

담배 植物의 葉序別 窒酸還元能力 比較

李允渙* · 林善旭**

Nitrate Reduction of Tobacco Leaves along the Stalk Position

Yun-Hwan Lee*, Sun-Uk Lim**

Summary

Nitrate nitrogen was absorbed dominantly among the inorganic nitrogen nutrients by tobacco plant. Transport and reduction of $\text{NO}_3\text{-N}$ in plant tissue were the important metabolism for supplying synthetic N compounds to developing tissues during growth period. Under field and environment-controlled condition tobacco plants were grown and separated to leaf tissues at stalk positions for investigation of nitrogen transport and assimilation ability during period of rapid vegetative growth.

The results of studies were summarized as follows:

1. $\text{NO}_3\text{-N}$ absorbed from roots was transported as inorganic nitrogen through the vascular tissue of leaf veins as resulting from the high $\text{NO}_3\text{-N}$ ratio of the nitrogen content in leaf veins, but these ratios in mesophyll tissue of the same leaf laminae decreased remarkably in disregard of higher accumulation of nitrogen being compared to midvein.
2. Mesophyll tissue of mature leaves appeared higher value of nitrate reductase activity (NRA) comparing with other tissues, stem, leaf vein, and meristematic tissue at emergence point with young leaves.
3. Matured leaves at lower position being reducing nitrate nitrogen vigorously observed thick laminae and kept high amount of water in them.
4. Mature leaves of young plant reduced $\text{NO}_3\text{-N}$ vigorously for supply synthetic N compounds to meristematic tissues at growing point by the reason of narrow and few leaves at young stage, but in advancing growth period NRA of mature leaves along upper position reached to lower value. This appearance attributed to distribution of organic-N compound demanding for growth to increasing numbers of wide leaves.

緒 言

담배 植物은 供給되는 窒素形에 따라서 매우 예민한 吸收反應을 보이는데, $\text{NO}_3\text{-N}$ 을 選擇적으로 吸收하므로써 왕성하게 生育하며 好窒酸性植物인 것을¹²⁾ 밝

힌바 있다. 그리고 담배식물체 내에서 窒素의 移動樣相을 檢討한 結果¹⁶⁾에 의하면 줄기를 경유하여 葉脈과 側脈까지의 導管組織에 含有된 窒素의 形은 대부분 $\text{N O}_3\text{-N}$ 으로써 無機態로 잎살에까지 移動되며 葉肉에서는 무기태질소가 거의 檢出되지 않는 것으로 보아

* 韓國人蔘煙草研究所 (Korea Ginseng & Tobacco Research Institute)

** 서울大學校 農科大學 (College of Agriculture, Seoul National University Suweon, 170, Korea)

收移動된 無機態窒素가 葉肉에서 還元同化되는 것으로 짐작된다.

그러나 담배식물이 생육하면서 出葉된 잎의 葉肉中 N含量은 着葉位置別로 큰 차이가 있어, 葉展開가 完了된 成熟葉보다 分裂生長中인 上位의 幼葉에 多量の 窒素가 蓄積되는 것이므로¹⁶⁾ 無機態窒素($\text{NO}_3\text{-N}$)의 還元同化機能이 生長過程에서 着葉位置別로 各各 다르게 나타날 것으로 예상된다.

植物은 蛋白質의 供給이 있어야 細胞增殖과 酵素의 合成이 이루어져 生長하는데 $\text{NO}_3\text{-N}$ 의 還元에 의하여 단백질을 合成하는 窒素同化作用은 植物이 수행하는 가장 중요한 物質合成代謝作用이므로 담배식물의 着葉別 窒素還元能力을 生育過程에서 葉序別로 調査比較하였기에 報告하는 바이다.

