

서양등골나물의 환경적응력 : 중금속 축적과 Phenolic Compounds의 관계

김용욱[†] · 박종아* · 이호준*

미국 워싱턴주립대학교[†], 건국대학교 이과대학 자연과학부 생명과학전공*

적 요: 서양등골나물의 잎 추출액을 미국자리공을 비롯한 5종의 식물에 처리하여 종자발아와 유식물생장을 조사하였고, total phenolic compounds와 중금속 이온을 서양등골나물의 분포에 따라 잎과 토양에서 분석하였다. 서양등골나물의 잎 추출액에 의한 미국자리공의 초기생장은 10%와 25%농도에서 촉진되었고, 토양 추출액의 total phenolic compounds는 잎 추출액의 total phenolic compound 보다 낮았다. 토양의 total phenolic compounds는 대조구와 10%, 25% 농도로 처리된 토양에서 유의한 차이가 없었으며 자연상태에서 잎 추출액 25%가 threshold 농도임을 확인하였다. 서양등골나물의 total phenolic compounds는 신갈나무림 입장에서 1.66 mg/l, 임연에서는 1.09 mg/l로 조사되었으므로 상부식생에 따른 total phenolic compounds는 유의한 차이를 보였으나, 각 토양에서는 상부식생에 따라 total phenolic compounds간에 유의한 차이를 보이지 않았다. 서양등골나물의 잎 추출액 처리시 애기수영과 강아지풀의 발아율은 50% 이상의 농도에서 현저히 억제되었으나, 차풀의 발아율은 추출액의 농도에 따라 차이가 없었다. 유묘와 유근생장은 귀화종 그룹보다 자생종 그룹이 2배 이상 억제되었으며, 특히 서양등골나물의 추출액 농도 10%와 25%가 처리된 서양등골나물의 종자발아와 건중량은 대조구보다 촉진되었다. 서양등골나물의 phenolic compounds를 HPLC로 분석한 결과 caffeic acid (460.9 mg/l), benzoic acid (109.7 mg/l), protocatechuic acid (7.3 mg/l), *p*-hydroquinone (6.0 mg/l), cinnamic acid (2.7 mg/l), hydroquinone (0.23 mg/l) 순으로 분석되었다. 분석된 서양등골나물의 phenolic compounds 각각에 대한 미국자리공의 발아율은 caffeic acid (460.9 mg/l)의 농도가 높을지라도 이것이 낮은 cinnamic acid와 protocatechuic acid에서 현저한 억제현상을 보였다. 서양등골나물 입상의 토양보다 서양등골나물이 분포하지 않는 토양의 중금속 함량이 전반적으로 높았다. 특히 Al, Fe 및 Mn의 함량이 높았으며 이들 중금속은 total phenolic compound 함량이 높은 잎에 대부분이 축적되었다.

검색어: 서양등골나물, 유식물생장, 종자발아, 중금속, total phenolic compounds.

서 론

우리나라에 침입한 귀화식물들은 대부분 양지에 분포하고 있지만, 서양등골나물은 주로 음지에 분포하면서 하층식생의 우점종을 형성한다(고 등 1995, Suh *et al.* 1997). 한국에서는 이와 임(1978)에 의하여 최초로 발견되었으며 서양등골나물의 학명은 *Ageratina altissima* (L.) R. M. King H. Robinson, *Eupatorium rugosum* Houttuyn, *Eupatorium ageratoides* L. f., *Eupatorium urticaefolium* Reichard 등으로 다양하게 사용되고 있다. 본 논문에서는 *Eupatorium rugosum*(박 1995a)을 사용하였고 현재 남산에 가장 많이 분포하며 점차 전국으로 확산되고 있는 대표적인 귀화식물이다.

우리 나라의 귀화식물에 대한 연구는 임과 전(1980)이 27속 110종으로 조사한 이래 최근까지 33속 194종에 이르고 있으며, 이는 국제간의 교역증대와 국외 여행객 수의 급증에 기인한다 하였다(박 1995a). 귀화식물의 일반적 특성으로는 첫째, 생식적 성숙과 개화가 빠르며 둘째, 종자의 생산성이 높고, 산포범위가

넓으며, 발아 조건의 폭이 넓다. 셋째, 새로운 생육지에 대한 적응능력이 높다(Newsome and Noble 1986, Aber and Melillo 1991, Rejmanek and Richardson 1996). 이러한 특성에 따라 귀화식물은 그들의 영역을 전국적으로 확산시켜 자연 생태계 및 종의 다양성에 큰 위협이 되고있다(Kim and Lee 1996, 길 등 1998).

이와 같이 귀화식물이 자연생태계 내에서 새로운 생육지에서의 적응력이 높고 종의 다양성을 위협하는 것은 그들이 2차 천이의 초기단계에서 allelochemicals를 분비함으로써 주변식물의 생장을 억제하여 자신의 분포영역을 확대하는 것도 가장 큰 원인 중의 하나로 알려져 있다(Rice 1984, Inderjit 1996, Kim and Lee 1996). Allelopathy 현상의 원인물질인 allelochemicals는 phenolic compounds, terpenoids, tannin, volatile substances 등이 있으며(Lodhi 1976) 이들 중 수용성 물질인 phenolic compounds는 이차대사산물 중에서 식물체 내에 다양한 종류의 phenolic compounds와 그 유도체가 존재하며, 외부환경에 따라 민감하게 반응하는 자체 방어체제로서 그 중요성이 인식됨에 따라 다양한 분야에서 최근 활발하게 연구되고 있다(Santiago *et al.* 2000, Sakihama *et al.* 2002). 특히 서양등골나물은 귀화식물 중 한국에

[†] Author for correspondence; Phone: 1-253-445-4523, e-mail: kim@puyallup.wsu.edu

