

보리 등숙기 고온에 따른 전분합성 및 동화산물 전류 특성 변화

이현석¹ · 황운하¹ · 김대욱¹ · 정재혁¹ · 안승현¹ · 백정선¹ · 정한용¹ · 윤종탁¹ · 이견휘¹ · 최경진^{1,†}

Changes in Starch Synthesis and the Characteristics of Photosynthate Translocation at High Temperature during the Ripening Stage in Barley

Hyeon-Seok Lee¹, Woon-Ha Hwang¹, Dae-Wook Kim¹, Jae-Hyeok Jeong¹, Seung-Hyeon Ahn¹, Jeong-seon Baek¹, Han-Yong Jeong¹, Jong-Tak Yun¹, Geon-Hwi Lee¹, and Kyung-Jin Choi^{1,†}

ABSTRACT This experiment was conducted to evaluate the effects of high temperature on the stem, leaf and grain of barley during the ripening period and to provide information for the development of high-temperature cultivation techniques and adaptive varieties. We used an artificial climate control facility, to provide a temperature 3°C higher than the normal average temperature during the ripening stage. Although the maximum rate of starch synthesis was increased at high temperature by approximately 11%, the starch content was decreased, because the period of starch synthesis ended 4 days earlier. As in the case of starch synthesis, the expression of genes related to starch synthesis was increased at the early ripening stage in the high temperature treatment, however, the duration of expression tended to decrease rapidly. Furthermore, the partitioning rate of assimilation products in the panicle increased to a greater extent in the high temperature treatment than in the control. In contrast, for the stem and leaf, the partitioning rate of assimilation products decreased more rapidly in the high temperature treatment than in the control. On the basis of these results, it can be considered that the translocation rate of assimilation products increased to a greater extent in the high temperature treatment than in the control at the early ripening stage. These results indicate that the decrease in grain weight at high temperature during the ripening stage is attributable to an increase in the speed of starch synthesis at high temperature, but the increase in ripening speed does not compensate for the shortening of the ripening period. Finally to develop varieties and cultivation techniques suited to high temperature, we need to focus on physiological characteristics related to the duration of starch synthesis.

Keywords : barley, high-temperature, ripening stage, starch synthesis

온실가스 축적에 따른 기후 온난화 현상은 식량작물의 생장 및 발달에 장애를 일으켜, 인류와 생태계 등에 위협이 되고 있다(Kotak *et al.*, 2007). 특히 보리의 경우 등숙기 평균기온이 약 15°C 이상의 조건에서는 평균기온이 상승할수록 등숙기간이 단축되며, 천립중이 감소하는 경향을 나타낸다(Dormling *et al.*, 1969; Lee *et al.*, 2016). 이러한 종실 중 감소의 원인은 등숙기간 중 고온이 전분합성 관련 효소의 활성에 영향을 주어 등숙속도를 증가시키지만, 증가된 등숙속도가 단축된 등숙기간을 보상하지 못하기 때문이다(Tahshiro & Wardlaw, 1989; Liu *et al.*, 2011; Yamakawa

et al., 2007).

보리는 벼나 밀 등 다른 대부분의 화곡류와 마찬가지로 등숙에 있어서 출수 전 줄기 및 엽초에 저장된 탄수화물에 의존하는 비율이 약 10~30%의 비율을 차지하며(Guerrero *et al.*, 1981; Hecht, 1979), 나머지는 출수 이후 엽의 광합성에 의하여 생성된 동화산물에 의존하여 등숙이 진행된다. 특히 한발스트레스나 일조부족과 같은 스트레스조건에서 엽이 피해를 입을 경우 동화산물의 공급이 부족하게 되어 출수 전 줄기 및 엽초에 저장된 탄수화물의 재이용 정도가 커지며(Blum, 1998; Jianchang *et al.*, 2004), 출수 전 저장

¹농촌진흥청 국립식량과학원 작물재배생리과 (Crop Production & Physiology Division, NICS, RDA, Wanju 55365, Korea)

[†]Corresponding author: Kyung-Jin Choi; (Phone) +82-63-238-5262; (E-mail) choichoi@korea.kr

<Received 20 February, 2017; Revised 30 May, 2017; Accepted 1 June, 2017>

탄수화물의 양이 많은 개체의 경우 스트레스조건에서도 등숙을 좀 더 유리하게 할 수 있다고 하는 실험결과 들을 보아(Vignjevic *et al.*, 2015; Mahroo *et al.*, 2014), 줄기 및 엽초에 저장된 비구조탄수화물이 풍부할수록 고온 조건에서도 또한 등숙을 좀 더 유리하게 할 수 있을 것으로 보인다.

또한 source인 엽의 노화는 등숙에 영향을 주거나 서로 연관되어 있을 것이다. 엽신의 노화는 영양소결핍, 수분스트레스, 차광 등 여러 경우가 존재할 수 있다(Lim *et al.*, 2007). Gelang *et al.* (2000)은 밀의 지엽을 오존에 노출시켜 노화를 유발하였는데, 이때 등숙기간이 단축되었으며 수량이 감소하였다고 한다. 이와 반대로 sink인 이삭이 엽신의 노화를 촉진 또는 억제하는 것과 관련하여 벼에서 출수기에 이삭을 제거한 경우 엽신의 노화가 지연되었다는 실험 결과가 있다(Nakano *et al.*, 1995).

결국 등숙기 고온에 대응하는 재배적 기술 및 고온 적응성 품종 개발을 위해, 첫째 sink인 이삭 내에서의 고온에 의한 전분합성 지속정도, 둘째 source인 엽신에서의 공급과 sink인 이삭에서의 수요의 균형, 그리고 마지막으로 출수 전 줄기 및 엽초에 저장된 탄수화물의 재이용 정도, 세 가지 측면에서의 이해가 중요할 것으로 보이며, 이와 관련된 고온조건에서의 등숙 특성을 분석하여 기초정보를 제공하기 위해 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

시험재료 및 온도처리

시험에 사용된 재료는 흰찰쌀보리로 1/5000a, 와그너 풋트로 5주씩 이식하여 출수 후 5일까지 동일한 조건에서 인공기상동의 정밀유리실에서 생육하였다. 등숙기 온도처리는 일반 포장조건에서의 기온과 유사하게 맞추기 위하여 출수후 5일부터 대조구는 15°C (최고 20°C/최저 10°C), 고온처리구는 18°C (최고 23°C/최저 13°C)에서 온도처리를 시작해 등숙단계에 따라 온도를 변화시켰으며, 3°C의 온도차를 두고 실험을 진행하였고, 등숙기간 동안의 평균온도는 대조구는 18.4°C 고온처리구는 21.2°C였다. 비료는 N-P₂O₅-K₂O: 8.2-6.9-3.4 (kg/10 a)을 기준으로 각 1/5000a 포트 면적 별로 시비하여 성숙기까지 재배하였으며, 성숙기는 포트별 90%이상의 이삭이 이삭목까지 황화한 날을 기준으로 설정하였다.

