

강화약썩 수용성 추출물의 식물 타감효과 및 HPLC에 의한 타감물질 분석 연구

이주화**** · 변지희**** · 김명수**** · 박춘근*** ·
박충범*** · 차선우*** · 이정훈** · 조준형*

Allelopathic Effect of Aqueous Extract of Ganghwa Mugwort (*Artemisia* spp.) Vegetables and HPLC Aanalysis of Allelochemicals

Lee, Joo-Hwa · Byeon, Ji-Hui · Kim, Mounge-Su · Park, Chun-Geon ·
Park, Chung-Berm · Cha, Sun-Woo · Lee, Jeong-Hoon · Cho, Joon-Hyeong

This study was conducted to evaluate the allelopathic effect of aqueous extract of Ganghwa domestic mugwort (*Artemisia* spp.) on vegetables and its related allelochemicals. When the receptor vegetables, such as Chinese cabbage, lettuce, and red radish, were treated with aqueous extract obtained from Sajabalssuk (*A. sp**I), Ssajuarissuk (*A. sp**II) or Ssajarissuk (*A. sp**III), their germination rate, leaf number, plant height, and root length were restricted with increasing concentration of aqueous extract. Allelopathic effect was the highest in radish, than lettuce and Chinese cabbage in order. The growth of topplant were more inhibited then root growth observing in restriction of plant height, root length, and chlorophyll contents. The plant height, the root length of red radish were 53.3 and 61.2% and their fresh weights were 19.8 and 26.4% compared to those of controls, respectively. *A. sp**III showed the highest allelopathic effect among the donor plants. In HPLC analysis, 7 phenol compounds were identified in *A. sp**I and *A. sp**II, and, in *A. sp**III, and hydroxybenzoic acid and phenylacetic acid were further identified as allelochemicals. It is considered that their plant growths were variously inhibited by the amounts and types of allelochemicals in aqueous extracts. To increase the productivity of farm land after cultivation of mugwort, these results can be useful to select the following field crops.

* Corresponding author, 동국대학교 바이오환경과학과(E-mail : jhcho@dongguk.edu)

** Corresponding author, 국립원예특작과학원 약용작물과(E-mail : artemisia@korea.kr)

*** 국립원예특작과학원 약용작물과

**** 동국대학교 바이오환경과학과

Key words : *allelochemicals, allelopathic effect, artemisia spp., aqueous extract, ganghwa murgwort, HPLC*

I. 서 론

식물의 타감작용(allelopathy)은 특정 식물이 성장하는 과정 중 분비하는 대사물질이 직간접적으로 동일 환경 내에서 다른 식물의 발아와 성장을 억제하거나 촉진시키는 화학적 상호작용으로, 식물개체 혹은 종간 또는 다른 생물군과의 관계에서 나타나는 생리생태적 경쟁전략이다(Fischer *et al.*, 1994; Langenheim, 1994). 식물간의 경쟁(competition)은 생육에 필요한 환경자원이 제약될 경우 다른 식물의 성장을 억제하는 측면이 강하지만, 타감작용은 촉진하는 측면도 가지고 있으므로 일반적인 경쟁과 다르다.

식물이 생산하는 화학물질은 1차 및 2차 대사산물로 나눌 수 있는데, 대부분의 육상 식물들은 잎, 꽃, 뿌리, 종자 등 조직 및 기관을 통해 2차 대사산물인 alkaloid와 phenol 화합물 등 다양한 화학물질을 분비하며, 이 중 수용성 또는 휘발성 물질들이 인접 식물의 생육을 억제하는 타감물질로 작용한다(Patrick, 1971; Reese, 1979). 공여식물이 방출하는 타감물질들은 식물의 세포분열 및 신장, 식물호르몬에 의한 성장, 막 투과성, 무기양분 흡수, 기공의 기능, 광합성, 호흡 및 산화적 인산화, 수분 흡수, 단백질 합성, 유기산 합성 등에 작용하여 다양한 생리적 교란을 일으킬 뿐만 아니라, 특정 효소의 활성을 촉진 또는 억제함으로써 타 식물의 발아, 성장, 및 개화에 영향을 준다고 보고되었다(Barkosky and Einhellig, 1993; Muller, 1965).

모든 식물은 정도와 특성은 다르지만 타감작용을 가지며, 특히 국화과(Asteraceae Bercht. & J. Presel) 쑥속(*Artemisia* sp.) 식물 대부분은 타감효과를 나타내거나 또는 terpenoid와 phenol 화합물 등 타감물질 함량이 높은 것으로 보고되었다. 국외연구사례의 경우 *A. annua*, *A. californica*, *A. tridentata*, *A. cana*, *A. nova* 및 *A. tripartita* 등 쑥속 식물에서 유래한 수용성 및 휘발성 물질들이 오이, 귀리, 서양금혼초 및 마디아 등 다른 식물의 발아는 물론 지상부와 지하부의 생육을 억제한다고 보고되었다(Duke *et al.*, 1987; Halligan, 1975).

국내에는 약 39종의 쑥속 식물이 자생하는데(Lee *et al.*, 2010), 황해쑥, 사철쑥, 개똥쑥, 참쑥, 쑥 등 다양한 약쑥과 일반쑥이 타감효과를 보이며 (Kil *et al.*, 1994; Kil, 1999; Kim *et al.*, 2001; Yun and Kil, 1989), 또한 기내실험을 통한 본 연구의 선행 연구에서 강화약쑥 추출물이 클로버, 알팔파, 잔디, 마타리, 민들레 등 다양한 수용체 식물의 발아와 유묘생장에 억제 효과가 있음이 밝혀졌다(Lee *et al.*, 2012). 특히 사자발쑥(獅子足艾, *Sajabalssuk*, *A. sp*I*) 또는 싸주아리쑥(*Ssajuarissuk*, *A. sp*II* or *A. sp*III*)으로 불리는 강화약쑥은 뛰어난 약성으로 인해 오래전부터 경기도 강화군 일대에서 한약재 이용을 목적으로 재배되어 왔으며, 유전

적으로는 황해썩과 가장 가까운 것으로 보고되었다(Lee *et al.*, 2010). 최근 강화약썩의 혈당 개선 및 항암효과 등 다양한 약리적 효능이 밝혀지면서 재배면적이 크게 증가하고 있는데, 현재까지 연구동향은 생리활성물질과 약리성분의 분리와 동정 등 식품·의약 분야에서 중점적으로 진행되어 왔을 뿐(Bang *et al.*, 2007), 약썩 재배에 따른 전·후작물의 영향 등 지속가능한 친환경 농업연구는 미흡하다.

