

벼의 燐酸流出機作에 對한 研究 — 燐酸流出의 Rhythm現象 —

李 吉 宰 · 張 楠 基*

韓國敎員大學校 生物敎育科 · *서울大學校 生物敎育科

A Kinetic Study on the Phosphate Efflux in Rice Roots — Rhythmic Phenomena of Phosphate Flux —

Lee, Gil-Jae and Nam-Kee Chang*

Dept. of Biology Education, Korea National University of Education

*Dept. of Biology Education, Seoul National University

ABSTRACT

This study was performed to elucidate the mechanisms involved in efflux process of phosphate from intact and excised roots of *Oryza sativa* (Tongil). The rapid loss of phosphate during the first 40-minutes of treatment is mainly from the cytoplasmic fraction, and the gradual loss taking place afterwards is possibly reflecting the losses at the tonoplast. During the first 60 minutes, loss of phosphate from the excised roots treated with KCN was more rapid than the control but slower thereafter. The effect of CaCl_2 and KCl appeared to decrease the rate of phosphate efflux in excised roots of rice. The mechanism of phosphate efflux by rice roots seems to be passive and oscillatory in the short period.

Key words: *Oryza sativa*(Tongil), Phosphate efflux.

緒 論

살아있는 細胞는 膜性構造를 갖고 있어서 여러가지 염류와 물을 吸收하여 膨壓을 유지하고 生長을 할 수 있으며 細胞의 모양을 支持할 수 있다. 반대로 염류와 물을 細胞膜 밖으로 流出시키는 경우도 있다. 실제로 細胞는 ion을 選擇的으로 吸收하는 과정에서 Na^+ 등이 流出되거나 食物의 隘이 運動하는 경우에도 鹽類의 流出現象이 수반된다는 사실이 이미 알려졌다.

植物의 뿌리 細胞에서 plasmalemma를 통한 物質吸收過程에서는 電機化學的인 濃度勾配에 逆行하여 에너지의 소비를 수반한 能動的의 吸收와 단순히 擴散壓에 의한 受動的의 吸收過程이 있다.

이제까지는 주로 plasmalemma를 통한 受動的인 吸收過程에 重點적인 연구가 되어 왔다. 특히 電機化學인 濃度勾配를 역행하는 ion의 能動的 輸送을 설명하기 위해서 carrier에 의한 物質吸收機作이 제시되었다. 細胞의 能動的인 物質吸收는 고전적인 酵素力學에 일치하는 것으로 Michaelis-Menten equation으로 表示하였다 (Epstein and Hagen, 1952).

Epstein(1972)은 carrier는 細胞內로만 物質을 이동시키는 特異性을 갖는 酵素와 같은 것으로 단백질로 되어 있을 것이라고 推定하였다. 그 후 몇 가지 ion에 대하여 選擇的으로 결합하는 binding protein이 細胞膜에서 추출되었으나 binding protein이 바로 carrier라고 확정하기에는 아직 확실한 증거가 부족하다 (Arthur, B. P., 1966, 67, Yasuhiro, A., 1968).

식물뿌리에서 細胞膜을 통한 物質輸送에는 吸收過程뿐만 아니라 流出過程도 중요한 意義를 가지고 있다. 그러나 細胞로부터 物質이 流出되는 現象은 動物細胞에서 널리 발견된 sodium pump가 식물뿌리의 細胞에서 存在한다는 것 등 몇가지 사실은 밝혀졌으나 아직 많은 연구가 되어 있지 않다.

다만 植物組織이 물 또는 염류의 자극에 의하여 吸收가 減少되고 流出이 增加된다는 報告가 있다 (Greenway, Klepper and Hughes, 1968 ; Smith, St John and Parrondo, 1973 ; Nassery and Baker, 1974). 일반적으로 K^+ 의 流出速度는 吸收速度에 영향을 받기 때문에 細胞의 物質流出은 代謝速度가 억제된 조건하에서 測定하였으며(Harley and Wilson, 1959), 細胞의 代謝速度가 減少된 상태의 barley(Hiatt and Lowe, 1967 ; Nassery, 1971)와 corn(Marschner, Handley and Overstreet, 1996)의 절단된 뿌리(excised roots)에서 K^+ 이 流出된다는 사실이 報告된 바 있다.

Greenspan & Kessler(1970)는 citrus의 excised roots에서 일어나는 Na^+ 의 流出現象이 DNP에 의하여 抑制되므로 이 流出過程은 能動的인 것이라고 주장했다. 그리고, Pitman & Sadler(1967)와 Jescke(1970)는 barley의 excised roots에서 일어나는 N^+ 의 influx pump와 K^+ 의 efflux pump는 K^+ 에 대한 選擇性을 결정하는 것으로 plasmalemma에서 일어난다고 報告하였다.

物質의 流出現象은 높은 溫度보다도 낮은 溫度에서 더욱 크게 일어난다는 것이 maize의 excised roots의 K^+ 流出現象에서 알려졌다 (Hardley *et al.*, 1965 ; Marschner *et al.*, 1966).

식물뿌리의 磷酸流出現象은 Ca^{2+} 에 의하여 減少된다고 보고되었다 (Nassery and Harley, 1969).

最近에는 이러한 物質의 流出現象이 生物學的인 oscillation 現象과 연관되어 많이 연구되고 있다. 특히 식물의 잎의 rhythmic movement는 motor cell의 細胞膜을 통한 K^+ 의 吸收와 流出의 oscillation現象의 결과로 나타난다고 報告되었다(Satter and Galston, 1971). Njus 등(1974)은 잎의 rhythmic movement를 포함하는 모든 生物學的인 rhythm現象은 ion transport가 관련된 feed back system에 의하여 일어나는 oscillatory model을 제시하였다.

위에서 언급한 바와 같이 식물뿌리의 細胞에서 일어나는 ion transport 現象은 吸收뿐만 아니라 流出過程 역시 중요한 意義를 갖고 있다. 그러나 식물뿌리세포의 物質流出現象은 K^+ , Na^+ 등 몇 가지 이온에 한하여 重點적으로 연구되었다.

그러므로 本 研究에서는 벼의 磷酸流出現象을 動力學的으로 分析하여 磷酸流出의 機作을 밝히고 磷酸의 吸收와 流出機作的 oscillation 現象을 규명하였다.

材料 및 實驗方法

1. Seedling의 培養

本 實驗에 사용된 材料는 農村振興廳의 作物試驗場에서 구입한 *Oryza sativa*, L. (Tongil)이다. 벼씨를 1% sodium hypochlorite에서 10분간 처리하여 증류수로 여러 번 씻고 $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 24시간 동안 어두운 곳에 둔 다음, 여러 겹의 polyethylene과 cotton網 위에 놓고 0.1mM CaCl_2 가 들어있는 2ℓ 들이의 플라스틱 상자에 옮겨 $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 暗所에서 培養한다 (Epstein, 1961).

