

## 과산화수소 엽면 처리에 의한 수수에서 한발 스트레스 완화 효과

심두보<sup>1,§</sup> · 이승하<sup>2,§</sup> · 정종일<sup>3</sup> · 김민철<sup>3</sup> · 정정성<sup>3</sup> · 이영훈<sup>2</sup> · 전승호<sup>4</sup> · 송기은<sup>5</sup> · 심상인<sup>3,†</sup>

### Mitigation Effects of Foliar-Applied Hydrogen Peroxide on Drought Stress in *Sorghum bicolor*

Doo-Do Shim<sup>1,‡</sup>, Seung-Ha Lee<sup>2,‡</sup>, Jong-Il Chung<sup>3</sup>, Min Chul Kim<sup>3</sup>, Jung-Sung Chung<sup>3</sup>, Yeong-Hun Lee<sup>2</sup>, Seung-Ho Jeon<sup>4</sup>, Gi-Eun Song<sup>5</sup>, and Sang-In Shim<sup>3,†</sup>

**ABSTRACT** Global climatic change and increasing climatic instability threaten crop productivity. Due to climatic change, drought stress is occurring more frequently in crop fields. In this study, we investigated the effect of treatment with hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) before leaf development on the growth and yield of sorghum for minimizing the damage of crops to drought. To assess the effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on the growth of sorghum plant, 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was used to treat sorghum leaves at the 3-leaf stage during growth in field conditions. Plant height, stem diameter, leaf length, and leaf width were increased by 7.6%, 9.6%, 8.3% and 11.5%, respectively. SPAD value, chlorophyll fluorescence (Fv/Fm), photosynthetic rate, stomatal conductance, and transpiration rate were increased by 3.0%, 4.9%, 26.0%, 23.4% and 12.7%, respectively. The amount of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the leaf tissue of sorghum plant treated with 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was 0.7% of the applied amount after 1 hour. The level increased to approximately 1.0% after 6 hours. The highest antioxidant activity measured by the Oxygen Radical Absorbance Capacity assay was 847.3  $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  at 6 hour after treatment. However, in the well-watered condition, the concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the plant treated by the foliar application of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was 227.8  $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  higher than that of the untreated control. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment improved all the yield components and yield-related factors. Panicle length, plant dry weight, panicle weight, seed weight per plant, seed weight per unit area, and thousand seed weight were increased by 8.8%, 18.0%, 24.4%, 24.7%, 29.9% and 7.1%, respectively. Proteomic analysis showed that H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment in sorghum increased the tolerance to drought stress and maintained growth and yield by ameliorating oxidative stress.

**Keywords** : drought stress, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, oxidative stress, proteomics, sorghum

**수수**(*Sorghum bicolor* L. Moench)는 식물학적으로 화본과(Poaceae)에 속하는 일년생식물로서(Kim *et al.*, 2006) 열대 아프리카에서 유래되었으며, 열대 및 아열대 기후 지역에서 많이 재배되고 있다. 수수가 열대 기후에 잘 적응하는 이유는 줄기와 잎의 표면에 얇은 왁스층이 발달했고, 중륵을 따라 기동세포가 발달되어 있어 건조 시에는 급속히 잎을 접어 증산을 억제할 수 있기 때문이다(Chang *et al.*,

2005). 특히 최근 들어 지구온난화가 급속하게 진행되면서 극심한 가뭄과 사막화 등의 문제점이 커지고 있어(Fraedrich *et al.*, 2001; Beck *et al.*, 2006), 이상 기후에 대비하여 수수와 같은 가뭄에 강한 작물 연구가 시급한 실정이다.

봄에 수수를 파종하는 우리나라의 경우 봄철 가뭄 발생은 수수의 초기 생육 및 발근에 부정적인 영향을 주게 되고, 지속적인 한발 조건에서는 관수를 시행하더라도 광합

<sup>1)</sup>(재)하동녹차연구소 연구원 (Researcher, Institute of Hadong Green Tea, 3748-14, Seomjingang-daero, Hwagae-myeon, Hadong-gun 52304, Korea)

<sup>2)</sup>경상대학교 농학과 석사과정 (MSc Student, Department of Agronomy, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea)

<sup>3)</sup>경상대학교 농학과 교수 (Professor, Department of Agronomy, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea)

<sup>4)</sup>순천대학교 웰빙자원학과 교수(Professor, Wellness Resources Department, Suncheon National University, Suncheon-si 57922, Korea)

<sup>5)</sup>경상대학교 응용생명과학부 BK21+ 프로그램 박사과정 (PhD Student, Department of Applied Biological Science, Applied Biology (BK Plus), Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea)

<sup>§</sup>These authors contributed equally.

<sup>†</sup>Corresponding author: Sang-In Shim; (Phone) +82-55-772-1873; (E-mail) sishim@gnu.ac.kr

<Received 17 March, 2020; Revised 8 April, 2020; Accepted 11 May, 2020>

성 능력이 정상화되기까지 수일이 소요되므로 수수의 수량에서도 영향을 준다(Souza *et al.*, 2004). 한발은 기본적으로 토양 수분 부족에 기인하므로 근본적인 대책은 관수를 하는 것이며, 관수가 곤란할 경우는 재배적 조치로 토양 피복, 중경 외에도 육종학적 방법으로 내한성 품종 개발 등이 있으나, 이러한 방법들은 노동력과 시간 및 경제적 비용이 소요되는 단점 및 한계가 있다.

한발 피해에 대한 작물의 내성 강화는 근권 발달 강화, 증산 억제를 통한 체내 수분 함량 유지와 같은 수분관계의 조절이 대표적인 방법이다. 수분 스트레스로 인한 또다른 피해는 산화적스트레스에 의한 것이며 이러한 피해는 항산화 능력 강화로 그 피해를 줄일 수 있다(Liu *et al.*, 2010; Yushi *et al.*, 2011). 이와 관련하여 항산화 능력의 증진을 위한 방법으로 과산화수소의 인위적 처리가 효과를 나타낸다고 알려져 있으며, 여러 작물들에서 그 효과가 보고되었다(Byun & Choi, 2003; Woo *et al.*, 2006; Woo *et al.*, 2005).

본 연구는 기후 변화로 야기되는 한발 스트레스에 대한 대처 방안으로 과산화수소 처리가 수수의 생육 및 수량 관련 형질에 미치는 효과를 분석하였다. 또한 향후 수수의 내한성 증진을 위한 품종 육성과 재배법 개선의 기초 자료로 활용하고자 한발 조건 하에서 과산화수소 처리에 의한 수수 잎의 단백질 변화 특성을 확인하였다.

## 재료 및 방법

### 수분 조건 및 과산화수소 처리 방법

공시재료로 2004년 국립식량과학원에서 육성된 조숙성 및 다수성 품종인 황금찰수수를 이용하였다. 자연 강우를 배제하기 위해 비가림 시설(5 m × 30 m)에서 15 cm 간격으로 점적공이 뚫린 점적 호수를 설치하여 적습 및 한발 수준을 조절하였다. 수수는 2016년 6월 17일에 육묘 트레이에 파종한 뒤, 주간·조건 거리는 30 × 100 cm로 하여 비가림 시설에 7월 1일 이식하였다. 이식 1일 전 수수 유묘에 무처리(증류수(0 mM))로, 과산화수소 처리는 10 mM 농도로 각각 엽면 처리하였다. 적습 조건은 2일 간격(이식 당일 포함)으로 2시간씩 점적 구당 625 ml·h<sup>-1</sup>을 관수하여 모관수 pF 2.86~2.91 (≒-0.8~1.0 MPa) 수준으로 토양 수분을 조절하였으며, 한발 조건은 10일 간격(이식 당일 포함)으로 1시간씩 점적 구당 625 ml·h<sup>-1</sup>을 관수하여, 토양 수분 상태를 pF 4.53~4.56 (≒-3.1~3.5 MPa) 수준으로 토양 수분을 조절하였다.

