

## 돌콩(*Glycine soja Sieb and Zucc*)의 飼料作物化에 관한 研究

### I. 돌콩의 Esterase isozyme 變異와 飼料的 價値 評價

이성규 · 이 은 · 최 일

## Studies on the Domestication of Field Bean(*Glycine soja Sieb and Zucc*) for Forage Crop

### I. Esterase isozyme variation and nutritive value of field bean

Sung K. Lee, Eun Lee and Il Choi

#### Summary

The variation of the esterase isozyme, germination rate, chemical composition and digestibility of field bean(*Glycine soja S. and Z.*) were estimated. The results are as follows;

1. The banding patterns of the esterase isozyme in field bean were varied with the tissue and habitat.
2. The enzyme activity of the Est-1, Est-2, Est-3 and Est-4 in field bean showed a high value compared with the other enzyme.
3. The range of germination temperature in field bean was 10~40°C and the optimum germination temperature was 25~38°C.
4. The crude protein(CP) contents was 19.9% in the whole plant, 27.8% in the leaf and 45.9% in the seed, the cellulose contents was 29.5% in the whole plant, 23.0% in the leaf and 13.8% in the seed, the neutral detergent fiber(NDF) was 62.6% in the whole plant, 47.9% in the leaf and 47.9% in the seed and the acid detergent fiber(ADF) was 44.5% in the whole plant, 28.4% in the leaf and 28.4% in the seed, respectively.
5. The digestibility of the field bean was 44.1% in the whole plant, 49.6% in the leaf and 75.1% in the seed, NDF was 26.2% in the whole plant 46.2% in the leaf, ADF was 29.0% in the whole plant, 47.7% in the leaf and 58.0% in the seed and Cellulose was 48.7% in the whole plant, 58.0% in the leaf and 70.2% in the seed, respectively.
6. Total digestible nutrients(TDN) of the field bean was 47.4% in the whole plant, 51.5% in the leaf and 70.2% in the seed, respectively. The digestible energy(DE) value was 2.1 kcal/g in the whole plant, 2.27 kcal/g in the leaf and 3.10 kcal/g in the seed and the metabolizable energy(ME) value was 1.72 kcal/g in the whole plant, 1.86 kcal/g in the leaf and 3.23 kcal/g in the seed, respectively.

#### I. 緒 論

돌콩(field bean)은 野草地나 耕作地 주변에 널리 자생하는 일년생 덩굴성 콩과 식물의 일종이다. 꽃색은 자주색의 화관을 갖고 있어 형태적으로는 栽培大豆와 비슷하며 꼬투리 안에는 지름이 장축 4mm,

단축 3mm 정도의 짙은 갈색 또는 검은색의 타원형 종자 3개가 들어 있다.

돌콩의 분포는 한국, 중국, 대만, 일본 등이며 염색체수(2n=40)는 栽培大豆와 같고 自家受精 또는 部分自家受精으로 栽培大豆와 자유로운 교배가 가능하다(Hymowitz, 1970). Karasawa(1936)는 다양한 형태적

특징으로 볼 때 돌콩은 栽培大豆의 原種이라고 하였으며 Hymowitz(1970)는 세포유전학적인 근거에 기초하면 栽培大豆와 同一種이라 하였다.

근년에 들어와 돌콩에 관심을 가지기 시작한 것은 돌콩의 變異가 다양할 뿐만 아니라 종자의 蛋白質含量이 높아(36.3%~53.7%, Kwon, 1972; 45~49%, 중국, 1992) 식량자원으로서의 가치를 인정받았기 때문이다.

다행히 우리나라에는 돌콩이 널리 분포되어 있으며 척박한 토양과 건조에도 비교적 생육이 왕성하고 莖葉은 가축의 嗜好性이 높아 사료자원식물로 개발할 충분한 가치가 있다고 생각된다.