종실 형태적 특성, 엽록소 함량, 양자수율, 전자전달효율

각 처리 별 50립씩을 무작위로 선별 후 Mitutoyo digimatic caliper (Mitutoyo, Japan)를 이용하여 립장, 립폭 등과 같은

종실 크기 특성을 측정 하였으며, 5반복씩 무게를 측정하여 천립중을 조사하였다. 지엽의 엽록소 측정은 SPAD (SPAD-502, Spectrum Technologies, USA)를 이용하여 비파괴적 방법으로 분석하였으며, 지엽의 양자수율(quantum yield) 및 상대전자전달효율(rETR)의 측정은 엽록소형광측정기(Os5p, Opti-Sciences, USA)를 이용하여 동일한 시각에 광합성 유효복사 값(PAR)이 1100~1200인 조건에서 측정하였다.

단백질, 호화특성

단백질함량의 분석은 분쇄한 시료(종실) 250 mg을 Elementar Analyzer System (Vario Macro, Germany)을 이용하여 분석한 총 질소함량 값과 켈달장치를 이용하여 분석한 값을 비교하여 보정계수를 구하고 보정계수를 각 분석 값에 곱하여서 구하였다.

호화특성은 Rapid-Visco Analyser (Newport Scientific Model RVA-4, Australia)를 이용하여 AACC Method 61-02 에 의하여 peak viscosity (최고점도), trough viscosity (최저점도), breakdown (강하점도), final viscosity (최종점도)를 측정하였다.

아밀로스, 전분

아밀로스 함량은 Juliano (1971) 방법에 의하여 분석하였다. 분쇄한 시료(종실) 0.1 g을 평량 후 95% ethanol 1 ml 과 1 N NaOH를 첨가, 끓는 물에서 10분간 가열하여 호화시켰으며, 2 ml I₂-KI 용액과 1 N acetic acid를 첨가하여 발색반응을 일으킨 뒤 620 nm에서 흡광도를 측정하였다. 아밀로스 함량은 감자 아밀로오스(Sigma Aldrich A0512, USA)를 이용하여 표준곡선을 작성하여 구하였다.

전분함량 측정은 starch assay kit (Sta20, Sigma, USA)를 이용하여 분석 하였다. 분쇄한 시료(종실, 지엽, 줄기) 25 mg을 정량하여 80% 에탄올 5 ml 을 처리하여 maltodextrin 과 glucose 제거하였고 1 ml DMSO를 넣고 끓는 물에서 5 분간 가열하여 저항전분 제거 과정을 거친 후, thermostable α -amylase, MOPS buffer를 넣고 끓는물에 10분간 둔 뒤, amyloglucosidase를 첨가하여 50°C 30분간 두어 전분을 분해하여 발색반응으로 glucose함량을 540 nm 파장에서 측정하였다.

유리당 함량

유리당 분석은 1 g의 동결 건조된 시료(종실, 지엽, 줄기)를 20 ml의 50% acetonitrile용액으로 30°C, 200 rpm 교반기에서 18시간 처리하여 추출하였다. 추출된 시료는 4000 rpm에서 10분간 원심 분리 후 상등액을 취하였고, 상등액

은 다시 10분간 13,500 rpm에서 원심 분리 후 1 mL syringe를 이용하여 0.2 μ m로 필터링하여 uplc vial에 주입하였다. 분석에 사용된 UPLC는 (Acquity uplc, Waters, USA)이었고, acquity uplc beh amide 컬럼(2.1 x 50 mm, 1.7 μ m)을 사용하였다. 이동상 A는 80% ACN with 0.2% TEA, 이동상 B는 30% ACN with 0.2% TEA였으며, flow rate는 0.150 mL/min, Flow profile은 93% / 7% B로 설정하였다.

α -Amylase activity

동결된 시료를 액체질소를 이용하여 마쇄한 뒤 α -Amylase 추출 완충액(50 mM Tris-HCL(pH 7.0) buffer containing 3 mM CaCl₂, 4 mM NaCl, 0.1 mM PMSF, 0.1% Trinton X-100)를 가하여 5분간 초음파 파쇄로 균질화 시키고, 원심분리하여 상등액을 취한 뒤 상등액은 70°C에서 15분간 열처리하여 β -amylase의 활성을 억제하고 1% starch solution을 넣고 5분간 실온에서 incubation한 뒤 color reagent solution 1 mL을 가하여 15분간 끓는 물에서 가열하였다. 이후 반응액을 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

RNA 추출 및 유전자 발현

RNA 추출을 위해서 종실 및 식물체는 각 등숙 시기별로 채취하여, 즉시 액체질소를 통해 동결 시켰으며, -80°C에

저장하였다. Total RNA는 Chang *et al.* (1993) 방법에 의하여 추출하였으며, cDNA의 합성은 primescript rt reagent kit with gDNA eraser (Takara bio Inc, Japan)을 이용하여 진행하였다. Real-time PCR의 경우 SYBRGreen (SYBR Real-time Pcr master mix, Toyobo)를 형광 dye로 사용하고, roter-geneTM6000 (CorbettResearch, Australia)를 이용하여 분석을 진행하였다. 사용된 primer sequence는 Table 1에 표시한 바와 같다.

데이터 분석

전분합성 및 이삭분배비율은 시간에 따른 등숙 과정을 적합하기 위하여 아래와 같은 logistic equation을 사용하였다(Verhulst, 1838).

$$F = \frac{A \text{ or } S_{max}}{1 + e^{-(t - t_m) \cdot r_F}}$$

각 계수가 의미하는 바는 다음과 같다. F는 이삭분배비율 또는 전분축적량, A는 최종 이삭분배비율, S_{max}는 최종 전분함량 r_F는 최대 등속속도 t는 출수 후 일수 t_m는 최종 이삭분배비율 및 최종 전분함량이 절반이 되는 시점이며, 일일 이삭분배비율 및 전분합성속도가 최대가 되는 시점을

Table 1. Gene specific PCR primer sets for quantitative RT-PCR amplification.

