

Research Article

Open Access

한약재 주정 추출물이 종자발아와 유묘생장에 미치는 영향

김진효,^{1†} 김준영,^{2†} 류성지,¹ 최근형,¹ 김원일,³ 김세리,³ 박병준,¹ 조남준¹

¹농촌진흥청 국립농업과학원 화학물질안전과, ²(재)산청한방약초연구소, ³농촌진흥청 국립농업과학원 유해생물팀

Effect of Ethanol Extract of Herbal Medicine on Crop Growth Inhibitor

Jin-Hyo Kim,^{1†} Jun-Young Kim,^{2†} Sung-Ji Ryu,¹ Geun-Hyoung Choi,¹ Won-Il Kim,³ Se-Ri Kim,³ Byung-Jun Park¹ and Nam-Jun Cho¹ (¹Chemical Safety Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Korea, ²Sancheong Oriental Medicinal Herb Institute, Sancheong-Gun, Gyeongnam, Korea, ³Microbial Safety Team, National Academy of Agricultural Science, RDA, Korea)

Received: 26 May 2014 / Revised: 20 August 2014 / Accepted: 29 August 2014

Copyright © 2014 The Korean Society of Environmental Agriculture

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract

BACKGROUND: Herbal extracts have been screened for their inhibitory effect of seed germination and root development on weeds, but there is a scarcity of reports for crop growth regulation. The objective of this research was to develop a growth inhibitor on *Brassica campestris*, and its effective extraction method from herbal medicine extract.

METHODS AND RESULTS: Eighty four herbal medicine extracts were tested for their plant growth inhibition activity on *B. campestris*. The alcohol extracts of *Artemisia annua*, *Cinnamomum cassia*, and *Mentha arvensis* inhibited over 30% of germination and the extract of *A. annua*, and *C. cassia* inhibited over 70% of radicle growth at 0.1 % w/w treatment. The partially purified extracts of *A. annua*, and *C. cassia* with dichloromethane and hexane showed stronger radicle growth inhibition than the crude extracts on *B. campestris*. The diethyl ether extract of *A. annua* showed a similar 50% radicle growth inhibition (RI₅₀

= 45 mg/L) to its partially purified extract with dichloromethane or hexane, but the diethyl ether extract of *C. cassia* showed a worse RI₅₀ than the purified extract.

CONCLUSION: The alcohol extracts of *A. annua*, and *C. cassia* showed potent radicle growth inhibition properties on *B. campestris*. Diethyl ether proved to be a good solvent for simple extraction from *A. annua*.

Key words: *Artemisia annua*, *Brassica campestris*, *Cinnamomum cassia*, Radicle growth inhibition

서론

제조제 및 생장조절제는 잡초 및 작물 생육을 조절하는 농업자재로 널리 사용되고 있지만 최근 지속 가능한 농업과 농산물안전성이 강조되면서, 화학농약의 작물 잔류와 미등록 농약의 오남용 우려로 화학농약 사용에 대한 거부감이 확산되고 있다. 현재 작물 생장조절제로는 생장촉진제로 옥신류, 시토키닌류 등 식물 호르몬류가 등록되어 있으며, 생장억제제는 디니코나졸 등 아졸계 성분이 등록되어 사용되고 있다. 특히 최근 들어 엽채류 등 농산물의 상품성 향상 및 출하시기 조절을 위해 생장 억제제 수요가 지속적으로 늘어나고 있으나, 농약 잔류 문제로 인해 영농현장에서 선택할 수 있는 생장조절제가 많지 않아, 천연 allelochemical을 중심으로 한 제조 및 생장조절기능성 탐색 연구가 식물 정유와 주정추출물을 중심

[†] Equally contributed as first authors

*교신저자(Corresponding author): Jin-Hyo Kim
Phone : +82-63-238-3239; Fax : +82-63-238-3837;
E-mail : setup75@korea.kr

