

수 종의 한국자생식물과 귀화식물 추출액이 토양미생물에 미치는 항균활성

김용옥 · 이은주 · 이호준*

서울대학교 자연과학대학 생명과학부, 건국대학교 이과대학 생명과학전공*

적 요: 수 종의 한국자생식물과 귀화식물의 서식지 토양 pH를 측정한 결과 자생식물의 토양 pH범위는 5.33~7.20인 반면 귀화식물의 토양 pH는 3.95~6.10으로 자생종에 비하여 귀화종의 토양 pH가 낮았다. 자생식물과 귀화식물의 에탄올 추출액이 토양미생물인 *Bacillus sphaericus* 2362, *Bacillus thuringiensis* var. *subtilis*, *Bacillus thuringiensis* var. *cereus*, Actinomycetes에 미치는 항균활성은 자생식물보다 귀화식물이 전반적으로 활성이 높게 나타났다. 돼지풀의 추출액은 4개의 균주 모두에서 항균활성이 크게 나타났고 특히 방선균에서 clear zone 이 48mm로 가장 크게 형성되었다. 8종류의 phenolic compound와 benzoic acid의 항균활성은 caffeic acid가 각 균주에서 clear zone을 가장 크게 형성하였고 다음은 benzoic acid, ρ -coumaric acid의 순이었다. 즉 방선균에 대한 돼지풀의 항균활성은 phenolic compound들 간의 상승효과에 의하여 형성된 것임을 알 수 있었다.

검색어: 귀화식물, 에탄올추출액, 자생식물, 항균활성

서 론

귀화식물은 우리나라 전국에 걸쳐 인위적으로 훼손된 농경지, 도로변, 쓰레기 매립지 등에 자생식물과 더불어 식물 자원으로서의 일원으로 분포하고 있다. 따라서 자연생태계의 연구나 농경지의 잡초연구에 귀화식물이 무시될 수 없는 상태에 이르렀다. 우리나라에 분포하는 귀화식물은 국화과가 23.9%, 벼과가 17%로 높은 비율을 나타내며 발아조건외의 광역성, 무성생식에 의한 번식수단과 성장, 개화의 신속성, 확산과 적응의 광역성 등으로 전국적으로 넓게 확산되고 있다 (Newsome and Noble 1986, Aber *et al.* 1991, Given 1994).

이와 같이 자생식물과의 경쟁에서 귀화식물들이 우점하는 요인은 여러 가지가 있다. 특히, 식물의 종 우점도와 식물군락의 형성과 천이, 극상식생 등, 농작물의 생산에 깊은 관계가 있는 2차 대사산물인 allelochemicals에 의한 영향이 크며(Kil and Yim 1983, Thompson 1985, Hussain *et al.* 1991) 이에 대해서는 이미 여러편의 논문이 발표된 바 있다 (김 1993, 이 등 1997, 이와 김 1999).

1994년 인도에서 국제 allelopathy 학회가 창립되면서 우리나라는 물론 각 나라에서 다양한 연구들이 발표되고 있으며 allelopathy에 관한 화합물은 대부분 shikimic acid와 acetate경로에서 기원한 2차 화합물이며 phenolic compound, flavonoids, quinones, terpenoids, steroids, purines, long-chain fatty acid와 acetylenes, organic acids, unsaturated lactones 들의 14범주로 분류하고 있다 (Rice 1984, Einhellig *et al.* 1985).

최근 이러한 식물 추출물이 미생물의 생육에 영향을 미치는 물질을 phytoncide(식물성 항균활성물질)라 하여 각 분

야에서 활발히 연구되고 있는데 모든 식물의 추출물은 약 80% 정도의 항균성을 가지고 있다. phytoncide에 관한 연구는 1970년대 이후 가속화되어 Liu 등(1990)은 *Cleistopholis patens*의 추출물로 항균활성에 대한 논문을 발표하였으며, 최근에는 Ejechi 등(1999)이 *Denntia tripetala*로, Shukla 등(1999)은 *Argyrea speciosa*의 추출물로 항균활성과 생물학적 활용에 대하여 보고하였다. 이와 같이 식물의 2차 대사산물인 allelochemicals가 식물병원균에 미치는 항균활성에 대한 연구는 활발히 진행되고 있으나 식물의 생장에 직접적인 영향을 미치는 토양미생물과 식물군집 간의 상호관계에 대한 연구는 전무한 상태이다.

