

# 무우 幼苗를 利用한 植物生理活性物質의 生物檢定法

洪環植\* · 林熙敏\* · 趙匡衍\*

## A Bioassay Method with Radish Seedlings for Bioactive Substances

Hong, K. S\*., H. K. Lim\* and K. Y. Cho\*

### ABSTRACT

Some experiments were conducted to utilize the raphanus test as a bioassay method for plant growth regulators and hormonal herbicides. Among seven radish cultivars, the response of Jangbaegminong was the most sensitive and quantitative to  $\alpha$ -NAA and its coefficient of variation value was the lowest. The optimum application time of test compounds was estimated seven to nine days after seeding. After  $\alpha$ -NAA treatment the curvature angle of radish cotyledonary petioles was sharply increased to the maximum value at 24 hours after and was changed by light and temperature conditions. The curvature response was observed by application of  $\alpha$ -NAA, phenoxy and indole compounds but often plant growth regulators, GA<sub>3</sub>, benzyladenine, ABA and homobrassinolide was not detected by this method. So this bioassay was useful to evaluate the activity of a compound as an auxin or a hormonal herbicide.

Key words : bioassay, raphanus test, radish, auxin, plant growth regulator

### 緒 言

農藥은 病虫害防除와 勞動力의 省力化 等を 통하여 農業生産性を 提高시킬 뿐만 아니라 現代의 營農體系를 뒷받침하는 중요한 資財로서 그 필요성은 점점 증대되어질 전망이다. 이들 농약중 植物生長調節劑와 除草劑는 사용의 대상이 직접 植物體로서 이 와 같은 효과를 나타내는 物質을 植物生理活性物質이라고 하며 전세계 농약시장의 약 40~50%를 차지하고 있으나 이들 모두가 外國에서 開發된 것들로 서 土壤이나 氣候條件, 品種 및 營農體系가 다른 우리 나라에 있어서 是 多少間의 問題點을 내포하고 있다.

또한 植物生理活性物質을 포함한 農藥産業은 精密 化學産業중에서도 가장 중요한 分野의 하나라고 할

수 있으므로 부존자원이 적은 우리 나라에서는 힘써 育成해 나가야 할 분야이다. 이러한 이유에서 新規 植物生理活性物質의 國內開發이 試圖되던중 1987年 7月부터 發效된 物質特許制度는 新規植物生理活性 物質 開發研究를 加速化시키게 되었다. 이들 물질의 개발을 위하여는 새로운 물질의 合成과 抽出도 중 요하지만 그 物質의 生理活性을 正確하고 신속하게 그리고 經濟的으로 評價할 수 있는 生物檢定法의 確 立이 무엇보다도 중요하다.

植物生理活性物質의 生物檢定法에는 지금까지 수 많은 방법이 알려져 왔으나<sup>2, 3, 5, 10, 11</sup> 그중에서도 실험하기 편리하면서도 실적이 우수한 방법을 조사한 결과 Takematsu의 方法<sup>5</sup>을 채택하여 우리실정에 맞도록 補完하여 導入하기로 하였다. Takematsu는 약 300여종의 야생식물과 재배식물에 대하여 식물 生長조절물질에 대한 감수성을 조사하여 Raphanus

\* 韓國化學研究所 Korea Research Institute of Chemical Technology, Daedeogdanji, 301-343, Korea

속 식물들이 생육의 전과정을 통하여 감수성이 예민함을 발견하고 무우를 이용한 일련의 Raphanus test를 확립하였으며<sup>5)</sup> 이 방법 등을 통하여 여러 화합물의 생리활성평가<sup>4,5,6,7,8,9)</sup>와 아울러 Credarin을 비롯한 10여종의 제초제를 개발<sup>7)</sup>하는데 성공하였다. 한편 우리 나라에서의 생리검정법에 대한 실험으로는朴等<sup>9)</sup>에 의한 brassinolide類의 생물검정법과崔等<sup>11)</sup>에 의한報告 등이 있을 뿐이다.

