

점토광물 처리에 따른 상토에서 고추의 초기생장 효과

이동기¹ · 이석연² · 김덕현² · 홍현기² · 남주현¹ · 최종순^{1,3} · 이문순⁴ · 우선희⁵ · 정근욱^{2*}

¹한국기초과학지원연구원 생명과학연구부, ²충북대학교 환경생명화학학과, ³충남대학교 분석과학기술대학원,
⁴충북대학교 특용식물학과, ⁵충북대학교 식물자원학과

Effects of the Applications of Clay Minerals on the Early Growth of Red Pepper in Growing Medium

Dong-Gi Lee¹, Seok Eon Lee², Deok Hyun Kim², Hyeon Ki Hong², Ju Hyun Nam¹,
Jong-Soon Choi^{1,3}, Moon Soon Lee⁴, Sun Hee Woo⁵, and Keun-Yook Chung^{2*}

¹Division of Life Science, Korea Basic Science Institute, Daejeon 305-806, Korea

²Department of Environmental Biology and Chemistry, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

³Graduate School of Analytical Science and Technology (GRAST), Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

⁴Department of Industrial Plant, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

⁵Department of Crop Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Abstract. As the advanced seeding technology through use of plug tray for good cultivation of seeds was propagated along with the expansion and development of horticultural industry, the use of bed soils as growing medium has recently been increased. In this study, the effects of the four clay minerals such as illite, phyllite, zeolite, and bentonite on the early growth of red pepper in the bed soil were investigated. Furthermore, proteome analysis for the leaf and stem samples of red pepper treated with only illite was performed. Of the seedling cultured, the healthy and regular size seeds were selected and cultivated in the pots, after they were treated with four clay minerals. The experiment was performed during the whole six weeks in the glasshouse of the Chungbuk National University. The growth lengths, fresh and dry weights of red pepper were significantly higher in the treatments of illite, phyllite, zeolite, and bentonite than in the control. In addition, the uptake of K⁺, Ca²⁺, and Mg²⁺ were higher in the treatment of illite, phyllite, zeolite, and bentonite than in the control. The 2-DE patterns for the red pepper by the applications of illite, phyllite, zeolite, and bentonite were similar to each other. Therefore, compared to the samples of control, the proteome analysis for the samples of red pepper treated by only illite were performed. Proteome analysis for red pepper showed that plastid fructose-1, 6-bisphosphate aldolase class 1, aldolase, and glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase, all of which were involved in the energy metabolism, were highly expressed in leaf tissue by illite treatment. In stem tissue, NAD-dependent formate dehydrogenase involved in energy metabolism, potassium transport protein, and GIA/RGA-like gibberellins response modulator were highly expressed. Based on the results obtained from the proteome analysis, it appears that the proteins specifically and differentially expressed on the illite treatment may be involved in the enhanced growth of red pepper. The identification of some proteins involved in the response of vegetable crops to the treatment of clay mineral can provide new insights that can lead to a better elucidation and understanding of mechanism on their molecular basis.

Additional key words: bentonite, *Capsicum annuum* L., cations, identification, illite, phyllite, protein, zeolite

서 언

원예 산업의 발달로 인해 모종의 연중 생산량이 증가되고

플러그 트레이를 이용한 양질의 모종을 편리하게 키울 수 있는 육묘기술이 보급되면서 상토의 사용량이 크게 증가되었다. 육묘는 정식에 적합한 묘를 육성하는 생산과정으로

*Corresponding author: kychung@cbnu.ac.kr

※ Received 11 July 2012; Revised 6 August 2012; Accepted 6 August 2012. 본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업 (과제번호 PJ005837201003)의 지원에 의해 이루어진 것임.

가장 기초적이며 중요한 단계이다(Kim et al., 2006, 2010). 또한 작물의 안정적인 생산을 위해 상토는 식물 식재 전 제조과정부터 식물의 생육에 적합하도록 물리, 화학성이 조절되어야 하고 전 생육기간을 통해 유지되어야 한다. 즉 상토는 통기성, 보수력, 보비력 등의 물리성이 적절해야 하고 화학적 활성이 없어서 화학적으로 안정되어야 하며 근권 내에서 안정된 pH를 유지하며 장기간 저장해도 분해에 대해 안정해야 한다(Kim et al., 2006, 2010). 이러한 상토의 기준을 충족하기 위하여 국내에서 육묘용 상토의 원료로 사용되는 재료는 피트모스, 코코피트, 톱밥, 훈탄 등과 같은 유기성 재료와 버미큘라이트, 제올라이트, 펄라이트 등과 같은 무기성 재료가 사용되고 있다. 유기성 상토 재료인 피트모스, 코코피트 등은 전량 수입하고 있으며 물리 화학성을 개선하기 위하여 유기성, 무기성 원료를 혼합하여 많이 사용하고 있다(Choi et al., 2002; Lee et al., 1999; Wilson, 1983, 1986).

유기성 원료인 피트모스 및 코코피트가 상토의 주원료로 많이 사용되는 것은 이들이 경량이며 식물에 알맞은 수분 보유능력을 가지고 있기 때문이다. 하지만 피트모스와 코코피트는 높은 유효수분을 가지고 있음에도 불구하고 단독으로 사용할 경우 배수성(aeration space, AS)을 확보하기 어렵고, 작물 성장에 필요한 미량원소 등의 양분이 부족할 수 있기 때문에 무기성 재료인 광물질을 일부 혼합하여 사용하고 있다.