Enzyme	Gene Name	Accession No.	Sequence	Amplicon Size
Starch synthase (soluble)	SS1	FN179374.1	F: ACCGAGTCGAGCTACAAGGA R: GTTGAAGGTCTCCACCGTGT	207
ADP-glucose pyrophosphorylase (large subunit)	AGPL1	X67151.1	F: TAGGAAGGGACGTGGTCATC R: CAGTCCCGGAGTTGAGAAG	217
Sucrose synthase	SUS	X65871.1	F: AGCCTCTACCCACTGCTCAA R: GAGCTGGGAGTGTCTTCAGG	150
Granule bound Starch Synthase	GBSS1	AB089162.1	F: AGAGCAACTACCAGTCCAATGGCA R: GTCGAAGGAGAAGCGGCCCTGGTA	200
Starch Branching enzyme	SBE1	FN179382.1	F: GGAGGCAACTTCTGGTTCTG R: GTAACCTCAGCCAGGTCCAA	228
Sucrose transporter	SUT1	AM055812.1	F: GCGATAGCAAGGAAGAGTGC R: GGAAACCACTTGTGCCAGTT	250

Table 2. Differences in grain characteristics and the levels of chemical components of barley grains at high temperature during the ripening period.

Treatment	Ripening period	1000-grain weight (g)	Grain-length (mm)	Grain-width (mm)	Starch (%)	Protein (%)	Amylose (%)
Control (18.4°C)	41	32.9±1.4	7.59±0.3	3.66±0.2	63.5±2.4	9.82±1.4	7.68±0.3
High-temperature (21.2°C)	36	28.7±1.9	7.57±0.5	3.39±0.3	58.9±1.8	13.98±2.1	6.94±0.4

각기 의미한다. A, S_{max}, r_f, t_m 값들은 비선형 회귀분석에 의해 결정되는 계수이다.

출수 후 등숙기간 동안 엽록소와 엽신의 노화변화 정도는 아래의 logistic 모델(Black & Leff *et al.*, 1983)이 사용되었다.

$$N = N_{\min} + \frac{N_{\max} - N_{\min}}{1 + (t/t_h)^{-Nr}}$$

각 계수가 의미하는 바는 다음과 같다. N은 엽록소(SPAD Unit), t는 출수후 일수, Nr은 curve의 패턴 즉 노화속도를 결정, N_{max}는 엽록소 농도의 최고치, N_{min}은 엽록소 농도의 최저치, t_h는 엽록소 농도 최고치의 절반이 될때의 시점을 각기 의미한다. Nr, N_{max}, N_{min}, t_h등은 비선형 회귀에 의해 결정되는 계수들이며, 비선형 회귀분석은 sigmaplot 11.1을 사용하여 수행하였다.

통계 처리

모든 실험은 3회 이상 반복하여 결과 값을 평균값으로 나타냈으며, 각 실험결과의 통계처리는 R 통계프로그램(Version 3.2.2)를 이용하여 분산분석(ANOVA) 후 duncan's multiple range test로 p < 0.05 수준에서 유의적 차이를 검정하였다.

결과 및 고찰

등숙기 고온에 따른 종실의 형태적·이화학적 특성 변화

등숙기 평균온도에 따른 종실 내 구성성분 및 형태적 특성 변화, 성숙까지의 소요기간은 Table 2에 나타낸 바와 같다. 등숙기 평균온도가 대조구(18.4℃) 대비 고온처리구(21.2℃)에서 약 3℃ 상승함에 따라 성숙까지의 소요기간은 고온처리구에서 5일 정도 감소하는 경향을 나타냈으며, 등숙기간이 짧아짐에 따라 천립중이 약 4.2 g 정도 감소하며, 립폭이 작아지는 경향을 나타냈다. 이러한 결과는 등숙기 고온에 따른 등숙기간의 단축을 등숙속도의 증가가 만회하지 못하여 종실중이 감소한다고 했던 Tashiro & Wardlwa (1989)의 실험 결과와 유사하였다. 또한 전분함량(%) 및 아밀로스함량(%)이 감소하며, 단백질함량(%)이 증가하는 결과를 나타내었는데, 이러한 결과는 고온스트레스에 단백질의 합성은 전분의 합성에 비해 둔감하여(Bhullar & Jenner, 1985), 단백질함량의 감소대비 전분함량의 감소가 컸기 때문에, 상대적으로 단백질의 비율(%)이 증가한 것으로 판단되었으며, 이는 Lee *et al.* (2016)의 결과와 유사한 경향을 보였다. 이러한 전분, 아밀로스 함량의 감소 및 단백질 함

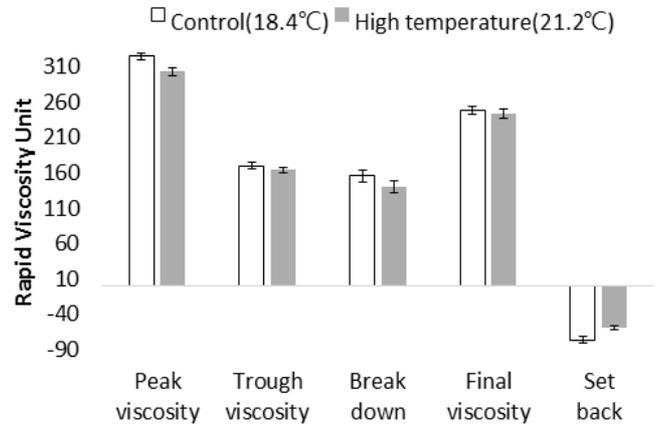


Fig. 1. Difference in the properties of gelatinized starch at high temperature during the ripening period.

량의 증가는 전분호화특성에 영향을 주었으며, 이는 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 최고, 최저 강하 점도 등을 감소시켜 호화특성을 저하시켰으며, 치반점도는 증가시켰는데, 이를 통하여 고온조건에서 등숙이 진행된 종자는 노화가 쉽게 일어나 품질이 저하 될 것으로 예상 할 수 있다.

