

한약재박을 이용한 미생물제제의 개발

주길재¹ · 김영목¹ · 우철주¹ · 이오석¹ · 김정웅² · 소재현²
곽윤영² · 이종진³ · 김진호³ · 이인구^{2,*}

¹경북대학교 농업과학기술연구소, ²경북대학교 농화학과, ³상주대학교 식물자원학과

Development of Microbial Inoculant Using By-product of Oriental Herbal Medicine

Gil-Jae Joo¹, Young-Mog Kim¹, Cheol-Joo Woo¹, Oh-Seuk Lee¹, Joung-Woong Kim²,
Jae-Hyun So², Yun-Young Kwak², Jong-Jin Lee³, Jin-Ho Kim³ and In-Koo Rhee^{2,*}

¹Institute of Agricultural Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

²Department of Agricultural Chemistry, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

³Department of Plant Resources, Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

Received June 2, 2005; Accepted August 18, 2005

The development of microbial inoculant was conducted using a by-product of oriental herbal medicine. The constituent of the by-product, which was high in organic matter, was 11.3% of crude protein, 5.1% of crude lipid, 49.7% of NDF (neutral detergent fiber), and 33.8% of ADF (acid detergent fiber). Microorganisms isolated from the by-product of oriental herbal medicine were 35 species. Among them, 6 bacterial species, 4 fungal species, 2 actinomycetes species, and 1 yeast species were effective in the utilization of the by-products. The 13 strains screened were tested for the plant growth-promoting effect in soybean seedling. BL-333 strain was found to increase the soybean yield by about 23% as compared with control. The strain BL-333 was identified as *Paenibacillus marcerans*. *P. marcerans* BL-333 showed high anti-fungal activities against virulent fungi, especially *Fusarium* sp. and *Collectotrichum* sp. Yields of plants which were inoculated with microbial inoculant prepared with *P. marcerans* BL-333 and by-product of oriental herbal medicine were found to be higher than control by 3~24%. The yield was especially promoted in lettuce, radish, chinese cabbage and cucumber plants.

Key words: oriental herbal medicine, microbial inoculant, *Paenibacillus marcerans*, antifungal activity

서 론

한약재박은 한약방과 한방식품 제조에서 각종 한약과 약제식품을 증탕한 후 발생되는 불용성 찌꺼기로서 식물성 및 동물성 약제가 혼합되어 100~120°C 정도에서 24~72시간 증탕 가공한 혼합물을 압착, 추출하고 남은 잔유물이다. 한약재박은 여러 가지 한약재 원료가 혼합되어 있으며, 한약재 특유의 냄새를 가지고 있어 대부분이 폐기되거나 부분적으로 퇴비 혹은 사료공장에서 이용되고 있는 실정이다. 연 평균 10,000톤 이상 발생되어 거의 쓰레기 소각장으로 보내고 있는 한약재박은 주성분이 식물성이지만 일부 동물성 원료가 포함되어 있을 뿐만 아니라 성분의 변동이 심하기 때문에 사료로서의 가치가 떨어지며,¹⁾ 공해문제 해결과 부산물의 사료가치 재평가 차원에서 단일 한

약재 자체²⁾나 수집이 쉬운 제약회사의 식물성 한약재박을 이용하여 일부 단위동물에 대한 급여 연구^{3,5)} 등이 이루어져, 실제로 축산농가에서는 부분적으로 사료로 이용되고 있다. 그러나 현재까지는 한약재박을 사료로 이용하려는 연구는 많이 시도되고 있으나 미생물을 처리하여 한약재박을 농업적으로 이용하려는 연구는 전무하다. 한약재박을 농업적으로 이용하기 위해 먼저 한약재박을 잘 분해시키는 미생물이 필요할 것이며, 또한 이들 미생물 중에서 작물의 생육을 촉진시키거나 각종 유해미생물에 대한 길항력을 가지는 미생물이 존재한다면 이들 미생물과 한약재박을 이용하여 미생물제로 제형화시켜 작물에 적용할 경우 유용한 친환경적 자재가 될 것으로 판단된다.

