

과제구분	기본	수행시기		전반기	
연구과제 및 세부과제		연구분야	수행기간	연구실	책임자
시군 공급 미생물의 원균관리 및 생산체계 구축		미생물	'20~'21	농업기술원 친환경미생물연구소	문지영
시군 공급 미생물의 우수 원균 선발		미생물	'20~'21	농업기술원 친환경미생물연구소	임성희
색인용어	시군 미생물, 원균, 기능적 특성, 저장기간				

## ABSTRACT

About the four types of microorganisms used in Eighteen microbial culture centers in Gyeonggi province, the functional characteristics and the change results of functional characteristics according to storage conditions are investigated. The photosynthetic bacteria mainly used in the microbial culture center is *Rhodobacter sphaeroides* and lactic acid bacteria is *Lactobacillus plantarum*. In the case of *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus subtilis* single species is used for yeast and Bacillus, respectively.

Ability to nitrogen fixing and sideropore produce is in photosynthetic bacteria and *Bacillus subtilis*, phosphoric acid solubilizing ability is in lactic acid bacteria. IAA production ability is in photosynthetic bacteria, lactic acid bacteria and yeast. Antibacterial activity against gray mold disease, anthrax and bacterial ulcer disease is found in lactic acid bacteria and *Bacillus subtilis*. Antibacterial activity against bacterial ulcer disease is also seen in yeast bacteria, but it was difficult to find antibacterial activity in photosynthetic bacteria.

Even with the same type of microorganism, the functional activity level of the microorganisms used in eighteen microbial culture centers is different. In order to improve the effect of supplying microorganisms in agricultural fields, it is judged that microbial supply with excellent functional characteristics is urgently needed.

When considering the number of viable cells and functional characteristics according to the storage temperature and period of the microorganisms, it is recommended to store photosynthetic bacteria for up to 60 days at -70°C, up to 30 days at -20°C, and up to 10 days at 4°C. Lactic acid bacteria can be stored for up to 60 days at -20°C and yeast for up to 60 days at 4°C. *Bacillus subtilis* can be stored stably at 4°C, -20°C, and -70°C, but storage at -70°C is advantageous in terms of functional properties.

**Key words** : Agricultural microorganism, Functional characteristics, Storage

## 1. 연구목표

농업미생물은 화학비료와 농약을 대체할 수 있는 가장 중요한 친환경농업의 자원이며, 친환경 재배작물 농가에서는 작물생육촉진, 병충해방제 등을 목적으로 유용한 미생물을 활용하고 있다. 친환경농업 육성 5개년 계획에 따라 화학농약, 화학비료, 항생제 및 화학약품을 대체할 가능성 유용미생물의 수요와 공급이 크게 확대되고 있고 다양한 미생물제들이 상업화되어 농업현장에서 활용되고 있지만 현장에서 일정수준 이상의 효능을 발휘하지 못하는 경우가 대부분으로 미생물 사용 시 토양에 미생물을 정착시킬 수 있는 기초기술 개발도 필요한 실정이다. 유익한 미생물은 토양속에 각종 양분을 가용화시키고 유기질을 분해하여 토양 유기물 함량을 높여주며 토양 내 유해균과의 길항작용으로 작물생육에 이로운 영향을 줄 수 있다. 이런 미생물의 기능으로 인하여 최근에는 건강한 작물 주변 마이크로바이옴을 진단하여 미생물 군집을 인공적으로 토양에 처리하여 병을 방제하고 수량을 증가시키는 식물 마이크로바이옴 연구도 이루어지고 있다.

2019년 기준 전국 농업기술센터 미생물 배양실에서는 연간 43,463톤의 미생물제를 생산 농업현장에 공급하고 있으며, 경기도는 18개 시군에서 전국 공급량의 29.9%인 13,003톤 정도를 보급중에 있다. 시군농업기술센터에서 공급하고 있는 미생물은 축산용과 농업용으로 크게 구분 되는데 경기도는 축산용이 6,648톤으로 51%, 농업용이 6,355톤으로 49%를 차지하고 있다. 농업용으로 공급되는 미생물은 광합성세균(Photosynthetic bacteria) 676톤, 고초균(Bacillus) 450톤, 유산균(Lactic acid bacteria) 331톤, 효모(Yeast) 197톤 순으로 매년 공급량이 증가되면서 사용이 보편화되고 있다.

광합성세균은 균체성분 중 단백질, 필수아미노산, 천연색소, 비타민 및 생리활성물질을 다량 함유하고 있는 것으로 알려져 있으며(Sasikala et al., 1995), 생물비료, 토양 비옥화 등 농업 분야에서 고품질 친환경농산물 생산에 크게 기여할 수 있는 미생물로 각광을 받고 있다. 고초균은 유기물 분해능이 있고 항생물질 분비로 병원균의 밀도를 낮추는 항균력이 높은데, 고초균을 포함한 Bacillus 속은 항균성 물질을 세균의 세포 밖으로 분비하는 특성이 있어 병원균에 대한 길항작용이 많이 보고되고 있으며 식물병 방제에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(Mehnaz et al., 2001). 유산균은 유기산 생산으로 불용성 인산염을 가용화 시키고 발근을 촉진시키며 토양유기물 분해 및 성장조절호르몬 등의 분비로 면역력과 내병성을 강화시키는 기능을 한다. 효모는 식물잔사 분해로 작물 생장에 필수적인 물질을 대량 생산하고 유기물, 무기물, 다당류, 단당류를 유용자원으로 재합성하는 정화자로서 역할을 하며 토양을 입단화시키는 역할을 한다.

농업 현장에서 활용되는 미생물 원균은 주로 배지공급 업체에서 공급 받고 있어 시군센터별로 원균의 기능적 특성이나 활용 수준이 큰 차이가 나고 있다. 원균의 기능적 특성은 질소 고정능, IAA 형성능, Siderophore 생성능, 인산가용화능, 항균력 등으로 구분될 수 있으며, 농업현장에서 미생물의 기능성 및 효능을 고려하여 미생물을 잘 선택하고 활용하면 병 발생 관리 및 생산성 향상에 도움이 될 것으로 생각된다. 이에 시군센터별로 정보 없이 사용되고 있

는 원균에 대한 기능적 특성조사와 저장조건에 따른 생균수 및 기능적 특성변화 등을 검정하여 원균의 선정과 배양관리 기준에 대한 정확한 정보를 제공함과 동시에 기능성이 우수한 미생물제를 농업현장에 공급하는 체계를 구축하기 위하여 본 연구를 추진하였으며 그 결과를 보고하고자 한다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 미생물 분리 동정

경기도 시군농업기술센터 미생물배양실 18개소에서 사용하고 있는 4종류의 미생물에 대한 원균을 수집하여 16rRNA 유전자 분석방법으로 미생물을 동정하고 기능적 특성을 조사하였다. 시험 진행 전 수집된 균을 희선평판법으로 배지에 도말하여 오염도를 조사하였고 오염된 원균에 대해서는 희선평판법을 반복 수행하여 단일균주를 얻었다. 광합성 세균과 고초균 배양 시에는 LB(Luria-Bertani) 배지를 이용하였고 유산균은 MRS(De Man, Rogosa and Sharpe Agar) 배지, 효모는 PDA(Potato Dextrose Agar)배지를 이용하였다. 시험에 사용한 미생물은 광합성 세균의 경우 광이 있는 조건하에 30°C에서 48시간, 유산균의 경우 37°C에서 48시간, 효모 32°C에서 36시간, 고초균 30°C에서 24시간을 배양하여 사용하였다.

### 나. 기능적 특성조사

시군센터 활용 미생물의 기능적 특성은 질소고정능, 사이드로포어 생성능, 인산가용화능, IAA 생성능, 항균능으로 구분하여 조사하였다. 질소고정능은 Nfb semi solid media를 제조한 후 가느다란 니들을 이용하여 배지의 2/3 깊이에 균주를 접종하고 28~30°C에서 7일 배양하여 배지가 파란색으로 변하는 정도로 판단하였다.

