

유용미생물처리가 토마토 수량 및 과실 성분에 미치는 영향

김은정¹ · 김충우^{1,*} · 김선국¹ · 장후봉¹ · 김영호¹ · 송재경² · 권장식²

¹충청북도농업기술원, ²농촌진흥청 국립농업과학원

Effect of Effective Microorganism Applications on Growth, Yield and Fruit Nutrient Contents in Fresh Tomato

Eun-Jeong Kim¹, Chung-Woo Kim^{1,*}, Sun-Kook Kim¹, Who-Bong Chang¹, Young-Ho Kim¹,
Jae-Kyeong Song² and Jang-Sik Kwon²

¹Chungbuk Agricultural Research and Extension Services, Ochang 28130, Korea

²Agricultural Microbiology Division, National Institute of Agricultural Science, Wanju 55365, Korea

*Corresponding author: chungwoo77@korea.kr

ABSTRACT

This study was carried out to develop a method to effectively utilize *Bacillus subtilis* S37-2 strain, which has been proven to promote growth and antifungal effect on tomato cultivation. Soil treated with the suspension of *Bacillus subtilis* S37-2 showed a tendency that the electric conductivity (EC) decreased and the organic matter and effective phosphoric acid content increased more than the soil before the test. *Bacillus subtilis* S37-2 treated with the suspension was thicker and 3~16% larger than the control. In addition, navel rot was reduced by 4.7~6.0%, and heat loss was decreased by 0.4~3.7%, and the product overspeed ratio increased by 5~10%. The functional substances and antioxidative activities of the *Bacillus subtilis* S37-2 suspension were diluted to 1.0×10^6 CFU mL⁻¹ concentration, and the sugar content of the leaves treated with leaf surface treatment was increased by 0.5 °Bx and the content of lycopene and vitamin C and DPPH radical scavenging ability, which showed antioxidant activity, was the highest. When the suspension of *Bacillus subtilis* S37-2 was applied to the tomato cultivation, it was diluted to 1.0×10^6 CFU mL⁻¹ concentration, and after five rounds of foliar application every 7 days after the tomato planting, the growth was promoted and the quality was improved respectively.

Additional key words: *Bacillus subtilis* S37-2, Tomato, Growth promotion, Effective microorganism

서 론

안전한 먹을거리에 대한 관심 증가와 지속가능한 농업을 위해 미생물을 활용한 친환경농업에 대한 연

구와 투자가 이루어져 국내 미생물 시장도 급격하게 성장하고 있다. 다양한 유용미생물(*Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Saccharomyces* sp. 등)에 대한 농업적 효과가 검증되면서 시설재배지 중심으로 유용 미생물

수요가 증가하여 전국에 미생물을 보급하는 시·군 농업기술센터가 2016년 134개 지역으로 증가하였다 (RDA, 2016). 단일 미생물은 종류에 따라 작물생장 촉진, 병해충 방제, 토양개량, 품질향상 등 기능적 분류가 가능하지만, 현재 생산되어 보급되는 유용 미생물들은 대부분 세균, 질산균, 효모를 혼합한 EM(Effective Microorganisms)으로 미생물 사용에 대한 효과를 명확하게 구분할 수 없다. 그리고 유용미생물의 작물에 따른 처리 효과 검증이 부족하여 제대로 된 미생물 처리 효과를 얻지 못하는 것이 문제되고 있다. 따라서 효과가 검증된 미생물에 대해 작물별 사용방법을 적립하여 농가에서 안정적으로 사용할 수 있는 사용법 개발이 필요한 상황이다. 본 연구는 내열성 및 내염성을 함께 가지고 있어 불량 토양환경에 대한 적응능력이 뛰어나며, 뿌리에 침투하는 식물병원균을 효과적으로 억제하고, 식물생육촉진 효과도 검증된 *Bacillus subtilis* S37-2 균주(Kwon et al., 2007)를 시설재배지에서 효과적으로 활용할 수 있는 처리 방법을 개발하고자 하였다. 대상작물은 2018년 기준 1인당 연가소비량이 7.1 kg, 2015년 기준 생산액이 9,850억 원으로 전체 농업생산액의 2.2%를 점유(KOSIS, 2018)하여 안정적 소비층이 확보되어 있는 토마토를 선정하였다.