따라서 본 연구는 현재 시중에 발생되는 한약재박의 효율적 처리를 위한 실험의 일환으로 한약재박으로부터 유용미생물을 분리하고 이들 미생물로부터 작물생육촉진미생물을 선발하고 이를 한약재박에 적용하여 미생물제제를 만들어 친환경농업에 이용하기 위한 목적으로 실시하였다.

*Corresponding author

Phone: +82-53-950-5718; Fax: +82-53-953-6972

E-mail: ikrhee@knu.ac.kr

재료 및 방법

한약재박의 성분분석. 본 실험에 사용한 한약재박(by-products of oriental herbal medicine)은 한약을 제조하고 남은 찌꺼기로서 채취시기 및 장소에 따라 변동이 심하게 나타났으나 주로 황금, 가시오가피, 두충, 왜당귀, 천궁, 황기, 작약, 백출, 복령, 숙지황, 계피, 감초, 갈근 등의 한약재들이 각각 0.1~30%(w/w)까지 함유되어 있는 식물성박을 실험에 사용하였다. 대구 약령시장에서 채취한 한약재박은 평균 수분함량이 20~30% 범위였고, 60°C에서 건조시켜 분쇄기(Jet mill, Korea)로 분쇄(50 mesh)하여 사용하였다. 한약재박의 성분분석은 일반성분(AOAC, 1984) 및 NDF(neutral detergent fiber)와 ADF(acid detergent fiber)⁷⁾ 등 섬유질의 사료화에서 이용하는 분석방법에 따랐다.

한약재박으로부터 미생물의 분리 및 보관. 한약재박으로부터 미생물을 분리하기 위한 균원시료는 대구 약령시장의 한약재박을 사용하였으며, 채취 및 보관은 대구·경북 소재 한의원 40여 곳을 대상으로 봄, 여름, 가을, 겨울 등 사계절 일정하게 수거하였고, 30°C 배양기에 수분을 공급하면서 보관하였다. 세균을 분리하기 위한 배지는 tryptic soy agar(TSA: Merck Co., Germany), 방선균은 yeast extract-malt extract agar(YMA: Difco Co., Germany), 곰팡이는 potato dextrose agar(PDA: Difco Co., Germany) 배지를 사용하였다. 균원시료 1g을 생리식염수 9mL에 현탁한 후 차례로 3단 희석하였다. 각각의 고체 배지에 균원 시료 희석 용액을 100 µL 씩 도말하고 세균은 37°C에서 2일간, 방선균과 곰팡이는 30°C에 5일간 배양하여 형성된 각각의 독립 colony를 형태, 색깔 및 광택 등으로 서로 분리하였다. 분리한 세균들은 동일 평판배지에서 재차 접종하여 37°C에서 2일, 방선균 및 곰팡이는 30°C에서 5일간 배양하여 순수 분리하였다. 균의 보관을 위해 세균은 tryptic soy broth(TSB: Merck Co., Germany), 방선균과 곰팡이는 살균증류수를 사용하였으며, 균주 선별을 위한 배지에 토양추출액(토양 100g에 증류수 1L를 넣어 현탁한 후 정치하여 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 얻은 상정액을 121°C에서 15분간 고압 살균한 것)을 10%(v/v) 첨가하고 각 미생물의 종류에 따라 배양한 후 배양액과 살균된 20% glycerol을 1:1(v/v) 동량 혼합하고 잘 섞은 후 -20°C에 보관하였다.

한약재박 이용성 미생물의 선별. 한약재박 이용성이 높은 미생물을 선별하기 위하여 최소배지(yeast extract 0.5%, Na₂HPO₄ 0.1%, MgSO₄ · 7H₂O 0.1%)에 주요탄소원으로 한약재박 분말(50 mesh)을 10% 첨가하고 분리한 미생물의 독립 colony를 접종하여 30~37°C에서 3~7일 진탕배양(120 stroke/min)한 후 spectrophotometer(Shimadzu Co., Model, UV-160A)로 흡광도(600 nm)를 측정하여 흡광도가 높은 접종구를 한약재박 이용성이 높은 균으로 분리 선별하였다. 대조구는 미생물을 접종하지 않은 배양액으로 하였다. 특히 배양액내에서 덩어리를 형성하는 곰팡이 및 방선균은 배양후 1N NaOH를 처리하여 덩어리를 해체시킨 후 흡광도를 측정하였다.

