

人蔘 粗 Saponin 과 粗汁液의 人蔘根腐病菌 *Fusarium solani* 와 *Erwinia carotovora*의 生育에 미치는 영향

朴 昌 錫* · 吳 承 煥*

Effect of crude ginseng saponin and raw ginseng juice
on the growth of ginseng root rot organisms,
Fusarium solani and *Erwinia carotovora*.

Chang-Seuk Park* and Seung-Hwan Ohh

Summary

Effect of crude saponin and raw ginseng juice on root rot pathogens such as *Fusarium solani* and *Erwinia carotovora* for there growth or spore germination was investigated.

Macroconidial germination of *F. solani* was decreased as the increasee of the crude saponin concentration, especially, percentage of the germination was remarkably reduced when the concentration was more than 500ppm. The spore production of *F. solani* was also reduced as the increase of the crude saponin concentration and this phenomenon was particularly profound on a solid medium. Mycelial growth was decreased when the crude saponin was added, while the effect of the concentration was not apparently significant. The higher concentration of raw ginseng juice is, the more the growth of *F. solani*.

Growth of *E. carotovora* was enhanced by crude ginseng saponin and raw ginseng juice. The crude ginseng saponin stimulated the growth of *E. carotovora* as the increase of the concentration, while more growth of the bacteria obtained at 1% raw ginseng juice added.

려져 있다.^{7,10)}

1. 緒 論

人蔘의 根腐病을 일으키는 데는 여러가지 微生物이 관여 하지만 그중에도 *Fusarium solani*,^{3,4,8)} *Cylindrocarpon destructans*,^{3,8)} 와 *Erwinia carotovora*,⁷⁾ *Pseudomonas* sp.⁵⁾ 등이 중요한 病原菌으로 보고되고 있다. 지금까지 人蔘栽培 土壤에서 가장 많이 分離되고 被害가 큰 것은 *F. solani* 와 *E. carotovora*로 알

이러한 微生物들은 人蔘根의 토양에서 root exudate 및 人蔘殘存物 등에 의해 직접 간접으로 영향을 받을 것으로 推定되지만 아직까지 이에 대한 報告는 없다. 李等⁵⁾은 人蔘을 栽培하였던 토양과 비재배 토양의 化學性分의 差異는 인삼 재배토양의 Ethanol 抽出 分割에 있었으며 그 性分은 人蔘의 生育中 根에서 분비되었던 것으로 추정하였다. 그러나 이 性分이 根腐病菌과 어떤 관계가 있는가에 대해서는 실험된 바 없다.

인삼의 Saponin은 가장重要的藥効成分으로 알려져 있으며 人蔘이 갖는 特有成分이다. 다른 植物의 Saponin은 溶血作用이 있으며 糜狀菌의 增殖을 억제한다는 보고가 있다⁹⁾ 人蔘 Extract가 *Saccharomyces*나 *E. coli*의 生理作用을 活性化 시킨다는 보고는 있으나¹⁰⁾ 人蔘에 病原菌에 대한 보고는 아직 없다.

本研究는 人蔘의 成分과 根腐病을 일으키는 病菌과의 관계를 明確하기 위한 基礎實驗으로 人工培養基上에서 人蔘粗 Saponin과 粗汁液을 첨가하였을시 病原菌의 生長과 胞子發芽 및 形成, 증식율등에 미치는 영향을 調査하고자 하였다.

2. 材料 및 方法

가. 첨가물의 造製

비양기에 첨가한 粗 Saponin은 水蔘을 Methanol로 추출하여 농축한 것을 물과 Ether를 加하여 Ether層을 分離시키고 물층은 다시 n-Buthanol로 추출하여 Buthanol층과 물층으로 가려내고 n-Buthanol층을 농축하여 粉末粗 Saponin을 얻었다.

人蔘粗汁液은 전전한 水蔘 100g에 50ml의 증류수를 加하여 Homogenizer에 마쇄하여 Cheese clothe 2겹으로 걸려서 침가하였다.

나. 胞子形成 및 菌絲生長조사

Czapek 용액에서, 25°C로 5일간 진탕 배양한 *F. solani*를 Homogenizer로 마쇄하여 1ml當 포자수를 Haemocytometer로 측정하였으며 고체배양기 경우는 5일간 자란 군주에 Petri 접시당 5ml의 殺菌水을 넣고 Agar 표면에 자란 菌絲와 胞子를 모아서 시험판에 넣고 Homogenizer로 마쇄하여 같은 방법으로 포자수를 비교하였다. 菌絲生長은 각처리별로 125ml 삼각 flask

에서 5일간 진탕배양한 菌을 Toyo-II filter-paper로 걸러서 35°C 항온기에서 24시간 건조하여 건물중을 측정하였다.

