

## ***Glycine max*에서 질소원 형태에 따른 Nitrate Reductase Activity에 관한 연구**

김종희·오갑수

경남대학교 자연대학 생물학과

### **Studies on Nitrate Reductase Activity to Different Nitrogen Sources in *Glycine max***

**Kim, Jong-Hee and Gap-Su Oh**

*Dept. of Biology, College of Natural Science, Kyung Nam University*

#### **ABSTRACT**

Nitrate reductase activity(NRA) were analysed in roots, stems and leaves of soybean plants in relation to different nitrogen sources and plastochron ages. NRA in roots and stems of soybean observed no differences in influence the nitrogen sources and plastochron ages, and the values showed to be only 5% of NRA in leaves.

On the other hand, NRA in leaves showed different results to nitrogen sources and plastochron ages. When the plants were less than PI 6.0, NRA in leaves had being proportional to the concentration of nitrate and distinguish decreased with an increasing plastochron ages. At the later stage, upper than PI 8.0, the activity had not effect to nitrate and plastochron ages. These results indicated that nitrate reduction in soybean was active in early leaves.

#### **緒 論**

콩과 식물들의 질소 요구는 토양내 질산의 환원 과정과 공기중의 고정 과정, 두 개의 조화된 과정에 기인한다. 식물들의 질소 경제에 대한 두가지 과정의 조화는 식물의 성장 단계와 여러 가지 환경적 요인들과의 조화로서 형성되는데, 식물의 초기 성장 단계에서는 질산의 환원에 의해서, 또 성장 단계에서는 질소 고정에 의해 그들의 질소 강제가 운용된다(Carelli, 1981).

일반적으로 식물의 가장 중요한 질소원은 질산염 형태로 토양으로부터 흡수되는데(Larcher, 1975), 흡수된 질산은 환원되어 광합성 과정의 부산물인 amino acids의 탄소와 결합된다. 이때 환원 과정에 첫번째로 관여하는 효소가 질산 환원 효소이다. 질산 환원 효소는 환경에 따라 변하고(Leyshon 등, 1980; Nicholas 등, 1976) 질소원의 형태에 의해서도 달라지는데, Winter 등(1982)은 *Moricandia arrensis*에 질산염 처리구에서 높은 것으로 보고한바 있으며 토양내의 질산  
본 연구는 1989년 경남대학교 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

염과 밀접한 관련이있는 것으로 보고(Smith and Rice, 1983 ; Zak and Pregitzer, 1988)되고 있다.

또한 nitrate reductase activity(NRA)는 식물의 연령에 의해서도 달라지는데(Radin, 1974; Park & Kim, 1986) *Glycine max*의 유아에서의 NRA는 자엽에서 감소되기 시작할 때 첫 번째 삼엽에서 증가하기 시작하였으며 최고의 NRA는 완전히 펼쳐진 잎에서 나타났고 성숙시기의 잎에서 감소하기 시작하여 노화의 초기에 사멸되었다는 보고(Streit and Feller, 1983)가 있다.

본 연구에서는 콩과 식물의 두 품종인 대두와 흑두에서 질소원 형태에 따른 연령별(PI)질소 경제를 NRA의 분석으로 밝히고자 한다.

## 方 法

콩 식물의 두 품종인 대두와 흑두는 1989년 4월 2일, 27℃ 항온기에서 발아시켜 유근이 출현하였을 때 vermiculite와 모래의 비율이 1:1로 하여 plastic 화분에 이식하였으며 통풍이 잘 되는 비닐 하우스에서 성장시켰다. NRA에 미치는 질소원의 영향을 알아보기 위해서  $\text{NO}_3^-$  형태(10mM  $\text{KNO}_3$ ),  $\text{NH}_4^+$  형태(10mM  $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ ),  $\text{NO}_3^- : \text{NO}_4^+ = 1:2$ ,  $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+ = 2:1$ 의 비율로 질소 공급을 하였다. 영양용액으로는 질소원이 제거된 Hoagland 용액을 사용하였으며 흙이 젖어 있을 정도로 증류수를 공급하였다.

