creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

농학석사 학위논문

흰말채나무 수피에서의 색소 함량의 계절적 변화와 환경 요인의 영향

Seasonal changes of pigment contents in *Cornus alba* bark and the influence of environmental factors

2021년 2월

서울대학교 대학원
산림과학부 산림환경학전공
김 장 훈

흰말채나무 수피에서의 색소 함량의 계절적 변화와 환경 요인의 영향

Seasonal changes of pigment contents in *Cornus alba* bark and the influence of environmental factors

지도교수 김 현 석

이 논문을 농학석사 학위논문으로 제출함

2020년 12월

서울대학교 대학원

산림과학부 산림환경학전공

김 장 훈

김장훈의 농학석사 학위논문을 인준함

2021년 2월

위 원 장 박 일 권 (인)

부 위 원 장 김 현 석 (인)

위 원 이 희 재 (인)

Abstract

Cornus alba L. is an ornamental shrub widely used especially for winter landscaping with its noteworthy bright-red colored stem. Its bark coloration seasonally changes as a sign of autumn senescence and is affected by internal and environmental factors. To find out the proper cultural conditions as a high-value landscape shrub for the cold and low season, this field case research focused on the effect of environmental factors, including soil moisture, relative humidity, and soil pH, on the coloration of *C. alba* bark during autumnal senescence. These environmental factors are thought dominantly to affect the winter bark coloration in *C. alba*. In this study, the seasonal changes of chlorophylls, carotenoids, and anthocyanins in the bark of *C. alba* from August 2020 to October 2020 were monitored. The total amounts of chlorophylls and carotenoids decreased gradually. Anthocyanins accumulated as influenced by soil moisture and relative humidity which cause drought stress. During autumn senescence, the fact that anthocyanin contents increase under drought stress conditions was verified in the bark as well, which is normally observed in leaves and fruits. Three anthocyanins were detected from the bark of *C. alba*. The major one was found to be cyanidin and the others were delphinidin and peonidin. The minor pigments are usually known to have existed in small quantities in this plant. Additionally, as a well-known affecting factor for anthocyanin color expression, soil pH might affect the bark coloration. To suggest ideal growing conditions for the effective coloration of cornus, further researches on the winter bark color considering the effect of the other environmental factors like light, temperature, and so on and reflecting on people's preference as a landscape element should be performed.

주요어: anthocyanin, autumn senescence, bark, *Cornus alba*, landscape tree, pigments, soil moisture, winter garden

학번: 2016-21457

목 차

Abstract i

목차 ii

List of Tables iv

List of Figures v

제1장 서 론 1

1.1. 연구 배경 1

1.2. 연구 목적 4

제2장 연 구 사 5

2.1. 단풍 5

2.2. 안토시아닌 6

2.3. 흰말채나무 8

제3장 재료 및 방법 10

3.1. 연구 대상지 및 재료 10

3.1.1. 대상지 10

3.1.2. 재료 11

3.2. 환경 12

3.2.1. 토양 습도, 상대습도, 온도 12

3.2.2. 토양 산도 12

3.3. 색소 함량 변화 조사 12

3.3.1. 엽록소 및 카로티노이드 함량 12

3.3.2. 총 안토시아닌 함량 13

3.3.3. 안토시아닌 성분 14

3.4. 통계 분석 14

제4장 결 과 15

4.1. 환경 15

4.1.1. 토양 습도 변화 15

4.1.2. 상대습도 변화 16

4.1.3. 온도 변화 17
4.1.4. 토양 산도 19
4.2. 엽록소 및 카로티노이드 함량 19
4.2.1. CLP에서의 총 엽록소 및 카로티노이드 함량 변화 19
4.2.2. PG에서의 총 엽록소 및 카로티노이드 함량 변화 20
4.3. 총 안토시아닌 함량 22
4.3.1. CLP에서의 총 안토시아닌 함량 변화 22
4.3.2. PG에서의 총 안토시아닌 함량 변화 23
4.4. 안토시아닌 성분 23
4.4.1. CLP에서의 안토시아닌 성분 변화 23
4.4.2. PG에서의 안토시아닌 성분 변화 25
제5장 고 찰 27
5.1. 흰말채나무 수피 단풍과 색소함량의 변화 27
5.2. 토양 습도와 건조 스트레스가 흰말채나무 수피에 안토시아닌 생성에 미치는 영향 28
5.2.1. 토양 습도 및 건조 스트레스의 영향 28
5.2.2. 상대습도의 영향 30
5.3. 안토시아닌 성분 변화와 흰말채나무 수피 색상 발현 30
5.3.1. 안토시아닌 성분 변화 30
5.3.2. 안토시아닌 성분 변화가 색상 발현에 미치는 영향 31
5.4. 토양 산도가 흰말채나무 수피 색상 발현에 미치는 영향 31
5.5. 야간 기온과 흰말채나무 수피에 안토시아닌 생성 33
5.6. 겨울용 조경수로서 흰말채나무의 수피 색상 발현을 위한 환경 조건 34
제6장 결 론 36
인용 문헌 37

List of Tables

Table 1. Information of test sites 10

Table 2. Soil pH in CLP and PG 19

Table 3. Changes of chlorophyll, carotenoid and anthocyanin in the bark of *Cornus alba* in CLP and PG 28

Table 4. Color and the B ring structure of the six most common anthocyanins 32

List of Figures

Figure 1. Winter landscape using colorful stems of *Cornus alba, C. sanguinea,* and *C. sericea* in RBG Kew, UK 4

Figure 2. View of test sites 11

Figure 3. *Cornus alba* 'Aurea' (A) leaves in June and (B) stems in August 11

Figure 4. Determination of total anthcyanin content using the pH differential method 14

Figure 5. Soil moisture change in (A) CLP and (B) PG 15

Figure 6. Relative humidity change in CLP 16

Figure 7. Relative humidity change in PG 17

Figure 8. Temperature change in (A) CLP and (B) PG 18

Figure 9. Changes of chlorophyll and carotenoid contents in the bark of *Cornus alba* in CLP from the 2nd week of August to the 4th week of October (n=9). (A) total amount of chlorophyll a + chlorophyll b; (B) total amount of chlorophyll a; (C) total amount of chlorophyll b; (D) total amount of carotenoid 20

Figure 10. Changes of chlorophyll and carotenoid contents in the bark of *Cornus alba* in PG from the 2nd week of August to the 4th week of October. (A) total amount of chlorophyll a + chlorophyll b; (B) total amount of chlorophyll a; (C) total amount of chlorophyll b; (D) total amount of carotenoid 21

Figure 11. Changes of total anthocyanin contents in the bark of *Cornus alba* in (A) CLP and (B) PG 22

Figure 12. Changes of individual anthocyanins in the bark of *Cornus alba* in (A) CLP and (B) PG 24

Figure 13. High performance liquid chromatography (HPLC) profiles of anthocyanin aglycones extracted from the bark of *Cornus alba* in (A) CLP1 and (B) CLP2 at the 4th week of October. a,delphinidin; b,cyanidin; c,peonidin. d,delphinidin; e,cyanidin; f,peonidin 25

Figure 14. High performance liquid chromatography (HPLC) profiles of anthocyanin aglycones extracted from the bark of *Cornus alba* in (A) PG1 and (B) PG2 at the 4th week of October. a,cyanidin; b,delphinidin; c,cyanidin; d,delphinidin 26

Figure 15. Anthocyanin color under different pH conditions 33

Figure 16. Different coloration of *Cornus alba* bark in winter. (A) bright-red stem and (B) dark-red stem 34

제1장 서 론

1.1. 연구 배경

조경 수목은 미적, 공학적, 기상학적 등 다양한 기능을 목적으로 실내외 정원, 공원, 녹지 등에 심어져 경관의 골격을 구성하는 경관 연출의 중요한 요소다. 우리나라는 1970년대부터 본격적으로 조경수 생산이 시작된 이래 급진적인 경제 발전에 따른 각종 건설, 조경 공사의 증가와 함께 조경수의 수요 및 관련 산업 역시 성장해 왔다(박형순, 2012). 최근 들어서는 사회 구조의 도시화 및 산업화가 고도화되고 시민들의 의식이 높아지면서 경관 향상에 대한 사회적인 요구가 높아지고 있다(김용식, 2014). 단순히 녹색 공간의 양적 확보를 넘어 쾌적하고 풍요로우면서도 심미성이 뛰어난 양질의 녹지공간에 대한 요구가 증대되고 있는 것이다. 이러한 흐름은 도시 환경의 심미성과 생태성을 동시에 높이는 식재기법 개발을 통해 도시의 자연성을 회복하고 인류의 삶의 질 향상에 기여하고자하는 세계적인 추세와 그 궤를 함께 한다(Dunnett, 2019).

이러한 요구는 겨울에 있어서도 마찬가지다. 계절적으로 황량한 풍경을 개선하고 다채로운 경관 연출의 필요성과 중요성을 강조하는 추세가 나타나고 있다(Robinson, 2016). 수피의 색상이 화려한 수목, 겨울에 개화를 하거나 열매의 감상 가치가 높은 식물, 상록성 식물, 겨울에도 형태를 유지하는 초화류 등 겨울에 감상 가능한 식물들을 활용하여 기존 경관에 이색적인 볼거리를 더하거나 겨울에 특화된 경관을 조성하려는 노력이 국내외적으로 많은 관심을 받고 있다(Pollet, 2017).

특히 흰말채나무(*Cornus alba* L.)는 붉은 색상의 수피가 선명하고 돋보여 겨울 경관 연출에 활용하는 대표적인 겨울용 조경 수목 중 하나다(Dirr, 1990). 흰말채나무속에는 전 세계적으로 60여종이 있으며, 특히 아시아 원산의 흰말채나무, 유럽 원산의 붉은말채나무(*C. sanguinea*), 북미 원산의 노랑말채나무(*C. sericea*) 등이 겨울철 색상이 아름다운 수피를 감상하기 위한 목적으로 조경 수목으로 근래에 많이 활용되고 있는 추세이다(Sterndale-Bennett, 2006; Figure 1). 해외 조경 수목 시장에는 각각의 종마다 다양한 품종들이 선발되어 있고 이들 종과 품종은 적색, 주황색, 황색, 녹색, 흑색 등 수피의 색상이 매우 다양하여 활용 가치가 높아 최근 국내 조경수 시장에 새롭게 보급되고 있다(김장훈, 2017).

흰말채나무 줄기 색상은 연중 계절에 따라 변화를 반복한다. 여름에는 녹색을 띠었다가 가을에 기온이 낮아짐에 따라 점점 붉은색이 짙어진 상태로 겨울을 나고 다시 봄에 기온이 올라감에 따라 초록색으로 바뀌는 계절적 패턴을 반복한다. 이는 온대 지방 낙엽 활엽수 잎에서 계절 변화에 따른 노쇠 현상의 결과로 잎의 색상이

바뀌게 되는 현상인 단풍이 수목 줄기에 동일하게 나타난 것으로 볼 수 있다. 흰말채나무의 경우처럼 줄기에 붉은색 계열의 색상을 띈 수목은 단풍나무 속, 버드나무 속, 피나무 속 등 다양함(Sterndale-Bennett, 2006)에도 불구하고 수피 색소의 기능에 대해서는 거의 알려져 있지 않은 상황이다. 노랑말채나무(*C. stolonifera*, syn. *C. sericea*)를 대상으로 한 연구에서 수피 안토시아닌이 가을철 강한 햇빛이 원엽록소(protochlorophyll)를 파괴하는 광 스트레스로부터 광계II(photosystem II)를 보호한다는 연구가 있다(Gould et al, 2010).

기존의 많은 연구들에서 다양한 수목의 잎과 열매 등에서 발생하는 단풍과 색소 함량의 변화에 대해서는 이미 많은 조사가 이루어져 있지만 수목의 수피에서 일어나는 현상에 대한 연구는 매우 적다. 참꽃단풍(*Acer rubrum*)와 프리만단풍(*Acer* x *freemanii*)의 8가지 원예 품종을 대상으로 수피의 안토시아닌 함량을 조사하였을 대 야간 기온이 낮을수록 수피의 안토시아닌 합성량이 늘어나는 것을 확인했다(Silbley et al., 1999). 생육 기간 중 포도의 다양한 기관에 안토시아닌 함량을 조사하고 과피와 과경에 안토시아닌 함량이 가장 높고 잎과 줄기에는 낮게 존재하는 것을 확인한 연구가 있다(Guan et al., 2012). 노랑말채나무의 수피에 안토시아닌과 기타 페놀화합물 함량의 연간 변화를 조사하여 항산화 능력을 평가한 연구에서 수피 안토시아닌 함량은 봄철에 가장 높았다가 여름에 가장 낮고 다시 가을에 늘어나는 것을 확인했다(Issak et al., 2013).

흰말채나무 등과 같이 붉은색 단풍을 보이는 경우는 대부분 안토시아닌이 합성 축적되어 나타나며(이경준, 1993), 잎, 열매, 꽃잎 등 식물체의 다양한 부분에서 안토시아닌 합성 과정에 광, 온도 등을 비롯한 여러 환경인자들이 영향을 미치는 것이 기존의 많은 연구를 통해 알려져 있다(Castaneda-Ovando et al., 2009; Chalker-Scott, 1999; Hoch et al., 2001; Lee, 2002; Ubi, 2004). 사과 과피의 안토시아닌 합성에 가장 큰 영향을 미치는 것으로 알려진 환경요인은 광이다(Lancaster, 1992; Saure, 1990). 뿐만 아니라 귤, 블루베리, 딸기, 가지, 거베라, 포인세티아 등과 같은 다양한 식물들에서 안토시아닌 합성은 광의 영향을 받아 촉진된다(Meng et al., 2004; Takos et al., 2006; Trojak & Skowron, 2017). 온도도 안토시아닌 합성에 중요한 환경요인으로(Chalker-Scott, 1999), 안개나무와 소나무를 비롯한 수목들의 잎에서 가을철 저온은 안토시아닌 합성이 촉진하는 것이 알려져 있다(Krol et al., 1995; Oren-Shamir & Levi-Nissim, 1997). 하지만 과도한 저온은 오히려 안토시아닌 생합성 능력을 감소시킨다(Christie et al., 1994).

건조 스트레스도 안토시아닌 합성을 촉진하는 것이 동부(*Vigna unguiculata*)의 유묘, *Craterostigma wilmsii*, *Xerophyta viscosa* 등과 같은 식물을 대상으로 한 실험을 통해 밝혀졌다(Balakumar et al. 1993; Sherwin & Farrant, 1998). 염분 농도가 높은 환경에서 뽕나무(*Morus alba*), 송악(*Hedera rhombea*), *Terminalia*

*catappa*의 잎, 옥수수의 뿌리 등에서 안토시아닌 농도가 높아졌다는 실험 결과(Dubé et al., 1993; Kaliamoorthy & Rao, 1994; Murray et al., 1994; Ramanjulu et al., 1993)등도 건조 스트레스가 안토시아닌 합성을 촉진한다는 사실을 간접적으로 증명한다.

토양 산도도 안토시아닌의 합성과 색상 발현에 영향을 미친다. Suzuki(1995)는 포도 품종의 세포를 대상으로 한 실험을 통해 낮은 산도에서 안토시아닌 합성이 촉진됨을 확인했다. 뿐만 아니라 안토시아닌은 산도에 따라 다른 형태의 화학적 유형으로 존재하며(Castaneda-Ovando, 2009), 이로 인해 수국 등에서 식물체 내의 산도가 안토시아닌 색상 변화에 영향을 주고 실제 꽃잎의 색상 발현에도 영향을 미치는 것이 확인하기도 했다(Yoshida et al., 2003). 이외에도 질소와 인산의 부족, 상처, 병해충 등과 같은 환경 요인의 영향으로 안토시아닌 합성이 촉진되며 제초제나 지베렐린 등과 같은 식물호르몬 등 화학물질에 의해 다양한 반응을 보인다는 것이 알려져 있다(Bongue-Bartelsman & Phillips, 1995; Dixon et al. 1994; Ferreres et al., 1997; Nemat-alla & Younis, 1995; Oren-Shamir & Nissim-levi, 1999; Rajendran et al., 1992).

