

# Bacillus속이 Alfalfa(*Medicago sativa* L.)의 생장에 미치는 영향

최기춘 · 윤 참\* · 전우복

## Effects of *Bacillus* spp. on Growth of Alfalfa (*Medicago sativa* L.)

Ki-Chun Choi, Chang Youn\* and Woo-Bock Chun

### Summary

This study was conducted to investigate the effects of antagonistic microorganisms, *Bacillus* spp., on growth of alfalfa(*Medicago sativa* L.) in repeated cultivation soil(RCS) and unrepeated cultivation soil(URCS). Alfalfa was established by seeding into pots 12 cm in diameter and 9 cm in depth containing 1 : 1 mixture of soil and vermiculite with antagonistic bacteria and pathogenic fungi. The growth experiment of alfalfa was conducted in pots in a vinyl house. The bacteria used in this study were *Bacillus subtilis* and fusants. *B. subtilis* was isolated and identified from forage rhizosphere soil and fusants isolated through cell fusion from *B. subtilis* 101 and *B. thuringiensis*. *B. subtilis* was named *B. subtilis* 101 and fusants named *F-3* and *F-8*. From dark culture experiment, alfalfa was longer lived in treated soil with antagonistic bacteria than that in non-treated soil, and longer lived in URCS than that in RCS. However, alfalfa was shorter lived in RCS and URCS than that in autoclaved RCS. The number of leaves of alfalfa were positively affected by the inoculation of the antagonistic bacteria in both RCS and URCS. Dry weight of shoot and root was increased by the inoculation of the antagonistic bacteria(P<0.05). However, the growth of alfalfa was decreased by the inoculation of the pathogenic fungi both RCS and URCS.

(Key words: *Bacillus subtilis*, growth, alfalfa, repeated cultivation soil)

### I. 서 론

오늘날 젖소사양기술 및 육종의 발달로 연산유량이 약 7,000~1,000kg 이상으로 향상됨에 따라 양질의 조사료 생산시책을 마련해야 한다는 주장이 대두되어 사초생산성 증대 및 영양적분야에 많은 관심을 가지게 되었다.

Alfalfa(*Medicago sativa* L.)는 예취 또는 방목으로 이용되며 일반목초에 비하여 사료가치(조단백질 21% 이상, TDN 60% 이상, RFV 150 이상)가 높고 기호성이 우수하며 근류균과 공생하여 토양과 대기중의 질소를 고정하는 생리적 특성이 있기 때문에 많은 재배적 장점을 가지고 있다. 이처럼 alfalfa의 우수성에도 불구하고 우리나라는 거의 대부분을 건조,

전남대학교 농과대학(College of Agriculture, Chonnam National University, Kwangju, 500-757, Korea).

\* 이리농공전문대학(Dept. of Livestock Industry, Iri National College of Agriculture and Technology, Iri 570-110, Korea).

큐브, 펠렛형태로 수입에 의존하고 있는데 2000년도 가 되면 alfalfa의 수입물량은 현재(11만 5천톤)보다 약 2.43배 많은 약 28만톤이 될거라고 관련 연구자들은 추정하고 있다. 그러나 국내 축산업을 선진축산으로 발전시키기 위해서는 양질의 조사료 증산계획을 마련해야 하고 특히 수입조사료의 의존도를 낮추고 자급기반을 마련함으로써 국내 축산업을 건전하게 유지 발전시킬 수 있다고 축산관계자들은 언급하고 있는 실정이다.

이제까지 목초재배기술의 발달과 화학비료의 사용은 목초의 양적증가를 가져 왔으나 이들 목초의 계속적인 재배와 다량의 화학비료 사용은 토양의 물리·화학적 악화, 토양전염성 병원균의 증가 등 토양환경을 변화시켜 목초의 생육에 좋지 않은 영향을 주고 있다. 특히 토양병원성 사상균은 토양에 장기간 생존하며 작물에 피해를 주기 때문에 그 방제가 매우 어려운데 특히 *Phytophthora* 속, *Phoma* 속, *Pythium* 속, *Fusarium* 속 및 *Rhizoctonia solani*는 alfalfa의 뿌리, 관부 및 줄기에 병해를 일으키기 때문에 alfalfa의 유식물 생장에 불리하게 할 뿐아니라 수량 손실을 초래한다고 하였다(김 등, 1991). 이처럼 토양병원성 사상균에 대한 방제가 매우 어렵기 때문에 Handelsman 등(1990), Rothrock와 Gottlieb (1981)는 목초병해를 일으키는 토양병원균을 효율적으로 방제하기 위해 근권미생물을 이용한 생물학적 방제방법을 시도했다.

