

## 통일벼의 根端의 $H_2PO_4^-$ , $K^+$ , $Ca^{++}$ 및 $Na^+$ 吸收機作에 關한 研究

張楠基 · 李吉宰 · 金周勳  
(生物教育科)

### 要 約

本 研究는 통일벼(*Oryzasativa L.*)의 뿌리에서  $H_2PO_4^-$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{++}$ , 및  $Na^+$  ion의 吸收機作과 吸收 pattern을 研究 分析하였다. 이들 ion의 吸收 pattern은 dual 또는 multiple pattern을 나타내며 그 濃度의 範圍와 phase數는 다음과 같다.

ion	농 도 범 위	phase數	ion	농 도 범 위	phase數
$H_2PO_4^-$	$10^{-7} \sim 10^{-8}$	3	$Ca^{++}$	$5 \times 10^{-6} \sim 3 \times 10^{-2}$	2
$K^+$	$5 \times 10^{-6} \sim 2 \times 10^{-2}$	2	$Na^+$	$10^{-5} \sim 5 \times 10^{-2}$	5

### 緒 論

植物은 뿌리를 통하여 土壤으로부터 窒素, 磷酸, 加里 및 其他無機 ion을 吸收하여 植物의 生活이나 生長에 利用한다. 그러므로 이와 같은 ion의 吸收機作을 研究한다는 것은 重要한 意味를 가진다.

植物은 이들 無機鹽類를 能動的으로 吸收하는데 이는 carrier가 作用하기 때문이라는 가설이 믿어져 왔다. Epstein과 Hagen(1952)은 이러한 carrier가 enzyme과 類似한 特異性을 가지고 있음을 發見하고 植物에 의한 ion의 吸收機作에 enzyme kinetics의 理論을 적용하였다.

이러한 吸收機作이 dual pattern을 나타낸다는 것이 Epstein(1966)에 의하여 發表된 후  $K^+$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Rb^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cs^+$ ,  $Mn^{++}$ ,  $Zn^{++}$ ,  $Cu^{++}$ ,  $NH_4^+$ ,  $Cl^-$ ,  $SO_4^{--}$ ,  $H_2PO_4^-$  등 거의 모든 無機 ion의 吸收實驗에 관한 data를 再分析한 結果, ion의 吸收 pattern이 植物에 따라 2개 또는 그 以上の multiphasic pattern이라는 사실을 發見하였으며 Nissen(1971, 1973a, b)은 이를 基礎로 multiphasic mechanism의 理論을 提唱하였다.

本 研究는 통일벼(*Oryza sativa L.*)를 材料로하여  $H_2PO_4^-$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{++}$  및  $Na^+$ 의 吸收 實驗을 하고 動力學的인 分析을 통하여 濃度勾配(concentration gradient)에 따른 吸收機作 및 그 pattern을 調査·究明하였다.

## 材料 및 方法

本實驗에 使用한 통일벼(*Oryza sativa L.*)는 京畿道 農村進興廳 作物試驗場에서 구한 것이다. 통일벼씨를 1% sodium hypochlorite溶液으로 10分間 소독한 후 蒸溜水로 여러번 씻고 蒸溜水속에서 aeration시킨다. 뚜껑에 작은 구멍이 뚫린 plastic 통에 비닐망과 gauze를 깔고 그 위에 imbibition된 種子를 한 겹으로 뿌린 다음 씨앗이 잠길 程度로 0.1mM  $\text{CaCl}_2$ 溶液을 넣어 28°C 暗所에서 培養한다. 이와 같이 7日間 기른 seedling을 本實驗의 材料로 使用하였다. (Epstein, 1961)

30個體의 主根을 끝으로부터 4cm씩 잘라 비이커에 넣고 먼저 時間別 吸收速度의 變化를 調査하였다. 다음  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , KCl,  $\text{CaCl}_2$  및 NaCl을 各各  $10^{-7}\sim 10^{-3}$ ,  $5\times 10^{-6}\sim 2\times 10^{-2}$ ,  $5\times 10^{-6}\sim 3\times 10^{-2}$  및  $10^{-5}\sim 5\times 10^{-2}\text{M}$ 의 濃度 範圍에서 위와 같이 자른 材料에 各 濃度別로 25ml의 溶液을 넣고 22°C에서 한 時間동안 吸收시켜 濃度에 따른 吸收速度의 變化를 調査하였다.

$\text{H}_2\text{PO}_4^-$ 濃度は ammonium molybdate로 發色시켜 spectrophotometer를 사용하고,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ 는 flame photometer를 使用하여 定量하였다.

## 結果 및 論議

各 ion의 吸收 實驗 結果는 다음과 같다.

### 1. $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ 의 吸收

$\text{H}_2\text{PO}_4^-$ 의 時間에 따른 吸收 速度를 調査한 結果는 Fig. 1과 같다. 이 實驗을 基礎로 濃度에 따른 吸收 速度의 變化를 나타낸 것이 Fig. 2이다. graph에서 나타난 바와 같이 濃度에 따른 吸收에는 3개의 phase가 存在하며 phase 1과 2를 Michaelis-Menten式에 적용하면 phase 1에서는  $K_m$ 이  $1.2\times 10^{-5}\text{M}$ 이고  $V_{max}$ 는  $6.32\times 10^2\mu\text{M/g}\cdot\text{dry wt.}/\text{hr}$ 였다. 한편 Fig. 2의 data를 Lineweaver-Burk plot하여 3개의 phase의 存在를 確認할 수 있다(Fig. 3).

