

알팔파 연작장해에 관여하는 타감작용 물질의 탐색 및 생물검정

전인수* · 김명조* · 허장현* · 유창연* · 조동하* · 김이훈*

Bioassay of Allelopathy Substance Related Injury by Successive Cropping in Alfalfa(*Medicago sativa* L.)

In Soo Jeon*, Myung Cho Kim*, Jang Hyun Hur*, Chang Yeon Yu*,
Dong Ha Cho* and E Hun Kim*

ABSTRACT: This experiments were conducted to determine the effect of allelopathy and autotoxicity in alfalfa. Among several alfalfa cultivars, the substances exudated from seven cultivars including *Medicago sativa*, c.v. Luna, Sparta, Magnum, Husky, Milkmaker, Challenger and Anchor inhibited the germination and seedling growth of radish, ranging from 60 to 80%. When allelopathic substances were exudated from the soil of the alfalfa-cultivated field, the increased levels of substance retarded the germination rate and seedling growth of radish and alfalfa. The inhibition rate was about 80%, compared with that of control. Thus, this study indicates that the allelopathy and autotoxicity substances of alfalfa influenced the germination and seedling growth in alfalfa itself and radish. When allelopathic substances were analysed by using gas chromatograph, several kinds of phenol compounds were detected as follows: Salicylic acid, hydroxybenzoic acid, vanillic acid, syringic acid, coumaric acid, and ferulic acid.

Key words: Allelopathic, Autotoxicity, Phenol compounds, Alfalfa.

식물체내에서 분비 또는 잔여물에서 용출되는 화학물질이 다른 식물에 직접 또는 간접적으로 억제작용을 미치는 식물간의 상호작용을 allelopathy라 하는데 작물의 연작장해, 토양내 유해물질적, 초지생태계의 천이 등이 작물의 생육 및 수량에 큰 영향을 미친다^{1,2)}. Allelopathy는 상호억제작용을 나타내는 것으로 종간에 있는 것이 대부분이나 Autotoxicity라 하여 종내에 존재하는 것도 있다^{4,7,15)}. Allelopathy를 일으키는 물질은 주로 phenol compounds로 알려져 있고²⁾, 그외 tannin⁸⁾, alkaloid compounds^{3,7)}로 allelopathy

작용을 하는 것으로 보고되고 있다. 자연계에는 수많은 식물들이 이러한 물질을 함유하고 있으며 특히 맥류인 호밀¹⁶⁾, 보리, 밀¹⁰⁾, 수수^{12,13,14)} 및 알팔파¹⁹⁾에 이러한 allelopathy물질이 함유되어 있다고 알려져 있다. 알팔파는 영년생 콩과사료작물로 사료생산만을 목적으로 재배한 작물들 중에서 재배역사가 가장 오래된 작물로서 근래에는 토양보존과 토양중의 유기물함량을 높이고, 특정잡초를 방제하는 효과^{1,2)}를 가지고 있다.

알팔파 재배지에서의 연작장해는 토양 이화학적 특성의 악화와 토양 미생물상의 변화¹⁷⁾ 등으로

* 강원대학교 농업생명과학대학(College of Agriculture and Life Science, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea) <96. 12. 26 接受>

