Kor. J. Hort. Sci. Technol. 30(6):664-672, 2012 DOI http://dx.doi.org/10.7235/hort.2012.12063

단색 발광다이오드에서 자란 축면상추 두 품종의 엽형, 생장 및 기능성 물질

손기호 · 박준형 · 김대일 · 오명민*

충북대학교 원예과학과

Leaf Shape Index, Growth, and Phytochemicals in Two Leaf Lettuce Cultivars Grown under Monochromatic Light-emitting Diodes

Ki-Ho Son, Jun-Hyung Park, Daeil Kim, and Myung-Min Oh*

Department of Horticultural Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Abstract. As an artificial light source, light-emitting diode (LED) with a short wavelength range can be used in closed-type plant production systems. Among various wavelength ranges in visible light, individual light spectra induce distinguishing influences on plant growth and development. In this study, we determined the effects of monochromatic LEDs on leaf shape index, growth and the accumulation of phytochemicals in a red leaf lettuce (*Lactuca sativa* L. 'Sunmang') and a green leaf lettuce (*Lactuca sativa* L. 'Grand rapid TBR'). Lettuce seedlings grown under normal growing conditions (20℃, fluorescent lamp + high pressure sodium lamp, 130 ± 5 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 12 hours photoperiod) for 18 days were transferred into incubators at 20℃ equipped with various monochromatic LEDs (blue LED, 456 nm; green LED, 518 nm; red LED, 654 nm; white LED, 456 nm + 558 nm) under the same light intensity and photoperiod (130 ± 7 μmol·m^{-2}·s^{-1}, 12 hours photoperiod). Leaf length, leaf width, leaf area, fresh and dry weights of shoots and roots, shoot/root ratio, SPAD value, total phenolic concentration, antioxidant capacity, and the expression of a key gene involved in the biosynthesis of phenolic compounds, phenylalanine ammonia-lyase (PAL), were measured at 9 and 23 days after transplanting. The leaf shape indexes of both lettuce cultivars subjected to blue or white LEDs were similar with those of control during whole growth stage. However, red and green LEDs induced significantly higher leaf shape index than the other treatments. The green LED had a negative impact on the lettuce growth. Most of growth characteristics such as fresh and dry weights of shoots and leaf area were the highest in both cultivars subjected to red LED treatment. In case of red leaf lettuce plants, shoot fresh weight under red LED was 3.8 times higher than that under green LED at 23 days after transplanting. In contrast, the accumulation of chlorophyll, phenolics including antioxidants in lettuce plants showed an opposite trend compared with growth. SPAD value, total phenolic concentration, and antioxidant capacity of lettuce grown under blue LED were significantly higher than those under other LED treatments. In addition, PAL gene was remarkably activated by blue LED at 9 days after transplanting. Thus, this study suggested that the light quality using LEDs is a crucial factor for morphology, growth, and phytochemicals of two lettuce cultivars.

***Additional key words*:** antioxidants, *Lactuca sativa* L., light quality, phenolic compounds

서 언

광은 다양한 환경 요인 중에서 식물의 생육에 관여하는 주된 요소 중에 하나로써, 광합성을 위한 주요 에너지원일 뿐만 아니라, 신호 자극원으로써 식물의 발달에 중요한 역할을 담당한다(Wang et al., 2009). 광은 광도, 광주기, 광질 등과 같은 몇 가지 형태로 식물에 영향을 준다. 이 중 광질은 파장이 다른 여러 종류의 광선의 분포 비율로써 결정되는데, 가시광선을 중심으로 자외선과 근적외선 영역까지의 파장대가 식물에게 민감하게 작용한다. 가시광선 파장대에 속한 청색파장과 적색파장은 엽록소에 의해 효과적으로 흡수되어 광합성에 유용하게 이용된다(Carvalho et al., 2011). 또한 특정 파장대를 흡수하는 피토크롬(적색 및 근적외선 파장 흡수), 크립토크롬 및 포토트로핀(청색 및 근자외선

***Corresponding author:** moh@chungbuk.ac.kr

※ Received 22 March 2012; Revised 25 April 2012; Accepted 7 May 2012. 이 논문은 2011년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

[UV-A] 파장 흡수)과 같이 식물체에 존재하는 광 수용체가 각파장의 자극을 인식하고 이를 복잡한 여러 광 신호 변환 경로(light signal transduction pathways)를 통해서 식물의 생육에 영향을 주게 되는데, 이런 현상을 광형태형성(photomor-phogenesis)이라고 한다(Carvalho et al., 2011; Sulivan and Deng, 2003).

식물재배에 사용되는 인공광원 중에 발광다이오드(light-emitting diode; LED)는 여러 가지 장점을 갖고 있어 최근에 시설작물의 보광 및 전조재배용으로 사용될 뿐만 아니라, 밀폐형 식물생산시스템의 인공광원으로 각광을 받고 있다. LED는 경제적인 측면에서 반영구적인 수명으로 오래 사용할 수 있고, 높은 에너지 전환율로 열 발생이 적어지면서 좀 더 효과적인 광원으로 사용 가능하다. 기능적인 측면에서는 소형으로 공간 활용이 용이하며, 특정 파장을 갖고 있는 LED의 조합으로 광질을 인위적으로 조절할 수 있다는 점이 다른 인공광원과 구분되는 특성이다(Yeh and Chung, 2009). 특히 LED를 이용한 광질의 인위적인 조절은 특정파장에 대한 식물의 반응에 관한 연구를 좀 더 용이하게 하였고, 현재 이에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 이전 연구들에서 적색광은 상추를 포함한 여러 작물들에서 생장에 효과적이었으며(Johkan et al., 2010; Nishimura et al., 2007, 2009; Nishioka et al., 2008), 콩 묘에서는 엽면적, 베타 카로틴 및 항산화도를 증가시켰다(Wu et al., 2007). 청색광은 상추의 지하부 및 잎 두께 촉진(Johkan et al., 2010)과 오이 잎의 루비스코 활성, 자당 및 전분의 함량을 증진시켰고(Wang et al., 2009), 질소 및 엽록소 함량과 기공 전도도를 증가(Hogewoning et al., 2010; Savvides et al., 2012)시키는 등 주로 잎의 기능 발달에 작용하는 것으로 알려져 있다. 녹색광은 기존의 연구에서 식물생육에 큰 효과를 보이지 않았으며, 오히려 식물의 생육억제(Klein et al., 1965), 기공 폐쇄(Eisinger et al., 2003; Talbott et al., 2002) 등 식물에 있어 부정적인 효과도 보고되었다. 하지만 최근 연구에서는 고광도와 단파장의 녹색광, 적색과 청색의 혼합광에서 녹색광의 추가는 상추의 생체량 증가의 효과를 보였으며(Johkan et al., 2012; Kim et al., 2004), 녹색광의 다양한 기능에 대해서도 보고되고 있다(Folta and Maruhnich, 2007). 이처럼 각각의 파장은 다양한 측면에서의 식물 반응을 유발시킬 수 있으며, 따라서 적절한 광질의 조절로 작물의 생산량과 품질은 향상될 수 있는 가능성이 제시되고 있다. 하지만 광질에 대한 식물 반응 연구는 주로 생육 중심으로 수행되어 왔으며, LED의 식물재배 산업의 적용에는 아직 더 많은 정보가 필요한 실정이다. 따라서, 이번 연구는 단색 광질에 대한 두 가지 상추 품종의 엽형, 생육 및 기능성 물질 축적에 대한 반응을 분석하여, LED를 이용한 식물 재배의 기초적인 자료를 얻고자 실시되었다.

