

대파 뿌리 분비물내의 국화 생장 억제 활성물질 분석

최상태 · 안형근 · 박인환^{1*}

경북대학교 원예학과, ¹경북대학교 조경학과

Analysis of Activative Inhibitors of Chrysanthemum from Root Exudate of *Allium fistulosum*

Choi Sang-Tai · Ahn Hyung-Geun · Park In-Hwan^{1*}

Dept. of Horticulture, Kyungpook Nat'l Univ., Taegu 702-701, Korea

¹Dept. of Landscape Architecture, Kyungpook Nat'l Univ., Taegu 702-701, Korea

ABSTRACT

Chrysanthemums showed worse grow or wilt to death during summer at the field which is *Allium fistulosum* (welsh onion) plants had been cultivated. This study was carried out to analysis of activative inhibitors of chrysanthemum from root exudate of *Allium fistulosum*. Bioassay experiments with welsh onion root exudate were conducted and the biologically active compounds were determined. The results were obtained as follows.

The root exudate of welsh onion inhibited root and hypocotyl growth of chrysanthemum and lettuce at low concentration(10ppm). The inhibitory effects was higher in closed bottom box but with drain hole than in open bottom box plot. The inhibitory substance contained in root exudate was analysed as vanillic acid. This phenolic acid was also detected in stem-leaf and root of welsh onion.

Key words: bioassay, vanillic acid, chrysanthemum, *Allium fistulosum*

서 론

최근 골프장과 같이 대규모로 잔디를 조성하여 관리를 하는 곳에서 행하는 과도한 농약 사용으로 인하여 끊임없이 환경오염문제를 야기

시키고 있어, 식물성 농약의 개발에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 본 연구는 식물성 제초제의 개발을 위하여 파屬(*Allium* spp.) 식물의 추출물이 다른 식물의 생육에 미치는 영향에 관한 결과 중 일부이다. 일반적으로 대파를 재배하고 난 뒤 後作으로 菊花 挿芽 苗를 심어 재배할 때 생육이 저해되고 枯死하는 현상이 빈번히 발생되고 있어, 국화 생산에 많은 지

*corresponding author

※ This research was supported by SGRP-HTDP (High-Technology Development Project for Agriculture and forest) in 1995.

장을 초래하고 있다(Choi 등, 1993). 筆者 등은 대과 수확 후 토양에 남은 경엽 및 뿌리 殘渣內에 국화의 생육을 억제시키는 원인 물질을 分析한 결과 vanillic acid와 β -sitosterol을 同定하였다(Choi 등, 1998). 이 물질들은 5-25 ppm 정도의 저농도에서도 국화 및 상추의 유묘생육을 30% 이상 억제시킬 정도로 활성이 강했다. 한편 대과 수확 후 경엽 및 뿌리의 殘渣를 모두 제거시킨 후 국화 유묘를 정식하였을 때도 생장이 억제되는 것이 확인되어(Choi 등, 1997), 대과 생육 중 뿌리에서 分泌되는 물질 내에도 국화의 생장을 억제시키는 活性物質이 內在 있음을 示唆하고 있지만 이에 관한 報告는 아직까지 없다.

본 실험은 대과 뿌리 分泌物를 수집하여 生物檢定을 통해 生理 活性를 조사하는 한편, TLC와 HPLC를 사용하여 抑制物質의 分析을 실시하여 경엽 및 뿌리 내에 있는 抑制物質과 동일한 것인지, 아니면 전혀 다른 물질인지를 究明하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

1. 뿌리 分泌物의 生理 活性 조사

경북대학교 포장에서 재배 중인 '금강의대과'를 1997년 12월에 굴취하여 뿌리를 제거시키고 깨끗이 수세한 후 hydrogen peroxide와 sodium hypochlorite로 표면 살균하였다. 이를 200ml의 멸균수가 채워진 직경, 높이가 각각 10, 17cm인 유리 용기 10개에 용기당 5포기씩 심어 25°C, 24시간 명조건의 배양실에서 60일간 수경 재배 한 후 용기 내의 液을 수집하였다. 수집액을 원심분리하여 잔사를 제거한 후 37°C 하에서 진공감압 후 乾固시켜 98mg의 액기스를 획득하였다. 이를 50ml의 증류수에 용해시켜 뿌리 分泌物의 원액으로 사용하였다. 이

