

# 상추에서 LED광질에 따른 플라보노이드 생합성 관련 유전자들의 발현 및 이차대사산물의 성분 분석

정유진 · 강대현 · Maral Tsevelkhoroloo · 문준관 · 강권규

## Analysis of growth pattern, gene expression and flavonoid contents under LED light wavelength in Lettuce (*Lactuca sativa* L.)

Yu Jin Jung · Dae Hyun Kang · Maral Tsevelkhoroloo · Jun Kwan Moon · Kwon Kyoo Kang

Received: 22 June 2015 / Revised: 23 June 2015 / Accepted: 23 June 2015  
© Korean Society for Plant Biotechnology

**Abstract** We analyzed the effects of various LED light treatments (red 655 nm, blue 456 nm, white and mixed light) on growth pattern, gene expression and flavonoid contents in lettuce leaf. Plants treated with mixed light (red+blue+white) showed better growth performance than those treated with single LED and fluorescent lamp (FL). Expression analysis of the eight genes involved in flavonoid biosynthesis in plants treated with LED light was examined. Results showed that red lettuce grown under mixed light showed high expression levels of *LsC4H*, *LsF3H* and *LsDRF* genes. Moreover, the same treatment plants possessed higher content of gallic acid, chlorogenic acid and quercetin contents than those in plants exposed to single light. However, the highest total anthocyanin content was identified in plants treated with red+blue light and the lowest content was identified in plants exposed to white fluorescent lamp and single LED

light condition. Thus, this study indicates that the ratio of blue to red LEDs is important for the morphology, growth, and phenolic compounds with anthocyanin properties in the two lettuce cultivars tested.

**Keywords** Anthocyanin, Flavonoids, LED, Lettuce, Plant factory

### 서론

식물에서 광 스트레스는 생장 및 발육에 가장 많은 영향을 끼치며, 에너지를 공급하는 중요한 역할을 담당하고 있다(Wang et al. 2009). 식물은 다양한 광질에 민감하게 반응하며, 이 중 적색파장대의 피토크롬 수용체와 청색파장대의 크립토크롬과 포토트로핀 수용체가 식물의 생육 및 색소계 물질 형성에 직접적인 영향을 주고 있다(Carvalho et al. 2011). 다양한 식물 색소 중 플라보노이드는 이차 대사산물 가운데 가장 많이 연구된 물질로서 애기장대, 페튜니아, 옥수수, 썬메밀, 포도 등 다양한 식물에서 생합성 경로가 알려져 있다(Koes et al. 2005; Grotewold 2006; Park et al. 2010; Park et al. 2011). 그 중 안토시아닌(anthocyanin)은 플라보노이드(flavonoid)계 색소로서 채소나 과일 등에 주로 존재하는 수용성 색소성분이며 식물에서 붉은색, 보라색, 푸른색 등을 띠고 생체 내 생리활성에 관여한다(Plochmann et al. 2007). 안토시아닌 분자들은 식물의 개화나 수정, 수분 시에 동물들을 유인하기 위한 시각적인 신호전달에 관여하거나 환경 스트레스에 대응하는 등 식물을 보호하기 위한 중심적인 역할을 하고 있다(Park et al. 2008). 안토시아닌 생합성에는 많은 효소

D. H. Kang · M. Tsevelkhoroloo  
국립한경대학교 미래융합기술대학원 식물생명공학전공  
(Department of Plant Biotechnology, Graduate School of Future Convergence Technology, Hankyong National University, Ansung, Gyeonggi-do 456-749, Korea)

J. K. Moon  
국립한경대학교 식물생명환경과학과  
(Department of Plant Life & Environmental Science, Hankyong National University, Ansung, Gyeonggi-do 456-749, Korea)

Y. J. Jung · K. K. Kang (✉)  
국립한경대학교 원예학과  
(Department of Horticulture, Hankyong National University, Ansung, Gyeonggi-do 456-749, Korea)  
국립한경대학교 유전공학연구소  
(Institute of Genetic Engineering, Hankyong National University, Ansung 456-749, Korea)  
e-mail: kykang@hknu.ac.kr

들이 작용하지만, Phenylalanine ammonia lyase (PAL)로부터 시작하여 chalcone synthase (CHS), chalcone isomerase (CHI), flavanone 3-hydroxylase (F3H), dihydroflavonol 4-reductase (DFR), leucoanthocyanidin dioxygenase (LDOX) 그리고 UDP-glucose: falconoid 3-O-glucosyltransferase (UFGT)를 거치면서 페닐알라닌은 안토시아닌으로 변환한다고 알려져 있다(Bogs et al. 2006; Boss et al. 1996; Ford et al. 1998). UDP-glucose: falconoid 3-O-glucosyltransferase (UFGT)는 안토시아닌 착색에 관여하는 효소로서 발육단계에 따라 발현양상이 달라지고, 다양한 전사인자들에 의해 조절된다고 보고되었다(Boss et al. 1996; Park et al. 2008).

최근 많은 연구가 이루어지고 있는 발광다이오드(light emitting diode; LED)는 새로운 인공광원으로 주목 받고 있으며, 상추를 대상으로 한 LED 연구로는 청색광이 상추의 배축과 신장에 미치는 영향(Hoenecke et al. 1992), 안정적인 엽채류 생산을 위해 LED 광을 포함한 다양한 광원의 설정 등 환경요인 검토(Um et al. 2009), LED 광질의 비율에 따른 작물의 색소함량과 기능성 관련 물질의 증진(Ordidge et al. 2010), 적색광과 청색광의 비율과 광질변화에 따른 적상추의 생육과 안토시아닌 색소 함량에 대한 검토 등의 연구가 보고되고 있다(Lee et al. 2010).

