

수종의 식물생장촉진 근권미생물의 분리 및 근권처리가 오이와 토마토 플러그묘의 초기생장에 미치는 영향¹

조자용* · 김광수 · 정순주
전남대학교 농과대학 원예학과

**Selection and Bacterialization into Rootzone of the Various Plant Growth Promoting
Rhizobacteria in Peatmoss Compost on the
Early Growth of Cucumber and Tomato Plug Seedlings**

Cho, J.Y. · Kim, K.S. · Chung, S.J.
Dept. of Horticulture, Chonnam Nat'l Univ., Kwangju 500-757, Korea
*corresponding author

ABSTRACT

Azospirillum sp., photosynthetic bacteria(*Rhodopseudomonas* sp.) and *Pseudomonas* sp. were separated and screened from soil and soilless culture, and identificated. The antifungal activities against root-infected pathogens and plant growth promoting effects of the cultured solution of the starins(5.0×10^5 cells/ml) in the peatmoss compost on the early growth of cucumber and tomato seedling were investigated. *Azospirillum* sp. and *Pseudomonas* sp. showed a antifungal activities against *Fusarium* sp., *Pythium* sp. and *Rhizoctonia* sp in the ranges of 51.0% to 72.0% on potato dextrose agar medium, however photosynthetic bacteria had not antifungal activities. When cultured solution of *Azospirillum* sp., photosynthetic bacteria and *Pseudomonas* sp. were bacterialized by mixing with peatmoss compost, early growth of cucumber and tomato in terms of plant height, number of leaves, leaf area, root length, fresh anf dry weight of leaf, stem and root were promoted, especially photosynthetic bacteria had a the best plant growth promoting activities.

¹ 본 연구는 1995년 한국학술진흥재단의 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

Key words : cucumber, tomato, seedlings, plant growth promoting rhizobacteria,
Azospirillum sp., photosynthetic bacteria, *Pseudomonas* sp.

I. 緒 言

현재, 원예분야에서 식물생장촉진 근원미생물(plant growth promoting rhizobacteria ; PGPR)의 이용성을 보면 보면 첫째, 입고병, 역병, 묘질록병 및 위조병 등의 뿌리전염성 병해에 대하여 항균작용을 갖는 길항성 미생물(Schippers 등¹⁴), 둘째, 광합성 세균 등과 같이 식물의 양수분 이용성을 높이거나 유용물질을 생산하여 식물에게 공급하므로 식물 생장을 촉진하는 미생물(小林⁵), 셋째, 미숙퇴비와 농업부산물 등의 발효성을 높여주는 발효촉진미생물(Krieg와 Holt⁸) 등이 주로 이용되고 있다. 그러나, 농가에서는 이와 같은 미생물제제의 종류와 사용이 차별화 되지 않음으로써 미생물제제의 이용에 따른 효과를 최대화하지 못하는 경우가 많다. 또한, 균주의 종류별 유용작용과 활성유지가 부족하므로 이에 대한 많은 연구가 필요한 실정이다.

그러므로 본 연구에서는 질소고정과 길항작용을 갖는 *Azospirillum* sp.(Kapulnik 등²), 광합성물질 및 다양한 생리활성물질을 생산하는 광합성세균(小林³), siderophores와 살균성 단백질 등을 생산하여 뿌리전염성 병해에 대하여 항균작용을 갖고 토양내 불용성 인을 용인화하여 뿌리에 공급하는 능력이 우수한 것으로 보고된 *Pseudomonas* sp.(Lifshitz 등¹⁰) 등을 자연계에서 분리 및 동정하였으며, 오이와 토마토를 육묘하는 용토에 균주 배양액을 혼입처리하여 식물생장촉진효과를 구명하므로 향후 공정육묘와 고형배지경을 이용한 양액재배시 유용미생물을 이용한 환경친화적 농업개발의 기초자료로 활용하고자 시하였다.

II. 材料 및 方法

본 실험은 전남대학교 농과대학 원예학과 시설원예실험포에서 '서광'토마토(*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Seokwang ; 홍농종묘)와 '겨우살이청장오이'(*Cucumis sativus* L. : 홍농종묘)를 공시하여 1997년 1월부터 8월까지 수행하였다. 종자는 27°C의 항온기에서 최아시켜 피트모스 혼합배지를 충진한 50cm 트레이에 2월 15일 파종하였다. 본엽이 전개된 후 와그너 풋트(W15cm×H15cm)에 이식하여 山崎處方(山崎¹⁶) 1/3농도로 양액육묘하였고, 양액공급은 1/3HP 펌프와 타이머 및 스프링클러를 이용하여 두상살수로 공급하였다.

