

Research Article



CrossMark

Open Access

## 새싹보리 재배기간 중 수분스트레스 처리가 사포나린 함량에 미치는 영향

윤영은<sup>1</sup>, 김송엽<sup>1</sup>, 최현지<sup>1</sup>, 조주영<sup>1</sup>, 서우덕<sup>2</sup>, 김영남<sup>3</sup>, 이용복<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>경상대학교 응용생명과학부(BK21 Four), <sup>2</sup>농촌진흥청 국립식량과학원 작물기초기반과, <sup>3</sup>경상대학교 농업생명과학연구원

### Influence of Drought Stress Treatment on Saponarin Content during the Growing Period of Barley Sprouts

Young-Eun Yoon<sup>1</sup>, Song Yoeb Kim<sup>1</sup>, Hyeonji Choe<sup>1</sup>, Ju Young Cho<sup>1</sup>, Woo Duck Seo<sup>2</sup>, Young-Nam Kim<sup>3</sup> and Yong Bok Lee<sup>1,3\*</sup> (<sup>1</sup>Division of Applied Life Science (BK21 four), Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea, <sup>2</sup>Division of Crop Breeding, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea, <sup>3</sup>Institute of Agriculture and Life Science (IALS), Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea)

Received: 5 November 2021/ Revised: 12 December 2021/ Accepted: 14 December 2021

Copyright © 2021 The Korean Society of Environmental Agriculture

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

#### ORCID

Young-Eun Yoon

<https://orcid.org/0000-0001-5423-9402>

Young-Nam Kim

<https://orcid.org/0000-0002-9745-6551>

Yong Bok Lee

<https://orcid.org/0000-0002-7651-4556>

#### Abstract

**BACKGROUND:** Barley sprouts contain a large number of secondary metabolites such as polyphenols, saponarin, and policosanols. The synthesis of such secondary metabolites occurs as a defense mechanism against external environmental stresses. In particular, it has been widely known that drought stress (DS) increases the content of flavonoids in plants. The objective of this study was to investigate the effects of drought stress treatment on the saponarin content in barley sprouts during the growing period.

**METHODS AND RESULTS:** In this study, changes in saponarin content with different DS exposure periods and times were evaluated under the hydroponic system. For establishing different DS treatment periods, water supply was stopped for 1, 2, and 3 days, once leaf length was at 10 cm. To control different DS treatment times, water supply was stopped for 2 days, once leaf lengths were 5, 10, and 15 cm. As a result, the water potential of barley sprouts decreased from -0.8 MPa (before DS treatment) to -1.2, -2.4, and -3.2

MPa (after DS treatment), and reversely recovered to -0.8 MPa after re-irrigation. When 10 cm leaves were subjected to DS for 1 and 2 days, the saponarin content increased by 12 and 10%, respectively, while it increased by 19% when DS was applied to the 5 cm leaves.

**CONCLUSION(S):** The results of this study suggest that drought stress at the early stage of growth (5 cm) is most helpful to increase the saponarin content of barley sprouts.

**Key words:** Abiotic stress, Barley sprouts, Drought stress, Flavonoids, Saponarin

#### 서론

보리는 전세계적으로 재배되고 있는 식량 및 사료작물이다. 지난 20년간 벼, 옥수수, 밀의 재배면적은 꾸준히 증가하고 있는 반면 보리의 재배면적은 지속적으로 감소하고 있다. 우리나라에서 보리는 월동작물로서 1980-1990년 벼 다음으로 중요한 노지 식량작물이었다. 그러나 국내의 맥류재배 면적은 급격한 수요 감소로 1980년대 대비 2010년대 80% 이상 감소하였다(KOSIS, 1980-2019). 최근 우리나라와 일본을 중심으로 보리 외에 함유되어 있는 기능성 이차대사산물인 antioxidant, hypolipidemic, antidepressant, 그리고

\*Corresponding author: Yong Bok Lee

Phone: +82-055-772-1967; Fax: +82-055-722-1960;

E-mail: yblee@gnu.ac.kr

antidiabetic 효과가 밝혀지면서 새로운 소득작물로 주목을 받고 있다[1,2].

