慶北大農學誌(Agric. Res. Bull. Kyungpook Natl. Univ.) 15(1997. 12)101~107

Bioenzyme 처리가 상추의 수량에 미치는 영향

강상재 · 박우철

경북대학교 농화학과

Effect of Bioenzyme Application on the Growth of Lettuce(*Lactuca Sativa L.*)

Sang-Jae KANG, Woo-Churl PARK

Dept. of Agricultural Chemistry, Kyungpook National University

Abstract

Bioenzyme was made up of two predominant strain, which were nomenclated PN-1 and PN-2, respectively.

PN-1 possessed spore forming ability, motility, gram positive, catalase activity, but didn't have oxidase activity, urease activity, nitrate reduction and indole forming ability. Toxonomical characteristics of the PN-2 were similar to PN-1 strain, but colony color of PN-2 was yellow-white and nitrate reduction ability was positive. Predominant strains were ascertained by physiologically and morphologically. PN-1 and PN-2 were identified *Bacillus licheniformis* and *Bacillus thuringinensis*, respectively.

Yield of lettuce significantly increased in first and second bioenzyme treatment. Fresh weight, length of shoot, width of leaves significantly increased in N,P,K and N,P,K followed by Bioenzyme application.

1. 서 론

환경보전형 농업은 화학비료 위주의 농업생산방식에서 나타나는 토양의 산성화, 토양의 중금속 축적, 나아가 수질오염을 최소화하고 유기물을 부숙시켜 토양에 주입하여 작물생산에 효율적으로 이용하는 농업생산방식이다(김 1994).

이러한 환경보전형 농업의 한 방편으로 미생물을 이용하여 화학물질을 토양에 다량 투입함으로서 발생되는 환경오염원을 줄이고 농업생산성을 높일수 있는 방안들의 개

Table 1. physico-chemical properties of soil

Soil texture	pH(1:5)	OM(g/kg)	T-N(%)	P_2O_5(mg/kg)	K_2O(mg/kg)
loamy sand	5.8	0.86	0.28	96	582

발이 요구되고 있는 실정이다(이 등 1995, 이 등 1996, 윤 등 1996).

이러한 미생물의 실용화에 대한 연구가 최근들어 많이 수행되고는 있으나 작물에의 처리방법, 균체의 보존방법, 식물체와의 상호관련성등을 확립하지 못하여 근권내 환경과 토양의 이화학성을 악화시켜 식물생육 및 품질을 저하시키는 경우가 있다(김 등 1993, 강 등 1996).

농업용으로 유용한 미생물들은 생물학적 방제 작용을 나타내는 많은 유용한 미생물들이 알려지고 있으며 이들이 분비하는 항균물질은 병해를 극복할 수 있게 한다. 병원성 미생물에 대한 생물학적 방제는 *Bacillus*속, *Pseudomonas*속, 사상균, 방선균 등이 이용되고 있으나 *Bacillus*속 세균이 생존력과 근권 정착력이 우수한 것으로 알려 지고 있다. 또한 *Pseudomonas*속 세균은 길항력 및 식물생장 촉진효과가 뛰어나 많이 이용되고 있는 실정이다(Schippers 등 1987, 이 등 1990, Dagat 등 1990).

미생물 제재인 Bioenzyme은 국내에서 아직 등록되지 않아 실제 사용되고 있지는 않으나 환경보전형 농업방식을 발전시킬 수 있는 중요한 재료라 생각되어 본 미생물 제재의 생리적 특성을 밝히고, 이 제재의 이용가능성을 연구하기 위하여 상추의 수량에 미치는 영향을 조사하였다.

材料 및 方法

1. 시험재료

본 실험에 사용한 Bioenzyme은 (주)유일이 수입한 Bioenzyme 원제(미국, Growmore사)를 사용하여 유효 미생물의 분리, 동정 및 상추의 수량에 미치는 영향을 조사하였다.

공시작물은 노지 및 하우스 재배용이며 반결구형인 청치마상추를 시중에서 구입하여 사용하였다.

공시작물의 재배에 사용된 공시토양의 이화학적 성질은 표 1에 나타내었으며 유기물 0.86%, 총질소가 0.28%인 loamy sand 토양을 사용하였다

2. 재배방법 및 시험구 배치법

정선한 공시종자를 plug에 파종하여 본엽이 3엽 나왔을 때 생육이 균일한 것을 선별하여 폿트에 이식하였다. 이식시기는 1997년 2월 15일과 3월 6일 2회에 걸쳐서 경북대학교 농과대학 온실에서 시험하였다.