本 實驗의 結果에서는  $10^{-7}\sim 10^{-3}\text{M}$ 範圍의 磷酸 濃度에서 3개의 phase가 나타났다. Nissen (1973)은 corn roots, barley roots 등에 관한 data를 再分析한 結果 이들 植物에서 磷酸 吸收가 multiphasic pattern을 나타낸다는 사실을 報告하였다.

磷酸 吸收 速度가 saturation kinetics를 보여 주는 것은 ion이 carrier와 잠정적인 complex를 形成함으로써 膜을 通過하여 吸收된다는 假說을 뒷받침하는 것이다. Nissen(1974)은 multiphasic absorption mechanism이 原形質膜과 tonoplast에 存在한다는 multiphasic series

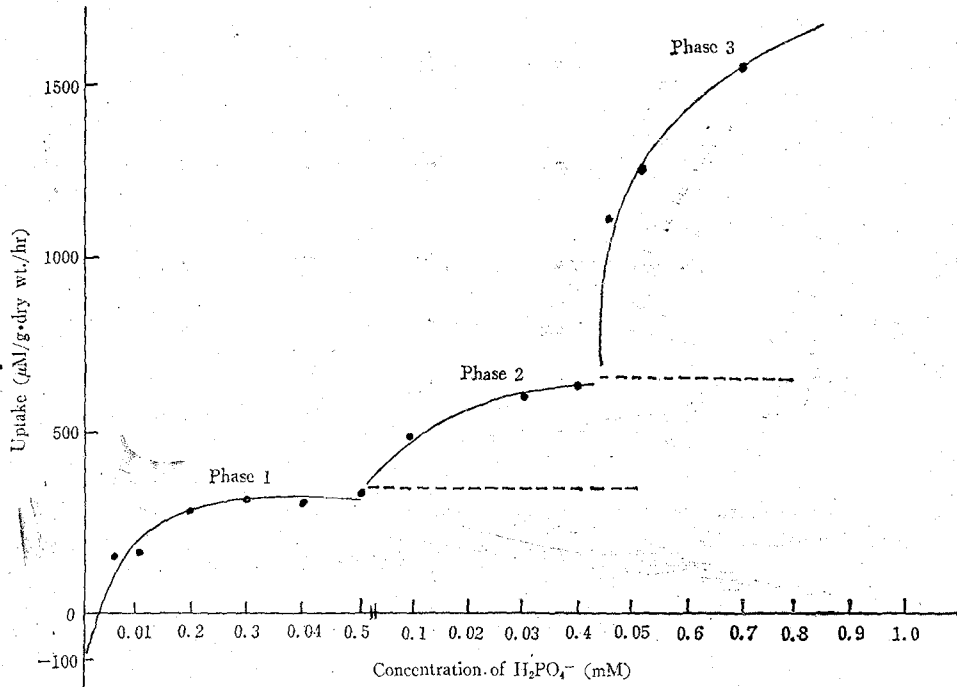


Fig. 1. Time course of  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  uptake from 25ml of 0.02mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  sol. at 22°C.  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  was dissolved in 0.1mM  $\text{CaCl}_2$  sol.

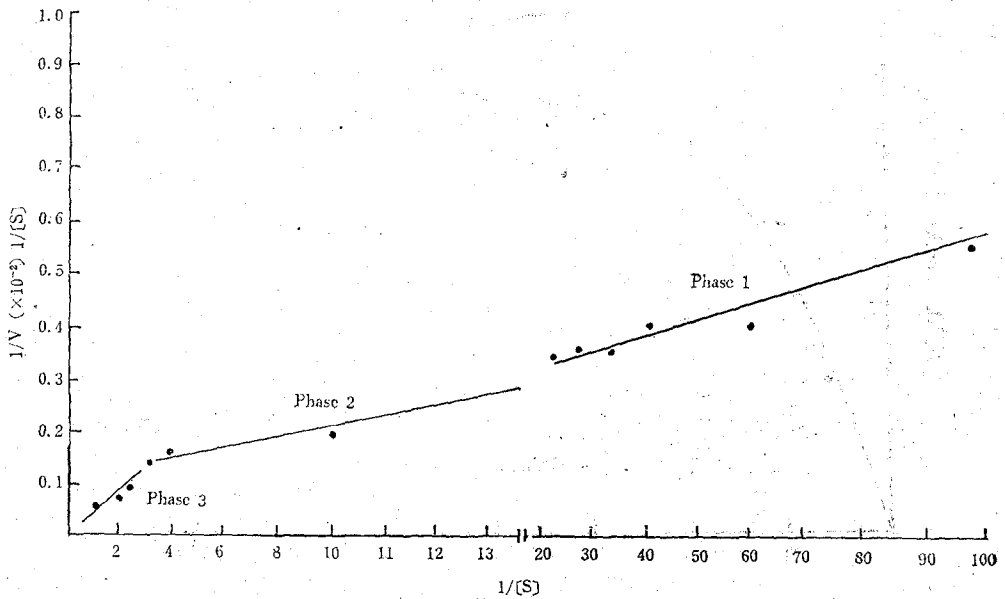


Fig. 2.  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  uptake as a function of the concentration of  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  at 22°C. The dots represent experimental data; the solid lines represent enzyme kinetics curves with following parameters:  $K_m$ ; 0.012mM,  $V_{max}$ ;  $2.97 \times 10^2 \mu\text{mole/g}\cdot\text{dry wt./hr}$ ,  $K_{m_2}$ ; 0.165,  $V_{max_2}$ ;  $6.37 \times 10^2$ . The dashed lines represent the maximum velocities.

