

# 酸素電極法에 의한 水稻의 光合成速度 및 葉綠素 保有能에 미치는 植物호르몬의 影響

姜忠吉\* · 李庚徽\* · 坂齊\*\*

## Effect of Plant Hormones on the Time-dependent Changes of Photosynthesis by Oxygen Electrode System and Chlorophyll Contents in Rice Leaf Discs

Kang, C. K.\*, K. H. Lee\* and H. Saka\*\*

### ABSTRACT

This experiment was conducted to investigate the effect of plant hormones on the time-dependent changes of photosynthesis by oxygen electrode system (Rank Brothers Inc. England) and chlorophyll contents in rice(*Oryza sativa* L. cv. Nihonbare) leaf discs. IAA showed no significant effect when treated at lower concentration, however IAA 20ppm inhibited slightly the photosynthesis of leaf discs. BA increased strongly the photosynthesis with time. As the BA concentration increased, photosynthesis was significantly stimulated. GA<sub>3</sub> showed with little effect at lower concentration, however GA<sub>3</sub> 20ppm inhibited the photosynthesis. ABA inhibited strongly the photosynthesis at all the treatments. IAA, BA, and GA<sub>3</sub> stimulated chlorophyll contents, but ABA inhibited the chlorophyll contents. It can be concluded that among the plant hormones tested, BA was the most effective in stimulating photosynthesis with time and maintaining the chlorophyll contents.

Key words : Oxygen electrode system, photosynthesis, chlorophyll, plant hormone

### 緒 言

植物의 光合成 測定에는 炭酸가스 交換法<sup>6)</sup>이 가장 一般의이고, 最近에는 가스 크로마토그래피<sup>23)</sup>도 利用되고 있다. 炭酸가스 交換法은 赤外線 分析計의 開發·改良에 의한 分析精度의 向上과 챔버 및 通氣法의 改良 等에 의해 顯著하게 進歩되어 作物의 乾物生産力에 對한 光合成 役割의 解明, 光呼吸의 解明 및 乾物生産力을 向上시키는 手法의 開發 等에 큰 原動力이 되고 있고, 또한 高等植物의 光

合成에 있어서 種, 品種間의 差異 解明과 C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> 分類에도 큰 役割을 擔當하고 있으나<sup>11,12)</sup> 이것은 高價의 測定機器가 必要하고, 그 操作에 熟練을 要한다.

이러한 方法에 並行하여 簡便法이 開發되고 있는데, 近年 Jones 와 Osmond<sup>10)</sup> 山下<sup>22)</sup> Delieu 와 Walker<sup>4)</sup> 그리고 Ishii 等<sup>8)</sup>은 液中에 沈澱된 切斷 葉片에 炭素源으로서 NaHCO<sub>3</sub>를 添加하여 光照射 下의 葉片에서 發生하는 光合成 依存의 酸素放出量을 酸素電極法으로 測定하는 方法을 開發했고,<sup>7)</sup> 이는 光合成 研究 뿐만 아니라 生理活性物質 및 除草

\* 農藥研究所 農藥生物科 Agricultural Chemicals Research Institute, RDA, Suweon, 440-100, Korea.

\*\* 日本 農業生物資源研究所 生理活性物質研究室 National Institute of Agrobiological Resources, Tsukuba, 305, Japan.

劑의 作用性 檢定에도 大端히 有力한 것으로 알려지고 있다.<sup>16,17,18)</sup>

本 實驗은 植物호르몬의 檢定法을 目的으로 이의 基礎知識을 얻고자 水稻葉片을 利用한 酸素電極法의 光合成速度와 葉綠素 保有能에 미치는 植物호르몬의 作用을 檢討하였다.

## 材料 및 方法

### 1. 供試作物

硝子溫室(25~30℃)의 1/5,000 a 플롯에 栽培한 水稻(品種: 日本晴)의 開花期 前後의 止葉 또는 直下位葉을 供試했고, 葉片의 調製는 日變化와 生育時의 環境要因에 依한 光合成速度의 變化를 考慮하여 可能한 맑은 날 午前 中에 遂行하였다.

