

변색기 고온에 의한 포도 '거봉'의 과피 착색 및 내생 호르몬 변화

류수현* · 조정건 · 정재훈 · 이슬기 · 한점화 · 김명수

농촌진흥청 국립원예특작과학원 원예작물부 과수과

Skin Coloration and Endogenous Hormonal Changes of 'Kyoho' Grape by High Temperature at Veraison

Suhyun Ryu*, Jung-Gun Cho, Jae Hoon Jeong, Seul-Ki Lee, Jeom Hwa Han, and Myung-Su Kim

Fruit Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, Rural Development Administration, Wanju 565-852, Korea

Abstract. We analyzed the anthocyanin accumulation, abscisic acid (ABA), gibberellic acid (GA) contents and metabolic genes expression in berry skins under high temperature (High T) at veraison, in order to investigate the cause of bad coloration of 'Kyoho' grape due to High T in summer season. The coloration of 'Kyoho' grapes was stopped by High T for 10 days from veraison, and the fruit quality was not affected except skin color. Total anthocyanin of skins was decreased by High T treatment and malvidin and peonidin were decreased compared to control. In berry skins, ABA content did not decrease by High T treatment, but it was rather higher than that of control. GA content was increased about two times compared to the control after 10 days of High T treatment, which caused decreased ratio of ABA/GA. Analysis of expression of anthocyanin biosynthetic genes showed that the early biosynthetic genes were not affected by High T and the expression of *UFGT* was decreased by temperature treatment. ABA biosynthetic gene expressions were not affected by High T and the expression of *GA20ox1* and *GA20ox1/2*, which are known to regulate the biosynthesis and inactivation of GA, were increased and decreased by High T, respectively. Therefore, the bad coloration of 'Kyoho' grapes under the High T at veraison was due to inhibition of anthocyanin biosynthesis of skin, and it was suggested that the anthocyanin biosynthesis was controlled by the ratio of ABA and GA rather than ABA content.

Additional key words: bad coloration, anthocyanidin, ABA, GA, *UFGT*

Abbreviations

ABA	abscisic acid
Cya	cyanidin
Del	delphinidin
GA	gibberellic acid
High T	high temperature
Mal	malvidin
Pel	pelargonidin
Peo	peonidin
Pet	petunidin

서론

포도의 품질은 맛, 크기, 색 등의 다양한 요인에 의해 판단되며, 그 중에서 과피색은 소비자가 품질을 판단하는데 있어 중요한 요인으로 여겨지고 있다. 포도의 과피색은 안토시아닌이라는 색소의 종류 및 농도로 결정되며, 품종 고유의 안토시아닌 조성은 유전적인 요인에 의해 결정된다(Castellarin과 Gaspero, 2007). 하지만, 같은 품종에 대해서도 온도나 광 등의 환경 조건에 의해 안토시아닌 조성이 영향을 받을 수 있으며(Tarara 등, 2008), 일반적으로 고온보다는 저온 조건에서 생합성이 촉진된다(Yamane 등, 2006).

최근 여름철 폭염 및 열대야 발생 빈도의 증가로 인해 포도의 과피색 불량 문제가 나타나고 있으며, '거봉' 포도의 경우 변색기 고온에 의해 착색이 멈춘 뒤 다시 회복되지 못하는 문제점이 발생하고 있다(Ryu 등, 2018). 포도의 착색을 증진시키기 위해 환상박피, 토양수분 조절, 적엽 등의 재배적인 조치에 대한 연구가 수행되어

*Corresponding author: tngus4228@korea.kr
Received May 27, 2019; Revised July 22, 2019;
Accepted July 23, 2019

왔지만(Castellarin 등, 2007; Koshita 등, 2011; Lemut 등, 2011), 과방에 식물 호르몬 abscisic acid(ABA)를 살포하는 것이 가장 효과적인 것으로 알려졌다(Jeong 등, 2004; Cantin 등, 2007). 실제로 ABA는 포도의 성숙을 조절하는 가장 중요한 식물 호르몬으로(Pilati 등, 2017), 과피에서 변색기를 기준으로 함량이 증가하며(Wheeler 등, 2009), 과방에 ABA를 직접 살포 시 안토시아닌 생합성 유전자의 발현을 증가시켜 착색을 증진시킨다고 알려져 있다(Jeong 등, 2004).

하지만 고온 조건에서 과피의 착색이 정지하여 회복되지 못하는 원인에 대해서는 아직 정확하게 밝혀진 바가 없으며(Ryu 등, 2018), 고온으로 인한 착색 정지에 관여하는 식물 호르몬 및 유전자 발현 분석을 통한 근본적인 원인 구명이 필요한 상황이다. 따라서, 본 연구에서는 변색 초기의 고온에 의한 ‘거봉’ 포도의 착색을 분석하고, 착색 정지의 원인을 구명하기 위해 시기별로 ABA, gibberellic acid(GA) 농도 및 대사 관련 유전자 발현을 함께 분석하였다.

재료 및 방법

1. 공시 작물 및 온도 처리 방법

전라북도 완주군 국립원예특작과학원내의 유리온실에서 포트에 재식한 3년생 ‘거봉’ 나무를 대상으로 변색기 고온 처리구와 정상구의 과피색 변화, 식물호르몬, 유전자발현 정도를 비교하였다. 고온 처리구는 7월 16일(변색기, 전체 송이의 10%가 착색)부터 7월 25일까지 대조구에 비해 6°C 높은 온도를 처리하였으며, 대조구는 완주 지역의 30년 평균 기온을 시간 별로 적용하였다. 시험구당 6주씩 처리하였고, 한 주당 4-5송이(송이당 성엽 14매 이상 확보)의 포도를 착과시켜 과실 품질 및 물질 분석에 이용하였다. 온도 처리가 종료된 이후에는 대조구와 고온구의 온도를 모두 완주지역 7, 8월의 30년 평균 기온으로 적용하여 착색의 진행을 관찰하였다.

