

벼 발아중 염화망간 독성경감에 미치는 Kinetin의 효과

김상국* · 이상철**

Effects of Kinetin on Alleviating Manganese Chloride Toxicity during Rice(*Oryza sativa* L.) Germination

Sang Kuk Kim* and Sang Chul Lee**

ABSTRACT

The experiment was conducted to find changes of growth response, free proline content and organic acids on manganese chloride toxicity(4,000 mg l⁻¹) for germination and early growth in rice. Root growth was increased in kinetin 10⁻³M compared with control and germination rate was also increased in kinetin 10⁻³M as 89%. Chlorophyll contents was slightly increased in kinetin 10⁻³M. Free proline content at 3days in Mn 4,000 mg l⁻¹ was higher than at 7 and 10 days, and all kinetin concentrations promoted free proline content. In organic acids, particularly, malic acid was remarkably increased in kinetin 10⁻³M compared with control and Mn 4,000 mg l⁻¹.

Key words : Rice, Mn, Chlorophyll, Organic acid, Free proline.

서 언

식물에 다량으로 흡수되어 물질대사의 교란과 이상현상을 가져오는 중금속 원소가운데 망간은 농도양과 같이 담수된 상태하에서는 주로 환원과정이 이루어져 망간의 용해도가 증가되며 낮은 pH 조건에서는 망간 화합물의 용해도가 높아지고 아울러 산성토양에서도 망간의 유효도가 매우 높아지는데 특히 벼에 독성을 초래할 수 있는 농도까지 증가하게 된다(Mengel and Kirkby, 1987). 망간의 흡수와 이동은 식물의 종에 따라 다르게 반응하며 ATP, phosphokinase 및 phosphotransferase에 관여하며 tyrosine과 같은 방향족 아미노산과 IAA, lignin 및 flavonoids 등과 같은 2차 대사물질 생성에 관여하는 물질대사에 작용을 하는 것으로 알려져 있다

(Burnell, 1988; Hughes and Williams, 1988). 아울러 망간 독성은 완전히 분화된 식물기관에서 주로 발생하며 일반적인 가지적 증상은 잎의 갈색반점과 엽록소의 분포가 고르지 못한 것이 특징이다(Marschner, 1988). 벼의 경우 줄기에 대한 망간의 결핍농도는 분얼기때 약 20 mg kg⁻¹ 이지만 2,500 mg kg⁻¹ 이상으로 높아지면 독성을 나타낸다고 하였는데(DeDatta, 1981). 실제로 국내 벼 품종에 대한 염화망간의 독성농도는 4,000 mg kg⁻¹ 정도일 때 벼 종자의 발아율이 60%이하로 나타나 실제 실험에서 4,000 mg kg⁻¹ 으로 하여 하였다. 한편 중금속 독성에 대한 피해경감을 줄이기 위하여 식물호르몬인 kinetin을 구리의 독성 농도하에 있는 일품벼와 향미벼 1호에 침종처리를 하였을 때 구리 독성 60 mg kg⁻¹ 과 비교해 볼 때 kinetin 처

* 경북농업기술원(Kyongbuk Provincial ATA, Taegu 702-320, Korea)

** 경북대학교 농학과(Dept. of Agronomy, Kyungpook Nat'l Univ., Taegu 702-701, Korea)

리구에서 2배 이상의 높은 발아 및 초기생육이 촉진되었다(Kim et al., 1996)의 결과를 기초로 하여 염화망간의 독성에 대한 벼 발아중 근장과 성분변화를 구명하였던 바 얻어진 몇 가지 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

경북농업기술원 북부시험장에서 1998년에 재배한 일품벼를 사용하였다.

2. 종자 살균 및 소독

종자 50 g을 스포탁 유제 1 ml을 넣은 증류수 1 l에 넣어 24시간동안 상온에 방치한 후 증류수로 5회 세척하였다.