으로 지난 십 수년간 국내외에서 진행되었다(Choi et al., 2008, Choi et al., 2009, Duke and Abbas, 1995, Duke et al., 2000, Tworkoski, 2002, Kim et al., 2001, Kim et al., 2003, Kim et al., 2006). 특히, 이러한 연구결과를 통해 휘발성 monoterpene, 식물 정유, sesquiterpene lactone, benzoxazinoid, glucosinolate, quassinoid, cyanogenic glycoside, saponin, sorgoleone, juglone, caffeine, α -terthienyl, lignan, agrostemin, clerodane, withanolide, dihydroxyphenylalanine, umbelliferone 등이 식물의 발아억제 및 유근생장억제 기능성 물질로 알려져 있다 (Kim, 2005). 하지만 이러한 연구 대부분이 잡초에 대한 제초기능 연구에 집중되어 있고, 시험평가 농도도 0.1% (w/v) 이상의 높은 농도에서 이루어져, 싹채류의 생장억제제로의 상용화를 고려할 경우 경제성에 문제가 있었다. 본 연구에서는 싹채류의 상품성 향상을 위해 수확기 조절을 위한 생장조절제 개발을 목표로 한약재 추출물 84종으로부터 발아와 유근생장조절기능성을 0.1% (w/v) 이하의 농도에서 탐색하였다.

재료 및 방법

한약재 추출물. 84종의 건조 한약재 (갈근, 감국, 감잎, 감초, 강황, 개똥쑥, 건강, 건삼, 건지황, 겨우살이, 결명자, 계피, 고사리, 골담초, 곽향, 구기자, 구절초, 길경, 꾸지뽕, 노나무, 느릅나무, 당귀, 대추, 독활, 돼지감자, 두충, 등굴레, 맥문동, 모과, 목동, 민들레, 박하, 백복령, 백출, 복분자, 부처손, 뽕배목, 뽕나무 잎, 산수유, 산약, 산청목, 삼백초, 상백피, 서목태, 석창포, 선학초, 솔잎, 쇠비름, 숙지황, 시호, 야관문, 어성초, 영경귀, 오가피 가지, 오미자, 우슬, 율무, 음나무, 익모초, 인동등, 인진쑥, 자소엽, 작약, 정공피, 접골목, 조릿대, 지귀자, 지황, 진피, 쯤레나무 뿌리, 차전초, 창이자, 천궁, 천마, 초석잠, 택사, 토복령, 피산약, 향부자, 헛개나무, 홍화, 화살나무, 황금, 황기 등) 를 산청생약협동조합에서 구매하여 추출물 제조에 사용하였다. 추출방법은 건조 한약재 3 kg을 4 L ethanol (94%, (주)대정, 한국)에 20일간 침지하여 추출하였고, 여과지에 거른 액을 감압농축하여 생장조절효과 시험에 사용할 시료로 준비하였다. 농축된 추출물 시료는 1% Tween® 20 (Sigma-Aldrich, German) 수용액에 0.1% 농도로 조제하여 시험용액으로 사용하였다.

발아율 평가. 발아억제 실험은 시험용액을 처리한 거름중이틀 페트리디쉬에 놓은 후, 싹배추 종자 (아시아종묘, 한국) 60립을 치상하고 23°C에서 2일간 생장시켜 발아억제율을 평가하였다. 대조군은 1% Tween® 20 용액을 처리하여 시험하였으며, 대조군의 평균 발아율은 93±3 %였다.

유근생장조절능 평가. 유근생장억제 실험은 시험용액에 침지시켜 같은 수준으로 발아한 싹배추, 적상추, 벼, 오이, 애호박 종자 30립씩을 선별하여 시험용액을 처리한 새로운 페트리디쉬에 치상하여 생장시켰다. 오이, 싹배추, 적상추는 23°C에서 3일간 배양 후 유근 생장률을 평가하였고, 애호박과 벼는 같은 온도에서 6일과 9일간 각각 배양 후 유근 생장률을

평가하였다.

추출물의 극성별 정제. 선별된 식물추출물 농축액 5 g을 증류수 300mL에 녹이고, *n*-hexane (200 mL × 2회, Tedia Co. USA)으로 분액추출하여 hexane 정제물로 시험에 사용하였다. 남은 수용액을 dichloromethane (200 mL × 2회, Tedia Co. USA)으로 다시 한번 분액추출하여 dichloromethane 정제물을 확보하였고, 남은 수용액을 수용성 정제물로 시험에 사용하였다. 각 정제물은 농축한 후 1% Tween® 20 수용액에 녹여 시험에 사용하였다.

유효물질군 선별추출. 작물생장조절기능성 물질의 추출과 정제 과정을 단순화하기 위하여 건조 한약재를 diethyl ether (Sigma-Aldrich, USA)를 사용하여 직접추출하였다. 추출방법은 건조 한약재 시료 0.5 kg을 diethyl ether 2 L에 넣은 후 속실렛으로 4일간 추출하였다. 추출액은 감압농축하여 diethyl ether를 완전히 제거한 후, 1% Tween® 20 수용액에 녹여 시험에 사용하였다.