온도조건에 따른 등숙기 종실의 전분합성 변화

등숙기 온도에 따른 보리 종실의 전분합성 변화는 Figs. 2, 3과 Table 3에 나타낸 바와 같다. 최대 상대 성장율(전분 합성속도)을 의미하는 r_f값은 대조구는 0.2353, 고온처리구는 0.2631로 고온처리구에서 증가하였다. 반면 최종 전분함량(S_{max})의 절반이 되는 시점이며, 일일 전분합성 속도가 최대가 되는 시점을 의미하는 t_m 값은 대조구에서 19.15, 고온처리구에서 16.03로 고온처리구에서 앞당겨졌음을 확인할 수 있었다(Table 3, Fig. 3). 또한 전분합성이 완료되는 시점(최종 전분함량의 95%에 달하는 지점)은 대조구에서 출수 후 약 31일, 고온처리구에서 약 27일로 고온처리구에서 약 4일정도 앞당겨지는 경향을 보였는데(Fig. 2), 이를 통하여 등숙기간 동안 온도가 상승할 경우 등숙초기에는 전분합성이 빠르게 이루어지지만 지속정도가 짧아져 결국 전분 합성이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 등숙기간이 길수록 등숙기간 중 누적일사량이 많아져 종실수량이 증가한다고 보고한 Yang *et al.* (2001)의 보고 내용과 일치하는 경향이였다. 등숙기 전분합성 관련 효소를 암호화하는 유전자의 발현특성을 비교 분석한 결과는 Fig. 4에 나타낸 바와 같다. Sucrose를 UDP-glucose로 전환시켜주는 sucrose synthase (Sturm & Tang, 1999)의 경우에는 고온 처리 및 대조구 모두 20일에서 최대 발현량을 나타내었으며, 상대적 발현량이 고온 처리구에서 출수 후 12일까지는 높았으나, 20일 이후에는 대조구

대비 낮은 경향을 보였다. 또한 glucose-1-phosphate를 전분 합성 기질로 사용되는 ADP-glucose로 전환시켜주는 ADP-

glucose pyrophosphorylase의 경우는 고온 처리구에서는 출수 후 12일에, 대조구에서는 출수 후 20일에 최대 발현량을 나타내었으며, 출수 후 12일까지는 고온처리구에서 발현량이 높았지만 그 이후에는 대조구 대비 낮은 경향을 나타내었다. ADP-glucose를 기질로 Amylose를 합성하는데 관여하는 granule bound starch synthase 및 amylose (사슬형 다당류)에서 amylopectin (분지형 다당류)로의 합성을 촉매하는 starch branching enzyme의 경우에는 고온 처리구에서는 출수 후 20일에, 대조구에서는 출수 후 25일에 최대 발현량을 나타냈으며, 출수 후 12일까지는 고온처리구에서 발현량이 높았지만 그 이후에는 대조구 대비 낮은 경향을 나타내었다. 특히 ADP-glucose를 기질로 amylopectin을 합성하는데 관여하는 soluble starch synthase의 경우에는 대조구의 경우 출수 후 25일에 최대 발현량을 나타낸 것에 비하여, 고온 처리구에서는 출수 후 12일에 최대 발현량을 나타내어 최대발현량 지점이 가장 크게 차이가 난 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과를 통해 전분합성 각 단계에 관여하는 유전자의 발현양상은 고온처리구에서 전분합성의 변화 양상과 마찬가지로 고온처리에서 초기 발현량이 증가하였지만, 발현 지속정도가 빠르게 감소하는 경향을 확인하였으며, 이는 Willian *et al.* (2003)에서의 실험 결과와 유사하였다.

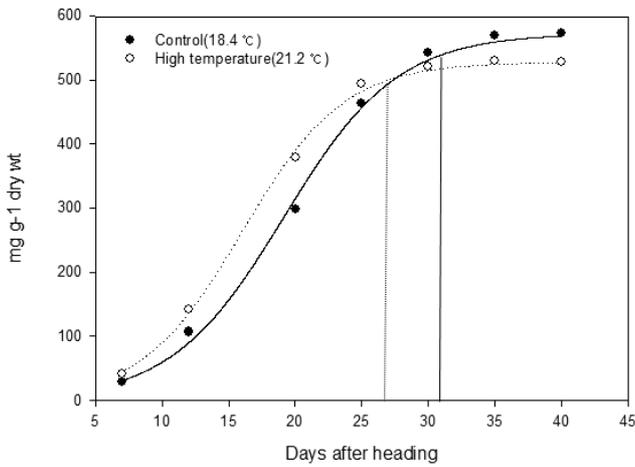


Fig. 2. Changes in starch synthesis at high temperature during the ripening period. The curves in the graph were fitted to a logistic equation as shown in Table 3. Vertical lines indicate the end of the of grain filling period.

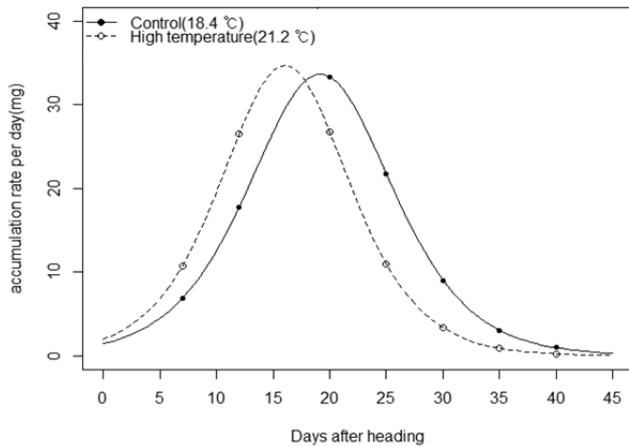


Fig. 3. Change in starch accumulation rate at high temperature during the ripening period.

등숙기 고온에 따른 동화산물 전류 및 탄수화물 재이용 관련 특성 변화

등숙기 온도에 따른 종실, 줄기, 이삭 각 기관별 유리당, 전분 등의 수용성 탄수화물의 분배비율은 Fig. 5에 나타낸 바와 같다. 이삭분배비율의 경우(Table 4) 최종이삭 분배비율을 나타내는 A는 최종 전분함량(S_{max})과 달리 고온처리구에서 다소 증가하였는데, 이는 지엽 및 줄기에서의 탄수화물함량이 더 크게 감소하였기 때문에 상대적으로 이삭 분배비율이 증가한 것으로 생각 되었다. 전체 탄수화물의 이삭으로의 최대 분배 속도를 나타내는 r_f 값은 고온처리구

Table 3. Parameters of the logistic function relating starch content to days after heading under two temperature regimes during the grain filling period.

