

Bacillus amyloliquefaciens 함유 비료 처리에 의한 상추의 생육 증대 효과

김영선^{a,b}, 조성현^c, 이훈수^d, 이금주^{e†}

Growth Effects of Microbial Fertilizer Containing *Bacillus amyloliquefaciens* in Lettuce

Young-Sun Kim^{a,b}, Sung-Hyun Cho^c, Hoonsoo Lee^d, Geung-Joo Lee^{e†}

(Received: Sep. 28, 2021 / Revised: Nov. 2, 2021 / Accepted: Nov. 3, 2021)

ABSTRACT: This study was conducted to evaluate effects of microbial fertilizer (MF) containing *Bacillus amyloliquefaciens* on the growth in the lettuce by treating MF without and with organic fertilizer (OF), or by its formulation types, and to investigate its application in the eco-friendly agriculture. *B. amyloliquefaciens*, active microbe of MF, had activities of amylase and protease. Applied only MF without OF, MF treatments were not significantly different with non-fertilizer (NF). As compared to control, dry weight of MOF2 treatment (2,500 kg OF/ha + 50 kg MF/ha) was increased by about 30%. As applied with wettable powder type (WP) and soluble powder type (SP) of MF, the dry weight of WP was increased by 43% than that of control, but SP not significantly different. In the comparison with two MF formulation, dry weight of WP was increased by about 37% than that of SP. These results indicated that an application of MF improved the growth of lettuce by prompting a mineralization of OF, and that the formulation type of MF was better WP than SP.

Keywords: *Bacillus amyloliquefaciens*, Lettuce growth, Microbial fertilizer (MF), MF formulation, Organic fertilizer (OF)

초 록: 본 연구는 친환경농업에서 미생물비료(MF)의 작물 생육 증진 여부를 평가하기 위해 *Bacillus amyloliquefaciens* 가 함유된 미생물비료의 처리, 유기질비료(OF)의 혼용 처리 및 미생물비료 제형별 처리에 따른 상추의 생육 특성을 조사하였다. 미생물비료의 유효 균주인 *B. amyloliquefaciens*는 전분 분해 효소와 단백질 분해 효소의 활성을 나타내었다. 미생물비료를 유기물의 공급없이 상추에 처리하는 경우 작물의 생육은 무처리구와 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 대조구와 비교할 때, 유기질비료와 미생물비료를 함께 처리한 MOF2 처리구(2,500 kg OF/ha + 50 kg MF/ha)의 건물중이 약 30% 증가하였다. 미생물비료 제형별 상추 생육 조사 결과, 수용제는 대조구와 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 수화제 처리구의 건물중은 약 43% 증대되었다. 미생물비료의 제형별 작물 생육 비교 시 수용제보다 수화제 처리구에서 37% 정도 증가하여 수화제 처리 상추의 생육과 생산량이 증대되었다. 상기 결과들을 종합할 때, 미생물비료를 유기질비료와 혼용하는 경우 상추의 생육과 생산량이 증대되며, 수화제의 처리 시 작물의 생육 개선 효과가 나타남을 알 수 있었다.

주제어: *Bacillus amyloliquefaciens*, 상추생육, 미생물비료, 미생물비료제형, 유기질비료

^a 대구대학교 생명환경학부 원예학전공 조교수(Assistant Professor, Division of Life and Environmental Science (Horticulture), College of Natural and Life Sciences, Daegu University)

^b 대구대학교 자연과학연구소 연구원(Researcher, Institute of Natural Sciences, Daegu University)

^c 효성오앤비주 연구소장(Chief Technology Officer, Hyosung O&B Co. Ltd.)

^d 충북대학교 바이오시스템공학과 조교수(Assistant Professor, Department of Biosystem Engineering, Chungbuk National University)

^e 충남대학교 원예학과/스마트농업학과 교수(Professor, Department of Horticulture and Department of Smart Agriculture Systems, Chungnam National University)

† Corresponding author(e-mail: gjlee@cnu.ac.kr)

1. 서론

친환경농업은 화학비료나 유기합성농약을 처리하지 않고 작물을 재배하는 농업을 말한다. 친환경농업에서는 작물에 필요한 양분을 화학비료가 아닌 유기물¹⁾이나 천연광물질을 이용하고, 작물의 병해충 방제를 위해 유기합성농약 대신 생물학적 방법,^{2,3)} 천연 추출물⁴⁾ 및 경종적 방법 등을 이용하여 작물을 재배하고 있다. 일반적으로 친환경농업에서는 작물 생육에 필요한 양분을 공급하기 위해 유기질비료나 부숙유기질비료(퇴비)와 같은 부산물비료를 이용하고 있다.¹⁾ 이들 비료는 토양 중에서 미생물의 발효 및 분해 과정을 거쳐 식물의 양분으로 이용되며, 완효성 혹은 지효성의 특징을 나타내는 비료이다.

부산물비료는 토양 중에서 발효 후 무기화 과정을 거쳐 작물에 필요한 양분을 공급하게 된다. 부산물비료의 무기화 과정은 미생물에 의해 발생하게 되며, 미생물의 활성은 부산물비료의 유기물 종류에 따라 다르게 나타난다.⁵⁾ 부숙유기질비료는 일정 기간 동안 발효와 후숙 기간을 거쳐 생성되지만⁶⁾ 유기질비료는 유기물 원료의 혼합에 의해 제형화되므로⁷⁾ 토양 중에서 미생물에 의한 무기화 과정을 거친 후 작물의 생육에 이용할 수 있다.⁵⁾ 유기질비료의 분해에 영향을 미치는 미생물은 유기물의 종류, 온도 및 토양 수분 함량 등에 영향을 받는다.⁵⁾