따라서 본 연구는 수 종의 한국자생식물과 귀화식물이 토양미생물에 미치는 영향을 조사하고자 자생식물과 귀화식물이 분포하는 토양의 pH와 토양미생물 중 일반적으로 토양내에 많이 분포하는 Actinomycetes, *Bacillus sphaericus* 2362, *Bacillus thuringiensis* var. *subtilis*, *Bacillus thuringiensis* var. *cereus*에 대해서 자생식물과 귀화식물 각 5종의 에탄올 추출액에 의한 항균력과 각 chemical compound별 항균효과를 조사하여 자생식물과 귀화식물이 토양미생물에 미치는 항균활성을 비교 분석하였다.

재료 및 방법

자생식물과 귀화식물의 채집 및 토양 pH 측정

한국자생식물 12종과 귀화식물 14종의 잎을 1997년 서울시 근교 구리시와 하남시에서 채집하여 종자발아와 유근생장, 항균력 실험을 통하여 효과가 있는 자생식물 5종인 환삼덩굴(*Humulus japonica*), 쑥(*Pueraria thunbergiana*), 명아주

Table 1. Compositon of culture media for soil microbes

Species of soil microbes	Contents	
Actinomycetes	Bacto-Yeast extract	4 g
	Dextrose	4 g
	Malt extract	10 g
	Agar	20 g
	Distilled water	1,000 ml
<i>Bacillus sphaericus</i> 2362	Bacto-Yeast extract	0.5 g
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>cereus</i>	Bacto-tryptone	1.0 g
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>subtilis</i>	NaCl	1.0 g
	Agar	1.5%
	Distilled water	100 ml

(*Chenopodium album* var. *centrorubrum*), 민들레(*Taraxacum mongolicum*), 쇠비름(*Portulaca oleracea*)과 귀화식물 5종인 망초(*Erigeron canadensis*), 미국자리공(*Phytolacca americana*), 서양등골나물(*Eupatorium rugosum*), 원추천인국(*Rudbeckia bicolor*), 돼지풀(*Ambrosia artemisiifolia* var. *elatior*)을 본 실험의 재료로 사용하였다. 자생식물과 귀화식물이 분포하는 지역의 토양을 4지역에서 대조구와 실험구로 분류하여 채집하였으며 토양 pH를 측정하여 4개구의 pH를 평균 산출하였다.

토양미생물의 항균력 실험을 위한 추출액 조제와 균주

항균력 실험을 위한 에탄올 추출액 조제는 이와 김(1999)의 방법에 의하여 실시하였다. 토양미생물 균주는 *Bacillus sphaericus* 2362, *Bacillus thuringiensis* var. *subtilis*, *Bacillus thuringiensis* var. *cereus*, Actinomycetes를 사용하였으며 BS와 BT균주의 배지는 Yeast extract와 tryptone을 첨가한 배지를 사용하였으며 방선균 배지는 YME를 사용하였다 (Table 1).

에탄올 추출액의 항균성 검색

토양미생물에 대한 항균력 실험은 Benson(1990)의 방법을 변형하여 실시하였다.

Chemical compound 별 항균효과

Chemical compound에 대한 항균력 실험은 각 phenolic compound(vanillic acid, cinnamic acid, catechol, ferulic acid,

ρ -hydroquinone, syringic acid, caffeic acid, ρ -coumaric acid)와 benzoic acid를 $10^{-4}M$ 의 농도로 조절하여 재료 및 방법에 에탄올 추출액 항균성 검색과 같이 실험을 실시하였다.