무기성 재료로 쓰이는 점토광물은 수분보유 특성, 모세관 현상, 유효수분 등의 물리적 특성을 가지고 있다. 또한 양이온 교환능력과 같은 중요한 화학적 성질을 가지고 있다. 토양교질의 표면전하는 일반적으로 음(-) 전하를 띠고 있기 때문에 토양용액 중에 해리되어 있는 여러 가지 양이온이 정전기적 인력에 의하여 교질 입자 표면에 흡착된다. 식물 영양소인 K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , NH_4^+ 등은 양이온으로서 토양의 음(-) 전하와 결합하여 치환성 양분으로 이용할 수 있다. 이렇게 토양에 흡착된 NH_4^+ 또는 K^+ 이온은 유실되지 않고 양이온 교환에 의하여 용액으로 나와 뿌리를 통하여 흡수 이용된다. 또한 점토광물은 다공성으로써 내부에 수분과 양분을 흡수할 수 있으며, 높은 비표면적으로 상토의 물리화학적 성질을 식생에 유리하도록 조성하기 쉽다(Park, 2009).

무기성 점토광물을 첨가할 때 상토의 물리화학적 성질을 식생에 유리하도록 개선하는 기작을 조사하려 할 때에는 프로테오믹스를 통한 분석을 많이 사용하며 프로테오믹스 분석법을 이용한 연구는 단백질 수준에서 유전자의 발현에 대한 특성 파악, 발현 후 수식(post-translation modification) 및 조직, 세포 수준에서 단백질체 기능 해명에 매우 유용한 기술이라 할 수 있다(Pandey and Mann, 2000; Porubleva et al., 2001).

본 연구에서는 무기성 원료인 일라이트, 펄라이트, 제올

라이트, 벤토나이트를 상토에 사용함으로써 상토의 화학성 개선 및 고추 육묘의 생육 증진효과를 알아보고 또한 프로테오믹스 분석법을 이용하여 실험조건에 따른 단백질 발현의 차이를 비교분석하였다. 프로테오믹스 분석법을 이용하여 점토광물 중 특히 일라이트 첨가에 따라 발현의 차이를 보이는 단백질을 동정함으로써 이들의 기능을 규명하며, 나아가 점토광물의 효율적인 사용조건을 위한 기초 자료를 확보하고자 수행하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 상토처리

실험에 사용한 고추(*Capsicum annuum* L.)는 N사에서 시판되는 신흥을 선택하여 재배하였다. 점토광물은 충북 영동 지역에서 생산된 일라이트, 보은에서 생산된 펄라이트, 경주에서 생산된 제올라이트, 일본에서 생산된 벤토나이트를 사용하였다. 식물체를 재배하기 위한 상토는 N사에서 시판되는 원예용 상토 중 하나인 원조믹스를 사용하였다.

플러그 포트(30 × 30cm)에 상토 600g, 점토광물 일라이트, 펄라이트, 제올라이트, 벤토나이트를 상토 중량비 10%를 기준으로 하여 각각 동일 비율로 단일재료 60g씩 5개의 처리구로 실험하였다. 점토광물 이외에 다른 영양분은 사용하지 않았으며 수분에 의한 저해를 받기 않게 하기 위하여 오전과 오후 작물의 수분상태를 확인한 후 충분한 양의 수분을 저면 관수로 공급하였다. 또한 환경적인 요인을 최소화하기 위하여 1주일 단위로 위치를 옮겨 주었다. 고추 작물을 재배한 장소는 온실이였다. 온실의 온도는 주간에는 25°C-28°C를 유지시켰으며, 야간에는 18°C-22°C를 유지시켰다.

상토 및 식물체 분석

상토분석은 농촌진흥청의 상토의 표준분석법에 준하여 분석하였다(RDA, 2000, 2002). pH, EC(electric conductivity)는 풍건한 상토 20mL를 100mL 플라스크에 취한 후 증류수 100mL를 첨가하고 1시간 진탕시킨 뒤 여과지로 여과한 후 측정하였다. 유기물은 회화법을 사용하여 측정하였고 유효인산 측정은 Lancaster법을 이용하여 분석하였다(Table 1)(RDA, 2002). 생체량 측정은 6주간의 생육 시킨 후 각 처리구당 완전임의추출법에 의해 10개씩 시료를 채취하여 뿌리, 잎, 줄기의 생체중을 측정하였다. 생체중 측정 후 건조중량을 측정하기 위하여 70°C에서 3일간 건조시킨 후 중량을 측정하였다. 건조중량을 측정한 식물체 시료를 분쇄기로 마쇄하여 양이온 분석용 시료로 조제하였다. 양이온 함량은 식물체 시료 0.4g을 micro-Kjeldahl flask에 취한 다음 H₂SO₄ 5mL를

Table 1. Comparison of chemical properties of bed soil treated with clay minerals with control before cultivation.

