

Research Article



CrossMark

Open Access

토양 과습처리에 의한 배 대목 *Pyrus calleryana*와 *Pyrus betulaefolia* 집단의 유기물 함량 변화

원경호*, 김윤경, 마경복, 신일섭, 이욱용, 이별하나, 최진호, 이인복, 김명수

농촌진흥청 국립원예특작과학원 배연구소

Changes in the Organic Compound Contents of the Pear Rootstocks *Pyrus calleryana* and *Pyrus betulaefolia* Affected by Excessive Soil Moisture

KyungHo Won*, Yoon-Kyeong Kim, Kyeong-Bok Ma, Il-Sheob Shin, Ug-Yong Lee, Byul-Ha-Na Lee, Jin-Ho Choi, In-Bok Lee and Myung-Su Kim (Pear Research Institute, National Institute of Horticultural and Herbal Science, Rural Development Administration, Naju 58126, Korea)

Received: 16 February 2016/ Revised: 24 March 2016/ Accepted: 11 May 2016

Copyright © 2016 The Korean Society of Environmental Agriculture

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution

Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted

non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is

properly cited.

ORCID

KyungHo Won

<http://orcid.org/0000-0001-7189-1291>

Abstract

BACKGROUND: There's a long rainy season during the Summer in Northeast Asia, including Korea. Heavy rainfall during this season causes harm to tree's root, and damped injury in the pear has been continuously reported. Pear Research Institute is breeding damp resistant rootstocks and investigating their mechanisms to relieve damped damages in the pear.

METHODS AND RESULTS: Seedlings of *Pyrus betulaefolia* and *P. calleryana* were divided into two groups: control and damped, respectively. Damped group was treated by constant irrigation for 77 days and control group was maintained to keep the soil moisture pressure between 0 and -10 kPa. After the treatment, we analysed trees' growth rate, chlorophyll content, amino acids and total phenolic compounds. As a result, *P. betulaefolia* was sensitive to damped treatment while *P. calleryana* did not have significant differences between the control and damped treatment. It was observed that total contents for phenolic compounds were dramatically increased in *P. betulaefolia*

while trees' growth rate, chlorophyll b and general amino acid contents were lowered by damped treatment.

CONCLUSION: In some pear cultivars, growth habit is suppressed by damped damage. *Pyrus calleryana* displayed tolerances to damped damage in growth rate and some organic compound contents compared to *P. betulaefolia*. So we recommend to exploit *P. calleryana* as a pear rootstock rather than using *P. betulaefolia*.

Key words: Chlorophyll, Damped, Phenolic compound, *Pyrus betulaefolia*, *Pyrus calleryana*

서론

지구 온난화와 동반한 이상기후는 전세계적으로 일상화되어가고 있으며 폭염 폭우 등 극단적인 기상 형태로 나타나는데, 기후 변화 예측을 통한 대응이 어렵기 때문에 피해규모가 커지고 있다. 배는 한국의 대표적인 과수로서 국내 재배면적이 14,000 ha에 달하고 생산량은 282,000 T이며, 미국, 대만 등 32개국에 23,095 T, 62,159천 US\$를 수출하여 국내 전체 신선과실 수출량의 66.6%를 차지하고 있는 주요 작목이다. 그러나 우리나라를 포함한 동북아시아권의 습한 여름철 기후대에서는 일시에 강우가 집중되는 특징이 있어서 답전과 원이나 배수가 불량한 토양에서 과습으로 인해 대목의 기능

*Corresponding author: KyungHo Won
Phone: +82-61-330-1543; Fax: +82-61-330-1502;
E-mail: pulpelune@korea.kr

이 저하되고, 수체 내 수분 불균형을 초래하여 배(*Pyrus* spp.)에서 생리장해가 많이 발생한다(Byun et al., 1978; Haber, 1983; Lee et al., 1989; Tamura et al., 1995; Kang et al., 2008). 배에 나타나는 생리장해 발생 요인은 매우 다양하지만 장마기의 습해와 그 후의 한발 등 환경요인이 생리장해와 밀접하게 관련되어 있을 것으로 여겨진다. 특히 토양의 과습은 배 과육에 석세포가 많아지고 단단해지는 과실경화 발생의 원인이 된다(Tanabe et al., 1977, 1978; Byun et al., 1978). 배수가 불량한 토양에서는 장마철에 단 시간에 충분한 배수가 어렵기 때문에 습해에 강한 대목을 이용하는 것이 필요하다. 농촌진흥청 국립원예특작과학원 배연구소에서는 내습성 대목 육종과 대목들의 생리 특성에 대한 연구를 수행하고 있다. 일부 모델 작물에서는 분자표지와 유전자지도의 개발이 활발히 진행되고 있어 형질에 관여하는 유전자의 유전양식의 조사 및 목표 유전자 동정을 수행하고 있으며, 수량구성 요소, 환경스트레스 저항성 등의 양적형질에 관여하는 QTL(Quantitative trait loci) 분석을 수행하고 있으나 배(pear)의 경우 상대적으로 유전체 관련 연구가 많이 수행되지 못한 상황으로 내건 내습성 같은 내재해성 스트레스에 대한 연구가 시험 처리 후 생존율, 식물 활력 및 주요 생리현상과 연관된 물질 분석이 주로 수행되고 있다(Tanksley, 1993; Yano and Sasaki, 1997). 특히 물리적인 환경스트레스가 식물에 미치는 영향은 활성산소의 증가를 통한 산화적 스트레스로 나타남에 따라 식물이 방어물질로서 만들어내는 천연 항산화제인 폴리페놀 및 유기물 함량의 변화를 관찰할 필요가 있다.

본 연구에서는 현재 배 대목으로 주로 사용되고 있는 *Pyrus betulaefolia*와 최근 대목으로서 사용량이 증가하고 있는 *Pyrus calleryana*에 대한 과습 처리에 따른 수체 생육량 차이를 기반으로 변화되는 유기물 함량을 비교 분석하여 습해 방어 기작과 관련한 물질을 분석하였고 이를 통해 배나무의 내습성 기작에 대한 논의를 하였다.

