

Burkholderia sp. AK-17에 의한 잎들깨 재배의 생물학적 조절

김근기* · 김용균 · 손흥주 · 최영환¹ · 강규영²

밀양대학교 생명공학과, ¹밀양대학교 원예학과, ²경상대학교 환경생명식품공학부

Biological Control of Perilla Culture by *Burkholderia* sp. AK-17

Keun Ki Kim*, Yong Kyun Kim, Hong Joo Son, Young Whan Choi¹ and Kyu Young Kang²

Department of Biotechnology and ¹Department of Horticulture, Miryang National University, Miryang 627-706, Korea

²Division of Enviro-Biotechnology and Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

Received November 9, 2004; Accepted January 20, 2005

There are various crop diseases in green houses that are caused by the cultural environments, especially high temperature and moisture. To solve the forementioned problems, farmers are overusing agricultural chemicals, causing other damages by the chemical residue. In this study, antagonistic bacteria as biological control agents were isolated to produce the environmentally-friendly crops for use in green houses. Eighteen species of antagonistic bacteria were totally isolated from the soil and plants in the Perilla fields, and AK-17 showed the highest activity among the isolates. According to the results of anti-fungal spectrum against several pathogens by AK-17, the antagonism effect of the isolates was remarkable against grey mold rot by *Botrytis cinerea*, sclerotinia rot by *Sclerotinia sclerotiorum*, and stem rot by *Rhizoctonia solani*. To evaluate the biological control effects of the isolates against the major diseases of Perilla, studies were carried out to evaluate the preventive and the curative effects of the diseases throughout the pot experiments. According to the forementioned experiments, the preventive and the curative effects by the isolates against sclerotinia rot were respectively showed as 55% and 92%. For the grey mold rot, those were 40% and 78%, respectively. As to the evaluation of the growth-promoting effect by AK-17, the length and the biomass of the tested plants were increased to 120% and to 164%, respectively. For the leaf numbers and area were respectively increased to 120% and 220%. Furthermore, AK-17 was identified as *Burkholderia* sp. according to the results of physiological properties and genetic methods.

Key words: biological control, antagonistic bacteria, plant pathogens, plant growth promoting, *Burkholderia*

서 론

들깨는 동부 아시아 지역이 원산지로서 추정되고 있으며,^{1,2)} 현재는 인도, 소련 및 미국에 걸쳐 세계적으로 널리 분포, 재배되어지고 있다.³⁾ 우리나라에는 통일신라시대 때부터 재배되어졌으며⁴⁾ 최근 식생활의 변화와 들깨잎의 유효성분들에 대한 생리활성효과가 밝혀짐으로써⁵⁻⁷⁾ 들깨잎의 소비가 급증하고 있고, 재배면적도 매년 증가하여 전국에 걸쳐 재배되고 있는 실정이다. 수요의 급증에 따른 안정적 공급을 위해서 시설재배 등을 이용한 연중 재배가 되어지고 있고, 화학 비료와 농약의 과다 사용이 불가피하게 되어졌다. 따라서 재배 토양과 수질을 오염시키는 원인이 되었고,⁸⁾ 시설재배에서 농약의 과다 사용은 재배환경 열악으로 생산자의 건강을 해치게 되었으며, 생산된 농

산물에는 잔류농약으로 식품의 안전성에 심각한 우려를 낳게 되었다. 현재 농산물에 대한 안전성 문제와 토양환경의 보존을 통한 지속 가능한 농업에 관한 관심으로 유기농업이 전 세계적으로 급격하게 확산되고 있는 실정이다. 이러한 배경 아래 생물학적 방제법을 이용한 청정농산물 생산을 위한 노력으로 다양한 미생물을 농업에 활용하고 있다.⁹⁻¹¹⁾ 미생물의 이용은 크게 미생물 비료¹²⁾와 미생물 농약¹³⁾으로 농업에 활용할 수 있을 것이다. 미생물농약은 자연계에 존재하는 미생물 그 자체, 또는 미생물이 생산하는 2차 대사산물을 이용해 식물병을 억제하는 것으로, 인축이나 어패류 등에 무해하며 환경오염과 생태계 교란의 우려성이 없다는 특징을 갖고 있어 세계적으로 많은 연구가 이루어지고 있다. 미생물제제를 이용함으로써 비료와 농약의 사용을 줄여 토양환경을 지속적으로 보존하고 장기적인 생산성을 확보할 수 있고, 재배에 있어 농약의 사용을 줄임으로써 잔류농약의 위험성을 제거해 농산물의 안전성을 확보할 수 있을 것이다.

잎들깨의 재배에 있어 가장 문제시되는 병충해를 보면 녹병,

*Corresponding author

Phone: 82-55-350-5543; Fax: 82-55-350-5549

E-mail: kkkim@mnu.ac.kr

잣빛곰팡이병, 균핵병, 심식충, 응애류, 콩잎마름이 나방 및 진딧물을 들 수 있다. 이러한 병충해를 방제하기 위하여 현재까지는 농약의 사용과 병의 내성을 극복하기 위해서는 윤작이나 약제의 혼용을 권장하고 있는 실정이다.