재료 및 방법

1. 시험균주

본 연구에 사용된 *Bacillus subtilis* S37-2(KACC 91281P) 균주는 농업미생물은행(Korean Agricultural Culture Collection, KACC)에서 분양 받은 균주를 TSB(Tryptic Soy Broth, Difco Lab., USA) 액체배지 용액에 *Bacillus subtilis* S37-2를 접종시켜 37℃에서 24시간 배양한 후 1×10^8 CFU mL⁻¹ 농도로 희석하여 균 현탁액을 준비하여 사용하였다.

2. 재배방법 및 처리조건

충청북도농업기술 시설하우스에서 토마토(품종: 슈퍼도태랑)를 대상으로 시험하였다. 시험구 배치는 완전임의배치법(Completely randomized design)을 이용하였고, 재식거리는 20 cm×20 cm로 실시하였다. 시험구는 *Bacillus subtilis* S37-2 균체가 없는 균주 현탁액, *Bacillus subtilis* S37-2 균주 현탁액을 1.0×10^7

CFU mL⁻¹, 1.0×10^6 CFU mL⁻¹ 농도로 희석하여 7일 간격으로 5회 관주 및 엽면 처리하였다. 이때 처리량은 1 ton 10a⁻¹ 기준으로 시험구 당 400 mL씩 처리하였다.

3. 토양 화학성 조사

Bacillus subtilis S37-2 균주 현탁액의 처리 전·후에 따른 시험포장 토양의 화학성 분석은 농촌진흥청 토양 및 식물체 분석법(2000)에 따라 분석하였는데, 토양의 pH와 EC는 초자전극법으로 측정하였고, 유기물 함량은 Walkley-Black법, 유효인산은 Langcaster법, 유효 규산은 1N-NoAC(pH4.0) 용액에서 침출하여 700 nm에서 비색정량하였고, 치환성 양이온인 K, Ca, Mg, Na은 1N-ammonium acetate(pH7.0)로 침출하여 ICP(Agilent, 7200ES)로 분석하였다.

4. pH와 총산도 측정

pH 측정은 실온에서 pH meter(Sartorius AG, Göttingen, Germany)를 사용하였다. 산도는 AOAC(1995) 방법에 따라 상등액 20 mL에 1% phenolphthalein을 지시약으로 하여, 0.1 N NaOH 용액으로 중화 적정하여 citric acid로 나타내었다.

5. 기능성 물질과 항산화 활성

총폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu's 방법에 따라 측정하였다(Schmidit 등 1977). 추출물 0.1 mL에 증류수 8.4 mL와 2 N Folin-Ciocalteu's 시약(Sigma Co., St. Louis, MO, USA) 0.5 mL를 첨가하고, 20% Na₂CO₃ 1 mL를 가하여 1시간 방치한 후 분광광도계를 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 gallic acid(Sigma Co.)를 이용하여 검량선을 작성하고 그 양을 환산하였다.

DPPH radical 소거능 측정은 여과한 시료 0.2 mL에 0.4 mM DPPH 용액 0.8 mL를 가한 후 vortex mixer로 10초간 진탕하고, 실온에서 10분간 방치 후 분광광도계(Cary UV-Vis spectrophotometer, Agilent Technologies, Santa Clara CA, USA)를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다(Blois MS 1958). ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical 소거능 측정은 ABTS(2,2'-azino-bis-3-ethylbenzo-

thiazoline-6- sulfonicacid) 7.4 mM과 potassium persulphate 2.6 mM을 혼합하여 암실에서 16시간 동안 반응시켜 ABTS^{·+}을 형성한 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6. Ascorbic acid 함량

시료 5 mL에 10% TCA(trichloroacetic acid) 용액 4 mL를 넣어 3,000 rpm으로 5분간 원심분리 상등액 2.5 mL와 증류수 7.5 mL 및 10% folin phenol reagent 1 mL를 혼합 후 실온에서 10분간 방치한 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다.

