

# Brassinolide와 기존 植物生長調節劑와의 相互作用

崔忠博\*·竹松哲夫\*\*·竹内安智\*\*·金吉雄\*\*\*

## Interaction of Brassinolide with Other Known Plant Growth Regulators

Choi, C. D.,\* T. Takematsu\*\*, Y. Takeuchi\*\* and K. U. Kim\*\*\*

### ABSTRACT

This study was attempted to evaluate the combining effect of HBR (homobrassinolide) with the known growth regulators such as GA (gibberellic acid), BA(6-benzyl aminopurine), IAA (indole-3-acetic acid), B-9 (N-dimethylamino succinamic acid) and CCC (2-chloroethyl-trimethylammonium chloride) on the growth of radish hypocotyl. A single application of HBR increased hypocotyl growth as its rates increased from 0.1 to 1.0 ppm, showing a maximum increase at 1.0ppm. GA and BA had no direct effects on hypocotyl growth, but IAA showed some effect as its concentration increased. However, the mixed application of HBR with GA, BA and IAA increased the length of radish hypocotyl as the concentration of HBR became higher. The mixture of HBR with GA and BA showed antagonistic reaction on radish hypocotyl growth, but synergistic effect was shown in the higher rate mixture of HBR with IAA in the range of HBR at 0.03 to 0.30 ppm with IAA at 3.0 to 10.0 ppm, but antagonistic or additive response at the mixture of low rates. An increased growth of hypocotyl by HBR was nullified by CCC, showing the strong antagonistic reaction, but B-9 was not able to nullify HBR's effect on hypocotyl growth.

Key words: homobrassinolide, antagonistic, synergistic, hypocotyl

### 緒 言

1970年 美國 農務省의 Mitchell 等<sup>10</sup>이 유채(*Brassica napus* L.)의 花粉에서 濃縮한 物質이 강낭콩(*Phaseolus vulgaris* L.)의 第2節間 伸長을 促進시킨다는 것을 發見하고 이 物質을 brassin 이라고 하였으며 그후 Grove 等<sup>6</sup>은 유채 花粉 40kg에서 活性物質 4mg 을 結晶體로서 抽出해서 X線結晶解析에 의해 構造를(22R, 23R, 24S)-2 $\alpha$ -3 $\alpha$ , 22,23-tetraphydroxy-24-methyl-6, 7-S-5 $\alpha$ -cholestan-6,7-lacton으로 밝히고 brassinolide라고 命名하였다. 本格的인 研究는 1980年代부터 始作되었으

며 지금까지 밝혀진 天然 brassinolide 는 21種에 達하고 있다.<sup>12</sup> 節間에 대한 伸長反應은 gibberellin類와는 전혀 相異하며<sup>10</sup> 아직 確實한 作用機作이 밝혀지지 않고 있는 新規 化合物로서 第6의 植物生長調節物質로 脚光을 받고 있다.

筆者 等<sup>2</sup>은 이미 brassinolide의 生理生活作用의 究明을 위하여 무우 幼植物을 利用한 生物檢定方法을 確立하였으며 10<sup>-3</sup>ppm에서도 強한 活性을 나타내어 既存 生長調節物質보다 300~1,000倍 強한 反應을 나타냄을 立證하였고, 밀의 收量을 增加시켜 農業의 利用이 크게 期待되는 有望한 生長調節物質로 看做되고 있다.<sup>3</sup>

Brassinolide와 既存 生長調節物質과의 相互作用

\* 嶺南作物試驗場 Yeongnam Crop Experiment Station, RDA Milyang, Korea

\*\* 日本宇都宮大學農學部 Faculty of Agriculture, Utsunomiya Univ., Utsunomiya 321, Japan

\*\*\* 慶北大學校 農科大學 農學科 Dept. of Agronomy, Coll. of Agri., Kyungpook National Univ., Taegu 635, Korea

에 대하여는 Yopp<sup>13)</sup>가 倭性小豆의 伸長에서 GA와 相異作用이 있다고 하였으나 Mendava 等<sup>9)</sup>은 植物의 部位에 따라 相異한 反應을 보인다고 報告한 것 외에는 거의 研究된 것이 없는 實情이다.

이리하여 本 研究에서는 brassinolide의 生理活性 究明의 일환으로서 既存 植物生長調節劑와의 混用이 무우 下胚軸의 伸長에 미치는 相互作用效果를 究明하여 얻어진 結果를 報告한다.