Bacillus sp.는 토양 중에서 서식하면서 유기물을 분해하는 능력을 갖는 대표적인 미생물이다. *Bacillus* sp.가 유기물과 함께 토양에 공급되었을 때 탈수소화 효소(dehydrogenase)와 요소 분해 효소(urease) 등과 같은 효소들의 활성이 증가되어 토양의 비옥도를 향상시킴으로써 토마토(*Solanum lycopersicum*)의 생육과 생산량을 증가시키는 것으로 알려져 있다.⁸⁾ *Bacillus* spp. 중에서 *Bacillus amyloliquefaciens*는 토양이나 퇴비 등에서 분리되어 유기물의 분해뿐 아니라 병원균에 대한 길항성을 나타내어 미생물비료뿐 아니라 미생물 방제제 등으로 다양하게 이용되고 있다.^{2,9)} 선발된 *B. amyloliquefaciens*를 미생물비료로 이용하기 위해서는 미생물의 배양 방법과 제형화하는 기술이 필요하다.¹⁰⁾

상추는 배추, 양배추 및 시금치 등과 더불어 대표

적인 엽채류 작물이며, 농림축산식품통계연보에 따르면 2019년 상추의 총 재배면적은 3,629 ha로 엽채류 총재배면적(41,635 ha)의 8.7%를 차지하고, 상추는 재배 방법에 따라 노지재배와 시설재배가 각각 20%와 80%를 나타낸다. 상추는 다른 원예작물에 비해 생육기간이 짧고, 유기질비료나 부숙유기질비료 등의 처리에 따른 작물의 생육 특성을 조사하는데 유용하다.^{6,7)} 상추는 부산물비료의 재배 특성^{6,7)} 외에 식물공장 내 재배 환경 조절 연구¹¹⁾와 식품으로서의 영양 안전성 연구¹²⁾가 이뤄진 바 있으나 미생물비료 처리 후 생육 특성 변화에 관한 연구는 미미하다.

따라서 본 연구는 친환경농업에서 미생물에 의한 작물의 비효 증진 여부를 평가하기 위해 *B. amyloliquefaciens*가 함유된 미생물비료 처리, 유기질비료와 혼용 처리 및 미생물비료 제형별 처리에 따른 상추의 생육 특성을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 공시재료

본 연구는 2012년 5월부터 2014년 2월까지 21개월간 대전광역시 소재의 H사의 연구용 온실에서 수행하였다. 공시비료의 유기질비료(organic fertilizer; OF, N-P₂O₅-K₂O= 4.5-2.3-1.2)와 토양미생물제제(microbial fertilizer; MF, *B. amyloliquefaciens* 1×10⁹ cfu/g)를 이용하였으며 토양미생물제제의 제형은 수화제와 수용제를 이용하였다. 공시비료인 유기질비료와 토양미생물제제는 H사로부터 공여받아 사용하였다. 공시작물은 상추(*Lactuca sativa*)를 농자재 판매상에서 종자상추(백일청치마, 팜한농, 서울, 한국)를 구매하여 사용하였다. 연구에 사용된 토성은 사양토였고, 조사된 토양화학성 결과들은 농촌진흥청에서 제시하는 시설재배지 토양의 적정기준보다 낮은 결과를 보여 척박한 토양특성을 보였으나 유기물이 적어 미생물비료의 처리에 의한 유기질비료의 특성을 비교하기에 적합하였다(Table 1).

Table 1. Soil Chemical Properties Used in This Experiment

pH (1:5)	EC ¹⁾ (ds/m)	T-N (g/kg)	OM	Av-P ₂ O ₅ (mg/kg)	Ex-K (cmol _e /kg)
6.9	1.49	0.4	14.7	139	1.28
6.0~7.0 ²⁾	-	-	25~30	350~500	0.7~0.8

¹⁾EC, OM, T-N, Av-P₂O₅ and Ex-K represent electrical conductivity, organic matter, total nitrogen, available phosphate, and exchangeable potassium, respectively.

²⁾The optimum range of the green house soil in Korea.

2.2. B.amyloliquefaciens의 유기물 분해능 조사

미생물비료 유효미생물의 유기물 분해능을 평가하기 위해 미생물 제조에 사용하는 보관균주(*B. amyloliquefaciens*)를 이용하였다. *B. amyloliquefaciens*의 유기물 분해능 평가는 단백질 분해능, 전분 분해능 및 지질 분해능을 측정하였다. 단백질 분해능은 skim milk가 첨가된 nutrient agar (NA) 배지(beef extract 3 g/L, peptone 5 g/L, skim milk 10 g/L, agar 15 g/L)를, 전분 분해능은 corn starch가 첨가된 NA 배지(beef extract 3 g/L, peptone 5 g/L, corn starch 7 g/L, agar 15 g/L)를, 그리고 지질 분해능은 tributyrin agar 배지(tryptone 10 g/L, yeast extract 10 g/L, NaCl 10 g/L, tributyrin 5 g/L, tween 80 10 mL/L, agar 15 g/L)를 각각 사용하였다. *B. amyloliquefaciens*의 유기물 분해능은 각각의 유기물 분해능 선택배지에 획선 배양하여 균체 주위에 clear zone을 관찰 및 측정하였고, 각 선택배지 내에서 미생물이 형성하는 투명환의 길이를 조사하여 효소활성도(0~1 mm: -, 1~3 mm: +, 3~5 mm: ++, 5~7 mm: +++, 7~9 mm: ++++, 9 mm 이상: +++++)를 평가하였다.

2.3. 미생물비료 처리 후 작물 생육 조사

2.3.1. 작물 재배 관리

상토(원예용 상토)를 포설한 트레이에 상추 종자를 파종하여 약 4주간 유묘를 관리하였다. 시험 작물의 정식 전 균일하게 배합된 공시비료를 250 kg/10a 수준으로 전충시비하고, 15일이 경과한 후 생육이 비슷한 유묘를 선별하여 정식하였다. 관수는 매일 1회 실시하면서 온실(대기온도 15~30°C, 상대습도 50~65%)에서 수행하였으며, 시험 기간 중 병충해는 발생하지 않았다.