材料 및 方法

담배 黃色種品種(cv. NC 82)을 2월 25일에 播種하여 一次 假植을 거친후 韓國人菸草研究所의 實行 P. E film 被覆栽培方法에 準하여 4월 12일에 圃場에 移植하였으며 煙草用 複合肥料(10-10-20)을 100kg/10a로 施肥하여 栽培했다. 生育過程의 葉序別 試料은 phytotrone에서 栽培하였으며 前報¹⁰⁾에 準했다.

分析用 試料은 生育과정별로 均一한 生育狀態의 植物體를 3~5株 採取하여 葉序別로 主脈단을 除去하고 수도물과 증류수로 씻어서 綿거-즈로 물기를 除去한 다음, 잘게 썰어서 그 일정량을 nitrate reductase activity (NRA) 調査用 試料로 使用했고 나머지는 熱風乾燥機에서 70°C를 維持하면서 乾燥하여 粉碎物을 無機成分 分析用 試料로 使用했다.

酵素活性 減退를 최대한 排除하고자 午前 10시에 採取하고 가능한 짧은 시간에 試料을 調製하여 冷凍室에 保管한 후 1日內에 NRA分析用 試料로 씻고 NRA分析과 無機成分 分析은 前報^{12,13)}와 같은 방법으로 수행했다.

結果 및 考察

뿌리에서 흡수된 $\text{NO}_3\text{-N}$ 의 移動分布를 조사하기 위하여 圃場에서 栽培하여 떡잎을 기준으로 6枚葉에서 21枚葉까지 着葉된 植物의 9~19枚사이 잎을 試料로

採取하여 主脈과 나머지로 分離하여 T-N을 조사하고, T-N中 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量比率를 그림 1에 表示했다. 葉肉과 葉脈의 全窒素含量은 현저한 차이를 나타내서, 導管組織인 葉脈은 同化組織인 葉肉에 비하여 1/2~1/4정도 밖에 되지 않으며 그 차이는 늦게 出芽된 上位葉으로 갈수록 더욱 커졌다. 그리고 葉脈은 葉序에 관계없이 N含量이 거의 일정하나 葉肉은 上位葉으로 移動되면서 점차 증가하여 18枚째 葉이 9枚째 葉보다 약 2倍이상 增加했다. 잎차례별로 生長程度가 각각 다르기 때문에 細胞分裂이 進行되고 있는 幼葉에서는 細胞器官分化를 위한 窒素化合物의 要求가 크고 細胞가 緻密하여 窒素含量이 높을 것으로 판단되지만 葉展開가 完了된 14번째 이하의 잎에서도 N含量이 잎차례별로 다르게 나타나는 것은 細胞의 organelle가 葉序別로 相異하게 構成되었을 것으로 추측되고 이 差異로 인하여 機能도 각각 다르게 나타날 것이다.

뿌리에서 吸收된 채 아직 同化되지 않은 無機態窒素 含量은 葉脈과 葉肉에서 전혀 다른 樣狀을 보였다. 葉脈에서는 全窒素의 80%까지 차지했으며 잎차례가 윗쪽으로 이동하면서 幼葉인 上位葉에서는 30%정도가 無機態窒素로 存在하여 뿌리에서 吸收된 $\text{NO}_3\text{-N}$ 는 分化가 終了된 成熟葉으로의 移動이 크고 生長分化中인 幼葉쪽으로는 $\text{NO}_3\text{-N}$ 比率이 낮은 반면 有機窒素化合物이 많이 移動되는 것을 추측할 수 있다. 그러나 同化機能을 遂行하는 葉肉에서는 $\text{NO}_3\text{-N}$ 이 全窒素의 2~4%밖에 存在하지 않는 것으로 보아 葉脈에까지 移動된 $\text{NO}_3\text{-N}$ 는 葉肉에서 대부분 還元同化되는 것을 알 수 있다. 葉脈을 더욱 細分하여 主脈에서 分岐한 側脈까지 分離하여 調査한 바¹⁶⁾에 의하면 側脈에서도 全窒素의 30%이상 $\text{NO}_3\text{-N}$ 이므로 葉肉試料 中에 포함된 側脈 및 網脈까지 除去하여 조사했다면 $\text{NO}_3\text{-N}/\text{T-N}$ 비율은 더욱 낮아졌을 것이 확실하며 같은 잎에서도 移動거리가 가까운 葉柄部가 葉先보다 $\text{NO}_3\text{-N}/\text{T-N}$ 이 높은 것도 밝힌 바 있다.