Treatment	pH	EC	AV. P ₂ O ₅	NO ₃ -N	NH ₄ -N	Exchangeable cations (cmol ⁺ ·L ⁻¹)			CEC
	(1:5)	(dS·m ⁻¹)		(mg·L ⁻¹)		K	Ca	Mg	(cmol ⁺ ·L ⁻¹)
Control	5.67	0.61	110.11	144.3	175.12	0.90	2.59	1.55	5.02
Illite	5.71	0.61	124.92	144.9	175.09	1.00	2.73	1.76	5.78
Phyllite	5.73	0.64	132.32	145.3	175.09	0.87	2.94	1.85	5.59
Zeolite	5.68	0.85	159.82	145.2	177.72	0.99	2.98	1.92	5.99
Bentonite	5.88	1.11	138.67	144.5	175.09	0.78	3.50	2.38	5.60

첨가하여 분해시킨 후 분해액을 여지로 여과하였다. 여액은 증류수로 100mL가 되도록 맞춘 후 이 여액을 K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺의 정량에 사용하였다. 양이온의 측정은 ICP-OES(OPTIMA 5300V, Perkin Elmer, USA)를 이용하여 측정하였다.

프로테오믹 분석

시료채취 및 전처리: 막자사발에 0.2g의 고추 잎, 줄기, 뿌리 시료를 넣고, 각각의 시료들과 5mL sample buffer I(0.3% (w/v) SDS, 0.2M DTT, 50mM Tris-Cl, pH 8.0, 0.1% Protease inhibitor cocktail)를 넣고 아주 곱게 마쇄하였다. 마쇄한 시료에 10μL sample buffer II(Nuclease Mix kit: GE Healthcare, Sweden)을 첨가 후 얼음에서 30분 반응시킨다. 시료를 14,000rpm, 4°C에서 30분 동안 원심분리하여 상등액을 회수 후 상등액 800μL와 50% TCA를 200μL 첨가하여 4°C에서 1시간 침전시킨다. 침전 후 14,000rpm, 4°C에서 30분 동안 원심분리하여 침전물을 100% ice-cold 아세톤으로 5회 세척하였다. 시료는 동결건조 후 -80°에 보관하였다.

단백질 정량은 Bradford(1976)의 방법에 의거하여 수행하였으며, BSA(Bovine Serum Albumin)를 표준시료로 사용하였다.

이차원 전기영동(2-DE)과 이미지 분석: 이차원 전기영동 분석은 Lee et al.(2007)의 방법을 약간 변형하여 수행하였다. Acetone 침전법에 의해 추출된 단백질은 rehydration buffer(8M urea, 2%(w/v) CHAPS, 0.5%(v/v) pH 3-10 NL IPG buffer, 60mM DTT)을 첨가하여 단백질을 재현탁하였다. 단백질은 pH 3-10 NL IPG dry strip에 loading하였으며 12시간 동안 rehydration 실시 후 110,000Vhr까지 일차원전기영동(IEF, isoelectric focusing)을 수행하였다. 일차원 전기영동 후 strip은 equilibration buffer(50mM Tris-HCl, pH 8.8, 6M urea, 30%(v/v) glycerol, 2%(w/v) SDS)와 0.1%(w/v) DTT 포함된 용액에서 15분간 반응 후, equilibration buffer와 0.25% w/v iodoacetamide가 포함된 용액에서 15분간 반응시켰다. Strip은 SDS-PAGE(Ettan DALT system, GE Healthcare, Sweden)를

이용하여 이차원전기영동을 실시하였으며, silver nitrate staining kit(GE Healthcare, Sweden)을 사용하여 gel을 염색 후 이미지 분석에 이용하였다(Laemmli, 1970).

In-gel digestion: Silver 염색 후 시료는 gel에서 원하는 spot을 적당한 크기(1 × 1mm)로 자른 뒤 1.5mL tube에 넣었다. 30mM potassium ferricyanide/100mM sodium thiosulfate(1:1, v/v) 50μL을 첨가하여 상온에서 10분간 반응시킨 뒤 3차 증류수 200μL를 첨가한다. 상등액을 제거하고 100% ACN 100μL를 첨가한 후 Speed Vac에서 건조시켰다. 건조된 시료에 10mM DTT/100mM ammonium bicarbonate(ABC) 50μL를 첨가하여 56°C에서 1시간 환원반응을 유도한 후, 원심분리하여 침전액을 수확하였다. 55mM indolacetic acid/100mM ABC 50μL을 첨가하여 암조건에서 40분 alkylation 반응을 시킨 다음 원심분리 후 상등액을 버리고 침전액을 수확하였다. 3차 증류수를 indolacetic acid의 2-3배를 첨가하고 섞은 뒤 원심분리하여 상등액을 제거하였다. 이 과정을 2번 반복하였다. 100% ACN 100μL를 첨가하여 5분 동안 잘 섞은 다음 원심분리하여 상등액을 제거하고 다시 원심분리건조기에서 10분간 건조시켰다. 15μL(0.1μg·μL⁻¹) trypsin enzyme을 첨가한 후 37°C에서 18시간 반응시켰다. 반응이 끝난 e-tube는 원심분리 후 상등액을 새로운 e-tube에 넣고 gel을 포함하고 있는 e-tube에는 50% ACN/5% TFA(Trifluoroacetic acid) 50μL를 첨가하였다. 상온에서 30분간 방치 후 원심분리하여 tryptic peptide를 회수한 tube에 첨가하였다. 다시 gel을 포함하는 tube에 100% ACN 50μL를 첨가하여 원심분리 후 상등액을 tryptic peptide를 회수한 tube에 넣은 후 Speed Vac에서 완전히 건조시켰다. 건조된 시료는 0.1% TFA로 희석하여 MALDI-TOF/MS 분석용 시료로 사용하였다.