### 수수 생육 및 수량 관련 형질 조사

#### 생육 조사

생육 조사는 이식 30일과 60일때 수수의 초장 및 줄기 직경, 엽장 및 엽폭을 측정하였다. 그에 따른 방법으로 초장은 지면에서부터 이삭끝까지 길이를 측정하였고, 줄기 직경은 줄기 첫째 마디와 둘째 마디 사이의 두께, 엽장과 엽폭은 상위 3번째 엽의 길이와 폭을 측정하였다.

#### 수량 관련 형질 조사

수량 조사는 건물중, 수분 함량, 이삭 길이, 주당 이삭중, 주당 종실중, 천립중을 10반복으로 조사하였다. 식물체 수분 함량은 생체중 및 건물중 차이를 이용하여 구하였으며, 이삭중과 종실중은 재식밀도를 고려하여 ha 당 이삭중 및 종실중으로 표기하였다.

#### 생리적 형질 조사

##### 엽 녹색도(SPAD), 엽록소 형광(Fv/Fm)

생리적 형질 조사는 이식 30일 차에 상위 3번째 잎의 중간부분을 대상으로 엽 녹색도(SPAD)와 엽록소 형광(Fv/Fm)을 조사하였다. 엽 녹색도는 SPAD-502 (Minolta Japan)을 이용하였고, 엽록소 형광은 chlorophyll fluorometer (OS-30p, Opti-sciences, USA)을 이용하여 측정하였다.

#### 광합성 관련 형질

과산화수소 엽면 처리에 대한 광합성 능력 변화를 알아보기 위하여 상대습도 44.3% (±5.8), 대기 온도 34°C (±1.6), 광량 589.7 μm·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> (±192.1), 이산화탄소 농도 412.4 ppm (±9.8)의 조건에서 광합성 측정기(CID-340, Bio-Science, USA)를 이용하여 이식 후 30, 49, 63, 77, 91일에 오전 11시부터 오후 2시 사이에 생리 조사와 동일한 엽 위치에서 측정하였다.

#### 과산화수소 함량 및 항산화 활성

수수 유묘가 3 엽기에 도달하였을 때 10 mM 과산화수소를 엽면 처리하여 1시간, 6시간, 12시간, 24시간, 48시간, 72시간 차에 각각 수수 유묘 시료를 수집하여 시간별 엽내 과산화수소 함량 조사하였으며, 포장 실험에는 과산화수소 엽면 처리 2주 후, 수분 조건 및 과산화수소 처리별 무작위로 5개체를 수집하여 엽내 과산화수소 함량(Xu *et al.*, 2015)과 엽내 항산화 활성(Ou *et al.*, 2001)을 분석하였다.

**단백질 발현 변화**

**단백질 추출**

한발 처리 2주 후, 수분 조건 및 과산화수소 처리 별로 수집된 수수 잎을 액체 질소로 분말화하였다. 분말 5 g 정도를 15 ml 튜브에 넣고 80% 아세톤으로 1회 세척하고 원심분리하여 상정액을 제거하고 공기 건조한 후 페놀 법 (Wang *et al.*, 2008)을 응용하여 단백질을 추출하였다. 건조된 단백질에 lysis buffer (7 M Urea, 2 M Thiourea, 4% CHAPS, 40 mM DTT)를 넣어 상온에서 1시간 반응시킨 다음 원심분리하여 상정액을 1.5 ml 튜브에 옮기고 -80°C 이하에서 보관하였다.

**이차원 전기영동**

추출한 단백질은 Bradford 법으로 정량하였으며(Bradford, 1976), Kim *et al.* (2008)의 논문을 응용하여 추출한 단백질 900 µg을 Protein IEF Cell (Bio-Rad)에서 rehydration 및 focusing을 수행하였다. Focusing이 완료된 단백질을 평형화시킨 다음, 12%의 SDS gel (185 × 200 × 1.0 mm) 위에 얹어 Protean II XI 전기영동장치(Bio-Rad)를 이용하여 전기영동을 하였다. 전기영동이 완료된 gel을 Coomassie brilliant blue G-250 (Genomic Base) 용액에서 24시간 동안 염색하였다(Yokozaki *et al.*, 2001; Park *et al.*, 1999; Bérout & Soussi, 1997; Birchmeier & Behrens, 1994; Ji *et al.*, 2002).

**질량 분석기(MALDI-TOF-TOF)를 이용한 단백질 동정**

Coomassie brilliant blue로 염색된 젤에서 차이가 나는 단백질 부분을 젤에서 분리해 3차 증류수와 50% acetonitrile 용액으로 각각 세척 하였다. 그리고 100% acetonitrile를 가한 후, 여기에 0.1 M ammonium bicarbonate을 포함하는 acetonitrile 용액으로 15분간 세척 후 건조하였다. 건조된 젤 조각에 10 mM dithioereitol을 포함하는 0.1 M ammonium bicarbonate을 가하여 56°C에서 45분간 반응시킨 후 용액을 제거하고 55 mM iodoacetamide을 포함하는 0.1 M ammonium bicarbonate 용액을 가하여 암조건에서 30분간 반응시킨 후 용액을 제거하고 0.1 M ammonium bicarbonate를 포함하는 acetonitrile으로 15분간 세척 후 다시 건조하였다. 건조된 젤 조각에 12.5 µg/µl 트립신 용액 20 µl넣고 37°C에서 16~19시간 동안 가수분해시킨 후, 가수분해된 단백질을 추출한 다음, 질량분석기(MALDI-TOF-TOF) 및 MS-FIT 검색 프로그램인 UniProt (<https://www.uniprot.org>)과 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 데이터베이스를 이용하여 단백질을 동정하였다(Roovers *et al.*, 2001).

**통계 분석**

조사별로 얻어진 데이터는 SAS 프로그램(ver. 9.3. Cary, USA)을 이용하여 PROC ANOVA로 분산분석을 실시하고 DMRT (Duncan's multiple range test)를 통해  $p < 0.05$  수준에서 평균값을 비교하였다.

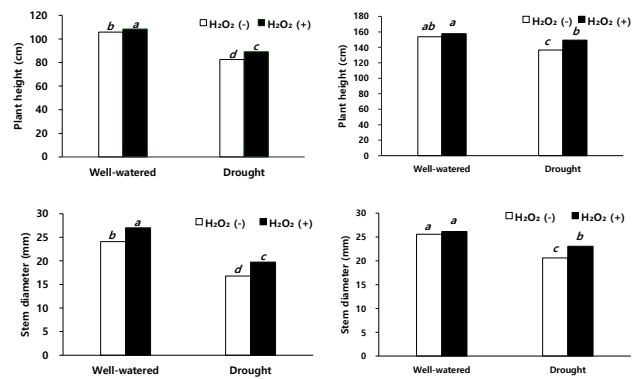
**결과 및 고찰**

**수수 생육 및 수량 관련 형질 조사**

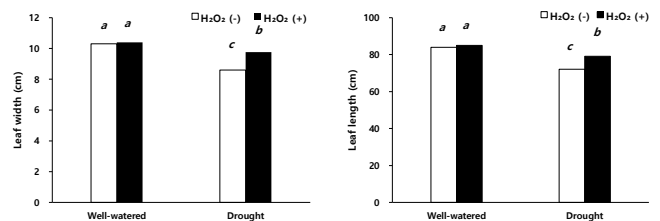
**생육 조사**

수수 이식 30일 후 생육 조사 결과(Fig. 1), 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리가 가장 우수한 것으로 나타났다. 적습+H<sub>2</sub>O 처리에서 수수 초장은 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 대비 2.4% 감소하였고, 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리와 한발+H<sub>2</sub>O 처리는 각각 17.8%, 23.9% 감소를 보였다. 따라서 한발+H<sub>2</sub>O 처리에서 초장이 가장 큰 감소를 보였다(Fig. 1). 줄기 하단부 직경은 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리와 한발+H<sub>2</sub>O 처리에서 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 대비 각각 26.8%, 37.7% 감소한 것을 보였다(Fig. 1).

