

아연처리 법씨의 발아 중 α -Amylase 활성과 유리 Proline 함량 변화에 미치는 Kinetin 침종의 영향

김상국 · 이상철¹⁾

경북농촌진흥원 · ¹⁾경북대학교 농과대학

Effects of Seed Soaking of Kinetin with Zinc Treatment on α -amylase Activity and Free Proline Content during Germination of Rice(*Oryza sativa* L.)

Sang Kuk Kim and Sang Chul Lee¹⁾(*Gyeongbuk Provincial RDA, Taegu 702-320, Korea ; ¹⁾Coll. of Agric., Kyungpook Nat'l Univ., Taegu 702-701, Korea*)

Abstract : The study was carried out to elucidate the changes of α -amylase activity and free proline content for zinc toxicity in two rice cultivars(Ilpumbyeo and Namchunbyeo) during germination and early growth stages.

Plant height in all kinetin treatments was promoted but zinc 120ppm treatment was decreased. Soaking treatment of kinetin $10^{-3}M$ increased germination rate of both cultivars, Ilpumbyeo and Namchunbyeo by 95% and 96% as compared with zinc 120ppm. Chlorophyll content of Ilpumbyeo was higher than that of Namchunbyeo. Activity of α -amylase in kinetin $10^{-3}M$ of both rice cultivars was most highest in the 3days after treatment of zinc 120ppm. Free proline content in all rice cultivars of zinc 120ppm treatment was sharply increased at the 3days after treatment of zinc 120ppm.

As a result, the effects of kinetin treatment were recognized to promote the plant height and germination rate under zinc toxicity(120ppm) during rice seed germination and early growth stages.

Key words : Rice, Zinc toxicity, α -amylase, Free proline.

서 론

지구 암석권의 평균적인 아연 함량은 약 80ppm정도인데 비하여 실제로 토양에는 보통 10~30ppm정도로 함유되어 있다¹⁾. 식물에 대한 아연의 생화학적 반응은 생체 조직 내의 carbonic anhydrase와 glutamate dehydrogenase, alcohol dehydrogenase 등의 탈수소 효소에 관계하며²⁾ 아울러 광합성의 산화 환원 작용에 관여하며 식물체 내의 아연 함량은 식물의 종과 생리 및 생태적인 조건에 따라 다소 차이는 있지만 대체로 매우 낮은 편이어서 식물의 아연에 대한 요구량도 매우 낮은 편이다³⁾. 따라서 벼 역시 아연에 대한 요구도가 크지않기때문에 우리 나라의 논 토양은 과거와는 달리 유기물 시용과 시비 기술의 발달로 아연의 결핍 현상은 크게 나타나지 않고 있다.

1980년대 이후 석유, 가스, 원자력 등의 대체 에너지 개발로 인하여 강원도 북부와 동해안 일부 지역과 문경, 점촌을 중심으로한 경북 북부 지역 및 경남 일부 지역의 광산이 폐광으로 바뀌어 감에 따라 폐광 사후 시설의 미비로 인하여 아연, 구리, 몰리브덴, 니켈, 카드뮴 등의 중금속들이 다량으로 지하 침출수 또는 직접적으로 인근 농경지로 유입되어 작물의 초기생육을 억제하거나 심한 경우 농경지로서 역할을 못하게 되어 결국 작물의 생산성 저하시키는 주된 요인으로

작용하여 환경오염에 대한 심각성을 높이고 있다.

따라서 본 연구는 작물에 해를 주는 다양한 중금속가운데 아연의 독성에 대한 벼의 발아와 초기생육중 종자내의 생리 및 생화학적 반응을 검토한 바 몇가지 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

공시재료

공시재료는 경상북도 농촌진흥원 북부시험장(안동)에서 1996년에 재배한 일품벼와 남천벼 2품종을 사용하였고 종자의 소독 및 살균은 종자 50g을 스포탁 유제(한국삼공 주식회사) 1ml을 증류수 1l에 넣은 후 24시간동안 상온에 방치한 후 증류수로 5회 세척하였다.