상추는 인공광원을 이용한 식물공장 생산방식에 적합한 작물로 알려져 있으며, 광 환경을 조절하여 고품질의 안전한 기능성 상추를 생산하기 위한 연구가 이루어지고 있다(Kopsell and Kopsell, 2008; Um et al. 2009; Nishioka et al. 2008). 이와 같이 LED를 이용한 상추의 생육과 품질 및 기능성 물질의 축적에 관한 연구는 다수 있으나, 광질 변화에 따른 안토시아닌 색소 관련 유전자의 발현 및 이차대사산물의 변화에 대한 연구는 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 다양한 조합의 LED 광 환경에 따른 폐쇄형 식물공장 내에서 청상추와 적상추의 색소발현을 극대화 시킬 수 있는 조건을 구명하고, 광질에 따른 안토시아닌 생합성 경로상 주요 유전자들의 발현 분석과 이차대사산물의 변화양상에 대해 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 식물재료 및 재배 환경

광질에 대한 상추의 생육 및 품질 변화를 구명하기 위하여 온도 및 광 환경 등이 조절되는 환경대학교 식물공장에서 일장은 16시간, 온도는 23±2°C, 상대습도는 60±10%, 양액은 Sonneveld 상추 양액처방액(K<sup>+</sup>: 11.6, Ca<sup>+2</sup>: 8.6, Mg<sup>+2</sup>: 1.6, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: 1.3, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: 19.0, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>: 2.1, H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>: 2.0 me·L<sup>-1</sup>)을 이용하였으며, EC 1.5 dS·m<sup>-1</sup>, pH 6.0~6.5로 설정하여 수행하였다. 실험에 사용한 품종은 아시아종묘 '청치마 상추'

및 '적치마 상추'로, 162구 육묘용 플러그트레이에 1립씩 파종하여 2주 동안 육묘한 후 이를 식물공장 재배베드에 이식 및 정식을 하였다. 인공광원으로는 백색 형광등 (fluorescent lamp; FL), 청색, 적색 LED (FC Poibe Co. Ltd., Korea)를 각각 사용하였고, LED 전원공급장치(SMPS) 규격에 따라 설치하였다. 모든 실험구의 광량은 200±10 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>로 설정하였고, 각 처리구는 청색광(B), 적색광(R), 청색광+적색광(B+R), 청색광+적색광+백색광(B+R+W), 형광등(W)의 5가지 다른 광원을 청상추와 적상추에 각각 처리하였다. 실험에 사용한 LED 광원의 광파장 스펙트럼은 적색광이 462 nm, 청색광이 668 nm의 최대피크를 보였다. 상추의 생육은 초장, 근장, 엽장을 조사하였고, 이차대사산물은 gallic acid, chlorogenic acid, quercetin과 총 안토시아닌 함량을 조사하였다.

### Total RNA 분리 및 cDNA 합성

Total RNA는 RNase H-Reverse Transcriptase (Gibco BRL, Rockville, MD, USA) protocol에 따라 수행하였으며, first strand cDNA는 total RNA 5 μg으로부터 합성하였다. 합성된 cDNA 2 μl를 주형으로 하여 10×PCR buffer (200 mM Tris-HCl pH 8.4, 500 mM KCl) 5 μl와 50 mM MgCl<sub>2</sub> 1.5 μl, 10 mM dNTP mix 1 μl, Taq DNA polymerase (5 units/μl) 0.4 μl, forward primer (10 μM), reverse primer (10 μM)를 각각 1 μl씩 첨가하고 멸균수 38.1 μl로 최종 부피 50 μl로 하여 PCR 분석을 행하였다. PCR을 위해 사용한 primer는 NCBI data base로부터 얻어진 플라보노이드 생합성 경로의 유전자들 정보로부터 보존영역을 이용하여 합성하여 사용하였다. PCR 반응은 94°C에서 4분간 pre-denaturation 시킨 후, 94°C에서 1분간 denaturation, 55°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 2분간 extension 과정을 35 cycles로 하였으며, 마지막으로 72°C에서 10분간 extension을 실시하였다. PCR 산물은 1.5% agarose gel상에 영동 한 후, ethidium bromide로 염색하여 band를 확인하였다. qRT-PCR 분석은 합성된 cDNA를 사용하여 SYBR Green Realtime PCR Master Mix (TOYOBO co., Japan)를 사용하여 권장하는 방법에 의해 수행하였다. Threshold cycle (Ct) 값에 의한 발현양 변이분석은  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 으로 계산하였으며,  $\Delta\Delta Ct$ 은 처리식물체의 (Ct target gene - Ct actin gene) - 대조식물체의(Ct target gene - Ct actin gene)에 의해 계산하여 수치화 하였다(Livak & Schmittgen 2001).

### HPLC 분석을 통한 2차 대사산물의 측정

동결 건조된 샘플(0.2 g)을 0.1% HCl이 첨가된 메탄올 10 ml로 처리하고, 10 분 동안 1200 rpm에서 원심분리 하였다. 상층액을 분리하여 50°C항온수조에서 증발시킨 후, 건조된 샘플을 2N HCl 2 mL과 메탄올 2 mL을 첨가하여 80°C

항온수조에서 2시간 가열 하였다. HPLC분석을 위해 -20°C에서 추출물을 저장한 후 건조물질 당 추출할 물질의(mg g<sup>-1</sup> DM) 함량을 계산하여 분석하였다.

