

큐어링 후 저장에 따른 고구마 저장뿌리 단백질체의 비교분석

신호용 · 지창윤 · 김호수 · 정정성 · 최성환 · 광상수 · 김윤희 · 이증주

Comparative proteome profiling in the storage root of sweet potato during curing-mediated wound healing

Ho Yong Shin · Chang Yoon Ji · Ho Soo Kim · Jung-Sung Chung · Sung Hwan Choi · Sang-Soo Kwak · Yun-Hee Kim · Jeung Joo Lee

Received: 7 February 2023 / Revised: 24 February 2023 / Accepted: 25 February 2023 / Published: 16 March 2023

© Korean Society for Plant Biotechnology

Abstract Sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam) is an economically important root crop and a valuable source of nutrients, processed foods, animal feeds, and pigment materials. However, during post-harvest storage, storage roots of sweet potatoes are susceptible to decay caused by various microorganisms and diseases. Post-harvest curing is the most effective means of healing wounds and preventing spoilage by microorganisms during storage. In this study, we aimed to identify proteins involved in the molecular mechanisms related to curing and study proteomic changes

during the post-curing storage period. For this purpose, changes in protein spots were analyzed through 2D-electrophoresis after treatment at 33°C (curing) and 15°C (control) for three days, followed by a storage period of eight weeks. As a result, we observed 31 differentially expressed protein spots between curing and control groups, among which 15 were identified. Among the identified proteins, the expression level of ‘alpha-amylase (spot 1)’ increased only after the curing treatment, whereas the expression levels of ‘probable aldo-keto reductase 2-like (spot 3)’ and ‘hypothetical protein CHGG_01724 (spot 4)’ increased in both the curing and control groups. However, the expression level of ‘sporamin A (spot 10)’ decreased in both the curing and control treatments. In the control treatment, the expression level of ‘enolase (spot 14)’ increased, but the expression levels of ‘chain A of actinidin-E-64 complex+ (spot 19)’, ‘ascorbate peroxidase (spot 22)’, and several ‘sporamin proteins (spot 20, 21, 23, 24, 27, 29, 30, and 31)’ decreased. These results are expected to help identify proteins related to the curing process in sweet potato storage roots, understand the mechanisms related to disease resistance during post-harvest storage, and derive candidate genes to develop new varieties with improved low-temperature storage capabilities in the future.

[†]These authors contributed equally to this work.

H. Y. Shin[†] · J. J. Lee (✉)
경상국립대학교 농업생명과학대학 식물의학과(농업생명과학연구원)
(Department of Plant Medicine, College of Agriculture and Life Sciences, IALS, Gyeongsang National University, Jinju, Korea)
e-mail: jeunglee@gnu.ac.kr

C. Y. Ji[†] · H. S. Kim · S.-S. Kwak
한국생명공학연구원 식물시스템공학연구센터
(Plant Systems Engineering Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon, Korea)

J. S. Chung
경상국립대학교 농업생명과학대학 농학과(농업생명과학연구원)
(Department of Agronomy, College of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, IALS, Jinju, Korea)

S. H. Choi
경상국립대학교 농업생명과학대학 원예과학부(농업생명과학연구원)
(Division of Horticulture Science, College of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, IALS, Jinju, Korea)

Y.-H. Kim (✉)
경상국립대학교 사범대학 생물교육과(농업생명과학연구원)
(Department of Biology Education, College of Education, IALS, Gyeongsang National University, Jinju, Korea)
e-mail: cefle@gnu.ac.kr

Keywords Curing, Proteomics, Pungwonmi, Sporamin, Sweet potato

서론

고구마 [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.]는 아시아, 아프리카 및 미국을 포함한 100개 이상의 국가에서 재배되는 중요한 뿌리 작물로서, 2018년 기준으로 전 세계적으로 9,195만 톤이 생산되었다(FAO 2020). 고구마는 식량과 동물 사료로 이용될 뿐만 아니라 고 영양소 및 다양한 항산화물질들을 포함하고 경제적으로 큰 가치를 가지고 있는 작물로(Teow et al. 2007; Yoshinaga et al. 1999), 비생물학적 및 생물학적 스트레스에 대해 내성을 갖기 때문에 척박한 환경의 토양에서도 재배 가능하며 중요한 세계 식량 공급원의 역할을 하고 있다(Ziska et al. 2009). 이와 같이 고구마는 다양한 산업적 가치를 가지고 있지만 수확 후 저장 과정에서 물리적 상처 및 충격에 의한 손상, 건중량 감소, 해충 및 질병 발생 등으로 인해 생산지로부터 시장에 이르는 과정에서 다양한 형태의 손상에 노출된다(Ray and Ravi 2005). 최근 미국에서 보고된 자료에 의하면 저장기간 동안 고구마의 수확 후 손실량은 20-25%이며, 주로 수확 중 발생하는 외부 표면의 손상과 직접적으로 관련된 수분 손실 및 부패로 인해 발생하고 있다(Hayes et al. 2014). 그러므로, 고구마 저장 뿌리의 손실을 줄이기 위해 적절한 수확 후 처리가 매우 중요하다.

고구마의 외피는 목질화된 체관부층으로, 이의 손상은 수확 및 수확 후 여러 취급 작업 중 나타나는 가장 큰 문제 중 하나이다(Tomlins et al. 2000; Tomlins et al. 2002; Villavicencio et al. 2007). 고구마 외피의 손상은 내부 조직을 외부 환경에 노출시켜 건중량 감소 및 탈수에 의한 내부 조직의 수축, 병원균 감염 등을 일으켜 상품가치가 없을 정도로 고구마를 변질시킨다(Ray and Ravi 2005; Tomlins et al. 2002; Wang et al. 2013). 동아프리카 지역에서 보고된 연구에서도 고구마 보관 중 뿌리 썩음, 탈수에 의한 수축현상 및 건중량 감소는 외피의 상처와 직접적인 관련이 있다고 보고되어 있다(Tomlins et al. 2002). 이러한 문제를 해결하기 위해 농가에서는 일반적으로 수확 후 저장 전에 큐어링 처리를 한다. 큐어링은 고구마 수확 직후 최적의 온도(29~33°C)와 상대습도(85~90%) 하에서 3~7일 동안 저장 뿌리를 보관하는 것인데, 이렇게 하면 장기 저장 중에도 상처 치유를 촉진하고 질병 발병률을 줄이는 데 매우 효과적이다(Clark et al. 2013). 큐어링 처리를 하면 고구마의 표면 세포층이 건조되고 하부 세포층이 목질화되며 그 아래에 새로운 표피층이 형성되는데, 이것은 효과적인 상처 치유에 필수적이며 수분 손실 및 병원체 감염에 대한 장벽으로 작용한다고 알려져 있다(Ray and Ravi 2005; Sowley and Oduro 2002; Van Oirschot et al. 2006). 또한 큐어링 처리는 저장성을 향상시킬 뿐만 아니라 고구마의 단맛과 기호성에도 긍정적인 영향을 미친다고 알려져 있다(Aidoo 1993; Miyazaki 1990; Tomlins et al. 2002). 최근에 큐어링 처리 동안 높은 저장성을 갖는 고구마 품종인 풍원미를 이용하여 전사체 분석이 진행된 바 있다(Ji et al. 2022). 그러나, 큐어링

처리시 관여하는 추가적인 핵심 유전자의 동정이 필요하며, 이는 큐어링 처리를 통한 저장 능력의 향상과 관련된 연구에 도움이 될 것이다. 그러나 아직까지 큐어링 처리 후 저장하는 동안 고구마 저장뿌리에서 나타나는 분자적 변화에 대한 연구는 매우 제한적인 편이다.