Treatment	S_{max}	r_f	t_m	R^2
Control (18.4 °C)	572.43 (11.37)	0.2353 (0.0189)	19.15 (0.41)	0.98**
High-temperature (21.2 °C)	527.55 (6.26)	0.2631 (0.0143)	16.03 (0.28)	0.96**

- Values in parenthesis are standard errors

- “*” and “**” represent significance at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

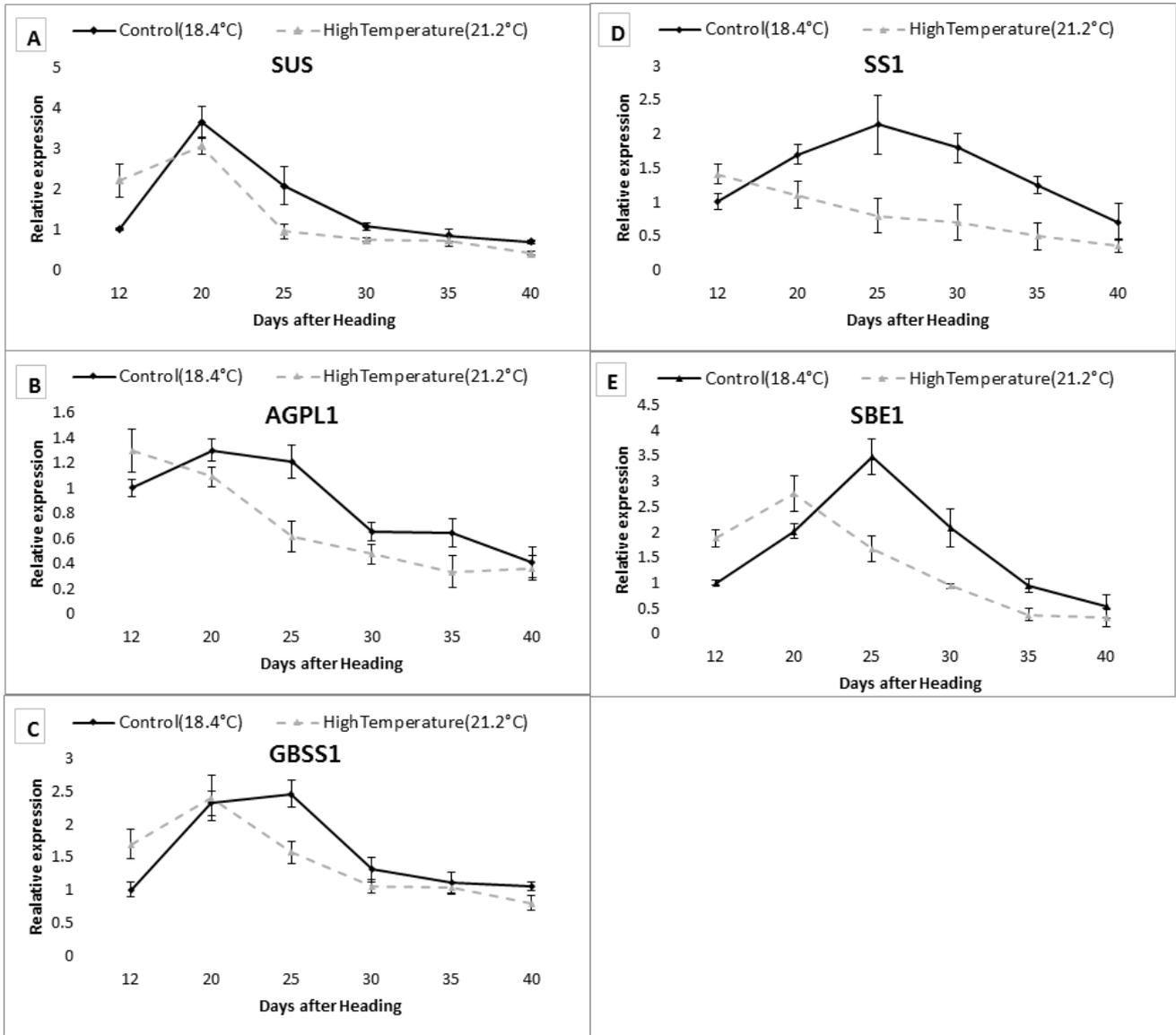


Fig. 4. Difference in the relative expression of genes associated with starch synthesis at high temperature during the ripening period. A : Sucrose synthase, B : ADP-glucose pyrophosphorylase, C : Granule bound starch synthase, D : Soluble starch synthase, E : Starch branching enzyme.

에서 더 빨라졌음을 확인할 수 있었고, 최종 이삭분배비율의 절반이 되는 시점이며, 일일 등숙 속도가 최대가 되는 시점을 나타내는 t_m 값은 등숙 종료 시점과 마찬가지로 고온처리구에서 더 빨라졌음을 확인하였다. 이에 반해 줄기에서의 분배비율은 고온처리구에서 급격하게 감소하였으며(Fig. 5-B), 이 결과로 비추어 볼 때 대부분의 동화산물은 이삭으로 전류되며 온도가 높아질수록 전류 속도가 빨라지는 것으로 생각할 수 있었다. 잎에서의 분배비율은 Fig. 5-C에서 나타난 바와 같이 고온처리에서 마찬가지로 분배비율이 빠르게 감소하였으며, 전분합성속도가 증가하다가 다시

감소하는 시점 이후 고온처리구에서는 20일에서 25일, 대조구에서는 25일에서 30일까지 감소하는 속도가 일시적으로 감소하였다가, 전분합성이 완료되는 시점 이후에 다시 급격하게 감소하는 경향을 보였다. 엽신의 엽록소 함량은 Fig. 5-D에서 나타낸바와 같이 20일 이후부터 다소 감소하기 시작한 뒤에, 대조구에서는 25일 이후, 고온처리구에서는 30일후에 급격하게 감소하는 경향을 보였는데 이는 Nam *et al.* (1991)의 실험에서 품종간 차이는 있지만 잎의 노화속도가 20일 이후에 급격히 증가하였다는 보고와 유사하였다. 또한 곡선의 패턴을 결정하는 노화속도(Nr)가 온도가

