

황해속에 含有된 化學物質이 다른 植物과 微生物의 生長에 미치는 影響

吉奉燮 · 尹敬源* · 李承燁** · 韓東旻***

圓光大學校 科學教育科, 順天大學校 漢藥資源學科*, 湖南作物試驗場**, 圓光大學校 分子生物學科***

Influence of Chemicals from *Artemisia argyi* on the Growth of Selected Species of Plants and Microorganisms

Kil, Bong-Seop, Kyeong-Won Yun*, Seung-Yeop Lee** and Dong-Min Han***

Department of Science Education, Wonkwang University

*Department of Oriental Medicine Resources, Suncheon National University**

*Honam Crops Experiment Station***

*Department of Molecular Biology, Wonkwang University****

ABSTRACT

To investigate phytotoxic substances in *Artemisia argyi*, the donor plant, and their biological activities, seed germination and seedling growth of receptor plants such as *Arundinella hirta*, *Echinochloa crus-galli*, *Rumex crispus* and *Lactuca sativa* were examined at different concentrations of aqueous extracts of the donor plant.

Germination of four receptor species was inhibited by the extracts, while seedling growth was decreased to a lesser degree than in the germination test. Germination, seedling growth and dry weight growth of *Achyranthes japonica* grown in pot were proportionally inhibited by the extracts.

Volatile substances emitted from *A. argyi* plant caused slight inhibition in the germination and seedling growth of the receptor species. Essential oil of the plant extracted by Karlsruker's apparatus inhibited growth of microorganisms and callus growth of *Pinellia ternata* and *Oryza sativa*.

The GC/MS method was employed for analysis and identification of allelochemicals from *A. argyi* leaves. Sixty-one chemical substances such as α -pinene, camphene, 1, 8-cineol, etc. were identified from essential oil of *A. argyi*.

The results of this experiment on seed germination, seedling growth, microorganism culture and tissue culture indicated that naturally occurring chemical substances from *A. argyi* would be responsible for the growth inhibition of plants studied.

Key words: *Artemisia argyi*, Allelochemicals, Aqueous extracts, Essential oil, Growth inhibition

이 논문은 1992년도 한국학술진흥재단의 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

緒 論

쑥 종류로부터 방출되는 천연화학물질이 다른 식물의 생장에 영향을 준다는 연구는 여러 학자들에 의하여 보고되었다. 예컨대, *Artemisia absinthium*의 잎에서 나오는 물질이 그 주변 식물을 잘 자라지 못하게 하고(Funke 1943), *A. princeps*의 지하부에 함유된 화학물질은 *Digitaria adscendens*의 발아를 억제하며 (Numata et al. 1975), *A. tridentata* var. *vaseyana*로부터 나오는 휘발성 물질은 다른 식물의 생장을 억제한다 (Weaver and Klarich 1977). *A. herba-alba*의 지상부에는 휘발성 물질과 수용성 물질이 들어있어서 이들은 *Helianthemum ledifolium*의 발아를 심하게 억제하며(Friedman et al. 1977), *A. tridentata*의 잎으로부터 방산되는 휘발성 물질과 수용성 화학물질은 *Elymus cinerren*의 발아와 생장을 억제한다 (Groves and Anderson 1981).

*Artemisia*屬 식물 중에는 allelopathy를 일으키는 화학물질인 allelochemicals를 만들어 내는 식물이 많이 알려져 있는 바, *A. absinthium*은 흔히 3종류의 sesquiterpene을, *A. californica*는 6종류의 terpenoid를 생산하고, *A. tridentata*도 식물의 생장억제물질을 방출한다 (Duke et al. 1987).

황해쑥은 우리나라 중부지방에서 자라는 다년생 국화과 초본으로 흔히 군락을 이루고 있다. 짙은 향취가 독특하며 황해쑥의 생육지에는 그 임상식물의 종류가 단순하거나 황해쑥이 우점하는 수가 많다. 그래서 그 곳을 주목하게 되었고, 황해쑥에 함유되어 있는 천연화학물질이 다른 식물의 생장에 미치는 영향을 조사하여 황해쑥 군락지에서 황해쑥의 생태학적 우점이유를 여러 가지 요인이 있겠지만 그 중에서 allelopathy효과와 관계지워서 실험을 통해 입증하고, 황해쑥에 함유되어 있는 allelochemicals를 분석하여 그 물질의 생물학적 활성을 조사하기 위해 본 연구를 수행하였다.

材料 및 方法

황해쑥 群落地의 林床植物調査

경기도 강화군 화도면 내리에서 장화에 이르는 들에 분포하는 황해쑥의 군락지를 찾아 0.5 × 0.5m, 1 × 1m의 방형구를 설치하고 임상식물의 종조성, 빈도, 피도, 밀도를 조사하여 중요치를 산출하였다. 식물종의 동정은 현장에서 확인하고, 불확실한 것은 비닐주머니에 넣어서 실험실로 운반후 재확인하였다.

황해쑥의 天然化學物質 준비와 실험

수용추출액은 황해쑥잎 200g당 물 1L을 가하여 실온(약 25℃)에서 24시간 추출하여 이것을 100%로 치고 70%, 50%, 30%, 10%로 각각 희석하여 실험에 사용했다.

황해쑥 잎으로부터 방산되는 휘발성물질의 생물학적 활성실험은 Baker(1966)의 장치를 개량하여 자작하였다. 즉, 1.8L의 유리수조 밑바닥에 탈지면을 깔고 그 위에 여과지를 놓고 증류수로 충분히 적신 다음 0.1L의 비이커를 놓고 거기에 잘게 썰은 황해쑥잎을 5, 10, 15, 20, 25, 30g 담았으며, 대조구는 잎을 담지않은 빈 비이커를 놓고 각기 유리판에 바세린을 발라 밀봉하는 방식으로 준비하여 실험에 사용했다.