널리 분포하는 것으로 알려져 있는 망초나 돼지풀 보다도 높은 total phenolic compounds를 함유하고 있으며(이 등 1997), 서양등골나물이 국내에 침입한 1970년 이후, 이에 대하여 서울지역 분포와 생육지 토양환경에 따른 생육특성, 광도별 성장특성, 종간 경쟁 및 식생변화 양상, 유전적구조 등이 연구되었다(임과 전 1980, 고 등 1995, 천 2002). 최근에 Sakihama 등(2002)은 식물의 polyphenol에 대한 보고에서 Al, Zn 및 Cd가 phenoxyl radical을 유도하는 lipid peroxidation을 촉진한다고 하였으며, Lavid 등(2001)은 중금속 이온들이 polyphenol과 결합하여 식물체 내의 표피에 축적되고 그로 인하여 표피는 높은 peroxidase활성과 antibacterial의 기능을 갖는다고 하였다. 또한 Zobel 등(1999)은 중금속(Ni, Cu, Co, Cr, Cd, Pb)을 처리한 *Ruta graveolens*에서 phenolic compound의 정성, 정량이 다르다고 하였다. 그러나 서양등골나물이 생육지 환경에 적응하기 위해 자신의 2차대사산물의 생산과 방출을 어떻게 조절하며, 이차대사산물인 수용성물질 phenolic compounds가 토양 내에 방출되었을 때 토양내 영양물질과 중금속과의 상호관계에 대하여는 연구된 바 없다. 즉 인간의 인위적인 힘에 의해서 교란된 지역과 오염지역의 열악한 환경에도 불구하고 귀화식물이 생존가능하며, 그 분포범위를 확산시킨다는 것은 생식력이 높고 종자의 산포력이 크다는 귀화식물의 특성 외에 중금속과 같은 환경 스트레스를 극복할 수 있는 강력한 방어물질(defense substance)인 phenolic compounds를 생산하고 이러한 이차대사산물을 새로운 환경에 적응하기 위한 수단으로 다양하게 이용할 것으로 생각된다.

그러므로 본 연구는 귀화종인 서양등골나물과 또 다른 귀화종 그리고 자생종과의 상호관계 및 중금속이 분포하는 남산 토양에서 서양등골나물의 환경적응력을 알아보기 위하여 서양등골나물의 기관과 상부식생, 식물체내 중금속의 이동과 축적에 따른 phenolic compounds의 변화 양상을 연구하였다.

재료 및 방법

조사지역과 실험재료

서양등골나물의 잎을 1998년 10월 서울 남산에서 채취하여 수용 추출액 제조에 사용하였고, 1999년 2월부터 발아와 유식물 성장 실험을 실시하였으며 실험에 사용한 귀화종의 종자는 미국자리공(*Phytolacca americana*), 서양등골나물(*Eupatorium rugosum*), 애기수영(*Rumex acetocella*), 자생종은 돌피(*Echinochloa crusgalli*), 차풀(*Cassia mimosoides* var. *nomame*), 강아지풀(*Setaria viridis*) 등 6종으로 하였다. Total phenolic compounds와 중금속의 양을 측정하기 위하여 군락내부(혼합림)와 임연(길가), 소나무림과 신갈나무림 임상에서 서양등골나물의 잎과 뿌리 그리고 토양을 채취하였다.

미국자리공의 초기생장과 토양내 Total Phenolic Compounds 측정

실내에서 발아시킨 미국자리공의 유식물을 온실 pot로 옮겨

서 서양등골나물의 0%, 10%, 25%, 50%, 75%, 100% 농도의 추출액을 1달 동안 2일 간격으로 처리한 후 유근과 유묘의 초기생장을 측정하였다. 또한 군락내부(혼합림)와 임연(길가), 소나무림과 신갈나무림 임상의 서양등골나물의 잎, 뿌리, 토양 추출액 그리고 초기생장시의 pot 토양의 total phenolic compounds의 함량을 Swain과 Hillis(1959)의 방법에 따라 측정하였다.

추출액 제조 및 종자발아와 유식물생장

서양등골나물의 생잎 200 g 당 증류수 1 l 를 넣어 80°C dry oven에서 48시간 침출시킨 후 12 cm filter paper로 3 반복 여과한 후 4°C 냉장고에 보관하면서 발아와 유식물 성장 실험에 사용하였다. 대조구는 증류수를, 처리구는 추출액의 농도를 0%, 10%, 25%, 50%, 75%, 100%가 되도록 하였으며 28°C 성장실에서 3회 반복하여 실험하였다.

추출액의 성분분석

추출액의 성분분석은 김(1993)의 방법을 변형하여 실시하였으며 HPLC(Waters, U.S.A), UV detector(254, 284nm)분석 조건으로 Column은 μ Bonda-pak(C18 Radial Pak, 0.8×10cm)을 사용하였다. Mobile phase는 acetonitrile과 sodium acetate buffer(A pump : acetonitrile, B pump : 0.02M acetic acid)를 사용하였고, flow rate는 1.3ml/min, injection volume은 20 μ l 로 하였다.

Phenolic Compounds의 영향

서양등골나물의 phenolic compounds 중 발아와 유근생장에 가장 효과가 있는 phenolic compounds 물질을 알아보기 위하여 Lodhi(1976)의 방법을 변형하여 실험을 실시하였다. 실험에서 사용된 6종의 phenolic compounds(Sigma chemical Co. USA)를 10^{-3} M, 10^{-4} M, 10^{-5} M 농도로 조절하여 미국자리공 종자에 처리하였다.

중금속 측정

서양등골나물이 분포하는 토양(처리구)과 서양등골나물의 분포로부터 2m 떨어진 서양등골나물이 분포하지 않는 토양(대조구), 그리고 서양등골나물의 잎과 뿌리에서 중금속의 함량을 측정하였다(Agricultural Improving Institute 1988).

통계처리

자료의 통계처리는 SAS system (2000)을 이용하여 대조구와 처리구 간의 발아와 유식물생장 그리고 잎과 토양의 total phenolic compound 및 중금속 함량의 유의성 검정을 Duncan's multiple range test에 의하여 실시하였다.