서 밝혀지고 있으며 토양의 이화학적인 원인으로
 는 동일작물의 연작재배시 특정성분을 계속하여
 다량 흡수 이용하기 때문에 뿌리로부터 분비되는
 유해물이나 作物遺體에서 나온 유독물질이 연작
 에 의해 토양내에 축적되면 동일종이나 근연종 작
 물생육에 지장을 초래하는 원인이 발생한다는 것
 이다. 따라서 본실험은 이들 allelopathy와 auto-
 toxicity 물질을 함유한 것으로 알려진 알팔파 식
 물을 이용하여 알팔파 연작 재배지에서의 연작장
 해원인이 allelopathy물질에 의한 것인지 구명하
 고 이들 allelopathy물질이 알팔파, 무우의 발아
 및 초기생육에 어떠한 영향을 미치는가에 대한 특
 성을 조사하고 표준 물질과 분석 실험으로 활성물
 질의 유무를 밝히고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시재료로 사용된 알팔파는 수원 축산시험장
 에서 분양받은 14개 품종이며 알팔파 종자를 증류
 수에 넣은 다음 24시간 진탕후 물질을 추출하였고
 식물체는 강원대학교 농장 실험 포장에서 재배,
 수확하여 실험실에서 1주일간 음건시킨 후 건조
 기에서 70℃로 하여 건조후 분쇄기로 분쇄한 다음
 추출하였다. 토양은 3년간 알팔파를 재배한 재배
 지 토양과 비재배지 토양을 채취하여 생물검정에
 사용하였으며, 생물검정에는 무우와 알팔파를 파
 종하여 10일후 발아율, 길이, 무게를 측정하였다.

1. 알팔파 종자 추출물이 무우의 발아 및 생육 에 미치는 영향

알팔파 종자를 증류수로 한 번 세척한 후 다시
 증류수로 24시간 동안 담그어 둔 후 추출된 용액
 을 0, 5, 10%가 되게 하였다. 무우 처리는 증류수
 만을 사용하여 샤페(9cm)에 여과지(Whatman
 No. 1)를 깔고 추출물의 농도를 5ml 분주한 후
 10일째 되는 날 무우의 전체 발아율, 줄기길이와
 무게, 뿌리길이와 무게를 측정하였다.

2. 알팔파 재배지 토양 추출물이 무우의 발아 및 생육에 미치는 영향

알팔파를 3년 재배한 토양에서 토양을 채취하

여 증류수로 48시간동안 shaking한 다음 추출된
 용액을 0, 10, 50(w/v)가 되게 하였다. 무처리는
 증류수만을 사용하였으며, 샤페(9cm)에 여과지
 (Whatman No. 1)를 깔고 추출물의 농도를 각각
 5ml 분주한 후 15일째 되는 날 무우의 전체 발아
 율, 줄기길이와 무게, 뿌리길이와 무게를 측정하
 였다.

3. 알팔파 재배지, 비재배지 토양이 알팔파 및 무우의 발아 및 생육에 미치는 영향

알팔파 재배, 비재배지 토양에서 각각의 토양을
 취한 후 16.5×8×7(cm) pot에 담고 알팔파 및
 무우 종자를 세척후(water:chlorox, 10:1), pot
 당 20립씩 파종후 15일간 발아율을 조사하였고,
 줄기길이와 무게, 뿌리길이와 무게 등을 측정하였
 다.

4. 알팔파 식물의 생리활성물질 분석

알팔파의 상호대립억제작용을 나타내는 물질을
 분석하기 위한 조건은 다음과 같다.

1) GC 분석 및 기기조건

-
- A. Instrument : Gas Chromatograph HP 5890
 Series II (Hewlett Packard U. S. A)
 - B. Detector : Nitrogen phosphorus detector
 - C. Column : Capillary column(20m×0.530mm
 I.D)HP-1 100% dimethylpolysiloxame(Gum)
 - D. Temperature : Injection port 250℃, Oven
 130~230℃, Detector 270℃ (Tem. /minute)
 - E. Gas flow : Nitrogen (N₂) 5.00ml /min,
 Hydrogen(H₂) 3.5ml /min, Air 110.00ml /min
 - F. Attenuation : 2[~]=3
 - G. Chart speed : 0.5 inch /min
 - H. Injection volumn : 1μl
-

표준 phenol compounds는 Sigma제품을 사용
 하였고 알팔파 시료는 15g의 건조분말을 사용하
 였다. 추출방법은 그림 1에 나타내었다.

