

길항미생물이 콩나물 부패균에 미치는 항균능력과 콩나물 생육 특성

김 도 완

성덕대학 호텔조리과

Study on the Antagonism of Useful Microbes against Soybean Sprout Rotting Pathogens and Their Effect on the Growth of Soybean Sprouts

Do-Wan Kim

Professor, Dept. of Hotel Culinary Art, Sungduk College

ABSTRACT

This study was conducted to examine the antagonism of useful microbes against soybean sprout rotting pathogens and their effect on the growth of soybean sprouts. The antagonism against soybean sprout rotting pathogens and the effect on the growth of soybean sprouts were examined by using *P. areofaciens* 14H-3, *P. fluorescens* R1-12 and *B. cereus* Yell, bacteria were shown to inhibit mycelial growth of *Rhizotonia solani* strongly. The results of this study are summarized as follows. *P. areofaciens* 14H-3 and *B. cereus* Yell were highly antagonistic against *Rhizotonia solani*, while they were especially highly antagonistic against bacterial diseases. The effect of inhibiting the proliferation of soybean sprout rotting pathogens was also examined by adding the culture solution for antagonistic bacteria to the PDA. Both *P. areofaciens* 14H-3 and *P. fluorescens* R1-12 showed the inhibition rate of 78.8%, while *B. cereus* Yell did 52.9%. The fresh weight and length of soybean sprouts were measured after raising them with added antagonistic microbes and culture medium. Soybean sprouts treated with *B. cereus* Yell showed increased higher, compared with those not treated with it. Soybean sprouts were also raised in the culture solution with antagonistic bacteria to examine the growth of soybean sprouts. Soybean sprouts treated with the culture solution of 200 times showed better growth than those not treated with it. Analyze proximate composition in soybean sprout showed that moisture, ash, total sugar did not appear difference, but in case of crude protein *B. cereus* Yell(8.9%) increased about 2 times than control(3.6%), but occasion of crude fat and crude fiber were *P. areofaciens* 14H-3, *P. fluorescens* R1-12 increased about each 2 times than control. In occasion of vitamin, bacterial antagonist(9.4~10.8mg%) was more higher than control(9.9mg%).

Key words : soybean sprouts, antagonism, pathogens, useful microorganism, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas areofaciens*.

본 연구는 2001년 중소기업청에서 시행한 중소기업 기술혁신 개발사업에 의하여
수행된 연구결과의 일부임.

I. 서 론

콩나물은 장소와 계절에 구애받지 않고 단기간 재배가 가능하며, 콩보다 비타민 C 등이 풍부하여 그 영양학적 가치가 우수하므로 국민 식생활에 필수식품이 되어 왔다¹⁾. 콩나물은 재배환경에 따라 품질에 상당한 차이²⁾가 있는데, 두채 재배중 ascorbic acid, riboflavin, thiamin 등의 비타민 함량 변화, 아미노산 조성, 질소화합물의 변화, 탄수화물의 함량변화, asparagine 생합성 등 영양학적 가치에 대하여 많은 연구^{3,4)}가 있었고, 콩나물의 생장에 관한 연구로는 식물성장 조절제, 살균제, 인공태양광, blue광 및 X선 조사, CO, gas의 처리 등 콩나물의 증산을 위한 연구⁴⁾가 수행된 바 있다.