결과 및 고찰

추출액 농도에 따른 초기생장과 토양 Total Phenolic Compounds

미국자리공의 유식물을 온실 pot로 옮긴 후 서양등골나물 추

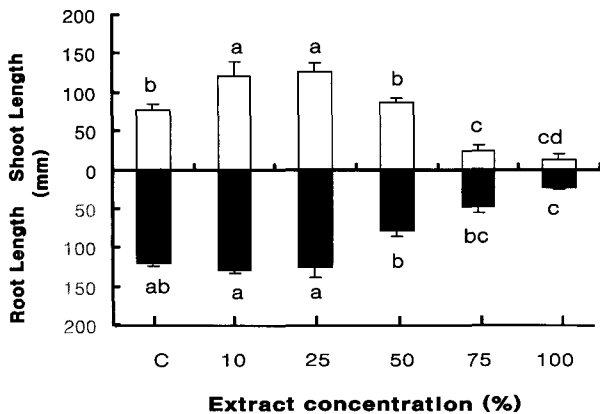


Fig. 1. Comparison of shoot and root growth on transplanted *Phytolacca americana* treated with different concentrations of *E. rugosum* leaf extract. Means with the same letter are not significantly different(Duncan's multiple range test, $P < 0.001$), se of $n=3$ measurements each are given.

Table 1. Analysis of total phenolic compound (mg/l) on leaf extract and soil treated with different concentration of *E. rugosum* under *Pinus* canopy

Concentration (%)	Leaf Extract	Soil Extract
Control	-	0.04 ± 0.02 ^c
10	0.12 ± 0.07 ^d	0.06 ± 0.03 ^{dc}
25	0.30 ± 0.03 ^c	0.10 ± 0.02 ^d
50	0.62 ± 0.37 ^b	0.48 ± 0.17 ^c
75	0.94 ± 0.25 ^a	0.65 ± 0.24 ^b
100	1.14 ± 0.62 ^a	0.90 ± 0.38 ^{ab}

Means with the same letter are not significantly different (Duncan's multiple range test, $P < 0.01$), \pm se of $n=3$ measurements each are given.

출액을 농도별로 처리하여 Fig. 1은 한달 후의 유묘와 유근의 생장을 나타낸 것이고(Fig. 1, $P < 0.001$), Table 1($P < 0.001$)은 pot 토양과 잎 추출액의 total phenolic compounds 함량을 측정된 것이다. 미국자리공의 초기생장(Fig. 1)은 10%와 25% 추출액 농도에서 촉진은 되었으나 유근에 있어서는 유의한 차이를 보이지 않았고 유묘는 대조구와 처리구간에 유의한 차이를 나타내었다($P < 0.001$). 추출액의 10%와 25%농도에서 유묘와 유근의 생장촉진 현상은 Lodhi(1976)에 의해서도 보고된 바 있는데 저농도의 이차대사산물은 식물상호간에 생장을 촉진시키므로 식물과 과실의 생산을 증대시킬 수 있다고 하였다. 서양등골나물 잎 추출액의 농도별 total phenolic compounds 함량($0.12 \pm 0.07 \sim 1.14 \pm 0.62$ mg/l)보다 서양등골나물이 분포하는 소나무림 입상의 토양에 포함된 total phenolic compounds 함량($0.04 \pm 0.02 \sim 0.90 \pm 0.38$ mg/l)이 한달 후에 유의한 차이로 낮아졌으며, 잎 추출액 10% 농도의 total phenolic compounds와 토양 추출액의 대조구, 10%,

25%의 total phenolic compounds 간에는 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 1, $P < 0.01$). 즉 Fig. 1과 Table 1의 결과로 보아 미국 자리공의 생장을 급격하게 억제시킨 추출액의 threshold 농도는 25%임을 확인하였다. 이러한 결과에 대하여 Inderjit와 Dakshini (1998)는 서양등골나물의 잎 추출액이 토양내의 물질과 결합하거나 토양 내에서 다른 물질로 변화하여 추출액의 농도가 낮아진다고 하였으며 Rizvi와 Rizvi(1992)는 alleochemicals가 식물체에 처리되었을 때 이 물질이 축적된다고 하였다. 즉 미국자리공이 생장을 억제시키는 외부의 독성물질(서양등골나물의 50%, 75%, 100% 추출액)을 일부 흡수하여(Fig. 1) 식물체 내의 액포에 축적하므로 토양내의 total phenolic compounds 함량이 낮아지는 것으로 사료된다.

서양등골나물의 분포에 따른 잎과 토양의 Total Phenolic Compounds 비교

소나무림과 신갈나무림, 혼합림(군락내부), 임연에 따라 서양등골나물의 생장이 다르게 나타나며(고 등 1995, Suh *et al.* 1997, 천 2002) 이러한 결과는 광도별 생장의 차이라고 보고된 바 있다(Meekins and McCarthy 2000). 이러한 다양한 상부 식생하에서 성장하는 서양등골나물은 광 뿐만 아니라 상부식생의 이차대사산물에 따라서도 영향을 받을 수 있다. 따라서 광과 이차대사산물의 두가지 요소에 의하여 서양등골나물은 어느 정도의 total phenolic compounds 생산하며, 또한 그 임상 토양의 total phenolic compounds는 어떠한 변화를 갖는가를 조사하였다. 신갈나무림 입상의 total phenolic compounds 함량은 1.66 ± 0.87 mg/l로 가장 높고, 군락내부는 1.43 ± 0.45 mg/l, 소나무림은 1.12 ± 0.03 mg/l, 임연은 1.09 ± 0.47 mg/l로 유의한 차이를 나타내었으나, 서양등골나물이 분포하는 토양의 total phenolic compounds($0.41 \pm 0.21 \sim 0.48 \pm 0.03$ mg/l)는 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 2, $P < 0.001$). 즉 서양등골나물의 생장이 왕성한 임연에서는 낮은 total phenolic compounds를, 낮은 조도와 신갈나무림의 total phenolic compounds에 의하여 생장이 제한된 서양등골나물은 높은 total