이와같이 導管組織에 이동중인 대부분의 질소는 $\text{NO}_3\text{-N}$ 으로 존재하고 葉肉中 窒素의 대부분이 有機態窒素이므로 $\text{NO}_3\text{-N}$ 의 還元同化機能을 수행하는 조직은 葉肉組織인 것을 짐작할 수 있고, 또한 잎차례별로 $\text{NO}_3\text{-N}$ 의 移動量이 달라 成熟이 完了된 下位葉과 生長分化中인 幼葉과는 同化기능의 차이가 있을 것도 예상되며 幼葉의 높은 窒素濃도로 보아 分裂生長中인 잎

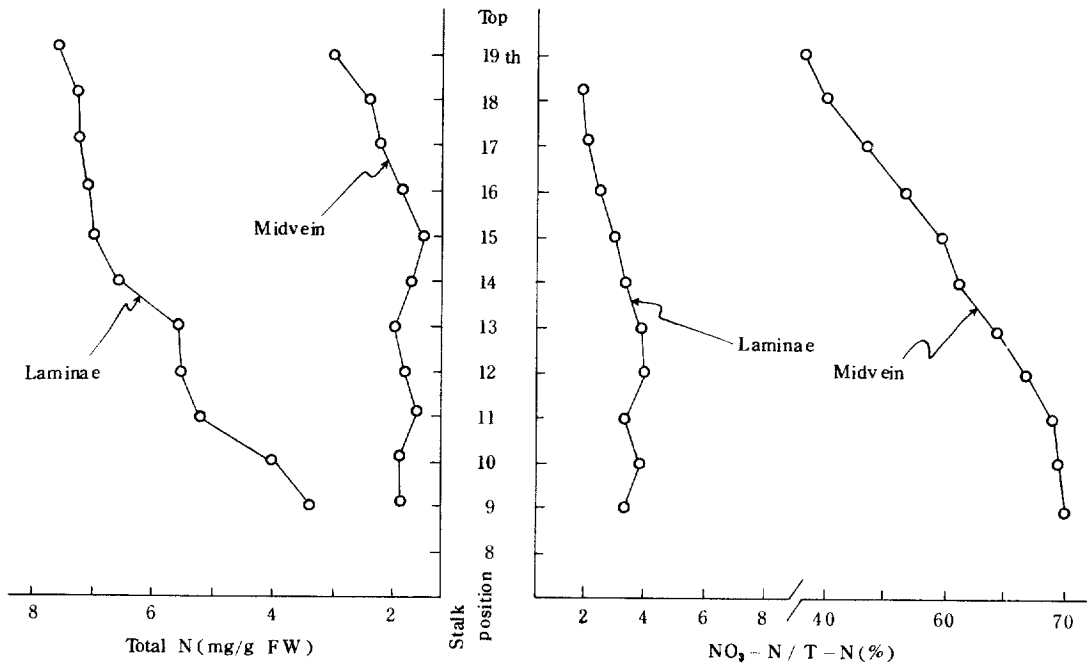


Fig. 1. Total nitrogen concentration and percentage of NO₃-N in midvein and laminae at different stalk position (cv. NC 82).

Table 1. Activity of nitrate reductase in the tobacco plant tissue and content of K and NO₃-N of them grown at field. (cv. NC 82. Stem height, 25.2 cm. Length and width of the largest leaf, 42.2, 28.3 cm. Leaf for analysis was collected from the 13th stalk position at 10'0 clock, (Light intensity, 5.5-6.0 × 10⁴ Lux)).