2. 吸收와 流出

吸收와 流出實驗은 7일된 seedling의 완전한 個體(intact plant)의 뿌리와 정단으로부터 4cm의 부위를 자른 材料(excised roots)를 증류수로 씻은 다음, 0.1 mM CaCl_2 를 포함하고 있는 10 mM NaH_2PO_4 溶液속에서 2시간 내지 24시간 진탕(100 strokes/min)시키면서 磷酸을 吸收시켰다.

이와 같이 磷酸을 吸收시킨 材料를 60초 동안 흐르는 0.1 mM HCl 溶液으로 씻고 30초 동안 2ℓ의 증류수로 씻는다. 이 처리는 Donnan free space에 남아있는 磷酸을 제거하고 細胞膜의 Ca^{2+} 의 양을 減少시키기 위한 전처리이다 (Nassery, 1971).

50mg의 excised roots와 15個體의 intact plant roots를 각각 20ml의 流出溶液에서 10분간 처리하여 free space에 남아있는 磷酸을 완전히 제거했다.

이렇게 준비된 材料를 20ml의 流出溶液이 들어있는 비이커에 넣고 22°C 에서 진탕(100 strokes/min)시키면서 流出實驗을 實施하였다.

本 實驗에 사용된 流出溶液은 0.1mM CaCl_2 가 포함된 1mM sodium-acetate acetic acid buffer와 증류수이며 pH는 5.2로 하였다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이, 本 實驗에서 사용된 buffer 溶液과 증류수에서의 磷酸流出現象은 3시간이 경과해도 거의 差異가 없었다. 그러므로 buffer 溶液은 긴 시간이 필요한 실험에서 pH의 變化를 最少로 줄이기 위해서 사용하였고 증류수는 짧은 시간 동안의 流出實驗에 사용하였다.

流出溶液에 流出된 磷酸의 量은 ammonium-molybdate standard method에 의해서 660nm에서 spectrophotometer로 측정하였다.

結 果

Oryza sativa (Tongil)의 절단된 뿌리 (excised roots)를 10mM NaH_2PO_4 溶液에서 磷酸을 24시간 동안 吸收시킨 다음 磷酸이 流出되는 現象은 Fig. 1에서 보는 바와 같다.

初期의 40분 동안은 磷酸이 급속히 流出되었으나 40분이 지난 후에는 磷酸流出速度가 매우 완만하게 減少되었다. 이런 結果로 보아서, 벼의 뿌리細胞에서 일어나는 磷酸流出現象은 2個의 細胞內的 compartment가 作用하고 있는 것으로 생각된다. 本 實驗過程에서 free-space에 存在하는 磷酸은 완전히 제거하였으므로 이 2가지의 細胞內的 compartment는 細胞質과 液胞로 생각할 수 있다. 이렇게 ion의 流出現象에 細胞質과 液胞의 phase가 存在한다는 것은 Nassery(1971, 1972)에 의하여 K^+ 의 流出現象에서 報告되었다.

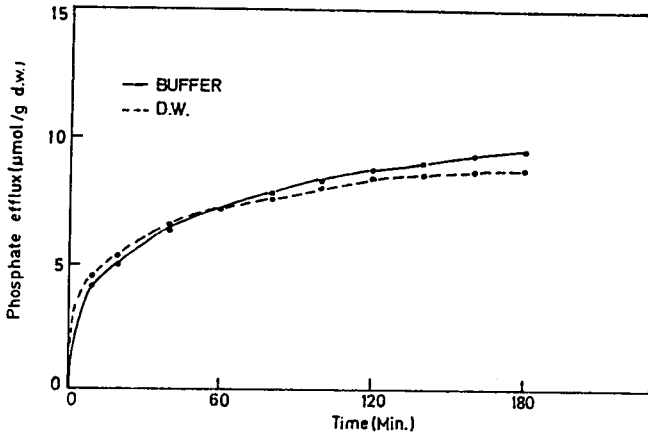


Fig. 1. Efflux of phosphate by excised roots of rice plant in buffer and distilled water. Uptake period, 24 hr.

Fig. 2는 벼의 intact plant roots로부터 인산이 流出되는 現象을 보여 주는 것이다.

Fig. 2의 A에서 보는 바와 같이 24시간 동안 인산을 吸收시킨 材料에서는 7시간이 경과해도 인산流出은 계속 증가되었으나, 初期의 2시간 동안은 매우 急速하고 安定된 流出現象을 보였으며 2시간이 경과한 후부터는 인산의 流出現象은 매우 不安定한 oscillation 現象을 나타내었다. 이러한 結果는 24시간 인산을 吸收시켜 細胞質內에 存在하는 인산이 充足하기 때문에 細胞質內의 充足한 인산量은 細胞質에서 일어난 인산代謝過程에 制限要因이 되지 않기 때문이라고 생각된다. 그러나, 2시간 동안 인산이 계속하여 流出되면 細胞質內의 인산量이 減少되므로, 細胞質內의 인산量은 인산代謝過程에 制限要因으로서 作用하게 된다.

따라서 細胞에서는 液胞속에 있던 인산이 tonoplast를 통하여 細胞質內로 流入되고, 한편 細胞 밖으로 流出되었던 인산이 plasmalemma를 통해서 再吸收된다고 생각된다. 이러한 複合的인 인산의 吸收와 流出過程이 동시에 서로 다른 速度로 일어남으로써 인산流出의 測定結果는 oscillation 現象을 보이는 것으로 해석된다.

Fig. 2의 B에서, 2시간 동안 인산을 吸收한 벼의 intact plant roots로부터 일어나는 인산流出 現象은 처음 1시간 동안은 역시 急速하고 安定된 現象을 나타내나 1시간 후에는 流出된 인산이 再吸收되는 現象을 보여 주었다. 이 結果에 의하면 初期의 1시간 동안은 細胞內部와 流出溶液사

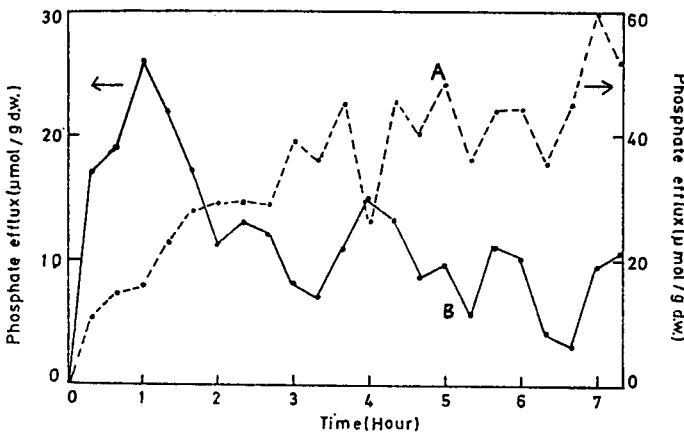


Fig. 2. Flux of phosphate from roots of intact rice plant.
 —, Uptake period, 2 hr.
 ---, Uptake period, 24 hr.