NRA측정을 시표는 거의 비슷한 PI(plastochron index)를 지닌 식물체를 선택하여 정확한 PI를 계산하였다. 두 품종 모두 잎, 줄기, 뿌리의 기관으로 분리하여 분석하였으며, PI 6.0이하 잎에서 NRA는 출현한 모든 잎을 한꺼번에 추출 분석하였고, PI 8.0이상의 잎에서는 정확한 LPI(leaf plastochron index)에 따라 추출 분석하였다. NRA분석방법은 Harper와 Hageman (1972)에 의해 고안된 방법으로 진행하였으며, 모든 실험은 효소의 변화를 최소로 하기 위해 4℃ 이하에서 진행하였다.

PI와 LPI는 두개의 직선적 model로부터 얻은 값으로서 다음 식에 의해 계산되었다.

두 직선의 교점이 LR보다 큰 경우,  $PI = n + (\ln L_n - \ln LR) / (\ln L_n - \ln L_{n+2})$  또는  $PI = (n-1) + (\ln L_{n-1} - \ln LR) / (\ln L_{n-1} - \ln L_{n+1})$ , 두 직선의 교점이 LR보다 작으면,  $PI = n + (\ln L_n - \ln LR) / (\ln L_n - \ln L_{n+2})$  또는  $PI = (n+1) + (\ln L_{n+1} - \ln LR) / (\ln L_{n+1} - \ln L_{n+3})$  그리고  $LPI = PI - i$ 로 계산하였다.

여기서, PI=Plastochron index	n: 기부로부터 센 잎의 번호
$L_n$ : n 번째 잎의 길이	$L_{n+1}$ : n+1 번째 잎의 길이
$L_{n+2}$ : n+2 번째 잎의 길이	LR : Reference 길이
$L_{n+3}$ : n+3 번째 잎의 길이	LPI : Leaf plastochron index
$i$ : i 번째 잎의 기부로부터 센 번호	

## 結果 및 考察

Fig. 1과 2는 본 실험에 사용된 식물체의 plastochron 연령을 시간에 따라 그림으로 표시한 것으로, 흑두나 대두 모두 시간에 따라 일정한 직선적 양상을 나타내고 있다. 이것은 상대적인

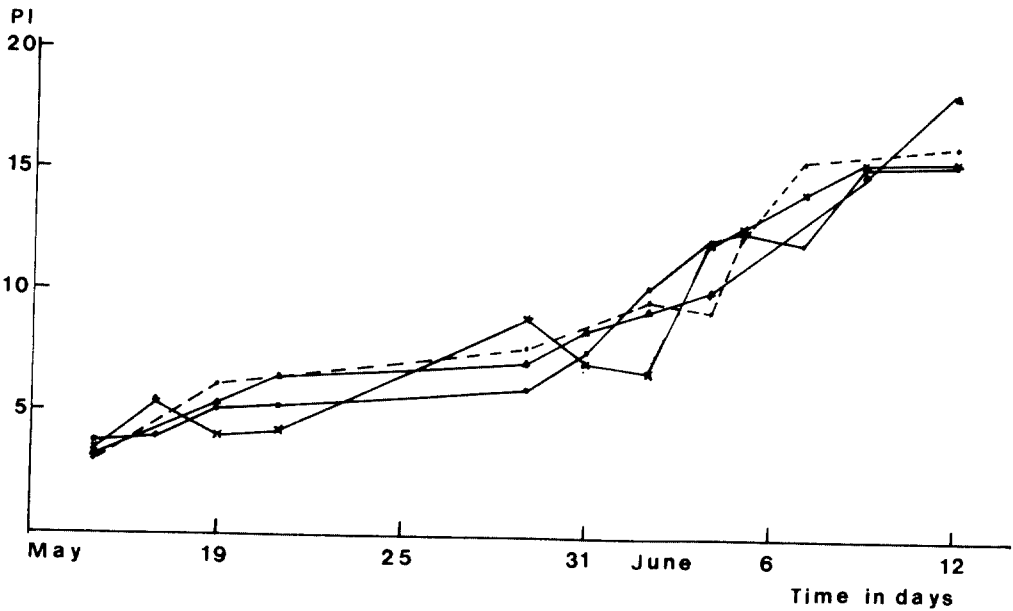


Fig. 1. The plastochron ages against time in experimental materials for nitrate reductase activity in *Glycine max(L.) Merr*(black grain).