보리 잎은 28종의 수용성 phenolated glycone을 함유하고 있으며 이중 lutanarin (iosorientin-7-O-glycoside)이 가장 많은 것으로 밝혀졌다[3]. 그리고 보리를 발아시켜 1-2엽까지 생육시킨 새싹보리(barley sprouts)는 polyphenols, saponarin,  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA), policosanols 등의 이차대사산물을 다량 함유하고 있어 이들의 생리활성에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다[4-7]. 특히 새싹보리의 polyphenols 계열 화합물 중 약 72%를 차지하는 saponarin은 항산화 효과와 염증과 같은 만성질환 예방에 매우 높은 효과가 있는 것으로 알려져 있다[6, 7].

식물체내의 이차대사산물 합성은 대부분 외부 환경변화에 적응 또는 극복하기 위해서 이루어진다. 따라서 많은 연구자들은 건조(Drought), 저온(Cold), 병, 광량 등의 다양한 생육환경 인자 조절에 의한 식물의 이차대사산물 변화에 관심을 가지고 있다[8-12]. 특히 수분스트레스는 식물의 phenolic compounds, flavonoids 등의 함량을 증가시킨다. 톱풀(*Achillea* spp.)에 수분스트레스를 지속적으로 주었을 때 chlorogenic acid, caffeic acid와 같은 phenols 계열 화합물과 rutin, luteolin, apigenin과 같은 flavonoids 계열 화합물 함량이 증가하며[13], 오이 (*Cucumis sativus*)에서는 vanillic acid, 4-hydroxycinnamic acid와 같은 phenolics 계열 화합물을 합성하는 효소들의 활성을 증가시키는 것으로 알려져 있다[14].

본 연구는 우리나라에서 새로운 소득작물로 주목받고 있는 새싹보리를 대상으로 수분스트레스가 saponarin 변화에

미치는 영향을 분석하여 saponarin 고함유 새싹보리 재배조건 설정을 위한 기초자료로 활용하고자 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 새싹보리 재배

실험에 사용된 새싹보리 품종은 '큰알보리1호'이며, 농촌진흥청으로부터 분양받아 사용하였다. 새싹보리 재배실험은 경상대학교 교내 부설 농장의 비닐하우스 안에서 증류수를 이용한 수경재배 시스템으로 실시하였다. 파종량은 표준파종량(840 kg/10a)을 기준으로 수경재배용 포트(0.003 m<sup>2</sup>)에 2.4 g씩 파종하였으며, 수경재배용 포트는 펠라이트로 채웠다(0.15 L/pot). 수분스트레스가 saponarin 함량에 미치는 영향을 분석하기 위해서 수분스트레스를 주는 기간(Exp1)과 수분스트레스를 주는 시기(Exp2)로 나누어서 실험을 진행하였다. 수분스트레스를 주는 기간을 다르게 한 실험은 새싹보리의 길이가 10 cm가 되었을 때 수경재배 시스템의 물 공급을 각각 1일, 2일, 3일 멈추어 수분스트레스를 주었다. 이후 물을 재공급하여 새싹보리가 수분스트레스를 받기 전으로 회복시켰다(Fig. 1). 수분스트레스를 주는 최적 시기를 알아보기 위해 새싹보리의 길이가 각각 5 cm, 10 cm, 15 cm가 되었을 때 2일간 물 공급을 멈추어 수분스트레스를 주었으며, 이후 물을 재공급하여 새싹보리를 회복시켰다. 새싹보리가 수분스트레스를 받은 정도를 나타내기 위해 Dew point potential meter (WP4C, Meter, USA)를 이용하여 수분포텐셜을 측정하였다. 새싹보리 수확은 잎의 길이가 16 cm 되었을 때 수확하였으며, 각 처리구별 3반복으로 수행하였다. 수확한 샘플