재료 및 방법

식물재료 및 재배환경

적축면 상추 종자(*Lactuca sativa* L. '선망적축면', (주)농우바이오)와 청축면 상추 종자(*Lactuca sativa* L. '그랜드래피드 TBR', (주) 아시아종묘)는 105공 트레이(32mL/cell)에 원예용 상토((주)동부한농)를 넣고 셀당 2-3개 파종하여 정상적인 환경 조건(20℃, 형광등 + 고압나트륨등, 광합성 유효 광량자속 130 ± 5μmol·m^{-2}·s^{-1}, 광주기 12시간)의 식물생장상(DS-51GLP, (주)다솔과학)에서 파종일 기준으로 18일간 재배하였다. 수분공급은 105공 트레이를 별도로 제작한 용기(45 × 45 × 7cm, L × W × H)에 놓고, 증류수를 2-3일 간격으로 2L씩 저면관수하였으며, 파종 후 12일째부터는 1주일 간격으로 상추 전용 일본원시 배양액(pH 5.5, EC 1.16dS·m^{-1}, N:P:K = 17.3:4.0:8.0)을 2L씩 공급해 주었다. 파종 후 18일째의 상추 묘는 함수율이 약 20%인 원예용 상토가 담긴 정사각 화분(10.6 × 10.6 × 11.5cm, L × W × H)에 1개체씩 정식하여, 용기당 16주의 상추를 배치하였다. 이 상추는 각각의 LED 광원이 설치된 인큐베이터(DS-96S, (주)다솔과학)에서 23일간 재배되었으며, 대조구는 같은 기간 동안 식물생장상(DS-51GLP, (주)다솔과학)에서 재배되었다. 모든 처리구의 재배 환경은 온도 20℃, 습도 60 ± 10%, 이산화탄소 농도 380 ± 20ppm, 광합성 유효 광량자속은 식물체가 위치한 지점에서 130 ± 7μmol·m^{-2}·s^{-1}, 12시간의 광주기로 동일하게 유지시켰다. 각 광원과 화분 사이의 거리는 25cm, 재식밀도는 10 × 10cm로 식물위치에 따른 광분포의 불균일함을 줄이기 위하여 매일 18시에 화분의 위치를 규칙적으로 변경시켰다.

광 스펙트럼

대조구는 형광등과 고압나트륨등의 조합을 사용하였다. 적색(654nm), 청색(456nm), 녹색(518nm), 백색(456nm 69% + 558nm 31%) LED((주)이츠웰, Korea)는 판형(48 × 48cm, L × W)으로 각 광원별로 제작되었다. 광 스펙트럼 분포는 휴대형 분광 복사계(Li-1800, Li-Cor, USA)로 300-1000nm 범위를 2nm 간격으로 측정하여 광 스펙트럼의 상대 강도로 표현하였다(Fig. 1).

상추의 생육 및 엽형

상추의 생육을 비교하기 위하여 정식 후 0일, 9일, 23일째

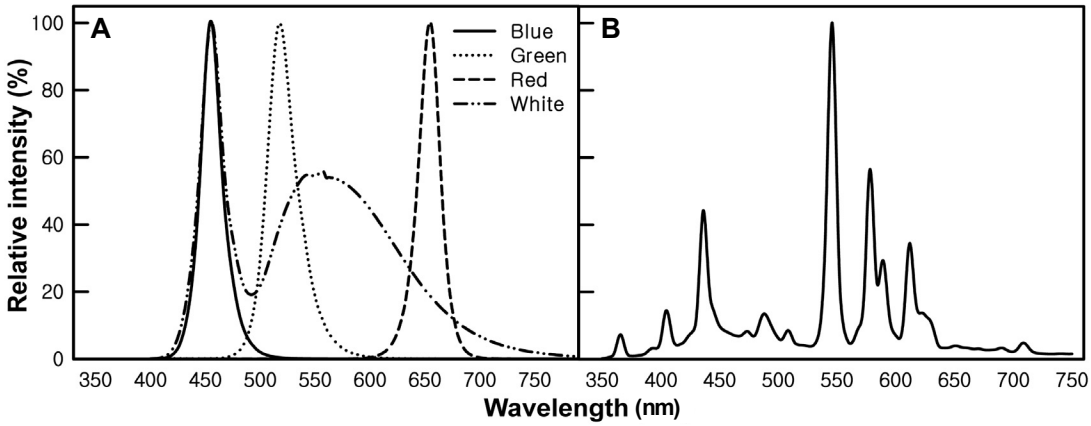

Fig. 1. Relative spectral distribution of the LEDs (A) and FL + HPS (fluorescent lamp + high pressure sodium lamp) (B) used in this study. The peak wavelengths of blue, green, red, and white LEDs were 456 nm, 518 nm, 654 nm, and 456 nm with 558 nm, respectively. Photosynthetic photon flux was about 130 μmol·m^{-2}·s^{-1} in each treatment. Spectral scans were recorded at the top of the pots and averaged at 5 points of each treatment.

에 각 처리구별로 전자저울(Si-234, Denver Instrument, USA)로 지상부와 지하부의 생체중을 측정하였고, 건물중은 시료를 70℃ 항온 건조기(FS-420, Advantec, Japan)에서 72시간 말린 후 측정하였다. 엽면적은 휴대용 엽면적계(Li-3000A, Li-Cor, USA)를 이용하여 측정하였으며, 엽의 두께를 나타내는 비엽중(specific leaf weight; SLW)은 엽면적당 건물중(mg)으로 표현하였다. 지상부/지하부 비율(shoot/root ratio; S/R율)은 지상부와 지하부의 생체중의 값으로 계산하였다. 상추의 엽록소 함량은 정식 후 0일, 9일, 23일째에 각 처리구별로 휴대용 엽록소 측정기(SPAD-502, Minolta, Japan)로 측정하였다. 엽형태는 하단엽에서부터 3번째 상추 잎의 엽장과 엽폭을 측정한 후 엽형 지수(엽장/엽폭)로 표현하였다.