강화약썩은 영양체 번식으로 동일포장에서 3년간량 연작하는데, 연작 포장에서는 전작물 부산물이 분해되는 과정에서 타감물질이 토양에 축적됨으로써 후속 작물의 생육 및 생산성에 큰 영향을 줄 수 있다. 경작지의 효율적 이용을 통한 농가소득 증대를 위해 후속작물의 선택은 매우 중요한데, 강화약썩이 포함하고 있는 타감물질과 중요 발작물에 미치는 영향을 파악하지 못한다면, 연작에 의한 토양환경 악화는 물론 후속작물 재배 시 발생하는 다양한 이상 생육현상에 대응할 수 없어 농업생산성이 낮아질 수 있다.

따라서 본 연구는 최근 강화지역에서 재배되고 있는 약썩의 수용성 추출액이 배추, 상추, 적무 등 중요 발작물의 발아와 유묘생장에 미치는 영향을 조사함으로써 약썩재배 전·후작물의 선택에 필요한 근거를 제공하고자 수행되었다. 또한 HPLC(High Performance Liquid Chromatography) 분석에 의한 약썩 수용성추출물의 타감물질을 분석함으로써 약썩 재배 후 토양에 잔류 할 수 있는 타감효과에 대한 기초 자료를 제공하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험재료

본 실험의 타감작용 효과 구명을 위한 공여식물로는 강화지역에서 재배되고 있는 약썩(이명: 사자발썩 및 싸주아리썩) 수집자원을 사용하였다. 사자발썩은 강화군 농업기술센터에서 그리고 싸주아리썩은 강화군 불음면의 2곳의 약썩 재배농가로부터 분양 받았으며, 농촌진흥청 국립원예특작과학원 및 재배농가의 식물분류 전문가를 통해 분양받은 시료의 동정을 받아 본 연구에 사용하였다. 경기도 고양시 식사동 소재 동국대학교 실험농장 약용작물보존 포장에서 증식하였으며, 6월 초순 전초를 수확한 후 1개월간 음건하여 사용하였다. 본 실험에서 사자발썩은 A. sp.* I 으로 그리고 2곳의 농가에서 수집된 싸주아리썩은 각각 A. sp.* II 와 A. sp.* III 로 표기하였다.

약썩 추출물의 타감작용 구명을 위한 수용체 식물로는 배추(*Chinese cabbage, Brassica rapa* L.), 상추(*lettuce, Lactuca sativa* L.), 적무(*red radish, Raphanus sativus* L.)의 종자 및 유묘를 사용하였다.

2. 쑥 수용성 추출물제조 및 타 식물발아와 생장에 미치는 영향구명

공여식물인 약쑥의 수용성 추출물 제조와 수용체 식물의 종자발아 및 유묘생장실험은 Lee *et al.*(2012)과 Kil(1988)의 방법을 이용하였다. 쑥 추출물이 수용체식물인 배추, 상추, 적무 등의 종자발아 및 생장에 미치는 영향을 구명하기 위해 수용성 추출원액을 25, 50, 75, 100g·L⁻¹로 희석하여 수용체 식물에 사용하였으며, 대조구로는 증류수를 사용하였다.

각각의 수용체 식물들은 배양상토(바이오그린, 흥농종묘)가 담긴 105구 육묘용 트레이를 3등분하여 35구씩 파종하였으며, 2L의 추추물 희석액을 주당 2회 저면관수 하였다. 파종 10일 후 각 처리구의 수용체 식물별 발아율을 조사하였으며, 4주간의 생육기간을 거친 후 본엽수, 지상부 및 지하부 길이, 생체중을 측정하였다. 또한, 각 처리 농도에서 생육한 수용체 식물의 지상부 잎을 채취하여 분광광도계를 이용 엽록소 함량을 조사하였다(Arnon, 1949). 종자 발아율 및 생육조사 결과는 SPSS(statistics package for social science ver. 20.0)을 이용하여 Ducan의 다중검정방법(Duncan's multiple range test)로 처리 간의 차이를 비교하였다.

3. HPLC를 이용한 타감물질의 성분 및 함량 분석

약쑥 수용성 추출액 40ml을 분액깔대기에 넣고 10ml의 NaCl 포화용액을 첨가한 후 1N HCl을 이용하여 pH 2로 조절하였으며, 20ml의 ethyl ether를 첨가하여 분탕하였다. Ether층을 취해 20ml의 5%(v/v) NaHCO₃ 용액을 넣어 분탕한 후 NaHCO₃ 용액층을 수집하였으며, 다시 pH 2로 조절한 후 20ml의 ether를 이용하여 분탕하였다. Ether층을 취해 감압농축기로 ether를 제거하였으며, 남은 잔류물은 5ml의 methanol로 용해하여 HPLC 분석용 시료로 사용하였다. HPLC 분석을 위한 표준 물질로는 benzoic acid, caffeic acid, catechol, t-cinnamic acid, ferulic acid, gallic acid, m-hydroxybenzoic acid, p-hydroxybenzoic acid, phenylacetic acid, phloroglucinol, protocatechuic acid, salicylic acid, syringic acid, vanillic acid (Sigma-Aldrich Chemical Co.) 13종을 사용하였다. HPLC 분석은 Waters HPLC system(Waters Co., Milford, MA, USA)을 사용하였으며, μ Bonda-pak C18 radial pak(3.9×300mm) column(Millipore Corp., Milford, MA, USA)에 분석시료를 20 μ l 씩 주입하여 사용하였다. 이동상으로는 82% Methanol 과 16% n-butanol, 2% glacial acetic acid를 0.018M ammonium acetate에 혼합한 용액을 사용하였다(Chung and Kim, 2004).

4. 총 phenolic compound 함량 분석

총 페놀화합물 함량은 Folin-Denis법을 변형하여 측정하였다(Swain and Hillis, 1959). 각각의 분쇄된 음건시료 2g을 20ml의 3차 증류수에 첨가한 후 25°C shaking water bath에서

24시간 동안 처리하였으며, 추출용액을 여과지(Whatman NO. 1)로 여과 하였다. 추출용액 1 ml과 3차 증류수 3ml을 혼합한 후, Folin & Ciocalteu's phenol reagent(Sigma-Aldrich Chemical Co.) 1ml을 첨가한 다음 27°C에서 5분간 혼합하였으며, 1ml의 Na₂CO₃ 포화용액을 첨가하여 상온에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응용액을 분광광도계(OD=640nm)를 이용하여 흡광도를 측정하였으며, 총 페놀화합물 함량은 ferulic acid를 이용하여 얻은 검량곡선을 이용하여 구하였다(Chung and Kim, 2004).

