

Kluyvera sp. CL2 처리시기가 포도 ‘캠벨얼리’ 과실품질에 미치는 영향

이석호* · 송명규** · 김승덕** · 최원호** · 이윤상** · 홍성택** · 김현주***

Influence the Fruit Quality of ‘Campbell early’ Grape according to Inoculation time of *Kluyvera* sp. CL2

Lee, Seok-Ho · Song, Myung-Kyu · Kim, Seung-Duck · Choi, Won-Ho ·
Lee, Yoon-Sang · Hong, Seong-Taek · Kim, Hyun-Joo

This study aimed to investigate the effect of inoculation time of phosphate-solubilizing *Kluyvera* sp. CL2 on fruit quality in cultivation of Campbell early grape. When phosphate-solubilizing strain was treated at the stone-hardening stage, soil phosphorous increased, exchangeable cations such as K, Ca and Mg also increased. Soil pH was not changed severely due to the soil buffer capacity. Water soluble phosphate concentrations did not decrease heavily up to 20 days after inoculation. When this strain was treated at the berry-softening stage, soil phosphate solubilization ratio was high, cluster weight and sugar content also increased. Both anthocyanin contents and Hunter’s values were seen to be significant when inoculation times were stone-hardening stage and berry-softening stage, in particular, increase of Hunter’s value a resulted in the improvement of coloration. From these results, we could find that the inoculation of phosphate-solubilizing *Kluyvera* sp. CL2 at berry-softening stage was the most effective in improvement of fruit productivity and quality in cultivation of Campbell early grape.

Key words : grape, phosphate solubilizing activities, *Kluyvera* sp.

* Corresponding author, 충청북도농업기술원 포도연구소(seokho@korea.kr)

** 충청북도농업기술원 포도연구소

*** 충청북도농업기술원 친환경연구과

I. 서 론

식물에서 인산(phosphorus, P)은 핵산이나 ATP인 고에너지 인산화합물, 인지질, 탄수화물 등의 주요 구성 성분이며 생물 생육에 불가결한 성분이다. 토양에서 유리인산(free phosphate)은 거의 없으며 불용화되어 식물이 이용할 수가 없다(Kimura, 1994). 인산은 작물에 $H_2PO_4^-$ 형태로 시용되고 있으나, 토양 중의 Al^{3+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} 과 쉽게 결합하여 $AlPO_4$, $FePO_4$, $Ca_{10}(PO_4)_6OH$ 등의 불용성 형태로 존재하게 된다(Kim, 2008). 최근에는 가용 인산균으로서 *Pseudomonas*, *Penicillium* 및 *Aspergillus*속 등 여러 유용미생물이 알려지면서 이들을 이용한 생물비료(bio-fertilizer)를 사용했을 때 인산용해 작용뿐만 아니라 양분흡수를 촉진하여 토마토, 벼 등 식량작물, 콩과작물 등의 생산량이 증대되는 것으로 보고되고 있다(NAAS, 2007).

이러한 생물비료 연구는 감귤원에서 인산염 가용화능이 우수한 *Bacillus sphaericus*균을 분리하여 특성을 검정하였으며(Joa et al., 2007), 난용성 인산가용화균의 분리와 선발을 통한 *Pseudomonas* sp. CL1 및 *Kluyvera* sp. CL2 균주의 인산가용화 특성을 구명하였다(Kwon et al., 2007). 또한 인산염 가용화 능력이 *Aspergillus niger*가 *Pseudomonas putida*와 *Penicillium*속보다 높다는 보고가 있으며(Suh et al., 1995), *Bacillus subtilis* S37-2 균주의 항진균 활성 및 식물생육 촉진 효과의 보고도 있다(Kwon et al., 2007). 이외에도 파프리카에 발생하는 병원균에 대한 길항미생물(Yang et al., 2014), 유용미생물 처리에 의한 고추의 수량과 과실성분 연구(Yoon et al., 2012) 등이 원예작물에서 생물비료로서의 가능성이 보고되고 있다.

