

이상저온 시 글루탐산 엽면 처리에 의한 배추의 ABA, 탄수화물 및 Glucosinolate 대사체 변화

심하선^{1†} · 조정수^{2†} · 우의정¹ · 문유현¹ · 이태연¹ · 이희주³ · 위승환³ · 김성겸^{4*}

¹경북대학교 대학원 원예학과 대학원생, ²경북대학교 농업과학기술연구소 연구초빙교수,
³국립원예특작과학원 채소과 농업연구사, ⁴경북대학교 원예학과 교수

Changes in Abscisic Acid, Carbohydrate, and Glucosinolate Metabolites in Kimchi Cabbage Treated with Glutamic Acid Foliar Application under Extremely Low Temperature Conditions

Ha Seon Sim^{1†}, Jung Su Jo^{2†}, Ui Jeong Woo¹, Yu Hyun Moon¹, Tae Yeon Lee¹, Hee Ju Lee³,
Seung Hwan Wi³, and Sung Kyeom Kim^{4*}

¹Graduate Student, Department of Horticultural Science, College of Agricultural and Science, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

²Research Professor, Institute of Agricultural Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

³Research Scientist, Vegetable Research Division, National Institute of Horticultural and Herbal Science, Wanju 55365, Korea

⁴Professor, Department of Horticultural Science, College of Agricultural and Science, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

Abstract. Glutamic acid is a precursor of essential amino acids that play an important role in plant growth and development. It is one of the biostimulants that reduce cold stress damage by stimulating biosynthetic pathways leading to cryoprotectants. This study evaluated the effects of glutamic acid foliar application on Kimchi cabbage under low-temperature stress. There were six treatments, combining three photo-/dark periods temperature levels (11/-1°C extremely low, E; 16/4°C moderately low, M; and 21/9°C optimal, O) with and without glutamic acid foliar application (0 and 10 mg·L⁻¹; Glu 0 and Glu 10). Glutamic acid foliar application was sprayed once 10 days after transplanting, and then temperature treatment immediately after glutamic acid foliar application was conducted for up to four days. After four days of treatment, abscisic acid (ABA), phaseic acid (PA), dihydrophaseic acid (DPA), and abscisic acid-glucose ester (ABA-GE) contents were higher with Glu 10 treatment than Glu 0 treatment in M treatment. Glucose content was highest in E with Glu 10 treatment (52.1 mg·100 g⁻¹ dry weight), while fructose content was highest in O with Glu 0 treatment (134.6 mg·100 g⁻¹ dry weight). The contents of glucolepidin (GLP), glucobrassicin (GBS), 4-methoxyglucobrassicin (4MGBS), neoglucobrassicin (GNBS), and gluconasturtiin (GNS) were highest among all treatments in E with Glu 10 treatments (0.72, 2.05, 1.67, 9.40 and 0.85 μmol·g⁻¹ dry weight). After two days of treatment, rapid changes in PA and DPA contents of E with Glu 10 treatments were confirmed, and several individual glucosinolate contents (GLP, GBS, 4MGBS, GNBS, and GNS) were significantly different depending on low temperature and glutamic acid treatment. In addition, the content of fructose was significantly lower than that of O treatment in E and M treatments after four days of treatment. Therefore, although the changes in PA, DPA, glucose, fructose, and individual glucosinolates according to low temperature and glutamic acid foliar treatment were shown. A clear correlation between low temperature and glutamic acid effects could not be evaluated. Results indicated that *Brassica* crops are cryophilic vegetables, do not react sensitively to low temperatures, and mostly have cold resistance.

Additional key words : ABA metabolite, biostimulant, *Brassica rapa* L. subsp. *pekinensis* (Lour.) Hanelt, low temperature stress, phytochemical

†These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author: skkim76@knu.ac.kr

Received June 17, 2022; Revised July 12, 2022;

Accepted July 13, 2022

서 론

배추는 김치의 주재료이며 한국에서 널리 재배되는 엽채류이다. 배추는 호냉성 채소로 정의되며(Opena와 Lo, 1979), 생육 최적 온도는 18–20°C 범위이고, 생육 최저 한계 온도는 4–5°C이다. 2020년 기준에 따르면, 배추의 전체 재배 면적은 30,949 ha, 생산량은 약 2,242천 톤이며, 10a 당 생산량은 7,442 kg이었다(KOSIS, 2022). 배추의 생산시기는 전체 생산량 증가를 재배가 44.8%로 가장 많았고, 봄재배 18.8%, 고랭지재배 16.3%, 겨울재배는 13.6% 정도였다(KOSIS, 2022). 특히 봄배추의 경우에는 육묘기가 저온기에 해당하므로 저온에 의한 화학 분해 위험성이 높고 정식 후에도 고온 장일 조건에서 추대가 촉진되어 생육이나 품질 저하 등의 문제가 발생할 수 있다(Lee 등, 2011).

저온 스트레스 시 생물자극제 처리는 일반적으로 저온 보호 물질로 이어지는 생합성 경로를 자극하여 삼투 분자의 축적을 증가시키며, 막 안정성을 증가시켜 저온 피해를 줄이는 기능을 한다(Bulgari 등, 2019). 글루탐산은 식물의 성장과 발달에 중요한 역할을 하는 필수 아미노산의 전구체이며, proline, γ -aminobutyric acid(GABA), glutathione 등과 같은 항산화제로 전환된다(Qiu 등, 2020). 글루탐산의 처리는 비생물적 스트레스 조건에서 배추의 성장과 수확량을 유지하기 위한 재배적으로 적용가능한 화학적 처리 방법으로, 저온 스트레스 시 광합성 조절과 항산화효소 활성을 증가시켜 저온으로 인한 생리학적 손상을 완화시킬 수 있었다(Lee 등, 2017). 또한, 다양한 작물에서 삼투압, 염분, 질소 결핍 및 저온 스트레스를 줄이는데 효과적인 것으로 밝혀졌다(Sadak과 Abdelhamid, 2015; Lei 등, 2017; Kan 등, 2017).

Abscisic acid(ABA)는 종자 휴면, 발아, 노화 및 환경에 대한 스트레스 내성과 관련하여 식물의 다양한 성장 단계를 조절한다. 따라서, 스트레스 호르몬으로서 ABA는 비생물적 스트레스에 대한 내성 및 방어 반응 역할을 한다(Lee와 Luan, 2012; Wilkinson과 Davies, 2010). ABA는 건조 및 고온 스트레스로 인한 피해를 줄이고(Zandalinas 등, 2016), 수분 부족을 줄임으로써 가뭄 내성을 높인다. 또한, ABA는 공변세포에서 당과 유기산의 대사 변화를 조절하기도 한다(Jin 등, 2013). 상승된 ABA 함량을 줄이는 것은 ABA 이화작용과 비활성화라는 두 가지 경로를 통해 가능하다. 더 높은 ABA 함량은 주요 이화 경로를 활성화하여 8'-hydroxy-ABA를 형성하고, 이는 phaseic acid(PA)로 전환된 다음 dihydrophaseic acid(DPA)으로 전환된다(Kushiro 등, 2004). ABA 비활성화는 비활성 ABA-glucose ester(ABA-GE)가 형성되는 경로를 통해 나타난다(Xu 등, 2002). PA는 옥수수과 보리에서 기

공 폐쇄를 유도하는 경우도 있다(Sharkey와 Raschke, 1980). ABA는 sucrose 수송체, sucrose 합성 및 invertase 유전자의 발현을 변경하여 sucrose 대사를 조절할 수 있다(Rezaul 등, 2019). 예를 들어, 쌀에서 이 과정은 꽃가루 발달 단계 시 작은 이삭에서 ATP 형성을 유지한다(Islam 등, 2018). 또한, ABA로 전처리 된 쌀은 처리되지 않은 쌀에서 발견되는 것보다 더 높은 수준의 전분, 가용성 당 및 비구조 탄수화물을 나타낸다(Robertson 등, 1994).

