

길항미생물에 의한 White Clover (*Trifolium repens* L.) 생산성 향상에 관한 연구

최기춘 · 윤 창* · 송채은

Studies on White Clover Yield Increase by Antagonistic Bacteria

Ki Chun Choi, Chang Youn* and Chae Eun Song

Summary

This study was conducted to investigate the effect of antagonistic bacteria and pathogenic fungi on growth and yields of white clover (*Trifolium repens* L.) in continuous cropping soil (CCS) and non-continuous cropping soil (NCCS). The growth experiment of white clover was conducted at pots in a vinyl house. White clover was established by seeding into pots of 12 cm in diameter and 9 cm in depth containing 1:1 mixture of soil and vermiculite with antagonistic bacteria and pathogenic fungi. In dark culture experiment, white clover lived longer in treatment of antagonistic bacteria than in treatment of control, but lived shorter in CCS than in NCCS. Dry weight of white clover was increased by the inoculation of the antagonistic bacteria ($p < 0.05$), but decreased by the inoculation of the pathogenic fungi ($p < 0.05$) both CCS and NCCS. In conclusion, bacterization of white clover with antagonistic bacteria enhances the growth and yield of white clover.

(Key words : *Bacillus subtilis*, White clover, Fungi, Continuous cropping soil)

I. 서 론

이제까지 우리나라의 풀사료 생산기반은 일부 축산관계자들의 편협된 사고로 인하여 매우 취약해졌으나, 최근 수입풀사료와 곡물가격이 급상승함에 따라 풀사료의 중요성이 새롭게 대두되기 시작했다. 양축농가와 축산관계자들은 국내축산을 건전하게 유지 발전시키고 수입사료의 의존도에서 벗어나기 위해서는 농후사료위주에서 풀사료의 중심의 축우 사양체계를 유지하고 풀사료 생산기반 확충사업을

실시하여 양질의 풀사료를 안정적으로 생산함으로써 국제경쟁력을 높일 수 있다는 인식을 갖게 되었다.

지금까지 많은 학자들은 사료작물의 사료가치와 생산성 향상에 많은 연구를 하였으나 사료작물의 연작과 비료의 다량 시용으로 인한 토양물리·화학적 변화, 토양 전염성 병원균의 증가 등이 사료작물의 생산성에 미치는 영향에 대한 연구는 거의 이루어지지 않고 있는 실정이다. 특히 사료작물의 병해를 일으키는 병원성사상균은 토양에 장기간 생존하며 병

전남대학교 농업과학기술연구소(Institute of Agricultural Science and Technology, Chonnam National University, Kwangju, 500-757, Korea)

* 이리농공전문대학(Iri National College of Agriculture and Technology, Iri 570-110, Korea)

해를 주기 때문에 그 방제가 매우 어려운데 *Fusarium* 속, *Pythium* 속, *Phoma* 속, *Rhizoctonia* 속, *Uromyces* 속 등은 clover류의 뿌리와 줄기부위에 병해를 일으켜 생육을 불리하게 할 뿐아니라 수량 감소를 일으킨다(Nyvall, 1989; 김 등, 1987). 근래에는 이들 병원성 사상균의 활성과 생육을 억제시키는 미생물에 관한 연구가 이루어지고 있는데, 대표적인 미생물로는 *Agrobacterium* 속, *Bacillus* 속, *Pseudomonas* 속, *Rhizobium* 속 및 *Streptomyces* 속 등이 주로 이용되고 있다(Phae 등, 1992; Tuner와 Bakman, 1991; Handelsman 등, 1990; Rothrock와 Gottlieb, 1981; Kloepper와 Schroth, 1981; Chang과 Kommedahl, 1968). 이러한 미생물을 이용하면 목초의 병해방제는 물론 토양내 유용한 천적보존으로 인한 생태계의 균형유지 그리고 유기합성 농약에 따른 환경오염을 최소화하여 폴사료 생산을 증대시킬 수 있을 것으로 생각된다.

따라서 본 연구는 목초 병해를 일으키는 토양전염성 사상균의 활성을 억제시키는 길항미생물이 white clover의 생육과 생산성에 미치는 효과를 구명하고자 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시품종

White clover 품종중 California Ladino를 공시품종으로 사용하였다.

