

벼 수발아시 종실내 효소활성의 품종간 차이

고종철*[†] · 김보경* · 이규성*** · 최원영* · 최혜란** · 조은애** · 윤성중**

*호남농업연구소, **전북대학교 생물자원과학부, ***농촌진흥청

Varietal Difference in Enzyme Activities during Preharvest Germination of Rice

Jong-Cheol Ko*[†], Bo-kyeong Kim*, Kyu-Seong Lee***, Weon-Young Choi*, Heh-Ran Choi**, Eun-Ae Cho**, and Song-Joong Yun**

*Honam Agricultural Research Institute, NICS, RDA, Iksan 570-080, Korea

**Division of Biological Resources Sciences, Chonbuk Nat'l Univ., Jeonju 561-756, Korea

***Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea

ABSTRACT : This study was conducted in order to examine relationships between the viviparous germination ability and the antioxidative system in rice seeds and seedlings. Enzyme activities was compared among the four varieties with different viviparous germination ability from the early or mid-late maturity group. α -Amylase activities correlated with the viviparous germination rate (VGRs) and α -amylase activity in seeds of 40 days after heading (DAH) was highest in Dongjinbyeo among mid-late maturing varieties (MLMVs) and in Daeseongbyeo among EMVs. α -Amylase activity in dry mature seeds was also higher in varieties with higher VGR. Glucose contents in viviparously germinating seeds and mature dry seeds were higher in varieties with higher VGRs. Catalase activities did not correlate with the VGRs in both maturity groups. However, peroxidase activities in viviparously germinating seeds were higher in varieties with higher VGRs.

keywords: Viviparous germination, enzymes, α -Amylase, β -amylase, Catalase, peroxidase

벼 종자는 종자중량의 약 23%의 수분을 흡수하고 호흡에 필요한 산소와 여러가지 대사과정진행에 적당한 온도가 주어지면 종자내의 저장양분, 즉 탄수화물, 단백질, 지방등이 흡수층 또는 호분층에 형성된 효소들에 의해 분해되어 호흡작용, 단백질합성 및 기타 대사작용이 활발히 진행되어 발아하게 된다(이, 1984). 벼 종자가 이삭에 붙어있는 상태로 발아하게 되는 경우가 있는데 이러한 현상을 수발아라고 부른다(조 등, 1998). 수발아현상은 통일형 품종보다 자포니카 품종에서 쉽게 일어나며 조생종이 중만생종보다 높다(홍 등, 1980; 丸山清明, 1980; 이 등, 1990; 노, 1991; 서 등, 1994). 수발아 피

해는 황숙기에서 완숙기 사이의 강우시에 심하게 나타나며, 재배시기, 수확시기(조 등, 1988; 김 등, 1996), 일장, 온도(김 등, 1996) 등에 의해 영향을 받는다.

벼 종자의 발아중 전분을 분해하는 주효소는 amylase로 α -amylase와 β -amylase 두 종류가 있는데 일반적으로 α -amylase는 호분층에서 생성되고 β -amylase는 배유에 존재하며 특히, α -amylase는 GA에 의해서 유도된다(Okamoto, 1980; Daussant, 1983; 소 등, 1995; Soh 등, 1994). 벼 종자 발아시 amylase의 활성은 흡수 후 7~8일까지 증가하고(Lu, 1987; 소 등, 1995) 품종간에 차이가 있으며 발아율과 정의 상관관계(이 등, 1994; 소 등, 1995)가 있는 것으로 알려져 있다. 벼에서 발아기 동안 특정한 catalase 활성이 증가하고 증가율은 저온에서 높은 발아능력을 가진 품종이 높으며 catalase 활성의 초기수준과 저온발아율사이에는 정의 상관성이 있다고 하였다(Masatoshi, 1996). 항산화 효소인 peroxidase의 활성은 세포벽의 신장성과 부의 상관관계가 있으며 온도와 광 등에 의해서 영향을 받는다(소 등, 1995).