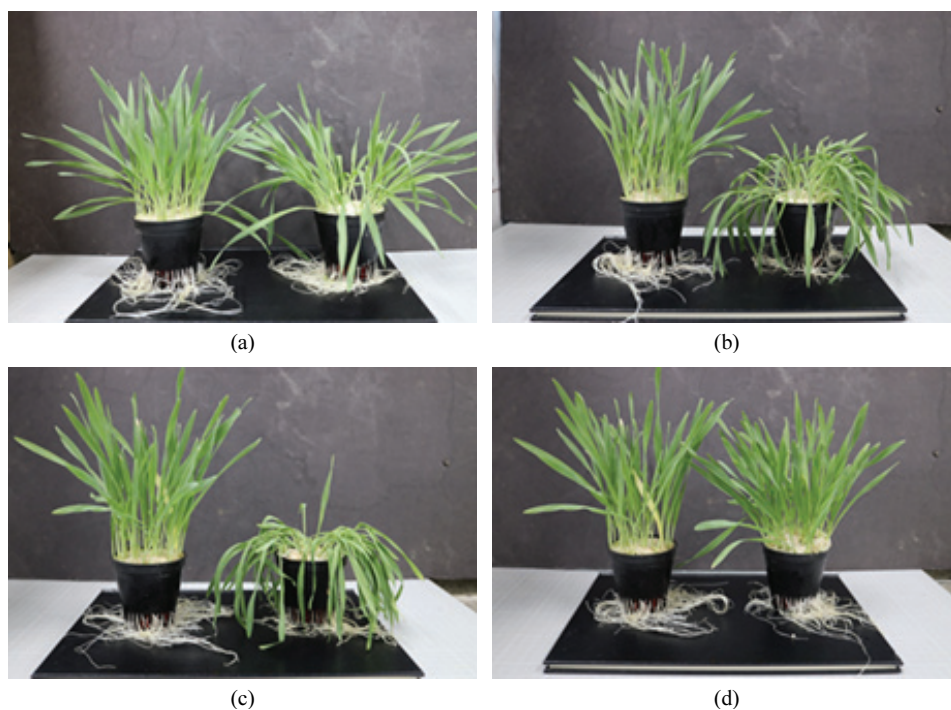


Fig. 1. Growth status of barley sprouts with different drought stress treatment periods: (a) 1 day, (b) 2 days, (c) 3 days, and (d) recovery after re-irrigation.

Table 1. The instrumental condition of UHPLC for analysis of saponarin

UHPLC conditions			
Instrument	Dionex ultimate 3000, Thermo Scientific		
Analytical column	Zorbax Eclipse XDB-C18 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm)		
Injection volume	10 μl		
Mobile phase	(A) 0.1% trifluoroacetic acid (TFA), (B) Acetonitrile		
Flow rate	0.5 ml/min		
Wavelength	325 nm		
Gradient	Time (min)	Mobile phase (%B)	
		0~3	0~3
		3~10	3~15
		10~13	15~30
		13~15	30~50
		15~16	50~90
		16~18	90
		18~20	90~3

플은 -50°C에서 2일간 동결건조(HyperCOOL HC3110, Hanil Scientific Inc, Korea) 후 믹서기를 이용하여 분쇄하였으며 -20°C에서 보관하였다.

용하였으며, 처리구간 유의성 검정은 Tukey's honestly significant difference (HSD)를 이용하여  $p < 0.05$  수준에서 분석하였다.

### Saponarin 정량 분석

새싹보리의 saponarin 정량 분석은 건조된 새싹보리 분말 1.0 g에 50% HPLC grade methanol (Fisher Scientific, Hampton, New Hampshire, USA) 20 ml를 첨가하여 35°C 인큐베이터에서 24시간 진탕 추출하고, 7,800 rpm으로 5분간 원심분리 한 후 상등액을 0.2 μm PTFE syringe filter (Whatman International Ltd., Maidstone, United Kingdom)로 여과하였다. 이 후 UHPLC (Dionex Ultimate 3000, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 saponarin 함량을 분석하였으며 상세한 분석조건은 Table 1에 나타내었다.

