수박접목묘의 건조스트레스 범위 탐지를 위한 엽록소형광 지수의 적용

신유경¹ · 김용현^{2,3} · 이준구^{1,4*}

¹전라북도 전주시 덕진구 백제대로 567 전북대학교 농업생명과학대학 원예학과

²전라북도 전주시 덕진구 백제대로 567 전북대학교 농업생명과학대학 생물산업기계공학과

³전라북도 전주시 덕진구 백제대로 567 전북대학교 농업기계 ICT융합연구소

⁴전라북도 전주시 덕진구 백제대로 567 전북대학교 농업과학기술연구소

Application of Chlorophyll Fluorescence Parameters for the Detection of Water Stress Ranges in Grafted Watermelon Seedlings

Yu Kyeong Shin¹, Yong Hyeon Kim^{2,3}, and Jun Gu Lee^{1,4*}

¹Department of Horticulture, College of Agriculture & Life Sciences, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

²Department of Bioindustrial Machinery Engineering, College of Agriculture & Life Sciences, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

³Institute for Agricultural Machinery & ICT Convergence, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

⁴Institute of Agricultural Science & Technology, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

Abstract. This study was carried out to quantify the drought stress in grafted watermelon seedlings non-destructively by using chlorophyll fluorescence (CF) imaging technique rather than the visual judgment. Six-day old watermelon seedlings were grown under uniform irrigation for 3 days, and then given drought stress. Afterward, the sensor for the measurement of water content in plug tray cell unit was used to classify the drought-stress level into nine groups from D1 (53.0%, sufficient moisture state) to D9 (15.7%, extremely dry stress), and the 16 CF parameters were measured. In addition, re-irrigation was performed on the drought stressed seedlings(D5 - D9) to determine the growth and photosynthesis recovery level, which was not confirmed by visual judgment. The kinetic curve patterns of CF in three different drought stressed seedling groups were found to be different for the early detection of drought stress. All the 16 CF parameters decreased continuously with exposure to drought stress and drastically decreased from D5 (32.1%) where the visual judgment was possible. The fluorescence decline ratio (Rfd_Lss) started to decrease from the initial drought stress level (D5 - D6), and the Maximum PSII quantum yield (Fv/Fm) was significantly decreased in the later extreme drought stress range (D7 - D9) by re-irrigation recovery test. Thus, Rfd_Lss and Fv/Fm parameters were finally selected as potent indicators of growth and photosynthesis recovery in the initial and later stages of drought stress. Also, to the differences in the numerical values of the individual chlorophyll fluorescence parameters, the drought stress level was intuitively confirmed through the image. These results indicate that Rfd and Fv/Fm can be considered as potential CF parameters for the detection of low and extremely high drought stress, respectively. Furthermore, Fv/Fm can be considered as the best CF parameters for recovery at re-irrigation.

Additional key words : drought stress, imaging analysis, re-watering, growth recovery

서론

현재 국내 공정육묘장에서는 농가의 다양한 요구수준에 맞춘 고품질 채소 플러그묘가 정밀한 환경조절 조건 하에서 생산되고 있으나, 환경 및 재배관리의 기준은 묘 생산자의 경험을 바탕으로 이루어지고 있다(Park 등,

2017). 특히, 생산시기 및 생육단계별 적절한 수분관리는 채소 묘의 내적 및 외적 품질을 결정하는 중요한 환경 관리의 요소 중 하나이나, 관수의 시기와 관수량의 조절에 있어서는 재배관리자의 주관적 판단에 전적으로 의존하고 있어, 향후 공정육묘장의 생산효율성 제고를 위해 능동적 수분함량 계측을 통한 정밀관수 및 자동화 시스템의 개발 필요성이 제기되고 있다(Kim 등, 2011).

식물의 광합성은 생물적(biotic) 및 비생물적(abiotic) 스트레스에 의해 크게 영향을 받는데, 특히 비생물적 스트레스 중 건조스트레스는 광합성 활성을 제한하는 중요

*Corresponding author: jungu@jbnu.ac.kr

Received September 26, 2019; Revised October 25, 2019;

Accepted October 25, 2019

한 환경요인으로 알려져 있다(Bradford와 Hsiao, 1982). 부적절한 관수에 의한 건조 스트레스는 외적인 식물 생육 저하와 함께, 세포 탈수 및 삼투압 불균형 등의 체내 생리적 변화를 야기시키며(Mahajan과 Tuteja, 2005), 품종, 생육단계 및 스트레스 수준에 따라서는 다양한 반응을 보인다(Abbas 등, 2019).

