

석사학위논문

알로에 (*Aloe arborescens* M.)의
항진균성 검정을 통한 생물농약
가능성 탐색



제주대학교 대학원

원예학과

고성욱

2008년 8월

알로에 (*Aloe arborescens* M.)의 항진균성 검정을 통한 생물농약 가능성 탐색

지도교수 소 인 섭

고 성 욱

이 논문을 농학 석사학위 논문으로 제출함

2008년 8월

고성욱의 농학 석사학위 논문을 인준함

심사위원장 _____

위 원 _____

위 원 _____

제주대학교 대학원

2008년 8월

Study on antifungal activity of *Aloe arborescens* M. for a potential bio-pesticide

Seong Wook Ko

(Supervised by Professor In Sup So)

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirement for the degree of master of science in agriculture

2008. 8.

Department of Horticultural Science
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

목 차

목 차	i
Abstract	ii
List of Tables	iii
List of Figures	iv
I. 서 언	1
II. 재료 및 방법	3
1. 재료	3
2. 용매별 추출물 제조.....	3
3. 균주 및 배양.....	4
4. <i>In vitro</i> 항균 활성 측정	4
5. <i>In vivo</i> 항균 활성 조사.....	5
III. 결과 및 고찰	6
1. 용매별 추출물 항균 효과	6
2. 추출물 농도별 항균 효과	12
3. <i>In vivo</i> 에서 알로에 추출물의 항균 효과.....	19
IV. 적 요	22
V. 참 고 문 헌	23
VI. 감 사 의 글	27

ABSTRACT

The results of antifungal activity reaction to Aloe peel and juice extracted by several solvents and concentrations against three plant pathogenic fungi as *Collectrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, and *Fusarium solani* are as follows.

The antifungal activity of Aloe extracts varied with the kinds of solvents. In case of *Collectrichum gloesporioides* and *Fusarium solani*, it's the highest in water, second in methanol, and third in ethanol.

It showed that antifungal activity of Aloe peel and juice extracts based on concentration is much more excellent in juice extracts than peel extracts against *Collectotrichum gloeosporioides*, *Fusarium solani*.

Effect of antifungal activity against *Fusarium oxysporum* by juice extracts did not appear at a concentration of $10^2 \mu\text{l/l}$ and then shows 9.5% of inhibition rate at $10^5 \mu\text{l/l}$ while against *Collectotrichum gloeosporioides* it starts to react at $10^2 \mu\text{l/l}$ and then reaches at 29.3% of the highest inhibition rate at a concentration of $10^5 \mu\text{l/l}$ out of three plant pathogenic fungi.

In vivo, the effect of control efficacy against Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* by juice extracts of foliar spray tends to increase and the more the concentration of juice extracts increases, the higher the effect of control efficacy against Fusarium wilt disease is. Foliar spray at a concentration of 10g/l has a 62% of control efficacy compared with control treatment.

In conclusion, I think that foliar spray of Aloe juice extracts can be the more effective method in order to prevent Fusarium wilt disease caused by *Fusarium oxysporum*.

List of Tables

Table 1.	Effects of <i>A. arborescens</i> peel and juice extracts with different solvents on mycelia growth of <i>C. gloeosporioides</i>	8
Table 2.	Effects of <i>A. arborescens</i> peel and juice extracts with different solvents on mycelia growth of <i>F. oxysporum</i>	9
Table 3.	Effects of <i>A. arborescens</i> peel and juice extracts with different solvents on mycelia growth of <i>F. solani</i>	10
Table 4.	Antifungal activity of <i>A. arborescens</i> juice water extract with different concentration on <i>C. gloeosporioides</i>	14
Table 5.	Antifungal activity of <i>A. arborescens</i> peel water extract with different concentration against <i>F. oxysporum</i>	15
Table 6.	Antifungal activity of <i>A. arborescens</i> juice water extract with different concentration against <i>F. solani</i>	16
Table 7.	Control efficacy of <i>A. arborescens</i> water extract by foliar spray against Fusarium wilt disease caused by <i>F. oxysporum</i>	20

List of Figures

Figure 1.	Effect of <i>A. arborescens</i> peel and juice extracts with different solvents against mycelia growth of plant pathogenic fungi.	11
Figure 2.	Antifungal activity of <i>A. arborescens</i> peel and juice water extracts with different concentrations on plant pathogenic fungi.	17
Figure 3.	Effect of <i>A. arborescens</i> peel and juice extracts on mycelia growth inhibition rate for plant pathogenic fungi.	18
Figure 4.	Symptoms of Fusarium wilt on <i>Cymbidium kanran</i> bulb caused by <i>F. oxysporum</i>	21

I. 서 언

농업생산성 증대를 위한 유기합성농약의 사용으로 생산성은 증대되었으나 천적, 유용미생물 등의 감소와 인축에 대한 독성, 토양이나 식품 등의 잔류독성 및 환경오염과 같은 부작용을 초래하여 왔다(Staub 와 Sozzi, 1984).

최근에는 이러한 문제점을 해결하기 위하여 친환경적인 저항성 품종개발, 생물학적 방제 및 생물농약 개발 등에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 국제적으로 리우환경선언과 WTO 체제에 따른 그린라운드의 출범으로 안전한 농산물의 생산 및 유통에 대한 전반적인 규제가 강화되고 있으며 소비자 환경친화적인 농산물에 대한 요구도 점차 증대되고 있다(김, 2007). 2001년 현재 전 세계 농약시장에서 전체 농약 시장규모의 성장이 정체적인 양상을 보이는데 반하여 생물농약이 차지하는 비중은 약 5%로 아직은 미약하지만 최근 5년간 평균치로는 연평균 약 20% 이상의 성장을 보이고 있다(박, 2001). 최근 가장 많은 연구가 진행되고 있는 분야는 생물학적 방제에 관한 미생물 유래의 천연항생물질에 관한 것이지만 이들은 독성 및 고비용의 생산성 문제가 수반되며, 또 다른 분야로써 길항성 세균을 이용하는 것은 대상작물의 환경 조건에 따라 방제효과가 달라지는 문제점들과 균체의 영속성을 저해하는 활성저해 등의 문제점을 가지고 있다(이 등, 1995 ; 김 등, 2006).

한편 천연식물에서 유래하는 항균활성물질은 대개 천연즙액, essential oil, terpenoids, saponins, phenolic compounds, alkaloids, pepties와 proteins 등의 그룹으로 나눌수 있는데 이들의 항균활성은 대부분 stress metabolites 나 phytoalexin 작용에 의해 이루어진다고 한다(이 등, 1999 ; Cowan, 1999 ; Abad 등, 2007).

알로에는 백합과의 다년생 다육 초본식물로 약 500종 이상이 보고되었으나 세계적으로 식용이나 약용으로 실용화 할 수 있는 종은 알로에 베라(*Aloe vera* L.) 와 알로에 아보레센스(*Aloe arborescens* M.) 등의 6~7종에 불과하다(이, 2008).

