

발간등록번호

11-1543000-002210-01

기존 친환경 유용미생물의 대량 보급을 위한 기술개발 최종보고서

2018. 03. 29.

주관연구기관 / 강원대학교 산학협력단 1세부
협동연구기관 / 강원대학교 산학협력단 2세부
강원대학교 산학협력단 3세부
에코드림

농 립 축 산 식 품 부

2. 제출문

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “기존 친환경 유용미생물의 대량 보급을 위한 기술개발”
(개발기간 : 2014. 12. 19 ~ 2017. 12.18)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018 . 03 . 29 .

주관연구기관명 : 강원대학교 산학협력단
협동연구기관명 : 강원대학교 산학협력단
강원대학교 산학협력단
참여기관명 : 에코드림

주관연구책임자 : 강원대학교 정천순
협동연구책임자 : 강원대학교 조세열
강원대학교 허장현
참여기관책임자 : 에코드림 민용원

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의
합니다.

3. 보고서 요약서

보고서 요약서

과제고유번호	314086-3	해당단계 연구기간	3년	단계구분	일반, 기초	
연구사업명	단위사업	농식품기술개발사업				
	사업명					
연구과제명	대과제명	기존 친환경 유용미생물의 대량 보급을 위한 기술개발				
	세부과제명					
연구책임자	정천순	해당단계 참여 연구원 수	총: 9 명 내부: 6 명 외부: 3 명	해당단계 연구개발비	정부: 76,400천원 민간: 23,600천원 계: 100,000천원	
		총연구기간 참여 연구원 수	총: 10 명 내부: 7 명 외부: 3 명	총연구개발비	정부: 229,200천원 민간: 70,800천원 계: 300,000천원	
	조세열	해당단계 참여 연구원 수	총: 4 명 내부: 4 명 외부: 0 명	해당단계 연구개발비	정부: 50,000천원 민간: 0 천원 계: 50,000천원	
		총연구기간 참여 연구원 수	총: 11 명 내부: 10 명 외부: 1 명	총연구개발비	정부: 150,000천원 민간: 0 천원 계: 150,000천원	
	허장현	해당단계 참여 연구원 수	총: 6 명 내부: 6 명 외부: 0 명	해당단계 연구개발비	정부: 50,000천원 민간: 0 천원 계: 50,000천원	
		총연구기간 참여 연구원 수	총: 12 명 내부: 12 명 외부: 0 명	총연구개발비	정부: 150,000천원 민간: 0 천원 계: 150,000천원	
	연구기관명 및 소속부서명	강원대학교 산학협력단			참여기업명 에코드림	
	위탁연구	연구기관명: 에코드림			연구책임자: 민용원	
	요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)				보고서 면수	

4. 국문 요약문

		코드번호	D-01
<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>※ 연구의 목적</p> <ul style="list-style-type: none"> - 현재 보급되고 있는 기존 친환경 농업 유용미생물의 선발 및 대량 생산 시스템 개발 - 강원도 시·군 농업기술센터 미생물 실무자 대상 유용미생물 대량 배양법 교육 및 컨설팅 - 친환경농업 실천 농업인 대상 유용미생물의 특성과 활용방법, 친환경농산물 인증 교육 및 컨설팅 - 유용미생물 효과 검정을 위한 현장 포장 및 작물 선정 과 작물별 최적 사용법 개발 - 유용미생물에 대한 안정성 및 안전성 분석 - 강원도 18개 시·군 대상 유용미생물 보급 및 핸드북 작성을 통한 보급 체계 구축 및 강원도 네트워크 구축 <p>※ 연구개발내용</p> <p>1 세부과제 : 기존 친환경 농업 유용미생물 대량 배양 시스템 개발과 생물학적 특성분석 및 보급 체계 구축 (강원대학교 친환경농업연구센터 센터장 정천순)</p> <ul style="list-style-type: none"> - 현재 보급되고 있는 기존 친환경 농업 유용미생물의 선발 - 친환경 농업 유용미생물의 대량 생산 시스템 개발 - 작물생육 및 토양개량용 친환경 농업 유용미생물의 센터 내에 효능 검정 - 친환경 농업 유용미생물제, 복합미생물제, 응용미생물제에 대한 안정성 및 안전성 분석 <p>2 세부과제 : 친환경 유용미생물제의 효능 검정 및 사용법 확립 (강원대학교 조세열)</p> <ul style="list-style-type: none"> - 지자체와의 협력으로 친환경 농업 유용미생물 활용을 위한 현장 포장 및 작물 선정 - 친환경 농업 유용미생물의 포장 단위 효과 검정 - 친환경 농업 유용미생물의 최적 사용법 확립 - 친환경 농업 유용미생물 투여에 따른 토양 내 미생물 생태변화 조사 - 강원도 18개 시·군 대상 친환경 농업 유용미생물 보급 및 핸드북 작성 		

	<p>3 세부과제 : 강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용미생물/친환경농산물인증 관련 교육 및 기술지도 (강원대학교 허장현)</p> <ul style="list-style-type: none"> - 강원도 18개 시·군 농업기술센터 미생물 실무자 대상 교육 및 컨설팅 - 친환경농업을 수행하고 있는 농업경영인 대상 유용미생물의 특성과 활용방법 교육 및 컨설팅 - 국립농업과학원, 대학교, 미생물 구축센터 등 소속 전문가들을 초청하여 교육 및 컨설팅 진행 - 친환경농산물인증관련 교육 실시 - 교육 및 컨설팅을 통하여 SNS를 구축하고 강원도 유용미생물의 보급 체계 및 강원도 유용 미생물 네트워크 구축 				
연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> - 강원대학교 친환경농업연구센터의 자립화 - 친환경 농업 관련 정부 예산을 효과적이고 경제적으로 소비 및 운영 가능하도록 유도 - 활발한 연구를 통한 농생명과학산업의 발달과 일자리 창출 및 경제적 가치창출 - 관련 논문, 특허, 연구 기술 등의 원천기술 확보 및 보급 				
연구개발성과의 활용계획 (기대효과)	<ul style="list-style-type: none"> - 유용미생물의 지속적인 연구 및 품질관리로 지자체 소속 미생물 배양소의 활성화와 효율성 증대 - 미생물 공급 단가를 감소시키고 무상공급을 통한 농업인들의 경제적 부담 감소 및 경쟁력 강화 - 미생물제 보급 활성화를 통한 농업 현장의 친환경화에 기여 - 강원도 네트워크 구축과 산·학·연의 유기적인 협력을 통하여 지속적인 기술 보급과 농가교육을 진행하며 이를 통해 친환경 농산물의 안정적인 생산과 친환경 농법 개발에 기여 				
중심어 (5개 이내)	지속가능한 친환경농업	유용 미생물	균주선발	미생물대량배양	효과검정

5. 영문 요약문

< SUMMARY >

		코드번호	D-02
Purpose& Contents	<p>※ Purpose</p> <ul style="list-style-type: none"> - Selection of existing micro-organisms for eco-friendly agriculture and development of mass production system - Targeted Microorganism Mass Cultivation Training and Consultancy for microorganism Practitioners in Kangwon Province Agricultural Technology Center - Practice of environment-friendly farming Characteristics and utilization method of beneficial microorganisms for farmers, education and consultancy regarding environment-friendly agricultural products certification - Selection of beneficial microorganisms based on on-site evaluation of different crops and development of optimal usage method for each crop - Stability and safety analysis of useful microorganisms - Establishment of dissemination system through dissemination of useful microorganisms and preparation of handbook; and construction of network in Kangwon province among 18 cities and counties 		
	<p>※ Contents</p> <p>1 Detailed task : Development of a mass culture system to use useful microorganisms for eco-friendly agriculture and analysis and supply of biological characteristics</p> <ul style="list-style-type: none"> - Selection of existing micro-organisms for eco-friendly agriculture which is currently being distributed - Development of mass production system of microorganisms for eco-friendly agriculture - Efficacy test of friendly agricultural microorganisms in the centre for crop growth and soil improvement - Stability and safety analysis of environment-friendly agricultural microorganisms, complex microorganisms and applied microorganisms <p>2 Detailed task: Establishment of test method for efficacy and use of environment friendly microorganisms</p> <ul style="list-style-type: none"> - On-site evaluation and crop selection for environment-friendly agricultural microorganisms utilization in collaboration with local governments - Effectiveness test of eco-friendly agricultural microorganisms - Establishment of optimal use of environmentally friendly agricultural microorganisms - Investigation of microbial ecological changes in soil due to microbial application of environmentally friendly agriculture - Dissemination of eco-friendly agricultural microorganisms and handbooks targeting Kangwon province 18 cities and counties 		

Purpose& Contents	<p>3 Detailed task: Training and technical guidance on microbial / environment friendly agricultural products certification for each city / county agricultural technology center in Kangwon Province and environment friendly farmers</p> <ul style="list-style-type: none"> - Training and consulting for microorganism practitioners in 18 cities and counties at agricultural technology centers in Kangwon Province - Characteristics and application methods of useful microorganisms for agricultural managers who are carrying out eco-friendly agriculture Education and consulting - Conduct training and consulting for invited experts from the National Academy of Agricultural Sciences, Universities, and Microbiological Construction Center - Conduct education on environment friendly agricultural products certification - Establish SNS through education and consultancy, supply microorganisms for Kangwon province and build microbial network for Kangwon province 				
Results	<ul style="list-style-type: none"> - Kangwon National University eco-friendly agricultural research center - Encourage eco-friendly agriculture-related government budgets to be consumed and operated effectively and economically - Development of science-based agricultural industry through vigorous research, job creation and economic value creation - Acquisition and dissemination of original technologies and related papers, patents, and research technologies 				
Expected Contribution	<ul style="list-style-type: none"> - Continuous study of useful microorganisms and quality management to Increase activation and efficiency of microorganism culture station - Reduce the cost of microbial supply and reduce the economic burden of farmers through free supply and strengthen competitiveness - Contribution to eco-friendliness of agriculture field through activation of microbial supply - Through Kangwon province network construction and organic cooperation between industry, academia, and province, we continue to promote technology and farmers' education, thereby contributing to the stable production of eco-friendly agricultural products and the development of eco-friendly farming methods. 				
Keywords	Sustainable eco-friendly agriculture	Useful microorganism	Strain selection	Mass culture of microorganisms	Effectiveness test

6. 영문목차

< CONTENTS >

Chapter 1. Outline of Research and Development Project	14
Section 1. Necessity of Research and Development	14
Section 2. Problems and solutions for production and dissemination of environmentally friendly microorganisms	15
Section 3. Purpose and Scope of R&D	17
Chapter 2. Domestic and Overseas Technology Development Status	20
Section 1. Mass culture technology of agricultural technology centers of present condition	28
Section 2. A problem with field conditions and strain activity, contamination, strains(type) used in agricultural technology centers.	28
Chapter 3. Retrievals and Results	36
Section 1. Development of a mass culture system for existing micro-organisms and development of biological characteristics analysis and dissemination system	36
1. Selection of microorganisms for eco-friendly agriculture	49
A. Analysis of photosynthetic bacterial culture liquid samples	49
2. Basal growth characteristics of identified photosynthetic bacteria (Rhodobacter spaeroides)	61
3. Comparison of the growth characteristics of photosynthetic bacteria by medium composition	68
Section 2. Development of mass production system of selected microorganisms for eco-friendly agriculture	93
1. Development of high concentration culture technology	93
2. Mass production and application of photosynthetic bacteria by high concentration culture method	108
A. Establishment of high-concentration culture on the 1.5-ton pilot-scale and field application	108
B. Establishment of high-concentration culture on 2-tone pilot-scale and field application ..	112
C. Final concentration of 5 ton scale final experimental conditions such as culture conditions an optimized protocol	114
D. Cost reduction effect by high concentration culture of the photosynthetic bacteria	118
E. Each strains (Bacillus, enzyme, Rhodobacter, lactic acid bacteria) for final concentration culture and optimized culture	119
F. Each strains (Bacillus, enzyme, Rhodobacter, lactic acid bacteria) for the maximization for usability, price competition, preservation function.	121

Section 3. Evaluation of Soil Improvement Effectiveness and Stability Analysis on Environmentally Friendly Agricultural Microorganisms	123
1. Verification of the effect of high photosynthetic bacteria and general photosynthetic bacteria	123
A. Effectiveness (ineffectiveness) verification experiments	123
B. Cultivation test of lettuce using foliar application of photosynthetic bacteria.....	128
 Section 4. Evaluation of efficacy of eco-friendly agricultural microorganisms in the center for crop growth and soil improvement	132
1. Growth test at the center greenhouse in pots using selected photosynthetic bacteria of each city and county in Gangwon Province	132
A. Cucumber	133
B. Pepper	136
C. Lettuce	140
D. Bok choy	142
E. Curled mustard	144
F. Kale	146
2. Growth test at the center greenhouse in pots using selected photosynthetic bacteria of each city and county in Gangwon Province	149
A. Pimento	149
B. Pepper	156
C. Lettuce	163
D. Bok choy	166
E. Curled mustard	168
F. Kale	170
 Section 5. Evaluation of the efficacy of environmentally friendly agricultural microorganisms in the field	172
1. Field application	172
A. Cucumber	172
B. Pepper	176
C. Tomato	184
D. Paprika	187
E. Pimento	192
2. Investigation of microbial ecological changes in soil by Bacillus subtilis administration	194
 Section 6. Environmental friendly agricultural microorganisms dissemination and handbook preparation	196
1. Dissemination of culture medium	196
2. Dissemination of photosynthetic culture medium	198
3. Feeding yeast and lactic acid bacteria culture	201
4. Develop eco-friendly yeast fertilizer and prepare handbook	204

Section 7. Educational progress on characteristics and utilization methods of environmentally friendly agricultural microorganisms	207
1. Farmers in Kangwon province cities and counties need to be educated about Eco-Friendly practices and eco-friendly agricultural products certification	207
2. Contents and method of environmental friendly agricultural products certification for each city / county in Kangwon province agricultural technology center and environment-friendly farmers	208
3. Establishment of SNS with farmers of environment-friendly agricultural farms in Kangwon Province	215
4. Achievement and promotion through eco-friendly agricultural products education	216
Chapter 4. Achievement of goal and contribution to related field	218
Chapter 5. Use plan of research result etc.	220
Chapter 6. Overseas science and technology information collected during the research process	240
Chapter 7. Security rating of R & D achievements	241
Chapter 8. Research facilities registered in the National Science and Technology Comprehensive Information System	242
Chapter 9. Implementation of safety measures in laboratories according to performance of R & D tasks	243
Chapter 10. Research achievements of R & D project	248
Chapter 11. Miscellaneous	249
Chapter 12. References	250

7. 본문목차

< 목 차 >

제 1장 연구개발과제의개요	14
제 1절 연구개발의 필요성	14
제 2절 친환경 유용미생물 생산과 보급에서의 문제점과 해결 방안	15
제 3절 연구 개발의 목적과 범위	17
제 2장 국내외 기술개발 현황	20
제 1절. 농업기술센터에서의 대량 배양 기술현황	28
제 2절. 농업기술센터에서 사용되는 균주 활성화, 오염, 균주 (분양정보) 및 현장조건에서 문제점	28
제 3장 연구수행 내용 및 결과	36
제 1절 기존 친환경농업 유용미생물 대량 배양 시스템 개발과 생물학적 특성 분석 및 보급 체계 구축	36
1. 기존 친환경 농업 유용미생물 선발	49
가. 각 시·군 농업기술센터 광합성세균 배양액 시료분석	49
2. 동정된 광합성세균 (<i>Rhodobacter spaeroides</i>)의 기초 생육 특성	61
3. 배지조성에 따른 광합성세균의 생육 특성 비교	68
제 2절 선발된 친환경 농업 유용미생물의 대량생산시스템 개발	93
1. 고농도대량배양기술 개발	93
2. 고농도배양법에 의한 광합성세균의 대량생산 및 현장적용	108
가. 1.5톤 pilot-scale에서의 고농도배양 확립 및 현장적용	108
나. 5톤 pilot-scale에서의 고농도배양 확립 및 현장적용	112
다. 5톤 규모의 최종 고농도 배양 실험조건 등 최종 균주 종별 최적화된 Protocol	114
라. 광합성 세균의 고농도 배양을 통한 비용절감효과	118
마. 균주별 (바실러스, 효소, 광합성, 유산균) 최종 고농도 배양, 최적화 방법	119
바. 균주별 (바실러스, 효소, 광합성, 유산균) 사용편리성, 가격경쟁, 보존능 극대화 방안	121
제 3절 친환경 농업 유용미생물에 대한 토양 개량효과 검정 및 안정성 분석	123
1. 고농도 광합성세균과 일반 광합성세균의 효과 검증	123
가. 비료효과(비효)에 대한 포장실험	123
나. 광합성균 엽면시비를 이용한 상추 재배시험	128

제 4절 작물생육 및 토양개량용 친환경 농업 유용미생물의 센터 내에서의 효능 검정	132
1. 강원도 각 시·군의 광합성균을 이용한 센터 내 온실 포트 생육시험	132
가. 오이	133
나. 고추	136
다. 상추	140
라. 청경채	142
마. 청겨자	144
바. 케일	146
2. 강원도 각 시·군의 선별된 광합성균을 이용한 센터 내 온실 포트 생육시험	149
가. 피망	149
나. 고추	156
다. 청상추	163
라. 청경채	166
마. 청겨자	168
바. 케일	170
제 5절 친환경 농업 유용미생물 현장 포장에서의 효능검정	172
1. 현장 적용	172
가. 오이	172
나. 고추	176
다. 토마토	184
라. 파프리카	187
마. 피망	192
2. 고초균 투여에 따른 토양 내 미생물 생태변화 조사	194
제 6절 친환경 농업 유용미생물 보급 및 핸드북 작성	196
1. 고초균 배양액 보급	196
2. 광합성균 배양액 보급	198
3. 효모균, 유산균 배양액 보급	201
2. 친환경 효모 비료 개발 및 핸드북 작성	204
제 7절 친환경 농업 유용미생물의 특성과 활용방법에 대한 교육 진행	207
1. 강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 친환경농산물인증관련 교육의 필요성	207
2. 강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 친환경농산물인증관련 교육 내용 및 방법	208
3. 강원도 친환경농업 농민들과의 SNS 구축	215
4. 친환경 농산물 교육을 통한 성과 및 홍보	216
제 4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	218
제 5장 연구결과의 활용계획 등	220

제 6장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	240
제 7장 연구개발성과의 보안등급	241
제 8장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비현황	242
제 9장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적	243
제 10장 연구개발과제의 대표적 연구실적	248
제 11장 기타사항	249
제 12장 참고문헌	250

제 1장 연구개발과제의 개요

제 1절 연구개발의 필요성

코드번호	D-03-01
------	---------

- 유용미생물을 활용한 분야는 농업뿐만 아니라 축산업과 수산업에 이르기 까지 다양하게 활용될 수 있다.

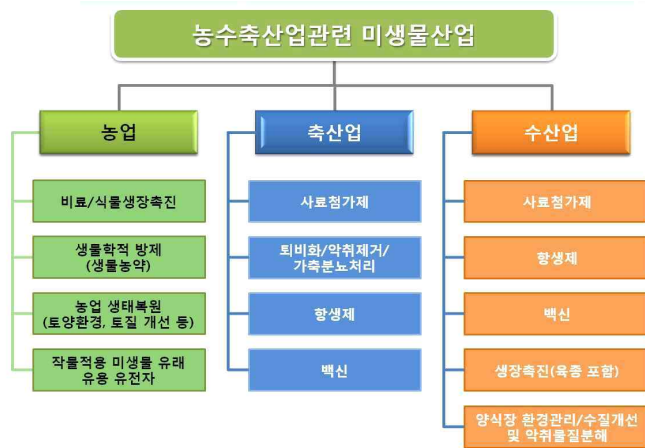


그림 1. 친환경 유용미생물의 농수축산업에서 활용성

- 축산업의 경우 가축의 장내에 유익미생물은 유지시키고 병원성 미생물을 억제시킬 수 있는 것으로 알려져 있으며, 그 결과 면역력을 증가시켜 질병 억제와 건강상태를 개선한다.

- 또한 가축의 사료 섭취량 증가와 영양소의 이용효율을 개선시켜 축산물의 품질을 향상시키며 축산업에서 문제시 되는 악취제거 및 분뇨분해 등에서도 미생물이 이용되어 축사 환경을 개선하는데 활용되고 있다.

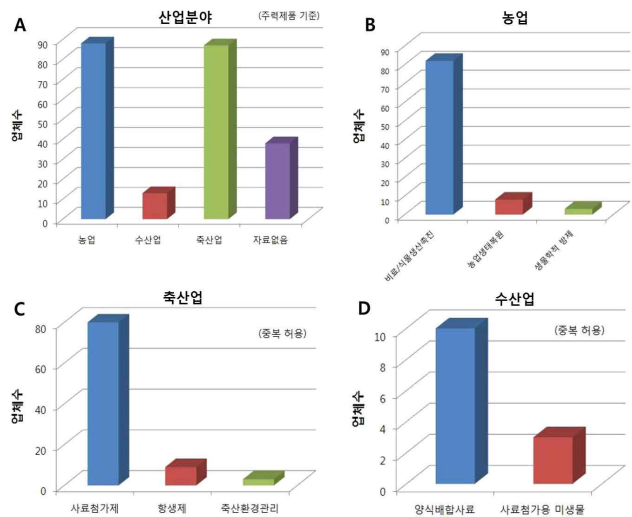


그림 2. 농수축산업 미생물산업체의 업종별 분포

A : 농수축산업 업종분포, B : 농업활용분야,
C : 축산업활용분야, D : 수산업활용분야

- 농수축산업에서 유용미생물의 활용이 가장 활발한 분야는 농업과 축산업 부문이지만, 대부분 비료대체나 사료첨가제용으로 사용하고 있다(그림 2).

☞ 유용미생물을 농업분야에서는 식물병해충 방제를 위한 다양한 분야에 적용하고 축산분야에서는 환경 개선에 사용할 수 있는 지속적인 연구와 개발이 필요함

제 2절. 친환경 유용미생물 생산과 보급에서의 문제점과 해결 방안

▷ 주요 문제점

- 유용미생물이 지닌 다양한 기능과 효율성으로 각 지자체에서는 미생물 배양소를 설립하여 미생물을 생산하고 직접 친환경 농가에 보급하고 있으며 그림 7과 같이 2011년 기준 95개의 미생물 배양소가 설립되어 있다(농촌진흥청, 2011).
- 유용미생물의 중요성을 인식하여 농촌진흥청과 국립식품부에서 지난 수 년 동안 다양한 유용미생물을 개발하였으나 현장에 보급된 사례는 매우 적다.

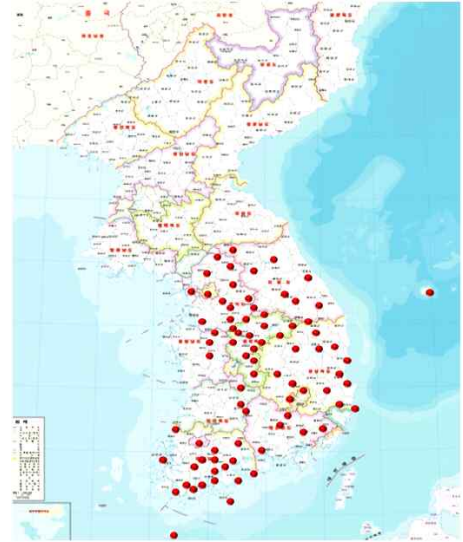


그림 3. 미생물 배양소가 설치된 지자체

- 2009년 농촌진흥청에서 발간한 “농업미생물 현장 활용 매뉴얼”에서는 미생물배양시설의 경우 8시간 또는 12시간 교대 작업이 필요하므로 최소 4명 이상의 전문 인력이 필요하다고 하였다.
- 그러나 대부분의 경우 1-2명의 비전문가가 지자체의 미생물 배양소를 운영하고 있으며, 생산된 미생물의 품질관리 및 문제 발생 시 신속히 대처할 수 있는 체계가 부재하고, 독립적인 유용미생물 연구 및 배양시스템 개발이 불가능한 실정이다.
- 또한 미생물 배양소 담당자의 인사이동이 있을 경우 지속적인 기술 이전과 배양 기술 교육을 처음부터 시작해야한다는 어려움이 있다.
- 대부분의 미생물 배양소는 전문 배지공급업체 또는 미생물배양기 설치 업체로부터 종균과 배지를 구매하여 농가에 보급하고 있으며, 공급형태는 수의계약 또는 입찰을 통하여 구입하고 있으나 배지 kg당 단가가 고가인 경우가 많다.
- 미생물 배지 판매상으로부터 구매한 미생물은 그 기능과 특성이 불분명하다.

▷ 해결 방안

- 현장에서의 애로사항을 해결하기 위해서는 미생물 배양소에 상주하는 미생물관련 전문 지도자의 전문성 확보와 기술보급이 중요하다.
- 또한, 미생물 배양소에서 생산된 미생물은 농업, 축산 및 수산업 등 다양하게 이용될 수 있도록 각 분야의 전문성이 복합적으로 요구된다.
- 비료공정규격에는 총 47종의 미생물이 토양개량 및 작물생육효과가 있는 것으로 보고되어 있으나 실제 미생물 배양소에 보급되는 균의 수는 4~6종으로 극히 제한되어 있는 실정이다. 때문에 향후 다양한 미생물이 공급될 수 있도록 보급체계의 개선이 필요하다.
- 따라서 품질관리 및 효과가 검증된 미생물 생산 프로토콜(미생물 종균 및 배양법을 포함)을 개발하여 각 지자체 미생물 배양소에 20-30% 저렴한 가격에 지속적으로 보급이 가능한 종합적 시스템 구축이 필요한 실정이다.



그림 4. 유용미생물의 생산의 문제점과 해결방안

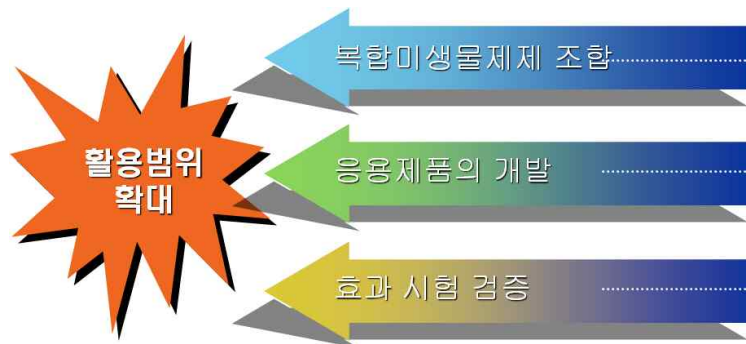


그림 5. 유용미생물의 활용의 문제점과 해결방안

제 3절. 연구개발의 목적과 범위

1. 연구 개발의 목적

코드번호	D-03-02
<ul style="list-style-type: none">○ 기존 친환경 농업 유용미생물의 대량 생산 시스템 개발○ 지자체에 구축되어 있는 친환경 농업 유용미생물 대량 생산 시스템 교육○ Lab scale의 작물생육 유용미생물의 효능 검정 후 중규모, 대규모 포장시험○ 친환경 농업 유용미생물제에 대한 안정성 및 안전성 분석○ 강원도 내 시·군 농업기술센터 미생물 실무자들 대상 유용미생물의 특성과 배양법 교육 및 컨설팅○ 친환경농업 실천 농업경영인 대상 친환경 농업 유용미생물의 작물별 활용방법에 대한 교육 진행○ 친환경 농업 유용미생물 현장 포장에서의 효능 검정 및 최적 사용법 개발○ 미생물 투여에 따른 토양 내 미생물 생태변화 조사○ 친환경농산물인증관련 교육 실시○ 친환경 농업 유용미생물 보급 및 핸드북 작성을 통한 보급 체계 구축 및 강원도 네트워크 구축	

※ 연구개발내용

1 세부과제 : 기존 친환경 농업 유용미생물 대량 배양 시스템 개발과 생물학적 특성분석 및 보급 체계 구축

(강원대학교 친환경농업연구센터 센터장 정천순)

- 현재 보급되고 있는 기존 친환경 농업 유용미생물의 선발
- 친환경 농업 유용미생물의 대량 생산 시스템 개발
- 작물생육 및 토양개량용 친환경 농업 유용미생물의 센터 내에 효능 검정
- 친환경 농업 유용미생물제, 복합미생물제, 응용미생물제에 대한 안정성 및 안전성 분석

2 세부과제 : 친환경 유용미생물제의 효능 검정 및 사용법 확립

(강원대학교 조세열)

- 지자체와의 협력으로 친환경 농업 유용미생물 활용을 위한 현장 포장 및 작물 선정
- 친환경 농업 유용미생물의 포장 단위 효과 검정
- 친환경 농업 유용미생물의 최적 사용법 확립
- 친환경 농업 유용미생물 투여에 따른 토양 내 미생물 생태변화 조사
- 강원도 18개 시·군 대상 친환경 농업 유용미생물 보급 및 핸드북 작성

3 세부과제 : 강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용 미생물/친환경농산물인증 관련 교육 및 기술지도

(강원대학교 허장현)

- 강원도 18개 시·군 농업기술센터 미생물 실무자 대상 교육 및 컨설팅
- 친환경농업을 수행하고 있는 농업경영인 대상 유용미생물의 특성과 활용방법 교육 및 컨설팅
- 국립농업과학원, 대학교, 미생물 구축센터 등 소속 전문가들을 초청하여 교육 및 컨설팅 진행
- 친환경농산물인증관련 교육 실시
- 교육 및 컨설팅을 통하여 SNS를 구축하고 강원도 유용미생물의 보급 체계 및 강원도 유용 미생물 네트워크 구축

2. 연구개발의 범위

		코드번호	D-03-03
연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용	
선발된 광합성균의 현장 사용 파악	강원도 18개 시·군기술센터 방문 현황 파악	강원도 18개 시·군을 방문하여 담당자 및 농민과 대면하여 활발히 사용하고 있는 광합성균들을 파악	
현장에서 사용되는 광합성균의 특성분석	강원도 18개 시·군기술센터 방문 확보 요청	강원도 18개 시·군에서 사용되는 광합성균 확보 및 자료 확보	
선발된 광합성균들의 특성에 맞는 실험실 및 1톤 규모 고품질/비용 절감 배양법 개발 시도	생산 균주의 안정성 검토, 배지 최적화를 위한 원료 선발, 고농도배양법(배양조건 확립)	희석도말평판법이용 3반복 처리하여 QC 확인 및 고배율 현미경으로 지속적인 모니터링, 미생물의 밀도를 확인 하였음.	
본 센터에 구축되어 있는 5톤 규모의 배양기를 활용 고품질/비용 절감 배양법 개발 시도	5톤 규모의 최적 균주 배지 선발 및 타 기술센터와 다게 본 센터만 가지고 있는 고농도 배양법 개발 및 배양시 지속적인 모니터링법 개발	타 기술센터와 다르게 5톤 규모 배양시 지속적인 QC 및 모니터링 법 개발하여 고순도/밀도의 타겟 균 배양	
18개 시·군에서 현장에서 사용되는 광합성균주대상 포트 실험	균주의 특성 및 균주 종을 파악 후 대표적 4종 선발	18개 시·군에서 확보하고 있는 광합성 균주 특성 및 종 파악	
포장시험 장소 선발	선발된 포장시험에 대한 토양 미생물을 조사	포장시험 장소에서 토양 미생물을 분리하여 16S 리보솜 수준 DNA sequencing을 통한 포장 주요 미생물 조사	
18개 시·군에서 사용 되고 있는 광합성균 중에서 4종을 대상으로 대규모 포장 시험	대상 작물 선정 및 대규모 포장생육 시험	광합성균 4종과 대조, 무처리로 구획을 난괴법으로 나눈 뒤 토마토, 파프리카 각각 30개체씩 한 처리구로 하여 3반복 처리하고 주 1회 4주간 시험	
시험광합성균에 대한 생육 및 작물생산량 파악	미생물 처리 된 대상작물의 생산량 파악	대상작물의 잎의 크기, 밀도, 작물의 길이, 생산량 등 파악	
광합성균 투여에 따른 토양 내 미생물 생태변화가 미생물에 미치는 영향조사	토양분석	일정 구역의 토양시료를 시험 시작 전과 시험 종료일에 채취하여 토양 시료 1g 희석도말평판법을 이용하여 미생물을 순수분리한 뒤 DNA sequencing 분석을 통해 변화된 미생물 상을 조사	
교육/컨설팅/SNS 등	실무자들인 18개 시·군 기술센터 실무자/농민 대상 100회 이상의 교육 및 컨설팅	본 센터에서는 교육과 컨설팅에 주력하여 작년 대비 실무자 대상 교육 실시 및 현장 방문 농민 대상 컨설팅/SNS 구축을 확대 할 예정임.	

제 2장 국내외 기술개발 현황

코드번호	D-04
------	------

<< 연구기반 시설 및 내용 >>

○ 친환경농업연구센터

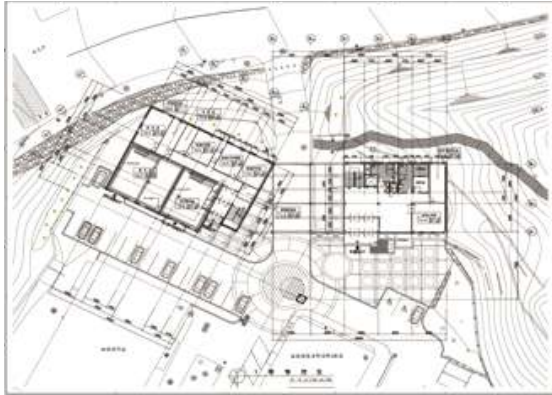


<강원대학교 친환경농업연구센터>

- 위치 : 강원도 춘천시 효자 2동 강원대학교 316동
- 사업비 : 114억원 (농림수산식품부 57억원, 강원도 19억원, 강원대 38억원)
- 부지면적 : 4,595m² (지하 1층, 지상 5층)
- 기능 : ① 친환경 유용 자원을 발굴하여 농축산업인들에게 보급
② 친환경 농업 실천 농가에 대한 애로사항 해결 및 기술 지원



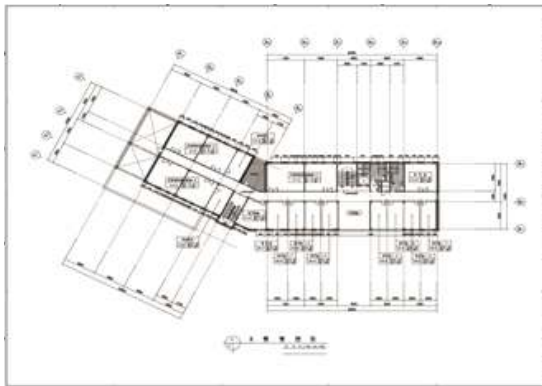
● 강원대학교 친환경농업연구센터 내부



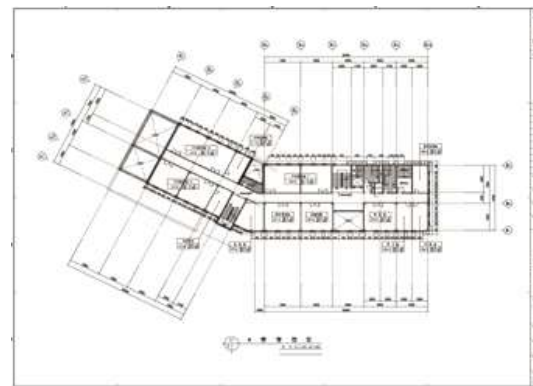
친환경 유용미생물 배양 및 배지 생산 시설
(1층)



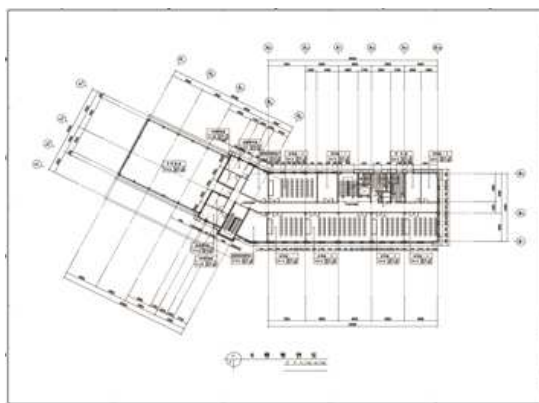
친환경 유용미생물 연구 및 품질관리 시설
(2층)



친환경 농업 연구 및 농업교육단체 기관
(3층)



친환경농산물안전성센터
(4층)



친환경 농업인 및 지자체 공무원 교육시설(5층)

☞ 친환경농업연구센터는 사업 계획 및 건축 단계에서부터 친환경유용미생물을 보급하고 품질관리 및 교육을 위한 시설을 고려하여 설계되었으며, 현재 관련 업무를 수행하고 있음

○ 친환경 농업 유용 미생물 배지 연구 및 대량배양 시스템 구축



대형 발효기 설치

<200L 발효기, 2000L 발효기, 5000L 발효기, 2000L Mixing Tank>



동결건조기



건식분쇄기



분말혼합기



분말포장실링기

<분말형 친환경 유용미생물 포장 라인>



원심분리기



액상포장기system(충진기, 라벨기, 캡핑기)



지게차

<액상형 친환경 유용미생물 포장 라인>

☞ 친환경 유용미생물 대량 배양 시스템 구축 연구 및 액상, 고체상 미생물 종균, 배지 공급 시설 완비

○ 친환경 농업 유용 미생물 배지 개발, 균주 개발, 생물학적 특성 및 이화학적 특성 분석 시험 수행을 위한 시설

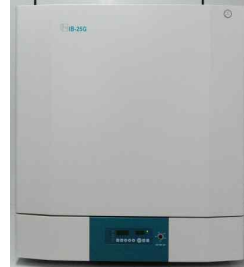
<연구시설 및 장비>



7L jar 발효기



클린벤치



향온기



PCR



향온수조기



진탕배양기



이미지분석기



멸균기



실체현미경



형광현미경



RT PCR



원심분리기



LC/MS/MS



HPLC



GC/MS/MS



GLC

☞ 친환경 유용미생물의 이화학적 특성 분석 및 배양 특성, 효율분석, 품질관리를 위한 기반 연구시설 완비

<생물활성 시험 시설>



<강원대학교 친환경농업연구센터 내 유리온실(5F) 및 비닐하우스>

친환경농업연구센터에 생물학적 특성 연구를 수행할 수 있는 시설이 설치되어 있으며 친환경 유용미생물 배양에 대한 신속한 활성 시험이 가능함



<강원대학교 농업생명과학대학 부속농장>

☞ 총 면적 87,813m² 에 실험용 답, 전, 하우스, 과수원, 축사 시설 보유하여 토양개량, 작물 생육, 병해충 관리, 축사환경개선과 관련한 모든 시험을 수행할 수 있음

○ 농촌진흥청으로부터 농약 및 비료 시험 연구기관으로 지정

<p>(제 2008-4 호)</p> <p style="text-align: center;">비료 시험연구기관 지정서</p> <p>①상호 또는 법인명: 강원대학교 친환경농산물안전성센터</p> <p>②대표자: 허장현 (주민등록번호: 580401-12****)</p> <p>③주소: 강원도 춘천시 효자2동 192-1 농업생명과학대학 2호관 417호</p> <p>④지정항목: ■ 이화학 분석 [지정일: 2008. 3. 10.] ■ 제해 시험 [지정일: 2008. 3. 10.] ■ 미생물 분석 [지정일: 2008. 11. 6.]</p> <p>미약관리법 시행규칙 제3조 제2항의 규정에 의하여 비료 시험연구기관으로 지정되었음을 증명함.</p> <p style="text-align: right;">2009년 11월 6일</p> <p style="text-align: center;">농 촌 진 흥 청</p>	<p style="text-align: center;">친환경유기농자재 목록공시 시험연구기관 지정서</p> <p>상호 또는 법인명: 강원대학교 친환경농산물안전성센터</p> <p>대표자: 허장현 (주민등록번호: 580401-1260219)</p> <p>주소: 강원도 춘천시 효자2동 192-1 농업생명과학대학 2호관 417호</p> <p>지정항목: ■ 미생물동정시험연구기관 [2007.12.28]</p> <p>농촌진흥청 고시 「친환경유기농자재 목록공시 시험연구기관 지정」 제2조의 규정에 의하여 친환경유기농자재 목록공시 시험연구기관으로 지정되었음을 증명함.</p> <p style="text-align: right;">2007. 12. 31.</p> <p style="text-align: center;">농 촌 진 흥 청</p>	<p style="text-align: center;">농약등의 시험연구기관 지정서</p> <p>시 험 기 관: 강원대학교 친환경농산물안전성센터</p> <p>대 표 자: 허 장 현</p> <p>사업자등록번호: 221-82-11395</p> <p>소 계 지: 강원도 춘천시 효자2동 강원대학교 1 농업생명과학대학 2호관 417호</p> <p>지정시험분야: ■ 이화학분석 [지정일: 2012. 01. 06.] ■ 약효·약해 [지정일: 2012. 01. 06.] ■ 잔류성 [지정일: 2007. 10. 01.]</p> <p>「농약관리법」 시행령 제4조의 규정에 의하여 농약 등의 시험연구기관으로 지정되었음을 증명함.</p> <p style="text-align: right;">2012년 1월 6일</p> <p style="text-align: center;">농 촌 진 흥 청</p>
--	--	--

독성시험을 제외하고 농약 및 비료, 친환경유기농자재 개발 및 등록을 위한 모든 연구 시험 기관 지정이 되어 있음

○ 친환경 유용 미생물 및 친환경유기농자재 관련 분석 실적

시험 분석 항목	기간	시험 및 분석 건수
미생물 생균수 분석	2009 - 현재	417
오염미생물분석	2009 - 현재	267
미생물동정분석	2007 - 현재	90
비효시험	2008 - 현재	96
비해시험	2010 - 현재	29
약효시험	2008 - 현재	204
약해시험	2011 - 현재	31



○ 친환경 유용 미생물 보급체계 구축 실적

- 가평군 미생물 배양센터 시스템 구축
- 홍천군 미생물 배양센터 시스템 구축
- 양구군 미생물 배양센터 시스템 구축
- 정선군 미생물 배양센터 시스템 구축
- 화천 농협 미생물배양센터 발효 자문



▶ 내 용

1단계 : 시생산 지원

- 시생산을 통한 친환경 미생물의 배양 효율 점검

2단계 : 배양기술 지원

- 배양 시스템의 최적화 기술 적용
- 균주, 배지, 배양조건(배양온도, 통기량, 교반속도, 배양시간) 구축



3단계 : 생산관리 지원

- 활성 포자 및 생균수 검정 분석
- 작업공정 및 품질관리 표준화

4단계 : 품질관리 지원

- 공인 분석 성적서 발급(품질 관리)
- 친환경미생물 제제의 안정성 분석



5단계 : 연구개발 지원

- 기존 유용미생물 이외의 기능성 미생물을 선발하여 적용 확대
- 공동연구를 통한 제형 다양화

6단계 : 농가 실증사업 검증

- 미생물제 효과 조사
- 필요시 추가 미생물 선발 및 교체

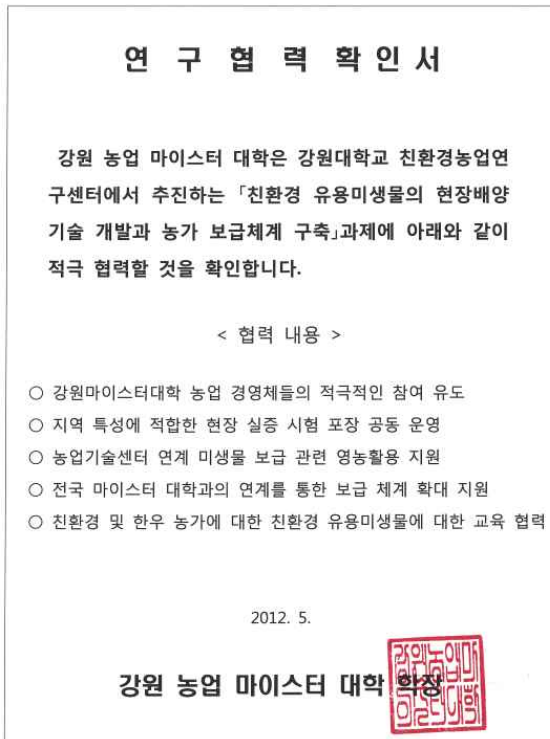


▶ 유용 미생물 보급

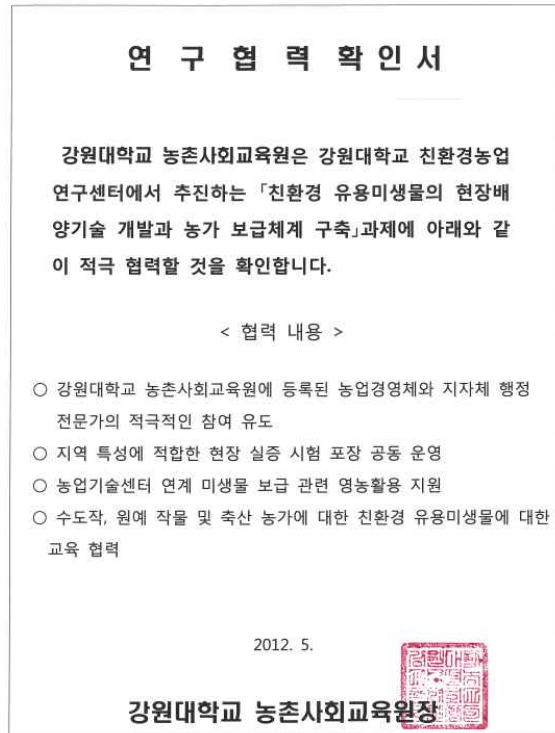
- Bacillus subtilis
- Lactobacillus fermentum
- Saccharomyces cervious
- Rhodobacter capsulatus

○ 농업교육 단체 및 지역 특성화 농업 단체와 협력 체계 구축

- ▶ 강원대학교 친환경농업연구센터에 위치한 농업마이스터 대학과 농촌사회교육원은 주관연구기관과 보급 체계 구축 및 교육 분야에서 연구협력을 체결하였음



<강원 농업마이스터 대학>



<강원대학교 농촌사회교육원>

- 또한 강원도의 다양한 농업관련 단체가 본 과제를 통하여 유용미생물에 대한 보급과 기술에 대한 정보 공유를 희망하고 과제 협력을 약속하였음
 - ▶ 춘천 원예 작물 연구회 (회원 40인, 토마토, 오이, 호박)
 - ▶ 강릉 고랭지 무배추 생산자 연합회 (회원 35명, 무, 배추, 감자)
 - ▶ 가평 수도작 연구회
 - ▶ 홍천 인삼 농협
 - ▶ 정선 황기 연구회
 - ▶ 고성 피망 작목반

제 1절. 농업기술센터에서의 대량배양 기술현황

- 현재 도내 농업기술센터의 대량배양은 1회 1,000 l 까지 생산할 수 있는 규모를 보유하고 있으며, 가장 작은 규모는 500 l로 설치되어 있다. 하지만 배양하는 방법은 지자체별로 다르다. 각 군중별로 배양하는 생산공정은 효모균, 고초균은 호기적인 조건, 광합성과 유산균은 미호기적으로 배양하는 형태로 배양조건으로 진행되고 있다. 그 외에 교반속도나 공기량, 온도조건은 재료를 구매하는 업체에서 제시되는 조건, 현장조건, 보급일정에 맞추어 상황에 따라 배양하고 있는 상황이다. 따라서 과제를 수행하면서 확인된 결과중 고초균 배양의 경우 크게 두가지 형태로 대량배양을 하고 있다. 첫 번째는 고초균 특성상 발포가 발생하므로 발포가 나지 않도록 최대한 교반속도와 공기량을 낮추고 24시간 배양하는 방법, 두 번째는 정상적으로 폼을 자동으로 기계적으로 자동조절하면서 포자까지 자연발아될 때까지 배양하는 방법이다. 도내 18시군 농업기술센터중 배양시설을 보유한 센터중 두 번째의 방법으로 대량배양하는 곳은 2곳외에는 없는 상황이다. 현재 농업기술센터에서 배양하는 고초균, 유산균, 효모균, 광합성세균중 농업적으로 가장 활용이 높은 고초균과 광합성세균에 대한 대량배양기술은 미비하다. 광합성세균의 경우는 중균배양을 할 수 있는 도내 농업기술센터는 삼척시농업기술센터외에는 대량배양기술이 없어 실제 본과제에서 이를 보완하기 대량배양방법을 제시하였다.

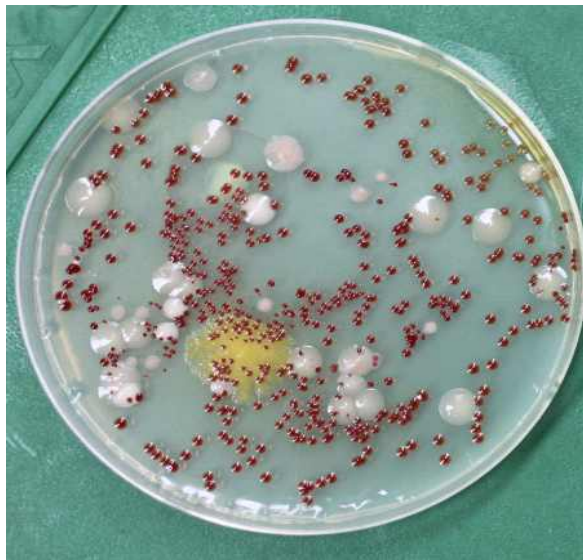
제 2절. 농업기술센터에서 사용되는 균주 활성화, 오염, 균주(분양정보) 및 현장조건에서의 문제점

(1) 공급 미생물의 현황

- 현재 도내 농업기술센터에서 활용하는 미생물은 재료 구입시 업체로부터 제공받고 있으며, 최근 기능성 미생물, 즉 항균활성이나 효소활성이 어느 정도 있는 지 확인된 균주를 사용하는 경우는 미비하다. 최근에 농촌진흥청에서 분양하는 특허균주를 지자체와 계약을 하고 일정기간동안 무상으로 제공하고 있어 곰팡이병에 효과가 있는 검증된 미생물을 일부 사용하고 있는 실정이다. 기존에 많은 곳은 연간 200~400톤 정도 공급하는 지자체의 경우 공급일정에 맞추어 생산하는 실정이어서 생산된 품질관리나 정상적인 생산공정을 진행할 수 없는 상황이다. 이러한 부분은 전문적인 인력이 부족하고 세분화되어 업무를 진행할 수 없는 여건이라는 환경을 고려한다면 당연한 결과로 보여진다. 지자체에서 중균을 요청할 경우 배지 공급업체 한국미생물보전센터(KCCM), 한국생명공학연구원(KRIBB)으로부터 균주를 공급받는 실정이다. 이러한 균주는 연구목적으로 분양하는 경우이며, 이에 대한 활성화검정이나 효소 활성능에 대한 자료가 없는 상황이다. 별도로 지자체별로 활성화검정을 하지 않으면 확인할 방법이 없다. 이러한 문제점을 극복하기 위해 일부 지자체에서는 대학으로부터 일부 중균을 공급받거나, 진흥청으로부터 특허균주를 제공받으므로써 활성화검정된 미생물을 활용하여 농가에 보급하고 있다. 그 외 제조사에서 활성화검정된 중균을 지자체에 공급되어지는 경우도 있다.

(2) 균주 오염 점검 현황

- 미생물배양공정에 있어서 가장 중요한 부분은 배양과정에서 발생하는 오염문제가 있다. 배양액의 오염은 몇가지 원인이 존재한다. 첫 번째는 배양기 관리상태, 두 번째는 종균배양중 발생하는 오염문제, 세 번째는 stock균주의 오염문제가 있을 수 있다. 이러한 경우 모두 점검대상이지만 배양과정에서 오염되는 문제를 정확히 파악을 하는 경우는 많지 않다. 오염이 발생되면 제일 먼저 배지와 설비의 문제로 단정을 짓고 담당자나 계약직 실무자들은 점검하는 것이 일반적이다. 하지만 각 공정별로 체크리스트를 만들어 원인을 파악하는 것이 미생물 배양실을 운영해야 하지만 그렇지 못한 것이 현실이다. 다음은 오염이 발생했던 사례이다. 광합성균을 배양 후 최종시료를 검경한 후 희석한 다음 고체배지에 도말을 하여 단일 균인지 다른균이 보이는지 점검의뢰를 받고 품질검사를 실시한 사례이다.



광합성배양을 도말법에 의한 분석

- 도말법에 의한 분석한 결과 위의 그림에서와 같이 광합성배양액에는 광합성세균외에 다른 세균들이 다수 검출됨을 확인할 수 있었다. 이는 배양기의 문제로 오염되었거나 종균상의 문제라고 예측할 수 있다. 광합성세균의 배양은 대다수가 종균을 공급업체로부터 일반용기에 포장된 종균을 접종하기 때문이다. 종균을 자체배양을 할 수 있는 여력이나 종균관리 기술이 없기 때문에 발생하는 문제이다. 이러한 오염의 원인을 확인하기 위하여 무균테스트를 제안 하였으며, 오염의 원인을 파악할 수 있는 무균테스트 protocol을 제시하였다.
- LB agar 배지에서 종균을 접종하지 않은 멸균된 무균시료를 채취하여 agar배지에 시료를 100 μ l을 loading한 후 30 $^{\circ}$ C incubator에서 48시간 배양하여 콜로니가 형성되는지를 확인하였다. 또한 멸균된 액상배지에 무균시료를 접종한 후 30 $^{\circ}$ C에서 shaking incubator에서 48시간 배양하여 오염미생물이 발생하는지를 확인하였다.

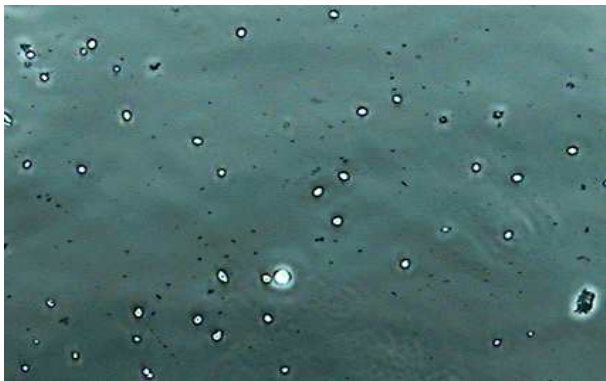


공배지를 활용한 무균테스트
(광합성세균용배양기, 고초균용배양기)

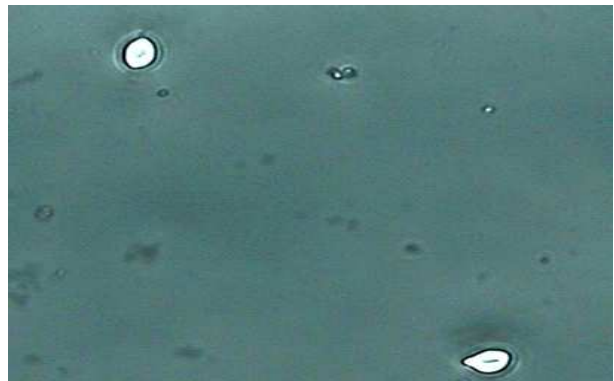


LB broth 배지

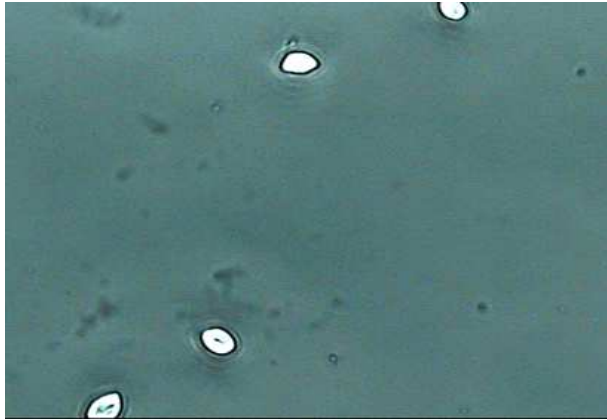
- 위의 액체배지와 고체배지에 무균시료를 접종하여 오염여부를 확인한 결과 오염균이 나타나지 않은 것으로 보아 배양기에서는 문제가 없음을 확인되었고, 이는 종균에 오염균이 있음이 예측할 수 있다. 이러한 방법으로 고초균 배양기에 배지를 멸균 후 무균시료를 취하여 검경을 통하여 배지상태를 확인하였다. 미살균의 경우 오염균이 보이기 때문에 이를 확인하기 위함이다.



배지 멸균 후 무균시료 검경결과 1



배지 멸균 후 무균시료 검경결과 2

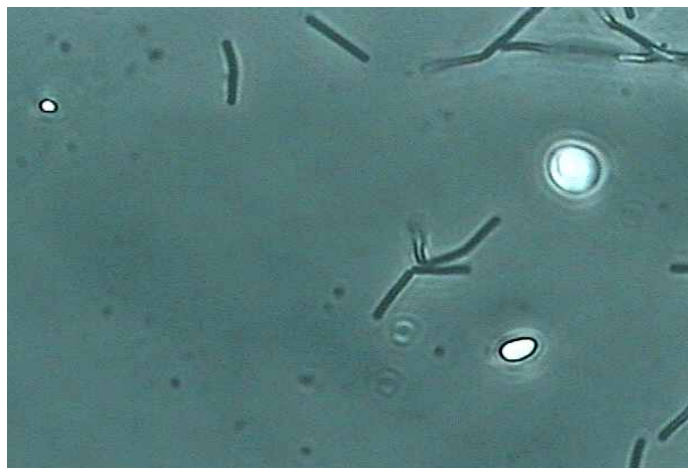


배지 멸균 후 무균시료 검경결과 3



멸균 후 무균시료 배양 후 검경 결과 (접종 후)

- 오른쪽 사진에서는 무균시료를 배양한 후 시료를 검경한 결과 균을 접종하지 않았지만 고초균이 배양되는 것을 확인되었다. 이는 배양기에서 배지를 멸균을 하였지만 정상적으로 배지가 멸균되지 않음을 확인되었고, 이 결과를 토대로 배양기에 이상이 있음을 확인할 수 있었다. 또한 멸균 직후 보이는 배지에서 효모를 관찰되어 고체배지에 도달한 후 관찰하였으나 콜로니는 나타나지 않았지만 사용되는 배지 품질에 따라서 오염원으로 나타날 수 있음이 확인되었다. 종균관리시 품질이 떨어지는 배지를 사용할 경우 오염가능성이 있음을 예측되며 균주 stock시 protocol화시 주의할 필요가 있다.



고초균 배양시 효모균 보임(오염) (접종 후)

(3) 보급 미생물에 대한 효과

- 지자체별 보급되는 미생물에 대한 효과는 정확히 데이터화 되어 있지 않다. 도내 유용미생물 배양 담당자가 농가보급 후 작물생육 효과(생물학적 변화, 화학적 변화, 물리적 변화)에 대한 분석은 별도의 업무로 진행되어야 할 부분이다. 각 지자체별로 효과에 대한 사례는 확인할 수 없었다. 일반적인 효과가 좋다는 평가나 증수 효과가 있다는 정도 수준으로 확인되었다.

도	시군	총농가수(호)		공급농가수(호)		생산량(kg, L)		공급량(kg, L)		유무상 공급 현황			고형화시설 설치 유무	고형화시설 투입예 산(백만원)
		일반	양축	일반	양축	일반	양축	일반	양축	유상, 무 상, 병용	유상금액 (원/kg, L)	유상공급량 (kg, L)		
	계	65,004	11,936	20,852	3,456	1,752,434	705,242	1,701,325	683,179					
강원	춘천	6,604		100		26,600		23,000		유상공급	3,000원 /10리터	23,000	무	
	원주	8,322	753	10,000	1,000	140,000	130,000	130,000	120,000	무상공급			무	
	강릉	7,460	397	300	62	42,000	73,000	39,783	71,437	무상공급			무	
	삼척	3,860	710	150	38	32,000	5,000	31,000	4,000	무상공급			무	
	홍천	7,423	4,595	2,900	900	310,000	150,000	310,000	150,000	무상공급			유	
	횡성	6,979	2,764	1,101	100	160,000	35,000	146,000	34,000	유/무상 병용	1,900원(광 합성균)	800	무	
	영월	8,000		1,550	130	230,000	56,000	224,000	56,000	무상공급			무	
	정선	3,320	700	445	196	31,000	24,000	30,000	22,000	무상공급			무	
	철원	4,186	877	1,104	622	80,921	135,332	79,059	130,832	유/무상 병용	11,328,00 0원	45,312	무	
	양구	187		187		46,503		45,073		유상공급	250/1L	45,073	무	
	인제	3,425	318	1,497	160	310,000	50,000	300,000	48,000	무상공급				
	고성	2,332	425	822	67	330,000	40,000	330,000	40,000	무상공급			무	
	양양	2,906	397	696	181	13,410	6,910	13,410	6,910	무상공급			무	

도	시군	농업용		축산용		기타		*센터별 배양센터 개수	농진청 특허 특허 주요
		균주명	이용방법	균주명	이용방법	균주명	이용방법		
강원	춘천	B. subtilis	토양개량, 작물생육						없음
	원주	바실러스 서브틸리스	작물생육, 병해충방제	바실러스 서브틸리스	사료첨가, 약취제거			미설치	부
		로도박터 캡슐라티스	작물생육, 병해충방제	로도박터 캡슐라티스	사료첨가, 약취제거				부
		락토바실러스 카제이	작물생육, 병해충방제	락토바실러스 카제이	사료첨가, 약취제거				부
		사카로마이시스 세레비지에	작물생육, 병해충방제	사카로마이시스 세레비지에	사료첨가, 약취제거			8	부
		클로렐라 푸스카	작물생육, 병해충방제						여
강릉		로도박터 캡슐라타	작물생육, 병해충방제	로도박터 캡슐라타	약취제거, 환경개선				부
		바실러스 서브틸리스	작물생육, 병해충방제	바실러스 서브틸리스	사료첨가, 약취제거				부
		사카로미세스 세르비시에	작물생육, 병해충방제	사카로미세스 세르비시에	사료첨가, 음수첨가				부
		락토바실러스 프란타럼	작물생육, 병해충방제	락토바실러스 프란타럼	사료첨가, 음수첨가				부
삼척		accharomyces cerevisiae	작물생육	accharomyces cerevisiae	사료첨가			2	부
		Bacillus subtilis	작물생육, 병해충방제	Bacillus subtilis	사료첨가, 약취제거				부
		Lactobacillus fermentum	작물생육	Rhodobacter sphaeroides	약취제거				부
		Rhodobacter sphaeroides	작물생육					부	부
홍천		Cluyvera sp. CL-2	난용성 인산염가용화	Bacillus sp. NIST-1	약취제거				7
		Bacillus amyloliquefaciens. CC178	젓빛곰팡이병균 항생물질 생성						여
		Bacillus sp. YJH-051	고추 탄저병균 생육억제					부	여
횡성		Bacillus subtilis S37-2 KACC91281P	생육촉진 및 인산가용화	Rhodobacter capsulator(광합성)	약취제거, 축산사료이용				5
		+Bacillus sp.KACC 91195P	고추 탄저병에 대한 항진균효과	Saccharomyces cerevisiae(효모)	가축먹이용				부
		Bacillus subtilis S37-2 KACC91281P	생육촉진 및 인산가용화	Lactobacillus casei(유산균)	가축먹이용, 엔실리지제조				부
		+Bacillus amyloliquefaciens C178	토마토, 오이						부
		Bacillus subtilis S37-2 KACC91281P	흰가루병, 젓빛곰팡이병 예방						부
		+Bacillus amyloliquefaciens M27							부
		kluvera sp.CL-2, KACC91283P	토마토 당도증진, 토양고정, 난용성, 인산염, 가용화						여
		효모+유산균(복합균)	작물생육, 가축먹이용						부
영월		Bacillus subtilis	토양물리성 개선					1	
		Rhodobacter sphaeroides	토양물리성 개선 및 생육촉진						
		Lactobacillus plantarum	토양물리성 개선, 가축품질개선						
		Saccharomyces cerevisiae	토양물리성 개선, 가축품질개선					여	
		Lactobacillus casei	토양물리성 개선						
정선		Bacillus subtilis	작물생육, 병해충방제	Rhodobacter capsulatus	약취저감				여
		Rhodobacter capsulatus	작물생육, 토양개량	Saccharomyces cerevisiae	보조사료, 유기물분해			여	
		Saccharomyces cerevisiae	퇴비발효, 유기물분해	Lactobacillus plantarum	보조사료, 소화력향상				

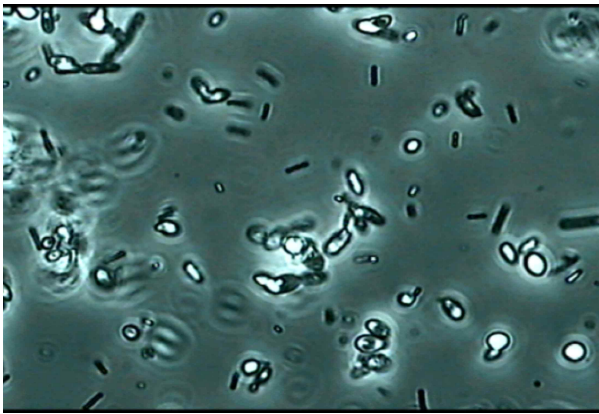
도	시군	농업용		축산용		기타		*센터별 배양센터 개수	농진청 특허 농업 농업 농업
		균주명	이용방법	균주명	이용방법	균주명	이용방법		
강원	철원	바실러스 서브틸러스 에스37-2균주	작물생육, 병해충방제	슈도모나스 스투즈제리 NIST-t균주	사료첨가, 약취제거			1	부
		슈도모나스 에스피 씨엘-1균주	작물생육, 병해충방제	슈도모나스 에스피 씨엘-1균주	사료첨가, 약취제거				부
		바실러스 아밀로리퀴파시엔스	병해충방제	바실러스 아밀로리퀴파시엔스	약취제거, 환경개선				부
양구		복합균	작물생육, 병해충방제, 토양개량	복합균	사료첨가, 약취제거				여
		광합성균	작물생육, 병해충방제, 토양개량	광합성균	사료첨가, 약취제거				여
		유산균	작물생육, 병해충방제, 토양개량	유산균	사료첨가, 약취제거				여
		고초균	작물생육, 병해충방제, 토양개량	고초균	사료첨가, 약취제거				여
		효모균	작물생육, 병해충방제, 토양개량	효모균	사료첨가, 약취제거				여
인제		EM발효액	토양개량 및 생육 촉진	EM발효액	음수 및 약취제거			5	부
		Bacillus subtilis	작물생육 및 병해예방	Rhodopseudomonas Palustris	보조사료				부
		Rhodopseudomonas Palustris	작물생육 및 약취제거						부
		Streptomyces griseus	작물생육 및 병해예방						부
고성		바실러스 서브틸러스	물에 희석 후 관주, 엽면시비, 퇴비 첨가 등	사카로마이시스 세레비시아	물에 희석 후, 축사 살포, 음수 및 사료 첨가 등			1	부
		로도박터 스파로이드	물에 희석 후 관주, 엽면시비, 퇴비 첨가 등	락토바실러스 플라타렘	물에 희석 후, 축사 살포, 음수 및 사료 첨가 등				부
		사카로마이시스 세레비시아	물에 희석 후 관주, 엽면시비, 퇴비 첨가 등						부
		락토바실러스 카제이	물에 희석 후 관주, 엽면시비, 퇴비 첨가 등						부
양양		Bacillus subtilis	작물생육, 병해충방제	Bacillus subtilis	약취제거			1	부
		Saccharomyces cerevisiae	작물생육, 병해충방제	Saccharomyces cerevisiae	약취제거				부
		Lactobacillus plantantarum	작물생육, 병해충방제	Lactobacillus plantantarum	약취제거				부
		Rhodobacter sphaeroides	작물생육, 병해충방제	Rhodobacter sphaeroides	약취제거				부

구분	투입 사업비(천원)						인력 현황(명)		
	구분	계	국비	도비	시군비	기타예산	계	무기	계약
강원	시설설치비	8,671,570	2,502,810	1,552,000	1,915,760	2,701,000	28	11	17
	재료운영비	1,976,394	12,150		1,964,244				
	인건비	574,063	0		574,063				
	기타	648,821	2,850		645,971				
춘천	시설설치비	0							
	재료운영비	0							
	인건비	0							
	기타	60,000			60,000				
원주	시설설치비	0					2	1	1
	재료운영비	102,300	12,150		90,150				
	인건비	20,374			20,374				
	기타	193,200	2,850		190,350				
강릉	시설설치비	40,000	20,000		20,000		1		1
	재료운영비	100,000			100,000				
	인건비	15,269			15,269				
	기타	23,200			23,200				
삼척	시설설치비	10,000			10,000		2	2	
	재료운영비	65,000			65,000				
	인건비	0							
	기타	60,000			60,000				
홍천	시설설치비	0					7	1	6
	재료운영비	807,100			807,100				
	인건비	197,580			197,580				
	기타	0							
횡성	시설설치비	6,753,000	2,146,000	1,552,000	354,000	2,701,000	1	1	
	재료운영비	88,950			88,950				
	인건비	29,500			29,500				
	기타	50,000			50,000				
영월	시설설치비	0					2	1	1
	재료운영비	102,000			102,000				
	인건비	41,000			41,000				
	기타	70,000			70,000				
정선	시설설치비	16,707			16,707		2	1	1
	재료운영비	46,000			46,000				
	인건비	60,000			60,000				
	기타	6,000			6,000				
철원	시설설치비	673,620	336,810		336,810		2		2
	재료운영비	243,600			243,600				
	인건비	41,178			41,178				
	기타	16,000			16,000				
양구	시설설치비	551,243			551,243		2	1	1
	재료운영비	20,000			20,000				
	인건비	38,905			38,905				
	기타	4,801			4,801				
인제	시설설치비	20,000			20,000		2	1	1
	재료운영비	121,444			121,444				
	인건비	52,567			52,567				
	기타	86,620			86,620				
고성	시설설치비	607,000			607,000		1		1
	재료운영비	163,000			163,000				
	인건비	20,500			20,500				
	기타	0							
양양	시설설치비	0					2	1	1
	재료운영비	15,000			15,000				
	인건비	16,190			16,190				
	기타	9,000			9,000				

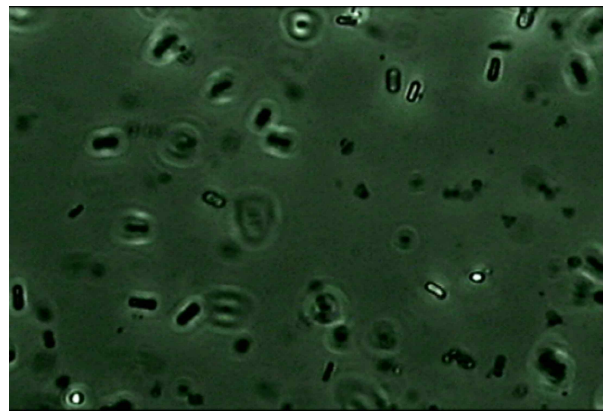
제 3장. 연구수행 내용 및 결과

1절 기존 친환경농업 유용미생물 선발과 생물학적 특성 분석 및 보급체계 구축

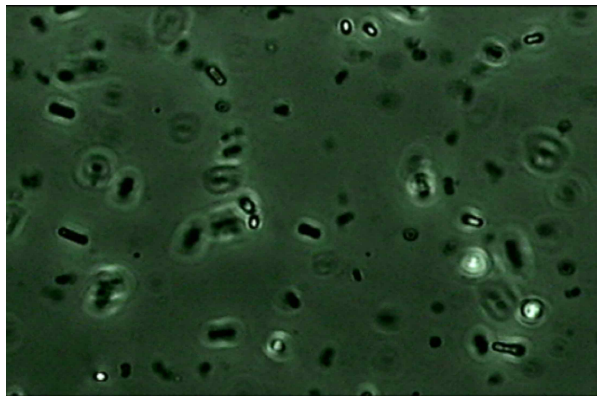
- 기존 보급되고 있는 고초균의 선발 과정중 강원도 시·군 농업기술센터로부터 분양받은 고초균배양액의 QC를 해본 결과 배양액의 밀도가 낮고 일정하지 않았음. 그 원인이 각 센터마다 각기 다른 회사에 용역을 두고 다른 배지와 배양법으로 배양액생산을 하는 것으로 파악되었음.



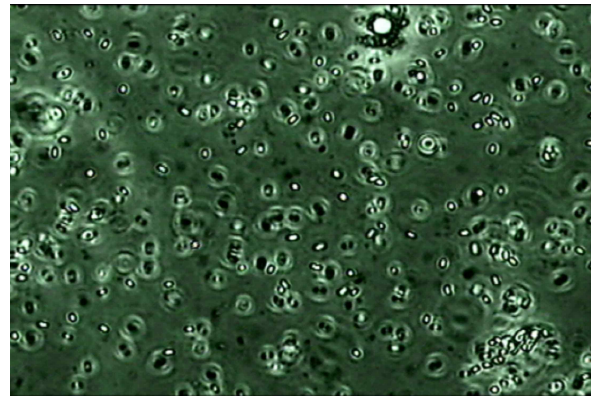
강릉시농업기술센터



양양군농업기술센터



원주시농업기술센터



황성군농업기술센터

그림 1. 각 배양 센터 고초균배양액 검경

- 본 센터에서 이러한 문제점을 해결하기 위해 시·군 미생물 배양센터에서 사용되고 있는 5종의 고초균을 선발하여 안정적으로 배양 가능한 고효율 배양 시스템을 개발
- 5종의 고초균에 대하여 다음과 같은 방법으로 효율적인 고밀도 배양법 개발

(1) 생산 균주의 안정성 검토

- 생산균주로 선발된 고초균의 안정성을 확인하고자 표. 1. LB 배지에 고초균을 0.5% 접종하고, 12시간 후 새로운 동일한 배지에 계대.