7. Lycopene 함량

균질화한 토마토 과육 5 g에 lycopene extraction solution을 45 mL 가한 후 180 rpm에서 20분간 shaking 한 후 6 mL의 차가운 증류수를 가하여 180 rpm에서 8분간 shaking 상온에서 20분간 분리시킨 후 상층액을 취하여 503 nm에서 흡광도 측정하였다.

8. 통계처리 분석

SPSS program(version17.0)을 이용하여 Mean±SD, ANOVA 분석, Duncan's multiple range test 및 Pearson 상관분석을 수행하였다.

결과 및 고찰

Bacillus subtilis S37-2 균주 현탁액 처리가 토마토

재배 토양에 미치는 영향을 조사하기 위하여 시험 전 토양과 수확 후 미생물 처리 토양을 채취하여 화학성분을 분석하였다(Table 1). 시험 전 토양의 pH는 7.0, EC는 4.01 dS m⁻¹ 정도이고, 유기물 함량은 7 g kg⁻¹, 유효인산 함량은 129 mg kg⁻¹으로 유기물함량과 유효인산 모두 시설토양의 적정범위보다 낮았다. 토마토 수확 후 처리구별 토양을 분석한 결과, 시험 전 토양에 비해 *Bacillus subtilis* S37-2 균주 현탁액을 처리한 토양에서 전기전도도(EC)는 감소하고, 유기물과 유효인산 함량이 증가하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 미생물혼합제제를 토양에 처리했을 때 토양비옥도가 개선된다(Ryu et al., 2012)는 결과와 비슷한 경향을 나타냈으나, *Bacillus subtilis* S37-2 균주 현탁액 처리농도별 처리 방법간에는 유의차가 인정되지 않아, 상추에 *Bacillus subtilis* S37-2 균주 현탁액을 관주처리 했을 때 농도 차이에 따른 화학성분은 영향을 받지 않는다(Heo et al., 2016)는 결과와 유사한 경향이였다.

Bacillus subtilis S37-2 균주 현탁액을 1.0×10⁷ CFU mL⁻¹ 과 1.0×10⁶ CFU mL⁻¹ 농도로 희석하여 7일 간격으로 5회 관주와 엽면처리로 나누어 처리한 후 생육과 수량 그리고 상품과율을 조사하였다. 처리농도별 처리 방법 간 초장 변화는 유의성이 인정되지 않았으나, 경장은 *Bacillus subtilis* S37-2 현탁액을 1.0×10⁶ CFU mL⁻¹ 농도로 엽면처리구에서 무처리 대비 0.9 mm 굵어지는 경향을 나타내었다. 이 결과는 *Bacillus subtilis* 균주를 이용하여 토마토에 대한 생육 촉진 및 병 저항성 활성을 평가한 결과, 토마토의 초

Table 1. Chemical properties of soil after the experiment by the different levels of applied *Bacillus subtilis* S37-2

| Stage | Treatment | pH (1:5) | EC (dS/m) | OM (g/kg) | P ₂ O ₅ (mg/kg) | K | Ca | Mg | Na |
|------------|--------------------|---------------------|--------------|--------------|--|----------------------------|-------|-------|------|
| | | | | | | ----- (cmol(+) / kg) ----- | | | |
| Harvesting | Before planting | 7.0 | 4.01 | 7 | 129 | 0.13 | 9.49 | 6.03 | 0.20 |
| | Control | 7.0 | 3.82 | 10 | 165 | 0.14 | 15.01 | 8.32 | 0.19 |
| | Soil drench | 1.0×10 ⁷ | 7.2 | 3.32 | 12 | 178 | 0.18 | 15.24 | 8.61 |
| | | 1.0×10 ⁶ | 7.3 | 3.94 | 12 | 181 | 0.19 | 15.35 | 9.12 |
| | Foliar application | 1.0×10 ⁷ | 7.0 | 4.54 | 14 | 175 | 0.19 | 15.92 | 9.65 |
| | | 1.0×10 ⁶ | 7.0 | 4.67 | 13 | 179 | 0.18 | 15.52 | 9.07 |

