

(옆면)

(앞면)

320102-03

다양한  
기능성  
미생물(토양개량,  
작물증수  
촉진,  
병해예방)  
의 베트남  
현지  
생산모델  
구축을  
통한  
환경개선  
및 고품질  
농산물  
생산기반  
구축

2022

농림축산식품부  
농림식품기술기획평가원

보안 과제( ), 일반 과제( O ) / 공개( O ), 비공개( ) 발간등록번호( O )  
농식품수출비즈니스전략모델구축사업사업 2022년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-004336-01

다양한 기능성 미생물(토양개량,  
작물증수촉진, 병해예방)의 베트남 현지  
생산모델 구축을 통한 환경개선 및 고품질  
농산물 생산기반 구축

2023.05.30.

(주)에코비즈넷 /  
농축산용미생물산업육성지원센터

농림축산식품부  
(전문기관)농림식품기술기획평가원

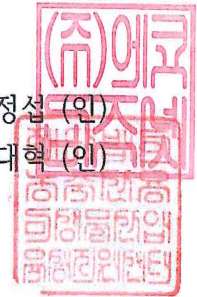
## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “다양한 기능성 미생물(토양개량, 작물증수촉진, 병해예방)의 베트남 현지  
생산모델 구축을 통한 환경개선 및 고품질 농산물 생산기반 구축”(개발기간 :  
2020.07.23 ~ 2022.12.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2023. 05. 30.

주관연구기관명 : (주)에코비즈넷 (대표자) 조정섭 (인)  
협동연구기관명 : 농축산용미생물산업육성지원센터 (대표자) 김대혁 (인)



주관연구책임자 : 임태빈

협동연구책임자 : 김평일

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

## < 요약 문 >

사업명		농식품수출비즈니스 전략모델구축사업		총괄연구개발 식별번호			
내역사업명		신시장개척지원모델		연구개발과제번호		320102-03	
기술분류	국가과학기술 표준분류	LB0401	60 %	LB0304	30 %	LB0302	10%
	농림식품 과학기술분류	RA0303	90 %	RA0305	10 %		%
총괄연구개발명		-					
연구개발과제명		다양한 기능성 미생물(토양개량, 작물증수촉진, 병해예방)의 베트남 현지 생산모델 구축을 통한 환경개선 및 고품질 농산물 생산기반 구축					
전체 연구개발기간		2020. 07. 23 - 2022. 12. 31(2년 6개월)					
총 연구개발비		총 1,440,000 천원 (정부지원연구개발비: 1,080,000 천원, 기관부담연구개발비 : 360,000 천원)					
연구개발단계		기초[ ] 응용[ ] 개발[ <input checked="" type="checkbox"/> ] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[ ]		기술성숙도		착수시점 기준( 3 ) 종료시점 목표( 5 )	
연구개발과제 유형							
연구개발과제 특성							
연구개발 목표 및 내용	최종 목표	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 친환경 농업기술에 대한 중요도가 증가하는 베트남을 대상으로</li> <li>+ R&amp;D 목표: 농업용 기능성 미생물 현지 실증 성공 및 제품등록</li> <li>+ 사업화 목표: 친환경 기능성 미생물의 수출전략 모델 개발</li> </ul>					
	전체 내용	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) 베트남 현지 주요작물의 미생물 솔루션 적용 가능성 분석               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 미생물 적용 가능 분야</li> <li>+ 화학비료 저감을 위한 증수 촉진을 위한 토양개량, 생장촉진 분야</li> <li>+ 화학농약 저감을 위한 병해충 방제 분야</li> <li>- 주요 문제점에 대한 솔루션 미생물 발굴 집중</li> </ul> </li> <li>2) 미생물 선발               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 보유 미생물의 효능검증</li> <li>- 신규 미생물 확보 및 효능검증</li> <li>- Lab scale 수준 평가</li> <li>+ 미생물 동정: 안전성 및 인허가 용이성 검토</li> <li>+ 효소 활성, 불용성 인산가용화, 항진(세)균능, 해충 병원성, 농약 분해능 등 유효 효능 평가</li> <li>- 토양개량용, 병충해방제용, 생육촉진용 미생물 선발</li> </ul> </li> <li>3) 선발 미생물 대상 대량생산 공정 확립 및 제형 연구               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 생산성 증진 연구 및 Lab scale 수준 효능 재현성 평가</li> <li>+ 바이ורי액터를 이용한 저비용/고효율 산업용 배지 조성확립</li> <li>+ 산업용 배지를 이용하여 생산한 선발 미생물의 효능 평가</li> <li>+ 100~1,500L 규모 발효조를 이용한 최적 생산 공정 확립</li> <li>- 주관기관 미생물배양시스템(CellAct) 연계, 생산성 평가</li> <li>- 종균 분말화 기술 기초 연구</li> </ul> </li> <li>4) 시제품 제작               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 미생물 배양이 가능한 종균과 배지 형태로 시제품 개발</li> <li>- 배지: 원료 분쇄, 완전 혼합도 분석, 100L 배양기준 단위 포장</li> <li>- 종균: 고농도 배양 연구, 확대 배양 시 1% 접종 기준</li> </ul> </li> <li>5) 국내 실증시험               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 시제품을 이용하여 주관기관 보유 CellAct 배양기로 미생물 배양</li> <li>- 대상 작물별 실증시험 및 평가(위탁기관-한경대학교)</li> </ul> </li> </ol>					

		<p>6) 베트남 현지 실증시험</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 실증시험을 바탕으로 베트남 현지 실증시험 기획</li> <li>- 베트남 현지에서 실증시험용 미생물 생산</li> <li>+ 협력기관(건터대학교)에 CellAct 배양기 설치</li> <li>+ 시제품 베트남으로 발송</li> <li>+ 주관기관 베트남 법인 인력이 직접 미생물 생산</li> <li>- 실증시험 및 평가(베트남 현지협력기관-동양기업, 건터대학교)</li> </ul> <p>7) 국내 및 베트남 제품등록</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 실증시험 결과 바탕으로 제품등록 신청</li> <li>- 국내 제품등록</li> <li>+ 베트남 등록을 위한 맞춤형 제품등록</li> <li>- 베트남 제품등록</li> <li>+ 베트남 PPD(식물보호국) 산하 NCFT(중앙비료센터) 협력</li> </ul> <p>8) 사업화 추진</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 친환경 기능성 미생물의 수출전략 모델: 미생물배양시스템(CellAct 사업) 적용을 통한 제품 현지화 및 이를 이용한 Program 구축</li> <li>- 한국-베트남 미생물 기술교류 포럼 개최</li> <li>- 주관기관 소재 춘천시와 자매결연 베트남 달랏시 대상 사업설명회 개최</li> <li>- 베트남 현지 쇼룸 또는 스토어 구축: NCFT, DL Group, Sunfood</li> <li>- 베트남 까오방성 개척: KOICA 사업연계 및 해당성 자체 프로젝트 실시(DACE 기업 실증시험)</li> <li>- 베트남 차 협회(HTC)와의 MOU 체결</li> <li>- 2022 Agritechnica Asia 참가</li> <li>- 2022 국제건터농업박람회 부스 참가</li> <li>- 베트남 홍보매체 활용: VOAA협회 온라인 매거진</li> </ul>
--	--	--

연구개발성과	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 미생물 선발 19종(5종 미생물 기탁) <ul style="list-style-type: none"> <li>- 신규 분리 여부</li> <li>+ 기존 보유 미생물 9종</li> <li>+ 신규 미생물 선발 10종</li> </ul> </li> <li>- 기능성 <ul style="list-style-type: none"> <li>+ 토양개량용 및 작물증수촉진용 미생물 9종</li> <li>+ 병해 방제용 미생물 7종</li> <li>+ 총해 방제용 미생물 2종</li> <li>+ 약취저감용 미생물 1종</li> </ul> </li> <li>2. 선발 미생물 상품화 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 1일 이내 <math>1.0 \times 10^9</math> CFU/mL 이상의 생균수 달성 최적 배지와 배양조건 확립</li> <li>- 미생물배양시스템(CellAct) 배양기 프로그램 연계</li> <li>- 미생물 제형 개발 7건</li> </ul> </li> <li>3. 특허출원 5건 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 토양개량 및 작물증수촉진용 미생물 특허 2건</li> <li>- 병해방제용 미생물 특허 2건</li> <li>- 약취저감용 미생물 특허 1건</li> <li>- 3차년도 특허 출원 균주 2건은 과제 종료 후 추가 제품화 추진 예정</li> </ul> </li> <li>4. 국내 제품등록 7건 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 선발 미생물 중 신규등록이 필요한 균주 7종에 대하여 제품 등록</li> </ul> </li> <li>5. 베트남 실증시험보고서 11건 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 망고, 고추, 대파, 수도작, 상추, 딸기 대상 증수 촉진 및 병충해 방제 보고서</li> </ul> </li> <li>6. 실증시험보고서 바탕으로 베트남 제품등록 20건</li> </ol>
--------	--

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 미생물 배지 제품 8건</li> <li>- 미생물 액상 종균 제품 5건</li> <li>- 미생물 분말 제품 6건</li> <li>- 미생물 젤리 타입 제품 1건</li> </ul> <p>7. 논문 등재 1건</p> <p>8. 학술발표 2건</p>
<p>연구개발성과 활용계획 및 기대 효과</p>	<p>1. 베트남 사업화 전략</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 친환경 기능성 미생물의 수출전략 모델: 미생물배양시스템(CellAct 사업) 적용을 통한 제품 현지화 및 이를 이용한 Program 구축</li> <li>- (주)에코비즈넷 국내 본사: 기술적인 지원 파트 담당</li> <li>- (주)에코비즈넷 베트남 현지 법인과 베트남 현지 업무 지원기관 동양기업을 활용한 베트남 사업화 추진</li> <li>- 정기적인 한국-베트남 미생물 기술교류 포럼 개최</li> <li>- 주관기관 소재 충청시와 자매 결연 베트남 달랏시 대상 사업설명회 개최</li> <li>- 베트남 현지 소롭과 스토어(NCFT, DL Group, Sunfood) 활용 홍보 강화</li> <li>- 베트남 까오방성 개척: KOICA 사업연계 및 해당성 자체 프로젝트 실시(DACE 기업 실증시험)</li> <li>- MOU 체결한 베트남 차 협회(HTC)와의 협력을 통한 바이어 발굴</li> <li>- 2022 Agritechnica Asia 참가로 발굴한 유력 바이어 관리</li> <li>- 2022 국제컨터농업박람회 부스 참가로 발굴한 유력 바이어 관리</li> <li>- 베트남 홍보매체 활용: VOAA협회 온라인 매거진</li> <li>- MOU 체결 기업, 기관 활용 홍보 강화</li> <li>- 농업 분야 이외의 축산, 수산 분야로의 미생물 솔루션 확장</li> </ul> <p>2. 사업 확장 전략</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 과제 수행기간 동안 COVID19에 의한 제약 해소로 해외사업 활동 가속화 가능</li> <li>- 베트남 사업을 기반으로 주변 동남아시아 국가로의 진출</li> <li>- 현재 액상 종균제를 분말형 종균제로 개발 성공</li> <li>- 기존에 발굴한 바이어 중 미생물 솔루션에 관심이 높은 에과도르, 페루에 베트남 성공사례 소개 및 추가 구매확약서 취득(연간 10억 예상)</li> </ul> <p>3. 기대효과</p> <p>○ 사업화 성과</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 과제 수행기간 동안 2건의 구매확약서(935 백만원) 체결 <ul style="list-style-type: none"> <li>+ 2021.02.02. / NAM MIEN TRUNG GROUP / 미생물배양기 20대(800백만원)</li> <li>+ 2022.12.09. / MACROLIFE company limited / 미생물배양기 2대(135백만원)</li> </ul> </li> <li>- 2023.02 기준 과제 관련 매출 151백만원 달성 <ul style="list-style-type: none"> <li>+ 국내: 24백만원</li> <li>+ 해외(베트남): 127백만원</li> </ul> </li> <li>- 고용창출 7인 <ul style="list-style-type: none"> <li>+ 주관기관 6인 고용 창출</li> <li>+ 공동연구기관 1인 고용 창출</li> </ul> </li> </ul> <p>○ 기술적 측면</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 친환경 미생물제제 농업솔루션의 원천기술 선점</li> <li>- 대량배양 및 제형화 기술 개발을 통한 유용미생물제제의 실용화 시스템 개발</li> <li>- 미생물제제의 농가현장 컨설팅을 위한 전문가 및 지식 기반형 농업 전문가 육성</li> <li>- 기존의 화학농약 및 생물농약보다 우수한 활성이 보유한 새로운 개념의 미생물제제 고안 <ul style="list-style-type: none"> <li>+ 다양한 종류의 유용미생물 및 활성 대사산물을 함유한 미생물제제 개발</li> <li>+ 유용미생물의 활력 증진을 위한 부형제, 증량제, 보존제 및 첨가제 함유</li> </ul> </li> <li>- 각각의 적용 분야에서 최대의 활성·효과를 발휘하게 개발된 사용지침서·매뉴얼 개발</li> </ul> <p>○ 경제·산업적 측면</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 기능성 유용미생물제제의 개발을 통한 관련 분야 산업 성장</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 농업용 미생물제제의 실용화 공정 확립을 통한 미생물산업화 기술 확보</li> <li>- 친환경, 고부가가치/선도 농업 창출을 통한 동종업계 산업 발전의 토대 마련</li> <li>- 유용미생물제제의 이용을 통한 친환경농산물 수확 증대에 따른 양질의 농산물 공급 확대</li> <li>- 유용미생물제제의 사용을 통한 화학농약 사용량 저감으로 농업환경 개선</li> <li>- 합성농약 대체물질 사용으로 유기농산물 생산의 친환경적 관리체계 구축으로 농업 생태계 보호</li> <li>- 제형화된 미생물제제의 배양, 사용방법 등 쉽고 과학적이며 체계적인 사용 매뉴얼 보급</li> </ul>
--	--

연구개발성과의 비공개여부 및 사유

공개

연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설·장비	기술 요약 정보	소프트웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
								생명 정보	생물 자원		정보	실물
	1	5							5			
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호			
국문핵심어 (5개 이내)	유용미생물		비료		유기농업		유기농업자재		작물보호제			
영문핵심어 (5개 이내)	Effective microorganism		Fertilizer		Organic farming		Organic agricultural materials		Pesticide			

210mm×297mm[(백상지(80g/m<sup>2</sup>) 또는 중질지(80g/m<sup>2</sup>)]

## 〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의 개요 .....	7
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 결과 .....	10
3. 연구개발과제의 목표 달성 정도 .....	85
4. 목표 미달 시 원인분석 .....	93
5. 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여 정도 .....	95
6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획 .....	95

# 1. 연구개발과제의 개요

○ 지속 가능한 친환경 농업 확산을 위한 친환경 농자재 개발의 필요성

- 기존의 농업은 양적 성장에 치중하면서 생산성은 증가했으나 그와 함께 화학농약과 화학비료의 과다 사용으로 환경오염, 인축독성, 저항성 병해 출현 등 부작용이 매우 심각해지고 있음.
- 전 세계적인 화학비료 및 농약 사용 감소 추세와 범정부 차원의 저탄소 녹색성장 정책기조에 따라 친환경농산물이 각광 받으면서 친환경농자재 및 생물농약시장은 꾸준히 성장하고 있음.

○ 화학 농법 대체를 위한 영농 미생물 현황

- 농업에 사용되는 대표적인 미생물의 종류와 일반적으로 알려진 효능은 아래 표와 같음.

표 1. 유용미생물 영농에서의 역할

구분	주요기능	미생물종
병충해 방제	항(진)균 물질 생성으로 병해 예방 Bt toxin, 분생포자 생성 등으로 충해 예방	바실러스, 유산균, 방선균, 백강균 등
작물생육 촉진	유용물질 분비, 난분해성 유기물 분해 촉진	바실러스, 효모, 유산균 방선균, 광합성균 등
토양개량	토양 입단화, 염류장해 개선, 토양 미생물상 개량 등	광합성균, 질소순환균 등

- 영농에서 미생물의 순 역할이 점차 알려지고는 있으나 실제 현장에서는 아래의 이유로 활성화되지 못하고 있음.
  - 첫째, 제조사에서 미생물 제품을 제조 후 소비자가 사용하기까지 복잡하고 긴 유통과정을 거치면서 미생물 활력이 점차 감소하게 되고 현장에서의 효과 역시 감소함.
  - 둘째, 화학제품에 비해 작기 별, 작목별 사용방법에대한 실증연구가 매우 부족하여 제대로 된 사용방법을 소비자뿐만 아니라 생산자도 알지 못한다는 점임.
  - 셋째, 친환경 농업에 대한 인프라가 부족으로 접근성이 떨어지고 미생물에 대한 지식이 부족하다는 점임.
- 따라서, 아직도 대부분의 농가는 화학제품을 사용하고 있음.
- 이들 문제점을 해결하기 위해 우리나라는 관련 제도를 마련하였으며, 세계에서 유일하게 정부 차원의 유용 미생물 보급 사업을 운영하여 긍정적인 반응을 이끌어내고 있음.
  - 전국 농업기술센터에서 직접 미생물을 배양하여 농가에 보급하는 사업을 매년 추진 중임.
  - 비료공정규격에 농업에 이용 가능한 미생물을 고시하여 토양미생물제제로 관리함.
  - 2017년 6월부터 시행 중인 농촌진흥청 고시 ‘유기농업자재 공시 및 품질인증 기준’을 마련하여 주기적으로 관리함.
- 그러나 농업기술센터에서 보급하는 미생물조차 실증시험이 절대적으로 부족하여 관행적으로 알려진 미생물을 일반적인 방법으로 사용 권고하고 있는 수준임.



○ 베트남 농업의 친환경 농자재 적용 필요성

- 농촌 지역의 낮은 생산성 및 지속가능성에 대한 문제를 해결하기 위해 베트남 정부는 농촌개발의 중요성을 결의하여 '08년 농업·농민·농촌의 발전을 주요국가 이행 과제의 하나로 지정하였음. 또한 베트남정부는 최근 하이테크, 고부가가치산업 분야에서 외국인 투자유치를 위한 파격적인 인센티브를 통해 외국 기업에 베트남 투자를 장려하고 있음(2019 베트남 개황, 2019, 외교부).
- 2017년 10월, 호치민에서는 유기비료 산업과 유기농업 개발 전략을 위한 회의가 개최됨. 이 회의에서 베트남비료협회(VietNam Fertiliser Association)의 응우옌 학 튜이(Nguyen Hac Thuy) 사무총장은 많은 국가들이 지속 가능한 농업, 식량 안전 및 사람들의 건강을 보장하기 위해 유기농으로 전환하고 있다고 지적하며 베트남도 유기농업을 발전시켜 유기비료의 생산과 사용을 늘려야 한다고 강조함.
- 오염된 농토에 대한 처리 수요가 증가하는 가운데 베트남 내 토양 개선용 미생물 개발에 관한 관심이 높아지고 있음. 2019년 베트남 토양 및 농업연구소, 켄터(Can Tho) 대학교 등은 토양 개선용 미생물, 농업용 미생물 개발을 추진하는 등 미생물에 대한 연구개발의 움직임을 보임. 그러나 현재 베트남 내 미생물 기준을 연구, 평가할 수 있는 연구기관은 12개 중 4개에 불과한 수준이며('18년 기준), 식물보호부(Plant Protection Department)는 같은 해 미생물에 대한 기준 코드 수립을 발표하는 등 현재 미생물 기술 및 규정은 초기 단계에 있음.
- 베트남 농업에서 작물별 주요 애로사항(굵은 글씨: 본 과제의 주요 연구범위이며 수행기관에서 기획보한 우수 후보 미생물을 이용하여 연구개발 추진 중)

작물	애로사항
망고	병충해 문제 (탄저병, 검은점무늬병, 흰가루병, 망고벌레, 실파리)
벼	병충해 문제 (도열병, 무름병, 흰잎마름병, 벼멸구, 나방)
아티초크	병충해 문제 (잎점무늬병, 실파리)
벼, 시설작물 등	작물생육촉진, 토양개량

- 베트남 농업의 위협 요인이 아래와 같은 현시점에서 과제수행기관의 친환경농법기술이 베트남 시장에 진출하기에 적기임.

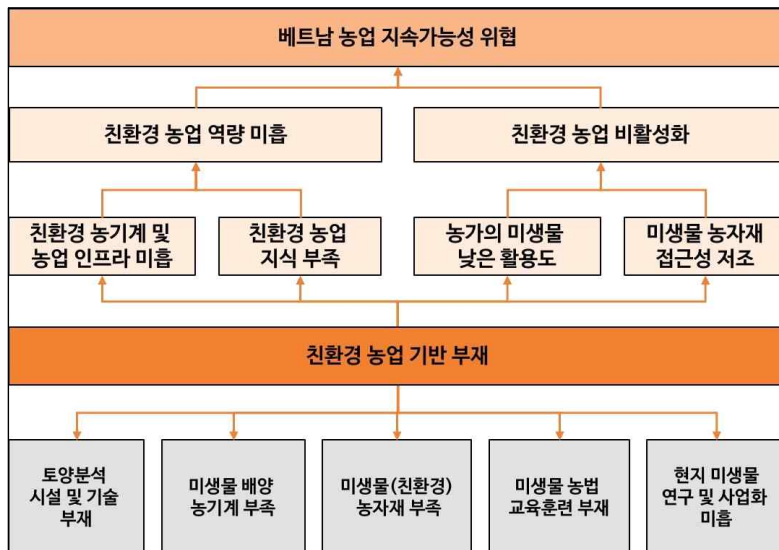


그림 1. 베트남 지속 가능 농업 실현을 위한 현지 문제점(한국사회투자)

○ 친환경 농자재 적용국가로 베트남 선정 사유

- 주관기업 베트남 현지법인 보유(친환경 유기 농업을 위한 미생물 비료 및 미생물 농약 제품의 베트남 현지화를 위한 제품을 베트남에 수입/수출하기 위해서는 현지법인 설립이 필수).
- 미생물자가배양시스템(CellAct system)을 통한 빠른 시장진출과 경쟁력 있는 사업 가능.
  - 주관기업과 협동연구기관의 토양개량, 병충해 방지, 작물 성장 등의 효과를 얻을 것으로 추정되는 유망 후보 미생물 다수 보유(주관기관: 20종, 협동연구기관: 800종).
  - 미생물 배지 최적화 연구를 통한 산업용 미생물 배지 개발 능력 보유.
  - 미생물 최적 배양조건을 찾아 미생물 선택 한 번으로 자동으로 배양조건이 입력되고 누구나 안내 멘트에 따라 미생물을 배양할 수 있도록 개발한 스마트형 미생물 배양기 보유(성능인증 '강원-20180538-1-01')
  - 이를 통해 주관기관에서는 현장에서 직접 미생물을 배양하고 바로 사용할 수 있는 미생물자가배양시스템(CellAct system)을 구축하였고 태국, 남아공, 미국 등에 수출되어 운영 중임.
- 베트남 농업 현장의 주요 애로사항
  - 지난 10여년간 벌어진 지구 온난화로 인해 베트남의 평균 기온이 높게는 3도까지 상승해 병충해가 창궐하고 작물들이 타들어가는 등 피해가 속출하고 있음.
  - 주요 작물에 병충해 문제 심각(벼 무름병, 벼 흰잎마름병, 벼 도열병, 망고 탄저병, 망고 검은점무늬병, 망고 흰가루병, 아티초크 잎점무늬병, 벼멸구, 나방, 실파리 등)
  - 화학농법을 대체할 수 있는 주요작물(벼, 시설작물 등)에 대한 작물생육촉진, 증수 촉진 친환경 기술 필요.

표 2. 베트남 연간 곡물 생산량 (농림축산식품부, 2018, 베트남시장조사보고서)

구분	생산량
쌀, 옥수수	약 4,900만톤
카사바, 고구마, 견과류	약 1,200만톤
커피, 아티초크, 고무, 캐슈너트, 후추, 사탕수수	약 2,400만톤
과일과 채소	약 1,400만톤
* 쌀, 커피, 후추 부문에서 세계 시장 1~2위를 차지하고 있음	

- 따라서 베트남 현지 농가의 애로사항을 해결할 수 있는
  - \* 베트남 주요 애로사항에 대한 병해충 방제, 토양개량, 작물생육촉진 미생물을 발굴
  - \* 현지 실증시험을 통해 효과를 검증
  - \* 최종 선택된 미생물을 자가배양시스템(CellAct system)에 접목
  - \* 베트남 현지 제품 등록 및 인허가를 취득
  - \* 한국 친환경농기자재 사용 농산품 표준 인증을 통하여 K-Brand화하여 베트남 현지에 맞는 친환경 농자재(특히, 미생물) 수출 전략모델을 개발하고자 함.
- 베트남 성공사례를 바탕으로 타 국가로 진출하고자 함.

## 2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 결과

구분 (연도)	세부과제명	세부연구목표	연구개발 수행내용	연구결과
1단계 (2020~ 2021)	(주관기관) 토양개량, 총해예방 균주 스크리닝 및 기능성 미생물의 베트남 현지 현장검증을 통한 수출전략모델 개발 & 사업화	베트남 주요 작물의 문제점 및 애로사항 관련 정보 파악	베트남 현지 법인을 활용하여 현지 정보 파악	베트남 현지 벼, 토마토, 아티초크, 고추, 두리안, 망고 병해충 자료 취득
		베트남 현지 실증시험 대상 미생물 선별	기확보된 미생물자원 검증으로 균주 선별	[주관기관]6종 선별 [공동기관]8종 선별
		선별 균주 대상 발효 조건 최적화	미생물 효능 극대화 배양 시스템 최적화	8종 배양시스템 최적화 완료, 6종 최적화 진행 중
		국내 실증시험 & 베트 남 실증시험	시제품 전달, 실증시험 기획 및 모니터링 베트남 현지 배양시스템 구축	국내 5 작물(벼, 망고, 아티초크, 고구마, 콩) 실증시험 완료, 베트남 9작물(아티초크, 고추, 벼, 상추, 망고, 토마토, 대파, Pomelo, passion fruit) 실증시험 수행 중, 베트남 현지 미생물 배양시스템 구축 완료
	(공동기관) 현지 맞춤형 유기농업자재 대량생산·제형 화 및 시제품 제작	제품 등록 5건	국내 비료 등록 1건 국내 사료 등록 5건 국내 비료 추진 중 9건 유기농업자재 추진 중 2건 베트남 제품 추진 중 13건	선별한 미생물 대상 국내비료와 미생물 먹이원인 보조사료 제품 등록 6건 완료, 추가로 국내 비료 등록과 유기농업자재 11건과 베트남 제품 인허가 13건 등록 진행 중
		탄저병, 검은점무늬병 제어 용 균주 선별 확보	센터에서 분리·확보중인 미생물자원 600점을 활용한 탄저병 제어용 균주 선별 및 확보	탄저병, 검은점무늬병 제어용 균주 각각 9종, 3종 선별
		기 확보된 탄저병, 검은점무 늬병 제어용 <i>Bacillus</i> <i>velezensis</i> , <i>Bacillus</i> <i>methylotrophicus</i> 균주 활 용	<i>B. velezensis</i> , <i>B. methylotrophicus</i> 균주를 활용한 탄저병, 검은점 무늬병 항균활성 조사	탄저병, 검은점무늬병 제어용 선별 균주와 기 확보된 <i>B.</i> <i>velezensis</i> , <i>B. methylotrophicus</i> 균주의 항균활성 조사 비교
		탄저병, 검은점무늬병 제어 용 균주 대량배양 최적 조건 및 제형 개발	탄저병, 검은점무늬병 제어용 균주 저비용·고효율 최적배지 개발	탄저병, 검은점무늬병 제어용 우수균주 각각 1종( <i>B. subtilis</i> BC-6, <i>B. velezensis</i> JC-9)에 대한 저비용·고효율 최적배지 확립
		실증시험(in vivo bio-assay/field test)용 시 제품 제작	시제품(액상)을 이용한 망고 탄저병 및 검은점무늬병 방제 시험분석 의뢰	<i>B. subtilis</i> BC-6의 경우 무처리 대비 88.2%, <i>B. velezensis</i> JC-9은 무처리 대비 38.6% 방제가를 확인함
		작물 생육촉진 및 병 방제용 기능성 미생물 발굴 및 활성(효능) 검증	센터에서 분리·확보중인 미생물자원 400점을 활용한 작물 생육촉진 및 병방제용 기능성 미생물 선별 및 확보	작물생육촉진용 기능성 미생물 선별 <i>Rhodobacter sphaeroides</i> PS-24, <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ISP-5
	앞점무늬병 및 광합성세균 선별 미생물의 대량생산 공정	작물생육촉진용 기능성 미 생물 2종에 대한 저비용·고 효율 실용배지 개발 및 대	바이오리액터 및 플라스크를 이용한 저비용·고효율 실용배지 개발	

	확립 및 맞춤형 제형 개발	량생산 공정 확립	5L, 100L, 1.5ton 발효기를 이용한 대량생산 공정 확립
	실증시험(in vivo bio-assay/ field test)용 시제품제작	선별한 <i>Rhodobacter sphaeroides</i> PS-24, <i>Bacillus amyloquelaciens</i> ISP-5 균주의 작물 생육촉진에 대한 상추 시험	상추 생육조사 결과 무처리 대비 처리구에서 엽폭, 엽장, 생체중 그리고 건물중이 증가하는 것을 확인함
(위탁기관) 선별 미생물의 실증효과 검증연구	후보 미생물(시제품)로 상추 실증시험	토양이화학성 분석, 식물 주요성분 분석, 생육 조사	생장 효과 확인, 베트남 실증시험으로 연계
		망고 검은점무늬병 방제 효과 검증: 예방 및 치료 효과	JC6: 검은점무늬병 발병 후 처리구에서 치료효과가 더 높았음(QY_LSS 14%, RFD_Lss 50% 증가)
		망고 탄저병 방제 효과 검증: 예방 및 치료 효과	JC6: 탄저병 발병 후 처리구에서 치료효과가 더 높았음(QY_LSS 121%, RFD_Lss 53% 증가) BC6: 탄저병 발병 후 처리구에서 Rfd 15%증가, JC6 보다 처리효과 낮음.
	3종의 미생물제로 작물 생육 및 병해충 방제 실증시험	미생물(A)제의 효과시험: 생육증진 효과 검증(작물 생육 및 수량조사, 토양이화학성 분석) 미생물(B, C)제의 효과시험: 작물 5종에 대한 병충해 방제 효과 검증	작물 5종의 생장 효과 확인(벼 수량: 기준량과 배량 각각 43%, 57% 증수)  충해 방제 효과 확인: 벼 방제가 71%, 고구마 방제가 57%

○ 주관연구기관 {㈜에코비즈넷}

① 균주 선별 및 실증시험

- 균주 효능 분석

균주명	Enzyme activity	질병 방제효과 (진균성/세균성)	인산 가용화 능(%)	농약분해능(%) - 초기농도 10 ppm
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> DS-EBN-BL6	Urease, Phosphatase			[살균제] Az 100, FI 100, Ip 61.1, Is 78.6, Ox 64.0, Pe 100, Te 9.5, Tr 28.8 [살충제] Ca 19.6, Di 36.6, Fe -4.0, Im 15.4
<i>Bacillus velezensis</i> GH1-13	Celluase, Protease	[진균성 질병] 키위탄저병++, 키위 Stem-end rot +++, 고추탄저병+++, 다래 탄저병 +++, 다래검정썩음병+++, 벼 붉은 곰팡이병 ++, 보리붉은곰팡이병+, 옥수수 붉은 곰팡이병 +  [세균성질병] 고추괘양병+++, 괘양병 +++		[살균제] Az 82.2, FI 84.5, Ip 50.1, Is 55.2, Ox 74.0, Pe 100, Te 59.5, Tr 51.3 [살충제] Ca 48.8, Di 66.6, Fe:42.6, Im 47.9
<i>Lactobacillus casei</i> EBN-LC	Urease	[진균성 질병] 벼키다리병+  [세균성질병] 벼알마름병+++, 벼 세균 줄무늬병 ++, 무름병 +, 고추괘양병+++, 괘양병 ++, 참다래 괘양병 ++, 세균성갈색점무늬병++	++	[살균제] Az 74.2, FI 68.4, Ip 49.1, Is 37.9, Ox 66.5, Pe 100, Te 41.2, Tr 44.2 [살충제] Ca 21.4, Di 81.1, Fe 37.5, Im 46.5
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> EBN-TK3	Celluase, Lysozyme, Protease	[진균성 질병] 키위탄저병+, 키위 Stem-end rot ++, 다래탄저병+++, 다래 검정 썩음병 ++, 옥수수붉은곰팡이병++, 고추탄저병 +, 벼키다리병+, 벼 붉은 곰팡이병 +  [세균성질병] 벼알마름병++, 벼 세균 줄무늬병 ++, 수박과실썩음병+++, 고추괘양병 ++, 괘양병 ++, 콩불마름병+		[살균제] Az 74.8, FI 75.3, Ip 42.6, Is 52.4, Ox 69.1, Pe 100, Te 47.3, Tr 48.7 [살충제] Ca 60.0, Di 68.3, Fe 48.3, Im 43.0
<i>Bacillus thuringiensis</i> H	Lysozyme, Chitinase			[살균제] Az 100, FI 100, Ip 76.2, Is 67.8, Ox 70.5, Pe 100,

ARI042			Te 59.1, Tr 41.2 [살충제] Ca 65.5, Di 78.6, Fe 48.1, Im 57.1
<i>Streptomyces vellosus</i> HR29	[진균성 질병] 키위탄저병+, 고추탄저병 +, 다래 검정 썩음병 +  [세균성질병] 고추괘양병+++, 괘양병 +, 참다래 괘양병 ++, 벼알마름병+++, 벼 세균 줄무늬병 ++, 무름병 +, 콩불마름병++	+	[살균제] Az 71.7, Fl 73.4, Ip 31.1, Is 45.6, Ox 68.3, Pe 100, Te 42.8, Tr 50.8 [살충제] Ca 32.5, Di 75.6, Fe 39.0, Im 43.3

