

## Dimethipin이 양파 表皮細胞의 Osmotic Ground Value 및 Passive Permeability에 미치는 影響

文炳鎔·權寧命

(서울대학교 自然科學大學 植物學科)

## Effects of Dimethipin on the Osmotic Ground Value and Passive Permeability of Onion Epidermal Cells

Moon, Byoung Yong and Young Myung Kwon

(Department of Botany, Seoul National University, Seoul)

### ABSTRACT

The effects of the defoliant and desiccant dimethipin(2,3-dihydro-5,6-dimethyl-1,4-dithiin-1,1,4,4-tetraoxide) on the passive permeability and osmotic ground value of onion(*Allium cepa* L.) epidermal cells were investigated by plasmometric method.

The osmotic ground value and the water permeability of onion epidermal cells were decreased by 9.8% and 41.2%, respectively, and the passive permeabilities of nonelectrolytes—urea, methylurea, ethylurea and malonamide—were also decreased by the range of 15.7%~57.8% after treatment with  $10^{-3}$  M dimethipin.

After treatment with  $10^{-4}$ M dimethipin, the osmotic ground value and the solute permeability of onion epidermal cells were also decreased by 3.7% and 24.5%~48.8%, respectively, but the water permeability of onion epidermal cells was increased by 8.3%.

It was suggested that dimethipin treatment modified the cell membrane of onion epidermis.

### 緒 論

Dimethipin(2,3-dihydro-5,6-dimethyl-1,4-dithiin-1,1,4,4-tetraoxide)은 감자(*Solanum tuberosum* L.)의 덩굴 건조제 및 목화(*Gossypium* sp.)의 낙엽촉진제로서 또는 감자에 대하여 선택적으로 작용하는 preemergence herbicide로서의 작용이 있는 것으로 알려져왔다(Bell et al., 1975). 뿐만아니라, dimethipin은 강낭콩(*Phaseolus vulgaris* L.)과 coleus(*Coleus blumei* L.) 엽병의 離層에서 cellulase의 활성을 억제하는 한편(Reid, 1976), 단백질 합성을 억제하며 이러한 효과는 빛의 존재하에서 감소된다고 한다(Keng and Metzger, 1985). Dimethipin에 의한 대두(*Glycine max* L. Merr. cv. Hill)의 성장 억제는 질소대사 또는 2차산물 대사에 관여하는 효소의 활성이 저해됨으로써 나타나는 것으로 알려지고 있다(Hoagland, 1984). 최근에는 보리(*Hordeum vulgare* L. cv. Baccdong)의 발아 및 생장에 대한 dimethipin의 억제효과와 더불어 분

※ 본 연구는 학술진흥재단의 연구비 보조로 이루어진 것임.

리엽록체의 전자전달 활성 역시 저하됨이 알려졌다(Lee, 1987).

Dimethipin이 가지는 주된 생물학적 효과의 하나로서, 벼(*Oryza sativa* L.)의 성숙 또는 노화 촉진 현상을 들 수 있는데(Ames *et al.*, 1982), 벼의 경우 수확시기에 종자내의 수분함량을 감소시킴으로써 수확기를 앞당기게 할 수 있음이 알려져 있다. 이와 같은 건조제로서의 활성은 감자의 경우, 덩굴건조에 이용되는데 처리후 14일 이내에 수확이 가능하게 하여준다(Technical bulletin, Uniroyal Chemical Co., 1982). Dimethipin의 이러한 효과는 주로 농업 분야에서 연구되어 온 바, 세포수준의 생리적 또는 생화학적 조사는 아직 많지 않으며, 특히 세포의 막투과도와 관련된 연구는 전혀 이루어지지 않은 실정이다.

세포막의 투과도는 막의 구조에 의해 결정되며 투과하는 용질의 종류와 성질에 따라 크게 달라진다. 특히 비전해질의 투과는 막의 인지질에 있는 비극성 부위의 영향을 크게 받는다(Collander, 1954; Wright and Pietras, 1974). 또한, 건조제와 같은 유기화합물에 의해서도 세포막의 투과도가 변할 수 있다고 한다(Chung, 1980; Feng, 1974; Stadelmann, 1977). 비극성 용매에 쉽게 용해하는 dimethipin이 세포막의 lipophilic한 phase와 상호작용할 가능성은 충분한 것으로 보인다. 따라서, 본 실험에서는 dimethipin이 나타내는 건조제로서의 활성에 유의하면서 양파 표피세포의 osmotic ground value(Og)에 미치는 dimethipin의 영향을 조사하고 아울러 비전해질을 이용하여 passive permeability에 대한 효과를 실험하고자 하였다.