근래에는 토양병원균 활성을 감소시키고 작물의 생육을 촉진하는 미생물에 관한 연구에 많은 관심이 이루어지고 있는데(Phae, 1992; Tuner와 Bakman, 1991; Handelsman 등, 1990; Kloepper와 Schroth, 1981), 이러한 미생물을 이용하면 토양 생태계의 균형유지, 목초 병해방제 등 토양환경의 변화를 최소화시킴으로써 조사료 생산을 증대시킬 수 있을 것으로 기대된다.

따라서 본 연구는 목초병해를 일으키는 토양전염성 사상균에 길항작용을 가지고 있고 목초의 생육을

촉진하는 것으로 알려져 있는 *B. subtilis*를 목초의 근권에서 직접 분리하여 alfalfa의 생장에 미치는 효과를 구명하기 위하여 실시하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 공시균주

목초병해를 일으키는 토양전염성 사상균인 *R. solani*와 *F. oxysporum*에 길항작용을 가지고 있고 목초의 생육을 촉진하는 것으로 알려져 있는 미생물을 목초 연작토양의 근권토양에서 직접 분리하여 The prokaryotes(Starr 등, 1981), Bergey's manual of systematic bacteriology(Krieg와 Holt, 1984), microbiological method(Collins와 Lyne, 1984)에 기술된 방법에 따라 형태 및 생리·생화학적 성질을 조사한 결과 *Bacillus subtilis* (*B. subtilis* 101)로 동정하였으며 또한 이 균주를 이용하여 융합균주(*B. subtilis* 101 × *B. thuringiensis*)인 F-3과 F-8을 분리한 다음 본 시험의 공시균주로 이용하였다(Choi 등, 1995). 그리고 병원성사상균인 *R. solani*와 *F. oxysporum*은 농업과학기술원에서 분양받아 이용하였다.

### 2. 암소배양

암소배양은鈴木 등(1971)의 방법에 따라 실시하였다. 즉, 500ml tall beaker에 각각 alfalfa 연작, 비연작 및 연작 멸균토양 30g을 넣고 공시균주를  $1 \times 10^8$  CFU/g dry soil 수준으로 각각 접종한 후 수분함량이 최대 용수량의 45%로 조절한 다음, 살균 처리한 목초종자 30립씩을 파종하고 25℃의 incubator에서 암소 배양하여 고사주수를 경시적으로 관찰하였다. 살균종자는 미지근한 멸균수에 20분 안 침지시킨 후 70% ethanol로 약 3분간 처리하고 다시 0.1% HgCl<sub>2</sub> 용액으로 3 분간 처리한 다음 멸균수로 수회 세척하여 준비하였다.

### 3. 생육시험 및 재배관리

본 시험은 alfalfa 'Vernal' 을 이용하여 전남대학교 농과대학 부속동물 사육장 시험포장내 vinyl house에서 pot(직경 11cm, 높이 9cm)로 수행하였으며, 시험토양은 alfalfa 연작 및 비연작지의 양토와 vermiculite를 각각 1/2씩 혼합하여 사용하였다. Alfalfa 종자는 pot당 20~30입씩 점파하고 유식물이 정착한 후 3회에 걸쳐 솟아 내어 pot당 5개체씩 가꾸어 조사하였으며 수시로 제초작업을 하였고, 관수는 시험초기에 토양내에 수분함량이 최대 용수량의 45%가 되게 계산하여 pot중량을 측정 한 후 수분이 부족하지 않도록 하였다. 그리고 파종당일, 파종후 25일과 50일에 길항미생물과 병원성사상균을 pot에 각각  $1 \times 10^8$  CFU/g dry soil 및  $1 \times 10^7$  CFU/g dry soil 수준으로 접종하였으며, 파종후 36, 46, 56 및 66일에 초장, 엽수, 분얼경 및 지상부와 지하부의 건물중을 조사하였다. 연작토양은 약 5~6년 동안 계속

해서 alfalfa를 재배했던 토양을 이용하였고, 비연작 토양은 목초를 전혀 재배하지 않는 일반 산지토양을 이용하였다.