3. 식물생장조정제 kinetin 처리방법

Cytokinin류의 식물생장조정제인 Kinetin의 농도를 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} M의 3수준으로 한 다음 벼씨를 Kinetin의 농도별로 각각 50 립씩 침지 후 성장실(온도 $30 \pm 1^\circ\text{C}$)에 24시간동안 방치하여 벼씨가 Kinetin 용액을 충분히 흡수하도록 하였다. Kinetin을 흡수한 벼씨를 증류수로 3회까지 깨끗이 세척한 다음 petridish에 여과지(No. 2, Whatman) 1매를 깔고 petridish(지름 9cm)에 종자를 50 립씩 치상한 다음 MnCl₂ 용액 4,000 mg l⁻¹ 을 15 ml씩 첨가하였고 대조구는 증류수(pH 6.9±1) 15 ml을 가하여 온도 $30 \pm 1^\circ\text{C}$, 광조건은 7,000 Lux로 한 성장실에 치상 후 10일 동안 성장시켰고 시험구 배치는 완전임의배치 8반복으로 하였다.

4. 생육특성, 엽록소, 유리 proline 및 유기산 조사

엽록소 함량은 Cock 등(1976)의 방법에 따라 추출한 후 652nm에서 흡광도를 측정하였고, 유리 proline 함량은 Bates(1973)의 방법을 변형한 생체 1g에 3% sulfosalicylic acid 10 ml로 추출하여 acid-ninhydrin 용액으로 발색시킨 다음 적당량의 toluene을 첨가하여 냉장고에 넣어 반응을 정지시킨 다음 520 nm에서 흡

광도를 측정하였고 표준물질은 L-proline을 사용하였다. 유기산 추출 및 정제는 지상부와 뿌리를 포함한 유식물 10g을 차가운 80% EtOH로 추출한 다음 20분간 15,000 rpm으로 원심분리 후 상층액을 Sep-Pak C₁₈로 여과 후 Dowex 50W-X8로 거른 후 0.45 μm Millipore filter로 여과 후 3 μl를 취하였다. HPLC에 의한 분석은 Radial-Pak C₁₈(100×8mm i.d)칼럼을 사용하였고 용매상은 0.2M KH₂PO₄(pH 2.4로 조정)로 하여 유속을 분당 2.5 ml로 하여 UV검출기(210nm)를 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 염화망간 처리에 따른 생육반응 및 엽록소 함량

표 1은 망간독성에 대한 kinetin의 효과를 알아보기 위하여 벼의 초기생육 반응을 나타낸 것으로 근장은 무처리가 5.1cm인 것보다 망간 4,000 mg l⁻¹의 농도에서 2.7cm로 크게 억제되었으나 kinetin처리에서는 농도와는 무관하게 근장의 신장효과가 뚜렷하게 나타나 kinetin농도가 10^{-3} M에서는 4.8cm가 망간독성보다 약 2배정도 길어지는 결과를 보였다. 발아율은 망간 4,000 mg l⁻¹에서 크게 억제되었으나 뿌리의 신장효과와 마찬가지로 kinetin처리에서 농도간에는 차이가 없었으나 망간 4,000 mg l⁻¹보다 모두 발아율이 증가되는 것으로 나타나 망간독성에 대해 kinetin의 침중효과가 있었는데 이는 김 등(1996)이 일품벼와 향미벼 1호에 대하여 구리 독성 농도인 60 mg l⁻¹에서도 kinetin 처리시 발아율이 증가하였다는 보고와 비슷하였다. 한편 엽록소 함량을 보면 무처리에서 생체 g당 1.38 mg

Table 1. Growth characteristics as affected by Mn toxicity in rice cultivar, Ilpumbyeo

| Treatment | Root length (cm) | Germination rate (%) | Chlorophyll content (mg g fresh wt. ⁻¹) |
|-----------------------------|------------------|----------------------|---|
| Control | 5.1 | 92a | 1.38b |
| Mn 4,000 mg l ⁻¹ | 2.7 | 56c | 1.20c |
| Kinetin 10 ⁻³ M | 4.8 | 89b | 1.42a |
| Kinetin 10 ⁻⁴ M | 4.3 | 85b | 1.35b |
| Kinetin 10 ⁻⁵ M | 4.6 | 86b | 1.36b |

Means in each column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

이었으나 망간 4,000 mg l⁻¹ 처리에서는 1.20 mg으로 크게 감소하여 중금속인 망간의 독성농도인 4,000 mg l⁻¹ 에서 엽록소 형성을 크게 저해하는 것으로 나타났다. 그러나 kinetin을 처리한 범씨의 경우 10⁻³M에서 1.42 mg으로 오히려 무처리보다 증가한 것으로 나타나 kinetin 처리가 망간독성을 어느 정도 경감시키면서 동시에 엽록소 형성에 관여한다는 것을 알 수 있었다.