## 材料 및 方法

**實驗材料.** 본 실험에서 사용한 양파(*Allium cepa* L.)는 수확기에 시중에서 구입하여 냉장보관했던 것으로 鱗莖의 외측에서 세번째 鱗片의 내측표피만을 사용하였다.

예리한 편도칼로 鱗片의 表皮부분을 6mm×6mm로 자른 다음, 5mM의 CaCl<sub>2</sub>가 포함된 25mM의 KCl용액에 넣고 aspirator를 이용, 5분간 감압하여 細胞間隙에 있는 공기를 제거하면서 표피와 하부 유조직과의 분리를 용이하게 하였다. 유조직으로부터 떼어낸 표피절편들은 조성이 서로 다른 각각의 용액에 16시간 동안 浮游시킨 후 실험에 사용하였다. 이 때, 서로 인접한 부위에서 얻은 절편은 각각 한 실험의 對照區와 實驗區에 사용함으로써 가급적 시료의 균질성을 유지하였다(Lec and Kwon, 1982; Moon, 1983; Stadelmann, 1966).

**Dimethipin의 처리.** 양파 표피세포의 투과도에 미치는 dimethipin의 영향을 조사하기 위하여 10mM CaCl<sub>2</sub>와 KCl 및 1% sucrose가 포함된 2.5mM Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-phosphate 완충용액(pH 6.0)에 10<sup>-6</sup>M~10<sup>-3</sup>M 범위의 농도가 되도록 dimethipin을 첨가한 용액을 사용하였다. 對照區에서는 dimethipin만을 제거한 용액을 사용하였고, 처리는 25°C, 암조건에서 시행하였다.

**Osmotic ground value(Og)의 측정.** Dimethipin의 처리가 끝난 表皮切片은 먼저 0.3M 포도당 용액에 20분간 넣은 다음, 다시 0.8M의 포도당 용액에 옮겨 약 1시간 동안 原形質分離를 일으켰다. 이렇게 준비된 切片을 perfusion chamber에 넣어 봉하고 0.8M의 포도당 용액을 삼투평형이 일어날 때까지 계속 일정한 속도로 공급하여 평형상태가 되면 현미경(×400)으로 알맞은 크기의 長方形 세포를 골라 原形質의 길이, 세포의 폭 및 세포의 길이를 측정하여 osmotic ground value(Og)를 구하였다(Stadelmann, 1966). 이 때, 매 실험마다 10~20개씩의 세포를 대상으로 하였다(Chung, 1980; Kwon and Son, 1984).

**수분 및 溶質투과도의 측정.** 수분투과도는 처리가 끝난 表皮切片을 0.3, 0.6, 그리고 1.0M

포도당에 연속해서 옮겨 넣고 각각 20, 30, 60분씩 두어 농도변화에 따른 급격한 충격이 적은 조건에서 原形質分離를 일으킨 후, perfusion chamber에서 0.6M 포도당 용액을 통과시킬 때 일어나는 原形質의 길이 변화로부터 산출하였다(Stadelmann, 1966).

Urea, methylurea, ethylurea 및 malonamide를 사용한 용질투과도 실험은 처리가 끝난 양파의 표피절편을 0.3, 0.6 및 0.8M 포도당 용액으로 원형질분리를 일으킨 다음, 0.9 osM에 해당하는 각각의 용질의 용액을 통과시킨 때 일어나는 원형질의 길이 변화로부터 각 용질의 투과도를 산출하였다(Stadelmann, 1951).

### 結果 및 考察

**Osmotic ground value(Og).** Og는 세포액 농도 혹은 세포의 삼투퍼텐셜을 반영하는 것으로(Stadelmann, 1966), 세포내의 용질 혹은 이온함량의 척도가 된다. Dimethipin을  $10^{-3}$ M로 처리하였을 때 양파 세포의 Og는 대조구에 비해 9.8% 감소하였고,  $10^{-6}$  내지  $10^{-4}$ M의 범위에서는 1.0~3.7% 감소하였다(Table 1).

