

일반계 벼의 brassinosteroid활성물질 검색

현규환 · 박근형

전남대학교 농과대학 식품공학과

초록 : Brassinosteroid는 특이한 생리작용을 갖는 식물의 신 생장조절물질로 주목을 받고 있으나, 아직 우리나라의 가장 중요한 작물인 벼의 brassinosteroid에 대해 연구된 바 없어, 일반계 품종의 벼를 대상으로 brassinosteroid활성물질의 검색을 시도하였다. 동진벼와 영산벼를 최고분얼기까지 재배하여 지상부를 수확하고, 유기용매로 추출하여 얻어진 추출물에서 rice lamina inclination test에 의한 생물검정법으로 활성이 인정되어, 활성본체의 구명과 정제의 목적으로 각각의 활성획분을 silica gel 흡착 chromatography, Sephadex LH-20 chromatography, charcoal 흡착 chromatography, preparative TLC, Bondesil chromatography 그리고 normal, reverse phase의 HPLC 등의 방법으로 분획하여 검정한 결과 2품종 모두 brassinosteroid 활성물질을 생산하고 있으며, 또 2품종간의 endogenous brassinosteroid의 유사성이 인정되었다(1990년 10월 16일 접수, 1990년 12월 22일 수리).

1970년 Mitchell등¹⁾에 의해 유체화분에서 새로운 생물활성물질의 존재가 시사된 이후, 1979년 Grove등²⁾은 활성본체를 단리, 구조를 결정하여 brassinolide라고 명명하였다. Brassinolide는 steroid 구조물질로서는 식물체에서 발견된 최초의 생장조절물질이며, brassinosteroid로 총칭되는 brassinolide 및 brassinolide 활성을 갖는 steroid성 물질이 타식물에서 발견되어지고 있다. Brassinosteroid는 특이한 구조와 이 물질에 의한 증수효과^{3,4)}, 환경으로부터 받는 stress의 완화작용^{5,6)}등의 생물활성이 알려짐에 따라 brassinosteroid에 대한 관심이 고조되어지고 있다. 지금까지 brassinosteroid의 존재가 알려진 식물은 20여종에 이르고 있으나, 아직 우리나라에서 재배되고 있는 가장 중요한 작물인 벼에 대해서 보고된 바 없다.

여기에, 본 연구는 우리나라에서 재배되고 있는 일반계(japonica type) 품종인 동진벼와 영산벼를 대상으로 하여, 이들 벼가 생산하는 brassinosteroid활성물질을 검색하였다.

실험 재료 및 방법

실험재료

우리나라에서 재배되고 있는 일반계(japonica type)

품종인 동진벼와 영산벼를 대상으로 하였으며, 이들 벼 품종을 1987년 11월 농촌진흥청 산하기관에서 분양받아 다음 해인 1988년 5월에 전남대학교 농과대학 포장에서 벼를 이앙, 재배하면서 벼의 생육시기중 세포분열이 활발하다고 인정되어지는 최고분얼기때 지상부를 20kg씩 채취하여 시료로 사용하였다.

추출 및 용매분획

최고분얼기때 채취한 벼 지상부 20kg을 세절한 후, MeOH과 함께 마쇄하여 추출한 다음, 여과지(Toyo No. 2)와 G₃ glass filter를 사용하여 여과하였다. 이 추출 조작을 3회 반복하여 얻은 추출여액을 40°C에서 감압농축하여 MeOH이 제거된 수용액을 Park등의 방법^{7,8)}에 따라 용매분획하였다.

Silica gel 흡착 chromatography

Silica gel(100~200mesh, column chromatography용, Merck사)을 CHCl₃으로 slurry를 만들어 column을 제작하고, 시료를 CHCl₃-MeOH용매계로 MeOH농도를 0%에서 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 15, 20, 50%까지 단계적으로 증가시키면서 stepwise 용출(silica gel 10g당 0~2%는 74ml, 3~9%는 55ml, 12~50%는 78ml)하면서 분획하였다.

Sephadex LH-20 chromatography

Sephadex LH-20(25~100μ, Pharmacia사)을 MeOH-CHCl₃(4 : 1, v/v)용매계⁶⁾와 70% EtOH 용매계^{7,9,10)}로 하룻밤 팽윤시킨 후 column에 충전(MeOH-CHCl₃ 용매계, bed volume 1,000ml; 70% EtOH 용매계, bed volume 300ml)하고 동용매계로 용출 분획하였다.

