

Bacillus sp. WRD-1 배양액 처리가 토마토 생육에 미치는 영향

옥민 · 서원석 · 배계선 · 권오창 · 박수진¹ · 조영수*

동아대학교 생명자원과학부 생물공학전공 · ¹(주)윌 바이오텍

(2001년 2월 10일 접수 · 2001년 3월 11일 수리)

Growth Effect of Tomato Treated with *Bacillus* sp. WRD-1 Cultures

Min Ok, Won-Seok Seo, Kye-Sun Bae, O-Chang Kwon, Su-Jin Park¹, Young-Su Cho* (Division of Biotechnology, Faculty of Natural Resource and Life Science, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea, ¹ WILL BIOTECH Co., Ltd)

ABSTRACT : To investigate growth effect of tomato by *Bacillus* sp. WRD-1 isolated from soil, the *Bacillus* sp. WRD-1 cultures were treated into tomato cultivated soil with different dilutions (1:100, 1:300, and 1:500) and autoclaved *Bacillus* cultures as control. Growth and yield of tomato enhanced in treatments of the *Bacillus* cultures compared to control. The populations of native bacteria and actinomyces were increased twice in field treated with *Bacillus* sp. WRD-1 cultures, but the number of mold was decreased. Since the *Bacillus* sp. WRD-1 promoted growth of tomato and affected population dynamics of microorganism in field, this strain is prominent candidate as a microbial biocide to improve soil potential.

Key word : *Bacillus* sp., tomato, soil microbe, microbial biocide

서론

오늘날 농업은 화학비료나 농약의 과다사용, 염류의 집적현상을 초래하여 농가의 소득저하, 작물의 품성저하 등이 현저히 나타나고 있는 실정이다. 따라서, 화학비료나 농약의 사용을 줄이거나 대체 할 수 있는 생물학적 처리가 대두되고 있으며, 특히 토양생태계의 변화나 생물학적 방제의 기술이 미생물에 의해 가능하다는 것이 국내외 여러 연구자들에 의해 입증되어지고 있다. 농업생산성을 지속하기 위해서는 환경보전형 농업을 통한 토양의 건전성 확보가 필수적이다. 무엇보다도 농업의 지속성을 위협하는 큰 요인은 화학비료 및 농약의 과다사용과 장기연용으로 따른 토양악화에 있다¹⁻⁴. 화학비료의 연용은 토양을 산성화시킬 뿐만 아니라 토양 내 염류집적에 의해 토양의 물리성을 악화시킴으로써 잠재적인 농업 생산성을 감소시킨다. 그 때문에 화학비료의 사용량을 줄이는 저투입농업(LISA)과 꾸준한 퇴비사용으로 지력을 유지 또는 증진시키는 것이 절실한 시점이다⁵.

근래에는 토양병원균 활성을 감소시키고 작물의 생육을 촉진하는 미생물에 관한 연구에 많은 관심이 이루어지고 있다⁶⁻⁹. 이러한 미생물을 이용하면 토양생태계의 균형유지, 목초 병해방제 등 토양환경 변화를 최소화 시킬 것으로 기대된다. 따라서 근권 미생물 중 *Bacillus* sp.는 그람양성 간균으로서 토양 내에서 쉽게 분리 될 수 있을 뿐만 아니라 여러 가지 분해효소를 이용하여 토양내의 염류집적현상을 해소하고, 세포외로 분비되는 여러 가지

독소를 이용하여 항진균활성을 가지는 장점이 있어 토양 미생물 제제의 개발에 많은 관심의 대상이 되어지고 있다.

본 연구는 토양으로부터 protease활성이 우수한 *Bacillus* sp. WRD-1을 이용하여 작물에 미치는 영향과 토양내의 미생물상의 변화를 조사하여 친환경적인 미생물제제를 개발한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

사용균주 및 배양

본 시험에 사용되어진 균은 본 연구자에 의해 토양에서 분리 동정한 *Bacillus* sp. WRD-1을 사용하였고, 최적조건확립을 위해 선택조제되어진 배양배지를 사용하였다¹⁰. 그리고 배양 후 균체수가 $1.5 \pm 0.4 \times 10^8$ CFU/mL이 되도록 하여 300 L를 (주)윌바이오텍의 미생물발효탱크(2 ton)에서 배양 후 사용하였다.