따라서 본 연구는 돌콩의 飼料作物化를 위한 기초 연구로써 돌콩의 Isozyme型과 莖葉의 飼料價値를 평가하여 개량에 필요한 기초자료를 얻고자 하였다.

## II. 材料 및 方法

1. 공시재료: 돌콩(*Glycine soja Sieb. and Zucc.*)

2. 시험기간 및 장소

1992년 4월 25일부터 1992년 10월 30일까지 상지대학교 농과대학 시험포장과 사료학과 실험실에서 실시하였다.

3. 시험방법

A. Esterase Isozyme의 분석

1) 酵素의 抽出

충분히 성숙한 식물에서 잎과 뿌리혹을 채취하여 증류수로 깨끗이 세척한 후 물기를 완전히 제거하고 막자사발에 넣어 0.05% L-histidine액 5~7방울을 첨가하여 磨碎한 재료를 eppendorf tube에 담아 30분간 원심분리한 후 上等液을 얻었다.

2) Starch gel 지지매체의 제조

전기영동용 starch를 gel buffer(Tris-Citric buffer, pH 8.3)에 용해시켜 13% 용액을 만들고 이것을 충분히 가열한 후 진공펌프로 공기를 완전히 제거하였으며 위 용액을 240ml 용량의 polyacryl판에 부어 식힌 다음 vinyl lap으로 싸서 8~10시간동안 숙성하였다.

3) Buffer system

본 실험에 사용한 buffer system은 Scandalios(1969)의 방법으로 다음과 같다.

\* Gel buffer(Tris-Citric buffer, pH 8.3)

Tris ..... 6.2 g  
Citric acid.....1.6 g  
H<sub>2</sub>O.....1,000 ml

\* Electrode buffer(Lithium-Borate buffer, pH 9.3)

Lithium hydroxide ..... 1.2 g  
Boric acid.....11.89 g  
H<sub>2</sub>O.....1,000 ml

4) 전기영동

8~10시간 숙성시킨 starch gel판의 5cm 위치에 origin line을 설정하고 6mm의 홈을 낸 후 원심분리한 시료의 上等液을 6mm×6mm인 여지에 묻혀 홈에 삽입하였다. Electrode buffer는 1,000ml 용량을 두 개의 acryl용기에 같은 양으로 나누어 양쪽으로 설치한 후 gel판을 걸쳐 놓았다. gel판의 origin은 -전극을, 반대쪽은 +전극을 연결하고 최초의 전압은 300V로 시작하였으며 5분 후 350V로 고정시켜 영동 거리가 10cm될 때 까지 계속하였다.

5) Isozyme의 染色

전개가 끝난 gel을 3mm 두께로 2등분 한 후 절단면을 染色하였다. Esterase Isozyme의 染色은 Scandalios(1969)의 방법을 이용하였으며 염색액은 다음과 같다.

α-Naphtyl acetate(1% acetone:water=1:1 용액)  
..... 2 ml  
Fast Blue RR Salt ..... 40 mg  
Phosphate buffer(pH 4.3)..... 50 ml  
Phosphate buffer(pH 9.2)..... 10 ml  
H<sub>2</sub>O ..... 40 ml

B. 돌콩의 發芽實驗

소독한 petri-dish에 여지를 깔고 100개의 종자를 넣은 후 incubator에서 10℃, 20℃, 25℃ 및 38℃에서 發芽率을 조사하였다.

C. 돌콩의 化學成分 分析

일반성분은 A.O.A.C.방법(1980)에 의해서 측정하였고 NDF(neutral detergent fiber), ADF(acid detergent fiber)는 Goering과 Van Soest 방법에 의해서 그리고 cellulose는 Crampton과 Maynard(1938) 방법에 의해

구하였다. NDS는 100에서 NDF함량을 뺀 값으로, hemicellulose는 NDF와 ADF의 차이로 구하였다.

