

서양등골나물 휘발성 추출물의 알레로파시 효과

길지현 · 심규철^{1*} · 이호준²

국립환경연구원 식물생태과, ¹공주대학교 생물교육과, ²건국대학교 생명과학부

Allelopathic Effect of Volatile Extracts from *Eupatorium rugosum*

Kil, Ji-Hyon, Kew-Cheol Shim^{1*} and Ho-Jun Lee²

Division of Plant Ecology, National Institute of Environmental Research, Incheon 404-170, Korea

¹Department of Biology Education, Kongju National University, Kongju, Chungnam 314-701, Korea

²Department of Biological Sciences, Konkuk University, Seoul, 143-701, Korea

ABSTRACT: This study was carried out to find the allelopathic effect of volatile materials released from *Eupatorium rugosum*. The GC method was employed for analysis of volatile materials from *E. rugosum* and 49 chemical substances were identified such as β -caryophyllene, α -terpinenol, chamazulene, bornyl acetate, α -pinene, etc. including unidentified three chemicals. Germination test in *Phaseolus radiatus* was done to find the inhibition effect of volatile materials using some chemicals which were proved to be important component or much amounts ones in *E. rugosum*. It was strongly inhibited by linalool and terpinen-4-ol. Seedling elongation and radicle growth of that were proportionally inhibited by the concentration of the essential oil, especially α -pinene and bornyl acetate. Biomass of receptor plant was slightly decreased more than 58% of the extract in case of α -pinene, while it was decreased more than 19% of that in bornyl acetate but it was shown non-significant. From the above results, it was found that volatile materials from *E. rugosum* showed a allelopathic effect and also α -pinene, bornyl acetate, linalool and terpinen-4-ol used in bioassay were some of major allelochemicals in germination inhibition and especially linalool and terpinen-4-ol are prominent effect on growth inhibition of other plant.

Key words: Allelopathic effect, Essential oil, *Eupatorium rugosum*, *Phaseolus radiatus*, Volatile extracts

서론

외래식물의 일종인 서양등골나물은 북미 원산으로 현재 환경부에서 지정한 생태계 교란 야생식물(야생동식물보호법 제2조4호)의 하나이다. 서양등골나물의 경우 우리 나라에 침입, 확산되고 있는 외래식물의 대부분이 양지에 분포하고 있는 반면, 또 다른 외래식물인 붉은서나물과 같이 반음지에 분포하면서 임상의 하층을 우점하는 특성을 보인다(고 등 1995, Suh *et al.* 1997, 길 등 2004). 이 등(1997)은 서양등골나물이 한국에 널리 분포하는 것으로 알려져 있는 다른 외래식물인 망초나 돼지풀보다 높은 total phenolic compounds를 함유하고 있는 것으로 발표하였다. 박(1999)은 서양등골나물의 알레로 화합물이 종자 발아와 유식물 성장 및 항균 효과가 있는 것으로 발표하였다. Chun *et al.* (2001)은 국내에 침입한 서양등골나물이 매우 낮은 유전적 다양성을 가지며 광조건에 대하여 유동적인 반응을 통해 임상 내부에 침입한다고 하였다. 김 등(2003)은 서양등골나물의 환경 적응력에 대하여 중금속 축적과 페놀 화합물의 관계를 연관지어 연구하였다. Lee 등(2003)은 침입 외래 식물로서의

서양등골나물 분포 유형에 대하여 보고하였다.

한편, 외래식물 정유의 알레로파시와 관련된 연구를 살펴보면, 한 등(1998)이 미국자리공의 메탄올 추출물을 이용하여 근과 식물의 성장 억제 반응을 연구한 바 있다. 길 등(1997)은 애기수영의 발아 억제 효과를 발표하였으며, 김과 김(1999)은 돼지풀 앞에서의 monoterpene의 계절적 차이가 경쟁 우위를 나타낼 수 있다고 하였다. 서(2001)는 가중나무의 에탄올 추출액을 이용하여 초본 종자에 대한 발아 억제 효과를 연구하였고, Lee *et al.* (2002)은 만수국아재비의 식물 독성 효과에 대하여 발표하였다. 그러나, 서양등골나물의 정유에 대한 연구는 아직까지 매우 미흡한 가운데 있다. 이에 본 연구에서는 서양등골나물의 식물체에서 추출한 정유의 성분 특성과 식물의 발아 및 성장 억제 효과에 대한 연구를 수행하여 서양등골나물의 정유에 의한 알레로파시 효과를 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험대상 식물