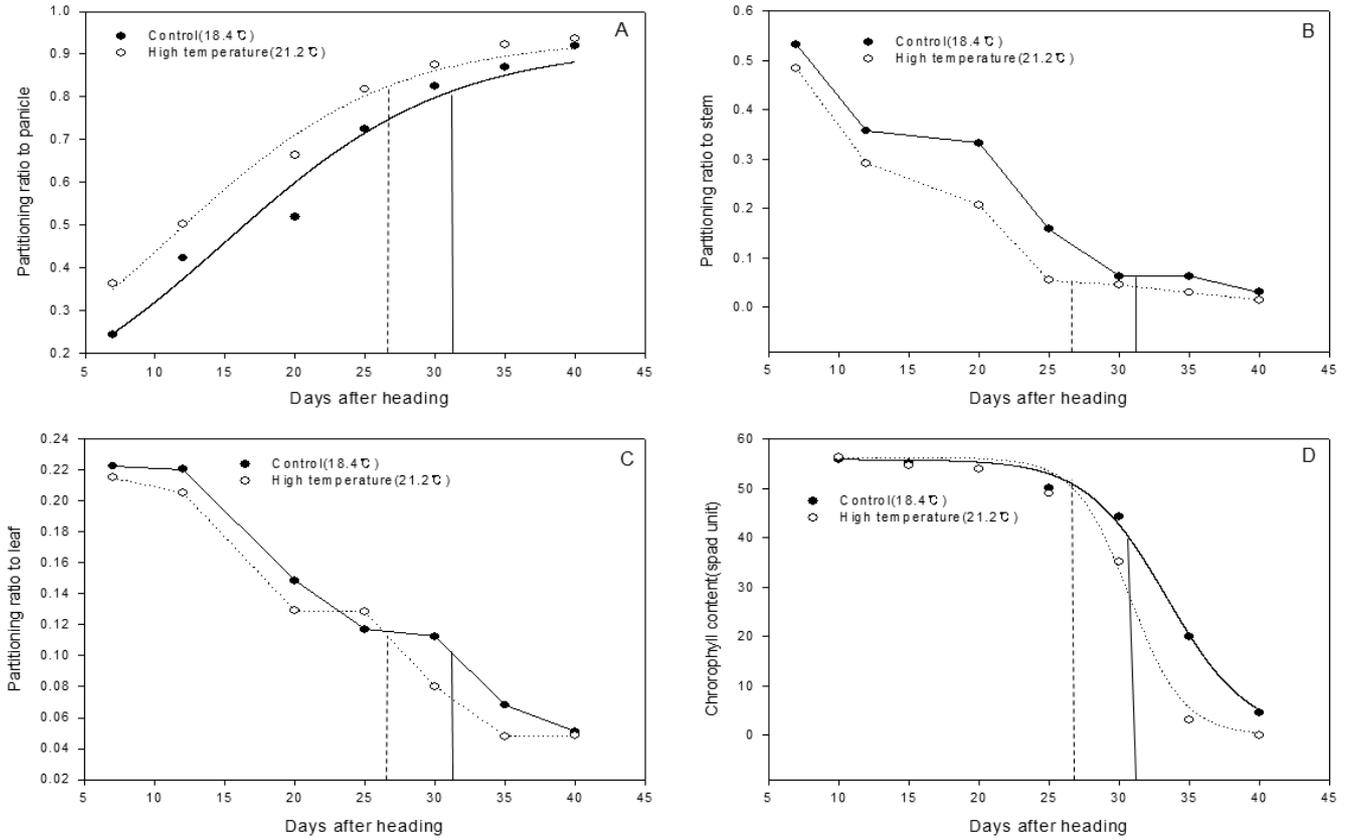


Fig. 5. Progressive changes in water soluble carbohydrates (starch and total free sugar) partitioning ratio to the panicle (A), stem (B), and leaf (C); and chlorophyll concentration (D) in relation to the days after heading under two temperature regimes during the grain filling period. The curves in graphs A and D were fitted to a logistic equation as in table 4 and 5 respectively. Vertical lines indicate the ebd if the of grain filling period.

Table 4. Parameters of the logistic function used to describe grain filling progress in relation to the days after heading under two temperature regimes during the grain filling period.

Treatment	A	r _F	t _m	R ²
Control (18.4°C)	0.9195 (0.0698)	0.1257 (0.0286)	14.98 (1.89)	0.95**
High-temperature (21.2°C)	0.9213 (0.0354)	0.1330 (0.0199)	10.72 (0.95)	0.97**

- Values in parenthesis are standard errors
 - “*” and “**” represent significance at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

Table 5. Parameters of the logistic function used to describe leaf senescence in relation to the days after heading under two temperature regimes during the grain filling period.

Treatment	N _{min}	N _{max}	T _h	N _r	R ²
Control (18.4°C)	-3.115 (3.866)	60.649 (12.04)	33.89 (1.851)	11.44 (2.247)	0.99**
High-temperature (21.2°C)	-1.349 (3.365)	56.550 (7.061)	31.03 (1.526)	18.21 (5.415)	0.98**

- Values in parenthesis are standard errors
 - “*” and “**” represent significance at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

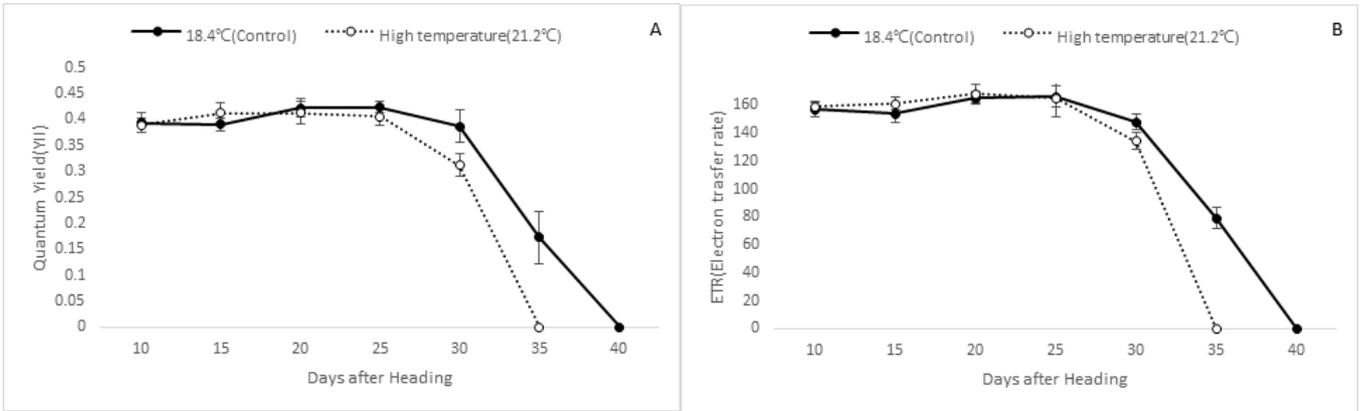


Fig. 6. Changes in quantum yield(A) and electron transfer rate(B)at high temperature during the ripening period.

