

KNO₃를 첨가한 양액에서 상추의 생육 및 마이크로솜 ATPase 활성 변화

이경자 · 강보구 · 김현주 · 민경범 · 김영기¹⁾

충북농업기술원 농업환경과, ¹⁾충북대학교 농화학과

(2000년 12월 14일 접수 · 2001년 3월 2일 수리)

Growth and Microsomal ATPase Activity of Lettuce(*Lactuca sativa*. L.) Cultured in the KNO₃-Added Nutrient Solution

Gyeong-Ja Lee, Bo-Goo Kang, Hyun-Ju Kim, Kyeong-Beom Min and Young-Kee Kim¹⁾ (Chungbuk Agricultural Research and Extension Services, Cheongweon 363-883, Korea. ¹⁾Department of Agricultural Chemistry, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea)

ABSTRACT : Lettuces were grown hydroponically in three different nutrient solutions, normal and 30 or 50 mM KNO₃-added nutrient solutions, and the electrical conductivities of the nutrient solutions were 1.0, 4.5, and 6.5 dS/m, respectively. Lettuces grown in the KNO₃-added nutrient solutions showed a decrease in the germination ratio and the lower indices of growth, such as plant height, stem diameter, leaf length, and leaf width. Microsomes were prepared from the roots of lettuce and characteristics of microsomal ATPases were investigated. The activities of microsomal ATPases grown in the 30 mM and 50 mM KNO₃-added nutrient solutions were higher than that grown in the normal nutrient solution. The highest activities of microsomal ATPases were observed at pH 7.0 in all culture conditions. The activities of microsomal ATPases were increased in a reaction buffer solution containing high concentration of K⁺, whereas they were decreased in a reaction buffer containing Na⁺. The stimulating effect of K⁺ in the reaction buffer was greater on the microsomal ATPases of lettuces grown in the KNO₃-added nutrient solutions than that grown in the normal nutrient solution. These results imply that the activities of microsomal ATPases in the root tissue are increased as increasing the KNO₃ concentration in the hydroponical nutrient solution.

Key words : lettuce, root, ATPase activity, salt stress

서 론

작물의 생육을 억제하는 환경스트레스에는 수분, 온도, 염류 등 많은 요인이 있을 수 있으나 최근 시설재배 농업과정에 있어서 가장 큰 문제로 대두되고 있는 환경스트레스는 토양에 염류가 과다 집적되어 나타난다. 염류집적의 원인은 작물이 흡수할 수 있는 양보다 많은 양의 비료가 토양으로 투입되어 나타나는 것으로서 과다한 비료성분은 토양에 축적될 뿐 만 아니라 용탈로 인한 지하수의 오염을 초래하고 있다^{1,2)}. 이러한 토양 중의 염류집적은 작물의 생장에 스트레스로 작용하여 생육을 저해할 뿐만 아니라 심할 경우 생리적 장애로 인한 죽음을 초래한다.

토양 중의 무기염류는 뿌리에서 흡수되어 줄기나 혹은 잎으로 이행하는데 토양에 염류가 집적되면 식물뿌리로 과다하게 흡수되어 세포내의 생리활성 변화를 유발한다. 이 과정에서 조직세포는 세포막 및 세포내 소기관 막에 위치하는 이온펌프 및 이온채널 등 효소활성의 조절을 통하여 세포질 내 이온농도를 생육에 맞도록 조절하는데 이와 같은 이온펌프 및 이온채널 단백질의 존재

및 생리적 역할은 1970년대 중반이후 식물체에서 많이 연구되어 왔다. 특히, 세포막에 존재하는 Na⁺/H⁺ antiporter는 염류저항성에 관계하고,³⁾ Ca²⁺-ATPase는 2개의 Ca²⁺를 밖으로 운반하여 세포질내의 칼슘이온 농도를 낮추고,⁴⁾ NO₃⁻/H⁺ cotransporter는 NO₃⁻의 흡수에 관여하며,⁵⁾ H⁺-ATPase는 식물체의 성장과 분화에 관여^{6,7)}한다고 보고된 바 있다. 따라서 뿌리조직으로부터 분리한 생체막의 ion transport 단백질의 특성을 밝히는 것은 토양 염류 집적에 의한 작물의 생리장애와 적응기작을 이해하는데 크게 기여할 것이다. 본 연구에서는 토양내 염류집적에 가장 큰 원인이 되는 KNO₃^{8,9)}로 염류농도를 조절한 양액에서 상추를 재배하고 지상부의 생육상황 및 뿌리조직의 마이크로솜 ATPase의 활성을 조사하였다.