결과 및 고찰

자생식물과 귀화식물의 서식지 토양 pH

귀화식물과 자생식물 종이 분포하는 토양과 분포하지 않는 지역의 토양 pH를 측정된 결과는 Table 2와 같다. 미국자리공을 비롯한 4 귀화종의 대조구(귀화종이 분포하지 않는 지역) pH는 4.05~6.88 이었으나 실험구(귀화종이 분포하는 지역)의 pH는 3.95~6.10으로 대부분이 산성이면서 넓은 pH 범위를 나타내었다. 또한 귀화종의 대조구 pH에 비하여 실험구의 pH가 망초를 제외하고 전반적으로 모두 낮은 산성을 나타내었다. 자생종의 pH는 대조구와 실험구 간에 큰 차이를 보이지 않았고 pH 범위가 5.20~7.20으로 중성에 가까우며 좁은 pH 범위를 나타냈으며 환삼덩굴과 취, 까마중은 오히려 실험구의 pH가 높게 조사되었다(Table 2). 귀화식물 추출액의 대부분이 자생식물 추출액보다 낮은 pH를 보이며 pH범위가 다양한데 (Olmsted and Rice 1974, 김 등 1995, Kim and Lee 1996) 이는 토양 pH와 밀접한 관계가 있으며 귀화식물의 토양 pH범위가 넓다는 것은 환경 적응 능력이 자생식물보다 우수하여 보다 많은 종 수의 확산에 의하여 우점종화 될 수 있다는 것을 예시하는 것이다.

자생식물과 귀화식물에 의한 토양미생물의 항균활성

자생식물과 귀화식물의 추출액이 토양미생물의 항균력에 미치는 효과는 자생식물보다 귀화식물의 추출액이 전반적으로 항균활성이 높게 나타났으며 돼지풀의 추출액은 4개의 균주 모두 항균활성이 가장 크게 조사되었고 특히 방선균에서는 48 mm의 clear zone이 가장 크게 형성되었다 (Table 3, Fig. 1). 귀화식물 중 돼지풀 다음으로 항균활성이 높은 것은 망초이고 다음은 미국자리공이었다. 자생식물 5종 중에서는 명아주가 가장 항균활성이 높았고 다음은 환삼덩굴이었다 (Table 3). 추출액에 의한 각 균주별 영향은 토양미생물 4균주 간에 차이가 없어 추출액에 의해서 각 균주가 다양하게 영향을 받았다는 것을 알 수 있었다.

Table 2. Soil pH in the sampling sites

Exotic plants	Control		Test		
	Control	Test	Control	Test	
<i>Phytolacca americana</i>	4.05	3.95	<i>Humulus japonicus</i>	5.53	5.68
<i>Erigeron canadensis</i>	4.06	4.46	<i>Pueraria thunbergiana</i>	7.01	7.20
<i>Eupatorium rugosum</i>	4.29	4.27	<i>Portulaca oleracea</i>	7.13	6.92
<i>Rudbeckia bicolor</i>	5.40	5.25	<i>Chenopodium album</i> var. <i>centrorubrum</i>	6.92	6.53
<i>Ambrosia artemisiifolia</i> var. <i>elatior</i>	6.88	6.10	<i>Taraxacum mongolicum</i>	5.62	5.60

Table 3. Antimicrobial activities of exotic plants and native plants against soil microbes

(Mean±SD)

	Ethanol extracts	Clear zones of soil microbes (mm)			
		Actinomycetes	B.T. subtilis	B.T. cereus	B.S. 2362
Exotic plants	<i>Phytolacca americana</i>	11±2	18±1	17±2	11±3
	<i>Eupatorium rugosum</i>	13±1	16±3	8±1	2±1
	<i>Ambrosia artemisiifolia</i> var. <i>elator</i>	48±3	19±2	32±3	22±2
	<i>Rudbeckia bicolor</i>	8±1	3±2	18±2	2±1
	<i>Erigeron canadensis</i>	28±2	17±2	20±1	18±2
Native plants	<i>Chenopodium album</i> var. <i>centrorubrum</i>	10±1	17±2	22±2	14±3
	<i>Taraxacum mongolicum</i>	6±2	7±1	0	0
	<i>Portulaca oleracea</i>	0	5±2	3±1	0
	<i>Humulus japonica</i>	14±2	12±3	12±2	13±3
	<i>Pueraria thunbergiana</i>	4±2	8±2	12±3	0

B.T. cereus: *Bacillus thuringiensis* var. *cereus*, B.T. subtilis: *Bacillus thuringiensis* var. *subtilis*, B.S. 2362: *Bacillus sphaericus* 2362