양파의 표피세포에 있어서 IAA 처리에 의한 Og의 증가는 IAA에 의한 이온 흡수의 촉진 때문이며(Lee and Kwon, 1982),  $Ca^{++}$ 과 benzyladenine의 처리에 의한 Og의 증가 역시 이온의 흡수에 기인한 것이라고 했다(Moon, 1983). Og의 변화는 이와같이 세포의 이온 흡수나 유출과 관계가 있으며(Feng and Unger, 1972), 이러한 관점에서 볼 때, dimethipin( $10^{-3}$ M) 처리에 의한 Og의 감소는 세포로부터 이온이 유출된 결과라고 해석된다.

**Table 1.** Osmotic ground value of onion epidermal cells after treatment with various concentrations of dimethipin

Dimethipin, M	$O_g \times 10^{-3}$ , osM
0	429 ± 3.7
$10^{-6}$	415 ± 7.0
$10^{-5}$	427 ± 7.0
$10^{-4}$	413 ± 4.0
$10^{-3}$	387 ± 4.0

More than 20 cells were evaluated for each experiment. As plasmolyticum, 0.8 molar glucose was used.

**수분 투과도** 양파의 표피세포에  $10^{-4}$ M,  $5 \times 10^{-4}$ M,  $10^{-3}$ M의 dimethipin을 각각 처리한 후 수분 투과도를 측정하였다(Table 2).  $10^{-4}$ M 및  $5 \times 10^{-4}$ M의 dimethipin은 수분 투과도를 각각 7.6%, 10.9% 증가시켰으나  $10^{-3}$ M의 dimethipin은 41.2% 감소시켰다. Dimethipin( $10^{-3}$ M)은 강낭콩 열병의 표피절편에서도 수분 투과도를 77% 감소시킨 바 있다(미발표).

세포막을 통한 수분의 투과는 세포막의 lipid phase를 통한 수동적 확산 현상이다(Stadelmann, 1977). 또한, 수분의 세포막 투과 속도는 막의 lipid성분 중 탄화수소의 길이에 반비례하며 탄화수소에 대한 water coefficient와 water partition coefficient에 비례한다(Peterson, 1980; Finkclstein, 1976). 이와 관련지어 볼때, dimethipin 처리로 인한 수분 투과도

**Table 2.** Water permeability constants of onion epidermal cells after treatment with various concentrations of dimethipin

Dimethipin, M	Water permeability constant, $\times 10^{-4}$ cm/sec
0	8.34 $\pm$ 0.6
10 <sup>-4</sup>	9.03 $\pm$ 0.6
5 $\times$ 10 <sup>-4</sup>	9.36 $\pm$ 0.5
10 <sup>-3</sup>	4.90 $\pm$ 0.6

Each data represents the mean  $\pm$  S.D. from 3-15 experiments.

**Table 3.** Solute permeability of onion epidermal cells after treatment with various concentrations of dimethipin, measured in 10<sup>-9</sup> cm/sec

Dimethipin, M	Solutes			
	Urea	Methylurea	Ethylurea	Malonamide
0	3.71 $\pm$ 0.2	30.6 $\pm$ 2.0	145.9 $\pm$ 30.5	0.63 $\pm$ 0.1
10 <sup>-6</sup>	3.40 $\pm$ 0.2	37.9 $\pm$ 3.0	110.0 $\pm$ 20.3	0.40 $\pm$ 0.1
10 <sup>-3</sup>	3.14 $\pm$ 0.2	20.0 $\pm$ 1.9	121.4 $\pm$ 17.5	0.51 $\pm$ 0.1
10 <sup>-4</sup>	2.80 $\pm$ 0.3	21.02.0	74.7 $\pm$ 28.7	0.34 $\pm$ 0.1
10 <sup>-3</sup>	1.98 $\pm$ 0.3	12.9 $\pm$ 2.4	123.0 $\pm$ 14.6	0.41 $\pm$ 0.1

의 감소는 dimethipin이 양파 표피세포막의 lipid phase에 작용했기 때문이라 보아지며, 특히 lipid의 성분 중에서 탄화수소사슬의 성질 변화와 관련성이 높을 것으로 보인다.