본 연구에서는 이러한 인산 가용화균을 이용하여 포도 시설재배에서 난용화 되어 있는 인산의 활용과 포도 품질향상을 위하여 인산가용화에 유용한 *Kluyvera* sp. CL-2의 처리시기별 토양 환경변화와 포도 ‘캠벨얼리’ 과실품질에 미치는 영향을 조사하고자 실험을 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시험 균주

본 연구는 충북 옥천군 청성면에 소재한 충북농업기술원 포도연구소의 비닐하우스 포장에서 2011년부터 2012년까지 수행하였다. 시험 품종은 188-08 대목을 사용한 ‘캠벨얼리’ 8년생으로 무가온 재배 하우스이다. 시험에 사용한 난용성 가용화균 균주는 농촌진흥청 특허 균주로 *Kluyvera* sp. CL2를 사용하였다. 원제 균주농도는 1.0×10^8 cfu/mL이고 식물생장 촉진능으로서 인산가용화율은 204.2%이며, IAA 생성능은 $40.9 \mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ 의 특성이 있다(Kwon et al., 2007). 이 균주를 4 L/1,000 m²로 500배 희석하여 토양시비 하였다. 처리구는

무처리, 경핵기(착색기 30일 전), 과립연화기(착색기 15일 전), 착색기(착색 10%) 등 4처리구를 두고 실시하였고, 시비량은 토양시비 처방에 준하였다. 토양의 화학성 변화는 균주 처리 전과 포도 수확 초반기인 8월 25일 바로 토양을 채취하여 분석하였다. 재배는 농촌진흥청 캠벨얼리 표준재배법에 준하였다.

2. 과실특성 및 통계분석

생육 및 과실특성은 농업과학기술연구조사분석기준(RDA, 2003; NIAST, 2000)에 의하여 조사하였으며, 당도는 디지털당도계(PR-32, Atago, Japan)로, 산함량은 과즙 10 mL에 증류수 40 mL로 희석한 후, 0.1N NaOH 용액으로 pH 8.1까지 적정하여 주석산(tartaric acid)의 함량으로 환산하였다. 과실의 착색은 송이의 중간부분을 색차색도계(CR200, Minolta, Japan)를 이용하여 Hunter Value (L, a, b)값을 측정하였다. 과피 중 안토시아닌 함량은 cork borer (5 mm \varnothing)를 이용, 과립의 적도면에서 10개의 과피 절편을 채취하여 0.1N HCl-100% EtOH (15:85, V/V)용액에 침지하여 냉암소에서 24시간 보관한 후 spectrophotometer (UV-2501 PC, Shimadzu, Japan)로 535 nm에서 흡광도를 측정하여, Fuleki & Francis (1968)의 방법으로 총 안토시아닌 함량을 계산하였다.

통계분석은 Statistical Analysis System (SAS version 6.12, SAS Institute Inc., Cary, NC, SSA)을 이용하여 수행하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 토양 화학성 변화

인산가용화균 처리시기에 따른 ‘캠벨얼리’ 포도원 토양 화학성 변화는 Table 1과 같다. 유효 인산 함량은 경핵기 처리구에서 15 mg \cdot kg⁻¹로 가장 크게 증가하였으며, 과립연화기에서도 증가하는 경향을 보였다. 치환성 K, Ca, Mg은 경핵기와 과립연화기 처리구에는 증가하였으나, 착색기 처리구에서는 변화가 없었다. EC는 큰 차이를 보이지는 않았지만 감소하였다. pH와 유기물의 변화는 인산 가용화균 처리에 의한 큰 변화가 없었으며, 이는 토양의 완충능에 의해 토양 전체의 pH와 유기물의 함량 변화에 큰 영향을 주지 못하였기 때문이라고 판단된다.