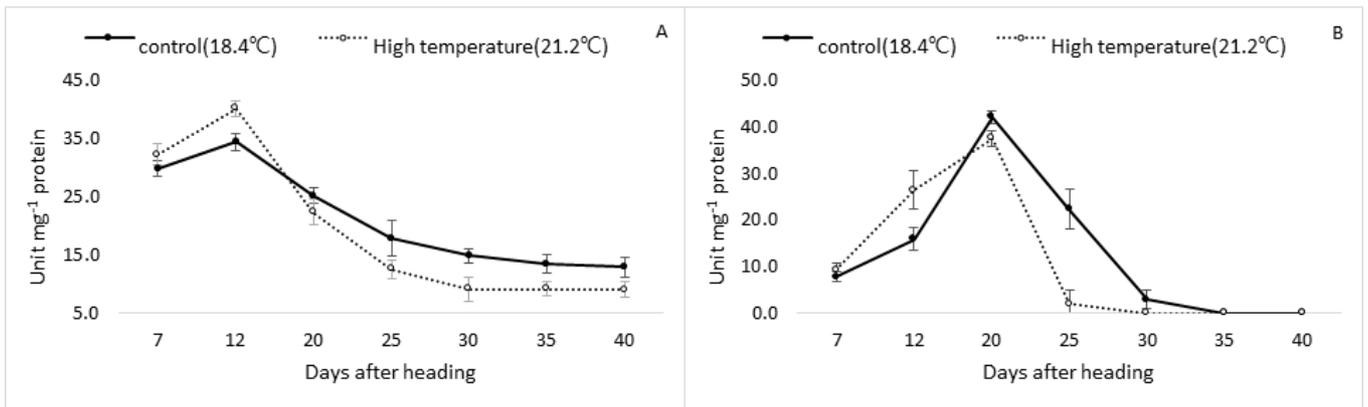


Fig. 7. Changes in α-amylase activity in grain (A) and stem (B) at high temperature during the ripening period.

상승할수록 크게 증가하였음을 확인할 수 있었으며(Table 5), 엽신의 노화속도가 전분합성이 거의 완료된 이후에 증가하는 것으로 보아, 고온에 따른 등숙기간의 단축은 엽신의 노화 기간에 영향을 받지 않는 것으로 추정된다. 식물체가 흡수한 1개의 광양자에 의하여 고정되는 이산화탄소의 분자수를 통해 광합성의 에너지 효율을 나타내는 양자수율(quantum yield) 및 광합성에 의하여 생성된 전자를 전달하는 효율을 나타내는 상대전자전달효율(relative electron transfer rate) 값을 엽록소 형광을 이용하여 측정한 결과는 Fig. 6에 나타낸 바와 같다. 대조구 대비 약 3°C 정도의 고온처리에 따른 양자수율(yield) 및 전자전달효율(rETR) 값의 차이는 없었으며, 엽신의 노화 정도에 따라서만 값이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 이는 광계 II의 경우 45°C 이상의 고온에서만 damage를 입으며, 35~40°C 사이의 고온은 광계 II의 damage가 없지만 루비스코 활성저해 및 전자전달 효율 감소에 영향을 주지만, 35°C 이하의 온도에서는 광합성 능력에 영향을 주지 못한다는 Thomas (2005)의 보고와 일치하였다. 마지막으로 줄기 및 종실에서의 α-amylase 활성 변화를 분

석한 결과는 Fig. 7에 나타낸바와 같다. 고온처리에 따라서 종실에서의 α-amylase의 활성은 전분합성 및 이삭분배 특성과 마찬가지로 등숙초기에 고온처리구에서 증가하였다가 급격히 감소하는 경향을 보였는데(Fig. 7-A), 고온처리구에서 α-amylase 활성의 증가는 전분합성 저해에 영향을 미쳤을 것으로 생각된다. 줄기에서의 α-amylase 활성의 변화는 (Fig. 7-B) 줄기에서의 수용성 탄수화물의 분배비율이 감소하는 경향에 맞춰 등숙초기에 고온처리구에서 증가하며, 줄기에서의 분배비율이 더 이상 감소하지 않는 지점에서 α-amylase의 활성도 나타나지 않는 것을 확인하였다. 결국 등숙기 평균기온의 상승에 따른 립중의 감소는 고온처리가 광합성능력에는 영향을 주지 못하였으며, 출수 전 줄기 및 엽초에 저장된 탄수화물의 재이용 정도가 증가하고, 동화산물의 이삭으로의 전류가 고온처리에서 빨라졌음에도 불구하고, 전분합성에 관련된 유전자 및 효소의 영향에 따른 전분합성 지속정도의 감소에 의한 것으로 생각된다. 등숙기 고온에 적응하는 품종 및 재배기술을 개발하기 위해서는 고온처리에 따라 전분합성 지속정도 감소가 크지 않

며, 출수 전 줄기 및 엽초에 저장된 탄수화물의 함량이 많은 것에 중점을 두어 고려해야 할 것으로 생각된다.

적 요

등숙기 고온에 따른 전분합성 및 동화산물 전류 특성에 미치는 영향을 분석한 결과는 다음과 같다.