결과 및 고찰

한약재 주정 추출물의 발아억제 효과. 84종의 한약재 ethanol 추출물을 0.1% (w/v) 농도에서 싹배추에 대한 발아억제율을 시험한 결과, 계피 추출물에서 70% 이상의 높은 발아억제율을 보였고, 개똥쑥과 박하 추출물은 30~70% 수준의 발아억제율이 관찰되었다. 나머지 81종의 한약재 추출물에서는 발아억제효과가 나타나지 않았다 (Table 1). 계피 추출물의 50% 발아억제 농도는 310±55 mg/L로 확인되었다.

한약재 주정 추출물의 유근생장조절능 평가. 발아억제시험과 같은 농도에서 84종의 한약재 추출물을 대상으로 싹배추 종자의 유근생장조절 기능성을 시험한 결과, 개똥쑥과 계피 추출물은 70%이상의 우수한 유근생장 억제능이 관찰되었다 (Table 1). 또한, 길경, 대추, 인진쑥 추출물은 30-70% 수준의 유근생장 억제능을 보였다. 개똥쑥과 계피 추출물의 50% 유근생장억제농도(RI₅₀)는 각각 100±22 mg/L과 250±38 mg/L이었다. 이와 같이 조추출물에서 우수한 유근생장억제능이 확인된 개똥쑥과 계피 추출물은 극성별 정제를 통해 유효물질군이 다량 포함된 농축시료를 제조하였다.

개똥쑥 추출물의 정제군 별 유근생장억제능 평가. 유근생장억제능 평가는 싹배추, 오이, 상추, 벼, 애호박 등 5종의 작물을 대상으로 평가하였으며, dichloromethane 정제군, hexane 정제군, 수용성 정제군으로 구분하여 시험하였다. 싹배추의 경우 정제군별 RI₅₀는 dichloromethane 정제군에서 25±5 mg/L, hexane 정제군에서 70±5 mg/L로 우수한 효과를 보였다. 대상 작물을 벼, 애호박으로 달리할 때 RI₅₀가 dichloromethane 정제군은 각각 15±3 mg/L과 90±20 mg/L으로 확인되었고, hexane 정제군은 각각 20±5 mg/L과 10±3 mg/L로 확인되었다. 또한, 상추에서 RI₅₀는 hexane군과 dichloromethane 정제군에서 모두 200±62 mg/L 수준이었다. 위의 시험작물과 달리 오이는 개똥쑥 정제추출물이 시험범위 농도에서 유근생장에 영향을 주지 못하는 것으로 확인되었

Table 1. Growth inhibition of herbal medicine extracts for germination and radicle growth of *B. campestris*. L.