- 효능 분석 대상 식물병원성 미생물 정보

대분류	병명	원인균
진균성 질병	키위 탄저병	<i>Glomerella cingulata</i> 06-KN-1
	고추 탄저병	<i>Colletotrichum acutatum</i> KACC 40042
	보리 붉은 곰팡이병	<i>Fusarium graminearum</i> KACC 41040
	옥수수 붉은 곰팡이병	<i>Fusarium graminearum</i> KACC 41044
	벼 키다리병	<i>Fusarium fujikuroi</i> KACC 44002
	벼 붉은 곰팡이병	<i>Fusarium graminearum</i> KACC 46434
	다래 탄저병	<i>Colletotrichum nymphae</i> GNC1
	다래 검정 썩음병	<i>Alternaria alternata</i> HY01
	키위 Stem-end rot	<i>Botrytis cinerea</i> KCS1721
세균성 질병	수박 과실썩음병	<i>Acidovorax citrulli</i> KACC 17000
	벼 알마름병	<i>Burkholderia glumae</i> KACC 11181
	벼 세균 줄무늬병	<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>avenae</i> KACC 16205
	토마토 괘양병	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> KACC 15103
	무름병	<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>brasiliense</i> KACC 17662
	고추 괘양병(그람 +)	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>Michiganensis</i> KACC 16995
	괘양병(그람 +)	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>capsici</i> KACC 18448
	콩 불마름병	<i>Xanthomonas aconopodis</i> pv. <i>Glycines</i> KACC 11144
	세균성 갈색점무늬병	<i>Pseudomonas syringae</i> subsp. <i>syringae</i> KACC 10604
	참다래 괘양병	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>actinidiae</i> KACC 10582

- 농약 분해능 시험 대상 농약 정보

대분류	농약명	약어	무처리구 - 초기농도 10 ppm
살균제	Azoxystrobin	Az	59.20
	Flusilazole	Fl	37.30
	Iprobenfos	Ip	11.50
	Isoprothiolane	Is	30.00
	Oxadixyl	Ox	0.00
	Pencycuron	Pe	37.00
	Tebuconazole	Te	9.50
	Tricyclazole	Tr	28.80
살충제	Carbofuran	Ca	19.60
	Diazinon	Di	36.60
	Fenobucarb	Fe	-4.00
	Imidadoprid	Im	15.40

- 실증시험 선별 미생물 6종 및 실증시험 목적

	시험용 미생물 종류	실증시험 목적
A	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Rhodobacter sphaeroides</i> DS-EBN-BL6</li> <li>- <i>Rhodobacter sphaeroides</i> PS-24</li> <li>- <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ISP-5</li> <li>- <i>Bacillus velezensis</i> GH1-13</li> <li>- <i>Lactobacillus casei</i> EBN-LC</li> </ul>	토양개량, 작물생육촉진, 품질 증진
B	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Bacillus amyloliquefaeciens</i> EBN-TK3</li> <li>- <i>Bacillus velezensis</i> GH1-13</li> <li>- <i>Bacillus velezensis</i> JC-20</li> <li>- <i>Bacillus siamensis</i> TSA30-1</li> <li>- <i>Bacillus subtilis</i> TSA16-20</li> <li>- <i>Bacillus velezensis</i> KPI-1</li> <li>- <i>Bacillus subtilis</i> BC-6</li> <li>- <i>Bacillus velezensis</i> JC-9</li> <li>- <i>Streptomyces vellosus</i> HR29</li> </ul>	병해 (병해 발생 시점 적용)
C	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <i>Streptomyces vellosus</i> HR29</li> <li>- <i>Bacillus thuringiensis</i> HARI042</li> <li>- <i>Beauveria bassiana</i> EBN-BB</li> </ul>	충해 (충해 발생 시점 적용)

- 실증시험 작물별 적용방법

- 수도작

적용 시기	실험구 처리 미생물	처리 방법
종자 침지	<i>Bacillus velezensis</i> GH1-13 균주 배양액	온탕소독(60℃, 10분) 후 볍씨발아기온도30℃조건하에서 24시간침지 (미생물배양액 20L/종자 100kg)
정식 전 로터리작업시& 기초비료투입시	A제 미생물 (각각 배양 후 1:1로 혼합 또는 단독 처리)	토양에 분무, 50m2당 미생물 50 ml 희석 투입
정식 후	A제 미생물 (각각 배양 후 1:1로 혼합 또는 단독 처리)	수확 전까지 2주 1회, 엽면시비, 50m2당 미생물 76 ml 희석 투입
병해 발생 예상 시점	B제 미생물 (각각 배양 후 1:1로 혼합 또는 단독 처리)	병해 진정 시기까지 주 2회 엽면시비, 50m2당 600mL 희석 투입
충해 발생 예상 시점	C제 미생물 (각각 배양 후 1:1로 혼합 또는 단독 처리)	충해 진정 시기까지 주 2회 엽면시비, 50m2당 600mL 희석 투입

- 토마토, 상추, 고추, 대파

적용 시기	실험구 처리 미생물	처리 방법
유묘 침지	<i>Bacillus velezensis</i> GH1-13 균주 배양액	유묘 포트에 미생물 배양액 처리 (1유묘당미생물배양액5ml씩희석처리)
정식 전 로터리작업시& 기초비료투입시	A제 미생물 (각각 배양 후 1:1:1 혼합)	토양에 분무, 50m2당 미생물 50 ml 희석 투입
정식 후	A제 미생물 (각각 배양 후 1:1:1 혼합)	2주 1회, 토양관주, 50m2당 미생물 50 ml 희석 투입
병해 발생 예상 시점	B제 미생물 (각각 배양 후 1:1:1 혼합)	병해 진정 시기까지 주 2회 엽면시비, 50m2당 600mL 희석 투입
충해 발생 예상 시점	C제 미생물 (각각 배양 후 1:1 혼합)	충해 진정 시기까지 주 2회 엽면시비, 50m2당 600mL 희석 투입

- 아티초크, 망고, Pomelo, Passion fruit

적용 시기	실험구 처리 미생물	처리 방법
정식 후	A제 미생물 (각각 배양 후 1:1:1 혼합)	2주 1회, 엽면시비, 50m2당 미생물 76 ml 희석 투입
병해 발생 예상 시점	B제 미생물 (각각 배양 후 1:1:1 혼합)	병해 진정 시기까지 주 2회 엽면시비, 50m2당 600mL 희석 투입
충해 발생 예상 시점	C제 미생물 (각각 배양 후 1:1 혼합)	충해 진정 시기까지 주 2회 엽면시비, 50m2당 600mL 희석 투입

- 실증시험 작물별 분석항목

- 상추

실험결과분석항목
<b>Allowance for collecting agronomic parameters</b> (Germination rate, Plant density, Plant length, leaf width, leaf number)
<b>Damaged by disease</b> (Soft Rot, Septoria Leaf Spot, Spotted Wilt, Anthracnose, Bottom Rot, Ring spot)
<b>Damaged by insect</b> (Agrotis ypsilon, Spodoptera exigua, Spodoptera litura, Plutella xylostella)
<b>Soil analysis</b>
<i>Physical parameters</i> Moisture Content (%), Bulk Density (g/cm <sup>3</sup> ) 0-10cm, Water Holding Capacity (%)
<i>Chemical parameters</i> pH, EC (mS/cm), CEC (cmol+/kg), Acidity (mg/g) - Al <sup>3+</sup> , Alkalinity (mg/g), Chlorides (mg/g), Potassium (M.eq/100g), Available Potassium (mg/g), Total nitrogen (%), Nitrate (mg/g), Phosphate (mg/g), Available Phosphorus (mg/g)
<i>Biological parameters</i>



Fungi (CFU/g), Bacteria (CFU/g), Actinomyces (CFU/g)
<b>Quality parameters</b>
Chlorophyll content, Anthocyanin content (mg/100g), Quality parameter (Fresh weight (g/plant))

• 토마토

실험결과분석항목
<b>Allowance for collecting agronomic parameters</b> (Germination rate, Plant density, Number of leaves per plant, Internode length, Stem diameter, Maximum leaf width, Maximum leaf length):
<b>Damaged by disease</b> (Early blight, Fusarium wilt, Late blight, Septoria leaf spot, Bacterial wilt, Verticillium wilt)
<b>Damaged by insect</b> (Heliothis armigera, Liriomyzaspp., Bemisia tabaci, Aphis Gossypii, Tetranychussp., Spodoptera exigua)
<b>Soil analysis</b>
<i>Physical parameter</i> Moisture Content (%), Bulk Density (g/cm <sup>3</sup> ) 0-10cm, Water Holding Capacity (%)
<i>Chemical parameter</i> pH, EC (mS/cm), CEC (cmol+/kg), Acidity (mg/g) - Al <sup>3+</sup> , Alkalinity (mg/g), Chlorides (mg/g), Potassium (M.eq/100g), Available Potassium (mg/g), Total nitrogen (%), Nitrate (mg/g), Phosphate (mg/g), Available Phosphorus (mg/g)
<i>Biological parameters</i> Fungi (CFU/g), Bacteria (CFU/g), Actinomyces (CFU/g)
<b>Fruit quality analysis (one time sample collecting)</b> Sugar content, Acidity, Juice, Hardness, Lycopene content, Chlorophyll content, Total carotenoid content, Fresh fruit weight, Exaggeration, fruit length, overgrowth, coloration, co-fruit ratio

• 아티초크

실험결과분석항목
<b>Allowance for collecting agronomic parameters</b> (Germination rate, Plant density, Number of leaves per plant, Internode length, Stem diameter, Maximum leaf width, Maximum leaf length):
<b>Damaged by disease</b> (Early blight, Fusarium wilt, Late blight, Septoria leaf spot, Bacterial wilt, Verticillium wilt)
<b>Damaged by insect</b> (Heliothis armigera, Liriomyzaspp., Bemisia tabaci, Aphis Gossypii, Tetranychussp., Spodoptera exigua)
<b>Soi. analysis</b>
<i>Physical parameter</i> Moisture Content (%), Bulk Density (g/cm <sup>3</sup> ) 0-10cm, Water Holding Capacity (%)
<i>Chemical parameter</i> pH, EC (mS/cm), CEC (cmol+/kg), Acidity (mg/g) - Al <sup>3+</sup> , Alkalinity (mg/g), Chlorides (mg/g), Potassium (M.eq/100g), Available Potassium (mg/g), Total nitrogen (%), Nitrate (mg/g), Phosphate (mg/g), Available Phosphorus (mg/g)
<i>Biological parameters</i> Fungi (CFU/g), Bacteria (CFU/g), Actinomyces (CFU/g)

<b>Fruit quality analysis (one time sample collecting)</b> Sugar content, Acidity, Juice, Hardness, Lycopene content, Chlorophyll content, Total carotenoid content, Fresh fruit weight, Exaggeration, fruit length, overgrowth, coloration, co-fruit ratio
--

- 망고, Pomelo, Passion fruit

<b>실험결과분석항목</b>
<b>Buying fruit for yield parameters</b>
Investigate fruit seed diameter (fruit height), fruit transverse diameter (fruit width), fruit shape (ratio of fruit transverse diameter and longitudinal diameter), coloration, fruit weight, hardness, fruit juice and skin thickness. (3 fruits/tree x 9 trees/experiment x 3 treatment)
<b>Fruit sample analysis</b>
Yield component analysis – Investigate fruit seed diameter (fruit height), fruit transverse diameter (fruit width), fruit shape (ratio of fruit transverse diameter and longitudinal diameter), coloration, fruit weight, hardness, fruit juice and skin thickness. / Water&oil holding capacities / Antioxidant activity / Total carotenoid content (zeaxanthin content, $\beta$ -Carotene content)
<b>Damage by disease</b>
Infected leaf number, Infected leaf area, Infected entity number, Infected number of fruits
<b>Damage by insect</b>
Pest density, Number of leaves damaged by insects, Number of fruits damaged by insects
<b>Soil analysis</b>
<i>Physical parameter</i>
Moisture Content (%), Bulk Density (g/cm <sup>3</sup> ) 0–10cm, Water Holding Capacity (%), Colour
<i>Chemical parameter</i>
pH, EC (mS/cm), CEC (cmol+/kg), Acidity (mg/g) – Al <sup>3+</sup> , Alkalinity (mg/g), Chlorides (mg/g), Calcium (M.eq/100g), Magnesium (M.eq/100g), Sodium (M.eq/100g), Potassium (M.eq/100g), Available Potassium (mg/g), Sulphate (mg/g), Total nitrogen (%), Nitrate (mg/g), Phosphate (mg/g), Available Phosphorus (mg/g)
<i>Biological parameter</i>
Fungi (CFU/g), Bacteria (CFU/g), Actinomyces (CFU/g)
<b>Quality parameter</b>
Chlorophyll content

- 고추

<b>실험결과분석항목</b>
<b>Yield component analysis</b>
Dry weight (g/plant), Dry weight of fruits (kg/10a), Fresh weight of fruits (kg/10a), Plant density, Plant length 3 fruits/tree x 9 trees/experiment x 3 treatment)
<b>Damage by disease</b>
Infected leaf number, Infected leaf area, Infected entity number, Infected number of fruits
<b>Damage by insect</b>
Pest density, Number of leaves damaged by insects, Number of fruits damaged by insects
<b>Soil analysis</b>
<i>Physical parameter</i>

Moisture Content (%), Bulk Density (g/cm <sup>3</sup> ) 0–10cm, Water Holding Capacity (%), Colour <i>Chemical parameter</i>
pH, EC (mS/cm), CEC (cmol+/kg), Acidity (mg/g) – Al <sup>3+</sup> , Alkalinity (mg/g), Chlorides (mg/g), Calcium (M.eq/100g), Magnesium (M.eq/100g), Sodium (M.eq/100g), Potassium (M.eq/100g), Available Potassium (mg/g), Sulphate (mg/g), Total nitrogen (%), Nitrate (mg/g), Phosphate (mg/g), Available Phosphorus (mg/g)
<i>Biological parameter</i> Fungi (CFU/g), Bacteria (CFU/g), Actinomyces (CFU/g)
<b>Quality parameter</b>
Chlorophyll content

- 대파

실험결과분석항목
<b>Yield component analysis</b> Dry weight (g/plant), Dry weight of fruits (kg/10a), Fresh weight of fruits (kg/10a), Plant density, Plant length <sup>3</sup> fruits/tree x 9 trees/experiment x 3 treatment)
<b>Damage by disease</b> Infected leaf number, Infected leaf area, Infected entity number, Infected number of fruits
<b>Damage by insect</b> Pest density, Number of leaves damaged by insects, Number of fruits damaged by insects
<b>Soil analysis</b>
<i>Physical parameter</i> Moisture Content (%), Bulk Density (g/cm <sup>3</sup> ) 0–10cm, Water Holding Capacity (%), Colour
<i>Chemical parameter</i> pH, EC (mS/cm), CEC (cmol+/kg), Acidity (mg/g) – Al <sup>3+</sup> , Alkalinity (mg/g), Chlorides (mg/g), Calcium (M.eq/100g), Magnesium (M.eq/100g), Sodium (M.eq/100g), Potassium (M.eq/100g), Available Potassium (mg/g), Sulphate (mg/g), Total nitrogen (%), Nitrate (mg/g), Phosphate (mg/g), Available Phosphorus (mg/g)
<i>Biological parameter</i> Fungi (CFU/g), Bacteria (CFU/g), Actinomyces (CFU/g)

- 수도작(벼)

실험결과분석항목
<b>Yield component analysis</b> Plant height, Number of hills, Number of tillers, Number of panicles, Panicle length, Terminal feaf length, Biomass, Straw biomass, Numbet of spikelets per panicle, Filled spikelet percentage, Thousand filled–grain weight, Estimate grain yield, Actual grain yield
<b>Damage by disease</b> Rice blast, Brown spot, Leaf blight disease in rice, Pecky rice, Grain rot, Stem rot
<b>Damage by insect</b> Brown planthopper, Yellow stem borer, The rice leafroller, white–backed planthopper

② 실증시험 균주 연구소 베트남 현지 구축

- 건터대학교 내 실증시험을 위한 미생물 배양 시설 및 연구소 구축

VIETNAM • KOREA MICROORGANISM LABORATORY

**Phòng thí nghiệm  
vi sinh vật**  
Việt Nam • Hàn Quốc



**EcoBizNet**  
(주)에코비즈넷



그림 2. 건터대학교 미생물 연구소 현판, 배양기 설치 현황, 미생물 배양액

③ 실증시험 균주 대량배양 조건 최적화

- 고체배지 계대 배양 정보(Colony to colony)

미생물 종류	고체배지 (계대 배양용)	고체배양 온도(°C) / 배양 시간(day)	계대 배양 주기(day)
CellAct-PSB ( <i>Rhodobacter sphaeroides</i> )	Tryptic soy agar	30 / 3	7
CellAct-BA ( <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> )	Luria-Bertani agar	35 / 1	7
CellAct-BT ( <i>Bacillus thuringiensis</i> )	Luria-Bertani agar	30 / 1	7
CellAct-BV ( <i>Bacillus velezensis</i> )	Luria-Bertani agar	35 / 1	7
CellAct-LAB ( <i>Lactobacillus casei</i> )	MRS agar	37 / 3	7
CellAct-AM ( <i>Streptomyces vellosus</i> )	Luria-Bertani agar	30 / 5	7

- 액체배양 정보(Flask 수준, Colony to broth)

미생물 종류	액체배지 (플라스크 수준)	액체배양 조건 온도(°C) / 교반속도 (rpm) / 배양 시간(day)
CellAct-PSB ( <i>Rhodobacter sphaeroides</i> )	Tryptic soy broth	30 / 150 / 2
CellAct-BA ( <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> )	Luria-Bertani broth	35 / 150 / 1
CellAct-BT ( <i>Bacillus thuringiensis</i> )	Luria-Bertani broth	30 / 150 / 1
CellAct-BV ( <i>Bacillus velezensis</i> )	Luria-Bertani broth	35 / 150 / 1
CellAct-LAB ( <i>Lactobacillus casei</i> )	MRS broth	37 / 150 / 2
CellAct-AM ( <i>Streptomyces vellosus</i> )	Luria-Bertani broth	30 / 150 / 3

- 액체배양 정보(CellAct-FU500 배양기 수준, Broth to broth)

미생물 종류	액체배지 (대량배양 수준)	액체배양 조건	소포제 (mL)
CellAct-PSB ( <i>Rhodobacter sphaeroides</i> )	CellAct-PSB	CellAct-PSB 배양 모드	0
CellAct-BA ( <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> )	CellAct-BA	CellAct-BA 배양 모드	300
CellAct-BT ( <i>Bacillus thuringiensis</i> )	CellAct-BT	USER 모드 (35°C, 교반속도 150, 폭기량 최대, 48시간)	300
CellAct-BV ( <i>Bacillus velezensis</i> )	CellAct-BV	CellAct-BS 배양 모드	500
CellAct-LAB ( <i>Lactobacillus casei</i> )	CellAct-LAB	CellAct-LAB 배양 모드	0
CellAct-AM ( <i>Streptomyces vellosus</i> )	CellAct-AM	CellAct-AM 배양 모드	50

④ 베트남 실증시험 결과

- 수도작: 배랑 처리군에서 가장 우수한 효능 증진 확인; 줄기 길이 약 4% 증가, 생체 중량 약 8% 증가, 도열병 약 22% 감소, 해충(벼 잎 나방) 발생 약 32% 감소

MID-TERM AND PROGRESSING REPORT  
ASSESSMENT OF THE EFFICACY OF COBIZNET'S MICROBIAL PRODUCTS ON GROWTH, RICE YIELD, AND PESTS AND DISEASES CONTROL IN AN GIANG PROVINCE

1. Objectives

The experiment was carried out with the aim of evaluating the efficacy of microbial products of Ecobiznet company on growth, the yield of rice and pest and diseases control under field conditions in Chau Phu district, An Giang province.

2. Materials and experimental methods

2.1. Experimental site

a. *Microbial products*

Three types of microbial products A, B and C with the functions of enhancing the decomposition of organic matter in the soil, managing plant diseases and pests are produced by Ecobiznet company.

b. *Rice cultivar*

Rice cultivar OM5451 was purchased at a reputable seed supplier in Binh My commune, Chau Phu district, An Giang province.

2.2. Experimental method

The experiment was conducted in Binh My commune, Chau Phu district, An Giang province. The experimental area had a total area of 900 m<sup>2</sup> and was divided into 9 different plots and each plot had an equal area of 100 m<sup>2</sup> each (17m length x 6m width). The experimental plots were separated from each other by surrounding raised shores. The inside of the plot was plowed and leveled before seeding (Figure 1). The rice variety was sown at a density of 40 kg/1000 m<sup>2</sup>, the rice seeds were treated by soaking with the corresponding microbial products for each treatment (Figure 1).

The experiment was carried out in the summer-autumn season of 2021 (05/2021-08/2021) in a completely randomized block design consisting of 3 treatments and 3 replicates, each experimental batch corresponded to 1 replicate. The treatments are listed as follows:

- Treatment 1: Control (No microbial application)
- Treatment 2: 100% microbial product application
- Treatment 3: 200% microbial product application



Figure 1. Preparing experimental soil in the field in Chau Phu district, An Giang province and seeds were soaked with microbial products of EcoBiznet company corresponding to the treatments

The water management of each experimental plot was managed according to the farmer's practices by maintaining the water level on the field at 5-10 cm above the soil surface, then let the water level completely drain to the soil surface for a few days, then refilled with water again to 5-10 cm above the soil surface and repeat the procedure up to the harvesting time and the water was completely drained about 15 days before harvesting time. Rice was fertilized according to the formula 110N-50P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-40K<sub>2</sub>O and was divided into 4 times of fertilization. Microbial products were processed according to the company's product instructions. Weeds were managed manually (Figure 2).



Figure 2. Management of weeds by manual labour and spraying the microbial product in the rice field

\*Collected parameters

- *Plant height*: Randomly selected 10 plants in a frame of 0,25 m<sup>2</sup>, measured from the ground to the top of the highest leaf at day 30 after sowing (when the rice plant had not yet flowered) and to the tip of the flower at the harvesting time (90 days after sowing).

- **Number of tillers:** count all the buds in the fixed frame with an area of 0,25 m<sup>2</sup> and then convert to 1 m<sup>2</sup>.

- **Number of bushes:** count all bushes in a fixed frame with an area of 0,25 m<sup>2</sup> and then convert to 1 m<sup>2</sup>.

- **Leaf length:** collected at the time of rice harvested, the leaf length was calculated from the tip of the leaf collar to the tip of the leaf.

- **Chlorophyll content in rice leaves:** Chlorophyll content was determined by Spectrum 502 Plus meter.

- **Number of panicles/m<sup>2</sup>:** count all the panicles in a fixed 0,25 m<sup>2</sup> frame and then convert to Number of panicles/m<sup>2</sup>.

- **Weight of fresh straw (ton/ha):** cutting all above biomass of rice of all rice bushes in the plot of 5 m<sup>2</sup>, weighed all the weight of straw after collecting all the seeds and then convert to the biomass in hectare (ton/ha).

- **Actual fresh yield:** collect the total grain weight/5 m<sup>2</sup> sampling plot and then convert it to rice yield per hectare (ton/ha).

- **Total fresh biomass:** plus total fresh straw biomass and fresh grain yield together.

- **Density of rice leaf folders/m<sup>2</sup>:** Count all the rice leaf folders appeared on the 0,25 m<sup>2</sup> plot, then convert to the number of rice leaf folders/m<sup>2</sup>.

- **Rate of rice bushes attacked by rice leaf folders:** Count all the rice bushes attacked by the rice leaf folders/total number of rice bushes on a frame of 0,25 m<sup>2</sup>.

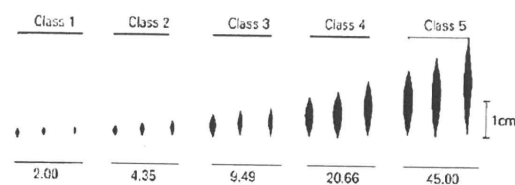
- **Degree of damage due to leaf roller attacked:** count all tillers attacked by rice leaf folders/total number of tillers on a frame of 0,25 m<sup>2</sup>.

- **Density of blast disease/m<sup>2</sup>:** count all blast leaf on frame on 0,25 m<sup>2</sup>, then convert to blast density/m<sup>2</sup>.

- **Rate of rice blast disease:** count the number of tillers infected with blast disease/total number of tillers on a frame 0,25m<sup>2</sup>.

- **Level of infection:** The degree of blast infection was assessed according to the method of Pinnsch *et al.* (1993) and guidelines for disease classification are presented in **Figure 3**.

3



**Figure 3.** Qualitative assessment by the infected areas of rice blast diseases based on the total count of disease lesions by size groups

Grade 0: small lesions as small as needles, corresponding to an area of 0,25 mm<sup>2</sup> (S<sub>0</sub>)

Grade 1: lesion length is less than 3 mm, corresponding to an area of 2 mm<sup>2</sup> (S<sub>1</sub>)

Grade 2: lesion length 3-5 mm, corresponding to an area of 4,35 mm<sup>2</sup> (S<sub>2</sub>)

Grade 3: lesion length 7-9 mm, corresponding to an area of 9.49 mm<sup>2</sup> (S<sub>3</sub>)

Grade 4: lesion length 13-17 mm, corresponding to an area of 20,66 mm<sup>2</sup> (S<sub>4</sub>)

Grade 5: lesion length greater than 17 mm, corresponding to an area of 45 mm<sup>2</sup> (S<sub>5</sub>)

\*Note: Count the number of lesions by level on the leaves

- Calculate the infected area per leaf (mm<sup>2</sup>)

$$S_b = \sum (S_0a_0 + S_1a_1 + S_2a_2 + S_3a_3 + S_4a_4 + S_5a_5)$$

Where:

S<sub>0</sub>, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>4</sub>, S<sub>5</sub>: diseased area at each level per leaf

a<sub>0</sub>, a<sub>1</sub>, a<sub>2</sub>, a<sub>3</sub>, a<sub>4</sub>, a<sub>5</sub>: number of lesions for each grade on leaves

- Calculate the percentage of infected area (TLDTN) (%)

$$TLDTNB = (S_b/S) \times 100$$

Where:

S<sub>b</sub>: Total wound area

S: leaf area

- **Rice grain quality analysis:** protein content, moisture content, amylose content, whiteness, toyo taste meter, yield of milled rice.

4

### 3. Experiment results

#### 3.1. Plant height

The results of surveying the efficacy of microbial products produced by EcoBiznet on the height of rice plants under field conditions in Chau Phu district, An Giang province are presented in **Table 1**. In general, the height of rice plants in the experimental treatments was not statistically significant at day 30 after sowing (DAS) (p>0,05). At harvesting time (90 DAS), the height of rice plants in two treatments with microbial products of EcoBiznet company ranged from 82.9 cm to 83.7 cm, higher and significantly different (p<0,05) from the control treatment without spraying microorganism products (80.5 cm). However, these two sprayed treatments were not statistically significantly different in term of rice height as compared together (p>0,05).

**Table 1.** Plant height of the experimental treatments at day 30 after sowing and harvesting time (at day 90 after sowing) in Chau Phu district, An Giang province

Treatment	Height plant (cm)	
	30 DAS	90 DAS (harvesting)
Control	49,0	80,5 <sup>b</sup>
100% Ecobiznet microbial products	51,1	82,9 <sup>a</sup>
200% Ecobiznet microbial products	52,8	83,7 <sup>a</sup>
F		*
CV (%)	ns	1,93

\*Note: \* is the statistically significant difference between the treatments at 5% significance level according to Tukey's test and in the same column the numbers followed by the same letter are not statistically different; ns: not significant

#### 3.2. Number of bushes/m<sup>2</sup> and number of tillers/m<sup>2</sup>

The results of surveying the efficacy of microbial products of Ecobiznet on number of bushes/m<sup>2</sup> and number of tillers/m<sup>2</sup> are presented in **Table 2**. In general, the number of bushes/m<sup>2</sup> of the treatments had a statistically significant difference at two surveyed times (p<0,05). The treatment with 200% of the microbial products of Ecobiznet company had a higher number of bushes/m<sup>2</sup> and was statistically significantly different (p<0,05) when compared with the control treatment and treatment with 100% microbial product application at both collecting points of the survey, and these two treatments were not statistically significantly different when compared together (p>0,05).

Similar to the number of bushes/m<sup>2</sup> index, number of tillers/m<sup>2</sup> of the treatment with 200% microbial products had a higher number of tillers/m<sup>2</sup> and was statistically significantly different (p<0,05) when compared with the control treatment and the treatment with 100% microbial products of Ecobiznet company at two sampling times (day 30 and day 90 after sowing). However, the control treatment and the treatment with 100 microbial product application were not statistically significantly different when compared together (p>0,05).

5

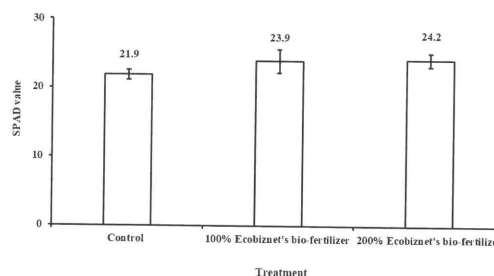
**Table 2:** Number of bushes and number of tillers/m<sup>2</sup> of experimental treatments at two sampling points (day 30 and day 90 after sowing) in Chau Phu district, An Giang province

Treatment	Number of bushes/m <sup>2</sup>		Number of tillers/m <sup>2</sup>	
	30 DAS	90 DAS (harvesting)	30 DAS	90 DAS (harvesting)
Control	539,1 <sup>b</sup>	410,3 <sup>b</sup>	1050 <sup>b</sup>	608 <sup>b</sup>
100% Ecobiznet microbial products	559,6a <sup>b</sup>	425,0 <sup>b</sup>	1109 <sup>b</sup>	630 <sup>b</sup>
200% Ecobiznet microbial products	598,2 <sup>a</sup>	485,3 <sup>a</sup>	1240 <sup>a</sup>	675 <sup>a</sup>
F	*	*	*	*
CV (%)	5,48	8,45	7,96	4,80

\*Note: \* is the statistically significant difference between the treatments at 5% significance level according to Tukey's test and in the same column the numbers followed by the same letter are not statistically different.

#### 3.2. Chlorophyll content (SPAD value)

The results of evaluating the effect of the microbial product Ecobiznet on the chlorophyll content in leaves by determining the SPAD index on rice leaves are shown in **Figure 4**, showing that the chlorophyll content at all sampling times of the survey was not significantly different with each other (p>0,05). This indicated that Ecobiznet's microbial products did not affect the chlorophyll content on rice leaves after one experimental crop.



**Figure 6.** Chlorophyll content in rice leaves of the experimental treatments at day 30 after sowing in Chau Phu district, An Giang province

#### 3.3. Number of panicles/m<sup>2</sup>

The results of evaluating the efficacy of the microbial products of Ecobiznet on the number of panicles/m<sup>2</sup> at harvesting time (day 90 after sowing) are presented in **Figure 5**, showing that the use of microbial products of Ecobiznet company helped to increase number of panicles and between treatments and was significantly different with each other in term of panicles/m<sup>2</sup> (p<0,05).

The treatment with 200% microbial products had the highest number of panicles (675 panicles/m<sup>2</sup>), next, the treatment with 100% of the microbial products had the

6

second highest number of panicles with a value of 630 panicles/m<sup>2</sup> and the control treatment had the least number of panicles (608 panicles/m<sup>2</sup>), and these 3 treatments had statistically significantly different in term of number of panicles/m<sup>2</sup> when compared with each other (p<0,05).

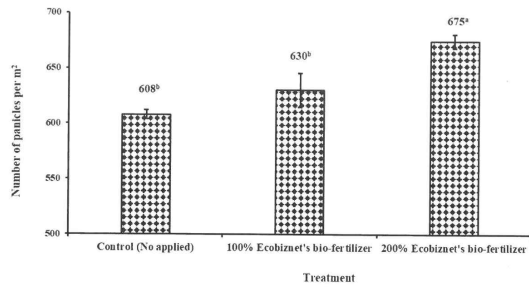


Figure 5. Number of panicles/m<sup>2</sup> of experimental treatments in Chau Phu district, An Giang province (August 2021)

### 3.4. Flag leaf length

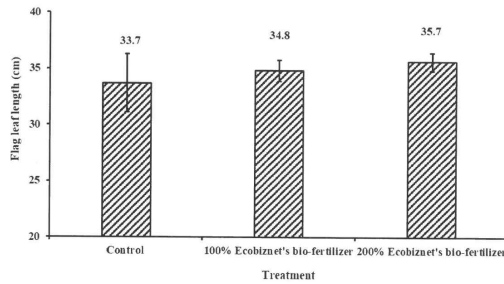


Figure 6. Flag leaf length of rice of experimental treatments in the field in Chau Phu district, An Giang province (August, 2021)

The results of evaluating the effect of microbial products of Ecobiznet on the flag leaf length of rice plants at the harvesting time are presented in Figure 6, showing that

7

there was no difference about flag leaf length among the treatments (p>0,05). This showed that Ecobiznet's microbial products did not affect the flag leaf length of rice leaves after 1 experimental crop.

### 3.5. Fresh straw biomass

The results of the survey about the effect of the microbial product of EcoBiznet on the fresh straw biomass of rice plants in field conditions at the time of harvest in Chau Phu district, An Giang province are presented in Figure 7. Fresh straw biomass in the treatment with 200% microbial products of EcoBizet company was highest (24,6 tons/ha) and significantly different as compared with the treatment applied 100% microbial products and the control treatment (p<0,05), however, treatment with 100% microbial application and the control treatment were not statistically significantly different when compared together in term of fresh straw biomass with the value of 23,4 and 23,1 tons/ha, respectively (p>0,05).