질량 분석: In-gel digestion 과정을 거친 peptide 상태의 시료에 10μL의 0.5% TFA를 첨가하고 wetting solution(80% ACN/0.5% TFA/distilled water)으로 5번, 0.5% TFA/distilled water로 10번 세척으로 활성화된 Zip-tip C18(Millipore, Bedford, USA)을 이용하여 탈염 및 정제하였다. 정제된 peptide에 10μL

의 α -cyano-4-hydroxy-cinnamic acid(CHCA) matrix solution ($10\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ CHCA in $0.5\%(v/v)$ TFA/ $50\%(v/v)$ acetonitrile, 1:1) 을 섞어주었다. 질량분석을 위해 Ultraflex MALDITOF/TOF mass spectrometer(Bruker)을 이용하였으며 instrument type는 reflection mode로 측정하였다. Standard peptides로는 des-Arg bradykinin, angiotensin I, Glu-fibrinopeptide B, adrenocorticotrophic hormone(ACTH) clip 1-17, ACTH clip 18-39과 ACTH clip 7-38의 mass spectra 값으로 internal calibration하여 질량값을 구하였다.

결과 및 고찰

생장량 및 양이온(K, Ca, Mg)의 흡수량

고추의 점토광물에 따른 생장의 차이를 보면 파종 후 2주차부터 처리구 간에 생육의 차이를 보이기 시작했으며 3주차부터는 유의성 있는 성장차이를 나타냈다(Lee, 2012). Kim(2010)의 연구에서도 3주차부터 유의적인 성장 차이를 보고하였다. 시험 종료 시의 생장의 차이를 보면 모든 처리구에서 대조구보다 생장이 우수하였다(Fig. 1). 그 중 펠라이트는 20.3cm로 가장 컸으며 제올라이트 19cm로 각 처리구간에는 유의성이 있는 차이를 나타냈다(Table 2). 점토광물 일라이트, 펠라이트, 제올라이트, 벤토나이트를 처리했을 때 무처

리구에 비교해서, 생중량과 건중량을 지하부(뿌리), 지상부(줄기)로 구분하여 비교하였다(Table 2). 지하부의 생중량은 각각 22, 26, 17, 10%로, 그리고 지하부의 건중량도 무처리구와 비교했을 때 각각 13, 25, 11, 1%로 높게 나타났다(Table 2). 지상부의 생중량은 무처리구와 비교했을 때 각각 41, 90, 49, 50%로 높았으며, 건중량도 역시 생중량과 동일한 처리구에서 무처리구보다 각각 53, 115, 64, 61%로 높았다(Table 2).

점토광물에 따른 고추의 지하부(뿌리)와 지상부(잎과 줄기)의 양이온 K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} 의 흡수량을 분석해본 결과 무처리구에 비하여 일라이트, 펠라이트, 제올라이트, 벤토나이트 처리구에서 각각 흡수율이 모두 높았다(Table 3). 점토광물에 따른 고추의 지하부의 K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} 의 흡수량을 분석해 본 결과는 이러한 결과는 생육이 우수할수록 양이온을 많이 함유한다는 Uhm et al.(2002)의 연구결과와 유사한 경향을 나타내었다. 일라이트는 Kim(2010)의 연구처럼 K^+ 이온이 용출되어 식물 성장에 도움을 주었으며, 일라이트의 농도에 따라 생장이 증가하는 것과 유사한 결과를 확인할 수 있었다. 제올라이트는 Lee et al.(2006)의 연구와 마찬가지로 제올라이트의 양분을 흡수하였다가 서서히 배출되는 능력으로 인하여 고추의 생육에 증진을 가져온 것으로 사료된다. 펠라이트는 양이온 및 극성분자 흡착 특성을 나타내며 미세한 크기의 다공성으로 인해 양분 등의 고갈을 방지하는 효과

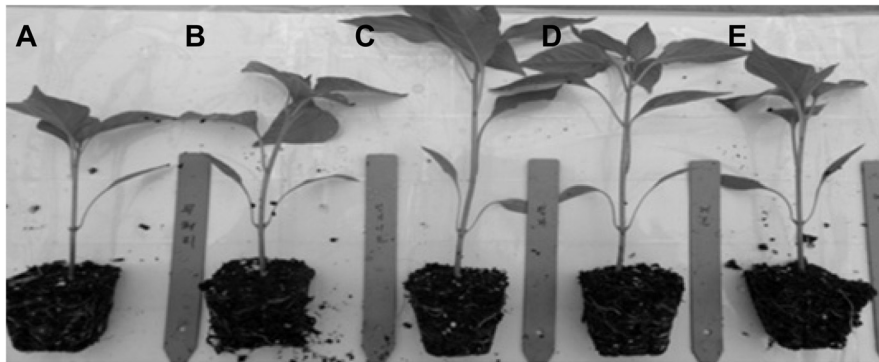


Fig. 1. Growth lengths of red pepper treated with clay minerals at the 6 weeks of growth period. A, control; B, illite; C, phyllite; D, zeolite; E, bentonite.