총 페놀 농도

총 페놀 농도 분석을 위하여 정식 후 9일, 23일째에 각 처리구별 하단엽에서부터 3번째 잎을 사용하였으며, 채취한 잎(약 0.2g)은 액체질소로 동결시킨 후 분석 전까지 -70℃의 초저온 냉동고(DF8524, (주)일신, Korea)에 보관하였다. 상추의 총 페놀 함량은 Folin-Ciocalteau 방법으로 결정하였다(Ainsworth and Gillespie, 2007). 분석을 위하여 보관한 상추 샘플을 막자사발에 넣어 액체질소와 함께 막자로 분쇄한 후, 3mL의 80%(v/v) 아세톤으로 페놀 물질을 추출하였다. 추출한 샘플은 마이크로 튜브에 1.0mL씩 넣고, 암상태의 4℃에서 12시간 동안 보관하였다. 그 후 샘플을 2분간 1000rpm에서 원심분리시킨 후 상층액을 총 페놀 농도 측정에 이용하였다. 135μL의 증류수, 750μL의 10배 희석시킨 Folin-Ciocalteau 시약(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)과 600μL의 7.5%(w/v) Na_2CO_3의 혼합물에 페놀 추출물 50μL를 넣어 10초간 혼합물과 잘 섞은 후 45℃의 항온 수조(MSB-2011D, (주)모노텍, Korea)에 15분간 반응시켰으며, 흡광도 측정 전에 혼합물을 충분히 식혔다. 흡광도는 분광광도계(UV-1800, Shimadzu, Japan)로 765nm에서 측정하였으며, 영점조정은 추출물 대신 80%(v/v) 아세톤으로 반응시킨 추출물로 실시하였다. 상추의 총 페놀 농도는 단위 생체중(g)당 gallic acid(mg)(Acros Organics, Belgium)로 표현하였다.

항산화도

상추의 항산화도는 ABTS(aminobenzotriazole; 2,2'-azino-bis [3-ethyl benzothiazoline 6-sulfonic acid] diammonium salt)를 이용한 방법(Awika et al., 2003; Miller and Rice-Evans, 1996; Pennycooke et al., 2005)으로 측정하였다. 상추 샘플을 3mL의 80%(v/v) 아세톤으로 추출하여, 암상태의 -20℃에서 12시간 동안 보관하였다. 그 후 샘플을 2분간 1,000rpm에서 원심분리시킨 후 상층액을 항산화도 분석에 사용하였다. 2.5mM의 ABTS(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 용액을 ABTS 활성 양이온 용액(ABTS*)으로 만들기 위하여 0.4g의 MnO_2(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 넣고 30분간 혼합하였다. 0.22μm의 실린지필터(NS25-N02, (주)노블바이오, Korea)와 함께 걸러준 ABTS*용액을 30℃의 항온 수조(MSB-2011D, (주)모노텍, Korea)에 놓고, 5mM의 PBS(phosphate buffer saline, pH 7.4, ionic strength [150mM NaCl])용액과 희석하여 730nm에서 흡광도를 0.7(± 0.02)로 맞춰주었다. 100μL의 추출물을 ABTS*용액에 반응시킨 후, 2초간 vortex mixer(BV1000, Benchmark Scientific, Inc., USA)로 섞은 후 1분 후의 흡광도를 730nm에서 측정하였다. 상추의 항산화도는 단위 생체중(g)당 mM trolox(6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxyl acid [Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA])로 표현하였다.

Table 1. Growth characteristics of lettuce plants grown under various LEDs and FL + HPS at 23 days after transplanting.

Cultivar	Light source	Fresh weight (g/plant)		Dry weight (g/plant)		Leaf area (cm^2)	Specific leaf weight ($mg \cdot cm^{-2}$)	Shoot/Root ratio
		Shoot	Root	Shoot	Root			
'Sunmang' (red leaf)	Blue LED	10.76 b[y]	1.17 a	0.57 b	0.06 a	330.17 b	1.73 a	9.20 c
	Green LED	5.92 c	0.35 b	0.25 c	0.02 b	288.45 b	0.86 c	16.73 b
	Red LED	22.35 a	1.12 a	0.96 a	0.06 a	847.64 a	1.13 b	21.20 a
	White LED	7.90 bc	0.84 a	0.41 bc	0.04 a	251.42 b	1.62 a	9.55 c
	FL + HPS[z]	8.59 bc	0.83 a	0.44 bc	0.04 a	246.36 b	1.78 a	10.25 c
	Significance	***	**	***	**	***	***	***
'Grand rapid TBR' (green leaf)	Blue LED	11.53 a	1.29 a	0.60 a	0.06 a	274.99 a	2.17 a	8.98 c
	Green LED	4.80 b	0.28 c	0.20 c	0.01 c	181.68 b	1.11 c	16.99 b
	Red LED	11.52 a	0.45 c	0.44 b	0.02 c	302.66 a	1.47 bc	26.12 a
	White LED	8.75 a	1.01 b	0.42 b	0.04 b	197.22 b	2.23 a	8.64 c
	FL + HPS	10.22 a	1.03 b	0.48 ab	0.04 b	257.59 ab	1.88 ab	10.18 c
	Significance	***	***	***	***	*	***	***

[z]Fluorescent lamp (FL) + high pressure sodium lamp (HPS).
[y]Mean separation within columns by Duncan's multiple range test.
*,**,***Significant at P = 0.05, 0.01, or 0.001, respectively.

Table 2. List of oligonucleotide primers used for quantitative-real-time PCR.

Gene name[z]	Forward primer sequence	Reverse primer sequence	Length (mer)
LsPAL	GAAGGGAAGCCGGAGTTTAC	CTGGAAACGTCGATCAATGG	20/20
Lsactin	AGCAACTGGGATGACATGGA	GGGTTGAGAGGTGCCTCAGT	22/20

[z]GenBank accession numbers of *LsPAL* (*Lactuca sativa* phenylalanine ammonia-lyase) and *Lsactin* (*Lactuca sativa* actin) are AF299330.1 and AY260165.1, respectively.

PAL 유전자 발현

상추의 페놀 물질 생합성에 핵심 유전자인 phenylalanine ammonia-lyase(PAL) 유전자(Liu et al., 2006) 발현 정도를 비교하기 위하여 적축면 상추를 정식 후 9일, 23일째에 각 처리구별 하단엽에서 4번째 잎을 채취하여 액체질소로 동결시킨 후 RNA 추출 전까지 -70℃의 초저온 냉동고에 보관하였다. 상추의 총 RNA는 cetyltrimethylammonium bromide(CTAB)을 이용한 Chang et al.(1993)의 방법으로 추출한 후 NanoDrop 1000 Spectrophotometer(Thermo Scientific, USA)로 농도를 확인하고 모든 시료를 동일한 농도로 정량하였다. cDNA 합성은 QuantiTect Reverse Transcription Kit(QIAGEN, Duesseldorf, Germany)를 이용하였다. Quantitative-Real-Time PCR은 2 × QuantiMix SYBR Kit((주)PhileKorea, Korea)를 사용하여, Rotor-gene 6000(QIAGEN, Alabama, USA) 장비로 수행되었고, 실험에 사용한 올리고뉴클레오티드 프라이머는 GenBank 데이터베이스의 정보를 이용하여 제작하였다(Table 2). PCR 조건은 pre-denature step(95℃, 10분) 후 40회 사이클의 denature step(95℃, 10초), annealing step (52℃, 15초), extension step(72℃, 20초)으로 수행되었다. PAL 유전자의 상대적 발현정도(ΔΔCT값)는 Rotor-gene 1.7 프로그램을 이용하여 분석하였다.