실험재료

본 시험은 2000년 1월부터 2000년 5월까지 부산 대저에서 실제 토마토 농가재배지에서 두차례에 걸쳐 실시하였으며 정지작업은 관행법에 의하였고, 공시품종은 (주)홍농종묘로부터 '서광'을 구입하여 사용하였다. 토성은 낙동강하구의 퇴적토인 사양토이며, 공시 사용된 미생물 성분함량은 1.5×10^8 CFU/mL과 같으며 토양미생물 배양액의 처리 농도를 대조구, 100배액, 300배액, 500배액으로 하여 300평당 1000 L를 관주하였다.

작물 재배 및 관리

재배상은 관리에 편리하도록 이랑의 폭을 1m로 하고 길이에 준하여 분할구 배치법(split plot design)으로 시험구를 설치하였다.¹¹⁾ 과중은 처리농도 4가지와 3반복을 통하여 실시하였으며, 각 시험구당 공시작물을 10주씩 재배하였다. 처리량은 토양미생물 배양액의 처리 농도를 대조구, 100배액, 300배액, 500배액으로 하여 300평당 1000 L를 관주하였고, 대조구는 토양미생물 배양액을 121℃ 15분간 멸균 후 사용함으로써 본 분리미생물의 작용임을 간접적으로 확인하고자 하였다. 또한, 처리방법은 재식된 지면이 흠뻑 젖도록 처리하고, 정식전 1회 토양관주 처리를 실시하여 정식 후 10일 간격으로 살포하였다.

작물생육, 과실수량 및 과실특성 조사

토마토의 생육은 지상부와 지하부로 나누어 초장, 경직경, 엽면적, 생체중, 근장, 근중을 확인하고 수량조사로는 화방수, 과실수, 과중으로 조사결과를 각 측정항목의 평균값으로 표시하고 난괴법 3반복으로 하여 나타내었다.

토양분석

토양의 pH와 EC는 시료 : 증류수의 비율 1 : 5로 하여 측정하였고, 유기물함량은 Tyurin법, 총질소는 Kjeldahl증류법으로 분석하였으며, 양이온성치환용량은 N-NH₄OAc용액(pH 7.0)을 이용하여 측정하였고, 치환성 양이온은 N-NH₄OAc용액(pH 7.0)으로 침출된 것을 ICP로 정량하였다^{12,13)}. 토양의 유효인산은 Bray No. 1법으로 추출 후 바나도몰리브덴산을 이용한 비색법으로 측정하였다¹²⁾.

토양미생물의 계수

세균수의 측정은 채취시기별로 실시 하였으며 세균, 방선균, 사상균으로 각각 TSA(Tryptic Soy Agar), AIA(Actinomycetes Isolation Agar), PDA(Chloram phenicol)을 이용하여 적당히 희석을 실시하여 한천도말평판법을 이용하여 계수 측정하였다. 도말평판 후 세균은 30℃에서 48시간 배양하고, 방선균과 사상균의 측정은 27℃에서 400시간 이상 배양하여 평판상에 나타난 각 콜로니 수를 측정하였다.

결과 및 고찰

미생물배양액의 처리가 토양의 이화학적 조성에 미치는 영향

공시 미생물배양액의 처리전과 처리후의 토양의 pH, 유기물 및 무기물 조성을 Table 1에 나타내었다. 미생물배양 처리에 있어 각 배양물 농도별로 처리한 토양과 처리전 토양에서 pH, EC, P₂O₅ Ex-cation, NH₃-N, NO₃-N에는 유의적인 차이를 나타내지는 않아 본 사용균의 처리는 토양에 큰 영향을 미치지 않았다. 하지만 본 재배시험당시 해당지역의 극심한 가뭄(연평균 강우량의

5%)으로 인해 농업용수의 염농도가 상당히 높았던 것이 토양의 '이화학적 조성의 유의적인 차이를 발견할 수 없었던 원인일 수도 있다.