Glucosinolate는 2차 대사산물로 배추과 작물에 풍부하게 있다. Glucosinolate 함량은 환경 조건(del Carmen Martínez-Ballesta 등, 2013)과 식물의 성장 단계(Hong과 Kim, 2014)에 영향을 받는다. 또한, 비생물적 스트레스는 다음과 같은 다양한 메커니즘에 따라 식물의 glucosinolate 프로파일을 변경할 수 있다. 생합성의 사슬 연장 단계는 환경 스트레스의 영향을 받는다. 스트레스 인식은 세포질에서 2차 메신저의 합성을 향상시켜 액포에서 세포질로 glucosinolate를 방출한다. Myrosinase 활성은 식물의 내성을 촉진하는 분자인 isothiocyanate를 생성하게 된다(Ishida 등, 2014). Glucosinolate의 생합성 경로는 애기장대에 의해 거의 대부분 설명되었다.

글루탐산의 엽면 처리와 저온이 배추의 호르몬 및 2차 대사산물의 함량에 미치는 영향에 대한 연구가 미흡하다. 이 연구에서 글루탐산의 엽면 처리가 생육 초기 배추에 저온 스트레스 내성에 기여할 것이라고 가설로 생각하였다. 따라서, 이 연구의 목적은 글루탐산의 엽면 처리와 함께 이상 저온 온도 조건에서 배추의 ABA, 탄수화물 및 glucosinolate 대사체의 변화를 프로파일 하는 것이었다. 그리고 저온 스트레스 내성은 스트레스 호르몬, 1차 및 2차 대사산물의 함량을 나타내는 지표로서, ABA, 탄수화물 및 glucosinolate의 함량을 각각 분석하여 평가하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 처리

2021년 3월 26일 한국 완주에 위치한 국립원예특작과학원 노지(35°83'N, 127°03'E)에 상업용 상토와 일반 흙을 채운 625L 플라스틱 상자에 배추(*Brassica rapa* L. subsp. *pekinensis* (Lour.) Hanelt ‘춘광’, Sakata Seed Co., Korea)를 정식하였다. 실험의 처리는 3가지 주/야간 온도 수준, 즉 11/–1°C (Extremely low; E), 16/4°C (Moderately low; M) 및 21/9°C (Optimal; O) 및 2가지 글루탐산 엽면 처리 농도 수준, 즉 0(Glu 0) 및 10-mg·L⁻¹(Glu 10)이었다. 온도 처리는 주/야간 각각 12/12시간 동안 수행하였고, 4735 × 4625 × 3860mm(각각 길이, 너비 및 높이; Modified CEEWS model, Environmental

Growth Chambers, Chagrin Falls, OH, USA) 규격의 이상기 상 성장상에서 4일 동안 처리하였다. 글루탐산 엽면 처리는 온도처리 직전 정식 후 10일에 1회 배추의 엽면이 충분히 적실 수 있도록 처리하였다. 온도와 글루탐산 처리를 제외한 다른 환경조건은 실험 동안 동일하였다. 식물은 온도 처리 기간을 제외하고 노지에서 재배되었다. 분석 시료는 각각 2일 및 4일 후 수집되었고 부위는 지상부 녹색 부분을 수집했다. 잎을 액체 질소에 바로 동결 후 동결 건조하고 액체 질소에서 막자사발을 사용하여 미세 분말로 마쇄한 다음 ABA, 탄수화물 및 glucosinolate 대사체 함량을 분석할 때까지 -40°C 로 유지하였다.

2. ABA 대사체 분석

ABA 대사체 추출 절차는 Ordaz-Ortiz 등 (2015)에 의해 개발된 방법을 수정하여 수행하였다. (+)-ABA는 Sigma-Aldrich (Dorset, UK)에서 구매하였고, 나머지 ABA 대사체((-)-DPA, (+)-ABA-GE, (-)-PA 및 (\pm)-7'-OH-ABA) 및 내부 표준 물질($[^2\text{H}_3]$ -DPA (-)-7',7',7'- d_3 -DPA; $[^2\text{H}_5]$ -ABA-GE (+)-4,5, 8',8',8'- d_5 -ABA-GE; $[^2\text{H}_3]$ -PA (-)-7',7',7'- d_3 -PA; $[^2\text{H}_4]$ -7'-hydroxy-ABA (\pm)-5, 8',8',8'- d_4 -7'-OH-ABA; $[^2\text{H}_6]$ -ABA (\pm)-3',5',5',7',7',7'- d_6 -ABA)은 National Research Council of Canada-Plant Biotechnology Institute에서 구매하였다. 동결 건조된 배추 시료(50mg)는 methanol/water/formic acid(75:20:5, v/v/v)을 함유한 추출 용매 5mL를 첨가한 후 4°C 에서 sonification을 사용하여 5분간 진탕하였다. $400\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 농도의 내부 표준 물질(5가지 중수소화 표지된 화합물) 75 μL 를 추출물에 첨가한 후 혼합물을 4°C 의 암조건에서 shaking incubator를 사용하여 2시간 동안 추출하였다. 추출 후 $1,960 \times \text{g}$ 로 10분간 원심분리한 후 상층액을 15mL 튜브로 옮기고 -105°C 의 암조건에서 24시간 동안 동결 건조하였다. 잔여물은 water/acetonitrile/formic acid(90.0:9.9:0.1, v/v/v)을 함유한 재용해 용매 400 μL 를 첨가한 후 10분 동안 원심분리($1,960 \times \text{g}$, 4°C)하였다. 상층액을 0.2- μm PTFE 필터를 통해 여과하고 insert가 있는 vial로 옮겼다. 전체 추출물은 UPLC-MS system에 주입하여 내인성 ABA 대사체를 정량화 하였다. ABA 대사체 분석에는 5개의 표준물질을 사용하였다; ABA, phaseic acid(PA), dihydrophaseic acid(DPA), ABA-glucose ester(ABA-GE) 및 7'-hydroxy-ABA. 모든 실험 절차는 ABA 대사체가 빛에 민감하기 때문에 어두운 조건에서 수행되었다.

질량 분석은 PDA 검출기가 장착된 Acquity UPLC I-Class system(Waters Co., Milford, MA, USA)에 연결된 Xevo

G2-XS Qtof MS 질량분석기(Waters Co.)에서 분석하였다. 모든 대사체는 Q-tof-MS scan mode의 negative mode에서 분석되었고, cone voltage는 10–40V으로 하였다. 시료 10 μL 를 Acquity UPLC HSS T3 column(1.8 μm ; 2.1×50 mm; Waters Co.)에 주입하여 분석하였다. UPLC 분석 조건으로 이동상 A는 0.1% formic acid를 포함한 water, 이동상 B는 0.1% formic acid를 포함한 acetonitrile를 사용하였으며, 이동상의 속도는 $0.35\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 컬럼 온도는 30°C 를 유지하였다.