### 2. 光合成 測定

直徑 3.0 mm 葉片 15 枚를 3 ml 의 50 mM HEPES-NaOH 緩衝液(pH 7.2)과 함께 酸素電極裝置(Rank Brother 社)의 30℃로 맞춘 恒溫反應槽에 넣어 反應液을 攪拌시키면서 光照射(70 KLux)를 시켰고, 이때 0.625 M NaHCO<sub>3</sub> 100 μl 를 添加하여 光合成反應을 開始시켰으며, 光合成速度는 記錄紙上의 NaHCO<sub>3</sub> 添加 1.0~1.5 分後부터 數分間의 上昇 曲線에 對한 直線部分의 勾配로 算出했다. 葉片은 所定濃度의 藥液에 넣어 25℃, 800 Lux 의 螢光燈下에 두고 經時的으로 sampling 하였다.

### 3. 葉綠素 保有能

光合成速度 測定後의 葉片을 5 ml, 80% acetone 에 넣어 密閉시켜 室溫 暗室에 2日間 放置後 chlorophyll(a+b)을 抽出하였고, 그 抽出液을 spectrophotometer 를 利用하여 定量했다.

## 結果 및 考察

### 1. 酸素電極法에 依한 水稻 光合成速度에 미치는 植物호르몬의 效果

#### 가. IAA 處理方法

IAA 0.2, 2, 20 ppm에 對한 處理後 0, 1, 2, 3, 5 日의 經過日數別 光合成速度에 미치는 處理效果는 그림 1에서 보는 바와 같이 0.2, 2 ppm 에서는 光合成速度에 미치는 影響이 별로 보이지 않았으나 20 ppm 에서는 약간의 阻害作用이 보였다. 이

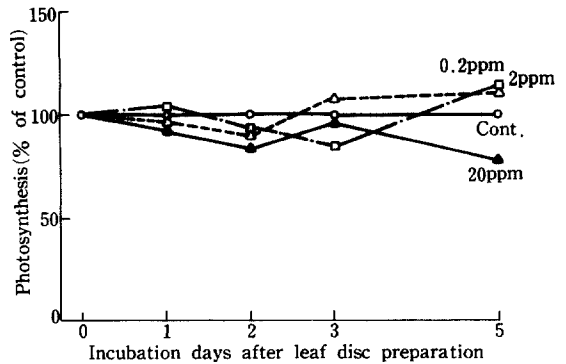


Fig. 1. Effect of IAA on the time-dependent changes of rice leaf discs photosynthesis by oxygen electrode system.

\* Photosynthesis in control at 0 day was 174.9 μmole O<sub>2</sub>/dm<sup>2</sup>/hr.

는 auxin 型과 有絲分裂 阻害型 및 大部分의 蛋白質·核酸合成 阻害型 除草劑는 光合成速度에 影響을 미치지 않는다는 坂 等의 報告<sup>19,20</sup>와 一致하였다.

#### 나. BA의 處理效果

光合成速度에 미치는 BA의 濃度別, 經過日數別

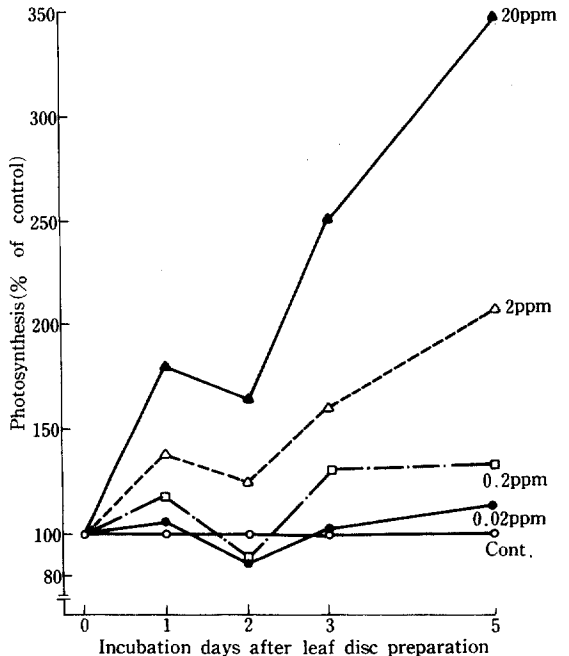


Fig. 2. Effect of BA on the time-dependent changes of rice leaf disc photosynthesis by oxygen electrode system.

\* Photosynthesis in control at 0 day was 174.9 μmole O<sub>2</sub>/dm<sup>2</sup>/hr.