이상에서 보듯이 수발아의 원인, 피해, 품종간 차이등은 활발히 연구되어 왔으나 수발아와 전분분해 효소 및 항산화 효소의 관련성에 관한 연구는 많지 않다. 본 연구에서는 몇몇 품종들의 수발아중 전분 분해효소와 항산화효소 활성의 품종간 차이를 조사하여 내수발아성 품종선택 및 품종 육성시 필요한 기초자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

식물재료 및 수발아 처리

본 연구에서는 수발아성 정도가 다른 대성벼, 대관벼, 운봉벼, 오대벼(이상 조생종), 동진벼, 호안벼, 동안벼, 남평벼(이상 중만생종)등 8품종을 공시하여 호남농업연구소 표준재배법으로 재배하였다. 발육이 진행중인 종자의 수발아율은 품종별로

[†]Corresponding author: (Phone) +82-63-582-1281 (E-mail) okjc317@rda.go.kr

<Received May 2, 2005>

출수후 40일된 크기가 균일한 5개의 이삭을 25°C, 95% 포화 습도의 항온습습기내에 치상하여 수발아를 유도하고 2일 간격으로 8일간 조사하였다. 수발아율을 조사한 후 효소활성 분석을 위한 시료를 채취하였으며 공시품종들의 완전 성숙한 종자에서 효소활성을 비교하기 위해 출수후 55일 이상된 시료를 사용하였다. 효소활성 분석용 시료는 액체질소하에서 유발과 유봉으로 분쇄한 후 -70°C에 보관하였다.

효소활성 검정 및 Glucose함량 분석

전분 가수분해 효소인 α -Amylase 활성과 β -Amylase 활성은 Megazyme사의 α -amylase assay kit를 사용하여 측정하였고 Peroxidase와 catalase의 추출은 0.1 M sodium phosphate (pH 7.8), 1 mM EDTA, 1 mM PMSF의 효소추출 완충액을 사용하였다. 효소추출 완충액 1ml에 동결건조한 마쇄시료 200 mg과 polyvinylpyrrolidone 약 10 mg 첨가하고 30초간 혼합한 후 얼음에 5분간 정지하였다. 시료 균질화액을 4°C에서 15분동안 12,000 g로 원심분리후 상정액을 취하여 40% glycerol용액이 되도록 조절하였다. Catalase활성과

Peroxidase활성은 Anderson(1995)의 방법을 이용하여 측정하였다. Glucose 함량은 α -amylase추출액을 이용하여 분석하였다. Chromogene, glucose standard, 효소추출액을 혼합한 혼합액의 흡광도를 410 nm에서 측정하여 glucose로 환산하였다.

결과 및 고찰

수발아율의 변화

공시된 품종들의 수발아 처리후 일수별 수발아율의 변화와 품종간 수발아의 차이는 Table 1과 Photo 1에서 보는 바와 같다. 중만생 품종에서는 동진벼, 호안벼, 동안벼, 남평벼순으로 수발아율이 낮았다. 동진벼는 수발아 처리후 4일과 6일째에 수발아가 많이 되었고 8일째는 약 62%의 수발아율을 보였다. 조생품종에서는 대성벼, 대관벼, 오대벼, 운봉벼순으로 수발아율이 낮았다. 대성벼는 2일과 4일째 수발아가 많이 되어 동진벼에 비하여 수발아가 빠르게 진행되었다. 이러한 결과에서 등(1994)의 자포니카 품종들간에 수발아 처리후 4일간 수발아 차이를 조사하면 품종간 차이를 명확히 조사할수 있다는

Table 1. Changes in viviparous germination percentage of rice seeds imbibed with water at 25°C at 40 days after heading.

Type of maturity	Variety	Days after treatment				
		0	2	4	6	8
		----- % -----				
Mid-late maturing variety	Dongjinbyeo	0.0(0)	1.8(1.8)	27.8(29.6)	25.3(54.9)	7.5(62.4)
	Hoanbyeo	0.0(0)	0(0)	7.0(7.3)	17.1(24.4)	14.7((39.1)
	Donganbyeo	0.0(0)	1.2(1.2)	1.2(2.4)	5.1(7.5)	5.3(12.8)
	Nampyeongbyeo	0.0(0)	0.2(0.2)	0.8(1.0)	1.4(2.4)	0.9(3.3)
	LSD(0.05)	0.0	1.15	6.76	6.42	5.40
Early maturing variety	Daeseongbyeo	2.5(2.5)	22.1(24.6)	22.7(47.3)	7.7(55)	3.8(58.8)
	Daegwanbyeo	1.0(1.0)	0.9(1.9)	4.1(6.0)	6.6(12.6)	6.9(19.5)
	Odaebyeo	0.0(0)	1.2(1.2)	1.8(3.0)	2.1(5.1)	3.2(8.3)
	Unbongbyeo	0.0(0)	0.8(0.8)	0.1(0.9)	1.8(2.7)	2.2(4.9)
	LSD(0.05)	1.45	5.82	5.63	2.60	2.52