D. *In Vitro* 消化率 測定

시료의 소화율 측정에 사용한 rumen buffer 용액은 Table 1과 같으며 rumen inoculum 및 소화율 측정방법은 맹 등(1979)의 방법을 사용하였다.

Table 1. Rumen buffer solution.

Ingredient	Amount (g)
NaHCO <sub>3</sub>	49.0
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	18.5
NaCl	2.35
KCl	2.85
CaCl <sub>2</sub>	0.20
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.30
MgCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	0.0636
CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.006
FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.050

E. 에너지含量 評價

돌콩의 에너지함량 평가에 있어 TDN은 Abe (1974)의 回歸方程式으로, DE 및 ME는 NRC(1983)의 回歸式으로 구하였다.

$$TDN(\%) = 14.9 + 0.737 \text{ DMD}$$

$$DE(\text{Kcal/g}) = TDN(\%) \times 4.409$$

$$ME(\text{Kcal/g}) = TDN(\%) \times 3.6155$$

III. 結果 및 考察

1. 돌콩의 Esterase Isozyme 變異

生育地가 다른 세 장소에서 채취한 돌콩의 잎과 뿌리혹에서 분리한 Esterase isozyme의 band를 Rf (rate of flow)로 비교하면 Table 2와 같다. 돌콩의 잎은 가장 빠른 Rf 1.00에서 가장 느린 Rf 0.28에 이르는 8개의 變異를 나타냈고 그 중 Rf 0.98, 0.55, 0.28은 동일한 위치에 있었다.

Table 2. Rf value of the esterase isozyme in leaf and root-nodule of field bean.

Leaf			Root-nodule		
a	b	c	a	b	c
—	—	1.00	—	—	1.00
0.98	0.98	—	0.98	—	—
0.95	—	—	—	0.96	—
—	0.90	—	0.95	—	—
—	—	—	—	0.93	—
—	—	—	—	0.90	—
—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—
0.55	0.55	—	0.30	—	—
—	0.44	—	0.28	0.28	—
0.30	—	—	—	—	—
0.28	0.28	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—

<sup>a,b,c</sup>; Sample from different site.

그러나 돌콩의 뿌리혹은 Rf 1.00에서 0.28까지 8개의 變異를 보이고 있으나 이중 Rf 0.28만이 동일한 위치에 있었다. 또한 돌콩의 Esterase Isozyme에서 染色強度가 높은 것은 앞에서 Rf 1.00, 0.98, 0.96

이었고 뿌리혹에서는 Rf 1.00, 0.98, 0.95로 나타났다. 이처럼 동일종인 돌콩에 있어서 生育場所에 따라 다양한 Isozyme의 變異가 나타나는 것은 동일한 생명체에 적어도 1분자의 효소보다 더 많은 효소가

존재한다는 것을 의미하며(Shaw, 1965) 돌콩의 變種이 많음을 나타내는 증거라고 할 수 있다. 그리고 돌콩의 조직별 Esterase Isozyme의 變異는 Fig. 1과 Table 3에서 보는 바와 같다.

Fig. 1과 Table 3에서 보는 바와 같이 돌콩의 잎, Seedling의 떡잎과 유근, 뿌리혹의 Esterase Isozyme은 조직에 따라 많은 變異가 있으며 4개 조직에 공통으로 존재하는 것은 Rf 1.00 한개 뿐이었다.

이와는 달리 잎과 뿌리혹에서는 Rf 1.00, 0.98, 0.30, 0.28 등 5개가 공통으로 존재함으로써 대단히 유사한 banding type을 보이고 있다. 또한 染色強度로 본 酵素의 活性度는 1, 2, 3, 4번이 높았으며 이외의 것은 모두 minor band로 이(1991a,b, 1992)의 보고와 같다.