용질 투과도. Urea, ethylurea 및 malonamide에 대한 양파 표피세포의 투과도는 dimethipin 처리로 모두 낮아졌으며, methylurea의 경우 역시 10<sup>-6</sup>M을 제외한 모든 처리구에서 투과도가 낮아졌다. 10<sup>-6</sup>M로부터 10<sup>-3</sup>M 범위의 dimethipin은 urea 8.4~46.6%, ethylurea 15.7~48.8%, malonamide 19.0~46.0%씩 각각 그 투과도를 감소시켰고, methylurea의 경우 10<sup>-5</sup>M로부터 10<sup>-3</sup>M의 범위에서 31.4~57.8% 감소시켰다(Table 3).

Feng(1973)은 키네틴이 dimethylurea와 malonamide의 투과도에는 변화를 일으키지 못하였으나, 친수성인 thiourea와 urea의 투과도를 증가시킨 것으로 보아 키네틴이 양파 표피세포막의 단백질 부위에 영향을 미쳤다고 하였다. Chung과 Kwon(1982)은 alantolactone이 양파표피세포의 methylurea에 대한 투과도를 증가시켰으나 malonamide에 대한 투과도를 감소시켰고, 이는 alantolactone이 세포막의 lipid phase에 작용한 결과라고 하였으며, IAA 또한 양파 표피세포의 methylurea와 malonamide에 대한 투과성을 감소시킨 점으로 보아 IAA가 세포막의 lipid phase에 작용한 결과로 해석되었다(Lee and Kwon, 1982).

본 실험에서 dimethipin은 methylurea, ethylurea 및 malonamide의 투과도를 감소시켰다. 이와 같은 결과는 dimethipin이 양파 표피세포막의 lipid phase에 작용한 때문으로 보인다. 또한, dimethipin은 urea의 투과도 역시 감소시켰는데, 이는 dimethipin이 세포막의 단백질 부위에도 영향을 미쳤음을 시사해준다. Table 3의 결과에서 용질의 투과도는 용질의 분자량 및 특정용매 계에 대한 분배계수와 상관관계를 갖는다는 사실에 기초하여(Chung, 1980; Wright and