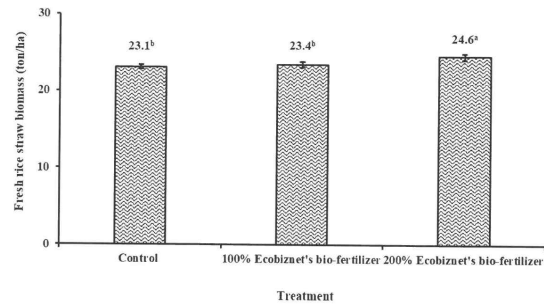


Figure 7. Fresh straw biomass of experimental treatments in the field in Chau Phu district, An Giang province (August 2021)

### 3.6. Actual yield of rice under field condition

The efficacy of the microbial product of EcoBiznet company on rice grain yield under the field condition in Chau Phu district, An Giang province is presented in Figure 8 indicated that the treatment with 200% Ecobiznet's microbial products had a higher rice grain yield with peaking at 6,4 t.ha<sup>-1</sup>, and was significantly different with others (p<0,05). Moreover, the control treatment without microbial application had lower rice yield (5,5 ton.ha<sup>-1</sup>) and was not significantly different as compared with the treatment applied 100% Ecobiznet's microbial products (5,8 ton.ha<sup>-1</sup>) (p>0,05).

8

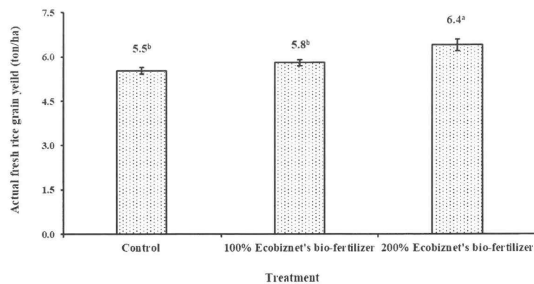


Figure 8. Fresh rice grain yield of the experimental treatments under the field condition in Chau Phu district, An Giang province (August 2021)

### 3.7 Total of rice fresh biomass

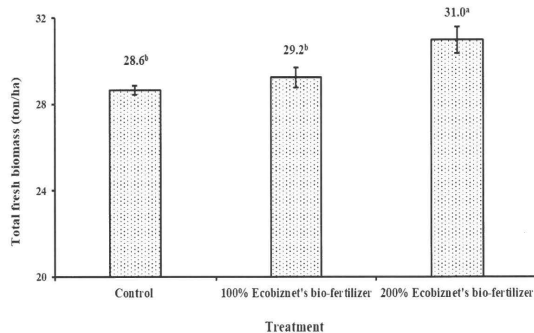


Figure 9. Total of rice fresh biomass of the experimental treatments in the field condition in Chau Phu district, An Giang province (August 2021)

The efficiency of the Ecobiznet's microbial products on total of rice fresh biomass under the field condition in Chau Phu district, An Giang province is presented in Figure 9. Similar to actual fresh rice yield, the treatment with 200% Ecobiznet's microbial products had a higher value of total rice fresh biomass (31 tons.ha<sup>-1</sup>) and was statistically significantly different from the control without microbial application (28,6 tons.ha<sup>-1</sup>),

9

and the treatment with 100% microbial products (29,2 tons.ha<sup>-1</sup>) (p<0,05). However, the control treatment was not significantly different from the treatment with 100% Ecobiznet's microbial application in comparison about total of rice fresh biomass (p>0,05).

### 3.8. Rice leaf folder (*Cnaphalocrocis medinalis*)

#### 3.8.1. Density of rice leaf folder

The effect of Ecobiznet's microbial products on controlling rice leaf folder through a parameter about insectal density per m<sup>2</sup> is presented in Figure 10. The control treatment without Ecobiznet's microbial product application obtained a higher density of rice leaf folder with a value of 124 individuals per m<sup>2</sup> than the two other treatments applied with Ecobiznet's microbial products (p<0,05). Furthermore, the treatment with 100% and with 200% microbial product application possessed a lower amount of rice leaf folder (89 and 84 individuals per m<sup>2</sup>, respectively), and were not significantly different when compared together (p>0,05). It was noticeable that application of Ecobiznet's microbial products could effectively control rice leaf folder.

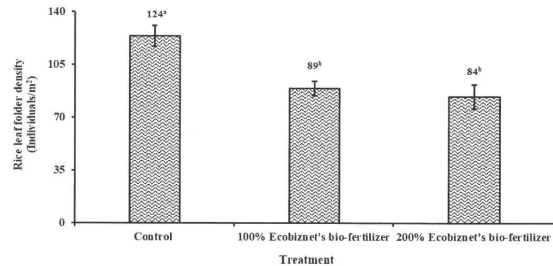


Figure 10. Density of rice leaf folder of the experimental treatments under the field condition at day 30 after seeding in Chau Phu district, An Giang province (August 2021)

#### 3.8.2. Ratio of rice bundle attacked by rice leaf folder

The effect of Ecobiznet's microbial products on rice leaf folder through a parameter of ratio of rice bundle attacked by rice leaf folder is presented in Figure 11, showing that this ratio was not significantly different among the treatments (p>0,05), however, it had a downward trend in the treatments with microbial application obtained dose increased gradually.

10



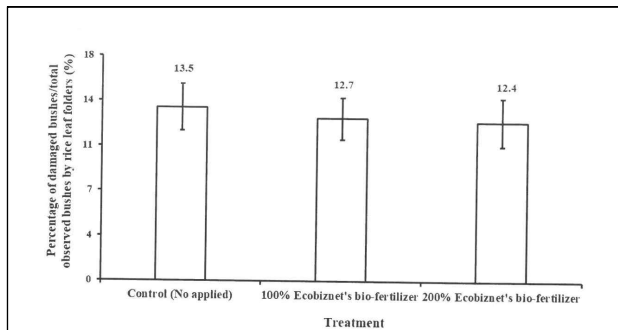


Figure 11. Ratio of rice bundle attacked by rice leaf folder of the experimental treatments under the field condition at day 30 day after seeding in Chau Phu district, An Giang province (August 2021)

3.8.3. Ratio of rice tiller attacked by rice leaf folder

Likewise, the efficacy of Ecobiznet's microbial products on rice leaf folder through a parameter of ratio of rice tiller attacked by rice leaf folder is presented in Figure 12. The result revealed that a significant difference about ratio of rice tiller attacked by rice leaf folder among the treatments were not found.

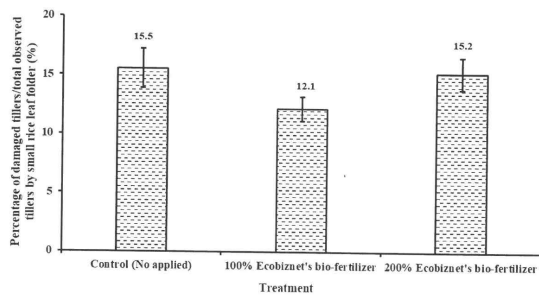


Figure 12. Ratio of rice tiller attacked by rice leaf folder of the experimental treatments under the field condition at day 30 after seeding in Chau Phu district, An Giang province (August 2021)

3.9. Rice blast

3.9.1. Density of rice blast

The efficacy of Ecobiznet's microbial products on rice blast diseases through a parameter of density of rice blast is presented in Figure 13. The treatment with 200% microbial application had a lower density of rice blast (132 diseased leaf per m<sup>2</sup>) and statistically significantly different from the others. Besides, the control treatment and the treatment with 100% microbial application owned a higher density of rice blast, being of 169 and 177 diseased leaf per m<sup>2</sup>, respectively, simultaneously, were not significantly different when compared together (p>0,05).

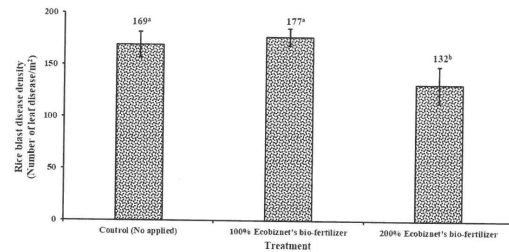


Figure 13. Density of rice blast of the experimental treatments under the field condition at day 30 after seeding in Chau Phu district, An Giang province (August 2021)

3.9.2. Ratio of rice blast

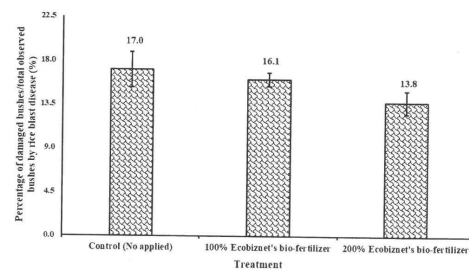


Figure 14. Ratio of rice blast of the experimental treatments under the field condition at day 30 after seeding in Chau Phu district, An Giang province (August 2021)

The efficiency of Ecobiznet's microbial products on rice blast diseases through a parameter of ratio of rice blast is presented in Figure 14. In general, no significant difference among the treatments was found in term of ratio of rice blast. However, it had a downward trend in the treatments with microbial application obtained dose increased gradually.

3.9.3. Level of rice blast transmission

The efficacy of Ecobiznet's microbial products on rice blast diseases through a parameter of level of rice blast transmission is showed in Figure 15, indicating that there was not significantly different among the treatments in term of level of rice blast transmission (p>0,05).

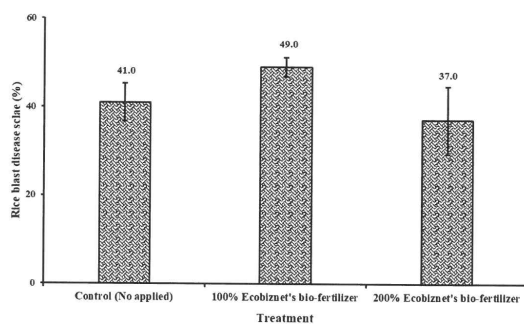


Figure 15. Level of rice blast transmission of the experimental treatments under the field condition at day 30 after seeding in Chau Phu district, An Giang province (August 2021)

6. Some pictures recorded during the field experiment of rice in An Giang province



Date: September 21<sup>st</sup>, 2021

Executor



Assoc. Prof. Dr. Nguyen Khoi Nghia

- 상추: 배량 처리군에서 가장 우수한 효능 증진 확인; 줄기 길이 약 18% 증가, 개체 당 상추잎의 개수 약 22% 증가, 잎의 길이와 넓이 각각 약 20%와 약 7% 증가, 생체 중량 약 48% 증가

**MID-TERM AND PROGRESSING REPORT**  
**ASSESSMENT OF EFFICACY OF ECOBIZNET'S MICROBIAL PRODUCTS ON THE GROWTH AND YIELD OF LETTUCE IN CAN THO CITY**

**1. Objectives**  
 To evaluate the efficacy of the microbial products produced by EcoBizNet on the growth and yield of lettuce under field conditions in the Can Tho city.

**2. Materials and experimental methods**

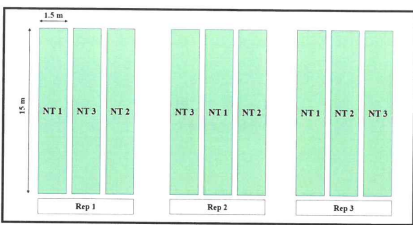
**2.1. Experimental location**  
 The field experiment was conducted at Road No. 3, residential area 586, Phu Thu ward, Cai Rang district, Can Tho city.  
 Farmer: Hong Van Phuoc  
 Phone number: 0974149102

**2.2. Soil preparation**  
 The total land area of the experimental area was: 300 m<sup>2</sup>. The soil of each experimental plot was raised into beds. The area of each bed was 15 m<sup>2</sup> (1,5 m width x 10 m length) and the height of the bed was 30 cm above the ground. Then, the topsoil was loosened and weeded before the experimental layout.


**2.3. Experimental layout**  
 The experiment was arranged in a completely randomized block design with 3 treatments and 3 replicates for each treatment. Information about the experimental treatments and the layout of the field experiments are presented in Table 1, Figure 1 and Figure 2, respectively.

**Table 1. Details of experimental treatments**

No.	Treatment	Content treatments
1	T1	Control (not sprayed with microbial products)
2	T2	100% Ecobiznet microbial products
3	T3	200% Ecobiznet microbial products



**Figure 1.** Experimental layout on lettuce in the field in Phu Thu ward, Cai Rang district, Can Tho city




**Figure 2.** Soil preparation before planting tomato in the field

**2.4. Cultivation techniques**  
 Chemical fertilizers for lettuce plants were applied according to the formula 120N-80P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-40K<sub>2</sub>O (Lalit, 2019). The fertilizer application schedule and composition of each specific application for lettuce are presented in Table 2.

**Table 2. Fertilizer schedule for experimental lettuce in the field**

Fertilizer kind	Total amount of fertilizer			Basal application (%) (0 DAS)	Top dressing (%)			
	Pure kg/ha	kg/ha	g/15 m <sup>2</sup>		1 <sup>st</sup> time (10 DAS)	2 <sup>nd</sup> time (20 DAS)	3 <sup>rd</sup> time (30 DAS)	4 <sup>th</sup> time (40 DAS)
Ure	120	261	391	0	25	25	25	25
Supper lân	80	500	750	100	0	0	0	0
KCl	40	66.7	100	25	25	25	25	0

15 days after sowing lettuce seeds were sown directly into the soil, then pruning and growing seedlings (plants with 2-3 true leaves) with a distance of 20x15 cm (Figure 3) were done. Also, cultivation techniques of tomato were followed by farmer's practices including the use of herbicides and pesticides to control weeds, pathogens and pests.



**Figure 3.** Lettuce seedlings after transplanting and re-planting in rows at day 15 after sowing

**2.5. Ecobiznet's Bio-Fertilizer**

**2.5.1. Applications and dosages**

Application period	Microorganism Usages	How to Use
1. Baby crop of Lettuce	<i>Bacillus velezensis</i> GH1-13 Microorganism culture fluid	Put 5 mL diluted water for 1 every baby crop pot before set into soil
02. Soil preparation (Before rotary and Basic soil fertilizer)	Composition A (Compound Microorganism)	Spray to field soil. Use dilution of composition A <50 mL for 50 sqm> (Water amount: General Usage)
03. After the Setting baby crop	Composition A (Compound Microorganism)	Until harvest lettuce irrigate water to lettuce soil. Every 2 weeks 1 time. Use dilution of composition A, <50 mL for 50 sqm> (Water amount: General Usage)
04. Outbreak Fungus/disease period	Composition B (Compound Microorganism)	From the beginning of outbreak, spray to lettuce leaf. Every 2 weeks 1 time. Use dilution of composition B. <600mL for 50sqm> (Water amount: General Usage)
05. Outbreak Insects period	Composition C (Compound Microorganism)	From the beginning of outbreak, spray to lettuce leaf. Every 2 weeks 1 time. Use dilution of composition C. <600mL for 50sqm> (Water amount: General Usage)

**2.5.2. Composition of Microorganism (Compound Microorganism)**

Type	Composition	Expectation
A	- <i>Rhodobacter sphaeroides</i> DS-EBN-BL6 (KTCT 11738BP) - <i>Bacillus velezensis</i> GH1-13 - <i>Lactobacillus casei</i> EBN-LC - Mixed ration <1:1:1>	- Soil quality development. - Stimulate crop quality
B	- <i>Bacillus amyloliquefaeciens</i> EBN-TK3 (KTCT 12382BP) - <i>Bacillus velezensis</i> GH1-13 - <i>Streptomyces vellosus</i> HR29 (KACC92006P) - Mixed ration <1:1:1>	-Control Fungus/ Disease of crops <Apply from the beginning of outbreak>
C	- <i>Streptomyces vellosus</i> HR29 (KACC92006P) - <i>Bacillus thuringiensis</i> HARI042 (KACC91517P)	-Control insects <Apply from the beginning of outbreak>

## 2.6. Survey standards

**Agronomic parameters:** Plant height, number of leaves per plant, maximum leaf width, maximum leaf length, SPAD value (Table 3). Agronomic parameters will be taken at 30, and 40 days after sowing and harvest from an area of 1 m<sup>2</sup>. Only plant diameter and canopy diameter were collected at harvest.

**Table 3.** Methods for agronomic parameter collection on lettuce

Item	Survey Standard	Unit
Plant height	Measured from from the ground to the top of highest leaf.	cm
Plant diameter	Measured the maximal diameter of the stem	cm
Number of leaves/plant	The number of leaves per each plant	pcs
Maximum leaf length	Measure the length of the biggest leaf	cm
Maximum leaf width	Measure the widest area of the leaf	cm

**Determination of plant damaged by disease and insect** will be taken at day 10, and 20 after sowing and at harvesting time within an fixed area of 1 m<sup>2</sup>.

- Damaged by disease: Infected number, percentage infection, disease scale (%) (Table 4).

- Damaged by insect: Pest density, harmful percentage and harmful scale (Table 4).

**Table 4.** Method to determinate the plant damages caused by diseases and insects on lettuce

Item	Method	Unit
Numbers of plant or leaves infected by diseases	Count the numbers of plant or leaves infected by diseases	pcs
Percentage infection	Infected plants/Number of observed plants×100	(%)
Disease scale (%)	Infected leaf area/Total leaf area × 100	(%)
Pest density	Count the number of pest individual	pcs/m <sup>2</sup>
Harmful percentage (%)	Number of plants damaged by insects/Total number of observed plants×100	(%)
Harmful scale (%)	Number of leaves damaged by insects/ Total number of observed leaves ×100	(%)

**Soil analysis** (soil sample will be taken at the harvesting time):

- **Soil physical parameters:** Soil moisture content (%), bulk density (g/cm<sup>3</sup>) 0-10cm, and water holding capacity (%).

- **Soil chemical parameters:** pH, EC (mS/cm), CEC (cmol<sup>+</sup>/kg), acidity (mg/g), Al<sup>3+</sup>, alkalinity (mg/kg), chlorides (mg/kg), potassium (K<sup>+</sup> exchange) (M.eq/100g), available potassium (mg/kg), total nitrogen (%), nitrate (mg/kg), phosphate (mg/kg), available phosphorus (mg/kg).

5

- **Soil biological parameters:** Fungi (CFU/g), bacteria (CFU/g), and actinomycetes (CFU/g).

**Tomato fruit quality parameters:** Chlorophyll content, anthocyanin content (mg/100g), fresh weight (g/plant), and yield (kg/m<sup>2</sup>).

## 3. Result

In general, the survey results showed that treatments received microbial products of Ecobiznet effectively stimulated the growth and yield of lettuce better than the control treatment received only chemical fertilizer.

### 3.1. Plant height

The results of evaluating the effect of Ecobiznet on the stem height of lettuce plants in field condition are presented in Table 5. In general, the treatments with Ecobiznet microbial product application had no significant difference (p>0,05) as compared to together for both day 40 and 50 after sowing, and they were higher and significantly different (p<0,05) than the control treatment without spraying microbial products.

**Table 5.** Lettuce stem height of the experimental treatments

Treatments	Plant height (cm)		
	30 day	40 day	50 day
Control	5,53 <sup>a</sup>	8,74 <sup>b</sup>	13,5 <sup>b</sup>
100% Ecobiznet's Bio-Fertilizer	6,50 <sup>a</sup>	10,1 <sup>a</sup>	15,3 <sup>a</sup>
200% Ecobiznet's Bio-Fertilizer	6,91 <sup>a</sup>	10,8 <sup>a</sup>	16,0 <sup>a</sup>
F	ns	*	*
CV (%)	13,8	10,3	8,40

\*Note: ns difference is not statistically significant; \* significantly different at 5% level. In the same column, digits followed by the same letter are not significantly different at the 5% level according to Tukey's test.

### 3.2. Number of leaves/plant

**Table 6.** Numbers of lettuce leaf of the experimental treatments

Treatments	Number of leaves/plant (pcs)		
	30 day	40 day	50 day
Control	4,88 <sup>a</sup>	7,08 <sup>b</sup>	13,7 <sup>b</sup>
100% Ecobiznet's Bio-Fertilizer	5,65 <sup>a</sup>	9,32 <sup>a</sup>	16,0 <sup>a</sup>
200% Ecobiznet's Bio-Fertilizer	5,67 <sup>a</sup>	9,20 <sup>a</sup>	16,8 <sup>a</sup>
F	ns	*	*
CV (%)	9,22	14,2	9,84

\*Note: ns difference is not statistically significant; \* significantly different at 5% level. In the same column, digits followed by the same letter are not significantly different at the 5% level according to Tukey's test.

The results of evaluating the effect of microbial products of Ecobiznet on the number of lettuce leaves are presented in Table 6. In general, similar to the results on plant height,

6

the numbers of leaves on the lettuce plants of the two treatments sprayed with microbial products at two collecting times of day 40 and 50 after sowing were higher and statistically significantly different (p<0,05) than the control treatment without spraying of microbial products.

### 3.3. Leaf length

The results of evaluating the effect of the microbial product Ecobiznet on lettuce leaf length are presented in Table 7. The results showed that, at two collecting times of day 40 and 50 after sowing, two treatments were sprayed with 100% and 200% Ecobiznet microbial products gave a higher leaf length and statistically significantly differed (p<0,05) when compared to the control treatment with only inorganic fertilizer. However, these two microbial application treatments had no statistically significant difference in leaf length (p>0,05) when compared with each other at these two survey times.

**Table 7.** Lettuce leaf length of the experimental treatments

Treatments	Leaf length (cm)		
	30 day	40 day	50 day
Control	4,54 <sup>a</sup>	7,14 <sup>b</sup>	9,14 <sup>b</sup>
100% Ecobiznet's Bio-Fertilizer	5,45 <sup>a</sup>	8,20 <sup>a</sup>	10,8 <sup>a</sup>
200% Ecobiznet's Bio-Fertilizer	5,60 <sup>a</sup>	8,41 <sup>a</sup>	11,1 <sup>a</sup>
F	ns	*	*
CV (%)	14,0	8,38	9,88

\*Note: ns difference is not statistically significant; \* significantly different at 5% level. In the same column, digits followed by the same letter are not significantly different at the 5% level according to Tukey's test.

### 3.4. Leaf width

**Table 8.** Lettuce leaf width of the experimental treatments

Treatments	Leaf width (cm)		
	30 day	40 day	50 day
Control	4,15 <sup>a</sup>	6,78 <sup>b</sup>	8,55 <sup>a</sup>
100% Ecobiznet's Bio-Fertilizer	4,88 <sup>a</sup>	7,44 <sup>a</sup>	8,79 <sup>a</sup>
200% Ecobiznet's Bio-Fertilizer	4,97 <sup>a</sup>	7,59 <sup>a</sup>	9,19 <sup>a</sup>
F	ns	*	ns
CV (%)	10,8	5,83	5,24

\*Note: ns difference is not statistically significant; \* significantly different at 5% level. In the same column, digits followed by the same letter are not significantly different at the 5% level according to Tukey's test.

The results of investigating the effect of the microbial product Ecobiznet on the leaf width of lettuce are shown in Table 8 and indicated that similar to the criterion of leaf length, the criterion of lettuce leaf width of the treatments only statistically significant difference (p<0,05) at day 40 after sowing. At this time, the leaf width index of two

7

treatments sprayed with Ecobiznet was higher and statistically significantly different (p<0,05) when compared with the control treatment without spraying microbial products.

### 3.5. SPAD value

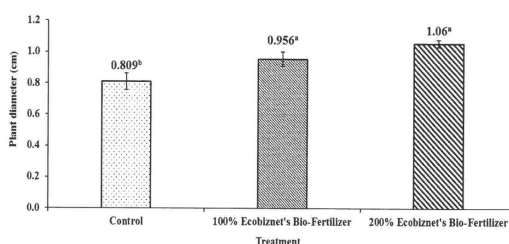
The results of evaluating the efficacy of the microbial products of Ecobiznet on the SPAD index on lettuce leaves are presented in Table 9, showing that the SPAD index at all time points of the survey was not statistically significantly different when compared among treatments together (p>0,05). This shows that the microbial products of Ecobiznet did not affect the SPAD index on the leaves of lettuce plants.

**Table 9.** SPAD index on lettuce leaves of the experimental treatments

Treatments	SPAD value		
	30 day	40 day	50 day
Control	26,4 <sup>a</sup>	28,1 <sup>a</sup>	22,9 <sup>a</sup>
100% Ecobiznet's Bio-Fertilizer	27,6 <sup>a</sup>	29,3 <sup>a</sup>	22,4 <sup>a</sup>
200% Ecobiznet's Bio-Fertilizer	28,2 <sup>a</sup>	28,5 <sup>a</sup>	21,4 <sup>a</sup>
F	ns	ns	ns
CV (%)	5,75	2,67	7,41

\*Note: ns difference is not statistically significant

### 3.6. Plant diameter



**Figure 4.** Lettuce stem diameter of the experimental treatments at day 50 after sowing

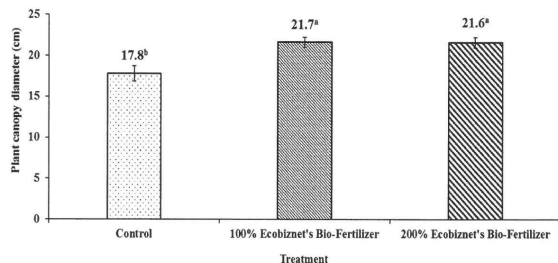
The results of evaluating the effect of the Ecobiznet microbial products on lettuce stem diameter at day 50 after sowing are presented in Figure 4. Overall, the results showed that two treatments received Ecobiznet microbial products gave a higher stem diameter and statistically significantly different (p<0,05) when compared with the control treatment.

8

However, these two treatments were not significantly different ( $p>0,05$ ) in terms of stem diameter when compared with each other.

### 3.7. Plant canopy diameter

The results of evaluating the effect of the microbial product of Ecobiznet on the canopy diameter of lettuce plants at day 50 after sowing are presented in **Figure 5**. Overall, the results showed that two treatments were sprayed with Ecobiznet's microbial products gave a higher canopy diameter and statistically significantly different ( $p<0,05$ ) when compared with the control treatment with only chemical fertilizer application. However, these two sprayed treatments were not significantly different ( $p>0,05$ ) in terms of foliage diameter at day 50 after sowing when compared together.

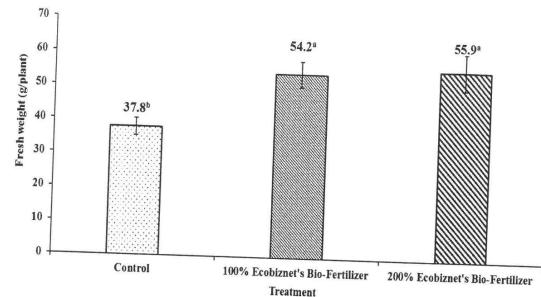


**Figure 5.** Lettuce canopy diameter of the experimental treatments at day 50 after sowing

### 3.8. Fresh weight/plant

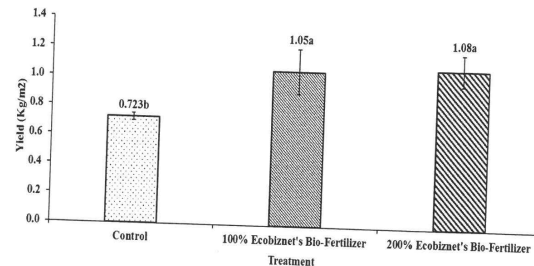
The results of evaluating the effect of Ecobiznet on the fresh weight of lettuce/plant presented in **Figure 6** showed that the fresh weight of lettuce/plant ranged from 37,8 g/plant to 55,9 g/tree and there was a statistically significant difference ( $p<0,05$ ) when comparing among treatments. In which, the two treatments sprayed with 100 and 200% of the microbial products Ecobiznet had a higher fresh weight/plant and were statistically significantly different ( $p<0,05$ ) when compared with the control treatment. The fresh weight/plant of these two treatments was 54,2 and 55,9 g/plant, respectively, while the control treatment with only chemical fertilizer application was only 37,8 g/plant. However, these two microbial applied treatments were not significantly different when compared with each other ( $p>0,05$ ) in term of fresh weight/plant.

9



**Figure 6.** Fresh weight of lettuce/plant of the experimental treatments at harvesting time

### 3.9. Actual yield



**Figure 7.** Actual yield of lettuce plants of the experimental treatments at harvesting time

The results of surveying the effects of Ecobiznet on the fresh yield of lettuce plants at the harvesting time are presented in **Figure 7** showing that the treatments with 100 and 200% microbial application had a higher value of the fresh yield of lettuce and was statistically significantly different ( $p<0,05$ ) when compared with the control treatment. In which, the yield of fresh lettuce harvested in these two treatments was 1,05 and 1,08 kg/m<sup>2</sup>, respectively, while the control treatment had a yield of 0,72 kg/m<sup>2</sup>. However, the actual

10

yield of lettuce of these two sprayed treatments was not significantly different ( $p>0,05$ ) when compared with each other.

## 4. Some advantages and disadvantages when arranging experiments

### 4.1. Advantages

Lettuce belongs to the daisy family, so almost during the experimental period, lettuce plants were not attacked by pests. At the same time, the experimental arrangement was in the dry season, so there was no disease on lettuce plants.

### 4.2. Disadvantages

Firstly, because purple lettuce is a leafy vegetable that is suitable for temperate climates, it will grow, develop and give good yield in cold seasons such as winter and spring in areas with low temperatures like Da Lat through morphological expression such as large trees, thicker and sweeter leaves. However, in this experiment, during the experimental period, the experimental layout fell in the hot summer continuously and the experimental soil was sandy, so the ability to hold water was poor, so the plants grew and developed slowly, leading to poor weather conditions. delayed harvest time up to 50 days after sowing and yields lower than in temperate climates.

Secondly, because the company has to use microorganism products, it does not use chemical pesticides to manage weeds in the experimental area and instead is managed by manual weeding, so it takes a lot of time and labor.

## 5. Conclusion

Such additional spraying Ecobiznet's microbial products helped to increase the yield of lettuce in actual field condition in the Can Tho city as compared with the control treatment received only NPK fertilizer application as recommended through the recorded parameters such as stem height, number of leaves, leaf size, stem diameter, canopy diameter, fresh weight and actual yield.

The addition of the microbial product Ecobiznet with 100% content helped to stimulate the growth and increase the yield of lettuce plants equally and did not differ statistically significantly as compared to the treatment applied with 200% of the microbial products of Ecobiznet, however, was still higher and significantly different from the control treatment with only chemical fertilizer application. Therefore, it helps to save the amount of microbial products, costs and labor when adding 100% Ecobiznet's microbial products.

## 6. The work will be carried out

- Continue to analyze some parameters on soil and vegetable quality

11

- Processing and writing the final report

## 7. Some experimental pictures captured at harvesting time



Date: September 21<sup>st</sup>, 2021

Executor



Assoc. Prof. Dr. Nguyen Khoi Nghia

12

- 토마토: 배량 처리군에서 가장 우수한 효능 증진 확인; 줄기 길이 약 30% 증가, 잎의 길이 약 19% 증가

**MID-TERM AND PROGRESSING REPORT**  
**ASSESSMENT OF EFFICACY OF ECOBIZNET'S MICROBIAL PRODUCTS ON GROWTH, TOMATO YIELD, PESTS AND DISEASES CONTROLS IN CAN THO CITY**

**1. Objectives**

The experiment was carried out with the aim of evaluating the efficacy of microbial products of Ecobiznet company on growth, tomato yield, pest, and disease controls under field conditions in Cai Rang district, Can Tho city.

**2. Materials and experimental methods**

**2.1 Materials**

*a. Microbial products*

Three types of microbial products including A, B, and C with the functions of enhancing the organic matter decomposition in soil, managing plant diseases and managing plant pests, are products of Ecobiznet company.

*b. Tomato cultivar*

Tomato variety, TN 748 is commercialized by Trang Nong Trading Co., Ltd.

**2.2. Implementation method**

The experiment was conducted in Phu Thu ward, Cai Rang district, Can Tho City. The experimental area has a total area of 135 m<sup>2</sup> and is divided into 9 plots which had an equal area of 15 m<sup>2</sup> (1,5 m width x 10 m length = 15 m<sup>2</sup>). The surface soil was tilled first, then beds were raised and leveled the surface before planting for good aeration drainage and each raised bed was separated by the grooves (**Figure 1**). The height of raised bed was 20 cm above the ground.

The experiment was conducted from August 2021 up to now and is expected to finish in December 2021 in a randomized complete block design consisting of 3 treatments and 3 replicates, each experimental batch corresponds to 1 replicate. The treatments are listed as follows:

Treatment 1: Control (without microbial product application)

Treatment 2: Application of 100% microbial products of EcoBiznet company

Treatment 3: Application of 200% of microbial products of EcoBiznet company

1



**Figure 1.** Soil preparation and microbial product application into soil before planting tomato

Tomato seeds were sowed in pots under the nursery conditions with a recorded germination rate of 95%, then the tomato young seedlings were planted in the field at day 20 after sowing at a density of 1500 plants/1.000 m<sup>2</sup> with planting spacing of 80 cm (row-to-row) x 80 cm (plant-to-plant), using dry grass to mulch on the soil surface to avoid the water lost and using bamboo poles to fix the stand of tomato seedlings (**Figure 2**). The procedures for tomato fertilization and caring were followed by the handbook of tomato cultivation technology published by Tran Thi Ba (2019). The fertilizer formula was 210N-190P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-170 K<sub>2</sub>O kg/ha. Microbial products were processed according to the guidance of the company instructions.



**Figure 2.** Tomato seedlings were grown in pots and planted in the field after 20 DAS  
 \* Collected parameters

- **Agronomic parameters:** germination rate, plant density, plant height, number of leaves per plant, number of nodes, stem diameter, maximum leaf width, maximum leaf

2

length will be taken at transplanting time, the time when 50% of the plants give flowers, at the first and last harvesting times.

- **Number of flowers and fruiting rate:** number of inflorescences, number of flowers per inflorescence, fruiting rate these criteria will be taken in the period of flowering and most flowering time (about 56 days after planting).

- **Fruit yield:** record the total weight of fresh fruit obtained on 10 fixed trees during the growing period of the plant.

- **Fruit quality:** fruit length, color, percentage of fruits beyond average size, sugar content, acidity, juice, hardness, lycopene content, chlorophyll content, and total carotenoid content will be collected and these parameters will be collected and analyzed at the most flowering time.

- Parameters of diseases and insects will be taken at 1, 2, and 3 month after planting and at the harvesting time. Ten plants of each plot will be chosen to collect the damage by diseases and insects.

