

Kinetin 浸種處理가 벼 發芽中 구리 毒性 輕減에 미치는 影響

金相國* · 李相哲** · 閔基君* · 李承弼* · 崔富述*

Effects of Seed Soaking of Kinetin on Alleviating Copper Toxicity during Germination in Rice

Sang Kuk Kim*, Sang Chul Lee**, Gi Gun Min*, Seong Phil Lee* and Boo Sull Choi*

ABSTRACT : The study was carried out to determine the proper concentration of plant growth regulator, kinetin on alleviating copper toxicity for two rice cultivars of seed germination. The results were as followings : Soaking treatment of kinetin 10^{-3} M increased the germination rate of both cultivars, Ilpumbyeo and Hyangmibyeo 1 by 92% and 88% as compared with copper treatment(60ppm). But the soaking treatment effect of plant growth regulator, kinetin was not recognized at the kinetin 10^{-4} M and 10^{-5} M. Chlorophyll content of both rices was higher than that of Hyangmibyeo 1. Copper content of Ilpumbyeo was higher in leaf than in seed part. At the 3 days after treatment of copper 60ppm, both cultivars of treatment of kinetin 10^{-3} M showed the somewhat thin bands at the 35 and 40kDa compared with others. A new protein band pattern was only appeared to kinetin 10^{-3} M at approximately 54.4kDa(M.W) at the 7 days after treatment of copper 60ppm in Ilpumbyeo cultivar. SOD activity of copper 60ppm treatment increased in 3DAT, but there were no significant differences in 5 and 7DAT of two cultivars. Free proline contents of copper 60ppm treatment in Ilpumbyeo were remarkably increased about $4.996\mu\text{M}$. In particular, free proline content of kinetin 10^{-3} M in Ilpumbyeo was $5.008\mu\text{M}$ in 3DAT. In case of Hwangmibyeo 1, free proline content of copper 60ppm was $5.825\mu\text{M}$ compared with an untreated control showing $2.341\mu\text{M}$.

The effects of kinetin treatment were recognized to promote the root growth and germination rate under copper toxicity(60ppm) condition in both cultivars.

Key words : *Oryza sativa* L., Copper toxicity, Free proline, SOD activity.

國民生活水準의 向上과 産業의 急進의인 發達로 因하여 環境汚染이 한층 增加되고 있는 實情이다. 特히 都市 汚水나 工場廢水, 鑛山 廢水 等の 農耕地 流入에 따른 有害 重金屬 元素의 먹이連鎖에 對한 影響은 오래 전부터 우리의 關心事로서 많은 研究가 이루어지고 있다. 作物에 對한 重金

屬 被害는 外國에서 많은 實例를 겪었고 우리 나라에서도 重金屬에 依한 食品 및 農耕地의 汚染이 增加되고 있는 것으로 判斷된다^{9,10}.

重金屬 元素의 汚染源으로는 工場 廢水, 鑛山 廢水, 都市 汚水 등이 있고, 工場 廢水 및 鑛山 廢水 等에는 銅, 亞鉛, 카드뮴, 니켈, 크롬, 水銀 等

* 慶北農村振興院 (Kyungbuk Provincial RDA, Taegu 702-320, Korea)

** 慶北大學校 農科大學 (Coll. of Agri., Kyungpook Nat'l Univ., Taegu 702-701, Korea)

〈'96. 5. 20 接受〉

이 있으며 都市 污水에는 銅, 亞鉛 등이 주로 포함되어 있어 農耕地에 汚染이 되면 栽培 作物을 汚染시키거나 또는 이들이 栽培 作物의 生育에 有害作用을 誘發하기도 한다.^{3,4,8,26)}.

벼에 對한 重金屬 研究는 1970年代 初부터 始作되어 銅, 亞鉛, 카드뮴, 납 등의 作物에 對한 汚染 輕減對策으로 金等¹¹⁾은 石膏 및 물 管理를 通하여 벼의 重金屬 吸收를 輕減시켰고, 金等¹²⁾은 畚土壤에 있어서 石灰 施用으로 水稻의 카드뮴 吸收를 輕減하였으며, 德永²⁶⁾은 石灰의 施用으로, 山添等²¹⁾은 磷酸의 施用을 通하여 水稻의 重金屬 吸收를 줄였다는 報告 등이 있다.

重金屬 汚染에 對한 被害 對策은 主로 有害 重金屬의 不溶化로 土壤中에 重金屬의 含量이 많아도 土壤 溶液中에 濃度가 낮으면 作物의 重金屬 吸收는 적고 生育에 큰 支障은 없다. 결국 重金屬의 被害를 줄이려면 土壤中의 有害 重金屬을 不溶化하는 것인데 一般의인 方法으로는 湛水 栽培를 하거나 還元 物質을 施用하여 土壤의 Eh를 낮추거나 黃化物로 하는 것과 石灰質 肥料를 施用하여 pH를 높이거나 水酸化物로 轉換하는 것, 磷酸 物質을 施用하여 磷酸化物에 依한 不溶化, 有機物 施用을 通한 有機 金屬鹽에 依한 不溶化, 제오라이트 및 벤토나이트 등과 같은 粘土 鑛物에 依한 吸着化, 反轉 耕耘, 客土와 削土를 通한 重金屬 濃度를 稀釋하는 등의 物理·化學의인 方法이 있고 重金屬類를 多量으로 吸收하는 植物을 栽培하여 除去하는 生物學的인 消去法 등이 있다¹⁹⁾. 그러나 植物生長調整劑를 利用한 重金屬 吸收의 輕減方法으로 特히 銅에 對한 重金屬의 吸收, 移行 및 毒性에 關한 研究報告는 거의 없는 實情이다. 環境 障害에 對한 耐性 品種의 育種에 利用될 수 있는 素材의 提供을 爲해서 遺傳資源의 環境適應에 關한 形質發現의 種內 變異를 把握하는 것은 매우 重要하다. 그러나 벼의 環境 스트레스 가운데 旱魃, 穗發芽性, 低溫抵抗性, 耐暑性 變化 외에 重金屬 耐性에 關한 研究는 드문 實情이다²¹⁾.