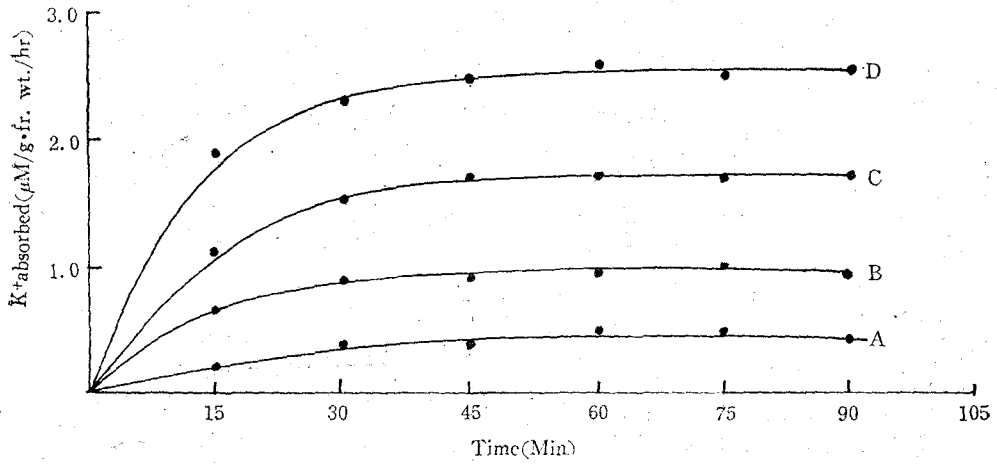


Fig. 3. Lineweaver-Burk plot of  $H_2PO_4^-$  uptake over the range 0.01 to 1.0mM  $NaH_2PO_4$  of the data in Fig. 2.

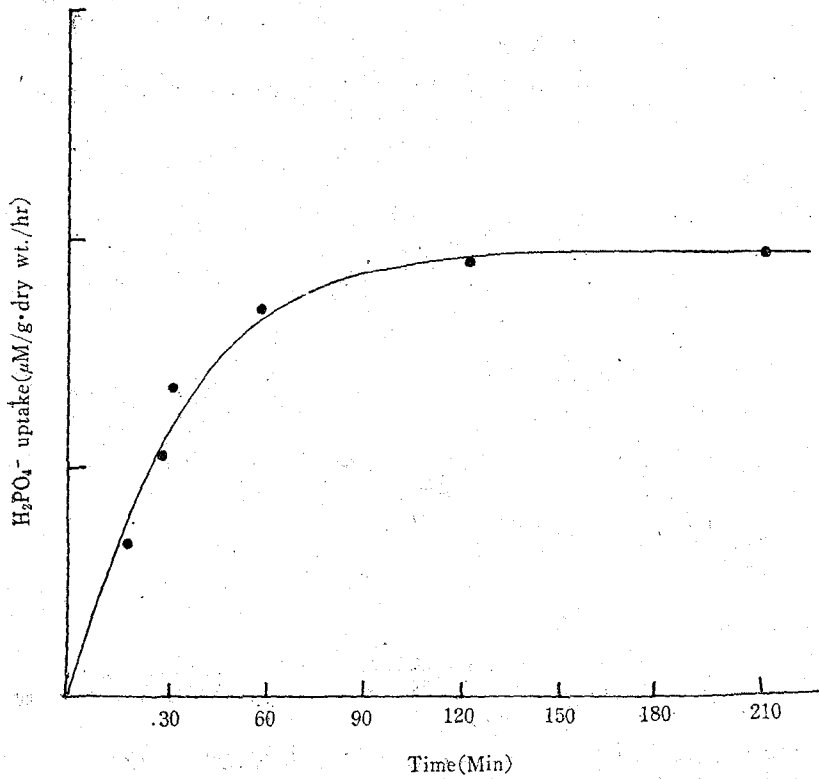


Fig. 4. Time course of  $K^+$  absorbed from the various concentrations of KCl: A; 0.05, B; 0.25, C; 0.5, D; 1.0mM. Other conditions are the same as Fig. 1.

