

| 과제구분                      | 기본연구                                | 수행시기 |         | 전반기                |     |
|---------------------------|-------------------------------------|------|---------|--------------------|-----|
| 연구과제 및 세부과제               |                                     | 연구분야 | 수행기간    | 연구실                | 책임자 |
| 농업미생물 자원 확보 및 실용화 기술 개발   |                                     | 미생물  | '20~'23 | 천안농업연구소<br>천안농업연구팀 | 문지영 |
| 시군 공급 미생물 원균 배양기준 설정 및 보급 |                                     | 미생물  | '22~'23 | 천안농업연구소<br>천안농업연구팀 | 문지영 |
| 색인용어                      | 농업미생물, 유용미생물배양실, 옥신히르몬, 광합성세균, 농가적용 |      |         |                    |     |

## ABSTRACT

In this study, the suitability test for culture conditions was conducted on the selected useful microorganisms and applied to the field to investigate the effect on crop growth. As a result of analyzing the growth difference under each nutrient source, the 21NNW008 strain was found to utilize Adenosine-3', 5' -cyclic monophosphate, tryptophan-glycine, N-Acetyl-D-mannosamine, and Inositol hexaphosphate well as the nutrient source. Among carbon sources (sodium glutamate, sodium pyruvate, sodium acetate, and sodium succinate), it was found to be affected by sodium glutamate. As a result of testing the crop growth promotion effect of strain 21NNW008 in eco-friendly farms, the quantity of cucumber increased by 25.7% compared to the untreated, and the quantity of crown daisy increased by 19.6%.

**Key words:** Agricultural microorganism, Microbial culture centers, Indole-3-acetic acid, *Rhodobacter capsulatus*, Field test

### 1. 연구목표

경기도 시군농업기술센터 유용미생물배양실 18개소에서는 연간 11,700여톤의 미생물 배양액을 농가에 공급하고 있으며, 양평, 이천, 여주의 미생물 공급량이 도 전체 공급량의 절반 정도를 차지한다. 이는 팔당유역 상수원 보호구역의 지리적 특성과 관련이 있다. 시군센터의 유용미생물 농가 공급량은 농업용 6,073톤, 축산용 5,711톤(2023)으로 유용미생물 사용이 보편화되고 있고, 농업용으로는 고초균, 광합성세균, 유산균, 효모 순서로 많이 공급되고 있다. 광합성세균은 옥신히르몬 등 작물에 유용한 생리활성 물질을 분비하며, 바실러스는 작물의 생육 및 병 저항성 증진뿐만 아니라 해충 방제, 사료 제조 등 다양한 목적으로 농업 현장에서 활용되고 있다. 경기도는 유용미생

물 원균을 친환경미생물연구소(농업용), 동물위생시험소(축산용)에서 시군농업기술센터로 보급하는 시스템을 구축하고자 하며, 2019년에는 동물위생시험소를 주축으로 우수 원균을 4개 시군에 시범 공급한 바 있다. 본 연구진이 2020년에 실시한 도내 시군센터 유용미생물배양실 현황 조사에 따르면, 광합성세균은 농업적으로 많이 사용되고 있는 균종이지만 우수한 원균 확보가 어렵고 배지 조성, 배양 조건 등이 복잡하여 배양액 순도가 다른 균종에 비해 낮았다. 따라서 기능적 특성이 우수한 광합성세균 원균을 보급할 목적으로 미생물을 수집하였고, 옥신호르몬 생성이 우수한 *Rhodobacter capsulatus* 균주 등을 선발하였다(「작물 생육촉진용 미생물 개발 및 현장적용연구」 보고서 참고). 본 연구에서는 선발한 유용미생물을 대상으로 시판배지, 배양 조건에 따른 적합성 검사를 실시하고 파주시농업기술센터와 공동연구를 통해 농가현장에 적용하여 작물 생육에 미치는 영향을 조사하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 유용미생물 적합 대량배양조건 설정

본 연구진이 수집·선발한 유용미생물 2종에 대해 실험하였다. 광합성균 *Rhodobacter capsulatus* 21NNW008의 영양원 종류, 광 및 rpm 조건에 따른 생균수, 기능적 특성을 분석하였다. IAA(indole-3-acetic acid) 생성량은 배지에 L-tryptophan 0.1%(w/v)를 첨가하여 배양하고 배양 상등액 2 ml, salkowski 용액 4 ml, 10 mM orthophosphoric acid 100  $\mu$ l를 혼합하여 상온에서 25분 반응 후 530 nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선에 따라 정량분석 하였다. 카로티노이드 생성량은 균주 배양액 100 ml(V2)를 12,000 rpm, 15분간 원심분리하여 상등액이 제거된 균체에 3M HCl을 첨가하여 균체를 파쇄하였다. 파쇄 후 10,000 $\times$ g에서 20분간 원심분리 후 상등액을 제거하고 acetone(V1)을 첨가하여 28 $^{\circ}$ C, 100 rpm, 30분간 교반하며 카로티노이드를 추출하였다. 추출액은 480 nm에서 흡광도(A)를 측정하여 산출식에 따라 정량분석 하였다. Total pigment=ADV1/0.16V2 (D: dilution ratio, 0.16: extinction coefficient of carotenoid). 사이드로포어 생성능은 균주 배양액을 10,000 $\times$ g에서 10분간 원심분리 후 배양 상등액 0.5 ml와 CAS 용액 0.5 ml를 혼합하여 30 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시키고 630 nm에서 흡광도를 측정하였다. [(배지 흡광도-시료 흡광도)/배지 흡광도] $\times$ 100로 계산하였다.

고초균 *Bacillus subtilis* 20NNA015의 영양원 종류, 배양 온도에 따른 내생포자 생성 생균수, 군사생장억제율을 측정하였다. 내생포자 생성 여부는 온도별 균주 배양액을 80 $^{\circ}$ C에서 1시간 열처리 후 현미경 검경 및 TSA(tryptic soybean agar) 배지에 연속 희석 도말법으로 측정하였다. 군사생장억제율은 균주를 NA+PDA배지에 병원균과 대치배양하여 배지 처리구 대비 억제율(%)을 측정하였으며 균주 배양액과 원심분리(12,000 rpm, 15분) 후 여과(0.2  $\mu$ m)한 상등액에 대해 실험하였다.