처리구는 대조구(무처리)와 N,P,K구, (20,10,15kg/10a),N,P,K(20,10,15kg/10a)+Bioenzyme구(1kg/10a), Bioenzyme구(1kg/10a)와 같이 4처리구를 두어 실험하였으며 각처리당 3반복하여 완전임의 배치법으로 폿트를 배치하였다.

시비는 이식 직후 표토와 혼화처리한 후 관수하였다.

3. 조사항목 및 조사방법

이식 35일 후 공시한 전체시료를 채취하여 생체 중량, 엽수, 초장, 엽폭 등을 조사하여 식물 개체당 중량, 엽수, 초장, 엽폭 등으로 환산하였으며 각각의 성적을 Duncan의 다중검정법에 의하여 유의성을 검정하였다.

시험 전기간 동안 N,P,K 및 Bioenzyme의 시비로 인한 작물의 비해는 관찰 되지 않았다.

4. 미생물의 분리 동정

세균의 배양은 시료를 10배 희석한 다음 상온에서 10분간 방치한 후 상징액을 다시 10배 희석하여 고체 LB배지에 도말하여 5일간 배양하였다.

세균의 분리 및 동정은 각 colony를 새로운 배지로 계대배양을 반복하여 순수 분리하여 형태적 특성, 생리적 특성 및 생화학적 특성 등을 종합적으로 고찰하여 Bergey's manual of systemetic bacteriology와 Manual for the identification of medical bacteria에 기준하여 동정하였다.

형태 및 배양은 그람염색하여 광학현미경으로 확인하였으며 각종배지에서 생육한 colony의 크기, 모양, 색깔 등과 운동성 등을 조사하였다.

생리학적 특성은 casein 분해능, starch 분해능, 당발효능, indole 생성능, nitrate 환원력, catalase 및 oxidase생산능 등을 조사하였다.

균체수 측정은 10^3~10^6배로 0.85% 생리식염수에 희석한 0.1ml를 nutrient agar배지에 도말하여 30~300개의 colony를 형성한 plate를 선택하여 colony counter로 계수하였다.

Table 2. Predominant and distribution of Bioenzyme in aerobic condition

Strain	Viable cell (CFU/g)	Distribution ratio (%)
PN-1	5.1×10^6	75.0
PN-2	1.0×10^6	14.7

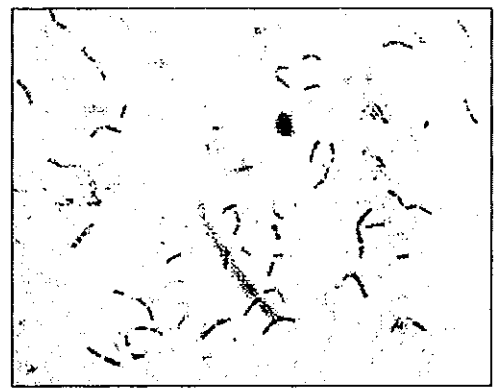

Fig 1. Optical microscopic photogram of the PN-1 (×1,000)

Fig 2. Scanning electron microscopic photogram of the PN-1. (×10,000, bar indicates 1㎛)

Table 3. Taxonomical characteristics of the PN-1 and PN-2

Characteristic	PN-1	PN-2
Morphological feature		
Gram Stain	+	+
Shape	rod	rod
Mobility	+	+
Spore forming	+	+
Cultural feature		
Colony color	Red-White	Yellow-White
Growth at 45℃	+	+
65℃	−	+
pH 5.7	+	+
Tolerance of 7% NaCl	+	+
Physiological		
Catalase	+	+
Oxidase	−	−
Urease	−	−
Utilization		
glucose	+	+
arabinose	−	−
mannitol	−	−
xylose	−	−
citrate	+	+
Nitrate Reduction	−	+
Indole production	−	−
Identification	*Bacillus licheniformis*	*Bacillus thuringiensis*

Table 4. Growth characteristics of lettuce by different fertilizer applications and Bioenzyme at first experiment

Treatment	Fresh weight		No. of leaves		Lenth of shoot		Width of leaf	
	g/plant	index	ea/plant	index	cm/plant	index	cm/leaf	index
A	25.1a	100	9.5a	100	15.0a	100	7.4a	100
B	38.4b	153	12.3b	129	17.4b	116	9.2b	124
C	32.4b	129	12.1b	127	17.8b	119	9.1b	123
D	49.5c	197	13.0b	137	21.1c	141	10.2c	138