### 4. 통계처리

본 시험에서 얻은 모든 결과는 SPSS/PC\* 통계 package를 이용하여 유의성을 검정하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 암소배양

Table 1은 alfalfa의 암소배양 결과를 나타낸 것으로 연작 및 비연작 토양에서 길항미생물 접종구는 무접종구보다 생육기간이 연장되었으며 특히 무접종구에서는 시험초기부터 alfalfa의 고사주수의 발생이 현저하게 관찰되었다. 연작 및 비연작 토양과는 달리 모든 접종구에서 비슷

Table 1. Inoculation effects of antagonistic microorganisms on autolysis of alfalfa in the dark culture.

Soil treatment	Bacteria inoculated	Percentage of autolyzed alfalfa on days after sowing														
		4	6	8	10	12	14	16	18	---	28	30	32	34	36	38
Repeated cultivation soil(RCS)	Control	50	83	100												
	<i>B. subtilis</i>	68	78	98	100											
	<i>F-3</i>	53	74	95	100											
	<i>F-8</i>	64	83	96	100											
Unrepeated cultivation soil(URCS)	Control			38	63	84	95	100								
	<i>B. subtilis</i>			12	32	62	85	90	100							
	<i>F-3</i>			20	34	78	85	96	100							
	<i>F-8</i>			21	31	42	84	95	100							
Autoclaved RCS	Control									28	42	69	76	88	100	
	<i>B. subtilis</i>									18	24	45	63	83	100	
	<i>F-3</i>									11	28	57	66	83	100	
	<i>F-8</i>									10	28	36	59	77	100	

한 생육현상을 보였으며 길항미생물 접종구간에는 생육기간의 연장효과는 나타나지 않았다. 그리고 연작, 비연작 및 연작 멸균토양에서 길항미생물 접종구는 무접종구보다 시간이 경과됨에 따라 고사주수의 발생빈도가 낮아지는 경향을 나타냈다. 토양간의 생육기간을 비교해 보면 연작, 비연작 및 연작 멸균 토양간에 생육기간의 차이가 발생하였는데, 비연작 토양은 연작토양보다 목초의 생육기간이 약 4일 이상, 연작멸균 토양에서는 연작 및 비연작 토양보다

생육기간이 약 10일 이상 연장되었다.

이상의 암소배양의 결과를 요약해 보면 연작, 비연작 및 연작 멸균토양에 길항미생물을 접종함으로써 alfalfa 생육이 연장됨을 알 수 있었으며, 토양간의 생육기간을 비교해 보면 연작토양 < 비연작토양 < 연작멸균토양 순으로 생육기간이 연장되었는데 이러한 현상은 토양내에 유해물질 및 목초 전염성 병원균 등의 증가로 인하여 목초생육에 좋지 않은 영향을 미친데 기인된 것으로 생각되며, 길항미생물

Table 2. Effects of antagonistic microorganisms and pathogenic fungi on growth of alfalfa at 36 days after sowing.

Treatment	Plant height (cm)	No. of leaves (5 plants)	Dry weight (g/5 plants)	
			Shoot	Root
..... Repeated cultivation soil .....				
Control <sup>1)</sup>	4.99 ± 0.17b	3.41 ± 0.10c	0.0436 ± 0.004b	0.0341 ± 0.001b
<i>B. subtilis</i>	5.85 ± 0.16a	4.48 ± 0.13a	0.0654 ± 0.002a	0.0425 ± 0.002a
<i>F</i> - 3	5.70 ± 0.13a	4.03 ± 0.13b	0.0640 ± 0.003a	0.0425 ± 0.002a
<i>F</i> - 8	5.68 ± 0.11a	4.11 ± 0.17ab	0.0651 ± 0.004a	0.0447 ± 0.004a
None <sup>2)</sup>	5.84 ± 0.12a	4.29 ± 0.13a	0.0679 ± 0.003a	0.0466 ± 0.002a
<i>R. solani</i>	5.30 ± 0.11b	3.84 ± 0.11b	0.0528 ± 0.003b	0.0366 ± 0.002b
<i>F. oxysporum</i>	5.47 ± 0.12b	3.74 ± 0.09b	0.0548 ± 0.003b	0.0378 ± 0.001b
..... Unrepeated cultivation soil .....				
Control <sup>1)</sup>	7.81 ± 0.17b	5.30 ± 0.23b	0.0773 ± 0.009b	0.0284 ± 0.002b
<i>B. subtilis</i>	9.62 ± 0.17a	8.19 ± 0.23a	0.1722 ± 0.013a	0.0464 ± 0.002a
<i>F</i> - 3	9.28 ± 0.21a	7.89 ± 0.19a	0.1519 ± 0.010a	0.0424 ± 0.002a
<i>F</i> - 8	9.42 ± 0.24a	8.00 ± 0.26a	0.1676 ± 0.013a	0.0446 ± 0.002a
None <sup>2)</sup>	9.48 ± 0.20a	7.87 ± 0.22a	0.1839 ± 0.011a	0.0469 ± 0.002a
<i>R. solani</i>	8.89 ± 0.18b	6.98 ± 0.24b	0.1273 ± 0.009b	0.0380 ± 0.002b
<i>F. oxysporum</i>	8.74 ± 0.16b	7.11 ± 0.23b	0.1150 ± 0.009b	0.0366 ± 0.002b

<sup>1)</sup> Inoculated with pathogenic fungi(*R. solani* and *F. oxysporum*).