### Total anthocyanin 함량 분석

안토시아닌을 측정하기 위해 각각의 동결 건조 잎 0.2 g 을 준비하여 Methanol : HCl (90:10, v/v)로 혼합한 용액을 이용하여 4°C 암조건 하에서 추출한 후 13,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 희석하여 535 nm에서 흡광도를 측정하여 산출하였다(Francis 1989).

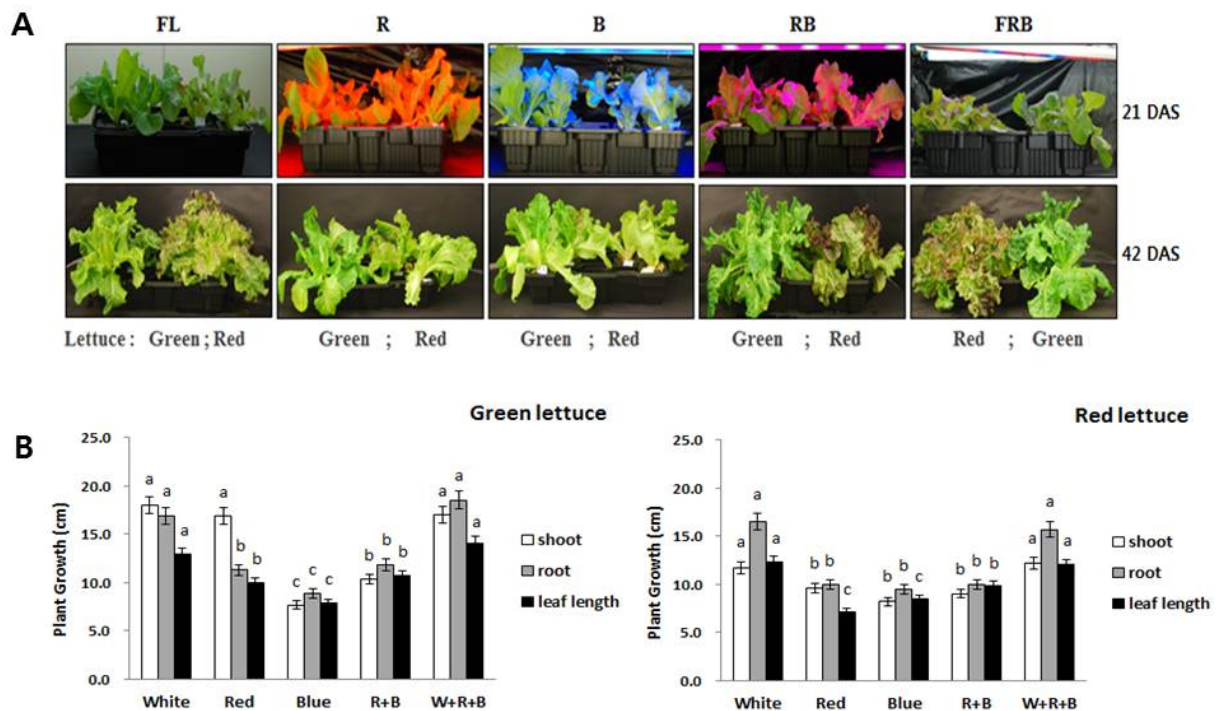
### 통계분석

상추 재배는 청색, 적색 및 혼합 LED로 2반복 처리하였으며, 상추의 생육 및 플라보노이드 물질 분석 등의 결과는 상추 각 처리구당 5개체씩 2반복 실험을 실시하여 재현성을 검증하였다. 통계분석은 SAS 프로그램(SAS, 9.2, Institute Inc, USA)을 이용하였고, 평균간 비교는 덩컨의 다중범위검정(Duncan's multiple range test) ( $p < 0.05$ )으로 분석하였다.

### 결과 및 고찰

#### 식물 성장 분석

재배상의 광질을 달리하여 파종 3주 후부터 파종 6주 후까지 약 3주간 각각 광질을 달리하여 처리한 후 청상추와 적상추의 색발현을 조사한 결과, 단일광인 적색(R), 청색(B) 처리구 보다 혼합광인 적색+청색(R+B), 백색+적색+청색(W+R+B) 처리구에서 색소 발현이 상대적으로 우수하였다(Fig. 1A). 청상추와 적상추의 생육상태는 청상추가 적상추 보다 양호하였으나, 이는 품종간 특성 때문에 기인한 것으로 보여지며, 적색과 청색의 단일광 및 적·청 혼합광에서는 초장, 근장, 엽장 등 전반적인 생육이 백색광이 포함된 처리구에 비하여 억제되었고, 백색·청·적 혼합광 처리 시 상추의 생육은 가장 우수하였다(Fig. 1B). 이상의 결과에서 상추의 형태 및 발달은 광질이 유의적인 변화 요인임을 확인 할 수 있었다. 또한 청색 단일광만으로는 색발현에 일정 부분 한계가 있고 적색과 청색이 공존하여야 색발현에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 보여지며, 청색광이 없는 조건에서 적색광만의 생장은 억제된다는 보고(Rajapakse and Kelly, 1992)와 적색광과 청색광의 혼합광 처리에서 토마토와 오이의 묘 생산 및 이용 가능성이 높다는 연구보고(Um et al. 2009)와도 일치한다.