황해쑥의 天然化學物質 준비와 실험

發芽와 生長實驗

황해쑥을 공여체 식물(donor plant)로 하고 황해쑥 추출액으로 종자발아와 어린 식물의 신장 실험에 쓰인 종류를 수용체 식물(receptor plant)로 하였는바, 즉, 새, 돌피, 소리쟁이, 상치, 쇠무릅 등 5종류였다.

황해쑥 추출액에서의 수용체 식물의 발아와 성장실험은 전보한 방법(吉 1983)을 따랐다. 파종은 직경 12cm의 Petri dish와 직경 12cm인 화분을 이용하였고, 실험은 4반복한 후 수확하여 통계처리하였다. 발아와 신장실험의 결과 중 일부는 상대발아율(RGR), 상대신장율(RER), 상대건중량율(RWR)로 계산하여 정리하였다(Kim and Kil 1987).

황해쑥잎의 휘발성 물질에서의 발아와 성장실험은 앞에서 기술한 자작장치의 유리수조바닥에 종자 50알씩을 파종하여 발아결과를 조사하였고 아울러 어린 식물의 신장성장 결과도 측정하였다.

微生物生長實驗

본 실험에 사용한 균주는 원광대학교 분자생물학과에서 보유중인 *Alternaria* × 104, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*을 시료로 했고, 배지조성은 Harsani *et al.* (1976)에 의한 complete media(CM)를 사용하였다.

Complete media에 황해쑥의 정유를 0.001, 0.005, 0.01, 0.05%씩 각각 혼합하고 여기에 위의 균주를 접종하여 35℃에서 4일간 배양한 후 colony의 성장결과를 growth diameter로 측정하였다.

組織培養實驗

황해쑥의 精油성분이 세포분열 및 성장에 어떤 영향을 미치는지 조사하여 식물-식물 상호작용에서 억제효과를 나타내는 이유를 찾고, 나아가서 응용분야에 활용할 기초자료를 제공하려고 벼와 반하를 선택하여 callus 성장을 비교하였다. 검정식물은 전라북도 이리지방에 자생하는 다년초인 반하(*Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.)와 벼(*Oryza sativa* L. cv. Dongjinbyeo)를 사용하였다.

Callus 유기 및 검정에 사용한 배지는 MS배지(Murashige and Skoog 1962)에 1mg/l 2,4-D, 2mg/l NAA, 1mg/l Kinetin을 첨가한 MS 121배지를 사용하였다. 배지의 pH는 1% agar를 넣기 전에 pH 5.8로 조절하였으며, 증기 고압 멸균기에서 15분간 멸균후 clean bench에서 ϕ 100 × 15mm 멸균 Petri dish에 20ml씩 분주하여 사용하였다.

검정에 사용한 벼의 callus의 유기는 현미를 75% ethyl alcohol에 2분간 소독후 다시 5% sodium hypochlorite에 15분간 소독하여 MS 121배지에 치상하였다. 반하는 기내재분화된 어린 식물체의 잎을 5mm²로 잘라 MS 121배지에 치상하였다. 배양은 25℃에서 암배양하였으며 배양 30일 후 유기된 callus를 1회 계대배양하여 검정에 이용하였다.

MS 121배지를 20ml씩 분주한 ϕ 100 × 15mm Petri dish에 반하와 벼의 callus를 ϕ 5mm크기로 균일하게 잘라 Petri dish당 10개씩 원형으로 잘라 3반복 치상한 다음, ϕ 2cm의 멸균여지편을 Petri dish 중앙에 놓고 황해쑥의 essential oil을 0, 5, 50, 75 μ l씩 처리하여 parafilm으로 싸서 25℃에서 암배양하였다. 배양 30일 후 처리당 30개씩 callus의 생체중을 측정하였으며, callus를 다시 80℃에서 48시간 건조시킨 다음 건물중을 조사하였다. 생장율은 essential oil 처리구의

생체중 및 건물중은 대조구의 생체중 및 건물중으로 나눈 비율로 나타내었다.

황해쑥의 化學物質 分析

황해쑥의 잎을 Karlstrucker 장치(Stahl, 1973)로 수증기 증류하여 정유를 얻어 실온에서 감압 농축하여 gas chromatography(GC) 주입전까지 -20°C 의 냉동고에 보관하였다.

GC는 Hewlett Packard 5890 capillary GC, column은 SE 54($50\text{m} \times 0.33\mu\text{m} \times 0.2\text{mm}$), oven온도는 45°C 에서 5분간 유지하고 300°C 까지 $4^{\circ}\text{C}/\text{min}$. 속도로 올린 후 3분간 유지하였으며, injector 온도는 250°C 였고, transfer line온도는 250°C , ion source 온도는 200°C 였으며, carrier gas flow는 $0.5\text{mg}/\text{min}(\text{He})$ 로, head pressure는 34psi로 하였고, split ratio는 1:10으로 하였다.

生物學的 定量

황해쑥의 잎으로부터 분석 확인된 성분물질중 9종류를 선택하여 이와 동일한 시약 즉, γ -terpinene, β -pinene, α -humulene, phytol, p -cymene, camphor, α -pinene, terpinen-4-ol, linalool 이었다. 이들 약품을 골라서 각각 210ml 크기의 Petri dish안에 놓았다 (Heisey and Delwiche 1983). 즉, Petri dish안에 탈지면을 깔고 그 위에 여과지를 놓은 후 aluminium foil로 직경 1cm 크기의 오목한 작은 용기를 만들어서 놓고 수용체 식물의 종자를 30알씩 산파한 후 위에 든 시약을 각각 5, 10, 15, 20 μg 씩을 foil용기에 떨어뜨린 다음 Petri dish를 parafilm으로 밀봉하여 (Vokou and Margaris 1986) 형광등(장미등)이 설치된 25°C 의 growth chamber에서 받아서켜 받아들여 어린 식물의 생장을 조사하였다.