다. 胞子發芽 및 colony 形成量 조사

*F. solani*의 大型分生胞子 發芽率은 殺菌水 1ml當 5×10⁴ 정도의 胞子浮游液을 0.5ml 씩 Hole-Slide glass에滴下한 후 cover glass을 덮고 다시 이 slide glass을 습실처리한 대형 petri-plate에 넣고 25°C 항온기에서 배양하여 시간별로 發芽率을 조사하였다.

固體培養基에 *F. solani*의 集落形성율을 알기 위하여 petri-plate 당 10⁴/ml의 胞子浮游液을 agar 표면에 고루 接種한후 3日間 25°C에서 배양하여 形成된單一 colony數을 세었다.

라. 細菌의 增殖率조사

첨가물을 넣지 않은 기본배지의 조성을 다음과 같다. NH₄Cl : 1.0g, K₂HPO₄ : 4.0g, KH₂PO₄ : 4.0g, MgSO₄·7H₂O : 0.2g, FeSO₄ : 0.028g, ZnSO₄ : 0.003g, Nicotinic acid : 0.01g, glucose : 10g, 증류수 : 1l. 이 基本배지에 人蔘粗 Saponin을 10, 100, 500, 1000ppm 씩 첨가했으며 粗汁液 첨가시는 기본배지를 無處理로 하였고 처리구는 증류수를 사용하였다.

세균의 生長은 배양액을 10ml 씩 넣은 시험판에 5×10⁴cell/ml의 細菌부유액을 1ml 씩 접종하여 30°C의 진탕배양기에서 배양기에서 배양하면서 균증식량을 540nm의 波長에서 吸光度를 측정하여 混濁度로 生長率을 조사하였다.

3. 實驗結果

가. 人蔘 粗사포닌이 *F. solani* 胞子發芽에 미치는 影響

Table 1. Macroconidial germination of *Fusarium solani* after 4 and 24 hours incubation in distilled water, Czapek solution, and water extract of ginseng cultivated soil supplemented by various concentration of crude saponin.

Concen- tration	Percent germination after 4 hours incubation			Percent germination after 24 hours incubation		
	Czapek solution	Soil ^b extract	Distilled water	Czapek solution	Soil ^b extract	Distilled water
0	72 ^a	35	89	90	91	90
10	68	28	83	89	85	89
100	67	21	77	84	78	84
500	53	25	61	51	48	63
1000	52	23	65	43	46	64

a : Each datum is mean of 3 replicates.

b : Soil obtained from 6 year-old ginseng field was extracted with cold water for 6 hours.

Table 2. Spore production and mycelial growth of *F. solani* in Czapek solution with supplement of crude ginseng saponin at 25°C for 5 days incubation.

Type of growth	Unit	Type of media	Fungal growth at different crude saponin concentration (ppm)				
			0	10	100	500	1000
Spore production $\times 10^4/\text{ml}$	Liquid	9.1*	11.9	10.8	5.3	5.5	
		Solid	15.1	13.3	11.6	6.3	3.0
Mycelial growth(dry wt)	mg	liquid	556.0	499.8	455.1	457.0	470.8

a : Each figure indicates average number of spores observed from 3 replication.

b : Mycelial dry weight were measured after filtration of mycelia with Toyo-Ⅱ filterpaper and dried at 35°C for 24 hours.

人蔘粗사포닌을 증류수에 10, 100, 500, 1000ppm의 농도로 첨가시킨 것과 6年根人蔘栽培土를 물로抽出한 溶液과 Czapek 배양액에 각각 같은 농도의 粗Saponin을 첨가하여 실험하였다. 本實驗에 供試한 *F. solani*는 4年根人蔘에서 分離한 것으로 胞子形成率과 菌絲生長이 왕성하였으며 苗條과 4年根人蔘에 각각 같은 發芽性을 나타내었다. 각 處理別로 胞子發芽率을 보면 Table 1과 같다.

敘述的으로 大型分生胞子의 발아율은 粗사포닌 농도가 증가될수록 감소되는 경향을 나타냈는데 100ppm 까지는 發芽 억제효과가 그리 크지 않았으나 500ppm 이상 처리구부터는 현저하게 억제 되었다. 증류수에 있어 4時間 以內에 대부분의 胞子가 發芽하였으나 토양 추출용액과 Czapek 배양액에서는 24시간까지 계속 증가되었다. 또한 토양 추출액에서는 초기에 發芽率이 특히 낮았는데 이것은 Saponin에 의한 발아 억제 효과 보다는 토양 추출액의 미생물이나 어떤 억제물질에 의한 것으로 추정된다. 그러나 이러한 抑制效果는 時間이 경과됨에 따라 감소되었으며 24시간 뒤에는 거의 없어졌다.