+ Damaged by diseases: Infected number, percentage infection, and disease scale (%) (**Table 1**).

+ Damaged by insects: Pest density, harmful percentage, and harmful scale (**Table 1**)

**Table 1.** Describing method for collecting tomato damage caused by diseases and insects

Item	Parameters	Unit
Numbers of leaves infected by diseases	Count the total numbers of individual or number of leaves infected by diseases	Pcs
Percentage infection of the diseases	Infected plants/Number of observed plants×100	(%)
Disease scale (%)	Infected leaf area/Total leaf area ×100 Or Infected inflorescence/Total observed inflorescence×100 or Infected fruits/Total observed fruits×100	(%)
Pest density	Numbers of pest individual	Pcs/m <sup>2</sup>
Harmful percentage (%)	Numbers of plants damaged by insects/Total number of examined plants×100	(%)
Harmful scale (%)	Number of leaves/ damaged by insects/Total number of observed leaves ×100 Or Number of inflorescences damaged by insects/ Total number of observed inflorescence×100	(%)

- Soil analysis (soil sample will be taken at harvesting time):

+ **Soil physical properties:** Soil moisture content (%), bulk density (g/cm<sup>3</sup>) 0-10cm, and water holding capacity (%).

+ **Soil chemical properties:** pH, EC (mS/cm), CEC (cmol<sup>+</sup>/kg), acidity (mg/kg) - Al<sup>3+</sup>, alkalinity (mg/kg), chlorides (mg/kg), potassium (M.cq/100g), available potassium

3

(mg/kg), total nitrogen (%), nitrate (mg/kg), phosphate (mg/kg), and available phosphorus (mg/kg).

+ **Soil biological properties:** Fungi (CFU/g), bacteria (CFU/g), and actinomycetes (CFU/g).

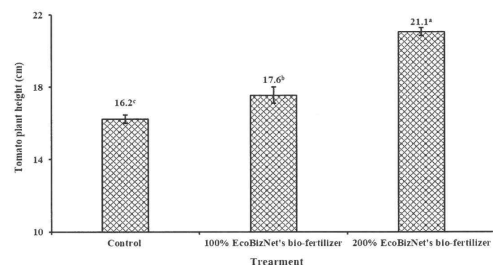
### 2.3. Data processing

All collected data will be processed on Excel software and tested by ANOVA statistics, compared by Tukey test using Minitab 16.2 software.

## 3. Experimental results

### 3.1. Tomato plant height

The results of the survey on the efficacy of microbial products from EcoBizNet on tomato plant height in the field at day 20 after sowing in Cai Rang district, Can Tho city are presented in **Figure 3**. The tomato height was found to be highest (21,1 cm) in the treatment applied with 200% microbial product, next is the treatment with 100% microbial product with plant height recorded of 17,6 cm and the control treatment without microbial product application had the lowest one (16,2 cm) and the experimental treatments were statistically different when compared with each other (p<0,05).



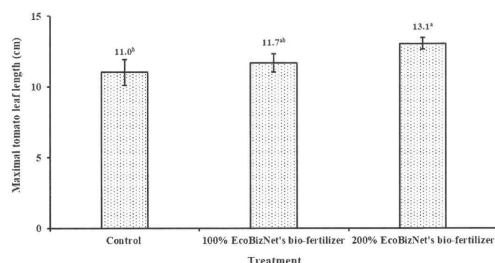
**Figure 3.** Tomato plant height of experimental treatments at day 20 after sowing in Cai Rang district, Can Tho city (August 2021)

### 3.2. Maximum length of tomato leaves

The results of the investigation of the effect of the microbial product of Ecobiznet on the maximum length of tomato leaves of the experimental treatments at 20 DAS are presented in **Figure 4**. The treatment using 200% of microbial products had the highest maximum leaf length (13,1 cm) and was statistically significantly different from the control treatment without using microbial product (11,0 cm) (p<0,05), however, no

4

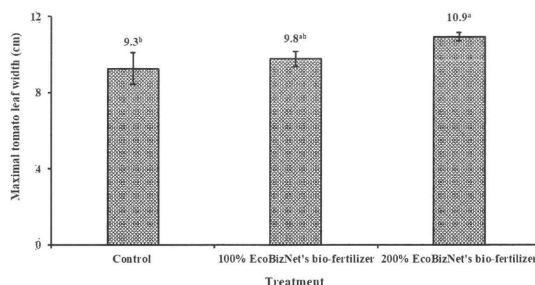
difference was found to be statistically significant as compared this treatment with the treatment received 100% microbial product (11,7 cm). The treatment applied with 100% microbial products was not statistically different from the control treatment ( $p>0,05$ ).



**Figure 4.** The maximum length of tomato leaves of the experimental treatments at day 20 after sowing in Cai Rang district, Can Tho city (August 2021)

### 3.3. Maximum leaf width

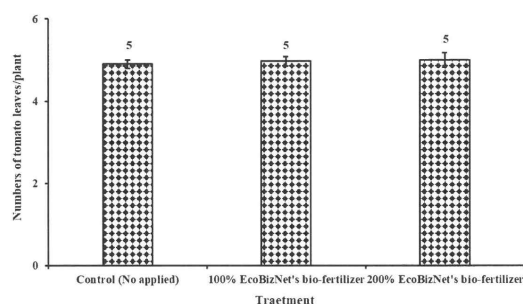
The results of the investigation of the effect of the microbial product of Ecobiznet on the maximum leaf width of tomatoes at day 20 after sowing are shown in Figure 5. The same trend was found as maximum leaf length, the treatment applied with 200% microbial product had the highest maximum leaf width (10,9 cm) and a significant difference was found between the control treatment (9,3 cm) and the treatment applied with 200% microbial products ( $p<0,05$ ), however, there was no significant difference to be found between two treatments applied with the microbial product. Moreover, the treatment with 100% of the microbial product (9,8 cm) had no statistically significant difference about maximum leaf width as compared with the control treatment without any microbial application.



**Figure 5.** Maximum leaf width of tomato of experimental treatments at day 20 after sowing in Cai Rang district, Can Tho city (August 2021)

### 3.4. Number of leaves/plant

The results of evaluating the effect of EcoBizNet on the number leaves of tomato at day 20 after sowing are presented in Figure 6. There was no significant difference ( $p>0,05$ ) to be found among treatments in term of the number of leaves/plant.

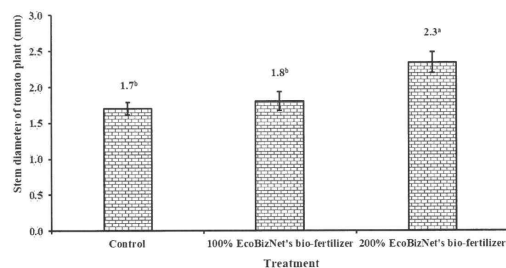


**Figure 6.** Numbers of tomato leaves/plant of experimental treatments at day 20 after sowing in Cai Rang district, Can Tho city (August 2021)

### 3.5. Plant diameter

The results of evaluating the effect of EcoBizNet on plant diameter of tomato at day 20 after sowing are presented in Figure 7. In general, the treatment spraying with

200% of the microbial products of Ecobiznet company helped increase the stem diameter of tomato plants at day 20 after sowing and reached the highest value (2,3 mm). In addition, the treatment using 100% microbial products had a stem diameter of 1,8 mm, which was not statistically different from the control treatment without using microbial products ( $p>0,05$ ) (1,7 mm).



**Figure 7.** Stem diameter of tomato plant of experimental treatments at day 20 after sowing in Cai Rang district, Can Tho city (August 2021)

## 4. Conclusion

In summary, the use of 200% of the microbial products of EcoBizNet company helped to stimulate the growth of tomato variety TN748 under field conditions in Can Tho city at day 20 after sowing, through the performance of the following parameters tomato plant height, maximum leaf length and width, and stem diameter. While the use of 100% probiotics only increased plant height compared to the control treatment. In addition, probiotics did not increase the number of leaves/plant at day 20 after sowing.

## 5. Advantages and disadvantages

### 5.1. Advantages

Experiment conducted to evaluate the efficacy of microbial products on growth, pest and disease controls, and tomato yield received enthusiastic supports from Mr. Nguyen Hoai Thanh - an employee of EcoBizNet company who is always willing to produce and supply all kinds of A, B and C microbial products to make sure that the work is done as scheduled time.

This test bed also received the enthusiastic supports from farmer Hong Van Phuoc in Phu Thu ward, Cai Rang District, Can Tho City who always watches, takes care of experimental plants and good communication with researchers to perform well experiment.

Tomato plants were planted in the time of "off season" – it was rainy season when many serious harmful diseases appeared, thus under this condition the efficacy of microbial product is evaluated clearer in term of plant diseases control function (Composition B).

### 5.2. Disadvantages

Due to the impact of the Covid-19 epidemic, it was very difficult to go and come to take care of tomato experiment and to collect parameters.

Because tomatoes are grown in the off season, rainy season, thus many dangerous and deadly diseases appeared, so the yield of tomato was foreseen to be low.

Microbial product B used for disease management is recommended by the company to be used only whenever disease symptoms appeared, this caused difficulty in managing harmful diseases on tomatoes. Because the microbial product B needs time to be effective to control the disease while the rate of plant disease on tomato spread extremely fast, especially in the rainy season, so the efficacy of microbial product B could not be clearly evaluated.

### 5.3. Solution orientation

It is proposed that the use of microbial products should be applied every 2 weeks from the beginning of the crop to manage pests and diseases on tomatoes in particular and other crops in the next test beds.

## 6. Expected time to end the experiment investigating the efficacy of microbial products produced by Ecobiznet on growth, yield of tomato plants, pest and diseases controls in Cai Rang district, Can Tho City

The experiment to investigate the efficacy of microbial products produced by EcoBiznet on growth, yield of tomatoes, pest and diseases controls in Cai Rang district, Can Tho city is expected to finish in December 2021

Date: September 21<sup>st</sup>, 2021

Executor

TRƯỜNG ĐẠI HỌC CẦN THƠ  
KHOA NÔNG NGHIỆP & SHƯU  
BỘ MÔN KHOA HỌC ĐẤT

Assoc. Prof. Dr. Nguyen Khoi Nghia

- 고추: 기준량 처리군에서 가장 우수한 효능 증진 확인; 토양 내 곰팡이 약 10배 감소, 토양 내 방선균 약 10배 증가, 병해 발병 약 65% 감소, 총해 발생 약 23% 감소

**EcoBizNet's MICROBIAL test bed report on RED PEPPER in DA Lat, Lam Dong.**

(Interim report as of September 2021)

Dong Yang Co. Ltd. - 15.09.2021

The purpose of the experiment is to test the suitability and appropriate farming methods of MICROBIAL of EcoBizNet company on mango trees in Mekong Delta.

1. **Species** : RED PEPPER

2. **Season** : reverse season (From 2021 November to 2021 November)

3. **General information about test bed:**

Test area: 900 m<sup>2</sup>





Image of EcoBizNet's MICROBIAL testing site



1

**4. Material and Test Method**

**4-1. Test product information**

	Microbial strains	Effectiveness
A	- <i>Rhodobacter sphaeroides</i> - <i>Bacillus velezensis</i> - <i>Lactobacillus casei</i>	- Soil amendment - Increasing crop quality
B	- <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> - <i>Bacillus velezensis</i>	- Prevention of disease
C	- <i>Streptomyces vellosus</i> - <i>Bacillus thuringiensis</i>	- Prevention of damage by blight and harmful insects

**4-2. Treatment of CellAct products**


- CellAct products: Fermenter, microbial Seed & Medium
- Produced by Ecobiznet company, Korea

**\* Application of microorganisms**

1. CellAct-PSB (*Rhodobacter sphaeroides*)
2. CellAct-BA (*Bacillus amyloliquefaciens*)
3. CellAct-BT (*Bacillus thuringiensis*)
4. CellAct-BV (*Bacillus velezensis*)
5. CellAct-LAB (*Lactobacillus casei*)
6. CellAct-AM (*Streptomyces vellosus*)

**\* The steps to culture microorganisms**

Succession management of microbial seed in Plate → Flask liquid culture → Cultivation in large numbers using CellAct Fermenter and microbial medium



2

**\* Details of microbial culture**


Table. The information of successive transfer culture in solid medium (Store the cultured plate at 4°C)

Microbial strains	Solid medium (For successive transfer culture)	Culture temperature (°C) / Time (day)	Culture period (day)
CellAct-PSB ( <i>Rhodobacter sphaeroides</i> )	Tryptic soy agar	30 / 3	7
CellAct-BA ( <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> )	Luria-Bertani agar	35 / 1	7
CellAct-BT ( <i>Bacillus thuringiensis</i> )	Luria-Bertani agar	30 / 1	7
CellAct-BV ( <i>Bacillus velezensis</i> )	Luria-Bertani agar	35 / 1	7
CellAct-LAB ( <i>Lactobacillus casei</i> )	MRS agar	37 / 3	7
CellAct-AM ( <i>Streptomyces vellosus</i> )	Luria-Bertani agar	30 / 5	7

Table. Information of liquid culture (Colony to Broth)

Microbial strains	Liquid medium (Flask)	Liquid culture conditions Temperature (°C) / Churn speed (rpm) / Time (day)
CellAct-PSB ( <i>Rhodobacter sphaeroides</i> )	Tryptic soy broth	30 / 150 / 2
CellAct-BA ( <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> )	Luria-Bertani broth	35 / 150 / 1
CellAct-BT ( <i>Bacillus thuringiensis</i> )	Luria-Bertani broth	30 / 150 / 1
CellAct-BV ( <i>Bacillus velezensis</i> )	Luria-Bertani broth	35 / 150 / 1
CellAct-LAB ( <i>Lactobacillus casei</i> )	MRS broth	37 / 150 / 2
CellAct-AM ( <i>Streptomyces vellosus</i> )	Luria-Bertani broth	30 / 150 / 3

- Put 500ml of each liquid medium in a 1L triangular flask and sterilize it
- Inoculate a liquid media with plate colonies
- Start culturing with the above conditions (Additional cultivation is needed for mass cultivation)



3


Table. Information of mass cultivation (Broth to broth)

Microbial strains	Liquid medium (Mass cultivation)	Liquid culture conditions	Antifoaming agent (mL)
CellAct-PSB ( <i>Rhodobacter sphaeroides</i> )	CellAct-PSB	Mode of CellAct-PSB	0
CellAct-BA ( <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> )	CellAct-BA	Mode of CellAct-BA	300
CellAct-BT ( <i>Bacillus thuringiensis</i> )	CellAct-BT	Mode of USER (35°C, Churn speed 150, Maximum aeration rate, 48hours)	300
CellAct-BV ( <i>Bacillus velezensis</i> )	CellAct-BV	Mode of CellAct-BV	500
CellAct-LAB ( <i>Lactobacillus casei</i> )	CellAct-LAB	Mode of CellAct-LAB	0
CellAct-AM ( <i>Streptomyces vellosus</i> )	CellAct-AM	Mode of CellAct-AM	50

- Each medium is for culturing 100L
- First, receive water and sterilize. After the culture temperature cools down, inoculate 1% of flask bacteria (Inoculate 1L of flask bacteria per 100L)
- Start culturing with the above conditions (Put the antifoaming agent in before sterilization) and use it for demonstration test of production amount

**4-3. Methods for treating microorganisms**

Stages	Application of microorganisms	Application method
After Planting	Microorganism in A (1:1:1 mix after culturing each)	Once every two weeks 2. Foliar spray, Use diluted 76ml of microorganism per 50m <sup>2</sup>
Estimating time to disease	Microorganism in B (1:1:1 mix after culturing each)	Twice a week until the disease calms down, Foliar spray, Use diluted 600ml of microorganism per 50m <sup>2</sup>
Estimating time to blight	Microorganism in C (1:1:1 mix after culturing each)	Twice a week until the blight calms down, Foliar spray, Use diluted 600ml of microorganism per 50m <sup>2</sup>



4

#### 4-4. Analysis of experimental results

Table. Analysis of the pest control between microbial treatment and non-treatment

No.	Analysis items
<b>1</b>	<b>Damage by disease</b>
1.1	Infected leaf number
1.2	Infected leaf area
1.3	Infected entity number
1.4	Infected number of fruits
<b>2</b>	<b>Damage by insect</b>
2.1	Pest density
2.2	Number of leaves damaged by insects
2.3	Number of fruits damaged by insects

Table. Analysis of chemical soil properties between microbial treatment and non-treatment

Analysis items	Method	Measuring device
pH(1:5)	1:5 D.W. extraction	pH meter
EC(ds/m)	1:5 D.W. extraction	EC meter
Available Phosphorus (mg/kg)	Lancaster method	UV/Vis spectrometer
Organic matter(g/kg)	Tyurin method	Automatic titrator
K, Ca, Mg(cmol+/kg)	1N-NH4OAc extraction	ICP-OES
Soil texture	Hydrometer method	Gravimeter
Total nitrogen (T-N)	Coulometry	Elemental analyser
CEC(cmol+/kg)	Brown method	ICP-OES

Table. Analysis of the physical and biological soil properties between microbial treatment and non-treatment

Analysis items	Method
Bulk Density (g/cm <sup>3</sup> ) 0-10cm	Time domain reflectometry method
Water Holding Capacity (%)	Core method
Fungi (CFU/g)	Potato Dextrose Agar culture
Bacteria (CFU/g)	Luria Aagar culture
Actinomyces (CFU/g)	Humic Acid Vitamin culture

5



#### 5. Experimental Results

The total testing area is 900 m<sup>2</sup>, divided into 3 lots,

300 m<sup>2</sup>: Untreated / 300 m<sup>2</sup>: Standard treatment / 300 m<sup>2</sup>: Doubled treatment

##### 5-1. Analysis of the physical, chemical and biological soil properties

As a result of investigating the chemical properties of the soil, the general soil has an appropriate pH range compared to the optimal range for crop growth, and no salt was accumulated below 2ds/m in the case of EC. Plus, the organic material (OM) content has an optimal level. Phosphoric acid and eco-friendly cations also showed suitable standard values for general soil.

Based on the result of the investigation of the physical soil properties, the bulk density of the treatment tool was lowered to 1.76 compared to the microbial untreated sphere, therefore soil entry was in place. The water holding capacity value increased and changed to an appropriate level for crops to grow.

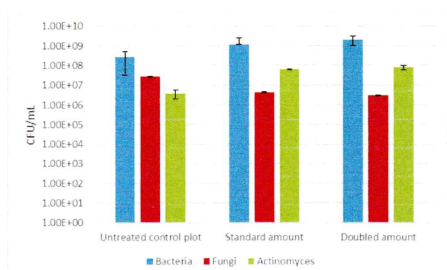
Analysis items	Unit	Untreated control plot	Standard amount	Doubled amount
pH	-	6.67 ± 0.12	7.12 ± 0.32	6.96 ± 0.11
EC	ds/m	1.37 ± 0.03	1.36 ± 0.02	1.29 ± 0.10
OM	g/kg	17.12 ± 1.73	20.77 ± 3.55	19.87 ± 0.77
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	mg/kg	1024 ± 224	1112 ± 321	1086 ± 117
K	cmol(+)/kg	0.33 ± 0.07	0.35 ± 0.12	0.42 ± 0.13
Ca	cmol(+)/kg	1.57 ± 0.08	1.92 ± 0.12	2.17 ± 0.58
Mg	cmol(+)/kg	1.55 ± 0.10	1.69 ± 0.07	0.99 ± 0.31

6



CEC	cmol(+)/kg	9.11 ± 0.81	10.27 ± 0.67	10.28 ± 1.11
T-N	%	0.19 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.22 ± 0.03
Bulk density	g/cm <sup>3</sup>	1.76 ± 0.18	1.37 ± 0.21	1.45 ± 0.33
WHC	%	51 ± 7	56 ± 5	53 ± 5

As a result of soil biological analysis, the ratio of Bacteria and Actinomyces compared to Control increased while the Fungi content decreased.



##### 5-2. Damaged by disease & insect

As a result of the pest investigation, the overall damage by pests was reduced in the experimental group compared to the Control.

Item	Untreated control plot	Standard amount	Doubled amount
Numbers of plant infected by diseases (pcs)	95	33	51
Infected leaf area (%)	50 ± 30	50 ± 25	50 ± 30
Infected number of fruits	158	51	36

7



Pest density (pcs/plant)	55 ± 32	42 ± 17	39 ± 21
Number of leaves damaged by insects (pcs/plant)	36 ± 11	9 ± 3	7 ± 5
Number of fruits damaged by insects (pcs/plant)	15 ± 4	8 ± 3	5 ± 2



8



- 망고: 기준량 처리군에서 가장 우수한 효능 증진 확인; 토양 내 곰팡이 약 50배 감소, 토양 내 방선균 약 7배 증가, 병해 발병 약 58% 감소, 충해 발생 약 75% 감소

EcoBizNet's MICROBIAL test bed report on mango trees in Mekong Delta.  
(2021.09 Interim report)  
Dong Yang Co. Ltd. - 15.09.2021

The purpose of the experiment is to test the suitability and appropriate farming methods of MICROBIAL of EcoBizNet company on mango trees in Mekong Delta.

1. **Species** : Hoa Loc Mango  
2. **Season** : reverse season (From 2021 November to 2021 November)

3. **General information about test bed:**  
Test area: 900 m<sup>2</sup>  
Tree age: 7 years old  
On October 3<sup>rd</sup> 2020 the tree began to sprout chickens (flower sprout).




Image of EcoBizNet's MICROBIAL testing site

CÔNG TY TNHH TƯ VẤN THƯƠNG MẠI ĐÔNG YANG  
THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

4. **Material and Test Method**

4-1. **Test product information**

	Microbial strains	Effectiveness
A	- <i>Rhodobacter sphaeroides</i> - <i>Bacillus velezensis</i> - <i>Lactobacillus casei</i>	- Soil amendment - Increasing crop quality
B	- <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> - <i>Bacillus velezensis</i>	- Prevention of disease
C	- <i>Streptomyces vellosus</i> - <i>Bacillus thuringiensis</i>	- Prevention of damage by blight and harmful insects

4-2. **Treatment of CellAct products**

- CellAct products: Fermenter, microbial Seed & Medium
- Produced by Ecobiznet company, Korea

\* **Application of microorganisms**

1. CellAct-PSB (*Rhodobacter sphaeroides*)
2. CellAct-BA (*Bacillus amyloliquefaciens*)
3. CellAct-BT (*Bacillus thuringiensis*)
4. CellAct-BV (*Bacillus velezensis*)
5. CellAct-LAB (*Lactobacillus casei*)
6. CellAct-AM (*Streptomyces vellosus*)

\* **The steps to culture microorganisms**

Succession management of microbial seed in Plate → Flask liquid culture → Cultivation in large numbers using CellAct Fermenter and microbial medium

CÔNG TY TNHH TƯ VẤN THƯƠNG MẠI ĐÔNG YANG  
THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

\* **Details of microbial culture**

Table. The information of successive transfer culture in solid medium (Store the cultured plate at 4°C)

Microbial strains	Solid medium (For successive transfer culture)	Culture temperature (°C) / Time (day)	Culture period (day)
CellAct-PSB ( <i>Rhodobacter sphaeroides</i> )	Tryptic soy agar	30 / 3	7
CellAct-BA ( <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> )	Luria-Bertani agar	35 / 1	7
CellAct-BT ( <i>Bacillus thuringiensis</i> )	Luria-Bertani agar	30 / 1	7
CellAct-BV ( <i>Bacillus velezensis</i> )	Luria-Bertani agar	35 / 1	7
CellAct-LAB ( <i>Lactobacillus casei</i> )	MRS agar	37 / 3	7
CellAct-AM ( <i>Streptomyces vellosus</i> )	Luria-Bertani agar	30 / 5	7

Table. Information of liquid culture (Colony to Broth)

Microbial strains	Liquid medium (Flask)	Liquid culture conditions Temperature (°C) / Churn speed (rpm) / Time (day)
CellAct-PSB ( <i>Rhodobacter sphaeroides</i> )	Tryptic soy broth	30 / 150 / 2
CellAct-BA ( <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> )	Luria-Bertani broth	35 / 150 / 1
CellAct-BT ( <i>Bacillus thuringiensis</i> )	Luria-Bertani broth	30 / 150 / 1
CellAct-BV ( <i>Bacillus velezensis</i> )	Luria-Bertani broth	35 / 150 / 1
CellAct-LAB ( <i>Lactobacillus casei</i> )	MRS broth	37 / 150 / 2
CellAct-AM ( <i>Streptomyces vellosus</i> )	Luria-Bertani broth	30 / 150 / 3

- Put 500ml of each liquid medium in a 1L triangular flask and sterilize it
- Inoculate a liquid media with plate colonies
- Start culturing with the above conditions (Additional cultivation is needed for mass cultivation)

CÔNG TY TNHH TƯ VẤN THƯƠNG MẠI ĐÔNG YANG  
THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

Table. Information of mass cultivation (Broth to broth)

Microbial strains	Liquid medium (Mass cultivation)	Liquid culture conditions	Antifoaming agent (mL)
CellAct-PSB ( <i>Rhodobacter sphaeroides</i> )	CellAct-PSB	Mode of CellAct-PSB	0
CellAct-BA ( <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> )	CellAct-BA	Mode of CellAct-BA	300
CellAct-BT ( <i>Bacillus thuringiensis</i> )	CellAct-BT	Mode of USER (35°C, Churn speed 150, Maximum aeration rate, 48hours)	300
CellAct-BV ( <i>Bacillus velezensis</i> )	CellAct-BV	Mode of CellAct-BV	500
CellAct-LAB ( <i>Lactobacillus casei</i> )	CellAct-LAB	Mode of CellAct-LAB	0
CellAct-AM ( <i>Streptomyces vellosus</i> )	CellAct-AM	Mode of CellAct-AM	50

- Each medium is for culturing 100L
- First, receive water and sterilize. After the culture temperature cools down, inoculate 1% of flask bacteria (Inoculate 1L of flask bacteria per 100L)
- Start culturing with the above conditions (Put the antifoaming agent in before sterilization) and use it for demonstration test of production amount

4-3. **Methods for treating microorganisms**

Stages	Application of microorganisms	Application method
After Planting	Microorganism in A (1:1:1 mix after culturing each)	Once every two weeks 2, Foliar spray, Use diluted 76ml of microorganism per 50 m <sup>2</sup>
Estimating time to disease	Microorganism in B (1:1:1 mix after culturing each)	Twice a week until the disease calms down, Foliar spray, Use diluted 600ml of microorganism per 50m <sup>2</sup>
Estimating time to blight	Microorganism in C (1:1:1 mix after culturing each)	Twice a week until the blight calms down, Foliar spray, Use diluted 600ml of microorganism per 50m <sup>2</sup>

CÔNG TY TNHH TƯ VẤN THƯƠNG MẠI ĐÔNG YANG  
THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

#### 4-4. Analysis of experimental results

Table. Analysis of the pest control between microbial treatment and non-treatment

No.	Analysis items
<b>1</b>	<b>Damage by disease</b>
1.1	Infected leaf number
1.2	Infected leaf area
1.3	Infected entity number
1.4	Infected number of fruits
<b>2</b>	<b>Damage by insect</b>
2.1	Pest density
2.2	Number of leaves damaged by insects
2.3	Number of fruits damaged by insects

Table. Analysis of chemical soil properties between microbial treatment and non-treatment

Analysis items	Method	Measuring device
pH(1:5)	1:5 D.W. extraction	pH meter
EC(dS/m)	1:5 D.W. extraction	EC meter
Available Phosphorus (mg/kg)	Lancaster method	UV/Vis spectrometer
Organic matter(g/kg)	Tyurin method	Automatic titrator
K, Ca, Mg(cmol+/kg)	IN-NH4OAc extraction	ICP-OES
Soil texture	Hydrometer method	Gravimeter
Total nitrogen (T-N)	Coulometry	Elemental analyser
CEC(cmol+/kg)	Brown method	ICP-OES

Table. Analysis of the physical and biological soil properties between microbial treatment and non-treatment

Analysis items	Method
Bulk Density (g/cm <sup>3</sup> ) 0-10cm	Time domain reflectometry method
Water Holding Capacity (%)	Core method
Fungi (CFU/g)	Potato Dextrose Agar culture
Bacteria (CFU/g)	Luria Agar culture
Actinomycetes (CFU/g)	Humic Acid Vitamin culture

5



#### 5. Experimental Results

The total testing area is 900 m<sup>2</sup>, divided into 3 lots,

300 m<sup>2</sup>: Untreated / 300 m<sup>2</sup>: Standard treatment / 300 m<sup>2</sup>: Doubled treatment



Fig. The preparation before microorganism treatment



Fig. Application of microorganism treatment

6



The first treatment



The third treatment



The second treatment



The fourth treatment

7



8





The fifth treatment



The sixth treatment

9



### 5-1. Analysis of the physical, chemical and biological soil properties

As a result of investigating the chemical properties of the soil, the general soil has an appropriate pH range compared to the optimal range for crop growth, and no salt was accumulated below 2ds/m in the case of EC. Plus, the organic material (OM) content has an optimal level. Phosphoric acid and eco-friendly cations also showed suitable standard values for general soil.

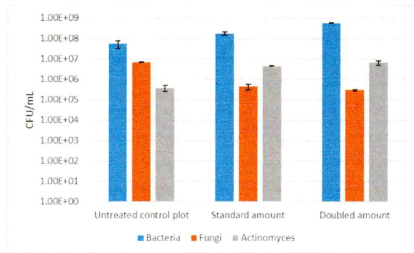
Based on the result of the investigation of the physical soil properties, the bulk density of the treatment tool was lowered to 1.10 compared to the microbial untreated sphere, therefore soil entry was in place. The water holding capacity value increased and changed to an appropriate level for crops to grow.

Analysis items	Unit	Untreated control plot	Standard amount	Doubled amount
pH	-	6.75 ± 0.03	6.68 ± 0.02	6.76 ± 0.01
EC	ds/m	1.25 ± 0.01	1.05 ± 0.02	1.38 ± 0.04
OM	g/kg	25.89 ± 3.25	28.58 ± 1.25	29.96 ± 1.28
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	mg/kg	816 ± 69	815 ± 48	888 ± 172
K	cmol(+)kg	0.54 ± 0.11	0.65 ± 0.09	0.57 ± 0.03
Ca	cmol(+)kg	2.50 ± 0.32	2.55 ± 0.04	2.61 ± 0.17
Mg	cmol(+)kg	1.60 ± 0.07	1.75 ± 0.15	1.73 ± 0.23
CEC	cmol(+)kg	12.35 ± 1.15	12.85 ± 0.85	12.55 ± 2.15
T-N	%	0.09 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00
Bulk density	g/cm <sup>3</sup>	1.28 ± 0.08	1.07 ± 0.07	1.03 ± 0.12
WHC	%	43 ± 2	52 ± 4	56 ± 3

10



As a result of soil biological analysis, the ratio of Bacteria and Actinomyces compared to Control increased while the Fungi content decreased.



### 5-2. Damaged by disease & insect

As a result of the pest investigation, the overall damage by pests was reduced in the experimental group compared to the Control.