3. 탄수화물 대사체 분석

표준물질로 사용된 sucrose, D-(+)-glucose, D(-)-fructose, 1-kestose 및 nystose는 Sigma-Aldrich에서 구매하였다. 동결 건조된 배추 시료(50mg)는 62.5% methanol 2mL를 첨가한 후 55°C 에서 shaking water bath를 사용하여 15분 동안 추출하였다. 추출물을 $16,000 \times \text{g}$ 에서 10분 동안 원심분리한 후 상층액을 0.2 μm PTFE 필터를 통해 여과하였다. 분석 전에 1:5로 희석하여 vial로 옮겼다. 시료 20 μL 를 880nm로 설정된 RI 검출기가 장착된 Alliance HPLC system(Waters Co.)에 주입하여 분석하였다. 탄수화물 대사체는 Sugar-Pak I column(6.5×300 mm; Waters Co.)을 사용하여 분리되었다. 이동상은 0.01M Ca-EDTA를 사용하였고, 이동상의 속도는 $0.5\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, column 온도는 90°C 를 유지하였다.

4. Glucosinolate 대사체 분석

19개의 glucosinolate 표준물질은 Cfm Oskar Co. (Marktredwitz, DE)에서 구매하였다; glucoiberin, glucolepidiin (GLP), progoitrin, epiprogoitrin, glucoraphanin, glucoraphanin, sinigrin, gluconapin, sinalbin, glucomoringin, glucobarbarin, glucotropaeolin, glucobrassicinapin(GBN), glucoerucin, glucobrassicin(GBS), 4-hydroxyglucobrassicin, 4-methoxyglucobrassicin(4MGBS), neoglucobrassicin(GNBS), and glucobasturtiin(GNS). Bhandari 등 (2015)에 의한 분석법에 따라 glucosinolate를 추출하고 탈황화시켰다. Endomyrosinase를 비활성화 시키기 위해, 동결 건조된 배추 시료(50mg)는 75% methanol을 첨가한 후 75°C 에서 shaking water bath를 사용하여 2번 반복하여 추출하였다. 추출물을 $12,000 \times \text{g}$, 4°C 에서 5분간 원심분리한 후 상층액을 2mL tube에 옮겼다. 2번 반복 추출 후에 얻어진 상층액을 합하여 crude glucosinolate로 간주하였다. 이 혼합물을 0.7mL의 diethylaminoethyl-Sephadex A-25(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)가 채워진 Mini Bio-Spin Chromatography Column (Bio-Rad Laboratories,

Hercules, CA, USA)에 적용하였다. Glucosinolate를 탈황화시키기 위해 200 μ L sulfatase(EC 3.1.6.1, *Helix pomatia* H-1 type, Sigma-Aldrich)을 column에 첨가한 후 밀봉하여 상온에서 18시간 동안 처리하였다. Desulfo-glucosinolate를 0.5mL의 water로 3회 추출 후 0.2 μ m PTFE 필터로 여과하고 즉시 HPLC로 분석하였다.

Desulfo-glucosinolate는 229nm로 설정된 DA 검출기가 장착된 1260 HPLC system(Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)에 주입하여 분석하였다. Guard column이 장착된 Acquity UPLC[®] BEH-C18 column(1.7m; 2.1 \times 100 mm; Waters Co.)을 사용하여 분리되었다. 이동상 A는 water, 이동상 B는 100% acetonitrile를 사용하였으며, 이동상은 0.2 μ L \cdot min⁻¹, column 온도는 30 $^{\circ}$ C를 유지하였다.

5. 통계 분석

난괴법 3반복으로 박스에서 임의로 각 3주에서 분석 시료를 수집하여 분석한 후 SAS 프로그램(SAS 9.4, SAS Institute Inc., NC, USA)을 이용하여 분산분석을 수행하였고, 평균 간의 비교는 최소유의차 검정을 이용하였다. 온도와 글루탐산 엽면 처리에 따른 ABA, 탄수화물, glucosinolate 대사체 간의 상관분석은 R 프로그램(RStudio 3.6.3, RStudio Inc., MA, USA)을 이용하여 구하였다.