따라서 본 연구는 신규 합성 화합물의 옥신활성 또는 호르몬형 除草活性을 評價하는 生物檢定法으로 Takematsu의 Raphanus test A에 대해 品種, 處理時期, 調査時期, 既存植物生理活性物質에 대한 反應 등의 여러사항을 檢討하였다.

## 材料 및 方法

竹松의 檢定方法을 基本으로하여 일부분씩을 변형시켜 실험을 수행하였으며 竹松의 방법은 아래와 같다.

① 잘 성숙하고 신선하며 둥근 무우종자를 소형 포트에 20粒씩 파종한 후 1 cm 가량 覆土한다.

② 溫室에서 生育시켜 發芽 4~8日後에 生育이 均一하게 子葉의 손상이 없는 幼苗를 每 포트당 10개체씩 남기고 나머지는 제거한다.

③ 幼苗 10개체의 전 윗면에 점정하고자하는 용액을 1~5ml 분무한다. 이때 무처리에도 같은 량의 증류수를 분무해 준다.

④ 처리가 끝난 포트는 暗室에 약 24시간 둔다.

⑤ 子葉과 子葉柄이 곡선을 이룬 후에 가위나 면도날로 식물체의 地上部를 줄기 基部에서 절단한다.

⑥ 子葉柄과 子葉이 연결되는 부분을 잘라 자엽을 제거한 후 양쪽 子葉의 基部와 生長점이 이루는 각도를 측정한다.

⑦ 처리구와 무처리의 角度的 差異는 所用한 化合物의 細胞伸長의 生績을 나타낸다.

### 1. 品種間 反應性 差異

國內에서 市販中인 무우品種들 중에서 백수궁중무우, 시무무우, 백추미농조생무우, 청수궁중무우, 장백미농조생무우, 미농조생무우, 궁중총태무우 등 7個 品種을 구입하여 實驗에 供試하였다. 各品種別로 播種育苗한 후 出現 4日 後에  $\alpha$ -NAA를 所定濃度로 調整하여 各 포트내 全植物體의 表面에 3.5ml 씩 분무처리하였고 처리가 끝난 포트는 室溫暗條件

에서 24시간 反應시킨 후 子葉柄의 角度를 測定하였다.

### 2. 檢定方法의 檢討

化合物의 處理時期, 調査時期 및 反應時 光의 有無와 溫度에 따른 差異를 檢討하기 위하여 장백미농조생무우를 파종육묘한 후  $\alpha$ -NAA를 농도별로 每 포트당 3.5ml 처리하여 子葉柄의 屈曲角度(처리시의 자엽병각도와 무처리시 자엽병각도의 差)를 구하였으며 기타 方法인 竹松의 方法에 準하였다.

處理時期는 연속적으로 파종하여 播種 後 5~18日된 무우의 幼苗에  $\alpha$ -NAA 500 ppm을 처리함으로써, 調査時期는 파종후 7일에  $\alpha$ -NAA 500ppm을 처리하여 처리후 6, 12, 24, 36, 48시간에 조사함으로써 檢討하였다. 化合物처리후 反應時 光의 有無에 따른 영향을 평가하기 위하여 파종후 7일에  $\alpha$ -NAA 500, 100, 50, 10, 5, 1, 0.5, 0.1ppm을 처리하여 室溫暗狀態와 室溫自然光狀態에서 反應시켰고, 溫度의 영향을 평가하기 위하여는  $\alpha$ -NAA 500ppm을 처리한 후 20, 25, 30, 35°C되는 暗條件下에서 反應시켰다.

### 3. 既存植物生理活性物質에 對한 反應

기존식물호르몬류인  $\alpha$ -NAA, GA<sub>3</sub>, benzyladenin(BA), abscisic acid(ABA) 그리고 homobrassinolide(HBR)를 所定濃度로 처리하여 特異性을 檢討하였으며 옥신活性을 나타낸다고 알려진 2,4-D, 2,4,5-TP, MCPA, IAA, IBA 등을 濃度別로 처리하여 反應性을 確認하였다.