미생물 배양액의 처리가 토마토의 생육에 미치는 영향

미생물 배양액을 대조구, 100배액, 300배액 및 500배액으로 토마토에 관주하여 생육 조사한 결과는 Table 2와 같다. 초장 및 경직경에서는 관주 100배액 처리구에서 87.01 cm 및 11.03 mm로 가장 생육이 양호하게 나타났으며, 관주 300배액 및 500배액에서도 대조구에 비해 유의성이 인정되었다. 근중, 근장, 생체중 및 엽면적에서도 관주 100배액 처리구에서 대체적으로 생육이 좋게 나타났으며 대조구에 비해 유의성이 인정되었다. 이상의 결과를 요약하면 미생물 배양액을 농도별로 처리한 결과 100배액 > 300배액 > 500배액 > 대조구 순으로 생육상태가 양호한 것으로 나타났다. 이는 토양에서 분리된 *Bacillus* sp. WRD-1 배양액의 농도가 높을수록 토양내 정착이 높아져 유기물의 분해가 원활히 이루어진 결과로 추정되어지며, 대조구로서 *Bacillus* sp. WRD-1 배양액을 멸균하여 사용함으로써 *Bacillus* sp. WRD-1 균체자체의 역할을 규명하고자 행하였다. 그러므로 이 실험의 결과는 *Bacillus* sp. WRD-1 배양액 중에서 특정성분에 의해 작물의 성장이 촉진되었다기 보다는 균체자체가 토양내 정착을 통한 작물 성장을 촉진시킨 것으로 사료된다.

또한 미생물 배양액을 대조구, 100배액, 300배액 및 500배액으로 토양에 관주하여 수량을 조사한 결과는 Table 3과 같다. 화방

Table 1. Physico-chemical properties of soil after treatment of *Bacillus* culture.

Treatment	pH (1:5)	EC (dS/m)	P ₂ O ₅ (ppm)	Ex-cation(cmol/kg)			NH ₃ -N (ppm)	NO ₃ -N (ppm)
				Ca	Mg	K		
Pre-Treatment	6.54	2.15	904	8.48	3.86	1.94	tr	102
100	6.58	2.15	832	8.38	3.96	1.89	0.5	103
300	6.71	2.40	894	8.72	3.95	2.11	tr	128
500	6.66	2.25	836	8.60	3.86	1.72	5.0	116

1) tr : trace

Table 2. Effect of *Bacillus* sp. WRD-1 treatment on tomato growth.

Treatment (Dilution)	Plant height (cm)	Stem diameter (mm)	Root length (cm)	Root weight (g)	Fresh weight (g)	Leaf area (cm ²)
100	87.01**	11.03**	40.60**	26.56**	578.56**	254.67**
300	86.04**	10.15**	38.50*	25.63*	604.40**	242.80**
500	85.32**	10.34**	37.50*	23.94*	587.03**	247.27**
control ¹⁾	76.09	8.79	28.16	16.14	502.60	150.10
LSD .05	4.20	1.38	6.08	5.91	44.39	38.69
.01	6.36	2.10	10.56	9.98	68.81	64.23

Control¹⁾ : same amount of cultures was autoclaved at 121℃ for 15 min and was used for control.

Table 3. A number of fruit of tomato treated with *Bacillus* sp. WRD-1 cultures.

Treatment (Dilution)	Flower No.	Fruit No.	Fruit weight (g)
100	26.83 ^{***}	15.00 [*]	288.50 ^{***}
300	24.66 [*]	15.33 [*]	286.33 ^{***}
500	23.66 [*]	14.20 [*]	264.43 [*]
control ¹⁾	18.00	11.36	188.90
LSD .05	4.88	2.46	62.45
.01	8.12	2.24	82.44

Control¹⁾ : same amount of cultures was autoclaved at 121°C for 15min and was used for control

수에 있어서는 100배액 처리구에서 26.83개로 가장 많았으며, 300배액 및 500배액 처리구에서도 대조구에 비해 유의성이 인정되었다. 과중에 있어서는 100배액 처리구에서 288.50g으로 가장 많게 나타났으며 300배액 및 500배액 처리에서도 대조구에 비해 유의성이 인정되었다. 과실수에 있어서는 300배액에서 15.33개로 많았으며 대조구에서 11.36개로 적었다. 이런 결과는 작물의 생장과 과실에서 거의 유사한 결과를 관찰 할 수 있었고, 토양내 *Bacillus* sp. WRD-1 배양액의 사용이 토마토 생장에 우수하였으며, 특히, 균체자체만으로도 토마토 생육에 미치는 영향이 우수하여 토양미생물제로서의 개발 가능성을 확인하였다.