사이드로포어 생성능은 FeIII와 Chrome azurol S가 포함된 배지를 제조한 후 멸균된 페이퍼 디스크를 올리고 그곳에 검정하고자 하는 균주를 접종하여 일정기간 배양한 후 배지의 파란색이 투명하게 변하는 크기를 측정하여 조사하였다. 인산가용화능은 Tricalcium phosphate( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ )가 포함된 Pikovaskaya 고체배지를 제조한 후 멸균된 페이퍼 디스크를 올리고 그곳에 검정하고자 하는 균주를 접종하여 일정기간 배양한 후 불투명한 배지가 투명하게 변하는 크기를 캘리퍼스 측정하여 조사하였다.

IAA 생성능을 조사하기 위하여 검정하고자 하는 균주 single colony를 L-tryptophan이 0.01% 농도로 포함된 적합배지 10ml에 접종하고 일정시간(광합성 세균, 유산균, 효모 48시간, 고초균 24시간) 배양한 후 원심분리하였다. 배양액 상등액을 2ml 취하고 10mM ortho-phosphoric acid 100ul와 Salkovsky reagent 4ml를 첨가한 후 발색을 유도하였다. 25분 후 UV-spectrophotometer 530nm에서 흡광도를 측정하고 IAA standard curve를 작성하여 미생물별 IAA 생성량을 계산하였다.

항균능 검정을 위한 병원균은 농촌진흥청 유전자원센터에서 분양받아 사용하였으며 곰팡

이류는 PDA배지를 이용하여 25℃에서 7~10일, 세균류는 LB 배지를 이용하여 30℃에서 1~3 일 배양 후 접종에 활용하였다. 잣빛곰팡이병, 탄저병 등 곰팡이 병원균에 대한 항균능은 PDA 배지에서 배양된 병원균을 cork borer로 옮겨 검정하고자 하는 균주와 대치배양 시켜 조사하였으며 세균성궤양병에 대한 항균능은 배양된 병원균을 LB 배지에 전체적으로 도말한 후 멸균된 페이퍼 디스크를 올리고 검정하고자 하는 균주를 접종한 후 병원균의 증식 정도를 비교하여 조사하였다.

#### 다. 원균 저장조건 설정

시군농업기술센터에서 사용하고 있는 광합성세균, 고초균, 효모, 유산균 각 미생물 종류별로 기능적 특성이 우수한 2~3균주 선발하여 저장온도 및 저장기간에 따른 생균수, 기능적 특성의 변화를 조사하였다. 보관온도는 4℃, -20℃, -70℃, 보관기간은 10일, 30일, 60일로 하였으며 -70℃, -20℃ 보관시에는 40% glycerol을 총 양의 1/2을 첨가한 후 보관하여 세포에 손상이 없도록 하였다. 생균수 및 오염도는 희석도말법 방법으로 조사하였고, 기능적 특성은 『나. 기능적 특성조사』방법과 동일하게 수행하였는데, IAA 검정시는 저장균을 0.01% L-tryptophan을 첨가된 액체배지에서 48시간 재배양 후 조사하였으며, 질소고정능은 생균수를 측정하기 위해 도말한 미생물 colony를 이용하여 검정하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 가. 미생물 분리 동정

경기도 시군농업기술센터 미생물배양실 18개소에서 사용하고 있는 4종류의 미생물 원균을 수집하여 16rRNA 유전자 분석방법으로 균을 동정한 결과는 표 1과 같다. 대부분의 시군농업 기술센터에서 광합성 세균은 *Rhodobacter sphaeroides* 를 주로 사용하고 있었으며 *Rhodobacter johrii*와 *Rhodobacter capsulatus* 는 1~2 개소에서 사용되고 있었다. 유산균은 *Lactobacillus plantarum* 이 13개소, *Lactobacillus casei* 가 5개소에서 사용되고 있었으며 효모와 고초균은 각각 *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis* 단일종을 사용하고 있었다. 수집된 균에 대해 희석평판법으로 오염도를 조사하였을 때 광합성 세균에서만 오염율이 33.3% 정도 나타났으며 유산균, 효모, 고초균에서는 오염현상이 없었는데, 광합성균에서 오염을 나타낸 균은 *Enterobacter* sp. *Pseudomonas* sp. 등으로 분리동정 되었다(표 2).

표 1. 시군농업기술센터 수집 미생물 분리동정

시군	군주			
	광합성세균	유산균	효모	고초균
광주	<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
이천	"	"	"	"
양평	"	<i>Lactobacillus casei</i>	"	"
포천	" (21년 변경) <sup>↓</sup>	<i>Lactobacillus plantarum</i> (21년 변경)	"	" (21년 변경)
가평	"	"	"	"
고양	"	"	-	-
김포	"	"	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
남양주	"	"	"	"
파주	"	"	-	-
연천	"	"	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
용인	"	<i>Lactobacillus casei</i>	"	"
수원	"	"	"	"
안성	"	<i>Lactobacillus plantarum</i>	"	"
평택	"	"	"	"
여주	"	"	"	"
양주	" (21년 변경)	" (동물위생시험소)	"	" (동물위생시험소)
안산	"	" (KCCM11322)	" (KCCM11991)	" (KCCM11496)
화성	<i>Rhodobacter capsulatus</i> (KCTC2583) <sup>↓</sup>	<i>Lactobacillus casei</i> (KCTC3109, 21년 변경)	" (KACC30008)	" (KCTC1327, 21년 변경)

↓. 21년 사용균 변경 내역

- 포천 : 광합성균 *Rhodobacter johrii*, 유산균 *Lactobacillus casei*, 고초균 *Bacillus subtilis*
- 양주 : 광합성균 *Rhodobacter sphaeroides* 2종, *Rhodobacter johrii* 2종
- 화성 : 유산균 *Lactobacillus casei* (KACC12413), 고초균 *Bacillus siamensis* (KACC10112)

↓. KCTC, KACC, KCCM : 특허균주 및 미생물자원센터 분양균주

표 2. 시군농업기술센터 수집 미생물 오염균 분리동정

균주	오염율(%)	주요 오염균	비고
광합성세균	33.3 (7/21균주)	<i>Enterobacter</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Enterococcus</i> sp. <i>Microbacterium</i> sp. <i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterobacter</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp.은 공통 오염균임
유산균	0	-	-
효모	0	-	-
고초균	0	-	-

### 나. 기능적 특성조사

질소고정능은 광합성세균과 고초균에서 활성이 있는 것으로 조사되었으며 대체적으로 광합성 세균이 고초균에 비해 활성이 높은 것으로 나타났다. 광합성 세균중에는 가평, 김포, 양주에서 사용하는 균주의 활성이 좋았고, 고초균 중에는 양평, 안산에서 사용하는 균주의 활성이 좋은 것으로 조사되었다(표 3, 그림 1). 사이드로포어 생성능도 광합성세균과 고초균에서만 활성이 있는 것으로 나타났으며 유산균과 효모는 사이드로포어 생성 활성을 나타내지 않았다. 광합성세균 중에는 용인, 평택, 안산에서 사용하는 균주의 활성이, 고초균중에는 포천, 안산, 가평에서 사용하는 균주의 활성이 우수한 것으로 나타났다. 특히 광주시농업기술센터에서 사용하고 있는 고초균은 활성이 거의 없는 것으로 나타나 농업현장에서의 미생물 공급 효과를 증진시키기 위해서는 균주를 교체하는 것이 필요할 것으로 판단되었다(표 3, 그림 2).

