

## 토마토 품종별 철 결핍 유도후 Fe-DTPA 처리에 의한 영양장애 회복 소요시간과 철 결핍 유발물질 동정

이성태 · 김민근 · 이영한 · 김영식<sup>1</sup> · 김영봉\*

경상남도농업기술원, <sup>1</sup>상명대학교 식물산업공학과

### Analysis of Fe-Deficient Inducing Enzyme and Required Time for Recovery of Nutritional Disorder by Fe-DTPA Treatment in the Fe-Deficient Induced Tomato Cultivars

Seong-Tae Lee, Min-Keun Kim, Young-Han Lee, Young-Shik Kim<sup>1</sup>, and Yeong-Bong Kim

Gyeongsangnamdo Agricultural Research and Extension Services, Jinju 660-370, Korea

<sup>1</sup>Department of Plant Science and Technology, Sangmyung Univ., Cheonan 330-720, Korea

The purpose of this study was to find out required time for recovery of nutritional disorder by Fe-DTPA treatment in induced Fe-deficient tomato cultivars and to select stable Fe-chelate in high pH of nutrient solution. The pH levels of nutrient solution were amended with 6.0, 7.0, and 8.0. Then Fe-EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid, ferric-sodium salt), Fe-DTPA (Sodium ferric diethylenetriamine pentaacetate), and Fe-EDDHA (Ethylenediamine-N,N-bis (2-hydroxyphenylacetic acid) ferric-sodium salt) were treated as Fe 2.0 mg L<sup>-1</sup> concentration. The Fe-DTPA and Fe-EDDHA were stable in the nutrient solution of pH 6.0~8.0 but Fe-EDTA in nutrient solution of pH 8.0 was to become insoluble by 25%. The Fe 2.0 mg L<sup>-1</sup> as Fe-DTPA was treated for recovery of Fe deficient tomato seedlings. In case of Redyoyo and Supersunroad cultivars, total chlorophyll and Fe contents of leaves were recovered as much as those of normal leaves in 5 days. The Rafito cultivar for complete recovery was taken 7 days. When Fe 2.0 mg L<sup>-1</sup> as Fe-DTPA was supplied to Fe-deficient tomato seedlings, in geotype, heme oxygenase recovered as much as normal leaves in 24 hours in the Rafito and Redyoyo. However, it was not remarkable difference by elapsed time in the Supersunroad.

**Key words:** Tomato, Fe deficient, Fe-DTPA, Chlorophyll content, Nutritional disorder

## 서 언

최근 작물의 영양 생리에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으나 주로 다량 원소 중심으로 행하여 졌고 (Choi et al., 2000; Choi et al., 2009), 미량 원소에 대한 연구는 아직 많이 이루어 지지 않고 있다 (Yun et al., 2003). 작물중의 미량원소 함량은 소량이지만 여러 가지 대사과정에서 중요한 생리적 기능을 가지므로 작물의 수량과 품질을 확보하는데 있어서 다량원소와 함께 미량원소의 최적관리는 매우 중요하다 (Marschner, 1995; Graham and Webb, 1991; El-Fouly et al., 2001). 토양재배에서 미량원소의 과부족은 토양중의 영양 원소들 사이의 상호작용에 의해 일어날 수 있다. 토양에서 Mn의 과잉은 작물의 Fe 흡수를 저해하여 Fe 결핍 증

상을 일으키기도 한다 (Fox et al., 1978; Osawa and Ikeda, 1976). 또 pH 등 토양의 화학적 특성에 의해 발생할 수도 있다 (Chung et al., 2006; Welch et al., 1991). 수경재배의 경우 작물재배에 적절한 양으로 미량원소를 공급하였음에도 불구하고 결핍이 일어나는 요인으로는 양액조성시 비료 성분간의 결합에 의한 불용화가 일어 날 수 있고 또 수경재배에 사용되는 원수(原水)인 지하수의 pH가 높아 일어나는 원인도 많다. 지하수의 pH가 높으면 미량성분인 철은 불용화 되어 철 결핍에 의한 잎의 황화 현상이 신초에 발생한다. 엽의 황화 현상은 아연 결핍에 의해서도 일어나는데, 아연의 경우는 잎의 끝부분 또는 엽맥 사이가 담황색을 나타내고 잎이 작아지고 엽폭이 작아지는 증상을 보이거나 철 결핍의 황화 현상은 엽맥 사이가 황백색 또는 백색으로 되는 차이가 있다고 한다 (Hanson, 1993; Korcak, 1987). Shin et al. (2004)에 의하면 고추에 있어 철 결핍으로 황화 현상이 발생하면 생장이 느려지고, 토마토의 경우는 수량에도 영향