Charcoal 흡착 chromatography

Charcoal(60~150mesh, Nakarai사)을 H₂O, MeOH, CHCl₃으로 각각 3회씩 세척하여 건조시킨 다음 시료의 약 15배량의 charcoal을 Park등의 방법⁸⁾에 따라 column을 제작하고, 동용매계로 시료를 녹여 흡착시킨 후 charcoal 10g당 40%(40ml), 80%(20ml), 100% MeOH(30ml)로 순차 용출 분획한 다음, 또 다시 MeOH-CHCl₃용매계로 MeOH 농도를 90%(20ml)에서 70(20ml), 50(20ml), 30(20ml), 10(40ml), 0%(95ml)까지 단계적으로 감소시키면서 순차 용출 분획하였다.

Preparative TLC

Silica gel(10~40μ, H type, Sigma사)로 박층(20×20cm, 1mm)을 만들고, 110°C에서 1시간 건조시켜 활성화시킨 다음, 시료를 band상으로 흡착시키고, EtOAc-EtOH(22 : 3, v/v)용매계로 15cm 전개시킨 다음, 15등분하여 절취하고 MeOH-CHCl₃(1 : 1, v/v)용매계로 용출하였다.

Bondesil chromatography

Gel(HPLC preparative grade, 40μm, Analytichem International사) 2g을 column에 충전하고, 질소 압력하에서 MeOH로 충분히 washing 시킨 후, 시료를 MeOH로 녹여 흡착시키고 MeOH 0.5ml씩 용출 분획하였다.

HPLC

시료를 여과(Millipore FH, 0.5μm, Waters사)시킨 다음, Porasil column(Waters사, 0.8×10cm)에 의한 HPLC는 CHCl₃-iso-PrOH(95 : 5, v/v)용매계로, C₁₈ column(Waters사, 0.8×10cm)에 의한 HPLC는 MeCN-H₂O(45 : 55, v/v)용매계로 ODS column(0.8×25cm, ODS-3215-D, Senshu사)에 의한 HPLC 역시 MeCN-H₂O(45 : 55, v/v)용매계로 각각 분당 2ml로 용출 분획하였다.

생물검정법

상풍벼의 조직을 이용하여 본 연구실에서 검토한 방법¹⁵⁾으로 활성을 검정하였다.

결과 및 고찰

용매분획

최고분얼기까지 재배된 동진벼와 영산벼의 지상부 20kg씩을 수확하여, 과량의 MeOH로 마쇄, 추출하고, 용매분획하여 얻어진 n-hexane획분, 중성획분(neutral EtOAc soluble fraction) 그리고, 수용액획분(0.2M KH₂PO₄ buffer soluble fraction)을 얻었다. 이들 획분을 대상으로 생물검정한 결과, 동진벼, 영산벼 모두 가용 중성획분인 EtOAc획분(동진벼 36.34g, 영산벼 36.17g)에 brassinosteroid-like 활성이 집중되었으며, 수용액 획분(동진벼 4.8g, 영산벼 2.4g)에서도 brassinosteroid-like 활성이 인정되었다. 이것은 유리형의 brassinosteroid가 중성획분에 존재한다는 일련의 보고^{9~14)}와 잘 일치하고 있을 뿐아니라, 본 실험에서 채용한 bioassay법이 brassinosteroid활성물질에 specific하게 감도가 좋은 점등을 고려할 때, 두 품종의 벼에는 유리형의 brassinosteroid존재는 물론, 약하나마 결합형 brassinosteroid의 존재 가능성이 시사되었다.

Silica gel 흡착 chromatography

용매분획에서 활성이 집중된 두 품종의 EtOAc획분을 CHCl₃-MeOH용매계의 silica gel 흡착 chromatography

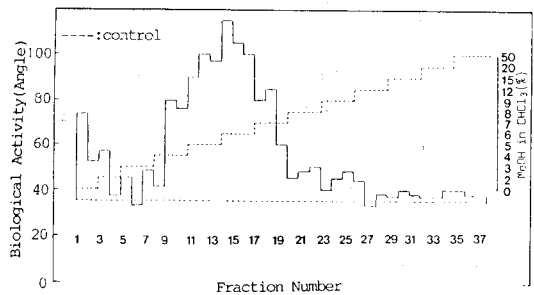


Fig. 1. Distribution of biological activity determined by the rice lamina inclination test with seedlings Sangpung-byeo after silica gel adsorption chromatography of the extract from *O. sativa* cv. Tongjin-byeo