이의 濃度平衡을 이루기 위해서 受動的인 過程이 크게 지배되어 磷酸의 流出이 일어난다.

1시간 동안 磷酸이 流出된 뿌리細胞에서는 곧 磷酸이 부족한 상태가 되어 磷酸代謝過程에 민감한 반응을 일으켜 再吸收作用이 강하게 일어난다. 이러한 再吸收過程에서도 역시 不安定한 oscillation 現象을 볼 수 있다. Plasmalema를 통한 磷酸의 再吸收와 流出, 液胞의 tonoplast를 통한 細胞質內로의 磷酸流入 및 細胞質內의 磷酸代謝速度가 同一하게 일어나지 않기 때문에 oscillation 現象이 일어나는 것으로 해석된다.

Fig. 3은 24시간동안 磷酸을 吸收시킨 excised roots에서 일어나는 磷酸流出現象을 보여주는 것이다. 처음 2시간 동안은 Fig. 2의 A에서와 같이 急速하고 安定된 流出現象을 볼 수 있으나 2시간이 경과하면 역시 oscillation 現象을 나타내며 7시간이 될 때까지도 流出過程이 계속 강하게 일어났다.

Fig. 4는 벼의 intact plant roots에서 일어나는 磷酸流出現象의 日變化를 보여 주는 것이다. 이 實驗에 사용된 材料는 自然的인 環境要因의 日周期에 적응시키기 위하여 3일간 自然的인 日

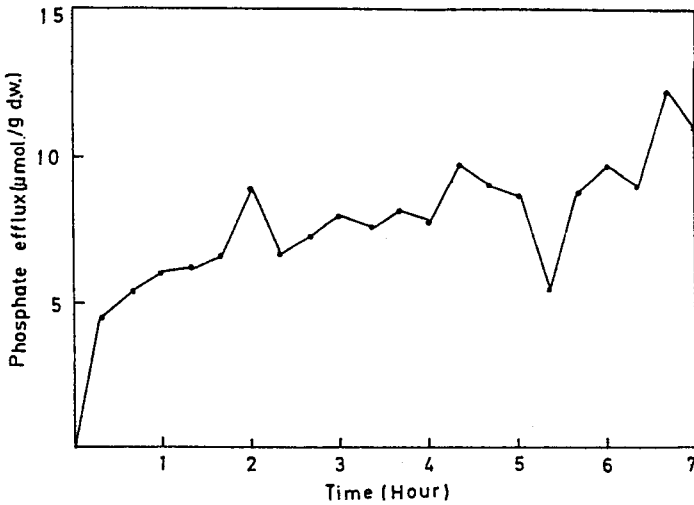


Fig. 3. Flux of phosphate from excised roots of rice plant. Uptake period, 24 hr.

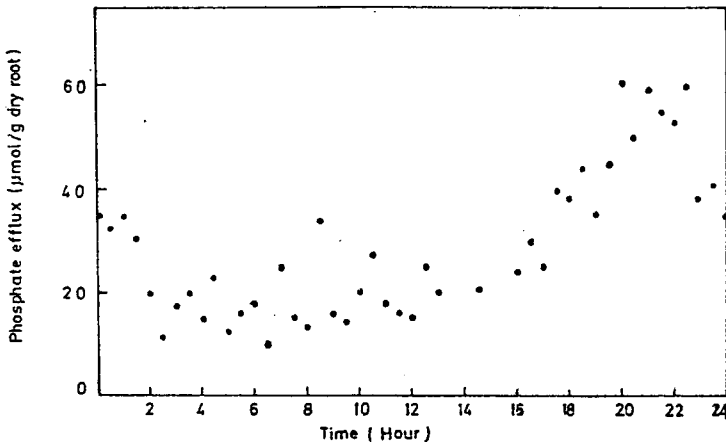


Fig. 4. Circadian rhythm of phosphate flux by roots of intact rice plant. Uptake period, 2 hr.

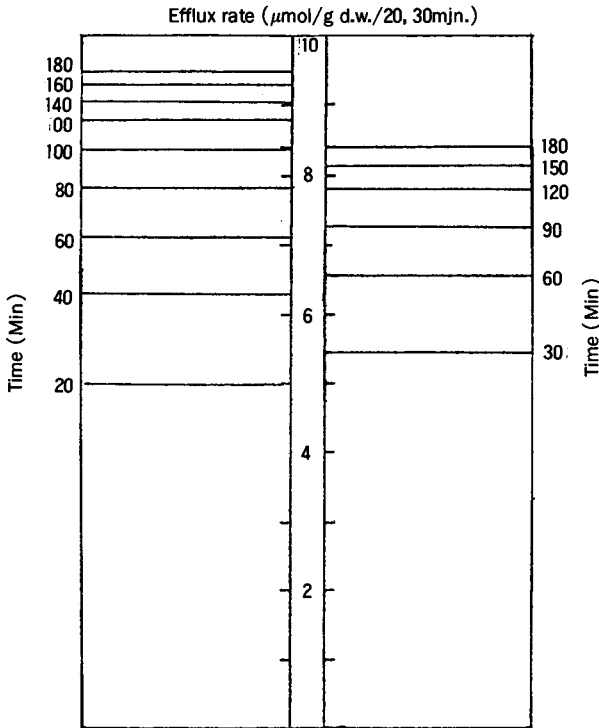


Fig. 5. Change of efflux rates of phosphate by excised roots of rice plant. Uptake period, 24 hr.

變化에 노출시켰다. 8~10時 사이에는 最少의 磷酸流出現象을 나타내었고, 20~22時 사이에는 最大의 流出現象을 보이는 circadian rhythm을 갖는 것으로 光合成과 呼吸의 代謝作用에 의한 것으로 해석된다.