표 3. 시군농업기술센터 활용 미생물의 질소고정능 및 사이드로포어생성능

시군	광합성세균				고초균			
	질소고정능 (색변화정도)		사이드로포어생성능 (환크기, mm)		질소고정능 (색변화정도)		사이드로포어생성능 (환크기, mm)	
	2020	2021	2020	2021	2020	2021	2020	2021
광주	- <sup>ㄷ</sup>	+	5.7 <sup>ㄷ</sup>	3.5	(+)	+	0.0	0.0
이천	-	-	4.1	3.8	(+)	+	6.8	3.4
양평	(+)	+	4.9	3.5	(+)	++	8.3	5.4
포천	-	+(변경)	3.7	3.6(변경)	(+)	+(변경)	14.4	9.8(변경)
가평	-	++	3.9	3.9	+	+	8.3	7.4
고양	-	+	4.4	4.1	N	N	N	N
김포	(+)	++	5.5	3.1	(+)	+	8.6	2.8
남양주	-	-	3.9	3.1	-	-	7.7	4.4
파주	(+)	+	4.7	3.3	N	N	N	N
연천	-	+	4.8	3.4	++	+	6.7	5.0
용인	-	+	5.3	4.2	-	-	9.7	5.6
수원	-	+	4.6	3.9	+	+	5.4	2.9
안성	-	+	4.9	3.5	+	+	5.0	3.7
평택	-	+	5.5	3.9	(+)	+	7.1	3.0
여주	-	+	4.0	3.7	(+)	-	6.5	3.0
양주	(+)	++	5.8	2.4(변경)	+	+	5.1	4.5
안산	-	+	5.1	3.9	++	++	9.2	10.4
화성	N <sup>ㄱ</sup>	N	N	N	+	-(변경)	3.1	3.0(변경)

ㄱ. 파란색 변화정도 : - 변화없음, (+) 매우 약, + 약, ++ 중, +++ 강

ㄷ. paper disc 제외한 환크기

ㄴ. 시군센터에서 사용하는 균주가 없거나 균이 자라지 않음

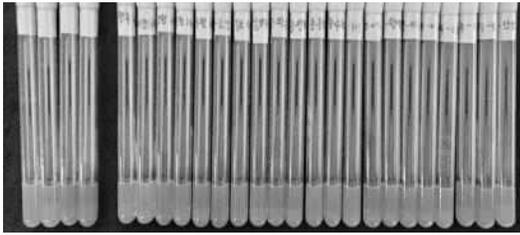


그림 1. 광합성균의 질소고정능

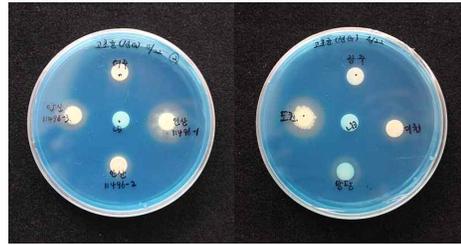


그림 2. 고초균의 사이드로포어 생성능

인산가용화능은 유산균에서만 활성을 볼 수 있었는데 유산균은 유기산을 생성하여 불용성 인산염을 가용화 시키는 기작을 가지고 있어 토양내 불용화가 쉬운 인산의 이용률을 높임으로써 작물생육에 좋은 미생물제로서의 활용도가 높아지고 있다(이 등, 2012). 시군센터의 유산균은 인산가용화능에 차이가 있었는데 양주, 파주, 안성에서 사용하는 균주의 활성이 높고 양평, 용인, 수원에서 사용하는 균주의 활성이 낮은 것으로 나타났다(표 4, 그림 3). IAA 생성능은 IAA가 토양내에 존재하면서 식물세포와 조직의 분열 및 증식에 밀접한 역할을 하고 있어 그 중요성이 높히 평가되고 있다(서 등, 2006). IAA 활성은 주로 광합성세균, 효모에서 볼 수 있었으며 유산균에서도 약한 활성이 있는 것으로 조사 되었다. 광합성세균 중에는 가평, 효모중에는 여주, 양평에서 사용하고 있는 균주의 IAA 생성능이 우수하였다(표 4, 그림 4)

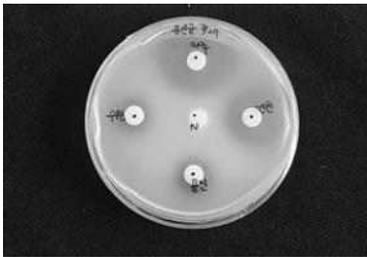
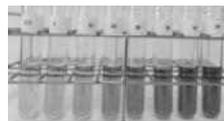


그림 3. 유산균의 인산가용화능



IAA standard sol.  
(2.5, 5, 10, 20, 30, 50,  
70, 90mg/L)



그림 4. 효모의 IAA 생성능

표 4. 시군농업기술센터 활용 미생물의 인산가용화능 및 IAA 생성능

시군	인산가용화능 (환크기, mm)		IAA생성능(mg/L)					
			광합성세균		유산균		효모	
	2020	2021	2020	2021	2020	2021	2020	2021
광주	31.2 <sup>↓</sup>	17.2	5.4	0.8	< Min <sup>↓</sup>	3.4	8.5	3.5
이천	28.1	-	16.6	< Min	< Min	4.5	3.7	< Min
양평	15.6	7.7	< Min	< Min	< Min	2.4	10.1	10.8
포천	23.5	5.1(변경)	16.4	< Min(변경)	< Min	1.5(변경)	2.6	3.3
가평	25.6	14.7	9.6	18.5	< Min	4.1	< Min	< Min
고양	26.7	14.2	9.5	2.2	< Min	3.8	N	N
김포	27.6	10.0	5.2	< Min	< Min	3.6	< Min	< Min
남양주	31.2	0.0	10.9	1.8	< Min	3.6	11.4	< Min
파주	28.5	22.3	3.7	< Min	< Min	4.1	N	N
연천	25.7	17.7	5.3	< Min	< Min	4.8	5.5	< Min
용인	14.6	6.3	4.0	< Min	< Min	2.1	8.4	8.2
수원	13.9	4.8	< Min	< Min	< Min	1.9	< Min	3.1
안성	28.4	20.8	10.1	< Min	< Min	4.5	5.6	4.1
평택	25.3	13.3	5.0	< Min	< Min	4.3	9.7	6.8
여주	15.5	6.7	9.5	< Min	< Min	3.0	20.7	14.7
양주	31.3	21.9	< Min	< Min	< Min	4.0	6.2	9.1
안산	26.8	10.1	3.0	< Min	< Min	2.4	8.9	8.6
화성	16.6	5.7(변경)	N <sup>♯</sup>	N	< Min	1.0(변경)	< Min	< Min

↓. paper disc 제외한 환크기    ↓. < Min = 2.5mg/L 이하, R<sup>2</sup>=0.995 이상  
 ♯. 시군센터에서 사용하는 균주가 없거나 균이 자라지 않음

항균능은 잣빛곰팡이병, 탄저병, 세균성 궤양병 등 3가지 병 7개 균주를 대상으로 조사하였으며 시험에 사용한 균주 목록은 표 5와 같다. 광합성세균은 3가지 병원균 모두에 대해 항균능을 보이지 않았으며, 유산균은 잣빛곰팡이병과 탄저병에는 약한 항균력을 세균성궤양병에는 강한 항균력을 보였다. 잣빛곰팡이병에는 광주, 이천에서 사용하는 균주가 탄저병에는 안성에서 사용하는 균주의 항균능이 우수했으며 세균성궤양병에는 연천을 제외한 대부분 시군센터 균주에서 항균능을 보였다(표 6, 그림 5). 효모는 잣빛곰팡이병과 탄저병에는 항균능이 없었지만 세균성궤양병에는 항균능을 보였고 양평, 여주, 양주에서 사용하는 균주의 항균능이 다소 우수하였다(그림 6). 고초균의 항균 활성은 다른 광합성세균, 효모, 유산균보다 높은 것으로 나타났는데, 잣빛곰팡이병은 양평, 김포, 남양주, 연천, 용인, 여주, 화성에서 사용하는 균주에서 탄저병은 김포, 남양주, 용인, 여주, 화성에서 사용하는 균주에서 세균성궤양병은 양평, 용인, 화성에서 사용하는 균주에서 항균활성이 높은 것으로 조사되었다. 하지만 광주, 이천, 평택의 경우는 사용하고 있는 고초균의 항균활성이 낮아 균 재선정을 고려할 필요가 있을 것으로 생각되었다(표 7, 그림 7).