Herbal medicine	Growth inhibition [†]		Herbal medicine	Growth inhibition [†]	
	Germination	Root		Germination [†]	Root
<i>Pueraria lobata</i>	-	-	<i>Morus alba</i>	-	-
<i>Chrysanthemum indicum</i>	-	-	<i>Rhynchosia volubilis</i>	-	-
<i>Diospyros kaki</i>	-	-	<i>Acorus gramineus</i>	-	-
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	-	-	<i>Agrimonia pilosa</i>	-	-
<i>Curcuma longa</i>	-	-	<i>Pinus densiflora</i>	-	-
<i>Artemisia annua</i>	++	+++	<i>Portulaca oleracea</i>	-	-
<i>Zingiber officinale</i>	-	-	<i>Rehmannia glutinosa</i>	-	-
<i>Panax ginseng</i>	-	-	<i>Bupleurum falcatum</i>	-	-
<i>Rehmannia glutinosa</i>	-	-	<i>Lespedeza cuneata</i>	-	-
<i>Viscum album</i>	-	-	<i>Houttuynia cordata</i>	-	-
<i>Senna tora</i>	-	-	<i>Cirsium japonicum</i>	-	-
<i>Cinnamomum cassia</i>	+++	+++	<i>Eleutherococcus sessiliflorus</i>	-	-
<i>Pteridium aquilinum</i>	-	-	<i>Schisandra chinensis</i>	-	-
<i>Caragana sinica</i>	-	-	<i>Achyranthes japonica</i>	-	-
<i>Agastache rugosa</i>	-	-	<i>Coix lacrymajobi</i>	-	-
<i>Lycium chinense</i>	-	-	<i>Kalopanax septemlobus</i>	-	-
<i>Chrysanthemum zawadskii</i>	-	-	<i>Leonurus japonicus</i>	-	-
<i>Platycodon grandiflorum</i>	-	++	<i>Lonicera japonica</i>	-	-
<i>Cudrania tricuspidata</i>	-	-	<i>Artemisia capillaris</i>	-	++
<i>Clerodendrum trichotomum</i>	-	-	<i>Perilla frutescens</i>	-	-
<i>Ulmus davidiana</i>	-	-	<i>Paeonia lactiflora</i>	-	-
<i>Angelica gigas</i>	-	-	<i>Sorbus commixta</i>	-	-
<i>Zizyphus jujuba</i>	-	++	<i>Sambucus williamsii</i>	-	-
<i>Aralia cordata</i> var. <i>continentalis</i>	-	-	<i>Sasa borealis</i>	-	-
<i>Helianthus tuberosus</i>	-	-	<i>Hovenia dulcis</i>	-	-
<i>Eucommia ulmoides</i>	-	-	<i>Rehmannia glutinosa</i>	-	-
<i>Polygonatum odoratum</i>	-	-	<i>Citrus unshiu</i>	-	-
<i>Liriope platyphylla</i>	-	-	<i>Rosa multiflora</i>	-	-
<i>Chaenomeles sinensis</i>	-	-	<i>Plantago asiatica</i>	-	-
<i>Akebia quinata</i>	-	-	<i>Xanthium strumarium</i>	-	-
<i>Taraxacum platycarpum</i>	-	-	<i>Cnidium officinale</i>	-	-
<i>Mentha arvensis</i>	++	-	<i>Gastrodia elata</i>	-	-
<i>Poria cocos</i>	-	-	<i>Stachys japonica</i>	-	-
<i>Atractylodes ovata</i>	-	-	<i>Alisma orientale</i>	-	-
<i>Rubus coreanus</i>	-	-	<i>Smilax china</i>	-	-
<i>Selaginella tamariscina</i>	-	-	<i>Dioscorea batatas</i>	-	-
<i>Cornus walteri</i>	-	-	<i>Cyperus rotundus</i>	-	-
<i>Morus alba</i>	-	-	<i>Hovenia dulcis</i>	-	-
<i>Cornus officinalis</i>	-	-	<i>Carthamus tinctorius</i>	-	-
<i>Dioscorea batatas</i>	-	-	<i>Euonymus alatus</i>	-	-
<i>Acer tegmentosum</i>	-	-	<i>Scutellaria baicalensis</i>	-	-
<i>Saururus chinensis</i>	-	-	<i>Astragalus membranaceus</i>	-	-

[†] (++++) > 70% inhibition, (++) 30-70% inhibition, (+) 10-30% inhibition, (-) no inhibition.

다. 또한, 수용성 물질군은 시험대상 작물에서 모두 RI_{50} 가 250 mg/L 이상으로 확인되어, 유근생장억제와 관련된 기능성 물질이 hexane과 dichloromethane에 용해도가 높은 물질군임을 알 수 있었다. 특히 개똥쭉 정유성분 중 식물 생장억제기능성이 알려진 artemisinin등 (Delabays *et al.*, 2008)이 이들 정제군에 포함되어 있는 것으로 판단된다.

계피 추출물의 정제군별 유근생장억제능 평가. 계피 추출물 정제군의 RI_{50} 평가 결과, hexane, dichloromethane 정제군에서 각각 110 ± 32 mg/L, <10 mg/L이었다. 그리고, 싼배추에서 생장억제능이 확인된 dichloromethane과 hexane 정제군에 대해 상추, 벼, 애호박, 오이로 대상작물을 확대하여 생장억제능을 평가하였고, 그 결과 dichloromethane 정제군은 상추 ($RI_{50} = 108 \pm 18$ mg/L)와 벼 ($RI_{50} = 154 \pm 24$ mg/L)에서 유근생장억제능이 관찰되었으며, 애호박과 오이에서는 250 mg/L 수준까지 평가한 결과 유근생장억제능이 관찰되지 않았다. Hexane 정제군은 상추 ($RI_{50} = 214 \pm 58$ mg/L)에 대해서만 유근생장억제능을 보였고, 벼, 애호박, 오이에서는 뚜렷한 유근생장억제능이 없었다. 이와 달리, 수용성 정제군은 250 mg/L이하에서 모든 시험대상 작물에서 생장억제능이 관찰되지 않았다.

