

OG3) 염(NaCl) 처리가 한지형 잔디 Kentucky bluegrass(*Poa pratensis*)의 종자발아 및 peroxidase 활성에 미치는 영향
(Effect of salt treatment with different levels on Seed germination and Peroxidase activity of *Poa pratensis*)

안영희, 이보라*, 서동욱
중앙대학교 식물응용과학과

1. 서 론

한지형 잔디는 질감이 뛰어나고 겨울철에도 푸르게 유지되어 한국에 자생하고 있는 들잔디와 혼용하여 녹화사업에 많이 사용되고 있다. 그러나 최근 해안 매립지 사업으로 인한 토양의 염분 농도가 높아 잔디 생육에 문제가 되고, 겨울철 염화칼슘 살포로 인하여 토양 침착 등의 피해가 우려되고 있다. 이와 같은 환경스트레스는 식물내에 존재하는 산소를 활성 산소종으로 전환시켜 생체내 대사과정에 장애를 유발함으로써 식물 생육의 악영향을 미친다. 이 때 식물은 활성 산소종으로부터 자신을 보호하기 위하여 Peroxidase와 같은 항산화 방어기구를 가진다.

본 연구는 염처리가 한지형 잔디인 Kentucky bluegrass(*Poa pratensis*)의 종자 발아와 항산화효소인 Peroxidase의 활성을 측정하여 잔디 내 생리적 변화를 알아보고 염의 피해를 예측하여 시공 시 초종의 선택과 환경적 특성을 고려하기 위하여 수행되었다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

공시품종의 잔디 종자는 2005년 삼성에버랜드 잔디환경연구소에서 제공받아 5°C 냉암소에서 보관된 한지형 잔디 Kentucky bluegrass 'Bedazzled', 'Bluestone', 'Boutique', 'Caberine', 'Diva', 'Ginney', 'Midnight', 'Nuglade', 'Rugby II'의 9종을 사용하였다. 대조구인 무처리구를 비롯하여 6단계의 NaCl처리 후의 종자 발아 시험을 진행하였고 peroxidase 활성측정을 하였다.

2.2 대조구 발아시험

각 공시 재료의 정선된 종자는 패트리디쉬 위에 filter paper 2매를 깔고 그 위에 50립식 4반복으로 치상하였다. 25°C의 온도조건과 12시간 간격의 광, 암조건을 유지하여 항온발아기에서 2주간 발아시켰다. 이 때 공중습도는 65%를 유지하였고 수분은 1일 1회 종자가 충분히 젖을 정도의 충분한 양을 주입하였다. 2주간의 발아시험이 진행되는 동안 매일의 발아율과

발아세, 평균발아기간을 조사하였다. 발아는 유근이 1mm 돌출된 상태를 기준으로 하였고 발아세 측정은 발아가 현저하게 나타난 최초 5일간의 발아한 수를 기준으로 계산되었다.

기록된 데이터는 SPSS(ver 12.0) 통계프로그램을 사용하여 0.05% 수준의 유의차 검정을 실시하여 통계, 분석하였다.

2.3. 염(NaCl)처리에 따른 종자 발아시험

염처리는 6단계로 나누어 실시하였다. NaCl을 1차 증류수로 조제하여 사용하였으며, 10mM(1.25%), 20mM, 50mM, 100mM, 200mM, 400mM의 6단계로 50립씩 4반복 치상하였다. 항온발아기 내 온도는 25°C를 유지하였으며 12시간 간격의 광, 암조건을 주어 2주간 발아시켰다. 단계별로 조제된 NaCl용액은 1일 1회 충분히 주입하였다.

2.4. Peroxidase 추출

2주간 발아시킨 9품종의 Kentucky bluegrass의 잎을 채취한 뒤 0.2M phosphate buffer (pH 6.4)와 0.4M sucrose, 1mM의 EDTA로 조제한 추출용 buffer 7ml와 Seasand 2g을 넣고 막자사발에서 균질화시켰다. 5°C, 4100rpm에서 5분간 원심분리시킨 후 상등액을 취하여 5°C, 18,300rpm으로 25분간 다시 한번 원심분리시킨다. 상등액을 제거 한 뒤 추출용 buffer 2ml를 가하여 균일하게 녹였다.