이식 60일 후 초장과 줄기 직경(Fig. 1)은 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에서 가장 높았다. 초장과 줄기 직경은 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 대비, 적습+H<sub>2</sub>O 처리에서 각각 2.5%, 2.3% 감소하였고, 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>



**Fig. 1.** Influences of foliar-applied H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on plant height and stem diameter of sorghum plants at 30 (left) and 60 days (right) after treatment.



**Fig. 2.** Influences of foliar-applied H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on leaf width and leaf length of sorghum plants at 60 days after treatment.

처리에는 각각 5.7%, 11.8% 감소하였다(Fig. 1). 한발+H<sub>2</sub>O 처리는 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 대비, 초장과 줄기 직경이 각각 13.3%, 21.4%로 가장 큰 감소율을 보였다(Fig. 1). 이식 60일 후, 적습+H<sub>2</sub>O 처리에서 엽폭과 엽장은 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 대비 각각 1.0%, 1.2% 감소, 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리는 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 대비, 각각 5.8%, 6.9% 감소, 한발+H<sub>2</sub>O 처리는 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 대비, 각각 17.3%, 15.2%로 한발+H<sub>2</sub>O 처리에서 가장 큰 감소를 보였다(Fig. 2).

**수량 관련 형질 조사**

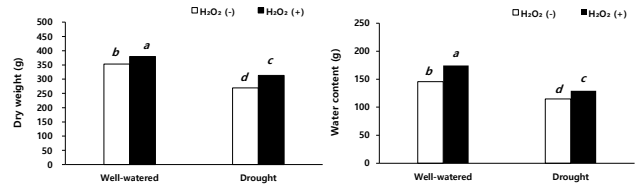
수수의 수량 관련 형질 및 수량 결과를 보면 이삭 길이, 수분 함량, 건물중, 이삭중, 주당 종실중, 단위면적당 이삭중, 단위면적당 종실중 그리고 천립중에서 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리가 가장 높았다(Figs. 3, 4, 5). 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 대비, 이삭 길이는 적습+H<sub>2</sub>O 처리(1.6%), 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리(16.8%), 한발+H<sub>2</sub>O 처리(25.6%) 순으로 낮았다(Fig. 6). 식물체의 수분 함량은 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 대비, 적습+H<sub>2</sub>O 처리는 7.1%, 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리는 17.4% 감소율을 보였고, 한발+H<sub>2</sub>O 처리가 29.2%로 가장 많이 감소하였다(Fig. 3).

적습 조건에서 H<sub>2</sub>O 처리와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 간의 수분 함량은 유사하였으나, 한발 조건에서 H<sub>2</sub>O 처리와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 간의 수분 함량은 11.8% 차이를 보였다. 이는 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리가 한발+H<sub>2</sub>O 처리보다 식물체 수분 함량이 높은 것으로서 과산화수소 처리 때문에 식물체 수분 감소를 억제한 것으로 사료 된다. Saglam *et al.* (2014)는 식물체 수분 함량은 작물의 수분 흡수력, 증산에 의한 손실 정도 및 체내의 수분 퍼텐셜과 밀접한 관련이 있으며, 한발 조건에서 과산화수소 처리가 식물 체내 수분 감소를 억제하여, 대사 작용들이 원활하게 유지할 수 있었다고 한다. Seki *et al.* (2007)은 옥수수에 과산화수소를 처리하였을 때, 잎의 수분 퍼텐셜 증가 및 삼투압 유지, 가용성 당 함량, 프롤린 및 폴리아민과 같은 삼투 조절에 관여하는 대사 물질을 증가시켜 수분 스트레스 적응에 기여했다고 한다. 본 연구에서도 과산화수소 엽면 처리가 식물 체내 수분 함량 유지에 도움을 준 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3).

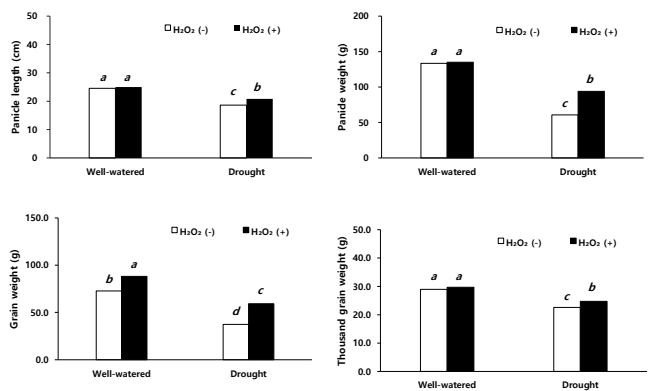
수수 지상부 건물중은 적습+H<sub>2</sub>O 처리가 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 대비, 0.9%로 가장 낮은 감소율을 보였고, 한발+H<sub>2</sub>O 처리가 29.3% 가장 높은 감소율을 보였다(Fig. 4). Hattori *et al.* (2005)는 한발 스트레스(-2.0 MPa)에서 수수 지상부 건물중은 77.0%, 지하부 건물중은 85.2%로 전체 건물중이 79.5% 감소하였다고 보고하였다. 이러한 결과는 본 연구의 결과와 같은 경향이였다.

이삭중은 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 대비, 적습+H<sub>2</sub>O 처리와 한발

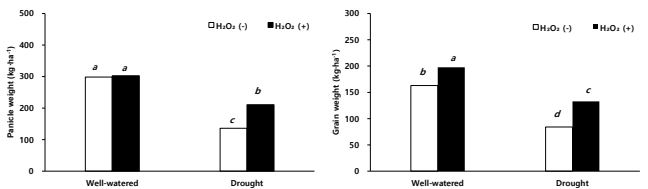
+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리, 한발+H<sub>2</sub>O 처리에서 각각 1.5%, 30.4%, 54.8% 차이를 보였다(Fig. 4). 종실중은 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 대비, 적습+H<sub>2</sub>O 처리는 17.5% 낮은 감소율을 보였고, 한발+H<sub>2</sub>O



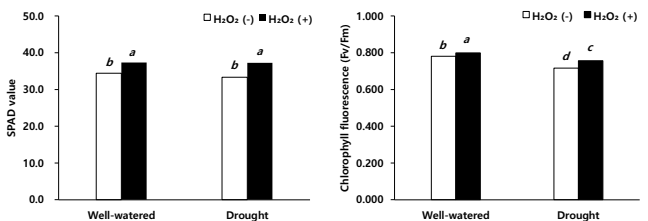
**Fig. 3.** Influences of soil water condition and foliar-applied H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on dry weight and leaf water content in sorghum plants under different soil moisture conditions.



**Fig. 4.** Influences of soil water condition and foliar-applied H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on panicle length, panicle weight, grain weight, and thousand grain weight of sorghum plants under different soil moisture conditions.



**Fig. 5.** Influences of soil water condition and foliar-applied H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on panicle weight, and grain weight of sorghum plants.



**Fig. 6.** Influences of foliar-applied H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on SPAD value and chlorophyll fluorescence of sorghum plants at 30 days after treatment.

처리가 57.5% 높은 감소율을 보였다(Fig. 4). 이는 옥수수 (Saglam *et al.*, 2014), 벼(Djanaguiraman *et al.*, 2006), 콩 (Yushi *et al.*, 2011), 보리(Fu *et al.*, 2003)에서 한발 스트레스로 인한 광합성 감소와 뿌리를 통한 수분 흡수 저해로 인하여 식물체 건물량이 줄어든 것과 본 연구와 일치하며, 또한 과산화수소 처리가 옥수수(Saglam *et al.*, 2014), 콩 (Abass & Mohamed, 2011)에서 수용성 당 함량과 폴리야민의 증가로 활성산소종 소거로 인하여 막을 보호하고 삼투 조절을 통해 건물량을 증가시키는 효과를 보인 것(Seki *et al.*, 2007)과 동일한 결과가 나타났음을 확인하였다.