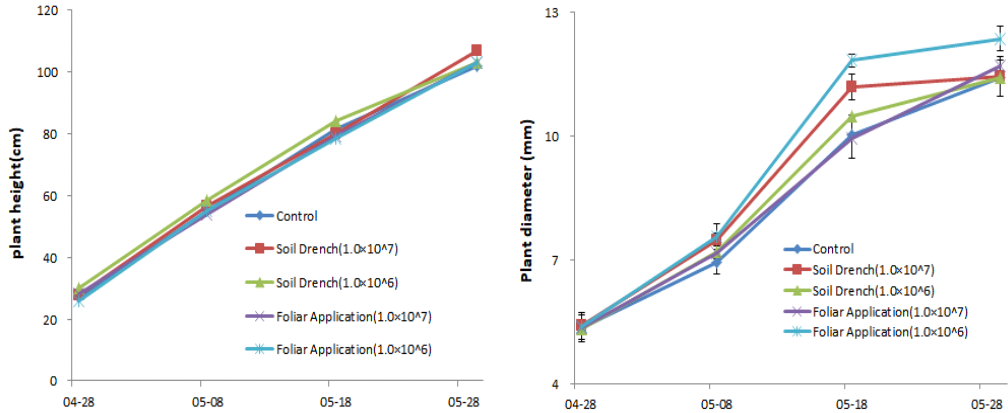


Fig. 1. Growth characteristics of tomato by *Bacillus subtilis* S37-2 treatment methods.

장, 잎의 크기 등 생육 촉진효과를 나타냈다는 Park et al.(2010)의 결과와 유사한 경향이었다.

Bacillus subtilis S37-2 균주 현탁액을 처리농도 및 처리방법에 따른 수량변화는 Fig. 2와 같다. *Bacillus subtilis* S37-2 균주 현탁액을 처리하였을 때 대조구 대비 3~16% 증수되었는데, 엽면 처리구가 관주 처리구보다 수량이 더 증가하는 경향을 나타냈다. 1.0×10^7 CFU mL⁻¹ 농도로 엽면 처리하였을 때 4,977 kg 10a⁻¹으로 대조구 대비 16% 수량이 증가되었고, 1.0×10^6 CFU mL⁻¹ 농도로 엽면 처리 시 4,750 kg 10a⁻¹로 대조구 대비 14%의 수량이 증가되었다. 상추에 *Bacillus subtilis* S37-2 균주 현탁액을 1.0×10^6 CFU

mL⁻¹ 농도로 정식 후 5일 간격으로 3회 관주에 처리하였을 때 무처리구에 비해 29%의 수량증대 효과가 있다(Heo et al., 2016)는 연구 결과와 비슷한 경향을 나타내었다.

Bacillus subtilis S37-2 현탁액 처리농도 및 처리방법에 따른 토마토 과실 특성은 Fig. 3 및 Fig. 4와 같다. *Bacillus subtilis* S37-2 균주 현탁액을 토마토에 처리하였을 때 대조구 대비 배꼽썩음병은 4.7~6.0 % 감소하였고, 열과는 0.4~3.7% 감소하였다. 배꼽썩음병과 열과 등의 비상품과 비율이 감소하면서 대조구 대비 *Bacillus subtilis* S37-2 현탁액 처리구의 상품과율 비율은 5~10% 증가하는 경향을 나타내었다. *Ba-*