현재 콩나물 생산은 대량으로 재배되어 공급하고 있는데, 이 과정에서 발생하는 콩나물 부패병이 수량 및 품질 저하를 가져오는 가장 큰 문제로 부각되어 왔다. 콩나물이 재배되는 환경은 여타 작물과는 다르게 고온 다습과 암조건, 환기가 어려운 재배 공간 등의 재배적 특성을 지니고 있어서 콩나물 부패병의 발생에는 이와 같은 재배환경이 가장 중요한 영향⁵⁾을 미치는 것으로 알려져 있다. 콩나물의 부폐균은 *Fusarium spp.*, *Pseudomonas spp.* 등이 보고 되고 있으며^{6~10)}, 이로 인하여 버리는 콩의 양은 매우 많아 콩나물 재배업자에게 막대한 손실을 주고 있다. 일부 업자들이 부폐를 방지하기 위하여 콩의 수침시에 농약을 사용하여 사회적 물의를 일으켰으며, 콩나물이 전통식품으로서의 안정성에 대한 불안감이 높아지고 소비자에게 영향을 주고 있다. 따라서 안전농산물의 생산, 자연환경 및 생태계 보존을 지향하는 농법이 급속히 확대되고 있는 추세에 부응하여 화학농약을 대체할 미생물제의 종류 및 사용량이 날로 증가하고 있는 실정이다. 특히 토양병원균을 방제할 수 있는 길항미생물의 연구가 세계 각국에서 활발히 추진되고 있으나^{11,12)} 이들 유용미생물을 이용한 콩나물 부폐 원인균에 대한 항균작용과 콩나물 생육에 미치는 영향에 대한 연구는 아직 미진한 실정이다. 콩나물 재배과정에서 발생하는 부폐를 줄이기 위하여 한약재를 이용한 재배법과¹³⁾ 오존수를 이용한 콩나물 재배¹⁴⁾, 키토산 처리가 콩나물 생장에 미치는 영향¹⁵⁾ 등 콩나물 재배에 관한 신기술 개발이 활발히 진행되고 있는 실정이다. 특히 최근에는 콩나물 부폐병 방제를 위해 길항미생물을 이용하는 재배방법 등 콩나물 재배에 관한 연구들이 활발히 진행되고 있는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 잔디 라지파취병에서 분리¹⁶⁾하여 항균능력이 인정된 유용 미생물을 이용한 콩나물 부폐 원인균에 대한 항균효과 및 콩나물 생육에 미치는 영향에 대하여 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 길항미생물

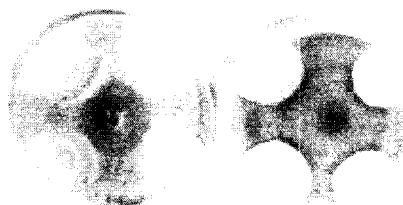
본 실험에 사용한 길항미생물은 경남 진주시 대곡면 소재 잔디밭에서 잔디라지폐 취병 회복지에서 잔디 근권 토양으로부터 *Pseudomonas fluorescens* R1-12, *Bacillus cereus* Yell을 분리하였으며, *Pseudomonas areofaciens* 14H-3은 부산 동래 베네스트 골프장 14번홀의 잔디 근권으로부터 분리하였다.

2. 콩나물 부패 원인균의 선발

부패 원인균은 한국생명공학연구소 유전자은행에서 분양받은 *Pseudomonas fluorescens* ATTC 21541를 -70°C 초저온냉동고(MDF-U50V, SANYO)에 보관하면서 사용 하였으며, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*은 대구시내 서문시장에서 시판중인 콩나물로부터 분리하여 5°C 냉장고에 보관하면서 필요시 사용하였다.

3. 콩나물 부패 원인균에 대한 항균력 조사

부패한 콩나물로부터 분리한 부패 원인균과 길항미생물을 PDA(Difco)에 대치되게 접종하여 25°C 항온기에서 48시간 배양하여 길항미생물과 병원 원인균 사이의 저지 원의 크기를 조사하였다(Fig. 1).



〈Fig. 1〉 Antibacterium activity of *Bacillus cereus* against *Rhizoctonia solani* on PDA.

4. 길항미생물 배양여액이 콩나물 부패균에 미치는 항균력 조사

길항미생물 배양여액을 만들기 위해 2% TSB(Difco)에서 활성이 강한 길항미생물을 1㎖씩 넣은 후 25°C에서 48시간 배양하여 배양여액을 얻었다. 배양여액에 PDA(Difco)를 첨가하여 121°C에서 15분간 멸균한 다음, 9cm 1회용 petri-dish에 20㎖씩 분주하였다. PDA에서 7일간 배양한 콩나물 부패 원인균 *Rhizoctonia solani* 균총 5mm disc를 배지 가운데 접종한 후 25°C 항온기에서 48시간 배양하여 균총 직경 생장량을 조사하였다.

5. 길항미생물을 이용한 콩나물 재배

TSB에 길항미생물을 접종하여 25°C에서 48시간 배양한 후 7,000rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액을 제거하고, 길항미생물(10^7)을 12시간 침지한 콩에 혼합한 후 재배하였다. 각 처리당 사용된 콩(은하콩, 한국산)의 양은 300g이었으며, 재배용기는 병버섯재배용기(1,100㎖, 가나화학)를 사용하였다. 처리 후 12시간 간격으로 1일 2회 관수하였으며, 1회 관수량은 300㎖씩 이었다. 재배실의 온도는 22±2°C였다. 처리 7일 후에 콩나물의 무게, 생장 길이를 조사하였다. 각 처리 당 3반복으로 하여 반복당 50개씩 조사하였다.

