

## *Bacillus stearothermophilus* DL-3 미생물 제재의 처리가 토양 미생물상 및 상추와 배추의 생장에 미치는 영향

김순희<sup>1</sup> · 배계선<sup>1</sup> · 양재균 · 이유정 · 오주성<sup>2</sup> · 정순재<sup>2</sup> · 문병주<sup>1</sup> · 이진우\*

동아대학교 생명자원과학대학 생명공학과, <sup>1</sup>응용생물학과, <sup>2</sup>원예식물생명공학과

Received July 13, 2004 / Accepted September 14, 2004

**Effect of microbial product made of *Bacillus stearothermophilus* DL-3 on microorganisms in soil and growth of lettuce and Chinese cabbage.** Soon-Hee Kim<sup>1</sup>, Kae-Sun Bae<sup>1</sup>, Jae-Kyoon Yang, You-Jung Lee, Ju-Sung Oh<sup>2</sup>, Soon-Jae Jung<sup>2</sup>, Byung-Ju Moon<sup>1</sup>, Jin-Woo Lee\*. *Department of Biotechnology, <sup>1</sup>Applied Biology and <sup>2</sup>Horticultural Plant Biotechnology, College of Nature Resources and Life Science, Dong-A University, Busan 604-714, Korea* — Effect of the microbial product made of *Bacillus stearothermophilus* DL-3, which was isolated from the soil and identified in this study, and rice bran on microorganisms in soil and growth of lettuce (Red skirt lettuce) and Chinese cabbage (Ga rack new No.1 Chinese cabbage) was investigated. Total numbers of microorganisms in the pot with untreated soil, treated with standard amount of microbial product and treated with double amounts of microbial product for growth of lettuce after 6 weeks were  $2.78 \times 10^7$  CFU/g,  $2.72 \times 10^8$  CFU/g and  $3.63 \times 10^8$  CFU/g. Total numbers of microorganisms in the soil without treatment of microbial product and treated with standard amount of microbial product were  $2.06 \times 10^8$  CFU/g and  $5.49 \times 10^8$  CFU/g. Total numbers of microorganisms in the pot with untreated soil, treated with standard amount of microbial product and treated with double amounts of microbial product for growth of Chinese cabbage after 6 weeks were  $1.43 \times 10^7$  CFU/g,  $3.42 \times 10^8$  CFU/g and  $7.22 \times 10^8$  CFU/g. Total numbers of microorganisms in the soil without treatment of microbial product and treated with standard amount of microbial product were  $5.75 \times 10^8$  CFU/g and  $7.96 \times 10^8$  CFU/g. On basis of leaf length, leaf width, leaf number, wet weight and dry weight, the growth of lettuce and Chinese cabbage on the soil treated with microbial product was faster than that on the untreated soil. The treatment of microbial product in the soil resulted in the increase of useful microorganisms, which seemed to enhance the growth of lettuce and Chinese cabbage.

**Key words** — *Bacillus stearothermophilus*, Rice bran, Microbial product, Microorganisms

최근 인구의 폭발적인 증가로 요구되는 농작물로 인해 필수 불가결적으로 다량의 농약과 화학비료가 사용되어 지고 있다. 이러한 농약과 화학 비료의 광범위한 사용은 환경오염을 유발시키는 문제를 제기하고 있다. 비록 어떤 농약이 토양에 직접 살포되지 않았더라도 그 농약과 화학비료는 결국 토양에 침투되는데 이는 토양 미생물의 생태를 파괴시키는 부작용을 야기하기도 한다[11]. 토양은 지구 생태계의 대다수 생명체들이 살아가는 바탕이며, 토양에서 서식하는 미생물 중 많은 종류의 미생물이 식물의 생육촉진, 물질 순환 및 환경 정화 등 수 없이 많은 중요한 역할을 수행하고 있다는 면에서 소중히 다뤄야 할 부분이다[22]. 이처럼 농업은 환경을 지키는 산업이기도 하나 동시에 환경을 가해하는 작용이 확대되어 왔으며 이는 농업과 환경의 대립되는 모습을 보이고 있다. 토양의 환경보전에 대한 의식이 높은 지금 토양관리에 우선적으로 고려되어야 할 분야는 토양 물리·화학이지만 토양 미생물에 대한 연구에도 보다 큰 비중을 두어야

하겠다. 그 이유는 생물이 존재하여야 비로소 자연이라는 생태계가 이루어지며, 이들 생태계가 정상적으로 유지되기 위해서는 물질 순환이 효율적으로 진행되어야 하는데 이 과정 대부분을 토양 미생물이 관여하고 있기 때문이다[19]. 유용한 토양 미생물들은 작물의 생장을 촉진하며 및 가축의 생장에 도움을 주는 효능을 가지고 있다. 미생물 제제란 특정한 유용성을 가지고 있는 하나 혹은, 그 이상의 미생물이 일정한 농도로 함유되어 있는 액상 혹은 고상 분말형 제제를 말한다. 이러한 미생물 제제의 용도는 최근 농업뿐만이 아니라 음식물 쓰레기의 처리, 해양 유류 오염 방제 및 적조 방제, 난분해성 오염물의 제거, 생활 및 산업 하수처리 그리고 농업 폐수처리 등 환경 분야에까지 그 효용성을 넓혀 가고 있다[9,15,20,23,24].

작물 생산의 기반이 되는 토양 내에 존재하는 미생물상은 작물의 생산력에 큰 영향을 주는 요인이며, 그 중 유용 미생물의 영향이 생산력 증대에 있어서 가장 중요한 부분임을 고려한다면, 농업에 있어서 미생물 제제의 이용은 화학 비료와 농약의 과다한 사용량을 감소시키는 역할과 동시에 환경 친화적인 농업의 생산력 증대 및 자연 환경보호에 부합되는

### \*Corresponding author

Tel : +82-51-200-7593, Fax : +82-51-200-6536

E-mail : jwlee@daunet.donga.ac.kr

것이라고 볼 수 있다. 반면에 미생물 제재에 함유되어 있는 미생물의 종류에 따라 대략적인 기능의 분류가 가능하지만, 각 미생물들에 의한 중복적인 효과가 대부분을 차지하기 때문에 사용 미생물에 대한 유효성을 보다 명확하게 구분 할 수 없다는 것이 미생물 제재의 가장 불확실한 요인으로 작용한다.

본 연구는 유기물이 풍부한 토양에서 섬유소 분해 능력이 우수한 미생물을 분리하여 동정하였고, 이 미생물을 사용하여 미생물 제재를 만들었으며 이 미생물 제재가 상추와 배추의 생육에 미치는 영향을 조사하였다. 또한 미생물 제재를 처리한 토양의 미생물상의 변화를 확인하여 환경에 미치는 미생물 제재의 영향을 연구하였다.

## 재료 및 방법

### 토양 미생물의 분리 및 동정

본 연구에 사용된 미생물은 미생물 제재의 제조에 사용할 목적으로 경남 김해에 위치하는 동아대학교 부속농장의 유기물이 풍부한 토양에서 분리하였다. 채취한 토양 시료는 멸균수로 희석한 후 nutrient agar 배지를 사용하여 평판 도말법으로 미생물들을 분리하였으며 분리한 미생물 중에서 섬유소를 분해하는 능력을 가진 균주를 생화학적 방법 및 API 50CH/B kit (BioMerieux, France)를 사용하여 동정하였다.

