

최 종
연구보고서

미생물 제재를 이용한
배 재배기술 확립

Establishment of Microbe involved
Culture Technique for Pear Tree

연구기관
전 남 대 학 교

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “미생물제재를 이용한 배재배기술 확립” 과제의
최종보고서로 제출합니다.

2004 년 12월 일

주관연구기관명 : 전남대학교

총괄연구책임자 : 박 찬 영

연 구 원 : 은 중 방

연 구 원 : 한 현 각

연 구 원 : 한 신

연 구 원 : 김 동 진

연 구 원 : 김 성 희

연 구 원 : 류 매

위탁연구기관 : 전남 농업 기술원

위탁연구책임자 : 나 양 기

요 약 문

I. 제 목

미생물 제제를 이용한 배 재배기술 확립

II. 연구개발의 목적 및 필요성

우리나라 산업은 중화학공업으로부터 시작하여 정보산업을 지나 바이오로 생물 산업을 향해 치닫고 있다. 이 추세는 우리나라 뿐만아니라 전세계적인 추세이기도 하다. Standard & Poors 사에서 발간하는 의사결정지수(DRI, Decision Resource Index) 는 2000년대 생물 산업 연평균 증가율을 20%대로 전망하고 있다.

<95-2005중 산업별 성장률전망(% , DRI)>

생물산업	반도체	메카트로닉스	신소재	자동차	항공기
22.1	9.4	9.1	6.9	3.5	1.4

이 생물 산업이 주도하는 사회를 우리는 바이오 사회라 칭한다.

2000년 2월 22일 산업자원부 생활산업국 화학생물 산업과에서 발간한 “21세기 바이오社會(Biosociety) 具現을 위한 生物産業發展 綜合對策”을 보면 의약, 환경, 화학, 식품, 전자, 에너지, 농업, 해양 등 다양한 분야에 생물체가 가지고 있는 기능과 정보를 활용하여 인류가 필요로 하는 유용 물질을 생산하는 산업을 생물 산업이라 정의하면서, 향후 이 기술을 정보기술과 결합하여 우리가 우리 자신을 새로운 세계로 이끌어 나아 갈 것을 강조하고 있다. 우리가 앞으로 살아가는 사회는 바이오 사회가 될 것임을 강조하는 대목이다.

농업은 생물 산업에서 주인의 자리를 차지한다. 우리는 앞으로 수십 년 내에 과거 천년간 지내왔던 전통 농업 기술에 근본적인 변화를 가져와 그 기술로 우리가 사는 식품, 의약품, 농약에 변화를 가져와야 할 책임을 지고 있다.

농업은 생물체를 기르는 생물산업의 주인이다. 농업이야말로 21세기 생물 산업을 이끌어 갈 주인공이다.

본 연구는 이러한 21세기 근본 변화에 농업분야가 선도적으로 대응하는 방안 중 하나를 찾아내려는 시도이다. 가축 분뇨는 버리기에는 아까운 유기질 비료이다. 그러나 방치되면 자연을 오염시킨다. 우리 주변에는 이와 같이 자연을 오염시키는 많은 물질이 연일 배출되고 있으며, 이 물질들을 처리하는데 막대한 비용을 지불하고 있다. 그러나 이런 물질들 중에는 생명공학 기법을 적용하면 유용한 비료나 농약을 대체할 수 있는 것들이 비일비재하다. 조미료 공장이나 제당 공장 폐액은 고품질 유기물을 다량 함유하고 있다. 이 폐액도 하천에 버리면 수질 부영양화가 일어나 생태계에 치명타를 입힌다. 본 연구는 이러한 물질들 즉 버리면 환경 오염 물질이지만 활용하면 값 싼 비료가 될 수 있는 물질들을 찾아내어 이들을 이용한 고품질 비료를 우리 손으로 만들자는 것이다. IMF이래 우리나라에는 많은 외국계 농약 회사가 들어와 있음을 우리는 알 수 있다. 이들이 생산하는 합성 농약들은 오늘은 독성이 없다고 말하지만 DDT나 BHC가 그랬듯이 이들이 생산 판매하는 합성 농약들은 언젠가 그것들이 또 다른 환경 호르몬을 유발하지 않는다고 장담할 수 없다. 자연 생태계는 스스로를 치유하면서 자연 자원을 순환시킨다. 이러한 자연에 존재하는 미생물들이 자신들의 기호에 맞게 자연계에 존재하는 물질을 변환시키는 기능을 이용하여, 우리는 버리면 오염물질이 되는 물질들

을 고품질 비료나 농약 대체물로 생산한다면, 지금은 자본이나 기술력에
 뒤져 빼앗긴 우리들의 농업용 농약이나 비료를, 우리 손으로 우리 작물

바이오사회(Biosociety)
<input type="checkbox"/> 신세계창조(Remaking The World) <ul style="list-style-type: none"> · 환경과 산업의 동시 발전, 인간수명의 연장, 질병으로부터의 해방, 식량문 제 해결 · 생물공학기술과 정보통신기술의 융합
<input type="checkbox"/> 인간자신을 변화(Transforming Ourselves) <ul style="list-style-type: none"> · Human Genome 연구의 완성으로 유전질환 진단·치료
<input type="checkbox"/> 가치관, 철학의 변화(From Alchemy to Algeny) <ul style="list-style-type: none"> · 물리, 화학에 의한 자연계의 기술적 조작에서 생물체의 조작을 통해 자연의 힘 을 통제 · 생명체의 유전자 조작문제가 사회적 윤리문제로 대두될 우려



생물산업 Impact
<input type="checkbox"/> 21C 기술혁명과 사회적 변혁을 주도 <ul style="list-style-type: none"> ○ 향후 수십 년 동안 인류생활에 과거 천년의 변화를 능가하는 근본적 인 변화 유발
<input type="checkbox"/> 산업발전의 Paradigm 변화 <ul style="list-style-type: none"> ○ 의약, 환경, 화학, 식품, 전자, 에너지, 농업, 해양 등 많은 산업 부문의 기반기술로 자리 잡아 21C 산업발전의 새로운 동인으로 작용
<input type="checkbox"/> 인류의 지속적 발전 실현 <ul style="list-style-type: none"> ○ 환경오염으로 인한 지구성장의 한계를 극복하고 인류의 지속적 발전이 라는 기본이념 실현

에 맞게 그것도 자연 법칙에 어울리는 것을 만들 수 있는 기술을 우리가 개발하여 우리 농민들에게 이전하여야 함은 아무리 강조해도 지나침이 없을 것이다.

흔히들 말하기를 생물 산업은 원재료가 비싸고, 기술이 어려워서 많은 비용이 든다고 말한다. 미국에서 인간 유전자 분석에 엄청난 비용을 들이는 것들이 그것을 증명한다. 그러나 우리는 우리 실정에 맞는 우리가 할 수 있는 많은 기술들을 개발 할 수가 있다. 본 연구 과제가 추구하는 바는 이러한 성격을 가진 것이다.

우리 고유의 전통 식품 부산물인 막걸리 찌꺼기는 우리만 가진 자원이며, 그 찌꺼기에는 죽었거나 살아있는 누룩곰팡이 잔재 물과 쌀 또는 옥수수 같은 미 발효 곡물이 다량 들어 있다. 이 곰팡이는 곡물을 알코올로 전환시키는 동안에는 다른 미생물이 활동을 못하도록 항균 물질을 내는 훌륭한 농약 대체물을 만들지만 알코올 발효과정을 지나면 산으로 변하는 과정이 시작된다. 이 결과물은 아세트산이 되는 것인데 이것을 유기질 비료로 그대로는 쓸 수 없다. 그대로는 산성이 되어 토양을 산성화시키거나 다른 유기질과 섞이면 섞인 유기질도 산 폐시키는 미생물에 오염되어 버린다. 그러나 알루미늄 제조과정 부산물은 강 알카리성이면서 그 분말은 미생물들 특히 환원성 미생물들이 잘 번식하도록 도와준다. 따라서 이 분말과 산성화된 폐액을 섞으면 훌륭한 비료원으로서의 역할을 할 것이다. 혹시 살아 있을지도 모르는 누룩 곰팡이나 또는 공기 중에 떠도는 환원성 미생물들은 이 폐액 스러지를 훌륭한 유기질 비료로 전환시킬 수도 있다. 이 분말은 강 알카리성이지만 인산비료 생산공장 부산물인 인산을 이용하여 중화시키면 비용을 줄일 수 있을 것이다.

과수는 잎을 통해 햇볕을 받아 탄소 동화작용을 하여 공기 중에 있는 이산화탄소를 동화시킨다. 이 동화작용이 잘 되기 위해서는 적당한 온도

와 적당한 햇빛이 필요한데 제철공장 부산물 고로 스톱그나 마그네슘 코아 생산공장 부산물 소프트 페라이트 등이 이와 같은 온도 조절과 광량 조절 능력이 있으므로 이 부산물들을 과수 잎에 살포하면 과일 수확이 좋아진다는 보고가 있으며, 또한 이 부산물들은 미생물 활성을 억제하거나 촉진하는 조절기능이 있으므로 이들 부산물도 과수용 비료에 이용할 필요가 있다.

그러나 궁극적으로 농약이 없이도 잘 자라게 하려면 유용한 미생물들이 왕성하게 번식할 수 있는 여건이 마련되어야한다. 이 여건은 항균성 미생물을 증식시키고 이 미생물이 토양에 뿌려질 퇴비와 잎에 뿌려질 분말에 함께 섞여져 뿌려지면 마련될 수 있다.

따라서 이상으로 설명한 연구의 필요성들을 몇 가지 측면에서 아래에 다시 정리하였다.

가) 기술적인 측면

- 현재 판매 사용되는 농약과 비료는 화학적 합성품이 주류이며 이들을 자연 순화적인 것으로 대체할 필요가 있음
- 막걸리 찌꺼기나 가축 분뇨는 훌륭한 농약 대체물을 만들 수 있는 생물 산업 공장이며, 원료가 될 수 있음
- 이 원료가 제몹을 다하기 위해서는 공장 부산물을 원료로 하는 미생물 생리 활성 촉진제가 개발되어야 함
- 알루미늄 공장 부산물이 그 역할을 할 것이 기대되지만 그 자체로는 알칼리 독성이 있으므로 중화 처리와 고온로에서 소성하여 독성을 제거할 필요가 있음
- 중화제로는 인산비료공장 부산물 인산이 사용될 수 있음
- 과수 잎에 살포될 탄소동화작용 촉진용 분말은 제철공장 부산물이 이용될 수 있음

- 이들 미생물이 왕성하게 자랄 수 있도록 대량 증식 조건에 필요한 위
원료들의 배합비와 처리 방법이 필요함

이상의 측면들이 증명된다면 우리 실정에 맞는 무공해 무 농약 과수 재
배 기술이 완성될 것이며 이 기술은 우리만이 갖는 고유 기술이 될 것
이므로 외국 농약이나 비료에 의존하지 않을 원천 기술을 확보하는 것
이라 사료됨

나) 경제 · 산업적 측면

- 본 과제에서 사용할 원료들은 생산 공장에서 처리비를 지불하면서 가
져가기를 원하는 것들이므로 원료 값이 거의 없는 경제성 있는 무 농
약 영양제가 될 것이 확실함
- 산업적으로는 산업 폐기물이나 다름없는 원재료들이 다시 활용되어
유용한 농산물을 생산하는데 쓰일 것이므로 부산물 재활용 산업에 활
성을 불어 넣을 것임
- 이 값싼 원료를 축산 농가에 보급하면 자가 유기질 비료를 생산할 수
있게 되므로 축산 농가 소득에도 도움을 줄 것임
- 과수 증산과 과일 품질이 좋아질 것이므로 농가 소득에 도움을 줄 것
이 확실함

다) 사회 · 문화적인 측면

- 농촌에서 농가가 직접 비료를 제조하게 되므로 다양한 농가 부업이
이루어질 수 있음
- 농가에서도 연구하는 풍토가 이루어질 수 있음
- 이 기술을 응용하여 채소나 사료 제조 등에 활용 될 수 있으므로 문
화적으로는 농촌문화를 이끌어 나가는 견인차 역할을 할 것임

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

과수재배에 유용한 미생물을 선정하여 이들이 과수원에 비료로 사용될 때 그 기능을 다할 수 있는 방법을 완성하였다. 미생물 선정 기준은 식물 뿌리 외부에 정착하여 토양에 있는 질소와 인산 분을 토양 고체로부터 용해시켜 식물에 무기 영양원을 제공하는 황소비단 무늬버섯 균사 일명 *Suillus bovinus* 균사와, 또한 낙엽과 같은 식물성 섬유소를 분해하며 다른 미생물들이 발생하는 것을 강력히 억제하는 것으로 입증된 *Streptomyces griseoviridis* 등 기능성 미생물을 위주로 선정하였다. 본 연구에서 사용한 미생물들과 이들을 선정한 이유를 다음에 설명하였다.

가) 미생물 선정 배경

- *Pseudomonas sp.* : pyrroloquinoline quinone이 존재하면 PVA(폴리비닐 알코올)나 분해하기 어려운 유기물을 분해하여 탄소 자원으로 이용한다.
- *Bacillus subtilis* : 광합성 관련 유전자 protox를 가진 이것은 biosurfactant(미생물 계면활성제)를 생산하여 중금속 독작용을 억제하고, 알칼리성 프로테아제를 생산하여 토양속의 고분자 단백질을 작은 분자 아미노산으로 분해한다.
- *Trichoderma harzianum* : 겨울철 채소작물 온실재배에서 살균제에 대해 저항성이 큰 잣빛 곰팡이 병에 탁월한 효과를 보이고 있으며 마늘 독병. 탄저병. 잎 곰팡이 병. 벼 문고병 등에도 살균제 효과를 보인다. 또한 토양 속에서 유해세균이 번식하는 것을 억제한다.
- *Aspergillus oryzae var oryzae* : 벧짚에서 발견된 이것은 대두나 콩과 식물에 기생하여 항산화 물질을 생산한다.

tyrosinase(티로시나아제), protyrosinase, urease(우레아제), protease(프로테아제)등 효소를 분해한다.

- *Streptomyces griseoviridis* : 항균 작용이 뛰어난 방선균으로서 대부분의 Bacillus와 유사하게 항생물질 생산에 의해 목적하는 병원균을 억제한다. 이 미생물은 초기에 보리밭에서 발견되었고, 김정우(1984) 외 2명에 의해 유기물분해를 촉진하고 항균물질을 생성한다고 증명되었으며 토양속의 유해세균의 번식을 억제한다.
- *Suillus bovinus*(*Suillus bovinus* KCTC 6360) : 소나무나 침엽수 숲에 자라서 탄소 자원을 공급하는 버섯 균. Jan V.등에 의해 *Suillus bovinus* KCTC 6360은 너도밤나무 잎 쓰레기를 분해하여 질소와 인을 방출하고, 다른 균에 비하여 너도밤나무 잎 쓰레기의 높은 분해율을 가진다고 증명되었고 또한 포스파타아제(인산 가수분해효소), 프로테아제(단백질 분해효소), 셀룰라아제(섬유소 분해 효소) 등의 효소도 생산되고 특히 포스파타아제 생산량이 제일 많다고 증명된 이 미생물을 섬유소, 단백질, 인산가수분해용 시험대상으로 선정하였다

위 6가지 미생물들이 혼합되어 배나무 밑거름으로 사용될 때 이들이 살아남아 제 역할을 다하려면 이들을 충분히 배양하여 활발한 상태로 과수원 토양 속에서 살수 있게 해야 한다.

선정된 미생물들은 인산공장 부산물인 인산으로 중화시킨 알루미늄 공장 부산물(일명 홍진, red mud)과 함께 과수원에 시비하면 미생물제제는 과수 생리활성을 촉진시켰다.,이 부산물은 미생물이 번식하는 영양원이

없으므로 가지치기에서 남은 배나무 가지를 분쇄한 것과 톱밥 그리고 미강유 폐기물과 함께 혼합되어 온도 20도에서 30도 사이인 상온에서 충분히 숙성시킨 후에 과수원에 밑거름으로 사용할 미생물 제재를 제조하였다.

나) 기능세라믹분말

한국 종합화학 부산물 홍진(red mud) 10g을 1L 증류수에 넣어 수소이온 농도를 측정하면 pH가 10 근처로 나온다. 이 홍진은 그대로는 강한 알칼리성이므로 그대로 사용할 수 없다. 따라서 남해화학 요소 비료 부산물인 인산용액을 사용하여 pH가 6.5로 약 산성이 될 때까지 중화한 다음 증류수로 씻어 건조하였다. 이 건조물에 2산화망간 산화아연 그리고 산화마그네슘을 조성비를 달리하여 1,350℃에서 4시간 소성하면 검붉은 빛을 띠는 덩어리가 생성되는데 이것을 볼밀 분쇄기로 분쇄하여 분말을 제조하였다. 이렇게 제조된 분말을 **기능세라믹분말, functional ceramic powder**,라 명명하였다. 이 세라믹은 소성할 때 넣는 산화망간 산화아연 그리고 산화 마그네슘함량에 따라 그 생리활성 기능이 차이가 난다. 그러나 그 생리활성 기능을 현지 과수원에서 확인하려면 오랜 기간이 걸리고 또한 그 현지 실험을 하더라도 계절에 따라 작물 재배시험을 해야 하므로 본 연구에서는 계절을 비슷하게 재현할 수 있는 인공 재배시험장을 만들었다.

다) 영양톱밥

미생물제재를 현장에 직접 적용하려면 생산량을 늘려야한다. 많은 양을 고체배양 하기 위해 사용한 배지는, 과수원에서 가지치기에서 나온 가지

를 분쇄한 것과 재재소의 폐 톱밥을 대략 1:1 용량비율로 혼합한 것에 무게비로 이 톱밥 100: 수분 60: 미강 20을 잘 섞어서 멸균기로 혼입한 후 60℃에서 5시간 고압증기멸균기(AUTO Clave, KMC 1221, Vision CO. LTD. Korea, 사진 1 참조)로 상압살균하고, 일부는 온도121℃에서 60분 고압스팀 살균하여 미생물 제재용 영양원 재료로 사용하였다. 이것을 영양톱밥이라 명명하였다.

라) 미생물제재 제형화

미생물제제는 위 영양톱밥 100그램에 기능세라믹분말을 0.5g을 넣고 60℃에서 3시간 상압 살균한 다음 여기에 활성이 왕성한 순수 미생물 *Suillus bovinus*와 *Pseudomonas sp*, *Trichoderma harzianum*, *Streptomyces griseoviridis* 배양액 각 50ml를 동시에 넣어 혼합하고 25℃ 정도 실온에서 이 제재 20kg을 통기성 포대에 넣어 15일간 배양하였다. 이렇게 포대채로 배양한 포대는 그대로 과수원 밑거름 재료로 사용하였다.

마) 인공재배시험실 축조 및 운전

미생물제제를 개발하는 기간을 단축하기위한 설비로 인공재배시험실을 축조하였다. 이 시험실은 크기가 가로 세로 높이 각각 3.65, 2, 2.5m이고 입구는 이중으로 문을 만들어 열고 닫을 때의 열손실을 되도록 적게 하도록 하였다. 이 시험실은 1.5마력(CRAQ-0150, COPELAND, USA) 압축기와 증발기로 온도가 내려가게 하였고, 6kW(3kW×2) 가열 능력을 가진 SiC 발열체로 가열하였으며, 물 분무량이 시간당 400cc(H-656, LG, Korea)인 것을 가습기 두 대로 가습하였다. 냉각기와 가열기는 한 틀 속

에 있고 이들과 시험실 공간 사이에는 공기 순환용 팬이 있어서 온도나 습도 조절을 하도록 운전하면 팬이 돌아서 이 시험실내 공기가 강제로 대류 된다. 온도, 습도, 그리고 조도를 조절하는데 핵심이 되는 제어판은 시험실 외부에 설치하여 시험실에 들어가지 않고도 시험실 내부의 온습도와 밝기를 제어판을 조절하는 컴퓨터로 조정하였다.

바) 인공재배시험실내 속성 미생물제재 효과시험

산화망간 산화아연 그리고 산화 마그네슘함량에 따라 그 생리활성 기능이 차이가 나는 여러 가지 기능세라믹분말 원료 중에서 미생물 제재용으로 제일 좋은 것을 고르기 위해 이 인공재배시험실에서 오습도와 빛의 세기를 조절하면서 토마토와 고추 그리고 오이를 이 시험실에서 재배하고 그 결과를 감안하여 최적 기능세라믹분말 원료함량을 구하였다. 여기서 결정된 기능세라믹조성은 재배포트에 첨가되어 이 시험실에서 시험하였다. 이 시험에서 선정되었던 6개 미생물이 이들 과채류생장에 미치는 영향을 조사하고 그 결과를 기반으로 미생물제재에 참가할 미생물을 선발하여 결정하였다.

사) 미생물제재 현지과수원 적용시험 및 생육조사

위와 같이 결정되어 선발된 순수 미생물은 기본 미생물 *Suillus bovinus*에 첨가될 미생물로서

① pyrroloquinoline quinone이 존재하면 PVA(폴리 비닐 알코올)나 분해하기 어려운 유기물을 분해하여 탄소 자원으로 이용하는 *Pseudomonas* sp,

② 겨울철 채소작물의 온실재배에서 살균제에 대한 저항성 발생으로 심

각한 문제가 되고 있는 잣빛 곰팡이 병에 탁월한 효과를 보이고 있는

Trichoderma harzianum

③항균 작용이 뛰어난 방선균으로서 대부분의 Bacillus와 유사하게 항생 물질 생산하여 목적하는 병원균을 억제하는 *Streptomyces griseoviridis* 들이었다.

따라서 *Suillus bovinus*를 비롯한 이들 3가지 배양액 각 50ml를 영양톱밥 1000g에 기능세라믹 5g 혼합한 비료 기제에 첨가하여 현지과수원 2곳에 밑거름으로 사용하고 배나무 과중 초장 등 생육 상태와 병충해 발생 실태를 이 제제 없이 재배한 과수와 비교 분석하였다, 그 결과로부터 이 미생물 제제가 배나무 재배에 탁월한 효과를 나타낸다는 결론을 도출하였다.

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

이 미생물 제제는 농민이 직접 맞춤형비료를 생산할 수 있는 기술이므로 이 기술을 농어촌 마을 단위조합과 농협 같은 단체에 이전하는 방법과 기업체에 기술이전 실시계약을 맺는 방안 등이 강구 되어야 할 것이다. 그러기 위해서는 농업과학기술원에서 제조기술 및 품목 허가를 취득하는 등 앞으로 지속적인 2년간의 재배시험 결과가 필요하므로 이에 대한 추가 지원이 절실히 요구되는 바이다.

SUMMARY

I. Name of project

Establishment of Microbe involved Culture Technique for Pear Tree

II. Objectives and importance of the project

Microbial fertilizing is available everywhere on our nature but the utilization of the resource by plants is restricted. The pear tree needs nutrients from nature, beneath ground soil air and sunlight etc. The objectives of this work are to provide the natural feeds to them the pear tree or plants in the farming field. In this work, the supplying the natural nutrients to the plants is from some microorganism. Some microbes aid the dissolution of the mineral materials. The material they can't absorb themselves some microbes can liquefy. Biological action underneath the soil is enormous but there are few microbes on the soil field, which act for the instructive metabolism to fruit tree. Nevertheless we can't call them the microbes where the tree wants when it wants the action. The present work searches the method to aid it. Searching the helper from the soil is so hard that this work assumes that the soil has its own helper if it's not enough.

The natural and friendly existence being searched is urgent because human being delivers too much artificial fertilizer that cause to catalyze the solidification of the soft ground soil. On top of it, man spreads unnecessary insecticides herbicides over the plants. The

results of the over action of the man draw many malfunctioning in the soil mechanisms and the plant metabolism, particularly to the pear tree that we intend to manipulate.

The taste of the Korean pear is sweet delicious, aromatic when eating, soft and fibrous. For the preciousness the pear grows under over fertilized bactericides fungicides and herbicides. It is unavoidable to develop a clue to solve the pear tree's pain.

III. Work scope of the research being developed

The word 'Microbe involved culture' in the present work means the culture is kind of natural and environmentally friendly. The work scope of the present work is to develop the microbial fertilizer that can improve soil quality in culturing fruits trees especially the pear tree. To do this we selected few strains those can help in dissolving inorganic nitrous and phosphorous compound of the soil to fertilization use. The most important organism of them is *Suillus bovinus* -the mushroom mycelium. To work with the mycelium a deuteromycetes *Trichoderma harzianum* has to be added. Since *Trichoderma* species grow and proliferate best when there are abundant healthy roots, they have evolved numerous mechanisms for both attack of other fungi and for enhancing plant and root growth. The species possesses innate resistance to most agricultural chemicals, including fungicides, although individual strains differ in their resistance.

The other strains will be selected to help the action the main species *Suillus bovinus* does to plant. They are two fungi *Streptomyces griseoviridis* and *Aspergillus oryzae*, and two bacteria *Pseudomonas spp.* and *Bacillus subtilis*.

All of the above six kinds of strains shall be cultured together in a mixture of nutritional sawdust with functional ceramic powder. The functional ceramic powder must have a physiological activity to the plant.