단백질체 분석은 추출된 단백질을 2차원전기영동(2-DE; two-dimensional electrophoresis)으로 전개한 후 각각의 단백질 spot을 coring 한 다음 질량 분석을 통하여 동정하는 것으로, 단백질 전체의 대량 분석과 상호기능관계 지도의 작성, 구조분석 등을 통해 궁극적으로 특정 단백질과 이를 만드는 유전자의 기능을 동시에 밝혀낼 수 있다(Chen and Harmon 2006). 이와 같은 분석 방법과 기술을 이용하여 현재까지 다양한 작물들에서 단백질체의 구명을 위한 연구가 진행되었다(Andrade et al. 2012; Manaa et al. 2013; Zeng et al. 2011). 선행 연구에서 고구마의 뿌리 발달, 선충 저항성 및 저온 저장성 반응과 관련하여 단백질체 연구가 진행된 바 있지만, 아직까지 큐어링 기작연구와 관련된 단백질체 분석은 보고된 바가 없다(Ha et al. 2017; Kim et al. 2022; Lee et al. 2015). 그러므로, 본 연구의 목적은 선행연구에서도 사용된 풍원미를 큐어링 처리한 후 관련된 반응성 단백질의 분리 및 분자적 기작을 연구하는 것이다. 고구마 큐어링과 관련된 단백질체의 분석결과는 저온 저장에서 유의미한 단백질 및 유전자의 분자적 역할의 구명에 중요한 정보를 제공할 것으로 기대된다.

재료 및 방법

식물 재료 및 큐어링 처리

선행연구에서 큐어링 처리 후 전사체 분석에 사용되었던 고구마 풍원미 품종을 본 연구에 사용하였다(Ji et al. 2022). 실험에 사용된 고구마 저장 뿌리는 큐어링 처리를 하지 않으면 저장 8주 후부터 부패되기 시작하여 30주 보관시 47.2%의 높은 부패율을 보인 반면, 큐어링 처리시에는 30주 보관 시에도 부패율이 9.8%에 불과하였다(Yu et al. 2018). 연구에 사용된 고구마는 수확 후 플라스틱 상자에 담아 상대습도 $92 \pm 3\%$, 온도 $32 \pm 1^\circ\text{C}$ 조건의 큐어링 처리시설로 육진 후 3일간 치상 하였다. 대조군 시료들은 큐어링 처리 없이 기내 배양기에 보관하였다. 이후 모든 시료들은 $13 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대습도 $90 \pm 3\%$ 에서 8주 동안 보관하였으며, 예정된 시간에 샘플링하여 즉시 액체 질소로 동결 한 후 마쇄하였고 단백질 추출 전까지 -70°C 에서 보관하였다.

단백질 추출 및 이차원 전기영동(Two-dimensional electrophoresis; 2-DE)

단백질은 액체질소로 마쇄한 20 ml 부피의 고구마 저장 뿌리

가루를 사용하여 phenol법으로 추출하고(Hurkman and Tanaka 1986), Bradford법으로 정량하였다(Bradford 1976). 이차원 전기영동은 Lee 등(2012)의 방법에 따라 실시되었다. 등전점(isoelectronic-focusing; IEF) 전기영동은 17 cm immobilized pH gradient gel (IPG) strip (pH4-7, Bio-rad, CA)에 단백질 400 µg을 로딩하고 PROTEAN IEF Cell (Bio-rad, CA)에서 실시하였으며, IPG strip에 분포된 단백질의 이차원 전개를 위한 SDS-PAGE는 11.5% polyacrylamide gel을 이용하여 PROTEAN® II xi Cell (Bio-rad, CA)에서 실시하였다. 2-DE가 끝난 gel은 Coomassie Brilliant Blue G-250 (CBBG-250, Bio-rad, CA)을 이용하여 염색하였으며(Matsui et al. 1999), GS-800 Calibrated Densitometer (Bio-Rad)로 스캔하였다. 5번의 단백질 추출 및 전기영동을 실시하였으며, 가장 고화질의 이미지를 갖는 gel을 선택하여 master gel로 정하였고, 각각의 처리에서 명확한 차이가 나는 단백질 spot들에 고유 번호를 부여하였다.

MALDI-TOF/TOF MS의 측정, 데이터의 분석 및 정리

CBBG로 염색된 master gel에서 명확한 차이가 나는 단백질 spot을 coring하고, destaining, reduction, alkylation 및 In gel digestion을 하였다(Kim et al. 2004). MALDI-TOF/TOF MS 분석은 355 nm에서 작동하는 200 Hz ND: YAG laser를 사용하는 ABI 4800 Plus TOF-TOF Mass Spectrometer (Applied Biosystems, Framingham, MA, USA)로 실시하였다. MS와 MS/MS spectra data는 검색엔진으로서 MASCOT (<http://www.matrixscience.com>)와 NCBI nr database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) (version 20131104; 33815671 sequences)에서 50 ppm의 peptide와 fragment ion mass tolerance로 검색하였다. 각각의 동정된 단백질은 그 score 값이 $p < 0.05$ 의 유의성을 나타내었으며, 'GO-MIPS funcat conversion table' (<http://geneontology.org/external2go/mips2go>)의 기준에 따라 분류되었다.

결과 및 고찰

큐어링 처리 및 무처리 고구마 저장뿌리에서 발현된 단백질체의 비교

선행연구의 조건에 따라 풍원미 품종의 저장뿌리를 33°C에서 3일간 큐어링 처리한 반면 대조군 조건은 15°C에서 3일간 치상하였다(Ji et al. 2022). 15°C에서 3일간 경과 후 동일한 조건에서 8주간 보관한 대조군과 33°C에서 3일간 처리 후 15°C에서 보관한 큐어링 처리군의 단백질을 비교하기 위해 각각의 저장뿌리로부터 단백질을 추출하였다. 예비실험에서 pH 3-10의 IEF gel과 SDS-PAGE로 이차원 전기영동을 실시하였을 경우 주로 pH 4-7 범위에서 많은 단백질이 탐색 되었으므로, 영동 이미지의 해상도를 높이기 위해 본실험에서는

pH 4-7 범위에서 단백질체를 전기영동하여 분석하였다. 대조군에서는 0주와 비교하여 8주차에 16개 spot (spot 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 25, 26 및 28)들의 발현량이 현저하게 증가되었고 12개 spot (spot 10, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 27, 29, 30 및 31)들은 감소한 것으로 나타났다(Fig. 1 및 2). 큐어링 처리군의 전기영동 이미지에서는 0주와 비교하여 8주차에 12개 spot (spot 1-9, 11-13)들의 발현량이 증가하였고 1개 spot (spot 10)은 감소하였는데, 이 중에서 3개 spot (spot 1, 2 및 12)들은 큐어링 처리시에만 발현량이 증가하였다. 나머지 9개의 spot (spot 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 및 13)은 대조군과 큐어링 처리군 모두에서 발현이 증가하였다. 또한 spot 10은 8주 후에 대조군과 큐어링 처리군 모두에서 발현이 감소하였는데, 대조군에서의 감소율이 큐어링 처리군보다 현저하게 높은 것으로 나타났다.