Table 2. Comparison of total phenolic compound (mg/l) on leaf extract and soil of *E. rugosum* at forest interior and forest edge, and under *Pinus* and *Quercus* canopy

Sampling Site	TPL	TPS
FI	1.43 ± 0.45 ^b	0.41 ± 0.21 ^{ab}
FE	1.09 ± 0.47 ^{cd}	0.35 ± 0.06 ^b
UPC	1.12 ± 0.03 ^c	0.40 ± 0.12 ^{ab}
UQC	1.66 ± 0.87 ^a	0.48 ± 0.03 ^a

Means with the same letter are not significantly different (Duncan's multiple range test, $P < 0.001$), \pm se of $n=3$ measurements each are given. FI: Forest Interior, FE: Forest Edge, UPC: Under *Pinus* Canopy, UQC: Under *Quercus* Canopy, TPL: Total Phenolic compound of *E. rugosum* Leaf, TPS: Total Phenolic compound of Soil under *E. rugosum*.

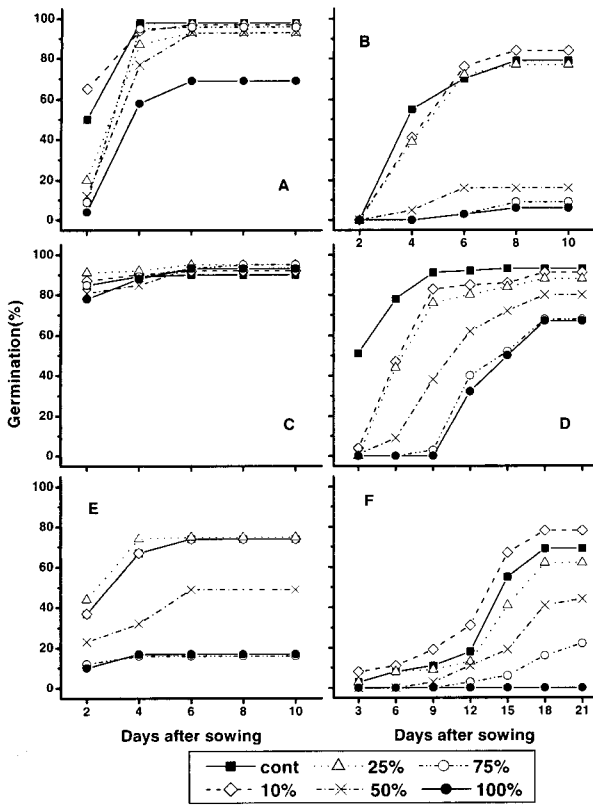


Fig. 2. Comparison of the germination rate on six species treated with different concentrations of *E. rugosum* leaf extracts. A: *Echinochloa crus-galli*, B: *Rumex acetocella*, C: *Cassia mimosoides* var. *nomame*, D: *Phytolacca americana*, E: *Setaria viridis*, F: *E. rugosum*.

phenolic compounds를 갖는 것으로 판단된다. 귀화식물의 침입에 관한 연구는 귀화식물의 생물학적 특성과 침입지역의 생육지 특성에 중점을 두고 있는데(Parendes and Jones 2000) 서양등골나물은 높은 total phenolic compounds를 지니는 종 특이성을 지녔고 상부식생의 종류와 분포에 따라서 생장이 제한되며, 그에 따라 서양등골 나물의 생장과 total phenolic compounds함량이 이차 대사산물이 유의적인 차이를 보이는 것으로 생각된다. 이와 같이 상부식생에 따라서 다르다는 것은 서양등골나물의 환경적응력이 매우 높으며 새로운 주변환경에 정착하기 위한 유동적인 변화로 생각할 수 있다.

종자 발아와 유식물 성장

서양등골나물 추출액에 의한 자생식물(돌피, 차풀, 강아지풀)과 귀화식물(미국자리공, 서양등골나물, 애기수영) 종자의 발아율은 Fig. 2와 같다. 자생식물 종자인 돌피(A), 차풀(C), 강아지풀(E)의 발아경향은 4일 안에 빠르게 발아하며, 외부자극에 둔감한 반면, 귀화식물 종자인 애기수영(B), 미국자리공(D), 서양등골나물(F)의 발아경향은 12일까지 서서히 발아하며, 외부자극에

민감하여 농도에 따라 억제 효과가 분명하고, 발아기간이 자생종에 비하여 전반적으로 길었다. 미국자리공 (D)과 서양등골나물 (F)의 발아율은 농도의 증가에 따라 비례적으로 발아율이 억제되었으나 서양등골나물 종자는 추출액 10%에서 오히려 대조구보다 발아율이 촉진되는 현상을 나타내었다(Fig. 1F). 서양등골나물은 자신의 추출액 50% 농도 이상에서는 자가중독현상을 나타내었으나, 저농도에서는 촉진현상을 보여 자연상태에서 서양등골나물의 분포면적 확산의 요인으로 작용될 것으로 추측된다. 차풀은 농도에 따른 발아 억제효과가 나타나지 않았으며, 애기수영은 대조구, 10%, 25% 농도에서 유사한 발아율을 보였으나, 50% 이상농도에서는 급격히 억제되었고, 강아지풀은 75% 이상농도에서 현저하게 종자발아가 억제되었다. Rice (1984)와 김(1993)이 각 식물 추출액의 농도에 따라 종자 발아의 억제정도가 달라진다고 한 것과 같이 본 실험에서도 유사한 경향을 보였다.

