회 반복하였다. 남은 분획물은 질소가스를 이용하여 여분의 diethyl ether를 제거하였다. 산화형 글루타치온 함량 측정은 추출액에 동량의 NEM 용액(5mM EDTA·2Na를 포함한 0.1M potassium phosphate buffer, pH 7.5로 용해)을 첨가하여 환원형 글루타치온(GSH)을 제거한 후 동량의 diethyl ether를 첨가하여 TCA와 NEM을 제거하는 작업을 3회 반복하였다.

측정은 항온수 순환 셀홀더를 부착한 분광광도계를 이용하여 NADPH와 GR 존재하에서 GSH과 GSSG의 리사이클링법에 의해 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid)(DTNB)로부터 5-mercapto-2-nitrobenzoic acid(TNB)의 생성속도를 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 단위 시간내 흡광도 변화(412nm)로 측정하였다. DTNB액을 제외한 반응액을 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 5분간 배양시킨 후 DTNB액을 첨가하여 반응시켰다. 글루타치온 함량은 표준물질(Glutathione, Sigma)을 이용하여 검량선으로부터 산출하였으며, GSH는 총글루타치온으로부터 GSSG량을 빼어 산출하였다.

아스코르빈산 분석

환원형 아스코르빈산(AsA)과 산화형 아스코르빈산(DHA) 측정은 Wang et al.(1991)의 방법에 준하였다. 시료 0.5g을 액체 질소로 동결 마쇄하여 5% TCA 5mL를 첨가하여 homogenizer로 30초간 교반하였다. 4°C에서 16,000 × g로 10분간 원심분리하고 얻어진 상정액을 여과 후 분석용 시료로 이용하였다.

AsA 측정 방법: 시료 추출액 300μL에, 5% TCA 300μL와 에탄올 300μL를 넣어 섞은 다음 에탄올에 녹인 0.4% H₃PO₄(v/v) 150μL, 12mM bathophenanthroline(4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline) 300μL와 1.5mM FeCl₃ 150μL를 넣어서 잘 혼합하고 나서 30°C에서 90분간 정치 후 534nm에서 흡광도를 측정했다.

총아스코르빈산의 측정 방법: 시료 추출액 300μL에 3.1mM DTT(pH 7.8) 150μL와 에탄올 300μL를 넣어 혼합한 후 실온에서 10분간 정치한다. 그 후 혼합물에 에탄올에 녹인 15.2mM NEM 150μL와 20% TCA 150μL를 넣어 섞은 후 0.4% H₃PO₄ 150μL, 12mM bathophenanthroline 300μL와 1.5mM FeCl₃ 150μL를 넣어서 잘 혼합하고 나서 30°C에서 90분간 정치 후 534nm에서 흡광도를 측정했다.

아스코르빈산은 표준물질(Ascorbic acid, Wako)을 이용한 검량선으로부터 산출했다. 산화형 아스코르빈산은 총아스코르빈산량으로부터 환원형 아스코르빈산량을 빼어 계산하였다.

폴리아민 분석

폴리아민의 추출과 분석은 Yamamoto et al.(2004)의 방법을 일부 수정하여 실시하였다. 시료 0.5g을 액체 질소에 동결 마쇄후 0.5M HClO₄ 3mL를 더해 추출하고 10,000 × g로 10분간 원심분리하여 상정액을 이용하였다. HClO₄ 추출액 500μL에 내부 표준물질로 1,6-hexanediamine를 첨가하고 2N NaOH 1mL로 알칼리화한 후 benzoylchloride 10μL를 첨가해 폴리아민을 벤조일 유도체화시켰다. 실온에서 40분간 방치 후 포화 NaCl 수용액 2mL를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 그 후 diethyl ether 2mL를 첨가하여 혼합하고 1,000 × g로 5분간 원심분리하여 상층의 diethyl ether 1mL를 회수한 후 질소 가스를 이용하여 농축 건조하였다. 농축액은 HPLC용 메탄올 0.3mL로 재용해하여 0.45μm필터로 여과하여 분석하였다. HPLC(SPD-10A_{VP}, Shimadzu, Japan) 측정조건은 Cosmosil5 C₁₈(250 × 4.6mm id) 컬럼을 사용하였고, 이동상 프로그램은 0-20분간 55% methanol로, 20-40분 동안 55-90% methanol로 gradient로 조정하여 분석하였다. 유속은 0.8mL·min⁻¹로 하였으며, benzoyl polyamine은 UV-VIS 검출기(254nm)로 검출하였다. 폴리아민량은 내부 표준물질

(1,6-hexanediamine)과의 면적비로부터 계산하였다.