동정된 단백질의 기능 분석

분리된 31개의 단백질을 MALDI-TOF/TOF로 분석한 결과, spot 1 (alpha-amylase), spot 3 (probable aldo-keto reductase 2-like), spot 10, 20, 23, 27, 30 (sporamin A), spot 14 (enolase), spot 19 (Chain A of actinidin-E-64 complex), spot 21, 29, 31 (sporamin A precursor), spot 22 (ascorbate peroxidase) 및 spot 24

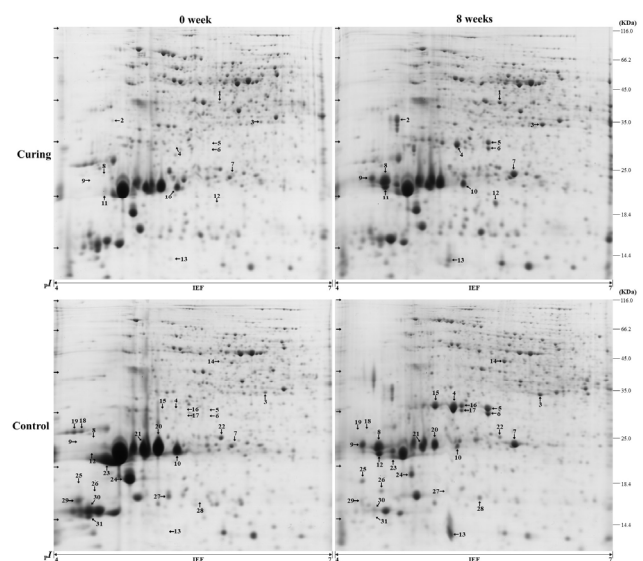


Fig. 1 High-resolution 2D-electrophoresis analysis of total proteins extracted from storage roots of sweet potatoes during post-curing storage. After treatment at 33°C (curing) and 15°C (control) for three days and after eight weeks of storage, the expression level of protein spots was confirmed through 2D-electrophoresis analyses. The proteins were first separated on IPG strips (pH 4-7), and SDS-PAGE was performed on 11.5% polyacrylamide gels. Gels were stained with colloidal CBB. Spot numbers indicate proteins differentially expressed between curing and control conditions at three days and after eight weeks. Five gels per biological replicate were assessed.

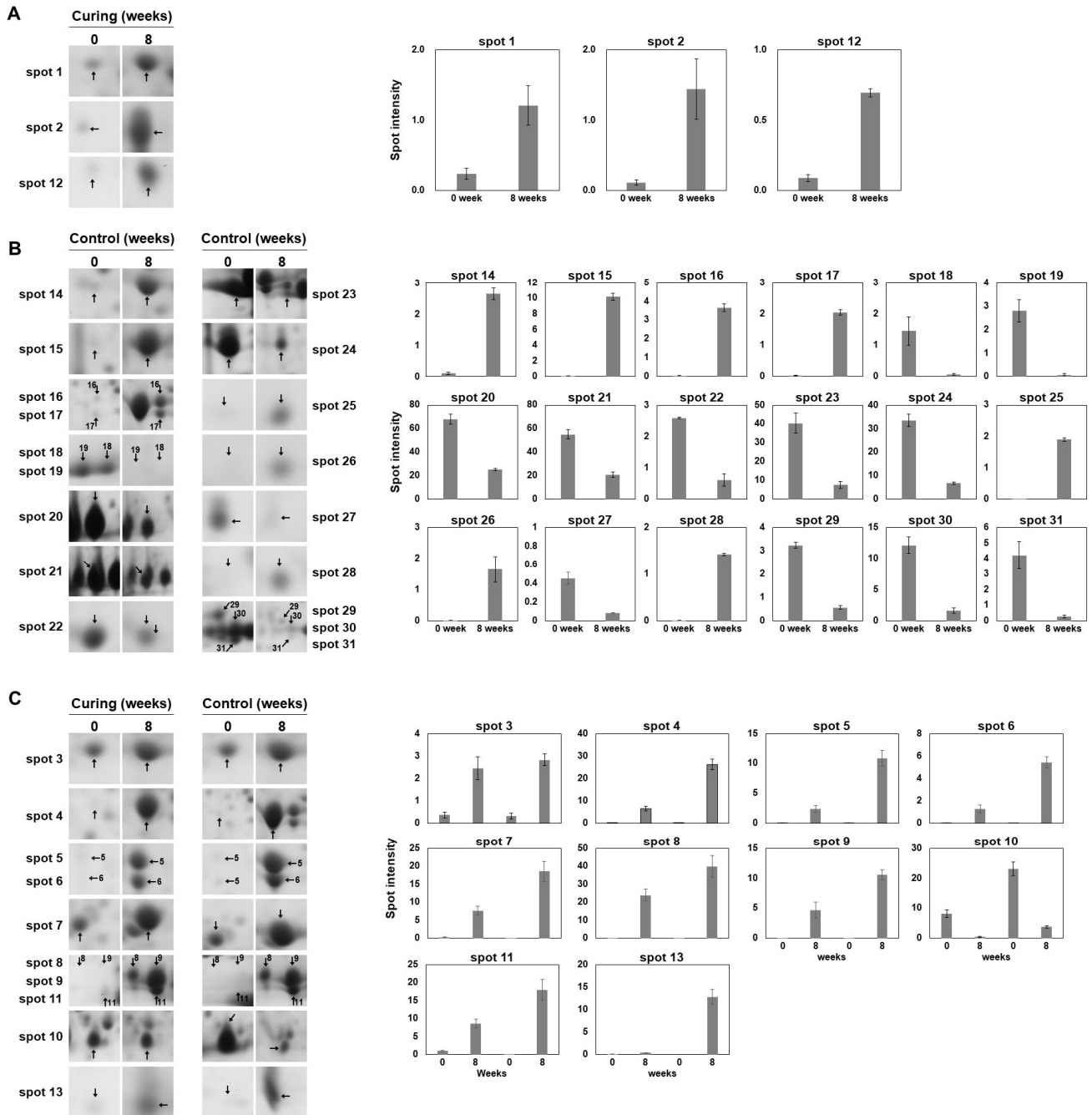


Fig. 2 Enlarged views of 2D maps of differentially expressed proteins marked in Fig. 1. (A) Spots responding to curing during eight weeks in Fig. 1. (B) Spots responding to control conditions eight weeks in Fig. 1. (C) Spots responding to both control and curing treatments during eight weeks in Fig. 1.