서양등골나물 추출액의 농도에 따른 수용체 식물들의 건중량, 유효생장, 유근생장은 Fig. 3과 같다. 미국자리공의 유효생장

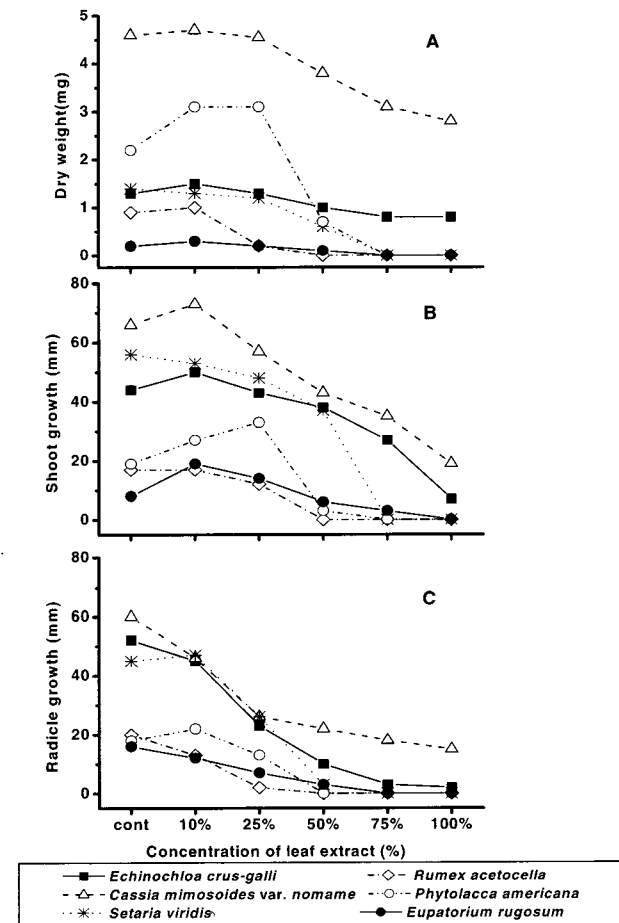


Fig. 3. Comparison of dry weight (A), shoot (B) and radicle growth (C) on six species treated with different concentration of *E. rugosum* leaf extract.

은 10%와 25% 추출액의 농도에서 촉진된 것과 같이(Fig. 3B) 건중량(Fig. 3A)에서도 대조구에 비하여 약 1.2배정도 촉진되었으며, 서양등골나물도 10% 농도에서 유묘생장에 있어서 촉진 현상을 보였다(Fig. 3B). 서양등골나물 추출액의 50%이상의 농도에서는 돌피, 애기수영, 차풀, 미국자리공, 강아지풀의 발아와 유묘, 유근의 생장이 억제되었다. 그러나 돌피, 서양등골나물, 미국자리공, 차풀의 유묘생장은 서양등골나물 추출액 10% 농도에서 대조구보다 촉진되었는데, 이는 저농도의 allelochemicals에서 세포의 증식이 활발하여 대조구보다 유근생장이 촉진되었다고 한 김(1993)의 보고와 같이 해석할 수 있다. Newsome과 Noble(1986)은 폭 넓은 발아조건을 가지고 있는 귀화식물은 발아환경 제한조건이 다른 종보다 적다고 하였는데, 본 실험에서도 유묘와 유근생장에서 귀화종보다도 자생종이 2배 이상의 억제가 나타났고, 건중량에서는 미국자리공과 서양등골나물은 10%와 25%의 추출액 농도에서 오히려 현저한 촉진현상이 나타났다. 본 실험의 Fig. 1.은 온실에서 한달 동안 서양등골나물의 각각 농도를 처리한 후 미국자리공의 뿌리와 줄기의 초기생장을 측정된 결과인데 건중량에서와 같이 10%와 25%의 추출액 농도에서 생장이 촉진되었으며, Table 1에서는 25% 토양 추출액, 10% 토양 추출액, 대조구 토양 추출액 간에 total phenolic compounds는 거의 유의한 차이를 보이지 않았다. 즉 이러한 결과는 25%가 자연상태에서 역치농도이며 토양 내에 방출되는 phenolic compound의 농도임을 알 수 있었다. 즉 서양등골나물의 10%와 25% 추출액 농도에서 대조구에 비해 미국자리공과 서양등골나물의 생장이 촉진된다는 것은 자연상태에서 서양등골나물은 미국자리공과 서로 협동하여 함께 생존가능하며 또한 서양등골나물은 국내에서 더욱 그들의 군락과 면적을 확장시키게 될 것이라는 것을 암시하는 것이다. 귀화식물은 개체군 동태와 군집 구조(Mooney and Drake 1986) 및 토양의 영양 상태 (Vitousek and Walker 1989)를 변화 시키고, 자생식물의 재정착을 감소시킨다고 하였다 (Walker and Vitousek 1991). 또한 D(Antonio 등(1998)은 Hawaiian woodland에서 귀화식물 잡초를 제거한 결과 토착종인 관목류의 크기가 증가하고, 잎의 질소 및 토양의 가용성 질소함량이 증가하였다고 하였다. 즉 서양등골나물은 자생종의 정착을 방해하고 자신의 생장을 촉진시켜 자신의 영역을 점차 넓혀가고 있음을 본 실험을 통하여 확인할 수 있었다.

Phenolic Compounds 분석과 영향

서양등골나물의 수용 추출액에서 5종의 phenolic compounds와 1종의 benzoic acid가 HPLC에 의해서 분리되었다. caffeic acid (460.9 mg/l), benzoic acid(109.7 mg/l), protocatechuic acid(7.3 mg/l), ρ -hydroquinone(6.0 mg/l), cinnamic acid(2.7 mg/l), hydroquinone(0.23 mg/l)로 동정되었으나 retention time 18.281의 1종은 동정할 수 없었다. 이 등(1997)은 돼지풀 등 귀화식물 4종의 phenolic compounds 성분 분석에서 benzoic acid와 caffeic acid의 함량이 높았다고 하였는데 그 결과는 본 실험의 분석결과와 유사한 경향을 보이고 있다. 서양등골나물의 잎 추출액 처리에서

