

Bacillus subtilis 균주를 이용한 미생물 살균제 개발

(주)휴살림 : 주영직, 윤영선, 김현수, 이태근*

Development of microbial fungicides using *Bacillus subtilis*

Heuksalim

Yeong-Jik Ju, Young-Sun Yun, Hyun-Su Kim, and Tae-Guen Lee*

실험목적 (Objectives)

○ 선발한 2개 균주인 S3-5, PE3 균주를 기내실험을 통해 결정한 배양조건에 따라 1톤 이상의 대량 배양 조건을 결정하고, 대량 배양한 S3-5, PE 3 균주를 다양한 식물 병원균에 대한 *in vivo* 실험을 통해 적용 spectrum을 결정하여 살균제를 개발한다

재료 및 방법 (Materials and Methods)

○ S3-5, PE3 균주를 3톤 배양기에서 발효

선발균주는 jar fermenter 실험을 통해 결정한 탄소원, 질소원, 온도 등의 조건을 적용하여 3톤 대량배양기에 적용 실험을 하고, 배양의 상황에 따라 공기량, 탄소원, 질소원 등을 가감하며 균밀도와 항곰팡이 활성이 우수한 조건을 최종 선발함.

○ 벼도열병에 대한 효과 검정

S3-5, PE3 분말수화제 각각을 500배 희석하여 벼도열병 발생 초기에 7일 간격 2회 처리함. 시험구는 난괴법 3반복으로하여 배치하였으며, 최종처리 7일 후 병반면적율을 조사하여 방제가를 산출함

○ 고추탄저병에 대한 효과 검정

S3-5, PE3 분말수화제 각각을 250배와 500배로 희석하여 고추탄저병 발생초기에 7일 간격 4회 처리함. 시험구는 완전임의배치 3반복으로하여 배치하였으며, 최종 약제처리 7일 후 이병과율을 조사하여 방제가를 산출함

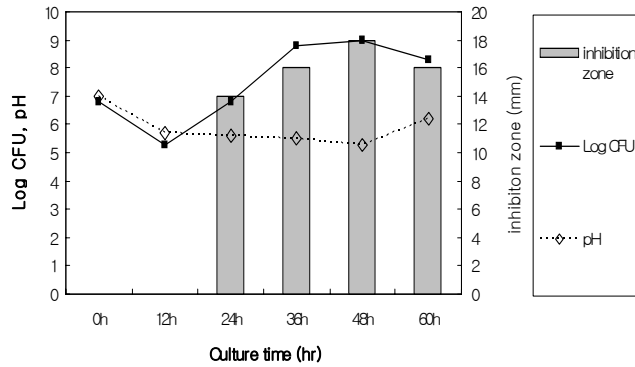
실험결과 (Results)

실험을 통해서 선택된 배지 (탄소원, 질소원), 배양온도, 공기량 등을 종합하여 최적 배양 조건을 선정하였다. 대량배양을 위한 배지 조성은 S3-5는 glucose 2.5%, yeast extract 0.2%, soy bean meal 0.6%, MgSO₄·7H₂O 0.1%, K₂HPO₄ 0.1%이고 PE3 균주는 glucose 2.5%, yeast extract 0.4%, soy bean meal 0.4%, MgSO₄·7H₂O 0.1%, K₂HPO₄ 0.1%으로 결정했다. 또한 배양조건은 위의 결과에 따라 배양온도 각각 30℃, 32℃로 결정했고 공기량 1vvm으로 배양하였다. 그 결과 S3-5균주의 200리터 배양은 성공적으로 이루어졌으며, 균밀도는 2.0 × 10⁸ CFU/ml 이고 최종 pH는 6.2로 나타났다. 배양과정 중

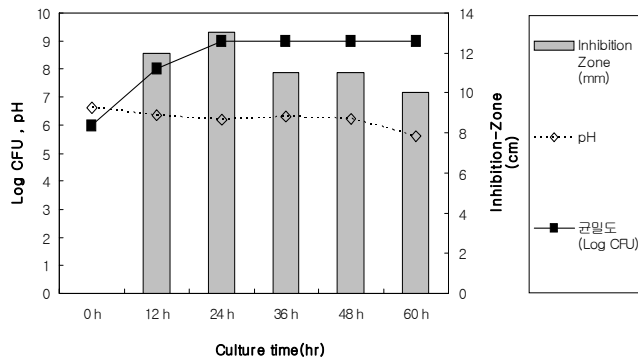
주저자 연락처 (Corresponding author) : 주영직 E-mail : funter@heuksalim.com Tel : 016-466-7190

함곰팡이 효과는 배양 48시간이 가장 좋게 측정되었다. PE3균주의 200리터 배양은 성공적으로 이루어졌으며, 균밀도는 1.2×10^9 CFU/ml 이고 최종 pH는 5.6으로 나타났다. 배양과정 중 함곰팡이 효과는 배양 24시간이 가장 좋게 측정되었다.

* 시험성적



(가)



(나)

그림. S3-5균주(가)와 PE3균주(나)의 3톤 scale-up 최적화

표. 벼도열병에 대한 약효시험 결과

시험약제	병반면적율(%)				유의차 (DMRT)	방제가 (%)
	I 반복	II 반복	III 반복	평균		
PE-3	0.3	0.4	0.7	0.47	a	41.7
S3-5	0.4	0.3	0.6	0.43	a	45.8
무처리	0.6	1.2	0.7	0.8	a	-

표. 고추 탄저병 약효시험 결과

시험약제	희석배수	이병과율(%)				유의차 (DMRT)	방제가 (%)
		I 반복	II 반복	III 반복	평균		
PE-3	250배	98.6	77.7	75.4	83.9	a	-
	500배	99.1	84.1	84.3	89.1	a	5.7
S3-5	250배	77.6	76.4	92.4	82.2	a	12.8
	500배	77.3	56.4	99.1	77.6	a	7.7
무처리	-	84.4	83.1	99.4	89.0	a	-