5. 통계처리 +

종자 발아율 및 생육조사 결과는 SPSS(statistics package for social science ver. 20.0)을 이용하여 Duncan의 다중검정방법(Duncan's multiple range test)로 처리 간의 차이를 비교하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 약썩 수용성 추출물 처리가 수용체식물의 종자발아 및 본엽형성에 미치는 영향

약썩 수용성 추출액 처리가 배추, 상추, 적무의 종자발아 및 잎 유묘의 잎 생장에 미치는 영향은 Table 1과 같다. 육묘용 포트를 이용한 종자발아시험에 있어서 대조구의 경우 배추 95.2% 및 상추와 적무 100.0%의 균일한 발아율을 보였다. 약썩 수용성 추출물을 처리한 경우, 모든 농도처리에서 수용체 식물의 발아율이 85% 이상이었으나 처리농도의 증가에 따라 발아율이 낮아지는 경향이였다. 약썩 수용성 추출물 25g·L⁻¹ 농도처리에서는 대조구 대비 모든 수용체 식물의 발아율 감소가 통계적 유의성을 보이지 않았으며, 50g·L⁻¹ 농도에서는 A. sp.*III 시료의 적무 처리구에서, 75g·L⁻¹ 농도에서는 A. sp.*II와 A. sp.*III 시료의 적무 처리구에서, 그리고 100g·L⁻¹ 농도에서는 A. sp.*II 상추 처리구와 A. sp.*III 배추 처리구를 제외한 모든 수용체 식물에서 대조구에 비해 유의성 있는 발아율 감소가 확인되었다.

본엽 출현수에 있어서는 수용성 추출물 처리용액의 농도가 증가할수록 잎의 출현이 크게 낮아졌다. 종자발아에 크게 영향을 주지 못했던 25g·L⁻¹ 농도 처리구에서 떡잎을 제외한 1cm 이상의 본엽 출현수가 대조구에 비해 유의적으로 적어졌으며, 50g·L⁻¹ 농도 이상 처리구에서는 모든 수용체 식물의 출현엽수가 현저하게 감소되었다. 공여체 식물간의 비교에 있어서는 A. sp.*II가 본엽 출현수에 다소 높은 억제작용을 보였다. 수용체 식물간의 비교에 있어서는 평균적으로 대조구 대비 적무 61.6%, 배추 63.8%, 상추 74.3%의 본엽 수가 확인 되어 적무에 잎 출현에 대한 억제작용이 가장 큰 것으로 확인되었다. 그러나 A. sp.*III 추출액을 처리한 배추의 본엽 출현 수는 대조군 대비 유의성 있는 감소를 보였지만 처리농도

간에는 큰 차이를 보이지 않았다. 이러한 엽수의 차이는 약쭉 수용성 추출액의 타감작용에 의한 생육지연의 결과로 판단된다. 또한 쭉쭉 식물의 수용성 추출물 처리농도가 증가할수록 수용체 식물의 발아와 생장이 감소하는 경향을 보이는데, 이는 처리농도의 증가에 따른 타감물질의 양이 증가하기 때문으로 생각된다(Kil *et al.*, 1994; Kil, 1999; Kil and Yoo, 1996; Yun and Kil, 1989).

Table 1. Comparisons of seed germination and leaf number of receptor plants treated with aqueous extract of ganghwa mugwort

Receptor plant		Chinese cabbage		Lettuce		Radish	
Treatment (g · L ⁻¹)		G.R.(%)	L.N.	G.R.(%)	L.N.	G.R.(%)	L.N.
Total Control		95.2 ± 3.6 ^{†a§}	5.8 ± 0.6 ^a	100.0 ± 0.0 ^a	7.4 ± 0.4 ^a	100.0 ± 0.0 ^a	7.2 ± 0.6 ^a
A. sp*I	25	91.4 ± 4.0 ^{ab}	4.8 ± 0.6 ^b	100.0 ± 0.0 ^a	7.2 ± 0.2 ^a	100.0 ± 0.0 ^a	5.8 ± 0.2 ^a
	50	91.4 ± 2.3 ^{ab}	4.5 ± 0.2 ^{bc}	97.1 ± 2.3 ^{ab}	6.7 ± 0.5 ^{ab}	100.0 ± 0.0 ^a	5.3 ± 0.3 ^b
	75	88.6 ± 4.7 ^{ab}	4.2 ± 0.1 ^{bc}	97.1 ± 4.0 ^{ab}	6.4 ± 0.3 ^b	100.0 ± 0.0 ^a	4.1 ± 0.1 ^c
	100	85.7 ± 2.3 ^b	3.7 ± 0.2 ^c	94.3 ± 2.3 ^b	5.5 ± 0.3 ^c	94.3 ± 0.0 ^b	3.8 ± 0.3 ^c
A. sp*II	25	94.3 ± 4.0 ^a	4.7 ± 0.4 ^b	100.0 ± 0.0 ^a	7.3 ± 0.5 ^a	100.0 ± 0.0 ^a	5.9 ± 0.3 ^b
	50	91.4 ± 2.3 ^{ab}	4.6 ± 0.1 ^{bc}	97.1 ± 2.3 ^a	6.2 ± 0.1 ^b	100.0 ± 0.0 ^a	4.4 ± 0.1 ^c
	75	88.6 ± 4.7 ^{ab}	4.0 ± 0.3 ^{bc}	94.3 ± 4.7 ^a	5.9 ± 0.1 ^b	94.3 ± 0.0 ^b	4.1 ± 0.2 ^c
	100	85.7 ± 0.0 ^b	3.4 ± 0.1 ^c	94.3 ± 6.2 ^a	5.5 ± 0.3 ^b	91.4 ± 4.0 ^b	3.6 ± 0.5 ^c
A. sp*III	25	91.4 ± 4.0 ^a	4.2 ± 0.3 ^b	97.1 ± 2.3 ^{ab}	6.5 ± 0.2 ^b	100.0 ± 0.0 ^a	4.9 ± 0.2 ^b
	50	88.6 ± 6.2 ^a	4.0 ± 0.2 ^b	97.1 ± 2.3 ^{ab}	6.5 ± 0.1 ^b	97.1 ± 0.0 ^b	4.7 ± 0.2 ^b
	75	88.6 ± 2.3 ^a	3.9 ± 0.3 ^b	97.1 ± 2.3 ^{ab}	5.8 ± 0.3 ^c	97.1 ± 0.0 ^b	4.2 ± 0.2 ^{bc}
	100	88.6 ± 4.7 ^a	3.7 ± 0.2 ^b	94.3 ± 2.3 ^b	5.6 ± 0.2 ^c	91.4 ± 2.3 ^c	3.7 ± 0.3 ^c

A. sp*I, A. sp*II, and A. sp*III were named as Sajabalssuk, Ssajuarissuk, and Ssajuarissuk, respectively, of Ganghwa mugwort in Korea.

* G.R. is an abbreviation for germination rate. G.R.'s values are percentage.

* L.N. is an abbreviation for leaf number. L.N.'s values are real numerical value.