**Fig. 1** (A) Morphology of red leaf lettuce plants treated with a white fluorescent lamp (FL), red (R), blue (B), red + blue (RB), fluorescent lamp + blue + red (FRB) light-emitting diode (LED) lights 21 (upper) and 42 (lower) days after sowing (DAS). Total photosynthetic photon flux (PPF) was  $200 \pm 10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  for 16 hours lighting treatments. (B) Effects of light spectrum on shoot, root and leaf length in green and red lettuce. Significance level  $p \leq 0.05$

식물의 광 형태형성 및 조절에는 청색광과 적색광이 필요하다고 하였으며 적색광은 식물체의 광합성에 관여하고 청색광은 형태적으로 식물체의 건전한 성장에 필요하다고 하였다(Hoenecke et al. 1992). 또한 안토시아닌 함량은 적색과 청색광의 혼합광원에서 높게 나타나며(Nishimura et al. 2009), 안토시아닌 축적에 미치는 가장 큰 요인은 광도 및 광질이라고 하였다(Vergeer et al. 1995; Keller and Hrazdina 1998). 특히 안토시아닌 색소의 발현과 관련해서는 청색광과 UV-A가 크게 작용하며 이는 cryptochrome이 이들 광파장의 광 수용체로서 역할을 한다고 하였다(Ninu et al. 1999; Giliberto et al. 2005). 또한 청색광은 안토시아닌 생합성 관련 유전자들에서 CHS (chalcone synthase)와 DFR (dihydroflavonol-4-reductase)의 발현을 촉진하여 안토시아닌 생합성을 조절하는 것으로 보고된 바 있다(Meng et al. 2004).

따라서 폐쇄형 식물공장 내에서 상추의 품질을 유지하면서 기능성 물질의 축적을 위해서는 적색광과 청색광의 비율 조절이 필요하다고 판단된다.

상추 내 안토시아닌 생합성 유전자의 발현 분석

안토시아닌 합성에 관여하는 유전자는 크게 두 가지로, 그 중 하나는 생합성 과정에 직접적으로 관여하는 효소를 암호화하는 구조 유전자이며, 또 다른 하나는 이들 구조 유전자의 발현을 제어하는 조절 유전자이다(Park et al. 2008).

청상추 및 적상추에서 안토시아닌 생합성 경로상 유전자들의 발현분석을 조사한 결과 파종 후, 3주 경과한 앞에서 8개의 유전자 모두가 발현량의 증가를 보였다(Fig. 2). 또한 생육 5주차의 상추 잎으로부터 플라보노이드 생합성 경로상의 유전자들의 발현량을 qRT-PCR에 의해 측정된 결과 모든 유전자들의 발현량은 적상추가 청상추보다 높게 나타났다. 이 중 CHS, CHI, F3H, DFR, ANS, UFGT 유전자에서 발현량이 높게 나타난 것으로 미루어 볼 때

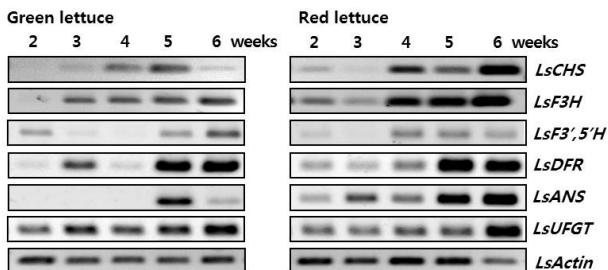


Fig. 2 RT-PCR analysis of six genes differentially expressed in lettuce leaf transcripts. Total RNA (0.5 μg) from green and red lettuce leaves was loaded into each lane on 1.5% agarose gel. Lane 2~6 weeks; PCR products generated from the cDNA template of development stage lines

이들 유전자들이 적상추의 안토시아닌 함량 축적에 직접적인 영향을 미친 것으로 생각된다(Fig. 3). 또한 광질의 변화에 따라 플라보노이드 생합성 경로 중 초기 단계의 C4H, F3H, DFR 유전자들의 발현량을 조사하였다. 파종 2

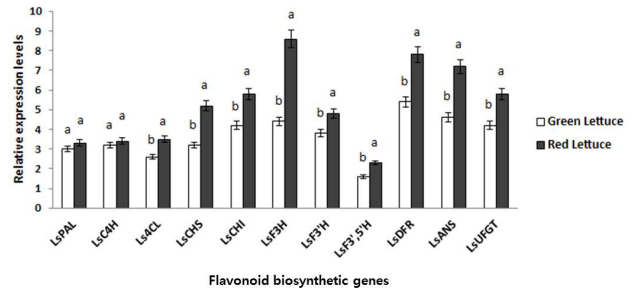


Fig. 3 Expression levels of flavonoid biosynthesis genes in green and red lettuce leaves. Values are the mean of three replicates and error bars represent standard deviation values. Significance level  $p \leq 0.05$