재식밀도를 고려한 단위면적당 이삭중은 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 302.7 kg·ha<sup>-1</sup>, 적습+H<sub>2</sub>O 처리 298.8 kg·ha<sup>-1</sup>로 유의한 차이를 보이지 않았다. 하지만 한발+H<sub>2</sub>O 처리는 136 kg·ha<sup>-1</sup>으로 이삭중이 가장 낮았으나, 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리는 210.6 kg·ha<sup>-1</sup>으로 한발+H<sub>2</sub>O 처리보다 높았다(Fig. 5). 단위면적당 종실중은 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리가 197.5 kg·ha<sup>-1</sup>으로 가장 높았고, 적습+H<sub>2</sub>O 처리는 163.0 kg·ha<sup>-1</sup>로 확인되었다. 한발+H<sub>2</sub>O 처리 단위면적당 종실중은 적습+H<sub>2</sub>O 처리 대비 48.5% 감소한 84.0 kg·ha<sup>-1</sup> 한발로 수량감소 폭이 컸으며, 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리는 적습+H<sub>2</sub>O 처리 대비 18.6% 감소한 132.7 kg·ha<sup>-1</sup>로 한발+H<sub>2</sub>O 처리보다 29.9% 증가한 것으로 나타났다(Fig. 5). 천립 중은 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 대비, 적습+H<sub>2</sub>O 처리 2.3%로 유의한 차이가 없었으나, 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에는 16.8%, 한발+H<sub>2</sub>O 처리에는 23.9% 감소로써 한발+H<sub>2</sub>O 처리가 가장 높았다(Fig. 5).

과산화수소 처리가 수량 형질에 미친 영향을 적습 조건에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리와 H<sub>2</sub>O 처리를 비교했을 때, 과산화수소 처리에서 이삭 길이(1.6%), 수분 함량(14.7%), 건물중(0.9%), 이삭중(1.5%), 주당 종실중(17.5%), 단위면적당 이삭중(1.3%), 단위면적당 종실중(17.5%) 및 천립중(2.3%)은 증가하였으나 유의성 있는 차이는 나타나지 않았다. 그러나 한발 조건에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리와 H<sub>2</sub>O 처리를 비교한 경우, 이삭 길이(8.8%), 수분 함량(5.2%), 건물중(18.0%), 이삭중(24.8%), 주당 종실중(24.7%), 단위면적당 이삭중(35.4%), 단위면적당 종실중(36.7%) 및 천립중(7.1%)은 뚜렷하게 증가하였다. 이와 같은 결과는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리가 H<sub>2</sub>O 처리보다 한발 스트레스 하에서 수량성 회복에 긍정적인 영향을 준 것으로 생각된다. 이와 동일한 결과로 한발 스트레스에 민감한 콩은 한발 스트레스 하에서 초장, 협수, 종실수 및 종실중의 감소가 크게 발생하고, -0.01 MPa의 토양 조건에서 주당 종실중은 61.7 g 였지만, -0.09 MPa에는 10% 감소한 55.5 g, -0.15 MPa (강 한발)에는 54.5% 감소한 28.1 g의 결과를 보였다고 한다(Lee *et al.*, 2004), 그리고 밀은 관수량을 절

반으로 줄이면 토양으로부터 수분 흡수가 저해되어, 초장 30.0%, 이삭 길이 16.1%, 이삭수 14.0%, 주당 종실중 26.5%, 천립중 18.8% 감소(Abdel-Motagally & El-Zohri, 2016)하고 수수와 동일한 C4 식물인 옥수수 또한 ha당 종실 수량이 50% 관개와 10% 관개에서 각각 62.9%, 82.6% 수량 감소가 발생했다고 한다(Fischer *et al.*, 1989). Tuinstra *et al.* (1997)은 수수를 멕시코 건조지역에서 재배한 결과 관수 시험구 수확량은 2,038 kg·ha<sup>-1</sup>였으나, 무관수 시험구 수확량은 관수 시험구 수확량보다 41.0% 감소한 1,201 kg·ha<sup>-1</sup>으로 나타났다. 본 실험에서도 한발에 따른 수수의 주당 종실중 및 단위면적당 종실중의 감소율이 각각 40%, 48.5% 내외의 차이를 보였다.

### 생리적 형질 조사

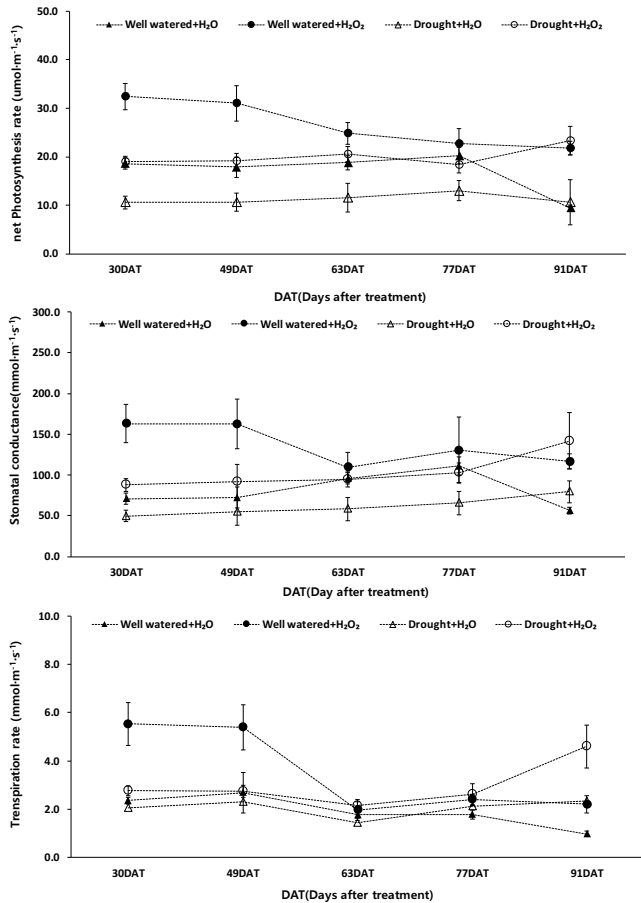
#### 엽 녹색도(SPAD) 및 엽록소 형광(Fv/Fm)

SPAD는 식물체를 손상시키지 않고 녹색도에 근거하여 비교적 쉽게 잎의 엽록소 함량을 보여주는 값으로서 이식 30일 후, SPAD 값은 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 대비, 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에서 0.2%의 감소, 적습+H<sub>2</sub>O 처리는 7.7% 감소, 한발+H<sub>2</sub>O 처리는 10.7% 감소로 한발+H<sub>2</sub>O 처리가 가장 큰 감소율을 보였다(Fig. 6). 광합성 효율 및 광계 II의 활성을 나타내는 지표인 엽록소 형광(Fv/Fm)은 이식 30일 후 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 대비, 적습+H<sub>2</sub>O 처리에는 2.4%, 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에는 5.5%, 한발+H<sub>2</sub>O 처리에는 10.4%로 한발+H<sub>2</sub>O 처리가 가장 낮은 엽록소 형광을 보였다(Fig. 6).

#### 광합성 관련 형질

옥수수(Azevedo Neto *et al.*, 2005; Saglam *et al.*, 2014), 콩(Yushi *et al.*, 2011), 벼(Djanaguiraman *et al.*, 2006), 및 오이(Woo *et al.*, 2006) 등에서 생육 초기에 고온 또는 염, 한발 스트레스 조건에서 과산화수소의 처리로 인하여 광합성 증진 효과가 나타났다는 보고에 따라, 생육 초기의 스트레스 내성 연구로써 본 연구에서도 수수 유묘에 과산화수소를 엽면 처리하였다.