작물생육촉진미생물의 선별. 한약재박 이용성이 높은 미생물 중에서 작물의 생육촉진미생물을 선별하기 위하여 Petri dish (Φ 9 cm) 재배와 수경재배로 실시하였다. Petri dish 재배는 살

균된 Petri dish에 Whatman paper No. 2를 2장 간 후 미생물 배양액 1mL와 살균수 3mL를 넣고 그 위에 발아된 대두(준저리콩, *Glycine max* L.) 5립씩 넣어 5일 재배한 후 자란 대두의 생체 중량을 조사하여 생체 중량이 대조구에 비해 증가된 처리구의 미생물을 작물생육촉진미생물로 선별하였다. 대조구는 미생물 배양액 대신 살균수를 1mL 첨가한 구와 TSB 배지를 10배 희석한 배지 1mL를 첨가한 구로 하였다. 수경재배는 10% 토양 추출액 100mL에 0.22% MS 배지를 넣고 pH 6.0으로 보정 후 시험관(1.8×15 cm)에 각각 500 µL씩 분주하여 121°C에서 15분간 살균하여 사용하였다. 이렇게 제조된 수경재배용 배지에 발아한 대두 종자를 5립씩 파종하고 30°C incubator(암조건)에서 24시간 방치한 후 미생물 배양액(10배 희석한 TSB 배지에 분리미생물을 각각 1% 접종하여 30°C, 200 rpm으로 24시간 배양) 500 µL를 접종하고 growth chamber에서 광조건 12시간, 암조건 12시간, 습도 80%, 온도 25°C로 하여 7일간 재배한 후 생체 중량을 조사하여 생육도로 나타내었다.

선발 균주의 동정. 선발균의 동정은 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology의 방법⁸⁾에 준하여 미생물의 형태학적, 배양학적, 생리·생화학적 특성을 조사하며, 16S rDNA의 염기서열을 결정 후 Ribosomal Database(<http://rdp.cme.msu.edu>)을 이용하여 상동성 검색을 통하여 확인하였다.

식물병원성 진균에 대한 길항력 조사. 식물병원성 곰팡이에 대한 길항력을 조사하기 위해 식물에 가장 피해를 많이 주는 병원균인 고추의 역병균(*Phytophthora capsici*)과 탄저병균(*Colletotrichum coccodes*), 수박의 만할병균(*Fusarium oxysporium* f. sp. *niveum*)과 탄저병균(*C. orbiculare*), 참외의 만할병균(*F. oxysporium* f. sp. *melonis*), 오이의 균핵병균(*Sclerotinia sclerotiorum*), 토마토의 뿌리역병균(*P. capsici*), 호박의 탄저병균(*C. orbiculare*), 무의 모잘록병균(*Rhizoctonia solani*), 배추의 무사마귀병균(*Plasmodiophora brassicae*), 양파의 흑반병균(*Alternaria porri*), 참깨의 역병균(*P. capsici*) 등 12종의 식물병원균을 사용하였다. 각종 식물병원균에 대한 길항력 조사는 생육 저지대 측정법(pairing plate culture)으로 조사하였다. 즉, PDA 배지에서 키운 병원균 균체 덩어리(1×1 cm)를 PDA 배지 중앙에 올려놓고 가장자리 1곳에 길항미생물 한 콜로니(colony) 또는 길항미생물로 제조한 한약미생물제 10 mg(본 연구에서 제조한 미생물제, 미생물의 수 2.0×10⁹ cfu/g)을 접종한 후 방선균 및 곰팡이는 30°C에서 7일간, 세균은 37°C에서 10일간 배양한 후 병원균 균사체의 생장억제 정도(inhibition zone)를 조사하여 길항 유무를 판정하였다.