Table 1. Physio-chemical and biological properties of the compost used in this experiment.

Characters	Properties	
Physical aspects	Mixture ratio(%)	Peatmoss : decompost sawdust : perlite = 60 : 20 : 20(v/v)
	Pv(%)	76.41
	E(%)	80.94
Chemical aspects	pH(1:5 H ₂ O)	6.31
	EC(mS/cm)	0.75
	C.E.C.(me/100g)	16.8
	Exch.(mg/l) N	239
	P	497
	K	261
	Ca	242
	Mg	480
Biological aspects	NA media(c.f.u.) ^y	6.1×10^{4z}
	PDA media(c.f.u.)	5.0×10^4
	DCA media(c.f.u.)	7.6×10^2

^z Total number of rhizosphere microorganisms on selective solid media were obtained on 3. Mar, 1997.

^y NA, PDA and DCA media represent nutrient agar(NA), potato dextrose agar(PDA) and deoxycholate agar(DCA) medium, respectively.

Azospirillum sp., 광합성세균 및 *Pseudomonas* sp. 등의 균주를 육묘용토에 혼입처리하기 전에 상토내 물리화학 및 생물학적 특성을 조사하였다. 오이와 토마토 육묘를 위한 피트모스 혼합배지내 pH와 EC는 풍건한 배지 5g에 증류수 25ml을 가하고 1시간 동안 방치후 pH meter와 EC meter로 측정하였다. 또한, 배지의 물리화학적 특성을 조사하기 위하여 전공극율(E)과 보수력(Pv) 등을 측정하였다(Association of Official Chemists¹). 상토내 균권미생물상의 조사는 상토 10g을 취하여 멸균 증류수 100ml에 넣고 진탕배양(125 stroke, 30min.)한 후 멸균생리식염수로 적정 농도로 희석후 각 선택배지에 12~72시간 정도 배양하여 생장한 미생물을 계수하므로 측정하였다(韓國微生物學會⁷). Nutrient agar(NA) 배지(32°C 배양)는 총균수, potato dextrose agar(PDA) 배지(25°C 배양)는 곰팡이 및 효모류, deoxycholate agar(DCA) 배지(28°C 배양)는 대장균류의 측정에 이용하였다. 균주의 육묘용토내 혼입처리를 실시하기 전에 상토내 물리화학 및 생물학적 특성을 측정한 결과는 표 1과 같다.

토양재배 및 고형배지경을 이용한 양액재배에서 본 실험에 이용한 유용균주의 분리, 선발 및 동정 등은 그림 1과 같이 실시하였다.

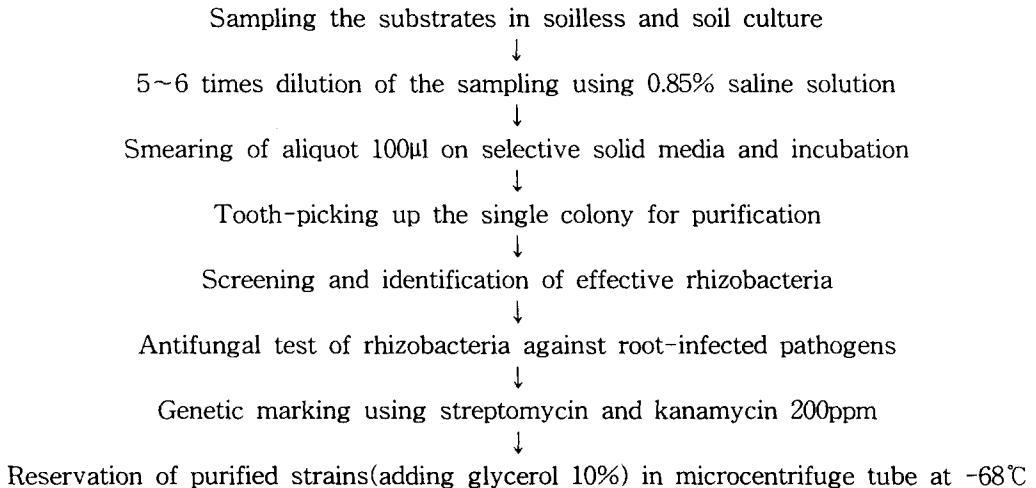


Fig. 1. Screening, selection and identification of effective rhizobacteria in this experiment

