

과제구분	기본연구	수행시기		전반기	
중장기Code		RIMS Code			
연구과제 및 세부과제		연구분야 (Code)	수행 기간	연구실	책임자
과채류 시설재배 친환경 농법 기술 연구		채소 LS0208	'06	북부농업시험장	안용진
1) 시설토마토 재배시 토양개량제 시용효과 구명		채소 LS0208	'06	북부농업시험장	안용진
2) 길항미생물을 활용한 시설토마토 병해경감 연구		채소 LS02081	'06	북부농업시험장	안용진
색인용어	과채류, 토양개량제, 염류집적, 길항미생물, 미생물군집				

## ABSTRACT

This study was carried out to develop environment-friendly control used by antagonistic microorganism against bacterial wilt in controlled tomato cultivation.

In Antigenicity experiment against *Ralstonia solanacearum* *In vitro* test, *Bacillus* sp. revealed antigenicity power, but it seems to be inferior in validity because of its weakness. There was no notable difference between pre-treatment and post-treatment. Soil EC was decreased from 352.39uS/cm to 313.43uS/cm.

### 1. 연구목표

시설토마토 재배시 발생하고 있는 병해에 대해 기존에 사용되는 화학농약의 단점을 보완하고 방제 효과를 증진시킬 수 있는 길항미생물을 활용한 친환경적 방제 방법을 개발하고자 하였다.

### 2. 재료 및 방법

본 실험은 2003년 5월 19일부터 8월 31일까지 강원도농업기술원 북부농업시험장 연동 플라스틱하우스에서 수행하였다.

#### 가. 재배방법

완숙대과품종인 '레전드 썸머'를 실생묘를 5월 24일 정식하였다. 정식시 재식거리는 80cm(조간) × 40cm(주간)로 하였고, 과실의 수정을 위하여 각 화방마다 2~3개의 꽃이 개화되었을 때 토마토톤을 100배로 희석하여 살포하였다. 적과는 충실한 과실비대를 위하여 각 화방별로 3~5개를 남기고 제거하였다. 기타 재배관리는 농촌진흥청 표준재배법에 준하여 실시하였다.

#### 나. 길항 미생물 선발을 위한 기내 및 포장에서의 길항 Test

##### 1) *In vitro* test

포장 실험 수행 전 기내에서의 길항 미생물을 선발하기 위하여 실험을 실시하였으며, 시험에 사용한 균주는 한국 농용미생물센터 (Korea Agricultural Culture Collection, KACC)에서 분양받은 식물병원성 진균인 *Fusarium roseum* 외 9종을 이용하여 Tryptic Soy Agar(Difco, 20g), Potato Dextrose Agar(Duchefa, 39g) PDA와 TSA를 1:1로 섞은 배지에 *Pseudomonas* sp., *Bacillus*

sp. 를 28~30℃ 조건에서 대치 배양하여 길항성 테스트 실시하였으며, Tryptic Soy Agar(Difco, 20g), King's B (Proteos Pepton No.3 20g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.5g, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1.5g, Glycerol 15ml, Agar 15g), Nutrient Agar(Yeast extract 2g, Beef extract 2g, Pepton 5g, NaCl 5g, Agar 15g) 를 이용하여 각각의 배지를 1:1로 섞어서 *Ralstonia solanacearum*와 *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp. 그 외 토양에서 분리한 길항성이 있는 것으로 추정되는 7가지 세균을 Paper disc에 10μl씩 접종하여 대치 배양 하여 길항성 을 조사하였다.

## 2) 포장실험

포장 내에 3개의 처리 구를 정하여 실험하였고 병의 유발 전 *Pseudomonas* sp.와 *Bacillus* sp. 를 처리 하였다. 토마토 포장 내에 풋마름병을 유발시키기 위하여 한국 농용 미생물센터 (Korea Agricultural Culture Collection, KACC)에서 분양 받은 *Ralstonia solanacearum*을 Nutrient Agar (Yeast extract 2g, Beef extract 2g, Pepton 5g, NaCl 5g, Agar 15g)에 3일간 160rpm으로 진탕 배양하여 7월 14일 토마토 뿌리에 상처를 낸 후 50ml씩 관주 접종하였다.