표 1. LB(Luria Bertani)

조성	함량비
Casein peptone	1%
Yeast extract	0.5%
NaCl	0.5%

(2) 배지 최적화를 위한 원료 선발

- 본 과제에서 선발된 고초균을 대량 배양 생산 시스템 개발을 위해 생산 원료를 선발함과 동시에 경제성과 효율성 검토를 병행하여 진행. 그림 2에서 원료선택의 구비조건에 대하여 구체적으로 나타내었음.
- 이를 토대로 여러 가지 원료중 최적의 탄소원과 질소원을 선발. 탄소원은 일반적으로 포도당과 같은 단당류와 설탕과 같은 이당류외에 옥수수전분, 말토스등을 사용하고 있으며, 기존 농업기술센에서 사용되는 배지의 대부분은 포도당으로 구성된 고초균배지를 사용하고 있으며, 이러한 이유로 포도당을 탄소원을 선발. 질소원의 경우는 배양공정을 안정적으로 진행하기 위하여 효모추출물을 가장 많이 사용. 따라서 본 과제에서는 표 1과 같이 여러 가지의 효모추출물중 목적에 부합되는 원료를 선발.

① 탄소원 선발

- 탄소원은 저가의 당밀을 이용하여 E.M(Effective microorganism)균을 배양할 경우 많이 사용하지만 여기서는 부적합하여 합성배지인 일반 포도당(함수 또는 무수) 또는 함수결정 포도당을 사용하거나 옥수수전분을 사용. 선발된 원료로 고초균을 배양할 경우 포도당은 생균제(관주처리용) 형태로 배양할 경우 포자형태(엽면처리 및 관주처리용)로 유도 배양하므로써 최적의 배지조건을 탐색.

- I **코서 또는 할랄 인증받은 원료 사용**
❖ **주원료** : Yeast extract, Soy peptone, Casein peptone
- II **무기염류의 경우 식품첨가물의 원료 사용**
❖ $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
Ammonium citrate, Sodium acetate
- III **유전자 변형물질(추출물 포함) 혼입 불가**
❖ **GMO-Free 또는 Non-GMO**
❖ **Animal free, melamine free**

그림 2. 사용 원료의 구비조건

② 질소원 선발

– 질소원은 일반적으로 pilot scale에서 가장 흔히 사용하는 것은 황산암모늄, 효모추출물을 많이 사용하고 있으며, pH 조절시 사용하는 암모니아수도 부분적으로 이용하고 있음. 이 과제에서 선발된 질소원은 효모추출물과 제2인산 암모늄, 황산암모늄등을 적용하여 최적의 배지조건을 탐색.

③ 무기염류

– 무기염류는 앞서 언급한 다량성분 영양소 및 미량성분 영양소를 활용하여 미생물의 생육 최적조건을 만들기 위하여 buffer의 기능을 갖는 합성배지를 선발.

(3) 대량배양기술 개발

(가) 연구방향

– 고초균의 경제적인 대량 생산을 위해서 산업용 배지의 적용 및 최적의 회수율을 위하여 최적의 배지조건을 검토하였고, 또한 배양후의 안정성을 증대하기 위한 배양공정에 대하여 검토. 아울러 대량생산을 위한 배양기술은 우선적으로 활성이 우수한 균주를 선발하고, 선발된 균주의 경제적인 최적 성장배지를 선정하는 실험을 통한 배지조성을 검토하였고, 결정된 배지조성을 가지고 플라스크 배양과 실험실 규모의 생물반응기(7L)를 이용하여 균주의 배양조건 및 포자형성조건을 검토하였음 플라스크와 7L 생물반응기에서 얻어진 배양조건과 pilot scale(500L)의 생물반응기에 적용하여 대량배양의 문제점과 차이점을 검토하였다. 또한 이를 각 지자체에 보유한 배양기에 적용 확대하여 최적의 배양공정을 수립하기 위하여 여러 방법을 모색하였고, 공정상에서 문제점을 검토하여 대량생산을 위한 효율적인 작업 공정을 수립.

(나) 배양조건 따른 효율성 검토

① 온도 최적화

- 고초균의 배양 온도의 최적 조건을 선택하기 위하여 액비 배양기에서 공기량, 교반속도의 동일한 조건하에서 배양온도를 28℃, 30℃, 35℃로 달리하여 48시간을 배양하면서 각각의 온도와 시간에 따른 O.D값을 측정하여 보았음.

배양시간	28℃	30℃	35℃
0	0.15	0.15	0.15
4	0.25	0.3	0.4
8	0.55	0.95	0.85
12	0.65	1.85	1.52
16	0.85	2.4	2.25
20	1.05	3.01	2.7
24	1.35	3.4	2.95
28	1.65	3.44	3.2
32	1.82	3.2	3.3
36	2.0	3.15	3.45
40	2.5	3.13	3.42

표 2. 배양온도에 배양 결과

- 표 2의 결과를 보았을 때 배양 효율성은 30℃ > 35℃ > 28℃의 순으로 배양시간과 O.D값을 고려하였을 때 30℃의 배양조건이 배양효율성이 좋은 것으로 나타났음. 30℃와 35℃를 비교하였을 때 최종 세포농도는 유사하지만, 전체적인 배양시간은 30℃가 가장 좋은 것으로 판단. 따라서 표 2의 결과로부터 최적 온도는 30℃로 하였음. 이 결과를 그림 3으로 나타내었음.

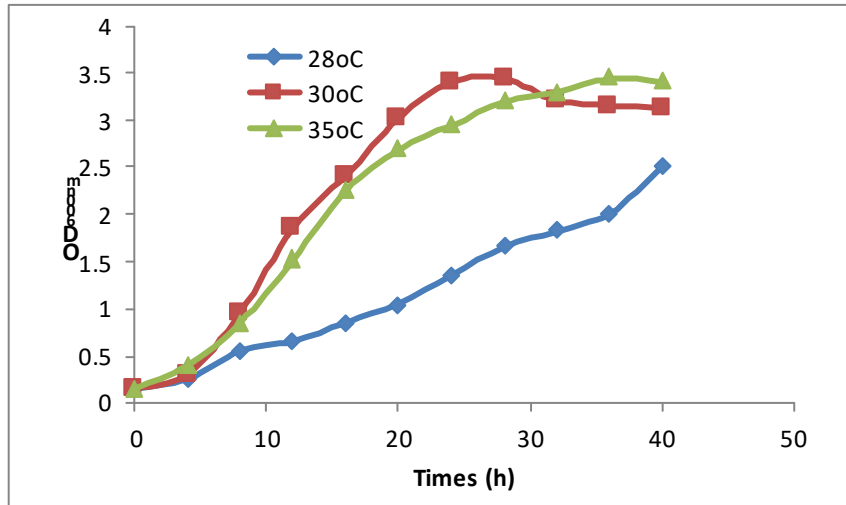


그림 3. 배양온도에 따른 O.D값의 변화

- 그림 3의 결과로 액비배양기에서 고초균의 최적온도는 30°C임을 알 수 있었음. 이 때 O.D값이 가장 높았던 시간의 배양액에서 미생물의 농도는 2.1×10^9 CFU/ml로 분석되었음.

② 교반속도의 최적화

- 고초균의 최적 배양온도는 30°C로 하였고, 통기량은 동일하게 하여 최적의 교반속도를 알아보기 위하여 액비 배양기에서 교반속도를 50rpm, 90rpm, 120rpm으로 48시간을 배양하면서 각각의 조건에서 시간에 따른 O.D값을 측정하여 보았음.

배양시간	50RPM	80RPM	120RPM
0	0.18	0.18	0.18
4	0.26	0.45	0.5
8	0.54	1.2	0.82
12	0.68	1.9	1.55
16	0.88	2.38	2.3
20	1.09	3.1	2.6
24	1.30	3.42	2.9
28	1.62	3.45	3.05
32	1.72	3.35	3.3
36	2.1	3.25	3.4
40	2.8	3.2	3.42

표 3. 교반속도에 따른 배양 결과

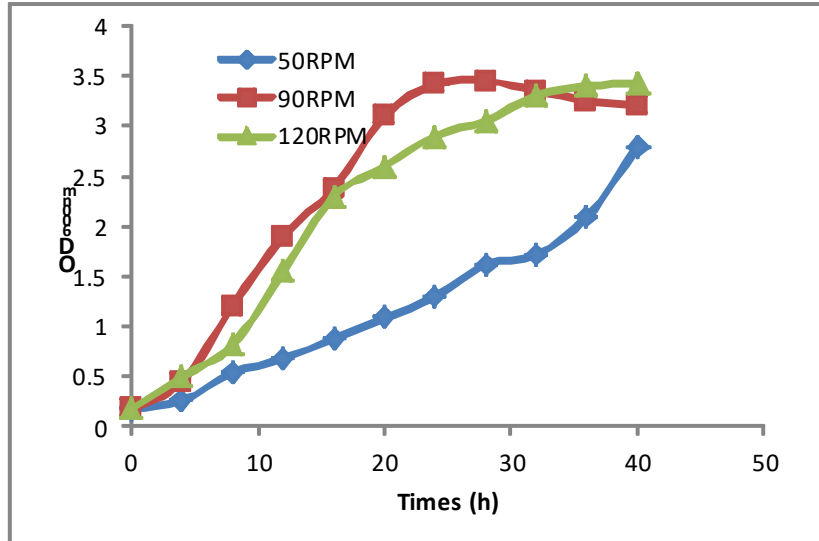


그림 4. 교반속도에 따른 O.D값의 변화

- 표 3과 그림 4의 결과에서 온도와 통기량을 동일한 조건으로 교반속도를 달리하였을 때 배양기에서의 고초균의 결과는 90RPM에서 배양할 경우 대체적으로 O.D값이 높고 배양시간이 24시간 정도 소요되는 것으로 나타났음. 따라서 최적의 배양은 90RPM으로 판단 됨.

③ 통기량의 최적화

- 통기성 박테리아이므로 고초균의 배양온도는 최적조건인 30℃, 교반속도는 90RPM으로 하고, 통기량은 조건은 0L/min, 50L/min, 100L/min으로 하고 DS-F250 액비 배양기에서 48시간을 배양하면서 각각의 조건에서 시간에 따른 O.D값을 측정하여 보았음.

배양시간	0L/min	50L/min	100L/min
0	0.2	0.2	0.2
4	0.24	0.43	0.45
8	0.34	1.25	0.82
12	0.6	1.93	1.65
16	0.8	2.4	2.25
20	1.0	3.2	2.75
24	1.20	3.45	2.92
28	1.52	3.46	3.2
32	1.7	3.4	3.41
36	2.0	3.35	3.48
40	2.5	3.25	3.4

표 4. 통기량에 따른 배양 결과

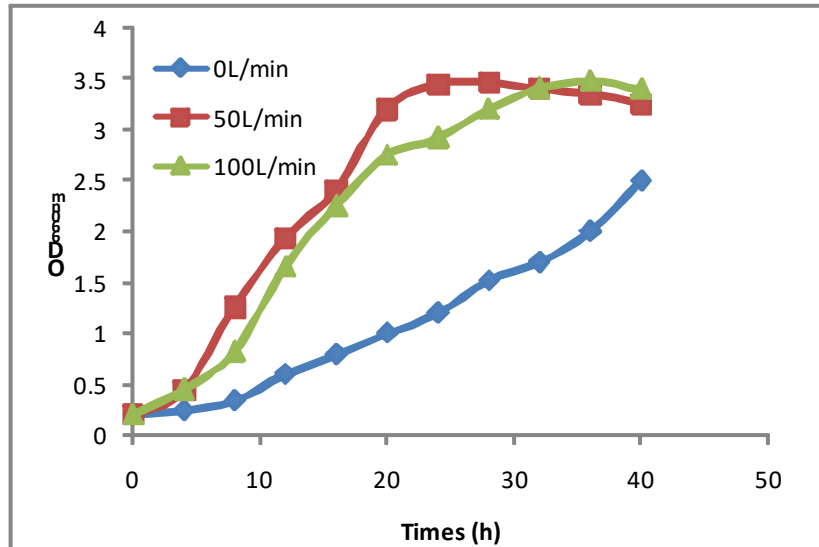


그림 5. 통기량에 따른 O.D값의 변화

- 표 4와 그림 5의 결과로 고초균은 호기적 조건으로 배양이 이루어져야 하고 최적의 조건은 50L/min으로 나타났음. 그림 5에서의 growth curve를 볼 때 교반이 되는 조건하에서 공기 주입이 이루어지지 않은 경우 고초균 생육시 DO limiting으로 정상적인 생육이 어렵다는 결과를 예측할 수 있음. 따라서 교반과 공기주입은 필수적임을 확인 할 수 있었고 액비 배양기에서 적용할 경우 통기와 교반은 배양 조건은 필수적이며, 이 조건에서의 세포의 최종 농도는 최대 $1 \times 10^9 \sim 8 \times 10^8$ CFU/ml의 세포농도로 분석되었음.

(다) 배지조건 및 조성에 따른 효율성 검토

- 탄소원과 질소원의 함량을 변화하여 자연발아의 최적의 배지조건을 확립시키므로서 안정적인 균주의 배양시스템을 개발하려는 시도

① 플라스크 배양

- 플라스크 배양시 LB agar plate에서 single colony를 LB broth에 접종하여 배양하였음. 배양된 균을 LBS broth에 2차 종균배양. 종균배양된균을 고체 배양하여 포자형성이 잘 발아하는 종균을 선발하였음.

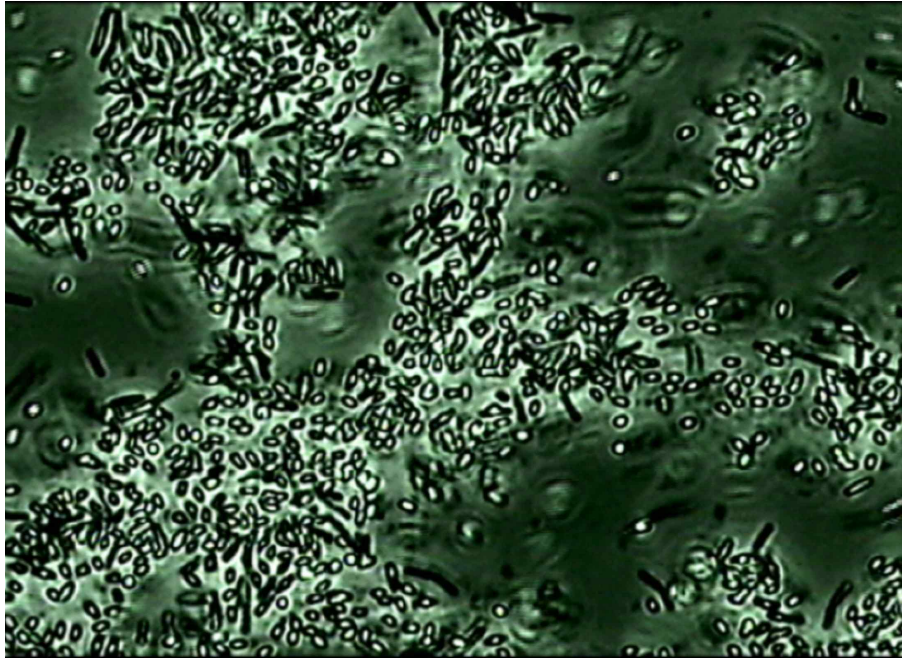


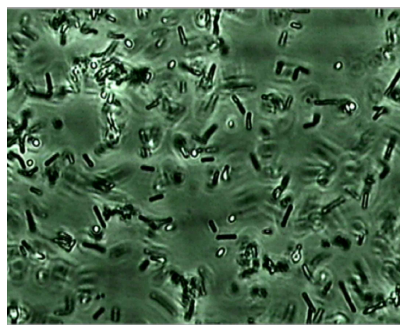
그림 6. 고초균 플레이트(포자형성)

② 자연발아 물질 검토

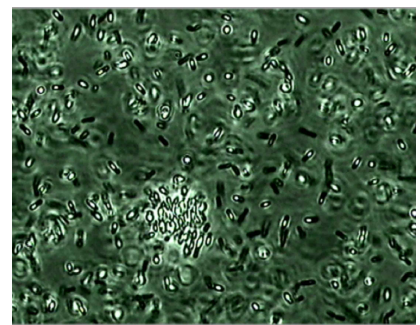
- 고초균이 포자 형성에 Mn^{2+} 를 소량($MnSO_4 - 5mg/l$) 넣으면 포자형성이 촉진되는데, 실제 배양상에서 어느 정도의 효과가 있는지 C/N 비율을 맞춘 후 플라스크 배양을 하면서 관찰해 보았음. 또한 염화칼슘의 일정농도하에서도 자연발아 촉진효과가 있어 함께 투입한 후 포자형성되는 결과를 알아보았음.



배양 12시간째



배양 24시간째



배양 36시간째

③ Lab scale에서 자연발아 조건 검토

- 선발된 종균을 jar fermentor 배양시 포자형성 유도물질인 DPA 첨가하여 배양한 결과 그림 6 처럼 상당수의 균들이 포자가 형성됨을 알 수 있었음. 배양에 대한 전반적인 profile은 그림 7에서 보여주고 있으며 배양 12시간 전후로 성장이의 둔하되는 시점에 포자형성 유도제를 첨가하여 12시간을 배양한 후 종료가 되는 공정임을 확인할 수 있었음.

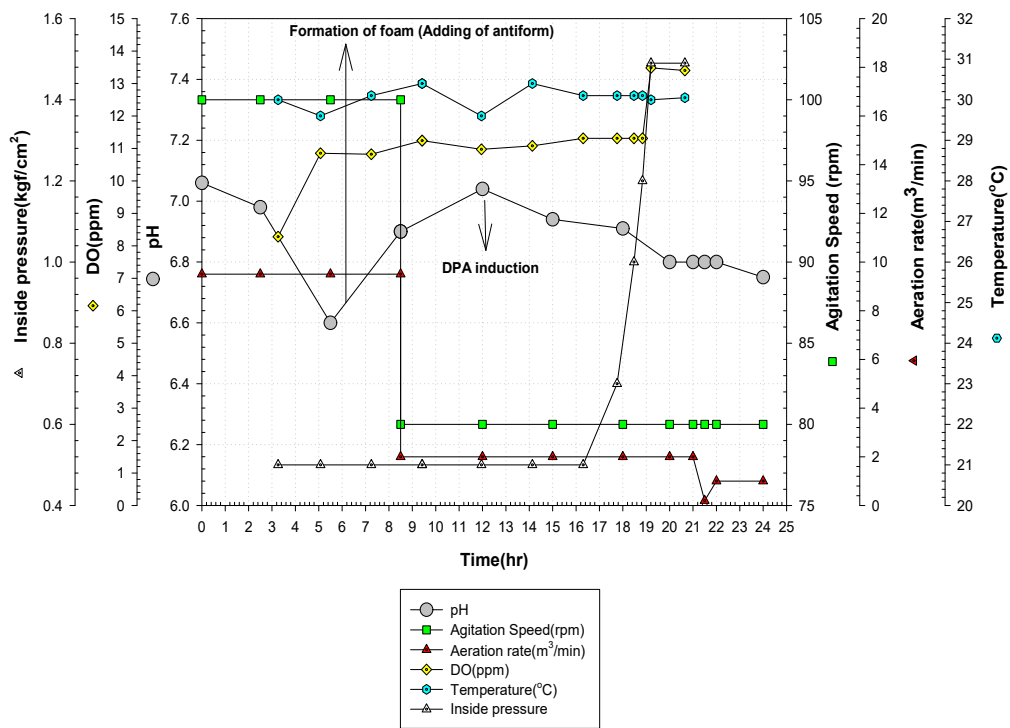


그림 7. Batch culture of bacillus subtilis in 7L Jar fermentor with industrial media.



배양 20시간째 (7L Jar fermentor)



배양 36시간째 (7L Jar fermentor)



- 배양 48시간째의 최종 시료를 분석 결과 4.0×10^9 cfu/ml로 분석되었음. 검경상 포자형성율은 95%이상 이었으며, 향후 고농도 배양(1.0×10^{10} cfu/ml) 조건 검토에 긍정적인 결과를 얻을 수 있었음.

(라) 선발된 친환경 농업 유용미생물의 대량생산시스템 개발

- 미생물 배양수율은 배양기의 형태와 배양조건에 따라 다르기 때문에 각 지자체에 설치된 미생물 배양기를 현장 방문 조사하였음. 강원도내에는 대표적으로 멸균배양기와 살균배양기로 나누어져 있으며, 멸균배양기의 경우 (주)코바이오텍, (주)CNS, (주)페넨텍배양기가 설치되어 있음. 그 밖에 태영케미컬에서 제작된 살균배양기와 당밀을 사용하여 배양하는 EM 발효기가 설치되어 있음.
- 고초균은 호기성 미생물의 대표적인 박테리아로 각 배양기 형태에 따른 최적조건을 검색하고, 이에 따른 배양조건을 검색하였음.

① 지자체별 보유장비

㉔ 횡성군농업기술센터 북부, 남부, 동부지소

- 제조사:(주)코바이오텍
- Total volume : 1,200 ~ 1,500L



㉔ 홍천군농업기술센터

- 제조사:(주)CNS
- Total volume : 1,350 ~ 1,500L



㉔ 영월군농업기술센터

- 제조사:(주)퍼멘텍
- Total volume : 700L



㉔ 삼척시농업기술센터

- 제조사:(주)CNS
- Total volume : 1,500L



㉞ 강원대학교 친환경농업연구센터

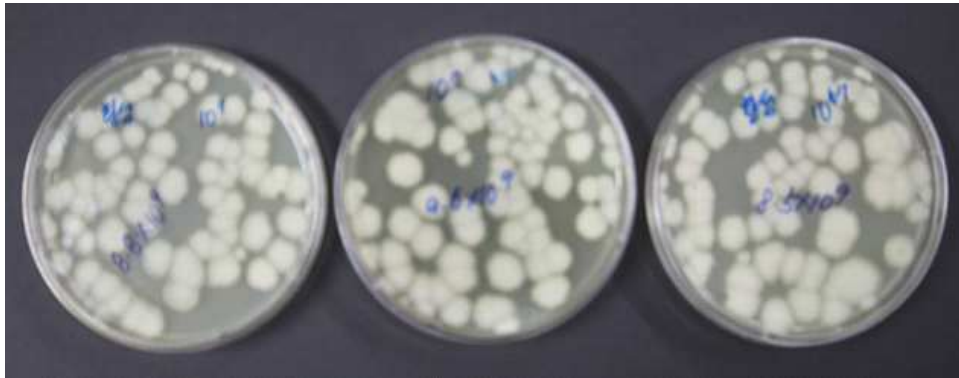
- 제조사:(주)퍼멘텍
- Total volume : 3,500L/5,000L



- 본 센터에서 확보된 5톤 규모의 배양기를 활용하여 고초균에 대하여 위와 같은 최적의 배양법 및 조건 확립.
- 아래와 같은 Pilot plant 적용 하고 결과를 확보하고 포트/ 포장 시험에 적용

② Pilot plant 적용

- Lab scale 결과를 토대로 선발된 고초균을 pilot scale인 1.5톤 배양기에 적용하여 플라스크에서 종균배양을 실시하였고 본배양에서 선발된 배지를 사용하여 배양 profile을 확인해 보았음.



1차 Pilot plant 배양 결과(포자-1.5톤 배양기)

- 1차 배양 후 평판법에 의한 분석한 결과 8.65×10^9 cfu/ml로 lab scale과 유사한 결과를 확보.



2차 Pilot plant 배양 결과(포자-1.5톤 배양기)

- 2차 배양 후 평판법에 의한 분석한 결과 5.33×10^9 cfu/ml로 1차때와 유사성을 확인할 수 있었음.

1. 기존 친환경 농업 유용미생물 선발

가. 각 시군 농업기술센터 광합성세균 배양액 시료분석



그림 8 시군 농업기술센터 배양액 시료.
(삼척시, 양양군, 양구군, 홍천군, 영월군, 원주시, 철원군)

(1) 각 시료에 대한 현미경 검경

– 제공받은 광합성세균 배양액은 생산일자가 서로 다른 관계로 보관상태나 포장형태가 차이가 있었다. 따라서 분석하기 전 각 시군에서 제공받은 시료의 상태를 확인하기 위하여 현미경을 활용하여 배양액 상태를 확인하였다. 그 결과 농업기술센터마다 상이한 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 이것은 미생물 배양기 종류(멸균배양기, 살균배양기) 및 배지종류, 배양시간에 따른 균밀도의 차이로 판단되어진다. 그리고 일부 오염균(고초균 일종)이 일부 보이는 배양시료도 보였다(그림 9).

지 역	배 율 (600배)	배 율 (2400배)
삼척시		
양구군		

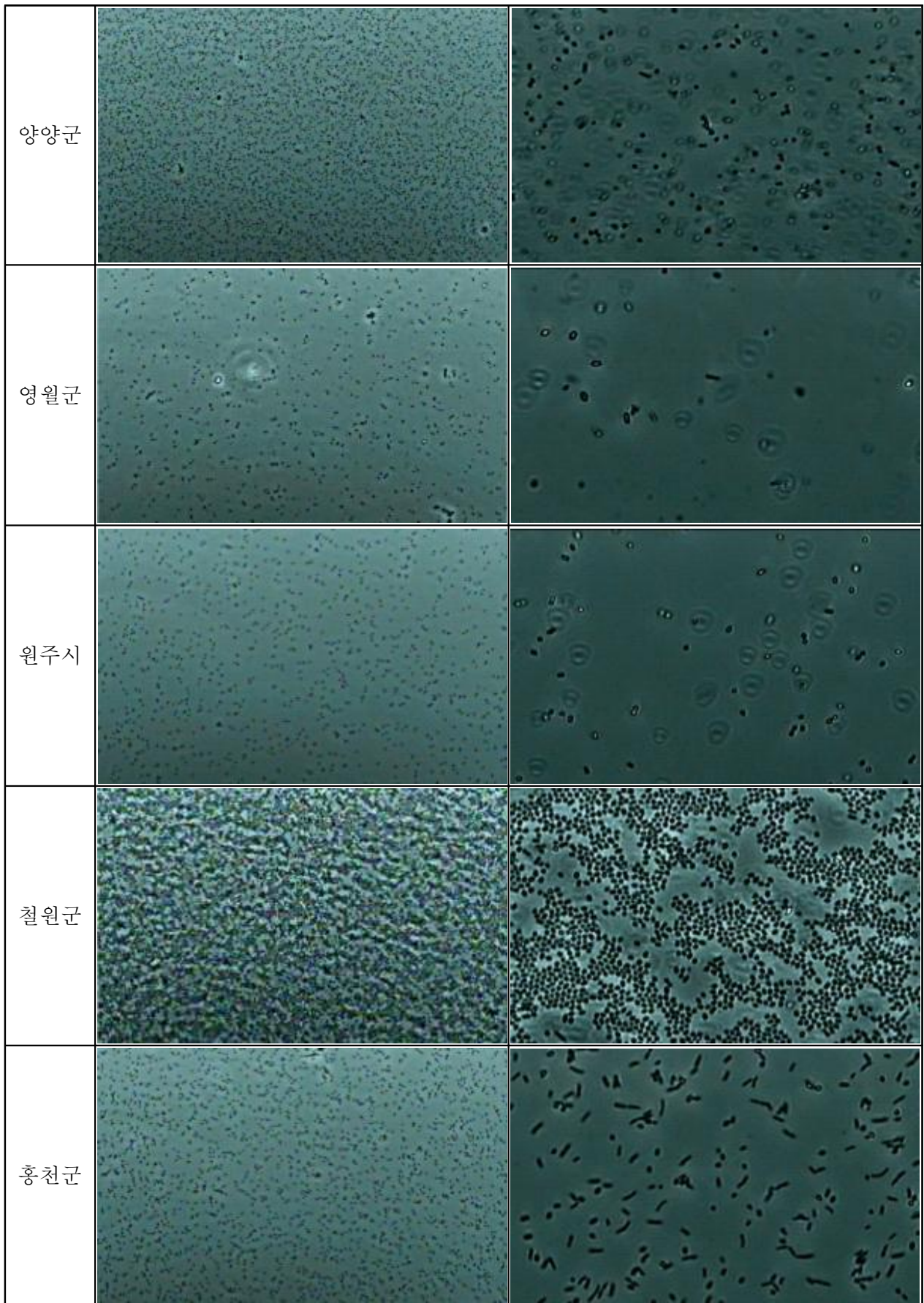


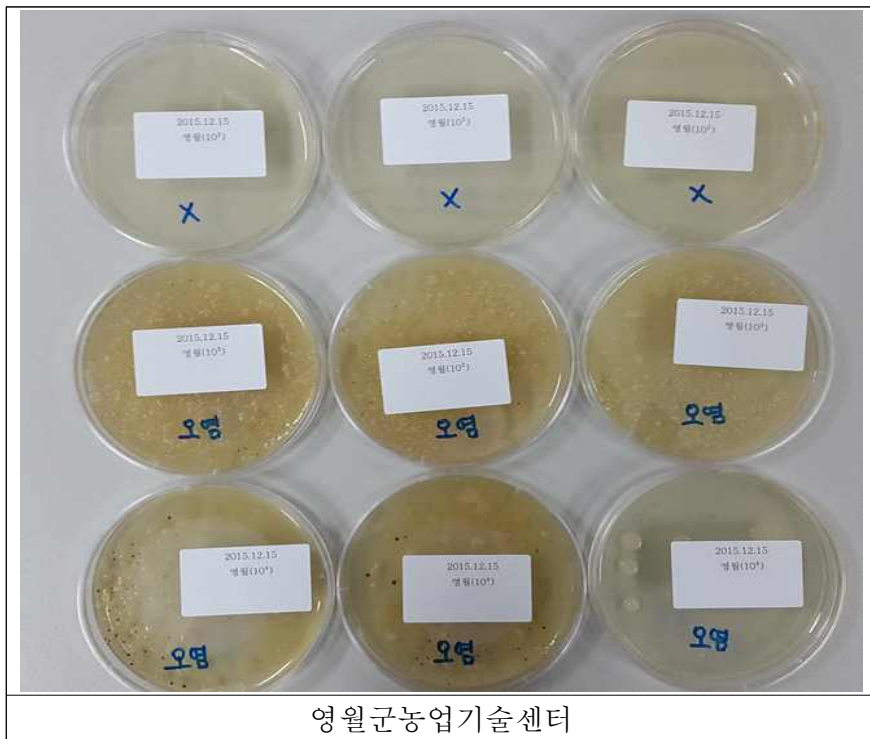
그림 9. 1차 시·군 농업기술센터 광합성세균 배양액 검경 결과



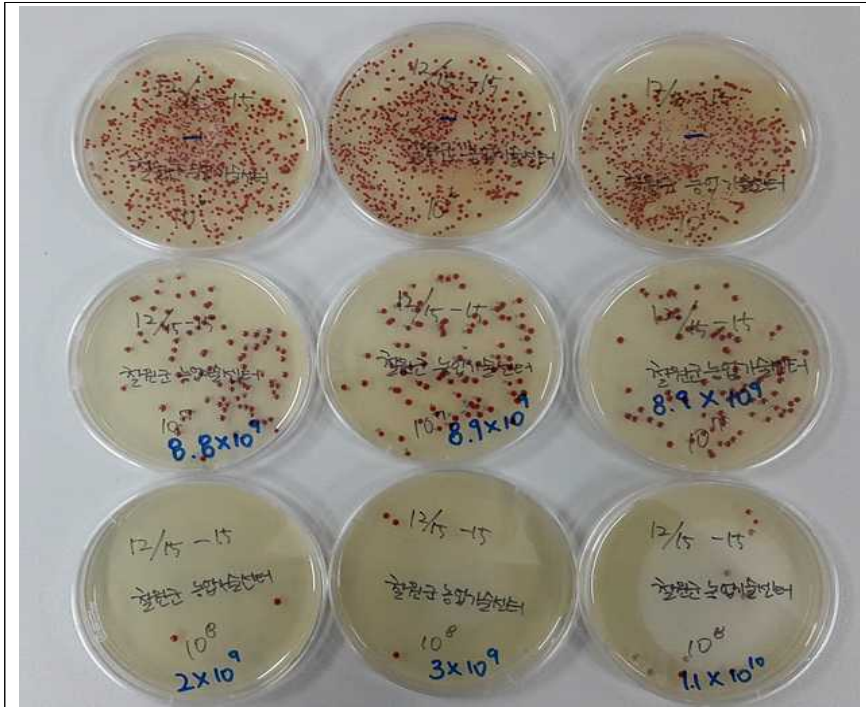
그림 10. 도달한 미생물을 인큐베이터에 32℃에 3일간 보관

(2) 유효미생물 생균수 분석

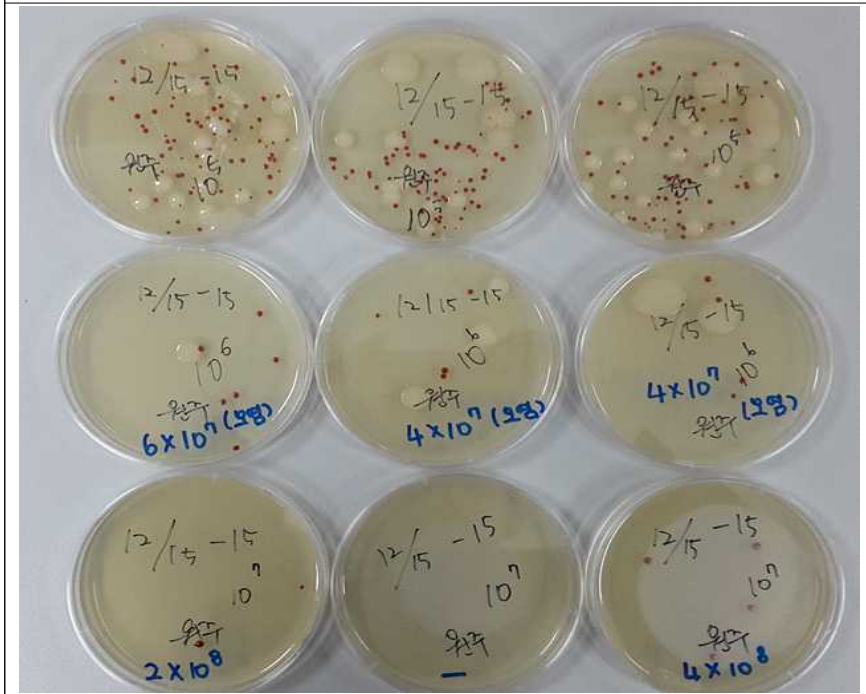
- 각 시료의 검경결과는 그림 9에서처럼 실제 유효미생물을 평판배지에 도달하여 농도를 측정하여 보았다(그림 10, 11). 광합성세균은 *Rhodobacter spaeroides* 로서 1ml(g)를 생리 식염수 9ml에 넣어 혼합하여 1:10 희석액을 만든 후 이를 1ml를 취해 생리 식염수 9ml를 넣어 1:10² 희석액을 만들었다. 이를 반복하여 배양액부터 1:10²까지 조제한 후 각각 100 μl를 petri dish에 도달 하였다. 이 petri dish를 32℃에서 48시간 동안 배양한 후 확인된 형태의 콜로니 수를 계수한 후 평균값을 산출하여 1ml당 CFU(colony forming unit)로 측정하였다.



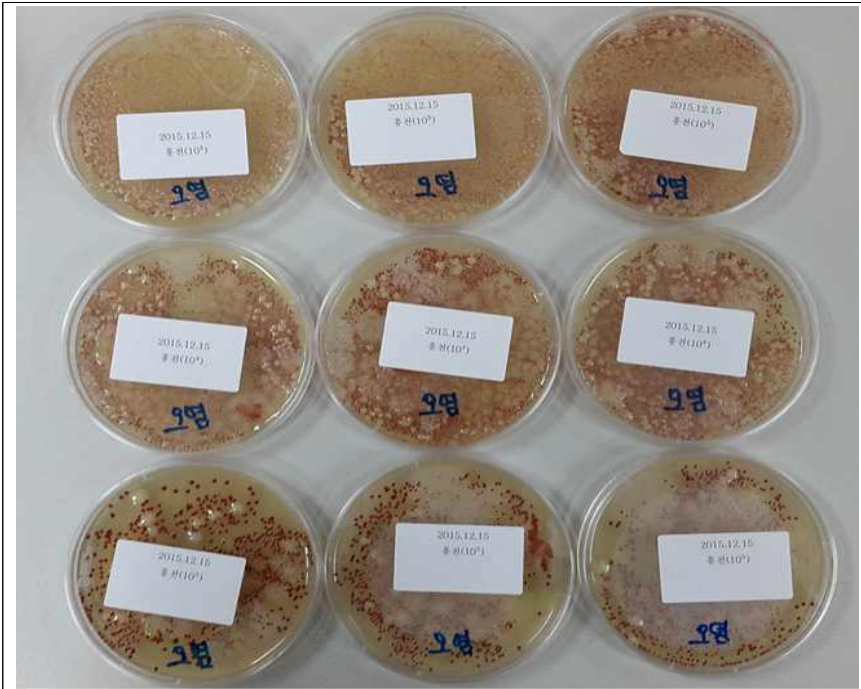
영월군농업기술센터



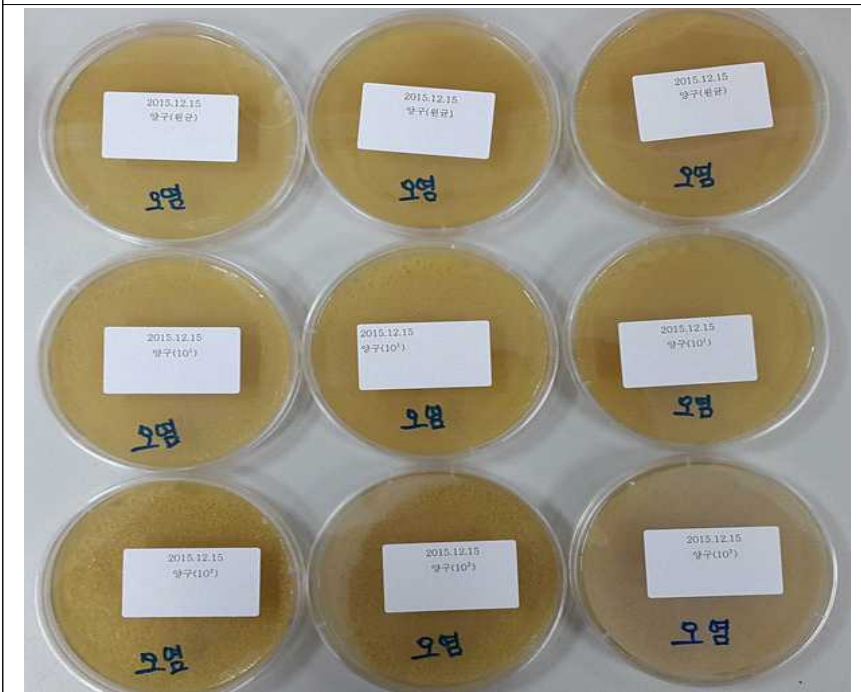
철원군농업기술센터



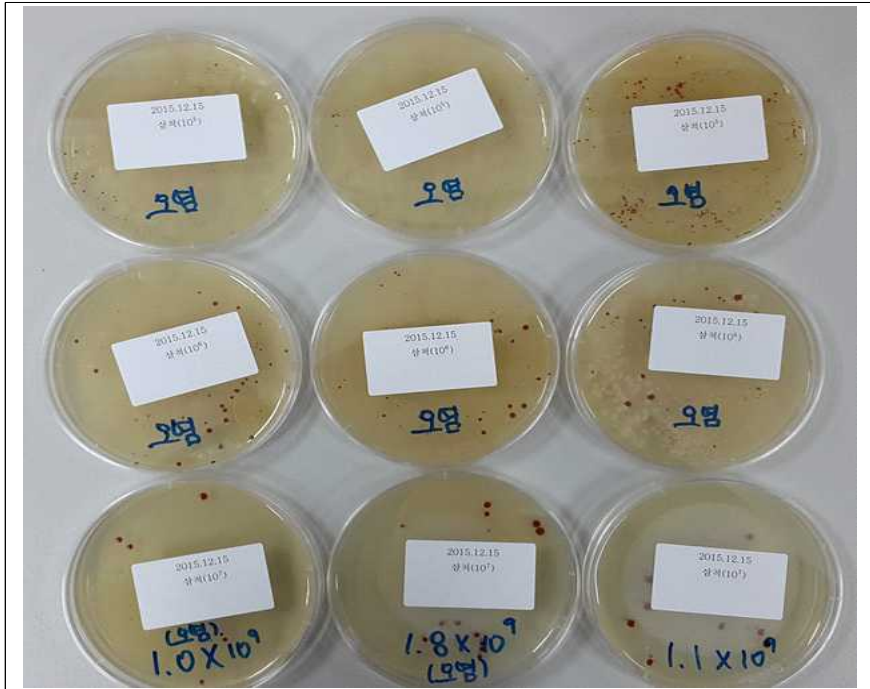
원주시농업기술센터



홍천군농업기술센터



양구군농업기술센터



삼척시농업기술센터


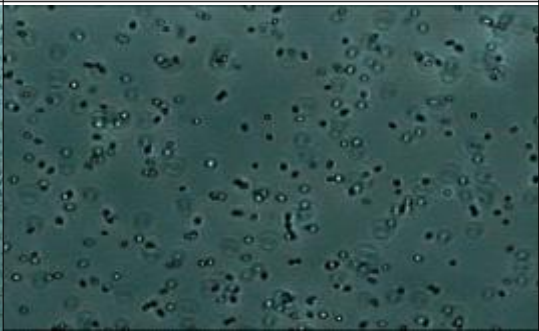

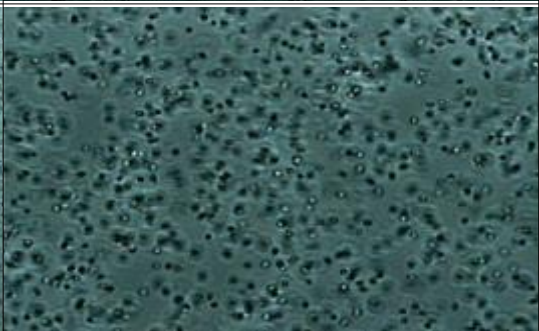


양양군농업기술센터

그림 11 대표 유효미생물 분석결과(도말)

- 각 배양액 시료의 도달한 결과 양구군농업기술센터로 제공받은 광합성균 배양액을 도달한 결과 광합성세균 콜로니가 형성되지 않았다. 이것은 배양이후 보관중이던 시료로 고초균 오염으로 인하여 광합성균이 보이지 않았다. 양양군농업기술센터 배양 시료를 분석한 결과 살균배양기임에 불구하고 광합성세균이 평균 1.2×10^9 cfu/ml로 분석되었다. 홍천군농업기술센터로부터 제공받은 광합성세균 배양액은 시료의 오염도가 높아 정확한 분석이 곤란하여 2차 시료를 제공받아 재분석을 하였다. 그 결과 4.47×10^8 cfu/ml, 횡성군농업기술센터의 배양 시료는 2.0×10^9 cfu/ml, 삼척시농업기술센터의 배양시료는 1.30×10^9 cfu/ml, 영월군농업기술센터의 배양시료는 3.43×10^9 cfu/ml로 농도로 분석되었다. 철원군농업기술센터의 배양시료는 8.87×10^9 cfu/ml로 농도로 분석되었다. 철원군농업기술센터의 시료의 분석결과 상당히 고농도임을 보였지만 배양시료보다는 사용된 광합성 중균으로 판단되어진다. 원주시농업기술센터의 경우 분석한 결과 6.0×10^7 cfu/ml로 농도로 분석되었다. 각 농업기술센터의 배양시료는 일반배양액 수준으로 배양된 것으로 판단되어지며, 일부 배양시료는 오염으로 분석하기 어려운점이 있었다. 1차 분석 결과를 토대로 2차로 광합성세균 미생물배양액 유효미생물 농도를 측정하였다.

각 시료에 대한 검경 및 유효미생물 측정결과는 각각 그림 12, 13처럼 확인할 수 있었다.

지역	배 율 (600배)	배 율 (2,400배)
삼척시		
(주)에코드림		

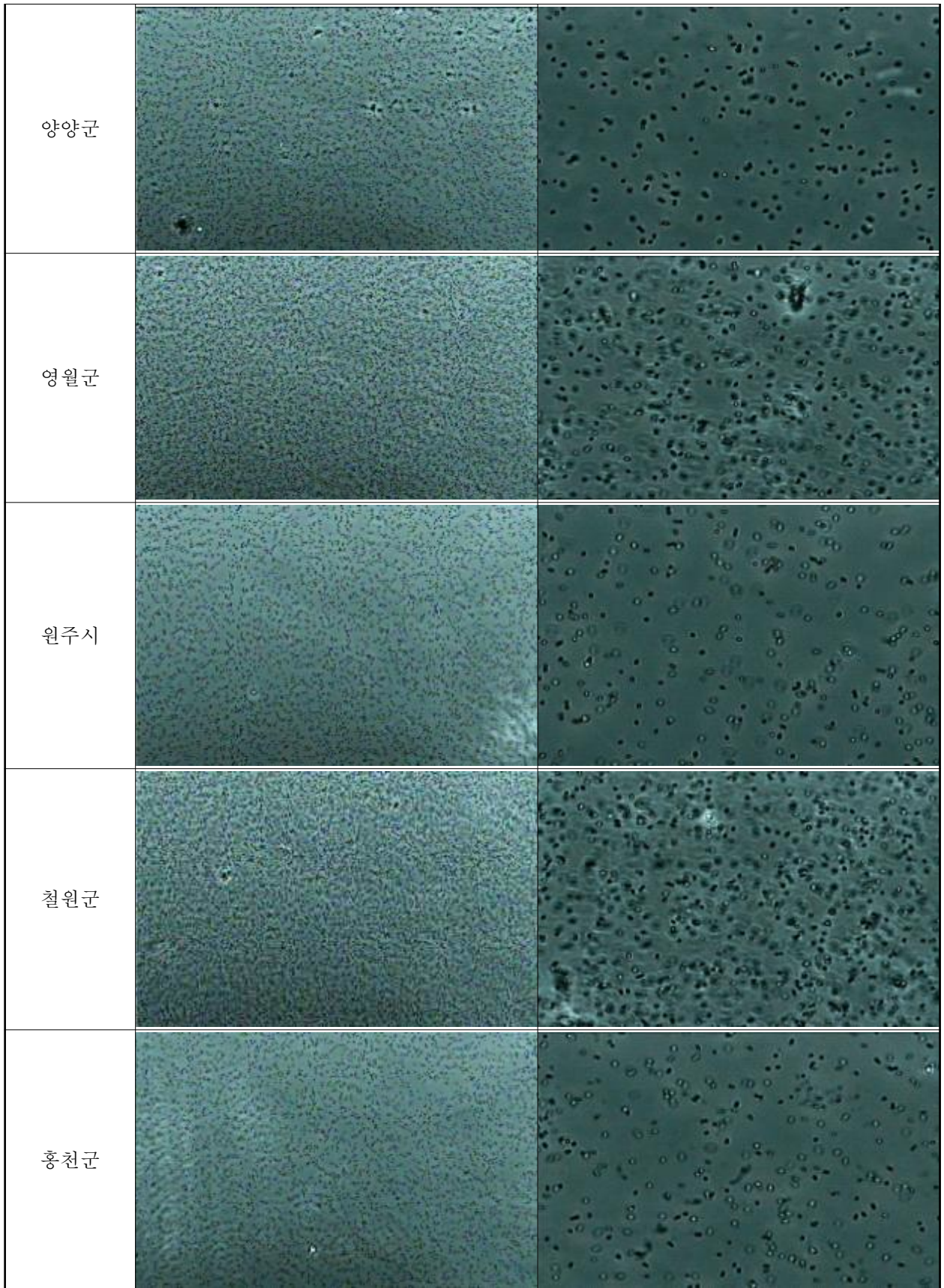





그림 12. 2차 시·군 농업기술센터 광합성세균 배양액 및 (주)에코드림 배양액 검경 결과

지 역	도말 결과		
삼척시			
	2.5×10^9	2.7×10^9	2.4×10^9
(주)에코드 림			
	3.0×10^9	2.9×10^9	2.9×10^9
양양군			
	1.0×10^9	1.3×10^9	2.4×10^9

영월군			
	3.0×10^9	3.1×10^9	2.9×10^9
원주시			
	9×10^8	1.6×10^9	8×10^8
철원군			
	1.0×10^9	1.8×10^9	1.7×10^9



그림 13. 2차 대표 유효미생물 분석결과(도말)



그림 14. 콜로니를 Difco사의 LB 배지에 접종하여 플라스크 배양 (500ml 플라스크)

- 2차 분석 결과 삼척시농업기술센터 액비의 유효미생물의 농도는 2.53×10^9 cfu/ml, (주)에코드림의 유효미생물의 농도는 2.93×10^9 cfu/ml, 양양군농업기술센터 액비의 유효미생물 농도는 1.57×10^9 cfu/ml, 영월군농업기술센터 액비의 유효미생물 농도는 3.0×10^9 cfu/ml, 홍천군농업기술센터 액비의 유효미생물 농도는 4.87×10^9 cfu/ml, 철원군농업기술센터 액비의 유효미생물 농도는 1.50×10^9 cfu/ml, 원주시농업기술센터 액비의 유효미생물 농도는 1.1×10^9 cfu/ml로 분석되었다.

(3) 각 지자체별 광합성균의 활성도

- 각 지자체별로 제공받은 광합성세균 미생물 배양액으로부터 single colony를 분리하여 Difco LB, Miller (Tryptone 1%, Yeast extract 0.5%, NaCl 1%)에 접종하여 균체의 발색정도를 확인하였고, 배양액은 glycerol stock하여 본 연구 목적인 고농도 배양 공정 확립하는 기초 실험에 활용하였다(그림 14, 15, 16). 각 시료중 동일한 균주를 사용하는 농업기술센터의 광합성중균은 분류하여 5곳의 중균을 활용하여 진행하였다.



그림 15 콜로니를 Difco사의 LB 배지에 접종하여 플라스크 배양 (5,000ml 플라스크)



- ① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦

그림 16 배양완료된 광합성세균 배양

- ① 홍천군농업기술센터 ② (주)에코드림 ③ 삼척시농업기술센터 ④ 양양군농업기술센터
 ⑤ 영월군농업기술센터 ⑥ 횡성군농업기술센터 ⑦ 원주시농업기술센터

2. 동정된 광합성세균(*Rhodobacter spaeroides*)의 기초 생육 특성

(1) 광합성세균의 분리

- 광합성세균은 강원도 일원을 중심으로 채취한 시료를 균원시료로하여 자연계에서 분리하였다. 채취한 시료를 멸균한 생리식염수로 희석하여 광합성세균용 분리배지가 든 plate에 접종한 후 도말하여 적자색을 나타내는 colony를 1차로 분리한 균주들을 액체배양을 실시한 후 가장 활성이 높은 균주를 선별하여 본 실험의 균주로 이용하였다.

(2) 광합성세균의 계대배양 및 동정

- 이 실험에 사용한 분리배지로는 Cohen-Bazire 등과 Sawada등이 사용한 합성배지를 변형하여 사용하였으며, 그 조성은 표 5와 같다. Trace metal solution은 0.45 μ m filter로 하여 배지에 따로 첨가하였으며 KH₂PO₄ 역시 pH를 6.8로 조정하여 멸균한 후 배지에 첨가하였다. 균주를 배양할 때 혐기적조건을 유지하기 위하여 시험관내에 배지를 가득 채우고 고무마개로 막아 명암상태에서 34 $^{\circ}$ C를 유지하면서 정치배양하거나 500ml 삼각플라스크에 배지를 200ml 채워 배양하였다. 그림17, 그림18와 같이 각각의 시험관에서 홍색으로 발색한 시험관을 중심으로 붉은색 색소의 발색이 빠른 균주를 계대배양하였다.

표 5. 광합성세균 분리를 위한 Selective Medium

구 분	g/l	구 분	g/l
Sodium acetate	1.0		
Sodium propionate	1.0		
Yeast extract	1		
NH ₄ Cl	1		
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.4		
NaCl	0.1		
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.05		
NaHCO ₃	0.3		
KH ₂ PO ₄	1.0		
* Trace metal Sol.	1ml		
* Vitamine Sol.	1ml		
* Trace metal sol.		* Vitamine Sol.	
EDTA	2.5	Biotin	1.0mg
ZnSO ₄ .7H ₂ O	10.95	p-amino benzoic acid	10mg
FeSO ₄ .7H ₂ O	7.0	Nicotinic acid	100mg
MnSO ₄ .7H ₂ O	1.54	Thiamine	100mg
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.39		
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.20		



그림 17. 광합성세균의 기초분리

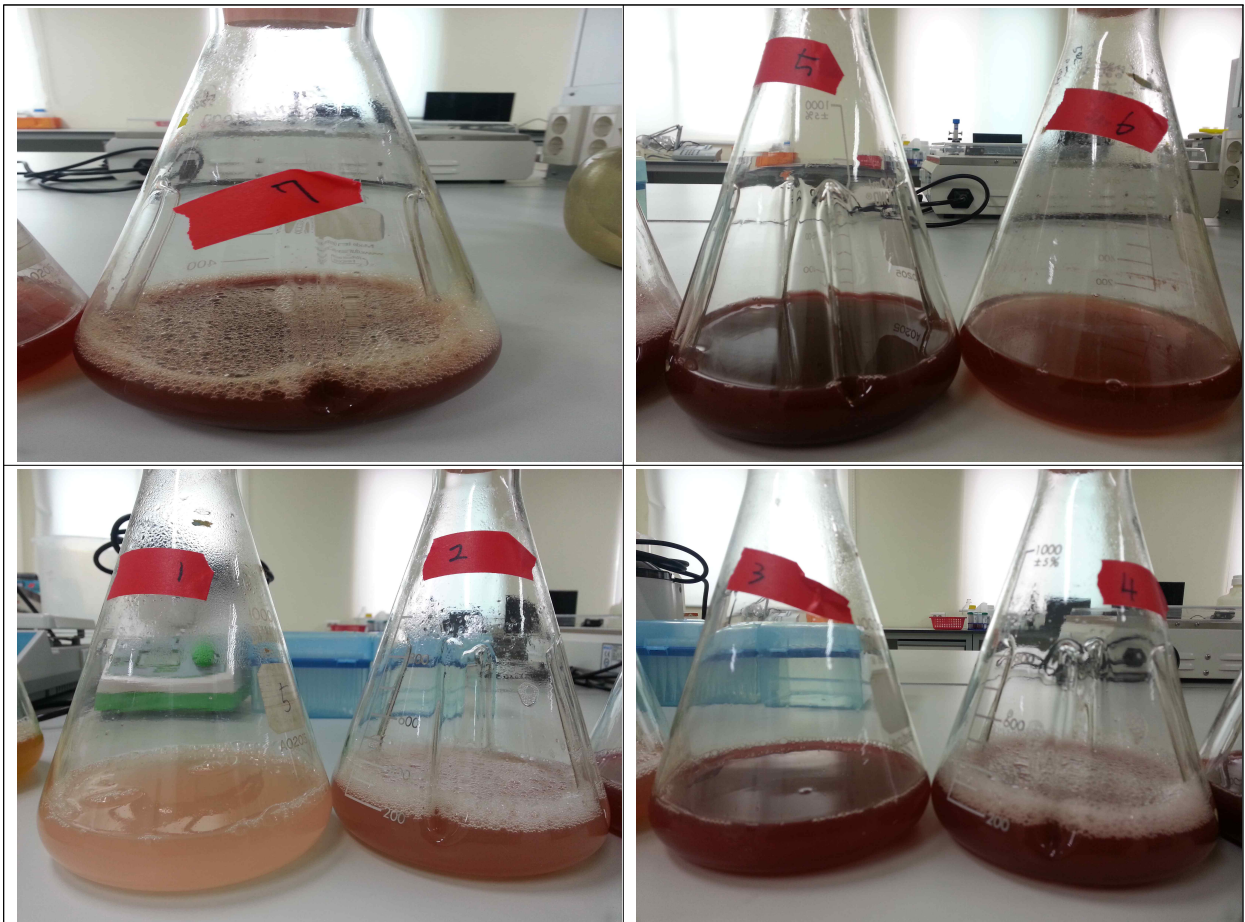


그림 18 광합성세균의 1차 계대배양

- 계대배양에서 생육이 우수한 균주를 선정하고, 선정된 균주는 16S partial sequencing을 통해 분석하였다. Sequence를 rRNA 이차구조를 참고하고 alignment 하였으며, %similarity값을 구하였다. 실험결과 결정된 염기서열의 개수는 557b였으며, 결정된 염기서열은 아래 결과와 같다. Similarity의 분석결과 *Rhodobacter spaeroides* 유사성이 발견되었다. 유사도 결과가 가장 우수한 균주는 *Rhodobacter spaeroides*로 최종 동정하였다.

```

CCTGGAAATTGCACCGCACATCCGGGTGCTTATACCGCCCCCTGTTGTA
TTATTTACTCCCGATCGTTTCCGTCCGGTACACCTAACTTGTTTTCTGAG
GGGGGGAATACACTAACCAGCACAAATACCGAAACCGGGCCCCGGTCCA
TCTCCCCGCGGCTACCCACTACCCATAAATGAGGGGGGGCTATCTGATTT
TTTTACTACCTTCCGCGGTACAAGCGCACGGTTTGTAGTGCCTGGCGTGTA
GGCGCGCGGGCAAAGACCGCGCCACCCCCCGGTTTACCCCTCTAAA
TCCCCGACGATTGGGTGGTGGAGGTGGGAATTAGAAATTTGAGGAGAGGC
GAGAACACTTTTTGACATTTTGGGGGGGAACCCACGGGGGGGGGGGGGG
TATCTTGGCTTTTTGGTTTTGTATGCTGGGGGTTCGTAGGGGGGACAGCCT
TTTTACGGTTTCCCTGTTACGACTTACCCCACTCACTGATCCTACCGTG
GTCGGCTGCCTCCTCTTGGAGGTTGGCGCACCGCCTTCGGGTAGAACCA
ATTCCCATGGTGTGACGGCGGTGTGTACAAGCCCCGGAAACGTATTAC
CGGTCATGCTGTACGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCATGGGGTCGA
GTCGAGACCCCAATCCGAACTGAGACAGCTTTTTGGGATTAACCATTG
TCACTGCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAACCCGTAAGGGCCATGAGGA
CTTGACGTATCCACACCTTCCCTCCGGCTTATCACCGGCAGTTTCCCTAG
AGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGGACGTGGGTTGCGCTCGTTGCC
GGACTTAACCGAATCTCACGACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCAC
CTGTGTGCGATCCAGCCGAAGTGAAGGAACCATCTCTGGAACCGGATCG
CCATGTCAAGGGTTGGTAAGGTTCTGCGCGTTGCTTCGAATTAACCCACA
TGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTTAACCTT
CGGGCCGTACTCCCGAGGCGGAATGCTTAATCCGTTAGGTGTGCACCGA

```

그림 19. 동정 결과 (16S partial sequencing)

(3) 균주의 보존 및 사용



그림 20. 광합성세균의 고체배양

- 분리한 광합성균(*Rhodobacter spaeroides*)을 20% Glycerol stock solution을 만든 -7 8℃ 냉동고에 보관하면서 사용하였고, 접종원으로 사용하기 위하여 사용 1주일 전 냉동고에서 꺼내 해동 후 LB 한천배지에서 1-2회 계대배양한 후 냉장고에서 보관하면서 1주일 간 사용하였다(그림 20).

(4) 균주 계대 및 보관용 균주배지

LB 고체배지(g/l)

Casein peptone	10
Yeast extract	5.0
NaCl	5.0
Agar	15

(5) Flask 배양

- 1 l 일반 flask에 LB배지를 250ml씩 넣고 121℃에서 15분간 멸균하여, 접종원을 3% 접종 후 32℃, Rotary shaking incubator에서 120rpm으로 48시간 배양하면서 시료를 채취하여 분석하였다.(그림 21, 그림 22)

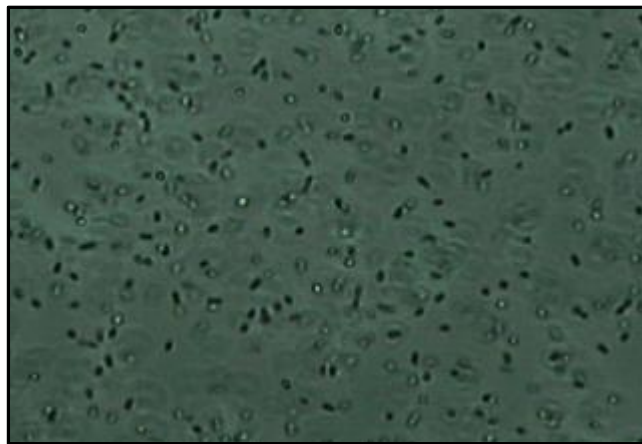


그림 21. 플라스크 배양 후 현미경사진(1,000배)



그림 22. 플라스크 액체배양

(6) Jar 발효조 배양

- LB 한천배지에서 48 ~ 72시간 동안 자란 균총을 LB 액체배지(baffled flask, 200ml/500ml)에 넣고 48시간(32℃, 120rpm, Rotary shaking incubator)배양 후 접종원으로 사용하였고, 접종전 현미경(1000×)으로 오염여부를 육안 확인 후 접종하였다. Jar발효조의 배양조건은 아래와 같다(그림 23).



그림 23. 광합성세균의 jar-fermentor 배양

- ① Fermentor volume : 7 l
- ② Working volume : 5 l
- ③ Culturing time : 48 ~ 72 hrs
- ④ Inoculum volume : 50ml(1%)
- ⑤ pH control : Not
- ⑥ Temperature control : 32℃
- ⑦ Aeration rate : 0.5 l/min
- ⑧ Agitation speed : 50rpm
- ⑨ Sterilization condition : 121℃, 25min, autoclaving

- 위 배양조건으로 호기적 조건으로 7 l jar fermentor에서 48 ~ 72시간 배양을 한 결과 색 상발현이 양호하게 진행됨을 알 수 있었고, 이를 토대로 pilot plant에서 scale-up이 가능 함을 확인 할 수 있었다.

(7) 배양기에 따른 배양 효율성 검토

- 각 지자체별 보유한 미생물 배양기의 형태나 구조 및 운영방식이 서로 다르기 때문에 모든 조건이 동일하더라도 배양 효율성은 서로 다른 결과를 나타낸다. 이에 기초 연구로 lab fermentor, 액비배양기, 살균배양기에서의 효율성 검토를 진행하였다(그림 24)



그림 24. 미생물 배양기 종류 및 형태
 표 6. 각 배양기별 운전 조건

전처리	Lab fermentor	액비배양기	살균배양기
온도(℃)	30	30	30
교반속도(rpm)	150	50	90
통기량(L/min)	5	5	5

— 표 6의 배양 조건으로 Jar fermentor, 액비배양기, 살균식 배양기에서 배양 시간에 따른 O.D값을 측정하였다(표 7). 각 배양기 형태에 따라 배양 profile이 다르게 나타났으며(그림 25), 이 결과는 구조적으로 멸균식 배양기가 액비배양기 보다는 배양 효율성이 높다는 것을 알 수 있었다.

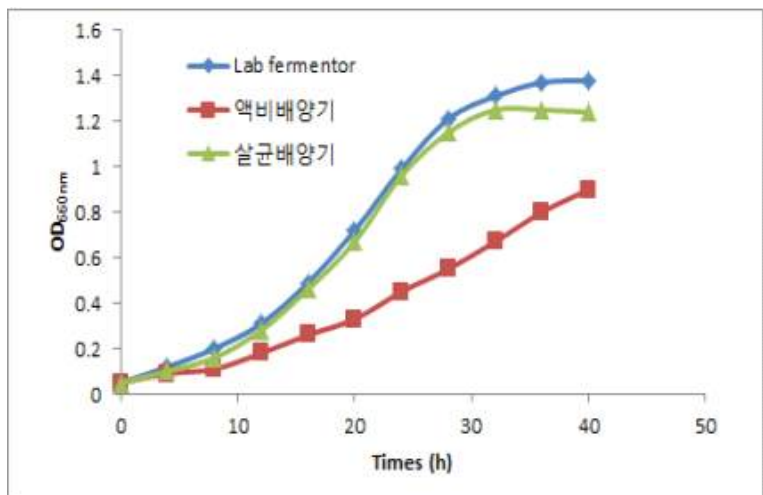


그림 25. 광합성세균 배양결과 (O.D값)

표 7. 배양 시간에 따른 O.D값 결과

시간 \ 종류	Lab fermentor	액비배양기	살균배양기
0	0.05	0.05	0.05
4	0.12	0.09	0.1
8	0.2	0.11	0.16
12	0.31	0.18	0.28
16	0.49	0.26	0.46
20	0.72	0.33	0.67
24	0.99	0.45	0.96
28	1.21	0.55	1.15
32	1.31	0.67	1.25
36	1.37	0.8	1.25
40	1.38	0.9	1.24

- 표 7의 결과에서 광합성 세균의 배양시간은 32~36시간내에 배양이 완료되었지만 흡광도 값에서 Lab fermentor에서의 값이 높은 값을 나타내었다. 이 때의 생균수는 3×10^9 CFU/ml로 측정되었다. 표 7에서의 결과에서 멸균식 배양기와 유사하게 배양이 된 자가 배양기는 살균배양기에서 배양된 배양액이었으며, 생균수는 1×10^9 CFU/ml로 분석 되었다. 이 결과를 보았을 때 개량된 살균식 액비발효기의 경우 저가형 자가배양기로서 멸균식 배양기와 더불어 배양 효율성이 좋은 것으로 판단되어 진다.



그림 26. 배양 종료 후 시료 및 검경사진, plate 사진

<정통배양기로 배양한 광합성균의 생균수 측정: 3.0×10^9 cell/ml (spottig method 사용)>

3. 배지조성에 따른 광합성세균의 생육 특성 비교



그림 27. 시판되는 일반적배지 성상

- 광합성세균 배지는 일반적으로 표 8과 같이 조성된 배지를 활용하여 광합성세균을 배양하고 있으며, 이 조성은 살균용 배양기나 멸균용 배양기에 사용이 가능한 조성으로 이루어져 있다. 그림 27은 표 8로 구성된 배지조성으로 만들어진 배지성상이며, 백색가루로 이루어져 있다. 이 조성에서 확인되는 바와 같이 주성분은 초산나트륨으로 구성되어 있음을 확인할 수 있었다. 초산나트륨은 고유의 식초 냄새가 나기 때문에 쉽게 확인 할 수 있었다.

성 분	합 량(%)	투입량(kg/톤)
초산나트륨(초산소다)	0.30%	3.0
YeastExtract	0.001%	0.010
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.050%	0.50
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0.02%	0.20
NaCl	0.010%	0.10
NaHCO ₃	0.020%	0.20
KH ₂ PO ₄	0.05%	0.50
Na-Propionate	0.050%	0.50

표 8. 지자체에서 공급받는 일반적인 광합성 배양용 배지조성

- 이러한 조성으로 배양된 광합성 미생물 배양액의 색상은 그림 28, 29과 같이 무기물과 유기산으로 이루어진 조성에서는 배양됨을 확인할 수 있었다. 표 8과 같이 조성된 배지에서의 배양상태는 종균상태에 따라 다르게 나타났다. 이러한 조성은 살균배양기나 멸균배양기에 오염에 대한 영향을 덜 받고 일반배양(10⁸cfu/ml)이 가능하도록 조성된 배지임을 확인할 수 있다. 일반 배양액 시료에 대하여 검경한 결과 그림 30와 같이 나타났다.



그림 28(좌), 29(우). 보급중인 살균용 배지에서 광합성세균 배양액

- 광합성세균 배양의 배지 최적화에 있어서 몇 가지 반영되어야 하는 점이 있다. 광합성세균은 증식이 일어날 때 단백질 합성에 관여하는 성분이 아미노산의 한 종류인 히스티딘이 작용한다. 단백질 합성에 있어서는 식물성단백질보다는 동물성단백질 성분이 효과적이다. 질소성분이 존재시 광합성보다는 색상에 관련된 카로틴 합성에 유리하다. 또한 배양시 철성분이 필요하며 이는 합성시 킬레이트로 작용하게 된다. 성분중 글루타민산이 존재할 경우 카로틴 합성을 저해하기도 하지만 광합성세균 성장에 영향을 미친다. 배지 성분중 당 성분이 존재할 경우 당을 소비하며 광합성세균이 증식하게 된다. 비타민 성분중 B6인 pyridoxine은 발색에 필요한 보조성분으로 작용한다. 광합성세균 배양시 산소나 빛이 없으면 사멸하게 되고, 광원의 밝기는 광합성세균이 만들어내는 단백질 발현량에 관여한다. 이러한 광합성세균의 기본적 특성을 바탕으로 고농도 배양을 위한 최적의 배지 조성과 조건을 확립하였다.

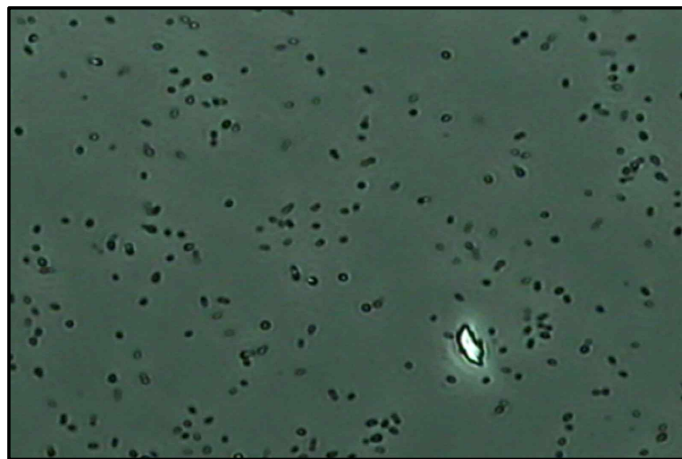


그림 30. 광합성세균 배양액에 대한 검경 결과

(1) 질소원인 yeast extract 종류에 따른 광합성세균의 생육 특성

- 질소원으로는 yeast extract의 종류를 달리하여 광합성의 특성을 알아 보았다. Yeast extract는 탄수화물 및 질소성분, 미네랄, 비타민 성분으로 구성되어 있다. 이러한 구성성분들은 광합성세균의 고농도 배양에 유리하다. Yeast extract의 주요성분은 표 9, 10와 같다. Yeast extract를 구성하는 아미노산과 양, 그리고 비타민의 함량은 광합성세균의 증식과 색상발현에 중요한 인자로 작용하고 있으며, 종류에 따라 광합성세균의 색상발현에 상당한 영향을 미친다.

표 9. Yeast extract내의 아미노산 조성

아미노산 종류	함량(mg/100g)	아미노산 종류	함량(mg/100g)	아미노산 종류	함량(mg/100g)
Alanine	8.8	Leucine	7.6	Tyrosine	2.4
Arginine	5.1	Lysine	8.0	Tryptophan	1.3
Aspartic acid	9.9	Proline	4.0	Isoleucine	5.5
Cystine	0.9	Methionine	1.4	Valine	5.9
Glutamic acid	16.3	Phenylalanine	3.7	Threonine	4.6
Histidine	2.1	Serine	4.6	Glycine	4.8

* Expressed in 100 g of raw proteins

표 10. Yeast extract내의 비타민조성

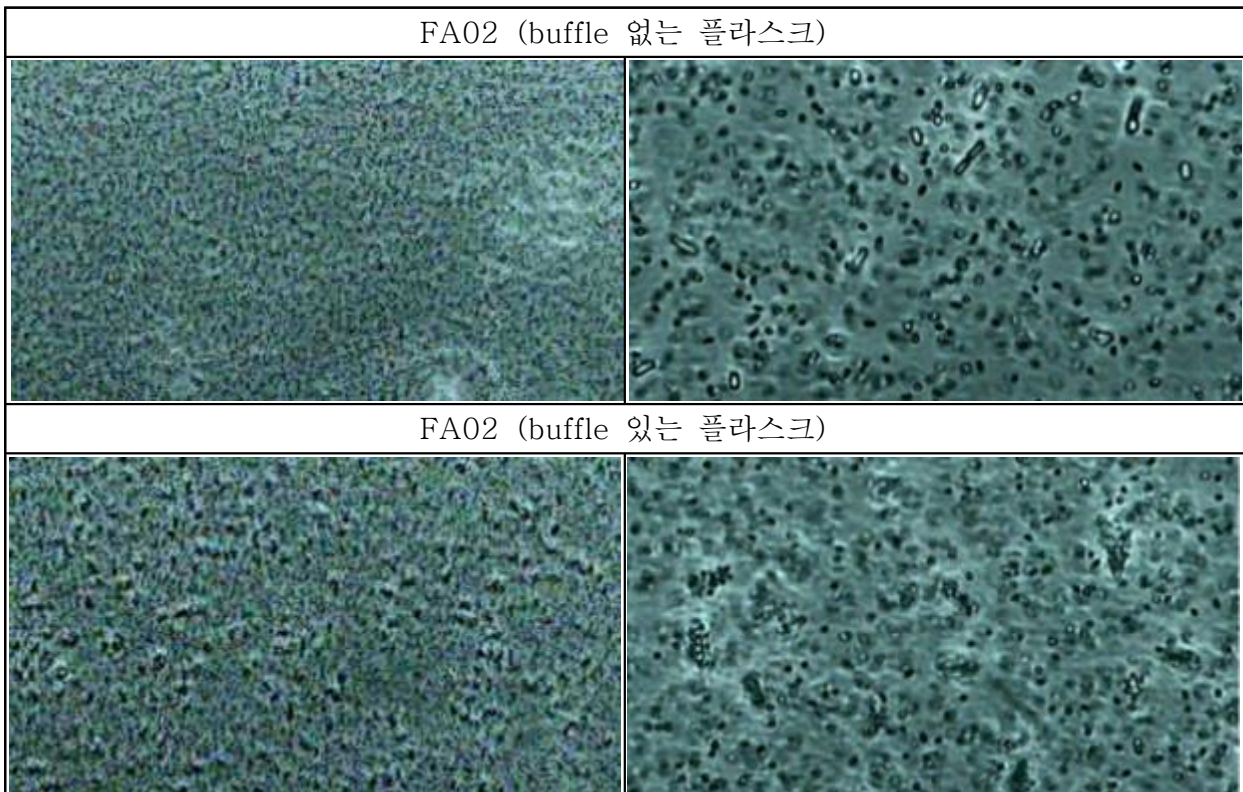
비타민 종류	함량(mg/100g)
B1 (Thiamine)	15 ~ 110
B2 (Riboflavine)	80 ~ 130
B5 (Calcium Pantothenate)	200 ~ 400
B6 (Pyridoxine)	30 ~ 100
B8 (Biotin)	3 ~ 10
B9 (folic acid)	15 ~ 60
B12 (Cyanocobalamine) (μ g/kg)	1 ~ 5
PP (Niacin)	600 ~ 1000

* In mg per kg(ppm) (dry matter)

- Yeast extract중 PA600과 FA02라는 제품을 이용하여 표 11과 같은 조성에서 동일한 배양조건에서 광합성세균을 배양을 하였다. Yeast extract 종류에 따라서 멸균 후 배지의 탄화되는 정도의 차이가 있어 이는 배양에도 영향을 미친다. 따라서 본 연구에서는 배양조건 중 하나인 원료의 특성을 확인하는 것도 상당히 중요하다. 이로 인해 동일한 조건으로 멸균하였을 때 배지의 색상도 확인하였다(그림 31). 또한 종균 접종시 초기 pH도 배양에 영향을 주기 때문에 멸균 전·후의 pH도 검토하였다. 이외 실제 배양에 있어서 배양조건은 500 ml baffle flask와 일반 삼각 flask에 각각 200ml로 1% 접종하여 32℃, 140rpm으로 shaking incubator에서 48시간 배양을 실시하였다.