2) 검량선 작성

로 10일동안 재배한 결과 7개 품종에서 줄기, 뿌리 생육을 억제하는 것으로 나타났으며, 특히, milkmaker의 추출물이 알팔파 생육을 억제하는 정도가 심한 것으로 나타났다. 또한 추출액의 농도가 증가하면서 생육이 거의 억제가 되는 것을 보였다(그림 3-B,C). 본 실험의 결과는 알팔파가 allelopathy물질을 함유하고 있으며 오이⁷⁾, 무우^{20,19)}, 알팔파^{4,5)}의 발아 및 성장을 억제하였다는 다른 연구자들의 결과와 일치하였다. 또한 알팔파 품종간에도 종자 추출물을 이용한 생물검정시 무우억제 정도가 다르게 나타났는데, 이러한 결과는 품종간에 억제물질 함유량의 차이에 기인한 것으로 사료되며 유 등²¹⁾도 호밀 추출물이 품종에 따라 잡초종자의 발아 및 생육에 미치는 정도가 다르다고 보고하였다.

2. 알팔파 재배지 토양추출물이 무우의 발아 및 생육에 미치는 영향

1) 발아율

알팔파 재배지 토양추출물이 무우의 생육억제 정도를 조사하기 위해 추출액을 0, 10, 50% (w/v)의 농도로 추출하여 무우 종자에 처리하였다. 발아율은 농도가 증가하면서 알팔파 종자 발아를 억제하는 경향을 보였으며 50%(w/v)농도에서는 무우종자 발아가 15% 정도 억제하는 결과를 보여, 정과 김 등¹⁵⁾의 결과에서 알팔파 재배토양 추출물이 콩과 옥수수 등의 발아 및 생육에 억제되는 결과를 보인 것과 비슷한 결과를 보였다(그림 4-A.).

2) 줄기, 뿌리 생육

알팔파 재배지 토양추출물을 0, 10, 50% (w/v)의 농도로 증류수를 이용하여 추출하였고, 추출액을 petri dish에 5ml씩 분주하여 무우 종자 50립씩 처리하여 15일간 발아상에서 재배하였다. 농도가 증가하면서 줄기길이 및 뿌리길이뿐만 아니라 줄기, 뿌리 생체중이 무처리구에 비해 많은 억제효과를 보이는 것으로 나타났다(그림 4-B, C).

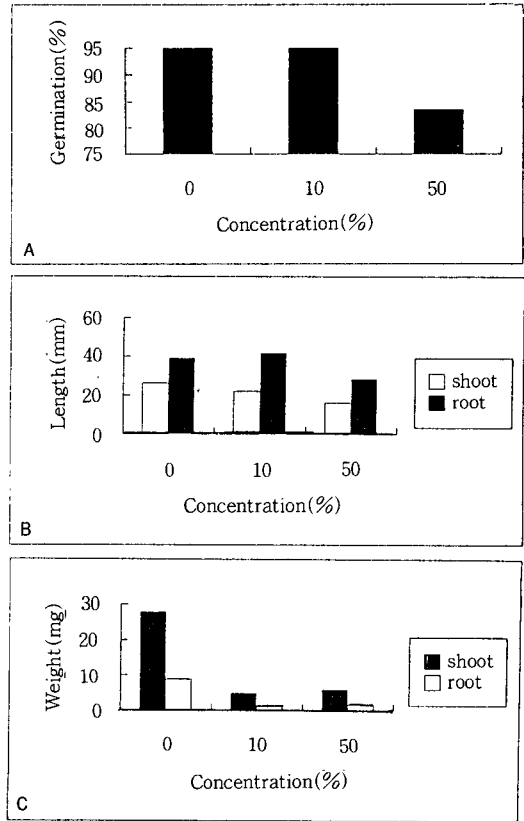


Fig. 4. The effects of alfalfa-residue exudates on the germination and seedling growth of radish in tillage soil 15 days after planting.

