

## 칼슘이 뽕나무 뿌리의 발육과 가지의 내동성에 미치는 영향

류근섭 · 최영철\*

경북대학교 농과대학, \*농촌진흥청 잠사곤충연구소

## Effect of Calcium in Nutrient Solution on Root Development and Freezing Tolerance of Mulberry

Keun Sup Ryu and Young Cheol Choi\*

College of Agriculture, Kyungpook National Univ. Taegu 702-701, Korea

\*National Sericulture and Entomology Research Institute, Suwon 441-100, Korea

### ABSTRACT

Effects of calcium on mulberry growth and freezing tolerance were examined by water culture. Calcium was supplied by foliar spray with the levels of 0, 5, and 40 ppm. Mulberry stems developed by 130 cm at  $Ca^{2+}$  40 ppm, 82 cm at  $Ca^{2+}$  5 ppm and 23 cm at  $Ca^{2+}$  0 ppm. Mulberry roots also developed vigorously at  $Ca^{2+}$  40 ppm, but did poorly at  $Ca^{2+}$  5 ppm and changed to brown in color, and died becoming necrosis at  $Ca^{2+}$  0 ppm. Content of calcium in leaves and barks were increased at  $Ca^{2+}$  40 ppm compared with at  $Ca^{2+}$  5 ppm. Total sugar, RNA, proline and phospholipid at  $Ca^{2+}$  40 ppm were also more increased than those at  $Ca^{2+}$  5 ppm. Mulberry stems grown at  $Ca^{2+}$  40 ppm showed a sufficient tolerance at -10 for 24 hours while stems grown at  $Ca^{2+}$  5 ppm did a weak tolerance at the same conditions.

Key words : Mulberry, Calcium, Calmodulin, Phospholipid, RNA, Protein, Proline, Freezing tolerance

### 서 론

뽕나무는 본래 칼슘의 소비가 높은 작물이다. 우리나라에서는 질소, 인산, 칼리비료는 정상적으로 사용하고 있으나 60% 이상의 농가가 석회를 전혀 사용하지 않고 있다(이와 성, 1994). 더욱이 우리나라의 토양은 모암이 산성암인 화강암 및 화강편마암으로 조성되어 있어서 대부분의 토양이 산성을 띠고 있다.

고등식물의 주요 무기성분에 대해서는 많은 연구가 보고 되었으며 칼슘에 대한 연구결과는 다수 보고되었다. 칼슘이 부족하면 식물의 발육이 저해되어 동해 및 한발피해를 쉽게 받는다고 하였으며(Yamasaki, 1974), 칼슘은 식물의 세포막에 결합되어 내동성을 강화시켜 주는 물질로 알려진 단백질 및 인지질과 결합하여 특별한 역할을 한다고 하였다(Vesper, 1976).

최근 식물의 내동성에 관한 연구는 생체막의 구조와 그 구성성분의 변화에 집중하는 경향인데 아카시

아와 포플러나무의 인피조직에 있는 인지질과 내동성은 깊은 관계가 있다고 하였다(Sakai and Yoshida, 1973). 칼슘은 인지질과 결합하여 인지질 분자간에 결합이나 단백질과 결합을 하여 세포막으로 하여금 정상적인 기능을 하도록 한다(Marme, 1983). calmodulin은 식물 세포막의 기능과 효소작용을 조절하는 중요한 역할을 하는데 이 calmodulin이 바로 칼슘에 의존해서 단백질을 조정하는 물질로 알려져 있다(Cheung, 1980). 뿐만 아니라 calmodulin은 DNA, RNA의 수준을 높이고 단백질의 합성을 촉진시킨다고 하였다(Negrini, 1989).

한편 칼슘은 식물의 저온 피해에 대하여 생리적인 전이체로서 중요한 역할을 한다고 하였으며(Minorsky, 1985), wheat embryo  $Ca^{2+}$ -dependent protein kinase는 밀에 대한 인지질의 운반 및 단백질 기질로 알려진 기초단백질을 인산화합 물질로 변화한다고 하였다(Neumann, 1993).

그런데, 가용성 단백질, RNA 및 인지질 등은 아카시아 나무의 내동성을 크게 증진시킨다고 하였으며 (Sakai and Yoshida, 1973), 봉소사용에 의해서 뽕나무가지의 피부에 RNA와 인지질 함량을 증대시켜 내동성을 향상시켰다고 하였다(Le *et al.*, 1995).