2.3.2. 처리구 설정

미생물비료의 특성별 효과를 검증하기 위해 미생물비료의 처리 방법, 처리량 및 제형에 따른 작물의 생육을 비교할 목적으로 1) 미생물비료 단독 처리 후 작물 생육, 2) 유기질비료와 혼용 처리 후 작물 생육 및 3) 미생물비료 제형별 작물 생육을 조사하였다. 각각의 시험에서 처리구는 완전임의배치법으로 배치하였고, 처리구의 반복은 3반복으로 수행하였다.

2.3.2.1. 미생물비료 단독 처리에 따른 작물 생육

미생물비료의 특성 및 처리에 의한 작물 생육 효과를 평가하기 위해 미생물비료(수화제) 처리 후 상추의 생육을 평가하였다. 처리구는 무처리구(non-fertilizer; NF), 미생물비료 500배 희석 처리구(MF1; MF 20 kg/ha), 미생물비료 200배액 희석 처리구(MF2; MF 50 kg/ha)로 설정하였다. 처리구별 미생물비료는 정식 후 7일 후부터 7일 간격으로 5회 처리하였다. 실험에 사용된 상추묘는 2013년 12월 2일 파종하여 4주간 유묘를 관리하였고, 동년 12월 30일에 정식하였으며, 2014년 2월 4일에 조사를 위해 수확하였다.

2.3.2.2. 유기질비료와 미생물비료 혼용 처리에 따른 작물 생육

미생물의 유기물 분해에 의한 작물의 양분 공급 및 작물의 생육 특성을 평가하기 위해 유기질비료와 미생물비료(수화제)의 혼용 처리 후 상추의 생육을 평가하였다. 처리구는 유기질비료를 처리한 후 미생물비료의 처리량에 따라 대조구(control; OF 2,500 kg/ha), 유기질비료와 미생물비료 500배 희석 처리구(MOF1: OF 2,500 kg/ha + MF 20 kg/ha), 미생물비료 200배액 희석 처리구(MOF2: OF 2,500 kg/ha + MF 50 kg/ha)로 설정하였다. 작물 재배 관리는 2013년 12월 2일 상추

종자를 파종하여 4주간 관리하였고, 12월 15일 유기질비료를 시비하였으며, 15일 경과 후인 12월 30일에 생육이 비슷한 상추묘를 정식하였고, 2014년 2월 4일에 생육 조사를 수행하였다. 미생물비료는 수돗물로 희석하였고, 미생물비료 희석액을 10 m³/ha으로 처리하였으며, 상추묘 정식일로부터 7일이 경과한 2014년 1월 6일부터 7일 간격으로 총 4회 처리하였다.

2.3.2.3. 미생물비료 제형별 작물 생육

미생물을 비료로 제형화 후 각 제형별로 작물의 생육 특성을 비교하였다. 미생물비료 제형 시 액상 제형은 미생물의 유효기간이 10일 이내로 시험 기간 내 동일한 특성으로 비교할 수 없다는 선행연구¹³⁾가 있어 본 연구에서는 고형 제형인 수화제와 수용제를 사용하였다. 처리구는 무처리구(non-fertilizer; NF), 대조구(control; OF 2,500 kg/ha), 미생물비료 수화제(WP; OF 2,500 kg/ha + WP type MF 20 kg/ha), 미생물비료 수용제(SP; OF 2,500 kg/ha + SP type MF 20 kg/ha)로 설정하였다. 작물의 재배 관리는 2012년 5월 17일 파종하였고, 6월 1일 유기질비료를 시비하였으며, 6월 16일에 상추묘를 정식하였고, 7월 17일에 생육 조사를 수행하였다. 각 제형별 미생물비료는 수돗물로 희석하였고, 미생물비료 희석액을 10 m³/ha으로 처리하였으며, 상추묘 정식일로부터 7일이 경과한 2012년 6월 23일부터 7일 간격으로 총 4회 처리하였다.

2.3.3. 토양 분석 및 작물 생육 조사

시험 종료 후 처리구별 토양 분석은 시험 전과 종료 후에 수행되었고, 채취된 시료를 음지에서 풍건한 후 2 mm체를 통과시킨 후 이용하였다. 분석항목은 pH, 전기전도도(EC, electrical conductivity), 유기물(OM, organic matter), 전질소(T-N, total nitrogen), 유효인산(Av-P₂O₅, available phosphate), 치환성 칼륨(Ex-K, exchangeable potassium) 등이었고, 토양화학분석법에 준하여 분석하였다.¹⁴⁾ pH와 EC는 1:5법으로, OM은 Tyurin법으로, T-N은 Kjeldahl 증류법으로, Av-P₂O₅는 Bray No. 1법으로, Ex-K는 1N-NH₄OAc 침출법으로 각각 분석하였다. Av-P₂O₅과 Ex-K의 분석을 위해 각각 UV-spectrophotometer (X-MA 1200, Human, 서울, 한국)

와 염광광도계(Flame photometer; PFP7, JENWAY, Staffordshire, UK)를 이용하여 각각 분석하였다.

작물별 생육 조사 내용은 시험작물의 전개체를 대상으로 엽록소, 엽수, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중 등을 조사하였다. 엽록소는 엽록소 측정기(SPAD-502, Minolta, Osaka, Japan)를 이용하여 측정하였다. 엽수는 작물의 총 엽수를, 엽장과 엽폭은 최장 엽의 횡경과 종경 길이를, 생물중과 건물중은 개체별 총 무게를 측정하였다.