Tissue	NRA μmol./gFW/hr	NO ₃ -N mg/FW	K ₂ O mg/FW
Laminae	2.59	0.22	3.27
Midvein	0.62	1.00	5.39
Stem	0.18	0.50	2.99
Emergence point with young leaves	0.07	0.33	3.39

은 同化된 有機窒素化合物을 아랫잎에서 供給받을 것이라는 추측도 할 수 있을 것 같다.

담배재배기간중 가장 왕성한 生長을 보이는 5月下旬에 圃場에서 자라는 植物體를 採取하여 葉展開가 完了되어 成熟段階인 最大葉을 葉肉과 主脈, 主幹으로 분리하고 出葉中에 있는 幼葉 및 生長點을 試料로 하여

NRA를 측정하고 이때 含有된 無機成分들과 關聯지어 본 結果는 表1과 같다.

導管組織인 主幹과 葉脈을 통하여 많은 量의 NO₃-N이 移動中인 것을 알 수 있었으며 幼葉을 包含한 生長點은 分化中인 葉脈이나 主幹이 포함됐지만 NO₃-N이 많이 이동되어 도달하지는 못했다. NO₃-N의 吸收移動에 陽이온으로써 K⁺가 同半되는 것으로^{2,4,11,19)} 알려져 있는데 葉肉보다 葉脈에 많이 檢出도 되지만, 生長點이나 葉肉에서도 상당량이 含有되어 있는 것으로 보아 同化物質의 運搬體役割에 대한 研究結果^{5,9,15)}와도 연관지을 수 있을 것 같다.

吸收移動된 NO₃-N은 葉肉組織에서 대부분 還元되어 同化되는 것 같다. 葉脈에서도 일부 환원이 進行되고 있으나 葉肉에서의 還元量이 5배이상으로 나타났다. 그리고 아직 分裂生長中인 生長點의 組織에서는 窒酸還元이 거의 進行되고 있지 않아 幼細胞에서는 nitrate reductase가 活性化하지 못하는 것을 알 수 있고 세포분열이 끝나서 器官分化가 終了된 葉肉細胞에서 NO₃-N의 환원이 왕성하게 進行되었다. 葉脈을 통하여 NO₃-N이 많이 移動되고 있는 葉肉에서 활발하

계 질산환원이 진행되므로 그림 1에서 나타난 바와 같이 $NO_3-N/T-N$ 比率이 높은 下位の 葉은 왕성한 nitrate reduction을 보일 것이다.

圃場에서 栽培한 植物體를 葉序別로 採取하여 生態的인 특징과 NRA와의 關係를 그림 2로 나타냈다. 8 번째 잎은 이미 senescence가 시작되어 일부 黃化되는 과정이므로 NRA가 낮은 수준이지만 葉展開가完了된 上位의 成熟葉은 窒酸還元이 왕성하게 진행중이고 上位의 잎으로 위치가 올라가면서 점점 낮아져서, 出葉되어 生育이 진행중인 잎은 窒酸還元機能이 出發 단계에 있는 것을 알 수 있다.¹¹⁾ 表 1에서 설명된 바와 같이 細胞가 成熟단계로 진행되면서 窒酸還元能力이 誘發되는 것으로 판단된다. 各 位置의 細胞成熟度를 葉厚로 가늠한다면 NRA가 왕성한 위치의 잎은 매우 두꺼워서 세포가 크게 肥大되어 있음을 짐작할 수 있고 NRA가 높고 肥大한 下葉에서 水分을 많이 흡