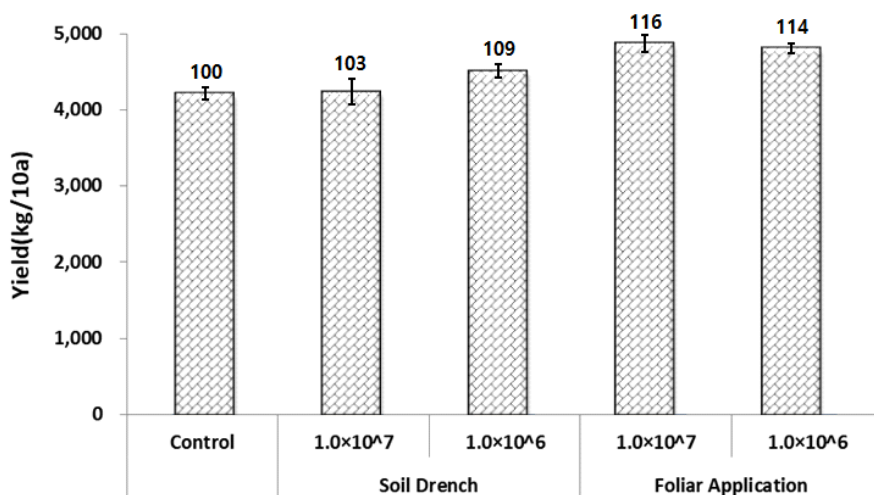


Fig. 2. Yield characteristics of tomato by *Bacillus subtilis* S37-2 treatment methods.

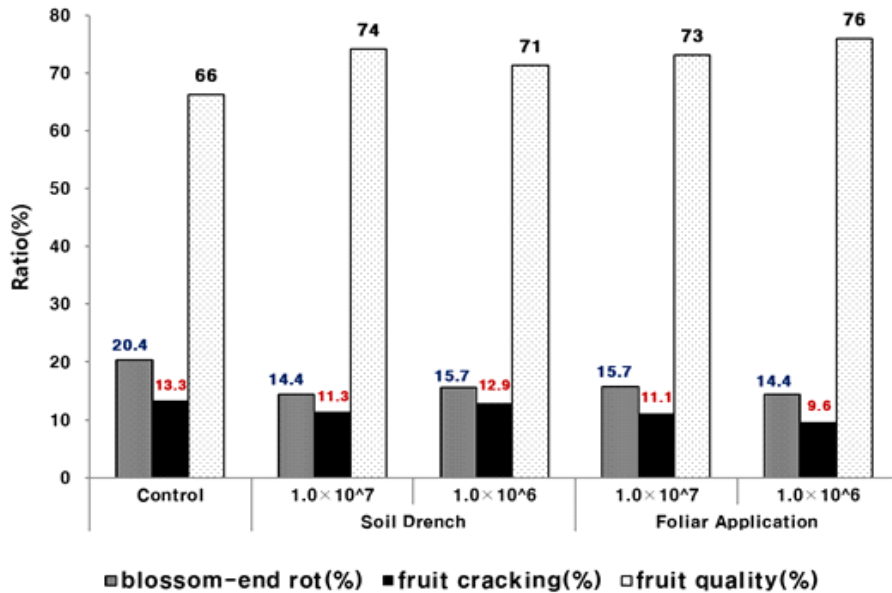


Fig. 3. Productivity of tomato by treatment with *Bacillus subtilis* S37-2.

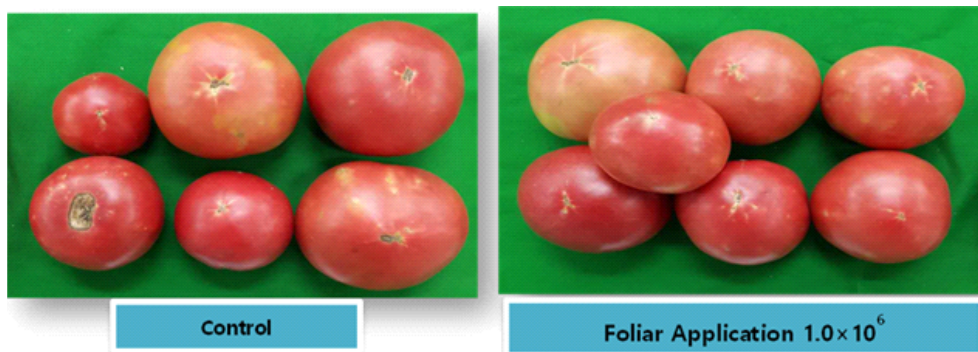


Fig. 4. Characteristics of tomato by *Bacillus subtilis* S37-2 treatment methods.