식물체 내에 안토시아닌 합성에 환경인자가 미치는 영향에 대해서 잎과 열매 등에 대해서는 다양한 연구가 되어 있지만 성숙한 수목의 수피 안토시아닌 합성에 미치는 영향에 대해서는 직접적으로 확인된 경우가 드물다. 사과와 배의 유묘와 감나무의 1년생 소지에서 저온 환경 조건이 안토시아닌 합성을 촉진하는 것을 확인했고(Leng et al., 2000) *Casuarina equisetifolia*의 유묘에서 염분이 많은 환경 조건이 안토시아닌 합성을 촉진하는 것을 확인한 연구가 있다(Dutt et al., 1991).

이와 같이 흰말채나무의 수피의 색상변화에 여러 환경인자가 영향을 미칠 수 있다는 점은 흰말채나무가 주로 수피의 색상을 감상하기 위해 심는 겨울용 조경 수목이라는 점을 고려할 때 분명한 결함이 될 수 있다. 잠재적 가치가 높은 조경 수목임에도 불구하고 실제 조경 현장에서는 흰말채나무가 심어진 장소에 따라 수피 색상의 발현 정도가 다른 현상이 자주 목격되고 있어 문제로 지적된다. 이러한 문제점을 개선하기 위해서는 흰말채나무 수피에서 일어나는 색상변화 현상과 환경인자의 영향에 대한 과학적인 이해가 필수적이다.

이번 연구에서는 잎이나 다른 부위에서가 아닌 흰말채나무 수피에서 일어나는 가을철 시간 변화에 따른 안토시아닌과 엽록소, 카로티노이드 함량 변화를 종합적으로 분석하고자 했다. 이 과정에서 실제 흰말채나무 재배 현장에서 수피 색상발현에 영향을 크게 미치는 것으로 알려진 토양 습도, 토양 산도를 비롯한 환경인자가 수피 색상발현에 미치는 영향을 고찰하고자 했다.

Figure 1. Winter landscape using colorful stems of *Cornus alba, C. sanguinea,* and *C. sericea* in RBG Kew, UK.

1.2. 연구 목적

본 연구의 목적은 단풍이 드는 시기에 흰말채나무 수피에 색소 함량의 변화를 확인하고 실제 재배 환경에서 토양 습도, 상대습도, 토양 산도 등의 환경 요소들이 이 생리적인 변화에 어떤 영향을 미치는지를 파악하여 겨울용 조경수로서 흰말채나무 수피에 우수한 색상 발현을 위한 재배 조건을 찾으려는 것이다.

제2장 연 구 사

2.1. 단풍

단풍(autumn coloration)에 붉은 계열의 색상 발현은 안토시아닌의 영향을 크게 받으며(이경준, 1993), 안토시아닌은 가을철 탄수화물의 합성과 축적에 밀접한 관련이 있다.

가을철 기온이 감소함에 따라 낙엽활엽수와 낙엽성 초본식물의 잎에서는 엽록소 생성을 멈추고, 수종에 따라 안토시아닌을 신규로 합성하기 시작한다. 엽록소는 신규 생성이 멈춤과 동시에 분해되기 시작한다. 이는 질소, 인산, 칼륨, 마규네슘, 황 등 식물의 생장에 제한 요소가 될 수 있는 양문의 재활용과 관련되어 있어 중요하다(Matile, 2000). Millard와 Thomson(1989)은 사과를 대상으로 한 실험에서 가을철 재활용 질소가 봄에 잎을 생성하는데 재사용되는 것을 확인하기도 했다. 단풍 현상은 매우 능동적인 신진대사작용으로 높은 호흡 작용과 아미노산이 필요한데, 이 과정에서 60% 이상이라는 매우 높은 비율로 잎의 단백질이 재활용된다는 것이 알려져 있다(Buchanan-Wollaston, 1997; Smart, 1994).

대부분의 수목 수피에는 엽록 조직이 있으며 엽록소를 포함하고 있다. 수피 엽록소는 수피 내의 이산화탄소와 수피를 투과하여 들어온 빛을 이용하여 광합성을 하고 당과 단수화물을 생산한다. 이 과정에서 수피 내 이산화탄소를 재고정하여 60~90%의 탄소 손실을 줄여준다. 또한 수피 광합성을 통해 생성된 산소는 수피 내 산소부족 현상을 줄이는데 중요한 역할을 할 것으로 본다(Pfanz et al., 2002).

가을철 단풍 현상으로 잎의 엽록소는 분해된 후 낙엽과 함께 잔여 엽록소들이 유실되지만 수피 엽록소는 남아서 겨울철 광합성에 기여하기도 한다. 처진자작나무(*Betula pendula*)의 수피에는 약 0.5~0.8 mg(gFW)$^{-1}$의 엽록소가 연중 존재하며 잎에서와 비슷한 계절적인 함량 변화를 보이며 수피 광합성은 초기의 빠른 생장에 기여할 것으로 알려져 있다(Kauppi, 1991). Coe와 Maclaughlin(1980)은 미국산딸나무(*Cornus florida*), 참꽃단풍, 미국흰참나무(*Quercus alba*), 백합나무(*Liriodendron tulipifera*) 등 4종의 낙엽활엽수를 대상으로 한 실험에서 수피 엽록소가 겨울철 광합성에 기여하는 것을 확인하기도 했다.

가을철 엽록소가 분해되면서 엽록소에 가려 보이지 않던 카로티노이드, 잔토필 등과 새롭게 생성된 안토시아닌 등과 같은 색소가 드러나게 된다(Dean et al., 1993). 수종에 따라서는 엽록소와 함께 카로티노이드도 분해되고 새로운 카로티노이드가 합성되기도 한다. 미국층층나무를 비롯하여 참꽃단풍, 설탕단풍(*A. saccharum*), 미국물푸레나무(*Fraxinus americana*), 세로티나벚나무(*Prunus*

serotina), 루브라참나무(*Quercus rubra*), 블루베리(*Vaccinium corymbosum*) 등의 잎에서 단풍이 드는 과정에 카로티노이드가 분해되는 것이 알려져 있다(Lee et al., 2003). 이 과정에서 녹색 엽록소의 분해, 황색 카로티노이드의 발현, 적색 안토시아닌의 생성이 다양한 양상으로 나타나며 그 결과 다양한 황색, 주황색, 진홍색, 보라색, 적색 등 다양한 단풍이 생겨나게 된다(Pallardy & Kozlowski, 2008).

2.2. 안토시아닌

안토시아닌은 안토시아니딘이라고 부르는 환상화합물과 다양한 당류의 결합을 통해 만들어지는 글리코사이드다. 물에 잘 녹으며 주로 액포 내 수액에 존재한다. 식물체의 안토시아닌 함량은 일차적으로 그 식물체가 유전적으로 보유한 안토시아닌 합성 능력을 따르지만 환경 요소의 영향 또한 크게 받는다(Pallardy & Kozlowski, 2008).

안토시아닌에 의한 색상발현에 대해 처음 설명된 것은, Pauling(1939)이 안토시아닌의 한 종류인 플라빌륨 이온의 공명 구조가 안토시아닌 종류들의 다양한 색상을 발현한다고 주장을 하면서부터다(Wrolstad et al.,2005). 그 후 현재까지 500여 가지 이상의 안토시아닌과, 23가지 안토시아니딘이 자연에 존재하는 것이 밝혀져 있다(Jordheim et al, 2007; Kong et al., 2003; Rein, 2005).

관속식물에 가장 흔하게 존재하는 것은 cyanidin, delphinidin, pelargonidin, peonidin, petunidin, malvidin 등 6가지 안토시아닌이다(Clifford, 2000). 그 중 특히 비메틸 안토시아니딘의 글리코사이트 파생물인 cyanidin, delphinidin, pelargonidin이 가장 많이 존재하며, 잎 색소의 80%, 과일의 69%, 꽃의 50%에서 발견된다(Dey & Harborne, 1993). 가장 흔한 안토시아닌은 cyanidin-3-glucoside다(Kong et al., 2003). 자연 상태에서 안토시아닌 종류가 매우 다양하기 때문에 복잡하다(Castaneda-Ovando et al., 2009).

식물체 내에 안토시아닌 합성 과정에 광, 온도, 건조, 염분, 질소 부족, 인산 부족, 상처, 병해충 등 여러 환경인자들이 영향을 미치는 것이 기존의 많은 연구를 통해 알려져 있다(Castaneda-Ovando et al., 2009; Chalker-Scott, 1999; Hoch et al., 2001; Lee, 2002; Ubi, 2004).

안토시아닌 합성 촉진과 관련하여 가장 많이 연구된 환경 인자는 광이며, 특히 파장에 따른 자외선, 가시광선, 적외선에 의한 영향에 대한 것이다(Chalker-Scott, 1999). 사과 과피의 안토시아닌 합성에 가장 큰 영향을 미치는 것으로 알려진 환경 요인은 광이다(Lancaster, 1992; Saure, 1990). 뿐만 아니라 귤, 블루베리, 딸기, 가지, 거베라, 포인세티아 등과 같은 다양한 식물들에서 안토시아닌 합성은 광의

영향을 받아 촉진된다(Meng et al., 2004; Takos et al., 2006; Trojak & Skowron, 2017). 광에 의해 안토시아닌 합성이 촉진된다는 것은 암조건에서 안토시아닌 생성이 저해된다는 사실을 통해 역으로 증명된다(Camm et al., 1993; Dong et al., 1998). 무수히 많은 실험을 통해 광에 의해 안토시아닌 생성이 촉진된다는 것이 증명되었지만, 실제 광수용기의 반응에 대해서는 아직 명확히 밝혀지지 않았다(Chalker-Scott, 1999).다만 Mol 등(1996)은 피토크롬과 다른 광수용기가 안토시아닌 생합성에 관여하는 것으로 보았다.

온도도 안토시아닌 합성에 중요한 환경요인이다(Chalker-Scott, 1999). 안개나무와 소나무를 비롯한 수목들의 잎에서 가을철 저온은 안토시아닌 합성이 촉진하는 것이 알려져 있다(Krol et al., 1995; Oren-Shamer & Levi-Nissim, 1997). 포도 열매를 대상으로 한 실험에서 밤에 고온 조건이 안토시아닌 생성을 저해하고 저온 조건에서 촉진되는 것이 확인되었다(Mori et al., 2005). 하지만 과도한 저온은 오히려 안토시아닌 생합성 능력을 감소시킨다(Christie et al., 1994). 저온이 안토시아닌 합성을 촉진하는 기작에 대해서는 빛과 마찬가지로 명확히 알려져 있지 않다(Mol et al., 1996)

건조 스트레스도 안토시아닌 합성을 촉진하는 것이 동부의 유묘, *Craterostigma wilmsii, Xerophyta viscosa* 등과 같은 식물을 대상으로 한 실험을 통해 밝혀졌다(Balakumar et al. 1993; Sherwin & Farrant, 1998). 염분 농도가 높은 환경에서 뽕나무, 송악, *Terminalia catappa*의 잎, 옥수수의 뿌리 등에서 안토시아닌 농도가 높아졌다는 실험 결과(Dubé et al., 1993; Kaliamoorthy & Rao, 1994; Murray et al., 1994; Ramanjulu et al., 1993)등도 건조 스트레스가 안토시아닌 합성을 촉진한다는 사실을 간접적으로 증명한다. 건조 스트레스 조건이 안토시아닌 생합성을 촉진하는 기작에 대해서도 아직 명확히 알려져 있지 않다(Gonzalez-Villagra et al., 2017). 다만, 일부 분자 수준의 연구에 따르면 건조 스트레스 조건이 안토시아닌 생합성 경로와 관련된 Flavanone 3-hydroxylase, Flavonoid 3′,5′-hydroxylase, DFR, UDP-glucose:flavonoid 3-O-glucosyl transferase, O-methyl-transferase 등과 같은 몇몇 핵심적인 유전자의 발현에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Andre et al., 2009; Giordano et al., 2016).

토양 산도도 안토시아닌의 합성과 색상 발현에 영향을 미친다. Suzuki(1995)는 포도 품종의 세포를 대상으로 한 실험을 통해 낮은 산도에서 안토시아닌 합성이 촉진됨을 확인했다. 뿐만 아니라 안토시아닌은 산도에 따라 다른 형태의 화학적 유형으로 존재하며(Castaneda-Ovando, 2009), 이로 인해 수국 등에서 식물체 내의 산도가 안토시아닌 색상 변화에 영향을 주고 실제 꽃잎의 색상 발현에도 영향을 미치는 것이 확인하기도 했다(Yoshida et al., 2003).

이외에도 질소와 인산의 부족, 상처, 병해충 등과 같은 환경 요인의 영향으로

안토시아닌 합성이 촉진되며 제초제나 지베렐린 등과 같은 식물호르몬 등 화학물질에 의해 다양한 반응을 보인다는 것이 알려져 있다(Bongue-Bartelsman & Phillips, 1995; Dixon et al. 1994; Ferreres et al., 1997; Nemat-alla & Younis, 1995; Oren-Shamir & Nissim-levi, 1999; Rajendran et al., 1992).

2.3. 흰말채나무

흰말채나무는 층층나무과 말채나무 속의 작은키나무로 일본, 중국, 몽골과 평안북도, 함경북도 등지에 자생하며 남한에는 자생지가 없다(이창복, 2003). 울타리용이나 경계식재용으로 유용해 조경용 수목으로 대량으로 인공 증식하여 널리 이용한다(김용식, 2014). 말채나무 속에는 전 세계적으로 약 60여종이 있다. 대부분 낙엽성 교목과 관목이며 일부 초본과 상록성 관목을 포함하고 있다(Dorling, 2016).

말채나무 속 식물에 대한 연구는 주로 식용 및 약용으로 쓰이는 열매에 초점을 맞추어 이루어졌다. 특히 유럽과 아시아의 많은 나라에서 오랫동안 민속의약으로 오랫동안 활용된 마스산수유(*Cornus. mas*)와 산수유(*C. officinalis*)에 대한 연구가 대표적이다(Dinda et al., 2016; Huang et al., 2017). 마스산수유에서는 열매와 잎 등에서 안토시아닌, 플라보노이드, 이리도이드 등을 비롯한 101가지 화합물이 검출되었고 이 성분들은 항균, 항당뇨, 항동맥경화, 항심부전 등의 효과를 확인하는 등 무수히 많은 연구가 이루어졌다(Hosseinpour-Jaghdani et al., 2017). 산수유에서는 플라보노이드, 탄닌, 이리도이드, 트리테르펜, 모노테르펜, 유기산, 페놀산 등 약 300여종의 화합물이 추출되었고 간 보호, 신장 보호, 항당뇨 등 의약적 효능이 많은 연구를 통해 확인되었다(Huang et al., 2017).

이들 수목뿐만 아니라 층층나무(*C. controversa*), 산딸나무(*C.kousa*), 미국산딸나무(*C. florida*), 흰말채나무, 풀산딸나무(*C. canadensis*), *Cornus suecica* 등 같은 속에 속하는 다양한 수종 열매의 성분과 효과에 대한 실험이 다수 이루어졌다(Isaak et al., 2013). quercetin과 kaempferol(Pawlowska et al., 2010), cyanidin(Seeram et al., 2002), delphinidin(Vareed et al., 2005), pelagonidin(Du et al., 1974) 등 다양한 성분이 흰말채나무속의 열매에서 발견되었다.

반면 말채나무속 식물의 잎이나 수피를 대상으로 한 연구는 상대적으로 드물게 이루어졌다. Mudry와 Schilling(1983)은 미국산딸나무의 잎에서 캠퍼롤과 퀘르세틴을 추출하였다. 흰말채나무 잎과 수피로부터 Cyanidin 3-galactosides가 추출한 연구와(Bjorøy et al. 2007), 노랑말채나무로부터 퀘르세틴, 루틴, 안토시아닌 등 다양한 페놀화합물을 추출하고 항산화 능력을 확인한 연구가 있다(Isaak et al.,

2013). Coe와 Maclaughlin(1980)은 미국산딸나무를 비롯한 4종의 낙엽활엽수를 대상으로 한 겨울철 수피광합성에 대한 실험에서 수피에 엽록소 함량의 계절적 변화와 다양한 광량에 따른 이산화탄소 흡수량 등을 조사하고 미국산딸나무의 수피는 무게를 기준으로 할 때 잎의 광합성 능력의 10%에 해당하는 광합성 능력을 가지고 있음을 확인하기도 했다.