재료 및 방법

상추의 재배

특성 적축면 상추를 공시품종으로 하여 발아용 스폰지에 증류

수를 충분히 습윤시킨 후 파종하고 암실조건으로 28°C 배양기에서 1주일간 발아시켰다. 발아된 모는 온도 30°C, 습도 55%, 16시간 광조사 조건으로 조절된 growth chamber로 옮겨 약 2주간 경화시킨 다음, 정상 양액과 KNO₃로 염류농도를 조절한 양액이 담긴 3 L짜리 플라스틱 용기에 8주씩 이식하여, 유리온실로 옮겼다. 이식된 상추는 온실에서 약 4주간 재배한 후 지상부를 채취하여 엽장, 엽폭, 경태 및 초장을 측정하고 무기이온 성분을 분석하였다. 상추의 뿌리는 채취하여 마이크로솜을 분리하고 ATPase 활성을 측정하였다.

대조구의 양액은 아마자키액¹⁰⁾으로 1 mM Ca(NO₃)₂ · 4H₂O, 4 mM KNO₃, 0.5 mM MgSO₄ · 7H₂O, 1.35 mM NH₄H₂PO₄, 35.6 μM Fe-EDTA, 32.3 μM H₃BO₃, 8.3 μM MnSO₄ · 5H₂O, 0.083 μM Na₂MoO₄ · 2H₂O, 0.77 μM ZnSO₄ · 7H₂O를 함유한 것으로 재배기간 동안의 EC를 0.97±0.09 dS/m 로 유지하였다. 양액의 염류농도 처리는 대조구 양액에 30 mM과 50 mM의 KNO₃를 첨가하여 재배기간동안 EC를 각각 4.33±0.22 와 6.39±0.37 dS/m 로 유지시켰다.

상추 뿌리조직에서의 마이크로솜 분리

상추 뿌리조직으로부터 마이크로솜 분리는 Cho 등¹¹⁾의 방법에 따라 초고속 원심분리법으로 이루어졌다. 마이크로솜 분획은 액체질소로 급냉시킨 후 사용할 때까지 -70°C의 deep freezer에 보관하였다. 모든 과정은 4°C에서 수행하였으며 마이크로솜 분획의 단백질농도는 Lowry 방법¹²⁾으로 결정하였다.

발아율 조사

직경 9 cm 샤페에 탈지면을 깔고 종자 30립을 치상한 후 위의 EC가 다른 3가지 양액을 처리하면서 28°C로 조절된 배양기에서 20일 동안 조사하였다.

식물체의 무기성분 함량

식물체의 무기성분 함량은 농촌진흥청에서 시행하고 있는 분석법¹³⁾에 의하여 분석하였다. 무기성분 함량중 K, Ca, Mg은 건조분쇄된 시료를 perchloric acid로 습식 분해시킨 후, 원자흡광광도계(Perkin Elmer)를 이용하여 측정하였고, 인산은 습식 분해후 Vanadate법, 전질소량은 습식 분해후 Indophenol-Blue법을 이용하여 spectrophotometer(HP 8452A)로 측정하였다.

마이크로솜 ATPase의 활성 측정

상추뿌리로부터 분리한 마이크로솜의 ATPase활성은 enzyme coupled assay 방법¹⁴⁾을 이용하여 측정하였다. 반응용액에 마이크로솜을 가한 후, 1 IU pyruvate kinase와 1 IU lactate dehydrogenase를 혼합하고 ATP를 0.5 mM되도록 가하여 340 nm에서 흡광도 감소율을 측정하였다. 반응용액의 조성은 120 mM KCl, 2 mM phosphoenolpyruvate, 10 mM KCN, 50 μM

CaCl₂, 0.4 mM NADH, 1 mM MgCl₂, 30 mM HEPES(pH 7.4), 10 mM KCN이었다.

결과 및 고찰

생육상태

KNO₃로 EC수준을 달리한 3가지의 양액에서 상추를 4주간 재배한 결과, 대조구의 양액에서 재배한 상추는 정상적인 생육을 보였으나 30 mM KNO₃를 첨가한 양액에서 재배한 상추는 잎 끝에 약간의 갈색을 띄며 마르는 증상을 보였다. 또한 양액에 50 mM KNO₃를 첨가하여 재배한 상추는 잎 끝이 갈색으로 말라붙어 하엽부터 고사하는 증상을 보였다. 배양액에 질산태 질소 농도를 증가시키면 토마토의 엽장과 엽병의 건물중을 증가시킨다는 보고¹⁵⁾가 있으나, Cram은¹⁶⁾ 양분 흡수에 있어서 NO₃⁻와 Cl⁻가 길항 관계에 있음을 보고하였다. 한편 Silberbush 등¹⁷⁾은 땅콩에서 저농도의 NaCl을 처리했을 때 K⁺과 NO₃⁻의 흡수장애가 나타났고 이러한 현상은 Na⁺과 K⁺의 흡수가 경쟁적으로 이루어짐에 의하며, NO₃⁻와 Cl⁻의 흡수에서 상호작용은 적었다고 보고하였다. 그러므로 과량의 질소 투입은 오히려 식물체내로 다른 미량원소의 흡수를 방해하는 요인이 될 것이며 배양액내의 과량의 NO₃⁻ 및 K⁺는 염류농도를 증가시켜 식물체 근모세포의 수분 스트레스를 유발함으로써 식물의 생장저해 또는 고사의 원인이 될 것으로 사료된다.