2. 과실 품질 조사

과실의 품질은 10월 4일에 일괄 수확하여 과방중, 과립수를 조사하였고, 송이 당 10개의 과립을 선정하여 양쪽 적도면을 대상으로 색차계(CR-300, Minolta, Osaka, Japan)를 이용하여 색차값을 측정하였다. 동일한 시료를 대상으로, 과즙을 착즙하여 굴절 당도계(PR-101, Atago, Tokyo, Japan)로 당도를 측정하고 적정 산도(0.1N NaOH, pH 8.1)를 조사한 후 주석산으로 환산하여 표기하였다. 시기별 과피색의 변화는 농촌진흥청에서 제시한 ‘거봉’의 성숙기 판정용 칼라차트(Park 등, 2004)를 기준으로 조사하였다.

3. 과피의 안토시아닌 정량 분석

과피의 안토시아닌 함량을 분석하기 위해 수확기 송이에서 시료를 채취하였다. 안토시아닌의 추출 및 분석은 Ryu 등(2018)의 방법을 활용하였고, HPLC(1100 Series, Hewlett-Packard, Germany)로 분리 및 정량 분석하였다. 안토시아닌 분리에 이용한 컬럼은 YMC-Pack Pro C18 RS(250 × 4.6mm, 5mm, YMC, Japan)이며, 40°C에서 41분 동안 분석하였다. 안토시아닌의 함량은 518nm의 파장에서 malvidin 3-glucoside(Extrasynthese, France)의 표준품을 이용해 작성한 표준곡선으로 정량하여 mg·g⁻¹의 단위로 나타내었다.

4. 과피의 식물호르몬 정량분석

식물 호르몬 중 ABA의 추출 및 정량분석은 Ryu 등(2016)의 실험 방법을 활용하였다. GA₁은 50% MeOH을 추출 용매로 활용하였고, 내부표준물질인 d₂-GA₁을 4ng씩 첨가시켜 4°C 암조건에서 15시간 동안 추출하였다. 추출된 용매는 MeOH로 전처리된 sep-pak C18 카트리지에 통과시켜 40°C의 온도로 감압 농축시킨 뒤 MeOH에 재용해시켜 분석하였다. ABA 및 GA₁의 함량은 ng·g⁻¹의 값으로 나타내었으며, 3반복으로 분석하였다. 식물 호르몬의 분석을 위한 HPLC 기기 조건은 Ryu 등(2016)의 실험 방법과 동일하였고, 정량분석은 ion trap MS detector(Finnigan LXQ, Thermoelectron, Marietta, USA)가 부착된 HPLC(Nanospace SI-2, Shiseido, Japan)를 이용하였다. 내부표준물질과 endogenous peak 면적의 비율을 기본으로 정량이 이루어졌으며, ABA는 263→153m/z, d₆-ABA는 269→159m/z, GA₁은 347.1→303.1m/z, d₂-GA₁은 349.2→305.2m/z를 multiple reaction monitoring (MRM) 조건으로 각각 설정하여 정량하였다.

5. RNA 추출 및 qRT-PCR을 통한 유전자 발현 분석

과피의 ABA, GA 대사 관련 및 안토시아닌 생합성 관련 유전자의 발현은 RNA를 추출하여 quantitative real-time polymerase chain reaction(qRT-PCR)을 이용하여 분석하였으며, RNA 추출 및 cDNA 합성 조건은 Ryu 등(2017)의 실험 방법을 이용하였다. qRT-PCR은 LightCycler[®] 480 Real-time PCR System(Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)으로 수행하였고, reaction mixture는 TB Green[™] premix Ex Taq[™] (Takara, Tokyo, Japan)를 이용하여 제작하였다. 최종 reaction volume은 제조사의 권장 사용법에 따라 20mL로 설정하였다. 실험에 이용한 primer의 염기 서열은 Table 1과 같다.

6. 통계분석

모든 통계처리는 SigmaPlot 8.0 프로그램(SPSS

Table 1. Primers used for qRT-PCR.

Gene	Primer sequence
<i>CHS3</i>	F: TCGGCTGAGGAAGGGCTGAA R: GGCAAGTAAAGTGGAAACAG
<i>F3H1</i>	F: CCAATCATAGCAGACTGTCC R: TCAGAGGATACACGGTTGCC
<i>DFR</i>	F: GAAACCTGTAGATGGCAGGA R: GGCCAAATCAAACACTACCAGA
<i>UFGT</i>	F: GGAGAGCTTTAGGCAGGGGA R: CTCTGCTGCCATATCTGCGG
<i>NCED1</i>	F: GGTGGTGAGCCTCTGTTCT R: CTGTAAATTCGTGGCGTTCA
<i>ABA8'OH2</i>	F: CAGGCGAACGGTGATCACAA R: TCCGTGACAGCTGCAGAAC
<i>GA20ox1</i>	F: CCCATTGACTTGGGAGGCTT R: GCTTCAGTGACAAGCTGTGC
<i>GA20ox2</i>	F: GAAGGGCCAAGGAAGTACCC R: GACGCCATTCCACAAAAGCTC
<i>GA2ox1</i>	F: CATTACCCTCGCTCGTGGAA R: GCTAAGCCTATTGTCGCCCA
<i>GA2ox2</i>	F: CAGGCTTCTCAAGGACGAGG R: GTGCTCTCCGAATCCAACCA
<i>Actin</i>	F: GATTCTGGTGATGGTGTGAG R: GACAATTTCCCGTTCTGCAG

Science, Chicago, USA)을 활용하여 t-test(independent sample)로 평균간의 유의성($P < 0.05$)을 검정하였다.