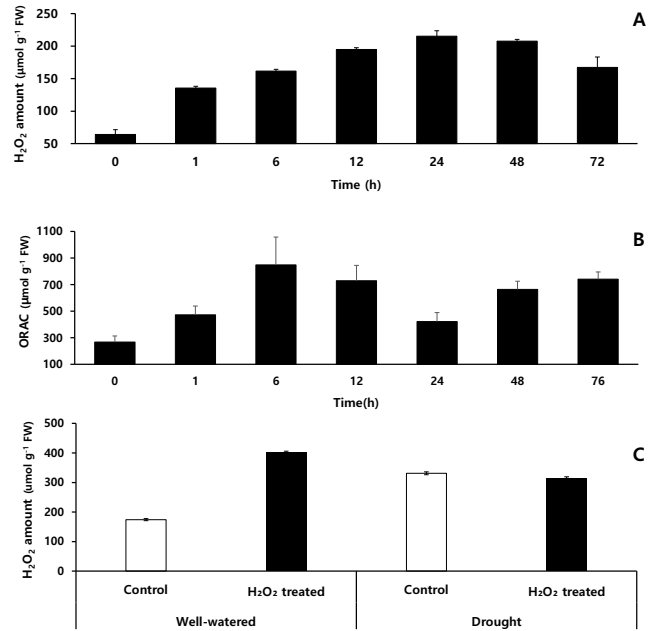
과산화수소 처리 이후 시기별 광합성률은 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리가 가장 높았고(최대치 24.8 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 최소치 21.8 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>), 한발+H<sub>2</sub>O 처리가 가장 낮았다(최대치 13.0 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 최소치 10.6 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>) (Fig. 7). 시기별 기공전도도는 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리가 가장 높았으며(최대치 130.2 mmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 최소치 109.6 mmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>), 한발+H<sub>2</sub>O 처리는 최대치 79.7 mmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 최소치 54.8 mmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>로 가장 낮았다. 시기별 증산율은 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리가 최대치 3.4 mmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 최소치 2.1 mmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>로 가장 높았고,



**Fig. 7.** Changes of photosynthesis-related parameters in sorghum plants treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> under different soil moisture conditions.

한발+H<sub>2</sub>O 처리가 최대치 2.3 mmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 최소치 1.4 mmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>로 가장 낮았다.

그리고 이식 30일 후, 광합성률은 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 대비, 적습+H<sub>2</sub>O 처리와 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에서 각각 42.7%, 41.4%의 감소율을 보였고, 한발+H<sub>2</sub>O 처리에서는 67.4%로 가장 큰 감소율을 보였다(Fig. 7). 기공전도도와 증산율도 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리가 가장 높았고, 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 대비, 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 기공전도도와 증산율은 각각 46.1%, 50.1%로 낮은 감소율을 보였으나, 한발+H<sub>2</sub>O 처리 기공전도도와 증산율은 각각 69.5%, 62.8%로 높은 감소율을 보였다(Fig. 7). 한발 스트레스로 인한 기공 폐쇄와 광합성 감소는 초장, 줄기 직경, 잎 생장의 감소로 이어지는 직접적인 원인이 된다(Chaves *et al.*, 2009). 한발로 인한 기공 폐쇄는 이산화탄소 확산 저항 증가, 광계II 활성 및 광인산화 활성의 저하, RuBP의 재생 저해로 이어져 광합성이 감소한다고 알려져 있다(Boyer, 1970; Hsiao, 1973; Costa *et al.*, 2000). 본 연구에서 한발 스트레스로 인하여 수수의 광합성률 감소를 확인할 수 있었고(Fig.



**Fig. 8.** Changes of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content (A) and antioxidant activity (B) after foliar application of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and influence of soil moisture condition on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content (C) in sorghum leaves.

7). 잎의 기공 전도도와 증산율이 한발 스트레스로 인하여 적습 조건보다 낮았음을 알 수 있었다.

Yushi *et al.* (2011)은 콩에서 과산화수소 엽면 처리가 한발 스트레스에 대한 반응성을 완화해, 한발로 인한 기공 폐쇄를 상대적으로 반감시켜 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리 광합성률과 증산율이 한발+H<sub>2</sub>O 처리보다 높았다고 보고했다. Gregorio *et al.* (2012)는 과산화수소 처리로 인하여 세포 발달 향상 및 세포벽 이완 효과를 보였고, 2단계는 세포 확장 조절로 종실 및 과육 생장을 높일 수 있다고 하였다. 과산화수소 엽면 처리를 하게 되면 한발 조건이 매우 심하더라도 항상 일정 수준의 기공 개도가 유지되어 한발 조건에서도 이산화탄소 흡수가 가능하여 정상적인 광합성이 이루어질 수 있게 된다고 한다(Brestic *et al.*, 1995). 본 실험 결과도 과산화수소 엽면 처리가 무처리보다 한발 조건에서 시기별 광합성률과 기공전도도가 높은 것을 확인할 수 있었다.

**과산화수소 엽내 함량과 항산화 활성 변화**

과산화수소 함량은 10 mM 과산화수소 처리 직전(0시간)에는 64.2 µmol·g<sup>-1</sup>에서 분무 1시간 후는 0시간 대비 2.1배 증가하였고, 24시간 후, 214.5 µmol·g<sup>-1</sup>으로 0시간 대비 3.4배 증가하여 48시간까지 유지하다가 이후 감소하는 경향을 보였다(Fig. 8A).

항산화 활성을 분석한 ORAC assay 결과, 과산화수소 처리 전  $267.5 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 에서 처리 후 1시간은 0시간 대비 1.8배 증가, 6시간 후는  $847.3 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 으로 처리 전 대비 3.2배 증가 후, 24시간 후는  $422.4 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 으로 감소한 뒤, 항산화 활성이 다시 높아졌다(Fig. 8B). 작물에 대한 과산화수소 처리에 관한 연구는 최근까지 많은 연구가 진행되고 있다(Byun & Choi, 2003; Woo *et al.*, 2006; Woo *et al.*, 2005). Lu & Higgins, 1999에 따르면 토마토에 1 ~ 2% 저농도 과산화수소를 처리하면 과산화수소가 토마토 체내로 흡수되나, 고농도 과산화수소(250 mM, 500 mM, 750 mM)를 처리하면 6 ~ 9시간 사이에 세포 괴사가 유도된다고 하여 처리 농도가 매우 중요한 요소임을 보고하였다.

본 연구는 수수 유묘에 10 mM 과산화수소(저농도)를 엽면 처리하면 약 1시간 후 수수 잎에 묻어 있던 과산화수소는 흡수 및 증발하는데 이때 수수 내 과산화수소 함량은 과산화수소 처리 전(0시간)보다  $67.2 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 이 증가하여 약 0.7%의 과산화수소가 수수 잎을 통해 엽 내로 흡수된 것으로 보인다. 또한 과산화수소 엽면처리 과정에서 토양으로 흡수된 과산화수소 용액이 수수 뿌리를 통해 체내로 흡수되었다고 가정하면, 항산화 활성이 가장 높은 처리 6시간( $847.3 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ )에 과산화수소가 0.7% 이상을 흡수된 것으로 사료된다. 이후 생성된 과산화수소  $58.3 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 은 엽면 처리 및 뿌리를 통해 흡수된 과산화수소에 의해 엽 내에서 생성된 활성산소종의 과산화수소로 추정된다. 과산화수소 처리에 따른 흡수된 과산화수소 함량과 활성산소종으로 생성된 과산화수소 함량. 그리고 과산화수소 분해 효소 작용으로 제거되는 과산화수소 등의 복합적인 요소가 관여하기 때문에 명확하게 흡수되는 과산화수소 함량을 구분하기는 어렵다(Lu & Higgins, 1999).