cillus subtilis S37-2 현탁액을 1.0×10^6 CFU mL⁻¹ 농도로 정식 후 7일 간격으로 5회 엽면살포 해주었을 때 상품과율이 대조구 대비 10% 향상되었다. 배꼽썩음병의 원인은 칼슘 부족이 원인이므로 수확기 토양에서 대조구에 비해 칼슘함량이 높아진 것과 상관관계가 있을 것으로 판단된다.

Bacillus subtilis S37-2 현탁액 처리농도 및 처리방법에 따른 토마토 기능성 물질과 향산화 특성은 표 2와 같다. *Bacillus subtilis* S37-2 균주 현탁액을 1.0×10^6 CFU mL⁻¹ 농도로 희석하여 정식 후 7일 간격으로 5회 엽면처리한 결과, 대조구보다 당도가

0.5 °Bx 높아졌고, 기능성물질인 라이코펜과 비타민 C 함량도 유의적으로 증가하였고, 항산화 활성을 나타내는 DPPH 라디칼 소거능도 가장 높게 나타났다. 미생물제 엽면처리가 토마토 배꼽썩음병 발생이 억제되어 총수량이 증가하는 효과를 보였고, 토마토 과실의 산 함량을 제외한 가용성 고형물, 당 및 비타민 C 함량이 높게 나타나 품질을 향상시키는 결과를 얻었다(Jeong et al., 2005)는 결과와 유사한 경향을 나타내어 *Bacillus subtilis* S37-2 균주 현탁액 처리가 토마토 품질향상에 효과를 나타내는 것으로 판단되었다.

Table 2. Functional materials and antioxidant activity of tomato by *Bacillus subtilis* S37-2 treatment methods

| Treatment | | pH | Acidity (%) | Soluble solids (°Bx) | Lycopene (mg%) | Polyphenol contents (mg%) | Ascorbic acid contents (ppm) | DPPH (%) | ABTs (%) |
|--------------------|---------------------|-------|-------------|----------------------|----------------|---------------------------|------------------------------|----------|----------|
| Control | | 4.1ns | 5.7a | 4.7b | 65.2bc | 34.9a | 65.3bc | 38.2b | 35.3c |
| Soil drench | 1.0×10 ⁷ | 4.2 | 5.4b | 4.8b | 62.8c | 33.1ab | 65.9b | 36.8c | 35.9c |
| | 1.0×10 ⁶ | 4.2 | 5.6ab | 5.2a | 70.3a | 34.4a | 69.0a | 39.9ab | 37.7a |
| Foliar application | 1.0×10 ⁷ | 4.2 | 5.4b | 5.1ab | 67.0b | 32.3b | 64.3c | 37.2bc | 36.2b |
| | 1.0×10 ⁶ | 4.2 | 5.5ab | 5.1ab | 67.8ab | 32.8ab | 67.2ab | 40.5a | 35.4c |

Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at $p = 0.05$.