최근 식물표현체학(Plant Phenomics)의 발달과 함께, 대량 유전자원의 표현형과 생리적 특성을 비파괴적으로 신속하게 판단하기 위한 기초 연구가 진행되고 있다(Baker, 2008; Banks, 2018). 이러한 비파괴적인 표현형 특성평가 연구는 생물적 및 비생물적 스트레스에 대한 내성의 평가 영역으로까지 확장되고 있으며, 여러 스트레스 평가 방법 중 엽록소형광의 측정은 비파괴적인 방법으로서 다양한 연구가 진행되고 있다(Murchie와 Lawson, 2013). 식물체는 외부환경으로부터의 다양한 환경스트레스에 의하여 광합성 활성이 감소되며 이러한 광합성 수준의 감소는 엽록소형광반응의 측정을 통해 간접적으로 정량화될 수 있다(Chaerle 등, 2007). 식물은 광합성에 이용되는 에너지 이상의 과도한 에너지를 열이나 형광으로 방출하게 되는데, 이때 발생하는 형광을 엽록소형광(Chlorophyll fluorescence)이라고 하며, 엽록소형광의 다양한 지수들의 측정을 통하여 특정 환경조건에서 개별 작물의 광합성 활성을 수치화하여 객관적으로 평가할 수 있다(Mishra 등, 2016). 이러한 엽록소형광 측정 기술은 식물체의 비생물적 스트레스(수분, 건조, 고온, 저온, 염류 및 양분결핍)의 조기 탐지에 폭넓게 활용되고 있다(Murchie와 Lawson, 2013). 비생물적 스트레스는 광계 II(Photosystem II)의 기구에 영향을 주어 광합성 활성 기능을 저하시킨다고 알려져 있으며(Yamamoto 등, 2013), 엽록소형광 측정을 통해 얻은 다양한 단일 또는 복합지수의 분석을 통해 특정 작물의 생리적 반응 및 광합성 기구에 대한 정보를 해석할 수 있다(Force 등, 2003).

식물의 엽록소형광 수준은 JIP test(chlorophyll fluorescence induction curve), Kautsky effect(chlorophyll a fluorescence induction), Quenching 등 다양한 측정 기법을 적용하여 분석할 수 있으며, 그러한 기법들 중, 식물 스트레스의 진단에 폭넓게 활용되는 Quenching 기법은 암적응 또는 광적응 식물체의 다양한 엽록소형광 지수 측정에 활용되고 있다(Cen 등, 2017). 특히, 암적응 식물체의 최대 광화학적 효율(Fv/Fm; Maximum PSII quantum yield)은 광계 II(PhotosystemII)의 잠재적인 광합성 효율을 나타내는 대표적인 엽록소형광 측정 지수로 알려져 있으며, 스트레스 조건하에서 특정 식물의 건전성을 판단하는 지수로서 많은 연구자들에 의해 폭넓게 활용되고 있다(Hazrati 등, 2016). 비광화학적 형광 소멸(NPQ; Non-photochemical quenching)은 과도한 광에너지로부터의

자체 보호기작이며, 스트레스를 받을 경우 그 수치가 증가하고 잉여에너지를 열로 소산시킴으로써 광합성 기능을 보호한다(Ruban, 2016). 이외에도 엽록소형광의 다양한 측정 지수로는, Fo(minimum fluorescence in dark adapted state), Fm(maximum fluorescence in dark adapted state), Φ PSII(steady-state PSII quantum yield), qP(coefficient of photochemical quenching in steady-state), Rfd(fluorescence decline ratio in steady-state) 등이 있으며, 스트레스 수준의 진단에 독립적 또는 복합적으로 사용되고 있다(Gorbe와 Calatayud, 2012).

이와 같이 엽록소형광 기법을 이용하여 건조 등 다양한 스트레스 수준의 정량화 및 공정육묘장의 관수 자동화를 위한 연구 등이 개별적으로 진행되고 있으나, 실용적으로 정밀 관수를 하기 위한 지표로서의 엽록소형광 지수의 선발과 선발지수의 활용 가능성에 대한 연구는 부족한 실정이다. 따라서 본 연구는 수박 접목묘 생산 시 플러그트레이 셀 내 수분함량을 비파괴적으로 측정함과 동시에 현재의 건조스트레스 수준을 정량화할 수 있는 엽록소형광 지수를 선발하여, 관행적으로 이루어지는 플러그트레이 수분관리의 보완 가능성을 평가하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 재배 환경조건

실험에는 전문육묘장에서 생산된 수박 접목묘가 이용되었다. 과종 6일째에 대목품종 ‘동장군’(Syngenta Korea Co., Seoul, Korea)과, 접수품종 ‘퍼스트 꿀’(Jenong Co., Jeju, Korea)을 단근편엽합접 방법으로 접목하였다. 접목 후 6일차 활착이 정상적으로 이루어진 묘를 선발하여 건조스트레스 실험을 진행하였다. 건조스트레스 처리 실험은 다단형 인공광이용 베드가 설치되어 있는 폐쇄형 식물공장 내에서 이루어졌으며, 실험기간 동안 식물공장 내 온도조건은 주야간 24/18°C, 일장은 주야간 14/10h, 습도는 40%로 유지하였고, 저면관수를 통해 1일 10분간 관수하였다. 인공광원으로는 형광등(TLD 32W/865RS, Philips, Amsterdam, Netherlands)을 사용하였으며, 광도는 광원으로부터 플러그트레이의 하단에 위치시켜 측정된 $210 \pm 10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 로 실험 종료 시점까지 재배하였다.