결과 및 고찰

1. ABA 대사체 함량 비교

생육 초기 배추의 온도 및 글루탐산 엽면 처리에 따른 ABA

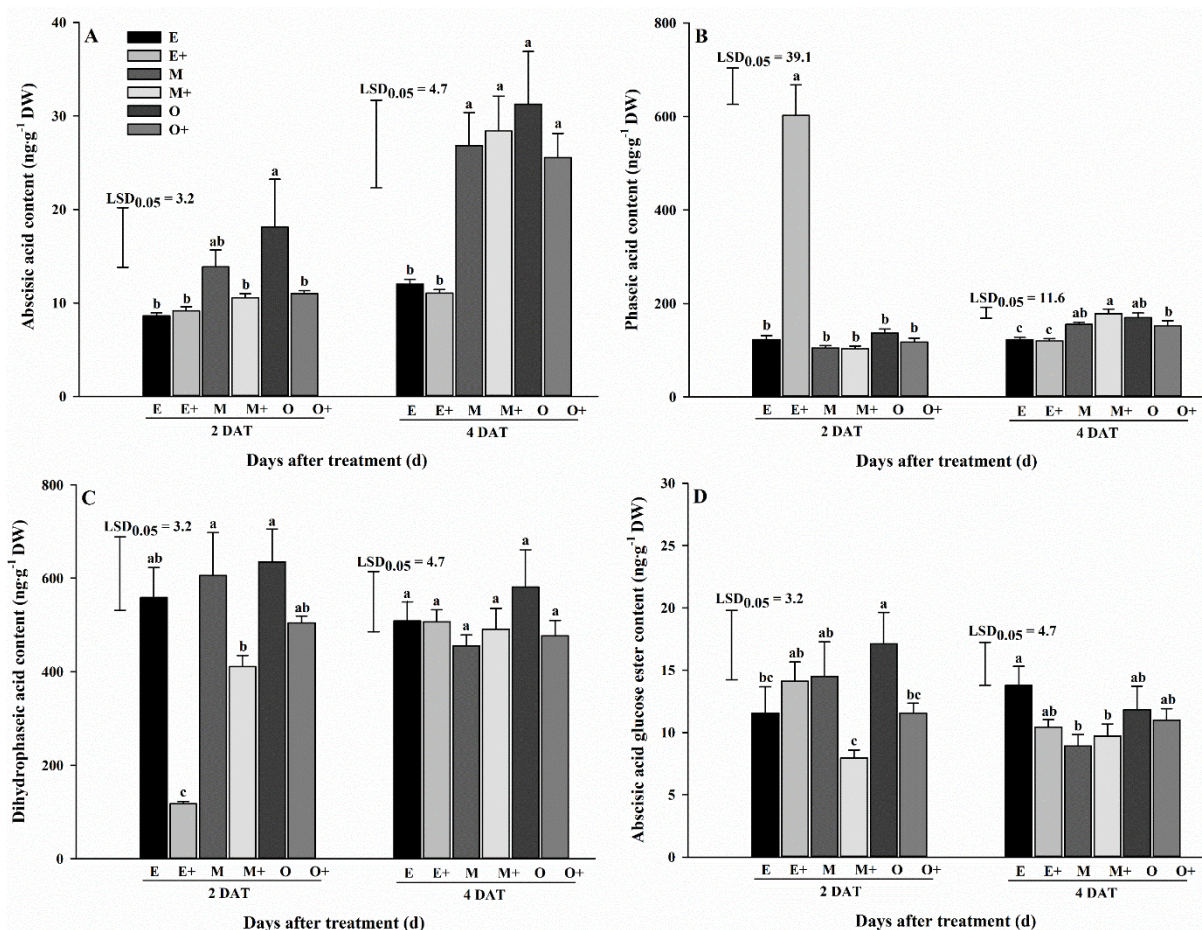


Fig. 1. Comparison of abscisic acid metabolite contents of Kimchi cabbage following glutamic acid foliar application at two and four days after commencing extreme temperature treatment during early growth stage. Error bars represent standard error (n = 9). Mean separation within columns determined by least significant difference test. A, Abscisic acid content; B, Phaseic acid content; C, Dihydrophaseic acid content; D, Abscisic acid glucose ester content. E, Extremely low + Glutamic acid 0 mg \cdot L⁻¹; E+, Extremely low + Glutamic acid 10 mg \cdot L⁻¹; M, Moderately low + Glutamic acid 0 mg \cdot L⁻¹; M+, Moderately low + Glutamic acid 10 mg \cdot L⁻¹; O, Optimal + Glutamic acid 0 mg \cdot L⁻¹; O+, Optimal + Glutamic acid 10 mg \cdot L⁻¹; DAT, Days after treatment; DW, Dry weight.

대사체의 함량을 비교하였다. 생육 초기 단계에서, 5개의 ABA 대사체 중 4개의 대사체가 검출되었다. 배추에서 대사체 함량은 온도와 글루탐산 염면 처리에 따라 다양하였다(Fig. 1). 처리 2일 후, O 및 Glu 0 처리 후 ABA, DPA 및 ABA-GE 함량이 모든 처리 중에서 가장 높았고(각각 18.1, 635.0 및 17.1ng·g⁻¹ dry weight), E 및 Glu 10 처리 후 PA 함량이 모든 처리 중에서 가장 높았다(602.3ng·g⁻¹ dry weight). ABA, PA 및 ABA-GE 함량은 E 처리에서 Glu 0 처리보다 Glu 10 처리에서 함량이 더 높았다. 이는 글루탐산의 염면시비 효과인 것으로 판단된다. 처리 4일 후, ABA, PA, DPA 및 ABA-GE 함량은 M 처리에서 Glu 0 처리보다 Glu 10 처리에서 함량이 더 높았다. 또한, ABA 함량은 처리 2일 후보다 4일 후에 모든 처리구에서 증가하였다. 하지만, M 및 O 처리에서 급격한 증가를 보였다. 신호 전달제로서 ABA는 기공을 조절하고 수분 손실을 감소시켜 저온 스트레스에 대한 내성을 향상시킬 수 있었다(Bharath 등, 2021). Oliver 등 (2007)은 저온 스트레스가 쌀에 내인성 ABA 축적을 증가시킨다고 보고하였다. 또 다른 연구에서는 보리 지엽에서 ABA, PA 및 DPA는 가뭄 스트레스 하에서 높은 농도로 나타났다(Seiler 등, 2011). 하지만, 본 연구의 저온 처리에 의해 대사체들의 뚜렷한 증가를 보이지는 않았다. 특히, PA 함량은 처리 2일 후보다 4일 후에 E 및 Glu 10 처리구에서 급격하게 감소한 반면, DPA 함량은 그 처리구에서 현저하게 증가한 것을 확인하였다. 이는 E 및 Glu 10 처리구에서 PA가 DPA로 전환된 것으로 판단된다.

2. 탄수화물 대사체 함량 비교

HPLC 분석은 생육 초기 배추에서 2가지 탄수화물, 즉 glucose와 fructose는 검출되었지만, sucrose, nystose 및 kestose는 검출되지 않았다. 탄수화물 대사체의 함량은 온도 및 글루탐산 염면 처리에 따라 변화하였다(Fig. 2). 처리 2일 후, glucose 및 fructose 함량은 O 및 Glu 0 처리에서 함량이 가장 높았고(51.2 및 110.7mg·100g⁻¹ dry weight), E 처리에서는 Glu 0 처리보다 Glu 10 처리에서 함량이 더 높았다. 처리 4일 후, glucose 함량은 E 및 Glu 10 처리에서 가장 높은 반면(52.1mg·100g⁻¹ dry weight), fructose 함량은 처리 2일 후와 동일하게 O 및 Glu 0 처리에서 함량이 가장 높았다(134.6mg·100g⁻¹ dry weight). 또한, glucose 함량은 E 및 M 처리에서 Glu 0 처리보다 Glu 10 처리에서 함량이 더 높았다. Fructose 함량은 M 처리에서 Glu 0 처리보다 Glu 10 처리에서 함량이 더 높았다. Glucose 함량은 E 및 M 처리에서 처리 2일 후보다 처리 4일 후에 증가하였다. 다른 연구결과에 따르면, 애기장대는 5°C의 저온에 노출되었을 때, sucrose, glucose 및 fructose 함량이 증가하여 내성을 증가시킨다고 보고되었다(Maruyama 등, 2009; Weiszmann 등, 2018). 하지만, 우리의 결과는 glucose 함량은 처리구간 유의한 차이가 없었고, fructose 함량은 O 처리에서 함량이 높았다. 스트레스 기간 동안 식물은 glucose 대신 전분과 fructan을 에너지원으로 사용한다고 보고되었고(Kaplan과 Guy, 2004), 이로 인해 fructose를 E 및 M 처리에서 사용한 것으로 판단된다.

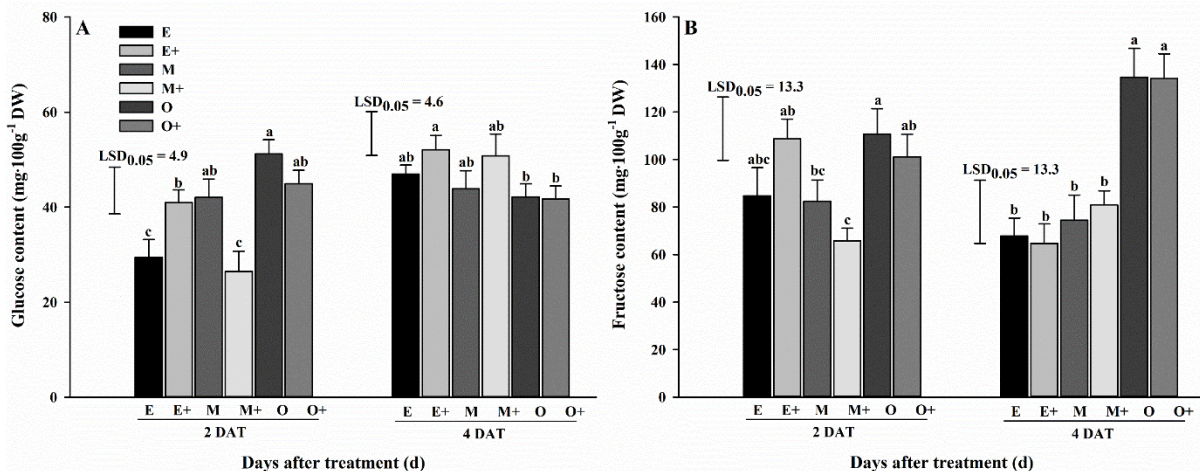


Fig. 2. Comparison of carbohydrate metabolite contents of Kimchi cabbage following glutamic acid foliar application at two and four days after commencing extreme temperature treatment during early growth stage. Error bars represent standard error (n = 9). Mean separation within columns determined by least significant difference test. A, Glucose content; B, Fructose content. E, Extremely low + Glutamic acid 0 mg·L⁻¹; E+, Extremely low + Glutamic acid 10 mg·L⁻¹; M, Moderately low + Glutamic acid 0 mg·L⁻¹; M+, Moderately low + Glutamic acid 10 mg·L⁻¹; O, Optimal + Glutamic acid 0 mg·L⁻¹; O+, Optimal + Glutamic acid 10 mg·L⁻¹; DAT, Days after treatment; DW, Dry weight.