### 미생물 제재의 제조

분리한 균주를 5.0 g/l의  $K_2HPO_4$ , 1.0 g/l의 NaCl, 0.2 g/l의  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.6 g/l의  $(NH_4)_2SO_4$  (Sigma Co., U.S.A) 및 2.5 g/l의 효모 추출물 (yeast extract, Difco Lab., U.S.A.)이 포함된 배지를 사용하여 배양하였으며, 탄소원으로 포도당을 별도로 멸균한 후, 멸균된 배지에 무균적으로 2.0% (w/v)으로 혼합하여 사용하였다. 전배양은 고체 배지에서 일정시간 배양한 균주를 한 백금이 취하여 500 ml 용량의 플라스크에 멸균하여 준비된 120 ml의 배지에 접종한 후, 37°C에서 200 rpm의 진탕 속도로 48시간 진탕 배양하였다. 본 배양은 전배양한 배양액을 7 l 용량의 생물 배양기(KoBioTech Co. Ltd., Korea)에 멸균되어 준비된 5 l의 동일 배지에 5% (v/v)를 접종하여 3일간 배양하였다. 미생물을 배양하기 위한 생물 배양기의 운전조건은 통기량이 1.0 vvm이었으며 교반속도는 400 rpm이었다. 배양액 1 l를 9 kg의 미강에 혼합시킨 후, 37°C에서 24시간 배양하여 수분함량이 20% 이하의 미생물 제재를 제조하였으며 미생물 제재에 존재하는 생균의 함량은  $2.58 \times 10^8 \pm 0.28$  CFU/g 이었다.

### 공시작물 재배지 토양의 미생물 조사

미생물 제재를 처리하기 직전과 처리한 후 공시작물을 정식 한 뒤, 2주 단위로 하여 총 3회, 공시작물의 재배토양 표

면으로부터 깊이 10 cm까지의 흙을 채취한 후, 가는 체로 고른 다음 0.85% NaCl 멸균수에 현탁시킨 다음 선택배지를 사용하여 미생물 제재의 처리량, 채취 시기별 및 균 종류별로 희석법과 한천배지 평판 도말법으로 토양내의 미생물의 종류별 계수를 실시하였다[7]. 실험에 사용한 선택배지의 종류는 일반 세균을 선별하는 Tryptic Soy Agar (TSA), 방선균을 선별하는 Actinomycetes Isolation Agar (AIA), 곰팡이의 선별에는 50 µg/ml 농도의 chloramphenicol을 첨가한 Potato Dextrose Agar (PDA) 및 트리코데마의 선별에는 50 µg/ml 농도의 chlorotetracycline을 첨가한 Malt Extract Agar (MEA)를 사용하였다. 선별 배지에 도말한 미생물은 30°C에 48시간 배양하여 형성된 콜로니수를 측정하였다. 토양 상의 총 균수는 이들 선택배지를 사용하여 계수된 개별 미생물들의 생균수의 총 합계로 계산하였다.

### 공시작물을 이용한 미생물 제재의 효과검정

미생물 제재의 효과를 검정하기 위한 공시작물로 상추는 적치마 상추(경신종묘)를 사용하였으며 배추는 가락 신1호 배추(중앙종묘)를 사용하였다. 시험 장소는 경상남도 김해시 소재 동아대학교 생명자원과학부 실험 농장에서 실시하였으며 포트와 포장시험으로 나누어 수행하였다. 공시작물의 포트시험은 동일한 크기의 포트에 동일한 양의 토양을 사용한 포트를 일정한 간격을 두어 미생물 제재를 처리하지 않은 무처리구, 미생물 제재를 기준량 처리한 기준량 처리구 및 기준량의 두 배를 처리한 배량 처리구로 나누어 시험하였으며 포장시험은 무처리구와 기준량 처리구로 나누어 시험하였다.

포트시험의 기준량 처리구로 사용한 토양은 400g의 미생물 제재를 10 l의 물에 녹여 가로 1m, 세로 1m 및 높이 10cm의 사각 나무통에 넣은 토양과 골고루 섞어 사용하였으며 배량 처리구로 사용한 토양은 800g의 미생물 제재를 10 l의 물에 녹여 동일한 양의 토양과 골고루 섞어 사용하였다.

포장시험의 시험구 배치는 완전임의배치법 (Completely randomized design)을 이용하였다. 포장시험은 1m×1m의 면적에 미생물 제재를 처리하지 않은 무 처리구와 공시 제품에 명시된 표준량을 처리한 기준량 처리구로 나누어 3회 반복 처리하였고 상추와 배추 두 종류의 공시작물의 재식거리는 30cm×30cm로 하였다. 공시작물을 재배할 토양에 대한 미생물 제재의 기준량 처리는 400g의 미생물 제재를 10 l의 물에 녹여 1m<sup>2</sup>의 토양에 살포한 후 기계적으로 표층과 표층에서 20cm 깊이의 하층 토양을 골고루 섞어 주었다.

공시작물에 대한 미생물 제재의 특성과 효과를 검정하기 위해서 상추와 배추의 뿌리를 수세시킨 후, 총 중량을 측정 한 생체중량과 수분을 건조시킨 건조중량, 줄기에서부터 엽의 길이를 측정 한 엽장, 엽중에서 가장 넓은 부분을 측정 한 엽폭 그리고 엽의 수를 측정하였다.

**결과 및 고찰**

**미생물 제재의 제조에 사용한 미생물의 분리 및 동정**

본 연구에 사용한 미생물 제재를 제조하기 위하여 토양에서 분리한 미생물을 API 50CH/B kit (BioMerieux, France)를 사용하여 동정한 결과, *Bacillus stearothermophilus*로 확인되었으며 *B. stearothermophilus* DL-3로 명명하였다[7]. *B. stearothermophilus*가 생산한다고 알려진 효소는 amylase, xylanase, protease 및 esterase 등이 있으나 본 실험에서 확인한 결과는 cellulose, starch 및 protein의 분해능을 가지는 것을 확인하였다[10,16,17]. Table 1에서 보는 바와 같이 본 연구에서 사용한 *B. stearothermophilus* DL-3은 다양한 탄소원을 이용하는 사실을 확인하였다.

**미생물 제재의 처리가 상추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향**

미생물 제재의 처리가 상추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 경신 종묘의 적치마 상추를 공시 작물로 사용하였다. 처리구로 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배량 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주,

4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균종 별 밀도를 조사하였다.