Table 2. Effect of clay minerals on the growth and the fresh and dry biomass of red pepper, 'Shinhong'.

Treatment	Length (cm)	Fresh weight		Dry weight	
		Root	Shoot	Root	Shoot
		(g/plant)			
Control	13.80 a ²	2.25 a	2.28 a	0.16 a	0.27 a
Illite	18.20 c	2.74 c	3.21 b	0.19 ab	0.42 bc
Phyllite	20.30 e	2.84 d	4.32 d	0.20 b	0.59 d
Zeolite	19.00 d	2.63 c	3.40 c	0.18 ab	0.45 c
Bentonite	17.30 b	2.48 b	3.41 c	0.17 a	0.44 b

²Mean separation within columns for each treatment date by Duncan's multiple range test at $P = 0.05$.

Table 3. Amount of cations taken up by root, stem and leaf of red pepper, 'Shinhong'.

Treatment	Root			Stem			Leaf		
	K	Ca	Mg	K	Ca	Mg	K	Ca	Mg
	(mg/plant)								
Control	3.36 a ^z	0.64 a	0.29 a	6.60 a	1.01 a	0.39 a	5.70 a	0.82 a	0.59 a
Illite	3.26 a	0.62 b	0.28 bc	8.85 c	1.50 c	0.54 c	8.52 b	1.06 b	0.78 b
Phyllite	4.14 bc	0.79 c	0.35 c	11.11 e	1.92 e	0.75 e	7.39 e	1.00 e	0.78 d
Zeolite	4.46 c	0.83 bc	0.45 b	12.20 d	2.23 d	0.90 d	11.63 c	1.34 c	1.23 c
Bentonite	3.40 a	0.68 bc	0.32 a	9.98 b	1.69 b	0.65 b	9.33 d	1.11 d	0.91 c

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

때문에 생육증진에 영향을 미쳤을 것으로 사료된다(Abbott and Watts, 2010).

프로테옴 분석

상토에서 재배한 고추를 대조구로 하여 점토광물 일라이트 처리에 의한 고추의 단백질 발현 양상을 분석하기 위하여, 2차원 전기영동을 실시한 결과, 잎 조직에서는 9개의 분리된 단백질 spot이 처리구에 비해서 증가하였고, 11개의 단백질 spot이 대조구에서 많은 발현이 확인되었다(Fig. 2). 줄기 조직에서는 10개의 단백질 spot이 일라이트 처리구에서만 발현이 많이 되는 것을 확인하였다(Fig. 3). 이와 같이 일라이트 처리 후 양적인 발현 변화를 보이는 단백질 spot을 gel에서 직접 분리한 후 trypsin을 이용한 in-gel digestion을 실시하였다. 추출된 tryptic peptides를 Zip Tip을 이용하여 탈염 과정을 거친 뒤 MALDI-TOF/TOF 질량분석장비를 이용하여 단백질을 동정하였다. 그 결과 대조구 잎 조직에서

많은 발현이 확인되었던 11개의 단백질 spot 중 8개의 단백질 spot이 동정되었으며, 일라이트 처리구 잎 조직에서 많은 발현이 확인되었던 9개의 단백질 spot 중 5개의 단백질 spot이 동정되었다(Table 4).

대조구에서 많이 발현되는 단백질들을 그 기능별로 분류해 보면 에너지 관련 단백질로써 ribulosebiphosphate carboxylase(spots 6 and 7), Rieske Fe/S protein of cytochrome b6/f complex(spot 10), 항산화에 관련된 dehydroascorbate reductase(spot 2), superoxide dismutase(spot 9), 전사(transcription)에 관련된 pentatricopeptide repeat-containing protein(spots 4 and 11), 수송(transport)에 관련된 potassium transport protein(spot 1) 등의 단백질을 확인할 수 있었다.

일라이트 처리구에서 많이 발현되는 단백질들은 대부분이 에너지대사에 관련된 단백질인 plastid fructose 1, 6-bisphosphate aldolase class 1(spot 14), aldolase(spot 16), glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase(spots 17 and 18)이 동정되었으

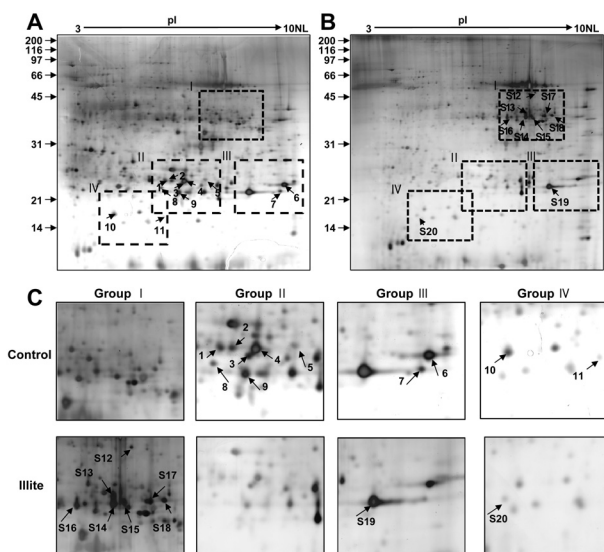


Fig. 2. Two-dimensional (2-D) electrophoresis pattern for proteins extracted from the leaf samples of red pepper treated with illite. A, control; B, illite; C, compare A with B.