### 材料 및 方法

프라스틱 포트(40cm×50cm×15cm)에 깨끗이 씻은 모래를 반쯤 채워서 무우(*Raphanus sativus* c. v. Tokinashi) 種子를 播種하여 25℃ 溫室에서 7日間 育苗 後 下胚軸이 2~3cm 되는 幼植物을 選別해서 子葉의 基部에서 下部 1cm 되는 部位를 작은 切片을 供試材料로 使用하였다.

供試化合物은 brassinolide類는 HBR(22S, 23S-homobrasinolide), GA(gibberellic acid), BA(6-benzylamino purine), IAA(indole-3-acetic acid)와 生長抑制劑인 B-9(N-dimethylamino succinamic acid)과 CCC(2-chloroethyl-trimethylammonium chloride)를 使用하였다. 處理濃度는 GA, BA, IAA는 0.1, 0.3, 1.0, 3.0, 10.0 ppm, B-9과 CCC는 1.0, 3.0, 10.0 ppm, HBR은 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1.0 ppm 處理였다.

各各의 溶液과 brassinolid와의 混用液을 10ml 넣은 沙畷(直徑 5cm, 높이 1cm)에 供試切片을 浸漬시켜 人工氣象室(25℃, 2,500lux)에서 24時間 培養 後 下胚軸 伸長에 의한 相互作用을 檢定하였다. 處理區는 1沙畷當 10個體씩 3反復으로 실시하였으며 分散分析으로 統計分析하였다. 相互作用의 分析은 Gowing의 方法<sup>5)</sup>에 準하였으며, -5%~+5%는 相加效果, -5% 以下는 拮抗效果, +5% 以上은 相異效果로 評價하였다.

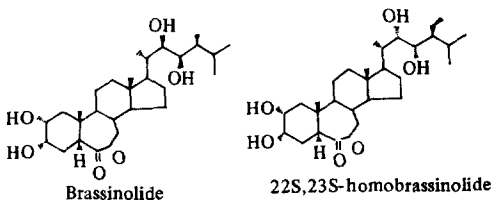


Fig. 1. Chemical structures of brassinolides.

### 結 果

그림 2는 GA<sub>3</sub>와 HBR과 混用에 있어서 下胚軸의 伸長反應을 나타낸 것으로 GA<sub>3</sub> 10ppm까지 GA 單獨處理로는 크게 伸長이 誘導되지 않았으나 HBR이 添加됨으로서 伸長이 促進되었으며 HBR의 濃度가 0.1에서 1ppm으로 增加할수록 反應도 增大되었다(그림 2-A). HBR에 대한 GA<sub>3</sub>의 添加效果(그림 2-B)는 HBR 單獨으로도 伸長效果가 있었으며 濃度가 增加하므로 下胚軸이 크게 伸長되었다. GA<sub>3</sub> 添加됨으로서 伸長이 多少 促進되었으나 GA<sub>3</sub>의 低濃度에서는 오히려 HBR로 誘導된 伸長이 抑制되었다.

BA와 HBR과의 混用에서 BA 單獨處理에 의한 下胚軸 伸長效果는 보이지 않았다(그림 3). 그러나 HBR과 混用했을 境遇에는 HBR의 濃度가 높을수록 伸長이 크게 促進되었다(그림 3-A). HBR에 對한 BA의 添加는 多少 伸長을 促進시켰으나(그림 3-B) HBR의 高濃度에서는 약간 抑制를 나타내는 傾向이 있었으며, BA에 對한 HBR의 混用效果가 더욱 큰 것으로 나타났다.

IAA와 HBR의 混用에 있어서 伸長反應은 그림 4와 같다. IAA 單獨으로도 下胚軸의 伸長이 IAA의 濃度가 1에서 10ppm으로 增加할수록 多少 促進되었으나 HBR이 添加됨으로서 그 效果는 크게 增大되었고 HBR의 濃度에 따른 影響이 컸다(그림 4-A). HBR에 對한 IAA의 效果는 GA<sub>3</sub>나 BA 보다 크게 나타났으며 IAA의 濃度가 높을수록 伸長反應이 높게 나타났다(그림 4-B).