표 5. 항균능에 사용된 균주현황

구 분	병원균	KACC No.	기주
잣빛곰팡이병	<i>Botrytis cinerea Pers.</i>	40574	토마토
	<i>Botrytis cinerea Pers.</i>	43527	인삼
	<i>Colletotrichum coccodes (Wallr.)</i>	40011	고추
탄저병	<i>Colletotrichum acutatum</i>	40805	토마토
	<i>Colletotrichum acutatum</i>	40042	고추
세균성궤양병	<i>Clavibacter michiganensis</i>	16995	토마토
	<i>Clavibacter michiganensis</i>	18448	고추

표 6. 유산균의 항균능

시군	잣빛곰팡이병		탄저병			세균성궤양병	
	40574	43527	40011	40805	40042	16995	18448
광주	+	+++	-	-	+	+++	+++
이천	++	++	-	+	+	+++	+++
양평	(+)	+	-	-	+	+++	+++
포천	-	++	-	-	-	+++	+++
가평	+	++	-	-	-	+++	+++
고양	+	-	-	-	+	+++	+++
김포	+	++	-	-	(+)	+++	+++
남양주	-	-	-	-	-	+	+++
파주	+	++	-	+	-	+++	+++
연천	-	-	-	-	-	-	++
용인	+	+	(+)	+	-	+++	+++
수원	+	+	-	+	+	+++	+++
안성	+	-	+	+	++	+++	+++
평택	(+)	-	-	-	+	+++	+++
여주	(+)	-	-	-	+	+++	+++
양주	-	-	-	-	-	+++	+++
안산	+	-	-	-	+	+++	+++
화성	+	-	-	-	+	+++	+++

-, - 효과없음, (+) 매우 약, + 약, ++ 중, +++강

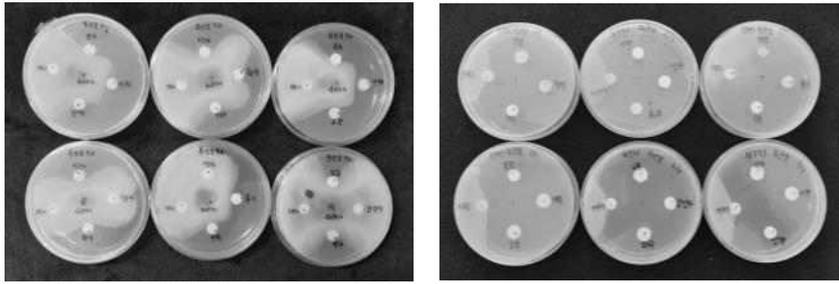


그림 5. 유산균의 항균능 (좌-40574, 잿빛곰팡이병 / 우-16995, 세균성궤양병)

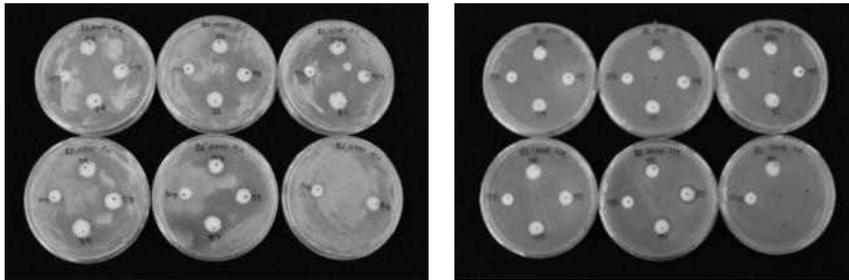


그림 6. 효모균의 항균능 (좌-16995, 세균성궤양병 / 우-18448, 세균성궤양병)

표 7. 고초균의 항균능

시균	잿빛곰팡이병			탄저병	세균성궤양병		
	40574	43527	40011		40805	40042	16995
광주	-	-	-	-	-	-	++
이천	-	-	-	-	-	-	++
양평	+++	+++	+++	++	+	+++	+++
포천	++	+++	+++	+++	++	-	+++
가평	+	+++	+++	+++	++	-	+++
고양	+++	+++	+++	+++	+++	-	+++
김포	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
남양주	+++	+++	+	+	++	+	+++
연천	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
용인	+++	-	-	++	+	+++	+++
수원	+++	++	+	+	+	(+)	+++
안성	-	-	-	-	-	(+)	++
평택	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
여주	+++	++	+++	+	+++	(+)	(+)
양주	(+)	-	-	+	(+)	++	+++
안산	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
화성	+	-	-	-	+	+++	+++

∟. - 효과없음, (+) 매우 약, + 약, ++ 중, +++강

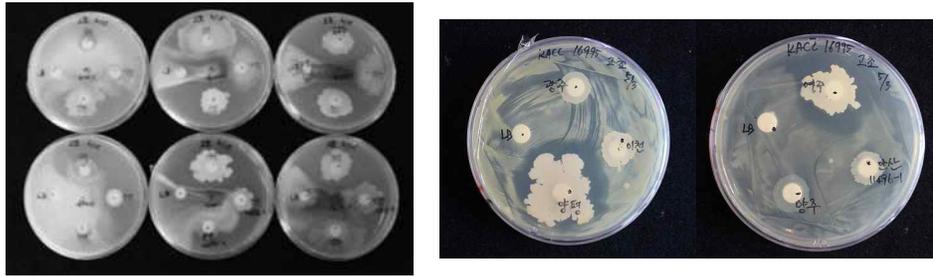


그림 7. 고초균의 항균능 (좌-40011, 탄저병 / 우-16995, 세균성궤양병)

#### 다. 원균 저장조건 설정

시험 1에서 기능적 특성이 우수하여 저장시험에 사용한 균주는 표 8과 같다. 저장온도를 -70℃, -20℃, 4℃ 3수준, 저장기간을 10일, 30일, 60일 3수준으로 하여 저장 후 생균수 및 기능적 특성변화를 조사한 결과 광합성세균 및 유산균의 생균수는 -70℃, -20℃, 4℃ 순으로 감소율이 낮았으며, 효모는 4℃ 저장 시 -20℃ 또는 -70℃ 보다 생균수가 안정적으로 유지되었고 고초균의 경우는 온도에 큰 영향이 없었다. 광합성세균(가평)은 4℃ 저장시 균수가  $3.3 \times 10^6$ 에서 저장 30일 후에는  $6.6 \times 10^3$ , 저장 60일 후에는 0으로 생균수가 급격하게 줄어들었고 효모(양평)의 경우는 저장 시  $2.4 \times 10^7$ 이었던 생균수가 저장 30일 후에는 4℃ 저장시  $1.3 \times 10^8$ , -20℃저장시  $1.6 \times 10^6$ , -70℃ 저장시  $6.3 \times 10^4$  으로 저장온도가 낮을수록 생균수가 감소하는 경향을 보였다(표 9, 그림 8).

표 8. 저장시험 대상균주 목록

종 류	시 균	선발기준
광합성세균	가평	IAA생성능 우수, 질소고정능 우수
	용인	Siderophore 생성능 우수
유산균	파주, 양주	인산가용화능 우수
	광주	젯빛곰팡이병, 세균성궤양병 항균능 우수
효모	양평, 여주	IAA생성능 우수
	양주	세균성궤양병 항균능 우수
고초균	안산	Siderophore 생성능 우수, 질소고정능 우수
	용인, 남양주	젯빛곰팡이병, 탄저병, 세균성궤양병 항균능 우수