Item	Untreated control plot	Standard amount	Doubled amount
Numbers of leaves infected by diseases (pcs/tree)	221 ± 57	92 ± 75	120 ± 59
Infected leaf area (%)	70 ± 30	50 ± 25	50 ± 30
Infected tree number (pcs)	20	5	7
Infected number of fruits	158	51	36
Pest density (pcs/m <sup>2</sup> )	32 ± 17	19 ± 10	25 ± 15
Number of leaves damaged by insects (pcs/tree)	105 ± 52	44 ± 35	72 ± 27
Number of fruits damaged by insects (pcs)	72	18	36

11



⑤ 미생물 선발

- 선발 미생물 및 정보

선발 미생물	효능 요약 / 기작	안전성 검증 자료
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> EBN-BL6 <i>Rhodobacter sphaeroides</i> PS-24 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ISP-5 <i>Bacillus velezensis</i> GH1-13 <i>Lactobacillus casei</i> EBN-LC <i>Sacchromyces cerevisiae</i> YJ16	효소와 식물호르몬 생성, 작물 증수 촉진, 잔류농약 분해능	국내 비료공정규격 고시 미생물로 비료로서 사용 가능한 안전한 미생물
<i>Bacillus amyloliquefaeciens</i> EBN-TK3 <i>Bacillus velezensis</i> GH1-13 <i>Bacillus velezensis</i> JC-20 <i>Bacillus velezensis</i> JC-9 <i>Bacillus velezensis</i> KPI-1 <i>Bacillus subtilis</i> TSA16-20 <i>Bacillus subtilis</i> BC-6	항균 물질(리포펩타이드) 생성, 병해 방제 (탄저병, 검은점무늬병, 궤양병, 마름병등)	국내 비료공정규격 고시 미생물로 비료로서 사용 가능한 안전한 미생물
<i>Bacillus thuringiensis</i> HARI042 <i>Beauveria bassiana</i> EBN-BB	Bttoxoin, 살충성곰팡이를 이용한 총해 방제	국내 유기농업자재로 인허가 사례가 있는 미생물

⑥ 선발 미생물 제품화

- 선발 미생물 별 제품화 현황



그림. 선발미생물 제품화 1/3



그림. 선발미생물 제품화 2/3



그림. 선발미생물 제품화 3/3

⑦ 제품의 유통기한

- 미생물제 액상 제품: 유통기한 3개월
- 미생물제 분말 제품: 유통기한 1년
- 미생물 배양배지 제품: 유통기한 2년

○ 공동연구기관(재단법인 농축산용미생물산업육성지원센터)

① 탄저병, 검은점무늬병 제어용 균주 선별·확보

- 자연계로부터 분리·확보한 600점 이상 미생물의 탄저병, 검은점무늬병에 대한 항균 활성을 조사

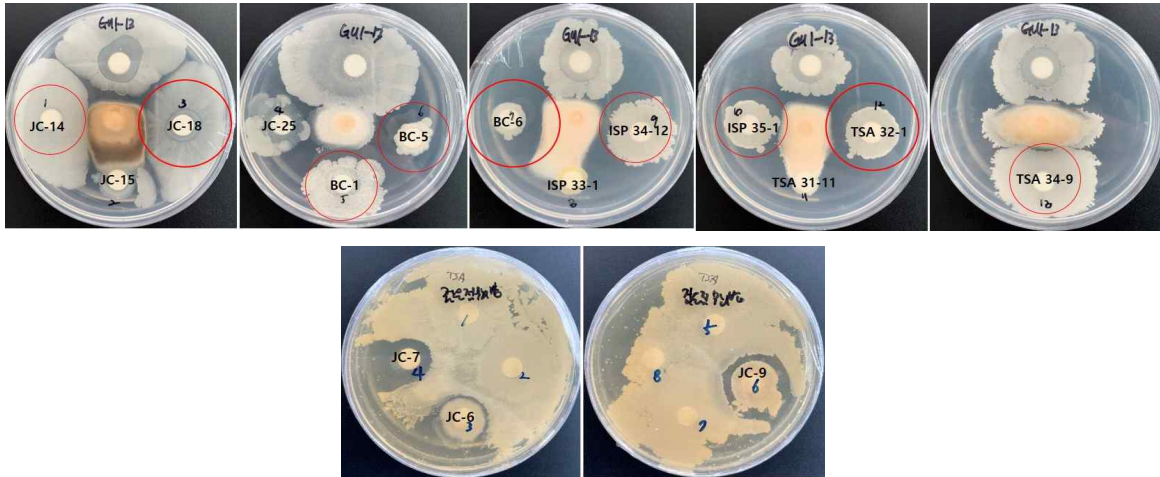


그림 3. 탄저병, 검은점무늬병 제어용 12종 선별

- 상대적으로 탄저병, 검은점무늬병에 대한 항균활성이 우수한 균주 각각 9종, 3종 선별·확보함

- 활성 우수 균주 3종씩 동정한 결과, 탄저병 활성 균주는 *Bacillus siamensis* JC-18, *Bacillus subtilis* BC-6, *Bacillus velezensis* TSA32-1로 검은점무늬병 활성 균주는 *Bacillus subtilis* JC-6, *Bacillus velezensis* JC-7, *Bacillus velezensis* JC-9로 동정함

② 탄저병, 검은점무늬병 제어용 미생물 대량배양용 배지 및 발효조건 최적화

- 바이오 리액터와 반응표면분석법(RSM)을 이용하여 대량배양용 저비용·고효율의 최적 배지 개발

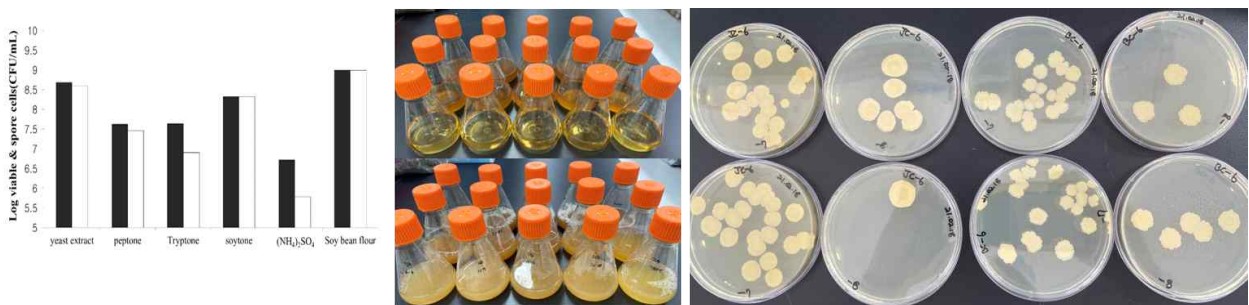


그림 4. 탄저병, 검은점무늬병 제어용 미생물 배지 최적화

- 탄저병 제어용 미생물 *Bacillus subtilis* BC-6의 최적 배지 조성 확립

균주명	배지 조성	
<i>Bacillus subtilis</i> BC-6	Soy bean flour	0.8%
	Glucose	0.5%
	NaCl	0.15%
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.25%
	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.05%
	MgSO <sub>4</sub>	0.1%

- 검은점무늬병 제어용 미생물 *Bacillus velezensis* JC-9의 최적 배지 조성 확립

균주명	배지 조성	
<i>Bacillus velezensis</i> JC-9	Soy bean flour	0.8%
	Glucose	0.5%
	NaCl	0.15%
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.25%
	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.05%
	MgSO <sub>4</sub>	0.1%

- 최적 배지를 기반으로 주관기관에서 보유한 5~100L 발효기를 이용하여 최적 발효조건 정립
  - 온도, pH, 교반속도, 시간 등 배양조건 탐색 및 적용



그림 5. 5~100L 발효기를 이용한 대량배양 조건 탐색

- *Bacillus subtilis* BC-6, *Bacillus velezensis* JC-6 균주의 5L, 100L 발효기를 이용한 배양조건 확립

균주명	배양 조건
<i>Bacillus subtilis</i> BC-6 <i>Bacillus velezensis</i> JC-9	온도 37℃, 배양시간 36시간
	교반속도 120 RPM, 통기량 0.4 vvm 내부압력 0.4 kg/cm <sup>2</sup> , pH 6.5~7.5 종균 접종량 1%

③ 탄저병, 검은점무늬병 제어용 미생물 최적 대량배양 조건 및 제형 개발

- 공동연구기관이 보유한 1.5톤 대용량 발효기를 이용한 대량배양 조건 확립
  - 종균 접종량, 통기량, 교반속도, 배양 온도, 최적 pH 등 정립
  - 균체 수, 대사산물의 최대·최적 대량생산 조건 확립



그림 6. 1.5톤 발효기를 이용한 대량배양 최적 조건 확립

균주명	배양 조건
<i>Bacillus subtilis</i> BC-6	온도 30℃, 배양시간 36시간
<i>Bacillus velezensis</i> JC-9	교반속도 100 RPM, 통기량 0.3 vvm
	내부압력 0.4 kg/cm <sup>2</sup> , pH 6.5~7.5
	종균 접종량 1%

- 공동연구기관에서 보유한 제형화 장비를 활용한 제형 개발
  - 재배 방식, 처리 방법에 따른 맞춤형 제형(액상/분말 수화제, 분제 등) 공정 개발
  - 미생물제제의 안정성(보존성)에 필요한 부형제, 증량제 등 첨가제 선발



그림. 미생물 제형을 위한 동결건조기, 분무건조기, 과립기, 펠릿기

- *Bacillus subtilis* BC-6, *Bacillus velezensis* JC-9의 망고 탄저병에 대한 약효 조사
  - *Bacillus subtilis* BC-6, *Bacillus velezensis* JC-9 시제품의 망고 탄저병에 대한 약효를 조사하고자 (주현농에 분석 의뢰함)
  - 처리내용

시험약제 (주성분 함량)	약 효	
	기준량	처리 방법
<i>Bacillus subtilis</i> BC-6(1×10 <sup>9</sup> cfu/ml)	200배	Co-inoculation
<i>Bacillus velezensis</i> JC-9(1×10 <sup>9</sup> cfu/ml)	200배	
무 처리	-	

- 조사방법

구분	조사항목	조사횟수	조사방법
약효	병반면적	1	병원균 접종 5일 후 두당 병반면적 조사

- 시험성적

시험약제	병반면적 (cm <sup>2</sup> )				유의차 (DMRT)	방제가(%)
	1반복	2반복	3반복	4반복		
<i>Bacillus subtilis</i> BC-6 (1×10 <sup>9</sup> cfu/ml)	1.8	1.8	1.7	1.8	b	88.2
<i>Bacillus velezensis</i> JC-9 (1×10 <sup>9</sup> cfu/ml)	10.2	9.8	8.9	9.4	c	38.6
무처리	13.8	15.2	17.0	15.3	a	-



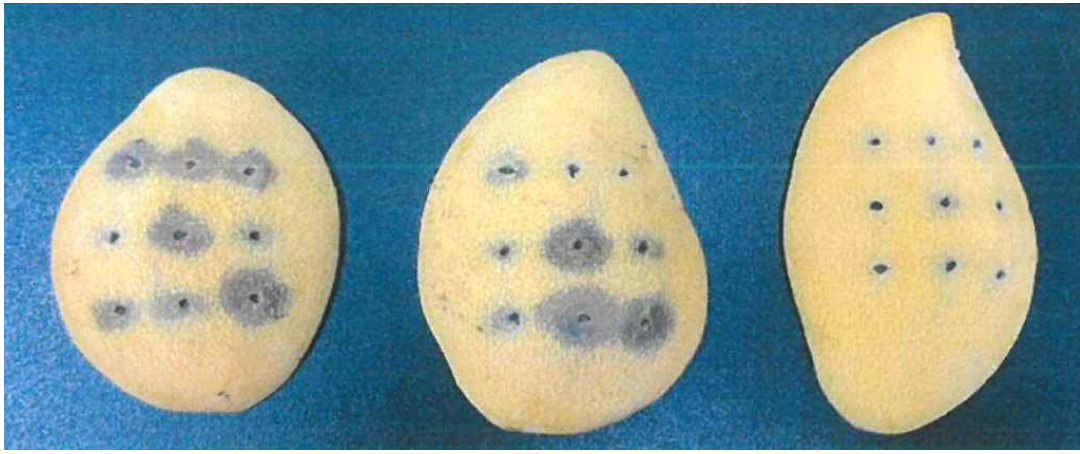
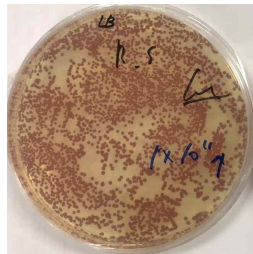


그림 7. 탄저병원균 접종 후 처리구별 망고 사진

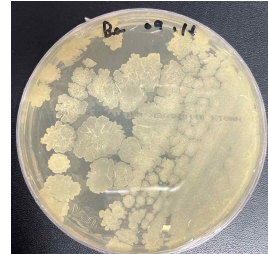
- 무처리구 병반면적이 15.3cm<sup>2</sup>으로 망고 탄저병의 약효를 조사하기에 충분하였으며, *Bacillus subtilis* BC-6은 무처리 대비 88.2%의 방제효과를 보였으며, *Bacillus velezensis* JC-9는 38.6% 방제가를 확인함

④ 작물 생육촉진 및 병 방제(잎점무늬병)용 기능성 미생물 발굴 및 활성(효능) 검증

- 공동기관에서 확보 중인 광합성세균 *Rhodobacter sphaeroides* 등 800점 미생물자원을 이용한 작물 생육촉진(배추, 상추) 및 잎점무늬병(아티초크) 제어용 기능성 미생물 추가 선별·확보
  - 작물 생육촉진(배추, 상추) 기능성 미생물 2종 선별·확보
  - 공동기관에서 확보한 광합성세균 *Rhodobacter sphaeroides* PS-24 균주와 *Bacillus amyloliquefaciens* ISP-5를 선별

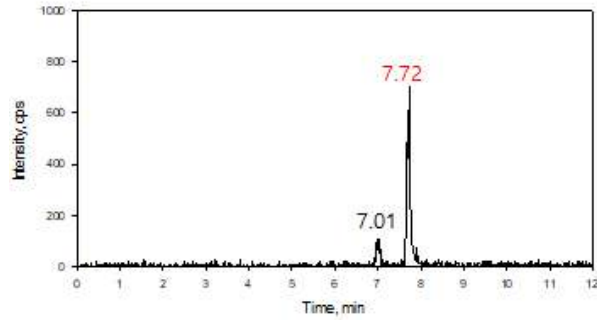


*Rhodobacter sphaeroides* PS-24

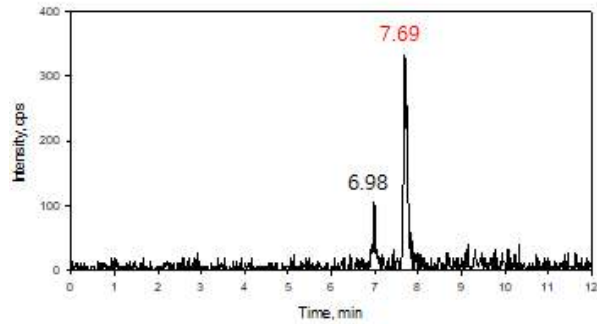


*Bacillus amyloliquefaciens* ISP-5

- 아티초크의 잎점무늬병(*Ramularia cynarae*)에 경우 국내 병원균 분양 불가로 인해 시들음병(*Verticillium dahliae*) 제어용 기능성 미생물 선별·확보 중
- 작물 생육촉진 및 병 방제 유용미생물의 경우 항균 활성이 우수한 미생물 균체, 배양 상등액(대사산물)의 생장 조정 물질 및 병해 제어 능력 확인 후 최종 균주 선별
  - 선별된 *Rhodobacter sphaeroides* PS-24, *Bacillus amyloliquefaciens* ISP-5 균주의 생장 조정 물질 분석 결과 두 균주 모두 IAA(Indoleacetic acid)가 검출 됨



*Rhodobacter sphaeroides* PS-24



*Bacillus amyloliquefaciens* ISP-5

⑤ 선별 미생물의 대량생산 공정 확립 및 맞춤형 제형 개발

- 바이오리액터를 이용한 대량배양용 저비용·고효율의 최적 배지 개발

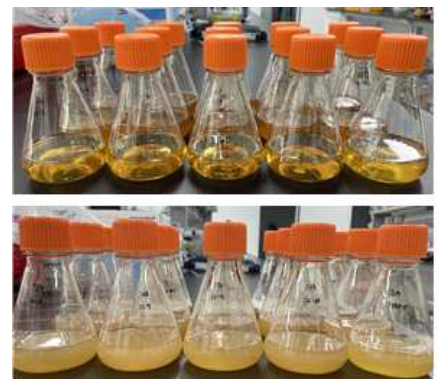


그림 8. 바이오리액터와 반응표면분석법을 이용한 저비용·고효율의 최적 배지 개발

- 작물 생육촉진용 *Rhodobacter sphaeroides* PS-24 균주의 대량생산용 저비용·고효율 최적 배지 조성 확립

균주명	배지 조성	
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> PS-24	Yeast extract	0.5%
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.1%
	MgSO <sub>4</sub>	0.1%
	Sodium succinate	0.5%

- 작물 생육촉진용 *Bacillus amyloliquefaciens* ISP-5 균주의 대량생산용 저비용·고효율 최적 배지 조성 확립

균주명	배지 조성	
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ISP-5	Soy bean flour	0.8%
	Glucose	0.5%
	NaCl	0.15%
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.25%
	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.05%
	MgSO <sub>4</sub>	0.1%

- 최적 배지를 기반으로 협동기관에서 보유한 5L, 100L 발효기를 이용하여 최적 발효 조건 정립



그림 9. 5L, 100L 발효기를 이용한 대량배양 최적 조건 확립

균주명	배양 조건
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> PS-24	온도 30℃, 배양시간 48시간 교반속도 120 RPM, 통기량 0.4 vvm 내부압력 0.4 kg/cm <sup>2</sup> , pH 7.0~8.0 종균 접종량 1%
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ISP-5	온도 30℃, 배양시간 36시간 교반속도 120 RPM, 통기량 0.4 vvm 내부압력 0.4 kg/cm <sup>2</sup> , pH 6.5~7.5 종균 접종량 1%

- 미생물 생균수( $1 \times 10^9$ cfu/ml 이상), 기능성 대사산물(CLP, VOC 등)의 최적 생산·최고 활성, 내생포자 형성 미생물의 경우 90% 이상 내생포자 형성률, 배양시간 40시간 이내 등 최적 배양 조건 기준 설정

- *Bacillus amyloliquefaciens* ISP-5의 경우 36시간 이내 생균수  $1 \times 10^9$ cfu/ml 이상, 내생포자 90%이상 형성을 확인함
- *Rhodobacter sphaeroides* PS-24의 경우 48시간 이내 생균수  $1 \times 10^9$ cfu/ml 이상 확인함

- 공동연구기관에서 보유한 1.5톤 대용량 발효기를 이용한 대량배양 scale-up 및 배양 매뉴얼 확립

균주명	배양 조건
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> PS-24	온도 30℃, 배양시간 42시간 교반속도 100 RPM, 통기량 0.3 vvm 내부압력 0.4 kg/cm <sup>2</sup> , pH 7.0~8.0 종균 접종량 1%
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ISP-5	온도 30℃, 배양시간 36시간 교반속도 100 RPM, 통기량 0.3 vvm 내부압력 0.4 kg/cm <sup>2</sup> , pH 6.8~7.5 종균 접종량 1%

⑥ 실증 시험(in vivo bio-assay/field test)용 시제품 제작

- *Bacillus amyloliquefaciens* ISP-5의 상추 작물 생육촉진에 대한 비효·비해 시험

- *Bacillus amyloliquefaciens* ISP-5 시제품의 상추 작물 생육촉진에 대한 비효·비해를 조사 하여 제품 효능을 검정하고자 (주)현농에 분석 의뢰함
- 처리내용

공시시료 (주성분 함량)	기준량	배량	시험년차	처리시기 및 방법
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ISP-5 (1×10 <sup>9</sup> cfu/ml)	250배	125배	1년차	정식 후 생육 중 7일 간격 3회 관주처리
무처리	-	-	-	-

• 생육 조사결과(엽폭, 엽장)

처리구	엽폭		엽장	
	길이(cm)	지수(%)	길이(cm)	지수(%)
무처리구	5.30±0.17	100	11.91±0.06	100
공시시료 정량	5.76±0.04	108.6	13.44±0.20	112.9
공시시료 배량	5.64±0.17	106.3	12.90±0.29	108.3

• 수량 조사결과(생체중, 건물중)

처리구	생체중		건물중	
	생체량(g)	지수(%)	건물량(g)	지수(%)
무처리구	8.95±0.15	100	1.15±0.02	100
공시시료 정량	11.11±0.03	124.2	1.43±0.02	123.9
공시시료 배량	10.41±0.38	116.3	1.34±0.09	116.1

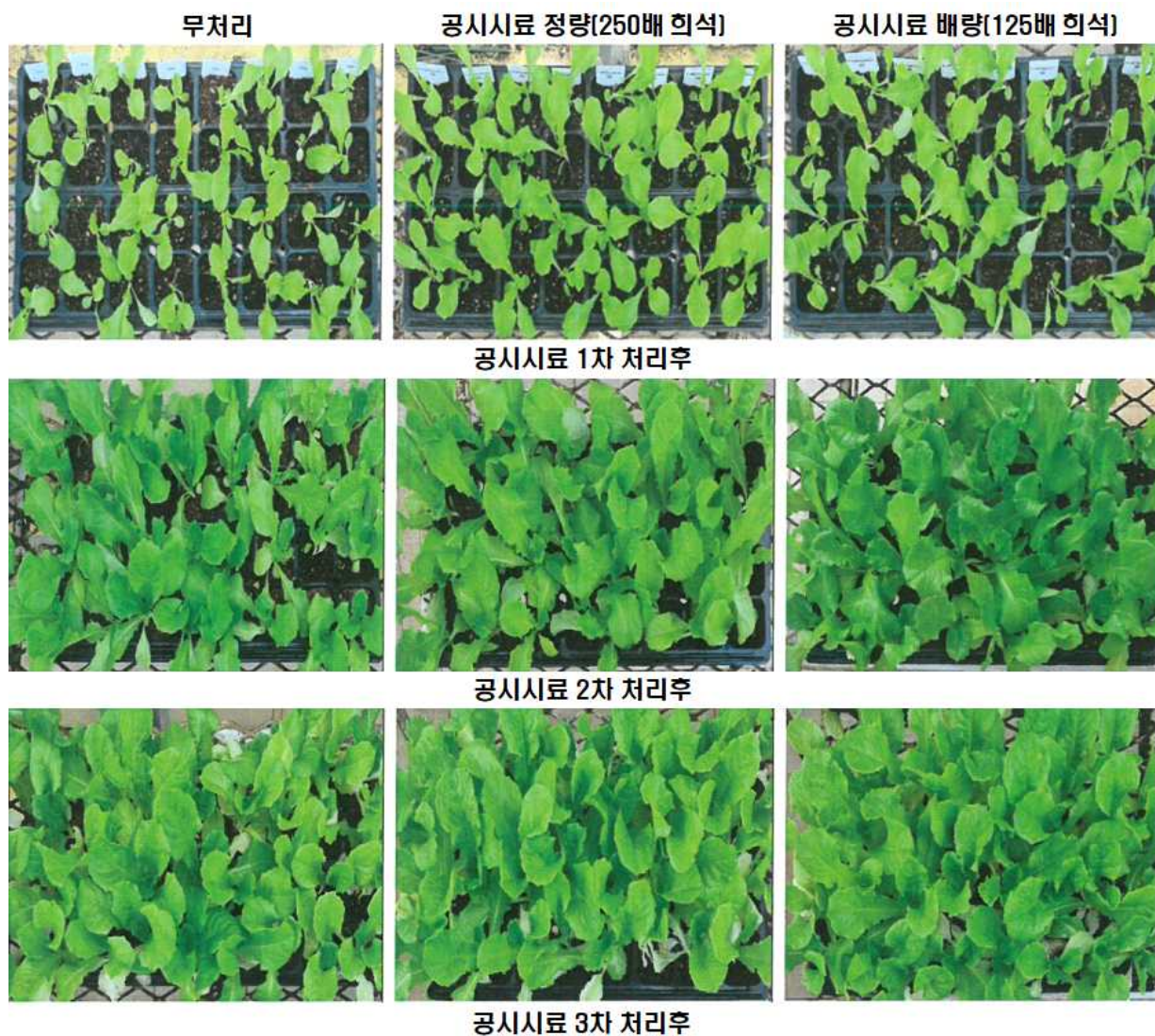


그림 10. *Bacillus amyloliquefaciens* ISP-5의 상추 작물 생육촉진에 대한 비효·비해 시험

- 상추 생육조사 결과, 엽폭은 무처리구에 비해 공시시료 처리구에서 정량구 8.6%, 배량구 6.3% 정도 증가하였고, 엽장은 정량구 12.9%, 배량구 8.3% 증가함
- 수확량 조사 결과, 생체중은 무처리구에 비해 공시시료 처리구에서 정량구 24.4%, 배량구 16.3% 증가하였고 건물중은 정량구 23.9%, 배량구 16.1% 증가함
- 비해 검정 실시 결과 무처리구와 비교하여 각각의 처리구에서 어떠한 비해 증상도 발견할 수 없었음

- *Rhodobacter sphaeroides* PS-24의 상추 작물 생육촉진에 대한 비효·비해 시험

- *Rhodobacter sphaeroides* PS-24 시제품의 상추 작물 생육촉진에 대한 비효·비해를 조사 하여 제품 효능을 검정하고자 (주)현농에 분석 의뢰함
- 처리내용

공시시료 (주성분 함량)	기준량	배량	시험년차	처리시기 및 방법
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> PS-24 ( $1 \times 10^9$ cfu/ml)	250배	125배	1년차	정식 후 생육 중 7일 간격 3회 관주처리
무처리	-	-	-	-

• 생육 조사결과(엽폭, 엽장)

처리구	엽폭		엽장	
	길이(cm)	지수(%)	길이(cm)	지수(%)
무처리구	5.40±0.08	100	12.12±0.20	100
공시시료 정량	5.99±0.11	110.9	13.19±0.11	108.8
공시시료 배량	5.80±0.09	107.3	12.77±0.30	105.3

• 수량 조사결과(생체중, 건물중)

처리구	생체중		건물중	
	생체량(g)	지수(%)	건물량(g)	지수(%)
무처리구	8.81±0.75	100	1.11±0.15	100
공시시료 정량	10.17±0.14	115.4	1.29±0.05	115.9
공시시료 배량	9.96±0.31	113.0	1.23±0.02	110.5

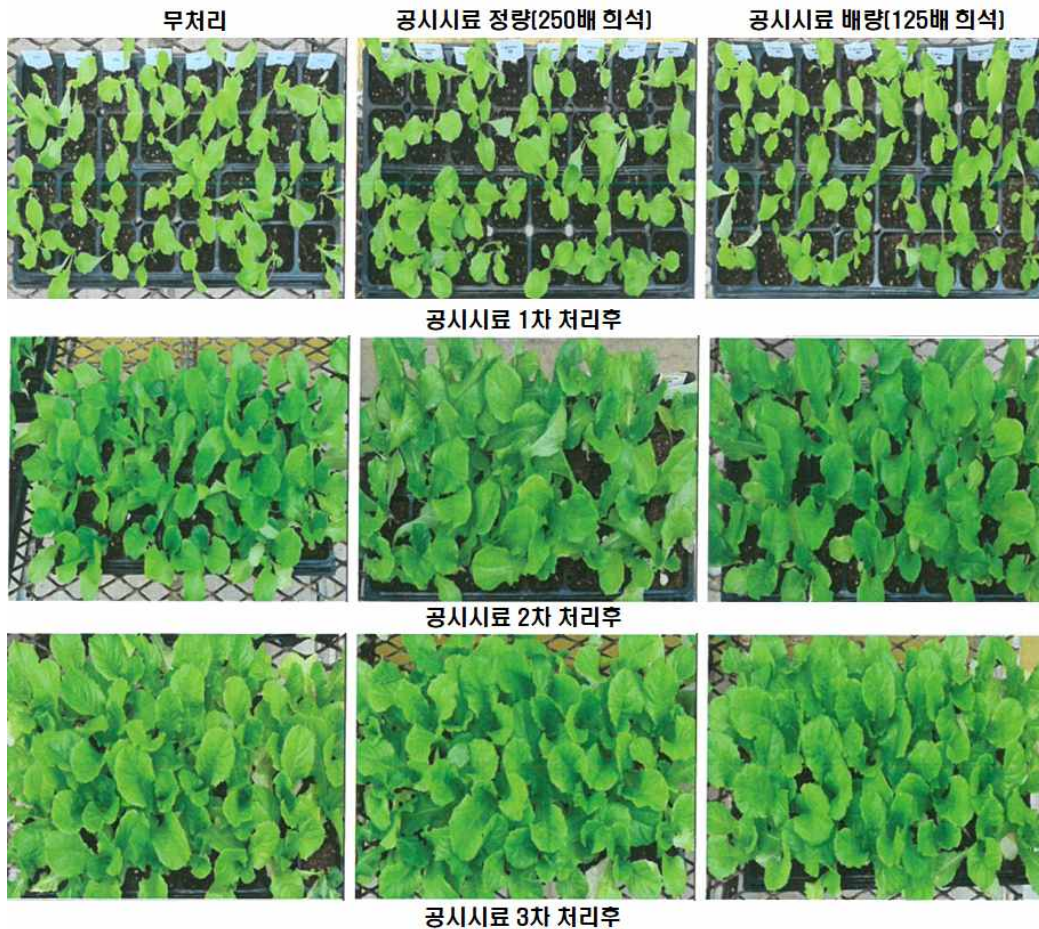


그림 11. *Rhodobacter sphaeroides* PS-24의 상추 작물 생육촉진에 대한 비효·비해 시험

- 상추 생육조사 결과, 엽폭은 무처리구에 비해 공시시료 처리구에서 정량구 10.9%, 배량구 7.3% 정도 증가하였고, 엽장은 정량구 8.8%, 배량구 5.3% 증가함
- 수확량 조사 결과, 생체중은 무처리구에 비해 공시시료 처리구에서 정량구 15.4%, 배량구 13.0% 증가하였고 건물중은 정량구 15.9%, 배량구 10.5% 증가함
- 비해 검정 실시 결과 무처리구와 비교하여 각각의 처리구에서 어떠한 비해 증상도 발견할 수 없었음

⑦ 실증 시험(in vivo bio-assay/field test)용 시제품 제작

- 기 확보 중인 800점 미생물자원을 이용한 벼 알썩음병, 토마토 시들음병, 토마토 역병 및 아티초크 시들음병 제어용 기능성 미생물 선발 및 확보


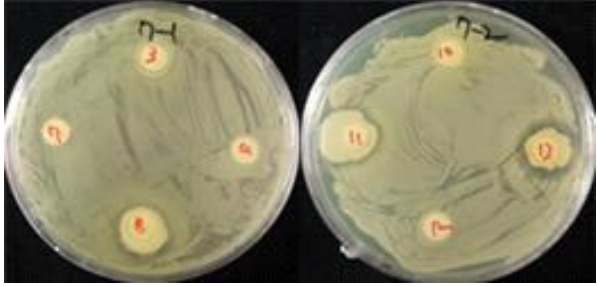

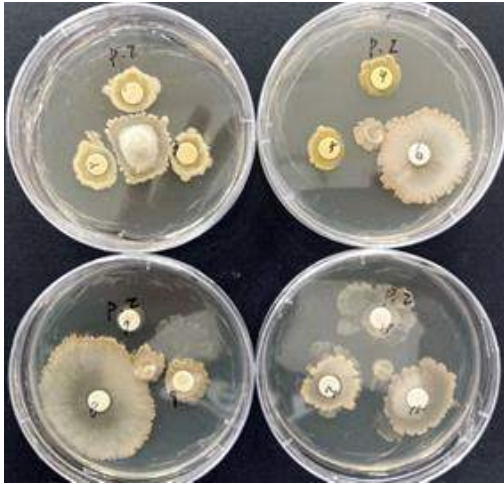
아티초크 시들음병, <i>Verticillium dahliae</i>	벼 알마름병, <i>Burkholderia glumae</i>
	
<p>JC-20, JC-9, JC-7, BC-6, JC-18, TSA30-1, TSA16-20</p>	<p>JC-9, JC-7, TSA30-1</p>
토마토 시들음병, <i>Fusarium oxysporum</i>	토마토 역병, <i>Phytophthora infestans</i>
	
<p>JC-20, JC-9, TSA30-1</p>	<p>JC-20, JC-7, JC-9, TSA30-1, TSA16-20</p>

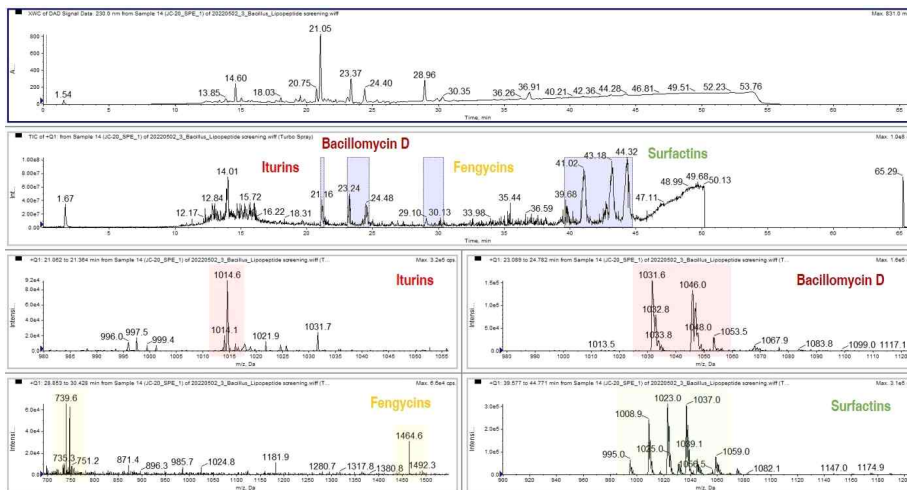
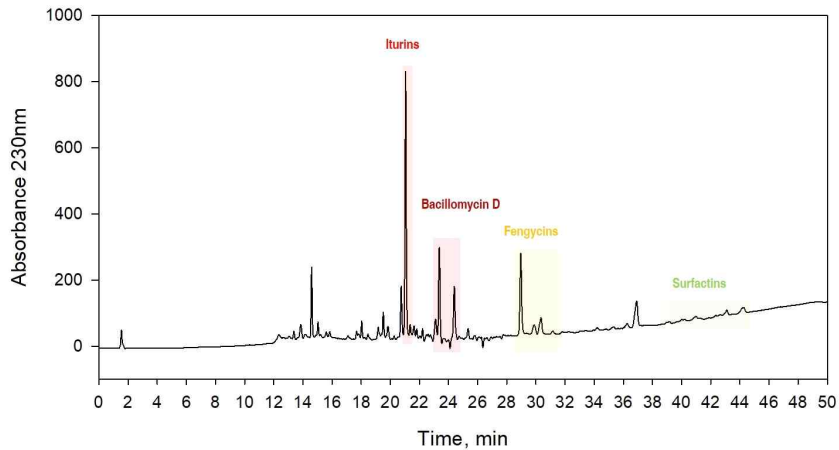
그림 12. 벼, 토마토 및 아티초크 병원균 제어용 미생물 선발

- 아티초크 시들음병 병원균 제어용 미생물 7점, 벼 알마름병 제어용 미생물 3종, 토마토 시들음병 병원균 제어용 미생물 3점, 토마토 역병 병원균 제어용 미생물 5점 및 선발·확보

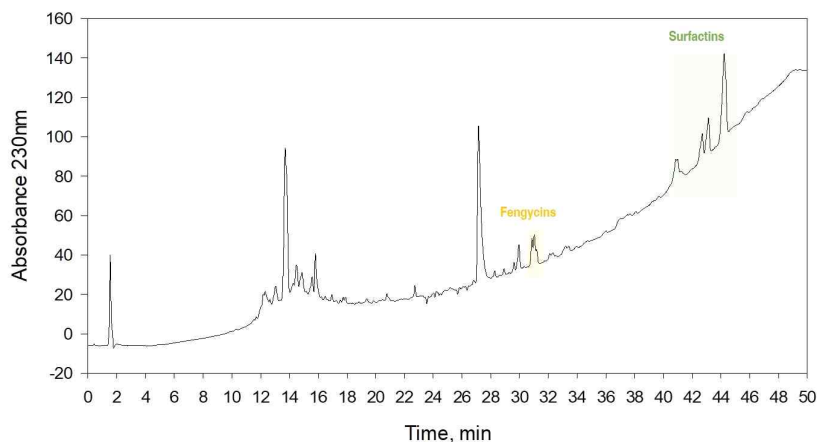
표. 아티초크, 토마토 및 벼 제어용 미생물 동정 결과

연번	균주명	연번	균주명
1	<i>Bacillus subtilis</i> BC-6	5	<i>Bacillus velezensis</i> JC-20
2	<i>Bacillus velezensis</i> JC-9	6	<i>Bacillus siamensis</i> TSA30-1
3	<i>Bacillus velezensis</i> JC-7	7	<i>Bacillus subtilis</i> TSA16-20
4	<i>Bacillus siamensis</i> JC-18		