나. 人蔘 Saponin 첨가시 *F. solani*의 증식.

人蔘粗사포닌을 첨가시 *F. solani*의 生長을 조사하기 위하여 액체 培養으로 乾物重과 胞子形成量을 측정하였고 Agar 培養基에서 胞子 형성량을 조사하였다 (Table 2).

胞子形成에 있어서도 發芽率에 서와 마찬가지로 粗사포닌의 농도가 증가함에 따라 감소되는傾向을 보였다. 이경우도 100ppm 까지는 무처리와 큰 差異가 없었으나 500ppm 처리구에서는 무처리에 절반 이하로 감소되었으며 이러한 현상은 Agar 배양기에서 더욱 뚜렷하게 나타났으며 500ppm 이상 처리구은 큰 차이가 없었다.

한국 菌絲의 乾物重을 측정하기 위하여 Czapek 溶液

에서 5일간 자란 菌絲의 건물량을 比較해 보면 粗사포닌을 첨가하지 않은 處理보다는 약간 줄었으나 濃度가 증가함에 따라 乾物重은 크게 줄거나 늘지 않았으며 100ppm 이상 處理區부터는 거의 비슷한 경향을 보였다.

다. 人蔘粗Saponin과 粗汁液 처리와 *F. solani*의 colony 形成

Czapek agar에 *F. solani*의 大型分生胞子를 접종하였을때 單胞子로 부터 Colony가 形成되는 비율을 人蔘粗사포닌과 인삼즙액을 농도별로 첨가시킨 배양기에서 調査하였다. (Table 3).

單胞子가 colony를 形成하는 數는 人蔘粗사포닌을 첨가한 處理와 人蔘汁液을 첨가한 處理가 서로 反對되는 傾向을 나타내었다. 인삼粗Saponin 첨가시는 濃度가 增加됨에 따라 形成된 colony 數가 減少되는 反

Table 3. Number of propagules of *F. solani* formed on the Czapek agar with increase of the concentrations of crude ginseng saponin and row ginseng juice.

Supplements	Number of propagules per plate			
	Concentration of supplement*			
	A	B	C	D
Crude ginseng saponin	183.6	167.6	139.4	125.8
Ginseng juice	168.3	131.5	220.3	233.5

a : Supplements are added in Czapek solution as follows. Crude saponin conc; 0, 100, 500, 1000ppm from A to D. Row ginseng juice; 0, 0.1, 1 and 10 percent from A to D.

b : Each datum obtained on the basis of 3 replication. Number of fungal propagules were counted after 3 days incubation at 25°C.

面, 人蔘 汁液을 침가시켰을 때는 濃度가 증가됨에 따라 급격한 증가를 보였다. 人蔘 汁液 침가구는 무처리 구를 Czapek agar 을 使用하였고 침가구는 증류수에 각각 0.1, 1, 10%의 첨가하였으므로 0.1% 첨가구는 무처리보다 colony 數가 적었다. 그러나 1% 이상 处理구는 colony 數가 급격히 증가 되었고 菌系의 生長도 매우 活發하여 接種後 4일 만에는 완전히 Agar-plate 을 덮었다.

라. 人蔘 Saponin 과 粗汁液이 *E. carotovora* 의 生長에 미치는 影響.

인삼 근부를 일으키는 細菌 *E. carotovora* 의 增殖培養基에 人蔘 粗사포닌과 粗汁液을 첨가하여 증식에 미치는 效果를 조사하였다. 細菌의 增殖率은 같은 濃度의 첨가물을 넣은 10ml 짜리 시험관에 같은 量의 세균을 접종하여 時間別로 吸光度를 측정하여 生長曲線을 求하였다. (Fig. 1, 2).

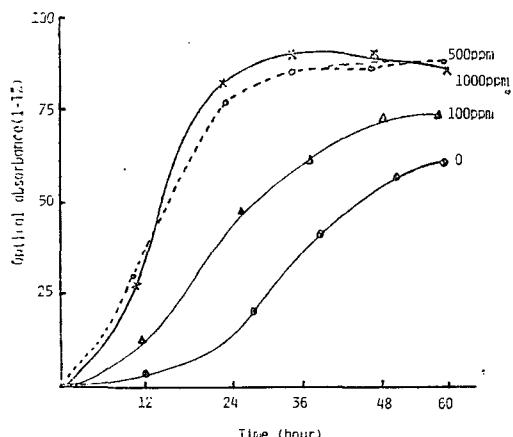


Fig. 1. Growth rate of *E. carotovora* on a minimal medium supplemented by different concentration of crude ginseng saponin, incubated at 30°C.