Table 1. Chemical changes of soil according to inoculation time of *Kluyvera* sp. CL2

Treatment	Range	pH	OM	Ava P ₂ O ₅	Ex. action (cmol/kg ⁻¹)			EC
		(1:5)	(g·kg ⁻¹)	(mg·kg ⁻¹)	K	Ca	Mg	(dS m ⁻¹)
Control	before(a)	5.8	24	628	0.87	4.5	1.8	1.5
	after(b)	5.8	24	627	0.85	4.4	1.6	1.5
	range(a-b)	0	0	1	0.02	0.1	0.2	0
Stone-hardening stage	before(a)	6.0	23	610	0.79	4.4	1.5	1.4
	after(b)	5.9	23	625	0.83	4.5	1.7	1.3
	range(a-b)	0.1	0	-15	-0.04	-0.1	-0.2	0.1
Berry-softening stage	before(a)	5.9	24	621	0.79	4.3	1.6	1.5
	after(b)	5.9	24	625	0.84	4.5	1.7	1.4
	range(a-b)	0	0	-4	-0.05	-0.2	-0.1	0.1
Coloring stage	before(a)	6.0	23	618	0.82	4.2	1.5	1.4
	after(b)	5.9	24	615	0.81	4.1	1.6	1.5
	range(a-b)	0.1	-1	3	0.01	0.1	-0.1	-0.1

이상의 결과로서 경핵기 인산가용화균 처리구에서 인산이 가장 많이 증가하였고, K, Ca, Mg도 증가됨을 알 수 있었다. 인산의 변화는 Hydroxyapatite 함유 배지에서 인산염 가용화균인 *E. agglomerans*를 배양하는 동안 인산의 농도가 현저히 증가하였다는 Kim (1997)의 보고와 일치하였으나, pH의 변화가 적은 것은 토양의 완충능에 의한 결과로 생각된다. 시설 하우스 토마토에 *Kluyvera* sp. CL2를 정식 후에 관주하였을 때 무처리구에 비해 인산가용화율은 19.1~26.3%가 증가한다는 보고와도 일치하였다(CBARES, 2014). 유기물 시용이 dehydrogenase 활성을 증가시킨다는 Hadas and Portnoy (1994)의 보고와 키틴 퇴비 시용이 biomass C와 처리 시험에서 phosphatase와 dehydrogenase의 활성은 미생물 생체량과 정의 상관관계가 있다는 Lee et al. (2003)의 보고와도 일치하였다.

2. 수용성 인산의 경시적 변화

수용성 인산의 경시적 변화를 보면 Table 2와 같다. 인산 가용화균은 공통적으로 처리 3일 후에 최대값을 나타내다 15일 후에 약간 증가하다가 20일이 경과하면서 급격히 감소하다 처리 후 30일이 경과하면 인산 함량의 변화가 크지 않음을 알 수 있었다. 또한, 인산 가용화균은 처리 초기에는 무처리구에 비해 수용성 인산함량이 높았으나 처리 후 60일 되면 무처리구와 차이가 없었다. 처리시기에 따른 처리구 간 변화는 과립연화기와 착색기 처리구

가 경핵기 처리에 비하여 수용성 인산이 급격히 감소하는 것으로 조사되었다.

Table 2. Changes of water soluble phosphate according to inoculation time of *Kluyvera* sp. CL2

Treatment	Investigation day									
	0	1	3	5	7	10	15	20	30	60
.....(mg · kg ⁻¹).....										
Control	223	225	227	229	237	247	240	238	226	235
Stone-hardening stage	226	262	301	285	279	277	290	272	267	247
Berry-softening stage	230	270	294	293	285	280	282	251	234	236
Coloring stage	235	276	294	294	284	273	274	252	235	232

이상의 결과로 인산 가용화균 처리에 의한 수용성 인산의 경시적 변화는 처리 시부터 20 일 정도에서 효과적임을 알 수 있었다. Suh et al.(1996)은 토양 biomass C와 토양 유효인산 함량 간에는 정의 구간에서 유의성이 있는 정의 상관을 보고하였으며, 과립연화기 처리구 부터 인산 가용화율이 좋은 것은 유효인산은 기온이 높아지는 5월부터 지속적으로 증가하여 8월에 함량이 가장 높다는 Chung et al.(2008)의 보고와 같이 온도가 지속적으로 영향을 미친 것으로 생각된다. 토양의 질산태질소 농도 변화에 따라 수체로의 흡수도 비례하여 토 양의 질소 함량이 높으면 식물체의 질소함량도 높다는 Dexbury et al.(1989)의 보고와 일치 하였다.