제3장 재 료 및 방 법

3.1.연구 대상지 및 재료

3.1.1. 대상지

본 실험에서는 실험 대상 식물인 흰말채나무 '아우레아'(*C. alba* 'Aurea')가 한 지역 안에서 토양 습도가 다른 환경 조건에 동시에 식재된 대상지를 선정하였다. 한 지역 안에서도 연못 주변과 건조한 나대지 등과 같이 이 식물 수피의 색상 발현에 영향을 미치는 주요한 요인으로 삼은 토양 습도, 상대습도 등이 서로 명확히 차이가 날 것으로 예상되는 장소에 대상 식물이 동시에 심어진 사례를 찾아 비교 분석하였다. 아울러 안토시아닌 생합성에 가장 크게 영향을 미치는 환경 인자 중 하나로 알려진 광(Rabino, 1986)에 의한 영향을 제어하고자 낮 시간에 전혀 그늘이 들지 않는 경우로 제한하였다.

대상지로 충청남도 태안군에 위치한 천리포수목원(Chollipo Arboretum, CLP; 36°47′56.98″N, 126°9′1.3″E)과 경기도 포천시에 위치한 평강식물원(Pyoung Gang Botanic Garden, PG; 38°3′59″N, 127°18′18″E)을 선정했다. Table 1에서 보는 것과 같이 CLP와 PG에서 연못 주변에 식재되어 토양 습도가 높은 것으로 예상되는 군락을 CLP1와 PG1, 반대로 낮은 것으로 예상되는 곳은 CLP2와 PG2로 정하였다.

Table 1. Information of test sites.

Test site		Light	Location	Soil moisture (Expected *)
CLP	CLP1	full-sun	around a pond	wet
	CLP2	full-sun	arid area	dry
PG	PG1	full-sun	around a pond	wet
	PG2	full-sun	arid area	dry

* Soil moisture was not measured before the experiment. During the test, it was measured and the expectation was proved.
CLP, Chollipo Arboretum; PG, Pyung Gang Botanic Garden.

Figure 2. View of test sites. (A) CLP1; (B) CLP2; (C) PG1; (D) PG2.

3.1.2. 연구 재료

연구 재료는 흰말채나무 중에서도 잎 전체에 황금색 무늬가 있는 품종, '아우레아'(*C. alba* 'Aurea')를 대상으로 하였다(Figure 3). 흰말채나무 경우 삽목을 통한 증식 성공률이 매우 높고 목본식물의 변이 품종은 무성 생식으로 증식시킨다는 점(Dirr, 1990)을 고려할 때 시중에 유통하는 흰말채나무 '아우레아'는 유전적으로 거의 동일한 클론 개체들이라고 가정하였다.

Figure 3. *Cornus alba* 'Aurea'. (A) leaves in Jun; (B) stems in August.

본 연구는 가을철 흰말채나무 수피에 발생하는 색소 함량의 변화를 관찰하는 것이 목적이므로 8월부터 10월까지를 대상으로 하였다. 8월부터 10월까지 격주 간격(둘째 주와 넷째 주)으로 월 2회씩 시료를 채집하였다.

CLP1, CLP2, PG1, PG2 모든 군락에는 식재한 지 5년 이상 된 흰말채나무 '아우레아'가 각 군락마다 3~6주 이상 자라고 있다. 각 군락을 3등분하고 각 등분마다 매번 채집 시 무작위로 3개씩 가지를 채취하였다. 흰말채나무는 당년에 자란 가지가 색상이 가장 선명하고 발현이 잘 되는 점을 고려하여(김종근 등, 2014), 모두 당년에 자란 1년생 어린가지를 위에서부터 30㎝까지만 채집하였다. 채집한 가지들은 채집 후 예리한 칼로 수피만 벗겨 진공포장한 후 -18℃ 이하의 조건에서 보관하였다.

3.2. 환경

3.2.1. 토양 습도, 상대습도, 온도

각 실험 장소마다 10HS Soil Moisture Smart Sensor(Onset S-SMD-M005, Bourne, MA, USA)와 12-Bit Temperature/RH Smart Sensor(Onset S-THB-M002, Bourne, MA, USA), Solar Radiation Sensor를 호보기상스테이션(Micro Station Data Logger, Bourne, MA, USA)을 1기씩 설치하여 조사 기간 동안 1분 간격으로 온도, 토양 습도, 상대습도 정보를 기록하였다.

3.2.2. 토양 산도

2020년 10월 둘째 주 주말에 각각의 사이트별로 표토를 제거한 후 뿌리 부분이 주로 위치하는 토심 30㎝까지의 토양을 취하였다. 풍건 후 토양 시료 10g을 100mL 삼각플라스크에 담고 증류수 50mL을 더한(토양:증류수=1:5) 다음, 파라필름으로 밀봉한 후 교반기로 30분간 교반(rpm=180)하고 30분간 정치한 후 pH 미터로 토양 산도를 측정하였다.

3.3. 색소 함량 변화 조사

3.3.1. 엽록소 및 카로티노이드 함량

채집 후 냉동 보관하였던 수피 70mg을 잘게 잘라 10mL DMSO (dimethyl sulfoxide) 용액이 든 갈색 10mL 유리병에 넣고 65℃로 설정된 항온기에서 5시간 중탕하여 색소를 추출하였다(Hiscox & Israelstam, 1979). 추출한 용액은 분광광도계(wavelength range 190~1100nm, spectral bandpass width < 1nm, wavelength accuracy < ± 0.5nm; Optizen 2120 UV, Mecasys, Daejeon, Korea)를 이용하여 665nm, 649nm, 470nm의 파장에서 흡광도를 측정하고, Wellburn(1994)의 식에 따라 엽록소a, b, a+b, 총 카로티노이드 함량을 산출하였다.

Chlorophyll a content ($\mu g ml^{-1}$) = 12.47 A_{665nm} - 3.62 A_{649nm}

Chlorophyll b content ($\mu g ml^{-1}$) = 25.06 A_{649nm} - 6.5 A_{665nm}

Total chlorophyll content ($\mu g ml^{-1}$) = 21.44 A_{649nm} + 5.97 A_{665nm}

Total Carotenoid content ($\mu g ml^{-1}$) = (1000 A_{480nm} - 1.29 C_a - 53.78 C_b)/220

3.3.2. 총 안토시아닌 함량

액체질소로 차가워진 막자사발에 시료 80mg을 간 후 미리 혼합하여 준비한 추출용액(acetone:증류수:glacial acetic acid=49.5:50:0.5) 1mL을 담은 2mL 튜브에 넣고 20분간 초음파처리를 한 후 10분간 원심분리(15℃, 15,000rpm)한 다음 상층액만을 뽑아 0.2μm syringe nylon filter로 걸러내어 안토시아닌 추출액을 준비하였다.

총 안토시아닌 함량은 pH differential method를 이용하여 측정하였다(Giusti & Wrolstad, 2001). 앞서 추출한 용액 0.1mL를 0.025M potassium chloride buffer(pH 1.0)와 0.4M sodium acetate buffer(pH 4.5) 0.9mL에 각각 혼합하여 520nm, 700nm의 파장에서 분광광도계로 흡광도를 측정하였다. 총 안토시아닌 함량을 아래 식으로 계산하였다.

Total anthocyanin content (μgml-1) = (A x MW x DF x 1,000)/ε x 1

A (Absorbance)=(A_{510nm} - A_{700nm})pH 1.0 - (A_{510nm} - A_{700nm})pH 4.5

MW (Molecular weight of cyanidine-3-glucoside)=449.2

DF (Dilution factor)=시료 희석배수

Figure 4. Determination of total anthcyanin content using the pH differential method.

3.3.3. 안토시아닌 성분

Nyman과 Kumpulainen(2001)의 실험 방법을 참조하여 시료로부터 가수분해한 안토시아닌 성분을 추출하였다. 가위로 잘게 자른 시료 50mg을 2M HCl in methanol 용액 6mL이 들어 있는 10mL유리병에 넣고 90℃로 설정된 항온기에서 50분 동안 중탕하여 추출하였다.

식물체에서 안토시아닌은 대개 pelargonidin, cyanidin, delphinidin의 3가지 형태로 추출이 되며(Jaakola, 2013), 여기에 petunidin, pepeonidin, malvidin을 더해 이상의 6가지가 가장 대표적인 안토시아닌 종류다(Chung, 2016). 이 점을 고려하여 이 6가지 안토시아닌 성분(aglycon 형태)을 Cayman사로부터 구입하고 그것을 기준 물질로 하여 앞서 가수분해하여 추출한 용액을 서울대학교 농생명과학공동기기원(NICEM)에 HPLC분석 의뢰하였다.

3.4. 통계 분석

본 실험에서는 특정 변수를 시간에 따라 여러 번 측정하였으므로 실험의 결과값에 대해서는 이원반복측정분산분석(Two-way repeated measures ANOVA)을 사용하여 통계분석을 실시하였고, 실험 장소들 간에 환경 정보의 차이에 대해서는 대응표본T-test(Paired T-test)를 사용하여 분석하였다. 분석프로그램은 IBM SPSS Statistics을 사용하였다. 유의 수준은 $P < 0.05$으로 설정하였다.

제4장 결 과

4.1.환경

4.1.1. 토양 습도 변화

CLP에 실험 대상지 두 곳의 토양 습도의 변화는 Figure 5(A)에서와 같았다. CLP1과 CLP2의 토양 습도를 비교하면, 조사 기간 내내 CLP1이 계속 높았다(P = 0.001). 두 장소 간의 토양 습도 차이는 평균 0.162 ± 0.033㎥/㎥ CLP1이 높았다.

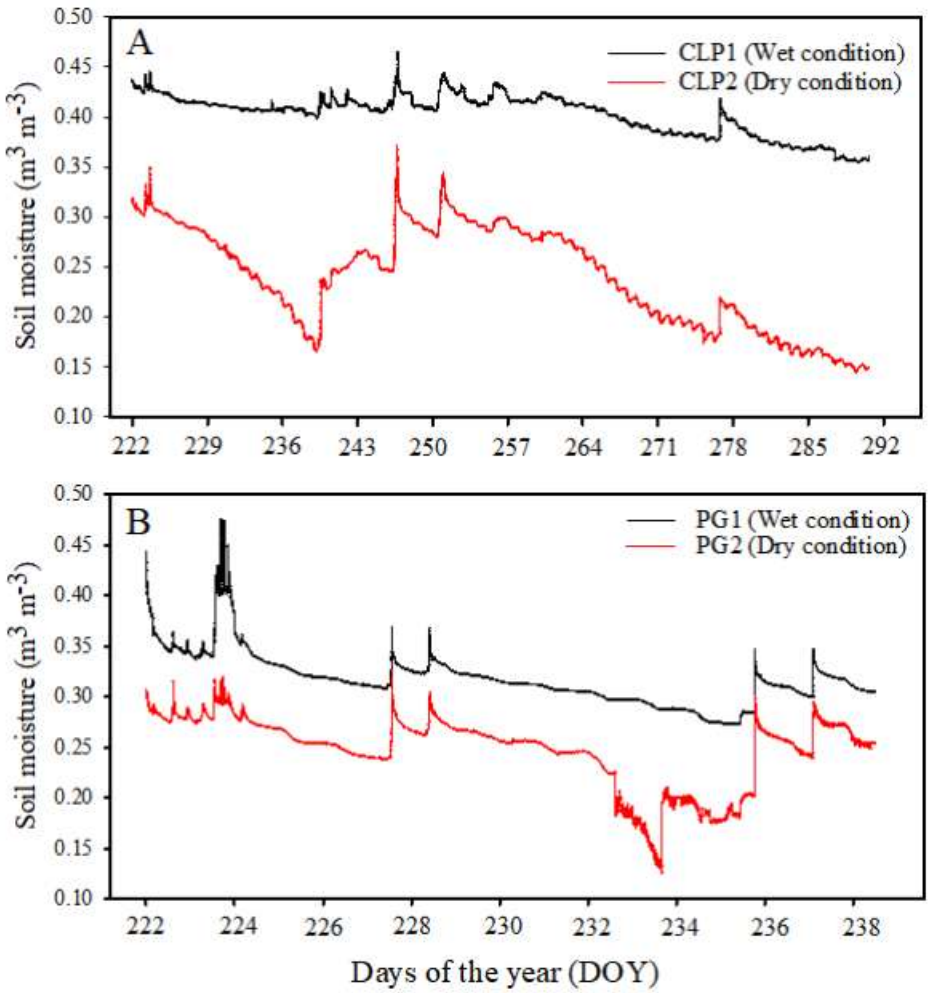


Figure 5. Soil moisture change in (A) CLP and (B) PG.

이전 14일 동안 비가 오지 않았던 2020년 8월 26일 오후 21시경 두 장소의 토양 습도의 차이가 0.232 ± 0.001㎥/㎥로 가장 컸다. 일강수량 70.8㎜ 비가 내린 직 후인 2020년 9월 3일 오전 3시경 두 장소의 토양 습도의 차이가 0.1 ± 0.014㎥/㎥로 가장 작았다.

PG에 실험 대상지 두 곳의 토양 습도의 변화는 Figure 5(B)에서와 같았다. 현장의 여건 상 PG에서 환경 정보는 2020년 8월 9일부터 2020년 8월 25일까지만 기록할 수 있었다. 따라서 9월과 10월로 이어지는 계절적인 환경의 변화를 기록할 수는 없었다. PG1과 PG2의 토양 습도는 조사 기간 내내 PG1이 계속 높았으며(P = 0.001), 두 장소의 토양 습도 차이는 평균 0.069 ± 0.021㎥/㎥이었다.

4.1.2. 상대습도 변화

CLP에 실험 대상지 두 곳의 일평균 상대습도의 변화는 Figure 6에서와 같았다. 조사 기간 동안 CLP1의 일평균 상대습도는 평균 90.823 ± 9.522%였고 CLP2는 평균 87.544 ± 11.402%였다. CLP1의 일평균 상대습도가 CLP2보다 평균 3.279 ± 2.836% 높았다(F = 0.001). 이전 18일 동안 비가 내리지 않은 2020년 10월 5일 두 장소의 상대 습도의 차이가 10.807 ± 4.466%로 가장 컸다.

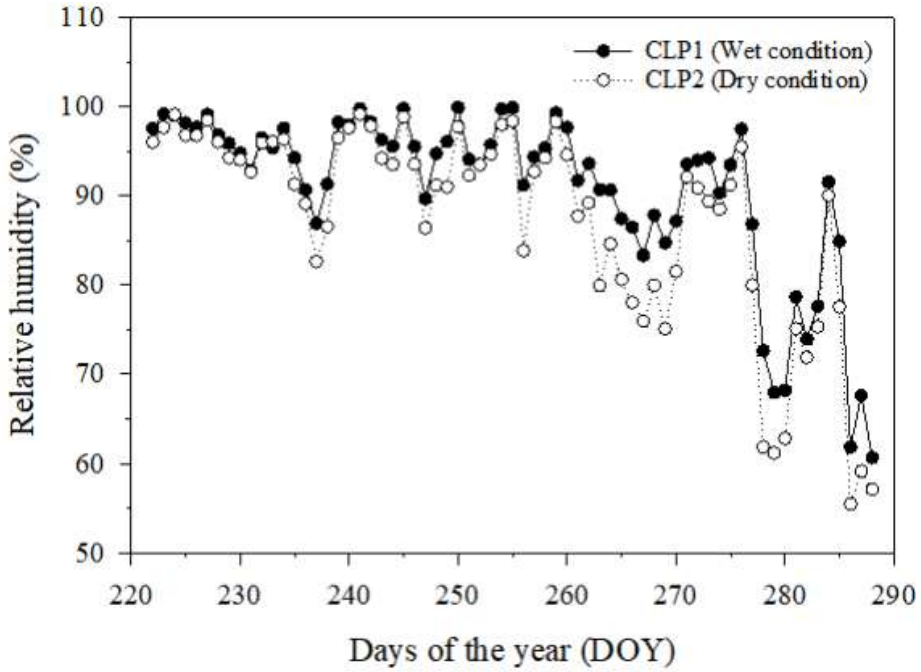


Figure 6. Relative humidity change in CLP.