6. 길항미생물 배양여액을 이용한 콩나물 재배

길항미생물의 종류와 처리농도에 따른 콩나물 생육효과를 알아보기 위하여 TSB에서 48시간 배양한 상등액을 121°C에서 15분간 멸균하였다. 여액을 원액, 100배, 200배 희석액에 콩을 12시간 침지한 후 재배하였다. 재배 7일후 콩나물의 무게, 전체길이를 조사하였다.

7. 콩나물의 일반성분

수분은 105°C에서 건조한 후 성압건조법으로, 조단백질은 Kjedahl법, 조회분은 적접회화법, 조지방은 Soxhlet 추출장치로 추출하였고, 조섬유는 AOAC법 그리고, 총당과 비타민 C는 각각 Phenol-H₂SO₄법과 Hydrazine 비색법으로 측정하였다.

8. Data의 통계처리

실험결과의 평균치간의 유의성은 SAS software package를 이용하여 Duncan's multiple range test에 의하여 검증하였다¹⁷⁾.

III. 결과 및 고찰

1. 길항미생물의 콩나물 부패균에 대한 항균력

길항미생물의 콩나물 부패 원인균에 대한 길항능력을 알아보기 위하여 대치 배양한 결과 <Table 1>에서와 같이 *P. areofaciens* 14H-3과 *P. fluorescens* R1-12는 *Rhizoctonia solani*에 대해 높은 길항력을 보였으나, *B. cereus* Yell은 부패 원인균 *Pseudomonas* sp.에 높은 길항력을 나타내었다. *Rhizoctonia solani*에 대한 저지원의 크기는 *P. areofaciens* 14H-3과 *P. fluorescens* R1-12는 각각 9㎟였으나 *B. cereus* Yell은 3㎟를 나타내었다. *Fusarium oxysporum* 및 *Pseudomonas* sp.에 대한 길항력은 *P. areofaciens* 14H-3과 *P. fluorescens* R1-12에서는 나타나지 않았으나, *B. cereus* Yell에서는 각각 3㎟, 2㎟를 나타내었다. 길항미생물과 콩나물 부패 원인균을 대치 배양한

길항능력 검정에서 *P. areofaciens* 14H-3과 *P. fluorescens* R1-12균주는 *Rhizoctonia solani*에 대해 길항력이 높았다. 이러한 결과는 오이모잘록병균에 대한 길항능력 검정 연구¹⁶⁾와 일치하는 것으로 조사되어 본 연구에서 공시한 길항미생물이 *Rhizoctonia solani* 균에 대해 항균력이 높은 것으로 나타나 콩나물 부패병 방제에 이용 가능성이 높을 것으로 기대된다.

〈Table 1〉 Antagonistic ability of bacterial antagonist against soybean disease

Bacterial antagonist	Pathogene	Antagonism		
		Coiling	Lysis	Clear zone (mm)
<i>P. areofaciens</i> 14H-3	<i>Rhizoctonia solani</i>	-	+	9
	<i>Fusarium oxysporum</i>	-	-	-
	<i>Pseudomonas</i> sp.	-	-	-
<i>P. fluorescens</i> R1-12	<i>Rhizoctonia solani</i>	-	+	9
	<i>Fusarium oxysporum</i>	-	-	-
	<i>Pseudomonas</i> sp.	-	-	-
<i>B. cereus</i> Yell	<i>Rhizoctonia solani</i>	-	+	2
	<i>Fusarium oxysporum</i>	-	+	3
	<i>Pseudomonas</i> sp.	-	+	3

2. 길항미생물 배양여액의 콩나물 부패균에 대한 항균력

길항미생물 배양여액을 PDA에 첨가하여 부패균의 증식 억제효과를 조사한 결과는 〈Table 2〉와 같다. 접종 3일째 균사 직경 생장량은 대조구가 85mm인데 비해 *P. areofaciens* 14H-3과 *P. fluorescens* R1-12여액 첨가구에서 18mm로 78.8%의 억제율을 보였다.

〈Table 2〉 Effect of supernatant of bacterial antagonist on the mycelium growth of *Rhizoctonia solani*

Bacterial antagonist	Diameter (mm)		Control(%)	
	2days	3days	2days	3days
<i>P. areofaciens</i> 14H-3	15	18	76.9 a	78.8 a
<i>P. fluorescens</i> R1-12	14	18	78.5 a	78.8 a
<i>B. cereus</i> Yell	39	65	40.0 b	52.9 b
Control	65	85	-	-

$$\text{Control (\%)} = (1 - \text{treatment/check}) \times 100.$$

Means of followed by the same letter are not significantly different ($P=0.05$: Duncan's multiple range test).