접수 : 2011. 8. 30 수리 : 2011. 10. 7

\*연락처 : Phone: +82557716253

E-mail: q6810@korea.kr

을 미친다고 보고하였다. 킬레이트 철은 화학적 조성의 차이에 따라 용액중 유효한 pH 범위가 다른데 Fe-EDTA는 pH 4.0~6.5, Fe-DTPA는 4.0~7.5, Fe-EDDHA는 pH 4.0~9.0로 킬레이트 종류별로 차이가 있는 것으로 보고하였다 (Zekri and Obreza, 2009).

따라서 pH가 높은 지하수를 이용하여 양액을 조성할 경우 적당량의 철을 공급하여도 불용화 되어 실제 작물에 공급되는 철이 부족하여 철 결핍을 유발할 수 있으므로 pH에 안정적인 킬레이트 철의 공급이 중요하다고 할 수 있다. 본 연구는 토마토 수경재배시 사용하는 지하수의 pH가 높은 지역에서 양액의 pH 조절 곤란 및 철 불용화로 인한 생리장애 및 생육 불량을 막기 위한 방법으로 양액의 pH에 안정적인 킬레이트 철 선택과 토마토 묘종에서 철 결핍시 킬레이트 철 공급에 의한 회복 소요시간 등을 파악하여 토마토 수경재배시 철 결핍 생리장애 해결을 위한 기초자료를 제공코자 시험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

**양액 pH 수준별 킬레이트 철 불용화 시험** 토마토 수경재배를 위한 양액의 pH 수준에 따른 킬레이트 철의 불용화 정도를 알아보기 위한 시험으로 양액 조성은 Table 1과 같이 한국원예연구소 토마토 배양액 조성기준에 따라 조제하였다. 양액의 성분 분석은 수질오염공정시험기준 (Ministry of Environment, 2008)으로 분석하였으며, 양액의 성분은 EC (Electrical conductivity)  $2.0 \text{ dS m}^{-1}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $\text{PO}_4\text{-P}$  및 K 함량은 각각 134, 36 및  $180 \text{ mg L}^{-1}$  이었다. 시험에 사용된 킬레이트 철 종류는 미국의 Phytotechnology Laboratories 제조사에서 생산한 Fe-EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid, ferric-sodium salt), Fe-DTPA (Sodium ferric diethylenetriamine pentaacetate), Fe-EDDHA (Ethylenediamine-N,N'-bis(2-hydroxyphenylacetic acid)ferric-sodium salt)) 3종을 사용하였다. 양액의 pH 수준에 따른 킬레이트 철의 불용화 정도를 알아보기 위해 양액의 pH를 염산 (HCl)과 수산화나트륨 (NaOH)을 사용하여 6.0, 7.0 및 8.0으로 조절한 다음 3종류의 킬레이트 철을 각각 양액중 농도가  $2.0 \text{ mg L}^{-1}$  되게 투입하여 골고루 섞고 30분 후에 양액중의 철 함량을 ICP (Perkin Elmer 5300DV, USA)로 분석하여 불용화 정도를 분석하였다.

**토마토 묘종 철 결핍 유발 및 장애 극복** 토마토 묘종의 철 결핍 유발 시험을 위해 라피토, 레드요요 및 수퍼선로드 3종의 토마토 종자를 2008년 10월 8일, 12월 6일 두차례에 72공 플러그 트레이에 파종하고 Table 1과 같이 철이 함유되지 않은 양액을 공급하여 30일 동안 재배하였다. 대조구로 정상적인 토마토 묘종의 재배를 위해서 Fe-DTPA를 사용하여 양액 중에 철 함량이  $2.0 \text{ mg L}^{-1}$  되게 공급하였다.