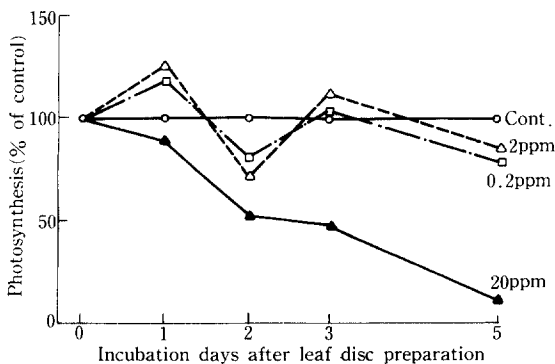
處理效果는 그림 2에서 보는 바와 같이 濃度가 높을수록 光合成速度가 顯著하게 高揚되었다. BA 20 ppm의 處理後 5日의 光合成速度는 無處理에 비해 約 3.5倍 程度로 增加하였다. 供試한 IAA, BA, GA<sub>3</sub> 및 ABA 中에서 cytokinin의 一種인 BA가 光合成 能力의 低下를 抑制할 뿐만 아니라 光合成速度를 高揚시킨다는 것은 매우 興味 깊은 것으로 判斷된다.

綠葉에 있어서 光合成速度와 葉綠素와의 關係는 光合成速度와 그 機能에 關聯된 他 諸要因(蒸散量, 全窒素, 可溶性蛋白質, RuBP carboxylase 等 酵素)과의 相關보다 낮은 것으로 報告되고 있고,<sup>19)</sup> BA의 光合成速度의 增加만큼 葉綠素 保有能이 增加하지 못하여(그림 6 參照) 光合成速度를 葉綠素만으로 表示하는 것은 留意하지 않으면 안 될 것으로 思料되며, BA가 光合成, 光化學 또는 暗反應과의 무언가 密接한 關係를 가진 것이 示唆되었다.

本法는 既 알려진 Hill 反應 阻害法,<sup>14)</sup> 單細胞 藻類法<sup>1)</sup> 및 葉片의 檢液浮沈法<sup>20)</sup> 과 더불어 光合成速度의 經時的 變化를 追求하므로써 새로운 植物호르몬 및 生理活性物質의 種類, 作用機作, 殺草機構의 選擇性 解明 等 큰 役割을 할 수 있을 것으로 期待된다.

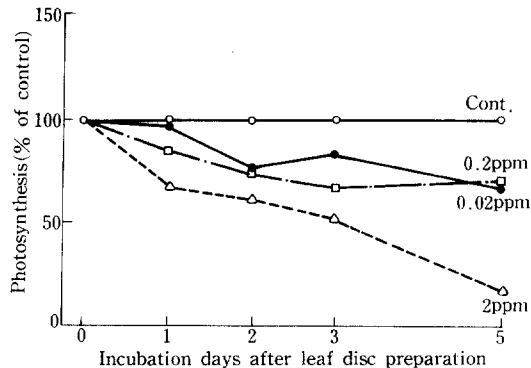
#### 다. GA<sub>3</sub>의 處理效果

光合成速度에 미치는 GA<sub>3</sub>의 經過日數別 處理效果는 그림 3에서 보는 바와 같이 GA<sub>3</sub> 0.2, 2 ppm에서는 無處理와 類似한 傾向을 보였으나 20 ppm에서는 阻害作用이 時間이 經過할수록 더욱 컸었다.



**Fig. 3.** Effect of GA<sub>3</sub> on the time-dependent changes of rice leaf discs photosynthesis by oxygen electrode system.

\* Photosynthesis in control at 0 day was 217.0 μmole O<sub>2</sub>/dm<sup>2</sup>/hr.



**Fig. 4.** Effect of ABA on the time-dependent changes of rice leaf discs photosynthesis by oxygen electrode system.

\* Photosynthesis in control at 0 day was 217.0 μmole O<sub>2</sub>/dm<sup>2</sup>/hr.

#### 라. ABA의 處理效果

ABA의 處理效果는 그림 4에서 보는 바와 같이 어느 濃度에서나 光合成速度가 抑制되었고, 濃度가 높을수록 더욱 抑制되어 供試한 植物호르몬 中에서 阻害作用이 가장 顯著하였다.