본 연구에서는 잇들개의 재배에 있어 가장문제가 되는 병원균인 잣빛곰팡이병원균인 *B. cinerea*와 균핵병원균인 *S. sclerotiorum*에 대한 길항세균을 분리, 동정했으며, 분리한 길항균 AK-17을 각종 식물병원균에 대한 항균활성과 pot를 이용한 생물학적 방제효과를 검정하였다. 그리고 AK-17은 잇들개의 생육을 촉진하는 효과도 있어 이를 조사하였다.

재료 및 방법

길항세균 분리. 잇들개 재배지로부터 병징을 나타내는 식물체와 정상 식물체, 그리고 토양을 채취하여 길항균분리의 시료로 사용하였다. 식물체 줄기와 잎의 절편과 토양을 멸균증류수로 10^{-1} ~ 10^{-9} 까지 희석하는 material dilution agar methods로 PDA와 NA plate에 배양(30°C)하면서 근접 미생물의 생육을 저해시키는 수종의 곰팡이와 세균을 1차 분리하였다.¹⁴⁾ 그 중 가장 항균활성이 큰 AK-17 균주를 단일 colony가 얻어질 때까지 NA배지로 계대배양을 하면서 순수분리하여 실험에 이용했다. 분리한 균주는 항균력을 검정하고 균의 동정을 위하여 계대배양과 냉동보존으로 균을 유지·보존하였다.

길항세균의 항균 스펙트럼. 순수분리한 세균 중에서 항균력이 뛰어난 AK-17균을 이용해 들개 주요병원균, 즉 *Botrytis cinerea*(잣빛곰팡이 병원균), *Sclerotinia sclerotiorum*(균핵균)과 *Pythium ultimum*(모 잘록병), *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*(토양병원균)에 대해 PDA plate 대치배양법으로 항균력을 조사하였다. 배지는 1/5 strength PDA로 각 병원균과 AK-17를 동시에 접종하여 28°C에서 1-6일 간 배양한 다음 저해환을 측정하여 항균 스펙트럼을 조사하였다.¹⁵⁾

길항세균의 생육특성. 길항균의 생육곡선을 조사하기 위하여 AK-17을 BHI배지에 24시간 동안 전 배양을 한 다음 NB배지에 분 배양을 하면서 660 nm에서 36시간동안 흡광도를 측정했다. 초기 5시간은 매시간 측정을 하고, 그 이후에는 30분마다 흡광도를 측정했다.

병발생의 억제와 방제효과. 병발생의 억제효과는 잇들개의 식물체와 pot(7×15.4×7.4 cm)에 길항균을 먼저 처리하고, 병원균을 주기적으로 처리하여 병의 발생을 관찰하였다. 병발생은 잎과 입병에 병반의 형성과 식물체의 고사로서 판정하였고, 병발생의 억제와 방제효과는 문 등¹⁶⁾의 보고된 방법을 토대로 실시하였다. AK-17을 NB에 22시간 진탕배양하여 1×10^6 cfu/ml이 되도록 현탁액을 조제하여 6엽기의 잇들개 pot 당 30 ml씩 처리를 하였다. 길항균을 먼저 처리하고, PDA에서 7일간 배양한 균핵병원균 *S. sclerotiorum*과 잣빛곰팡이 병원균 *B. cinerea*를 각각 다른 pot에 접종하여 병 발생의 여부로 억제효과를 검정했다. 방제효과는 *S. sclerotiorum*과 *B. cinerea*를 PDA에서 7일간 배양한 균사 절편을 잇들개의 식물체에 먼저 접종하여 발병시킨 다음, 길항균 AK-17을 1일 간격으로 3일 동안 처리하여 병 발생 방제효과를 검정하였다.

길항균의 들개 생육촉진효과. 길항균 AK-17을 이용한 병 억제와 방제효과 검정실험에서 control보다 길항균을 처리한 처리구에서 잇들개의 생육이 촉진되는 현상이 나타남으로써, AK-17의 잇들개 생육촉진효과를 조사하였다. 잇들개 종자를 피종하고 10일 후에 길항균 AK-17을 1×10^6 cfu/ml의 농도로 조절된 후 엽면살포의 방법으로 균을 처리하였으며, 생육은 growth chamber를 25°C로 16시간, 15°C로 8시간의 주기로 온도와 광을 조절하며 식물체를 관리했다. 식물의 생육조사는 길항균의 엽면살포 25일 후에 실시하였다.