() : cumulative viviparous germination percentage

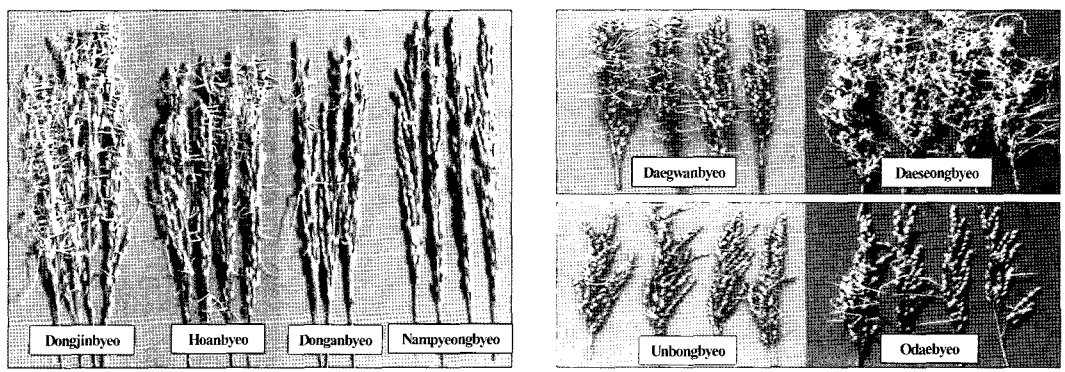


Photo. 1. Varietal differences of viviparity of rice seeds at 40 days after heading.

보고와 일치하는 경향이였다. 한편, 수발아율의 품종간 차이는 김 등(1999)의 결과와 일치한다.

가수분해 효소 활성 및 Glucose 함량

α -Amylase 활성과 β -amylase 활성: 벼 종자의 발아중 전분을 분해하는 주효소인 α -amylase 활성의 수발아중 변화는 Fig. 1에서 보는 바와 같다. 공시품종의 α -amylase 활성과 수발아율간에는 정의 상관관계가 인정되었으며 그 경향은 중만생품종이 더욱 뚜렷하였다. 중만생종의 α -amylase 활성은 수발아 처리 6일째까지 직선적으로 증가하였으며 수발아성이 높은 품종이 낮은 품종보다 높았다. 처리 6일째 효소활성은 동진벼가 남평벼에 비하여 9배 정도 높았다. 조생종의 α -amylase 활성은 수발아처리 초기에는 중만생종보다 높으나 후기에는 낮은 경향이였다. 수발아 처리 6일째까지는 수발아성이 높은 품종의 효소활성이 수발아성이 낮은 품종의 활성보다 높은 경향이였다. 수발아 처리 4일째의 효소활성은 대성벼가 운봉벼보다 11배 정도 높았다. 이러한 결과는 α -amylase 활성은 품종간 차이가 있고 수발아율과 α -amylase 활성과는 정의 상관 관계가 있다는 보고(이 등, 1994; 소 등, 1995)와 일치한다.

등숙 중인 종자의 수발아성과 성숙종자 중의 전분분해효소

활성과의 관계를 조사하기 위하여 완전 성숙한 건조종자 중의 효소활성을 조사하였다. 완전 성숙한 건조종자의 종실당 α -amylase 활성은 Fig. 2와 같다. 조생·중만생 품종 모두에서 수발아성이 높은 품종의 효소활성이 수발아성이 낮은 품종에 비하여 높았다. 중만생종 품종에서 종실당 효소활성은 동진벼가 남평벼에 비하여 1.6배 정도 높았으며 조생종 품종에서는 대성벼가 운봉벼에 비하여 1.6배정도 높았다. 이러한 α -amylase 활성의 품종간 차이는 발아속도가 α -amylase 활성과 관계가 깊고(Hunan 농업대, 1977), amylase의 활성이 높은 품종이 발아속도가 빠르다(소 등, 1995)는 보고와 일치하였다.