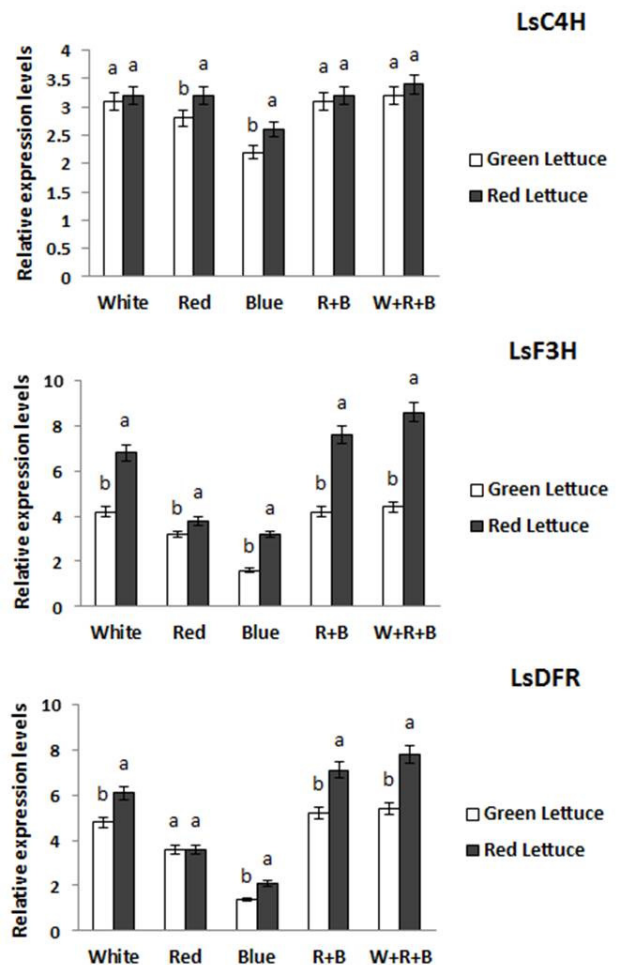


Fig. 4 Expression levels of *LsC4H*, *LsF3H*, *LsDFR* genes in green and red lettuce leaves. Values are the mean of three replicates and error bars represent standard deviation values. Significance level  $p \leq 0.05$



주 후부터 5주까지 약 3주 동안 광질을 다르게 조사한 후, 청상추와 적상추에서 각각의 유전자 발현량을 분석한 결과 Figure 4와 같이 LsC4H 유전자의 경우에는 청색 단독광 하에서는 낮았지만 그 외의 광질에서는 유사하였고, 적상추의 경우에는 통계적으로도 발현레벨에 큰 차이를 보이지 않았다. LsF3H 및 LsDFR 유전자에서는 청색과 적색 단일 광에서는 낮았지만 형광등(W)이나 적색(R)+청색(B), 형광등(W)+적색(R)+청색(B)과 같은 혼합광 하에서는 높게 나타났고, 청상추에 비해 적상추에서 그 발현량이 상대적으로 더 높은 것을 확인하였다. PAL은 L-phenylalanine을 trans-cinnamate로 전환시킴으로써 페놀계 물질을 생합성하는데 시작점이 되는 중요한 효소이다 (Koukol and Conn, 1961). 청색 LED 처리시 정식 후 9일째 PAL 유전자의 발현과 총 페놀의 농도가 높게 나타났으며, 청색광이 적색광보다 3배 높은 발현량을 보였다고 하였다(Son et al. 2012). 또한 정식 후 23일째에는 백색 LED 처리에서 대조구에 비해 약 1.8배 높은 PAL 유전자의 발현이 확인되어 광질을 조절함으로써 상추에서 기능성 물질의 축적의 변화가 가능함을 시사했다. 기존 과실 관련 연구에 의하면 PAL을 제외한 모든 유전자는 과실에서만 주로 발현되며, PAL, DFR 그리고 ANS 유전자는 과실 초기에 검출된 후 약간 감소하다가, 다시 발현이 증가하는 two-phase 발현 패턴을 보였는데, 이러한 현상은 안토시아닌 합성 유전자가 갖는 공통적인 특징 중에 하나라고 보고되었다(Bae et al. 2008; Halbwirth et al. 2006; Moyano et al. 1998). 또한 Almeida 등에 따르면, PAL, C4H, 4CL 유전자는 과실 발달 초기에 발현은 시작되지만 감소되는 경향을 보이다가 다시 숙기에 증가한다고 보고하였다. CHS 유전자는 two-phase 발현 패턴을 보였으며, DFR과 UFGT 유전자는 일정시기가 지난 후 발현량이 높게 유지되는 현상을 보였었다(Almeida et al. 2007).

작물에 따라 각 색소 관련 유전자의 발현시기 및 발현량의 차이는 색소축적과 품종별 성장발육 차이 및 이들 유전자를 조절하는 전사인자 등의 역할도 중요한 요인으로 작용된다. 또한 DFR 유전자의 발현은 포도에서 자당에 의해서 유도되었으며, 식물 발달 메커니즘에 관여하는 다른 인자들에 의해 조절될 수 있다고 하였고(Gollop et al. 2002), 애기장대로부터 분리된 AtMYB60 유전자를 상추에 과발현시킨 결과 안토시아닌 생합성을 조절하는 전사인자로서의 역할을 한다는 것이 보고되었다(Park et al. 2008).