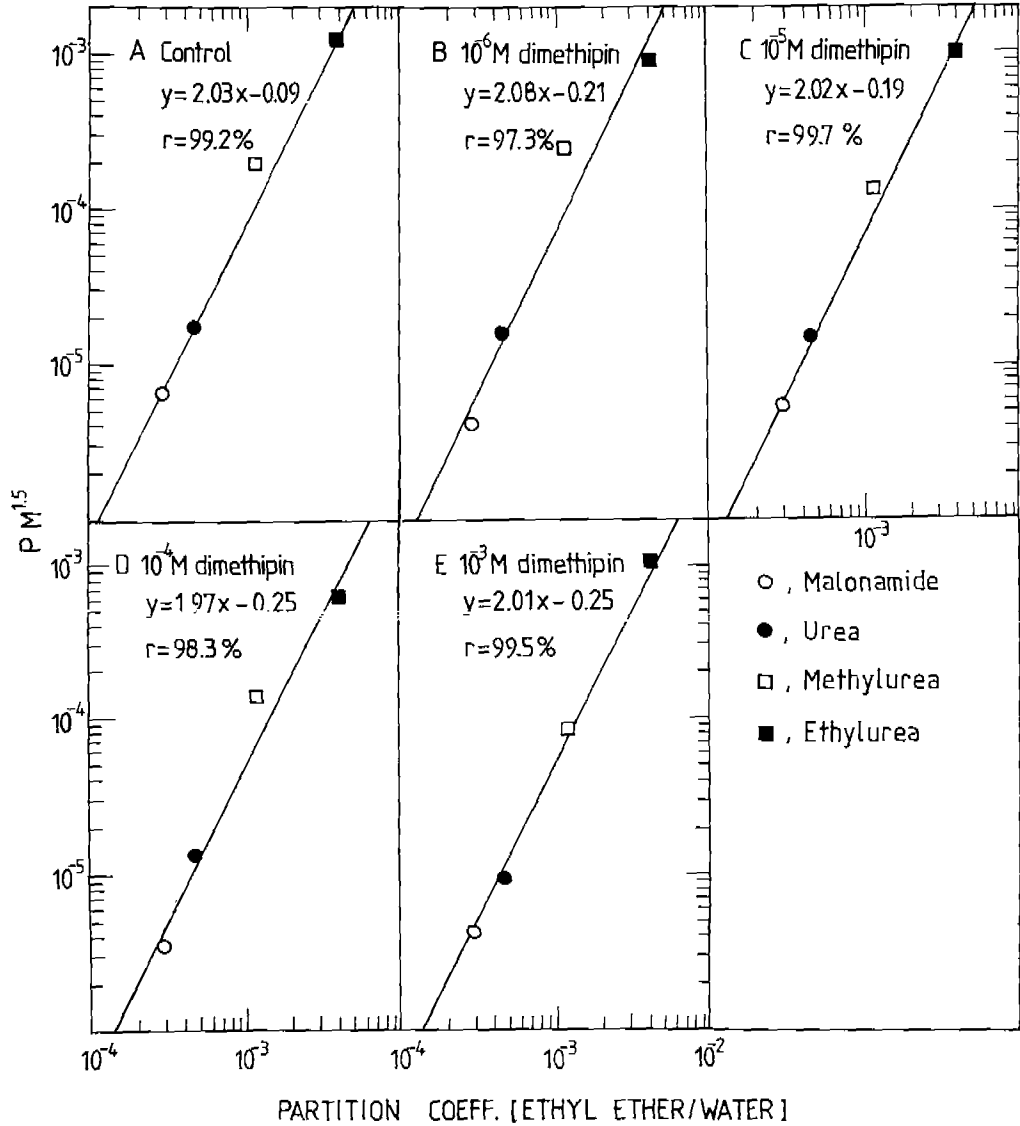


Fig. 1. The correlation between ethyl ether/water partition coefficient and permeability  $\times$ (molecular weight)<sup>1.5</sup>

Pietras, 1974), (투과상수)  $\times$  (분자량)<sup>1.5</sup> 과 용질의 분배계수와와의 상관관계를 Collander(1954)의 식에 따라 log-log表로 나타내어 직선을 얻었다(Fig. 1). 여기에서 기울기는 막의 소수성의 크기를 나타낸다. Ethyl ether/water의 용매체에 대한 분배계수를 사용하여 산출한 직선의 상관계수(Fig. 1)가 olive oil/water의 용매체를 이용한 경우보다 높게 나타났으나 직선의 기울기는 두 용매체 사이에서 비슷하게 나타났다.

Dimethipin 처리 후 양파의 표피세포에서 용질의 투과도 변화에 기초하여 산출한 직선의 기

을기는 Fig.1에서 보는 바와 같이 대조구와 처리구간의 차이가 작게 나타났다. Collander (1954)의 해석에 따라 직선의 기울기 변화는 막의 소수성의 변화와 관련이 있기 때문에, dimethipin 처리후 직선의 기울기 변화가 작았다면, dimethipin에 의한 세포막의 소수성의 변화 정도는 매우 낮았을 것으로 여겨진다.

이상의 투과도 측정실험에서 dimethipin을 처리한 양파 표피세포는 원형질 유동이 관찰되었고, 원형질 복귀가 시간과 직선 관계로 일어난 점, 원형질 복귀후에도 replasmolysis능력을 갖는 점등에 비추어 상해를 받지 않은 세포임을 짐작할 수 있었다(Feng, 1974). 전술한 바와같이 dimethipin은 양파의 표피세포에서 Og를 비롯하여 수분 투과도, 용질 투과도를 감소시켰다. 이는 dimethipin이 세포막의 구성성분에 영향을 미친 결과라고 해석된다.

### 摘 要

Dimethipin(2,3-dihydro-5,6-dimethyl-1,4-dithiin-1,1,4,4-tetraoxide)이 양파 표피세포의 osmotic ground value(Og) 및 passive permeability에 미치는 영향을 조사하였다.  $10^{-3}M$ 의 dimethipin은 양파 표피세포의 Og와 수분 투과도를 각각 9.8%, 41.2% 감소시켰고, 용질(urea, methylurea, ethylurea, malonamide) 투과도는 15.7%~57.8%의 범위로 감소시켰다.  $10^{-4}M$ 의 dimethipin은 수분 투과도를 8.3% 증가시켰고, Og와 용질 투과도를 각각 3.7%, 24.5%~48.8% 감소시켰다. Dimethipin은 양파 세포막의 구성 성분에 작용하여 세포의 투과도를 변화시킨 것으로 보인다.