結果 및 考察

황해쑥 群落地의 植物調查

황해쑥 군락지의 種組成과 重要值를 조사해 본 결과 황해쑥의 중요치가 조사 식물중 가장 높았고 다음으로는 개망초, 매듭풀, 방동사니의 순이었다. 개망초는 밀도가 매우 높았으나 2년생 초본이어서 황해쑥 군락지에서 함께 경쟁하기에는 불리한 점도 있을 것이며 피도면에서도 황해쑥이 더 높은 값을 나타냈다.

황해쑥 水溶抽出液에 의한 發芽와 生長

황해쑥잎의 수용추출액을 각 농도별로 준비하여 Petri dish에서 실시한 발아실험 결과는 Table 1과 같다. 수용체 식물 중, 새는 황해쑥 수용추출액에 대하여 종자발아의 촉진이나 억제 받지 않았다. 그러나 돌피는 고르지 못한 결과를 나타냈으나 소리쟁이는 대조구에 비하여 실험구의 발아가 억제되었다.

이러한 실험결과는 황해쑥에 함유되어 있는 화학물질이 植物種類에 따라서 상이하게 영향을 주는 것으로 보이며 예컨대 Hazebroek(1989)가 asparagus의 뿌리추출액에서 토마토와 상치의 발아는 억제되었으나 호박의 발아는 억제되지 않았다고 한 연구결과와 비슷한 경향인 것이다. 이와 유사한 선행연구로는 *Artemisia tridentata*의 잎 수용추출액이 여러가지 식물의 발아를 억제 또는 촉진하고(Hoffman and Hazelett 1977), *Artemisia princeps*의 지하부 수용추출액은 어린 벼의 생장을 촉진시키고 methanol과 HCl추출액은 어린 벼의 생장을 심하게 억제한다

Table 1. Effect of aqueous extracts of *Artemisia argyi* leaves on germination of selected species sown in Petri dishes

Species	Control	Extract Concentration(%)				
		10	30	50	70	100
<i>Arundinella hirta</i>	37.3 ^a	36.8 ^a	33.8 ^a	36.5 ^a	35.3 ^a	33.5 ^a
<i>Echinochloa crus-galli</i>	46.0 ^{ab}	47.5 ^{ab}	46.5 ^{ab}	48.5 ^a	46.5 ^{ab}	44.3 ^b
<i>Rumex crispus</i>	20.8 ^a	17.3 ^{ab}	14.5 ^{ab}	13.0 ^b	12.5 ^b	12.0 ^b
<i>Lactuca sativa</i>	47.3 ^a	48.5 ^a	49.5 ^a	48.0 ^a	48.3 ^a	48.8 ^a

* within each treatment, means followed by the same letter are not different at 5% level by Duncan's multiple-range test

Table 2. Effect of aqueous extracts of *Artemisia argyi* leaves on percent elongation of selected species sown in Petri dishes

Species	Control	Extract Concentration(%)				
		10	30	50	70	100
<i>Arundinella hirta</i>	27.2 ^a	31.8 ^a	27.8 ^b	26.8 ^b	25.4 ^b	19.7 ^c
<i>Echinochloa crus-galli</i>	26.9 ^{ab}	37.5 ^a	34.4 ^a	33.4 ^a	29.1 ^b	28.3 ^b
<i>Rumex crispus</i>	29.9 ^a	30.9 ^a	25.5 ^b	25.3 ^b	25.9 ^b	20.8 ^c
<i>Lactuca sativa</i>	35.2 ^a	46.7 ^a	36.1 ^b	35.1 ^b	31.7 ^{bc}	28.4 ^c

* within each treatment, means followed by the same letter are not different at 5% level by Duncan's multiple-range test

(Numata *et al.*, 1975)는 보고가 있다. 따라서 *Artemisia*속 식물에는 다른 식물의 발아에 영향을 줄 수 있는 화학물질, 즉 발아억제물질이 함유되어 있다는 사실을 쉽게 알 수 있으며, Duke *et al.* (1987)은 *Artemisia annua*의 성분인 artemisin은 상처와 자기 자신의 종자발아를 억제한다고 보고한 바가 있다.

황해쑥잎의 水溶抽出液으로 4종 受容體 植物의 유식물생장을 실험한 결과는 Table 2와 같다. 4종 受容體植物 중 들피는 실험구 값이 대조구보다 높은 촉진효과를 나타냈고, 나머지 새, 소리쟁이 그리고 상처의 幼植物 伸長은 추출액의 농도 50% 이상에서는 대조구에 비하여 다소 억제적이었으나 그 값은 대체로 낮았다.

한편, pot에 vermiculite를 담고 쇠무릅을 산과하여 황해쑥잎의 수용추출액을 공급하여 발아와 성장실험을 실시한 결과는 Fig. 1과 같다.

쇠무릅은 水溶抽出液의 濃度增加에 따라 발아와 신장 그리고 건중량 생장 모두 비례적으

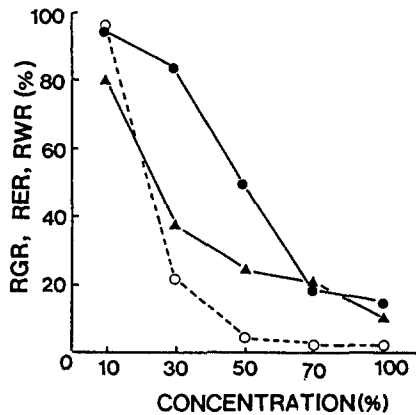


Fig. 1. Relative germination ratio (RGR) (●---●), relative elongation ratio (RER) (▲---▲) and relative dry weight ratio (RWR) (O---O) of *Achyranthes japonica* tested in pot at different concentration of aqueous extracts of *Artemisia argyi* leaves.

로 억제적이었다. 발아보다는 유식물 신장, 이들 보다는 건중량이 훨씬 저조하였는데 이러한 사실은 Einhellig and Rasmussen(1978)이 무우와 수수를 화학물질을 써서 실험했을 때 신장보다는 건중량에서 훨씬 더 뚜렷한 차이가 나타난다고 한 결과와 일치하였다.