3. 알팔파 재배지와 비재배지 토양이 알팔파 및 무우의 발아 및 생육에 미치는 영향

1) 발아율

알팔파 재배지 토양과 비재배지 토양에 allelopathy 및 autotoxicity물질 축적 정도를 실험하기 위해 재배지와 비재배지 토양을 취하여 162.5×8×7(cm) pot에 무우(F₁ Hybrid White Rat)종자와 알팔파(Vernal)종자를 각각 20립씩 파종하였다. 파종후 3일째부터 발아율을 조사하였더니 재배지는 비재배지 토양에 비해 80%이상

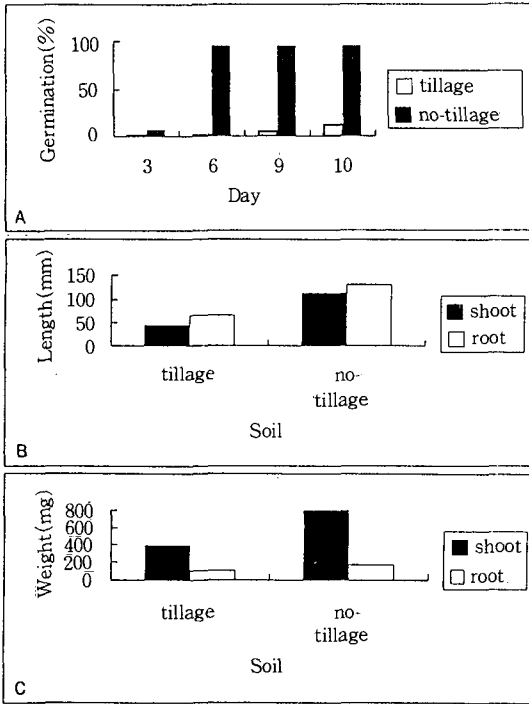


Fig. 5. The effects of allelopathy on the germination and seedling growth of radish in alfalfa tillage and no-tillage soil after 15 days planting.

의 발아 억제를 보였으며 10일째 되는 날까지도 80% 이상의 발아억제 현상이 지속되는 것을 관찰하였는데(그림 5-A), 이 원인은 allelopathy 물질이 토양에 잔류되었다가 억제하는 것으로 생각되며, 알팔파 종자발아에서도 40~50% 이상 억제하는 결과를 보여(그림 6-A) 재배지 토양에 autotoxicity 물질이 잔류되어 있는 것으로 생각된다.

2) 줄기, 뿌리 생육

알팔파 재배토양이 무우와 알팔파 생육에 미치는 영향을 조사하기 위해 16.5×8×7(cm) pot에 재배지, 비재배지 토양을 담고 20립씩 파종하여 15일동안 재배한 결과 무우는 줄기길이보다 줄기 무게의 차이가 뚜렷하였으며, 뿌리길이에서도 재배지보다 비재배지에서 길어지는 경향이었으나 생체중은 길이에 비해 상당한 억제효과를 확인할

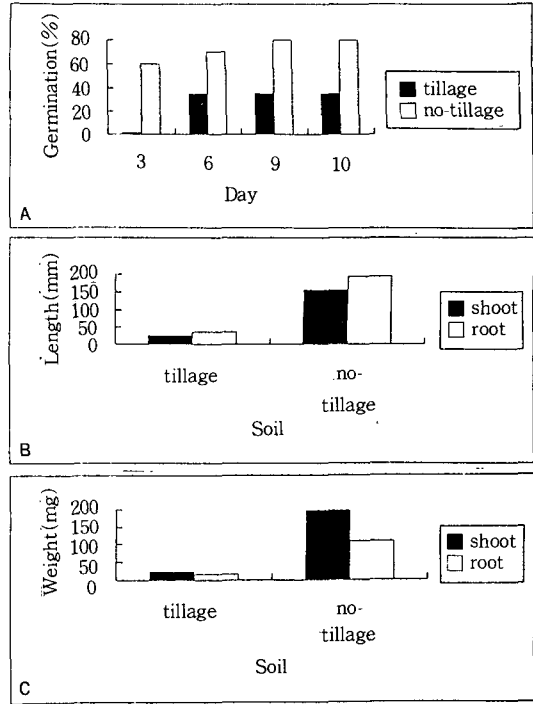


Fig. 6. The effects of autotoxicity on the germination and seedling growth of alfalfa in alfalfa tillage and no-tillage soil after 15 days planting.