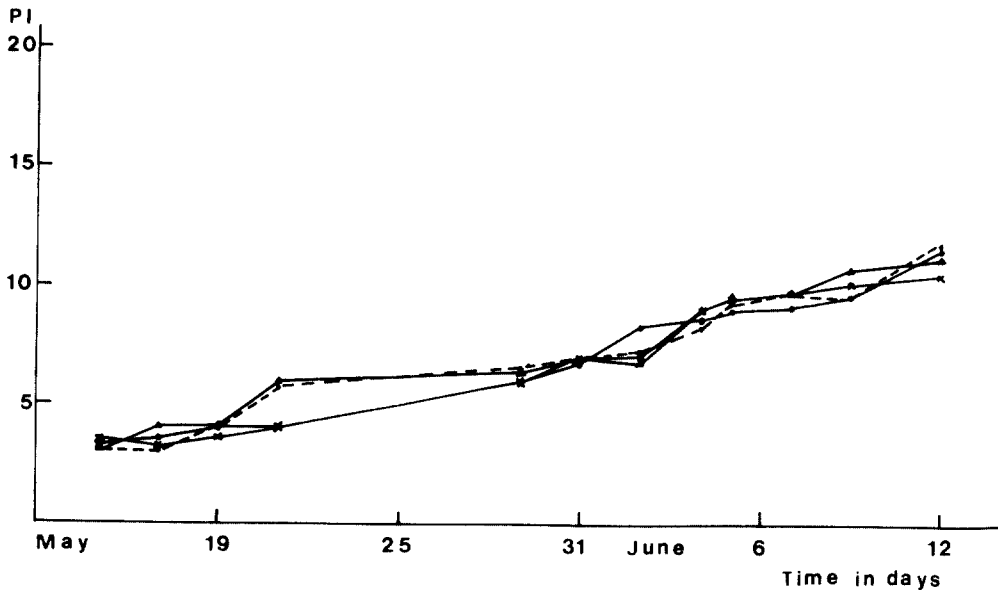


Fig. 2. The plastochron ages against time in experimental materials for nitrate reductase activity in *Glycine max(L.) Merr* (yellow grain).

plastochron age가 절대적 시간 개념과도 충분히 대치될 수 있음을 제시하는 것이다. 즉 모든 질소원에서 거의 비슷한 연령의 개체들이 선정되었음을 알 수 있다.

Fig. 3은 PI 6.0이하 식물에서, 흑두 잎에서의 NRA를 나타낸 것으로 질소원에 따라 유의한

효과를 나타냈는데,  $\text{NO}_3^-$ 에서 높은 값을 보이고  $\text{NH}_4^+$ 에서 낮은 값을 보임을 알 수 있다. 또한 PI의 증가에 따라 NRA는 감소됨을 볼 수 있는데 이는 이런 앞에서 높다는 Streit와 Feller