2. 공시균주

목초병해를 일으키는 토양전염성 사상균인 *R. solani*와 *F. oxysporum*에 길항작용을 가지고 있고 목초의 생육을 촉진하는 것으로 알려져 있는 미생물을 목초연작지의 근권토양에서 직접 분리하여 The prokaryotes(Starr 등, 1981), Bergey's manual of systematic bacteriology(Krieg와 Holt, 1984), microbiological method(Collins와 Lyne, 1984)에 기술된 방법에 따라 형태 및 생리·생화학적 성질을 조사한

결과 *Bacillus subtilis*로 동정하였으며 또한 이 균주를 이용하여 융합균주(*B. subtilis* × *B. thuringiensis*)인 F-3, F-7, F-8을 분리하여 본 시험에 이용하였다(최 등, 1995). 그리고 병원성사상균인 *R. solani*와 *F. oxysporum*은 농업과학기술연구소에서 분양받아 이용하였다.

3. 공시균주 접종액 조제 및 접종량

각각의 길항미생물을 10 ml LB broth에 접종하여 37℃ shaking incubator에서 overnight 시킨 다음, 그 배양액 3 ml를 100 fresh LB broth에 재접종하여 37℃ shaking incubator에서 24 시간 동안 배양하고 다시 1,000ml LB broth에 재접종하여 대수 증식기 말기까지 증식시킨 다음 원심분리(Beckman JA20-1 Roter, 10,000rpm, 20min.)하여 상등액을 제거한 다음 균체를 멸균수로 2~3회 세척하고 동량의 멸균수로 희석한 후 현탁액을 조제하였다.

병원성사상균인 *F. oxysporum* 및 *R. solani*를 각각의 PD(potato dextrose) 한천배지에 접종하여 26℃ incubator에서 5일 동안 배양시킨 후 가로 × 세로 10mm로 절개한 다음 100ml PD broth에 접종하여 26℃ shaking incubator에서 3일간 배양하고 다시 1,200ml PD broth에 재접종하여 4일간 배양하였다. 이 배양액을 원심분리하여 상등액을 제거한 다음 균체를 멸균수로 세척하고 homogenizer로 15초동안 균질화한 다음 동량의 멸균수로 희석한 후 병원성 사상균 접종액을 조제하였다. 그리고 상기의 접종액을 각각의 pot에 길항미생물은 25 ml, 병원성사상균은 20ml를 공시균주의 접종량으로 하였다.

4. 암소배양

암소배양은鈴木 등(1971)의 방법에 따라 500 ml tall beaker에 각각 연작 및 비연작토양 30 g을 넣은 다음 상기의 길항미생물 조제액을 2ml와 멸균수를 일정량 주입하고 살균 처리한 white clover 종자 20립을 파종하여 25℃의 암소 incubator에서 생장시킨 다음 고사주수를 경시적으로 관찰하였다. 살균종자는

미지근한 멸균수에 20분 동안 침지시킨 후 70% ethanol로 약 3분간 처리하고 다시 0.1% HgCl₂ 용액으로 3분간 처리한 다음 멸균수로 수회 세척하여 준비하였다.

5. 생육시험 및 재배관리

본 시험은 white clover을 이용하여 전남대학교 농과대학 부속동물 사육장 시험포장내 vinyl house에서 pot(직경 11cm, 높이 9cm)로 수행하였으며, 시험 토양은 white clover 연작 및 비연작지의 양토와 vermiculite를 각각 1/2씩 혼합하여 사용하였다. White clover 종자는 pot당 20~30입씩 점파하고 유식물이 정착한 후 3회에 걸쳐 슈아 내어 pot당 5개체씩 가꾸어 조사하였으며 수시로 제초작업을 하였고, 관수는 시험초기에 토양내에 수분 함량이 최대 용수량의 45%가 되게 계산하여 pot 중량을 측정된 후 수분이 부족하지 않도록 하였다. 그리고 파종당일, 파종 후 30일과 50일에 길항미생물과 병원성사상균을 접종하였으며, 파종 후 46, 56 및 66일에 지상부와 지

하부의 건물중을 조사하였다. 연작토양은 약 6년 동안 계속해서 white clover를 재배했던 토양을 이용하였고, 비연작토양은 white clover를 재배하지 않는 일반토양을 이용하였다.

6. 통계 분석

본 시험에서 얻은 모든 결과는 SPSS/PC+ 통계 package를 이용하여 유의성을 검정하였다.