(sporamin B)는 동정되었고, spot 2, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 25, 26 및 28은 미동정되었다(Table 1). Spot 4는 hypothetical protein CHGG_01724로 동정되었으나 그 생리적 기능에 대해서는 아직 알려지지 않았다. 한편, 선행연구를 통해 풍원미 저장뿌리의 큐어링 처리군과 대조군에서 전사체 분석이 진행되었다(Ji et al. 2022). 큐어링 처리와 대조군에서의 분석을 통해 단백질 발현의 큰 변화가 확인된 *alpha*-amylase, *aldo*-keto reductase, *sporamins* 및 *enolase* 유전자들의

발현변화를 선행연구에서 이용된 전사체 데이터의 DEGs 변화 값을 이용해 비교한 결과(Ji et al. 2022), *alpha*-amylase, *aldo*-keto reductase 및 *sporamin* 유전자들은 큐어링 처리에 의해 전사수준의 발현이 증가하였으나, *enolase*는 전사수준의 발현이 감소하였다(Fig. 3). 전사체 분석의 결과를 단백질체 분석의 결과와 비교해 볼 때 전사체와 단백질체의 발현 정도가 일치하는 것도 있었으나 다르게 나타나는 것도 있었다. *Alpha*-amylase (spot 1)는 전사체와 단백질의 발현이 큐어링

Table 1. Differentially expressed proteins in the storage roots of sweet potato in curing and storage conditions identified by MALDI-TOF/TOF MS

Spot number	Protein name	Organism	Accession number (NCBI gi number)	Mw ² /pI ² (Theoretical)	Mw ² /pI ² (Observed)	Score	Matched peptide	Sequence coverage (%)
1	alpha-amylase	<i>Ipomoea nil</i>	gi 21670851	47478/4.94	44.5/6.8	107	2	5
2	-	-	-	-	40.1/5.6	-	-	-
3	PREDICTED: probable aldo-keto reductase 2-like	<i>Cicer arietinum</i>	gi 502102350	38423/5.81	39.8/7.3	107	3	22
4	hypothetical protein CHGG_01724	<i>Chaetomium globosum</i> <i>CBS 148.51</i>	gi 116182192	65071/6.38	34.2/6.3	87	2	15
5	-	-	-	-	34.7/6.7	-	-	-
6	-	-	-	-	33.5/6.7	-	-	-
7	-	-	-	-	29.1/7.0	-	-	-
8	-	-	-	-	29.1/5.5	-	-	-
9	-	-	-	-	28.8/5.3	-	-	-
10	Sporamin A	<i>Ipomoea batatas</i>	gi 134841	24241/5.81	26.7/6.3	501	7	40
11	-	-	-	-	25.5/5.5	-	-	-
12	-	-	-	-	23.8/6.8	-	-	-
13	-	-	-	-	17.3/6.3	-	-	-
14	enolase	<i>Ophiostoma piceae</i> UAMH 11346	gi 512188986	47832/5.14	50.6/6.9	333	6	18
15	-	-	-	-	36.9/6.1	-	-	-
16	-	-	-	-	36.8/6.4	-	-	-
17	-	-	-	-	35.7/6.4	-	-	-
18	-	-	-	-	32.2/5.3	-	-	-
19	Chain A of actinidin-E-64 complex	<i>Actinidia chinensis</i>	gi 157829826	23942/4.23	32.0/5.2	124	2	12
20	Sporamin A	<i>Ipomoea batatas</i>	gi 134841	24241/5.81	29.3/6.1	484	7	40
21	Sporamin A precursor	<i>Ipomoea batatas</i>	gi 162708016	24192/5.67	28.8/5.9	421	7	30
22	Ascorbate peroxidase	<i>Ipomoea trifida</i>	gi 532166928	27762/5.42	30.5/6.8	68	0	39
23	Sporamin A	<i>Ipomoea batatas</i>	gi 404351739	24165/5.38	26.8/5.6	179	2	60
24	Sporamin B	<i>Ipomoea batatas</i>	gi 404351741	24151/5.38	24.1/5.8	538	6	41
25	-	-	-	-	23.3/5.2	-	-	-
26	-	-	-	-	22.1/5.4	-	-	-
27	Sporamin A	<i>Ipomoea batatas</i>	gi 404351739	24165/5.38	22.0/6.2	525	6	33
28	-	-	-	-	21.1/6.6	-	-	-
29	Sporamin A precursor	<i>Ipomoea batatas</i>	gi 162708016	24192/5.67	20.7/5.2	190	5	22
30	Sporamin A	<i>Ipomoea batatas</i>	gi 134841	24241/5.81	19.6/5.4	97	3	22
31	Sporamin A precursor	<i>Ipomoea batatas</i>	gi 83265586	22064/5.44	18.9/5.4	176	3	21

²Mw; Molecular weight (kDa). ³pI; Isoelectric point.

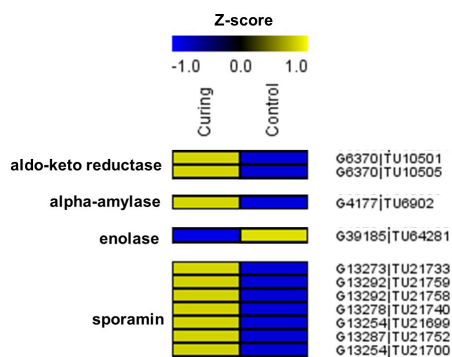


Fig. 3 Transcriptome-based DEG analysis of genes encoding aldo-keto reductase, alpha-amylase, enolase, and sporamins. A heatmap was constructed using Multi Experiment Viewer (MeV).

에 의해 모두 증가하였다. Aldo-keto reductase (spot 3)의 전사체는 큐어링에 의해 발현량이 증가하나 단백질은 큐어링은 물론 대조구에서도 증가하는 경향이 있었다. Sporamin류의 전사체는 큐어링에 의해 발현이 증가하나 단백질은 큐어링에 의해 감소하였다(spot 10). 또한 대조구의 경우에도 sporamin 단백질들의 발현이 대부분 감소하는 경향이 있었다(spot 20, 21, 23, 24, 27, 29, 30 및 31).

동정된 단백질 중 spot 1번의 alpha-amylase (AMY)는 식물, 동물 및 미생물에 의해 합성되는 가수분해효소로서 전분, 글리코겐 및 다양한 다당류 내부의 α-(1-4) 글리코시드 결합의 절단을 촉매한다. AMY의 다양성은 많은 생명체들이 환경적으로 다양한 종류의 다당류를 주요 에너지 및 탄소원으