결 과

1. 과피의 착색 및 과실품질

변색기(7월 16일, 만개 후 52일)부터 10일 동안의 고온에 의해 ‘거봉’ 포도의 과피색 불량이 나타났다(Fig. 1). 성숙기 판정용 칼라차트를 기준으로 과피색을 조사한 결과, 고온처리 직후 대조구에 비해 고온구의 과피 착색이 진행되지 못하였고, 이러한 경향은 ‘거봉’의 상업적 수확기인 만개 후 약 100일(변색 48일 후)까지 유지되었다. ‘거봉’의 일반적인 과피색인 흑청색을 나타내는 대조구와 달리, 고온구의 송이에는 녹색 및 밝은 적색을

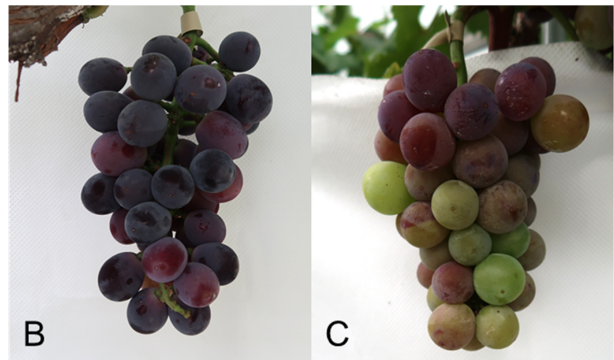
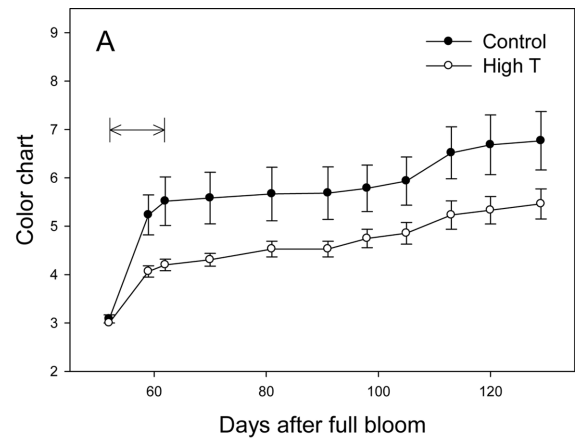


Fig. 1. Coloration of ‘Kyoho’ grape berry skins under control and high temperature (High T) conditions. Arrow means the High T treatment period. (A) Changes in color chart of ‘Kyoho’ grape berry skins. Vertical bars indicate the standard errors ($n = 4$). (B, C) Grape bunches under control (B) and High T (C) conditions, respectively. Photographs were taken at 101 days after full bloom.

떠는 과립이 섞여있었다.

실제 과피의 안토시아닌 함량을 비교한 결과, 고온 처리에 의해 총 안토시아닌 함량이 대조구의 54% 수준으로 감소하였다(Table 2). 안토시아닌의 그룹별로 비교하면 malvidin(Mal), peonidin(Peo)이 대조구에 비해 유의하게 감소하였으며, delphinidin(Del), petunidin(Pet), cyanidin(Cya)은 고온 처리에 의해 감소하지 않았다.

Table 2. Anthocyanin contents in berry skins of ‘Kyoho’ grape under control and high temperature (High T) conditions at 132 days after full bloom.

Treatment	Total	Cyanidin	Delphinidin	Petunidin	Peonidin	Malvidin
	(mg/g FW)					
Control	2.28±0.40*	0.05±0.00	0.27±0.04	0.15±0.03	0.34±0.05*	1.45±0.28*
High T	1.23±0.11	0.05±0.00	0.20±0.03	0.12±0.00	0.24±0.02	0.62±0.07

Value : mean ± SE of replication.

* Indicates a significant difference between control and High T at $P < 0.05$.

Table 3. Fruit quality of ‘Kyoho’ grape berries under control and high temperature (High T) conditions at 132 days after full bloom.

Treatment	Color chart	Cluster weight (g)	Berry/cluster	Soluble solid content (°Brix)	Titratable acidity (%)	Hunter value		
						L*	a*	b*
Control	6.8±1.4*	610.0±139.4	46.6±8.0	17.1±2.9	0.5±0.1	31.9±3.6	5.1±1.8*	-0.9±2.9
High T	5.5±1.1	632.7±153.3	46.4±10.5	17.1±0.9	0.6±0.0	31.6±2.1	7.5±1.8	-2.0±1.2

Value : mean ± SE of replication.

* Indicates a significant difference between control and High T at $P < 0.05$.

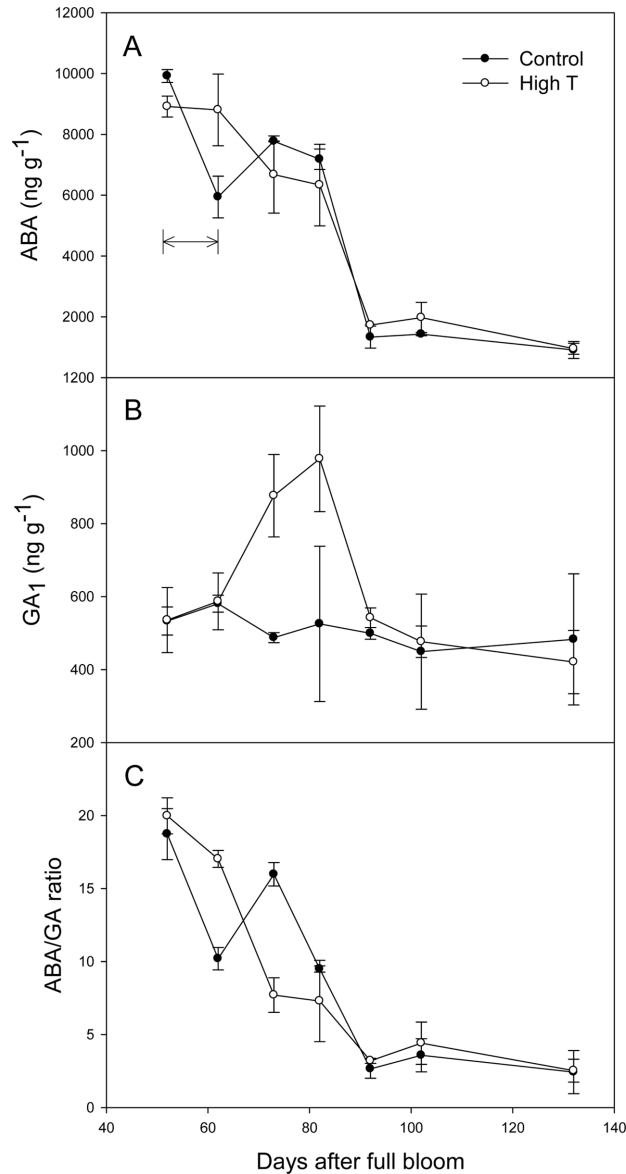


Fig. 2. Changes in ABA, GA contents, and ABA/GA ratio in ‘Kyoho’ grape berry skins under control and high temperature (High T) conditions. Arrow means the High T treatment period. Vertical bars indicate the standard errors of the means (n = 4).

