<報 文>

各種 金屬鹽의 Lemna 및 Arabidopsis에 對한 致死作用과 石灰의 그 保護作用에 關하여

鄭 濬 · 郭 炳 華
(慶北大學校 文理科大學 · 高麗大學校 農科大學)

The Protective Role of Calcium in the Lethal Actions of Certain Metal Ions on the Growth of Lemna and Arabidopsis Plants

CHUNG, Jun and Beyoung-Hwa KWACK
(Dept. of Biology, Kyungpook University and Dept. of Horticulture, Korea University)

ABSTRACT

The lethal actions in *Arabidopsis thaliana* and *Lemna polyrhiza* brought about by certain inorganic form of Mn, Ba, Hg, Cu salts, and organic form of Na salts, were studied with aseptic artificial media.

These metal ions at certain concentrations caused lethality of either *Arabidopsis* or *Lemna* when the media were without Ca ion. On the contrary, addition of Ca to the media protected the organisms from such lethality.

It was postulated for the present from the proceeding evidence that Ca adsorbed and distributed along the sites between the plasma and cell membrane acts for suppressing permeation of toxic level of metal ions causing the lethality of these plants.

緒 論

過去 알려진 事實에 依하면 重金屬 ion의 植物體에 미치는 害作用에 對하여 Ca는 拮抗的作用을 나타내며 그 害作用을 輕殺시키는 效果를 가지고 있음을 말하고 있고 이러한 Ca의 作用은 Mg ion을 使用했을 때에도 同一한 結果를 나타낼을 말하고 있다(Meyer et al. 1960, 戶苅 1955). 現在까지는 아직 이러한 Ca의 保護的役割이 무엇때문에 나타나는 것인가에 對한 細胞學的 그리고 生化學的 機構에 對해서는 알려지지 못하고 있다. 近來에 와서는 漸次 Ca가 興味로운 生理的物質임을 알게되고 뿌리生長의 調節을 하며(Burström 1952) 이 作用이 뿌리細胞壁에 吸着되는 Ca의 性質에서 由來한다고 指摘(Cormack et al. 1963)하고 있다. 生長物質에 對한 뿌리細胞의 反應은 花粉細胞生長에 相當히 恰似한 點은 이미 말한 바(Brewbaker and Kwack 1963) 있거니와 前記(鄭 1965) Ca ion이 또한 花粉細胞에도 이와같이 作用하여 生長促進하고 있고(Kwack and Macdonald 1965, Kwack 1965) 또 花粉生長을 阻害하거나 致死케하는 各種有害物質의 解毒作用을 보여주고 있다(Kwack and Kim 1967). 그러니까 Ca를 뿌리細胞나 花粉細胞에서 除去하거나 不活性化시킬 때는 그 生長이 自然히 抑制되고 甚之於는 細胞內容物까지 外部로 漏出되는 일까지 생기는 것이다(Collander 1957, Van Steveninck 1965, Weijer 1963).

Ca의 花粉細胞生長에 미치는 영향은 旣報한 바와도 같이(Kwack and Macdonald 1965, Kwack 1965) 매우 促進的인 것인데 이들 細胞가 어떠한 致死狀態에 놓였을 때 Ca는 그것을 保護하는 作用을 가지

고 있다(Kwack and Macdonald 1966, Kwack and Kim 1967)는 것도 잘 알려져 있다.

本 硏究은 前報(鄭 1965)의 繼續으로서 金屬鹽으로 Mn, Ba, Hg, Cu 및 몇몇의 Na-有機化合物을 使用하여 高等植物組織體의 致死作用을 낳게하고 그것을 Ca가 保護하는 事實을 究明코저 한것이였다. 이에 對應하는 硏究로서는 他處에서 高濃度鹽에 依한 小麥種子의 發芽障害가 Ca에 依해서 解消됐다는 點(Chauchuri and Wiebe 1968)과 그러한 高濃度鹽에 依한 菊花插穗의 發根障害가 Ca로 除去된다(Reabe et al. 1966)는 等을 들 수 있고 Ca의 이와같은 生理的作用에 더욱 興味를 느끼게 한다.