표 9. 저장기간에 따른 균 종류별 생균수

종류	시군	저장 0일차	저장 10일 후			저장 30일 후			저장 60일 후		
			4℃	-20℃	-70℃	4℃	-20℃	-70℃	4℃	-20℃	-70℃
광합성	가평	$3.3 \times 10^6$	$3.3 \times 10^6$	$2.5 \times 10^6$	$3.0 \times 10^5$	$6.6 \times 10^3$	$8.4 \times 10^5$	$4.1 \times 10^7$	-	$2.7 \times 10^3$	$6.9 \times 10^8$
	용인	$9.7 \times 10^6$	$1.1 \times 10^4$	$9 \times 10^5$	$5.9 \times 10^7$	$2.3 \times 10^2$	$2.8 \times 10^5$	$1.5 \times 10^7$	$6.7 \times 10^1$	$1.7 \times 10^3$	$1.5 \times 10^8$
유산균	광주	$1.8 \times 10^9$	$7.4 \times 10^8$	$3.4 \times 10^9$	$5.3 \times 10^9$	$2.0 \times 10^7$	$1.6 \times 10^9$	$6.2 \times 10^9$	$1.0 \times 10^5$	$2.5 \times 10^6$	$3.4 \times 10^9$
	파주	$4.1 \times 10^9$	$2.4 \times 10^9$	$3.8 \times 10^9$	$5.2 \times 10^9$	$1.4 \times 10^8$	$1.5 \times 10^9$	$8.7 \times 10^9$	$5.0 \times 10^6$	$3.8 \times 10^6$	$3.8 \times 10^9$
	양주	$4.3 \times 10^6$	$5.2 \times 10^5$	$6.7 \times 10^3$	-	$3.5 \times 10^1$	$3.3 \times 10^1$	$4.2 \times 10^4$	-	-	$1.5 \times 10^4$
효모	양평	$2.4 \times 10^7$	$3.3 \times 10^7$	$1.1 \times 10^5$	$4.0 \times 10^4$	$1.3 \times 10^8$	$1.6 \times 10^6$	$6.3 \times 10^4$	$4.1 \times 10^7$	$2.6 \times 10^6$	$9.5 \times 10^4$
	여주	$3.3 \times 10^7$	$4.4 \times 10^7$	$2.0 \times 10^7$	$1.8 \times 10^6$	$6.9 \times 10^7$	$7.1 \times 10^6$	$1.4 \times 10^7$	$4.5 \times 10^7$	$6.2 \times 10^6$	$1.0 \times 10^7$
	양주	$4.2 \times 10^7$	$4.5 \times 10^7$	$7.0 \times 10^2$	$5.7 \times 10^3$	$5.6 \times 10^7$	$1.7 \times 10^3$	$4.7 \times 10^3$	$3.5 \times 10^7$	$1.3 \times 10^3$	$3.7 \times 10^3$
고초균	남양주	$2.2 \times 10^6$	$1.8 \times 10^6$	$1.9 \times 10^6$	$2.4 \times 10^6$	$5.7 \times 10^6$	$1.2 \times 10^6$	$3.0 \times 10^6$	$2.8 \times 10^6$	$1.4 \times 10^6$	$1.5 \times 10^6$
	용인	$1.0 \times 10^5$	$2.2 \times 10^5$	$2.9 \times 10^5$	$8.7 \times 10^5$	$4.0 \times 10^5$	$7.2 \times 10^5$	$2.7 \times 10^5$	$3.8 \times 10^5$	$3.2 \times 10^5$	$3.5 \times 10^5$
	안산	$1.6 \times 10^6$	$1.6 \times 10^6$	$2.0 \times 10^6$	$1.8 \times 10^7$	$1.3 \times 10^6$	$1.1 \times 10^6$	$1.6 \times 10^6$	$1.0 \times 10^6$	$9.1 \times 10^5$	$1.5 \times 10^6$

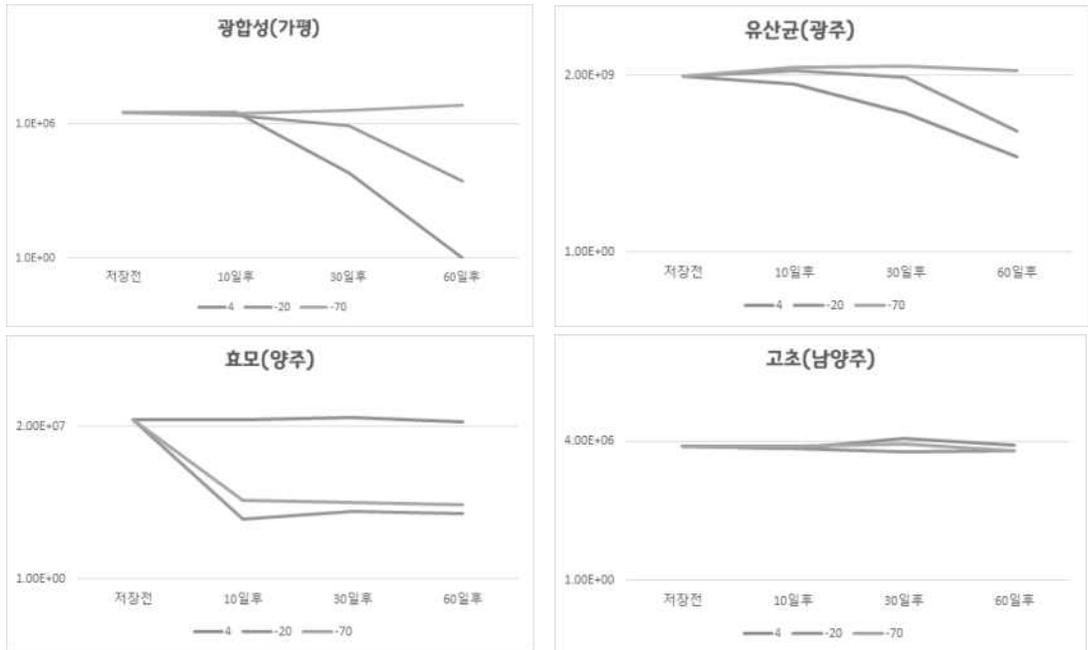


그림 8. 저장기간에 따른 균 종류별 생균수

질소고정능은 광합성균과 고초균에서 관찰할 수 있었는데 광합성균은 -70℃, -20℃, 4℃ 순으로 질소고정능 활성이 유지되었으며 고초균은 저장온도와 상관없이 10일 이후 질소고정능 효과가 약해지는 경향을 보였다(표 10, 그림 9).

표 10. 저장기간에 따른 광합성세균 및 고초균의 질소고정능

종류	시균	저장 0일차	저장 10일 후			저장 30일 후			저장 60일 후		
			4℃	-20℃	-70℃	4℃	-20℃	-70℃	4℃	-20℃	-70℃
광합성	가평	+++ <sup>1)</sup>	+++	+++	++	+	++	++	-	+	++
	용인	++	++	++	++	+	++	++	-	++	+
고초균	남양주	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-	-
	용인	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	-	-	-
	안산	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