수 있었다(그림 5-B,C). 알팔파 재배지 토양은 비재배지 토양보다 줄기, 뿌리의 길이 및 생체중 모두 뚜렷한 억제를 보였다(그림 6-B,C). 이는 Chung과 Miller⁵⁾는 알팔파 재배지 토양에 알팔파 종자를 파종하였을 때 알팔파종자의 발아 및 줄기, 뿌리 생육을 억제하였다는 결과와 일치하였으며, 이는 알팔파 재배지 토양속에 축적 물질이 알팔파 종자 발아 및 생육에 영향을 주어 연작장해 원인이 되는 것으로 사료된다.

4. 알팔파 식물의 생리활성물질 분석

먼저 알팔파 식물을 채취하여 1차적으로 음건한 후 72시간동안 열건조 후 40 mesh로 분쇄하여 줄기, 뿌리 부분으로 구분하여 15g을 취한 후 그림 1과 같은 추출과정에 의해 추출한 후 gas chromatograph에 의해 시료를 주입하여 검출된 자료를 표준시료로 얻은 자료와 비교하여 얻고자

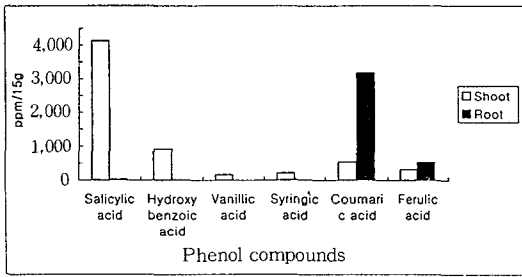


Fig. 7. Phenolic compounds analysis of the alfalfa.

하는 성분을 정량분석하여 얻은 결과는 그림 7과 같다. 알팔파 부위별 phenol compounds의 양은 줄기부분과 뿌리부분이 다소 차이가 있으나 줄기에는 salicylic acid가 65%를 차지하여 가장 많

은 양이 함유되어 있었다. 뿌리에는 coumaric acid가 84%를 차지하여 함유량이 가장 많은 것으로 확인되었다. 또한 줄기에서는 syringic acid가 가장 적게 함유되어 있었으며 적게 함유되어 있었으며 뿌리에서는 vanillic acid가 가장 적게 함유되어 있었다. 알팔파 phenol compounds의 gas chromatograph에 의한 분석결과는 그림 8-A, B와 같다.

Allelopathy에 관여하는 물질에는 많은 종류의 물질이 관여하는 것으로 보고되었는데, 수수^{12,13, 14}, 알팔파^{4,7}, 해바라기¹⁸, 호밀¹⁶에서는 phenol compounds가 allelopathy물질 중의 하나라고 보고되고 있다. 또한 Dornbos⁶은 알팔파 잎에서 allelopathy에 관여하는 물질로 Medicarpin, Sativan, 4-Methoxy Medicarpin을, 유 등²¹은