무기이온 분석

무기이온의 측정은 식물체를 지상부와 지하부로 나누어 80°C에서 48시간 건조한 후 Kim et al.(1999)의 방법에 준하여 분석했다. 건조된 시료 약 0.1g을 50mL 삼각 플라스크에 넣고 1.4N HNO₃를 10mL 넣고 핫플레이트를 이용하여 100°C에서 분해하였다. 약 3시간 후 식물체가 완전히 분해되면, HNO₃가 증발할 때까지 가열하였다. 증류수 50mL를 첨가하여 잘 흔들어 여과한 후 Na⁺, K⁺, Ca²⁺ 및 Mg²⁺을 측정하였다. ICP 플라즈마 발광 분광 분석 장치(ICAP-737V, NipponJarrel-Ash, Japan)를 이용하였으며 건물중 1g당 함량으로 계산하였다.

결과 및 고찰

NaCl 스트레스 하에서 양상추 유묘의 생육 반응을 관찰하기 위하여 2 엽기의 유식물을 6일간, 3가지 다른 NaCl 수준으로 처리한 결과, 처리 후 3일째 대조구보다 50과 100mM NaCl 처리구에서 각각 60%와 24%의 생육 증가를 보였다. 처리 후 6일째에는 대조구에 비해 50mM NaCl 처리에서 30% 증가하였으나 100mM NaCl 처리에서는 15% 생육 저해를 나타내었다. NaCl 처리에 의한 건물중은 대조구에 비해 증가하였으며 지상부보다는 지하부의 무게가 더 증가하였다. 처리 후 3일째 50mM NaCl 처리구의 경우 뿌리 건물중은 2배 이상 증가하였다(Table 1). 생체중과 건물중을 측정할 생육 실험에서는 고농도(100mM NaCl)에 의한 생육 억제를 볼 수 있었다. 즉, 50mM NaCl 처리구에서는 양상추의 생육이 촉진되었으나 그 이상의 NaCl 농도는 생육 억제 효과를 보였다. 이와 비슷한 결과는 *Atriplex nummularia*에서도 보고되었다(De Araújo et al., 2006). 저농도(50mM NaCl) 처리구에서의 생육 증가는 세포질 pH의 변화에 의한 것으로 생각된다. *Nitellopsis obtusa*에 100mM NaCl 처리시 세포내 pH가 산성화되는 것으로 보고되었다(Katsuhara et al., 1989). 또한 염처리시 포플러 세포성장의 증가는 NaCl이 세포벽의 산성화에 따른 세포벽 구성이 늦추어짐으로써 세포성장을 촉진시키는 것으로 보고되었으며(Bolu and Polle, 2004), 본 실험의 양상추에 대한 50mM NaCl의 처리는 세포벽의 pH의 산성화를 촉진/유도함으로써 양상추의 생육을 증가시키는 것으로 사료된다. 반면에 장기간 저농도의 NaCl 처리는 토마토, 고추 그리고 가지 등 주요작물의 생장 및 착과수 감소의 원인으로 보고하였는데(Rhee et al., 2002), 저농도의 단기간의 NaCl에 의한 양상추 생육증가는 세포벽

Table 1. Effects of NaCl stress on the growth of head lettuce grown in hydroponics at 3 and 6 days after treatment.

Treatment date	NaCl (mM)	Fresh weight (g/plant)			Dry weight (g/plant)	
		Total	Shoot	Root	Shoot	Root
3rd day	0	1.23 c ^z	0.96 c	0.27 c	0.04 c	0.03 b
	50	1.96 a	1.47 a	0.49 a	0.08 a	0.07 a
	100	1.52 b	1.10 b	0.42 b	0.07 b	0.07 a
6th day	0	1.91 b	1.65 b	0.26 c	0.07 b	0.03 c
	50	2.47 a	1.90 a	0.57 a	0.09 a	0.07 a
	100	1.61 c	1.13 c	0.48 b	0.06 b	0.05 b

^zMean separation within columns for each treatment date by Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

Table 2. Change in the photosynthetic pigments in the first leaf of head lettuce grown in hydroponics at 3 and 6 days after NaCl treatment.

Treatment date	NaCl (mM)	Chl a	Chl b	Total Chl	Chl a/b
		mg·g ⁻¹ fresh weight			
3rd day	0	6.58 b ^z	1.66 ab	8.24 b	3.96
	50	6.80 b	1.74 a	8.54 b	3.91
	100	7.50 a	1.57 b	9.08 a	4.77
6th day	0	5.99 b	1.51 a	7.50 b	3.97
	50	6.05 b	1.34 b	7.39 b	4.5
	100	6.70 a	1.47 a	8.17 a	4.54

^zMean separation within columns for each treatment date by Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

pH 변화에 따른 일시적 효과로 판단된다.