원액을 희석하여 0, 10, 100, 200, 300, 400, 500, 700 및 1,000ppm이 되도록 각각 조정하여 生物檢定에 사용하였다. 生物檢定은 직경 10cm의 페트리디쉬에 濾過紙(Toyo NO. 2)를 2매씩 깔고 각 농도별 組抽出液을 7ml씩 주입한 후 국화 'Golden Glory'와 상추 'Grand Rapids'의 종자를 25립씩 파종하였다. 각 처리는 2반복 완전임의배치법으로 하였고 25°C, 24시간 명상태로 국화는 17일간, 상추는 10일간 각각 배양한 후 유근 및 하배측의 신장을 조사하였다.

2. 뿌리 分泌物 내의 抑制物質 分析

수경 재배 한 후 뿌리에서 얻은 分泌物 액기스 76mg을 100ml의 증류수에 완전히 용해시킨 후 300ml의 Ethyl acetate로 分配 抽出하여 移行 層만 취하였다. 이를 진공감압하여 완전히 건조시킨 후, 無水 methanol 1ml를 첨가 용해시켜 分析용으로 사용하였다. 이를 TLC plate (Merck Art. 5715)에 전개 후 UV 254nm 및 FeCl₃로 검색한 결과, phenolics의 일종으로 추정되는 물질이 內在되어 있음을 확인하였다. 따라서 前報(Choi 등, 1985)에서 대과의 莖葉 및 뿌리로부터 동정한 vanillic acid가 뿌리 分泌物 내에 존재하는가를 알아보기 위해 뿌리 分泌物와 표준품 vanillic acid를 TLC plate에 점적한 후 전개용매의 조성을 ①Toluene : Chloroform : Acetone = 45 : 25 : 35(v:v:v), ②Benzene : Dioxane : Acetic acid = 90 : 16 : 4(v:v:v), ③Benzene : Methanol : Acetic acid = 90 : 16 : 8(v:v:v)로 달리하여 전개시킨 후 UV 254nm 하에서 검출하여 표준품과 뿌리 分泌物과의 Rf 값을 비교하였다. 또한 뿌리 分泌物 내의 억제물질이 vanillic acid와 동일 물질인지를 구체적으로 확인코자 HPLC (Model 510, Waters)를 사용하여 分析하였다. 이때 검

출과장은 PDA detector (Model Waters 996)로 vanillic acid의 흡광도를 scanning 한 후 최대 흡수파장을 이용하였다. 그 외 分析條件은 Table 1과 같다.

결 과

1. 뿌리 分泌物이 국화와 상추의 유묘생육에 미치는 영향

생육중인 대파의 뿌리로부터 分泌된 물질을 수집하여 국화와 상추 종자로 生物檢定한 결과

(Fig. 1), 두 작물 모두 幼根 및 하배측의 생육이 10ppm의 저농도부터 대조구에 비해 억제되기 시작하였으며 농도가 증가함에 따라 억제 정도가 커지는 경향이였다. 즉, 상추에서는 유근의 생육이, 국화에서는 하배측의 생육 억제 정도가 더욱 뚜렷하였다. 前報(Choi 등, 1998)의 경엽 및 뿌리 粗抽出物의 활성을 연구한 결과와 비교해 보면 동일 농도에서 뿌리 分泌物이 菊花科 作物의 뿌리 신장을 20~40% 정도 더 강하게 억제시키는 것으로 확인되었다.

Table 1. The operating conditions for the analysis of vanillic acid from root exudate of *Allium fistulosum* by HPLC.

Items	Conditions
Instrument	Waters 510
Column	μ -Bondapak C ₁₈ (ID 3.9×300mm)
Mobile phase	0-5 min : H ₂ O (100%) 15 min : CH ₃ CN : H ₂ O (20 : 80%) 20 min : CH ₃ CN : H ₂ O (50 : 50%) 32 min : CH ₃ CN : H ₂ O (50 : 50%) 32-50 min : CH ₃ CN : H ₂ O (10 : 90%) 55 min : H ₂ O (100%)
Flow rate	1ml/min
Integrator	Waters model 746
Injection volume	20 μ l