ABA는 auxin, gibberellin 및 cytokinin 等에 의해 誘起된 器官과 組織의 促進作用을 除去하며, 器官脫離, 休眠, 老化促進, 成長抑制作用, 根의 重力屈性感應, 氣孔開閉 및 塊莖形成 等の 調節에 中心의 役割을 擔當하고 있다. ABA 處理에 의한 水稻葉片의 光合成速度 阻害作用은 이러한 生理作用 中 特히 老化促進과 關係가 깊은 것으로 생각된다. 그리고 stress 條件下에서 内生 ABA가 急增하여 stress에 對한 植物의 生理制御에 重要한 役割을 하는 stress hormone으로서 最近에 ABA가 크게 注目받고 있는데, 植物이 어떤 stress를 받아 内生 ABA含量이 增加하면 光合成速度 또한 크게 減少할 것으로 推察된다.

#### 2. 葉綠素 保有能의 經時變化에 미치는 植物호르몬의 影響

##### 가. IAA의 處理效果

葉綠素 保有能의 經時變化에 미치는 IAA 0.2, 2, 20 ppm의 處理效果는 그림 5에서 보는 바와 같이 IAA 濃度가 높을수록 葉綠素 保有能은 增加하였으나 經時的으로는 減少하였다. 鄭<sup>9)</sup>은 오이의 子葉을 10<sup>-6</sup> M IAA 溶液에서 12時間동안 沈漬한 後 다시 2,200 Lux의 光을 照射하였을 때 葉綠

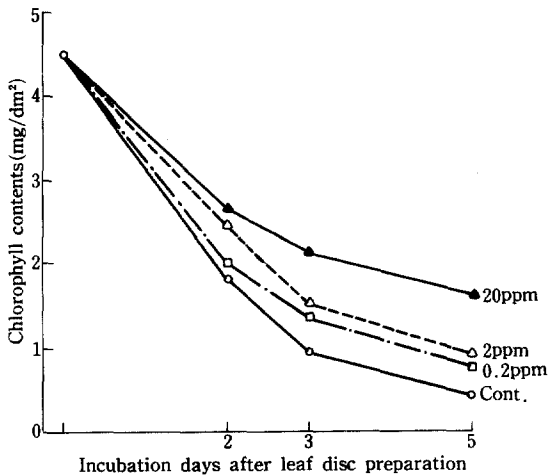


Fig. 5. Effect of IAA on the time-dependent changes of chlorophyll contents in the rice leaf discs.

素合成의 rate-limiting 물질인 ALA( $\delta$ -aminolevulinic acid)를合成하는 ALA合成酵素의 활성이對照區보다 높았으며,葉綠素 a, b의含量이 크게增加하였다고報告하여本試驗의結果를 뒷받침하고 있다.

나. BA의處理效果

葉綠素保有能에 미치는 BA, 0.2, 2, 20 ppm의經過日數別處理效果는그림 6에서 보는바와 같이濃도가 높을수록葉綠素保有能이增加하였다.

植物에 있어서葉綠素 a, b의形成過程은 glycine과 succinic acid가 ALA合成酵素의作用으

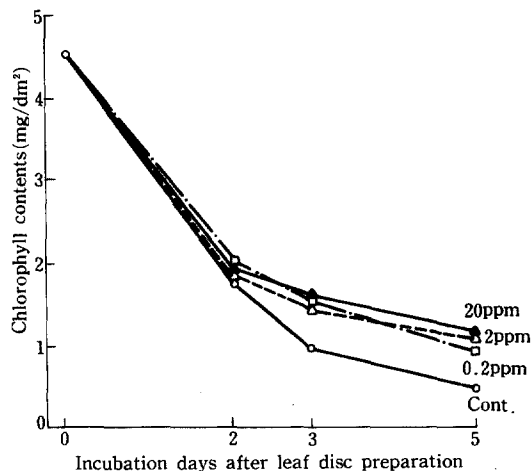


Fig. 6. Effect of BA on the time-dependent changes of chlorophyll contents in the rice leaf discs.

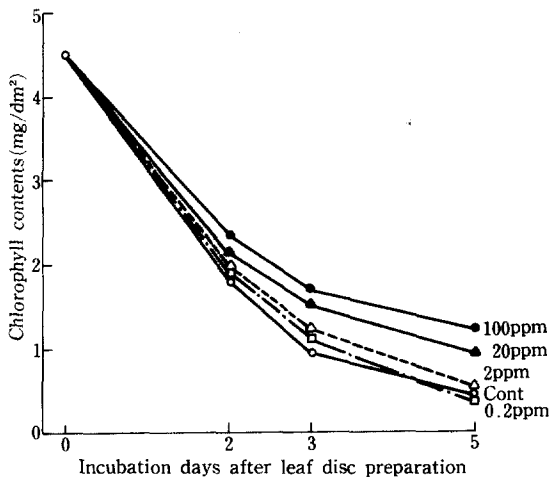


Fig. 7. Effect of GA<sub>3</sub> on the time-dependent changes of chlorophyll contents in the rice leaf discs.