### 통계분석

실험결과와 통계분석은 R(version 4.0.4) 프로그램을 이

### 결과 및 고찰

수분스트레스를 받은 새싹보리의 수분포텐셜 값은 Table 2와 같다. Exp1에서의 수분포텐셜 값은 수분스트레스를 받기 전 -0.72 ~ -0.84 MPa 이었으나 수분스트레스를 각각 1, 2, 3일 받은 후 -1.21, -2.40, -3.18 MPa로 감소하였다. 이 후 물을 재공급 한 후 새싹보리의 수분포텐셜 값은 1일, 2일 처리구에서 각각 -0.79, -0.82 MPa로 스트레스를 받기 전 값으로 회복되는 모습을 보였다. 그러나 3일 처리구의 수분포텐셜 값은 -1.26 MPa로 스트레스 받기 전 값으로 회복하지 못하였다(Table 2). Exp2에서의 수분포텐셜 값은 수분스트레스를 받기 전 -0.76 ~ -0.88 MPa로 나타났다. 수분스트레스를 받은 후 수분포텐셜 값은 5, 10, 15 cm에서 각각 -2.60, -2.32, -2.33 MPa로 감소하였으며, 물을 재공급 한 후 -0.82,

Table 2. Water potential of barley sprouts affected by drought stress period (1, 2, and 3 days) and timing (5, 10, and 15 cm)

Treatments	Water potential (MPa)			
	Before stress	After stress	Recovery	
Exp1	Control	-0.72 <sup>a</sup>	-	
	1 day	-0.84 <sup>a</sup>	-1.21 <sup>a</sup>	-0.79 <sup>a</sup>
	2 days	-0.77 <sup>a</sup>	-2.40 <sup>b</sup>	-0.82 <sup>a</sup>
	3 days	-0.79 <sup>a</sup>	-3.18 <sup>c</sup>	-1.26 <sup>b</sup>
Exp2	Control	-0.82 <sup>a</sup>	-	
	5 cm	-0.88 <sup>a</sup>	-2.60 <sup>a</sup>	-0.82 <sup>a</sup>
	10 cm	-0.82 <sup>a</sup>	-2.32 <sup>a</sup>	-0.89 <sup>a</sup>
	15 cm	-0.76 <sup>a</sup>	-2.33 <sup>a</sup>	-0.89 <sup>a</sup>

\* Same letters denote no significant difference (Tukey's HSD,  $p < 0.05$ ).

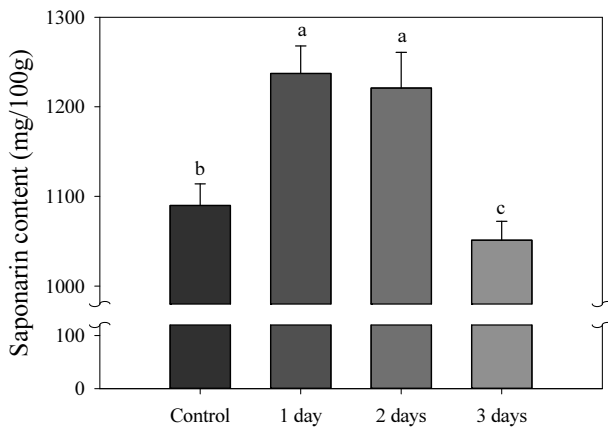


Fig. 2. Saponarin content of barley sprouts by period of drought stress. Data of bar graph represent mean±standard deviation (n=3). Same letters denote no significant difference (Tukey's HSD,  $p<0.05$ ).

-0.89, -0.89 MPa로 스트레스를 받기 전 값으로 회복되는 것으로 나타났다. 이전연구결과에 따르면 수경재배시스템에서 재배하는 밀의 수분포텐셜값은 -0.80 ~ -1.00 MPa로 [15], 본 실험에서의 수분스트레스를 받기 전 새싹보리 잎의 수분포텐셜 값 및 회복 후 새싹보리 잎의 수분포텐셜 값과 유사하게 나타났으며, 이는 수분스트레스를 받은 새싹보리가 완전히 회복되었음을 나타낸다.