2.4. 통계분석

미생물비료와 유기질비료 처리 후 작물 생육 조사 결과는 SPSS (ver. 25, IBM)를 이용하여 던컨다중검정과 T-검정을 통해 처리구별 평균값을, Excel (MS-Office 2016, Microsoft Co.)을 이용하여 상관관계를 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. *B. amyloliquifaciens*의 유기물 분해능

미생물비료의 유효 균주인 *B. amyloliquifaciens*의 유기물 분해능을 조사하였다(Fig. 1). *B. amyloliquifaciens*는 전분과 단백질 분해능 조사에서 각각 8.3 mm (++++), 10.5 mm (+++++)의 투명환(clear zone)을 형성하여 높은 전분과 단백질 분해 능력을 나타냈고, 지질 분해능 조사에서는 투명환이 형성되지 않아 지질 분해 효과는 나타나지 않았다. Jeong et al.²⁾의 결과에서도 가축분퇴비 발효 과정에서 분리된 *B. amyloliquifaciens*는 전분과 단백질의 분해 능력이 우수하고, 지질의 분해 능력은 낮았다고 보고한 바 있어 본 연구에 사용된 미생물과 유사한 특성을 나타냈다. 유기질비료의 원료로 사용되는 식물성 유박류는 단백질로 구성되어 있어 단백질 분해능이 우수한 미생물을 처리하는 경우 유기질비료의 분해를 통한 양분 이용에 효과가 있을 것으로 판단되었다.^{15,16)}

3.2. 미생물비료 단독 처리 후 작물 생육 조사

시험 종료 후 토양 분석 결과, pH, EC, O.M, T-N,

Av-P₂O₅ 및 Ex-K는 각각 6.7~6.9, 1.48~1.51 dS/m, 13.4~16.0 g/kg, 0.37~0.40 g/kg, 131~145 mg/kg, 1.28~1.32 cmol/kg의 범위를 나타냈고, 시험 전과 비교할 때 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Table 2).

MF의 단독 처리 후 상추의 생육을 조사하였다(Table 3). 미생물 단독 처리 시 엽록소, 엽수, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중은 각각 1.5~1.8 mg/100 cm², 20.5~22.2 ea/plant, 12.9~13.8 cm, 8.3~9.0 cm, 32.9~37.5 g/plant,

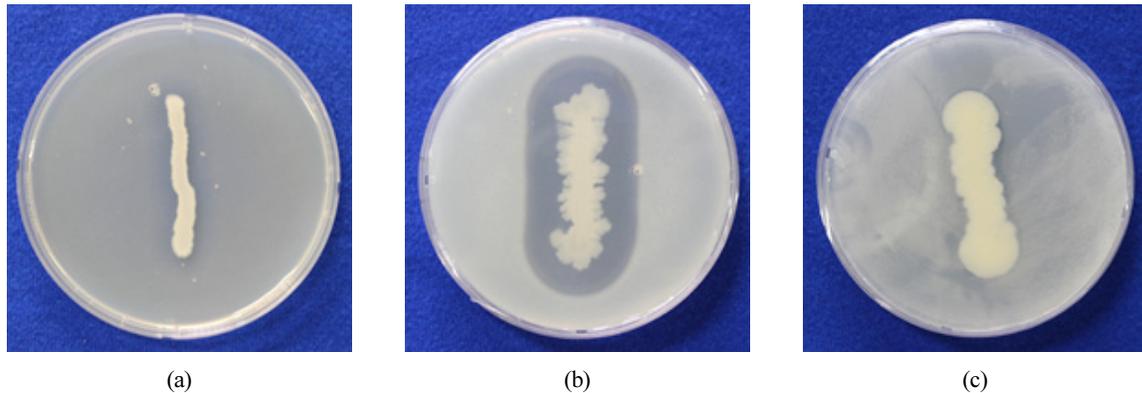


Fig. 1. The activity of amylase (a), protease (b) and lipase (c) of *B. amyloliquefaciens*. The diameter lengths of clear zone of amylase and protease by *B. amyloliquefaciens* were 8.3 mm (++++) and 10.5 mm (++++), respectively. A degree of enzyme activity such as protease, amylase and lipase, by *B. amyloliquefaciens* was measured by investigating the diameters of clear zones; -: 0 mm, +: 1~3mm, ++: 3~5mm, +++: 5~7 mm, ++++: 7~9 mm, +++++: 9 mm above.

Table 2. The Change of Soil Chemical Properties after Applying Microbial Fertilizer without Organic Fertilizer

Treatments ¹⁾	pH (1:5)	EC (ds/m)	T-N (g/kg)	OM	Av-P ₂ O ₅ (mg/kg)	Ex-K (cmol/kg)
NF	6.9 a ²⁾	1.48 a	0.38 a	16.0 a	131 a	1.29 a
MF1	6.8 a	1.51 a	0.37 a	13.4 a	142 a	1.28 a
MF2	6.7 a	1.50 a	0.40 a	15.2 a	145 a	1.32 a

¹⁾Treatments were as follows. NF: non-fertilizer; MF1: 20 kg/ha; MF2: 50 kg/ha. MF was containing *B. amyloliquefaciens* and its formulation type wettable powder. MF treatments were implemented on January 6, 13, 20, and 27, respectively.

²⁾Means with same letters within column are not significantly different by Duncan's multiple range test $p \leq 0.05$ level.

*EC, OM, T-N, Av-P₂O₅ and Ex-K represent electrical conductivity, organic matter, total nitrogen, available phosphate, and exchangeable potassium, respectively.

Table 3. The Growth of Lettuce after Applying a Microbial Fertilizer without Organic Fertilizer

Treatments ¹⁾	Chlorophyll (mg/100cm ²)	No of leaves (ea/plant)	Leaf length (cm)	Leaf width	Fresh weight (g/plant)	Dry weight
NF	1.5 a ²⁾	22.2 a	13.8 a	9.0 a	37.5 a	4.11 a
MF1	1.8 a	21.2 a	12.9 b	8.3 a	32.9 a	3.89 a
MF2	1.7 a	20.5 a	13.7 a	8.7 a	36.5 a	4.11 a
Correlation ³⁾ (n=8)	0.2803 ^{NS}	-0.5156 ^{NS}	0.0046 ^{NS}	-0.2701 ^{NS}	-0.0524 ^{NS}	0.0588 ^{NS}

¹⁾Treatments were as follows. NF: non-fertilizer; MF1: 20 kg/ha; MF2: 50 kg/ha. MF was containing *B. amyloliquefaciens* and its formulation type wettable powder. MF treatments were implemented on January 6, 13, 20, and 27, respectively.