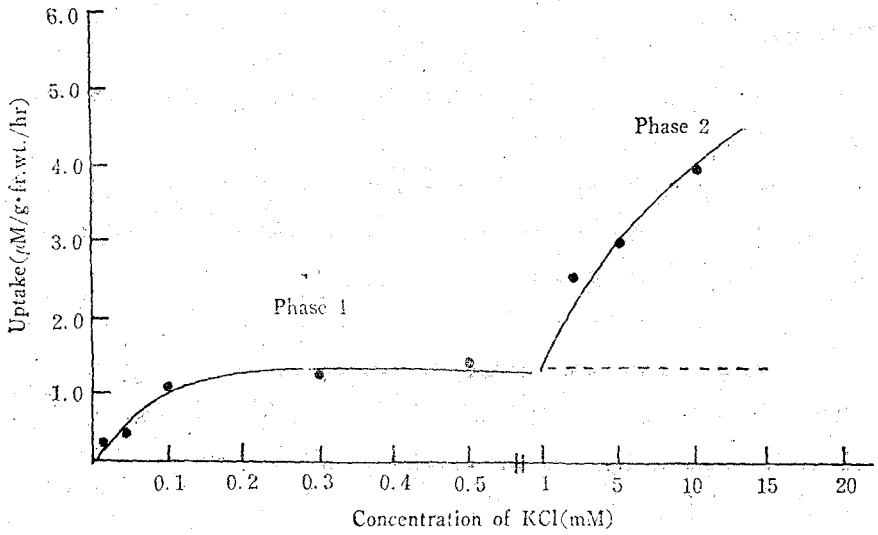


Fig. 5. Uptake of  $K^+$  as a function of the concentration of KCl. Other conditions are the same as Fig. 4.

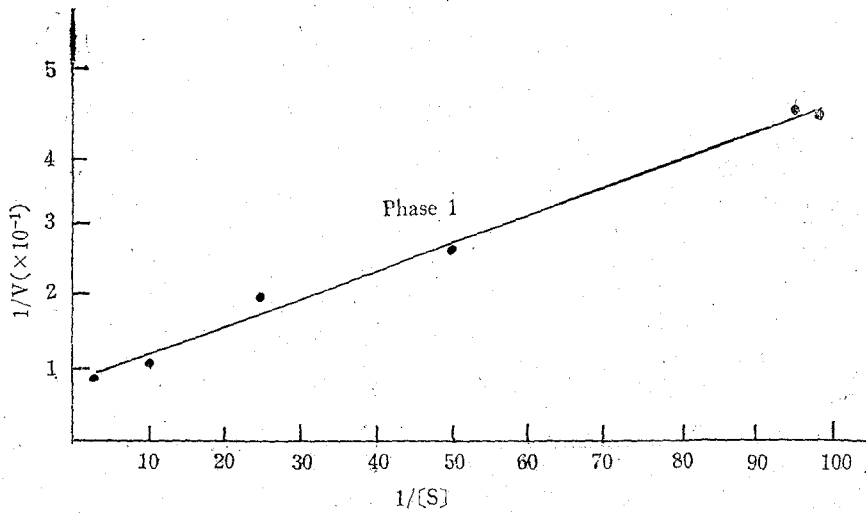


Fig. 6. Lineweaver-Burk plot of  $K^+$  uptake over the range 0.1 to 0.5mM KCl of the data in Fig. 5.

model로서 植物 뿌리에 의한 ion의 吸收機作을 說明하였다.

## 2. K<sup>+</sup>의 吸收

Fig. 4는 K<sup>+</sup>의 吸收가 0.05, 0.25, 0.50 및 1.0mM의 external solution에서 45分 후면 steady state에 到達됨을 보여 주고 있다.

K<sup>+</sup>의 外部 濃度와 K<sup>+</sup>吸收 速度와의 關係를 調査한 結果는 Fig. 5에 表示되어 있다. 이는 K<sup>+</sup>의 外部 濃度가  $10^{-5} \sim 2 \times 10^{-2} M$ 의 범위에서 dual pattern을 나타내었으며 이는 Epstein et al.(1963)의 barley roots 실험과 같은 結果이다. 그러나 2개 phase 以上の multiphase에 對하여는 더 研究할 必要가 있다고 생각한다.

本 研究에서 外部 濃度가  $10^{-5} \sim 5 \times 10^{-4} M$ 인 低濃度範圍에서 Lineweaver-Burk plot를 해 본 結果, K<sup>+</sup>의 吸收 速度는 enzyme kinetics에 따라 外部 濃度와 函數關係를 가지며, Km 값은  $4 \times 10^{-5} M$ 이고 Vmax는  $1.3 \mu M/g \cdot fr. wt./hr$ 였다(Fig. 6).

그러나 高濃度에서는 Michaelis-Menten式과 一致하지 않는다. 이와 같은 結果는 통일변에서 K<sup>+</sup>吸收에는 2가지 機作이 關係하고 있음을 나타내며 高濃度에서는 좀 더 細密한 調査가 이루어져야 한다고 생각된다.