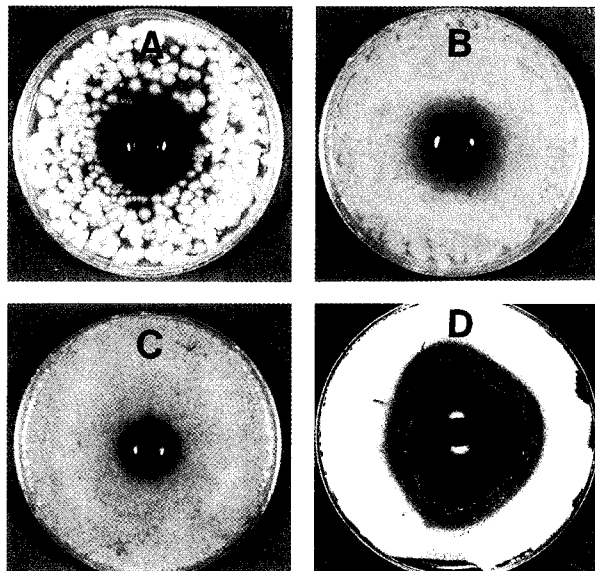


Fig. 1. Antimicrobial activities of *Ambrosia artemisiifolia* var. *elator* against soil microbes.

- A: *Bacillus thuringiensis* var. *cereus*
- B: *Bacillus thuringiensis* var. *subtilis*
- C: *Bacillus sphaericus* 2362
- D: Actinomycetes

일반적으로 농경지와 숲, 초원 등의 토양에 광범위하게 존재하며 특히 동아시아의 토양에 많이 분포하는 *Bacillus sphaericus*와 *Bacillus thuringiensis*는 생리생화학적으로 매우 유사하며(Martin and Travers 1989) 토양미생물 중 50%~60%의 항생제를 생산하는 방선균은 생태학적으로 뿌리생장과 토양내의 유기물 흡수, 질소고정 등에 있어서 중요한 역할을 하고 있다(Becking 1970, Van Andel and Fuchs 1972, Alexander 1977). Einhellig 등(1985)과 Wink(1988)는 식물의

2차 대사산물에 의해서 *Bacillus thuringiensis* var. *subtilis*의 항균활성을 조사하였고 Fischer(1986)는 식물 추출액이 토양 내 방선균과 토양미생물의 성장을 억제하여 질화작용을 저해한다고 하였으며 Van der Putten 등(1993)은 식물의 생장에 토양미생물의 역할이 중요하며 토양미생물 또한 식물의 휘발성과 수용성인 allelochemicals에 의하여 영향을 받는다고 하였다. 그러나 식물과 토양미생물간의 상호협력관계에 대한 연구는 전무한 실정이며 특히 미생물이 고등식물에 미치는 marasmin에 대한 연구는 좀 더 구체적으로 추진되어야 할 분야로 생각된다.

Chemical compound 별 항균활성

Chemical compound별 토양미생물에 대한 항균활성은 caffeic acid의 항균력이 *Bacillus thuringiensis* var. *subtilis*에서 clear zone이 22 mm로 가장 크게 나타났다. 다음은 benzoic acid와 ρ -coumaric acid의 항균 활성이 각 균주에서 높게 조사되었다(Table 4). 즉 방선균에 대한 chemical compound 별 항균력이 caffeic acid, benzoic acid, ρ -coumaric acid들에 의해서 clear zone이 각각 17 mm, 16 mm, 12 mm로 나타났는데 방선균에 대하여 돼지풀의 추출액이 48 mm의 clear zone을 형성한 것으로 보아(Table 3) 돼지풀 내의 chemical compound들 간의 상승효과에 의한 결과라고 사료된다.

Patterson (1984)과 Tillberg (1970)도 chemical compound 각각에 의한 항균활성보다는 2개 또는 3개의 phenolic compounds에 의한 상승효과에 의하여 항균력이 나타난다고 하였다. Chemical compound 성분분석 결과(Kim and Lee 1996, 이와 김 1999) cinnamic acid는 상당히 높은 peak를 나타냈음에도 불구하고 4개의 균주 각각에서 매우 작은 clear zone을 형성하였다(Table 4). 즉 Issac(1992)의 보고와 같이 방선균은 cinnamic acid에 대하여 내성을 가졌거나 이 cinnamic acid가 다른 chemical compound와 결합하여 항균력을 나타내는 것으로 볼 수 있다. Lodhi(1976)는 Missouri 주

Table 4. Antimicrobial activities of chemical compounds against soil microbes (Mean \pm SD)