황해쑥揮發性物質에 의한發芽와生長

황해쑥의 잎과 줄기에서 방산되는 휘발성 물질이 상치의 종자발아에 미치는 영향을 조사한 실험결과는 Table 3와 같다.

황해쑥의 줄기에서 나오는 휘발성 물질은 상치의 종자발아에는 아무런 영향을 주지 않은 것으로 나타났으나 황해쑥잎에 함유되어 있는 화학성분은 정도의 차이는 있으나 발아억제 현상을 나타내었다. 즉, 대조구에 비하여 72.5%에서 44%까지 발아율이 뚜렷하게 저조하였다. 그래서 황해쑥의 줄기보다는 잎 속에 더 높은 농도의 발아억제물질이 함유되어 있는 것으로 추정된다.

황해쑥과 같은 속 식물인 *Artemisia herba-alba*의 지상부에서 내는 휘발성 및 수용성 물질은 다른 식물의 종자발아를 심하게 억제하고 (Friedman *et al.* 1977), *A. tridentata*의 잎에서 나오는 휘발성, 수용성 물질은 *Elymus cinereus*와 *Agropyron cristatum*의 종자발아를 억제하며 (Groves and Anderson 1981), *A. tridentata* 식물체에서 방산되는 휘발성 물질은 밀과 호박의 종자 발아 시 호흡율을 감소시키지만 잎이 일정 수준으로 성장한 후부터는 호흡을 촉진시킨다 (Weaver and Klarich 1977)는 보고와 본 실험 결과는 경향이 같거나 관계가 있음이 확인되었다.

한편, 황해쑥의 잎과 줄기에서 나오는 화학물질에 의한 상치의 유식물 신장을 조사한 실험결과는 Table 4와 같다.

상치의 유식물 신장은 황해쑥의 잎과 줄기에서 방산되는 휘발성 화학물질에 의하여 대조구에 대한 실험구의 값이 모두 저조하였다. 즉, 황해쑥의 잎과 줄기의 양 20g 실험구에서부터는 대조구 값의 반 정도로 억제적이었다. 또 황해쑥 줄기보다는 잎에서 나오는 휘발성 물질이 대체로 상치의 신장생장을 더 억제하는 것으로 전술한 (Table 4) 결과와 같은 것을 확인할 수 있었다.

Table 3. Effect of leaf and stem volatile substances of *Artemisia argyi* on percent seed germination of *Lactuca sativa* sown in glass chamber

	Control	Substances (g / 1.8l)					
		5	10	15	20	25	30
Leaf	20.0 ^a	14.3 ^b	14.0 ^b	11.0 ^{bc}	13.8 ^{bc}	14.5 ^b	8.8 ^c
Stem	20.5 ^a	21.8 ^a	24.8 ^a	22.8 ^a	23.8 ^a	23.0 ^a	20.5 ^a

* within each treatment, means followed by the same letter are not different at 5% level by Duncan's multiple-range test

Table 4. Effect of leaf and stem volatile substances of *Artemisia argyi* on seedling elongation (mm) of *Lactuca sativa* sown in glass chamber

	Control	Substances (g / 1.8l)					
		5	10	15	20	25	30
Leaf	14.8 ^a	9.3 ^b	8.3 ^{bc}	10.0 ^b	9.3 ^b	5.3 ^{cd}	4.5 ^d
Stem	44.8 ^a	32.3 ^b	34.5 ^b	33.8 ^b	22.0 ^c	22.5 ^c	22.3 ^c

* within each treatment, means followed by the same letter are not different at 5% level by Duncan's multiple-range test

다음으로 황해쑥잎에서 정유를 추출하여 이 물질에 대한 돌피의 발아와 성장실험의 결과는 Table 5와 같다.

Table 5에서 보는 바와 같이 돌피는 황해쑥의 정유에 대하여 발아와 유식물 신장이 비교적 잘 되었다. 대조구 값보다는 실험구 값이 한 곳을 제외하고 모두 낮았으나 통계적으로 대부분 유의하지 못했기 때문이다. 다만 이 실험은 절차상 문제가 있을 수 있다고 생각된다. 그 이유는, 한여름 무더운 실온에서 정유를 취급하자면 급속하게 날아가 버리기 때문이다.

Muller et al. (1964)은 *A. californica*의 잎에서 나오는 휘발성 물질은 호박과 귀리의 뿌리신장을 억제하며 이 물질은 야외에서 이슬에 들어 있다가 어린 식물에 영향을 준다고 밝혔고, *Artemisia tridentata* ssp. *vaseyana*에는 coumarins와 sesquiterpene lactones가 들어 있음을 확인한 바 있고(Shafizadeh and Melnikoff 1970, Shafizadeh and Bhadane 1972), 또 *A. tridentata* ssp. *vaseyana*의 잎에 들어있는 esculin과 sesquiterpene lactone이 *Cucumis sativa*의 성장을 억제하고 호흡을 촉진시켰다(McCahon et al. 1973)고 하였다.

황해쑥 化學物質에 대한 微生物 生長

CM 배지에 황해쑥의 정유를 첨가하여 배양한 균류의 성장결과인 growth diameter(cm)는 다음과 같다(Table 6). 미생물의 CM 배지에 황해쑥의 정유를 섞어서 배양한 미생물은 정유 농도가 증가함에 따라 억제되는 경향은 나타났지만 약한 정도에 머물렀다. 즉 0.05%를 첨가한 실험구에서까지도 대조구에 비해 71.7% 이상 92.1%까지 자라는 것을 보면 크게 영향을 미치지 못했다고 보며, 그래서 위의 실험에 사용한 정유의 농도는 비교적 낮았기 때문으로 사료된다.