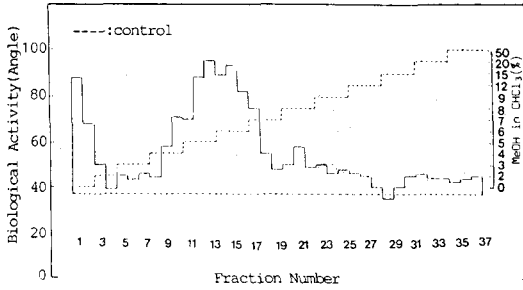


Fig. 2. Distribution of biological activity determined by the rice lamina inclination test with seedlings Sangpung-byeo after silica gel adsorption chromatography of the extract from *O. sativa* cv. Youngsan-byeo

graphy로 용출 분획하고 각 획분의 활성을 검정한 결과, 동진벼, 영산벼 각각 Fig. 1, Fig. 2와 같은 활성을 나타냈다.

동진벼는 MeOH 농도 4, 5, 6, 7% 용출획분에서 생체중량 15g에 상당하는 추출물에 의해 대조구에 대비 300%에 이르는 대부분의 활성이 나타났으며, 또 MeOH 농도 0% 용출획분인 저극성 부위에 약간의 활성이 인정되었다.

영산벼의 경우도, MeOH 농도 4, 5, 6, 7% 용출획분에서 생체중량 15g에 상당하는 추출물에 의해 260%에 이르는 활성을 나타냈으며, 또한 저극성 물질의 용출영역인 MeOH 농도 0% 용출획분에서도 활성이 인정되었다.

동 용매계에 의한 silica gel 흡착 chromatography에 있어서 기지의 천연 brassinosteroid의 거동^{7,8,13,16}과 두 품종의 brassinosteroid 활성획분이 MeOH 농도 4~7% 용출영역에 대부분의 활성이 나타난 결과와 잘 일치하고 있어 동진벼, 영산벼에 brassinosteroid활성물질의 존재 가능성을 확인할 수 있었다.

한편 저극성 물질의 용출영역에서 두 품종 모두 활성이 인정되었는데, 활성본체는 silica gel 흡착 chromatography상의 거동으로 보아 brassinosteroid이기 보다는 활성형 auxin^{7,16}으로 생각되어진다.

Sephadex LH-20 chromatography

Silica gel 흡착 chromatography의 활성획분(동진벼 16g, 영산벼 14g)을 MeOH-CHCl₃(4:1, v/v)용매계를 사용하여 Sephadex LH-20 chromatography의 gel filtration에 의하여 용출 분획하고 활성을 검정한 결과

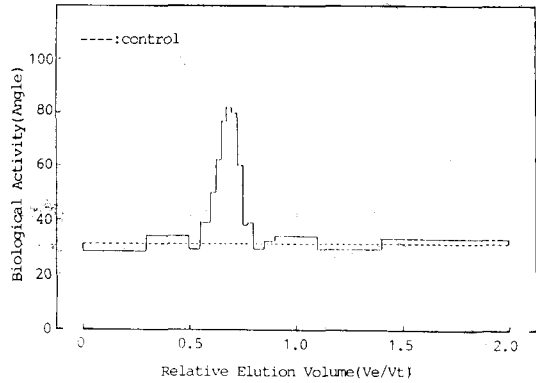


Fig. 3. Distribution of biological activity determined by the rice lamina inclination test with seedlings Sangpung-byeo after Sephadex LH-20 chromatography of the extract from *O. sativa* cv. Tongjin-byeo

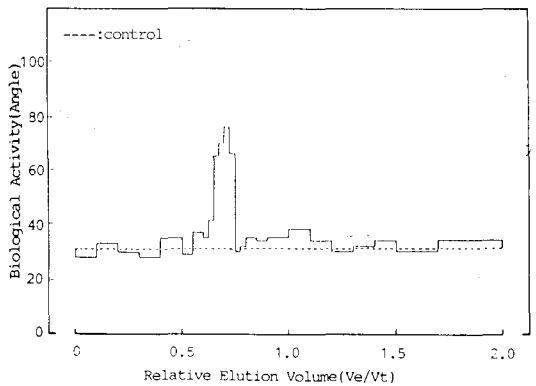


Fig. 4. Distribution of biological activity determined by the rice lamina inclination test with seedlings Sangpung-byeo after Sephadex LH-20 chromatography of the extract from *O. sativa* cv. Youngsan-byeo