3. Glucosinolate 대사체 함량 비교

HPLC 분석은 생육 초기 배추에서 19개의 glucosinolate 중 에서 GLP, GBN, GBS, 4MGBS, GNBS 및 GNS를 포함한 6 개의 glucosinolate가 검출되었다. Glucosinolate 함량은 온도 및 글루탐산 엽면 처리에 따라 다양하였다(Tables 1 and 2).

처리 2일 후(Table 1), GLP 및 GNS 함량은 O 및 Glu 10 처리 에서 모든 처리 중에서 가장 높았다(0.94 및 0.90 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ dry weight). GBN, GBS, 4MGBS 및 GNBS 함량은 O 및 Glu 0 처리에서 모든 처리 중에서 가장 높았다(0.52, 1.31, 1.71 및 4.82 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ dry weight). 4MGBS 함량은 E 처리에서, GNBS

Table 1. Comparison of glucosinolate contents of Kimchi cabbage following glutamic acid foliar application at two days after commencing exposure to increased temperatures during early growth stage.

Temperature	Glutamic acid concentration (mg·L ⁻¹)	Aliphatic glucosinolate ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ DW)		Indole glucosinolate ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ DW)			Aromatic glucosinolate ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ DW)
		GLP	GBN	GBS	4MGBS	GNBS	GNS
Extremely low (11/-1°C)	0	0.69 bc ^z	0.45 ab	1.19 a	1.20 d	2.80 abc	0.48 c
	10	0.46 d	0.34 b	0.88 b	1.23 cd	2.25 c	0.56 c
Moderately low (16/4°C)	0	0.78 b	0.48 ab	1.25 a	1.43 bc	4.40 abc	0.61 c
	10	0.62 c	0.46 ab	1.19 a	1.35 bcd	4.54 ab	0.62 bc
Optimal (21/9°C)	0	0.83 ab	0.52 a	1.31 a	1.71 a	4.82 a	0.82 ab
	10	0.94 a	0.47 ab	1.17 ab	1.50 ab	2.51 bc	0.90 a
Significance ^y							
Temperature (A)		***	NS	NS	***	*	***
Glutamic acid concentration (B)		*	NS	*	NS	NS	NS
A × B		**	NS	NS	NS	NS	NS

^zMean separation within columns determined by least significant difference test.

^ySignificant difference: NS (not significance), $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), and $p < 0.001$ (***).

DW, dry weight; GLP, glucolediddin; GBN, glucobrassicinapin; GBS, glucobrassicin; 4MGBS, 4-methoxyglucobrassicin; GNBS, neoglucobrassicin; GNS, gluconasturtiin.

Table 2. Comparison of glucosinolate contents of Kimchi cabbage following glutamic acid foliar application at four days after commencing exposure to increased temperatures during early growth stage.

Temperature	Glutamic acid concentration (mg·L ⁻¹)	Aliphatic glucosinolate ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ DW)		Indole glucosinolate ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ DW)			Aromatic glucosinolate ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ DW)
		GLP	GBN	GBS	4MGBS	GNBS	GNS
Extremely low (11/-1°C)	0	0.67 ab ^z	0.58 b	1.57 b	1.26 c	3.47 b	0.54 c
	10	0.72 a	0.53 b	2.05 a	1.67 a	9.40 a	0.85 a
Moderately low (16/4°C)	0	0.70 ab	0.74 a	1.69 ab	1.54 ab	3.47 b	0.69 bc
	10	0.61 bc	0.70 a	1.65 ab	1.37 bc	4.56 b	0.72 ab
Optimal (21/9°C)	0	0.55 c	0.52 b	1.37 b	1.33 c	3.50 b	0.65 bc
	10	0.56 c	0.56 b	1.50 b	1.36 bc	2.91 b	0.73 ab
Significance ^y							
Temperature (A)		***	***	*	NS	***	NS
Glutamic acid concentration (B)		NS	NS	NS	NS	**	**
A × B		NS	NS	NS	***	***	*

^zMean separation within columns determined by least significant difference test.

^ySignificant difference: NS (not significance), $p < 0.05$ (*), $p < 0.01$ (**), and $p < 0.001$ (***).

DW, dry weight; GLP, glucolediddin; GBN, glucobrassicinapin; GBS, glucobrassicin; 4MGBS, 4-methoxyglucobrassicin; GNBS, neoglucobrassicin; GNS, gluconasturtiin.

함량은 M 처리에서 Glu 0 보다 Glu 10 처리에서 함량이 더 높았다. 처리 4일 후(Table 2), GLP, GBS, 4MGBS, GNBS 및 GNS 함량은 E 및 Glu 10 처리에서 모든 처리 중 가장 높았다 (0.72, 2.05, 1.67, 9.40 및 0.85 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ dry weight). GBN 함량은 M 및 Glu 0 처리에서 모든 처리 중 가장 높았다 (0.74 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ dry weight). GLP, GBS, 4MGBS 및 GNS 함량은 E 처리에서 Glu 0 보다 Glu 10 처리에서 함량이 더 높았고, GNBS 함량은 E 및 M 처리에서 Glu 0 보다 Glu 10 처리에서 함량이 더 높았다. Ljubej 등(2021a)의 연구에 따르면, 케일은 저온 처리(8°C, 7일) 시 대조구(21°C, 7일) 보다 total

glucosinolate 함량은 유의하게 높고, indole glucosinolate 함량은 변화가 없으며, aliphatic glucosinolate 함량은 높아졌다고 보고하였다. 24시간 동안 8°C 조건을 처리한 케일은 total glucosinolate 함량이 증가하였다는 유사한 연구결과도 있었다(Ljubej 등, 2021b). 또한, 브로콜리에서는 낮은 온도(0°C)에서 aliphatic 및 indole glucosinolate 함량이 모두 감소하였고, 이는 저온 처리 결과로 세포파괴 동안 glucosinolate 가수분해 및 분해 때문이라는 결과도 보고되었다(Sarıkamış과 Çakır, 2016). 우리의 결과는 GBN 및 GBS 함량은 처리 2일 후보다 4일 후에 모든 처리에서 증가하였고, 4MGBS 및 GNS