재료 및 방법

식물체 준비 및 과습 처리 방법

전라남도 나주시에 위치한 배연구소에서 2013년에 과종한 *P. betulaefolia* 싹묘 163개체와 *P. calleryana* 싹묘 137개체를 비닐하우스에서 1년간 생육시킨 다음, 2014년 4월에 유리온실 내부의 베드로 이식하였다. 유리온실 내부의 베드를 각각 무처리군과 과습처리군으로 나눈 다음 토양수분압력을 달리하여 시험처리하였는데, 무처리군은 2주에 1회, 2시간 관수하고 수분압력측정기(Irrrometer, California, USA)로 측정하여 수분압력을 -20 ~ -50 kPa로 유지하였고, 과습처리군에서는 항시 점적관수하여 수분압력을 0 ~ -10 kPa로 유지하였다. 관수조건 차이를 제외한 별도의 처리는 하지 않았으며, 통풍과 광투과가 원활하도록 유지하고 병해충 방제를 위하여 배나무 친환경 방제력(Park et al., 2007)에 따른 약제 살포를 실시하였다. 77일간 생육시키며 시기별로 각각의

분석 목적에 따라 조사 또는 샘플 채취를 실시하였다.

과습처리에 따른 수체 생장량 변화 측정

유리온실 내부의 베드에 *P. betulaefolia*와 *P. calleryana* 싹묘를 이식할 때 전 개체 각각에 번호를 부여하여 구분하고 처리 전에 모든 개체의 수고를 측정하였다. 이후 두 집단을 각각 무처리군과 과습처리군으로 나누어 시험처리를 진행하였는데, 77일간 생육시킨 후 최초 이식한 개체수와 생존한 개체수를 비교하여 생존율을 측정하였다. 그리고 각각의 시험군에서 최상위 그룹과 최하위 그룹들을 제외하고 중위에 해당하는 30주를 선택한 다음 수고를 측정하여 평균값과 표준오차를 계산하고 이를 처리 전의 수치와 비교하여 생장량 변화를 측정하였다.

유기성분 함량 분석

*P. betulaefolia*와 *P. calleryana* 싹묘를 유리온실에 이식할 때 생육이 원활하고 비슷한 개체를 각각 10주씩 선택하여 표시하고 이들을 유지하며 유기성분 변화량을 측정하였다. 선택한 개체들의 가지 구조 및 높이를 고려하여 위치가 유사한 부분에서 잎들을 채취하였는데 채취 후 즉시 저온유지가 가능한 용기에 보관하여 운반하였으며 분석목적에 맞게 양을 나누어 사용하였다. 각각의 유기성분을 분석할 때는 과습처리 전과 후(77일간 과습처리)로 나누어 성분 변화량을 조사하였다.

엽록소(chlorophyll a, b)량 측정

엽록소량을 측정하기 위하여 80% acetone 10 mL에 채취한 잎 1 g을 정량하여 넣고 마쇄한 다음 2°C, 12,000 rpm에서 20 min 원심분리하여 상등액만을 분리해내었다. 동일한 추출 과정을 반복하여 엽록소를 분리하였고 extraction buffer를 포함한 시료의 부피가 10 mL이 되도록 조정하였다. 빛을 차단한 용기에 시료를 넣고 UV spectrophotometer (UVmini-1240, Shimadzu, Japan)를 사용하여 645 nm와 663 nm 파장에서 흡광도를 측정한 다음 엽록소량을 정량하기 위하여 측정된 흡광도 값을 이용한 계산식을 활용하였다(Inskeep and Bloom, 1984).

$$\text{엽록소 a (mg/L)} = 12.7 \text{ OD}_{663} - 2.69 \times \text{OD}_{645}$$

$$\text{엽록소 b (mg/L)} = 22.9 \text{ OD}_{645} - 4.68 \times \text{OD}_{663}$$

$$\text{엽록소 a+b (mg/L)} = 8.02 \text{ OD}_{663} + 20.21 \times \text{OD}_{645}$$

총 폴리페놀(total phenolic compounds) 함량 측정

총 폴리페놀량 측정을 위해서 catechin을 증류수에 녹여 100 µg/mL 농도의 모액을 만들고 이것을 증류수로 희석하며 725 nm 파장에서 흡광도를 측정하며 표준값을 얻었다. Methanol 30 mL에 채취한 잎 5 g을 마쇄하여 시료를 준비하고 증류수 8 mL에 시료 1 mL를 넣고 1 N phenol reagent 1 mL를 섞은 다음 충분히 흔들어서 고르게 섞어주었다. 이 상태로 5 min 반응을 시킨 후 50°C로 가열한 35%

Table 1. Comparison of *Pyrus betulaefolia* and *Pyrus calleryana* seedlings height between normal and damped culture bed

Classification	Tree height of seedlings on initial stage ^{a)}		Tree height of seedlings on grown stage ^{b)}		Growth Rate ^{c)} (%)		
	Control	Damped	Control	Damped	Control	Damped	T-test
<i>Pyrus betulaefolia</i>	25.1±1.0 ^{d)}	24.9±1.6	49.8±1.6	38.7±1.2	98.4±1.3	55.4±1.4	**** ^{e)}
<i>Pyrus calleryana</i>	34.4±1.9	36.4±1.2	61.7±2.4	64.9±2.2	79.4±2.1	78.3±2.3	NS
T-test	N/A ^{f)}	N/A	N/A	N/A	**	**	

^{a)} Initial stage of the tree growth, before transplantation on the bed.

^{b)} Stage of the grown for 77 days on the bed.

^{c)} Growth rate means percentage points from initial stage to grown stage.

^{d)} Values represent means ± standard error (n=30 for *P. betulaefolia*, *P. calleryana*, respectively).

^{e)} NS, ** and **** indicate non-significant, significant at $P^{**}<0.01$, $P^{****}<0.0001$ respectively.

^{f)} N/A means non applicable for the T-test.

sodium carbonate 1 mL을 넣고 다시 고르게 섞어 2 h 반응시킨 후 725 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 총 폴리페놀량을 측정하였다(Singleton *et al.*, 1999).