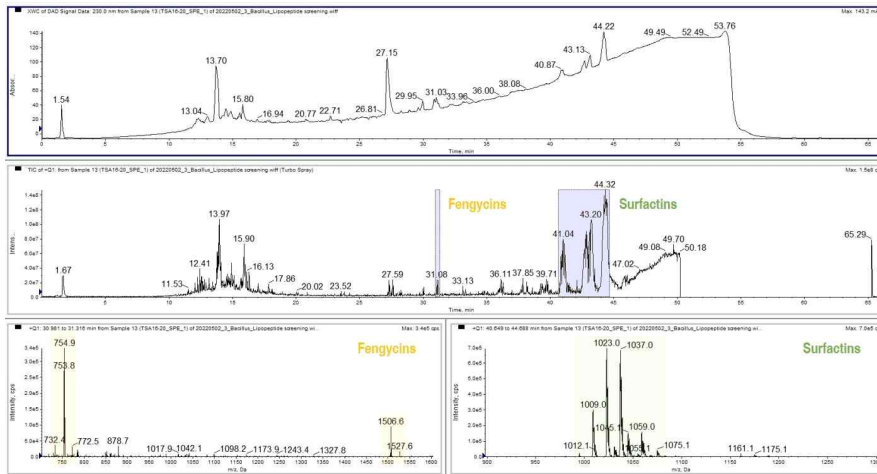
- 선발·확보된 7점의 미생물 동정 결과 각각 *Bacillus subtilis*, *Bacillus velezensis*, *Bacillus siamensis*로 확인
- 선발된 7점의 미생물 중 항세균 및 항진균 활성이 우수한 균주 3점(*Bacillus velezensis* JC-20, *Bacillus siamensis* TSA30-1, *Bacillus subtilis* TSA16-20)을 선택하여, 항균 활성 물질을 확인하기 위한 리포펩타이드 분석



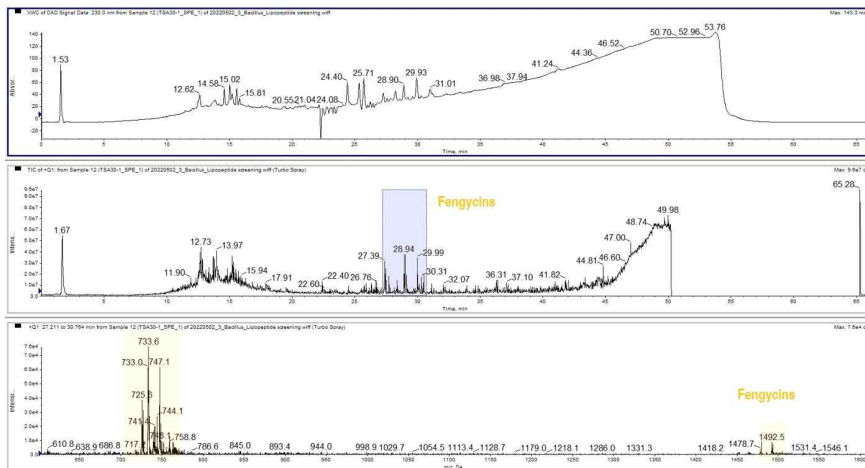
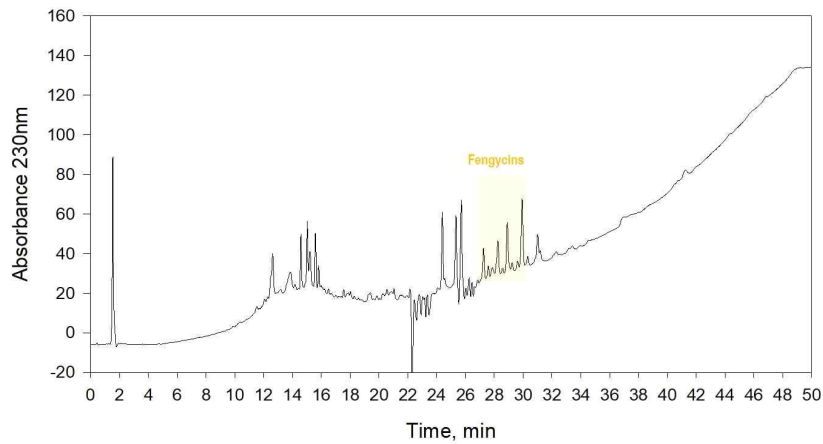
*Bacillus velezensis* JC-20







*Bacillus subtilis* TSA16-20



*Bacillus siamensis* TSA30-1

그림 13. 작물 병 제어용 항균 활성 물질인 리포펩타이드 확인

	area(mAU x min)			
	Iturins	Bacillomycin D	Fengycins	Surfactins
<i>Bacillus velezensis</i> JC-20	4901.89	4477.24	3085.40	811.91
<i>Bacillus subtilis</i> TSA16-20	-	-	302.81	1485.27
<i>Bacillus siamensis</i> TSA30-1	-	-	798.04	-

- *Bacillus velezensis* JC-20에서 Iturins, Bacillomycin D, Fengycins, Surfactins이, *Bacillus subtilis* TSA16-20에서 Fengycins, Sufactins이, *Bacillus siamensis* TSA30-1에서 Fengycins으로 각각 항균 활성 물질인 리포펩타이드 검출 확인

- 작물 병원균 제어 능력이 우수한 균주 3점을 선발하여 다음 단계인 최적배지 선발 실험을 진행

⑧ 기능성 미생물의 대량생산 공정 확립 및 맞춤형 제형 개발

- 벼, 토마토, 아티초크 병 제어용 기능성 미생물의 대량생산 공정 확립 및 맞춤형 제형 개발
- 바이오리액터와 반응표면분석법(RSM)을 이용하여 대량배양용 저비용·고효율의 최적 배지 개발
  - 최적배지 조성확립을 위해 5종의 탄소원과 5종의 질소원을 이용한 최적 배지를 탐색함

표 3. 탄소원, 질소원 종류

탄소원	질소원
Glucose	Yeast extract
Fructose	Peptone
Sucrose	Tryptone
Maltose	Soytone
Corn starch	Soy bean flour

표 4. *Bacillus velezensis* JC-20의 탄소원, 질소원에 따른 총 생균수, 내생포자 수 및 형성 비율

탄소원	총 생균수(cfu/ml)	내생포자 생균수(cfu/ml)	내생포자 형성률(%)
Glucose	5.0×10 <sup>7</sup>	2.0×10 <sup>7</sup>	4.4
Fructose	2.3×10 <sup>8</sup>	1.0×10 <sup>7</sup>	20.0
Sucrose	2.3×10 <sup>8</sup>	2.2×10 <sup>8</sup>	95.7
Maltose	5.0×10 <sup>7</sup>	1.0×10 <sup>7</sup>	20
Soluble starch	4.0×10 <sup>7</sup>	-	-
TSB	2.5×10 <sup>8</sup>	-	-
질소원	총 생균수(cfu/ml)	내생포자 생균수(cfu/ml)	내생포자 형성률(%)
Yeast extract	5.0×10 <sup>7</sup>	2.0×10 <sup>7</sup>	40.0
Peptone	1.5×10 <sup>8</sup>	1.3×10 <sup>8</sup>	86.7
Tryptone	9.0×10 <sup>8</sup>	-	-
Soy peptone	3.0×10 <sup>8</sup>	1.6×10 <sup>8</sup>	53.3
Soy bean flour	2.0×10 <sup>8</sup>	1.8×10 <sup>8</sup>	90.0

- *Bacillus velezensis* JC-20균주는 탄소원, 질소원이 각각 Sucrose, Yeast extract와 Glucose, Soy bean flour 조합에서 2.3×10<sup>8</sup> cfu/ml, 2.0×10<sup>8</sup> cfu/ml 이상의 총 생균수와 90% 이상의 내생포자 형성률을 확인함

표 5. *Bacillus subtilis* TSA16-20의 탄소원, 질소원에 따른 총 생균수, 내생포자 수 및 형성 비율

탄소원	총 생균수(cfu/ml)	내생포자 생균수(cfu/ml)	내생포자 형성률(%)
Glucose	$5.9 \times 10^8$	-	-
Fructose	$4.4 \times 10^8$	-	-
Sucrose	$7.1 \times 10^8$	-	-
Maltose	$5.4 \times 10^8$	-	-
Soluble starch	$2.5 \times 10^8$	$1.6 \times 10^6$	0.4
TSB	$4.9 \times 10^8$	-	-
질소원	총 생균수(cfu/ml)	내생포자 생균수(cfu/ml)	내생포자 형성률(%)
Yeast extract	$5.9 \times 10^8$	-	-
Peptone	$5.0 \times 10^8$	-	-
Tryptone	$3.5 \times 10^8$	-	-
Soy peptone	$1.1 \times 10^8$	$2.0 \times 10^6$	1.8
Soy bean flour	$4.4 \times 10^8$	$4.5 \times 10^6$	0.9

• *Bacillus siamensis* TSA16-20 균주의 경우 총 생균수가  $1.0 \times 10^8$  cfu/ml 이상으로 확인되었으나, 내생포자 생균수가 일부  $1.0 \times 10^6$  cfu/ml 정도로 매우 미비한 것으로 확인

표 6. *Bacillus subtilis* TSA30-1의 탄소원, 질소원에 따른 총 생균수, 내생포자 수 및 형성 비율

탄소원	총 생균수(cfu/ml)	내생포자 생균수(cfu/ml)	내생포자 형성률(%)
Glucose	$9.0 \times 10^7$	-	-
Fructose	$6.0 \times 10^7$	-	-
Sucrose	$2.6 \times 10^8$	-	-
Maltose	$2.1 \times 10^8$	-	-
Soluble starch	$3.1 \times 10^8$	-	-
TSB	$4.3 \times 10^8$	-	-
질소원	총 생균수(cfu/ml)	내생포자 생균수(cfu/ml)	내생포자 형성률(%)
Yeast extract	$9.0 \times 10^7$	-	-
Peptone	$1.6 \times 10^8$	-	-
Tryptone	$6.0 \times 10^7$	-	-
Soy peptone	$2.7 \times 10^8$	-	-
Soy bean flour	$2.3 \times 10^8$	-	-

• *Bacillus siamensis* TSA30-1 균주는  $1.0 \times 10^8$  cfu/ml 이상의 총 생균수는 확인되었으나, 내생포자 생균수가  $1.0 \times 10^6$  cfu/ml 미만으로 확인



그림 14. 선발된 *Bacillus velezensis* KPI-1 균주

- 위의 결론을 바탕으로 최종적으로 *Bacillus velezensis* KPI-1로 명칭하였으며, 국립농업과학원 미생물은행(KACC)에 기탁하여 KACC92449P의 수탁번호를 부여받아 후속 실험을 진행함

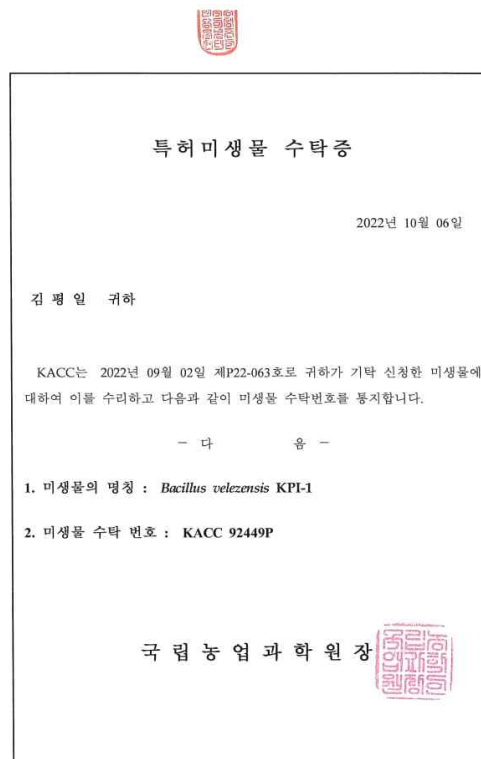


그림 15. *Bacillus velezensis* KPI-1 균주의 특허미생물 수탁증

- 최적 배지를 기반으로 5~100L 발효기를 이용한 최적 발효 조건 정립
- 미생물 생균수( $1 \times 10^9$  cfu/ml 이상) 기능성 대사산물(CLP, VOC 등)의 최적 생산·최고 활성, 내생포자 형성 미생물의 경우 90% 이상 내생포자 형성률, 배양시간 40시간 이내 등 최적 배양 조건 기준 설정



그림 16. 5L, 100L 발효기를 이용한 대량배양 최적 조건 확립

- 총 생균수와 내생포자 형성률이 높은 탄소원 및 질소원을 각각 Sucrose, Soy bean flour와 Glucose, Soy bean flour로 선발하여 5L, 100L 발효기에서 상업용배지(TSB)와 비교 실험을 진행함

표 7. 5L 발효기를 이용한 *Bacillus velezensis* KPI-1 균주의 생균수, 내생포자 수 및 형성 비율

탄소원, 질소원	총 생균수(cfu/ml)	내생포자 생균수(cfu/ml)	내생포자 형성률(%)
Glucose, Soy bean flour	$4.9 \times 10^9$	$6.6 \times 10^9$	134.7
Sucrose, Soy bean flour	$1.5 \times 10^9$	$4.0 \times 10^8$	26.7
TSB	$5.8 \times 10^9$	$1.0 \times 10^8$	1.7

표 8. 100L 발효기를 이용한 *Bacillus velezensis* KPI-1 균주의 생균수, 내생포자 수 및 형성 비율

탄소원, 질소원	총 생균수(cfu/ml)	내생포자 생균수(cfu/ml)	내생포자 형성률(%)
Glucose, Soy bean flour	$8.0 \times 10^9$	$7.8 \times 10^9$	97.5
Sucrose, Soy bean flour	$2.3 \times 10^9$	$6.0 \times 10^8$	26.1
TSB	$6.1 \times 10^9$	$3.2 \times 10^8$	5.2

- 최종적으로 탄소원은 **Glucose**, 질소원은 **Soy bean flour**로 선정하여 작물 병 제어용 *Bacillus velezensis* KPI-1 균주의 대량생산용 저비용·고효율 최적 배지 조성을 확립함

균주명	배지 조성	
<i>Bacillus velezensis</i> KPI-1	Soy bean flour	0.8%
	Glucose	0.5%
	NaCl	0.15%
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.25%
	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.05%
	MgSO <sub>4</sub>	0.1%

- 선발된 최적배지를 이용하여 *Bacillus velezensis* KPI-1 균주의 대량배양용 최적 조건을 확립함

균주명	배양 조건
<i>Bacillus velezensis</i> KPI-1	온도 30℃
	배양시간 40시간
	교반속도 120 RPM
	통기량 0.4 vvm
	내부압력 0.4 kg/cm <sup>2</sup>
	pH 6.5~7.5
	종균 접종량 1%

- 5L 발효기에서 *Bacillus velezensis* KPI-1의 경우 40시간 이내 생균수 1×10<sup>9</sup>cfu/ml 이상, 내생포자 90%이상 형성을 확인함
- 공동연구기관에서 보유한 1.5톤~10톤 규모 대용량 발효기를 이용한 대량배양 scale-up 및 배양 매뉴얼 정립
- 종균 접종량, 통기량, 교반속도, 배양 온도, 최적 pH 등 설정
- 활성 균체 수, 대사산물의 최대·최적 대량생산 조건 확립



그림 17. 1.5톤 발효기를 이용한 대량배양 최적 scale-up

균주명	배양 조건
<i>Bacillus velezensis</i> KPI-1	온도 30℃
	배양시간 40시간
	교반속도 120 RPM
	통기량 0.4 vvm
	내부압력 0.4 kg/cm <sup>2</sup>
	pH 6.5~7.5
	종균 접종량 1%



그림 18. *Bacillus velezensis* KPI-1 균주의 액상제형 모습

- 주관기관의 사업화된 제품인 CellaAct 배양 장비를 활용하기 위해 액상 제형 적용
- 미생물의 안전성(보존성)을 위해 파라옥시안식향산에틸(식품용)과 항세균 및 곰팡이 저지 효과를 위해 소르빈산칼륨을 각각 0.05%씩 첨가하여 시제품 제작

- ⑨ *Bacillus velezensis* KPI-1 균주 및 보유균주의 다양한 식물 진균병 및 세균병에 대한 항균활성 조사
- *Bacillus velezensis* KPI-1 균주 및 공동기관에서 보유한 균주를 이용하여 다양한 식물 진균병 (*Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* 등) 및 세균병(*Xanthomonas axonopodis*, *Pseudomonas syringae* 등)에 대한 항균활성을 조사함

표 9. 공동기관에서 확보중인 식물 진균병 및 세균병에 대한 균주명 목록

연번	병원성 균주명	
A	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-1 KACC 40101	벼 잎집무늬마름병
B	<i>Botrytis cinerea</i> KACC 47009	젓빛곰팡이병
C	<i>Fusarium oxysporum</i> KACC 41088	호접난 뿌리썩음병
D	<i>Alternaria alternata</i> KACC 45440	다래 검정썩음병
E	<i>Fusarium graminearum</i> KACC 46434	벼 붉은곰팡이병
F	<i>Fusarium fujikuroi</i> KACC 44002	벼 키다리병
G	<i>Fusarium graminearum</i> KACC 41044	옥수수 붉은곰팡이병
H	<i>Fusarium graminearum</i> KACC 41040	보리 붉은곰팡이병
I	<i>Colletotrichum acutatum</i> KACC 40042	고추 탄저병
J	<i>Botryosphaeria dothidea</i> KACC 45481	키위 썩음병
K	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> KACC 16995	토마토 궤양병
L	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>capsici</i> KACC 18448	고추 궤양병
M	<i>Acidovorax citrulli</i> KACC 17000	수박 과실썩음병
N	<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>avenae</i> KACC 16205	벼 세균줄무늬병

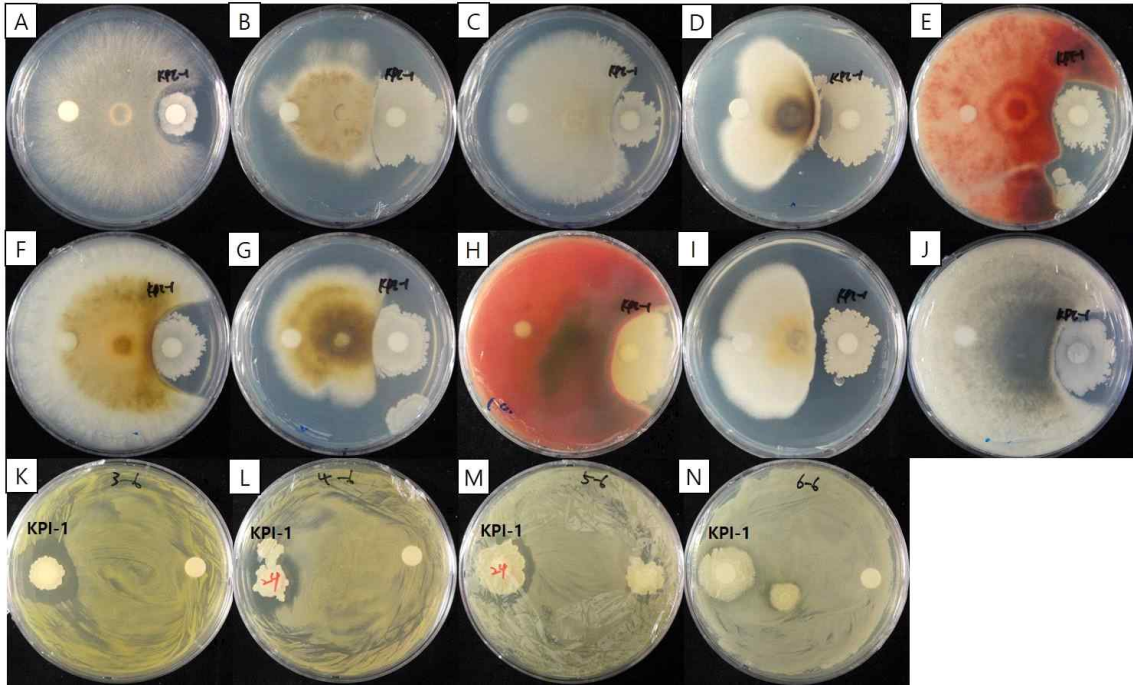


표 10. 식물 진균병 항균활성 조사 결과

식물 진균병	BC-1	BC-5	BC-6	JC-14	JC-15	JC-25	KPI-1
<i>Alternaria alternata</i> (KACC 45440, 다래 검정 썩음병)	○	○	○	-	○	○	○
<i>Botrytis cinerea</i> (KACC 47009, 잿빛곰팡이병)	○	○	○	○	○	○	○
<i>Botryosphaeria dothidea</i> (KACC 45481, 키위 썩음병)	○	○	○	○	○	○	○
<i>Colletotrichum acutatum</i> (KACC 40042, 고추 탄저병)	○	○	○	○	○	-	○
<i>Fusarium fujikuroi</i> (KACC 44002, 벼 키다리병)	-	-	-	-	○	-	○
<i>Fusarium graminearum</i> (KACC 41044, 옥수수 붉은곰팡이병)	-	-	-	-	-	-	○
<i>Fusarium graminearum</i> (KACC 41040, 보리 붉은 곰팡이병)	-	-	-	-	-	-	○
<i>Fusarium graminearum</i> (KACC 46434, 벼 붉은곰팡이병)	-	-	-	-	○	-	○
<i>Fusarium oxysporum</i> (KACC 41088, 호접난뿌리썩음병)	○	○	-	-	-	-	○
<i>Rhizoctonia solani</i> AG-1 (KACC 40101, 벼잎집무늬마름병)	○	○	○	-	○	○	○



표 11. 식물 세균병 항균활성 조사 결과

식물 세균병	BC-1	BC-5	BC-6	JC-14	JC-15	JC-25	KPI-1
<i>Xanthomonas axonopodis</i> (KACC 11144, 콩 불마름병)	-	-	○	-	-	-	-
<i>Pseudomonas syringae</i> (KACC 10582, 참다래 궤양병)	-	-	-	-	-	-	-
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> (KACC 16995, 토마토 궤양병)	○		○	○	○	○	○
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>capsici</i> (KACC 18448, 고추 궤양병)	○	○	○	○	○	○	○
<i>Acidovorax citrulli</i> (KACC 17000, 수박 과실썩음병)	-	-	-	-	○	○	○
<i>Acidovorax avenae</i> subsp. <i>avenae</i> (KACC 16205, 벼세균 줄무늬병)	○	-	-	○	○	○	○
<i>Burkholderia glumae</i> (KACC 11181, 벼 알마름병)	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas syringae</i> subsp. <i>syringae</i> (KACC 10604, 세균성 갈색점무늬병)	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas syringae</i> (KACC 15103, 토마토 궤양병)	-	-	-	-	-	-	-

- 조사 결과, KPI-1을 포함하여 BC-1, BC-5, BC-6, JC-14, JC-15, JC-25 strain에서 다양한 식물 진균병 및 세균병에 대한 항균활성을 확인함
- 위 실험에서 확보한 항균활성 균주를 동정한 결과, BC-1, JC-14, KPI-1 균주는 *Bacillus velezensis*, BC-6, JC-15, JC-25 균주는 *Bacillus subtilis* 그리고 BC-5 균주는 *Paenibacillus kribbensis* 로 동정·확인됨

No.	Strain name	Species
1	BC-1	<i>Bacillus velezensis</i>
2	BC-5	<i>Paenibacillus kribbensis</i>
3	BC-6	<i>Bacillus subtilis</i>
4	JC-14	<i>Bacillus velezensis</i>
5	JC-15	<i>Bacillus subtilis</i>
6	JC-25	<i>Bacillus subtilis</i>
7	KPI-1	<i>Bacillus velezensis</i>

- (특허출원) 바실러스 벨레젠시스 KPI-1 균주, 이를 유효성분으로 하는 식물병 방제용 조성물 및 이의 제조방법에 대한 특허 출원서

관인생략

# 출원번호통지서

출원일자 2022.12.09  
 특기사항 심사청구(유) 공개신청(무) 참조번호(P220057KR)  
 출원번호 10-2022-0171448 (접수번호 1-1-2022-1326485-52)  
 (DAS접근코드8E37)  
 출원인명칭 재단법인 농축산용미생물산업육성지원센터(1-2018-054922-7)  
 대리인성명 강현욱(9-2014-001358-6)  
 발명자성명 김평일 최강현 서선일 박해성 임지환  
 발명의명칭 바실러스 벨레젠시스 KPI-1 균주, 이를 유효성분으로 하는 식물병 방제용 조성물 및 이의 제조방법

## 특 허 청 장

<< 안내 >>

1. 귀하의 출원은 위와 같이 정상적으로 접수되었으며, 이후의 심사 진행상황은 출원번호를 이용하여 특허로 홈페이지(www.patent.go.kr)에서 확인하실 수 있습니다.  
 2. 출원에 따른 수수료는 접수일로부터 다음날까지 동봉된 납입영수증에 성명, 납부자번호 등을 기재하여 가까운 은행 또는 우체국에 납부하여야 합니다.  
 ※ 납부자번호 : 0131(기관코드) + 접수번호  
 3. 귀하의 주소, 연락처 등의 변경사항이 있을 경우, 즉시 [특허고객번호 정보변경(경정), 정정신고서]를 제출하여야 출원 이후의 각종 통지서를 정상적으로 받을 수 있습니다.  
 4. 기타 심사 절차(제도)에 관한 사항은 특허청 홈페이지를 참고하시거나 특허고객상담센터(☎ 1544-8080)에 문의하여 주시기 바랍니다.  
 ※ 심사제도 안내 : <https://www.kipo.go.kr-지식재산제도>

### 【발명의 설명】

#### 【발명의 명칭】

바실러스 벨레젠시스 KPI-1 균주, 이를 유효성분으로 하는 식물병 방제용 조성물 및 이의 제조방법(Bacillus velezensis KPI-1 strain, composition for controlling plant diseases comprising the same and manufacturing method thereof)

#### 【기술분야】

【0001】 본 발명은 바실러스 벨레젠시스 KPI-1 균주, 이를 유효성분으로 하는 식물병 방제용 조성물 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

#### 【발명의 배경이 되는 기술】

【0002】 현대사회에서 농업은 단순히 농작물의 재배와 생산을 통해 인류에 식량을 공급하는 것뿐만 아니라, 식량안보, 환경생태보전, 전통문화와 농촌경관 유지 등 다양한 긍정적 기능과 공익적 역할을 수행한다.

【0003】 농업에서 각종 식물병 방제는 농업생산성에 영향을 미치는 중요한 요소 중 하나이다. 식물병은 발병할 경우 대부분의 감염된 식물을 제거하여야 하므로 사전 예방이 가장 중요하다. 최근 연이은 이상기후의 영향 등으로 식물병 피해가 지속적으로 증가하는 추세이며, 이로 인한 농가의 피해 또한 급수적으로 증가하고 있어 효과적인 대책이 필요한 실정이다.

○ 위탁연구기관(한경대학교 산학협력단)

① 3종의 미생물제 실증시험

- 실증시험 미생물제 및 실증시험 목적

	후보 미생물 종류	실증시험 목적
A	- <i>Rhodobacter sphaeroides</i> DS-EBN-BL6 - <i>Bacillus velezensis</i> GH1-13 - <i>Lactobacillus casei</i> EBN-LC	토양개량, 작물생육촉진
B	- <i>Bacillus amyloliquefaeciens</i> EBN-TK3 - <i>Bacillus velezensis</i> GH1-13 - <i>Streptomyces vellosus</i> HR29	병해(병해 발생 시점 적용)
C	- <i>Streptomyces vellosus</i> HR29 - <i>Bacillus thuringiensis</i> HARI042	충해(충해 발생 시점 적용)

- 실증시험 작물별 적용방법

• 수도작

적용 시기	실험구 처리 미생물	처리 방법
정식 후	A제 미생물 (각각 배양 후 1:1:1 혼합)	수확 전까지 2주 1회, 엽면시비, 50m <sup>2</sup> 당 미생물 76 ml 희석 투입
병해 발생 예상 시점	B제 미생물 (각각 배양 후 1:1:1 혼합)	병해 진정 시기까지 주 2회 엽면시비, 50m <sup>2</sup> 당 600mL 희석 투입
충해 발생 예상 시점	C제 미생물 (각각 배양 후 1:1 혼합)	충해 진정 시기까지 주 2회 엽면시비, 50m <sup>2</sup> 당 600mL 희석 투입

• 콩, 고구마

적용 시기	실험구 처리 미생물	처리 방법
정식 후	A제 미생물 (각각 배양 후 1:1:1 혼합)	2주 1회, 토양관주, 50m <sup>2</sup> 당 미생물 50 ml 희석 투입
병해 발생 예상 시점	B제 미생물 (각각 배양 후 1:1:1 혼합)	병해 진정 시기까지 주 2회 엽면시비, 50m <sup>2</sup> 당 600mL 희석 투입
충해 발생 예상 시점	C제 미생물 (각각 배양 후 1:1 혼합)	충해 진정 시기까지 주 2회 엽면시비, 50m <sup>2</sup> 당 600mL 희석 투입

- 아티초크, 망고

적용 시기	실험구 처리 미생물	처리 방법
정식 후	A제 미생물 (각각 배양 후 1:1:1 혼합)	2주 1회, 엽면시비, 50m <sup>2</sup> 당 미생물 76 ml 희석 투입
병해 발생 예상 시점	B제 미생물 (각각 배양 후 1:1:1 혼합)	병해 진정 시기까지 주 2회 엽면시비, 50m <sup>2</sup> 당 600mL 희석 투입
충해 발생 예상 시점	C제 미생물 (각각 배양 후 1:1 혼합)	충해 진정 시기까지 주 2회 엽면시비, 50m <sup>2</sup> 당 600mL 희석 투입

- 실증시험 작물별 시험 개요 및 분석항목

- 수도작(벼)

품종 : 추청

토성 : 미사질양토

시험구 면적

처리구	처리구 면적	처리 시기 및 조사횟수
무처리	20m <sup>2</sup> * 3반복 = 60m <sup>2</sup>	처리일: 7/13, 7/31, 8/9, 8/23, 9/3, 9/17 조사일: 7/13, 8/9, 9/17 조사내용: 간장, 수장, 수확량
기준량	20m <sup>2</sup> * 3반복 = 60m <sup>2</sup>	
배량	20m <sup>2</sup> * 3반복 = 60m <sup>2</sup>	

- 콩

품종 : 서리태

토성 : 사양토

시험구 면적

처리구	처리구 면적	처리 시기 및 조사횟수
무처리	10m <sup>2</sup> * 3반복 = 30m <sup>2</sup>	처리일: 7/13, 7/31, 8/9, 8/23, 9/3, 9/17 조사일: 7/13, 8/9, 조사내용: 초장, 엽장, 엽폭, 분지수, 수확량, 약해유무 조사
기준량	10m <sup>2</sup> * 3반복 = 30m <sup>2</sup>	
배량	10m <sup>2</sup> * 3반복 = 30m <sup>2</sup>	

- 고구마

품종 : 율미

토성 : 사양토

시험구 면적

처리구	처리구 면적	처리 시기 및 조사횟수
무처리	3주 * 3반복 = 9주	처리일: 7/13, 7/31, 8/9, 8/23, 9/3, 9/17 조사일: 8/9, 9/3, 조사내용: 수고, 수관폭, 줄기직경, 약해유무 조사
기준량	3주 * 3반복 = 9주	
배량	3주 * 3반복 = 9주	

• 망고

품종 : 애플망고

토성 : 사양토

시험구 면적

처리구	처리구 면적	처리 시기 및 조사횟수
무처리	3주 * 3반복 = 9주	처리일: 7/13, 7/31, 8/9, 8/23, 9/3, 9/17, 10/1, 10/15 조사횟수: 7/20, 8/9, 9/17, 10.27 조사내용: 엽장, 엽폭, 엽수, 약해유무 조사
기준량	3주 * 3반복 = 9주	
배량	3주 * 3반복 = 9주	

• 아티초크

품종 : 아티초크

토성 : 사양토

시험구 면적

처리구	처리구 면적	처리 시기 및 조사횟수
무처리	3주 * 3반복 = 9주	처리일: 7/13, 7/31, 조사횟수: 조사내용: 초장, 엽수, 간장, 수장, 수확량, 약해유무 조사
기준량	3주 * 3반복 = 9주	
배량	3주 * 3반복 = 9주	










② 미생물(A)제의 생육증진 효과 검정

생육조사 결과 콩과 고구마는 미생물(A)제 처리에 의한 유의미한 차이를 확인 할 수 없었다. 반면 아티초크, 망고 및 벼의 경우 미생물(A)제 처리 후 생육 초반 유의미한 차이가 나타났다. 특히 아티초크는 처리 후 70일에 무처리 대비 기준량의 생육이 증진된 것을 확인할 수 있었다.

벼, 콩 및 고구마를 대상으로 실시한 수확량 조사에서는 기준량이 무처리 대비 수량이 증대한 것으로 나타났다. 특히 벼의 경우 주당 이삭 수와 이삭 당 낱알 수가 처리에 따른 유의미한 차이가 있었으며, 콩은 면적당 수확량이 미생물(A)제 처리에 의해 증대된 것을 확인할 수 있었다.

다만, 모든 작물의 토양에서 미생물 처리에 따른 물리·화학적인 극적인 변화는 관찰되지 않았다.