표 11 Yeast extract의 종류 및 사용된 배지 조성

성분	투입량(g/l)	
	FA02	PA600
Yeast extract	7.0	7.0
NaCl	4.7	4.7
NaHCO ₃	0.3	0.3
KH ₂ PO ₄	0.8	0.8
K ₂ HPO ₄	0.2	0.2
MgSO ₄	1.0	1.0
Glucose	3.0	3.0
Total	17	17



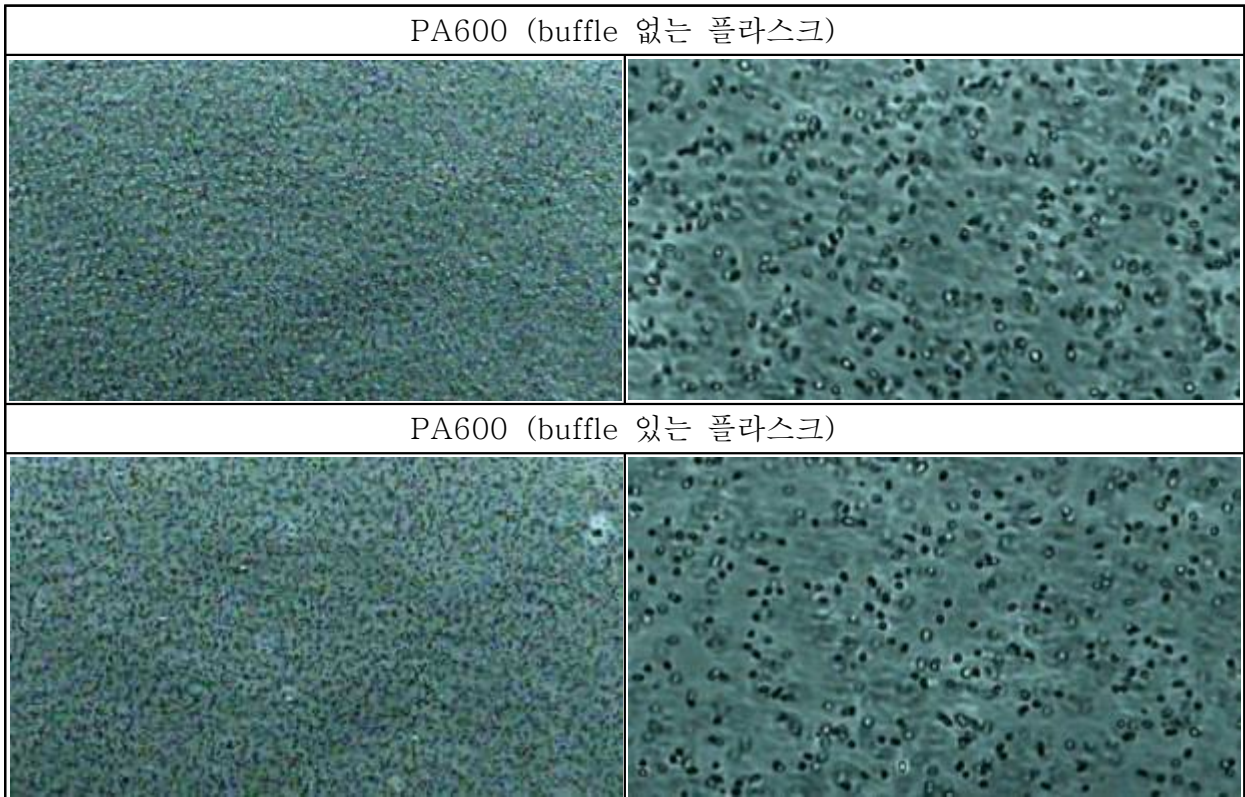


그림 31 Flask에서 배양한 광합성세균 검경 결과

- Yeast extract의 대한 1차 배양시험 결과 검경에서는 유사한 결과를 얻을 수 있었고(그림 31), 색상발현은 PA600이 FA02보다 더 좋은 것으로 결과를 보였다. 배지 멸균 후 탄화 정도도 큰 차이가 없음을 확인할 수 있었다 (그림 32). 또한 멸균 전·후의 pH의 변화도 크게 없음을 확인할 수 있었다. pH는 yeast extract 종류에 따라서 물에 녹였을 때 다르기 때문에 전체 배지조성비에서 투입량과 다른 성분간에 영향을 받는다. 최적조건을 확립하기 위해서는 사용되는 주성분에 대한 특성을 파악하는 것이 무엇보다 중요하다.
- 배지 멸균시 yeast extract의 특성에 따라서 탄화되는 정도가 다르고 배양시 영향을 주기 때문에 원료 선정에 중요하다. 그림 34, 35는 yeast extract의 용해 및 멸균테스트한 결과이다. 그림 35는 용해 및 멸균 전 yeast extract이고 그림 38는 용해 및 멸균 후 yeast extract이 결과이다. Yeast extract의 종류별, 농도별에 따라서 탄화되는 정도 다름을 확인할 수 있었다. 이는 배지조성에서 농도에 따라서 멸균 후 배지가 탄화되어 일부 영양성분의 파괴로 인해 증식에 영향을 미칠 수 있음을 예측할 수 있다. 따라서 본 실험에서는 이러한 점을 고려하여 최적의 yeast extract 종류와 최적의 투입량을 결정하는 기초 연구 자료로 중요한 데이터로 활용되어 질 것이다.

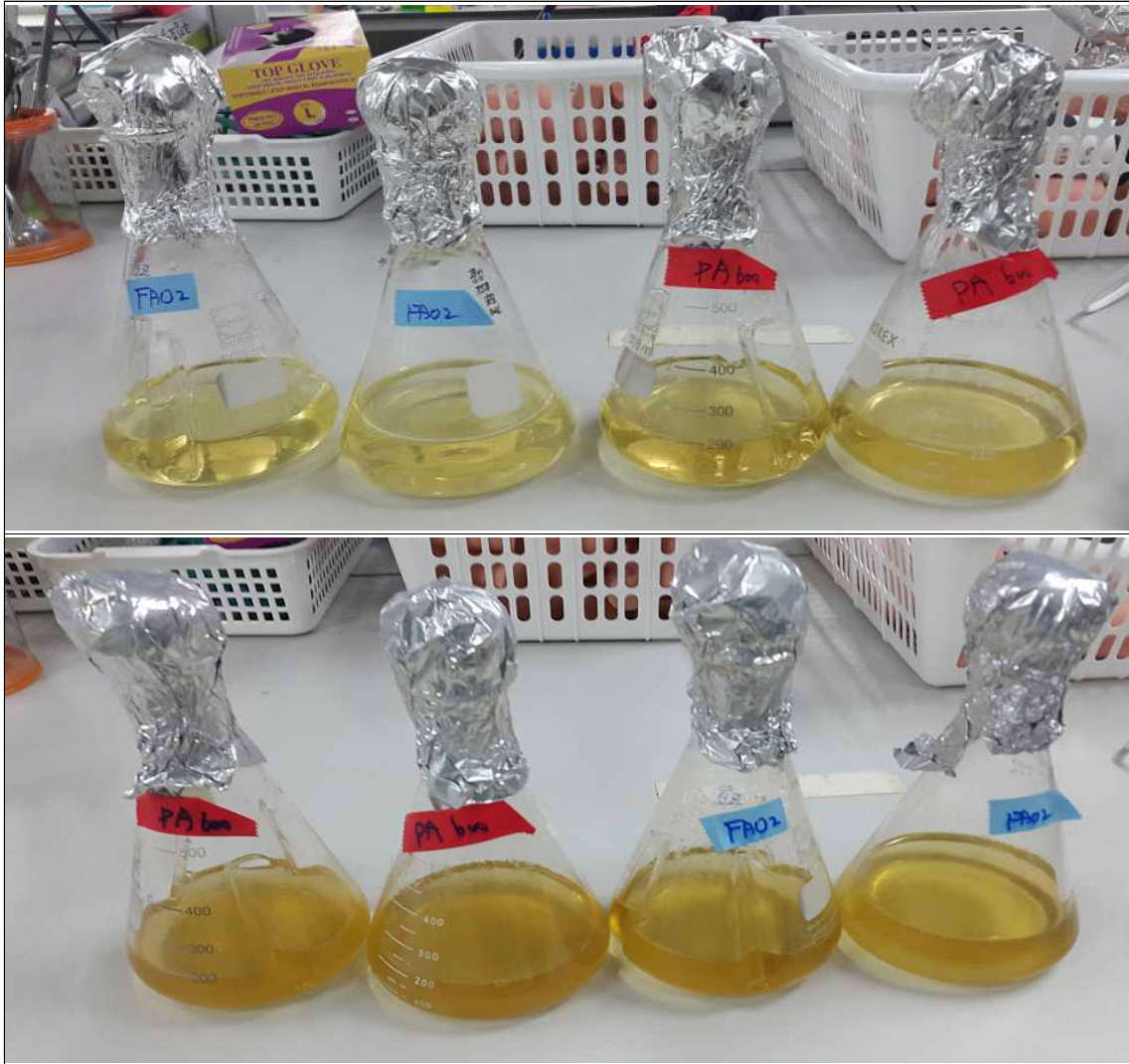


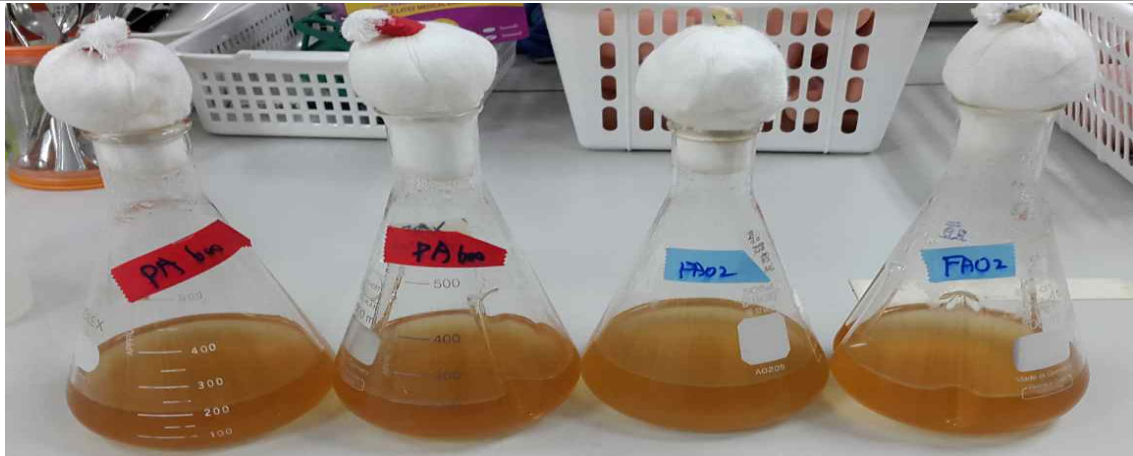
그림 32. 배지 멸균 전(상), 후(하)의 배지 색상

: 멸균 전 pH (FA02 6.27, PA600 6.4), 멸균 후 pH (FA02 6.34, PA600 6.5)



그림 33. 멸균 후 용해테스트

접종 후 (0hr)



배양 24시간



배양 48시간



그림 34. 배양 시간별 광합성세균 플라스크 배양 결과



그림 35. 멸균 전 용해테스트

표 12. Yeast extract의 종류 및 사용된 배지 조성

성분	투입량(g/l)			
	FA02	PA600(1)	PA600(2)	Springer 0251
Yeast extract	0.5	0.5	0.5	0.5
초산나트륨	4.5	4.5	4.5	4.5
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.0	1.0	1.0	1.0
NaCl	3.55	3.55	3.55	3.55
NaHCO ₃	0.05	0.05	0.05	0.05
KH ₂ PO ₄	0.2	0.2	0.2	0.2
K ₂ HPO ₄	0.1	0.1	0.1	0.1
MgSO ₄	0.1	0.1	0.1	0.1
합계	10	10	10	10

* PA600(1) ; 1차 배양시 사용한 batch분, PA600(2) ; Batch가 다른 yeast extract

- 1차 배양 결과를 토대로 원료에 대한 batch error가 있으므로 2차 반복시험을 실시하여 재현성 실험을 실시하였다. 2차 실험은 표 12의 조성으로 yeast extract 샘플을 한 종류 추가하였다. 1차 배양 조성과의 다른점은 탄소원인 초산나트륨을 위주로하여 구성되었으며, 1차 배양에 사용된 사용량의 60% 수준에서 조성비로 이루어졌다. 그리고 추가된 yeast extract는 springer 0251으로 광합성세균의 증식 색상발현에 미치는 영향을 평가하였다.
- 2차 배양은 표 12과 같은 조성으로 하여 배지멸균을 한 후(그림 36) 1,000ml 일반 flask에 250ml로 1% 접종하여 32℃, 130rpm으로 shaking incubator에서 44시간 배양을 실시하였다.

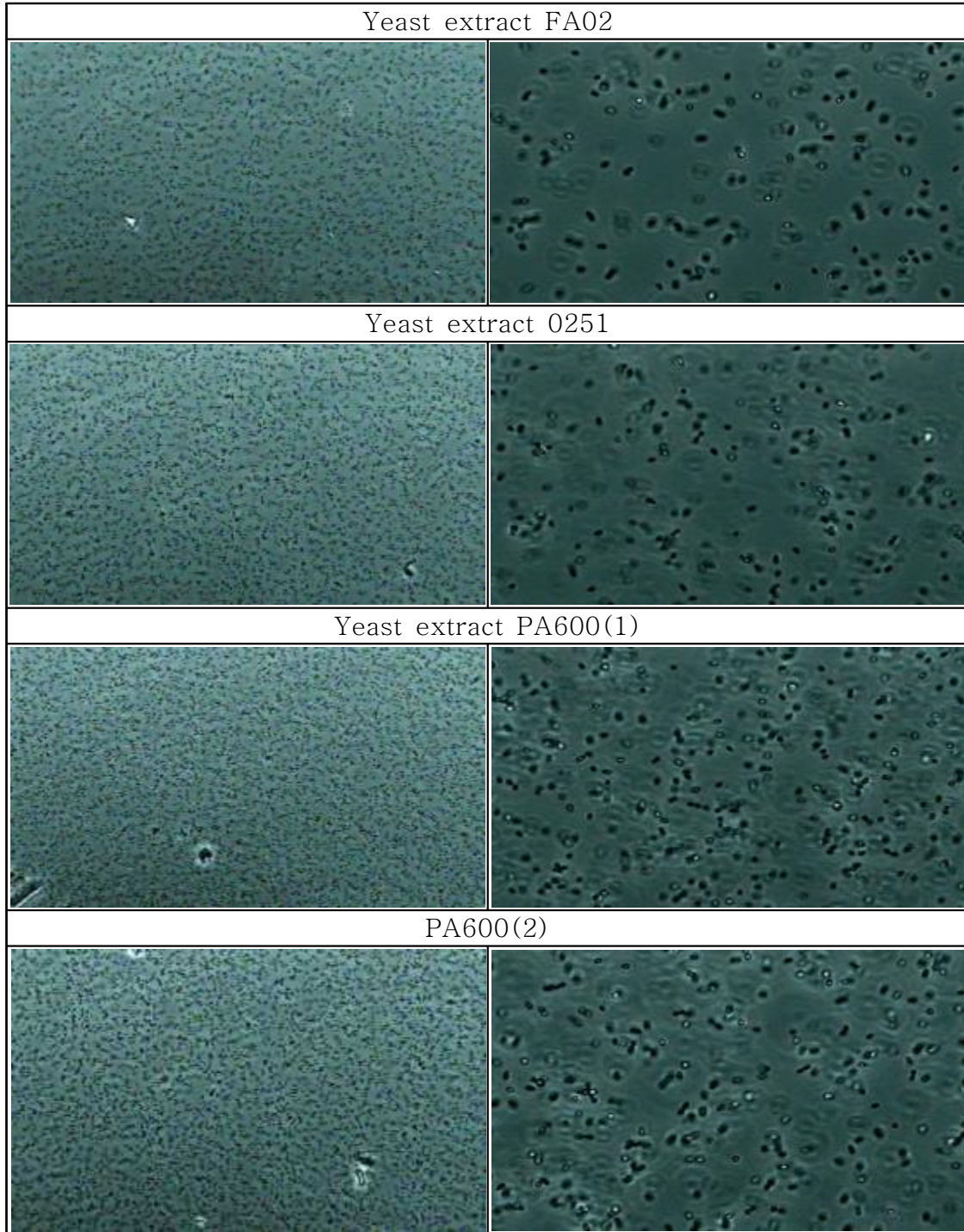


그림 36. Flask에서 배양한 광합성세균 검경 결과

접종 후 (0hr)



배양 34시간



배양 44시간



그림 37. 배양 시간별 광합성세균 플라스크 배양 결과

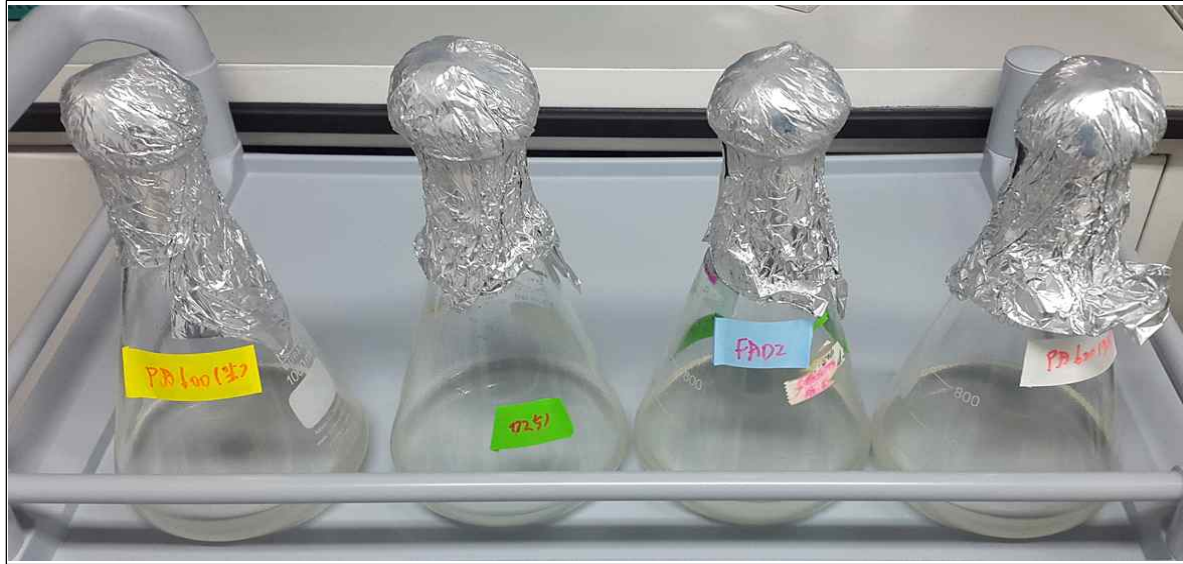


그림 38. 배지 후의 의 배지 색상

: 멸균 전 pH (FA02 6.27, PA600(1) 6.43, PA600(2) 6.42, Springer0251 6.52)
 멸균 후 pH (FA02 6.34, PA600(1) 6.53, PA600(2) 6.6, Springer0251 6.72)

- 그림 37은 배양 44시간 후 검경한 결과로서 PA600(2)을 사용한 경우 균밀도 좋았고(그림 36), 색상발현은 동일한 PA600을 사용했지만 PA600(1)이 PA600(2)보다 좋은 것으로 확인할 수 있었다. 이것은 같은 yeast extract이지만 다른 결과를 나타내는 것은 원료의 batch error로 보였다. 이러한 결과는 배지 최적화에 있어서 고려되어야 할 부분이며, 비교적 안정적으로 광합성세균의 증식과 더불어 색상발현에 적합한 원료 선택이 중요하다.
- 배지 멸균 후의 배지의 탄화정도를 검토한 결과 그림 38에서 보는 바와 같이 앞선 조성비에 비해 yeast extract의 비율이 낮기 때문에 멸균 후의 배지 색상에는 큰 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 따라서 최적의 yeast extract를 선별하기 위해 1차에서의 조건으로 재현성 검증을 실시하였다.
- 표 13는 재현성 실험에 사용된 배지 조성으로 2종의 다른 yeast extract를 사용하였고, PA600은 생산 batch가 다른 동일 maker를 사용하여 진행하였다.

표 13. Yeast extract의 종류 및 사용된 배지 조성

성분	투입량(g/l)		
	FA02	PA600(1)	PA600(2)
Yeast extract	7	7	7
NaCl	4.7	4.7	4.7
NaHCO ₃	0.3	0.3	0.3
KH ₂ PO ₄	0.8	0.8	0.8
K ₂ HPO ₄	0.2	0.2	0.2
MgSO ₄	1.0	1.0	1.0
Glucose	3.0	3.0	3.0
합계	17	17	17

* PA600(1) ; 1차 배양시 사용한 batch분, PA600(2) ; Batch가 다른 yeast extract

- 그림 39은 표 13의 조성비대로 조제하여 flask에 넣고 동일한 조건으로 멸균 전·후를 비교하였다. 사용된 yeast extract 모두 멸균 후의 상태는 유사하였다. 멸균 전·후의 pH의 변화도 유사함을 알 수 있었다. 따라서 pH나 배지의 탄화에 의한 광합성배양의 영향은 없을 것으로 보여진다. pH의 경우 광합성세균의 생육 조건은 6.0~7.5이므로 멸균 후 pH가 이 범위내로 유지하면 가능하다. 그림 39에서의 결과와 같이 멸균 후의 pH는 중성에 가까운 것을 확인 할 수 있었다. 배지 색상의 변화도 앞선 결과와 유사하게 나타냄을 확인 할 수 있었다.

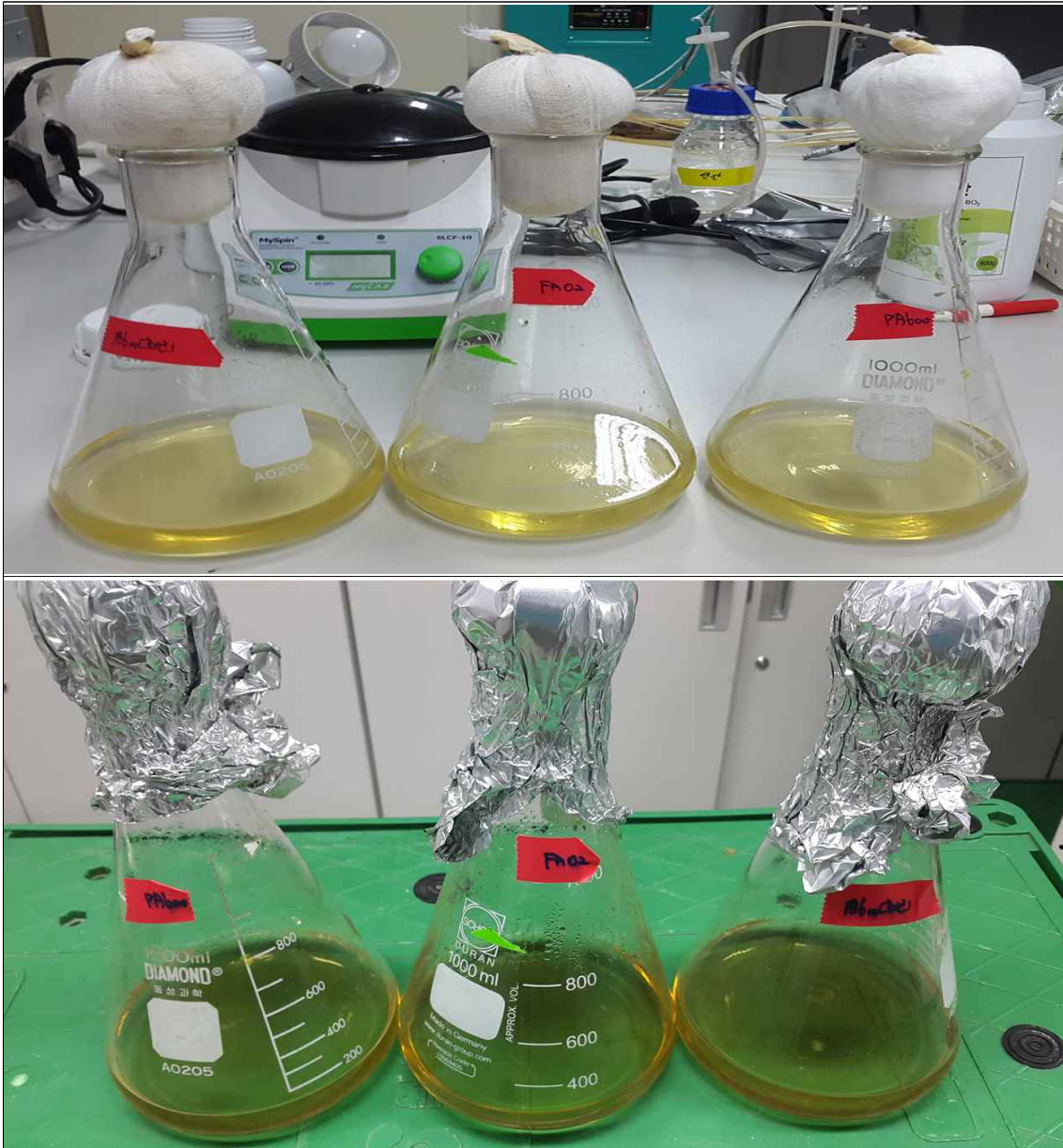


그림 39. 배지 멸균 전(상), 후(하)의 배지 색상

- 멸균 전 pH (FA02 6.464, PA600(1) 6.494, PA600(2) 6.569)
- 멸균 후 pH (FA02 6.562, PA600(1) 6.594, PA600(2) 6.659)

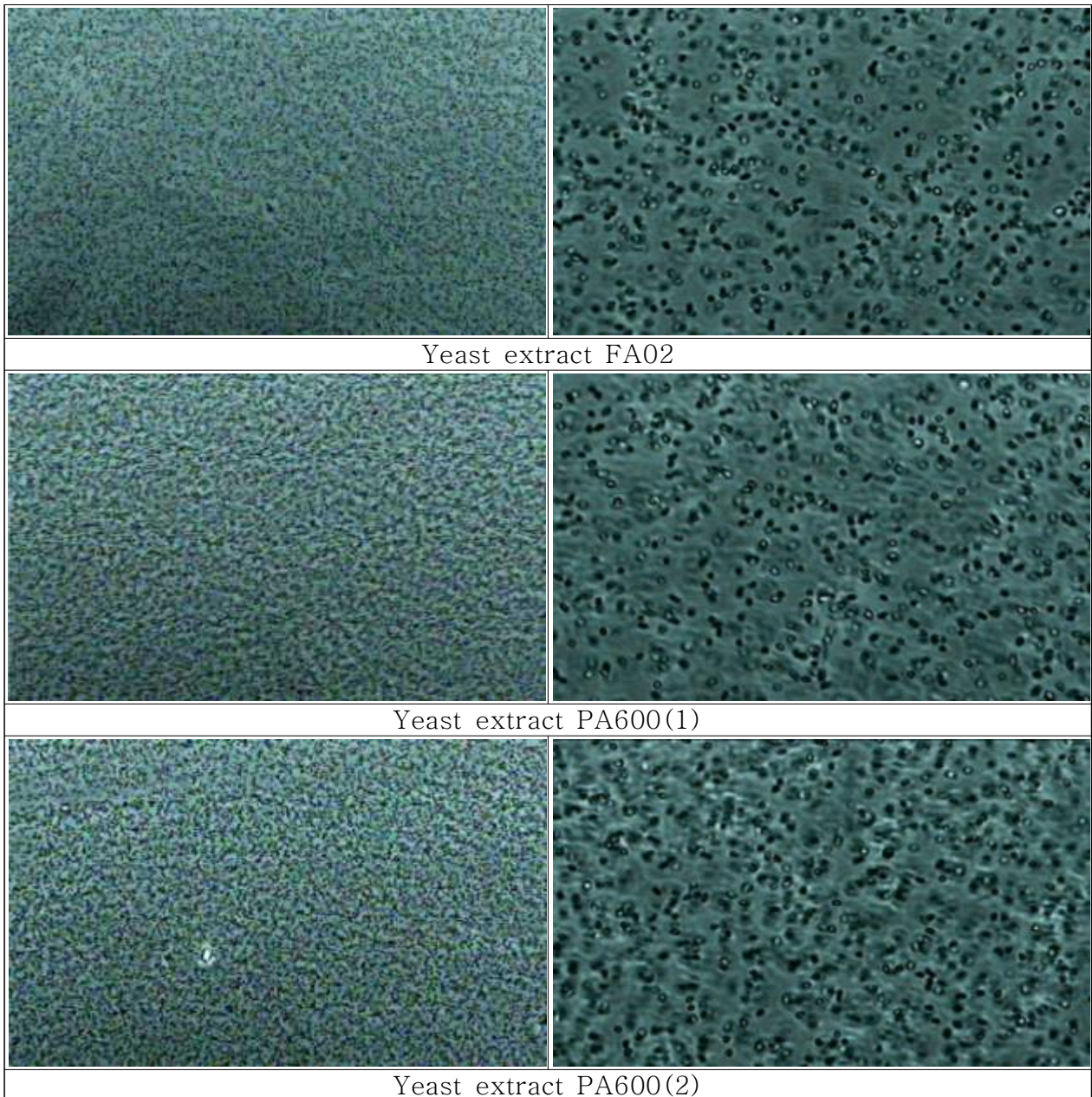


그림 40. Flask에서 배양한 광합성세균 검경 결과

- 배양조건은 1,000ml flask에 250ml로 1% 접종하여 32℃, 130rpm으로 shaking incubator에서 44시간 배양을 실시하였다. 배양 완료 후 광합성세균의 균밀도는 검경한 결과 그림 40과 같이 확인할 수 있었으며, 배양 종료 각 시료에 대한 pH는 PA600(1) 8.62, PA600(2) 8.48, FA02 8.34로 분석되었다. 광합성의 색상발현은 그림 41에서와 같이 배양 33시간 이후부터 red 색상이 진하게 변해있는 것을 확인할 수 있었다. 이는 육안상 red 색상을 띠지면 purple 색상이 진하게되면 red, 즉 포도주 색상인 적자색을 띠게 된다. pH가 상승하면서 red 또는 purple로 변해가면서 그 색깔도 진해진다 (그림 42). 광합성세균은 흔히 purple - bacteria로 이는 색상과 pH사이에 상관관계가 있는 것으로 보여지며, 균의 특성을 맞게 배양조건과 조성비를 확립하였다.

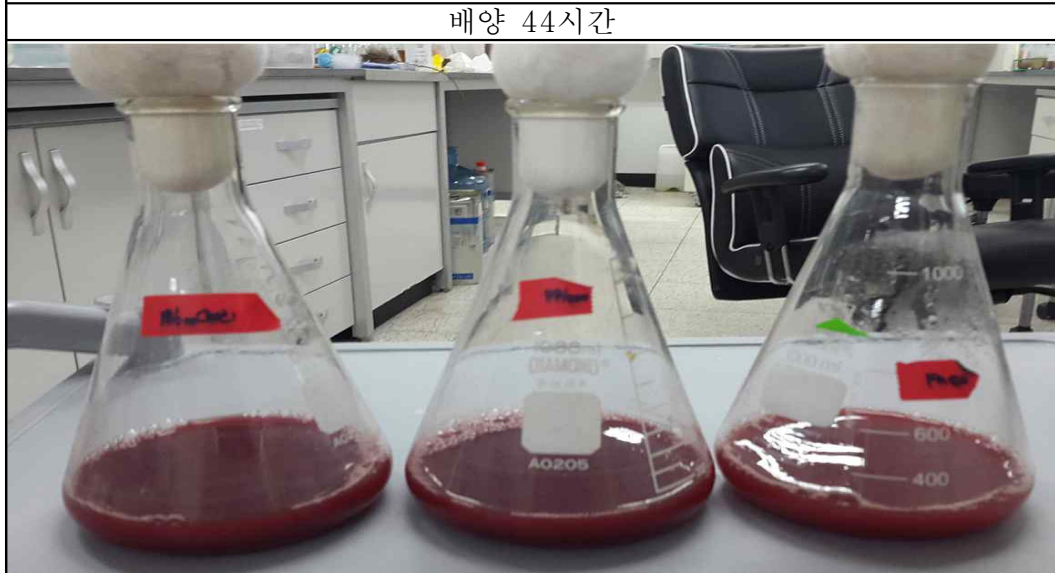
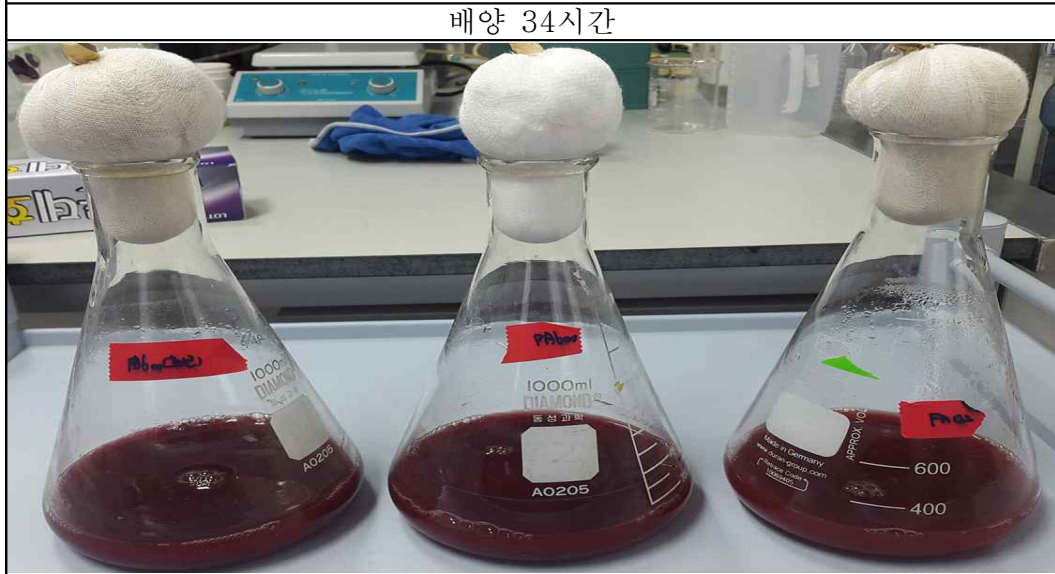
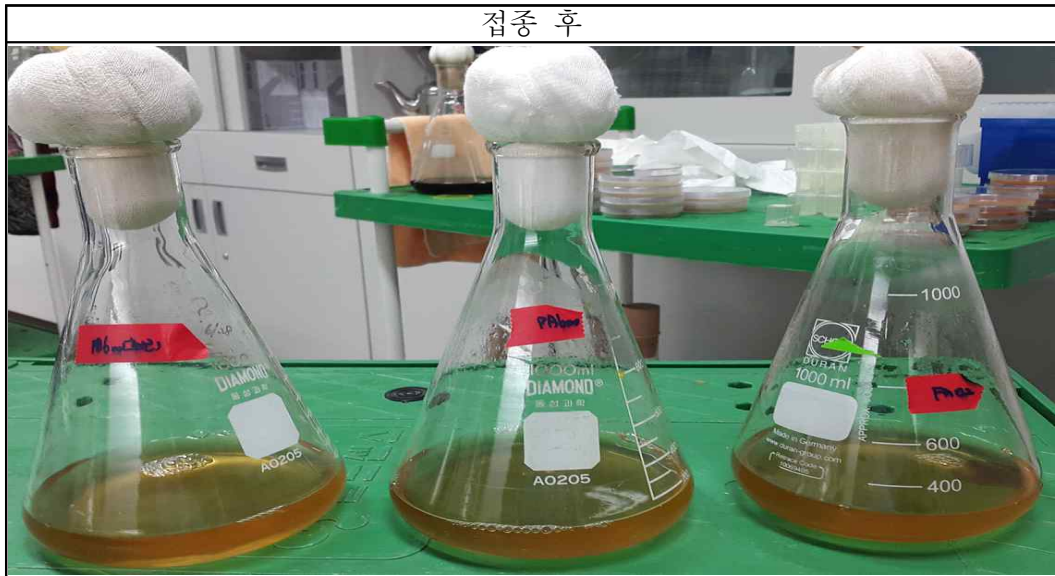


그림 41. 배양 시간별 광합성세균 플라스크 배양 결과



그림 42. 광합성세균 색상발현 (purple)

- (2) 질소원인 황산암모늄 $[(NH_4)_2SO_4]$ 과 제2인산칼륨 (K_2HPO_4) 의 농도에 따른 광합성세균의 생육 특성
- 질소원인 yeast extract을 기본으로하여 황산암모늄과 제2인산칼륨이 광합성세균의 배양 부성분으로 균 증식과 색상발현에 미치는 영향을 알아 보았다. Yeast extract는 batch error가 비교적 양호한 FA02를 기준으로하여 고농도 배양을 위한 최적조건의 투입 비를 조정하였다 (표 14).

표 14. Yeast extract 및 사용된 배지 조성

성분명	1	2	3	4	5
Yeast extract	10.0	10.0	9.0	10.0	10.0
Glucose	3.0	3.0	3.0	3.0	2.5
K_2HPO_4					2.5
KH_2PO_4		1.0	1.0		
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
NaCl	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
$(NH_4)_2SO_4$	1.0		1.0	1.0	
합계	20.0	20.0	20.0	20.0	21.0

- 배양조건은 500ml 삼각 플라스크에 200ml의 배지를 만들어 멸균을 한 후 냉동보관한 균주 1ml을 접종하였다. 접종한 flask를 shaking incubator에서 33℃, 170rpm으로 46시간 배양을 하였다.

- 멸균 후 1~5번 flask를 확인 한 결과 5번 flask만 석출물이 발생됨을 확인하였다. (그림 43) 멸균 후 석출물이 발생된 flask에 광합성세균 중균 접종 후 배양에 미치는 영향도 검토 하였으며, 그 결과는 그림 44와 표 15에서와 같은 결과를 얻을 수 있었다.
- 배지조성 2와 5 그리고 3 정도가 진한 적색을 띠며 착색 상태 양호하였고, 그 중에 배지조성 2가 가장 착색 상태 우수함을 나타내었다. 배지조성 5번 원조성의 경우 착색의 진행 속도와 정도 우수하나, 침착물 발생이 심하나 현미경상 배양액은 깨끗함을 보였다. 배지조성 4의 경우 현미경 검경시 균의 뭉침 현상이 다소 관찰되었다. 이것은 pH가 다소 높기 때문인 것으로 판단되어지며, 배지조성 3의 경우 대체로 상태 좋아 보이나 약간 색상이 탁한 느낌이었다. 광합성세균의 색상발현의 착색 순서는 배지조성 5의 경우 10~14시간, 배지조성 4의 경우는 15~17시간, 배지조성 1의 경우는 17~19시간, 배지조성 3의 경우는 22~24시간, 배지조성 2의 경우는 24시간 이후에 착색이 진행되었다. 이는 활성과 착색의 순서가 초기 pH가 높은 순서와 일치하며, 초기 pH 조절이 필요한 것으로 판단되어진다.
- 황산암모늄이 첨가된 조성(배지조성 1, 3, 4)은 어두운 갈색이 도는 붉은색을 띠었고, 배지 2와 5는 진한 붉은색을 나타내었다. 이러한 결과를 토대로 lab용 5 l jar fermentor에서 배지 조성 1, 2을 활용하여 재현성 실험을 진행하였다. 또한 앞선 배양에서는 다르게 고농도 배양을 위하여 배양 39시간 경과 후 yeast extract 20g과 glucose 6g을 물 200ml에 용해한 후 멸균하여 추가로 배지를 투입하였다.

표 15. 배양 결과

배지조성	광합성세균 검경	pH		O.D값 (×10)	색상 발현상태
		초기	종료		
1	양호	5.75	8.19	2.822	3 (17~19시간)
2	양호	5.55	7.47	3.100	1 (24시간 이후)
3	양호	5.57	7.26	2.658	4 (22~24시간)
4	뭉침	5.86	8.65	2.380	5 (15~17시간)
5	양호	6.91	8.23	2.540	2 (10~14시간)

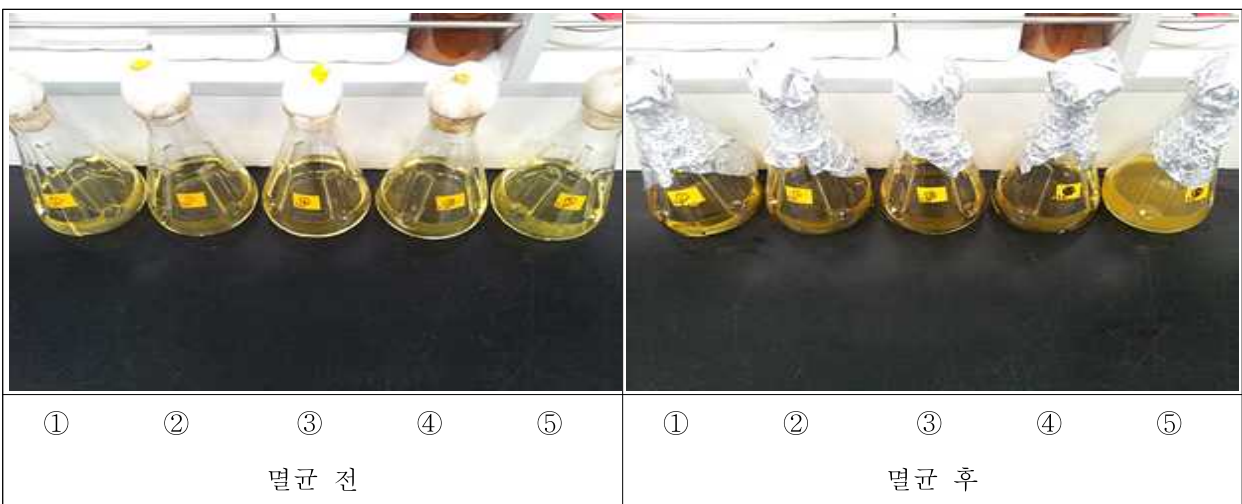


그림 43. 배지 멸균 전 · 후

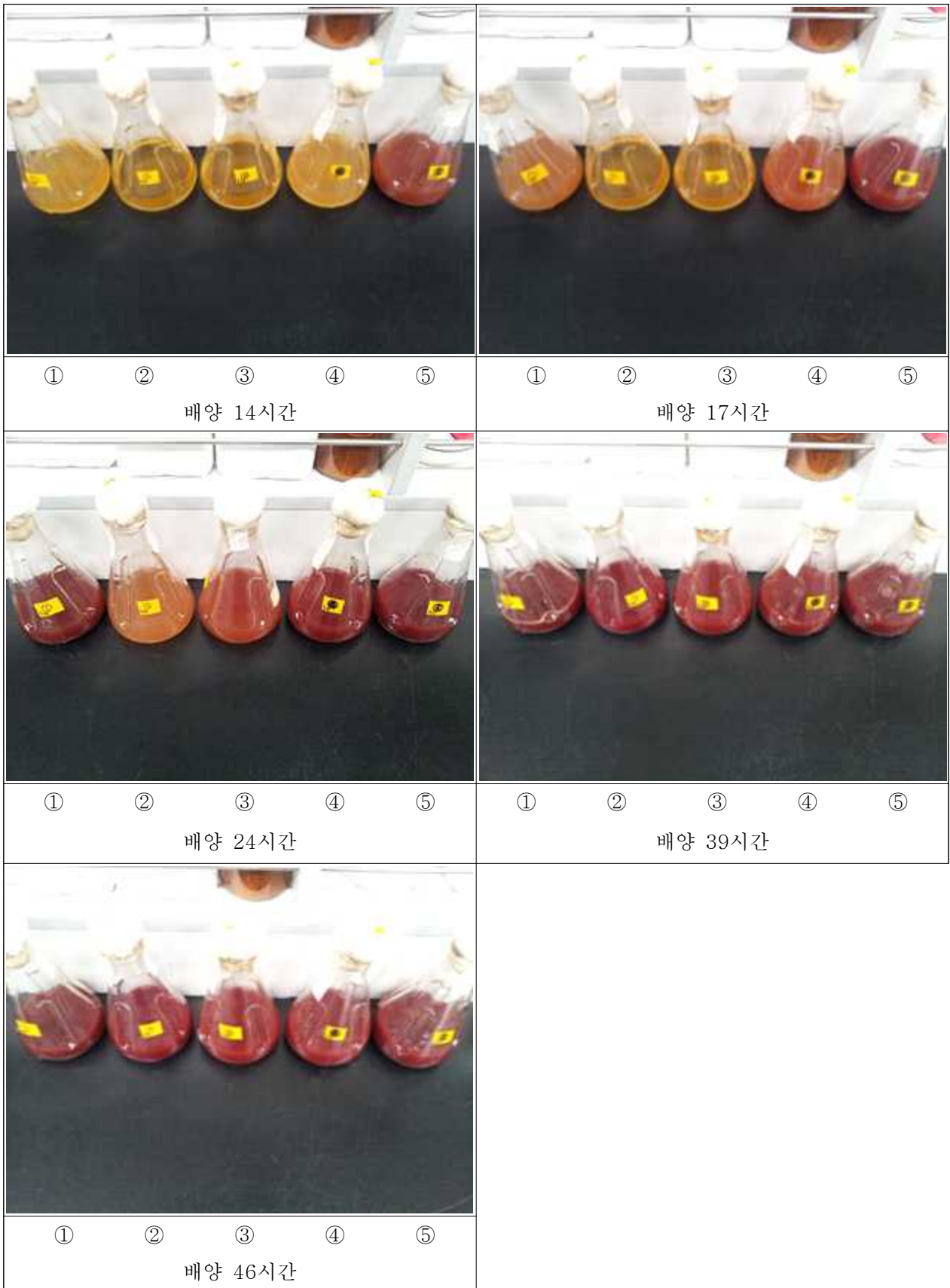
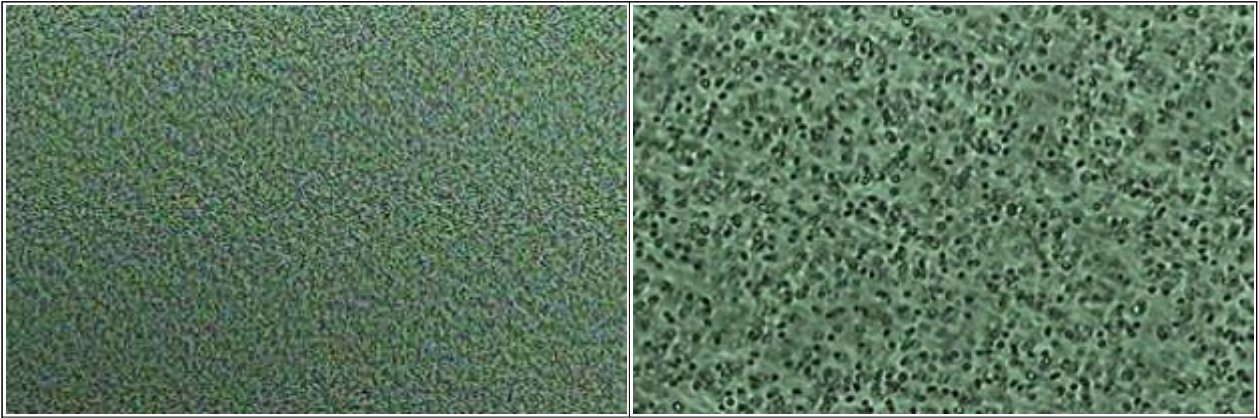
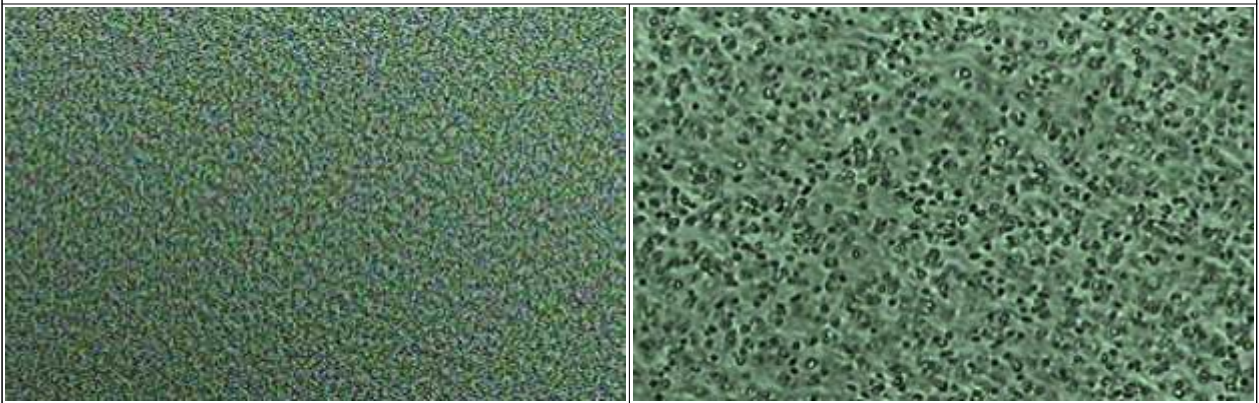


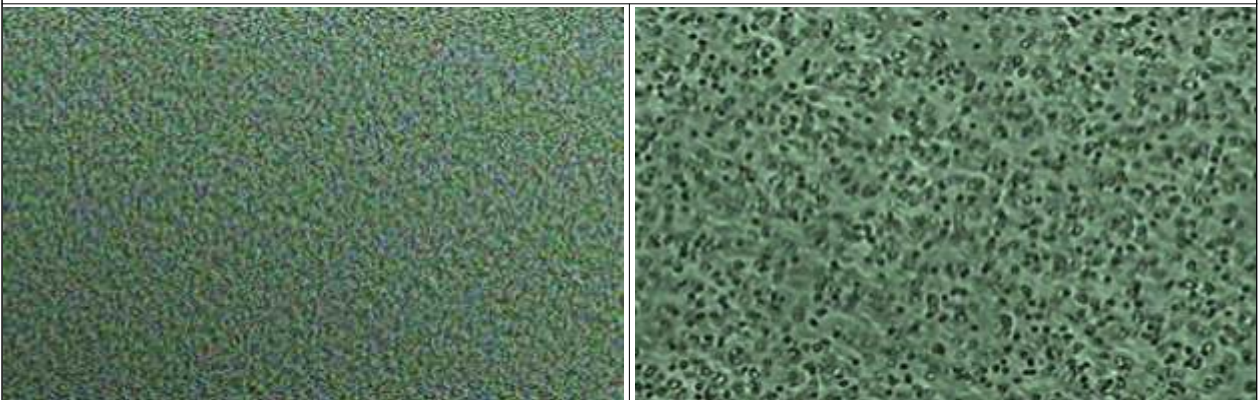
그림 44. 배양 시간별, 조성별 광합성세균 플라스크 배양 결과



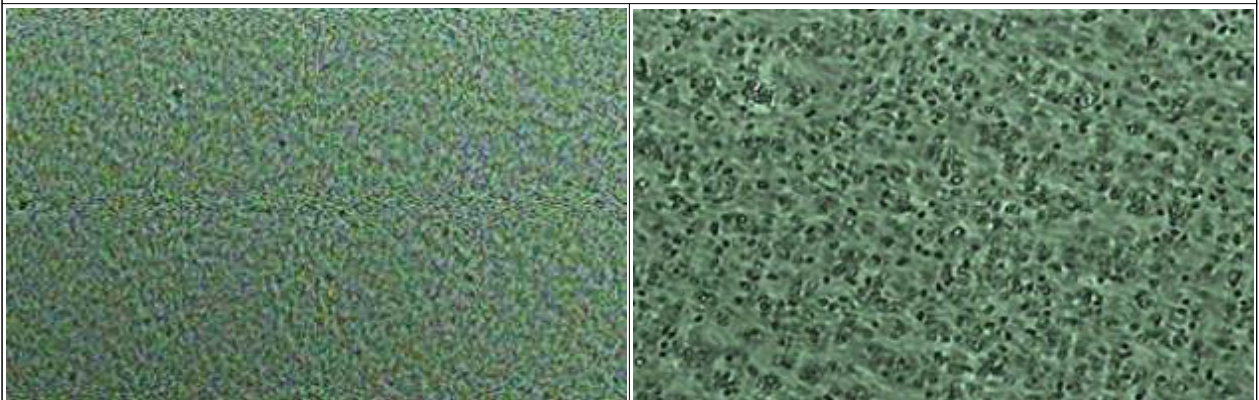
배지조성 1



배지조성 2



배지조성 3



배지조성 4

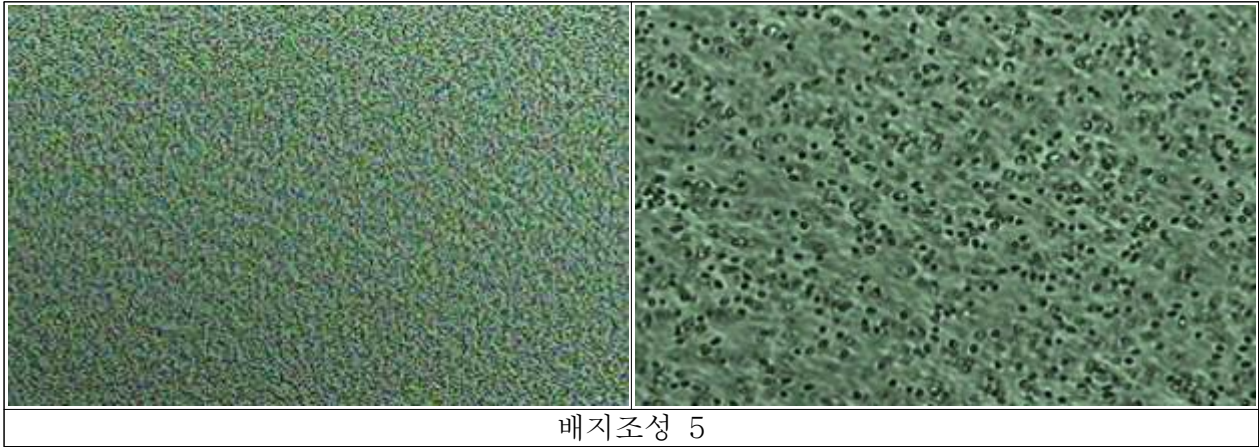


그림 45. 최종 배양시료에 대한 검경 결과

- 위의 flask 배양의 결과에서 보여주었던 것처럼 jar fermentor에서 유사한 패턴으로 배양이 가능한지를 진행하였다. 배지조성은 표 16에서 보여주는 것처럼 효과적이었던 배지조성 1, 2로 하였으며, 5 l jar fermentor의 배양조건은 다음과 같은 조건으로 진행하였다.

- ① Fermentor volume : 5 l
- ② Working volume : 4 l
- ③ Culturing time : 64 hrs
- ④ Inoculum volume : 12ml (0.3%)
- ⑤ pH control : Not
- ⑥ Temperature control : 32°C
- ⑦ Aeration rate : 2.5 l/min
- ⑧ Agitation speed : 200rpm
- ⑨ Sterilization condition : 121°C, 25min, autoclaving

표 16. Yeast extract의 종류 및 사용된 배지 조성

성분명	1	2
Yeast extract	10.0	10.0
Glucose	3.0	3.0
K ₂ HPO ₄		
KH ₂ PO ₄		1.0
MgSO ₄ · 7H ₂ O	1.0	1.0
NaCl	5.0	5.0
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.0	
합계	20.0	20.0

- 사용된 yeast extract는 동일한 FA02 사용하였고, 표 16의 조성비로 멸균하였을 석출물은 발생하지 않았다. 표 17, 18은 jar fermentor 1은 배지조성 1, jar fermentor 2는 배지조성 2에 대한 광합성세균 배양 관찰 결과이다.

표 17. Jar fermentor 1에서 배지조성 1의 관찰 결과

배양시간	Jar fermentor 1 (배지조성 1)			
	pH	OD($\times 10$)	균 활성	외관
초기(0시간)	6.65	-	-	맑고 투명
14시간	-	-	-	2보다 더탁하고 밝음
17시간	-	-	-	아주약간 붉은색 느껴짐
24시간	-	-	-	붉은색 완연함
39시간	7.70	3.228	양호	붉고 어두운색
47시간	7.65	4.298	양호	갈색톤의 붉은색
64시간	8.32	4.852	양호	적갈색톤의 붉은색

표 18. Jar fermentor 2에서 배지조성 2의 관찰 결과

배양시간	Jar fermentor 2 (배지조성 2)			
	pH	OD($\times 10$)	균 활성	외관
초기(0시간)	5.51	-	-	아주 약간 탁함
14시간	-	-	-	탁해지기 시작함
17시간	-	-	-	좀 더 탁해짐
24시간	-	-	-	갈색(붉은색돌기시작)
39시간	6.74	3.244	양호	붉고 어두운색
47시간	6.85	4.214	양호	검붉은색, 진한 붉은색
64시간	7.50	4.620	양호	환한 짙한 적색

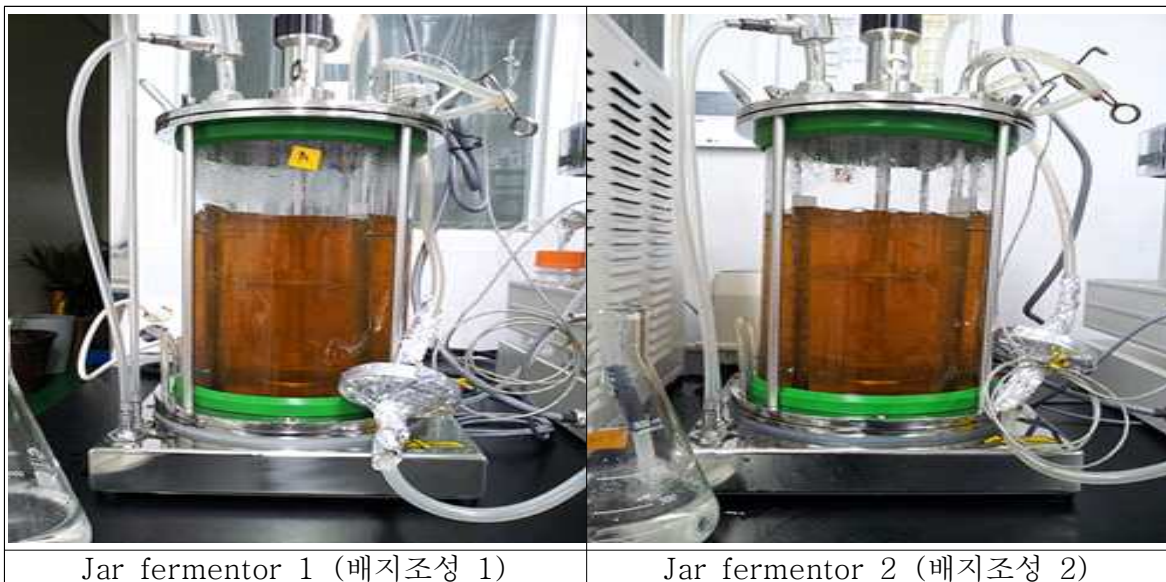


그림 46. 광합성 세균 종균 접종 직후

<p>배양 14시간</p>		
	<p>Jar fermentor 1 (배지조성 1)</p>	<p>Jar fermentor 2 (배지조성 2)</p>
<p>배양 17시간</p>		
	<p>Jar fermentor 1 (배지조성 1)</p>	<p>Jar fermentor 2 (배지조성 2)</p>
<p>배양 24시간</p>		
	<p>Jar fermentor 1 (배지조성 1)</p>	<p>Jar fermentor 2 (배지조성 2)</p>



그림 47. Jar fermento에서의 시간별, 조성별 광합성세균 배양 결과







- 표 17, 18에서 균수의 밀도 측정은 O.D값을 600nm에서 측정한 결과 jar fermentor 1의 배지조성 1에서 O.D값이 조금 높게 분석되었고 광합성세균의 착색정도도 적갈색톤의 붉은색을 띠었다. 그림 47에서는 jar fermentor 1의 경우 17시간 내외에서 균의 활성화와 착색이 왕성해지기 시작하였으며, 2의 경우는 낮은 pH로 인하여 24시간 경과 후부터 균 활성화와 착색이 왕성해지기 시작하였다. 최종 배양액의 색상은 jar fermentor 2 쪽이 좀더 밝고 환한 톤의 붉은색이고, 1번은 약간 갈색의 어두운 톤을 나타냈다. 또한 jar fermentor 2의 배지조성에서 초기 pH를 6.0 이상으로 조절하였을 경우 멸균시 물성의 변화와 생육 형태를 확인할 필요가 있고 황산암모늄이 첨가된 경우 색상이 약간 갈색톤을 띠는 것으로 확인되었다. 그림 48의 검경 결과 <1>, <2>배지에서 배양된 광합성세균의 배양시료는 시간에 따른 균활성 및 밀도는 유사함을 확인이 되었다. 이는 유사한 균밀도를 보였지만, 색상발현은 조금 다르게 발현됨을 확인되었다.



그림 48. Jar fermentor 1, 2의 시간별 배양시료의 검경 결과

(3) 질소원인 펩톤류 및 효모추출물 조합에 따른 광합성세균의 생육 특성

- 질소원인 soy peptone과 casein peptone, 그리고 yeast extract만을 조합하여 균 증식과 색상발현의 최적조건을 확인하였다. 이는 유기질소원을 이용하여 고농도 배양의 최적조건을 탐색하였다. 그 조합은 표 19과 같이 조성비로 하여 광합성세균의 배양상태를 확인하였다.

		
<p>Casein peptone</p>	<p>Casein peptone + Yeast extract 0251</p>	<p>Soy peptone 349 + Yeast extract FA02 + Casein pepton</p>
		
<p>Casein peptone + Yeast extract FA02</p>	<p>Soy peptone 349</p>	<p>Yeast extract FA02</p>

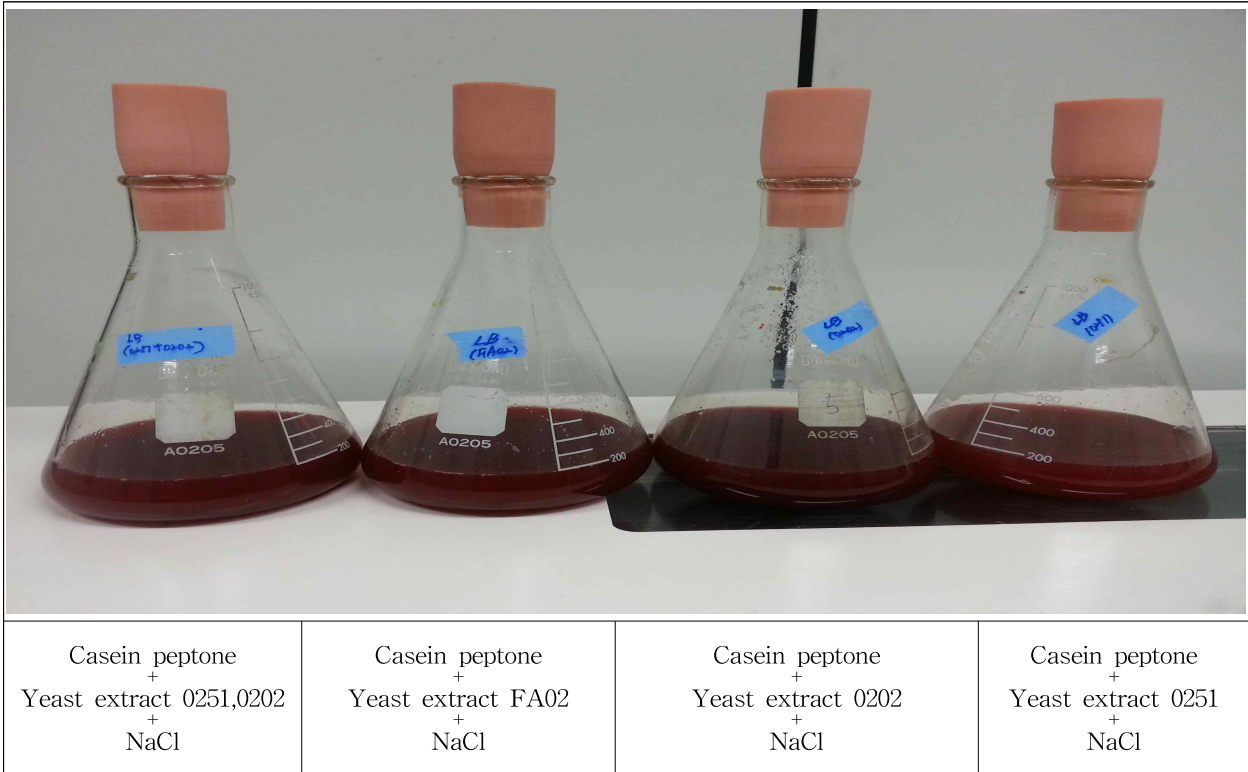


그림 49. 플라스크 배양 결과

표 19. 펩톤 및 효모추출물의 종류에 따른 조성비

Casein peptone	0.2%	연분홍색
Yeast extract FA02	0.5%	갈색
LB 조성(Casein peptone + Yeast extract + NaCl)	1%+0.5%+0.5%	핑크갈색
Casein peptone + Yeast extract FA02	1%+0.5%	갈색+핑크
Casein peptone + Yeast extract 0251	1%+0.5%	밝은 홍색
Soy peptone 349	0.5%	어두운 홍색
Soy peptone 349 + Yeast extract FA02 + Casein peptone	0.2%+0.5%+0.5%	밝은 홍색

- 펩톤류와 효모추출물을 활용하여 LB broth를 기준으로 각 성분별로 조합하여 멸균을 한 후 광합성중균을 접종하여 48시간 배양을 하였다. 배양조건은 앞선 선행되었던 배양온도, 교반 속도로 진행되었으며, 그 결과 각 조합에 따른 색상발현이 다르게 나타났다(그림 49). 기존 시약급 LB broth에서는 균 밀도는 높지 않지만 색상은 핑크색상을 띠게된다. 그림 49에서의 배양상태를 보면 각 조합에 따라 발색정도가 다르게 났다. 따라서 색상과 고농도 배양이 가능한 배지조성은 yeast extract을 기반으로하는 조성과 배양조건을 검토하였다.

제 2절 선발전 친환경 농업 유용미생물의 대량생산시스템 개발

1. 고농도 대량배양기술 개발

– 광합성균의 경제적인 대량 생산을 위해서 산업용 배지의 적용 및 최적의 회수율을 위하여 최적의 배지조건을 검토하였고, 다양한 형태의 미생물 배양기에 따라 최적의 고농도 배양이 가능한 대량생산을 위한 배양기술은 균주의 경제적인 최적 성장배지를 선정하는 실험을 통한 배지조성을 검토되었다. 결정된 배지조성을 가지고 플라스크 배양과 실험실 규모의 생물반응기(7L)를 이용하여 균주의 배양조건 및 배지조성이 검토되었다. 플라스크와 7L 생물반응기에서 얻어진 배양조건과 pilot scale(500L, 1.5톤, 5톤)의 생물반응기에 적용하여 대량배양의 문제점과 차이점을 검토하였다. 또한 이를 각 지자체에 보유한 배양기에 적용 확대하여 최적의 배양공정을 수립하기 위하여 여러 방법을 모색하였고, 공정상에서 문제점을 검토하여 대량생산을 위한 효율적인 작업공정을 수립하였다.

(1) 광합성세균 고농도 배양을 위한 배양조성의 배지 배양성능 및 배양조건 확인

표 20. 배지조성 (B type, I10)

배지	성분	투입량(g)	
		B type	I10
Main Broth	Yeast extract	1.0	0.50
	Glucose		
	Na-Acetate	5.0	6.00
	Na-Propionate	0.5	
	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5	0.70
	KH ₂ PO ₄	0.1	
	K ₂ HPO ₄	0.1	0.10
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2	0.20
	NaCl	2.5	1.50
	MSG		1.00
	소계	9.9	10
Sub Broth	Yeast extract	10.0	추가배지
	Glucose		
	Na-Acetate	4.0	
	K ₂ HPO ₄	0.5	
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5	
		합계	15.0

- I10의 경우 현재 8kg/ton 수준으로 10kg/ton 으로 조정하여 배양 성능을 확인하였다. B type은 추가배지 조합으로 yeast extract는 150ml에 40g, 초산나트륨 16g과 제2인산칼륨 2g, 황산마그네슘 2g은 150ml에 녹여 추가투입하였다. 이때 혼합하여 멸균할 경우 석출이 되는 현상을 보이므로 개별멸균을 하였다. 배양 조건은 표 21과 같은 조건으로 진행하였다.

표 21 배양 조건

항 목	B type	I10
온 도	32℃	32℃
공 기 량	50ml/min → 100m/min(24hr)	50m/min 고정
교반속도	150(0hr) → 200(24hr) → 250(48hr)	150rpm 고정
추가배지	24hr 경과 후 투입 실시	-
pH	48hr : 8.54, 최종(72hr) : 8.83	48hr : 8.83, 최종(72hr) : 8.86
광조사	50w 백열등	50w 백열등





배양 24시간 (추가배지 투입 전)



배양 24시간 (추가배지 투입 후)



배양 24시간



배양 28시간



배양 31시간



배양 43시간



그림 50. Jar fermentor에서 시간에 따른 광합성세균의 색상발현 결과

- 그림 50에서 jar fermentor를 이용하여 두 조성비로 72시간까지 배양을 진행하였다. 배양 profile을 보면 우측 jar fermentor I10의 조성에서 색상발현이 19시간 때 먼저 착색됨을 확인할 수 있었다. 그리고 I10 배지조성에서 배양 24시간때에 추가배지를 투입하여 계속 배양을 진행하였다. 그 결과 배양 72시간때의 최종 배양시료를 보면 색상 B type 조성에서 광합성세균의 배양액은 purple색을 더 강하게 띠었다. 하지만 초기 착색시간은 I10 조성보다는 4~5시간 늦게 착색되어 색상을 보이기 시작했다. 이는 초기 유기물농도의 의해 부하를 받는 것으로 판단되어진다. 따라서 초기 착색시간을 단축시키기 위해서는 낮은 농도로 시작되는 것이 좋은 것으로 판단되어진다. 검경 결과 균수나 색상발현은 B type 배지조성이 좋은 것으로 나타났다.

(2) 대량배양용 배지 최적화

- 지자체 보유한 미생물 배양기는 멸균배양기나 멸균배양기로 되어있고, 종균관리나 배양기의 관리상 태가 서로 다르기 때문에 이런 부분에서 영향을 최소화하여 광합성세균을 배양할 수 있는 고농도배양 조건을 검색하였다. 앞선 기존 시판되는 광합성배지와 유사한 최적화된 배지 조성을 검토하였다. 유기물의 농도를 최소농도로 하여 유기산을 탄소원으로하여 고농도 배양이 가능하도록 몇가지 배지조성 검토하였다. 표 21은 기존 일명 무살균배지보다 고농도 배양이 가능한지 비교 실험을 실시하였다.

표 22. 대량 배양용 배지 조성

성분명	1	2	3	4
Yeast extract	0.5	1.0	1.0	1.0
Na-Acetate			3.0	
Na-Malate	2.5	2.5		3.0
NaCl	0.3	0.8	2.5	2.5
K ₂ HPO ₄	0.2	0.2	0.5	0.5
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.5	0.5	1.0	0.5
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.0	1.0	2.0	2.0
합 계	5.0	6.0	10.0	9.5

* Yeast extract는 FA02를 사용.