길항균 동정. 분리한 길항균 중 항균력이 뛰어난 AK-17을 동정하기 위하여 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology를 이용하여 생리, 생화학적인 특성을 조사하였고,¹⁷⁾ 분자유전학적 분류법은 genomic DNA를 추출하였다. 추출한 DNA는 PCR을 수행하여 증폭시키고, 염기서열결정은 자동염기서열분석기(ABI 377, Perkin Elmer Biosystems Co.)를 사용하여 실시하였다. 결정된 염기서열은 NCBI의 등록 염기서열과 비교하여 분석하였다.

결과 및 고찰

길항세균 분리. 들개 재배지로부터 병징을 나타내는 식물체의 뿌리, 줄기, 잎 그리고 토양으로부터 56종의 세균을 분리했다. 분리한 56종의 세균을 잣빛곰팡이병원균 *B. cinerea*, 균핵병원균 *S. sclerotiorum*, 모잘록병원균인 *P. ultimum*, 시들음병원균의 *F. oxysporum*, 및 줄기썩음병원균의 *R. solani*에 대해 plate 대치배양법으로 항균력을 조사하여 18종의 길항세균을 분리하였다. 분리한 균 중에 잇들개 생육에 피해를 주는 잣빛곰팡이균과 균핵균에 활성이 뛰어난 AK-17을 본 실험에 이용했다. Fig. 1의 경우는 분리한 길항세균 AK-17을 이용하여 균핵병원균(A)과 잣빛곰팡이병원균(B)에 대한 항균효과를 나타낸 사진으로 균을 접종하지 않은 부분과 항균활성이 없는 곳과는 달리 AK-17을 접종한 부분에서는 전혀 병원균의 생육이 되지 않는 것을 볼 수 있다.

길항세균의 항균 스펙트럼. 토양에서 분리한 길항균 AK-17을 들개 주요병원균 *B. cinerea*, *S. sclerotiorum*과 기타 병원균 *P. ultimum*, *F. oxysporum*, *R. solani*을 이용하여 plate 대치배양법으로 항균력을 조사하였다(Table 1). 그 결과 잇들개 주요 병원균인 잣빛곰팡이병원균과 균핵병원균에 항균활성이 뛰어났으며, 시들음병원균에도 양호한 항균활성을 나타냈다. 길항균 AK-17의 항균스펙트럼을 보면 잇들개 뿐만이 아니라 다른 엽

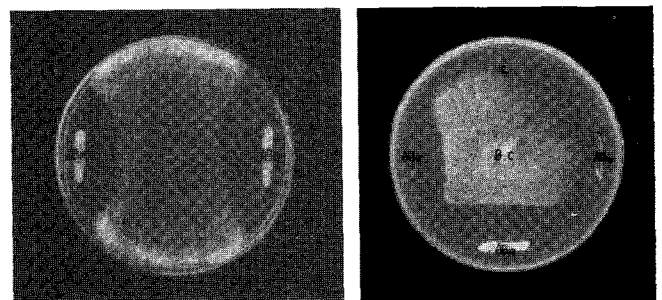


Fig. 1. Growth inhibition of *S. sclerotiorum* (A) and *B. cinerea* (B) by antagonistic bacterium AK-17.

Table 1. Antifungal spectrum of plant pathogens by isolated antagonistic bacteria AK-17

	<i>B. cinerea</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>S. sclerotiorum</i>	<i>P. ultimum</i>	<i>R. solani</i>
AK-17	++++	++	+++	+	+++

Inhibition zone: +++; > 20 mm, ++; > 15 mm, +; > 10 mm, +; > 5 mm.

채류에도 피해를 주는 병원균에도 효과가 탁월하므로 시설하우스 재배지의 연작으로 인한 병의 다발을 막을 수 있고, 높은 습도에 의한 특이환경에 따른 병원성 곰팡이의 피해를 줄일 수 있다. 그리고 *R. solani*에도 항균활성이 뛰어나기 때문에 농약의 과다사용으로 환경에 심각한 피해를 주는 골프장의 잔디보호에도 사용하면 효과가 있을 것이다. 일반 노지에도 AK-17을 이용하여 생물학적 방제 시스템을 구축하면 농약의 사용을 줄이고, 병해에 의한 피해를 막을 수 있으며 청정 농산물의 생산이 가능할 것이다.

분리한 길항세균 AK-17을 이용한 미생물제제를 개발하기 위한 1차적인 방법으로 균의 생육곡선을 조사한 결과, 8시간 후까지는 균의 개체증식이 뚜렷이 나타나지 않았고, 12시간 후부터 22시간에 걸쳐 대수증식기가 형성되었으며, 최대생육은 접종한지 28시간이 경과해서였다. 36시간이 지나도 사멸기에 의한 흡광도의 감소는 나타나지 않았다. 배양한 균을 이용한 제제화 실험에서는 살아있는 균을 이용하는 방법과 배양여액을 이용하는 방법으로 검정을 했다. 살아있는 균을 이용한 제제화에서는 배양시간에 따라 균을 사용해본 결과, 접종 후 20시간 배양한 것을 사용할 때가 항균활성과 재현성이 가장 뛰어났다. 균체를 제거하고 배양여액을 처리하더라도 항균력과 식물생장 촉진력이 나타나기 때문에 배양여액을 이용한 제제는 2일 이상 지난 배양여액을 이용하는 것이 좋았으며, 배양액을 50배 희석하여도 항균활성이 나타났다. AK-17이 생육하면서 항균물질을 배양액에 분비하는 것으로 보여지고, 사멸기 이후의 배양여액에서의 항균효과 상승은 균이 용해되어지면서 균체 내에 축적되어진 항균물질까지 이용가능하기 때문으로 보여진다.