A : control ; B : N,P,K C : N,P,K+Bioenzyme ; D : Bioenzyme

Table 5. Growth characteristics of lettuce by different fertilizer applications and Bioenzyme at second experiment

Treatment	Fresh weight		No. of leaves		Lenth of shoot		Width of leaf	
	g/plant	index	ea/plant	index	cm/plant	index	cm/leaf	index
A	26.7a	100	11.0a	100	18.5a	100	8.0a	100
B	33.2c	124	11.8a	107	20.5b	111	9.5b	119
C	30.6b	115	11.7a	106	17.7a	94	8.9ab	111
D	38.6d	145	12.5a	114	21.0b	114	9.8b	123

A : control : B : N,P,K C : N,P,K+Bioenzyme : D : Bioenzyme

結果 및 考察

1. Bioenzyme의 우점종 분포율과 동정

미생물 제재인 Bioenzyme은 호기성 조건하에서 총 세균수는 4.0×10^6~9.6×10^6CFU/g으로 존재하였고 혐기적 조건하에서는 1.5×10^6~1.27×10^7CFU/g으로 존재하였으며 또한, 우점종을 확인한 결과 표 2와 같이 2종의 우점종이 확인 되었다.

PN-1은 생체 균수가 5.1×10^6CFU/g으로 분포율이 약 75% 였으며 PN-2균주가 1.0×10^6 CFU/g으로 약 15%내외를 차지하였다(표 2).

우점종으로 확인된 균주의 형태적, 생리적 및 생화학적 특성을 확인한 결과 표 3과 같았으며 선별된 균주 PN-1은 그람양성인 간균으로 운동성 및 포자형성능을 가지고 있으며 호기성 세균이었다.

PN-1은 catalase활성을 가지나 oxidase 활성은 없었으며 gelatin과 urea 분해능은 없었다. indole생성능은 없었으나 acetoin 생산은 양성 반응을 보였다.

탄소원 이용성은 포도당을 잘 이용하나 arabinose, mannitol 및 xylose는 이용하지 못하였다(표 3).

이와 같은 생리적 반응 특성은 *Bacillus* 속 세균의 특성과 유사하며 그림 1,2와 같

Fig 3. Optical microscopic photogram of PN-2 (×1,000)

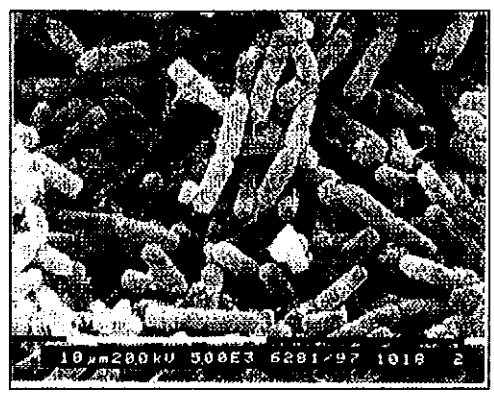

Fig 4. Scanning electron microscopic photogram of PN-2.
(×10,000, bar indicates 1㎛)

은 형태적 특징 등을 종합적으로 고찰하여 *Bacillus licheniformis*로 명명하였다.

선별된 균주 PN-2는 그람양성인 간균으로 운동성 및 포자형성능을 가지고 있는 통기성 세균이었다. PN-2는 catalase활성을 가지나 oxidase활성은 없었으며citrate분해능은 있으나 urea 분해능은 없었으며 tryptophan으로부터 indole생성능은 없었으나 acetoin 생산은 양성 반응을 보였다.

탄소원 이용성은 포도당을 잘 이용하나 arabinose, mannitol 및 xylose는 이용하지 못하였다.

이와 같은 생리적 반응 특성은 *Bacillus* 속 세균의 특성과 유사하며 그림 3, 4와 같은 형태적 특성 등을 종합 고찰하여 결론적으로 *Bacillus thuringiensis*로 명명하였다.

2. 수량 조사

미생물 제재인 Bioenzyme을 처리하였을 경우 상추의 수량에 미치는 영향은 재배시기를 달리하여 1차시험과 2차시험으로 2회 반복하여 시험하였으며 그 결과를 표 4, 5에 나타내었다.