<sup>2)</sup> inoculated with antagonistic bacteria(*B. subtilis*, *F* - 3 and *F* - 8)

a,b and c: Values with different letters in the same column are significantly different(p < 0.05).

접종구는 무접종구에 비해 2일 이상의 생육연장 효과가 관찰되었는데 이는 길항미생물이 목초근권에 증식능이 우수하고 병원성 사상균의 증식을 억제하여 목초생육을 촉진시키는데 기인한 것으로 생각된다.

## 2. 초 장

초장은 파종 후 36일, 46일 56일 및 66일에 각각 조사하였는데(Table 1, 2, 3 및 4), 연작 및 비연작

토양에서 시험기간동안 길항미생물 접종구는 무접종구보다 현저하게 증가하였다( $p < 0.05$ ). 그러나 길항미생물 접종구간에는 차이가 나타나지 않았다. 병원성 사상균 접종구의 초장은 대조구보다 현저하게 감소하였으나( $p < 0.05$ ) 병원성 사상균 접종구간에는 차이가 나타나지 않았다.

시험기간 동안 토양처리간의 초장을 비교해 보면 비연작 토양에서 재배된 alfalfa의 초장은 연작토양보다 약 3cm 이상 증가하였으며 길항미생물 접종효

Table 3. Effects of antagonistic microorganisms and pathogenic fungi on growth of alfalfa at 46 days after sowing.

Treatment	Plant height (cm)	No. of leaves (5 plants)	Dry weight(g/5 plants)	
			Shoot	Root
..... Repeated cultivation soil .....				
Control <sup>1)</sup>	6.27 ± 0.16c	5.26 ± 0.17b	0.1024 ± 0.007b	0.0517 ± 0.003b
<i>B. subtilis</i>	8.33 ± 0.23a	7.33 ± 0.29a	0.1519 ± 0.010a	0.0798 ± 0.005a
<i>F - 3</i>	7.86 ± 0.26ab	6.85 ± 0.22a	0.1320 ± 0.012a	0.0732 ± 0.004a
<i>F - 8</i>	7.74 ± 0.22b	6.93 ± 0.24a	0.1397 ± 0.011a	0.0748 ± 0.004a
None <sup>2)</sup>	7.98 ± 0.22a	6.93 ± 0.24a	0.1669 ± 0.006a	0.0804 ± 0.004a
<i>R. solani</i>	7.26 ± 0.19b	6.22 ± 0.21b	0.1128 ± 0.005b	0.0635 ± 0.003b
<i>F. oxysporum</i>	7.28 ± 0.14b	6.36 ± 0.18ab	0.1127 ± 0.006b	0.0653 ± 0.002b
..... Unrepeated cultivation soil .....				
Control <sup>1)</sup>	9.63 ± 0.25b	9.44 ± 0.36b	0.2032 ± 0.015b	0.0731 ± 0.006b
<i>B. subtilis</i>	12.95 ± 0.27a	12.56 ± 0.36a	0.3320 ± 0.014a	0.1187 ± 0.007a
<i>F - 3</i>	12.46 ± 0.23a	11.74 ± 0.34a	0.3269 ± 0.009a	0.1201 ± 0.006a
<i>F - 8</i>	12.28 ± 0.36a	11.89 ± 0.36a	0.3092 ± 0.016a	0.1096 ± 0.009a
None <sup>2)</sup>	12.50 ± 0.27a	11.93 ± 0.24a	0.3357 ± 0.012a	0.1283 ± 0.005a
<i>R. solani</i>	11.61 ± 0.25b	10.71 ± 0.37b	0.2789 ± 0.015b	0.0991 ± 0.005b
<i>F. oxysporum</i>	11.37 ± 9.28b	11.02 ± 0.31b	0.2641 ± 0.135b	0.0897 ± 0.005b

<sup>1)</sup> inoculated with pathogenic fungi(*P. solani* and *F. oxysporum*).