지상부의 생육상황 즉 초장, 경태, 엽장 및 엽폭을 조사한 결과를 Table 1에 나타내었는데, 전반적으로 대조구와 30 mM KNO₃를 첨가한 양액에서는 생육에 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 양액에 50 mM KNO₃를 첨가한 경우는 다른 두 처리에 비하여 생육이 부진하여 30~40%의 생육감소를 보였다. 이 결과는 강¹⁸⁾의 보고와 유사하였는데, 강은 양액 대신 염류집적 토양에서 상추를 재배하여 생육상황을 비교한 결과, 상추의 엽장과 엽폭은 EC 3.65 dS/m에서 가장 양호하였고 EC 5.60 dS/m이상의 토양에서는 염류 장해로 인해 엽장과 엽폭이 작아졌

Table 1. Growth of lettuce cultured under different KNO₃-concentration

Treatments	Growth phase				
	EC ¹ (dS/m)	Plant height	Stem diameter	Leaf width	Leaf length
Control	N.S.	20.9±1.0a ¹	8.1±2.3a	12.1±0.9a	18.2±0.9a
N.S.+30 mM KNO ₃	4.33±0.22	21.3±1.2a	7.6±1.2a	12.6±1.5a	18.0±1.6a
N.S.+50 mM KNO ₃	6.39±0.37	14.4±2.6b	4.9±1.3b	8.6±2.1b	12.5±1.9b

¹Electrical conductivity of nutrient solution.

N.S. ; nutrient solution.

²Values with the same letter are not significantly different at the 5% level by Least Significant Difference Test(n=40).

으며, EC 수준이 높아질수록 잎끝이 마르고 일부는 고사하였다고 보고하였다. 또한 Donahue 등¹⁹⁾은 작물별 염류농도에 의한 피해 정도를 수량의 감소비율로 나타내었는데, 상추의 경우 토양의 EC가 2.1, 3.2 및 5.2 dS/m 일 때, 수량은 각각 10, 25 및 50% 감소한다고 보고하였다. 이러한 보고와는 달리 본 시험에서 EC 4.33 dS/m에서도 생육적인 차이가 나지 않은 것은 생육기간이 4주인 유묘기의 생육만을 조사하였기 때문으로 생각된다.

발아율

대조구 양액과 증류수에서 발아시킨 것은 치상한 다음날부터 발아하기 시작하여 7일째까지 상승하는 경향을 보였으나, KNO₃를 첨가한 양액에서는 발아율의 증가폭이 아주 작았다. 증류수와 대조구 양액에서는 치상 후 1일째에 각각 41 및 54%의 발아율을 보였으나 EC가 4.5 및 6.5 dS/m인 양액에서는 각각 19 및 4%의 아주 저조한 발아율을 보였다. 치상 후 11일째부터는 더 이상의 발아가 되지 않아 EC가 0, 1.0, 4.5 및 6.5 dS/m에서 각각 85, 72, 29 및 16%의 발아율을 보였으며(Fig. 1), 상추종자 자체의 발아율을 고려하여 EC농도가 0인 증류수를 기준으로 하여볼 때 EC 1.0, 4.5 및 6.5 dS/m에서 각각 84, 34 및 19%의 발아율을 보였다.

본 시험의 결과는 기존의 보고^{20,21)}에서와 같이 EC가 높을수록 발아율이 떨어지는 것을 보였으나 기존의 보고와 비교하여 비슷한 염류조건에서는 발아율이 낮은 경향을 보였다. 이것은 EC를 조절할 염의 종류에 따른 현상으로 여겨지며, 염류농도가 높을수록 발아율이 낮아지고 발아 시기도 늦어져 상추의 발아가 염류농도와 밀접한 관계가 있음을 확인하였다.

무기성분 함량

양액내 염류조건에 따른 상추의 무기성분 함량변화는 Table 2와

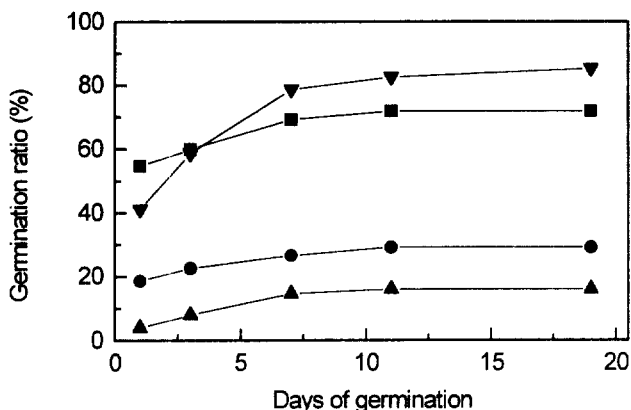


Fig. 1. Germination of lettuce cultured in different nutrient solutions. The germination of lettuce was measured in the control nutrient solution(■), nutrient solution plus 30 mM KNO₃(●), nutrient solution plus 50 mM KNO₃(▲), and distilled water (▼) at 28°C.