미생물 배양액의 처리가 토양미생물상에 미치는 영향

시험 전과 시험기간 중의 토양미생물상을 조사한 결과는 Table 4에서 보는 바와 같다. 시험 전의 토양내 총 미생물수는 극심한 가뭄으로 인한 염농도의 증가가 미생물 수 감소의 원인으로 판단되어진다.

하지만 *Bacillus* sp. WRD-1배양액의 처리에 따라 총 미생물수가 증가하여 3차 채취시의 총 미생물수는 2.0배에 달하였다. 이는 미생물 배양액의 첨가에 의해 토양내 미생물수가 증가한 것으로 추정되어지며, 특히, 세균수의 급속한 증가가 확인되어져 *Bacillus* sp. WRD-1이 토양내에서 유익균으로서 작용한 것으로 판단되어진다(Fig. 1). 또한 방선균 수의 증가와 동시에 곰팡이 수의 감소는 토양내 항진균성 물질을 생산하는 미생물의 수적 증가에 의한 것으로 전 등¹⁴⁾이 보고한 결과와 일치 하였다. 하지만 *Bacillus* sp.

Table 4. Changes of population of microorganism in the fertilized soil with *Bacillus* sp. WRD-1 ($\times 10^4$)

Treatment	Pre-treatment	1st	2nd	3rd
TM ¹⁾	1,971(100)	2,377(100)	3,126(100)	3,852(100)
Bacteria	1,690(85.7)	2,060(86.6)	2,720(87.0)	3,270(84.9)
Actinomycetes	156(7.9)	182(7.7)	261(8.4)	440(11.4)
Mold	125(6.4)	135(5.7)	145(4.6)	142(3.7)

1) TM : Total microbial

2) () : Changes of ratio of soil microorganism

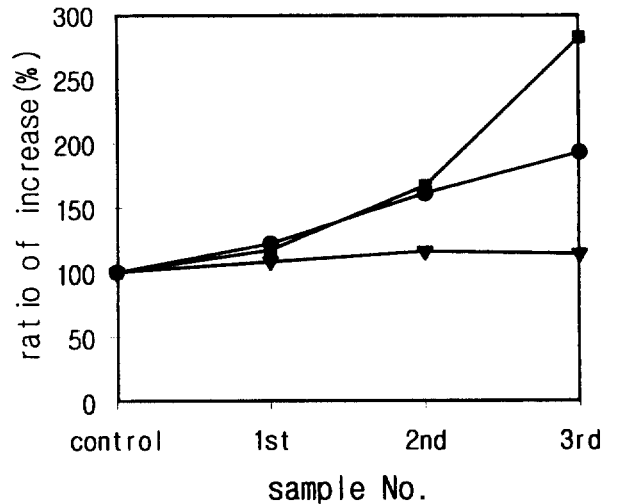


Fig. 1. Changes of population ratio of microorganism in the fertilized soil with *Bacillus* sp. WRD-1 ;(-●- : Bacterial , -■- : Actinomycetes , -▼- : mold)

이 생산하는 항진균성 물질에 기인한 결과인지 미생물 배양액이 방선균의 수적 증가에 의한 결과인지는 확인 할 수 없었다. 이러한 결과에서, *Bacillus* sp. WRD-1 배양액의 처리는 토양 내 미생물의 분포를 변화시키면서 토마토의 생육을 양호하게 하고, 장기적으로 존재하면서 작물에 해를 가하는 식물병원균의 생육을 저해시키는 것으로 생각되어진다. 또한 동일한 조건에서 시기만을 달리한 시험에서도 본 실험의 결과와 일치하는 결과를 나타냄을 확인하였다. (DATA생략)

요 약

토양으로 부터 분리한 *Bacillus* sp. WRD-1의 토마토 생육에 미치는 영향을 조사하기 위하여 미생물 배양액을 100배, 300배, 500배의 희석 비율에 따라 토마토재배지에 관주를 실시하여 토마토 생육 및 토양미생물상 변화를 관찰 하였다. 대조구로는 실제 미생물의 영향을 확인하기 위하여 *Bacillus* sp. WRD-1 배양액을 멸균하여 사용하였다.

