

# 連作栽培地土壤의 植物毒素에 關한 研究

## 第 1 報 土壤中 植物毒素의 分離定量 및 植物毒素 添加가 고추 幼植物에 미치는 影響

李相奎 · 徐壯善 · 金永植 · 朴俊奎\*

### Studies on Phytotoxin in Intensively Cultivated Upland Crops

#### I. Identification of phytotoxin in soil and effects of phytotoxin application to the toxicity of hot-pepper plant

Sang Kyu Lee, Jang Sun Suh, Young Sig Kim and Jun Kyu Park

#### Summary

A laboratory experiment was conducted to find out the concentration of phytotoxin in intensively cultivated hot-pepper, garlic and chinese cabbage, and effects of these phytotoxin to the germination and growth of young hot-pepper plant. Also this experiment presents describes of the bio-assay method and results of phytotoxin application to the toxicity of hot-pepper plant.

The results obtained were summarized as follows;

1. A series of non-volatile (aromatic) phenolic compounds such as hydroquinone, benzoic, p-hydroxybenzoic, and vanillic acid were quantitatively and qualitatively analysed using BSA(N, O-bis(trimethylsilyl)acetamide) by means of gas chromatography method.
2. Phytotoxin as hydroquinone, benzoic-, p-hydroxybenzoic- and vanillic acid were determined in intensively cultivated hot-pepper, garlic and chinese cabbage. Highest concentration of phytotoxin was obtained in hot-pepper cultivated soil.
3. Direct toxic action of the applied phytotoxin to the germination and young hot-pepper plant growth was observed at the levels of 200 ppm. Benzoic acid was obtained the highest toxicity to the young hot-pepper plant growth.
4. Mode of actions of phytotoxins to the young hot-pepper plant growth were observed as stunting of stem elongation, discoloration of leaf and oxygen depletion from consideration as causes of symptom.

#### 緒 言

連作障害란 語源은 同一 場所에 同一 作物을 連續

하여 栽培할때 作物生育이 不良하게되어 收量이 漸次 減少하여 結局 豫測하지 못한 生産性을 내는 結果를 말한다.

\* 農業技術研究所 (Agricultural Sciences Institute Suweon, 170, Korea)

連作障害란 말은 아주 옛날부터 알려져있고 作物栽培面 或은 土壤學의 면에서 近來 매우 重要視하고있다. 그리고 連作障害란 語源外에 忌地現象 (Alleropathy), 或은 土壤病 (Soil-Sickness) 이라는 말을 使用하기도 한다.

作物의 連作障害가 일어나는 根本原因은 同一 作物을 同一 場所에서 連續栽培하므로써 1) 特定土壤養分の 消耗, 2) 土壤의 作物에 對한 適合性的 喪失 3) 毒素物質의 蓄積 및 4) 特定微生物의 優勢 등을 들 수 있다.

Collin<sup>2)</sup>은 麥稈을 뜨거운 물로 抽出한 後 麥類의 幼植物 培地에 加하여 栽培한 結果 幼植物의 生長은 急靜止되며 葉色은 漸次 褐變하였는데 이 原因은 어떤 特定物質에 의하여 窒素吸收 阻害, 酸性障害 및 酸素不足 등의 徵象을 보였다고 하였다.

Vincent<sup>3)</sup>에 의하면 作物殘渣의 抽出物을 作物의 幼植物에 加하였을때 일어나는 現象은 根腐, 生長點의 枯死, 등이 있으며 이現象은 實地 圃場에서 麥類, Clover, 大豆 콩무 셀러리 등의 밭作物이 받는 被害와 同一한 徵象을 보았다고 하였다.

連作障害地土壤에서 植物毒素의 生成은 作物殘渣의 分解時 生成되는 2次代謝物質로서 Trepens, Steroids, Acetogenines, Phenyl-Propanes, Alkaloids 가 生成되는 境遇<sup>4)</sup>, 土壤微生物의 代謝物質, 植物根係에서 分泌되는 境遇<sup>5)</sup> 등을 들 수 있다.

本 試驗은 實驗室內서 植物毒素의 分別定量方法, 고추, 마늘, 배추等 連作栽培地 土壤에서 植物毒素의 分別定量 및 植物毒素가 高추 幼植物의 生育 및 發芽에 미치는 影響에 關한 室內試驗 結果를 報告하는 바이다.

## 材料 및 方法

供試土壤: 本 試驗에 供試한 土壤은 全國 主要 高추 마늘 배추 連作地 28個 地域의 表土를 採取 風乾한 後 1mm 체에 通過시켜 植物毒素分析用 試料로 使用하였다.