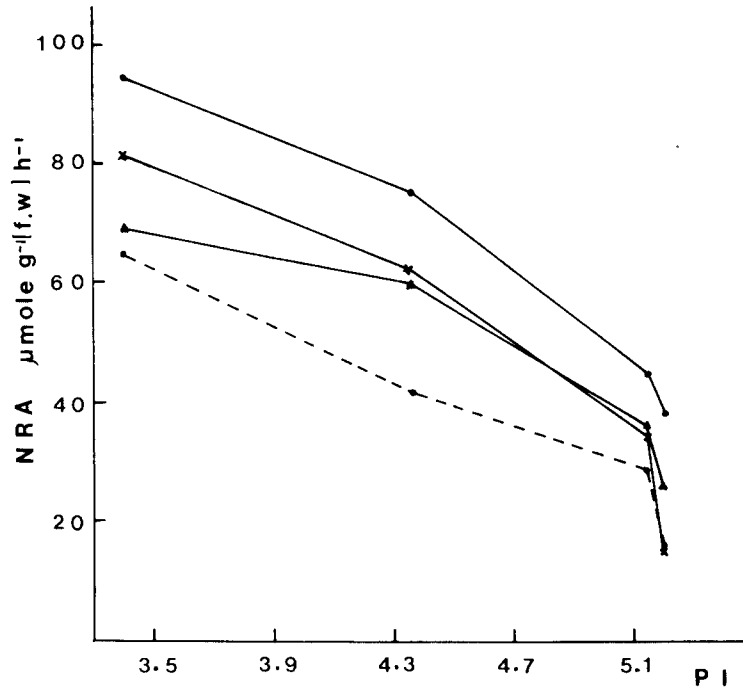


Fig. 3. Changes in nitrate reductase activity of leaves below PI 6.0 in *Glycine max* (L.) Merr (black grain)

—●— :  $\text{NO}_3^-$ , —×— : 1:2( $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ ), —▲— : 2:1( $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ ), --- :  $\text{NH}_4^+$

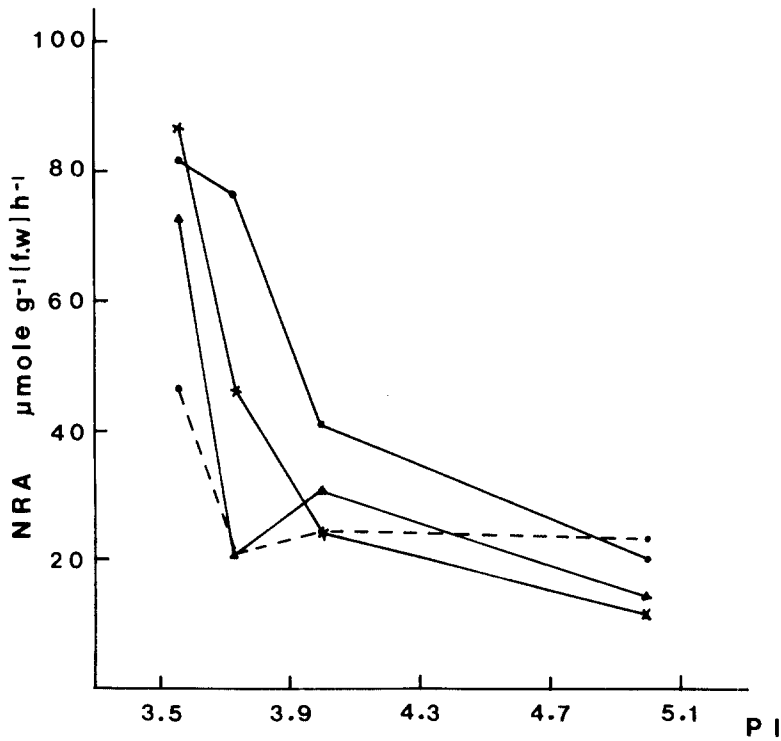
(1983)의 결론과 질산태 질소의 공급이 영향을 미친 것으로 판단되며, 어린 식물에서의 콩 식물의 질소원은 질산염을 이용한다는 Callej와 Magalhaes(1981)의 보고와 일치된다.

PI 6.0이하의 대두 잎에서의 NRA 역시 같은 경향을 관찰할 수 있다(Fig. 4). 즉  $\text{NO}_3^-$ 의 첨가에 따라 NRA가 높았으며, PI의 증가에 의해 급격한 감소를 볼 수 있다.

Fig. 5는 PI 6.0이하에서의 흑두 줄기에서의 NRA를 나타낸 것으로 PI의 증가나 질소원의 차이와는 무관하게 그 차이가 없었다. 마찬가지로 대두 줄기에서의 NRA(Fig. 6)도 별 차이 없음을 볼 수 있으며, 잎에 비해 5~10%임을 알 수 있다. 이 같은 결과는 Randall 등(1987)의 결과와 일치되는 것이다.