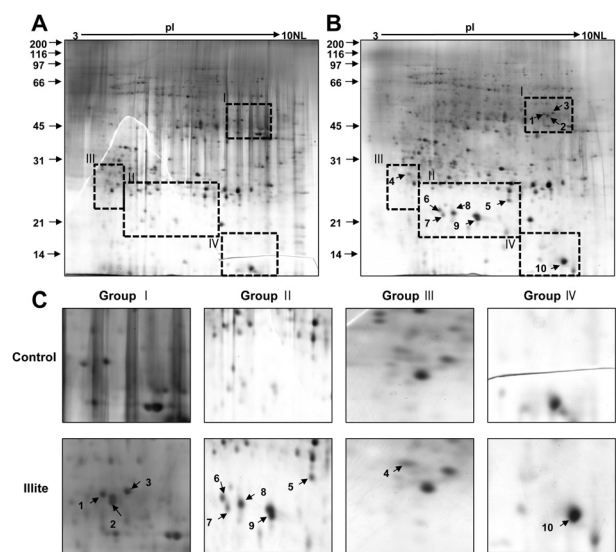


Fig. 3. Two-dimensional (2-D) electrophoresis pattern for proteins extracted from the stem samples of red pepper treated with illite. A, control; B, illite; C, compare A with B.

Table 4. List of protein spots extracted from leaf sample of red pepper and identified by MALDI-TOF/TOF mass analysis.

Spot no.	Accession no.	Protein name	Taxonomy	Mw ^z /pI ^y	Score	Pept. match ^x	Expression ^w	Ident. type ^v
2	62321549	potassium transport protein	<i>Arabidopsis thaliana</i>	30800/7.15	48	1	Control	MS ²
3	28192427	dehydroascorbate reductase	<i>Nicotiana tabacum</i>	23817/7.70	131	3	Control	MS ²
4	255572426	pentatricopeptide repeat-containing protein	<i>Ricinus communis</i>	99183/6.62	50	1	Control	MS ²
6	343013	ribulosebiphosphate carboxylase	<i>Pandanus tectorius</i>	52111/6.34	204	6	Control	MS ²
7	343013	ribulosebiphosphate carboxylase	<i>Pandanus tectorius</i>	52111/6.34	85	3	Control	MS ²
9	100284	superoxide dismutase		24511/5.39	64	12	Control	MS ²
10	19999	Rieske Fe/S protein of cytochrome b6/f complex	<i>Nicotiana tabacum</i>	1493/7.59	185	4	Control	MS ²
11	255572426	pentatricopeptide repeat-containing protein	<i>Ricinus communis</i>	99183/6.62	50	1	Control	MS ²
S14	126571484	plastid fructose 1,6 bisphosphate aldolase class 1	<i>Gossypium arboreum</i>	43107/7.56	120	2	Illite	MS ²
S15	255073331	predicted protein	<i>Micromonas sp. RCC299</i>	56107/7.15	47	1	Illite	MS ²
S16	169039	aldolase	<i>Pisum sativum</i>	37974/5.47	59	1	Illite	MS ²
S17	18072801	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	<i>Capsicum annuum</i>	34578/6.19	111	1	Illite	MS ²

^zMolecular weight; ^yIsoelectric point; ^xPeptide matches; ^wHighly expressed treatment; ^vIdentified type.

Table 5. List of protein spots extracted from stem sample of red pepper and identified by MALDI-TOF/TOF mass analysis.

Spot no.	Accession no.	Protein name	Taxonomy	Mw ^z /pI ^y	Score	Pept. match ^x	Expression ^w	Ident. type ^v
1	4760553	Nad-dependent formate dehydrogenase	<i>Oryza sativa</i>	41445/6.87	57	1	Illite	MS ²
5	302798204	hypothetical protein SELMODRAFT_420519	<i>Selaginella moellendorffii</i>	29513/8.33	80	2	Illite	MS ²
7	62321549	potassium transport protein	<i>Arabidopsis thaliana</i>	30800/8.33	50	1	Illite	MS ²
9	20257445	GIA/RGA-like gibberellin response modulator	<i>Carlquistia muirii</i>	60359/5.00	47	1	Illite	MS ²
10	20257445	GIA/RGA-like gibberellin response modulator	<i>Carlquistia muirii</i>	60359/5.00	44	1	Illite	MS ²

^zMolecular weight; ^yIsoelectric point; ^xPeptide matches; ^wHighly expressed treatment; ^vIdentified type.

며 아직까지 그 기능이 명확히 알려져 있지 않은 단백질(spot 15, predicted protein)을 확인할 수 있었다. 일라이트 처리에 의한 상추의 생육이 증대되는 현상과 관련 에너지 대사 효소들이 증가하는 것을 본 연구진이 일전에 프로테오믹 연구를 통해서 밝힌 바 있다(Choi et al., 2008).

Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase(GAPDH, spots 17 and 18)는 해당과정 중 glyceraldehydes 3-phosphate와 1,3-bisphosphoglycerate의 가역반응을 촉매에 관여하는 효소이다(Gómez et al., 2000; Mateos et al., 1992). Aldolase(spot 16)는 해당과정 중 6탄당인 fructose-1, 6-bisphosphate를 3탄당인 glyceraldehyde 3-phosphate와 dihydroxyacetone phosphate로 변환하는데 관여하는 효소이다. 해당과정 및 글루코스신

행합성(gluconeogenesis)에 중요한 기능을 담당하는 것으로 알려져 있다(Lal et al., 2005). Plastid fructose-1, 6-bisphosphate aldolase(FBA) class 1(spot 14)은 해당과정 및 Calvin cycle에 관여하는 효소이며 nonhomologous type으로 class 1과 class 2가 존재한다고 알려져 있다(Patron et al., 2004). 따라서 일라이트 처리구의 생육이 대조구보다 우수한 것은 단백질들이 에너지 대사 관련, 특히 해당과정에 관여하는 단백질들이 생육증진에 중요한 기능을 담당하였을 것으로 예상된다. 하지만 이러한 가설을 증명하기 위해서는 추가적인 실험이 더 수행되어야 한다.

줄기 조직에서는 일라이트 처리구에서 많은 발현이 확인된 10개의 단백질 spot 중 5개의 단백질 spot이 동정되었다

(Table 5). 동정된 단백질들은 세포의 성장과 분화에 관련된 GIA/RGA-like gibberellin response modulator(spots S9 and S10), 물질 수송에 관련된 potassium transport protein(spot S7), 에너지 대사관련 단백질 (NAD-dependent formate dehydrogenase(spot S1), 아직까지 그 기능이 명확히 알려져 있지 않은 단백질(spot S5, Hypothetical protein SELMODRAFT)을 확인할 수 있었다. Formate dehydrogenase는 미토콘드리아에 존재하며 NAD를 전자수용체로 하여 formate를 이산화탄소(CO₂) 반응을 촉매하는 효소이다. ATP 합성과 연계되어 formate 의존형 O₂ 흡수에 관여하는 것으로 보고 되었다(Baack, 2003; Hourton-cabassa, 1998).

GIA/RGA-like gibberellin response modulator는 신장촉진작용, 종자발아촉진작용, 개화촉진작용, 착과의 증가작용, 열매의 성장촉진작용 등의 기능을 하는 지베렐린 작용의 조절인자 역할을 하는 효소이다(Petty et al., 2003). 칼륨은 식물이 성장 및 발달을 위한 중요한 영양소 중에 하나이다(Ashley et al., 2006; Campbell et al., 2000). 일라이트 처리구에서 줄기조직의 K⁺ 이온 흡수량이 대조구보다 높게 나타난 것은 potassium transport protein(spot S7)의 발현이 높았기 때문인 것으로 판단된다(Fig. 3, Tables 3, and 4). 따라서 일라이트 처리가 대조구보다 생장이 우수한 것은 GIA/RGAlike gibberellin response modulator의 신장촉진과 potassium transport protein의 K⁺ 이온 흡수량 증가가 서로 유기적으로 상호 작동하여 나타난 결과일 것이며 성장촉진에 매우 중요한 기능을 담당할 것으로 예상된다.

초 록

최근 원예산업의 발달로 인해 모종의 연중 생산량이 증가되고 플러그 트레이를 이용한 양질의 모종을 편리하게 키울 수 있는 육묘기술이 보급되면서 상토의 사용량이 크게 증가되었다. 본 연구에서는 4가지 점토광물 일라이트, 필라이트, 제올라이트, 벤토나이트의 상토 첨가 시 고추의 초기 성장에 대한 효과를 알아보았다. 또한 일라이트 처리 시 고추 잎과 줄기의 시료에 대한 프로테옴 분석을 수행하였다. 포트에 있는 상토에 4가지 점토광물을 각각 처리한 이후에 트레이에서 재배된 모종 중에서 건강하고 규칙적인 크기를 가진 모종을 선별하여 포트에서 재배하였다. 본 연구는 6주 동안 충북대학교 유리 온실에서 수행되었다. 4가지 점토광물 처리에 따른 고추의 초장, 뿌리와 줄기의 생중량과 건중량은 무처리와 비교해서 모든 점토광물 처리구에서 높게 나타났다. 그리고 고추의 뿌리, 줄기, 잎에서 양이온 K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺의 흡수량은 무처리구보다 모든 점토광물 처리구에서

높게 나타났다. 고추 시료에 대한 프로테옴 분석을 실시한 결과 잎 조직에서는 에너지 대사에 관련 단백질인 plastid fructose-1, 6-bisphosphat aldolase class 1, aldolase 및 glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase가 대조구보다 더 많이 발현되는 것을 보여주었다. 줄기 조직에서는 에너지 대사에 관련된 NAD-dependent formate dehydrogenase, potassium(K) 운송 단백질, 지베렐린 반응 조절에 관련된 GIA/RGA 단백질 등이 대조구보다 더 많이 발현되는 것을 보여주었다. 프로테옴 분석으로 얻어진 결과를 보면 일라이트 처리 시 특이하게 차별적으로 발현된 단백질이 고추의 초기 성장 증진에 관련된 것으로 사료된다. 그러므로 점토 광물의 처리에 대한 채소작물의 반응에 관련된 몇몇 단백질의 동정은 그들의 분자적인 기작 구명을 이해하는 데 새로이 기여할 것으로 사료된다.