<sup>2)</sup> inoculated with antagonistic bacteria(*B. subtilis*, *F - 3* and *F - 8*).

a,b and c; Values with different letters in the same column are significantly different( $p < 0.05$ ).

과도 연작토양보다 비연작 토양에서 좋은 경향을 나타냈다. 그리고 사상균 접종구의 초장도 연작토양에서 보다 비연작토양에서 증가되는 경향을 나타냈다.

### 3. 엽 수

시험기간동안 alfalfa의 엽수를 조사한 결과 (Table 1, 2, 3 및 4) 연작 및 비연작 토양에서 길항미생물 접종구는 무접종구보다 증가하였으나( $p < 0.05$ ),

길항미생물 접종구간에는 차이가 나타나지 않았다. 그러나 파종 후 36일(Table 1)의 연작토양에서, 파종 후 66일(Table 4)의 비연작 토양에서 길항미생물 접종구의 엽수는 무접종구보다 현저하게 증가하였으며( $p < 0.05$ ), *B. subtilis 101* 접종구는 융합균주인 *F - 3* 접종구보다 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). 그러나 융합균주인 *F - 8* 접종구는 *B. subtilis 101* 접종구보다 감소하였으나 유의차는 나타나지 않았

Table 4. Effects of antagonistic microorganisms and pathogenic fungi on growth of alfalfa at 56 days after sowing.

Treatment	Plant height (cm)	No. of leaves (5 plants)	Dry weight (g/5 plants)	
			Shoot	Root
..... Repeated cultivation soil .....				
Control <sup>1)</sup>	7.72 ± 0.27b	6.56 ± 0.26b	0.1557 ± 0.012b	0.0893 ± 0.009b
<i>B. subtilis</i>	9.65 ± 0.34a	8.48 ± 0.34a	0.2186 ± 0.010a	0.1347 ± 0.010a
<i>F - 3</i>	8.94 ± 0.28a	8.11 ± 0.34a	0.2068 ± 0.009a	0.1255 ± 0.006a
<i>F - 8</i>	9.00 ± 0.27a	7.89 ± 0.36a	0.2112 ± 0.010a	0.1294 ± 0.007a
None <sup>2)</sup>	9.55 ± 0.23a	8.29 ± 0.29a	0.2198 ± 0.008a	0.1397 ± 0.005a
<i>R. solani</i>	8.30 ± 0.24b	7.33 ± 0.24b	0.1726 ± 0.010b	0.1013 ± 0.007b
<i>F. oxysporum</i>	8.46 ± 0.18b	7.60 ± 0.24ab	0.1817 ± 0.008b	0.1048 ± 0.006b
..... Unrepeated cultivation soil .....				
Control <sup>1)</sup>	11.57 ± 0.29b	11.67 ± 0.40b	0.2676 ± 0.011b	0.1498 ± 0.011c
<i>B. subtilis</i>	14.72 ± 0.39a	15.56 ± 0.36a	0.5215 ± 0.021a	0.2284 ± 0.007a
<i>F - 3</i>	14.32 ± 0.21a	14.59 ± 0.44a	0.5080 ± 0.014a	0.1995 ± 0.007b
<i>F - 8</i>	14.50 ± 0.36a	14.70 ± 0.45a	0.5300 ± 0.018a	0.2195 ± 0.011ab
None <sup>2)</sup>	14.36 ± 0.28a	15.11 ± 0.33a	0.5167 ± 0.029a	0.2274 ± 0.007a
<i>R. solani</i>	13.60 ± 0.31ab	13.36 ± 0.39b	0.4584 ± 0.029ab	0.1902 ± 0.011b
<i>F. oxysporum</i>	13.43 ± 0.29b	13.82 ± 0.36b	0.4216 ± 0.024b	0.1794 ± 0.006b

<sup>1)</sup> inoculated with pathogenic fungi(*R. solani* and *F. oxysporum*).

<sup>2)</sup> inoculated with antagonistic bacteria(*B. subtilis*, *F - 3* and *F - 8*).

a,b, and c; Values with different letters in the same column are significantly different( $p < 0.05$ ).

다. 병원성 사상균 접종구의 엽수는 대조구보다 현저하게 감소하였으나( $p < 0.05$ ) 병원성사상균 접종구 간에는 차이가 나타나지 않았다.