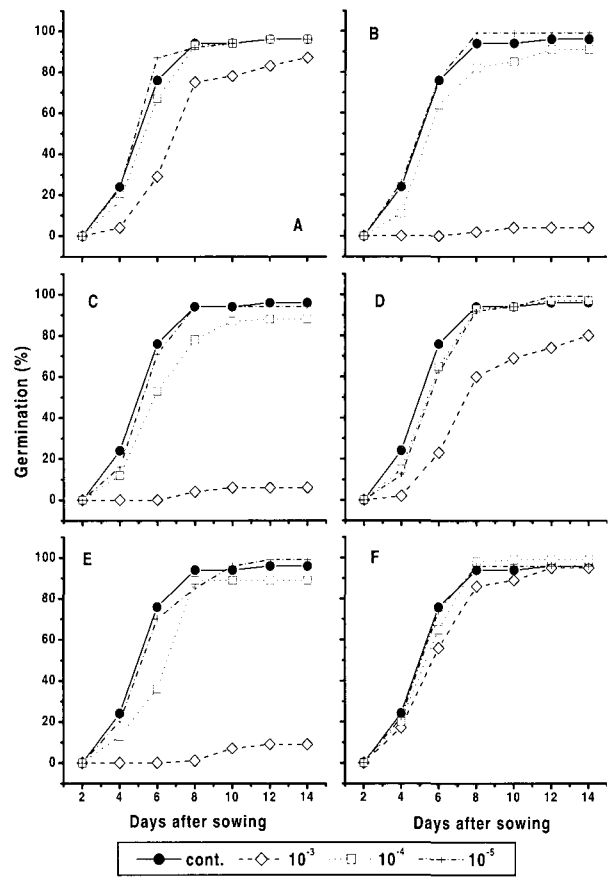


Fig. 4. Comparison of the germination rate of *Phytolacca americana* with different concentrations of phenolic compounds. A: Benzoic acid, B: Caffeic acid, C: Cinnamic acid, D: ρ -hydroquinone, E: Protocatechuic acid F: Hydroquinone

미국자리공 종자에 대한 발아율의 촉진보다 단일 phenolic compounds에 의한 미국자리공 종자의 발아율 촉진현상이 낮았는데(Fig. 4), 이러한 현상은 phenolic compounds 간의 상승작용 때문이라고 추측되며 Patterson(1984)와 Blum(1996)은 이러한 결과에 대하여 보고한 바 있다. Einhelling와 Rasmussen(1973)은 benzoic acid는 세포분열을 방해하여 종자발아와 유근생장을 억제하며, Van Sumere 등(1971)은 cinnamic acid가 유식물 생장을 억제시킨다고 보고하였는데, 본 실험에서 특히 caffeic acid, cinnamic acid의 $10^{-3}M$ 에서 미국자리공과 서양등골나물의 종자 발아가 억제된 것은 위의 보고와 같은 결과로 생각된다.

토양내의 중금속 이동과 식물체 내의 축적

서양등골나물이 분포하는 임상토양과 분포하지 않는 토양에서 11개의 중금속 이온을 분석하였다(Table 3, $P < 0.01$). 대부분의 중금속은 서양등골나물이 분포하는 토양보다 분포하지 않는 토양에서 주로 조사되었으며, 특히 Al(975.09 ± 15.53 mg/l), Fe (34.17 ± 6.10 mg/l), Mn(26.65 ± 2.92 mg/l), Pb(9.35 ± 2.06 mg/l)의

Table 3. The heavy metal concentration in outside soil and inside soils and organs of field grown *Eupatorium rugosum* plants.

	Soil (mg/L)		Plant (mg/L)	
	O	I	Root	Leaf
Al	975.09 ^a ±15.53	834.23 ^b ±12.78	3.63 ^b ±0.78	45.09 ^a ±5.53
As	4.62 ^a ±1.17	4.92 ^a ±1.40	0.32 ^a ±0.40	0.42 ^a ±0.07
B	1.32 ^a ±0.17	0.84 ^b ±0.37	0.39 ^b ±0.12	1.26 ^a ±0.13
Cd	0.04 ^a ±0.01	N.D	N.D	N.D
Co	0.14 ^b ±0.11	0.24 ^a ±0.10	N.D	0.34 ^a ±0.02
Cu	3.66 ^a ±0.19	2.01 ^b ±0.14	0.28 ^a ±0.01	0.26 ^a ±0.12
Fe	34.17 ^a ±6.10	29.41 ^b ±5.06	0.41 ^b ±0.06	2.67 ^a ±0.23
Mn	26.65 ^a ±2.92	11.58 ^b ±2.67	1.28 ^b ±0.17	28.94 ^a ±8.82
Ni	1.39 ^a ±0.42	1.15 ^a ±0.34	N.D	0.12 ^a ±0.03
Pb	9.35 ^a ±2.06	4.53 ^b ±1.37	N.D	0.06 ^a ±0.01
Zn	5.09 ^a ±1.36	N.D	0.21 ^b ±0.17	4.32 ^a ±1.01

Values reported are means and standard errors. Means with different letters are significantly different between soil and plant(Duncan's multiple range test, P<0.01), ±se of n=3 measurements each are given.

O: Outside soil(soil without *E. rugosum*), I: Inside soil (soil with *E. rugosum*), N.D: Not Detected.

중금속 함량이 높았다. 또한 중금속은 서양등골나물의 뿌리보다 잎에 대부분이 축적되었으며, Al(45.09±5.53 mg/l), Mn(28.94±8.82 mg/l)이 가장 높게 축적되었다. 즉 잎은 뿌리보다 total phenolic compound 함량이 높는데(Rice 1984, Inderjit 1996), 토양 내 중금속이 잎에 축적되었다는 것은 중금속과 total phenolic compound 간에 밀접한 관계가 있다는 것을 시사하는 것이다. Phenolic compound는 토양에서 nutrient ions과 결합하여 영양분을 축적시키며(Inderjit 1996, Appel 1993), 식물체 내에서 phenolic compounds의 peroxidation효과는 중금속 이온들에 의하여 증대된다(Rice-Evans *et al.* 1997). 특히 Al은 phenolic compound를 유도하는 lipid peroxidation을 크게 증가시켰으며, 식물에서 oxidative stress metabolism을 유도하는 작용은 중금속과 phenoxy radicals의 상승작용에 의한 것이라고 하였다(Sakihama *et al.* 2002). 그러므로 식물체 내에서 중금속이 축적되는 기관의 total phenolic compound 함량이 높은 것으로 사료된다. 또한 대부분의 중금속은 식물체 내의 액포에 carbonate, sulfate, phosphate로 존재하며(Raskin *et al.* 1997), 일부 중금속은 유기산과 결합하여 줄기로 이동하기도 한다고 하였다(Senden *et al.* 1992). 일반적으로 중금속은 오염지역에서 뿌리에 주로 축적되는 것으로 알려져 있으나(Garbisu and Alkorta, 2001), 잎에 중금속 이온이 축적된다는 약간의 보고가 있는데(Raskin *et al.* 1997) 본 연구에서는 잎에 대부분의 중금속이 축적되는 현상을 나타내었다. 최근 식물체에 축적된 중금속은 병원균과 초식동물에 대한 방어로서 phenolic compound의 cytotoxic 작용을 보완하며, Cu를 함유하고 있는 *Phyllanthus tenellus*는 고농도의 antimicrobial phenolic compound