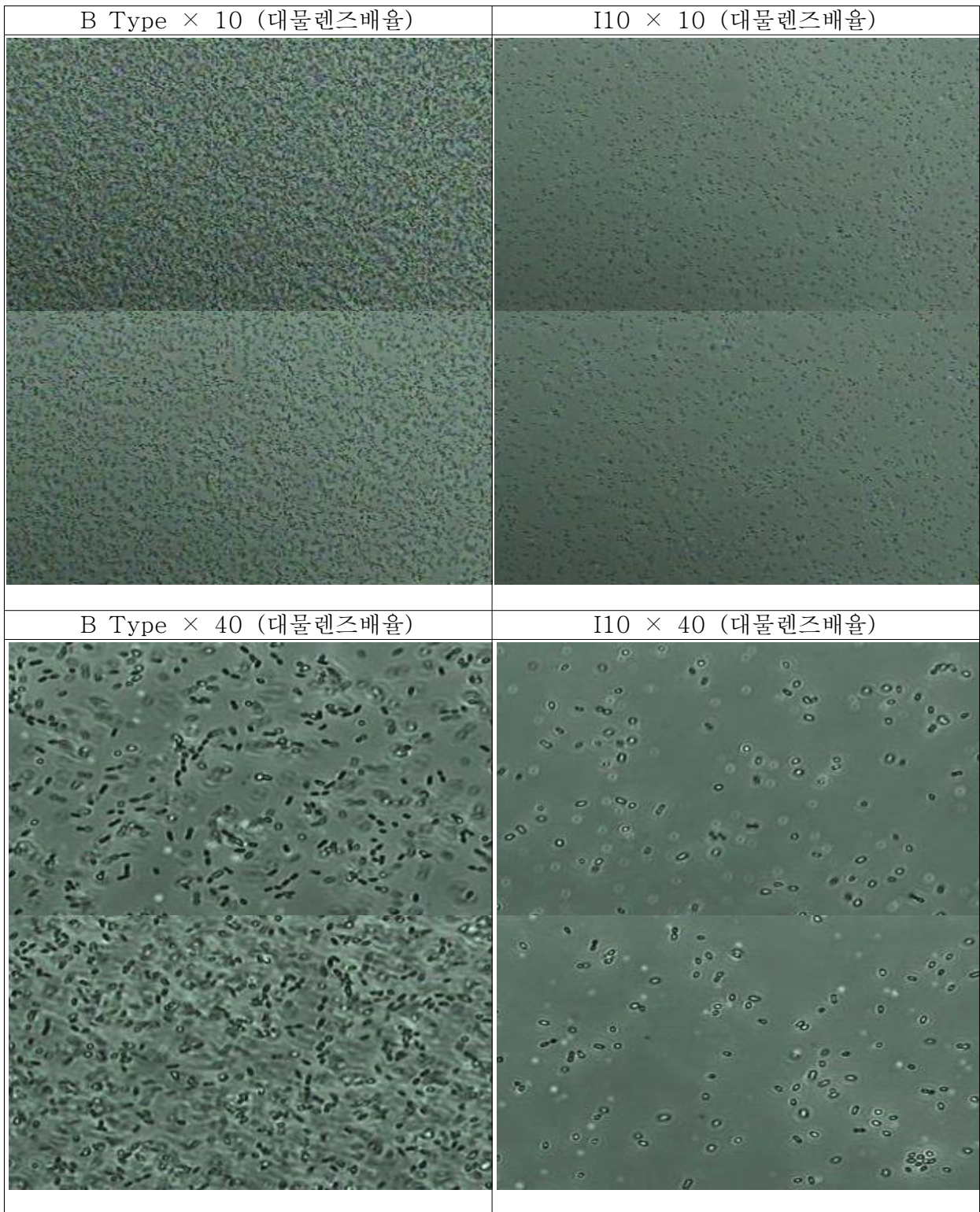


그림 51. Jar fermentor에서 광합성세균 배양 후 최종 시료의 검경 결과

- 배양 조건은 1 l 에 500ml을 95℃에서 50min간 살균을 하였고, 종균은 냉장 보관 중인 종균 각 5ml씩 접종한 후 33℃에서 진탕배양기로 170rpm을 28시간 배양을 하였다. 현장 조건을 고려하여 살균 조건으로 배지를 처리하였으며, 입구도 면전하지 않고 쿨링호일로 처

리하였다. 18시간 경과 관찰시 모두 붉은색으로 착색되었다. 1번 배지는 분홍빛이 도는 적색을 나타냈으며 배지 2와 4는 거품이 발생하였으며, 노란색을 띠며, 연한 적갈색으로 착색이 되었다. 배지 3에서 배양된 것이 가장 착색이 되었으며, 진한 적갈색 혹은 어두운 적색을 띠고 거품은 발생하지 않았다. 28시간 경과 후 배양을 종료하였으며 오전과 비교하여 배지 1과 4는 큰변화가 없었다. 배지 2는 거품이 없어지고 착색이 많이 진행되었으며 배지 3이 가장 진하며, 오전보다도 착색 정도가 많이 진행되었다. 4개의 시료 모두 잡균 발생 거의 없고 깨끗하게 되었음을 그림 53의 현미경 검사를 통하여 확인할 수 있었다.

<p><살균후 접종직후 ></p>	
<p>< 약18시간경과 ></p>	
<p>< 약28시간경과 ></p>	

그림 52. Flask 배양 완료 후 착색상태

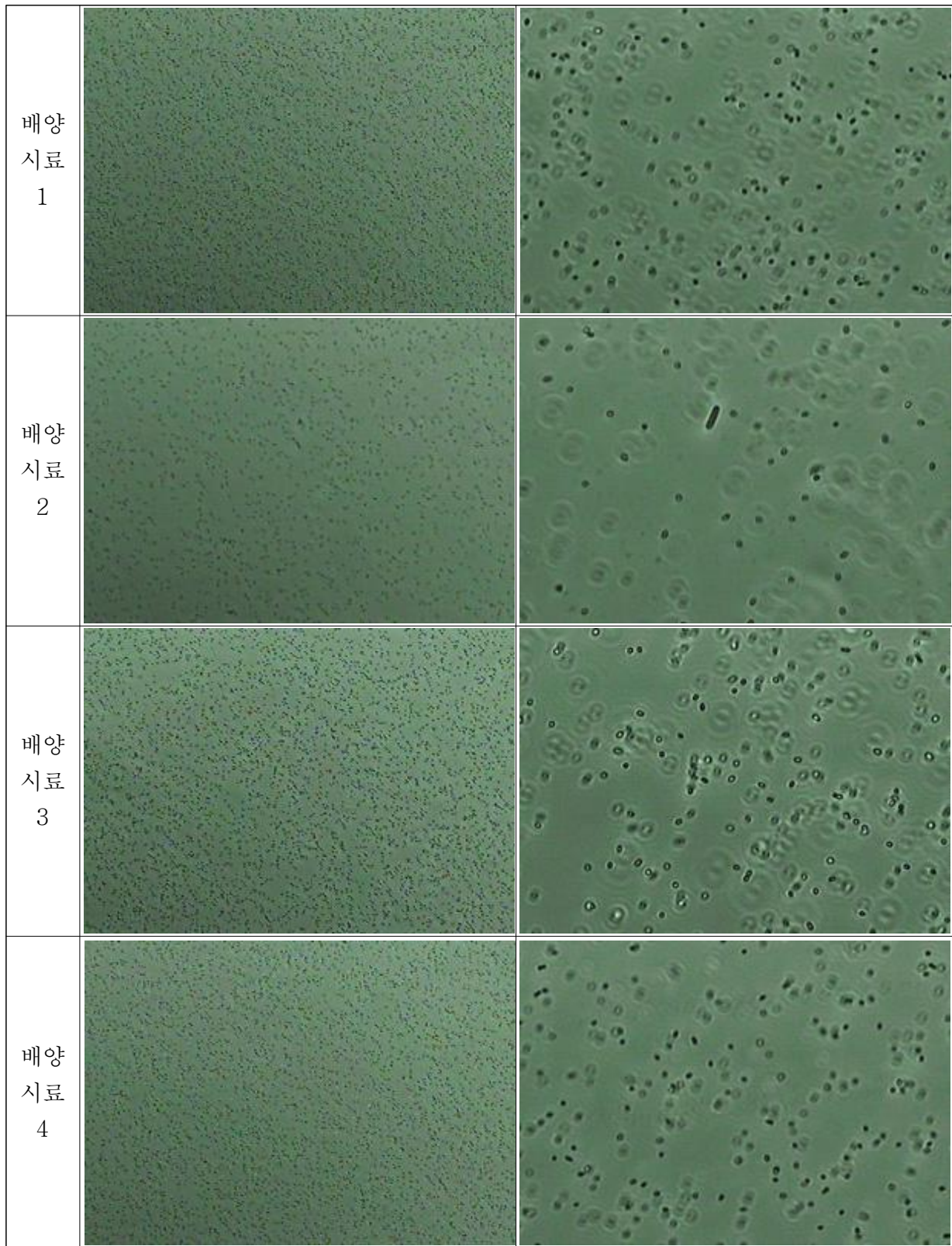


그림 53. Flask를 배양시료의 현미경 사진

(3) 고농도 배양을 위한 종균배양 조건 확립

- 대량배양을 배양을 위한 flask 종균 생산은 품질관리용으로 많이 사용하는 LB, Miller는 일반적인 조성으로 종균배양시 유효미생물의 농도를 높이는 데에는 한계가 있다. 이러한 문제점을 보완하기 위하여 flask 종균배양에서도 10^{10} cfu/ml 정도로 증식이 되도록 배지 조성을 만들어 비교 실험을 하였다.

표 23. 배지 조성표

성분	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6
	함량(%)	함량(%)	함량(%)	함량(%)	함량(%)	함량(%)
초산나트륨(초산소다)	0.20	0.20	0.3	0.20	0.25	
속신산나트륨(호박산)	0.20			0.20	0.25	
Casein peptone		0.10	0.20	0.60	1.50	
Yeast Extract	0.020	0.20	0.10	0.40	1.0	1.0
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.080	0.050	0.10	0.10	0.1	
MSG	0.030			0.10		
NH ₄ Cl	0.030	0.030	0.030	0.030	0.03	
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.020	0.020	0.020	0.020	0.02	0.10
L-글리신	0.050	0.050	0.050	0.050	0.05	
NaCl	0.050	0.100	0.130	0.230	0.250	0.50
NaHCO ₃	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.050
KH ₂ PO ₄	0.050	0.030	0.050	0.050	0.030	0.080
K ₂ HPO ₄						0.020
Na-propionate	0.050					

- 지금까지 선행되었던 결과를 토대로 표 23와 같이 종균용 광합성세균을 고농도로 배양이 가능한 최적의 배지조성을 선발하였다. 배양조건은 배양온도 32℃, 교반속도는 120rpm, 배양시간은 48시간으로 동일한 접종량으로 배양을 하였다. 별도의 광원 없이 동일하게 1%의 접종하였다. 그림 54에서 각 배지별 배양한 결과 No.5과 No.6의 색상발현이 가장 우수하게 나타났다. 균 밀도는 현미경을 이용하여 관찰한 결과 그림 55와 같이 보여졌다.

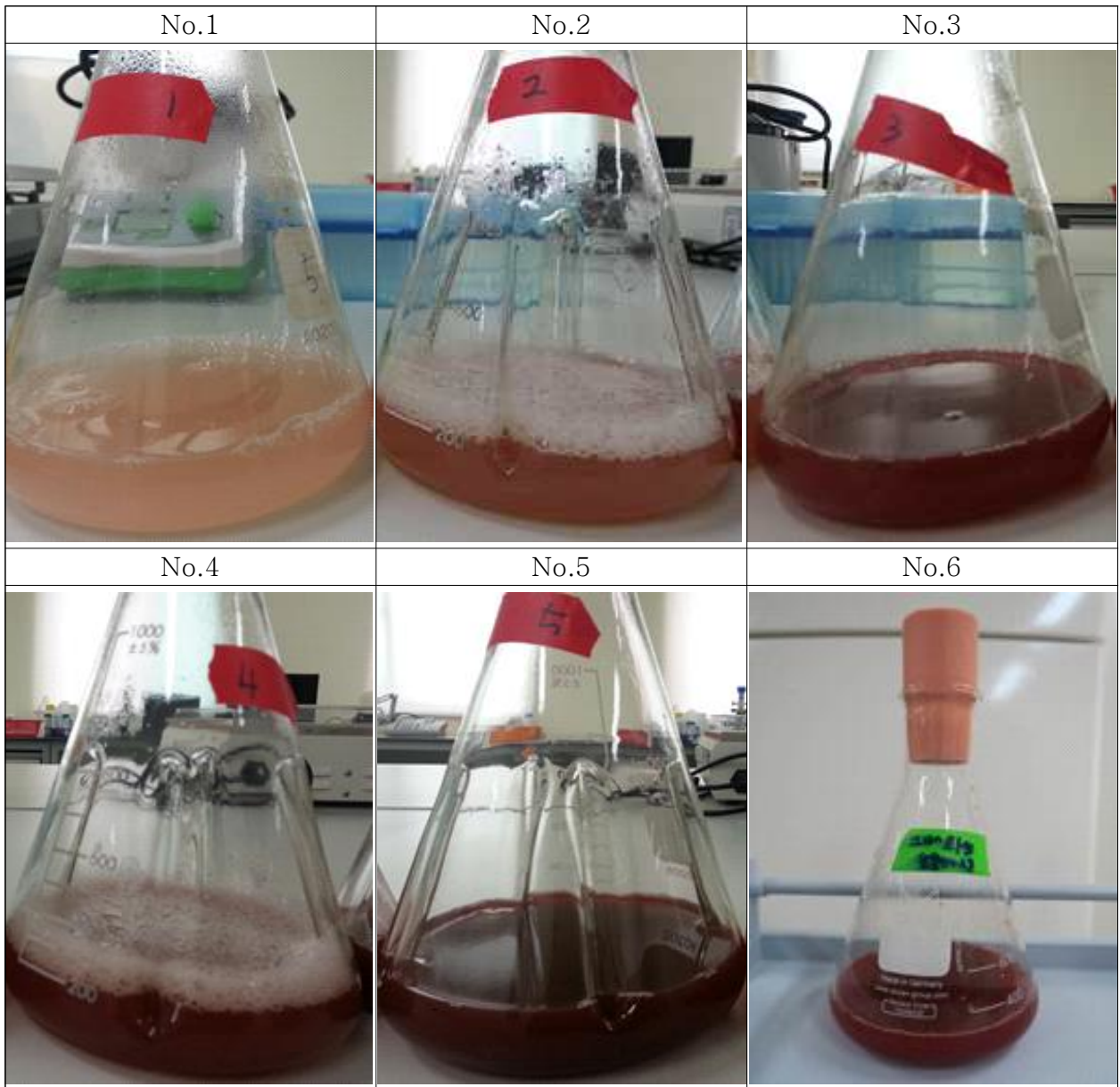


그림 54. 각 배지별 flask 배양에서의 색상발현 변화

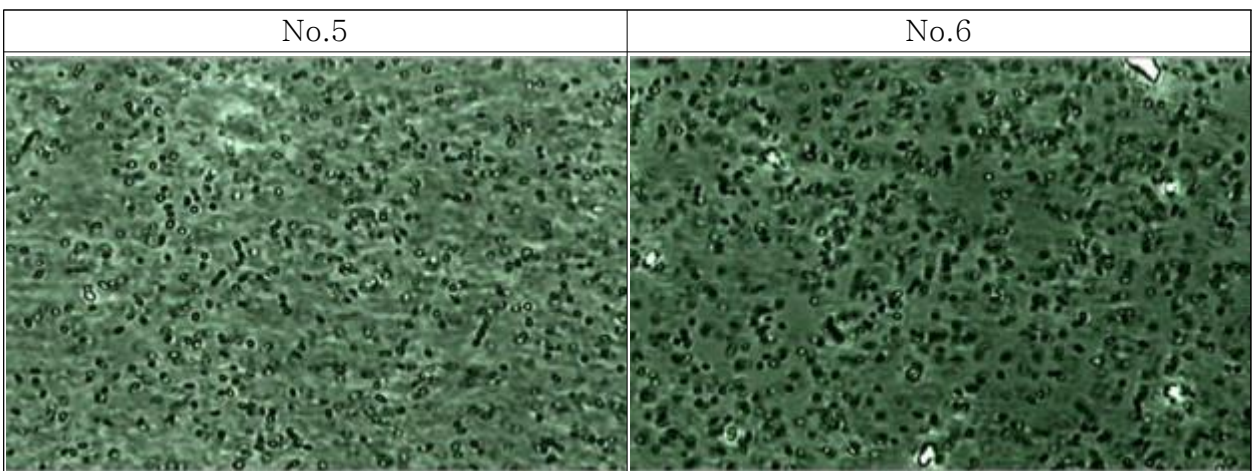


그림 55. No.5, No6 광합성세균 배양액의 검경 결과

(4) Lab scale에서의 고농도 배양 최적화 확립

- 종균배양에서 고농도 배양에 선발된 No.5와 No.6 배지를 jar fermentor에 배양은 LB 한천배지에서 48 ~ 72시간 동안 자란 균총을 No.6 액체배지(baffled flask, 200ml/500 ml)에 넣고 48시간(32°C, 120rpm, Rotary shaking incubator)배양 후 접종원으로 사용하였고, 접종전 현미경(1000×)으로 오염여부를 육안 확인 후 접종하였다. Jar발효조의 배양조건은 아래와 같다

- ① Fermentor volume : 7 l
- ② Working volume : 5 l
- ③ Culturing time : 72 hrs
- ④ Inoculum volume : 50ml (1%)
- ⑤ pH control : Not
- ⑥ Temperature control : 32°C
- ⑦ Aeration rate : 0.5 l/min
- ⑧ Agitation speed : 50rpm
- ⑨ Sterilization codition : 121°C, 25min, autoclaving

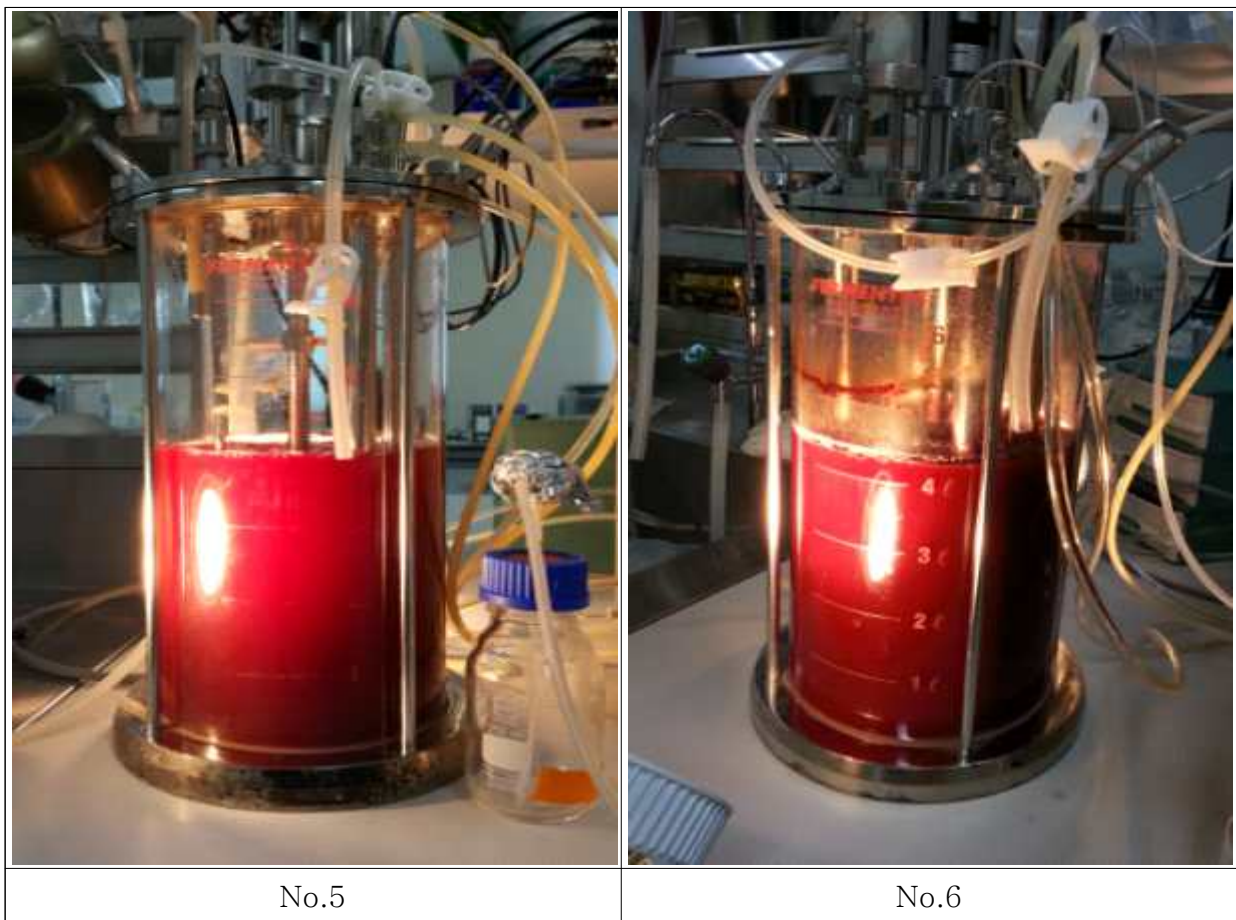


그림 56. 7 l jar fermentor에 광합성세균의 고농도 배양

- 그림 56은 No.5와 No.6의 formulation으로 72시간동안 광원을 주고 배양을 진행하였다. 배양 종료 후 최종 샘플을 현미경을 사용하여 관찰하였다. 검경상 jar fermentor에 배양한 광합성세균의 균체는 많아 보였다. 이 시료를 희석법으로 cell counting을 한 결과 No.5 배지는 5.33×10^9 cfu/ml의 농도를 보였고, No.6 배지는 1.0×10^{10} cfu/ml의 농도로 분석되었다. 이러한 분석된 결과로 pilot plant 발효조(500 l, 1,500 l) 배양은 No.6 배지로 고농도 배양법 배양조건을 확립하고자 한다.

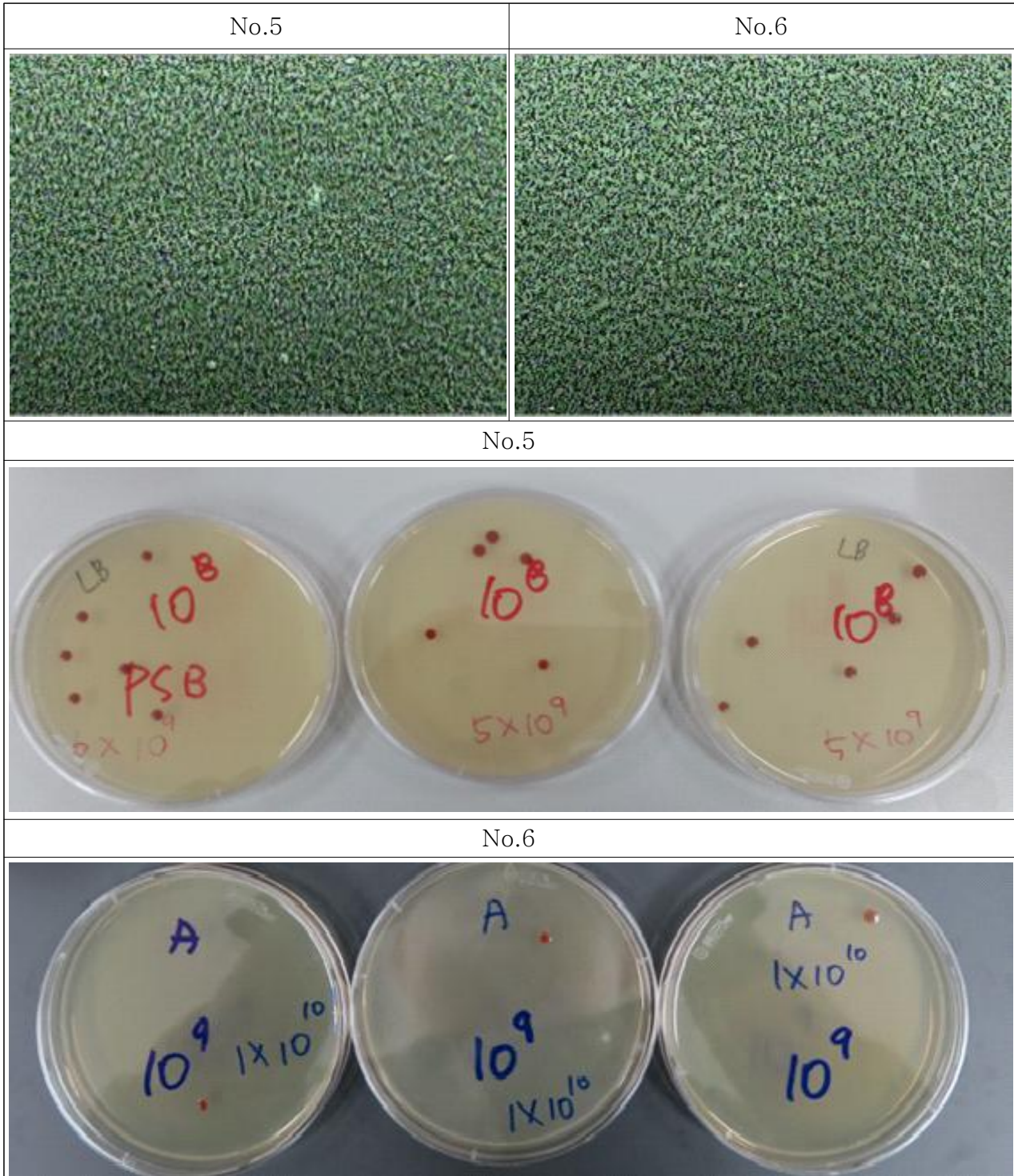


그림 57. 7 l jar fermentor에 광합성세균 배양액의 검경 및 분석(도말법)

(5) Pilot plant 발효조 배양

- Lab scale에서 결과를 토대로 선발된 광합성세균을 pilot plant인 500 l 에 적용하여 scale-up을 진행하였다. 종균은 광합성균 single colony을 활성화 시킨 후 1차 계대를 한 후 배양된 광합성세균 배양액 10ml를 121℃에서 15min 멸균한 LB 1 l 배지에 접종하여 32℃에서 120rpm으로 72시간 동안 배양 한 후 검경을 통해 오염여부를 확인하였다. 확인된 종균을 배양기에 화염살균을 하면서 접종을 하였다. 배양조건은 아래와 같다.



그림 58. Pilot plant 발효조

- ① Fermentor volume : 500 l
- ② Working volume : 200 l
- ③ Culturing time : 48 hrs
- ④ Inoculum volume : 2 l
- ⑤ Inside pressure : 0.5kgf/cm²
- ⑥ Temperature control : 32℃
- ⑦ Aeration rate : 30 l/min
- ⑧ Agitation speed : 20rpm
- ⑨ Sterilization codition : 121℃, 25min, autoclaving

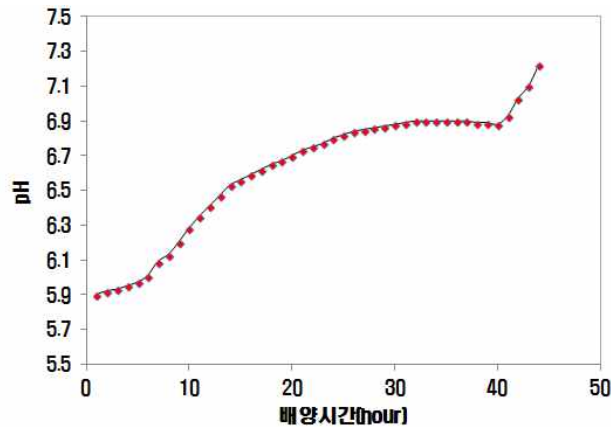


그림 59. 배양시간별 pH 변화량

- 그림 59은 500 l pilot scale에서 pH의 변화를 살펴보면 생육이 일어나기 시작하면서 pH가 서서히 상승하는 것을 확인 할 수 있었다. 이것은 유도기는 접종시점으로부터 배양 8시간 시점으로 나타났고 대수기는 배양 48시간 시점으로 나타났다. 분리된 토착 광합성세균은 중성영역인 6~8사이에서 잘 생육하는 균주로서 특히 pH정도에서 가장 생육이 우수한 것으로 확인되었다. 그림 60는 접종 전 광합성세균의 종균 상태를 보여주고 있으며, 접종 후 5분, 접종 후 24시간과 접종 후 48시간 시점의 배양시료의 착색상태를 보여주고 있다. 배양액의 착색정도를 확인한 결과 배양 48시간때의 색상과 종균의 색상 상태가 유사함을 확인할 있었다.

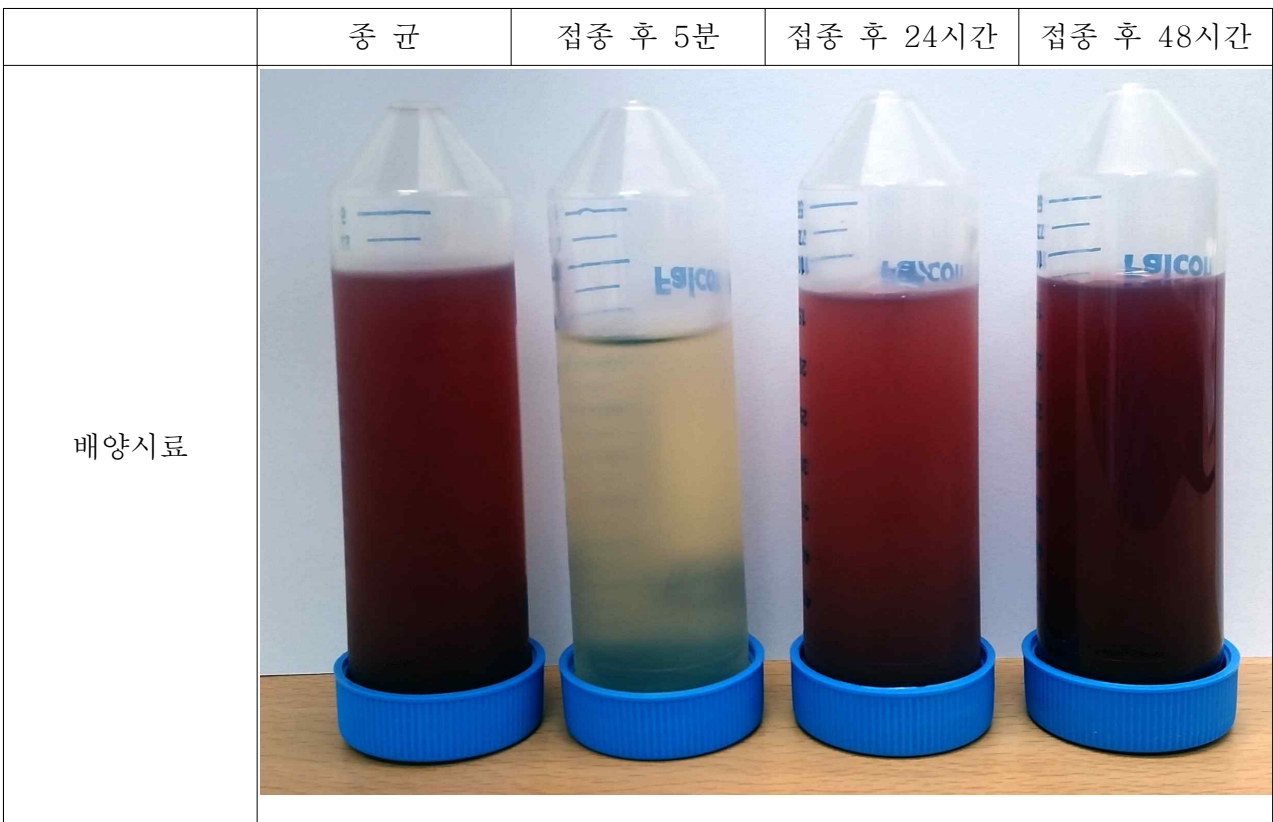


그림 60. 광합성세균의 생육변화

표 24. 유효미생물의 농도

	종 균		접종후 5분		접종후 24시간		접종후 48시간	
희석배수	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁷	10 ⁸
Colony count (CFU/ml)	803	138	153	37	722	143	-	600
생균수	1.0×10 ¹⁰		3.0×10 ⁷		1.0×10 ¹⁰		6.0×10 ¹⁰	

- 표 24는 접종시 종균의 농도와 접종 후 5분, 배양 24시간, 배양 48시간때의 광합성세균의 유효미생물의 농도를 측정한 결과이다. 종균의 농도는 1.0×10^{10} cfu/ml, 배양초기의 농도는 3.0×10^7 cfu/ml, 배양 24시간이후부터는 1.0×10^{10} cfu/ml과 6.0×10^{10} cfu/ml로 분석되었다. 측정된 유효미생물의 농도로 보았을 때 선발된 배지조성과 배양조건으로 고농도 배양이 가능함을 판명되었다. 유효미생물의 농도는 그림 61와 같이 도말 평판법에 의해 분석되었다.

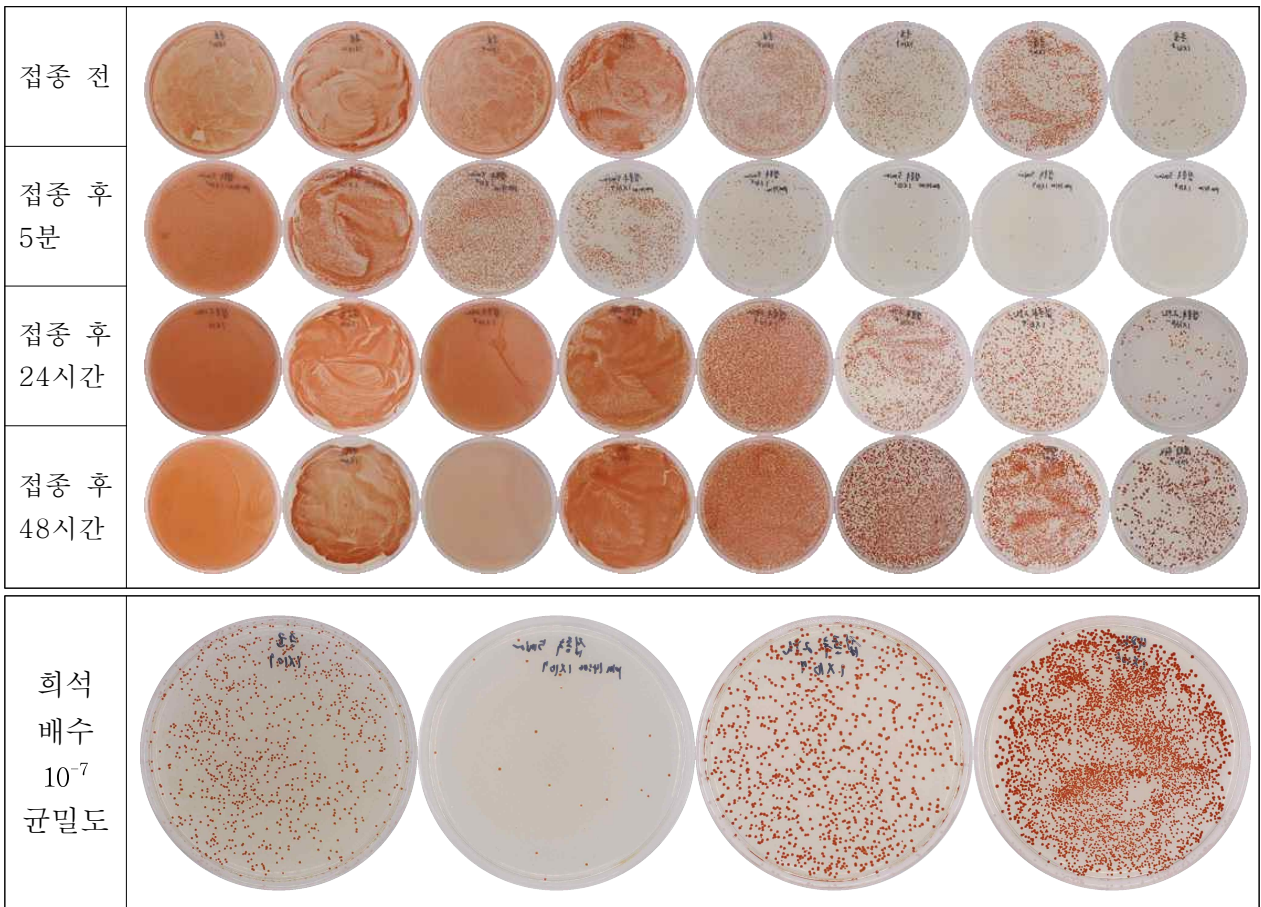


그림 61. 측정된 유효미생물의 농도

2. 고농도배양법에 의한 광합성세균의 대량생산 및 현장적용

가. 1.5톤 pilot-scale에서의 고농도배양 확립 및 현장적용



그림 62. 1.5톤 pilot plant에서 현장 적용

- Lab-Scale과 500 l의 실험을 기초로 광합성세균을 대량배양을 실험하였다. Lab-Scale의 연구결과를 살펴보면 배지사용량은 유기물이 풍부한 조성에서 배양이 효과적임을 확인할 수 있었다. 물론 전제조건은 미생물배양기는 무균적으로 유지가 가능한 멸균형 배양기에서 가능하다는 것이다. 이러한 전제조건을 바탕으로 앞선 500 l의 결과를 활용하여 도내 보유하고 있는 1.5톤 배양기에서 고농도배양이 가능한지 현장적용 실험을 하였다(그림 62). 종균은 그림 63의 순수배양된 flask 종균을 접종하여 배양을 진행하였다. 만약 고농도배양이 가능하다면 앞선 결과에서처럼 균밀도가 1.0×10^{10} cfu/ml이므로 기존에 일반적인 배양농도와는 100배의 차이를 보였다.



그림 63. 5 l flask에서의 종균배양

- 선발된 고농도 배양용 배지 조성으로 1 l 당 20g으로 5 l flask에 3 l의 배지를 3조를 조제한 후 고압멸균기에서 121℃ 25분간 멸균을 한 후 준비된 stock된 광합성세균 종균을 접종하였다. 접종한 flak는 32℃, 120rpm으로 72시간 배양한 후 무균시료를 채취하여 현미경으로 관찰을 하였다. 종균의 오염여부를 확인후에 종균으로 사용하였다. (그림 63)

표 25. 1.5톤 pilot plant 배양 profile

시간	공기량	용존산소	pH	내압	교반속도	온도
0	50	100	5.99	0.26	60	32
2	51	91.7	6.05	0.28	60	32
4	50	98.6	6.05	0.26	61	32
6	50	97	6.08	0.25	60	32
8	50	92.8	6.15	0.26	60	32
10	50	84.3	6.15	0.26	60	32
12	50	63.3	6.28	0.26	61	32
14	51	8.1	6.54	0.25	60	32
16	50	0.7	6.7	0.26	60	32
18	50	1.1	6.79	0.26	60	32
20	51	0.4	6.8	0.26	60	32
22	51	1.1	6.8	0.26	61	32
24	51	0.4	6.79	0.25	60	32
26	51	0.5	6.8	0.25	60	32
28	51	0.3	6.8	0.26	60	32
30	50	0.4	6.96	0.25	60	32
32	50	0.3	6.99	0.26	60	32
34	51	0.3	8.02	0.26	61	32
36	50	0.3	8.05	0.25	60	32
38	51	0.4	8.07	0.26	60	32
40	51	0.3	8.1	0.26	61	32
42	50	1.4	8.13	0.26	60	32
43	51	0.5	8.14	0.25	60	32

- 1.5톤 pilot plant에서의 배양 조건은 표 24와 같이 배양 profile을 보여주고 있다. 500 l에서 1.5톤으로 scale-up이 가능함을 확인되었다.



그림 64. 1.5톤 pilot plant scale에서의 배양 완료 후 배양시료

- 그림 64의 배양 완료된 시료인 *Rhodobacter spaeroides* 1ml(g)를 생리식염수 9ml에 넣어 혼합하여 1:10 희석액을 만든 후 이를 1ml를 취해 생리 식염수 9ml를 넣어 1:10² 희석액을 만들었다. 이를 반복하여 1:10⁶부터 1:10⁹까지 조제한 후 각각 100 μ l를 petri dish에 도말 하였다. 이 petri dish를 30 $^{\circ}$ C에서 48시간 동안 배양한 후 확인된 형태의 콜로니 수를 계수한 후 평균값을 산출하여 1ml당 CFU(colony forming unit)로 측정하였다.
- *Rhodobacter spaeroides* 고농도 배양액내 대표 유효세균의 생균수 측정을 3반복으로 실시한 결과 생균수는 3.06×10^{10} CFU/ml으로 평가되었다.(그림 65) 이러한 분석결과 통해서 1.5톤 pilot plant scale에서도 고농도 배양으로 대량생산이 가능하다는 것을 확인되었다.

3.10×10^{10}	2.62×10^{10}	3.45×10^{10}
광합성세균의 고농도 배양액 1:10 ⁷ 희석, 100 μ l 배양결과		

그림 65. 도말평판법에 의한 유효미생물 측정 결과

- 기존의 일반배양의 농도를 분석하기 위하여 지자체로부터 배양시료를 받아 유효미생물의 농도를 측정하였다. 측정방법은 도말평판법을 활용하여 LB agar에 희석법으로 희석시킨 배양액의 희석을 도말을 하였다. *Rhodobacter spaeroides* 일반 배양액내 대표 유효세균의 생균수 측정을 3반복으로 실시한 결과 생균수는 5.83×10^8 CFU/ml로 평가되었다.(그림 66)




		
5.5×10^8	7.30×10^8	4.70×10^8
광합성세균의 일반 배양액 $1:10^7$ 희석, $100 \mu\text{l}$ 배양결과		

그림 66 도말평판법에 의한 유효미생물 측정 결과

- 고농도 배양법으로 배양된 광합성세균의 농도와 기존 지자체에서 생산된 광합성세균의 농도는 약 52배의 농도 차이가 생겼다. 일반 배양액으로 배양하는 광합성용배지 구입비가 평균 톤당 700,000원이라면 고농도 배양용 배지는 1,400,000원의 비용이 소요된다. 하지만 고농도 광합성배양액을 일반배양액 농도수준으로 희석하였을 경우 1톤 생산으로 5~10톤을 생산할 수 있으므로 실질적인 생산단가는 140,000~280,000원으로 20~40%의 경비 절감 효과를 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

나. 5톤 pilot-scale에서의 고농도배양 확립 및 현장적용

- 1.5톤 미생물 배양기에서 적용된 동일한 조건으로 광합성세균 배양을 scale-up하여 그림 67의 5톤 배양기에서 진행하였다. 그림 68는 광합성세균이 배양기내에서 무균적으로 배양되는 중이며 배양 48시간 시점이며, 정상적으로 적색으로 배양되고 있음을 확인할 수 있었다.



그림 67. 5톤 pilot plant에서 현장 적용

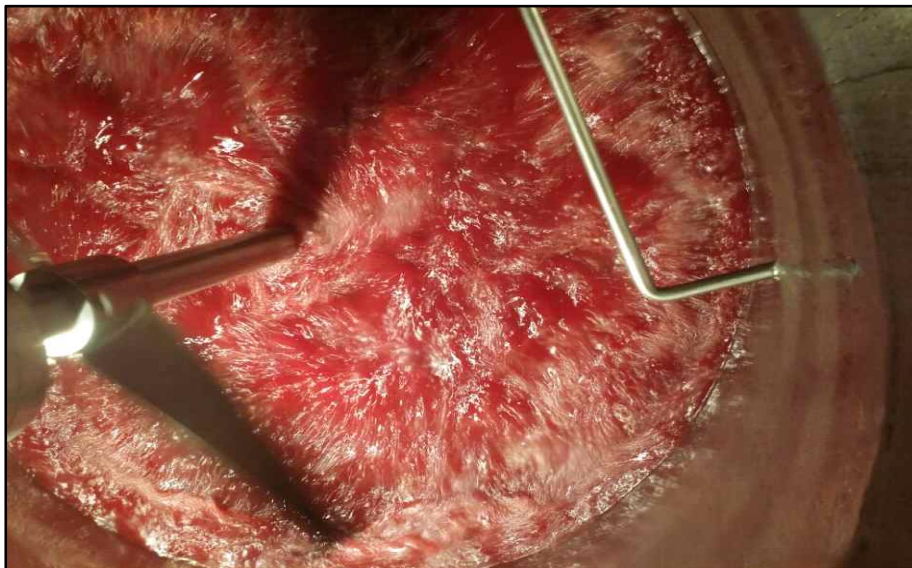


그림 68. 5톤 미생물 배양기내에서 광합성균 배양사진

- 배양이 완료된 시료를 채취하여 도말평판법으로 유효미생물 농도를 측정하였다. 그 결과 유효미생물의 생균수 농도는 7.67×10^9 CFU/ml로 평가되었다.(그림 69)

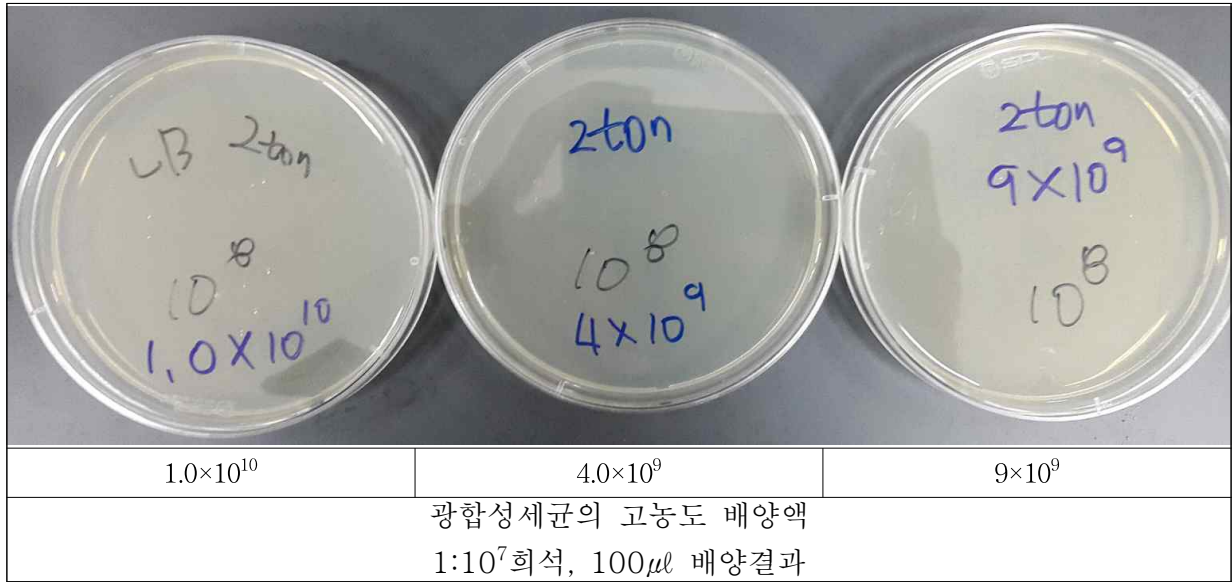


그림 69. 도말평판법에 의한 유효미생물 측정 결과

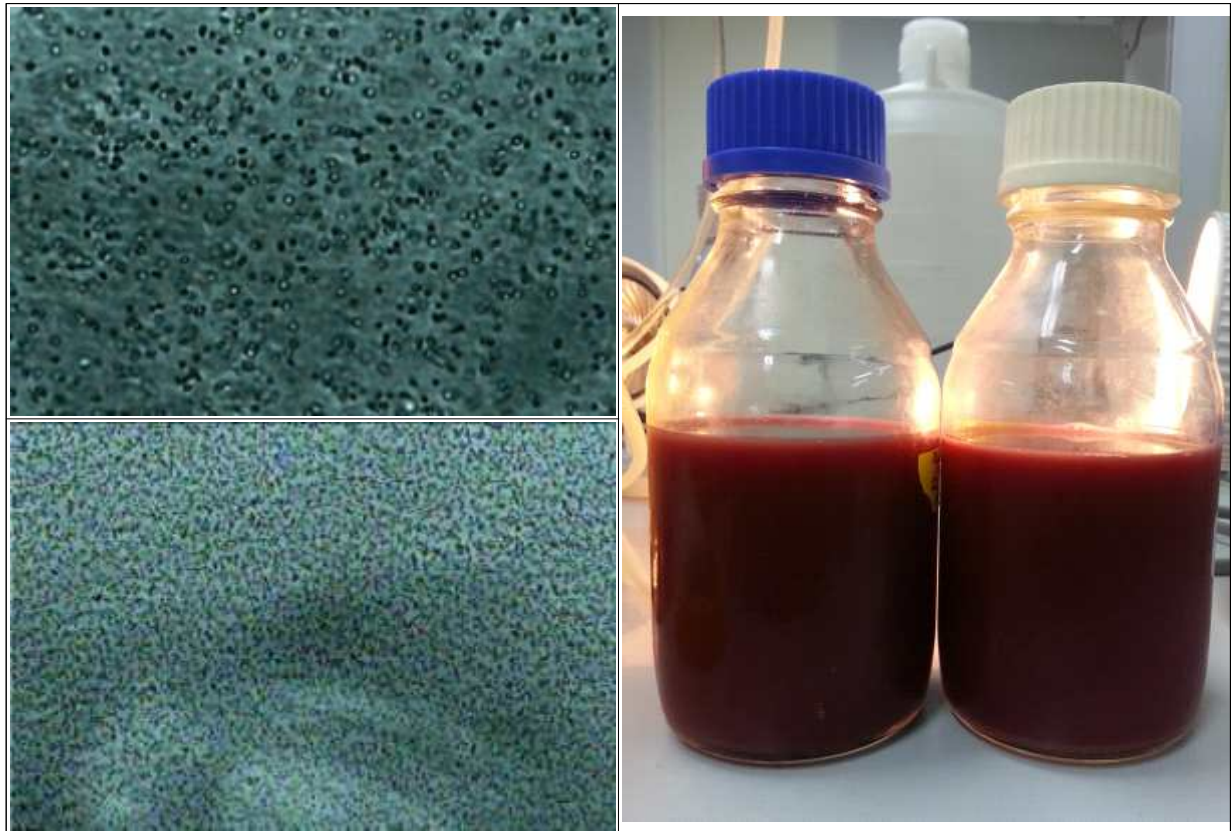


그림 70. 최종 배양시료의 현미경 검경사진 및 배양액

- 그림 70에서 보는바와 같이 5톤 배양기에서 배양이 완료된 광합성세균의 시료는 적자색을 띠었다. 또한 현미경을 통해 검경한 결과 오염은 없었다. 이를 통해 대량배양이 가능함을 확인할 수 있었다.

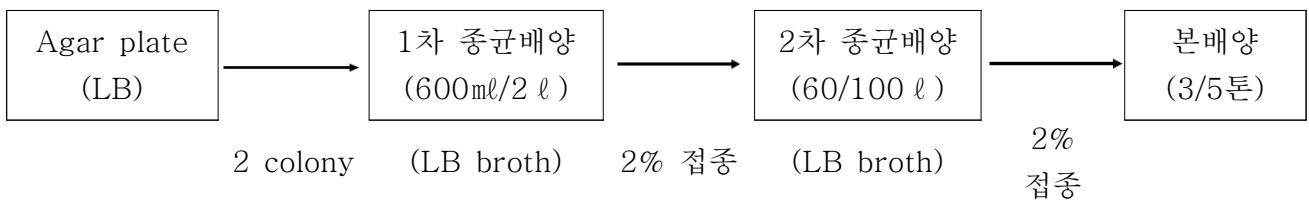
다. 5톤 규모의 최종 고농도 배양 실험조건 등 최종 균주 종별 최적화된 protocol

현재 도내 농업기술센터에 보유한 미생물 배양기의 최대 규모는 1.5톤 배양기이며, 최대 배양량은 1톤 배양이 가능한 실정이다. 따라서 1~3차에서 제시한 1톤 배양시 기본 배양조건에서 동일 또는 유사한 조건으로 배양을 진행을 하면 무리가 없을 것이라 예측한다. 또한 5톤 배양기 운영에 있어서 각 지자체별로 본배양조의 규모에 따른 시설미비로 5톤 배양이 불가능한 것도 현실이다. 하지만 각 균별로 5톤 배양기를 운영할 경우 아래와 같은 조건을 제시 할 수 있다.

(1) 균종별 대량 배양

(가) 바실러스균(고초균) 생산 공정

- 냉동보관된 균주를 해동한 후 LB agar plate에 streaking 한후 30℃에서 24시간 배양한다. Single colony가 형성되면 2개의 colony를 1차 액체배지(LB broth)에 접종 후 30℃, 200rpm, rotary shaking incubator에서 12시간 배양한다. 샘플을 무균적으로 취하여 검경하여 활성상태를 확인 후 2차 액체배지에 2%의 양으로 종균을 접하여 1차와 동일한 방법으로 12시간 배양한다. 최종 접종량은 2% 기준으로 하여 5톤에 필요한 종균은 60ℓ, 전배양에 필요한 종균량은 600ml을 준비한다.



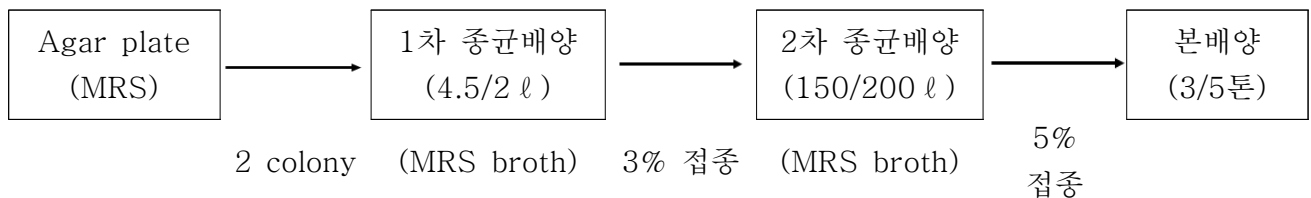
고초균 생산공정

- 본배양에서는 균주 특성상 발포가 심하여 overflow될 가능성이 높기 때문에 거품발생 정도에 따라서 교반속도와 공기량 조절이 필요하다. 기본 배양조건은 온도 30℃, 교반속도 : 100~120rpm, 통기량(공기량) 1,500L/min, 배양시간 24-48시간으로 배양한다. 고초균은 특성상 포자형성을 못하면 cell lysis가 발생하므로 포자형성이 90%이상 형성할 때 배양종료를 한다. 이때 foam control을 하기 위해 별도의 소포제 탱크에 5배 희석시킨 소포제를 멸균하여 배양중 발생하는 foam control 한다. 배양시간은 배양조건에 따라 포자형성율이 다르기 때문에 공기량이나 배양온도를 높이는 것에 따라 달라질 수 있다. 현재까지 이 조건으로 배양할 경우 36시간 내외로 배양을 완료할 수 있다. 5톤 배양기에서의 배양조건은 다음과 같다.

- ① Fermentor volume : 3,000 l
- ② Working volume : 5,000 l
- ③ Culturing time : 36hrs
- ④ Inoculum volume : 60 l (2%)
- ⑤ pH control : Not control
- ⑥ Temperature control : 30℃
- ⑦ Aeration rate : 1,500 l/min
- ⑧ Agitation speed : 100rpm
- ⑨ Sterilization condition : 121℃, 25min, autoclaving

(나) 유산균 생산 공정

- 냉동보관된 균주를 해동한 후 MRS agar plate에 streaking 한후 37℃에서 24~36시간 배양한다. Single colony가 형성되면 2개의 colony를 1차 액체배지(MRS broth)에 접종 후 37℃에서 정지상태로 12시간 배양한다. 12시간 배양한 1차 종균을 소량 취하여 O.D값이 3이상이면 2차 액체배지에 3%의 양으로 접종하여 종균을 1차와 동일한 방법으로 12시간 배양한다. 최종 접종량은 5% 기준으로 하여 5톤에 필요한 종균은 150 l, 전배양에 필요한 종균량은 4.5 l 준비한다.



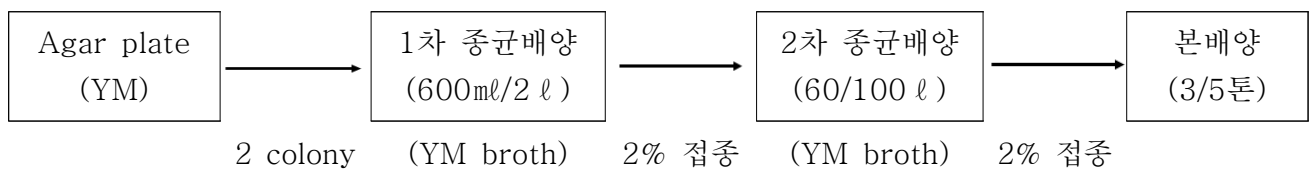
유산균 생산공정

- 본배양에서는 1010 정도 배양이 가능한 배지 조성의 경우 암모니아수로 pH를 6.0~6.5 사이로 자동조절하여 배양하는 것을 권장하며, 공기량은 100 l/min, 교반속도는 50rpm, 온도는 37℃로 배양한다. 기존 농업기술센터에서 배양하는 유산균은 L.Plantarum, L.Casei, L.fermentum, L.paracasei 정도로 통성혐기성 유산균이므로 절대혐기성 유산균과는 달리 공기를 혼합가스나 질소가스를 charging을 하지 않아도 충분히 배양이 가능하다. 배지 투입량이 3%이내의 경우는 암모니아수로 pH 조절없이 배양이 가능하다.

- ① Fermentor volume : 3,000 l
- ② Working volume : 5,000 l
- ③ Culturing time : 20hrs
- ④ Inoculum volume : 60 l (2%)
- ⑤ pH control : 암모니아수(알카리)
- ⑥ Temperature control : 37℃
- ⑦ Aeration rate : 100 l/min
- ⑧ Agitation speed : 50rpm
- ⑨ Sterilization codition : 121℃, 25min, autoclaving

(다) 효모균 생산 공정

- 냉동보관된 균주를 해동한 후 YM agar plate에 streaking 한후 30℃에서 24~36시간 배양한다. Single colony가 형성되면 2개의 colony를 1차 액체배지(YM broth)에 접종 후 30℃, 200rpm, rotary shaking incubator에서 12시간 배양한다. 샘플을 무균적으로 취하여 검경하여 활성상태를 확인 후 2차 액체배지에 2%의 양으로 종균을 접하여 1차와 동일한 방법으로 12시간 배양한다. 최종 접종량은 2% 기준으로 하여 5톤에 필요한 종균은 60 l, 전배양에 필요한 종균양은 600ml을 준비한다. 2차 액체배지에 3%의 양으로 접종하여 종균을 1차와 동일한 방법으로 12시간 배양한다. 최종 접종량은 2% 기준으로 하여 5톤에 필요한 종균은 150 l, 전배양에 필요한 종균양은 4.5 l 준비한다.



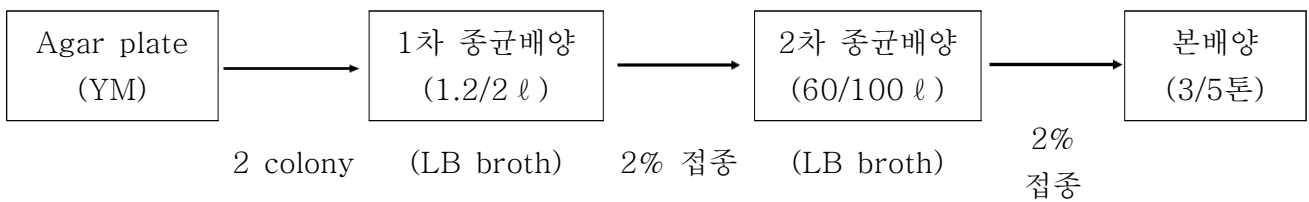
효모균 생산공정

본배양에서는 배양조건은 아래와 같다.

- ① Fermentor volume : 3,000 l
- ② Working volume : 5,000 l
- ③ Culturing time : 24 hrs
- ④ Inoculum volume : 60 l (2%)
- ⑤ pH control : Not
- ⑥ Temperature control : 30℃
- ⑦ Aeration rate : 1,500 l/min
- ⑧ Agitation speed : 120rpm
- ⑨ Sterilization codition : 121℃, 25min, autoclaving

(라) 광합균 생산 공정

냉동보관된 균주를 해동한 후 LBagar plate에 streaking 한후 34℃에서 72~96시간 배양한다. Single colony가 형성되면 2개의 colony를 1차 액체배지(LB broth)에 접종 후 34℃, 100rpm, rotary shaking incubator에서 72시간 배양한다. 샘플을 무균적으로 취하여 검경하여 활성상태를 확인 후 2차 액체배지에 2%의 양으로 종균을 접하여 1차와 동일한 방법으로 72시간 배양한다. 최종 접종량은 최소 2%에서 최대 5% 범위내로 한다. 5톤에 필요한 종균은 60 l ~ 150 l로 전배양에 필요한 종균양은 최소 60 l 을 준비한다. 2차 액체배지에 3%의 양으로 접종하여 종균을 1차와 동일한 방법으로 12시간 배양한다. 최종 접종량은 2% 기준으로 하여 5톤에 필요한 종균은 150 l , 전배양에 필요한 종균양은 4.5 l 준비한다.



광합균 생산공정

본배양에서는 배양조건은 아래와 같다.

- ① Fermentor volume : 3,000 l
- ② Working volume : 5,000 l
- ③ Culturing time : 72 hrs
- ④ Inoculum volume : 60 l (2%)
- ⑤ pH control : Not
- ⑥ Temperature control : 34℃
- ⑦ Aeration rate : 100 l /min
- ⑧ Agitation speed : 80rpm
- ⑨ Sterilization codition : 121℃, 25min, autoclaving

라. 광합성세균의 고농도 배양을 통한 비용절감 효과

(1) 고농도 배양과 일반배양시 생산원가

- 현재 지자체에서 광합성균 생산시 사용하는 단가는 690,000원~700,000원 정도 소요된다. 이때 사용되는 재료 5kg/톤과 종균 1%(10 l)을 사용하는 형태로 나라장터 종합쇼핑몰 단가로 모든 지자체에서 구매하여 사용하는 가격이다. 배양 후 배양액 농도는 평균 2×10^8 cfu/ml 수준으로 2차년도에 제시된 결과와 같이 작물생육효과는 미비하다. 이는 보급일과 오염에 대한 리스크로 인하여 정상적인 배양형태를 취하지 못하고 24시간내 배양 형태로 종균이 희석되는 배양결과와 산물로 보여진다. 하지만 고농도 배양의 경우 톤당 20kg/톤로 1,386,000원으로 배양 후 유효미생물의 농도의 수준은 5×10^9 cfu/ml ~ 2×10^{10} cfu/ml로 최소 10~100배의 농도 차이가 발생되었다. 이는 10배~100배까지 희석하여 보급된다면 생산단가는 138,600원~13,860원까지 단가를 낮출 수 있다. 하지만 유용미생물의 2차 대사산물 효과를 고려해 일반배양액의 5배 이내로 희석하더라도 기존 생산단가보다는 2배 이상의 생산단가로 낮출 수 있음을 확인할 수 있다. 광합성세균의 농축배양액을 1,000배 희석한 비료 효과는 2차년도 광합성 세균 배양 최적조건에서 제시되었다.

(2) 생산원가 절감 방안

- 고농도 배양 방법에 의한 원가절감 이외의 또다른 방법은 자체 종균배양 및 실용배지 개발을 통해서 원가절감이 가능하다. 현재 농촌진흥청에서 개발된 실용배지에 종균배양이 가능하다면 톤당 200,000원 내외로 생산비를 낮출 것으로 판단되어진다. 하지만 이는 해결해야 할 수반되는 문제가 있다. 이를 전담할 수 있는 전담인력이 필요하다. 현재 농업기술센터에서 자체적으로 종균배양이 가능한 지자체가 많지 않다는 점을 고려한다면 나라장터 쇼핑몰 등록업체 중 고농도배양이 가능한 제품을 활용하여 배양 후 보급시 1,000배 이상 사용하는 배양액으로 제조하거나 희석하여 보급하는 방법을 선택하는 것이 현재 최선으로 판단되어진다.

마. 균주별(바실러스, 효모, 광합성, 유산균) 최종 고농도배양, 최적화 방법

(1) 고초균

- 현재 농가보급 가능균수는 비료생산업 등록기준으로 1×10^6 cfu/ml이며, 배양시 접종 후 균체농도는 1×10^4 cfu/ml 정도로 나타난다. 지자체에서 배양액은 균종별로 다르지만 고초균의 경우 24시간 배양 후 생균상태에서 1×10^9 cfu/ml 이상 이지만 고초균의 경우 배양 이후 cell lysis로 인하여 미생물배양 후 보존기간이 길어질수록 균수가 줄어들므로 1×10^8 cfu/ml 양질의 미생물을 농가에 공급하기 위해서는 고초균은 포자형성을 통한 균수 안정화로 유효기간 연장이 중요하다. 이에 따라 고초균의 일반배양의 기준은 1×10^8 cfu/ml, 고농도의 경우 포자형태로 1×10^9 cfu/ml 이상을 기준으로 한다.

(2) 유산균

- 유산균의 경우는 일반적으로 20 ~ 25g/l 을 사용하여 배양 후 유효미생물의 농도는 5×10^8 cfu/ml ~ 3×10^9 cfu/ml를 보였다. 유산균의 경우 지자체에서 톤당 사용량 기준으로는 일반적 인 농도이상 배양 효율을 보이기는 힘들다. 유산균은 미생물 배양시 원료 및 환경적 요인에 따른 다양한 변수에 의해 배양 효율성이 다른 결과를 보일 수 있다. 유산균을 고농도 배양 방법은 펩톤과 효모추출물, 당의 농도를 1%이상 사용할 경우 5×10^9 cfu/ml ~ 1×10^{10} cfu/ml의 효율의 결과를 얻을 수 있다. 또한 배양시 pH를 조절하는 배양조건으로 배양할 경우 고농도의 배양이 가능하다. 배지의 전체 사용량은 당량은 2%로 펩톤과 효모추출물을 사용할 경우 9×10^9 cfu/ml의 유효미생물농도 효율을 얻을 수 있다.

조 성	
성 분	농 도
Casein peptone	1.0%
Yeast extract	1.0%
Dextrose	3.0%
Ammonium citrate	0.2%
Sodium acetate	0.5%
MgSO ₄	0.02%
MnSO ₄	0.005%
K ₂ HPO ₄	0.2%
Sodium cabonate	0.05%
	5.975

고농도 배양 유산균 조성

배양시간(hr)	OD	Glucose(%)	생균수(cfu/ml)
23	7.21	0.078	$9.1 * 10^9$
17	6.93	0.063	$5.1 * 10^9$
21	7.53	0.049	$4.1 * 10^9$
20.3	7.22	0.063	$6.1 * 10^9$
20	7.71	0.066	$3.1 * 10^9$

시간에 따른 O.D, 당함량 및 생균수 결과

(3) 효모균

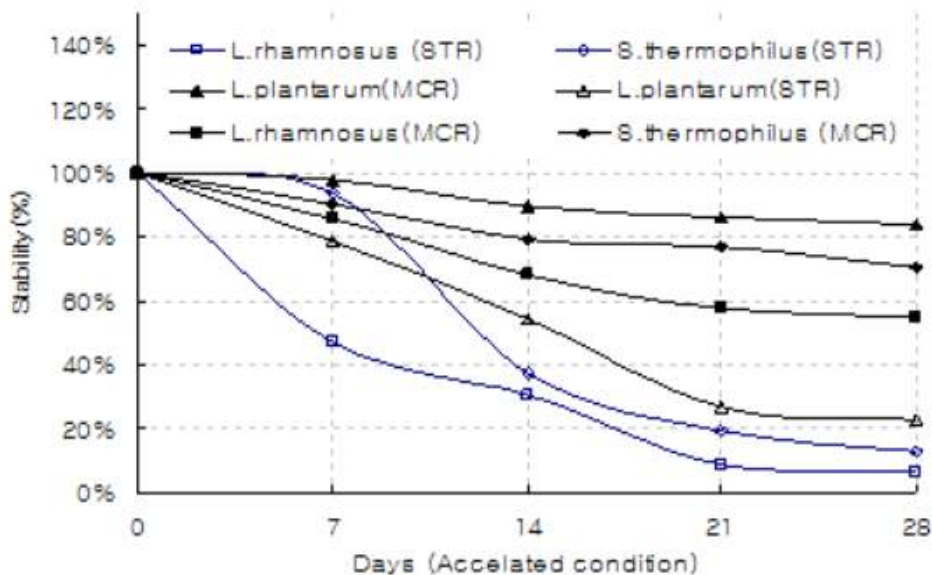
- 효모균은 세균의 크기와 다르기 때문에 일반적으로 지자체에서 20g/L로 배양하여 5×10^7 cfu/ml ~ 1×10^8 cfu/ml의 배양 효율을 보이고 있다. 대부분 10^7 cfu/ml 수준을 보이고 있으며, 고농도의 배양액의 수준은 3차년도에서 제시한 5×10^8 cfu/ml 수준이면 10배 정도의 차이로 고농도배양법으로 판단되어진다.

(4) 광합성세균

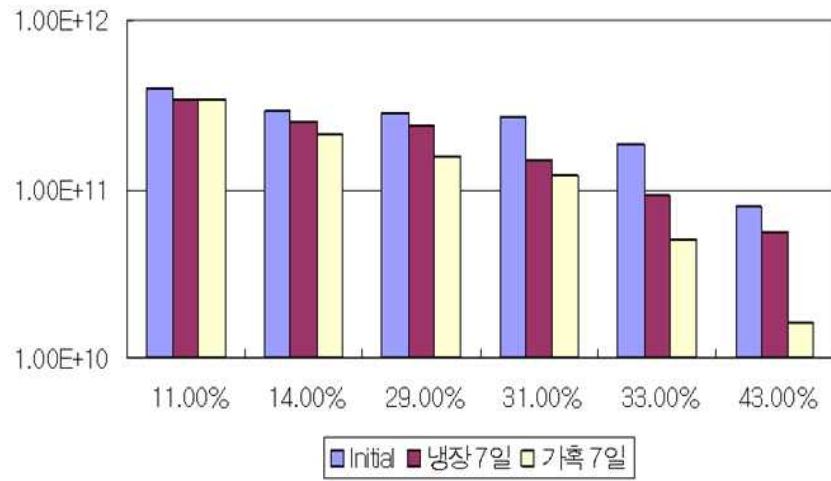
- 광합성세균은 2차년에 제시된 바 일반배양액은 2×10^8 cfu/ml 수준의 농도이며, 고농도 배양액은 1×10^{10} cfu/ml 수준의 농도로 분석되었으며, 배양법은 일반배양법과 동일하지만, 사용되는 배지는 일반배양과는 달리 유기물을 첨가하여 세포증식을 극대화 하는 방법으로 진행된다. 특히 색상발현에 있어 purple 색상과 균체량은 peptone과 관련되어 있기 때문에 앞선 결과의 조건에서 고농도 배양이 충분히 가능함을 현장에서 확인되었다.

바. 균주별(바실러스, 효모, 광합성, 유산균) 사용편리성, 가격경쟁, 보존능 극대화 방안

- 액상미생물은 대부분 저장성이 떨어지므로 효과와 효능, 저장성 및 보존성을 높이기 위해 일부 지자체에서는 축산미생물을 분말이나 펠렛 또는 입상형태로 농가보급을 사례들도 있다. 유산균의 경우 배양 후 농축과정을 거쳐 농축액을 동결건조하여 원분을 제조한다. 제조된 원분 분말의 저장성을 확인하기 위하여 가혹조건 40℃로 4주간 테스트한 결과 그림 9와 같은 결과를 얻었다. 유산균 균종에 따른 저장성이 다르게 확인되었다. 제시된 조건에서는 통상적으로 상온에서 1년간 저장성을 확인하는 방법이다.
- 다음 그림은 배양액내 인위적인 젖산농도별 안정성을 확인한 결과 냉장상태에서 젖산농도가 높아질수록 균체농도가 떨어짐을 확인할 수 있었다. 따라서 유산균이 액상상태에서 액상내 유산으로 인하여 균체량이 감소하므로 분말화 과정을 통해서 보존능을 높일 수 있음을 확인하였다. 이런 분말화과정에서 균체의 안정성을 증진시키기 위해 동결건조시 동결보호제 선택이 중요하다. 최적조건의 동결보호제로는 탈지분유, 말토덱스트린, 트리할로즈, 만니톨, soy ppeptide등을 사용하여 동결건조물의 보존능을 높일 수 있다.
- 고초균은 열에 대한 안정성이 높기 때문에 액상상태에서는 포자상태로 저온보관(4℃)은 보관중 오염이 발생되지 않는한 균체량이 줄지는 않지만 보존능을 높이기 위해서는 열에 강한점을 고려하면 열풍건조 방법으로 분말화가 가능하다. 또한 효모도 열에 일반적인 안정성이 있기 때문에 고초균과 유사하게 열풍건조 방법으로 건조시키면 보존능을 높일 수 있다. 일부 지자체에서 사료원료로 입상이나 펠렛으로 제형화하는 방법도 제시할 수 있다. 그 외 광합성세균의 경우 열과 압력에 약하다는 단점을고려한다면 원심분리거나 멤브레인 여과로 농축 후 동결건조방식을 제형화 방법으로 제시한다.



유산균 분말의 안정성 테스트



유산균 분말의 안정성 실험(젓산농도 실험)

제 3절. 친환경 농업 유용미생물에 대한 토양 개량효과 검정 및 안정성 분석

1. 고농도 광합성세균과 일반 광합성세균의 효과 검증

- 앞선 결과에서 고농도로 배양이된 광합성세균과 일반 농도로 배양이된 광합성세균과의 농도 차이가 52배의 차이가 있음을 확인하였다. 지자체에서 무상으로 공급되는 광합성세균의 배양액은 500배의 농도로 관주처리하도록 지도하고 있다. 따라서 작물에 대한 비료 효과 시험은 고농도의 광합성세균 배양액을 우선 2배 희석하고 최종적으로 관주처리시에는 일반 광합성세균 배양액과 함께 500배로 희석하여 관주처리를 하였다. 실제 고농도 광합성세균은 1,000배로 희석이 되었다. 두가지 농도의 광합성세균에 대한 재배시험은 공인기관에 의뢰하여 아래와 같이 진행하였다.

가. 비료효과(비효)에 대한 포장시험

(1) 처리 전·후에 의한 토양의 화학적 특성 변화 규명

- 일반배양액 및 농축배양액 처리에 의한 토양의 화학적 특성 변화 규명을 알아 보고자 재배 전 토양과 재배 후 토양을 채취하여 표 26와 같이 토양화학분석법(농촌진흥청) 및 토양오염공정시험법(환경부) 등 관련 기관에서 요구하는 분석방법에 준하여 실시한다. 시험물질 처리 전 및 시험작물 수확 후에 토양의 이화학적 특성을 분석한다. 이때, 집구별 3지점 이상의 토양을 채취하여 혼합한 후 음건하여 분석용 시료로 사용한다.

표 26. 시험포장 토양의 화학적 특성에 관한 분석 항목과 사용기기

분 석 항 목	분 석 방 법	사 용 기 기
pH	1:5 증류수 추출	pH meter
EC	1:5 증류수 추출	EC meter
유효인산(mg/kg)	Lancaster 법	UV/Vis spectrometer
유기물(g/kg)	Tyurin 법	자동적정기
치환성 K, Ca, Mg(cmol+/kg)	1N-NH ₄ OAc 추출법	ICP-OES
토성(Soil texture)	비중계법	비중계
질소전량(T-N)	전량분석	원소분석기
CEC(cmol+/kg)	Brown 법	ICP-OES

(2) 포장선정 및 시험구

(가) 시험규모 및 시험구

① 시험규모 : 일반적으로 시험구 면적은 1개 시험구 당 20~50m²로 하며(가로와 세로 비율은 2~5대 1로 구획) 기준하여 시험구 면적을 정한다.

② 처리구 : 공시비료 처리구 및 무처리구를 기본으로 하며 그 이상을 둘 수 있다.

