

염화망간 처리가 벼 유묘의 엽록소, 유리 Proline 및 SOD 활성화에 미치는 영향

김상국¹⁾, 이상철²⁾

¹⁾경북농업기술원, ²⁾경북대학교 농학과

Effects of Manganese Chloride on Chlorophyll, Free Proline and SOD Activity of Rice Seedling

Sang-Kuk Kim¹⁾ and Sang-Chul Lee²⁾

¹⁾Kyongbuk Provincial ATA, Taegu 702-320, Korea

²⁾Dept. of Agronomy, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

ABSTRACT

The experiment was conducted to find the changes of early growth and chemical components such as chlorophyll content, superoxide dismutase(SOD) activity, free proline content on the different manganese chloride concentration(2,500, 3,500 and 4,500ppm) in rice seedling. Root growth was decreased in highest concentration, 4,500 ppm of Mn compared with the control and germination rate was also decreased 43% at 4,500 ppm of Mn. Chlorophyll content was decreased at Mn 4,500ppm with 1.16mg. Free proline content at 3 day after germination in Mn 4,500ppm was highest relative to the other manganese chloride concentrations. SOD activity was gradually increased as manganese chloride concentration was increased. As a result, it was suggested that an increment of free proline and SOD activity results from the higher manganese chloride concentration.

Key words: rice, MnCl₂, chlorophyll, free proline, superoxide dismutase activity.

서 언

식물에 다량으로 흡수되어 물질대사의 교란과 이상현상을 가져오는 중금속 원소가운데 망간은 논토양과 같이 담수된 상태하에서는 주로 환원과정이 이루어져 망간의 용해도가 증가되며 낮은 pH 조건에서는 망간 화합물의 용해도가 높아지고 아울러 산성

토양에서도 망간의 유효도가 매우 높아지는데 특히 벼에 독성을 초래할 수 있는 농도까지 증가하게 된다. 망간의 흡수와 이동은 식물의 종에 따라 다르게 반응하며 ATP, phosphokinase 및 phosphotransferase에 관여한다. 또한 망간은 tyrosine과 같은 방향족 아미노산과 IAA, lignin 및 flavonoids 등과 같은 2차 대사물질 생성에 관여하는 물질대사에 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 한편 망간 독성은 완전히 분화된

기관에서 주로 발생하며 일반적인 가시적 증상은 잎의 갈색반점과 엽록소의 분포가 고르지 못한 것이 특징이다(Marschner 1988).

따라서 본 연구에서는 벼 발아중 중금속인 염화망간의 농도에 따른 생육반응과 성분변화를 구명하였던 바 얻어진 실험결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험 재료는 경북농업기술원에서 1998년에 재배한 일품벼를 사용하였고 종자의 소독과 살균은 종자 50g를 스포탁 유제 1ml을 증류수 1l에 넣은 후 24시간 동안 상온에 방치한 후 증류수로 5회 세척하였다.

세척한 벼씨를 petridish에 여과지(No. 2, Whatman) 1매를 깔고 petridish(지름 9cm)에 종자를 50립씩 치상한 다음 $MnCl_2$ 용액을 2,500, 3,500, 4,500ppm의 농도로 하여 15ml씩 첨가하였고 대조구는 증류수(pH 6.9 ± 1) 15ml을 가하여 온도 $30 \pm 1^\circ C$ 의 생장실에 치상 후 10일 동안 생장시켰다.

염화망간에 대한 벼씨의 성분변화를 알아보기 위하여 엽록소 함량은 Cock 등(1976)의 방법에 따라 추출한 후 652nm에서 흡광도를 측정하였고, SOD활성은 McCord 등(1969)의 방법에 따라 유식물 5g에 0.2M Tris-HCl 완충액(pH 6.8) 1ml을 냉동보관한 막자사발에 넣어 마쇄한 후 12,000rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액을 효소원으로 사용하였다. 효소활성 측정을 위한 반응액은 혼합액[10mM xanthine 2.5ml, 10mM cytochrome C 0.5ml, 0.1mM EDTA를 포함한 0.05M 인산 완충액(pH 7.8) 47ml]을 사용하였고 반응액중 cytochrome C의 농도를 일정

하게 유지하기 위하여 반응액을 만든 다음 sodium dithionite로 사용할 때 마다 보정하였다. 효소반응은 반응액 1ml과 효소원 10 μ l를 4ml polystyrene cuvet에 넣은 후 10^{-4} M EDTA를 포함한 0.05M 인산 완충액(pH 7.8)으로 25배 희석한 xanthine oxidase(XOD) 10 μ l를 첨가하여 시작하였다.