有하고 있는 것으로 보아 細胞內에 液胞가 發達하여 細胞質의 상당한 부분을 液胞가 차지하고 있음도 추측할 수 있다.¹²⁾ 그러나 윗쪽의 幼葉은 세포분열이 進行中이거나 肥大해지는 단계이므로 內容物이 protoplasm으로 채워져 있어서 얇고 수분량도 낮은 것으로 볼 수 있을 것 같다. 單位重量當 葉面積은 아랫잎이 현저히 좁고 윗잎은 넓어서, 葉面積當 NO_3-N 환원량으로 비교한다면 10 枚잎은 $1.6 NO_2 \mu mol / 10 cm^2 / hr$, 14 번째 잎은 $0.4 NO_2 \mu mol$ 정도로써 生葉무게當 NO_3-N 還元量보다 더 큰 차이를 나타냈다. 李¹⁴⁾가 報告한 葉序別 陽陰이온 總量比較에서도 지적된 바와 같이 아랫잎은 많은 無機 및 有機이온物質들이 蓄積돼 있으나 生長中인 幼葉들은 이온물질함량이 매우 낮아, 窒酸還元이 왕성한 잎은 이들 이온蓄積을 위하여 液胞가 크게 발달되었을 것으로 짐작할 수 있고 窒酸의 還元으로 消滅된 陰이온을 有機酸으로 合成하여 이온均衡을 維持한다면^{3,18)} 窒酸還元程度에 따라 蓄積된 有機酸으로 높아지는 溶質濃度에 의한 參透壓維持를 위하여 液胞內로 水分을 빨아들여 세포도 肥大해지고 수분함량도 높았을 것이라고 설명할 수 있을 것이다.

담배식물의 生育過程에서 出葉數가 많아지면서 着葉位置別로 NRA의 變化를 조사한 결과는 그림 3과 같다. 堆肥床土에 5~6 枚葉苗를 移植하여 無機營養分과 물을 窒酸鹽營養液으로 供給하여 環境條件을 조절한 phytotrone에서 栽培하면서 18 葉까지 出葉되는 기간 동안에 4회의 試料를 채취하여 NRA를 分析했다.

5 枚葉까지 試料를 얻은 幼植物에서도 그림 2에서와 같이 成熟된 下葉에서 窒酸還元이 왕성하게 진행중이고, 늦게 出葉된 成長中인 잎들은 질산환원이 시작되는 단계였으나 9 枚葉까지를 試料로 한 植物에서는 5 枚葉이 成熟되어 최고의 NRA치를 보여 가장 왕성한 nitrate reduction은 成熟終了된 次上位葉으로 차례대로 옮겨지는 것을 알 수 있다. 그리고 生育이 進行되어 11 枚葉채취 植物에서는 NRA가 왕성한 下位葉부터 老化돼 가고 9 枚葉에서 最高NRA值를 나타내지만 着葉數가 적었던 幼植物에 보다는 낮은 수준에 머물렀으며 15 枚葉採取단계로 生育이 進行되면 最高 NRA值는 더 낮은 수준에서 멈췄다. 즉 각 잎의 NRA值가 최고值에 다다른 수준은 幼植物때 成熟葉에서 가장 높고 늦게 出葉되는 上位葉이 成熟되더라도 NRA의 가장 높은 頂點은 낮은 수준에서 멈추는 경향이

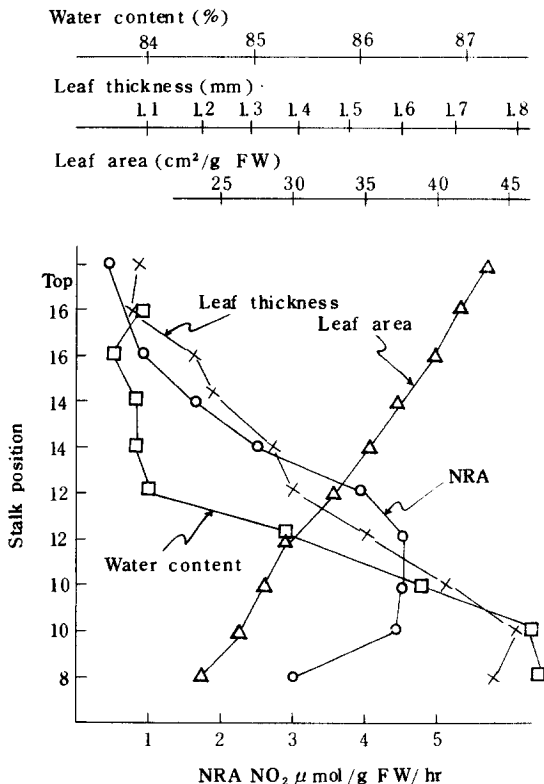


Fig. 2. Nitrate reductase activity and anatomical observation of leaves along stalk position.