토양재배 및 양액재배에서 채취한 고형배지 샘플을 0.85% 생리식염수로 5~6배 정도 희석한 후, 혼탁액 100μl 정도를 영양한천배지 등의 고형배지에 도말접종하였다. 25~35°C에서 12~72시간 정도 배양하였으며, 배지상에 나타난 단일 콜로니를 순수분리한 후 균주의 유용물질생산, 뿌리전염성 병해에 대한 항균작용, Biolog system 등을 이용하여 유용균주의 선발 및 동정을 실시하였다. 최종선발된 유용균주는 streptomycin과 kanamycin 200ppm을 첨가하여 항생제 내성균주를 개발하였으며, 대량증식한 후 glycerol 10%를 첨가하여 -68°C에서 보관하며 사용하였다(韓國微生物學會⁷)。

본 실험에서 Bergey's manual과 Biolog system 등을 기초로 동정(Krieg와 Holt⁸)하여 최종적으로 *Azospirillum* sp., 광합성세균 및 *Pseudomonas* sp. 등 3종류의 균주를 선발 및 동정하였으며, 이들 균주의 대량증식에 필요한 배양온도 및 배지의 조성은 표 2와 같다.

각 균주는 5.0×10^5 cells/ml의 농도로 희석한 500ml의 균주배양액을 500g의 피트모스 혼합배지와 혼입처리하여 50공 트레이에 담아 종자를 파종하였다. 각 균주는 kanamycin과 streptomycin에 대한 항생제 내성주를 개발하여 상토내에 처리하였으며, 상토내 균주의 밀도변화는 상토 혼탁액을 0.85% 생리식염수로 적정농도로 희석하여 kanamycin과 streptomycin이 각각 200ppm 정도 함유된 선택배지에 도말접종하여 배양한 후 평판배지상에 나타난 콜로니 수를 계수하므로 측정하였다.

Table 2. Compositions of cultural broth for the culture of strains used in this experiment.

Strains	Cultural temperature(°C)	Compositions(g/l)
<i>Azospirillum</i> sp.	30	Proteose peptone No. 3 10g, yeast extract 5g, dextrose 1g, sodium chloride 5g, thiol complex 6g
Photosynthetic bacteria (<i>Rhodopseudomonas</i> sp.)	30~35	KH ₂ PO ₄ 0.5g, MgSO ₄ · 7H ₂ O 0.2g, NaCl 0.5g, CaCl ₂ · 2H ₂ O 0.05g, Na-lactate 1g, yeast extract 0.2g, nitrogen gas 5%
<i>Pseudomonas</i> sp.	26	Proteose-peptone No. 3 20g, glycerol 10g, K ₂ HPO ₄ 1.5g, MgSO ₄ · 7H ₂ O 1.5g

처리구별 생육조사는 균주처리후 53일에 초장, 경경, 엽수, 엽면적, 주근장, 각 기관별 생체중 및 건물중 등을 조사하였다. 엽면적은 Delta-T area meter(CB 3535, CBS OEJ, U.K.)로 측정하였고, 건물중은 80°C의 dry oven에서 24~48시간 정도 건조시킨 후 정량하였다.

III. 結果 및 考察

표 3은 최종적으로 분리 및 동정을 실시한 세가지 균주를 공시하여 양액재배에서 피해가 많은 위조병, 입고병 및 묘잘록병 등에 대한 항균력을 실험한 결과이다.

Table 3. Antifungal activities and the main properties of strains used in this experiment. Inhibition effects of rhizobacteria against root-infected pathogens on potato dextrose agar medium were measured at 24~72 hours after incubation(25°C).

Characters Rhizobacteria	Main properties	Antifungal activities(%) ²			
		<i>Fusarium lycopersici</i>	<i>Fusarium cucumberum</i>	<i>Pythium</i> sp.	<i>Rhizoctonia</i> sp.
<i>Azospirillum</i> sp.	Nitrogen fixation and antifungal activity	71.0	72.0	65.3	67.1
Photosynthetic bacteria	Production of photosynthetic materials	0	0	0	0
<i>Pseudomonas</i> sp.	Production of siderophores	51.0	53.0	56.1	59.1

² Antifungal activities(%) = $\frac{\text{Dia.(mm) of antagonistic rhizobacteria}}{\text{Dia.(mm) of root-infected pathogens}} \times 100$