**나. 유용미생물 농가현장 적용**

선발된 광합성균은 파주시의 친환경 오이, 양배추, 쪽갓 농가에 적용하였다(표 1). 약 2,600 m<sup>2</sup> 친환경 오이 농가에 1.0×10<sup>6</sup> cfu/ml 농도가 되도록 100배 희석한 광합성균 배양액을 주 1회 엽면살포하며 생육 전주기 동안 초장(cm), 엽수, 엽장(cm), 엽폭(cm), 마디수, 줄기 굵기(mm), 암꽃수, 생산량을 조사하였다. 농촌진흥청 조사분석기준(연구조사분석기준, 2012)에 준하여 초장은 지제부에서 생장점까지의 길이, 엽장·엽폭은 한 개체의 가장 큰 잎의 길이와 너비, 줄기 굵기는 생장점 아래 10번째 마디 2 cm 밑을 측정하였다. 생육조사는 미처리구, 처리구 각 36주씩, 생산량은 수확기에 주 3~4회 당일 수확량을 조사하였다.

표 1. 실증농가 정보

| 구분 | 작목      | 품종    | 주소              | 재배지  | 재배 면적(m <sup>2</sup> ) |
|----|---------|-------|-----------------|------|------------------------|
| A  | 무농약 오이  | 칭춘    | 파주시 파평면 덕천리 410 | 시설재배 | 2,640                  |
| B  | 무농약 양배추 | 오가네   | 파주시 파평면 덕천리 403 | 노지   | 3,960                  |
| C  | 무농약 양배추 | 오가네   | 파주시 파평면 놀노리 803 | 노지   | 1,980                  |
| D  | 무농약 쪽갓  | 사또유타카 | 파주시 파평면 덕천리 410 | 시설재배 | 2,640                  |

**다. 시군 생산 미생물 배양액 품질 조사**

경기도내 시군농업기술센터 유용미생물배양실 18개소에서 생산·공급하고 있는 배양액 48점을 수거하여 순도, 생균수, 동정 조사를 수행하였다. 순도는 배양액을 멸균 생리식염수(Diluent 9mL saline, 3M)로 연속 희석한 후 균종별 배양 배지(표 2)에 10<sup>-4</sup>~10<sup>-7</sup> 희석액을 100 μl씩 도말하여 배양하였다. 배양 후 단일 콜로니 생성 여부를 확인하였고, 모양과 색이 다른 콜로니는 NA(Nutrient agar, BD Difco)배지에 순수분리하여 동정하였다. 생균수는 단일 콜로니 생성이 확인되면 계수하여 산출하였다. 동정은 API 키트를 사용하여 생화학적 동정하였고 바실러스, 유산균은 50CH, 효모는 20 C AUX로 매뉴얼에 준하여 실험하였다. 시군은 A그룹(수원, 용인, 화성, 안산, 남양주, 평택, 파주, 김포, 광주), B그룹(고양, 양주, 이천, 안성, 포천, 양평, 여주, 가평, 연천)으로 나누어 실험하였고 조사 결과 컨설팅 및 담당자 역량 강화를 위한 기술교육을 실시하였다.

표 2. 미생물 종류별 배양 배지 및 조건

| 미생물 종류 | 배양 배지                           | 배양 조건         |
|--------|---------------------------------|---------------|
| 광합성세균  | TSA (Tryptic Soy Agar)          | 32°C, 24~48hr |
| 바실러스세균 | TSA (Tryptic Soy Agar)          | 25°C, 24~48hr |
| 유산균    | MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) | 37°C, 24~48hr |
| 효모     | PDA (Potato Dextrose Agar)      | 25°C, 24~48hr |

### 3. 결과 및 고찰

#### <시험 1> 유용미생물 적합 대량배양조건 설정

*Rhodobacter capsulatus* 21NNW008 균주를 대량배양용 시판배지 종류별로 배양한 결과(그림 1), 초산나트륨 25%, 효모추출물 25%, 제2인산칼륨 20%, 염화나트륨 20%, 황산암모늄 10% 조성의 배지(HD)에서 가장 빨리 최대 증식기에 도달하였다. 광합성균은 포자를 형성하지 않아 배양 초기에 빠르게 증식하여 우점해야 순도 높은 대량 배양액을 얻을 수 있기 때문에 해당 배지로 광합성균을 배양하여 실험하였다.

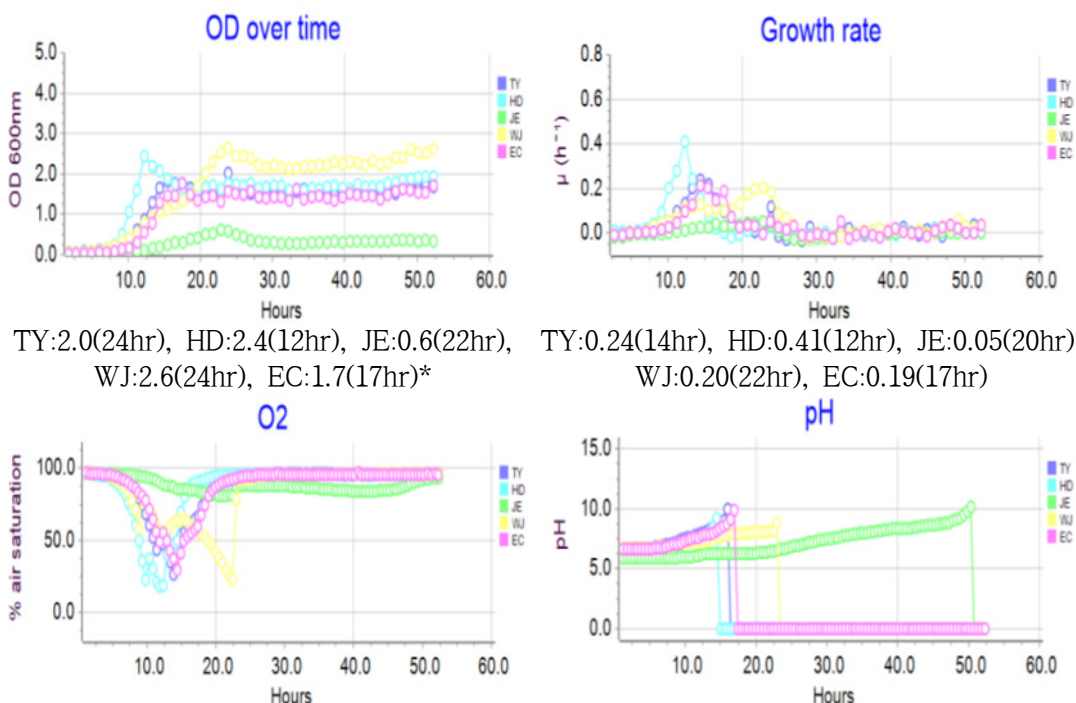


그림 1. 21NNW008 균주의 대량배양용 시판배지 종류별 성장 차이, O<sub>2</sub> 및 pH 변화  
\* 배지별 최대 증식기 OD값(시간)