PG에 실험 대상지 두 곳의 상대습도의 변화는 Figure 7에서와 같았다. 조사 기간 동안 PG1의 일평균 상대습도는 평균 96.205 ± 2.386% 였고 PG2는 평균 94.991 ± 2.831%였다. PG1의 상대습도가 PG2보다 평균 1.213 ± 0.58% 높았다(F = 0.001).

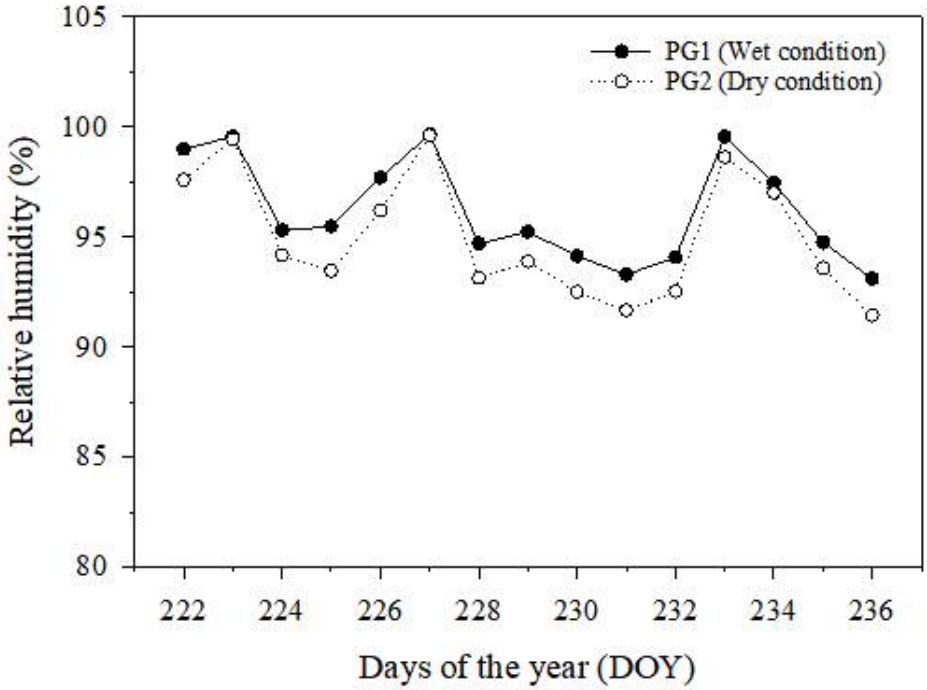


Figure 7. Record of relative humidity in PG.

4.1.3. 온도 변화

CLP에 실험 대상지 두 곳의 온도의 변화는 Figure 8(A)에서와 같았다. 8월에서 10월로 시간이 지남에 따라 CLP1에서 온도는 8월 평균 26.182 ± 0.893℃에서 10월 평균 16.434 ± 1.888℃으로 점진적으로 낮아졌다. CLP2에서 온도는 8월 평균 26.3 ± 1.023℃에서 10월 평균 16.543 ± 1.857℃으로 점진적으로 낮아졌다.

PG에서의 온도변화는 Figure 8(B) 에서와 같다. 조사 기간 동안 PG1에서의 일평균 기온의 평균은 23.553 ± 1.181℃이었고 PG2에서는 평균은 23.738 ± 1.160℃이었다.

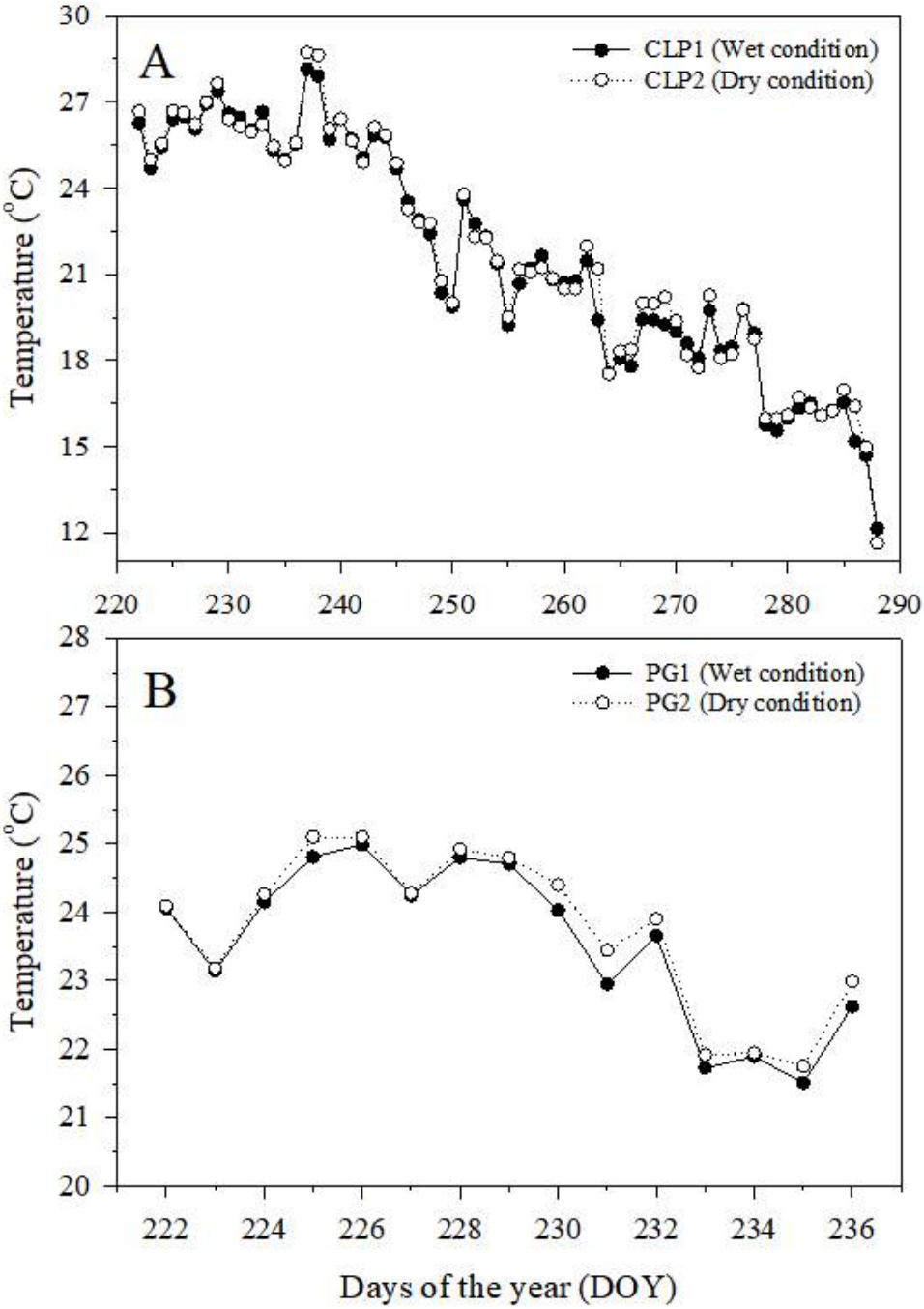


Figure 8. Temperature change in (A) CLP and (B) PG

4.1.4. 토양 산도

조사 대상지의 토양 산도는 Table 2와 같았다. CLP와 PG 두 장소 모두에서 연못 주변인 CLP1 (pH 5.62)와 PG1 (pH 5.46)에서 약산성 혹은 산성을 띠었다. 반면 CLP2 (pH 6.67)와 PG2 (pH 7.4)에서는 중성에 가까웠다.

Table 2. Soil pH in CLP and PG.

Test Site		Soil pH
CLP	CLP1	5.62
	CLP2	6.67
PG	PG1	5.46
	PG2	7.40

4.2. 엽록소 및 카로티노이드 함량

4.2.1. CLP에서의 총 엽록소 및 카로티노이드 함량의 변화

CLP에 식재된 흰말채나무의 수피로부터 채취한 시료에서 분석한 엽록소 a와 엽록소 b의 함량을 합산한 총 엽록소 함량의 변화는 Figure 9(A)에서와 같다. 토양 습도가 높은 환경인 CLP1에 식재된 흰말채나무의 수피에서의 총 엽록소 함량은 8월 둘째 주 0.889 ± 0.129mg/g에서 10월 넷째 주 0.607 ± 0.032mg/g으로 점진적으로 감소하는 경향을 보였다. 토양 습도가 낮은 환경인 CLP2에 식재된 흰말채나무의 수피에서의 총 엽록소 함량은 8월 둘째 주 0.998 ± 0.04mg/g에서 10월 넷째 주 0.594 ± 0.02mg/g으로 점진적으로 감소하였다.

CLP1과 CLP2 두 장소에 식재된 흰말채나무 수피에서의 총 엽록소 함량 값을 비교하면 9월 4주차 이후 서로 큰 차이 없이 감소하는 경향을 보였다(P = 0.842).

CLP에 식재된 흰말채나무 수피의 엽록소 a와 엽록소 b 함량의 변화는 각각 Figure 9(B)와 9(C)에서와 같으며 Figure 9(A)에서와 비슷한 경향으로 변화하였다.

CLP에 식재된 흰말채나무의 수피로부터 채취한 시료에서 분석한 총 카로티노이드 함량은 Figure 9(D)에서와 같다. 토양 습도가 높은 환경인 CLP1에서 총 카로티노이드 함량이 8월 둘째 주 0.283 ± 0.034mg/g에서 10월 넷째 주 0.142 ± 0.011mg/g으로 점진적으로 감소하였다. 토양 습도가 낮은 환경인 CLP2에서는 8월

둘째 주 0.320 ± 0.018mg/g에서 10월 넷째 주에는 0.131 ± 0.005mg/g으로 감소하였다.

두 장소에 식재된 흰말채나무 수피의 총 카로티노이드 함량의 변화를 비교하면 CLP2에서보다 CLP1에서 카로티노이드 함량이 높은 경향을 보였지만 통계적으로 유의미하지는 않았다(P = 0.792).

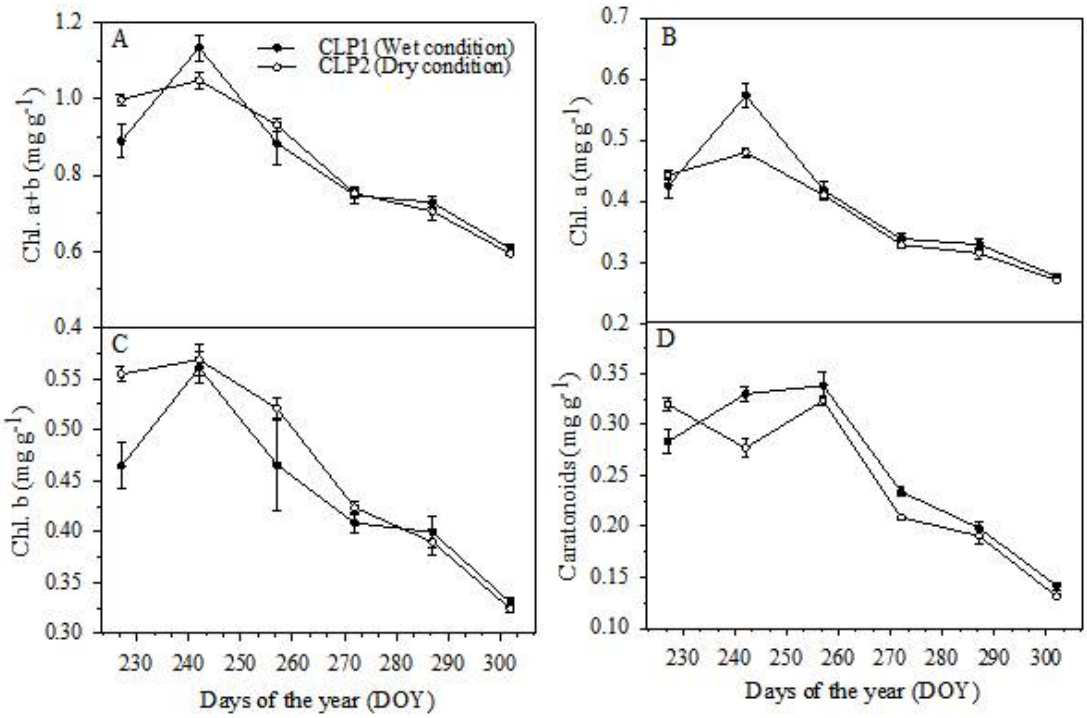


Figure 9. Changes of chlorophyll and carotenoid contents in the bark of *Cornus alba* in CLP from the 2nd week of August to the 4th week of October(n=9). (A) total amount of chlorophyll a + chlorophyll b; (B) total amount of chlorophyll a; (C) total amount of chlorophyll b; (D) total amount of carotenoid.

4.2.2. PG에서의 총 엽록소 및 카로티노이드 함량 변화

PG에 식재된 흰말채나무의 수피로부터 채취한 시료에서 분석한 엽록소 a와 엽록소 b의 함량을 합산한 총 엽록소 함량의 변화는 Figure 10(A)에서와 같다. 토양 습도가 높은 환경인 PG1에서는 조사를 시작한 8월 둘째 주 0.979 ± 0.03mg/g에서 10월 넷째 주에 0.613 ± 0.122mg/g으로 38.2% 감소하였다. 또한 PG2에서는 8월 둘째 주 1.126 ± 0.113mg/g에서 10월 넷째 주 0.657 ± 0.017mg/g으로 41.7% 감소하였다.

두 장소에 식재된 흰말채나무 수피에서의 총 엽록소 함량 값을 비교하면 조사

기간 동안 서로 큰 차이 없이 점진적으로 감소하는 경향을 보였다(P = 0.214).

PG1과 PG2에 식재된 흰말채나무 수피에 엽록소 a와 엽록소 b 함량의 변화는 각각 Figure 10(B)와 10(C)에서와 같으며 Figure 10(A)에서와 비슷한 경향으로 변화하였다.

PG에서 채취한 시료에서 분석한 총 카로티노이드 함량은 Figure 10(D)에서와 같다. PG1에서 8월 둘째 주 0.280 ± 0.040mg/g에서 10월 넷째 주 0.198 ± 0.012mg/g으로 점진적으로 감소하였다. PG2에서는 8월 둘째 주 0.289 ± 0.008mg/g에서 10월 넷째 주에는 0.206 ± 0.011mg/g으로 점진적으로 감소하였다. 8월 넷째 주 이후 PG1과 PG2에서 큰 차이 없이 점진적으로 감소하는 경향을 보였다(P = 0.221).

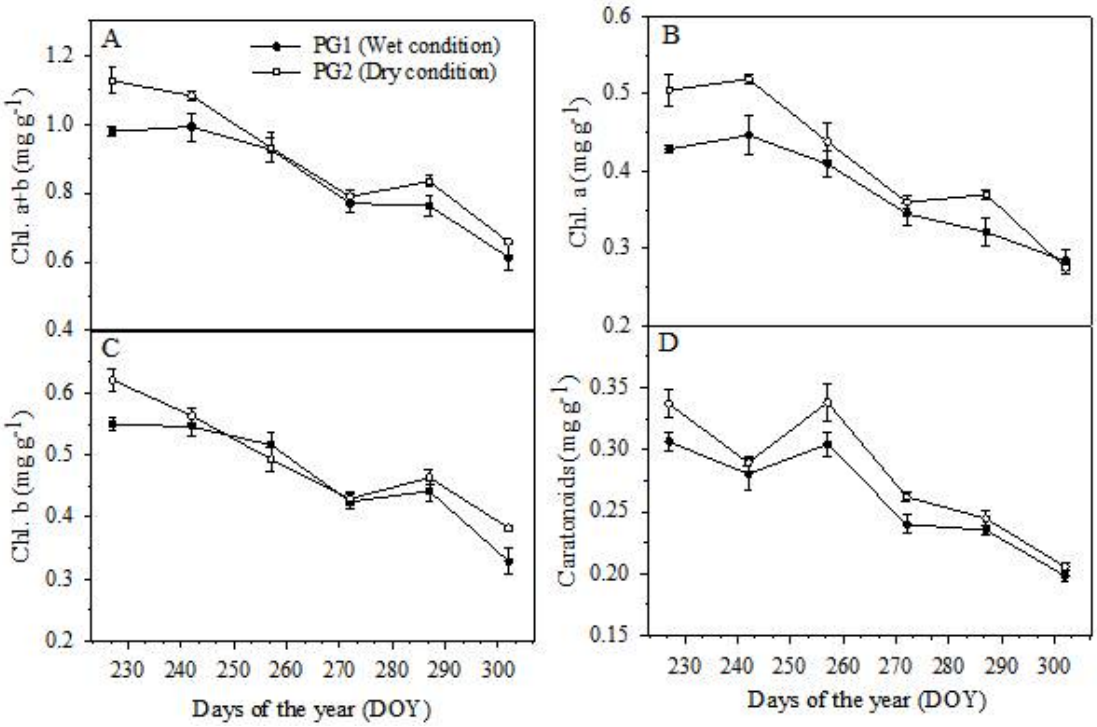


Figure 10. Changes of chlorophyll and carotenoid contents in the bark of *Cornus alba* in PG from the 2nd week of August to the 4th week of October. (A) total amount of chlorophyll a + chlorophyll b; (B) total amount of chlorophyll a; (C) total amount of chlorophyll b; (D) total amount of carotenoid.