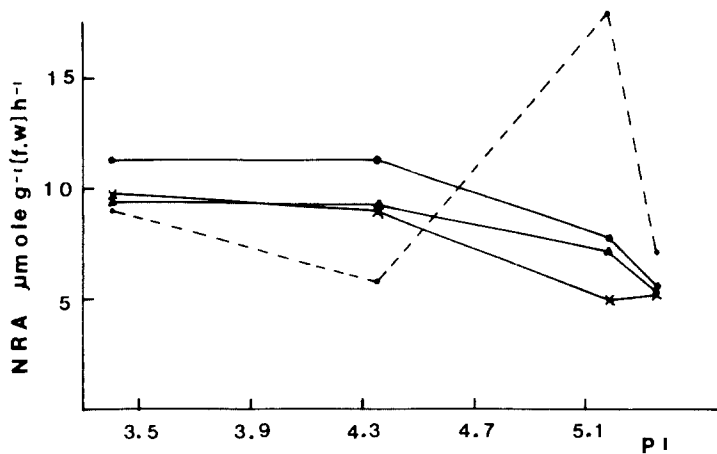
Fig. 7과 8은 흑두와 대두 뿌리에서의 NRA를 분석한 결과이다. 두 품종 모두 PI에 따라 별 차이가 없었으며, 질소원에 따라서도 유의한 차가 없었다.

Table 1은 PI 8.0이상에서 대두 잎에서의 NRA를 제시하는 것으로 질소원에 따라 유의한 차이를 보이는데 PI 6.0에서와는 다른 경향을 볼 수 있는데, 오히려  $\text{NH}_4^+$ 에서 높음을 볼 수 있으나 시간에 따른 NRA의 변화는 없었다. 그러나 흑두에서는 대두와는 다른 경향을 보이는데 (Table 2) 질소원이나 시간에 의한 변화는 나타나지 않았다. 즉 잎에서의 NRA는 잎의 연령이 많아질수록 질산태 질소 공급의 영향을 받지 않음을 알 수 있었다.



**Fig. 4.** Changes in nitrate reductase activity of leaves below PI 6.0 in *Glycine max*(L.) Merr (yellow grain).

—●— : NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, -x- : 1:2(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>:NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) -▲- : 2:1(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>:NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), -- : NH<sub>4</sub><sup>+</sup>



**Fig. 5.** Nitrate reductase activity of stems below PI 6.0 in *Glycine max*(L.) Merr (black grain)

—●— : NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, -x- : 1:2(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>:NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) -▲- : 2:1(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>:NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), -- : NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

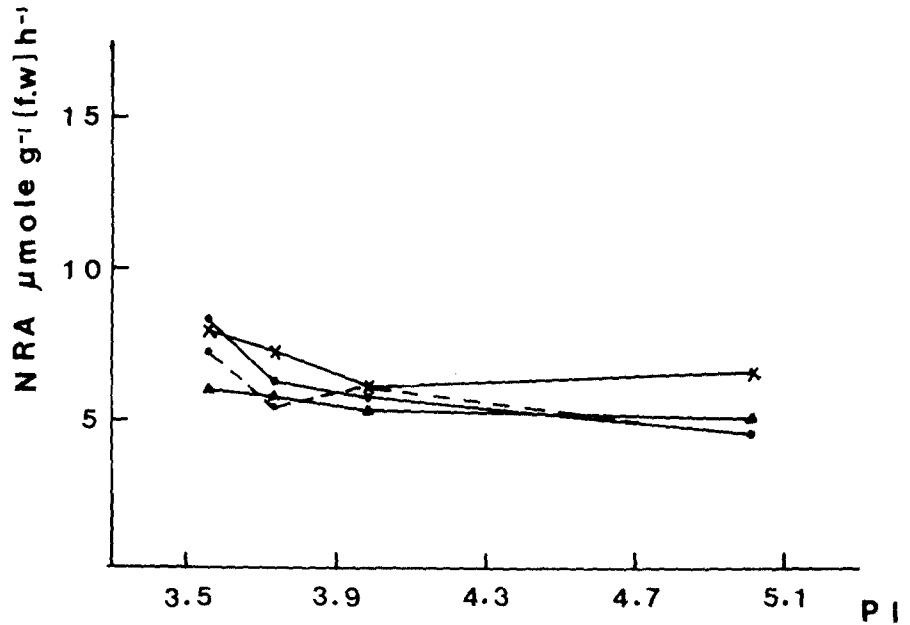


Fig. 6. Changes in nitrate reductase activity of stems below PI 6.0 in *Glycine max*(L.) Merr (yellow grain).