또 다른 전분 분해효소인 β -amylase 활성의 변화는 Table 2에서 보는 바와 같다. β -amylase 활성은 조·중만생 품종 모두에서 품종간 일정한 경향과 차이를 나타내지 않았으며 수발아 양상과도 일치하지 않았다. 벼의 일부 품종에서는 β -amylase가 결핍되어 있으며 건조종자와 발아 2일후 까지는 β -amylase 단백질이 없고 발아 6일과 8일째에 관찰되었다고 하였으나(Yamaguchi *et al.*, 1999), 본 시험의 공시품종들은 모두 β -amylase가 존재하였고 미성숙 종자 및 초기 수발아 종실에서도 β -amylase가 존재하였다. 한편, 윤(1998)은 β -amylase 활성과 출아계수 사이에는 고도의 상관관계가 있다고 하였으

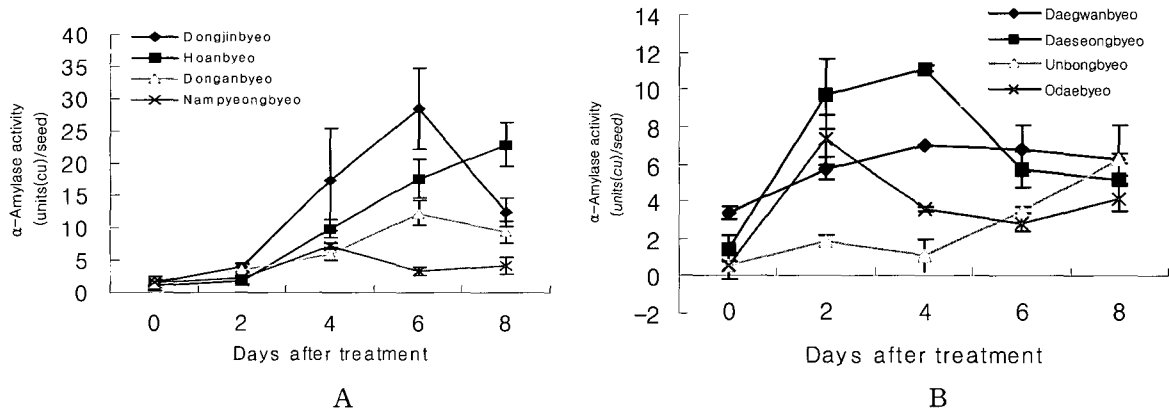


Fig. 1. Changes in α -amylase activity during the viviparous germination of rice seeds at 40 days after heading in mid-late maturing varieties(A) and early maturing varieties(B).

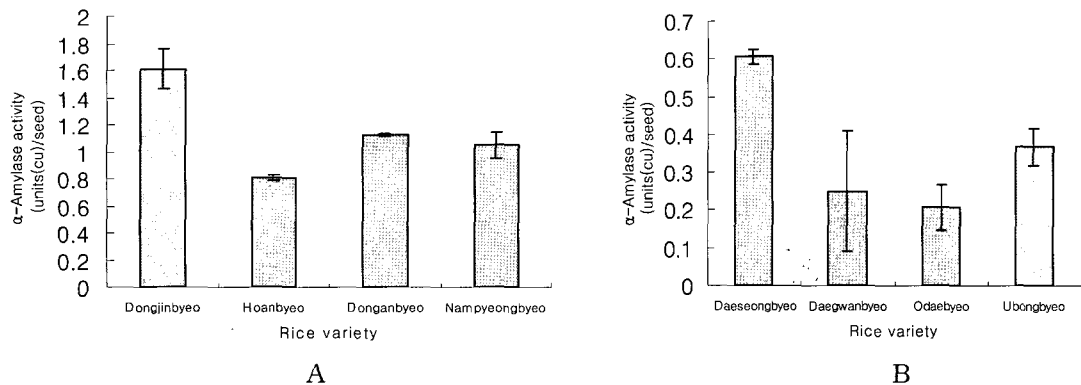


Fig. 2. α -Amylase activity in completely matured dry rice seeds of mid-late maturing varieties(A) and early maturing varieties(B).