두 藥劑를 混用한 相互作用의 效果를 Gowing의 方法<sup>5)</sup>으로 分析한 結果(表 1) 生長促進劑인 GA<sub>3</sub>, BA, IAA에 대한 HBR의 添加는 모두 무우의 下胚軸 伸長을 促進시켰으며 HBR의 濃度에 따라 相互作用의 效果程度는 相異했으며 混用效果는 IAA가 GA<sub>3</sub>나 BA에 比하여 높게 나타났다. GA<sub>3</sub>와 HBR의 混用에서는 이들 各各의 高濃度 몇 組合에서는 相異作用을 나타냈으나 相異效果의 範圍는 10% 未滿이었으며 大部分의 混合處理에서 10 以上の 強한 拮抗의 效果를 나타냈다.

BA와 HBR의 混用處理에서 相異效果는 없었고 相加作用이나 HBR 低濃度인 0.01 ppm과의 混用組合에서는 拮抗作用을 보였다. IAA와 HBR의 混用은 GA<sub>3</sub>나 BA에 比하여 比較的 相異效果가 크고 IAA

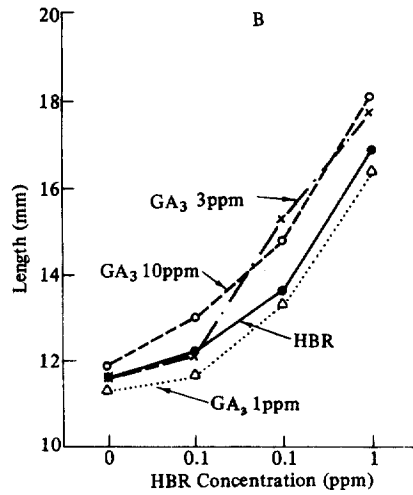
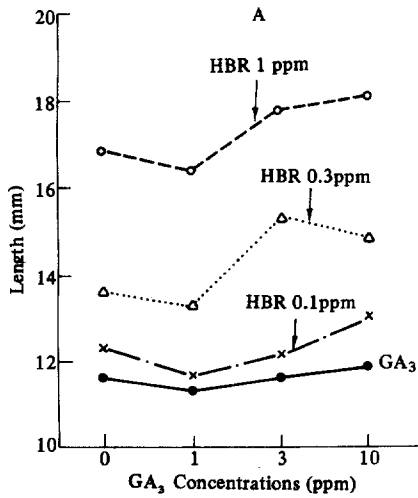


Fig. 2. Combining effect of gibberellic acid with (22S,23S)-homobrassicin on the hypocotyl elongation of *Raphanus sativus*.

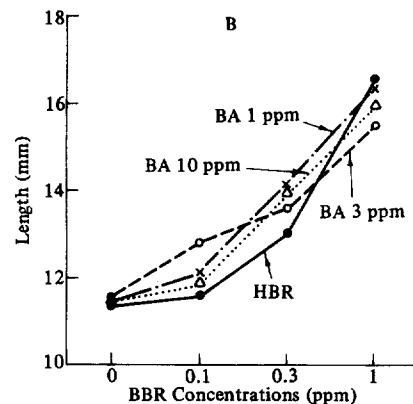
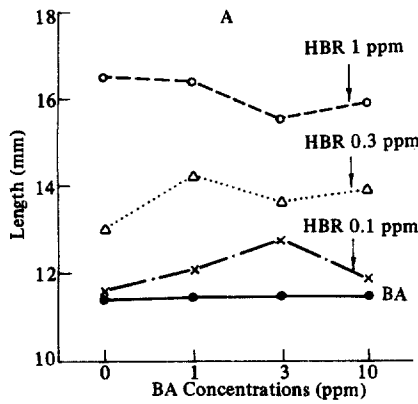


Fig. 3. Combining effect of 6-benzylamino purine with (22S,23S)-homobrassicin on the hypocotyl elongation of *Raphanus sativus*.