고온 처리에 의한 과실품질을 비교한 결과, 착색과 관련된 항목을 제외한 나머지 과실 품질은 고온에 의해

영향을 받지 않았다(Table 3). 칼라차트로 비교한 과피의 착색도는 고온에 의해 감소하였고, Hunter 값 중 붉은색의 정도를 나타내는 a*값이 유의하게 증가하였다. 과중, 과실의 당도 및 산도는 고온 처리에 의해 영향을 받지 않았다.

2. 식물호르몬 ABA 및 GA 함량

고온에 의해 착색이 정상적으로 진행되지 못하고 정지된 원인을 구명하기 위해 과피의 식물 호르몬 ABA와 GA의 함량을 분석하였다(Fig. 2). 과피의 ABA 함량은 변색기(만개 후 52일) 근처에 높게 유지되었다가 만개 후 92일을 기준으로 급격히 감소하는 경향을 보였으며, 고온에 의해 감소하지 않았다. 처리 직후에는 오히려 대조구에 비해서 높은 경향을 보였으며, 처리 종료 10일 후 대조구와 비슷한 수준으로 감소하였다. GA는 전체 활성형 GA 중에서 포도 과실에 가장 많은 양으로 존재하는 것으로 확인된 GA₁을 분석하였다(Ryu, unpublished data). 고온처리 종료 10일 후부터 과피의 GA함량이 대조구의 약 2배로 증가하였으며, 30일 후 다시 대조구의 수준으로 감소하였다. ABA와 GA의 비율을 분석한 결과, 고온 처리 직후 ABA/GA 값이 일시적으로 높아졌다가 만개 후 73일에 대조구에 비해 감소하였다(Fig. 2).

3. 안토시아닌 생합성 유전자 발현

고온이 안토시아닌 합성의 어느 단계에서 영향을 미치는지 분석하기 위해 시기별 안토시아닌 생합성 유전자의 발현을 분석하였다(Fig. 3). 안토시아닌 생합성을 조절하는 초기 생합성 유전자(Early biosynthetic genes, EBG) 중에서 과피의 착색과 동일한 경향을 보이며 발현이 조절된다고 알려진 *CHS3*, *F3H1*과 후기 생합성 유전자(Late biosynthetic genes, LBG) 중에서 *DFR*, *UFGT*의 발현을 분석하였다(Azuma 등, 2012). *CHS3*는 고온에 의해 처리 종료 20일 후까지 대조구에 비해 발현이 높았으며, 이후 대조구와 비슷한 수준으로 감소하였다. *F3H1*와 *DFR*은 고온에 의해 발현이 영향을 받지 않았다. 안토시아닌 생합성의 가장 마지막 단계를 조절하는 *UFGT*는 고온 처리 직후 대조구에 비해 발현이 감소하

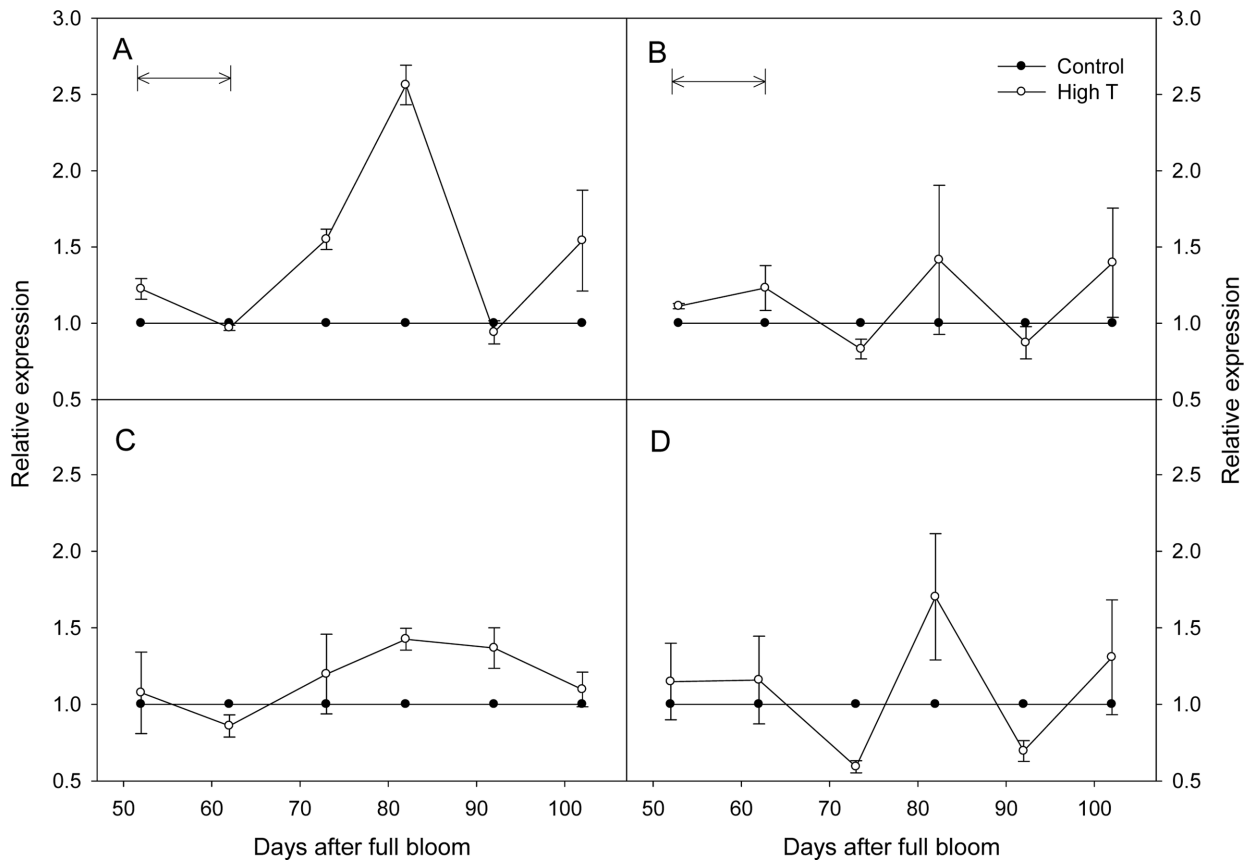


Fig. 3. Fold changes in the expressions of anthocyanin biosynthetic genes, *CHS3* (A), *F3H1* (B), *DFR* (C), and *UFGT* (D) in 'Kyoho' grape berry skins under control and high temperature (High T) conditions. Arrows mean the High T treatment period. The expressions were normalized against the expression of the grape *actin* gene. Vertical bars are the standard errors of the means (n = 4).