미생물제의 제형화 방법. 선발균주의 배양은 NB(nutrient broth) 125 g, 당밀 200 mL, 포도당 500 g, 효모추출물 500 g, 인산칼륨 50 g, 소금 150 g이 들어있는 배지(pH 6.0~7.0) 10L에 선발균주를 접종시키고, 37°C에서 3일 동안 진탕 배양하였다. 미생물제제는 3가지 형태로 제형화하였다. 먼저 액제미생물제제(liquid microbial inoculant)는 상기 배양액을 원심분리(12,000 g×10 min)하고 균체를 회수하여 살균증류수에 재현탁하고 균의 수가 2×10⁸ cfu/mL 되게 하여 액제미생물제제로 하였다. 한약재박 첨가 미생물제제(microbial inoculant added by-product of oriental herbal medicine)는 상기 배양액 1L 당 한

Table 1. Composition of the by-product of oriental herbal medicine used in this study

	Chemical composition (%)					
	DM	OM	CP	EE	NDF	ADF
Spring	88.5	93.4	11.4	5.5	48.8	32.0
Summer	88.2	92.1	10.4	9.4	49.3	33.5
Fall	89.4	93.9	12.8	1.4	50.5	35.1
Winter	90.5	92.6	10.7	4.0	50.1	34.5
Average	89.2	93.0	11.3	5.1	49.7	33.8

DM, dry matter; OM, organic matter; CP, crude protein; EE, ether extract; NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber.

약재 분쇄물 1 kg, 검탄(325 mesh) 1 kg, 천연광물질(흑운모) 가루 1 kg, 쌀겨 가루(200 mesh) 0.5 kg, 왕겨가루(300 mesh) 0.5 kg을 잘 혼합하고 37°C에서 7일간 항온 배양기에서 후배양하고 수분 함량이 10% 미만일 때 분쇄기(Jet mill, Korea)로 분쇄하여 한약재박 첨가 미생물제제로 사용하였다. 한약재박 무첨가 미생물제제는 상기 한약재박 첨가 미생물제제 제조에서 한약재 분쇄물을 첨가하지 않고 만든 미생물제제를 한약재박 무첨가 미생물제제로 사용하였다. 한약재박 첨가 또는 무첨가 미생물제제에 존재하는 미생물의 수는 상기 액체미생물제와 거의 동일하게 $2 \pm 0.5 \times 10^8$ cfu/ml 되게 준비하였다.

채소류의 생육촉진효과 검증. 액체미생물제제, 한약재박 첨가 미생물제제, 한약재박 무첨가 미생물제제 등 3종류의 미생물제제를 이용하여 채소류의 생육촉진효과를 검증하기 위하여 포트 시험을 행하였다. 육묘용 상토와 각종 미생물제제를 혼합하여 상토 g 당 미생물의 수가 2×10^{10} cfu되게 혼합하고 16공 플라스틱 pot에 담아 수분을 충분히 공급한 후 여기에 발아된 채소 종자를 3립씩 치상하고 상기 동일 상토를 2 mm 복토하여 온실(20~28°C)에서 4주간 배양하였다. 대조구간은 미생물제제를 처리하지 않고 관행적으로 재배한 구간과 여러 종류의 미생물제제를 각각 멸균처리하여 상기와 같은 방법으로 처리한 구간으로 나누어 채소류의 생육촉진효과를 검증하였다. 시험구간은 3반복구로 하여 연속 3차례 시험하였다. 공시작물인 상추(적상추), 고추(금탑), 수박(갈채), 오이(백다다기), 토마토(서광), 호박(신토좌), 무(백자), 배추(얼갈이), 참박(FR깅) 등은 흥농종묘(세미니스코리아사)에서 구입하여 사용하였고, 콩(준저리)은 시중에 콩나물용 콩으로 구입하여 사용하였다. 10종 작물은 미생물제제를 접종하고 피종하여 4주간 재배하고 각 식물의 pot 내용물 전체를 뽑아낸 후 깨끗이 세척하여 각각의 엽면적, 줄기길이, 뿌리길이를 측정하였다. 작물의 전체 건물중은 상기 세척한 작물을 40°C에서 3일간 건조하여 무게 증량으로 조사하였다.