Chemical compound	Clear zones of soil microbes (mm)			
	Actino-mycetes	B.T. subtilis	B.T. cereus	B.S. 2362
Vanillic acid	10 \pm 2	16 \pm 3	15 \pm 1	8 \pm 3
Cinnamic acid	8 \pm 2	3 \pm 1	16 \pm 2	14 \pm 2
ρ -coumaric acid	12 \pm 3	18 \pm 1	17 \pm 1	15 \pm 2
Catechol	12 \pm 3	15 \pm 2	6 \pm 1	10 \pm 2
Ferulic acid	13 \pm 2	14 \pm 3	9 \pm 1	9 \pm 1
ρ -hydroquinone	5 \pm 1	3 \pm 2	0	0
Syringic acid	4 \pm 2	8 \pm 1	0	3 \pm 1
Benzoic acid	16 \pm 2	11 \pm 3	17 \pm 2	16 \pm 3
Caffeic acid	17 \pm 3	22 \pm 3	18 \pm 2	18 \pm 2

The abbreviations of B. T. and B. S. are the same as in Table 3.

의 저지대 삼림토양에서 상당량의 caffeic acid, ferulic acid, ρ -coumaric acid, ρ -hydroxybenzoic acid가 분포하고 있으며 토양내에서 가장 지속적으로 존재하는 allelochemicals라고 하였는데 본 실험의 토양미생물 4군주에 대하여 항균력을 갖는 chemical compound는 caffeic acid, benzoic acid, ρ -coumaric acid, ferulic acid로 나타났으므로 이들 chemical compound들은 토양내에서 쉽게 파괴되지 않고 안정화된 상태로 토양환경에 영향을 미치는 것으로 생각된다.

사 사

본 연구는 교육부 BK21 사업지원을 받았으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- 김용욱. 1993. 리기다소나무의 allelochemicals가 수 종 식물의 종자발아, 세포구조 및 동위효소 패턴에 미치는 영향. 건국대학교 박사학위 논문. 88 p.
- 김용욱, 이호준, 김은수, 조영동. 1995. 리기다소나무의 잎 추출액이 근단 세포의 형태 변화에 미치는 영향. 한국생태학회지 19: 385-392.
- 이호준, 김용욱, 장남기. 1997. 수 종 식물의 분비물질이 종자발아와 균류생장에 미치는 알레로파시 효과. 한국생태학회지 20: 181-189.
- 이호준, 김용욱. 1999. Allelochemicals 함유식물의 항균효과. 한국생태학회지 22: 51-58.
- Aber, C.J., D. John and J.M. Melillo. 1991. Terrestrial Ecosystems. Saunder College Pub. pp. 315-316.
- Alexander, M. 1977. Introduction to Soil Microbiology. 2nd ed. Wiley, New York.
- Becking, J.H. 1970. Frankiaceae fam. Nov. (Actinomycetales) with one new combination and six new species of the genus *Frankia* Brunchorst 1886, 174. Int. J. Syst. Bacteriol. 20: 201-220.
- Benson, H.J. 1990. Microbiological applications: A laboratory manual. In W.C. Brown (ed.), General Microbiology. Dubuque, Iowa. pp. 136-137.
- Einhellig, F.A., G.R. Leather and L.L. Hobbs. 1985. The use of *Lemna minor* as a bioassay in allelopathy. J. Chem. Ecol. 11: 65-72.
- Ejehi, B.O., O.E. Nwafor and F.J. Okoko. 1999. Growth inhibition of tomato-rot fungi by phenolic acids and essential oil extracts of pepperfruit (*Dennetia tripetala*). Food Research International 32: 395-399.
- Fischer, N.H. 1986. The function of mono- and sesquiterpenes as plant germination and growth regulators. In A.R. Putnam and C.S. Tang (eds.), The Science of Allelopathy. Wiley-Interscience, New York. pp. 203-218.
- Given, D.R. 1994. Alien plants and feral animal. In IUCN (ed.), Principles and Practice of Plant Conservation. Timber Press, pp. 28-31.
- Hussain, F., I. Ilahi and B.S. Kil. 1991. Allelopathic effects of walnut plants (*Juglans regia* L.) on four crop species. Korean J. Bot. 34: 93-100.
- Issac, S. 1992. Fungal-plant Interactions. Champman & Hall.
- Kil, B.S. and Y.J. Yim. 1983. Allelopathic effects of *Pinus densiflora* on the floristic composition of undergrowth of red pine forest. J. Chem. Ecol. 9: 1135-1151.
- Kim, Y.O. and H.J. Lee. 1996. Identification and effects of phenolic compounds from some plants. Korean J. Ecol. 19: 329-340.
- Liu, S.C., B. Oguntimein, C.D. Hufford and A.M. Clark. 1990. 3-methoxy-sampangine, a novel antifungal copy alkaloid from *Cleistopholis patens*. Antimicrob. Agents Chemother. 34: 529-531
- Lodhi, M.A.K. 1976. Role of allelopathy as expressed by dominating trees in a lowland forest in controlling productivity and pattern of herbaceous growth. Am. J. Bot. 63: 1-8.
- Martin, P.A.W. and R.S. Travers. 1989. Worldwide abundance and distribution of *B. thuringiensis* isolates. Appl. Environ. Microbiol. 55: 2437-2442.
- Newsome, A.E. and I.R. Noble. 1986. Ecological and physiological characteristics of invading species. In R.H. Groves and J.J. Burdon (eds.), Ecology of Biological Invasions. Cambridge Univ. Press, pp. 1-33.
- Olmsted, C.E. and E.L. Rice. 1974. Relative effects of known plant inhibitors or species from two stages of oldfield