엽면 처리 2주 후 수수 엽 내 과산화수소 함량은 적습+ $\text{H}_2\text{O}$  처리가  $174.4 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 으로써, 적습+ $\text{H}_2\text{O}_2$  처리는 적습+ $\text{H}_2\text{O}$  처리보다 과산화수소 함량보다 2.3배 더 많은  $402.2 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 으로 확인되었다. 한발+ $\text{H}_2\text{O}$  처리 과산화수소 함량은 적습+ $\text{H}_2\text{O}$  처리 대비, 89.8% 증가한  $331.1 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 인 반면, 한발+ $\text{H}_2\text{O}_2$  처리 과산화수소 함량은 적습+ $\text{H}_2\text{O}_2$  처리 대비, 21.8% 감소한  $314.4 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 이었다(Fig. 8C). 수수는  $\text{H}_2\text{O}_2$  엽면 처리 때문에 적습 조건에서 엽 내 과산화수소 함량이  $\text{H}_2\text{O}$  처리보다  $227.8 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  높았지만, 한발 조건에는  $\text{H}_2\text{O}_2$  처리가  $\text{H}_2\text{O}$  처리보다  $16.7 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  낮은 과산화수소 함량을 보였는데. 이는  $\text{H}_2\text{O}_2$  엽면 처리 때문에 유도된 항산화 효소 등 활성산소종을 효과적으로 분해하여 엽 내 과산화수소 함량이 낮은 것으로 보인다. 이러한 결과는 옥수수에서 한발 스트레스를 받으면 엽 내 과산화수소

함량은 증가하고, 한발 감수성 품종이 한발 내성 품종보다 체내 과산화수소 함량이 높게 측정되었다(Li *et al.*, 1998)는 결과와 유사하다. 그리고 오이 잎에서 한발 스트레스 전, 과산화수소 엽면 처리가 과산화수소 축적을 완화 시켰다고 하며, 내부에서 발생하는 과산화수소 농도는 한발 스트레스 하에서 전자 전달체계에 발생하는 활성산소종으로 과산화수소와 이를 분해하는 효소 및 비효소적 작용에 따라 양적 차이가 발생한다고 한다(Liu *et al.*, 2010). 과산화수소 엽면 처리 때문에 증가한 과산화수소 분해 효소들이 한발 스트레스 하에서 발생한 활성산소종인 과산화수소를 빠르게 분해하여 과산화수소 함량은 감소시킨 것으로 보이며, 본 연구에서도 과산화수소 엽면 처리로 인하여 한발 스트레스에 대한 저항성이 커지며 한발에 의해 일어나는 이차 피해를 막아주는 역할을 한 것으로 보여진다(Yushi *et al.*, 2011). 이것은 저농도(10 mM)의 과산화수소 처리가 엽내 항산화 능력을 높이고 한발 스트레스로 유도되는 활성산소종을 효율적으로 제거할 수 있게 하여 작물 생육 및 광합성 능력 등이 저하됨을 방지하였기 때문이라고 생각된다.

#### 단백질 발현 변화

과산화수소 엽면 처리가 한발 조건에서 수수 내 어떠한 단백질의 발현을 유도하여 한발에 적응됨을 알아보기 위하여 이차원전기영동기와 질량분석기(MALDI-TOF-TOF)를

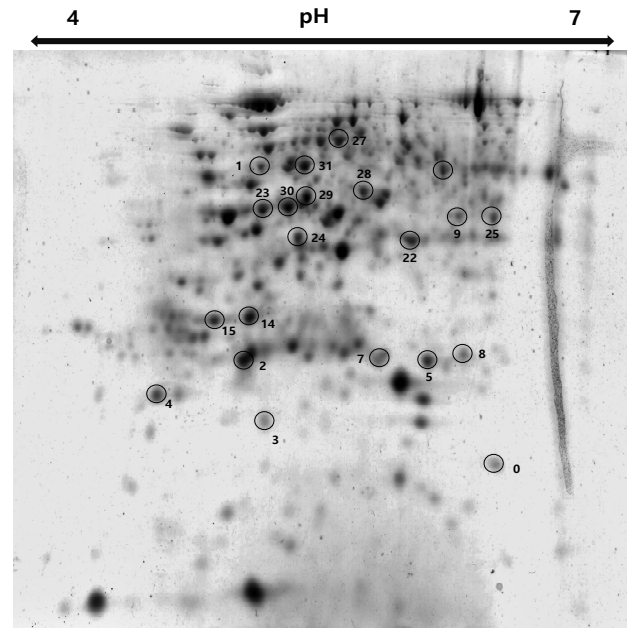


Fig. 9. 2-DE image map of proteins identified in  $\text{H}_2\text{O}_2$  treated sorghum leaves. The numbers indicate the proteins in Table 1.

**Table 1.** Major proteins changed by 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment in sorghum leaves under drought condition.

Name	Accession No.	Biological process	Score <sup>a</sup>	M <sub>r</sub> <sup>b</sup> (kD)	pI <sup>c</sup>	SC <sup>d</sup>
<b>▲ Up-regulated in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treated sorghum</b>						
0 26.6 kDa heat-shock protein	A5A8V3	Stress response	196	26564	7.9	29%
1 P-(S)-hydroxymandelonitrilelyase	HNLS_SORBI	Hydroxymandelonitrilelyase activity	88	56626	5.0	23%
2 Putative uncharacterized protein Sb07g027500	C5YIP5	Photosynthesis	188	27101	5.3	57%
3 Superoxide dismutase [Cu-Zn]	C5YN49	Removal of superoxide radicals	201	20804	5.3	25%
4 ATP synthase delta chain, chloroplastic	ATPD_SORBI	Photosynthesis	237	26720	4.8	46%
5 Cytochrome b6-f complex iron-sulfur subunit	C5YY74	Photosynthesis	239	24313	8.2	35%
7 Putative uncharacterized protein Sb02g002690	C5X9F7	Photosynthesis	307	27718	8.6	59%
8 Putative uncharacterized protein Sb02g002690	C5X9F7	Photosynthesis	184	27718	8.6	41%
9 Putative uncharacterized protein Sb10g000720	C5Z269	Oxidoreductase activity	239	40279	8.3	51%
14 Phosphoglycerate kinase	C5Z0B5	Glycolytic process	524	50190	5.9	55%
15 Malate dehydrogenase [NADP] 1, chloroplastic	MDHP1_SORBI	Carbohydrate metabolism	221	46939	5.8	53%
22 Fructose-bisphosphatealdolase	C5YSP7	Glycolytic process	502	42014	6.4	53%
24 Putative uncharacterized protein Sb01g015090	C5WT90	Carbohydrate metabolism	226	41964	5.6	45%
25 ATP synthase subunit gamma, chloroplastic	P0C1M0	Photosynthesis	188	40107	8.4	27%
27 Filamentation temperature-sensitive H 2A	B1P2H3	ATP binding	552	72562	5.7	51%
28 Phosphoribulokinase	B4FQ59	Carbohydrate metabolism	102	45121	5.8	28%
<b>▼ Down-regulated in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treated sorghum</b>						
23 Glutamine synthetase	Q5MD11	Glutamine biosynthetic process	193	39387	5.5	51%
29 Malate dehydrogenase [NADP] 1, chloroplastic	MDHP1_SORBI	Carbohydrate metabolism	148	46939	5.8	47%
30 Glutamine synthetase	Q5MD11	Glutamine biosynthetic process	98	39387	5.5	26%
31 ATP synthase subunit alpha, chloroplastic	ATPA_SORBI	Photosynthesis	662	55713	5.9	56%

<sup>a</sup>Calculated probability, <sup>b</sup>nominal mass, <sup>c</sup>isoelectric point, <sup>d</sup>sequence coverage.

이용하여 단백질 동정을 하였다. 한발-H<sub>2</sub>O 처리에서 증가한 단백질은 glutamine synthetase (23, 30), ATP synthase subunit alpha (31), malate dehydrogenase (29)가 많이 동정되었다(Fig. 9, Table 1). 위와 같은 단백질은 한발 조건에서 옥수수에서 과발현되는 단백질로 Kim *et al.* (2015)에 의해 보고되었으며, 특히나 Malate de hydrogenase (MDH)는 탄수화물 생합성과 관련 대사 단백질이며, 한발 조건에서 수박 뿌리와 포도나무에서도 과발현되었다고 한다(Cramer *et al.*, 2013). ATP synthase subunit alpha는 광합성과 연관되어있는 단백질로써 적습 조건보다 한발 조건에서 ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase activase와 더불어 많이 발현된다. 그리고 한발 스트레스 조건에서 광합성을 유지하기 위해 필요한 단백질이기도 하다(Kim *et al.*, 2015; Ali *et al.*, 2006).