를 동진벼는 Fig. 3에, 영산벼는 Fig. 4에 나타냈다. 생체중량 20g에 상당하는 추출물에 의해 동진벼는 V_e/V_t 0.625~0.750의 용출범위에서 270%에 이르는 활성을 그리고 영산벼 역시 V_e/V_t 0.650~0.750의 용출범위에서 250%에 이르는 활성을 나타냈다. Park등⁸은 동일조건에서 전형적인 brassinosteroid의 용출범위가 V_e/V_t 0.625~0.750의 용출범위라고 보고한 바 있는데, Park등의 보고와 본 실험의 결과와 잘 일치하고 있어 동진벼, 영산벼의 활성본체는 기지의 brassinosteroid와 거의 같은 분자량을 갖는 물질에 의해 활성이 발현되고 있음을 알 수 있었다.

Charcoal 흡착 chromatography

Sephadex LH-20 chromatography에서 부분 정제된 활성획분(동진벼 8.6g, 영산벼 5.4g)을 40% MeOH에 녹여 흡착시킨 후, MeOH-H₂O 및 CHCl₃-MeOH계의 용매로 용출 분획하여 활성을 검정한 결과를 동진벼는 Fig. 5에, 영산벼는 Fig. 6에 나타냈다. 생체중량 30g에 상당하는 추출물에 의해 동진벼, 영산벼 모두

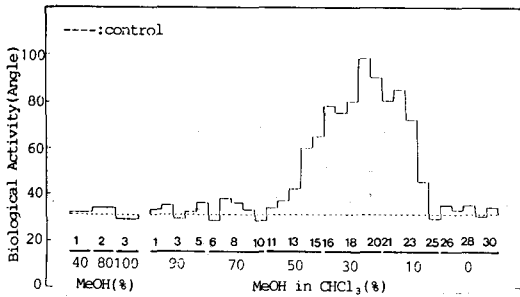


Fig. 5. Distribution of biological activity determined by the rice lamina inclination test with seedlings Sangpung-byeo after charcoal adsorption chromatography of the extract from *O. sativa* cv. Tongjin-byeo

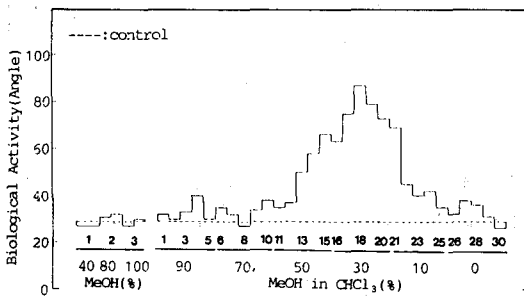


Fig. 6. Distribution of biological activity determined by the rice lamina inclination test with seedlings Sangpung-byeo after charcoal adsorption chromatography of the extract from *O. sativa* cv. Youngsan-byeo

MeOH농도 30%를 중심으로 50~10%에서 각각 320%, 300%에 이르는 활성을 나타냈다. 이 용출위치에 Park등³⁾에 의한 동일조건의 charcoal 흡착 chromatography의 결과와 잘 일치하고 있어 이 활성은 brassinosteroid에 의해 발현되고 있음을 재확인할 수 있었을 뿐만 아니라 상당한 정제효과도 얻을 수 있었다.

Sephadex LH-20 chromatography

Charcoal 흡착 chromatography에서 얻어진 활성획분(동진벼 3.4g, 영산벼 2.0g)을 더욱 정제하고 활성 본체에 대한 정보를 얻기 위하여, 70% EtOH용매제로 Sephadex LH-20 chromatography에 의해 분획하고 얻어진 획분에 대해 활성을 검정한 결과를 동진벼는 Fig. 7에, 영산벼는 Fig. 8에 나타냈다. 생체중량 100g에