플러그트레이 단일 셀 내 수분함량 측정

플러그트레이 단일 셀 내 수분함량 수준을 비파괴적으로 측정하기 위해 유전을 측정을 원리로 하는 플러그트레이 셀 단위 수분함량 측정장치(Celmon-01, TSE Co, Seongnam, Korea)를 이용하였다. 측정장치는 개별 50공 플러그셀 크기의 고정장치, LCD모니터 및 전원공급장치 등으로 구성되어 있으며, 센서를 통해 수분함량 수준에

따라 유전율에 의한 일정 상대적 수치를 확보하였고, 이를 실제 지하부 단일 셀의 배지 내 수분함량과 비교 분석하였다. 플러그트레이 셀 단위 수분함량 측정장치와 일반적으로 사용하는 토양건조법과의 상관관계를 도출하기 위해 50공 플러그트레이에 상토를 충전하고 0(일반적인 상토 상태)부터 2ml 단위로 30ml까지 수분 공급 수준을 달리하여 다양한 수분함량 조건의 배지를 확보하였다. 상토가 충전된 개별 플러그트레이에 1차 증류수를 피펫으로 관수하고 2시간동안 일반 상온상태에 보관한 후 플러그트레이 셀 단위 수분함량 측정장치를 이용하여 각 처리별 유전율 수치를 확보하였다. 일반적으로 토양함수량은 채취한 토양의 무게를 측정 후 항온기에서 105~110°C내에서 24~72시간 내에서 건조하여 건조 후 토양과 건조 전 토양과의 무게 차이를 통해 토양함수율을 계산한다. 본 실험에서는 처리별 상토를 건조용 봉투

에 넣고 105°C 상태에서 96시간동안 건조하였다. 건조 전과 건조 후 상토의 실제 토양 무게를 측정하여, 실제 개별 플러그트레이 셀 내의 수분함량과의 상관관계($R^2=0.9698$)를 도출하였다. 이를 바탕으로 실제 측정된 수분함량과 센서의 수치 값의 이용가능 범위를 상관분석을 통해 확인하였다(Fig. 1).

건조스트레스 처리

확락이 완료된 접목묘는 식물공장 환경조건 하에서 건조스트레스 처리 시작 전까지 3일간 적응시켰으며, 이후 관수를 제한함으로써 건조스트레스를 부여하였다(Fig. 2). 플러그트레이 개별 셀 단위의 건조스트레스 수준의 객관적 평가를 위하여 플러그트레이 셀 내 수분함량 센서의 수치값과 개별 셀 내 상토의 수분함량 실측값(토양건조법)과의 상관관계를 도출하고(Fig. 1), 이를 토대로 건조스트레스 수준이 서로 다른 9그룹의 접목묘를 구분하였다. 세부적으로 유전율 측정센서의 수치값을 기준으로, D1(41~50, 충분한 관수 직후), D2(31~40), D3(21~30), D4(11~20), D5(6~10), D6(0~5), D7, D8 및 D9(극심한 건조스트레스)의 9단계로 건조 스트레스 수준을 구분하였다. D1부터 D6까지의 범위에서는 센서로 스트레스 수준의 구분이 가능하였으나, D7단계 이후의 심한 스트레스 범위에서는 단계간에 수치상 구분이 불가하였다. 플러그트레이 수분함량 센서의 수치값이 구분되지 않는 단계에서는 24시간을 간격으로 측정하였다. 각 9단계의 단일 플러그트레이 셀 내 실측 수분함량은 평균값으로서 $53.0 \pm 1.8\%$ (D1), $49.5 \pm 3.0\%$ (D2), $42.3 \pm 3.1\%$ (D3), $37.5 \pm 2.5\%$ (D4), $32.1 \pm 2.9\%$ (D5), $22.2 \pm 1.8\%$ (D6), $20.8 \pm 1.6\%$ (D7), $17.01 \pm 1.2\%$ (D8) 및 $15.7 \pm 1.1\%$ (D9)에 해당하였다. 건조 스트레스 수준별로 구분된 수박 접목묘는 식물개체별 5반복으로 이후의 엽록소형광이미지 측정에 이용하였다.

Fig. 1. Correlation between the moisture content using permittivity plug tray and soil drying method.

Fig. 2. Workflow of the experiment.

Table 1. List of the abbreviations and their descriptions used in this study.

Classification	Description
Fo	Minimum fluorescence in dark-adapted state
Fm	Maximum fluorescence in dark-adapted state
Fp	Peak fluorescence during the initial phase of the Kautsky effect
Fo_Lss	Steady-state minimum fluorescence in light
Fm_Lss	Steady-state maximum fluorescence in light
Fv_Lss	Variable fluorescence of a light-adapted state
Ft_Lss	Photochemical quenching of fluorescence due to open PSII centres
Fq_Lss	Steady-state fluorescence in light
Fv/Fm	Maximum PSII quantum yield
Fv/Fm_Lss	PSII quantum yield of light
Qy_Lss	Steady-state PSII quantum yield
qP_Lss	Coefficient of photochemical quenching in steady-state
qL_Lss	Estimates the fraction of open PSII centres
Rfd_Lss	Fluorescence decline ratio in steady-state
NPQ_Lss	Steady-state non photochemical quenching in light
qN_Lss	Non-photochemical quenching

건조스트레스 회복 평가

건조스트레스로 인한 시들증상이 육안으로 확인되는 단계(D5~D9)의 접목묘에 대해서는 재관수를 통한 생육 회복여부를 평가하였다(Fig. 2). 육안으로 건조스트레스의 판단이 가능했던 D5(32.1%)단계 이후 D9(15.7%)단계까지 관수 전 엽록소형광을 대조구로서 측정하였고, 회복 그룹은 20분간 저면관수한 뒤 24시간 후 회복 수준을 측정하였다. 이는 저면관수 후 식물체가 완전히 플러그트레이 셀내 수분을 이용할 수 있도록 충분한 시간을 부여하였다. 저면관수를 통해 완전히 습윤한 상태의 단일 플러그트레이의 배지를 토양건조법을 통해 재관수 처리 그룹의 함수율을 측정한 결과, 수분함량 실측값은 D5-R(52.2%), D6-R(50.0%), D7-R(41.1%), D8-R(38.0%) 및 D9-R(27.4%)로 나타났다. 대조구 및 회복그룹에 해당하는 각 접목묘는 식물개체별 5반복으로 엽록소형광 이미지 측정에 사용하였다.