IV. Results of the research with comments for practical application

The pear tree improved its root activity greatly by the aid of the microbial fertilizer developed in this work. The improve magnitude was 1.7 times of the untreated root. The best inclusion composition in this fertilizer enhanced the growth of tomato pepper and cucumber too. The preparation was easy to anyone do if we provide both the functional ceramic powder and the mixture of the strain

CONTENTS

Submission documents -----	1
Synopsis -----	2
I. Name of project -----	2
II. Project Objectives and needs -----	2
III, Work scope and performance of the work -----	8
IV, Suggestion of applications of the work -----	13
SUMMARY -----	14
I. Name of project -----	14
II. Objectives and importance of the project -----	14
III. Work scope of the research being developed -----	15
IV. Results of the research with comments for practical application -----	16
Contents -----	19
Chapter 1 Introduction of this project -----	21
Chapter 2 State of the art -----	23
Chapter 3 Performance of the work and its results -----	25
3.1 Selection of microbes appropriate to microbial fertilizer --	25
3.1.1 Reasons of strains acceptance -----	26
3.1.2 Activation and culturing of the strains selected -----	28
3.1.3 Compatibility test for strain <i>Suillus bovinus</i> with others -----	37
3.1.4 Growing ability of strains in basal medium PDA other than its own -----	43
3.2 Fundamental search for microbial fertilizer development--	52
3.2.1 Treatment of the substrates for the microbial fertilizer -----	52
3.2.2 Effect of the functional ceramic powder on the	

microbial growth -----	55
3.3 Construction of artificial growth control room	
and simulated botanical growth -----	65
3.3.1 Artificial room and its operation -----	65
3.3.2 Preparation of raw materials for cultivation	
in the artificial room -----	105
3.3.3 Growth test in the controlled room -----	105
3.4 Suggestions for mass production of microbial fertilizer	
and distribution on the orchard field of pear -----	119
3.4.1 Suggestions for the mass production of the	
fertilizer -----	119
3.4.2 Practical fertilization in orchard of pear tree -----	134
3.5 Field test of the microbial fertilizer -----	147
3.5.1 Field environment and orchard management -----	147
3.5.2 Growth analysis for the microbial fertilizer effect --	149
Chapter 4 Degree of accomplishment and contribution to	
the related field of interest -----	156
Chapter 5 Plan for application of present work -----	157
Chapter 6 Foreign information observed in this perform -----	158
Chapter 7 References -----	159

목 차

제 출 문	1
요 약 문	2
I. 제 목	2
II. 연구개발의 목적 및 필요성	2
III. 연구개발 내용 및 범위	8
IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의	13
Summary	14
I. Name of project	14
II. Objectives and importance of the project	14
III. Work scope of the research to being developed	15
IV. Results of the research with comments for practical application	16
Contents	17
목차	19
제 1 장 연구개발과제의 개요	21
제 2 장 국내외 기술개발 현황	23
제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과	25
3.1 미생물 비료 제재 원료 미생물 선발 및 그 결과	25
3.1.1. 균주 선발 배경	26
3.1.2. 균주 배양 그리고 활성화	28
3.1.3. 균주 <i>Suillus bovinus</i> 에 대한 다른 균주 간 성장 호환성	37
3.1.4. 각 균주별 미생물 제재용 기본배지 PDA 적응성	43
3.2 미생물 제재 실용화를 위한 기초 실험	52

3.2.1	미생물 제제 실용화를 위한 부재료 처리	52
3.2.2	미생물 성장에 미치는 기능성세라믹분말 효과시험	55
3.3	인공 재배 시험장 축조 운전 및 모의 재배 시험	65
3.3.1	인공 재배 시험장과 그 운전	65
3.3.2	인공재배시험장 용 시료 준비	105
3.3.3	인공재배시험실내 성장시험	105
3.4	미생물제제 대량생산 방법 제안과 배 과수원 현지 살포	119
3.4.1	미생물 제제 대량 생산 제안	119
3.4.2	배 과수원 현지시비	134
3.5	미생물제제 현지 시비 시험	147
3.5.1	현지시험장소 환경과 배나무 관리	147
3.5.2	미생물 제제 시험 살포와 생육 조사	149
3.5.2	현지 시험살포에 따른 종합 의견	154
제 4 장	목표달성도 및 관련분야에의 기여도	156
제 5 장	연구개발결과의 활용계획	157
제 6 장	연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	158
제 7 장	참고문헌	159

제 1 장 연구개발과제의 개요

우리나라 산업은 중화학공업으로부터 시작하여 정보산업을 지나 바야흐로 생물 산업을 향해 치닫고 있다. 이 추세는 우리나라 뿐만아니라 전세계적인 추세이기도 하다. Standare & Poors 사에서 발간하는 의사결정지수(DRI, Decision Resource Index)에서는 2000년대 생물산업 연평균 증가율이 20%대일 것으로 전망하고 있다. 이 생물산업이 주도하는 사회를 우리는 바이오 사회라 칭한다.

2000년 2월 22일 산업자원부 생활산업국 화학생물 산업과가 발간한 “21세기 바이오社會(Biosociety) 具現을 위한 生物産業發展 綜合對策”을 보면 의약, 환경, 화학, 식품, 전자, 에너지, 농업, 해양 등 다양한 분야에 생물체가 가지고 있는 기능과 정보를 활용하여 인류가 필요로 하는 유용 물질을 생산하는 산업을 생물산업이라 정의하면서, 향후 이 기술을 정보기술과 결합하여 우리가 우리 자신을 새로운 세계로 이끌어 나갈 것을 강조하고 있다. 우리가 앞으로 살아가는 사회는 바이오 사회가 될 것임을 강조하는 대목이다. 농업은 생물산업에서 주인의 자리를 차지한다. 우리는 앞으로 수십 년 내에 과거 천년간 지내왔던 전통 농업 기술에 근본적인 변화를 가져와 그 기술로 우리가 사는 식품, 의약품, 농약에 변화를 가져와야 할 책임을 지고 있다.

농업은 생물체를 기르는 생물산업의 주인이다. 농업이야말로 21세기 생물산업을 이끌어 갈 주인공이다. 본 연구는 이러한 21세기 근본 변화에 농업분야가 선도적으로 대응하는 방안 중 하나를 찾아내려는 시도이다. 가축 분뇨는 버리기에는 아까운 유기질 비료이다. 그러나 방치되면 자연을 오염시킨다. 우리 주변에는 이와 같이 자연을 오염시키는 많은 물질이 연일 배출되고 있으며, 이 물질들을 처리하는데 막대한 비용을 지불

하고 있다. 그러나 이런 물질들 중에는 생명공학 기법을 적용하면 유용한 비료나 농약을 대체할 수 있는 것들이 비일비재하다. 조미료 공장이나 제당 공장 폐액은 고품질 유기물을 다량 함유하고 있다. 이 폐액도 하천에 버리면 수질 부영양화가 일어나 생태계에 치명타를 입힌다.

본 연구는 이러한 물질들 즉 버리면 환경오염 물질이지만 활용하면 값싼 비료가 될 수 있는 물질들을 찾아내어 이것들을 전환시킨 고품질 비료를 우리 손으로 만들자는 것이다.

이 해법의 하나로 본 연구에서는 배나무 성장에 도움을 주는 유용한 미생물을 선별하고 이들 유용 미생물들이 어떤 영양원에서 잘 성장하는가를 시험하였으며 이 미생물들이 과수원에 뿌려졌을 때 왕성하게 자라는데 필요한 보조제로서

- 알루미늄 공장 부산물을 인산공장 부산물로 중화시켜 만든 생리활성 촉진 기능세라믹과

- 영양원으로 배나무 가지치기 잔재 부산물과 폐 미강을

혼합하여 이들 보조제와 함께 배 과수원에 비료로 사용된 유용한 미생물들이 배나무 유묘 성장과 배 과일 품질 그리고 병충해 발생 등에 미치는 영향을 검토하여 가장 적합한 미생물제제를 제안하였다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

- 1). 선홍석 등(“액침 초미립자 세라믹 충전 포장 필름의 기계적 물성과 광투과성”, 화학공학, 36/2, pp 300-304, 1998)은 초미립자 세라믹 포장 필름은 세라믹 입자 때문에 기계적 물성은 10% 감소하고, 500nm에서 650nm 파장범위에서 가시광선 투과도가 개선되었다고 보고하였다. 이 보고서가 의미하는 바는 가시광선 투과를 조절할 수 있어서 이런 종류의 세라믹 분말이 염록소의 탄소 동화작용을 촉진할 수 있음을 간접적으로 증명한 것을 의미한다.
- 2). 김광섭 등(“은처리 세라믹과 키틴을 첨가한 LDPE 필름을 이용한 딸기의 저장성”, 한국농산물저장유통학회지, 4/3, pp251-258, 1997)은 은 세라믹과 키틴을 첨가한 LDPE 필름의 딸기 저장성이 일반필름보다 증대하였다고 보고하였다. 이것은 이러한 처리를 하므로써 부패성 미생물이 증식을 할수 없다는 것을 증명한 것이다.
- 3). 특허 제0255111 (“신선도 유지형 항균 세라믹스 조성물과 그 제조방법”, 특허 제 0255111, 2000)은 신선도를 유지하는 항균세라믹스 조성물과 그 제조방법에 대하여 특허를 취득하였다. 이 항균세라믹스 조성물은 과일이 생리활성을 잘 유지할 수 있도록 도와주고 있음을 증명한다.
- 4). 선홍석 (“ ϵ -poly-L-Lysine의 생합성과 속성 분리공정개발”, thesis, Chonnam University, 1999)은 ϵ -poly-L-Lysine 을 생합성하였으며, ϵ -poly-L-Lysine 의 분리효율을 증대하는 공정을 모사실험하고, 개발하였다고 보고하였다. 이것은 Streptomyces균이 생산하는 항균 물질로서 이 균이 다른 균들을 지배하여 다른 미생물들이 잘 못자라게하는 기술이 완성되어가고 있음을 뜻한다.

- 5). 일본의 Naoki Negishi와 Makoto Kikuchi는 (“セラミックス遠赤外線放射體とその應用”, セラミックス, No. 4, 310-315, 1988) 원적외선을 방출하는 세라믹 분말이 식물을 자극하여 그 성장을 촉진한다고 보고하였다. 이 세라믹은 페라이트 코아 생산공장 부산물과 같은 조성을 가진 것인데 이 분말이 식물 성장을 촉진할 수 있음을 증명한 것임
- 6). B.S. Jacobson과 D. Branton은 (Science, 195, 302, 1977) 아미노산 중합체인 ϵ -poly-L-Lysine은 인체 적합성(compatibility)을 갖고 있으면서 세균에는 강한 항균력을 나타낸다고 보고하여 약물전달용 담체나 동물세포의 접착제(cell adhesive)로 사용된다고 보고하였다. 다시 말하면, Streptomyces균이 생산하는 물질이 다른 물질에 강력히 달라 붙어서 타 미생물의 활동을 방해한다는 의미이다.

이러한 국내·외 기술현황을 볼 때 본 연구에서는

- 폐자원을 재활용하고 농작물의 특성을 고려한 무공해 과수 재배 기술
- 농약 성분이 없는 자연 친화성 영양원 원천 생산 기술

과 같은 기술을 확보하는 데에는 별 문제가 없다고 생각한다.

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제3장 제 1절 미생물 비료 제재 원료 미생물 선발 및 그 결과

미생물비료는 토양미생물을 순수 배양한 후 종자에 혼합하여 파종하거나, 직접 토양에 접종하는 비료의 일종으로써 직접적으로 작물 생육을 도와주는 비료성분은 없으며 공중질소를 고정하여 작물이 이용케 하는 등의 간접적인 방법으로 작물생육을 증진시킨다.

미생물비료는 화학비료가 토양에 원활히 흡수되지 못하고 염류로 집적되는 현상을 방지하며, 이를 분해하여 토양을 건강하게 하여 작물과 토양의 상호생리작용을 활성화시킨다. 특히, 뿌리 활착에 도움을 주고 미생물이 분비하는 대사산물 때문에 토양이 알갱이로 되는 것을 촉진하여 작물줄기의 도복현상을 막아주고 열매가 커지도록 돕는다.

본 절에서는 토양 분해에 비교적 좋은 특성을 가지는 *Pseudomonas sp.*, *Bacillus subtilis* KCTC 1329, *Streptomyces griseoviridis* KCTC 9780, *Trichoderma harzianum* KCTC 16977, *Aspergillus oryzae* KCTC 6596, *Suillus bovinus* KCTC 6360 등 6가지 토양미생물을 유전자은행(KCTC, Korean Collection For Type Cultures Genetic Resources Center)에서 분양받아

① 이들 균주들을 유전자은행(KCTC)이 추천한 추천배지와, 이들 배지에 토양에 통기성을 주고 식물성장을 촉진시키는 기능성세라믹을 첨가

한 배지,

② 그리고 이들을 밭에 뿌릴 수 있도록 톱밥에 섞어서 만든 톱밥배지 등에서 미생물의 성장을 관찰하였다.

또한 위 배지에서 자라난 미생물을 토양에 혼합한 후 콩을 심고 콩의 성장과 발아율에 끼치는 영향을 관찰하였다.

3.1.1. 균주 선발 배경

가) *Pseudomonas sp.* (*Pseudomonas sp.* KCTC 1640, 일명 *Pseudomonas fluorescences* Migula) :

pyrroloquinoline quinone이 존재하면 PVA(폴리 비닐 알코올)나 분해하기 어려운 유기물을 분해하여 탄소 자원으로 이용한다. 이 미생물은 Barnsley가 (1975) 다핵방향족탄화수소로서 석탄 등을 태울 때 나오는 검댕이 중에 섞여 있는 fluoranthene과 Pyrene을 분해하는 미생물로 밝혀내었던 토양미생물 중 하나로서 토양에 있는 방향족탄화수소를 분해할 목적으로 시험대상 미생물로 선정하였다.

나) *Bacillus subtilis*(*Bacillus subtilis* KCTC 1329) :

광합성 관련 유전자 protox를 가져 biosurfactant(미생물 계면활성제)를 방출하므로 중금속을 감싸서 그 기능을 무력화시키는 해독작용을 한다. 이 미생물은 토양 속에서 흔히 볼 수 있고 최용진(1988) 외 4명에 의해 알칼리성 프로테아제를 생산한다고 증명되었으며 토양속의 고분자 단백질을 작은 분자 아미노산으로 분해할 목적으로 시험대상 미생물로 선정하였다.

다) *Trichoderma harzianum*(*Trichoderma harzianum* KCTC 16977) :

겨울철 채소작물을 온실에서 재배할 때 살균제 저항성이 큰 잣빛 곰팡이 병에 탁월한 효과를 보이고 있으며 마늘 독 병, 탄저병, 잎 곰팡이 병, 벼 문고병 등에도 살균제 효과를 보이는 곰팡이이다. 초기에 보리밭에서 발견된 이 미생물은, 이종수(1995)등이 유기물 분해를 촉진하고 항균물질을 생산하는 것을 증명한 바 있다. 이 균은 토양 속 유해세균 번식을 억제할 목적으로 선정하였다.

라) *Aspergillus oryzae* var *oryzae*(*Aspergillus oryzae* KCTC 6596) :
벼짚에서 발견된 이 균은 대두나 콩과 식물에 기생하여 항산화 물질을 생산한다. tyrosinase(티로시나아제), protyrosinase, urease(우레아제), protease(프로테아제)등 효소를 분비하므로 여러 가지 고분자 단백질 분해용 미생물로 선정하였다.

마) *Streptomyces griseoviridis*(*Streptomyces griseoviridis* KCTC 9780):

항균 작용이 뛰어난 방선균으로서 대부분의 Bacillus와 유사하게 항생물질 생산에 의해 목적하는 병원균을 억제한다. 이 미생물은 초기에 보리밭에서 발견되었고, 김정우(1984)등에 의해 유기물분해를 촉진하고 항균물질을 생성한다고 증명되었으며 토양속의 유해세균의 번식을 억제할 목적 하에 시험대상 미생물로 선정하였다.

바) *Suillus bovinus*(*Suillus bovinus* KCTC 6360) :

소나무나 침엽수 숲에 자라서 탄소 자원을 공급하는 버섯 균이다.이 균은 Jan V.등이 너도밤나무 잎 쓰레기를 분해하여 질소와 인을 생성하여 식물의 성장을 돕는다. 또한 포스파타아제(인산 가수분해효소), 프로테아제(단백질 분해효소), 셀룰라아제(섬유소 분해 효소) 등의 효소도 생산할

는데 특히 포스파타아제 생산량이 제일 크다고 증명되었다. 이 미생물을 섬유소, 단백질, 인산가수분해용 시험대상으로 선정하였다

위 6가지 미생물들은 다양한 분야에서 응용되고 있지만 혼합 균체를 이용하여 배나무 제배에 이용하려면 이들을 배양하고 혼합하여 과수원에 뿌리기에 적합한 형태로 변화시켜야하는 연구가 선행되어야한다. 따라서 다음 항들부터는 이들 균주들을 활성화시키고 서로 상호 보완적인지 상생하는지를 시험하는 대치배양 등 그 시험결과를 설명한다.

3.1.2. 균주 배양 그리고 활성화

위 6가지 미생물 균주는 한국과학기술연구원 생명공학연구소 유전자은행(KCTC, Korean Collection For Type Cultures Genetic Resources Center)에서 분양 받았다. 분양받은 균주는 4℃ 냉장보관하고 3주에 한번씩 계대 배양하여 활성을 유지하였다. 계대 배양은

- ① 공급받아 냉장보관 중인 각 균주 시험관 내 사면 위에 있는 균을
- ② 멸균한 백금이로 일부 떼어 내어 50ml 시험관에 있는 해당 추천 영양액 20ml에 옮기고
- ③이 시험관들을 26℃에서 진탕 배양하면서 눈으로 보아 균이 성장하는 것을 확인하였다.
- ④이들 활성화된 균을 각 영양액에 한천 15~20%를 넣어 용해시킨 후 페트리 접시에서 굳게 한 고형배지에 도말하여 이 접시를 26℃ 인큐베이터로 옮겨 성장이 확인되면 활성화 도니 것으로 간주하였다.

이 활성화된 균주들은 1.5ml 용량의 에펜도르프 튜브에 활성화된 각 균액과 멸균한 글리세린을 각각 0.5ml씩 혼합한 다음 영하 20℃이하에서 냉동 보관하여 영구보존하였다. Table 3.1.2.1에는 이들 배양액 조성

Table 3.1.2.1 Composition of the broth mediums for different microorganisms, in g/L distilled water recommended by KCTC

Nutrients	Pseud. sp.	Bacillus subtilis	Strepto. gr.	Suillus bovinus	Tricho. ha.	Asper. oryzae
Yeast extract			3	3		
Malt extract			3	3	20	
Beef extract	3	3				
Potato extract						24
Glucose					20	
Dextrose			10	10		
Sucrose						20
Peptone	3	3	5	5	1	
pH	6.8	6.8				
Temp. °C	26	30	28	24	24	24
Activation, days	1.0	1.0	2.0	6.0	3.0	5.0
Name of Medium	Nutrient		YM		Malt extract	PS
Agar	15		20		20	20

배양 온도 그리고 배양일 수 등이 정리되었다. 이들 배양액에서 활성화 시키는 방법을 아래 글에 설명하였다.

가) 박테리아 *Pseudomonas sp*와 *Bacillus subtilis*

냉장보관중인 *Pseudomonas sp*와 *Bacillus subtilis*균은 Nutrient agar배지와 액체배지에 접종하여 *Pseudomonas sp*는 온도 26℃, 24시간 인큐베이터에서 배양하였고 *Bacillus subtilis*는 *Pseudomonas sp*와 같이 Nutrient agar배지와 액체배지에 접종하여 온도는 약간 높은 30℃에서 24시간 배양하여 균의 색과 성장상태를 육안으로 관찰하였다.

나)fungi *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus oryzae var oryzae* 와 *Suillus bovinus*

Trichoderma harzianum 는 Malt Extract 배지에 *Aspergillus oryzae var oryzae*는 Potato Sucrose Agar배지에 접종하였고, *Suillus bovinus* 는 YM Agar or YM Broth 배지를 사용하여 *Trichoderma harzianum*는 배양온도 24℃에서 3일간 배양하고, *Aspergillus oryzae var oryzae*는 온도 24℃에서 5일 배양하였다. *Suillus bovinus*는 온도 24℃에서 고체와 액체배지상태에서 성장 상태를 확인하였다

다) *Streptomyces griseoviridis*

방선균인 *Streptomyces griseoviridis*는 YM Agar or YM Broth배지에서 28℃의 온도를 유지하며 2일간 배양하여 균의 상태를 확인하였다

이렇게 액체배지에서 배양하여 활성화 된 균액들은 모든 실험에 사용하는 원 균주 재료로 삼았고 매 실험마다 활성화된 균액들을 사용하였다. 이들 각 균주들이 활성화된 모습은 그림 3.1.2.1부터 6에 나타내었다.

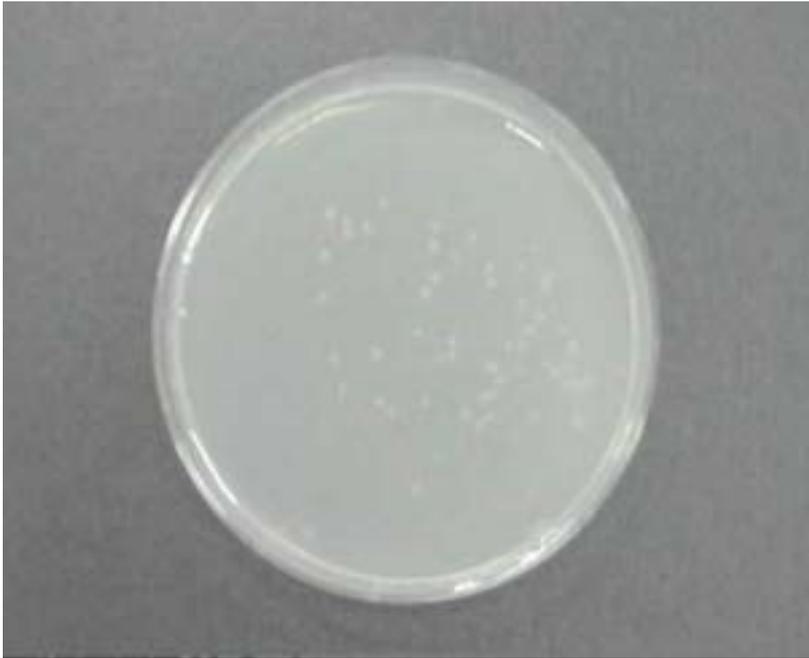


Figure 3.1.2.1 Activated form of *Bacillus subtilis*



Figure 3.1.2.2 Activated form of *Pseudomonas* sp.



Figure 3.1.2.3 Activated form of *Trichoderma harzianum*



Figure 3.1.2.4 Activated form of *Aspergillus oryzae var oryzae*



Figure 3.1.2.5 Activated form of *Suillus bovinus*



Figure 3.1.2.6 Activated form of *Streptomyces griseoviridis*

3.1.3. 균주 *Suillus bovinus* 에 대한 다른 균주 간 성장 호환성

본 항에서는 박테리아와 곰팡이가 서로 상생하는 정도를 대치배양을 통해 검사하여 각 미생물들을 혼합하여 미생물 제재로 사용 할 수 있는지를 검토하였다. 여기서는 황소비단무늬버섯 균인 *Suillus bovinus*가 토양에서 인산 비료를 가용화하는 능력을 이용할 것이므로 *Suillus bovinus*를 위주로 호환성 검사(compatability test)를 대치배양을 통해 시험하였으며 그 결과를 그림 3.1.3.1부터 5까지 정리하였다.



Figure 3.1.3.1 Compatability test of bacterium *Pseudomonas sp* with fungi *Suillus bovinus*



Figure 3.1.3.2 Compatability test of *Trichoderma harzianum* with fungi *Suillus bovinus*.



Figure 3.1.3.3 Compatability test of *Aspergillus oryzae* var *oryzae* with fungi *Suillus bovinus*.



Figure 3.1.3.4 Compatability test of *Streptomyces griseoviridis* with fungi *Suillus bovinus*.

다음은 그 관찰 결과에 대한 설명이다.

가) *Pseudomonas sp*

곰팡이인 *Suillus bovinus*는 성장속도가 박테리아인 *Pseudomonas sp*보다 느리게 자라므로 페트리접시에 3일 먼저 접종하여 배양한 후 *Pseudomonas sp*를 접종하였다. 접종 당시 초기에는 *Pseudomonas sp*가 좀 자라났으나 2일 후에는 colony가 거의 안보일 정도로 *Suillus bovinus*의 균사에 의해 *Pseudomonas sp*의 colony모습은 보이지 않았다. 이것은 곰팡이인 *Suillus bovinus*가 세균인 *Pseudomonas sp*보다 강하다는 것을 보여준다(Fig 3.1.3.1)

나) *Bacillus subtilis*

페트리접시 한쪽에는 *Suillus bovinus*를 접종하였고 다른 한쪽에는 *Bacillus subtilis*를 접종하였다. *Suillus bovinus*는 성장속도가 *Bacillus subtilis*보다 느리기 때문에 페트리접시에서 3일 먼저 배양한 후 *Bacillus subtilis*를 접종하였다. 접종1일째는 *Bacillus subtilis*의 colony형태가 유지되나 2일 후에는 colony가 거의 안보일 정도로 *Suillus bovinus*의 균사에 의해서 잠식되었다. (Fig. 3.1.3.2)

다) *Trichoderma harzianum*

페트리디쉬의 한쪽에 *Suillus bovinus*를 접종시키고 2일 자란 후에 다른 한쪽에 *Trichoderma harzianum*를 접종시켰다. *Trichoderma harzianum*는 곰팡이지만 자라는 속도가 상대적으로 빠르고 3일 후에는 *Trichoderma harzianum* 균사가 이미 많이 퍼져있었다. 3일 지나면서 *Trichoderma harzianum*의 균사는 왕성하게 자라나고 *Suillus bovinus*균사는 거의 보이지 않았다. 이것은 *Trichoderma harzianum* 균사가 *Suillus bovinus* 균사보다 강함을 나타낸다(Fig. 3.1.3.3)

라) *Aspergillus oryzae var oryzae*

*Aspergillus oryzae var oryzae*와 *Suillus bovinus* 는 같은 곰팡이종류이나 *Aspergillus oryzae var oryzae*의 성장속도가 *Suillus bovinus*보다 다소 빠르기 때문에 페트리접시에 *Suillus bovinus*를 1일 배양시킨 후 한쪽에 *Aspergillus oryzae var oryzae*를 접종하였다. 3일 후에 두 가지 균이 서로경계선을 형성하며 *Suillus bovinus*는 흰색을 띄며 자라는 모습을 보였고, *Aspergillus oryzae var oryzae*는 진한갈색을 띄면서 성장하는 모습을 볼 수 있다. 이 결과는 서로 견줄만한 사이임을 보여주는 것이어서 각각은 공존할 수 있다는 의미이기도하다(Fig. 3.1.3.4).

마) *Streptomyces griseoviridis*

페트리접시의 한쪽에 *Suillus bovinus*를 접종시켜 3일 배양 후 다른 한쪽에 *Streptomyces griseoviridis*를 접종시켰다. 3일 후 *Streptomyces griseoviridis*를 접종하고 대치배양 1일째에는 *Streptomyces griseoviridis*가 좀 자라났으나 2일 후에는 colony가 거의 안보일 정도로 *Suillus bovinus*의 균사에 의해서 덮혀졌다. 이것은 세균인 *Streptomyces griseoviridis*가 곰팡이인 *Suillus bovinus*랑 대치배양 시켰을 때 거의 먹혀버린다는 것을 설명한다. 즉 곰팡이가 더 강하다는 것을 보여준다(Fig. 3.1.3.5).

3.1.4. 각 균주별 미생물 제재용 기본배지 PDA 적응성

미생물 제재에 혼합되는 기본 영양원은 미강이 20%이므로 이 미강은 주로 전분과 당분이다. 우리가 사용하려는 미생물 제재용은 이것을 기본으로 할 것이므로 이에 가장 가까운 배지를 PDA(Potatoes Dextrose Agar)로 하여 이를 기본배지(Base medium)라 명명하였다. 이 PDA의 조성을 Table 3.1.4.1에 나타내었다.

Table 3.1.4.1 Composition of base medium, PDA(Potato-Dextrose Agar)

Components	Concentration(g/L)
Potato extract	24.0g
Dextrose	20.0g
Agar	15.0g
Distilled water	1000ml
pH	5.4 - 6.0

가) *Pseudomonas sp.*, *Bacillus subtilis* KCTC 1329 그리고
Streptomyces griseoviridis

Table 3.1.4.1에 제시된 기본배지와 유전자은행에서 추천한 배지(Table 3.1.2.1)에서 한천을 제외하면 액체 배양상태가 된다. *Pseudomonas sp.*, *Bacillus subtilis* KCTC 1329 그리고 *Streptomyces griseoviridis*들이 액체 배양에서 시간이 지나면서 변화하는 수소이온 농도와 건조균체량을 시간 경과에 따라 측정하여 Figure 3.1.4.1과 2에 각각 표시하였다.