1. 파란색 변화정도 : - 변화없음, (+) 매우 약, + 약, ++ 중, +++ 강

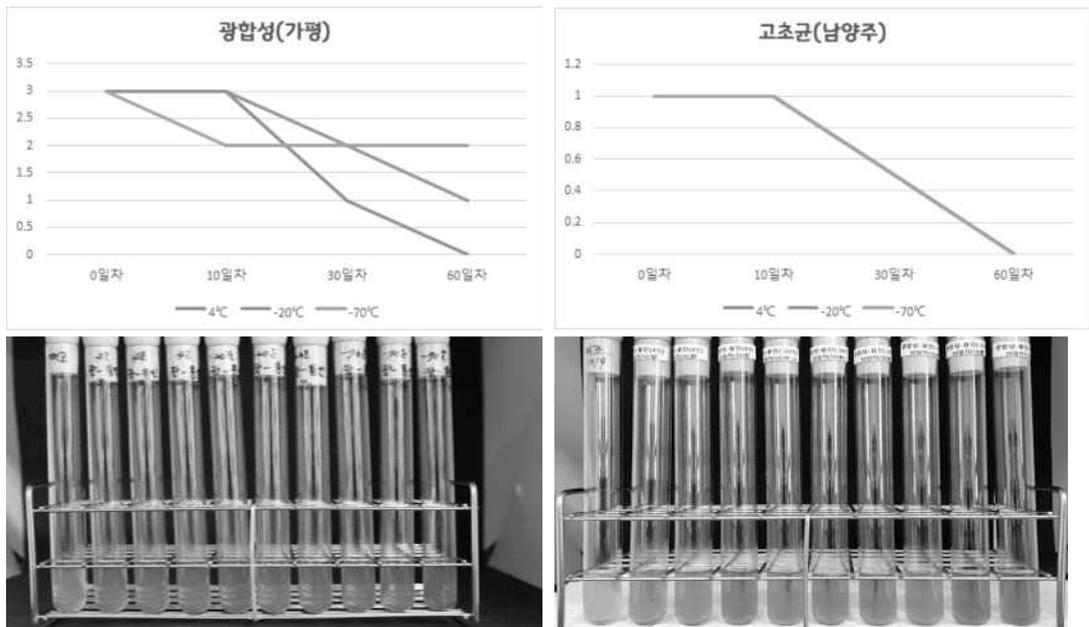


그림 9. 저장기간에 따른 광합성세균 및 고초균의 질소고정능

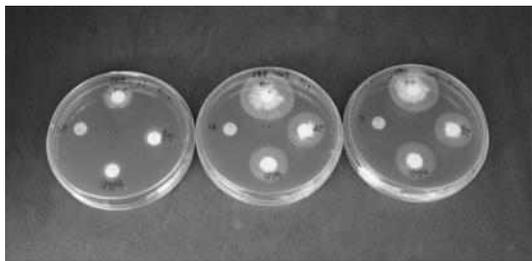
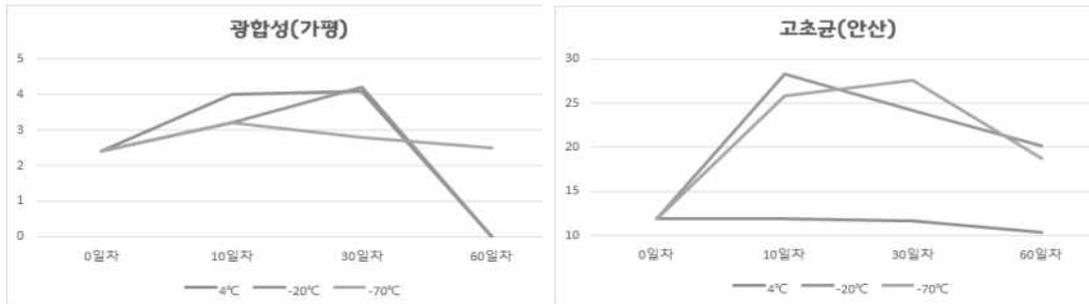
사이드로포어 생성능도 광합성균과 고초균에서 관찰할 수 있었는데 광합성 세균의 경우에는 4℃ 및 -20℃ 저장 시에는 저장 후 30일차 까지 생성능을 유지했지만 60일차 에는 생성능이 없어졌고, -70℃ 저장 시에는 저장 후 60일차까지 생성능을 유지하였다. 고초균은 -2

0℃ 및 -70℃ 저장시 사이드로포어 생성능 활력이 더 높아지는 것으로 나타났다(표 11, 그림 10).

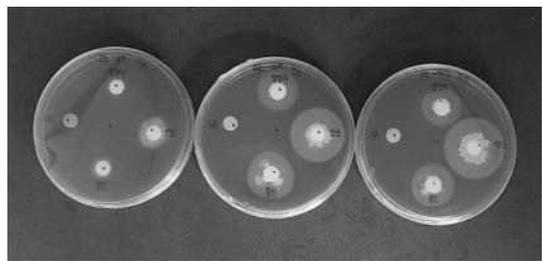
표 11. 저장기간에 따른 광합성세균 및 고초균의 사이드로포어 생성능

종류	시균	저장 0일차	저장 10일 후			저장 30일 후			저장 60일 후		
			4℃	-20℃	-70℃	4℃	-20℃	-70℃	4℃	-20℃	-70℃
광합성	가평	2.4 <sup>↓</sup>	4.0	3.2	3.2	4.1	4.2	2.8	0	0	2.5
	용인	3.1	4.7	4.4	4.6	4.1	4.6	4.0	2.2	3.4	2.9
고초균	남양주	6.4	4.2	13.9	16.5	4.5	15.3	15.5	3.8	11.4	13.0
	용인	5.5	5.4	17.5	17.2	5.0	18.2	17.9	5.5	16.5	17.0
	안산	11.9	11.9	28.3	25.8	11.7	24.2	27.6	10.4	20.2	18.7

↓. paper disc 제외한 환크기(mm)



(고초균) 저장 10일후 / 4℃, -20℃, -70℃



(고초균) 저장 30일후 / 4℃, -20℃, -70℃

그림 10. 저장기간에 따른 광합성세균 및 고초균의 사이드로포어 생성능

인산가용화능은 유산균에서 활성을 볼 수 있었으며, -70℃ 저장시 저장기간이 길어짐에 따라 인산가용화능이 감소하였고, 4℃와 -20℃ 저장시 60일차 까지 비슷한 수준으로 유지되었다. 양주에서 사용하는 유산균은 저장 전 생균수가  $4.3 \times 10^6$  정도로 다른 시균의 유산균보다 균수가 적었고 저장기간에 따라 생균수가 급격히 감소하는 경향을 보였는데, 이런 이유 때문에 인산가용화능 조사에서도 안정적인 결과가 도출되지 못하였다(표 12, 그림 11).

표 12. 저장기간에 따른 유산균의 인산가용화능

종류	시균	저장 0일차	저장 10일 후			저장 30일 후			저장 60일 후		
			4℃	-20℃	-70℃	4℃	-20℃	-70℃	4℃	-20℃	-70℃
유산 균	광주	21.8	19.8	22.8	20.1	22.1	20.8	20.8	21.9	22.8	18.4
	파주	18.6	20.4	20.5	19.9	24.1	20.4	19.5	23.7	22.5	16.5
	양주	18.3	25.9	16.2	17.9	15.8	13.5	21.0	1.0	0.0	17.8

↓. paper disc 제외한 환크기(mm)