로 사용하고 있음을 시사한다(Ju et al. 2019). 초본류에서 종자 발아 및 곡물 성숙 과정에 AMY가 중요한 기능을 수행하기 때문에 식물에서 AMY 유전자에 대한 연구는 주로 밀, 보리 및 벼를 포함한 초본류에서 진행되었다(Gale et al. 1983; Jacobsen and Higgins 1982). 발아 중인 곡물 종자에서 AMY는 분비 조직에서 생합성된 후 녹말이 축적되는 배유로 운반되는 전형적인 분비 단백질이다. 다른 분비 동위효소들과는 대조적으로 애기장대의 AMY3는 엽록체 국제화를 위한 N-말단 전이 펩티드를 가지며 잎의 일시적인 전분 분해에 관여한다(Seung et al. 2013; Streb et al. 2012). 벼에서 보고된 동위효소인 α -amylase I-1도 전형적인 분비 당단백질이며 잎 엽록체의 전분 분해에 관여한다(Asatsuma et al. 2005; Kitajima et al. 2009). 또한 고온으로 인해 α -아밀라아제 I-1의 활성도가 증가하면 발달 과정의 곡물에서는 백색화가 진행된다(Hakata et al. 2012). 감자의 저장줄기에서는 2개의 AMY 유전자(StAmy1 및 StAmy23)가 발현되지만 StAmy23만이 저온에 의해 유도되며, 덩이줄기에서는 세포질의 식물 글리코젠을 분해하는 것으로 알려졌다(Hou et al. 2017). 이와 같은 점은 α -amylase가 외부 자극에 의해 조절되어 식물의 당당류 분해를 조절할 수 있음을 의미하는 것이라 할 수 있다. 본 실험에서 AMY의 발현량은 대조구에서는 별다른 차이가 없었지만 큐어링 처리에 의해 약 5.1배 증가한 것으로 보아 큐어링은 AMY의 발현량을 증가시키는 것으로 판단되었다(Fig. 2 및 Table 1).

Spot 3번의 산화환원효소의 큰 유전자군에 속하는 aldo-keto reductases (AKRs)는 스트레스 조절 유전자이며 조효소 NAD(P)(H)의 존재에 따라 전자전달, 삼투변화 및 산화 스트레스에 대한 세포 반응에서 중요한 역할을 수행한다(Penning 2015; Sengupta et al. 2015). 일반적으로 AKR은 원핵생물과 진핵생물에 존재하며, 18개의 단백질군이 있는 것으로 알려져 있다(Huo et al. 2018). 이와 같은 여러 AKR은 비생물적 스트레스와 관련된 해당과정에서 세포독성이 있는 aldehyde를 효과적으로 해독하여 식물의 스트레스 저항성을 개선하는 것으로 알려져 있다. 고구마의 IbAKR로 형질전환된 담배에서는 카드뮴 독성에 대한 내성을 증가시켰으며(Huo et al. 2018), 복숭아의 PpAKR1은 애기장대에서 염분 스트레스에 대한 내성을 증가시켰다(Kanayama et al. 2014). 그러므로 AKR은 대조구와 큐어링 처리구 모두에서 고구마의 장기 저장 시 발생할 수 있는 스트레스와 관련된 독성물질을 해독하기 위하여 발현량이 증가하는 것으로 사료되었다(Fig. 2 및 Table 1).

Spot 10, 20, 23, 27 및 30의 sporamin A, spot 21, 29 및 31의 sporamin A precursor, spot 24의 sporamin B와 같은 sporamin류의 단백질들은 고구마 저장뿌리에서 주로 발현되는 주요 저장 단백질로 전체 수용성 단백질의 60~80%를 차지하며 트립신 억제제로도 기능하는데(Yeh et al. 1997), 줄기 및 잎에서는 발현량이 적거나 거의 없는 것으로 알려져 있다(Hattori et al. 1990). Sporamin은 뉴클레오티드 상동성에 기초하여

sporamin A와 B로 나누어지며 다양한 다중 유전자 군들에 의해 암호화된다(Hattori et al. 1989). Sporamin 유전자의 발현은 polygalacturonic acid, 앱시스산 및 sucrose에 의해 유도될 수 있으며, 상처, 병 처리 및 선충 감염에 의해서도 유도된다(Cai et al. 2003; Senthilkumar and Yeh 2012). 이와 같은 사실들은 고구마에서 sporamin이 생물적 및 비생물적 스트레스에 의해 유도되어 저장뿌리의 스트레스에 대한 방어기구에서 긍정적인 역할을 할 수 있음을 시사한다. 본 실험에서 sporamin류의 단백질 발현량은 큐어링 처리시 1개 spot만이 감소(spot 10)하였으나, 대조구의 경우에는 다수의 sporamin spot들(spot 10, 20, 21, 23, 24, 27, 29, 30 및 31)이 8주 후에 현저하게 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 2 및 Table 1). 따라서, 큐어링 처리의 경우에는 sporamin의 감소율이 적어서 미생물 등의 작용으로 인한 저장뿌리 조직의 부패를 막는데 기여하나, 대조구의 경우에는 sporamin이 현저히 감소하여 저장뿌리 조직의 부패가 증가하는 것으로 예상되었다.

Spot 14번의 enolase는 해당과정에서 2-phosphoglycerate (2-PGA)로부터 phosphoenolpyruvate (PEP)로의 가역적 탈수를 촉진한다(Givan 1999; Prabhakar et al. 2009). 이 효소는 식물의 작은 유전자군에 의해 암호화되고 주로 세포질에 존재하는데, 일부는 비광합성 세포의 색소체에서도 발견된다(Andriotis et al. 2010; Lal et al. 1998). PEP는 색소체의 enolase에 의해 생합성되거나 세포질에서 PEP/무기인산 transporter를 통해 색소체로 유입되며, shikimate pathway를 통해 방향족 아미노산 및 다양한 2차 대사산물을 생합성한다(Herrmann and Weaver 1999). 또한, PEP는 색소체에서 pyruvate kinase에 의해 pyruvate로 전환될 수 있으며, 지방산, 분지쇄 아미노산 및 isoprenoids의 합성을 위한 전구체 역할을 수행하므로 PEP 수준은 1차 및 2차 대사의 흐름을 결정하는 중요한 요소가 될 수 있다. 실제적으로 애기장대에서 분리된 색소체의 enolase 동위효소 유전자인 AtENO1의 발현을 억제시킨 식물은 세포질의 해당작용이 색소체 경로의 부재를 보상하기 때문에 뚜렷한 표현형의 차이가 없었지만, AtENO1과 PEP/무기인산 트랜스포터가 모두 결여된 이중 돌연변이체는 생장과 대사에 치명적인 것으로 나타났다(Andriotis et al. 2010; Prabhakar et al. 2009). 이는 색소체의 enolase 또는 PEP/무기인산 트랜스포터의 작용에 의해 제공되는 PEP의 중요성을 시사하는 것이다. 본 실험에서 저장 8주 후 큐어링 처리의 경우에는 enolase 발현량의 별다른 차이가 없었으나 대조구의 경우에는 enolase의 발현량이 현저하게 증가하였다(Fig. 2 및 Table 1). 이 결과로부터 큐어링 처리구에 비해 대조구의 저장뿌리에서는 미생물의 감염으로 인해 enolase의 발현량이 증가하므로 PEP의 생성량도 증가하고 저장 조직의 1차 및 2차 대사 작용도 활발히 진행되어 부패가 가속화 되는 것으로 예상되었다.