3. 길항미생물을 이용한 콩나물 재배

콩의 발아력은 콩의 생명력으로 생체 내 호르몬대사를 비롯한 각종 대사의 활성화와 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다⁸⁾. 그러므로 저장조건이 불량하거나 오래된 콩에서 발아력이 떨어지게 된다. 또한 발아 시에는 수분의 공급이 필수적이므로 수침공정이 요구된다. 콩은 수침 중에도 호흡과 대사 작용을 계속하고 있으며 이러한 대사 작용은 온도나 공기조성 등 주변 환경조성에 따라서 달라질 수 있다¹⁴⁾. 길항미생물을 처리에 의한 콩나물 재배결과는 <Fig. 2>와 같이 길항 미생물을 처리한 실험구가 대조구에 비해 전체적으로 발아율이 증가하는 것으로 나타났다. 콩나물 재배결과를 알아보기 위해 무작위로 50개 선발한 콩나물을 대상으로 실시한 길이와 무게값은 <Fig. 3>에 나타내었다. 의 경우 대조구와 비슷한 무게와 길이를 보였으나, 는 대조구에 비해 생육이 양호한 것으로 나타나 길항미생물의 종에 따라 생육에 미치는 영향이 다소 차이가 있는 것으로 나타났다. 따라서 콩나물의 생육을 촉진시키기 위해서는 길항미생물의 종류에 따른 최적 처리밀도가 구명되어야 할 것으로 사료된다.

4. 길항미생물 배양액을 이용한 콩나물 재배

길항미생물을 이용한 콩나물의 재배에 관한 연구의 일환으로, 미생물 배양액의 처리밀도를 규정하기 위하여 실험한 결과는 <Fig. 4>와 같다. 길항력이 입증된 세균 배양여액의 농도를 달리한 후 콩을 침지하여 재배한 결과 200배 희석 처리구가 대조구에 비해서 높은 발아력을 나타내었으며, 원액과 100배 희석한 실험구가 콩나물의 무게 및 길이가 낮은 이유는 길항미생물 배양여액의 물질이 너무 진한 경우 오히려 콩나물의 생육을 저해하는 것으로 사료된다. 300배 이상으로 희석할 경우 희석배수가



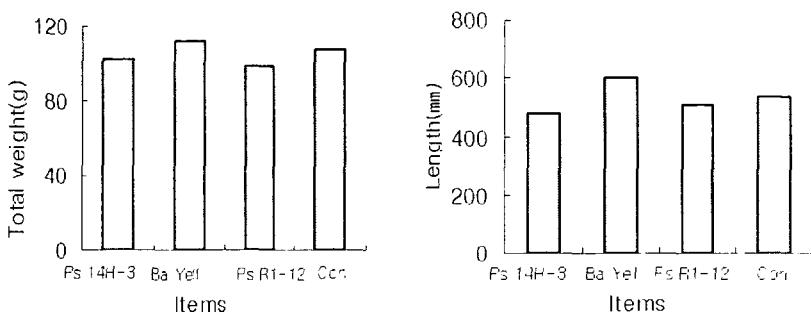
<Fig. 2> Culture of soybean by treatment of antibacteria.

A : control

B : *Bacillus cereus* Yell

C : *Pseudomonas areofaciens* 14H-3

D : *Pseudomonas fluorescens* R1-12



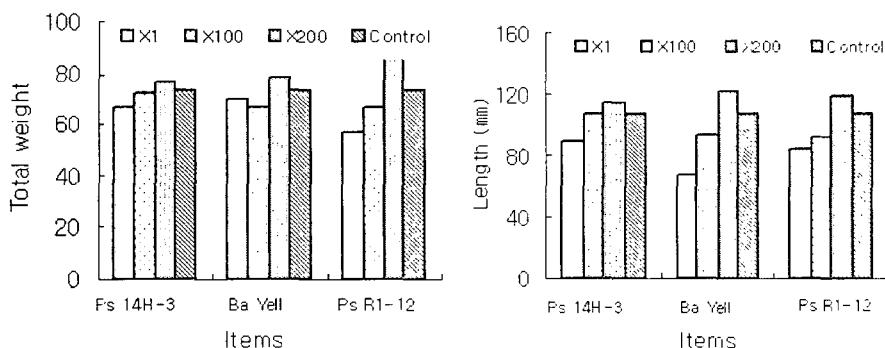
<Fig. 3> Effect of bacteria antagonist treatment on growth of soybean sprouts at 7days after seedling.