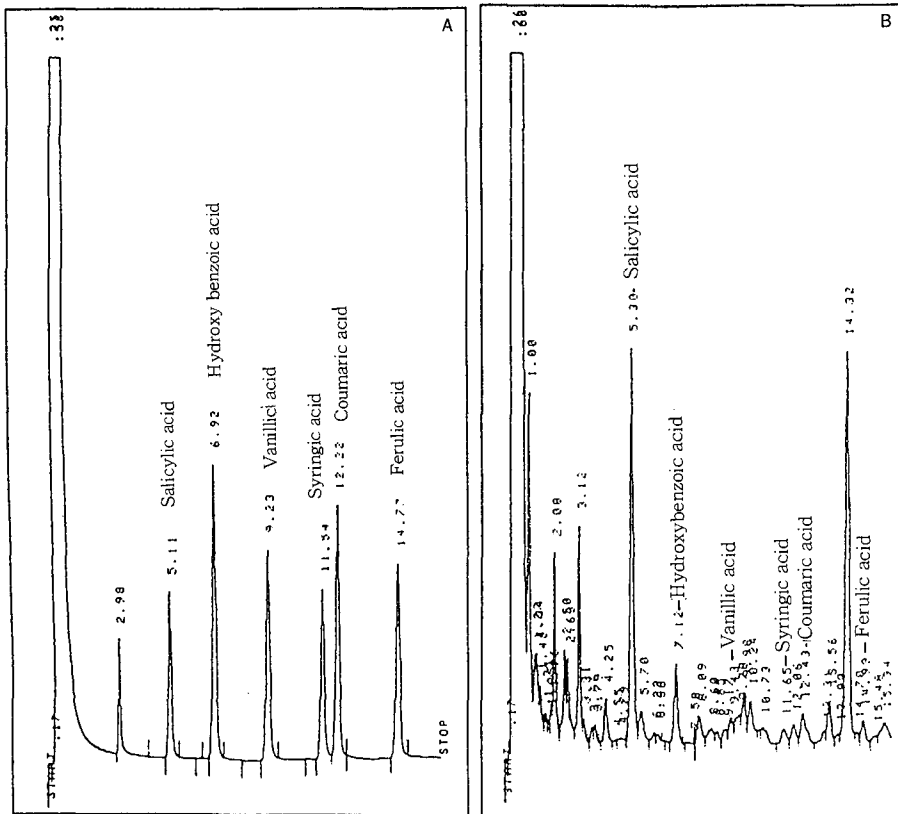


Fig. 8. Phenolic compounds analysed by GC(gas chromatography). (A: Standard, B: Alfalfa extract)

HPLC에 의한 분석결과 saponin종류가 알팔파의 allelopathy에 관여하는 것으로 보고되었다. 알팔파 식물체에서 phenol compounds의 양은 줄기부분이 뿌리부분보다 더 많이 함유되어 있었는데 이는 콧과 김¹³⁾의 보리분석시 줄기부분이 뿌리부분보다 더 많은 양이 함유되었다는 보고와 일치하였으며 알팔파는 다른 allelopathy 물질을 함유한 식물체와 달리 allelopathy물질뿐만 아니라 autotoxicity물질을 함유하고 있는 것을 알 수 있으며, 이러한 autotoxicity물질은 알팔파를 연작하였을 때 연작장해 원인의 한 요인이 되는 것으로 사료된다. 즉 어떤 작물을 계속 같은 토양에 몇 년 재배하였을 때 autotoxicity물질을 분비하여 토양에 축적됨으로써 축적된 물질을 좋아하는 병원균이 만연하게 되고 축적물질이 자가독성을 나타냄으로써 연작장해 원인이 되는 것 같으며, 알팔파의 연구결과는 연작장해를 일으키는 다른 작물의 원인구명을 위한 기초자료가 될 것이다.

적 요

알팔파 종자와 재배지 토양의 추출물이 알팔파 및 무우의 발아 및 생육에 미치는 영향과 이들 물질을 구멍코자 수행한 결과를 요약하면 다음과 같다.

- 1) 알팔파 종자 추출물의 무우생육에는 Luna, Sparta, Magnum, Husky, Milkmaker, Challenger, Anchor의 7개 품종에서 60~80% 생육억제 효과를 보였다.
- 2) 알팔파 재배지 토양잔류추출물을 이용한 무우 생육조사는 추출물의 농도가 증가하면서 발아 억제 및 줄기, 뿌리 등의 생장억제에 관여하는 것으로 나타났다.
- 3) 알팔파 재배토양으로 알팔파와 무우 생육실험 시에는 80%의 발아억제를 보이면서 줄기와 뿌리의 길이 및 생체중에서도 큰 차이를 보여 allelopathy와 autotoxicity가 관여하는 것으로 사료된다.
- 4) 위 실험을 통해 관여하는 물질의 활성을 분석하기 위해 조사한 결과 표준 phenol compounds와 식물부위별 추출물을 비교 분석하

였더니 salicylic acid, p-hydroxybenzoic acid, vanillic acid, syringic acid, p-coumaric acid, ferulic acid 등의 7가지 acids를 분리동정할 수 있었다.