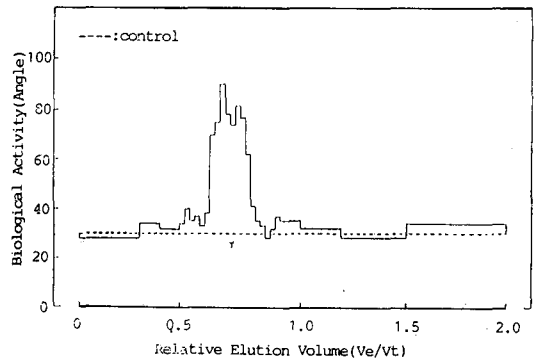


Fig. 7. Distribution of biological activity determined by the rice lamina inclination test with seedlings Sangpung-byeo after Sephadex LH-20 chromatography of the extract from *O. sativa* cv. Tongjin-byeo

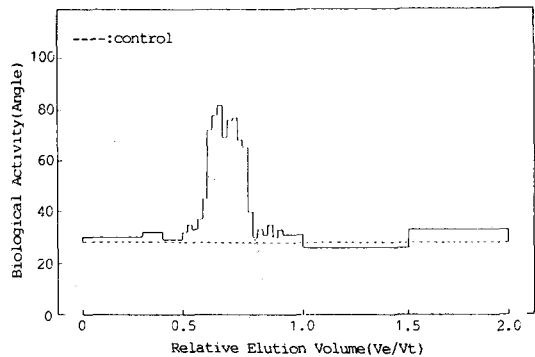


Fig. 8. Distribution of biological activity determined by the rice lamina inclination test with seedlings Sangpung-byeo after Sephadex LH-20 chromatography of the extract from *O. sativa* cv. Youngsan-byeo

상당하는 추출물에 의해 동진벼는 V_e/V_t 0.62~0.78의 용출범위에서 300%에 이르는 활성을, 그리고 영산벼는 V_e/V_t 0.60~0.76의 용출범위에서 290%에 이르는 활성을 나타냈다. 이 용출범위는 Yokota등⁹⁾,

Park등¹⁶⁾이 보고한 dolicholide, dolichosterone, homodolichosterone, brassinolide, castasterone 그리고 6-deoxydolichosterone 등의 brassinosteroid가 등 용매계에 의한 Sephadex LH-20 chromatography에서의 용출범위인 V_e/V_t 0.65~0.80과 일치하여 이 활성물질의 활성분체가 기지의 brassinosteroid와 유사한 분자량을 갖는 활성물질임을 재확인할 수 있었다.

Preparative TLC

Sephadex LH-20 chromatography에서 정제된 활성획분(동진벼 1.2g, 영산벼 0.5g)을 preparative TLC를 행하여 분획 용출하고, 그 활성을 검정한 결과를 Fig. 9에 나타냈다. 생체중량 300g에 상당하는 추출물에 의해 동진벼는 R_f 0.2~0.6의 범위에서 320%에 이르는 활성을, 그리고 영산벼는 R_f 0.2~0.6의 범위에서

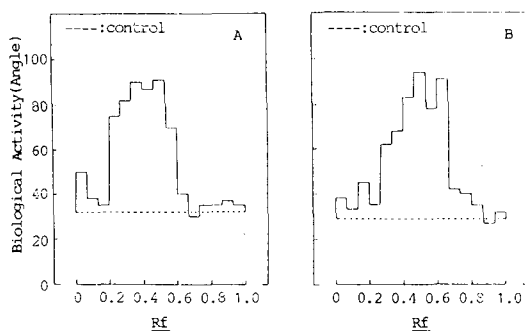


Fig. 9. Distribution of biological activity determined by the rice lamina inclination test with seedlings Sangpung-byeo TLC of the extract from *O. sativa* cv. Tongjin-byeo (A) and Youngsan-byeo(B)

280%에 이르는 활성을 나타냈다. Preparative scale에 의한 TLC이기 때문에 활성분체에 대한 정성적인 정보를 얻기에는 미흡하였으나, 동진벼와 영산벼가 모두 R_f 0.2~0.6의 범위에서 활성을 나타내어 이들의 활성을 재확인할 수 있었으며 두 품종 벼의 활성분체가 유사함을 시사받을 수 있었다.

Bondesil chromatography

Preparative TLC에서 얻어진 활성획분(동진벼 0.9g, 영산벼 0.5g)을 더 정제하기 위하여, MeOH에 의한 Bondesil chromatography로 용출 분획하고, 얻어진 획분에 대하여 활성을 검정한 결과를 동진벼는 Fig.