통계처리

생육 및 기능성 물질 분석은 각 처리구별 4반복으로, 엽형태 및 엽록소 측정은 8반복으로 실시하였다. 총 실험은 2번 실시하여 재현성을 검증하였다. 통계분석은 SAS 프로그램(SAS 9.2, SAS Institute Inc., USA)을 이용하였다. 분산분석(ANOVA)을 실시하였으며, 평균 간 비교는 덩컨의 다중범위검정을 이용하였다.

결과 및 고찰

생육 및 엽형

각각의 LED 광원에서 정식 후 23일 동안 재배한 두 축면 상추의 지상부·지하부의 생체중 및 건물중, 엽면적, 비엽중, S/R율을 조사한 결과 파장에 따라 유의적 차이를 보였다(Table 1). 적축면 상추의 지상부 생체중, 건물중, 엽면적은 적색 LED 처리에서 다른 처리구들에 비해 유의적으로 높은 값을 나타냈다. 대조구에 비해 생체중과 건물중은 각각 2.6배, 2.2배 높았다. 적색광은 잎의 광합성 관련 기관의 발달과

전분 축적에 효과적으로 사용되어(Saebo et al., 1995), 작물의 생체중과 엽면적의 증가 효과(Johkan et al., 2010; Wu et al., 2007)를 기대할 수 있는데, 이번 실험에서도 적색 LED 처리는 적축면 상추의 월등한 생육을 유도하였다. 엽면적 또한 적색 LED 처리가 대조구에 비해 3.4배 높았다. 하지만 잎 두께를 나타내는 비엽중에서는 대조구에 비해 유의적 감소를 보여, 녹색 LED 광원과 더불어 적색 LED 광원하에서 자란 적축면 상추의 잎 두께가 얇음을 알 수 있었다(Johkan et al., 2010; Ohashi-kaneko et al., 2007). 녹색 LED 광원 하에서 자란 적축면 상추는 가장 저조한 지상부 생육을 보였고, 청색 LED, 백색 LED, 그리고 대조구는 비슷하였다. 지하부의 경우 지상부에 비해 처리별로 큰 생육의 차이는 보이지 않았지만, 녹색 LED 처리는 생체중과 건물중이 다른 처리구들에 비해 유의적으로 낮은 값을 나타냈다. 광합성 흡수스펙트럼상에 적색광과 더불어 높은 흡수율을 보이는 청색광 또한 생체중 증가 효과가 보고되었는데(Hogewoning et al., 2010; Johkan et al., 2010; Wu et al., 2007), 본 연구에서도 대조구와 비교했을 때 청색 LED와 청색광을 포함한 백색 LED 처리는 비슷한 수준의 생육을 보였다. 결국 이러한 결과는 적색과 청색이 식물의 광합성 작용에 효율적으로 사용되는 파장대임을 보여준다. 단색광으로써의 녹색광은 기존의 연구결과들과 마찬가지로 지상부와 지하부 모두에서 생육 억제 효과를 보였다. 하지만 Johkan et al.(2012)의 연구에서 고광도 및 단파장의 녹색광은 생육 증진의 효과를 제시하였고, 이를 통해 다른 파장대의 광들과의 혼합처리 시 녹색광의 효과를 구명하는 추가적인 실험이 필요할 것으로 판단된다. S/R율에서는 적색 LED 처리에서 가장 높은 값을 나타내었고, 그 다음으로 생육억제를 보인 녹색 LED 처리의 S/R율이 나머지 처리구에 비해서 유의적으로 높게 나타났다. 청색 LED와 청색이 포함된 백색 LED 처리에서의 낮은 S/R율은 Johkan et al.(2010)이 청색광이 포함된 광원처리는 상추의 S/R율을 감소시킨다는 보고와 일치하였다. 따라서 광질에 따른 작물의 지상부와 지하부의 생장률은 달라지고, 이를 이용하여 작물의 식용 또는 사용 부위의 효율적인 생산이 가능할 것으로 생각된다.

청축면 상추는 적축면 상추의 지상부 결과와는 다소 다른 경향을 나타냈다. 적색 LED, 청색 LED, 대조구 처리에서 비슷한 지상부 생육을 보였으며, 백색 LED, 녹색 LED 처리가 그 다음 순서였다. 지하부의 결과는 청색 LED 처리가 뿌리의 생육을 다른 처리구들에 비해 촉진시켰으며, 적축면 상추의 결과와 같이 녹색 LED 처리에서 억제되었으나, 적색 LED 처리에서도 억제되는 결과를 보였다. S/R율은 적축면의 결과와 동일하게 적색 LED, 녹색 LED, 그리고 나머지 처리구 순으로 유의적 차이를 나타냈다. 청축면 상추에의 다소 다른 결과는 광질에 대한 식물의 반응이 작물뿐만 아니라 품종 간에도 차이가 있을 수 있음을 보여준다(Buso and Bliss, 1988).

엽록소 함량을 나타내는 SPAD 값은 광질에 따라 두 축면 상추에서 확연한 차이를 보였다(Fig. 2). 녹색 LED 광원 하에서 자란 적축면 상추의 엽록소 함량이 유의적으로 가장 낮은 엽록소 함량을 나타냈으며, 적색 LED 처리는 생육 중반인 정식 후 9일째부터 다른 3개의 처리(청색, 백색, 형광등 + 고압나트륨)에 비해 유의적으로 낮은 수치를 보였고, 정식 후 23일째에는 그 격차가 더욱 커진 것을 확인할 수 있었다. 대조구와 청색 LED, 백색 LED 처리구에서는 엽록소 함량이 생육 전반에서 후반으로 갈수록 점차 증가하였으며, 거의 비슷한 경향으로 유의적 차이를 보이지 않았다. 청축면 상추에서는 적축면 상추와 유사한 결과로 녹색 LED와 적색 LED 처리에서 유의적 감소를 보였다. 정식 후 23일째 청색 LED 처리에서 유의적으로 가장 높은 결과를 보였고