—●— : NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, —×— : 1:2(NH<sub>4</sub><sup>+</sup> : NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) —▲— : 2:1(NH<sub>4</sub><sup>+</sup> : NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), ..... : NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

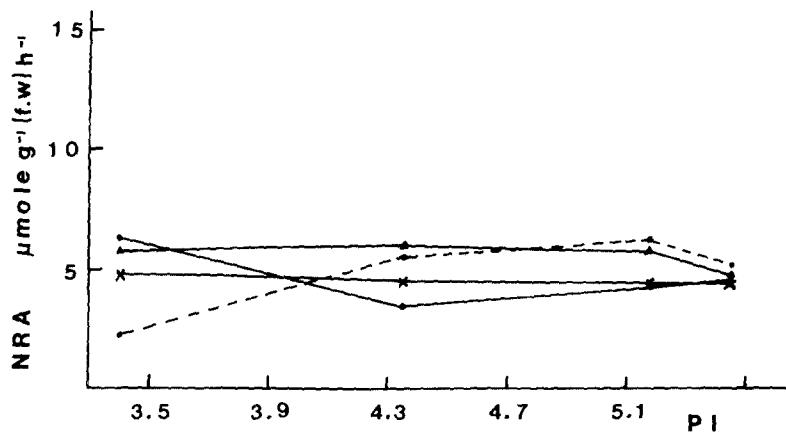


Fig. 7. Nitrate reductase activity of leaves below PI 6.0 in *Glycine max*(L.) Merr (black grain).

—●— : NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, —×— : 1:2(NH<sub>4</sub><sup>+</sup> : NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), —▲— : 2:1(NH<sub>4</sub><sup>+</sup> : NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), ..... : NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

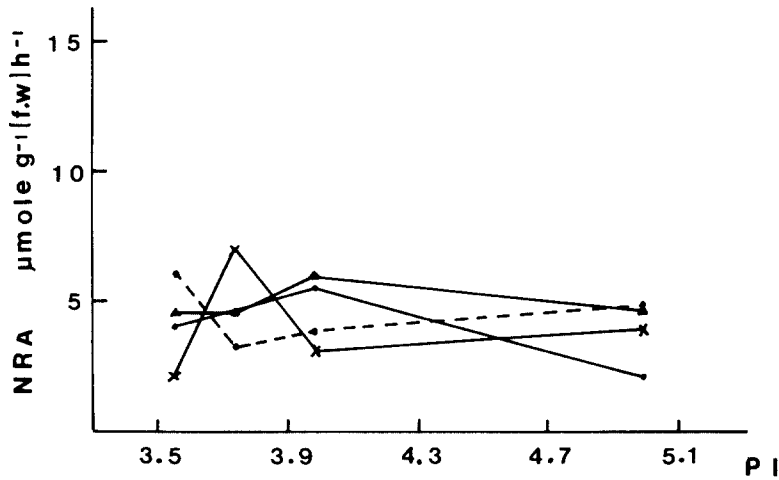


Fig. 8. Nitrate reductase activity of roots below PI 6.0 in *Glycine max*(L.) Merr (black grain).

—●— : NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, —×— : 1:2(NH<sub>4</sub><sup>+</sup> : NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), —▲— : 2:1(NH<sub>4</sub><sup>+</sup> : NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), ..... : NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

Table 1. Nitrate reductase activity(μmole.g.f.w.) of leaves upper PI 8.0 in *Glycine max*(L. Merr, yellow grain).

Time	Treatment				
	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1:2	2:1	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	
June	2	7.62	8.96	19.73	24.30
	4	10.17	18.38	23.63	39.10
	5	—	14.21	27.40	22.02
	7	7.18	7.89	7.89	2.91

Table 2. Nitrate reductase activity(μmole.g.f.w.) of leaves upper PI 8.0 in *Glycine max*(L. Merr, black grain).