처리방법

식물생장조절제인 kinetin(Sigma제, 특급)처리는 kinetin을 $10^{-3}M$, $10^{-4}M$ 및 $10^{-5}M$ 의 농도로하여 벼 종자에 침종 처리하여 $30 \pm 1^\circ C$ 가 유지되는 항온기에 24시간동안 방치하였다. 아연처리는 petridish에 여과지(No. 2, Whatman) 2매를 깔고 petridish($\phi 9cm$)당 60립씩 치상한 다음 $ZnCl_2$ (Junsei 제) 150ppm 용액을 15ml씩 첨가하였고 대조구는

중류수(pH 6.9±1) 20ml을 가하여 온도 30±1°C, 상대습도 70±5%의 생장실에서 매일 오전 10시에 발아율을 조사하였고 시험구 배치는 완전임의배치 7반복으로 하였다.

측정 및 분석법

엽록소 함량은 Cock 등⁴⁾의 방법에 따라 추출한 후 652 nm에서 흡광도를 측정하여 총 엽록소 함량을 조사하였다. α-amylase 활성은 Williams 등⁵⁾의 방법에 의해 발아 후 1, 3, 5 및 7일에 발아된 유식물의 유근과 유아를 제거한 다음 측정하였다. 유리 proline 함량은 Bates⁶⁾의 방법을 변형하여 -80°C의 냉동고에 보관중인 생체시료 0.5g을 3% sulfosalicylic acid 10ml로 균질화시킨 후, 여과지(No. 2, Whatman Int'l Ltd, England)로 여과시킨 추출액 2ml을 발색용액[acetic acid 5ml, ninhydrin 용액 5ml(125mg ninhydrin, 3ml acetic acid 및 6M phosphoric acid 2ml)]과 혼합하여 항온수조(100°C)에서 1시간 동안 열탕하여 식힌 후 냉장실에서 반응을 정지시킨 후 toluene 12ml을 시험관에 넣어 추출액과 혼합하여 30초동안 강하게 흔들여 준 다음 분광광도계로 흡광도(520nm)를 측정한 후 표준품 proline의 검량선을 작성하여 정량하였다.

결과 및 고찰

생육특성

벼 발아중 아연독성에 대하여 식물생장조절제인 kinetin을 처리하여 품종간 생육을 살펴 보면 표 1과 같다. 일품벼에서

Table 1. Growth characteristics of different zinc treatment in two rice cultivars.

Cultivars	Treatments*	Plant height (cm)	Root length (cm)	Germination rate ¹ (%)
Ilpumbyeo	Control	3.1	4.4	94a
	Zinc 120ppm	2.2c	0.2	32c
	Kinetin 10 ⁻³ M	3.6a	2.5	95a
	Kinetin 10 ⁻⁴ M	3.5a	2.0	93b
	Kinetin 10 ⁻⁵ M	3.5a	1.9	93b
Namchunbyeo	Control	2.7c	3.5	93b
	Zinc 120ppm	1.8d	0.3	27d
	Kinetin 10 ⁻³ M	3.3a	2.8	96a
	Kinetin 10 ⁻⁴ M	3.0b	2.5	93b
	Kinetin 10 ⁻⁵ M	2.7c	2.2	90c

Means in each column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level into one cultivar according to DMRT.

*Kinetin treatments were seed soaking for 24hrs. at room temp., and then placed into petridish containing zinc 120ppm.

¹Checked at the 7days after treatment of zinc 120ppm.