아미노산(amino acid) 함량 측정

아미노산 종류에 따른 전처리법을 실시하여 시료를 준비하였다. Lysine과 같이 안정한 아미노산의 분석을 위한 전처리로서 잎 300 mg을 취해서 분해병에 넣고 6 N hydrochloride 40 mL를 첨가한 다음 질소를 주입하고 밀봉하여 110°C에서 24 h 가수분해하였다. 반응을 끝낸 시료를 농축 증발 플라스크에 옮기고 회전증발농축기(HS-2000N, Hanshin Science, Korea)에 연결하여 50°C에서 hydrochloride를 제거시키는데 증발이 완료되면 증류수로 분해병을 씻고 새로운 증발 플라스크에 옮기어 다시 증발시키는 과정을 3회 반복하여 증발 건조시켰다. 최종적으로 증발 건조되어 있는 증발 플라스크에 pH 2.2의 시료 희석 완충액(sodium citrate, hydrochloride, caprylic acid, β-Thiodiglycol, brij35)을 소량 가하여 아미노산을 용해시키고 No. 5B 여과지로 여과하여 50 mL 시료를 만들었다. 황을 함유한 cystine과 methionine 분석을 위한 전처리는 잎 300 mg에 performic acid 20 mL를 가하여 5°C에서 12 h 이상 반응시키고 이를 로타리 증발기에 연결시켜 50°C에서 휘발성물질을 증발시킨 후 6 N hydrochloride 40 mL를 가하여 110°C에서 24 h 가수분해하였다. Tryptophan의 경우 4.2 N sodium hydroxide을 가하고 산소를 제거하기 위해 질소가스를 주입한 후 마개를 막고 110°C에서 20 h 가수분해하였다. 가수분해한 시료를 충분히 냉각시킨 후 No. 5B 여과지로 거르고 0.2 N sodium citrate 완충액(pH 4.2)를 첨가한 다음 70°C 항온수조에서 수분을 증발시켰다. 건조가 완료된 후 sodium citrate 완충액(pH 4.2)와 hydrochloride를 가하여 pH를 4.2로 맞추어 전처리하였다(Kim *et al.*, 2004). 시료는 아미노산 분석기(Amino acid analyzer L-8900, Hitachi, Japan)을 사용하여 분석하였는데 유리아미노산(physiological fluids, PF)과

구성아미노산(protein hydrolysates, PH)량을 분석하기 위하여 ion exchange column(HPLC packed column #2622PF-#2622PH, Hitachi, Japan)을 사용하였다. 완충액(L-8900 buffer solution, Wako, Japan)과 ninhydrin 시약(ninhydrin coloring solution set, Wako, Japan)을 사용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하고 표준시료(PH standard type H, Wako, Japan)와 흡광도를 비교하여 정량하였다.

결과 및 고찰

과습처리에 따른 수체 성장량 변화 차이

*P. betulaefolia*와 *P. calleryana* 실생묘들을 유리온실 베드에서 생육시키며 무처리군과 과습처리군으로 나누어 77일간 시험처리를 한 다음 수체높이를 측정하고 변화한 비율을 계산하여 성장량을 측정하였다. *P. calleryana*에서는 무처리군과 과습처리군 간에 성장량 변화가 유의하게 나타나지 않았으나 *P. betulaefolia*에서는 처리에 따른 수체 높이 변화가 크게 나타났으며 특히 과습처리군에서 성장량이 크게 감소한 것을 확인할 수 있었다(Table 1).

무처리 조건에서 *P. calleryana*의 수체 높이는 34.4±1.9 cm에서 61.7±2.4 cm로 증가하여 성장률이 약 79.4%인 것으로 나타났으나, *P. betulaefolia*의 경우 수체 높이가 25.1±1.0 cm에서 49.8±1.6 cm로 증가하여 약 98.4%의 성장률을 기록하였다. 이를 통해 일반 관행조건에서 *P. betulaefolia*가 *P. calleryana*에 비하여 나무의 높이는 다소 작지만 성장률이 더 높게 나타남을 유추할 수 있었다. 그러나 과습처리 조건에서는 *P. calleryana*가 무처리 조건과 유사한 성장률을 보인 것에 비하여 *P. betulaefolia*의 성장률이 급격하게 낮아짐을 확인할 수 있었는데, 수체 높이가 24.9±1.6 cm에서 38.7±1.2 cm로 변화함에 따라 성장률이 55.4%로 측정되어 무처리 조건에 비하여 성장률이 40% 이상 감소한 것으로 조사되었다. 일반적으로 배나무가 침수에 의하여 피해를 받으면

Table 2. Quantitative analysis for chlorophyll contents in the pear rootstock (*Pyrus betulaefolia*) seedlings affected by excess-moisture injury

Classification	Chlorophyll a (mg/ℓ)		Chlorophyll b (mg/ℓ)	
	Initial ^{a)}	Grown ^{b)}	Initial	Grown
Control ^{c)}	28.5±1.4 ^{d)}	29.2±1.8	13.2±1.7	57.9±4.1
Damped ^{e)}	29.2±0.9	29.8±1.0	14.1±0.3	42.5±2.9
T-test	NS ^{f)}	NS	NS	***

^{a)} Initial stage of the tree growth, before transplantation on the bed.

^{b)} Grown stage of the grown for 77 days on the bed.

^{c)} Grown by conventional farming in the normal bed.

^{d)} Values represent means ± standard error (n=10).

^{e)} Grown in the fully water filled bed.

^{f)} NS and *** indicate non-significant, significant at $P^{***}<0.005$, respectively.

Table 3. Quantitative analysis for chlorophyll contents in the pear rootstock (*Pyrus calleryana*) seedlings affected by excess-moisture injury

Classification	Chlorophyll a (mg/ℓ)		Chlorophyll b (mg/ℓ)	
	Initial ^{a)}	Grown ^{b)}	Initial	Grown
Control ^{c)}	31.2±0.4 ^{d)}	30.0±0.8.	22.1±0.6	58.2±1.4
Damped ^{e)}	31.5±0.5	29.9±1.9	21.7±0.7	56.9±2.2
T-test	NS ^{f)}	NS	NS	NS

^{a)} Initial stage of the tree growth, before transplantation on the bed.