따라서 本 研究에서는 벼의 生育 段階中 發芽와 育苗 期間에 有害 重金屬에 對하여 가장 敏感하므로 有害 重金屬 가운데 銅의 毒性의 輕減을 爲하여 併시 植物生長調整劑를 浸種 處理하여 發芽

率을 높이면서 植物 體內의 成分 變化 및 重金屬 汚染度를 낮출 수 있는 대책으로서 벼 發芽 初期의 生化學的인 變化에 關한 實驗을 遂行하여 얻은 實驗 結果를 報告하는 바이다.

材料 및 方法

本 實驗은 慶尙北道 農村振興院 北部試驗場(安東)에서 1995년에 栽培하여 低溫 倉庫에 保管中인 統一型 品種인 향미벼 1호와 자포니카 品種인 일품벼를 實驗 材料로 使用하였다.

벼 種子의 殺菌 및 消毒은 各各의 品種에 對하여 種子 100g을 스프탁 乳劑(韓國三共 株式會社) 1ml을 蒸溜水 1l에 넣은 後 24時間 동안 常溫에서 實施하였다.

殺菌後 蒸溜水로 5回 洗滌한 種子를 $10^{-3}M$, $10^{-4}M$, $10^{-5}M$ 濃度의 植物生長調整劑 kinetin (Sigma製) 溶液에 넣어 溫度 $30 \pm 1^{\circ}C$ 가 維持되는 恒溫機에 24時間 동안 浸種 處理하여 petri dish에 濾過紙 No. 2(Whatman Int'l Ltd, England)를 2枚 깔고 petri dish (ϕ 9cm)當 30粒씩 置床한 다음 銅을 pH 4.5로 補整한 $CuSO_4$ (Junsei製) 60ppm 溶液을 15ml씩 添加하였으며, 對照區는 蒸溜水 15ml을 加하여 溫度 $30 \pm 1^{\circ}C$, 相對 濕度 70%를 維持하는 生長室에서 每日 午前 10時에 發芽率을 調査하였고, 發芽 後 7日 동안 자란 幼植物을 分析 試料로 使用하였고, 試驗區 配置는 完全 任意 配置 3 反復으로 하였다.

實驗 I. Kinetin 浸種處理가 벼 發芽의 銅 毒性 輕減에 미치는 影響

자포니카 品種인 일품벼와 統一型 品種인 향미벼 1호를 實驗材料로 하여 植物生長調整劑 kinetin $10^{-3}M$, $10^{-4}M$, $10^{-5}M$ 을 浸種處理하여 發芽 後 7日째에 農事試驗研究 調査基準¹⁸⁾에 準하여 草長, 根長, 生體重, 發芽率 등을 測定하였다.

實驗 II. 植物體의 葉綠素와 銅 含量 測定

葉綠素 含量의 測定은 Cock等⁷⁾의 方法에 準하여 抽出, 精製한 後 分光光度計(Model Varian

Table 1. Analytical conditions of atomic absorbance spectrophotometer for copper element by flame atomization

Element	Sight source	Lamp current (mA)	Wave length (nm)	Slit size (nm)	Flames
Copper	Hallow cathode	15	324.8	0.7	Air /acetylene

Cary 1E)로 652nm에서 總葉綠素含量을測定하였고, 植物體의 銅含量은 種子와 잎을 乾燥機(80°C)에서 말린 것을 30mesh 篩로 친 乾燥粉末 1g을 植物體 分解液(perchloric acid 90ml, H₂SO₄ 5ml, H₂O 55ml) 10ml에 넣어 分解한 다음 表 1과 같은 分析條件으로 原子吸收 分光光度計(Perkin Elmer, model 3100)로 測定하였다.

實驗 III. 蛋白質 밴드 패턴의 確認

蛋白質 밴드 패턴은 生體 試料 100mg을 막자 사발에 液體 窒素와 磨碎한 後 1ml 試料 緩衝液을 넣어 95°C 恒溫 水槽에 5分間 두어 變性되게 한 다음 遠心分離機(Model VS-21 SMT, 비전 科學 株式會社)로 15,000rpm에서 15分 동안 遠心分離하여 上澄液을 50 μ l 取하여, Laemmli의 方法¹³⁾을 變形한 SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)로 遂行하였다. Separating gel은 10% polyacrylamide, stacking gel은 4% polyacrylamide를 利用하였으며 電極 緩衝液은 Tris-HCl(0.105M glycine, 0.1% SDS, pH 8.3)을 使用하였다. 電氣 泳動은 試料 50 μ l을 使用하여 stacking gel에서 20mA, separating gel에서 40 mA로 實施한 後, gel을 固定液에 1時間, 染色液에 12時間, 脫色液에 24時間 處理한 後, 蛋白質 밴드의 패턴을 確認하였다.