엽록소형광 지수 측정

엽록소형광이미지장치(Chlorophyll fluorescence imaging; Closed Fluorcam FC 800-C, PSI, Drasov, Czech)를 이용하여 16종의 엽록소형광 지수와 이미지를 획득하였다(Table 1). 엽록소형광 측정을 위해 20분간 암적응시킨 후, 카메라와 식물체간의 거리를 20cm로 고정하고 측정하였

다. 엽록소형광 지수 획득을 위한 측정 기법은 Quenching Act2를 이용하였으며, 개별 식물체에 대하여 193초간 엽록소형광 수준을 연속 측정하고, FluorCam7 (Version. 1.2.5.16, PSI, Chez)을 이용하여 측정된 이미지에서 수박 접목묘의 접수부위의 영역을 직접 분리하여 다양한 지수와 영상을 획득하였다.

결과 및 고찰

건조스트레스 수준별 엽록소형광곡선의 패턴 변화

플러그트레이 셀 내 수분 감소에 따라 D1(53.0%, 충분한 수분 상태)부터 D9(15.7%, 극심한 건조스트레스)단계로 구분하여 각 단계별로 Quenching Act2를 이용하여 엽록소형광을 측정하였다. 건조 스트레스의 탐지에 있어서 엽록소형광측정 기법의 효용성을 사전 평가하기 위하여, 9단계로 구분된 건조스트레스 단계 중, 뚜렷한 외관적 차이의 인지가 가능했던 D1(53.0%, 충분한 수분 상태), D5(32.1%, 육안판단 가능) 및 D9(15.7%, 극심한 건조스트레스)의 3단계를 선정하여 엽록소형광곡선을 분석하였다(Fig. 3). D1(53.0%, 충분한 수분 상태)단계는 본 실험에서 초기 설정을 통해 유도되는 정상적인 표준 엽록소형광곡선으로 나타났으며, 건조스트레스를 받은 것으로 추정되는 D5(32.1%, 육안판단 가능) 및 D9(15.7%, 극심한 건조스트레스)단계 역시 D1단계와 유사한 형태의 패턴을 보였으나, 플러그트레이 셀 내 수분 함량에 따라 엽록소형광의 절대 수준은 차이가 있는 것으로 나타났다.

최근 엽록소형광을 이용하여 식물체의 비생물적 및 생물적 스트레스에 따른 피해를 확인하기 위해 다양한 기법들이 활용되고 있으며, 이중 Quenching Act2를 이용하여 측정된 엽록소형광 곡선은 식물체의 최소 및 최대 형광, 암적응과 광적응 구간, 연속광의 횟수와 세기에 따라 엽록소형광 수준 변화를 모니터링하는데 활용되고 있다(Ruban, 2016; Yao 등, 2018). 건조스트레스 단계 중 D9(15.7%, 극심한 건조스트레스)단계에서 엽록소형광 수준이 낮아지는 것은 광합성 기구 내 PSII 반응 중심에 위치한 전이수용체 퀴논(quinone)이 환원됨에 따라 PSII가 지니고 있는 광화학적 효율성이 감소하는 기존 결과와 유사하였다(Mishra 등, 2016; Yamamoto 등, 2013). 특이적으로 극심한 건조스트레스인 D9(15.7%)단계와 배지내 수분이 충분한 상태인 D1(53.0%)단계에 비해 D5(32.1%, 육안판단 가능)단계에서 엽록소형광 수준이 증가하는 것을 확인하였는데, 이는 Arabidopsis를 대상으로 건조스트레스를 부여하여 엽록소형광 수준을 검토한 결과, 일정 수준의 건조스트레스를 받은 처리구는 광에너지를 받아들이며 활용하는 광합성 기구의 특이적인

Fig. 3. Representative kinetic chlorophyll fluorescence curves in scion of grafted watermelon seedlings at different level of water content (D1: 53.0% water content; D5: 32.1% water content; and D9: 15.7% water content). Fo: minimum fluorescence in dark-adapted state; Fm: maximum fluorescence in dark-adapted state; Fm Ln: maximum fluorescence during light adaptation; Fm_Dn: instantaneous maximum fluorescence during dark relaxation; Fm_Lss: steady-state maximum fluorescence in light; Fp: peak fluorescence during the initial phase of the Kautsky effect; Ft_Ln: instantaneous fluorescence during light adaptation; Ft_Dn: instantaneous fluorescence during dark adaptation; Ft_Lss: steady-state fluorescence in light.

광에너지 이용 차이에 따른 것으로 본 연구와 유사하였다(Yao 등, 2018). 따라서 엽록소형광을 측정하면 육묘단계에서의 건조스트레스 수준을 정량적으로 수치화하고, 평가할 수 있을 것으로 판단된다.