수분스트레스를 받는 기간에 따른 새싹보리의 saponarin 함량 변화는 Fig. 2에서 보는 바와 같다. 수분스트레스를 받지 않은 control의 saponarin 값은 1,089 mg/100g으로 나타났으나 수분스트레스를 받은 1일, 2일, 3일 처리구에서의 saponarin 함량은 각각 1,237, 1,220, 1,051 mg/100g으로 나타났다. 1일, 2일 처리구의 saponarin 함량은 control에 비해 각각 12%, 10% 증가하는 경향을 나타내었지만, 3일 처리구에서는 감소하는 경향을 나타내었다. 감자의 어린잎에 수분스트레스를 18, 25일 주었을 때 광합성량이 감소하였으며, 회복후 다시 증가하는 결과를 보였다[16]. 이를 통해 1일, 2일 처리구와 3일 처리구의 saponarin 함량 차이는 광합성량과 상관관계가 있을 것으로 판단된다.

수분스트레스를 받는 시기가 saponarin 함량에 미치는 영향은 Fig. 3에서 나타내었다. 5 cm, 10 cm, 15 cm 처리구에서의 saponarin 함량은 각각 1,333, 1,200, 1,212 mg/100g으로 control (1,111 mg/100g)에 비해 증가하는 경향을 나타내었으며 특히, 5 cm 처리구에서는 19% 증가하였다. 수분스트레스에 의해 식물의 phenolic compounds, flavonoids 함량을 증가시키는 연구는 다수 진행되었으며, 수분스트레스를 받은 후 수확시까지 소요되는 기간에 따라 glutathione 및 ascorbate의 함량이 증가하는 결과를 보였다[17]. 따라서 새싹보리의 saponarin 함량은 스트레스를 받은 후 수확시까지 소요되는 기간과 상관관계가 있는 것으로 판단된다.

새싹보리의 saponarin 함량을 증가시키기 위해서 수분스

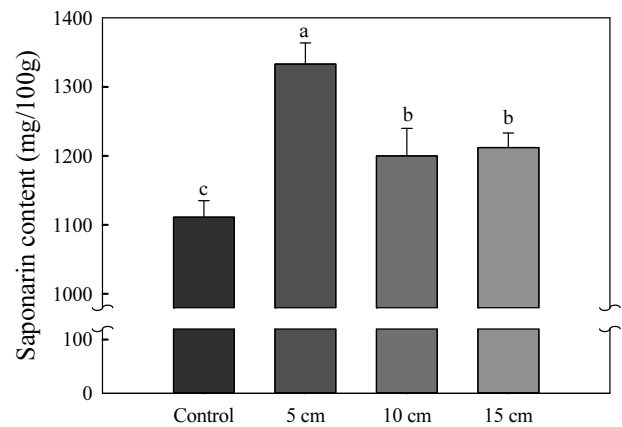


Fig. 3. Saponarin content of barley sprouts after drought stress by plant height. Data of bar graph represent mean±standard deviation (n=3). Same letters denote no significant difference (Tukey's HSD,  $p<0.05$ ).

트레스는 수분포텐셜 기준으로 -2.40 MPa수준으로 잎의 길이가 약 5 cm일 때 주는 것이 이상적인 것으로 판단되며, -3.20 MPa 수준으로 수분 스트레스를 받을 경우 식물이 완전히 회복되지 못하여 saponarin 함량이 감소하는 결과를 나타내었다.

## Note

The authors declare no conflict of interest.

## Acknowledgement

This work was supported by the Rural Development Administration (RDA), Republic of Korea (Project No. PJ014212032021) research fund.

## References

- Duh P Der, Yen GC, Yen, WJ, Chang LW (2001) Antioxidant effects of water extracts from barley (*Hordeum vulgare* L.) Prepared under different roasting temperatures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3), 1455-1463. <https://doi.org/10.1021/jf000882l>.
- Kamiyama M, Shibamoto T (2012) Flavonoids with potent antioxidant activity found in young green barley leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(25), 6260-6267. <https://doi.org/10.1021/jf301700j>.
- Ferrerres F, Kršková Z, Gonçalves RF, Valentão P, Pereira JA, Dušek J, Martin J, Andrade PB (2009) Free