實驗 IV. SOD 活性度 測定

SOD 活性度は McCord 等¹⁷⁾의 方法에 따라 測定하였는데, 生體 試料 5g과 10% glycerol을 包含한 0.2M Tris-HCl 緩衝液(pH 6.8) 1ml을 冷凍 保管中인 막자 사발에 넣어 磨碎한 後 遠心分離機(Model VS-21 SMT, 비전 科學 株式會社)로 12,000rpm에서 10分間 遠心分離하여 얻은 上澄液을 酵素源으로 使用하였다. 酵素 活性 測定을 爲한 反應液은 混合液[10mM xanthine 2.5 ml, 10mM cytochrome C 0.5ml, 0.1mM EDTA을 包含한 0.05 M 磷酸 緩衝液(pH 7.8)

47ml]을 使用하였으며, 反應液中 cytochrome C의 濃度を 一定하게 維持하기 爲해 反應液을 만든 다음 sodium dithionite로 使用할 때마다 補整하였다. 酵素反應은 反應液 1ml과 酵素源 10 μ l을 polystyrene cuvet(4ml, 1cm i.d)에 넣은 後, 10⁻⁴M EDTA를 包含한 0.05M 磷酸 緩衝液(pH 7.8)으로 25倍 稀釋한 xanthine oxidase(XOD) 10 μ l를 添加하여 始作하였다. 酵素 活性의 1單位는 25°C에서 反應을 開始하여 2分間 550nm에서 吸光度 變化를 調査하여 XOD의 活性이 50%로 抑制되는 것으로 定義하였으며 酵素活性에 影響을 미치는 KCN은 最終 濃도가 2mM을 維持하기 爲하여 酵素 反應液에 添加하여 調査하였다.

實驗 V. 遊離 proline 含量 測定

遊離 proline 含量의 測定은 Bates의 方法²⁾을 變形하여 實施하였는데 -40°C의 冷凍庫에 保管中인 生體 試料 0.5g을 3% sulfosalicylic acid 10ml로 均質化가 되게 한 다음 濾過紙 No. 2(Whatman Int'l Ltd, England)로 濾過시킨 抽出液 2ml을 發色 溶液[acetic acid 5ml + ninhydrin solution 5ml(125mg ninhydrin + 3ml acetic acid + 6M phosphoric acid 2ml)]과 混合하여 恒溫 水槽(100°C)에서 1時間 동안 熱湯하여 식힌 다음, 다시 冷藏室(4°C)에서 反應을 멈추게 하여 toluene 8ml을 試驗管에 넣어 抽出液과 混合하여 20秒 동안 세계 흔들어 준 다음 色層을 水溶狀에서 取하여 分光光度計(Model Varian Cary 1E)로 吸光度(520nm)를 測定한 後 proline의 檢量線을 作成하여 定量하였다.

結果 및 考察

1. 植物生長調整劑 kinetin의 濃度別 浸種 處理에 따른 發芽率 및 生育 特性
Kinetin의 浸種處理가 濃度別 水稻 品種間 銅

毒성에 미치는 生育特性 및 發芽率을 살펴보면 그림 1, 그림 2 및 表 2와 같다.

일품벼의 경우 草長은 植物生長調整劑 kinetin

$10^{-3}M$ 處理가 3.5cm로 銅 60ppm 處理區에서 2.5cm보다 促進되었으나, kinetin $10^{-4}M$, $10^{-5}M$ 에서는 오히려 抑制되었으며, 뿌리의 伸長은

Table 2. Effect of plant growth regulator, kinetin on copper treatment in two rice cultivars

Cultivars	Treatments*	Plant height (cm)	Root length (cm)	Fresh wt. (g/30 plants)
Ilpumbyeo	Untreated control	3.4 ^b	3.7 ^a	2.4 ^a
	Copper 60ppm	2.5 ^d	0.1 ^c	1.9 ^c
	Kinetin $10^{-3}M$	3.5 ^a	1.2 ^b	2.1 ^b
	Kinetin $10^{-4}M$	2.9 ^c	0.1 ^c	1.8 ^d
	Kinetin $10^{-5}M$	2.1 ^e	0.1 ^c	1.5 ^e
Hyangmibyeo 1	Untreated control	2.9 ^b	2.9 ^a	1.9 ^a
	Copper 60ppm	2.5 ^e	0.1 ^c	1.5 ^c
	Kinetin $10^{-3}M$	3.8 ^a	1.1 ^b	1.8 ^b
	Kinetin $10^{-4}M$	2.8 ^c	0.1 ^c	1.5 ^c
	Kinetin $10^{-5}M$	2.7 ^d	0.1 ^c	1.4 ^d

Means in each column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level into one cultivar according to Duncan's multiple range tests.

* Kinetin treatments were seed soaking for 24hrs at room temp., and then placed into petridish containing copper 60ppm.