Fig. 5는 同一한 材料를 가지고 일정한 시간 동안 각각 다른 시간 간격으로 磷酸流出溶液을 每 번 갈아줌으로써 그 때마다 變化하는 磷酸流出速度를 측정 한 것이다. 60分 동안 20分 間격으로 3번 磷酸流出溶液을 갈아주면 0→20分 사이에는 5.02μM /g.d.w., 21→40分 사이에는 1.28μ M /g.d.w. 그리고 41→60分 사이에는 0.82μM /g.d.w.의 磷酸量이 流出되었다. 결국 60分 동안 流出된 磷酸의 總量은 20分 間격으로 3번 流出된 磷酸의 量을 모두 合한 것으로 7.12μM /g.d.w. 가 된다. 또 60分 동안 30分 間격으로 2번 磷酸流出溶液을 갈아주면 0→30分 사이에는 5.45μ M /g.d.w. 그리고 31→60分 사에는 1.14μM /g.d.w.의 磷酸量이 流出되었다. 결국 60分 동안 30 분 間격으로 2번 流出溶液을 갈아 준 것을 合하면 모두 6.59μM /g.d.w.의 磷酸量이 流出되었다. 이 實驗結果에 의하면, 20分 間격으로 60分 동안 3번 流出溶液을 갈아줌으로써 流出된 磷酸의 總量은 30分 間격으로 60分 동안 2번 갈아 준 경우보다 0.53μM /g.d.w. 만큼 磷酸이 더 많이 流出되었다. 같은 方法으로 3시간 동안 流出된 磷酸量을 比較해 보면, 20分 間격으로 流出溶液을 갈아 준 경우가 30分 間격으로 행한 것보다도 1.12μM /g.d.w. 만큼 더 많이 流出되었다. 이것은 일정한 시간 동안 여러번 流出溶液을 갈아줌으로써 流出되었던 磷酸이 再吸收되는 기회가 減少 하기 때문에 再吸收의 影響을 가능한 最少로 억제시킨 조건에서 순수한 磷酸의 流出速度를 測定 할 수 있는 方法이라고 생각된다.

Fig. 6은 Fig. 5에 나타난 結果에 의하여 제시된 方法으로 intact plant roots로부터 流出되는 磷酸의 量을 10分 間격으로 表示한 것이다. 벼의 뿌리세포로부터 일어나는 磷酸流出現象이 細胞

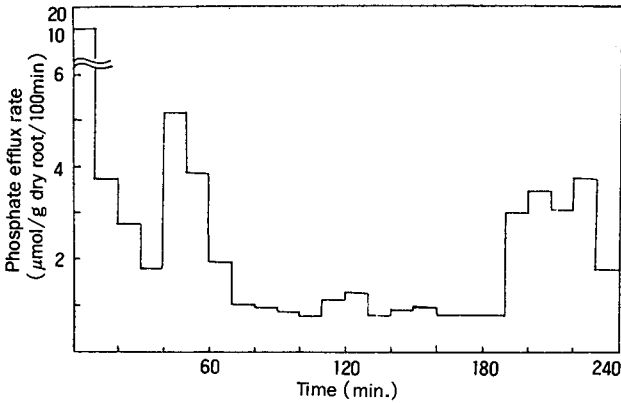


Fig. 6. Efflux rate of phosphate from the roots of intact rice plant. Uptake period, 24 hr.

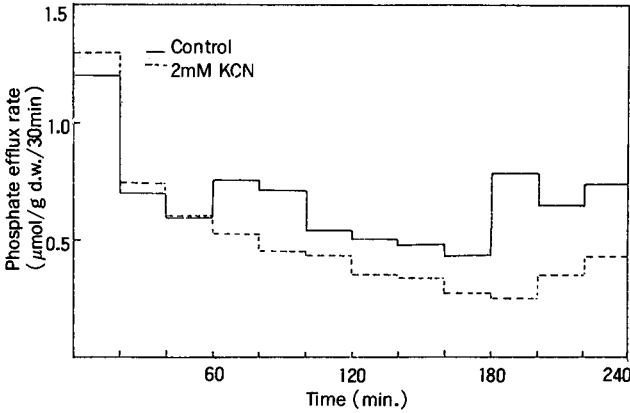


Fig. 7. Effect of KCN on phosphate efflux rate. Uptake period, 24 hr.

質의 磷酸代謝過程과 관계없이 독립적으로 일어나는 단순한 受動的인 作用이라면 시간이 경과함에 따라 細胞內의 遊離磷酸의 濃度는 급격히 減少될 것이다. 그러므로 流出溶液을 계속적으로 갈아주는 경우 그때 10分 간격으로 流出되는 磷酸의 量은 계속 減少되어야 하나, Fig. 6에서 보는 60分, 120分, 그리고 200分경에는 오히려 磷酸流出速度가 증가하는 現象을 보였다. 10分 간격으로 매번 流出溶液을 갈아줌으로써 再吸收를 하지 못한 뿌리의 細胞內에는, 磷酸量이 급격히 減少되어 細胞質內에서 새로운 遊離磷酸의 공급이 없이는 磷酸流出速度의 증가는 일어날 수 없을 것이라고 생각된다. 그런데 Fig. 6에서 보는 바와 같이 60分, 120分 그리고 200分경에 磷酸流出速度가 增加한 것은 細胞質內의 복잡한 磷酸代謝過程과 상호 연관되어 일어나는 것으로 해석된다.

Fig. 7은 excised roots를 材料로 하여 Fig. 6과 同一한 方法으로 실험한 結果 Fig. 6에 나타난 現象과 一致하였다. 이러한 磷酸流出速度의 증가현상이 細胞質內의 磷酸代謝過程과 연관되어 일어나는 것이라면 시간에 따라서 細胞質內에 存在하는 遊離磷酸의 量이 다양하게 變한다고 생각할 수 있다. 즉 細胞質內에 存在하는 유리인산의 양이 시간에 따라서 변하므로 磷酸流出速度역시 시간에 따라 變하는 것으로 생각된다.

Fig. 7에서 보는 바와 같이 磷酸流出速度에 미치는 2mM KCN의 효과는, 처음 60分 동안은 KCN을 처리한 경우가 control보다 인산의 流出速度가 크나, 60分이 지나면 KCN을 처리한 뿌리의 細胞의 磷酸流出速度가 control보다 減少되는 現象을 보였다. 그러나 KCN에 의하여 磷酸

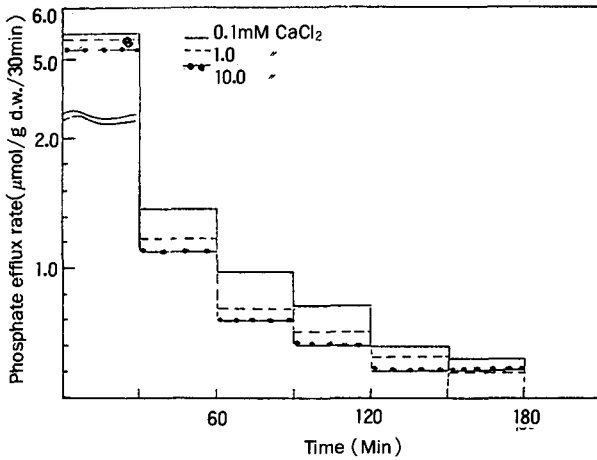


Fig. 8. Effect of CaCl_2 on phosphate efflux rate by excised rice roots. Uptake period, 24 hr.

