

범씨 저온발아중 α -amylase 활성과 유리 Proline 함량 변화

김상국* · 김영종** · 원종건*** · 이상철****

Changes of α -Amylase Activity and Free Proline Content Under Low Temperature During Germination of Rice

Sang-Kuk Kim*, Young-Jong Kim**, Jong-Gun Won*** and Sang-Chul Lee****

ABSTRACT

The study was carried out to examine changes of α -amylase activity and free proline contents during rice germination under low temperature(13°C). The plant height, root length, and germination rate were investigated during seed germination under the low temperature. Those growth characteristics were the highest in Dongjin cultivar compared with other rice cultivars. The α -amylase activity of the 9 days after germination was higher in Dongjin than those of Sangju and Koshihikari cultivars. The content of free proline was increased in all rice cultivars, when the germination of rice seeds was prolonged. As a result, it was concluded that α -amylase activity and free proline content of Dongjin cultivar were relatively increased higher under low temperature stress than those of other rice cultivars.

Key words : *Oryza sativa* L., α -Amylase, Free proline, Low temperature.

서 언

세계 3대 식량작물의 하나인 벼는 우리나라의 경우 주곡작물로 경지면적의 약 60%를 차지하고 있는 우리나라의 근간을 이루고 있으면서 동시에 환경보존, 국가의 식량안보, 국민정서 등 많은 중요한 의미를 가지고 있는 작물이다. '90년대 이후 농산물 시장개방하에서 높은 생산비로 인한 국제 경쟁력이 취약하여 우리나라의 벼 농사는 생산비 절감, 생산성 향상 등의 저비용 고부가가치로의 전환이 필요한 상태이다. 이에 따라 육종을 통한 수량성 향상과 재배적 측면에서 생산성 향상을

위하여 벼 직파 재배기술을 새로 도입하여 육묘와 이앙의 노력을 과감히 줄이게 되었다. 동시에 벼 직파재배가 확대되면서 벼의 저온 발아성은 내도복성과 함께 벼 직파품종이 지녀야 할 주요특성이며, 특히 초기 입모율 확보와 관련하여 직파재배의 안전성에 중요한 관건이 되고 있다. 그러나 직파재배를 위해서는 기존품종과는 특성이 다른 새로운 품종특성이면서 저온발아성과 출아성이 높은 품종육성이 필요하게 되었다.

최근 일본에서는 *Italica livorno*, *Arroz da Terra*, *Dunghan shalli* 등을 모본으로 하여 저온발아성이 높은 품종의 육종이 진행되고 있으며 국내에서도 농안벼

*경북농촌진흥원 (Kyongbuk Provincial RDA, Taegu 720-320, Korea)

**상주시농촌지도소 (Sangju City Rural Guidance Office, Sangju 742-020, Korea)

***큐슈대학교 농학부 (Faculty of Agric., Kyushu Univ., Fukuoka 712-81, Japan)

****경북대학교 농과대학 (Coll. of Agric., Kyungpook Nat'l Univ., Taegu 702-701, Korea)

에 이어 안산벼가 직파품종으로 등록되어 있으나 저온 발아성이 그렇게 높은 것은 아니다. 한편 벼 종자의 발아중 전분을 가수분해하는 주된 효소는 amylase로서 α -amylase는 gibberellins에 의하여 유도되는 것 (Daussant 등, 1983 ; Okamoto 등, 1980 ; Soh 등, 1994)으로 알려져 있으며, 특히 벼 종자는 수분흡수 후 8일정도 amylase의 활성이 증가하며(Lu, 1987), α -amylase는 품종간에 차이를 보이면서 발아율과 α -amylase의 활성도와는 높은 정의 상관관계(이덕배 등, 1994)가 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 저온하에서 벼 종자의 발아에 따른 생육특성, α -amylase 활성, 유리 proline 함량 변화에 관한 실험을 수행하였던 바 얻어진 몇가지 실험결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

본 실험은 경상북도 농촌진흥원 북부시험장(안동)에서 1996년에 재배한 품종으로 저온발아성이 다소 약한 상주벼와 고시히까리 그리고 다소 강한 동진벼와 대야벼 등 4품종을 실험재료로 사용하였다. 종자의 살균 및 소독은 종자 50 g 스포탁 유제(한국삼공 주식회사) 1 ml을 증류수 1 l 에 넣은 후 24시간동안 상온에 방치하였다. Petridish에 여과지(No.2, Whatman Int'l Ltd, England) 2매를 깔고 petridish(ϕ 9cm)당 30립씩 치상한 후 온도 13℃의 생장실에서 생육시켜 11일째 초장, 근장, 건물중 및 발아율 등의 생육특성을 조사하였고(농촌진흥청, 1993), 시험구 배치는 완전임의배치 3반복으로 하였다.