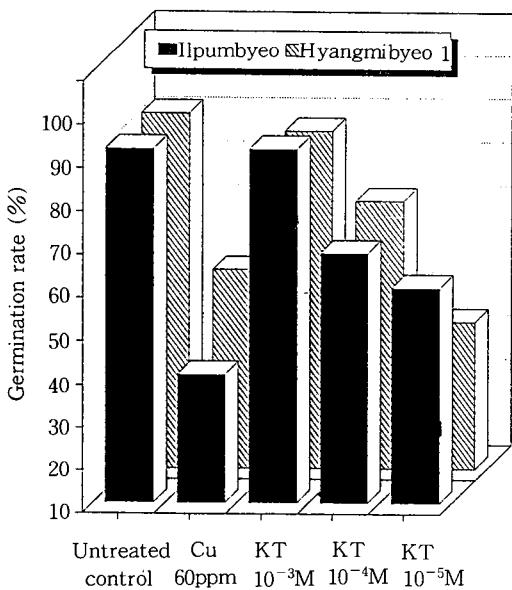
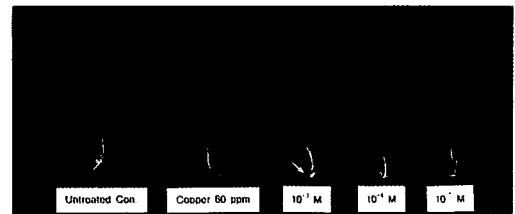
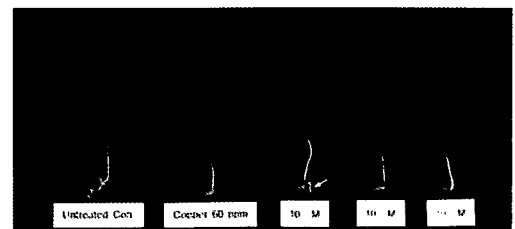


Fig. 1. Kinetin effect on germination rate(%) of two rice cultivars, Ilpumbyeo(Japonica type) and Hyangmibyeo 1 (Tongil type) at the 7 days after treatment of copper 60ppm.

* KT means kinetin as a plant growth regulator.



Ilpumbyeo(Japonica type)



Hyangmibyeo 1(Indica type)

Fig. 2. Effects of kinetin on root elongation of two rice cultivars of seedlings at the 7 days after treatment of copper 60ppm.

kinetin $10^{-3}M$ 處理에서 1.2cm로 다른 處理區에서는 나타나지 않는 生育 特性을 보였다. 生體重은 銅 60ppm 處理區의 1.9g보다 kinetin $10^{-3}M$ 處理는 2.1g으로 다소 높게 나타났으며, 發芽率은 銅 60ppm 處理區가 40%로 나타난 반면 kinetin 處理區에서는 60~92%로 銅毒性에 對한 kinetin의 處理效果가 認定되었다.

향미벼 1號의 경우, 草長은 일품벼와 마찬가지로 kinetin $10^{-3}M$ 處理가 銅 60ppm處理보다 生育이 旺盛하였으며, 根長도 일품벼처럼 kinetin $10^{-3}M$ 處理에서 1.1cm로 나타나 品種間 差異없이 發根의 誘導效果는 모두 kinetin $10^{-3}M$ 에서 나타났다. 生體重은 無處理區보다 다소 낮은 傾向을 보였으나 銅 60ppm보다 kinetin 處理區는 모두 높았고, 發芽率은 銅 60ppm이 56%이고 kinetin $10^{-3}M$ 處理에서는 88%로 나타났다.

한편 銅 毒性에 對한 植物生長調整劑 kinetin 處理에 따른 生育을 그림 1과 2에서 살펴보면 銅 60ppm 處理에서는 다소 잎이 말리는 現象을 보였으나 濃度別 kinetin 處理에서는 다소 輕減되는 傾向이었다. 그리고 發根誘導에 對한 植物生長調整劑 kinetin의 適正濃度는 品種間 差異없이 kinetin $10^{-3}M$ 處理가 效果的이었지만, 銅 60

ppm, kinetin $10^{-4}M$, kinetin $10^{-5}M$ 에서는 전혀 發芽가 되지 않았는데, 이러한 現象은 Lexm-ond 등¹⁵⁾이 밀에 銅을 處理하여 發根이 되지 않았다는 報告와 一致하였다.

2. 葉綠素 및 銅 含量

植物生長調整劑 kinetin의 浸種 處理가 濃度別 벼 品種間 銅 毒性에 미치는 葉綠素 含量과 部位別 銅 含量은 表 3에서 보는 바와 같이 葉綠素 含量은 향미벼 1호보다 일품벼가 다소 높았고, 일품벼에서는 無處理보다 모든 處理에서 낮은 含量을 나타내었으며 특히 銅 60ppm 處理時 0.98mg으로 가장 낮은 含量을 보였다. 이는 孫²⁴⁾이 統一型 品種인 三綱벼의 葉綠素 含量이 0.62mg, 자포니카 品種인 東津벼의 葉綠素 含量이 1.23mg였다는 報告한 비슷하였다. 향미벼 1호에서도 일품벼와 類似한 結果를 보였는데, 無處理가 0.67mg이고 kinetin $10^{-5}M$ 處理는 0.39mg으로 無處理보다 2倍 程度의 減少現象을 나타내었다. 한편 kinetin 處理區에서는 일품벼와 향미벼 1호 모두 處理濃度와는 無關하게 銅 60ppm 處理에서보다 葉綠素 含量이 增加하였는데 이는 Yamada 등²⁸⁾과 Dai⁵⁾가 벼의 葉綠素 含量은 kinetin이 葉綠素의 發