클로로필 a/b나 클로로필 a, 총클로로필 함량은 NaCl 처리 3일 후에 증가했지만, 클로로필 b는 감소했다(Table 2). 특히, NaCl 처리 후 3일째가 6일째보다 증가율이 높았다(Table 2). 일반적으로, 잎의 클로로필 농도는 NaCl 스트레스에 의해 감소한다. 토양 중의 NaCl은 렌즈콩 지상부의 총 클로로필 함량을 감소시키며(Turan et al., 2007), 기내배양을 한 감자의 잎에서도 NaCl 처리에 의해 클로로필 함량이 감소하였다(Tang et al., 2003). 또한, 수경재배에서 배추는 NaCl 스트레스에 의해 클로로필 a, 클로로필 b, 총클로로필 함량이 감소하였다(Kim et al., 2010). 그렇지만, Wang and Nil(2000)의 보고에 의하면 *Amaranthus*은 NaCl 스트레스 하에서 클로로필 함량이 증가한다고 보고하였는데 이러한 결과는 본 실험 결과와 유사하였다. 이상의 서로 다른 결과는 작물의 염스트레스에 대한 민감성 차이에 의한 결과로 판단된다. 일반적으로 염스트레스 감수성 작물에서는 염에 의한 클로로필 분해 효소의 활성증가, 그리고 이에 따른 색소 단백질 구성의 불안정화, 엽록체의 파괴 등에 의하여 클로로필 함량의 감소가 일어나지만(Jamil et al., 2007; Singh and Dubey, 1995), 내염성 작물인 필 밀렛, 겨자, 사탕수수, 양배추 등은 염에 의한 클로로필 증가를 보여 주었다(Jamil et al., 2007; Singh et al., 1990). 비록 양상추의 염스트레스

에 대한 민감성에 대한 보다 체계적 연구가 앞으로 필요하겠지만 다른 내염성 작물과 유사하게 NaCl 처리후 클로로필 함량의 증가는 양상추가 내염성 작물임을 간접적으로 시사한다.

양상추의 NaCl 처리에 의해 3일째 잎의 산화, 환원형 글루타치온 및 총글루타치온의 함량은 증가하였지만 6일째는 감소하였다(Fig. 1A). 뿌리에서는 반대로 3일째는 감소하였지만 6일째는 증가하였다(Fig. 1B). 100mM의 NaCl 처리 후 6일째 산화형 아스코르빈산은 잎과 뿌리에서 모두 급격히 증가하였으며 총아스코르빈산의 96%(제 1엽), 98%(뿌리)를 차지하였다(Figs. 1C and 1D). 염스트레스는 식물체의 삼투압의 불균형 그리고 독성 이온 생성의 원인이지만 활성산소 증가에 의한 세포막과 광합성 기관의 구조적 손상을 일으키는 산화 스트레스의 원인이기도 하다(Savoure et al., 1999). 따라서 NaCl을 처리한 양상추에서의 아스코르빈산과 글루타치온 함량의 증가는 NaCl에 의해 유도되는 산화 스트레스에 대한 방어기작에 의한 변화로 판단된다.

폴리아민은 유기화합물로서 식물체 성장 및 발달에 관여하며, 특히 고등식물체에서 putrescine(Put), spermidine(Spd) 그리고 spermine(Spm)은 대표적인 폴리아민으로 알려졌다(Simon-Sarkadi et al., 2002). 이들의 식물체 내 농도는 다양한 비생물학적 조건(온도, 습도, 이온 농도 등)에 영향을 받