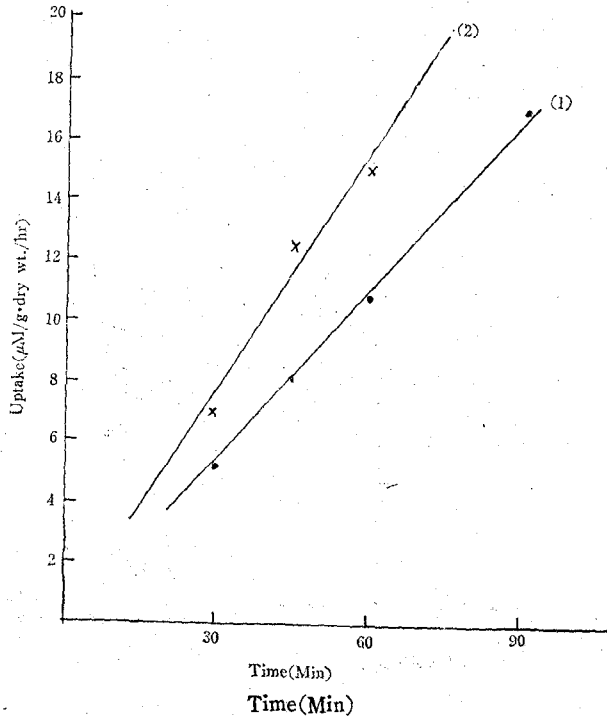


Fig. 7. Time course of Ca<sup>++</sup> uptake from 25ml of 10mM CaCl<sub>2</sub> sol. at 12°C (graph 1) and 22°C (graph 2).

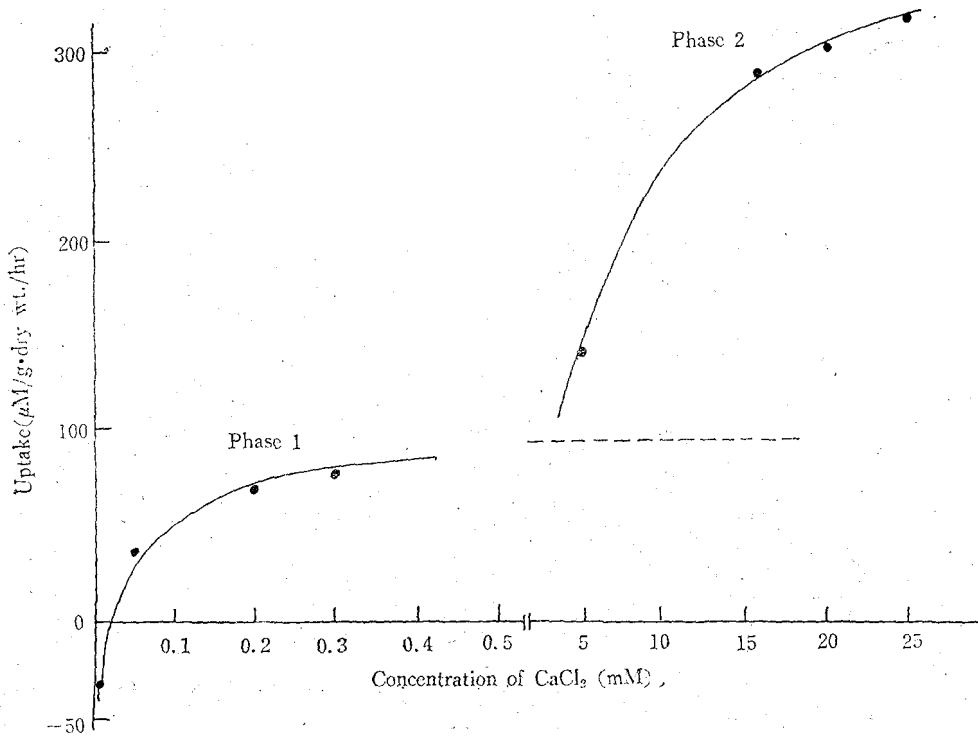


Fig. 8. Ca<sup>++</sup> uptake as a function of the concentration of CaCl<sub>2</sub> at temperature 22°C and pH 6.3.

### 3. Ca\*의 吸收

시간에 따른 Ca\*吸收量の變化는 Fig. 7과 같다. 시간에 따른 Ca\*吸收量の變化는 溫度에 따라 다른 값을 가지며 90分 內에서는 直線的으로 增加하였다. 22°C일 때가 12°C일 때보다 吸收 速度가 크다는 것은 Ca\*의 吸收에는 metabolic energy가 必要하다는 것을 暗示한다. graph에서 吸收가 0보다 적은 것은 低濃度에서 나타난 流出 現象으로 解析된다. Fig. 9는 Fig. 8의 data를 Lineweaver-Burk plot한 結果로서 低濃度에서 Km은  $6 \times 10^{-5} M$ 이며 Vmax는  $9 \mu M/g \cdot dry \text{ wt./hr}$ 이다.

Moore(1971)에 依하면 Ca\*의 吸收 機作은 carrier에 의한 能動的 吸收가 아니라 단순한 濃度 勾配에 의한 受動的 吸收라고 하였다. Handley와 Overstreet(1961)는 植物에 따라 Ca\*가 能動的으로 吸收되는 것도 있다고 報告하였으며, Mass(1969)는 dual pattern을 나타낸다고 報告하였다. 한편 Nissen(1974)은 Ca\*가 能動的으로 吸收되며 Monophase를 나타낸다고 主張하였다.