Ps 14H-3 : *P. areofaciens* 14H-3

Ba Tell : *B. cereus* Tell

Ps R1-12 : *P. fluorescens* R1-12

Con : Control



<Fig. 4> Effect of soybean sprouts growth at 7days after seeding when the seeds were treated with supernatant of bacterial antagonist in the plastic case.

Ps 14H-3 : *P. areofaciens* 14H-3

Ba Tell : *B. cereus* Tell

Ps R1-12 : *P. fluorescens* R1-12

높아 길항미생물 배양액이 콩나물 성장에 미치는 영향이 미약할 것으로 예상되어 200배 희석이 최적이라 판단된다. 이와 같은 결과는 *Pseudomonas* sp. 28개의 균주가 오이의 생장을 촉진시켰다는 결과¹⁶⁾와 일치하는 것으로 나타나 고품질의 콩나물 재배를 위한 환경친화형 길항미생물의 이용기술 개발이 부가적으로 수행되어야 할 것으로 생각된다.

5. 콩나물의 일반성분

콩나물의 일반성분을 분석한 결과는 <Table 3>과 같다. 수분, 회분, 총당에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았으나, 조단백의 경우 대조구가 3.6%를 나타내었으나, *B.*

〈Table 3〉 Chemical composition of soybean sprout

Items	Moisture (%)	Crude protein (%)	Ash (%)	Crude fat (%)	Total sugar (%)	Crude fiber (%)	Ascorbic acid (mg%)
Control	87.8	3.6	0.9	1.2	3.2	0.7	9.9
<i>P. areofacienc</i> 14H-3	89.2	5.5	0.7	2.4	3.6	3.9	10.1
<i>P. fluorescens</i> R1-12	87.5	7.3	0.9	2.0	3.6	1.4	10.8
<i>B. cereus</i> Yell	89.9	8.9	1.0	2.2	3.2	1.9	9.4

cereus Yell의 경우 8.9%로 약 2배 정도 증가하였다. 조지방과 조섬유는 *P. areofacienc* 14H-3, *P. fluorescens* R1-12에서는 대조구보다 각각 2배 정도의 증가치를 나타내었다. 비타민 C인 ascorbic acid의 경우도 대조구가 9.9mg%인데 비하여 길항미생물 처리구가 9.4~10.8mg%로 높게 나타났다. 콩나물 생장과정 중 섬유소와 조단백질의 함량은 증가하고 또한 비타민류는 대단히 증가하며, 비타민 중 특히 비타민 A와 C의 함량이 현저하다는 결과¹⁹⁾와 유사하였으나, 지방은 현저히 감소한다는 결과와는 일치하지 않았다.

IV. 요 약

유용미생물을 이용한 콩나물 부패 원인균에 대한 길항작용과 콩나물 생육에 미치는 영향에 대한 연구의 일환으로 *Pseudomonas areofacienc* 14H-3, *Pseudomonas fluorescens* R1-12, *Bacillus cereus* Yell균을 이용하여 콩나물 부패 원인균에 대하여 길항능력과 콩나물 생육에 미치는 영향에 대하여 조사한 결과는 다음과 같다. *P. areofacienc* 14H-3균주와 *B. cereus* Yell 균주는 *Rizoctonia solani*에 높은 길항력을 보였으며, *P. areofacienc* 14H-3과 *B. cereus* Yell은 세균병에 특히 높은 항균력을 나타내었다. 길항세균의 배양여액을 PDA에 침가하여 콩나물 부패균의 증식 억제 효과를 조사한 결과 *P. areofacienc* 14H-3과 *P. fluorescens* R1-12은 78.8% 억제율을 보였으며 *B. cereus* Yell은 52.9%의 억제율을 보였다. 길항미생물과 배양여액을 처리하여 콩나물을 재배한 결과 *B. cereus* Yell 처리구가 대조구에 비해 콩나물의 총무게가 증가하는 것으로 나타났다. 길항세균 배양여액에 콩을 침지하여 재배한 결과 200배액 처리구가 대조구에 비해 생육이 양호하였다. 콩나물의 일반성분을 분석한 결과 수분, 회분, 총당에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았으나, 조단백의 경우 *B. cereus* Yell(8.9%)가 control(3.6%)보다 약 2배 정도 증가하였으며, 조지방과 조섬유의 경우는 *P. areofacienc* 14H-3, *P. fluorescens* R1-12가 control보다 각각 2배 정도 함량이 증가하였다. 비타민의 경우도 대조구(9.9mg%)에 비하여 길항미생물 처리구(9.4~10.8mg%)가 높게 나타났다.