이상의 결과로 보아 칼슘은 뽕나무의 뿌리발육을 촉진시켜 내동성과 관계가 깊은 필수요소를 잘 흡수시킬 뿐만 아니라, 식물의 내동성을 증대시킬 수 있는 RNA, 단백질 및 인지질함량을 증대시켜 겨울동안에 내동성을 강화시킬 수 있는 필수요소라고 생각되어 칼슘의 사용량을 달리한 수경재배를 실시하여 몇가지 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

**재료 및 방법**

신소삼목에 의해서 생산된 신품뽕을 1995년 6월 9일에 와그너 포트(1/50,000a)에 식재하여 표 1에서와 같이 Ca<sup>2+</sup>을 0 ppm, 5 ppm(저농도) 및 40 ppm(고농도) 처리구를 설치하여 수경재배로 시험하였다. 배양액의 물은 증류수를 사용하였고 배양액은 매주 갈아 주었다.

실험 착수 1개월 후부터 뽕나무의 가지와 뿌리의 발육상황을 15일 간격으로 조사하였다. 발육말기인 10월 13일에 잎과 가지를 채취하여 시료분석용으로 사용하였다.

채취한 시료는 어둠을 넣은 ice box에 넣고 하나씩 가지의 양끝을 잘라내고 면도날로 눈을 따낸 후 표피를 벗겨내고 피부와 목부를 분리하였다. 피부와 뽕잎을 각각 3g씩 칭량하여 PVP(Polyvinylpolypyrrolidone) 0.6g, sea sand 3g과 0.2M phosphate buffer(pH 7.2) 10 ml을 유발에 넣고 간 후 원심분리 튜브에 넣었다. 처리당 3반복으로 하여 고속원심분리기로 0~4°C에서 2,800×g에 10분간 원심분리하여 상등액을 -25°C 냉동고에 보관하여 분석용 시료로 사용하였다.

수용성 단백질은 Lowry법(Lowry *et al.*, 1951), RNA는 Schmidt-Thannauer-Schnider변법(水野, 1973), 탄수화물은 phenol-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>법(朱等, 1991), proline은 HPLC법(Kohno and Suzuki, 1984), 인지질은 Thinlayer Chromatography법(Le *et al.*, 1995)으로 분석하였다. Ca<sup>2+</sup> 분석시료는 순환 열풍건조기를 사용하

여 80°C에서 24시간 건조시킨 후 분쇄기를 사용하여 0.25 mm체를 통과한 분말을 분석용으로 사용하였다. 건조분말시료 0.5g을 salicylic acid에 농황산과 과산화수소를 가하여 흡수시킨 후 원자흡광분석기로 분석하였다.

겨울동안의 내동성을 측정하기 위해 11월 23일에 뽕가지를 50 cm 길이로 잘라서 3°C의 냉장고에 넣어서 하루동안 저온에 순화시킨 다음 -10°C의 저온기에서 24시간 저온처리를 하였다가 내동성을 측정하였다. 내동성의 측정방법(Le *et al.*, 1995)은 눈이 3개가 달린 15 cm길이의 삼수를 만들어 비커내에서 수삽하여 25°C의 식물생육상 내에서 한 달동안 발아시켜 발아 비율을 조사하였다.

**결과 및 고찰**

**1. 칼슘농도와 뽕가지의 발육**

칼슘을 공급하지 않거나 저농도(5 ppm)의 칼슘 조

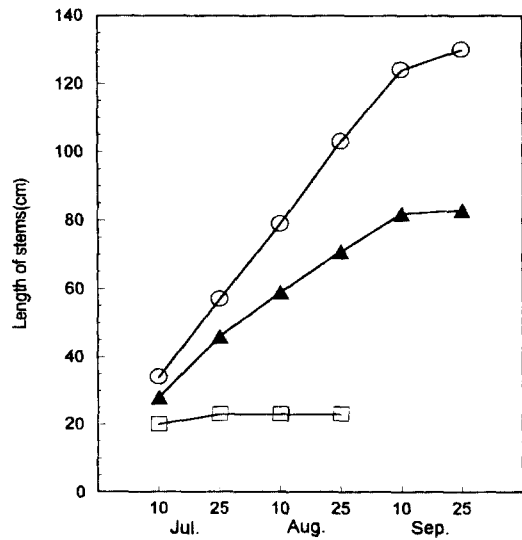


Fig. 1. Difference in shoot growth of mulberry trees grown at different concentrations of calcium. □ - □ : 0 ppm of calcium solution, ▲ - ▲ : 5 ppm of calcium solution, ○ - ○ : 40 ppm of calcium solution

Table 1. Composition of nutrient solution(ppm)