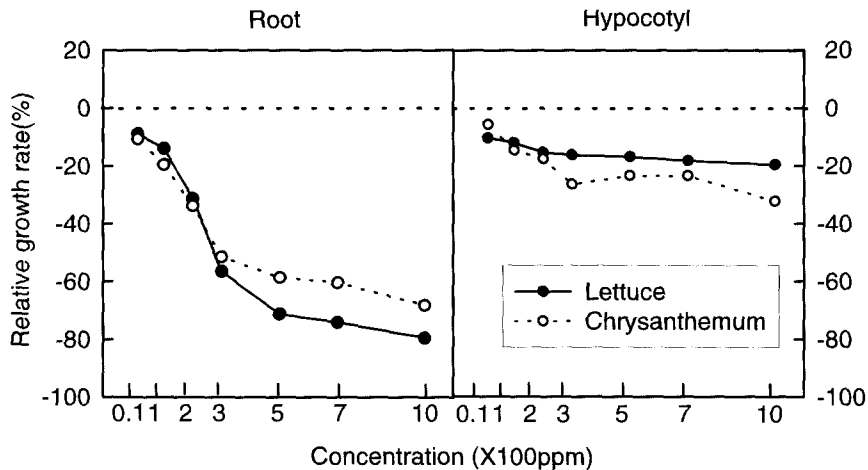


Fig. 1. Effect of root exudates from *Allium fistulosum* on growth of chrysanthemum 'Golden Glory' and lettuce 'Grand Rapids' seedlings. Horizontal dot line represents control.

2. 뿌리 分泌物 내의 抑制物質 分析

上記의 결과로 보아 대파 뿌리 分泌物 내에는 국화의 생육을 억제시키는 活性物質이 內在 되어 있는 것으로 확인되어 뿌리 分泌物로부터 抑制物質의 分析을 시도하였다.

뿌리 分泌物내의 억제 활성을 가진 물질을 조사하기 위하여 ethylacetate 이행 물질을 TLC 에 전개한 후 UV 254nm 및 FeCl₃로 검색한 결과, 뿌리 分泌物 내에는 phenolics의 일종이 內在 되어 있는 것으로 확인되었다. 따라서 vanillic acid가 뿌리 分泌物 내에 존재하는 가를 알아보기 위해, 뿌리 分泌物과 표준품 vanillic acid를 TLC 상에 점적한 후 조성이 다른 3가지 용매로 전개하여 두 물질의 Rf값을 비교한 결과(Fig. 2), Toluene : Chloroform : Acetone = 45 : 25 : 35, Benzene : Dioxane

: Acetic acid = 90 : 16 : 4 및 Benzene : Methanol : Acetic acid = 90 : 16 : 8 (v/v/v) 의 전개용매에서 뿌리 분비물과 vanillic acid 가 동일 Rf 치에서 관찰되었다.

상기의 억제 물질이 vanillic acid와 동일한 지를 좀 더 명확히 구명하기 위해 HPLC를 사용하여 分析한 결과(Fig. 3), 대파 뿌리 分泌物의 검출치 중 7.45분에서 검출된 peak가 표준품 vanillic acid의 retention time과 일치하는 것으로 확인되어, 대파의 뿌리 分泌物 내에는 경엽 및 뿌리에서 동정한 vanillic acid가 內在 되어 있음을 알 수 있었다.