균주의 종류별 주요 특성을 보면 *Azospirillum* sp.는 질소를 고정하여 식물에 공급하는 능력이 있고, 뿌리전염성 병해에 대하여 길항작용을 갖는 것으로 보고되고 있다(Okon 등¹³). 광합성세균은 지금까지는 주로 폐수처리에 이용되어 왔는데(小林⁴, Kobayashi와 Nakanishi⁶), 세균으로서 유기물 및 무기물배지를 이용하여 다양한 광합성산물 및 생리활성 물질을 식물에게 공급하는 것으로 보여진다(羅等¹²). 또한, *Pseudomonas* sp.는 Fe에 대한 친화력이 강한 siderophores를 생산하여 뿌리전염성 병해가 철을 이용하지 못하게 함으로써 병해를 예방할 뿐만아니라 살균성 단백질 및 많은 종류의 길항물질을 생산하여 병해를 방제하고 식물의 생장을 촉진하는 것으로 보고되고 있다(Lesinger와 Margraff⁹, Lynch¹¹). 또한, 토양재배에서는 불용성 인을 용인화하여 뿌리가 이용하기 쉽게 하므로써 식물의 양수분 이용성을 향상시킨다(Lesinger와 Margraff⁹). 이러한 유용균주가 입고병, 묘잘록병 및 위조병 등에 미치는 영향을 보면 *Azospirillum* sp.와 *Pseudomonas* sp.는 51.0~71.0% 정도의 항균작용을 보였으나, 광합성세균은 항균작용을 보이지 않는 것으로 나타났다. 광합성세균은 길항성세균과의 세포융합 또는 유전자 조작 등을 통한 항균성세균으로의 개발 등이 필요하다고 생각되었다. 본 실험에서 분리 및 동정한 3종류의 균주 중에서 항균작용이 가장 좋은 균주는 *Azospirillum* sp.인 것으로 나타났다. 현재 우리나라에서 농업에서 이용되는 유용균주를 보면 주로 *Bacillus* sp.와 *Pseudomonas* sp.가 가장 많은 것으로 보이는데, 질소를 고정하여 식물에 공급하고 뿌리전염성 병해에 대하여 항균작용을 갖는 *Azospirillum* sp.의 도입 및 개발도 필요하다고 생각된다(Okon 등¹³). 또한, 현재의 유용균주의 부리 및 개발을 보면 주로 뿌리전염성 병원균에 대한 항균작용을 기초로 하여 분리되고 이에 대한 균주를 많이 이용하고 있는 실정이다(Lynch¹¹). 그러나, 식물에게 양수분 이용성을 높이고 식물에게 유용물질을 직접적으로 공급하는 측면에서 유용균주의 개발 및 이용이 부족하므로, 이러한 측면에서 광합성세균을 이용하여 광합성물질 뿐만아니라 다양한 생리활성물질을 직접적으로 식물에게 공급하여 식물의 생장을 촉진시키는 측면의 연구가 필요하다고 생각되었다(羅等¹²).

표 4는 식물생장촉진 균권미생물이 '겨우살이청장오이'의 유묘생장에 미치는 영향을 파종후 53일에 측정한 결과이다.

균주처리후 53일의 처리구별 총균수를 보면 대조구의 경우 3.7×10^5 c.f.u./g으로 나타났으며, 광합성세균 처리구는 9.1×10^9 c.f.u./g, *Pseudomonas* sp.는 4.8×10^7 c.f.u./g, *Azospirillum* sp.는 6.2×10^8 c.f.u./g인 것으로 나타났다. 균주를 처리하지 않은 상토내에서도 다수의 총균수가 확인되었으며, 균주를 육묘용토에 혼입처리한 경우에는 대도구에 비해 더 많은 균권미생물이 입식하고 있는 것으로 보였다.

균주처리에 따른 오이유묘의 생장반응을 보면 전반적으로 광합성세균과 *Azospirillum* sp.의 육묘용토내 혼입처리시에는 대조구에 비하여 유묘의 생장촉진이 확인되었으며, *Pseudomonas* sp.의 처리시에는 대조구와 거의 유사한 정도의 생장반응을 보이는 것으로 나타났다. 초장의 경우 광합성세균 처리구에서 대조구에 비해 약 8cm 정도 더 길었으며, 엽수도 약 2배 정도 더 많았다. T/R율을 보면 균주처리시에 지상부의 생장이 더 많이

촉진되는 것으로 나타났다. 총건물중을 기초로 하여 광합성세균처리시에 총건물중이 약 2배 정도로 더 많은 것을 알 수 있었다.