Treatment	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	Cu	Mo	B
Ca 0 ppm	50	10	50	0	15	2	0.5	0.1	0.1	0.1	0.5
Ca 5 ppm	50	10	50	5	15	2	0.5	0.1	0.1	0.1	0.5
Ca 40 ppm	50	10	50	40	15	2	0.5	0.1	0.1	0.1	0.5

건에서 성장한 뽕나무는 가지 선단의 잎이 뒷면으로 말리는 비정상 발육을 나타내었으며, 이와같은 현상이 더욱 진행되면 엽연에 necrosis 현상이 일어나 칼슘 결핍의 전형적인 증상을 보였다. 뿐만 아니라 칼슘을 공급하지 않은 뽕나무는 가지의 발육이 극히 불량하였으며, 그림 1에서 보듯이 수경재배 2개월 후인 8월 10일부터 25일 사이에 가지가 완전히 말라 죽었다.

고농도의 칼슘용액으로 키운 뽕나무는 칼슘결핍증이 보이지 않았으며 정상적으로 자라서 9월 25일에는 130 cm까지 자랐다. 그러나 저농도 칼슘용액으로 키운 뽕나무는 같은 시기에 83 cm밖에 자라지 못했으며 가지의 굵기도 고농도의 칼슘용액으로 키운 뽕가지에 비해서 빈약하였다.

이와같이 저농도의 칼슘을 공급한 뽕가지의 빈약한 발육은 세포의 신장 및 분열에 필요한 칼슘이 부족하기 때문이다(Burstron, 1969). 한편 칼슘이 부족하면 세포와 세포사이의 결합이 제대로 이루어지지 않기 때문에 새싹의 생장점이 파괴되어 새잎이 갈색으로 변하면서 말라 죽게 된다고 하였다(Yamasaki, 1974).

**2. 칼슘농도와 뽕나무의 뿌리 발육**

칼슘을 공급하지 않은 뽕나무의 뿌리는 포트에 식재한 후 1개월까지는 정상적으로 자라다가 그 이후에는 그림 2, 3에서와 같이 점차 새뿌리의 발육이 불량하였으며, 새뿌리의 색이 연황색에서 갈색으로 변하면서 식재 후 75일째는 완전히 흑색으로 변하여 없다. 저농도 칼슘용액으로 키운 뽕나무의 뿌리는 고농도 칼슘용액으로 키운 뽕나무의 뿌리에 비하여 재배 전기간에 걸쳐서 불량하였으며 특히 재배 후기에 매우 불량하였다.

그림 2, 3에서와 같이 저농도 칼슘용액으로 키운

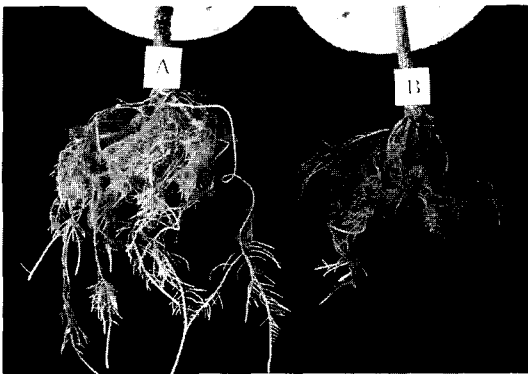


Fig. 2. Effect of calcium concentration on root development. A : Ca 40 ppm, B : Ca 5 ppm

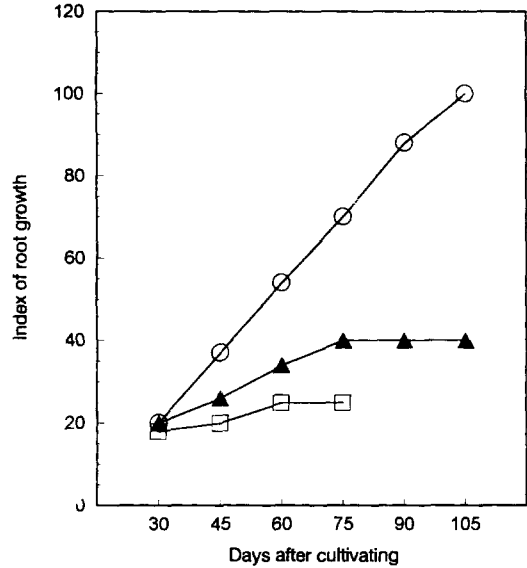


Fig. 3. Effect of calcium concentration on growth of new roots represented as indexes of their weight. Symbols are the same as seen in Fig. 1.