건조스트레스 수준에 따른 개별 엽록소형광 지수의 변화

단일 플러그트레이 셀 내 건조스트레스에 반응하는 수박 접목묘의 엽록소형광 지수 변화를 9단계의 수분스트레스 그룹에 대하여 분석하였다(Fig. 4). 측정된 총 16개의 모든 엽록소형광 지수는 건조스트레스의 육안판단 직전 단계인 D1에서 D4단계까지 유의적인 차이를 보이지 않고 일정한 범위를 유지하였다. 대목의 떡잎이 시들기 시작하여 육안으로 건조스트레스의 판단이 가능했던, 초기 스트레스 범위인 D5~D7단계에서 일부 지수의 특이적인 증감 경향이 관찰되었으며, 이후 D8~D9단계에서는 모든 지수에 대하여 전체적으로 감소하는 경향을 보였다. 엽록소형광곡선 분석을 통해 일정 수준의 건조스트레스는 식물체의 엽록소형광 발생량을 증가시키고, 이후 극심한 건조스트레스가 지속되면 광합성 기구의 광에너지를 이용할 수 있는 능력을 잃어버리는 것으로 판단된다. 엽록소형광 지수 중 Fm_Lss, Ft_Lss, Fv_Lss, NPQ_Lss 및 qN_Lss의 D9(15.7%, 극심한 건조스트레스)단계에서의 큰 감소는

극단적인 건조스트레스 조건에서 식물체의 광합성 기구의 손상 때문인 것으로 판단된다(Yao 등, 2018).

다른 모든 지수들에 비해, 엽록소형광감소율(Rfd_Lss)는 D5(32.1%, 육안판단 가능)단계에서 감소경향을 보이며 D6단계의 초기 건조스트레스 조건에서 유의적인 감소를 확인하였다. 그러나 이후 좀 더 지속적인 스트레스 조건인 D7단계에서의 일시적 증가는 건조스트레스에 반응하는 식물체의 기작으로 판단된다. 이러한 일시적인 증가는 건조스트레스로 기인한 식물체의 광합성 기구의 대응전략으로 볼 수 있으며, 더욱 극심한 건조스트레스는 잎의 수분포텐셜을 감소시키고, 광합성 속도를 낮추어 광합성 효율을 감소시키는 것으로 보인다(Lawlor와 Cornic, 2002; Chaves와 Oliveira, 2004).

일반적으로 수분 스트레스는 식물체의 기공폐쇄, RuBisCo의 비활성화로 인하여 단기적 및 장기적으로 광합성에 영향을 주는 비생물적 스트레스로 알려져 있다(Gorbe와 Calatayud, 2012). Fv/Fm은 암적응시 식물체의 광합성 수준을 평가할 수 있는 대표적인 엽록소형광 지수로, 다양한 비생물적 및 생물적 스트레스 탐지에 활용되고 있으나(Rungrat 등, 2016), 본 연구에서 수박접목묘의 건조스트레스로 인한 Fv/Fm은 유의한 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과는 건조스트레스가 PSII의 최대 광

Fig. 4. Changes in chlorophyll fluorescence parameters during the different water levels. D1: 53.0%; D2: 49.5%; D3: 42.3%; D4: 37.5%; D5: 32.1%; D6: 22.2%; D7: 20.8%; D8: 17.0%; D9: 15.7%. Please refer to the table 1 for all the fluorescence parameters. Different letters within the graph represent a significant difference at $p < 0.05$ using Duncan's multiple range test.

화학적 효율(Fv/Fm) 감소에 미치는 연관성이 적다는 연구결과와 일치하였다(Yao 등, 2018). 따라서 단기적인

건조스트레스 조기 탐지를 위한 엽록소형광 지수로 PSII의 최대 광화학적 효율(Fv/Fm)의 활용은 어려울 것으로

판단된다. 식물은 광에너지를 흡수한 후, fluorescence, qP 및 qN의 세가지 경로로 활용하며(Wang 등, 2018), qP_Lss는 광합성 과정 중 사용되는 에너지 비율을 나타내기 때문에 PSII의 개방성 수준을 나타내는 측정 지수로 활용된다(Baker 와 Rosenqvist 2004; Li 등, 2013; Hazrati 등, 2016). 건조스트레스는 식물체의 엽에 존재하는 수분 감소로 이어져 광합성 기구에 존재하는 PSII 반응 센터의 구조적 손상을 일으키는데, 광에너지 수준을 나타내는 qP_Lss가 감소한 것으로 보여진다(Zlatev, 2013; Wu et al., 2018). 따라서 초기 Rfd_Lss와 qP_Lss의 두 지수들은 최대 광화학적 효율(Fv/Fm)에 비해 건조스트레스 수준에 따른 민감도가 높아 수박접목묘의 건조스트레스 진단에 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

건조스트레스 후 관수재개에 따른 광합성 회복수준 평가

일반적으로 심각한 건조스트레스에 노출된 후 회복된 묘의 건전성을 육안으로 판단하고, 이를 정량적으로 객관화하기에는 어려운 실정이다. 따라서 육안으로 판단할 수 없는 광합성 수준을 엽록소형광 이미지 기술을 이용하여 정량화하고 신속하게 건전도 분류를 위한 판단 기준으로 적용하고자 하였다.