포트시험에서의 토양 미생물의 균종별 생균수의 변화와 균종별 증가율을 Fig. 1와 2에 나타냈다. 미생물 제재를 처리하기 전의 토양에 존재하는 총 균수는  $1.22 \times 10^6$  CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리하지 않은 토양의 총 균수는 4주 및 6주 후에 각각  $3.38 \times 10^7$  CFU/g 및  $2.38 \times 10^7$  CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 6주 후에도 큰 변화가 없었다. 미생물 제재를 기준량 처리한

Table 1. Utilization of carbon sources by *B. stearothermophilus* DL-3

Control	-	Esculine	-
Glycerol	+	Salicine	+
Erythritol	-	Cellobiose	-
D-Arabinose	-	Maltose	+
L-Arabinose	+	Lactose	-
Ribose	+	Melibiose	-
D-Xylose	-	Saccharose	+
L-Xylose	-	Trehalose	+
Adonitol	-	Inuline	-
$\beta$ -Methyl-xyloside	-	Melezitose	-
Galactose	+	D-Raffinose	-
D-Glucose	+	Amidon	-
D-Fructose	+	Glycogen	-
D-Mannose	-	Xylitol	-
L-Sorbose	-	$\beta$ -Gentiobiose	-
Rhamnose	-	D-Turanose	-
Dulcitol	-	D-lyxose	-
Inositol	+	D-Tagatose	-
Mannitol	+	D-Fucose	-
Sorbitol	+	L-Fucose	-
$\alpha$ -Methyl-D-mannoside	-	D-Arabitol	-
$\alpha$ -Methyl-D-glucoside	+	L-Arabitol	-
N Acetyl glucosamine	-	Gluconate	-
Amygdaline	-	2 ceto-gluconate	-
Arbutine	-	5 ceto-gluconate	-

1) Used of with API-50 CH/B Kit  
2) + : Positive, - : Negative

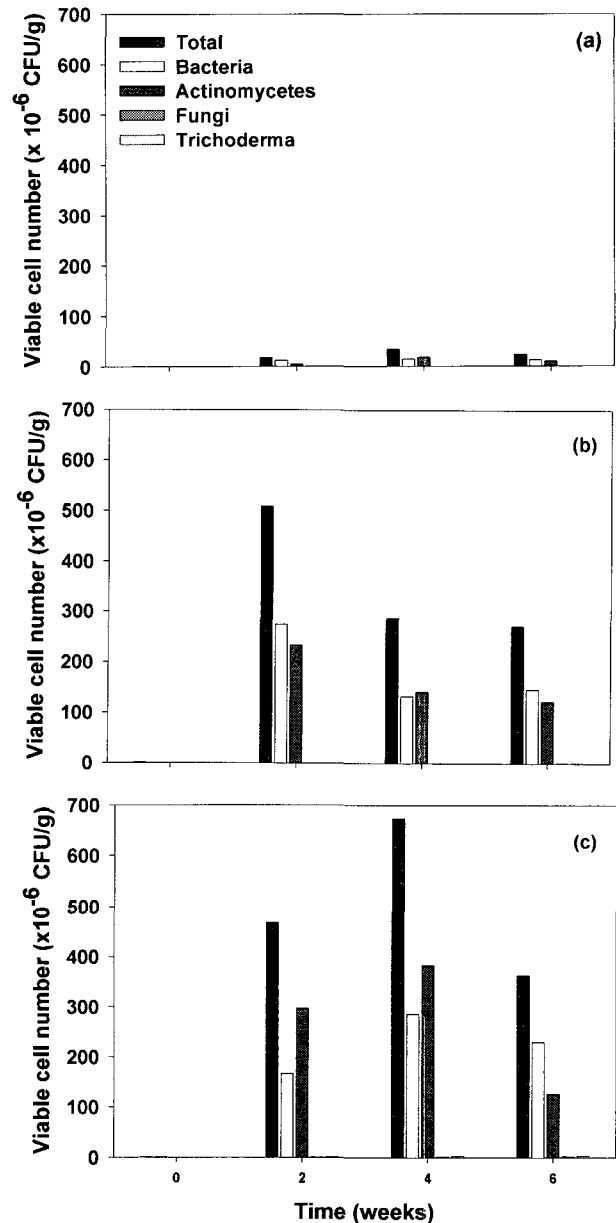


Fig. 1. Change in number microorganisms in the pot for cultivation of lettuce after (a) none treatment, (b) standard treatment (400g/0.1m<sup>3</sup>) and (c) double times treatment (800g/0.1m<sup>3</sup>).

상추 재배토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각  $5.09 \times 10^8$  CFU/g,  $2.88 \times 10^7$  CFU/g 및  $2.72 \times 10^8$  CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후, 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 11.4배 많았었다. 미생물 제재를 배양 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각  $4.67 \times 10^8$  CFU/g,  $6.74 \times 10^8$  CFU/g 및  $3.63 \times 10^8$  CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후, 미생물 제재를 배양 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 15.0배 많았으며,

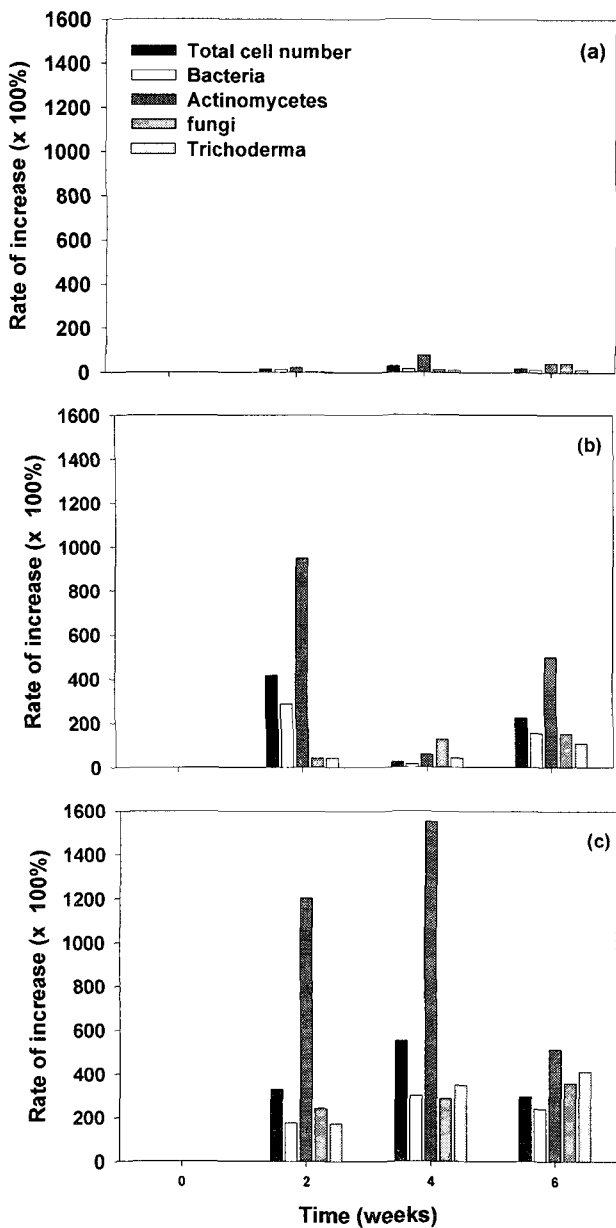


Fig. 2. Change in relative number of microorganisms in the pot for cultivation of lettuce after (a) none treatment, (b) standard treatment (400g/0.1m<sup>3</sup>) and (c) double times treatment (800g/0.1m<sup>3</sup>).