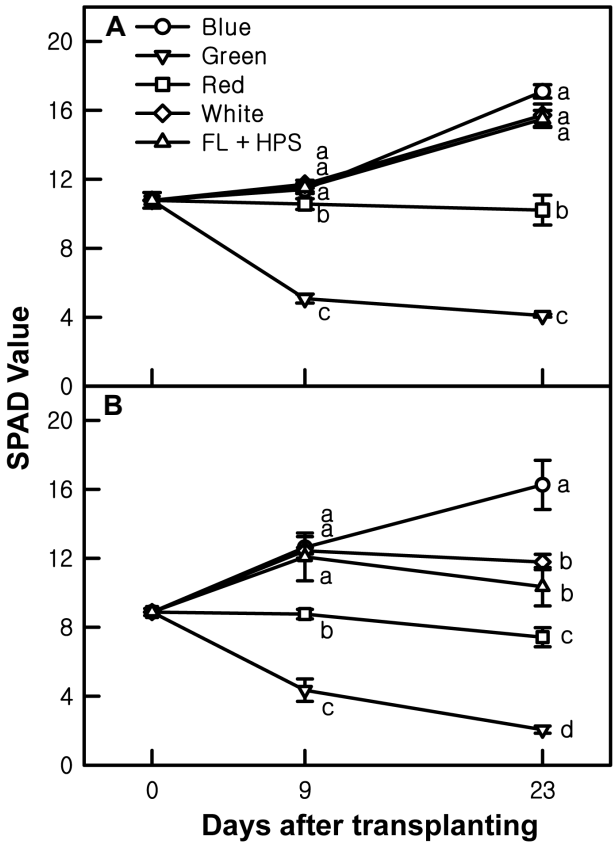

Fig. 2. SPAD value of lettuce plants grown under various LEDs and FL + HPS (fluorescent lamp + high pressure sodium lamp). LED treatments was applied to 'Sunmang' (red leaf lettuce) (A) and 'Grand rapid TBR' (green leaf lettuce) (B) for 23 days after transplanting. The data indicate the means ± S.E. (n = 8). Significant at P = 0.001.

이는 녹색 LED 처리 시 청축면 SPAD 값의 7.9배 이상에 달한다. 청색 LED 처리와 비슷한 수준의 엽록소 함량을 유도한 백색 LED 처리와 대조구는 모두 청색파장을 각 광원에 포함하고 있다(Fig. 1)는 측면에서 청색광과 엽록소 함량간의 밀접한 관계가 있음을 유추할 수 있었다. 이전 연구들에서 청색광에서 자란 식물의 엽록소 함량의 증가는 오이, 상추, 시금치 등 다수의 작물에서 보고된 바 있다(Hogewoning et al., 2010; Johkan et al., 2010; Matsuda et al., 2007).

두 축면 상추에 조사된 파장의 종류는 상추의 엽형에도 큰 영향을 미쳤다(Fig. 3). 두 축면 상추 모두에서 청색 LED 또는 백색 LED 광원 하에서 자란 상추는 일반적인 상추 엽형을 보인 대조구와 비슷한 형태를 유지한 반면 적색 LED 또는 녹색 LED 광원 하에서 자란 상추는 엽형이 길게 유도되었다. 특히 적색 LED 처리는 상추 엽의 길이를 가장 길게 유도하였으며, 이와 같은 적색광의 엽형에 대한 효과는 이전 연구에서도 보고된 바 있다(Lee et al., 2010). 녹색 LED 처리 또한 상추의 엽형지수를 비교적 높게 유도하였는데, 이는 Johkan et al.(2012)의 최근 연구에서 광합성 유효 광량자속 100μmol·m^{-2}·s^{-1} 수준의 녹색광이 상추의 엽장과 엽병의 길이 신장에 효과적이었던 결과와 유사하였다.

총 페놀 농도와 항산화도

상추와 같은 채소류나 과일류에 다량 함유되어 있는 페놀 물질은 최근 들어 많은 관심을 받고 있다. 수천 종의 페놀 물질들의 여러 성질 중 항산화성은 매우 중요한 요소로써 (Rajashekar et al., 2009), 과도하게 체 내에서 생성되어 노화나 만성질환의 원인이 되는 활성산소족(reactive oxygen species, ROS)을 항산화물질이 소멸시킨다. 실제로 채소나 과일의 지속적인 섭취는 퇴행성, 만성질환을 예방하며 건강을 증진시키는 탁월한 효과를 보인다(Raskin et al., 2002). 이처럼 페놀 물질은 상추를 포함한 채소류의 영양학적 품질을 결정하는데 결정적인 요소 중의 하나로 부각되고 있다.

광질에 따른 총 페놀 농도는 두 축면 상추 모두에서 확연한 차이를 보였다(Fig. 4). 청색 LED 처리는 전 생육기간 두 축면 상추 모두에서 유의적으로 가장 높은 페놀 물질의 축적을 유도하였다. 이는 정식 후 23일째 유의적으로 가장 낮은 총 페놀 농도를 보인 녹색 LED와 적색 LED 처리와 비교했을 때 적축면 상추와 청축면 상추에서 각각 약 8.8배와 5.5배에 해당한다. 적축면의 경우 대조구와 백색 LED 처리는 정식 후 23일째 비슷한 값을 기록했지만, 청축면의 경우는 백색 LED가 대조구 처리보다 유의적으로 높은 페놀

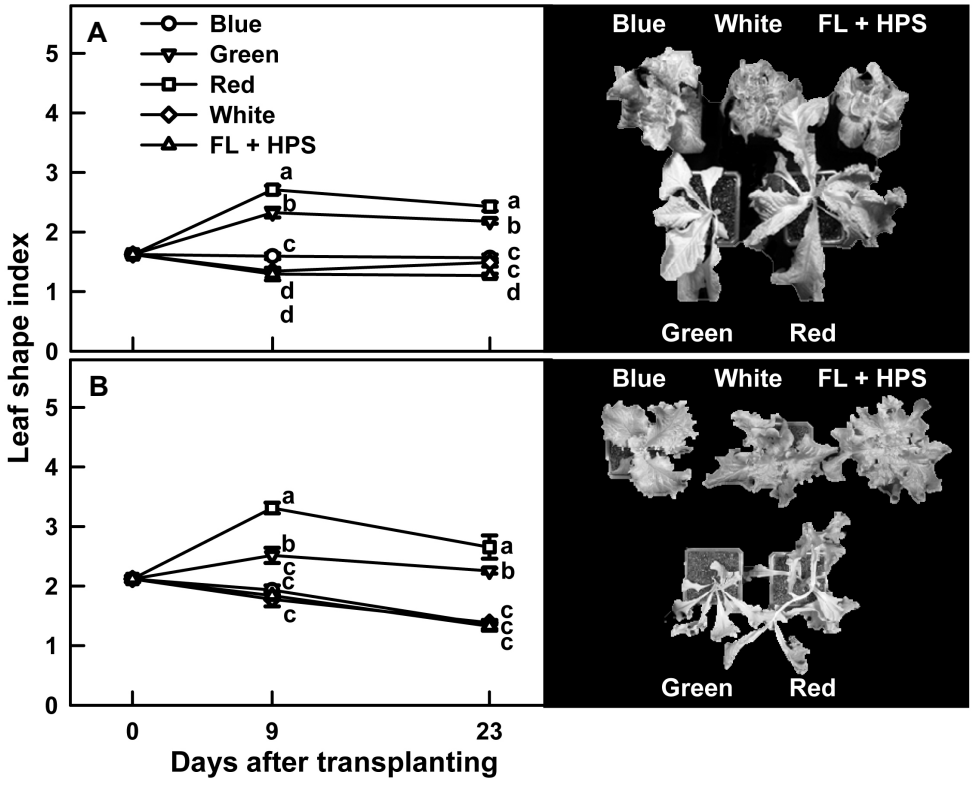

Fig. 3. Leaf shape index at 0, 9, and 23 days after transplanting and lettuce plants grown under various LEDs and FL + HPS (fluorescent lamp + high pressure sodium lamp) at 23 days after transplanting. LED treatments was applied to 'Sunmang' (red leaf lettuce) (A) and 'Grand rapid TBR' (green leaf lettuce) (B) for 23 days after transplanting. The data indicate the means ± S.E. (n = 8). Significant at P = 0.001.