[†] Values represent the mean ± standard variation (SD) of five independent experiments.

[§] Each value with star superscripts with the same column in same donor plant are significantly difference at p<0.05 by Duncan's multiple test.

2. 수용체식물 생육에 미치는 약쭉 수용성 추출물의 영향

포트 파종 후 30일간 약쭉 추출물을 처리한 배추, 상추, 적무 등 수용체 식물의 엽장과 근장 그리고 지상부와 지하부의 생체중을 비교한 결과는 Fig. 1과 Table 2 및 Table 3과 같다. 약쭉 추출물 25g · L⁻¹ 농도 처리부터 수용체 식물의 지상부 및 지하부 생육이 억제되며,

농도가 증가할수록 생육억제 효과가 크게 나타났다(Fig. 1). 초장의 경우 $25\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 농도 처리부터, 그리고 근장의 경우 $50\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 농도 처리부터 유의성을 보이며 감소되었다. $25\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $50\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $75\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $100\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 농도 처리에서 수용체 식물 초장은 평균적으로 각각 27.9%, 36.3%, 42.6% 및 46.9% 감소하였으며, 근장은 각각 10.3%, 22.0%, 31.6%, 및 38.2% 감소하여 지상부의 생육이 지하부에 비해 크게 억제되는 것으로 나타났다(Table 2). 약쑥 추출물이 수용체 식물 생체중에 미치는 영향에서도 유사한 경향을 보이는데, 추출물 $25\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 농도 처리부터 대부분의 수용체 식물에서 지상부와 지하부 생체중이 유의적으로 감소하기 시작하며, 처리 농도가 증가함에 따라 생체중이 감소하는 경향을 보인다(Table 3). 그러나 배추의 A. sp.*I 처리 상추의 A. sp.*I과 A. sp.*II 처리 시 처리된 추출물 농도의 증가에 따른 뿌리 생체중 감소의 유의성은 관찰되지 않았다.

Table 2. Allelopathic effects of ganghwa mugwort aqueous extract on shoot and root elongation of receptor plants (unit : mm)

Receptor plants	Donor plants	Organ	Concentration ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)				
			Control	25	50	75	100
Chinese cabbage	A. sp.*I	Shoot	192.8 ^a	150.1 ^b	132.4 ^c	121.4 ^d	112.1 ^e
		Root	114.7 ^a	112.0 ^a	99.5 ^b	91.4 ^{bc}	86.5 ^c
	A. sp.*II	Shoot	192.8 ^a	150.1 ^b	126.4 ^c	117.5 ^d	107.9 ^e
		Root	114.7 ^a	111.6 ^a	101.9 ^b	91.4 ^c	81.0 ^c
	A. sp.*III	Shoot	192.8 ^a	132.3 ^b	124.7 ^c	112.8 ^d	101.8 ^e
		Root	114.7 ^a	109.9 ^a	92.3 ^b	81.9 ^c	66.9 ^d
Lettuce	A. sp.*I	Shoot	155.6 ^a	112.5 ^b	102.1 ^c	95.3 ^{cd}	91.6 ^d
		Root	150.3 ^a	139.2 ^b	118.1 ^c	95.1 ^d	94.7 ^d
	A. sp.*II	Shoot	155.6 ^a	109.4 ^b	101.7	78.7 ^c	74.4 ^c
		Root	150.3 ^a	133.1 ^b	113.3 ^c	100.6 ^d	82.0 ^e
	A. sp.*III	Shoot	155.6 ^a	113.9 ^b	94.5 ^c	79.2 ^d	69.2 ^e
		Root	150.3 ^a	110.6 ^b	109.4 ^b	97.6 ^c	75.4 ^d
Radish	A. sp.*I	Shoot	194.2 ^a	135.3 ^b	117.3 ^c	111.9 ^c	104.7 ^d
		Root	137.3 ^a	127.6 ^b	108.9 ^c	93.6 ^d	90.5 ^d
	A. sp.*II	Shoot	194.2 ^a	137.3 ^b	118.1 ^c	112.3 ^c	103.3 ^d
		Root	137.3 ^a	117.7 ^b	97.3 ^c	91.2 ^{cd}	87.5 ^d
	A. sp.*III	Shoot	194.2 ^a	132.9 ^b	119.6 ^c	108.1 ^d	102.5 ^d
		Root	137.3 ^a	113.7 ^b	94.7 ^c	76.0 ^d	74.2 ^d

A. sp.*I, A. sp.*II, and A. sp.*III were named as Sajabalssuk, Ssajuarissuk, and Ssajuarissuk, respectively, of Ganghwa mugwort in Korean.

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

Table 3. Allelopathic effects of ganghwa mugwort aqueous extract on fresh weight of shoot and root of receptor plants (unit : g)

Receptor plants	Donor plants	Organ	Concentration (g · L ⁻¹)				
			Control	25	50	75	100
Chinese cabbage	A. sp*I	Shoot	6.64 ^a	4.04 ^b	2.94 ^c	2.25 ^c	2.07 ^d
		Root	1.03 ^a	0.96 ^a	0.55 ^b	0.53 ^b	0.51 ^b
	A. sp*II	Shoot	6.64 ^a	3.81 ^b	2.18 ^c	1.76 ^d	1.68 ^d
		Root	1.03 ^a	0.76 ^b	0.53 ^c	0.50 ^c	0.49 ^c
	A. sp*III	Shoot	6.64 ^a	2.58 ^b	2.18 ^b	1.75 ^c	1.61 ^c
		Root	1.03 ^a	0.77 ^b	0.56 ^c	0.52 ^c	0.39 ^d
Lettuce	A. sp*I	Shoot	4.71 ^a	2.67 ^b	2.19 ^b	1.64 ^c	1.29 ^c
		Root	1.97 ^a	1.81 ^a	1.53 ^{ab}	1.22 ^b	1.02 ^b
	A. sp*II	Shoot	4.71 ^a	2.43 ^b	1.95 ^{bc}	1.13 ^c	1.11 ^c
		Root	1.97 ^a	1.73 ^a	1.17 ^b	1.07 ^b	0.87 ^b
	A. sp*III	Shoot	4.71 ^a	2.12 ^b	1.88 ^b	1.41 ^c	1.08 ^c
		Root	1.97 ^a	1.29 ^b	1.16 ^b	0.95 ^c	0.86 ^c
Radish	A. sp*I	Shoot	5.75 ^a	1.94 ^b	1.68 ^b	1.51 ^c	1.34 ^c
		Root	1.53 ^a	0.64 ^b	0.55 ^b	0.44 ^c	0.42 ^c
	A. sp*II	Shoot	5.75 ^a	1.84 ^b	1.52 ^b	1.27 ^{bc}	1.04 ^c
		Root	1.53 ^a	0.62 ^b	0.49 ^c	0.48 ^c	0.39 ^d
	A. sp*III	Shoot	5.75 ^a	1.61 ^b	1.45 ^{bc}	1.24 ^{bc}	1.04 ^c
		Root	1.53 ^a	0.61 ^b	0.48 ^c	0.41 ^c	0.31 ^d

A. sp*I, A. sp*II, and A. sp*III were named as Sajabalssuk, Ssajuarissuk, and Ssajuarissuk, respectively, of Ganghwa mugwort in Korean.