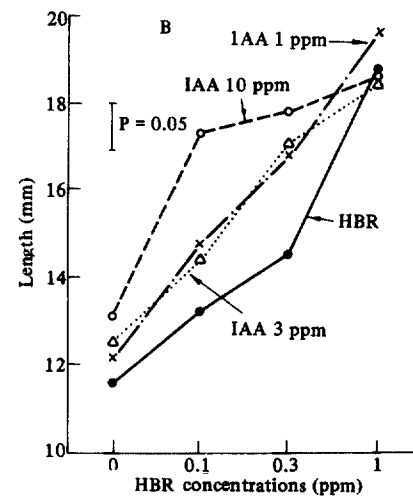
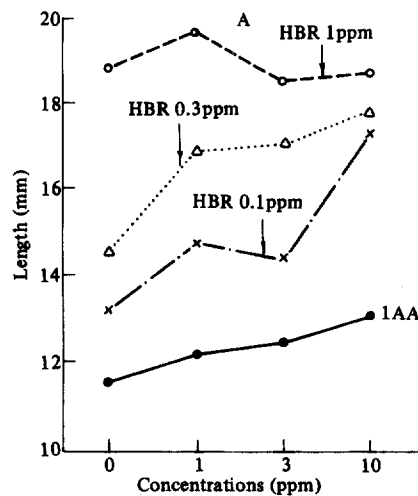


Fig. 4. Combining effect of indole-3-acetic acid with (22S,23S)-homobrassicin on the hypocotyl elongation of *Raphanus sativus*.

**Table 1.** Combining effect and interaction response of HBR with GA, BA and IAA on the hypocotyl elongation of *Raphanus sativus*.

HBR concentrations (ppm)	Growth regulators (ppm)														
	GA <sub>3</sub>					BA					IAA				
	10	3	1	0.3	0.1	10	3	1	0.3	0.1	10	3	1	0.3	0.1
	%)														
1	152 <sup>+2)</sup>	153 <sup>+</sup>	145 <sup>-2)</sup>	128 <sup>-2)</sup>	151 <sup>(2)</sup>	138 <sup>-</sup>	135 <sup>-</sup>	143 <sup>o</sup>	132 <sup>o</sup>	142 <sup>o</sup>	143 <sup>o</sup>	162 <sup>o</sup>	161 <sup>+</sup>	156 <sup>o</sup>	156 <sup>o</sup>
0.3	124 <sup>o</sup>	132 <sup>+</sup>	118 <sup>-</sup>	110 <sup>-</sup>	124 <sup>o</sup>	121 <sup>o</sup>	118 <sup>o</sup>	123 <sup>o</sup>	119 <sup>o</sup>	122 <sup>o</sup>	136 <sup>++2)</sup>	149 <sup>++</sup>	139 <sup>+</sup>	149 <sup>++</sup>	128 <sup>o</sup>
0.1	109 <sup>o</sup>	104 <sup>-</sup>	103 <sup>-</sup>	97 <sup>-</sup>	107 <sup>-</sup>	103 <sup>-</sup>	111 <sup>o</sup>	105 <sup>-</sup>	105 <sup>-</sup>	102 <sup>-</sup>	132 <sup>++</sup>	126 <sup>+</sup>	120 <sup>o</sup>	115 <sup>-</sup>	109 <sup>-</sup>
0.03	98 <sup>-</sup>	101 <sup>-</sup>	102 <sup>-</sup>	97 <sup>-</sup>	108 <sup>-</sup>	102 <sup>-</sup>	102 <sup>-</sup>	101 <sup>-</sup>	102 <sup>-</sup>	99 <sup>-</sup>	112 <sup>+</sup>	125 <sup>++</sup>	102 <sup>-</sup>	106 <sup>-</sup>	110 <sup>-</sup>
0.01	105 <sup>-</sup>	97 <sup>-</sup>	101 <sup>-</sup>	101 <sup>-</sup>	108 <sup>-</sup>	99 <sup>-</sup>	103 <sup>-</sup>	98 <sup>-</sup>	97 <sup>-</sup>	98 <sup>-</sup>	105 <sup>o</sup>	117 <sup>+</sup>	98 <sup>-</sup>	102 <sup>-</sup>	98 <sup>-</sup>
0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

1) % : treated over untreated

2) Interpretation of interaction.

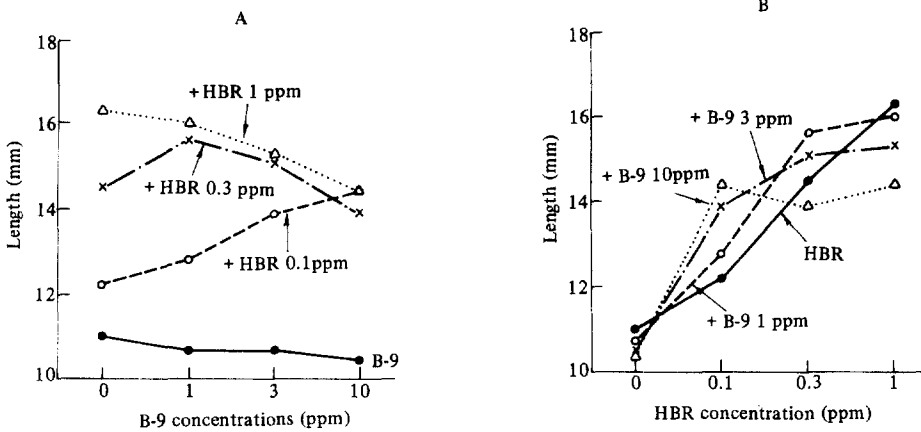
+ : synergistic response (5 - 10%)