4.3.총 안토시아닌 함량

4.3.1.CLP에서의 총 안토시아닌 함량 변화

CLP에 식재된 흰말채나무의 총 안토시아닌 함량의 변화는 Figure 11(A)에서와 같다. CLP1과 CLP2 두 장소 모두에서 9월 둘째 주까지는 안토시아닌이 검출되지 않았다. 두 장소 모두 9월 넷째 째 주부터 추출되기 시작했는데 CLP1에서는 10월 넷째 주부터 본격적으로 검출되었다.

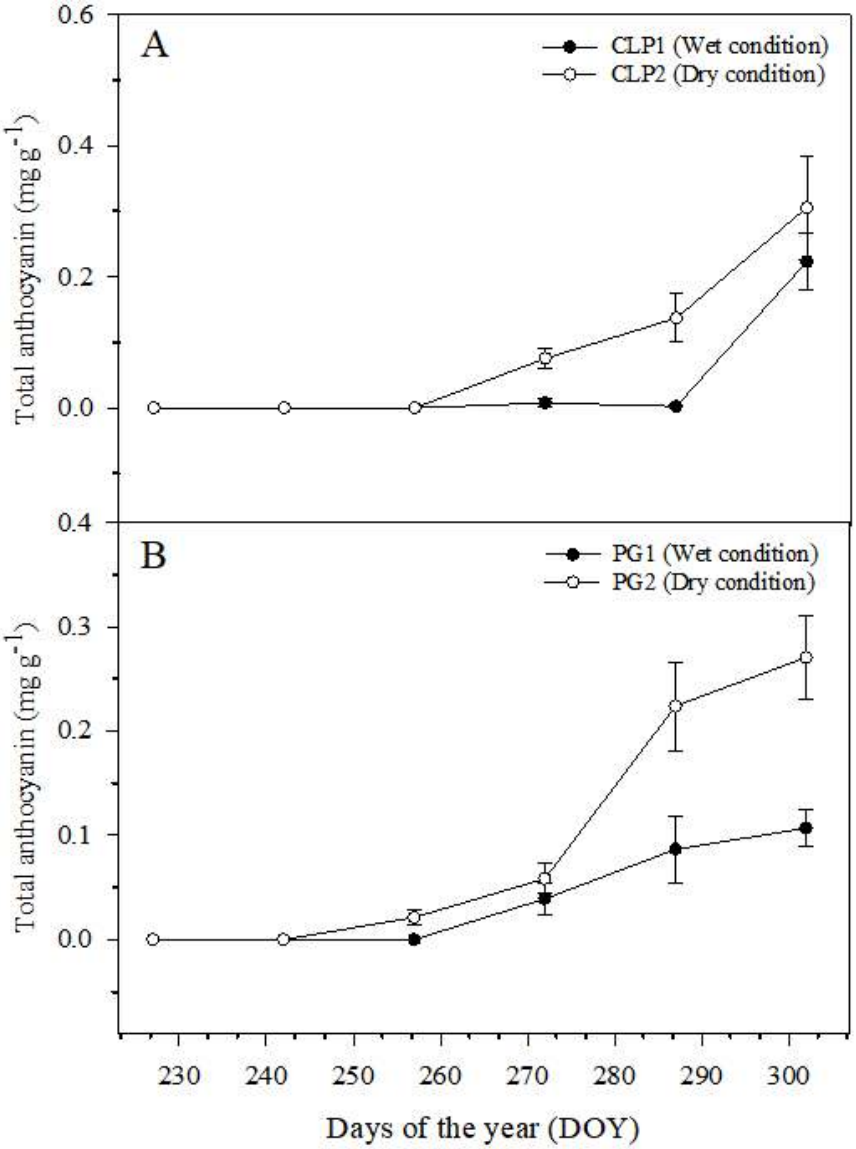


Figure 11. Changes of total anthocyanin contents in the bark of *Cornus alba* in (A) CLP and (B) PG.

CLP1에서는 9월 넷째 주 0.008 ± 0.017mg/g에서 10월 넷째 주 0.223 ± 0.131mg/g으로 점진적으로 증가하였다. CLP2에서는 9월 넷째 주 0.076 ± 0.044mg/g에서 10월 넷째 주 0.306 ± 0.238mg/g으로 점진적으로 증가하였다.

두 장소 간의 총 안토시아닌 함량의 차이는 시간에 따라 차이가 있었다(P = 0.043). CLP2의 총 안토시아닌 함량이 CLP1보다 0.1%의 유의확률로 차이를 보였다(P = 0.069).

4.3.2. PG에서의 총 안토시아닌 함량 변화

PG에 흰말채나무의 총 안토시아닌 함량의 변화는 Figure 11(B)에서와 같다. PG1과 PG2 두 장소 모두에서 8월 넷째 주까지는 안토시아닌이 검출되지 않았다가 9월 둘째 주에 PG2에서 먼저 추출되기 시작했다. PG1에서는 9월 넷째 주부터 추출되기 시작했다.

PG1에서는 9월 넷째 주부터 10월 넷째 주까지 두 주 간격으로 0.039 ± 0.047mg/g, 0.087 ± 0.095mg/g, 0.107 ± 0.055mg/g으로 점진적으로 증가하였다. PG2에서는 9월 넷째 주부터 10월 넷째 주까지 두 주 간격으로 0.021 ± 0.02mg/g, 0.058 ± 0.044mg/g, 0.224 ± 0.248mg/g, 0.271 ± 0.309mg/g으로 점진적으로 증가하였다.

두 장소 간의 총 안토시아닌 함량의 차이는 전제적으로 PG2에서의 총 안토시아닌 함량이 PG1에서보다 평균 0.085 ± 0.173mg/g 높았다(P = 0.029). 하지만 시간에 따른 차이는 보이지 않았다(P = 0.875).

4.4. 안토시아닌 성분

4.4.1. CLP에서의 안토시아닌 성분 변화

CLP에 식재된 흰말채나무 수피에서의 안토시아닌 성분의 변화는 Figure 12(A)에서와 같다. 토양 습도가 높은 환경인 CLP1과 건조한 환경인 CLP2 두 장소 모두에서 cyanidin, delphinidin, peonidin이 검출되었다.

CLP1에서 cyanidin은 8월 넷째 주부터 10월 넷째 주까지 두 주 간격으로 1.012 ± 0.239mg/L, 12.343 ± 2.923mg/L, 21.805 ± 1.897mg/L로 점차 증가였다. Delphinidin은 9월 넷째 주에 0.59 ± 0.281mg/L 검출된 이후 10월 넷째 주 0.486 ± 0.073mg/L 비슷한 양이 검출되었으며 peonidin은 10월 넷째 주에 0.097 ± 0.281mg/L 검출되었다.

CLP2에서 cyanidin은 8월 넷째 주에 0.854 ± 0.152mg/L, 9월 넷째 주 13.353 ± 1.127mg/L, 10월 넷째 주 23.492 ± 0.655mg/L로 점차 증가하였다. Delphinidin은 9월 넷째 주에 0.327 ± 0.042mg/L 검출되었고 10월 넷째 주 0.395 ± 0.097mg/L 비슷한 양 검출되었으며 peonidin은 10월 넷째 주에 0.061 ± 0.001mg/L 검출되었다.

두 장소 간의 cyanidin 함량의 차이는 전제적으로 CLP2가 CLP1보다 많은 경향을 보였지만 통계적으로 유의미하지는 않았다(P = 0.764). delphinidin와 peonidin 함량은 두 장소에서 비슷하게 나왔다.

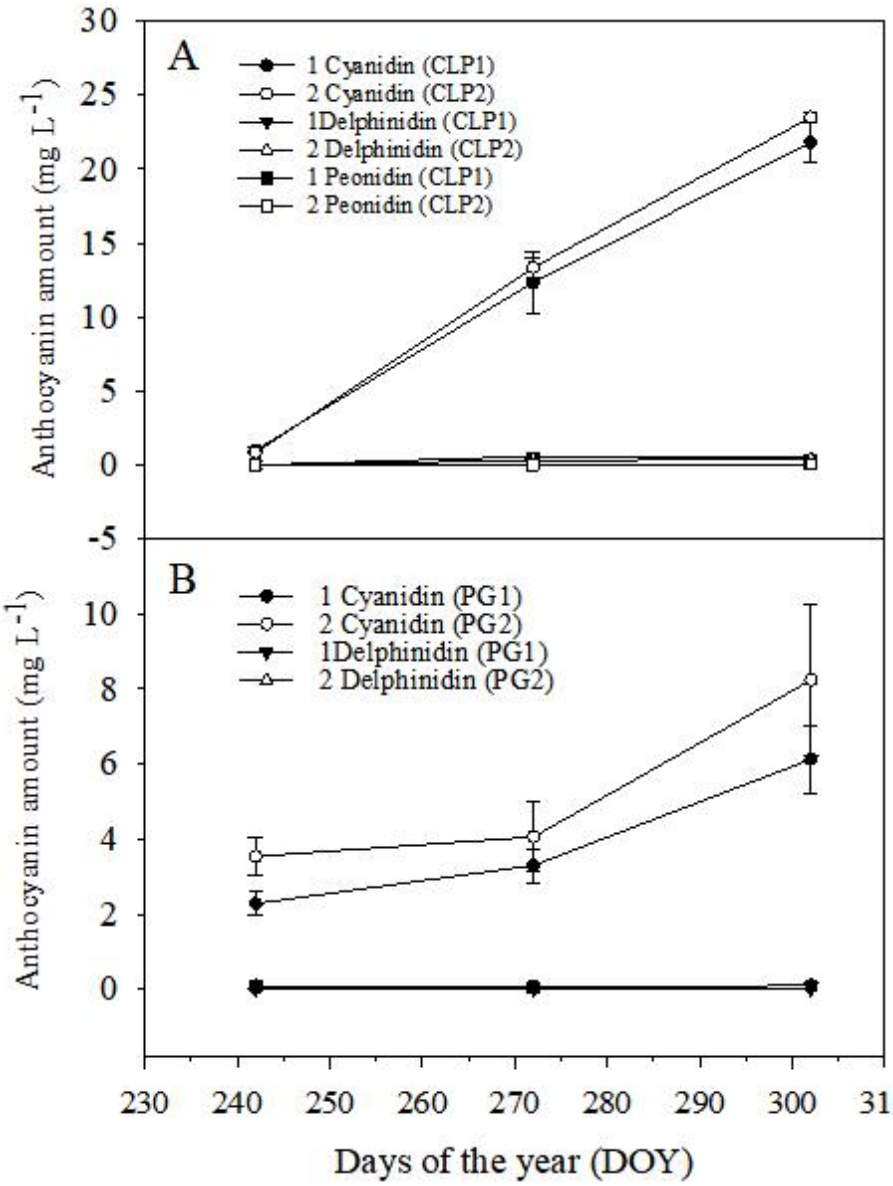


Figure 12. Changes of individual anthocyanins in the bark of *Cornus alba* in (A) CLP and (B) PG.

4.4.2. PG에서의 안토시아닌 성분 변화

PG에 식재된 흰말채나무 수피에서의 안토시아닌 성분의 변화는 Figure 12(B)에서와 같다. PG1과 PG2 두 장소 모두에서 cyanidin이 검출되었고 PG2에서만 소량의 delphinidin이 검출되었다.

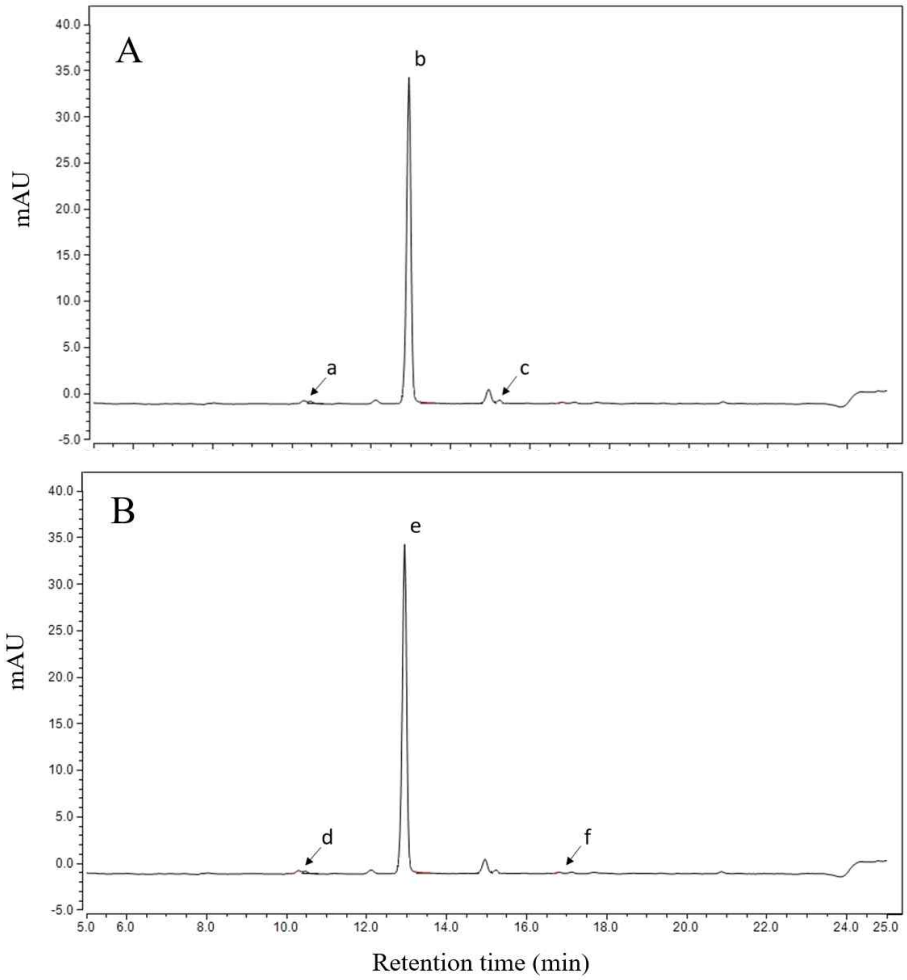


Figure 13. High performance liquid chromatography (HPLC) profiles of anthocyanin aglycones extracted from the bark of *Cornus alba* in (A) CLP1 and (B) CLP2 at the 4th week of October. a, delphinidin; b, cyanidin; c, peonidin. d, delphinidin; e, cyanidin; f, peonidin.

PG1에서 cyanidin은 8월 넷째 주부터 10월 넷째 주까지 두 주 간격으로 2.282 ± 0.532mg/L, 3.295 ± 0.777mg/L, 6.124 ± 1.554mg/L로 점차 증가하였다. Delphinidin은 9월 넷째 주에 10.0527 ± 0.281mg/L 검출된 이후 10월 넷째 주

9.963 ± 0.073mg/L 비슷한 양이 검출되었다.