기준량 처리했던 토양의 총 균수 비하여 1.3배 많은 것이다.

포장시험은 무처리구와 기준량 처리구로 나누어 수행하였으며 토양 미생물의 균종별 생균수의 변화와 균종별 증가율을 Fig. 3과 4에 나타냈다. 포장시험에서 미생물 제재를 처리하기 전에 토양에 존재하는 총 균수는  $8.39 \times 10^6$  CFU/g로 포트 시험한 토양의 총 균수에 비해 약간 높은 생균수를 나타냈다. 포장시험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각  $4.08 \times 10^7$  CFU/g,  $7.78 \times 10^7$  CFU/g 및  $2.06 \times 10^8$  CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후, 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각  $7.38 \times 10^8$  CFU/g,  $3.27 \times 10^8$  CFU/g 및  $5.49 \times 10^8$  CFU/g이었으며 무처리구에 비하여 2.7배 많았었다.

포트시험에서 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 11.1배 및 17.4배가 많았었다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 12.1배 및 12.5배가 많았었다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하

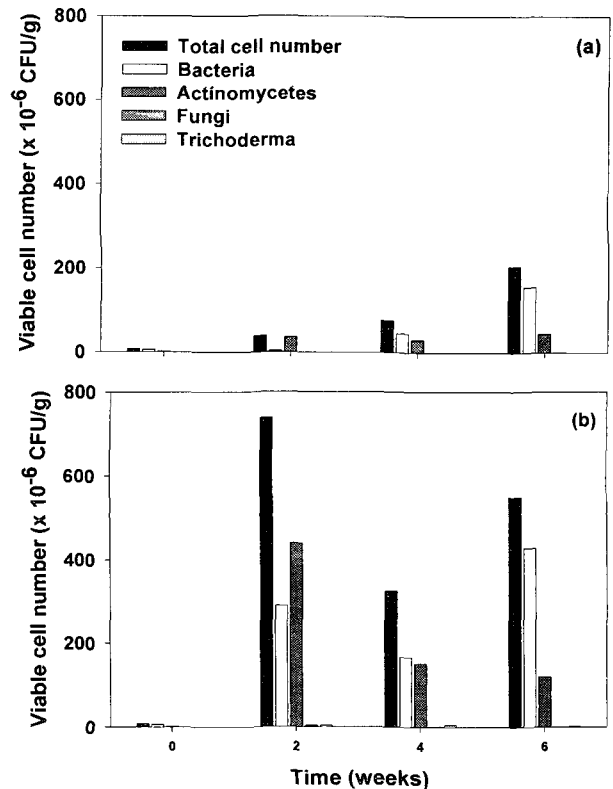


Fig. 3. Change in number microorganisms in the soil for cultivation of lettuce after (a) none treatment (b) standard treatment (400g/0.1m<sup>3</sup>).

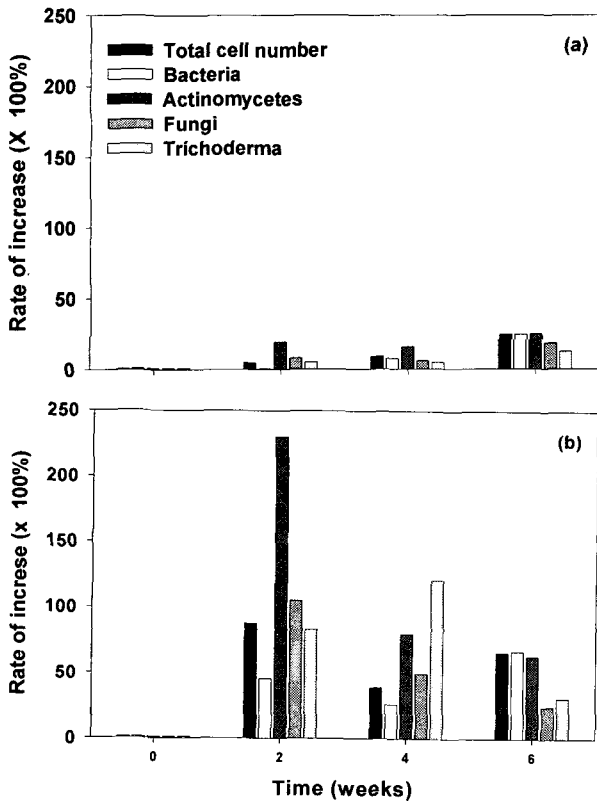


Fig. 4. Change in relative number of microorganisms in the soil for cultivation of lettuce after (a) none treatment, (b) standard treatment (400g/0.1m<sup>2</sup>).

지 않은 토양에 비하여 각각 3.7배 및 2.1배가 많았었다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 8.3배 및 32.0배가 많았었다. 포장시험에서 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 2.72배, 2.54배, 1.33배 및 2.45배가 많았었다.

토양에 존재하는 미생물의 균종별 구성은 세균과 방선균이 주종을 이루었고, 곰팡이와 트리코데마의 비율은 매우 낮았다. 이는 자연 환경에 존재하는 토양 미생물의 일반적인 구성과 미생물 개체수의 변화를 보여 주는 것이다. 미생물 제재를 처리한 상추재배 토양의 미생물 수는 처리하지 않은 토양에 비하여 세균뿐만 아니라 방선균, 곰팡이 및 트리코데마도 일정한 비율로 증가하였다. 이는 미생물 제재의 제조에 사용한 *B. stearothromophilus* DL-3이 상추재배 토양에 안정적으로 정착하여 생존하는 것으로 판단되며, 섬유소 분해효소를 생산하는 특성을 가진 이 미생물이 미생물 제재의 구성성분인 미강은 물론, 토양에 존재하는 유기물의 분해를 촉진시켜 상추재배 토양에 존재하는 미생물의 증식에 유익하고, 지속적인 효과를 나타내고 있는 것으로 판단되어진다.

**미생물 제재의 처리가 배추재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향**

미생물 제재의 처리가 배추 재배 토양의 미생물 상에 미치는 영향을 조사하기 위하여 공시 작물로 중앙 종묘의 가락신1호 배추를 사용하였다. 처리구는 상추재배 토양과 동일한 방법으로 미생물 제재를 처리하지 않은 토양과 기준량 및 배양으로 처리한 토양을 처리 전과 처리한 2주, 4주 및 6주 후의 토양을 채취하여 각각의 토양에 존재하는 총 균수와 균의 종류별 밀도를 조사하였다.

포트시험에서의 토양 미생물의 균종별 생균수의 변화와 균종별 증가율을 Fig. 5과 6에 나타냈다. 미생물 제재를 처리하지 않은 배추 재배 토양의 총 균수는  $1.13 \times 10^7$  CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리하지 않은 토양의 총 균수는 4주 및 6주 후에 각각  $1.38 \times 10^7$  CFU/g 및  $1.43 \times 10^7$  CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리하지 않은 배추 재배 토양의 총 균수는 6주 후에도 큰 변화가 없었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 상추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각  $1.02 \times 10^9$  CFU/g,  $6.22 \times 10^8$  CFU/g 및  $3.42 \times 10^8$  CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후, 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 처리하지 않은 토양에 비하여 20.4배가 많았었다. 미생물 제재를 배양 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각  $2.37 \times 10^9$  CFU/g,  $3.13 \times 10^8$  CFU/g 및  $7.22 \times 10^8$  CFU/g이었다. 미생물 제재를 처리한 6주 후, 미생물 제재를 배양 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 50.6배가 많았었다.