- water-soluble phenolics profiling in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), 2405–2409. <https://doi.org/10.1021/jf8037727>.
4. Seo WD, Yuk HJ, Curtis-Long MJ, Jang KC, Lee JH, Han SI, Kang HW, Nam MH, Lee SJ, Lee JH, Park KH (2013) Effect of the growth stage and cultivar on policosanol profiles of barley sprouts and their adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase activation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(5), 1117–1123. <https://doi.org/10.1021/jf3041879>.
  5. Benedet JA, Umeda H, Shibamoto T (2007) Antioxidant activity of flavonoids isolated from young green barley leaves toward biological lipid samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(14), 5499–5504. <https://doi.org/10.1021/jf070543t>.
  6. Chung HJ, Jang SH, Cho HY, Lim ST (2009) Effects of steeping and anaerobic treatment on GABA ( $\gamma$ -aminobutyric acid) content in germinated waxy hull-less barley. *LWT - Food Science and Technology*, 42(10), 1712–1716. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.04.007>.
  7. Seo KH, Park MJ, Ra JE, Han SI, Nam MH, Kim JH, Lee JH, Seo WD (2014) Saponarin from barley sprouts inhibits NF- $\kappa$ B and MAPK on LPS-induced RAW 264.7 cells. *Food and Function*, 5(11), 3005–3013. <https://doi.org/10.1039/c4fo00612g>.
  8. Alonso-Amelot ME, Oliveros-Bastidas A, Calcagno-Pisarelli MP (2007) Phenolics and condensed tannins of high altitude *Pteridium arachnoideum* in relation to sunlight exposure, elevation, and rain regime. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2006.04.013>.
  9. Kliebenstein DJ (2004) Secondary metabolites and plant/environment interactions: A view through *Arabidopsis thaliana* tinged glasses. *Plant, Cell and Environment*, 27(6), 675–684. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2004.01180.x>.
  10. Laakso K, Sullivan JH, Huttunen S (2000) The effects of UV-B radiation on epidermal anatomy in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) and Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Plant, Cell and Environment*, 23(5), 461–472. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2000.00566.x>.
  11. Albert A, Sareedenchai V, Heller W, Seidlitz HK, Zidom, C (2009) Temperature is the key to altitudinal variation of phenolics in *Arnica montana* L. cv. ARBO. *Oecologia*, 160(1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s00442-009-1277-1>.
  12. Pennycooke JC, Cox S, Stushnoff C (2005) Relationship of cold acclimation, total phenolic content and antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia (*Petunia x hybrida*). *Environmental and Experimental Botany*, 53(2), 225–232. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2004.04.002>.
  13. Gharibi S, Sayed Tabatabaei BE, Saeidi G, Talebi M, Matkowski A (2019) The effect of drought stress on polyphenolic compounds and expression of flavonoid biosynthesis related genes in *Achillea pachycephala*-Rech.f. *Phytochemistry*, 162(July 2018), 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.03.004>.
  14. Li M, Li Y, Zhang W, Li S, Gao Y, Ai X, Zhang D, Liu B, Li Q (2018) Metabolomics analysis reveals that elevated atmospheric CO<sub>2</sub> alleviates drought stress in cucumber seedling leaves. *Analytical Biochemistry*, 559(August), 71–85. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2018.08.020>.
  15. Steinberg SL, Ming DW, Henderson KE, Carrier C, Gruener JE, Barta DJ, Henninger DL (2000) Wheat response to differences in water and nutritional status between zeoponic and hydroponic growth systems. *Agronomy Journal*, 92(2), 353–360. <https://doi.org/10.2134/agronj2000.922353x>.
  16. Vasquez-Robinet C, Mane SP, Ulanov AV, Watkinson JJ, Stromberg VK, De Koeber D, Schafleitner R, Willmot DB, Bonierbale M, Bohnert HJ, Grene R (2008) Physiological and molecular adaptations to drought in Andean potato genotypes. *Journal of Experimental Botany*, 59(8), 2109–2123. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern073>.
  17. Yeung E, van Veen H, Vashisht D, Paiva ALS, Hummel M, Rankenberg T, Steffens B, Steffen-Heins A, Sauter M, de Vries M, Schuurink RC, Bazin J, Bailey-Serres J, Voesenek LACJ, Sasidharan R (2018) A stress recovery signaling network for enhanced flooding tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(26), E6085–E6094. <https://doi.org/10.1073/pnas.1803841115>.