Table 2. Changes in β -amylase activity during the viviparous germination of rice seeds at 40 days after heading.

Type of maturity	Varieties	Days after treatment				
		0	2	4	6	8
		----- units/seed -----				
Mid-late maturing variety	Dongjinbyeo	1.78	1.54	1.55	1.94	1.79
	Hoanbyeo	1.06	1.70	1.84	1.93	1.38
	Donganbyeo	2.09	2.03	3.04	1.76	2.00
	Nampyeongbyeo	2.14	1.62	1.56	1.44	1.57
	LSD(0.05)	0.70	1.56	2.16	1.64	1.35
Early maturing variety	Daeseongbyeo	1.43	1.46	1.63	1.56	1.50
	Daegwanbyeo	1.41	1.38	1.32	1.46	1.36
	Odaeybyeo	1.69	1.63	1.71	1.57	1.59
	Unbongbyeo	1.09	1.14	1.84	1.95	1.26
	LSD(0.05)	0.21	0.53	0.97	1.08	0.20

나 본 시험에서는 수발아와 α -amylase 활성과는 일정한 경향이 없었고 상관관계도 보이지 않았다.

Glucose 함량

수발아 과정중 glucose 함량의 변화는 Fig. 3에서 보는 바와 같다. 중만생 품종에서는 남평벼, 동안벼, 호안벼, 동진벼 순으로 수발아가 높은 품종들의 glucose 함량이 높았다. 조생종에서도 중만생 품종에서와 같은 경향을 보였으며 운봉벼, 오대벼, 대관벼, 대성벼순으로 glucose 함량이 높았다. 이러한 결과는 α -amylase 활성과 유사한 경향으로 수발아성과 glucose 함량 간에도 정의 상관이 있는 것으로 생각된다.

완전 성숙한 건조종자의 glucose 함량의 품종간 차이는 Fig. 4와 같다. 중만생 품종의 성숙 건조 종자중 glucose 함량은 품종간에 비교적 큰 차이를 보였다. 동진벼의 glucose 함량은 남평벼 보다 약 1.9배 높았다. 이러한 품종간의 차이는 성숙 40 일째의 수발아하지 않은 미숙종실에서는 나타나지 않았으며 공시품종 모두에서 glucose 함량이 유사하였다(Fig. 3A).

조생종 품종의 성숙 건조 종실중 glucose 함량도 품종간 차

이를 보였으나 그 차이 정도는 중만생종의 경우보다 작았다. 수발아성이 가장 높은 대성벼의 성숙 건조 종실중 glucose 함량은 수발아성이 가장 낮은 운봉벼 보다 1.7배 정도 높았다. 이러한 품종간의 glucose 함량 차이는 개화 40일후의 수발아하지 않은 미숙종자에서는 나타나지 않았다(Fig. 3B).

항산화 효소활성

Catalase : 수발아 기간중 품종별 catalase 활성은 Table 3와 같다. 중만생종 품종에서는 수발아율이 높은 품종이 낮은 품종에 비하여 효소활성이 높은 경향이였다. 수발아율이 높은 품종은 효소활성이 수발아 정도와 높은 상관을 보였으나 수발아율이 낮은 품종은 수발아 정도와 일정한 상관을 보이지 않았다. 수발아가 많이 되었던 6일째의 활성은 수발아율이 높은 동진벼가 수발아율이 낮은 남평벼보다 약 2배 높았다. 조생품종에서는 중만생품종과 달리 수발아성이 다른 품종간에 효소활성의 차이가 나타나지 않았으며 발아진행중 효소활성에서도 일정한 경향을 보이지 않았다. 이는 벼 종자의 배에 존재하는 catalase 활성이 저온발아율이 높은 품종이 낮은 품종에 비해