결과 및 고찰

한약재박의 성분분석. 대구 약령시장에서 사계절 수거한 한약재박의 성분을 검사한 결과, Table 1에서와 같이 사계절 평균적으로 유기물의 함량은 93.0%로 높게 나타났고, 조단백질 함량이 11.3%, 조지방 함량이 5.1%, NDF(neutral detergent fiber) 함량이 49.7% 및 ADF(acid detergent fiber) 함량이 33.8%로 나타났다. 계절별로 각 성분의 차이는 없었으나 EE(ether extract) 값이 여름에는 높고 가을에 급격히 떨어지는

Table 2. Number of species in microorganisms isolated from the by-product of oriental herbal medicine

	Bacteria	Fungi	Actinomycetes	Yeast	Total
Spring	20	11	5	2	38
Summer	27	13	6	2	48
Fall	17	8	6	2	33
Winter	13	4	3	1	21

특성이 나타나 가을에는 불포화지방산이 적은 한약재를 많이 사용하는 것으로 판단된다.

Sung¹⁾은 주로 식물성 한약재로부터 액을 추출한 한약재박 펠릿의 조단백질 함량이 11.4%, NDF함량이 50.0% 및 TDN(total digestibility nutrients) 함량이 61.7%라고 보고한 내용과 거의 유사한 결과를 나타내는 것이었다. 따라서 한약재박은 유기물의 함량이 높아 사료로서의 용도 뿐 만 아니라 퇴비 및 토양미생물제제의 원료로서도 이용 가치가 높을 것으로 판단하였다.

한약재박으로부터 미생물의 분리. 계절별 수거한 한약재박으로부터 미생물을 분리한 결과, Table 2에서와 같이 대부분의 세균 및 곰팡이는 여름 > 봄 > 가을 > 겨울 순으로 많이 분리되었으나, 방선균 및 효모는 봄, 여름, 가을에서 거의 비슷하게 분리되었다. 계절별 균종을 살펴보면 세균이 13-27종, 곰팡이는 4-13종, 방선균은 3-6종, 효모는 1-2종이 분리되었다. 분리 미생물의 콜로니 형태, 색, 냄새 등을 육안으로 조사한 결과, 세균부터 효모까지 계절에 관계없이 대부분 미생물의 종은 거의 동일하거나 비슷하게 나타났다(자료 미제시). 이는 한약재박에 존재하는 미생물의 종류가 제한적임을 시사하는 것이다.

한약재박 이용성이 높은 미생물의 선별. 한약재박으로부터 분리한 미생물들은 최소배지에 한약재박 분쇄물을 주요 탄소원으로 첨가하여 한약재박 이용성이 높은 미생물을 선별하였다. 그 결과 세균 6종, 곰팡이 4종, 방선균 2종, 효모 1종 등 13종의 미생물이 비교적 높은 흡광도를 나타내어 한약재박 이용성이 높은 미생물로 선별하였다(자료 미제시). 본 실험에 사용한 한약재박은 유기물 함량과 NDF 함량이 높아 이들을 분해하는 미생물들은 cellulase, hemicellulase, protease 및 xylanase 등 유기물분해 효소성분을 생산하는 미생물일 가능성을 높을 것으로 추정된다.

작물생육촉진미생물의 선별. 한약재박 이용성이 높은 13종의 미생물을 대상으로 준저리콩의 수경재배법에 적용하여 7일간 재배한 후 콩의 생육을 촉진시키는 미생물 BL-328 및 BL-333 균주를 선별하였다. BL-328 균주는 준저리콩의 생체중량이

Table 3. Identification of the isolated strain BL-333 based on the Bergey's manual systematic bacteriology

Characteristics	BL-333	<i>B. circulans</i>	<i>B. polymyxa</i>
Cell diameter (>1.0 μm)	-	-	-
Spore round	-	-	-
Sporangium swollen	-	+	+
Catalase	+	+	+
Anaerobic growth	d	d	+
Voges-Proskauer test	+	-	+
Acid from D-glucose	+	+	+
L-arabinose	+	+	+
D-xylose	+	+	+
D-mannitol	+	+	+
Gas from glucose	+	-	+
Hydrolysis of casein	-	-	-
gelatin	+	d	+
starch	+	+	+
Degradation of tyrosine	-	-	-
Nitrate reduced to nitrite	+	d	+
Formation of indole	-	-	-
NaCl and KCl required	-	-	-
Growth of pH 6.8	+	+	+
5.7	+	d	+
Growth in NaCl 2%	+	ND	ND
5%	-	d	-
7%	-	d	-
10%	-	-	-
Growth at 5°C	-	-	d
10°C	d	d	+
30°C	+	+	+
40°C	+	+	+
50°C	-	-	-
55°C	-	-	-

Symbols: +, 90% or more of strains are positive; -, 90% or more of strains negative; d, 11-89% of strains are positive; ND, no data available.