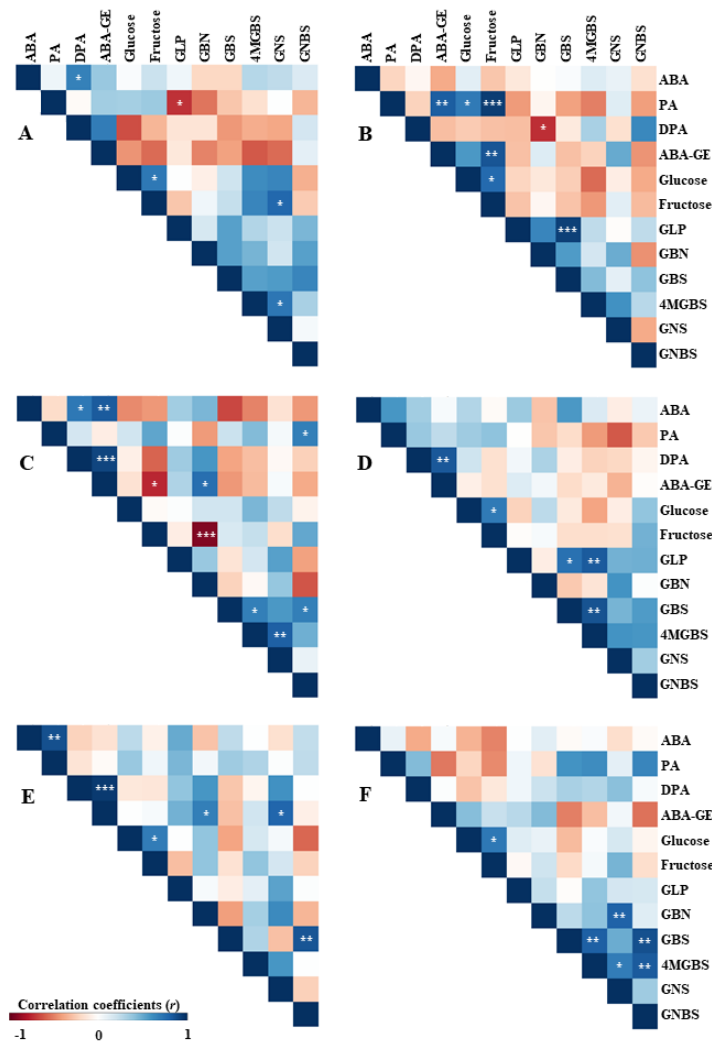


Fig. 3. Pearson correlation coefficient for analyzed components following glutamic acid foliar application two days after commencing extreme temperature during head formation stage. A, Extremely low + Glutamic acid 0 mg·L⁻¹; B, Extremely low + Glutamic acid 10 mg·L⁻¹; C, Moderately low + Glutamic acid 0 mg·L⁻¹; D, Moderately low + Glutamic acid 10 mg·L⁻¹; E, Optimal + Glutamic acid 0 mg·L⁻¹; F, Optimal + Glutamic acid 10 mg·L⁻¹. *, **, and *** represent $p < 0.05$, $p < 0.01$, or $p < 0.001$, respectively. ABA, Abscisic acid; PA, Phaseic acid; DPA, Dihydrophaseic acid; ABA-GE; Abscisic acid glucose ester; GLP, Glucolepidin; GBN, Glucobrassicinapin; GBS, Glucobrassicin; 4MGBS, 4-Methoxyglucobrassicin; GNS, Gluconasturtiin; GNBS, Neoglucobrassicin.

함량은 E 및 M 처리구에서 함량이 증가하였다. 따라서, 앞선 보고와 달리 aliphatic, indole 및 aromatic glucosinolate가 모두 저온 처리에 의해 증가하는 것을 확인하였다.

처리 2일 후(Table 1), GLP, 4MGBS 및 GNS는 온도에 대한 유의성이 있었고, 그 중 GNS는 온도와 글루탐산 엽면 처리에 대한 상호작용 효과가 있었다. 처리 4일 후(Table 2), GLP, GBN 및 GNBS는 온도에 대한 유의성이 있었고, GNBS 및 GNS는 글루탐산 엽면 시비에 대한 유의성이 있었다. 또한, 4MGBS 및 GNBS는 온도와 글루탐산 엽면 처리에 대한 상호작용 효과가 있었다.

4. 다변량 상관 분석

ABA, 탄수화물, glucosinolate 대사체에 대한 pearson 상관관계는 생육 초기 단계에서 온도와 글루탐산 엽면 처리에 의해 영향을 받았다(Figs. 3 and 4). 처리 2일 후(Fig. 3), E 및 Glu 10 처리에서 PA와 ABA-GE, glucose 및 fructose 함량 간 양의 상관관계가 있었다(각각 0.82, 0.71 및 0.94). Glu 10 처리에 대해 E 및 M 처리에서 glucose와 fructose 함량 간, GLP와 GBS 함량 간 각각 양의 상관관계가 있었다. 처리 4일 후(Fig. 4), 모든 처리에서 DPA와 ABA-GE 함량 간 양의 상관관계가 있었다. E 및 Glu 10 처리에서 fructose와 DPA 및 ABA-GE 함량 간 양의 상관관계가 있었다(각각 0.74 및 0.81).