시험기간 동안 토양처리간의 엽수를 비교해 보면 비연작 토양에서 재배된 alfalfa의 엽수는 연작토양보다 약 0.7배 이상 증가하였으며 길항미생물 접종 효과도 연작토양보다 비연작 토양에서 좋은 경향을 나타냈다. 그리고 사상균 접종구의 엽수도 연작토양

에서 보다 비연작 토양에서 증가되는 경향을 나타냈다.

#### 4. 지상부와 지하부의 건물중

##### 1) 지상부

연작 및 비연작 토양에서 지상부의 건물중 (Table 1, 2, 3 및 4)은 시험기간동안 길항미생물 접종구는 무접종구보다 현저하게 증가하였으나( $p <$

Table 5. Effects of antagonistic microorganisms and pathogenic fungi on growth of alfalfa at 66 days after sowing.

Treatment	Plant height (cm)	No. of leaves (5 plants)	Dry weight(g/5 plants)	
			Shoot	Root
..... Repeated cultivation soil .....				
Control <sup>1)</sup>	8.24 ± 0.27b	7.52 ± 0.34b	0.2225 ± 0.015b	0.1301 ± 0.008b
<i>B. subtilis</i>	10.03 ± 0.29a	9.48 ± 0.38a	0.2820 ± 0.012a	0.1589 ± 0.009a
<i>F - 3</i>	9.64 ± 0.21a	9.04 ± 0.24a	0.2605 ± 0.016ab	0.1487 ± 0.009ab
<i>F - 8</i>	9.74 ± 0.21a	8.70 ± 0.28a	0.2680 ± 0.016a	0.1511 ± 0.009ab
None <sup>2)</sup>	9.99 ± 0.20a	9.38 ± 0.27a	0.3069 ± 0.007a	0.1725 ± 0.005a
<i>R. solani</i>	8.87 ± 0.21b	8.24 ± 0.23b	0.2286 ± 0.007b	0.1349 ± 0.005b
<i>F. oxysporum</i>	9.09 ± 0.16b	8.44 ± 0.23b	0.2377 ± 0.008b	0.1297 ± 0.003b
..... Unrepeated cultivation soil .....				
Control	12.43 ± 0.37b	13.18 ± 0.41c	0.5391 ± 0.029b	0.1777 ± 0.021b
<i>B. subtilis</i>	15.06 ± 0.51a	16.67 ± 0.31a	0.8289 ± 0.014a	0.3332 ± 0.008a
<i>F - 3</i>	14.63 ± 0.39a	15.63 ± 0.38b	0.7750 ± 0.020a	0.3010 ± 0.016a
<i>F - 8</i>	14.71 ± 0.34a	16.00 ± 0.33ab	0.7629 ± 0.025a	0.2919 ± 0.015a
None	14.92 ± 0.33a	16.20 ± 0.33a	0.8041 ± 0.023a	0.3239 ± 0.011a
<i>R. solani</i>	13.98 ± 0.34b	14.71 ± 0.30b	0.7005 ± 0.034b	0.2527 ± 0.018b
<i>F. oxysporum</i>	13.78 ± 0.33b	14.89 ± 0.31b	0.6858 ± 0.029b	0.2461 ± 0.016b

<sup>1)</sup> inoculated with pathogenic fungi(*R. solani* and *F. oxysporum*).

<sup>2)</sup> inoculated with antagonistic bacteria(*B. subtilis*, *F - 3* and *F - 8*).

a,b, and c; Values with different letters in the same column are significantly different( $p < 0.05$ ).

0.05) 길항미생물 접종구간에 유의차는 나타나지 않았다.

파종 후 66일(Table 4)의 연작토양에서 *B. subtilis* 101와 F-8의 건물중은 무접종구보다 현저하게 증가하였으나( $p < 0.05$ ), 무접종구와 F-3 접종구간에는 유의차가 나타나지 않았다. 병원성 사상균 접종구의 지상부의 건물중은 대조구보다 현저하게 감소하였으나( $p < 0.05$ ) 병원성 사상균 접종구간에는 차이가 나타나지 않았다.

시험기간 동안 토양처리간의 지상부의 건물중을 비교해 보면 비연작 토양에서 재배된 alfalfa의 건물중은 연작토양보다 약 1.2배 이상 현저하게 증가하였으며 길항미생물 접종효과도 연작토양보다 비연작 토양에서 좋은 경향을 나타냈다. 그리고 사상균 접종구의 건물중도 연작토양에서 보다 비연작 토양에서 증가되는 경향을 나타냈다.