2.880 g으로 대조구 2.455 g에 비해 15%이상 생육을 촉진되었으며, BL-333 균주는 2.998 g으로 대조구에 비해 23% 생육을 촉진되었다. 따라서 작물생육촉진 미생물로는 최종 BL-333 균주를 선발하였다. 그러나 대부분 다른 세균은 콩의 생육에 거의 영향을 주지 않았으며, 곰팡이, 방선균 및 효모도 콩의 생육에는 영향을 주지 않았다.

생육촉진미생물 BL-333의 동정 및 특성. 상기 선발균주 BL-333은 gram염색에서 양성이었다고, 운동성이 없는 간균(0.4×2.7 μm)이었다. Table 3에서와 같이 배양학적 특성을 조사한 결과, catalase는 양성, Voges-Proskauer test 양성, D-glucose와 L-arabinose, D-xylose, D-mannitol에서는 산을 생성하였고, glucose에서 배양할 경우 가스를 생성하였으며, gelatin, starch를 가수분해하며, tyrosine을 분해하지 못하였다. 또한 indole 생성능은 음성, 2% NaCl 이하 농도에서는 생육이 가능하며, 40°C 까지 생육하는 특성을 가지고 있어 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology에 의거하여 조사한 결과, *Bacillus* 속으로 확인하였다.

상기 BL-333 균주의 16S rDNA 염기서열 589 bp를 결정하

AGATCTCTGGGCCGTAACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCG AACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGTTGGGAACATA GATGTGGGGGCCATTCCACGGCTTCCGTGTACATCTAACGCATTAAG TTCCCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTAAACCTCAAAGGAATTG ACGGGGCCCGCACAAAGCGCGGAGCATGCGGATTAATTCGATGCAACG CGAAAAACCTTACCAAGGCTTGACATATACAGAACGCTGCAAAAATGT AGAACTCTTTGGACTCGTATACAGGTGGTGCATGGTTGTCTCGTCAGC TCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCG TTCTATGTTGCCAGCGGTTATGGCGGAACTCATAGGACTGCGCGG GGTCAACTCGAGAGGAAGGTGGGAATGACGTCAAATCATCATGCCCT TATGCTTGGGCTTCACGCATGC	
Strains	% Similarity
<i>Paenibacillus marcerans</i>	98.6
<i>Paenibacillus viridus</i>	94.7

Fig. 1. 16S rDNA sequence (589 bp) of the isolated strain BL-333 and homology analysis.

Table 4. Antifungal activity of *Paenibacillus marcerans* BL-333 against various plant pathogens

Pathogens	Inhibition of growth (mm)*
<i>Phytophthora capsici</i> (<i>Capsicum annuum</i> L., Phytophthora blight)	19
<i>Colletotrichum coccodes</i> (<i>Capsicum annuum</i> L., Anthracnose)	22
<i>Fusarium oxysporium f.sp. niveum</i> (<i>Citrullus lanatus</i> Matsum. & Nakai, Fusarium wilt)	23
<i>Colletotrichum orbiculare</i> (<i>Citrullus lanatus</i> Matsum. & Nakai, Anthracnose)	24
<i>Fusarium oxysporium f.sp. melonis</i> (<i>Cucumis melo</i> L., Black root)	24
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (<i>Cucumis sativus</i> L., Sclerotinia rot)	24
<i>Phytophthora capsici</i> (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill., Phytophthora root rot)	21
<i>Colletotrichum orbiculare</i> (<i>Cucurbita</i> spp., Anthracnose)	24
<i>Rhizoctonia solani</i> (<i>Raphanus sativus</i> L., Damping-off)	20
<i>Plasmiodiophora brassicae</i> (<i>Brassica campestris</i> , Club root)	19
<i>Alternaria porri</i> (<i>Allium cepa</i> L., Black spot)	24
<i>Phytophthora capsici</i> (<i>Sesamum indicum</i> L., Phytophthora blight)	19

*Inhibition of growth was determined by the range of clear zone

였다. 589 bp의 염기서열은 ribosomal database에서 상동성을 검색한 결과, Fig. 1에서와 같이 분리주 BL-333은 *Bacillus* 속 *Paenibacillus marcerans*의 표준균주와 98.6%의 높은 유사도를 보였으며, *Paenibacillus viridus*와 94.3%의 유사도를 나타내었다. 따라서 BL-333 균주는 *P. marcerans*로 추정되었기에 *P. marcerans* BL-333이라 명명하였다.