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

수용체 식물별로는 상추는 초장과 근장 생육 감소가 큰 것으로 보이나, 생체중은 적무의 감소폭이 가장 높았다. 100g · L⁻¹ 농도 처리에서 상추의 초장과 근장은 대조구 대비 50.4% 및 55.9%에 머물렀으며, 지상부와 지하부 생체중에 있어서는 24.6%와 46.5% 수준이었다. 적무의 경우 초장과 근장은 대조구 대비 53.3%와 61.2%이었고, 그 생체중은 19.8%와 26.4%로 약썩 추출물 처리에 의해 생육에 가장 큰 저해를 받았다(Table 2, Table 3). 약썩 자원별로는 싸자리썩으로 불리는 A. sp*III가 모든 수용체 식물에서 초장과 근장, 그리고 각각의 생체중에 가장 큰 저해를 한 것으로 확인되었다.

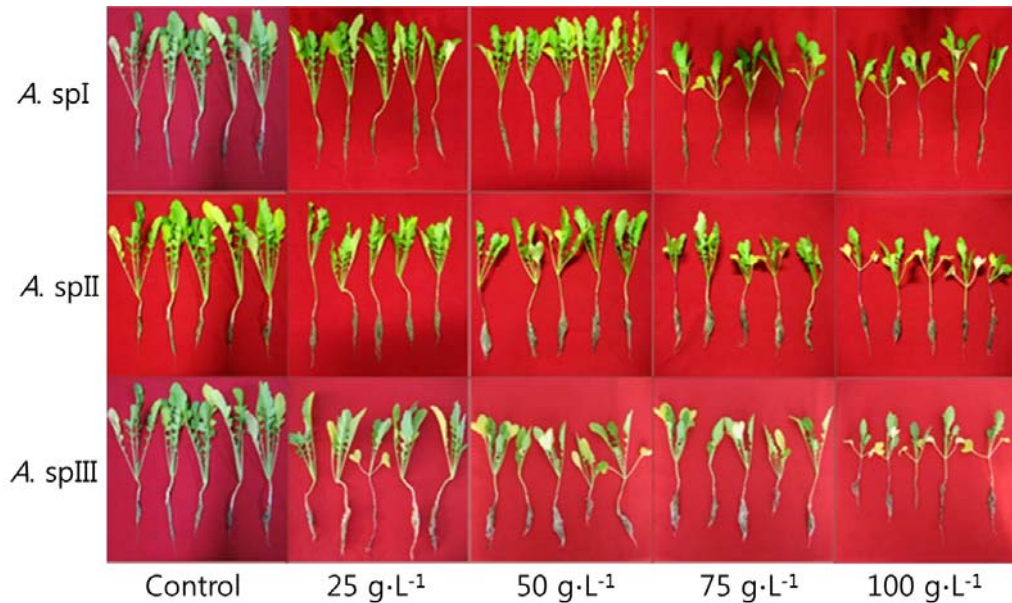


Fig. 1. Effects of Ganghwa mugwort aqueous extract on seedling growth of red radish.

A. sp*I, A. sp*II, and A. sp*III represents Sajabalssuk, Ssajuarissuk, and Ssajuarissuk, respectively, of Ganghwa mugwort in Korean

타감물질이 발아과정에 처리되었을 경우, 추출액의 농도, 처리 시간에 따라 세포분열의 억제정도가 달라짐으로써 각 조직의 형태적인 변화가 일어나는데, coumaric acid와 parasorbic acid는 근단 분열조직의 유사분열 과정을 방해하여 유근 성장을 억제시키며, benzylamine은 유근생장에 영향을 주어 액포, 지질과립, 전분형성체(amyloplast) 등이 증가되는 세포내 변화를 일으킨다고 하였다(Weaver and Klarich, 1977). 또한 phenol 화합물 처리 농도 증가는 발아와 유근생장을 억제하는데(Williams and Hoagland, 1982) 여러 phenol 화합물을 혼합하거나 수용성 추출액을 처리한 경우 각 화합물간의 상호작용으로 단독 처리한 경우보다 억제효과가 크다고 하였다.

3. 약쑥 추출물처리에 의한 수용체 식물의 엽록소 함량변화

약쑥 추출물이 처리된 수용체 식물의 엽록소 함량은 대조군 동일 식물의 엽록소 함량보다 낮았으며, 추출물의 처리농도가 증가할수록 총 엽록소 함량이 감소하는 경향을 보였다 (Table 4). 그러나 25~75g·L⁻¹ 농도처리 범위에서는 농도 증가에 따른 엽록소 함량감소의 유의적 차이는 없었던 반면 100g·L⁻¹ 처리농도에서는 유의적인 차이를 보였다. 농도 처리 수준에 따른 엽록소 a와 엽록소 b 각각의 함량변화는 총 엽록소 함량의 변화와 같은 경향을

띄었지만, 엽록소 a의 감소경향이 엽록소 b보다 뚜렷하였다. 약쭉 수집종의 수용체 식물의 엽록소 함량감소에 미치는 효과는 A. sp.*III가 각 농도별 처리에서 다른 수집종에 비해 다소 큰 경향을 보였으며, 총 엽록소 함량에 있어서 가장 낮았다.

엽록소는 광합성에 의한 식물생육에 필수적인 색소로 잎의 엽록소 함량과 광합성능 간에는 상관관계가 있으며, 엽록소 함량의 감소는 작물생육에 직접적인 영향을 주게 된다. 식물이 불량환경조건에 노출되어 스트레스를 받으면 에너지 전달과 광계 II 전하분리에 관련된 광화학반응의 불균형이 일어나 잎의 엽록소가 파괴되어 황화나 백화현상이 나타나는데 (Baczeck and Koscielniak, 2003), 약쭉 추출물 처리에 의한 수용체 식물의 엽록소 함량변화를 측정하면 수용체 식물의 광합성능이 타감작용에 의해 영향을 받고 있는지 추정해 볼 수 있다.