같다. 양액의 EC를 높이기위해 KNO₃를 첨가한 조건에서는 상추의 무기성분 함량 중, K의 양은 2배 이상 증가하였으나 총 질소(T-N)의 함량은 큰 변화를 보이지 않았다. 이것은 K에 비하여 질소성분이 빠르게 대사되거나 생체의 항상성 기작에 의해서 조절되기 때문인 것으로 생각된다. 또한 KNO₃의 첨가시에 상추 지상부의 P, Ca 및 Mg의 함량은 감소하였다. 특히 Ca과 Mg의 감소는 70% 이상으로 나타났으며 이들 두 성분이 생육에 필수적으로 요구되는 생리적 이온이라는 것을 고려할 때 이러한 결과는 상추의 생리활성에 영향을 줄 수 있을 것으로 여겨진다.

대조구에 비하여 고염류 조건에서의 무기성분 함량의 변화는 Viro의 보고²²⁾에서도 잘 나타났다. Viro는 토마토의 배양액에 K⁺의 농도를 2 mM, 10 mM 및 20 mM로 증가시켰을 때 양이온 함량에 미치는 K⁺ 영향을 조사한 결과, K⁺은 증가하고 Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺은 감소함을 확인하였다. 이러한 결과는 외부의 높은 K⁺이 농도 기울기에 따라 세포 안으로 유입되어 축적되거나 혹은 외부의 높은 농도의 NO₃⁻가 지상부로 이동될 때 K⁺을 동반하여 세포 내로 유입되었을 것으로 사료되며 다른 양이온의 경우는 K⁺의 축적에 따라 세포 안으로 유입이 억제되거나 배출됨에 기인할 것이다. 이러한 이온들의 길항효과는 세포내 이온의 균형효과 때문일 것으로 생각된다.

뿌리조직의 마이크로솜 ATPase 활성

대조구의 양액에서 채배된 상추뿌리 마이크로솜 ATPase의 총 활성은 356±4 nmol/min/mg protein이고, 30 mM KNO₃를 첨가한 양액에서 자란 상추뿌리의 ATPase 활성은 607±4 nmol/min/mg protein이며, 양액에 50 mM KNO₃를 첨가한 용액에서 자란 상추뿌리에서 ATPase의 활성은 673±17 nmol/min/mg protein으로 측정되어 양액에 30 mM KNO₃와 50 mM KNO₃를 첨가한 용액에서 채배한 상추뿌리의 ATPase 총활성이 대조구에서의 활성보다 각각 70% 및 89%의 증가를 보였다(Fig. 2). 이것은 뿌리조직에서의 ATPase활성의 주된 부분이 세포막과 액포막의 H⁺ 펌프라는 사실^{22,23)}을 고려할 때 채배 용액에 KNO₃를 첨가하여 EC를 증가시킴으로써 이온이동과 관련한 액포막이나 세포막에서의 이온펌프(ATPase) 활성이 증가하였음을 나타낸다.

Table 2. Contents of mineral nutrients in lettuce

Treatments	T-N ¹	P	K	Ca	Mg
Control N.S. ²	43.5	4.80	33.4	10.8	3.3
N.S.+30 mM KNO ₃	39.7	3.90	40.6	3.7	1.1
N.S.+50 mM KNO ₃	40.0	3.30	84.6	2.5	0.7

¹T-N : total nitrogen.

²N.S. : nutrient solution.

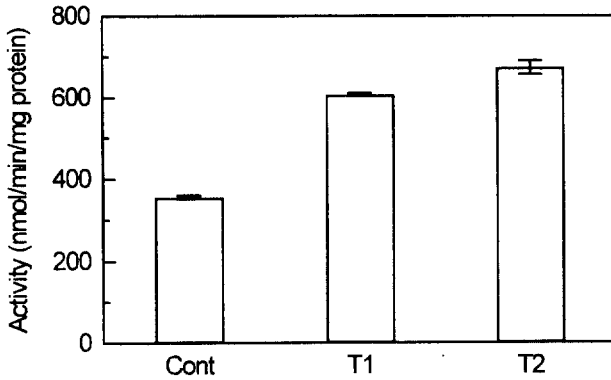


Fig. 2. Activities of microsomal ATPases prepared from lettuce roots. The lettuces were grown in the nutrient solution(Cont), nutrient solution plus 30 mM KNO₃(T1), and nutrient solution plus 50 mM KNO₃(T2).

pH에 따른 마이크로솜 ATPase 활성변화

세포막이나 액포막에 존재하며 이온이동과 관련된 primary ATPase는 각기 다른 최적의 pH를 보이며 세포 내외의 수소이온 농도차에 의하여 활성이 변화되는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서도 상추뿌리 조직으로부터 분리한 마이크로솜 ATPase의 pH 의존도를 알아보기 위하여 반응용액의 pH를 6.0, 7.0, 7.4 및 8.0으로 변화시키며 활성을 조사하였다(Fig. 3).