알로에 함유성분으로는 aloe-emodin, aloin, aloesin 등의 phenolic compounds, polysaccharides, organic acids, saponins, terpenoid 등의 물질로 밝혀졌고, 인간과 동물의 질병에 대한 항세균, 항진균, 항염증, 항종양 효과 등의 의학적 연구가 다수 보고되었으나 식물성 병원균에 대한 농업적 이용에 관한 연구는 아직 미약한 편이다(이 등, 1997; Reynolds 와 Dweck, 1999 ; Ni 등, 2004 ; Steenkamp와 Stewart, 2007).

한편 대표적 관상식물인 난과식물은 전 세계적으로 온대 및 아열대지역에 걸쳐 분포하고 있으며 최근 우리나라에서도 문화수준이 향상 되면서 난 애호가 수가 급증하게 되었고 난의 급격한 수요 증가에 따라 난 생산체계가 기업화 되고 있다. 심비디움속(*Cymbidium*)에 속하는 한란(*Cymbidium kanran*)과 춘란(*Cymbidium goeringii*)은 대표적인 동양란으로 꼽히고 우리나라를 비롯한 중국, 일본에서 애호 재배되고 있으며 명품일 경우 고가로 판매되고 있다. 그러나 이들 심비디움속 식물의 재배에 있어 피해를 주는 대표적인 병으로는 탄저병(*Collectotrichum gloeosporioides*), 시들음병(*Fusarium oxysporum*), 근부병(*Fusarium solani*) 등으로 상품가치를 저해하고 식물체를 고사시키기도 한다(박 등, 1996 ; 박 과 신, 2005 ; 김 과 천, 2007).

따라서 본 연구는 천연 항균물질이 함유되었다고 알려진 *Aloe arborescens* 추출물의 항균활성을 이용하여 난과식물 중 심비디움속 식물에 치명적인 3종의 병원성 진균 *Collectotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*에 대한 항균활성을 구명하여 천연 생물농약으로의 가능성과 활용의 기초 자료를 얻고자 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

추출 재료로서 알로에는 2007년 7월 제주도 알로에 재배농장에서 3년생의 발육 상태가 좋고 신선한 *Aloe arborescence* Mill.(이하 *A. arborescens*라 칭함)을 구입하여 엽체 부위를 껍질과 육질을 따로 분리하여 동결건조기로 건조시킨 후 분쇄기로 분쇄하여 70 mesh 이하의 것을 시료로 사용하였다.

2. 용매별 추출물 제조

알로에 추출은 3종류의 용매 즉 물(distilled water), 에탄올(ethanol) 및 메탄올(methanol)을 사용하여 추출하였다.

1) 증류수 추출물 제조

알로에 분말을 부위별로 10g을 취하여 증류수 1L를 가하여 항온수조에서 60℃로 24시간 추출한 다음 filter paper(Whatman No. 2)로 여과한 다음 냉장보관하면서 시료로 사용하였다.

2) 에탄올 및 메탄올 추출물 제조

부위별로 조제된 알로에 분말을 10g을 취하여 에탄올(60%) 및 메탄올(60%) 1ℓ를 가한 후 60℃에서 24시간 항온수조에서 추출한 후 filter paper로 여과하였

다. 이 여과액은 rotary vacuum evaporator(EYELA N-1000, JAPAN)로 감압 농축시켜 에탄올 및 메탄올성분을 제거한 후 1% tween-20 10ml를 첨가시킨 후 냉장보관하면서 시료로 사용하였다.

3. 균주 및 배양

항균활성 시험에 사용된 진균으로는 *Collectotrichum gloeosporioides*(이하 *C. gloeosporioides*로 칭함), *Fusarium oxysporum*(이하, *F. oxysporum*로 칭함), *Fusarium solani*(이하 *F. solani*로 칭함)이고 제주대학교 식물자원환경전공 실험실에 보관된 균주를 사용하였다.

배지는 Potato Dextrose Agar(PDA)를 사용하였고 배양조건을 27℃, 암조건에서 배양하였다.

4. *In vitro* 항균 활성 측정

1) 용매별 추출 항균 활성 측정

대조군은 PDA 배지를 그대로 사용하였고, 시험군에는 용매별로 추출한 알로에 껍질과 육질시료를 PDA 배지에 첨가한 후 120℃에서 15분간 고압멸균 한 후 사용하였으며 5일간 배양한 진균을 각각의 배지 한가운데 접종 한 후 콜로니의 직경을 측정하였으며 각 처리 당 5회의 반복실험을 실시하였다.

2) 농도별 항균 활성 측정

실험군은 용매별로 추출한 시료의 실험에서 가장 효과적인 용매를 선발하여 알

로에 시료 100g을 증류수 1L에 추출한 추출액을 0, 10², 10³, 10⁴, 10⁵ μl/l 농도의 추출액을 첨가한 PDA 배지를 사용하였으며, 각 농도별 처리 당 10회의 반복실험을 실시하였다.

또한 알로에 추출물의 농도별 항균활성을 조사하고자 균사의 생장억제율을 다음과 같이 도(1999)의 방법으로 산출하여 조사하였다.

$$\text{생장억제율(\%)} = \frac{\text{대조구 균사생장직경} - \text{처리구의 균사생장직경}}{\text{대조구 균사생장직경}} \times 100$$

5. *In vivo* 항균 활성 조사

조직배양으로 증식된 한란 개체에 알로에 육질 물 추출액을 0, 0.01, 0.1, 1, 10g/l의 농도로 증류수에 희석하여 한란 개체에 엽면살포 하였고 그 후에 온도 27°C, 습도 60%의 성장상에 2일간 순화를 시킨 다음 배양된 *F. oxysporium* 균사를 멸균수에 희석, 여과시킨 후 5×5mm 크기의 솜에 적신 다음 난의 벌브 주위에 접종시켰다. 접종 후 1일간은 온도 30°C, 습도 90% 상태로 균의 접종을 용이케 하였고 그 후 온도 27°C, 습도 60%로 유지하였으며 10일 간격으로 농도별 알로에 육질 추출물을 엽면살포 처리를 하였다. 처리별로 5개 개체수로 3반복 실험을 실시하였고 30일 경과 후 발병 개체수를 조사하여 *F. oxysporium* 방제 효과를 유 등(2000)의 방법으로 조사하였다.

$$\text{방제효과(\%)} = \frac{\text{무처리구 발병 개체수} - \text{처리구의 발병개체수}}{\text{무처리구 발병개체수}} \times 100$$

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 용매별 추출물 항균 효과

Table 1., 2., 3.은 물, 에탄올, 메탄올 세 종류의 용매별 *A. arborescens* 껍질과 육질의 추출물이 *C. gloeosporioides*, *F. oxysporum*, *F. solani* 등의 식물병원성 진균에 대한 항균 활성을 조사한 결과이다.

알로에 추출물의 용매별 항균활성에서 물 추출물의 경우, *C. gloeosporioides*에서는 육질 추출물에서 55.23mm의 군사생장을 보이고 있어 껍질 추출물의 64.20mm 보다 군사생장을 억제시켰으나 같은 육질 추출물 내에서도 에탄올과 메탄올 용매추출의 결과에서 나타난 64.31mm, 61.01mm 과 비교할 때 군사생장 억제에 가장 효과적이었다.