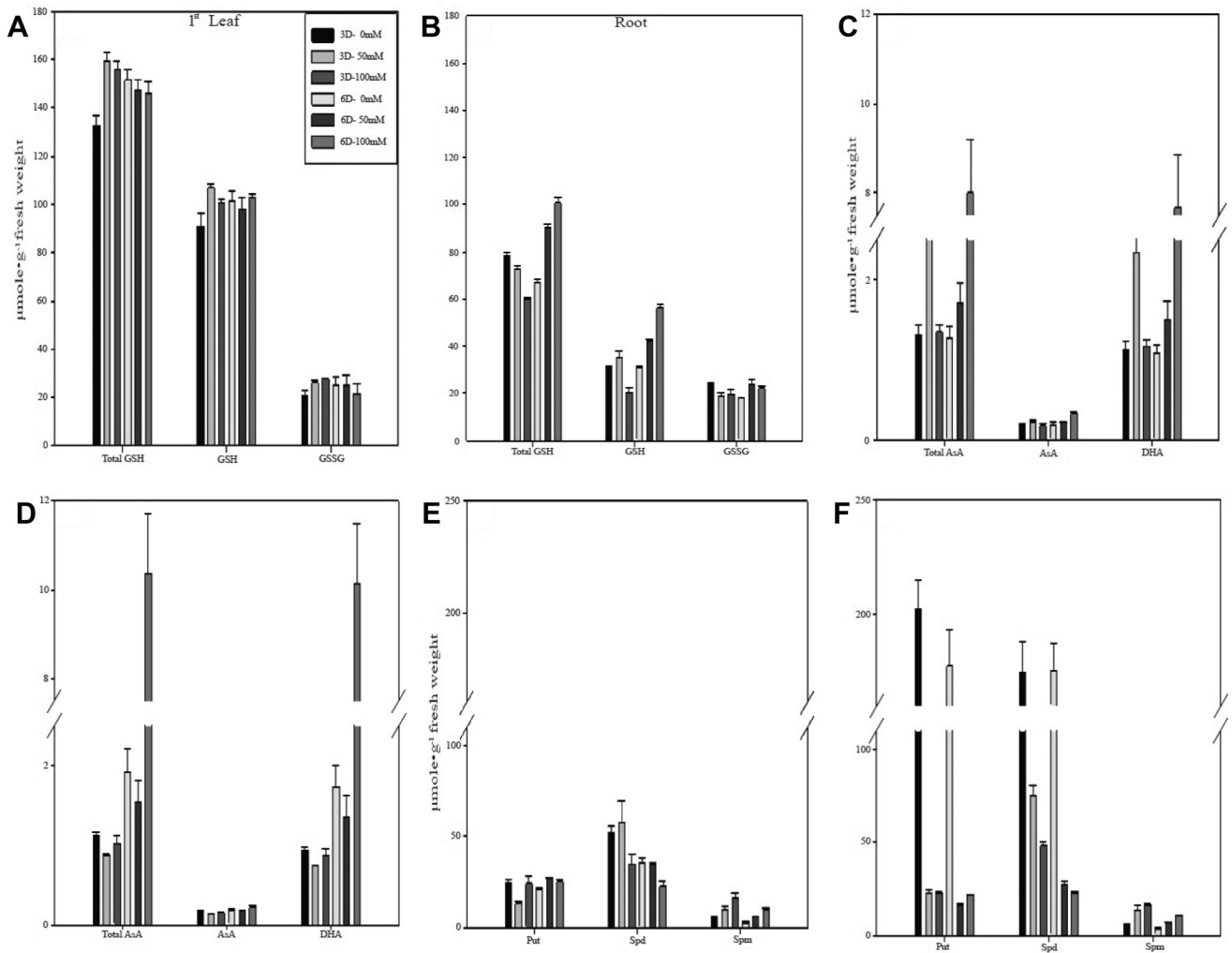


Fig. 1. Antioxidant material contents in the first leaf and root of head lettuce grown with the different NaCl concentrations (0, 50, and 100 mM) in the hydroponic culture solutions at 3 and 6 days after treatment. A, B; total glutathione (GSH + GSSG), reduced glutathione (GSH) and oxidized glutathione (GSSG) content of leaf and root, respectively. C, D; total ascorbate (AsA + DHA), ascorbate (AsA) and dehydroascorbate (DHA) content of leaf and root, respectively. E, F; free putrescine (Put), spermidine (Spd) and spermine (Spm) content of leaf and root, respectively. All values are means \pm SE (n = 3).

는 것으로 연구 보고되어 있다(Simon-Sarkadi et al., 2002). 본 실험에서 폴리아민 함량 변화를 살펴보면(Figs. 1E and 1F) 잎에서는 Spd의 함량이 가장 높았으며 Spm이 가장 적었다. 뿌리에서는 대조구에서 Put이나 Spd 함량이 매우 높았으며 잎 부분과 같이 Spm 함량이 가장 적게 조사되었다. 또한, 잎에서의 Put 함량은 NaCl 처리 기간 그리고 NaCl 처리 농도에 크게 영향을 받지 않았으나, 뿌리에서의 Put 함량은 NaCl에 의하여 급격한 감소를 했다. 처리 3일 후, 잎에서 Spd 함량은 대조구에 비해 50mM NaCl 처리에서 증가하였으나 100mM NaCl 처리에서는 감소를 했다. 그에 반하여 Spm 함량은 NaCl 처리농도에 따라 증가함을 보여주었다. 뿌리에서도 잎과 같이 Spm 함량은 NaCl 처리농도 처리 농도에 따라 증가하였으나, Spd 함량은 NaCl에 의하여 급격한 감소를 했다. NaCl 스트레스에 의한 Spm 축적은 벼(Krishnamurthy