공여체 식물인 서양등골나물은 서울의 남산에서 개화기인

* Corresponding author; Phone: +82-41-850-8287, Fax: +82-41-850-8842, e-mail: skcshim@kongju.ac.kr

1999년 10월과 2000년 10월에 각각 채취하여 사용하였고 이때 서양등골나물 개체의 평균 키는 45 cm였다. 생물검정에 사용된 수용체 식물은 종묘상에서 구입하여 이 중 발아율이 80% 이상인 녹두(*Phaseolus radiatus* L.)를 택하여 사용하였다.

2. 휘발성 물질 (정유)의 제조

생물 검정에 사용한 에탄올 추출액(정유 essential oil)은 Karlstrucker 장치(Stahl 1973)를 이용하여 Yun(1991)과 동일한 방법으로 준비하였다. 음건한 잎 100g당 75% 에탄올 500 ml을 첨가하여 85°C 수조에서 3시간 동안 추출하였으며, 이것을 rotatory vacuum evaporator를 이용하여 에탄올을 모두 증발시킨 후, 50 ml로 농축하여 0.45 µm pore size membrane filter(Whatman, USA)로 여과하고 0.2 µm pore size syringe filter(MFS, JAPAN)로 2차 여과하여 사용하였다.

3. 추출액의 성분 분석

추출액의 성분을 분석하기 위한 시료의 처리는 Kil과 Yim (1983)의 방법으로 하였다. 정유에 대한 가스 크로마토그래피 분석은 Hewlett-Packard (HP) 5890 II GC를 사용하였고, Column은 Supelcowax 10 (60m × 0.32 mm, film thickness 0.25 µm), column의 온도는 50°C → 2°C/min. → 230°C (30min.)이었으며, injector temp.는 250°C, detector temp.는 250°C이었다. Carrier gas로는 질소(pressure: 12 psi)를 사용하였다. Mass Chromatography는 Hewlett-Packard (HP) 5790 MSD를 사용하였고, Ion Source는 electron ionization (EI)을 사용하였으며, Ion source temp.는 250°C, ionizing voltage는 70 eV였다.

4. 휘발성 물질에 의한 종자 발아와 유식물 생장

서양등골나물의 정유 내에 존재하는 화합물이 종자 발아와 유식물 생장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 페트리디쉬(90 mm dia.) 내에 여과지를 2장 깔고 녹두 종자를 50립씩 파종하였으며, 4 반복으로 실시하였다. α-pinene, bornyl acetate, linalool과 terpinen-4-ol (Sigma Chemical Co. USA)을 구입하여 발아 실험에 이용하였다. 페트리디쉬 중앙에 알루미늄 호일 용기(직경 5 mm, 높이 5 mm)를 놓고 구입한 4종류의 terpenoids 물질을 Yoo (2000)의 방법에 따라 각각 19 µl, 39 µl, 58 µl, 77 µl씩을 공급하여 뚜껑을 덮은 후, 휘발되는 정유의 유출을 방지하기 위하여 parafilm으로 봉하였다. 대조구는 정유를 공급하지 않았으며, 6 일 후 발아한 개체수와 유식물의 길이 및 생중량을 측정하였다.

5. 데이터 분석

정유의 휘발성 물질에 의한 생물검정에 대하여 동질성 검정(Duncan's multiple range test)을 실시하였다. 본 연구에서 통계 분석에는 윈도우용 SPSS 통계 프로그램을 활용하였다.

결과 및 고찰

1. 서양등골나물 정유의 성분 분석

GC를 이용하여 서양등골나물의 휘발성 추출물에 포함된 terpenoid 화합물을 분리·동정하였다(Fig. 1). 서양등골나물 정유에 포함된 화합물의 수는 β-caryophyllene, α-terpinenol, chamazulene, bornyl acetate, α-pinene 등 총 49종이었으며, 그 중 3종은 미확인되었다(Table 1). 박(1999)은 서양등골나물의 휘발성 추출물 중 페놀화합물을 HPLC(High Performance Liquid Chromatography)를 이용하여 분석하였는데, caffeic acid, benzoic acid, p-hydroquinone, hydroquinone, protocatechuic acid, cinnamic acid 등을 확인하였다.