생체중의 경우 1, 2차 시험시 공히 5% 수준의 유의차가 인정되었으며 1차시험의 경우 무처리구에 비해 관행의 N,P,K시용구가 경우 약 124%의 증수효과를 나타내었으며 Bioenzyme단용구의 경우 115%, N,P,K+Bioenzyme시용구는 145%의 증수효과를 나타내었다.

엽수의 경우 유의차가 인정되지 않아 Bioenzyme 처리시 엽수에는 영향이 없는 것으로 사료되었다.

초장의 경우 일반적인 경우 작물 재배시 시비를 하지 않는 경우가 거의 없으므로 관행의 N,P,K구와 N,P,K+Bioenzyme구사이에 비교시 1차시험에서는 유의차가 인정되었으나 2차시험에서는 유의 차가 인정되지 않았다.

엽폭의 경우도 관행의 N,P,K구와 N,P,K+Bioenzyme구사이에 비교시 1차시험에서는 유의차가 인정되었으나 2차시험에서는 유의차가 인정되지 않았다.

이와 같은 결과 Bioenzyme 처리와 관행의 N,P,K구보다 N,P,K+bioenzyme구에서 생체 중량이 증가하는 효과가 인정되었으며 초장 및 엽폭은 일부 그 효과가 인정되었으며 엽수의 경우는 그 효과가 인정되지 않았다.

摘 要

미생물 제재인 Bioenzyme은 호기성 조건하에서 총 세균수는 4.0×10^6 ~ 9.6×10^6CFU/g으로 존재하였고 혐기적 조건하에서는 1.5×10^6 ~ 1.27×10^7CFU/g으로 존재하였으며 2종의 우점종이 확인 되었다.

PN-1은 생체 균수가 5.1×10^6CFU/g으로 분포율이 약 75% 였으며 PN-2균주가 1.0×10^6 CFU/g으로 약 15%내외를 차지하였으며, 우점종으로 확인된 균주의 동정결과 PN-1은 *Bacillus licheniformis*로 확인되었으며, PN-2는 *Bacillus thuringiensis*로 확인되었다.

미생물 제재인 Bioenzyme을 처리하였을 경우 상추의 수량에 미치는 영향은 생체중의 경우 1, 2차 시험시 공히 5% 수준의 유의차가 인정되었으며, 엽수의 경우 유의차가 인정되지 않았다.

초장 및 엽폭의 경우 관행의 N,P,K구와 N,P,K+bioenzyme구사이에 1차시험에서는 유의차가 인정되었으나 2차시험에서는 유의차가 인정되지 않았다.

引 用 文 獻

1. 김광식, 김용웅, 박재우, 김영일 1993 원예작물 생육에 미치는 미생물제재의 이용 연구. 농업과학논문집('92농업산학협동) 35 : 129-140.
2. Dagat B., M. Gaudillant and J.M. Labadie. 1990 Susceptibility of various tomato and lettuce genotypes to plant growth promoting *Pseudomonas putida*. Symbiosis 9(1/3) : 395-303.
3. 이명철, 김용웅, 김광식. 1990 소맥근권에서 분리한 형광성 Pseudomonas spp.에 관한 연구. 한국토양비료학회지 23(2) : 152-159.
4. 이상복, 최윤희, 이경보, 유현철, 이경수 1995. 유기물 연용답에 있서서 미생물상의 계절적 변화 한국토양비료 학회지 28(4) : 356-362.
5. 이영한, 양민석, 윤한대. 1996. 염류수준별 고추 생육과 수량에 미치는 식물생육촉진 미생물 접종효과. 한국토양비료학회지 29(4) : 396-402.
6. 윤한대, 이영한, 하오성. 1996. 식물생육촉진 세균 분리, 동정과 고추에 대한 처리효과. 한국토양비료학회지 29(1) : 67-73.
7. Lemaire F. 1995 Physical, chemical and biological properties of growing medium. Acta Horticulture 396 : 273-284.
8. 강형모. 1996. 토양개량제겸 미생물 비료의 제조방법. 특허공보 제4354호 : 51-53.
9. 김학문. 1994 유기질 폐기물의 발효 처리와 퇴비화. 전학문
10. Schippers B., A.Bakker, P. Bakker 1987 Interactions of deleterious and benificial rhizosphere microorganism and the effect of cropping practices. Annu. Rev. Phytopathol. 25 : 339-358.