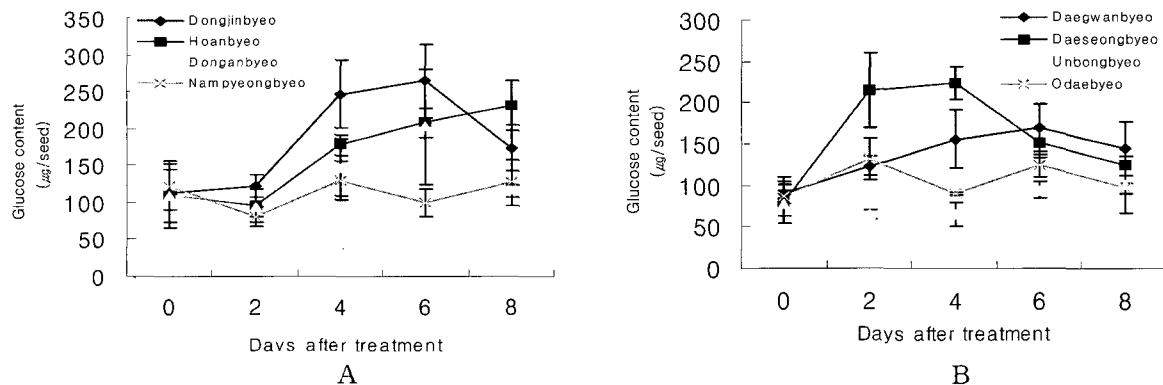


Fig. 3. Changes in glucose content in the viviparously germinated rice seeds at 40 days after heading in mid-late maturing varieties(A) and early maturing varieties(B).

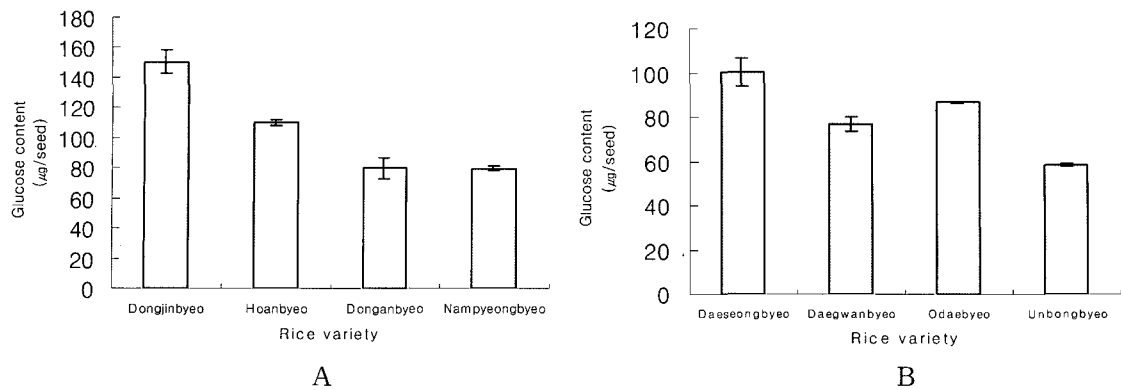


Fig. 4. Glucose content in completely matured dry rice seeds of mid-late maturing varieties(A) and early maturing varieties(B).

Table 3. Changes in catalase activity during the viviparous germination of rice seeds at 40 days after heading.

Type of maturity	Varieties	Days after treatment				
		0	2	4	6	8
-----μ mol/seed/min-----						
Mid-late maturing variety	Dongjinbyeo	0.681	0.872	1.135	1.108	0.785
	Hoanbyeo	0.275	0.902	0.878	0.854	0.559
	Donganbyeo	0.689	0.772	0.758	0.847	0.862
	Nampyeongbyeo	0.504	0.589	0.742	0.539	0.478
	LSD(0.05)	0.530	0.451	0.475	0.512	0.607
Early maturing variety	Daeseongbyeo	0.600	0.781	0.579	0.834	0.428
	Daegwanbyeo	0.540	0.497	1.190	0.711	0.275
	Odaebyeo	0.650	0.570	0.588	0.608	0.604
	Unbongbyeo	0.426	0.547	0.530	0.400	0.805
	LSD(0.05)	0.780	0.836	0.656	0.177	0.593

높았으며 저온 발아율과 catalase 활성과는 정의 상관성이 있다는 보고(Tanida, 1996)와 부분적으로 일치하는 결과이다.