^{b)} Grown stage of the grown for 77 days on the bed.

^{c)} Grown by conventional farming in the normal bed.

^{d)} Values represent means ± standard error (n=10).

^{e)} Grown in the fully water filled bed.

^{f)} NS indicate non-significant.

토양 환경의 변화로 인한 미생물 구성의 변화로 뿌리의 활력이 저해되거나 부패되어 양분의 흡수가 잘 이루어지지 않게 되고 수채 활력이 떨어지며 결국 고사하게 되는데, 73일간의 침수처리를 통해 집단간의 생존율에 큰 차이가 나타나지 않는 것으로 보아 단기간의 침수 처리가 식물체를 고사시킬 정도로 토양환경을 변화시키지는 못하는 것으로 판단된다. 하지만 배나무 종에 따른 습해 민감도가 확인되었는데 *P. calleryana*는 무처리군과 침수처리군 간에 성장량 변화가 크게 나타나지 않은 것에 비하여 *P. betulaefolia*는 침수처리군의 성장량이 무처리군보다 크게 감소하여 *P. betulaefolia*가 *P. calleryana*에 비하여 습해에 민감하다는 결론을 내릴 수 있었다. 비록 장기간의 처리를 완료하지 못하였기 때문에 최종 결론을 내릴 수는 없었지만 본 시험결과로 미루어 볼 때 단기간의 과습처리를 통해서도 배나무 종간의 습해민감도를 구분할 수 있을 것으로 여겨지며 기본적인 생리현상인 성장량 변화를 분석해 볼 때 침수처리에서도 *P. calleryana*가 *P. betulaefolia*에 비하여 수채 활력을 더 잘 유지하기 때문에 습해에 더욱 강한 종으로 판단된다.

과습처리에 의한 유기물 함량 변화

엽록소 함량 변화

엽록소 함량에서는 엽록소a와 엽록소b의 합성량이 다르게

나타났다. 엽록소a의 함량은 배나무 품종간에 약간의 차이가 있었지만 30 mg/L 내외의 비교적 일정한 값을 보였으며, 엽록소b의 함량은 배나무 품종간에 차이가 나타나 *P. betulaefolia*가 *P. calleryana*에 비하여 약 40% 낮은 13 mg/L 내외의 값을 보였다(Table 2, 3). 엽록소 합성량에 있어서는 엽록소a의 경우 배나무 종간에 차이가 없이 생육 초기부터 발달이 진행됨에 따라 큰 차이가 나타나지 않았지만 엽록소 b의 경우 생육이 진행됨에 따라 합성량이 크게 증가하였다. 그러나 엽록소b 합성량에 있어서 배나무 종들 간에 재배조건에 따른 차이가 관찰되었는데 *P. betulaefolia*의 경우 무처리군에서 초기 엽록소b 함량이 13.2±1.7 mg/L에서 생육 후 57.9±4.1 mg/L로 약 4.4배 증가하고 과습처리군에서는 14.1±0.3 mg/L에서 42.5 mg/L로 약 3배 증가한 것에 비하여, *P. calleryana*의 경우에는 처리에 관계없이 엽록소b의 함량이 22 mg/L에서 57 mg/L로 약 2.6배 증가하는 것으로 조사되었다(Table 2, 3). 비록 두 종간에 엽록소 a의 함량 차이는 크게 나타나지 않았지만 엽록소b의 함량은 *P. calleryana*가 *P. betulaefolia*보다 평균 7.5 mg/L, 약 1.6 배 가량 초기에 더 많은 양을 보유한 것으로 나타났다. 초기에 두 종간의 엽록소b 함량 차이가 발생했던 이유는 종에 따른 생육속도의 차이로 인하여 엽록소b 합성량 차이가 발생했던 것으로 판단되는데, 두 종을 77일간 생육시켜 비슷한 활력

Table 4. Comparison of polyphenolic compound contents between *Pyrus betulaefolia* and *Pyrus calleryana* seedlings in normal and damped culture beds

Classification	Polyphenolic compound contents of <i>Pyrus betulaefolia</i> seedlings			Polyphenolic compound contents of <i>Pyrus calleryana</i> seedlings		
	Initial ^{a)} (mg/mL)	Grown ^{b)} (mg/mL)	Increment ^{c)} (%)	Initial (mg/mL)	Grown (mg/mL)	Increment (%)
Control	11.3±1.4	52.3±2.2	462.8± 8.9	12.1±1.8	75.7±2.6	625.6±21.9
Damped	6.4±0.8	60.0±1.1	937.5±27.0	10.9±0.8	67.2±1.3	618.5±10.5
T-test	N/A ^{d)}	N/A	****	N/A	N/A	NS

^{a)} Initial stage of the tree growth, before transplantation on the bed.

^{b)} Grown stage of the grown for 77 days on the bed.

^{c)} Increment means increased rates derived from the pairwise comparison value of polyphenolic compound contents between initial stage and grown stage.

^{d)} N/A, NS and **** indicate non-applicable, non-significant and significant at $P^{****}<0.001$, respectively.