또한, King과 Robinson(1987)이 서양등골나물을 분류한 *Ageratina* 속의 *A. adenophora* 정유의 성분 분석을 수행한 Pala-Paul *et al.* (2002)의 연구에서는 p-cymene가 가장 많이 함유된 것으로 조사되었고, epi-α-cadinol, α-phellandrene, β-2-carene, caryophyllene 등이 많이 함유된 것으로 조사되었다. 이러한 결과는 같은 속의 식물이라 할지라도 생장 조건과 생육 특성에 따라 차이가 있기 때문으로 생각된다. 같은 국화과에 속하는 산국의 경우에는 camphor, β-thujone, α-pinene, β-caryophyllene 등이 많이 함유된 것으로 발표되었다(김 2000).

2. 휘발성 물질에 의한 생물검정

서양등골나물의 정유로부터 분리·확인한 휘발성 화합물질 중 다량 함유되어 있거나 중요한 성분으로 판명된 α-pinene, bornyl acetate, linalool 및 terpinen-4-ol 등 4종의 물질에 대한 녹두의 발아 억제 효과를 조사하였다. Linalool과 terpinen-4-ol에 의해서는 녹두의 종자가 전혀 발아하지 못했는데 이는 발아 억제 효과가 매우 큰 것으로 보이며, 김(1999)의 연구에서 사철썩에서 추출한 terpinen-4-ol에 의해 종자 발아 억제 효과가 컸다는 것과 일치된 결과라 할 수 있다.

한편, 정유 내 화합물에 의한 녹두 유식물의 초기 생장에 대한 결과, α-pinene과 bornyl acetate에 대한 묘조와 유근의 생장은 농도에 따라 점점 억제되었고(Table 2), linalool과 terpinen-4-ol에 대해서는 실험구에서 생장 반응이 나타나지 않을 만큼 강하게 억제반응이 나타났다. 정유에 노출된 녹두의 유식물의 생체량을 조사한 결과, linalool과 terpinen-4-ol의 경우는 생장이 이루어지지 못해 측정이 어려웠다. 생체량에 있어서 α-pinene의 경우 58 µl이상에서 유의한 영향을 미치고 있었으며, bornyl acetate의 경우에는 19 µl이상에서 감소하는 것으로 나타났으나 그 이후에는 통계적으로 유의한 차이를 나타내지는 않았다(Table 3).

위의 결과를 종합해 볼 때, 정유 내에 포함된 서양등골나물의 알레로 화합물 중 생물검정에 사용된 α-pinene, bornyl acetate, linalool과 terpinen-4-ol은 식물의 발아 억제 효과를 나타내는 주요한 물질 중 하나로 생각되며, 특히 linalool과 terpinen-4-ol은 다른 식물의 생장을 감소시키는 데 탁월한 효과가 있음을 알 수 있다. 이는 편백의 정유에서 확인한 물질 중 가장 양이 많은 것이 terpinen-4-ol이고 이 물질은 비름을 이용한 생물학적 정량에서 가장 독성이 강하다고 하였는데(곽 1993), Yun(1991), 그리고 Heisey와 Delwiche(1983)의 보고와도 일치한다.

Table 1. Components of essential oils from *Eupatorium rugosum* by gas chromatography