본試驗에 供試한 *E. carotovora* 는 根腐病에 潛伏 4年生 人蔘根에서 分離한 것으로 苗蔘과 4年生 人蔘根이 病原性을 나타내었다.

人蔘 粗사포닌의 첨가구는 *F. solani* 와 같은 系狀菌에서와 달리 세균인 *E. carotovora*에 있어서는 1000 ppm 까지 濃度가 증가됨에 따라 계속적으로 증가되었으며 특히 500ppm 이상 부터는 현저한 증가를 보였다. 100ppm 까지는 60시간이 지나도록 계속 증가되었으나 500ppm은 60시간 이전에 頂上期에 이르렀으며 1000 ppm에서는 36시간에 Peak에 달했고 菌生長量도 훨씬 많았다. 그러나 500ppm과 1000ppm 처리구 간의 差量은 비슷한 경향을 보이고 있다.(Fig. 1).

인삼 粗汁液 첨가도 濃度가 증가 함에 따라 *E. car-*

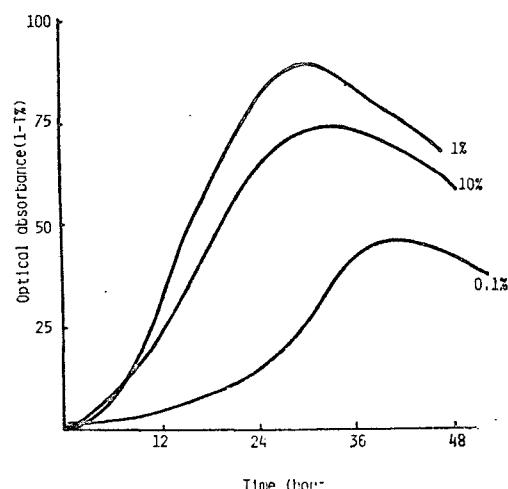


Fig. 2. Growth rate of *E. carotovora* on a minimal medium supplemented by different concentration of crude ginseng juice, incubated at 30°C.

*otovora*의 增殖率도 증가 되었는데 증류수에 1%의 汁液을 첨가 하였을 때 가장 生長이 旺盛하여 24시간 이내에 頂上期에 이르으며 0.1% 처리구에 比해 3배 정도의 菌生長을 보이고 있다. 粗汁液 10% 처리구는 1% 첨가구 보다 오히려 증식율이 낮았으며 最大 菌生長量도 훨씬 적은結果를 보였다.

4. 考 察

人蔘의 根腐病을 일으키는데 관여하는 *F. solani* 나 *E. carotovora* 등은 人蔘根이 生育中에 分泌하는 物質에 의해서 生長과 活動에 영향을 받을 것으로 추정되나, 이에 대한 具體的인 研究가 아직 없으므로 物質의 成分이나 作用機作에 대해서는 아직 아는바 없다. 李⁵⁾ 等은 連作障害의 原因을 究明하기 위하여 人蔘栽培土壌과 非栽培土壤을 比較하였던 바 인삼 재배토양은 人蔘根이 生育中에 分泌하였을 것으로 추정되는 물질이 Ethanol 분획에서 검출 되었으나 이 物質이 病原微生物의 生育에 어떤 影響을 주는가에 대해서는 밝히지 않았다. 本研究에서는 人蔘根의 成分을 모두 含有하는 粗汁液을 침가시킨 結果 *F. solani* 나 *E. carotovora*의 生長을 현저히 촉진 시킴을 알 수 있었다. 人蔘에는 藥効를 나타내는 成分이외에 糖, 碳水化物, 펩티드, 지방, 무기물 등¹⁾ 微生物 증식에 必要한 영양소가 많이 들어 있기도 하지만 對照區인 Czapek이나 Minimal media 보다 훨씬 증가된 것으로 보아 어떤 촉진 물질이 있는 것으로 推定된다.