Table 5. Comparison of physiological fluid contents between the normal and damped pear rootstock (*Pyrus betulaefolia*) seedlings

Physiological fluids	Contents (mg/kg)		T-test
	Normal ^{a)}	Damped ^{b)}	
Phosphoserine	11.54±0.43 ^{c)}	10.02±0.91	NS ^{d)}
Taurine	2.01±0.26	1.81±0.40	NS
Phosphoethanol amine	5.65±0.53	5.21±0.47	NS
Urea	0.71±0.04	1.23±0.78	NS
Aspartic acid	14.54±1.29	9.66±1.65	*
Theonine	0.98±0.17	0.81±0.25	NS
Serine	3.12±0.13	1.86±0.43	*
Glutamic acid	26.51±1.17	14.21±2.13	**
Hydroxy proline	1.20±0.13	0.31±0.11	*
Proline	1.11±0.07	0.42±0.20	*
Glycine	1.97±0.29	1.55±0.36	NS
Alanine	12.56±0.18	6.92±1.53	**
Valine	9.19±0.48	7.15±0.41	*
Isoleucine	0.49±0.31	0.20±0.13	NS
Leucine	2.67±0.42	2.98±0.21	NS
γ -amino-n-butyric acid	5.40±0.02	1.13±0.05	**
Ethanol amine	0.95±0.71	0.61±0.41	NS
Ammonia	82.89±2.79	41.06±1.28	*
Hydroxy lysine	0.25±0.19	0.19±0.16	NS
Arginine	2.12±0.43	2.51±0.29	NS

^{a)} Normal : Grown by conventional farming in the normal bed.

^{b)} Damped : Grown in the fully water filled bed.

^{c)} Values represent means \pm standard error (n=5).

^{d)} NS, * and ** indicate non-significant, significant at $P^*<0.05$ and $P^{**}<0.01$, respectively.

을 유지하였을 경우 엽록소b 함량이 약 57.8 mg/L으로 일정하게 유지되는 것으로 보아 *Pyrus* 속에서 엽록소a와 엽록소b의 함량비의 차이는 1:2 ($\chi^2=0.0038$, $P=0.951$)로 나타났다. 그러나 과습처리를 하였을 경우 두 종간에서 엽록소b 함성량이 유의미하게 변화하였는데 *P. calleryana*에서는 무처리군 및 과습처리군에서 엽록소b 함량 변화가 유의미하게 나타나지 않았으나 *P. betulaefolia*의 경우 과습처리하였을 때 엽록소b 함량이 무처리군에 비하여 26.6% 감소하였으며 이 수치는 *P. calleryana*의 엽록소 b의 함량에 비해서도 약

26% 가량 감소한 수치이다. 일반적으로 엽록소a와 엽록소b의 비율은 식물이 음지와 양지에 적응하는 정도에 의하여 변화하는 것으로 알려져 있는데 앞에서 과습처리에 의한 수체 성장량 차이에 의하여 *P. betulaefolia*가 *P. calleryana* 보다 습해에 취약한 것으로 판단하였고 같은 맥락으로 *P. betulaefolia*는 *P. calleryana* 보다 침수에 의한 피해를 더 많이 받으며 이로 인하여 엽록소b 함성량이 줄어드는 것을 통하여 엽록소의 함량비가 과습에 의해서도 변화됨을 알 수 있었다(Givinish, 1988).

Table 6. Comparison of physiological fluid contents between the normal and damped pear rootstock (*Pyrus calleryana*) seedlings

Physiological fluids	Contents (mg/kg)		T-test
	Normal ^{a)}	Damped ^{b)}	
Phosphoserine	12.94±0.52 ^{c)}	11.24±0.93	NS ^{d)}
Taurine	2.19±0.28	2.01±0.20	NS
Phosphoethanol amine	6.15±0.83	4.76±0.71	NS
Urea	0.00±0.00	1.32±0.87	NS
Aspartic acid	16.44±1.30	10.07±1.31	*
Theonine	1.15±0.04	0.70±0.15	*
Serine	3.45±0.13	2.06±0.36	*
Glutamic acid	30.05±1.71	16.16±2.31	**
Hydroxy proline	1.07±0.12	0.54±0.31	NS
Proline	1.51±0.09	0.49±0.26	*
Glycine	1.85±0.15	1.21±0.26	NS
Alanine	11.52±0.63	7.12±1.34	*
Valine	8.97±0.38	6.51±0.50	*
Isoleucine	0.45±0.23	0.00±0.00	NS
Leucine	2.96±0.10	2.85±0.61	NS
γ-amino-n-butyric acid	4.54±0.03	2.35±0.25	*
Ethanol amine	0.00±0.00	0.67±0.44	NS
Ammonia	85.72±6.48	58.66±8.98	NS
Hydroxy lysine	0.26±0.14	0.20±0.13	NS
Arginine	1.09±0.41	2.26±0.39	NS

^{a)} Normal : Grown by conventional farming in the normal bed.

^{b)} Damped : Grown in the fully water filled bed.

^{c)} Values represent means ± standard error (n=5).

^{d)} NS, * and ** indicate non-significant, significant at $P^* < 0.05$ and $P^{**} < 0.01$, respectively.

Table 7. Comparison of protein hydrolysate contents between the normal and damped pear rootstock (*Pyrus betulaefolia*) seedlings

Protein hydrolysates	Contents (mg/kg)		T-test
	Normal ^{a)}	Damped ^{b)}	
Aspartic acid	0.401±0.011 ^{c)}	0.314±0.012	** ^{d)}
Threonine	0.215±0.005	0.199±0.007	*
Serine	0.189±0.003	0.168±0.006	*
Glutamic acid	0.511±0.012	0.47±0.010	*
Proline	0.227±0.006	0.200±0.005	*
Glycine	0.259±0.003	0.221±0.005	**
Alanine	0.281±0.005	0.243±0.006	**
Valine	0.247±0.009	0.243±0.007	NS
Isoleucine	0.143±0.006	0.120±0.008	*
Leucine	0.415±0.012	0.309±0.013	**
Tyrosine	0.110±0.005	0.107±0.007	NS
Phenylalanine	0.255±0.003	0.229±0.006	*
Histidine	0.071±0.002	0.069±0.003	NS
Lysine	0.171±0.003	0.140±0.002	***
Arginine	0.234±0.006	0.213±0.007	*
Cystine	0.029±0.001	0.030±0.000	NS
Methionine	0.078±0.003	0.077±0.003	NS
Tryptophan	0.018±0.005	0.019±0.004	NS

^{a)} Normal : Grown by conventional farming in the normal bed.

^{b)} Damped : Grown in the fully water filled bed.

^{c)} Values represent means ± standard error (n=5).

^{d)} NS, *, ** and *** indicate non-significant, significant at $P^* < 0.05$ and $P^{**} < 0.01$, $P^{***} < 0.005$ respectively.