### 參 考 文 獻

- Ames, R.B., A.R. Blem, J.M. Przbylsek, A.W. Walz and D. Jackson. 1982. Dimethipin: A unique plant maturity regulator for rice and sunflower. *Proc. 1982. British Crop Protection Conf.* **2**: 563-568.
- Bell, A.R., R.B. Amcs, R.W. Neidmyer and A.D. Brewer. 1975. UNI-N252, a new harvest aid chemical and herbicide. *Proc. Northeastern Weed Sci. Soc. Conf.* **29**: 183.
- Chung, I.S. 1980. Effect of BASF13-338 on drought tolerance, osmotic value and passive permeability of cells from *Hordeum vulgare* L. cv. Baedong. M.S. thesis. Seoul National University. pp.1-49.
- Chung, I.S. and Y.M. Kwon. 1982. Effect of alantolactone on the respiration of potato tuber slices. *Korean J. Bot.* **25**(2): 65-72.
- Collander, R. 1954. The permeability of *Nitella* cells to nonelectrolytes. *Physiol. Plant.* **7**: 420-445.
- Feng, K.A. 1973. Effects of kinetin on the permeability of *Allium cepa* cells. *Plant Physiol.* **51**: 868-870.
- Feng, K.A. 1974. Changes of onion epidermal cell permeability due to the treatment with Alanap. *Physiol. Plant.* **32**: 311-314.
- Feng, K.A., and J.W. Unger. 1972. Influence of kinetin on the membrane permeability of *Allium cepa* epidermal cells. *Experientia* **28**: 1310-1311.
- Finkelstein, A. 1976. Water and nonelectrolyte permeability of lipid bilayer membranes. *J. Gen. Physiol.* **68**: 127-135.
- Hoagland, R.E. 1984. Dimethipin(2,3-dihydro-5,6-dimethyl-1,4-dithiin -1,1,4,4-tetraoxide) effects on soybean seedling growth and metabolism. *Plant Cell Physiol.* **25**: 397-405.

- Keng, J. and J.D. Metzger. 1985. Modification of dimethipin action by light. *Plant Physiol. Ann. Suppl.* **77** : 152.
- Kwon, Y.M. and J.H. Son. 1984. Effects of low temperature and BASF 13-338 on the osmotic ground value and solute permeability of barley coleoptile segments. *Proc. Coll. Natur. Sci., SNU.* **9** : 117-125.
- Lee, J.S. 1987. Effects of dimethipin on the growth of barley seedlings and the electron transport activity of isolated barley chloroplasts. M.S. thesis. Seoul National University. pp.1-35.
- Lee, Y.S. and Y.M. Kwon. 1982. Alteration of membrane permeability by IAA and  $Ca^{++}$  milieu in epidermal cells of onion bulb scale. *Proc. Coll. Natur. Sci., SNU.* **7** : 123-132.
- Moon, B.Y. 1983. Effect of benzyladenine on the osmotic value and passive permeability of epidermal cells of *Allium cepa*. L. M.S. thesis. Seoul National University. pp.1-46.
- Peterson, D.C. 1980. Water permeability through the lipid bilayer membrane. *Biophys. Biochim. Acta* **600** : 666-677.
- Reid, P.D. 1976. Effect of UNI-N252 on abscission and cellulase activity in *Phaseolus vulgaris*. *Proc. Northeastern Weed Sci. Soc.* **30** : 147-151.
- Stadelmann, E.J. 1951. Zur Messung der Stoffpermeabilität pflanzen-protoplasten. I. *Sitzber. Oester. Wiss. Wien. Math-Naturw. kl. Abt. I.* 160, pp. 761-787.
- Stadelmann, E.J. 1966. Evaluation of turgidity, plasmolysis and deplasmolysis of plant cells. *In* : *Methods in Cell Physiol.*, D.M. Prescott(ed.), Academic Press, New York. Vol. 2. pp.143-216.
- Stadelmann, E.J. 1977. Passive transport parameters of plant cell membranes. *In*, *Regulation of Cell Membrane Activities in Plants.* E. Marre and O. Ciferri(eds.), Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam. pp.3-18.
- Wright, E.M. and R.J. Pietras. 1974. Routes of nonelectrolyte permeation across epithelial membrane. *J. membrane Biol.* **17** : 293-312.

(1988. 2. 15. 接受)