*F. solani*의 경우 육질 물 추출물에서 62.80mm의 군사생장을 보여 껍질과 육질의 추출물 중 군사생장을 가장 크게 억제하였고 껍질추출물 보다는 육질추출물에서 군사생장이 크게 억제되었다. *F. oxysporum*에 대한 군사생장 억제는 껍질의 물 추출물과 육질의 에탄올 추출물에서 68.72mm, 69.44mm의 군사생장을 보여 껍질의 물 추출액이 군사생장을 다소 억제시켰다. 이 결과는 Rodriguez 등 (2005)이 *A. vera* 잎의 껍질과 육질 추출물의 항균활성 연구에서 육질 추출물에서는 *Rhizoctonia solani*, *F. oxysporum*, *Collectotrchum coccodes* 등의 모든 진균에서 항균활성을 나타냈으나 껍질 추출물에서는 *F. oxysporum* 만 항균활성을 나타내었다는 연구와 유사한 결과를 보였다.

따라서 껍질과 육질 및 용매별 추출물이 공시한 3종의 식물병원성 진균에 대한 항균활성은 *C. gloeosporioides*에서는 육질 물 추출물이 가장 높은 항균활성을 보였으며 *F. oxysporum*에서 가장 낮은 항균활성을 나타내었다. *C. gloeosporioides*, *F. solani*의 경우, 육질 추출물이 껍질 추출물보다 항균활성 효과가 높았다(Fig 1.).

Bajwa 등(2007)은 *A. vera* 추출용매별 항균활성 연구에서 물용매 추출물이 헥산용매 추출물보다 항균활성이 높다고 하였고, Ali 등(1999)은 *A. vera*, *A. arborescens*, *A. eru* 등 3종의 알로에 식물체를 대상으로 용매를 달리한 추출물의 항균활성에서 에탄올 추출물이 물 추출물보다 항균활성이 높다고 하였다. 또한 오 등(2000)은 *A. vera*와 *A. arborescens* 용매별 추출물의 항암효과 검정 연구에서 에틸에테르 추출물이 물 추출물 보다 항균활성이 높았다고 하였는데 본 시험에서는 이와 반대로 물 추출물이 에탄올 추출물 보다 항균활성이 높게 나타났다.

또한 윤 등(2005)은 *Helicobacter pylori*에 대한 백부자 추출물의 항균효과 연구에서 항균활성 물질인 phenol성 물질 추출에 있어 추출수율은 열수추출물이 에탄올 추출물 보다 추출수율이 높다 하였고 김(2003)은 *A. vera*와 *A. arborescens*의 항세균활성 연구에서 수용성분획물 추출수율은 증류수추출물이 메탄올과 에탄올 추출물 보다 높다고 보고한 반면에 Park 등(1994)은 *A. vera* 활성물질인 barbaloin 추출에 메탄올, 에탄올, 물의 순서로 추출함량이 높았다고 하였다.

따라서 추출용매와 추출수율이 항균활성에 미치는 영향은 물과 같은 극성을 갖는 용매는 n-hexane, benzene, chloroform 등의 무극성 유기용매 보다 추출수율이 높으므로 aloin, aloe-emodin 등의 활성물질 뿐만 아니라 organic acids, saponins 등과 같은 수용성 활성물질이 항균활성에 상호적으로 관여하는 것이 아닌가 사료된다.

Table 1. Effect of *A. arborescens* peel and juice extracts with different solvents on mycelia growth of *C. gloeosporioides*.

		Colony diameter(mm)		
		<i>C. gloeosporioides</i>		
		4day	7day	9day
PDA ^y		25.76 b ^z	58.12 a	75.57 a
Peel	E.t ^x	25.88 b	49.21 ab	63.07 abc
	M.t	25.56 bc	55.52 a	71.86 ab
	W.t	25.25 bc	50.68 ab	64.20 abc
Juice	E.t	26.91 a	52.53 ab	64.31 abc
	M.t	25.36 bc	49.39 ab	61.01 bc
	W.t	25.01 c	44.64 b	55.23 c

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level

^xE.t : ethanol extract , M.t : methanol extract , W.t : water extract

^yPDA : potato dextrose agar medium

Table 2. Effect of *A. arborescens* peel and juice extracts with different solvents on mycelia growth of *F. oxysporum*.

		Colony diameter(mm)		
		<i>F. oxysporum</i>		
		4day	6day	8day
PDA ^y		40.20 a ^z	63.97 a	85.00 a
E.t ^x		38.39 b	60.89 b	79.23 b
Peel	M.t	36.43 c	57.03 c	70.78 d
	W.t	37.96 bc	57.74 c	68.72 d
E.t		37.83 bc	57.76 c	69.44 d
Juice	M.t	37.31 bc	58.00 c	75.28 c
	W.t	40.26 a	63.78 a	80.25 b

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level

^xE.t : ethanol extract , M.t : methanol extract , W.t : water extract

^yPDA : potato dextrose agar medium

Table 3. Effect of *A. arborescens* peel and juice extracts with different solvents on mycelia growth of *F. solani*.

		Colony diameter(mm)		
		<i>F. solani</i>		
		4day	6day	8day
PDA ^y		30.03 b ^z	58.59 a	85.00 a
E.t ^x		31.15 a	55.84 a	69.28 ab
Peel	M.t	30.23 ab	57.07 a	78.64 ab
	W.t	30.43 ab	54.06 a	66.51 b
E.t		30.52 ab	55.16 a	69.51 ab
Juice	M.t	29.89 b	53.05 a	66.36 b
	W.t	30.19 ab	47.80 a	62.80 b

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level

^xE.t : ethanol extract , M.t : methanol extract , W.t : water extract

^yPDA : potato dextrose agar medium



Fig 1. Effect of *A. arborensceus* peel and juice extracts with different solvents on mycelia growth of plant pathogenic fungi.

A : *C. gloeosporioides* , B : *F. oxysporum* , C : *F. sloani*

E.t : ethanol extract, M.t : methanol extract, W.t : water extract,

Pulp : aloe peel , liquid : aloe juice, PDA : potato dextrose agar medium

2. 추출물 농도별 항균 효과

Table 4., 5., 6.은 *C. gloeosporioides*, *F. oxysporum*, *F. solani* 등 3종의 식물병원성 진균에 대한 알로에 육질과 껍질의 물 추출액 농도별 항균활성을 조사한 결과이다.

*C. gloeosporioides*의 경우는 육질 추출물의 농도가 증가 할수록 균사생장을 억제시켰으며 $10^2 \mu\text{l}/\ell$ 의 농도에서는 대조구에 비해 모든 처리구가 균사생장이 억제됨을 보여주었고, $10^5 \mu\text{l}/\ell$ 에서는 9일 경과 시 54.08mm의 균사생장을 보여 대조구의 76.46mm에 비하여 22mm 이상의 균사생장이 억제되었으며 29%의 항균활성을 나타냈다(Table 4.).