광질에 따른 상추 내 플라보노이드계 물질 및 안토시아닌 함량 분석

광질에 따른 플라보노이드계 이차대사산물 함량을 분석하기 위하여 파종 5주후 상추잎으로부터 HPLC 분석을

수행한 결과 Gallic acid와 Chlorogenic acid의 함량은 적상추가 청상추 보다 월등히 높았으며, 형광등이 포함된 광질에서는 상대적으로 낮게 나타났다. 청상추는 단일광 처리구에서 그 함량이 현저하게 낮았고, Quercetin의 경우

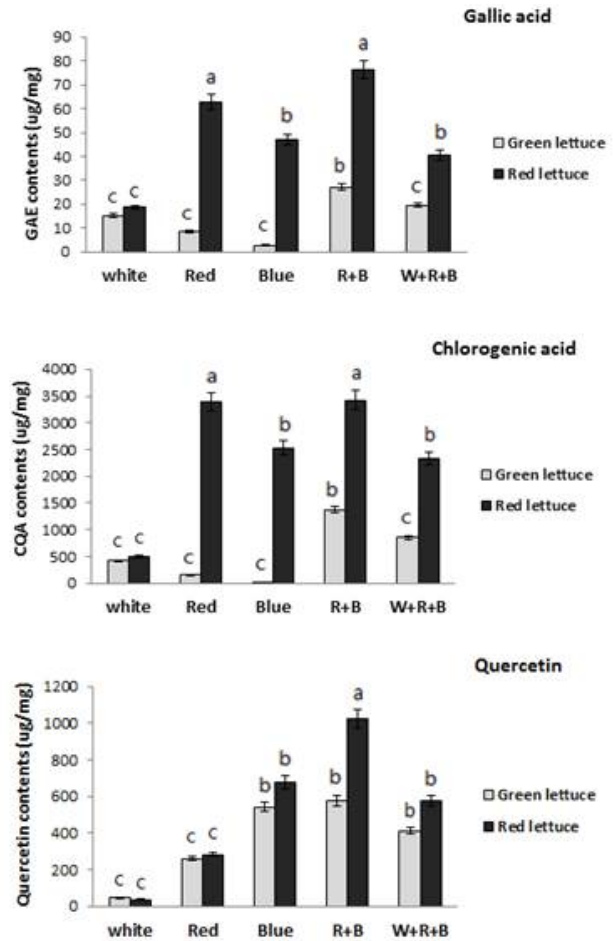


Fig. 5 Accumulation of phenolic compounds in green and red lettuce leaves. Data represent mean  $\pm$ SD values of 3 replicates, significance level  $p \leq 0.05$

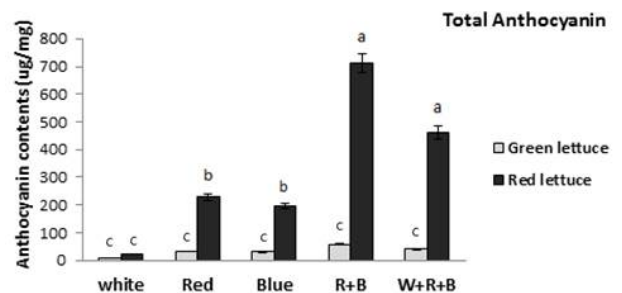


Fig. 6 Total anthocyanin content ( $\text{mg Cy g}^{-1} \text{DM}$ ) of green and red lettuce leaves. Vertical bars represent standard deviation, and different letters indicate differences at the significance level  $p \leq 0.05$ . White fluorescent lamp (White), red (R), blue (B), red + blue (RB), fluorescent lamp + blue + red (WRB) light-emitting diode (LED) lights

는 청상추 및 적상추 모두 청색광이 포함된 처리구에서 그 함량이 증가하였다. 이차대사산물의 함량은 적색과 청색의 혼합광 처리 시 가장 높게 나타났다(Fig. 5). 또한 총 안토시아닌 함량도 Figure 5와 같이 적·청 혼합광 처리 시 적상추에서 가장 높게 나타났다(Fig. 6). 이를 통하여 상추의 2차 대사산물 함량을 증진시키기 위한 폐쇄형 식물공장 내 인공광원으로는 적색과 청색의 혼합광원이 유용하리라 생각된다.

본 실험을 통해 적절한 혼합광원의 조절은 적색도의 향상에 기여하며 식물공장 내 상품성이 있는 고색도 적상추의 생산에 적용 가능할 것으로 생각된다. 또한 상추의 생육 과정에서 안토시아닌 생합성 과정에 관여하는 여러 유전자가 일정 환경에서 함께 조절되는 현상을 확인할 수 있었다. 이러한 연구 결과는 상추에서 광질을 조절함에 따라 안토시아닌 생합성 조절이 가능할 수 있음을 시사한다. 또한 안토시아닌 생합성 유전자의 발현 패턴을 크게 두 가지로 분류할 수 있는 것으로 보아, 적어도 두 가지 서로 다른 조절 기작이 관여하여 색소 발달 과정을 제어할 것으로 보인다. Almeida 등도 이와 비슷한 결론을 제시하였다. 실제로 *Arabidopsis*, 옥수수, 페튜니아 등에서 MYB, MYC, WDR 등 세 가지 종류의 전사인자가 작용하여 플라보노이드 경로를 조절한다고 알려져 있고, *Arabidopsis*를 이용한 연구에서는 피토크롬 A가 활성화됨에 따라서 청색광 수용체인 포토트로핀-1의 기능이 억제되어 식물체내에서 적색광과 청색광의 메커니즘이 조절됨으로써 식물이 적절한 성장과 형태형성을 이루고 있음이 보고되었다(Han et al. 2008).