人蔘의 Saponin은 微生物의 生育를 촉진시키는 보

고가 있으나²⁾ 病原菌에 대한 보고는 아직 없다. Munninger⁹⁾ 等은 일팔파의 Saponin 은 *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Verticillium* 등의 胞子發芽와 生育을 억제한다고 하였으며 Saponin 含量이 높은 植物이 病에 대해 저항성이라 했다. 本實驗에서는 人工培養基에 Saponin 을 첨가한 결과 *F. solani* 的 分生胞子發芽 및 胞子形成, 菌絲生長을 억제하였으며 *E. carotovora* 의 生長은 축진 시켰다. *F. solani* 的 포자 발아억제效果는 종류수에서 보다 他物質이 들어있는 Czapek 용액과 토양抽出液에서 더 높았다 또한 토양추출액에서는 4時間까지 胞子發芽을 현저히 억제하였으나 24時間後에는 이러한 効果가 없어졌다. 人工培養基와 土壤抽出液 등에서 人蔘 사포닌이 胞子發芽를 抑制하는 구체적인 機作은 밝혀지지 않고 있다. 奧¹⁰⁾ 等의 研究에 依하면 人蔘栽培土壤의 年次別 病原微生物의 密度 變化는 高年根으로 갈수록 *E. carotovora* 的 밀도는 증가되었으나 *F. solani* 는 크게 變化되지 않았다. 이러한 結果가 人蔘 사포닌이 *F. solani* 的 生育을 억제시키고 *E. carotovora* 的 生育을 축진 시킨데 起因된 것인지 아니면 人蔘成分이 細菌增殖에 더 많은 영향을 줌으로 細菌類가 競争에 더 有利하였는가에 대해서는 앞으로 實際 園場試驗을 通하여 밝혀져야 하겠다.

摘要

人蔘 조사포닌과 人蔘汁液이 人蔘 根腐敗를 일으키는 病原菌 *Fusarium solani* 와 *Erwinia carotovora* 的 生長과 增殖 및 胞子發芽에 미치는 영향을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 人蔘 粗 Saponin 的 濃度가 증가됨에 따라 *F. solani* 的 大型分生胞子의 發芽率은 抑制 되었으며 500 ppm 이상 첨가시 현저하게 억제 되었다.
- 土壤 抽出液은 초기에 *F. solani* 的 胞子發芽를 억제하는 効果가 있었으나 24時間後에는 無効화되었다
- 人蔘 粗 Saponin 的 첨가 濃度가 증가됨에 따라 *F. solani* 的 胞子形成量이 減少되었으며 固體培地에서 이러한 現象은 더욱 뚜렷하게 나타났다.
- 人蔘 Saponin 을 첨가 했을시 菌絲生長量은 약간

減少되었으나 濃度에 따른 감소율은 認定되지 않았다.

5. 人蔘 粗 사포닌은 濃度가 증가 될수록 *F. solani* 的 Colony 形成을 억제하였으나 人蔘汁液은 濃度가 증가될수록 현저하게 *F. solani* 的 Colony 수를 증가시켰다.

6. 人蔘 粗 Saponin 과 人蔘汁液 모두 *E. carotovora* 的 生長을 促進시켰다.

引用文獻

- 朱忠魯(1980) 人蔘의 成分. 韓國人蔘史 下闋 95~181 한국人蔘耕作結合聯合會발간
- 주현삼, 이교철(1979) 人蔘 抽出物이 Saccharomyces cerevisiae 的 生理에 미치는 影響. 人蔘學會誌 13(2) : 95~104.
- 鄭厚燮(1979) 人蔘의 痘. 韓國植物保護學會誌 15 주년 기념 研究論考 : 107~114.
- 김종희, 이민웅, 김광포(1974) 人蔘根腐病에 關한 研究(IV) 人蔘 재배토양중 菌類 및 *Fusarium sp.* 的 分布에 관하여. 韓國菌學會誌 2(1) : 15~19.
- 李春寧 林善旭(1975) 人蔘의 連作障害의 發生原因究明을 위한 生態化學的研究. 1975年度 전매청 研究用役 報告書 p.10.
- 李敬雄(1975) 人蔘 根腐病을 일으키는 *Pseudomonas fluorescens*에 관한 연구. 한국미생물학회지 13(4) : 143~156.
- 李敬雄(1977) 人蔘 根腐病에 관한 연구(V). 人蔘 連作地와 初作재배지의 病原性 微生物 發生 消長에 대하여. 한국미생물학회지 15(1) : 20~30.
- 松尾卓見, 宮澤洋一(1969) 藥用人蔘의 根腐病菌에 關する 研究. 日植病報 35 : 356.
- Munninger, K., Buglos, J., Manninger, S.(1978) Relation between saponins and pathogens of lucern wilt. Agric. Univ. Godollo, Hungary, Abstract in Rev. Plant Pathol. 1980, 58(6) : 235.
- 吳承煥, 朴昌錫, 金鶴鎮(1978) 人蔘根腐病防除試驗. 高麗人蔘研究報告書 : 7~16.