포장시험은 상추에 대한 시험과 동일한 방법으로 무처리구와 기준량 처리구 나누어 수행하였다. 토양 미생물의 균종별 생균수의 변화와 균종별 증가율을 Fig. 7과 8에 나타냈다. 포장시험에서 미생물 제재를 처리하기 전에 토양에 존재하는 총 균수는  $7.89 \times 10^7$  CFU/g로 포트시험에 사용한 토양의 총 균수에 비해 약간 높은 생균수를 나타냈다. 포장 시험에서 미생물 제재를 처리하지 않은 배추재배 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각  $4.36 \times 10^8$  CFU/g,  $1.50 \times 10^8$  CFU/g 및  $5.75 \times 10^8$  CFU/g이었다. 이결과는 미생물 제재를 처리하지 않은 배추재배 토양에서의 미생물의 총 균수는 거의 변화가 없음을 의미하는 것이다. 미생물 제재를 기준량 처리한 토양의 총 균수는 2주, 4주 및 6주 후에 각각  $1.37 \times 10^9$  CFU/g,  $7.45 \times 10^8$  CFU/g 및  $7.96 \times 10^8$  CFU/g이었으며 미생물 제재를 처리한 6주 후, 미생물 제재를 처리한 배추재배 토양의 총 균수는 무처리구에 비하여 1.38배가 많았었다.

포트시험에서 미생물 제재를 기준량 처리한 배추재배 토양과 배양 처리한 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 18.4배 및 75.9배가 많았었다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중

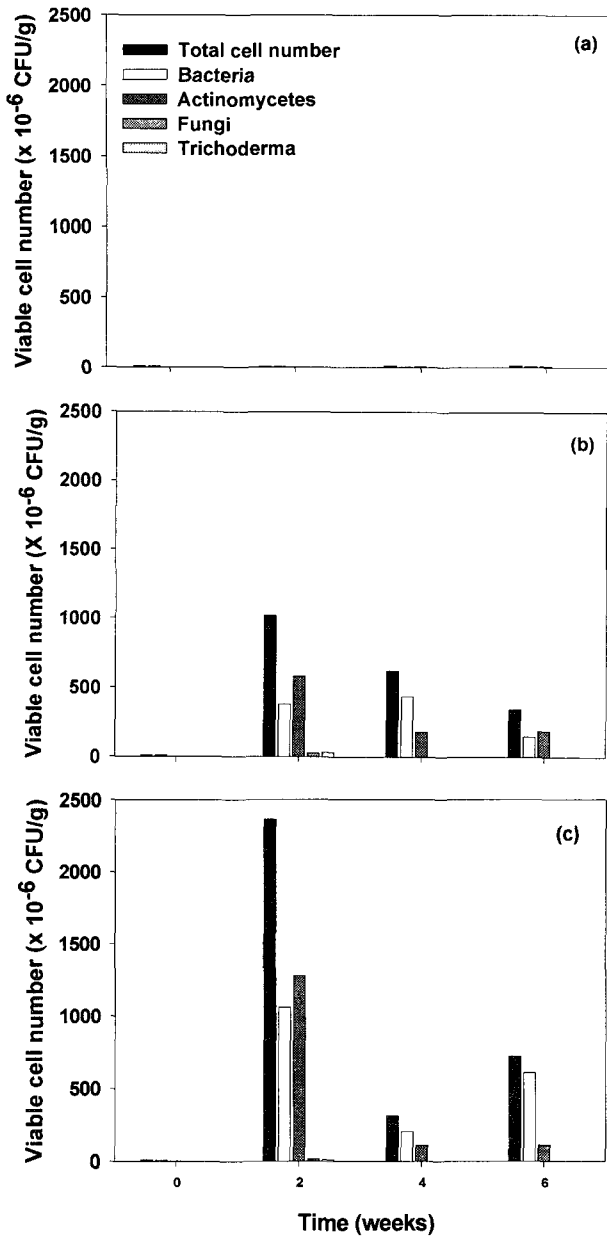


Fig. 5. Change in number microorganisms in the pot for cultivation of Chinese cabbage after (a) none treatment, (b) standard treatment (400g/0.1m<sup>3</sup>) and (c) double times treatment (800g/0.1m<sup>3</sup>).

에 존재하는 방선균의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 18.4배 및 31.3배가 많았었다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 곰팡이의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 13.2배 및 23.0배가 많았었다. 미생물 제재를 기준량과 배양 처리한 배추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 26.7배 및 34.0배가 많았었다. 포장시험에서 미생물 제재를 기준량 처리한 배

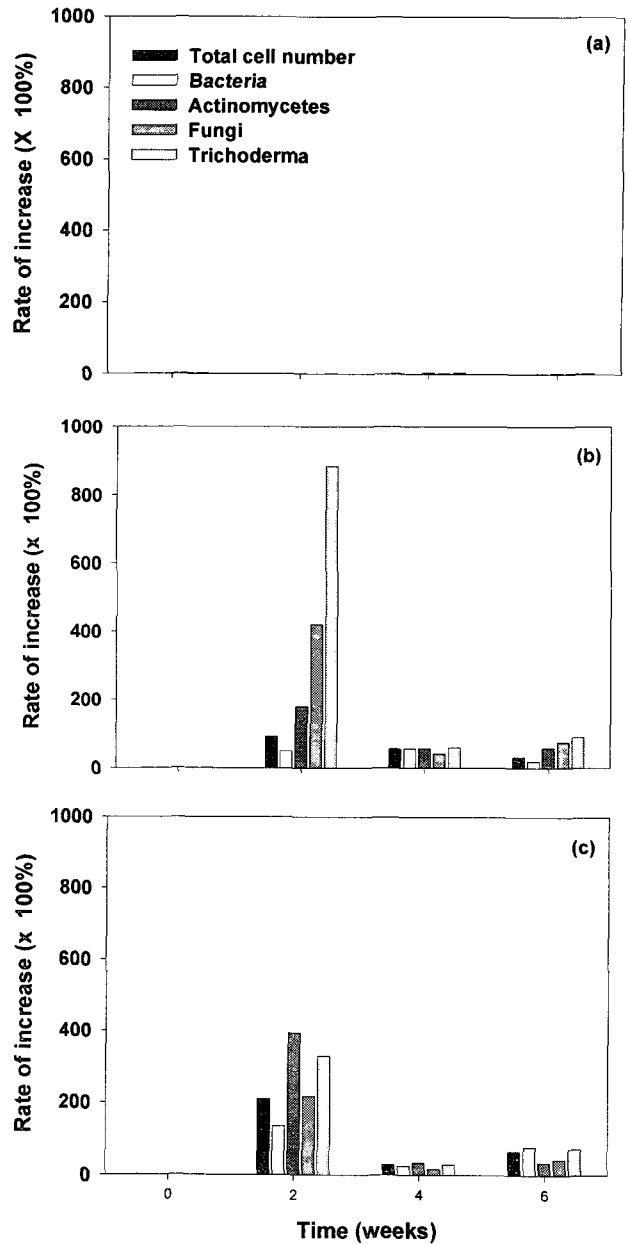


Fig. 6. Change in relative number of microorganisms in the pot for cultivation of Chinese cabbage after (a) none treatment, (b) standard treatment (400g/0.1m<sup>3</sup>) and (c) double times treatment (800g/0.1m<sup>3</sup>).