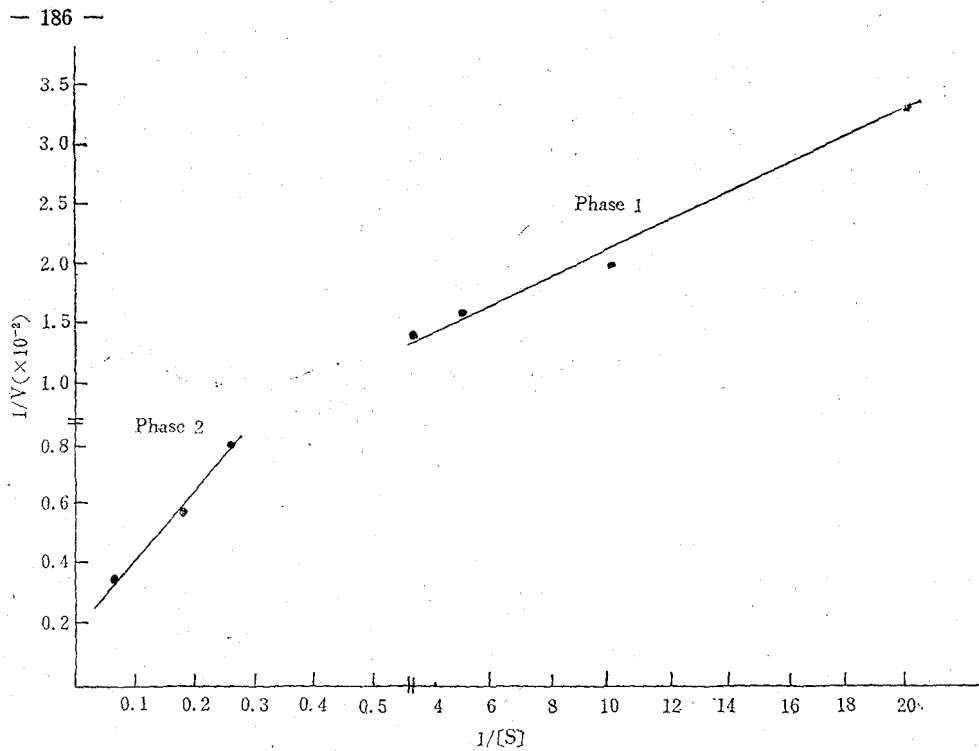


Fig. 9. Lineweaver-Burk plot of  $\text{Ca}^{++}$  uptake over the range 0.1 to 25mM  $\text{CaCl}_2$  of the data in Fig. 8.

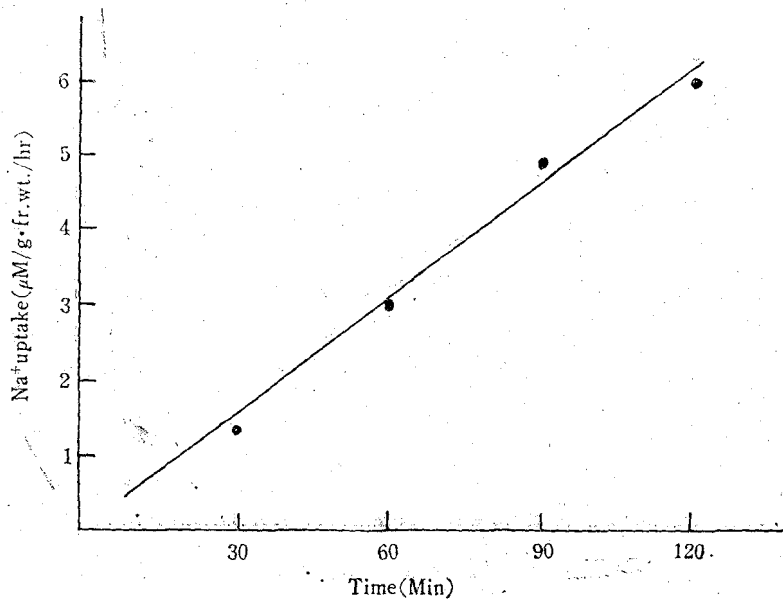


Fig. 10. Time course of  $\text{Na}^+$  absorbed from 25ml of 0.5mM  $\text{NaCl}$  sol. at pH 6.3 and  $22^\circ\text{C}$ .



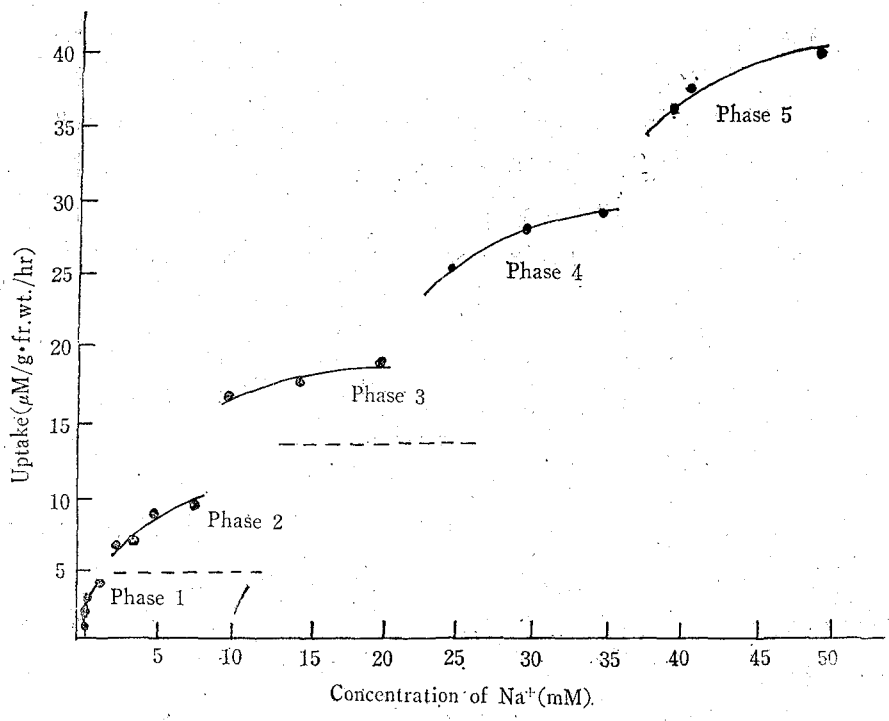


Fig. 11. Na<sup>+</sup> uptake as a function of the concentration of NaCl.