1. 등숙기 평균온도가 약 3°C 상승함에 따라 등숙기간은 약 5일정도 단축되었으며, 천립중이 약 4.2 g 정도 감소하였고, 전분함량이 감소함에 따라 상대적으로 단백질 함량이 증가하는 경향을 보였다.
2. 등숙기 고온(+3°C)에 따라 전분합성 최대속도는 약 11% 정도 증가하였지만, 전분합성속도가 최대가 되는 시점은 약 3일, 전분합성 완료 시점은 약 4일정도 앞당겨지는 경향을 보였다.
3. 전분합성 각 단계에 관여하는 유전자의 발현양상은 앞에서의 전분합성과 마찬가지로 고온처리에서 초기 발현량이 증가하였지만, 발현 지속정도가 빠르게 감소하는 경향을 확인하였으며, 특히 soluble starch synthase의 감소가 두드러졌다.
4. 동화산물의 이삭분배 속도는 전분합성속도와 마찬가지로 고온처리구에서 증가하였지만, 줄기 및 지엽에서의 분배비율은 고온처리구에서 급격하게 감소한 결과를 보아 동화산물의 전류속도가 고온처리구에서 빨라진 것으로 생각된다.
5. 엽신의 노화속도(Nr)는 온도가 상승할수록 크게 증가하였음을 확인할 수 있었으며, 노화속도가 등숙이 거의 완료된 이후에 크게 증가하는 것으로 보아, 고온에 따른 등숙기간의 단축은 엽신의 노화 기간에 영향을 받지 않는 것으로 생각된다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제명: 생육시기별 고온조건에서 보리 품종의 수량 및 품질 변화 연구, 세부과제번호: PJ01026201)의 지원에 의해 이루어진 결과의 일부이며 연구사업 수행에 협조해 주신 모든 분들에게 감사드립니다.

인용문헌(REFERENCES)

Bhullar, S. and C. F. Jenner. 1985. Differential responses to

- high temperatures of starch and nitrogen accumulation in the grain of four cultivars of wheat. *Australian Journal of Plant Physiology*. 12 : 363-375.
- Black, J. W. and P. Leff. 1983. Operational models of pharmacological agonism. *Proc. R. Soc. Lond. B*. 220: 141-162.
- Blum, A. 1998. Improving wheat grain filling under stress by stem reserve mobilisation. *Euphytica*. 100 : 77-83.
- Chang, S., J. Puryear, and J. Cairney. 1993. A simple and efficient method for isolating rna from pine trees. *Plant Molecular Biology*. 11 : 113-116.
- Gelang, J., H. Pleijel, E. Slid, H. Danielsson, S. Younus, and G. Sellden. 2000. Rate and duration of grain filling in relation to flag leaf senescence and grain yield in spring wheat(*Triticum aestivum*) exposed to different concentrations of ozone. *Physiol Plant*. 110 : 366-375.
- Guerrero, M. G., and M. V. Losada. 1981. The assimilatory nitrate reducing system and its regulation. *ann. Rev. Plant Physiol*. 32 : 169-204.
- Hecht, B. C. 1979. Calcium deficiency and plant ultrastructure. *Soil. Sci. Plant anal*. 10: 67-81.
- Dormling, I., A. Gustafsson, and D. vonwettstein. 1969. Phytotron cultivation of bonus barley: the control of maturation and grain quality. *Hereditas*. 63 : 415-428.
- Jianchang, Y., Z. Jianghua, W. Zhiqing, Z. Qingsen, and L. Liu. 2004. Activities of fructan and sucrose metabolizing enzymes in wheat stems. *Planta*. 220 : 331-343.
- Kotak, S., J. Larkindale, P. Koskull-Dörfling, E. Vierling, and K. D. Scharf. 2007. Complexity of the heat stress response in plants. *Current Opinion in Plant Biology*. 10 : 310-316.
- Lee, H. S., D. W. Kim, W. H. Hwang, J. H. Jeong, S. H. Ahn, J. S., Baek, J. R. Kang, H. Y. Jeong, J. T. Yun, G. H. Lee, and K. J. Choi. 2016. Change of Physicochemical Properties in Barley Kernels By High Temperature During the Ripening Stage. *J. Korean Soc. Int. Agric*. 28(3) : 358-363.
- Lim, P. O., H. J. Kim, and H. G. Nam. 2007. Leaf senescence. *Annu. Rev. Plant. Biol*. 58 : 115-136.
- Liu, P. W., Z. Guo, H. Jiang, Pu, C., Feng, X., Zhu, Y., Peng, A., Kuang, and C. R. Little. 2011. Effects of high temperature after anthesis on starch granules in grains of wheat(*Triticum aestivum* L.); *Journal of Agricultural Science*, 149 : 159-169.
- Zamani, M. M., M. Nabipour, and M. Meskarbashee. 2014. Stem water soluble carbohydrate remobilization in wheat under head stress during the grain filling. *Int. J. Agric. Biol*. 16 : 401-405.
- Vignjevic, M., X. Wang, J. E. Olesen, and B. Wollenweber. 2015. Traits in spring wheat cultivars associated with yield loss caused by a heat stress episode after anthesis. *J. Agro Crop Sci*. 201 : 32-48.
- Nakano, H., A. Maikino, and T. Mae. 1995. Effects of panicle removal on the photosynthesis characteristics of the flag leaf of rice plant during the ripening stage. *Plant Cell Physiol*. 36 : 453-659.

- Nam, Y. I., B. C. Koo, and K. B. Youn. 1991. Varietal differences of leaf senescence and photosynthate translocation rate during grain filling period in barley. *Korea J. Crop Sci.* 36(2) : 166-173.
- Arnd S. and G.-Q. Tang. 1999. The sucrose-cleaving enzymes of plants are crucial for development, growth and carbon partitioning. *Elsevier Science.* 4(10) : 401-407.
- Tashiro, T. and I. F. Wardlaw. 1989. A comparison of the effect of high temperature on grain development in wheat and rice. *Ann. Bot.* 18 : 259-265.
- Tomas, D. S. 2005. effects of moderate heat stress on photosynthesis: importance of thylakoid reactions, rubisco deactivation, reactive oxygen species, and thermotolerance provided by isoprene. *Plant, Cell and Environment.* 28 : 269-277.
- Verhulst, P. F. 1838. Notice sur la loi que la population suit dans son accroissement. *Curr. Math. Phys.* 10 : 113.
- Yang, J., J. Zhang, Z. Wang, Q. Zhu, and W. Wan. 2001. hormonal changes in the grains of rice subjected to water stress during grain filling. *Plant Physiol.* 127 : 316-323.
- Yamakawa, H., T. Hirose, M. Kuroda, and T. Yamaguchi. 2007. Comprehensive expression profiling of rice grain filling-related genes under high temperature using DNA microarray: *Plant Physiology.* 144 : 258-277.