Table 4. Growth characteristics of cucumber seedlings as affected by the bacterialization of various plant growth promoting rhizobacteria in the compost at 53 days after sowing.

Characters Rhizobacteria	Plant ht. (cm)	No. of leaves	Stem dia. (mm)	Leaf area (cm ²)	Root length (cm)	T/R ratio	DW/FW (%)	Total No. of rhizobacteria (c.f.u./g) ^v
Control	35.1b ^z	8.0b	6.76b	572.1b	19.5b	3.61b	5.82b	3.7×10^5
Characters	Fresh wt.(g/plant)				Dry wt.(g/plant)			
Rhizobacteria	Leaf	Stem	Root	Total	Leaf	Stem	Root	Total
Control	18.6b	9.1b	8.7b	36.4b	1.12b	0.54b	0.46b	2.12b
Photosynthetic bacteria	23.4a	12.1a	9.4a	44.9a	2.56a	0.81a	0.83a	4.20a
<i>Pseudomonas</i> sp.	18.8b	9.7b	8.6b	37.1b	1.23b	0.58b	0.50b	2.31b
<i>Azospirillum</i> sp.	22.0a	11.6a	9.1a	42.7a	1.91b	0.61ab	0.59b	3.11ab

^z Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

^v Total colonies of rhizobacteria bacterialized in peatmoss compost was measured after 5~6 times dilution of substrates using 0.85% saline solution on selective solid agar medium.

위와 같은 결과를 종합적으로 볼 때 광합성세균과 *Azospirillum* sp.는 오이 유묘의 생장을 촉진시켰으며, 특히, 광합성세균은 식물생장촉진 균권미생물로서 좋은 가능성은 보여 앞으로 공정육묘 및 양액재배로의 이용가능성이 높은 것으로 생각되었다(Kapulnik 등²).

본 실험에서 분리한 식물생장촉진 균권미생물이 토마토 플러그묘의 초기생장에 미치는 영향을 균주처리후 53일에 측정한 결과는 표 5와 같다.

균주의 육묘용토내 혼입처리에 따른 토마토의 유묘생장을 보면 전반적으로 광합성세균 > *Azospirillum* sp. > *Pseudomonas* sp. = 대조구 등의 순으로 나타났다. 균주처리에 따른 처리구간 토마토 유묘의 생장차이는 오이에 비하여 적은 것으로 보였다. 광합성세균은 오이와 토마토 유묘의 생장을 모두 촉진하는 것으로 보인 반면, *Azospirillum* sp.는 오이유묘의 생장은 현저히 촉진 시킨 반면, 토마토 유묘의 생장촉진에 미치는 영향은 적은 것으로 나타났다. 균주의 육묘용토내 혼입처리에 따른 작물의 생장반응은 작물의 종류에 따라서 다르게 나타날 수 있을 것으로도 생각되지만 균주의 종류 및 처리농도 역시 작물의 생장에 많은 영향을 미칠것으로 생각되어 앞으로 이에 관한 연구가 심도있게 진

행되어야 할 필요성이 있는 것으로 생각되었다. 또한, 이러한 유용균주를 공정육묘과 양액재배에 도입하여 식물의 생장을 촉진하고, 뿌리전염성 병해에 대하여 항균작용 및 내병성 등을 갖게 하는 환경친화적 농업의 개발이 요구되었다(van Peer와 Schippers¹⁵).

Table 5. Growth characteristics of tomato seedlings as affected by the bacterialization of various plant growth promoting rhizobacteria in the compost at 53 days after sowing.

Characters Rhizobacteria	Plant ht. (cm)	No. of leaves	Stem dia. (mm)	Leaf area (cm ²)	Root length (cm)	T/R ratio	DW/FW (%)	Total No. of rhizobacteria (c.f.u./g) ^y
Control	15.9bz	8.0b	5.71b	191.1b	10.4b	3.76	6.89b	4.2×10^5
Characters	Fresh wt.(g/plant)				Dry wt.(g/plant)			
Rhizobacteria	Leaf	Stem	Root	Total	Leaf	Stem	Root	Total
Control	7.08b	2.75b	1.92b	11.75b	0.53b	0.11b	0.17b	0.81b
Photosynthetic bacteria	11.27a	4.90a	2.86a	19.03a	0.91a	0.22a	0.29a	1.42a
<i>Pseudomonas</i> sp.	8.06b	2.88b	1.99b	12.93b	0.62b	0.14b	0.19b	0.95b
<i>Azospirillum</i> sp.	8.17b	3.41ab	1.82b	13.40b	0.57b	0.15b	0.20b	0.92b

^z Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

^y Total colonies of rhizobacteria bacterialized in peatmoss compost was measured after 5~6 times dilution of substrates using 0.85% saline solution on selective solid agar medium.