앞서 건조스트레스에 반응하는 다양한 엽록소형광 지수 중 신속한 건조스트레스 탐지를 위해 초기 건조스트레스 범위 D5(32.1%)~D7(20.8%)단계에서 반응하는 엽록소형광 지수를 모니터링 하였다. 그 결과 엽록소형광 감소율(Rfd_Lss)과 장기적인 건조스트레스 및 광합성 회복 수준을 평가하기에 적합하다고 판단되는 최대 광화학적 효율(Fv/Fm)을 선발하였다. 더불어 D5(32.1%, 육안판단 가능)~D9(15.7%, 극심한 건조스트레스)단계에 각 단계별로 재관수하여 생육의 변화를 확인하였다(Fig. 5).

초기 건조스트레스 범위 D5(32.1%)~D7(20.8%)단계에서 Fv/Fm 지수로 스트레스 수준 판단이 어려웠으나, 심각한 건조스트레스에 노출되면 지수가 감소하는 것으로 나타났다.

회복 그룹 중 D5-R(52.2%)단계는 건조 그룹인 D5(32.1%, 육안판단 가능)단계에 비해 회복되지 않은 것으로 나타났으나, 이후 회복그룹은 일반적인 식물체의 건전성을 나타내는 0.80~0.83 수준으로 회복되었다.

엽록소 형광 감소율(Rfd_Lss)은 식물의 광합성 과정에 대한 잠재적인 활성 수준을 나타내는 지표로서 활용되고 있다(Yao 등, 2018). Rfd_Lss는 건조그룹에 비해 회복그룹은 높은 광합성 활성 수준을 나타냈으나, 초기 건조스트레스 범위 D7(20.8%)단계 이후 감소하였으며 이후 동일한 수준으로 회복되지 않았다. 이는 극심한 건조스트레스를 받은 묘에 다시 관수가 이루어지더라도 광합성

Fig 5. Changes in chlorophyll fluorescence parameters (Fv/Fm and Rfd_Lss) after the recovery test during different water level condition. D1: 53.0%; D2: 49.5%; D3: 42.3%; D4: 37.5%; D5: 32.1%; D6: 22.2%; D7: 20.8%; D8: 17.0%; D9: 15.7%. Please refer to the table 1 for all the fluorescence parameters. Different letters within the graph represent a significant difference at $p < 0.05$ using Duncan's multiple range test.

기구에 큰 손상에 따른 피해의 결과로 판단된다. 회복 그룹 D5-R(52.2%), D6-R(50.0%) 및 D7-R(41.1%)단계에서 건조 그룹에 준하여 광합성 활성 수준이 회복되는 것을 확인하였으며, 이는 식물체의 필요 수분 공급으로 인해 광합성 활성 수준이 회복된 것으로 보여진다(Gashi 등, 2013). 더불어 건조스트레스에 영향을 받은 식물은 근권부의 이용 수분 부족으로 인한 피해가 나타나기 때문에, 접목묘의 접수 부위를 보호하고 있는 대목이 접수에 비해 먼저 나타난 것으로 나타났다(Widaryanto 등, 2017).

이를 통해 초기 건조스트레스 범위에는 엽록소형광 감소율(Rfd_Lss), 극심한 건조스트레스 및 재관수를 통한 회복 평가에는 최대 광화학적 효율(Fv/Fm)지수가 건조스트레스 탐지에 적용 가능할 것으로 판단된다.

건조스트레스 및 재관수에 따른 외형 및 엽록소형광 이미지 변화

엽록소형광 이미지(CFI)는 각각의 측정 지수 형광 강도에 의한 색의 변화에 근거하였으며, 건조스트레스 및 회복처리에 따른 형광 수준 범위 내에서 파란색은 형광

Fig 6. Changes in chlorophyll fluorescence imaging of scion of grafted watermelon during different water level conditions and recovery tests. D1: 53.0%; D2: 49.5%; D3: 42.3%; D4: 37.5%; D5: 32.1%; D6: 22.2%; D7: 20.8%; D8: 17.0%; D9: 15.7%. Please refer to the table 1 for all the fluorescence parameters.

강도가 가장 낮고 붉을수록 형광 강도가 가장 높음으로 설정하여 분석하였다(Fig. 6). 건조스트레스처리 이후 실제 수분함수율의 감소와 외관상 생육 변화도 함께 확인하였다.

D5(32.1%, 육안판단 가능)단계에서 육안으로 대목부터 건조스트레스에 의한 시들 증상이 나타났으며, 접수에는 육안상 증상이 나타나지 않았다. 초기 건조스트레스 범위 D6(22.2%)~D7(20.76%)단계 이후 접수에도 일부 시

들 증상이 나타났으며, 이후에는 식물체가 도복하였다. 극심한 건조스트레스 범위 D8(17.0%)~D9(15.7%)단계에 이르러 육안으로도 접수의 수분함량이 크게 감소된 것으로 판단된다. 시들 증상이 심해지는 것은 플러그트레이 단일 셀 내 토양 건조를 통해 극심한 건조스트레스 범위의 셀 내에서도 수분이 확인되었으나, 식물체가 이용할 수 없는 수분의 형태로 존재하기 때문으로 판단된다.