植物毒素의 抽出: 植物毒素의 分析方法은 Ray<sup>6)</sup> 등의 方法에 의하였다. 即 土壤試料 50gr에 12.5% EDTA (pH 7.5) 溶液 200ml 을 加하고 5時間 震盪하였다. 震盪이 끝난 試料는 3000 rpm에서 15分間

遠心分離한 後 上澄液은 유리綿을 通하여 濾過하였다. 濾液은 2N HCl 溶液으로 pH 3.5 로 調節한 後 200 ml Ether 를 加하고 다시 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 를 加한 後 脫水시킨 溶液은 Rotary evaporator 內에서 蒸發乾固시켰다. 乾固된 試料는 約 0.5ml Ether 를 加하여 溶解시킨 後 小型 Vial 에 모은後 0.5ml BAS (N,O-bis-(trimethylsilyl) acetamide) 로 Silyl 化시켜 Gas Chromatography 에 의하여 分離定量하였다.

植物毒素의 分別定量: 本 試驗에 使用한 機器는 Shimadzu Model GC-6A FID를 使用하였다. Colum 은 2m × 0.3mm 유리 Colum 을 使用했고 填充劑는 60~80 mesh Chromosorb-W에 10% S.E-30 을 Corting 시켜 使用했다. Gas 의 流速은 Air 40ml, He 25 ml 그리고 H<sub>2</sub> 25ml/min 로 調節하고 溫度調節裝置를 使用하였다.

植物毒素의 Bio-assay: 殺菌된 Petri-dish 에 殺菌된 No. 2 濾紙를 깔고 Benzoic-, P-hydroxy benzoic-, P-Coumaric- 및 Protochatechuic acid 를 各各 0, 100, 200, 300, 400 ppm 溶液을 만든다음 이 溶液 各 8ml 을 濾紙上에 無菌的으로 主入하였다. 高추는 振興高추를 供試하고 高추씨앗은 Benate-T 溶液에 24時間 浸漬하여 殺菌後 殺菌蒸溜水로 3回 水洗하였다. 殺菌된 高추 씨앗 15個를 各 Petridish 上에 播種하고 뚜껑을 덮은後 30°C 恒溫器內에서 9日間 恒溫後 高추의 發芽狀態, 뿌리 및 줄기의 長이를 測定하였다.

## 結果 및 考察

### 1. Authentic Chemical (phytotoxin) 의 分離同定

植物毒素의 種類 및 Retention time 등을 Gas Chromatography 에 의하여 나타난 結果를 보면 그림 및 表 1에서와 같다. Colum 溫度 110°C Injector 溫度 280°C 條件下에서 生成된 各成分의 Peak 는 제일 먼저 Hydroquinone, Benzoic acid, P-hydroxybenzoic acid 및 Vanillic acid 등의 順으로 나타났다.

그리고 各 植物毒素 標準試藥의 濃度別 peak 의 長이는 Hydroquinone, Benzoic acid 및 P-hydroxybenzoic acid 의 順으로 높고 이들 標準試藥의 peak 는 各 各 一直線을 나타내었다. 또한 各 標準試藥의 感度는 Hydroquinone이 제일 높고 反對로 P-hydroxybenzoic

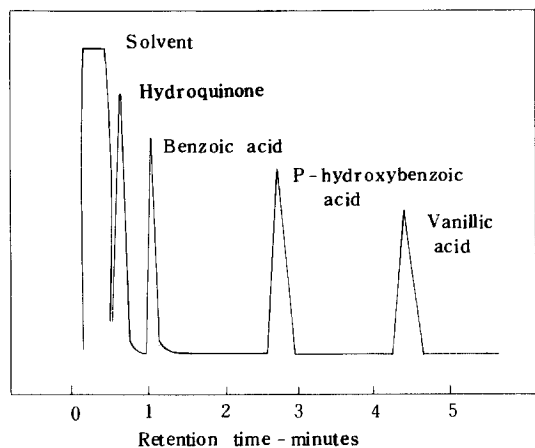


Fig. Separation of authentic phytotoxin by means of gas chromatography at 110 to 160 °C (Chromosorb-W, 10% SE-30).

acid 가 가장 낮은 感度를 보였다.

이들 各種 植物毒素은 Silyl 化를 하므로써 gas Chromatography 上에서 peak 의 重複 或은 Retention time 의 變化는 거의 없었다.

2. 連作栽培地 土壤에서 植物毒素 分別定量

고추, 마늘 및 배추 連作栽培地 土壤 28 個에 대한 土壤中 植物毒素 濃度調査 結果를 보면 表 2 와 같다.