표 3. 실험에 사용한 시판배지 종류 및 조성

| 배지 | 조성  |
|----|---|
| TY | 효모추출물 40%, 무수포도당 34%, 소이펍톤 20%, 타우린 4%, 미네랄 2%                  |
| HD | 초산나트륨 25%, 효모추출물 25%, 제2인산칼륨 20%, 염화나트륨 20%, 황산암모늄 10%          |
| JE | 효모추출물 5%, 효모배양물 2%, L-글루타민산나트륨 1%, 포도당 3%, 제2인산칼륨 3%, 제1인산칼륨 2% |
| WJ | 효모배양물 62%, L-글루타민산나트륨 38%                                       |
| EC | 포도당 50%, 옥수수전분 35%, 효모배양액 10%, 초산 5%                            |

탄소원, 질소원 등 영양원별 성장 차이를 분석한 결과(표 4), 21NNW008 균주는 영양원으로 Adenosine-3',5'-cyclic monophosphate, Tryptophan-Glycine, N-Acetyl-D-mannosamine, Inositol hexaphosphate을 잘 활용하는 것으로 나타났다. 무기염류(황산암모늄, 황산마그네슘, 황산철)는 균주 성장에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단되며(데이터 미제시), 탄소원(글루탐산나트륨, 피루브산나트륨, 초산나트륨, 숙신산나트륨) 중에서는 글루탐산나트륨의 영향을 받는 것으로 나타났다(표 5).

표 4. 21NNW008 균주의 영양원 종류별 성장 차이

| Microplate | Plate position | Source                               | Growth observed | Omnilog unit(OU) |
|------------|----------------|--------------------------------------|-----------------|------------------|
| PM1        | A5             | Succinic acid                        | -               | 11               |
|            | B12            | L-Glutamic acid                      | -               | 19               |
|            | C8             | Acetic acid                          | -               | 11               |
|            | F2             | Citric acid                          | -               | 16               |
|            | H8             | Pyruvic acid                         | -               | 16               |
| PM3B       | A10            | L-Aspartic acid                      | +               | 24               |
|            | B12            | L-Tryptophan                         | -               | 16               |
|            | F1             | N-Acetyl-D-mannosamine               | +               | 37               |
| PM4A       | A2             | Phosphate                            | -               | 19               |
|            | A3             | Pyrophosphate                        | +               | 34               |
|            | A4             | Trimeta-phosphate                    | +               | 35               |
|            | A12            | Adenosine-3',5'-cyclic monophosphate | +               | 59               |
|            | C3             | D-Glucose-1-phosphate                | +               | 33               |
|            | C4             | D-Glucose-6-phosphate                | +               | 29               |
|            | E11            | Inositol hexaphosphate(Phytic acid)  | +               | 37               |
|            | F2             | Sulfate                              | -               | 11               |
| PM5        | E9             | Orotic acid                          | +               | 33               |
| PM7        | E5             | Serine-Methionine                    | +               | 20               |
|            | F10            | Tryptophan-Glycine                   | +               | 44               |

표 5. 탄소원 종류별 21NNW008 균주의 성장 확인 (g/L)

| 구분 | Yeast extract (Oxoid) | Sodium glutamate | Sodium pyruvate | Sodium citrate | Sodium succinate | Peak OD    |
|----|-----------------------|------------------|-----------------|----------------|------------------|------------|
| 1  | 1                     | 0                | 0               | 0              | 0                | 0.14(30hr) |
| 2  | 3                     | 0                | 0               | 0              | 0                | 0.40(41hr) |
| 3  | 5                     | 0                | 0               | 0              | 0                | 0.74(63hr) |
| 4  | 1                     | 5                | 0               | 0              | 0                | 0.21(14hr) |
| 5  | 1                     | 0                | 5               | 0              | 0                | 0.03(17hr) |
| 6  | 1                     | 0                | 0               | 5              | 0                | 0.00       |
| 7  | 1                     | 0                | 0               | 0              | 5                | 0.03(14hr) |

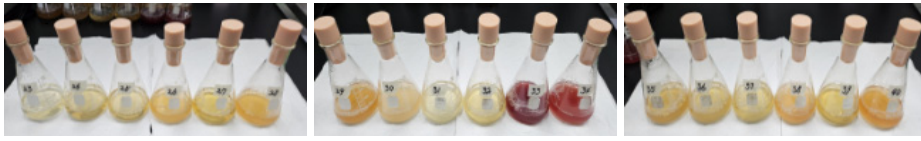
효모추출물 중에서는 글루탐산, 뉴클레오티드 함유량이 높은 조성(FNI 800)에서 생장이 우수하였다(표 6). 효모추출물, 글루탐산나트륨, 트립토판을 변수로 하여 반응표면분석을 설계하고 IAA, 사이드로포어, 카로티노이드 생성능을 측정된 결과(표 7), 각각 5 g, 1 g, 1 g 또는 5 g, 5 g, 1 g 조성에서 생성능이 높게 나타났다.

표 6. 효모추출물 종류별 21NNW008 성장 확인 (g/L)

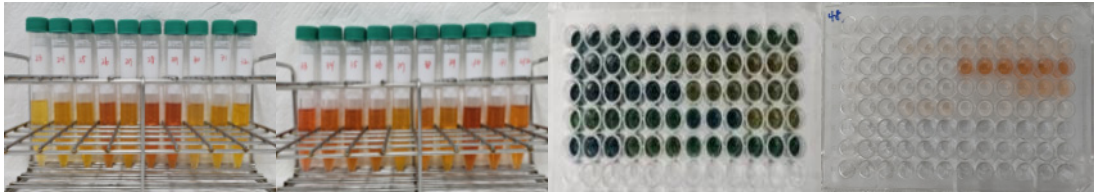
| 구분 | FS<br>(Leiber) | FNI 800<br>(Lallemand) | FM 502<br>(Angel) | Sodium<br>glutamate | Peak OD    |
|----|----------------|------------------------|-------------------|---------------------|------------|
| 15 | 3              | 0                      | 0                 | 5                   | 0.70(15hr) |
| 16 | 5              | 0                      | 0                 | 5                   | 1.28(18hr) |
| 17 | 0              | 1                      | 0                 | 0                   | 0.34(14hr) |
| 18 | 0              | 3                      | 0                 | 0                   | 1.10(14hr) |
| 19 | 0              | 5                      | 0                 | 0                   | 1.76(14hr) |
| 20 | 0              | 0                      | 1                 | 0                   | 0.28(19hr) |
| 21 | 0              | 0                      | 3                 | 0                   | 0.71(24hr) |
| 22 | 0              | 0                      | 5                 | 0                   | 1.42(39hr) |