## 다. 토양 미생물상 조사

토양으로부터 토양미생물의 분포를 조사하고자, 1~5차(6월7일, 6월27일, 7월7일, 7월29일, 8월 25일)에 걸쳐 각각의 처리구별로 3곳의 토양을 무작위로 수집한 뒤 실온의 음지에서 토양을 건조 시킨 후 토양 1g을 9ml의 증류수에 희석하여 5분간 vortexing 한 뒤 세균의 경우 10<sup>-6</sup>, 곰팡이는 10<sup>-4</sup>으로 희석하여 Tryptic Soy Agar(Difco, 20g), Potato Dextrose Agar(Duchefa, 39g, Tetracyclin, streptomycin sulfate, Tergitol)의 배양배지에 10μl를 도말하여, 세균은 30℃ incubator에서 2일간 배양한 후 계수하였으며, 곰팡이의 경우 25℃에서 5일간 배양한 뒤 계수하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 가. 길항 미생물 선발을 위한 기내 및 포장에서의 길항시험

#### 1) *In vitro* test

포장실험을 실시 전 기내에서의 길항 미생물의 선발을 위하여 실험을 실시하였으며, 식물병원성 진균인 *Fusarium roseum* 외 9종을 각 배지에 세균과 대치 배양하여 실험을 실시한 결과 *Fusarium* sp.에 대한 길항성은 *Bacillus* sp.에서 높은 길항력을 보여주었으며(표 1), *Pseudomonas* sp.에서는 길항성을 보여주지 못하였다(표 2). *Fusarium* sp.에 대한 기내 실험은 포장 내에 존재하는 *Fusarium* 병균에 대한 예비 실험으로 실시하였다.

표 1. *Fusarium* sp.와 *Bacillus* sp.에 대한 각 배지별 길항력 테스트

세 균	곰팡이	PDA	TSA	PDA+TSA
<i>Bacillus</i> sp.	<i>Fusarium roseum</i>	-	++	++
	<i>Fusarium sporotrichiodes</i>	-	+++	++
	<i>Fusarium poae</i>	++	+	++
	<i>Fusarium oxy. sp. lagemaria</i>	+++	+++	+
	<i>Fusarium anthophium</i>	-	+++	++
	<i>Fusarium equiseti</i>	-	+++	++
	<i>Fusarium oxysforum</i>	++	+++	++
	<i>Fusarium solani. f. sp. pisi</i>	-	++	-
	<i>Fusarium avenaceum</i>	-	+++	++
	<i>Fusarium oxy. f. sp. sporum</i>	++	+++	++

+: 길항성 약, ++: 길항성 중, +++: 길항성 강, -: 길항성이 없음

표 2. *Fusarium* sp. 와 *Pseudomonas* sp.에 대한 각 배지별 길항력 테스트

세 균	곰팡이	PDA	TSA	PDA+TSA
<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Fusarium roseum</i>	-	-	-
	<i>Fusarium sporotrichiodes</i>	-	-	-
	<i>Fusarium poae</i>	-	-	-
	<i>Fusarium oxy. sp. lagemaria</i>	-	-	-
	<i>Fusarium anthophium</i>	-	-	-
	<i>Fusarium equiseti</i>	-	-	-
	<i>Fusarium oxysforum</i>	-	-	-
	<i>Fusarium solani. f. sp. pisi</i>	-	-	-
	<i>Fusarium avenaceum</i>	-	-	-
	<i>Fusarium oxy. f. sp. sporum</i>	-	-	-

+: 길항성 약, ++: 길항성 중, +++: 길항성 강, -: 길항성이 없음

본 실험 결과 *pseudomonas* sp.의 경우 병원성 균주인 *Fusarium* sp.에 대한 길항성은 없는 것으로 나타났으며, *Bacillus* sp.의 경우 TSA에서 가장 높은 길항을 나타냈다. 또한 기내에서의 *Ralstonia solanacearum*에 대한 길항성 실험은 *Pseudomonas* sp.와 *Bacillus* sp. 그리고 실험실에서 분리한 토양 미생물을 가지고 실험한 결과 *Bacillus* sp.가 길항성을 보였으며, *Pseudomonas* sp.의 경우에는 길항성을 나타내지 못하였다(표 3). *Bacillus* sp.의 경우에도 길항력이 매우 약하게 나타나서 포장에 접종하여 이용한다고 해도 유효성은 떨어질 것으로 생각된다.