## 2) 지하부

연작 및 비연작 토양에서 길항미생물 접종구의 지하부 건물중은 무접종구보다 현저하게 증가하였으며( $p < 0.05$ ), 길항미생물 접종구간에는 차이가 나타나지 않았다. 파종 후 56일(Table 3)에 지하부의 건물중은 길항미생물 접종구가 무접종구보다 현저하게 증가하였으며( $p < 0.05$ ), 연작토양의 길항미생물 접종구간에는 차이가 나타나지 않았다. 그러나 비연작 토양에서 *B. subtilis* 101 접종구는 F-3 접종구보다 현저하게 증가 되었다( $p < 0.05$ ).

파종 후 66일(Table 4)에 지하부의 건물중을 조사한 결과, 연작토양에서 *B. subtilis* 101 접종구는 무접종구보다 현저하게 증가하였으나( $p < 0.05$ ), 융합균주 접종구와 무접종구간에는 차이가 나타나지 않았다. 병원성 사상균 접종구의 지하부 건물중은 대조구보다 현저하게 감소하였으나( $p < 0.05$ ) 병원성 사상균 접종구간에는 차이를 나타내지 않았다.

시험기간 동안 토양처리간의 지하부의 건물중을 비교해 보면 비연작 토양에서 재배된 alfalfa의 건물

중은 연작토양보다 약 0.5배 이상 증가하였으며 길항미생물 접종효과도 연작토양보다 비연작 토양에서 좋은 경향을 나타냈다. 그리고 사상균 접종구의 건물중도 연작토양에서 보다 비연작 토양에서 증가되는 경향을 나타냈다.

이상의 결과에서 보는 바와 같이 alfalfa의 연작 및 비연작 토양에서 길항미생물 접종구는 무접종구에 비하여 초장, 엽수, 분얼경, 지상부와 지하부의 건물중이 현저하게 증가 하였으며 연작토양에서 보다 비연작 토양에서 목초의 생장이 유리하게 작용하였다. 그리고 목초의 병해를 일으키는 사상균 접종구는 목초 비연작 토양에서보다 목초 연작토양에서 엽수, 지상부와 지하부의 건물중 및 분얼경의 감소현상이 두드러지게 나타났는데 이는 암소배양 결과에서도 나타났듯이 연작토양내의 토양물리·화학적 악화, 토양 전염성 병원균의 증가로 인하여 목초의 생육에 좋지 않은 영향을 미치는데 기인된 것으로 생각된다.

Falloon(1985)은 perennial ryegrass포장에서 토양전염성 사상균인 *Fusarium* 속, *Pythium* 속, *Chaetomium* 속을 분리하여 ryegrass의 유식물에 미치는 영향을 암실조건에서 조사한 결과, ryegrass 유식물은 이들 병원성사상균에 의해서 병해를 쉽게 받는다고 하였고, Renfro와 Kernkamp(1963)는 *Phoma herbarum*, *Pseudoplea briosiana* 등이 alfalfa의 잎·줄기병해를 발생시킨다고 하면서 alfalfa의 병해는 온도에 영향을 받는다고 하였다. Hanson(1956)도 alfalfa, red clover 및 sweetclover의 damping-off는 고수분 토양이라던가 고온에 쉽게 발생한다고 하였다. Lespedeza 유식물의 damping-off는 *R. solani* 및 *P. debarynum*에 의해 발생하고, ladino clover 유식물의 damping-off는 *R. solani*에 의해서 가장 크게 영향을 받았다고 Graham등(1956)은 보고하였으며, Chi와 Hanson(1962)도 *P. debarynum*이 접종된 토양에 alfalfa와 red clover 종자를 파종하게 되면 목초의 damping-off가 발생된다고 보고하였다. Phae등(1992)



은 *B. subtilis* NB22를 이용하여 *F. oxysporum*과 *P. solanacearum*에 의해 발생된 토마토의 지하부 병해를 효과적으로 억제하여 토마토의 생장을 양호하게 하였다고 하였으며, Turner와 Backman(1991)도 *B. subtilis*를 종자에 처리함으로써 peanut의 생장이 향상되었고 *R. solani*에 의한 뿌리질병해를 감소시켰다고 보고하였다. 또한 Handelsman등(1990)도 *Bacillus cereus* UW85를 alfalfa종자에 coating함으로써 *Phytophthora megasperma* f. sp. *medicaginis*에 의해 발생된 뿌리병해를 방제 가능성을 제시하였다.