초기 건조스트레스 단계에서 Fv/Fm은 유의적인 지수의 변화가 확인되지 않았으며, 엽록소형광 이미지 상에서도 큰 변화는 없는 것으로 나타났으나, D6(22.2%)단계에서 형광이미지의 변화가 탐지되었다. 또한 회복그룹 D8-R(38.0%)~D9-R(27.4%)단계에서는 접수의 잎 말단의 조직 파괴로 엽록소형광의 탐지가 불가능하였다. Rfd_Lss는 초기 건조스트레스 범위 D5-R(52.2%), D6-R(50.0%)단계에서 감소하였으며, D7-R(41.1%)단계에서 증가 경향을 보였는데, 이는 초기 건조스트레스 단계에서 엽록소형광지수가 일시적으로 민감하게 감소하나, 이후 스트레스 수준이 지속되거나 심화될 때 다시 수치가 증가하는 것은, 광에너지 이용 효율 증대를 위한 식물자체의 환경 적응과정으로 판단된다. qP_Lss는 건조그룹 D4(37.5%, 육안판단 직전)단계에서 다른 단계에 비해 대목의 활성도가 낮은 것으로 나타났으며, NPQ_Lss는 일반적으로 스트레스시 증가하는데, 재관수가 되어 회복된 외형에 비해 엽록소형광 이미지로 접수의 잎 소산 수치가 높은 것으로 나타났다. 따라서 엽록소형광 이미지를 통해 재관수시 수박접목묘의 광합성 기구의 활성을 확인할 수 있을 것으로 판단된다. 개별 엽록소형광지수의 수치값의 유의적 차이뿐만 아니라 이미지만으로도 직관적으로 건조스트레스 수준을 확인할 수 있었으며, 이는 건조스트레스에 대응하여 엽록소형광 이미지를 분석 제시한 기존 연구결과와 동일한 것으로 나타났다(Baker와 Rosenqvist 2004; Rungrat 등, 2016; Yao 등, 2018).

본 연구의 결과로, 수박접목묘의 플러그트레이 셀 단위 건조스트레스 수준을 조기 탐지할 수 있는 엽록소형광 지수로, 초기 건조스트레스 범위에서 민감하게 반응한 엽록소형광감소율(Rfd_Lss)로 판단되었다. 또한 초기 건조스트레스 탐지 외에 극심한 건조스트레스 및 재관수를 통한 회복 평가에는 최대 광화학 효율(Fv/Fm)지수가 건조스트레스 탐지에 적용 가능할 것으로 판단된다. 본 연구는 엽록소형광 이미지 측정 기술을 이용하여 플러그트레이 단일 셀 내 건조스트레스 수준을 정량화하고 적합한 지수를 선별한 선도적인 연구결과로 판단되며, 향후 대상 작물 및 비생물적 스트레스의 종류별 엽록소형광 지수의 선별과 농업적 적용에 대한 연구 확대가 필요할 것으로 판단된다.

적 요

본 연구는 육안판단이 아닌 엽록소형광 이미지 측정기법을 이용하여 비파괴적으로 수박접목묘 플러그트레이 단일 셀에 대해 건조스트레스를 정량화하고자 수행되었다. 접목 후 6일차 수박접목묘를 3일동안 균일한 관수관리 하에서 재배한 후 건조스트레스를 부여하였다. 이후 플러그트레이 단일 셀 형태의 수분함량센서를 이용하여 D1(53.0%, 충분한 수분상태)단계부터 D9(15.7%, 극심한 건조스트레스)단계까지 9개 그룹으로 분류하고 엽록소형광을 측정하였다. 또한 건조스트레스에 영향을 받은 묘(D5-D9)에 재관수하여 육안판단으로 확인되지 않은 광합성 및 생육 회복 수준을 측정하였다. 3개의 건조스트레스 단계의 엽록소형광 곡선 형태는 건조스트레스 조기 탐지에 대해 다른 양상을 보였다. 총 16개의 엽록소형광 지수는 건조스트레스에 노출되면서 지속적으로 감소하였으며, 육안으로 판단 가능한 D5(32.1%)단계에서 크게 감소하였다. 형광감소율(Rfd_Lss)는 초기 건조스트레스 수준(D5-D6)에서 명확하게 감소하기 시작하였으며, 최대 광화학효율(Fv/Fm)은 극심한 건조스트레스 수준(D7-D9)에서 크게 감소하였다. 따라서, Rfd_Lss 및 Fv/Fm 지수를 건조스트레스의 초기 및 이후 단계에서 생육 및 광합성 회복 평가를 위한 지표로 선정하였다. 개별 엽록소형광 지수의 수치값 차이와 엽록소형광 이미지를 통해 건조스트레스 수준이 직관적으로 확인되었다. 이러한 결과는 Rfd_Lss와 Fv/Fm은 각각 초기 및 극심한 건조스트레스를 탐지하지 위한 엽록소형광 지수로 활용될 수 있으며, Fv/Fm은 재관수시 회복 평가를 위한 최적의 엽록소형광 지수로 판단된다.

추가 주제어: 엽록소형광, 건조스트레스, 회복수준 평가, 비파괴진단, 이미지 분석

사 사

본 결과물은 농림축산식품부의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 농림축산식품연구센터지원사업의 지원을 받아 연구되었음(No.717001-07-2-SB210).