- 일반배양액은 제공한 처리방법에 따라 처리하는 시험구를 말한다.

- 농축배양액은 일반배양액보다 농축하여 처리한 시험구를 말한다.
- 무처리구는 시험물질을 처리하지 않은 시험구를 말한다.

(3) 배양액 처리에 의한 작물의 특성조사

- 공시재료 : 일반배양액, 농축배양액
- 시험포장

- 지역 : 춘천시 신북읍 천전리 임대포장
- 공시작물(품종) : 상추(적치마) - [임대포장 자가육묘]

- 시험구 배치법 : 난괴법 3반복 (Randomized complete block design)
- 처리구 : 무처리(3반복), 일반배양액(3반복), 농축배양액(3반복)
- 처리농도 : 무처리구, 일반배양액(500배 희석액), 농축배양액(1,000배 희석액)
- 주요 조사항목 : 처리구별 생육 특성 및 수확량 조사
 - 상추의 생육 특성 : 엽장(cm), 엽폭(cm), 날중(g), 엽수(No./plant), 엽록소(SPAD)
- 포장시험 방법

- ① 기비는 복합비료(N : P : K = 5.1 : 4.9 : 4.3kg/10a), 추비는 정식 15일 후(N : P : K = 5.1 : 0 : 4.3kg/10a)로 처리하였다.
- ② 배양액 처리는 정식 2일 후 6~7일 간격으로 총 3회 엽면처리 하였다.
- ③ 처리방법은 무처리구, 일반배양액, 농축배양액을 엽면처리 실시하였다.
- ④ 상추 생육특성 조사는 수확 후 실시하였다.
- ⑤ 상추 수확량 조사는 포장에 정식한 후 1회 실시하였다.
- ⑥ 상추 생육 특성 및 수확량조사 결과는 처리구별 3회 측정하여 평균값을 나타내었으며, 각 조건별 측정 결과는 SPSS statistics 19 program을 이용하여 평균과 표준편차를 구하고 일원배치분산분석(one way ANOVA)을 실시한 후, Duncan's multiple range test를 실시하여 유의성을 검정하였다. 또한 Microsoft Excel 2007 프로그램을 이용하여 통계처리를 실시하였다.
- ⑦ 처리면적은 시험구당 가로 1.6m, 세로 4.3m 3반복구(20.64m², 가로와 세로의 비율 2.68의 구획)로 처리구당 30cm 간격으로 정식하였으며, 처리구 사이의 거리는 50cm로 공간을 두었다.

· 주요조사항목 조사방법 :

시험작물의 생육 특성 및 수확량을 조사하기 위하여 최대 엽의 엽장, 엽폭, 날중, 엽수, 엽록소, 수확량(일일수확량) 조사하여 무처리구 및 일반배양액, 농축배양액과 비교했다. 엽록소 함량 chlorophyll meter(model : SPAD-502, Minolta, Japan.)로 가장 긴 엽의 중앙부위를 측정하였다.

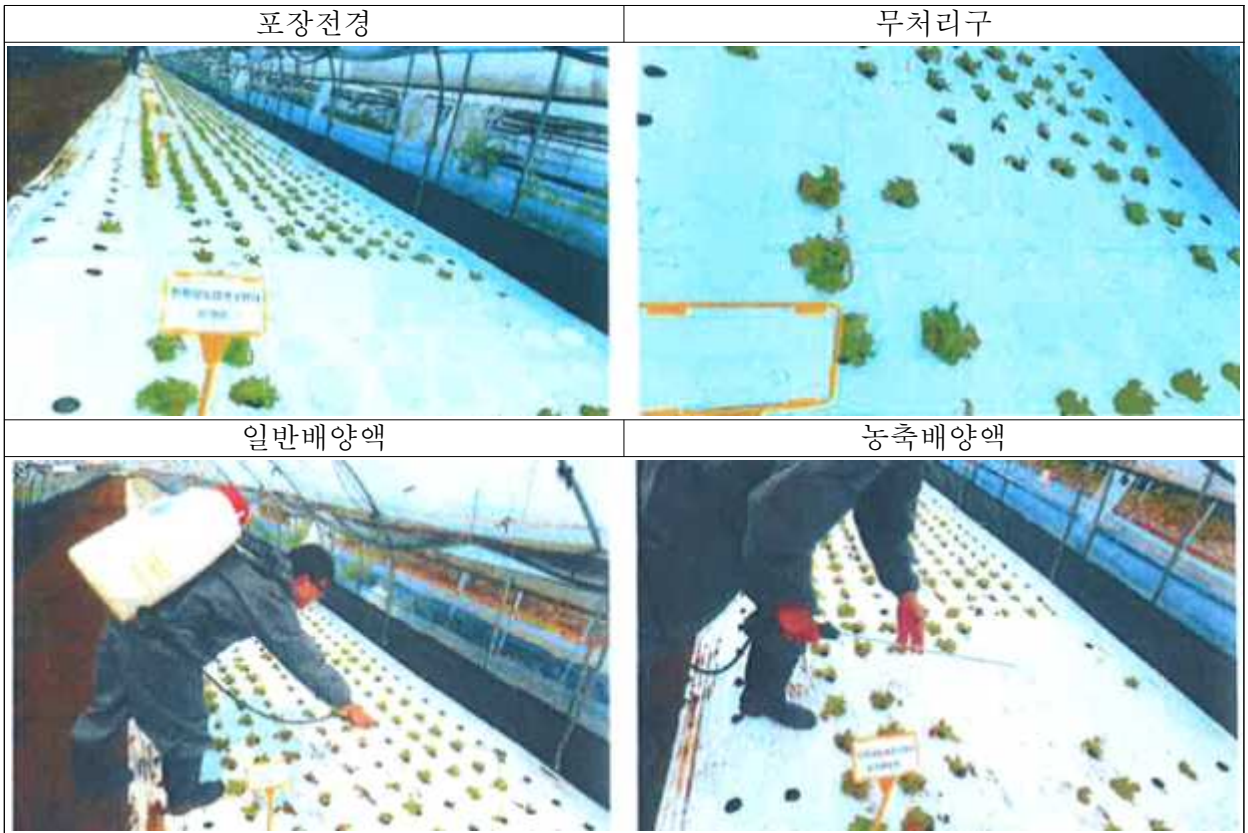


그림 71. 배양액 1차 엽면처리

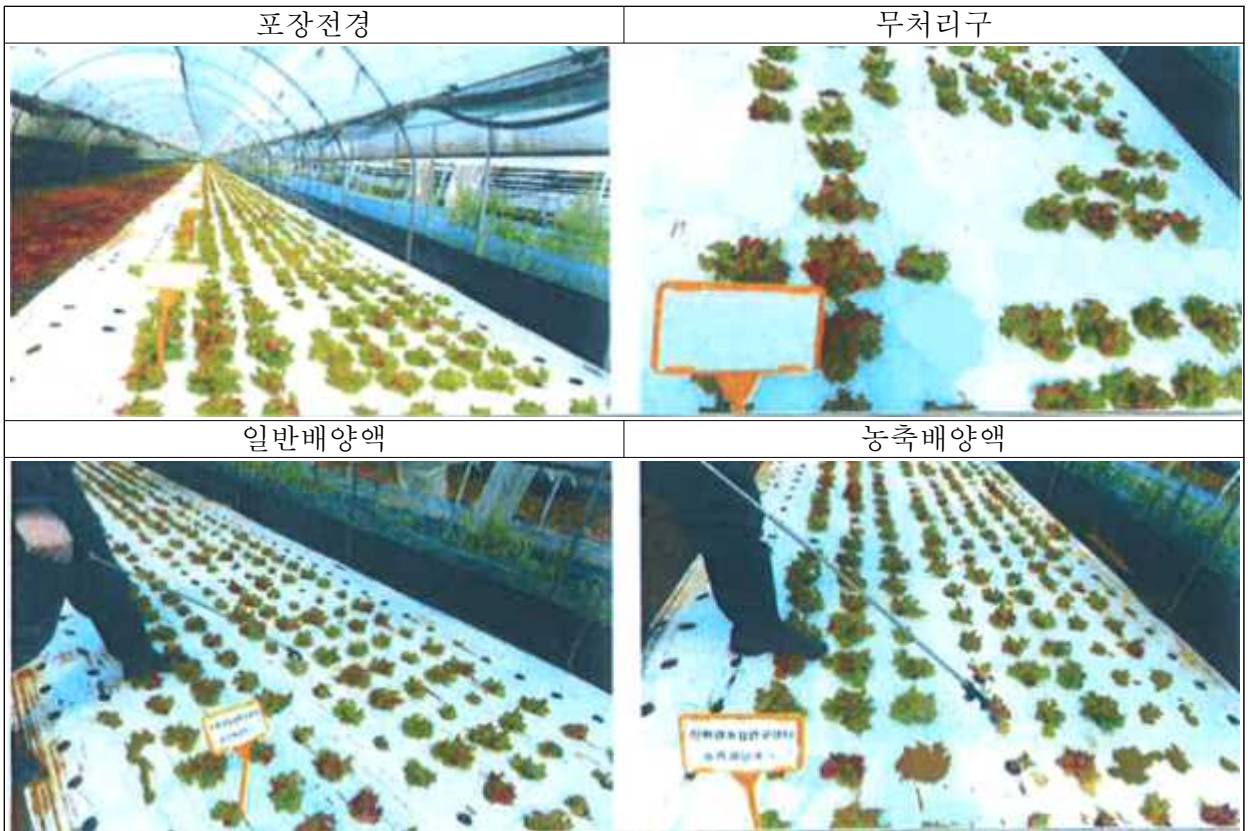


그림 72. 배양액 2차 엽면처리

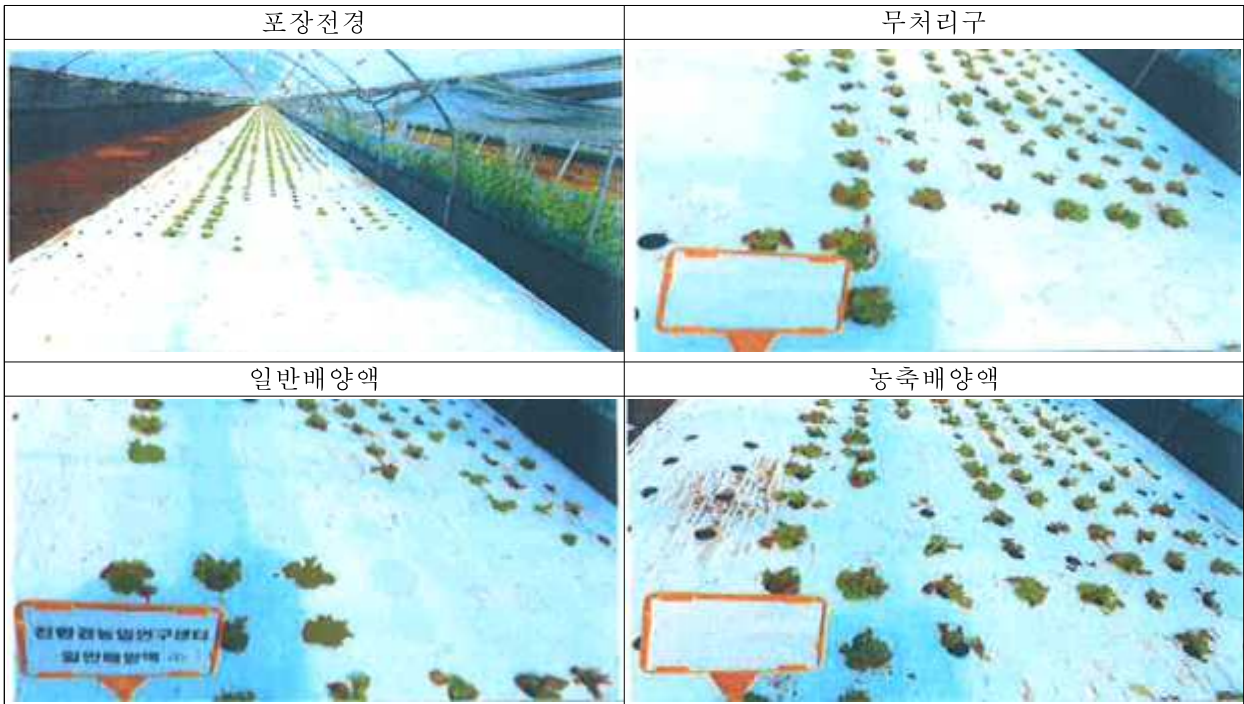


그림 73. 상추 정식 후 사진

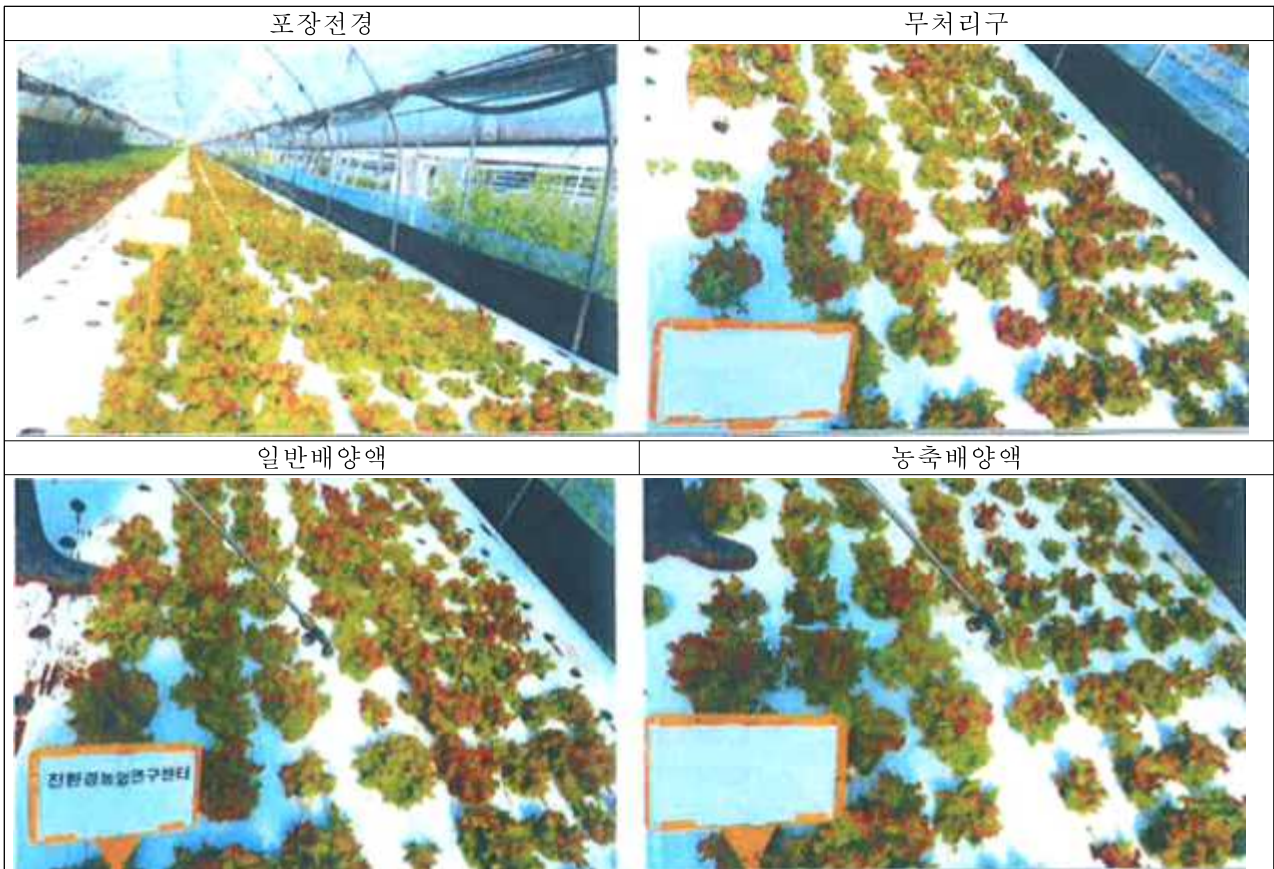


그림 74. 배양액 3차 엽면처리

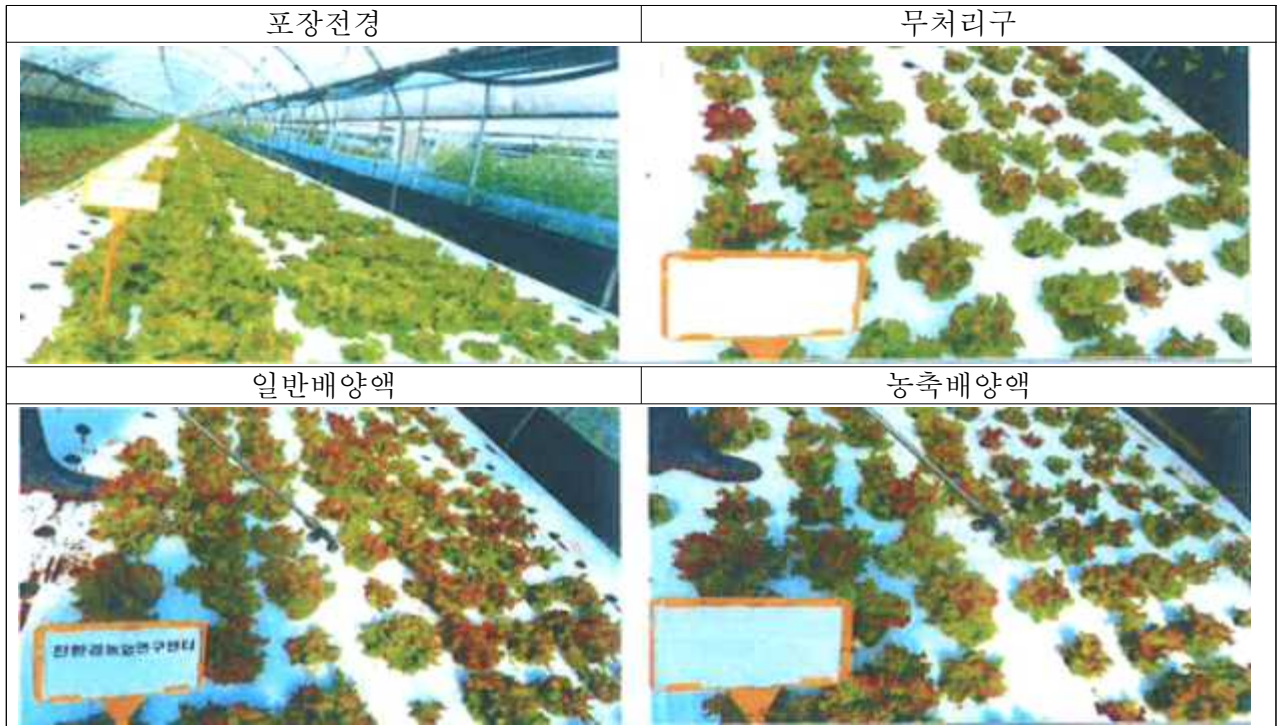


그림 75. 수확 전 사진

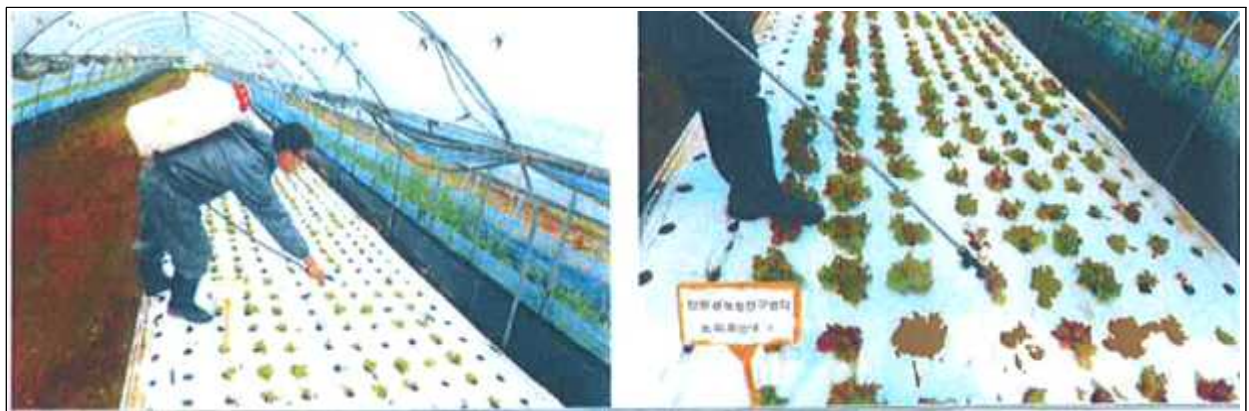


그림 76. 엽면처리 사진

나. 광합성균 엽면시비를 이용한 상추 재배시험

(1) 엽면시비 처리에 의한 토양의 화학적 특성 변화 규명

표 27. 시험 전 토양의 화학적 특성

분석항목	단 위	시험토양(미사질양토)		
		무처리	일반배양액	농축배양액
pH(1:5)	-	6.66	6.50	6.70
EC(1:5)	dS/m	0.86	0.96	1.02
OM	g/kg	22.58	25.96	30.89
P ₂ O ₅	mg/kg	815	777	856
K	cmol(+)/kg	0.60	0.59	0.70
Ca	cmol(+)/kg	7.78	8.00	8.12
Mg	cmol(+)/kg	1.78	1.79	1.60
CEC	cmol(+)/kg	12.05	11.85	12.21
T-N	%	0.09	0.10	0.09

※ 위 결과는 난괴법 3반복의 토양을 평균한 것임.

- 시험포장 토양의 화학적 특성을 조사하였다. 그 결과 작물생육에 적정범위와 비교하였을 때 pH는 적정범위를 보였으며 EC는 2dS/m 이하로 염류가 집적되지 않았음을 알 수 있었다. 또한 유기물(OM) 함량도 적정수준이었다. 인산 및 치환성 양이온 K, Ca 그리고 Mg 경우 일반토양 적정기준치보다 높은 경향을 보였으며 이는 노지재배가 아닌 하우스 재배라는 특수성에 의한 것으로 판단된다.(표 28)

표 28. 시험 전 토양의 화학적 특성

분석항목	단 위	시험토양(미사질양토)		
		무처리	일반배양액	농축배양액
pH(1:5)		6.66	6.50	6.70
EC(1:5)	dS/ m	0.86	0.96	1.02
OM	g/ kg	22.58	25.96	30.89
P ₂ O ₅	mg/ kg	815	777	856
K	cmol(+)/kg	0.60	0.59	0.70
Ca	cmol(+)/ kg	7.78	8.00	8.12
Mg	cmol(+)/kg	1.78	1.79	160
CEC	cmol(+)/ kg	12.05	11.85	12.21

표 30. 수확 후 상추 생육조사 결과

처리구	엽장 (cm)	엽폭 (cm)	날중 (g/ plant)	엽수 (No./ plant)	엽록수 (SPAD)	비해 (0-5) ^z
무처리	11.1 a	11.1	5.4 a	9.4 a	17.1 a	-
일반배양액	10.9 a	10.7 a	5.9 a	9.6 a	17.6 a	0
농축배양액	12.3 b	11.9 b	7.7 b	11.7 b	20.3 b	0

※ ^zMean separation with columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

- 엽장, 엽폭, 날중, 엽수, 엽록소에서 무처리구에 비해 엽면시비 처리구에서 우수하였으며 처리구간 차이는 대부분 농축배양액이 조사항목에서 가장 우수하였다. 모든 조사항목에서 무처리구에 비해 농축배양액 엽면시비에 의한 처리구에서 상승효과가 나타났다. 이는 성분 안에 있는 유용원소들의 작용이 영향을 미치는 것으로 판단된다.
- 상추의 포괄적인 수확 정도를 알아보기 위하여 수확량(엽생체중)을 조사하였다. 처리구간 차이는 농축배양액이 가장 우수하였으며, 무처리구 및 일반배양액 보다 높은 수확정도를 보였다(표 31). 이러한 결과는 재배기간 중에 미생물제제가 뿌리 및 엽생장 및 광합성 작용에 유리한 조건을 제공하여 작물생장은 물론, 영양산물의 이동이 원활하게 진행되어 건전한 상품과 수확량 증가에 도움이 될 것이라고 판단된다(그림 77).

표 31. 시험 후 토양의 화학적 특성

처리구	수확량 (엽생체중, g/포기)
무처리	26.3 a ^z
일반배양액	26.8 a
농축배양액	46.6 b

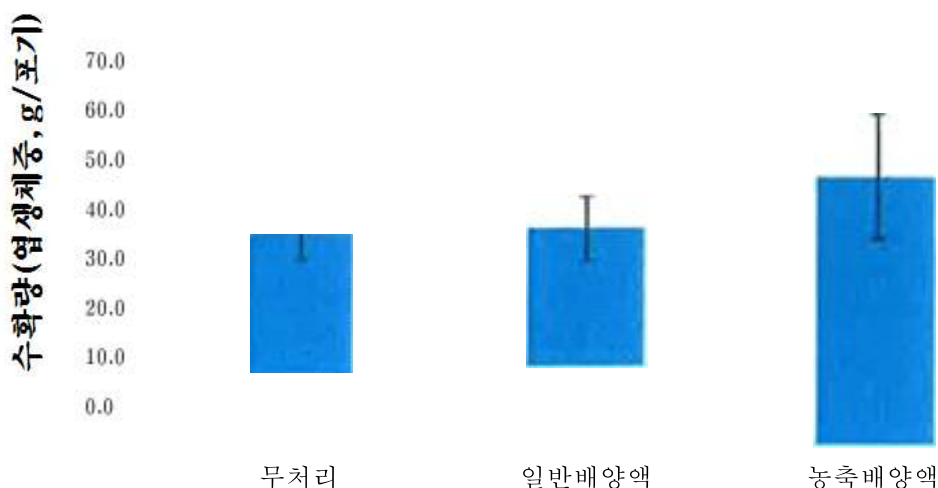


그림 77. 상추 수확량(엽생체중)

- 엽면시비 전·후의 토양 분석에서 pH는 시험 전·후 토양에서의 변화는 크지 않았으며, EC는 처리전과 비슷하거나 약간 증가하는 경향을 나타냈다. 또한 나머지 분석항목들도 적정수준을 크게 벗어나지 않았으며, 처리 전·후에 토양에서의 화학적 변화는 크게 나타나지 않았다. 토양 분석결과 미생물제제 처리에 의한 토양의 화학적 변화는 크지 않은 것으로 판단된다.
- 엽면시비 처리에 의한 본 시험 결과 상추의 생육특성인 엽장, 엽폭, 날중, 엽수, 엽록소에서 무처리구 및 일반배양액 보다 농축배양액 엽면시비가 우수한 생육을 나타내었다.
- 상추의 수확량(엽생체중)에 있어서도 농축배양액 처리구가 무처리구 및 일반 배양액에 비하여 수확량이 증가되는 결과를 보였다.
- 엽면시비에 의한 상추 작물의 피해 유·무를 조사한 결과 처리 후 7, 14, 21일의 일반 배양액 및 농축배양액 처리구에서 피해는 관찰 할 수 없었다.

제 4절 작물생육 및 토양개량용 친환경 농업 유용미생물의 센터 내에서의 효능 검정

1. 강원도 각 시·군의 광합성균을 이용한 센터 내 온실 포트 생육시험



그림 78. 센터 내 온실 포트 생육 시험

- 강원도 시·군을 방문하여 확보한 시·군 고초균들의 특성 파악하였고 또한 최적의 배양법을 개발하였음. 최적 배양법에 따른 고초균을 선발 하였고 선발된 고초균 대상 작물 적용시험을 실시하였음.
- 본 센터 내 온실 포트 생육시험은 1차와 2차로 나누어 진행 하였고, 결과는 아래와 같음.

가. 오이

- 1차시 포트생육시험으로 희석배수에 따른 고초균의 생육효과는 오이, 고추 250배, 500배, 1000배에서 육안으로는 구분하기 힘든 정도의 차이가 있었음. 데이터 상에서 1000배보다 500배에서 약 1 ~ 2% 성장률이 높았고 500배보다 250배에서 약 1% 높았음. 각 지역 고초균의 종류에 따른 생육효과는 그림 79과 같이 오이에서 무처리에 비교하여 잎수는 원주, 황성 고초균이 각각 7.9, 7.6개로 무처리의 5.4개 보다 많았고 초장에서는 강릉, 황성 고초균이 각각 88.1cm, 88.6cm로 무처리 64.2cm 보다 높은 것으로 나타났음. 반면 엽장, 엽폭, 엽중, 엽록소에서는 무처리와 차이가 없는 것으로 판단 됨.

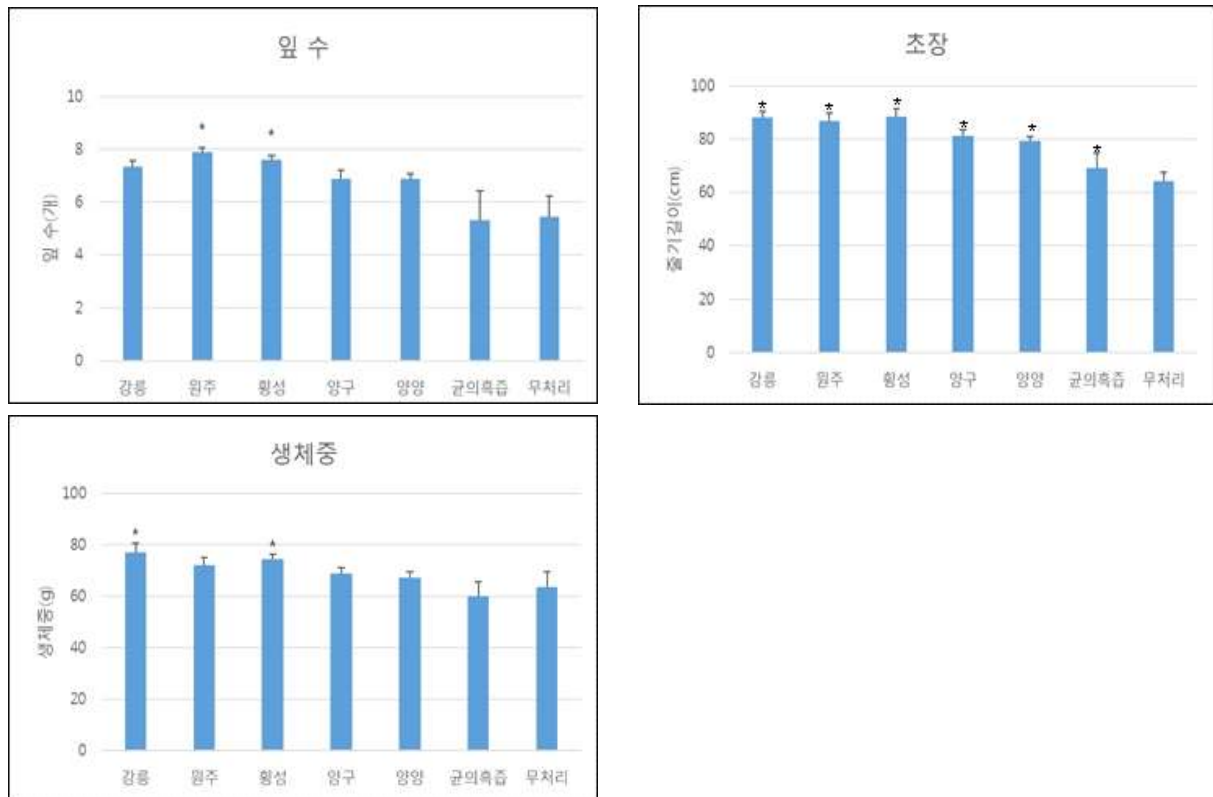


그림 79. 오이 1차 포트 생육시험(T검정을 통한 무처리와의 유의성이 있는 항목)

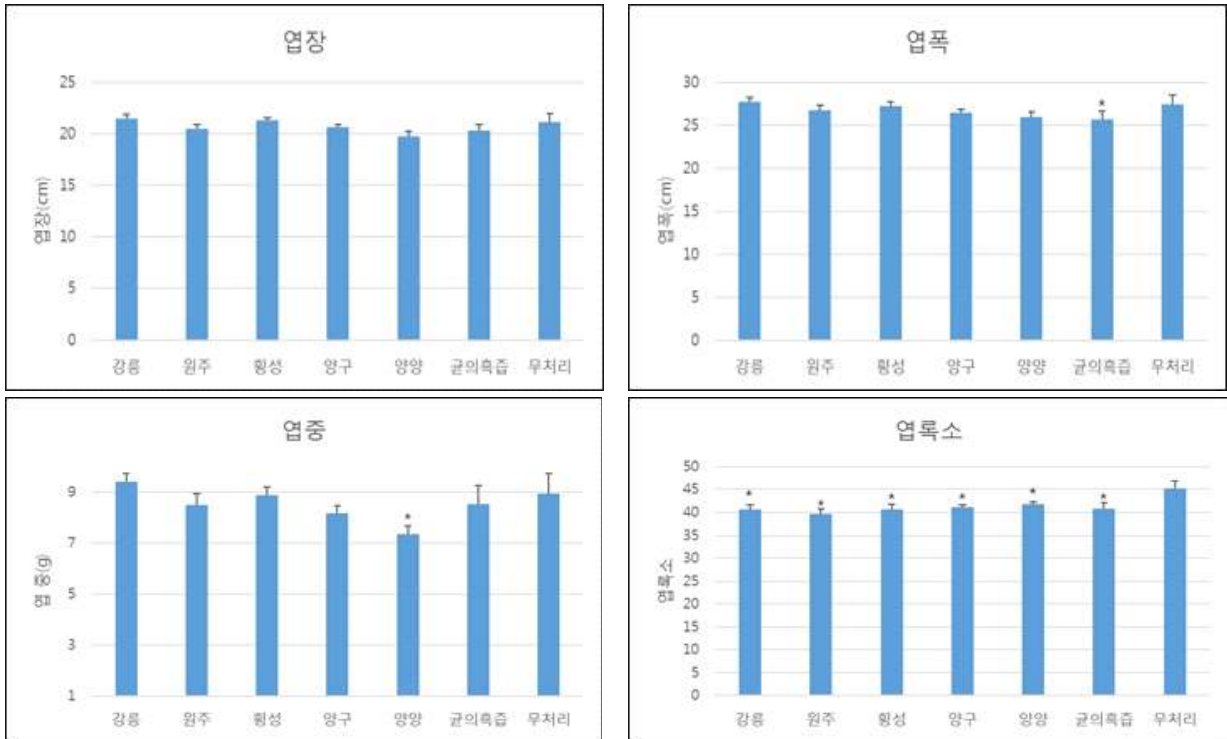


그림 80. 오이 1차 포트 생육시험(T검정을 통한 무처리와의 유의성이 없거나 값이 낮은 항목)

- 오이의 2차 포트 생육시험에서는 그림 81와 같이 잎수, 초장, 생체중에서 무처리에 비하여 센터 보유균주 1,2의 생육효과가 좋은 것으로 나타났음. 그 중 초장에서 센터1, 센터2 고초균 처리 오이가 각각 138cm, 147cm으로 무처리 102cm에 비해 좋은 것으로 나타났음. 반면 엽장, 엽폭, 엽중, 엽록소에서는 그림 82과 같이 무처리와의 차이가 없는 것으로 나타났음.

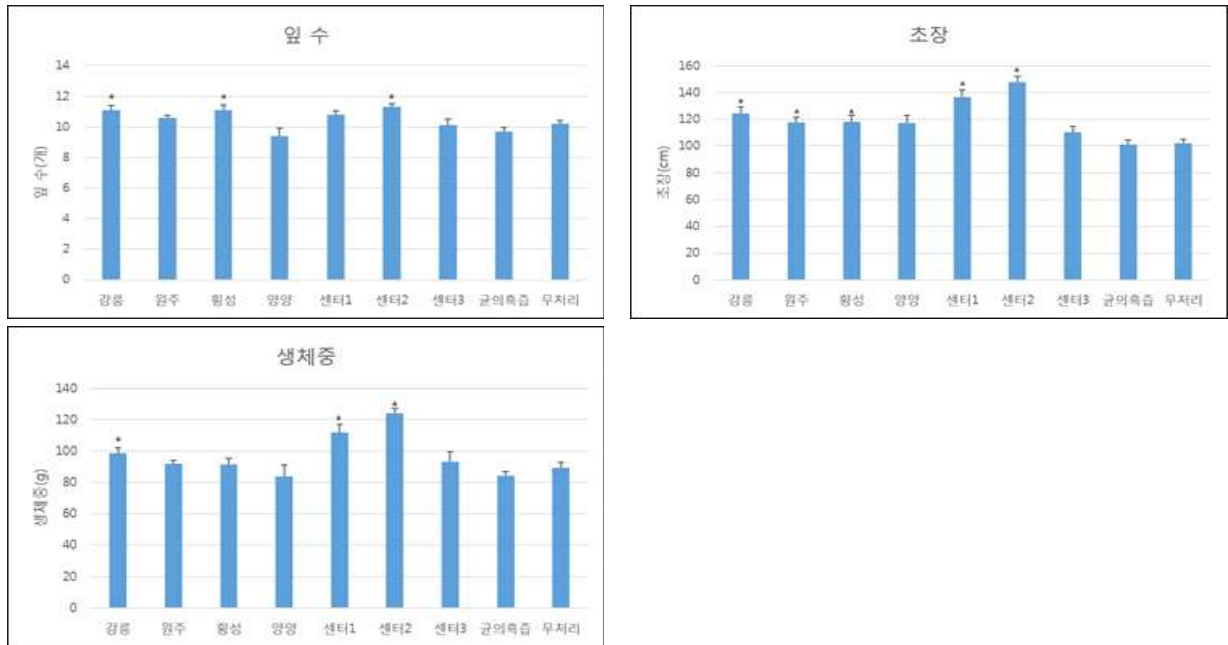


그림 81. 오이 2차 포트 생육시험(T검정을 통한 무처리와의 유의성이 있는 항목)

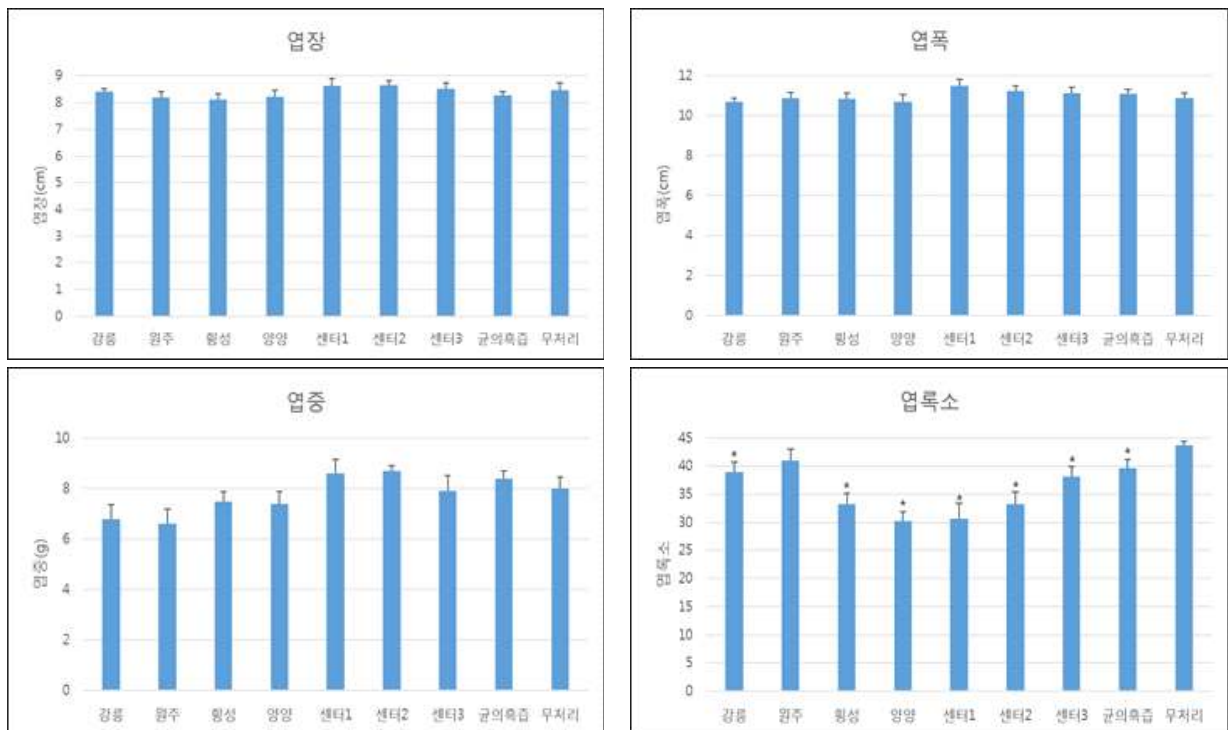


Fig. 13. 오이 2차 포트 생육시험(T검정을 통한 무처리와의 유의성이 없거나 값이 낮은 항목)

나. 고추

- 고추의 1차 포트 생육시험에서는 그림 83과 같이 엽장, 엽폭, 엽중, 초장, 생체중에서 원주와 횡성 고초균이 무처리에 비하여 생육효과가 높게 나타났음. 특히 초장에서 원주, 횡성 고초균 처리 고추가 각각 32cm, 31cm이었고 이에 반에 무처리구는 25.4cm로 더 낮았다. 반면 잎수, 엽록소에서는 무처리와 차이가 없거나 수치가 더 낮았음.

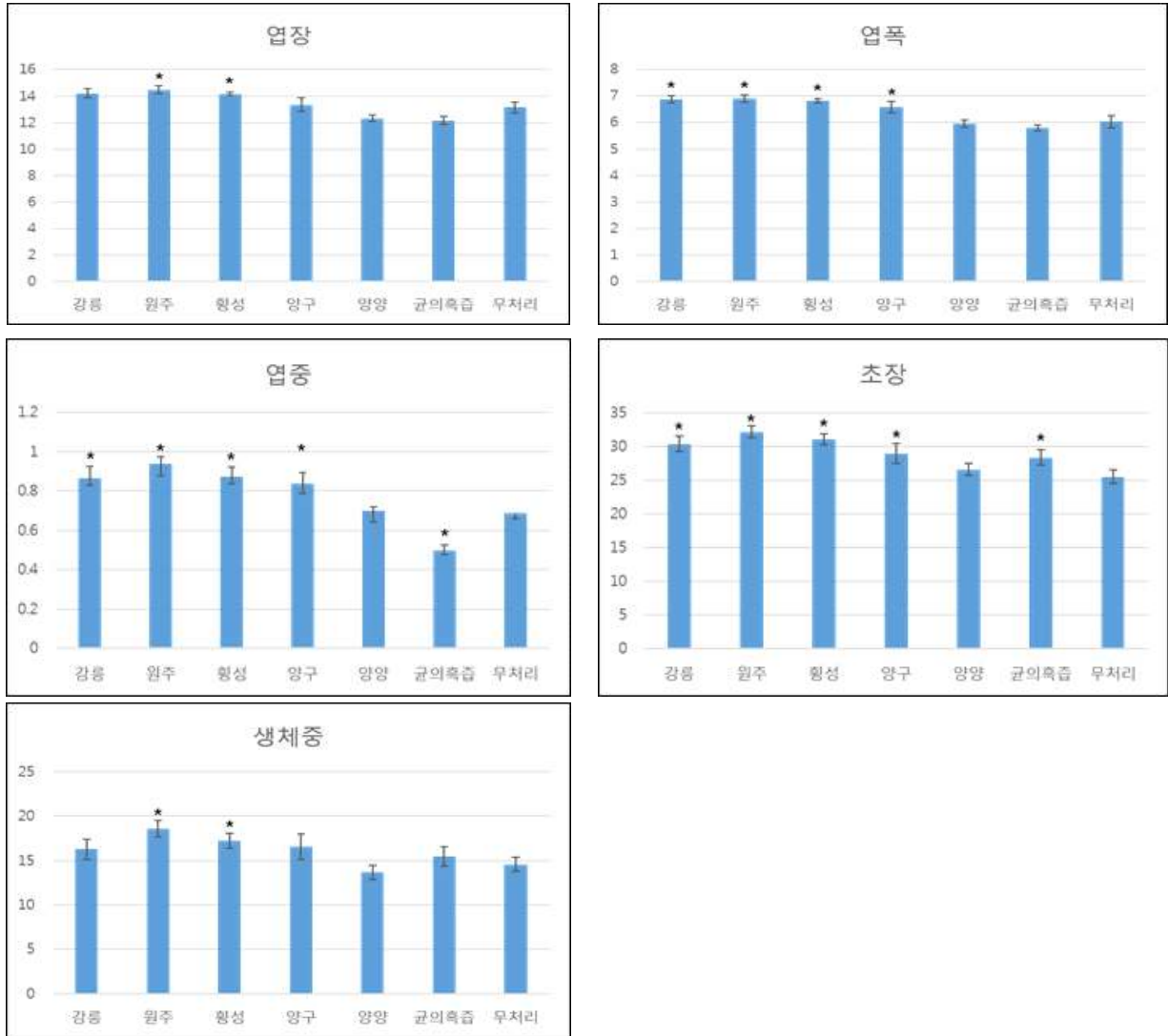


그림 83. 고추 1차 포트 생육시험(T검정을 통한 무처리와의 유의성이 있는 항목)



그림 84. 1차 포트시험 결과 사진 예 (위: 오이- 강릉250배, 무처리/ 아래: 고추 - 원주250배, 무처리)

- 2차 생육포트시험에서는 강원도 시·군 농업기술센터에서 분양받은 고초균 배양액 외 친환경농업연구센터가 보유한 2종의 고초균을 추가하여 비교 시험 실시하였음.

- 고추의 2차 포트 생육시험에서는 그림 85와 같이 잎수, 엽장, 엽폭, 엽중, 초장, 생체중에서 무처리보다 생육효과가 높게 나왔고 특히, 센터3 균주의 생육 효과가 높게 나왔음. 엽록소에서는 그림 86와 같이 위의 결과들과 마찬가지로 무처리에서 더 높은 수치가 나타났다.

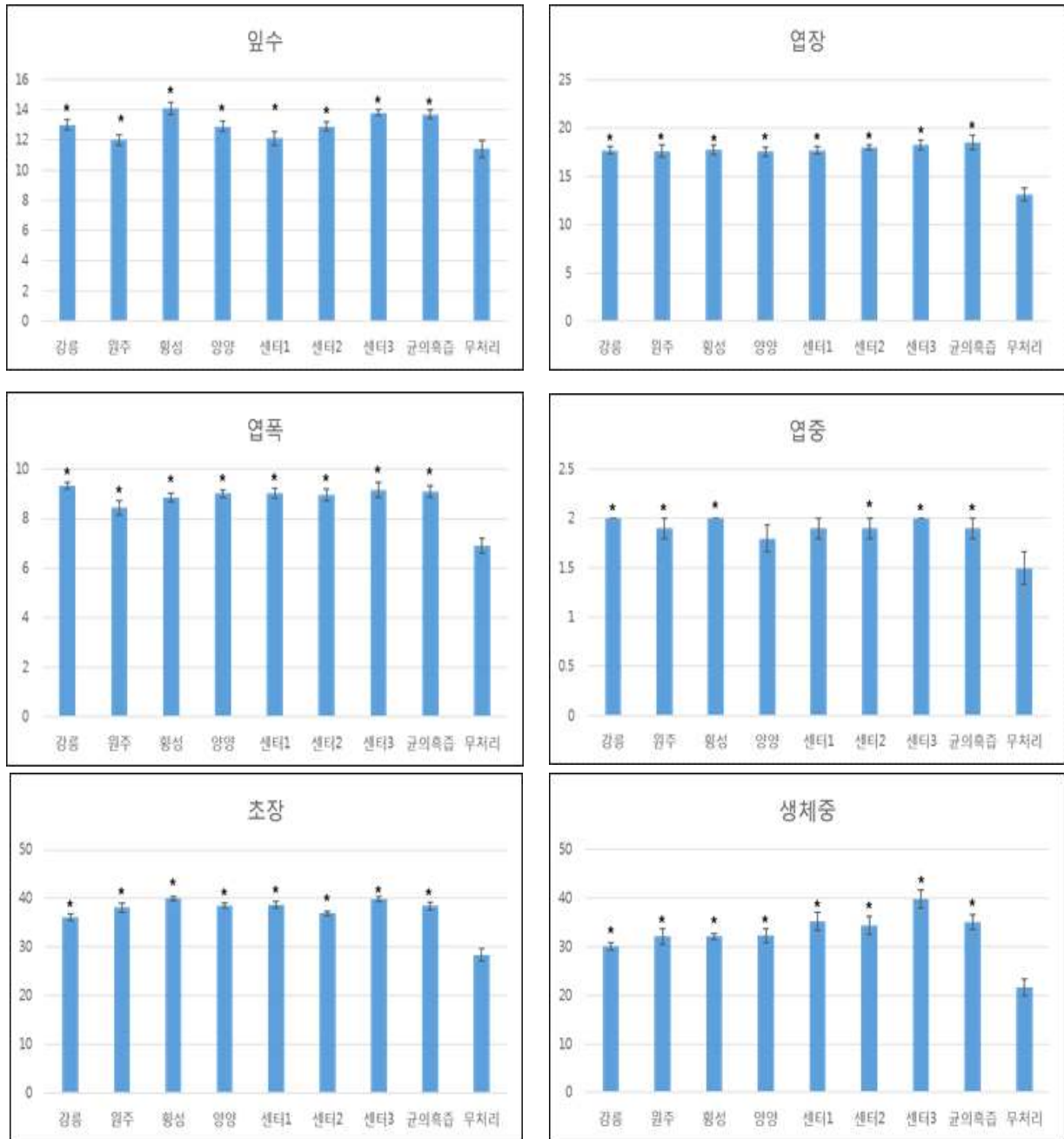


그림 85. 고추 2차 포트 생육시험(T검정을 통한 무처리와의 유의성이 있는 항목)

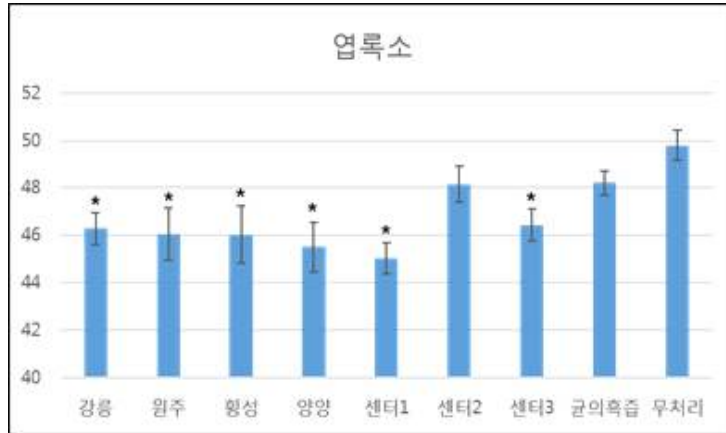


그림 86. 고추 2차 포트 생육시험(T검정을 통한 무처리 보다 값이 낮은 항목)



그림 87. 2차 포트 생육시험 결과 예
(위: 오이- 강릉·센터1, 무처리, 아래: 고추- 원주·센터3, 무처리)

다. 상추

- 포트생육시험으로 광합성균 처리는 1000배, 500배, 250배로 희석하여 사용하였다. 광합성균에 따른 광합성균의 상추 작물에 대한 생육효과는 영월 처리구가 가장 높은 효과를 얻을 수 있었다.
- 영월 지역의 250배 희석 처리구에서는 생체중 13.25g으로 가장 높은 무게를 나타냈고, 이에 비하여 무처리구는 6.26g으로 매우 낮은 값을 나타냈다(그림 88). 잎수 경우에도 10.89장으로 무처리구 9.78장보다 많은 잎수를 보였고, 엽장과 엽폭도 영월 지역의 처리구가 무처리구 보다 높은 값을 나타냈다. 엽장의 경우 영월 13.77cm로 무처리 11.98보다 약 2cm 정도 길게 형성하였고, 엽폭도 무처리구보다 약 1cm 정도 넓게 형성되었다. 초장은 18.73cm로 무처리구보다 4cm 높아 좋은 성장률을 보였다.

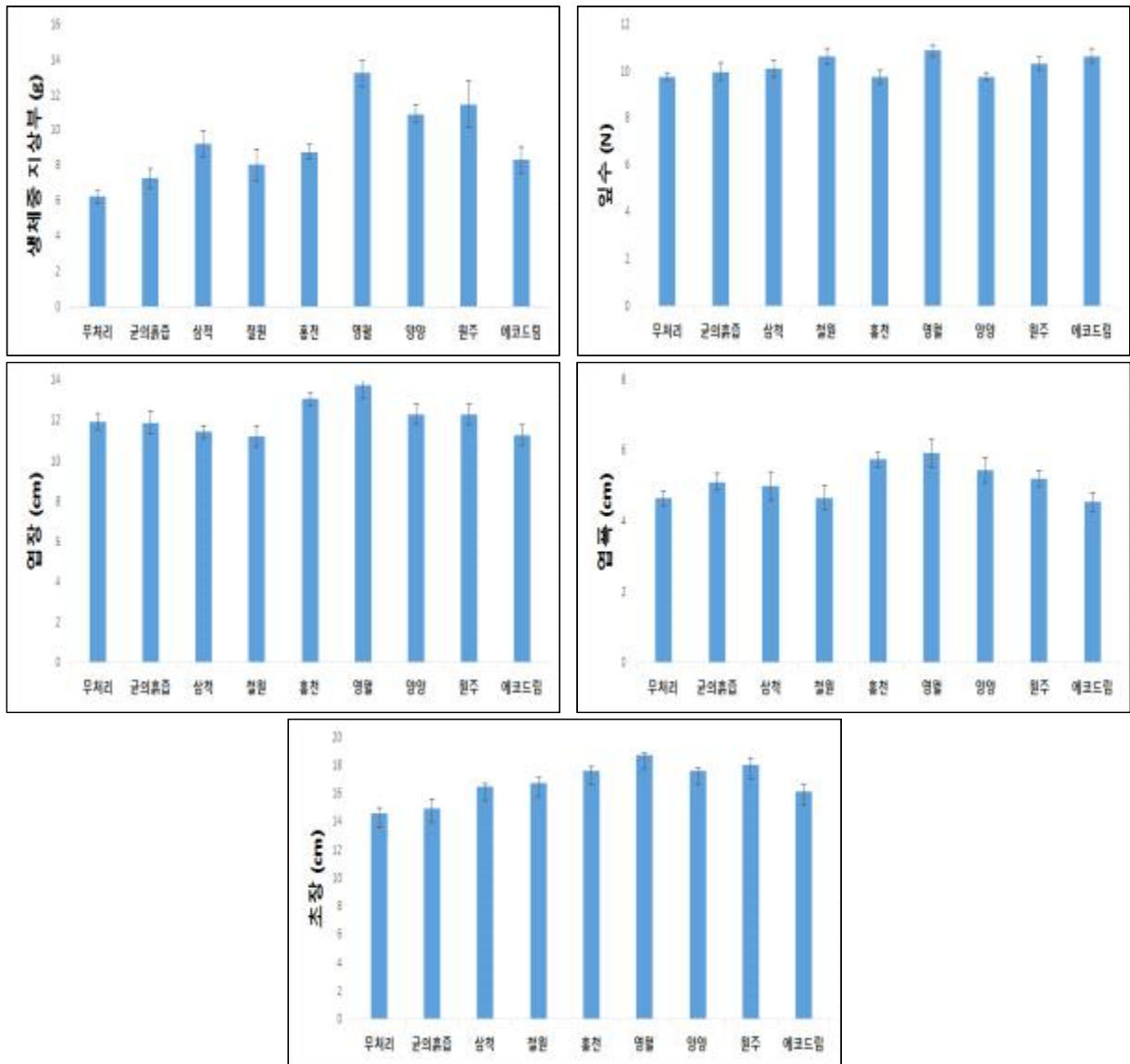


그림 88. 250배액 상추 포트 생육시험(무처리와의 유의성이 있는 항목) 250배 처리구

- 이에 비하여 엽록소함량(SPAD)는 광합성균 처리에 따른 유의성은 없었다(그림 89). 이에 따른 결과로 SPAD의 함량변화에 따른 광합성균 효과는 미비한 것으로 나타났다.

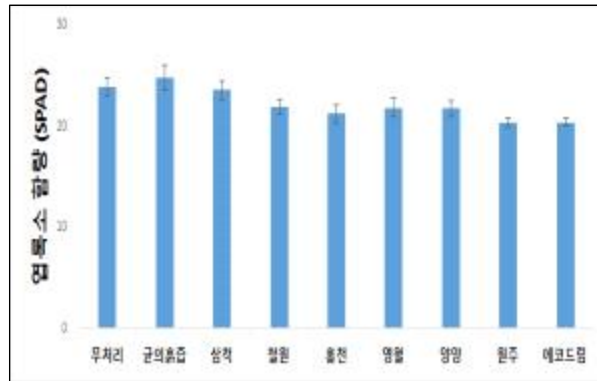


그림 89. 250배액 상추 포트 생육시험(무처리와의 유의성이 없거나 값이 낮은 항목)



그림 90. 상추 포트시험 결과 사진 / 위 - 250배 처리구 / 아래 - 무처리구, 영월 250배 처리구

라. 청경채

- 청경채에서는 영월, 양양, 원주 지역의 처리구에서 높은 생육결과를 얻을 수 있었다. 생체 중 지상부의 무게는 원주 250배 처리구에서 21.29g으로 가장 높은 결과를 보였고, 이에 비하여 무처리구는 14.19g으로 낮은 결과를 나타냈다. 잎수의 경우에는 영월 지역의 250배 처리구에서 10.67장으로 무처리구의 9.78장 보다 약 1장정도 많았다. 초장의 경우에는 양양 지역의 250배 처리구에서 16.51cm로 무처리 15.21cm보다 높게 형성하였다. 엽장과 엽폭의 경우에는 원주, 영월의 1000배 처리구에서 높은 값을 형성하였다(그림 91).

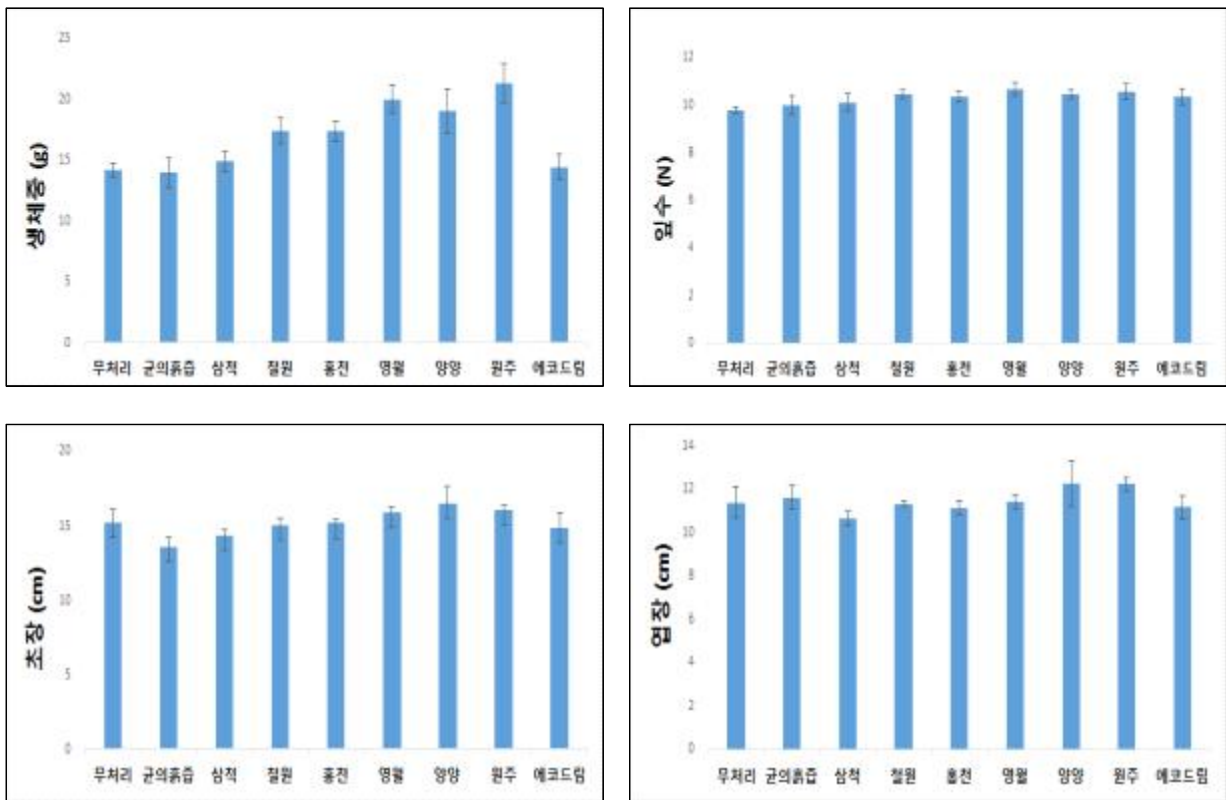


그림 91. 250배액 청경채 포트 생육시험(무처리와의 유의성이 있는 항목)

- 청경채의 엽록소 함량(SPAD)는 상추와 마찬가지로 다른 처리구와 무처리구 간의 유의성은 보이지 않았다(그림 92).

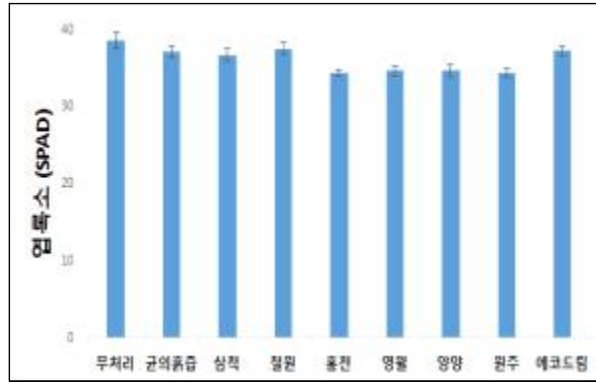


그림 92. 250배액 청경채 포트 생육시험(무처리와의 유의성이 없거나 값이 낮은 항목)



그림 93. 청경채 포트시험 결과 사진 / 위 - 250배 처리구 / 아래 - 인월 처리구

- 엽채류 2종(상추, 청경채)에서는 희석배액 250배 인월, 원주 처리구에서 좋은 생장율을 볼 수 있었다. 하지만 엽록소함량(SPAD)에서는 유의성이 없는 것으로 보아 광합성균의 처리 효과로 엽록소함량의 변화는 없다고 판단된다.

마. 청겨자

- 청겨자는 홍천, 철원, 삼척 지역의 처리구에서 좋은 생육 결과를 보였다. 홍천 지역의 1000배액 희석 처리구에서 24.59g의 무게로 무처리구 8.39g보다 약 13g 정도의 높은 결과를 보였다. 엽장과 엽폭의 경우에도 홍천 1000배액 처리구에서 16.74cm, 9.46cm로 무처리구 9.5cm, 7.14cm보다 엽의 크기가 크다는 것을 알 수 있었다. 줄경에서는 삼척 1000배액 처리구가 5.97mm로 무처리 3.54mm 보다 두꺼운 줄기를 가지고 있는 것을 관찰할 수 있었다 (그림 94).

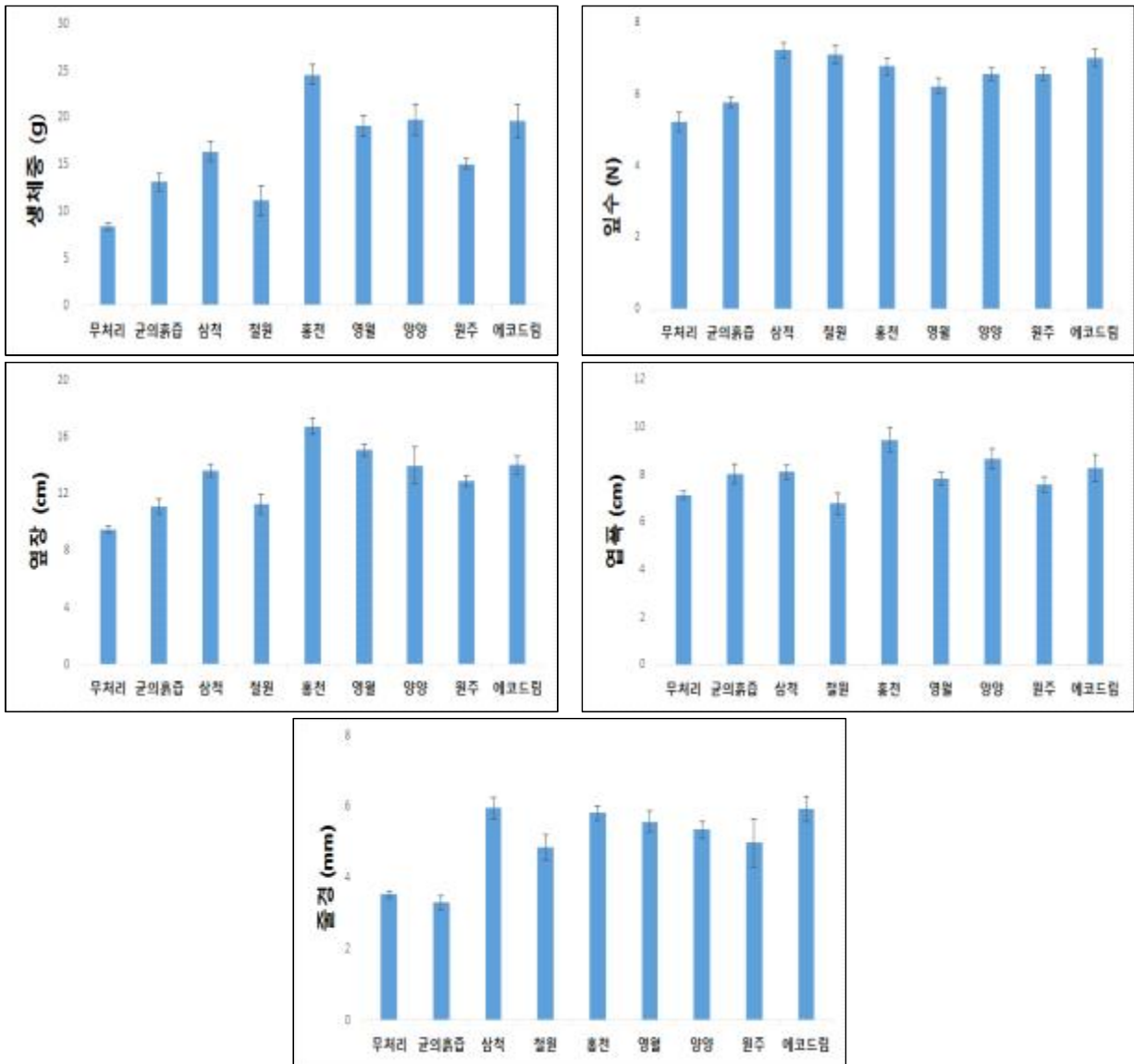


그림 94. 1000배액 청겨자 포트 생육시험(무처리와의 유의성이 있는 항목)

- 이에 비하여 엽록소함량(SPAD)는 무처리구와 다른 처리구간의 유의성 및 차이가 없었고, 무처리구의 결과 값이 더 높았다(그림 95).

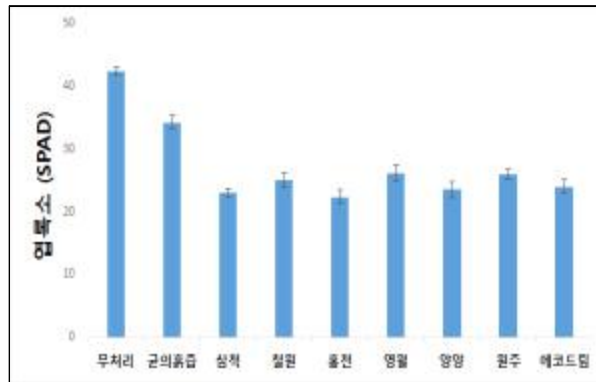


그림 95. 1000배액 청겨자 포트 생육시험(무처리와의 유의성이 없거나 값이 낮은 항목)



그림 96. 청겨자 포트시험 결과 사진 / 위 - 홍천 처리구 / 아래 - 1000배액 처리구

바. 케일

- 케일은 1000배액 처리구에서 높은 생장율을 보였다. 그 중 원주 지역의 처리구에서 엽장과 엽폭이 가장 큰 것을 알 수 있었다. 엽장의 경우는 원주 11.84cm로 무처리 9.5cm보다 약 2cm 정도 높은 값을 보였다. 엽폭은 8.77cm로 무처리구 7.14cm 보다 약 1.5cm 긴 결과값을 나타내어 원주 지역의 처리구에서 잎의 크기가 가장 큰 것을 알 수 있었다. 잎수에서는 철원 지역의 처리구에서 6.11장으로 무처리구 5.22장보다 많은 잎수를 보였다. 줄경에서는 홍천이 5.07mm로 무처리 3.54mm 보다 높아 굵은 줄기 형성을 나타냈다(그림 97).

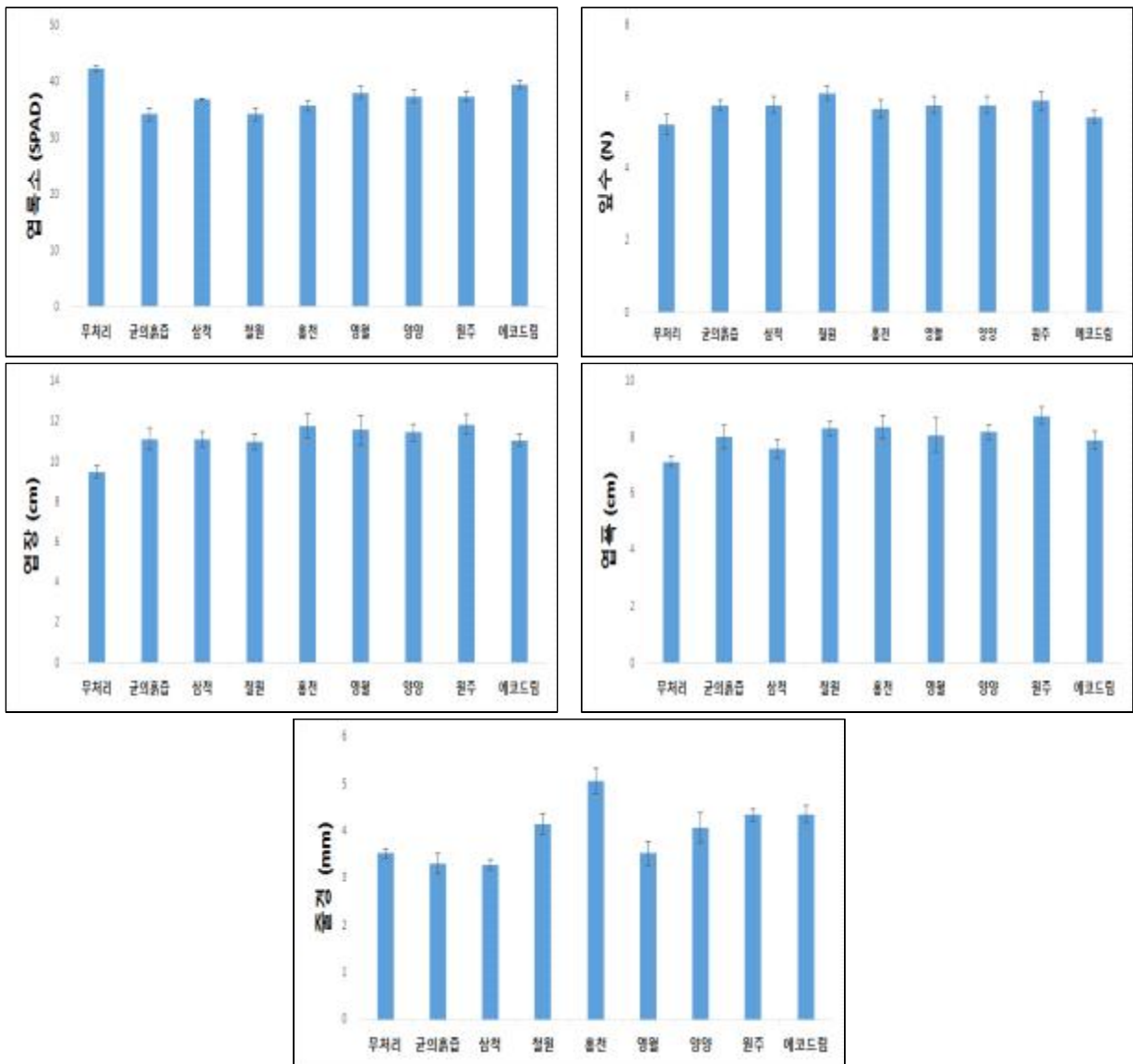


그림 97. 1000배액 케일 포트 생육시험(무처리와의 유의성이 있는 항목)

- 생체중은 250배 처리구에서 가장 좋은 결과값을 보였다. 에코드림, 영월 광합성균이 각각 12.67g, 12.28g으로 무처리구 8.39g보다 높은 값을 나타냈다(그림 98).

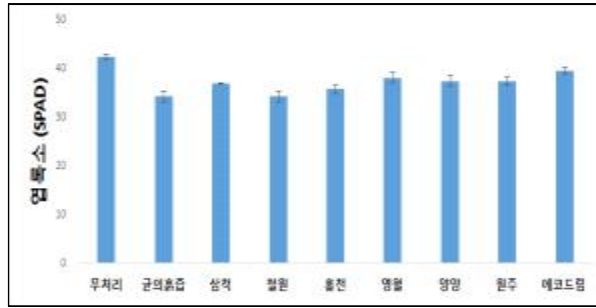


그림 98. 1000배액 케일 포트 생육시험(무처리와의 유의성이 없는 항목)

- 엽록소함량(SPAD)는 다른 엽채류와 마찬가지로 유의성을 찾아볼 수 없었다. 광합성균 처리가 엽록소함량에 미치는 영향이 없다는 것을 알 수 있었다(그림 99).