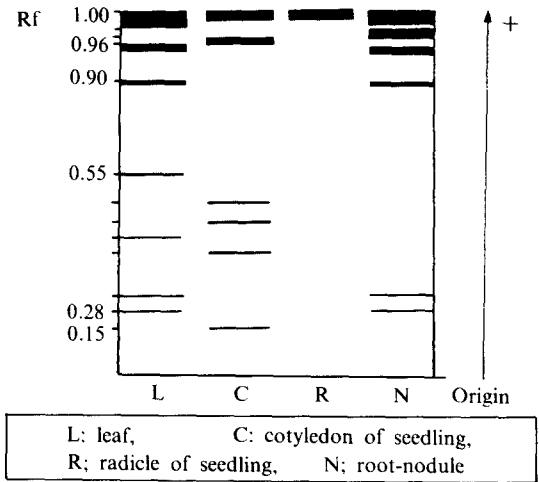


Fig. 1. Diagram showing esterase isozyme patterns in tissues of field bean.

Table 3. Variation of the esterase isozyme in tissues of field bean.

Isozyme number	L	C	R	N
1	1.00	1.00	1.00	1.00
2	0.98	—	—	0.98
3	—	—	—	0.96
4	0.95	0.95	—	0.95
5	—	—	—	0.93
6	0.90	—	—	0.90
7	—	—	—	—
8	—	—	—	—
9	—	—	—	—
10	—	—	—	—
11	—	—	—	—
12	—	—	—	—
13	—	—	—	—
14	0.55	—	—	—
15	—	0.48	—	—
16	—	0.45	—	—
17	0.44	—	—	—
18	—	0.40	—	—
19	0.30	—	—	0.30
20	0.28	—	—	0.28
21	—	0.25	—	—
22	—	—	—	—
23	—	—	—	—

L: leaf, C: cotyledon of seedling, R: radicle of seedling, N: root-nodule.

## 2. 돌콩의 發芽率

돌콩의 종자를 10℃, 20℃, 25℃ 및 38℃ 등의 incubator내 온도에서 發芽率을 조사한 결과는 Table 4 및 Fig. 2와 같다.

Table 4에서 發芽에 소요된 일수에 관계없이 發芽率을 비교하면 20±2℃ 범위에서 가장 높았으나 전 온도범위에서는 큰 차이가 없었다. 그러나 發芽에 소요된 일수에 따라 發芽率을 비교하면 Fig. 2에서 보는 바와 같이 10±2℃ 범위에서는 거의 28일로 장기간이었으며 20±2℃에서는 15일이었다. 그러나 25±2℃와 38±2℃에서는 단 10일 밖에 소요되지 않았다. 이와 같은 결과로 볼 때 돌콩종자의 發芽適溫範圍는 25~35℃이며 보리 19~27℃, 옥수수 32~35℃(Mayer, 1963)의 결과와 비교할 때 高溫發芽種인 옥수수와 비슷하였다.

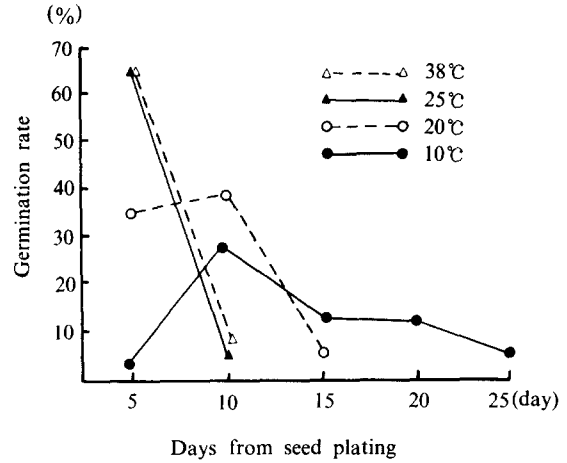


Fig. 2. Time course of germination rate of field bean at various temperature regimes in incubator.

Table 4. Germination rate of field beans at various temperature regimes in incubator.