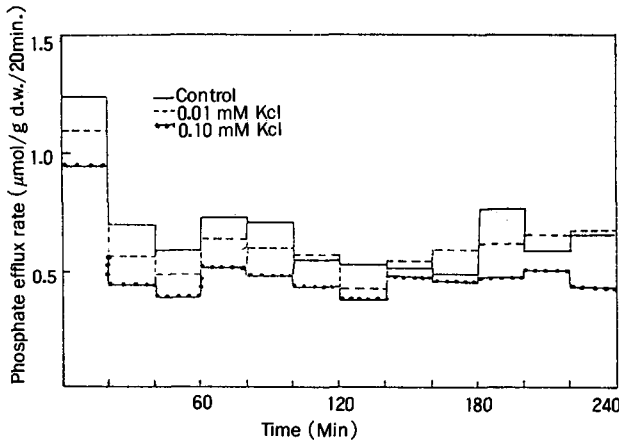


Fig. 9. Effect of KCl on phosphate efflux rate by excised rice roots. Uptake period, 24 hr.

流出速度의 變化 pattern에는 영향을 주지 않았다. 처음 60분 동안 KCN을 처리함으로써呼吸이 억제된 조건에서 磷酸流出速度가 control보다 더 크게 나타난 것은 細胞의 代謝速度가 減少된 상태에서 보리(Hiatt and Lowe, 1967;Nassey, 1971)와 옥수수(Marschner, Handley and Overstreet, 1966)에서 K^+ 이 급속하게 流出된다는 報告와 一致하는 것이다. 그런데 Fig. 7에서 60분이 지난 다음부터는 KCN을 처리한 경우의 磷酸流出速度가 減少된 것은 KCN처리에 의하여 일단 細胞內的 遊離磷酸量이 급격히 減少되었고 새로운 유리인산의 공급원이 될 수 있는 磷酸代謝過程이 억제되었기 때문이라고 생각된다. 그러나 KCN에 의하여 복잡한 磷酸代謝過程이 완전히 억제되기 보다는 그 일부만이 抑制되었기 때문에 磷酸流出速度의 變化 pattern은 크게 변하지 않고 流出되는 磷酸의 量만 減少되는 것으로 생각된다.

Fig. 8은 Fig. 6과 同一한 方法에 의하여 벼의 excised roots의 磷酸流出現象에 미치는 CaCl_2 의 효과를 表示한 것이다. CaCl_2 의 濃도가 0.1mM, 1.0mM 및 10mM로 증가할수록 磷酸流出速度는 減少되었다. Harley 등(1965)은 옥수수의 뿌리에서 Na^+ 의 流出이 Ca^{2+} 에 의해서 減少된다고 보고하였고, Nassery & Harley(1969)는 磷酸의 流出現象에서도 同一한 結果를 얻었다. Ca^{2+} 에 의한 여러가지 이온의 流出速度의 減少效果는 細胞膜의 透過度의 減少에 기인하는 것으로 해석된다.

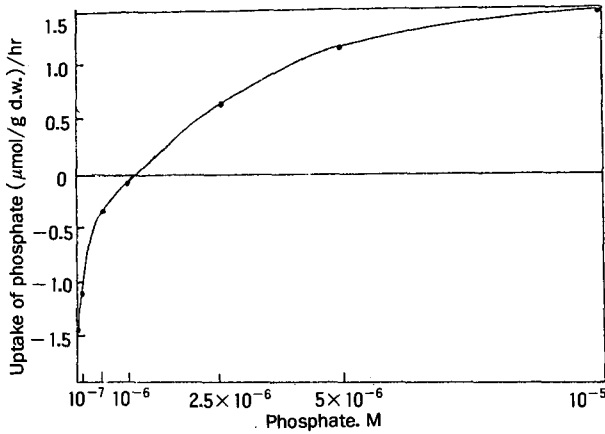


Fig. 10. Uptake of phosphate by excised roots of rice plant.

Fig. 9는 Fig. 6과 동일한 방법에 의하여 벼의 excised roots에서 KCl에 의하여抑制되는 인산염류出現象을表示한 것이다. KCl의濃도가 증가할수록 인산염류速度가抑制되는 경향을 나타냈다. 이러한結果는 Urtica의 뿌리에서 1mM KCl을 처리했을 때 인산염의吸收는 증가하였고, 流出은減少되었다는 Nasseny와 Harley(1969)의報告와一致하는 것이다. KCl에 의한 인산염吸收와 流出의減少效果는 KCl에 의해서細胞膜에 결합되어 있는 ATPase의活性을 증진시킴으로써吸收를 증진시킨 것으로 생각된다(Roger *et al.*, 1975).

Fig. 10은 벼의 excised roots를低濃度の 인산염溶液속에서吸收시킨結果를表示한 것이다.細胞外部의 인산염濃도가 $1.3\mu\text{M}$ 이하일 때는細胞로부터의流出量이吸收量보다크게 나타났다.

즉 $1.3\mu\text{M}$ 의濃도로細胞外部에 인산염이存在하면, 벼의 뿌리세포는 인산염의吸收와 流出이平衡을 이루었다.本實驗의結果에 의하면, $0.05\mu\text{M}$, $0.1\mu\text{M}$, $1\mu\text{M}$ 및 $2.5\mu\text{M}$ 의 인산염濃度에서 각각 일정 시간吸收시켰을 때, 이吸收溶液은 모두 $1.2\sim 1.7\mu\text{M}$ 의濃도로平衡을 이루게 되었다.

이러한現象은 Nitella, Spirodella 그리고 Lagarosiphon를 각각 0.1, 1 및 $10\mu\text{M}$ 의 인산염溶液에서吸收시켰을 때 각濃도의吸收溶液은 $0.3\sim 0.5\mu\text{M}$ 로平衡을 이루었다는報告와 일치하는現象이다(Bialeski, 1973).