표 3. *Ralstonia solanacearum*에 대한 길항 세균 선발 테스트

세균	길항 세균	TSA	K·B	NA	TSA+K·B	TSA+NA	K·B+NA
	<i>Pseudomonas</i> sp.	-	-	-	-	-	-
	<b><i>Bacillus</i> sp.</b>	-	-	+	-	-	-
	B15-2 <sup>1</sup>	-	-	-	-	-	-
<i>Ralstonia solanacearum</i> (풋마름병)	B18-3 <sup>2</sup>	-	-	-	-	+	-
	B19 <sup>3</sup>	+	-	-	-	+	-
	B20 <sup>4</sup>	+	-	-	-	-	-
	B32 <sup>5</sup>	-	-	-	-	-	+
	G21-2 <sup>6</sup>	-	-	-	-	-	-
	K38 <sup>7</sup>	-	-	-	-	-	-

+: 길항성 약, ++: 길항성 중, +++: 길항성 강, -: 길항성이 없음, 1~7: 미동정 토양 미생물

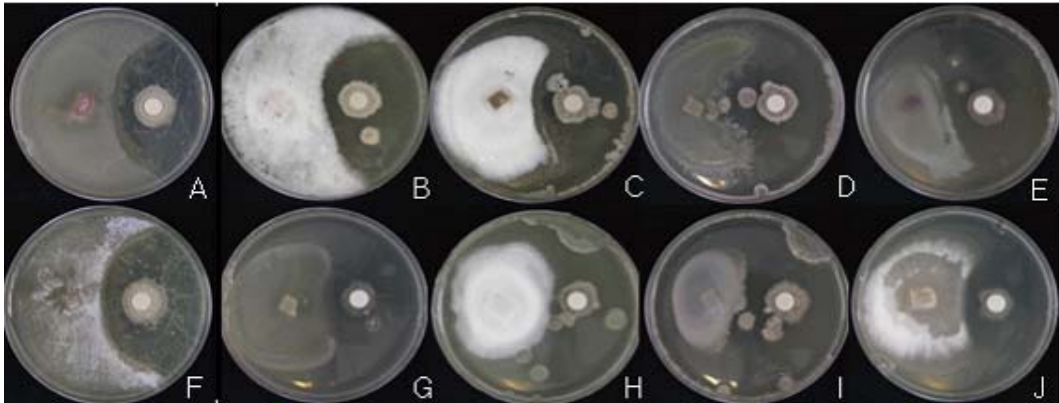


그림 1. *Fusarium* sp. 9종에 대한 *Bacillus* sp.의 길항성 테스트

A:*Fusarium roseum*, B:*Fusarium sporotrichiodes*, C:*Fusarium poae*, D:*Fusarium oxy. sp. lagemaria*, E:*Fusarium anthophium*, F:*Fusarium equiseti*, G:*Fusarium oxysporum*, H:*Fusarium solani. f. sp. pisi*, I:*Fusarium avenaceum*, J:*Fusarium oxy. f. sp. sporum*

## 2) 포장 실험

토마토 포장을 3처리구로 구분하여 대조구, *Bacillus* sp.처리구, *Pseudomonas* sp.처리구로 구분한 뒤 실험하였으며, *Bacillus* sp.는 풋마름병에 대한 길항 세균으로 관주 처리하였고, *Pseudomonas* sp.는 생육 촉진이 있는 것으로 알려져 있어 식물체의 생육을 촉진하므로 식물체의 면역성을 높게 하여 저항성을 키우기 위해서 *Pseudomonas* sp.를 관주 처리하였다. 하지만 토마토 포장 내에 풋마름병이 발병하지 않아 인위적으로 풋마름병을 유발시키기 위하여 7월 14일 토마토 뿌리에 상처를 낸 후 *Ralstonia solanacearum*를 50ml씩 관주 접종 처리하였고, 또한 풋마름병으로 오염된 시설토마토 재배농가의 토양까지 뿌려 놓고 발병이 되기를 기다렸으나 더 이상 발병되지 않아서 풋마름병을 대상으로 하는 정상적인 포장실험을 수행하기 어려웠다.