유전자은행에서 추천한 배지는 출발 pH가 모두 6.8이고 PDA 기본배지는 5근처로 초기 출발 pH는 다르지만 *Streptomyces griseoviridis*를 제외하면 모두가 성장하는 모습으로 PDA도 기본배지로서 쓸수 있음을 나타낸다. 또한 건조균체량도 이 경향이 있어 PDA가 최적은 아니더라도 미생물 제재의 원료가 될 수 있음을 말해준다.

유전자은행에서 추천한 추천배지에서 *Trichoderma harzianum*은 초기 pH 6.47로부터 곰팡이 균이 자라면서 점점 낮아지다가 72시간 후에 균이 사멸하기 시작하면서 조금씩 증가하는 추세를 보이면서 108시간 때 최종 pH 4.35이고 PDA기본배지에서는 초기 pH 4.9로부터 낮아지다가 다시 증가되는 추세로 108시간 때 pH 5.51였다.

Aspergillus oryzae 는 유전자 은행에서 추천한 추천배지에서는 초기 pH 4.94로부터 균이 자라나면서 84시간 때 최저 pH 4.15이고 균이 사멸되면서 다시 증가하여 108시간 때 pH 4.57였다. PDA기본배지에서도 유전자은행에서 추천한 추천배지와 비슷하였고 초기 pH 4.9로부터 곰팡이가 자라면서 떨어졌고 108시간 때 pH 4.19로 되었다.

*Suillus bovinus*은 유전자은행에서 추천한 추천배지에서 초기 pH 6.87로부

터 72시간 후에는 pH 4.86으로 떨어졌고 다시 차차 증가되면서 108시간 후에는 pH 5.63으로 올라갔다. PDA기본배지에서는 초기 pH 4.9로부터 조금씩 증가하다가 다시 떨어져서 최종 108시간 후에는 pH 5.01로 되었다. 유전자은행에서 추천한 추천배지에서 세균과 방선균은 배양초기에 생장이 왕성하여 *Pseudomonas sp.*, *Bacillus subtilis*는 18시간 때 최고 건조균체량이 각각 2.2mg/ml, 2.3mg/ml이고 *Streptomyces griseoviridis*은 48시간 때 5.94mg/ml였다. PDA기본배지에서도 유전자은행에서 추천한 추천배지와 비슷하게 초기에는 생장이 왕성하여 *Pseudomonas sp.*, *Bacillus subtilis*는 18시간 때 최고의 건조균체량을 각각 2.01mg/ml, 1.93mg/ml이고 *Streptomyces griseoviridis*은 48시간 때 5.42mg/ml였다.

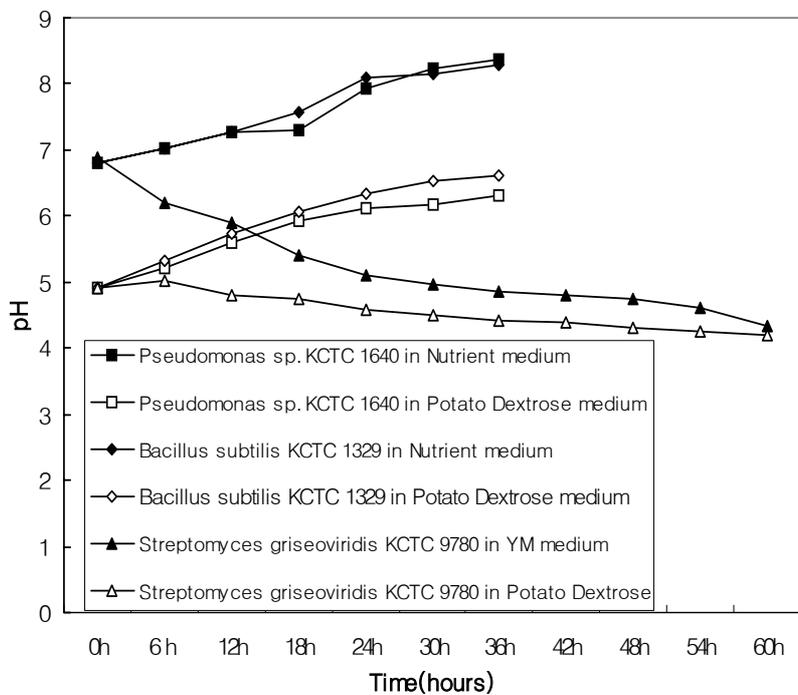


Figure 3.1.4.1 pH change with time culture of *Pseudomonas* sp., *Bacillus subtilis* KCTC 1329 and *Streptomyces griseoviridis*

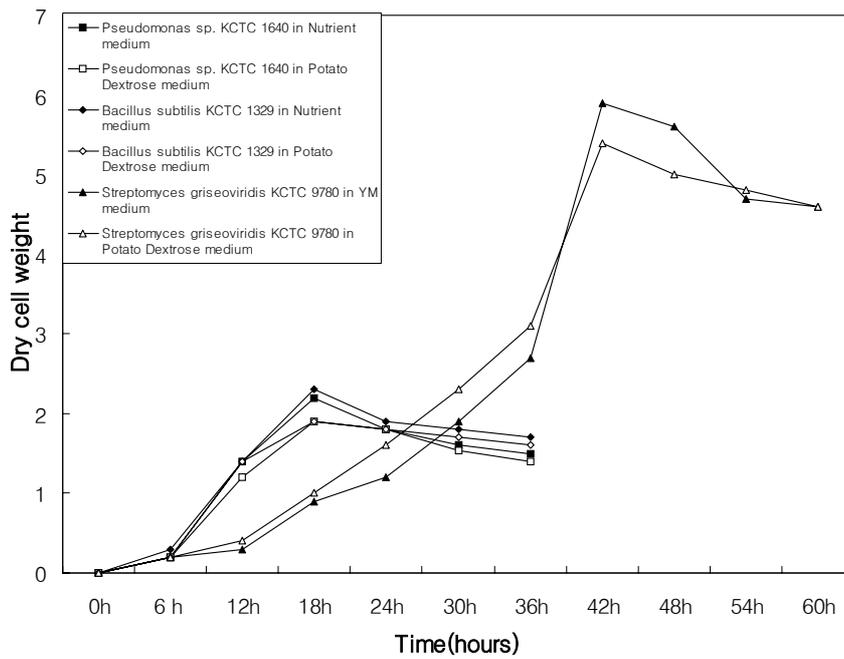


Figure 3.1.4.2 The dry cell weight changes with time culture of *Pseudomonas* sp., *Bacillus subtilis* KCTC 1329 and *Streptomyces griseoviridis*

나) *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus oryzae* 그리고 *Suillus bovinus*들에 대한 기본배지 적응성

Table 3.1.3.1에 제시된 기본배지와 유전자은행에서 추천한 배지(Table 3.1.2.1)에서 한천을 제외하면 액체 배양상태가 된다. *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus oryzae* 그리고 *Suillus bovinus*들이 액체 배양에서 시간이 지나면서 변화하는 수소이온 농도와 건조균체량을 측정하여 **Figure 3.1.4.3**과 **4**에 각각 표시하였다. 따라서 이들 6개 모든 균들이 PDA 기본배지에서도 성장할 수 있는 것을 확인하였으므로 다음 절에서는 이들 미생물들을 적당한 양 혼합하여 미생물 제제의 원료로 이용하고 이 미생물이 과수원에 뿌려질 때 운반체가 될 수 있는 산업부산물 즉 기능 세라믹분말과 이들이 자랄 수 있는 영양톱밥을 첨가하여 사용한 연구 결과를 기술한다.

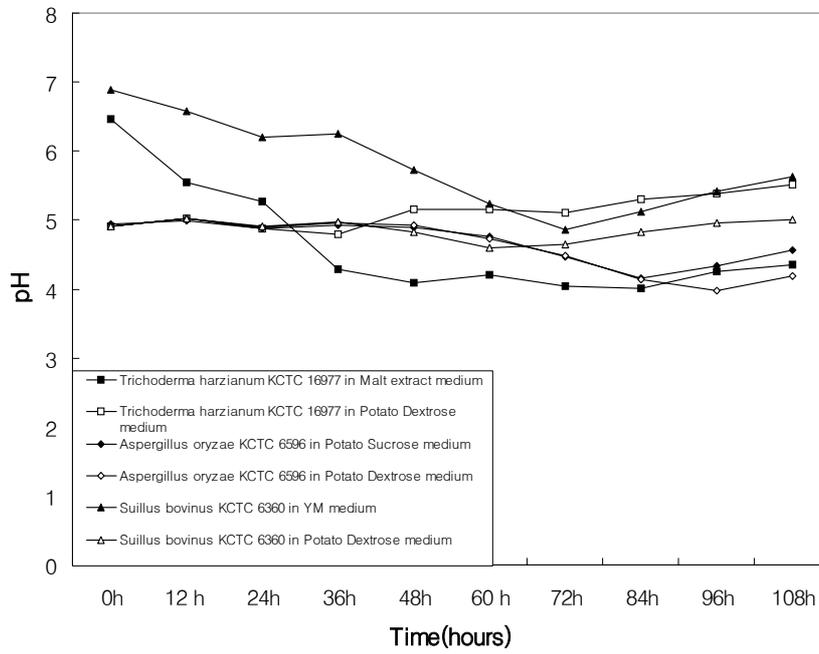


Figure 3.1.4.3 The pH changes with time culture of *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus oryzae* and *Suillus bovinus*

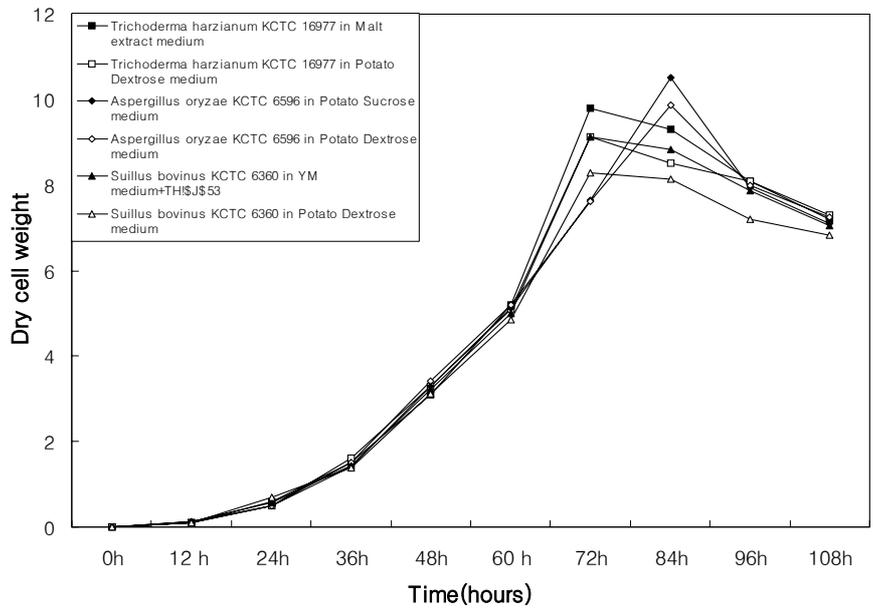


Figure 3.1.4.4 The dry cell weight changes with time culture of *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus oryzae* and *Suillus bovinus*

제3장 제 2절 미생물 제재 실용화를 위한 기초 실험

위절에서는 미생물제재로 유용한 미생물의 활성과 상호호환성을 검토하였다. 본 절에서는 산업 부산물을 처리하여 이것을 위절에서 선별된 균주들이 성장하는 데 도움을 주는가를 검토하고 또한 이 처리된 기능세라믹분말과 톱밥혼합물을 인공 시험장에서 실제로 몇 가지 1년생 식물과 배 유묘에 실험한 결과를 정리하였다.

3.2.1 미생물 제재 실용화를 위한 부재료 처리

가) 미생물 제재 용 기본 토양

화학적 조성이 규산 42.32%, 산화알루미늄 14.76%, 산화철 13.66%, 산화마그네슘 8.63%, 산화칼리 12.97%, 산화칼슘 0.85%인 충남 홍성 산 vermiculite와 모래를 압력솥에서 120℃로 2시간 멸균하여 이 두개를 1:1(v/v)로 골고루 섞어 만든 **사질양토(sand loam)**를 기본 토양으로 하여 시험하였다.

나) 기능세라믹분말

한국 종합화학 부산물 홍진(red mud) 10g을 1L 증류수에 넣어 수소이온 농도를 측정하면 pH가 10 근처로 나온다. 이 홍진은 그대로는 강한 알칼리성이므로 그대로 사용할 수 없다. 따라서 남해화학 요소 비료 부산물인 인산용액을 사용하여 pH가 6.5로 약 산성이 될 때까지 중화한 다음 증류수로 씻어 건조하였다. 이 건조물에 2산화망간 산화아연 그리고 산화마그네슘을 조성비를 달리하여 1,350℃에서 4시간 소성하면 검붉은

빛을 쬐면 덩어리가 생성되는데 이것을 볼밀 분쇄기로 분쇄하여 분말을 제조하였다. 이렇게 제조된 분말(이하 **기능세라믹분말, functional ceramic powder**,라 칭함)은 향후 미생물 제재에 일정비율 혼합되어 사용될 것이다. 이들 무기물 조성을 달리하여 소성한 기능세라믹분말들 명칭을 다음에 분류하여 표로 정리하였다.

Table 3.2.1.1 Calcination composition for functional ceramic powder in weight percents.

Name	Red mud	MnO	ZnO	MgO
A	55	10	16	19
B	47	13	19	21
C	30	25	23	22
D	61	8	15	16

위와 같이 소성 시 각 성분 함량이 다른 기능세라믹 중 생리활성이 가장 좋은 것을 찾기 위해 다음 절에서는 고추와 토마토로 재배 효과 시험을 시행한 결과를 토대로 분말 A를 기능세라믹으로 결정하였다.

다) 미생물 제재 용 톱밥 원료, 영양톱밥

미생물제재를 현장에 직접 적용하려면 생산량을 늘려야한다. 많은 양을 교체배양 하기 위해 사용한 배지는, 과수원에서 가지치기에서 나온 가지를 분쇄한 것과 재재소의 폐 톱밥을 대략 1:1 용량비율로 혼합한 것에 무게비로 이 톱밥 100: 수분 60: 미강 20을 잘 섞어서 멸균기로 혼입한 후 60℃에서 5시간 고압증기멸균기(AUTO Clave, KMC 1221, Vision CO. LTD. Korea, **Figure 3.2.1.1** 참조)로 상압살균하고, 일부는 온도 121℃ 조건으로 60분 고압스팀 살균하여 미생물 제재용 톱밥 원재료 즉 영양톱밥으로 사용하였다.



Figure 3.2.1.1. High pressure autoclave sterilizing sawdust substrate

3.2.2 미생물 성장에 미치는 기능성세라믹분말 효과시험

3장 1절 4항에서는 이들 미생물들이 PDA기본배지에서 잘 자랄 수 있음을 증명하였고 위 3장 1절에서는 비료 소지를 처리하는 방법을 설명하였으므로 이제는 이들을 조화롭게 혼합하여 미생물 제재가 되는 방안을 강구할 차례이다. 따라서 본 절에서는 이들 미생물들을 PDA 기본배지에서 배양하여 그 결과를 검토코자하였다.

-우선, 페트리접시에 배지를 고형화할 때 처리된 기능성세라믹분말을 일정 비율로 추가하여 고형화하고 이것과 기능성세라믹분말이 추가되지 않은 접시에서 자라난 미생물 성장량을 개체 균락수와 건조 개체 중량을 측정하여 기능성세라믹분말이 이들의 성장을 촉진하는지는 검토하였으며,

-그 다음에 위 영양 톱밥과 기본 토양 그리고 미생물을 혼합한 다음 이 제재가 들어있는 포트에서 콩이 발아하는 개수를 세어 그 효과를 확인하였다.

가) 미생물 성장에 미치는 기능성세라믹분말 첨가 효과

6가지 균에 대응되는 배지에 기능성세라믹분말을 0.1%(w/v), 0.5%, 1.0%씩 추가한 배지를 각각 300ml씩 만들어 고압증기멸균기(AUTO Clave, KMC 1221, Vision CO. LTD. Korea)로 멸균하고 50℃정도까지 식어 유동성이 있을 때 페트리접시에 부은 다음 균계 한 고형배지를 24개 준비하였다.

-기능성세라믹분말의 박테리아 성장 촉진효과

위 3가지 균들 *Pseudomonas sp.*, *Bacillus subtilis*와 *Streptomyces griseoviridis*들이 활성화된 균액 1ml를 취하여 각각 천 만 십만 배로 희석하여, 위에서 만든 배지와 세라믹을 추가한 고체배지에, 멸균한 곤라디봉(유리제)으로 이 희석 용액 1ml씩 도말하였다. 이들을 인큐베이터에서 각각 26℃ 24시간, 30℃ 24시간, 26℃ 48시간 배양하여 균의 색깔과 군집 형태를 디지털 비디오로 촬영하여 관찰하고 군집 개수를 세어서 성장속도를 가늠하였다.

고체배양에서 박테리아인 *Pseudomonas sp.*와 *Bacillus subtilis*균 첨가 24시간 후에 관찰해보니 만 배 희석하여 첨가한 페트리접시에서 기능세라믹분말을 추가한 배지에서는 유전자은행에서 추천한 추천배지에서도 군집이 크고 더 많이 자라났다. 방선균 *Streptomyces griseoviridis*는 첨가 48시간 후에 관찰해보니 **Figure 3.2.2.1.**과 같이 자라는 상태가 세균과 비슷하였고 기능세라믹분말을 추가한 배지에서는 유전자은행에서 추천한 추천배지에서의 군집 크기와 거의 비슷하여 차이를 느낄 수 없었으나 군집은 적게 자라났다. 세균과 방선균의 군집 개수를 세어서 **Table 3.2.2.1**에 표시하였다. 실험 결과 세라믹을 0.5% 추가하였을 때 군집이 비교적 잘 자라났다는데 이것은 박찬영 등이 *P. cepacia*나 *S. cerevisiae*와 같은 길항미생물이 세라믹 분말에 의해 생장이 빨라지고 균체수가 증가되었으며 최적 첨가량은 다같이 0.4%(w/v) 부근에서 나타났다는 것과 거의 일치한 결과였다.



Figure 3.2.2.1 Photograph of *Streptomyces griseoviridis* cultured for 48hours in the 'YM Agar medium' where ceramic powders included

Table 3.2.2.1 Number of the colonies shown by the species *Pseudomonas sp* KCTC 1640, *Bacillus subtilis* and *Streptomyces griseoviridis*; where the medium includes ceramic or not

Microorganism	time counted, in days	No Ceramic colonies ($\times 10^3$)	0.5% Ceramic colonies ($\times 10^3$)	0.1% Ceramic colonies ($\times 10^3$)	1.0% Ceramic colonies ($\times 10^3$)
<i>Pseudomonas sp.</i>	1	864	1040	906	1054
<i>B. subtilis</i>	1	840	4040	1204	2541
<i>S. griseoviridis</i>	2	420	352	411	324

-*Trichoderma harzianum*, *Aspergillus oryzae* 와 *Suillus bovinus*

고형배지에서 떼어낸 균사의 일부분을 5ml짜리 시험관에 배양하고 곰팡이균인 *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus oryzae*와 *Suillus bovinus* 균집을 위에서 만든 배지와 세라믹을 추가한 고체배지에 멸균한 갈고리형 백금선으로 도말하였다. 인큐베이터에서 각각 24℃ 72시간, 24℃ 96시간, 24℃ 96시간 배양하면서 최종 균사가 퍼진 정도와 색깔을 디지털 비디오 촬영하여 관찰하였다.

곰팡이균인 *Trichoderma harzianum*은 접종 24시간 후에 균집의 주위에 연한 녹색의 균사가 원을 형성하며 자라났고, 3일째는 녹색 균사가 많이 퍼져서 페트리접시에 꽉 찼다. 부산물을 추가한 배지에서는 균사가 많이 흩어지고 전체적으로 거의 하얀 색에 가까운 녹색을 많이 띠고 유전자은행에서 추천한 추천배지에서는 진한 녹색을 띠었다.

곰팡이균인 *Aspergillus oryzae*는 자라는 속도가 느려서 36시간 지나서야 균집의 주위에 연한 풀색을 띠는 작은 원을 형성하기 시작하였고 84시간 후에는 주위가 하얀색을 띠고 가운데는 풀색의 균환을 형성하였다. 유전자은행에서 추천한 추천배지에는 Figure 2에서 보다 싹이 비교적 잘 자란 상태였지만 부산물분말을 추가한 배지에서는 균환의 크기가 좀 작았다. 대표적인 것으로 *Streptomyces griseoviridis*과 *Aspergillus oryzae* 두 가지만 디지털 비디오 촬영 그림을 보여주었다.

곰팡이균인 *Suillus bovinus*은 36시간 후에 균집주위에 하얀 색 균사가 퍼지고 84시간 후에는 균사가 페트리접시에 다 채워질 정도로 균환이 크게 자라났다. 유전자 은행에서 추천한 추천배지와 부산물분말을 추가한 배지에서 비슷하게 하얀색 균사가 잘 자라고 있었으나 부산물분말

을 추가한 배지에서는 유전자 은행에서 추천한 추천배지에서보다 군사가 좀 두껍게 자라났다.(Figure 3.2.2.2)

위 결과를 종합하면, 유전자은행에서 추천한 배지에 기능세라믹분말을 첨가하면 세균인 *Pseudomonas* sp.와 *Bacillus subtilis*균은 성장이 선명하게 촉진되는 반면 방선균인 *Streptomyces griseoviridis*과 곰팡이 균인 *Aspergillus oryzae*균은 그 성장을 억제되고 곰팡이 균인 *Trichoderma harzianum*과 *Suillus bovinus*균은 군사의 색깔과 균환의 형태가 조금 변했을 뿐 성장이 거의 같음을 알 수 있다.



Figure 3.2.2.2 Photograph of *Aspergillus oryzae* cultured for 84hours in the 'Potato Sucrose Agar medium'

나) 콩 발아에 미치는 부산물 첨가 효과

입구를 잘라낸 종균 병 7개에 위 사질 양토 200g씩을 준비하였다. 이 7개의 병에 활성화된 6가지 균액 5ml씩을 혼합하였고 나머지 한개는 균체를 혼합하지 않은 모두 7개를 준비하였다. 다른 한편으로는 위 기능세라믹분말을 0.5% 섞어 똑 같은 7개를 준비하였다. 여기에 실온에서 24시간 발아한 콩 종자 10알씩 심고 하나는 종균 병에 아무 균도 첨가하지 않은 채로 발아한 콩 종자 10알 심어서,

1)하나는 기능세라믹분말 없이 균을 첨가하였을 때와 하지 않았을 때

2)또 하나는 기능세라믹분말 존재 하에 균을 첨가하였을 때와 하지 않았을 때

콩이 몇 개나 발아부터 싹이 트고 잎이 나오는 데까지 그 개수를 날짜별로 조사하였다. 균을 혼합한 종균 병에는 멸균한 증류수로 일정한량의 수분을 보장해주었고 초기에는 알루미늄 호일로 싸서 외부 다른 균의 오염을 막았다. 인큐베이터서 배양하면서 낮에는 27℃에서 형광등 빛을 비추어주고 밤에는 20℃로 유지하게 하면서 콩 종자가 자라는 것을 관찰하였다. 기능세라믹분말 없이 발아한 콩 개수를 **Figure 3.2.2.3**에 그리고 5% 기능세라믹분말과 함께 자란 콩 개수를 **Figure 3.2.2**에 나타내었다. 균을 혼합한 종균 병에서는 콩이 현저하게 빨리 발아하였고 기능세라믹분말이 추가된 곳에서는 더욱 선명하게 빨리 발아하였다.

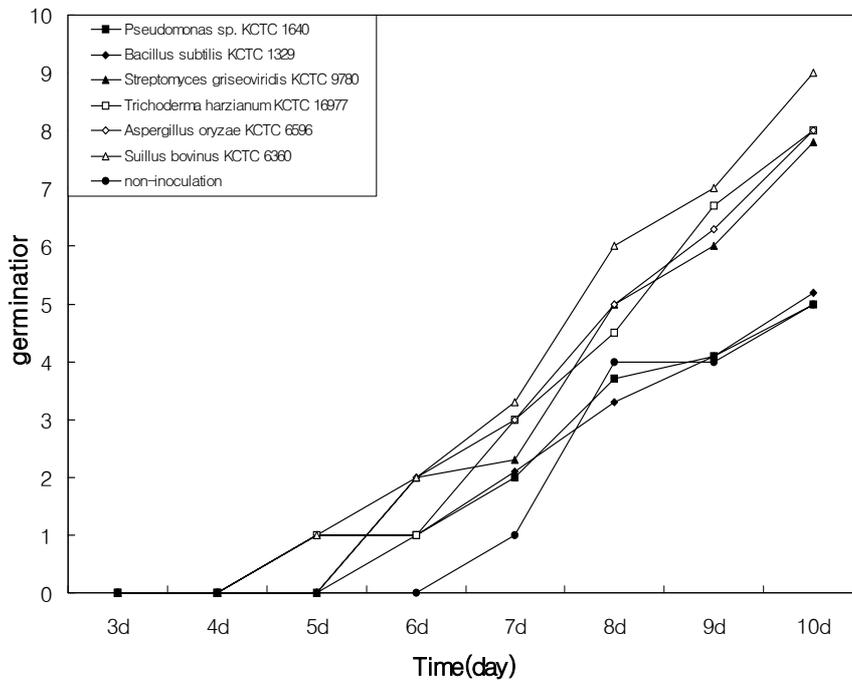


Figure 3.2.2.3 Number of beans fully germinated after inoculation of each microorganisms, without by product powder

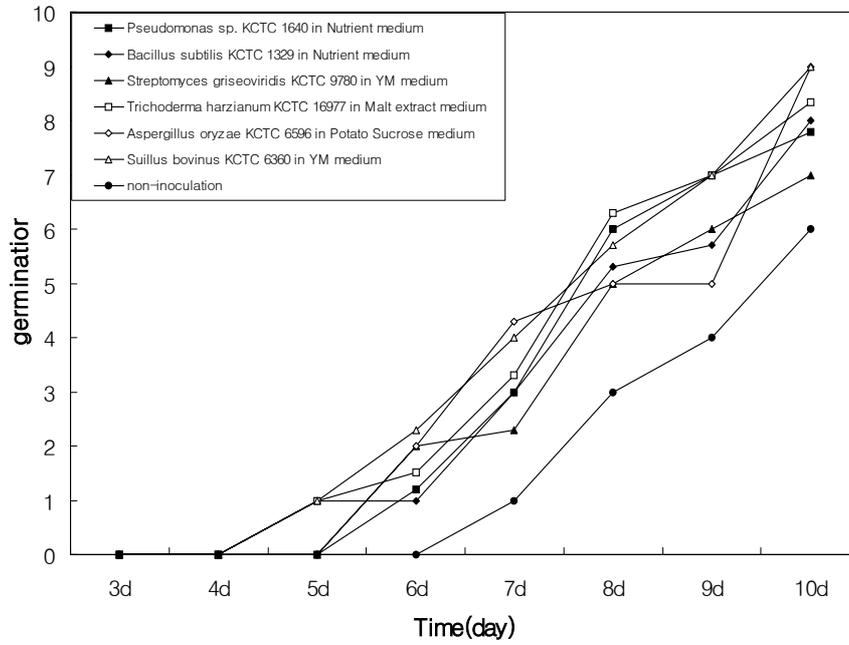


Figure 3.2.2.4 Number of beans fully germinated after inoculation of each microorganisms, with 0.5wt% byproduct powder

제 3장 3절 인공재배시험장 축조 운전 및 모의 재배시험

전 3장 2절에서는 과수원 시비를 위한 기초실험을 하였으나 이것만으로 미생물 제제가 과수원에서 효과가 있을 것이란 단정을 할 수 없을 것이므로 본 절에서는 과수원 현장을 빨리 재현할 수 있는 인공 재배 시험장을 전남대학교 실험실내에 만들고 이 인공재배 시험장에서 실험한 결과를 정리하였다.