2.5. Peroxidase 활성 측정

Peroxidase의 활성은 guaiacol를 기질로 하여 470nm에서 흡광도의 변화를 spectrophotometer를 사용하여 측정하였다. 효소 반응액은 50mM sucrose, 50mM EDTA, 50mM phosphate buffer(pH6.4), 0.3mM guaiacol, 증류수, H₂O₂, 효소 용액을 포함하여 최종 부피가 3ml가 되도록 하였다. 효소반응은 H₂O₂를 마지막으로 가한 후 측정하였다. 효소 활성은 30초 간격으로 3분간 흡광도 변화를 측정하여 산출하였다. 효소의 활성은 H₂O₂·g⁻¹·fw·min⁻¹으로 환산하였다.

3. 결과 및 고찰

단계별 염처리를 한 종자 발아결과에서는 전체적으로 NaCl의 농도가 증가함에 따라 발아율이 감소하였고 100mM 이상의 농도에서는 전혀 발아하지 않았다. 대조구에서 63%의 발아율을 보였던 'Bedazzled' 품종의 경우 염의 농도가 증가함에 따라 56.5%, 31.5%, 24.5%의 완만한 발아율의 감소를 보였다. 그러나 'Diva' 품종의 경우 대조구에서 49%, 10mM에서 36.5%의 발아율을 보였지만 20mM에서 4%에 그치는 발아율을 보였고 평균발아기간도 7-8일에서 11.75일로 증가하였다. 저염도에서 발아율이 급격히 감소함으로서 품종 대비 내염성이 약한 것으로 사료되어 시공 시 환경적 특성이 고려되어야 할 것이다. 'Caberine' 품종의 경우 대조구 실험에서 61.5%로 비교적 높은 발아율을 보인 반면 10mM에서 28.5%, 20mM에서 대조구의 17%에 미치는 10.5%의 발아율을 보였다. 다른 품종과 달리 50mM에서는 전혀 발아하지 않았다. Peroxidase의 활성 측정 결과 염의 농도가 증가함에 따라 활성이 증가하는 경향을 나타냈다. 이것은 생물학적 stress를 받았을 때 식물체내의 peroxidase활성이 증가한다는 보고와 일치하고 있다. 'Bluestone' 품종의 경우 0.0100μmol·H₂O₂·g⁻¹·fw·min⁻¹

를 나타낸 대조구와 대비하여 점차 증가하여 50mM의 염 농도에서는 $9.0225\text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{g}^{-1}\text{fw} \cdot \text{min}^{-1}$ 로 나타나 뚜렷한 peroxidase의 활성 증가를 보였다. 'Ginney' 품종의 경우 대조구에서 $0.0155\text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{g}^{-1}\text{fw} \cdot \text{min}^{-1}$ 흡광계수를 나타냈고 10mM에서 0.1804, 20mM에서 $0.225\text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{g}^{-1}\text{fw} \cdot \text{min}^{-1}$ 보였고 50mM에서는 $4.5112\text{H}_2\text{O}_2 \cdot \text{g}^{-1}\text{fw} \cdot \text{min}^{-1}$ 로 나타나 큰 폭으로 활성증가를 보였다. 이것은 염의 농도에 따른 발아율 변화에서 대조구 76%, 10mM 63%, 20mM 65%의 발아율을 보인 반면 50mM 농도에서 31.5%로 급격히 낮아진 발아율의 변화와 상응한다. 이것으로 보아 'Ginney' 품종의 경우 염 농도 50mM내외에서 peroxidase에 의한 항산화방어 기작이 활발히 발현한 것으로 사료된다.

이것으로 한지형 잔디 Kentucky bluegrass의 9종은 100mM이상의 염 농도에서는 결과 전혀 발아하지 않는 것으로 보아 염이 잔디 생장에 상당한 피해를 입힌다는 것을 알 수 있으며 50mM에서도 발아율이 현저히 감소한 것으로 보아 적절한 대책이 요구된다. 또한 염의 농도가 증가함에 따라 peroxidase의 활성 또한 증가하는 경향은 잔디 내 항산화방어 기작이 발현한 것으로 보인다. 품종 간 항산화 효소활성의 차이는 품종 별 유전물질의 조성의 차이에 의한 것으로 사료되어 잔디 내 생리적 활성 변화에 관한 연구가 이뤄져야 할 것으로 보인다.

참 고 문 헌

- 강훈, 이치원, 1999. NaCl이 한지형 잔디 종자발아에 미치는 영향. Kor. Turfgrass Sci. 13(2).
- 김윤경, 이미영, 2005. 스트레스 물질에 의한 벼 glutathione peroxidase 활성패턴 변화. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 48(1).
- 이미영, 1997. 염분스트레스에 의한 소나무 잎 Peroxidase의 활성 및 Isozyme Pattern의 변화. Korean J. Ecol, 20(5).