로 ALA를 만들고,<sup>13</sup> ALA dehydratase에 의해 P BG(porphobiligen)가合成되며 다시 여러過程을 거쳐 Pchl(protochlorophyll)과葉綠素 a, b가合成된다고 알려져 있다.<sup>21</sup> 또한 이러한過程에 BA가照射時 ALA와葉綠素形成을促進한다고 하였고, BA가 ALA와葉綠素 a, b의生成 및蓄積에關與한다고 하였는데,<sup>3,5,19</sup> 本實驗에서는 BA뿐만 아니라 IAA 및 GA<sub>3</sub>에서도葉綠素保有能이供試한濃度에서濃도가 높을수록增加하였다. 따라서 ALA와葉綠素 a, b의形成蓄積 및減衰에對하여 auxin, cytokinin, gibberellin의種類別,濃度別,光暗條件別 및經過日數別로 어떠한作用을 가지는가에對한綜合的인檢討가 要望된다.

다. GA<sub>3</sub>의處理效果

葉綠素保有能에 미치는 GA<sub>3</sub>, 0.2, 2, 20, 100 ppm의經過日數別效果는그림 7에서 보는바와 같이濃도가 높을수록增加하였다.

라. ABA의處理效果

ABA의處理效果는그림 8에서 보는바와 같이 어느濃도에關係없이葉綠素保有能이低下되었고濃도가 높을수록 더욱低下되었다. IAA, BA, GA<sub>3</sub>와는 달리 ABA만이葉綠素保有能이減少되었는데, 이는 ABA自體가 갖고 있는生理作用이器官脫離, 休眠, 老化促進, 成長抑制作用, 氣孔閉開等에中心的役割을擔當하고 있는 것에起因하는 것 같고, 特히 老化를促進하므로서葉綠素保有能이急減하는 것으로 思料된다.

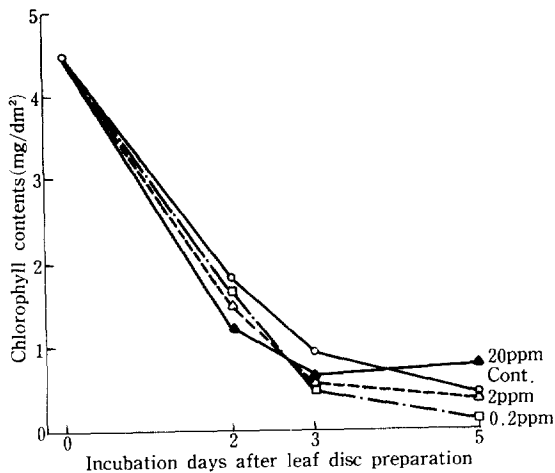


Fig. 8. Effect of ABA on the time-dependent changes of chlorophyll contents in the rice leaf discs.

### 摘 要

本試驗은 水稻(品種: 日本晴) 葉片을 利用한 酸素電極法의 光合成速度와 葉綠素 保有能에 미치는 植物호르몬의 作用을 究明코자 遂行하였으며, 그 結果를 要約하면 다음과 같다.

#### 1. 酸素電極法에 의한 水稻 光合成速度에 미치는 植物호르몬의 效果

가. 光合成速度에 미치는 IAA의 經過日數別 效果는 20 ppm 處理에서 약간 阻害되었으나 低濃度에서는 無處理와 類似하였다.

나. BA 0.2, 2, 20 ppm의 經過日數別 效果는 BA 濃度가 높을수록 顯著하게 高揚되었다.

다. GA<sub>3</sub>는 高濃度인 20 ppm 處理에서 阻害作用이 보였다.

라. ABA는 모든 處理濃度에서 阻害作用이 보였고, 濃度가 높을수록 더욱 阻害되었다.