表에서와 같이 고추 連作栽培地 土壤에서는 Hydroquinone, Benzoic acid 및 P-hydroxybenzoic acid 가 分離 同定되었으며 그 濃度 範圍는 各各 198 ~ 352, 305 ~ 390 및 157 ~ 317 ppm 으로 Benzoic acid 의 濃度가 가장 높았다. 마늘 栽培地 土壤에서는 Hydroquinone만이 檢出되었으며 濃度는 33 ~ 297 ppm 이었다. 한편 배추 栽培地 土壤에서는 Benzoic acid 와 P-hydroxybenzoic acid 가 檢出되었으며 濃度

Table 1. Separation and determination of retention time and peak height on the different concentration of phytotoxins

Phytotoxin	Retention time (sec)	Peak height (cm) concentration (ppm)				Sensitivity
		100	200	300	400	
Hydroquinone	24	3.0	6.7	9.0	13.5	10 <sup>3</sup> x 128
Benzoic acid	66	2.0	6.2	8.6	12.4	10 <sup>3</sup> x 64
P-hydroxybenzoic acid	168	3.0	4.2	8.4	11.7	10 <sup>3</sup> x 32

Table 2. Separation of phytotoxins in intensively cultivated upland soils for the hot-pepper, garlic and chinese cabbage

Crops	Number of samples	Concentration (ppm)		
		Hydroquinon	Benzoic acid	P-hydroxybenzoic acid
Hot-pepper	4	198 - 352	305 - 390	152 - 317
Grlic	7	33 - 297	-	-
Chainese cabbage	9	-	12 - 98	41 - 124
Injury limitation		374	305	138

는 각각 12~98 그리고 41~124 ppm 였다.

그런데 Hydroquinone, Benzoic acid 및 P-hydroxybenzoic acid 가 作物에 주는 被害限界濃度는 374, 305 및 138 ppm 으로 毒性이 강한것은 P-hydroxybenzoic acid 로 밝혀졌다.

3. Bio-assay 에 의한 고추生育에 미치는 植物毒素의 濃度別 影響

고추 發芽 및 幼植物에 미치는 各種 植物毒素의 濃

度別 被害程度 調査結果를 보면 表 3 과 같다.

表에서와 같이 고추의 뿌리 및 줄기의 生育狀態는 供試한 植物毒素 모두 100 ppm 以上일때는 被害徵象이 나타나며 특히 Benzoic acid 의 境遇는 2cm ppm 일때 50% 以上の 被害를 받았으며 400 ppm 인 境遇는 전혀 發芽하지 못하였다.

고추 生育에 있어서 植物毒素의 種類와 毒素의 濃度에 따라서 多少 差異는 있지만 毒素濃度가 200 ppm 以

Table 3. Bio-assay of different concentration of authentic phytotoxin on the germination and growth of hot-pepper

Growth status	Concentration of phytotoxin (ppm)														
	Benzoic acid					P-hydroxybenzoic acid					Ferulic acid				
	0	100	200	300	400	0	100	200	300	400	0	100	200	300	400
Stem length (cm)	5.1	5.0	2.3	0.4	0.0	5.1	5.1	3.4	1.8	1.3	5.1	3.5	2.6	1.9	0.7
Injury rate (%)	0	2.0	55	99	100	0	0	33	65	75	0	31	47	83	86
Root length (cm)	7.5	6.8	3.3	0.8	0.0	7.5	5.9	4.8	2.3	1.2	7.5	5.9	3.6	2.3	0.7
Injury rate (%)	0	9	56	89	100	0	21	36	59	84	0	21	52	69	91

상일때는 모두 顯著한 被害徵象을 보였다. 被害의 程度는 뿌리 보다 줄기의 伸長에 보다 큰 被害가 있었다.

連作栽培地 土壤에서 作物이 받는 被害의 根本的인 原因은 "土壤病原菌에 의한 直接的인 被害," "土壤 및 根圈微生物 分布의 變化" 作物生育 過程中 土壤養分 或은 有機物の 分解產物로 부터 直接被害, "作物 根에서 毒成物質의 分泌에 의한 被害等을 들 수 있는데 本研究에서는 1) 項을 除外한 2)~3) 項에 該當된다고 할 수 있겠다.