균핵병 발생억제와 방제효과. 길항균 AK-17을 이용해 *S. sclerotiorum*에 의한 균핵병 발생 억제효과를 검정한 결과 *S. sclerotiorum* 포자액을 처리하고 3일이 경과하면 병징이 나타나기 시작하며, 병원균처리 7일 후에는 100% 발병이 되어져 9일 후엔 식물체가 완전히 고사되어진다(Fig. 2). 반면 AK-17을 먼저 처리하고, 1일 후부터 3일동안 *S. sclerotiorum*을 처리한 결과 2일째까지 병발생을 거의 볼 수 없었지만 병원균을 처리한 5일째부터 병징이 나타나기 시작하여 병원균만 처리한 pot에서 9일째 식물체가 고사할 때까지 45%의 병이 발생되어져 55%의 발병 억제효과를 볼 수 있었다(Fig. 2). 그리고 10일 이후에는 더 이상의 병징의 진전은 없었고, 새로 나는 잎에서도 병의 발생은 없었으며, 4주간에 걸쳐 병발생을 관찰했지만 더 이상의 발병은 없었으므로 AK-17에 의한 병발생 억제효과를 볼 수 있었다.

AK-17을 이용한 병발생의 방제효과 검정은 병원균을 처리한 후 병징이 나타날 때부터 3일간 길항균을 처리한 결과 처음 병징이 발생 이후의 병징은 전혀 진전되지 않았다(Fig. 3). 병원균만 처리한 pot에서는 식물체가 7일 만에 전부 고사하였으나(Fig. 3), AK-17을 처리한 pot에서는 14일까지 생육시킨 결과 2

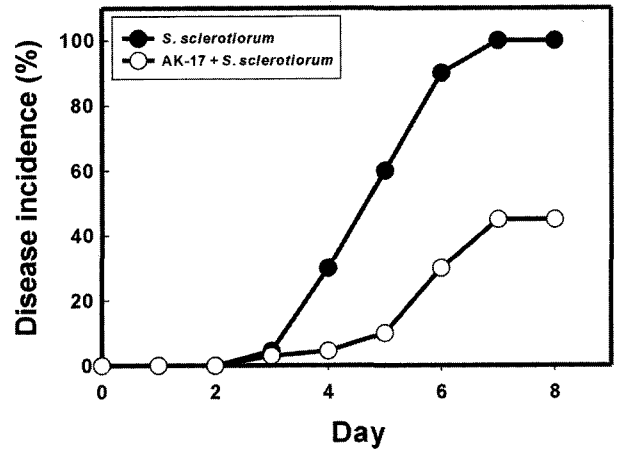


Fig. 2. Preventive effect of antagonistic bacterium AK-17 on the incidence of sclerotinia rot on perilla in a growth chamber.

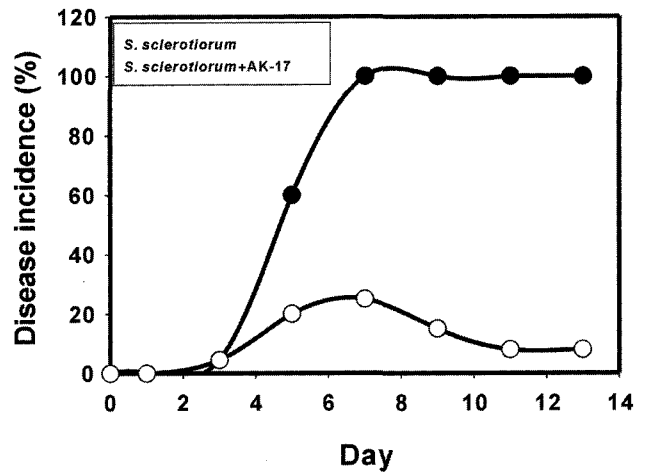


Fig. 3. Curative effect of antagonistic bacterium AK-17 on the incidence of sclerotinia rot on perilla in a growth chamber.

번에 걸쳐 잎이 새로 나오도 병징의 확산은 확인되지 않았다. 이 결과로부터 AK-17 균이 균핵균의 생장에 영향을 미쳐 균핵병 발생억제와 방제효과를 갖는 것을 확인했다.