를 액포 내에 축적하는 중금속에 의해 식물체 내의 phenolic compounds가 활성화되고 그에 따른 항산화작용과 항균작용 등의 연구결과가 보고되었으나(Ayala-Silva and Al-Hamdani 1997, Boyd and Martens 1998, Santiago *et al.* 2000) 식물체와 토양의 phenolic compounds와 중금속 간의 상호 메카니즘에 대하여는 좀 더 연구되어야 할 과제라고 판단된다.

인용문헌

- 고강석, 강인구, 서민환, 김정현, 김기대, 길지현, 류홍일, 공동수, 이은복, 전의식. 1995. 귀화생물에 의한 생태계 영향 조사(I). 국립환경연구원 연구보고서. 57 p.
- 길봉섭, 전의식, 김영식, 김창환, 윤경원. 1998. 서울남산공원의 식물상과 그 분포. 한생태회지 21 : 603-631.
- 김용옥. 1993. 리기다소나무의 allelochemicals가 수 종 식물의 종자발아, 세포구조 및 등위원소 패턴에 미치는 영향. 건국대학교 박사학위 논문. 88 p.
- 박수현. 1995a. 한국 미기록 귀화식물(6). 식물분류학회지 25 : 51-59.
- 이우철, 임양재. 1978. 한반도 관속식물의 분포에 관한 연구. 식물분류학회지 8: 1-31.
- 이호준, 김용옥, 장남기. 1997. 수 종 식물의 분비물질이 종자발아와 균류 생장에 미치는 알레로파시 효과. 한생태회지 20 : 181-189.
- 임양재, 전의식. 1980. 한반도의 귀화식물 분포. 식물학회지 23: 69-83.
- 천영진. 2002. 서양등골나물(*Ageratina altissima* (L.) R. M. King (H. Robinson)) 개체군의 생육 특성 및 유전적 구조. 서울대학교 석사학위논문. 73 p.
- Aber, J. D. and J. M. Melillo. 1991. Terrestrial ecosystems. Saunder Collage Pub. pp. 315-316.
- Agricultural Improving Institute. 1988. Methods of soil chemical analysis. 450 p.
- Appel, H. M. 1993. Phenolics in ecological interactions: the importance of oxidation. J. Chem. Ecol. 19:1521-1552.
- Ayala-Silva, T. and S. Al-Hamdani. 1997. Interactive effects of polyacetic acid with different aluminum concentrations on growth, pigment concentrations, and carbohydrate accumulation of *Azolla*. Am. Fern J. 87: 120-126.
- Blum, U. 1996. Allelopathic interactions involving phenolic acids. J. Nemat. 28: 259-267.
- Boyd, R. S. and S. N. Martens. 1998. The significance of metal hyperaccumulation for biotic interactions. Chemoecology 8: 1-7.
- D'Antonio, C. M., H. R. Flint, M. Michelle, H. Derek and P. M. Vitousek. 1998. The response of native species to removal of invasive exotic grasses in a seasonally dry Hawaiian woodland. Journal of Vegetation Science 9: 699-712.