한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에서 증가한 단백질은 ATP synthase delta chain (4), cytochrome b6-f complex iron-sulfur subunit (5), ATP synthase subunit gamma (25), putative uncharacterized protein Sb02g002690 (7,9), Sb07g027500 (2)와 같이 주로

광합성 관련 단백질의 발현이 증가하였다. 또한, 에너지 대사와 관련하여 해당작용에서 중요한 대사 효소인 fructose bisphosphate aldolase (FBA, 22)의 발현도 증가하였다. FBA는 옥수수와 애기장대에서 염 스트레스 및 한발 스트레스를 받았을 때 FBA mRNA 농도가 증가한다고 보고되었다(Lu *et al.*, 2012; Hu *et al.*, 2012). 그리고 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리가 된 수수 엽에서 superoxide 라디칼을 제거해주는 superoxide dismutase (3) 동정 및 발현 증가가 확인되었다. 일반적으로 식물 조직에서 산소 소비량의 1~2% 정도가 초산소(O<sub>2</sub><sup>•</sup>)가 생성되는데, 엽록체의 광계 I은 활성 산소종에 대해 민감하다. O<sub>2</sub><sup>•</sup>는 세포막에 가장 심각한 상해를 입힐 가능성이 있는 활성 산소종 중 하나로써, O<sub>2</sub><sup>•</sup>의 생성은 OH<sup>•</sup>와 같은 반응성 높은 활성산소종 형성을 촉진해서, 과산화 반응으로 지질 막 파괴 및 세포 약화를 초래한다. 광계I에서 주로 생산된 초산소는 superoxide dismutase와 ascorbate peroxidase를 포함하는 일련의 항산화 효소 작용에 의하여 해독될 수 있는데(Asada, 1999), 항산화 효소 중 SOD는 환경 스트레스에서 민감하게 반응하여 환경 스트레스로 인하여 활성산



소중이 증가하였을 때 많이 발생하는 효소로 알려져 있다 (Apel & Hirt, 2004). 그러므로 과산화수소 처리 때문에 생성된 활성산소종을 제거하기 위해 SOD의 발현이 이루어졌고, 한발 조건에서 무처리 수수 잎보다 과산화수소 처리 후 한발 스트레스를 받은 수수 잎에서 SOD 발현량이 증가하였다. Li *et al.* (1998)은 한발 조건에서 한발 내성 옥수수 품종의 SOD 함량이 한발 감수성 옥수수 품종 SOD 함량보다 많았다고 한다. 이는 과산화수소 처리가 SOD 발현량을 증가하여 한발 내성을 높여준 것과 같은 결과이다.

한발 및 산화 스트레스와 같은 다양한 스트레스 조건에서 단백질의 침전을 막아주는 역할을 하는 26.6 kDa 열충격단백질(heat-shock protein, 0)도 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에서 과발현되었다. 열충격단백질(heat shock proteins)은 분자량을 근거로 분류하는데 100 kDa 이의 고분자량열충격단백질(high molecular mass HSPs), Hsp90 (81~90 kDa), Hsp70 (65~80 kDa), Hsp60 (55~64 kDa), Hsp40 (35~54 kDa) 및 34 kDa 이하의 작은 열충격단백질(sHsps: small heat shock proteins)로 분류한다(Agashe & Hartl, 2000). 이러한 열충격단백질들은 다양한 스트레스 조건에서 단백질의 침전을 막아주고 구조적 특성을 유지시켜 주는 역할을 한다. 한발 스트레스 하에서 불활성화될 수 있는 단백질을 보호하고 또한 불활성화된 단백질을 복원하는 역할을 통해 스트레스 내성을 높여준다(Agashe & Hartl, 2000). 열충격단백질의 합성을 유도하는 세포들은 주로 내열성 개선으로 치사에 해당하는 온도에 노출되어도 견딜 수 있으며, 수분 결핍, ABA 처리, 상처, 저온 그리고 염분과 같은 다른 광범위한 환경 스트레스나 조건에 의해서도 유도될 수 있는 것으로 알려져 있다(Lee *et al.*, 2009; Jakob *et al.*, 1999). 또한 고농도의 과산화수소 처리는 세포 내에서 SAPK/JNK (Stress-activated protein kinase/c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase) 및 caspase-3의 활성을 동반하여 apoptosis나 괴사와 같은 세포 사멸을 유도하는 것으로 알려져 있으나, 저농도의 과산화수소 처리는 열충격단백질과 같은 분자 샤페론으로 발현되기도 한다(Kim *et al.*, 2001). 따라서 본 연구도 과산화수소 처리를 통해 발현되었던 열충격단백질이 한발 조건에서 발생하는 단백질 변성을 신속하게 막아주는 역할로 작용하여 한발 적응성을 높여준 것으로 보인다.

## 적 요

본 논문은 과산화수소 엽면 처리를 통해 수수에서 한발 스트레스 완화 효과가 있는지 알아보기 위하여 과산화수소 처리에 따른 생육 및 생리적 특성 변화와 단백질 변화를 분

석하였다.

1. 포장 실험에서 한발 스트레스는 수수 생장을 감소시켰으나, 과산화수소 처리구에서는 과산화수소 무처리구보다 생육이 우수하였다. 또한 한발 조건에서 과산화수소 처리는 무처리에 비해 수량 관련 형질들의 저하를 막는 효과를 보였다.
2. 엽 녹색도(SPAD) 및 엽록소 형광(Fv/Fm), 광합성 형질 조사에서 과산화수소 처리가 과산화수소 무처리보다 높았고, 포장 실험에서 엽내 과산화수소 함량은 적습+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리가 적습+H<sub>2</sub>O 처리보다 과산화수소 함량이 227.8  $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$  높았고, 한발 조건에서 엽내 과산화수소 함량은 한발+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리가 한발+H<sub>2</sub>O 처리보다 16.7  $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 로 낮았다.
3. 한발 조건에서 과산화수소 처리는 여러 단백질의 발현을 변화시켰으며, 특히 광합성 관련 단백질인 ATP synthase delta chain, cytochrome b6-f complex iron-sulfur subunit, ATP synthase subunit gamma, putative uncharacterized protein Sb02g002690, Sb07g027500와 Superoxide 라디칼을 제거해주는 superoxide dismutase가 증가한 것을 확인하였다. 그리고 단백질 보호와 복원에 관련된 heat shock protein의 발현 증가도 확인되었다.

종합적으로 과산화수소 엽면 처리가 한발 하에서 광합성 관련 단백질의 발현을 증가와 기공 개도를 높여 광합성 능력을 향상시켰다. 특히 엽내에 축적될 수 있는 활성산소종을 제거하는 항산화 능력이 높아져 한발 스트레스 대한 내성을 높여 수수의 생육과 수량성 저하가 억제되는 것을 확인할 수 있었다.

## 사 사

이 논문은 2019년도 정부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임(NRF-2017R1A2B4004673).

## 인용문헌(REFERENCES)

- Abass, S. M. and H. I. Mohamed. 2011. Alleviation of adverse effects of drought stress on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by exogenous application of hydrogen peroxide. Bangladesh J. Bot. 41 : 75-83.
- Abdel-Motagally, F. M. F., and M. El-Zohri. 2016. Improvement of wheat yield grown under drought stress by boron foliar