## 結果 및 考察

### 1. 品種間 反應性 差異

表 1에 나타난 바와 같이 供試品種 모두 程度의

Table 1. Angles and their C.V. (Coefficient of variance) of cotyledonary petioles affected by  $\alpha$ -NAA treatment

Variety	concentration (ppm)			average C.V. (%)
	500	50	0	
Baegsugungjung	79	51	16	28.6
Simu	86	54	10	28.2
Baegchuminong	116	67	23	25.7
Cheongsugungjung	69	48	21	28.8
Jangbaegminong	112	62	23	20.3
Minongjosaeng	88	57	14	35.1
Gungjungchongtae	64	49	15	30.4

차이는 있으나  $\alpha$ -NAA에 反應하였다. 500ppm 및 50ppm 처리시 모두 백추미농조생무우와 장백미농조생무우의 자엽병 각도가 가장 컸으며 무처리에서는 시무무우가 가장 작은 값을 나타냈다. 그리고 무처리각도의 품종간 차를 배제시키기 위하여 처리구의 각도에서 무처리의 각도를 뺀 값인 子葉柄屈曲角度는 500ppm 처리시 백추미농조생무우와 장백미농조생무우가 가장 컸으며 50ppm 처리시에는 시무무우와 백추미농조생무우가 가장 컸다. 또한 處理前後 個體間 內的條件의 差異에 나타나는 個體變異의 한 가지 표현수단인 變異係數의 平均値는 장백미농조생무우가 20.3%로 가장 낮았다. 이상의 7개품종에 대한 실험결과 500ppm 에서의 반응성은 백추미농조생무우와 장백미농조생무우가, 50ppm에서의 반응성은 시무무우와 백추미농조생무우가 높은 것으로 나타났으며 개체의 均一性은 장백미농조생무우가 높은 것으로 나타났다.

따라서 이들 3개품종에 대하여 前과 同一한 生育時期에  $\alpha$ -NAA 농도를 500, 150, 50, 15, 5, 1.5ppm 이 되도록 세분하여 처리하고 반응시킨 후 子葉柄屈曲角度를 측정된 결과 그림 1과 같이 실험농도범위에서 장백미농조생무우와 백추미농조생무우는 품종간 반응성의 차이가 거의 없었으나 시무무우는 다소 다른 양상을 나타내어 이들 두품종들보다 500ppm과 50ppm에서는 낮았고 5ppm과 1.5ppm에서는 다소 높은 편이었으며 50ppm과 15ppm에서는 세품종 모두 비슷하였다. 또한 실험농도범위에서 농도의 상용대수값과 자엽병굴곡각도사이에 전품종 모두 고도로 유의한 정(+)의 상관관계를 나타내어

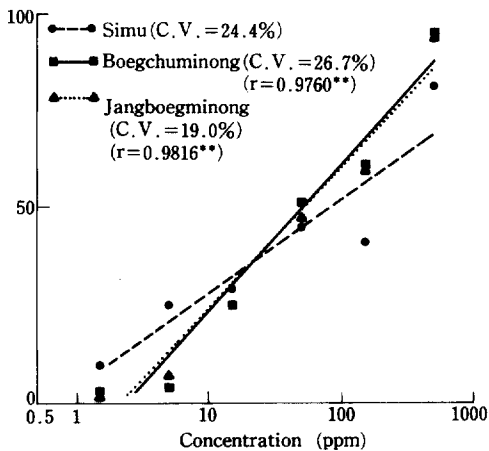


Fig. 1. Curvature angles of three radish varieties according to the  $\alpha$ -NAA concentration.