- 수도작(벼)

	무처리	기준량	배량
처리전			
처리후 30일			
처리후 60일			

• 시험 전 · 후 토양이화학성 분석결과

		처리전	무처리	기준	배량
pH		5.7	5.95	5.83	5.82
EC		0.26	0.14	0.12	0.15
OM		17.9	10	11.4	11.2
T-N		1625.5	1615.9	1784.6	1857.2
CEC		4.18	4.11	3.74	3.89
Ex-cations (cmol/kg)	K	0.32	0.31	0.32	0.39
	Ca	1.81	1.33	1.29	1.71
	Na	0.32	0.49	0.4	0.54
	Mg	0.54	0.73	0.77	0.85

• 생육조사

시험작물	생육시기	측정 일자	시험 내용	측정 항목				
				간장	DMRT (0.05)	수장	DMRT (0.05)	
벼	영양	처리 전	무처리	66.00				
		처리 후 30 일	무처리	82.80	a	***	16.50	ns
			기준량	91.70	b		15.90	ns
	배량	98.20	c	16.90	ns			
	생식	처리 후 60 일	무처리	85.17	ns		22.1	ns
			기준량	76.33	ns		24.64	ns
배량			75.82	ns		22.8	ns	

• 수확량

시험 작물	시험 내용	측정 항목		
		주당 이삭 수	주당 낱알 수	수량지수
수도작 (벼)	무처리	20.8 <sup>b</sup>	1401 <sup>b</sup>	100
	기준량	26.2 <sup>ab</sup>	2079.2 <sup>ab</sup>	143
	배량	29 <sup>a</sup>	2232 <sup>a</sup>	157

	무처리	기준량	배량
처리전			
처리후 30일			
처리후 60일			



• 시험 전 · 후 토양이화학성 분석결과

		처리전	무처리	기준	배량
pH		4.5	4.59	4.57	4.54
EC		1.22	0.59	0.86	0.84
OM		16.7	10.1	13.4	11.9
T-N		1791	1776.8	1921.7	2020.5
CEC		6.67	6.96	6.16	6.67
Ex-cations (cmol/kg)	K	0.45	0.21	0.37	0.46
	Ca	2.71	2.48	2.91	2.38
	Na	0.33	0.19	0.32	0.19
	Mg	0.74	0.46	0.64	0.61

• 생육조사

시험 작물	생육 시기	측정 일자	시험 내용	측정 항목							
				초장	DMRT (0.05)	엽장	DMRT (0.05)	엽폭	DMRT (0.05)	분지수	DMRT (0.05)
콩	영양	처리 전	무처리	39.26		10.08		6.84		2.20	
	생식	처리 후 30 일	무처리	61.50	ns	12.83	ns	7.53	ns	4.67	ns
			기준량	76.23	ns	13.37	ns	8.20	ns	7.00	ns
			배량	78.40	ns	13.60	ns	8.77	ns	6.67	ns

• 수확량

시험 작물	시험 내용	측정 항목	
		m <sup>2</sup> 당 수확량(g)	중실비율(%)
콩	무처리	153.364 <sup>b</sup>	93.71
	기준량	350.851 <sup>a</sup>	96.85
	배량	371.002 <sup>a</sup>	95.92

- 고구마

	무처리	기준량	배량
처리전			
처리후 30일			
처리후 60일			

• 시험 전 · 후 토양이화학성 분석결과

		처리전	무처리	기준	배량
pH		4.5	5.29	5.15	5.17
EC		1.22	0.22	0.21	0.29
OM		16.7	14.4	15.9	16.1
T-N		2791	2615.2	2798.4	2553.8
CEC		6.67	6.16	6.45	6.67
Ex-cations (cmol/kg)	K	0.45	0.70	0.61	0.68
	Ca	3.71	3.42	3.4	3.43
	Na	0.33	0.24	0.21	0.26
	Mg	0.74	0.68	0.64	0.64

• 생육조사

시험 작물	생육 시기	측정 일자	시험 내용	측정 항목					
				주경길이	DMRT (0.05)	엽장	DMRT (0.05)	엽폭	DMRT (0.05)
고구 마	영양	처리 전	무처리	32.67					
		처리 후 30 일	무처리	72.33	ns	12.60	ns	12.93	ns
			기준량	88.30	ns	12.20	ns	13.33	ns
			배량	91.57	ns	12.57	ns	12.57	ns
	생식	처리 후 60 일	무처리	93.90	ns	12.30	ns	14.20	ns
			기준량	90.42	ns	12.18	ns	13.20	ns
			배량	93.58	ns	11.75	ns	12.82	ns

• 수확량

시험 작물	시험 내용	측정 항목
		m <sup>2</sup> 당 수확량(g)
고구마	무처리	2003.33
	기준량	3093.33
	배량	2846.67

- 망고



• 시험 전 · 후 토양이화학성 분석결과

		처리전	무처리	기준	배량
pH		5.2	5.35	5.53	5.55
EC		1.58	1.05	0.48	0.25
OM		13.9	13.4	12.8	9.8
T-N		1,080.60	943.2	753.7	772.5
CEC		5.13	5.33	4.55	4.77
Ex-cations (cmol/kg)	K	0.47	0.6	0.45	0.27
	Ca	1.39	1.54	1.05	1.54
	Na	1	0.99	0.67	0.52
	Mg	1.57	1.46	1.28	1.18

• 생육조사

시험 작물	생육 시기	측정 일자	시험 내용	측정 항목						
				수고	DMRT (0.05)		수관폭	DMRT (0.05)	줄기직경	DMRT (0.05)
망고	생식	처리 후 30 일	무처리	88.00	a	.	67.50	ns	18.64	ns
			기준량	71.00	ab		59.33	ns	20.28	ns
			배량	104.00	b		54.67	ns	19.50	ns
		처리 후 60 일	무처리	81.98	ns		78.15	ns	28.50	ns
			기준량	92.24	ns		71.19	ns	33.38	ns
			배량	85.53	ns		94.39	ns	30.59	ns

- 아티초크



• 시험 전 · 후 토양이화학성 분석결과







		처리전	무처리	기준	배량
pH		5.2	5.26	5.13	5.7
EC		1.58	1.24	2.85	0.65
OM		13.9	12.3	11.8	6.3
T-N		807.3	1361.8	716.8	994.8
CEC		5.13	5.62	5.33	5.89
Ex-cations (cmol/kg)	K	0.47	0.21	0.54	0.35
	Ca	1.39	1.46	1.36	1.59
	Na	1	1.51	1.36	0.89
	Mg	1.57	1.38	1.36	1.51

• 생육조사







시험 작물	생육 시기	측정 일자	시험 내용	측정 항목								
				엽장	DMRT (0.05)		엽폭	DMRT (0.05)		엽수	DMRT (0.05)	
아티 초크	영양	처리 후 10 일	무처리	16.60	a	**	3.54	a	**	3.60	a	.
			기준량	11.56	b		2.64	b		3	b	
			배량	13.42	b		3	ab		3.2	ab	
	영양	처리 후 30 일	무처리	17.82	ns		4.98	ns		5.2	a	
			기준량	20.20	ns		4.48	ns		4.40	b	
			배량	23.62	ns		5.94	ns		4.40	b	
	영양 및 생식	처리 후 50 일	무처리	52.67	ns		25.00	a		8.67	ns	
			기준량	64.33	ns		29.50	ab		13.00	ns	
			배량	55.33	ns		20.50	b		9.00	ns	
	영양 및 생식	처리 후 70 일	무처리	66.53	b	*	25	b	*	12.67	ab	*
			기준량	88.23	a		38.97	a		14.67	a	
			배량	80.9	ab		34.47	a		9.33	b	

③ 미생물(B, C)제의 병충해 방제 효과 검정







- 수도작(벼)

	B제	C제
처리 전		
처리 후 15일		
처리 후 30일		

- 콩

	B제	C제
처리 전		
처리 후 15일		
처리 후 30일		

-고구마

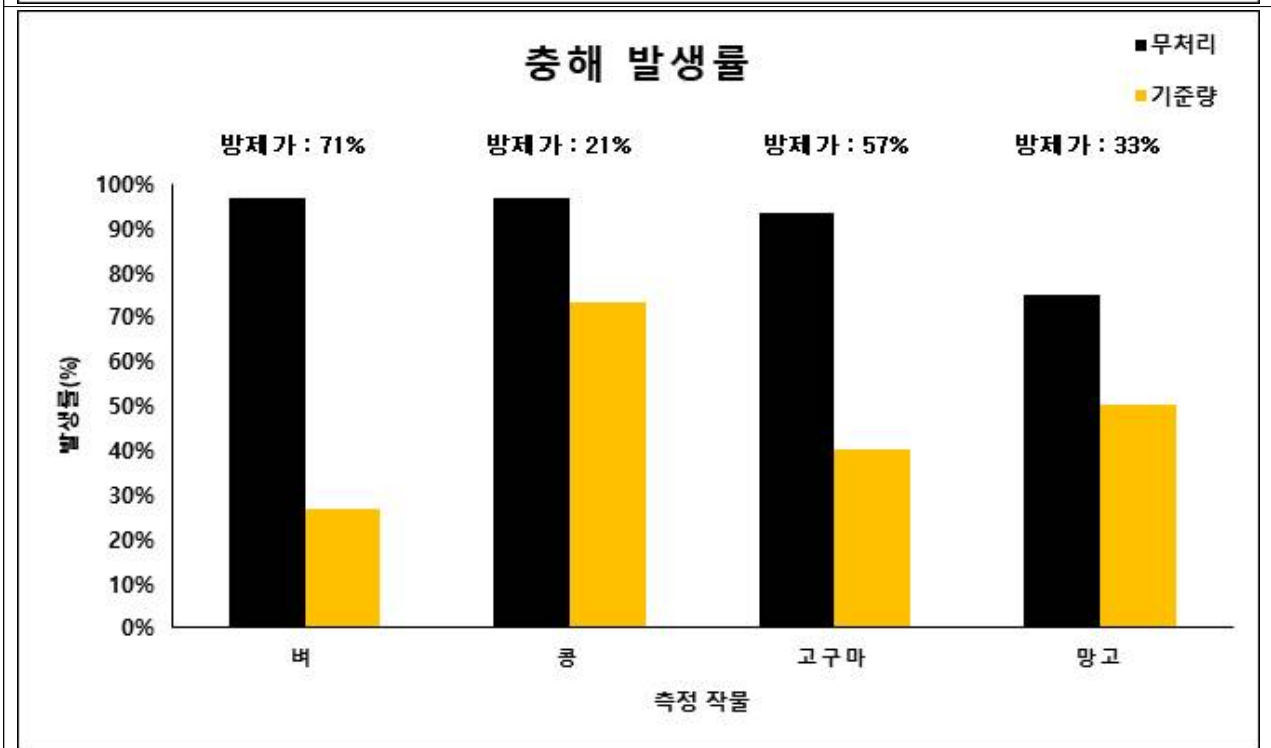
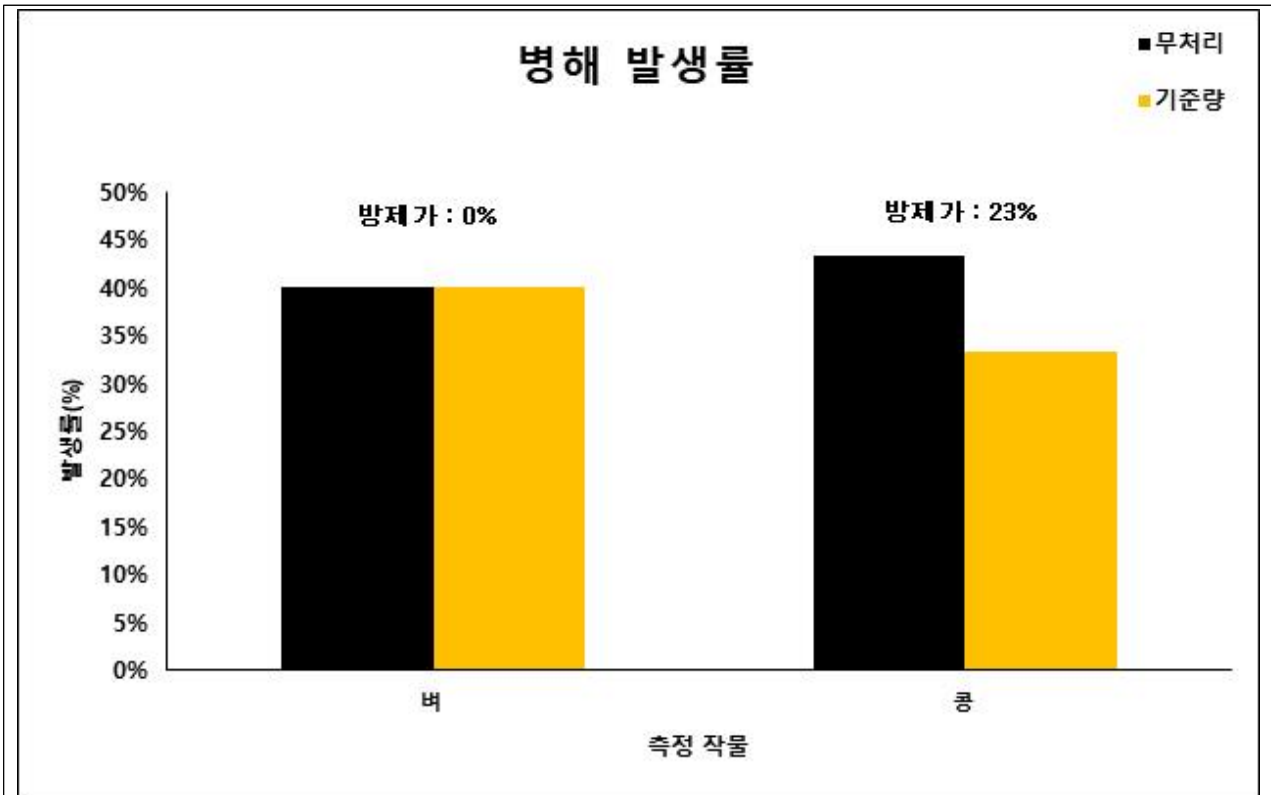
	B제	C제
처리 전		
처리 후 15일		
처리 후 30일		

-망고

C제		
		
처리 전	처리 후 15일	처리 후 30일



• 병충해 발생률 및 방제가























콩은 미생물(B)제 처리를 통해 병해 발생률이 감소하는 것으로 확인되었다. 무처리와 대비하여 콩의 병 방제율은 23%인 것으로 나타났다.

미생물(C)제는 벼, 콩, 고구마 및 망고에서 모두 충해 방제 효과가 나타났다. 특히 벼의 경우 70% 이상의 방제율을 보였으며, 타 작물에서도 방제율이 높게 확인되었다.






④ 망고 검은점무늬병 및 탄저병 방제 효과 검정: 1차년도 결과 보완

○ 실화상 모니터링

- 망고 검은점무늬병(*Xanthomonas campestris*)

실상 카메라								
병원균 처리 전			병원균 처리 후 3일			병원균 처리 후 7일		
병원균	JC6 + 병원균	병원균 + JC6	병원균	JC6 + 병원균	병원균 + JC6	병원균	JC6 + 병원균	병원균 + JC6
								
								
								

- 망고 탄저병 (*Colletotrichum gloeosporioides*)

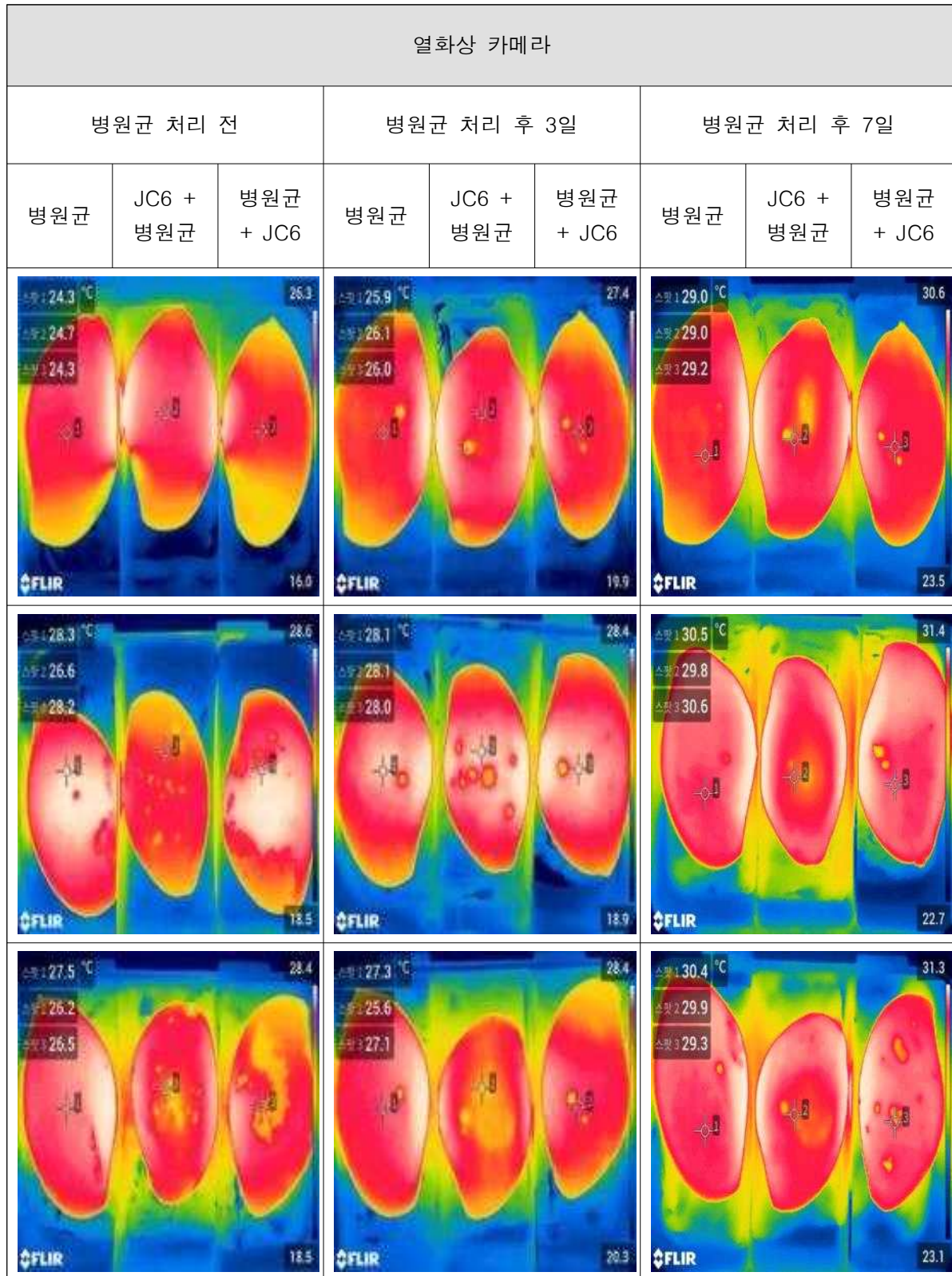
실상 카메라								
병원균 처리 전			병원균 처리 후 3일			병원균 처리 후 7일		
병원균	JC6 + 병원균	병원균 + JC6	병원균	JC6 + 병원균	병원균 + JC6	병원균	JC6 + 병원균	병원균 + JC6
								
								
								

- 망고 탄저병 (*Colletotrichum gloeosporioides*)

실상 카메라								
병원균 처리 전			병원균 처리 후 3일			병원균 처리 후 7일		
병원균	BC6 + 병원균	병원균 + BC6	병원균	BC6 + 병원균	병원균 + BC6	병원균	BC6 + 병원균	병원균 + BC6
								
								
								

○ 열화상 모니터링

- 망고 검은점무늬병(*Xanthomonas campestris*)



- 망고 탄저병 (*Colletotrichum gloeosporioides*)

열화상 카메라								
병원균 처리 전			병원균 처리 후 3일			병원균 처리 후 7일		
병원균	JC6 + 병원균	병원균 + JC6	병원균	JC6 + 병원균	병원균 + JC6	병원균	JC6 + 병원균	병원균 + JC6

- 망고 탄저병 (*Colletotrichum gloeosporioides*)

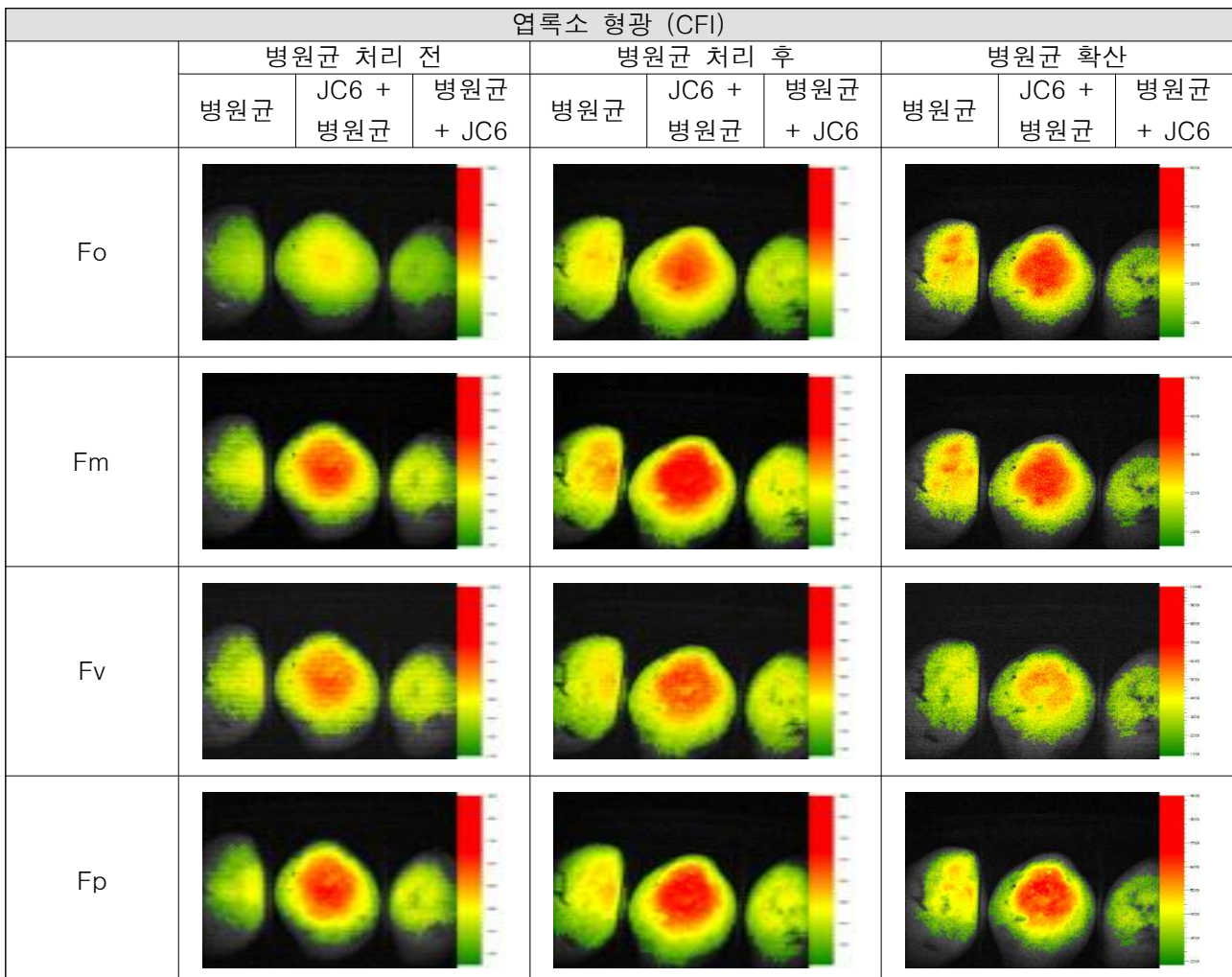
실상 카메라								
병원균 처리 전			병원균 처리 후 3일			병원균 처리 후 7일		
병원균	BC6 + 병원균	병원균 + BC6	병원균	BC6 + 병원균	병원균 + BC6	병원균	BC6 + 병원균	병원균 + BC6

○ 엽록소 형광(Chlorophyll Fluorescence Image) 분석

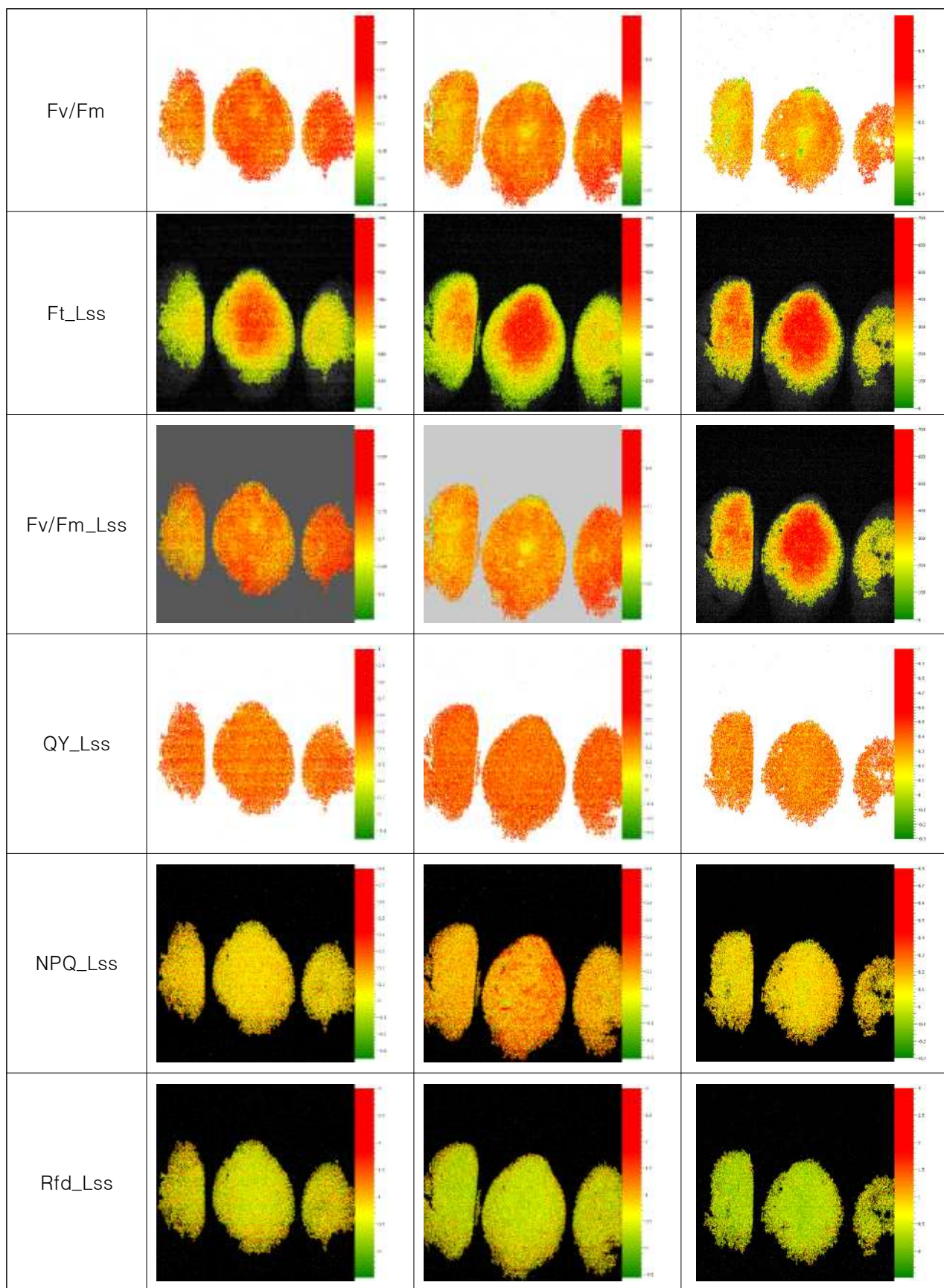
JC6의 망고 검은점무늬병에 대한 예방 및 치료 효과 검증을 위해 엽록소 형광 이미지 분석을 실시하였다. 망고 검은점무늬병 발병 전 JC6 처리구에서 광계 II 최대양자수득률(Fv/Fm)은 무처리 대비 5% 증가하였으며, 발병 후 처리구에서는 12% 증가한 것으로 나타났다. 그리고 발병 후 처리구 망고에서 정류상태 전자전달효율(QY\_Lss)과 활력을 평가하는 지표인 형광감쇄율(Rfd\_Lss)가 각각 14%, 50% 증가하며 발병 후 JC6 처리(치료) 효과가 더 높았다.

- 망고 검은점무늬병(*Xanthomonas campestris*) - JC6

parameter	무처리			예방			치료		
	병원균 처리 전	병원균 처리 후	병원균 확산	병원균 처리 전	병원균 처리 후	병원균 확산	병원균 처리 전	병원균 처리 후	병원균 확산
Fo	109.8	146.2	203.24	141.3	174.7	223.88	97.9	111.0	136.49
Fm	403.3	432.1	486.67	541.4	552.2	574.69	401.9	380.1	388.03
Fv	293.5	286.0	283.43	400.2	377.5	350.82	304.0	269.1	251.54
Fp	284.2	289.0	363.30	413.9	385.2	434.07	304.7	261.3	289.22
Ft_Lss	284.5	227.1	293.38	192.9	288.1	341.85	204.8	197.3	213.12
Fv/Fm	0.73	0.66	0.58	0.74	0.68	0.61	0.76	0.71	0.65
Fv/Fm_Lss	0.71	0.63	0.56	0.73	0.64	0.59	0.75	0.68	0.63
QY_Lss	0.48	0.39	0.35	0.44	0.37	0.34	0.47	0.41	0.40
NPQ_Lss	0.08	0.15	0.08	0.06	0.2	0.10	0.04	0.15	0.09
Rfd_Lss	0.47	0.27	0.24	0.45	0.34	0.27	0.49	0.32	0.36



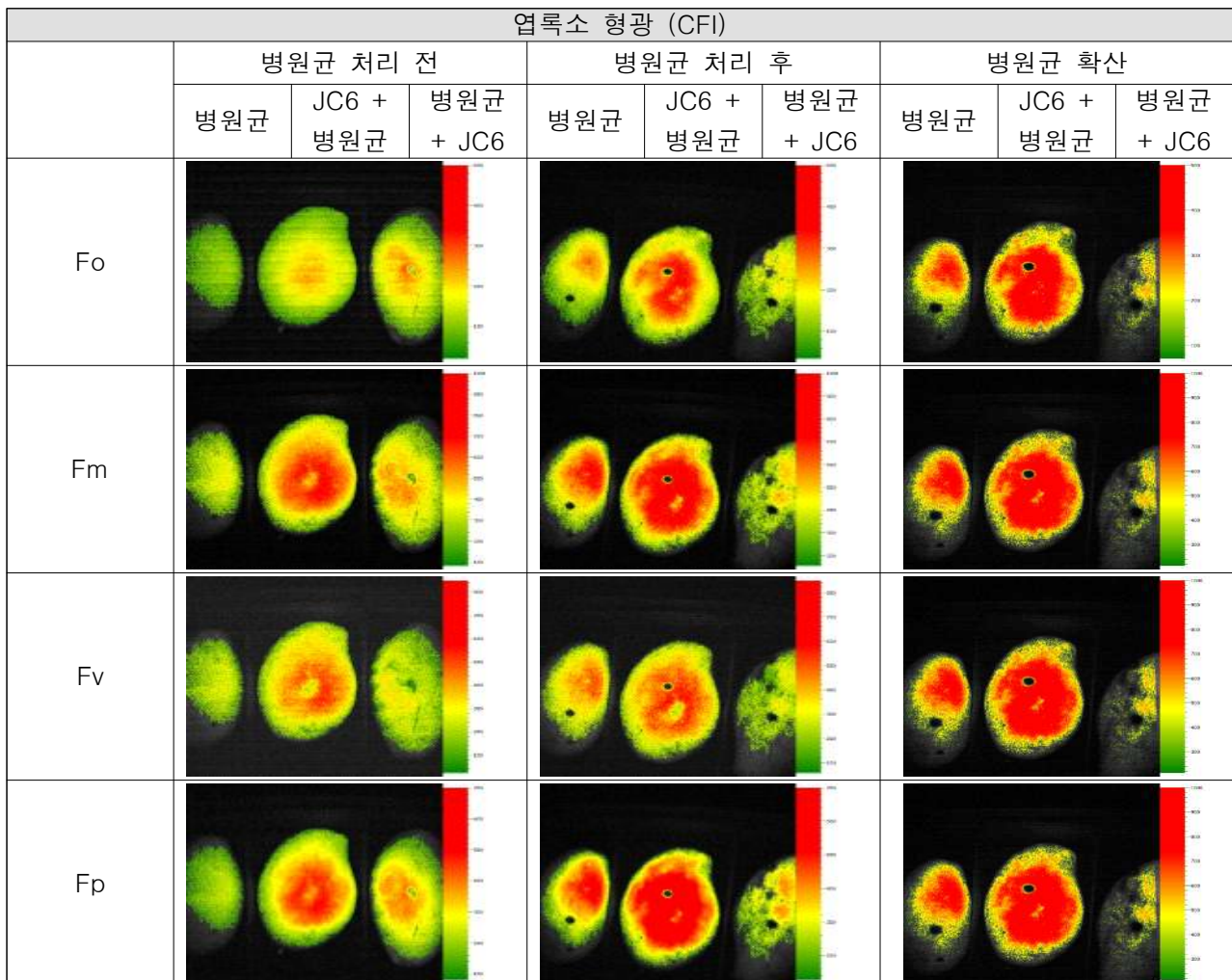


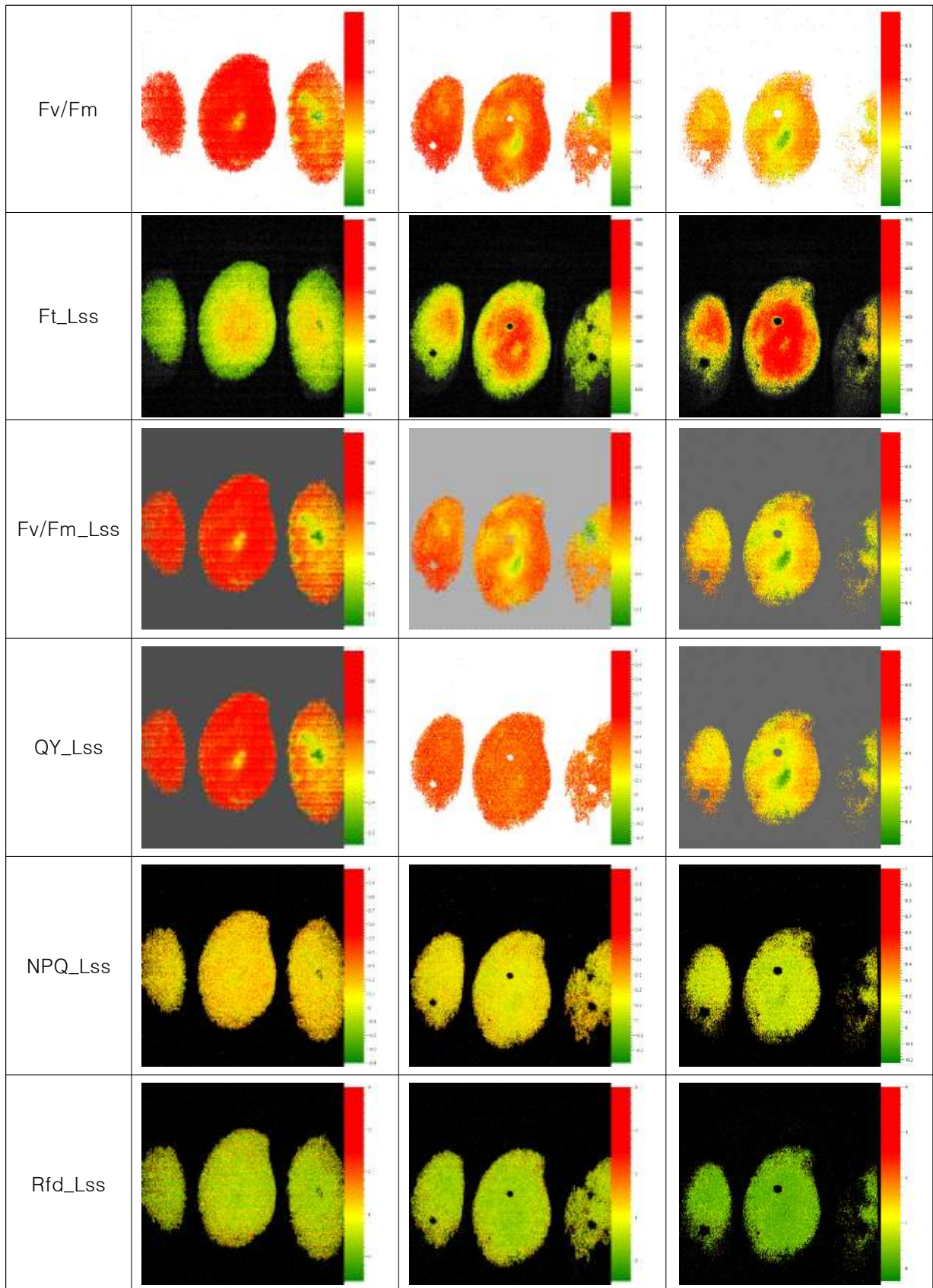


- 망고 탄저병(*Colletotrichum gloeosporioides*) - JC6

JC6의 망고 탄저병에 대한 예방 및 치료 효과 검증을 위해 엽록소 형광 이미지 분석을 실시하였다. 망고 검은점무늬병 발병 전 JC6 처리구에서 광계 II 최대양자수득률(Fv/Fm)은 무처리 대비 40% 증가하였으며, 발병 후 처리구에서는 81% 증가한 것으로 나타났다. 그리고 발병 후 처리구 망고에서 정류상태 전자전달 효율(QY\_Lss)과 활력을 평가하는 지표인 형광감쇄율(Rfd\_Lss)가 각각 121%, 53% 증가하며 발병 후 JC6 처리(치료) 효과가 더 높았다. 따라서 JC6 은 병원균 발병 전 및 발병 후 처리에 의해 탄저병 방제 효과가 있으며, 발병 후 처리구에서 광이용 효율 및 건전성이 더 높은 것으로 판단되었다.