論 議

本實驗의結果에 의하면 벼의 excised roots의細胞에서 일어나는 인산염류出現象은初期에는 급속하게 일어나고 40分 후에는 완만한 경향을 보였다(Fig. 1). 초기의 급속한 流出現象은細胞質로부터 인산염이 流出되면서 plasmalemma에 의해서 그速度가 조절되고, 40分 후의 완만한 경향은液胞속에 있던 인산염의 流出이 주로 tonoplast에 의해서 속도가 조절되기 때문이라고 생각된다. 이러한現象은 보리와 콩의 excised roots에서 일어나는 Na^+ 와 K^+ 의 流出現象에서報告된 것과一致되는 것이다(Handley, Vidal and Overstreet, 1960 ; Handley, Metwally and Overstreet, 1965 ; Hiatt and Lowe, 1967 ; Etherton, 1967 ; Greenshpan and Kessler, 1970 ; Nassery, 1971). 초기의 급속한 流出現象이細胞質에서 流出되는 것으로 plasmalemma에 의해서 속도가 조절된다고 생각할 수 있는 것은 실험과정에서 HCl로 처리하고 10分간 세척하여 free space에는 인산염이 거의 모두 제거되었기 때문이다. 또 Fig. 7에서 보는 바와 같이 2mM의

KCN을 처리한 결과, 처음 60분 동안은 control보다 流出速度가 크게 나타났다. 이 결과는 KCN에 의하여 細胞質의 代謝速度가 감소되었기 때문에 再吸收는 억제되고 流出速度는 더욱 크게 일어난 것이며, 이러한 現象은 初期의 급속한 인산유출현상이 細胞質의 代謝速度와 관련되어 있는 것으로 생각할 수 있다. 결국 초기의 급속한 인산유출과정은 細胞質에서 plasmalemma를 통해서 流出이 조절되는 과정이라고 간주할 수 있다.

벼의 뿌리에서 일어나는 磷酸流出現象은 日週期를 갖는 circadian rhythm을 나타냈으며 (Fig. 4), 짧은 시간 동안에 생기는 磷酸의 吸收와 流出의 oscillation 現象도 볼 수 있었다(Fig. 2와 3). 24시간 동안 인산을 吸收시킨 intact plant roots로부터 일어나는 磷酸流出現象은 7시간 이상 계속 流出이 증가되었으나 初期의 2시간 동안은 급속하고 안정된 流出現象을 나타내었다 (Fig. 2).

세포질내에 인산이 충분히 存在하므로 吸收量보다는 流出量이 훨씬 크기 때문에 流出現象은 安定性을 나타내었다. 그러나 2시간이 지난 후부터는 細胞質內에 남아있는 인산의 양이 충분하지 못하므로 流出量은 적은데 비해서 再吸收量이 크기 때문에 吸收와 流出의 상호관계로 oscillation이 강하게 나타난 것으로 해석된다.

Fig. 2에서 2시간 동안 磷酸을 吸收시킨 다음 流出시키면, 1시간까지는 역시 급속하고 안정된 流出現象을 보인다. 그런데 이 再吸收過程에서도 심한 oscillation 現象을 볼 수 있었고 이는 처음에 인산의 流出이 受動的으로 크게 일어나 細胞內部와 外部는 곧 平衡을 이룬 다음 細胞內部에 일어나는 인산대사과정에 의해 인산은 再吸收가 되는 것이다. 初期의 급속한 인산유출은 能動的인 인산의 再吸收보다도 受動的인 인산의 流出이 크기 때문이다. 만약 초기의 급속한 유출현상이 단순한 충격에 의한 것이며 細胞內의 代謝過程과는 전혀 무관하다면 일단 受動的인 平衡을 이룬 1시간 후에 일어나는 再吸收過程에서는 吸收와 流出의 oscillation 現象은 없어야 한다. Fig. 3에서도 Fig. 2에서와 같이 인산의 유출은 처음 2시간 동안은 급속하고 안정되게 일어나는 것을 보여 준다. 2시간이 지난 후에는 안정성을 잃어버렸다. Intact plant root (Fig. 2)와 excised roots (Fig. 3)에서의 磷酸流出現象은 同一하게 나타나지만 磷酸의 流出量에는 差異가 있다. 24시간 동안 인산을 吸收시킨 intact plant roots에서 流出되는 인산의 量 (Fig. 2)이 excised roots에서 流出되는 인산의 量 (Fig. 3)의 4배가 되었다. 이것은 여러 가지의 植物器官이 상호 관련됨으로써 인산의 吸收와 流出量이 증가되기 때문이라고 생각된다.

Ca^{2+} 에 의한 流出現象의 抑制效果는 많이 보고되었다 (Handley, Metwally and Overstreet, 1965; Nassery, 1971; Epstein, 1972). Ca^{2+} 은 能動的인 이온의 吸收를 촉진시키고 細胞膜의 透過度를 減少시키는 효과가 일반적으로 알려졌다 (Epstein, 1972). 본 실험의 결과에서도 Ca^{2+} 의 농도가 높을수록 磷酸流出現象을 抑制시켰다. 이런 現象은 Ca^{2+} 이 細胞膜의 透過度를 減少시켜 인산의 受動的인 流出을 억제시키는 대신, 인산의 能動的인 再吸收過程을 촉진시키기 때문이다. 이러한 磷酸流出의 Ca^{2+} 에 의한 抑制效果는 Nassery와 Harley (1969)의 보고와도 일치하는 것이다.

KCl에 의해서도 磷酸의 流出現象이 감소되었다 (Fig. 9). 이러한 現象은 Roger 등 (1975)에 의해서 보고된, KCl에 의해서 細胞膜에 결합되어 있는 ATPase의 活性을 증진시켜서 이온의 吸收를 증가시킨다는 보고와 일치하는 것이다. 즉 KCl에 의해서 ATPase가 증진되고 그럼으로써 인산의 再吸收가 촉진되기 때문에 인산의 流出은 억제된다고 해석된다. KCl에 의하여 인산의 流出이 억제된다는 것은 Nassery와 Harley (1969)의 보고와도 일치하는 현상이다.

Fig. 7에서 KCN에 의하여 처음 60분 동안은 인산의 流出이 control보다 크게 일어나고, 그 후

에는 오히려 control보다 감소되었다. 이런 현상은 KCN이 인산의 대사과정을 억제함으로써 再吸收가 감소되었기 때문에 인산의 受動的인 流出은 더 크게 나타나는 것으로, 초기의 인산유출은 再吸收過程과는 독립적으로 일어나는 것으로 생각된다. 그러나 60分이 지난 후에는 오히려 流出速度가 control보다 감소되는 것은 KCN에 의하여 인산대사 과정이 억제됨으로써 유출될 수 있는 遊離磷酸이 계속 공급될 수 없기 때문이라고 생각된다. 따라서 인산의 流出過程은 受動的으로 일어날 수 있지만, 그 流出量을 조절하는 細胞質內의 遊離磷酸量은 細胞質의 磷酸代謝過程과 관련되어 있는 것으로 해석된다. KCN에 의해서 유발되는 인산의 급속한 유출현상은 Hiatt와 Lowe (1967)가 $10^{-5}M$ DNP를 처리함으로써 보리의 뿌리에서 K^+ , Cl^- 및 organic acid의 급속한 유출이 6시간 동안 지속되었다는 보고와 일치하는 현상이다.