참고문헌

1. 김상욱 (1989) : 콩나물 생장과 비타민 C의 생합성에 대한 생장조절제의 영향, *두체*, 1(6), 16-25.
2. 신동화, 최웅 (1996) : 콩나물 재배방법에 따른 생장 특성 비교, *한국식품과학회지*, 28(2):240-245.
3. 이꽃임, 김은미, 우순자 (1996) : 콩나물 성장중에 식이섬유 함량과 조성의 변화, *동아시아식생활학회지* 29(10):1142-1149.
4. Park EH, Choi YS (1995) : Selection of useful Chemicals Reducing Soybean- Sprout Rot, *Korean J Crop Sci* 40(4), 487-493.
5. 명인식 (1987) : 콩나물 부패병의 원인과 방제. 고려대학교 석사학위 논문.
6. 오병준, 박원목 (1996) : 콩나물 부패를 일으키는 *Fusarium* spp.의 동정과 병태조직학적 관찰, *한국식물병리학회지* 12(4):471-475.
7. Park CS, Kang JH (1996) : Colonizing pattern of seed-treated fluorescent *Pseudomonas* on the cucumber rhizoplane at the early growth stage. Pro. Int. Workshop on Biocontrol of Plant pathogens held in Beijing China. 288-294.
8. Choi OK (1999) : Colonization of Biocontrol Agents *Pseudomonas fluorescens* L22, *Paenibacillus polymyxa* E681 and Their Population Changes in Seeds and Roots. M.S. Gyeongsang National University, pp.73.
9. 박원목, 편철우, 김정환 (1997) : 부패세균 *Pseudomonas putida* biovar. A에 의한 콩나물 세균성 부패병 발생 및 관수 산도에 의한 방제, *한국식물병리학회지* 13(5): 304-310.
10. Kim JW, Choi OH, Kang JH, Ryu CM, Jeong MJ, Kim JW, Park CS (1998) : Tracing of some root colonizing *Pseudomonas* in the rhizosphere using lux gene introduction bacteria, *Can J Microbiol* 38:1219-1932.
11. Handelsman J, Stabb EV (1996) : Biocontrol of soilborne plant pathogens, *The Plant Cell* 8, 1855-1869.
12. Kloepffer JW (1991) : Plant Growth-Promoting Rhizobacteri as biological control agents of soilborne disease. in : The Biological control of Plant Disease. J. Bay-Peterson, ed. Food and Fertilizer Technology Center, Taiwan, 142-152.
13. 박의호, 최연식 (1995) : 콩나물 부패경감에 유용한 한약제 선발, *한국작물학회지* 40(4):487-493.
14. 김일두, 박미자, 조재욱, 서성수, 김미경, 이주백, 이상갑, 김순동 (1998) : 콩나물의 품질에 미치는 오존처리 효과 2. 콩의 수침중 오존처리의 최적화, *농산물저장*

- 유통학회지 5(2):177-185.
15. 이유석, 박노동, 이종욱 (1999) : 콩나물의 생장에 미치는 키토산 처리의 영향, 한국식품과학회지 31(1):153-157.
 16. 이상명, 여운홍, 지형진, 신상철, 문일성 (1999) : 곤충병원성 곰팡이의 오이 생장과 오이모잘록병균에 미치는 영향, 산림과학논문집 62:118-125.
 17. 송문섭, 이영조, 조신섭, 김병천 (1993) : SAS를 위한 통계자료분석, 개정판, 자유아카데미. p97.
 18. 김동희, 최희숙, 김우정 (1990) : 콩나물에 따른 발아속도와 익힘속도의 비교, 한국식품과학회지 22(1):94-98.
 19. 김철재, 박진숙, 김상용, 오덕근 (1996) : 발아 및 성장중에 일어나는 콩나물의 품종 간 변화, 한국콩연구회지 13(1):55-61.

(접수일: 2003년 10월 28일 / 채택일: 2003년 11월 25일)