Table 3. Chlorophyll content and copper content of leaf and seed parts as affected by plant growth regulator, kinetin treatment on copper treatment in two rice cultivars

Cultivars	Treatments*	Chlorophyll content (mg /g fresh wt.)	Copper content (ng /g dry wt.)	
			Seed	Leaf
Ipumbyeo	Untreated control	1.33 ^a	500 ^e	581 ^d
	Copper 60ppm	0.98 ^d	1,340 ^a	1,780 ^a
	Kinetin $10^{-3}M$	1.32 ^{ab}	580 ^d	930 ^c
	Kinetin $10^{-4}M$	1.29 ^{bc}	740 ^c	1,120 ^b
	Kinetin $10^{-5}M$	1.27 ^c	1,060 ^b	1,790 ^a
Hyangmibyeo 1	Untreated control	0.67 ^a	642 ^e	687 ^e
	Copper 60ppm	0.56 ^b	1,260 ^a	1,590 ^a
	Kinetin $10^{-3}M$	0.66 ^a	660 ^d	980 ^d
	Kinetin $10^{-4}M$	0.48 ^c	980 ^c	1,140 ^e
	Kinetin $10^{-5}M$	0.39 ^d	1,130 ^b	1,280 ^b

Means in each column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level into one cultivar according to Duncan's multiple range tests.

* Kinetin treatments were seed soaking for 24hrs at room temp., and then placed into petridish containing copper 60ppm.

達과 生成促進에 關與한다는 結果와 一致하였다.

銅含量은 일품벼에 비해 향미벼 1호가 다소 낮은 含量을 보였고 일품벼의 境遇 銅 60ppm 處理가 0.98mg 인 것에 비하여 kinetin 處理에서는 1.28~1.31mg으로 다소 높은 傾向을 보였는데 이러한 現象은 향미벼 1호에서도 類似한 結果를 나타내었다.

銅 60ppm 處理에 따른 植物體 部位別 銅 含量을 살펴보면 一品벼의 경우 無處理區에서는 잎에서 581ng, 種子에서 500ng을 보인 반면 銅 60ppm 處理區에서는 잎에서 1,780ng, 種子에서 1,340ng, kinetin $10^{-3}M$ 에서는 잎에서 930ng, 種子에서 580ng으로 나타났는데 無處理의 銅含量은 Masironi 等¹⁶⁾이 벼 種子の 銅 含量이 平均 600ng이라고한 報告와 비슷한 結果를 보였다.

한편 kinetin $10^{-5}M$ 의 잎을 除外하면 kinetin을 處理한 모든 區에서 銅 60ppm 區보다 낮은 含量을 보이는 것으로 나타나 kinetin에 對한 銅蓄積 輕減의 效果가 認定되었다.

향미벼 1호의 경우 無處理區에서는 잎에서 687ng, 種子에서 642ng 이었는데 이는 Hughes 等⁶⁾과 Suzuki 等²⁵⁾이 各 各 벼 種子 乾物重 當 平均 670ng, 480ng이었다고 分析한 것과 비슷한 結果를 보였다. 銅 60ppm 處理區에서는 잎에서 1590ng, 種子에서 1260ng, kinetin $10^{-3}M$ 에서는 잎에서 980ng, 種子에서 660ng으로 나타나 kinetin을 處理한 모든 區에서 銅 60ppm 處理區보다 낮은 含量을 보였다.

3. 蛋白質밴드의 패턴

植物生長調整劑 kinetin의 浸種 處理가 濃度別 水稻 品種間 銅 毒性에 미치는 蛋白質밴드의 패턴 變化는 그림 3과 같다. 일품벼에서 蛋白質 밴드의 樣相은 無處理와 比較하면 銅 60ppm 處理, kinetin의 濃度別 處理에서 差異를 보였는데, 특히 kinetin $10^{-3}M$ 處理에서는 約 54.4kDa에서 새로운 밴드가 나타났지만, 향미벼 1호에서는 無處理와 銅 60ppm 處理區, kinetin의 濃度別 處理區 사이에서는 뚜렷한 밴드의 差異를 보이지 않았는데 이러한 現象은 銅 毒性을 피는 濃度에서 kinetin 處理를 하면 發現되는 새로운 蛋白質이

나타나거나 發芽 初期에 스트레스때문에 抑制되지 않는 蛋白質로 推定되어 今後 이 새로운 蛋白質에 對한 正確한 究明을 通하여 品種間의 差異와 銅 毒性에 對한 kinetin 處理의 效果를 具體적으로 밝혀내야 할 것이다.