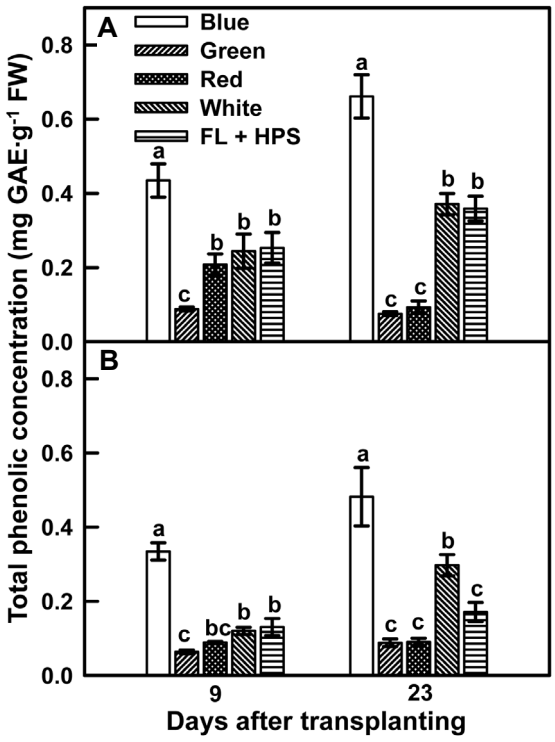

Fig. 4. Total phenolic concentration of lettuce plants grown under various LEDs and FL + HPS (fluorescent lamp + high pressure sodium lamp) at 9 and 23 days after transplanting. LED treatments was applied to 'Sunmang' (red leaf lettuce) (A) and 'Grand rapid TBR' (green leaf lettuce) (B) for 23 days after transplanting. The data indicate the means ± S.E. (n = 4). Significant at P = 0.001.

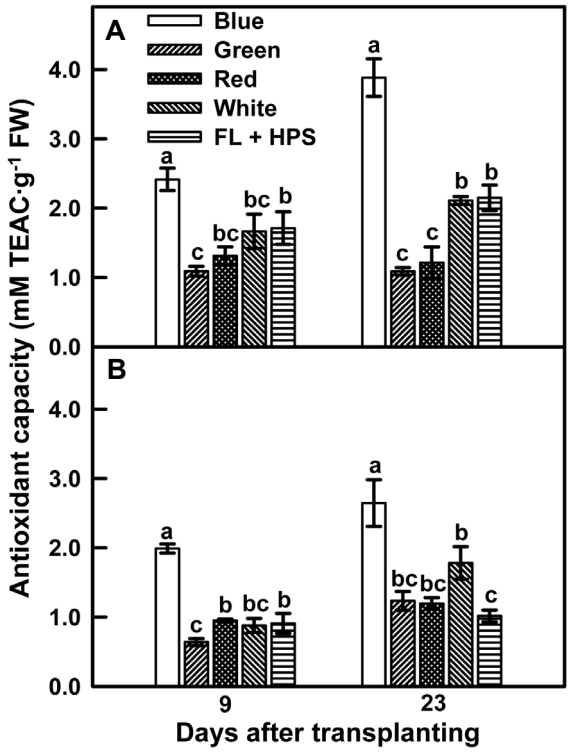

Fig. 5. Antioxidant capacity of lettuce plants grown under various LEDs and FL + HPS (fluorescent lamp + high pressure sodium lamp) at 9 and 23 days after transplanting. LED treatments was applied to 'Sunmang' (red leaf lettuce) (A) and 'Grand rapid TBR' (green leaf lettuce) (B) for 23 days after transplanting. The data indicate the means ± S.E. (n = 4). Significant at P = 0.01.

물질을 함유하고 있었다. 광질에 따른 두 축면 상추의 총 페놀 농도의 경향은 대체로 유사하였으나, 품종 간 비교를 했을 때 붉은 색을 띄는 적축면 상추가 청축면 상추보다 풍부한 페놀 물질을 함유하고 있는 것으로 판단된다(Bunning et al., 2010; Liu et al., 2007).

항산화도 역시 총 페놀 농도와 비슷한 경향으로 청색 LED 처리에서 가장 높았으며, 두 품종 간 항산화도의 양적 차이를 나타냈다(Fig. 5). 상추에서 발견된 페놀 물질의 약 70%가 항산화성을 보인다는 점을 감안할 때(Nicolle et al., 2004), 총 페놀 농도와 항산화도 간의 정의 관계가 성립됨을 확인할 수 있었다. 이전 연구에서 청색광은 상추의 페놀 물질의 축적을 유도시켰으며 항산화도 또한 증가시켜(Johkan et al., 2010), 본 실험의 결과와 일치하였다. 반면, Wu et al.(2007)의 보고에 따르면 적색광에서 콩묘의 항산화도를 증가시켰다고 하는데, 이는 광질에 대한 작물 간의 반응차이로 생각되며, 이번 실험에서는 품종 간에도 기능성물질 축적의 차이를 확인할 수 있었다.

PAL 유전자 발현

PAL은 L-phenylalanine을 trans-cinnamate로 전환시킴으로써 페놀 물질을 생합성하는데 시작점이 되는 중요한 효소이다(Koukol and Conn, 1961). 이전 연구들에서도 상추를 포함한 다양한 작물에서 여러 환경 자극과 이차대사산물 축적과의 관계를 PAL 효소의 활성이나 PAL 유전자의 발현 정도로 확인하였다(Chappell and Hahlbrock, 1984; Diallinas and Kanellis, 1994; Liu et al., 2006; Oh et al., 2009). 따라서 PAL 유전자의 mRNA의 발현 정도를 quantitative-real-time PCR로 정량화함으로 인해 단색 파장에 따른 페놀 물질을 포함한 이차대사산물의 생합성 활성도를 파악할 수 있었다. 적축면 상추에서 정식 후 9일째 PAL 유전자 발현 정도는 청색 LED 처리에서 가장 높게 나타나 위의 총 페놀 농도의 결과와 일치하였다(Fig. 6). 특히 청색 LED는 적색 LED에 비해 약 3배 높은 발현량을 보였다. 정식 후 23일째에는 백색 LED 처리에서 대조구에 비해 약 1.8배 높은 PAL 유전자 발현량이 확인되었으며, 녹색 LED 처리에서 그 수치가 가장 낮았다. 이 결과들을 통해서 단색 LED 처리에 상추의 페놀 물질을 포함한 이차대사산물의 생합성 경로의 활성도는 달라졌음을 확인할 수 있었고, 페놀 물질을 포함한 기능성 물질의 농도 변화가 이러한 생합성 과정에 근거한다고 판단되었다.