*F. oxysporum*의 경우 접종 3일 경과 후 균사생장은 대조구와 모든 처리구에서 36~37mm 이상의 생장을 보이고 접종 5일까지도 대조구 비해 균사생장 억제효과는 나타나지 않았지만, 접종 7일 경과 후부터는 껍질의 물 추출물 $10^5 \mu\text{l}/\ell$ 의 농도에서 67.15mm의 균사생장을 보여 대조구의 균사생장 74.23mm에 비하여 약 7mm 정도의 균사생장 억제를 보이며 9%의 낮은 항균활성을 보여주었다(Table 5.).

*F. solani*는 접종 3일, 6일 경과 후 균사생장은 대조구와 비교하여 모든 처리구에서 접종 후 시간의 경과에 따라 점차적으로 균사생장을 억제시켰고, 9일 경과 후에는 $10^4 \mu\text{l}/\ell$, $10^5 \mu\text{l}/\ell$ 의 농도에서 대조구의 76.01mm의 균사생장에 비하여 각각 63.89mm, 62.79mm의 균사생장을 보여 균사생장이 억제되는 경향을 나타내었다. 또한 $10^2 \mu\text{l}/\ell$ 의 농도에서 12%, $10^5 \mu\text{l}/\ell$ 의 농도에서는 17%의 항균활성을 보여 농도가 증가 할수록 완만하지만 항균활성이 증가하는 경향을 나타냈다(Table 6.).

따라서, 공시한 알로에 2종의 추출물이 갖는 *C. gloeosporioides*, *F. oxysporum*, *F. solani*의 식물병원성 진균에 대한 항균활성은 *C. gloeosporioides*에 대하여 $10^5 \mu\text{l}/\ell$ 의 농도에서 29%의 항균율을 보여 가장 높은 항균율을 나타냈고, *F. oxysporum*에 대하여 $10^5 \mu\text{l}/\ell$ 의 농도에서 9%로 가장 낮은 항균율을 나타냈다. 따라서 알로에 추출물의 농도가 높을수록 3종의 진균에 대한 항균율 또

한 증가되었다(Fig 2).

알로에 추출물의 농도가 식물병원성 진균에 대한 항균활성에 미치는 영향을 살펴보면, Fujita 등(1978)은 *A. arborescens* 분말을 배지 내에 첨가하여 *Trichophyton mentagrophytes*에 대한 항균활성을 연구한 바 최소균사생장억제농도는 25mg/ml에서 이루어졌다고 하였다. 또한 Saks 와 Barkai(1995)는 오렌지류 과실의 수확 후 발생하는 4종의 식물병원성 진균에 대한 *A. vera* 육질추출물의 항균활성 연구에서 $10^5 \mu\text{l}/\ell$ 의 농도에서 *Alternaria alternata*와 *Botrytis cinerea*의 포자 생존율을 95% 감소시켰고, $1 \mu\text{l}/\ell$ 의 농도에서는 *Penicillium digitatum*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*의 균사생장을 67~69% 억제시킨다고 보고하였다.

Rosca 등(2007) *A. vera*의 알콜 추출물이 *Botrytis gladiolum*, *F. oxysporum* sp. *gladioli*, *Penicillium gladioli*의 네 종류의 진균에 대하여 $80 \sim 100 \mu\text{l}/\ell$ 의 농도에서 최소균사생장억제가 이루어졌고 *F. oxysporum*의 균사생장 억제는 $40 \mu\text{l}/\ell$ 의 농도로부터 $100 \mu\text{l}/\ell$ 의 농도에서 완전한 균사생육 억제효과를 보고한 바 있다.

이와 같이 알로에 추출물의 농도가 식물병원성 진균의 종류에 따라 항균활성 반응이 다른 것은 이들 진균의 대상식물 종류별 감염 특이성과 감수성에 의해 달라지는 것으로 생각되지만, 본 시험의 결과에서와 같이 추출물의 농도가 최저 $10^2 \mu\text{l}/\ell$ 에서 최고 $10^5 \mu\text{l}/\ell$ 까지 증가함에 따라 항균활성 효과는 비례적으로 상승한다 하는 점은 일단 항균활성 효과를 확인한 셈이다. 다만 추출물의 첨가 농도의 증가가 경영적 측면에서 합리적일 수 있는가는 대상식물의 상품적 가치에 대한 적용성도 따져 보아야 할 사안으로 남는다 하겠다.

Table 4. Antifungal activity of *A. arborescens* juice water extract with different concentrations on *C. gloeosporioides*.

Concentration ($\mu\text{l}/\ell$)	Colony diameter(mm)		
	3day	6day	9day
0	25.24 a ^z	45.92 a	76.46 a
10 ²	23.14 b	39.58 b	67.14 ab
10 ³	23.25 b	39.76 b	65.48 ab
10 ⁴	23.45 b	39.49 b	61.99 b
10 ⁵	22.95 b	34.77 c	54.08 b

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level

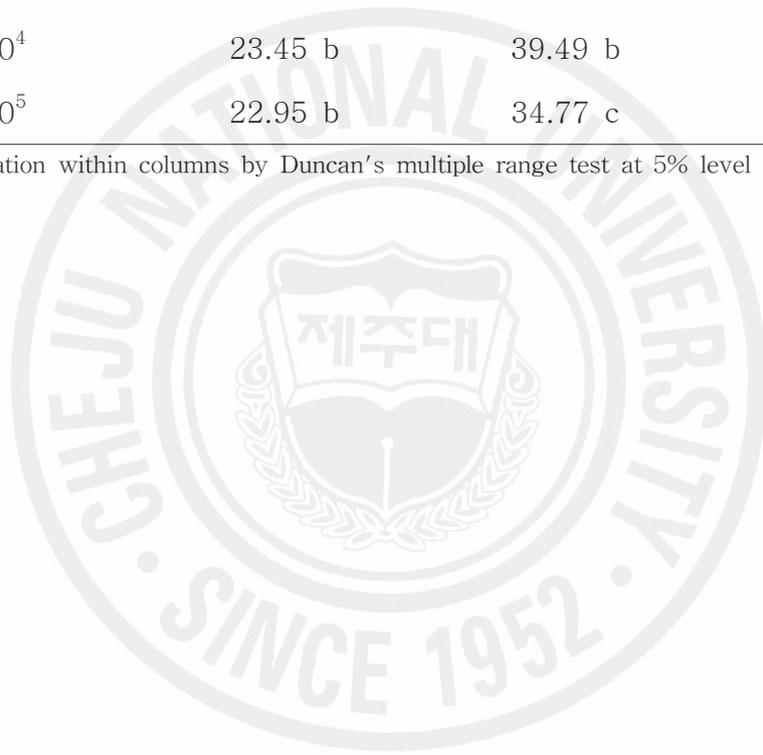


Table 5. Antifungal activity of *A. arborescens* peel water extract with different concentrations on *F. oxysporum*.