材料 및 方法

우리나라에서 野生하는 개구리밥(*Lemna polyrhiza*)과 外國野生인 *Arabidopsis thaliana*를 利用하여 消毒된 條件下에서 人工培養實驗을 했는데 例를 들면 *Lemna*는 生活史가 짧아 여름에는 不過 一日에 生長이 完了되는等 培養과 繁殖이 잘되는 顯花植物이고 他學者들사이(*Hillman* 1961)에도 使用되어 왔으며 *Arabidopsis*도 亦是 生活史가 짧아서 遺傳學(Mckelvie 1963) 그리고 生理學(Langridge 1957)에 쓰여 왔고 試驗管內 培養이 容易함으로 今般의 實驗材料로 擇한 것이다.

*Lemna*에 對해서는 Knop's solution(Ferry and Ward 1959)을 使用했는데 이中 $CaCl_2$를 그대로 넣은것(+Ca)과 넣지 않한것(−Ca)에다 各表에 表示된 各種 毒物質과 濃度를 調整하여 各濃度處理마다 5個式의 三角 flask(處理當 5反覆)에 培養液 各 50 ml을 넣고 綿栓을 하여 消毒한 後 一定數의 無菌 *Lemna*를 投入하여 實驗室 窓近에 自然光을 받도록 하면서 培養했다. *Arabidopsis*는 Hoagland solution No. 2(Ferry and Ward 1959)에 1% agar를 넣은 것이고 −Ca에 對해서는 $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 代身에 $NaNO_3$를 넣어 各表에 表示된 該當 毒物質를 添加하여 濃度別 處理를 하고 試驗管(6分×6寸)마다 이 培養基 5 ml式을 注入하고 冷却시킨 다음 無菌箱에서 消毒 水洗한 種子 2個式을 播種하고 綿栓하였다. 處理當 9個의 試驗管(9反覆)을 使用했다. Hoagland液은 이 植物이 잘 자랄수 있는 適當한 培養基(Fig. 1)였다. 上記한 培養液 또는 培養基는 大體로 pH가 終始 5.5~6.0 이여서 緩衝液은 使用치 않했다.

이리하여 一定한 時日이 經過된 後 各處理의 平均値를 얻고 各物質의 Ca에 對한 反應을 比較해 보았다.

結 果

*Arabidopsis*를 各種濃度의 $MnCl_2$ 條件下에서 生長시켰을 때 播種 後 14日만에 Table 1(Fig. 2)과 같은 結果가 나타났다. 即 −Ca에 있어서는 2.0% $MnCl_2$에 對하여 完全不發芽死滅한데 比해서 +Ca에 있어서는 거의 正常하게 發芽 生長하고 있었으며 +Ca에서 致死한 濃度는 2.0%때이였다. *Lemna*를 使用하여 試驗해 보았을 때는 移植 後 *Arabidopsis*의 境遇보다 致死濃度가 한層 낮아 −Ca때에는 $MnCl_2$ 0.03%였고 Ca에 있어서는 0.09%로 上昇되어 Ca의 致死에 對한 保護作用이 區別되었다(Table 2, Fig. 3). *Lemna*에 濃度를 달리한 $BaCl_2$를 써서 致死作用을 낳게 했을 때 移植 後 7日만에 −Ca에 있어서는 2.5%에서 全數 致死했는데 比해 +Ca는 3.0%에서도 아직 거의 正常的으로 生存하고 있었다(Table 3). $HgCl_2$을 添加했을 때에는 *Lemna*을 移植 後 5日에 1.5 mg/l 濃度에서 −Ca에서는 全部 致死하였고 +Ca에서는 元來의 移植 全數가 그대로 生存해 있었다(Table 4). 또 *Lemna*가 $CuSO_4$ 添加液에 있어서 移植 後 6日에 −Ca에서는 4 mg/l에서 完全 致死하였는데 +Ca는 全數 그대로 生存해 있었다(Table 5). 亦是 *Lemna*를 利用하여 無機物로서의 Na鹽을 試驗해 보았으나(鄭 1965) 本試驗에 있어서는 Na-salicylate이며 有機鹽으로서의 Na를 써서 觀察한 事實은 移植 後 7日에 −Ca는 25 mg/l에서 致死했는데 對해 +Ca는 40 mg/l까지는 거의 正常이였으며 50 mg/l에서 Na鹽의 被害가 相當히 나타났다(Table 6). Na鹽의 EDTA 即 有機鹽에 對해서도 *Lemna*는 +Ca에서는 2.4%濃