III. 결 과

1. 암소배양

Table 1은 white clover의 암소배양 결과를 나타낸 것으로 연작토양의 무접종구에서 clover의 생육기간은 14일 이었으나 길항미생물 접종구에서는 무접종구에 비해 4일 정도 생육연장이 관찰되었다. 그리고 비연작토양의 무접종구에서는 18일의 생육기간을 보인 반면 길항미생물 접종구에서는 무접종구에 비

Table 1. Inoculation effects of antagonistic bacteria on autolysis of white clover in the dark culture

Treatment	Percentage of autolyzed white clover on days after sowing							
	8	10	12	14	16	18	20	22
Control	11	35	82	100				
<i>B. subtilis</i>	3	15	45	78	92	100		
CCS*	<i>F-3</i>	3	13	50	92	95	100	
	<i>F-7</i>	3	17	57	87	95	100	
	<i>F-8</i>	2	20	57	87	95	100	
Control			10	48	72	100		
<i>B. subtilis</i>			5	30	68	88	100	
NCCS**	<i>F-3</i>		7	30	67	97	100	
	<i>F-7</i>		6	42	60	100		
	<i>F-8</i>		3	35	68	92	100	

* CCS: Continuous cropping soil ** NCCS: Non-continuous cropping soil.

해 2일 정도 생육연장 효과가 나타났다. 특히 무접종구에서는 시험초기부터 clover의 고사주수가 현저하게 관찰되었으나 길항미생물 접종구에서는 무접종구보다 배양시간이 경과됨에 따라 고사주수의 발생빈도가 낮아지는 경향을 나타냈다. 그리고 연작토양보다 비연작토양에서 생육기간이 현저하게 연장되었는데 이러한 원인은 연작토양내에 유해물질 및 토양 전염성 병원균이 clover의 생육에 좋지 않은 영향을 미친데 기인된 것으로 보여진다. 따라서 이상의 암소배양 결과에 나타난 바와 같이 본 시험에 이용된 길항미생물은 생물학적 방제제로써 가치가 있는 것으로 생각된다.

2. 지상부와 지하부의 건물중

연작 및 비연작토양에서 white clover의 지상부와 지하부의 건물중은 파종 후 46일에 조사하였는데 그 결과는 Table 2와 같다. 길항미생물을 접종하지 않았을 때, 연작 및 비연작토양에서는 병원성사상균 단독접종구가 무접종구에 비하여 지상부와 지하부의 건물중이 감소하는 경향을 보였으나 유의차는 나타나지 않았다. 그러나 연작토양의 지상부 건물중에서는 병원성사상균 단독접종구가 무접종구에 비하여 유의적으로 건물중이 감소되었다($p < 0.05$). 길항미생물을 접종했을 때는 길항미생물 단독접종구의 건물중이 길항미생물과 병원성사상균 혼합접종구보다 현저하게 증가하였다($p < 0.05$).

Table 3은 연작 및 비연작토양에서 파종 후 56일째에 지상부와 지하부의 건물중을 조사한 결과인데,

Table 2. Effects of antagonistic bacteria and pathogenic fungi on dry weight of white clover at 46 days after sowing (g/5 plants/pot)

Treatment	Antagonistic bacteria					Mean		
	Control	<i>B. subtilis</i>	<i>F-3</i>	<i>F-7</i>	<i>F-8</i>			
S h o o t	CCS*	None	0.173 ± 0.009 ^a	0.220 ± 0.008 ^a	0.215 ± 0.022 ^a	0.223 ± 0.017 ^a	0.224 ± 0.011 ^a	0.211 ^a
		<i>F. oxysporum</i>	0.140 ± 0.012 ^b	0.196 ± 0.015 ^{ab}	0.184 ± 0.009 ^a	0.192 ± 0.016 ^{ab}	0.202 ± 0.026 ^{ab}	0.183 ^b
		<i>R. solani</i>	0.139 ± 0.011 ^b	0.185 ± 0.013 ^b	0.177 ± 0.014 ^b	0.177 ± 0.015 ^b	0.187 ± 0.004 ^b	0.173 ^b
		Mean	0.151 ^b	0.200 ^a	0.192 ^a	0.198 ^a	0.204 ^a	
R o o t	NCCS**	None	0.234 ± 0.004 ^a	0.326 ± 0.029 ^a	0.308 ± 0.020 ^a	0.302 ± 0.010 ^a	0.310 ± 0.022 ^a	0.296 ^a
		<i>F. oxysporum</i>	0.214 ± 0.015 ^a	0.285 ± 0.013 ^b	0.263 ± 0.017 ^b	0.274 ± 0.014 ^b	0.275 ± 0.024 ^{ab}	0.262 ^b
		<i>R. solani</i>	0.205 ± 0.031 ^a	0.256 ± 0.013 ^b	0.253 ± 0.026 ^b	0.257 ± 0.014 ^b	0.250 ± 0.014 ^b	0.244 ^b
		Mean	0.218 ^b	0.289 ^a	0.275 ^a	0.278 ^a	0.279 ^a	
o o t	CCS	None	0.108 ± 0.010 ^a	0.138 ± 0.055 ^a	0.139 ± 0.013 ^a	0.131 ± 0.002 ^a	0.134 ± 0.012 ^a	0.130 ^a
		<i>F. oxysporum</i>	0.098 ± 0.006 ^a	0.129 ± 0.228 ^b	0.119 ± 0.018 ^{ab}	0.113 ± 0.011 ^b	0.114 ± 0.003 ^b	0.115 ^b
		<i>R. solani</i>	0.094 ± 0.003 ^a	0.118 ± 0.121 ^b	0.108 ± 0.006 ^b	0.108 ± 0.004 ^b	0.111 ± 0.002 ^b	0.108 ^b
		Mean	0.100 ^b	0.128 ^a	0.122 ^a	0.118 ^a	0.120 ^a	
o o t	NCCS	None	0.134 ± 0.009 ^a	0.168 ± 0.009 ^a	0.158 ± 0.007 ^a	0.162 ± 0.006 ^a	0.166 ± 0.008 ^a	0.158 ^a
		<i>F. oxysporum</i>	0.120 ± 0.012 ^a	0.133 ± 0.006 ^b	0.132 ± 0.008 ^{ab}	0.130 ± 0.001 ^b	0.132 ± 0.010 ^b	0.130 ^b
		<i>R. solani</i>	0.118 ± 0.008 ^a	0.130 ± 0.004 ^b	0.127 ± 0.021 ^b	0.129 ± 0.001 ^b	0.114 ± 0.006 ^c	0.124 ^b
		Mean	0.124 ^b	0.144 ^a	0.139 ^a	0.141 ^a	0.137 ^a	