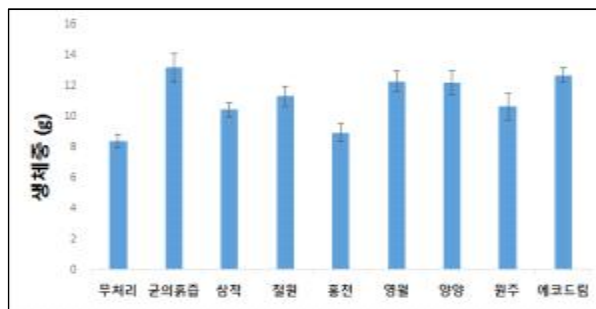


그림 99. 250배액 케일 포트 생육시험(무처리와의 유의성이 있는 항목)



그림 100. 케일 포트시험 결과 사진

엽채류의 노지 재배에서는 온실 포트 실험과의 차이는 없었다.



그림 101. 엽채류 노지 재배 사진

2. 강원도 각 시·군의 선별된 광합성균을 이용한 센터 내 온실 포트 생육시험

- 엽채류의 노지 재배에서는 온실 포트 실험과의 차이는 없었다.
- 1년차 와 2년차에서 진행한 결과를 이용하여 복합처리 효과를 확인하기 위해 유산균과 광합성균의 혼합복합 처리를 실시하였다.
- 본 센터 내 온실 포트 생육시험은 엽채류를 이용하여 진행하였으며, 복합처리 결과는 아래와 같다. 포트 생육 시험으로 복합균, 유산균, 광합성균 처리는 500배액으로 희석하여 사용하였다.

가. 피망

- 피망 포트 생육 시험으로 대조유산균, 인제복합균, 정선유산균, 정선효모균 처리는 250, 500, 1000배액으로 희석하여 사용하였다. 피망의 생육효과는 250, 500, 1000배에서 모두 대조균에서 가장 좋은 효과를 얻을 수 있었다.

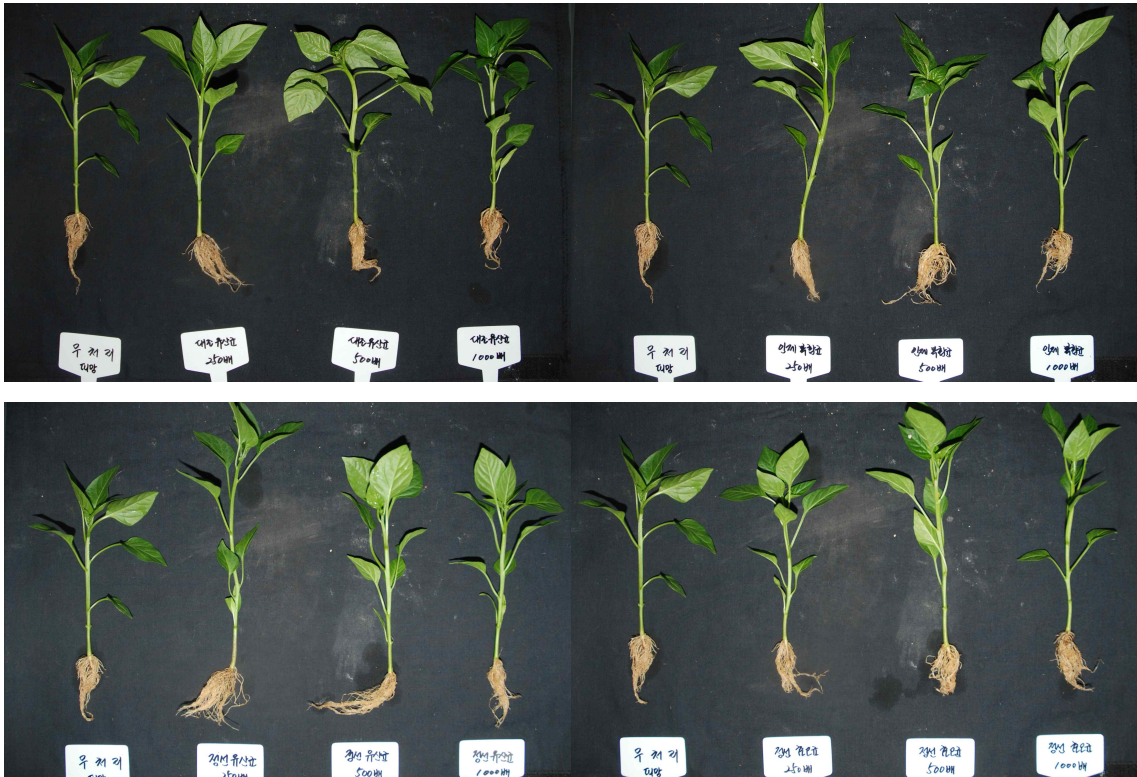
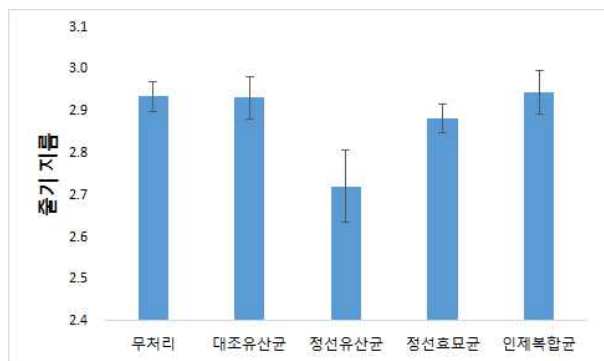
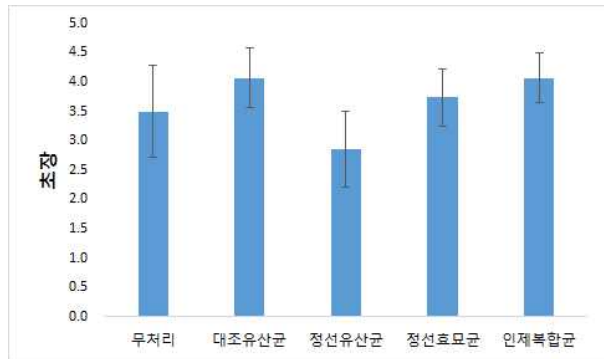
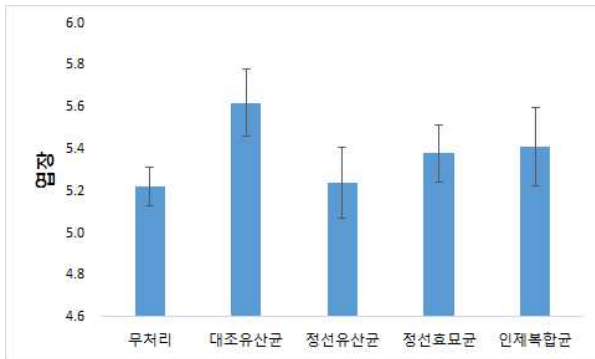
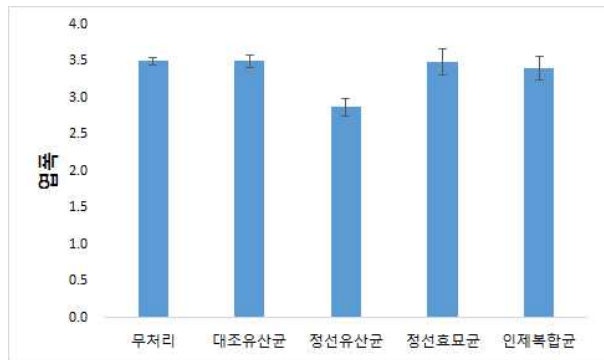
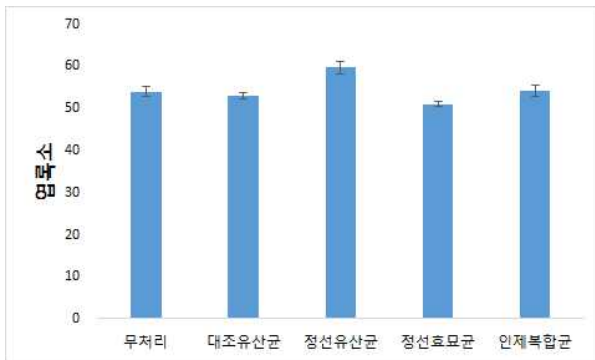


그림 102. 피망 생육 포트실험 사진

- 피망의 250배액 생육효과로는 잎수, 엽장, 엽폭, 생체중 지상부에서 가장 좋은 효과를 보였다. 잎수의 경우에 대조유산균은 12.10 cm 로 가장 좋은 효과를 나타내었으며, 정선유산균은 10.30 cm 로 대조유산균 처리와 비교했을 때 낮은 결과를 나타내었다. 엽장의 경우 대조유산균이 5.62 cm 로 가장 좋은 효과를 보였으며 정선유산균 처리시 각각 5.24 cm로 낮은 효과를 나타내었다. 엽폭의 경우 대조유산균이 3.50 cm 로 가장 좋은 효과를 보였으며 정선유산균 처리시 2.87 cm 로 낮은 효과를 보였다. 지상부 생체중의 경우 4.07g 으로 대조유산균과 인제복합균이 가장 높은 효과를 보였으며, 정선유산균은 2.85g 으로 가장 낮은 효과를 나타내었음을 알 수 있었다.



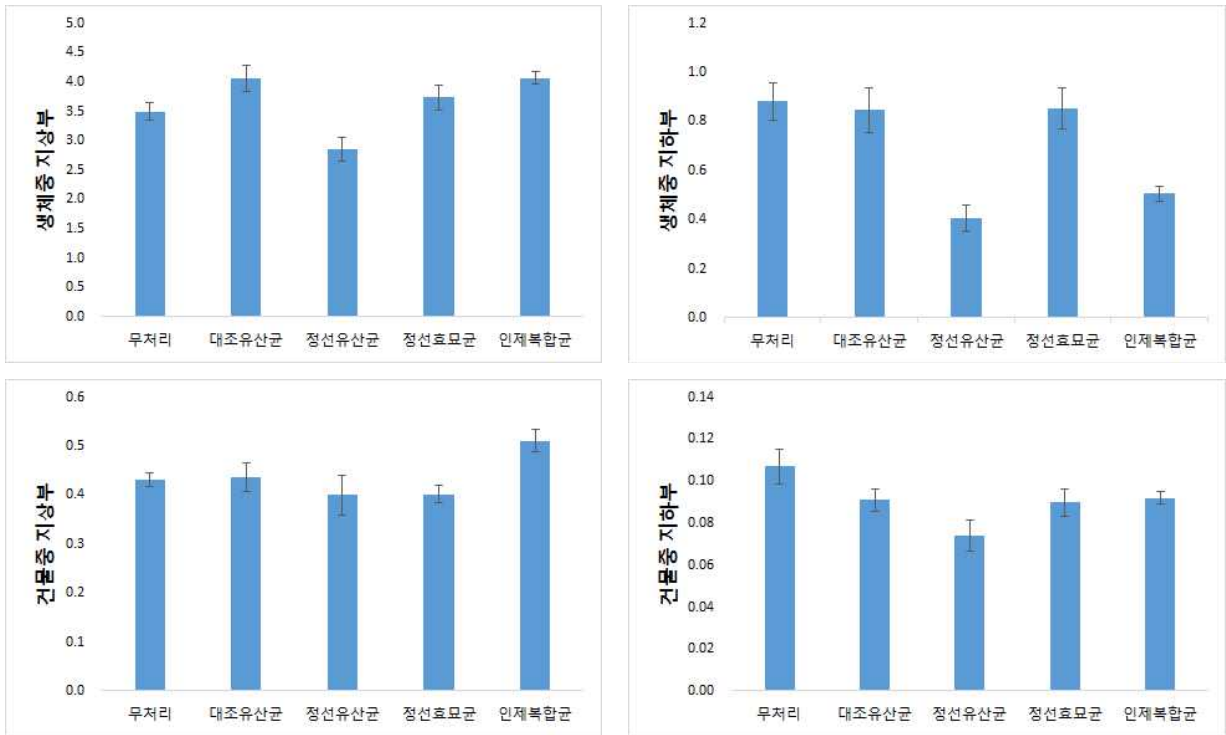
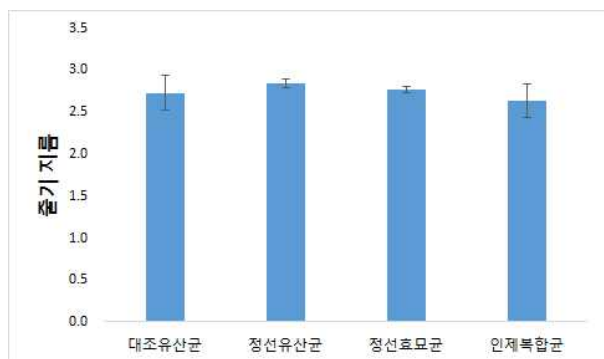
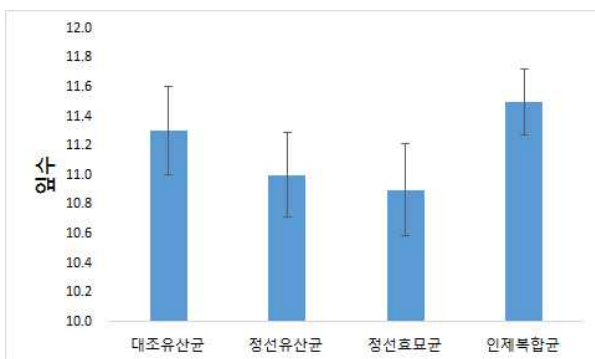
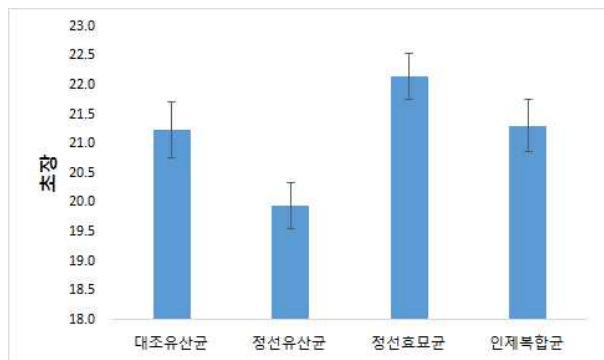
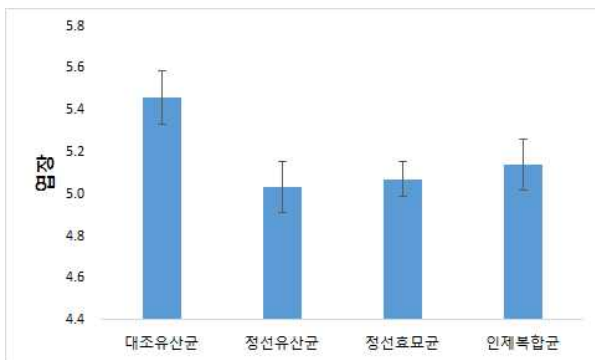
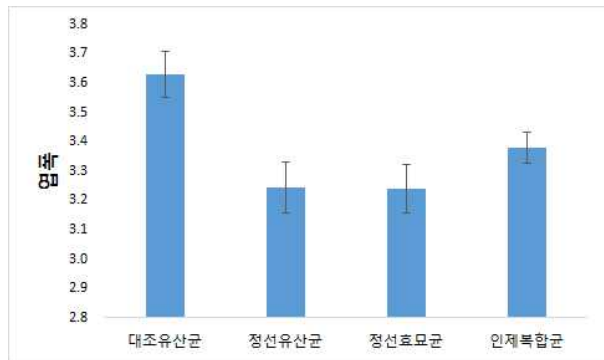
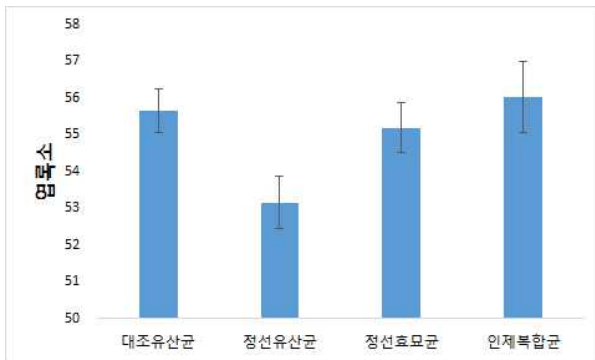


그림 103. 피망 250배액 포트실험



그림 104. 피망 250배액 포트실험 사진

- 피망의 500배액 생육효과로는 대조유산균에서 엽장, 엽폭, 생체중 지상부를 인제복합균에서 엽록소, 잎수, 생체중 지하부에서 가장 좋은 효과를 보였다. 엽장에서는 5.46 cm 로 대조유산균이 가장 높은 효과를 나타내었으나, 정선유산균과 정선효모균에서 각각 5.03 cm, 5.07 cm로 낮은 효과를 나타내었음을 알 수 있었다. 엽폭은 대조유산균에서 3.63 cm로 가장 좋은 효과를 나타내었으나, 엽장과 마찬가지로 정선유산균과 정선효모균은 3.24 cm 로 가장 낮은 효과를 나타내었음을 알 수 있었다. 생체중 지상부에서 대조유산균은 3.65 g 으로 가장 높은 효과를 나타내었고, 정선유산균 처리시 3.09 g으로 가장 낮음을 알 수 있었다. 엽록소와 잎수와 생체중 지하부에서는 인제복합균이 효과를 보였는데, 엽록소에서는 56.01로 가장 높았으며, 정선유산균에서 53.16으로 가장 낮은 것이 확인되었다. 잎수에서 인제복합균은 11.50개로 가장 높았으며, 정선효모균은 10.90개로 가장 낮음을 알 수 있었다. 생체중 지하부에서 인제복합균 처리시에 0.75 g으로 가장 높은 무게가 확인되었으며, 정선 유산균은 0.49 g으로 가장 낮은 무게로 확인되었다.



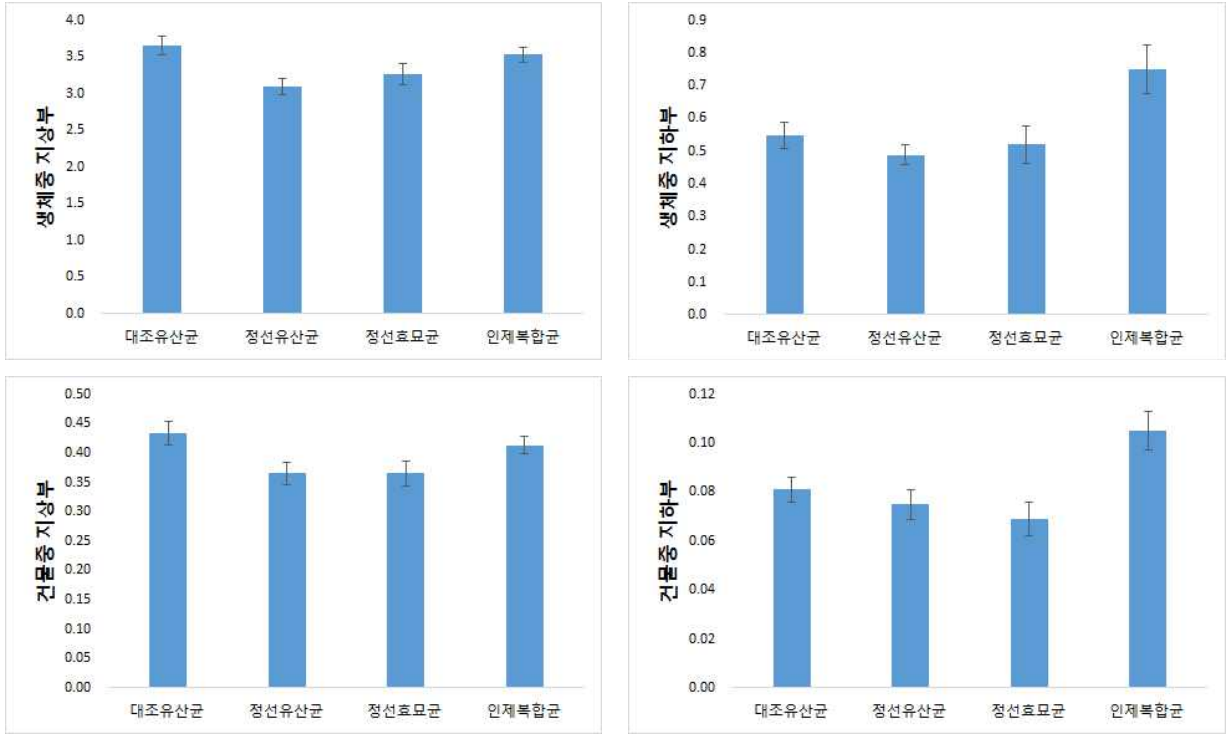


그림 105. 피망 500배액 포트실험

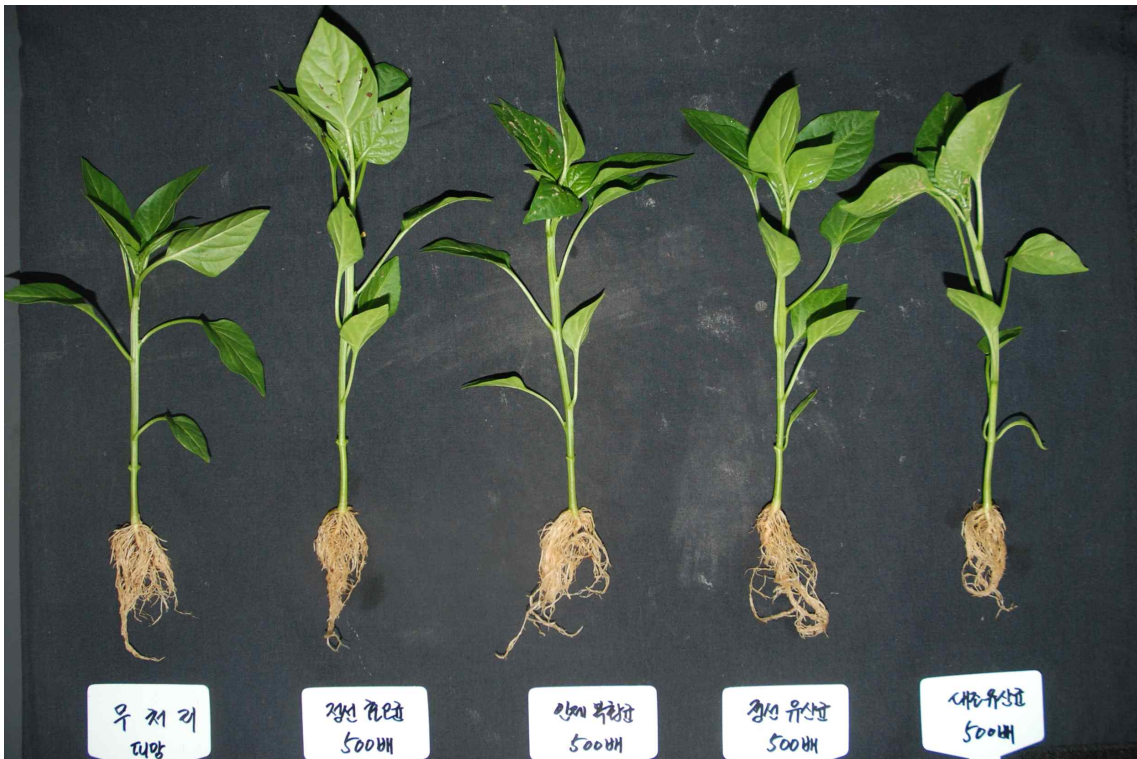
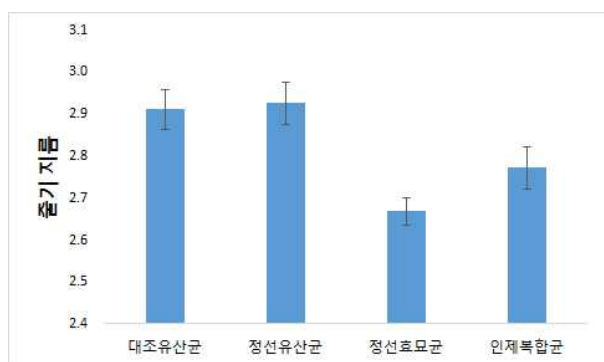
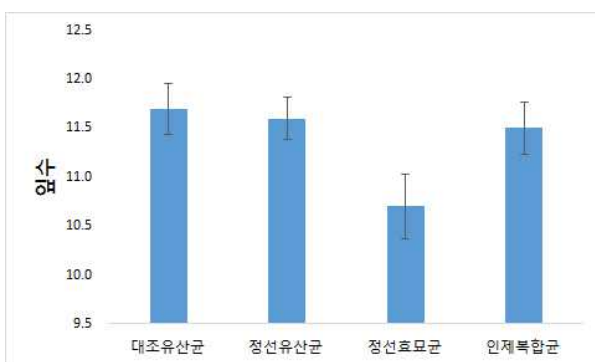
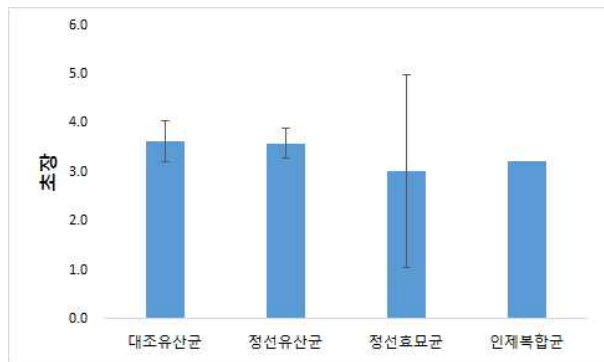
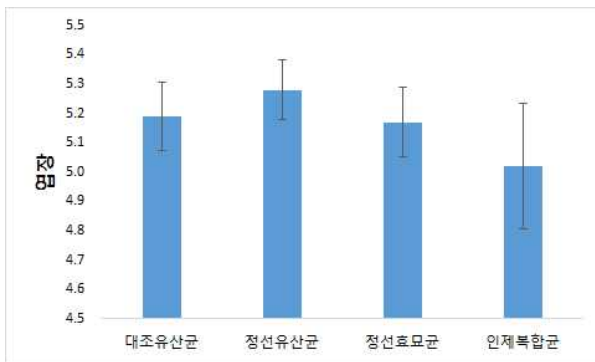
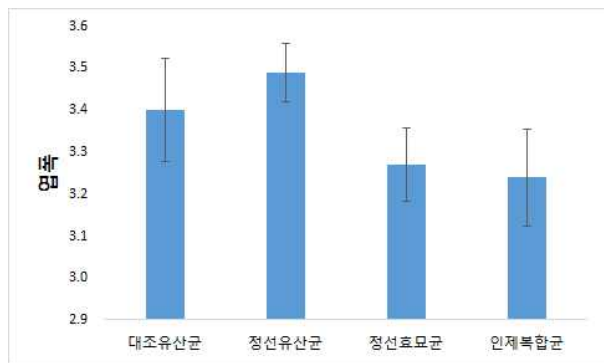
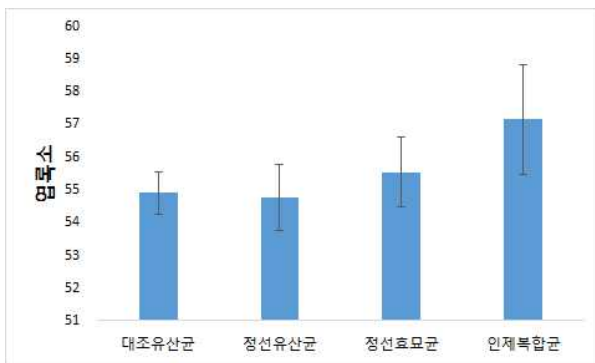


그림 106. 피망 500배액 포트실험 사진

- 피망의 1000배액 생육효과로는 정선유산균에서 엽장, 엽폭, 줄기 지름, 생체중 지하부에서 가장 좋은 효과를 보였다. 엽장에서는 5.28 cm 로 정선유산균이 가장 높은 효과를 나타내었으나, 인제복합균에서 5.02 cm로 가장 낮은 효과를 나타내었음을 알 수 있었다. 엽폭은 정선유산균에서 3.49 cm로 가장 좋은 효과를 나타내었으나, 엽장과 마찬가지로 인제복합균에서 3.24 cm 로 가장 낮은 효과를 나타내었음을 알 수 있었다. 줄기 지름에서 정선유산균 처리시 2.93 cm로 가장 높았으나, 정선횠평균의 경우 2.67 cm로 가장 낮았다. 생체중 지하부에서 정선유산균은 0.75 g으로 가장 높은 효과를 나타내었고, 인제복합균 처리시 0.25 g으로 가장 낮음을 알 수 있었다.



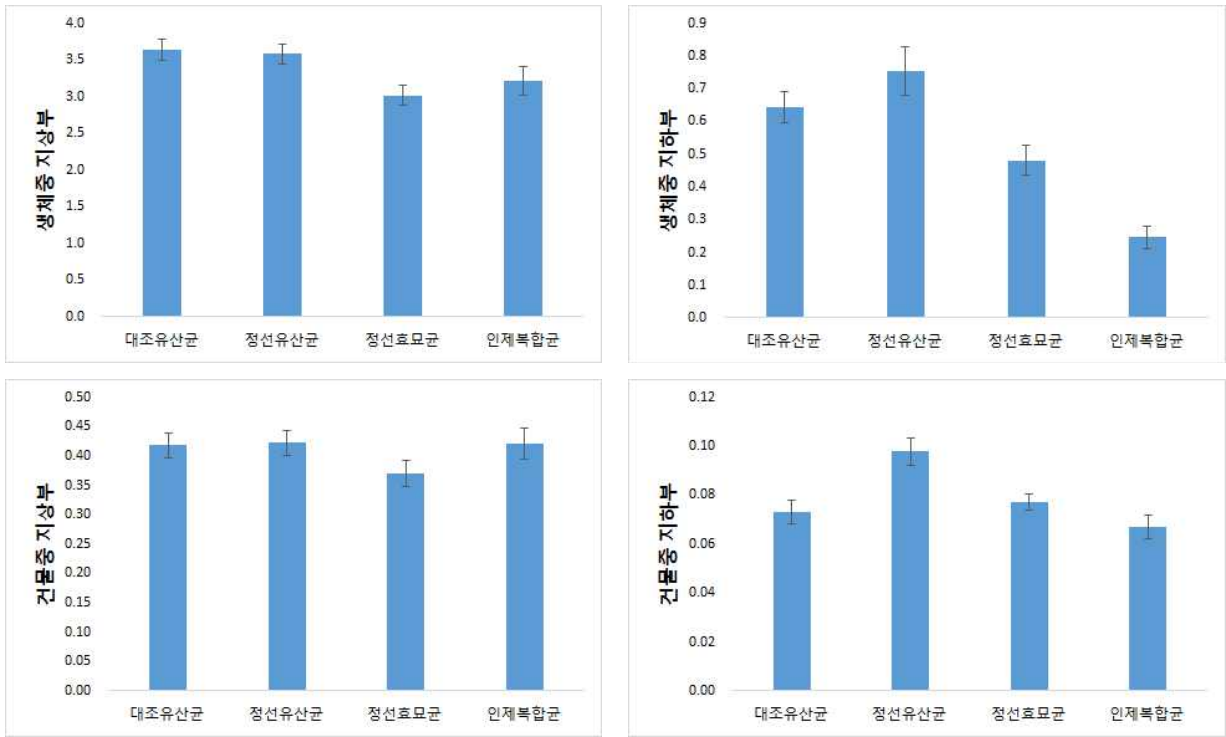


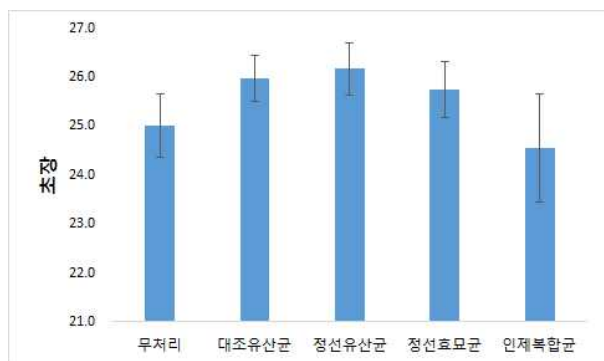
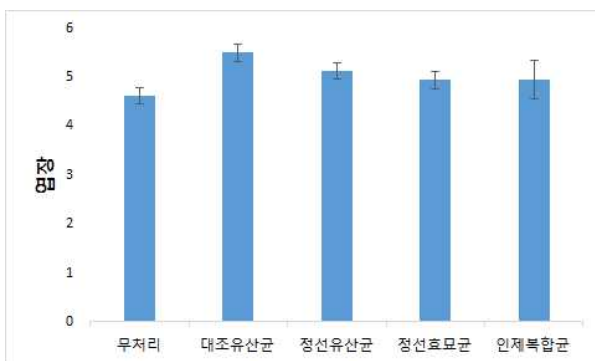
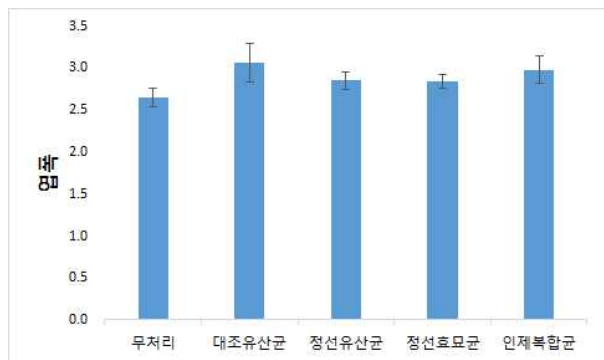
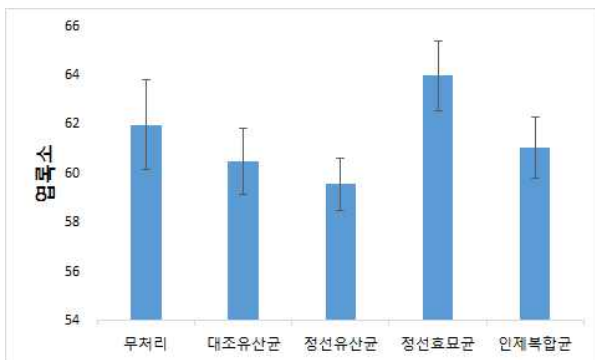
그림 107. 피망 1000배액 생육포트 실험



그림 108. 피망 1000배액 생육포트 실험 사진

나. 고추

- 고추 포트 생육 시험으로 대조유산균, 인제복합균, 정선유산균, 정선효모균 처리는 250, 500, 1000배액으로 희석하여 사용하였다. 고추의 생육효과는 250, 500, 1000배에서 모두 대조균에서 가장 좋은 효과를 얻을 수 있었다.
- 고추의 250배액에서 처리시 잎수, 엽장, 엽폭, 줄기 지름, 생체중 지상부, 생체중 지하부에 서 좋은 효과를 보였다. 잎수의 경우에 대조유산균은 11.22 cm 로 가장 좋은 효과를 나타내었으며, 인제복합균은 9.7 cm, 정선유산균은 9.78 cm로 대조유산균 처리와 비교했을 때 낮은 결과를 나타내었다. 엽장의 경우 대조유산균이 5.50 cm 로 가장 좋은 효과를 보였으며 인제복합균과 정선효모균 처리시 각각 4.96 cm, 4.94 cm로 낮은 효과를 나타내었다. 엽폭의 경우 대조유산균이 3.07 cm 로 가장 좋은 효과를 보였으며 정선효모균과 정선유산균 처리시 각각 2.84 cm, 2.86 cm 로 낮은 효과를 보였다. 줄기 지름의 경우 2.86 cm 로 대조유산균 처리가 가장 좋은 효과를 나타내었으며, 인제복합균 처리는 2.71cm 로 가장 낮은 효과를 나타냈음을 알 수 있다. 지상부 생체중의 경우 3.41g 으로 가장 높은 효과를 보였으며, 인제복합균은 2.58g 으로 가장 낮은 효과를 나타내었음을 알 수 있었다. 지하부 생체중의 경우도 마찬가지로 0.42g 으로 대조유산균이 가장 높은 효과를 나타내었으며, 정선효모균이 0.21 g으로 가장 낮은 효과를 나타내었음을 알 수 있었다.



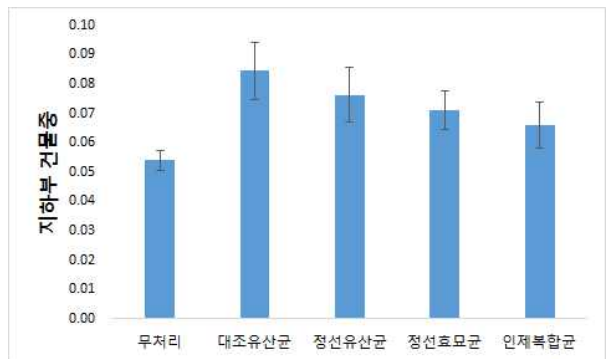
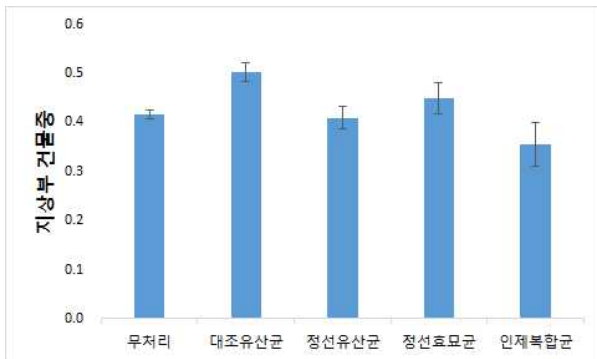
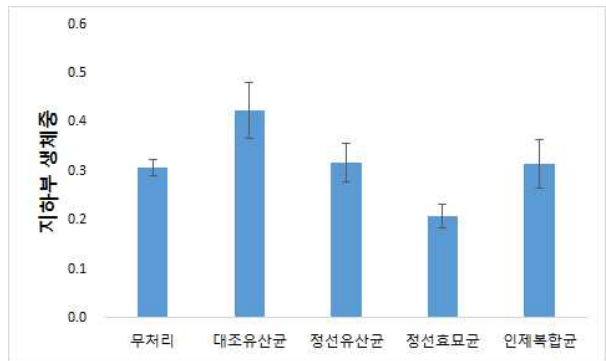
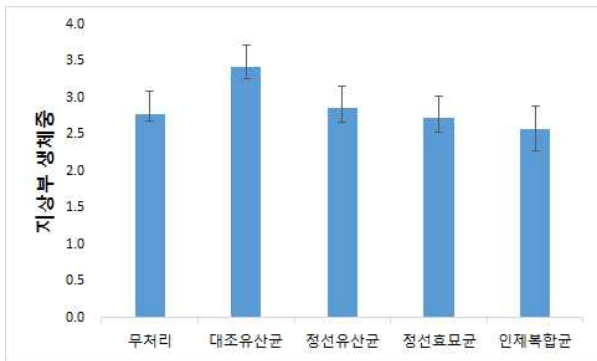
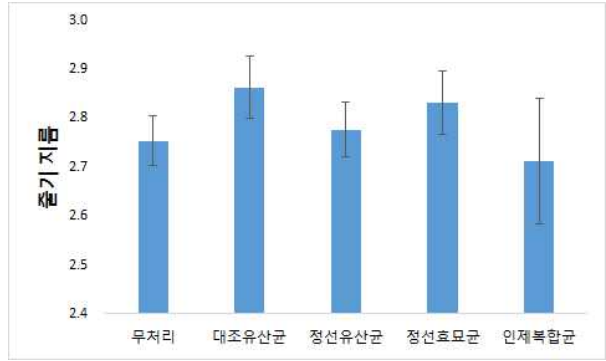


그림 109. 고추 250배액 포트 생육 실험

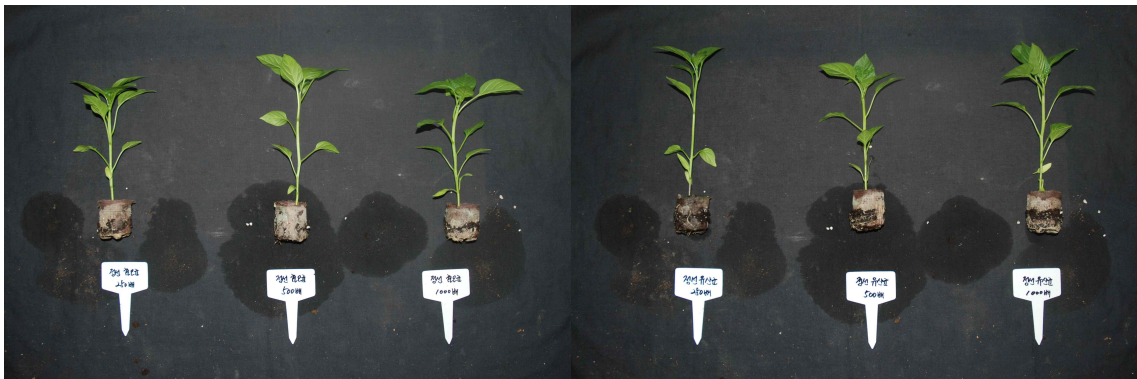
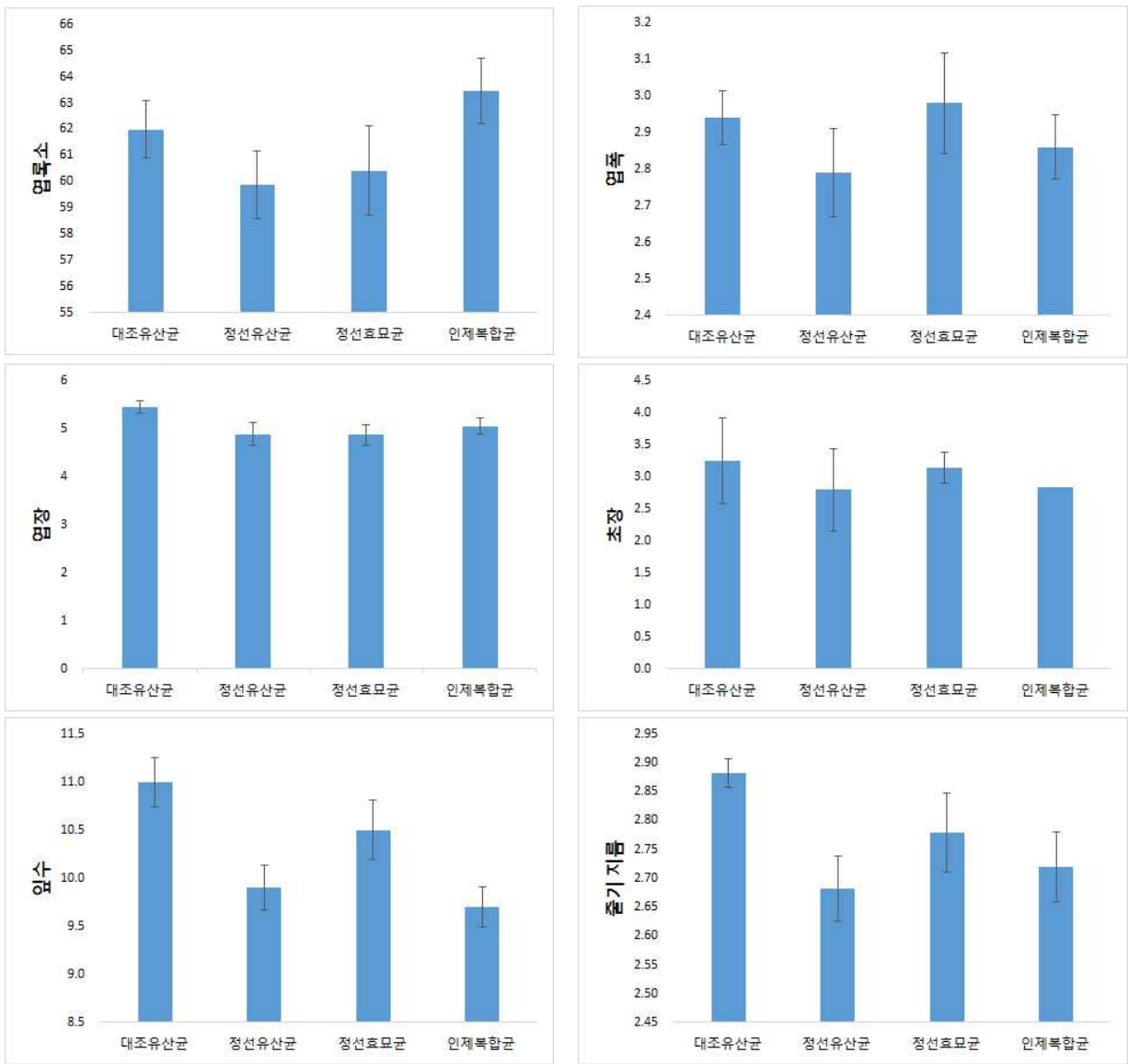




그림 110. 고추 250배액 포트 생육실험 사진

- 고추의 500배액 생육효과로는 잎수, 엽장, 초장, 줄기 지름, 생체중 지상부, 생체중 지하부에
 서 가장 좋은 효과를 보였다. 잎수의 경우에 대조유산균은 11.00개로 가장 많은 효과를 나타
 내었으며, 인제복합균은 9.7개로 대조유산균 처리와 비교했을 때 낮은 결과를 나타내었다.
 엽장의 경우 대조유산균이 5.45 cm 로 가장 좋은 효과를 보였으며 정선유산균과 정선표모균
 처리시 각각 4.88 cm, 4.87 cm로 대조유산균보다 낮은 효과를 나타내었다. 초장의 경우 대
 조유산균이 28.39 cm 로 가장 좋은 효과를 보였으며 정선유산균과 인제복합균 처리시 각각
 25.22 cm, 24.99 cm 로 대조유산균보다 낮은 효과를 보였다. 줄기 지름의 경우 2.88 cm
 로 대조유산균 처리가 가장 좋은 효과를 나타내었으며, 정선유산균 처리는 2.68cm 로 가장
 낮은 효과를 나타냈음을 알 수 있다. 지상부 생체중의 경우 3.24g 으로 대조유산균이 가장
 높은 효과를 보였으며, 정선유산균은 2.80g 으로 가장 낮은 효과를 나타내었음을 알 수 있었
 다. 지하부 생체중의 경우도 마찬가지로 0.36g 으로 대조유산균이 가장 높은 효과를 나타내
 었으며, 인제복합균이 0.28 g으로 가장 낮은 효과를 나타내었음을 알 수 있었다.



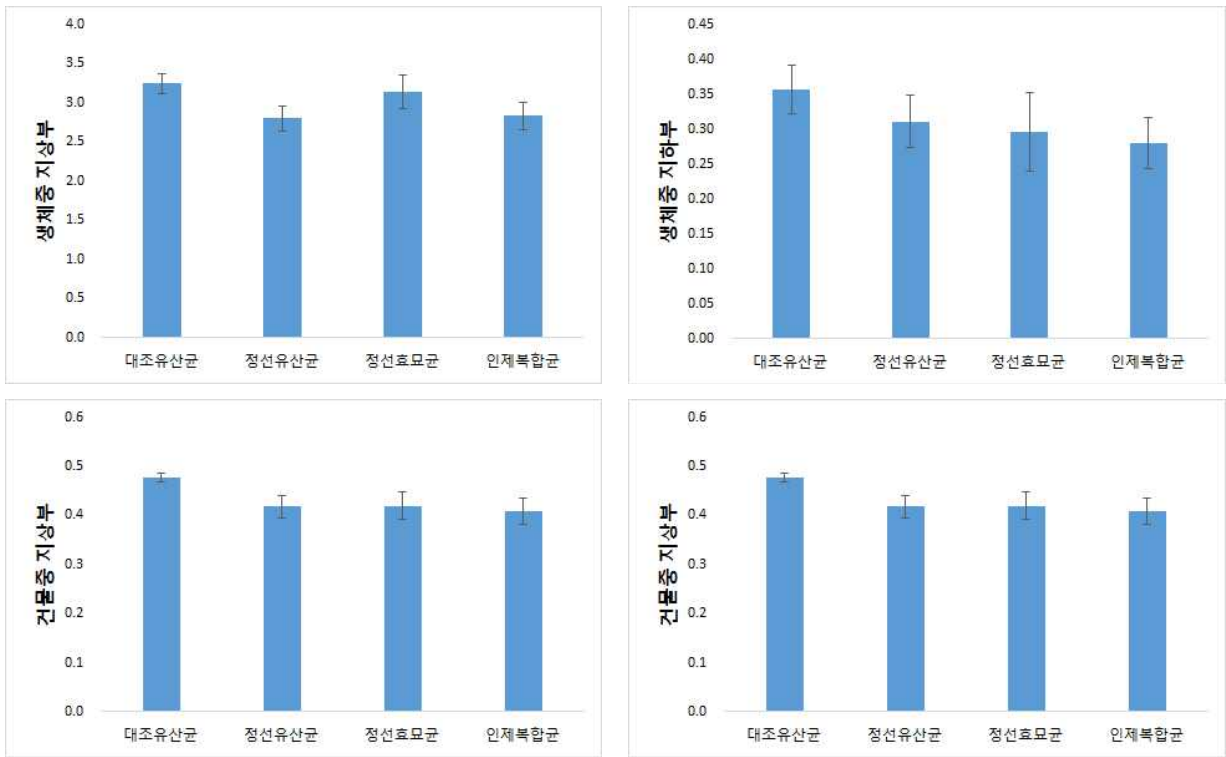
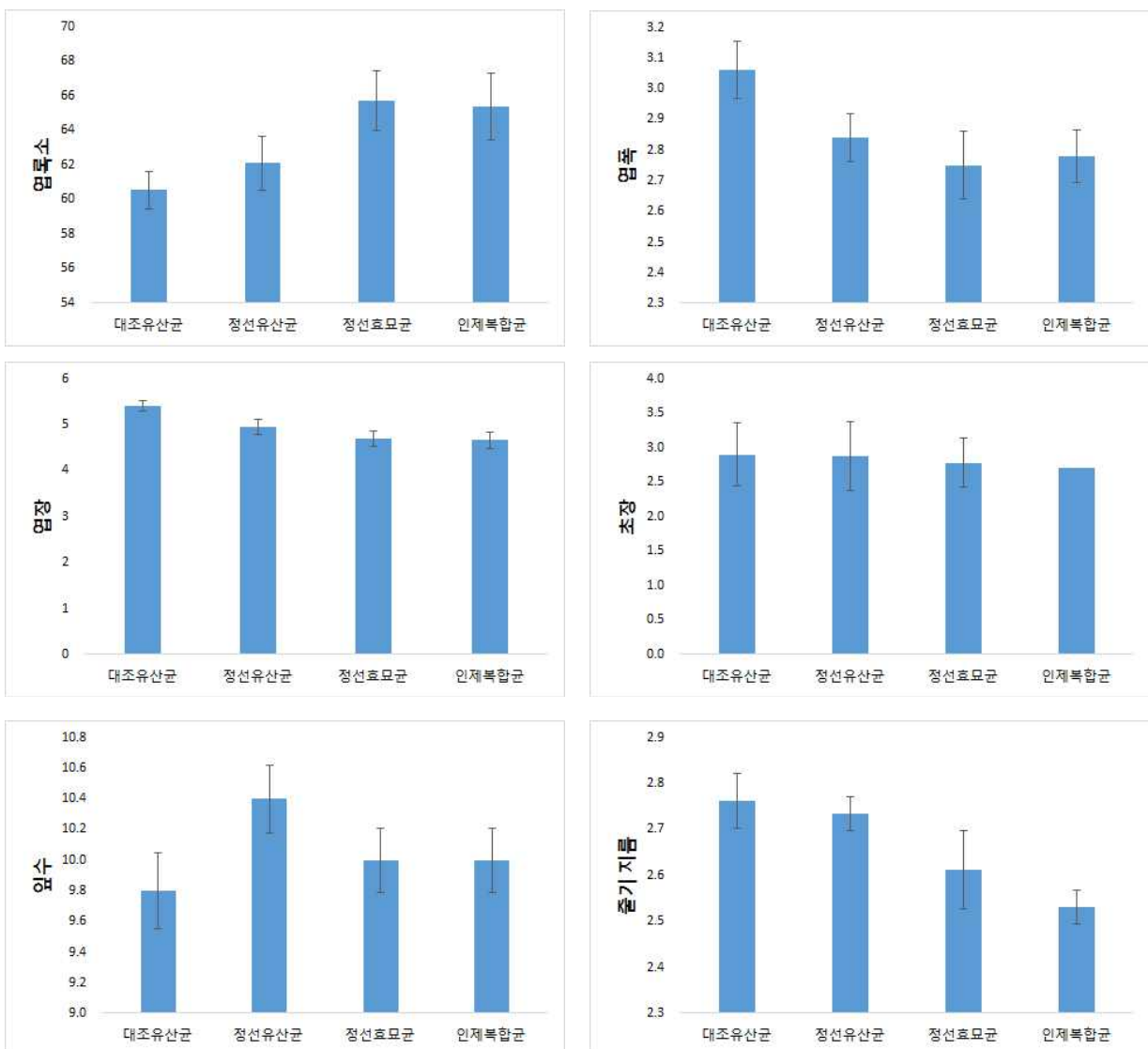


그림 111. 고추 500배액 생육포트 실험



그림 112. 고추 500배액 생육포트 실험 사진

- 고추의 1000배액 생육효과로는 엽장, 엽폭, 줄기 지름, 생체중 지상부, 생체중 지상부, 지하부에서 가장 좋은 효과를 보였다. 엽장의 경우에 대조유산균은 5.41 cm 로 가장 좋은 효과를 나타내었으며, 인제복합균은 4.66 cm 대조유산균 처리와 비교했을 때 낮은 결과를 나타내었다. 엽폭의 경우 대조유산균이 3.06 cm 로 가장 좋은 효과를 보였으며 인제복합균과 정선포모균 처리시 각각 2.78 cm, 2.75 cm로 낮은 효과를 나타내었다. 줄기 지름의 경우 대조유산균이 2.76 cm 로 가장 좋은 효과를 보였으며 인제복합균 처리시 각각 2.53 cm 로 낮은 효과를 보였다. 지상부 생체중의 경우 2.90 cm 으로 대조유산균이 가장 높은 효과를 보였으며, 정선유산균은 2.88g 으로 가장 낮은 효과를 나타내었음을 알 수 있었다. 지하부 생체중의 경우도 마찬가지로 0.52g 으로 대조유산균이 가장 높은 효과를 나타내었으며, 인제복합균이 0.24 g으로 가장 낮은 효과를 나타내었음을 알 수 있었다.



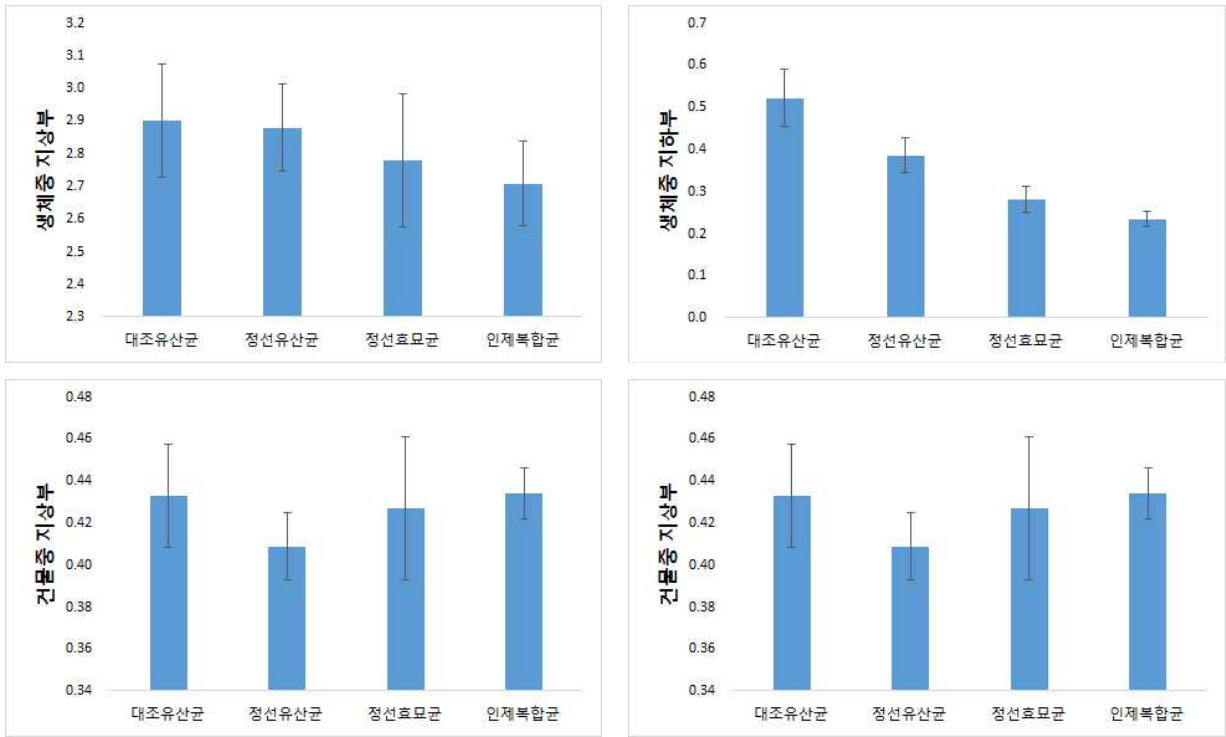


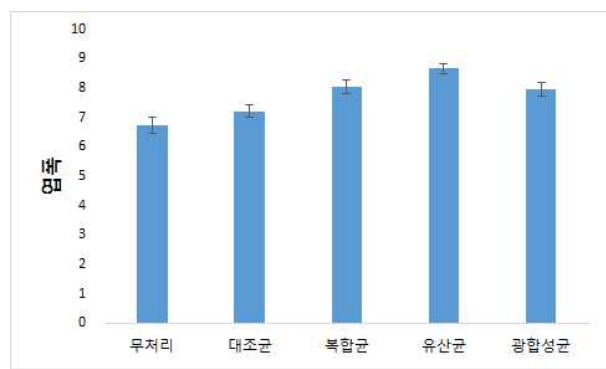
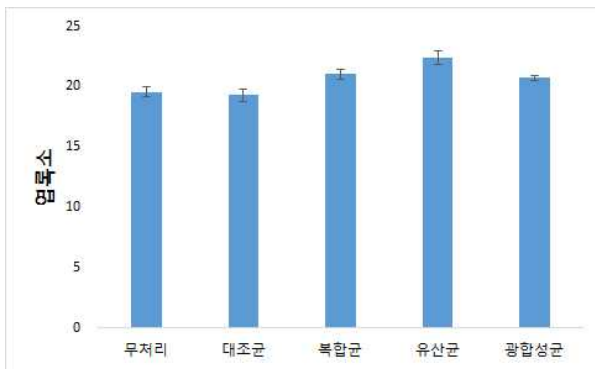
그림 113. 고추 1000배액 생육포트 실험



그림 114. 고추 1000배액 생육포트 실험 사진

다. 청상추

— 포트 생육 시험으로 대조군, 복합균, 유산균, 광합성균 처리는 500배액으로 희석하여 사용하였다. 청상추의 생육효과는 유산균 처리시 엽록소, 엽폭, 엽장, 초장, 지상부 생체중에서 가장 좋은 효과를 보였다. 엽록소의 경우에 유산균은 22.43로 가장 높은 값을 나타내었으며, 대조군은 19.28, 광합성균은 20.71, 복합균은 21.05로 유산균 처리와 비교했을 때 낮은 결과를 나타내었다. 엽폭의 경우 유산균이 8.66 cm로 가장 좋은 효과를 나타내었으며, 대조군과 광합성균 처리시 7.21 cm, 7.96 cm로 유산균보다 낮은 효과를 나타내었다. 엽장의 경우 유산균이 18.48 cm 로 가장 좋은 효과를 보였으며, 대조군과 복합균 처리시 각각 15.74 cm, 16.99 cm 로 유산균보다 낮은 효과를 보였다. 초장의 경우 19.35cm로 유산균 처리가 가장 좋은 효과를 나타내었으며, 대조군 처리는 16.73cm 로 가장 낮은 효과를 나타냈으며, 복합균과 광합성균은 18.52 cm, 18.44 cm로 유산균보다 낮은 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 지상부 생체중의 경우 유산균이 9.47 g으로 가장 좋은 효과를 나타내었으며, 대조군 처리시 5.88 g 으로 가장 낮은 효과를 나타내었다. 복합균과 광합성균은 각각 8.91 g, 9.15g으로 유산균보다 낮은 효과를 나타내었다.



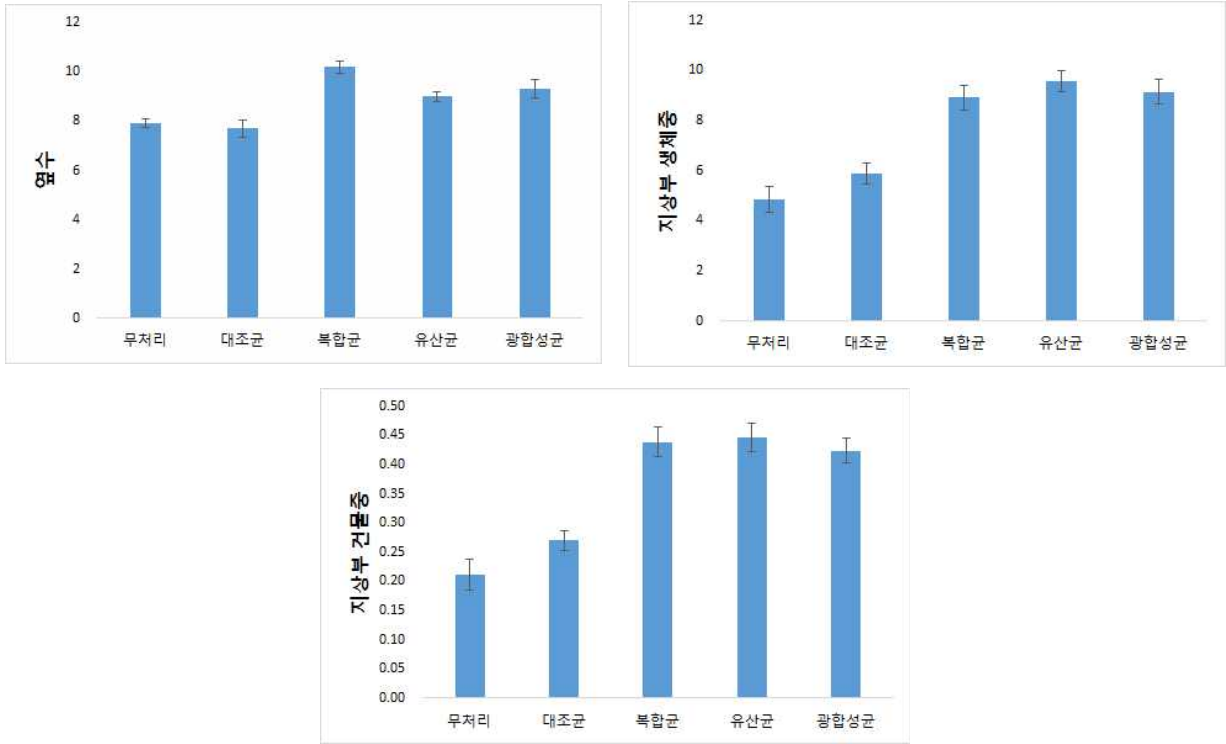


그림 115. 청상추 포트 생육실험



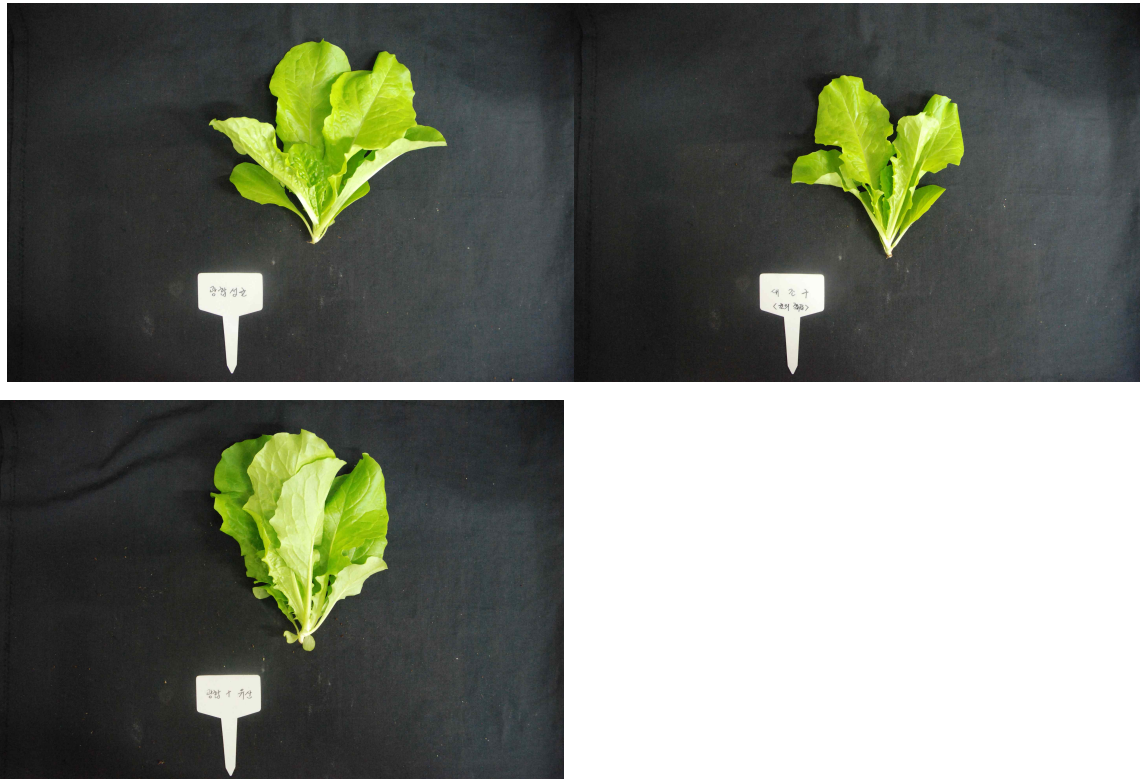
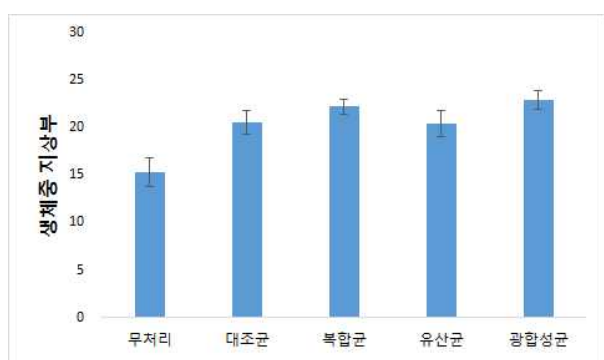
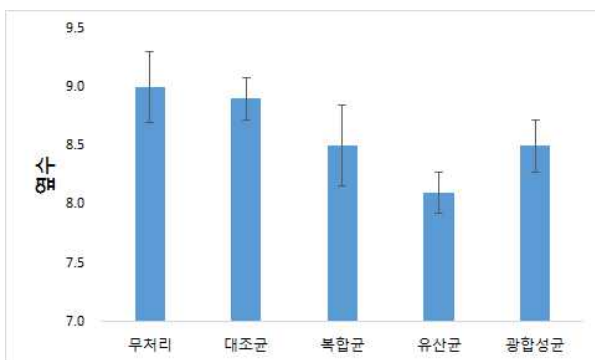
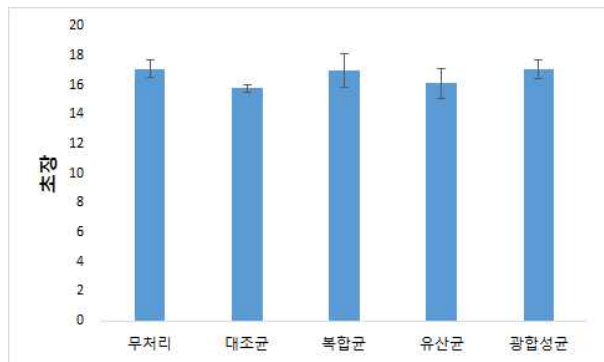
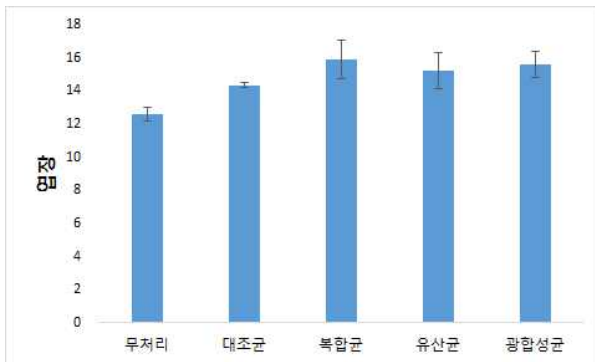
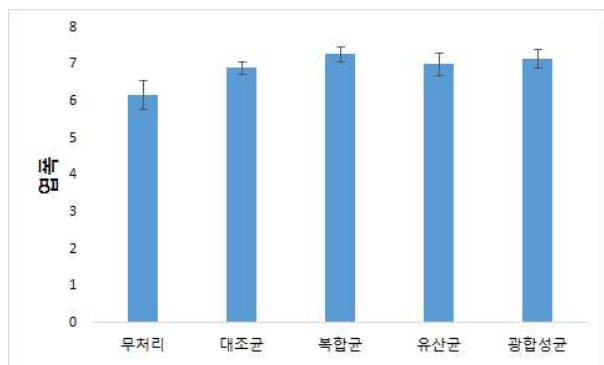
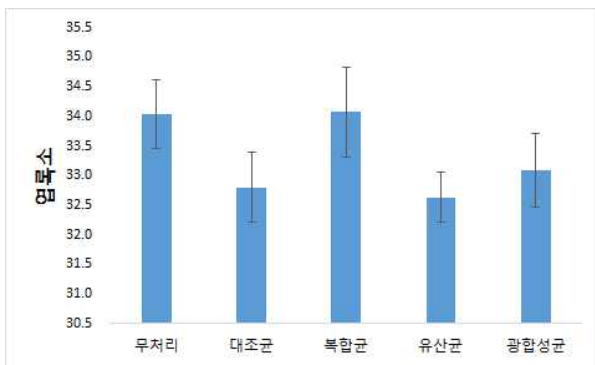


그림 116. 청상추 포트 생육실험 사진

라. 청경채

- 포트 생육 시험으로 대조군, 복합균, 유산균, 광합성균 처리는 500배액으로 희석하여 사용하였다. 청경채의 생육효과는 복합균과 광합성균 처리함으로써 엽폭, 엽장, 지상부 생체중 무게에서 특히 좋은 효과를 보였다. 엽폭에서는 광합성균과 복합균 처리시 효과가 좋았다. 복합균 7.27 cm로 다른군 처리와 비교했을 때 좋은 결과를 얻었다. 엽장의 경우에 복합균 처리시 15.91 cm로 좋은 효과를 보였으며, 광합성균, 유산균, 대조군은 각각 15.61, 15.25, 14.36 cm로 복합균 처리보다 낮은 효과를 나타냈다. 지상부 생체중의 경우에는 광합성균이 가장 좋은 효과를 보였다. 광합성균은 22.92 g으로 나타났으나, 복합균, 대조군, 유산균은 22.19 g, 20.55 g, 20.39 g 으로 광합성균보다 낮은 효과를 나타내었다. 엽록소와 엽수와 초장에서는 무처리와 비교하였을 때 처리시 큰 효과가 없는 것으로 나타났다.



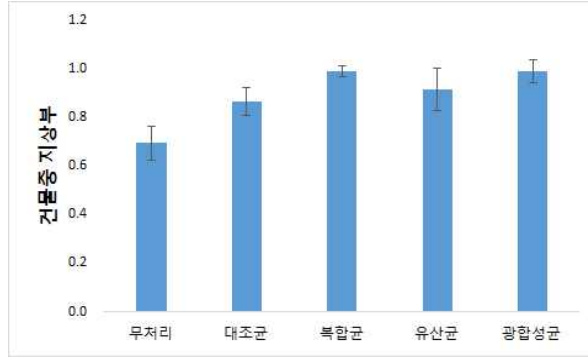


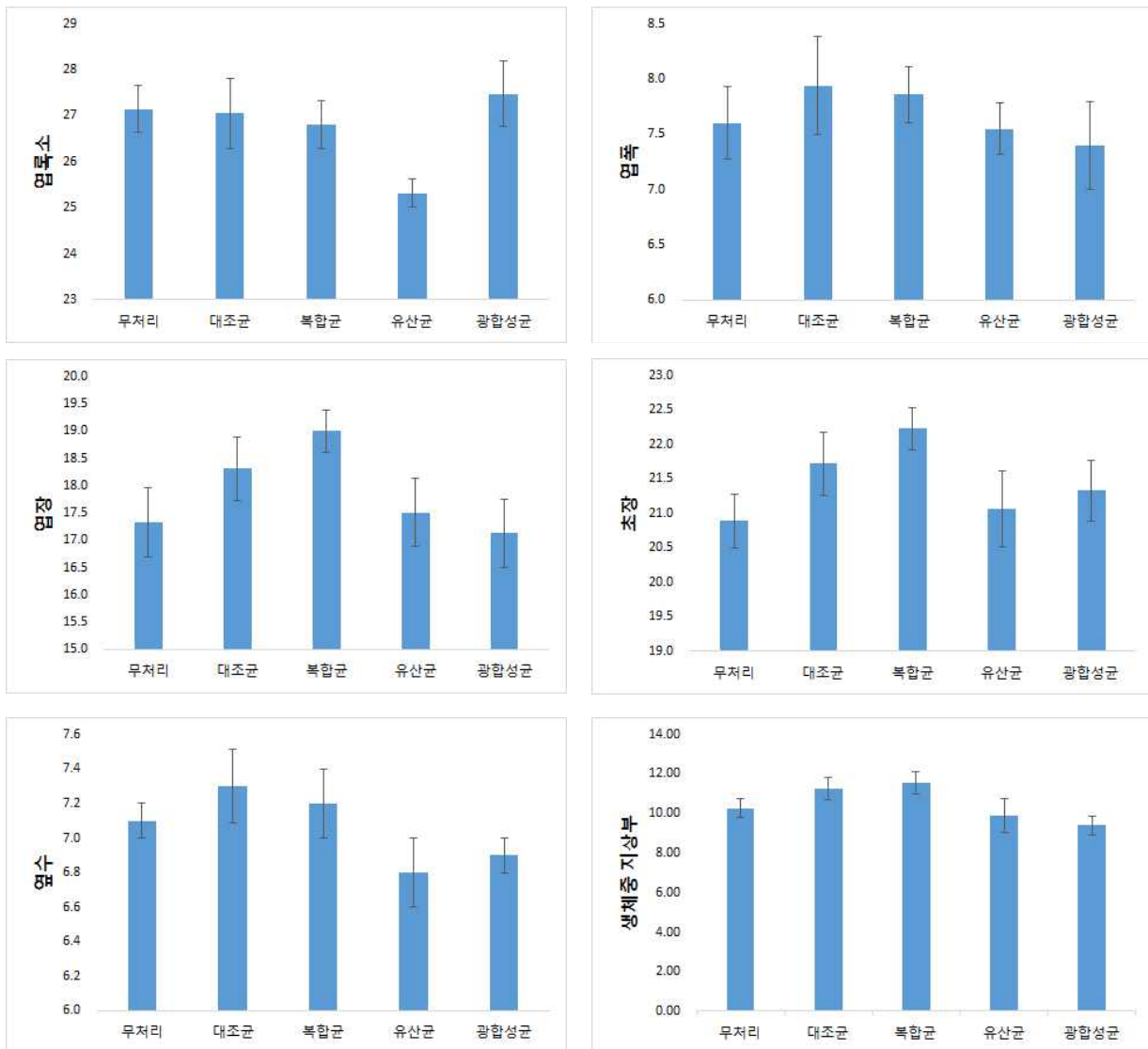
그림 117. 청경채 포트 생육실험



그림 118. 청경채 포트 생육실험 사진

마. 청겨자

- 먼저 청겨자에서 복합처리에 따른 생육효과가 가장 좋은 것으로 확인되었고, 엽장, 초장, 지상부 생체중 무게에서 두드러진 효과를 보였다. 엽장에서는 복합균 처리시 19 cm로 단일처리한 유산균 17.51 cm, 광합성균 17.13 cm으로 복합균 처리시 엽장이 가장 길어짐을 확인했다. 초장의 경우 또한 복합균 처리시 22.23 cm로 유산균과 광합성균 각각 21.07, 21.33 cm보다 가장 좋은 효과를 나타냈다. 지상부 생체중은 복합균 처리시 11.56 g으로 다른 처리보다 높은 효과를 나타내었다. 엽록소에서는 유산균을 제외하고 무처리와 차이가 없는 것으로 나타났다. 옆수에서는 대조군에서 평균 7.3개로 가장 좋은 효과를 나타냈다.