²⁾Means with same letters within column are not significantly different by Duncan's multiple range test $p \leq 0.05$ level.

³⁾Correlation between applying amount of MF and each investigated growth factor lettuce. NS was not significantly different.

3.89~4.11 g/plant를 나타냈다. NF와 비교할 때, MF 처리구들은 작물의 생육 조사에서 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않아 MF 처리에 의한 비료의 효과를 확인하기 어려웠다. 또한 MF의 처리량과 작물의 생육지수간 상관관계 조사 시 모든 항목에서 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 이는 Fig. 1에서 MF의 유효 균주는 유기물 분해능이 우수하였으나 토양이 척박하여 함유 양분이 적고, 공급되는 유기물이 부족으로 작물의 생육에 필요한 양분의 공급이 어려웠기 때문으로 추정된다.¹⁷⁾ 일반적으로 토양 중 미생물은 토양의 질소 및 유기물이 공급될 때 필요한 양분을 섭취하여 작물의 생육에서 미생물의 생육 효과를 나타내기 때문이다.¹⁸⁾ 따라서 미생물비료의 처리 후 작물 생육 효과를 기대시키기 위해서는 유기질비료나 퇴비와 같은 유기물의 공급이 필요하였다.¹⁹⁾

3.3. 유기질비료 및 미생물비료 혼합 처리 후 작물 생육 조사

시험 종료 후 토양 분석 결과, pH, EC, O.M, T-N, Av-P₂O₅ 및 Ex-K는 각각 6.6~6.9, 1.51~1.53 dS/m, 14.6~16.8 g/kg, 0.37~0.42 g/kg, 142~157 mg/kg, 1.31~1.34 cmol_c/kg의 범위를 나타냈고, 시험 전과 비교할 때 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Table 4). 이는 미생물이 유기물과 토양에 공급되었을 때 미생물에 의해 유기물의 분해를 촉진하고, 불용화된 양분을 가용화하는데 이용되지만 토양 내 새로운 양분을 공급하는 것은 아니기 때문으로 사료된다.^{5,8,20)} 유기질비료와 MF를 혼합 처리한 후 상추의 생육을 조사하였다(Table 5). 미생물비료와 유기질비료 혼합 처리 시 엽록소, 엽수, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중은 각각 2.3 mg/100 cm², 21.0~24.3 ea/plant, 13.8~14.5 cm, 9.0~9.8 cm, 40.1~51.9 g/plant, 4.48~5.84 g/plant

Table 4. The Change of Soil Chemical Properties after Applying a Microbial Fertilizer with Organic fertilizer

Treatments ¹⁾	pH	EC	T-N	OM	Av-P ₂ O ₅	Ex-K
	(1:5)	(ds/m)	(g/kg)		(mg/kg)	(cmol _c /kg)
Control	6.9 a ²⁾	1.53 a	0.42 a	16.8 a	157 a	1.34 a
MOF1	6.8 a	1.51 a	0.38 a	16.5 a	142 a	1.31 a
MOF2	6.6 a	1.51 a	0.37 a	14.6 a	155 a	1.32 a

¹⁾Treatments were as follows. Control: OF 2,500 kg/ha; MOF1: OF 2,500 kg/ha + MF 20 kg/ha; MOF2: OF 2,500 kg/ha + MF 50 kg/ha. These organic fertilizer was applied 2,500 kg/ha before 15 days planting lettuce and MF implemented on January 6, 13, 20, and 27, respectively.

²⁾Means with same letters within column are not significantly different by Duncan's multiple range test $p \leq 0.05$ level.

*EC, OM, T-N, Av-P₂O₅, and Ex-K represent electrical conductivity, organic matter, total nitrogen, available phosphate, and exchangeable potassium, respectively.

Table 5. The Growth of Lettuce after Applying a Microbial Fertilizer with Organic Fertilizer

Treatments ¹⁾	Chlorophyll	No of leaves	Leaf length	Leaf width	Fresh weight	Dry weight
	(mg/100cm ²)	(ea/plant)	(cm)		(g/plant)	
Control	2.3 a ²⁾	23.0 ab	14.1 a	9.0 a	40.1 b	4.48 b
MOF1	2.3 a	21.0 b	13.8 a	9.4 a	49.0 a	5.06 ab
MOF2	2.3 a	24.3 a	14.5 a	9.8 a	51.9 a	5.84 a
Correlation ³⁾ (n=8)	0.1360 ^{NS}	0.3658 ^{NS}	0.3818 ^{NS}	0.5931 ^{NS}	0.6522*	0.7979**

¹⁾Treatments were as follows. Control: OF 2,500 kg/ha; MOF1: OF 2,500 kg/ha + MF 20 kg/ha; MOF2: OF 2,500 kg/ha + MF 50 kg/ha. These organic fertilizer was applied 2,500 kg/ha before 15 days planting lettuce and MF implemented on January 6, 13, 20, and 27, respectively.

²⁾Means with same letters within column are not significantly different by Duncan's multiple range test $p \leq 0.05$ level.

³⁾Correlation between applying amount of MF and each investigated growth factor lettuce (n=8).

NS, * and ** represents not significant, significant at the 0.05 and 0.01 probability level by correlation coefficient, respectively.

를 나타냈다. MOF 처리구에서 엽록소, 엽수, 엽장 및 엽폭은 대조구와 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았으나, 생물중은 MOF1과 MOF2 처리구에서 대조구보다 각각 22.2%와 29.5%씩 증가하였고 건물중은 MOF2 처리구에서 30% 증가하였다. 또한 OF를 처리한 후 MF의 처리량과 상추의 생육지수간 상관관계 조사 시 엽록소, 엽수, 엽장 및 엽폭 등은 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았고, 생물중과 건물중은 MF의 처리량과 정의 상관관계(생물중: $P<0.05$; 건물중: $P<0.01$)를 나타냈다. 이는 MF의 유효 균주인 *B. amyloliquefaciens*가 전분과 단백질 분해 효소의 효과가 높기 때문에 판단된다(Fig. 1).