고 찰

식물의 뿌리로부터 分泌되는 물질이 타 식물

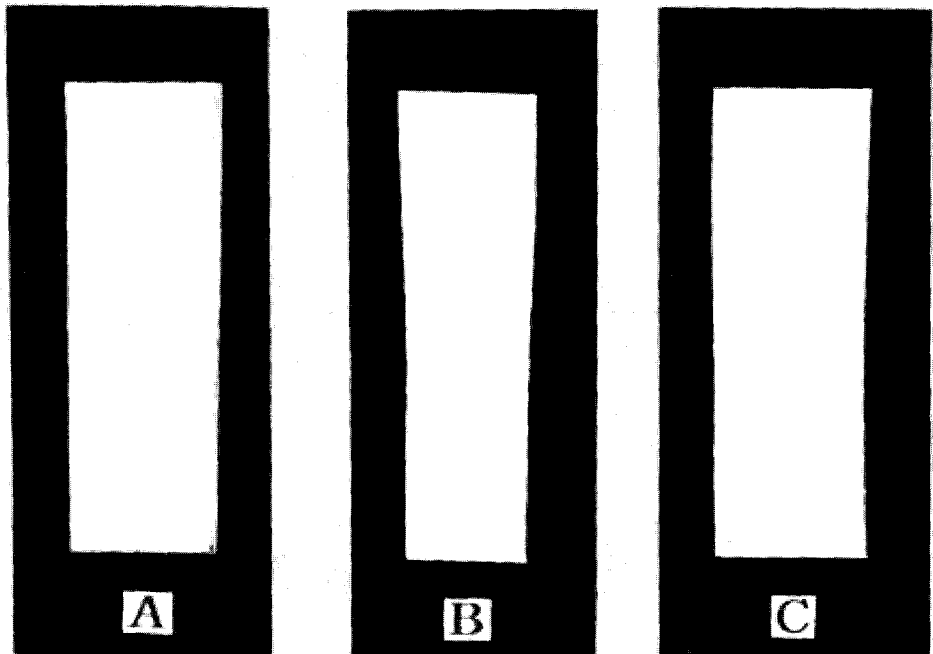


Fig. 2. Comparison of TLC between root exudate and authentic vanillic acid.

A : Toluene : Chloroform : Acetone = 45 : 25 : 35 (v/v/v).

B : Benzene : Dioxane : Acetic acid = 90 : 16 : 4 (v/v/v).

C : Benzene : Methanol : Acetic acid = 90 : 16 : 8 (v/v/v).

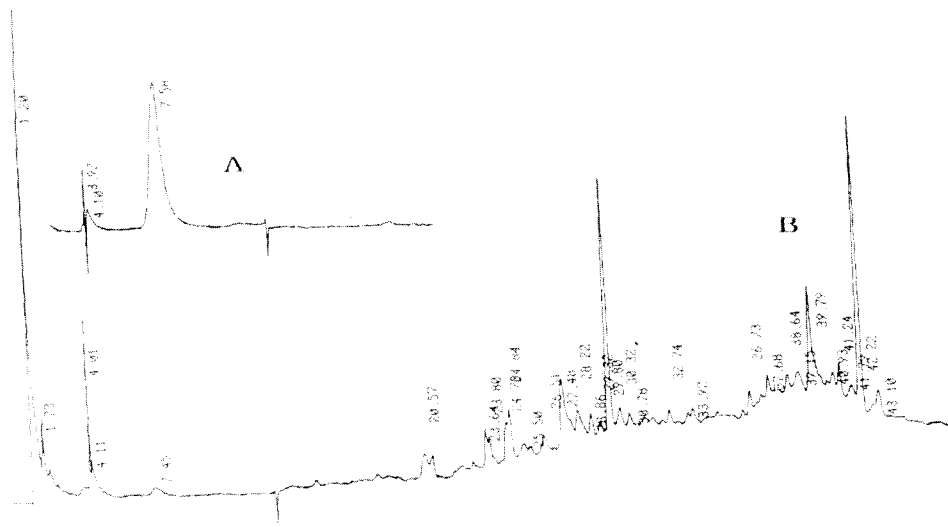


Fig. 3. HPLC chromatogram of authentic vanillic acid(A) and root exudates(B) of *Allium fistulosum*.

의 생육에 관여하고 있다는 연구 보고가 많다. 즉, 아스파라거스의 뿌리 分泌物이 동종인 아스파라거스의 유묘생육(Young, 1986)을, 루피너스의 뿌리 分泌物이 보리의 생육을, 콩, johnsongrass 및 prickly sida의 뿌리 分泌物이 사탕무의 발아(Demos 등, 1975)를, *Portulaca oleracea*, *Sorghum halapense*와 목화의 뿌리 分泌物이 *Lantana camara*의 종자발아 시 유근의 신장(Pope 등, 1985)을 각각 억제한다고 보고하고 있다. 이들 뿌리 分泌物은 식물의 종류, 연령, 온도, 광, 식물의 영양상태, 미생물 및 토양습도 등에 의해 크게 좌우되며 일반적으로 생육에 불량한 환경에 처할수록 分泌量은 증가하는 것으로 알려져 있다(Pope 등, 1985; Rice, 1984; Rovira, 1985). 지금까지 밝혀진 뿌리로부터 分泌되는 물질로는 chlorogenic acid, melilotic acid, gallic acid, o-coumaric acid, piperic acid, 2-furanacrylic acid, p-hydroxybenzaldehyde 및 phenylpropionic acid 등이 밝혀져 있다(Manadava, 1985). Vanillic acid의 경우는 귀리, 사탕수수 재배지와 殘渣로부터