유근생장억제 기능성물질 추출법 비교. 개똥쭉과 계피의 비극성 추출 정제물이 ethanol 추출물보다 우수한 유근생장억제능이 관찰됨에 따라, 추출 및 분액정제 과정을 단순화하기 위해 건조 한약재를 ethanol이 아닌 유기용매로 직접추출하였다. 유기용매는 hexane과 dichloromethane 정제물을 선택적으로 추출할 수 있고, 두 용매와 극성이 비슷한 비할로젠화 용매인 diethyl ether를 선정하였다. 추출시험은 속실킨으로 직접 추출하였고, 추가 정제과정 없이 싼배추의 유근생장억제능을 평가하였다. 그 결과, 개똥쭉의 diethyl ether 추출물은 RI_{50} 이 45 mg/L로 앞서 정제 추출한 dichloromethane과 hexane정제물의 RI_{50} (25 - 70 mg/L)과 큰 차이를 보이지 않았다. 따라서 개똥쭉은 diethyl ether 직접추출물에서 생장억제기능성이 분액정제 추출물과 큰 차이가 없어, 번거로운 분액정제 과정을 생략할 수 있음을 확인하였다. 계피의 diethyl ether추출물은 RI_{50} 이 250 mg/L로 확인되었고, 이는 Choi *et al.* (2010)이 보고한 계피 정유의 생장억제 시험 결과와 유사하였으나, hexane 및 dichloromethane 정제군과는 최대 25배 가량 유근생장억제능 ($RI_{50} = <10 - 110$ mg/L) 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 계피의 생장억제물질 추출은 용매 직접 추출이나 정유 추출보다는 알코올 추출 후 분액정제의 과정을 수행하는 것이 계피를 활용한 식물생장억제제 개발에 적합한 추출법으로 판단된다.

Acknowledgment

This study was carried out with the support of "Cooperative Research Program for Agricultural Science & Technology Development (PJ009240)", Rural Development Administration, Republic of Korea.

References

- Choi, S.H., An, J.Y., Park K.W., Lee, J.J., 2009. Initial growth inhibitory effects of essential oils on direct seeded rice and barnyardgrass, *Kor. J. Weed Sci.* 29, 318-322.
- Choi, S.H., Gu, H.M., Ahn, J.Y., Nam, J.S., Kim, H.H., Chun, I.K., Lee, J.J., 2008. Effects of alone- or mixture-treatment of essential oils on upland weeds and crops, *Kor. J. Weed Sci.* 28, 61-68.
- Choi, S.H., Park, K.W., Sohn, Y.G., An, J.Y., Lee, J.J., 2010. Selection of essential oils inhibiting germination and initial growth of rapeseed (*Brassica napus* L.), *Kor. J. Weed Sci.* 30, 199-205.
- Delabays, N., Slacanin, I., Bohren, C., 2008. Herbicidal potential of artemisinin and allelopathic properties of *Artemisia annua* L.: from the laboratory to the field, *J. Plant Dis. Protect. Sp. Iss.* 21, 317-322.
- Duke, S.O., Abbas, H.K., 1995. Natural-Products with Potential Use as Herbicides, *Allelopathy* 582, 348-362.
- Duke, S.O., Romagni, J.G., Dayan, F.E., 2000. Natural products as sources for new mechanisms of herbicidal action, *Crop Prot.* 19, 583-589.
- Kim, H.Y., Choi, H.J., Lim, S.H., Heo, S.J., Han, S.S., Kim, D.S., Hwang, K. H., Kim, S., 2003. Herbicidal activity of Korean native plants (I), *Kor. J. Pestic. Sci.* 7, 248-257.
- Kim, J.B., 2005. Pathogen, insect and weed control effects of secondary metabolites from plants. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* 48, 1-15.
- Kim, S., 2006. Herbicidal activity of Korean native plants (IV), *Kor. J. Pestic. Sci.* 10, 225-229.
- Kim, S., Heo S.J., Yong, S.H., Kim, J.S., Hur, J.H., 2001. Natural compounds as leads for novel herbicides, *Kor. J. Weed Sci.* 21, 199-212.
- Tworokoski, T., 2002. Herbicide effects of essential oils, *Weed Sci.* 50, 425-431.