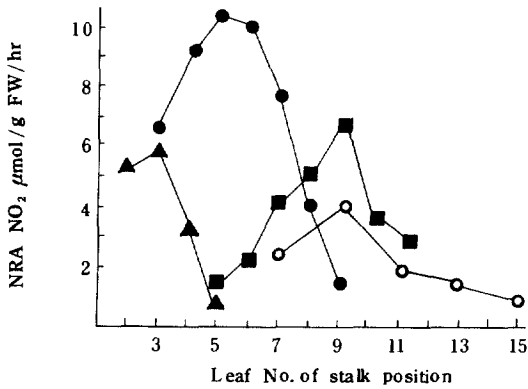


Fig. 3. NRA changes of tobacco leaves along the stalk positions at advancing growing stage cultured in the compost manure pot with nitrate nutrient solution at phytotrone. Diurnal cycle, 12 hr (light)–12 hr (dark), temperature, 24°C (light)–18°C (dark), Light intensity, 4.0×10^4 Lux.

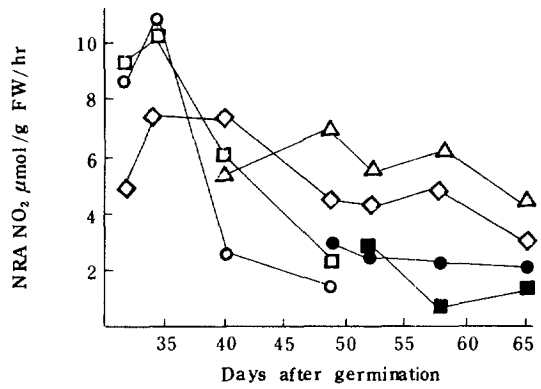


Fig. 4. NRA changes of tobacco leaves at each stalk position during growing period after emergence, (○), 5th leaf. (□), 6th leaf. (◇), 7th leaf. (△), 9th leaf. (●), 11th leaf. (■), 13th leaf.

었다. 이러한 현상은 生長部位에서 細胞增殖에 要求되는 有機窒素化合物을 성숙이 완료된 많은 잎에서 分擔하여 同化生産하기 때문에 낮은 수준의 질산환원으로 生長組織에서 필요로 하는 量을 충분히 공급할 수 있을 것이다. 幼植物때의 下位葉에 나타난 높은 NRA는 出葉되는 次上位葉의 成長限度가 점차 增加되는 生育단계이므로 生長에 필요한 많은 量의 유기질소물질을 幼植物단계의 적은 數, 좁은 葉面積에서 同化시켜야 하는 必然性때문에 높은 NRA수준을 維持할 수 밖에 없을 것으로 추측된다. 그러므로 담배식물에서 최대엽 밑쪽에 위치한 잎들은 同化機能을 주로 遂行하는 組織이라고 볼 수 있을 것 같다.

出葉된 後부터 着葉位置別로 葉齡에 따라 NRA消長過程을 조사한 結果는 그림 4와 같다. 그림 3에서 나타난 바와 같이 各葉의 최고 NRA수준은 幼植物때의 下位葉이 가장 높고 上位着葉으로 옮겨가면서 점차 낮아져서 着葉位置에 따라 그 기능이 다른 것을 알 수 있었다. 그림 3에서도 설명된 바와 같이 幼植物때는 小數의 成熟葉에서 多量의 窒酸還元物質을 生長分化組織에 공급해야 하기 때문에 높은 NRA值가 維持되어야 할 것이다.¹⁾ 그러나 왕성한 窒酸還元持續期間이 下葉에서는 짧고 윗쪽잎에서는 오랜기간 유지되는데 이는 窒酸還元으로 生成된 有機酸이 液胞에 蓄積되어 膨大해지