++ : synergistic response (above 10%)

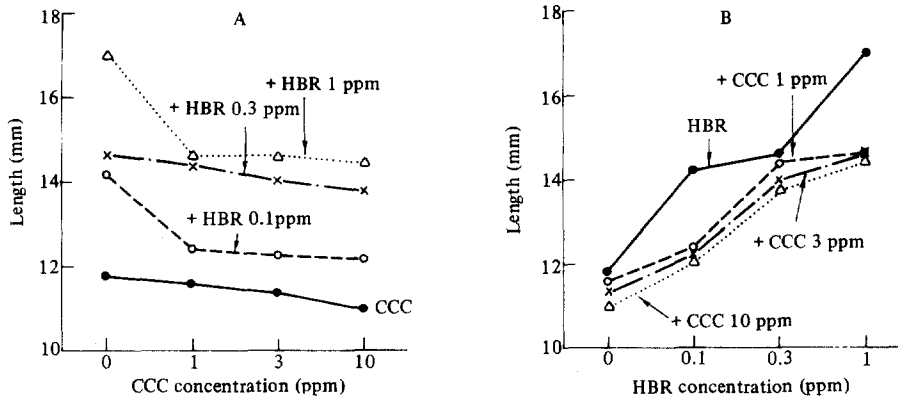
- : antagonistic response (5 - 10%)

-- : antagonistic response (above 10%)

o : additive response (-5 - +5%)



**Fig. 5.** Combining effect of B-9 with (22S,23S)-homobrassinolide on the hypocotyl elongation of *Raphanus sativus*.



**Fig. 6.** Combining effect of CCC with (22S,23S)-homobrassinolide on the hypocotyl elongation of *Raphanus sativus*.

와 HBR의 低濃度組合에서는拮抗的인反應도 보였지만 그範圍는 10%를 超過하지 않았다.

한편, 生育抑制作用을 나타내는 B-9과 HBR의 混用에 의한 下胚軸 伸長反應은 그림 5와 같다. B-9

單獨으로는 濃度가 높아짐에 따라 伸長이 抑制되었으나 HBR과 混用함으로써 伸長이 回復되었고(그림 5-A), HBR에 의해 誘導된 伸長은 B-9을 添加하여도 크게 抑制되지 않았으나 HBR의 高濃度에서는

B-9의 농도가 높을수록 多少 抑制되는 傾向을 나타내었다(그림 5-B).

CCC와 HBR의 混用處理에서 CCC單獨處理는 下胚軸의 伸長을 抑制시켰다. 그러나 HBR과 混用處理하면 CCC에 의해 抑制된 伸長이 回復되었으며 HBR의 濃度가 높을수록 回復의 程度가 增大되었다(그림 6-A). HBR의 濃度를 基準으로 해서 CCC의 添加效果를 보면 HBR로 誘導된 下胚軸의 伸長을 CCC가 크게 抑制시켰다(그림 6-B). 같은 生育抑制劑인 B-9은 HBR로 誘導된 伸長을 抑制시키지 않았으나 CCC는 強하게 抑制시켜서 HBR에 對한 互生育抑制의 相互作用이 相異함을 나타냈다.