갯빛곰팡이병 발생 억제효과와 방제효과. 길항균 AK-17을 이용해 *B. cinerea*에 의한 갯빛곰팡이병 발생 억제효과를 검정한 결과, *B. cinerea* 포자액을 처리한지 2일이 경과하면 병징이 나타나기 시작하여 균처리 9일 후에는 100% 발병이 되어져 식물체가 고사한다(Fig. 4). 반면 AK-17을 먼저 처리하고, 1일 후부터 3일 동안 *B. cinerea*를 처리한 결과 2일째까지 병 발생을 거의 볼 수 없었지만 병원균을 처리한 3일째부터 병징이 나타나기 시작하여 병원균만 처리한 pot에서 식물체가 고사할 때까지 60%의 병이 발생되어져 40%의 발병 억제효과를 볼 수 있었다.

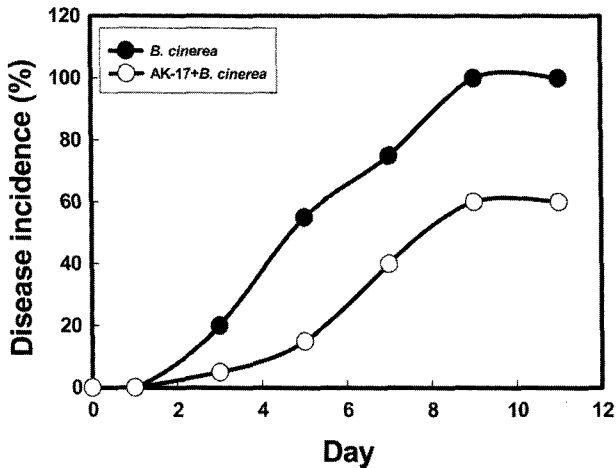


Fig. 4. Preventive effect of antagonistic bacterium AK-17 on the incidence of gray mold rot on perilla in a growth chamber.

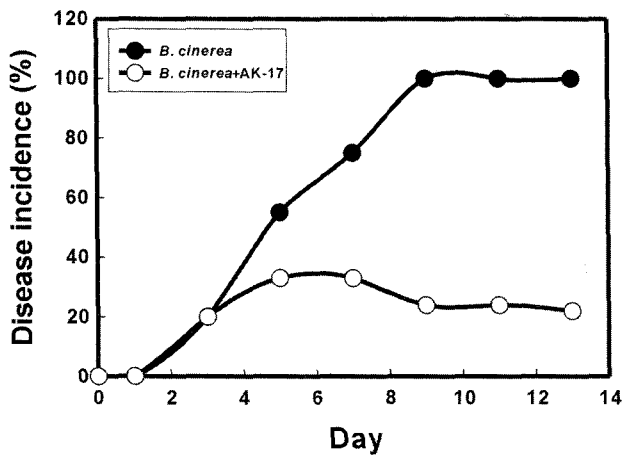


Fig. 5. Curative effect of antagonistic bacterium AK-17 on the incidence of gray mold rot on perilla in a growth chamber.

AK-17을 이용한 병 방제효과는 병원균을 먼저 처리하여 병징이 나타날 때부터 3일간 길항균을 처리한 결과, 길항균을 처리한 이후에는 더 이상 병의 진전이나 발생은 전혀 관찰되지 않았다(Fig. 5). 병원균만 처리한 pot에서는 식물체가 9일 만에 전부 고사하였으나(Fig. 5), 길항균을 처리한 식물체에서는 9일째 새 잎이 돋아나도 병의 발생은 되어지지 않았다. Fig. 5는 2주 동안의 생육을 확인한 결과이지만, 4주 동안 계속 생육을 시키면서 잎들깨의 생육상태를 확인한 결과 병징을 확인할 수 없었으며 생육도 촉진되는 효과가 나타났다.

AK-17을 이용해 만든 미생물제제를 이용해 잿빛곰팡이병 발생의 억제와 방제효과를 검정한 결과는 Fig. 6과 같다. Fig. 6의 A는 무처리, B는 *B. cinerea*만 처리를 했고, C는 AK-17제제를 먼저 처리하고 *B. cinerea*를 처리하였으며, D는 *B. cinerea* 처리한 후에 AK-17제제를 처리하였다. 그리고 E는 AK-17만을 처리했다. *B. cinerea*만을 처리한 pot에서는 식물체 전부 감염이 되어져 한 식물체는 완전히 고사가 되어진 것을 볼 수 있다. 나머지 두 식물체도 감염이 되어져 있는 상태이며, 잎이 말라 떨어진 것을 볼 수 있다. 이 두 식물체도 9일 후에는 식물체가 완전히 고사를 하고 말았다. 반면 C는 AK-17을