and Bhagwat, 1989)와 토마토(Santa-Cruz et al., 1997)에서도 보고된 바 있다. Sanchez et al.(2005)은 *Lotus glaber*의 유리 폴리아민 함량 실험에서 NaCl은 유리 Spd의 감소나 유리 Spm의 증가를 유도한다고 보고하였다. 또, 다른 식물 종에서도 NaCl에 의한 Spm 축적이 보고되었다(Maiale et al., 2004; Yamamoto et al., 2004; Zapata et al., 2003). Spm 결핍 돌연변이 식물체는 Ca^{2+} 항상성의 불균형을 보였으며, NaCl 스트레스에 과민감 표현형을 보여주었다(Yamaguchi et al., 2006). 또한, Spm은 다른 폴리아민에 비하여 fast-activating vacuolar cation channel 활성의 억제 효과가 높은 것으로 보고되었다(Bruggermann et al., 1998). 식물체내 폴리아민 대사과정은 spermidine synthase의 활성에 의하여 Put에서 Spd로의 변환, 그리고 spermine synthase에 의하여 Spd에서 Spm으로 진행된다(Efrose et al., 2008). 따라서 NaCl 스트

Table 3. Change in the ion level of sodium, potassium, calcium and magnesium in shoot and root of head lettuce grown in hydroponics at 3 and 6 days after NaCl treatment.

Parts	Treatment date	NaCl (mM)	Na	K	Ca	Mg	K/Na	Ca/Na	Mg/Na
			mg·g ⁻¹ dry weight						
Shoot	3rd day	0	3.8 c ^z	6.2 a	11.7 a	5.8 a	1.63	3.08	1.53
		50	29.1 b	3.9 b	5.6 b	3.6 b	0.13	0.19	0.12
		100	47.5 a	3.5 c	5.0 b	3.3 c	0.07	0.11	0.07
	6th day	0	3.5 c	5.4 a	11.6 a	5.3 a	1.54	3.31	1.51
		50	41.5 b	3.4 b	4.4 b	3.2 b	0.08	0.11	0.08
		100	57.2 a	2.4 c	3.3 c	2.2 c	0.04	0.06	0.04
Root	3rd day	0	8.5 c	3.7 a	12.6 a	2.1 a	0.44	1.48	0.25
		50	31.4 a	2.6 b	6.1 b	1.5 b	0.08	0.19	0.05
		100	22.4 b	1.3 c	2.9 c	1.0 c	0.06	0.13	0.04
	6th day	0	6.5 c	1.6 a	4.7 a	0.9 a	0.25	0.72	0.14
		50	18.2 b	1.7 a	4.3 b	1.0 a	0.09	0.24	0.05
		100	24.7 a	1.7 a	3.5 c	1.0 a	0.07	0.14	0.04

^zMean separation within columns for each treatment date by Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

레스 조건에서 양상추의 Spm 함량의 증가는 Ca²⁺ 유입 채널 활성의 조절과 액포로부터 세포질로의 Na⁺ 유출을 억제함으로써 NaCl 스트레스에 대한 저항성 향상을 위한 대사 반응으로 생각한다. 또한 Put와 Spd 함량의 변화는 Spm의 증가를 유도하기 위한 일련의 대사과정의 변화에 의한 것으로 판단된다.

NaCl 처리가 식물내의 Na⁺, K⁺, Ca²⁺ 및 Mg²⁺ 함량에 미치는 영향을 조사하였다. NaCl 처리에 의해 Na⁺ 함량은 지상부와 지하부에서 증가하였지만 K⁺, Ca²⁺ 및 Mg²⁺의 함량은 감소하였다(Table 3). 3일째 100mM NaCl 처리 시 K⁺, Ca²⁺ 및 Mg²⁺의 농도는 대조구보다 55-71% 정도 감소하였다. 뿌리에서는 50mM NaCl 처리시 52-77% 감소하였다(Table 3). 양상추의 잎에서는 K⁺/Na⁺ 비와 Ca²⁺/Na⁺ 비는 각각 1.63에서 0.07까지, 3.08에서 0.11까지 감소하였다. Mg²⁺/Na⁺비는 1.53에서 0.07까지 감소하였다. 배양액에 NaCl을 증가시키는 것에 의해서 발생한 NaCl 스트레스는, K⁺와 Ca²⁺농도의 감소를 가져와 식물 생장에 부적절한 K⁺/Na⁺와 Ca²⁺/Na⁺비를 가져오는 Na⁺농도를 증가시켰다(Lacerda et al., 2001, 2003). 또, Na⁺독성의 지표 인자로 보는 Mg²⁺/Na⁺비도 감소시켰다(Jeschke et al., 1987). 아보카도에 대한 NaCl 스트레스 실험에서도 배양액의 NaCl 농도 증가에 따라 Na와 Cl의 함량은 증가하였지만, N, P, K, Ca와 Mg의 함량은 감소하였다(Musyimi et al., 2007). Ashraf and Orooj(2006)의 보고에 의하면 NaCl 스트레스 환경에 노출된 *Trachyspermum ammi*는 배양액 속의 NaCl 농도 증가와 함께 K⁺와 Ca²⁺의 농도가 감소하며, K⁺/Na⁺와 Ca²⁺/Na⁺비 역시 감소한다고 보고하였다. 양상추를 비롯한 다양한 작물의 이온농도 변화는