IV. 摘 要

Azospirillum sp., 광합성세균(*Rhodopseudomonas* sp.) 및 *Pseudomonas* sp. 등을 자연계에서 분리하여 동정하였으며, 육묘용토에 각각 5.0×10^5 c.f.u./ml의 농도로 육묘용토에 혼입하여 오이와 토마토 플러그묘의 초기생장에 미치는 영향을 측정하였다. 위조병, 입고병 및 묘질록병 등과 같은 뿌리전염성 병원균에 대하여 *Azospirillum* sp.와 *Pseudomonas* sp.는 감자한천배지에서 51.0~72.0% 정도의 생장억제력을 보였으나, 광합성세균은 항균력은 없었다. 육묘용토에 혼입처리시 *Azospirillum* sp., 광합성세균 및 *Pseudomonas* sp. 등은 오이와 토마토의 초장, 엽수, 엽면적, 주근장, 엽·경·근생체중 및 건물중 등의 유묘생장을 촉진하였는데, 광합성세균에 의한 식물생장촉진효과가 가장

높았다.

주요어 : 오이, 토마토, 유묘, 식물생장촉진 균권미생물, *Azospirillum* sp., 광합성세균, *Pseudomonas* sp.

引用文獻

1. Association of Official Chemists. 1980. Official methods of Analysis. 13th ed. Sec. pp.86-100.
2. Kapulnik, Y., R. Gafny. and Y. Okon. 1983. Effect of *Azospirillum* spp. inoculation on root development and NO_3^- uptake in wheat(*Triticum aestivum* cv. Miriam) in hydroponic system. Can. J. Bot. 63:627-631.
3. 小林達治, 1968. 光合成細菌-その“生態”と窒素固定を中心として-, 生物科學 20(2):63-70.
4. 小林達治, 1981. 土の微生物 : 光合成微生物を利用しての廃水處理, 土壤微生物研究會編, 博友社, p.421.
5. 小林達治, 1992. 有機營養栽培論, ハイドロポニックス 6(1):40-45.
6. Kobayashi, M., H. Nakanishi. 1970. Purification of waste water by photosynthetic bacteria and utilization of by-products(1). *ibid.* 41:129-132.
7. 韓國微生物學會, 1987. 微生物學實驗, 아카데미서적, pp.115-120.
8. Krieg, N.R. and J.C. Holt. 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology, Williams and Wilkins, Baltmor. pp.215-232.
9. Lesinger, T. and R. Margraff. 1979. Secondary metabolites of the fluorescent pseudomonads. Microbiol. Rev. 43:422-442.
10. Lifshitz, R., J.W. Kloepper., M. Kozlowski., C. Simonson., J. Carlson., E.M. Tipping. and I. Zaleska. 1987. Growth promotion of canola(rapeseed) seedling by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. Can. J. Microbiol. 33:390-395.
11. Lynch, J.M. 1982. Interaction between bacteria and plants in the root environment. Soil. Appl. Bacteriol. Symp. Ser. 10:1-23.
12. 羅光出·趙自容·鄭淳柱, 1997. 光合成細菌 培養液의 床土內 混入處理가 토마토 플러그묘의 幼苗生長에 미치는 影響, 韓國有機農業學會誌 5(2):115.
13. Okon, Y., E. Fallik., S. Sarig., E. Yahalom. and S. Tal. 1988. Plant growth promoting effects of *Azospirillum*. In Nitrogen Fixation. Gustav Fischer, Stuttgart, West Germany, pp.741-746.

14. Schippers, B., A.W. Bakker. and P.A.H.M. Bakker. 1987. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Annu. Rev. Phytopathol.* 25:339-358.
15. van Peer, R. and B. Schippers. 1989. Plant growth responses to bacterization with selected *Pseudomonas* spp. strains and rhizosphere microbial development in hydroponic cultures. *Can. J. Microbiol.* 35:456-463.
16. 山崎 育哉, 1979. 養液栽培全篇, 博友社, pp.34-49.