면서 細胞의 대부분을 占有하여서 細胞機能이 빨리 消滅되고 蓄積된 有機酸의 濃度도 NRA의 活性을 抑制하여 senescence를 促進한다^{2,3)}는 報告와도 一致하는 結果라고 볼 수 있다. 가장 높은 수준의 NRA值에 다다른 時期는 葉序別로 아래잎에서 消滅되기 시작하면서 다음 윗잎으로 이동되는 것으로 보아 잎의 成熟度 順序와 같은 경향을 보이는 것 같다.

着葉된 모든 잎의 平均 NRA值와 株當 NO₃-N 還元量을 生育段階別로 조사한 結果는 그림 5와 같다. 위

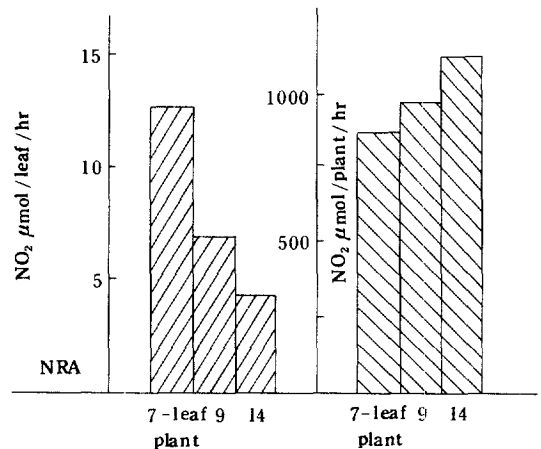


Fig. 5. Comparison of nitrate reductase activity per leaf and plant at growing stages of tobacco plant (cv NC 82).

의 結果들에서 類推되었던 바와 같이 着葉數가 적은 幼植物인 때는 葉當 $\text{NO}_3\text{-N}$ 生産량이 높으나 生育이 進前되어 着葉數가 增加함에 따라 各 葉에서 還元되는 $\text{NO}_3\text{-N}$ 量은 점점 적어지지만, 반대로 株當 總還元量은 增加하였다. 즉 生長組織으로 供給되는 有機窒素化合物을 小數의 잎에서 合成하는 경우는 그 부담이 높아서 旺盛한 窒素同化作用이 뒷받침해야 하지만 많은 數의 잎으로 分擔될 경우는 낮은 NRA 수준에서도 供給할 수 있을 뿐더러 器官分化가 終了되는 生育기에 이르르면 질소화합물의 요구가 크지 않기 때문에 生育後期에 出葉된 잎일수록 窒酸還元이 낮은 수준에 머물러 있었던 것으로 확인할 수 있었다.

摘 要

窒酸態窒素를 選擇吸收하는 담배식물에 대하여 흡수된 $\text{NO}_3\text{-N}$ 의 各組織別 移動樣相과 窒酸還元酵素의 活性化(nitrate reductase activity, NRA)를 조사하고 生育過程에서 出葉된 잎들의 窒酸還元能力을 比較調査한 結果

1. 導管組織인 葉脈까지는 含有된 窒素의 大部分이 $\text{NO}_3\text{-N}$ 으로써 無機態窒素로 葉脈을 通過하며 葉肉에서는 $\text{NO}_3\text{-N}$ 이 還元되어 無機態窒素가 거의 檢出되지 않았다.
2. NRA는 成熟된 잎에서 가장 旺盛하였으며 分裂生長中인 잎이나 導管組織에서는 환원기능이 매우 낮은 수준에 머물렀다.
3. 下位의 成熟葉은 두껍고 水分을 많이 含有하였으며 가장 旺盛한 窒酸還元能力을 보였다.
4. 生長組織으로 有機窒素物質을 供給하기 위하여 幼植物때는 小數의 젊은 잎에서 높은 水準의 NRA를 維持했으나 生育이 진전되어 많은 잎이 着葉되면서 上位쪽의 成熟葉은 NRA가 낮은 수준에 머물렀다.