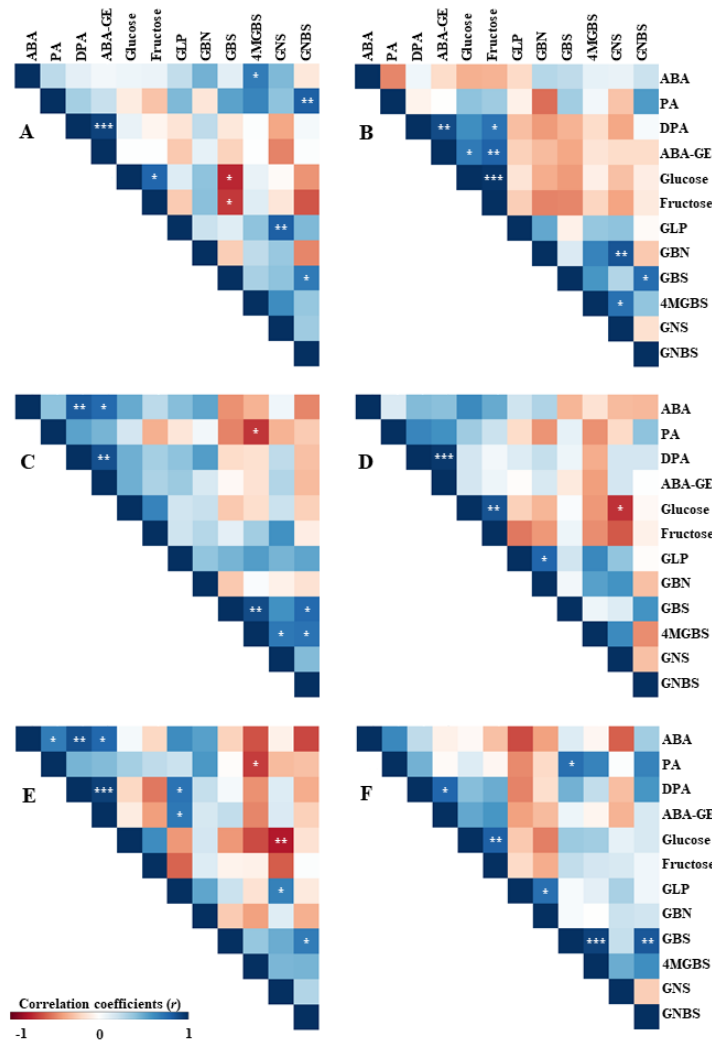


Fig. 4. Pearson correlation coefficient for analyzed components following glutamic acid foliar application four days after commencing extreme temperature during head formation stage. A, Extremely low + Glutamic acid 0 mg·L⁻¹; B, Extremely low + Glutamic acid 10 mg·L⁻¹; C, Moderately low + Glutamic acid 0 mg·L⁻¹; D, Moderately low + Glutamic acid 10 mg·L⁻¹; E, Optimal + Glutamic acid 0 mg·L⁻¹; F, Optimal + Glutamic acid 10 mg·L⁻¹. *, **, and *** represent $p < 0.05$, $p < 0.01$, or $p < 0.001$, respectively. ABA, Abscisic acid; PA, Phaseic acid; DPA, Dihydrophaseic acid; ABA-GE; Abscisic acid glucose ester; GLP, Glucolepidin; GBN, Glucobrassicinapin; GBS, Glucobrassicin; 4MGBS, 4-Methoxyglucobrassicin; GNS, Gluconasturtiin; GNBS, Neoglucobrassicin.

결 론

온도 및 글루탐산 엽면 처리 2일 후 E 및 Glu 10 처리의 PA와 DPA 함량에서 급격한 변화를 확인하였고, 몇몇 개별 glucosinolate 함량(GLP, GBS, 4MGBS, GNBS 및 GNS)은 저온과 글루탐산 처리에 따라 유의적 차이를 확인할 수 있었다. 또한, fructose는 glucose 대신 fructan을 에너지원으로 사용하였기 때문에 처리 4일 후 E와 M 처리에서 O 처리에 비하여 유의적으로 낮은 함량을 보였다. 이처럼 저온과 글루탐산 엽면 처리에 따른 PA, DPA, glucose, fructose 및 개별 glucosinolate 물질들의 변이를 확인하였지만, 저온과 글루탐산의 효과에 관한 명확한 상관관계를 평가할 수는 없었다. 배추과 작물은 호냉성 채소로서 저온에 민감하게 반응하지 않고, 대부분 내한성을 가지고 있기 때문에 판단된다.

적 요

글루탐산은 식물의 성장과 발달에 중요한 역할을 하는 필수 아미노산의 전구체이며, 저온 보호 물질로 이어지는 생합성 경로를 자극하여 저온 피해를 줄이는 생물자극제 중 하나이다. 본 연구에서는 저온 스트레스 조건에서 글루탐산 엽면 처리가 배추에 미치는 영향을 평가하였다. 글루탐산 2가지 엽면 시비 농도(0 및 10mg·L⁻¹)와 3가지 주/야간 온도 수준(11/−1°C extremely low, E; 16/4°C moderately low, M; 21/9°C optimal, O)을 결합하여 6개의 처리가 수행되었다. 글루탐산의 엽면 처리는 정식 후 10일에 1회 살포하고, 글루탐산 처리 직후 온도 처리는 최대 4일 동안 실시하였다. 처리 4일 후, ABA, PA, DPA 및 ABA-GE 함량은 M 처리에서 Glu 0 처리보다 Glu 10 처리에서 함량이 더 높았다. Glucose 함량은 E 및 Glu 10 처리에서 가장 높은 반면(52.1mg·100g⁻¹ dry weight), fructose 함량은 O 및 Glu 0 처리에서 함량이 가장 높았다(134.6mg·100g⁻¹ dry weight). GLP, GBS, 4MGBS, GNBS 및 GNS 함량은 E 및 Glu 10 처리에서 모든 처리 중 가장 높았다(0.72, 2.05, 1.67, 9.40 및 0.85μmol·g⁻¹ dry weight). 처리 2일 후 E 및 Glu 10 처리의 PA와 DPA 함량에서 급격한 변화를 확인하였고, 몇몇 개별 glucosinolate 함량(GLP, GBS, 4MGBS, GNBS 및 GNS)은 저온과 글루탐산 처리에 따라 유의적 차이를 확인할 수 있었다. 또한, fructose는 glucose 대신 fructan을 에너지원으로 사용하였기 때문에 처리 4일 후 E와 M 처리에서 O 처리에 비하여 유의적으로 낮은 함량을 보였다. 따라서, 저온과 글루탐산 엽면 처리에 따른 PA, DPA, glucose, fructose 및 개별 glucosinolate 물질들의 변이를 확인하였지만, 저온과 글루탐산의 효과에 관한 명확한 상관관

계를 평가할 수는 없었다. 배추과 작물은 호냉성 채소로서 저온에 민감하게 반응하지 않고, 대부분 내한성을 가지고 있기 때문에 판단된다.

추가주제어: ABA 대사체, *Brassica rapa* L. subsp. *pekinensis* (Lour.) Hanelt, 생물자극제, 저온 스트레스, 파이토케미컬

사 사

본 연구는 농촌진흥청 “농업과학기술연구개발사업(과제번호: PJ01501901)”의 지원에 의해 이루어진 것임.

Literature Cited

- Bhandari S.R., J.S. Jo, and J.G. Lee 2015, Comparison of glucosinolate profiles in different tissues of nine *Brassica* crops. *Molecules* 20:15827-15841. doi:10.3390/molecules200915827
- Bharath P., S. Gahir, and A.S. Raghavendra 2021, Abscisic acid-induced stomatal closure: An important component of plant defense against abiotic and biotic stress. *Front Plant Sci* 12:615114. doi:10.3389/fpls.2021.615114
- Bulgari R., G. Frazoni, and A. Ferrante 2019, Biostimulants application in horticultural crops under abiotic stress conditions. *Agronomy* 9:306. doi:10.3390/agronomy9060306
- Del Carmen Martínez-Ballesta M., D.A. Moreno, and M. Carvajal 2013, The physiological importance of glucosinolates on plant response to abiotic stress in *Brassica*. *Int J Mol Sci* 14:11607-11625. doi:10.3390/ijms140611607
- Hong E., and G.H. Kim 2014, Variation of glucosinolate composition during seedling and growth stages of *Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*. *Korean J Hortic Sci Technol* 32: 730-738. doi:10.7235/hort.2014.14041
- Ishida M., M. Hara, N. Fukino, T. Kakizaki, and Y. Morimitsu 2014, Glucosinolate metabolism, functionality and breeding for the improvement of Brassicaceae vegetables. *Breed Sci* 64:48-59. doi:10.1270/jsbbs.64.48
- Islam M.R., B. Feng, T. Chen, L. Tao, and G. Fu 2018, Role of abscisic acid in thermal acclimation of plants. *J Plant Biol* 61:255-264. doi:10.1007/s12374-017-0429-9
- Jin X., R.S. Wang, M. Zhu, B.W. Jeon, R. Albert, S. Chen, and S.M. Assmann 2013, Abscisic acid-responsive guard cell metabolomes of *Arabidopsis* wild-type and gpa1 G-protein mutants. *Plant Cell* 25:4789-4811. doi:10.1105/tpc.113.119800
- Kan C.C., T.Y. Chung, H.Y. Wu, Y.A. Juo, and M.H. Hsieh 2017, Exogenous glutamate rapidly induces the expression of genes involved in metabolism and defense responses in rice roots. *BMC Genomics* 18:1-17. doi:10.1186/s12864-017-3588-7
- Kaplan F., and C.L. Guy 2004, β-Amylase induction and the protective role of maltose during temperature shock. *Plant*