No.	Retention time (min)	Components	Peak area (%)	No.	Retention time (min)	Components	Peak area (%)
1	6.702	n-Petanal	0.02	26	42.086	Borneol	0.38
2	7.933	α -Pinene	0.05	27	42.723	Aromandendrene	0.44
3	8.899	Camphene	0.09	28	43.100	Piperitone	0.50
4	13.414	Limonene	0.03	29	44.408	Piperitol	1.27
5	14.809	2-Pentyl furan	0.06	30	46.251	Methyl salicylate	1.35
6	23.965	Tetradecane	0.21	31	50.742	cis-Carveol	0.66
7	24.832	cis-3-Hexen-1-ol	0.16	32	53.033	2-Phenylethyl alcohol	8.55
8	26.286	α -Thujone	0.04	33	55.047	unknown	4.01
9	26.954	1-Octen-3-ol	0.14	34	57.049	Caryophyllene oxide	1.34
10	27.471	α -Cubebene	0.20	35	59.626	Hexadecanol	0.30
11	28.331	2,2,4-Trimethyl-2-cyclohexane carbaldehyde	0.08	36	60.881	Viridiflorol	0.33
12	28.920	trans- β -Farnesene	0.15	37	61.344	Nerolidol	0.13
13	29.871	α -Copaene	0.07	38	61.926	Globulol	1.68
14	30.445	Camphor	0.76	39	64.557	Spathulenol	0.13
15	31.246	Linalool	0.19	40	66.886	Eugenol	1.07
16	31.716	Linalyl acetate	0.26	41	67.668	Carvacrol	1.53
17	32.918	iso-Pulegol	0.18	42	69.024	Thymol	0.10
18	33.704	cis-Sabinene hydrate	0.72	43	69.675	epi-Globulol	0.68
19	34.552	Bornyl acetate	0.38	44	74.409	Farnesol	0.05
20	35.276	β -Caryophyllene	24.44	45	75.339	Fransol(isomer)	0.13
21	35.983	Terpinen-4-ol	0.36	46	78.339	Chamazulene	18.89
22	37.706	Myrtenal	0.17	47	80.585	unknown	2.03
23	39.309	Pinocarveol	1.62	48	88.278	unknown	2.74
24	40.455	β -Selinene	0.67	49	99.569	Hexadecanoic acid	0.34
25	41.914	α -Terpinen-ol	13.18				

Table 2. Effect of volatile chemical, α -pinene and bornyl acetate on shoot and radicle growth of *Phaseolus radiatus* seedling

	α -pinene (μ l)					Bornyl acetate (μ l)				
	0	19	39	58	77	0	19	39	58	77
Shoot (mm)	7.10 ^a	4.35 ^b	3.80 ^b	3.25 ^b	2.08 ^c	6.95 ^a	2.00 ^b	1.63 ^{bc}	1.48 ^{bc}	1.15 ^c
Radicle (mm)	5.98 ^a	3.33 ^b	2.03 ^c	1.65 ^c	1.03 ^d	6.45 ^a	2.30 ^b	1.68 ^c	1.63 ^c	1.25 ^d

* Homogeneous subsets are displayed by Duncan's multiple test ($n=30, p<0.05$).

Table 3. Effect of volatile chemical, α -pinene and bornyl acetate on fresh weight of *Phaseolus radiatus* seedlings 6 days after germination

	α -pinene (μ l)					Bornyl acetate (μ l)				
	0	19	39	58	77	0	19	39	58	77
Fresh weight (mg)	5.10 ^a	5.35 ^a	5.05 ^a	4.73 ^{ab}	4.38 ^b	6.50 ^a	5.98 ^b	5.90 ^b	5.78 ^b	5.78 ^b

* Homogeneous subsets are displayed by Duncan's multiple test ($n=30, p<0.05$).

박(1999)의 서양등골나물 정유 내 함유된 페놀 화합물에 의한 발아 및 유식물의 생장에 대한 알레로파시 효과를 조사한 것을 보면, 돌피의 경우에는 거의 영향을 받지 않은 반면에 미국자리공에 대한 효과가 매우 큰 것으로 나타났다. 이것은 휘발성 물질이 식물에 미치는 독성의 정도는 수용체 식물의 종류에 따라 다르다(Halligan 1976, Heisey and Delwiche 1983, Oleszek 1987)고 한 연구 결과와 유사하다. 또한, 정유내 함유된 화합물 중에서도 본 연구에서 밝혀진 4가지 물질 즉, α -pinene, bornyl acetate, linalool, terpinen-4-ol 외에 박(1999)의 연구에서 밝혀진, caffeic acid, cinnamic acid, protocatechuic acid 등 일부의 화합물이 종자 발아 및 유식물의 초기 생장에 대한 억제 효과가 큰 것으로 나타났다. 본 연구에서도 생물 검정 실험에 사용된 화합물들은 알레로파시 효과와 함량이 있어 다소 차이를 보이고 있는데, 대부분이 이미 알레로 화합물로 널리 알려진 물질들로(곽 1993, Schreiner and Reed 1908, Chou and Muller 1972, Shieh *et al.* 1981, Mandava 1985). 서양등골나물의 휘발성 추출물은 식물의 발아 및 성장 억제에 효과가 있음을 알 수 있었다.