3.3.1 인공 재배 시험장과 그 운전

인공재배 시험장은 대학 실험실에 가로 높이 깊이가 각각 2, 2.5, 및 3.65m가 되도록 **Figure 3.3.1.1**과같이 축조하였으며, 시험장 온도를 조절할 수 있는 알고리즘을 구성하여 이 시험장을 운전하였다. 시험실 가로 세로 높이는 각각 3.65, 2, 2.5m이고 입구는 이중으로 문을 만들어 열고 닫을 때의 열손실을 되도록 적게 하도록 하였다. 냉각기에는 1.5마력(CRAQ-0150, COPELAND, USA) 압축기를 사용하였고, 가열기는 6kW(3kW×2) 가열 능력을 가진 것을 이용하였으며, 가습기는 물 분무량이 시간당 400cc(H-656, LG, Korea)인 것을 두 대 사용하였다. 대류방식은 강제대류방식을 채택하였으며 가열기와 냉각기를 작동하기 전에 팬이 작동하도록 하여 팬이 작동하지 않아 자연대류방식으로 열기와 냉기가 퍼지며 가열기의 과열과 냉각장치 증발기의 동결을 막도록 하였다. 팬과 가열기, 그리고 냉각기의 위치는 가열기가 가장 안쪽에 위치하고, 다음이 냉각기 그리고 팬이 가장 바깥에 위치해서 팬이 뒤쪽의 열기와 냉기를 앞쪽으로 끌어당겨 강제대류 시킬 수 있도록 하였다. 가습

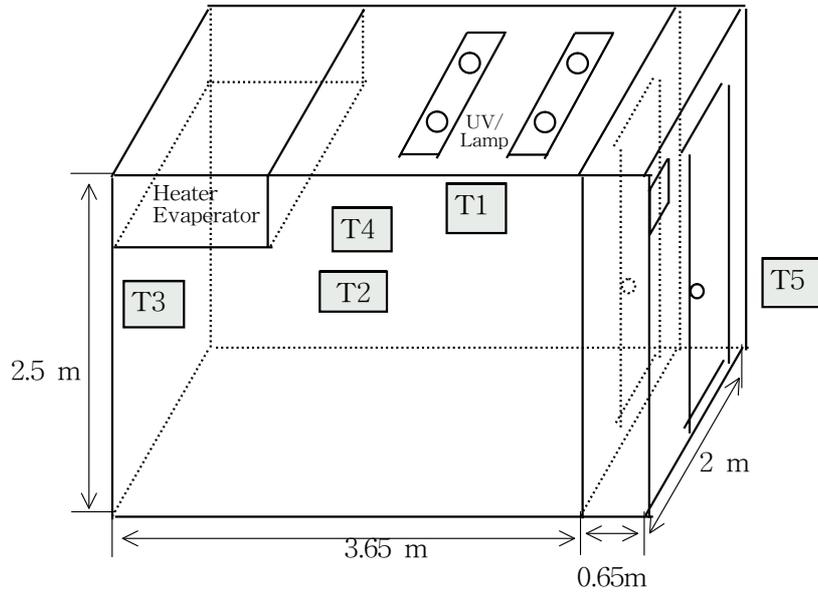


Figure 3.3.1.1 Dimension of the controlled atmospheric space and location of sensors. The right side has double doors

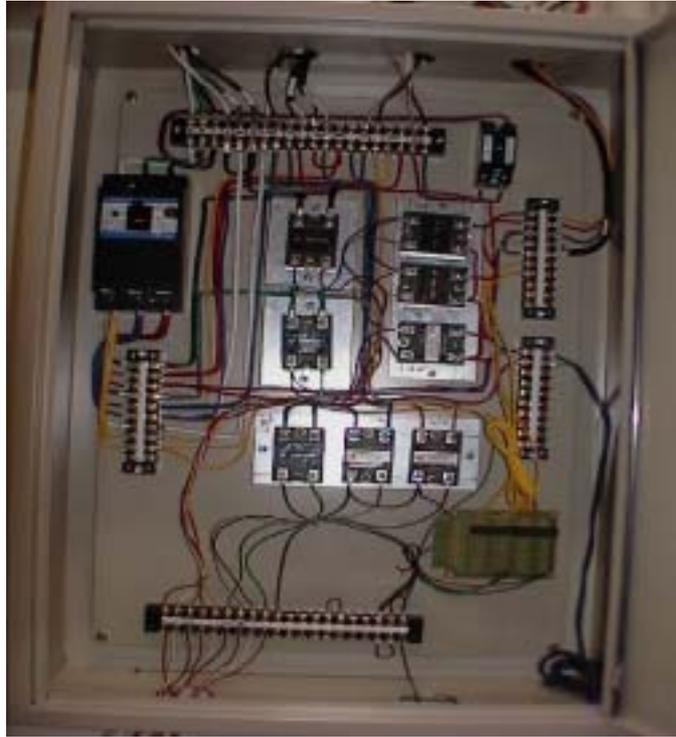


Figure 3.3.1.2 Control panel for artificial growth room



Figure 3.3.1.3 Cooling fan in the artificial growth control room



Figure 3,3,1,4 Rack in the artificial growth room



Figure 3.3.1.5 Showering equipment for artificial growth control room



Figure 3.3.1.6 Culturing bottles on the rack in the artificial growth control room

기는 팬 앞쪽에 위치하여 불어오는 바람을 타고 초음파로 분쇄된 물방울들이 모의 시험실에 퍼지도록 하였다. 온도 센서는 25℃에서 저항이 10kΩ이고 저항오차가 ±5%인 NTC계열(DSC103J3, DSC Electronics Co., Ltd) 서미스터를 사용하였다. 저장실 입구좌측 천장 부위에 센서 1개(T1), 저장실 중앙의 50cm높이에 온도센서 1개(T2)와 저장실 좌측 끝부위 1m50cm높이에 온도센서 1개(T3), 우측 중앙부위 1m50cm 높이에 온도센서 1개(T4) 그리고 저장실 외부에 온도센서 1개(T5) 등 온도센서 5개를 설치하여 온도를 측정하였으며, 습도센서와 조도센서는 중앙부 온도센서 T2와 같은 위치에 설치하였다. 온도조절에서 실내온도는 중앙에 설치된 온도 센서 T2에서 측정한 온도를 현재의 실내온도로 사용하였다. 온도, 습도, 그리고 조도를 조절하는데 핵심이 되는 제어판(Fig. 2)은 시험실 외부에 설치하였다. 이들 장비들에 대한 사진을 그림 설명과 함께 **Figure 3.3.1.2**에서 6까지 나타내었다.

가) 인공재배시험실 운전 기본 이론 골격

우선 시험실 외기 온도와 시험실 현재 온도를 시험실 목표온도 즉 설정값과 비교하여 인공재배 시험실 초기 운전 형태(Initial operation mode)를 결정한다. 아무리 보온 차단이 잘 된 시험실이라 할지라도 완전히 열이 차단 될 수는 없으므로 밖으로부터 열이 들어올 경우와 밖으로 빠져나갈 경우를 판단한다. 이 경우 시험실 내에 무엇이 있느냐에 따라 달라질 수 있는데, 농수산물은 재배 중에 거위가 열을 내므로 밖에 온도가 시험실 설정 온도보다 상당히 낮은 경우가 아니라면 시험실 내부 온도는 올라가는 경향을 보일 것이다. 이 경우에는 냉각기를 돌릴 필요가 있는 경우이다. 그 반대로 시험실 온도가 내려가는 경우라면 가열기를 돌려야 되는 경우가 된다. 그러므로 초기 운전형태 판단 단계에서는 일

정 기간동안 시험실 내 온도 변화 추이를 판단하는 단계이다. 이 온도 변화 추이는 현재 시험실에 설치된 냉각기 냉각 능력이나 가열기 가열 능력이 조절하기에 충분한지를 판단하는 근거가 된다. 예를 들어 시험실 내부 용량이 100m³이라면 10평짜리 시험실에 비유되며 이때 온도를 내려 시험실 내부 온도를 식혀야 할 경우라면 냉각기가 먼저 작동된다. 냉각기가 작동되어도 온도가 내려가지 않는다면 냉각능력이 부족한 경우이고, 그 반대로 가열기가 작동되어도 온도가 올라가지 않으면 가열기 능력이 딸리는 경우에 속한다.

두 번째 단계는 냉각기나 가열기를 계속 작동시켜야 할지를 결정하는 단계이다. 그런데 냉각기에 딸린 압축기는 그 속에 있는 증발기 측과 이루는 냉매 압력 차가 거의 같아지는데 소요되는 시간이 경과된 다음에 다시 운전되어야 무리 없이 운전할 수 있다. 냉각기를 작동-중지-작동 반복에 필요한 충분한 중지 시간 이 필요하다. 시험실 온도 조절 허용 범위 내에서 이 운전이 가능하다고 판단되면 이 방식으로 작동한다. 압축기를 켜다 켜는 사이에 온도가 조절 범위를 넘어 올라간다면 이제는 냉각기는 항상 작동되면서 나머지 넘치는 냉각 능력은 가열기가 보상하게 한다. 이 두 번째 단계는 가열기가 주역인 경우에도 적용된다. 그러나 가열기는 아무리 자주 켜고 꺼도 별 손상이 없으므로 이 경우에는 냉각기 운전시간에 대하여 고려하면 된다. 물론 냉각기 운전 휴지 시간이 불충분한 경우에는 냉각기가 주역인 경우에 해당된다.

마지막 단계는 냉각기가 계속 작동되는 경우만 해결하는 단계이다. 이 경우에는 가열기에 전류를 보내는 시간을 조절하는 전력 공급시간 간격 조절 방식(Pulse width modulation, 이하 PWM이라 칭함)을 사용하여 온도를 허용된 범위 내로 조절하게 된다. 이때 이용된 방식이 경험 학습 제어 방식이다. 이 방식은 목표 온도와 현재 온도차를 먼저 계산한다. 예를 들어 현재 온도가 목표 온도보다 5℃가 높다하면 이제까지 운전하던 PWM 형태에서 일정 비율로 그 공급되는 시간 폭 즉 width를 줄여 가열기 전원 공급량을 줄여 본다. 그렇게 줄여서 나타난 결과를 토대로

그 다음에 폭을 더 줄여야할지를 결정한다. 예를 들어 5°C 높았던 온도가 그 폭을 이전에 진행했던 값의 3분지 1로 줄였더니 목표 온도에 거의 다다르고 있다면 그 폭은 더 길어져야한다. 아니면 너무 냉각될 우려가 있기 때문이다. 반대로 3분지 1로 줄인 폭으로 온도가 목표 값에서 떨어져 있다면-예를 들어 5°C 높았던 온도가 0.5°C 밖에 내려오지 않았다면- 가열기는 가동 간격을 더 줄여야 한다.

만일에 냉각기가 꺼졌는데도 온도가 계속 목표 값 아래로 내려간다면 밖에서 빼앗아 가는 열이 더 많다는 의미로 밖에 온도가 아주 낮아져 있음을 의미한다. 그럴 때에는 맨 처음 알고리즘으로 돌아간다. 이 경우에는 첫 번째 단계에서 가열기를 작동할지 냉각기만 작동할지의 경우 중에서 냉각기만 켜다-켜다 하는 경우이거나 가열기만을 작동시키는 경우에 해당된다. 이러한 과정은 외기 온도가 그렇게 빨리 급변하는 경우가 아니라면 드물게 일어나는 현상이 될 것이다.

이제까지 설명한 이론적 개념을 구체화하여 **Figure 3.3.1.7**에 도식화한 제어 알고리즘을 나타내었다. 처음 Power On에서는 시험실 경험학습 제어기에 전원을 공급하는 단계이다. 두 번째 단계는 외기온도와 실내 온도를 측정하여 운전 형식을 결정하는 단계이다. 실내 온도가 목표 온도보다 충분히 낮으면 가열기만 운전한다. 만일 실내 온도가 너무 높으면 냉각기만 운전한다. 적당히 높으면 냉각기와 가열기를 동시에 운전하되 이 경우에는 가열기를 주로 작동 또는 정지시킨다. 이 모든 작동 과정은 30분을 주기로 반복된다. 여기서 30분이라는 주기를 설정한 것은 임의로 정한 것이며, 경험학습법이 도입되어 스스로 판단하여 그 주기를 결정할 수 있도록 하였다. 아래 글에서는 각각의 운전 형태에 해당하는 보기를 실례를 들어 설명한다.

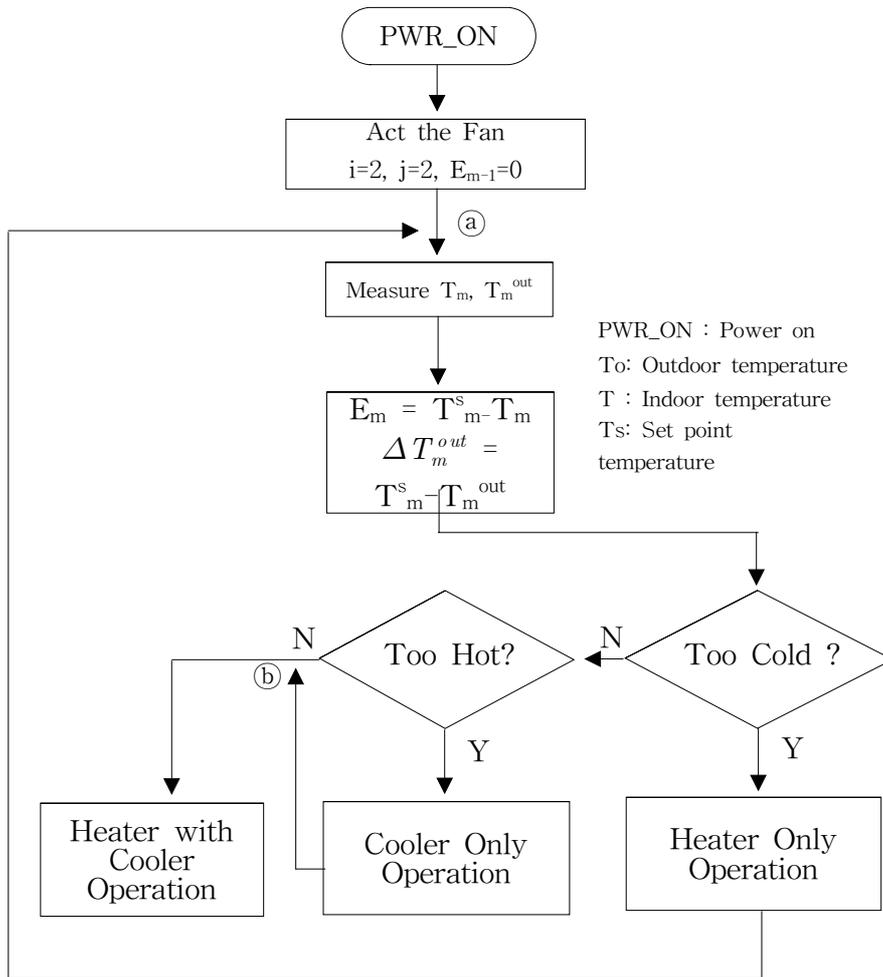


Figure 3.3.1.7. Algorithm for the temperature control of cold storage room with recursive learning control system

i) 가열기만 가동되어야 할 경우

예를 들어 목표온도(T_m^s)가 섭씨로 영상 4.0°C인데 실내 온도(T_m)가 영하 1.2°C이고 외기 온도(T_{out})가 영하 5.1°C라고 하자. 그렇다면 현재 시각 t_m 에서 설정온도와 외기온도의 차이는

$$\Delta T_m^{out} = T_m^s - T_m^{out} = 9.1 \quad (1)$$

이고, 설정온도와 현재온도의 오차 E_m 은

$$E_m = T_m^s - T_m = 4.0 - (-1.2) = 5.2 \quad (2)$$

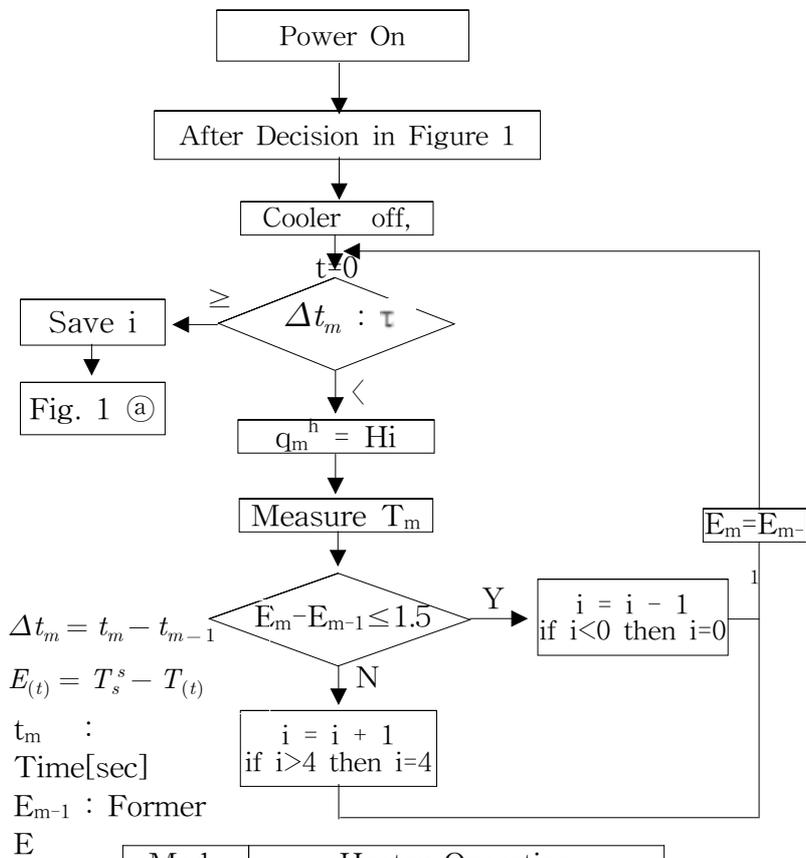
가 된다. 이 두 값의 합이

$$\Delta T^{dec} = \Delta T_m^{out} + E_m = 14.3 \quad (3)$$

으로서 10°C 이상이므로 외기 온도가 충분히 낮고 실내온도도 목표온도보다 너무 낮은 경우이므로 이 경우에는 가열기만 가동하는 형태로 운전할 것을 결정한다. 이 결정은 판단 문

Too cold?

에서 판단한다. 물론 가열기 성능은 미리 시험되어 있는 상태에서 이 10°C라는 한계가 결정된다. 그와는 반대로 $\Delta T_m^{out} = 2$ 이고 $E_m = -5$ 라면 $\Delta T^{dec} = 7$ 이므로 냉각기와 함께 가열기가 동시에 가동되는 세 번째 단계일 것이다.(Figure 3.3.1.8)



Mode	Heater Operation
H0	2min off
H1	0.5min on, 1.5min off
H2	1min on, 1min off
H3	1.5min on, 0.5min off
H4	2min on

Figure 3.3.1.8 Algorithm for the temperature control with heater only operation

ii) 냉각기만 가동되어야 할 경우(Figure 3.3.1.9)

만일 $\Delta T_m^{out} = -10.3$ 이고 $E_m = -5.2$ 라 하면 $\Delta T^{dec} = -15.5$ 로 -10°C 보다 작으므로 이 경우에는 냉각기만 가동하는 단계이다. 이 단계가 판단문 Too hot? 단계이다. 이 단계에서 냉각기만 운전될 때에는 냉각기속에 있는 압축기 전 후 냉매 압력차이가 평형에 가까워지는데 소요되는 시간이 10분간이라 하면 어떤 형태로 운전되어야 할지를 판단해야한다. 예로 든 이 경우에도 실내 온도가 목표온도보다 10°C 이상 높으면 30분 동안 계속 압축기를 가동한 후 가동을 유지한 채 맨 처음 과정으로 돌아가 다시 판단한다.

30분간 냉각기가 가동된 상태에서도 10°C 이상 실내온도가 높으면 다음 30분간도 계속 가동될 것이다. 만일 실내 온도가 목표 값보다 5°C 이상 10°C 이하로 높으면 20분간 가동 후 10분간 정지한다. 이렇게 운전되면 처음에는 10°C 이상 높았던 실내 온도가 어느 순간에는 목표 값을 5°C 이내로 근접하게 될 것이다. 그러면 이제는 가열기가 동시에 작동되는 제 3 단계에 이른다.

iii) 냉각기 계속 가동과 함께 가열기로 조절 할 경우(Figure 3.3.1.10)

$-10 < \Delta T^{dec} < 10$ 인 경우, 즉 너무 춥지도 너무 덥지도 않은 경우이므로 냉각기는 계속 가동되면서 가열기로 온도를 조절해야 하는 경우에 해당한다. 또한 2 단계에서 냉각기만 작동되다가 온도가 5°C 이내로 좁혀져서 가열기가 보조 역할을 하는 경우도 이에 해당한다.

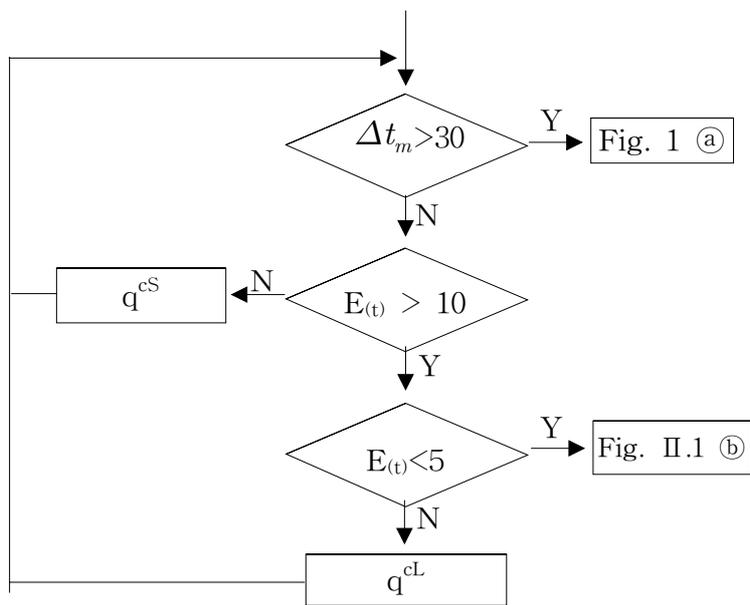
Fig. II.3부터 II.5까지 각각의 경우에 해당하는 상세 운전 방식을 알고리즘으로 나타내었다. 여기서는 모든 기기가 가동 중에는 공기 순환 팬이 항상 돌고 있는데 한번 결정된 가열 형태 - 가열기만, 냉각기만, 또는 가열기와 냉각기 동시 가동 등 3가지 형태 - 는 모두 30분간 운전하고 다시 맨 처음 가열형식 결정과정으로 되돌아가는 과정을 염두에 두고 알고리즘을 만들었다.

가열기만을 가동하는 1 단계방식에 관한 알고리즘이 Fig. II.3에 나타나

있다. 여기서도 현재시각 t_m 에서 $\Delta T_m^{out} = 9.1$, $E_m = -5.2$ 를 적용하여 우선 시험삼아 가열기를 가동하는 시간과 가열기를 멈추는 시간을 각각 1분씩으로 하여 가동해 본 다음 실내 온도를 측정해 본다. 그 2분 동안에 그 온도가 0.1°C 이상 올라가 있다면 30분 후에는 1.5°C 정도가 올라갈 터이고 그러면 실내 온도는 $-1.2+1.5=0.3^\circ\text{C}$ 가 될 것을 예측할 수 있는데 가열기에 남는 열과 가열기가 발열되는데 걸리는 시간 등을 감안한다면 다음 30분 후에는 또 1.5°C 이상이 상승하여 실내 온도는 1.8°C 이상이 될 것이다.

이처럼 실내 온도가 너무 급격히 상승하면 저장되어 있는 농수산물이나 재배중인 식물이 변질되거나 생장을 저해할 수 있다. 따라서 이 1.5°C 상승은 너무 가열되고 있다는 의미이므로 가동 간격을 줄여야한다. 즉 가열기 가열 시간은 줄이고 정지시간은 늘려야한다. 현재의 온도상승이 너무 적다면 이와 반대로 작동하게 한다. 이렇게 30분을 가동한 후에 어떤 운전형태로 운전할 것인가를 결정하기 위해 맨 처음 운전 형태 결정과정으로 되돌아간다. **Figure 3.3.1.8**에 아래쪽에 있는 표는 현재 사용중인 마이크로프로세서가 곱셈은 비록 처리 속도가 느려도 가능하지만, 나눗셈을 처리하는데 있어 소수점 이하 처리가 불가능하므로 가열시간과 정지시간을 Table 형태로 저장하고 필요에 따라 지정된 운전방식을 결정하도록 정한 운전 방식 표이다. **Figure 3.3.1.9**는 실내온도가 목표온도보다 10°C 이상 높아서 냉각기만을 운전하는 경우를 나타낸 것이다. 현재온도가 아주 높기 때문에 우선 냉각기를 30분간 계속 실내온도가 목표온도에 10°C 이내로 도달할 때까지 30분 단위로 계속해서 가동한다. 실내온도가 목표온도에 10°C 이내로 근접하면 20분간 냉각기를 가동한 다음 10분간 정지한 후에 온도를 측정한다. 그리고 다시 맨 처음

단계로 돌아가 어떤 운전 형태를 취할지를 판단한다. 이 그림 아래편에 E_m 가 10°C 이상이면 계속 냉각이고 10°C 이하면 20분 냉각 10분 정지를 명령하는 규칙을 표로 나타내었다. **Figure 3.3.1.10**에는 실내온도와 목표온도간의 온도차가 상하 5°C 이내로 근접했을 때 냉각기는 계속 가동하면서 가열기로 조절하는 경우를 나타내었다. 현재온도가 목표온도보다 5°C 이내로 낮을 경우에는 가열기 가동 시간이 긴 형태로 운전하고, 목표온도보다 5°C 이내로 높을 경우에는 가열기는 가동시간이 짧은 형태로 온도를 조절한다. 이 형태로 30분간 운전한 후에 운전형태를 결정하는 맨 처음 단계로 되돌아간다. 역시 이 그림 아래쪽에 가열 규칙을 나타내는 표를 기재하였다.