- succession. *Southwestern Nat.* 15: 165-173.
- Patterson, D.T. 1984. Effects of allelopathic chemicals on growth and physiological response of soybean (*Glycine max*). *Weed. Sci.* 29: 53-59.
- Rice, E.L. 1984. *Allelopathy*. 2nd ed. Academic Press. New York. London.
- Shukla, Y.N., A. Srivastava, S. Kumar and S. Kumar. 1999. Phytotoxic and antimicrobial constituents of *Argyreia speciosa* and *Oenothera biennis*. *Journal of Ethnopharmacology* 67: 241-245.
- Thompson, A.C. 1985. The chemistry of allelopathy: Biochemical interactions among plants. ACS Symp. Ser. 268, Amer. Chem. Soc., Washington, DC.
- Tillberg, J.E. 1970. Effects of abscisic acid, salicylic acid and trans-cinnamic acid on phosphate uptake, ATP-level and oxygen evolution in *Scenedesmus*. *Physiol. Plant.* 23: 647-653.
- Van Ander, O.M. and A. Fuchs. 1972. Interference with plant growth regulation by microbial metabolites. In R.K.S. Wood., A. Ballio and A. Granti (eds.), *Phytotoxins in Plant Disease*. Academic Press, London. pp. 227-249.
- Van der Putten, W.H., C. Van Dijkand and B.A.M. Peters. 1993. Plant-specific soil-borne diseases contribute to succession in foredune vegetation. *Nature* 362: 53-58.
- Wink, M. 1988. Plant breeding: Importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theor. Appl. Gen.* 75: 225-233.

(1999년 10월 21일 접수)

Antimicrobial Activities of Extracts from Several Native and Exotic Plants in Korea

Kim, Yong-Ok, Eun Ju Lee and Ho-Joon Lee*

School of Biological Sciences, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
Department of Biological Sciences, College of Natural Science, Konkuk University,
*Seoul 143-701, Korea**

ABSTRACT: The soil pH favored by several native plants in Korea ranges 5.33~7.20, while a more acidic range of pH 3.95~6.10 is acceptable to exotic plants. Ethanol extracts of native and exotic plants in Korea were investigated for antimicrobial activity against *Bacillus sphaericus* 2362, *Bacillus thuringiensis* var. *subtilis* and *Bacillus thuringiensis* var. *cereus* and Actinomycetes. Higher antimicrobial activity was observed from the extract of exotic plants than those of native plants. The ethanol extract of *Ambrosia artemisiifolia* var. *elatior* was observed to have the highest antimicrobial activity against 4 species of soil microbes. Especially, antimicrobial activity of *Ambrosia artemisiifolia* var. *elatior* showed the largest clear zone of 48mm in Actinomycetes. Larger clear zone was formed in the order of caffeic acid, benzoic acid and ρ -coumaric acid among the nine chemical compounds. Accordingly, the antimicrobial activity of *Ambrosia artemisiifolia* var. *elatior* against Actinomycetes was found to be due to the synergetic effect of chemical compounds.

Key words: Antimicrobial activity, Ethanol extract, Exotic plants, Native plants