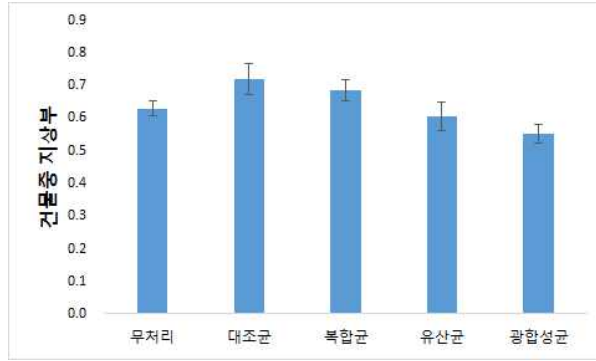


그림 119. 청겨자 포트 생육실험

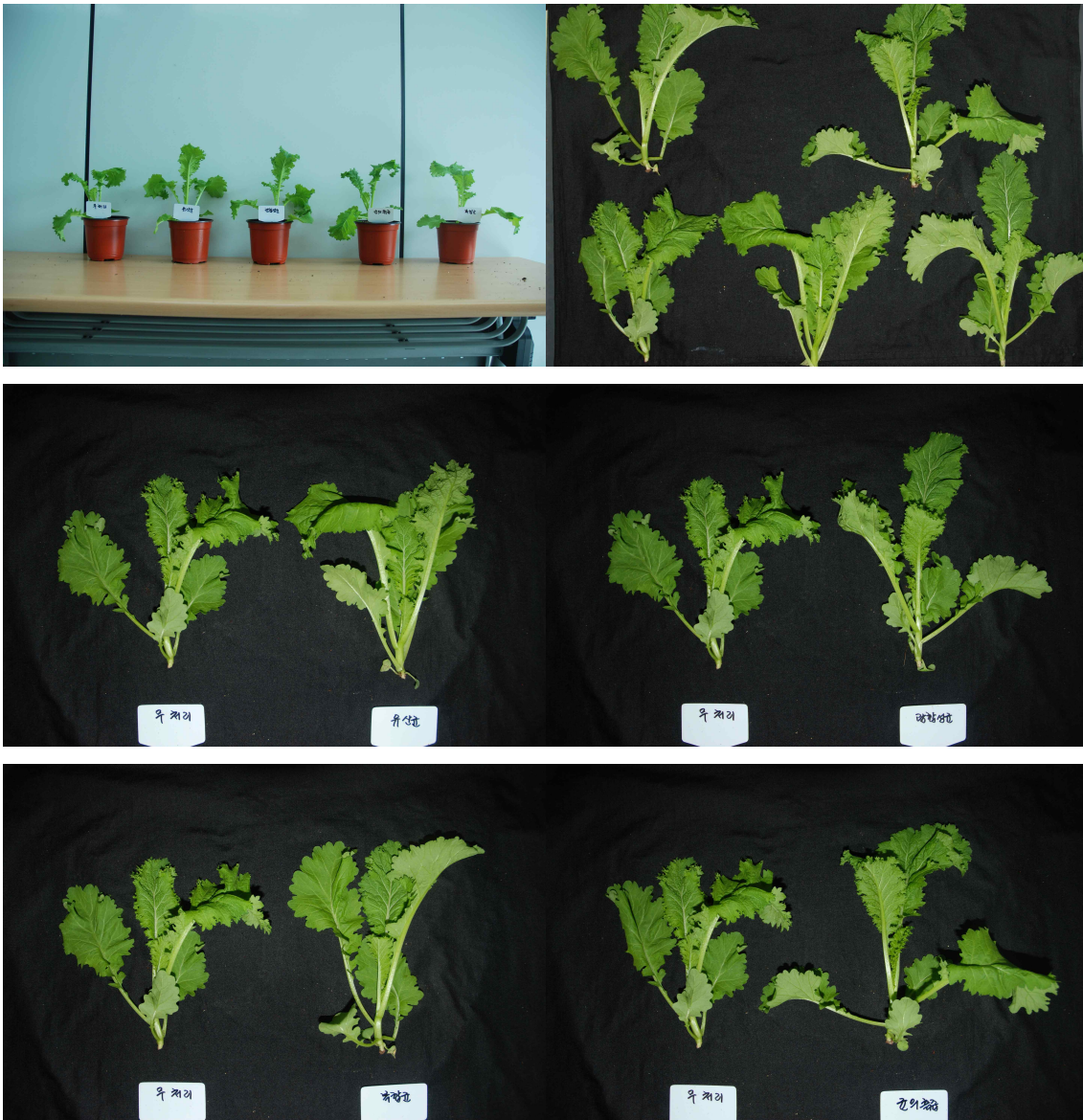
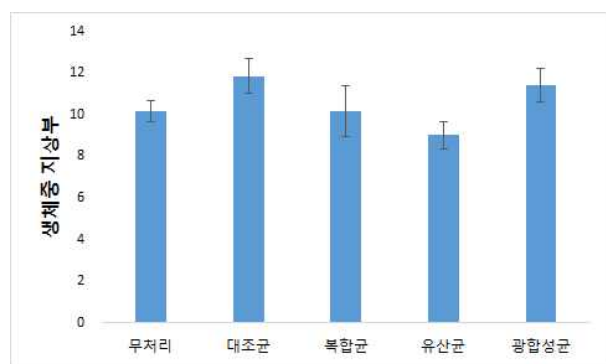
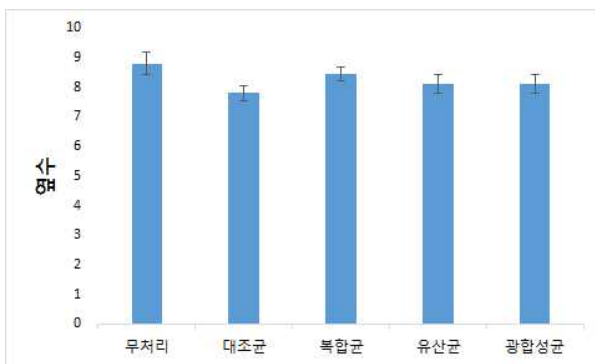
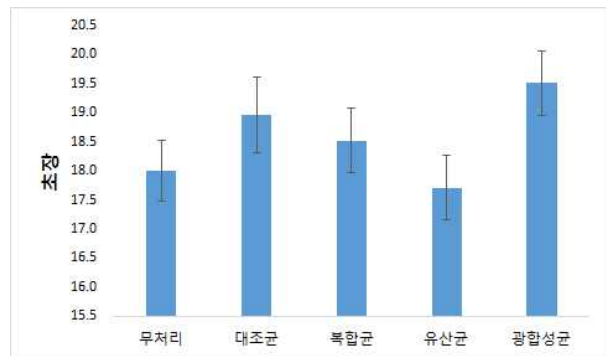
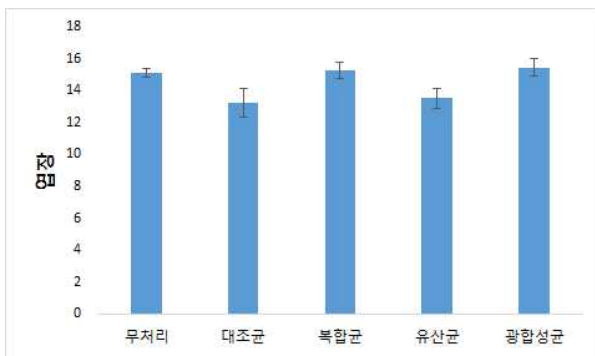
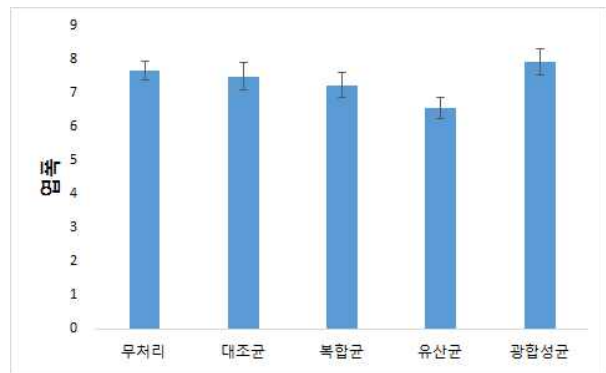
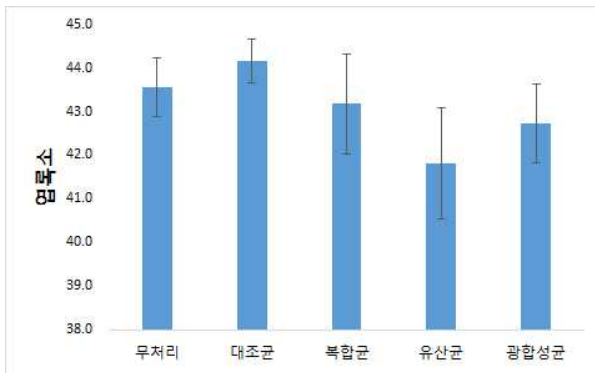


그림 120. 청겨자 포트 생육 실험 사진

바. 케일

－ 포트 생육 시험으로 대조군, 복합군, 유산군, 광합성군 처리는 500배액으로 희석하여 사용하였다. 케일의 생육효과는 광합성군에서 가장 좋은 효과를 얻을 수 있었다. 엽폭, 엽장, 초장에서 두드러진 효과를 보였다. 엽폭의 경우에 광합성군 7.93 cm 로 가장 좋은 효과를 나타내었으며, 유산군은 6.8 cm, 복합군은 7.26 cm, 대조군은 7.51 cm로 광합성군 처리와 비교했을 때 낮은 결과를 나타내었다. 엽장의 경우에서도 광합성군이 가장 좋은 효과를 보였다. 광합성군 처리시 15.47 cm로 가장 좋은 효과를 보였으며, 대조군, 유산군, 복합군 처리시 각각 13.24 cm, 13.53 cm, 15.29 cm 로 광합성군 처리보다 낮은 효과를 보였다. 초장의 경우에서도 광합성군이 19.51 cm 로 가장 좋은 효과를 보였다. 이에 비교했을 때 유산군과 복합군과 대조군 처리시 각각 17.71 cm, 18.52 cm, 18.96 cm 로 낮은 효과를 보였다.



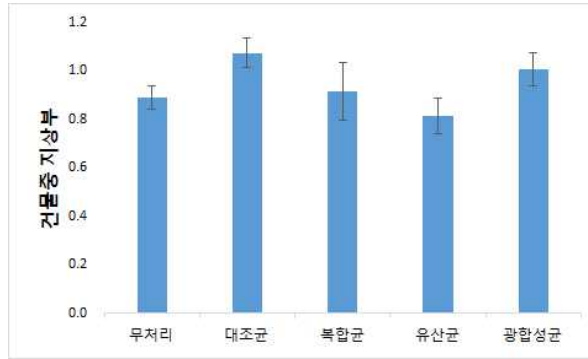


그림 121. 케일 포트 생육실험



그림 122. 케일 포트 생육실험 사진

제 5절 친환경 농업 유용미생물 현장 포장에서의 효능검정

1. 현장 적용

가. 오이

- 위 결과 들을 바탕으로 오이와 고추 (작물 대상 ~300평 정도)대산 현장 적용시험 실시
- 현장시험은 횡성 우천면에 위치한 오이농가와 홍천 모곡리에 위치한 고추농가를 임대하여 포장시험을 진행. 현장시험 오이작물의 시험결과는 그림 123과 같이 고초균을 처리한 오이가 무처리에 비하여 절간, 엽장, 엽폭, 엽록소가 T검정에 의해 높은 유의값을 나타내었고 특히 본 센터 1,2 균주가 작물의 생육에 좋은 효과를 주는 것으로 나타났음.

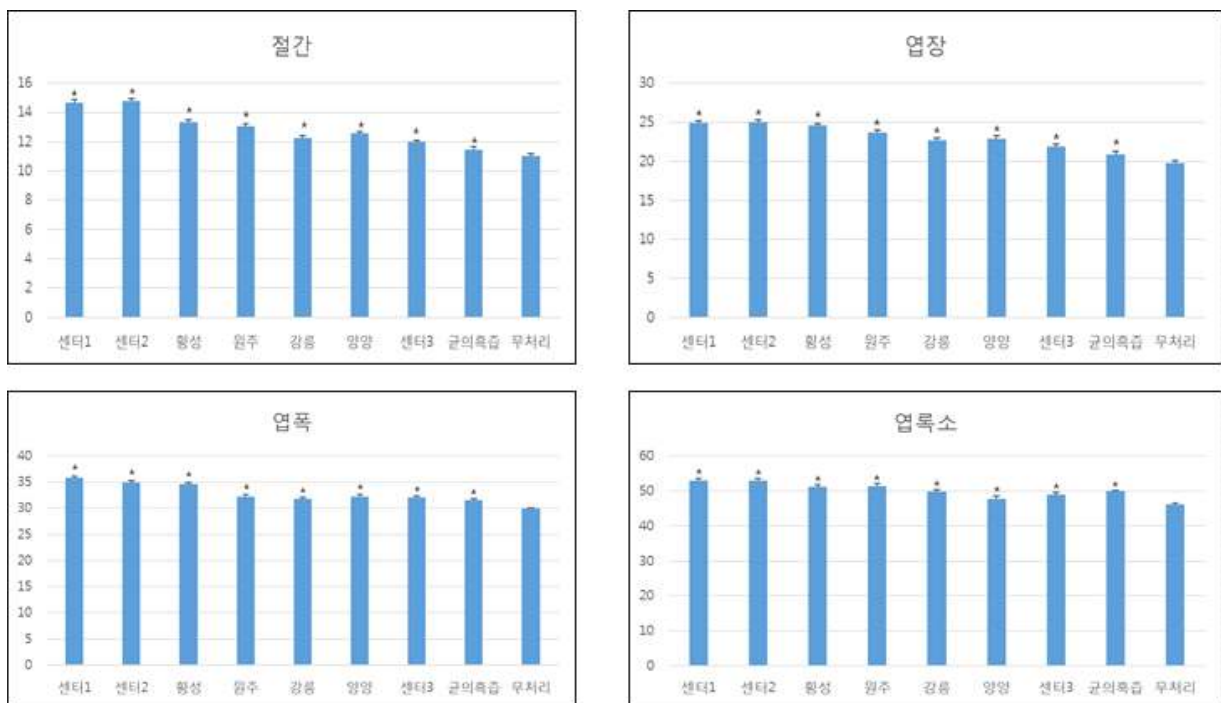


그림 123. 오이 포장시험(T검정을 통한 무처리와의 유의성이 있는 항목)

- 오이 포장시험의 과실조사에서는 그림 124과 같이 대체적으로 고초균을 처리한 오이에서 정상과 비율이 높았고 센터2 고초균 처리 오이에서 8:2로 무처리의 5:5 비율 보다 높은 것으로 나타났으며 이는 전체적으로 생육과 상품성이 좋은 정상과를 맺히는데 중요한 역할을 하는 것으로 판단 됨.



엽장 측정



엽록소 측정

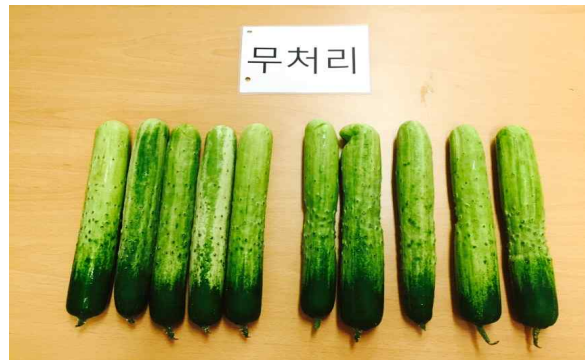


조장 측정



<정상과>

<비정상과>



<정상과>

<비정상과>

그림 124. 오이 포장시험 과실조사

- 위의 결과들을 바탕으로 (작물 대상 ~500평 정도) 현장적용시험 결과-1의 유의 수준을 높이기 위하여 다른 지역에서 포장을 확대하여 고초균 대상 작물 생육 시험을 실시하였음.
- 춘천 거두리 지역에서 포장을 임대하였고 오이와 고추를 약 5000개의 모종에서부터 선발하였음. 포장시험에 사용된 모종은 각 처리구당 무작위로 50개체씩 선발하였음. 또한 고초균을 처리한 작물에는 각 처리구당 작물 2개체 간격으로 20개체의 생육조사를 실시한 후 평균값을 내어 분석하였음.
- 오이모종에 처리한 결과 그림 5와 같이 초장이 무처리에 6.8cm 비하여 센터2의 초장이 7.9cm로 생육효과가 높음을 확인하였고 고추모종에 처리한 결과에서는 무처리에 비하여 초장은 강릉이 19.9cm로 무처리 보다 높았지만 엽장에서는 무처리가 값이 6.8cm로 높게 나옴을 확인 할 수 있었음.



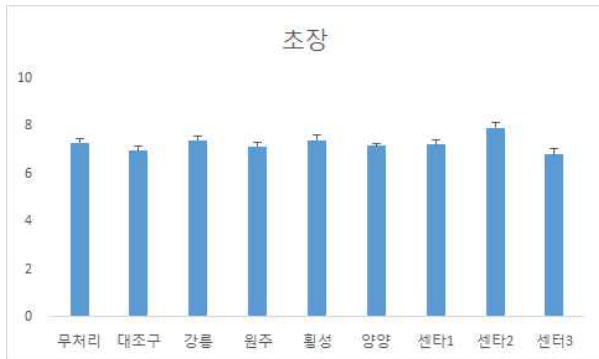
무처리 대조 강릉 원주 황성 양양 센터1 센터2 센터3



무처리 대조 강릉 원주 황성 양양 센터1 센터2 센터3

오이 모종

고추 모종



오이 모종

고추 모종



오이 모종

고추 모종

그림 125. 고초균에 대한 작물 모종 생육시험 결과

- 작물의 모종상태 생육시험을 3주간 진행한 뒤 춘천 거두리 포장으로 이식하였음.
- 그 후 주 1회씩 4주간 고초균을 처리하고 4주 후 생육조사와 1일 수확량 및 과실 생육조사를 하였음. 그 결과는 오이는 그림 6과 같다. 초장의 경우 무처리한 오이의 초장 길이는 2m인 반면 황성과 센터2 고초균을 처리한 오이의 초장 길이는 각각 2m 35cm, 2m 44cm로 더 길었다. 첫 수확한 과실 수량에서는 무처리의 수량이 23개인 반면 센터1 고초균을 처리한 오이에서 수량이 25개로 가장 많았다. 4주차의 수량에서는 전체적으로 수량이 하락하였다. 무처리구에서 14개의 오이를 수확하였고 황성 고초균을 처리한 오이에서 22개로 가장 많은 수확을 하였음.

나. 고추

- 현장시험 고추작물의 시험결과는 그림 125과 같이 고초균을 처리한 고추가 무처리에 비하여 절간, 엽장, 엽폭, 엽록소가 T검정에 의해 높은 유의값을 나타내었고 오이와 마찬가지로 특히 센터 1,2 균주에서 생육데이터가 더 높게 나왔고 초장에서 각각 107cm, 104cm로 무처리의 74cm보다 길었음.

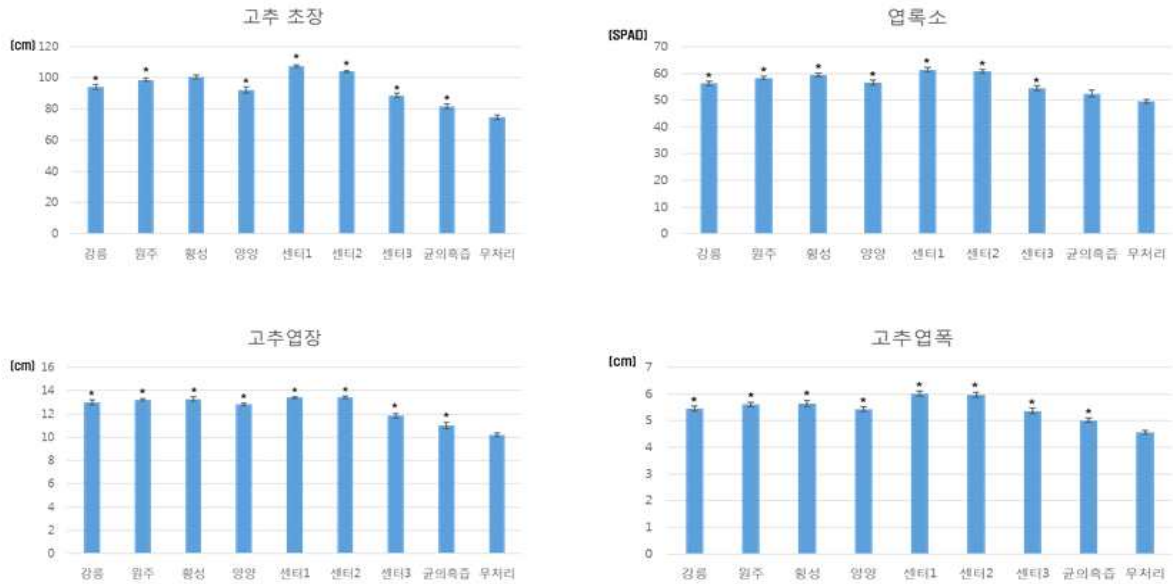


그림 126. 고추 포장시험(T검정을 통한 무처리와의 유의성이 있는 항목)

- 고추 포장시험의 과실조사에서는 그림 127과 같이 고초균 처리구와 무처리의 차이가 없었음. 반면, 정상과 비정상과 조사에서는 그림 128과 같이 센터 3에서 정상과 개수가 6:4였고 무처리구에서 4:6으로 고초균 처리구에서 정상과의 양이 많았다. 과장의 길이도 무처리의 17cm에 비해 센터2 고초균처리 오이가 17.8cm로 더 길었음.



그림 127. 고추 포장시험 과실조사

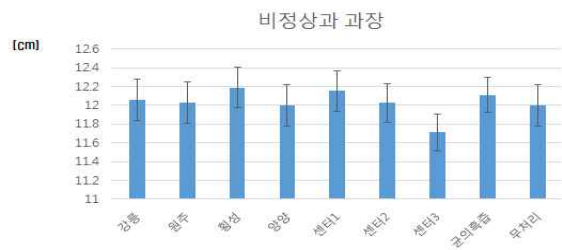
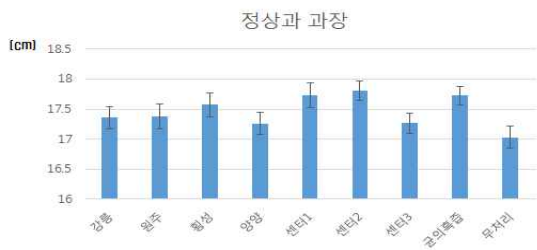


그림 128. 고추 포장시험 정상과 조사

- 포장 시험-1 최종 결과

- ① 고추/오이 대상 작물의 길이는 유의차를 가지며 고초균 처리구가 좋은 것으로 나타났음.
- ② 과실의 경우도 유의차를 가지며 고초균 처리가 약간의 길이가 좋은 것으로 판단 됨.
- ③ 또한, 상품성을 구비한 정상과의 비율도 높은 것으로 나타 났음.
- ④ 반면, 그 외 엽장/엽폭/엽록소 등 다른 생육 Indicator들은 큰 차이가 나타나지 않았음.

- 결과 들을 바탕으로 고추(작물 대상 ~800m² 정도)대상 현장 적용시험 실시

- 현장시험은 춘천 신북읍 신샘밭로에 위치한 포장을 임대하여 포장시험을 진행. 현장시험 고추작물의 시험결과는 그림 128과 같이 유산균과 효모균, 복합균을 처리한 고추의 엽록소와 엽장이 무처리에 비하여 모든 실험군과 대조군에서 T검정에 의해 높은 유의값을 나타내었고, 잎수는 정선유산균과 인제복합균, 엽폭은 정선유산균과 정선효모균, 인제복합균에서 T 검정에 의해 높은 유의값을 나타내었다.



엽록소 측정



엽폭 측정



엽장 측정



잎수 측정

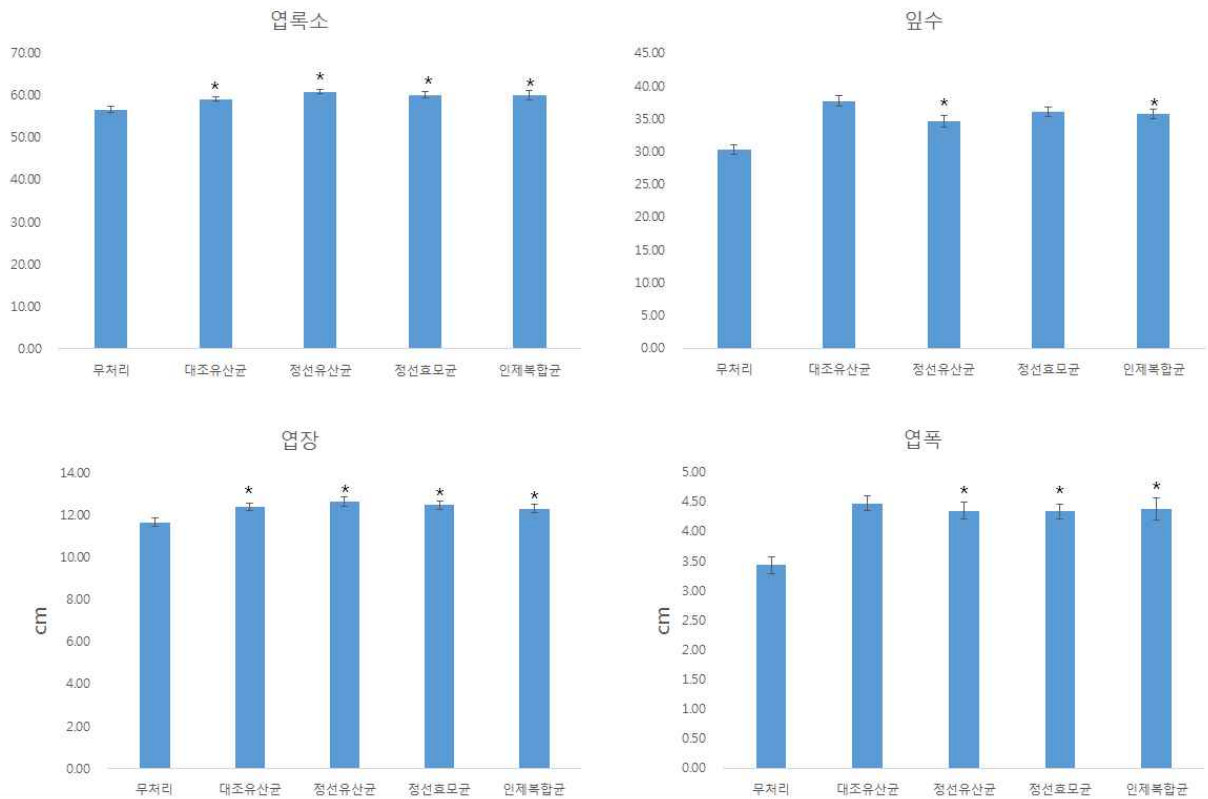


그림 129. 고추 포장시험 엽록소, 잎수, 엽장, 엽폭 조사(T검정을 통한 무처리와의 유의성이 있는 항목)

- 고추 포장시험의 생육조사에서는 그림 129과 같이 대체적으로 유산균과 효모균, 복합균을 처리한 고추에서 초장과 줄기 지름의 항목에서 무처리에 비해 높은 것으로 나타났음. 초장 (대조유산균, 정선효모균, 인제복합균), 줄기 지름 (대조유산균, 정선효모균, 인제복합균)에서는 T검정을 통한 유의값이 존재하는 것으로 나타났으며 이는 전체적으로 생육에 중요한 역할을 하는 것으로 판단 됨.

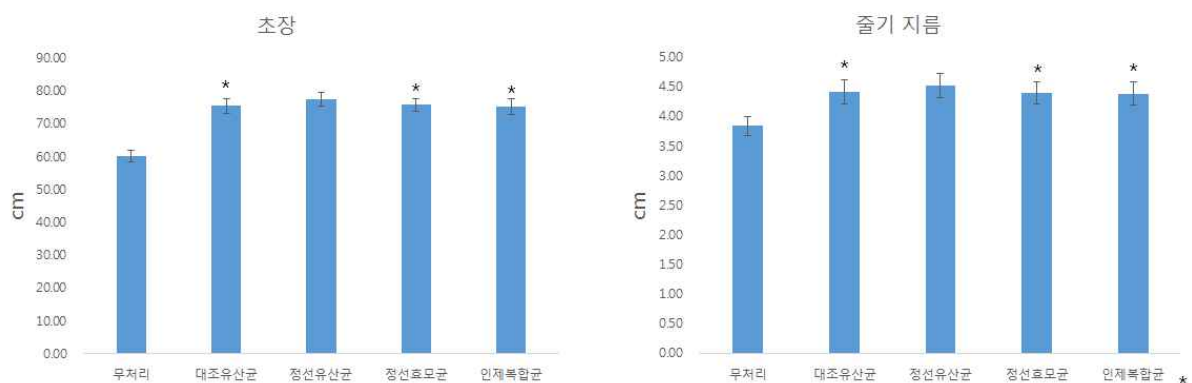


그림 130. 고추 포장시험 초장, 줄기 지름 조사(T검정을 통한 무처리와의 유의성이 있는 항목)



줄기지름 측정

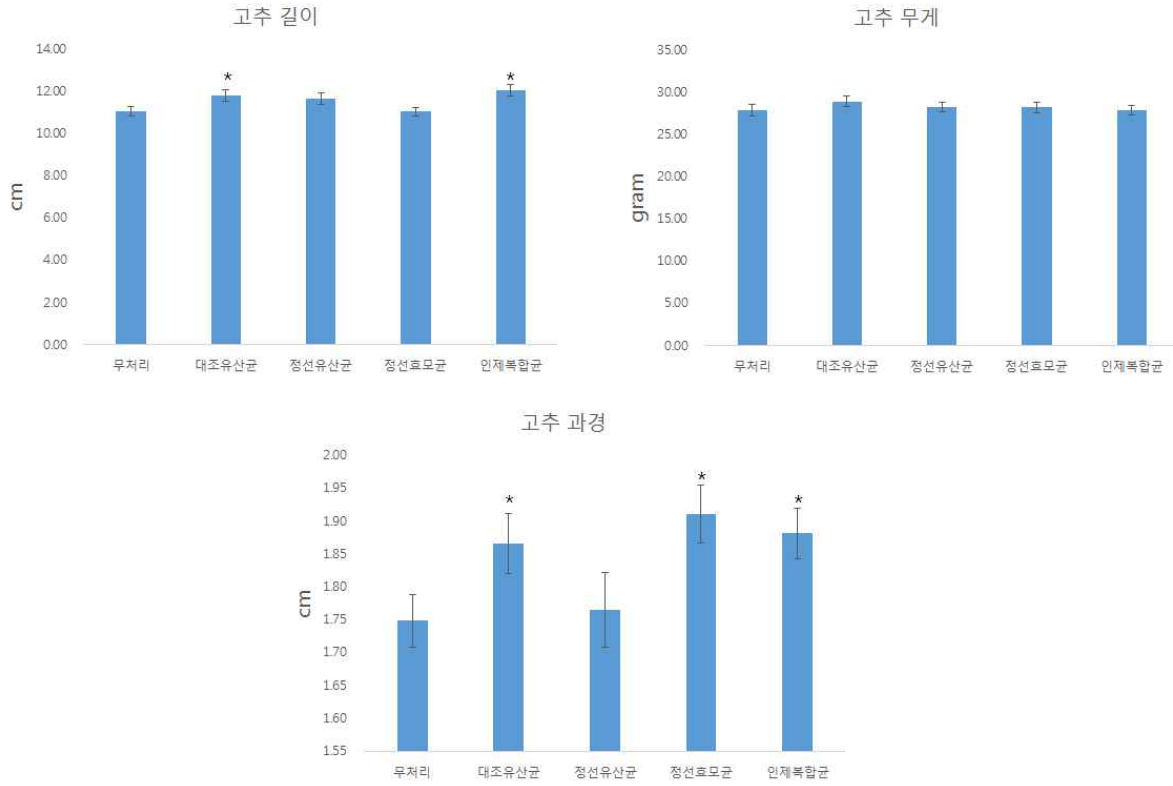


초장 측정

- 고추 포장시험의 과실조사에서는 그림131과 같이 처리구와 무처리간의 차이를 보임. 처리구에서 무처리보다 높은 과실의 무게와 길이,과경을 나타냈으며 길이(대조유산균,인제복합균),과경(대조유산균,정선효모균,인제복합균) 에서 T검정에 의한 높은 유의값을 나타냄 특히 인제복합균,정선효모균에서 과실의 생육값이 더 높게 나왔음.

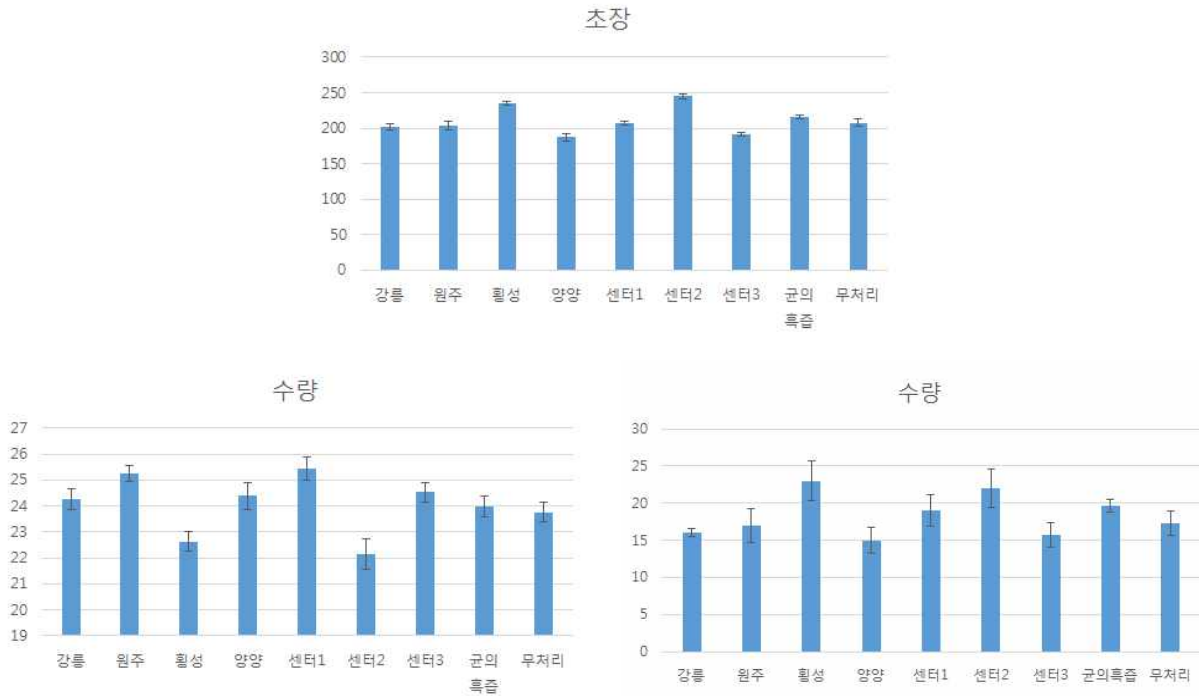


과실 조사



<과실의 길이,무게,과경 측정>

그림 132. 고추 포장시험 과실조사(T검정을 통한 무처리와의 유의성이 있는 항목)



1주차 1일 수확량



4주차 1일 수확량



그림 133. 고초균에 대한 오이 생육 결과

- 포장 시험-2 최종 결과 (포장 시험-1과 유사한 결과 도출)

- ① 고추/오이 대상 작물의 길이는 유의차를 가지며 고초균 처리구가 좋은 것으로 나타났음.
- ② 과실의 경우도 유의차를 가지며 고초균 처리가 약간의 길이가 좋은 것으로 판단 됨.
- ③ 또한, 상품성을 구비한 정상과의 비율도 높은 것으로 나타 났음.
- ④ 반면, 그 외 엽장/엽폭/엽록소 등 다른 생육 Indicator들은 큰 차이가 나타나지 않았음.

- 포트 시험과 지역을 다르게 실시한 대규모 포장시험 후 최종 결과 분석
- 작물의 생육은 확실히 고초균 처리구가 좋은 것으로 판단 됨. 또한 과실의 생육과 정상과의 생산 비율도 좋아 지는 것으로 판단 됨. 따라서 작물 생육에 좋은 영향을 미치므로 작물의 병충해에도 어느 정도 저항성을 가지리라 판단 할 수 있음.
- 그러나, 처리 된 고초균 미생물이 획기적으로 작물 생육 증대와 높은 과실 생산량 유도를 나타내는 직접적인 요소는 아닌 것으로 판단 됨.
- 또한, 현장에서 농민의 재배 방법을 살펴보면 대부분의 농민은 다른 유기비료들을 처리 한 후 생육 초반 및 중간에 고초균들을 추가적으로 처리(기술센터에서 무상으로 보급하므로) 하면서 재배하는 방법을 사용. 이는 미생물 외에 비료들만으로 작물의 생육, 생산 효과를 충분히 보이므로 오이/고추에 대한 고초균 처리는 단지 어느 정도의 작물생육과 토양의 지력을 높이는 정도로 활용 되는 것으로 판단됨.
- 따라서, QC가 측정된 고밀도의 정확한 미생물들을 현장에 적용하여 작물 생육 보조제와 토양의 지력을 확보하는 방향으로 유용미생물 처리 목표를 두어야 할 것으로 최종 판단 됨.
- 또한, 작물 생육속도가 중요한 엽채류 채소류에 대한 유용미생물 효과를 신속히 검토 해 보아야 할 것으로 판단 됨.

다. 토마토

- 위 결과 들을 바탕으로 토마토와 파프리카 (작물 대상 ~300평 정도)대상 현장 적용시험 실시
- 토마토육묘에 처리한 결과 그림 같이 초장이 무처리에 15cm 비하여 철원,영월,원주,에코(센터)의 초장이 20~23cm로 생육효과가 높음을 확인하였고 원주균주에서 가장 큰 값을 보였다. 엽경 결과에서는 무처리에 비하여 철원,영월,원주,에코(센터)가 11~12cm로 무처리 보다 높았고 철원균주에서 가장 큰 값이 나타났다.

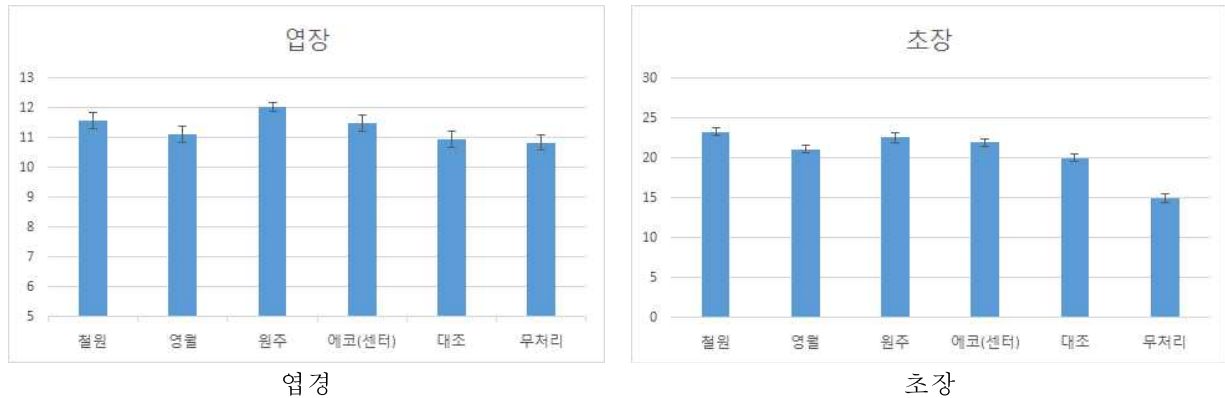


그림 134. 광합성균에 대한 토마토 육묘 생육시험 결과

- 현장시험은 춘천 거두리에 위치한 포장을 임대하여 포장시험을 진행. 현장시험 토마토작물의 시험결과는 그림 135 과 같이 광합성균을 처리한 토마토가 무처리에 비하여 초장(원주, 에코),경경(철원)이 T검정에 의해 높은 유의값을 나타내었고 특히 원주와 센터(에코)균주가 작물의 생육에 좋은 효과를 주는 것으로 나타났다.

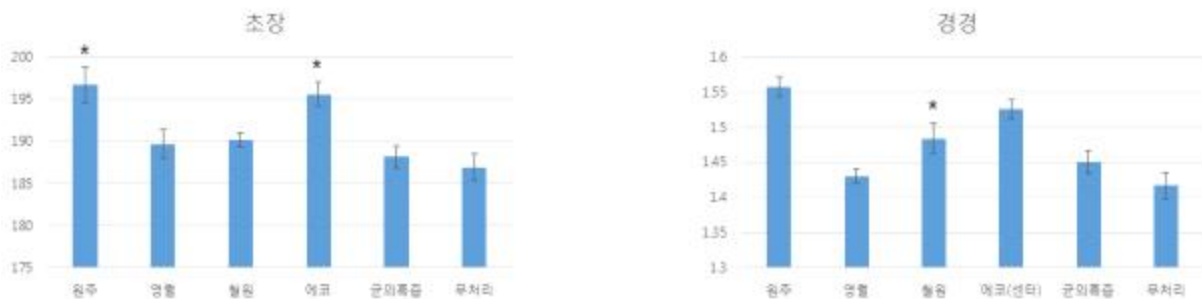


그림 135. 토마토 포장시험 초장,경경조사

- 토마토 포장시험의 생육조사에서는 그림 136과 같이 대체적으로 광합성균을 처리한 토마토에서 수량,엽수,엽장,엽폭의 항목에서 무처리에 비해 높은 것으로 나타났다. 수량(원주,에코), 엽수(영월,철원,균의혹증),엽장(원주,에코,균의혹증), 엽폭(영월,균의혹증)에서는 T검정을 통한 유의값이 존재하는 것으로 나타났으며 이는 전체적으로 생육과 상품성이 좋은 과실을 맺히는데 중요한 역할을 하는 것으로 판단된다.



엽장 측정



초장 측정



수량 측정

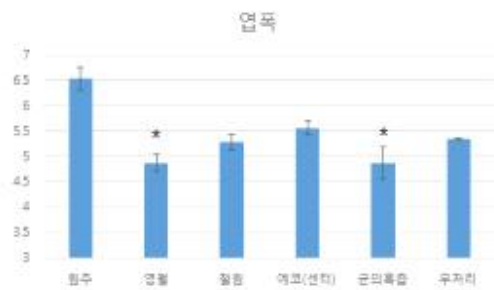
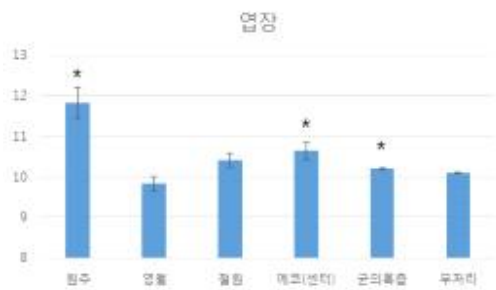
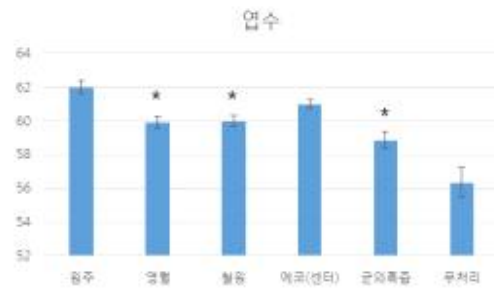
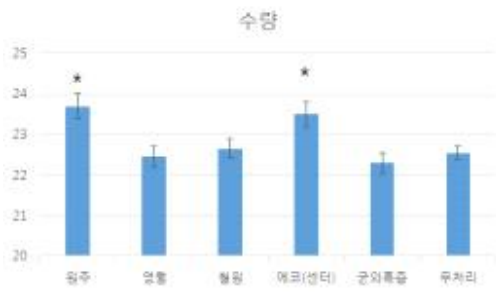


그림 136. 토마토 포장시험 수량, 엽장, 엽수, 엽폭조사

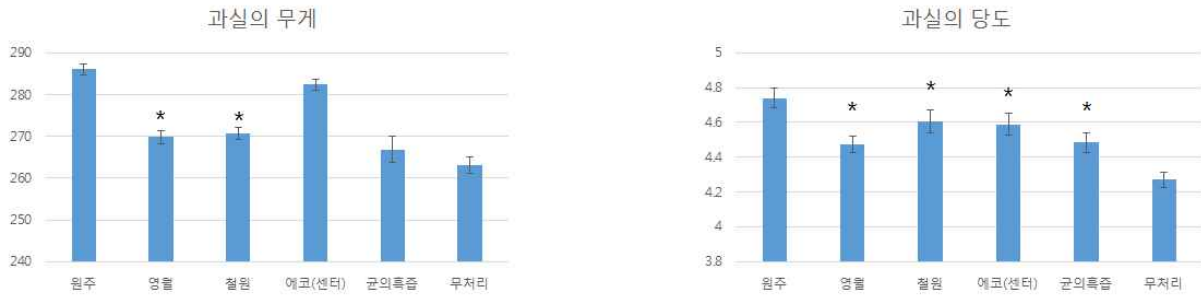


처리구(센터) 수량



무처리구의 수량

- 토마토 포장시험의 과실조사에서는 그림137과 같이 광합성균의 처리구와 무처리간의 차이를 보임. 광합성균의 처리구에서 무처리보다 높은 과실의 무게와 당도를 나타냈으며 영월,철원, 에코 균주에서 T검정에 의한 높은 유의값을 나타냈다. 특히 원주와 에코 균주에서 과실의 생육값이 더 높게 나왔고 무게에서 각각 286.05 282.4 로 무처리의 263.15 보다 높았다.



<과실의 당도 측정>

그림 137. 토마토 포장시험 과실조사

라. 파프리카

- 파프리카를 대상으로 광합성균에 대하여 현장 적용시험 실시. 현장시험은 양구에 위치한 포장을 임대하여 포장시험을 수행하였다.



그림 138. 파프리카 포장의 광합성균 약제처리 및 전경사진

- 파프리카 작물의 초장 및 경경 조사 결과, 그림 139와 같이 광합성균을 처리한 파프리카가 무처리에 비하여 초장 및 경경이 T검정에 의해 높은 유의값을 나타내었다. 광합성균을 처리하였을 때 파프리카 작물의 생육에 좋은 효과를 주는 것으로 판단된다.

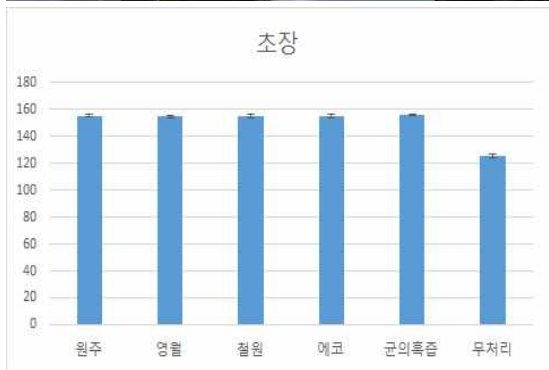


그림 139. 파프리카 작물의 초장 및 경경 조사 사진 및 결과

- 파프리카 작물 시험의 생육조사에서는 그림 140와 같이 대체적으로 광합성균을 처리한 파프리카에서 수량, 엽수, 엽장, 엽폭 항목에서 무처리에 비해 높은 것으로 나타났다.. 수량(원주, 영월, 에코, 균의흑즙), 엽수(원주, 영월, 에코, 균의흑즙), 엽장(원주, 영월, 에코, 균의흑즙), 엽폭(원주, 영월, 에코, 균의흑즙)에서는 T검정을 통한 유의값이 존재하는 것으로 나타났으며, 이는 전체적으로 생육과 상품성이 좋은 과실을 맺히는데 중요한 역할을 하는 것으로 판단된다.



그림 141. 파프리카 작물의 수량, 엽수, 엽장, 엽폭 조사 사진

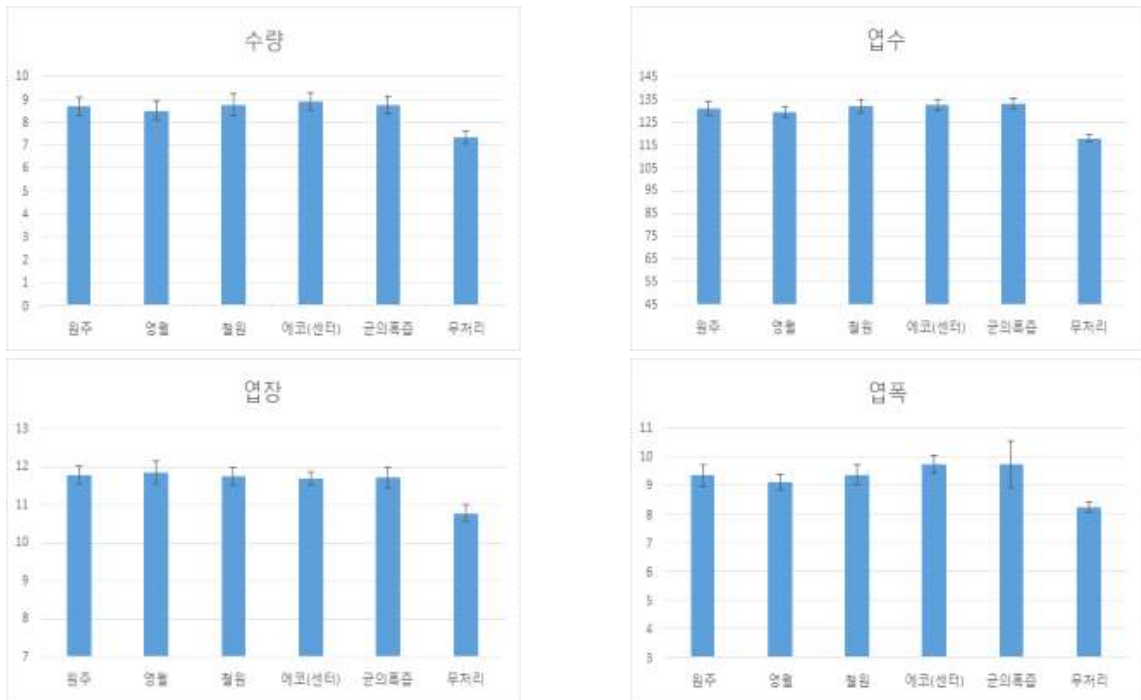


그림 142. 파프리카 작물의 수량, 엽수, 엽장, 엽폭 조사 결과

- 파프리카 작물의 과실 조사에서는 그림 143와 같이 광합성균의 처리구와 무처리간의 차이를 보였으며, 광합성균의 처리구에서 무처리보다 높은 과실의 무게를 나타냈으며, 원주, 영월, 에코, 균의혹증 군주에서 T검정에 의한 높은 유의값을 나타내었다.



그림 143. 파프리카 작물의 과실 조사

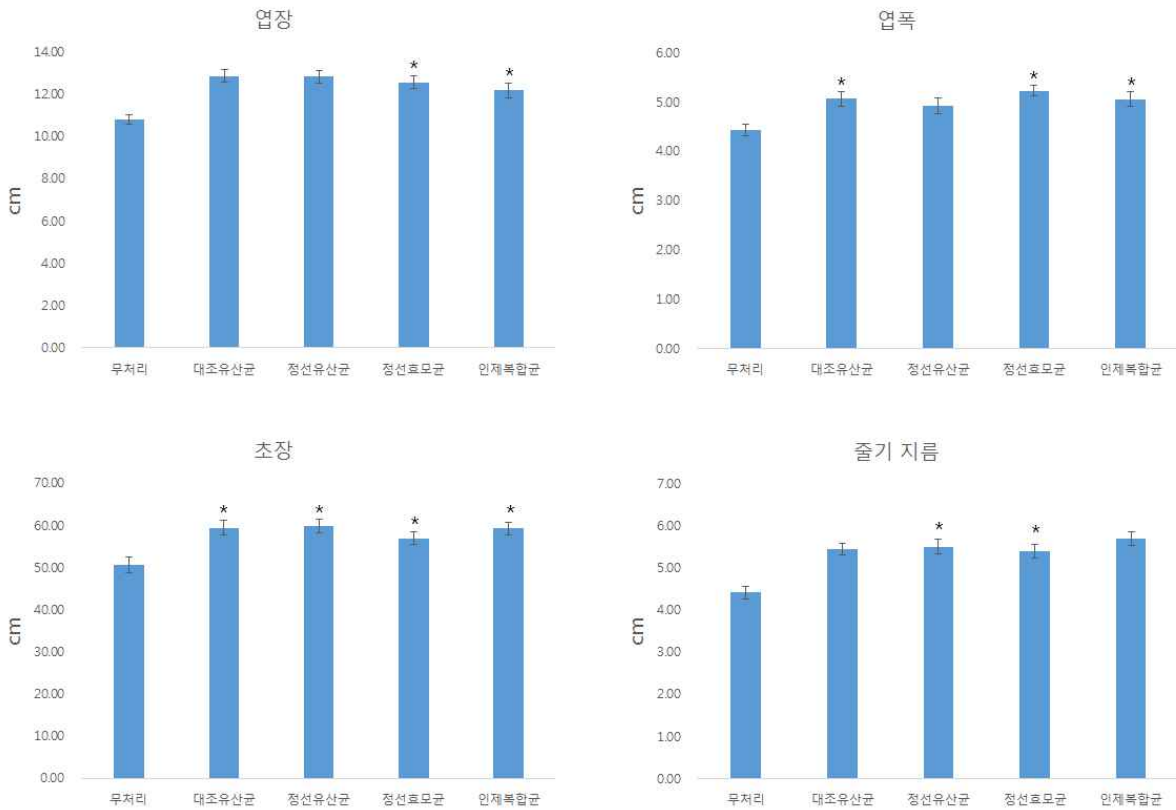


그림 144. 피망 포장시험 엽장,엽폭,초장,줄기 지름 측정(T검정을 통한 무처리와의 유의성이 있는 항목)

- 피망 포장시험의 과실조사에서도 그림 143 같이 처리구와 무처리간의 차이가 있었음. 처리구의 모든항목이 무처리에 비해 높은 값을 나타내었음. 특히 길이와 무게에서는 처리구 전체가 T검정을 통한 유의값이 존재하는 것으로 나타났으며 과정에서는 인제복합균을 제외한 항목에서 T검정을 통한 유의값이 존재하는 것으로 나타나 전체적인 과실 생육에 좋은 역할을 하는 것으로 판단 됨.

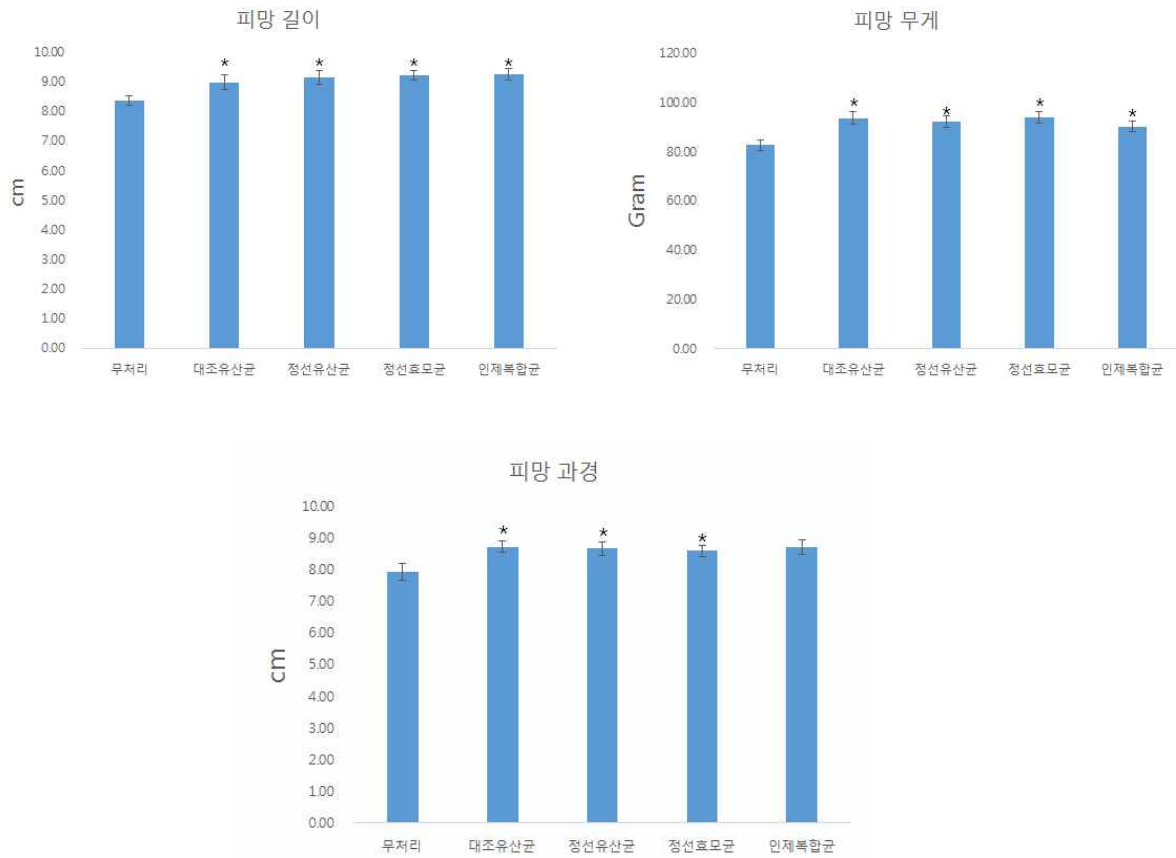


그림 144. 피망 포장시험 과실조사(T검정을 통한 무처리와의 유의성이 있는 항목)



피망 과실 생육조사

바. 피망

- 결과 들을 바탕으로 피망(작물 대상 ~800m² 정도)대상 현장 적용시험 실시
- 현장시험은 춘천 신북읍 신샘밭로에 위치한 포장을 임대하여 포장시험을 진행. 현장시험 고추작물의 시험결과는 그림 145과 같이 유산균과 효모균, 복합균을 처리한 고추의 엽록소와 엽장이 무처리에 비하여 모든 실험군과 대조군에서 T검정에 의해 높은 유의값을 나타내었고, 잎수는 정선유산균과 인제복합균, 엽폭은 정선유산균과 정선효모균, 인제복합균에서 T검정에 의해 높은 유의값을 나타내었다.



엽록소 측정



엽폭 측정



엽장 측정



잎수 측정

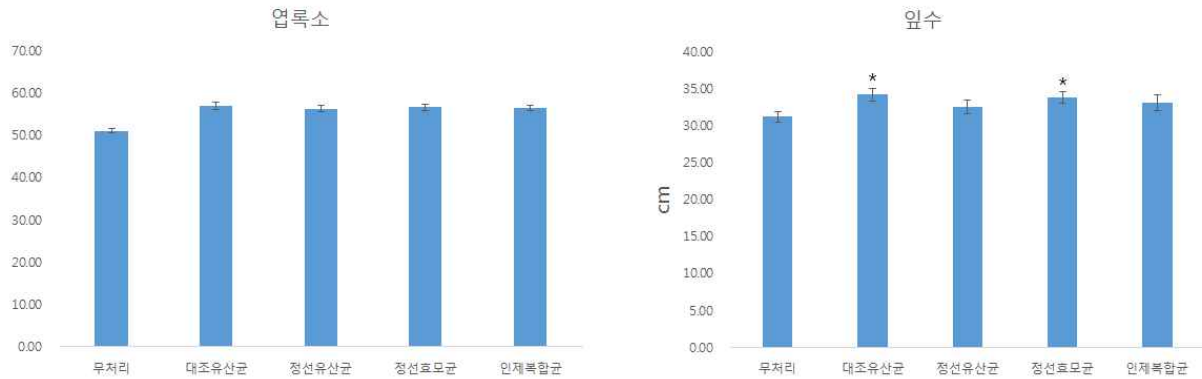


그림 145. 피망 포장시험 엽록소, 잎수 측정(T검정을 통한 무처리와의 유의성이 있는 항목)

- 피망 포장시험의 생육조사에서는 그림 145과 같이 대체적으로 유산균과 효모균, 복합균을 처리한 고추에서 엽장, 엽폭, 초장, 줄기 지름의 4가지 항목에서 무처리에 비해 높은 수치를 나타냈음. 엽장(정선포모균, 인제복합균), 엽폭(대조유산균, 정선포모균, 인제복합균), 초장(대조유산균, 정선유산균, 정선포모균, 인제복합균), 줄기 지름(정선유산균, 정선포모균)에서는 T검정을 통한 유의값이 존재하는 것으로 나타났으며 이는 전체적으로 생육에 중요한 역할을 하는 것으로 판단 됨.

2. 고초균 투여에 따른 토양 내 미생물 생태변화 조사

- 고초균의 투여에 따른 토양 내 미생물 변화를 조사하기 위하여 그림과 같이 임대한 포장의 일정장소의 토양시료를 시험 시작일과 종료일에 채취하였고 희석도말평판법을 이용하여 분석. 횡성 오이포장토양의 순수분리한 미생물을 동정한 결과 표 32과 같이 *Lysinibacillus*, *Bacillus aryabhatai*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus cereus*의 세균이 많이 검출되었으나 시험 종료 후 토양에서는 표 32와 같이 *Bacillus sp.* 세균이 우점하게 되었음.

표 32. 시험 전 오이포장 토양 미생물 동정 결과(횡성)

오이포장1	<i>Lysinibacillus xylanilyticus</i> 16S ribosomal RNA gene
	<i>Lysinibacillus xylanilyticus</i> strain A8 16S ribosomal RNA gene
오이포장2	<i>Bacillus aryabhatai</i> strain IHB 7164 16S ribosomal RNA gene
	<i>Bacillus megaterium</i> strain KUDC1728 16S ribosomal RNA gene
오이포장3	<i>Bacillus cereus</i> stain BDBC01 16S ribosomal RNA gene
	<i>Bacillus cereus</i> strain SH42 16S ribosomal RNA gene

표 33. 시험 후 오이포장 토양 미생물 동정 결과(횡성)

오이포장1	<i>Brevibacterium sp.</i> AB195d partial 16S rRNA gene
	<i>Bacillus sp.</i> 39endo partial 16S rRNA gene, strain 39endo
오이포장2	<i>Bacillus sp.</i> EB38516SribosomalRNAgene,partialsequence
	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain GTG-6S16SribosomalRNAgene,partialsequence
	<i>Bacillus thuringiensis</i> partial 16S rRNA gene, strain GL88
오이포장3	<i>Bacillus sp.</i> RC6.816SribosomalRNAgene,partialsequence
	<i>Bacillus sp.</i> 39endopartial16SrRNAgene, strain39endo

- 홍천 고추포장토양의 미생물 상에서는 시험 전에는 표 34과 같이 *Enterobacter sp.*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus marisflavi*, *Lysinibacillus xylanilyticus* 등의 미생물이 우점하고 있었으나 시험 종료 후에는 오이포장과 마찬가지로 표 35에서 보이듯 *Bacillus sp.* 세균이 우점하게 되었음.

표 34. 시험 전 고추포장 토양 미생물 동정 결과(홍천)

고추포장1	<i>Enterobacter sp.</i> SLY8 16s ribosomal RNA gene
고추포장2	<i>Bacillus megaterium</i> gene for 16S ribosomal RNA
고추포장3	<i>Bacillus aquimaris</i> strain PPL-S5 16S ribosomal RNA gene
	<i>Bacillus marisflavi</i> strain YCIS MN 5 16S ribosomal RNA gene
고추포장4	<i>Lysinibacillus xylanilyticus</i> 16S ribosomal RNA gene
	<i>Lysinibacillus fusiformis</i> partial 16S rRNA gene
고추포장5	<i>Enterobacter ludwigii</i> strain IHB B 6551 16S ribosomal RNA gene
	<i>Enterobacter sp.</i> SLY8 16S ribosomal RNA gene
고추포장6	<i>Enterobacter sp.</i> SLY8 ribosomal RNA gene
	<i>Enterobacter asburiae</i> neclomorph partial 16S rRNA gene

표 35. 시험 후 고추포장 토양 미생물 동정 결과(홍천)

고추포장1	Bacillus sp. T51 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
고추포장2	Escherichia coli strainDH1Ec169, completegenome
고추포장3	Staphylococcus sp.C18 16S ribosomal RNAgene, partial sequence
고추포장4	Bacillus sp. S22 16S ribosomal RNAgene, partial sequence

제 6절 친환경 농업 유용미생물 보급 및 핸드북 작성

1. 고초균 배양액 보급

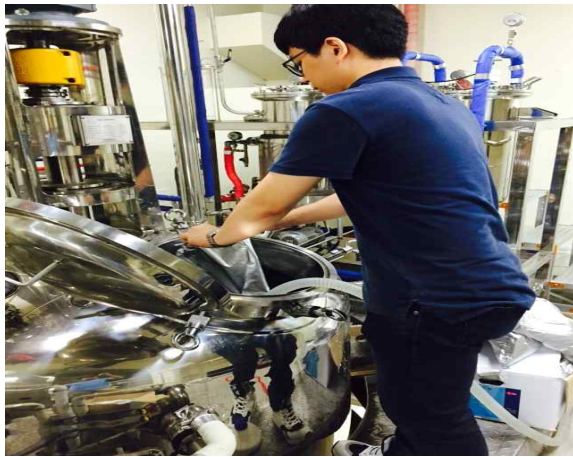
- 본 센터에 구축되어 있는 배양기를 활용 제1세부 결과 들을 이용 고초균 대량배양시스템을 구축
- 제 2세부과제의 포트, 지역을 달리한 두 번의 현장 시험을 통한 결과 들을 확보 한 후 배급 시스템을 구축 농민 대상 고초균 무상 보급
- 안정성을 확인한 후 그림과 같이 고초균을 대량 배양하여 약 20톤 생산하였음.
- 생산된 고초균은 보급전 본 센터 저온저장고에 저장하였다가 9월 2일을 기점으로 그림과 같이 강원도 농업인들에게 보급.



8월 18일 생산(5톤)



8월 20일 생산(5톤)



8월 25- 9월 생산(10톤)



그림 146. 고초균 배양액 생산 (20톤)



9월 2일 횡계 작목반



9월 4일 춘천 원예작목반



9월 5일 춘천 축산작목반



9월 8일 원주 작목반



9월 15일 춘천 거두리 작목반



9월 18일 춘천 인삼 작목반

그림 147. 고초균 배양액 무상 보급 (20톤)

2. 광합성균 배양액 보급

- 본 센터에 구축되어 있는 배양기를 활용하여 광합성균 대량배양시스템을 구축하였다.
- 제 2세부과제의 포트, 지역을 달리한 두 번의 현장 시험을 통한 결과 들을 확보 한 후 배급 시스템을 구축 농민 대상 광합성균 무상 보급하였다.
- 안정성을 확인한 후 그림과 같이 광합성균을 대량 배양하여 봄작기에 약 20톤, 가을작기에 약 20톤 생산하였다.
- 생산된 광합성균은 보급전 본 센터 저온저장고에 저장하였다가 5월 13일을 기점으로 그림과 같이 강원도 농업인들에게 보급하였다.



4월 22일 생산(5톤)



4월 27일 생산(5톤)



4월 29일 생산(5톤)



5월 11일 생산(5톤)

그림 148. 광합성균 배양액 생산 (20톤) -봄작기



8월 24일 생산(5톤)



8월 26일 생산(5톤)



9월 1일 생산(5톤)



9월 7일 생산(5톤)

그림 149. 광합성균 배양액 생산 (20톤) - 가을작기



5월 13일 황계 작목반



5월 19일 춘천 원예작목반



5월 20일 원주 작목반



5월 23일 춘천 토마토 작목반



5월 26일 춘천 거두리 작목반



5월 27일 춘천 인삼 작목반

그림 150. 광합성균 배양액 무상 보급 - 봄작기 (20톤)



8월 25일 원주 작목반



8월 29일 춘천 한우반



9월 2일 춘천 인삼 작목반



9월 5일 춘천 원예 작목반



9월 9일 춘천 토마토 작목반



9월 12일 춘천 횡계 작목반

그림 151. 광합성균 배양액 무상 보급 - 가을작기 (20톤)

3. 효모균, 유산균 배양액 보급

- 본 센터에 구축되어 있는 배양기를 활용하여 효모균, 유산균 대량배양시스템을 구축하였다.
- 제 2세부과제의 포트, 지역을 달리한 두 번의 현장 시험을 통한 결과 들을 확보 한 후 배급 시스템을 구축 농민 대상 효모균, 유산균을 무상 보급하였다.
- 안정성을 확인한 후 그림과 같이 효모균, 유산균을 대량 배양하여 봄작기에 약 20톤, 가을 작기에 약 20톤 생산하였다.
- 생산된 배양액은 보급전 본 센터 저온저장고에 저장하였다가 5월 13일을 기점으로 그림과 같이 강원도 농업인들에게 보급하였다.



4월 21일 생산(5톤)



4월 27일 생산(5톤)



5월 11일 생산(5톤)

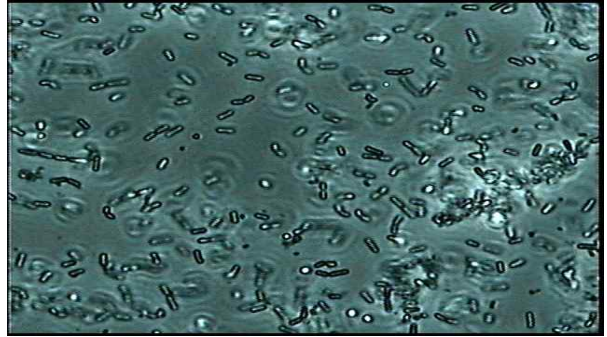


5월 19일 생산(5톤)

그림 152. 효모균, 유산균 배양액 생산 (20톤) -봄작기



8월 24일 생산(5톤)



8월 28일 생산(5톤)



9월 1일 생산(5톤)



9월 7일 생산(5톤)

그림 153. 유산균, 효모균 배양액 생산 (20톤) - 가을작기



5월 12일 황계 작목반



5월 19일 춘천 원예작목반

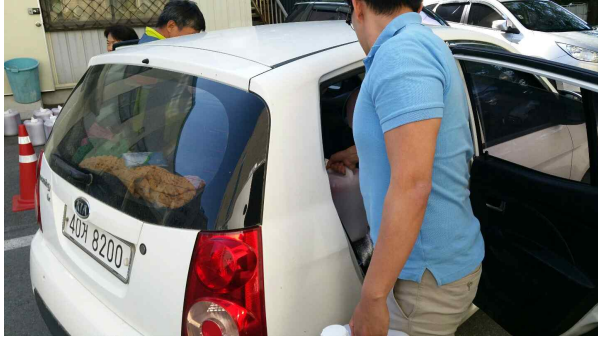


5월 25일 홍천 작목반



5월 26일 원주 작목반

그림 154. 유산균, 효모균 배양액 무상 보급 - 봄작기 (20톤)



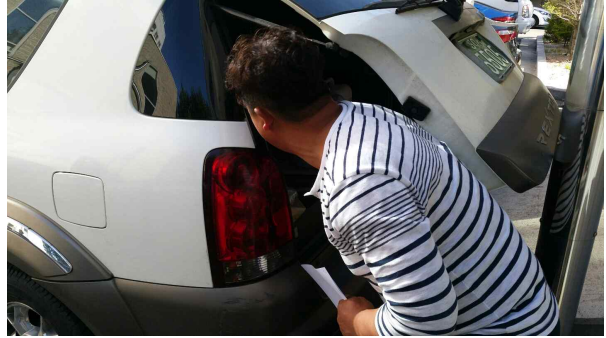
8월 25일 원주 작목반



8월 29일 춘천 원예작목반



9월 4일 홍천 작목반



9월 11일 사과 작목반

그림 155. 유산균, 효모균 배양액 무상 보급 - 가을작기 (20톤)

4. 친환경 효모 비료 개발 및 핸드북 작성



[별지 제 10호서식] <개정 2012.01.20>

제 강원 춘천31-가-20301 호

비료생산업 등록증

1. 법인(상호)명 : 강원대학교 친환경농업연구센터

2. 주 소 : 강원도 춘천시 강원대학길 1 (효자동, 친환경농업연구센터)

3. 대표자의 성명 : 정천순

4. 대표자의 생년월일 : 1962-11-24

5. 제조장 소재지 : 강원도 춘천시 강원대학길 1 (효자동)

6. 비료의 종류 : 토양미생물제제

「비료관리법」 제11조제1항, 같은 법 시행령 제11조4항 및 같은 법 시행규칙 제7조 제4항에 따라 위와 같이 비료생산을 등록하였음을 증명합니다.