- Physiol 135:1674-1684. doi:10.1104/pp.104.040808
- Korean Statistical Information Service (KOSIS) 2022, vegetable production (green vegetables) 1980~2021. (in Korean) Available via https://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=101&tblId=DT_1ET0028&vw_cd=MT_ZTITLE&list_id=K1_19&scrId=&seqNo=&lang_mode=ko&obj_var_id=&itm_id=&conn_path=MT_ZTITLE&path=%252FstatisticsList%252FstatisticsListIndex.do
- Kushiro T., M. Okamoto, K. Nakabayashi, K. Yamagishi, S. Kitamura, T. Asami, N. Hirai, T. Koshiba, Y. Kamiya, and E. Nambara 2004, The arabidopsis cytochrome P450 CYP707A encodes ABA 8'-hydroxylases: key enzymes in ABA catabolism. *EMBO J* 23:1647-1656. doi:10.1038/sj.emboj.7600121
- Lee H.J., J.S. Sim, S.G. Lee, S.K. Kim, B. Mun, and C.S. Choi 2017, Glutamic acid foliar application enhances antioxidant enzyme activities in Kimchi cabbages leaves treated with low air temperature. *Korean J Horticult Sci Technol* 35:700-706. doi:10.12972/kjhst.20170074
- Lee J.G., J. Lee, S. Park, Y.A. Jang, S.S. Oh, T.C. Seo, H.K. Yoon, and Y.C. Um 2011, Effect of low night-time temperature during seedling stage on growth of spring Chinese cabbage. *J Bio-Env Con* 20:326-332. (in Korean)
- Lee S.C., and S. Luan 2012, ABA signal transduction at the crossroad of biotic and abiotic stress responses. *Plant Cell Environ* 35:53-60. doi:10.1111/j.1365-3040.2011.02426.x
- Lei P., X. Pang, X. Feng, S. Li, B. Chi, R. Wang, Z. Xu, and H. Xu 2017, The microbe-secreted isopeptide poly- γ -glutamic acid induces stress tolerance in *Brassica napus* L. seedlings by activating crosstalk between H_2O_2 and Ca^{2+} . *Sci Rep* 7:1-15. doi:10.1038/srep41618
- Ljubej V., E. Karalija, B. Salopek-Sondi, and D. Šamec 2021a, Effects of short-term exposure to low temperatures on proline, pigments, and phytochemicals level in kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*). *Horticulturae* 7:341. doi:10.3390/horticulturae7100341
- Ljubej V., I. Radojčić Redovniković, B. Salopek-Sondi, A. Smolko, S. Roje, and D. Šamec 2021b, Chilling and freezing temperature stress differently influence glucosinolates content in *Brassica oleracea* var. *acephala*. *Plants* 10:1305. doi:10.3390/plants10071305
- Maruyama K., M. Takeda, S. Kidokoro, K. Yamada, Y. Sakuma, K. Urano, M. Fujita, K. Yoshiwara, S. Matsukura, Y. Morishita, R. Sasaki, H. Suzuki, K. Saito, D. Shibata, K. Shinozaki, and K. Yamaguchi-Shinozaki 2009, Metabolic pathways involved in cold acclimation identified by integrated analysis of metabolites and transcripts regulated by DREB1A and DREB2A. *Plant Physiol* 150:1972-1980. doi:10.1104/pp.109.135327
- Oliver S.N., E.S. Dennis, and R. Dolferus 2007, ABA regulates apoplastic sugar transport and is a potential signal for cold-induced pollen sterility in rice. *Plant Cell Physiol* 48:1319-1330. doi:10.1093/pcp/pcm100
- Opena R.T., and S.H. Lo 1979, Genetics of heat tolerance in heading Chinese cabbage. *HortScience* 14:33-34.
- Ordaz-Ortiz J.J., S. Foukaraki, and L.A. Terry 2015, Assessing temporal flux of plant hormones in stored processing potatoes using high definition accurate mass spectrometry. *Hortic Res* 2:15002. doi:10.1038/hortres.2015.2
- Qiu X.M., Y.Y. Sun, X.Y. Ye, and Z.G. Li 2020, Signaling role of glutamate in plants. *Front Plant Sci* 10:1743. doi:10.3389/fpls.2019.01743
- Rezaul I.M., F. Baohua, C. Tingting, F. Weimeng, Z. Caixia, T. Longxing, and F. Guanfu 2019, Abscisic acid prevents pollen abortion under high-temperature stress by mediating sugar metabolism in rice spikelets. *Physiol Plant* 165:644-663. doi:10.1111/ppl.12759
- Robertson A.J., M. Ishikawa, L.V. Gusta, and S. MacKenzie 1994, Abscisic acid-induced heat tolerance in *Bromus inermis* Leyss cell-suspension cultures (heat-stable, abscisic acid-responsive polypeptides in combination with sucrose confer enhanced thermostability). *Plant Physiol* 105:181-190. doi:10.1104/pp.105.1.181
- Sadak M.S., and M.T. Abdelhamid 2015, Influence of amino acids mixture application on some biochemical aspects, antioxidant enzymes and endogenous polyamines of vicia faba plant grown under seawater salinity stress. *Gesunde Pflanzen* 67:119-129. doi:10.1007/s10343-015-0344-2
- Sarikamış G., and A. Çakır 2012, Influence of low temperature on aliphatic and indole glucosinolates in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica* L.). *Acta Hort* 1145:79-84. doi:10.17660/ActaHortic.2016.1145.12
- Seiler C., V.T. Harshavardhan, K. Rajesh, P.S. Reddy, M. Strickert, H. Rolletschek, U. Scholz, U. Wobus, and N. Sreenivasulu 2011, ABA biosynthesis and degradation contributing to ABA homeostasis during barley seed development under control and terminal drought-stress conditions. *J Exp Bot* 62:2615-2632. doi:10.1093/jxb/erq446
- Sharkey T.D., and K. Raschke 1980, Effects of phaseic acid and dihydrophaseic acid on stomata and the photosynthetic apparatus. *Plant Physiol* 65:291-297. doi:10.1104/pp.65.2.291
- Weizmann J., L. Fürtauer, W. Weckwerth, and T. Nägele 2018, Vacuolar sucrose cleavage prevents limitation of cytosolic carbohydrate metabolism and stabilizes photosynthesis under abiotic stress. *FEBS J* 285(21):4082-4098. doi:10.1111/febs.14656
- Wilkinson S., and W.J. Davies 2010, Drought, ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to plant to community. *Plant Cell Environ* 33:510-525. doi:10.1111/j.1365-3040.2009.02052.x
- Xu Z.J., M. Nakajima, Y. Suzuki, and I. Yamaguchi 2002, Cloning and characterization of the abscisic acid-specific glucosyltransferase gene from adzuki bean seedlings. *Plant Physiol* 129:1285-1295. doi:10.1104/pp.001784
- Zandalinas S.I., D. Balfagón, V. Arbona, A. Gómez-Cadenas, M.A. Inupakutika, and R. Mittler 2016, ABA is required for the accumulation of APX1 and MBF1c during a combination of water deficit and heat stress. *J Exp Bot* 67:5381-5390. doi:10.1093/jxb/erw299