Table 4. Chlorophyll contents of receptor plants treated with different concentrations of aqueous extract of ganghwa mugwort

Receptor plants		Chinese cabbage			Lettuce			Radish		
Chlorophyll (mg · g ⁻¹ FW)		Chl. A	Chl. B	Total Chl.	Chl. A	Chl. B	Total Chl.	Chl. A	Chl. B	Total Chl.
Total Control (g · L ⁻¹)		3.43	0.99	4.42	2.74	0.82	3.56	4.60	1.29	5.89
A. sp*I	25	2.84	0.75	3.59	2.75	0.79	3.54	3.94	1.01	4.95
	50	2.51	0.81	3.32	2.21	0.67	2.88	3.64	0.79	4.43
	75	2.27	0.74	3.01	2.06	0.59	2.64	2.82	0.97	3.79
	100	1.47	0.43	1.86	1.78	0.56	2.35	2.65	0.82	3.47
A. sp*II	25	2.68	0.77	3.45	2.66	0.73	3.39	3.67	1.20	4.87
	50	2.36	0.74	3.10	2.17	0.62	2.79	3.48	0.92	4.40
	75	1.99	0.66	2.65	1.95	0.60	2.55	2.85	0.94	3.79
	100	1.41	0.42	1.83	1.46	0.51	1.97	2.65	0.72	3.37
A. sp*III	25	2.59	0.85	3.44	2.48	0.75	3.23	3.63	1.08	4.71
	50	2.34	0.68	3.02	2.06	0.68	2.74	3.28	0.92	4.20
	75	1.83	0.63	2.46	1.94	0.60	2.54	2.79	0.83	3.62
	100	1.31	0.39	1.71	1.02	0.40	1.42	2.55	0.81	3.36

Chl. A and Chl. B means Chlorophyll A and Chlorophyll B, respectively.

A. sp*I, A. sp*II, and A. sp*III represents Sajabalssuk, Ssajuarissuk, and Ssajuarissuk, respectively, of Ganghwa mugwort in Korean.

약쑥 수용성 추출물 처리농도 증가에 따라 엽록소 함량이 다소 감소하는 경향이며, 25~75g·L⁻¹ 농도처리 보다 100g·L⁻¹ 농도처리에서 유의적 차이를 보이는데, 이는 비쑥을 이용한 Kil과 Yoo(1996)의 결과와 같았다. 또한 엽록소 함량의 감소는 앞서 확인된 배추, 상추 적무 등의 지상부 및 지하부의 생육감소 결과(Table 2, Table 3)와 일치하며, 특히 지상부의 생육저하에 보다 큰 작용을 한 원인으로 생각된다. 본 실험으로 강화약쑥 수용성 추출물에 함유되어있는 타감물질이 기내조건 뿐만 아니라 토양을 이용한 포트 실험에서도 유효하게 작용함으로써 엽록소 함량 감소에 의한 식물 생장저하에 영향을 준다는 것이 확인되었다.

4. HPLC를 이용한 수용성 추출액에서의 타감물질 분석

HPLC 분석을 통해 강화 약쑥 3종으로부터 얻어진 수용성 추출액의 phenol 화합물 성분을 확인한 결과는 Fig. 2와 같으며, 또한 각 약쑥 수집종의 총 phenol 화합물의 함량을 측정 한 결과는 Table 5와 같다. HPLC 분석에 의해 타감작용과 관련된 13종의 표준물질과 비교 한 결과 강화약쑥의 수용성 추출물로부터 9종의 phenol 화합물을 확인하였다. A. sp.*I과 A. sp.*II로부터는 protocatechuic acid를 비롯한 7종의 phenol 화합물이 확인되었으며, A. sp.*III에서는 쑥속 식물에서 발견된 성분 이외에 p-hydroxybenzoic acid와 phenylacetic acid 등 추가로 2종의 물질이 확인되어 총 9종이 확인되었다. A. sp.*I과 A. sp.*II 에서 확인된 7종의 phenol 화합물 중에는 syringic acid의 peak가, 그리고 A. sp.*III 수집종에서는 9종의 phenol 화합물 중 ferulic acid의 peak가 가장 높게 나타났다(Fig. 2).

Table 5. Total phenolic compounds in collected ganghwa mugwort

(unit : mg/g dry weight)

Donor plant	Total phenolic compounds (mean± S.D.)
A. sp.*I	54.62 ± 1.54 ^a
A. sp.*II	66.43 ± 2.03 ^b
A. sp.*III	69.44 ± 3.31 ^b

A. sp.*I, A. sp.*II, and A. sp.*III represents Sajabalssuk, Ssajuarissuk, and Ssajuarissuk, respectively, of Ganghwa mugwort in Korean.

* Values are means ± standard deviations. Each value with different superscripts with the same column are significantly difference at p<0.05 by Duncan's multiple test.

HPLC 분석을 통해 A. sp.*I의 경우 A. sp.*II와 A. sp.*III에 비해 phenol 화합물 함량이 낮은 것으로 확인되었지만 강화지역에서 주로 같은 이름으로 불리고 있는 A. sp.*II와 A. sp.*III의 함량에는 차이가 없는 것으로 확인되었다(Table 5). 동일한 종류의 phenol 화합물

이 확인된 *A. sp.*I*과 *A. sp.*II* 수집종 간의 비교에서는 *A. sp.*II*의 총 phenol 화합물 함량이 더 높은 것으로 확인되었는데, *A. sp.*I* 보다 *A. sp.*II*의 수용체 식물의 발아 및 생육억제정도가 강한 것은 총 phenol 성분 함량의 차이로 인한 것으로 생각된다. 그러나 3가지 약썩 식물 중 수용체 식물의 생육에 가장 강한 억제력을 보였던 *A. sp.*III*는 phenol 화합물의 총함량 *A. sp.*II*와 차이가 없었지만, 나머지 2개의 약썩에서 확인되지 않은 hydroxybenzoic acid와 phenylacetic acid를 함유하고 있어 양적부분 외에 성분의 질적 차이도 타감효과에 중요한 요인으로 사료된다.