度에서 移植 後 8日에 全數 그대로 生存하고 있었는데 −Ca 에서는 2.2%에서 全部 死滅했다(Table 9). Na-EDTA 는 *Arabidopsis* 에 對해서도 試驗했는데 播種 後 18日만에 +Ca 서는 元來의 約 半數가 發芽 生存해있는데 比해 −Ca 에서는 1.8%로 벌서 全數 不發芽 致死했다(Table 10). *Lemna* 는 terramycin 을 Knop's solution 에 넣어 生育시켰을 때 移植 後 4日에 0.1%에서 +Ca 는 全數가 生存했는데 −Ca 에서는 全數가 致死했다(Table 8). 그러나 *Lemna* 를 2,4-D 가 든 標準溶液에 生育시켰을 때는 이때까지의 Ca 効果에 反對해서 +Ca 에서는 移植 後 6日에 10 mg/l 에서 完全히 致死했는데 −Ca 에서는 아직 몇

Table 1. The effect of Ca on $MnCl_2$-induced lethality of *Arabidopsis thaliana* at varied concentrations, 14 days after seeding.

$MnCl_2$ (%)		0	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2	1.6	2.0	2.4	2.8
Number of individuals	+Ca	9	9	8	8	7	7	7	5	3	3	2	0
Survived	−Ca	9	8	7	6	6	6	6	3	1	0	0	0

Table 2. The effect of Ca on $MnCl_2$-induced lethality of *Lemna polyrhiza* at varied concentrations, days after transplanting.

$MnCl_2$ (%)		0	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.07	0.09
Number of individuals	+Ca	5	5	5	5	4	4	1	0
Survived	−Ca	5	4	1	0	0	0	0	0

Table 3. The effect of Ca on $BaCl_2$-induced lethality of *Lemna polyrhiza* at varied concentrations, days after transplanting.

$BaCl_2$ (%)		0	0.25	0.50	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
Number of individuals	+Ca	5	5	5	5	5	5	4	4
Survived	−Ca	5	5	5	5	3	1	0	0

Table 4. The effect of Ca on $HgCl_2$-induced lethality of *Lemna polyrhize* at varied concentrations, 5 days after transplanting.

HgCl (mg/l)		0	0.1	0.5	1.0	1.5
Number of individuals	+Ca	5	5	5	5	5
Survived	−Ca	5	5	5	3	0

Table 5. The effect of Ca on $CuSO_4$-induced lethality of *Lemna polyrhiza* at varied concentrations, 6 days after transplanting.

$CuSO_4$ (mg/l)		0	1	2	4	6
Number of individuals	+Ca	5	5	5	5	5
Survived	−Ca	5	4	2	0	0

Table 6. The effect of Ca on Na-salicylate-induced lethality of *Lemna polyrhiza* at varied concentrations, 8 days after transplanting.

Na-salycylate (mg/l)		0	1	5	10	15	20	25	30	40	50
Number of individuals	+Ca	5	5	5	4	4	3	3	3	3	1
Survived	−Ca	5	4	4	2	2	2	0	0	0	0

Table 7. The effect of Ca on 2,4-dichlorophenoxyacetate-induced lethality of *Lemna polyrhiza* at varied concentrations, 6 days after transplanting.

2,4-D(mg/l)		0	10	20	30	40
Number of individuals	+Ca	5	5	0	0	—
Survived	−Ca	5	5	2	2	—

Table 8. The effect of Ca on terramycin-induced lethality of *Lemna polyrhiza* at varied concentrations, 4 days after transplanting.

Terramycin (%)		0	0.05	0.10	0.15	0.20
Number of individuals	+Ca	5	5	5	1	0
Survived	−Ca	5	0	0	0	0

Table 9. The effect of Ca on Na-ethylendiaminetetra acetate-induced lethality of *Lemna polyrhiza* at varied concentrations, 9 days after transplanting.

Na-EDTA (%)		0	1.8	2.0	2.2	2.4
Number of individuals	+Ca	5	5	5	5	5
Survived	−Ca	5	5	4	0	0

Table 10. The effect of Ca on Na-ethylenediaminetetra acetate-induced lethality of *Arabidopsis thaliana* at varied concentrations, days after seeding.