추재배 토양에서 6주 후에 채취한 토양 중에 존재하는 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 각각 1.10배, 5.47배, 1.13배 및 3.76배가 많았었다.

토양에 존재하는 미생물의 균종별 구성은 상추재배 토양과 같이 세균과 방선균이 주종을 이루었고, 곰팡이와 트리코데마의 비율은 매우 낮았다. 이는 미생물 제재의 제조에 사용한 *B. stearothrophilus* DL-3이 상추재배 토양에서와 마찬가지로 배추재배 토양에도 안정적으로 정착하여 생존하는

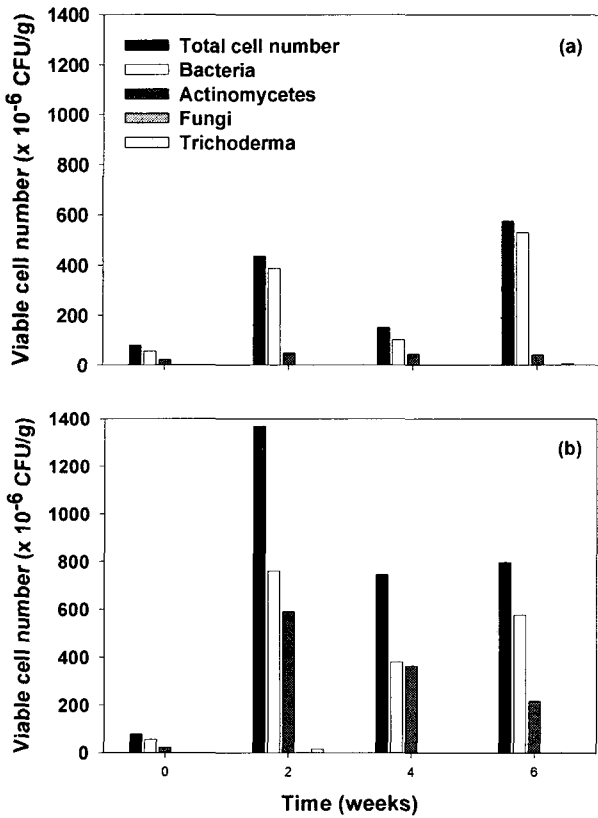


Fig. 7. Change in number microorganisms in the soil for cultivation of Chinese cabbage after (a) none treatment, (b) standard treatment (400g/0.1m<sup>2</sup>).

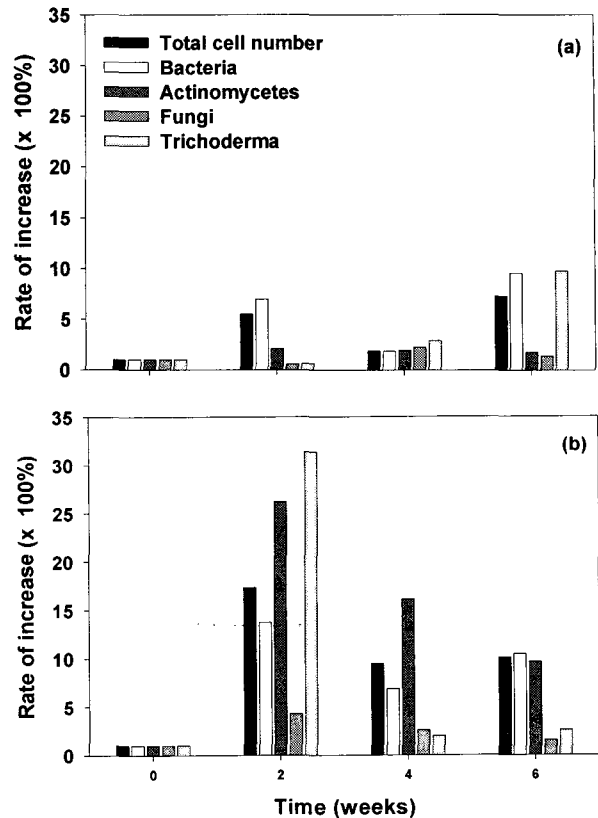


Fig. 8. Change in relative number of microorganisms in the soil for cultivation of Chinese cabbage after (a) none treatment, (b) standard treatment; (400g/0.1m<sup>2</sup>).

것으로 판단되며, 미생물 제제를 구성하는 미강은 물론, 섬유소 분해효소를 생산하는 특성을 가진 이 미생물이 토양에 존재하는 유기물의 분해를 촉진시켜 배추재배 토양에 존재하는 미생물의 증식에 유익하고, 지속적인 효과를 나타내고 있는 것으로 판단되어진다.

**미생물 제제의 처리가 상추의 생육에 미치는 영향**

포트시험에서 미생물 제제의 처리가 상추의 생육에 미치는 영향은 Table 2에서 보는 바와 같이 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에서 자란 상추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량과 건조중량은 각각 13.77cm, 10.33cm, 7.00장, 20.60g 및 3.33g이었다. 미생물 제제를 기준량 처리한 토양에서 자란 상추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량과 건조중량은 각각 17.13cm,

12.73cm, 9.00장, 27.13g 및 4.03g 이었으며 배양 처리한 토양에서 자란 상추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량과 건조중량은 각각 20.20cm, 14.30cm, 13.00장, 32.03g 및 4.67g이었다. 미생물 제제를 기준량 처리한 토양에서 자란 상추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량과 건조중량은 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에서 자란 상추에 비하여 각각 24%, 23%, 29%, 32% 및 20%가 증가하였으며, 미생물 제제를 배양 처리한 토양에서 자란 상추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량과 건조중량은 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에서 자란 상추에 비하여 각각 47%, 38%, 86%, 55% 및 40%가 증가하였다.

포장시험에서 미생물 제제의 처리가 상추의 생육에 미치는 영향은 Table 3에서 보는 바와 같이 미생물 제제를 처리하지 않은 토양에서 자란 상추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량

Table 2. Effect of the microbial product on growth of lettuce in the pot.

	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Leaf No. (No.)	Wet weight (g)	Dry weight (g)
None treatment	13.77	10.33	7.00	20.60	3.33
Standard treatment	17.13**	12.73**	9.00**	27.13**	4.03**
Double times treatment	20.20**	14.30**	13.00**	32.03**	4.67**
LSD 5%	0.61	0.30	-	0.41	0.12
LSD 1%	1.01	0.50	-	0.68	0.20

과 건조중량은 각각 34.40cm, 14.90cm, 18.33장, 141.00g 및 14.47g이었으나 기준량 처리한 토양에서 자란 상추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량과 건조중량은 각각 45.23cm, 18.10cm, 23.67장, 197.67g 및 18.07g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 토양에서 자란 상추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량과 건조중량은 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 자란 상추에 비하여 각각 31%, 21%, 29%, 40% 및 25%가 증가하였다. 포트와 포장시험의 결과에서 보는 바와 같이 미생물 제재의 처리량에 비례하여 상추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량과 건조중량이 증가함을 알 수 있었다.