Concentration ($\mu\text{l/l}$)	Colony diameter(mm)		
	3day	5day	7day
0	36.11 a ^z	56.39 a	74.23 a
10 ²	36.79 a	56.78 a	74.22 a
10 ³	36.79 a	55.96 a	72.14 ab
10 ⁴	37.02 a	55.73 a	69.39 bc
10 ⁵	37.37 a	55.42 a	67.15 c

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level

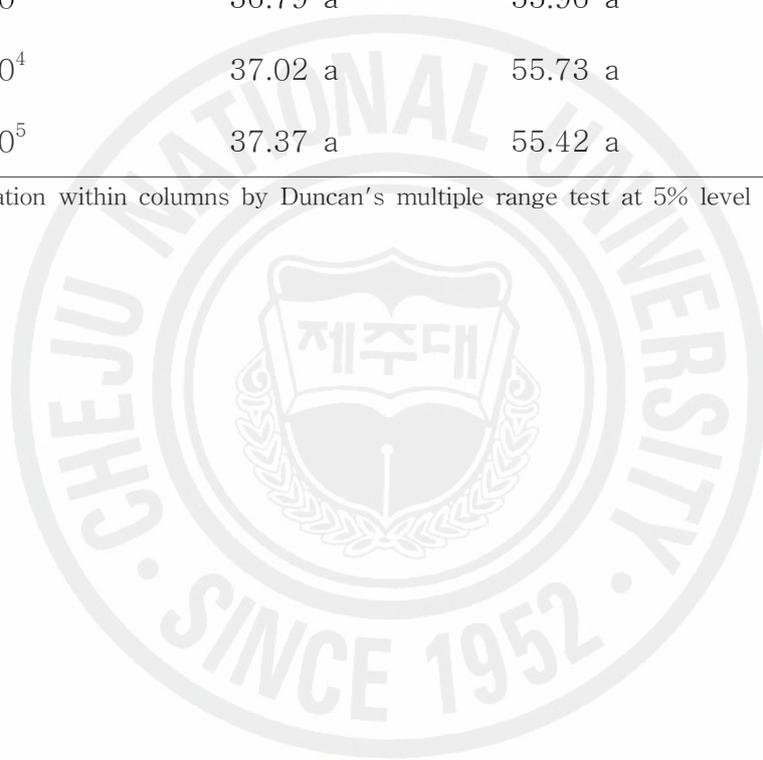
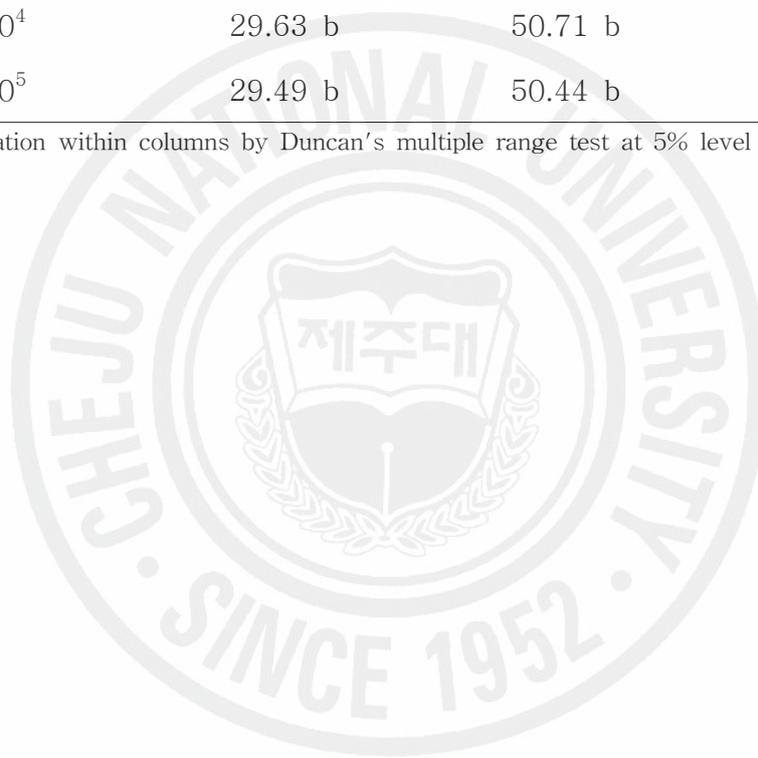


Table 6. Antifungal activity of *A. arborescens* juice water extract with different concentrations on *F. solani*.

Concentration ($\mu\text{l/l}$)	Colony diameter(mm)		
	3day	6day	9day
0	31.24 a ^z	59.03 a	76.01 a
10 ²	28.47 b	53.82 b	66.62 ab
10 ³	29.66 b	50.97 b	65.01 ab
10 ⁴	29.63 b	50.71 b	63.89 b
10 ⁵	29.49 b	50.44 b	62.79 b

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level



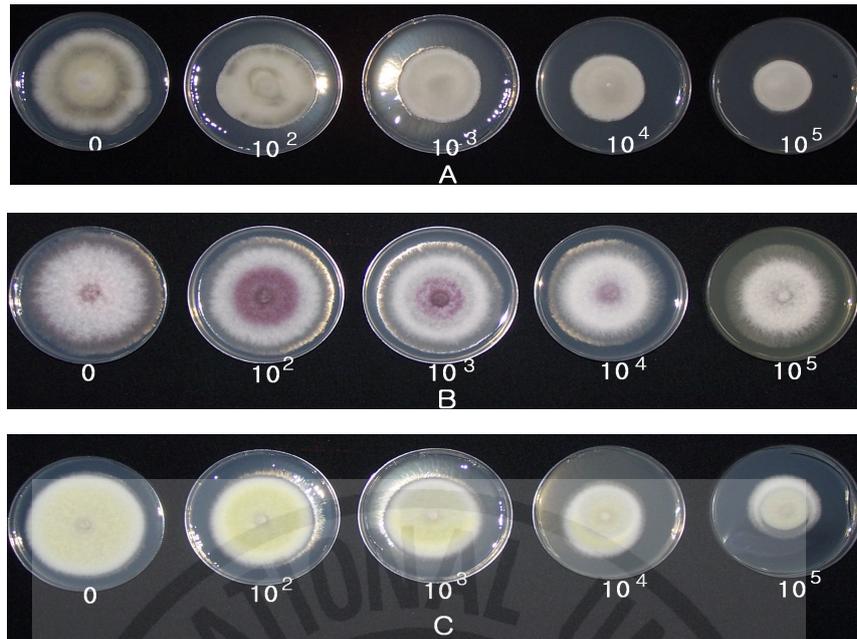


Fig 2. Antifungal activity of *A. arborescens* peel and juice water extracts with different concentrations on plant pathogenic fungi($\mu\text{l}/\ell$).