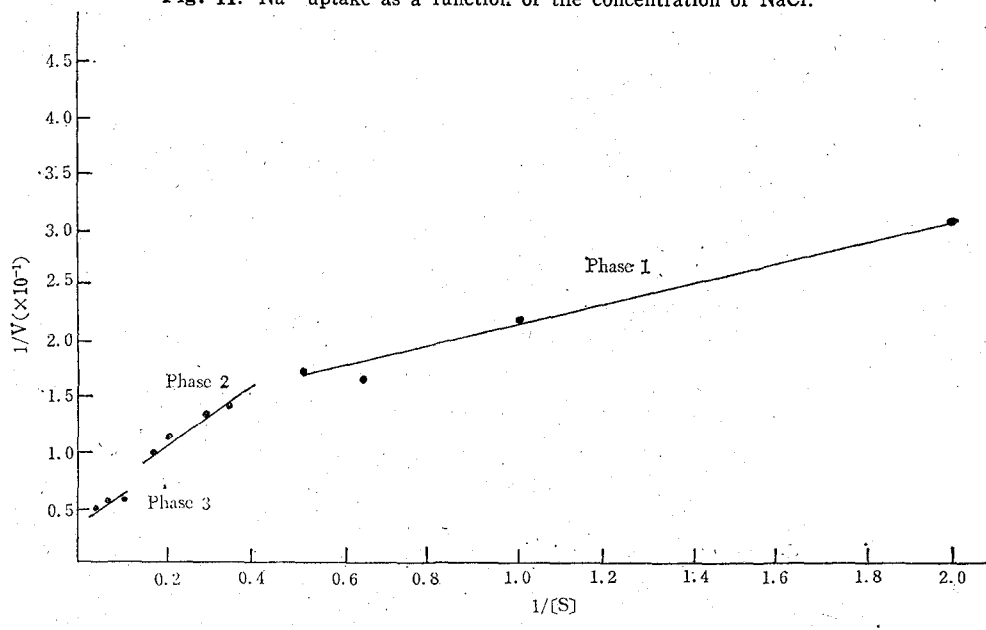


Fig. 12. Lineweaver-Burk plot of Na<sup>+</sup> uptake over the range 0.5 to 10mM NaCl of the data in Fig. 11.

本實驗結果에 依하면 통일체에서  $Ca^{*}$ 는 能動的으로 吸收되며 dual pattern을 나타내었다. 이러한 結果는 低濃度에서 作用하는 carrier가  $Ca^{*}$ 에 對해 낮은 affinity를 갖는다는 Handley와 Overstreet(1961), Moore(1961) 및 Johnson et al.(1968)의 報告와 一致한다.

Mechanism II에 의한  $Ca^{*}$ 의 吸收 範圍는  $K^{+}$ 의 mechanism II 濃度範圍와 類似하다. 이러한 關係는 Epstein(1966)과 Newton(1970)에 의하여 主張된 mechanism II에서 carrier의 非選擇性的 問題와 관련하여 더 研究하여야 할 必要가 있다고 생각된다.

#### 4. $Na^{+}$ 의 吸收

時間에 따른  $Na^{+}$ 의 吸收 速度의 變化는 Fig. 10과 같이 2時間 內에서는 거의 直線的으로 增加하고 있으며(Pitman, 1967; Rains, 1969) 外部 濃度의 gradient에 따른 吸收速度의 變化를 表示한 것이 Fig. 11에 나타나 있다.

graph에 의하면  $10^{-5} \sim 5 \times 10^{-2} M$ 의 濃度의 範圍에서 5개의 phase를 갖는 multiphasic pattern을 나타냄을 알 수 있다.

이를 Lineweaver-Burk plot로 나타낸 것이 Fig. 12와 13으로 phase 1과 2의  $K_m$ 은 各各  $3.2 \times 10^{-4} M$ 과  $1.92 \times 10^{-3} M$ 이며  $V_{max}$ 는  $4.3 \mu M/g \cdot fr. wt./hr$ ,  $13.89 \mu M/g \cdot fr. wt./hr$ 였다.