적 요

서양등골나물의 휘발성 추출물에 포함된 terpenoid 화합물을 분리, 동정하였고, 주요 물질 4종에 대한 종자발아와 유식물 생장을 조사하였다. 서양등골나물 정유에 포함된 화합물의 수는 β -caryophyllene, α -terpinenol, chamazulene, bornyl acetate, α -pinene 등 총 49종이었으며, 그 중 3종은 미확인되었다. 서양등골나물의 정유로부터 분리·확인한 휘발성 화합물 중 다량 함유되어 있거나 중요한 성분으로 판명된 α -pinene, bornyl acetate, linalool 및 terpinen-4-ol 등 4종의 물질에 대한 녹두의 발아 억제 효과를 조사하였다. linalool과 terpinen-4-ol에 의해서는 녹두의 종자가 전혀 발아하지 못하여 발아 억제효과가 매우 큰 것으로 보인다. 정유 내 화합물에 의한 녹두 유식물의 초기 성장 결과, α -pinene과 bornyl acetate에 대한 묘조와 유근의 생장은 농도에 따라 점점 억제되었고, linalool과 terpinen-4-ol에 대해서는 실험구에서 성장 반응이 나타나지 않을 만큼 강하게 억제반응이 나타났다. 생체량에 있어서 α -pinene의 경우 58 μ l 이상에서 유의한 영향을 미치고 있었으며, bornyl acetate의 경우에는 19 μ l 이상에서 감소하는 것으로 나타났으나 그 이후에는 통계적으로 유의한 차이를 나타내지는 않았다.

위의 결과를 종합해 볼 때, 정유 내에 포함된 서양등골나물의 알레로 화합물 중 생물검정에 사용된 α -pinene, bornyl acetate, linalool과 terpinen-4-ol은 식물의 발아 억제 효과를 나타내는 주요한 물질 중 하나로 생각되며, 특히 linalool과 terpinen-4-ol은 다른 식물의 생장을 감소시키는 데 탁월한 효과가 있음을 알 수 있었다.