였으며, 처리 종료 20일 후에는 다시 대조구의 수준으로 증가하여 수확기까지 차이를 나타내지 않았다.

4. ABA 및 GA 대사 관련 유전자 발현

고온에 의해 과피의 호르몬 농도가 변화했던 원인을 분석하기 위해, 시기별 ABA 및 GA의 대사와 관련된 유전자의 발현을 분석하였다. ABA의 생합성, 분해를 조절하는 *NCED1*, *ABA8'OH2*의 발현을 분석한 결과, 고온에 의해 두 유전자의 발현이 모두 대조구에 비해 감소하지 않았다(Fig. 4). GA에 대해서는 생합성을 유도하는 *GA20ox1/2*와 불활성화를 조절하는 *GA2ox1/2*의 시기별 발현을 분석하였다(Fig. 5). 실험 결과, 고온 처리와 동시에 *GA20ox1*의 발현이 대조구에 비해 증가하였고, 처리 종료 10일 후까지 높게 유지되었다. *GA20ox2*는 고온에 의해 영향을 받지 않았으며, 특별한 경향을 보이지 않았다. *GA2ox1/2*는 고온 처리 직후 모두 발현이 감소하였으며, 처리 종료 10일 후까지 대조구에 비해 낮게 유지되었다.

고 찰

1. 변색기 고온에 의한 과피색 불량

변색기부터 10일 동안의 고온에 의해 '거봉' 포도의 과피색이 불량하게 나타났으며(Fig. 1), 그 원인은 과피의 총 안토시아닌 함량이 감소했기 때문이었다(Table. 2). 과실의 당도는 일시적인 고온에 의해서 영향을 받지 않았으며, 품질의 변화 없이 과피의 착색만 정상적으로 진행되지 못하고 멈춘 현상을 나타내었다(Table. 3). 과피의 색차값 중 hunter a*값이 고온에 의해 증가한 것은 착색이 정상적으로 진행되지 못했다는 것을 의미한다. '거봉'과 같은 흑청색 품종의 경우, 변색 초기에는 밝은 붉은색을 나타내지만 성숙이 진행될수록 안토시아닌의 함량이 높아지며 자흑색을 띠게 된다. Park 등(2010)은 변색기를 기준으로 '거봉' 과피의 착색도를 분석했을 때, 붉은 색을 나타내는 hunter a*값이 변색 2주 후까지 증가하다가 다시 감소한다고 하였으며, 최종적으로 안토시아닌 함량이 낮은 송이일수록 높은 hunter a*값을 나타

변색기 고온에 의한 포도 ‘거봉’의 과피 착색 및 내생 호르몬 변화

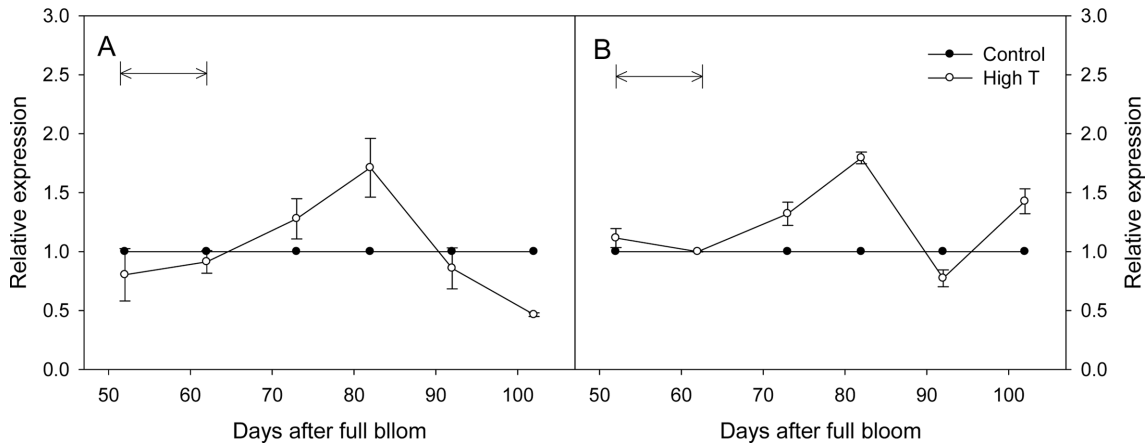


Fig. 4. Fold changes in the expressions of ABA metabolic genes, *NCED1* (A), and *ABA8'OH2* (B) in ‘Kyoho’ grape berry skins under control and high temperature (High T) conditions. Arrows mean the High T treatment period. The expressions were normalized against the expression of the grape *actin* gene. Vertical bars are the standard errors of the means (n = 4).