Literature Cited

- Abbas, A., H. Yu, H. Cui, H. Yu, and X. Li. 2019. Effect of drought stress on chlorophyll fluorescence, and biomass partitioning of *Aegilops tauschii* L. Applied Ecology and Environmental Research 17:1071-1082.
- Baker, N.R. and E. Rosenqvist. 2004. Applications of chloro-

- phyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *Journal of Experimental Botany* 55:1607-1621.
- Baker, N.R. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology* 59:89-113.
- Banks, J.M. 2018. Chlorophyll fluorescence as a tool to identify drought stress in *Acer* genotypes. *Environmental and Experimental Botany* 155:118-127.
- Bradford, K.J. and T.C. Hsiao. 1982. Stomatal behavior and water relations of waterlogged tomato plants. *Plant Physiology* 70:1508-1513.
- Cen, H., H. Weng, J. Yao, M. He, J. Lv, S. Hua, H. Li, and Y. He. 2017. Chlorophyll fluorescence imaging uncovers photosynthetic fingerprint of citrus huanglongbing. *Frontiers in Plant Science* 8:1509.
- Chaerle, L., I. Leininen, H.G. Jones, and D.V.D. Streiten. 2007. Monitoring and screening plant populations with combined thermal and chlorophyll fluorescence imaging. *Journal of Experimental Botany* 58:773-784.
- Chaves M. M. and M. M. Oliveira. 2004. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *Journal of Experimental Botany* 55:2365-2384.
- Force, L., C. Critchley, and J.J.S. Rensen. 2003. New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. *Photosynthesis Research* 78:17-33.
- Gashi, B., F. Banani, and E. Kongjika. 2013. Chlorophyll fluorescence imaging of photosynthetic activity and pigment contents of the resurrection plants *Ramonda serbica* and *Ramonda nathaliae* during dehydration and rehydration. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 19:333-341.
- Gorbe, E. and A. Calatayud. 2012. Applications of chlorophyll fluorescence imaging technique in horticultural research: A review. *Scientia Horticulturae* 138:24-35.
- Hazrati, S., Z. Tahmasebi-Savestani, S.A.M. Modarres-Sanavy, A. Mokhassi-Bidgoli, and S. Nicola. 2016. Effects of water stress and light intensity on chlorophyll fluorescence parameters and pigments of *Aloe vera* L. *Plant Physiology and Biochemistry* 106:141-148.
- Kim, H.J., M.Y. Roh, D.H. Lee, S.H. Jeon, S.O. Hur, J.Y. Choi, S.O. Chung, and J.Y. Rhee. 2011. Feasibility test on automatic control of soil water potential using a portable irrigation controller with an electrical resistance-based watermark sensor. *Journal of Bio-Environment Control* 20:93-100 (in Korean).
- Lawor D. W. and G. Cornic. 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell & Environment* 25:275-294.
- Li, G.L., H.X. Wu, Y.Q. Sun, and S.Y. Zhang. 2013. Response of chlorophyll fluorescence parameters to drought stress in sugar beet seedlings. *Russian Journal of Plant Physiology* 60:337-342.
- Mahajan, S. and N. Tuteja. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444:139-158.
- Mishra, K.B., A. Mishra, K. Novotna, B. Rapantova, P. Hodanova, O. Urban, and K. Klem. 2016. Chlorophyll a fluorescence, under half of the adaptive growth-irradiance, for high-throughput sensing of leaf-water deficit in *Arabidopsis thaliana* accessions. *Plant Methods* 12:46.
- Murchie, E.H. and T. Lawson. 2013. Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. *Journal of Experimental Botany* 64:3983-3998.
- Park, I.S., C.Y. Shim, and J.M. Choi. 2017. Influence of post-planting fertilizer concentrations supplied through sub-irrigation in winter season cultivation of tomato on the seedling growth and changes in the chemical properties of root media. *Protected Horticulture and Plant Factory* 26:35-42 (in Korean).
- Ruban, A.V. 2016. Nonphotochemical chlorophyll fluorescence quenching: mechanism and effectiveness in protecting plants from photodamage. *Plant Physiology* 170:1903-1916.
- Rungrat, T., M. Awlia, T. Brown, R. Cheng, X. Sirault, J. Fajkus, M. Trtilek, F. Furbank, M. Badger, M. Tester, B.J. Pogson, J.O. Borevitz, and P. Wilson. 2016. Using phenomic analysis of photosynthetic function for abiotic stress response gene discovery. *The Arabidopsis book* 14.
- Wang, Z., G. Li, H. Sun, L. Ma, Y. Guo, Z. Zhao, H. Gao, and L. Mei. 2018. Effects of drought stress on photosynthesis and photosynthetic electron transport chain in young apple tree leaves. *The Company of Biologists* 7:035279.
- Widaryanto, E., K.P. Wicaksono, and H. Najiyah. 2017. Drought effect simulation on the growth and yield quality of melon (*Cucumis melo* L.) *Journal of Agronomy* 16:147-153.
- Wu Z. Z., Y. Q. Ying, Y. B. Zhang., Y. F. Bi., A. K. Wang., and X. H. Du. 2018. Alleviation of drought stress in *Phyllostachys edulis* by N and P application. *Scientific Reports* 8:228.
- Yamamoto, Y., H. Hori, S. Kai, T. Ishikawa, A. Ohnishi, N. Tsumura, and N. Morita. 2013. Quality control of photosystem II: reversible and irreversible protein aggregation decides the fate of photosystem II under excessive illumination. *Frontiers in Plant Science* 4:433.
- Yao, J., D. Sun, H. Cen, H. Xu, H. Weng., F. Yaun, and Y. He. 2018. Phenotyping of *Arabidopsis* drought stress response using kinetic chlorophyll fluorescence and multicolor fluorescence imaging. *Frontiers in Plant Science* 9:903.
- Zlatev, Z.S. 2013. Drought-induced changes and recovery of photosynthesis in two bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.). *Emirates Journal of Food & Agriculture* 25:1014-1023.