**토마토 엽의 엽록소 및 철 함량 분석** 토마토 엽의 엽록소 함량을 분석하기 위하여 정상적인 토마토 묘종과 철 결핍 묘종의 신초를 채취하여 생엽  $0.5 \text{ g}$  과 80% acetone  $10 \text{ mL}$ 를 넣어 완전히 마쇄하여 메스플라스크에 넣고  $50 \text{ mL}$ 가 되도록 맞춘 다음 냉암소에서 12시간 방치하여 미세분말을 가라앉힌 후 분광광도계 (Shimadzu 1650PC)로 645 및 663 nm에서 흡광도를 측정하여 Aron (1949)식에 따라 계산하였다. 토마토의 철 함량분석은 토마토 엽을  $80^\circ\text{C}$ 에서 건조한 후 분쇄기로 분쇄한 다음 질산으로 습식 분해하여 ICP (Perkin Elmer 5300DV, USA)로 정량하였다.

**Heme oxygenase 유전자의 primer 제작 및 RT-PCR** 식물의 철 생합성에 관여하는 heme oxygenase 유전자 염기 서열에 기초하여 식물체 내 유전적 수준에서의 철 결핍 진단에 이용할 primers (F163 5'-GCAAAGGCTTTGGAATGGTT-3', R164 5'-CCCGGAGAACTTGAATGACT-3')를 제작하여 RT-PCR에 이용하였다. 토마토에 대한 total RNA는 Hirschi (1999)의 방법을 이용하여 분리하였다. RT-PCR은 ONE-STEP RT-PCR premix kit (iNtRON, South Korea.)를 이용하여 cDNA 합성을 위해  $200 \text{ ng}$  total RNA를 template로 하여  $45^\circ\text{C}$ 에서 30분간 반응시킨 뒤 역전사 효소의 불활성화를 위해  $94^\circ\text{C}$ 에서 5분간 반응하였다. 합성된 cDNA를 대상으로  $95^\circ\text{C}$ 에서 5분간 denaturation 시킨 다음  $94^\circ\text{C}$ 에서 1분,  $50^\circ\text{C}$ 에서 1분,  $72^\circ\text{C}$ 에서 2분 과정을 35회 실시한 뒤  $72^\circ\text{C}$ 에서 10분간 extension 과정을 실시하였다.

## 결과 및 고찰

**양액 pH 수준별 킬레이트 철 용해도** 토마토 수경재배에 있어 원수 (原水)의 pH가 높으면 양액의 pH 조절 곤란으로 애로사항이 많은데 높은 pH 조건에서 양액중 철의

Table 1. Composition of medium for hydroponic culture of tomato.

EC	$\text{NH}_4\text{-N}$	$\text{NO}_3\text{-N}$	$\text{PO}_4\text{-P}$	K	Ca	Mg	Na
$\text{dS m}^{-1}$	-----				$\text{mg L}^{-1}$	-----	
2.0	11	134	36	180	140	37	25

불용화에 의해 토마토 철 결핍 장애가 발생하기도 한다. 일반적으로 토양에서와 마찬가지로 지하수 원수의 pH가 높으면 철의 용해도는 떨어진다.

토마토 수정재배를 위한 양액 (Table 1)의 pH 수준을 6.0, 7.0 및 8.0으로 달리하고 양액 중 철의 농도가 2.0 mg L<sup>-1</sup>로 되게 각각 다른 3종류의 킬레이트 철을 처리한 후 양액중의 철 함량을 분석한 결과 Fe-EDTA의 경우 양액의 pH가 6.0일 때 1.92 mg L<sup>-1</sup>로 다른 2종류의 킬레이트 철과 마찬가지로 불용화에 영향을 미치지 않았지만 pH 7.0 이상의 양액에서는 철의 불용화가 일어남을 알 수 있었다. 양액의 pH가 7.0일 때 Fe-DTPA와 Fe-EDDHA 각각의 철 함량이 1.87 및 1.93 mg L<sup>-1</sup> 이었지만 Fe-EDTA는 1.72 mg L<sup>-1</sup> 이었고, 양액의 pH가 8.0 일 때 불용화가 심해져 1.51 mg L<sup>-1</sup>로 25% 정도 불용화가 나타나 pH에 따라 철의 유효화에 큰 차이가 있음을 알 수 있었다.