2016년10월10일


강원도 춘천시장 

그림 156. 본 과제를 통해 개발된 친환경광합성 비료 “빵실이”



[별지 제 10호서식] <개정 2012.01.20>


제	강원 춘천033-가-20301	호
비료생산업 등록증		
1. 법인(상호)명 :	강원대학교 친환경농업연구센터	
2. 주 소 :	강원도 춘천시 강원대학길 1 (효자동, 강원대학교 친환경농업연구센터)	
3. 대표자의 성명 :	정천순	
4. 대표자의 생년월일 :	1962-11-24	
5. 제조장 소재지 :	강원도 춘천시 강원대학길 1 (효자동, 강원대학교 친환경농업연구센터)	
6. 비료의 종류 :	토양미생물제제	
<p>「비료관리법」 제11조제1항, 같은 법 시행령 제11조4항 및 같은 법 시행규칙 제7조 제4항에 따라 위와 같이 비료생산업을 등록하였음을 증명합니다.</p>		
2017년06월14일		
 강원도 춘천시장		

그림 157. 본 과제를 통해 개발된 친환경 효모 비료 “빵실이 옐로우”

C타입 배양기 매뉴얼

2017년 농림축산식품부 지정공모사업

단 계	배양기 작업과정	작업 단계별 진행사항
1 급수/ 배지투입	  	1. 배양기 외관 전체 확인 [파손, 라인, 청소상태] 2. 급 수 1) 배양에 필요한 sv값 입력 2) 상단의 급수밸브 W1 클릭 3. 배양에 필요한 양 만큼 배지투입
2 멸균	  	1. 배양조건 설정 2. 보일러 설정 XG클릭 - 보일러 만수 시까지 대기 → Run 클릭 3. 멸균시작 1) 좌측상단의 멸균모드 클릭 ※ 멸균테이블은 설정되어 있음
3 접종	 	1. 접종모드 1) 배양설정값까지 온도가 하락 후 좌측의 접종모드 클릭 2) Aeration 15 이하 pressure 0,02 이하 확인 2. 접 종 1) 접종구 주변 화염 살균 후 접종
4 이송	 	1. 이송모드 진입 1) 배양 완료 후 TK-B-01 버튼을 클릭 2. 이송모드 진행 1) 이송완료 멸균모드 클릭 2) 1번 완료 후 이송모드 클릭 3) 이송 완료 시 이송정지모드 클릭 후 1번을 한번 반복
5 청소		1. 배양기 뚜껑을 열고 고압세척기를 사용하여 탱크 내부를 세척 2. 세척 완료 후 뚜껑을 열어두고 배양기 주변 정리

농림축산식품부 KNU 강원대학교 친환경농업연구센터



그림 158. 배양기 사용자매뉴얼 제작 및 배포

제 7절 친환경 농업 유용미생물의 특성과 활용방법에 대한 교육 진행

1. 강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 친환경농산물 인증관련 교육의 필요성

- 강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용미생물(고초균, 광합성균, 유산균, 효모균 등) 관련 교육 및 기술 지도를 진행. 유용미생물 제품에 대한 올바른 사용 시기 및 사용량 등의 정보를 제공하여 친환경 농산물의 안정적인 생산과 친환경 농법 개발에 기여가 기대된다.
- 강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 친환경농산물인증관련 교육 및 컨설팅을 진행. 친환경농업에 대한 실질적인 교육 및 현장학습으로 인하여 농업 경영인들에게 친환경농업의 필요성을 지속적으로 알림으로써 강원도 내 친환경 실천농가의 확대가 기대된다.
- 유용미생물/친환경농산물 인증관련 교육 및 기술 지도를 통하여 유용미생물의 효율적인 활용과 친환경 농업 경영인들의 교육을 통하여 독립적으로 품질 좋은 친환경 농산물의 생산이 가능할 것으로 판단되며, 친환경 농업 경영인들에게 정보를 전달함으로써 친환경 실천농가의 의문점들을 해소하는 기회가 될 것으로 판단된다.

2. 강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 친환경농산물 인증관련 교육 내용 및 방법

- 친환경농산물 사용기준에서의 허용자재는 유기농산물, 무농약 농산물에서는 화학농약이나 화학비료를 사용할 수 없었다. (친환경자재는 친환경농업육성법상의 친환경농업육성법시행규칙 제 7조에 유기농산물, 무농약 농산물, 저농약 농산물 생산 시 사용가능한 자재로 구분하여 그 사용기준을 정하고 있으며, 무농약 농산물의 병해충 관리를 위하여 사용이 가능한 자재는 유기농산물 기준과 같음).
- 친환경농업에 사용되는 자재들은 그 기능이 매우 복잡적이어서 농업 이외에도 다방면에서 사용된다는 특징을 가지고 있고 다음과 같은 내용들을 교육하였다.

가. 친환경 농산물 관련 교육

(1) 교육 내용

- 친환경자재라 함은 친환경농산물 생산을 위해 사용될 수 있는 자재로써 자연에 해가 없으며, 농작물에 양분공급, 병해충억제 및 생육촉진 등에 이용되는 환경 친화적 물질을 말함. 유용미생물은 최초에 자연·유기농 농업에 이용하려는 목적으로 개발 되었지만 현재 축산업과 수산업 및 건축, 의료에 이르기까지 여러 분야에 걸쳐 이용되고 있으며, 그 효과가 실제 입증되고 있다. 농업에서의 유용미생물의 사용은 농약과 화학비료의 사용 없이 유기농이 가능하며, 수확량이 최대 세 배에 이르는 효과를 보이고 있다.

(2) 교육 대상 및 방법

- 강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용미생물 관련 교육 및 기술 지도를 수행.
- 강원도 18개 시·군 농업기술센터 미생물 실무자 대상으로 국립농업과학원, 대학교, 미생물 구축센터 등 소속 전문가들을 초청하여 표 36과 같은 교육 프로그램을 진행
- 강원도 내 미생물 배양소를 보유한 지자체에 전문가의 자문을 받아 기술 컨설팅 및 유용미생물 최적 처리법 교육을 홍보
- 친환경 농업을 수행하고 있는 농업경영인을 대상으로 유용미생물의 특성과 활용방법에 대하여 교육 및 컨설팅을 진행
- 농업기술센터 미생물 실무자를 대상으로 교육, 협의회를 진행함으로써 유용미생물에 대한 이해와 활용방법, 배양법 및 분석법 등의 더욱 더 전문적인 내용을 전달하여 친환경 농업 유용미생물의 공급을 위한 체계적인 방안을 도모
- 지속적인 교육을 통하여 각 시·군 농업기술센터의 유용미생물의 효율적인 활용이 기대. 또한 친환경 농업을 수행하고 있는 농업경영인을 대상으로 교육 및 컨설팅을 진행함으로써 미생물제에 대한 올바른 사용 시기 및 사용량 등의 정보를 제공하여 친환경 농산물의 안정적인 생산과 친환경 농법 개발에 기여. 이에 친환경 실천 농가 대상 유용미생물 관련 교육 및 기술지도를 수행한 농가의 설문조사 결과, 친환경 농업을 지속할 것으로 답한 농가는 31농가 중 30농가로 97%의 높은 비율이 나타났음.

- 친환경 농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률에 따르면, 유기농산물이란 친환경 농산물로서 전환기 이상의 기간 동안 유기합성 농약 및 화학비료를 사용하지 않고 재배한 농산물로 정의되며, 무농약 농산물이란 유기합성농약을 사용하지 않고 화학비료를 권장 시비량의 1/3 이내의 범위에서만 사용한 농산물로 정의된다. 친환경자재는 유기농산물, 무농약 농산물 생산 시 사용가능한 자재로 구분하여 그 사용기준을 정하고 있으며, 무농약 농산물의 병해충 관리를 위하여 사용이 가능한 자재는 유기농산물 기준과 같다. 유기합성 농약의 살포는 병해충예방 및 방제를 통해 작물을 보호하고 생산성을 높이는데 그 목적이 있다. 이러한 유기합성 농약 및 화학비료의 사용은 친환경 농업의 증가로 사용이 지양되면서 그 역할을 대체할 수 있는 친환경자재의 사용량이 증가하고 있다. 친환경농업에 사용되는 친환경 자재는 관행농업에 비하여 농업활동에 따른 환경부하를 낮추고 자원순환 기능을 증진시킬 수 있는 친환경농산물 생산을 위해 사용될 수 있는 자재로써 농작물에 양분을 공급하여 생육을 촉진시켜줄 뿐만 아니라 병해충을 억제하는데 이용되며, 자연에 해가 없는 환경 친화적 물질을 말한다. 이러한 친환경 자재들은 기능이 매우 복잡적이며, 농업 이외에도 다방면에서 사용된다는 특징을 가지고 있다. 친환경 자재 중 하나인 농업 유용미생물은 최초에 자연·유기농 농업에 이용하려는 목적으로 개발 되었지만 현재 수산업과 축산업 및 건축, 의료 등 여러 분야에 걸쳐 다양하게 이용되고 있으며, 실제 그 효과가 입증되고 있다. 또한 생태계를 기반으로 자연 본래의 기능을 최대한 활용하여 토양·양분관리 및 병충해를 억제하고 작물재배를 가능하게함으로써 대표적인 친환경자재로 자리매김하고 있다. 이러한 유용미생물의 사용은 농업에서 농약과 화학비료의 사용 없이 유기농을 가능하게 하였다.
- 강원도 미생물 배양소를 보유한 지자체에 전문가의 자문을 받아 강원도 내 각 시·군 농업기술센터의 미생물 실무자를 대상으로 한 교육을 통하여 유용미생물에 대한 이해를 도모하였다. 또한 유용미생물의 활용 방법을 통한 배양법 및 최적 처리법을 교육함과 동시에 분석법 등의 더욱더 전문적인 내용을 전달하여 친환경 농업 유용미생물의 공급을 위해 기여하였다. 뿐만 아니라 강원도 내 친환경 농업 실천하고 있는 농업경연인을 대상으로 지속적으로 농가 방문 컨설팅 및 유용미생물의 특성과 활용방법 지도를 수행하였다. 이로 인해 각 시·군 농업기술센터의 유용미생물의 효율적인 활용이 기대되었으며 농가 방문 컨설팅을 진행함으로써 미생물제제에 대한 올바른 사용 시기 및 사용량 등의 정보를 제공하여 친환경 농산물의 안정적인 생산과 친환경 농법 개발에 기여하였다.

표 36. 유용미생물 교육

NO	교육 시간	교육 내용	기관명	강사
1	2015.10.19 10:00~12:30	미생물 분해·생산물질·공생·부패	자우바이오대표	장승택
2	2015.10.30 10:00~12:30	미생물 배양기 구조 이해 및 오염 방지 사례, 관리법	친환경농업연구센터 팀장	민용원
3	2015.11.13 10:00~12:30	미생물 특성에 따른 배양법	일동제약부장	반오현
4	2015.11.27 10:00~12:30	유용미생물 이해 및 활용법	KT&G 중앙연구소	오정훈
5	2015.12.11 10:00~12:30	친환경 농산물/농자재 인증	친환경농산물안전성 센터 팀장	조준모

나. 유용미생물(고초균, 광합성균, 유산균, 효모균 등)/친환경농산물 인증관련 교육 및 기술지도

- 친환경농산물 사용기준에서의 허용자재는 유기농산물, 무농약 농산물에서는 화학농약이나 화학비료를 사용할 수 없다. 친환경농업에 사용되는 자재들은 관행농법에 비하여 자원순환 기능을 증진시킬 수 있고 생육촉진 및 병해충억제 등의 기능을 가질 뿐만 아니라 농업 이외에도 다방면에서 사용되는 매우 복합적인 기능을 가진다. 친환경자재는 친환경농산물 생산을 위해 사용될 수 있는 자재로써 자연에 해가 없으며, 농작물에게 양분을 공급하여 생육을 촉진하고 병해충의 예방 및 방제 등에 이용되는 환경 친화적 물질을 말한다. 농업에서의 유용미생물의 사용은 농약과 화학비료의 사용 없이 유기농이 가능하게 하였다. 실제 발효퇴비 및 생광석을 처리한 연구결과에서 항산화물질 측정 결과 평균 9%가 증가하였으며, 선행연구결과, 정식 전 알타리무에 미생물제제를 처리한 후 60일 차의 생육을 조사한 결과, 무처리 구에 비하여 미생물제제 처리구가 엽폭, 엽장, 엽록소 함량치와 무게가 유의하게 증가하는 것을 확인하였다. 이 외에도 수확량 증가, 생체중 증가 등의 결과로 그 효과가 실제 입증되고 있다.

(1) 교육내용

- 미생물제제란 식물병원균이나 해충 혹은 잡초 방제를 위하여 효과를 나타내는 곰팡이, 세균, 바이러스 등으로 만든 제품을 말함
- 미생물제제는 인축에 대한 독성이 낮고, 생태계에 영향이 적은 장점을 가지며 농업에서 토양개량, 병해방제, 유기물 분해촉진, 양수분 흡수촉진, 병해충 방제 및 제초 등의 장점을 가짐
- 미생물제제는 화학제제에 비해 효과 발현이 늦고, 유효기간이 짧고, 적용범위가 제한적이라는 단점이 있음
- 미생물제제는 중금속 불황성화, 토양 입단화 등의 작용으로 토양개량에 이용됨(바실러스, 뿌리혹박테리아, 트리코더마, 아조토박터 등)
- 미생물제제는 항생물질, 용균작용, 유도저항성, 살충성 단백질 등을 통하여 병해충 방제에 이용됨(슈도모나스, 바실러스, 균근균, 트리코더마 등)
- 미생물제제는 유·무기물 분해 및 합성을 통하여 난분해성 화학물질을 분해함(스트렙토마이세스, 슈도모나스, 바실러스 등)
- 미생물제제는 스트레스 내성을 증대하여 대기 질소를 고정시킬 수 있으며, 양분흡수를 촉진함(바실러스, 스트렙토마이세스, 아스퍼질러스, 뿌리혹박테리아, 균근균 등)
- 미생물제제는 착화합물질, 호르몬 반응을 통하여 작물생육을 촉진함(슈도모나스, 광합성 세균 등)
- 미생물제제는 미생물 생성 제초제 물질을 통하여 제초를 가능하게 함(에피코모소러스 등)

(2) 주요 미생물의 종류 및 특성

- 바실러스(*Bacillus*)는 토양이나 물속에서 서식하며, 대부분 부생성 세균으로 고초균으로 알려진 *B. subtilis*는 유기물 분해 미생물이나 일부 계통은 감자 괴경을 부패시키기도 함
- 락토바실러스(*Lactobacillus*)는 혐기성, 미호기성, 통성상태에서 살아가는 유산균으로 일반적으로 호산성
- 슈도모나스(*Pseudomonas*)는 토양, 물속에 주로 서식하며 작물생육을 촉진하는 종(*P. fluorescens*, *P. putida*)이 포함됨
- 스트렙토마이세스(*Sterobacter*)는 토양중에 널리 서식하는 방선균으로 대부분 비병원성으로 그 중 *S. scabies*는 감자더듬이병의 원인균으로 작용함
- 아스페질러스(*Aspergillus*)는 전형적 부생성 균으로 일부 종은 ‘아스페질러스 증’이라는 병을 유발하며, 아플라톡신과 같은 독소를 생성
- 트리코더마(*Trichoderma*)는 부생성 균으로 항생물질 생성이나 양분경합을 통해 다른 사상균의 생육을 저해함
- 엔테로박터(*Enterobacter*)는 인축의 장내, 토양, 물, 식품, 식물체 표면 등에 다양하게 서식하며 뇌막염, 폐렴 등의 기회성 병원균임

(3) 미생물제제의 사용상 주의 사항

- 미생물제제는 온도에 민감하며, 중온성 미생물의 경우 45℃ 이상의 고온에서의 보관 및 운송이 미생물의 생존율을 감소시킴 또한 4℃에서 6개월 정도의 보관기간을 가짐
- 하절기 지온의 높을 경우 미생물의 증식율이 저하됨으로 유의
- 미생물 접종지의 토양특성과 작물재배 관리상의 문제점을 충분히 파악 후 미생물제제 선택
- 미생물제제는 일반적으로 유통기간 경과에 따라 저하되므로, 유효기간을 반드시 확인
- 기능 미생물의 생존율 유지를 위한 주문생산제품의 사용을 권장 및 유도
- 일반 유기질비료는 미생물의 고유 기능을 이용하지 않는 미생물제제로 반드시 효능을 확인
- 미생물제제의 효과는 접종된 미생물이 우점적으로 정착하여 안정적으로 작용하는 경우에 나타나므로 양질의 유기물 시용으로 토양환경 개선



그림 159. 강원도 내 미생물 배양소를 보유한 지자체 방문

(4) 미생물제제 사용 사례

- TBCA104 균주는 처리시기에 관계없이 효과적으로 토마토 궤양병의 발생을 억제
- 토양에서 분리한 미생물 균주는 생육촉진 효과를 확인하였으며 미생물 농약이나 미생물 비료의 소재로써 가능성
- 환경조절이 가능한 병벼섯 재배시설에서 생리활성미생물의 투여로 벼섯재배기간 약 3~5일 단축(무처리구(20~23일) 미생물을 혼합한 처리구(15~18일) 생육촉진 미생물의 생육적온 (28℃) 및 생육적합 pH는 6.0 수준으로 배양
- 근권미생물(*rizobacteria*)은 질소의 형태변화에 관여하여 토양의 비옥도와 비료의 효과에 영향을 끼치고, 유기물을 분해하여 암모니아의 생성과 질산으로의 변화, 질산의 탈질, 공중 질소를 고정시키며, 항생물질을 생산하여 식물을 보호하는 등의 작용을 함
- 미생물을 첨가하는 토양의 화학적 특성의 개선과 함께 직접적으로 재배작물의 성장을 촉진함
- 유용미생물 중 하나인 효모균체는 당을 발효시켜 에탄올과 이산화탄소를 생산하고 식물 성장을 촉진시켜 고추 플러그 육묘 시 유기효모 미생물제제 비료로서 적절

표37. 유용미생물 관리 교육

NO	교육 시간	교육 내용	기관명	강사
1	2017.06.23 10:00~12:30	농업용 유용미생물의 특징 및 배양방법	국립농업과학원 연구사	유재홍
2	2017.07.07 10:00~12:30	ICT를 이용한 미생물 활용	바이오플랜트(주) 상무이사	김장욱
3	2017.07.28 10:00~12:30	친환경농업을 위한 유용 미생물 교육	(주)이지바이오 과장	이상균
4	2017.08.11 10:00~12:30	곤충과 미생물	바이오플랜트(주) 부장	박기병
5	2017.08.25 10:00~12:30	미생물 배양관리 및 미생물 활용	(주)에코드림농업회사법인 상무이사	민용원

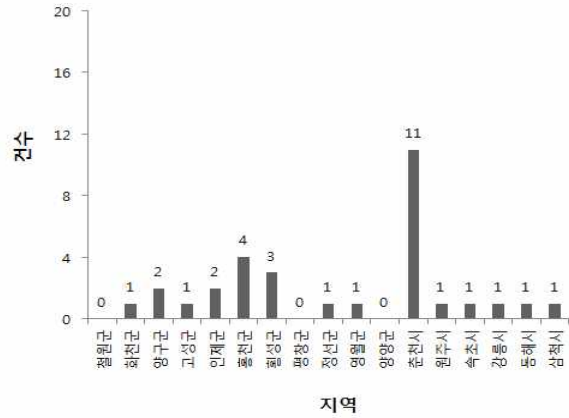


그림 164. 유용미생물의 특성과 활용방법 컨설팅 지역 및 건수(총 31건)

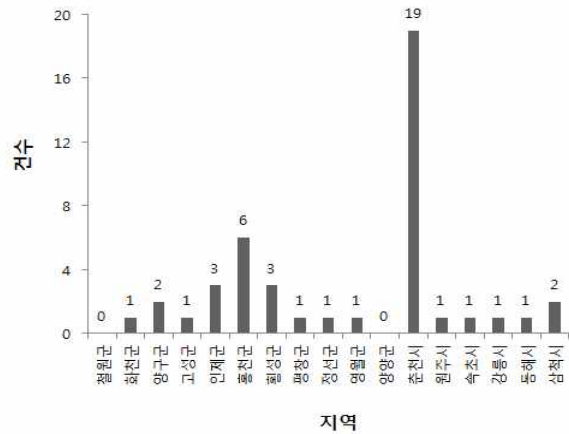


그림 168. 농가방문을 통한 친환경농산물인증관련 컨설팅 지역 및 건수(총 44건)

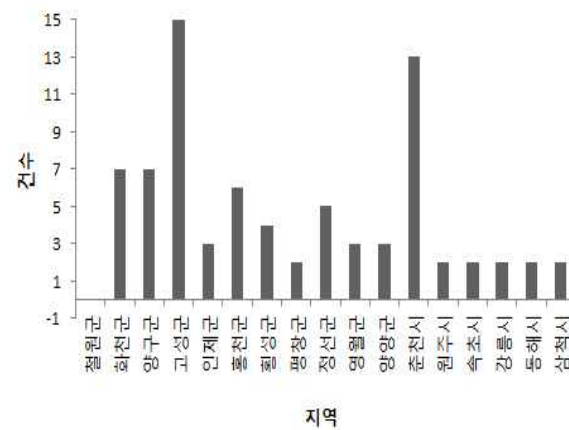


그림 178. 농가방문을 통한 유용미생물/친환경농산물 인증관련 교육 및 기술지도 지역 및 건수

표 38. 유용미생물 관련 교육

NO	교육 시간	교육 내용	기관명	강사
1	2016.06.24 10:00~12:30	농업용 유용미생물의 특징 및 배양방법 1	국립농업과학원 연구사	유재홍
2	2016.07.08 10:00~12:30	미생물 배양 및 분석 실습	에코드림농업회사법인 상무이사	민용원
3	2016.07.29 10:00~12:30	미생물의 이용	KT&G 책임연구원	오정훈
4	2016.08.26 10:00~12:30	농업용 유용미생물의 특징 및 배양방법 2	국립농업과학원 연구사	유재홍
5	2016.09.23 10:00~12:30	미생물 분해, 생산물질, 공생, 부패	씨엔에프 사장	연장희

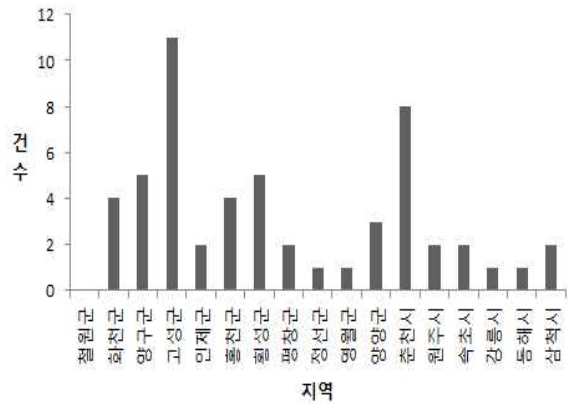


그림 188. 농가방문을 통한 유용미생물/친환경농산물 인증관련 교육 및 기술지도 지역 및 건수



그림 191. 친환경농산물 인증 종류

3. 강원도 친환경농업 농민들과의 SNS 구축

- 고초균 보급 및 컨설팅. 교육을 통해 접촉한 여러 작목반의 농민들과 정보를 교류할 수 있는 SNS(밴드)를 그림 192과 같이 구축하였다.
- (2-2) 강원도 친환경농업 농민들과의 SNS 구축
- 고초균 보급 및 컨설팅. 교육을 통해 접촉한 여러 작목반의 농민들과 정보를 교류할 수 있는 SNS(밴드)를 그림 193과 같이 구축하였다.

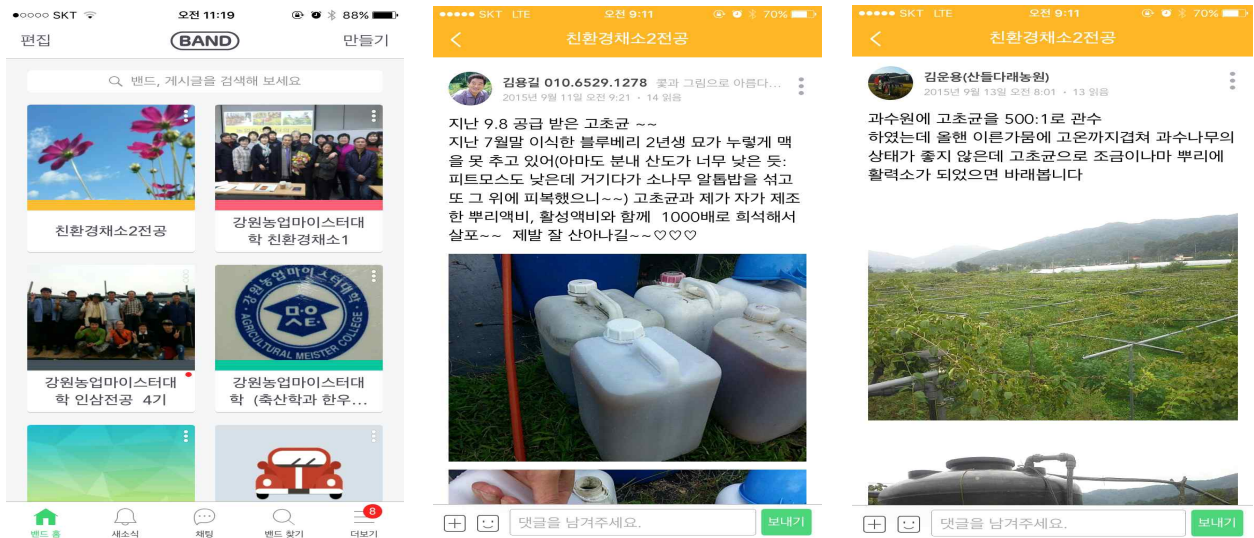


그림 192. 작목반 농민들과 SNS구축(총 4건)

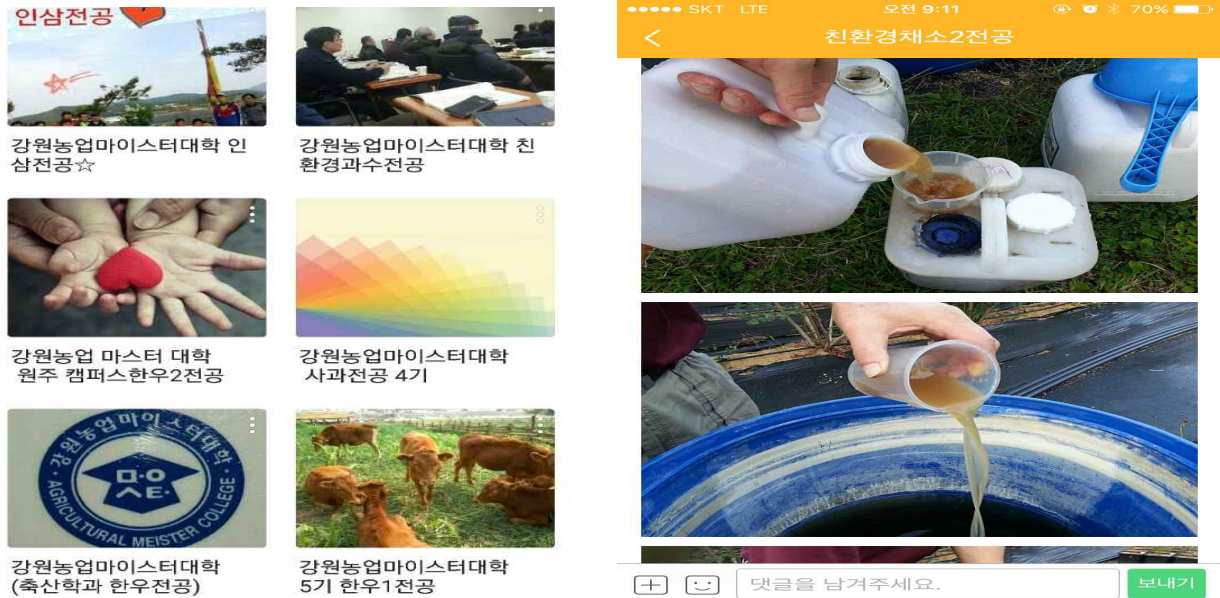


그림 193. 작목반 농민들과 SNS구축

규제는 풀
혜택은 열
우리, **Go**
함께 가요

농식품 규제개혁 성과사례 20선

“20”선

농림축산식품부 KREI 한국농촌경제연구원

“유기농업자재를 정확하게 사용할 수 있게 됐어요”



개선점 유기농업에 사용가능한 제품인지 알려주는 공시제도의 효능 및 효과를 보증하는 품질인증제도를 동시에 운영



개선후 유기농업자재 공시제도와 품질인증제도를 공시제도 일원화로 효능, 효과 표시제도에 대한 소비자의 선택의 확대

02 농업 경쟁력 강화
유기농업자재 공시제도 일원화



유기농산물은 세심한 관리로 인해 채택되는 만큼 친환경농기에서는 유기농업자재를 선택할 때 상당히 신중하게 선택하고 있습니다. 그런데 그동안 유기농업자재는 유기농업에 사용가능한 제품인지를 알려주는 공시제도와 효능·효과를 보증하는 품질인증제도가 동시에 운영되었습니다.

공시제도는 단순히 유기농산물을 생산하는데 적합한지 여부를 공시한 것으로, 효능 및 효과가 보증된 것이 아님에도 마치 효능이 보증된 것으로 혼란을 줄 우려가 있었지요. 이런 문제들이 이번에 유기농업 공시제도 일원화를 통해 해소되었습니다. 또한 효능·효과표시물의 경우 기존 품질인증제도에서 재·차게 붙었던 인증 장벽 대신 실제 친환경농업인들이 필요에 맞는 제품을 선택할 수 있도록 표시할 수 있는 효능·효과와 특이 분야였습니다. 이를 통해 유기농업 농가에서는 투명과 직물생육 및 병해충 발생 특성에 따라 알맞은 제품을 선택해 식물을 재배할 수 있게 되었습니다.

그림 195. 농식품 규제개혁 성과사례 20선 선정

제 4장 목표달성도 및 관련분야 기여도

제 1절 연구개발 목표의 달성도

		코드번호	D-06
구분	평가		목표달성도
	작성사항		
제 1세부	기존 친환경 농업 유용미생물 선발 (유산균, 효모균)		100
	선발된 친환경 농업 유용미생물의 대량생산 시스템 개발		100
	작물생육 및 토양개량용 친환경 농업 유용미생물의 센터 내에서 효능 검정		100
	친환경 농업 유용미생물에 대한 토양 개량효과 검정 및 안전성 분석		100
제 2세부	친환경 농업 유용미생물 현장 포장에서의 효능 검정		100
	친환경 농업 유용미생물의 최적사용법 개발		100
	미생물 투입에 따른 토양 내 미생물 생태변화 조사		100
	친환경 농업 유용미생물 보급 및 핸드북 작성		100
제 3세부	강원도 내 시군 농업기술센터 미생물 실무자들과 친환경농업 실천 농업경영인 모집		100
	친환경 농업 유용미생물의 특성과 활용방법에 대한 교육 진행		100
	친환경 농업 유용미생물의 보급체계 및 강원도 네트워크 구축		100
	친환경농산물인증 교육		100

제 2절 관련분야 기여도

1. 기술적 측면

- 기존 친환경 농업 유용미생물의 대량 생산 시스템 개발
- 지자체에 구축되어 있는 친환경 농업 유용미생물 대량 생산 시스템 교육
- 친환경 농업 유용미생물제에 대한 안정성 및 안전성 분석
- 친환경 농업 유용미생물 현장 포장에서의 효능 검정 및 최적 사용법 개발

2. 경제적, 사회적 측면

- 강원도 내 시·군 농업기술센터 미생물 실무자들 대상 유용미생물의 특성과 배양법 교육 및 컨설팅
- 친환경농업 실천 농업경영인 대상 친환경 농업 유용미생물의 작물별 활용방법에 대한 교육 진행
- 친환경농산물인증관련 교육 실시
- 친환경 농업 유용미생물 보급 및 핸드북 작성을 통한 보급 체계 구축 및 강원도 네트워크 구축


제 5장 연구결과의 활용계획

가. 특허출원 및 등록

- 친환경 효모 비료 개발




[별지 제 10호서식] <개정 2012.01.20>

제	강원 춘천31-가-20301	호
비료생산업 등록증		
1. 법인(상호)명 :	강원대학교 친환경농업연구센터	
2. 주 소 :	강원도 춘천시 강원대학길 1 (효자동, 친환경농업연구센터)	
3. 대표자의 성명 :	정천순	
4. 대표자의 생년월일 :	1962-11-24	
5. 제조장 소재지 :	강원도 춘천시 강원대학길 1 (효자동)	
6. 비료의 종류 :	토양미생물제제	
<p>「비료관리법」 제11조제1항, 같은 법 시행령 제11조4항 및 같은 법 시행규칙 제7조 제4항에 따라 위와 같이 비료생산을 등록하였음을 증명합니다.</p>		
2016년10월10일		
 강원도 춘천시장		

본 과제를 통해 개발된 친환경광합성 비료 “빵실이”



[별지 제 10호서식] <개정 2012.01.20>

제	강원 춘천033-가-20301	호
비료생산업 등록증		
1. 법인(상호)명 :	강원대학교 친환경농업연구센터	
2. 주 소 :	강원도 춘천시 강원대학길 1 (효자동, 강원대학교 친환경농업연구센터)	
3. 대표자의 성명 :	정천순	
4. 대표자의 생년월일 :	1962-11-24	
5. 제조장 소재지 :	강원도 춘천시 강원대학길 1 (효자동, 강원대학교 친환경농업연구센터)	
6. 비료의 종류 :	토양미생물제제	
<p>「비료관리법」 제11조제1항, 같은 법 시행령 제11조4항 및 같은 법 시행규칙 제7조 제4항에 따라 위와 같이 비료생산업을 등록하였음을 증명합니다.</p>		
2017년06월14일		
 강원도 춘천시장		

본 과제를 통해 개발된 친환경 효모 비료 “빵실이 옐로우”

나. 학술논문 발표 및 투고

번호	논문	논문명	소속 기관명	역할	논문게재지/특허등록국가	Impact Factor	논문게재일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인용횟수 등)
1	논문	cDNA cloning and molecular characterization of a defensin-like antimicrobial peptide from larvae of <i>Protaetia brevitarsis seulensis</i> (Kolbe)	강원대학교 2세부	제 1저자	Springer Science	-	2016.03.12	중복사사	SCI
2	논문	Identification of immunity-related genes in the larvae of <i>Protaetia brevitarsis seulensis</i> (Coleoptera: Cetoniidae) by a next generation sequencing-based transcriptome analysis	강원대학교 2세부	제 1저자	Journal of insect science	0.843	2015.10.08	단독사사	SCIE급 3회 인용
3	논문	Ultrastructural characterization of hemocyte in larvae of <i>Protaetia brevitarsis seulensis</i>	강원대학교 2세부	제 1저자	Journal of applied entomology	0.31	2017.09.01	중복사사	비SCI
4	논문	Morphological and immunological characterization of hemocyte in larvae of <i>Pentodon quadridens bidentulus</i>	강원대학교 2세부	제 1저자	Journal of applied entomology	0.31	2017.09.01	단독사사	비SCI
5	논문	시설 내 오이 (<i>Cucumis sativus</i> L.) 재배 중 Penthiopyrad 및 Pyriofenone의 잔류 특성과 생산단계 잔류 허용기준 설정	강원대학교 3세부	제 1저자	한국환경농학회	-	2017.03.29	중복사사	-

번호	발표자	발표제목	발표일시	장소/국명
1	김희곤	팥(<i>Vigna angularis Willd.</i>) 중 살충제 Bifenthrin 및 Fenitrothion의 잔류특성	2017-11-01	전북, 변산대명리조트
2	황두선	Extracellular components of E. coli K12 induces innate immune system of <i>Protaetia brevitarsis seulensis</i>	2016-11-04	충남대학교
3	서무홍	Effect of photosynthetic bacteria treatment extracted from different culture media on vegetative growth of vegetables.	2016-11-04	충남대학교
4	서무홍	Optimization of Cultivation Medium and Induction of Germination Conditions for <i>Bacillus subtilis</i> Spores.	2016-11-04	충남대학교
5	김지윤	LC-MS/MS를 이용한 우엉(<i>Arctium lappa L.</i>)중 Sulfoxaflor 및 대사산물의 잔류특성 연구	2016-10-27	속초 델피아노 리조트
6	조세열	The silence of the immune system in larvae of <i>Protaetia brevitarsis seulensis</i>	2015-11-04	일본, 구라요시

다. 인력 양성

번호	인력양성명	인력양성년도 인력양성년도	인력양성 대상수 출원등록일	
1	학,석사 학위 취득 및 인턴	2015	학사	3
			석사	2
			인턴	3
2	학,석,박사 학위 취득 및 인턴	2016	학사	3
			석사	2
			인턴	1
3	학,석사 학위 취득 및 취업	2017	학사	2
			석사	5
			박사	3
			취업	0

라. 실용화, 산업화 계획

- 해당사항 없음

마. 교육 및 지도

번호	교육명	주요내용	활용년도
1	농가방문을 통한 친환경농산물인증관련 컨설팅 (10회)	농가방문을 통한 친환경농산물 인증관련 컨설팅	2015
2	2015년 친환경 농업연구센터 교육 1 [인삼 전공]	인삼재배학	2015
3	2015년 친환경 농업연구센터 교육 1 [토마토 전공]	시설재배의 의의와 역사	2015
4	2015년 친환경 농업연구센터 교육 1 [사과 전공]	과원조성을 위해 필요한 각 작업단계의 개념	2015
5	2015년 친환경 농업연구센터 교육 2 [인삼 전공]	묘포설치	2015
6	2015년 친환경 농업연구센터 교육 2 [사과 전공]	개원설계의 필요성과 과정	2015
7	2015년 친환경 농업연구센터 교육 2 [토마토 전공]	시설의 종류 및 구조	2015
8	2015년 친환경 농업연구센터 교육 3 [인삼 전공]	화학적 개량	2015
9	2015년 친환경 농업연구센터 교육 3 [토마토 전공]	시설원예온실(토마토)의 구조 및 특성	2015
10	2015년 친환경 농업연구센터 교육 3 [사과 전공]	다양한 환경조건에서의 합리적인 과원조성 방법	2015
11	2015년 삼척시 농업기술센터 배양기 설치관련 컨설팅 1	삼척시 농업기술센터 신설 미생물 배양기 설치 관련 자문 컨설팅	2015
12	2015년 친환경 농업연구센터 교육 4 [토마토 전공]	골격자재 및 피복자재의 구조와 특징	2015
13	2015년 친환경 농업연구센터 교육 4 [사과 전공]	기반조성 계획 설정 방법	2015
14	2015년 친환경 농업연구센터 교육 5 [사과 전공]	과수에 적합한 토양조성	2015
15	2015년 친환경 농업연구센터 교육 5 [인삼 전공]	분포 선정 및 관리와 토양의 특성조사법 실습	2015
16	2015년 친환경 농업연구센터 교육 5 [토마토 전공]	온실용 커튼의 용도	2015
17	2015년 친환경 농업연구센터 교육 6 [인삼 전공]	배수로 설치 및 정비	2015
18	2015년 친환경 농업연구센터 교육 6 [토마토 전공]	수분환경의 특성 및 토양수분 측정	2015
19	2015년 친환경 농업연구센터 교육 6 [사과 전공]	토양물리화학성의 개량방법	2015

번호	교육명	주요내용	활용년도
20	2015년 친환경 농업연구센터 교육 7 [인삼 전공]	배수로 설치 및 정비	2015
21	2015년 친환경 농업연구센터 교육 7 [토마토 전공]	시설 토양의 특성 및 시비이론 기초	2015
22	2015년 친환경 농업연구센터 교육 7 [사과 전공]	입지조건에 맞는 관수 및 배수 방법	2015
23	2015년 친환경 농업연구센터 교육 8 [인삼 전공]	두둑 방향 결정, 두둑 폭, 고랑 폭, 두둑 높이 결정,	2015
24	2015년 친환경 농업연구센터 교육 8 [사과 전공]	지주의 종류	2015
25	2015년 친환경 농업연구센터 교육 9 [인삼 전공]	재식밀도 개념 이해	2015
26	2015년 친환경 농업연구센터 교육 9 [사과 전공]	재식시 고려사항 및 적용가능한 재식방법	2015
27	2015년 친환경 농업연구센터 교육 8 [토마토 전공]	시설의 공기환경	2015
28	2015년 친환경 농업연구센터 교육 10 [인삼 전공]	해가림의 목적과 설치방법	2015
29	2015년 친환경 농업연구센터 교육 10 [사과 전공]	묘목 식재 실습	2015
30	2015년 친환경 농업연구센터 교육 9 [토마토 전공]	시설의 공기환경	2015
31	2015년 친환경 농업연구센터 교육 11 [인삼 전공]	개랑, 관행, 후주 연결식 해가림 시설 및 자재	2015
32	2015년 삼척시 농업기술센터 배양기 설치관련 컨설팅 2	삼척시 농업기술센터 신설 미생물 배양기 설치 관련 자문 컨설팅	2015
33	2015년 친환경 농업연구센터 교육 10 [토마토 전공]	시설내 보온, 냉방, 난방, 환기 관리방법	2015
34	2015년 친환경 농업연구센터 교육 11 [토마토 전공]	과채류작물의 재배방식과 품종 선택	2015
35	2015년 친환경 농업연구센터 교육 11 [사과 전공]	정지 전정에 대한 수체반응의 생리적 이해	2015
36	2015년 친환경 농업연구센터 교육 13 [인삼 전공]	토양의 수분량 판단	2015
37	2015년 친환경 농업연구센터 교육 13 [사과 전공]	수형구성을 위한 정지,전정 요령	2015
38	2015년 친환경 농업연구센터 교육 12 [사과 전공]	수형구성을 위한 정지,전정 요령	2015

번호	교육명	주요내용	활용년도
39	2015년 삼척시 농업기술센터 배양기 설치관련 컨설팅 3	삼척시 농업기술센터 신설 미생물 배양기 설치 관련 자문 컨설팅	2015
40	2015년 친환경 농업연구센터 교육 14 [인삼 전공]	일복 내 습도유지방법 이해	2015
41	2015년 친환경 농업연구센터 교육 12 [토마토 전공]	엽채류, 근채류 시설재배장식과 품종선택	2015
42	2015년 친환경 농업연구센터 교육 14 [사과 전공]	과원관리를 위한 전기,전자 및 기계의 관리방법	2015
43	2015년 친환경 농업연구센터 교육 15 [인삼 전공]	논의 및 기말평가	2015
44	2015년 친환경 농업연구센터 교육 13 [토마토 전공]	온실 자동화 시스템의 종류와 특징	2015
45	2015년 친환경 농업연구센터 교육 15 [사과 전공]	논의 및 평가	2015
46	2015년 삼척시 농업기술센터 배양기 설치관련 컨설팅 4	삼척시 농업기술센터 신설 미생물 배양기 설치 관련 자문 컨설팅	2015
47	2015년 친환경 농업연구센터 교육 14 [토마토 전공]	기말 시험	2015
48	2015년 삼척시 농업기술센터 배양기 설치관련 컨설팅 5	삼척시 농업기술센터 신설 미생물 배양기 설치 관련 자문 컨설팅	2015
49	2015년 삼척시 농업기술센터 배양기 설치관련 컨설팅 5	삼척시 농업기술센터 신설 미생물 배양기 설치 관련 자문 컨설팅	2015
50	2015년 영월군 미생물 배양기 컨설팅 2	영월군 미생물 배양기 컨설팅 / 밸브점검 후 교체	2015
51	2015년 영월군 미생물 배양기 컨설팅 3	영월군 미생물 배양기 컨설팅 / 커플링 갈림현상 발견 후 누수현상 점검	2015
52	2015년 영월군 미생물 배양기 컨설팅 4	영월군 미생물 배양기 컨설팅 / 하부밸브에서 누수현상 발생 후 교체, 시트 교체	2015
53	2015년 친환경 농업연구센터 교육 16 [인삼 전공]	병해충의 진단, 진단의 종류, 진단기술 이해, 병해충의 일생, 병해충의 이해	2015
54	2015년 친환경 농업연구센터 교육 15 [토마토 전공]	토양관리의 정의와 필요성	2015
55	2015년 친환경 농업연구센터 교육 16 [사과 전공]	식물병리학 개념, 식물병원체	2015
56	2015년 친환경 농업연구센터 교육 17 [인삼 전공]	인삼 예정지의 토양 병해충 방지 실습	2015
57	2015년 친환경 농업연구센터 교육 16 [토마토 전공]	토양과 토성의 특성	2015

번호	교육명	주요내용	활용년도
58	2015년 친환경 농업연구센터 교육 17 [토마토 전공]	토양과 토성의 특성	2015
59	2015년 친환경 농업연구센터 교육 17 [사과 전공]	식물병리학 개념, 식물병원체	2015
60	2015년 친환경 농업연구센터 교육 18 [인삼 전공]	병해충 전반의 개념	2015
61	2015년 친환경 농업연구센터 교육 18 [사과 전공]	주요 곰팡이병의 병징, 생태 및 방제법	2015
62	2015년 친환경 농업연구센터 교육 18 [토마토 전공]	토양의 채취 및 분석	2015
63	2015년 친환경 농업연구센터 교육 19 [인삼 전공]	병해충의 발생과정 이해	2015
64	2015년 친환경 농업연구센터 교육 19 [토마토 전공]	보수력, 보비력, 공극률	2015
65	2015년 친환경 농업연구센터 교육 19 [사과 전공]	주요 곰팡이병의 병징, 생태 및 방제법	2015
66	2015년 친환경 농업연구센터 교육 20 [인삼 전공]	병징의 특징	2015
67	2015년 친환경 농업연구센터 교육 21 [인삼 전공]	병해진단 현장실습 실시	2015
68	2015년 친환경 농업연구센터 교육 20 [사과 전공]	주요 곰팡이병의 병징, 생태 및 방제법	2015
69	2015년 친환경 농업연구센터 교육 20 [토마토 전공]	산도, 무기이온과 염류 패턴	2015
70	2015년 친환경 농업연구센터 교육 21 [토마토 전공]	미생물과 부식물의 관계	2015
71	2015년 친환경 농업연구센터 교육 21 [사과 전공]	주요 곰팡이병의 병징, 생태 및 방제법	2015
72	2015년 친환경 농업연구센터 교육 22 [인삼 전공]	병해충 예방 미생물의 종류	2015
73	2015년 친환경 농업연구센터 교육 22 [사과 전공]	바이러스, 바이로드의 병징, 생태 및 방제법	2015
74	2015년 친환경 농업연구센터 교육 22 [토마토 전공]	연작장해 원인 및 원인별 대응 기술	2015
75	2015년 친환경 농업연구센터 교육 23 [인삼 전공]	1차 전염원 제거 방법	2015
76	2015년 친환경 농업연구센터 교육 23 [사과 전공]	곤충의 분류, 형태, 생태	2015

번호	교육명	주요내용	활용년도
77	2015년 친환경 농업연구센터 교육 24 [토마토 전공]	토양개량방법	2015
78	2015년 친환경 농업연구센터 교육 23 [토마토 전공]	연작장해 원인 및 원인별 대응 기술	2015
79	2015년 친환경 농업연구센터 교육 24 [인삼 전공]	인삼병해의 물리적, 화학적 방제법,	2015
80	2015년 친환경 농업연구센터 교육 25 [인삼 전공]	인삼병해 방제용 농약의 특징	2015
81	2015년 친환경 농업연구센터 교육 26 [인삼 전공]	인삼뿌리병해 피해증상	2015
82	2015년 친환경 농업연구센터 교육 25 [토마토 전공]	식물생육에 필요한 무기원소의 종류	2015
83	2015년 친환경 농업연구센터 교육 24 [사과 전공]	사과원의 주요 해충과 익충의 종류와 생태적 특성	2015
84	2015년 시군 미생물실무자 유용미생물 교육 1	유용미생물의 특징 및 활용방법에 대한 교육	2015
85	2015년 친환경 농업연구센터 교육 27 [인삼 전공]	인삼의 친환경 병방제 이해	2015
86	2015년 친환경 농업연구센터 교육 26 [토마토 전공]	생체막, 대사작용, 양분흡수 특성	2015
87	2015년 친환경 농업연구센터 교육 25 [사과 전공]	주요 해충의 발생예찰 방법	2015
88	2015년 친환경 농업연구센터 교육 28 [인삼 전공]	방제시기, 처리방법, 농약잔류 문제해결의 이해, 병해충 방제 실제	2015
89	2015년 친환경 농업연구센터 교육 27 [토마토 전공]	비료의 종류, 비료의 배합방법과 효과	2015
90	2015년 친환경 농업연구센터 교육 26 [사과 전공]	주요 해충별 살충제의 선택과 방제법	2015
91	2015년 친환경 농업연구센터 교육 29 [인삼 전공]	약제 내성, 혼합 및 교호처리, 작물별 수확방법 이해	2015
92	2015년 시군 미생물실무자 유용미생물 교육 2	유용미생물의 특징 및 활용방법에 대한 교육	2015
93	2015년 영월군 미생물 배양기 컨설팅 5	영월군 미생물 배양기 컨설팅 / 오염발생 문제 확인, 프로그램 설정	2015
94	2015년 친환경 농업연구센터 교육 27 [사과 전공]	주요 해충의 생태적 방제법과 물리적 방제법	2015
95	2015년 친환경 농업연구센터 교육 28 [토마토 전공]	시비량 산출법을 활용한 적정 시비량 산출방법	2015

번호	교육명	주요내용	활용년도
96	2015년 시군 미생물실무자 유용미생물 교육 3	유용미생물의 특징 및 활용방법에 대한 교육	2015
97	2015년 시군 미생물실무자 유용미생물 교육 4	유용미생물의 특징 및 활용방법에 대한 교육	2015
98	2015년 시군 미생물실무자 유용미생물 교육 5	유용미생물의 특징 및 활용방법에 대한 교육	2015
99	친환경 농가 대상 유용미생물 및 친환경 농산물 인증 관련 컨설팅	친환경 농가 대상 유용미생물 및 친환경 농산물 인증 관련 컨설팅	2016
100	각 시군 미생물 배양기 컨설팅	각 시군 미생물 배양센터방문	2016
101	2016년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 1	강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용미생물(고초균, 광합성균, 유산균, 효모균 등) 관련 교육 및 기술 지도를 진행.	2016
102	2016년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 2	강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용미생물(고초균, 광합성균, 유산균, 효모균 등) 관련 교육 및 기술 지도를 진행.	2016
103	2016년 미생물 대량배양법 및 배양시스템 점검 및 컨설팅 1	각 시군 미생물 배양센터방문	2016
104	2016년 미생물 대량배양법 및 배양시스템 점검 및 컨설팅 2	각 시군 미생물 배양센터방문	2016
105	2016년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 3	강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용미생물(고초균, 광합성균, 유산균, 효모균 등) 관련 교육 및 기술 지도를 진행.	2016
106	2016년 미생물 대량배양법 및 배양시스템 점검 및 컨설팅 3	각 시군 미생물 배양센터방문	2016
107	2016년 미생물 대량배양법 및 배양시스템 점검 및 컨설팅 4	각 시군 미생물 배양센터방문	2016
108	2016년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 4	강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용미생물(고초균, 광합성균, 유산균, 효모균 등) 관련 교육 및 기술 지도를 진행.	2016
109	2016년 미생물 대량배양법 및 배양시스템 점검 및 컨설팅 5	배양기 pH센서, DO 센서 점검 및 광합성균 오염 여부 교육	2016

번호	교육명	주요내용	활용년도
110	2016년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 5	강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용미생물(고초균, 광합성균, 유산균, 효모균 등) 관련 교육 및 기술 지도를 진행.	2016
111	2016년 미생물 대량배양법 및 배양시스템 점검 및 컨설팅 6	횡성군농업기술센터 북부지소를 방문하여 배양기 점검 / 배양액 관리요령 및 최적처리법 교육	2016
112	친환경 농업인 대상 친환경농업 교육	농업 생태계	2016
113	2016년 친환경 농업인대상 친환경농업 교육 1	친환경농업의 이해	2016
114	2016년 미생물 대량배양법 및 배양시스템 점검 및 컨설팅 7	삼척시 농업기술센터를 방문하여 배양기 점검 / 배양액 관리요령 및 최적 처리법 교육	2016
115	2016년 미생물 대량배양법 및 배양시스템 점검 및 컨설팅 8	횡성군 농업기술센터 동부지소를 방문하여 배양기 점검	2016
116	2016년 친환경 농업인대상 친환경농업 교육 2	친환경농업의 효과	2016
117	2016년 친환경 농업인대상 친환경농업 교육 3	친환경농업의 개념	2016
118	친환경 농업을 수행하고 있는 농업경영인 대상 유용미생물 교육	친환경 유용미생물의 종류 및 이해	2016
119	2016년 친환경농업연구센터 유용미생물 교육 1	친환경 유용미생물의 종류 및 이해	2016
120	2016년 친환경 농업인대상 친환경농업 교육 4	유기농업과 토양개량제	2016
121	2016년 친환경농업연구센터 유용미생물 교육 2	친환경 유용미생물의 종류 및 이해	2016
122	2016년 친환경 농업인대상 친환경농업 교육 5	친환경 유기농업의 기초	2016
123	2016년 친환경농업연구센터 유용미생물 교육 3	친환경 유용미생물의 종류 및 이해	2016
124	2016년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 6	강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용미생물(고초균, 광합성균, 유산균, 효모균 등) 관련 교육 및 기술 지도를 진행.	2016
125	2016년 친환경 농업인대상 친환경농업 교육 6	농업경영관리의 이해	2016

번호	교육명	주요내용	활용년도
126	2016년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 7	강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용미생물(고초균, 광합성균, 유산균, 효모균 등) 관련 교육 및 기술 지도를 진행.	2016
127	2016년 친환경 농업인대상 친환경농업 교육 7	유기농업 비료 제작 실습	2016
128	2016년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 8	강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용미생물(고초균, 광합성균, 유산균, 효모균 등) 관련 교육 및 기술 지도를 진행.	2016
129	2016년 친환경농업연구센터 유용미생물 교육 4	친환경 유용미생물의 종류 및 이해	2016
130	지자체 미생물 배양센터의 효율적 운영 프로그램 교육 및 협의	고품질 미생물제 보급을 위한 고농도 배양기술 습득교육	2016
131	2016년 친환경 농업인대상 친환경농업 교육 8	전체 워크숍	2016
132	2016년 시군 미생물실무자 유용미생물 교육 1	유용미생물의 특징 및 활용방법에 대한 교육	2016
133	2016년 친환경농업연구센터 유용미생물 교육 5	친환경 유기농산물의 이해	2016
134	2016년 친환경 농업인대상 친환경농업 교육 9	발근생리	2016
135	2016년 시군 미생물실무자 유용미생물 교육 2	유용미생물의 특징 및 활용방법에 대한 교육	2016
136	2016년 친환경 농업인대상 친환경농업 교육 10	유기농업과 잡초 관리	2016
137	2016년 시군 미생물실무자 유용미생물 교육 3	유용미생물의 특징 및 활용방법에 대한 교육	2016
138	2016년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 9	강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용미생물(고초균, 광합성균, 유산균, 효모균 등) 관련 교육 및 기술 지도를 진행.	2016
139	2016년 친환경 농업인대상 친환경농업 교육 11	친환경 토양관리	2016
140	2016년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 10	강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용미생물(고초균, 광합성균, 유산균, 효모균 등) 관련 교육 및 기술 지도를 진행.	2016

번호	교육명	주요내용	활용년도
141	2016년 친환경 농업인대상 친환경농업 교육 12	식물호르몬	2016
142	2016년 시군 미생물실무자 유용미생물 교육 4	유용미생물의 특징 및 활용방법에 대한 교육	2016
143	2016년 친환경 농업인대상 친환경농업 교육 13	육묘상의 생리장해 이해	2016
144	2016년 친환경 농업인대상 친환경농업 교육 14	배양기 현장 실습	2016
145	2016년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 12	강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용미생물(고초균, 광합성균, 유산균, 효모균 등) 관련 교육 및 기술 지도를 진행.	2016
146	2016년 시군 미생물실무자 유용미생물 교육 5	유용미생물의 특징 및 활용방법에 대한 교육	2016
147	2016년 친환경 농업인대상 친환경농업 교육 15	유기농산물인증	2016
148	2016년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 13	강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용미생물(고초균, 광합성균, 유산균, 효모균 등) 관련 교육 및 기술 지도를 진행.	2016
149	2016년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 14	강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용미생물(고초균, 광합성균, 유산균, 효모균 등) 관련 교육 및 기술 지도를 진행.	2016
150	서춘천 농협 배양기 컨설팅	미생물 배양액 오염 문제해결 및 시험가동	2015
151	인삼 재배 전공 교육(29회)	묘포설치, 파종 방법 교육	2015
152	토마토 재배 전공 교육(27회)	시설재배의 의의와 역사	2015
153	사과 재배 전공 교육(27회)	과원조성을 위해 필요한 각 작업단계의 개념	2015
154	신설 미생물배양센터 배양기 설치관련 컨설팅(8회)	삼척시 농업기술센터 신설 미생물배양기 설치 관련 자문 컨설팅	2015
155	2015년 친환경 농업연구센터 교육 4 [인삼 전공]	무기양분의 흡착과 미생물	2015
156	2015년 친환경 농업연구센터 교육 5 [토마토 전공]	온실용 커튼의 용도	2015
157	2015년 친환경 농업연구센터 교육 12 [인삼 전공]	시기별 수분 공급량 이해	2015

번호	교육명	주요내용	활용년도
158	2015년 친환경 농업연구센터 교육 13 [사과 전공]	수형구성을 위한 정지,전정 요령	2015
159	영월군 미생물 배양기 컨설팅(5회)	신설 미생물 배양시스템 점검 컨설팅	2015
160	시군 미생물실무자 유용미생물 교육(5회)	유용미생물의 특징 및 활용방법에 대한 교육	2015
161	2015년 친환경 농업연구센터 교육 28 [토마토 전공]	시비량 산출법을 활용한 적정 시비량 산출방법	2018
162	2016년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 11	강원도 내 각 시·군 농업기술센터 및 친환경 실천 농가 대상 유용미생물(고초균, 광합성균, 유산균, 효모균 등) 관련 교육 및 기술 지도를 진행.	2016
163	친환경 농가 대상 유용미생물 및 친환경 농산물 인증 관련 컨설팅	친환경 농가 대상 유용미생물 및 친환경 농산물 인증 관련 컨설팅	2017
164	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 1	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017
165	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 2	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017
166	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 3	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017
167	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 4	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017
168	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 5	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017
169	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 6	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2018

번호	교육명	주요내용	활용년도
170	2017년 강원도 내 미생물 배양소를 보유한 지자체 방문 1	강원도 내 미생물 배양소를 보유한 지자체 방문에 전문가의 자문을 받아 기술 컨설팅 및 유용미생물 최적 처리법 교육을 홍보	2017
171	2017년 강원도 내 미생물 배양소를 보유한 지자체 방문 2	강원도 내 미생물 배양소를 보유한 지자체 방문에 전문가의 자문을 받아 기술 컨설팅 및 유용미생물 최적 처리법 교육을 홍보	2017
172	2017년 강원도 내 미생물 배양소를 보유한 지자체 방문 3	강원도 내 미생물 배양소를 보유한 지자체 방문에 전문가의 자문을 받아 기술 컨설팅 및 유용미생물 최적 처리법 교육을 홍보	2017
173	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 7	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017
174	2017년 강원도 내 미생물 배양소를 보유한 지자체 방문 4	강원도 내 미생물 배양소를 보유한 지자체 방문에 전문가의 자문을 받아 기술 컨설팅 및 유용미생물 최적 처리법 교육을 홍보	2017
175	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 8	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017
176	2017년 강원도 내 미생물 배양소를 보유한 지자체 방문 5	강원도 내 미생물 배양소를 보유한 지자체 방문에 전문가의 자문을 받아 기술 컨설팅 및 유용미생물 최적 처리법 교육을 홍보	2017
177	2017년 강원도 내 미생물 배양소를 보유한 지자체 방문 6	강원도 내 미생물 배양소를 보유한 지자체 방문에 전문가의 자문을 받아 기술 컨설팅 및 유용미생물 최적 처리법 교육을 홍보	2017
178	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 9	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017

번호	교육명	주요내용	활용년도
179	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 11	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017
180	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 10	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017
181	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 12	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017
182	2017년 시군 미생물실무자 유용미생물 교육 1	유용미생물의 특징 및 활용방법에 대한 교육	2017
183	농업용 유용미생물의 특징 및 배양방법	미생물의 기능	2017
184	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 13	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017
185	ICT를 이용한 미생물 활용	ICT를 이용한 미생물 활용	2017
186	2017년 시군 미생물실무자 유용미생물 교육 2	유용미생물의 특징 및 활용방법에 대한 교육	2017
187	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 14	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017
188	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 15	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017
189	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 16	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017
190	친환경농업을 위한 유용미생물교육	발효공정의 이해	2017

번호	교육명	주요내용	활용년도
191	2017년 시군 미생물실무자 유용미생물 교육 3	유용미생물의 특징 및 활용방법에 대한 교육	2017
192	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 17	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017
193	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 18	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2018
194	곤충과 미생물	곤충적용분야	2017
195	2017년 시군 미생물실무자 유용미생물 교육 4	유용미생물의 특징 및 활용방법에 대한 교육	2017
196	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 19	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017
197	미생물 배양관리 및 미생물 활용	미생물 배양(중균관리 및 분석)	2017
198	2017년 시군 미생물실무자 유용미생물 교육 5	유용미생물의 특징 및 활용방법에 대한 교육	2017
199	2017년 친환경 실천농가 대상 교육 및 컨설팅 20	지속가능한 친환경농업을 만들기 위해 유용미생물을 사용하여 각 농민들에게 전문적인 지식을 전파하기위해 교육 및 컨설팅을 진행	2017

바. 기타 (예시)

- 해당 사항 없음

제 6장 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 해당 사항 없음

제 7장 연구개발결과의 보안등급

- 해당 사항 없음

제 8장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장 비 현황

- 해당 사항 없음

제 9장 연구개발과제 수행에 따른 연구실 등의 안전조치 이행실적

가. 연구실 안전 점검 체계 및 실시

1) 실험실 안전 점검 체계



나. 실험실 안전점검

1) 실험실 일상 점검

- 연구활동 시작 전 각 실험실 책임자가 육안으로 장비 및 시설을 매일 점검.

2) 실험실 정기 점검

- 내용 : 과학기술분야 실험실의 일반안전, 산업위생, 전기안전, 소방안전, 화공안전, 가스 안전, 기계안전, 생물안전 등의 전문분야 점검
- 실시 : 매월 각 실험실을 주기적으로 점검

3) 실험실 정밀안전진단

- 대상 : 연구개발활동에 유해화학물질 관리법 제2조 7호에 따른 유해화학물질을 취급하는 연구실, 산업안전보건법 제39조에 따른 유해인자를 취급하는 연구실, 과학기술부령이 정하는 독성가스를 취급하는 연구실.(우리대학은 실험실관리등급 A, B급에 해당하는 실험실)
- 실시 : 매년 1회 이상 외부 전문기관에 의뢰하여 실시 후 중대결함이 발견될 경우, 교육과학기술부에 보고.

※ 관리위험등급의 지정

- A등급 : 가연성가스, 인화성 시약, 유해화학물질, 다량의 폐액배출, 독극물, 생물 및 동물, 방사성 동위원소, 위험성이 높은 기계장비가 설치된 실험실
- B 등급 : 일반시약, 소규모 인화성 시약, 불연성가스, 소량의 폐수발생실험실
- C 등급 : 이화학실험을 수행하지 않는 전기, 설계, 컴퓨터 관련 실험실

다. 교육 훈련

- 1) 개요 : 실험실의 안전을 확보하고 종사자의 건강을 보호하여 실험 및 연구활동에 기여하고, 또한 연구실 안전환경조성에 관한 법률에 의거하여 실험실의 환경안전교육이 의무화됨에 따라 이공계열 대학원생 및 관련자 전원은 환경안전교육을 의무적으로 수강
- 2) 교육대상 : 교수, 대학원생, 소속연구원, 전문직원, 실험참여 학부생 등
- 3) 교육실시
 - 1학기 : 법정 교육시간인 6시간을 온라인 및 집합교육으로 실시.
 - 2학기 : 법정 교육시간인 6시간을 온라인 교육으로 실시.

1. 연구실 안전점검(연안법 제8조)

가. 연구실 안전점검

- 1) 개요 : 연구실 내 잠재되어 있는 위험요소의 발견과 개선대책의 수립
- 2) 점검대상 : 이공계대학 소속 연구·실험실
- 3) 실시방법
 - 연구실 안전점검 전문기관에 용역 의뢰
 - 산업위생, 화공, 기계, 전기, 소방 각 분야별 전문가 투입, 점검실시
- 4) 점검내용
 - 연안법 제7조에서 정한 사항의 점검
 - 연구실 실내 공기질(VOC, CO, CO₂, DUST 등) 측정

나. 일상점검

- 1) 개요 : 연구활동종사자가 연구개발활동 시작 전 연구실 안전상태를 점검
- 2) 실시시기 : 매일
- 3) 점검대상 : 이공계대학 소속 연구·실험실
- 4) 실시방법
 - 연구활동종사자가 연구실의 상태에 대하여 육안점검 실시
 - 점검결과를 안전점검 일지에 기록 보관(2년간)
- 5) 점검내용
 - 연구에 활용되는 실험기자재 및 실험재료의 이상유무, 보호구 점검

2. 교육·훈련(연안법 제18조)

가. 개요 : 연구실 안전관리에 관한 정보를 연구활동종사자에게 제공

나. 교육방법

- 1) 자체 안전교육 실시요청
 - 교육구분 : 신규 채용에 따른 교육·훈련
 - 교육방법
 - 시설관리과에서 제작·배부하는 교재 배부
 - 책임교수 주도 하 안전교육 실시
 - 자체교육결과를 안전교육대장에 기록하여 보관
 - 교육대상 : 신규채용 등에 따른 교육·훈련 대상자
- 2) 온라인 안전교육 실시
 - 교육구분 : 정기 교육·훈련
 - 교육방법
 - 강원대학교 연구실 안전정보시스템에 안전교육 콘텐츠 탑재하여 학기별 6시간의 교육 과정 제공
 - 연구활동종사자는 연간 12시간의 온라인 교육 이수하여야 함
 - 교육대상 : 연구실에 소속된 상시 연구활동종사자(대학생, 대학원생, 연구원)
- 3) 집합식 안적교육
 - 교육구분 : 정기 교육·훈련

- 교육방법
 - 연구실 안전교육 전문기관에 용역 의뢰하여 전문 안전교육 실시
- 교육대상
 - 신규 채용 등에 따른 교육·훈련, 정기 교육·훈련 미이수자
 - 대학원생, 연구원 등 고위험·고난이도의 연구를 수행하는 연구 활동종사자

참고) 법정 교육이수 시간

구 분	교육대상	교육시간
신규 채용 등에 따른 교육·훈련	신규채용된 연구활동종사자 (계약직 포함)	8시간 이상
	신규 연구개발활동에 참가하는 연구활동종사자 (대학생·대학원생 등)	2시간 이상
정기 교육·훈련	연구활동종사자	반기별 6시간 이상
특별안전 교육·훈련	중대 사고 발생 및 연구내용 변경 등 필요성이 인정되는 연구활동종사자	2시간 이상

3. 건강검진(연안법 제18조)

- 가. 개요 : 연구활동종사자의 건강상태 확인 및 건강증진에 기여
- 나. 대상 : 화학약품을 취급하거나 바이러스 등에 노출될 위험성이 있는 연구활동종사자
- 다. 검진내용 : 일반건강검진

일반검진 항목(기본검사)	
1. 검진상담료	7. HDL콜레스테롤
2. 흉부방사선검사	8. 트리글리세라이드
3. 요단백	9. AST(SGOT)
4. 혈색소	10. ALT(SGPT)
5. 식전혈당	11. 감마지피티
6. 총콜레스테롤	12. 혈청크레아티닌

4. 연구활동종사자 보험(연안법 제14조)

- 가. 개요 : 연구활동종사자가 연구개발활동(교과과정 포함)중에 발생한 사고로 인한 부상·질병·신체장해·사망 등 생명 및 신체상의 손해를 보상하는 보험
- 나. 보험명 : 연구활동종사자 보험
- 다. 가입대상
 - 강원대학교 춘천캠퍼스 연구활동종사자
 - 국적, 소속, 전공, 신분, 연령 등과 관계없이 본교가 인정하는 연구 활동종사자

라. 보상범위

구 분	지 급 사 유	보 장 한 도
사 망	사망·질병 사망·치료 중 사망	1억원
후유장애	교육과학기술부장관이 최근 고시한 『연구실사고에 대한 보상기준』 이상 지급	1억원
부 상	교육과학기술부장관이 최근 고시한 『연구실사고에 대한 보상기준』 이상 지급	1천만원

※ 1인당 보상금액이며, 사고인원수 또는 사고발생수에 제한을 두지 않음

5. 기타 연구실에서 실행 가능한 안전조치 사항

- 안전보건표지 부착(산업안전보건법 참조)
- 연구수행에 필요한 안전보호구 확보
- 연구실 실정에 맞는 안전수칙 마련
- 연구실 안전확보를 위한 정기회의 개최 및 결과 기록 보관
- 물질안전보건자료(MSDS) 비치 및 관련 교육 실시
- 고압가스 및 화학약품, 실험폐기물 안전 취급·보관 대책 마련 등

제 10장 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문/ 특허/ 기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	코드번호		D-12	
						Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	논문	cDNA cloning and molecular characterization of a defensin-like antimicrobial peptide from larvae of <i>Protaetia brevitarsis seulensis</i> (Kolbe)	강원대학교 2세부	제 1저자	Springer Science	-	2016.03.12	중복사사	SCI
2	논문	Identification of immunity-related genes in the larvae of <i>Protaetia brevitarsis seulensis</i> (coleoptera: cetoniidae) by a next generation sequencing-based transcriptome analysis	강원대학교 2세부	제 1저자	Journal of insect science	0.843	2015.10.08	단독사사	SCIE급 3회인용
3	논문	Ultrastructural characterization of hemocyte in larvae of <i>protaetia bervitarsis seulensis</i>	강원대학교 2세부	제 1저자	journal of applied entomology	0.31	2017.09.01	중복사사	비SCI
4	논문	Morphological and immunological characterization of hemocyte in larvae of <i>Pentodon quadridens bidentulus</i>	강원대학교 2세부	제 1저자	journal of applied entomology	0.31	2017.09.01	단독사사	비SCI
5	논문	시설 내 오이 (<i>Cucumis sativus</i> L.) 재배 중 Penthiopyrad 및 Pyriofenone의 잔류 특성과 생산단계 잔류 허용기준 설정	강원대학교 3세부	제 1저자	한국환경농학회	-	2017.03.29	중복사사	-

제 11장 기타사항

- 해당 사항 없음

제 12장 참고문헌

	코드번호	D-14
1) Buying conventional foods or going organic?, 2017, 한독사회과학논총 27(1): 3-30, Holger Preut		
2) 유기농 중심의 친환경농업 확대, 2017, 국립농산물품질관리원		
3) 생리활성 미생물을 이용한 큰느타리(새송이)버섯 속성재배 기술, 2009, 한국버섯학회지 7(2):77, 김민근		
4) 대학생들의 친환경농산물에 대한 가치관이 친환경적 태도 및 구매의도간의 구조적 영향관계, 2017, Culinary Science & Hospitality Research 23(2): 45-55, 김종석, 이종호		
5) 유기농업의 기술 수요와 기술개발 로드맵, 2013, KREI 농정포커스 65: 1-25, 김창길, 정학균, 문동현		
6) 친환경농업 육성 및 농업환경자원 관리 강화 방안, 2016, 농림수산식품기술기획평가원		
7) 토양유래 유용미생물의 길항효과 및 작물생육촉진 효과, 2017, 강원대학교, 김현승		
8) 생물비료[미생물제제] 관련 산업 및 R&D 동향, 2012, 농림수산식품기술기획평가원		
9) 미생물혼합제제 처리가 토양의 미생물상과 화학적 특성 및 시설채소 생육에 미치는 영향, 2012, 한국환경농학회지 31(4):368-374, 류일환, 정수지, 한성수		
10) 유용미생물(EM, Effective Microorganisms)의 활용현황, 2011, KSBB Journal 26(5): 365-373, 문윤희, 이광배, 김영준, 구윤모		
11) 소비자의 환경적 관심과 유기농식품 소비행동: 소비자의 지각된 시장영향력이 조절효과와 매개효과, 2017, 한국지역사회생활과학회지 28(2): 313-328, 박명은, 유요안, 유소이		
12) 한국 친환경농업의 특성, 2003, 경북대학교 지리학과, 오남현		
13) 모제제 시용이 고추묘 소질에 미치는 영향, 2006, 한국생물환경조절학회 15(1): 287-290, 정성우, 허무룡, 정문도, 방중춘		
14) 2016 국내외 친환경농산물 생산실태 및 시장전망, 2016, KREI 농정포커스 131:1-24, 정학균, 이해진, 김창길		
15) 피마자유와 양명아주 추출물을 원료로 하는 유기농업자재 유효성분의 열 안정성 평가, 2017, 한국환경농학회지 36(1):17-21, 최근형, 정동규, 진초롱, 노진호, 박병준, 문병철, 김진호		

8. 뒷면지

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농생명산업기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.