반응용액의 pH가 7.4인 경우 양액에서 재배한 상추의 마이크로솜 ATPase 총활성은 356±10 nmol/min/mg protein으로 측정되었고 30 mM KNO₃와 50 mM KNO₃를 첨가한 양액에서 재배한 상추뿌리의 마이크로솜 ATPase는 각각 607±11과 673±7.7 nmol/min/mg protein으로 측정되었다. 그러나 pH 6.0에서는 양액 및 양액에 30 mM KNO₃와 50 mM KNO₃를 첨가한 양액에서 재배된 상추뿌리의 마이크로솜 ATPase의 총활성이 각각 263±2.9, 449±10 및 477±16 nmol/min/mg protein으로 측정되어 pH

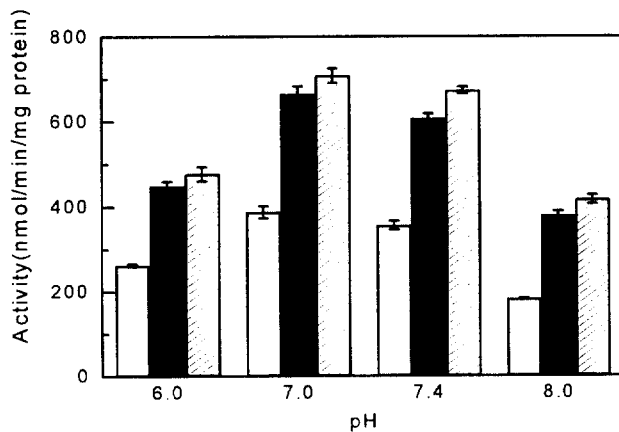


Fig. 3. pH dependence of total ATPase activity. The steady-state activity of microsomal ATPase was measured in the indicated pH condition. The growth conditions of lettuce were in the nutrient solution(□), in the nutrient solution plus 30 mM KNO₃(■), and in the nutrient solution plus 50 mM KNO₃(▨).

7.4에서의 활성에 비하여 각각 74%, 74% 및 71%로 감소되었고, pH 7.0에서의 총활성은 각각 388±14, 665±17 및 708±17 nmol/min/mg protein으로 측정되어 109%, 110% 및 105%로 증가하였다. 또한 pH 8.0에서는 총활성이 182±1.4, 379±10 및 416±10 nmol/min/mg protein으로 측정되어 pH 7.4의 활성에 비교하여 51%, 62% 및 62%로 감소함을 확인하였다.

이러한 결과는 뿌리조직으로부터 분리한 마이크로솜 ATPase의 총활성이 재배양액의 조건에 관계없이 반응의 최적 pH가 7.0인 전형적인 bell-shape을 보여주어 마이크로솜 ATPase의 활성이 수소이온 농도에 따라 영향받음을 보여주며 또한 각기 다른 처리에서 얻어진 마이크로솜 ATPase의 pH 의존도는 전반적으로 같은 양상을 보였다. 그러나 pH 8.0에서는 KNO₃를 첨가하여 재배한 상추뿌리의 ATPase 활성감소(62%)은 양액에서 재배한 상추뿌리의 ATPase 활성감소(51%)에 비해 10% 정도 덜 감소함으로써 양액 처리간 차이를 보였다.

ATPase 활성에 미치는 K⁺과 Na⁺의 영향

K⁺과 Na⁺가 각각 세포질과 세포 외부의 주된 이온임을 감안하여 마이크로솜 ATPase의 활성에 미치는 K⁺과 Na⁺의 영향을 측정하였다(Fig. 4). 반응용액에 세포질과 유사한 조건인 120 mM K⁺과 10 mM Na⁺를 함유한 대조실험(Cont)에서는 정상의 양액에서 재배한 상추뿌리의 마이크로솜 ATPase 총활성은 345±14 nmol/min /mg protein이었고 30 mM KNO₃와 50 mM KNO₃를 첨가한 양액에서의 마이크로솜 ATPase 총활성은 각각 568±5.2와 623±20 nmol/min/mg protein으로 측정되었다.