Na-EDTA (%)		0	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.6	1.8	2.0
Number of individuals	+Ca	9	8	8	7	6	6	6	4	4	4
Survived	−Ca	9	8	7	7	5	4	4	2	0	0

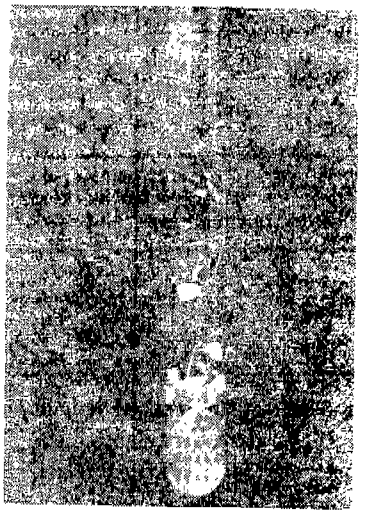

Fig. 1. *Arabidopsis thaliana* well grown to flowering in agar-added Hoagland solution No. 2.

Fig. 2. The effect of Ca on survivals of *Arabidopsis thaliana* in $MnCl_2$ (2%) plus agar with Hoagland solution No. 2; left, +Ca; right, −Ca(14 days after seeding).

Fig. 3. The effect of Ca on survivals of *Lemna polyrhiza* in $MnCl_2$ (0.0%) plus Knop's solution; left, +Ca; right, −Ca (9 days after transplanting).

個體가 生存해 있는것을 觀察하였다(Table 7).

考 察

花粉細胞는 各種無機 및 有機鹽溶液의 어느濃度에서는 이들의 生長이 抑制될뿐만 아니라 細胞가 죽게되며 Ca를 그러한 培養液에 添加하게 되면 이 害作用과 致死作用을 없게 하거나 적게 하는 保護的役割을 하는 事實이 알려졌는데(Kwack and Kim 1967) 多細胞植物의 組織體로서의 *Arabidopsis*와 *Lemna*는 모두 花粉細胞의 生長때와 같은 結果를 나타내어 Ca는 이들 金屬鹽(Mn, Hg, Cu, Ba 및 Na ion等)의 生理的被害를 相當히 低下시켰다. 이러한 結果는 勿論 Ca와 Mg ion의 그外 無機金屬鹽에 對한 拮抗作用(antagonism)과 關連하는것(Meyer et al. 1960, 戶苅 1955)으로 보겠으나 例를 들면 花粉細胞에서는 Mg와 Ca의 作用에 代置시킬수 없는 點으로 미루어 보아(Brewbaker and Kwack 1963, Kwack and Macdonald 1965) 그 意味를 달리하고 있고 Ca의 解毒作用에 關係하는 生理的인 機作에 差異가 있는것을 暗酌케 한다. 그러나 現在 高等植物組織에서 觀察한 各鹽類의 害作用에 對한 Ca効果는 그 性質이 相當히 花粉細胞의 境遇에 닮아있다.

藻類의 細胞에 있어서는 Ca가 作用할 때 Ca가 原形質膜上과 細胞膜內 側面에 位置하고 있으면서(Bennett and Rideal 1954) 보리꾸리細胞에서 보는 바와 같이 細胞의 無機物質에 對한 透過性調節(Epstein 1961, Weisel 1962)을 함으로서 被害物質인 Mn, Cu, Hg, Ba 및 Na ion의 細胞內浸入을 防止하는 것이라 보겠다. 花粉細胞에서는 Ca를 비롯하여 細胞膜에 利用되는 各種物質의 放射性同位元素를 써서 觀察한 바(Kwack and Macdonald 1965)있다. Ca의 이와같은 保護作用은 化學物質뿐만 아니라 여러가지 物理的條件(高溫, 乾燥, 放射線等)(Kwack and Kim 1967, Weijer 1963)에 對해서도 恰似한 것이다.

Ca의 各種無機 및 有機物質에 對한 解毒 또는 拮抗作用은 花粉의 Ca에 對한 그러한 反應(Kwack and Kim 1967)과 매우 恰似한 點이 있는데 다같은 植物組織體로서의 相通한 點이라 하겠다. 다만 2,4-D의 致死作用에서 Ca가 拮抗作用을 나타내지 못하는것은 一種의 auxin으로서 non-metabolic한 作用과는 關係없는 오히려 metabolic한 過程으로 致死現象을 나타내는 것이니 Ca의 保護를 못받는 것이라 생각되었으며(Kwack 1965) 또 auxin으로서의 indole 酢酸도 花粉生長에는 Ca作用을 도우지 못하는 事實(Kwack and Macdonald 1965)로 미루어 보아 auxin은 metabolic하게 作用을 하고 있는 것으로 보이며 Ca効果가 뚜렷한 毒物質은 細胞膜面에서 어디까지나 non-metabolic하게 關連하고 있음을 알

수 있다.