황해쑥 化學物質을 사용한 組織培養

배양 2주경부터 벼에서는 대조구에 비하여 25 μ l 첨가구에서도 뚜렷한 차이를 관찰할 수 있었

Table 5. Germination (%) and seedling length (mm) of *Echinochloa crus-galli* tested in Petri dishes at different concentrations essential oil from *Artemisia argyi*

Item	Control	Essential oil (μ l /210ml)			
		5	10	15	20
Germination(%)	20.5 ^a	19.0 ^a	19.5 ^a	20.0 ^a	15.3 ^b
Elongation(mm)	31.5 ^a	33.3 ^a	27.8 ^a	29.8 ^a	26.1 ^b

* means within rows followed by same letters are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple-range test.

Table 6. Effects of essential oil from *Artemisia argyi* on the growth of selected microorganisms

Species	Control	Essential oil (%)			
		0.001	0.005	0.01	0.05
<i>Alternaria</i> \times 10 ⁴	5.3	5.3(100)	5.1(96.2)	3.8(71.7)	3.8(71.7)
<i>Aspergillus nidulans</i>	3.9	3.9(100)	3.9(100)	3.8(97.4)	3.3(84.6)
<i>Aspergillus niger</i>	5.8	5.6(96.6)	5.6(96.6)	5.6(96.6)	4.9(84.5)
<i>Fusarium oxysporum</i>	3.8	3.7(97.4)	3.7(97.4)	3.6(94.7)	3.5(92.1)

() : % of control

으나, 반하는 50 μ l 첨가구에서도 큰 차이를 보이지 않았으며, 75 μ l 첨가구에서만 생장의 차이를 뚜렷이 관찰할 수 있었다. Table 7과 같이 황해쑥의 essential oil에 대한 두 식물의 callus 생장은 농도가 높아짐에 따라 유의하게 감소하였다. 두 식물간 차이도 뚜렷하게 나타났는데, 생장율을 비교하여 보면 생체중의 경우 벼는 25 μ l 첨가시에도 callus 생장이 심하게 억제되었으며, 50 μ l 첨가시에는 callus 생체중이 반하의 62.8%에 비하여 33.8%로서 callus 생장이 현저히 억제되었다. 반하의 경우는 25 μ l 첨가시에는 육안으로는 큰 차이가 없었으며 50 μ l 첨가시부터 약간의 차이를 보였으나 75 μ l 첨가시에는 callus 생장이 크게 억제되었다 (Fig. 2). 75 μ l 첨가시 반하의 callus 생장율이 벼보다도 작은 것은 반하의 callus가 벼의 callus보다 수분이 많고 조직이 치밀하지 않은 callus이기 때문으로 생각된다. 이와같이 두 식물 모두 callus 생장이 essential oil의 농도가 높아짐에 따라 유의하게 감소하였으며 벼의 callus보다도 반하의 callus 생장이 더 좋았다. 이러한 결과는 아주 흥미있는 것으로서 들에서 잘 자라는 반하는 평소 *Artemisia*속 식물과 같이 혼생하여 생육할 기회가 많은 반면, 벼는 단자엽 식물이라는 점 외에도 인위적으로 통제된 환경에서 오랜동안 재배되어왔기 때문에 callus 생장에 더욱 감수성이 클수도 있을 것으로 생각된다. 한편, 이와같이 식물간에 phytotoxin에 대한 세포분열 및 생장반응이 상이하다는 것은 잘 알려져 있다(Yun 1991, Wolf and Earle 1990). Yun(1991)은 쑥의 essential oil에 대한 벼의 callus 생장이 상치나 무우 등에 비하여 비교적 좋다고 하여 본 실험 결과와는 상이하였다. 이는 식물에 따라 phytotoxin이 다를 뿐만 아니라 치상 당시의 callus의 생리적 특성에 따라서도 차이가 있기 때문으로 생각되며 검정식물의 종류를 다양하게 할 필요가 있을 것으로 본다.

Table 7. Effect of essential oil of *Artemisia argyi* on callus growth in MS media supplemented with 1mg /l 2,4-D, 2mg /l NAA and 1mg /l Kinetin in 30days of culture

Essential oil (μ l /80ml)	<i>Pinellia ternata</i> (mg /callus)		<i>Oryza sativa</i> L. cv. Dongjinbyeo (mg /callus)	
	F.W.	D.W.	F.W.	D.W.
	0	81.7 \pm 16.1 (100)	8.49 \pm 1.86 (100)	105.5 \pm 14.2 (100)
25	63.9 \pm 12.0 (84.8)	6.17 \pm 1.62 (72.7)	72.6 \pm 17.7 (68.8)	7.33 \pm 1.53 (70.4)
50	51.3 \pm 14.1 (62.8)	5.33 \pm 1.30 (62.8)	35.7 \pm 11.4 (33.8)	3.32 \pm 1.03 (31.9)
75	14.2 \pm 3.7 (17.4)	1.27 \pm 0.69 (15.0)	23.9 \pm 10.1 (22.7)	2.22 \pm 1.15 (21.3)

* F.W. : Fresh weight, D.W. : Dry Weight

** Growth rate = $\frac{\text{Callus weight of treatment}}{\text{Callus weight of control}} \times 100$

황해쑥 allelochemical의 化學分析

황해쑥의 잎속에 함유되어있는 휘발성 물질을 gas chromatography로 분석한 결과는 Fig. 3과 같다.