Mean ± SE.

* CCS: Continuous cropping soil.

** NCCS: Non-continuous cropping soil.

^{ab} and ^c: Values with different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

Table 3. Effects of antagonistic bacteria and pathogenic fungi on dry weight of white clover at 56 days after sowing (g/5 plants/pot)

Treatment	Antagonistic bacteria					Mean	
	Control	<i>B. subtilis</i>	<i>F-3</i>	<i>F-7</i>	<i>F-8</i>		
S h o o t	None	0.403 ± 0.023 ^a	0.463 ± 0.010 ^a	0.455 ± 0.008 ^a	0.462 ± 0.025 ^a	0.460 ± 0.014 ^a	0.449 ^a
	<i>F. oxysporum</i>	0.369 ± 0.003 ^{ab}	0.423 ± 0.033 ^a	0.428 ± 0.009 ^b	0.413 ± 0.031 ^{ab}	0.412 ± 0.015 ^b	0.409 ^b
	<i>R. solani</i>	0.350 ± 0.019 ^b	0.420 ± 0.022 ^a	0.419 ± 0.016 ^b	0.404 ± 0.024 ^b	0.404 ± 0.022 ^b	0.400 ^b
	Mean	0.374 ^b	0.436 ^a	0.434 ^a	0.426 ^a	0.425 ^a	
R o o t	None	0.480 ± 0.019 ^a	0.567 ± 0.018 ^a	0.550 ± 0.083 ^a	0.549 ± 0.022 ^a	0.557 ± 0.018 ^a	0.541 ^a
	<i>F. oxysporum</i>	0.458 ± 0.027 ^{ab}	0.535 ± 0.036 ^a	0.524 ± 0.065 ^a	0.499 ± 0.029 ^{ab}	0.519 ± 0.048 ^a	0.507 ^b
	<i>R. solani</i>	0.416 ± 0.045 ^b	0.512 ± 0.035 ^a	0.519 ± 0.048 ^a	0.481 ± 0.036 ^b	0.506 ± 0.029 ^a	0.487 ^b
	Mean	0.451 ^b	0.538 ^a	0.531 ^a	0.510 ^a	0.527 ^a	
R o o t	None	0.215 ± 0.016 ^a	0.273 ± 0.022 ^a	0.278 ± 0.010 ^a	0.267 ± 0.008 ^a	0.265 ± 0.010 ^a	0.259 ^a
	<i>F. oxysporum</i>	0.197 ± 0.017 ^a	0.255 ± 0.008 ^b	0.244 ± 0.014 ^b	0.226 ± 0.025 ^{ab}	0.227 ± 0.018 ^b	0.230 ^b
	<i>R. solani</i>	0.191 ± 0.020 ^a	0.239 ± 0.026 ^b	0.227 ± 0.016 ^b	0.224 ± 0.023 ^b	0.224 ± 0.007 ^b	0.221 ^b
	Mean	0.201 ^b	0.256 ^a	0.249 ^a	0.239 ^a	0.239 ^a	
R o o t	None	0.302 ± 0.020 ^a	0.365 ± 0.010 ^a	0.360 ± 0.007 ^a	0.359 ± 0.012 ^a	0.358 ± 0.018 ^a	0.349 ^a
	<i>F. oxysporum</i>	0.274 ± 0.011 ^{ab}	0.328 ± 0.006 ^b	0.316 ± 0.033 ^b	0.319 ± 0.021 ^{ab}	0.324 ± 0.011 ^{ab}	0.312 ^b
	<i>R. solani</i>	0.258 ± 0.017 ^b	0.303 ± 0.006 ^c	0.305 ± 0.016 ^b	0.308 ± 0.033 ^b	0.301 ± 0.020 ^b	0.295 ^b
	Mean	0.278 ^b	0.332 ^a	0.327 ^a	0.329 ^a	0.328 ^a	