Peroxidase : 공시품종의 수발아 처리후 일수별 종실당 peroxidase 활성은 Fig. 5와 같다. Peroxidase 활성은 중만생종과 조생종 품종에서 모두 수발아율과 정의 상관성을 보였으나 그 경향은 중만생종에서 뚜렷하였다. 중만생 품종의 활성은 수

발아율이 높았던 동진벼와 호안벼가 수발아가 낮은 품종에 비해 peroxidase 활성이 높았다. 동진벼는 수발아가 높았던 시기에 peroxidase 활성이 높아 수발아 양상과 일치하는 경향을 보였으며 호안벼도 수발아율과 효소활성의 변화가 일치하였다. 수발아 6일째 효소 활성은 동진벼가 남평벼보다 2.4배 정도 높았다.

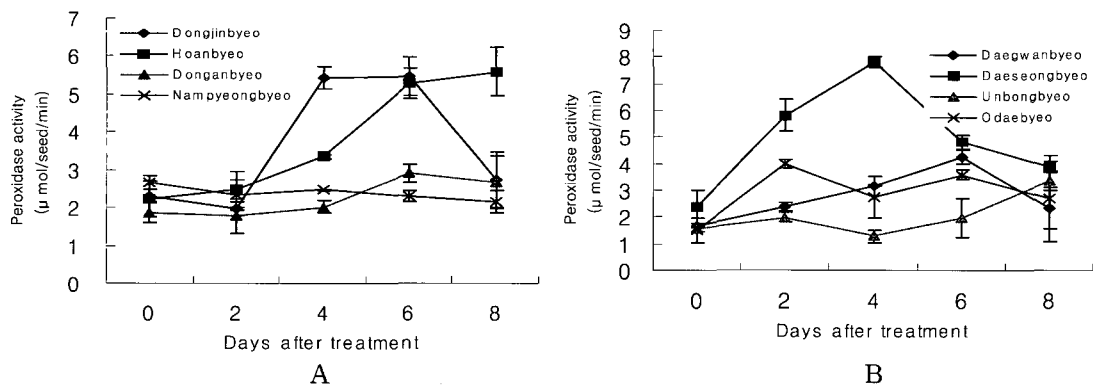


Fig. 5. Changes in peroxidase activity during the viviparous germination of rice seeds at 40 days after heading in mid-late maturing varieties(A) and early maturing varieties(B).

조생품종의 peroxidase 활성도 중만생품종의 활성과 유사한 경향이였으며 수발아성이 높은 품종이 수발아성이 낮은 품종에 비하여 효소활성이 높았다. 수발아 4일째 효소활성은 수발아율이 높은 대성벼가 수발아율이 낮은 운봉벼에 비하여 6배 이상 높았다. Peroxidase와 수발아와의 관계에 대한 연구 결과는 찾아보기 어렵지만 저온조건에서의 종자발아와 peroxidase 활성과 관련성(소 등, 1995), 종자의 휴면 감소와 peroxidase 활성 감소와의 관련성(Navasero, 1975; 김 등, 1995) 등은 peroxidase가 수발아 과정에 관여하고 있을 가능성을 시사하고 있다.

적 요

수발아는 벼 재배에서 주요한 문제 중의 하나이다. 본 연구는 수발아시 배유 저장 양분의 이용능력과 항산화 효소의 수발아성과의 관련성을 조사하기 위하여 실시하였다. 배유 저장 양분 이용능력과 항산화 효소를 포함하는 효소의 활성은 수발아 중인 종자와 완전 성숙 건조한 종자에서 측정하였다. 효소 활성을 조·중만생 품종으로부터 수발아성이 서로 다른 각각 4개의 품종을 비교하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 중만생종에서 출수후 40일된 종실의 수발아율은 남평벼, 동안벼, 호안벼, 동진벼 순으로 높았으며 동진벼의 수발아율은 약 62%였다. 조생종에서 수발아율은 운봉벼, 오대벼, 대관벼, 대성벼 순으로 높았으며 대성벼의 수발아율은 약 59%였다.

2. α-amylase 활성은 수발아율과 상관관계가 있었으며 출수후 40일된 종자의 α-amylase 활성은 중만생종에서는 동진벼가 가장 높았고 조생종에서는 대성벼가 가장 높았다. 또한, 완전 성숙한 건조 종자의 α-amylase 활성은 수발아성이 높은 품종에서 더 높았다. β-amylase 활성은 α-amylase 활성에 비하여 매우 낮았으며, 조·중만생 품종 모두에서 β-amylase 활성과 수발아성 사이에는 일정한 관련성이 없었다.