뽕나무의 새뿌리양은 고농도 칼슘용액으로 키운 뽕나무에 비하여 40%정도로 뿌리생장이 불량하였으며 묵은 뿌리와 새뿌리 모두 갈색으로 변하였다. 고농도 칼슘용액으로 키운 뽕나무의 뿌리는 생육초기부터 후기까지 정상적으로 발육하였으며, 뿌리의 색깔도 뽕나무 뿌리의 고유 색깔인 연한 황색을 띠었고 건강하게 보였다.

이상에서 살펴 본 바와 같이 칼슘을 공급하지 않는 경우와 저농도 칼슘용액으로 키운 뽕나무의 뿌리 발육이 불량하거나 갈색으로 변한 것은 Yamasaki (1974)의 보고와 일치하였다.

**3. 칼슘농도와 뽕가지의 내동성**

표 2에서와 같이 칼슘농도를 다르게 하여 키운 뽕나무를 영하 10°C에서 24시간 처리한 후 발아시켰을 때 고농도 칼슘용액으로 키운 뽕가지의 발아비율은 61.1%이었고 저농도 칼슘용액으로 키운 뽕가지의 발아비율은 28.6%이었다. 이것은 Minorsky(1985)가 주

Table 2. Effect of calcium concentration on the bud sprouting of mulberry stems treated at -10°C for 24 hours

Treatment	Total of buds	No. of sprouting buds	Percent of sprouting
Ca 5 ppm	5	84	24
Ca 40 ppm	144	88	88

**Table 3.** Effect of calcium concentration on chemical contents in leaves and barks of the mulberry.

Treatment	Soluble protein (mg/g, FW)		T-Sugar (mg/g, FW)		RNA (mg/g, FW)	Proline (ppm, FW)		Phospholipid (nmol/g, FW)	Calcium (% DW)	
	Leaf	Bark	Leaf	Bark	Bark	Leaf	Bark	Leaf	Leaf	Bark
Ca 5 ppm	6.38	5.51	17.98	14.59	18.40	69.2	56.9	321.54	0.71	0.72
Ca 40 ppm	9.93	8.07	20.02	14.85	37.80	82.9	70.1	443.45	1.34	0.92

장한 바와 같이 칼슘 자체가 생리적인 전이체로서 저온피해를 경감시키는 역할을 할 뿐 아니라 적정량의 칼슘을 이용함으로써 식물의 내동성을 증대시키는 물질인 수용성 단백질(Sakai and Yoshida, 1973; 金, 1980), RNA(Sakai and Yoshida, 1973; 金, 1980), proline(Kohno and Suzuki, 1984; Lyndsey and Patrick, 1979), 인지질(Sakai and Yoshida, 1973; Le et al., 1995)을 증대시킨 결과라고 생각된다.

특히 칼슘은 세포질내에서 필수단백질인 calmodulin과 관련하여 중요한 기능을 수행하는데(Cheung, 1980), 이 calmodulin은 식물세포막의 기능과 효소작용을 조절하고 수용성 인산화합물 및 세포막에 결합된 단백질을 활성화하며 내동성을 증대시키는 수용성 단백질, RNA 및 인지질 등과 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다. 특히 밀의 배(embryo)의 Ca<sup>2+</sup>-dependent protein kinase는 인지질을 운반하고 기초단백질을 인산화합물질로 변화시킨다고 하였으며(Neumann, 1993), 무의 calmodulin은 DNA와 RNA의 수준을 높이고 단백질의 합성을 촉진시킨다고 하였다(Negrini, 1989).

표 3에서와 같이 고농도의 칼슘용액으로 키운 뽕나무는 저농도 칼슘용액으로 키운 뽕나무 보다 잎과 가지내의 칼슘, 수용성 단백질, 전당, RNA, proline 및 인지질 함량이 많았으며 다만 가지내의 전당 함량만 이 큰 차이가 없었다.

이와같이 고농도의 칼슘용액으로 키운 뽕나무는 저농도 칼슘용액으로 키운 뽕나무보다 내동성 물질인 칼슘, 수용성 단백질, RNA, proline 및 phospholipid의 함량이 많았기 때문에 강한 내동성을 나타내었다고 생각된다.

이상의 결과로 보아 칼슘은 뽕나무의 내동성을 증대시키는 주요 무기 양분이라는 것을 분명히 알 수 있다.

## 적 요

와그너 포트(1/50,000a)에 묘목을 심고 칼슘 배양액을 0 ppm, 저농도(5 ppm) 및 고농도(40 ppm) 3수준으로 하여 수정재배한 뽕나무의 가지 및 뿌리의 발육과 뽕나무가지 내동성에 미치는 영향을 실험한 결과는

다음과 같다.