식물병원성 진균에 대한 길항력 조사. *P. marcerans* BL-333에 의한 각종 병원성진균에 대한 길항력을 조사한 결과, Table 4에서와 같이 수박 탄저병균, 참외 만황병, 호박 탄저병균 및 양파 흑반병균 등에 대해 높은 항진균 활성을 나타내었으며, 병원균의 생육억제거리가 길항균 콜로니 끝에서부터 투명한 크

Table 5. Effect of microbial inoculant on the growth of various plants

Plant	Treatment condition	Effect of growth promotion			
		Leaf area (cm ²)	Hypocotyl diameter (cm)	Root length (cm)	Dry weight (g)
Lettuce	Control ^{a)}	35	2.1	18	0.30
	LMI ^{b)}	46	2.1	19	0.34
	DMI ^{c)}	50	2.2	20	0.35
	DMIN ^{d)}	53	2.2	22	0.36
Red pepper	Control	23	13	14	0.21
	LMI	26	14	15	0.24
	DMI	35	17	15	0.26
	DMIN	35	17	16	0.29
Radish	Control	40	12	13	0.26
	LMI	49	13	14	0.32
	DMI	55	15	15	0.34
	DMIN	67	16	16	0.38
Water melon	Control	35	14	12	0.23
	LMI	47	16	14	0.24
	DMI	61	18	16	0.34
	DMIN	64	18	16	0.39
Cabbage	Control	35	8	18	0.14
	LMI	53	9	20	0.20
	DMI	88	10	21	0.30
	DMIN	96	10	22	0.32
Cucumber	Control	78	17	21	0.37
	LMI	94	18	23	0.46
	DMI	103	18	25	0.52
	DMIN	110	19	26	0.58
Gourd	Control	43	12	19	0.28
	LMI	55	16	20	0.33
	DMI	67	17	21	0.46
	DMIN	70	18	22	0.51
Soybean	Control	150	28	26	0.78
	LMI	149	28	27	0.82
	DMI	177	28	28	0.84
	DMIN	182	28	29	0.86
Tomato	Control	43	11	12	0.28
	LMI	49	13	13	0.30
	DMI	76	15	14	0.40
	DMIN	79	16	16	0.44
Pumpkin	Control	110	18	34	0.83
	LMI	126	19	35	0.86
	DMI	137	19	37	0.90
	DMIN	149	20	39	0.94

^{a)}No treatment, ^{b)}Liquid Microbial Inoculant (LMI), ^{c)}Dusts of microbial inoculant prepared without by-product of oriental herbal medicine (DMI), ^{d)}Dusts of microbial inoculant prepared with by-product of oriental herbal medicine (DMIN).

기가 23 mm 이상 크게 나타났다. 특히 *Fusarium*과 *Collectotrichum* 속 등의 진균에 대해 우수한 항진균 활성을 가지고 있음을 알 수 있었다.

채소류의 생육촉진효과 검증. *P. marcerans* BL-333 균주로 제조한 액제미생물제제(LMI), 한약재박 첨가 미생물제제(DMIN), 한약재박 무첨가 미생물제제 등 3종류의 미생물제제(DMI)를 이용하여 채소류의 생육촉진효과를 검증한 결과, Table 5에서와

같이 상추를 비롯하여 고추, 수박, 오이, 토마토, 호박, 무, 배추, 참박, 콩 등 모든 작물에서 엽면적, 줄기직경, 뿌리길이, 및 전체 건물중이 3~24% 증가되었다. 특히 상추, 무와 배추 및 오이 등은 액제미생물제제, 한약재박 첨가 미생물제제, 한약재박 무첨가 미생물제제 등 3종류의 미생물제제를 처리한 전 구간에서 생육촉진효과가 더 높게 나타났다. 상추 및 콩의 경우 줄기의 직경은 대조구와 거의 차이가 없었으나 자간 측, 잎과 잎사이의 거리가 길어져 건물중이 증가한 것으로 확인되었다.