## 考 察

HBR과 GA<sub>3</sub>의 混用處理의 效果는 HBR의 濃度에 影響을 받았으며 GA<sub>3</sub>은 HBR에 對하여 크게 作用을 하지 않았다. Yopp等<sup>8)</sup>은 暗狀態에서 자란 倭性 小豆의 伸長에서 GA와 HBR은 相昇作用을 한다고 하였으나 Mandava等<sup>9)</sup>은 植物의 部位에 따라 反應이 다르게 나타난다고 報告하였다. 植物의 組織內에서 GA는 單獨으로 作用하기도 하지만 體內 auxin의 含量 및 活性和 關聯이 있다고 보는 見解가 있다.<sup>11)</sup> 本 試驗의 結果 GA<sub>3</sub>는 下胚軸 伸長에 있어서 單獨으로는 活性을 나타내지 않았는데 供試材料가 切片이어서 auxin의 含量이 낮고 活性 및 作用이 不安全한 狀態에서 GA가 크게 活性을 나타낼 수 없었던 것이 아닌가 思料된다. HBR은 무우의 下胚軸이 切片이지만 頂芽分裂組織의 存在下에서는 細胞의 分裂과 伸長을 促進시키고, 生長點에서 auxin의 作用을 活性化시키는 것으로 보인다.

BA와 HBR의 混用에서는 BA의 效果가 거의 나타나지 않았는데 cytokinin類는 一般적으로 細胞內에서의 反應이 짧은 時間內에 이루어지며 auxin으로 誘導된 細胞伸長을 抑制한다고 알려져 있으며, 오이 下胚軸의 伸長試驗에서 濃度에 따라 伸長 및 抑制作用이 並行해서 惹起되는데 이것은 auxin作用과 關聯된 細胞活성에 影響이 있다고 하였다.<sup>7)</sup> BA는 IAA 및 GA와는 相加 또는 拮抗作用을 한다고 報告<sup>7)</sup>되었으나 brassinolide類와의 相互作用에 關한 研究는 아직 이루어지지 않고 있어서 正確한 相互作用效果를 說明할 수는 없지만 brassinolide의 作用이 auxin類와 비슷한 點으로 미루어 보아 BA와는 相互作用의 效果가 없는 것이 아닌가 推定된다. 今後 이 部

分에 對하여 植物의 種類 및 部位別로 더 많은 研究檢討가 되어야 할 것으로 思料된다.

IAA와 HBR의 相互作用에 있어서 切片의 伸長反應은 外生 auxin의 處理에 의하여 크게 影響을 받았는데 前述한 바와 같이 供試材料가 auxin의 均衡이 不安定한 狀態이기 때문에 外生 auxin의 處理에 敏感하게 反應을 나타낸 것이 아닌가 생각된다. IAA가 GA<sub>3</sub>나 BA에 비하여 HBR과 混用하더라도 相昇效果가 比較的 높았는데 Meudt<sup>9)</sup>는 brassinolide類가 auxin과는 相昇作用을 하지만 直接的으로 組織內에서 auxin의 吸收와 移行을 促進시키지는 않는다고 報告하였고 大部分의 auxin類와 brassinolide類는 ethylene 生成에 있어서 相昇效果가 있으나 不活性 indole化合物과는 相昇效果가 없다고 報告하였다.<sup>1)</sup> Yopp等<sup>14)</sup>도 生體重의 增加에 있어서 brassinolide類의 作用을 活性化시키고 全體 組織內에서 ethylene 生成의 誘導에 의해 IAA와 相昇作用을 나타낸 것이 아닌가 思料된다.

한편, 生長抑制物質과의 相互作用은 B-9과 CCC에 의해 抑制된 伸長이 HBR의 處理로 回復되었으며, HBR에 의해 誘導된 伸長은 B-9에 의해 크게 抑制를 받지 않았으나 CCC에서는 크게 抑制作用을 나타내어서 HBR과 CCC는 강한 拮抗作用을 나타낸다고 볼 수 있다. CCC는 GA 生合成의 中間 代謝過程을 遮斷하는 anti-GA物質로서, CCC에 의한 生育抑制는 GA에 의해서 克服이 되지만<sup>4)</sup> 本 試驗에서와 같이 HBR의 處理에 의해서도 伸長抑制가 回復되는 것으로 미루어 보아 CCC는 GA뿐만 아니라 brassinolide類의 生合成 過程中的의 어느 한 段階에서 抑制作用을 나타내는 抗brassinolide類 物質로 여겨진다. 今後 brassinolide와 生長促進 또는 抑制劑와의 混用に 의한 相互作用機作的 研究는 brassinolide의 農業의 利用을 極大化시킬 수 있을 것으로 期待된다.

## 摘 要

새로운 植物生長調節劑인 brassinolide와 既存 植物生長調節物質과의 混用の 效果를 무우 下胚軸의 伸長反應으로 調査하여 얻어진 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. HBR 單獨處理는 處理濃度가 0.1에서 1.0ppm 增加할 수록 무우 下胚軸의 伸長이 促進되었으며 無

處理에 比하여 1.0 ppm에서 60% 以上 增大시켰다.