Mean ± SE.

* CCS : Continuous cropping soil.

** NCCS : Non-continuous cropping soil.

^{ab} and ^c : Values with different letters in the same column are significantly different (p < 0.05).

길항미생물을 접종하지 않았을 때, 병원성사상균인 *R. solani* 접종구는 무접종구에 비하여 건물중이 유의적으로 감소하였다(p < 0.05). 그리고 *F. oxysporum* 접종구는 무접종구에 비하여 감소하는 경향을 보였으나 유의차는 나타나지 않았다. 길항미생물을 접종했을 때는 파종 후 46일째의 결과와 유사하게 나타났는데 길항미생물 단독접종구의 건물중이 길항미생물과 병원성사상균 혼합접종구보다 현저하게 증가하였다(p < 0.05).

Table 4는 연작 및 비연작토양에서 파종 후 66일째에 지상부와 지하부의 건물중을 조사한 결과인데, 길항미생물을 접종하지 않았을 때, 병원성사상균인 *R. solani* 접종구의 지상부의 건물중은 무접종구에 비하여 유의적으로 감소하였다(p < 0.05). 지하부에

서는 감소하는 경향을 보였으나 유의차는 나타나지 않았다. 길항미생물을 접종했을 때는 파종 후 46일 및 56일째의 결과와 유사하게 나타났는데 길항미생물 단독접종구의 건물중이 길항미생물과 병원성사상균 혼합접종구보다 유의적으로 증가하는 경향을 나타냈다(p < 0.05).

조사기간동안(파종 후 46, 56 및 66일) 병원성사상균 단독접종구는 길항미생물 단독접종구, 길항미생물과 병원성사상균 혼합접종구보다 건물중의 감소가 현저하게 나타났다. 통계 분석결과 연작 및 비연작토양에서 길항미생물 접종효과는 현저하게 나타났으며(p < 0.05), 길항미생물간에는 차이가 나타나지 않았다. 그리고 병원성사상균을 접종함으로써 지상부와 지하부의 건물중은 현저하게 감소되었다

Table 4. Effects of antagonistic bacteria and pathogenic fungi on dry weight of white clover at 66 days after sowing

(g/5 plants/pot)