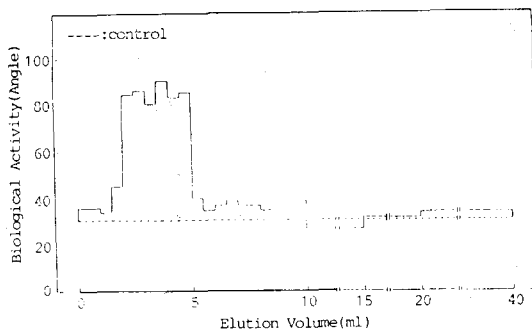


Fig. 10. Distribution of biological activity determined by the rice lamina inclination test with seedlings Sangpung-byeo after Bondesil chromatography of the extract from *O. sativa* cv. Tongjin-byeo

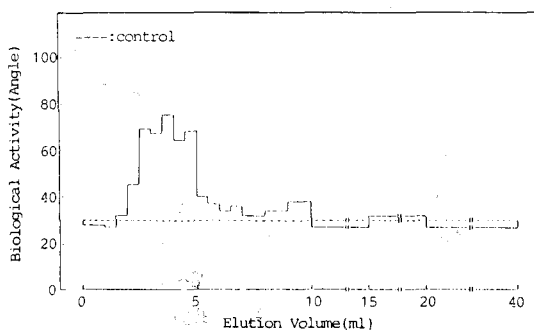


Fig. 11. Distribution of biological activity determined by the rice lamina inclination test with seedlings Sangpung-byeo after Bondesil chromatography of the extract from *O. sativa* cv. Youngsan-byeo

10에, 영산벼는 Fig. 11에 나타냈다. 생체중량 300g에 상당하는 추출물에 의해 동진벼는 2.0~5.0ml의 용출 범위에서 300%에 이르는 활성을, 그리고 영산벼는 2.5~5.0ml의 용출범위에서 250%에 이르는 활성을 나타내어 활성의 재확인 뿐만 아니라, 50% 이상의 정제효과도 얻을 수 있었다.

Bondesil에 의한 chromatography는 본 실험실에서 최초로 시도한 방법으로 비교적 짧은 시간과 소량의 용매를 사용하여 상당한 정제효과를 얻을 수 있었을 뿐만 아니라, recovery도 우수하여 천연물에서의 steroid성 물질의 분리 정제에 유효한 수단이 될 것으로 기대되어진다.

Normal phase의 HPLC

Bondesil chromatography로 정제하여 얻어진 활성획분(동진벼 0.4g, 영산벼 0.2g)을 Porasil column을 사용한 HPLC에 의하여 활성획분을 분획하고, 활성을 검정한 결과 생체중량 600g에 상당하는 추출물에 의해 동진벼의 경우 retention time(Rt) 8~15, Rt 21~39, Rt 43~53분의 범위에서 200~300%에 이르는 활성을 나타냈으며, 영산벼의 경우 Rt 13~15, Rt 25~39, Rt 43~51분의 범위에서 190~240%에 이르는 활성을 나타냈다. 사용한 column의 capacity때문에 수회 반복 분획할 수 밖에 없었으므로 충분한 정성적인 효과는 기대할 수 없었으나, 얻어진 결과를 보면 동진벼, 영산벼가 서로 유사한 양상을 나타냈으며, 두 품종 모두 2종 이상의 brassinosteroid 존재 가능성이 시사되었다. 또 대부분의 impurity가 Rt 0~10분 범위에서 존재하여 상당한 정제효과도 얻을 수 있었다.

C₁₈ column을 사용한 reverse phase의 HPLC

Porasil column의 HPLC에 의해 얻어진 정제 활성획분(동진벼 252mg, 영산벼 20mg)을 C₁₈ column을 사용하여 HPLC를 행하여 분획하고, 활성을 검정한 결과 생체중량 600g에 상당하는 추출물에 의해 동진벼의 경우, Rt 6~20, Rt 22~26, Rt 28~40분의 범위에서 260~310%에 이르는 활성을, 그리고 영산벼의 경우는 Rt 6~12, Rt 18~24, Rt 28~30, Rt 36~40분의 범위에서 230~260%에 이르는 활성을 나타냈다. Preparative의 목적으로 수회 반복 분획하였기에 정성적인 효과는 한계가 있을 것으로 생각되나, 동진벼, 영산벼가 서로 유사한 양상을 보이고, 또 두 품종 모두 넓은 영역에서 활성이 인정되어 전항의 Porasil column에 의한 실험에서 시사되었던 2종 이상의 brassinosteroid 존재 가능성을 더욱 높여준 결과라고 생각한다.