4. 發芽 日數別 SOD(superoxide dismutase) 活性化度

植物生長調整劑 kinetin의 浸種 處理가 濃度別

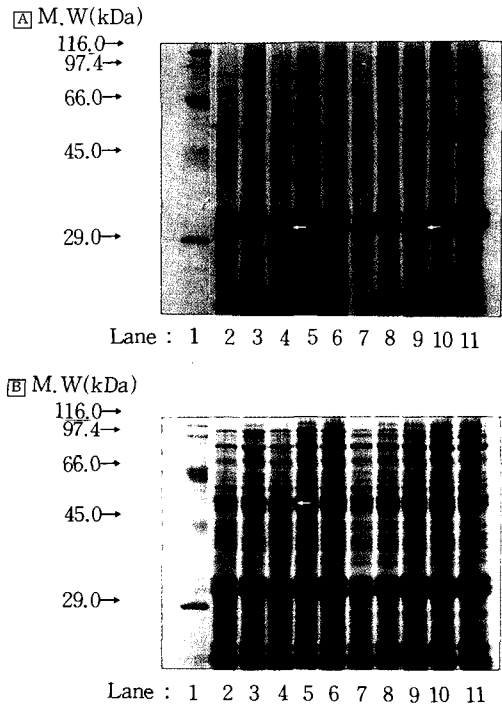


Fig. 3. Protein band patterns on copper treatment shown by SDS-PAGE for two rice cultivars of seedlings, Ilpumbyeo (Japonica type) and Hyangmibyeyo 1 (Tongil type).

[A] means 3 days after treatment of copper 60ppm, [B] means 7 days after treatment of copper 60ppm. Lane No. 1. Size marker 2. Untreated control 3. Cu 60ppm 4. Kinetin $10^{-3}M$ 5. Kinetin $10^{-4}M$ 6. Kinetin $10^{-5}M$ 7. Untreated control 8. Cu 60ppm 9. Kinetin $10^{-3}M$ 10. Kinetin $10^{-4}M$ 11. Kinetin $10^{-5}M$.

Lane numbers from 2 to 6 indicate the rice cultivar of Japonica type.

Lane numbers from 7 to 11 indicate the rice cultivar of Tongil type.

水稻 品種間 銅毒性에 미치는 SOD 活性도를 比較하면 表 4에서 보는 바와 같이 일품벼의 境遇 無處理에서는 發芽日數에 따른 活性의 差異가 나타나지 않았으나 銅 60ppm 處理에서는 發芽後 3日째 1,299 EU로 濃度別 植物生長調整劑 kinetin 을 處理한 區에서 더욱 높은 活性을 보였는데, 이는 kinetin 處理에서 다소 낮은 活性을 보인 것과 比較해 보면 重金屬인 銅의 stress에 對하여 kin-

etin 處理가 어느 程度 stress 輕減作用을 한 것으로 判斷되었다.

항미벼 1호의 경우도 일품벼와 類似한 結果를 보였는데 銅 60ppm 處理에서 가장 높은 活性度를 나타내었고 特히, 發芽後 3日째 1,260EU로 가장 높은 活性을 보이다가 5日째부터 活性이 減少하는 現象을 보였다. Ayala 等¹⁾은 완두에서 銅의 濃度가 增加할수록 SOD의 活性이 增加하였다고

Table 4. Changes of superoxide dismutase activity on copper treatment in two rice cultivars

Cultivars	Treatments*	SOD activity (EU [↓] /g fresh wt.)			
		1 DAT [↓]	3 DAT	5 DAT	7 DAT
Ilpumbyeo	Untreated control	690 ^d	687 ^c	693 ^d	692 ^e
	Copper 60ppm	1,043 ^a	1,299 ^a	897 ^{ab}	785 ^c
	Kinetin 10 ⁻³ M	799 ^c	1,099 ^b	871 ^c	776 ^d
	Kinetin 10 ⁻⁴ M	801 ^c	1,101 ^b	893 ^b	789 ^b
	Kinetin 10 ⁻⁵ M	993 ^b	1,125 ^b	899 ^a	794 ^a
Hyangmiby eo 1	Untreated control	723 ^e	719 ^e	714 ^e	720 ^d
	Copper 60ppm	1,100 ^a	1,260 ^a	1,017 ^d	748 ^c
	Kinetin 10 ⁻³ M	800 ^d	1,122 ^d	1,041 ^c	752 ^c
	Kinetin 10 ⁻⁴ M	934 ^c	1,141 ^c	1,053 ^b	768 ^b
	Kinetin 10 ⁻⁵ M	1,037 ^b	1,150 ^b	1,060 ^a	788 ^a

Means in each column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level into one cultivar according to Duncan's multiple range tests. [↓] EU = enzyme unit

[↓] Days after treatment of copper 60ppm.

* Kinetin treatments were seed soaking for 24hrs at room temp., and then placed into petridish containing copper 60ppm.

Table 5. Changes of free proline content on copper treatment in two rice cultivars

Cultivars	Treatments*	Free proline content (μM /g fresh wt.)			
		1 DAT [↓]	3 DAT	5 DAT	7 DAT
Ilpumbyeo	Untreated control	2,180 ^e	2,190 ^d	2,190 ^c	2,211 ^d
	Copper 60ppm	3,231 ^b	4,996 ^a	3,012 ^a	2,787 ^a
	Kinetin 10 ⁻³ M	3,000 ^d	5,008 ^a	2,211 ^c	2,282 ^c
	Kinetin 10 ⁻⁴ M	3,181 ^c	4,281 ^b	2,290 ^b	2,322 ^b
	Kinetin 10 ⁻⁵ M	3,282 ^a	3,661 ^c	2,300 ^b	2,340 ^b
Hyangmiby eo 1	Untreated control	2,330 ^d	2,341 ^d	2,340 ^d	2,360 ^d
	Copper 60ppm	3,370 ^a	5,825 ^a	2,430 ^c	2,487 ^a
	Kinetin 10 ⁻³ M	3,111 ^c	3,180 ^c	2,350 ^d	2,372 ^{cd}
	Kinetin 10 ⁻⁴ M	3,183 ^b	4,480 ^b	2,600 ^b	2,403 ^{bc}
	Kinetin 10 ⁻⁵ M	3,366 ^a	4,471 ^b	2,716 ^a	2,433 ^b

Means in each column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level into one cultivar according to Duncan's multiple range tests.