parameter	무처리			예방			치료		
	병원균 처리 전	병원균 처리 후	병원균 확산	병원균 처리 전	병원균 처리 후	병원균 확산	병원균 처리 전	병원균 처리 후	병원균 확산
Fo	85.3	156.2	226.38	136.7	208.7	156.81	147.2	139.7	169.84
Fm	276.2	477.6	308.11	455.7	579.0	251.33	352.5	360.4	333.39
Fv	190.9	321.4	81.73	319.0	370.3	94.51	205.3	220.8	163.56
Fp	176.1	342.1	312.17	304.9	441.0	241.85	259.1	278.7	270.35
Ft_Lss	214.2	238.8	263.14	190.7	310.3	192.91	134.2	189.3	209.85
Fv/Fm	0.69	0.67	0.27	0.7	0.64	0.38	0.58	0.61	0.49
Fv/Fm_Lss	0.68	0.64	0.26	0.67	0.61	0.37	0.56	0.58	0.47
QY_Lss	0.48	0.43	0.14	0.47	0.39	0.22	0.4	0.4	0.31
NPQ_Lss	0.08	0.14	0.00	0.13	0.13	0.02	0.1	0.15	0.10
Rfd_Lss	0.31	0.43	0.19	0.42	0.42	0.25	0.36	0.47	0.29

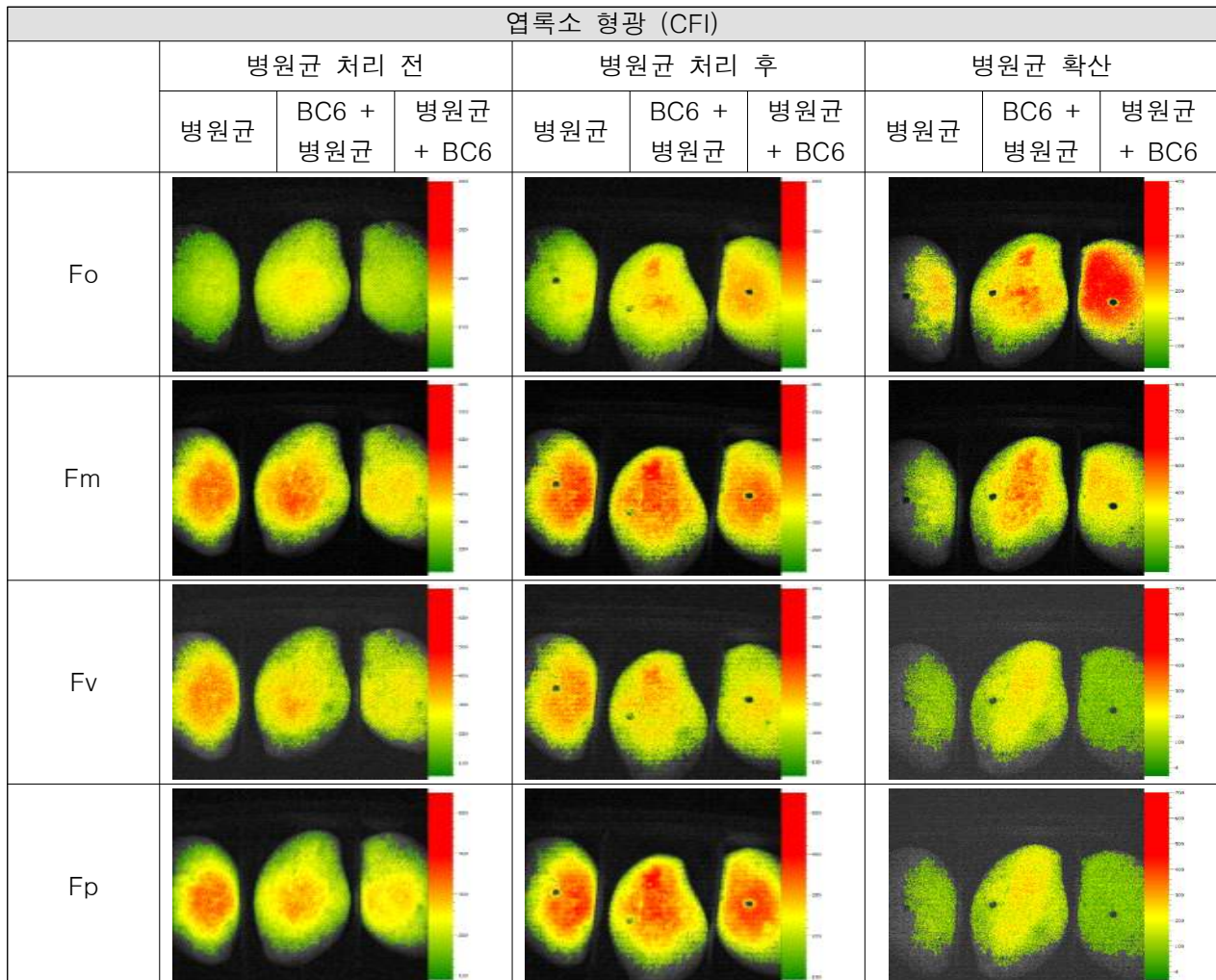


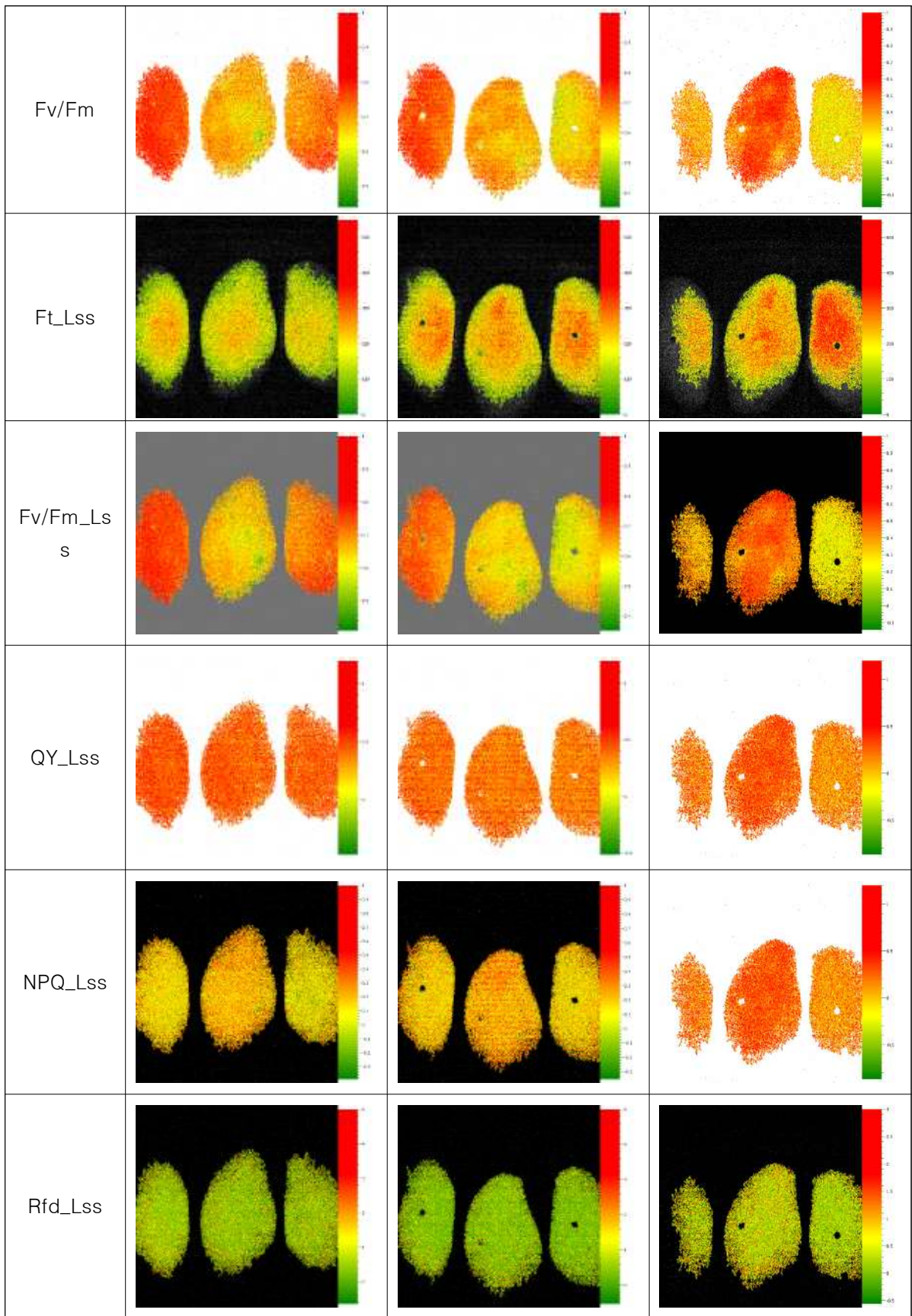


- 망고 탄저병 (*Colletotrichum gloeosporioides*) - BC6

BC6의 망고 탄저병에 대한 예방 및 치료 효과 검증을 위해 엽록소 형광 이미지 분석을 실시하였다. 망고 검은점무늬병 발병 전 BC6 처리구에서 광계 II 최대양자수득률(Fv/Fm)은 무처리 대비 5% 감소하였으며, 발병 후 처리구에서는 7% 감소한 것으로 나타났다. 그리고 발병 후 처리구 망고에서 활력을 평가하는 지표인 형광감쇄율(Rfd\_Lss)가 15% 증가였으나, 정류상태 전자전달효율(QY\_Lss)은 3% 감소하였다. 따라서 BC6 은 병원균 발병 전 및 발병 후 처리에 의해 탄저병 방제 효과가 크게 차이가 없었다.

parameter	무처리			예방			치료		
	병원균 처리 전	병원균 처리 후	병원균 확산	병원균 처리 전	병원균 처리 후	병원균 확산	병원균 처리 전	병원균 처리 후	병원균 확산
Fo	80.1	106.6	235.25	112.4	137.0	306.01	84.3	146.1	193.19
Fm	361.0	381.0	569.59	346.6	383.5	693.23	309.3	373.8	428.53
Fv	280.9	274.4	334.33	234.3	246.5	387.22	225.0	227.7	235.34
Fp	236.5	256.1	428.28	214.7	263.4	550.00	213.3	270.4	327.83
Ft_Lss	157.9	194.4	336.39	154.3	194.2	437.49	166.0	210.9	250.13
Fv/Fm	0.78	0.72	0.59	0.68	0.64	0.56	0.73	0.61	0.55
Fv/Fm_Lss	0.76	0.69	0.56	0.64	0.6	0.54	0.72	0.58	0.52
QY_Lss	0.5	0.41	0.34	0.47	0.38	0.31	0.47	0.36	0.33
NPQ_Lss	0.09	0.15	0.11	0.17	0.22	0.09	0.06	0.13	0.14
Rfd_Lss	0.42	0.32	0.27	0.36	0.36	0.26	0.38	0.28	0.31





### 3. 연구개발과제의 목표 달성 정도

#### 1) 정성적 연구개발성과

- 현지 실증시험 및 제품등록을 통한 베트남 시장 확대 및 기타 국가 시장진출거점 마련
  - \* 한국-베트남 미생물 기술교류 포럼 개최 및 협회 발족
  - \* 주관기관 소재 춘천시와 자매결연 베트남 달랏시 대상 미생물 솔루션 사업설명회 개최
  - \* 베트남 현지 쇼룸 구축 2곳: NCFT, Sunfood
  - \* 베트남 현지 등록 제품의 스토어 개설: DL Group
  - \* 베트남 까오방성 개척: KOICA 사업연계 및 해당성 자체 프로젝트 실시(DACE 기업 실증 시험)
  - \* 베트남 차 협회(HTC)와의 MOU 체결
  - \* '22 현지 박람회 부스 참여 2회(Agritechnica Asia, 국제컨터농업박람회): MOU 3건 체결
  - \* 베트남 홍보 매체(VOAA협회 온라인 매거진) 활용한 제품과 사업 홍보 실시
  - \* 베트남 경험을 바탕으로 2022년도 페루, 에콰도르 바이어 발굴 및 매출 발생 중

#### 2) 정량적 연구개발성과

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과목표	사업화지표										연구기반지표									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용 홍보		기타 (타 연구 활용 등)	
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		논문 SC I	논문 SC I	논문 평균 IF			학술 발표	정책 활용		홍보 전시
가중치 점수배분	20	5		5	30		20	20												
가중치 달성점수	20	0		0	30		5	20												
성과/목표	5/5	0/1		7/1		27/9	151/0	127/500	7/3		0/1	1/1		2/2	1/1					
1차년도				1/0					1/1											
2차년도	2/3			6/0	0/5	7/5	84/0	75/0	3/1			0/1		1/1	1/0					
3차년도	3/2	0/1		0/1		20/4	67/0	52/500	3/1		0/1	1/0		1/1	0/1					

- 과제 목표대비 75% 수준 달성(목표 미달 시 원인분석 part에 사유 서술)

- 기타성과

- \* 생명자원(미생물) 기탁 5건
- \* 수출 구매확약서 2건 확보
  - + 2021.02.02. / NAM MIEN TRUNG GROUP / 미생물배양기 20대(800백만원)
  - + 2022.12.09. / MACROLIFE company limited / 미생물배양기 2대(135백만원)

### 3) 세부 정량적 연구개발성과

#### [과학적 성과]

##### 논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Bacillus amyloliquifaciens ISP-5 균주의 배지 최적화 및 상추를 이용한 식물 생장 촉진 평가	J Plant Biotechnol	최강현	49:356-361	대한민국	Korean Society for Plant Biotechnology	비SCIE	2022.12.28	2384-1397	100

##### 국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	2021 한국유기농업학회 하반기 학술대회	서선일	2021.11.19	충북농업기술원 유기농업연구소	대한민국
2	2022 한국생물공학회추계학술발표대회	서선일	2022.09.29	제주신화월드	대한민국

##### 기술 요약 정보

연도	기술명	요약 내용	기술 완성도	등록 번호	활용 여부	미활용사유	연구개발기관 외 활용여부	허용방식

##### 보고서 원문

연도	보고서 구분	발간일	등록 번호

##### 생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물

번호	생명자원(생물자원, 생명정보)/화합물 명	등록/기탁 번호	등록/기탁 기관	발생 연도
1	<i>Bacillus subtilis</i> BC-6	KACC 81189BP	농촌진흥청 국립농업과학원 씨앗은행	2021
2	<i>Bacillus velezensis</i> JC-9	KACC 81190BP		2021
3	<i>Bacillus velezensis</i> KPI-1	KACC 92449P		2022
4	<i>Pseudomonas guariconensis</i> ECO-K-3-3	KACC 92484P		2022
5	<i>Bacillus licheniformis</i> BL	KACC 92483P		2022

[기술적 성과]

지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신품종, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	CellAct	베트남					EcoBizNet INC.	2020.10.20	36781	50	자체 활용
2	식물병 방제 효능이 우수한 바실러스 서브틸리스 BC-6 균주 및 이의 용도	대한민국	(주)에코비즈넷	2021.11.11	10-2021-0154837					100	자체 활용
3	식물 생장 촉진능 및 식물병 방제 효능이 있는 바실러스 벨레젠시스 JC-9 및 이의 용도	대한민국	(주)에코비즈넷	2021.11.11	10-2021-0154838					100	자체 활용
4	바실러스 벨레젠시스 KPI-1 균주, 이를 유효성분으로 하는 식물병 방제용 조성물 및 이의 제조방법	대한민국	(재)농축산용미생물산업육성지원센터	2022.12.09	10-2022-0171448					100	자체 활용
5	바실러스 리체니포미스 BS 및 이를 포함하는 약취 감소용 조성물	대한민국	(주)에코비즈넷	2022.12.26	10-2022-0184847						예정
6	포타슘 가용화 활성을 가지는 신규한 슈도모나스 구아리코넨시스 ECO-K-3-3 및 이의 최적 활성 배양 조건	대한민국	(주)에코비즈넷	2022.12.27	10-2022-0186272						예정

저작권(소프트웨어, 서적 등)

번호	저작권명	창작일	저작자명	등록일	등록 번호	저작권자명	기여율

신기술 지정

번호	명칭	출원일	고시일	보호 기간	지정 번호

기술 및 제품 인증

번호	인증 분야	인증 기관	인증 내용		인증 획득일	국가명
			인증명	인증 번호		
1	농기자재 인증	중소벤처기업부	성능인증	23-CA00027	2023.01.30	대한민국

표준화

○ 국내표준

번호	인증구분 <sup>1)</sup>	인증여부 <sup>2)</sup>	표준명	표준인증기구명	제안주체	표준종류 <sup>3)</sup>	제안/인증일자



○ 국제 표준

번호	표준화단계구분 <sup>1)</sup>	표준명	표준기구명 <sup>2)</sup>	표준분과명	의장단 활동여부	표준특허 추진여부	표준개발 방식 <sup>3)</sup>	제안자	표준화 번호	제안일자

[경제적 성과]

□ 시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	설치 장소	이용 분야	사업화 소요 기간	인증기관 (해당 시)	인증일 (해당 시)

□ 기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황
1	자체실시	애그로박타 비티	(주)에코비즈넷	2021.10.26	0	0
2	자체실시	아쿠아피드업 유산	(주)에코비즈넷	2021.06.01	0	0
3	자체실시	애그로박타 케어	(주)에코비즈넷	2021.03.26	0	0
4	자체실시	아쿠아박타 고초	(주)에코비즈넷	2021.06.01	0	0
5	자체실시	아쿠아피드업 고초	(주)에코비즈넷	2021.06.01	0	0
6	자체실시	아쿠아박타 유산	(주)에코비즈넷	2021.06.01	0	0
7	자체실시	CellAct-BB	(주)에코비즈넷	2021.06.01	0	0

□ 사업화 투자실적

번호	추가 연구개발 투자	설비 투자	기타 투자	합계	투자 자금 성격*
1	-	-	생산공장 설립 (정읍첨단과학 일반산업단지)	10억원	내부 자금

□ 사업화 현황

번호	사업화 방식	사업화 형태	지역	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (천원)		
1	자가실시	신제품 개발	국내	고초균 배양액 제품 '아쿠아박타 고초'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0	0	2021	20년
2	자가실시	신제품 개발	국내	고초균 분말 제품 '아쿠아피드업 고초'	제품 출시	(주)에코비즈넷	13,590	0	2021, 2022	20년
3	자가실시	신제품 개발	국내	농업용 제품 '애그로박타 케어'	제품 출시	(주)에코비즈넷	3,630	0	2021	20년
4	자가실시	신제품 개발	국내	유산균 배양액 제품 '아쿠아박타 유산'	제품 출시	(주)에코비즈넷	495	0	2021	20년
5	자가실시	신제품 개발	국내	유산균 분말 제품 '아쿠아피드업 유산'	제품 출시	(주)에코비즈넷	390	0	2021	20년
6	자가실시	신제품 개발	국내	총해 방제용 미생물 먹이 제품 'CellAct-BB'	제품 출시	(주)에코비즈넷	6,600	0	2022	20년
7	자가실시	기존 제품 업그레이드	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 'CellAct-Fermentor(FU500)'	제품 업그레이드	(주)에코비즈넷	0	108,736	2021, 2022	20년
8	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 'C-BS'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0	18,595	2022	20년
9	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 'C-CAP'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
10	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 'C-LC'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
11	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 'C-LP'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
12	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 'C-MIXUP'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
13	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 'C-YE'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
14	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 'CellAct-AF'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
15	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 'CellAct-BA'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
16	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 'CellAct-BS'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
17	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 'CellAct-BT'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
18	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 'CellAct-CAP'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
19	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 'CellAct-LAB'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
20	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 'CellAct-MIXUP'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
21	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 'CellAct-YEAST'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
22	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 '아쿠아박타 비드 플러스'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
23	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 '아쿠아박타 비드 플러스'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
24	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 '아쿠아피드업 솔루션'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
25	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 '에코피드업 코어'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
26	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 '에코피드업 클린'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0		2022	20년
27	자가실시	신제품 개발	베트남	베트남 현지 CellAct 사업 '에코피드업 포어'	제품 출시	(주)에코비즈넷	0	2022	20년	

□ 매출 실적(누적)

사업화명	발생 연도	매출액		합계(천원)	산정 방법
		국내(천원)	국외(천원)		
사업화 현황의 2, 3, 4, 5번	2021, 2022	24,705	0	24,705	세금계산서 매출액
사업화 현황의 7번	2022	0	108,736	108,736	수출신고필증
사업화 현황의 8 ~ 27번	2022	0	18,595	18,595	수출신고필증
합계		24,705	127,331	152,036	

□ 사업화 계획 및 무역 수지 개선 효과

성과					
사업화 계획	사업화 소요기간(년)				
	소요예산(천원)				
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후	5년 후
		국내			
국외					
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획					
무역 수지 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후	
	수출				

□ 고용 창출

순번	사업화명	사업화 업체	고용창출 인원(명)			합계
			2020년	2021년	2022년	
1	CellAct	(주)에코비즈넷	1(92년 남)	2 (96년 여, 98년 남)	3 (94년 여, 96년 남, 97년 남)	6(청년 6인)
2	-	(재)농축산용미생물 산업육성지원센터		1(85년 남)		1
합계			1	3	3	7(청년 6인)

□ 고용 효과

고용 효과	구분		고용 효과(명)
	개발 전	개발 후	
		연구인력	
		생산인력	
		연구인력	
		생산인력	

□ 비용 절감(누적)

순번	사업화명	발생연도	산정 방법	비용 절감액(천원)
합계				

□ 산업 지원(기술지도)

순번	내용	기간	참석 대상	장소	인원

기술 무역

(단위: 천원)

번호	계약 연월	계약 기술명	계약 업체명	계약업체 국가	기 징수액	총 계약액	해당 연도 징수액	향후 예정액	수출/수입

[사회적 성과]

법령 반영

번호	구분 (법률/시행령)	활용 구분 (제정/개정)	명 칭	해당 조항	시행일	관리 부처	제정/개정 내용

정책활용 내용

번호	구분 (제안/채택)	정책명	관련 기관 (담당 부서)	활용 연도	채택 내용

설계 기준/설명서(시방서)/지침/안내서에 반영

번호	구분 (설계 기준/설명서/지침/안내서)	활용 구분 (신규/개선)	설계 기준/설명서/지침/안내서 명칭	반영일	반영 내용

전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황											
			학위별				성별		지역별					
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타	
1	위탁기관 연구인력 양성	2020			1		1		1					

산업 기술 인력 양성

번호	프로그램명	프로그램 내용	교육 기관	교육 개최 횟수	총 교육 시간	총 교육 인원

다른 국가연구개발사업에의 활용

번호	중앙행정기관명	사업명	연구개발과제명	연구책임자	연구개발비

국제화 협력성과

번호	구분 (유치/파견)	기간	국가	학위	전공	내용

홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일

포상 및 수상 실적

번호	종류	포상명	포상 내용	포상 대상	포상일	포상 기관

[인프라 성과]

□ 연구시설·장비

구축기관	연구시설/ 연구장비명	규격 (모델명)	개발여부 (○/×)	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록여부	연구시설·장비 종합정보시스템* 등록번호	구축일자 (YY.MM.DD)	구축비용 (천원)	비고 (설치 장소)

[그 밖의 성과]

- 2021년 1월 베트남 출장 성과
  - 베트남 현지 쇼룸(미생물 배양 시스템) 구축
  - 한국-베트남 미생물 기술교류 포럼 개최 & 달랏 사업설명회 개최
  - 2022년도 전시박람회 2건 참여
  - MOU 체결 5건
  - 베트남 바이어로부터 미생물 배양기 20대 구매의향서 취득(약 8억원)
  - 베트남 바이어로부터 미생물 배양기 2대 구매확약서 취득(약 1.3억원)
  - 유력 바이어 15개 업체 발굴

2) 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○ 특허출원 5건	○ 특허출원 5건	○ 100
○ 특허등록 1건	○ 특허등록 0건	○ 0
○ 기술실시 1건	○ 기술실시 7건	○ 700
○ 기술료 5백만원	○ 기술료 0백만원	○ 0
○ 수출액 500백만원	○ 수출액 127백만원	○ 25
○ 고용창출 3명	○ 고용창출 7명	○ 230
○ SCI 논문 1건 등재	○ SCI 논문 0건 등재	○ 0
○ 비SCI 논문 1건 등재	○ 비SCI 논문 1건 등재	○ 100
○ 학술발표 2건	○ 학술발표 2건	○ 100
○ 인력양성 1명	○ 인력양성 1명	○ 100
	○ 국내매출 24백만원	○ 추가 성과

## 4. 목표 미달 시 원인분석

### 1) 목표 미달 원인(사유) 자체분석 내용

- 특허등록 1건 미달
  - 2021년과 2022년도 출원 건들의 경우 행정적인 절차인 우선심사(비용 발생)를 신청하지 않아 아직까지 특허청의 1차 심사 대기 중에 있음
- 기술료 5백만원 미달
  - 특허등록 전으로 기술이전을 할 수 없는 상황
  - 기술 실시 건은 모두 이번 과제를 통해 개발한 제품에 대한 실시 건으로 모두 자체실시하여 기술료는 발생하지 않음
- 수출액 500백만원 미달
  - 기존 제품의 베트남 맞춤형 업그레이드 제품인 CellAct 배양기에 대한 매출은 발생하였으나, CellAct 배양키트 제품은 베트남 제품등록 절차의 오랜 기간과 복잡성에 따라 과제 종료시점에 이루어졌음
  - 이에 따라 배양키트 제품에 대한 매출이 저조함
- SCI 논문 등재 1건 미달
  - Development of a Cost-Effective Culture Medium for Mass Production of *Bacillus velezensis* KPI-1)의 journal 선정이 지체되어 연구기간 내 등록 불가

### 2) 자체 보완활동

- 특허등록 1건 미달
  - 특허청의 심사 결과 대기 후 등록 절차 추진
- 기술료 5백만원 미달
  - 관련 분야의 업체 대상 기술설명회 추진 및 특허 등록 후 기술이전 실시
- 수출액 500백만원 미달
  - 과업기간 내 수출확약서 2건 체결(9.3억원 수준)
  - 베트남 지사, 유력바이어와 기관의 MOU건, 전시박람회를 통한 확보 바이어를 활용한 사업화 활동
  - 베트남 성공사례를 경험으로 타 국가의 유력 바이어 발굴
  - 현재 과업기간 내 페루, 에콰도르 바이어 발굴 완료

<p><b>1) Phang Rang 스토어</b></p> <p>→ 수산양식 스토어 4월 2호점 개설</p> <p>→ 12월 등록 완료예정</p> <p>20개 제품 홍보</p>	<p><b>2) Can Tho 쇼룸</b></p> <p>→ Macrolife 배양실 구축 계약 체결: USD 238,000</p> <p>→ Hau Giang 성 수도작 협동조합 협력모델 구축 협의</p>	
<p><b>3) Hanoi 쇼룸</b></p> <p>→ Cao Bang성의 DACE 사 유기농 고추재배 실증 성공에 따른 CellAct도입 협의</p> <p>→ Cao Bang 성 유기농업화 프로젝트(한국형 농업기술센터 구축) 참여 기회 확보</p> <p>→ 2024년 KOICA 사업 참여 확정</p> <p>→ Rang Son 성 미생물 배양실 구축 협의 중</p>		
<p><b>4) Da Lat 쇼룸</b></p> <p>→ 중부고원(Ram Dong 성) 시설재배 농가 실증 진행</p> <p>→ Da Lat Flower Park 호수 수질관리사업 계약 체결 예정: USD 290,000(2023. 05)</p> <p>→ Dalat지역 친환경 농업 협력을 위해 Sunfood사와 MOU체결(2022. 12. 22)</p>		

그림. 베트남 전역 4개 쇼룸 및 스토어 개설

- 
- SCI 논문 등재 1건 미달
    - 과업 기간 부족의 사유로 미달된 만큼 연구종료 후 성과로 등록 추진
- 

### 3) 연구개발 과정의 성실성

---

- 과제수행기간(2020~2023) 동안 COVID-19의 제약(비대면) 속에서도 연구목표 달성을 위하여
    - 베트남 현지 실증시험이 가능하도록 시제품 생산시설을 구축
    - 베트남 실증시험 주체와 주 1회 웨비나 실시, 현지 실증시험 11건 완료, 베트남 제품 등록 20건 완료
    - 연구개발성과의 사업화 활동: 사업모델 베트남 현지 설명회 개최, 한국-베트남 미생물 기술교류 포럼 개최 및 협회 발족, 베트남 현지 쇼룸 구축 2곳(NCFT, Sunfood), 베트남 현지 등록 제품의 스토어 개설 (DL Group), 베트남 까오방성 개척(DACE 기업 실증시험), 베트남 차 협회(HTC)와의 MOU 체결, 박람회 부스 참여 2회(Agritechnica Asia, 국제컨터농업박람회)를 통한 MOU 3건 체결
-

## 5. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

정액기술료 납부 예정

## 6. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

< 연구개발성과 활용계획표 >

구분		연구개발 종료 후 5년 이내				
		2023	2024	2025	2026	2027
국외논문	SCIE	1				
	비SCIE					
국내논문	SCIE	1				
	비SCIE					
특허출원	국내		1		1	
	국외					
특허등록	국내	1	4		1	
	국외					
인력양성	학사					
	석사					
	박사					
사업화	시제품개발					
	상품출시					
	기술이전					
	공정개발					
	매출액(단위 : 천원)	1,000,000	1,500,000	2,000,000	3,000,000	5,000,000
	기술료(단위 : 천원)	정액기술료 납부				

### < 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
1.	1) 자체평가의견서
	2) 연구성과 활용계획서



## 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농식품수출비즈니스전략모델구축사업 신시장개척지원모델 연구개발과제 최종보고서이다.
2. 이 연구개발내용을 대외적으로 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부(전문기관: 농림식품기술기획평가원)에서 시행한 농식품수출비즈니스전략모델구축사업의 결과임을 밝혀야 한다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 된다.