## 3) 토양 성분 분석

토양의 성분분석을 실시한 결과 토양 pH는 토마토 정식 직후와 큰 차이를 보이지 않았으며, EC는 처리 전 352.39uS/Cm에서 313.43uS/Cm으로 감소하였다. 반면 유기물의 함량은 계속적으

로 조금씩 감소하였으나 정식 직전과 많은 차이가 없었다. 유효태인산의 경우 거의 같은 수준을 유지하였으나 시험후 평균값은 오히려 증가하였다. 또한 Ca와 K함량은 약간씩 감소하는 경향을 보였으며 Mg와 Na의 경우 약간 증가하였다. 양이온 치환용량(토양이나 교질물 100g 이 보유하는 치환성 양이온의 총량을 mg 당량으로 나타낸 것, 단위 : me/100g )은 처리전보다 1.51가량 감소하였다(표 4).

표 4. 시험포장에서의 토양화학성

구 분	pH (1:5)	EC (uS/Cm)	유기물 (g/kg)	유효태 인산 (mg/kg)	NO3-N	NH4-N	양이온(cmol/Kg)				
							Ca	Mg	K	Na	CEC
시험전	6.69	352.39	4.21	815.45	116.13	29.63	7.54	1.79	1.05	0.50	14.56
시험후 J	6.74	313.43	4.12	837.43	108.03	22.42	6.10	2.27	0.97	0.67	13.05

J: 미생물 처리후 5회에 걸친 분석 결과의 평균값.

#### 나. 시설하우스 토양 미생물상 조사

토마토를 정식한 후 각 처리구별 토양을 무작위로 채집하여 포장내의 토양 미생물을 분리하여 미생물 분포를 조사하였다. 1차 조사결과 세균의 경우 8속이 분리되었으며, 곰팡이의 경우 10속이 분리 되었다. 2차 조사결과 1속의 토양 미생물이 추가로 분리 되었으며, 1차에 비해 2차에서 총 Population이 증가 하였다(표 5). 또한 4차와 5차에서는 2속의 세균이 추가로 증가 하였다(표 5). 이는 식물이 성장함에 따라 세균의 증가하는 것으로 추정된다. 곰팡이의 경우는 1차에서 5차로 갈수록 곰팡이의 수가 줄어드는 것을 볼 수 있다(표 6). 표 5에서 d는 *Pseudomonas* sp.로 확인 했으며, k는 4차에 포장 내 병 유발을 위해 접종한 *Ralstonia solanacearum*으로 접종 후 현저하게 균주의 수가 증가한 것을 알 수 있다.

표 5. 시설하우스 내에서 분리한 세균

(균총수/배지)

채집장소 J	시기	균 총 구 분											계
		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	
A	6. 7	4	62	64	<b>8</b>	-	-	-	-	-	-	-	137
	6.27	93	32	92	<b>14</b>	1	-	-	1	24	-	-	257
	7. 7	57	132	13	<b>23</b>	2	2	7	1	9	-	-	246
	7.29	8	34	18	<b>77</b>	-	1	2	5	5	8	<b>19</b>	177
	8.25	2	18	16	<b>128</b>	2	-	2	6	2	14	<b>636</b>	826
B	6. 7	10	68	55	<b>13</b>	1	2	-	2	-	-	-	151
	6.27	79	20	50	<b>6</b>	3	-	-	-	-	-	-	158
	7. 7	24	65	13	<b>12</b>	1	-	6	13	10	-	-	144
	7.29	49	26	16	<b>54</b>	1	-	3	-	7	31	<b>20</b>	207
	8.25	4	1	4	<b>87</b>	21	1	2	7	1	12	<b>875</b>	1015
C	6. 7	10	48	59	<b>21</b>	-	-	1	1	-	-	-	140
	6.27	53	113	30	<b>4</b>	-	-	1	12	-	-	-	213
	7. 7	46	83	15	<b>10</b>	10	9	3	-	-	-	-	176
	7.29	16	40	11	<b>46</b>	13	2	5	5	4	12	<b>23</b>	177
	8.25	8	10	1	<b>124</b>	3	-	1	4	7	20	<b>710</b>	888
계		463	752	457	<b>627</b>	58	17	33	57	69	97	<b>2283</b>	4912

※ (세균분리배지 : Tryptic Soy Agar), J : 3곳에서 채집(A, B, C)

d : *Pseudomonas* sp., k : *Ralstonia solanacearum*, a, b, c, e, f, g, h, i, j : 미 분류 세균군

표 6. 시설하우스 내에서 분리한 진균

(균총수/배지)