Treatment	Antagonistic bacteria					Mean	
	Control	<i>B. subtilis</i>	<i>F-3</i>	<i>F-7</i>	<i>F-8</i>		
S h o o t	None	0.600 ± 0.033 ^a	0.660 ± 0.003 ^a	0.646 ± 0.032 ^a	0.689 ± 0.014 ^a	0.651 ± 0.008 ^a	0.649 ^a
	<i>F. oxysporum</i>	0.513 ± 0.029 ^b	0.585 ± 0.013 ^b	0.589 ± 0.023 ^b	0.559 ± 0.074 ^b	0.589 ± 0.025 ^b	0.567 ^b
	<i>R. solani</i>	0.514 ± 0.029 ^b	0.572 ± 0.016 ^b	0.568 ± 0.012 ^b	0.551 ± 0.045 ^b	0.549 ± 0.016 ^c	0.551 ^b
	Mean	0.542 ^b	0.606 ^a	0.601 ^a	0.600 ^a	0.596 ^a	
R o o t	None	0.687 ± 0.036 ^a	0.753 ± 0.034 ^a	0.733 ± 0.079 ^a	0.759 ± 0.041 ^a	0.740 ± 0.052 ^a	0.734 ^a
	<i>F. oxysporum</i>	0.632 ± 0.024 ^{ab}	0.703 ± 0.012 ^{ab}	0.690 ± 0.013 ^a	0.696 ± 0.029 ^b	0.702 ± 0.017 ^a	0.685 ^b
	<i>R. solani</i>	0.601 ± 0.022 ^b	0.699 ± 0.033 ^b	0.661 ± 0.020 ^a	0.664 ± 0.017 ^b	0.692 ± 0.048 ^a	0.663 ^b
	Mean	0.640 ^b	0.718 ^a	0.694 ^a	0.706 ^a	0.711 ^a	
R o o t	None	0.287 ± 0.017 ^a	0.329 ± 0.055 ^a	0.327 ± 0.032 ^a	0.326 ± 0.033 ^a	0.322 ± 0.019 ^a	0.318 ^a
	<i>F. oxysporum</i>	0.257 ± 0.047 ^a	0.309 ± 0.008 ^a	0.290 ± 0.027 ^a	0.297 ± 0.028 ^a	0.300 ± 0.010 ^a	0.291 ^b
	<i>R. solani</i>	0.240 ± 0.029 ^a	0.294 ± 0.008 ^a	0.289 ± 0.032 ^a	0.267 ± 0.032 ^a	0.290 ± 0.043 ^a	0.276 ^b
	Mean	0.261 ^b	0.311 ^a	0.302 ^a	0.297 ^a	0.304 ^a	
R o o t	None	0.399 ± 0.034 ^a	0.472 ± 0.024 ^a	0.462 ± 0.016 ^a	0.472 ± 0.040 ^a	0.468 ± 0.006 ^a	0.455 ^a
	<i>F. oxysporum</i>	0.343 ± 0.034 ^a	0.406 ± 0.008 ^b	0.401 ± 0.011 ^b	0.403 ± 0.046 ^b	0.401 ± 0.005 ^b	0.391 ^b
	<i>R. solani</i>	0.349 ± 0.015 ^a	0.398 ± 0.016 ^b	0.389 ± 0.013 ^b	0.378 ± 0.016 ^b	0.378 ± 0.025 ^b	0.378 ^b
	Mean	0.363 ^b	0.425 ^a	0.417 ^a	0.417 ^a	0.416 ^a	

Mean ± SE.

* CCS: Continuous cropping soil.

** NCCS: Non-continuous cropping soil.

^{ab} and ^c: Values with different letters in the same column are significantly different ($p < 0.05$).

($p < 0.05$). 토양간의 건물중을 비교해 보면 비연작토양의 건물중은 연작토양보다 현저하게 증가하였으며 길항미생물 접종효과도 연작토양보다 비연작토양에서 좋은 경향을 나타냈다.

IV. 고 찰

병원성사상균과 길항미생물이 접종된 pot에 white clover를 파종하여 생육상태를 육안으로 조사한 결과, 길항미생물을 접종하지 않은 연작 및 비연작토양의 경우 병원성사상균 단독접종구에서는 출현율이 저조하였으며 출현이 정상적으로 된 경우에도 생육기간이 경과됨에 따라 고사주수가 발생되었다. 연작토양의 무접종구에서도 출현율은 병원성사상균 단독접종구보다 양호한 결과를 보였으나 시간

이 경과됨에 따라 고사주수가 나타났다. 그러나 비연작토양의 무접종구에서는 고사주수의 발생이 없었고 목초의 활력도 양호한 상태를 나타냈다.

연작 및 비연작토양에서 길항미생물을 접종한 경우 길항미생물 단독접종구에서는 출현율이 정상적으로 나타났으며 활력도 양호하였다. 그리고 길항미생물과 병원성사상균 혼합접종구의 출현율과 활력은 병원성사상균 단독접종구보다 좋은 경향을 보였으나 길항미생물 단독접종구보다 저조한 상태를 나타냈다. 토양간의 출현율과 활력을 비교해 보면 연작토양보다 비연작토양에서 양호한 경향을 나타냈다. 그리고 연작 및 비연작토양 모두 목초의 영양생장기에서 생식생장기로 진행됨에 따라 고사목초의 발생이 거의 없었으며 활력도 양호한 상태를 나타냈다.