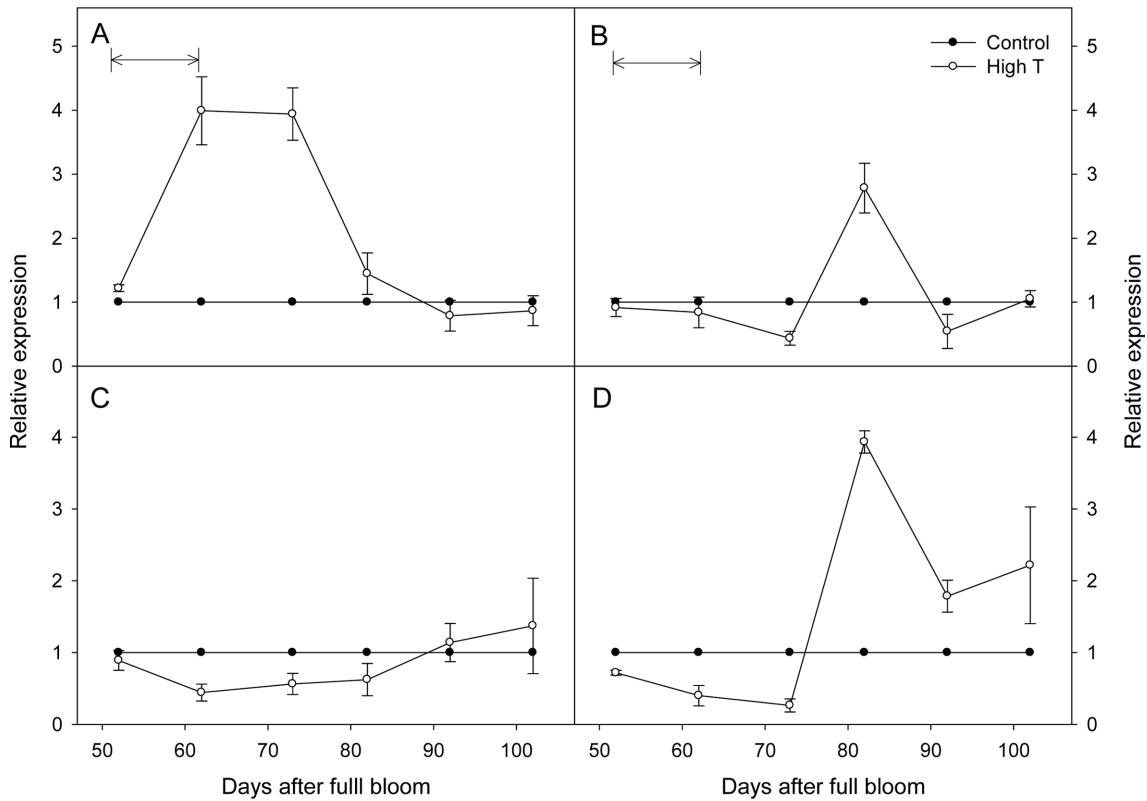


Fig. 5. Fold changes in the expressions of GA metabolic genes, *GA20ox1* (A), *GA20ox2* (B), *GA20ox1* (C), and *GA20ox2* (D) in ‘Kyoho’ grape berry skins under control and high temperature (High T) conditions. Arrows mean the High T treatment period. The expressions were normalized against the expression of the grape *actin* gene. Vertical bars are the standard errors of the means (n = 4).

낸다고 하였다. 본 연구의 결과에서도 고온에 의해 과피의 안토시아닌 함량이 감소하였고, 결과적으로 대조구의 과립보다는 밝은 적색을 띠며 hunter a*값이 높은 결과를 나타내었다.

‘거봉’의 성숙기 고온에 의한 과피 착색에 대해서는 많은 연구가 이루어져 왔으며, 본 연구의 결과는 변색기부터 수확기까지 고온에 의해 과피의 안토시아닌이 감소하였다는 Mori 등(2004)과 Shinomiya 등(2015)의 결과

와 일치하였다. 하지만, 고온에 의해 과실로의 광합성 동화산물의 이동이 감소하였다는 Mori 등(2004)의 결과 및 과실의 당 함량이 유의하게 증가하였다는 Pastore 등(2017)의 결과와 달리, 본 연구에서는 과실의 당도가 고온에 의해 영향을 받지 않았다(Table 3). 이는 고온에 노출시켜 실험을 진행했던 기간이 달랐기 때문으로 판단되며, 본 연구에서는 변색 초기에 10일이라는 비교적 짧은 기간 동안 처리가 진행되었기 때문에 고온이 최종적으로 과실의 당함량에 영향을 미치지 않은 것으로 판단되었다.

2. 안토시아닌 조성 및 생합성 변화

과피의 착색이 정상적으로 진행되지 않았던 원인을 분석하기 위해 안토시아닌의 그룹별로 분석한 결과, 전체 5가지 그룹 중에서 Mal과 Peo만이 고온에 의해 영향을 받아 감소하였다(Table. 2). 이 두 그룹은 안토시아닌의 종류를 결정하는 특징적인 구조(flavilium)에서 B ring에 methoxyl group을 가지며, 외부 스트레스에 의한 산화 반응에 비교적 안정적이라고 알려져 있다(He 등, 2010). 또한, 대조구의 과피에서 총 안토시아닌 함량에 대해 각 안토시아닌 그룹의 함량을 비교했을 때 Mal과 Peo가 전체의 약 80%를 차지하고 있었으며(Table. 2), 이는 기존의 Li 등(2013) 및 Ryu 등(2018)의 보고와도 일치하는 결과였다. 따라서 변색 초기의 고온에 의한 ‘거봉’의 과피색 불량은 기존에 합성된 안토시아닌이 분해되었다기 보다는, 안토시아닌의 생합성이 전체적으로 억제되었기 때문이라고 판단되었다. 실제 과피 내 안토시아닌 생합성 유전자 중 *UFGT*의 발현이 고온에 의해 억제되었으며(Fig. 3), 이는 생육기 고온 조건에서 과피의 *UFGT*의 발현이 감소하여 착색이 억제되었다는 De Rosas 등(2017)의 보고와도 일치하는 결과였다.

3. 식물호르몬 농도 변화와 과피색 불량

포도의 착색은 다양한 식물 호르몬의 변화에 의해 조절되는데, 그 중에서 ABA에 대해 가장 많은 연구가 이루어지고 중요한 역할을 한다고 알려져 있다(Fortes 등, 2015). 고온 조건에서 포도 과피의 착색 및 ABA 함량에 대해서는 다양한 의견이 제시되고 있는데, Koshita 등(2007)과 Azuma 등(2012)은 고온에 의해 과피의 ABA 함량이 감소하였으며 그로 인해 안토시아닌 함량이 감소했다고 보고하였다. 반대로 Shinomiya 등(2015)과 Carbonell-Bejerano 등(2013)은 고온에 의해 ABA의 함량이 오히려 증가하였지만, 그럼에도 불구하고 안토시아닌 함량이 감소했다고 보고하였다.