이러한 원인은 킬레이트 철 종류에 따라 유효한 pH 범위가 다르기 때문이다. Zekri and Obreza (2009)에 의하면 pH에 따른 철의 유효화 범위로 Fe-EDTA는 pH 4.0~6.5, Fe-DTPA는 4.0~7.5, Fe-EDDHA는 pH 4.0~9.0로 킬레이트 종류별로 차이가 있음을 보고하였다. 따라서 양액의

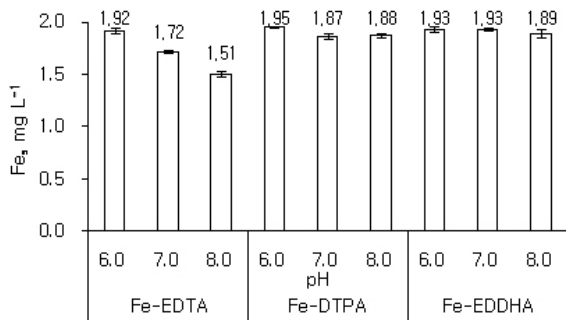


Fig. 1. Comparison of solubility of Fe by different chelate types as affected by pH levels of nutrient solution treated with Fe 2.0 mg L<sup>-1</sup> concentration. Bars represent standard deviation of the means.

pH 조건이 6.0~8.0 이라면 Fe-DTPA와 Fe-EDDHA 형태의 철을 공급하는 것이 철의 유효화에 이상적이고 Fe-EDDHA의 가격이 높은것을 고려한다면 농가에서 Fe-DTPA를 사용하는 것이 바람직할 것으로 생각한다.

**토마토 철 결핍 묘종에서 Fe-DTPA 공급에 의한 엽록소 함량 변화**

정상적인 토마토 묘종과 철 결핍이 발생된 묘종에 Fe-DTPA 킬레이트 철을 2.0 mg L<sup>-1</sup> 농도로 7일간 공급하면서 토마토 엽의 엽록소 함량을 정량하였다 (Table 2). 정상적인 토마토 묘종의 경우 엽의 엽록소 함량은 라피토, 레드요요 및 수퍼선로드 3개 품종에 있어서 크게 차이가 나타나지 않았고 대체적으로 10 mg g<sup>-1</sup> 이상을 함유하고 있었다. 그러나 철 결핍이 발생한 토마토 묘종의 엽록소 함량은 8.8~9.4 mg g<sup>-1</sup>으로 정상적인 토마토 묘종의 엽록소 함량보다는 낮은 것으로 나타났다. 철 결핍 묘종에 Fe-DTPA 2.0 mg L<sup>-1</sup> 함유한 양액을 공급한 결과 레드요요와 수퍼선로드 품종의 경우는 5일 후 정상적인 엽의 엽록소 함량과 차이가 없는 수준으로 철 결핍 장애가 회복되었으나 라피토 품종의 경우는 Fe-DTPA 공급 7일 후 정상적인 엽의 엽록소 함량 수준으로 회복되어 품종간 철 결핍 회복시간에 약간의 차이는 있는 것으로 나타났다.

일반적으로 철 결핍 증상은 식물체 내에서 양분의 이동 속도가 느리므로 신초에 황화 현상으로 나타나며 결핍증상이 아주 심할 경우 백색으로 되기도 한다 (Hanson, 1993). 토마토 엽에서 철 결핍 증상도 보고된 바와 같이 어린잎에 황화 현상으로 발생하였다 (Fig. 2). 라피토 품종에서 철 결핍이 나타난 후 Fe-DTPA 형태의 철을 2.0 mg L<sup>-1</sup> 공급하였더니 5일 후에는 황화 현상이 많이 감소하였고, 7일 후에는 완전한 녹색의 정상 엽으로 회복되었다.

정상적인 토마토 묘종과 철 결핍이 발생된 묘종에서 Fe-DTPA 형태의 킬레이트 철을 2.0 mg L<sup>-1</sup> 농도로 7일간 공급한 후 토마토 엽의 철 함량을 분석한 결과 Table 3에서 보는 바와 같이 정상과 철 결핍이 발생한 토마토 엽에서 철

Table 2. Changes of total chlorophyll contents by different tomato cultivar by supply of Fe 2.0 mg L<sup>-1</sup> as Fe-DTPA in the normal and Fe deficient tomato leaves.