Fig. 7, 8 및 9에서 KCN, $CaCl_2$ 및 KCl에 의해서 나타난 인산유출에 미치는 효과를 분석해 본 결과, 인산의 吸收와 流出은 서로 다른 特性을 갖는 作用에 의하여 이루어지는 것으로 생각된다. 細胞膜을 통한 ion-transport에는 能動的인 과정과 受動的인 과정이 同時에 存在한다. 그런데 벼의 뿌리세포에서 일어나는 吸收는 能動的인 吸收와 受動的인 吸收가 동시에 複合的으로 일어날 수 있다. 그러나 인산의 流出은 受動的인 作用에 의해서만 일어나는 것으로 생각된다. Fig. 10은 인산유출이 受動的인 作用에 의해서 일어나는 것을 보여 준다. 벼의 excised roots를 $0.05\mu M$, $0.1\mu M$, $1\mu M$ 및 $2.5\mu M$ 의 인산용액에서 1시간 동안 흡수시키면, 각 농도의 인산용액은 모두 $1.2\sim 1.7\mu M$ 의 인산농도로 平衡을 이루게 되었다. 이러한 현상은 Bieleski(1973)의 보고와 일치하는 것이다. 즉 細胞外部에 $1.3\mu M$ 이하의 인산농도가 존재하면 細胞質內에 있던 인산이 밖으로 유출될 수 있었다. 즉 벼의 뿌리세포에는 유출될 수 있는 遊離磷酸이 $1.3\mu M$ 정도로 存在한다는 것을 나타낸다. 그래서 $1.3\mu M$ 이하의 吸收溶液에서는 細胞質속의 인산이 受動的으로 流出되어서 外部와 平衡을 유지하게 된 것으로 해석된다. 일단 平衡을 이룬 다음에는 細胞內部의 조건에 따라 변하는 인산의 流出現象에 의하여 뿌리의 外部環境도 변하게 될 것이다. 이렇게 해서 생긴 결과가 Fig. 2, 3 및 4에 나타난 결과라고 생각된다. Fig. 4에 의하면 8~10時에는 인산의 流出이 가장 적게 나타나는 것은 벼의 뿌리에서 인산의 吸收가 가장 왕성하게 일어나고 벼의 다른 기관에서도 인산의 소비가 가장 크게 일어나는데 원인이 있는 光合成과 관련된 現象으로 해석된다. 20~22時에는 반대로 가장 流出이 크게 일어났다. 이것은 8~10時에 일어나는 현상과 반대로서 주로 呼吸과 관련된 것으로 생각된다. 이와 같이 인산의 流出이 受動的인 것으로 吸收機作과는 다른 特性을 갖는다는 것은 Fig. 2의 인산유출 pattern을 분석함으로써도 알 수 있다. 2시간 동안 인산을 吸收시킨 다음 流出實驗을 하였을 때 再吸收過程에서 생기는 oscillation現象에서 再吸收部分과 流出部分을 모식적으로 表示한 것이 Fig. 11이다.

流出에 비해 再吸收는 완만한 경향을 보여준다. 같은 양의 인산이 再吸收되는 시간이 流出되

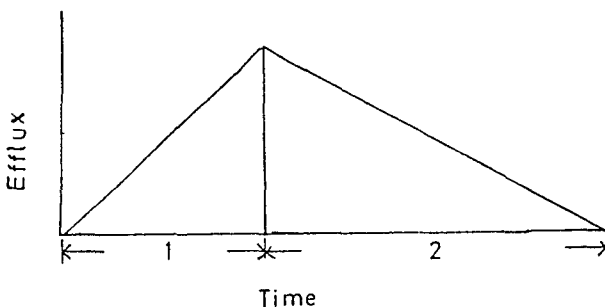


Fig. 11. Pattern of phosphate flux by rice roots.

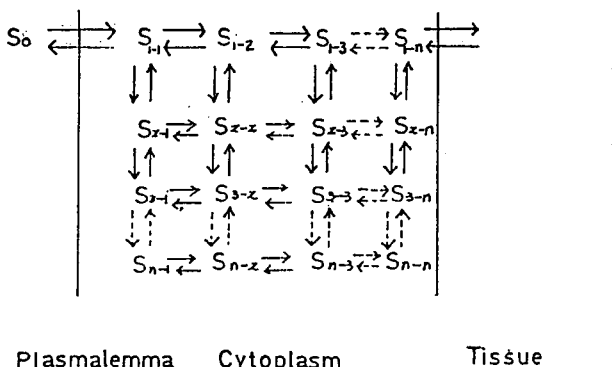


Fig. 12. A mechanism into the convenient closed loop type of geometric array for interpretation of phosphate oscillation.

는 시간보다 2배나 더 걸린다. 즉 細胞內部의 遊離磷酸量이 細胞外部보다 농도가 높을 때는 擴散에 의하여 급속히 유출되어 受動的인 平衡이 이루어지면 細胞內의 磷酸代謝過程에서 인산이 소비됨으로써 能動的인 再吸收가 일어나는 것으로 생각된다. 그러나 再吸收過程은 細胞內의 磷酸代謝過程에 따라 그 속도가 조절되는 것으로, 인산대사속도가 변함에 따라 再吸收와 流出的 속도는 변하게 될 것으로 생각된다. 이러한 인산대사 속도의 변화에 의해서 생기는 吸收와 流出的 속도 변화는 oscillation 현상으로 나타나는 것으로 해석된다.

벼의 뿌리세포에서 일어나는 磷酸吸收와 流出的 oscillation 現象은 Figs. 2, 3, 6, 7에 나타났다. 특히 Fig. 5에 나타난 결과에 의해서 제시된 方法에 의하여 行한 磷酸流出實驗結果에 의하면 벼의 뿌리세포에서 oscillation 現象이 存在할 수 있다는 증거를 제시해 주는 것으로 생각된다. Figs. 6과 7에서 나타난 결과를 보면, 시간이 경과함에 따라 磷酸流出速度는 단순히 減少되기만 하는 것이 아니라 몇 번의 流出速度의 증가현상을 보였다. 인산의 流出現象이 단순히 擴散에 의해서 細胞內의 대사과정과는 무관하게 항상 일어나는 것이라면 이러한 결과를 얻을 수 없을 것이다. 그러나 인산의 流出機作은 受動的인 作用이지만 細胞質內에 存在하는 流出될 수 있는 遊離磷酸의 量은 細胞代謝速度의 변화에 따라 항상 변하므로 그에 따라서 인산유출속도 역시 변하게 되는 것으로 생각된다. Fig. 12는 細胞內에서 일어날 수 있는 복잡한 磷酸代謝過程을 모식적으로 表示한 것이다.

Fig. 12에서 보는 바와 같이 여러 단계의 인산대사 과정에서 생기는 流出될 수 있는 상태의 遊離磷酸의 量이 시간에 따라 다양하게 변하게 될 것으로 생각된다.