인용문헌

고강석, 강인구, 서민환, 김정현, 김기태, 길지현, 류홍일, 공동수, 이

- 은복, 전의식. 1995. 귀화생물에 의한 생태적 영향 조사(I). 국립환경연구원 조사연구보고서, 서울. 215p.
- 곽승훈. 1993. 편백림 하층식생의 식물 생장에 미치는 allelopathy 영향. 원광대학교 대학원 이학박사학위논문, 이리. 122 p.
- 길봉섭, 김영식, 유현경, 신성은, 백순옥. 1997. 도입종 애기수영의 생태특성. 한국생태학회지 20 (6): 413-422.
- 길봉섭. 1999. 다른 식물에 미치는 사철쭉의 알레로파시 효과. 한국생태학회지 22 (1): 59-63.
- 길지현, 심규철, 전영문, 이호준. 2004. 남산에서의 임형과 토양 환경에 따른 서양등골나물의 분포 양상. 한국생태학회지 27(5): 291-300.
- 김용욱, 박종야, 이호준. 2003. 서양등골나물의 환경적응력: 중금속 축적과 phenolic compounds의 관계. 한국생태학회지 26(1): 5-12.
- 김종희, 김혜수. 1999. 돼지풀 잎의 성장기 동안 Monoterpenes 조성과 계절적 변이. 한국생태학회지 22 (3): 155-161.
- 김태영. 2000. 산국의 알레로파시 효과. 원광대학교 대학원 이학석사학위논문, 이리. 56p.
- 박종야. 1999. 서양등골나물의 Allelochemicals가 종자 발아와 유식물 성장 및 항균력에 미치는 영향. 건국대학교 대학원 이학석사학위논문, 서울. 47p.
- 서상우. 2001. 가중나무의 Phenolic Compounds에 의한 수 종 식물의 Bioassay와 항균활성. 건국대학교 대학원 이학석사학위논문, 서울. 64 p.
- 이호준, 김용욱, 장남기. 1997. 수 종 식물의 분비물질이 종자발아와 균류 생장에 미치는 알레로파시 효과. 한국생태학회지 20: 181-189.
- 한상미, 배기환, 최관삼. 1998. 미국자리공 (*Phytolacca americana*)에서 추출한 생물활성 물질의 동정 및 생물검정에 관하여. 한국생태학회지 21 (1): 35-46.
- Chou, C.H. and C.H. Muller. 1972. Allelopathic mechanisms of *Arctostaphylos glandulosa* var. *zacaensis*. Am. Midl. Nat. 88: 324-347.
- Chun, Y.J. H.W. Lee and E.J. Lee. 2001. Allozyme variation and population genetic structure of an invasive plant, *Ageratina altissima* (white snakeroot), in Seoul. Korean J. Biol. Sci. 5(4): 309-312.
- Halligan, J.P. 1976. Toxicity of *Artemisia californica* to four associated herb species. Amer. Midl. Nat. 95: 406-421.
- Heisey, R.M. and C.C. Delwiche. 1983. A survey of California plants for water extractable and volatile inhibitors. Bot. Gaz. 144 (3): 382-390.
- Kil, B.S. and Y.J. Yim. 1983. Allelopathic effects of *Pinus densiflora* on undergrowth of red pine forest. J. Chem. Ecol. 9: 1135-1151.
- King, R.M. and H. Robinson 1987. The genera of the *Eupatorieae* (Asteraceae). Missouri Botanical Garden, MO. pp. 427-436.
- Lee, H.S., H.M. Yoo and C.S. Lee. 2003. Distribution Pattern of white snakeroot as an invasive alien plant and restoration strategy to inhibit its expansion in Seoripool Park, Seoul. Korean J. Bio. Sci. 7: 197-205.
- Lee, S.Y., K.C. Shim and J.H. Kil. 2002. Phytotoxic effect of aqueous extracts and essential oils from southern marigold (*Tagetes minuta*). New Zealand J. Crop Horti. Sci. 30: 161-169.
- Mandava, N.B. 1985. Chemistry and biology of allelopathic agents. In A.C. Thompsom. ACS Symposium series, vol. 268. The chemistry

- of allelopathy-Biological interactions among plants. American Chemical Society, Washington, DC. pp. 33-54.
- Oleszek, W. 1987. Allelopathic effects of volatiles from some Cruciferae species on lettuce, barnyard grass and wheat growth. *Plant Soil* 102: 271-274.
- Pala-Paul, J., M.J. Cerez-Alonso, A. Velasco-Negueruela and J. Sanz. 2002. Analysis by gas chromatography-mass spectrometry of the volatile components of *Ageratina adenophora* Spreng., growing in the Canary Islands. *J. Chromatography A* 947: 327-331.
- Schreiner, O. and H.S. Reed. 1908. The toxic action of certain organic plant constituents. *Bot. Gazette* 45: 73-102.
- Shieh, B., Y. Iizuka and Y. Matsubara. 1981. Monoterpenoid and sesquiterpenoid constituents of the essential oil of hinoki (*Chamaecyparis obtusa*). *Agric. Biol. Chem.* 45: 1497-1499.
- Stahl, E. 1973. *Thin-layer chromatography* (2nd ed.). G. Allen and Unwin (eds.). Springer-Verlag. 208 p.
- Suh, M.H., Y.M. Lee, K.D. Kim and J.H. Kil. 1997. Characteristics and distribution pattern of *Eupatorium rugosum* at Mt. Namsan in Seoul. *Korean J. Ecol.* 20 (4): 285-291.
- Yoo, H.G. 2000. Allelopathic effects of essential oils of some plant species in *Artemisia* on selected plants and microbes. Doctoral Dissertation. Wonkwang Univ., Iksan, Korea. 144p.
- Yun, K.W. 1991. Allelopathic effects of chemical substances in *Artemisia princeps* var. *orientalis* on selected species. Doctoral Dissertation. Wonkwang Univ., Iri, Korea. 90p.
(2005년 3월 7일 접수, 2005년 6월 15일 채택)

K C I