표 7. 반응표면분석 설계에 따른 기능적 특성 검정

| 구분 | Code levels    |                |                | Real variables(g/L)              |                                 |                               | Response value(abs.) |                  |                  |
|----|----------------|----------------|----------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|----------------------|------------------|------------------|
|    | X <sub>1</sub> | X <sub>2</sub> | X <sub>3</sub> | X <sub>1a</sub><br>Yeast extract | X <sub>2b</sub><br>Na-glutamate | X <sub>3c</sub><br>Tryptophan | Y1<br>IAA            | Y2<br>Sidrophore | Y3<br>Carotenoid |
| 23 | -1             | 1              | -1             | 1                                | 5                               | 1                             | 0.09±0.00            | 1.45±0.04        | 0.45±0.01        |
| 24 | -1             | -1             | 1              | 1                                | 1                               | 5                             | 0.12±0.00            | 1.50±0.04        | 0.46±0.01        |
| 25 | -1             | 1              | 1              | 1                                | 5                               | 5                             | 0.11±0.00            | 1.42±0.03        | 0.50±0.01        |
| 26 | 0              | 0              | 0              | 3                                | 3                               | 3                             | 0.27±0.01            | 1.05±0.05        | 0.48±0.01        |
| 27 | 1              | 1              | 1              | 5                                | 5                               | 5                             | 0.12±0.00            | 1.34±0.03        | 0.50±0.01        |
| 28 | 0              | 0              | 0              | 3                                | 3                               | 3                             | 0.31±0.02            | 0.86±0.06        | 0.45±0.01        |
| 29 | 0              | -1             | 0              | 3                                | 1                               | 3                             | 0.37±0.01            | 0.80±0.04        | 0.49±0.02        |
| 30 | -1             | -1             | -1             | 1                                | 1                               | 1                             | 0.11±0.00            | 0.68±0.01        | 0.49±0.01        |
| 31 | -1             | 0              | 0              | 1                                | 3                               | 3                             | 0.11±0.01            | 1.46±0.03        | 0.41±0.01        |
| 32 | 0              | 1              | 0              | 3                                | 5                               | 3                             | 0.11±0.00            | 1.42±0.15        | 0.42±0.00        |
| 33 | 1              | -1             | -1             | 5                                | 1                               | 1                             | 0.38±0.02            | 0.73±0.03        | 1.04±0.11        |
| 34 | 1              | 1              | -1             | 5                                | 5                               | 1                             | 0.26±0.01            | 0.79±0.03        | 1.05±0.02        |
| 35 | 0              | 0              | 0              | 3                                | 3                               | 3                             | 0.25±0.01            | 0.95±0.08        | 0.34±0.01        |
| 36 | 0              | 0              | 0              | 3                                | 3                               | 3                             | 0.23±0.01            | 1.07±0.06        | 0.27±0.00        |
| 37 | 0              | 0              | 1              | 3                                | 3                               | 5                             | 0.11±0.00            | 1.26±0.06        | 0.45±0.01        |
| 38 | 0              | 0              | -1             | 3                                | 3                               | 1                             | 0.23±0.01            | 0.61±0.04        | 0.79±0.05        |
| 39 | 1              | -1             | 1              | 5                                | 1                               | 5                             | 0.14±0.01            | 1.35±0.04        | 0.39±0.00        |
| 40 | 1              | 0              | 0              | 5                                | 3                               | 3                             | 0.38±0.02            | 0.90±0.04        | 0.47±0.02        |
| 41 | 0              | 0              | 0              | 3                                | 3                               | 3                             | 0.26±0.01            | 1.08±0.03        | 0.48±0.02        |
| 42 | 0              | 0              | 0              | 3                                | 3                               | 3                             | 0.22±0.01            | 1.21±0.03        | 0.37±0.01        |



▲ 배지 조성별(23~42) 배양액 차이



▲ 배지 조성별(23~42) 옥신히르몬, 사이드로포어, 카로티노이드 생성 차이

21NNW008 균주의 광, 산소조건별 생균수, IAA, 사이드로포어 생성량을 측정한 결과(표 0), 24시간 배양액의 생균수는 광·호기, 암·호기 조건이  $1.9 \times 10^8$ ,  $3.4 \times 10^7$  cfu/ml, 광·정치 조건이  $3.7 \times 10^8$  cfu/ml이었다. IAA 생성량은 광·호기, 암·호기 조건이 배양 18시간에 65.0, 65.8 mg/L로 피크를 보이다 이후 유지되는 경향이었고(그림 2), 광·정치 조건은 서서히 증가하다 배양 48시간에 18.9 mg/L를 나타내었다. 사이드로포어 생성량은 광·호기, 암·호기 조건이 배양 24시간에 45.5, 45.7%로 피크를 보이다 이후 유지되는 경향이었고, 광·정치 조건은 배양 24시간에 23.3%로 피크를 보이다 이후 감소하였다. 21NNW008 균주는 광, 산소 조건이 하나만 주어져도 생장은 가능하나, 기능적 특성(IAA 및 사이드로포어 생성)은 산소 조건에 더 영향을 받는 것으로 판단된다.

표 8. 21NNW008 균주의 광, 산소 조건에 따른 생균수 조사 (cfu/ml)

| 구분    | Air (160 rpm)  |                   | Stay (0 rpm)      |                   |
|-------|--|-------------------|-------------------|-------------------|
|       | 24시간   | 48시간              | 24시간              | 48시간              |
| Light | $1.9 \times 10^8$  | $3.3 \times 10^7$ | $3.7 \times 10^8$ | $3.9 \times 10^8$ |
| Dark  | $3.4 \times 10^7$  | $5.1 \times 10^7$ | $8.4 \times 10^6$ | $2.9 \times 10^7$ |
| 배양조건  | 배양용량 500 ml, 접종량 1%( $7.0 \times 10^8$ cfu/ml, 5 ml), 배양온도 31°C, Air 160 rpm, Air baffled flask, Stay duran bottle |                   |                   |                   |

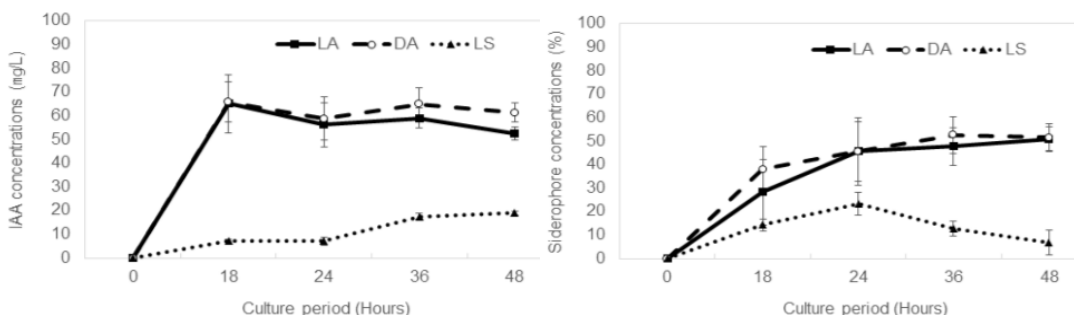


그림 2. 21NNW008 균주의 광, 산소 조건에 따른 IAA(왼쪽), 사이드로포어(오른쪽) 생성능  
 LA: 광·호기(형광 450 lux, 160 rpm), DA: 암·호기(160 rpm), LS: 광·정지(형광 450 lux)

<시험2> 유용미생물 농가현장 적용

21NNW008 균주의 작물 생육증진 효과를 친환경 오이, 양배추, 썩갓 농가에서 검정하였다. 오이는 ' 23/2/21 정식하여 3/17부터 수확 종료까지 광합성균을 처리하였고 3/31~5/24까지 수확하였다. 실험 결과, 무처리구 대비 오이 초장 7.2%, 암꽃수 22.2%, 수량 25.7% 증가하였다(표 9, 10).