Spot 19번은 actinidin-E-64 complex의 chain A로 동정되었다. Actinidin (EC 3.4.22.14)은 키위, 바나나, 망고, 파인애플

및 파파야 등의 과일에 함유되어 있는 cysteine protease로 파파인 유사 프로테아제이며(Gul et al. 2006; Kamphuis et al. 1985), 키위 특이적 allergen이기도 하다(Aleman et al. 2004; Bublin et al. 2004). Actinidin은 일부의 사람들에서 알레르겐으로 작용하며(Aleman et al. 2004; Palacin et al. 2008; Pastorello et al. 1998), 임상 증상은 일반적으로 구강 점막에 국한되나 심각한 아나필락시스 반응도 관찰된다(Lucas et al. 2003; Ratnasiri et al. 2013). 한편 E-64 (1-(L-trans-epoxysuccinylleucylamino)-4-guanidinobutane)는 actinidin, papain, cathepsins 및 ficin 과 같은 많은 cysteine protease들의 강력하고 비가역적인 억제제이다(Kottayil et al. 1992). 따라서 actinidin-E-64 complex는 cysteine protease이자 allergen인 actinidin과 강력한 억제제인 E-64가 결합한 형태이므로 cysteine protease의 활성이 강력히 억제될 것으로 예상된다. 본 실험에서는 저장 8주 후 큐어링 처리에 비해 대조구에서는 actinidin-E-64 complex의 chain A 발현량이 1/35 정도로 현저하게 감소하였다(Fig. 2 및 Table 1). 따라서 큐어링 시에는 cysteine protease inhibitor인 actinidin이 정상적으로 생합성되어 미생물 감염에 의한 단백질 분해효소의 활성을 억제하나, 무처리의 경우에는 그 actinidin이 actinidin-E-64 complex의 형태로 전환되므로 미생물 감염시 단백질 분해 및 부패가 증가할 것으로 예상되었다.

Spot 23번의 ascorbate peroxidase (APX)는 ascorbic acid (AsA)의 1가 산화형인 monodehydroascorbate (MDAsA)의 생성과 함께 H₂O₂를 물로 환원하기 위해 특정 전자 공여체로 AsA를 사용하는 효소이다(Nakano and Asada 1981). MDAsA는 자발적으로 AsA 및 dehydroascorbate (DAsA)에 의해 조절되며, NAD(P)H 의존 MDAsA 환원효소의 작용에 의해 AsA로 직접 환원된다. DAsA 환원효소는 glutathione (GSH)을 사용하여 DAsA를 환원시켜 AsA를 재생하며, 산화된 GSH는 NAD(P)H의 환원력을 이용하여 GSH reductase (GR)에 의해 재생된다. 따라서 효과적인 AsA-GSH 환원 사이클과 결합된 APX는 광합성 유기체에서 유독성 H₂O₂가 축적되는 것을 방지한다(Asada 1992). 고등 식물의 엽록체에서는 기질에서 이루어지는 AsA-GSH 순환 작용과 더불어 광계 2에서 물로부터 파생된 전자에 의해 산소가 광 환원되는 순환기작이 과잉의 광에너지를 소거함으로써 활성산소의 해독에 참여한다(Asada 1999). 현재까지 효소 및 분자적 연구들을 기반으로 APX 동위효소의 정제, 유전자 클로닝 및 생리적 기능 연구에 대한 많은 결과들이 발표되었으며, 이러한 연구들은 APX 동위효소가 광합성을 하는 생명체들에서 산화 스트레스를 방지하는 중요한 구성 요소임을 시사하고 있다(Shigeoka et al. 2002). 또한, 일부 스트레스 조건 및 병원체 공격에 대한 APX 발현과 관련된 최근의 연구에 의하면 세포 내 신호 전달에서 H₂O₂ 농도를 제어하는 데에도 APX가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Saxena et al. 2016). 본 실험에서 저장 8주 후 큐어링 처리의 경우에는 actinidin-E-64 complex의 경우와 유사하게 APX의 발현량도 별다른 변화가

없었으나 대조구의 경우에는 APX의 발현량이 감소하였다. 그러므로 큐어링 처리시에는 고구마 저장뿌리 조직에서 APX의 발현이 정상적으로 이루어져 미생물 병원체의 공격에 의한 H₂O₂의 농도를 제어할 수 있으나, 대조구의 경우에는 APX 발현량이 뚜렷하게 감소되어 세포 독성이 있는 H₂O₂가 보다 높은 수준으로 증가할 것으로 예상되었다. 한편, 추가적인 연구를 통하여 발현량의 차이가 나는 미동정된 단백질들도 동정한다면 큐어링에 의한 방어기작과 관련된 단백질들의 종류 및 그 역할을 보다 명확히 구명하는데 기여할 것으로 사료되었다.

적 요

고구마(*Ipomoea batatas* L. Lam)는 영양소, 가공 식품, 동물 사료 및 색소 재료의 유용한 공급원으로 이용 가능한 경제적으로 중요한 대표적인 뿌리 작물이다. 일반적으로 고구마의 저장 뿌리는 수확 후 저장 기간 동안 다양한 미생물과 질병에 의한 부패에 노출되기 쉽다. 수확 후 큐어링은 저장기간 동안 상처를 치유하고 미생물에 의한 부패를 방지하기 위한 가장 적합한 수단으로 알려져 있다. 본 연구에서는 큐어링과 연관된 분자적 기작에 관여하는 단백질들을 확인하기 위해, 큐어링 처리 후 저장기간 동안 단백질체의 변화를 분석하였다. 33°C(큐어링) 및 15°C(대조군)에서 3일 동안 처리하고 8주의 저장 기간이 지난 후 2D 전기영동 분석을 통해 단백질 spot의 변화를 확인한 결과, 31개 단백질 spot의 발현량이 차이 나는 것을 확인하였으며, 이들 중 15개의 단백질 spot을 동정하여 그 특성을 분석하였다. 동정된 단백질 중 alpha-amylase (spot 1)는 큐어링 처리구에서만 발현량이 증가하였으며, probable aldo-keto reductase 2-like (spot 3) 및 hypothetical protein CHGG_01724 (spot 4)는 큐어링 및 대조구에서 동시에 발현량이 증가하였으나, sporamin A (spot 10)는 큐어링 및 대조구에서 발현량이 감소하였다. 한편, 대조구에서 enolase (spot 14)는 발현량이 증가하였으나, chain A of actinidin-E-64 complex⁺ (spot 19), ascorbate peroxidase (spot 22) 및 여러 sporamin 단백질들(spot 20, 21, 23, 24, 27, 29, 30 및 31)은 발현량이 감소하였다. 본 연구의 결과는 고구마 저장 뿌리에서 큐어링 처리와 관련된 단백질의 동정 및 수확 후 저장 기간 동안 병 저항성과 관련된 기작에 대한 이해를 높이며, 향후 저온 저장 능력이 향상된 신품종 개발을 위한 후보 유전자의 도출에도 기여할 수 있을 것이다.

사 사

본 연구는 한국연구재단 중견연구지원사업(2021R1A2C400188711) 및 경상국립대학교 첨단소재분석지원센터의 지원으로 수행되었다.