초장은 무처리보다 모든 kinetin처리구에서 양호한 생육을 보인 반면 아연 120ppm처리구에서는 2.2cm로 가장 저조한 생육현상을 보였는데 이러한 결과는 남천벼에서도 생육의

차이는 다소 있었지만 아연 120ppm처리구에서 1.8cm로 가장 낮은 수치를 보여 아연에 대한 생육저하현상이 뚜렷하였다. 그러나 kinetin처리구에서는 벼 품종과는 무관하게 무처리보다 생육이 양호한 현상을 보여 아연독성에 대한 kinetin의 효과가 인정되는 것으로 나타났는데 특히 kinetin 10⁻³M에서 가장 현저한 생육을 보였다. 발아율은 두 품종 모두 무처리보다 kinetin 10⁻³M에서 가장 높게 나타났으나 아연 120ppm에서는 일품벼가 32%, 남천벼가 27%로 매우 낮았다.

엽록소 함량

엽록소 함량을 표 2에서 살펴보면 일품벼의 경우 무처리가 1.37mg인 것보다 아연 120ppm에서 0.45mg으로 매우 낮았으나 kinetin처리구에서는 모두 1.33mg이상의 함량을 보였고 특히, Kinetin 10⁻³M에서는 1.42mg으로 무처리보다 훨씬 높은 함량의 증가를 보였다. 남천벼의 경우도 일품벼와 같은 현상을 보여 아연독성에 대한 엽록소 함량의 감소는 남천벼가 다소 낮게 나타나 품종간 뚜렷한 차이를 나타내었다. 이러한 경향은 김 등⁷⁾과 손 등⁸⁾이 벼 발아중 구리 60ppm 처리시 엽록소 함량이 일반형인 일품벼보다 통일형인 향미벼 1호에서 낮았다는 보고와 유사한 결과를 보였다.

Table 2. Chlorophyll content on zinc treatment two rice cultivars.

Cultivars	Treatments*	Chlorophyll content (mg/g fresh wt.)
Ilpumbyeo	Control	1.37b
	Zinc 120ppm	0.45d
	Kinetin 10 ⁻³ M	1.42a
	Kinetin 10 ⁻⁴ M	1.36b
	Kinetin 10 ⁻⁵ M	1.33c
Namchunbyeo	Control	0.79b
	Zinc 120ppm	0.46d
	Kinetin 10 ⁻³ M	0.82a
	Kinetin 10 ⁻⁴ M	0.78b
	Kinetin 10 ⁻⁵ M	0.76c

Means in each column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level into one cultivar according to DMRT.

*Kinetin treatments were seed soaking for 24hrs. at room temp., and then placed into petridish containing zinc 120ppm.

α-amylase 함량

그림 1은 아연독성에 대한 일품벼의 α-amylase 함량 변화를 나타내었다. 아연 120ppm처리 후 1일째는 kinetin처리구와 무처리구에서 모두 60에서 90mg의 활성을 보였으나 아연 120ppm처리구에서는 20mg으로 매우 낮은 활성을 보였으며 특히, 아연 120ppm처리 후 3일째에는 아연 120ppm처리구에서도 다소 높은 활성을 보였고 kinetin 10⁻³M에서는 가장 높은 활성을 나타내었다. 그러나 아연 120ppm처리 후 5일째 이후부터 급격한 활성감소를 보여 α

α -amylase활성은 아연 120ppm처리구를 제외하면 처리 후 3 일째 가장 높은 활성을 보이는 것으로 나타났다.

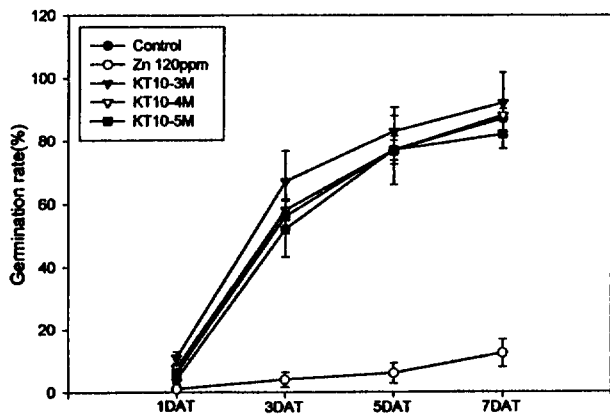


Fig. 1. Germination rate as affected by kinetin treatment in Ilpumbyeo. Vertical bar on lines means SE. KT indicates Kinetin. DAT means the days after treatment of zinc 120 ppm.