황해쑥의 휘발성 물질은 α -pinene등 61종류가 분리, 확인되었는데 chromatography상으로 볼 때 비교적 많은 양을 나타내고 있는 화합물질은 α -pinene, camphene, 1, 8-cineol, α -thujone, β -thujone, camphor 등이었다. Yoo(1993)에 의하면 비쑥의 정유로부터 39종류의 화합물질을 분

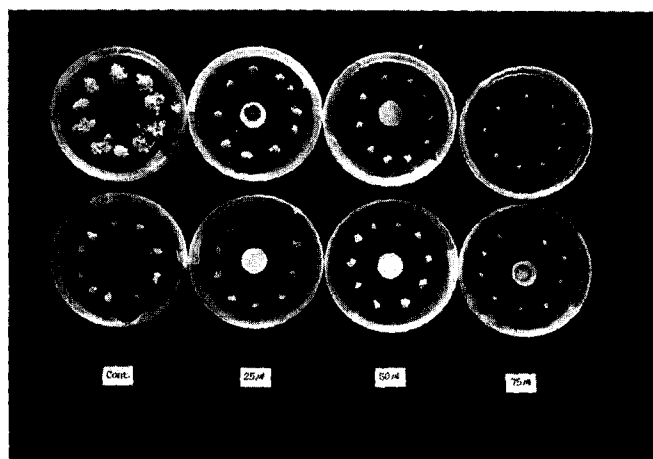


Fig. 2. Callus growth of *Oryza sativa* L. cv. Dongjinbyeo (A) and *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. (B) grown for 30 days in MS media supplemented with essential oil of *Artemisia argyi*

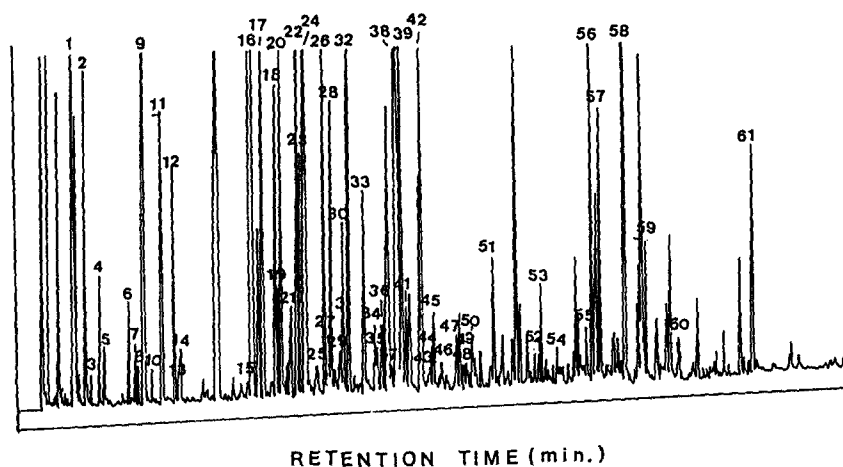


Fig. 3. Gas chromatogram of the essential oil of *Artemisia argyi* leaf. Key to chemicals: 1, α -Pinene ; 2, Camphene ; 3, *n*-Hexanal ; 4, β -Pinene ; 5, Sabinene ; 6, Sabinene hydrate ; 7, 1, 4-Cineol ; 8, Limonene ; 9, 1, 8-Cineol ; 10, 2-Methyl-1-butanol ; 11, γ -Terpinene ; 12, *p*-Cymene ; 13, Hexylacetate ; 14, Terpinolene ; 15, *cis*-3-Hexen-1-ol ; 16, α -Thujone ; 17, β -Thujone ; 18, Furfural ; 19, *n*-Heptanol ; 20, α -Ylangene ; 21, α -Copaene ; 22, Menthone ; 23, Benzaldehyde ; 24, Camphor ; 25, α -Gurjunene ; 26, Linalool ; 27, Pinocarvone ; 28, β -ylangene ; 29, Linalylformate ; 30, β -Caryophyllene ; 31, Aromandendrene ; 32, Terpinen-4-ol ; 33, γ -Elemene ; 34, γ -Gurjunene ; 35, α -Humulene ; 36, Nonanal ; 37, Terpinylacetate ; 38, α -Terpineol ; 39, Borneol ; 40, α -Muurolene ; 41, γ -Bisabolene ; 42, Geranylacetate ; 43, Decanol ; 44, β -Sesquiphellandrene ; 45, α -Cadinene ; 46, Caveol ; 47, Calamenene ; 48, Geraniol ; 49, *p*-Cymene-7-ol ; 50, Undecanol ; 51, β -Phenylethylalcohol ; 52, Methylisoeugenol ; 53, β -Caryophyllene epoxide ; 54, Guaiol ; 55, Anisyl acetate ; 56, Eugenol ; 57, Thymol ; 58, Myristicin ; 59, Farnesol ; 60, Asarone ; 61, Phytol

리, 확인했는데 이 중에서 황해쑥의 것과 같은 성분은 α -thujone, α -pinene, camphene, η -hexanal, β -pinene, sabinene, 1, 8-cineole, γ -terpinene, ρ -cymene, terpinolene, *cis*-3-hexen-1-ol, α -thujone, β -thujone, α -ylangene, camphor, linalool, β -ylangene, β -caryophyllene, γ -gurjunene, α -humulene, β -sesquiphellandrene, calamenene 등 22종류였다.

또, Yun(1991)은 쑥의 잎, 꽃과 뿌리로부터 분리 확인한 화학물질은 39종류였는데 이 중에서 황해쑥의 것과 동일한 성분은 η -hexanal, benzaldehyde, α -pinene, camphor, caveol, eugenol, β -caryophyllene, geranylacetate, farnesol, camphene, α -cadinene, β -pinene, limonene, γ -terpinene, terpinolene, ρ -cymene, linalylformate 등 17종류로 밝혀졌다.

生物學的 定量

황해쑥의 천연화학생분과 동일한 시약 9종류를 농도별로 준비하여 돌피의 발아실험을 실시한 결과는 Fig. 4와 같다.