이에 비하여 130 mM K⁺만을 함유한 반응용액(K⁺)에서는, 대조구 양액 및 양액에 30 mM KNO₃와 50 mM KNO₃를 첨가한 양액에서 재배한 상추뿌리의 마이크로솜 ATPase의 활성이 각각 356±17, 607±6.3 및 673±5.8 nmol/min/mg protein으로 측정됨으로써 위의 대조실험인 Cont와 비교하면 양액에 30 mM KNO₃ 및 50 mM KNO₃를 첨가하여 재배하여 재배한 경우 활성이 각각 7% 및 8% 증가하였다. 이러한 결과는 반응용액의 K⁺도 재배양액에 첨가된 KNO₃와 마찬가지로 상추뿌리의 마이크로솜 ATPase 활성에 영향을 미친다는 것을 보여준다.

한편 Na⁺만을 함유한 반응용액(Na⁺) 조건에서는 양액에서 재배한 상추뿌리의 ATPase 활성은 282±6.6 nmol/min/mg protein이었고 양액에 30 mM KNO₃와 50 mM KNO₃를 첨가한 양액에서의 상추뿌리 마이크로솜 ATPase 활성은 각각 454±8.2, 513±21 nmol/min/mg protein으로 측정됨으로써 대조실험(Cont)에서의 측정치보다 각각 18%, 20% 및 18% 감소하였으나 재배양액의 처리간 감소율은 비슷하게 나타났다. 이것은 마이크로솜 ATPase의 활성이 반응용액내 K⁺을 필요로 하며 Na⁺만 존재할 경우 활성이 크게 감소함을 뜻한다. 즉 이 실험을 통하여 반응용액에 K⁺의 농도가 증가하면 마이크로솜 ATPase의 총 활성은 증가하고 반응용액에 Na⁺이 증가하면 마이크로솜 ATPase의 총 활성은 감소함을 알 수 있었다.

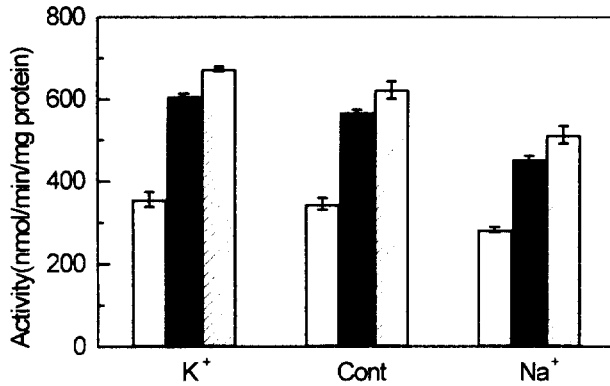


Fig. 4. Effects of K⁺ and Na⁺ on the activity of microsomal ATPase. The activity of microsomal ATPase was measured under the different ionic conditions; in a buffer solution containing 120 mM K⁺ and 10 mM Na⁺(Cont), in a buffer solution containing 130 mM K⁺(K⁺), and in a buffer solution containing 130 mM Na⁺(Na⁺). Microsomal ATPase activities were measured at steady-state condition. Lettuces were grown in three different conditions, the nutrient solution(□), the nutrient solution plus 30 mM KNO₃(■), and the nutrient solution plus 50 mM KNO₃(▨).

K⁺에 의한 마이크로솜 ATPase의 활성증가 현상을 조사하기 위하여 반응용액의 K⁺ 농도를 변화시키면서 활성을 측정하였다 (Fig. 5). 반응용액의 K⁺ 농도를 10 μM, 100 μM, 1 mM, 10, 50, 100, 120, 130, 150 그리고 200 mM로 증가시키면서 마이크로솜 ATPase의 총활성을 조사한 결과, 반응용액의 K⁺ 농도가 증가할수록 마이크로솜 ATPase의 총활성은 증가하였다. K⁺ 200 mM 을 포함하는 반응용액에서의 활성을 130 mM에서의 활성과 비교하면 양액에서 재배한 상추뿌리의 마이크로솜 ATPase 활성은 110% 증가하였고, 양액에 30 mM과 50 mM KNO₃를 첨가한 양액에서 재배한 경우는 각각 118%, 115%로 증가하여 재배조건과 상관없이 반응용액의 K⁺ 농도 증가는 활성증가를 유발하였다. 반면에 낮은 농도인 1 mM이나 10 mM의 K⁺을 첨가한 반응용액에서의 마이크로솜 ATPase의 활성은 재배 조건과 상관없이 130 mM에서의 활성과 비교하여 30~50% 감소시켰다. Fig. 5B는 반응용액의 K⁺ 농도 증가에 따른 활성증가분을 보인 것으로, 위의 각 조건의 활성에서 K⁺이 첨가되지 않았을 때의 활성을 빼준 결과이다. 반응용액내 K⁺ 농도 증가에 따른 활성증가분은 50 mM 이하에서는 대조구 양액 및 양액에 30 mM KNO₃, 50 mM KNO₃를 첨가한 조건에서 재배한 상추뿌리 마이크로솜 ATPase의 활성 증가폭이 같았으나 50 mM 이상의 K⁺이 첨가되었을 때, 재배양액에 KNO₃를 첨가하여 재배한 상추뿌리의 마이크로솜 ATPase 활성이 큰 증가를 보였다.