토마토 생육은 전체적으로 100배> 300배> 500배> 대조구 순으로 희석 비율과 비례하였다. 시간별 토양미생물 수는 세균과 방선균의 수는 증가하는 경향을 보였으며, 곰팡이수는 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과로 토양활성개량미생물제로의 개발 가능성을 확인하였다.

참 고 문 헌

1. Cho, J. W. (1997) Histological and physiological characteristics of barley (*Hordeum vulgare* L.) seedling to NaCl stress. Degree of doctor thesis, Chungnam Nati. Univ.

2. Elliot, L. F. and Lynch, J. M. (1994) Biodiversity and soil resilience. In D. J. Greenland and Szabolcs (eds), soil resilience and sustainable land use. Cab International, Wallingford, UK, p.353-364.
3. Lee, H. J. and Park, K. Y. (1993) Crop production system for low-input sustainable agriculture in Korea. In Korean Society of Crop Science (ed), Low-input sustainable Crop production system in Asia, proceedings of the First Asian Crop Science Conference, September 24-28, 1992, Seoul, Korea, p.43-58.
4. Organisation for Economic Co-operation and Development. (1995) Sustainable Agriculture Concepts, issues and policies in OECD countries, OECD, Paris, France, p.15.
5. Chang, K. W., Cho, S. H. and Lee, I. B. (1998) Study on the Improvement of soil for high Efficient and Sustainable Agriculture-I. Effect of Repeated Application of chicken and Pig Manure Composts on Tomato Growth and soil Physico-chemical Properties, *Agri. Chem. Biotech.* 41(6), 451-456.
6. Phae, C. G., Shoda, M. and Kita, N. (1992) Biological control of crown and root rot and bacterial wilt of tomato by *Bacillus subtilis* NB22, *Ann. Phytopath. Soc.* 58, 329-339.
7. Turner, J. T. and Backman, P. A. (1991) Factors relating to peanut yield increases after seed treatment with *Bacillus subtilis*, *Plant Dis.* 75, 347 - 353.
8. Handelsman, J., Raffel, S., Mester, E. H., Wunderlich, L. and Grau, C. R. (1990) Biological control of damping-off of alfalfa seeding with *Bacillus cereus* UW 85, *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 713-718.
9. Kloepper, J. W. and Schroth, M. N. (1981) Relationship of in vitro antibiosis of plant growth promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora, *Phytopath.* 71, 642-644.
10. OK, Min., Kim, M. S., Kim, Seo, W. S., Cha, J. Y. and Cho, Y. S. (2000) Characterization of Extracellular Protease of *Bacillus* sp. WRD-1 Isolated from Soil. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 28(6), 329-333.
11. 농촌진흥청. (1995) 농사시험연구조사기준 31200-51850-9534. p.485-501.
12. RDA Agricultural Sciences Institute. (1988) Soil chemical analysis: soil, plant and microbiology. RDA Agricultural sciences Institute, p.26-124.
13. Gee, G. W. and Bauder, H. W. (1986) Partic size analysis. In A. Klute(ed), Methods of soil Analysis, Part 1. Physical mineralogical methods, 2nd ed, Agronomy Monograph No.9, ASA and SSSA Publisher, Madison, WI, USA, p.383-411.
14. Jun Dae Woo, Ku Ja Hyeoung, Lee Young Bok, Lee Jong suk and Moon Chanh shik. (1998) Effect of composted animal manure application on growth and yield of Tomatoes and Changes of Soil nutrients, *Korean J. Environ. Agric.* 17(3), 254-259.