**미생물 제재의 처리가 배추의 생육에 미치는 영향**

포트시험에서 미생물 제재의 처리가 배추의 생육에 미치는 영향은 Table 4에서 보는 바와 같이 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 자란 배추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량과 건조중량은 각각 24.13cm, 16.80cm, 23.00장, 211.67g 및 20.33g이었다. 기준량 처리한 토양에서 자란 배추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량과 건조중량은 각각 27.10cm, 17.13cm, 26.00장, 343.33g 및 32.70g 이었으며 배양 처리한 토양에서 자란 배추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량과 건조중량은 30.83cm, 19.67cm, 27.67장, 491.67g 및 45.90g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 토양에서 자란 배추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량과 건조중량은 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 자란 배추에 비하여 각각 12%, 2%, 13%, 62% 및 61%가 증가하였으며, 미생물 제재를 배양 처리한 토양에서 자란 상추의

엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량과 건조중량은 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 자란 상추에 비하여 각각 28%, 17%, 20%, 132% 및 126%가 증가하였다.

포장시험에서 미생물 제재의 처리가 배추의 생육에 미치는 영향은 Table 5에서 보는 바와 같이 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 자란 배추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량과 건조중량은 각각 43.33cm, 25.17cm, 31.67장, 2,010g 및 227.57g이었으나 기준량 처리한 토양에서 자란 배추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량과 건조중량은 각각 46.40cm, 29.17cm, 37.33장, 2,900g 및 265.27g이었다. 미생물 제재를 기준량 처리한 토양에서 자란 배추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량과 건조중량은 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 자란 배추에 비하여 각각 7%, 16%, 18%, 44% 및 14%가 증가하였다. 포트와 포장시험의 결과에서 보듯이 미생물 제재의 처리가 배추의 생육에 미치는 영향은 상추에서와 같이 처리한 미생물 제재의 양에 비례하여 배추의 엽장, 엽폭, 엽수, 생체중량과 건조중량이 증가함을 알 수 있었다.

토양 중에 존재하는 미생물들의 기능은 다양하나 일반적으로 *Bacillus* 속에 속하는 미생물은 식물 잔사 등의 유기물을 분해하는 능력이 우수한 미생물로서 토양 내에 서식하는 대표적인 유효 미생물로 알려져 있다[3,5]. 방선균은 병원성 곰팡이의 천적 미생물로서 토양 내에서 자라면서 병원균을 죽이거나 생육을 정시키는 항생물질을 만들어 내는 유익한 미생물로 퇴비 제조 시 내부의 온도가 고온일 때 퇴비 내에 주로 생존하는 미생물은 고온성 세균과 고온성 방선균이며

Table 3. Effect of the microbial product on growth of lettuce in the soil.

	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Leaf No. (No.)	Wet weight (g)	Dry weight (g)
None treatment	34.40	14.90	18.33	141.00	14.47
Standard treatment	45.23	18.10	23.67**	197.67**	18.07**
LSD 5%	0.72	0.39	0.88	4.90	0.20
LSD 1%	0.99	0.54	1.21	6.75	0.27

Table 4. Effect of the microbial product on growth of Chinese cabbage in the pot.

	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Leaf No. (No.)	Wet weight (g)	Dry weight (g)
None treatment	24.13	16.80	23.00	211.67	20.33
Standard treatment	27.10**	17.13 <sup>ns</sup>	26.00**	343.33**	32.70**
Double times treatment	30.83**	19.67**	27.67**	491.67**	45.90**
LSD 5%	0.30	0.35	0.76	17.10	0.89
LSD 1%	0.50	0.57	1.25	28.37	1.48

Table 5. Effect of the microbial product on growth of Chinese cabbage in the soil.

	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Leaf No. (No.)	Wet weight (g)	Dry weight (g)
None treatment	43.33	25.17	31.67	2,010	227.57
Standard treatment	46.40**	29.17**	37.33**	2,900**	265.27**
LSD 5%	1.02	0.91	1.31	180	14.47
LSD 1%	1.40	1.26	1.80	240	19.93



퇴비를 많이 넣은 토양의 병해 억제능력이 높은 것은 바로 이 방선균에 의하여 생산된 다량의 항생물질 때문이다[6]. 또한, 이 방선균은 토양 중의 식물 잔사를 빠른 속도로 분해하는 특징이 있기 때문에 식물의 잔사를 먹고사는 서식지를 근절시켜 병원균의 활동근거를 없앴으로써 작물의 토양 병의 발병 확률을 현저히 낮추어주는 역할을 한다. 트리코데마는 길항성 곰팡이로써 *Rhizoctonia*와 같이 방제하기 어려운 토양 전염성 병해를 일으키는 병원균을 억제하는 효과가 뛰어나다고 알려져 식물병 방제용 토양 미생물로서 널리 사용되고 있다[4,7].

*Bacillus*는 그람 양성균으로 다양한 효소를 생산하여 세포 밖으로 분비하는 특성이 있으며  $\alpha$ -amylase, protease,  $\alpha$ -galactosidase 등과 같은 효소와 치료용 재조합 단백질 생산에 많이 이용되고 있다[5,14,18,21]. *B. stearothermophilus*는 hemicellulose의 절반 이상을 차지하고 있는 xylan의 분해효소인 xylanase, 지방 및 단백질 분해효인 lipase와 protease를 생산한다고 보고되었다[10,16]. 본 연구에 사용하기 위하여 토양에서 분리하여 동정한 *B. stearothermophilus* DL-3을 사용하여 제조한 미생물 제재를 처리한 상추와 배추재배 토양은 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 일반적인 세균은 물론 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 상대적인 수가 증가함을 알 수 있었다. 또한 미생물 제재를 처리한 토양에서 재배한 상추와 배추의 생체중량, 엽장, 엽폭 및 엽수도 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 재배한 상추와 배추에 비하여 월등히 높음을 확인하였다.

이와 같이 미생물 제재를 처리한 토양에서 재배한 상추와 배추의 생육이 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 자란 상추와 배추에 비하여 빠른 이유는 cellulose 등과 같은 유기물을 분해하는 능력이 있는 *B. stearothermophilus* DL-3가 토양 중에 정착하여 미생물 제재의 구성성분인 미강은 물론, 토양에 존재하는 유기물을 상추와 배추가 이용하기 쉬운 상태의 물질로 분해하기 때문이라고 생각된다. 또한, 미생물 제재를 처리한 토양에는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 비하여 미생물이 이용하기 쉬운 형태의 유기물이 증가하기 때문에 토양 중에 존재하는 작물의 생육에 유익한 세균, 방선균, 곰팡이 및 트리코데마의 증식의 촉진시키며 결과적으로 작물의 생육에 유익한 미생물의 증가에 의하여 상추와 배추의 생육이 촉진된다고 생각된다. 즉, 미생물 제재의 처리에 의한 배추와 상추의 생육 촉진 효과는 미생물 제재를 제조하기 위하여 사용된 *B. stearothermophilus* DL-3의 유기물 분해 효과와 미생물 제재의 구성성분인 미강에 의하여 상추와 배추가 이용 가능한 영양분의 증가에 따른 직접적인 효과와 토양 내의 영양분의 증가에 의하여 상추와 배추의 생육에 유익한 토양 미생물의 증가에 의한 간접적인 효과라고 생각된다.