Mode	Cooler Operation
q^{cL}	20min on, 10min off
q^{cS}	30min on, 10min off

Figure 3.3.1.9 Algorithm for the temperature control with cooler only operation

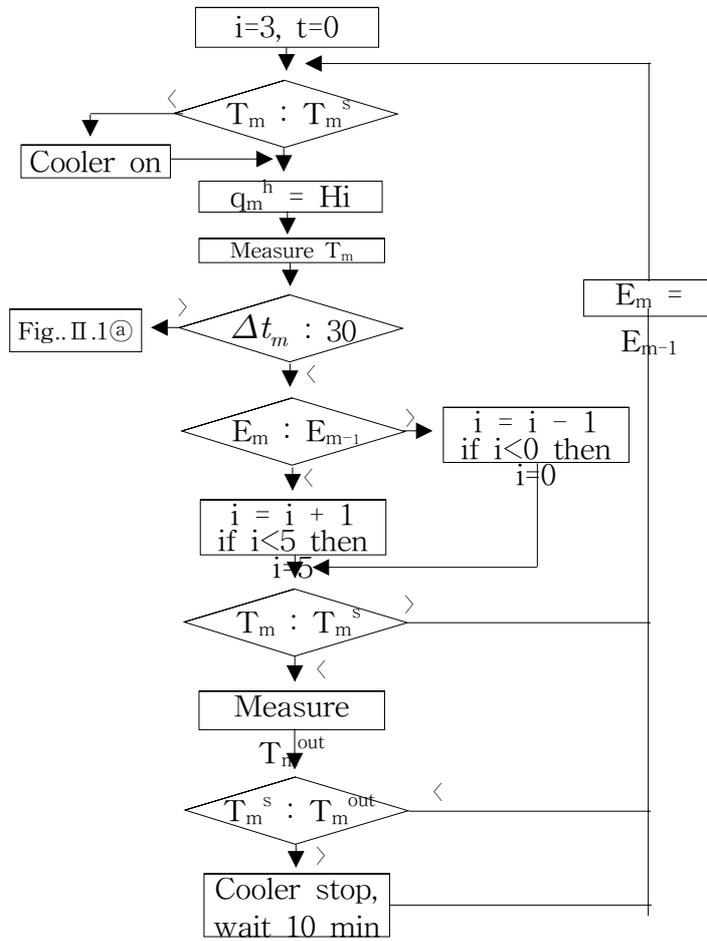


Figure 3.3.1.10 Algorithm for the temperature control with cooler and heater operation

나) 인공재배시험실 온도 조절 정밀 제어 이론

앞에서 살펴본 패턴방식에서는 현시점에서 가열기와 냉각기에서 더해지거나 빠져나가는 열과 외부와 실내온도차이만이 현재의 온도변화에 영향을 미친다고 하였으나, 실험을 통해서 확인한 결과를 보면 이전시간 (t_{m-2})에서 가한 열이 현재의 온도상승에도 영향을 미치고 있었다. Fig. II.5에 나타낸 바와 같이 설정온도를 T_m^s 라하고 시간 t_m 에서 실내온도를 T_m 이라고 하면, 시간 t_m 에서 실내열용량은 실내와 외부온도의 차이 ($T_m^{out}-T_m$), 냉각기 냉각용량(q_m^c), 가열기의 가열용량(q_m^h), 시간 t_{m-1} 에서의 열량(q_{m-1}^h) 그리고 t_{m-2} 에서의 열량(q_{m-2}^h)에 영향을 받는다.

$$C_p \left. \frac{dT}{dt} \right|_{t_m} = k^h (T_m^{out} - T_m) + q_m^c + q_m^h + q_{m-1}^h + q_{m-2}^h \quad (4)$$

$$C_p \left. \frac{dT}{dt} \right|_{t_{m+1}} = k^h (T_{m+1}^{out} - T_{m+1}) + q_{m+1}^c + q_{m+1}^h + q_m^h + q_{m-1}^h \quad (5)$$

위식을 Δt 즉 τ 시간동안 적용하여 선형화되었다면,

$$\frac{C_p}{\tau} \Delta T_m = k^h (T_m^{out} - T_m) + q_m^c + q_m^h + q_{m-1}^h + q_{m-2}^h \quad (6)$$

$$\Delta T_m = (k^h (T_m^{out} - T_m) + q_m^c + q_m^h + q_{m-1}^h + q_{m-2}^h) \frac{\tau}{C_p} \quad (7)$$

시간 t_{m+1} 에서 예상도달온도를 T_{m+1}^0 라 하면 T_{m+1}^0 은 시간 t_m 에서

의 온도 T_m 에 온도변화를 더한 값이 될 것이다.

$$T_{m+1}^0 = T_m + \Delta T_m \quad (8)$$

$$T_{m+1}^0 = T_m + (h_0(T_m^{out} - T_m) + q_m^c + q_m^h + q_{m-1}^h + q_{m-2}^h) \frac{T}{C_p} \quad (9)$$

동일한 방법으로 (2)식을 정리하면 아래와 같은 식이 된다.

$$\Delta T_{m+1} = (h^k(T_{m+1}^{out} - T_{m+1}) + q_{m+1}^c + q_{m+1}^h + q_m^h + q_{m-1}^h) \frac{T}{C_p} \quad (10)$$

실제온도는 t_{m+2} 에서가서 T_{m+2}^0 인 설정온도를 맞춘다고 하면

$$\begin{aligned} T_m^s &= T_{m+2}^0 = T_{m+1}^0 + \Delta T_{m+1} \\ &= T_{m+1}^0 (h^k(T_{m+1}^{out} - T_{m+1}) + q_{m+1}^c + q_{m+1}^h + q_m^h + q_{m-1}^h) \frac{T}{C_p} \end{aligned} \quad (11)$$

위 식에서 T_{m+2}^0 가 T_m^s 가되는 최적의 패턴을 구하면 된다. 위에서 설명한 적분형 패턴방식을 프로그램을 통해서 서식지 환경을 모사하는데 사용하기 위해서는 다음과 같이 복잡한 디지털 알고리즘이 필요하다.

설정온도(T_m^s)는 시간에 따라 변하므로 제일먼저 버섯 서식지에서 측정하여 저장한 자료에서 시간과 그 시간에서 온도, 습도 및 조도를 읽어온다. 이 값들은 전부 디지털 값으로 표현되어있으므로 환산 식을 이용하여 실제 온도, 습도 및 조도로 바꾼다. 자료에서 읽어 들인 첫 번째 시간과 현재시간과의 차이(Date Time Term)를 계산하고 현재시간에 DateTimeTerm을 더하여 일치하는 시간을 저장된 자료에서 찾고, 이 값

을 다음 설정 값으로 한다.

제일먼저 결정해야할 사항이 냉각기를 작동할 것인지 아닌지는 판단해야하는데, 시험실 외부온도가 설정온도보다 낮다면 냉각기를 작동할 필요가 없을 것이나, 시험실이 단열이 잘 되어 있다면 설정온도와 현재온도의 차가 클 경우나 설정온도와 외부온도차가 클 경우에는 냉각기를 작동해야 할 것이다. 냉각기나 가열기를 작동하지 않으면서 외부온도 변화에 따라 변화는 시험실 내부온도의 변화를 측정하여 냉각기작동의 범위를 정하여야할 것이다. 설정온도가 현재온도보다 높은 경우라면, 냉각기는 작동하지 않을 것이고 가열기만을 이용하여 현재온도를 설정온도에 맞춰갈 것이다. 냉각기의 판단 여부를 결정한 다음에는 가열기의 작동여부를 결정해야하는데, 여기에 앞에서 검증한 경험학습법을 도입한다.

앞서 검증한 경험학습법에서는 가열기 운전방식을 5단계로 간단하게 구분하였으나 좀더 정확한 온도제어를 위해서 가열기 운전방식을 3초씩 20등분하고 현재온도와 설정온도의 차에 따라 운전방식을 결정하도록 하였다. 0또는 1이라는 숫자는 0일 때는 가열기를 작동하지 않으며, 1일 때는 3초간 가열기를 작동한다는 의미이다. 이렇게 하여 하나의 패턴이 작동되면 1분이 소요되고, 패턴을 바꾸는 주기가 3분이라면 3회를 반복하게 된다. 그러나 현재온도와 설정온도간의 온도차에 따라 결정된 운전방식으로 가열기를 운전했을 때 현재온도를 설정온도에 정확하게 맞출 수 있다면 좋겠지만, 외부온도가 변하거나 다른 외부 요인으로 실내온도가 바뀐다면 각 패턴으로 운전했을 때 처음에 설정한 온도만큼 현재온도가 변하지 않을 것이다. 따라서 초기 값으로 운전하였을 때 측

정한 온도변화량(ΔT)으로 초기 값을 대체하고, 다음에 운전할 때는 그 값으로 운전하며 또 다시 오차가 생긴다면 그 오차만큼 온도변화량을 바꿔서 기록하고 계속하여 최적 값을 찾아갈 수 있도록 하여야한다. 그러나 가열기나 냉각기의 특성상, 현재 운전중인 패턴에 따른 온도변화가 바로 나타나는 것이 아니고, 일정시간동안 지연된 다음에 나타나기 때문에 현재 측정된 온도변화량만을 가지고 패턴을 결정하거나, 임의의 패턴으로 운전했을 때 변화하는 온도를 예상하거나 온도변화량을 결정할 수는 없고 시간지연에 따른 영향, 즉 앞서 시행한 운전방식이 현재온도에 미치는 영향을 고려하여야한다. 앞서 시행한 운전방식에 따른 영향은, 두 단계 앞의 패턴의 영향까지 고려하면 충분할 것이라 여겨지며, 여기에 냉각기 가동이 온도변화에 미치는 영향, 그리고 외부온도와 내부온도 차이에 의한 영향들을 고려하여 각 패턴으로 운전하였을 때 온도변화량과 다음 패턴을 결정 하여야한다.

$$T_{m+1}^0 = T_m + k^h(T_m^{out} - T_m) + q_m^c + g_{-1}q_{m-1}^h + g_{-2}q_{m-2}^h \quad (12)$$

앞에서 실행한 운전방식으로 운전했을 때 변화할 예상온도가 구해지면, 이 예상온도만큼 현재온도가 변했을 때 설정온도에 맞추기 위한 다음 패턴을 결정하여야한다. t_{m-2} 에서 T_{m+2}^s 를 맞춘다면

$$T_{m+2}^0 - (T_{m+2}^s + k^k(T_m^{out} - T_m) + q_m^c + g_{-1}q_m^h + g_{-2}q_{m-1}^h) = 0 \quad (13)$$

여기서 $k^h[1/sec]$ 는 조절실 안과 밖 사이에 적용되는 총괄열전달계수

이고, g_{-1}, g_{-2} 는 각각 바로 직전에 가열했을 때 사용했던 발열량 반영 비중과 그 이전단계에서의 발열량 반영비중이며, q_{m-1}^h, g_{m-2}^h [J/sec]는 각 단계에서 발열했던 발열량이다.

위 식의 t_m 시간의 패턴에 의한 영향에 패턴 0부터 20까지 예상온도상승률(ΔT)을 대입하여 그 값이 최소가 되는 패턴을 구하여 다음 운전방식으로 결정한다. 결정된 운전방식으로 가열기를 운전했을 때 온도 변화량이 이전 값과 다르다면 새로운 값으로 온도변화량을 바꿔주어야 한다. 이때에도 오차만큼 온도변화량을 상승시키면 단 한번의 잘 못된 신호에 의해서 온도가 크게 변할 수 있으므로 몇 차례의 경험에 의해서 온도변화량이 서서히 변할 수 있게 해주어야한다. 또한 운전방식에 따른 온도 변화는 가열기의 특성이라고 볼 수 있으므로 하나의 운전방식에서 나타나는 영향이 다른 운전방식에서 나타날 것이 확실하므로 시각 t_{m+1} 에서 M번째 패턴으로 가열하여 아래식과 같이 온도 상승 량이 구해지면 나머지 다른 패턴은 패턴번호에 패턴1의 온도변화량만큼 곱하여 온도변화량을 얻을 수 있다. 이렇게 하여 온도변화량과 패턴을 스스로 변화시키면서 운전을 반복한다면 짧은 시간에 설정온도에 도달 할 수 있을 것이며 작은 오차 범위에서 설정온도를 유지할 수 있을 것이다.

$$\Delta T_{m+1}^{P,i} = \Delta T_m^{P,i} - (\varepsilon_{m+1}^{P,i=M}/M/7.0) \quad (14)$$

여기서 $i = 1, 2, 3, \dots, N$ 이다. 온도변화와는 달리 송이 서식지 습도변화는 계절에 따라 크게 변하기는 하지만, 비가 오는 경우가 아니면 짧은 시간에 크게 변하지 않고 온도처럼 시간지연이 발생하지도 않기 때문에

현재습도가 설정 습도보다 낮다면 가습기를 작동시키고, 높다면 작동하지 않는 단순한 방식으로 조절 할 수 있을 것이다. 조도 또한 밤과 낮으로 나누어 모의 시험실의 전등을 켜고 끌 수 있다면 크게 영향을 미치지 않을 것이다. 다음 측정시간에 도달할 때까지는 설정값이 일정한 온도, 조도 및 습도를 갖게 되므로 패턴을 바꾸어 가면서 온도를 조절하고, 가습기와 전등을 켜고 끄는 이상의 동작을 반복하면 각 설정점에 도달할 수 있을 것이다.

다) 인공재배 시험실 온도 조절 센서 보정

-아날로그 신호측정 및 디지털변환

Figure 3.3.1.11은 일반적인 아날로그 센서를 사용하여 구성된 기상환경 측정회로이다. 일반적으로 아날로그센서는 외부환경이 변화함에 따라 센서내부의 저항(R_T)이 변화함으로써 환경변화를 측정할 수 있다. 이 저항을 연속해서 측정할 수 있는 방법으로 고안된 것이 센서와 저항(R_1)을 연결하는 회로를 구성하고 여기에 전류(I_T)를 흘려 환경에 따라 변화하는 전류의 값, 측정이 용이하게 변화하는 전압(V_{out})을 측정함으로써 외부환경 변화를 측정할 수 있다. 이 전압변화 또한 아날로그값이므로 분해능이 ADr(Analog to Digital Resolution, 12bits A/D converter이면 4096 즉 0 - 4095)인 Analog/Digital(이하 A/D)변환기를 사용하여 디지털 값(d_{out})으로 변화시켜 PC에서 수신할 수 있도록 하였다.

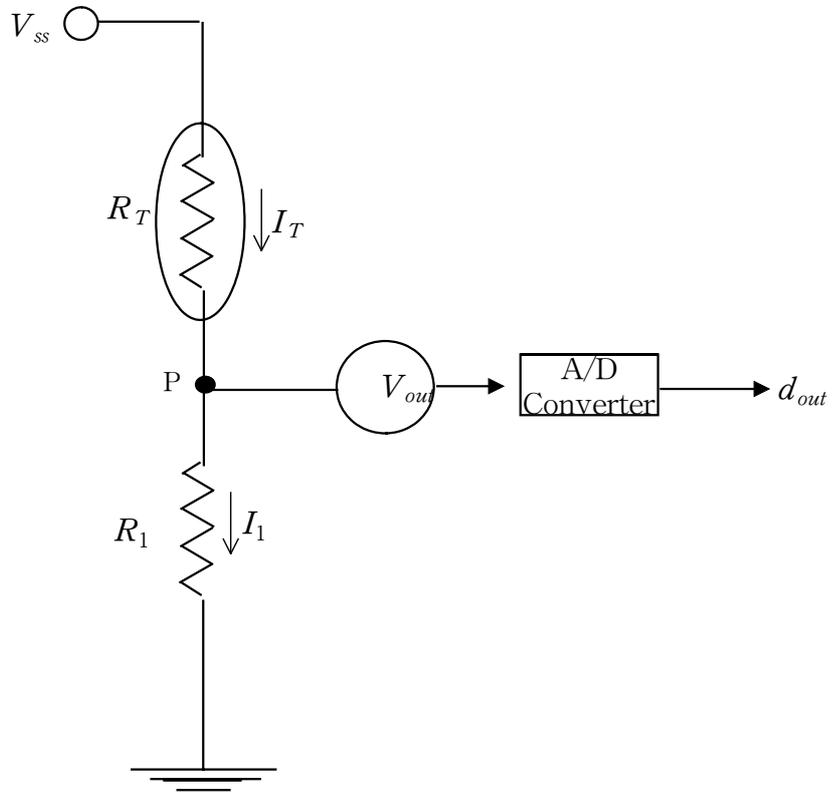


Figure 3.3.1.11 Circuit measuring the resistance change of a thermistor depending on temperature

이때 센서저항과 측정된 디지털 값 간의 상관 식은 다음과 같다.

$$d_{out} = \frac{R_1}{R_1 + R_T} \times ADr \quad (20)$$

$$R_T = R_1 \left(\frac{ADr}{d_{out}} - 1 \right) \quad (21)$$

- 온도센서

온도를 측정하기위해 사용한 센서는 NTC(Negative Temperature Coefficient)계열 서미스터로서 이 서미스터는 온도가 상승하면 센서내부 저항이 줄어들면 그 저항과 온도사이의 관계식은 다음과 같다.

$$R = R_0 e^{\beta \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right)} \quad (22)$$

R : 온도 T 일 때 서미스터가 갖는 저항, Ω

R_0 : 기준 온도 T_0 에서 서미스터가 갖는 저항, Ω

β : 서미스터 재료상수

T : 측정온도 , K

T_0 : 기준온도(일반적으로 298K), K

측정한 서미스터 저항을 온도로 환산하려면 식(22)에 나타난 기준온도 T_0 에서 이 서미스터가 갖는 저항 R_0 와 그 서미스터의 특성을 나타내는 재료 상수 β 를 구해야한다. Fig. III.1의 회로에서 센서가 서미스터

라면 온도가 올라감에 따라 서미스터내부저항 R_T 값은 적어지므로 출력 전압 V_{out} 은 높아지게 되며 이 V_{out} 을 측정하면 그 온도에서 서미스터가 가지는 저항 R_T 를 환산할 수 있다. 서미스터가 처한 온도와 저항간에는 위관계식이 성립하므로 온도 대 저항 측정자료를 이용하여 이 식을 회귀분석(Regression Analysis)하여 상수 R_0 와 β 를 결정할 수 있다.

위의 (22)식을 정리하면

$$T = \frac{T_0\beta}{\beta + T_0 \ln \frac{R}{R_0}} \quad (23)$$

이 되고 여기서 R 이 (21)식의 R_T 이므로 (21)식을 위의 (23)식에 대입하면

$$T = \frac{T_0\beta}{\beta + T_0 \ln \frac{\frac{R_1 \times ADr}{d_{out}} - R_1}{R_0}} \quad (24)$$

으로 측정된 디지털 값으로부터 온도 T 를 구하는 식이 된다. 여기에서 $T_0 = 298.16K$, $R_1 = 10K$ 이므로 β 와 R_0 값만 알면 디지털 값을 온도 T 로 바꿀 수 있으며, β 와 R_0 값은 여러 온도에서 측정된 디지털 값을 회귀분석하여 결정하였다. 측정에 사용하는 서미스터들은 제조공정이 동일하다 할지라도 각각의 특성이 차이를 보임으로 온도변화에 따른 각 서미스터 저항을 측정하여 보정하여 사용하였다. 얼음을 채운 항

온조안의 온도를 0℃라 가정하고, 끓는 물의 온도를 100℃라 가정하여 0℃와 100℃사이의 온도에서 물의 온도를 표준 온도계로 읽은 다음 그 온도에서 나타나는 서미스터저항을 측정하였다. 여러 온도에서 측정한 서미스터 저항을 온도와 저항과의 관계에 따른 서미스터 특성 식을 이용하여 보정상수 β 와 R_{T_0} 를 구하였다.

- 조도 센서

조도를 측정하기위한 센서로 사용한 Cds는 황화카드뮴소재로 만든 광전도형 셀(Photo-conductive Cells)로 조도변화(L_b)에 따른 센서저항(R_b)의 관계식은 다음과 같다.

$$\frac{R_b}{R_a} = \left(\frac{L_b}{L_a} \right)^\gamma \quad (25)$$

L_a : 빛의 세기, Lux

L_b : 빛의 세기, Lux

R_a : 조도 L_a 일 때 CdS 저항, Ω

R_b : 조도 L_b 일 때 CdS 저항, Ω

γ : 조도 지수

Figure 3.3.1.11에서 센서내부저항 R_T 가 식(25)에서 R_b 이므로 식(25)에 로그를 취하고 정리하면 아래와 같은 식을 구할 수 있다.

$$L_b = 10^{\frac{\log R_b - \log R_a + \gamma \log L_a}{\gamma}} \quad (26)$$

$R_1=3k\Omega$ 일 때 $L_a=1000\text{Lux}$ 이므로, γ 와 $\log R_a$ 를 알면 디지털 값으로부터 조도 L_b 를 구할 수 있다. 태양광이 밝을 때 시작하여 어두워질 때까지 조도를 표준조도계로 측정하고 이때의 디지털 값을 회귀 분석하여 γ 와 $\log R_a$ 를 결정하였다.

-습도 센서

습도 센서는 Humirel사의 보정된 아날로그 전압 출력 형 센서 (HM1500)로 출력전압(V_{out})과 상대습도(RH%)와의 관계식은 다음과 같다.

$$RH\% = 0.0391 \times V_{out} - 42.5 \quad (27)$$

디지털 값과 전압과의 상관 식을 이용하면 위식은 다음과 같이 나타낼 수 있다.

$$RH\% = 39.1 \times \left(\frac{V_{ss} \times d_{out}}{ADr} \right) - 42.5 \quad (28)$$

위의 식(28)은 온도의 영향을 고려하지 않은 식으로서 온도에 많은 영향을 받는 상대습도(RH%)는 아래와 같은 식으로 보정하여 나타낼 수 있다.

$$RH_{cor}\% = RH\% \times (1 - (T - 23) \times 2.4 \times 10^{-3}) \quad (29)$$

-센서 보정 결과

여러 온도에서 서미스터 저항을 측정하고, 온도와 저항사이의 관계식을 이용하여 Matlab 프로그램에서 최소자승법을 사용하여 보정상수 β 와 서미스터 저항상수 R_{T0} 를 구하였다. A/D 변환기를 통한 12bit 디지털 값들은 저항 값으로 변환하였으며, 구해진 온도 보정 상수 β 와 R_{T0} 는 **Table 3.3.1.1**에서 보는 바와 같이 서미스터 저항상수는 대부분의 서미스터가 비슷한 양상을 보였지만, 보정상수 β 는 약간 상이한 모습을 보이고 있다. 온도와 저항사이의 관계를 나타낸 **Figure 3.3.1.12**를 보면 온도변화에 따른 저항변화를 선형으로 나타낼 수 있음을 알 수 있다. 따라서 각각의 서미스터에서 나오는 신호는 보정된 각각의 값을 사용하여 저항을 온도로 환산하여함을 확인할 수 있었다.

여러 밝기에서 측정한 CdS 저항을 조도와 저항과 관계에 따른 CdS 특성 식을 이용하여 matlab 프로그램을 이용하여 보정상수 γ 와 $\log R_a$ 를 구하였다. **Table 3.3.1.2**에 나타낸 조도센서의 보정상수들을 살펴보면, 온도센서의 보정상수가 거의 비슷한 값을 나타낸 것과 비하여 센서마다 약간의 차이가 있음을 알 수 있다.크게 보이고 있다. 저항과 조도사의 관계를 나타낸 **Figure 3.3.1.12**를 살펴봐도 밝기에 따른 저항의 차이가 센서마다 약간의 차이가 있으므로 센서를 사용함에 있어서 반드시 보정을 하여야함을 알 수 있었다.

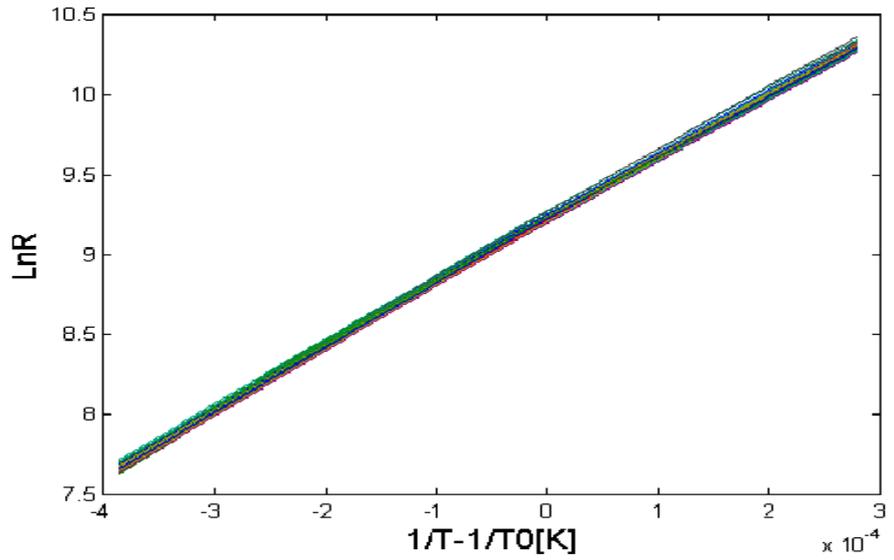


Figure 3.3.1.12 Calibration curve of thermal sensor(thermistor)

Table 3.3.1.1 Calibration constant β and R_0 of thermistor

Sensor	Beta	R_{T0}	Sensor	Beta	R_{T0}
1	3940.5	9.2	16	3940.4	9.2
2	3940.3	9.2	17	3967.3	9.2
3	3944.9	9.2	18	3950.8	9.3
4	3960.9	9.2	19	3951.4	9.2
5	3980.9	9.2	20	3969.6	9.2
6	3913.9	9.2	21	4033.8	9.3
7	3984.9	9.2	22	3976.9	9.2
8	3957.0	9.2	23	3942.8	9.2
9	4001.6	9.2	24	3959.4	9.2
10	3945.4	9.2	25	3939.1	9.2
11	3924.2	9.2	26	3947.4	9.2
12	3951.2	9.2	27	3957.1	9.2
13	3966.2	9.2	28	3976.3	9.2
14	3971.8	9.2	29	3944.0	9.2
15	3971.1	9.2	30	3876.5	9.2

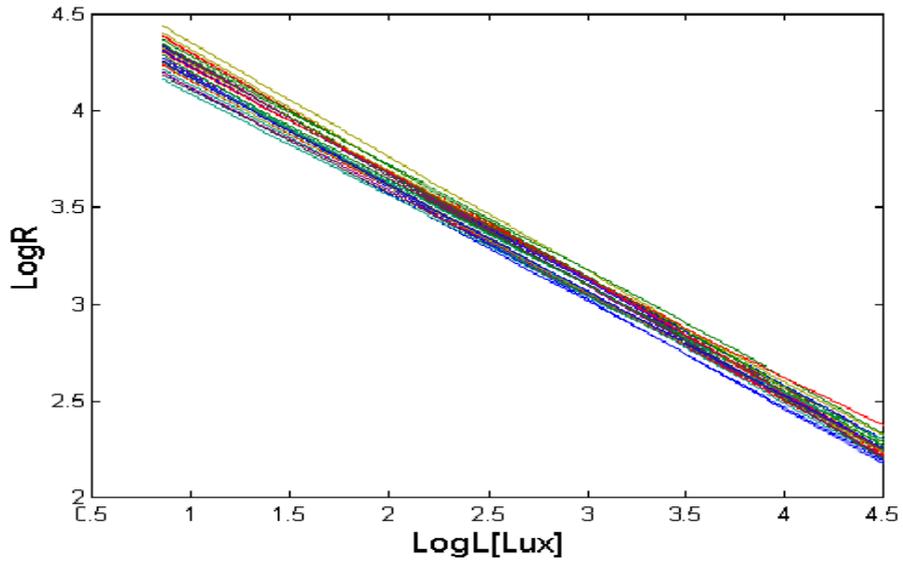


Figure 3.3.1.13 Calibration curve of light sensor(cdS)

**Table 3.3.1.2 Calibration constant γ , $\log R_a$ of Light
sensor(cdS)**

Sensor	Gamma	$\log R_a$	Sensor	Gamma	$\log R_a$
1	-0.5504	4.6698	16	-0.5506	4.8211
2	-0.5697	4.8246	17	-0.5843	4.8836
3	-0.5528	4.7108	18	-0.5399	4.6733
4	-0.5437	4.7234	19	-0.5666	4.8085
5	-0.5419	4.7334	20	-0.5477	4.7887
6	-0.5996	4.9211	21	-0.5847	4.8438
7	-0.5760	4.8173	22	-0.5773	4.7613
8	-0.5629	4.7969	23	-0.5509	4.7513
9	-0.5666	4.8274	24	-0.5319	4.7485
10	-0.5912	4.8984	25	-0.5142	4.5950
11	-0.5721	4.7734	26	-0.5365	4.6605
12	-0.5848	4.8476	27	-0.5498	4.7093
13	-0.5988	4.9610	28	-0.5536	4.7308
14	-0.5313	4.6425	29	-0.5464	4.7107
15	-0.5558	4.8046	30	-0.5705	4.8563

라) 인공재배시험실 조절 운영 결과

-단순 on off 제어

모의 시험실에 경험학습 방식의 제어를 도입하기 전에, 모의 시험실을 설치할 때 같이 설치한 on/off 방식의 제어기를 이용하여 온도를 제어한 결과를 **Figure 3.3.1.14**에 나타내었다. 냉각기는 설정온도나 외부온도를 고려하지 않고 계속해서 가동하며, 냉기와 열기를 순환시키기 위하여 전원이 켜짐과 동시에 팬이 작동한다. 일정온도에 도달하면 가열기가 작동을 멈추고, 일정이하 온도에 도달하면 다시 가열기가 작동하는 방식으로 온도를 조절하고 있었다. 냉각기는 외부온도가 내부온도보다 낮아도 계속해서 가동하고, 설정온도가 내부온도보다 높아도 계속해서 가동함으로 전력손실이 심할 수밖에 없었다. 또한 설정온도가 내부온도보다 높을 때는 열선이 계속해서 가동하기 때문에 열선의 온도가 실온으로 내려가기 전까지는 저장실의 온도가 계속하여 상승하고, 다시 열선을 가동할 때도 열선이 충분히 뜨거워질 때까지는 온도가 내려가는 문제점이 있어서, 상하 1℃씩 약 2℃의 오차가 발생하였다. 또한 열선과 냉각장치에 전원을 공급하고 끊기 위해서 대용량의 스위치가 필요하고, 시험실 내부에 있는 증발기가 어는 것을 방지하기 위하여 일정시간에 한번씩 냉각기를 정지시키고 열선을 가동하기 위하여 시간을 조절하는 타이머를 설치하여야 하기 때문에 조절기 전체부피가 커지는 단점이 있었다.