[↓] Days after treatment of copper 60ppm.

* Kinetin treatments were seed soaking for 24hrs at room temp., and then placed into petridish containing copper 60ppm.

하였는데 本 實驗에서도 無處理보다 銅 60ppm 處理에서 SOD의 活性이 增加하는 結果를 나타내었다.

5. 發芽 日數別 遊離 proline含量

濃度別 植物生長調整劑 kinetin의 浸種處理가 며 品種間 銅 毒性에 미치는 遊離 proline含量的 變化를 살펴보면 表 5와 같다.

品種間 proline 含量은 큰 差異를 보이지 않았다. 일품벼의 경우 無處理에서는 變化를 보이지 않았으나 銅 60ppm 處理에서는 3日째 4,996 μ M 로 급격히 增加하다가 5日과 7日째는 오히려 減少하는 樣相을 나타내었다. 이러한 現象은 kinetin의 濃도와 無關하게 모두 3日째 急激한 含量的 增加를 보이다가 5日 및 7日째에는 減少하는 結果를 보이는 特徵으로 볼 수 있다.

李 等¹⁴⁾은 벼 幼植物에 濃度別 NaCl을 處理하였을 때 0.2% 보다 0.6%에서 遊離 proline 含量이 增加하였다고 報告하였는데, 本 實驗에서도 無處理보다 銅 60ppm 處理에서 遊離 proline含量이 增加한 反面에 kinetin의 濃도가 낮아질수록 遊離 proline含量은 오히려 增加하였다. 이는 銅 毒性에 對하여 kinetin의 濃도가 銅 毒性을 緩和할 만큼 알맞는 濃도가 아닌 것으로 推測되어 이에 對한 具體的인 研究가 뒤따라야 할 것이다. 한편 향미벼 1호도 일품벼와 마찬가지로 類似한 傾向을 보이고 無處理를 除外한 모든 處理區에서 3日째 遊離 proline 含量이 급격히 增加하다가 減少하는 傾向을 보였는데, 이는 銅處理 1日째는 植物體內의 物質代謝가 正常的으로 이루어지다가 3日째 銅이 毒性을 나타내어 植物의 生長을 部分的으로 抑制한 것에 起因한 것으로 推測되었다.

摘 要

重金屬 가운데 必須 微量 元素인 銅을 법씨에 處理한 後 植物生長調整劑인 kinetin을 浸種 處理하여 發芽中 銅 毒性에 對한 벼의 生育 特性, 酵素의 活性, 發芽率 向上과 重金屬 障害의 輕減을 爲하

여 몇 가지 實驗을 遂行하여 얻어진 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 銅毒性 輕減을 爲한 濃度別 kinetin 處理에 따른 生育은 일품벼, 향미벼 1호 모두 草長은 kinetin 10⁻³M 處理가 無處理와 銅 60ppm 處理에 비해 生育이 良好하였고 뿌리의 生長도 優勢하였다.
2. 葉綠素 含量은 두 品種 모두 銅 60ppm 處理보다 無處理가 높았으며, kinetin 處理에서는 kinetin 10⁻³M, kinetin 10⁻⁴M, kinetin 10⁻⁵M의 處理 順으로 낮은 含量을 나타내었다.
3. Kinetin 處理濃도에 對한 植物體 部位別 銅의 蓄積量은 kinetin의 濃도가 낮을수록 增加하는 傾向이었으며, 銅 60ppm 處理에서 銅 含量은 일품벼는 잎에서 1,797ng, 種子에서 1,340 ng이었고 향미벼 1호에서는 잎과 種子에서 銅 含量이 각각 1,590ng, 1,260ng으로 일품벼가 더 높았다.
4. 銅 60ppm 處理에 따른 品種間 蛋白質 밴드의 패턴은 發芽 後 3日째 두 品種 모두 35, 40kDa. 部位에서 다소 약한 밴드가 보였으며 일품벼의 境遇 發芽後 kinetin 10⁻³M 處理에서 54.4 kDa에 새로운 蛋白質 밴드가 나타났다.
5. 銅 處理에 따른 發芽日數別 SOD 活性度는 일품벼의 境遇 無處理에서는 差異를 보이지 않았으나 銅 60ppm 處理에서 發芽 後 3日째 1,299 EU로 가장 높은 活性度を 보이다가 發芽 後 5日째부터 漸次 減少하였으며, 향미벼 1號에서는 發芽 後 3日째 銅 60ppm 處理에서 1,260 EU의 活性度を 나타내다가 發芽 後 5日째부터 減少하는 傾向이었으며, kinetin 10⁻³M 處理에서는 가장 낮은 活性을 보여 어느 程度 銅 stress 輕減의 效果가 認定되었다.
6. 遊離 proline含量은 品種間 差異를 보이지 않았으나 SOD 活性과 마찬가지로 發芽 後 3日째 銅 60ppm 處理에서 큰 差異를 보였지만, 發芽 日數가 經過할수록 減少하는 傾向을 보였다.