Temperature (°C)	10 ± 2	20 ± 2	25 ± 2	38 ± 2
Germination rate (%)	70.0	81.7	63.7	65.7

## 3. 돌콩의 化學成分

Table 5는 돌콩의 化學成分을 나타낸 것으로 粗蛋白質含量은 全植物體는 16.94%이었으며 잎만을 분석하였을 때는 27.86%를 나타냈는데 이것은 김 등(1989)이 보고한 豆科野草의 粗蛋白質含量과 비교하여 유사한 결과였다. 또한 돌콩종자의 粗蛋白質含量은 45.86%로 허(1978)의 32~47% 보다는 약간 높았

고 중국(1992)의 45~49%와는 비슷하였다. 한편 NDF의 함량은 全植物體 62.46%, 잎 49.74%, 종자는 47.89%이었으며 ADF는 각각 44.52%, 28.38% 및 28.38%, Cellulose는 29.55%, 23.02% 및 13.79%이었다. 이러한 결과는 김 등(1989)이 豆科野草의 평균 NDF함량인 51%~59%와 최 등(1989)이 보고한 싸리, 아카시아, 칩의 NDF, ADF함량보다 높은 경향

Table 5. Chemical composition of field bean at mature stage (% DM)

	Cutting date	CP	NDS	NDF	ADF	Hemi-cellulose	Cellulose
Whole plant	9/20	16.65	38.00	62.00	46.36	15.64	31.12
	10/20	17.23	37.08	62.92	42.68	20.24	27.98
	mean	16.94	37.54	62.46	44.52	17.94	29.55
Leaf	9/20	26.13	48.41	51.59	30.55	21.04	21.99
	10/20	29.43	52.11	47.89	26.23	21.66	24.04
	mean	27.78	50.26	49.74	28.39	21.35	23.02
Seed	10/20	45.86	52.11	47.89	28.38	19.51	13.79

을 나타내고 있다. 따라서 돌콩의 莖葉과 種子는 타 두과식물에 비해 손색이 없는 영양성분을 갖고 있음을 알 수 있다.

#### 4. 消化率과 energy含量 評價

돌콩의 消化率은 Table 6과 같다. Table 6에서 각 영양소의 消化率은 全植物體에 비해 일부분이

전반적으로 높게 나타났는데 이는 줄기부분이 잎에 비해 木質化의 정도가 높기 때문이라 사료된다. 한편 TDN 등의 에너지價로 사료가치를 비교해 보면 김 등(1989)과 최 등(1989)의 결과 보다는 사료가치가 떨어지는데 이는 예취시기에 따른 결과로 볼 수 있으며 본 실험의 결과로서는 中等정도의 사료가치를 가지고 있다고 할 수 있다.

Table 6. Digestibility and energy value of field bean at mature stage.

	Cutting date	DM (%)	NDF (%)	ADF (%)	Cellulose (%)	TDN (%)	DE (kcal/g)	ME (kcal/g)
Whole plant	9/20	43.34	19.41	26.44	51.13	46.84	2.07	1.70
	10/20	44.92	33.06	31.49	46.17	48.01	2.12	1.74
	mean	44.13	26.24	28.97	48.65	47.43	2.10	1.72
Leaf	9/20	53.47	53.46	46.60	61.18	54.31	2.40	1.96
	10/20	45.75	38.90	48.77	54.81	48.62	2.14	1.76
	mean	49.61	46.18	47.69	58.00	51.47	2.27	1.86
Seed	10/20	75.08	-	58.01	56.61	70.23	3.10	3.23