A : *C. gloeosporioides* (juice), B : *F. oxysporum* (peel),

C : *F. sloani* (juice)

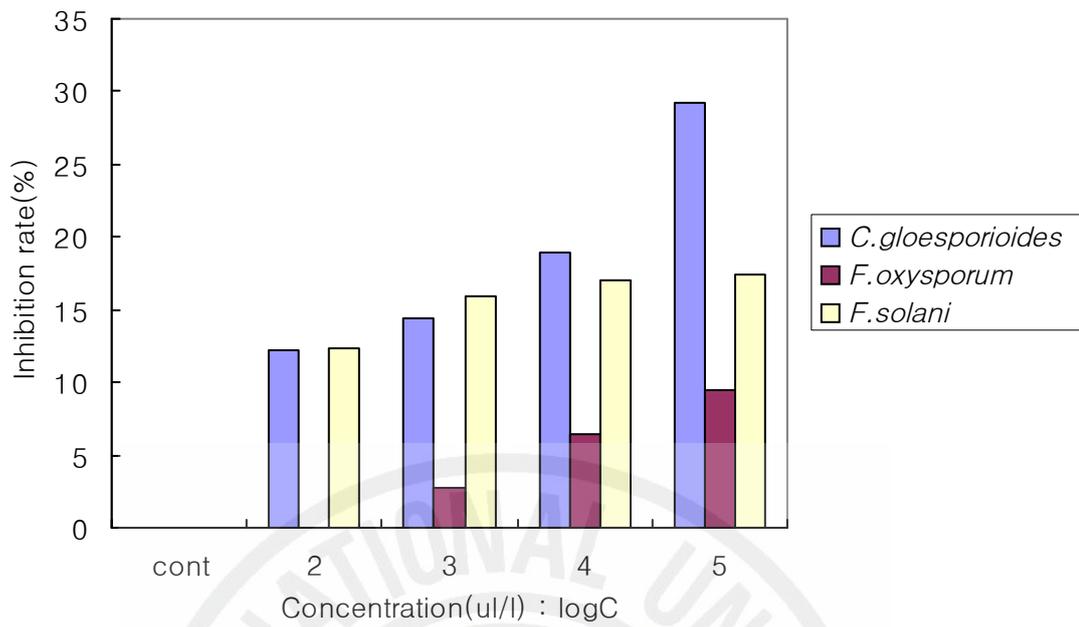


Fig 3. Effect of *A. arborescens* peel and juice water extracts on mycelia growth inhibition rate for plant pathogenic fungi.

3. *In vivo* 에서 알로에 추출물의 항균활성

In vivo 시험으로써 조직배양 된 한란(*Cymbidium kanran*) 순화묘(크기: 6.5 ± 0.5 cm, 벌브직경: 0.7 ± 0.2 cm)에 *F. oxysporum*을 접종시킨 후 알로에 육질 물 추출물의 농도별 엽면살포 처리가 *F. oxysporum*에 미치는 영향을 조사하였다.

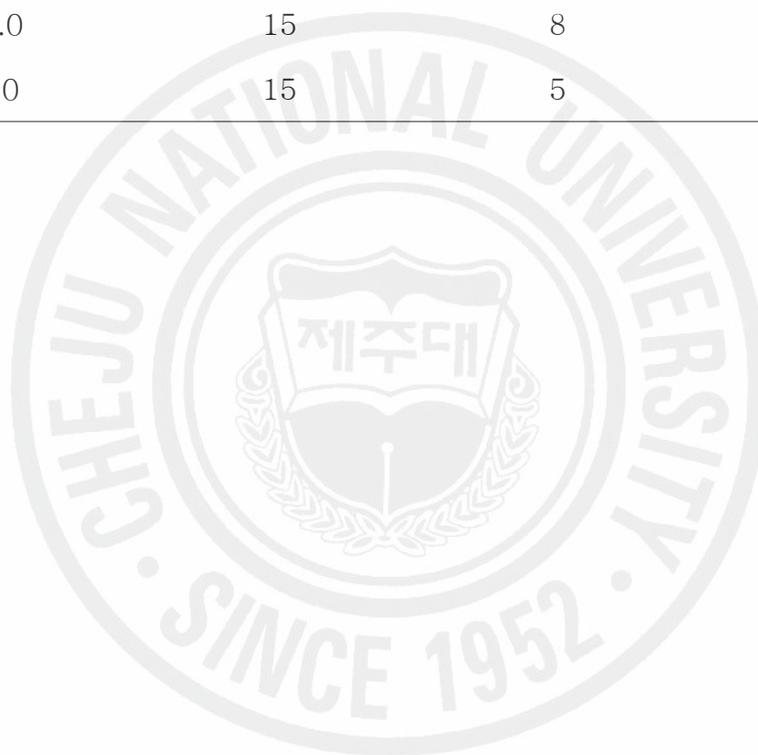
F. oxyproum 접종 30일 경과 후 알로에 육질 물 추출물 무처리구에서는 한란 순화묘 15개체 중 13개의 개체가 병 발생으로 고사한 반면, $0.01\text{g}/\ell$, $1.0\text{g}/\ell$, $10\text{g}/\ell$ 의 육질 추출물 엽면살포 처리는 각각 10개, 8개, 5개체가 병 발생으로 고사하였다. 따라서 무처리구에 비해 알로에 육질 물 추출물 엽면살포 처리의 시들음병 방제효과는 $0.01\text{g}/\ell$, $1.0\text{g}/\ell$, $10\text{g}/\ell$ 의 농도에서 각각 23.1%, 39.1, 62.1%을 나타내어 처리농도가 높을수록 시들음병 발생을 억제하였다(Table 5., Fig 4).

김 등(2007)은 *F. oxysporum*에 의해 발생하는 시들음병(Fusarium wilt)은 토양 전염성 병원균으로 주로 뿌리의 상처나 곁뿌리가 나온 틈새로 침입하여 도관(vascular)에 도달한 후 급격히 증식하여 도관을 막고 독소를 분비하여 조직을 파괴하기 때문에 식물체의 양수분 이동이 저해되어 시들음 증상을 나타내고 결국 하엽이 지는 증상이 나타나거나 심하면 고사한다고 하였다. 한편 일반적으로 식물에 나타나는 시들음병의 병징은 심하게 진전되어야 외부로 병징이 나타나기 때문에 발병된 후에는 방제가 거의 불가능하며 병의 방제를 위해서는 예방이 최선책임을 강조한 바 있다.

따라서 조기의 병징 확인에 어렵고 발병된 후에 치료가 거의 불가능한 치명적인 시들음병 방제에 알로에 육질 추출물 $10\text{g}/\ell$ 농도의 엽면살포 처리가 무처리구에 비해 62%의 병 방제효과를 보여주고 있어 앞으로 천연생물농약으로서 알로에 이용 가능성이 충분히 있음을 본 시험에서 확인하였다.

Table 7. Control efficacy of *A. arborescens* water extract foliar spray on Fusarium wilt disease caused by *F. oxysporum*.