우선 모의 시험실의 온도를 정밀하게 측정하기 위한 방안으로 모의시험실 여러 지점에 온도센서 4개를 설치하고 실내의 온도분포를 파악하고자 하였으며, 외부에 온도센서 1개를 설치하여 외부온도가 내부온도변화에 미치는 영향을 파악하고자 하였다. 모든 데이터는 PICBASIC-1S 모

들을 이용하여 12bit digital 값으로 받아들여 PC에 저장함으로써 측정된 데이터의 정확도를 높일 수 있었다

온도변화를 나타낸 **Figure 3.3.1.15**을 보면, 센서를 설치한 위치에 따라 온도변화가 약간의 차이를 보임을 알 수 있다. 가장 높은 곳에 설치한 센서(T1)에서 가장 높게 나타났으며, 저장실 가장 안쪽에 있는 T3에서 가장 낮게 나타났다.

이는 저장실의 온도를 제어하는 센서를 천장부위에 설치했기 때문에 높이에 따라 온도차가 발생하며, 팬을 이용하여 뜨거운 공기와 차가운 공기를 내보내 온도를 제어하기 때문에 바람의 영향을 가장 적게 받는 저장실 안쪽의 온도가 가장 낮게 나타난 것으로 보인다.

그러나 대부분 온도차이가 1℃ 이하이고, 시간에 따른 온도변화 폭은 거의 일정하기 때문에 시험실 상하좌우 가운데에 위치한 T2 센서에서 측정한 온도를 내부온도로 하였다.

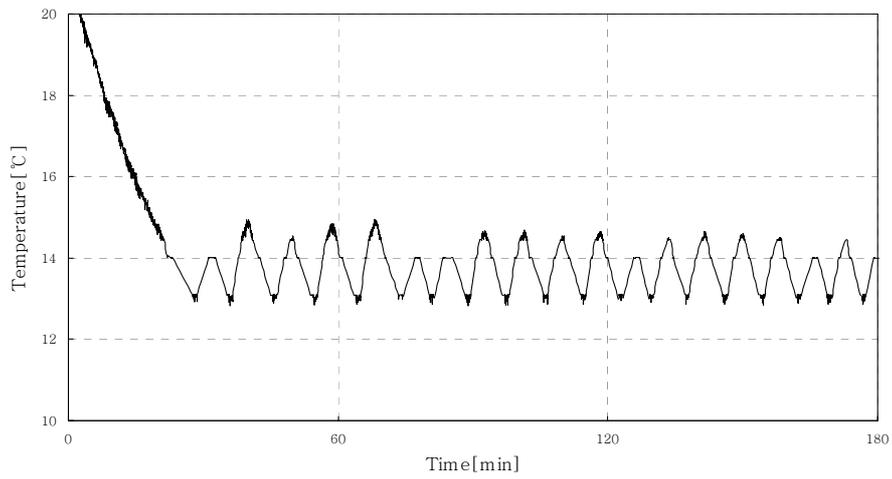


Figure 3.3.1.14 Simple ON/OFF control result of temperature in the artificial growth control room

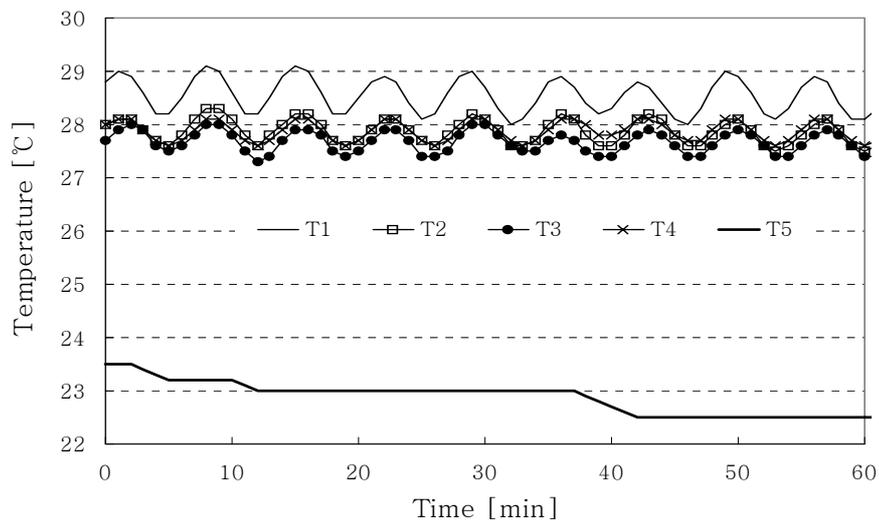


Figure 3.3.1.15 Difference in temperature response of individual sensors in the artificial growth control room

- 단순 경험학습 제어에 의한 인공재배 시험실 운전결과

Figure 3.3.1.16에 단순 경험학습제어 시스템을 사용하여 조절한 저장실의 온도변화를 나타내었다. 모의시험실 안의 온도가 외부온도 23℃보다 낮은 상태에서 시작하였지만, 설정온도가 내부온도보다 낮은 14.2℃이기 때문에 냉각기가 작동하여야 하며, 냉각기가 작동하면 온도는 내려갈 것이고 가열기는 가동시간을 최소한으로 하여 설정온도에 맞추고자한다. 그래도 현재온도가 설정점보다 0.25℃이하로 내려간다면 다시 가열기 작동 패턴을 변경하여 온도를 올려야 한다. 이때 가열기를 연속으로 작동하면 가열기가 과열되어 설정온도 이상으로 올라가는 경우가 있으므로, 가열기를 정해진 패턴에 따라 가열시간과 가열하지 않고 쉬는 시간을 조절하면서 설정온도에 맞추어간다. 만약 냉각기 가동시간이 오래되어서 온도가 0.5℃ 이하로 내려간다면 이때에는 가열기를 연속해서 가동하고 설정온도에서 0.25℃ 차이가 나면 다시 패턴을 적용해서 설정온도에 도달 할 수 있도록 한다. 열선을 가동함에 있어서도 이전의 가열시간에 따른 온도변화를 측정하여 열선가동시간을 조절하기 때문에 설정온도에 도달하는 시간이 비교적 짧으며, 설정온도에 도달한 후에도 열선을 가동하는 시간을 계속 변화시키기 때문에, 설정온도와 약 0.4℃의 오차를 보이면서 온도가 유지되는 모습을 보이고 있다.

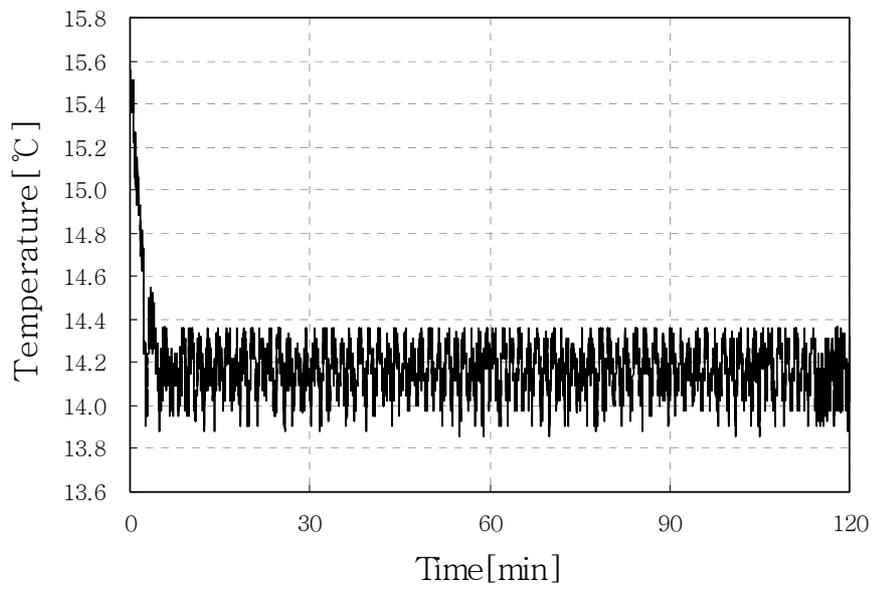


Figure 3.3.1.16 Change in temperature by the simple recursive learning control system

3.3.2 인공재배시험장 용 시료 준비

가) 재배 토양

전 3.2절 1항 가)에서 설명된 기본토양, 나)에서 처리된 기능세라믹분말 그리고 동 다)에 있는 영양 톱밥을 각각 무게비로 기본토양 1000: 기능세라믹분말 5: 영양톱밥 10을 혼합하여 재배토양 원료로 하였다.

나) 배양용기(재배포트)

폴리에틸렌 용기(반경 20cm 높이 30cm)를 밑과 뿌리가 있는 옆 부분에 송곳으로 직경 2mm 구멍을 약 내어 배양 용기(포트)로 만들었다.

3.3.3 인공재배시험실내 성장시험

위에서 처리한 산업 부산물과 혼합 미생물 배양액의 혼합비율을 결정하기 위해 성장이 비교적 빠른 고추와 토마토 그리고 오이를 상대로 인공시험장에서 성장시험을 실시하여 가장 좋은 결과를 갖는 혼합비를 결정하였고 이를 토대로 위 '신고' 유묘를 시험구로 시험하였다.

가) 토마토와 고추 성장시험에 의한 최적 기능세라믹분말 선정

Red mud로 알려진 한국 종합화학 알루미나 공장 부산물을 농업용 재료로 활성화시키기 위해 흔히 역침정석 세라믹이라 불리는 Cordielite 구조로 변환키 위해 망간, 아연, 마그네슘 산화물을 이 red mud에 비율을 달리하여 첨가하여 소성한 분말을 함량을 달리하여 토마토와 고추 묘목에 적용하여 시험한 결과를 **Table 3.3.3.1**과 **2**에 실었다. 이 결과를 보면 크게 두드러지지 않는으나, A로 표시된 세라믹이 비교적 좋은 결과를 보인다. 이 결과는 인공시험장에서 비록 온도와 습도가 조절되

기는 하지만 이 세라믹이 1-2% 첨가되면 지면의 온도를 상승시키는 효과가 있다는 보고에 의하면, 무엇인가 뚜렷한 이유는 없지만 영향이 있는 것으로 보인다. **Table 3.3.3.1**과 **2**의 결과를 토대로 이 기능세라믹분말을 미생물과 혼합하여 사용키 위해 pot속 사양토와 이 분말 그리고 미생물 현탁액을 토마토와 고추의 생장을 가장 좋게 했던 부산물 A와 미생물 6종 각각을 토양에 혼합하고 각 식물이 성장하는 모습을 관찰하였다(**Table 3.3.3.3**과 **4**). 고추 묘는 3주일 만에 약 20cm 자라는데 미생물의 종류에 따라 크게 차이는 나지 않지만, *Suillus bovinus* 를 혼합한 미생물복합체의 성장이 다른 미생물의 성장에 비하여 약간 나음을 확인할 수 있었다(**Table 3.3.3.3**). 여기에 표시된 농도는 미생물 배양액을 첨가한 양으로서 농도는 모두 10^6 cfu/mL로 조절 한 것이었다. **Table 3.3.3.4**는 오이 생엽수가 변화하는 것을 보여주는데 **Table 3.3.3.3**에서 얻은 결과를 인용하여 *Suillus bovinus* 미생물만 가지고 그 농도를 변화하면서 관측한 결과이다. 이 결과를 보면 50mL 정도의 미생물 처리로 충분한 것을 알 수 있다.

Table 3.3.3.1 Growth of tomatoes seedlings on different industrial byproduct's inclusion in the growth pot, where the byproduct was calcined at 1,350 °C with the other mineral oxides.

Byproduct class ¹⁾	Treated amount (g/kg soil)	0 days	7		14	
		Plant length(cm)	Plant length(cm)	Growth length(cm)	Plant length(cm)	Growth length(cm)
A	15	22.5	34.4	11.9	40.7	18.2
	10	21.8	33.5	11.7	39.9	18.1
	5	22.3	30.7	8.4	38.1	15.8
B	15	23.2	26.1	6.7	46.1	16.2
	10	22.1	28.3	6.2	37.3	15.2
	5	21.8	27.6	5.8	36.2	14.4
C	15	23.1	29.9	7.8	49.0	15.1
	10	22.5	29.4	6.9	37.8	15.3
	5	22.6	28.4	5.8	36.2	13.6
D	15	22.2	30.9	7.0	48.5	15.3
	10	21.5	28.3	6.8	36.1	14.6
	5	23.4	29.9	6.5	37.7	14.3
Control		23.5	36.2	12.7	52.1	13.4

Table 3.3.3.2 Dependence on different industrial byproduct's inclusion in the growth pot of pepper seedlings , where the byproduct was calcined at 1,350 °C with the other mineral oxides.

Byproduct class	amount (g/kg soil)	Plant length(cm)				Number of leaves(ea)			
		0 days	7	14	21	0 days	7	14	21
A	15	12.5	24.5	27.3	33.1	6.2	11.9	12.6	15.2
	10	12.6	25.1	28.7	32.9	6.0	11.9	12.4	15.1
	5	12.7	22.7	26.0	29.9	6.0	11.5	12.2	14.8
B	15	12.7	23.4	26.5	29.6	6.0	11.6	12.8	14.1
	10	13.1	23.6	26.3	29.5	6.1	11.5	12.9	13.9
	5	12.4	23.1	26.5	29.3	6.2	11.7	13.0	14.4
C	15	12.5	23.8	28.0	32.2	6.3	11.2	13.0	13.8
	10	12.4	21.4	24.2	32.1	6.2	11.3	12.7	13.7
	5	12.5	22.4	28.0	29.8	6.1	10.9	12.8	12.4
D	15	12.8	22.6	24.9	28.8	5.6	12.3	12.7	14.1
	10	12.8	22.6	26.7	29.8	6.0	12.1	12.7	14.0
	5	12.8	22.8	26.7	29.7	6.0	11.4	12.7	13.9
Control	0	12.6	23.4	26.0	29.0	6.2	11.5	12.5	13.8

Table 3.3.3.3 Effect of byproduct-microbe combination on the pepper seedlings growth pot. The concentration in the table is mL suspension of 10^6 cfu/mL added to the pot where the 1.5% functional ceramic powder A exists.

microbes added	conc. (mL)	plant length (cm) after				no of leaves after			
		0 day	7	14	21	0	7	14	21
<i>Pseudomonas sp</i>	50	12.6	25.1	28.7	33.9	6.2	11.9	12.6	15.7
	20	12.7	22.7	27.0	32.9	6.3	11.8	12.7	15.1
<i>Bacillus subtilis</i>	50	13.1	23.6	26.3	31.9	6.4	11.9	13.1	15.9
	20	12.4	23.1	26.5	33.3	6.2	11.6	13.0	15.5
<i>Trichoder. harzianum</i>	50	12.4	22.4	24.2	31.2	6.1	11.4	12.9	15.6
	20	12.5	22.8	28	31.4	6.0	12.2	13.2	15.7
<i>Aspergillus oryzae</i>	50	12.2	22.8	24.9	32.1	6.1	12.2	12.9	15.9
	20	12.3	21.8	26.7	31.2	6.3	12.1	13.1	15.6
<i>Streptomyces albulus</i>	50	12.0	24.1	28	33.1	6.2	11.9	13.3	15.7
	20	12.2	23.6	24.9	32.8	6.0	12.1	12.7	15.3
<i>Suillus bovinus</i>	50	12.1	24.8	28	34.3	6.2	11.9	13.4	16.0
	20	12.8	24.6	24.9	33.7	6.6	12.1	13.7	15.9
control	50	12.6	22.4	26	29.2	5.9	11.5	12.5	13.8
	20	12.7	23.8	25.6	29.1	5.9	11.9	12.7	13.5

Table 3.3.3.4 Depend of number of leaves of cucumber on the microbe concentration. The concentration in the table is mL suspension of 10^6 cfu/mL added to the pot where the 1.5% functional ceramic powder A in table 1 exists.

microbe	conc. (mL)	0 day	after 7 days		after 14 days	
		leaves	leaves	difference	leaves	difference
<i>Suillus bovinus</i>	20	1.2	2.9	1.7	4.9	2.0
	50	1.3	3.0	1.7	5.1	2.1
	80	1.3	3.0	1.7	5.0	2.0
control		1.1	2.3	1.2	4.2	1.9

나) 인공재배시험장내 배 유묘 사경시험(sand culture)

- 어린 배나무(유묘)

배 '신고' 종자 1000 개를 상온에서 15분간 1% sodium hypochlorite 용액 1L에 적시어 소독한 다음, 3.2.1 가)에서 설명된 기본토양을 담은 묘판에 파종하여 신장이 8-10cm가 되는 약 40일 경과 후에 채집하여 이 유묘를 미생물 선별시험에 사용하였다.

- 배 유묘 감염

위 배나무 유묘를 6 개 미생물 즉, *Pseudomonas sp*, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus oryzae var oryzae*, *Streptomyces griseoviridis*, *Suillus bovinus* 를 배양한 현탁액 각 500 mL(농도 10^6 cfu/mL)에 30분간 감염시켰다.

- 감염 유묘 배양포트 이식

위 감염 유묘를 사양토(sandy loam; 압력솥에서 120℃로 2시간 멸균, pH 5.6, 유기물 0.81%, 유효인산 244 ppm, Ca 1.76meq/100g, Mg 0.28meq/100g)가 들어 있는 1L 배양 용기에 이식하였다. pH가 6.5인 森氏액을 변형시켜 KNO_3 0.8g, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 0.9g 및 $NaNO_3$ 0.5g을 물 1L에 녹인 사경시험(sand culture) 영양액을 1일 500mL씩 3회 공급하였다. 이 포트 속에 염이 축적되는 것을 방지하기위해 매주 한번씩 뿌리 주변을 이온 정수기를 통과한 전도도가 10-4mho인 연수에 10분씩 담구어 세척하였다. 이 포트 속 유묘는 자연광과 온도 및 습도가 인공적으로 25℃ 상대습도 50% 평균 조도가 12시간동안은 200,000Lux 나머지 12시간은 500Lux로 조절되는 인공시험장에 정치되어 성장시켰으며,

Table 3.3.3.5 Effect of byproduct-microbe combination: Weights of fresh organs and heights of the pear Niitaka(Singo) seedlings grown with the ceramic powder for four months in the artificially controlled chamber.

microbes provided	weights, g			gross weight, g/plant	plant height, cm
	leaf	stem	root		
<i>Pseudomonas sp</i>	3.52	1.94	2.41	7.85	14.20
<i>Bacillus subtilis</i>	3.51	1.76	2.35	7.83	14.50
<i>Trich. harzianum</i>	3.53	1.83	2.35	7.47	14.30
<i>Aspergillus oryzae</i>	3.61	1.95	2.32	7.89	14.50
<i>Str. griseoviridis</i>	4.39	2.12	2.42	8.98	15.10
<i>Suillus bovinus</i>	5.38	2.37	2.53	9.92	15.50

cf. The nutrient substances were provided to the seedling's pot containing sandy loam sterilized in autoclave at 120°C for 2 hours, pH 5.6, organics 0.81%, phosphate 244 ppm, Ca 1.76mm equivalent, Mg 0.28mm equivalent per 100g of the soil. The root part of the plant seedlings had been immersed in the broth suspension of the microbial growth before the transplantation.

Table 3.3.3.6 Amounts of inorganic elements in the leaf of the pear Niikata(Singo) grown for four months in the artificially controlled chamber.

Microbes	N (%)	P (ppm)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Cu (ppm)	B (ppm)
<i>Pseudomonas sp</i>	1.71	4176	2.65	0.77	0.26	194	431	12.2	24.1
<i>Bacillus subtilis</i>	1.77	4392	2.60	0.94	0.30	182	418	18.2	20.9
<i>Trichoderma harzianum</i>	1.92	4244	2.60	0.99	0.26	268	380	10.8	21.7
<i>Aspergillus oryzae</i>	1.91	4335	2.58	1.13	0.26	144	255	7.3	22.6
<i>Streptomyces albulus</i>	1.77	4392	2.60	0.94	0.30	182	418	18.2	20.9
<i>Suillus bovinus</i>	1.92	5244	2.60	0.99	0.26	268	380	10.8	21.7

2002년 2월 20일부터 약 4개월 경과한 4월 20일에 채취하여 나무 생 중량(fresh weight)과 초장을 잎, 줄기 및 뿌리 별로 측정하여 비교하였 다

- 인공재배시험실내 성장 결과

▪ 감염 미생물 별 배 유묘 성장 속도: 각개 미생물 현탁액에 30분간 담 갔던 이 포트 속 유묘는 자연광과 온도 및 습도가 인공적으로 25℃ 상 대습도 50% 평균 조도가 12시간동안은 200,000Lux 나머지 12시간은 500Lux로 조절되는 인공시험장에 정치되어 성장시켰으며, 2002년 12월 20일부터 약 4개월 경과한 4월 20일에 채취하여 나무 생 중량(fresh weight)과 초장을 잎, 줄기 및 뿌리 별로 측정하여 **Table 3.3.3.5**에 비 교하였다. 이 표를 보면 여러 가지 미생물들 중에서 *Streptomyces griseoviridis*와 *Suillus bovinus* 배양액에 뿌리를 담갔던 배 유묘가 생 체중과 생장이 비교적 우수한 것을 알 수 있다. 이것은 사양토에 있는 무기물을 분해할 수 있는 *Suillus bovinus* 의 능력 때문이라고 생각된다.

▪ 감염 미생물 별 배 유묘 영양 성분 차이: **Table 3.3.3.6**에는 이들 잎 중에 있는 각 무기영양소를 분석하여 나타내었다. 잎이나 가지에 있는 질소, 인산, 칼리 등 무기 영양소는 채취된 잎과 가지를 비이온성 세제 로 세척하고 70℃에서 건조하여 분쇄한 후 시료 2g을 분해용 액체(H_2O_2 250mL + H_2SO_4 100mL + $HClO_4$ 450mL = 800mL) 20mL 속에서 서서 히 가열하다가 차츰 온도를 올려 180~200℃에서 가열 분해하여 식힌 후 ,Whatman 여과지(No. 6)를 통해 증류수 100mL를 여과하여 매프라 스크로 정용한 200배액을 시료로, N는 Kjeldahl법으로 측정하고, K는 황산으로 분해하여 Atomic absorption spectrophotometer(Perkin Elmer

2380)로 측정하고, P, Ca, Mg, Mn 등은 Inductively coupled plasma(Perkin Elmer Otima 3000 SCR)로 측정하여 잎과 줄기 내 무기 성분 함량을 분석하였다. 각 미생물 별로 별 차이가 없으나 *Suillus bovinus*에 담갔던 잎이 인 함량이 제일 많은 것으로 보아 이 미생물이 사양토속에 있는 인을 분해하는 능력이 가장 우수함을 알 수 있다.

▪ 당함량

직경 5mm인 탐침을 부착한 Texture analyzer(XT2, England)를 10mm/s 속도로 하강시키며, 껍질을 벗긴 과실의 적도부위를 찌르게 하여 과실 경도를 측정하였고, 동일 과실에서 착즙한 액을 굴절당도계 (Atago, Japan)에 놓아 당 함량을 측정하였다.