Na⁺ 이온과의 길항 작용에 의한 Ca²⁺ 및 Mg²⁺ 이온의 흡수 억제가 일어난 것으로 생각한다. 또한, 내염성 작물에서 높은 K⁺/Na⁺ 선택성을 보여주는 것으로 보고되어 있다(Heo et al., 2007). 따라서 K⁺/Na⁺ 선택성 향상은 내염성 양상추 품종 육성에 중요한 선발인자가 될 것으로 판단된다.

양상추의 NaCl 스트레스에 의한 생리학 및 생화학적 반응을 이해하기 위하여 실시한 실험에서 50mM NaCl 처리는 생장을 촉진하였으며, 그 이상의 NaCl 농도(100mM NaCl)는 생장을 억제하였다. 건물중도 50mM NaCl 처리시 2배 증가하였다. 양상추의 잎에서는 NaCl 처리 3일째 산화형 및 환원형 글루타치온이나 총글루타치온이 증가하는 것이 확인되었다. 또한 염스트레스 감수성 작물과 달리 양상추에서는 NaCl 처리후 Spm, 클로로필 함량 등이 증가하는 것으로 조사되었다. 이러한 결과들을 통하여 양상추의 염 스트레스에 대한 생리적/생화학적 변화 현상을 이해할 수 있었다. 이상의 결과는 앞으로 염스트레스에 의한 작물의 생리적 변화 연구 및 내염성 품종 선발에 중요한 자료가 될 것이다.

초 록

본 실험은 수경재배 방식으로 본엽 2매까지 키운 양상추를 이용하여 NaCl 스트레스(0, 50 및 100mM NaCl)에 의한 생체중과 건물중, 항산화 물질 및 무기이온 함량의 변화를 조사하였다. 양상추 유묘의 생체중 및 건물중은 NaCl의 농도 증가에 따라 증가하였으며, 50mM NaCl 처리시 가장 높았다. Chl a, total Chl 함량과 Chl a/b는 100mM NaCl 처리 후 6일째 증가하였으나, Chl b 함량은 감소하였다. 100mM

NaCl 처리 후, 총글루타치온 함량은 양상추 유묘의 뿌리에서 증가하였으나, 총아스코르빈산은 뿌리와 줄기에서 모두 증가하였다. 또한, NaCl 스트레스에 의한 spermidine 감소 현상과 spermine 증가현상을 나타내었다. 게다가, 뿌리 및 줄기에서 Na^+ 함량이 증가함에 따라 K^+ , Ca^{2+} 및 Mg^{2+} 함량은 감소하였으며 K^+/Na^+ , $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ 및 $\text{Mg}^{2+}/\text{Na}^+$ ratio 역시 감소하였다. 종합해보면, 이들 결과는 양상추 유묘에서 NaCl 처리에 의해 산화 스트레스가 유도되고, 그 결과 산화 스트레스에 대응하기 위한 대사과정의 변화로 판단된다.