<i>F. oxysporum</i>			
concentration (g/l)	no. inoculation plant	no. infected plant	control efficacy (%)
0	15	13	-
0.01	15	10	23.0
0.1	15	11	16.1
1.0	15	8	39.1
10	15	5	62.1



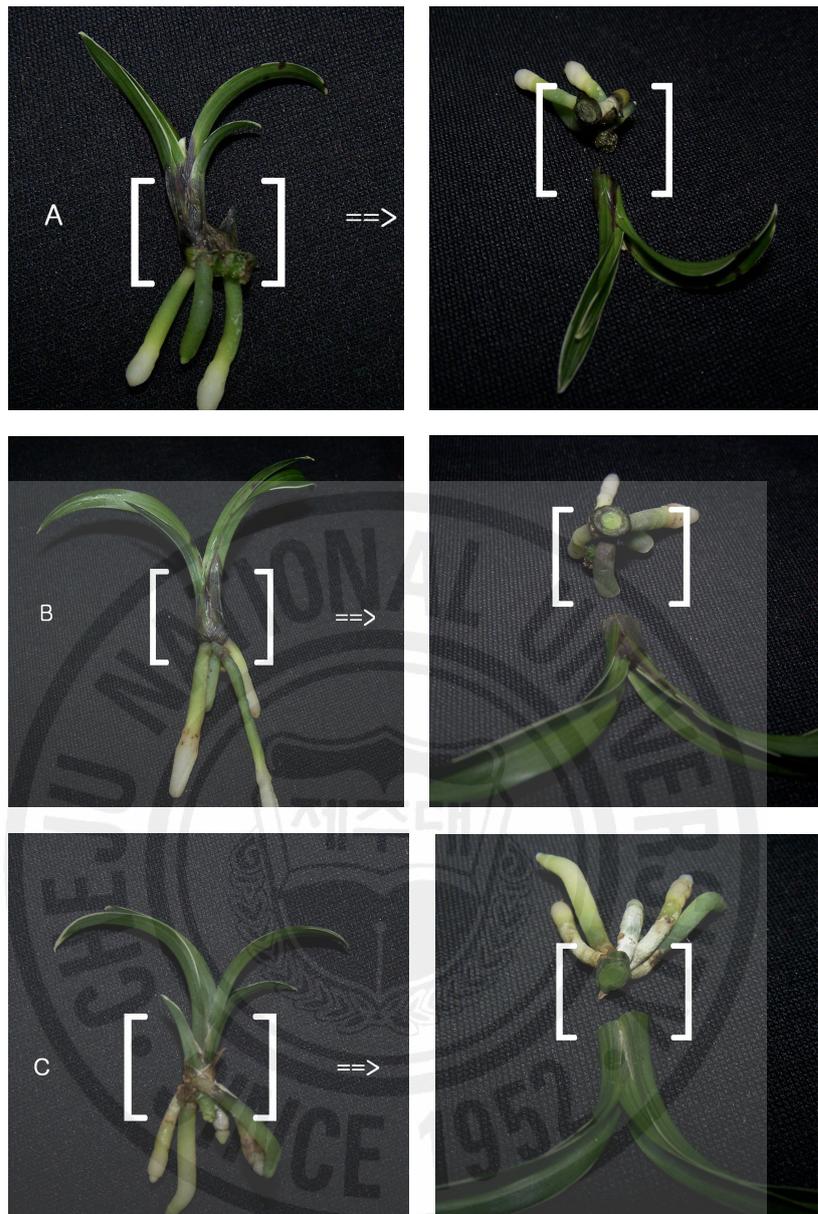


Fig 4. Symptoms of Fusarium wilt on *Cymbidium kanran* bulb caused by *F. oxysporum*

(Left : diseased plant, Right : cross section of bulb)

A : typically Fusarium wilt disease on bulb caused by *F. oxysporum* : untreated foliar spray

B : occurred slightly Fusarium wilt on bulb caused by *F. oxysporum* : treated foliar spray 0.01g/ℓ

C : intact bulb(disinfected) : treated foliar spray 10g/ℓ

IV. 적 요

알로에 껍질과 육질 추출물의 *C.gloeosporioides*, *F. oxysporum*, *F. sloani*의 세 가지 식물병원균에 대한 알로에 추출물의 용매 및 농도별 항균활성의 결과는 다음과 같다.

용매의 종류에 따른 알로에 추출물의 항진균 활성은 *C. gloeosporioides*, *F. sloani*에 대하여 물>메탄올>에탄올의 순서로 항균활성이 높았다.

알로에 껍질과 육질추출물의 항균활성은 *F. oxysporum*은 껍질 추출물에서, *C. gloeosporioides*, *F. sloani*는 육질 추출물이 활성이 높아 껍질 보다는 육질에서 우수한 항균활성을 보였다.

알로에 육질 물 추출물의 농도에 따른 항균활성은 *F. oxysporum*의 경우는 $10^2 \mu\text{l}/\text{L}$ 의 농도에서는 항균활성이 나타나지 않다가 $10^5 \mu\text{l}/\ell$ 의 농도에서 9.5%의 항균율을 보인 반면 *C. gloeosporioides*에서는 $10^2 \mu\text{l}/\ell$ 의 농도에서 활성반응을 시작하여 $10^5 \mu\text{l}/\ell$ 의 농도에서 최고 29.3%의 항균율을 나타내어, 3종의 식물병원성 진균 중 항균활성이 가장 높았다.

*In vivo*에서 *F. oxysporum*에 대한 알로에 육질 추출물 엽면살포 처리의 방제효과는 육질 추출물 농도가 증가할수록 방제효과가 증가하는 경향이었으며 $10\text{g}/\ell$ 농도 엽면살포 처리는 대조구에 비하여 62%의 방제효과를 나타내어 추출물의 농도가 증가함에 따라 *In vivo*에서도 *F. oxysporum*에 대한 항균활성을 강하게 나타내어 예방차원에서의 알로에 육질 추출물 엽면살포 처리는 *F. oxysporum*에 의한 시들음병 방제에 효과적인 수단이 될 수 있다고 사료된다.

V. 참고문헌

Abad, M. J., M. Ansuategui and P. Bermejo. 2007. Active antifungal substances from natural sources. ARKIVOC, 7:116-145.

Ali, Mohamed I. A., Nagwa M. M. Shalaby, Mohamed H. A. Elgamal, and Ahmed S. M. Mousa. 1999. Antifungal effects of different plant extracts and their major components of selected Aloe species. Phytotherapy research 13:401-407.

Bajwa, R., S. Sobiya and S. Shafique. 2007. Appraisal of antifungal activity of *Aloe vera*. Mycopathology 5:5-9.

Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. J. Clinical Microbiology Review 12:564-582.

도은수. 1999. 지모추출액의 항균활성과 항균성물질의 동정. 중부대학교 자연과학 연구논문집 8:59-70.

Fujita, K., Y. Yamada, K. Azuma and S. Hirozawa. 1978. Effect of leaf extracts of *Aloe arborescens* Mill subsp. natalensis Berger on growth of *Trichophyton mentagrophytes*. Antimicrobial and Agents Chemotherapy 14:132-136.

김재수. 2007. 생물농약 개발방향. 한국농약과학회지 학술발표대회논문집 pp:242-243.