References

- Aidoo KE (1993) Post-harvest storage and preservation of tropical crops. *Int Biodeter Biodegr* 32:161-173
- Aleman A, Sastre J, Quirce S, de las Heras M, Carnes J, Fernandez-Caldas E, Pastor C, Blazquez AB, Vivanco F, Cuesta-Herranz J (2004) Allergy to kiwi: A double-blind, placebo-controlled food challenge study in patients from a birch-free area. *J Allergy Clin Immunol* 113:543-550
- Andrade JDM, Toledo TT, Nogueira SB, Cordenunsi BR, Lajolo FM, do Nascimento JR (2012) 2D-DIGE analysis of mango (*Mangifera indica* L.) fruit reveals major proteomic changes associated with ripening. *J Proteom* 75:3331-3341
- Andriotis VM, Kruger NJ, Pike MJ, Smith AM (2010) Plastidial glycolysis in developing *Arabidopsis* embryos. *New Phytol* 185:649-662
- Asada K (1992) Ascorbate peroxidase: A hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiol Plant* 85:235-241
- Asada K (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 50:601-639
- Asatsuma S, Sawada C, Itoh K, Okito M, Kitajima A, Mitsui T (2005) Involvement of alpha-amylase I-1 in starch degradation in rice chloroplasts. *Plant Cell Physiol* 46:858-69
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248-254
- Bublin M, Marim A, Ebner C, Knulst A, Scheiner O, Hoffmann-Sommergruber K, Breiteneder H, Radauer C (2004) IgE sensitization profiles toward green and gold kiwifruits differ among patients allergic to kiwifruit from 3 European countries. *J Allergy Clin Immunol* 114:1169-1175
- Cai D, Thurau T, Tian Y, Lange T, Yeh KW, Jung C (2003) Sporamin-mediated resistance to beet cyst nematodes (*Heterodera schachtii* Schm.) is dependent on trypsin inhibitory activity in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) hairy roots. *Plant Mol Biol* 51:839-849
- Chen S, Harmon AC (2006) Advances in plant proteomics. *Proteomics* 6:5504-5516
- Clark CA, Ferrin DM, Smith TP, Holmes GJ (2013) Compendium of sweetpotato diseases, pest, and disorders, Second Edition. *Am Phytopath Soc* 1-160
- FAO (Food and Agriculture Organization) (2020) FAOSTAT, Available online at: <http://www.fao.org/faostat/en/#home> (accessed May 20, 2021)
- Gale MD, Chojecki AJ, Kempton RA (1983) Genetic control of α -Amylase production in wheat. *Teo App Gen* 64:309-316
- Givan CV (1999) Evolving concepts in plant glycolysis: Two centuries of progress. *Biol Rev* 74:277-309
- Gul S, Mellor GW, Thomas EW, Brocklehurst K (2006) Temperature-dependences of the kinetics of reactions of papain and actinidin with a series of reactivity probes differing in key molecular recognition features. *The Biochemical Journal* 396:17-21
- Ha J, Won JC, Jung YH, Yang JW, Lee HU, Nam KJ, Park SC, Jeong JC, Lee SW, Lee DW, Chung JS, Lee JJ, Kim YH (2017) Comparative proteomic analysis of the response of fibrous roots of nematode-resistant and -sensitive sweet potato cultivars to root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Acta Physiol Plant* 39:262
- Hakata M, Kuroda M, Miyashita T, Yamaguchi T, Kojima M, Sakakibara H, Mitsui T, Yamakawa H (2012) Suppression of alpha-amylase genes improves quality of rice grain ripened under high temperature. *Plant Biotechnol J* 10:1110-1117
- Hattori T, Nakagawa S, Nakamura K (1990) High-level expression of tuberous root storage protein genes of sweet potato in stems of plantlets grown in in vitro on sucrose medium. *Plant Mol Biol* 14:595-604
- Hattori T, Yoshida N, Nakamura K (1989) Structural relationship among the members of multigene family coding for the sweet potato tuberous roots storage proteins. *Plant Mol Biol* 13:563-572
- Hayes BH, Ward JK, Lowe JW, Davis JD, Shankle MW, Arancibia RA (2014) Development of a mechanical undercutting system to minimize sweetpotato skinning during harvest. *Appl Engin Agri* 30:355-360
- Herrmann KM, Weaver LM (1999) The shikimate pathway. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 50:473-503
- Hou J, Zhang H, Liu J, Reid S, Liu T, Xu S, Tian Z, Sonnewald U, Song B, Xie C (2017) Amylases StAmy23, StBAM1 and StBAM9 regulate cold-induced sweetening of potato tubers in distinct ways. *J Exp Bot* 68:2317-2331
- Huo J, Bing DU, Sun S, Shaozhen HE, Zhao N, Liu Q, Zhai H (2018) A novel aldo-keto reductase gene, IbAKR, from sweet potato confers higher tolerance to cadmium stress in tobacco. *Front Agric Sci Eng* 5:206-213
- Hurkman WJ, Tanaka CK (1986) Solubilization of plant membrane proteins for analysis by two-dimensional gel electrophoresis. *Plant Physiol* 81:802-806
- Jacobsen JV, Higgins TJV (1982) Characterization of the α -amylases synthesized by aleurone layers of himalaya barley in response to gibberellic acid. *Plant Physiol* 70:1647-1653
- Ji CY, Kim YH, Lee CJ, Park SU, Lee HU, Kwak SS, Kim HS (2022) Comparative transcriptome profiling of sweetpotato storage roots during curing-mediated wound healing. *Gene* 833:146592
- Ju L, Pan Z, Zhang H, Li Q, Liang J, Deng G, Yu M, Long H (2019) New insights into the origin and evolution of α -amylase genes in green plants. *Sci Rep* 9:4929
- Kamphuis IG, Drenth J, Baker EN (1985) Thiol proteases. Comparative studies based on the high-resolution structures of papain and actinidin, and on amino acid sequence information for cathepsins B and H, and stem bromelain. *Journal of Molecular Biology*. 182:317-29
- Kanayama Y, Mizutani R, Yaguchi S, Hojo A, Ikeda H, Nishiyama M, Kanahama K (2014) Characterization of an uncharacterized aldo-keto reductase gene from peach and its role in abiotic stress tolerance. *Phytochemistry* 104:30-36
- Kim ST, Kim SG, Hwang DH, Kang SY, Kim HJ, Lee BH, Lee JJ, Kang KY (2004) Proteomic analysis of pathogen-responsive