ODS column을 사용한 reverse phase의 HPLC

C₁₈ column의 HPLC에 이르는 일련의 정제과정에서 brassinosteroid활성물질로 확인되고 정제된 활성성분의 분체를 구명하고자 동진벼와 영산벼의 활성획분을 ODS column의 HPLC로 분획하고 활성을 검정한 결과를 동진벼는 Fig. 12에, 그리고 영산벼는 Fig. 13에 나타냈다. 생체중량 1.5kg에 상당하는 추출물에 의해 동진벼의 경우 Rt 9~11, Rt 16~17, Rt 19~22,

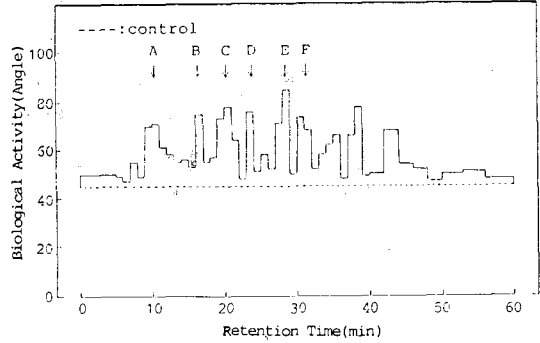


Fig. 12. Distribution of biological activity determined by the rice lamina inclination test with seedlings Sangpung-byeo after HPLC on ODS column of the extract from *O. sativa* cv. Tongjin-byeo.

The arrow denote the elution positions of authentic specimens; A, dolicholide; B, brassinolide; C, homodolichosterone; D, castasterone; E, homobrassinolide; F, (24S)-24-ethyl brassinone.

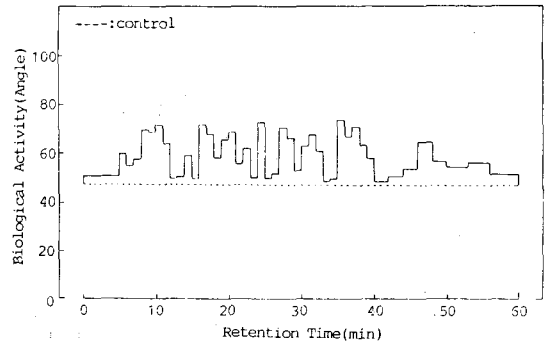


Fig. 13. Distribution of biological activity determined by the rice lamina inclination test with seedlings Sangpung-byeo after HPLC on ODS column of the extract from *O. sativa* cv. Youngsan-byeo

Rt 23~24, Rt 27~29, Rt 30~32, Rt 33~36, Rt 37~39, Rt 42~44분의 용출위치에서 150~190%에 이르는 활성을 나타냈으며, 영산벼 역시 동진벼와 유사하게 Rt 8~12, Rt 16~18, Rt 19~21, Rt 22~23, Rt 24~25, Rt 27~29, Rt 30~33, Rt 35~40, Rt 46~48분의 용출 위치에서 130~160%에 이르는 활성을 나타냈다. 이 결과를 동일조건의 HPLC에 의해 조사한 authentic specimens의 용출위치(Fig. 12)와 비교하여 보면, 동진벼의 경우 Rt 9~11, Rt 16~17, Rt 19~22, Rt 23~24, Rt 27~29, Rt 30~32분의 활성분체가, 그리고 영산벼

의 경우는 Rt 8~12, Rt 16~18, Rt 19~21, Rt 24~25, Rt 27~29, Rt 30~33분의 활성본체가 각각 dolicholide, brassinolide, homodolichosterone, castasterone, homobrasinolide와 ethyl brassinone으로 추정되어지며, 그외에 동진벼의 경우에는 Rt 33~36, Rt 37~39, Rt 42~44분, 그리고 영산벼의 경우는 Rt 35~40, Rt 46~48분에서도 활성이 인정되어 동진벼, 영산벼 모두 6종 이상의 brassinosteroid의 존재 가능성이 시사된다.