채집장소 J	시기	균 총 구 분																					계
		1차	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
A	1차	69	1	-	-	6	311	1	2	-	1	-	3	1	-	2	46						443
	2차	30	3	7	3	-	17	8	9	-	4	13	1	1	2	-	10	10	2	1	2	-	123
	3차	26	1	2	2	-	22	3	1	-	-	55	1	-	-	1	-	1	-	3	-	1	119
	4차	2	1	3	31	2	14	1	-	-	-	42	1	-	-	-	-	1	-	1	2	-	101
	5차	22	-	5	5	-	19	2	1	-	5	28	2	2	-	-	-	-	2	1	-	-	94
B	1차	81	1	1	8	2	26	2	2	1	2	1	-	-	-	-	86	-	-	-	-	-	213
	2차	22	6	1	5	-	9	-	1	-	7	14	1	-	1	-	-	-	1	-	2	1	71
	3차	14	2	1	2	-	7	2	1	-	2	13	1	-	1	-	-	1	-	-	2	-	49
	4차	15	1	1	7	1	11	-	1	-	-	82	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	121
	5차	35	1	5	54	5	51	-	2	-	-	92	-	-	-	-	-	2	-	-	3	-	250
C	1차	25	2	2	2	2	41	-	1	-	-	1	-	1	-	70	-	-	-	-	-	-	147
	2차	13	8	3	10	2	8	1	1	-	5	37	-	1	5	-	2	1	1	-	2	-	100
	3차	24	2	4	1	-	10	1	8	-	2	23	-	-	6	-	-	1	-	-	4	-	86
	4차	10	-	2	9	-	15	1	-	-	-	18	1	-	-	-	-	2	-	-	4	1	67
	5차	4	-	1	44	1	47	-	1	-	-	75	2	-	-	-	2	-	3	1	3	-	189
계		389	31	40	143	25	567	29	38	10	38	429	24	18	30	18	230	36	24	26	42	3	1,984

※ (진균분리배지 : Potato Dextrose Agar), J : 3곳에서 채집(A, B, C), 1차 : 미 분류 진균군

#### 4. 적 요

시설토마토 재배시 발생하고 있는 병해인 풋마름병에 대해 길항미생물을 활용한 친환경적 방제 방법을 개발하고자 하였다.

- 가. 식물병원성 진균인 *Fusarium roseum*외 9종을 각 배지에 세균과 대치 배양하여 실험을 실시한 결과 *Fusarium* sp.에 대한 길항성은 *Bacillus* sp.에서 높은 길항력을 보여주었고, *Pseudomonas* sp.에서는 길항성을 보여주지 못하였다.
- 나. 기내의 *Ralstonia solanacearum*(풋마름병)에 대한 길항성 실험에서 *Bacillus* sp.가 길항성을 보였지만 길항력이 매우 약하게 나타나 유효성은 떨어질 것으로 보인다.
- 다. 토양성분 분석결과 토양 pH는 시험전 6.69에서 시험후 6.74로 큰 차이를 보이지 않았 으며, EC는 처리 전 352.39uS/Cm에서 313.43uS/Cm으로 감소하였다.

#### 5. 인용문헌

김충화. 1989. 토마토의 병해와 그 방제. 최신원에 30(9): pp. 26-31.  
 농업과학기술원 작물보호부 병리과. 1997. 채소병해 원색도감. 농촌진흥청 농업과학기술원.  
 농업과학기술원. 2000. 채소 병해충 진단과 방제.  
 이윤수. 2005. 시설하우스의 병해충 방지기술. 시설재배지 연작장해 경감방안 워크샵. 강원대학교 농업과학연구소, 강원도농업기술원, 철원군농업기술센터.

#### 6. 연구원 편성

세부과제	구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도
						06
2) 길항미생물을 활용한 시설 토마토 병해 경감연구	책임자	북부 농업시험장	농업 연구사	안용진	세부과제 총괄	○
	공동 연구자	고원 농업시험장	농업 연구사	김시창	연구협조	○
	공동 연구자	환경농업 연구과	농업 연구사	김성일	연구협조, 자문	○
	공동 연구자	북부 농업시험장	농업 연구관	강안석	연구협조, 자문	○
	공동 연구자	북부 농업시험장	전문위원	박무언	연구자문	○
	공동 연구자	강원대학교	교수	이윤수	연구협조, 자문	○