摘 要

無機鹽으로서의 Mn, Ba, Hg, Cu 그리고 有機鹽으로서 Na 및 terramycin 等을 使用하여 *Lemna polyrhiza* 와 *Arabidopsis thaliana* 의 致死를 낮게함을 保護하는 Ca ion의 役割을 人工培養함으로서 硏究하였다.

이들 鹽類等은 어떠한 濃度에서는 致死되었는데 이들이 Ca 와 共存할때에는 그 濃度에서도 거의 正常的으로 生育하고 있음은 알았다.

이것은 Ca 가 細胞膜과 原形質膜사이에 吸着되는 關係로서 細胞內의 浸透 또는 吸收를 制限함으로 해서 이루어짐을 論議하였다.

文 獻

1. Bennet, M.C. and Rideal, E. (1954). Membrane behavior in Nitella. Proc. Roy. Soc. Biol. (England) 142 : 483–496.
2. Brewbaker, J.L. and Kwack, B.H. (1963). The essential role of calcium in pollen germination and pollen tube growth. Amer. Jour. Bot. (USA) 50 : 859–865.
3. Burström, H.(1952). Studies on growth and metabolism of roots. VIII. Calcium as a growth factor. Physiol. Plant. (Sweden) 5 : 391–402.
4. 鄭 潛 (1965). 植物生長에 미치는 石灰의 金屬鹽被害의 抑制作用에 關하여, 慶北大論文集(自然科學편) 1965 : 1–5.
5. Chaudhuri, I.I. and Wiebe, H.H. (1968). Influence of calcium pretreatment on wheat germination on saline media. Plant and Soil (Netherlands) 28 : 208–215.
6. Collander, R. (1957). Permeability of plant cells. Ann. Rev. Plant Physiol. (USA) 8 : 335–348.
7. Cormack, R.G.H., Lemay, P. and Maclachlan, G.A. (1963). Calcium in the root-hair wall. Jour. Expt. Bot. (England) 14 : 311–315.
8. Epstein, E. (1961). The essential role of calcium in relative cation transport by plant cells. Plant Physiol. (USA) 36 : 437–444.
9. Ferry, J.F. and Ward, H.S. (1959). Fundamental of plant physiology. MacMillan Co., N.Y.
11. Hillman, W.S. (1961). The Lemnaceae, or duckweed. Bot. Rev. (USA) 27 : 221–287.
12. Kwack, B.H. and Macdonald, T. (1965). The role of calcium in pollen growth as expressed by various water-soluble substances. Bot. Mag. (Japan) 78 : 163–170.
13. Kwack, B.H. and Macdonald, T. (1966). Effects of agricultural chemicals on pollen growth as modified by calcium ions. Jour. Jap. Soc. Hort. Sci. (Japan) 35 : 190–194.
14. Kwack, B.H. and Kim, I.H. (1967). Effects of calcium ion and the protective action on survival and growth inhibition of pollen. Physiol. Plant. (Sweden) 20 : 73–82.
15. Langridge, J. (1957). Effect of day length and gibberellic acid on the flowering of *Arabidopsis*. Nature (England) 180 : 36–37.
16. McKelvie, A.D. (1963). Studies in the induction of mutations in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Jour. Radiation Bot. (USA) 3 : 105–123.
17. Meyer, B.S., Anderson, D.B. and Böhning, (1960). Introduction to plant physiology. D. Van Nostrand Pub. (USA).

18. Raabe, R.D., Vlamis, J., Hurlman, J.H. and Quick, J. (1966). Sodium injury to cuttings of chrysanthemum. Calif. Agr. 20 : 12-13.
19. Van Steveninck, R.F.M. (1965). The significance of calcium on the apparent permeability of cell membranes and the effects of substitution with other divalent ions. Physiol. Plant. (Sweden) 18 : 54-69.
20. 戶苅義次 (1955). 作物の生態. 朝倉書店(東京).
21. Weijer, J. (1963). Radiation protection by calcium gluconate and recovery of X-irradiated conidia of *Neurospora crassa*. Radiation Res. (USA) 20 : 227-246.
22. Weisel, Y. (1962). The effect of Ca on the uptake of monovalent ions by excised barley roots. Physiol. Plant. (Sweden) 15 : 709-724.