추가 주요어 : 아스코르브산염, 글루타치온, 생장촉진, 수경 재배, 폴리아민

인용문헌

- Allakhverdiev, S.I., A. Sakamoto, Y. Nishiyama, M. Inada, and N. Murata. 2000. Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of photosystems I and II in *Synechococcus* sp. *Plant Physiol.* 123:1047-1056.
- Ashraf, M. and A. Orooj. 2006. Salt stress effects on growth, ion accumulation and seed oil concentration in an arid zone traditional medicinal plant ajwain (*Trachyspermum ammi* L. Sprague). *J. Arid. Environ.* 64:209-220.
- Bolu, W.H. and A. Polle. 2004. Growth and stress reactions in roots and shoots of a salt-sensitive poplar species (*Populus* × *canescens*). *Trop. Ecol.* 45:161-171.
- Bowler, C., M. van Montagu, and D. Inzé. 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 43:83-116.
- Bruggemann, L.I., I.I. Pottosin, and G. Schonknecht. 1998. Cytoplasmic polyamines block the fast activating vacuolar cation channel. *Plant J.* 16:101-105.
- Cha, H.S., A.R. Youn, S.H. Kim, K.H. Kwon, and B.S. Kim. 2007. Evaluation of quality and analysis of hazard management at different seasons of lettuce. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 36:932-937.
- Chappelle, E.W., M.S. Kim, and J.E. McMurtrey. 1992. Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): An algorithm for remote estimation of the concentration of chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids in soybean leaves. *Remote Sens. Environ.* 39:239-247.
- Cheong, M.S. and D.J. Yun. 2007. Salt-stress signaling. *J. Plant Biol.* 50:148-155.
- Choi, Y.J., D.C. Won, and H.D. Chung. 2003. Effects of soil EC on emergence rate, seedling growth, and physiological disorders of leafy and root vegetable crops, and diminishing effect of soil EC level by washing with water or manure adding. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 44:575-581.
- De Araújo, S.A.M., J.A.G. Silveira, T.D. Almeida, I.M.A. Rocha, D.L. Morais, and R.A. Viégas. 2006. Salinity tolerance of halophyte *Atriplex nummularia* L. grown under increasing NaCl levels. *R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental* 10:848-854.
- Efrose, R.C., E. Fletmetakis, L. Sfichi, C. Stedel, E.D. Kouri, M.K. Udvardi, K. Kotzabasis, and P. Katinakis. 2008. Characterization of spermidine and spermine synthases in *Lotus japonicas*: Induction and spatial organization of polyamine biosynthesis in nitrogen fixing nodules. *Planta* 228:37-49.
- Foyer, C.H., P. Descourvieres, and K.J. Kunert. 1994. Protection against oxygen radicals: important defense mechanism studied in transgenic plants. *Plant Cell Environ.* 17:507-523.
- Gronwald, J.W., E.P. Fuerst, C.V. Eberlein, and M.A. Egli. 1987. Effect of herbicide antidotes on glutathione concentration and glutathione S-transferase activity of sorghum shoots. *Pestic. Biochem. Physiol.* 29:66-76.
- Heo, E.J., H.H. Jung, and K.S. Kim. 2007. Response of *Dianthus japonicus* Thunb. to NaCl stress imposed at different growth stages. *Hort. Environ. Biotechnol.* 48:381-386.
- Jamil, M., S. Rehman, and E.S. Rha. 2007. Salinity effect on plant growth, PSII photochemistry and chlorophyll content in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and cabbage (*Brassica oleracea capitata* L.). *Pak. J. Bot.* 39:753-760.
- Jamil, M., S. Rehman, K.J. Lee, J.M. Kim, H.S. Kim, and E.S. Rha. 2007. Salinity reduced growth PS2 photochemistry and chlorophyll content in radish. *Sci. Agric.* 64:111-118.
- Jeschke, W.D., J.S. Pate, and C.A. Atkins. 1987. Partitioning of K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , and Ca^{2+} through xylem and phloem component organs and nodulated white lupin under mild salinity. *J. Plant Physiol.* 128:77-93.
- Kasugai, S. 1939. Studies on the hydroponic cultures. *J. Sci. Soil Manure* 13:669-822.
- Katsuhara, M., K. Kuchitsu, K. Takeshige, and M. Tazawa. 1989. Salt stress-induced cytoplasmic acidification and vacuolar alkalinization in *Nitellopsis obtuse* cells. *Plant Physiol.* 90:1102-1107.
- Kim, B.S., D.C. Shin, S.E. Lee, G.B. Nahm, and J.W. Jeong. 1995. Freshness prolongat of crisphead lettuce by vacuum cooling and cold-chain system. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 27:546-554.
- Kim, J.S., I.S. Shim, and M.J. Kim. 2010. Physiological response of Chinese cabbage to salt stress. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 28:343-352.
- Kim, Y.H., I.S. Shim, K. Kobayashi, and K. Usui. 1999. Relationship between Na content or K/Na ratio in shoots and salt tolerance in several gramineous plants. *J. Weed Sci. Tech.* 44:293-299.
- Krishnamurthy, R. and K.A. Bhagwat. 1989. Polyamines as modulators of salt tolerance in rice cultivars. *Plant Physiol.* 91:500-504.
- Lacerda, C.F., J. Cambraia, M.A. Cano, and H.A. Ruiz. 2001. Plant growth and solute accumulation and distribution in two sorghum genotypes, under NaCl stress. *Rev. Bras. Fisiol. Veg.* 13:270-284.
- Lacerda, C.F., J. Cambraia, M.A. Cano, H.A. Ruiz, and J.T. Prisco. 2003. Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress. *Environ. Exp. Bot.* 49:107-120.
- Lee, H.J. and S.E. Oh. 1994. Interrelationship between environmental stresses, reactive oxygen species and stress-ethylene. *Kor. J. Ecol.* 17:91-100.
- Maiale, S., D.H. Sanchez, A. Guirado, A. Vidal, and O.A. Ruiz.