시험기간동안 연작 및 비연작토양에서 길항미생

물을 접종하지 않고 병원성사상균을 접종함으로써 건물중은 현저하게 감소되었으나 길항미생물을 접종했을 때는 증가하였다. 그리고 비연작토양에서 재배된 clover의 건물중은 연작토양보다 현저하게 증가하였으며, 길항미생물 접종효과도 비연작토양에서 좋은 경향을 나타냈다. 이처럼 비연작토양이 연작토양에 비해 생육이 양호한 상태를 보인 것은 암소배양의 결과에서 나타낸 바와 같이 연작토양의 유해물질과 토양 전염성 병원균의 증가와 관련이 있는 것으로 보여진다. 특히 토양병원성 사상균은 토양속에 장기간 생존하면서 병해를 일으키는데, Chi와 Hanson(1962)은 *Pythium* 속에 의해 alfalfa, clover 류의 damping-off가 쉽게 발생한다고 하였고 Graham 등(1972)은 ladino clover 유식물의 damping-off는 *R. solani*에 의해서 가장 크게 영향을 받았다고 보고하였다. 또한 Skipp과 Christensen(1983, 1982, 1981) 및 Skipp 등(1982)은 white clover의 지하부 병해에 관여하는 병원체가 사상균이라고 하였는데 본 시험에서도 병원성 사상균에 의해 white clover의 활력이 저해되었을 뿐만아니라 건물중이 감소되는 경향을 나타냈다. 그리고 Falloon(1985, 1980)도 병원성 사상균은 화분과 목초의 유식물 정착 및 목초생산량의 감소를 초래하고 유식물기의 병해는 목초의 후기 생장에 좋지 않은 영향을 미치므로 유식물에 대한 병해를 최소화해야 한다고 하였다. 이처럼 작물에 병해를 일으키는 토양병원성 사상균의 활성화와 생육을 억제하는 미생물을 개발하여 이용하고자 하는 노력이 이루어지고 있는데, Turner와 Backman(1991)은 *B. subtilis*를 peanut종자에 처리함으로써 발아, 출현, *Rhizobium*속에 의한 근류형성 및 뿌리의 생장이 향상되었을 뿐만아니라 *R. solani*에 의한 뿌리병해를 감소시켰다고 하였으며 Phae 등(1992)도 *B. subtilis* NB22를 토양에 접종하여 *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FoR)에 의해 발생된 tomato의 병해를 효과적으로 억제하였다고 하였다. 그리고 Handelsman 등(1990)은 alfalfa종자에 *B. cereus* UW85를 처리함으로써 *Phytophthora megasperma* f. sp. *medicaginis*에 의해 발생된 alfalfa 병해를 방지할 수 있다고 하였고, Liu와 Sinclair(1991, 1990, 1989)도 *B. megaterium*

Strain B153-2-2를 이용하여 *R. solani*에 발생된 대두의 뿌리병해를 효과적으로 감소시켰을 뿐만 아니라 뿌리의 생육을 증가시켰다고 보고하였는데, 본 시험에도 길항미생물을 접종함으로써 목초의 생육이 향상되었다. 이는 상기의 연구자들의 연구보고에서 처럼 길항미생물이 병원성사상균에 의한 뿌리 병해와 목초 생육장해를 최소화하였기 때문인 것으로 생각된다.

따라서 목초병해를 일으키는 병원성 사상균에 길항작용을 가지고 있고 목초의 생육을 촉진하는 미생물을 토양에 직접 접종하던가 또는 종자에 coating 시킴으로써 목초병해를 최소화 하고 목초의 활력 및 생산성 증가를 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

V. 적 요

본 연구는 목초의 수량을 감소시키는 병원성 사상균에 길항작용이 있고 목초의 생육을 촉진할 수 있는 미생물을 이용하여 White clover의 생산성을 증대시킬 수 있는 방안을 제시하고자 수행하였다. 여기에 이용된 미생물은 목초근권에서 직접 분리한 길항세균 *B. subtilis*와 이 균주를 이용한 융합균주(*F-3*, *F-7*, *F-8*)을 이용하였다. White clover의 건물중은 전남대학교 농과대학 부속동물사육장내 vinyl house에서 pot(12 × 9 cm)로 수행하여 조사하였으며, 시험토양은 연작 및 비연작지의 양토와 vermiculite를 혼합하여 사용하였다. 암소배양시험에서 연작 및 비연작토양에 길항미생물을 접종함으로써 White clover 생육기간이 연장됨을 알 수 있었으며, 비연작토양은 연작토양보다 보다 생육기간이 현저하게 연장되었다. White clover의 건물중은 길항미생물을 접종함으로써 증가하는 경향을 보였으나($p < 0.05$) 병원성 사상균에 의해서는 감소되는 경향을 나타냈다($p < 0.05$). 그리고 연작토양은 비연작토양보다 White clover의 건물중이 현저하게 감소되었다. 따라서 상기의 길항미생물은 목초의 생육과 생산성을 향상시키는 효과를 나타냈다.