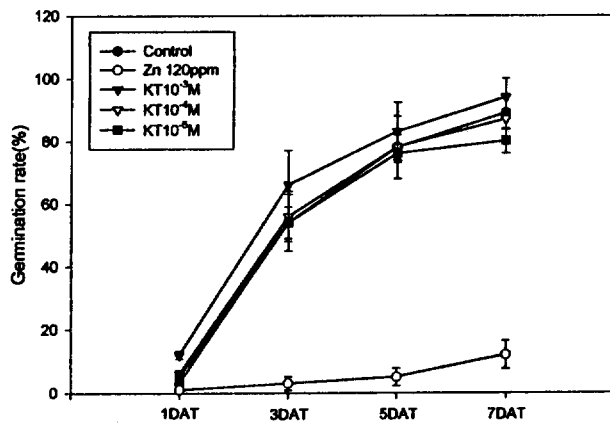


Fig. 2. Germination rate as affected by kinetin treatment in Namchunbyeo. Vertical var on lines means SE. KT indicates Kinetin. DAT means the days after treatment of zinc 120ppm.

그림 2는 남천벼에 대한 아연 120ppm 처리 후 발아일수별 α -amylase 함량 변화를 나타낸 것이다. 남천벼 역시 일품벼와 마찬가지로 처리에 따른 함량변화는 유사한 결과를 나타내었으나 α -amylase 활성정도는 일품벼보다 다소 높은 경향이였다. 이는 김 등⁹⁾과 Suzuki 등¹⁰⁾이 저온발아시 3일째 α -amylase 활성이 가장 높았다는 것과 유사한 결과를 보였다.

유리 proline 함량

아연 120ppm처리 후 유리 proline 함량을 살펴보면 표 3과 같다. 일품벼의 경우 아연 120ppm처리 후 1일째는 무처리를 제외한 모든 처리구에서 함량 증가가 완만히 나타났으나 처리 후 3일째에는 무처리가 2,228 μ mole인 것보다 아연 120ppm 처리에서 4,885 μ mole로 가장 높은 함량 증가를

보였는데 이러한 경향은 남천벼에서도 아연 120ppm처리 후 3일째 아연 120ppm처리에서 유리 proline함량이 가장 높게 나타나 김 등⁹⁾이 벼 발아중 구리 독성에 대하여 발아 후 3 일째부터 유리 proline 함량이 증가하였다는 결과와 유사한 경향을 보였으며 한밭, 염해 등의 환경 장애에서 일반적으로 식물체내의 유리 proline함량이 증가한다는 것과 유사한 경향을 보여 추후 구체적인 연구가 수행되어야 할 것으로 판단되었다.

Table 3. Changes of free proline content on zinc treatment in two rice cultivars.

Cultivars	Treatments*	Free proline content(μ mole)			
		1 DAT ^b	3 DAT	5 DAT	7 DAT
Ilpumbyeo	Control	2,340	2,228d	2,198	2,106
	Zinc 120ppm	3,445	4,885a	3,120	2,298
	Kinetin 10 ⁻³ M	3,109	3,951b	2,196	1,873
	Kinetin 10 ⁻⁴ M	3,220	3,306c	2,027	1,926
	Kinetin 10 ⁻⁵ M	3,230	3,008c	1,999	1,930
Namchunbyeo	Control	2,677	2,691d	2,533	2,458
	Zinc 120ppm	3,784	5,372a	2,608	2,673
	Kinetin 10 ⁻³ M	3,450	4,125b	2,459	2,514
	Kinetin 10 ⁻⁴ M	3,349	3,859c	2,507	2,458
	Kinetin 10 ⁻⁵ M	3,236	3,613c	1,999	1,873

Means in each column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level into one cultivar according to DMRT.