추가 주요어 : 벤토나이트, *Capsicum annuum* L, 양이온, 동정, 일라이트, 필라이트, 단백질, 제올라이트

인용문헌

- Abbott, D.R. and J. Watts. 2010. Identical rock types with different chemistry: Sourcing phyllite-tempered Hohokam pottery from the Phoenix basin, Arizona. *J. Archaeol. Sci.* 37:1612-1622.
- Baack, R.D., J. Markwell, P.L. Herman, and J.C. Osterman. 2003. Kinetic behavior of the Arabidopsis thaliana leaf formate dehydrogenase is thermally sensitive. *J. Plant Physiol.* 160:445-450.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.
- Campbell, E.H., J.C. Elloryb, and J.S. Gibsona. 2000. Effects of protein kinase and phosphatase inhibitors and anti-L antisera on K⁺ transport in LK sheep red cells. *Bioelectrochemistry* 52:151-159.
- Choi, J.J., I.S. Lee, and J.M. Choi. 2002. Effect of physicochemical properties of growing media on growth, nutrient uptake and oil nutrient concentration in pot plant production of asiatic hybrid Lily "Orange Pixie". *Kor. J. Soil Sci. Fert.* 43:747-753.
- Choi, J.S., S.W. Cho, T.S. Kim, K. Cho, S.S. Han, H.K. Kim, S.H. Woo, and K.Y. Chung. 2008. Proteome analysis of greenhouse-cultured lettuce with the natural soil mineral conditioner illite. *Soil. Biol. Biochem.* 40:1370-1378.
- Hourton-Cabassa, C., F. Ambard-Bretteville, F. Moreau, J.D. de Virville, R. Rémy, and C.C. des Francs-Small. 1998. Stress induction of mitochondrial formate dehydrogenase in potato leaves. *Plant Physiol.* 116:627-635.
- Kim, H.J., H.K. Kim, S.M. Kwon, S.H. Woo, and K.Y. Chung. 2010. Effect of the clay mineral illite on the growth of cherry tomato in the bed soil. *Kor. J. Soil. Fert.* 43:322-328.
- Kim, H.N., J.K. Lee, B.S. Lee, and D.C. Yang. 2006. Molecular characterization of a cDNA encoding Fructose-bisphosphate aldolase from cultured cells of *Co donopsis lanceolata*. *Plant*

- Sci. 51:576-577.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227:680-685.
- Lal, A., W.C. Plaxton, and A.M. Kayastha. 2005. Purification and characterization of an allosteric fructose-1, 6-bisphosphate aldolase from germinating mung beans. *Phytochemistry* 66:968-974.
- Lee, B.S., S.G. Park, J.G. Kang, and S.J. Chung. 1999. Effect of mixing ratio of perlite and coir dust on the growth and nutrient uptake of hydroponically grown chrysanthemum. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 40:225-230.
- Lee, D.G., N. Ahsan, S.H. Lee, K.Y. Kang, J.D. Bahk, I.J. Lee, and B.H. Lee. 2007. A proteomic approach in analyzing heat-responsive proteins in rice leaves. *Proteomics* 7:3669-3383.
- Lee, H.H., S.K. Ha, K.H. Kim, J.H. Ryu, and E.H. Park. 2006. Optimum physical condition of coir-based container substrate for growth of Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp.) plug seedlings. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 24:330-337.
- Lee, S.E. 2012. Effects of the ratios of clay minerals mixed on the physical and chemical properties bed soil and the raising seedling of red pepper. Msc Thesis, Chungbuk National University, Cheongju, Korea.
- Pandey, A. and M. Mann. 2000. Proteomics to study genes and genomes. *Nature* 405:837-846.
- Park, J.R. 2009. Preparation of artificial soils with layered structure from none metallic minerals and its application. PhD Diss., Kangwon National University, Chuncheon, Korea.
- Petty, L.M., N.P. Harberd, I.A. Carré, B. Thomas, and S.D. Jackson. 2003. Expression of the *Arabidopsis gai* gene under its own promoter causes a reduction in plant height in chrysanthemum by attenuation of the gibberellin response. *Plant Sci.* 164:175-182.
- Porubleva, L., K. Vander Velden, S. Kothari, D.J. Oliver, and P.R. Chitnis. 2001. The proteome of maize leaves: Use of gene sequences and expressed sequence tag data for identification of proteins with peptide mass fingerprint. *Electrophoresis* 22:1724-1738.
- Rural Development Administration (RDA). 2000. Analyses of soil and plant. RDA, Suwon, Korea p. 33-147.
- Rural Development Administration (RDA). 2002. Standard analysis of bed soil. RDA, Suwon, Korea p. 83-119.
- Uhm, M.J., H.C. Park, Y.H. Moon, K.C. Kim, and S.G. Han. 2002. Effect of chitosan and wood vinegar on the growth and nutrient absorption of red pepper (*Capsicum annum* L.). *J. Bio-Environ. Control* 11:67-73.
- Wilson, G.C.S. 1983. Use of vermiculite as a growth medium for tomatoes. *Acta Hort.* 150:283-288.
- Wilson, G.C.S. 1986. Tomato production in different growing media. *Acta Hort.* 178:115-119.