직선회귀식을 구하여 본 결과 시무무우보다 다른 두 품종의 기울기가 커서 정량적인 분석에 유리할 것으로 판단되었으며 자엽병의 굴곡각도가 정(+)의 값을 나타내는 최저농도가 시무무우는 1 ppm 그리고 다른 두품종은 2 ppm으로 품종간 큰 차가 없었다. 그리고 실험재료의 均一성과 관계되는 變異係數는 역시 장백미농조생무우가 가장 낮았다. 한편 실험재료의 育成過程과 실험수행상의 특기사항으로 시무무우는 種子의 크기가 他品種들보다 매우 작은 편으로 취급이 불편하였으며 파종후 발아까지의 일수도 1~1.5일이 더 소요되었고 幼苗 밀 子葉柄의 크기와 길이가 작아 角度測定에 보다 많은 시간이 소요되었고 각도측정시 誤差발생의 여지가 많았다. 그리고 백추미농조생무우는 떡잎이 손상된 유묘의 비율이 상대적으로 높아 동일한 수의 건전한 실험재료를 확보하기 위하여는 보다 많은 량의 파종이 요구되었다.

이상과 같이 여러품종의 약제에 대한 反應性和 실험재료의 均一性, 그리고 실험재료의 育성과 實驗遂行上的의 여러면에서 검토하여 본 결과 장백미농조생무우가 가장 유리한 품종으로 판단되었으며 Takematsue가 선발한 시무무우<sup>5)</sup>가 탈락된 것은 1940년대 및 1950년대 日本의 보급품종과 1980년대 우리나라 보급품종의 차이 때문으로 추측되었다.

## 2. 檢定方法의 檢討

Takematsu<sup>5)</sup>는 시무무우를 이용하여 실험한 결과 무처리의 자엽병각도가 발아후 3일의 44°에서 발아후 12일에는 69°로 발아후일수가 경과함에 따라 직선적으로 증가하며  $\alpha$ -NAA 50ppm 처리시의 子葉柄屈曲角度는 발아후 3~6일 사이에 급격히 증가하여 6일에 최대에 달하고 그 이후는 서서히 감소한다고 하였다.

본실험에서도 그림 2와 같이 파종후일수가 경과함에 따라 무처리의 자엽병각도가 直線的으로 증가하여 이를 회귀식으로 추정하여본 결과  $Y=6.22X-17.55$ 의 식을 얻었으며 이때 상관계수는 0.9863으로 고도의 유의한 정(+)의 상관관계가 인정되었다. 한편  $\alpha$ -NAA 500ppm의 처리시기에 따른 자엽병굴곡각도는 파종후 一定時期까지는 증가하였다가 그 이후는 감소하는 경향을 나타내어 이를 곡선회귀식으로 추정하여본 결과 그림 3과 같은 식을 얻었으며 파종후 7~12일 사이에서 최고값의 95% 이상의 굴곡각도를 나타내었다. 그러나 生物檢定の 목적

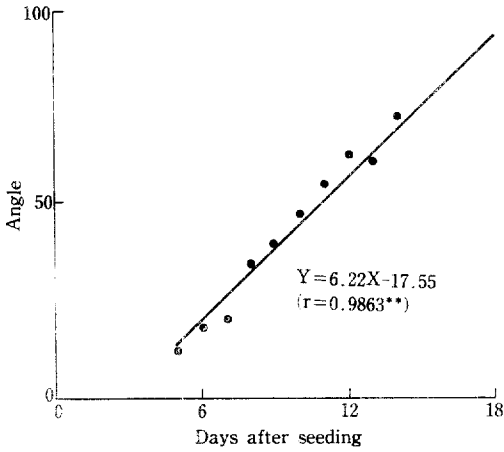


Fig. 2. Angles of control plot according to the days after seeding

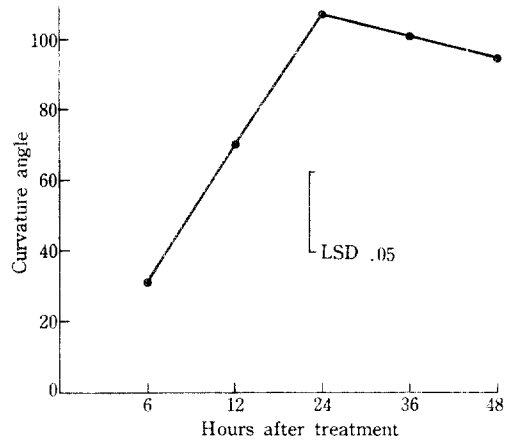


Fig. 4. Effect of incubation time after  $\alpha$ -NAA (500ppm) treatment on the curvature angles of radish.