2. GA나 BA의 單獨處理는 處理濃度에 關係없이 下胚軸 伸長을 促進시키지 못하였으나 IAA는 處理濃度가 增加할 수록 多少 增加시켰다.

3. HBR과 GA, BA 및 IAA와의 混用은 HBR의 濃度가 增加할수록 무우 下胚軸의 伸長을 增大시켰다.

4. HBR과 GA 및 BA와의 相互作用의 反應은 매체로 拮抗的이며 HBR과 IAA와는 HBR의 0.03 ppm에서 0.3 ppm과 IAA 3.0 ppm에서 10.0 ppm 混用에서 相昇作用을 나타냈으며 低濃度 組合에서 5% 未滿의 拮抗 또는 相加反應을 보였다.

5. B-9과 CCC 單獨處理는 濃度가 增加할수록 무우 下胚軸의 伸長이 抑制되었으나 HBR과 混用하므로 伸長이 回復되었고 HBR에 의해 誘導된 伸長이 B-9에 의해서 抑制되지 않았으나 CCC에 의해서는 크게 抑制되어 強한 拮抗關係가 있는 것으로 나타났다.

#### 引用 文 獻

1. Artega, R. N., D. S. Tsai, C. Schlanghauser, and N. B. Mandava. 1983. The effect of brassinosteroid on auxin induced ethylene production by etiolated mungbean segments. *Physiol. Plant.* 59: 539-544.
2. Choi, C. D., Y. Takeuchi, and T. Takematsu. 1986. Biological properties of brassinolide. *Chem. Regu. Plant* 21 (in press).
3. 崔忠惇·竹内安智·竹松哲夫. 1986. 韓國稻にたいする brassinolide 類の影響. 植調, 昭和61年度 研究發表記録集, p. 46.
4. Douglas, T. J. and L. G. Paleg. 1974. Plant growth retardants as inhibitors of sterol biosynthesis in tobacco seedling. *Plant Physiol.* 54: 238-245.
5. Gowing, D. P., 1960. Comments on test of herbicide mixtures. *Weed* 8: 379-391.
6. Grove, M. D., G. F. Spencer, W. K. Rohwedder, N. Mandava, J. F. Worley, J. D. Warthen Jr. G. L. Steffens, J. L. Flippen-Anderson, and J. C. Cook Jr. 1979. Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen. *Nature* 281: 216-217.
7. Kotsumi, M. and H. Kazama. 1978. Auxin-gibberellin relationship in their effects on hypocotyl elongation of light-grown cucumber seedlings. VI. Promotive and inhibitory effects of kinetin. *Plant Cell Physiol.* 19(I): 117-115.
8. Mandava, N. B., J. M. Sasse. and J. H. Yopp. 1981. Brassinolide, a growth-promoting steroidal lactone. II. Activity in selected gibberellin and cytokinin bioassay. *Physiol. Plant.* 53: 453-461.
9. Meudt, W. J. and M. J. Thompson. 1983. Investigations on the mechanism of the brassinosteroid response. II. A nodulation of auxin action. *Proceeding of the Plant Growth Regulator Society of America.* 1983, p. 306-311.
10. Mitchell, J. W., N. B. Mandava, J. F. Worley, and J. R. Plimmer. 1970. Brassins-a new family of plant hormones from rape pollen. *Nature* 225: 1065-1066.
11. Samimy, C. 1978. Effect of light on ethylene production and hypocotyl growth of soybean seedling. *Plant Physiol.* 61: 772-774.
12. 横田孝雄. 1986. 天然ブラシノステロイドに關する 生物有機化學的研究. 植調, 昭和61年度 研究發表記録集, p. 7.
13. Yopp, J. H., N. B. Mandava, M. J. Tompson, and J. M. Sasse. 1981. Activity of brassinosteroid in selected bioassay in combination with chemicals known to synergize or retard responses to auxin and gibberellin. *Proceedings Eight Annual Meeting Plant Growth Regulator Society of America, St. Petersburg, Florida* August 3-6, 1981, p. 138-145.
14. Yopp, J. H., N. B. Mandava, and J. M. Sasse. 1981. Brassinolide, a growth promoting steroidal lactone. *Physiol. Plant.* 53: 445-452.