引用文獻

1. Ayala, M. B. and G. Sandmann. 1989. Activities of Cu-containing proteins in Cu-depleted pea leaves. *Physiol. Plant.* 72:801-806.
2. Bates, L. S. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39:205-207.
3. Bingham, F. T., A. L. Page, R. J. Mahler and T. J. Ganja. 1975. Cadmium accumulation of plant grown on a soil treated with a cadmium-enriched sewage. *J. Environ. Qual.* 4:207-211.
4. Chaney, R. L. 1978. Crop and food effects of toxic elements in sludge and effluents in recycling municipal sludges and effluent on land. *Nat. Assoc. State Univ. and Land-Grant Colleges*, Washington D. C. 129-141.
5. Dai Qiuji. 1985. Effect of low temperature on the rice root system at seedling stage. *M. S. Dept. Agronomy, IRRI.*
6. Hughes, G., V. J. Kelly and R. A. Stewart. 1960. The copper contents of foods. *Pediatrics.* 25:477-484.
7. James, H., A. Cock, Kwanchai, Shouichi Yoshida, Gomez and A. Forno, Douglas. 1976. Laboratory manual for physiological studies of rice. Vol. 3, IRRI, Los Banos, Philippines. pp. 43-49.
8. 金福鎮. 1987. 水稻의 重金屬 吸收 輕減에 對한 몇 가지 改良劑의 效果. *韓國環境農學會誌.* 6(1):25-30.
9. _____, 河永來, 金正玉, 韓基確. 1978. 水稻 生育에 對한 有害 重金屬의 影響-發芽 및 苗袋 期 生育에 對하여-. *韓土肥誌.* 11(2):119-126.
10. Kirkham, M. B. 1975. Uptake of cadmium and zinc from sludge by barley grown under from different sludge irrigation regimes. *J. Environ. Qual.* 4:423-426.
11. 金正玉, 河永來, 金福鎮. 1978. 水稻品種別 重金屬 吸收 抑制에 對한 水 管理 및 石膏의 影響. *韓土肥誌.* 11(2):113-118.
12. 金奎植. 1980. 畚土壤에 있어서 石灰 施用이 水稻의 cadmium 吸收에 미치는 影響: 忠北大學校大學院 論文集. 6:179-190.
13. Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. *Nature, London.* 227:680-685.
14. 李康壽, 李宗申, 崔善英. 1992. NaCl 處理에 따른 벼 幼苗期의 葉綠素 및 遊離 Proline의 含量變化. *韓作誌.* 37(2):178-184.
15. Lexmond, T. M. and P. D. J. van der Vorm. 1981. The effect of pH on copper toxicity to hydroponically grown maize. *Neth. J. Agric. Sci.* 29:217-238.
16. Masironi, R., S. R. Koirtyohann and J. O. Pierce. 1977. Zinc, copper, cadmium and chromium in polished and unpolished rice. *Sci. Environ.* 7:27-43.
17. McCord, J. M. and I. Fridovich. 1969. Superoxide dismutase : An enzymatic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244(22):6049-6055.
18. 農村振興廳. 1983. 農事 試驗 研究 調查 基準. 改訂 第 1版. pp. 35.
19. 農村振興廳 農業技術研究所. 1985. 原色 圖鑑. 農作物 環境污染 被害解析. pp.12-13.
20. Ruth A. Barnard and Ann Oaks. 1969. Metabolism of proline in maize root tips. *Can. J. of Botany.* Vol. 48. 1155-1158.
21. 佐藤雅志. 1993. イネ 遺傳資源의 蒐集, 保持と その評價. 資源植物의 探索, 開發 및 活用前略. *韓國植物學會 심포지움.* pp. 48-58.
22. 山添文雄, 越野正義. 1971. 水稻によるカドミウムの吸收とり酸重金屬鹽의 施用效果, 微量元素含有肥料に關する研究(第七報). 49:1-43.
23. Schroeder, H. A. 1966. Cadmium as a fac-

- tor in hypertension. J. Chronic Dis. 18: 647-666.
24. 孫泰權. 1992. ABA와 GA3가 幼苗期の 벼 (*Oryza sativa* L.) 生育에 미치는 生化學的 影響. 慶北大學校 大學院 論文集. pp. 10-12.
 25. Suzuki, S., N. Diuangsih, K. Hyodo and O. Soemarwoto. 1978. Cadmium, copper, and zinc in rice produced in Java. Ecology and Development 6. Inst. Ecology, Padjadaran Univ. Bandung, Indonesia. pp.29.
 26. Tsuchiya, K. 1969. Causation of auch-auch disease, Part I, Nature of the disease. Keio J. Med. 18:181-194.
 27. 徳永美治. 1974. 水稻のかドミウム吸収に對する抑制對策試驗. 凍害農業試驗場研究報告. 29:49-72.
 28. Yamada, N., H. Suge, H. Nakamura and K. Tajima. 1964. Chemical control of kinetin and other chemicals on the degradation of chlorophyll in rice plants. Proc. Crop Sci. Japan. 32:254-258.