(Key words: *Bacillus subtilis*, 화이트 클로버, 사상균, 연작토양)

VI. 인용문헌

1. Chang, I-pin., and T. Kommedahl. 1968. Biological control of seedling blight of corn by coating kernels with antagonistic microorganisms. *Phytopath.* 58:1395-1401.
2. Chi, C.C., and E.W. Hanson. 1962. Interrelated effects of environment and age of alfalfa and red clover seedlings on susceptibility to *Pythium debaryanum*. *Phytopath.* 52:985-989.
3. Collins, C.H. and P.M. Lyne. 1984. Microbiological method(5th ed), Butterworths, London.
4. Falloon, R.E. 1980. Seeding emergence responses in ryegrass(*Lolium* spp.) to fungicide seed treatments. *N.Z.J. Agric. Res.* 23:385-391.
5. Falloon, R.E. 1985. Temperature and seedling age affect susceptibility of perennial ryegrass seedling to pathogenic fungi. *Plant and Soil* 86:87-93.
6. Graham, J. H., K.W. Kreitlow and L. R. Faulkner. 1972. Disease. Pages 497-526 in: *Alfalfa Science and Technology*. C. H. Hanson, ed. Am. Soc. Agron. : Madison, WI.
7. Handelsman, J., S. Raffel, E.H. Mester, L. Wunderlich and C.R. Grau. 1990. Biological control of damping-off of alfalfa seeding with *Bacillus cereus* UW85. *Appl. Environ. Microbiol.* 56(3):713-718.
8. Kloepper, J. W. and M. N. Schroth. 1981. Relationship of *in vitro* antibiosis of plant growth-promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. *Phytopath.* 71:642-644.
9. Krieg, N.R. and J.G. Holt. 1984. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Williams and Wilkins, Baltimore.
10. Liu, Z.L. and J.B. Sinclair. 1989. A primary study of biological control of Rhizoctonia damping-off, root and crown decay of soybeans.(Abstr.) *J. Cell Biochem. Suppl.* 13A:177.
11. Liu, Z.L. and J.B. Sinclair. 1990. Enhanced soybean root growth and nodulation by *Bradyrhizobium* in the presence of strains of *Bacillus megaterium* B153-2-2 in soybean rhizosphere soil. (Abstr.) *Phytopathol.* 81:1179.
12. Liu, Z.L. and J.B. Sinclair. 1991. Effects of seed coating by *Bacillus* spp. on suppression of Rhizoctonia damping-off, root and stem rot of soybeans. *Biol Cult. Tests* 6:62.
13. Nyvall, R. F. 1989. *Field crop diseases handbook*. An AVI book, New York, USA. pp. 365-384.
14. Phae, C.G., M. Shoda and N. Kita. 1992. Biological control of crown and root rot and bacterial wilt of tomato by *Bacillus subtilis* NB22. *Ann. Phytopath. Soc.* 58:329-339.
15. Rothrock, C.S. and D. Gottlieb. 1981. Importance of antibiotic production in antagonism of selected Streptomyces species to two soil-borne plant pathogens. *J. Antibiot.* 34: 830-835.
16. Skipp, R.A. and M.J. Christensen. 1981. Invasion of white clover roots by fungi and other soil microorganisms. I. Surface colonisation and invasion of roots growing in sieved pasture soil in the glasshouse. *N.Z.J. Agric. Res.* 24:235-241.
17. Skipp, R.A. and M.J. Christensen. 1982. Invasion of white clover roots by fungi and other soil microorganisms. III. The capacity of fungi isolated from white clover roots to invade seeding root tissue. *N. Z.J. Agric. Res.* 25:97-101.
18. Skipp, R.A. and M.J. Christensen. 1983. Invasion of white clover roots by fungi and other soil microorganisms. IV. Survey of root-invading fungi and nematodes in some New Zealand pastures. *N.Z.J. Agric. Res.* 26:151-155.
19. Skipp, R.A., M.J. Christensen and J.R. Caradus. 1982. Invasion of white clover roots by fungi and other soil microorganisms. I. Invasion of roots in some pastures. *N.Z.J. Agric. Res.* 25:87-95.
20. Starr, M. P., H. Stolp, H G. Truper and H.G. Schlegel. 1981. *The prokaryotes : A handbook and identification of bacteria*. Springer-Verag, Berlin, Heidelberg, New York.
21. Turner, J.T. and P.A. Backman. 1991. Factors relating to peanut yield increases after seed treatment with *Bacillus subtilis*. *Plant Dis.* 75:347-353.
22. 領木達彦, 久保田勝. 1971. 暗所培養による連作障害の判定法. *日本土壤肥料學會誌.* 42:126-127.
23. 김동암외 15인. 1987. 초지학총론. 선진문화사. pp. 325-331.
24. 최기춘, 이영환, 전우복. 1995. 세포융합에 의한 신길항 미생물 육종에 관한 연구. - 목초병해의 생물학적 방제 -. *한초지* 15(11):1-12.