본 실험에서도 변색 초기의 고온에 의해 과피의 ABA 함량이 영향을 받아 감소하지 않았으며(Fig. 2), 생합성을 조절하는 *NCED1* 및 *ABA8'OH2* 유전자의 발현 역

시 고온에 의해 감소하지 않았다(Fig. 4). 기존 문헌과 마찬가지로 대조구와 비슷한 수준의 ABA 함량이 안토시아닌의 축적으로 이어지지 못했던 이유는, ABA가 다른 호르몬과의 비율, 특히 GA와의 균형을 통해 안토시아닌 생합성을 조절하기 때문으로 추측되었다. 애기장대의 경우, 안토시아닌 생합성은 다양한 호르몬의 상호작용에 의해 결정된다고 밝혀져 있으며(Das 등, 2012), 당에 의한 안토시아닌 축적 경로의 경우 ABA가 안토시아닌의 생합성을 촉진시키는 역할을 하는데 비해 GA는 그것을 억제하는 역할을 한다(Weiss와 Ori, 2007; Loreti 등, 2008). 실험의 결과, 변색 초기의 고온에 의해 GA 생합성 유전자 중 *GA2ox1*의 발현 증가 및 불활성화 관련 유전자 *GA2ox1/2*의 발현이 감소하였고(Fig. 5), 과피의 GA 함량이 증가하였다(Fig. 2). 이로 인해 ABA/GA 비율이 고온에 의해 일시적으로 감소하였으며(만개 후 73일), 이 경향이 실제 과피의 안토시아닌 생합성을 조절하는 *UFGT*의 발현 패턴과 유사하였다(Fig. 2, 3). 따라서, 포도 과피의 안토시아닌 생합성 역시 ABA의 절대적인 함량보다는 ABA와 GA의 비율에 의해서 조절될 가능성을 확인하였다.

변색 초기의 고온으로 인해 ‘거봉’ 포도의 착색이 정지된 원인은 과피의 안토시아닌 생합성이 고온에 의해 억제되었기 때문이었고, 안토시아닌 생합성은 ABA의 함량보다는 고온에 의한 GA의 증가와 그에 따른 ABA/GA값의 감소에 의해서 조절되는 것으로 추정되었다. 여름철 이상 고온으로 인한 과피의 착색 불량을 경감시키기 위해서는 안토시아닌 생합성을 촉진시키는데 있어 다양한 식물 호르몬의 관계를 명확히 구명할 필요가 있으며, 본 연구에서 다루었던 활성형 ABA나 GA의 정량분석뿐만 아니라 고온에 의한 실시간 호르몬 대사 변화에 대한 연구가 추가로 필요하다고 판단된다.

적 요

여름철 고온에 의한 포도 ‘거봉’의 과피색 불량 원인을 구명하기 위해, 고온에 따른 과피의 착색 및 식물호르몬 ABA와 GA의 함량 및 대사 관련 유전자의 발현을 분석하였다. 변색기부터 10일 동안의 고온에 의해 ‘거봉’ 포도의 과피색 불량이 나타났으며, 착색을 제외한 나머지 과실품질에는 영향을 없었다. 과피의 총 안토시아닌이 고온처리에 의해 감소하였으며, 안토시아닌 그룹별로는 malvidin과 peonidin이 대조구에 비해 감소하였다. 과피의 식물호르몬 ABA와 GA의 함량을 분석한 결과, ABA는 고온에 의해 감소하지 않았으며 오히려 대조구에 비해 약간 높은 경향을 보였다. GA는 고온 처리 종료 10일 후부터 대조구의 약 2배로 증가하였으며, 이로

인해 ABA/GA의 비율이 대조구에 비해 감소하였다. 시기별 안토시아닌 생합성 유전자의 발현을 분석한 결과, 초기 생합성 유전자는 고온에 의해 영향을 받지 않았고, 가장 마지막 단계를 조절하는 *UFGT*의 발현이 고온 처리에 의해 감소하였다. ABA와 GA의 대사 관련 유전자 발현을 분석한 결과, 고온에 의해 ABA의 생합성이 영향을 받지 않았고, GA의 생합성을 유도하는 *GA20ox1*의 발현이 증가하고 불활성화에 관여하는 *GA2ox1/2*의 발현이 감소하였다. 따라서 본 연구를 통해 변색 초기의 고온으로 인한 ‘거봉’ 포도의 과피색 불량은 과피의 안토시아닌 생합성이 억제되었기 때문이었고, 안토시아닌 생합성이 ABA의 절대적인 함량 보다는 ABA와 GA의 비율로서 조절되고 있다고 판단되었다.

추가 주제어: 착색 불량, 안토시아닌, ABA, GA, *UFGT*

사 사

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제번호: PJ01276001)의 지원에 의해 이루어진 것임.