Kim et al.²¹⁾은 토양 중 유기물 함량이 증가하면 토양미생물체량이 증가하여 유기물의 분해 미생물의 활성이 증대되고, 작물의 생육이 향상된다고 보고하였다. 미생물은 탈수소화 효소의 작용으로 토양 중 유기물을 분해하며 작물 생육에 필요한 양분을 공급하는 것으로 알려져 있다.¹⁹⁾ 특히 미생물은 토양 중 유기물의 분해 과정에서 탈수소화 효소뿐 아니라 요소 분해 효소 등의 활성이 증대되어 식물에 필요한 양분을 공급하게 된다.²²⁾ Jeong et al.²⁾은 퇴비 발효 과정에서 수집된 *B. amyloliquefaciens*는 전분 분해 효소(amylase)와 단백질 분해 효소(protease) 활성도가 높아 유기물 분해 능력이 높다고 보고한 바 있다. 본 연구에 사용된 *B. amyloliquefaciens*는 단백질 분해 효소의 활성이 높게 나타나며(Fig. 1), 아미노산의 기질에 따라 분해 정도는 다르게 나타나므로 단백질의 아미노산 서열에 따라 분해 속도와 정도 및 특성을 나타낸

다.²¹⁾ 특히 *B. amyloliquefaciens*의 단백질 분해 효소(protease)는 류신에 대한 기질 특이성을 나타내는 것으로 알려져 있다.²¹⁾ Yang et al.¹⁾은 유기질비료 중 중성 아미노산이 57~74 molar %를 나타내며, 이중 류신은 약 10% 정도를 포함하고 있다고 보고하여 유기질비료 분해 시 *B. amyloliquefaciens*의 활성도 증가는 단백질 분해 효소(protease)에 의한 단백질 분해 활성의 증가 때문으로 판단된다.²³⁾ 유기질비료가 작물 생육에 사용되기 위해서는 유기물질이 무기화되어야 하며, 이는 온도, 기질, 토양 수분 및 미생물의 종류와 밀도에 의해 차이를 나타내게 되므로 시비 후 미생물이 활동할 수 있는 적절한 환경 조성이 필요하다.⁵⁾ 유기질비료의 경우 다른 유기물원에 비해 토양 처리 시 세균의 활성과 군집이 높게 나타나나, 일정 기간이 경과하면 미생물의 군집은 안정화되므로 유기질비료의 시비와 미생물비료의 처리가 토양 환경의 미생물상 변화에는 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.⁵⁾

3.4. 미생물비료 제형별 작물 생육 조사

미생물비료의 수화제와 수용제를 처리한 후 토양 화학성 및 상추의 생육을 조사하였다. 시험 종료 후 토양 분석 결과, pH, EC, O.M, T-N, Av-P₂O₅ 및 Ex-K는 각각 6.6~6.9, 1.49~1.55 dS/m, 13.2~16.8 g/kg, 0.37~0.42 g/kg, 129~146 mg/kg, 1.29~1.33 cmol/kg의 범위를 나타냈고, 시험 전과 비교할 때 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Table 6). 미생물 제형별 상추의 생육 조사에서 엽록소, 엽수, 엽장, 엽폭, 생물중 및 건물중은 각각 2.7 mg/100 cm², 8.8~9.2 ea/plant,

Table 6. The Change of Soil Chemical Properties after Applying a Microbial Fertilizer with Organic Fertilizer

Treatments ¹⁾	pH (1:5)	EC (ds/m)	T-N (g/kg)	OM	Av-P ₂ O ₅ (mg/kg)	Ex-K (cmol/kg)
NF	6.9 a ²⁾	1.49 a	0.37 a	13.2 a	129 a	1.30 a
Control	6.7 a	1.55 a	0.42 a	16.5 a	146 a	1.31 a
WP	6.8 a	1.53 a	0.42 a	16.8 a	132 a	1.33 a
SP	6.6 a	1.53 a	0.40 a	15.2 a	143 a	1.29 a

¹⁾Treatments were as follows. NF: non-fertilizer; Control: OF 2,500 kg/ha; WP: OF 2,500 kg/ha + MF-WP 20 kg/ha; SP: OF 2,500 kg/ha + MF-SP 20 kg/ha. These organic fertilizer was applied 250 kg/10a before 15 days planting lettuce and MFs implemented on June 23, June 30, July 6 and July 13, respectively.

²⁾Means with same letters within column are not significantly different by Duncan's multiple range test $p \leq 0.05$ level.

*EC, OM, T-N, Av-P₂O₅ and Ex-K represent electrical conductivity, organic matter, total nitrogen, available phosphate, and exchangeable potassium, respectively.

22.9~25.2 cm, 9.3~10.8 cm, 29.9~38.4 g/plant, 0.70~1.21 g/plant를 나타냈다(Table 7). NF와 비교할 때, 엽록소, 엽수, 엽장 및 엽폭은 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았고, 생물중은 SP 처리구에서, 건물중은 WP와 SP 처리구에서 증가하였다. 대조구와 비교할 때, WP와 SP 처리구의 엽록소, 엽수, 엽장, 엽폭 및 생물중은 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았고, 건물중은 WP 처리구에서 약 43% 증가하였다. T-검정을 실시하여 미생물비료의 제형별 상추의 생육 특성을 비교한 결과, 두 제형간 엽록소, 엽수, 엽장, 엽폭 및 생물중은 처리구간 차이를 나타내지 않았으나 건물중은 WP 처리구에서 약 37% 증가하였다. 미생물비료에서 제형은 유효 균주의 지속성²³⁾ 뿐 아니라 재배 작물의 생육에도 영향을 미치는 것으로 판단된다.