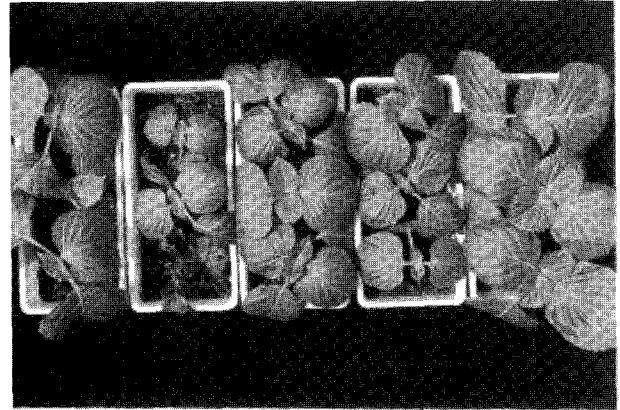


Fig. 6. Antagonistic effect of antagonistic bacterium AK-17 on perilla growth treated with *B. cinerea*. A: Control, B: Treated of *B. cinerea*, C: Treated with AK-17 and then *B. cinerea*, D: Treated with *B. cinerea* and then AK-17, E: Treated AK-17.

먼저 처리하고 병원균을 처리한 pot에서는 병원균을 처리한 후 초기에는 병징이 잎의 끝부분에 나타나는 식물체가 있었지만 더 이상의 진전이 없이 정상적인 생육을 보였다. 그리고 D pot는 병원균을 먼저 처리하여 병징이 모든 식물체에 나타날 때 AK-17을 처리했다. 병징이 나타난 잎은 나중에 떨어지거나 AK-17처리 직전의 상태로 더 이상의 진전이 없었다. 하지만 생육은 무처리나 AK-17만을 처리한 것에 비해 뒤떨어지는 것을 볼 수 있었다. AK-17만을 처리한 pot에서는 control보다도 월등하게 생육이 촉진되는 것을 확인 할 수 있었다. 이 실험의 결과로 잎들깨 외에도 잿빛곰팡이가 문제시 되어지는 딸기의 재배 하우스에도 적용을 할 경우 뛰어난 병발생의 억제와 방제의 효과를 거둘 수 있다.

생육촉진효과. 길항균 AK-17을 이용한 생물학적방제 실험에서 AK-17을 처리한 pot에서 control보다 잎들깨의 생육이 촉진되어지는 것이 확인되어져, AK-17을 이용한 들깨의 생육촉진효과를 조사한 결과가 Table 2, 3과 같다. Table 2에서는 잎들깨의 전장, 줄기의 직경, 줄기의 생체중, 줄기의 건물량을 비교한 것으로서, 전장은 길항균 AK-17 처리구가 control보다 120% 신장의 촉진효과가 있었고, 배지성분을 처리한 것보다는 109% 신장이 촉진되어지는 효과가 나타났다. 생체중은 배지성분을 처리한 것에서는 control보다는 125% 증가하였고, AK-17을 처리한 것에서는 control보다 164%의 증가를 보였다. 건물량은 무처리에 비해 배지성분을 처리한 것은 155%, AK-17을 처리한 것은 163% 각각 증가하였다. AK-17 처리로 잎들깨의 지상부 생육이 촉진되어진 것을 알 수 있다. 뿌리의 생육상태는 AK-17을 처리한 것이 좋았으나 세균이어서 정량화하는 것에는 어려움이 있었다. AK-17를 처리하여 작물의 생육이 촉진되어지는 경우는 근권에 생존하는 병원균에 대한 항균효과에 의한 식물의 생육촉진효과와 AK-17이 생육하면서 분비하는 물질에 의해 생육이 촉진되어지는 것으로 여겨진다. 미생물의 2차대사산물에 의한 식물의 촉진효과는 근권에 생육하는 세균¹⁸⁾과 곰팡이¹⁹⁾의 경우 볼 수 있는 현상들이다.

Table 3에서는 잎들깨의 엽수, 엽면적, 잎의 생체중량과 건물중량 그리고 엽록소 수를 비교 조사하였다. 그 결과 엽수는 길

Table 2. Effect of foliar spray of AK-17 on the stem growth in perilla (*Perilla ocymoides* L. cv. Leafy perilla 1)²⁾

	Plant height (cm) ¹⁾	Stem diameter (mm)	Stem fresh weight (mg)	Stem dry weight (mg)
Control	4.1b ³⁾	1.50b	107c	13.9b
Medium	4.5ab	1.60ab	134bc	21.5a
AK-17	4.9a	1.70ab	175a	22.6a

¹⁾Means separation within columns by DMRT, p=0.05.

²⁾Plants growth was measured at 25 days after foliar spray.

³⁾Plants were sown Sept. 10, 2004 in growth chamber on 16 hours light/8hrs dark shift at 25°C and 15°C. Then they were treated foliar spray with AK-17 after 10 days.

Table 3. Effect of foliar spray of AK-17 on the leaf growth in perilla (*Perilla ocymoides* L. cv. Yupsil perilla 1)²⁾

	Leaf number ¹⁾	Leaf area (cm ²)	Leaf fresh weight (mg)	Leaf dry weight (mg)	Chlorophyll contents (SPAD value)
Control	6.2ab ³⁾	22.0b	414b	61.2c	20.7b
Medium	5.8b	25.1b	488b	69.8bc	23.1ab
AK-17	7.4a	48.6a	895a	125.4a	23.9a

¹⁾Means separation within columns by DMRT, p=0.05.