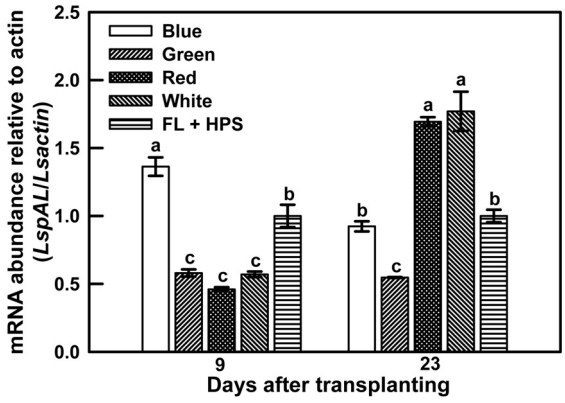

Fig. 6. Expression of PAL (phenylalanine ammonia-lyase) gene of red leaf 'Sunmang' lettuce grown under various LEDs and FL + HPS (fluorescent lamp + high pressure sodium lamp) at 9 and 23 days after transplanting. The expression levels of the *Lactuca sativa* phenylalanine ammonia-lyase gene (*LsPAL*) were normalized to those of the *Lactuca sativa* actin gene (*Lsactin*), which was used as the housekeeping gene. The data indicate the means ± S.E. (n = 3). Significant at $P = 0.001$.

결국, 상추에 있어서 적색 LED 처리는 생육을 촉진시켰으나, 엽의 형태를 비정상적으로 길게 유도한 반면, 청색 LED 처리는 생육보다는 상추 엽에서 엽록소, 페놀 물질, 항산화 물질의 축적을 유도하는데 효과적이었다. 녹색 LED 처리는 적색 LED와 마찬가지로 긴 엽형을 유도하였으며, 생육이나 기능성물질 향상에는 별다른 효과를 보이지 못했지만 그 역할에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다. 본 연구는 각 파장에 따른 상추의 반응을 구명하여 작물재배에 인공광원으로써 LED가 이용되는데 기초적인 자료를 제공하였으며, 생산된 작물의 상품성을 위해서는 실제로 식물 생산에는 다양한 혼합광원이 이용된다는 점에 착안하여, 각 LED 파장대의 조합을 통한 작물에 따른 최적 광질 조건 구명에 관한 추가적인 연구들이 필요할 것이다.

초 록

인공광원으로써, 단색 파장을 갖고 있는 발광다이오드(light-emitting diode; LED)는 밀폐형 식물생산시스템에서 사용될 수 있다. 가시광선의 다양한 파장범위 사이에서, 각각의 스펙트럼들은 식물의 생육과 발달에 특징적인 영향을 유도한다. 이번 연구는 단색 발광다이오드에 따른 적축면 상추('선망')와 청축면 상추('그랜드래피드 TBR')의 엽형, 생장 및 기능성 물질의 영향을 구명하고자 실시하였다. 정상적인 환경 조건(20℃, 형광등 + 고압나트륨등, 130 ± 5μmol·m^{-2}·s^{-1}, 광주기 12시간)에서 18일간 자란 상추 묘를 다양한 LED 광원(청색 LED, 456nm; 녹색 LED, 518nm; 적색 LED, 654nm; 백색 LED, 456nm + 558nm)이 설치된 같은 환경 조건(20℃, 130 ± 7μmol·m^{-2}·s^{-1}, 광주기 12시간)의 인큐베이터에 정식하였다. 엽장, 엽폭, 엽면적, 지상부·지하부의 생체중 및 건물중, 지상부/지하부 비율, 엽록소 함량, 총 페놀 농도, 항산화도, phenylalanine ammonia-lyase(PAL) 유전자의 발현 정도를 정식 후 9일과 23일째에 측정하였다. 두 상추 품종의 엽형지수는 청색 LED와 백색 LED 처리에서 모든 기간 동안 대조구와 비슷한 결과를 보였다. 그러나 적색 LED와 녹색 LED 처리는 다른 처리보다 엽형을 길게 유도하였다. 녹색 LED 처리는 상추 생육에 부정적인 영향을 보였다. 지상부·지하부의 생체중 및 건물중, 엽면적과 같은 생육 특성의 대부분은 두 축면 상추 모두 적색 LED 처리에서 가장 높았다. 적축면의 경우 정식 후 23일째에 적색 LED 처리의 지상부 생체중은 녹색 LED 처리보다 3.8배 높았다. 반면, 상추의 엽록소, 총 페놀 농도, 항산화도는 생육과 반대의 경향을 보였다. 청색 LED 처리에서 자란 상추의 엽록소 함량, 총 페놀 농도, 항산화도는 다른 LED 처리에 비해 유의적으로 높은 값을 보였으며, PAL 유전자 또한 정식 후 9일째 청색 LED에서 가장 높은 발현 정도를 나타냈다. 따라서 이 실험을 통해서 광질은 상추의 생육, 형태 및 기능성물질의 축적에 중요한 요소로 작용한다는 것을 확인할 수 있었다.

추가주요어 : 항산화도, 상추, 광질, 페놀 물질

인용문헌

Ainsworth, E.A. and K.M. Gillespie. 2007. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. Nature Protocols 2:875-877.

Awika, J.M., L.W. Rooney, X. Wu, R.L. Prior, and L. Cisneros-Zevallos. 2003. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. J. Agr. Food Chem. 51:6657-6662.

Bunning, M.L., P.A. Kendall, M.B. Stone, F.H. Stonaker, and C. Stushnoff. 2010. Effects of seasonal variation on sensory properties and total phenolic content of 5 lettuce cultivars. J. Food Sci. 75:156-161.

Buso, G.S.C. and F.A. Bliss. 1988. Variability among lettuce cultivars grown at two levels of available phosphorus. Plant Soil 111:67-73.

Carvalho, R.F., M. Takaki, and R.A. Azevedo. 2011. Plant pigments: The many face of light perception. Acta Physiol. Plant 33:241-248.

Chang, S., J. Puryear, and J. Cairney. 1993. A simple and efficient method for isolating RNA from pine trees. Plant Mol. Biol. Rptr. 11:113-116.

Chappell, J. and K. Hahlbrock. 1984. Transcription of plant defence genes in response to UV light or fungal elicitor. Nature 311:76-78.

Diallinas, G. and A.K. Kanellis. 1994. A phenylalanine ammonia-lyase gene from melon fruit: cDNA cloning, sequence and expression in response to development and wounding. Plant Mol.