이상의 결과, 용매분획에서 얻어진 활성획분을 silica gel 흡착 chromatography, Sephadex LH-20 chromatography, charcoal 흡착 chromatography, preparative TLC, Bondesil chromatography 그리고 normal phase와 reverse phase의 HPLC 등의 방법을 사용한 정제과정에서 brassinosteroid 활성을 매번 확인할 수 있었으며, 또 각 chromatography에서의 활성본체의 거동은 기지의 brassinosteroid의 거동과 잘 일치하고 있어 2 품종 모두 brassinosteroid활성물질을 생산하고 있음을

확인할 수 있었으며, ODS column의 HPLC로 분획하고 검정된 활성성분의 용출위치와 authentic specimens의 용출위치와 비교에 의해 동진벼와 영산벼 2 품종 모두 다수의 brassinosteroid 존재가 추정되었다. 보다 확실한 동정을 위해서는 GC/MS나 GC/SIM 등의 분석이 요구되어지나, 지금까지의 지견을 종합하여 보면 두 품종간 endogenous brassinosteroid의 유사성이 인정되었다.

사 사

본 연구는 한국 과학재단 연구비 지원(881-1502-016-2)으로 수행되었기에 재단 당국에 감사드리며, 시료 재배에 협조하여 주신 전남대학교 농과대학 김규진 교수님과 실험을 도와준 안찬영, 문재학, 김선재 군에게 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Mitchell, J. W., Mandava, N., Worley, J. F., Plimmer, J. R. and Smith, M. V. : Nature, 225 : 1065(1970)
- Grove, M. D., Spencer, G. F., Rohwedder, W. K., Mandava, N., Worley, J. F., Warthen, J. D., Jr., Steffens, G. L., Flippen Anderson, J. L. and Cook, J. C. : Nature, 28 : 216(1979)
- Gregory, L. E. : Am. J. Bot., 68 : 586(1981)
- Maugh, T. H. : Science, 212 : 33(1981)
- Fujita, F. : Kagaku-to-seibutsu, 23 : 717(1985)
- Takematsu, T. and Takeuchi, Y. : Chem. Regul. Plants, 18 : 38(1983)
- Park, K. H. : Korean J. Agric. Chem., 31 : 106(1988)
- Park, K. H., Saimoto, H., Nakagawa, S., Sakurai, A., Yokota, T., Syono, K. and Takahashi, N. : Agric. Biol. Chem., 53 : 805(1989)
- Yokota, T., Baba, J., Koba, S. and Takahashi, N. : Agric. Biol. Chem., 49 : 2529(1984)
- Ikeda, M., Takatsuto, S., Sassa, T., Ikekawa, H. and Nukiwa, M. : Agric. Biol. Chem., 47 : 655(1983)
- Abe, H., Morishita, T., Uchiyama, M., Marumo, S., Munakawa, K., Takatsuto, S., and Ikekawa, N. : Agric. Biol. Chem., 46 : 2609(1982)
- Arima, M., Yokota, T. and Takahashi, N. : Phytochemistry, 23 : 1587(1984)
- Suzuki, Y., Yamaguchi, I. and Takahashi, N. : Agric. Biol. Chem., 49 : 49(1985)
- Yokota, T., Baba, J. and Takahashi, N. : Tetrahedron Letters, 23 : 4965(1982)
- Park, K. H., Hyun, K. H. and Kim, D. Y. : Korean J. Agric. Chem., 29 : 22(1986)
- Park, K. H., Yokota, T., Sakurai, A. and Takahashi, N. : Agric. Biol. Chem., 51 : 3081(1987)

Investigation of brassinosteroid substances in the shoots of japonica type Korean rice

Kyu-Hawn Hyun and Keun-Hyung Park(Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea)

Abstract : Brassinosteroid-like substances in two japonica type Korean rices were investigated. The extracts from the shoots at the maximum tillering stage were purified by solvent fractionation, silica gel adsorption chromatography, Sephadex LH-20 chromatography, charcoal adsorption chromatography, preparative TLC, Bondesil chromatography and HPLC of normal phase and reverse

phase, successively. Biological activity of each purification step were monitored by the rice lamina inclination test. Two cultivars tested in this experiment produced brassinosteroids and endogenous brassinosteroids showing similiarity between two cultivars.