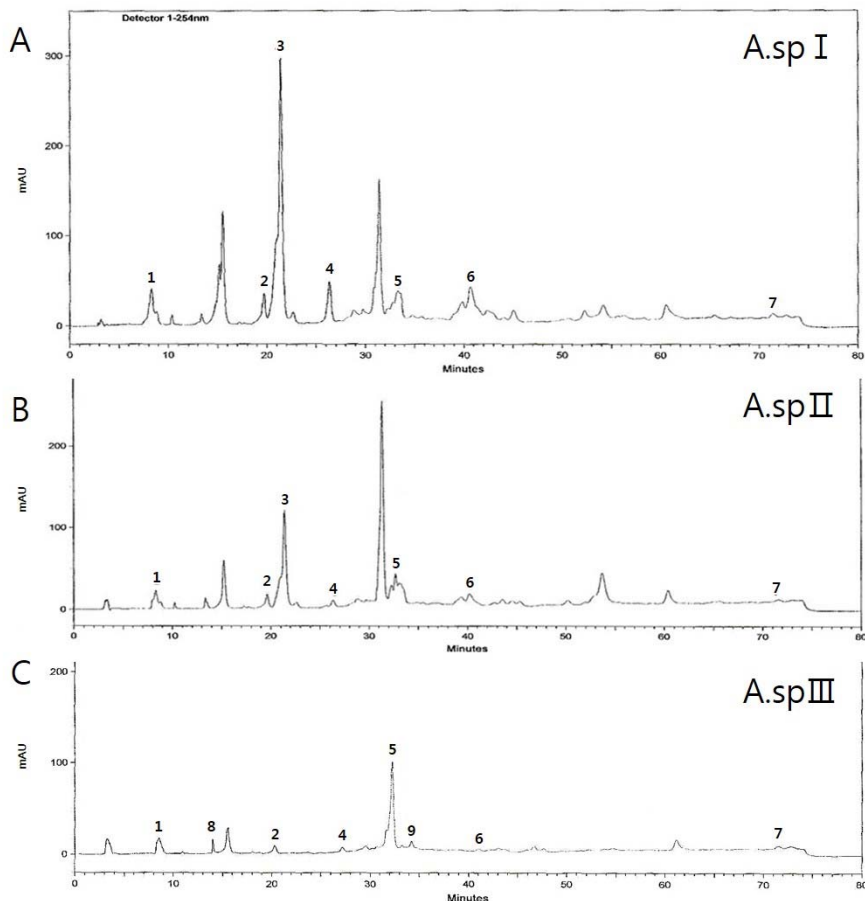


Fig. 2. HPLC analysis of phenolic compounds in aqueous extract of ganghwa mugwort. *A. sp.*I*, *A. sp.*II*, and *A. sp.*III* were named as Sajabalssuk, Ssajuarissuk, and Ssajarissuk in Kanghwa area, Korea. 1. protocatechuic acid, 2. caffeic acid, 3. syringic acid, 4. salicylic acid, 5. ferulic acid, 6. benzoic acid, 7. t-cinnamic acid, 8. p-hydroxybenzoic acid, 9. phenylacetic acid. *A. sp.*I*, *A. sp.*II*, and *A. sp.*III* represents Sajabalssuk, Ssajuarissuk, and Ssajuarissuk, respectively, of Ganghwa mugwort in Korean.

Phenol 화합물은 식물이 생산하는 대표적인 2차 대사산물로 수산기(-OH)가 하나 또는 둘 이상 치환된 방향족환을 가지며, 당과 결합된 배당체 형태로 존재하는 경우가 많아 대부분 수용성이며, 강력한 타감작용을 하는 것으로 알려져 있다.

Ferulic acid는 수용성 지방산 합성을 촉진시키며 유기산 및 수용성 아미노산 분해를 저하시켜 종자의 단백질 형성과 아미노산 전달을 방해하는 발아 억제제로 작용한다(Van Sumere *et al.*, 1971). 또한 t-cinnamic acid는 수용성 아미노산 합성의 촉진과 지방합성을 저해하고(Danks *et al.*, 1975), benzoic acid는 phenylalanin의 합성을 억제하는 것으로 보고되었다(Cameron and Julian, 1980). 또한 phenol 화합물은 호르몬 생합성에 관여하는데 cinnamic, benzoic acid, caffeic, ferulic, protocatechuic acid 등은 IAA 합성을 저해하며, p-hydroxybenzoic, syringic acid들은 IAA 산화제를 촉진시킨다고 보고되었다(Zenk and Muller 1963). 그밖에 ferulic와 cinnamic acid는 ABA 생합성을 억제하는 것으로 알려져 있다. Phenol 화합물은 특정 효소의 활성화에 영향을 미치기도 하는데, salicylic acid와 caffeic acid는 각각 nitrate reductase와 phenylalanine ammonia-lyase의 활성을 억제시키는 것으로 보고되었다(Sato *et al.*, 1982).

Phenol 화합물은 토양 중에서 비교적 분해가 빠르고 이동이 쉬워 공여체 식물에서 다량의 phenol 화합물이 생성되어 토양에 잔류하지 않으면 실제 포장에서는 저해현상이 일어나지 않는다는 보고도 있으나, 야외에서 식물의 근락 주변 토양에서 타감물질을 분리해낸 보고도 많다. 이 경우 phenol 화합물이 토양 구성물질 또는 산화철 등과 결합하여 토양에 잔존하며, 지속적으로 작용한다고 하였다. 처리된 수용액의 농도가 높을수록 생육이 억제되는 경향은 엉겅퀴, 상추, 도꼬마리, 방풍, 시호, 및 황금 등 다양한 식물 추출액을 이용한 포트 실험결과와 일치하였다(Kim, 2004; Tang and Young, 1992).

기내실험을 통한 선행연구에서 강화약썩이 비 식용작물 또는 잡초성 식물에 타감작용이 있음을 보고한 바 있다(Lee *et al.*, 2012). 본 연구는 그 후속 연구로 약썩 3종의 수용성 추출액이 주요 발작물인 배추, 상추, 적무 등의 발아와 유묘생장 등에 미치는 영향을 조사하고 HPLC 분석을 통해 타감작용에 관여하는 물질을 구명코자 수행되었다. 강화약썩 수용성 추출물의 HPLC 분석결과 타감작용과 관련된 9종의 phenol 화합물을 확인하였으며, 포트실험을 통해 수용체 식물들의 종자발아와 유묘생장에 농도 의존적 억제 효과가 있음을 확인하였는데, 실제 포장에서 약썩제배 후 후속작물 선택 시 이러한 점을 고려해야 할 것으로 생각된다.

경지면적이 적은 우리나라는 재배환경에 부담이 되는 집약농업에서 벗어나 최근 지속가능한 친환경 유기농업에 대한 관심이 높아지고 있다. 강화군의 2011년 전체 경지면적 15,000ha 중 밭의 면적이 5,600ha로 약 37.3%로 전업농가의 비율이 62.3%에 이르며, 1가구 평균 경지면적은 규모는 밭작물 재배면적 0.39ha를 포함해 1.62 ha에 불과하다. 약썩은 동일포장에 3년간 연속하기 때문에 토양 내 특정성분의 용탈이 심하며, 타감물질의 잔류로 후속작물

의 생육에 영향을 줄 수 있으므로, 강화지역 약쑥재배농가에서는 경작지의 효율적 이용을 통한 농가소득 증대를 위해 후속작물의 선택이 매우 중요한 요인으로 작용할 것으로 생각된다. 약쑥 수용성 추출물을 처리한 결과 배추에 대한 생육억제가 가장 작았으며, 상추와 적무 순이었다. 특히 적무의 경우 생체중의 감소폭이 가장 크게 나타나 추출물 처리에 의한 생육 억제효과가 가장 큰 것으로 보여 약쑥 연작 재배 후 후속작물 선택에 주의해야할 것으로 생각된다.