이상의 결과는 뿌리세포에서 생리활성 조절에 중심적 역할을 수행하는 H⁺ 펌프(H⁺-ATPase)를 포함하여 이온이동과 관련된 ATPase들의 활성이 재배양액에 KNO₃를 첨가한 조건에서 증가하였고 특히 이들의 활성이 K⁺ 농도의 증가에 의해 활성화됨을 보

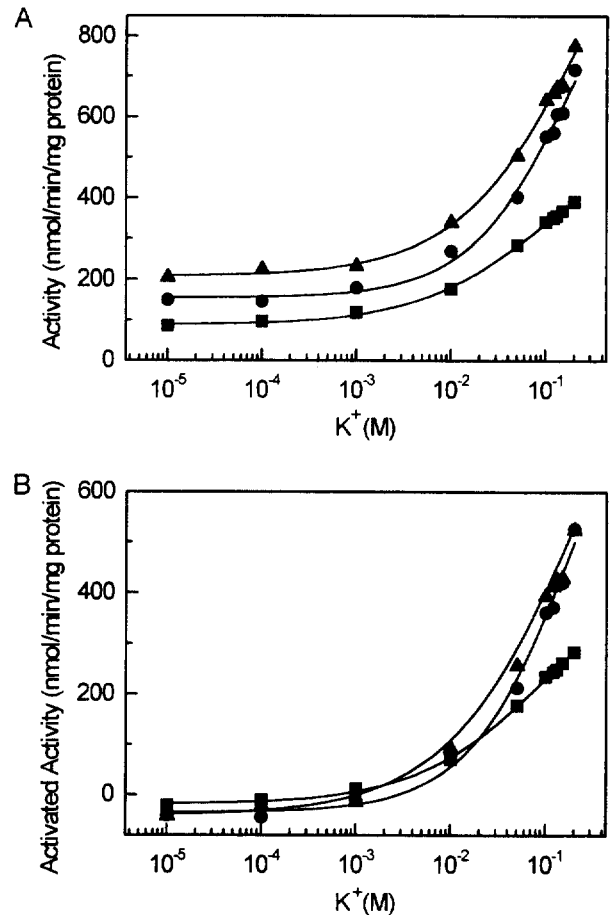


Fig. 5. K⁺-dependence of microsomal ATPase activity. (A) Activity of microsomal ATPase in the solution containing various concentration of K⁺. (B) The increased activity of microsomal ATPase. The increased activity was calculated by the subtraction of microsomal ATPase activity obtained in the absence of K⁺ from the activity obtained at various concentration of K⁺. Lettuces were grown in three different conditions, the nutrient solution(□), the nutrient solution plus 30 mM KNO₃(●), and the nutrient solution plus 50 mM KNO₃(▲).

였다. 이것은 양액에 첨가된 KNO₃가 세포내로 유입됨에 따라 이들 ATPase의 활성이 증가할 것이라는 가능성을 보여주는 것으로 염류장해 조건에서 ATPase 활성이 증가함을 예측할 수 있겠다. 세포에는 원형질막과 액포막에 세포의 생리활성에 가장 중요한 역할을 수행하는 H⁺-ATPase가 존재하며 그의 다양한 이온이동 효소들이 존재하므로 앞으로의 연구에서는 염류장에 조건에서 이들 각 효소의 역할을 구명하여야 할 것이다.

요 약

본 시험에서 사용된 상추는 대조구인 양액과 양액에 30 mM KNO₃, 혹은 양액에 50 mM KNO₃를 첨가한 염류농도가 다른 3

가지의 양액에서 재배하였으며 이들 양액의 EC는 각각 1.0, 4.5, 6.5 dS/m 이었다. 상추의 생육은 처리간에 차이를 보였으며 KNO₃를 첨가하여 염류농도를 높여준 용액에서 재배한 상추는 잎끝이 마르는 생리적 장애를 보이면서 발아율의 감소는 물론 초장, 경태, 엽장 및 엽폭 등 성장이 대조구와 비교하여 현저히 부진하였다.

이들 양액에서 자란 상추의 뿌리로부터 마이크로솜을 분리하여 ATPase의 특성을 조사하였다. 마이크로솜 ATPase의 활성은 대조구에 비하여 양액에 30 mM KNO₃와 50 mM KNO₃를 첨가한 용액에서 자란 상추에서 더 높았다. 상추뿌리로부터 분리한 마이크로솜 ATPase의 총활성은 재배양액 조건에 관계없이 pH 7.0에서 최대로 나타났다. ATPase의 활성은 반응용액의 K⁺ 농도를 증가시키면 증가하였고 반응용액에 Na⁺ 농도를 증가시키면 감소하였다. K⁺에 의한 활성증가 효과는 양액에서 재배한 대조구보다 KNO₃를 첨가하여 EC를 높여준 양액에서 재배한 상추뿌리의 마이크로솜 ATPase에서 더 크게 나타났다. 이러한 결과는 생육환경내 KNO₃ 농도의 증가에 따라 뿌리의 생리활성을 조절하는 ATPase의 활성이 증가함을 보여준다.