^bDays after treatment of zinc 120ppm.

*Kinetin treatments were seed soaking for 24hrs. at room temp., and then placed into petridish containing zinc 120ppm.

요 약

본 실험은 식물생장조절제인 kinetin으로 침종 처리된 벼 종자에 아연 120ppm을 처리하여 발아중 아연 독성에 대한 초기생육, 엽록소 함량, α -amylase 및 유리 proline 함량 등의 변화를 일품벼와 남천벼를 실험 재료로하여 실험한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 일품벼에서 초장은 무처리보다 모든 kinetin처리구에서 양호한 생육을 보인 반면 아연 120ppm처리구에서는 가장 저조한 생육현상을 보였고 발아율은 두품종 모두 무처리보다 kinetin 10⁻³M에서 가장 높게 나타났으나 아연 120ppm처리구에서는 일품벼가 남천벼보다 다소 높았다.
2. 엽록소 함량은 일품벼의 경우 무처리가 1.37mg인 것보다 아연 120ppm에서 매우 낮았고 특히, kinetin 10⁻³M에서는 무처리보다 훨씬 높은 함량의 증가를 보였다.
3. α -amylase 함량은 아연 120ppm 처리 후 1일째는 kinetin처리구와 무처리구에서 모두 낮은 활성을 보였으나 아연 120ppm 처리 후 3일째 kinetin 10⁻³M에서는 가장 높은 활성을 나타내었다.
4. 유리 proline 함량은 일품벼의 경우 아연 120ppm처리

후 1일째는 무처리를 제외한 모든 처리구에서 함량중가가 완만히 나타났으나 처리 후 3일째에는 무처리보다 아연 120ppm 처리에서 가장 높은 함량 증가를 보였다.

참고문헌

1. Goldschmidt, V.M. 1954. *Geochemistry* Oxford Univ. Press(Clarendon), London and New York. pp. 44~45.
2. Mengel J. and E.A. Kirkby. 1987. *Principles of plant nutrition*. International Potash Institute, Bern, Switzerland. pp. 592~593.
3. Vallee, B.L. and Wacker, W.E.C. 1970. Metalloprotein : in H. Neurath(ed.), *The Proteins*(2nd ed.), Vol. 5, Academic Press, New York, p. 192.
4. James H. Cock, Kwanchai A. Gomez, Shouichi Yoshida and Douglas A. Forno. 1976. *Laboratory manual for physiological studies of rice*. Vol. 3. IRRI. Los Banos, Philippines. pp. 43~49.
5. Williams, J.F. and M.L. Peterson. 1973. Relations between alpha-amylase activity and growth of rice seedling. *Crop Sci.* 13 : 612~615.
6. Bates L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39 : 205~207.
7. Kim Sang Kuk, Sang Chul Lee, Gi Gun Min, Seong Phil Lee and Boo Sull Choi. 1996. Effects of seed soaking of kinetin on alleviating copper toxicity during germination in rice. *Korean J. Crop Sci.* 41(4) : 65~474.
8. Sohn, Tae Kwon. 1992. Biochemical effects of ABA and GA₃ on the growth of rice(*Oryza sativa* L.) seedlings. *Kyungpook National Univ. Coll. of Agric. Dept. of Agronomy*. pp. 10~12.
9. Kim, Sang Kuk, Jong Gun Won and Sang Chul Lee. 1997. Changes of α -amylase activity and free proline content under low temperature in rice. The Korean Environmental Sciences Society, Pusan, Korea. in press.
10. Suzuki S, Diuangsih N, Hyodo K and Soemarwoto O. 1978, Cadmium, copper, and zinc in rice produced in java. *Ecology and Development* 6. Inst. Ecology, Padjadaran Univ. Bandung, Indonesia. pp. 29.