이상의 암소배양, 초장, 엽수, 분얼경, 지상부와 지하부의 건물중의 결과를 종합해 보면 연작 및 비연작토양에서 길항미생물은 alfalfa의 생장에 유리하게 작용하였으며, 토양간에도 현저한 생육차이가 발생하였다. 그리고 본 시험에 이용된 *B. subtilis* 101과 융합균주는 병원성사상균에 길항효과와 목초의 생장촉진 효과를 보여 주었다.

따라서 목초병해를 일으키는 토양전염성 사상균에 길항작용을 가지고 있고 목초의 생육을 촉진하는 것으로 알려져 있는 미생물을 개발하여 초지에 적정량을 접종함으로써 목초의 초기생육 촉진 및 수량의 증가를 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

#### IV. 적 요

본 시험은 길항미생물과 병원성사상균이 alfalfa (*Medicago sativa* L.)의 생장에 미치는 영향을 조사하고자 목초근권에서 분리한 *B. subtilis* 101과 융합균주(*B. subtilis* 101 × *B. thuringiensis*)인 F-3, F-8을 이용하여 전남대학교 농과대학 부속동물사육장내 vinyl house에서 pot(12 × 9cm)로 수행하였다. 암소배양시험에서 연작, 비연작 및 연작 멸균토양에 길항미생물을 접종함으로써 alfalfa 생육기간이 연장됨을 알 수 있었으며, 비연작 토양은 연작토양보다, 연작멸균 토양은 연작 및 비연작 토양보다 생육기간이 현저하게 연장되었다. Alfalfa의 초장, 엽

수, 분얼경수 및 지상부와 지하부의 건물중은 길항미생물을 접종함으로써 증가하는 경향을 보였으나 ( $p < 0.05$ ) 병원성 사상균에 의해서는 감소되는 경향을 나타냈다. 그리고 연작 및 비연작 토양간에도 alfalfa의 생육차이는 현저하게 나타났다.

#### V. 인 용 문 헌

1. Chi, C.C., and E.W. Hanson. 1962. Interrelated effects of environment and age of alfalfa and red clover seedlings on susceptibility to *Pythium debaryamum*. *Phytopath.*, 52: 985-989.
2. Collins, C.H. and P.M. Lyne. 1984. *Microbiological method*(5th ed), Butterworths, London.
3. Falloon, R.E. 1985. Temperature and seedling age affect susceptibility of perennial ryegrass seedling to pathogenic fungi. *Plant and Soil*, 86: 87-93.
4. Graham, J.H., K.W. Kreitlow and L.R. Faulkner. 1972. Disease. Pages 497-526 in: *Alfalfa Science and Technology*. C.H. Hanson, ed. Am. Soc. Agron. : Madison, WI.
5. Handelsman, J., S. Raffel, E.H. Mester, L. Wunderlich and C.R. Grau. 1990. Biological control of damping-off of alfalfa seeding with *Bacillus cereus* UW85. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56(3):713-718.
6. Kloepper, J.W. and M.N. Schroth. 1981. Relationship of in vitro antibiosis of plant growth-promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. *Phytopath.*, 71:642-644.
7. Krieg, N.R. and J.G. Holt. 1984. *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Williams and Wilkins, Baltimore.
8. Phae, C.G., M. Shoda and N. Kita. 1992. *Biological control of crown and root rot and*

- bacterial wilt of tomato by *Bacillus subtilis* NB22. Ann. Phytopath. Soc., 58:329-339
9. Renfro B.L., and Kernkamp M.F. 1963. Fungi isolated from black stem of alfalfa and the influence of temperature on lesion formation and disease severity. Phytopath., 53:774-777.
  10. Rothrock, C.S. and D. Gottlieb. 1981. Importance of antibiotic production in antagonism of selected *Streptomyces* species to two soil-borne plant pathogens. J. Antibiot., 34:830-835.
  11. Starr, M.P., H. Stolp, H.G. Truper and H.G. Schlegel. 1981. The prokaryotes: A handbook and identification of bacteria. Springer-Verag, Berlin, Heidelberg, New York.
  12. Turner, J.T. and P.A. Backman. 1991. Factors relating to peanut yield increases after seed treatment with *Bacillus subtilis*. Plant Dis., 75:347-353.
  13. 領木達彦, 久保田勝. 1971. 暗所培養による連作障害の判定法. 日本土壤肥料學會誌. 42:126-127.
  14. 김동암외 15인. 1987. 초지학총론. 선진문화사.
  15. 최기춘, 이영환, 전우복. 1995. 세포융합에 의한 신 길항미생물 육종에 관한 연구. - 목초병해의 생물학적 방제 -. 한초지 15(1):1-21.