Cultivars	Leaves condition	Chlorophyll contents by elapsed time			
		0 day	3 day	5 day	7 day
----- mg g <sup>-1</sup> , fresh weight -----					
Rafito	Normal	10.9 ± 0.2 <sup>†</sup>	10.6 ± 0.2	10.3 ± 0.2 <sup>†</sup>	11.1 ± 0.2 <sup>†</sup>
	Fe deficiency	9.3 ± 0.2	9.4 ± 0.2	9.3 ± 0.2	10.7 ± 0.2
Redyoyo	Normal	10.3 ± 0.1	9.9 ± 0.1	11.2 ± 0.2	10.7 ± 0.2
	Fe deficiency	9.4 ± 0.2	9.5 ± 0.2	11.0 ± 0.3	10.9 ± 0.2
Supersunroad	Normal	10.0 ± 0.2	9.4 ± 0.1	10.5 ± 0.1	10.4 ± 0.2
	Fe deficiency	8.8 ± 0.2	8.8 ± 0.1	10.7 ± 0.2	10.8 ± 0.1

<sup>†</sup>Means ± standard deviation.

함량은 큰 차이가 있는 것으로 나타났다. 정상적인 토마토 엽의 철 함량은 243~287 mg kg<sup>-1</sup>이었으나 철분이 결핍된 토마토 엽의 철 함량은 194~204 mg kg<sup>-1</sup>이었다. 그러나 Fe-DTPA 킬레이트 철을 2.0 mg L<sup>-1</sup> 농도로 7일간 공급한 후 엽의 철 함량을 비교해 보면 정상과 결핍된 엽의 철 함량은 차이가 없는 것으로 나타났다.

이는 Fe-DTPA 킬레이트 철을 공급함으로 엽록소 함량이 정상으로 회복되는 것과 마찬가지로 철분 결핍이 완전하게 극복되었다고 할 수 있다. Yun et al. (2003)은 배나무 신초에서 철 결핍 증상이 나타난 엽과 정상엽의 철 함량을 분석

하였는데, 정상엽의 철 함량은 162 mg kg<sup>-1</sup>이었으나 철 결핍 엽에서는 114 mg kg<sup>-1</sup>으로 토마토 엽보다는 배나무 엽의 철 함량이 낮았지만 철 결핍이 발생하면 작물체 엽의 철 함량도 낮아지는 경향은 일치하였다.

**Fe-DTPA 공급에 따른 식물체 변화 및 Heme oxygenase 발현 양상** 토마토 엽의 철 결핍 증상 발생시 Fe-DTPA로서 Fe 2.0 mg L<sup>-1</sup> 공급에 의한 철 결핍 회복에 소요되는 일수는 토마토 품종별 약간 차이는 있었지만 라피토, 레드요요, 수퍼선로드 3개 품종 모두 7일 후에는 식물에 표현형

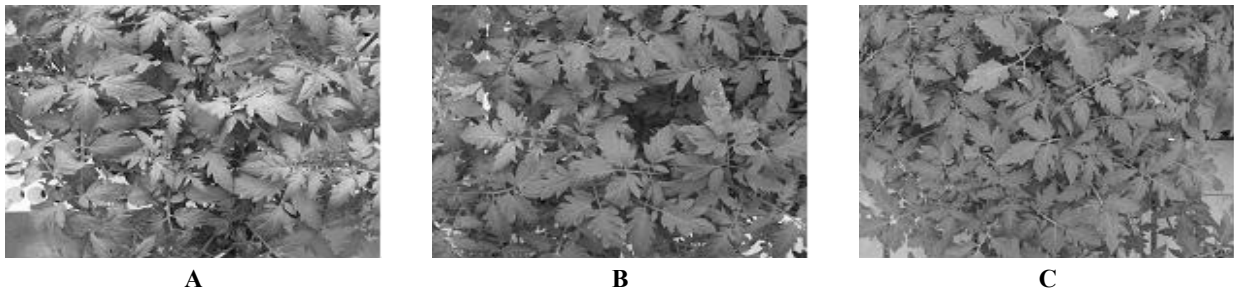


Fig. 2. Fe deficiency symptoms of tomato (Rafito) leaves and recovery Fe deficiency by supply of Fe 2.0 mg L<sup>-1</sup> as Fe-DTPA. A, Fe deficiency; B, After 5 days of Fe-DTPA treatment; C, After 7 days of Fe-DTPA treatment.

Table 3. Changes of Fe contents by different tomato cultivar by supply of Fe 2.0 mg L<sup>-1</sup> as Fe-DTPA in the normal and Fe deficient tomato leaves.