## 요 약

유기물이 풍부한 토양에서 분리하여 동정한 *Bacillus stea-*

*rothermophilus* DL-3와 미강을 사용하여 미생물 제재를 제조하고 미생물 제재의 처리가 상추(적치마 상추)와 배추(가락신1호 배추)재배 토양의 미생물상에 미치는 영향 및 상추와 배추의 생장에 미치는 영향을 조사하였다. 미생물 제재를 처리한 6주 후, 미생물 제재를 처리한 토양에 존재하는 토양 미생물의 총 균수는 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에 존재하는 토양 미생물의 총 균수에 비하여 미생물 제재를 처리한 양에 비례하여 많음을 확인하였다. 미생물 제재를 처리한 토양에서 재배한 상추와 배추의 생육이 미생물 제재를 처리하지 않은 토양에서 재배한 상추와 배추에 비하여 빠름을 확인하였다. 미생물 제재를 처리한 토양에서는 처리하지 않은 토양에 비하여 전체적인 토양 미생물 수의 증가와 작물의 생장에 유용한 종류의 미생물이 상대적으로 증가하기 때문에 상추와 배추의 생장을 촉진시킨다고 판단된다.

## 감사의 글

본 연구는 농림부의 농림기술개발연구사업(과제관리번호 201119-3)과 2004년도 Brain Busan 21 사업에 의한 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- Alexander, M. 1982. Most probable number method for microbial populations, pp. 815-820, In Page, A. L., R. H. Miller and D. R. Keeney (eds.), *In methods of soil analysis, Part 2. Chemical and microbiological properties*. American society of agronomy and soil science society of America, Inc., Madison, Wisconsin.
- Carmelo, V., A. Florido, I. Vinhas and J. C. Roseiro. 2002. Physiological response of *Bacillus stearothermophilus* continuous culture to carbon source concentration and temperature shifts. *Proc. Biochem.* **38**, 763-770.
- Ehab, R. E. and M. E. Amany. 1999. Lichenase production by catabolite repression-resistant *Bacillus subtilis* mutants: optimization of an agro-industrial by-product medium. *Enz. Microb. Technol.* **24**, 325-331.
- Elad, Y., I. Chet and Y. Henis. 1982. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Can. J. Microbiol.* **28**, 719-725.
- Ferrero, M. A., G. R. Castro, C. M. Abate, M. D. Baigori and F. Sineriz. 1996. Thermostable alkaline proteases of *Bacillus licheniformis* MIR 29; isolation production and characterization. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **45**, 327-332.
- Jung, W. S., Y. H. Kim and C. J. Go. 1999. Microbiology fermentation biotechnology: collection of soil *Actinomycetes* from Cheju island and screening for their antibacterial activities. *Kor. Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **42**, 99-104.
- Kim, J. M., C. W. Son, H. P. Seo, B. J. Moon, S. K. Do and J. W. Lee. 2002. Effect of microbial product on microorganisms in soil and growth of cabbage. *Kor. J. Life Sci.* **12**, 515-522.

8. Kim, K. J. and S. K. Kim. 1998. Effect of soil microbial fertilizers on yield of Chinese cabbage (*Brassica campestris* L.). *Kor. J. Hort. Sci. Tech.* **16**, 341-343.
9. Kim, S. J. and S. K. Shin. 1997. Effects of bioremediation products on the oil degradability. *Kor. J. Microbiol.* **33**, 157-162.
10. Lee, H. S., S. G. Cho and Y. J. Choi. 1996. Pentose utilization by the xylanolytic bacterium *Bacillus stearothermophilus*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **24**, 385-92.
11. Lee, K. B., Y. W. Kim and K. S. Kim. 1988. Effects of pesticides on microorganisms related to the nitrogen cycle in the submerged soil. *Kor. J. Soil Fer.* **21**, 149-159.
12. Lee, S. H., S. J. Jung, K. Y. Kim, T. H. Kim and W. S. Kim. 2002. Effect of compost by chitinolytic bacteria chemical and microbial property in pear orchard soil. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* **20**, 100.
13. Park, K. W., J. Y. Chung and S. H. Lee. 2002. Effect of various microbial treatment of several laviatae family herbs germination. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* **20**, 49.
14. Park, S. K. and S. H. Baek. 2000. Effect of yeast extracts concentration on cell growth and products of *Bacillus stearothermophilus*. *Kor. J. Sci. & Nat. Res.* **22**, 41-54.
15. Raghukumar, C., V. Viparty, J. J. David and D. Chandramohan. 2001. Degradation of crude oil by marine cyanobacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **57**, 433-436.
16. Simoes, D. C., M. D. McNeil, B. Kristiansen and M. Matthey. 1997. Purification and partial characterization of a 1.57 kDa thermostable esterase from *Bacillus stearothermophilus*. *FEMS Microbiol. Lett.* **147**, 151-156.
17. Song, H. S. and Y. J. Choi. 1989. Production of xylanase by *Bacillus stearothermophilus*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **17**, 289-294.
18. Sookkheo, B., S. Sinchaikul, S. Phutrakul and S-T. Chen. 2000. Purification and characterization of the highly thermostable proteases from *Bacillus stearothermophilus* TLS33. *Protein Exp. Puri.* **20**, 142-151.
19. Suh, J. S. and J. S. Shin. Soil microbial diversity of paddy fields in Korea. *Kor. J. Soil. Fert.* **30**, 200-207.
20. Trewavas, A. 2001. Urban myths of organic farming. *Nature.* **410**, 409-410.
21. Wiseman A. 1975. *Handbook of enzyme biotechnology*. Wiley, New York.
22. Wollum, A. G. 1982. Cultural methods for soil microorganisms, pp781-802, In Page, A. L, R. H. Miller and D. R. Keeney (eds.), *In methods of soil analysis, Part 2. Chemical and microbiological properties*. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin.
23. Yamada, Y., H. Uemura, H. Nakaya, K. Sakata, T. Takatori, M. Nagao, H. Iwase and K. Iwadate. 1996. Production of hydroxy fatty acid (10-Hydroxy-12(Z)-octadecenoic acid) by *Lactobacillus plantarum* from linoleic acid and its cardiac effects to guinea pig papillary muscles. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **226**, 391-395.
24. Yun, H. J., S. J. Kim and K. H. Min. 1993. Crude oil-degrading properties of psychrotrophic bacterium *Acinetobacter calcoaceticus* A1-1. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **21**, 74-81.
25. Yun, S. Y and J. D. Shin, 2001. Effects of TLB microbial fertilizer application on soil chemical properties, microbial flora and growth of Chinese cabbage. *Kor. J. Soil Sci. Fert.* **34**, 8-16.