▪ 근활력

1mm 이하의 뿌리를 0.5cm 간격으로 자른 일정량(1g)의 뿌리를 triphenyltetrazolium chloride(TTC) 0.1% 용액(1% TTC + 0.4M disodium succinate hexahydrate + 0.1M 인산염 완충액) 30mL를 넣은 배양병에 담아 8시간 동안 36℃ 항온기에서 보관한 후 시료를 거르고 formazan이 형성된 여액에서 3mL 취하여 UV/VIS spectrophotometer (Shimadzu, Japan)를 이용 470nm에서의 흡광도로 formazan이 생성된 양을 정량하여 근 활력을 나타내는 지표로 삼았다. **Figure 3.3.3.1**에는 이들 6가지 미생물들의 formazan 생성량으로 검사한 근 활력이 나타나 있다. 1mm 이하의 뿌리를 0.5cm 간격으로 자른 일정량(1g)의 뿌리를 triphenyltetrazolium chloride(TTC) 0.1% 용액(1% TTC + 0.4M disodium succinate hexahydrate + 0.1M 인산염 완충액) 30mL를 넣은

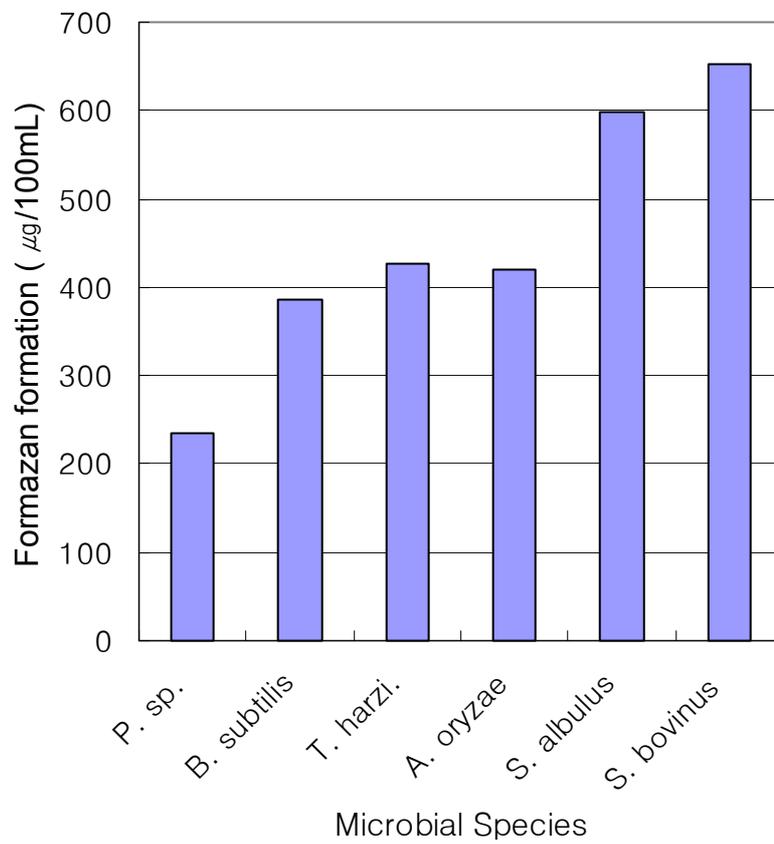


Figure 3.3.3.1 Differences in the root activities of the pear Niikata(Singo) grown for four months in the artificially controlled chamber.

배양병에 담아 8시간 동안 36℃ 항온기에서 보관한 후 시료를 거르고 formazan이 형성된 여액에서 3mL 취하여 UV/VIS spectrophotometer (Shimadzu, Japan)를 이용 470nm에서의 흡광도로 formazan이 생성된 양을 정량하였다. Tetrazolium salt는 mitochondria의 호흡사슬에 존재하여 생존세포에만 활성이 있는 Succinate- tetrazolium- reductase (EC1.3.99.1)에 의해 formazan 색소로 분해한다. 생존 세포수가 증가하면 시료중의 mitochondria 탈수소효소 전체의 활성이 증가하므로, 이 효소 활성의 증가가 formazan 색소의 생성증가를 유도하기 때문에 formazan 색소와 배지중의 대사활성이 있는 세포의 수와는 직선적인 상관을 나타내게 된다. 따라서 **Figure 3.3.3.1**에 나타난 formazan 량은 이들 6가지 미생물들이 식물 뿌리의 세포 활력에 미치는 영향을 대변한다고 할 수 있는데, 이 그림을 보면 *Suillus bovinus*나 *Streptomyces griseoviridis*가 제일 좋은 경향이 있음을 알 수 있다. 기능세라믹분말이 위 **Table 3.3.3.5**에 보였던 미생물 단독 처리한 성장 촉진 효과를 높이는지 세라믹혼합물 처리와 비교하기위해 **Table 3.3.3.7**에 기능세라믹분말과 미생물을 혼합 처리한 결과를 실었다. 동일한 4개월간의 유묘 성장에서 각 잎의 무게나 생체중(gross weight) 그리고 초장(plant height) 모두에서 약 1-2% 향상된 결과를 보았다.

Table 3.3.3.7 Effect of byproduct-microbe combination: Weights of fresh organs and heights of the pear Niitaka(Singo) seedlings grown with the ceramic powder for four months in the artificially controlled chamber of the figure 1.

microbes provided	weights, g			gross weight, g/plant	plant height, cm
	leaf	stem	root		
<i>Pseudomonas sp</i>	3.52	1.94	2.41	7.85	14.20
<i>Bacillus subtilis</i>	3.51	1.76	2.35	7.83	14.50
<i>Trich. harzianum</i>	3.53	1.83	2.35	7.47	14.30
<i>Aspergillus oryzae</i>	3.61	1.95	2.32	7.89	14.50
<i>Str. griseoviridis</i>	4.39	2.12	2.42	8.98	15.10
<i>Suillus bovinus</i>	5.38	2.37	2.53	9.92	15.50

제3장 4절 미생물제제 대량 생산방법 제안과 배 과수 원 현지시비

이절에서는 이제까지 개발된 미생물과 기능세라믹분말 혼합 미생물제제를 대량으로 제조할 수 있는 방안을 제시하고 이렇게 제시된 방법으로 제조된 미생물제제를 위탁연구기관인 전남농업기술원에서 시험적으로 시비한 결과 등을 토대로 본 연구에서 개발된 미생물 제제의 효능을 정리하였다.

3.4.1 미생물 제제 대량 생산

가) 배양 병에 의한 중규모 생산

- 단일 균주 별 배양 병 재배

미생물제제를 현장에 직접 적용하려면 생산량을 늘려야한다. 많은 양을 고체배양 하기 위해 사용한 배지는 과수원에서 가지치기를 하여 나온 가지를 분쇄하고 재재소의 폐 톱밥을 이용하여 수분 60%, 미강 20%,를 첨가하여 상압살균하고, 일부는 고압살균 하여 상온에서 15일간 배양 하였다. 톱밥과 미강을 혼합한 배지를 상자와 병에 채운 뒤 온도121℃ 조건으로 60분 고압스팀 살균하여 균을 접종하고 15일 배양하여 균을 대량 생산할 수 있는지를 확인하였다. 또한 같은 조건의 배지를 60℃에서 5시간 고압살균이 아닌 상압 살균하여 균을 배양하고 상온과 24℃의 조건에서각각 배양상태를 확인하였다.

멸균된 톱밥배지에 배양한 *Pseudomonas* sp는 3일후 연한 노란색을 띠고 있는데 20ml 접종시킨 것은 10ml 접종시킨 것 보다 좀더 어두운 노란색을 띠고 있다. 톱밥상태에서 *Pseudomonas* sp는 비교적 빠른 속도로

성장함을 알 수 있다(**Figure 3.4.1.1.**).

Bacillus subtilis 역시 3일 후 파란색과 연한 노란색을 띄면서 성장하는 모습을 볼 수 있으며 20ml 접종시킨 것과 10 ml를 접종시킨 경우 비슷한 양상을 보였다(**Figure 3.4.1.2.**).

*Trichoderma harzianum*은 다른 여러 균에 비해 성장속도가 빠를 뿐만 아니라 진한 녹색을 띄며 강하게 자라는 모습을 볼 수 있다. 10ml 와 20 ml의 균사 량을 접종하였는데 톱밥배지 속에서 차이를 전혀 보이지 않으며 잘 성장함을 알 수 있다. 배양6일 후에는 균사가 용기의 절반정도 퍼져 있었고 15일후에는 용기에 가득 차있었다(**Figure 3.4.1.3.**).

*Aspergillus oryzae*의 균사는 성장하면서 흰색의 균사상태를 보이고 비교적 양호한 상태로 균사가 성장함을 알 수 있다. 10ml 접종시킨 것보다 접종 량이 많은 20ml 접종하였을 때 더 잘 자라고 있음을 알 수 있고, 10일 후에 관찰해보니 균사가 종균 병의 절반정도 퍼져 있었으며 15일 후에는 균사가 종균 병에 가득 찼다(**Figure 3.4.1.4.**)여러 가지 균을 혼합 배양한 균은 각 균의 특징을 보이고 있는데 여기서 갈색의 띠를 형성하는 것은 *Streptomyces griseoviridis*로 여러 가지 토양 균이 같이 혼합 배양하였을 때 각 균의 특징이 유지되며 잘 자람을 알 수 있으며 현장에 사용하기 위한 양을 대량생산하기에 충분함을 알 수 있다.



Figure 3.4.1.1. *Pseudomonas* sp. in growth bottle after 3 days



Figure 3.4.1.2. *B. subtilis* growth bottle after 3 days



Figure 3.4.1.3. *Trich. harzianum* growth bottle after 15 days



Figure 3.4.1.4. *A. oryzae* growth bottle after 15 days



Figure 3.4.1.5. *S. griseoviridis* after 15 days



Figure 3.4.1.6. *S. bovinus* after 15 days

*Streptomyces griseoviridis*는 톱밥배지에서 전혀 자라지 못하면서 시간이 지남에 따라 접종했던 colony가 거의 사멸해감을 볼 수 있다. 육안으로 균을 확인 할 수 없을 뿐만 아니라 페트리접시에 접종시켜서 확인했더니 하나도 자라나지 않았다. 이것은 톱밥배지 상태에서의 *streptomyces griseoviridis*가 전혀 자라지 못한다는 것을 알 수 있다(**Figure 3.4.1.5.**)

톱밥배지에서 *Suillus bovinus*는 다른 곰팡이 균과 비슷한 양상을 보이면서 성장함을 볼 수 있고 균사의 접종 양에 따라 균이 자라는 속도가 약간의 차이를 보이고 있다. 균사의 접종량이 20ml 일 때 접종량이 10ml일 때보다 더 빠른 성장을 보였으며 20ml 접종시켰을 때 제일 잘 자랐다. 10일 후에 관찰해보니 하얀 균사가 절반 정도 퍼져 있었고 15일 후에는 균사가 다 퍼져있었다(**Figure 3.4.1.6.**). 이와 같이 일부는 상압살균하고, 일부는 고압살균 하여 *Suillus bovinus*를 접종하여 상온과 24℃의 조건에서 각각 배양하였다.(Fig. 6) 그림 9와 같이 *Suillus bovinus* 는 하얀색의 균이 치밀한 구조를 이루며 대량배양 하여도 잘 자라는 것을 알 수 있다.

- 혼합 균주 병 배양

*Suillus bovinus*와 *Pseudomonas* sp, *Trichoderma harzianum*, *Streptomyces griseoviridis*를 다같이 혼합하여 접종시키고 상온에서 15일간 배양 하였다.(**Figure 3.4.1.7.**).



Figure 3.4.1.7. Mixed culture result after 15 days

- 실온에서 배양 병 대량 배양

Pseudomonas sp와 *Bacillus subtilis*균을 상압살균한배지에 접종 원료로 만들어 놓은 균에서 분리하여 각각 5g을 접종하여 *Pseudomonas* sp와 *Bacillus subtilis*를 온도를 조절하지 않고 상온인 복도에서 배양하였다. 배지를 상압 살균한 이유는 원가를 절감할뿐만 아니라 대량 살균이 가능하고 장소의 구애를 별로 받지 않기 때문이다. 또한 살균할 때 기름보일러가 아닌 간이식 보일러를 제작하여 건설회사에서 쓰고 버린 폐 나무를 원료로 사용할 수 있는 장점이 있다. 본 연구에서는 값싸고 질 좋은 미생물 비료를 생산하기위한 값싼 배지 조성은 물론 균 접종 또한 배지를 상압 살균하였기 때문에 멸균되지 않은 2평정도의 사방이 막혀있는 공간만 있으면 균 접종이 가능함을 확인 할 수 있었다. 이러한 조건으로 배지에 *Pseudomonas* sp와 *Bacillus subtilis*균을 접종하고, 냉각 장치로 조절된 배양실이 아닌 복도에서 배양하였는데 비료로 쓰기 위한 균이 잘 자람을 확인 할 수 있었다.

Suillus bovinus 역시 *Pseudomonas* sp와 *Bacillus subtilis*와 같은 방법으로 배지를 상압 살균하여 균 접종 후 배양할 장소의 온도를 조절하지 않고 상온인 복도에서 **Figure 3.4.1.8.**과 같이 배양하였다.

Figure 3.4.1.8.의 *Suillus bovinus*는 상압 살균된 톱밥배지에 균을 접종하고 15일후 백색을 띠며 균사가 치밀한 모습을 보여주어 토양에 뿌려질 비료로 경제적 가치가있음을 확인 할 수 있었다.

Trichoderma harzianum, *Aspergillus oryzae*는 *Pseudomonas* sp,

*Bacillus subtilis*나 *Suillus bovinus*와 같은 조건으로 살균, 균 접종하여 온도를 조절하지 않은 상온인 복도에서 배양 하였는데 다른 균보다 더 빠른 모습인 13일에 균사가 용기 안에 가득히 자람을 알 수 있다. 균의 성장속도가 다른 균보다 1~2일 정도 빠르지만 다른 균과 같이 혼합 배양하여 비료로 쓰기에 적합함을 알 수 있다. (Figure 3.4.1.9.)

나) 배양 포대에 의한 대규모 생산

Figure 3.4.1.10과 같이 포대에 직접 미생물비료를 배양함으로써 비료의 취급이 용이하도록 하였다. 본 실험을 위해 시중에 사용하고 버린 포대를 수거하여 세라믹 파우더를 첨가한 톱밥배지에 *Suillus bovinus*와 *Pseudomonas* sp, *Trichoderma harzianum*, *Streptomyces griseoviridis*를 혼합한 다음 20kg을 포대에 담아 포대가 열에 상하지 않도록 비용이 적게 들면서 손쉽게 할 수 있는 상압 살균을 60℃에서 3시간 살균하였다. 혼합배지에 여러 가지 균을 접종하여 온도를 조절하지 않은 상온에서 배양 15일동안 배양하여 균이 자란 상태를 확인 하였다.



Figure 3.4.1.8. Mass production of *Suillus bovinus* on the room temperature of growth bottle made of poly ethylene.



Figure 3.4.1.9. Mass production of *Trichoderma harzianum* on the room temperature of growth bottle made of poly ethylene.



Figure 3.4.1.10 Mass production on room temperature in the baggage

3.4.2 배 과수원 현지 시험 살포 및 병충해 발생 조사

가) 미생물제제 과수원 시비방법

전남 나주시 부덕동에 있는 5년생 배나무에 단위 면적당 살포량을 $1\text{kg}/\text{m}^2$ 씩 깊이 15cm이내로 지층에 시비하였다. 시비 시기는 2003년 3월에 시행하였고 결과는 배나무 잎의 크기와 두께 그리고 줄기 내 영양 성분을 7월 15일 경에 분석하고, 과일 내 당분과 잎 내 무기성분 함량은 개화 후 약 120일 후인 9월 하순에 배를 채취하여 분석하였다.

80°C에서 3일간 건조한 제재소 폐 톱밥에 수분 60%, 미강 20%,를 첨가하여 혼합하여 이를 기본 배지(base media)를 준비하였다. 이 기본 배지 1kg 마다 *Str. griseoviridis*과 *Suillus bovinus* 배양현탁액 각 25mL와 세라믹 분말 15g을 혼합하여 15일간 모의 시험포에서 숙성시킨 것을 미생물 제제(microbial media)로 하였다.

처리 방법은 4가지로 구분하였다.

- 1) 정상적인 배 과수 농법으로 하는 것(control)
- 2) 1)에 위 기본 배지만을 시비한 것(base only)
- 3) 위 미생물 제제를 시비한 것(microbial)
- 4) 위 미생물제제 성분 중에서 세라믹 분말을 제외시킨 것(microbe only).

나) 배나무 생육 상황 조사

위 네 가지로 달리하여 처리한 과수는 무기양분 이동이 적은 2002년 7월 20일경 금년에 자란 발육지(twig)와 과대지(shoot) 중에 비교적 우량한 가지를 1나무에서 4-5가지를 정하고 가지 끝과 발생 부 사이 중간부분에서 잎 3개씩을 따서 모두 한 나무에 10~15매 정도의 잎을 모아 마르지 않게 비닐봉지에 싼 후, 비 이온성 세제로 세척하여 수분을 제거하고 잎 중량은 및 잎 면적 계를 이용하여 잎 면적을 조사하였다. 이렇게 채취한 잎들의 면적을 모두 합하여 잎 면적은 잎 한 개의 면적으로

산술 평균하여 표준 편차를 계산하고, 이 잎들의 무게를 달아 총 잎 면적으로 나누어 잎 100cm²에 해당하는 잎 무게를 계산하여 **Figure 3.4.2.1**과 **동 2**에 정리하였다. 또한 개화 후 120일 후인 9월 하순경, 이 잎들을 측정했던 배나무들 10그룹을 정하여, 한 과당 무게가 약 500g 되는 것을 한 나무에서 10개씩 100과를 따서 5개는 과일 무게와 기계적 강도를 조사하는데 사용하고, 나머지 5개는 껍질과 과육(flesh)을 분리하여 성분을 조사하였다.

잎이나 가지에 있는 질소, 인산, 칼리 등 무기 영양소는 채취된 잎과 가지를 비 이온성 세제로 세척하였다. 70℃에서 건조하여 분쇄한 이 시료 2g을 분해용 액체(H₂O₂ 250mL + H₂SO₄ 100mL + HClO₄ 450mL = 800mL) 20mL가 들어 있는 삼각플라스크에 넣어 서서히 가열하다가 차츰 온도를 올려 180~200℃에서 가열 분해하여 식힌 후, 증류수 100mL를 써서 Whatman 여과지(No. 6)를 통해 여과하였다. 이 용액 200배로 희석하여 질소는 Kjeldahl법으로 측정하고, 칼리는 황산으로 분해하여 Atomic absorption spectrophotometer(Perkin Elmer 2380)로 측정하였다. 그밖에 P, Ca, Mg, Mn 등은 Inductively coupled plasma(Perkin Elmer Otima 3000 SCR)로 측정하여 잎과 줄기 내 무기성분 함량을 분석하였다.

과일의 기계적 강도는, 직경 5mm인 탐침을 부착한 Texture analyzer(XT2, England)를 10mm/s 속도로 하강시키며, 껍질을 벗긴 과실의 적도부위를 찌르게 하여 과실 경도를 측정하였고, 강도를 측정했던 과실을 압착해 얻은 액을 굴절 당도계(Atago, Japan)에 놓아 당 함량을 측정하였다.

Figure 3.4.2.1에는 잎 면적을 그리고 **Figure 3.4.2.2**에는 잎 면적 1cm²

당 잎 증량을 발육지와 도장지에 대해 위쪽과 아래쪽에 표시하였다.

Figure 3.4.2.1 위쪽에 있는 차트를 보면, 발육 중에 있는 가지(twig)에서 채취한 잎들에서는, 정상적인 농법으로 자란 배나무 잎 면적과 여기에 Base 만을 더해서 처리한 배나무 잎 면적이 별로 차이가 없었으나 미생물제재로 처리한 잎은 약 3% 정도 더 넓었고 더욱이 미생물만으로 처리한 잎 면적이 제일 넓었다.

Figure 3.4.2.1 아래쪽 차트에는 과대지 또는 도장지로 불리는 큰 가지(shoot)에서 채취한 잎 한 개의 평균면적을 나타내었다. 전체적으로 처리제와 상관없이 모두 잎 한 개 넓이가 70-80cm²에 가깝다.

잎 100cm²의 무게를 처리제 별로 구분하여 발육 가지와 도장지를 Figure 12의 위와 아래에 동시에 표현하였다. 도장지에 있는 잎의 무게는 미생물제재가 제일 건설하였고, 발육지에 있는 잎은 미생물만으로 처리했을 때가 제일 좋았다.

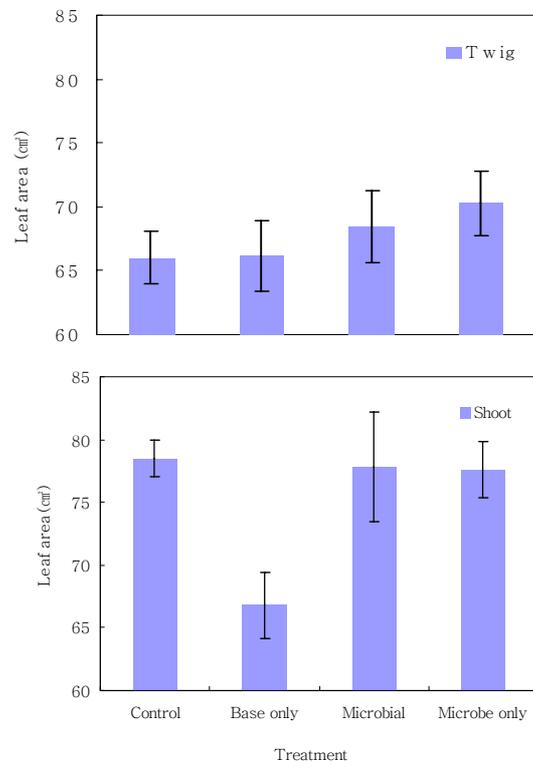


Figure 3.4.2.11. Leaf area of twigs and shoots in pear trees 60 days after full bloom.

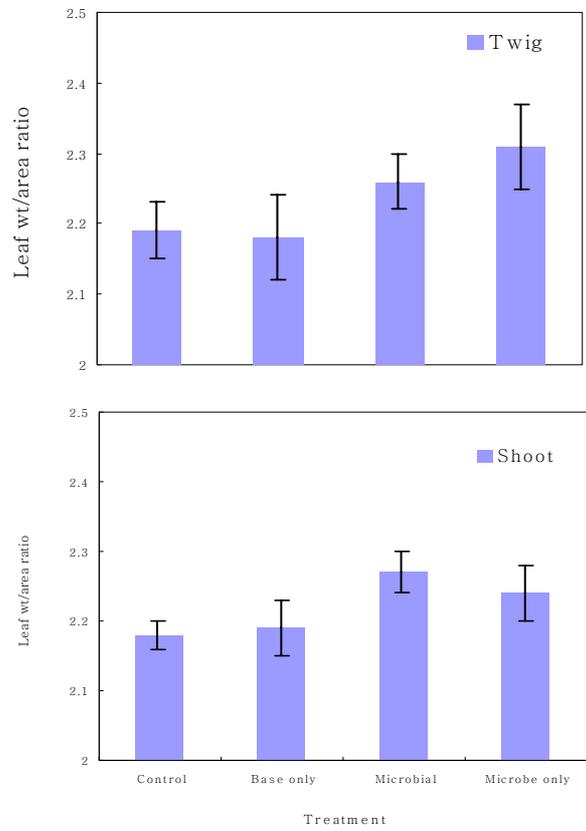


Figure 3.4.2.12. Leaf weight of twigs and shoots in pear trees 60 days after full bloom.

Figure 3.4.2.3 에는 각 처리제 별로 나타난 과일의 무게가 실려 있다. 이들 무게가 제일 무거운 것은 미생물 처리를 한 배나무에서 딴 과일이 었다. 이것은 미생물 현탁액과 세라믹 분말이 과일을 크게 자라게 하는 데 기여했다고 말할 수 있다.

Figure 3.4.2.4에 과일의 단단한 정도(firmness)와 수용성 과일성분(soluble solid)을 Brix로 정리하였다. 이결과를 보면 firmness는 미생물 제로 처리한 경우나 미생물만으로 처리한 경우 모두 약 10% 증가하였음을 알 수 있고, soluble solid는 미생물제제로 처리한 경우가 제일 우수하였음을 알 수 있었다.

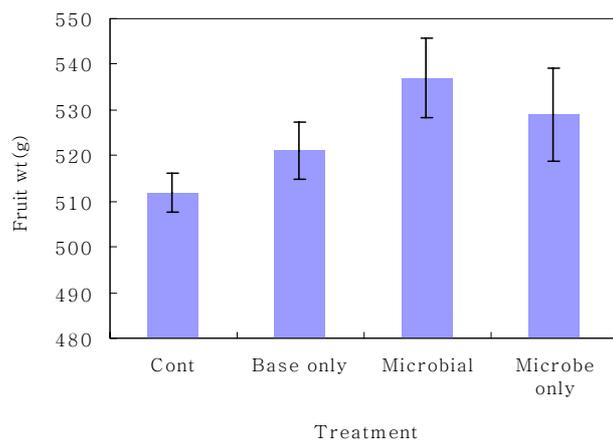


Figure 3.4.2.13 Fruit weight content in pear trees, 120 days after full bloom.

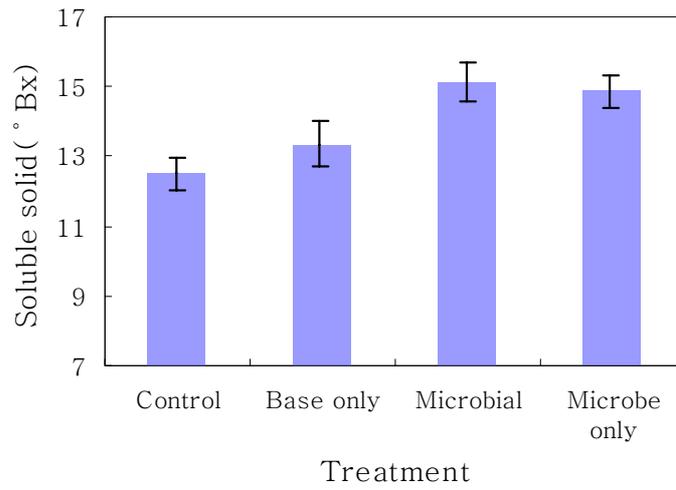


Figure 3.4.2.14. Fruit firmness and soluble solid content in the flesh of pear trees at 120 days after full bloom. Vertical bars show \pm SE.

Table 3.4.2.1 Cohesive and adhesive power of the fruit as affected by the microbial fertilizer application.

Orchard group	Cohesiveness (g)	Adhesiveness (g)
Control	0.16	- 0.07
base only	0.17	- 0.10
microbial	0.19	- 0.07
microbe only	0.18	- 0.10

Table 3.4.2.1에는 응집성과 점착성을 측정된 결과를 처리제 별로 정리하였다. 응집성과 점착성은 Texture analyzer 탐침이 과일에 들어갈 때와 나올 때에 받는 힘을 측정함으로써 들어갈 때 얼마나 힘이 들었고 나올 때 얼마나 들었는지를 알아보는 지표이다. 미생물제제가 응집성이 가장 크고 점착성이 가장 낮아서 이 과일이 씹을 때에도 감촉이 좋을 것임을 예고한다.

과수원 토양을 비교분석한 자료 중에서 무기 영양성분들 함량을 **Table 3.4.2.2**에 정리하였다. 각 처리제 별로 모든 영양성분이 크게 달라지지는 않았으나 P_2O_5 로 측정된 인 함량 변화에 주목할 필요가 있다. 미생물만을 시비한 토양에서 인 함량이 제일 많이 증가한 것을 알 수 있다. 반면에 미생물제제(미생물과 세라믹 분말 혼합제)로 시비한 토양에서는 인 함량이 조금밖에 증가하지 않았다. 표층에서 10 cm 정도에서 채취한 토양이었으므로 확실하게 단정할 수는 없으나 미생물이 토양 중에 무기물 형태로 존재하는 인산화물을 가용화 시킨 것이 아닌 가라고 생각하고 있으며 차기년도에는 이 부분을 집중적으로 연구하여 그 원인을 해명할 것이다. **Figure 3.4.2.5**는 과일 껍질 속에 함유된 인 함량을 측정된 결과이다. 인 함량은 미생물만으로 처리한 경우가 제일 높았다. **Figure 3.4.2.6**에는 과육 속에 들어 있는 인 함량을 정리하였다. 이 두 그림에서 보듯이 **Table 3.4.2.1**에 토양 중에 증가한 인 함량은 미생물제제인 경우에는 과일 속으로 많이 전달된 것을 알 수 있다.