同種 또는 異種 작물의 생육을 억제시키는 원인 물질로서 동정된 바 있지만(Guenzi 등, 1996; Manadava, 1985), 대파로부터 동정되었다는 것과, 菊花의 생육을 억제시킨다는 보고는 없다. 이 물질은 식물체내로 흡수되면 영양분의 흡수와 이동을 억제하고(Bhowmik 등, 1984; Malke, 1985) 호흡, 광합성, 및 단백질의 생합성(Mersie 등, 1993)을 크게 저해시키는 것으로 알려져 있으나, 국화의 생육을 저해시키는 기작에 대해서는 아직까지 명확히 밝혀지지 않아, 앞으로 연구해야 할 과제라 생각된다.

본 실험의 결과를 종합해 보면, 대파 수확 후 재배한 국화의 생육억제는 대파의 경엽 및 뿌리 殘渣에 內在 되어 있는 vanillic acid, β -sitosterol과 뿌리 分泌物 내에 존재하는 vanillic acid에 의한 영향임이 밝혀졌다.

요 약

대파의 뿌리 分泌物 내에 菊花科 작물의 생육을 억제시키는 물질이 內在 되어 있는가를 조사

하기 위해 본 실험을 실시하였다.

대파의 뿌리 分泌物은 국화와 상추의 뿌리 및 하매축의 생육을 억제시켰으며, 分泌物 내의 억제물질은 경엽 및 뿌리에서 동정된 vanillic acid임이 확인되었다.

참고문헌

1. Bhowmik P.C. and J.D. Doll. 1984. Allelopathic effects of annual weed residues on growth and nutrient uptake of corn and soybeans. *J. Agro.* 76:383-388.
2. Choi, S.T., Song, Y.Y. 1993. Studies on the biologically active substances from *Allium fistulosum* I. Effect of crude extracts on Growth of Compositae crops. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 34(5):344-3354.
3. Choi, S.T., H.G. Ahn, and Y.D. Chang. 1997. A study on reduced growth of chrysanthemum cultivated at welsh onion succeeding crop. *Korean J. Crop Sci. Abs.* 15(2):647-648.
4. Choi, S.T., H.G. Ahn, G.C. Gu, Y.D. Chang and K.S. Song. 1998. Allelopathic substances from *Allium fistulosum* inhibit the growth of compositae crops. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 39(3):333-337.
5. Choi, S.T., H.G. Ahn, and Y.D. Chang. 1996. Effect of crude extracts from *Allium* spp. on growth of several crop seedling. *Korean J. Crop Sci.* 41:526-534.
6. Demos, E.K., M. Woolwine, R.H. Wilson, and C. McMillan. 1975. The effects of ten phenolic compounds on hypocotyl growth and mitochondrial metabolism of mung bean. *Amer. J. Bot.* 62(1):97-102.
7. Gabor, W.E., and C. Veatch. 1981. Isolation of a phytotoxin from quack-grass (*Agropyron repens*) rhizomes. *Weed Sci.* 29:155-159.
8. Guenzi, W.K., and T.M. McCalla. 1966. Phenolic acids in oats, wheat, sorghum, and corn residues and their phytotoxicity. *Agro. J.* 58:303-304.
9. Malke. N.E. 1985. Effects of allelochemicals on mineral uptake and associated physiological processes. *Amer. Chem. Soc.* p. 161-178.
10. Mandava, N.B. 1985. Chemistry and biology of allelopathic agents. *Amer. Chem. Soc.* p. 33-54.
11. Mersie, M. and M. Singh. 1993. Phenolic acids affect photosynthesis and protein synthesis by isolated leaf cells of velvet-leaf. *J. Chem. Eco.* 19(7): 1293-1301.
12. Pope, D.F. A.C. Thompson, and A,W. Cole. 1985. Phytotoxicity of root exudates and leaf extracts of nine plant species. *Amer. Chemi. Soc.* p. 219-238.
13. Rice, E.L. 1984. Allelopathy. Academic press. Inc. New York.
14. Rovira, A.D. 1985. Plant root exudates. *The Botanical Review*, p. 35-57.
15. Young, C.C. 1986. Autointoxication of *Asparagus officinalis* L. *The Science of Allelopathy.* p.101-103.