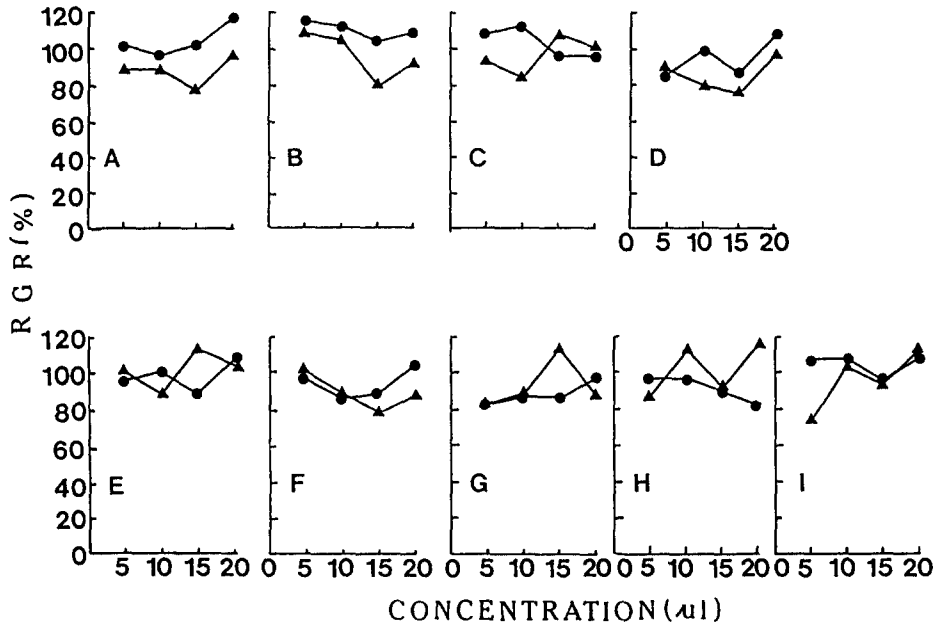


Fig. 4. Relative germination ratio (RGR) of *Echinochloa crusgalli* (●---●) and *Plantago asiatica* (▲---▲) at different concentrations of chemicals. Key to chemicals : A, γ -Terpinene ; B, β -Pinene ; C, α -Humulene ; D, Phytol ; E, ρ -Cymene ; F, Camphor ; G, α -Pinene ; H, Terpinen-4-ol ; I, Linalool.

돌피의 발아결과는 γ -terpinene, β -pinene, α -humulene 그리고, linalool의 실험구에서는 높은 발아율을 보였고, 나머지 실험구에서도 비교적 발아가 잘 이루어졌다. 질경이의 경우는 γ -terpinene, phytol, camphor 실험구의 발아율이 대조구보다 실험구에서 약간 저조하였으나 나머지는 모두 높게 나타났다. 그래서 본 실험결과는 화학약품이 저농도여서 이에 연유된 것으로 추정된다.

한편 위의 시약에 대한 돌피의 어린 식물신장을 조사한 실험결과는 Fig. 5와 같다. Fig. 5에서

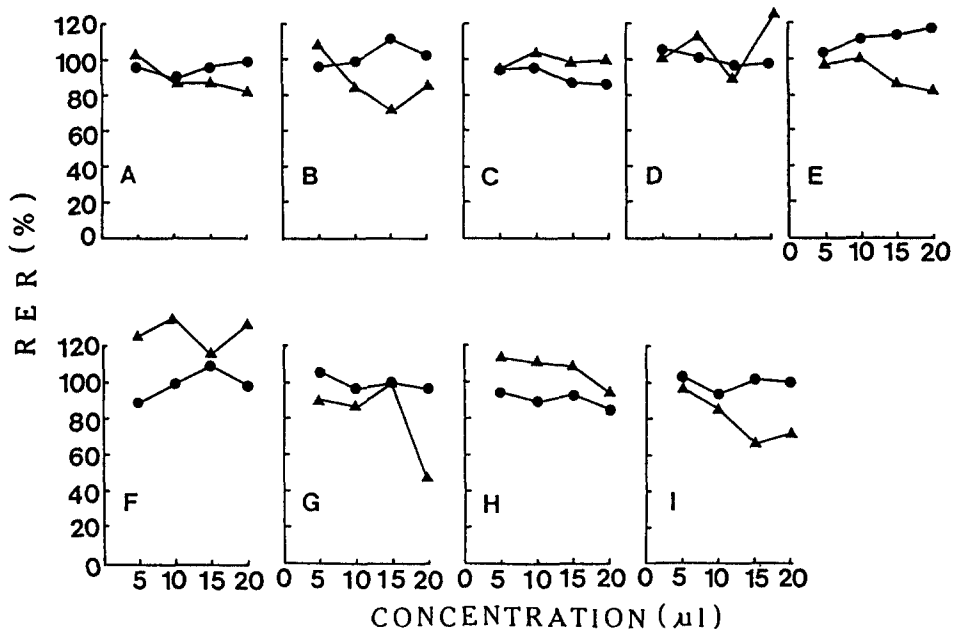


Fig. 5. Relative elongation ratio(RER) of *Echinochloa crusgalli* at different concentrations of chemicals. Key to chemicals : A, γ -Terpinene ; B, β -Pinene ; C, α -Humulene ; D, Phytol ; E, *p*-Cymene ; F, Camphor ; G, α -Pinene ; H, Terpinen-4-ol ; I, Linalool. ▲—▲, root ; ●—●, shoot

도 앞의 발아결과와 유사한 정도로 비교적 신장 생장율이 전반적으로 높게 나타났다. 즉, 돌피의 유식물 신장생장은 지상부와 지하부 모두 대조구와 비교해서 실험구의 값이 비슷하거나 약간 높게 혹은 낮게 나타났다.

摘要

황해쑥은 독특한 향취가 나고, 群落을 이루는 경우가 많으며 약용으로 많이 쓰이는 다년생 초본이다.

황해쑥의 잎에는 어떤 화학물질이 함유되어 있으며 이들이 식물의 생장에 어떠한 효과를 나타내는지 조사하기 위하여 황해쑥의 잎 水溶抽出液을 농도별로 준비하여 새, 돌피, 소리쟁이, 상치의 발아실험을 실시했다. 그 결과 受容體植物의 종류별로 정도의 차이는 있었지만 발아가 억제되었다. 위와 같은 방법으로 생장시킨 4종 식물의 유식물 신장생장은 앞의 발아 실험결과보다 덜 억제적이었다. 그런데 위의 抽出液을 화분에 심은 식물에 공급하여 생장시킨 쇠무릅 식물은 발아, 신장 그리고 건중량생장이 모두 抽出液 濃度增加에 比例的으로 현저하게 억제되었다.