본 연구의 결과에서도 적색광과 청색광을 혼합하여 처리한 상추에서 기능성 물질의 함량이 높게 나타났으며, 생육도 양호하였다. 따라서 식물공장 내 상추의 생육과 품질을 높이기 위해 혼합광을 적절하게 사용함으로써 색소 관련 생합성 경로상의 유전자 발현량을 조절하여 색소함량 등에 영향을 준다. 많은 작물에 있어서 적색의 파장 영역은 생육촉진을, 청색광과 UV 영역은 색소 및 기능성 물질 함량의 증대 효과가 있음이 수많은 연구를 통해 밝혀진 바 있으나, 색소 등 물질함량을 극대화시키기 위한 전략으로 청색광의 비율을 높이면 상대적으로 생육량이 떨어져 상업적 생산이 어려울 수 있으므로 작물에 따른 적색광과 청색광의 적합 비율, 에너지 효율을 고려한 광도 조건에 대한 면밀한 검토가 필요하리라 판단된다. 또한 상추는 최근 생식용으로 그 수요가 폭발적으로 증가하고 있는 샐러드 야채의 주 재료로서 그 경제적 의미가 커지는 바, 기능성 소재인 폐놀성 화합물의 생합성 유전자에 대한 분자생물학적 연구 결과가 많이 축적되면서 앞으로 크게 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

## 사 사

본 연구는 농림축산식품부 첨단생산기술개발사업(과제 번호: 314039-2)의 지원으로 수행되었음.

## 적 요

본 연구는 다양한 LED광 처리가 상추의 성장상, 플라보노이드 생합성 관련 유전자들의 발현양상 및 플라보노이드 함량에 미치는 영향을 분석하였다. 상추의 성장상 분석에서 혼합광 처리가 단일 처리구보다 잎생장이 월등히 우수하였으며, 단일광내에서 청색광이 적색광보다 생체중이 높게 나타났다. LED광질에 따른 플라보노이드 생합성 관련 8개 유전자들의 발현을 분석한 결과 LsF3H와 LsDFR 유전자에서 혼합광 처리한 적상추에서 청상추보다 높게 나타났다. 또한 혼합광 처리가 단일광 처리보다 Gallic acid, Chlorogenic acid, Quercetin 및 안토시아닌의 함량이 가장 높게 나타났다. 이상의 결과로부터 LED 광질에 따라 상추 성장과 발육차이를 보이며, 유전자의 발현 및 기능성 물질의 축적에 중요한 요인으로 작용하며, 기능성 물질의 축적을 유도하기 위해서는 적색과 청색의 혼합처리가 유용하리라 생각된다.

## References

- Almeida, JR., D'Amico E, Preuss A, Carbone F, de Vos CH, Deiml B, Mourgues F, Perrotta G, Fischer TC, Bovy AG, Martens S, Rosati C (2007) Characterization of major enzymes and genes involved in flavonoid and proanthocyanidin biosynthesis during fruit development in strawberry (*Fragaria x ananassa*). *Archives of Biochemistry and Biophysics* 465:61-71
- Bae KS, Kihl JY, Pyee J (2008) A set of anthocyanin biosynthetic genes are differentially expressed in strawberry (*Fragaria x ananassa* cv Maehyang) during the fruit development process. *J Life Science* 18:234-240
- Bogs J, Ebadi A, McDavid D, Robinson SP (2006) Identification of the flavonoid hydroxylases from grapevine and their regulation during fruit development. *Plant Physiol* 140:279-291
- Boss PK, Davies C, Robinson SP (1996) Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* L. cv Shiraz grape berries and the implications for pathway regulation. *Plant Physiol* 111:1059-1066
- Carvalho RF, Takaki M, Azevedo RA (2011) Plant pigments: The many face of light perception. *Acta Physiol Plant* 33:241-248
- Duncan DB (1955) Multiple range and multiple F tests. *Biometrics* 11:1-42
- Ford CM, Boss PK, Hoj PB (1998) Cloning and characterization of *Vitis vinifera* UDP-glucose:flavonoid 3-O-glucosyltransferase, a homologue of the enzyme encoded by the maize Bronze-1