α -amylase 활성도는 저온처리 후 3, 5, 7 및 9일에 발아된 유식물의 유근과 유아를 제거한 다음 측정하였는데 시료준비는 유근과 유아를 제거한 종자 5g을 막자 사발에 넣어 0.2% CaCl₂ 용액 10 ml을 첨가하여 분쇄한 다음 여과지(Whatman No. 1)로 거른 조추출물을 분석에 사용하였다. 기질로 사용된 전분은 250 ml의 삼각플라스크에 150 mg의 감자전분, 600 mg의 KH₂PO₄, 22 mg의 CaCl₂, 100 ml의 증류수를 넣은 다음 1분간 끓인 다음 이 용액을 1℃로 유지하여

20,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 발색 농축액은 증류수 100 ml에 KI 6 g과 I₂ 0.6 g을 넣고, 분석을 위한 발색 용액은 100 ml의 0.0125 N HCl에 1ml의 발색농축액을 넣어 준비하였다. 활성측정은 상온 하에서 조추출액 0.01, 0.1, 0.2 ml에 1 ml의 증류수와 1 ml의 전분기질을 넣은 다음 1 ml의 발색용액을 첨가하여 0.5, 3, 5분 후에 반응을 정지시킨 다음 5 ml의 증류수를 첨가하여 이 용액의 일정량을 취하여 흡광도(620 nm)를 측정하였다(Wiliams 등, 1973).

유리 proline 함량은 저온처리 후 3, 5, 7 및 9일에 시료를 채취하여 -40℃의 냉동고에 보관중인 생체시료 1 g을 3% sulfosalicylic acid 10 ml로 균질화시킨 후, 여과지(No.2, Whatman)로 여과시킨 추출액 2 ml을 발색용액(acetic acid 5 ml+ninhydrin 용액 5 ml (125mg ninhydrin, 3 ml acetic acid 및 6 M phosphoric acid 2 ml))과 혼합하였다. 항온수조(100℃)에서 1시간동안 열탕하여 식힌 후 냉장실(4℃)에서 반응을 정지시킨 다음 toluene 8 ml을 시험관에 넣어 추출액과 혼합하여 20초동안 강하게 흔들어 준다. 색층을 취하여 분광광도계(Model Varian Cary 1 E)로 흡광도(520 nm)를 측정한 후, 표준품 유리 proline의 검량선을 작성하여 정량하였다(Bates, 1973).

결과 및 고찰

1. 생육특성 및 발아율

벼의 저온발아시 품종간 생육특성과 발아율을 살펴보면 표 1에 나타난바와 같이 초장은 품종간에 차이를 보이지는 않았지만 저온발아성이 다소 강한 대야벼가 3.9 cm로 가장 우세하였으며 근장은 동진벼에서 4.8 cm로 매우 양호한 생육현상을 보이는 것으로 나타났고 생체무게의 변화는 저온발아성이 약한 품종인 상주벼와 고시히까리보다는 다소 강한 동진벼와 대야벼에서 각각 2.8 g, 2.6 g으로 높은 경향을 보였다.

한편 발아율은 품종간의 차이가 뚜렷하였는데 저온발아능력이 다소 약한 고시히까리가 가장 낮은 68.9%를 보인 반면에 다소 강한 동진벼의 경우 발아율이 90.1%로 나타나 품종간의 차이가 인정되었다. 이러한 현상은

Table 1. Germination rate and growth characteristics of four rice cultivars with low temperature(13°C)

Cultivars	Plant height (cm)	Root length (cm)	Fresh wt. (g 30plants ⁻¹)	Germination rate (%)
Sangjubyeo	3.8a	3.8c	2.5b	72.3c
Koshihikari	3.5b	4.4b	2.2c	68.9d
Dongjinbyeo	3.7a	4.8a	2.8a	90.1a
Daeyabyeo	3.9a	4.3b	2.6b	87.4b

Significantly different of means at the 5% level according to DMRT.

Data were taken at the 11days after treatment of low temperature

저온발아성 품종 분류군의 분포와 일치하는 경향을 보이는 것으로 나타났다(강 등, 1995).

2. α-amylase 활성 변화

벼 품종간 발아일수에 따른 α-amylase 활성을 살펴 보면 그림 1과 같다.

발아 후 3일째는 고시히까리가 가장 낮은 65.4 mg인 반면에 동진벼는 80.9 mg으로 매우 높은 활성을 보였으며 저온발아성이 다소 약한 상주벼의 경우 발아일수에 따른 α-amylase 활성이 발아 후 9일째 134.4 mg으로 가장 높은 활성을 보였는데 이는 동진벼가 발아율이 가장 높은 것을 고려해 볼 때 어느정도 α-amylase 활성과 발아율과는 상호 관련성이 높은 것으로 추측되었다. 이러한 경향은 저온상태에서 출아율이 높은 품종들이 상대적으로 α-amylase 활성이 높았다(소 등, 1995)는 실험결과와 비교해 보면 유사한 경향을 보이는 것으로

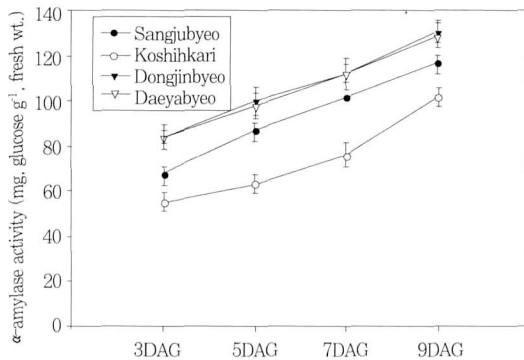


Fig. 1. Changes of α-amylase activity for 9days during rice(*Oryza sativa* L.) germination. Vertical bars represent SE. DAG means days after treatment of germination.