Biol. 26:473-479.
Eisinger, W.R., R.A. Bogomolni, and L. Taiz. 2003. Interactions between a blue-green reversible photoreceptor and a separate UV-B receptor in stomatal guard cells. Amer. J. Bot. 90:1560-1566.
Folta, K.M. and S.A. Maruhnich. 2007. Green light: A signal to slow down or stop. J. Experimental Bot. 58:3099-3111.
Hogewoning, S.W., G. Trouwborst, H. Maljaars, H. Poorter, W. van Leperen, and J. Harbinson. 2010. Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. J. Expt. Bot. 61:3107-3117.
Johkan, M., K. Shoji, F. Goto, S. Hashida, and T. Yoshihara. 2010. Blue light-emitting diode light irradiation of seedlings improves seedling quality and growth after transplanting in red leaf lettuce. HortScience 45:1809-1814.
Johkan, M., K. Shoji, F. Goto, S. Hashida, and T. Yoshigara. 2012. Effect of green light wavelength and intensity on photomorphogenesis and photosynthesis in *Lactuca sativa*. Environ. Expt. Bot. 75:128-133.
Kim, H.H., G.D. Goins, R.M. Wheeler, and J.C. Sager. 2004. Green-light supplementation for enhanced lettuce growth under red- and blue-light-emitting diodes. HortScience 39:1617-1622.
Klein, R.M., P.C. Edsall, and A.C. Gentile. 1965. Effects of near ultraviolet and green radiations on plant growth. Plant Physiol. 40:903-906.
Koukol, J. and E.E. Conn. 1961. The metabolism of aromatic compounds in higher plants. IV. Purification and properties of the phenylalanine deaminase of *Hordeum vulgare*. J. Biol. Chem. 236:2692-2698.
Lee, J.G., S.S. Oh, S.H. Cha, Y.A. Jang, S.Y. Kim, Y.C. Um, and S.R. Cheong. 2010. Effects of red/blue light ratio and short-term light quality conversion on growth and anthocyanin contents of baby leaf lettuce. J. Bio-Environ. Control 19:351-359.
Liu, R., S. Xu, J. Li, Y. Hu, and Z. Lin. 2006. Expression profile of a PAL gene from *Astragalus membranaceus* var. mongholicus and its crucial role in flux into flavonoid biosynthesis. Plant Cell Rpt. 25:705-710.
Liu, X., S. Ardo, M. Bunning, J. Parry, K. Zhou, C. Stushnoff, F. Stoniker, L. Yu, and P. Kendall. 2007. Total phenolic content and DPPH·radical scavenging activity of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in Colorado. Food Sci. Technol. 40:552-557.
Matsuda, R., K. Ohashi-kaneko, K. Fujiwara, and K. Kurata. 2007. Analysis of the relationship between blue-light photon flux density and the photosynthetic properties of spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves with regard to the acclimation of photosynthesis to growth irradiance. Soil Sci. Plant Nutr. 53:459-465.
Miller, N.J. and C.A. Rice-Evans. 1996. Spectrophotometric determination of antioxidant activity. Redox Rpt. 2:161-171.
Nicolle, C., A. Carnat, D. Fraisse, J. Lamaison, E. Rock, H. Michel, P. Amouroux, and C. Remesy. 2004. Characterisation and variation of antioxidant micronutrients in lettuce (*Lactuca sativa* folium). J. Sci. Food Agr. 84:061-2069.
Nishimura, T., S.M.A. Zobayed, T. Kozai, and E. Goto. 2007. Medicinally important secondary metabolites and growth of *Hypericum perforatum* L. plants as affected by light quality and intensity. Environ. Control Biol. 45:113-120.
Nishimura, T., K. Ohyama, E. Goto, and N. Inagaki. 2009. Concentration of perillaldehyde, limonene, and anthocyanin of *Perilla* plants as affected by light quality under controlled environments. Scientia Hort. 122:134-137.
Nishioka, N., T. Nishimura, K. Ohyama, M. Sumino, S.H. Malayeri, E. Goto, N. Inagaki, and T. Morota. 2008. Light quality affected growth and contents of essential oil components of Japanese mint plants. Acta Hort. 797:431-436.
Oh, M.-M., E.E. Carey, and C.B. Rajashekar. 2009. Environmental stresses induce health-promoting phytochemicals in lettuce. Plant Physiol. Biochem. 47:578-583.
Ohashi-kaneko, K., M. Takase, N. Kon, K. Fujiwara, and K. Kurata. 2007. Effect of light quality on growth and vegetable quality in leaf lettuce, spinach and komatsuna. Environ. Control Biol. 45:189-198
Pennycooke, J.C., S. Cox, and C. Stushnoff. 2005. Relationship of cold acclimation, total phenolic content and antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia (*Petunia × hybrida*). Environ. Expt. Bot. 53:225-232.
Rajashekar, C.B., E.E. Carey, X. Zhao, and M.-M. Oh. 2009. Health-promoting phytochemicals in fruits and vegetables: Impact of abiotic stresses and crop production practices. Functional Plant Sci. Biotechnol. 3:30-38.
Raskin, L., D.M. Ribnicky, S. Komarnytsky, N. Llic, A. Poulev, N. Borisjuk, A. Brinker, D.A. Moreno, C. Ripoll, N. Yakoby, J.M. O'Neal, T. Cornwell, L. Pastor, and B. Fridlender. 2002. Plants and human health in the twenty-first century. Trends Biotechnol. 20:522-531.
Savvides, A., D. Fanourakis, and W. van Leperen. 2012. Co-ordination of hydraulic and stomatal conductances across light qualities in cucumber leaves. J. Expt. Bot. 63:1135-1143.
Saebo, A., T. Krekling, and M. Appelgren. 1995. Light quality affects photosynthesis and leaf anatomy of birch plantlets in vitro. Plant Cell Tissue Organ Cult. 41:177-185.
Sullivan, J.A. and X.W. Deng. 2003. From seed to seed: The role of photoreceptors in Arabidopsis development. Dev. Biol. 260:289-297.
Talbott, L.D., Nikolova, A. Ortiz, I. Shmayevich, and E. Zeiger. 2002. Green light reversal of blue-light-stimulated stomatal opening is found in a diversity of plant species. Amer. J. Bot. 89:366-368.
Wang, H., M. Gu, J. Cui, K. Shi, T. Zhou, and J. Yu. 2009. Effects of light quality on CO_2 assimilation, chlorophyll-fluorescence quenching, expression of Calvin cycle genes and carbohydrate accumulation in *Cucumis sativus*. J. Photochem. Photobiol. B. 96:30-37.
Wu, M.C., C.Y. Hou, C.M. Jiang, Y.T. Wang, C.Y. Wang, H.H. Chen, and H.M. Chang. 2007. A novel approach of LED light radiation improves the antioxidant activity of pea seedlings. Food Chem. 101:1753-1758.
Yeh, N. and J.-P. Chung. 2009. High-brightness LEDs-energy efficient lighting sources and their potential in indoor plant cultivation. Renewable Sustainable Energy Rev. 13:2175-2180.