- locus that may primarily serve to glucosylate anthocyanidins in vivo. *J Biol Chem* 273:9224-9233
- Francis F (1989) Food colourants : Anthocyanins. *Crit Rev Food Sci Nutr* 28:273-314
- Giliberto L, Perrotta G, Pallara P, Weller JL, Fraser PD, Bramley PM, Fiore A, Tavazza M, Giuliano G (2005) Manipulation of the blue light photoreceptor cryptochrome 2 in tomato affects vegetative development, flowering time, and fruit antioxidant content. *Plant Physiol* 137:199-208
- Gollop R, Even S, Colova-Tsolova V, Peri A (2002) Expression of the grape dihydroflavonol reductase gene and analysis of its promoter region. *J Exp Bot* 53:1397-1409
- Grotewold E (2006) The genetics and biochemistry of floral pigments. *Annu Rev Plant Biol* 57:761-780
- Halbwirth H, Puhl I, Haas U, Jezik K, Treutter D, Stich K (2006) Two-phase flavonoid formation in developing strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruit. *J Agric Food Chem* 54:1479-1485
- Han IS, Tseng TS, Eisinger W, Briggs WR (2008) Phytochrome A regulates the intracellular distribution of phototropin 1-green fluorescent protein in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 20:2835-2847
- Hoenecke ME, Bula RJ, Tibbitts TW (1992) Importance of blue photon levels for lettuce seedlings grown under red-light-emitting diodes. *Hort Science* 27:427-430
- Keller M, Hrazdina G (1998) Interaction of nitrogen availability during bloom and light intensity during veraison. II. Effects on anthocyanin and phenolic development during grape ripening. *Am J Enol Vitic* 49:341-349
- Koes R, Verweij W, Quattrocchio F (2005) Flavonoids: A colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways. *Trends Plant Sci* 10:236-242
- Kopsell DA, Kopell DE (2008) Genetic and environmental factors affecting plant lutein/zeaxanthin. *Agro Food Ind Hi-Tech* 19:44-46
- Koukol J, Conn EE (1961) The metabolism of aromatic compounds in higher plants. IV. Purification and properties of the phenylalanine deaminase of *Hordeum vulgare*. *The Journal of Biological Chemistry* 236: 2692-8
- Lee JG, Oh SS, Cha SH, Jang YA, Kim SY, Um TC, Cheong SR (2010) Effects of red/blue light ratio and short-term light quality conversion on growth and anthocyanin contents of baby leaf lettuce. *J Bio-Environ Control* 19:351-359
- Livak KJ, Schmittgen TD (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method. *Methods* 25:402-408
- Meng XC, Xing T, Wang XJ (2004) The role of light in the regulation of anthocyanin accumulation in *Gerbera hybrida*. *J Plant Growth Regul* 44:243-250
- Moyano E, Portero-Robles I, Medina-Escobar N, Valpuesta V, Munoz-Blanco J, Caballero JL (1998) A fruit-specific putative dihydroflavonol 4-reductase gene is differentially expressed in strawberry during the ripening process. *Plant Physiol* 117:711-716
- Ninu L, Ahmad M, Miarelli C, Cashmore AR, Giuliano G (1999) Cryptochrome 1 controls tomato development in response to blue light. *Plant J* 18:551-556
- Nishimura T, Ohyama K, Goto E, Inagaki N (2009) Concentration of perillaldehyde, limonene, and anthocyanin of *Perilla* plants as affected by light quality under controlled environments. *Scientia Hort* 122:134-137
- Nishioka N, Nishimura T, Ohyama K, Sumino M, Malayeri SH, Goto E, Inagaki N, Morota T (2008) Light quality affected growth and contents of essential oil components of Japanese mint plants *Acta Hort* 797:431-436
- Ordidge M, Garcia-Macias P, Battey NH, Gordon MH, Hadley P, John P, Lovegrove JA, Vysini E, Wagstaffe A (2010) Phenolic contents of lettuce, strawberry, raspberry, and blueberry crops cultivated under plastic films varying in ultraviolet transparency. *Food Chemistry* 119:1224-1227
- Park JH, Park SC, Pyee JH (2010) Functional analysis of a grapevine UDP-Glucose flavonoid glucosyl transferase (UFGT) gene in transgenic tobacco plants. *Journal of Life Science* 20(2):292-297
- Park NI, Li X, Suzuki T, Kim SJ, Woo SH, Park CH, Park SU (2011) Differential expression of anthocyanin biosynthetic genes and anthocyanin accumulation in tartary buckwheat cultivars 'Hokkai T8' and 'Hokkai T10'. *J Agric Food Chem* 59:2356-2361
- Park SJ, Kim JB, Cho KJ, Cheon CI, Sung MK, Choung MG, Roh KH (2008) *Arabidopsis* R2R3-MYB transcription factor AtMYB60 functions as a transcriptional repressor of anthocyanin biosynthesis in lettuce (*Lactuca sativa*). *Plant Cell Rep* 27:985-994
- Plochmann K, Korte G, Koutsilieris E, Richling E, Riederer P, Rethwilm A, Schreier P, Scheller C (2007) Structure-activity relationships of flavonoid-induced cytotoxicity on human leukemia cells. *Arch Biochem Biophys* 460(1):1-9
- Rajapakse NC, Kelly JW (1992) Regulation of chrysanthemum growth by spectral filters. *J Amer Soc Hort Sci* 117(3):481-485
- Son KH, Park JH, Kim DE, Oh MM (2012) Leafshapeindex, growth, and phytochemicals I two leaf lettuce cultivars grown under monochromatic light-emitting diode. *Kor J Hort Sci Technol* 30(6):664-672
- Sonneveld C, Straver N (1994) Nutrient solutions for vegetables and flower grow in water on substrates. 10th ed. Proefstation voor tuinbouw onder glas te Naaldwijk, no. 8, Holland, 45p
- Um YC, Jang YA, Lee JG, Kim SY, Cheong SR, Oh SS, Cha SW, Hong SC (2009) Effect of selective light sources on seeding quality of tomato and cucumber in closed nursery system. *J Bio-Env Con* 18(4):370-376
- Vergeer LHT, Aarts TL, Degroot JD (1995) The wasting disease and the effect of abiotic factors (light-intensity, temperature, salinity) and infection with labyrinthula-zosteriae on the phenolics contents of zostera-marina shoots. *Aquat Bot* 52:35-44
- Wang H, Gu M, Cui J, Shi K, Zhou T, Yu J (2009) Effects of light quality on CO<sub>2</sub> assimilation, chlorophyll-fluorescence quenching, expression of Calvin cycle genes and carbohydrate accumulation in *Cucumis sativus*. *J Photochem Photobiol B* 96:30-37