1. 칼슘을 사용하지 않은 뽕나무는 재배를 시작한 지 75일만에 새가지가 23 cm가량 자라다 말라죽었다. 저농도 칼슘용액으로 키운 뽕나무는 재배를 시작한 지 106일 경에 83 cm가량 자랐으며, 고농도 칼슘용액으로 키운 뽕나무는 130 cm가량 자랐다.

2. 칼슘을 사용하지 않은 뽕나무는 식재 초기에는 새뿌리가 나오다가 50일 후부터는 목은 뿌리와 새뿌리 모두 갈색으로 변하였으며, 75일째는 완전히 죽었다. 저농도 칼슘용액으로 키운 뽕나무의 새 뿌리양은 고농도 칼슘용액으로 키운 그것의 약 40% 밖에 되지 않았으며, 뿌리의 색깔도 선명하지 않았고 갈색으로 변하였다. 그러나 고농도 칼슘용액으로 키운 뽕나무의 뿌리는 연한 황색을 띠우며 매우 왕성하게 자랐다.

3. 고농도 칼슘용액으로 키운 뽕나무의 잎과 피부에는 저농도 칼슘용액으로 키운 뽕나무보다 수용성 단백질, 전당, RNA, proline 및 인지질 함량이 높았다.

4. 칼슘의 농도를 달리해서 키운 뽕나무를 24시간 -10°C의 저온으로 처리한 결과 고농도 칼슘용액으로 키운 뽕가지는 저농도 칼슘용액으로 키운 뽕가지 보다 발아율이 28.5%에서 61.1%로 배이상 높았다. 이상의 결과로 보아 칼슘은 뽕나무의 뿌리발육에 지대한 영향을 미칠 뿐 아니라 뽕 나무의 내동성을 증대시키는 주요 무기요소임을 알 수 있었다.

## 사 사

이 연구는 '96년도 경북대학교 공모과제 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

## 인용문헌

- Burstrom, H. G.(1969) Calcium and plant growth. Biol. Rev. **43** : 287-316.  
 Cheung, W. Y.(1980) Calmodulin plays a pivotal role in cellular regulation. Science **207** : 19-27.  
 朱鉉圭, 趙黃衍, 朴忠均, 曹圭成, 蔡洙圭, 馬相朝 (1991) 食品分析法. 裕林文化社, 서울, pp. 263-264.  
 金浩樂(1980) 뽕나무 내동성에 관한 연구-특히 枝條

- 含有物質과 耐寒性과의 關係에 대하여. 韓蠶學誌, **22**(1): 7~23.
- Kohno, K. and T. Suzuki(1984) Proline and cold resistance in winter buds of mulberry. *J. Seric. Sci. Jpn* **53**(5): 461~462.
- Le, Q. T., K. S. Ryu and Y. C. Choi(1995) Effect of boron in nutrient solution on root development and freezing tolerance. *Korean J. Seric. Sci.* **37**(2): 99~108.
- 이완주, 성규병(1994) 뽕밭시비 실태와 토양화학성 조사 연구. 농업논문집 36(2): 297~301.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall(1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**: 265~275.
- Lyndsey, A. W. and K. Patrick(1979) Proline : A novel cryoprotectant for the freeze preservation of cultured cell of *Zea mays* L. *Plant Physiol.* **64**: 675~678.
- Marme, D.(1983) Calcium transport and function. Lauchli, A. and R. L. Bieleski, eds, pp. 599~625.
- Minorsky, P. V.(1985) *Plant cell environ.* **8**: 75~94.
- 水野重樹(1973) 核酸の一般的分離定量法. 東京大學出版會, 東京, pp. 16~27.
- Negrini, N.(1989) Calmodulin levels in radish seeds germinating at low calcium availability induced by EDTA treatments. *Plant cell environ.* **18**(2): 159~167.
- Neumann, G. M.(1993) Phosphorylation of barley and wheat phospholipid transfer proteins by wheat calcium-dependent protein kinase. *Plant-science-Limerick* **92**(2): 159~167.
- Sakai, S. and S. Yoshida(1973) Phospholipid degradation in frozen plant cells associated with freezing injury. *Plant physiol.* **53**: 509~511.
- Vesper, M. T.(1976) Binding of Ca to particulate fractions of corn tissue. *Planta* **130**: 295~301.
- Yamasaki, T.(1974) Micro and Macro nutrients-diagnosis and treatment for Soil and Crops. pp. 161.