Literature Cited

- Azuma, A., H. Yakushiji, Y. Koshita, and S. Kobayashi. 2012. Flavonoid biosynthesis-related genes in grape skin are differentially regulated by temperature and light conditions. *Planta* 236:1067-1080.
- Cantin, C.M., M.W. Fidelibus, and C.H. Crisosto. 2007. Application of abscisic acid (ABA) at veraison advanced red color development and maintained postharvest quality of ‘Crimson Seedless’ grapes. *Postharvest Biol. Technol.* 46:237-241.
- Carbonell-Bejerano, P., E.S. Maria, R. Torres-Perez, C. Royo, D. Lijavetzky, G. Bravo, J. Aguirreolea, M. Sanchez-Diaz, M.C. Antolin, and J.M. Martinez-Zapater. 2013. Thermotolerance responses in ripening berries of *Vitis vinifera* L. cv Muscat Hamburg. *Plant Cell Physiol.* 54:1200-1216.
- Castellarin, S.D., and G.D. Gaspero. 2007. Transcriptional control of anthocyanin biosynthetic genes in extreme phenotypes for berry pigmentation of naturally occurring grapevines. *BMC Plant Biol.* 7:46.
- Castellarin, S.D., M.A. Matthews, G.D. Gaspero, and G.A. Gambetta. 2007. Water deficits accelerate ripening and induce changes in gene expression regulating flavonoid biosynthesis in grape berries. *Planta* 227:101-112.
- Das, P.K., D.H. Shin, S.B. Choi, and Y.I. Park. 2012. Sugar-hormone cross-talk in anthocyanin biosynthesis. *Mol. Cells* 34:501-507.
- Fortes, A.M., R.T. Teixeira, and P. Agudelo-Romero. 2015. Complex interplay of hormonal signals during grape berry ripening. *Molecules* 20:9326-9343.
- He, F., L. Mu, G.L. Yan, N.N. Liang, Q.H. Pan, J. Wang, M.J. Reeves, and C.Q. Duan. 2010. Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules* 15:9057-9091.
- Jeong, S.T., N. Goto-Ymamamoto, S. Kobayashi, and M. Esaka. 2004. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins. *Plant Sci.* 167:247-252.
- Koshita, Y., T. Asakura, H. Fukuda, and Y. Tsuchida. 2007. Nighttime temperature treatment of fruit clusters of ‘Aki Queen’ grapes during maturation and its effect on the skin color and abscisic acid content. *Vitis* 46:208-209.
- Koshita, Y., T. Yamane, H. Yakushiji, A. Azuma, and N. Mitani. 2011. Regulation of skin color in ‘Aki Queen’ grapes: Interactive effects of temperature, girdling, and leaf shading treatments on coloration and total soluble solids. *Sci. Hort.* 129:98-101.
- Lemut, M.S., K. Trost, P. Sivilotti, and U. Vrhovsek. 2011. Pinot Noir grape colour related phenolics as affected by leaf removal treatments in the Vipava Valley. *J. Food Compos. Anal.* 24:777-784
- Li, Y., R. Ma, Z. Xu, J. Wang, T. Chen, F. Chen, and Z. Wang. 2013. Identification and quantification of anthocyanins in Kyoho grape juice-making pomace, Cabernet Sauvignon grape winemaking pomace and their fresh skin. *J. Sci. Food Agric.* 93:1404-1411.
- Loreti, E., G. Povero, G. Novi, C. Solfanelli, A. Alpi, and P. Perata. 2008. Gibberellins, jasmonate and abscisic acid modulate the sucrose-induced expression of anthocyanin biosynthetic genes in *Arabidopsis*. *New Phytol.* 179:1004-1016.
- Mori, K., S. Sugaya, and H. Gemma. 2004. Regulatory mechanism of anthocyanin biosynthesis in ‘Kyoho’ grape berries grown under different temperature conditions. *Environ. Contr. Biol.* 42:21-30.
- Pastore, C., S.D. Santo, S. Zenoni, N. Movahed, G. Allegro, G. Valentini, I. Filippetti, and G.B. Tornielli. 2017. Whole plant temperature manipulation affects flavonoid metabolism and the transcriptome of grapevine berries. *Front. Plant Sci.* 8:929.
- Park, S.J., J.G. Kim, S.M. Jung, J.H. Noh, Y.Y. Hur, M.S. Ryou, and H.C. Lee. 2010. Relationship between berry set density and fruit quality in ‘Kyoho’ grape. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 28:954-958(in Korean).
- Pilati, S., G. Bagagli, P. Sonogo, M. Moretto, D. Brazzale, G. Castorina, L. Simoni, C. Tonelli, G. Guella, K. Engelen et al. 2017. Abscisic acid is a major regulator of grape berry ripening onset: new insights into ABA signaling network. *Front. Plant Sci.* 8:1093.

- De Rosas, I., M.T. Ponce, E. Malovini, L. Deis, B. Cavagnaro, and P. Cavagnaro. 2017. Loss of anthocyanins and modification of the anthocyanin profiles in grape berries of Malbec and Bonarda grown under high temperature conditions. *Plant Sci.* 258:137-145.
- Ryu, S., Y.H. Kwon, G.R. Do, J.H. Jeong, H.H. Han, and J.H. Han. 2016. Effects of abscisic acid (ABA) and fluridone on red coloration of 'Hongro' apple fruit skins. *Protected Hort. Plant Fac.* 25:240-248(in Korean).
- Ryu, S., H.H. Han, J.H. Jeong, Y.H. Kwon, J.H. Han, G.R. Do, I.M. Choi, and H.J. Lee. 2017. Night temperatures affect fruit coloration and expressions of anthocyanin biosynthetic genes in 'Hongro' apple fruit skins. *Eur. J. Hortic. Sci.* 82:232-238.
- Ryu, S., J.H. Han, H.H. Han, J.H. Jeong, J.G. Cho, and G.R. Do. 2018. Changes of fruit quality and anthocyanin composition of 'Kyoho' and 'Heukboseok' grape berry skins under high temperature at veraison. *Protected Hort. Plant Fac.* 27:213-221(in Korean).
- Shinomiya, R., H. Fujishima, K. Muramoto, and M. Shiraishi. 2015. Impact of temperature and sunlight on the skin coloration of the 'Kyoho' table grape. *Sci. Hort.* 193:77-83.
- Tarara, J.M., J. Lee, S.E. Spayd, and C.F. Scagel. 2008. Berry temperature and solar radiation alter acylation, proportion, and concentration of anthocyanin in Merlot grapes. *Am. J. Enol. Vitic.* 59:235-247.
- Yamane, T., S.T. Jeong, N. Goto-Yamamoto, Y. Koshita, and S. Kobayashi. 2006. Effects of temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins. *Am. J. Enol. Vitic.* 57:54-59.
- Weiss, D., and N. Ori. 2007. Mechanisms of cross talk between gibberellin and other hormones. *Plant Physiol.* 144:1240-1246.
- Wheeler, S., B. Loveys, C. Ford, and C. Davies. 2009. The relationship between the expression of abscisic acid biosynthesis genes, accumulation of abscisic acid and the promotion of *Vitis vinifera* L. berry ripening by abscisic acid. *Aust. J. Grape Wine Res.* 15:195-204.