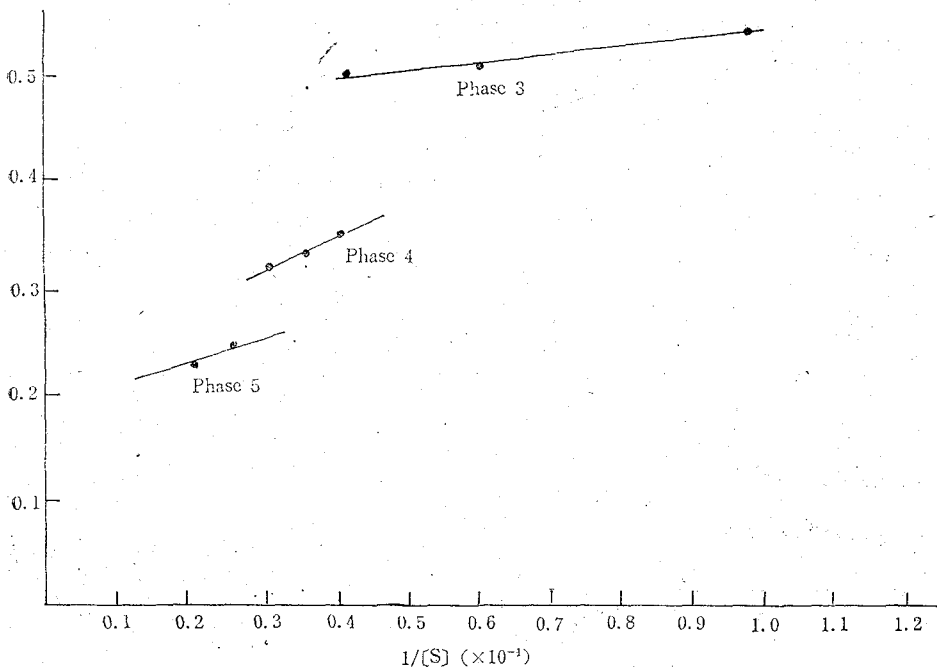


Fig. 13. Lineweaver-Burk plot of  $Na^{+}$  uptake over the range 10 to 50mM NaCl of the data in Fig. 11.

本實驗結果에 의하면  $\text{Na}^+$ 의 吸收는 multiphasic pattern을 나타내었다.

지금까지의 實驗結果는 實驗室에서 培養한 버들 材料로 얻은 것이다. 이와 같은 結果가 野外에서도 實際로 적용되는지는 앞으로 더 研究하여야 할 課題라고 생각된다.

### 參 考 文 獻

- Epstein, E., and Hagen, C.E. (1952). A kinetic study of the absorption of alkalica-tions by barley roots. *Plant Physiol.* 27: 457-474.
- Epstein, E.(1961). The essential role of calcium in selective cation transport by plant cells. *Plant Physiol.* 36:437-444.
- Epstein, E., Rains, D.W., and Elzam, D.E. (1963). Resolution of dual mechanisms of potassium absorption by barley roots. *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.* 49:684-692.
- Epstein, E. (1966). Dual pattern of ion absorption by plant cells and by plants. *Nature.* 212:1324-1327.
- Handley, R., and Overstreet, R. (1961). Uptake of calcium and chlorine in roots of *Zea mays*. *Plant Physiol.* 36:907-912.
- Johansen, C. Edwards, D.G., and Longergan, J.F. (1968). Interaction between potas-sium and calcium in their absorptions by intact barley plants. *Plant Physiol.* 43:1722-1726.
- Mass, E.V. (1969). Calcium uptake by excised Maize roots and interactions with alkali cations. *Plant Physiol.* 44:985-989.
- Moore, D.P. (1961). Uptake of calcium by excised barley roo roots. *Plant Physiol.* 36:53-57.
- Newton, R.J. (1974). Dual pattern of D,L-leucine absorption by duckweed roottips. *Plant and Cell Physiol.* 15:249-254.
- Nissen, P. (1971). Uptake of sulfate by roots and leaf slices of barley: Mediated by single, multiphasic mechanisms. *Physiol. Plant.* 24:315-324.
- Nissen, P. (1973a). Multiphasic uptake in plants (I): phosphate and sulfate. *Physiol. Plant.* 28:304-316.
- Nissen, P. (1973b). Multiphasic uptake in plants (II): mineral cations, chloride and boric acid. *Physiol. Plant.* 29:298-314.
- Nissen, P. (1974). Uptake mechanisms: inorganic and organic. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25:53-79.

Pitman, M. G. (1967). Conflicting measurement of sodium and potassium uptake by barley roots. *Nature*. 216:1343-1344.

Rains, D.W. (1969). Sodium and potassium absorption by bean stem tissue. *Plant Physiol.* 44:547-554.

Uptake Mechanisms of  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  and  $\text{Na}^+$   
in Rice Roots (Tong-il)

Nam Kee Chang, Kil Jae Lee and Choo Hoon Kim

**Abstract**

Uptake of phosphate, potassium and sodium ions by *Oryza sativa* L. (Tong-il) was investigated in excised roots. It was found that the uptake of these ions was mediated by dual or multiple mechanisms. The results of these were as follows:

Inorganic ions	Concentration range	No. of phase
$\text{H}_2\text{PO}_4^-$	$10^{-7} \sim 10^{-3}$	3
$\text{K}^+$	$5 \times 10^{-6} \sim 2 \times 10^{-2}$	2
$\text{Ca}^{++}$	$5 \times 10^{-6} \sim 3 \times 10^{-2}$	2
$\text{Na}^+$	$10^{-5} \sim 5 \times 10^{-2}$	5