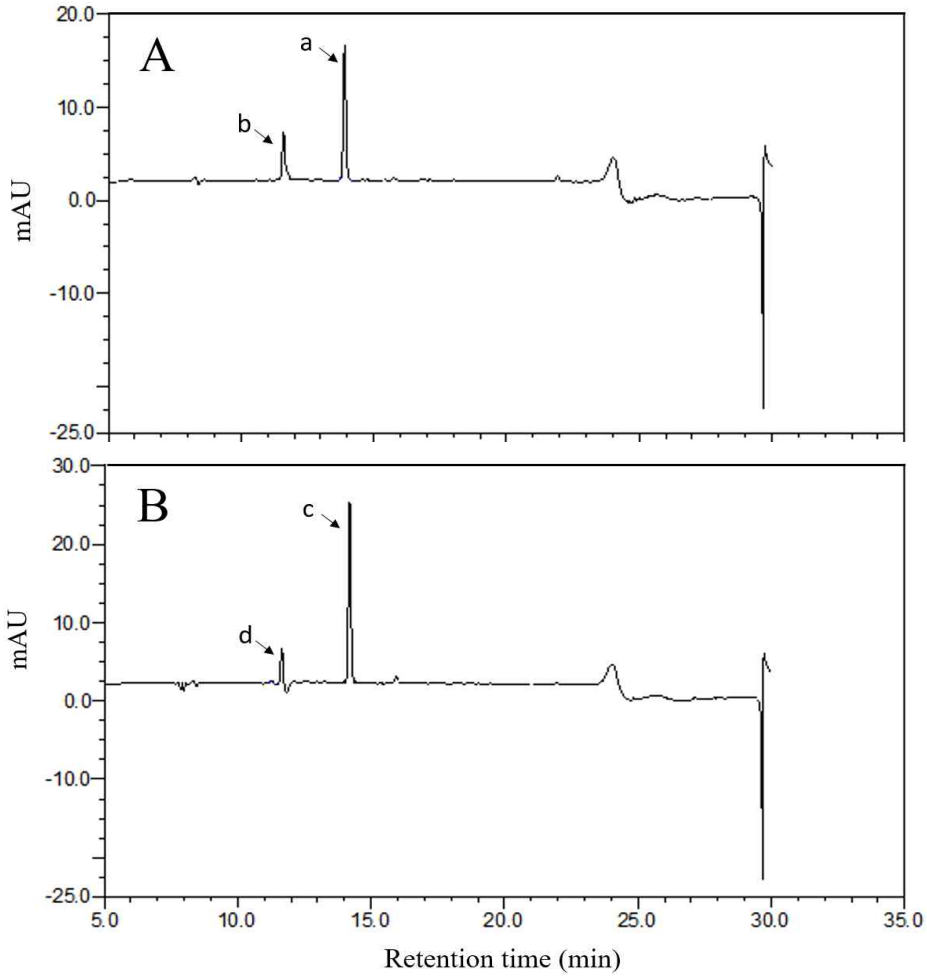


Figure 14. High performance liquid chromatography (HPLC) profiles of anthocyanin aglycones extracted from the bark of *Cornus alba* in (A) PG1 and (B) PG2 at the 4th week of October. a, cyanidin; b, delphinidin; c, cyanidin; d, delphinidin.

PG2에서 cyanidin은 8월 넷째 주에 3.540 ± 0.889mg/L, 9월 넷째 주 4.056 ± 1.616mg/L, 10월 넷째 주 8.239 ± 3.467mg/L로 점차 증가하였다. Delphinidin은 8월 넷째 주에 0.075 ± 0.129mg/L 검출되었고 9월 넷째 주 0.056 ± 0.097mg/L, 10월 넷째 주 0.097 ± 0.168mg/L로 비슷한 양이 소량 검출되었다.

두 장소 간의 cyanidin 함량의 차이는 전제적으로 PG2에서가 PG1에서보다 큰 경향을 보였지만 통계적으로 유의미하지는 않았다(P = 0.672).

제5장 고 찰

5.1. 흰말채나무 수피 단풍과 색소함량의 변화

본 연구의 결과, 가을철 기온이 낮아짐에 따라 흰말채나무 수피에서 엽록소, 카로티노이드, 안토시아닌 함량이 변화하고 그 결과 단풍이 발생하는 것을 확인하였다.

조사 기간인 8월부터 10월까지 엽록소는 CLP1과 CLP2에 식재된 흰말채나무 수피에서 각각 31.7%와 40.1% 감소하였고 PG1과 PG2에서도 각각 38.2%와 41.7% 감소하였다(Table 3). 가을철 기온이 감소함에 따라 낙엽활엽수의 잎에서 엽록소 생성이 멈춤과 동시에 분해되기 시작한다(Dean et al., 1993). 흰말채나무와 같은 속에 속하는 미국층층나무(*Cornus alternifolia*)의 잎을 대상으로 한 실험에서도 단풍이 들기 전 채집한 잎에서 총 엽록소 함량이 26.65 ± 2.59μgcm^{-2}이었다가 단풍이 완전히 든 후 1.26 ± 0.91μgcm^{-2}으로 감소하는 것이 알려져 있다(Lee et al., 2003). 같은 현상이 흰말채나무 수피에서도 일어나는 것을 본 연구를 통해 확인하였다.

수피 엽록소는 낙엽활엽수에서 잎이 없는 이른 봄과 늦가을에 줄기에서 광합성을 통해 탄수화물을 공급하는 역할을 하며(Bossard & Rejmanek, 1992), 수피에 엽록소 함량은 잎에 엽록소 함량보다 작고 수피가 나이 듦에 따라 더 줄어든다. 일반적으로 당년지의 경우 총 엽록소 함량이 잎의 엽록소 함량보다 약 20% 정도 작은 것이 알려져 있다(Pilarski, 1984). Lee 등(2003)이 미국층층나무를 대상으로 한 실험에서 잎의 총 엽록소 함량이 95.3% 감소한데 비해, 본 연구에서 흰말채나무 수피에서는 약 30~40% 감소하여 상대적으로 감소폭이 작았다. 이는 수피에 엽록소 함량이 잎에 엽록소 함량보다 작아서 상대적으로 감소폭이 줄어든 것으로 보인다. 뿐만 아니라 본 연구에서 엽록소 함량 변화의 추세로 유추해 볼 때 조사를 마친 10월 4째 주 이후에도 엽록소 분해가 계속 진행될 것으로 예상되며 엽록소 분해를 마친 시점에서는 엽록소 감소폭이 더 커질 것으로 예상된다.

카로티노이드 역시 CLP1, CLP2, PG1, PG2에 식재된 흰말채나무 수피에서 각각 49.8%, 59%, 29.3%, 28.7% 감소하였다(Table 3). 단풍이 드는 과정에서 카로티노이드는 새롭게 합성되어 노란색 계열의 단풍을 발현하기도 하지만 수종에 따라서 엽록소와 함께 분해된다(Pallardy & Kozlowski, 2008). 미국층층나무를 비롯하여 참꽃단풍, 설탕단풍, 미국물푸레나무, 세로티나벚나무, 루브라참나무, 블루베리 등의 잎에서 단풍이 드는 과정에 카로티노이드가 분해되는 것이 알려져 있다(Lee et al., 2003). 미국층층나무 잎에서는 총 카로티노이드 함량이 단풍이 들기 전 2.31 ± 0.24μgcm^{-2}에서 단풍이 완전히 든 후 0.83 ± 0.37μgcm^{-2}으로 64.1% 감소하였다. 본 연구에서 흰말채나무 수피에 카로티노이드 함량도 장소에 따라 30~60% 감소하

여 잎에 카로티노이드 함량의 변화와 비슷한 결과를 보였다.

엽록소와 카로티노이드가 줄어든 데 반해 안토시아닌은 새롭게 합성되었다. 연구를 진행한 4개 장소에 식재된 흰말채나무 수피에서 모두 8월에는 안토시아닌이 검출되지 않다가 10월에는 장소에 따라 0.107 ± 0.055 ~ 0.306 ± 0.238mg/g의 안토시아닌이 검출되었다. 이는 Isaak 등(2013)이 흰말채나무와 같은 속의 노랑말채나무를 대상으로 한 연구에서 가을에서 겨울로 시간이 지남에 따라 안토시아닌의 한 성분인 Cyanidin-3-glucoside의 수피 내 총 함량이 풍건한 시료 1g당 130~166㎍에서 869~1,263㎍으로 늘어난 것을 확인한 것과 비슷한 결과로 볼 수 있다. 이보다 앞서 미국층층나무의 잎에서도 단풍이 들기 전에는 안토시아닌이 발견되지 않다가 단풍이 완전히 든 후 3.0 ± 1.9㎍cm^{-2} 검출되어 가을철에 안토시아닌이 새롭게 합성되는 것을 확인한 사례가 있다(Lee et al., 2003).

Table 3. Changes of chlorophyll, carotenoid and anthocyanin in the bark of *Cornus alba* in CLP and PG.

Test Site	Month	Chlorophyll a+b (mg/g)	Carotenoid (mg/g)	Anthocyanin (mg/g)
CLP1	August (mean ± SE)	0.889 ± 0.129	0.283 ± 0.034	na
	October (mean ± SE)	0.607 ± 0.032	0.142 ± 0.011	0.223 ± 0.131
CLP2	August (mean ± SE)	0.998 ± 0.04	0.320 ± 0.018	na
	October (mean ± SE)	0.594 ± 0.02	0.131 ± 0.005	0.306 ± 0.238
PG1	August (mean ± SE)	0.979 ± 0.03	0.280 ± 0.040	na
	October (mean ± SE)	0.613 ± 0.122	0.198 ± 0.012	0.107 ± 0.055
PG2	August (mean ± SE)	1.126 ± 0.113	0.289 ± 0.008	na
	October (mean ± SE)	0.657 ± 0.017	0.206 ± 0.011	0.271 ± 0.309

5.2.토양 습도와 건조 스트레스가 흰말채나무 수피에 안토시아닌 생성에 미치는 영향

5.2.1.토양 습도 및 건조 스트레스의 영향

본 연구의 결과, 토양 습도 특히 건조한 토양 환경이 흰말채나무 수피에 가을철

안토시아닌 생성 및 축적에 영향을 미치는 것으로 보인다.

실험을 진행한 CLP와 PG 두 대상지에서 모두 토양 습도가 낮은 건조한 환경인 CLP2와 PG2에 식재된 흰말채나무 수피에서 상대적으로 토양 습도가 높은 장소(CLP2, PG2)들에 비해 가을철 안토시아닌 생성량이 늘었고 시기도 빨라지거나 빨라지는 경향을 보였다(Figure 12(A)와 (B)). 토양 습도가 낮은 환경인 CLP2, PG2에 식재된 흰말채나무 수피에서 토양 습도가 높은 장소들에 비해 총 안토시아닌 함량이 각각 27%와 60.5% 더 높게 검출되었다. 안토시아닌 생성이 시작되는 시점도 빨라져 CLP2에 식재된 흰말채나무 수피에서는 CLP1보다 4주가 PG2에 식재된 흰말채나무 수피에서도 PG1보다 2주가 빠르게 안토시아닌이 본격적으로 검출되기 시작했다.

이는 토양 내 수분 부족으로 유발되는 건조 스트레스가 식물체 내에 안토시아닌 생성을 촉진한다는 많은 연구 결과(Gonzalez-Villagra et al., 2017)와 일치한다. 포도속, 완두속, 비타니아속, 키케르속 등 다양한 식물 종의 잎과 열매 등의 기관을 대상으로 한 실험에서 건조 스트레스 조건에서 안토시아닌 축적량이 높아지는 것이 확인되었다(Alexieva et al., 2001; Kalefetoglu & Ekmekei, 2009; Sanchita et al., 2015; Santesteban et al., 2011). *Casuarina equisetifolia*의 유묘에서 염분이 많은 환경 조건이 안토시아닌 합성을 촉진하는 것을 확인한 연구와 더불어(Dutt et al., 1991), 본 연구는 수목의 수피에서도 건조 스트레스가 안토시아닌 생성을 촉진하는 현상을 유발하는 것을 확인했다.

건조 스트레스 조건이 안토시아닌 생합성을 촉진하는 기작에 대해서는 아직 명확히 알려져 있지 않다(Gonzalez-Villagra et al., 2017). 다만, 일부 분자 수준의 연구에 따르면 건조 스트레스 조건이 안토시아닌 생합성 경로와 관련된 몇몇 핵심적인 유전자의 발현에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Castellarin et al., 2007b; Andre et al., 2009; Giordano et al., 2016). 구체적으로 건조스트레스는 CHS, Flavanone 3-hydroxylase, Flavonoid 3′,5′-hydroxylase, DFR, UDP-glucose:flavonoid 3-O-glucosyl transferase, O-methyl-transferase 등과 같은 유전자들과 Myeloblastosis A (MYBA), Myeloblastosis 5a (MYB5a), MYB112 등과 같은 전사인자의 발현을 상향조절한다(Andre´ et al., 2009; Berdeja et al., 2015; Borsani et al., 2010; Castellarin et al., 2007; Lotkowska et al., 2015; Mart ı´nez-Lu¨scher et al., 2014; Nagabhushana & Reddy, 2004). 이는 phenylpropanoid 경로에 영향을 미쳐 생합성 반응 시 촉매 작용에 유용한 효소의 양을 증가시키고 그 결과 세포 단위의 안토시아닌 양을 증가시킨다(Gonzalez-Villagra et al., 2017).

건조한 환경 조건에서 식물체가 안토시아닌 생성을 촉진하는 이유에 대해서도 다양한 의견이 있다. Chalker-Scott (1999)은 건조 스트레스 환경에서 안토시아닌이 팽압을 유지시켜 줌으로써 내건성을 높이는 삼투압 조절 기능을 한다고 주장했

다. 하지만 Hughes 등(2013)은 proline이나 수용성 당분 등과 같이 세포 내에 다량 존재하고 삼투압 조절 기능을 보다 쉽게 할 수 있는 물질에 비해 안토시아닌 화합물은 물질 대사에 에너지가 많이 들고 세포 내 농도가 낮다는 점을 들어 삼투압 조절 기능을 하기 어렵다고 주장하기도 했다. Sperdouli와 Moustakas(2014)는 안토시아닌이 건조 스트레스 환경에서 항산화 조절자로서 중요한 기능을 한다고 주장했다.

5.2.2. 상대습도의 영향

토양 습도와 마찬가지로 대기 중의 상대습도는 실험을 진행한 두 대상지에서 모두 연못 주변에 위치한 장소들(CLP1, PG1)에서 토양 습도가 낮은 장소(CLP2, PG2)들에 비해 높았다(Figure 6과 7). 실제 야외 환경에서 토양 습도와 상대습도는 서로 유기적으로 매우 밀접하게 영향을 주고 둘 다 식물체 내에 건조 스트레스 조건에 영향을 준다는 점을 고려할 때, 흰말채나무 수피에 색소 함량 변화에 상대습도가 미치는 영향은 토양 습도의 그것과 같다고 볼 수 있다. 즉 상대습도가 낮은 야외 환경에서 토양 습도도 낮고 식물체가 겪는 건조 스트레스 강도가 높아져 안토시아닌 생성 및 축적이 촉진될 수 있다.

5.3. 안토시아닌 성분 변화와 흰말채나무 수피 색상 발현

5.3.1. 안토시아닌 성분 변화

흰말채나무의 수피에서는 3종의 안토시아닌 성분 즉 cyanidin, delphinidin, peonidin이 검출되었으며, 그 중 cyanidin이 다량 검출되었고 나머지 두 성분은 미미했다(Figure 12,13,14).

CLP와 PG 양쪽 대상지의 흰말채나무 수피에서 모두 cyanidin과 delphinidin이 검출되었고 CLP에서는 소량의 peonidin도 검출되었다. 흰말채나무의 다른 품종인 '시비리카(Sibirica)'를 대상으로 한 실험에서 2종의 cyanidin (cyanidin-3-galactoside, cyanidin-3-arabinoside)과 소량의 delphinidin이 발견되었다는 기존의 연구와 비슷한 결과였다(Du et al., 1975). 소량의 peonidin이 수피에서 검출된 것은 기존에 연구들에서 확인할 수 없는 내용이지만 흰말채나무 '시비리카(Sibirica)'의 잎이나 열매 등과 같은 수피 이외의 다른 기관들에서 pelargonidin 등 다른 종류의 안토시아닌이 소량 검출되는 경우들이 보고되어 있다(Bjorøy et al., 2007). 또 Drkenda 등(2014)은 흰말채나무와 같은 속에 속하는 마스산수유의 열매로부터 소량의 peonidin 3-0-rutinoside를 검출하기도 하였다.