그러므로 流出되는 磷酸量도 시간에 따라 다양하게 변하는 것이다. 이러한 磷酸의 流出과 吸收의 시간에 따른 速度變化가 oscillation 現象으로 나타나는 것으로 해석된다. 이러한 磷酸의 吸收와 流出的 特性을 이용한 平衡을 유지할 수 있음으로써 植物生長에 중요한 意義를 가질 수 있을 것으로 생각된다.

摘 要

本 研究에서는 *Oryza sativa*(Tongil)의 磷酸流出現象을 動力學的으로 分析하여 磷酸流出的 機作을 밝히고 磷酸의 吸收와 流出的 oscillation 現象을 研究하였으며 그 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 7日된 벼의 seedling의 intact plant roots와 excised roots에서 일어나는 磷酸流出現象은

cytoplasm과 vacuole에 해당하는 2個의 phase로 구별되어 나타났다.

2. 벼의 인산流出現象은 KCN에 의하여 初期에는 촉진되나 60分 후에는 抑制되었으며 CaCl_2 와 KCl의 경우에는 濃도가 높을수록 인산流出이 抑制되었다.
3. 벼의 뿌리세포에서 일어나는 인산流出機作은 受動的인 作用에 의하여 이루어진다고 推定된다.
4. 벼의 뿌리세포의 인산流出機作은 日週期를 갖는 circadian rhythm을 나타낼 뿐만 아니라 짧은 時間에서도 oscillation 現象을 나타냄을 發見하였다.
5. 통일벼의 경우 $1.3\mu\text{M}$ 의 인산濃度에서 인산의 吸收와 流出이 平衡狀態에 도달하였다.

引用文獻

1. Arthur, P. 1966. Purification and properties of a sulfate binding protein from *Salmonella typhimurium*. J. Biol. Chem., 241:5886-5892.
2. Arthur, P. 1967. Crystalization of a sulfato-binding protein (Permease) from *Salmonella typhimurium*.
3. Bialeski, R. L. 1973. Phosphate pllos, phosphate transport, and phosphate availability. Ann. Rev. Plant Physiol., 24:225-252.
4. Epstein, E. 1961. The essential role of calcium in selective cation transport by plant cells. Plant Physiol., 36:437-444.
5. Epstein, E. 1972. Mineral nutrition fo plants:Principles and perspectives. Wiley, New York.
6. Epstein, E., and C. E. Hagen. 1952. A kinetic stydy of the absorption of alkali cations by barley roots. Plant Physiol., 27:458-474.
7. Etherton, B. 1963. Relationship of cell transmembrane electro potential to potassium and sodum accumulation ratios in oat and pea. seedlings. Plant Physiol., 38:581-585.
8. Greenshpan, H. and B. Kessler. 1970. Sodium fluxes in excised citrus roots under steady-state conditions, with particular reference to salinity resistance. J. Exp. Bot., 21:360-370.
9. Greenway, H., B. Klepper and P. G. Hughes. 1968. Effects of low water potential on ion uptake and loss for excised roots. Planta., 80:129.
10. Handley, R., A. Metwally and R. Overstreet. 1965. Effect of Ca upon metaolic uptake of sodium in roots of *Zea mays*. Plant Physiol., 40:513.
11. Harley, J. L. and J. M. Wilson. 1959. The absorption of potassium by beech mycorrhiza. New Phytol., 58:281.
12. Hanson, J. B. 1960. Impairment of respiration, ion accumulation, and ion retention in root tissue treated with ribonuclease and ethylenedi amine tetra acetic acid. Plant Physiol., 35:372-379.
13. Hiatt, A. J. and R. H. Lowe. 1967. Loss of organic acids, anaerobically or with metabolic inhibitors. Plant Physiol., 42:1731-1736.
14. Higinbotham, N. 1973. The mineral absorption process in plants. The Bot. Rev.,

39:15-69.

15. Hope, A. B. 1971. Ion transport and Membranes. Butterworths, London.
16. Jeschke, W. D. 1970. Evidence for a K^+ -stimulated Na^+ -efflux at the plasmalemma of barley root cells. *Planta*, 94:240-245.
17. Marschner, H., R. Handley and R. Overstreet. 1966. Potassium loss and changes in the fine structure of corn root tips induced by H ion. *Plant Physiol.*, 41:1725-1735.
18. Nassery, H. 1971. Some aspects of potassium loss from excised barley roots. *New Phytol.*, 70:113-117.
19. Nassery, H. 1972. The loss of potassium and sodium from excised barley and bean roots. *New Phytol.*, 71:269-274.
20. Nassery, H. and J. L. Harley. 1969. Phosphate absorption by plants from habits of different phosphate status. I. Absorption and incorporation of phosphate by the excised roots. *New Phytol.*, 68:13-20.
21. Nassery, H. and D. A. Baker. 1972. Extrusion of sodium ions by barley root. I. Characteristics of the extrusion mechanism. *Ann. Bot.*, 36:881-887. II. The effect of high salinity on long distance sodium ion transport. *Ann. Bot.*, 38:141-144.
22. Nissen, P. 1973. Multiphasic uptake in plants. I. Phosphate and sulfate. *Physiol. plant.*, 28:304-316.
23. Njus, D., M. S. Frank and J. W. Hastings. 1974. Membrane model for the circadian clock *Nature*, 248:116-120.
24. Pitman, M. G. and H. D. W. Saddler. 1967. Active sodium and potassium transport in cells of barley roots. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, 57:44-49.
25. Roger, A. L., A. W. Francis and R. Gareth Wyn Johnes, 1975. Presence of two different membrane-bound, KCl-stimulated adenosine triphosphatase activities in Maize roots. *Plant Physiol.*, 55:678-685.
26. Satter, R. L. and A. W. Galston. 1971. Phytochrome controlled nyctinasty in *Albizia julibrissin*. III. Interaction between an endogenous rhythm and phytochrome in control of potassium flux and leaflet movement. *Plant Physiol.*, 48:740-746.
27. Smith, R. C., St. John, B. H. and R. Parrondo. 1973. Influence of mannitol on absorption and retention of rubidium by excised corn roots. *Amer. J. Bot.*, 60:839.
28. Sweeney, B. M. 1969. Rhythmic phenomena in plants. Academic press, New York.
29. Weigl, J. 1967. Beweis für die Beteiligung von beweglichen Transportstrukturen (Trägern) beim Ionentransport durch pflanzliche Membranen und die Kinetik des Anionentransports bei Elodea in Licht und Dunkeln. *Planta*. 75:327-342.
30. Yasuniro, A. 1968. Transport of sugars and amino acids in Bacteria. I. Purification and specificity of the galactose and leucine-binding proteins. *J. Biol. Chem.*, 243: 3116-3122.