Table 8. Comparison of protein hydrolysate contents between the normal and damped pear rootstock (*Pyrus calleryana*) seedlings

Protein hydrolysates	Contents (mg/kg)		
	Normal ^{a)}	Damped ^{b)}	T-test
Aspartic acid	0.427±0.009 ^{c)}	0.370±0.010	* ^{d)}
Threonine	0.227±0.003	0.203±0.007	*
Serine	0.207±0.003	0.193±0.007	NS
Glutamic acid	0.527±0.015	0.460±0.015	*
Proline	0.197±0.003	0.170±0.006	*
Glycine	0.257±0.003	0.220±0.006	**
Alanine	0.280±0.006	0.243±0.007	*
Valine	0.267±0.009	0.233±0.007	*
Isoleucine	0.220±0.006	0.187±0.009	*
Leucine	0.437±0.009	0.377±0.013	*
Tyrosine	0.120±0.006	0.123±0.007	NS
Phenylalanine	0.287±0.007	0.243±0.012	*
Histidine	0.080±0.000	0.067±0.003	NS
Lysine	0.183±0.003	0.157±0.003	***
Arginine	0.243±0.007	0.223±0.007	NS
Cystine	0.030±0.000	0.030±0.000	NS
Methionine	0.087±0.003	0.077±0.003	NS
Tryptophan	0.023±0.003	0.027±0.003	NS

^{a)}Normal : Grown by conventional farming in the normal bed.

^{b)}Damped : Grown in the fully water filled bed.

^{c)}Values represent means ± standard error (n=5).

^{d)}NS, *, ** and *** indicate non-significant, significant at $P^* < 0.05$ and $P^{**} < 0.01$, $P^{***} < 0.005$ respectively.

총 폴리페놀 함량 변화

*P. betulaefolia*와 *P. calleryana* 두 종간에서 나타나는 과습에 의한 유기물 합성량 차이는 총 폴리페놀 함량에서도 확인되었다. 폴리페놀 함량은 식물의 생육이 진전됨에 따라서 증가하였는데 *P. calleryana*의 경우 무처리군에서 폴리페놀 함량이 생육 초기에 12.1 mg/mL에서 77일 생육 후 75.7 mg/mL로 약 6.3배 증가하였다. 이러한 양상은 과습처리를 하였을 때도 유사하게 나타나 과습처리군에서 초기에 10.9 mg/mL의 함량을 보였으나 처리 후 67.2 mg/mL의 함량을 보여서 무처리군과 유사하게 약 6.2배의 증가율을 보였다. 그러나 *P. betulaefolia*의 경우에는 처리에 따른 총 폴리페놀 함량 변화가 크게 나타나 무처리군에서는 초기에 11.3 mg/mL의 함량을 보여 *P. calleryana*와 유사한 수치를 보였지만 생육 후에는 약 4.6배가 증가한 52.3 mg/mL로 기록되어 *P. calleryana* 보다 다소 낮은 측정값을 보인 것에 비해 과습처리군에서는 초기에 6.4 mg/mL의 값을 보였으나 처리 종료 시점에서 폴리페놀 함량이 60.0 mg/mL로 약 9.4배 증가하였다. 과습처리군에서 초기의 폴리페놀이 매우 낮게 나타난 점이 특이하였기 때문에 실험의 오차로서 판단하고 있을 다시 채취하여 동일한 처리를 거쳐 재측정하였으나 전과 동일한 측정값을 얻을 수 있었다. 같은 종의 실험묘라고 할지라도 개체차이와 환경차이를 고려하여 측정값을 인

정하였다. 처리방법 및 배나무 종에 따라 *P. betulaefolia*와 *P. calleryana* 실험묘를 각각 10주씩 선발하여 총 폴리페놀 함량 변화를 조사한 결과 *P. calleryana*의 경우 과습 처리에 의한 총 폴리페놀 함량 변화가 적었던 것에 비하여 *P. betulaefolia*의 경우 무처리군에 비하여 과습처리를 하였을 때 총 폴리페놀 함량이 2배 이상 증가하였다. 해당 결과를 토대로 *P. betulaefolia*가 *P. calleryana*에 비하여 과습에 민감하게 반응하여 크게 영향 받음을 알 수 있었고 습해가 일부 배나무 종에서 총 폴리페놀 합성량 증가를 유도할 수 있는 것으로 조사되었다. 아직까지 배나무의 습해 피해에 관한 연구가 활발하게 진행되지 않아 총 폴리페놀 함량이 습해 방어기작에 어떠한 기여를 하는지 확인되지는 않았지만 습해 생리에 관여한다는 점은 확인할 수 있었다.

아미노산 함량 변화

과습처리는 엽록소량과 폴리페놀량 뿐만 아니라 아미노산량에도 영향을 미쳤는데, 과습처리 전과 후로 나누어 *P. betulaefolia*와 *P. calleryana*의 잎에 존재하는 아미노산량을 분석한 결과 과습처리에 의하여 배나무 잎에 존재하는 아미노산량이 전체적으로 감소한 것을 확인할 수 있었다(Table 5, 6, 7, 8). 유리아미노산량과 구성아미노산량에서 동일하게 전체적인 함량이 감소하는 것으로 나타났는데, 특히 유리아미