효소 활성의 1단위는 $25^\circ C$ 에서 반응을 시작하여 2분간 550nm에서 흡광도 변화를 조사하여 XOD의 활성이 50% 억제되는 것으로 정의하였고 효소 활성에 영향을 미치는 KCN은 최종 농도가 2 mM을 유지하기 위하여 효소 반응액에 첨가하여 조사하였다.

유리 proline 함량은 Bates(1973)의 방법을 변형한 생체 1g에 3% sulfosalicylic acid 10ml로 추출하여 acid-ninhydrin 용액으로 발색시킨 다음 적당량의 toluene을 첨가하여 냉장고에 넣어 반응을 정지시킨 다음 520nm에서 흡광도를 측정하였고 표준물질은 L-proline을 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 염화망간 처리에 따른 생육반응 및 엽록소 함량

표 1은 망간농도에 따른 벼의 초기생육에 대한 특성을 나타낸 것으로 근장을 보면 무처리가 3.6cm인 것보다 망간농도 2,500ppm에서는 3.1cm였으나 망간농도 4,500ppm에서는 0.3cm로 중금속인 망간의 농도가 증가할수록 뿌리생장이 억제됨을 알 수 있었고 발아율은 망간농도 3,500ppm에서 68%였으나 망간농도 4,500ppm에서는 43%로 매우 낮아 벼의 초기생육에 대한 망간의 독성농도는 3,500ppm 이상 4,500ppm이하인 약 4,000ppm인 것으로 추측되었다.

Table 1. Growth characteristics and chlorophyll content as affected by different Mn concentration in rice cultivar, Ilpumbyeo

Mn concentration (ppm)	Root length (cm)	Germination rate (%)	Chlorophyll content (mg/g fresh wt.)
Control	3.6a	92a	1.38a
2,500	3.1a	76b	1.29b
3,500	1.5b	68c	1.27b
4,500	0.3c	43d	1.16c

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

한편 엽록소 함량을 보면 무처리가 생체 g당 1.38mg 인 것에 비해 망간농도 2,500ppm에서는 1.29이었으나 가장 고농도인 4,500ppm에서는 1.16mg으로 가장 낮은 함량을 보여 결과적으로 고농도의 망간이 엽록소 형성에 저해작용을 하는 것으로 판단되었는데 이러한 현상은 김 등(1996)이 중금속인 구리 60ppm처리시 일품벼와 향미벼에서 각각 0.98mg, 0.56mg으로 무처리에 비해 크게 엽록소 함량이 감소하였다는 보고와 유사하였다.

2. 염화망간 처리에 따른 유리 proline 함량

아미노산가운데 유리 proline은 일반적으로 식물이 자라는 환경이 불량한 조건인 한발, 염해, 저온하에서 증가하는 알려져 있는데 본 실험에서 중금속인 망간에 대하여 발아 후 3일째와 8일째의 유리 proline 함량을 조사한 결과를 표 2에서 보면 무처리의 경우 발아 후 3일과 8일에서 각각 2,189 μ mole, 2,111 μ mole로 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 발아 후 3일째 망간농도 2,500ppm과 4,500ppm을 비교해 보면 각각 3,286 μ mole과 5,872 μ mole로 망간농도가 높아질수록 유리 proline 함량이 증가하였으나 발아 후 8일째에는 2,348 μ mole과 2,503 μ mole로 큰 차이를 보이지 않은 것으로 나타나 중금속인 망간에 대한 독성 반응은 벼의 생육 초기에 일어나 김 등(1996)이 구리 60ppm 처리시 유리 proline 함량이 발아 후 3일째 증가하였다는 결과와 비슷하였다. 그러나 중금속이 벼의 초기생육인 발아 후 3일째 가장 민감한 반응을 보이는 원인에 대해서는 금후 구체적인 연구가

Table 2. Free proline content as affected by different Mn concentration in rice cultivar, Ilpumbyeo

Mn concentration (ppm)	Free proline content (μ mole)	
	3 DAG ¹	8 DAG
Control	2,189d	2,111d
2,500	3,286c	2,348c
3,500	4,672b	2,386b
4,500	5,872a	2,503a

Means in each column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT. ¹DAG means the days after germination.