LITERATURE CITED

1. Belvins R.L, O Cooke, S.H Phillips and R.E Phillips. 1971. Influence of no-tillage on soil moisture. Agron. J. 63:593-596.
2. Bhowmik P.C and J.D Doll. 1984. Allelopathic effect of annual weed residues on growth and nutrient uptake of corn and soybeans. Agron. J. 76:383-388.
3. 장남기, 이인숙, 김종희, 이용상, 강혜순, 오인혜 공저. 1993. 생태학. 아카데미서적. pp. 265-275.
4. Chung I.M. 1994. Allelopathy and autotoxicity studies and allelochemicals isolation and identification of alfalfa(*Medicago sativa* L.). University of Illinois. Ph. D. Thesis, U.S.A.
5. ———, and D.A Miller. 1995. Effect of Alfalfa plant and soil extracts on germination and growth of Alfalfa. Agron. J. 87:762-767.
6. Dornbos D.L, G.F Spencer and R.W Miller. 1990. Medicarpin delays alfalfa seed germination and seedling growth. Crop Sci. 30:162-166.
7. Ellis J.E and A.E Mcsay. 1991. Allelopathic effects of alfalfa plant residues on emergence and growth of cucumber seedlings. Hortscience. 26(4):368-370.
8. Green F.B and M.R Corooran. 1975. Inhibitory action of five tannins on growth induced by several gibberellins. Plant Physiol. 56:801-806.
9. Hall M.H and P.R Henderlong. 1989. Alfalfa autotoxic fraction characterization

- and initial separation. *Crop Sci.* 29:425-428.
10. Hicks S.K, C.W Wendt, J.R Gannaway and R.B Baker. 1989. Allelopathic effects of wheat straw on cotton germination, emergence, and yields. *Crop Sci.* 29:1057-1061.
 11. Kwak S.S and K.U Kim. 1984. Effects of phenolic acids identified from barley residues on the germination of paddy weeds. *K.J. Weed Sci.* 4(1):39-51.
 12. Kim S.Y, S.K Datta and R.P Robles. 1994. Allelopathic effect of sorghum extract and residues on selected crop and weeds. *K.J. Weed Sci.* 14(1):34-41.
 13. _____, _____ and _____. 1994. Partial characterization of allelopathic substances in sorghum stem by different organic solvents and pH. *K.J. Weed Sci.* 14(1):42-48.
 14. _____, _____ and _____. 1994. Isolation and characterization of allelopathic substances from sorghum stem. *K.J. Weed Sci.* 14(2):156-162.
 15. Kim K.J, I.M Chung K.H Kim and J.K Ahn. 1993. Allelopathic influence of alfalfa and residues on soybean and corn. *K.J. Crop Sci.* 39(3):295-305.
 16. Lee D.Y. 1995. Effect of Allelopathic compounds of Rye(*Secale cereale* L.) on the germination and growth of various weeds. M.S. Thesis Kangwon National Uni.
 17. 이성재. 1995. 시설원예지 토양관리와 시비기술. 연작장해원인과 경감대책. 농촌진흥청 원예연구소. 원예과 특강자료.
 18. Leather G.R. 1983. Sunflower(*Helianthus annuus*) are allelopathic to weeds. *Weed Sci.* 31:37-42.
 19. Nakahisa K, E Tsuzuki, H Terao and S Kosemura. 1994. Study on the allelopathy of alfalfa(*Medicago sativa* L.) *Jpn. J. Crop Sci.* 63(2):278-284.
 20. _____, _____ and T Mitsumizo. 1993. Study on the allelopathy of alfalfa (*Medicago sativa* L.) *Jpn. J. Crop Sci.* 62(2):294-299.
 21. Yu C.Y, E.H Kim and K.H Yu. 1994. Weed control of major industrial crops by allelopathic plants. RDA.