Cultivars	Leaves condition	Fe contents by elapsed time	
		0 day	7 day
----- mg kg <sup>-1</sup> -----			
Rafito	Normal	243 ± 7 <sup>†</sup>	254 ± 13 <sup>†</sup>
	Fe deficiency	194 ± 12	241 ± 6
Redyoyo	Normal	256 ± 9	244 ± 12
	Fe deficiency	201 ± 11	252 ± 14
Supersunroad	Normal	287 ± 11	262 ± 11
	Fe deficiency	204 ± 9	248 ± 15

<sup>†</sup>Means ± standard deviation.

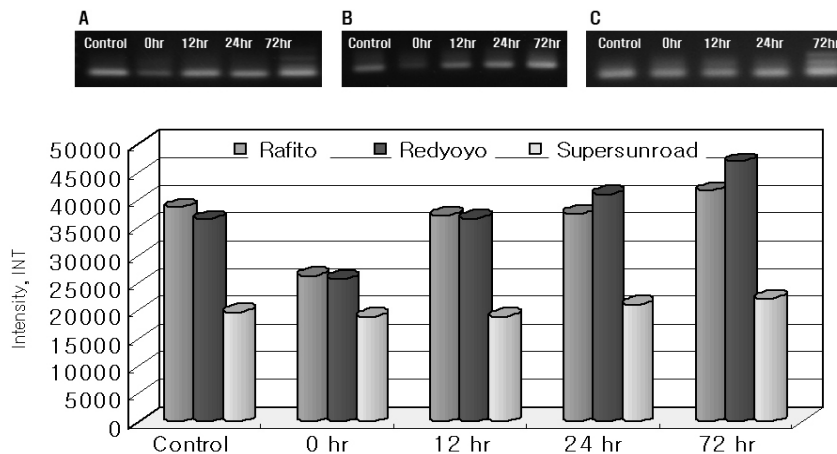


Fig. 3. RT-PCR analysis of the heme oxygenase gene by different elapsed time by supply of Fe 2.0 mg L<sup>-1</sup> as Fe-DTPA in the Fe deficient tomato leaves. A, Rafito; B, Redyoyo; C, Supersunroad.

적으로 나타나는 황화현상이 완전히 회복되었다. 유전적 수준에서 철의 생합성에 관여하는 heme oxygenase의 발현 정도를 확인하기 위하여 RT-PCR 수행 한 결과, Fe-DTPA 2.0 mg L<sup>-1</sup> 처리 후 24시간 이내에 3개 품종 모두 거의 정상적인 수준으로 회복된다는 사실을 확인 할 수 있었다 (Fig. 3).

이러한 결과는 heme oxygenase 유전자의 발현 정도에 따라 토마토의 철 결핍 가능성을 예측하는데 이용할 수 있을 것으로 판단되었다. 그러나 수퍼선로드 품종의 경우 정상적인 경우와 철 결핍이 발생된 경우에 있어 현저한 차이를 보이지 않음에 따라 heme oxygenase외에 철 합성 및 이용과 관련된 다른 유전자의 적용가능성에 대한 검토가 필요할 것으로 판단되었다. 이처럼 유전적 수준에서 특정 유전자 산물에 대한 발현 양상 분석은 식물의 생육과정 중 나타날 수 있는 철 결핍 또는 과잉에 따른 생리 장애 진단에 있어 보다 신속하게 판단 할 수 있는 진단 지표로 활용 할 수 있을 것으로 판단되었다.

## 사 사

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업의 지원에 의해 이루어진 것임.

## 요 약

토마토 수경재배시 양액의 pH가 높은 조건에서도 철이 불용화 되지 않고 pH에 안정적인 킬레이트 철의 선택, 3종의 토마토 묘종 (라피토, 레드요요, 수퍼선로드)에서 엽의 철 결핍 증상시 Fe-DTPA 철 공급에 의한 철 결핍 회복 소요시간과 철 결핍 유발물질 유전자를 구조 분석한 결과는 다음과 같다.

양액의 pH가 6.0, 7.0 및 8.0 수준에서 양액 중 철의 농도가 2.0 mg L<sup>-1</sup>로 되게 각각 3종류 (Fe-EDTA, Fe-DTPA, Fe-EDDHA)의 킬레이트 철을 처리한 결과 Fe-DTPA와 Fe-EDDHA 형태의 철은 불용화가 거의 없었지만 Fe-EDTA는 양액의 pH가 7.0 일 때 철 함량은 1.72 mg L<sup>-1</sup>, 8.0 일 때 철 함량은 1.51 mg L<sup>-1</sup>로 25% 정도 불용화가 일어났다.