3. 과신평형

포도 인산가용화균 처리시기에 따른 ‘캠벨얼리’ 포도 과신평형은 Table 3과 같다. 과립연 화기 처리구에서 과방중이 381g으로 유의성을 보였으나, 과방장, 과립중, 과립수 등에서는 차이가 없었다. 과립연화기 처리구에서 과방중이 큰 것은 인산가용화 균주인 *Kluyvera* sp. CL2의 IAA에 의한 성장촉진 작용과 영양 개선에 의한 효과라고 생각된다. 이는 균주 처리 후 20일간 활성화를 띠고 이것이 과실까지 영향을 미치는 기간을 20일로 보았을 때 수확기 기준으로 40일 전후인 과립연화기 처리구가 이론적 추정치와 유사하였다. 경핵기 처리구 에서는 균주 투입에 의한 인산의 영향으로 과립비대 3기에 과립 비대가 일시 정지하는 현상 을 보였다. 당도는 무처리에 비해 과립연화기 처리구에서 14.1°Brix로 고도의 유의성이 있 었으며, 산도도 과립연화기 처리구에서 무처리 대비 0.06% 낮았으나 유의성은 없었다. 당 산비는 처리구 간 유의성이 없었다.

Table 3. Fruit characteristics of 'Campbell early' grape according to inoculation time of *Kluyvera* sp. CL2

Treatment	Cluster wt.(g)	Cluster length (cm)	Berry wt. (g)	No. of berries /cluster	Soluble solids (°Bx)	Acidity (%)	SSC /acidity
Control	351 ^b	17.1 ^a	5.0 ^a	71.7 ^a	13.5 ^b	0.57 ^{ab}	23.7 ^{ab}
Stone-hardening stage	365 ^{ab}	17.4 ^a	5.0 ^a	73.4 ^a	13.8 ^b	0.55 ^b	25.1 ^{ab}
Berry-softening stage	381 ^a	17.8 ^a	5.1 ^a	73.5 ^a	14.1 ^a	0.51 ^b	27.6 ^a
Coloring stage	349 ^b	16.9 ^a	5.0 ^a	70.7 ^a	13.6 ^b	0.60 ^a	22.7 ^{ab}

* Mean separation within columns by Duncan's multiple range test, at P=0.05

** Soluble solids concentration

이상의 결과는 인산가용화 균주인 *Kluyvera* sp. CL2의 과립연화기 처리구에서 과방중과 당도를 증가시킨다는 것을 알 수 있었다. 이는 시설하우스 '캠벨얼리' 포도원에 탄소원인 당밀을 투입하면 무처리에 비해 착색기 15일 전 처리구에서 당도는 증가하고 산도는 감소한다는 Kim (2008)의 보고와 일치하였다. 또한 염류가 집적된 시설 수박에서 이분해탄수화물인 당밀로 C/N율을 조절하여 투입하면 토양의 무기태질소와 토양 EC를 경감시켜 수박의 수량 및 당도가 향상된다는 Kang (2007)의 보고와도 일치하였다. 시설하우스 토마토에 *Kluyvera* sp. CL2를 정식 후 관주시 무처리에 비해 당도가 7%, 수량은 9% 증가한다는 보고와도 일치하였다(CBARES, 2014). 따라서 인산가용화 균주인 *Kluyvera* sp. CL2은 과립연화기 처리구가 효과면에서 최적의 처리시기로 판단된다.

4. 안토시아닌 및 착색도

포도 인산가용화균 처리시기에 따른 '캠벨얼리' 포도 착색도는 Table 4와 같다. 안토시아닌은 무처리에 비해 경핵기와 과립연화기 처리구에서 유의성이 있어 인산가용화 균주인 *Kluyvera* sp. CL-2가 안토시아닌 함량 증가에 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 명도(L)은 무처리에 비해 경핵기와 과립연화기 처리구에서 유의성이 있었으나, 착색기 처리구에서는 차이가 없었다. 적색도(a)는 무처리에 비해 경핵기와 과립연화기 처리구에서 유의성을 보여 인산가용화 균주 처리가 캠벨얼리 포도의 착색 증진에 효과가 있음을 알 수 있었다. 황색도(b)는 무처리에 비해 인산가용화 균주 처리구에서 유의성을 보였으나, 처리구 간에는 차이가 없었다.