노산에서 유기산 함량이 크게 감소하여 *P. betulaefolia*의 aspartic acid 함량이 14.54 mg/kg에서 9.66 mg/kg으로 유의미하게 감소하였으며 glutamic acid와 γ -amino-n-butyric acid 함량은 각각 26.51 mg/kg에서 14.21 mg/kg, 5.40 mg/kg에서 1.13 mg/kg으로 크게 감소하였다. 이러한 경향은 *P. calleryana*에서도 유사하게 나타나 aspartic acid 함량이 16.44 mg/kg에서 10.07 mg/kg으로 감소하였고 γ -amino-n-butyric acid 함량은 4.54 mg/kg에서 2.35 mg/kg으로 감소하였으며 특히 glutamic acid 함량이 30.05 mg/kg에서 16.16 mg/kg으로 크게 감소하였다. 이외에 proline, serine, theonine, alanine, valine, ammonia 등의 함량이 유의미하게 감소하는 것으로 나타났으나 배나무 종에 따라 감소하는 성분 차이가 발생하였다. 구성아미노산은 유리아미노산에 비하여 상대적으로 전체적인 함량이 매우 낮았는데 lysine, aspartic acid, glycine, alanine 및 leucine 함량이 고도의 유의차를 가지고 감소하는 것으로 나타났으며, 이외에 glutamic acid, threonine, proline, isoleucine, leucine 및 phenylalanine 등이 다소 감소하였다. 처리에 의하여 유의미하게 함량이 변화하는 아미노산들은 식물의 방어기작에 요구되는 물질 합성에 직접적으로 관여하는 요소로서 작용할 것으로 판단되는데, 아직까지 배나무뿐만 아니라 타 작목에서도 습해 방어기작에 대한 연구가 거의 이루어지지 않았기 때문에 본 실험 결과를 참고로서 함량 변화가 나타난 물질들의 생합성 기작에 관한 연구를 추가적으로 수행한다면 습해 방어기작에 대한 이해를 크게 높일 수 있을 것으로 생각된다.

과습에 의한 식물 반응 및 물질합성량 변화가 습해 방어 기작에 가지는 의의

과습은 수분에 의한 스트레스 중의 하나로서 과습에 의한 피해 양상이 가뭄에 의해서 나타나는 형태와 비슷할 것으로 생각되었으나 실제로는 상당히 다르게 나타났다. 가뭄 상태에서는 수분 부족으로 인하여 단기간에 식물 조직이 고사하는 반응이 나타나지만, 과습 처리의 경우 단기간에 식물에 직접적인 피해가 나타나지 않았다. *P. betulaefolia*와 *P. calleryana*를 무처리군과 과습처리군으로 나누어 약 77일간 과습처리하였을 때 *P. betulaefolia* 실생묘들을 과습처리한 실험군에서 생장이 저해되어 무처리 조건에 비하여 수고가 낮게 나타났으며 잎의 발달이 좋지 못해 엽록소량이 줄어드는 피해 반응이 나타났다. 습해는 토양 과습에 의한 산소부족과 온도상승에 의한 미생물의 왕성한 생육으로 토양이 환원됨에 따라 나타나는 여러 가지 유해 작용에 의해 나타나게 된다. 즉, 습해가 유발되면 토양에 산소가 부족해지고 침수에 의하여 P, K, Mg 등 무기질이 유실되며, 토양미생물 활동에 의하여 토양환원이 나타나고 유해물질 및 유기산 생성이 진행되어 점차 뿌리의 활력이 떨어지게 된다(Cho et al., 1982). 결국 뿌리 조직이 괴사 또는 부패하여 양분 흡수가 원활하게 이루어지지 않게 되어 식물체가 죽게 되는 것이다. 본 실험결과에 의하면 약 77일간의 과습처리로 인하여 배나무의

아미노산량이 전체적으로 감소하는 것으로 나타났다. 이는 과습에 의한 과도한 토양미생물 활동과 유해물질의 축적, 무기질의 유실과 뿌리 조직의 부패로 인하여 뿌리에서 원활한 양분흡수가 이루어지지 못했기 때문이다. *P. betulaefolia*의 경우에는 엽록소량 감소로 인한 배나무 잎의 동화효율 저하와 함께 뿌리활력 저하로 인한 양분흡수를 감소가 복합적으로 작용하여 결과적으로 실생묘들의 유기물 총량 감소가 나타난 것으로 판단되며, 배나무에서 과습에 의한 피해는 결국 유기물 함량의 감소로 이어진 식물 활력의 저하가 성장량 감소 및 엽록소 등 유기물 조성의 변화를 일으키는 것으로 예상할 수 있다. 페놀화합물의 경우 환경적인 스트레스에 의하여 대사체 합성량이 증가하는 것으로 알려져 있다(Dixon and Paiva, 1995). 동화물질 합성 및 양분 흡수가 제한되어 있는 상황에서 나타나는 아미노산량 감소와 페놀화합물 합성량 증가 현상은 식물체가 스트레스 상황에서 한정된 탄소원을 사용하여 개체를 보호하기 위한 방어물질로서 항산화물질을 생산하는 기작으로 예측할 수 있는데, 본 연구결과를 종합해볼 때 *P. betulaefolia*는 *P. calleryana*에 비하여 습해에 더욱 민감하게 반응하기 때문에 *P. betulaefolia*의 과습처리군에서 나타난 성장량, 엽록소량의 감소 및 급격한 총 폴리페놀량 증가는 *P. betulaefolia*의 습해 방어기작 중의 한가지로 판단되어진다(Warren et al., 2011). 따라서 우리나라에서 배나무의 대목으로 주로 사용되고 있는 *P. betulaefolia*는 습해에 대한 민감성이 커서 성장량 감소 및 수체활력 저하 등 생리적인 악향을 받기 쉽기 때문에 하습대 기후가 두드러지는 우리나라에서는 대목으로서의 사용을 지양하고 *P. betulaefolia* 보다 내습성이 뛰어난 *P. calleryana* 또는 다른 종을 대목으로 사용하는 것이 효율적이라 판단된다.

식물은 외부 환경변화 및 스트레스에 능동적으로 대처할 수 있다. 과습에 의한 피해는 우리나라와 같은 하습대 기후의 국가에서 빈번히 발생하는 일임에도 불구하고 배나무를 비롯한 대부분의 작물에서 습해와 관련한 방어기작 및 저항성 연관 물질에 관한 연구는 아직도 걸음마 단계에 있다. 본 연구에서 도출한 결과들은 배나무 대목들이 습해에 반응하여 나타내는 현상들로서 배나무의 습해 방어기작을 연구하는데 유용하게 활용될 수 있을 것이라 여겨진다. 이를 토대로 배나무의 내습성 생리기작 연구가 국내에서 더 활성화되기를 바라며 본 연구결과가 내습성 대목 선발을 위한 참고자료로서 활용될 수 있기를 기대한다.