나타나 추후 품종군을 다양하게 하여 실험을 수행해야 할 것으로 생각되었다.

3. 유리 proline 함량 변화

벼 품종간 저온발아시 유리 proline 함량의 변화를 살펴 보면 그림 2에서 보는 바와 같이 발아 후 3일째 저온 발아능력이 다소 약한 품종인 상주벼와 고시히까리가 각각 1,807 μmole, 1,800 μmole인 것보다 다소 강한 품종인 동진벼와 대야벼가 각각 1,933 μmole, 1,895 μmole로 높은 함량변화를 보였는데 이러한 증가는 발아 후 9일째, 역시 상주벼와 고시히까리가 각각 1,998 μmole, 1,900 μmole, 그리고 저온 발아능력이 강한 동진벼와 대야벼가 각각 2,548 μmole, 2,321 μmole로 높은 함량의 변화를 보이는 것으로 나타나 저온발아시 유리 proline 함량이 높은 것은 저온이 벼 종자에 대하여 stress로 작용하여 나타나는 현상으로 생각되었다.

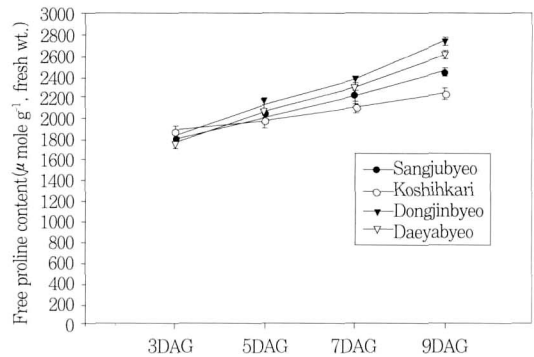


Fig. 2. Free proline content for 9days during rice(*Oryza sativa* L.) germination. Vertical bars represent SE. DAG means days after germination.

적 요

본 연구는 벼의 저온발아중 생체내의 α-amylase 활성, 유리 proline 함량, 생육특성 등 몇가지 실험을 수행하였던 바 얻어진 결과를 요약하면 저온발아시 초장은 품종간에 차이를 보이지는 않았지만 저온발아성이 다소 강한 대야벼가 3.9 cm로 가장 우세하였으며 근장은 동진벼에서 4.8 cm로 매우 양호한 생육현상을 보이

는 것으로 나타났다. 벼 품종간 발아일수에 따른 α -amylase 활성은 발아 후 3일째 고시히까리가 가장 낮은 65.4 mg인 반면에 동진벼는 80.9 mg으로 매우 높은 활성을 보였다. 유리 proline 함량변화는 발아 후 3일째 저온발아능력이 다소 약한 품종인 상주벼와 고시히까리가 각각 1,807 μ mole, 1,800 μ mole인 것보다 다소 강한 품종인 동진벼와 대야벼가 각각 1,933 μ mole, 1,895 μ mole로 높은 함량변화를 보였다.

인 용 문 헌

- 농촌진흥청. 1993. 농사시험연구조사기준. 개정 제1판. p35.
- 강종래, 임상중, 김순철, 고미석. 1995. 벼 저온발아성의 효과적 검정조건. 한작지. 40(6):711~715.
- Bates, L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil. 39:205~207.
- Daussant, J., S. Miyata, T. Mitsui and T. Akazawa. 1983. Enzymatic mechanism of starch breakdown in germination rice seeds. 15. Immunochemical study on multiple forms of amylase. Plant Physiol. 71:88~95.
- 이덕배, 권태오, 박석홍. 1994. 1대 잡종벼의 발아시 종실내 성분함량의 변화와 발아율 및 초기생육. 한작지. 39(5)412~419.
- 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.
- Okamoto, K. and T. Akazawa. 1980. Enzymic mechanisms of starch breakdown in germinating rice seeds. 9. de novo synthesis of α -amylase. Plant Physiol. 65:81~84.
- Soh, C.H., Y. Kamiya, S. Yoshida, H. Yamame and N. Takahashi. 1994. Effects of gibberellins and prohexadione on the activities of oryzain and α -amylase in rice seeds. Plant Cell Physiol. 35(7):1037~1042.
- 소창호, 노영덕, 윤진일, 김영채. 1995. 벼 종자 출아시 온도차이가 Amylase와 Peroxidase 활성에 미치는 영향. 한작지. 40(4):525~532.
- Williams, J.F. and M.L. Peterson. 1973. Relations between alpha-amylase activity and growth of rice seedling. Crop Sci. 13:612~615.