#### IV. 摘 要

본 연구는 돌콩의 飼料作物化를 위한 기초연구로써 돌콩의 Esterase Isozyme型과 莖葉과 種子의 사료가치를 평가하여 개량에 필요한 기초자료를 얻고자 하였으며 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 돌콩의 生育地와 組織別 Esterase Isozyme의 變異는 다양하게 나타났다.
2. Esterase Isozyme의 酵素活性度는 1, 2, 3 및 4번이 높았고 나머지는 낮게 나타났다.
3. 돌콩의 發芽溫度範圍는 10~40℃이며 最適溫度範圍는 25~38℃이었다.
4. 돌콩의 蛋白質 NDF, ADF 및 Cellulose의 함량은 全植物體에서 각각 16.9%, 62.6%, 44.5% 및 29.5%, 잎은 각각 27.8%, 47.9%, 28.4% 및 23.0%, 종자에서는 각각 45.9%, 47.9%, 28.4% 및 13.8%를 나타내었다.
5. 돌콩의 DM, NDF, ADF, Cellulose의 消化率은 全植物體에서 각각 44.1%, 26.2%, 29.0% 및 48.7%, 잎에서는 49.6%, 46.2%, 47.7% 및 58.0%, 종자에서는 75.1%, -, 58.0% 및 70.2%이었다.

6. TDN, DE, ME는 全植物體에서 각각 47.4%, 2.10 Kcal/g 및 1.72 Kcal/g, 잎은 51.5%, 2.27 Kcal/g 및 1.86 Kcal/g, 종자는 70.2%, 3.10 Kcal/g 및 3.23 Kcal/g이었다.

#### V. 參考文獻

1. A.O.A.C. 1980. Official methods of analysis (13th Ed.). Association of official analytical chemist. Washington, D.C.
2. Abe, A. and S. Horii. 1974. Application of various fiber fraction and cellulase method of forages. J. Japan. Grassl Sci. 20:16-21.
3. Crampton, E.W. and L.A. Maynard. 1938. The relation of cellulose and lignin content to the nutritive value of animal feeds. J. Nutr. 15:383-395.
4. Goering, H.K. and P.J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis ARS. USDA Agr. Handbook. No. 397.
5. Hoymowitz, T. 1970. On the domestication of

- soybean. *Econo. Bot.* 24:408-421.
6. Karasawa, K. 1936. Crossing experiments with G. Max and G. Ussriensis. *Jan. J. Bot.* 8:113-118.
  7. Kwon Shin-Han. 1972. History and the landraces of Korean soybean. *SABRAO, News letter*, 4 (2):107-111.
  8. Mayer, A.M. and A. Poljakoff-Mayber. 1963. *The germination of seeds.* New-York, Macmillan.
  9. National Research Council. 1973. *Nutrition requirments of dairy cattle 4th revised Ed.* National Academy Press. Washington, D.C.
  10. Shaw, C.R. 1965. Electrophoretic variations in enzymes, *Science*, 149:936.
  11. 김대진, 김영길, 맹원재. 1989. Pepsin-Cellulase 에 의한 국내산 주요 조사료의 DMD에 관한 연구. II. 두과야초의 세포벽 구성물질과 건물 소화율. *한축지*. 31(6):385-393.
  12. 이성규. 1991a. 콩과식물의 Seedling Esterase Isozyme banding pattern에 관한 연구. *한초지*. 11 (3):158-161.
  13. 이성규. 1991b. 콩과식물의 잎과 줄기의 Esterase Isozyme banding pattern에 관한 연구. *한초지*. 11(4):199-202.
  14. 이성규. 1992. 야생콩과식물의 Esterase Isozyme banding pattern에 관한 연구. *한초지*. 12(1):71-76.
  15. 중국 흑룡강성 작물육종연구소. 1992. 흑룡강성의 야생콩 연구. *아시아 태평양지역 IBPGR Newsletter*. 91(3):6.
  16. 최 일, 이순복, 고대환, 맹원재. 1989. 산간지방 야초 및 잡관목의 사료화에 관한 연구. *한축지*. 11(4):217-223.
  17. 허삼남. 1978. 야생대두의 생리상태에 관한 연구. 제2보 돌콩(*Glycine soja*)의 자생지 생육 특성. *한국초지연구회보*. Vol. 1(1):29-33.