Time	Treatment				
	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1:2	2:1	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	
June	2	—	46.24	41.66	14.88
	4	29.15	22.69	28.34	15.69
	5	12.33	18.25	23.76	8.28
	7	4.93	3.72	3.45	5.20

PI 8.0이상에서의 두 품종 모두의 줄기나 뿌리에서의 NRA(Table 3, 4, 5, 6)는 PI 6.0과 마찬가지로 질소원이나 연령별 차에 의한 유의적 차가 없었다. 앞에서와는 달리 줄기나 뿌리에서의 NRA는 항상 비슷한 값을 나타내며 앞에 비해 매우 낮은 값을 보이고 있다. 따라서 콩식물은 주로 앞에서 질산 환원의 과정이 진행된다고 판단된다.

**Table 3.** Nitrate reductase activity ( $\mu\text{mole.g.f.w.}$ ) of stems for mature soybean(yellow grain).

Time		Treatment			NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1:2	2:1	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
May	31				5.20	6.81	4.25	6.14
June	2				4.93	5.87	5.46	5.33
	4				6.94	8.16	3.85	7.75
	5				3.45	2.64	3.45	3.58
	7				3.45	4.25	7.08	3.72

**Table 4.** Nitrate reductase activity ( $\mu\text{mole.g.f.w.}$ ) of roots for mature soybean(black grain).

Time		Treatment			NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1:2	2:1	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
May	31				7.89	5.87	5.87	8.69
June	2				5.87	8.42	7.35	4.93
	4				22.02	8.69	6.54	6.94
	5				6.90	2.50	4.79	3.85
	7				4.79	4.39	6.00	4.52

**Table 5.** Nitrate reductase activity ( $\mu\text{mole.g.f.w.}$ ) of stems for mature soybean(black grain).

Time		Treatment			NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1:2	2:1	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
May	31				6.00	5.87	8.07	8.02
June	2				6.54	8.02	6.54	7.48
	4				5.20	7.89	3.85	3.98
	5				3.18	6.54	7.21	7.21
	7				7.21	4.79	3.72	3.39

**Table 6.** Nitrate reductase activity ( $\mu\text{mole.g.f.w.}$ ) of roots for mature soybean(black grain).

Time		Treatment			NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1:2	2:1	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
May	31				5.33	5.60	6.54	7.62
June	2				6.00	5.64	9.50	7.75
	4				2.91	3.18	2.23	3.18
	5				6.27	11.25	6.54	5.29
	7				4.12	5.06	7.75	4.43

Table 7과 8은 대두와 흑두의 어린 잎(LPI<0)과 비슷한 잎(LPI>0)을 구분하여 본 NRA이다. 여기서 보면 두 품종 모두, 모든 처리구에서 LPI<0인 어린 잎에서 NRA는 높았으나 처리간의 유의차는 나타나지 않았다.



**Table 7.** Nitrate reductase activity of leaves *Glycine max* (L. Merr, yellow grain) followed different Leaf Plastochron Index(LPI). LPI=PI - *i*. LPI < 0 means leaves below reference length.

Treatment	LPI > 0	LPI < 0
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	5.195(3.67)	11.65(-3.67)
	7.213(5.17)	25.51(-1.17)
1:2	4.926(4.19)	6.540(-2.19)
	4.791(4.56)	4.656(-2.56)
2:1	4.253(4.45)	15.96(-2.45)
	4.520(4.74)	30.62(-2.74)
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	6.271(3.68)	49.33(-3.68)
	8.155(5.75)	55.98(-1.75)

이 같은 결과들은 콩과 식물의 초기 성장에서의 질소 공급은 토양으로부터 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 형태로 흡수하기 때문에 질산 환원 효소의 활성이 활발한 것으로 여겨지며, 성숙시기에서는 질소 고정 과정에 의하므로 그 활성이 적은 것으로 사료된다. 어린 시기인 PI 6.0이하에서는 질소 형태에 의해 유의적 차가 있었으나 PI 8.0이상에서는 질소 공급과는 무관함을 나타내 어린 시기에서의 질소원 공급의 효과가 큼을 볼 수 있었다. 이와 같은 사실은 토양내의 질소원 형태 중 질산염이 많은 곳에서 생육하고 있는 식물들의 NRA가 높으며, 암모늄이 많은 천이 후기 단계에서는 낮다는 Smith와 Rice(1983)의 보고와도 일치되는 점이다.