비료의 제형을 개선하는 경우 비료의 지속성과 식물에 대한 생육 효과가 개선된다.²⁴⁾ 미생물의 경우 화학비료와 다르게 살아있는 미생물을 비료로 이용하는 것으로 비료 중 유효 미생물의 생존에 따라 비료의 효과가 결정되므로 미생물의 유효기간은 매우 중요한 요소가 된다.²⁵⁾ Kim et al.²⁶⁾은 미생물비료의 보관성을 높이기 위해서는 낮은 온도에 보관하여야 액상보다는 고상 제형이 유리하다고 보고하였다. 또한 고상 제형 중에서 수화제 제형은 식물 재배 시 비료의 사용과 처리가 용이하다.²⁷⁾ 본 연구에서는 미생물비료를 수화제

와 수화제로 제형화하였고, 이들은 관개용수에 희석 후 관주처리나 엽면처리가 가능하여 미생물비료 제형별 작물 생육을 비교한 결과 수화제에서 작물 생육이 증대되었다(Table 4). 그러나 이는 작물의 생육 특성과 재배 방법에 따라 사용에 차이를 나타내므로 작물 재배별 적합한 제형 선별 시험이 필요할 것으로 판단된다.

4. 결론

친환경농업에서 작물의 생육 증진 여부를 평가하기 위해 *B. amyloliquefaciens*가 함유된 미생물비료의 처리, 유기질비료의 혼용 처리 및 미생물비료 제형별 처리에 따른 상추의 생육 특성을 조사하였다.

1. 미생물비료의 유효 균주인 *B. amyloliquefaciens*는 전분 분해 효소와 단백질 분해 효소의 활성이 높았다.
2. 유기질의 공급없이 미생물비료를 상추에 처리하였을 경우 작물의 생육은 무처리구와 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다.
3. 유기질비료를 처리한 후 미생물비료의 상추 처리 시 엽록소, 엽수, 엽장 및 엽폭은 대조구와 통계적으로 유의적인 차이가 없었으나 건물중은 MOF2 처리구에서 대조구보다 30% 증대되었다.

Table 7. The Growth of Lettuce after Applying a Two Formulation Types of Microbial Fertilizer with Organic Fertilizer

Treatments ¹⁾	Chlorophyll	No of leaves	Leaf length	Leaf width	Fresh weight	Dry weight
	(mg/100cm ²)	(ea/plant)	(cm)	(cm)	(g/plant)	(g/plant)
NF	2.7 a ²⁾	8.8 a	23.3 a	9.9 a	29.9 b	0.70 c
Control	2.7 a	8.8 a	24.9 a	10.7 a	35.1 ab	0.85 b
WP	2.7 a	9.2 a	25.2 a	10.8 a	37.1 ab	1.21 a
SP	2.7 a	9.2 a	22.9 a	9.3 a	38.4 a	0.89 b
T-test ³⁾						
Control×WP	NS	NS	NS	NS	NS	**
Control×SP	NS	NS	NS	NS	NS	NS
WP×SP	NS	NS	NS	NS	NS	**

¹⁾Treatments were as follows. NF: non-fertilizer; Control: OF 2,500 kg/ha; WP: OF 2,500 kg/ha + MF-WP 20 kg/ha; SP: OF 2,500 kg/ha + MF-SP 20 kg/ha. These organic fertilizer was applied 250 kg/10a before 15 days planting lettuce and MFs implemented on June 23, June 30, July 6 and July 13, respectively.

²⁾Means with same letters within column are not significantly different by Duncan's multiple range test $p \leq 0.05$ level.

³⁾NS and ** represent not significant and a significance at the 0.01 probability level by T-test between control and WP, control and SP, and WP and SP, respectively.

4. 유기질비료 처리 후 미생물비료 제형별 상추의 생육 조사 결과, 수용제는 대조구(유기질비료 처리구)와 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 수화제 처리구의 건물중은 대조구보다 약 43% 증대되었다.
5. 미생물비료의 제형별 작물 생육 비교 시 수용제보다 수화제 처리구에서 상추의 건물중이 37% 정도 증가하여 수화제 처리 시 작물의 생육과 생산량이 증대되었다.

친환경농업에서 미생물비료는 작물에 영양원으로 공급되는 유기질비료의 분해를 촉진하고 무기화하여 작물 생육에 필요한 양분을 공급하는 중요한 역할을 한다. 미생물의 시비를 통해 친환경농업에서 작물에 필요한 양분 공급 효율을 높여 작물의 생산성을 증대시킬 수 있을 것으로 판단된다. 미생물비료는 살포되는 환경과 작물에 따라 다르게 나타나므로 향후 미생물비료의 처리 시기나 방법 및 작물별 생육 특성에 대한 연구가 필요한 것으로 판단된다.

사 사

이 논문은 충북대학교 국립대학육성사업(2020) 지원을 받아 작성되었음.