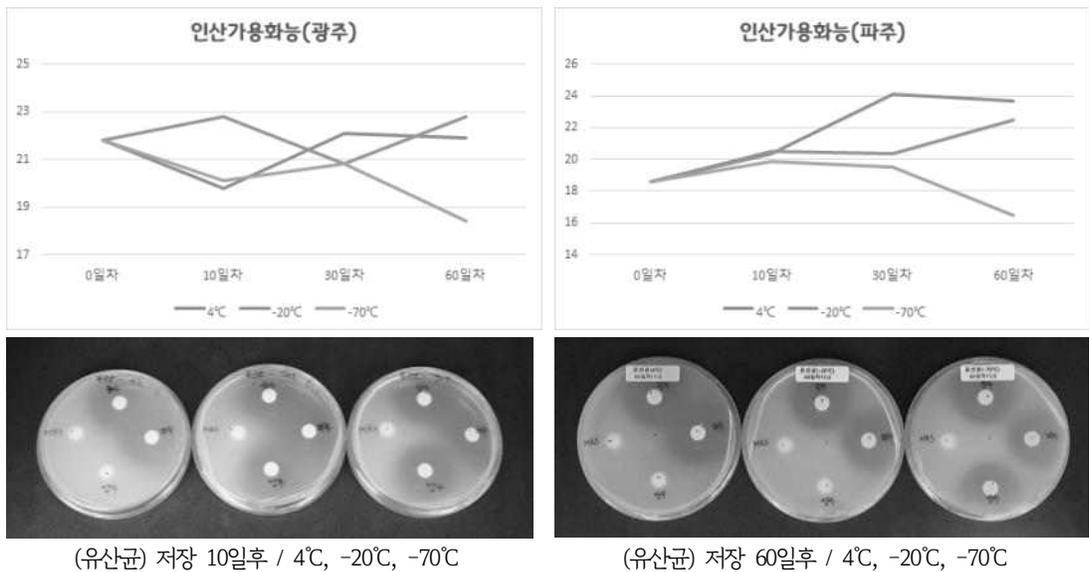


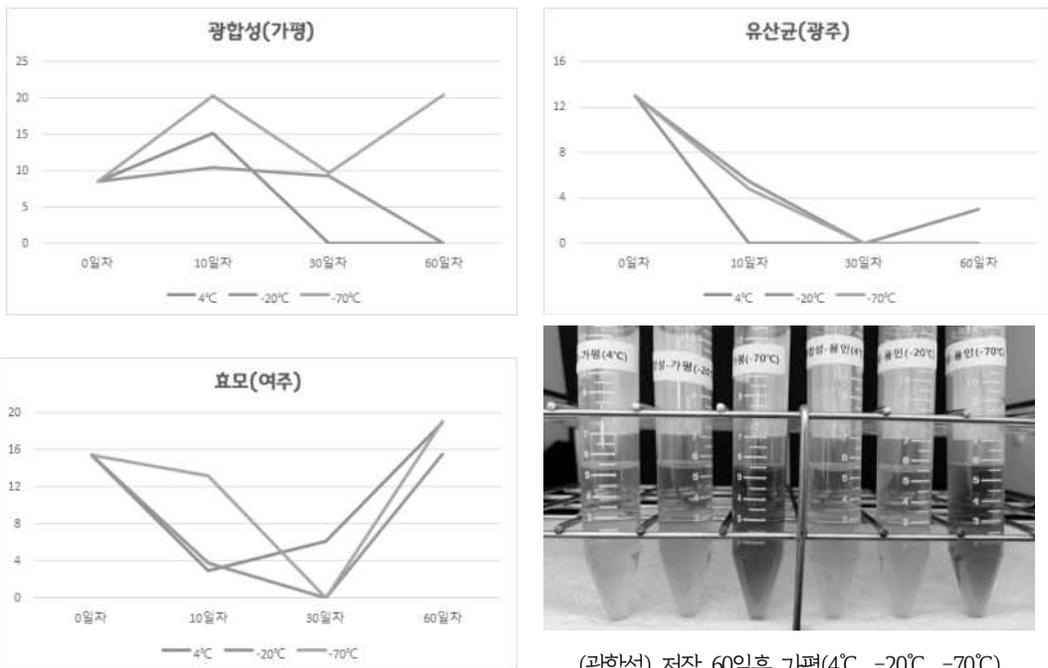
그림 11. 저장기간에 따른 유산균의 인산가용화능

IAA 생성능은 광합성세균, 유산균, 효모에서 볼 수 있었으며, 광합성 세균은 4℃, -20℃ 저장시 10일차 이후부터 생성능이 감소하였고 -70℃ 저장시 60일차 까지 IAA 생성능이 유지되었다. 유산균은 4℃, -20℃, -70℃ 모두 저장기간이 길어짐에 따라 IAA 생성능이 감소하였으며 효모는 4℃에서 저장시 IAA 생성능이 안정적으로 발현하는 경향을 보였다(표 13, 그림 12).

표 13. 저장기간에 따른 IAA 생성능

종류	시균	저장 0일자	저장 10일 후			저장 30일 후			저장 60일 후		
			4℃	-20℃	-70℃	4℃	-20℃	-70℃	4℃	-20℃	-70℃
광합성	가평	8.5 <sup>↓</sup>	15.2	10.5	20.4	<Min <sup>↓</sup>	9.3	9.8	<Min	<Min	20.5
	용인	3.5	<Min	4.6	12.6	<Min	<Min	3.2	<Min	<Min	12.2
	광주	13.0	<Min	5.5	4.8	<Min	<Min	<Min	<Min	3.0	<Min
유산균	파주	13.1	<Min	2.8	4.2	<Min	<Min	<Min	<Min	<Min	<Min
	양주	13.0	<Min	3.4	6.9	<Min	<Min	<Min	<Min	<Min	<Min
	양평	27.5	5.2	<Min	<Min	3.8	<Min	<Min	10.6	20.5	<Min
효모	여주	15.5	3.0	3.8	13.2	6.1	<Min	<Min	19.0	15.6	19.1
	양주	12.0	5.0	<Min	<Min	3.8	<Min	<Min	11.1	<Min	7.2

↓. R<sup>2</sup>=0.995 이상    ↓. < Min = 2.5mg/L 이하



(광합성) 저장 60일후 가평(4℃, -20℃, -70℃)  
/ 용인(4℃, -20℃, -70℃)

그림 12. 저장기간에 따른 IAA 생성능

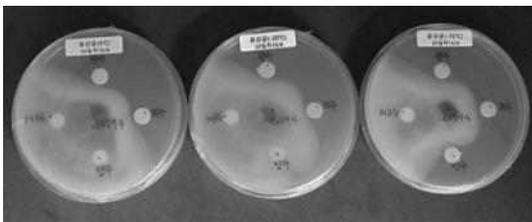
젯빛곰팡이병, 탄저병, 세균성궤양병에 대한 항균능을 저장기간 및 저장온도별로 조사하였다. 젯빛곰팡이병에 대한 항균능은 유산균과 고초균에서 관찰 할 수 있었는데 유산균의 경우

는 저장온도 및 기간에 따라 항균력에 대한 큰 차이는 없었다. 고초균의 경우는 저장 10일차 이후부터 조금씩 항균능이 감소하는 경향을 보였고 온도별로는 -70°C에서 저장할 경우 항균 능 활성이 잘 유지되는 것으로 조사되었다(표 14, 그림 13).

표 14. 저장기간에 따른 잣빛곰팡이병 항균능

병원균	종류	시균	저장0일차	저장 10일 후			저장 30일 후			저장 60일 후		
				4°C	-20°C	-70°C	4°C	-20°C	-70°C	4°C	-20°C	-70°C
40574	유산균	광주	+ <sup>1</sup>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		파주	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		양주	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	고초균	남양주	+++	+	+	++	+	+	++	(+)	+	++
		용인	++	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	-	(+)	(+)
		안산	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43527	유산균	광주	+	(+)	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
		파주	+	(+)	-	-	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
		양주	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	고초균	남양주	+++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		용인	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		안산	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

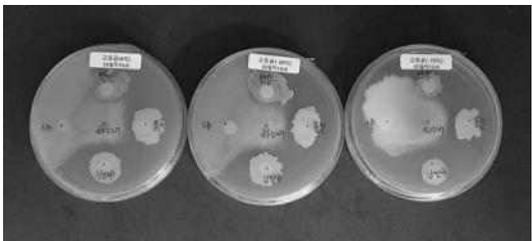
↓. - 효과없음, (+) 매우 약, + 약, ++ 중, +++강



(40574, 유산균) 저장 30일후 / 4°C, -20°C, -70°C



(40574, 고초균) 저장 30일후 / 4°C, -20°C, -70°C



(43527, 고초균) 저장 30일후 4°C, -20°C, -70°C



(43527, 고초균) 저장 60일후 / 4°C, -20°C, -70°C

그림 13. 저장기간에 따른 잣빛곰팡이병 항균능

탄저병에 대한 항균능은 주로 고초균에서 나타났는데 저장온도 및 기간에 따라 항균력에 대한 큰 차이는 없었다(표 15, 그림 14).

표 15. 저장기간에 따른 고초균의 탄저병 항균능

병원균	시균	저장0일차	저장 10일 후			저장 30일 후			저장 60일 후		
			4℃	-20℃	-70℃	4℃	-20℃	-70℃	4℃	-20℃	-70℃
40011	남양주	+++ <sup>J</sup>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	용인	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	안산	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)
40805	남양주	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	용인	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	안산	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40042	남양주	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	용인	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	안산	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

J. - 효과없음, (+) 매우 약, + 약, ++ 중, +++강

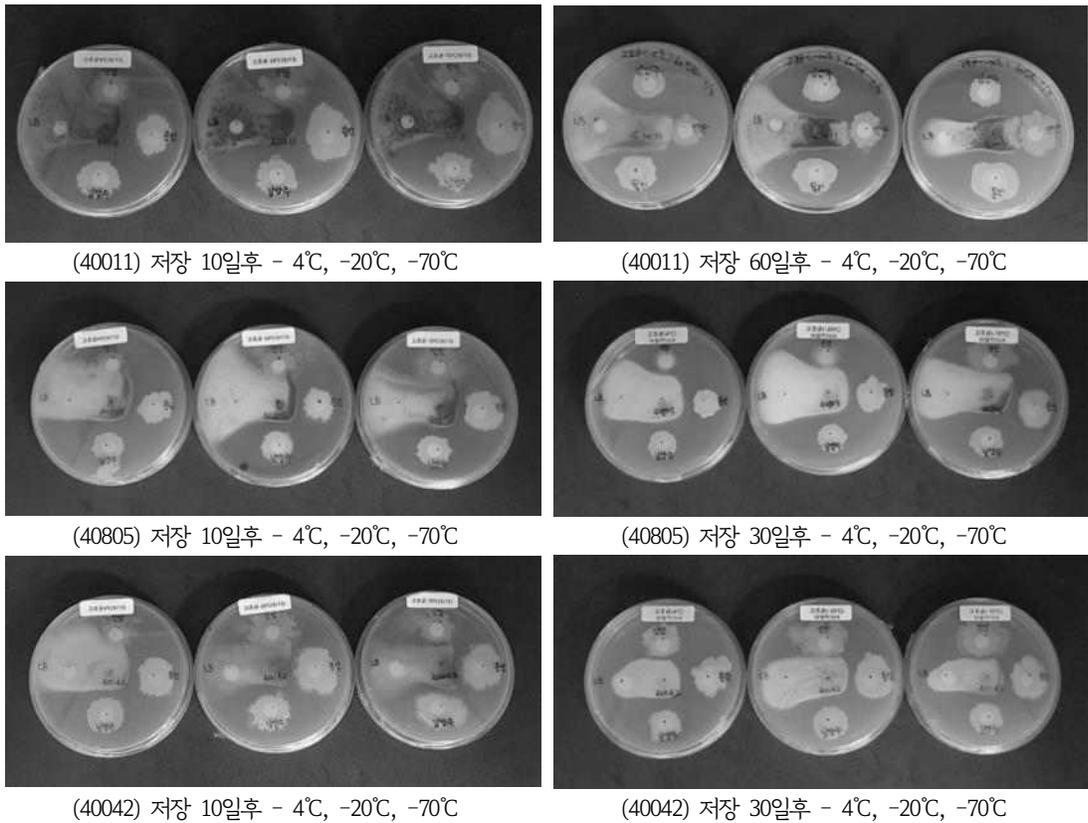


그림 14. 저장기간에 따른 고초균의 탄저병 항균능

세균성궤양병에 대한 항균능은 유산균, 고초균, 효모에서 나타났다. 유산균과 고초균은 저장온도, 저장 기간에 상관없이 안정적으로 항균능을 유지하였으며, 효모균의 경우는 4°C에서 60일 저장시 까지 항균능을 유지하였지만 -20°C와 -70°C 저장시는 60일 이후에 항균능이 다소 감소하는 것으로 조사되었다(표 16, 그림 15).