²⁾Plants growth was measured at 25 days after foliar spray.

³⁾Plants were sown Sept. 10, 2004 in growth chamber on 16 hours light/8 hrs dark shift at 25°C and 15°C. Then they were treated foliar spray with AK-17 after 10 days.

항균 처리구가 무처리구에 비해 119%, 배지성분 처리구에 비해 128% 증가하여 AK-17을 처리함으로써 수확량을 증가시킬 수 있고 전 재배기간 동안에는 보다 많은 수확증대효과를 가져올 것이다. 배지성분을 처리한 것에서 생체중과 건물중량이 증가함에도 불구하고 엽의 수는 control보다 적었다. 엽면적은 AK-17 처리구는 무처리구에 비해 221%, 배지성분 처리구는 114% 증가하였다. 그리고 AK-17 처리구는 배지성분 처리구보다도 194% 증가하였다. 잎의 생체중과 건물량은 AK-17 처리구가 control보다 216%, 205% 각각 증가하였고, 배지성분 처리구보다 183%와 180%로 생체중과 건물량이 증가하였다. 이 결과로서 AK-17을 작물재배에 이용하면 생물비료로서 탁월한 효과를 나타내고 AK-17을 처리한 pot에서 생체중과 건물 중량이 증가한 것은 같은 품종으로서 광합성효율이 같다고 볼 때 엽수가 많고, 엽 면적이 넓어 광합성량이 증가하여 생체중과 건물량이 증가한 것으로 여겨진다. 잎들개의 재배에서는 잎의 수량에 따라 농민의 수확이 증가하게 되고, 잎의 생육이 빠르므로 수확시기를 앞당겨 출하를 타 농가에 비해 빠르게 함으로서 수익의 증대효과를 가져올 수 있다(Table 3). 그리고 결과를 수록하지 않았지만 AK-17을 처리한 pot의 식물체는 무처리구에 비해 뿌리의 생체중과 건물량도 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

길항균 A-17는 병원균에 대한 항균활성을 갖고 있어, 병의 발병예방과 병 치료효과의 활성효과도 있고, 식물의 생육을 촉진하는 효과도 있는 것으로 조사되어져 직접 농가에 사용했을 때 청정농산물 생산과 수확확대의 이증효과를 가져올 수 있다.

길항균 동정. AK-17을 *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*를 이용한 생리, 생화학적인 특성을 조사결과 Gram staining에 음성이었으며 막대형의 호기성균이었다. Oxydase, arginine dihydrolase 및 nitrate reductase는 가지고 있으나 catalase는 가지고 있지 않았다. 분자유전학적인 분류를 위해 추출한 DNA로 PCR을 수행한 결과 750 bp 정도의 증폭된 DNA

Table 4. Physiological properties and carbon utilization of strain AK-17

Content	Characteristic
Catalase	-
Oxydase	+
Motility	d+
Shape	rod
Gram Staining	-
Indol	-
Methyl Red	-
Citrate	+
O/F test	o/a/n
Arginine dihydrolysis	+
Starch hydrolysis	-
Casein hydrolysis	-
Gelatin hydrolysis	-
Cellulose hydrolysis	-
King's B	-
Nitrate reductase	+
Glucose	+
Arabinose	d+
Lactose	+
Sucrose	+
Maltose	+
Fructose	+
Sorbitol	+
Mannitol	+
β-Alanine	d+

단편을 확인할 수 있었으며, 16S rDNA 부분 염기서열을 NCBI GenBank에서 유전자간 상관성을 알아본 결과 AK-17은 *Burkholderia* sp.와 98% 상동성을 보여 *Burkholderia* sp.로 동정되었다.

초 록

시설원예단지의 재배환경은 고온다습으로 많은 병해가 발생하며, 이를 방지하기 위해 과도한 농약을 사용하므로 농약 잔류성에 대한 피해가 심각한 우려를 낳고 있다. 미생물을 이용한 생물학적 방제법 개발로 청정 시설원예작물을 생산할 목적으로 길항균을 분리하였다. 잎들깨 재배토양과 식물체로부터 길항세균 18종을 분리하였으며 분리한 길항세균 중에 AK-17이 가장 활성이 뛰어나 이를 이용하여 주요 식물병원균에 대한 항균스펙트럼을 조사하였다. 그 결과 잿빛곰팡이병원균의 *Botrytis cinerea*와 균핵병원균의 *Sclerotinia sclerotiorum* 및 줄기썩음병원균인 *Rhizoctonia solani*에 대한 항균효과가 뛰어났다. 잎들깨의 주요 병에 대한 생물학적 방제실험은 병발생 억제효과와 병방제효과를 pot 실험으로 실시했다. 그 결과 균핵병은 55%의 병발생 억제효과와 92%의 방제효과가 있었고, 잿빛곰팡이병은 40%의 병발생 억제효과와 78%의 방제효과를 확인할 수 있었다. AK-17의 식물 생육촉진효과는 신장이 120%, 생체중이 164% 증가되었으며, 엽수와 엽면적은 각각 120%와 220%의 증가효과를 보였다. 그리고 AK-17을 생리·생화학적방법과 유전학적 방법으로 동정한 결과, *Burkhoderia* sp.로 확인되었다.