흰말채나무 수피에 가장 주요한 안토시아닌 성분인 cyanidin은 CLP와 PG 두 장소 모두에서 8월부터 10월까지 그 함량이 계속 늘어났다. 이는 Issak 등(2013)이 노랑말채나무를 대상으로 한 실험에서 그 관목 수피에 가장 주요한 안토시아닌 성분은 Cyanidin-3-glucoside이며 그 함량은 봄철에 가장 높았다가 여름에 가장 낮고 다시 가을에 늘어나는 것을 확인한 것과 비슷한 결과다. Cyanidin 함량의 증가가 앞서 확인한 총 안토시아닌 함량의 증가에 영향을 미친 것으로 보이며, cyanidin 함량의 증가는 안토시아닌 총량과 마찬가지로 토양 습도가 낮은 장소(CLP2, PG2)에서 더 많이 생성되는 경향을 보였다.

delphinidin, peonidin을 비롯한 다른 성분들은 가을철에 새롭게 생성되거나 다른 계절에도 소량 잔존할 것으로 보인다.

5.3.2 안토시아닌 성분 변화가 색상 발현에 미치는 영향

조사 기간 동안 흰말채나무 수피에서 시간의 변화에 따라 안토시아닌 성분들 중 cyanidin의 함량만 크게 늘어나고 기타 성분들은 소량 잔존하므로, 안토시아닌의 개별 성분이 흰말채나무 수피 색상 발현에 영향을 미치지 않을 것으로 보인다.

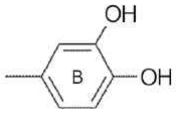
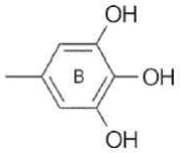
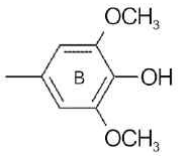
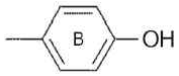
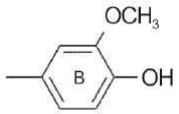
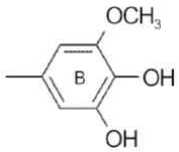
Table 3에서 보는 것과 같이 오렌지/빨강에서부터 보라/파랑까지 안토시아닌은 그 성분에 따라 제각각 고유의 색상을 가지고 있어서 안토시아닌 성분 함량의 변화는 흰말채나무 수피의 색상 발현에도 영향을 미칠 수 있다(Chalker-Scott, 1999). 흰말채나무 수피에서 발견된 가장 주요한 안토시아닌 성분은 cyanidin으로 오렌지-빨강색을 띠고, delphinidin은 파랑-빨강색, peonidin은 오렌지-빨강색을 띤다.

흰말채나무 수피에서와 같이 가을철 계절 변화에 따라 cyanidin의 양만 크게 증가하고 delphinidin과 peonidin은 소량 잔존하는 상태를 유지하였으므로 cyanidin의 색상인 오렌지-빨강색이 크게 드러났고 기타성분의 영향은 미미할 것으로 예상된다.

5.4. 토양 산도가 흰말채나무 수피 색상 발현에 미치는 영향

산도에 따라 안토시아닌의 화학적 구조가 변화되어 안토시아닌의 색상 발현에 크게 영향을 받는다는 것을 고려할 때(Chalker-Scott, 1999), 대상지 중 토양 습도가 높은 장소인 CLP1와 PG1에서의 토양이 공통적으로 pH 5.5 정도로 약산성이었던 점(Table 2)에 주목할 필요가 있다. pH 6.67~7.4으로 중성에 가까웠던 CLP2와 PG2의 토양과는 차이가 나는 환경 조건이다.

Table 4. Color and the B ring structure of the six most common anthocyanins (Chung, 2016)

Name	Color	the B ring structure
Cyanidin	Orange-red	
Delphinidin	Blue-red	
Malvidin	Blue-red	
Pelagonidin		
Peonidin	Orange-red	
Petunidin	Orange-red	

CLP1와 PG1는 모두 조성한 지 약 20~40년된 인공 습지 주변부라는 공통점이 있고, 조성한지 오래된 인공 습지는 토양이 산성화되는 경향이 있다는 연구 결과가 있다(Lee et al, 2010). Lee 등(2010)이 자연 습지와 인공 습지를 비교하며 진행한 실험에서 토양의 산도는 자연 습지가 인공 습지에 비해 낮았으며, 인공 습지의 경우에도 습지 조성 초기에는 중성으로 변화하였다가 이후 다시 산도가 낮아지는 것을 관찰할 수 있었다고 한다. 이렇게 인공 습지 주변 토양 산도가 시간이 갈수록 낮아지는 이유는 주변부로부터 유기물이 유입되어 집적되고 다시 그것이 분해되면서 발생한 유기산이 증가하기 때문으로 보인다(Mitsch & Gosselink, 2000; Shin et al., 2005).

하지만 모든 내륙 습지가 주어진 환경 조건이 같지 않고 수문, 토양, 식생 등의 영향에 따라 bog(산성 습원), fen(알카리성 습원) 등 다양한 형태로 발전하고 변화할 수 있다는 점(구본학, 2009)을 고려할 때 모든 인공 습지가 산성 토양이라거나

시간이 지남에 따라 토양이 산성화된다고 일반화하기는 어렵다.

CLP1과 PG1 등과 같은 인공 습지 주변은 공원 등에서 흰말채나무가 많이 심겨지는 대표적인 장소다. 인공 습지의 토양이 일반 토양과 다른 지화학적 특성을 가지고 있어서 토양 산도에 영향을 미칠 수 있다는 점을 고려한다면, 흰말채나무가 습지 주변에 심어질 때 우수한 색상 발현을 위해서는 토양의 습도만이 아니라 산도도 함께 확인해야 할 것이다.

안토시아닌은 매우 불안정한 화합물로 산도, 온도, 빛, 산소 등의 영향을 크게 받는다. 안토시아닌이 산도의 영향을 받으면 화학적으로 다른 형태로 변성이 되며 이 과정에서 색상이 바뀐다(Wahyuningsih et al., 2017). pH 1에서는 붉은색을 띠는 flavylium 양이온 형태가 주를 이뤄 붉은 색을 띄며 pH 2~4에서는 quinoidal 형태가 주를 이뤄 푸른색을, pH 5~6에서는 색상이 없는 형태로 주로 존재하고, pH 7 이상이 될 때는 분해된다(Chalker-Scott, 1999). 수국의 꽃잎 등을 대상으로 한 실험에서 식물체 내의 산도의 차이가 안토시아닌 색상 변화에 실제 영향을 주는 것을 확인하기도 했다(Yoshida et al., 2003).

Figure 15. Anthocyanin color under different pH conditions (Wahyuningsih et al., 2017).

5.5. 야간 기온과 흰말채나무 수피에 안토시아닌 생성

실험을 진행한 두 대상지에서 모두 연못 주변에 위치한 장소들(CLP1, PG1)에서 측정한 야간 기온이 토양 습도가 낮은 장소(CLP2, PG2)들에 비해 각각 평균 0.23 ± 0.551 ℃와 0.442 ± 0.204℃ 낮았다. 야간의 저온 환경은 안토시아닌 생성을 촉진함에도 불구하고(Renner et al., 2019; Saure, 1990), 오히려 CLP1과 PG1에 식재된 흰말채나무 수피에 안토시아닌 함량이 더 작았다.

온도가 안토시아닌 생성에 미치는 영향을 확인한 많은 실험들에서 실험군 간의 온도 조건의 차이를 10℃로 하고 있다(Azuma et al., 2012; Gao-Takai et al., 2019; Silbley et al., 1999; Yamane et al., 2006). 이런 점을 고려할 때 본 연구의 실험 장소들 간의 온도 차이는 실제로 매우 미미한 정도 볼 수 있을 듯하다. 그 결과 온도는 실제 안토시아닌 합성에 큰 영향을 미치지 못했거나 영향을 미치더라

도 토양 습도를 비롯한 다른 요인들의 영향이 상대적으로 더 컸을 것으로 예상할 수 있다.

5.6. 겨울용 조경수로서 흰말채나무의 수피 색상 발현을 위한 환경 조건

겨울용 조경수로서 흰말채나무의 수피의 색상 발현을 위한 환경 조건을 찾기 위해서는 소비자를 대상으로 한 색상 기호도 조사 등을 통한 흰말채나무 수피 색상에 대한 평가가 선행될 필요가 있다.

본 연구를 통해 토양 습도, 토양 산도 등이 흰말채나무 수피 색상 발현에 영향을 준다는 것을 확인하였다. 하지만 그것만으로 우수한 환경 조건을 제시하는 것은 어렵다. 예를 들어 안토시아닌 함량이 증가했다고 해서 흰말채나무의 수피 색상이 더 좋아진다고 평가하기는 어렵다. 실제로 건조한 토양에서 자란 흰말채나무의 수피는 일반적으로 색상이 둔탁해지고 짙고 검붉은 색을 띠어 감상 가치가 낮아지는 경향이 있다(Figure 16(B)). 반면 토양 습도가 높은 환경에서 자란 흰말채나무의 수피는 더 선명하고 밝은 붉은색을 띠어 소비자들이 선호하는 경우가 많다(Figure 16(A)). 안토시아닌 함량이 높아도 소비자들의 선호도도 반드시 높다는 것이 아니다. 따라서 흰말채나무 수피의 겨울철 색상 발현의 다양한 사례에 대한 색상 기호도 조사도 동시에 이루어질 때, 그 조건에 맞춘 이상적인 재배 환경을 찾을 수 있을 것이다.

Figure 16. Different coloration of *Cornus alba* bark in winter. (A) bright-red stem; (B) dark-red stem.

흰말채나무 수피 색상 발현에 영향을 미치는 요인은 본 연구에서 주요하게 다룬 토양 습도, 토양 산도 이외에도 빛, 온도 등 더 다양한 환경 인자들이 있다. 게다가 색상 발현 과정에서 각각의 환경 인자들은 개별적으로 작용하는 것이 아니라 실제로는 복합적이고 유기적으로 영향을 미친다(Matile, 2000; Thomas et al., 2001). 따라서 본 연구에서 다루지 않았던 환경 인자들까지도 고려하여 복합적인 조건 하에서 흰말채나무 수피의 색상 발현을 연구해야 할 필요가 있다.

제6장 결 론

본 연구는 겨울용 조경수로서 흰말채나무의 수피에 색상 발현을 위한 환경 조건을 찾기 위해 실시하였다. 단풍이 드는 시기에 흰말채나무 수피에 색소 함량의 변화를 확인하고 실제 재배 환경에서 토양 습도, 상대습도, 토양 산도 등의 환경 요소들이 이 생리적인 변화에 어떤 영향을 미치는지를 분석하였다.

단풍이 드는 시기인 8월부터 10월까지 흰말채나무 수피에서는 엽록소와 카로티노이드가 점진적으로 줄어들고 안토시아닌이 새롭게 합성되어 늘어났고 색상은 초록색에서 붉은색으로 바뀌었다. 잎과 열매 등에서 밝혀진 가을철 색소의 생화학적 변화가 수피에서도 유사하게 일어났다.

그 과정에서 토양 습도의 차이는 안토시아닌 합성 량에 차이를 야기하였는데, 토양 습도가 낮을수록 건조 스트레스가 높아진 흰말채나무 수피에서의 안토시아닌 합성이 촉진되었다. 안토시아닌 성분을 분석해본 결과 cyanidin이 가장 많았고 delphinidin과 peonidin도 소량 검출되었으며, 안토시아닌 성분들 중 cyanidin만 흰말채나무 수피의 색상발현에 영향을 미칠 것으로 판단되었다.

실험 장소에 토양 습도가 높은 곳들은 모두 조성한 지 10년 이상이 된 인공 연못 주변으로 공통적으로 토양 산도가 약산성이었다. 토양 산도는 안토시아닌의 색상 발현에 크게 영향으로 주는 인자이므로 연못 주변 등에 흰말채나무를 심을 때 수피 색상 발현과 관련하여 토양 습도와 함께 산도도 확인하여야 할 것으로 판단되었다.

겨울용 조경수로서 흰말채나무의 수피 색상 발현의 위한 환경 조건을 찾기 위해서는 색상 기호도 조사 등을 통한 흰말채나무 수피 색상에 대한 평가와 환경 인자들의 복합적인 영향에 대한 연구가 필요하다. 아울러 이러한 연구는 흰말채나무 뿐만 아니라 단풍나무속, 버드나무속, 피나무속 등과 같이 겨울철 수피 색상을 감상할 수 있는 다른 수종의 재배 및 활용에 있어서도 유용한 정보가 될 수 있다.

인 용 문 헌

구본학 2009. 『습지생태학』 서울 : 도서출판조경.

김용식 2014. 『최신 조경식물학』. 서울 : 광일문화사.

김종근, 정대한, 정우철, 노회은, 신귀현, 권순식, 손상용 2014. 『테마가 있는 정원식물』 서울 : 한숲.

김장훈 2017. 『겨울정원』 서울 : 도서출판가지.

박형순 2012. 논단 - 조경수 생산 및 개발방향. 한국조경수협회 127:54-57

이경준 1993. 『수목생리학』 서울 : 서울대학교출판부.

이창복 2003. 원색 대한식물도감. 서울 : 향문사.

André CM, Schafleitner R, Legay S, Lefèvre I, Aliaga CA, Nomberto G, Hoffmann L, Hausman JF, Larondelle Y, Evers D 2009. Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress. Phytochemistry 70:1107-1116.

Alexieva V, Sergiev I, Mapelli S, Karanov E 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. Plant Cell Environ. 24:1337-1344.

Azuma A, Ito A, Moriguchi T, Yakushiji H, Kobayashi S 2012. Light emitting diode irradiation at night accelerate anthocyanin accumulation in grape skin. Acta. Hort. 956:341-347.

Balakumar T, Hani B, Vincent V, Paliwal K 1993. On the interaction of UV-B radiation (280-315 nm) with water stress in crop plants. Physiol. Plant. 87:217-222.

Berdeja M, Nicolas P, Kappel C, Dai ZW, Hilbert G, Peccoux A 2015. Water limitation and rootstock genotype interact to alter grape berry metabolism through transcriptome reprogramming. Hortic. Res. 2:15012.

Bjorøy Ø, Fossen T, Andersen ØM 2007. Anthocyanin3-galactosides from *Cornus alba* 'Sibirica' with glucosidation of the B-ring. Phytochemistry 68:640-645.

Bongue-Bartelsman M, Phillips DA 1995. Nitrogen stress regulates gene expression of enzymes in the flavonoid biosynthetic pathway of tomato. Pl. Physiol. Biochem. 33:539-546.

Borsani O, Gonzalez-Neves G, Ferrer M, Monza J 2010. Anthocyanins accumulation and genes-related expression in berries of cv. Tannat (*Vitis vinifera* L.). J. Appl. Hortic. 2:3-9.

Bossard CC, Rejmanek M 1992. Why have green stems? Funct. Ecol. 6:197-205.

Buchanan-Wollaston V 1997. The molecular biology of leaf senescence. J. Exp. Bot. 48:181-199.

Camm EL, McCallum J, Leaf E. Koupai-Abyazani MR 1993. Cold-induced purpling of *Pinus contorta* seedlings depends on previous daylength treatment. Plant Cell Environ. 16:761-764

Castaneda-Ovando A 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. Food Chem. 113:859-871.

Castellarin SD, Gaspero G, Marconi R, Nonis A, Peterlunger E, Paillard S, Adam-Blondon AF, Testolin R 2006. Colour variation in red grapevines (*Vitis vinifera* L.): Genomic organisation, expression of flavonoid 3′-hydroxylase, flavonoid 3′,5′-hydroxylase genes and related metabolite profiling of red cyanidin-/blue delphinidin-based anthocyanins in berry skin. BMC Genomics 7:12.

Chalker-Scott L 1999. Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. J. Photochem. Photobiol. A 170:1-9.

Chalker-Scott L 2002. Do anthocyanins function as osmoregulators in leaf tissues? Adv. Bot. Res. 37:103-127.

Christie PJ, Alfenito MR, Walbot V 1994. Impact of low temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. Planta 194:541-549.

Chung SW, Yu DK, Lee HJ 2016. Changes in anthocyanidin and anthocyanin pigments in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* cv. Bluecrop) fruits during ripening. Hortic Environ Biotechnol 57:424-430.