References

1. Yang, J. E., Kim, J. J., Shin, M. K. and Park, Y. H., "Amino acids in humic acids extracted from organic by-product fertilizers", Korean J. Soil Sci. Fert., 31(2), pp. 128~136. (1998).
2. Jeong, J. Y., Kim, Y. S., Cho, S. H. and Lee, G. J., "Isolation and selection of functional microbes for eco-friendly turfgrass management in golf course from livestock manure compost", Weed Turf. Sci., 6(2), pp. 157~164. (2017).
3. Cho, M. S., Choi, S. Y., Kim, T. W., Park, C., Kim, D. A., Kim, Y. R., Oh, S. M., Kim, S. W., Youn, Y. N. and Yu, Y. M., "Insecticidal activity of diamondback moth *Plutella xylostella* against *Bacillus thuringiensis* and neem oil" Kor. J. Pesticide Sci., 13(4), pp. 315~324. (2009).
4. Schmutterer, H., "Properties and potential of natural pesticides from the neem tree", Annu. Rev. Entomol., 35, pp. 271~297. (1990).
5. Joa, J. H., Moon, K. H., Kim S. C., Moon, D. G. and Koh, S. W., "Effect of temperature condition on nitrogen mineralization of organic matter and soil microbial community structure in non-volcanic ash soil", Korean J. Soil Sci. Fert., 45(3), pp. 377~384. (2012).
6. Kim, Y. S., Cho, S. H., Lee, T. S., Jeong, J. Y., An, J. Y., Song, H. Y. and Chung, Y. B., "Characteristics of composting of cow manure with Kimchi factory waste and effects on growth of lettuce by its application", J. of KORRA, 25(3), pp. 35~43. (2017).
7. Kim, Y. S., Kim, D. H. and Lee, G. J., "Physicochemical properties of a mixture of dried food waste powder with organic fertilizer and effects on the growth of major leafy vegetable", J. of KORRA, 27(4), pp. 5~12. (2019).
8. Ok, M., Seo, W. S., Bae, K. S., Kwon, O. C. Park, S. J. and Cho, Y. S., "Growth effect of tomato treated with *Bacillus* sp. WRD-1 cultures", Kor. J. Environ. Agric., 20(1), pp. 63~66. (2001).
9. Ma, K. Y., Kwark, S. N. and Lee, G. J., "Isolation and selection of antagonistic microbes for biological control of zoysiagrass large patch disease", Kor. J. Hort. Sci. Technol., 31(6), pp. 657~665. (2013).
10. Kim, Y. S., Ma, K. Y. and Lee, G. J., "Antagonistic mechanisms and culture conditions of isolated microbes applied for controlling large patch disease in zoysiagrass", Kor. J. Hort. Sci. Technol., 33(4), pp. 492~500. (2015).
11. Lee, S., Lee, J. and Won, J., "Effects of lettuce cultivation using optical fiber in closed plant factory", Protec. Hort. Plant Fac., 29(2), pp. 105~109. (2020).

12. Kim, M. G., Hwang, K. W., Hwang, E. J., Yoo, S. C. and Moon, J. K., "Absorption of soil residual azoxystrobin to lettuce", *J. Appl. Biol. Chem.*, 60(4), pp. 343~349. (2017).
13. Choi, S. Y., Yoon, M. H. and Whang, K. S., "Encapsulation of agro-probiotics for promoting viable cell activity", *Korean J. Soil Sci. Fert.*, 38(5), pp. 287~293. (2005).
14. NIAST, "Methods of soil chemical analysis", RDA. (1998).
15. An, N. H., Lee, S. M., Cho, J. R. and Lee, C. R., "Estimation of agricultural by-products and investigation on nutrient contents for alternatives of imported oil-cakes", *J. of KORRA*, 27(4), pp. 71~81. (2019).
16. Eo, J., Park, K. C. and Yeon, B. R., "Changes in soil biota affected by the application of organic materials in reclaimed upland and paddy-converted soils cultivated with Korea ginseng", *Kor. J. Soil Sci. Fert.*, 44(5), pp. 872~877. (2011)
17. Cho, G. W., Kim, Y. S., Ham, S. K., Bae, E. J., Lee, J. P., Kim, D. H., Kim, W. S. and Lee, G. J., "Microbial fertilizer containing *Lactobacillus fermentum* improved creeping bentgrass density", *Weed Turf. Sci.*, 6(4), pp. 322~332. (2017).
18. Daquiado, A. R., Kim, T. Y. and Lee, Y. B., "Microbial community structure of paddy soil under long-term fertilizer treatment using phospholipid fatty acid (PLFA) analysis", *Korean J. Soil Sci. Fert.*, 46(6), pp. 474~481. (2013).
19. Ko, E. S., Joung, J. A., Kim, C. H., Lee, S. H., Sa, T. M. and Choi, J. H., "Relationship between chemical property and microbial activity of reclaimed tidal lands at western coast area in Korea", *Kor. J. Soil Sci. Fert.*, 47(4), pp. 254~261. (2014).
20. Kim, Y. S., Lee, C. E., Ham, S. K. and Lee, G. J., "Growth of creeping bentgrass by application of compound fertilizer containing microbes", *Weed Turf. Sci.*, 5(1), pp. 42~50. (2016)
21. Kim, M. K., Ok, Y. S., Heo, J. Y., Choi, S. L., Lee, S. D., Shin, H. Y., Kim, J. H., Kim, H. R. and Lee, Y. H., "The relationship between microbial characteristics and glomalin concentrations of controlled horticultural soils in Gyeongnam province", *Kor. J. Soil Sci. Fert.*, 47(2), pp. 107~112. (2014).
22. Gadagi, R., Park, M. S., Lee, H. S., Seshadri, S., Chung, J. B. and Sa. T. M., "Beneficial roles of *Azospirillum* as potential bioinoculant for eco-friendly agriculture", *Korean J. Soil Sci. Fert.*, 36(5), pp. 290~303. (2003).
23. Kim, J. G., "Charaterization of endopeptidase of *Bacillus amyloliquefaciens* S94 by chemical modification", *Kor. J. Microbiol.*, 39(4), pp. 230~234. (2003)
24. Kang, S. C. and Kim, E. L., "Effect of additives on the conidial viability of *Aspergillus* sp. PS-104", *Kor. J. Environ. Agric.*, 26(1), pp. 77~84. (2007).
25. Kim, Y. S., Kim, T. S., Ham, S. K., Bang, S. W. and Lee, C. E., "The effect of compound fertilizer contained slow release nitrogen on turfgrass growth in Kentucky bluegrass and on nitrogen change in root zone", *Kor. Turfgrass Sci.*, 23(1), pp. 101~110. (2009).
26. Kim, Y. K., Hong, S. J., Jee, H. J., Shim, C. K., Park, J. H., Han, E. J., An, N. H., Lee, S. D. and Yoo, J. H., "Population dynamics of effective microorganisms in microbial pesticides and environmental-friendly organic materials according to storing period and temperature", *Kor. J. Pesticide Sci.*, 15(1), pp. 55~60. (2011).
27. Lee, J. J., Kim, Y. S., Ham, S. K., Lee, C. E. and Lee, G. J., "Growth and quality improvement of creeping bentgrass by two fertilizers containing *Trichoderma* species", *Weed Turf. Sci.*, 4(3), pp. 249~255. (2015).