표 9. 시험구별 오이 생육 특성

| 조사 일자 | 초장(cm)    |            | 엽수(개)    |          | 엽장(cm)   |           | 엽폭(cm)    |          |
|-------|-----------|------------|----------|----------|----------|-----------|-----------|----------|
|       | 무처리       | 21NNW008   | 무처리      | 21NNW008 | 무처리      | 21NNW008  | 무처리       | 21NNW008 |
| 3/24  | 69.5±5.0  | 785±84***  | 11.9±1.3 | 11.9±1.5 | 22.8±1.6 | 22.6±1.9  | 22.9±1.6  | 22.7±2.1 |
| 3/29  | 102.4±6.6 | 1090±97**  | 14.9±1.1 | 158±13** | 19.7±2.9 | 243±16*** | 264±24**  | 25.0±1.6 |
| 4/5   | 146.7±104 | 1502±137   | 19.6±1.3 | 19.6±1.9 | 19.0±1.2 | 246±23*** | 280±21*** | 25.8±1.7 |
| 4/12  | 180.2±128 | 1933±247** | 23.9±1.8 | 16.4±1.7 | 19.4±1.0 | 264±14*** | 287±13*** | 26.8±1.5 |

| 조사 일자 | 마디수(개)   |          | 줄기직경(mm) |          | 암꽃수(개)   |            |
|-------|----------|----------|----------|----------|----------|------------|
|       | 무처리      | 21NNW008 | 무처리      | 21NNW008 | 무처리      | 21NNW008   |
| 3/24  | 11.4±0.8 | 11.2±1.1 | 6.7±1.0  | 6.4±0.9  | 4.0±0.9  | 4.2±1.2    |
| 3/29  | 14.1±0.9 | 14.5±1.2 | 6.8±0.5  | 6.9±0.4  | 5.3±1.5  | 7.8±1.4*** |
| 4/5   | 19.3±1.3 | 19.0±1.5 | 7.7±0.8  | 7.5±0.7  | 6.8±1.1  | 9.6±2.0*** |
| 4/12  | 23.4±1.4 | 23.2±1.7 | 7.3±0.6  | 7.4±0.9  | 6.0±2.0  | 8.0±2.2*** |
| 4/18  | 26.8±1.4 | 27.1±1.9 | 7.1±0.5  | 7.3±0.8  | 9.1±1.3  | 9.6±1.9    |
| 4/26  | 33.6±1.6 | 33.2±2.2 | 7.4±0.5  | 7.4±0.7  | 10.0±0.9 | 10.2±0.7   |

\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001

표 10. 시험구별 오이 수량 차이

| 조사 기간     | 무처리       |        | 21NNW008 |           |        |         |
|-----------|-----------|--------|----------|-----------|--------|---------|
|           | 생산량(g)    | 과실수(개) | 과중(g/개)  | 생산량(g)    | 과실수(개) | 과중(g/개) |
| 3/31~5/16 | 2,402,100 | 14,686 | 163.6    | 3,019,500 | 18,560 | 162.7   |



시험구별 토양 화학성 및 미생물 군집 분석 결과, 무처리구 대비 질산태 질소가 약간 감소하였고(표 11) 종 단위 미생물 군집이 변화한 것을 확인하였다(표 13).

표 11. 시험구별 토양 화학성 분석

| 구분       | pH      | EC (dS/m) | OM (g/kg) | P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (mg/kg) | NO <sub>3</sub> -N (mg/kg) | K (cmol/kg) | Ca (cmol/kg) | Mg (cmol/kg) | Na (cmol/kg) |
|----------|---------|-----------|-----------|---------------------------------------|----------------------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| 정식 전     | 6.8     | 3.3       | 28.7      | 1,260                                 | 155                        | 2.18        | 10.8         | 3.4          | 0.4          |
| 무처리      | 5.7     | 20.1      | 29.4      | 1,662                                 | 2,160                      | 4.59        | 20.4         | 9.0          | 1.4          |
| 21NNW008 | 5.9     | 17.5      | 28.1      | 1,362                                 | 1,817                      | 4.01        | 19.3         | 7.6          | 1.2          |
| 오이 시설재배  | 6.0~6.5 | 2 이하      | 20~30     | 400~500                               | 70~200                     | 0.7~0.8     | 5.0~6.0      | 1.5~2.0      | -            |

표 12. 시험구별 토양미생물 종풍부도 추정치 및 다양성 지수

| 구분       | 세균    |         |              | 진균   |         |              |
|----------|-------|---------|--------------|------|---------|--------------|
|          | Chao  | Shannon | Gini-simpson | Chao | Shannon | Gini-simpson |
| 정식 전     | 1,341 | 9.2     | 0.995        | 148  | 2.8     | 0.588        |
| 무처리      | 1,298 | 8.9     | 0.995        | 231  | 4.3     | 0.839        |
| 21NNW008 | 1,353 | 9.2     | 0.996        | 199  | 3.2     | 0.680        |