철 결핍이 발생된 3종의 토마토 묘종에 Fe-DTPA 킬레이트 철 2.0 mg L<sup>-1</sup> 농도의 양액을 공급하였을 때 토마토 엽의 엽록소와 철 함량이 정상으로 회복되는데 소요시간은 라피토 품종은 7일, 레드요요와 수퍼선로드 품종은 5일 소요되었다.

유전적 수준에서 철의 생합성에 관여하는 heme oxygenase의 발현은 Fe-DTPA 2.0 mg L<sup>-1</sup> 처리 24시간 이내에 라피토와 레드요요는 정상적인 수준으로 회복되었으나 수퍼선로드는 처리시간의 경과에 따라서 현저한 차이가 없었다.

## 인 용 문 헌

- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24:1-5.
- Choi, J.M., S.K. Jeong, and K.D. Ko. 2009. Characterization of symptom and determination of tissue critical concentration for diagnostic criteria in 'aehyang' Strawberry as influenced by phosphorus concentrations in the fertigation solution. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 27(1):55-61.
- Choi, J.M., S.K. Jeong, K.H. Cha, H.J. Chung, and K.S. Seo. 2000. Deficiency symptom, growth characteristics, and nutrient uptake of 'Nyoho' strawberry as affected by controlled potassium concentrations in fertilizer solution. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 41:350-355.
- Chung, J.B., B.J. Kim, K.S. Ryu, S.H. Lee, H.J. Shin, T.K. Hwang, H.Y. Choi, Y.W. Lee, Y.J. Lee, and J.J. Kim. 2006. Relationships between micronutrient contents in soils and crops of plastic film house. *Korean J. Environ. Agric.* 25:217-227.
- El-Fouly, M.M., O.A. Nofal, and Z.M. Mobarak. 2001. Effect of soil treatment with iron, manganese and zinc on growth and micronutrient uptake of sunflower plant grown in high-pH soil. *J. Agron. Crop Sci.* 186, 245-251.
- Fox, C.D., R.L. Chaney, and M.C. White. 1978. The physiology of metal toxicity in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 29: 511-567.
- Graham, R.D. and M.J. Webb. 1991. Micronutrients and disease resistance and tolerance in plant, p. 329-370. In Mortvedt, J.J. et al. (ed.) *Micronutrient in agriculture*, 2nd ed. SSSA book series No. 4, Madison, WI, USA.
- Hanson, E. 1993. Apples and pears, p. 159-163. In W. F. Bennett(ed.). *Nutrient deficiencies and toxicities in crop plants*. Amer. Phytopathol. Soc., St. Paul, MN, USA.
- Hirschi, K.D. 1999. Expression of Arabidopsis CAX1 in tobacco: Altered calcium homeostasis and decreased stress sensitivity. *Plant Cell* 11:2113-2122.
- Korcak, R.F. 1987. Iron deficiency chlorosis. *Hort. Rev.* 9:133-186.
- Marschner, H. 1995. *Mineral nutrition of higher plant*, 2nd ed. Academic Press INC., London, UK.
- Ministry of Environment. 2008. *Standard methods of water sampling and analysis*. Ministry of Environment, Incheon, Korea.
- Osawa T. and H. Ikeda. 1976. Heavy metal toxicities in vegetable crops. I. The effect of iron concentrations in the nutrient solution manganese toxicities in vegetable crops. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 45:50-58.
- Shin, P.G., S.C. Hong, A.C. Chang, J.Y. Lee, B.C. Jang, and K.S. Lee. 2004. Development of diagnostic method accurately for nutritional disorder in vegetable crops. *Agricultural Environment Research*, 385-393.
- Welch, R.M., W.H. Allway, W.A. House, and J. Kubota.

1991. Geographic distribution of trace elements, p. 31-57.  
In Mortvedt, J.J. et al. (ed.) Micronutrient in agriculture,  
2nd ed. SSSA book series No. 4, Madison, WI, USA.
- Yun, S.K., J.K. Kim, S.J. Kim, and H.J. Lee. 2003. Causes for  
deficiency chlorosis in oriental pear (*Pyrus pyrifolia*) trees.  
J. Kor. Soc. Hort. Sci. 44:215-219.
- Zekri, M. and T.A. Obreza. 2009. Micronutrient deficiencies  
in citrus: iron, zinc, and manganese. Institute of Food and  
Agricultural Sciences, University of Florida. SL 204:1-3.