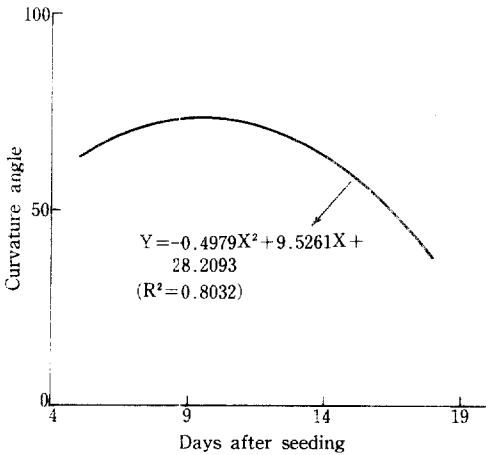


Fig. 3. Changes of curvature angles affected by  $\alpha$ -NAA treatment at each application time.

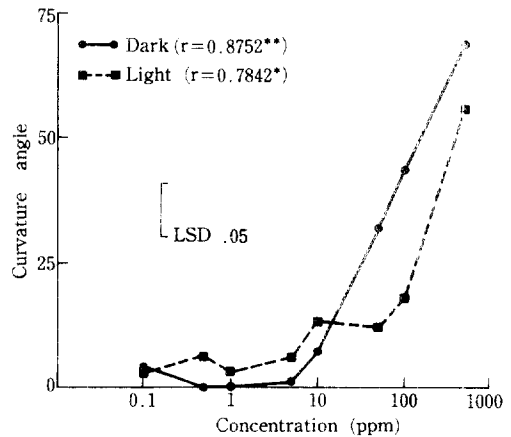


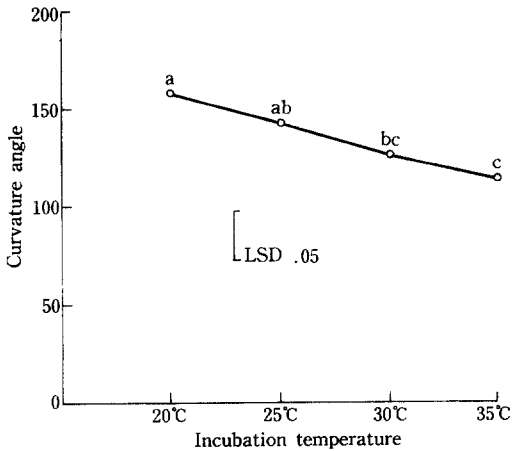
Fig. 5. Difference of curvature angles between light and dark incubation after  $\alpha$ -NAA treatment.

상 실험재료의 육성기간은 되도록 짧은 편이 유리하며 그림 2에서도 나타난 바와 같이 파종후 처리일수가 늦어질수록 무처리의 자연병각도도 증가하게 되고 파종후 7일경부터는 본엽이出現伸長하여 조작도 불편하게 되므로 약제처리의 적정시기는 파종후 7~9일로 판단되었다.

藥劑處理後 子葉柄의 屈曲角度는 그림 4에 나타난 바와 같이 시간이 경과함에 따라 급격히 증가하여 처리후 24시간에 최대에 달하고 그 이후는 서서히 감소하는 경향을 나타내었다. 24시간 이후 굴곡각도 감소경향의 원인은 약제에 대한 자연병의 굴곡반응은 거의 종료된 반면 무처리의 계속적인 성장으로 인하여 상대적으로 감소한 것으로 추측되나 굴곡각

도의 統計的인 有意差는 없었다. 따라서 子葉柄屈曲角度를 조사하는 最適 調査時期는 藥劑處理後 24시간으로 판단되었다.