- Einhellig, F. A. and J. A. Rasmussen. 1973. Allelopathic effects of *Rumex crispus* on *Amaranthus retroflexus* grain sorghum and field corn. *Amer. Mid. Nat.* 90: 79-86.
- Garbisu, C. and I. Alkorta. 2001. Phytoextraction: a cost-effective plant-based technology for the removal of metals from the environment. *Bioresource Technology* 77: 229-236.
- Inderjit and K. M. M. Dakshini. 1998. Allelopathic interference of chickweed, *Stellaria media* with seedling growth of wheat (*Triticum aestivum*). *Can. J. Bot.* 76: 1317-1321.
- Inderjit. 1996. Plant phenolics in allelopathy. *Bot. Rev.* 62: 186-201.
- Kim, Y.O. and H.J. Lee. 1996. Identification and effects of phenolic compounds from some plants. *Korean J. Ecol.* 19: 329-340.
- Lavid, N., A. Schwartz, O. Yarden and E. Tel-Or. 2001. The involvement of polyphenols and peroxidase activities in heavy-metal accumulation by epidermal glands of the waterlily (*Nymphaeaceae*). *Planta* 212: 323-331.
- Lodhi, M. A. K. 1976. Role of allelopathy as expressed by dominating trees in a low land forest in controlling the productivity and pattern of herbaceous growth. *Amer. J. Bot.* 63: 1-8.
- Meekins, J. F. and B. C. McCarthy. 2000. Responses of the biennial forest herb *Alliaria petiolata* to variation in population density, nutrient addition and light availability. *Journal of Ecology* 88: 447-463.
- Mooney, H. A. and J. A. Drake. 1986. Ecology of biological invasions of North America and Hawaii. Vol 58. Springer, New York. 321p.
- Newsome, A. E. and I. R. Noble. 1986. Ecological and physiological characteristic of invading species, In R. H. Groves and J. J. Burdon (eds.), *Ecology of Biological Invasions*. Cambridge Univ. Press. 33 p.
- Parendes, L. A. and J. A. Jones. 2000. Role of light availability and dispersal in exotic plant invasion along roads and streams in the H.J. Andrews Experimental Forest, Oregon. *Conservation Biology* 14: 64-75.
- Patterson, D. T. 1984. Effects of allelopathic chemicals on growth and physiological response of soybean (*Glycine max*). *Weed Sci.* 29: 53-59.
- Raskin, I., R. D. Smith and D. E. Salt. 1997. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Curr. Opin. Biotechnol.* 8:221-226.
- Rejmanek, M. and D. M. Richardson. 1996. What attributes make some plant species more invasive? *Ecology* 77: 1655-1661.
- Rice-Evans, C. A., N. J. Miller and G. Paganga. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* 2: 152-159.
- Rice, E. L. 1984. Allelopathy. 2nd ed. Academic Press, New York and London.
- Rizvi, S. J. J. and V. Rizvi. 1992. Allelopathy. Basic and applied aspects. Chapman and Hall. London and New York.
- Sakihama, Y., M. F. Cohen and S. C. Grace. 2002. Plant phenolic antioxidant and peroxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology* 177: 67-80.
- Santiago, L. J. M., R. P. Louro and D. E. De Oliveira. 2000. Compartmentation of phenolic compounds and phenylalanine ammonialyase in leaves of *Phyllanthus tenellus* Roxb. And their induction by copper sulphate. *Ann. Bot.* 86:1023-1032.
- SAS Institute. 2000. SAS/STAT Guide for personal computers, version 6.03 ed. SAS Inst., Inc. Cary, NC, USA.
- Senden, M. H. M. H., F. J. M. Van Paassen., A. J. G. M. Van Der Mer and H.T.H. Wolterbeek. 1992. Cadmium-citric-acid- xylem cell wall interactions in tomato plants. *Plant Cell Environ.* 15: 71-79.
- Suh, M. H., Y. M. Lee, J. H. Kil and K. D. Kim. 1997. Characteristics and distribution pattern of *Eupatorium rugosum* and Mt. Namsan in Seoul. *Korean Journal of Ecology* 20: 285-291.
- Swain, T. and W. E. Hillis. 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica* I. The quantitative analysis of the phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.* 10: 63-68.
- 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.
- Vitousek, P. M. and L. R. Walker. 1989. Biological invasion by *Myrica faya* in Hawaii: Plant demography, nitrogen fixation, ecosystem effects. *Ecological Monographs* 59: 247-265.
- Walker, L. R. and P. M. Vitousek. 1991. An invader alters germination and growth of a native dominant tree in Hawaii. *Ecology* 72: 1449-1455.
- Zobel, A. M., P. A. Clarke and J. M. Lynch. 1999. Production of phenolics in response to UV irradiation and heavy metals in seedlings of *Acer* species, In F. A. Macias., J. C. G. Galindo, J. M. G. Molinillo and H. G. Cutler (eds.), *Recent advances in allelopathy*. Vol 1. Servicio De Publicaciones Universidad De Cadiz. Spain. pp. 231-242.

(2003년 1월 17일 접수 ; 2003년 2월 11일 채택)

Environmental Adaptability of *Eupatorium rugosum* : Relationship between Accumulation of Heavy Metals and Phenolic Compounds

Kim, Yong-Ok[†], Jong Ya Park* and Ho-Joon Lee*

[†]*Intensive Forestry Program, Washington State University, Puyallup, WA 98371-4998, USA*
*Department of Biological Sciences, Division of Natural Science, Konkuk University**

ABSTRACT : Seed germination rate and seedling growth were measured on 6 different species (*Phytolacca americana*, *Eupatorium rugosum*, *Rumex acetocella*, *Echinochloa crusgalli*, *Cassia mimosoides* var. *nomame*, *Setaria viridis*) treated with leaf extract of *E. rugosum*. Total phenolic compound and heavy metal were analyzed on leaf and soil with and without *E. rugosum*. The growth of *P. americana* seedlings were stimulated by 10% and 25% of *E. rugosum* water extract treatment. The content of total phenolic compounds in soil was lower than that of leaf extract, and 25% was confirmed as threshold concentration in natural systems because the total phenolic compounds were not significantly different between the control soils and the soil treated with 10%, and 25% extract. Total phenolic compound concentrations of the leaf extracts were highest (1.66 mg/l) with *E. rugosum* grown under the *Quercus* forest canopy and lowest (1.09 mg/l) for the plant grown in the mixed forest edge. Leaf extracts of plants selected in different sampling sites (Forest interior, Forest edge, under *Pinus* Canopy and *Quercus* Canopy) were significant, while soil extracts were not. Seed germination of *R. acetocella* and *S. viridis* were significantly inhibited at over 50% concentrations of *E. rugosum*, but *C. mimosoides* var. *nomame* was not affected at any concentration. The radicle and shoot growth of the native species group were reduced two times more than those of the exotic species group by the treatment of extracts. Especially, the seed germination percentage and dry weight of *E. rugosum* were greater than those of the control group by treatments with extracts of 10% and 25%. Analysis of aqueous extracts from *E. rugosum* by HPLC identified 6 phenolic compounds: caffeic acid (460.9 mg/l), benzoic acid (109.7 mg/l), protocatechuic acid (7.3 mg/l), *p*-hydroquinone (6.0 mg/l), cinnamic acid (2.7 mg/l) and hydroquinone (0.23 mg/l). The seed germination of *P. americana* was also inhibited dramatically by protocatechuic acid and cinnamic acid even though the content of caffeic acid (460.9 mg/l) was the highest among analyzed phenolic compounds. The heavy metal content of soil without *A. altissima* was higher than that of soil with *E. rugosum*. Particularly, Al, Fe and Mn was considerably high and most of the heavy metal were accumulated in leaves where a high level of total phenolic compounds was found.

Key words : *Eupatorium rugosum*, Heavy metal, Seed germination, Seedling growth, Total phenolic compounds.