참 고 문 헌

1. Yun, S. G. and Yoo, S. H. (1993) Behaviour of NO₃-N in soil and groundwater quality, *Kor. J. Environ. Agric.* 12, 281-297.
2. Roth, G. W. and Fox, R. H. (1990) Soil nitrate accumulations following nitrogen fertilized corn in Pennsylvania, *J. Environ. Qual.* 19, 243-248.
3. Braun, Y., Hiriarn, M., Lerner, H. R. and Reinhold, L. (1988) Evidence for a Na⁺/H⁺ antiporter in membrane vesicles isolated from roots of the halophyte *Atriplex nummularia* L. *Plant Physiol.* 87, 104-108.
4. Rasi-Caldogno, F., Pugliarello, M. C., Olivari, C. and De Michelis, M. I. (1989) Identification and characterization of the Ca²⁺-ATPase which drives active transport of Ca²⁺ at the plasma membrane of radish seedlings, *Plant Physiol.* 90, 1429-1434.
5. McClure, P. R., Kochian, L. V., Spanswick, R. M. and Shaff, J. E. (1990) Evidence for cotransport of nitrate and protons in maize roots, *Plant Physiol.* 93, 281-289.
6. Sze, H. (1985) H⁺ translocating ATPases: advances using membrane vesicles. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 36, 175-208.
7. Serrano, R. (1989) Structure and function of plasma membrane ATPase, *Anu. Rev. Plant Physiol. Mol. Bio.* 40, 61-94.
8. Kowalenko, C. G. (1980) Transport and transformation of fertilizer-N in a sandy field plot using tracer technique, *Soil Sci.* 129, 218-221.
9. Pleyzier, J. L. and Juo, A. S. R. (1982) Leaching of fertilizer ions in Ultisol from the high rainfall tropics: leaching through undisturbed soil column, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46, 754-760.
10. 박상근, 김광용, 이용호. (1990) 양액재배기술. 표준영농교본 -71. 농촌진흥청. p.55-56.
11. Cho, K. H., Sakong, J. and Kim, Y. K. (1998) Characterization of microsomal ATPases prepared from tomato roots, *Agric. Chem. Biotechnol.* 41, 130-136.
12. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.
13. 농업기술연구소. (1988) 토양화학분석법.
14. Niggli, V., Penniston, J. T. and Carafoli, E. (1979) Purification of the (Ca²⁺-Mg²⁺)-ATPase from human erythrocyte membranes using a calmodulin affinity column, *J. Biol. Chem.* 254, 9955-9958.
15. Lee, K. S., Yun, J. Q. and Matsui, Y. (1997) Effect of nitrate concentration in culture solution on the growth and the uptake of inorganic elements of tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill), *J. Kor. Soc. Soil Sci. Fert.* 30, 29-34.
16. Cram, W. J. (1973) Internal factors regulating nitrate and chloride influx in plant cell, *J. Exp. Bot.* 24, 328-341.
17. Silberbush, M. and Ben-Asher, J. (1989) The effect of NaCl concentration on NO₃⁻, K⁺ and orthophosphate-P(PO₄-P) influx to peanut roots, *Scientia Horticulturase.* 39, 279-287.
18. Kang, B. K. (1997) Chemical characteristics and salt movement of soils in green house area, Ph. D. Thesis, Chungbuk National University.
19. Donahue, R. L. and Miler, R. W. (1990) Soil an introduction to soil and growth. 6th Ed. Prentice Hall. p.308-340.
20. Kang, B. G., Jeong, I. M., Min, K. B. and Kim, J. J. (1996) Effect of salt accumulation on the germination and growth of lettuce (*Lactuca sativa*, L.), *J. Kor. Soc. Soil Sci. Fert.* 29, 360-364.
21. Ayers, A. D. and Hayward, H. E. (1948) A method for measuring the effects of soil salinity on seed germination with observations several crop plants, *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* p.224-226.
22. 강영희, 신영오. (1994) 식물영양학. 아카데미 서적. p.322-324.
23. Lee, G. J. (2000) Characterization of microsomal ATPases prepared from lettuce roots grown in high concentration of KNO₃, M. S. Thesis, Chungbuk National University.
24. Cho, K. H. and Kim, Y. K. (1999) Characterization of microsomal Ca²⁺ uptake in tomato root tissues, *J. Kor. Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 42, 116-122.