Clifford MN 2000. Anthocyanins - nature, occurrence and dietary burden. J. Sci. Food Agric. 80:1063-1072.

Coe JM, McLaughlin SB 1980. Winter season corticular photosynthesis in *Cornus florida, Acer rubrum, Quercus alba,* and *Liriodendron tulipifera*. For. Sci. 26:561-566.

Dean MA, Letner CA, Eley JH 1993. Effect of autumn foliar senescence on chlorophyll a : b ratio and respiratory enzymes of *Populus tremuloides*. Bull. Torrey Bot. 120:269-274.

Dey PM, Harborne JB 1993. Plant phenolics methods in plant biochemistry (2nd printing). London, UK, Academic Press Limited.

Dinda B, Kyriakopoulos AM, Dinda S, Zoumpourlis V, Thomaidis NS, Velegraki A, Markopoulos C, Dinda M 2016. *Cornus mas* L. (cornelian cherry), an important European and Asian traditional food and medicine: ethnomedicine, phytochemistry and pharmacology for its commercial utilization in drug industry. J. Ethnopharmacol. 193:670-690.

Dirr MA 1990. Manual of Woody Landscape Plants. Illinois: Stipes Publishing Company.

Dixon RA, Paiva NL 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. Plant Cell. 7:1085-1097

Dong YH, Beuning L, Davies K, Mitra D, Morris B, Kootstra A 1998. Expression of pigmentation genes and photo-regulation of anthocyanin biosynthesis in developing Royal Gala apple flowers. J. Plant Physiol. 25:245-252.

Dorling K 2008. RHS AZ Encyclopedia of garden plants. London, United Kingdom.

Drkenda P, Spahic A, Begic-Akagic A, Gasi F, Vranac A, Hudina M, Blanke M 2014. Pomological characteristics of some autochthonous genotypes of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) in Bosnia and Herzegovina. Erwerbs-Obstbau. 56:59-66.

Du CT, Wang PL, Francis FJ 1974. Anthocyanins of Cornaceae, *Cornus kousa* and *Cornus florida*. HortScience. 9:243-244.

Du CT, Wang PL, Francis FJ 1975. Anthocyanins of *Cornus alternifolia*, L. and *C. alba*, L. HortScience. 10:36-37.

Dubé A, Bharti S, Laloraya MM 1993. Inhibition of anthocyanin synthesis and phenylalanine ammonia-lyase activity by Co 2+ in leaf disks of *Terminalia catappa*. Physiol. Plant. 88:237-242.

Dunnett N 2019. Naturalistic planting design: The essential guide. Bath, UK: Filbert Press.

Dutt M, Stanton D, Grosser JW 2016. Ornacitrus: Development of Genetically Modified Anthocyanin expressing Citrus with Both Ornamental and Fresh Fruit Potential. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 141:54-61

Ferreres F, Gil MI, Castaner M, Tomas-Barberan FA 1997. Phenolic metabolites in red pigmented lettuce (*Lactuca sativa*). Changes with minimal processing and cold storage. J. Agric. Food Chem. 45:4249-4254.

Gao-Takai M, Katayama-Ikegami A, Matsuda K, Shindo H, Uemae S, Oyaizu M 2019. A low temperature promotes anthocyanin biosynthesis but does not accelerate endogenous abscisic acid accumulation in red-skinned grapes.

Plant Sci. 283:165-176.

Giordano D, Provenzano S, Ferrandino A, Vitali M, Pagliarani C, Roman F, Cardinale F, Castellarin S, Schubert A 2016. Characterization of a multifunctional caffeoyl-CoA O-methyltransferase activated in grape berries upon drought stress. Plant Physiol. Biochem. 101:23-32.

Giusti MM, Wrolstad RE 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. F1.2.1-F1.2.13.

Gonzalez-Villagra J, Kurepin LV, Reyes-Diaz M 2017. Evaluating the involvement and interaction of abscisic acid and miRNA156 in the induction of anthocyanin biosynthesis in drought-stressed plants. Planta 246:299-312.

Gould KS, Dudle DA, Neufeld HS 2010. Why some stems are red: cauline anthocyanins shield photosystem II against high light stress. J. Exp. Bot. 61:2707-2717.

Guan L, Li JH, Fan PG, Chen S, Fang JB, Li SH, Wu BH 2012. Anthocyanin accumulation in various organs of a teinturier grape cultivar (*V. vinifera* L.) during the growing season. Am. J. Enol. Vitic. 63:177-184.

Hiscox JD, Israelstam GF 1979. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. Can. J. Bot. 57:1332-1334.

Hoch WA, Zeldin EL, McCown BH 2001. Physiological significance of anthocyanins during autumnal leaf senescence. Tree Physiol. 21:1-8.

Hosseinpour Jaghdani F, Shomali T, Gholipour Shahraki S, Rahimi Madiseh M, Rafieian Kopaei M 2017. *Cornus mas*: A review on traditional uses and pharmacological properties. J. Complement. Integr. Med. 14:137.

Huang J, Zhang Y, Dong L, Gao Q, Yin L, Quan H 2017. Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacology of *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. J. Ethnopharmacol. 213:280-301.

Hughes NM, Carpenter KL, Cannon JG 2013. Estimating contribution of anthocyanin pigments to osmotic adjustment during winter leaf reddening. J. Plant Physiol. 170:230-233.

Isaak CK, Petkau JC, Karmin O, Ominski K, Rodriguez-lecompte JC, Y.L. Siow YL 2013. Seasonal variations in phenolic compounds and antioxidant capacity of *Cornus stolonifera* plant material: Applications in agriculture. Can. J. Plant Sci. 93:725-734.

Jaakola L 2013. New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. Trends Plant Sci. 18:477-483.

Jordheim M, Giske NH, Andersen ØM 2007. Anthocyanins in Caprifoliaceae. Biochemical Systematics and Ecology, 35:153-159.

Kakegawa KY, Kaneko Y, Hattori E, Koike K, Takeda K 1987. Cell cultures of Centaureu cyanus produce malonated anthocyanin in UV light. Phytochemistry 26:2261-2263.

Kalefetoglu MT, Ekmekci Y 2009. Alterations in photochemical and physiological activities of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars under drought stress. J. Agron. Crop. Sci. 195:333-346.

Kaliamoorthy S, Rao AS 1994. Effect of salinity on anthocyanin accumulation in the root of maize. Indian J. Plant Physiol. 37:169-170.

Katsumoto Y, Mizutani M, Fukui Y 2007. Engineering of the rose flavonoid biosynthetic pathway successfully generated blue-hued flowers accumulating delphinidin. Plant Cell Physiol. 48:1589-1600.

Kauppi A 1991. Seasonal fluctuations in chlorophyll content in birch stems with special reference to bark thickness and light transmission, a comparison between sprouts and seedlings. Flora 185:107-125.

Kong JM, Chia LS, Goh NK, Chia TF, Brouillard R 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. Phytochemistry. 64:923-933.

Krol M, Gray GR, Hurry VM, Oquist G, Malek L, Huner NP 1995. Low-temperature stress and photoperiod affect an increased tolerance to photoinhibition in *Pinus banksiana* seedlings. Can. J. Bot. 73:1119-1127.

Lancaster J 1992. Regulation of skin color in apples. Crit. Rev. Plant. Sci. 10:487-502.

Lee DW 2002. Anthocyanins in autumn leaf senescence. Advances in Botanical Research 37:147-165.

Lee DW, O'Keefe J, Holbrook NM 2003. Pigment dynamics and autumn leaf senescence in a New England deciduous forest, eastern USA. Ecol. Res. 18:677-694.

Lee JY, Kang DS, Sung KJ 2010. Assessment of the wetland soil development in constructed wetlands using the soil properties of a reference wetland. J. Wet. Res. 12:1-14.

Leng P, Itamura H, Yamamura H 2000. Anthocyanin accumulation in apple and peach shoots during cold acclimation. Sci. Hortic. 83:43-50.

Lotkowska ME, Tohge T, Fernie AR, Xue G-P, Balazadeh S, Mueller-Roeber B 2015. The Arabidopsis transcription factor MYB112 promotes anthocyanin formation during salinity and under high light stress. Plant Physiol. 169:1862-1880.

Martinez-Lüscher J, Sanchez-Diaz M, Delrot S, Aguirreolea J, Pascual I 2014. Ultraviolet-B radiation and water deficit interact to alter flavonol and anthocyanin profiles in grapevine berries through transcriptomic regulation. Plant Cell Physiol. 55:1925-1936.

Matile P 2000. Biochemistry of Indian summer: Physiology of autumnal leaf coloration. Exp. Gerentol. 35:135-158.

Millard P, Thomson CM 1989. The effect of the autumn senescence of leaves on the internal cycling of nitrogen for the spring growth of apple trees. J. Exp. Bot. 40:1285-1289.

Mitsch WJ, Gosselink JG 2000. Wetlands (3rd edn.), New York: John Wiley and Sons.

Meng X, Xing T, Wang X 2004. The role of light in the regulation of anthocyanin accumulation in Gerbera hybrida. Plant Growth Regul. 44:243-250.

Mol J, Jenkins G, Schafer E, Weiss D 1996. Signal perception, transduction, and gene expression involved in anthocyanin biosynthesis. Crit. Rev. Plant. Sci. 15:525-557.

Mori K, Sugaya S, Gemma H 2005. Decreased anthocyanin biosynthesis in grape berries grown under elevated night temperature condition. Scient. Hortic. 105:319-330.

Mudry P, Schilling EE 1983. Flavonoids of Cornus florida Bull. Torrey Bot. Club. 110:226-227.

Murray JR, Smith AG, Hackett WP 1994. Differential dihydroflavonol reductase transcription and anthocyanin pigmentation in the juvenile and mature phases of ivy (*Hedera helix* L.). Planta 194:102-109.

Nagabhushana I, Reddy A 2004. Rice flavonoid pathway genes, OsDfr and OsAns, are induced by dehydration, high salt and ABA, and contain stress responsive promoter elements that interact with the transcription activator, OsC1-MYB. Plant Sci. 166:1505-1513.

Nemat-alla MM, Younis ME 1995. Herbicide effect on phenolic metabolism in maize (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.) seedlings. J. Exp. Bot.

46:1731-1736.

Nyman, NA, Kumpulainen JK 2001. Determination of anthocyanidins in berries and red wine by high-performance liquid chromatography. J. Agric. Food Chem. 49:4183-4187.

Oren-Shamir M, Levi-Nissim A 1997. UV-light effect on the leaf pigmentation of *Cotinus roggvgriu* 'Royal Purple.' Sci. Hort. 71:59-66.

Oren-Shamir M, Nissim-Levi A 1999. Temperature and gibberellin effect on growth and anthocyanins pigmentation in *Photinia* leaves. J. Hort. Sci. 74:355-360.

Pallardy SG, Kozlowski TT 2008. Physiology of woody plants (3rd edn.). Amsterdam, Netherland: Elsevier.

Pauling L 1939. Recent work on the configuration and electronic structure of molecules. Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe. 3:203-235.

Pawlowska AM, Camangi F, Braca A 2010. Quali-quantitative analysis of flavonoids of *Cornus mas* L. (Cornaceae) fruits. Food Chem. 119:1257-1261.

Pfanz H, Aschan G, Langenfeld-heyser R, Wittman C, Loose M 2002. Ecology and ecophysiology of tree stems: Corticular and wood photosynthesis. Naturwissenschaften. 89:147-162.

Pilarski J 1984. Content of chlorophyllous pigments in shoot bark and leaves in *Syringa vulgaris*. B. Pol. Acad. Sci. Earth. 32:415-423.

Pollet C 2017. Winter Gardens: Reinventing the Season. England: Frances Lincoln.

Rabino I, Manclnelli AL 1986. Light, temperature, and anthocyanin production. Plant Physiol. 81:922-924.

Rajendran L, Ravishankar GA, Venkataraman LV, Prathiba KR 1992. Anthocyanin production in callus cultures of *Daucus carota* L. as influenced by nutrient stress and osmoticum. Biotechnol. Lett. 14:707-714.

Ramanjulu S, Veeranjaneyulu K, Sudhakar C 1993. Physiological changes induced by NaCI in mulberry var. Mysore local. Indian J. Plant Physiol. 36:273-275.

Rein M 2005. Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins. University of Helsinki, Helsinki, Finland.

Renner SS, Zohner CM 2019. The occurrence of red and yellow autumn leaves explained by regional differences in insolation and temperature. New Phytol. 224:1464-1471.

Robinson N 2016. The Planting Design Handbook (3nd edn.). England: Ashgate Publishing Limited.

Sanchita SR, Mishra A, Shawan S, Shirke P, Gupta M, Sharma A 2015. Physiological performance, secondary metabolite, and expression profiling of genes associated with drought tolerance in *Withania somnifera*. Protoplasma 252:1439-1450.

Santesteban LG, Miranda C, Royo JB 2011. Regulated deficit irrigation effects on growth, yield, grape quality and individual anthocyanin composition in *Vitis vinifera* L. cv. 'Tempranillo'. Agric. Water Manag. 98:1171-1179.

Saure MC 1990. External control of anthocyanin formation in apple: A review. Sci. Hortic. 42:181-218.

Seeram, NP, Schutzki R, Chandra A, Nair MG 2002. Characterization, quantification, and bioactivities of anthocyanins in *Cornus* species. J. Agric. Food Chem. 50:2519-2523.

Sherwin HW, Farrant JM 1998. Protection mechanisms against excess light in the resurrection plants *Craterostigma wilmsii* and *Xerphyta viscosa*. J. Plant Growth Regul. 24:203-210.

Shin YH, Kim SH, Park SJ 2005. The geochemical roles and properties of mountain wetland in Shinbulsan (Mt.). Kor. J. Gastroenterol. 12:133-149.

Silbley JL, Ruter J, Eakes DJ 1999. Bark anthocyanin levels differ with location in cultivars of red maple. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 34:137-139.

Smart CM 1994. Gene expression during leaf senescence. New Phytol. 126:419-448.

Sperdouli I, Moustakas M 2012. Interaction of proline, sugars, and anthocyanins during photosynthetic acclimation of *Arabidopsis thaliana* to drought stress. Plant Physiol. 169:577-585.

Sterndale-Bennett J 2006. The Winter Garden (Hillier Gardener's Guide). Lodon, England: David & Charles.

Suzuki M 1995. Enhancement of anthocyanin accumulation by high osmotic stress and low pH in grape cells (*Vitis* hybrids). J. Plant Physiol. 147:152-155.

Takos AM, Jaffe FW, Jacob SR, Bogs J, Robinson SP, Walker AR 2006. Light-induced expression of a MYB gene regulates anthocyanin biosynthesis in red apples. Plant Physiol. 142:1216-1232.

Tanaka Y, Sasaki N, Ohmiya A 2008. Biosynthesis of plantpigments: Anthocyanins, betalains, and carotenoids. Plant J. 54:733-749.

Thomas H, Ougham H, Hörtensteiner S 2001. Recent advances in the cell biology of chlorophyll catabolism. Adv. Bot. Res. 35:1-52.

Trojak M, Skowron E 2017. Role of Anthocyanins in High-Light Stress Response. World Scientific News 81: 150-168.

Ubi BE 2004. External stimulation of anthocyanin biosynthesis in apple fruit. Food Agric. Environ. 2:65-70.

Vareed SK, Reddy K, Schutzki RE, Nair MG 2006. Anthocyanins in *Cornus alternifolia, Cornus controversa, Cornus kousa* and *Cornus florida* fruits with health benefits. Life Sci. 78:777-784.

Wahyuningsih S, Wulandari L, Wartono MW, Munawaroh H, Ramelan AH 2017. The Effect of pH and Color Stability of Anthocyanin on Food Colorant. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering.

Wellburn AR 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. J. Plant Physiol. 144:307-313.

Wrolstad RE, Durst RW, Lee J 2005. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. Trends Food Sci. Technol. 16:423-428.

Yamane T, Jeong ST, Goto Yamamoto N, Koshita Y, Kobayashi S 2006. Effects of temperature on anthocyanin biosynthesis in grape berry skins. AJEV. 57:54-59.

Yoshida K, Toyama Y, Kameda K, Kondo T 2003. Sepal color variation of *Hydrangea macrophylla* and vacuolar pH measured with a proton-selective microelectrode. Plant Cell Physiol. 44:262-268.