Table 4. Anthocyanin and Hunter’s value of ‘Campbell early’ grape according to inoculation time of *Kluyvera* sp. CL2

Treatment	Anthocyanin ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Hunter’s value*		
		L	a	b
Control	108.7 ^b	24.9 ^b	1.21 ^c	0.95 ^b
Stone-hardening stage	116.3 ^a	23.4 ^a	2.02 ^{ab}	2.01 ^a
Berry-softening stage	114.7 ^a	23.3 ^a	2.11 ^a	2.22 ^a
Coloring stage	110.4 ^b	24.3 ^{ab}	1.64 ^b	2.09 ^a

* L: black(0)~white(100), a: red(100~0)~green(0~80), b: yellow(70~0)~blue(0~70)

** Mean separation within columns by Duncan’s multiple range test, at P=0.05

이상의 결과로서 인산가용화 균주 처리구에서 안토시아닌, 명도, 적색도, 황색도가 경핵기와 과립연화기 처리구에서 유의성을 보여 인산가용화 균주인 *Kluyvera* sp. CL-2가 안토시아닌과 착색도 증진에 효과적인 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 과실품질과 과실품질을 모두 비교하였을 때 공통적으로 과립연화기에 인산가용화 균주를 투입하는 것이 수량성과 품질면에서 가장 효과적이라고 생각한다. Kim et al. (2001)은 하우스 온주밀감에서 제1인산 칼륨 엽면살포에 의해서 착색이 촉진되고 당도가 증가되어 품질이 향상되었다고 보고하였다. Lee et al. (2013)의 착과량 조절 연구에 의하면 피오네 품종에서 수확시 송이당 50립이 적정한 착과량일 때 안토시아닌 함량이 높았으며, 착색도 중 명도(L)는 유의하게 낮았으며, 적색도(a)는 다른 처리구와의 유의성이 인정되었다고 하며 재배조건 차이에 따른 품질변화와 유사하였다.

IV. 적 요

본 연구에서는 인산가용화 균주인 *Kluyvera* sp. CL2 처리시기가 과실품질에 미치는 영향을 구명하고자 본 연구를 실시하였다. 토양의 화학성 변화는 경핵기 처리구에서 인산이 가장 많이 증가하였고, K, Ca, Mg도 증가됨을 알 수 있었으며, pH의 변화는 토양 완충능에 의하여 적었다. 인산가용화균 처리에 따른 수용성 인산의 변화는 처리 시부터 20일 까지 효과적이었으며, 과립연화기 처리구부터 인산가용화율이 좋았다. 또한 과립연화기 처리구에서 과방중과 당도가 증가됨을 알 수 있었다. 인산가용화 균주 처리구에서 안토시아닌, 명도, 적색도, 황색도가 경핵기와 과립연화기 처리구에서 유의성을 보였으며, 특히 적색도가 향상되어 착색증진 효과가 있었다. 결론적으로 과실품질과 과실품질을 모두 비교하였을 때

과립연화기에 인산가용화 균주를 투입하는 것이 수량성과 품질면에서 가장 효과적이라고 생각된다.

[Submitted, March. 12, 2015; Revised, June. 15, 2015; Accepted, June. 18, 2015]