2. 염화망간 처리에 따른 유리 proline 함량

아미노산가운데 유리 proline은 일반적으로 식물이 자라는 환경이 불량한 조건인 한발, 염해, 저온하에서 증가하는 알려져 있는데 본 실험에서도 중금속인 망간의 독성농도인 4,000 mg l⁻¹ 하에서 범씨의 초기생육단계에 대한 발아일수별 유리 proline함량의 변화를 살펴 보면 표 2와 같다. 망간용액에 처리 후 3일째 유리 proline 함량을 보면 무처리보다 망간 4,000 mg l⁻¹ 에서 3,521 μmole로 증가하였으며, 특히 kinetin 10⁻³M에서는 4,576 μmole로 가장 높은 함량을 보였다. 한편 치상 후 7일과 10일째에는 무처리와 비교하면 kinetin 10⁻⁵M에서 2,973 μmole과 1,932 μmole로 다소 낮았고 다른 모든 처리구와도 비슷하여 망간독성은 계속 유지되는 것이 아니라 치상 후 7일 전후로 망간독성에 대한 내성이 증가한 것은 망간독성농도인 4,000 mg l⁻¹ 가 초기 범씨발아에 대한 생리적인 독성농도로 판단되었다.

Table 2. Proline contents as affected by Mn toxicity in rice cultivar, Ilpumbyeo

| Treatment | Free proline content (μ mole) | | |
|-----------------------------|-------------------------------|--------|--------|
| | 3 DAT ¹ | 5 DAT | 10 DAT |
| Control | 2,224e | 2,120c | 2,042c |
| Mn 4,000 mg l ⁻¹ | 3,521d | 2,163c | 2,157a |
| Kinetin 10 ⁻³ M | 4,576a | 2,224b | 2,106b |
| Kinetin 10 ⁻⁴ M | 4,330b | 2,127c | 2,009d |
| Kinetin 10 ⁻⁵ M | 4,032c | 2,973a | 1,932d |

Means in each column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

¹ DAT means the 3 and 10 days after treatment of Mn 4,000 mg l⁻¹, respectively

3. 염화망간 처리에 따른 유기산 함량변화

Zunino 등(1977a)은 구리, 아연, 크롬, 니켈 등 중

금속에 의한 식물체내의 유기산 증가는 토양 pH가 낮아지므로 인해서 COOH기가 이온화되면서 자연적으로 토양 pH가 낮아지며 이러한 현상으로 인하여 식물체는 스스로 방어기작이 발생하여 여러 가지 유기산들이 생성되는데 이들 유기산이 부분적으로 해리되어 다른 이온 및 유기분자들과 착화합물을 생성하여 중금속에 대한 내성기작이 일어난다고 하였고 Yang 등(1994)은 벼 품종 가운데에서도 특히 IR계통은 아연에 대해 뿌리내에 유기산이 증가하는데 malic acid, citric acid 및 succinic acid 순으로 축적된다고 하였는데 본 실험에서도 malic acid가 전체적으로 가장 높은 함량을 보이는 것으로 나타났는데 무처리가 25.78 μmole이었으나 망간농도 4,000 mg l⁻¹에서는 116.62 μmole로 나타났다. 아울러 kinetin처리에서도 고농도인 10⁻³M에서 가장 높은 121.88 μmole로 나타나 식물생장조절제인 kinetin도 중금속인 망간독성에 대하여 내성을 높이는 데 관여하는 것으로 판단되었다. 한편 citric acid와 succinic acid는 무처리보다 망간독성농도인 4,000 mg l⁻¹에서 증가하였으며 특히 kinetin 10⁻³M에서는 malic acid와 마찬가지로 가장 크게 증가한다는 것을 알 수 있었다.