요 약

우리나라를 포함한 동북아시아에서 나타나는 하습대 기후에서는 여름철에 강우가 집중되는 특징이 있는데, 장마기에 과도한 강우량으로 인한 피해가 지속적으로 보고되고 있다. 국립원예특작과학원 배연구소에서는 과습에 의한 피해를 감소시키기 위하여 내습성을 가지는 개체들의 교배육종을 진행해오고 있다. 본 연구에서는 대표적인 배 대목 품종으로서 *P. betulaefolia*와 *P. calleryana*를 사용하여 무처리군(수분 압

력 -20 ~ -50 kPa)과 과습처리군(수분 압력 -10 kPa 이하)에서 77일간 생육하여 조건에 따른 수채생장량, 엽록소 함량, 폴리페놀 함량 및 아미노산 합성량 차이를 분석하였다. 그 결과 *P. calleryana*는 무처리군과 비교하여 과습처리군에서 유기물 합성량의 변화가 유의미하게 관찰되지 않았으나 *P. betulaefolia*는 과습처리군에서 수채생장률이 무처리군 대비 40% 이상 감소하였고, 엽록소a의 함량 차이는 나타나지 않았으나 엽록소b 함량이 무처리군에 비하여 40% 가량 감소하였다. 아미노산량은 배나무 중에 관계없이 관행재배군보다 과습처리군에서 전체적으로 낮게 측정되었다. 그러나 총 폴리페놀 함량은 과습처리에 의하여 오히려 증가하였는데 *P. betulaefolia*의 과습처리군에서 무처리군 보다 9.4배 높게 측정되었다. 식물이 환경스트레스에 대응하여 방어물질 및 항산화물질의 합성량을 증가시킨다는 사실은 지속적으로 보고되어 왔다. 습해에 의하여 배 대목들이 합성하는 유기물 함량 차이를 분석하고, 방어기작에 관여할 것으로 예상되는 물질들을 탐색한 이번 연구 결과는 배나무의 습해 방어기작 및 생리기작 연구에 기여할 수 있을 것으로 여겨지며, 향후 내습성 대목 선발을 위한 지표 중의 하나로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

Acknowledgment

This work was carried out with the support of "Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (Project No. PJ009249022016)" Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

- Byun, J. K., Tanabe, K. J., Hayashi, S. N., & Hirata, N. M. (1978). A study on the absorption of water and cations in two pear rootstocks; *Pyrus betulaefolia* B. resistant to and *Pyrus serotina* R. susceptible to physiological disorder "Yubu Fruit Phenomenon". Journal of Korean Society for Horticultural Science, 19(1), 35-40.
- Cho, C. H., Lee, E. S., Ha, Y. W., & Lee, J. I. (1982). Meteorological constraints and countermeasures in winter crop production. Korean Journal of Crop Science, 27(4), 411-434.
- Dixon, R. A., & Paiva, N. L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. The plant cell, 7(7), 1085.
- Givnish, T. J. (1988). Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. Functional Plant Biology, 15(2), 63-92.
- Haber, M. F., Young, E., & Faust, M. (1983). Effects of PEG-induced water stress on calcium uptake in peach seedlings. Journal of the American Society for Horticultural Science, 108(5), 1078-1080.
- Inskeep, W. P., & Bloom, P. R. (1985). Extinction coefficients of chlorophyll a and b in N, N-dimethylformamide and 80% acetone. Plant physiology, 77(2), 483-485.
- Kang, S. S., Cho, K. S., Son, D. S., Song, J. H., Kim, Y. K., Jeong, S. B., Kim, J. B., Kim, M. S., & Lee, S. H. (2008). Field performance test of 'Baeyun No. 1' selected as resistant rootstock against some physiological disorders of pear fruits. Korean Journal of Horticultural Science & Technology, 26(3), 296-301.
- Kim, S. L., Park, N. K., & Son, J. R. (2004). Analysis of amino acids. Korean Journal of Crop Science, 49(1), 3-16.
- Lee, D. K., & Lee, J. C. (1989). Studies on flooding tolerance and its physiological aspects in fruit trees - I. flooding tolerance by cultivars in different fruit species. Horticulture Environment and Biotechnology, 30(3), 215-223.
- Park, Y. S., Suh, H. S., Son, D. S., Yoo, B. S., Kweon, K. B., Yun, S. K., & Kim, Y. C. (2007). Research on developing the High efficient pesticidal spray program for pear with reduced chemical use. Korean Journal of Horticultural Science & Technology, 24(S1), 109-109.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of follin-ciocalteu reagent. Methods in enzymology, 299C, 152-178.
- Tamura, F. (1995). Relationship between water tolerance and cyanide-resistant respiration in pear rootstocks. Journal of Japanese Society for Horticultural Science, 64(1), 47-54.
- Tanabe, K., Hayashi, S., & Hirata, N. (1977). Studies on "Yuzuhada"-disorder of Nijisseiki pear fruit (*Pyrus serotina*), 4: Relation between mineral nutrient contents and occurrence of the disorder. Journal of Japanese Society for Horticultural Science, 45(4), 335-341.
- Tanabe, K., Hayashi, S., & Hirata, N. (1978). Studies on "Yuzuhada"-disorder of Nijisseiki pear fruit (*Pyrus serotina*), 5: Relationship of K application, and soluble K, Ca and Mg contents of fruit to the incidence of the disorder. Journal of Japanese Society for Horticultural Science, 47(3), 317-326.
- Tanksley, S. D. (1993). Mapping polygenes. Annual Review of Genetics, 27(1), 205-233.
- Warren, C. R., Aranda, I., & Cano, F. J. (2011). Responses to water stress of gas exchange and metabolites in *Eucalyptus* and *Acacia* spp. Plant, Cell & Environment, 34(10), 1609-1629.
- Yano, M., & Sasaki, T. (1997). Genetic and molecular dissection of quantitative traits in rice. Plant Molecular Biology, 35(1), 145-153.