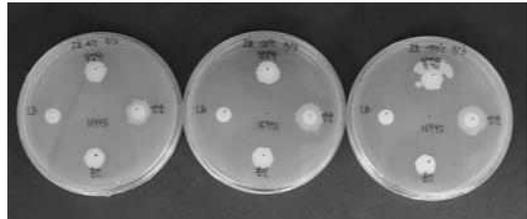
표 16. 저장기간에 따른 세균성궤양병 항균능

병원균	종류	시균	저장0일차	저장 10일 후			저장 30일 후			저장 60일 후		
				4°C	-20°C	-70°C	4°C	-20°C	-70°C	4°C	-20°C	-70°C
16995	유산균	광주	+++ <sup>1)</sup>	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		파주	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		양주	+++	++	++	+++	++	++	+++	+	+	+++
	효모	양평	++	++	++	++	++	++	+	++	(+)	(+)
		여주	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	-
		양주	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	고초균	남양주	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
		용인	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
		안산	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	18448	효모	양평	++	++	++	+	++	++	+	++	-
여주			++	++	+	+	++	+	-	++	-	-
양주			++	++	+	+	++	+	-	++	-	-
고초균		남양주	+++	++	+++	+++	++	+++	+	+	++	+
		용인	+++	++	+++	+++	++	+++	+	(+)	++	+
		안산	+++	++	+++	+++	++	++	+	+	++	+

1. - 효과없음, (+) 매우 약, + 약, ++ 중, +++강



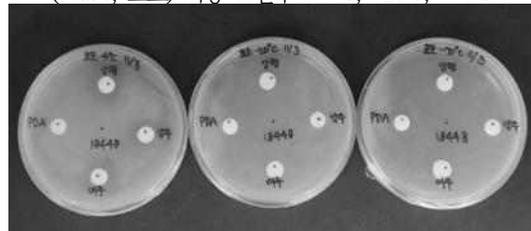
(16995, 고초) 저장 30일후 - 4°C, -20°C, -70°C



(16995, 고초) 저장 60일후 - 4°C, -20°C, -70°C



(18448, 효모) 저장 30일후 - 4°C, -20°C, -70°C



(18448, 효모) 저장 60일후 - 4°C, -20°C, -70°C

그림 15. 저장기간에 따른 세균성궤양병 항균능

## 4. 적요

경기도 시균농업기술센터 미생물배양실 18개소에서 활용하고 있는 4종류 미생물의 기능적 특성과 저장조건에 따른 기능적 특성변화 결과는 다음과 같다.

- 가. 미생물 배양실에서 주로 사용하는 광합성 세균은 *Rhodobacter sphaeroides*, 유산균은 *Lactobacillus plantarum* 이었으며, 효모와 고초균은 각각 *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis* 단일종을 사용하고 있었음
- 나. 질소고정능과 사이드로포어 생성능은 광합성세균과 고초균, 인산가용화능은 유산균, IAA 생성능은 광합성세균, 유산균, 효모에서 활성을 나타냄
- 다. 잣빛곰팡이병, 탄저병, 세균성 궤양병 등에 대한 항균능은 유산균과 고초균, 세균성궤양병에 대한 항균능은 유산균, 고초균, 효모균에서 볼 수 있었고 광합성 세균은 항균능을 보이지 않았음
- 라. 같은 종류의 미생물이더라도 시균농업기술센터별로 사용하고 있는 원균의 기능적 활성정도가 다르게 나타났으며, 농업현장에서의 미생물 공급 효과 제고를 위해서는 기능적 특성이 우수한 검증된 원균의 공급이 시급하다고 판단됨
- 마. 원균의 저장온도와 기간에 따라 생균수와 기능적특성을 종합적으로 고려할 때 광합성 세균은 -70°C에서는 60일 정도까지 -20°C에서는 30일 정도까지 4°C에서는 10일 정도까지 저장하는 것이 좋음. 유산균은 -20°C에서 60일 정도까지, 효모균은 4°C에서 60일 정도까지 저장이 가능하며 고초균은 4°C, -20°C, -70°C에서 모두 안정적으로 저장이 가능하나 -70°C 저장시 기능성 특성 측면에서 유리함.

## 5. 인용문헌

- 강국희. 1983. 유산균의 생육촉진현상. Korean Dairy Technol. 2(2) : 79~84
- 경기도 친환경 유용미생물배양실 운영 현황. 2019. 경기도농업기술원
- 농업미생물 이렇게 활용하세요!!. 2014. 충청북도농업기술원
- Baker, C. J., Stavely, J. R., Tomas, C. A., Myron, S., Janet, S. and Macfall, S. 1983. Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and on leaves development of rust pustules on bean leaves. *Phytopathology* 73:1148-1152.
- Development of photosynthetic bacteria for improvement of crop cultivation and livestock environment. 2016. 전남생물산업진흥원 생물방제연구센터.
- Lee ES, Song HG. 2010. 자색비유황세균 *Rhodospseudomonas faecalis*의 식물생장촉진능. *The Korean Journal of Microbiology*. 46(2): 157-161
- 이강국, 목인규, 윤민호, 김혜진, 정덕영. 2012. 인산가용화 미생물에 의한 토양 내 인산이온

가용화 기작. Korean J. Soil Sci. Fert. 45(2): 169-176

Mehnaz, S., Mirza, M. S., Hanrat, J., Bally, R., Normand, P., Bano, A. and Malik, K. A. 2001. Isolation and 16S rRNA sequence analysis of the beneficial bacteria from the rhizosphere of rice. Can. J. Microbiol. 47:110-117.

Sasikala, Ch, and Ch V. 1995. Biotechnological potentials of anoxygenic phototrophic bacteria. I. Production of single-cell protein, vitamins, ubiquinones, hormones, and enzymes and use in waste treatment. Advances in applied microbiology, 41: 173-226

서장선, 노형준, 최수임. 2006. 논토양의 Indole Acetic Acid 생성능. 한국토양비료학회지. 39(6): 386-391

최은정, 아난담, 홍성준, 박종호, 한은정, 지형진, 서장선, 김용기. 2009. 농업현장에서 활용되는 농업용 미생물의 기능분석. 한국유기농업학회 하반기 학술대회

추현웅. 2013. 유용미생물 Bacillus subtilis와 B. amyloliquefaciens의 대량배양기술 개발. 경북대학교 대학원

## 6. 연구결과 활용제목

- 자료발간 『유용미생물 생산을 위한 미생물 배양·관리 개정 매뉴얼』

## 7. 연구원 편성

세부과제	구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도	
						'20	'21
시군 공급 미생물의 우수 원균 선발	책임자	경기도원 친환경미생물 연구소	농업 연구관	임성희	시험 추진 및 결과정리	-	○
	공동 연구자	"	농업 연구사	백일선	시험 설계 및 추진	○	○
	"	"	"	문지영	시군별 활용 균 정보 수집	○	○
	"	"	"	원태진	시험분석법 자료수집	○	○
	"	"	"	남주희	기능성 관련 자료수집	○	○
	"	"	농업 연구관	정구현	과제 관리 및 추진방향 설정	○	○