표 13. 시험구별 토양미생물 군집 분포 (%)

| 구분       | 세균(Phylum)     |                |           |                 |                 |
|----------|----------------|----------------|-----------|-----------------|-----------------|
|          | Pseudomonadota | Actinomycetota | Bacillota | Planctomycetota | Acidobacteriota |
| 정식 전     | 23.6           | 20.8           | 16.0      | 5.5             | 5.1             |
| 무처리      | 23.7           | 19.1           | 26.8      | 2.8             | 1.8             |
| 21NNW008 | 21.8           | 19.1           | 23.0      | 3.9             | 4.9             |

| 구분       | 세균(Species)                         |  |                                   |                                  |                        |
|----------|-------------------------------------|--|-----------------------------------|----------------------------------|------------------------|
|          | <i>Arthrobacter nitrophenolicus</i> | <i>Paenisporosarcina macmurdoensis</i> | <i>Sphaerobacter thermophilus</i> | <i>Vicinamibacter silvestris</i> | <i>Gaiella occulta</i> |
| 정식 전     | 4.1                                 | 2.8                                    | 2.7                               | 2.6                              | 1.9                    |
| 무처리      | 0.4                                 | 1.0                                    | 5.9                               | 1.1                              | 4.1                    |
| 21NNW008 | 1.1                                 | 1.7                                    | 4.8                               | 3.3                              | 4.1                    |

| 구분       | 진균(Phylum)     |             |                    | 진균(Species)               |                          |                        |                            |                        |
|----------|----------------|-------------|--------------------|---------------------------|--------------------------|------------------------|----------------------------|------------------------|
|          | Basidio-mycota | Asco-mycota | Mortierello-mycota | <i>Tausonia pullulans</i> | <i>Chaetomi-aceae sp</i> | <i>Mortie-rella sp</i> | <i>Mortierell-aceae sp</i> | <i>Gymnoa -scus sp</i> |
| 정식 전     | 67.0           | 11.8        | 5.0                | 66.6                      | 4.8                      | 3.0                    | 2.0                        | 1.5                    |
| 무처리      | 43.0           | 36.9        | 3.1                | 38.3                      | 13.7                     | 0.1                    | 3.0                        | 4.2                    |
| 21NNW008 | 57.3           | 21.5        | 1.7                | 56.4                      | 7.9                      | 0.2                    | 1.5                        | 2.9                    |

양배추는 노지에 ' 23/8/25 정식하여 10/6부터 수확 종료까지 광합성균을 처리하였고 11/27에 수확하였다. 실험 결과, 양배추 생육(엽수, 구고, 구폭)에서 시험구간 유의적인 차이가 나타나지 않았는데(표 14) 생육 초기 강수량이 많아 광합성균을 정식 41일 후부터 처리한 것이 영향을 미친 것으로 생각된다.

표 14. 시험구별 양배추 생육 특성

| 조사일   | 엽수(개)    |          | 구고(cm)   |          | 구폭(cm)   |          |
|-------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
|       | 무처리      | 21NNW008 | 무처리      | 21NNW008 | 무처리      | 21NNW008 |
| 10/18 | 17.6±1.6 | 17.2±2.3 | 14.3±2.4 | 15.3±3.2 | 12.1±2.3 | 11.9±2.8 |
| 11/9  | 14.6±1.0 | 14.5±1.1 | 13.6±1.0 | 14.0±1.2 | 18.6±3.3 | 18.1±2.9 |
| 11/21 | 12.7±1.0 | 12.6±0.8 | 14.1±0.9 | 14.1±0.9 | 19.6±2.5 | 18.7±2.4 |

썩갓은 ' 23/9/26 정식하여 10/6부터 수확 종료까지 광합성균을 처리하였고 11/15~21에 수확하였으며 무처리구 대비 수량이 19.6% 증수하였다(표 15). 오이 농가 현장 적용시 고초균 20NNA015 균주에 대해서도 일부 실험하였으며 오이 자연발생 흰가루병 방제가는 61.4%로 나타났으나, 노균병 예방효과는 나타나지 않았다(표 16).

표 15. 시험구별 썩갓 생산량 차이 (kg)

| 조사일             | 무처리 | 21NNW008 |
|-----------------|-----|----------|
| 11/15~<br>11/21 | 736 | 880      |



▲ 시험구별 썩갓 생육 및 수량 차이

표 16. *Bacillus subtilis* 20NNA015의 오이 자연발생 병해 예방효과 (%)

| 구분       | 흰가루병 |      |      | 노균병  |      |     |
|----------|------|------|------|------|------|-----|
|          | 발병주율 | 발병엽률 | 방제가  | 발병주율 | 발병엽률 | 방제가 |
| 무처리      | 6.7  | 4.4  | -    | 6.7  | 5.0  | -   |
| 20NNA015 | 3.4  | 1.7  | 61.4 | 15.3 | 7.3  | -   |
| 시판제품     | 0.0  | 0.0  | 100  | 6.7  | 2.8  | 44  |

<시험3> 시군 생산 미생물 배양액 품질 조사

조사한 48점의 시료 중 적합이 43점, 부적합이 5점(10.4%)으로 나타났다(표 17, 18). 부적합 사례로는 등록 기준에 못 미치는 생균수 4점, 등록된 균종과 다른 균종으로 동정이 1점 이었으나 시료를 다시 수거하여 재검사한 결과 모두 적합으로 판정되었다. 조사 결과를 바탕으로 유용미생물 품질 향상을 위한 컨설팅을 추진하였다. 조사한 일부 시료에서 다른 균종이 함께 검출되어 해당 균종의 생균수가 상대적으로 낮았다. 순도가 높으면 해당 균종의 생균수가 높고 순도가 낮으면 해당 균종의 생균수가 낮은 경향이 나타나므로 업체 등 외부기관에서 제공받은 종균은 희선배양(순수분리)하여 사용하고, 배양기에 배지만 넣고 배양하여 오염원을 찾거나 배양기를 청소·소독 후 건조하여 배양할 것을 컨설팅하였다. 동정과 특성에 대한 과학적 근거가 있는 균주를 동결 보존하여 사용하도록 연속회석 도말법, 생화학적 동정, 오염 검사방법 등을 기술교육 하였다.

표 17. 미생물 배양액 생균수 측정 및 동정 결과(A그룹)