2004. Spermine accumulation under salt stress. *J. Plant Physiol.* 161:35-42.
- Musyimi, D.M., G.W. Netondo, and G. Ouma. 2007. Effects of salinity on gas exchange and nutrients uptake in avocados. *J. Biol. Sci.* 7:496-505.
- Parida, A.K. and A.B. Das. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60:324-349.
- Peter, R., V. Wim, D. Frank, and D. Johan. 2004. Consumer perception and choice of minimally processed vegetable and packaged fruit. *Food Qual. Prefer.* 15:259-270.
- Rhee, H.C., K.H. Kang, K.B. Kweon, Y.H. Choi, and H.T. Kim. 2002. Effect of NaCl stress on the growth, photosynthetic rate and mineral uptake of tomato, red pepper, and egg plant in pot culture. *J. Bio-Environment Control* 11:133-138.
- Sanchez, D.H., J.C. Cuevas, M.A. Chiesa, and O.A. Ruiz. 2005. Free spermidine and spermine content in *Lotus glaber* under long-term salt stress. *Plant Sci.* 168:541-546.
- Santa-Cruz, A., M. Acosta, F. Pérez-Alfocea, and M.C. Bolarin. 1997. Changes in free polyamine levels induced by salt stress in leaves of cultivated and wild tomato species. *Physiol. Plant* 101:341-346.
- Savoure, A., D. Thorin, M. Davey, X.J. Hua, S. Mauro, M. Van Montagu, D. Inze, and N. Verbruggen. 1999. NaCl and CuZnSO₄ treatments trigger distinct oxidative defense mechanism in *Nicotiana plumbaginifolia* L. *Plant Cell Environ.* 22:387-396.
- Simon-Sarkadi, L., G. Kocsy, and Z. Sebestyen. 2002. Effect of salt stress on free amino acid and polyamine content in cereals. *Acta Biol. Szeg.* 46:73-75.
- Singh, A. and R. Prasad. 2009. Salt stress effects growth and cell wall bound enzymes in *Arachis hypogaea* L. seedlings. *Int. J. Integr. Biol.* 7:117-123.
- Singh, A.K. and R.S. Dubey. 1995. Changes in chlorophyll a and b contents and activities of photosystems 1 and 2 in rice seedlings induced by NaCl. *Photosynthetica* 31:489-499.
- Singh, M.P., S.K. Pandey, M. Singh, P.C. Ram and B.B. Singh. 1990. Photosynthesis, transpiration, stomatal conductance and leaf chlorophyll content in mustard genotypes grown under sodic conditions. *Photosynthetica* 24:623-627.
- Tang, L., S.Y. Kwon, S.S. Kwak, C.K. Sung, and H.S. Lee. 2003. Susceptibility of two potato cultivars to various environmental stresses. *Kor. J. Plant Biotechnol.* 30:405-410.
- Turan, M.A., N. Turkmen, and N. Taban. 2007. Effect of NaCl on stomatal resistance and proline, chlorophyll, Na, Cl and K concentrations of Lentil plants. *J. Agron.* 6:378-381.
- Wang, S.Y., H.J. Jiao, and M. Faust. 1991. Changes in ascorbate, glutathione, and related enzyme activities during thidiazuron-induced bud break of apple. *Physiol. Plant.* 82:231-236.
- Wang, Y. and N. Nil. 2000. Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* 75:623-627.
- Yamamoto, A., I.S. Shim, S. Fujihara, T. Yoneyama, and K. Usui. 2004. Effect of difference in nitrogen media on salt-stress response and contents of nitrogen compounds in rice seedlings. *Soil Sci. Plant Nutr.* 50:85-93.
- Yamaguchi, K., Y. Takahashi, T. Berberich, A. Imai, A. Miyazaki, T. Takahashi, A. Michael, and T. Kusano. 2006. The polyamine spermine protects against high salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.* 580:6783-6788.
- Youn, A.R., K.H. Kwon, B.S. Kim, S.H. Kim, B.S. Noh, and H.S. Cha. 2009. Effect of agrichemical during cultivation on quality and shelf-life of fresh-cut lettuce. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 38:217-224.
- Zapata, P.J., M. Serrano, M.T. Pretel, A. Amoros, and M.A. Botella. 2003. Changes in ethylene evolution and polyamines profile of seedlings of nine cultivars of *Lactuca sativa* L. in response to salt stress during germination. *Plant Sci.* 164:557-563.