Table 3. Organic acid contents as affected by Mn toxicity in rice cultivar, Ilpumbyeo

| Treatment | Citric acid | Malic acid | Succinic acid |
|---|-------------|------------|---------------|
| ----- (μ mole 10g fresh wt. ⁻¹) ----- | | | |
| Control | 3.22e | 25.78e | 1.94e |
| Mn 4,000 mg l ⁻¹ | 6.93c | 116.62b | 3.92d |
| Kinetin 10 ⁻³ M | 9.47a | 121.88a | 5.67a |
| Kinetin 10 ⁻⁴ M | 8.22b | 108.27c | 5.38b |
| Kinetin 10 ⁻⁵ M | 6.37d | 100.13d | 5.29c |

Means in each column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

적 요

본 실험은 범씨에 kinetin 용액을 침지한 다음 염화망간의 독성농도인 4,000 mg l⁻¹를 처리하여 발아중 중금속인 망간독성에 대한 근장, 엽록소, 유기산 및 유리 proline 함량 등의 변화를 자포니카형인 일품벼를

실험재료로 하여 실험한 결과를 요약하면 다음과 같다.

망간독성에 대한 kinetin의 효과를 알아보기 위하여 벼의 초기생육 반응에서 근장은 무처리보다 망간 4,000 mg l⁻¹의 농도에서 크게 억제되었고 kinetin처리에서 농도와는 무관하게 근장의 신장효과가 뚜렷하게 증가하였다. 발아율은 망간 4,000 mg l⁻¹에서 크게 억제되었으나 kinetin처리에서 발아율이 증가되었고 엽록소 함량은망간의 독성농도인 4,000 mg l⁻¹에서 엽록소 형성을 크게 저해하였다. 유리 proline은 망간용액에 처리 후 3일째 무처리보다 망간 4,000 mg l⁻¹에서 3,521 μmole로 증가하였고 kinetin 10⁻³M에서는 4,576 μmole로 가장 높았다. 유기산은 malic acid가 전체적으로 가장 높은 함량을 보였는데 무처리에서 25.78 μmole이었으나 망간농도 4,000 mg l⁻¹에서는 116.62 μmole로 나타났고 kinetin처리에서는 고농도인 10⁻³M에서 가장 높은 121.88 μmole이었다.

인 용 문 헌

- Bates, L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. 39:205-207.
- Burnell, J. N. 1988. The biochemistry of manganese in plants. In 'manganese in soils and plants', Kluwer Academic, Dordrecht. pp125-137.
- Hughes, N. P. and Williams, R. J. P. 1988. An introduction to manganese biological chemistry. In 'manganese in soils and plants', Kluwer Academic, Dordrecht. pp7-19.
- James H. Cock, Kwanchai A. Gomez, Shouchi Yoshida and Douglas A. Forno. 1976. Laboratory manual for physiological studies of rice. Vol. 3. IRRI. Los Banos, Philippines. pp43-49.
- Kim, S. K., S. C. Lee, G. G. Min, S. P. Lee and B. S. Choi. 1996. Effects of seed soaking of kinetin on alleviating copper toxicity during germination in rice. *Korean J. Crop Sci.* 41(4):465-474.
- Marschner H. 1988. Mineral nutrition of higher plants. Academic press. pp324-333.
- Mengel K. and E.A. Kirkby. 1987. Principles of plant nutrition. International Potash Institute, Bern, Switzerland. pp514-515.
- Yang X., V. Romheld and H. Marschner. 1994. Effect of bicarbonate on root growth and accumulation of organic acids in Zn-inefficient and Zn-efficient rice cultivars(*Oryza sativa* L.). *Plant and Soil*, 164:1-7.
- Zunino, H. and J.P. Martin. 1976a. Metal-binding organic macromolecules in soil : 1. Hypothesis interpreting the role of soil organic matter in the translocation of metal ions from rocks to biological systems. *Soil Sci.* 123:65-76.