있어야 할 것으로 판단되었다.

3. 염화망간 처리에 따른 SOD 활성변화

Ayala 등(1989)은 완두에서 중금속인 구리의 농도가 증가할수록 SOD의 활성이 증가하여 중금속 독성을 회피하는 내성에 관여하는 효소라고 하였다. 본 실험에서도 이와 유사한 경향을 보였는데 표 3에서 망간농도별 SOD활성에 대하여 발아 후 3일째와 8일째의 결과를 보면 발아 후 2일째 무처리가 762EU인 것에 비해 망간농도 2,500ppm에서 1,321EU이었으나 망간농도가 4,500ppm에서는 1,693EU로 가장 높게 나타나 중금속인 구리와도 유사한 결과를 보여 SOD의 활성증가는 중금속인 구리의 경우는 SOD효소에서 아연과 함께 착화합물의 형태로 존재하기는 하지만 어느정도는 중금속의 종류와 무관하게 증가하며 특히 고농도에서 작용하는 것으로 판단되었다.

Table 3. SOD activity as affected by different Mn concentration in rice cultivar, Ilpumbyeo

Mn concentration (ppm)	SOD activity(EU ^b /g fresh wt.)	
	3 DAG ¹	8 DAG
Control	762d	721d
2,500	1,321c	1,005c
3,500	1,349b	1,132b
4,500	1,693a	1,169a

Means in each column followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by DMRT. ¹DAG means the days after germination.

^bEU : enzyme unit.

적 요

본 실험은 벼씨에 염화망간의 농도를 2500, 3500 및 4,500ppm을 처리하여 벼의 초기생육에 대한 생육 반응, 엽록소 함량, 유리 proline 및 SOD활성변화를 자포니카형인 일품벼를 실험재료로하여 실험한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 근장은 무처리보다 망간농도 4,500ppm에서는 0.3cm로 망간농도가 증가할수록 뿌리생장이 억제되었다.

2. 발아율은 망간농도 3,500ppm에서 68%였으나 망간농도 4,500ppm에서는 43%로 가장 낮았다.
3. 엽록소 함량은 무처리보다 고농도인 4,500ppm에서 1.16mg으로 가장 낮았다.
4. 유리 proline 함량은 무처리에서는 발아 후 3일과 8일에서 큰 차이를 보이지 않았고 발아 후 3일째 망간농도 2,500ppm과 4,500ppm에서 각각 3,286 μ mole과 5,872 μ mole로 망간농도가 높아질수록 유리 proline 함량이 증가하였다.
5. SOD 활성은 발아 후 2일째 무처리가 762EU인 것에 비해 망간농도 4,500ppm에서는 1,693EU로 가장 높았다.

인용문헌

- Ayala, M. B. and G. Sandmann. 1989. Activities of Cu-containing proteins in Cu-depleted pea leaves. *Physiol. Plant.* 72:801-806.
- Bates, L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil.* 39:205-207.
- James H. Cock, Kwanchai A. Gomez, Shouichi Yoshida and Douglas A. Forno. 1976. Laboratory manual for physiological studies of rice. Vol. 3. IRRI. Los Banos, Philippines. pp. 43-49.
- Kim, Sang Kuk, Sang Chul Lee, Gi Gun Min, Seong Phil Lee and Boo Sull Choi. 1996. Effects of seed soak-ing 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. pp.324-333.
- McCord, J. M. and I. Fridovich. 1969. Superoxide dismu-tase : an enzymatic function for erythrocyte hemocuprein. *J. Biol. Chem.* 244(22):6049-6055.
- (접수일:1999.3.15)
(수리일:1999.5.20)