| 시군 | 균종 | 생균수(cfu/ml)          | 동정 결과                          | 등록 기준                           | 비고 |
|----|----|----------------------|--------------------------------|---------------------------------|----|
| 1  | 고초 | $2.5 \times 10^{13}$ | Bacillus subtilis 99.9%        | B. subtilis $2.0 \times 10^7$   | 적합 |
|    | 유산 | $2.1 \times 10^{10}$ | Lactobacillus plantarum 93.9%  | L. plantarum $2.0 \times 10^7$  | 적합 |
|    | 효모 | $8.9 \times 10^9$    | Saccharomyces cerevisiae 99.2% | S. cerevisiae $2.0 \times 10^7$ | 적합 |
| 2  | 고초 | $2.3 \times 10^{10}$ | Bacillus subtilis 99.6%        | B. subtilis $1.0 \times 10^6$   | 적합 |
|    | 유산 | $8.0 \times 10^{13}$ | Lactobacillus plantarum 99.7%  | L. plantarum $1.0 \times 10^6$  | 적합 |
|    | 효모 | $9.2 \times 10^7$    | Saccharomyces cerevisiae 99.2% | S. cerevisiae $1.0 \times 10^6$ | 적합 |
| 3  | 고초 | $6.2 \times 10^{10}$ | Bacillus subtilis 99.9%        | B. subtilis $1.0 \times 10^8$   | 적합 |
|    | 유산 | $1.4 \times 10^9$    | Lactobacillus casei 100.0%     | L. casei $1.0 \times 10^8$      | 적합 |
|    | 효모 | $2.5 \times 10^{10}$ | Saccharomyces cerevisiae 98.7% | S. cerevisiae $1.0 \times 10^7$ | 적합 |
| 4  | 고초 | $3.7 \times 10^7$    | Bacillus subtilis 99.4%        | B. subtilis $7.4 \times 10^6$   | 적합 |
|    | 유산 | $2.2 \times 10^8$    | Lactobacillus plantarum 99.8%  | L. plantarum $1.0 \times 10^6$  | 적합 |
|    | 효모 | $6.2 \times 10^8$    | Saccharomyces cerevisiae 99.2% | S. cerevisiae $2.7 \times 10^6$ | 적합 |
| 5  | 유산 | $2.3 \times 10^8$    | Lactobacillus plantarum 99.9%  | L. plantarum $1.5 \times 10^7$  | 적합 |
|    | 고초 | $5.2 \times 10^9$    | Bacillus subtilis 99.4%        | B. subtilis $2.0 \times 10^6$   | 적합 |
|    | 유산 | $1.0 \times 10^{10}$ | Lactobacillus casei 99.0%      | L. casei $2.0 \times 10^6$      | 적합 |
| 6  | 효모 | $1.0 \times 10^{10}$ | Saccharomyces cerevisiae 93.5% | S. cerevisiae $2.0 \times 10^6$ | 적합 |
|    | 고초 | $2.5 \times 10^7$    | Bacillus subtilis 99.0%        | B. subtilis $1.0 \times 10^6$   | 적합 |
|    | 유산 | $6.9 \times 10^6$    | Lactobacillus plantarum 99.9%  | L. plantarum $1.0 \times 10^6$  | 적합 |
| 7  | 효모 | $1.4 \times 10^8$    | Saccharomyces cerevisiae 65.6% | S. cerevisiae $1.0 \times 10^6$ | 적합 |
|    | 유산 | $6.8 \times 10^8$    | Lactobacillus plantarum 98.1%  | L. plantarum $1.1 \times 10^6$  | 적합 |
|    | 고초 | $1.5 \times 10^7$    | Bacillus subtilis 99.9%        | B. subtilis $1.0 \times 10^7$   | 적합 |
| 9  | 유산 | $2.2 \times 10^8$    | Lactobacillus plantarum 99.9%  | L. plantarum $1.0 \times 10^7$  | 적합 |
|    | 효모 | $3.8 \times 10^8$    | Saccharomyces cerevisiae 76.5% | S. cerevisiae $1.0 \times 10^7$ | 적합 |

표 18. 미생물 배양액 생균수 측정 및 동정 결과(B그룹)

| 시군 | 균종 | 생균수(CFU/ml)       | 동정 결과                            | 등록 기준                           | 비고  |
|----|----|-------------------|----------------------------------|---------------------------------|-----|
| 10 | 고초 | $2.0 \times 10^5$ | Bacillus subtilis                | B. subtilis $1.0 \times 10^6$   | 부적합 |
|    | 유산 | $2.1 \times 10^9$ | Lactobacillus plantarum 99.9%    | L. plantarum $1.0 \times 10^6$  | 적합  |
|    | 효모 | $1.1 \times 10^8$ | Saccharomyces cerevisiae 97.7%   | S. cerevisiae $1.0 \times 10^6$ | 적합  |
| 11 | 유산 | $6.9 \times 10^8$ | Lactobacillus plantarum 99.9%    | L. plantarum $1.0 \times 10^6$  | 적합  |
|    | 고초 | $7.4 \times 10^8$ | Bacillus subtilis 99.7%          | B. subtilis $6.0 \times 10^6$   | 적합  |
|    | 유산 | $4.4 \times 10^9$ | Lactobacillus plantarum 99.7%    | L. plantarum $1.7 \times 10^8$  | 적합  |
| 12 | 효모 | $3.3 \times 10^8$ | Saccharomyces cerevisiae 98.7%   | S. cerevisiae $6.2 \times 10^7$ | 적합  |
|    | 고초 | $1.2 \times 10^9$ | Bacillus subtilis 97.3%          | B. subtilis $1.0 \times 10^6$   | 적합  |
|    | 유산 | $2.6 \times 10^9$ | Lactobacillus plantarum 99.9%    | L. plantarum $1.0 \times 10^6$  | 적합  |
| 13 | 효모 | $1.3 \times 10^8$ | Saccharomyces cerevisiae 99.5%   | S. cerevisiae $1.0 \times 10^6$ | 적합  |
|    | 고초 | $1.9 \times 10^7$ | Aneurinibacillus aneurinilyticus | B. subtilis $1.0 \times 10^7$   | 부적합 |
|    | 유산 | $5.6 \times 10^6$ | Lactobacillus plantarum 99.9%    | L. plantarum $1.0 \times 10^7$  | 부적합 |
| 14 | 효모 | $4.8 \times 10^7$ | Saccharomyces cerevisiae 94.6%   | S. cerevisiae $1.0 \times 10^7$ | 적합  |
|    | 고초 | $1.8 \times 10^9$ | Bacillus subtilis 99.9%          | B. subtilis $3.0 \times 10^7$   | 적합  |
|    | 유산 | $6.6 \times 10^9$ | Lactobacillus plantarum 99.9%    | L. plantarum $2.0 \times 10^7$  | 적합  |
| 15 | 효모 | $9.8 \times 10^7$ | Saccharomyces cerevisiae 97.9%   | S. cerevisiae $2.0 \times 10^7$ | 적합  |
|    | 고초 | $2.5 \times 10^7$ | Bacillus subtilis 99.9%          | B. subtilis $2.0 \times 10^7$   | 적합  |
|    | 유산 | $9.7 \times 10^7$ | Lactobacillus plantarum 99.9%    | L. plantarum $2.0 \times 10^7$  | 적합  |
| 16 | 효모 | $1.5 \times 10^8$ | Saccharomyces cerevisiae 99.2%   | S. cerevisiae $2.0 \times 10^7$ | 적합  |
|    | 고초 | $2.0 \times 10^1$ | Bacillus subtilis 99.9%          | B. subtilis $1.0 \times 10^6$   | 부적합 |
|    | 유산 | $5.5 \times 10^9$ | Lactobacillus casei 99.0%        | L. casei $1.0 \times 10^6$      | 적합  |
| 17 | 효모 | $8.6 \times 10^7$ | Saccharomyces cerevisiae 98.7%   | S. cerevisiae $1.0 \times 10^6$ | 적합  |
|    | 고초 | $2.5 \times 10^6$ | Bacillus anthracis               | B. subtilis $6.4 \times 10^6$   | 부적합 |
|    | 유산 | $2.7 \times 10^9$ | Lactobacillus casei 99.0%        | L. casei $1.3 \times 10^6$      | 적합  |
| 18 | 효모 | $9.3 \times 10^7$ | Saccharomyces cerevisiae 99.9%   | S. cerevisiae $8.3 \times 10^6$ | 적합  |



▲ 시군센터 유용미생물 품질 향상을 위한 이론교육, 실습, 컨설팅 추진

#### 4. 적요

본 연구에서는 선발한 유용미생물을 대상으로 시판배지, 배양 조건에 따른 적합성 검사를 실시하고 농가현장에 적용하여 작물 생육에 미치는 영향을 조사하였다.