따라서 한약재박 첨가 미생물제제(DMIN)가 한약재박 무첨가 미생물제제(DMI) 보다 전반적으로 작물의 생육이 촉진되었기에 한약재박을 미생물제제에 적용 가능할 것으로 판단되며, 특히 한약재박에서부터 분리한 *P. marcerans* BL-333 균주 등을 이용할 경우 한약재박 이용 효과가 더욱 증가될 것으로 사료된다.

초 록

본 연구는 한약재박의 효율적 처리를 위한 실험의 일환으로 한약재박으로부터 유용미생물을 분리하고 이들 미생물로부터 작물생육촉진미생물을 선발하여 한약재박에 적용한 한약재박 미생물제제를 만들어 친환경농업에 이용하고자 실시하였다. 한약재박은 유기물 함량이 93.0%로 높고 조단백질 함량이 11.3%, 조지방 함량이 5.1%, NDF 함량이 49.7% 및 ADF 함량이 33.8%로 나타나 미생물제제의 원료로서도 이용 가치가 높았다. 한약재박으로부터 약 35종의 미생물이 검출되었고, 이들 중 13종이 한약재박 이용성이 높았으며, 작물생육촉진미생물 BL-333 균주를 선발하였다. 선발균주 BL-333을 *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 및 16S rDNA 염기서열(589 bp)로 상동성을 조사한 결과 *Paenibacillus marcerans*로 추정되었다. *P. marcerans* BL-333 균주는 각종 진균에 대해 대부분 높은 항진균 활성을 나타내었으며, 특히 *Fusarium* 속과 *Collectotrichum* 속 등의 진균에 대해 높은 항진균 활성을 나타내었다. *P. marcerans* BL-333 균주와 한약재박 분쇄물 등으로 제조한 미생물제제는 10종의 작물의 생육조사에서 무처리구보다 3~24% 증수되는 효과를 나타내었으며, 특히 상추, 무, 배추 및 오이 등에서 생육촉진효과가 우수하였다. 따라서 한약재박 및 한약재박으로부터 얻은 미생물은 퇴비나 미생물제제를 위해 효과적인 재료로서의 활용 가치가 있다고 본다.

Key words: 한약재박, 미생물제제, *Paenibacillus marcerans*, 항진균활성

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 바오그린21(과제번호 20050301-034-430-118-01-00)에 의해 수행된 과제의 일부로 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. Sung, K. I. (1997) Feeding value of pellet of by-products of

- oriental medicines and silage of soybean curd residue as feed resources in ruminant. *Kor. J. Anim. Nutr. Feed* **21**, 511-518.
2. Hong, S. J., Namkung, H. and Paik, I. K. (2001) Effects of herbal products (Miracle 20R) on the performance, nutrient digestibility, small intestinal. *J. Anim. Sci. Technol.* **43**, 671-680.
 3. Park, J. H. and Song, Y. H. (1997) Nutritive values of Korean medical herb residue as dietary supplements for broiler chicks. *Kor. J. Anim. Nutr. Feed* **21**, 59-64.
 4. Choi, J. H., Kim, D. W., Moon, Y. S. and Chang, D. S. (1996) Feeding effect of oriental medicine on the functional properties of pig meat. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **25**, 110-117.
 5. Sung, K. I., Chung, C. W. and Kim, S. R. (2001) Partial substitution of pellet of residues from oriental herbal medicine in Korean native bulls as a finishing diet. *J. Anim. Sci. Technol.* **43**, 873-880.
 6. AOAC. (1984) In *Association of official analytical chemists. Official methods of analysis* (15th ed), Washington, DC.
 7. Goering, H. K. and van Soest, P. J. (1970) In *Forage fiber analyses* (Apparatus, reagents, procedures, and some applications), Agric. Handbook 379, ARS-USDA, Washing, DC.
 8. Sneath, P. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E. and Holt, J. G. (1986) In *Bergey's manual of systematic bacteriology*. vol. 2, The Williams & Wilkins, Baltimore..