김진원, 천세철. 2007. *Fusarium spp.*에 의한 호접란과 풍란류에 발생하는 뿌리

및 줄기부썩음병. 한국식물병연구지 13:6-14.

김경록, 윤태미, 권형진, 서주원. 2006. 새로운 항생제 및 항진균제 개발동향. 한국미생물학회논문집:미생물과 산업 32:16-20.

김수현. 2003. 알로에 유기용제 추출물의 기능성(1): 베라 추출물의 항균효과. 제주대학교 첨단기술연구소 논문집 41:127-133.

김수현. 2003. 알로에 유기용제 추출물의 기능성(2): 아보라센스 추출물의 항균효과. 제주대학교 첨단기술연구소 논문집 41:131-140.

이은주, 김경석, 홍수형, 하지홍. 1995. 식물 뿌리썩음병을 유발하는 *Fusarium solani*에 대한 *Pseudomonas* 속의 생물학적 방제기작. 한국응용미생물공학회지 23:91-97.

이현옥, 한규용, 한동민. 1999. 참쭈 정유의 항세균 및 항진균 효과. 한국식품영양학회지 12: 559-563

이성철. 2008. 알로에 베라 잎에서의 안트라퀴논 함량과 항산화능. 제주대학교 석사학위논문 pp:1-26.

이소영, 류일환, 심창섭. 1997. 알로에 베라로부터 생리 활성 물질인 아세만난 분리 정제와 특성. 한국생약학회지 28:65-71.

Ni. Y, D. Turner, K.M. Yates and I. Tizard. 2004. Isolation and characterization of structural components of *Aloe vera* L. leaf pulp. International immunopharmacology 4:1745-1755.

오명철, 오창경, 안용석, 고정림, 오혁수, 김수현. 2000. 알로에 용매별 추출물의

항변이원성. 한국식품조리과학회지 16:385-389.

박호용. 2001. 생물농약 개발의 현황 및 전망. 한국농약과학회지 춘계학술발표요
지 pp:6-7.

박인재, 신광수. 2005. 난 썩음병균 *Fusarium sp.* KS-01의 분리 및 계통학적 분
석. 한국균학회지 33:92-94.

Park J. S., K. W. Chang and Y. G. Nam. Analysis of Barbalion in the *Aloe
vera* depending on the various extracting conditions. Agricultural chemistry
and biotechnology 37:409-413.

박숙영, 정희정, 김가영, 고영진. 1996. *Collectotrichum gloeosporioides*에 의한
난 탄저병의 발생 특성. 한국식물병리학회지 12:455-458.

Rodriguez, J. D., D. Hernandez-Castillo, R. Rodriguez-Garcia and J. L.
Angulo-Sanchez. 2005. Antifungal activity in vitro *Aloe vera* pulp and liquid
fraction against plant pathogenic fungi. Industrial Crops and Products
21:81-87.

Reynolds. T and A. C. Dweck. 1999. *Aloe vera* leaf gel: a review update.
Journal of Ethnopharmacology 68:3-37.

Rosca-Casian, O., M. Parvu, L. Vlase and M. Tamas. 2007. Antifungal
activity of *Aloe vera* leaves. Fitoterapia 78:219-222.

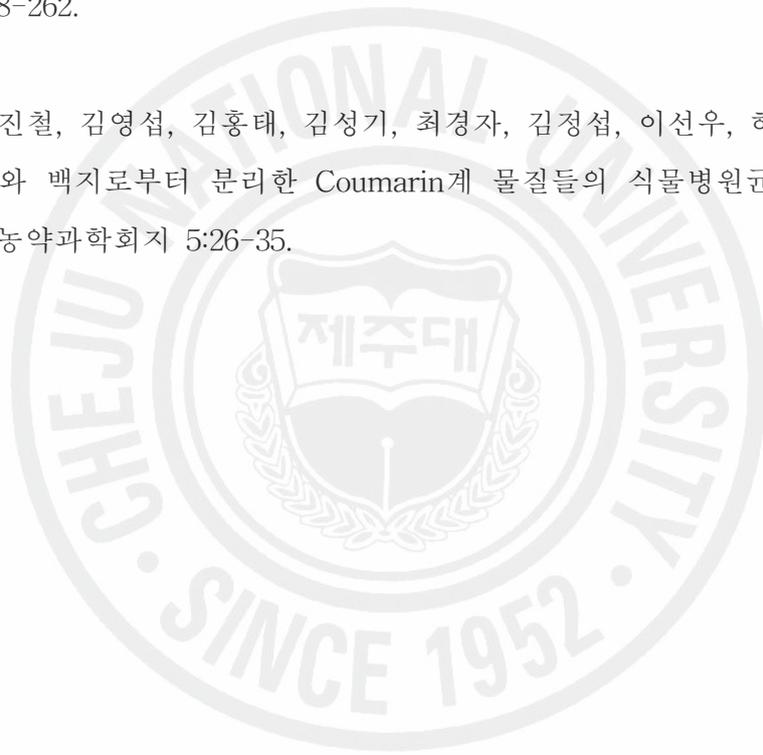
Saks, Y. and R. Barkai-Golan. 1995. *Aloe vera* gel antifungal activity agains
plant pathogenic fungi. Postharvest biology and technology 6:159-165.

Staub, T. and D. Sozzi. 1984. Fungicide resistance: A continuing challenge. *Plant disease* 68:1026-1031.

Steenkamp, V. and M. J. Stewart. 2007. Medicinal applications and toxicological activities of Aloe products. *Pharmaceutical Biology* 45:411-420.

윤소정, 김정환, 이경환, 권효정, 천성숙, 조영제. 2005. 추출용매 비에 따른 백부자(*Aconiti koreani Rhizom*) 추출물의 항균효과 및 항산화효과. *한국응용생화학회지* 48:258-262.

유시용, 김진철, 김영섭, 김홍태, 김성기, 최경자, 김정섭, 이선우, 허정희, 조광연. 2001. 당귀와 백지로부터 분리한 Coumarin계 물질들의 식물병원균에 대한 항균 활성. *한국농약과학회지* 5:26-35.



VI. 감사의 글

길고 긴 시간동안 부족한 저에게 많은 애정과 가르침을 주신 소인섭 교수님께 머리 숙여 감사를 드립니다. 바쁘신 와중에도 부족한 저의 논문을 꼼꼼히 다듬어 주시고 많은 지도를 해주신 강훈 교수님과 한상현 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 또한 학부, 대학원 생활동안 많은 가르침을 주시고 지켜봐주신 문두길 교수님, 박용봉, 송관정 교수님께 진심으로 감사드립니다.

이 논문이 완성될 때 까지 함께 도와준 후배 찬규, 은경이와 항상 따뜻한 마음으로 배려해 준 조직배양실의 가족들과 제주농업기술원의 성문석 박사님, 아열대 농업생명과학연구소의 한형권 선생님께도 고마움을 전합니다.

끝으로 항상 말없이 따스한 애정을 갖고 지켜봐 주시는 사랑하는 부모님과 가족 모두에게 감사드립니다.