- 가. 탄소원, 질소원 등 영양원별 성장 차이를 분석한 결과, 21NNW008 균주는 영양원으로 Adenosine-3', 5'-cyclic monophosphate, Tryptophan-Glycine, N-Acetyl-D-mannosamine, Inositol hexaphosphate을 잘 활용하는 것으로 나타났다. 무기염류(황산암모늄, 황산마그네슘, 황산철)는 균주 성장에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단되며, 탄소원(글루탐산나트륨, 피루브산나트륨, 초산나트륨, 숙신산나트륨) 중에서는 글루탐산나트륨의 영향을 받는 것으로 나타났다. 효모추출물 중에서는 글루탐산, 뉴클레오티드 함유량이 높은 조성에서 생장이 우수하였다. 효모추출물, 글루탐산나트륨, 트립토판 조성을 각각 5 g, 1 g, 1 g 또는 5 g, 5 g, 1 g으로 하였을 때 IAA, 사이드로포어, 카로티노이드 생성이 높게 나타났다.
- 나. 21NNW008 균주의 광, 산소조건별 생균수, IAA, 사이드로포어 생성량을 측정한 결과, 24시간 배양액의 생균수는 광·호기, 암·호기 조건이  $1.9 \times 10^8$ ,  $3.4 \times 10^7$  cfu/ml이었다. IAA 생성량은 광·호기, 암·호기 조건이 배양 18시간에 65.0, 65.8 mg/L로 피크를 보이다 이후 유지되는 경향이었고, 광·정치 조건은 서서히 증가하다 배양 48시간에 18.9 mg/L를 나타내었다. 사이드로포어 생성량은 광·호기, 암·호기 조건이 배양 24시간에 45.5, 45.7%로 피크를 보이다 이후 유지되었고, 광·정치 조건은 배양 24시간에 23.3%로 피크를 보이다 이후 감소하였다. 21NNW008은 광, 산소 조건이 하나만 주어져도 생장은 가능하나, 기능적 특성(IAA, 사이드로포어 생성)은 산소 조건에 더 영향을 받는 것으로 생각된다.
- 다. 21NNW008 균주의 작물 생육증진 효과를 친환경 오이, 양배추, 쪽갓 농가에서 검정한 결과, 무처리구 대비 오이 초장 7.2%, 암꽃수 22.2%, 수량이 25.7% 증가하였고 쪽갓은 무처리구 대비 수량이 19.6% 증수하였다.

#### 5. 인용문헌

- 경기도 친환경 유용미생물배양실 운영 현황. 2019. 경기도농업기술원
- 봉기문, 김종민, 유재홍, 박인철, 이철원, 김평일. 2016. 광합성세균 *Rhodobater capsulatus* PS-2의 대량배양 최적화 및 대사산물 분석. *KSBB Journal* 31(3): 158-164.
- 전창욱, 김다란, 조경준, 이승규, 곽연식. 2018. 전국 농업 미생물 배양 센터 운영 환경 및 개선방안. *농업생명환경연구지* 30(3): 170-179.

충청북도 미생물 보급 및 연구 현황. 2019. 충청북도농업기술원  
 토착 광합성세균 선발 및 대량배양조건 확립 연구. 2013. 제주도농업기술원  
 Aloul, A., Van Kampen, W., Cerruti, M., Wittouck, S., Pabst, M., Weissbrodt, D.G. 2022. Exploring the role of antimicrobials in the selective growth of purple phototrophic bacteria through genome mining and agar spot assays. Letters in applied microbiology 75(5): 1275~1285.  
 Lee, S. S., T. J. Oh, J. Kim, J. B. Kim, and H. S. Lee. 2009. Bacteriocin from purple nonsulfur phototrophic bacteria, *Rhodobacter capsulatus*. Journal of Bacteriology and Virology 39: 269-276.  
 Torpee, Salwa, Kantachote, Duangporn, Sukhoom, Ampaitip, Tantirungkij, Manee. 2022. Culture optimization to enhance carotenoid production of a selected purple nonsulfur bacterium and its activity against acute hepatopancreatic necrosis disease-causing *Vibrio parahaemolyticus*. Biotechnology and applied biochemistry 69(6): 2422~2436.  
 Zeilstra-Ryalls, J., M. Gomelsky, J. M. Eraso, A. Yeliseev, J. O’Gara, and S. Kaplan. 1998. Control of photosystem formation in *Rhodobacter sphaeroids*. J. Bacteriol. 180: 2801-2809.

## 6. 연구결과 활용제목

- 학술발표 ‘광합성세균 *Rhodobacter capsulatus* 21NNW008의 배양 특성과 친환경 오이 생육촉진 효과’ (한국환경농학회, 2023)
- 특허미생물 기탁 *Rhodobacter capsulatus* 21NNW008 (기탁번호 KACC 81289BP)

## 7. 연구원 편성

| 세부과제                               | 구분        | 소속            | 직급        | 성명  | 수행업무      | 참여년도 |     |
|------------------------------------|-----------|---------------|-----------|-----|-----------|------|-----|
|                                    |           |               |           |     |           | '22  | '23 |
| 시균 공급<br>미생물 원균<br>배양기준 설정<br>및 보급 | 책임자       | 친환경미생물<br>연구소 | 농업<br>연구사 | 문지영 | 세부과제 총괄   | ○    | ○   |
|                                    | 공동<br>연구자 | 〃             | 〃         | 장재은 | 데이터 분석    | ○    | ○   |
|                                    | 〃         | 〃             | 〃         | 신민우 | 미생물 현장 적용 | ○    | ○   |
|                                    | 〃         | 〃             | 〃         | 남주희 | 배양 특성 검정  | ○    | ○   |
|                                    | 〃         | 〃             | 농업<br>연구관 | 임성희 | 연구 자문     | ○    | ○   |
| 〃                                  | 〃         | 〃             | 〃         | 임갑준 | 연구 자문     | ○    | ○   |