藥劑處理後 光의 有無에 따른 子葉柄의 屈曲反應을 검토하기 위하여 실험한 결과 그림 5와 같이 50ppm 이상의 농도에서는 室溫暗狀態에서의 屈曲角度가 自然光狀態에서보다 컸으며 10ppm 이하의 농도에서는 光의 有無에 따른 차이가 인정되지 않았다. 또한 0.1~500ppm의 농도사이에서 양조건 모두 농도의 상용대수값과 자연병굴곡각도사이에 유의한 정(+)의 상관관계가 인정되었으나 그값은 暗狀態에서 더욱 높았으며 농도변화에 따른 자연병 굴곡각도 변화의 기울기도 더욱 커서 보다 농도에 정량적으



**Fig. 6.** Effect of incubation temperature on the curvature angles of radish after  $\alpha$ -NAA (500ppm) treatment.

로 반응하므로 약제처리후 暗狀態를 유지시켜야 할 것으로 판단되었으며 Takematsu<sup>5)</sup>는 이를 室内 또는 暗狀態에서는 비교적 溫度의 급격한 변화를 피할 수 있기 때문이라 하였다.

2,4-D 50 ppm을 처리했을 때 26°C에서는 30°C 또는 35°C에서보다 무우자엽의 굴곡반응이 크게 나타나고 반응가능온도는 5~28°C 그리고 최저반응온도범위는 15~25°C라고 하였으나<sup>5)</sup> 葉劑處理後 溫度條件이 子葉柄屈曲角度에 미치는 영향을 평가하기 위하여 실험한 결과 그림 6과 같이 20°C에서 158°로 가장 컸으며 그 이상으로 온도가 높아질수록 굴곡각도가 작아져 35°C에서는 115°이었다. 따라서 20~35°C의 범위에서는 20°C에서 가장 민감하게 반응하였으며 약제처리후 온도 조건에 따라 자엽병굴곡각도가 변화하므로 최소한 一定溫度를 유지시켜야 할 것으로 판단되었다.

### 3. 기존植物生理活性物質에 대한 反應

表 2와 表 3에 나타난 바와 같이 이미 알려진 식물호르몬활성물질 중에서 GA<sub>3</sub>, BA, ABA 등에는 자엽병의 굴곡반응이 전혀 나타나지 않았으나  $\alpha$ -NAA를 처리했을 때에는 굴곡반응이 뚜렷하였고 homobrainolide에는 반응성이 미약하며 자엽병의 신장

**Table 2.** Curvature angles of cotyledonary petioles affected by various plant growth regulators (500ppm)

$\alpha$ -NAA	GA <sub>3</sub>	BA	HBR	ABA
101	0	0	18	0

**Table 3.** Curvature angles of  $\alpha$ -NAA and homobrassinolide (HBR) treatment

Compound	Concentration (ppm)		
	100	10	1
$\alpha$ -NAA	80	25	5
HBR	8	0	0

및 비틀림 현상이 관찰되었으며 10 ppm 이하의 농도에서는 전혀 반응하지 않았다. 따라서 본 生物檢定法은 GA<sub>3</sub>, BA, ABA 등에는 전혀 반응하지 않으며 homobrassinolide 에는 그 반응성이 극히 미약한 반면 옥옥신활성물질인  $\alpha$ -NAA 에는 민감하게 정량적으로 반응하였다.

또한 본 생물검정법은 表 4와 같이 2,4-D, 2,4,5-TP, 그리고 MCPA 등의 옥옥신활성을 나타내는 phenoxy compounds 에 대하여 농도변화에 따라 정량적으로 반응하였으며 表 5와 같이 indole compounds 에 대하여 IAA 에는 농도에 따라 정량적인 반응을 나타내었으나 IBA 에는 300ppm의 고농도에서만 경미한 자엽병의 굴곡반응을 나타내었을 뿐 그 이하의 농도에서는 자엽만 반응하였다. 따라서 Takematsu의 子葉屈曲程度 판정기준<sup>6)</sup>에 의해 자엽의 반응을 측정된 결과 表 6과 같이 IAA 보다는 반응성이 약하나 농도에 따라 정량적으로 반응함을 알 수 있었다.