**Table 8.** Nitrate reductase activity of leaves *Glycine max* (L. Merr, black grain) followed different Leaf Plastochron Index(LPI). LPI=PI - *i*. LPI < 0 means leaves below reference length.

Treatment	LPI > 0	LPI < 0
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	4.39(9.39)	62.89(-0.33)
	4.59(3.39)	
1:2	2.98(9.24)	36.36(-0.22)
	6.14(3.24)	
2:1	3.67(9.66)	12.77(-0.04)
	4.32(4.26)	9.10(-3.04)
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	155.63(-1.47)	
	4.86(9.47)	75.03(-0.50)
	5.94(3.47)	

## 摘 要

콩 식물 두 품종인 대두와 흑두의 줄기, 뿌리 앞에서 nitrate reductase activity를 질소원의 형태와 plastochron age에 따라 분석하였다. 콩과 식물의 NRA는 줄기나 뿌리에서는 잎의 연령이나 질소원에 아무런 영향이 없었으며 잎에서의 약 5~10% 정도로 낮은 값을 나타냈으며, 잎에서는 연령과 질소원에 따라 유의적 차가 있었는데, PI 6.0이하에서는 질산태 질소 공급에 의해 NRA가 증가되었으나, PI 8.0이상에서는 질소원의 영향이 나타나지 않았다. 또 흑두나 대두에 비해 높은 값을 보이는 것으로 나타났다.

또한 두 품종 모두 PI 6.0이하에서는 PI 값이 증가함에 따라 잎의 NRA는 급격히 감소하였다.

이런 결과들은 어린 시기의 콩 식물들에서는 질소원 형태에 더욱 영향을 많이 받으며 질소 환원 장소는 앞인 것으로 추정될 수 있다.

### 引用文獻

- Carelli, M.L. and A.C. Magalhaes. 1981. Development of nitrate reductase activity in green tissues of soybean seedlings(*Glycine max* L. Merr). Z. Pflanzen Physiol, Bd. 104.S 17-24.
- Harper, J.E. and R.H. Hageman. 1972. Canopy and seasonal profiles of nitrate reductase in soybeans (*Glycine max* L. Merr). Plant Physiol. 49:146-154.
- Larsher, W. 1975. Physiological plant ecology. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. New York.
- Leyshon, A.J., C.A. Campbell and F.G. Warder. 1980. Comparison of the effect of  $\text{NO}_3^-$  and  $\text{NH}_4^+$  on growth, yield and yield components of Manitou spring wheat and conquest barley. Can. J. Plant Sci., 60:1063-1070.
- Nicholas, J.C., J.E. Harper and R.H. Hageman. 1976. Nitrate reductase activity in soybeans(*Glycine max* Merr.). I. Effects of light and temperature. Plant Physiol. 58:731-735.
- Radin, J.W. 1974. Distribution and development of nitrate reductase activity in germination cotton seedlings. Plant Physiol. 53:458-463.
- Randali, D.D., W.J. Russell, and D.R. Johnson. 1978. Nodule nitrate reductase a source of reduced nitrogen in soybean *Glycine max*. Physiol. Plant 44:325-328.
- Smit, J.L. and E.L. Rice. 1983. Differences in nitrate reductase activity between species of different stages in old succession. Oecologia. 57:43-48.
- Streit, Luc and Urs Feller. 1983. Nitrogen-metabolizing enzymes from bean leaves (*Phaseolus vulgaris* L.):Stability *in vitro* and susceptibility to protolysis. Z. Pflanzen Physiol. Bd. 111. S. 19-27.
- Winter, K.,H. Usuda, M. Tsuzuki, M. Schmitt and G.E. Edward. 1982. Influence of nitrate and ammonia on photosynthetic characteristics and leaf anatomy of *Moricandia arvensis*. Plant Physiol. 70:616-625.
- Zak, D.R. and K.S. Pregitzer. 1988. Nitrate assimilation by herbaceous ground flora in late successional forests. Journal of Ecology. 76:537-546.

(1990年 11月 4日 接受)