그러나 황해쑥 잎과 줄기에서 방산되는 휘발성 물질을 써서 실시한 발아와 유식물 신장생장실험 결과는 발아의 경우보다 신장실험의 값이 더 低調하게 나타났다. 그래서 황해쑥 잎에서 뽑은 精油로 돌피의 발아와 생장을 실험한 결과 대체로 높은 값을 얻었을 뿐 억제현상은 나타나지 않았다.

한편, 황해쑥의 精油를 써서 미생물의 生長實驗을 실시한 결과 대조구보다 실험구의 생장이

약간 억제되었고 또 반하와 벼 식물의 조직배양결과는 callus 성장율이 精油濃度の 增加에 따라 심하게 억제되었다.

그래서 황해쪽에는 生長抑制物質이 함유된 것으로 판명되었기에 GC/MS로 황해쪽잎을 화학 분석하여 61 종류의 성분을 처음으로 분리확인하였고 이들은 terpenoid가 대부분이었다. 이들 중 9 종류를 선택하여 生物學的 定量實驗을 실시했으나 돌피의 발아와 성장율은 대조구와 실험구의 값이 거의 같은 정도로 큰 차이가 없었다.

결론적으로 종자발아실험, 어린식물 신장생장, 미생물 생장, 조직배양 실험결과를 종합해 보면 황해쪽에 함유된 天然 化學物質은 植物生長에 抑制效果가 있음이 입증되었다.

引用文獻

- 吉奉燮. 1983. 식물의 발아와 성장에 미치는 곰솔의 알레로패티 효과. 원광대 논문집 17:73-89
- Baker, H. G. 1966. Volatile growth inhibitors produced by *Eucalyptus globulus*. Madrono 18:207-210
- Duke, S. O., K. C. Vaughn, E. M. Croon, Jr. and H. N. Elsohly. 1987. Artemisin, a constituent of annual wormwood (*Artemisia annua*), is a selective phytotoxin. Weed Science 35:499-505.
- Einhellig, F. A. and J. A. Rasmussen. 1978. Synergistic inhibitory effects of vanillic and p -hydroxybenzoic acids on radish and grain sorghum. J. Chem. Ecol. 4:425-436.
- Friedman, J., G. Orshan and Y. Ziger-Cfir. 1977. Suppression of annuals by *Artemisia herba-alba* in the Negev Desert of Israel. J. Ecol. 65:413-426
- Funke, G. L. 1943. The influence of *Artemisia absinthium* on neighboring plants. Blumea 5:281-293.
- Groves, C. R. and J. E. Anderson. 1981. Allelopathy of *Artemisia tridentata* leaves on germination and growth of two grass species. Amer. Mid. Nat. 106:73-79
- Harsani, I., I. A. Granek and D. W. Mackenzie. 1976. Genetic damage induced by ethyl alcohol in *Aspergillus nidulans*. Mutation Res. 48:51-74.
- Hazebroek, J. P. 1989. Allelopathic substances in asparagus roots: extraction, characterization and biological activity. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 114:152-158.
- Heisey, R. M. and C. C. Delwiche. 1983. A survey of California plants for water-extractable and volatile inhibition. Bot. Gaz. 144:382-390.
- Hoffman, G. R. and D. L. Hazlett. 1977. Effects of aqueous *Artemisia* extracts and volatile substances on germination of selected species. J. Range Manage. 30:134-147.
- Kim, Y. S. and B. S. Kil. 1987. A bioassay on susceptibility of selected species to phytotoxic substance from tomato plants. Korean J. Bot. 30:59-67.
- McCahon, C. B., R. G. Kelsey, R. P. Sheridan and F. Shafizadeh. 1973. Physiological effects of compounds extracted from sagebrush. Bull. Torrey Bot. Club 100:23-28.
- Muller, C. H., W. H. Muller and B. L. Haienes. 1964. Volatile growth inhibitors promoted by shrubs. Science 143:471-473.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with

- tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Numata, M., A. Kobayashi and N. Ohga. 1975. Studies on the role of allelopathic substance. In "Studies in Urban Ecosystems" M. Numata (ed.), pp. 38-41.
- Shafizadeh, F. and A. B. Meliikoff. 1970. Coumarins of *Artemisia tridentata* ssp. *vaseyana*. *Phytochemistry* 9:1311-1316.
- Shafizadeh, F. and N. R. Bhadane. 1972. Sesquiterpene lactones of sagebrush. New guaianolides from *Artemisia cana* ssp. *viscidula*. *J. Org. Chem.* 37:3168-3173.
- Stahl, E. 1973. *Thin-layer chromatography* (2nd ed.). George Allen and Unwin, Springer-Verlag. p. 208.
- Vokou, D. and N. S. Margaritis. 1986. Autoallelopathy of *Thymus capitatus*. *Acta Ecologica* 7:157-163.
- Weaver, T. W. and D. Klarich. 1977. Allelopathic effects of volatile substances from *Artemisia tridentata*. *Nutt. Am. Midl. Nat.* 97:508-512.
- Wolf, S. J. and E. D. Earle. 1990. Inhibition of callus growth by *Helminthosporium carbonum* Race 1 toxin. *Crop Sci.* 30:728-734
- Yoo, H. K. 1993. Allelopathic potential of natural chemical substances in *Artemisia scoparia* on selected species. M. S. Thesis, Wonkwang University, Iri.
- Yun, K. W. 1991. Allelopathic effects of chemical substances in *Artemisia princeps* var. *orientalis* on selected species. Ph. D. Dissertation, Wonkwang University, Iri.

(1993年 12月 18日 接受)