**Table 4.** Curvature angles affected by phenoxy compounds treatment

Compound	Concentration (ppm)					
	100	30	10	3	1	0.3
2,4-D	59	43	29	25	11	7
2,4,5-TP	65	53	45	43	31	15
MCPA	80	63	36	10	5	5

**Table 5.** Curvature angles affected by indole compounds treatment

Compound	Concentration (ppm)					
	300	100	30	10	3	1
IAA	67	56	19	8	0	0
IBA	9	0	0	0	0	0

**Table 6.** Responses of cotyledons affected by indole compound treatment<sup>6)</sup>

Compound	Concentration (ppm)					
	300	100	30	10	3	1
IAA	260	131	122	59	59	23
IBA	89	50	32	16	19	11

## 摘 要

오옥신活性物質 또는 호르몬型除草活性物質의 生物檢定法으로 竹松의 Raphanus test 를 導入하고 高品種 및 檢定方法을 檢討하고 效果를 確認하였다.

1. 供試品種중에서 장백미농조생무우가 反應性, 材料의 均一性, 反應의 定量性, 材料의 育成 및 취급상의 여러 면에서 가장 우수하였다.

2. 무우幼苗의 子葉柄角度는 日當 6°의 비율로 증가되었으며 곡선회귀식으로 推定한 藥劑處理適正時期는 播種後 7~9日로 판단되었고 藥劑處理後 子葉柄屈曲角度는 급격히 증가하여 24 시간후에는 최고에 달하였다.

3. 藥劑處理後 光의 有無에 따른 反應性은 暗條件에서 自然光條件보다 컸으며 더욱 濃度에 따라 定量的이었고 溫度條件은 20℃에서 25, 30, 35℃ 보다 反應性이 높았다.

4. 본 生物檢定法은 GA<sub>3</sub>, BA, ABA에는 전혀 반응하지 않았으며 homobrassinolide보다는 α-NAA에 더욱 특이적으로 반응하였고 오옥신활성물질 또는 호르몬형제초활성물질로 알려진 phenoxy 및 indole 화합물에 定量的으로 반응하였다.

## 引 用 文 獻

1. 崔忠惇·竹松哲夫·竹內安智·金吉雄. 1987. Brassinolide와 auxin 類의 植物生長調節劑가 무우 子葉柄의 屈折에 미치는 影響. 韓雜誌 7: 84-89.

2. Hitchcock, A.E. 1935. Indole-3-n-propionic acid as a growth hormone and the quantitative measure of plant response, Contrib, Boyce Thompson Inst. 7: 87.

3. 朴根享·玄圭煥·金銅淵. 1986. 우리나라벼의 Lanina joint를 이용한 생물검정법. 韓農化誌 29: 22-28.

4. 黑上泰治·竹松哲夫. 1948. 生長ホルモン噴霧處理의諸影響. 農業及園藝 23: 621-622.

5. Takematsue, T. 1961. New methods for the qualitative and quantitative assays of growth substances; Research on the raphanus test and its application. Utsunomiya University, College of Agriculture, Gakujutsu Hokoku Tokushu, spec. Bul. 12: 193pp.

6. 竹松哲夫. 1967. 植物生長物質의檢索とRaphanus test法, 植物の化學調節 2: 132-141.

7. \_\_\_\_\_. 1981. 二れかの除草劑研究開發. 雜草研究 26: 85-95.

8. 竹內安智·近內誠登·竹松哲夫. 1972. 3-Phenoxy pyridazing系化合物のオーキシン阻害作用. 雜草研究 13: 47-42.

9. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. 1973. 3-(2-methylphenoxy)pyridazine作用機作. 雜草研究 16: 32-37.

10. Went F.W. 1928. Wuchsstoff und Wachstum. Rec, Trav, Bot, Neerland 25: 1.

11. \_\_\_\_\_. 1934. On the pea test method for auxin, the plant growth hormone, Proc, Kon, Akad, V. Wetensch, Amsterdam 37: 547.