[논문접수일 : 2013. 10. 3. 논문수정일 : 2013. 10. 21. 최종논문접수일 : 2013. 10. 24.]

참 고 문 헌

1. Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenol-oxidase in *Betula vulgaris*. Plant Physiology. 24(1): 1-15.
2. Baczek, K. R. and J. Koscielniak. 2003. Anti-oxidative effect of elevated CO₂ concentration in the air on maize hybrids subjected to severe chill. Photosynthetica. 41(2): 161-165.
3. Bang, M. H., M. C. Song, M. W. Han, D. Y. Lee, J. K. Jo, H. G. Chung, T. S. Jeong, K. T. Lee, M. S. Choi, and N. I. Baek. 2007. Development of biologically active Compounds from edible plant sources-111, Isolation of inhibitory compound on LDL-Oxidation from the aerial parts of Sajabalssuk (*Artemisia princeps* PAMPANINI, Sajabalssuk). J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 50(3): 224-227.(in Korean)
4. Barkosky, R. R. and F. A. Einhelling. 1993. Effect of salicylic acid on plant-water relationships. Journal of Chemical Ecology. 19(2): 237-247.
5. Cameron, H. J. and G. R. Julian. 1980. Inhibition of protein synthesis in lettuce (*Lactuca sativa* L.) by allelopathic compounds. J. of Chem. Ecol. 6(6): 989-995.
6. Chung, I. M. and S. H. Kim. 2004. Analysis of Phenol Compounds. Korean J. Crop Sci. 49(spc1): 43-50.(in Korean)
7. Danks, M. L., J. S. Fletcher, and E. L. Rice. 1975. Effects of Phenolic Inhibitors on Growth and Metabolism of Glucose-UI-14C in Paul's Scarlet Rose Cell-Suspension Cultures. Am. J. Bot. 62(3): 311-317.
8. Duke, S. O., K. C. Vaughn, E. M. Croom Jr, and H. N. Elsohly. 1987. Artemisin, a constituent of annual wormwood (*Artemisia annua*), is a selective phototoxin. Weed Science. 35: 499-505

9. Fischer, N. H., G. B. Williamson, J. D. Weidenhamer, and D. R. Richardson. 1994. In search of allelopathy in the florida scrub : The role of terpenoids. *Journal of Chemical Ecology*. 20(6): 1355-1380.
10. Halligan, J. Pat. 1975. Toxic terpenes from *Artemisia californica*. *Ecology*. 56: 999-1003.
11. Kil B. S. 1988. Allelopathic effect of *Pinus rigida* Mill. *Korean J. Ecol.* 11(2): 65-76. (in Korean)
12. Kil, B. S. 1999. Allelopathic Effects of *Artemisia capillaris* on the Selected Species. *Korean J. Ecol.* 22(1): 59-63.(in Korean)
13. Kil, B. S and H. G. Yoo 1996. Identification and Growth Inhibition of Phytotoxic Substances from *Artemisia scoparia*. *Korean J. Ecol.* 19(4): 295-304. (in Korean)
14. Kil, B. S., K. W. Yun, D. M. Han, and S. Y. Lee. 1994. Influence of Chemicals from *Artemisia argyi* on the Growth of Selected Species of Plants and Microorganisms. *Korean J. Ecol.* 17(1): 23-35.(in Korean)
15. Kim, H. C., B. S. Kil and Y.H. Lee. 2001. The Antifungal Activity of Chemical Substances from *Artemisia annua*. *Korean J. Ecol.* 24(3): 137-140.(in Korean)
16. Kim, Y. M. 2004. Allelopathic potential in Compositae plant species. Ph. D. Thesis. Graduate School Chonnam National University.
17. Langenheim, J. H. 1994. Higher plant terpenoids: A phytocentric overview of their ecological roles. *J. Chem. Ecol.* 20(6): 1223-1280.
18. Lee, J. H., C. B. Park, C. G. Park, and S. G. Moon. 2010. A phylogenic analysis of Korean *Artemisia* L. based on ITS sequences. *Korean J. Plant. Res.* 23(4): 293-302. (in Korean)
19. Lee, J. H., J. H. Byeon, J. H. Lee, C. G. Park, C. B. Park, and J. H. Cho. 2012. Allelopathic effect of Ganghwa mugwort (*Artemisia* spp.) on seed germination and seedling growth of plants. *Korean J. Organic Agri.* 20(4): 589-605.(in Korean)
20. Muller, C. H. 1965. Inhibitory terpenes volatilized by terpenes from *Salvia shrubs*. *Bulletin of the Torrey Botanicla Club* 92(1): 38-45.
21. Patrick, Z. A. 1971. Phytotoxic substances associated with the decomposition in soil of plant residues. *Soil Sci.* 111: 13-18.
22. Reese, J. C. 1979. Interactions of allelochemicals with nutrients in herbivore food.: Rosenthal G. A., D. H. Janzen Herbivores(eds). Their interactions with secondary plant metabolites, Academic press, New York. pp. 309-330.
23. Sato, T., F. Kiuchi, and U. Sankawa. 1982. Inhibition of phenylalanine ammonialyase by cinnamic acid derivatives and related compounds. *Phytochemistry.* 21(4): 845-850.
24. Swain T. and W. E. Hillis 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.-The

- quantitative analysis of phenolic constituents. J. Sci. Food Agric. 10(1): 63-68.
25. Tang, C. S. and C. C. Young. 1982. Collection and identification of allelopathic compounds from the undisturbed root system of bigalga limpograss (*Hemarthria altissima*). Plant Physiol. 69(1): 155-160.
 26. Van Sumere, C. F., J. Cottenie, J. De Greef, and J. Kint. 1971. Biochemical studies in relation to the possible germination regulatory role of naturally occurring coumarin and phenolics. Recent Adv. Phytochem. 4: 165-221.
 27. Weaver, T. W. and D. Klarich. 1977. Allelopathic effects of volatile substances from *Artemisia tridentata*. Nut. Am. Midi. Nat. 97(2): 508-512.
 28. Williams, R. D. and R. E. Hoagland. 1982. The effects of naturally occurring phenolic compounds on seed germination. Weed Sci. 30(2): 206-212.
 29. Yun, K. W. and B. S. Kil. 1989. Phytotoxic Effects on Selected Species by Chemical Substances of *Artemisia princeps* var. *orientalis*. Korean J. Ecol. 12(3): 161-170.
 30. Zenk, M. H. and G. Muller. 1963. In vivo destruction of exgenously applied indoll-3-acetic acid as influenced by naturally occurring phenolic acids. Nature. 200(4908): 761-763