本研究에 關係한 基礎研究는 이미 1930 年代 初期에 어떤 植物의 抽出物 或은 分解產物이 他作物의 生育을 阻害한다는 報告는 많이 있으나 具體的으로 本物質을 分離 同定하여 試驗한바는 없었다. 이 當時 Vincent<sup>2)</sup>, Collin<sup>2)</sup>, Gries<sup>3)</sup>, Newton 과 Young<sup>6)</sup>, Valleau<sup>8)</sup> 및 Matthews 等<sup>5)</sup> 은 麥類, 옥수수, 豆科植物 等の 生體, 乾物, 或은 抽出液等을 여러가지 方法에 의하여 Bio-assay 했을때 作物生育障害가 選拔的으로 일어나는 것을 確認한바 있었으며 作物이 받는 生育障解徵象은 大體로 幼植物에서 主로 일어나고 特히 窒素 鐵 等の 不足現象과 類似하다고 하였다. 또한 다른 徵象은 強酸性障害, 酸素否足障害로 인한 生長點枯死, 根腐等 障害를 報告하였다.

研究가 進行되는 過程中 1970 年頃에 Ray<sup>7)</sup>, Keople<sup>4)</sup> 은 Thin-layer, 或은 Gas chromatography 法에 의하여 數種의 毒成物質을 分離定量하였다. 또한 Bio-assay 에 의하여 幼植物의 被害를 研究하였으며 또한 本研究와 同一한 物質을 土壤中 및 植物體 分解產物로 부터 檢出하였다.

以上の 研究結果 고추 마늘 및 배추等の 連作栽培地 土壤에서 植物毒素인 Benzoic acid, Hydroquinone, P-hydroxybenzoic acid 및 Vanillic acid 가 檢出되었으며 이들 毒素中 Benzoic acid 및 P-hydroxybenzoic

acid 는 特히 고추 連作栽培地土壤에서 많은 量이 檢出되었고 Bio-assay 結果 200 ppm 以上일때는 줄기의 生長을 抑制하고 또한 生長點의 枯死現象을 觀察할 수 있었다.

### 要 約

고추, 마늘 및 배추等の 連作地土壤에서 植物毒素의 分別定量, 毒成物質이 고추 發芽 및 生育에 미치는 影響等을 알고저 室內試驗한 結果는 다음과 같다.

1. 不揮發性 芳香族 有機酸인 Hydroquinone, Benzoic -, P-hydroxybenzoic - 및 Vanillic 酸等은 BSA (N, O-bis(trimethylsilyl)acetamide) 로 Silyl化 시켜 Gas chromatography 方法에 의하여 分別 定量이 可能하였다.
2. 고추, 마늘 및 배추 連作栽培地 土壤에서 Hydroquinone, P-hydroxybenzoic - 및 Benzoic 酸이 檢出되었으며 特히 고추 連作栽培地土壤에서 作物의 障害 限界濃度 以上の 毒性物質이 檢出되었다.
3. 고추 發芽 및 生育에 미치는 各種 植物毒素 被害濃度는 200 ppm 程度였으며 植物毒素中 Benzoic acid에 의한 被害가 가장 甚하였다.
4. 植物毒素에 의한 고추 幼植物의 被害徵象은 줄기 伸長抑制, 幼葉의 褐變, 生育靜止等の 現象을 볼 수 있었다.

### Reference

1. Blakley, E.R. 1966. Gas chromatography of phenolic acid. Anal. Biochem. 15: 350-354.
2. Collin, R.C. 1925. The presence of certain organic compounds in plants and their relation to the

- growth of other plants. J. Amer. Soc. Agron. 17: 58-68.
3. Gries, G.A. 1943. The effect of plant decomposition products on root diseases. *Phytophath.* 33: 1111-1112.
  4. Keoppl, K.G. 1969. Gas chromatographic identification of TMS derivatives of non-volatile phenolic acid. *J. of Chrom. Sci.* 7: 565-567.
  5. Matthews, E.D., Renger C.A., and R.P. Thomas. 1939. Root rot of tobacco. *J. Agr. Res.* 58: 673-684.
  6. Newton, R. and R.S. Young 1940. Nitrification under and after alfalfa, brome, thimoth, and western rye grass. V. Biological assays of hay crop residues. *Canad. J. Res (C)* 18: 374-389.
  7. Ray, M. and H. Walter. 1976. The extraction of soil phytotoxins using a natural EDTA solution. *Soil Sci.* 124(4): 205-210.
  8. Valleau, W.D.R. Kenny and E.J. Kienney. 1925. Root rot of tobacco in Kentucky and its control. *Kentucky Agro. Exp. Stat. Bul.* 262: 157-180.
  9. Vincent, W.C. 1947. The role of plant residues in the etiology of root rot. *Phytophath.* 38: 185-196.