#### 2. 植物호르몬이 水稻의 葉綠素 保有能에 미치는 效果

가. IAA, BA, GA<sub>3</sub>는 濃度가 높을수록 葉綠素 保有能이 높았다.

나. ABA는 0.2, 2, 20 ppm 全處理에서 顯著한 葉綠素 減衰가 보였다.

### 引 用 文 獻

1. 足立明郎, 浜田慶二. 1971. クロレラ利用

による除草劑檢定について. 雜草研究 11: 54-58.

2. Castelfranco, P.A. and S.I. Beale. 1983. Chlorophyll biosynthesis. Recent advances and areas of current interest. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 34: 241-278.
3. Dei, M. 1984. Benzyladenine induced stimulation of two components of chlorophyll formation in etiolated cucumber cotyledons. *Physiol. Plant.* 62: 521-526.
4. Delieu T. and D.A. Walker. 1981. Polarographic measurement of photosynthetic oxygen evolution by leaf discs. *New Phytol.* 89: 165-178.
5. Fletcher R.A. and D. McCullagh. 1971. Benzyladenine as a regulator of chlorophyll synthesis in cucumber cotyledons. *Can. J. Bot.* 49: 2197-2201.
6. 深見順一, 上杉康彦, 石塚皓造, 富澤長次郎. 1981. 農藥實驗法(3) 除草劑編. ソフトサイエンス社. 東京.
7. 萩原文二. 1977. 電極法による酸素測定. 講談社.
8. Ishii R., T. Yamagishi and Y. Murata. 1977. On a method for measuring photosynthesis and respiration of leaf slices with an oxygen electrode. *Japan. Jour. Crop. Sci.* 46(1): 53-57.
9. 鄭忠德. 1986. 오이 子葉의 δ-Aminolevulinic Acid 및 葉綠素 a, b의 形成에 미치는 外生 IAA의 影響. 濟州大學 論文集 22: 179-184.
10. Jones H.G. and C.B. Osmond. 1973. Photosynthesis by thin leaf slices in solution. I. Properties of leaf slices and comparison with whole leaves. *Aust. J. Biol. Sci.* 26: 15-24.
11. 松重昭一, 坂齊. 1977. C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> 植物分類にみた雜草防除. 雜草研究 22(3): 131-139.
12. 松中昭一, 坂齊. 1977. C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> 植物分類にみた雜草防除. 雜草研究 22(4): 177-183.
13. Miller, G. W., A. Denny, J. K. Wood, and G.W. Welkie. 1979. Light induced deltaaminolevulinic acid in dark-grown barley

- seedlings. *Plant & Cell Physiol.* 20(1) : 131-143.
14. 中村 拓, 小泉順三, 松中昭一. 1968. 除草劑 propanil(DCPA)のイネおよびタイヌビエの水分代謝と光合成とに及ぼす影響. *雑草研究* 7 : 100-104.
  15. Roger L. and H. Tsuji. 1982. Effect of benzyladenine treatment duration on  $\alpha$ -amino levulinic acid accumulation in the dark, chlorophyll lag phase abolition, and long-term chlorophyll production in excised cotyledons of dark-grown cucumber seedlings. *Plant Physiol.* 69 : 663-667.
  16. 坂齊. 1985. 除草劑の作用生理の研究手法. *植調* 18(11) : 2-12.
  17. 坂齊, 千坂英雄. 1981. 酸素電極法による除草劑光合成阻害力の検定. *雑草研究* 26 : 145-150.
  18. 坂齊, 千坂英雄. 1981. 酸素電極法による葉片光合成の測定と除草劑の作用. *雑草研究* 26(別號) : 45-46.
  19. 坂齊, 千坂英雄. 1981. 酸素電極による光合成・呼吸測定法の検討とその除草劑作用検定への利用. *雑草研究* 26 : 304-310.
  20. 坂齊, 千坂英雄. 1982. 除草劑の酸素電極法による光合成阻害力の検定. *雑草研究* 27 : 217-224.
  21. Truelove, B., D.E. Davis and L. R. Jones. 1974. A new method for detecting photosynthesis inhibitors. *Weed Science* 22 : 15-17.
  22. 山下 魏. 1981. 電子傳達系. 深見順一, 上杉
  23. 山末祐二, 吉岡俊人, 北岡政改, 植目邦和. 1979. ガスクロマトグラフィによる雑草の光合成・蒸散の測定法. *雑草研究* 24(4) : 288-290.