Reference

1. CBARES. 2014. Application of agricultural microorganisms. Chungbuk Agricultural Research & Extension Services. Cheongju, Korea. p. 61.
2. Chung, J. B. and Y. J. Lee. 2008. Comparison of soil nutrient status in conventional and organic apple farm. Korean J. Soil Sci. Fert. 41: 26-33.
3. Dexbury, J. M., M. S. Smith, and J. W. Doran. 1989. Soil organic matter as source and a sink of plant nutrients. In dynamic of soil organic matter in tropical ecosystem. pp.33-68. University of Hawaii Press. Honolulu.
4. Fuleki, T. and F. J. Francis. 1968. Quantitative methods for anthocyanins. 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. J. Food Sci. 33: 72-77.
5. Fuleki, T. and F. J. Francis. 1968. Quantitative methods for anthocyanins. 2. Determination of total anthocyanin and degradation index for cranberry juice in cranberries. J. Food Sci. 33: 78-83.
6. Hadas, A. and R. Portnoy. 1994. Nitrogen and carbon mineralization rates of composted manures incubated in soil. J. Environ. Qual. 23: 1184-1189.
7. Joa, J. H., H. C. Lim, S. G. Han, S. J. Chun, and J. S. Suh. 2007. Characteristics of *Bacillus sphaericus* PSB-13 as phosphate solubilizing bacterium isolated from citrus orchard soil. Korean J. Soil Sci. Fert. 40: 405-411.
8. Kang, B. K. 2007. Research of reduction on soil salt accumulation by controlling C/N rate. Ann. Rpt. Chungbuk Agr. Res. Expt. pp. 581-589.
9. Kim, H. J. 2008. The effect of carbon source's treatment on fruit quality of grape. Ann. Rpt. Chungbuk Agr. Res. Expt. pp. 365-372.
10. Kim, K. Y. 1997. Hydroxyapatite solubilization and organic acid production by *Enterobacter agglomerans*. Korean J. Soil Sci. Fert. 30: 189-195.
11. Kimura, M. 1994. soil biochemistry. Asakurashoden. Tokyo, Japan. pp. 132-139.
12. Kim, W. S. 2008. Friendly fruit industry. Chonnam National University. Press. pp. 88-94.

13. Kim, Y. H. and I. R. Rno. 2001. Effects of foliar spray of monopotassium phosphate (MPP) on the fruit quality of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc. cv. Miyagawa wase) in the plastic greenhouse. *Journal of Bio-Environment Control*. 10: 111-117.
14. Kwon, J. S., H. Y. Weon, J. S. Suh, W. G. Kim, K. Y. Jang, and H. J. Noh. 2007. Plant growth promoting effect and antifungal activity of *Bacillus subtilis* S37-2. *Korean J. Soil Sci. Fert.* 40: 447-453.
15. Kwon, J. S., J. S. Suh, H. Y. Weon, W. G. Kim, and H. J. Noh. 2007. Phosphate solubilizing activity of *Pseudomonas* sp. CL-1 and *Khyvera* sp. CL-2. *Korean J. Soil Sci. Fert.* 40: 442-446.
16. Lee, S. H., J. W. Lee, Y. S. Lee, S. K. Kim, K. E. Hong, H. H. Kim, and D. I. Kim. 2013. Effect of fruit load control and GA₃ thidiazuron and forchlorfenuron application on the fruit quality in pison grape. *Korean J. Intl. Agri.* 25: 177-183.
17. Lee, S. H., W. S. Kim, K. Y. Kim, T. H. Kim, H. Whangbo, W. J. Jung, and S. J. Chung. 2003. Effect of chitin compost incorporated with chitinolytic bacteria and rice bran on chemical properties and microbial community in pear orchard soil. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 44: 201-206.
18. NAAS. 2007. The latest organic farming technology. National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration. Suwon, Korea. p. 61.
19. NIAST. 2000. Analysis method of soil and plant. National Institute of Agricultural Science and Technology, Rural Development Administration. Suwon, Korea. pp. 103-131.
20. RDA. 2003. Analysis standard of agricultural test and research. Rural Development Administration. Suwon, Korea. pp. 527-531.
21. Suh, J. S. and K. S. Kim. 1996. Assessment on the inoculation effects of phosphate-solubilizing microorganisms by soil microbial biomass. *Korean J. Soil Sci. Fert.* 29: 181-189.
22. Suh, J. S., S. K. Lee, K. S. Kim, and K. Y. Seong. 1995. Solubilization of insoluble phosphates by *Pseudomonas putida*, *Penicillium* sp. and *Aspergillus niger* isolated from Korean soils. *Korean J. Soil Sci. Fert.* 28: 278-286.
23. Yang, S. J., H. M. Kim, and H. J. Kim. 2014. The isolation and characterization of the antagonistic microorganisms, *Serratia marcescens*-YJK1, for major pathogens on paprika. *Korean J. Organic Agri.* 22: 855-868.
24. Yoon, S. T., Y. S. Kim, I. S. Kim, and M. C. Lee. 2012. Effect of effective microorganism applications on growth yield and fruit nutrient contents in hot pepper. *Korean J. Organic Agri.* 44: 201-206.