- proteins from rice leaves induced by rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*. *Proteomics* 4:3569-3578
- Kim YH, Ji CY, Kim HS, Chung JS, Choi SH, Kwak SS, Lee JJ (2022) Proteome analysis of storage roots of two sweet potato cultivars with contrasting low temperature tolerance during storage. *J Plant Biotechnol* 49:118-123
- Kitajima A, Asatsuma S, Okada H, Hamada Y, Kaneko K, Nanjo Y, Kawagoe Y, Toyooka K, Matsuoka K, Takeuchi M, Nakano A, Mitsui T (2009) The rice alpha-amylase glycoprotein is targeted from the Golgi apparatus through the secretory pathway to the plastids. *Plant Cell* 21:2844-2858
- Kottayil IV, Ying S, Dean C, Sadiq H, Nguyen-huu X (1992) Crystal Structure of an Actinidin-E-64 Complex. *Biochemistry* 31:5172-5176
- Lal SK, Lee C, Sachs MM (1998) Differential regulation of enolase during anaerobiosis in Maize. *Plant Physiol* 118:1285-1293
- Lee JJ, Kim YH, Kwak YS, An JY, Kim PJ, Lee BH, Kumar V, Park K, Chang ES, Jeong JC, Lee HS, Kwak SS (2015) A comparative study of proteomic differences between pencil and storage roots of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.). *Plant Physiol Biochem* 87:92-101
- Lee JJ, Park KW, Kwak YS, Ahn JY, Jung YH, Lee BH, Jeng JC, Lee HS, Kwak SS (2012) Comparative proteomic study between tuberous roots of light orange- and purple-fleshed sweetpotato cultivars. *Plant Sci* 19:120-129
- Lucas JSA, Lewis SA, Hourihane JO (2003) Kiwi fruit allergy: A review. *Pediatr Allergy Immunol* 14:420-428
- Manaa A, Faurobert M, Valot V, Bouchet JP, Grasselly D, Causse M, Ahmed HB (2013) Effect of salinity and calcium on tomato fruit proteome. *Omics* 17:338-352
- Matsui NM, Smith-Beckerman DM, Epstein LB (1999) Staining of preparative 2-D (2-D proteome analysis protocols). *Meth Mol Biol* 112:370-371
- Miyazaki T (1990) Effects of curing, storage conditions, and cooking on the composition of sweetpotatoes. *J Jap Soc Hort Sci* 59:649-656
- Nakano Y, Asada K (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol* 22:867-880
- Palacin A, Rodriguez J, Blanco C, Lopez-Torres G, Sanchez-Monge R, Varela J, Jimenez MA, Cumplido J, Carrillo T, Crespo JF, Salcedo G (2008) Immunoglobulin E recognition patterns to purified kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) allergens in patients sensitized to kiwi with different clinical symptoms. *Clin Exp Allergy* 38:1220-1228
- Pastorello EA, Conti A, Pravettoni V, Farioli L, Rivolta F, Ansaloni R, Spano M, Incorvaia C, Giuffrida MG, Ortolani C (1998) Identification of actinidin as the major allergen of kiwi fruit. *J Allergy Clin Immunol* 101:531-537
- Penning TM (2015) The Aldo-Keto Reductases (AKRs): Overview. *Chem Biol Interact* 234:236-246
- Prabhakar V, Löttgert T, Gigolashvili T, Bell K, Flügge UI, Häusler RE (2009) Molecular and functional characterization of the plastid-localized Phosphoenolpyruvate enolase (ENO1) from *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett* 583:983-991
- Ratnasiri M, Niels JN, Sean MB, Janine MC, Sol AG, Ross GA (2013) Diversity and relative levels of actinidin, kiwellin, and thaumatin-like allergens in 15 varieties of kiwifruit (*Actinidia*) *J Agric Food Chem* 58:5068-5073
- Ray RC, Ravi V (2005) Post-harvest spoilage of sweetpotato in tropics and control measures. *Crit Rev Food Sci Nut* 45:623-644
- Saxena I, Srikanth S, Chen Z (2016) Cross talk between H₂O₂ and interacting signal molecules under plant stress response. *Front Plant Sci* 7:570
- Sengupta D, Naik D, Reddy AR (2015) Plant Aldo-Keto Reductases (AKRs) as Multi-Tasking Soldiers Involved in Diverse Plant Metabolic Processes and Stress Defense: A Structure-Function Update. *J Plant Physiol* 179:40-55
- Senthilkumar R, Yeh KW (2012) Multiple biological functions of sporamin related to stress tolerance in sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.). *Biotechnol Adv* 30:1309-1317
- Seung D, Thalmann M, Sparla F, Hachem MA, Lee SK, Issakidis-Bourguet E, Svensson B, Zeeman SC, Santelia D (2013) *Arabidopsis thaliana* AMY3 is a unique redox-regulated chloroplastic alpha-amylase. *J Biol Chem* 288:33620-33633
- Shigeoka S, Ishikawa T, Tamoi M, Miyagawa Y, Takeda T, Yabuta Y, Yoshimura K (2002) Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *J Exp Bot* 53:1305-1319
- Sowley E, Oduro K (2002) Effectiveness of curing in controlling fungal-induced storage rot in sweetpotato in Ghana. *Trop Sci* 42:6-10
- Streb S, Eicke S, Zeeman SC (2012) The simultaneous abolition of tree starch hydrolases blocks transient starch breakdown in *Arabidopsis*. *J Biol Chem* 287:41745-41756
- Teow CC, Truong VD, McFeeters RF, Thompson RL, Pecota KV, Yencho GC (2007) Antioxidant activities, phenolic and β -carotene contents of sweetpotato genotypes with varying flesh colors. *Food Chem* 103:829-838
- Tomlins KI, Ndunguru GT, Rwiza E, Westby A (2000) Postharvest handling, transport and quality of sweetpotato in Tanzania. *J Hort Sci Biotechnol* 75:586-590
- Tomlins KI, Ndunguru GT, Rwiza E, Westby J (2002) Influence of pre-harvest curing and mechanical injury on the quality and shelf-life of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) in East Africa. *J Hort Sci Biotechnol* 77:399-403
- Van Oirschot QEA, Rees D, Aked J, Kihurani A (2006) Sweetpotato cultivars differ in efficiency of wound healing. *Posthar Biol Technol* 42:65-74
- Villavicencio LE, Blankenship SM, Yencho GC, Thomas JF, Raper CD (2007) Temperature effect on skin adhesion, cell wall enzyme activity, lignin content, anthocyanins, growth parameters, and periderm histochemistry of sweetpotato. *J Am Soc Hort Sci* 132:729-738
- Wang X, Arancibia RA, Main JL, Shankle MW, LaBonte DR (2013) Preharvest foliar applications of ethephon increase skin lignin/suberin content and resistance to skinning in sweetpotato storage roots. *HortScience* 48:1270-1274
- Yeh KW, Chen JC, Lin MI, Chen YM, Lin CY (1997) Functional activity of sporamin from sweet potato (*Ipomoea batatas*

- Lam.): a tuber storage protein with trypsin inhibitory activity. *Plant Mol Biol* 33:565-570
- Yoshinaga M, Yamakawa O, Nakatani M (1999) Genotypic diversity of anthocyanin content and composition in purple-fleshed sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). *Breeding Sci* 49:43-47
- Yu GD, Lee HU, Nam SS, Hwang UJ, Yang JW, Paul NC, Lee KB, Ko S, Kang YG (2018) Difference of storability according to the curing treatment in Korean sweetpotato varieties. *J Kor Soc Int Agri* 30:44-50
- Zeng Y, Pan Z, Ding Y, Zhu A, Cao H, Xu Q, Deng X (2011) A proteomic analysis of the chromoplasts isolated from sweet orange fruits [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *J Exp Bot* 62: 5297-5309
- Ziska LH, Runion GB, Tomecek M, Prior SA, Torbet HA, Sicher R (2009) An evaluation of cassava, sweetpotato and field corn as potential carbohydrate sources for bioethanol production in Alabama and Maryland. *Biomass Bioenerg* 33:1503-1508