Key words: 생물학적 방제법, 길항균, 식물병원균, 생육촉진, *Burkhoderia*

참고문헌

- Ann, S. D., Jang, B. H., Lee, M. S., Kwon, B. S. and Kim, N. N. (1996) In *Survey of Economic Botany*. Sunjin Munhwasa Press. Inc.
- Lim, W. K., Park, S. G., Ryu, J. W., Sa, D. M., Lee, D. M. and Lim, G. O. (1996) In *Economic Botany*. Seo-il Press Inc. pp. 201-207.
- Brenner, D. (1995) New crop homepage: Perilla. <http://newcrop.purdue.edu/hort/newcrops/crops/cropFactSheets/perilla.html>.
- Shin, K. K., Yang, C. B. and Park, H. (1992) Studies on lipid and fatty acid composition of Korean perilla leaves (*Perilla frutescens* var. japonica HARA). *Korean J. Food Sci. Technol.* **24**, 610-615.
- Kim, K. H., Chang, M. W., Park, K. Y., Rhee, S. H., Rhee, T. H. and Sunwoo, Y. I. (1993) Antitumor activity of phytol identified from perilla leaf and its augmentative effect on cellular immune response. *Korean J. Nutr.* **26**, 379-389.
- Lee, K. I., Rhee, S. H., Kim, J. O., Chung, H. Y. and Park, K. Y. (1993) Antimutagenic and antioxidative effects of Perilla leaf extracts. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **22**, 175-180.
- Lee, K. M., Rhee, S. H., Park, K. Y. and Kim, J. O. (1992) Antimutagenic compounds identified from Perilla leaf. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **21**, 302-307.
- Maclaren, D. L., Huang, H. C. and Rimmer, S. R. (1996) Control of apothecial production of *Sclerotinia sclerotiorum* by *Coniothyrium minitans* and *Talaromyces flavus*. *Plant Dis.* **80**, 1373-1378.
- Chung, B. K. and Hong, K. S. (1991) Biological control with *Streptomyces* sp. on *Fusarium oxysporum* f. sp. vasinfectum and *Phytophthora nicotianae* var. parasitica causing sesame wilt and blight. *Kor. J. Mycol.* **19**, 231-237.
- Xiao, K., Kinkel, L. L. and Samac, D. A. (2002) Biological control of *Phytophthora* root rots on alfalfa and soybean with *Streptomyces*. *Biol. Control.* **23**, 285-295.
- Charudattan, R. and Dinooor, A. (2000) Biological control of weeds using plant pathogens: accomplishments and limitations. *Crop Pro.* **19**, 691-695.
- Jo, S. H., Park, T. H. and Chang, K. W. (2001) Effects of *Brassica campestris* L. and *Lactuca sativa* L. yield by application of organic fertilizers and microorganisms. *J. KOWREC.* **9**, 88-92.
- Lee, S. B. (2000) A view and development situation of microbial pesticide. *Korean J. Pest. Sci. Pesticide News & Information*, **4**, 9-18.
- Kim, K. K., Kang, J. G., Moon, S. S. and Kang, K. Y. (2000) Isolation and identification of antifungal N-butylbenzenesulphonamide produced by *Pseudomonas* sp. AB2. *J. Antibiot.* **53**, 131-136.
- Kim, K. K., Park, K. H., Moon, S. S. and Kang, K. Y. (1997) Isolation and structure identification of antifungal substance from *Aspergillus terreus*. *Agri. Chem. Biotechnol.* **40**, 593-596.
- Kim, C. S., Lee, J. P., Song, J. H., Lim, E. K., Chung, S. J., Ha, S. Y. and Moon, B. J. (2001) Development of biofungicide for control of gray mold rot of eggplant caused by *Botrytis cinerea* and bioassay in the greenhouse condition. *Korean J. Life Sci.* **11**, 235-241.
- Palleroni, N. J. (1989) Family I. Pseudomonadaceae, In BERGEY'S Manual Systemic Bacteriology. Volume I. N. R. Krieg, (ed.) Williams & Wilkins, pp. 141-218.
- Siddiqui, Z. A. (2004) Effects of plant growth promoting bacteria and composed organic fertilizers on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and tomato growth. *Bioresource Technol.* **95**, 223-227.
- Shivanna, M. B., Meera, M. S. and Hyakumachi, M. (1996) Role of root colonization ability of plant growth promoting fungi in the suppression of take-all and common root rot of wheat. *Crop Protect.* **15**, 497-504.