적 요

본 연구는 생육촉진과 항진균 효과가 검증된 *Bacillus subtilis* S37-2 균주를 시설토마토 재배에 효과적으로 활용할 수 있는 방법을 개발하기 위해 수행하였다. *Bacillus subtilis* S37-2 균주 현탁액을 처리한 토양이 시험 전 토양보다 전기 전도도(EC)는 감소하고, 유기물과 유효인산 함량이 증가하는 경향을 보였다. *Bacillus subtilis* S37-2 현탁액 처리 시 대조구에 비해 경장이 굽어지고 3~16%의 수량이 증수되었다. 또한 배꼽썩음병은 4.7~6.0% 감소하였고, 열과는 0.4~3.7% 감소하여 상품과율 비율은 5~10% 증가하는 경향을 나타내었다. 기능성 물질 및 항산화 활성은 *Bacillus subtilis* S37-2 균주 현탁액을 1.0×10⁶ CFU mL⁻¹ 농도로 희석하여 엽면처리한 시험구가 대조구보다 당도가 0.5°Bx 높아졌고, 기능성 물질인 라이코펜과 비타민 C 함량도 유의적으로 증가하였으며, 항산화 활성을 나타내는 DPPH 라디칼 소거능도 가장 높게 나타났다. *Bacillus subtilis* S37-2 균주 현탁액을 시설토마토 재배에 처리할 때는 1.0×10⁶ CFU mL⁻¹ 농도로 희석한 후 토마토 정식 후 7일 간격으로 5회 엽면처리 한 결과, 생육이 촉진되고 품질도 향상되는 경향을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호: PJ010825)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

참고문헌

1. AOAC. 1995. The Association Official Methods of Analysis. 16th ed., pp.31.
2. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 181:1199-1200.
3. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT. Food Science and Technology 28: 25-30.
4. Choi, Y., Kim, M. H., Shin, J. J., Park, J. M. and Lee, J. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 723-727.
5. Heo, Jae-Young, Kim, Dae-Ho, Choi, Yong-Jo, Lee, Sang-Dae, Seuk, Su-Won, Song, Jae-Kyeong, Kwon, Jang-Sik and Kim, Min-Keun, 2016. Effect of *Bacillus subtilis* S37-2 on microorganisms in soil and growth of lettuce (*Lactuca sativa*). Korean Journal of Soil Science and Fertilize 49(5):621-626.
6. Jang GY. 2012. Effects of heat treatment and extraction method on antioxidant activity of several medicinal plants. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 41: 914-920.
7. Jeong, Cheon Soon, Park, Jong Nam, Lim, Chun Keun, Hur, Jang-Hyun and Park, Duck Hwan 2005. Physiological activities and quality of tomato treated with microbial fertilizers. Kor J. Hort. Sci. Technol.

- 23(3): 261-264.
8. KOSIS, Korea Statistical information service(<http://kosis.kr>)
 9. Kwon, Jang-Sik, Weon, Hang-Yeon, Suh, Jang-Sun, Kim, Wan-Gyu, Jang, Kab-Yeul and Noh, Hyung-Jun 2007. Plant growth promoting effect and anti-fungal activity of *Bacillus subtilis* S37-2. Korean Journal of Soil Science and Fertilize 40(6): 447-453.
 10. NIAST (National Institute of Agricultural Science and Technology). 2010. Methods of Analysis of Soil and Plant. Korea.
 11. Park, Jin-Woo, Cho, Yung-Eun, Park, Kyoung-Soo, Lee, Seo-Hyun and Park, Kyung-Seok. 2010. Evaluation of *Bacillus subtilis* native strains for plant growth promotion and induced systemic resistance in tomato and red-pepper. The Korean Journal of Pesticide Science. 14(4): 407-414 .
 12. Re Roberta, Nicoletta Pellegrinia, Anna Progeggen-tea, Ananth Pannalaa, Min Yanga, Catherine Rice-Evansa. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine 26(9-10): 1231-1237.
 13. Ryu, Il-Hwan, Jeong, Su-Ji, Han and Seong-Soo 2012, Effect of microorganism mixture application on the microflora and the chemical properties of soil and the growth of vegetables in greenhouse. Korean J. Environ Agric. 31(4): 368-374.
 14. Vance, E. D., Brookes, P. C. and Jenkinson, D. S. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. Soil Biol. Biochem. 19: 703-707.
 15. Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L. and Oomah, B. D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. J. Agric. Food Chem. 46(10): 4113-4117.
 16. 농촌진흥청. 2000. 토양 및 식물체분석법. 삼미기획.
 17. 농촌진흥청. 2010. 토양화학분석법. 삼미기획.