3. 수발아 종자와 완전 성숙한 건조 종자의 glucose 함량은 수발아성이 높은 품종에서 더 높았다.

4. peroxidase 활성은 조·중만생종 모두에서 수발아율과 밀접한 관련성을 보였으나 Catalase 활성은 수발아성과 관련성을 보이지 않았다.

인용문헌

Anderson, M. D. and Prasad Stewart C. R. 1995. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant Physiol.*

109: 1247-1257.
 Daussant, J., S. Miyata, T. Mitumi, and T. Akazawa. 1983. Enzymic mechanism of starch breakdown in germination rice seeds. 15. Immunochemical study on multiple forms of amylase. *Plant Physiol.* 71: 88-95.
 Hunan Agriculture College. 1977. A physiological and biochemical comparison between Nan-You 2 and its parents. *Hunan Agri. Sci. Technol.* 1: 16-17.
 홍유기, 송남현, 박준규, 정규용, 유도중, 이준배. 1980. 수도 신품종 수발아성에 관한 조사 연구. *경기농업연구* 1: 29-34.
 조재영 외 15인. 1998. 재배학 원론. 향문사 pp. 320-321.
 조동삼, 손석용, 김종환, 윤 태, 박성규, 권규철. 1988. 수도 수발아성에 관한 연구(II). 재배시기 이동에 따른 수발아성. *충북 대학교 농업과학 연구보고 제 6권 1호*: 3-10.
 김봉구, 이동진. 1996. 벼 수발아의 품종간 차이와 왕겨 추출물의 발아억제물질효과. *한작지* 41(4): 434-440.
 이덕배, 권태오, 박석홍. 1994. 1대 잡종벼의 발아시 종실내 성분의 변화와 발아율 및 초기생육. *한작지*. 39: 412-419.
 이규성, 이영태, 신문식, 신현탁, 전병태. 1990. 이면교잡에 의한 벼 수발아성 유전 분석. *한작지* 22(3): 240-244.
 이수관. 1984. 수도수발아 현상에 관한 연구. *농진청. 연구지도속보* 3(6): 27-29.
 Lu, D. 1987. relationship between physiological heterosis of root and shoot system of hybrid rice shan-You 6. *China J. Rice Sci.* 1: 81-94.
 丸山清明. 1980. イネ雑種集にねける穂發芽難個體 選抜法. *育雜誌* 30(4): 344-350.
 Masatoshi, T. 1996. Catalase activity of rice seed embryo and it's relation to germination rate at Low temperature. *Breeding Science* 46: 23-27.
 Navasero, E. P., L. C. Baun, and B. O. Junliano. 1975. Grain Dormancy, peroxidase activity and oxygenuptake in *Oryza sativa*. *Phytochemistry* 14: 1899-1902.
 노영덕. 1991. 수도품종의 수발아와 관련한 수발아성에 관한 연구. *한작지* 29(1): 15-18.
 Okamoto, K. and T. Akazawa. 1980. Enzymic mechanism of starch breakdown in germination rice seeds. 9. denovo synthesis of β-amylase. *Plant Physiol.* 65: 81-84.
 Soh, C. H., Y. Kamiya, S. Yoshida, H. Yamane, and N. Takahashi. 1994. Effects of gibberellin and prohexadion on the activities of oryzain and α-amylase in rice seeds. *Plant Cell Physiol.* 35(7): 1037-1042.
 서기호, 김용욱. 1994. 출수후 경과일수 및 온도에 따른 벼 품종간 수발아성 차이. *한작지* 39(2): 187-182.
 소창호, 노영덕, 윤진일, 김영채. 1995. 벼 종자 출아시 온도차이가 amylase와 peroxidase 활성에 미치는 영향. *한작지* 40(4): 525-532.
 Yamaguchi, J., S. Itoh, T. Saitoh, A. Ikeda, T. Tashiro, and Y. Nagato. 1999. Characterization of β-amylase and its deficiency in various rice cultivars. *Theor. Appl. Gene.* 98: 32-38
 Yoon, B. S. 1998. Seedling emergence and β-amylase activity of cultivars under the low temperature and submerged soil condition. *Ph D thesis, University of Tokyo, Tokyo, Japan.*