Table 3.4.2.2. Change of the soil elemental composition as affected by the microbial fertilizer insertion in the pear 'Niitaka' farm. The phosphate content is predominant in the microbial fertilizer application in the soil.

Orchard No.	Year	Organic matter (%)	pH	P (ppm)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)
Control	2002	1.89	5.18	1094	1.27	4.22	1.51
	2003	1.82	5.17	1094	1.26	4.20	1.55
base only	2002	1.86	5.19	1131	1.27	4.28	1.49
	2003	2.25	5.49	1283	1.31	4.33	1.82
microbial	2002	1.96	5.48	1288	1.28	4.29	1.62
	2003	1.94	5.46	1299	1.27	4.27	1.69
microbe only	2002	1.98	5.44	1104	1.28	4.22	1.76
	2003	2.31	5.51	1381	1.34	4.39	1.89

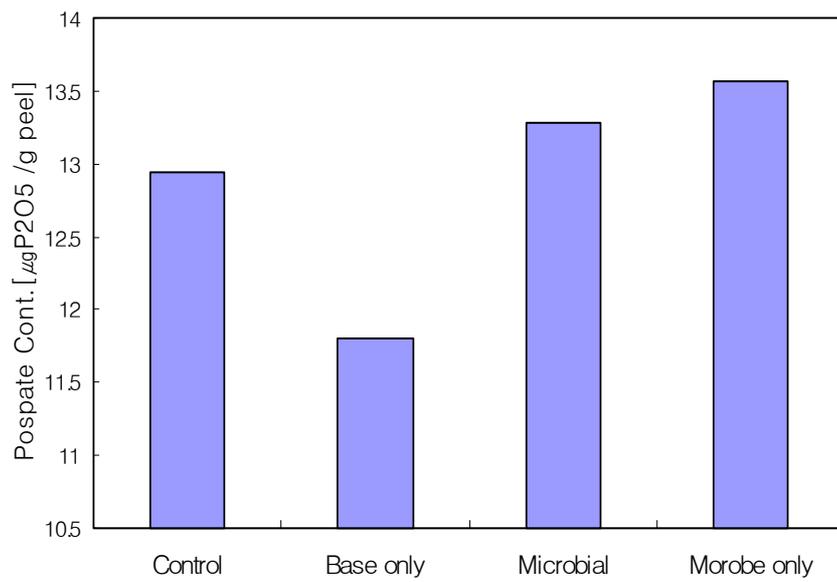


Figure 3.4.2.15 Difference in Phosphate content of the pear peel 60 days after full bloom.

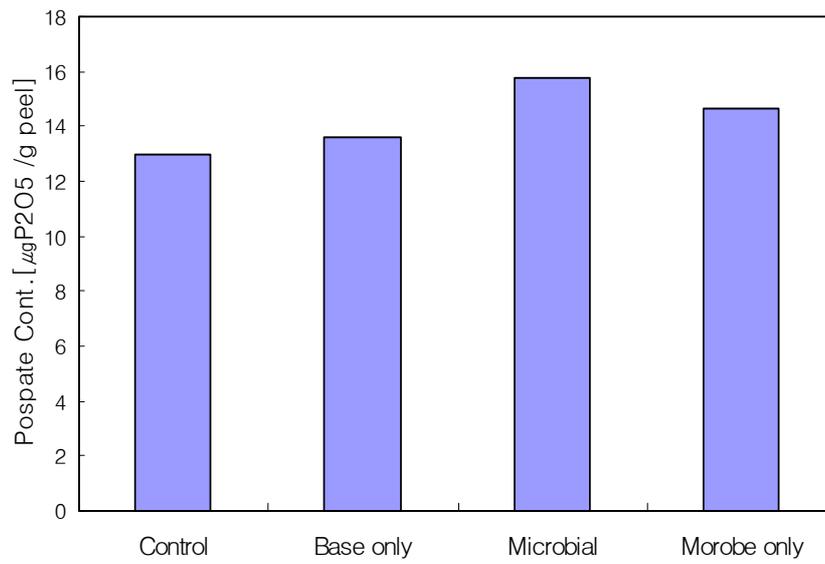


그림 3.4.2.16 Difference in Phosphate content of the pear flesh 60 days after full bloom., as affected by microbial fertilizer application.

제3장 제5절 미생물제제 현지 시비 시험

(위탁연구기관: 전남농업기술원 수행 분임)

제3장4절까지 완성된 미생물제제는 위탁연구기관인 전남농업기술원에 있는 시험포에서 시험 시비되었다. 이하 그 시비 과정과 결과를 정리한다.

3.5.1 현지시험장소 환경과 배나무 관리

가) 과수원 환경

시험 시비 장소는 전남 나주시 산포면 산제리 206-7번지에 소재한 전라남도농업기술원 과수시험포장이다. 이곳은 반천통 식양토에 속하는 토양이다. 시험용 배나무는 1992년에 5×2m로 식재된 Y자 수형의 국내 육성 우수품종인 10년생 감천배(Gamcheonbae)로 하였다. 미생물제제 토양처리는 2002년 2월 26일 주당 40kg의 미생물제제를 수관하부에 고루 살포한 후 잡초발생을 억제하는 위드스톱을 멀칭 관리하였다.

나) 배나무 관리

시험용 배나무 관리는 일반농가 과수원 관리에 준하여 하였는데 착과증진을 위한 꽃가루받이 작업은 자연상태에서 꽃가루받이가 되도록 하였다. 고른 과일 착과를 위해 열매숙기작업을 2회 하였으며 2겹으로 된 배 봉지를 씌었다. 여름전정은 2회(6월, 7월)를 하였으며 신초유인은 수시로 하여 결과지 양성을 위한 사전 작업을 하였다.

다) 배나무 생육조사

생육조사는 배나무가 생리적으로 무기양분의 이동이 적은 시기인 8월6일에 나무별로 새로운 가지의 발생수와 길이를 조사하였다. 또 배나무의 영양상태를 가장 정확히 알 수 있는 방법으로서 역시 무기양분의 이동이 적은 시기인 8월6일 표준이 되는 3나무를 선정하여 나무당 20잎을 눈높이 위치에서 고르게 따서 건조기에서 75℃ 온도에 2일동안 건조시킨 후 마쇄하여 분석하였다. 총 질소는 Kjeldahl법, 유효인산은 Lancaster법으로 분석하였고 칼리, 칼슘, 마그네슘은 1N-ammonium acetate(pH7.0)로 침출하여 원자 흡광분석법으로 분석하였다.

과실품질은 나무 당 착과수와 품질을 조사하였는데 수확적기인 10월 17일 수확하여 1과일당 무게를 측정하고 당 함량은 가용성고형물함량(Soluble solid content)을 굴절당도계(TRM-100.일산)로 과실적도부위를 20과씩 3반복으로 조사하였다.

병해충 발생조사는 발생 주요시기별로 순회 관찰을 하여 발생정도를 조사하였는데 조사요령은 농촌진흥청농사시험연구기준에 준하여 발생정도(0,1,3,5,7,9)로 표기하였다.

토양의 이화학적 성분은 시험포장내에서 3군데를 지표 흙을 걷어내고 수직으로 흙을 파 토양 지표부와 하부의 흙이 고루 섞이도록 음건 후 마쇄하여 농촌진흥청 토양화학분석법(1988)에 준하여 분석하였다.

근 활력검정은 T.T.C 용액법을 이용하여 주간에서 30cm 떨어진 부위에서 뿌리를 채취하여 2g을 T.T.C용액 10-20ml에 담그어 36℃에서 3시간 보관후 시료를 걸러 비색계 470nm에서 측정하였다. 친환경토양 측정 척도로 이용하고 있는 지렁이 수는 9월 14일 주간에서 30cm떨어진 부위의 1m²내의 마리수를 측정하였다.

3.5.2 미생물 체재 시험 살포와 생육 조사

주관기관인 전남대학교에서 보내온 포대안의 균은 1000cc의 용기에서와 같이 세균과 방선균 또는 곰팡이 균과 동일한 배지상태에서 배양균의 상태와 균사체의 성장하는 형태가 다르지만 각기자기의 특성을 조금씩 보여주며 여러 가지 균이 같은 조건에서도 잘 자란 것으로 보여진다. 이렇게 자란 미생물비료는 **Figure 3.5.1.1**과 같이 포장 일대에 뿌려지고 있다.



Figure 3.5.1.1 Distribution of the microbe fertilizer produced massively in the room temperature into field of pear tree.

가) 시험지 연도별 생육 상황

시험배나무의 3년 생육상황은 꽃이 80% 이상 피는 만개기가 4월15일
이나 연차간에는 2003년과 2004년이 4월12일로 빨랐으며 숙기는 10월
11일이며 연차간에는 2002년도가 10월 8일로 가장 빨랐다.

표 1 연도별 생육상황

연도별	발아기	개화시	만개기	숙기
2002년	3.14	4. 2	4.12	10. 8
2003년	3.16	4.10	4.16	10.14
2004년	3.15	4. 9	4.12	10.12
평균	3.15	4. 7	4.15	10.11

나) 무기성분 함량

시험배나무의 잎중의 무기성분함량 분석결과는 [표 2]에서와 같이 정
상에 가까웠으나 칼리성분이 기준량보다 다소 많았으며 전체적으로 정
상 기준에 근접하여 나무의 영양상태는 양호하였다.

표 2 시험배나무 잎중의 무기성분함량 (단위:%)

무기성분	T-N	P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO	MgO
시험배나무	1.89	0.499	2.96	1.88	0.40
기준함량	1.89~2.47	0.10~0.14	1.47~2.29	1.19~1.73	0.26~0.35

다) 배 근 활력

나무의 뿌리는 수체가 건강한 나무로서 양수분 흡수와 호르몬생성에 있어 대단히 중요한 역할을 한다. 따라서 건강한 수체에서 품질 좋은 양질의 고품질 과일을 생산하는데 있어 대단히 중요한 지표이다. 그런데 처리구와 무처리구의 근활력을 측정한 결과 무처리구는 $0.076\mu\text{m}/\text{cm}^2$ 이나 처리구는 $0.132\mu\text{m}/\text{cm}^2$ 로 무처리 보다 1.74배의 높은 근활력을 유지하여 배나무가 건강한 수체가 되도록 하는데 효과가 대단히 높음을 알 수 있었다.

표 3 미생물제제 처리가 근활력에 미치는 영향 (단위 : $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
 a^z : DMRT 5% 수준

	r1	r2	r3	평균	비고
처리구	0.124	0.139	0.133	$0.132(1,740)a^z$	조사일: 2004.9.14
무처리구	0.069	0.086	0.074	$0.076(100)b$	

라). 토양의 물리 이화학성

토양이화학성 토양pH나 유기물은 처리간 차이가 없으나 치환성 양이온의 경우는 미생물제제 처리구가 더 낮은 경향이였다. 총질소 역시 처리구가 0.7% 정도 낮았다. 염기치환용량은 처리구가 3.8 정도가 더높아 토양내 양이온 흡수를 증대시킬수 있음을 알수 있었다.

표 4 미생물제제 처리 당년의 토양이화학적 성분 비교

※ 조사일 : 2004. 9. 3

	pH (1:5)	유기물 (%)	유효 인산 (ppm)	치환성양이온 (cmol ⁺ /kg)			CEC (cmol ⁺ /kg)	총질소 (%)
				K	Ca	Mg		
처리구	6.2	3.6	1,763	1.4	11.7	5.2	25.9	1.5
무처리구	6.2	3.5	1,829	1.3	16.0	5.4	22.1	2.2

마) 지렁이 마리 수

친환경 토양의 지표로 이용되고 있는 지렁이의 마리수는 m²당 22.3 - 22.7마리 로서 처리간 차이가 없었다.

표 5 미생물제제 처리가 지렁이 마리수 (단위 :마리수/m²)

	r1	r2	r3	평균	비고
처리구	17	31	20	22.7	조사일: 2004.9.14
무처리구	23	13	31	22.3	

바) 과실품질 및 수량

과실품질은 과중이나 경도는 처리가 통계적 유의성이 없으나, 당도는 처리구가 0.3. BX가 더높아 약간 당함량을 증진시키는 경향을 보였는데 이는 [표 6]에서 본바와 같이 처리구가 무처리구 보다 1.7배이상의 근 활력이 높아 수체가 건강해지며 당함량이 증대 된 것으로 판단되며 여러해 토양살포를 할 경우 건전한 수체유지로 품질향상을 할수 있을 것으로 사료되었다.

표 6 과실품질 및 수량

연도	과중 (g)	당도 (. BX)	경도 (ϕ 5mm/kg)	과피색	10당 수량 (kg)	
2003	582	12.7	1.49	담황갈색	3,680	
2004	처리	681	12.9	1.52	담황갈색	3,724
4	무처리	676	12.6	1.51	담황갈색	3,698

사) 병해충 발생실태

2003년에는 병해충 발생의 중요한 시기인 6월~7월의 기상중 병발생의 절대적인 요인인 강우량이 289mm로서 평년 강우량 471mm의 61%로서 병 발생은 적었으나 반대로 충의 발생이 다소 있었다. 또 최근 크게 문제가 되고 있는 조류 특히 까치의 피해가 총과실의 8%정도 피해를 주어 대책이 시급하였다. 2004년에는 전년보다 강우량이 적어 병해의 발생은 적었으나 복숭아순나방의 피해가 다소 있었으며 가루깍지벌레의 피해가 나타났다. 처리 간에는 차이가 없었다.

표 7 병해충 발생실태

* 피해정도 : 0(적음), 1, 3, 5, 7, 9(많음)

		적성병	흑성병	응애	까지벌레	배나무이	복숭아순나방
2003년		0	1	2	0	1	1
2004년	처리구	0	0	1	1	0	2
	무처리구	0	0	1	1	0	2

3.5.3 현지 시험살포에 따른 종합적 의견

본 연구에서는 개발된 미생물제제를 현지 과수포장토양에 직접 시용한 바, 병충해 발생과 배나무 과실품질, 토양에 미치는 영향은 조사 기간 중에 커다란 변화가 없었다. 다만 뿌리 활력에서는 미생물 제제가 탁월한 효과가 있었는데 이것은 수채 반응이 늦게 나타나는 과수 기본 특성과 비교해 볼 때 다년간 분석해 보면 좋은 효과를 기대할 만 하다는 결론을 얻을 수 있었다.

제 4 장 목표 달성도 및 관련분야에의 기여도

본 연구에서 수행코자했던 목표를 하나하나 점검하여 그 달성도를 아래에 서술하였다.

- 인공배양시험실을 사용하여 선별된 미생물들이 활성화되고 배 유묘에 효과가 있음을 확인하였다.
- 중화학공장 부산물을 처리하여 생리활성을 갖는 기능세라믹분말 제조 기법을 완성하였다.
- 영양톱밥과 기능세라믹분말 조합비 그리고 미생물 혼합 방법을 완성하였다.
- 5년생 신고 배나무와 10년생 감천 배나무에 직접 시용한 결과 미생물 제재는 효과가 있음을 입증하였다.

따라서 본 연구에서 개발 된 미생물제재는

- 산업적으로는 산업 폐기물이나 다름없는 원재료들이 다시 활용되어 유용한 농산물을 생산하는데 쓰일 것이므로 부산물 재활용 산업에 활성을 불어 넣을 것임
- 농촌에서 농가가 직접 비료를 제조하게 되므로 다양한 농가 부업이 이루어질 수 있음
- 농가에서도 연구하는 풍토가 이루어질 수 있음
- 이 기술을 응용하여 채소나 사료 제조 등에 활용 될 수 있으므로 문화적으로는 농촌문화를 이끌어 나가는 견인차 역할을 할 것임을 확인하였다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

- 본 과제에서 사용했던 원료들은 생산 공장에서 처리비를 지불하면서 가져가기를 원하는 것들이므로 원료 값이 거의 없는 경제성 있는 무농약 영양제로 활용
- 이 값싼 원료를 축산 농가에 보급하면 자가 유기질 비료를 생산할 수 있도록 활용
- 과수 증산과 과일 품질이 향상에 활용
- 농촌에서 농가가 직접 비료를 제조하게 되므로 다양한 농가 부업에 활용
- 미생물제제 처리 결과 근 활력이 아주 높게 무 처리보다 1.7배 정도 높게 나타나는 것은 다년간 사용 시 수체를 건강하게 할 수 있는 가능성이 보임(위탁연구기관 의견임)

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 1). 일본의 Naoki Negishi와 Makoto Kikuchi는 (“セラミックス遠赤外線放射體とその應用”, セラミックス, No. 4, 310-315, 1988) 원적외선을 방출하는 세라믹 분말이 식물을 자극하여 그 성장을 촉진한다고 보고하였다. 이 세라믹은 페라이트 코아 생산공장 부산물과 같은 조성을 가진 것인데 이 분말이 식물 성장을 촉진할 수 있음을 증명한 것임
- 2). B.S. Jacobson과 D. Branton은 (Science, 195, 302, 1977) 아미노산 중합체인 ϵ -poly-L-Lysine은 인체 적합성(compatibility)을 갖고 있으면서 세균에는 강한 항균력을 나타낸다고 보고하여 약물전달용 담체나 동물세포의 접착제(cell adhesive)로 사용된다고 보고하였다. 다시 말하면, *Streptomyces*균이 생산하는 물질이 다른 물질에 강력히 달라붙어 타 미생물의 활동을 방해한다는 의미이다.

제 7 장 참고문헌

- 1) Blout E.R. et al, "Proceedings of the Rohobot Symposium on Poly(amino Acids) Polypeptides and Proteins and Their biological Iplications" John Wiley & Sons New York, USA (1974).
- 2) Barnsley, "The bacterial degradation of fluoranthene and benzo[alpyrene.",Can. J. Microbiol. 21(7) 1004~1008 (1975).
- 3) E. A. Barnsley, "The bacterial degradation of fluoranthene and benzoalpyrene.",Can. J. Microbiol. 21(7) 1004~1008 (1975).
- 4) 김명순, 김창홍, 손연수 "무기 및 분석화학 ; 철 (Ⅲ) 과 인산간의 착물형성에 관한 연구" 대한화학회지, 19(5) 325~330 (1975).
- 5) Jacobson B.S. and Branton D., "Science", 195, 302 (1977).
- 6) 김광식 "대맥(大麥)에 대한 맥기비용(麥基肥用) 신개발 복합비료(複合肥料) 비효에 관한 연구" 한국토양비료학회지, 11(1) 31~36 (1978).
- 7) Okazaki, N., Fukaya, I., Sugama, S. & Tanaka, T.,

- "Influence of rice grain components on koji-mold growth and enzyme production", *Hakkokogaku*, 59 491~500 (1981).
- 8) Eiji, I., Hideo, M., Toshikazu, A. & Hidetoshi, S., "Multiple forms of protyrosinase from *Aspergillus oryzae* and their mode of activation at pH 3.0", *Biochim., Biophys. Acta*, 786 25~31 (1984).
- 9) 김기주 "인산 수용액의 시판용 순알루미늄 부식에 미치는 Aniline 유도에의 영향" *한국부식학회지*, 13(2) 1~7 (1984)
- 10) 김정우, 김병각, 최응철, "한국 토양균중 항생물질 생성균에 관한 연구 스트렙토마이세스속 균주 DMC-64 호의 분리 및 항균작용", *한국균학회지*, 12(3) 85~92 (1984).
- 11) 김병각, 최응철, 심미자, 김광욱 "스트렙토마이세스속 균주 DMC -72호의 분리 및 항균작용" *한국생약학회 생약학회지*, 15(1) 15~23 (1984).
- 12) Okutani フェライト 丸養株式會社 (1986).
- 13) Surendar S.L. and Walker C.A., "Antibiotics and microbial transformations", CRC press, Inc. (1987).
- 14) 최용진, 양한철, 장신재, 김윤숙, 성하진, "Bacillus subtilis

- 가 생산하는 Alkaline Protease 에 관한 연구” , 한국농화학회지, 31(4) 356~360 (1988).
- 15) 신제성 “비료의 개발이용” 한국토양비료학회지, 21, 1119~1125 (1988)
- 16) 최무영, 강신정 벚짚과 계분의 혼합물로 부터 *Thermoactinomyces vulgaris* 에 의한 생물비료의 제조 한국농화학회지, 31(1) 100~105 (1988).
- 17) Naoki NEGISHI, Makoto KIKUCHI, 赤外線の生體作用, セラミックス, 23 No.4 335~339 (1988).
- 18) Koichi TAKADA, セラミックス遠赤外線放射體とその應用, セラミックス, 23 No.4 310~315 (1988).
- 19) 정연태, 최정, 조강진 “퇴비 및 비료 장기 연용이 토양 내 효소활성에 미치는 영향” 한국농화학회지, 32(2) 109~115 (1989).
- 20) James N. Roitman, Noreen E. Mahoney, and J. Janisiewicz, Production and composition of phenylpyrrole metabolites produced by *Pseudomonas cepacia*, Applied Microbiology and Biotechnology, 34 381~386 (1990).
- 21) Harold J. Benson, Microbiological Applications-A Laboratory Manual in General, (1990).

- 22) 박창호 “유기산 및 포도당 혼합배지에서 *Azotobacter* UWD 의 생장 및 생분해성 고분자 생산에 대한 질소원의 영향” 한국생물공학회지, 13(5) 626~630 (1990)
- 23) 성낙계 외 28인, “미생물공학”, 형설출판사, (1991).
- 24) Brock T.D. and Madigan M.T., “Billogy of Microorganisms”, sixth edition, Prentice-Hall International, Inc., (1991).
- 25) 정순주, 이범선, 이정필, Bioceramic의 농도별 처리가 상추와 토마토의 발아에 미치는 영향, Theses Collection of Chonnam University, 37, 59~66 (1992).
- 26) Yong-Ha Park and Kyung-Sook Bae , KCTC Catalogue of Strains, 3rd edition , (1992).
- 27) 임선옥 , 김유학 “토양미생물과 토양건전성” 환경전형농업을 위한 토양관리 심포지엄, 138~168 (1993).
- 28) 육창수, 김재정, 홍순달, 강보구 한국토양비료학회지, 26, 172~180 (1993).
- 29) 유인수, 이춘수 한국토양비료학회 심포지움, 99~120 (1993).
- 30) Sawheney A.S., Pathak C.P. and Hubbell J.A., “Bilmaterials”, 14(13), 1008 (1993).

- 31) 조성진, 박천서, 임대익 “삼정토양학” 향문사, 54~193 (1994).
- 32) 김지열, “항생물질 총론”, 대광문화사, (1994).
- 33) Hiraki J. and Mortia H., U.S. Patent No. 5294552 (1994).
- 34) 이창호, 임수길 “논 토양에 3요소비료 시용 시 이들 비료 성분들의 토양내 잔존 형태와 용탈에 의한 수질오염에 관한 연구” 한국물환경학회(구 한국수질보전학회), 11(4) 279~285 (1995).
- 35) 이종수, 이준식, 복성해, 최영준, “천연 담체를 이용한 *Trichoderma harzianum* ATCC 52445 의 고정화”, 한국생물공학회지, 10(2) 166~169 (1995)
- 36) 이철원, 손석용, 한충수, 세라믹의 상토혼합에 의한 벼 유묘의 생장효과, '95한?일 원적외선 심포지움, 49~58 (1995).
- 37) 서장선, 송요성, 김광식. 한국토양비료학회지, 28(3), 270~277 (1995).
- 38) D. Kelly Cartwright, W. S. Chilton, D. M. Benson , Pyrrrolnitrin and phenazine production by *Pseudomonas cepacia*, strain 5.5B, a biocontrol agent of *Rhizoctonia solani*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 43, 211~216 (1995).

- 39) Graeme M. Walker, Anne H. McLeod, and Valerie J. Hodgson , Interactions between killer yeasts and pathogenic fungi, FEMS Microbiology Letters, 127, 213~222 (1995).
- 40) Jan V. Katia K. Van Tichelen "Decomposition, nitrogen and phosphorus mineralization from beech leaf litter colonized by ectomycorrhizal or litter-decomposition basidiomycetes" New Phytologist Combridge England Combridge University Press, 134(1), 123~132 (1996).
- 41) Jan V. Andre Van Laere "A comparison of the extra cellular enzyme activities of two ectomycorrhizal and a leaf-saprotrophic basidiomycetes colonizing beech leaf litter" New Phytologist Combridge England Combridge University Press, 134(1), 133~141 (1996).
- 42) Fredricks,D.N.and D.A.Relman Garcia-Arata M.I.,P.Gerner-Smidt,F.Baquero and A.Ibrahim. 1997 Res. .Clin.Microbiol.Rev, 9, 18~33 (1996).
- 43) 박찬영, 김광섭, 배경운 "은 입힌 세라믹 분말을 이용한 채소의 항균적 성장촉진" 한국화학공학회, 2(2) 21~31 (1996).

- 44) Callan,N.W. and Mathre,D.E., Miller,J.B., and Vavr i na,C.S.. Biological seed treatments, factors affecting their efficacy.Hort Science 32, 179~183 (1997).
- 45) 박기웅, 사동민 "생물학적비료로서 Cyanobacteria의 질소고정 연구" 한국농화학회 농업생명과학, 4(2) 95~129 (1997).
- 46) 강선철, 최명철 "인산가용화 사상균 , Penicillium sp. PS-113 균주의 분리 및 배양특성" 한국생물공학회지, 13(5) 497~451 (1998).
- 47) 선홍석 "ε-Poly-L-lysine의 生合成과 速成分離工程 開發" 전남대학교 박사학위논문 (1999).
- 48) Callan,N.W. and Mathre,D.E. .Bio-priming seed treatment. Encyclopedia of Plant Pathology, John Wiley and Sons., (2000).
- 49) Bloemberg,G.V., Camacho-Carvajal,M.M., Thomas,F.C., Chin-A-Woeng, Dekkers,L.C., Cees,A.M., van den Hondel,J.J., Kuiper,I., Lagopodi,A.L., Lamers,G.E.M., Mulders,I, Ram,A.F.J., de Weert,S., Wijfjes,A.H. M.,and Lugtenberg,B.J.J . Rhizosphere colonisation by biocontrol pseudomanas SPP.6th International PGPR workshop held

- in Argentina, (2000).
- 50) 박찬영등 전남대학교 "환경 친화성 신선도 유지형 포장재 개발 (Development of Environmentally Friendly Packaging Materials of Sustainable Produce Freshness)", 50~71 (2000).
- 51) Charteris,W.P.,P.M.Kelly,L.Morelli and J.K.Collins..J .Basic Microbiol, 41(5), 245~251 (2001).
- 52) Burja,A.M.,P.Tamagnini,M.T.Bustard and P.C.Wright. .FEMS Microbiol.Lett, 202(2), 195~203 (2001).
- 53) 이동훈, 박병운, 장상문, 양소영, 어운우 "토양의 산성화에 관한 연구" 한국환경과학회지, 10(4) 305~310 (2001).
- 54) 강선철 유기농법 연구논문-"인산분해미생물" Copyright K2CINFO BANK Co.,LTD. (2001)