引 用 文 獻

1. Aversano, B. 1982. Nitrate reductase and chlorophyll: Two biochemical indexes to fix meeting in tobacco between protein and biomass favorable levels. Estratto dagli, ANNALI, IX, 99-109 (In Italian with English summary).
2. Benzioni, A., Y. Vaadia, and S.H. Lips. 1971. Nitrate uptake by root as regulated by nitrate reduction products of the shoot. *Physiol. Plant*, 24: 282-90.
3. Blevins, D.G., N.M. Barnett, and W.B. Frost. 1978. Role of potassium and malate in nitrate uptake and translocation by wheat seedlings. *Plant Physiol.* 62: 784-88.
4. _____, A.J., Hiatt, R.H. Lowe, and J.B. Leggett. 1978. Influence of K on the uptake, translocation and reduction of nitrate by barley seedlings. *Agronomy J.* 70: 393-96.
5. _____. 1985. The potassium-protein link: Why some crops need more K than others. *Potash Review*, Subj. 3, 77th Suite, No. 11, 1-4.
6. Egmond van F. 1979. Fate of calcium in sugarbeet plant. *Commun. In Soil Sci. and Plant Anal.* 10 (1&2): 311-23. Wageningen, Netherland.
7. Guerrero, M.G., J.M. Vega, and M. Losada. 1981. The assimilatory nitrate reducing system and its regulation. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 32: 169-204.
8. Gupta, S.C. and L. Beevers. 1984. Synthesis and degradation of nitrite reductase in pea leaves. *Plant Physiol.* 75: 251-52.
9. Geiger, D.R. and T.R. Conti. 1983. Relation of increased potassium nutrition to photosynthesis and translocation of carbon. *Plant Physiol.* 71: 141-44.
10. Hageman, R.H. and D.P. Hucklesby. 1971. Nitrate reductase from higher plants. *Methods of Enzymology.* 23: 491-503.
11. Kirkby, E.A. 1974. Recycling of potassium in plants considered in relation to ion uptake and organic acids accumulation. *Proc. 7th Int. Coll. Plant Anal. Ferti. Problems.* Hannover. pp. 557-68. J. Wehrmann (Ed.)
12. 李允煥. 1985. 窒素源에 따른 담배식물의 養分吸收反應. *韓土肥誌* 18 : 413-418.
13. _____. 1986. 담배식물의 이온均衡에 미치는 形態別 窒素의 影響. *韓土肥誌* 19 : 223-29.
14. _____. 1986. 담배식물의 葉序別 이온均衡比較. *韓土肥誌* 19 : 139-145.

15. Mengel, K., S. Secer, and K. Koch. 1981. Potassium effect of protein formation and amino acid turnover in developing wheat grain. *Agro. J.* 73: 74-8.
16. Lee, Y.H. 1985. Role of potassium and malic acid for nitrate translocation and reduction in tobacco leaf (In English with Korean summary). *J. Korean Soc. Tobacco Sci.* 7: 141-49.
17. Lillo, C. 1983. Diurnal variation of nitrate reductase activity and stability in barley leaves. *Physiol. Plant.* 58: 184-88.
18. Popp, M., C.B. Osmond and R.E. Summons. 1982. Pathway of malic acid synthesis in response to ion uptake in wheat and lupin roots: Evidence from fixation of ^{13}C and ^{14}C . *Plant Physiol.* 69: 1289-92.
19. Rufty Jr, W., W.A. Jackson, and D. Raper Jr. 1981. Nitrate reduction in roots as affected by the presence of potassium and by flux of nitrate through the roots. *Plant Physiol.* 68: 605-9.