- application at different growth stages. *J. Saudi Soc. Agri. Sci.* In press.
- Agashe, V. R. and F. U. Hartl. 2000. Roles of molecular chaperones in cytoplasmic protein folding. *Semin. Cell Dev. Biol.* 11 : 15-25.
- Ali, G. M. and M. Setsuko. 2006. Proteomic analysis of rice leaf sheath during drought stress. *J. Proteome Res.* 5 : 396-403.
- Apel, K. and H. Hirt. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55 : 373-399.
- Asada, K. 1999. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu. Rev. Plant Biol.* 50 : 601-639.
- Azevedo Neto, A. D., J. T. Prisco, J. Eneas-Filho, J. V. Medeiros, and E. Gomes-Filho. 2005. Hydrogen peroxide pre-treatment induces salt-stress acclimation in maize plants. *J. Plant Physiol.* 162 : 1114-1122.
- Beck, C., J. Grieser, M. Kotteck, F. Rubel, and B. Rudolf. 2006. Characterizing global climate change by means of Köppen climate classification. *Deutscher Wetterdienst.* 3 : 413-423.
- Bérout, C. and T. Soussi. 1997. p53 and APC gene mutations: software and databases. *Nucleic Acids Res.* 25 : 138.
- Birchmeier, W. and J. Behrens. 1994. Cadherin expression in carcinomas: role in the formation of cell junctions and the prevention of invasiveness. *Biochem. Biophys. Res. Co.* 1198 : 11-26.
- Boyer, J. S. 1970. Leaf enlargement and metabolic rates in corn, soybean, and sunflower at various leaf water potentials. *Plant Physiol.* 46 : 233-235.
- 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.
- Brestic, M., G. Cornic, M. J. Fryer, and N. R. Baker. 1995. Does photorespiration protect the photosynthetic apparatus in French bean leaves from photoinhibition during drought stress. *Planta.* 196 : 450-457.
- Byun, H. J. and S. J. Choi. 2003. Suppression of post-harvest grey mold rot incidence in strawberry by field application of hydrogen peroxide. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 44 : 859-862.
- Chang, H. G. and Y. S. Park. 2005. Effects of waxy and normal sorghum flours on sponge cake properties. *Food Eng. Prog.* 9:199-207. photorespiration, and increasing the ratio of dark respiration to gross respiration. *J. Plant Physiol.* 171 : 1576-1585.
- Chaves, M. M., J. Flexas, and C. Pinheiro. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: Regulation mechanisms from whole plant to cell. *Ann. Bot.* 103 : 551-560.
- Costa, F. M. G., A. T. Pham Thi, C. Pimentel, R. O. Pereyra Rossiello, Y. Zuily-Fodil, and D. Laffray. 2000. Differences in growth and water relations among *Phaseolus vulgaris* cultivars in response to induced drought stress. *Environ. Exp. Bot.* 43 : 227-237.
- Cramer, G. R., S. C. Van Sluyter, D. W. Hopper, D. Pascovici, T. Keighley, and P. A. Haynes. 2013. Proteomic analysis indicates massive changes in metabolism prior to the inhibition of growth and photosynthesis of grapevine (*Vitis vinifera* L.) in response to water deficit. *BMC Plant Biol.* 13-49.
- Djanaguiraman, M., J. A. Sheeba, A. K. Shanker, D. D. Devi, and U. Bangarusamy. 2006. Rice can acclimate to lethal level of salinity by pretreatment with sublethal level of salinity through osmotic adjustment. *Plant Soil.* 284 : 363-373.
- Fischer, K. S., G. O. Edmeades, and E. C. Johnson. 1989. Improvement of maize yield under moisture-deficits. *Field Crops Res.* 22 : 227-243.
- Fraedrich, K., F. W. Gerstengarbe, and P. C. Werner. 2001. Climate shifts in the last century. *Climatic Change.* 50 : 405-417.
- Gregorio, B. E., A. H. José, and D. V. Pedro. 2012. Role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in pea seed germination. *Plant Signal. Behav.* 7 : 193-195.
- Hattori, T., S. Inanaga, H. Araki, P. An, S. Morita, M. Luxova, and A. Lux. 2005. Application of silicon enhanced drought tolerance in *Sorghum bicolor*. *Physiol. Plantarum.* 123 : 459-466.
- Hsiao, T. C. 1973. Plant response to water stress. *Plant Physiol.* 24 : 519-570.
- Hu, X., X. Wu, C. Li, M. Lu, T. Liu, Y. Wang, and W. Wang. 2012. Abscisic acid refines the synthesis of chloroplast proteins in maize (*Zea mays*) in response to drought and light. *PLOS One.* 7 : e49500.
- Kim, H. J., B. Wang, Q. Ding, and I. U. Chung. 2008. Changes in arid climate over North China detected by the Köppen climate classification. *J. Meteorol. Soc. Jap.* 86 : 981-990.
- Kim, S. G., J. S. Lee, J. T. Kim, Y. S. Kwon, D. W. Bae, H. H. Bae, B. Y. Son, S. B. Baek, Y. U. Kwon, M. O. Woo, and S. H. Shin. 2015. Physiological and proteomic analysis of the response to drought stress in an inbred Korean maize line. *ProQuest.* 8 : 159-168.
- Lee, M. S. 2004. Bioactive properties in whole grains. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 9 : 19-25.
- Li, L., J. Staden, and A. K. Jäger. 1998. Effects of plant growth regulators on the antioxidant system in seedlings of two maize cultivars subjected to water stress. *Plant Growth Regul.* 25 : 81-87.
- Liu, z., B. Zhao, Y. Shi, C. Guo, H. Yang, and Z. Li. 2010. Novel nonenzymatic hydrogen peroxide sensor based on iron oxide-silver hybrid submicrospheres. *Talanta.* 81 : 1650-1654.
- Lu, H. and V. J. Higgins. 1999. The effect of hydrogen peroxide on the viability of tomato cells and of the fungal pathogen *Cladosporium fulvum*. *Physiol. Mol. Plant Pathology.* 54 : 131-143.
- Ou, J. B., H. W. Maureenl, and L. Ronald. 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Agric. Food Chem.* 49 : 4619-4626.
- Park, W. S., R. R. Oh, J. Y. Park, S. H. Lee, M. S. Shin, Y. S. Kim, S. Y. Kim, H. K. Lee, P. J. Kim, S. T. Oh, N. J. Yoo, and J. Y. Lee. 1999. Frequent somatic mutations of the beta-catenin gene

- in intestinal-type gastric cancer. *Cancer Res.* 59 : 4257-4260.
- Roovers, R. C., E. van der Linden, H. Zijlema, A. de Bruijne, J. W. Arends, and H. R. Hoogenboom. 2001. Evidence for a bias toward intracellular antigens in the local humoral anti-tumor immune response of a colorectal cancer patient revealed by phage display. *Int. J. Cancer.* 93 : 832-840.
- Saglam, A., A. Kadioglu, M. Demiralay, and R. Terzi. 2014. Leaf rolling reduces photosynthetic loss in maize under severe drought. *Acta Bot. Croat.* 73 : 315-332.
- Seki, M., T. Umeawa, K. Urano, and K. Shinozaki. 2007. Regulatory metabolic networks in drought stress responses. *Plant Biol.* 10 : 296-302.
- Souza, R. P., E. C Machado, J. A. B. Silva, A. M. M. A. Lagoa, and J. A. G. Silveira. 2004. Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence and some associated metabolic changes in cowpea (*Vigna unguiculata*) during water stress and recovery. *Environ. Exp. Bot.* 51 : 45-56.
- Tuinstra, M. R., E. M. Grote, P. B. Goldsbrough, and G. Ejeta. 1997. Genetic analysis of post-flowering drought tolerance and components of grain development in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Mol Breeding.* 3 : 439-448.
- Wang, W., F. Tai, and S. Chen. 2008. Optimizing protein extraction from plant tissues for enhanced proteomics analysis. *J. Sep. Sci.* 31 : 2032-2039.
- Woo, Y. H., H. J. Kim, Y. C. Huh, T. Y. Kim, K. D. Kim, I. H. Cho, K. D. Ko, K. H. Lee, and K. H. Hong. 2005. Effect of high temperature adaptable improvement on cucumber (*Cucumis sativus*) of greenhouse according to hydrogen peroxide treatment at summer. *J. VIB Control.* 14 : 95-99.
- Xu, Y., P. Burgess, and B. Huang. 2015. Root antioxidant mechanisms in relation to root thermotolerance in perennial grass species contrasting in heat tolerance. *PLOS One.* 1-19.
- Yokozaki, H., W. Yasui, and E. Tahara. 2001. Genetic and epigenetic changes in stomach cancer. *Int. Rev. Cytol.* 204 : 49-95.
- Yordanov, I., V. Velikova, and T. Tsonev. 2000. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. *Photosynthetica.* 38 : 171-186.
- Yushi, I., Y. Haruka, Y. Takashi, I. I. Mari, A. Susumu, and S. H. Zheng. 2011. Hydrogen peroxide spraying alleviates drought stress in soybean plants. *J. Plant Physiol.* 168 : 1562-1567.