농약과학회지 제12권 제4호 (2008)
The Korean Journal of Pesticide Science Vol. 12, No. 4, pp. 368~374

연구보문/방 제

비병원성 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 9-3의 건조 및 저장의 과정에서 생존에 미치는 염 효과

박경수 · 김건주 · 신윤주 · 김 식 · 차재순*
충북대학교 농업생명환경대학 식물의학과
(2008년 10월 28일 접수, 2008년 11월 8일 수리)

High Concentration of Sodium Chloride Increases on Survival of Non-pathogenic *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 9-3 during Drying and Storage

Kyoung Soo Park, Gun Ju Kim, Yun-Ju Shin, Sik Kim and Jae-Soon Cha*
Department of Plant Medicine, College of Agriculture, Life and Environment Science, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea

Abstract

Dry formulation is a limiting step for successful development of microbial bio-pesticides with the antagonistic Gram-negative bacteria because their survival rates are too low during drying and storage. The high concentration of sodium chloride (NaCl) in culture medium that induces osmolyte in bacterial cells is known to increase of survival rate during drying in many Gram-negative bacteria. Effect of NaCl on survival of antagonistic non-pathogenic *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 9-3 (*Ecc* 9-3) during drying and storage was studied. Growth rate of *Ecc* 9-3 was not much different up to 0.5 M NaCl in NB while it was lower significantly with 0.7 M NaCl. Survival rates were twice and 3 times higher with 0.5 M NaCl than with no additional NaCl during drying at room temperature and freeze-drying, respectively. Survival rate was also higher with high NaCl in culture medium during storage after drying. It was not much different on storage at 4℃ both of drying at room temperature and freeze-drying. However, the survival rate was higher on storage at 27℃ and 37℃ with high NaCl concentration. Among the additives tested, lactose affects most to survival rate both of drying at room temperature and freeze-drying, and dextrin influenced significantly to survival rate of drying at room temperature.

Key words Bio-pesticide, formulation, freeze-drying, sodium chloride

서 론

한정된 농토에서 급격하게 증가하는 인류의 식량문제를 슬기롭고 효율적으로 해결하기 위한 증산의 방법으로 병충해 예방 및 방제 기술과 잡초방제 기술을 개발하여 그 동안 식량 증산에 눈부신 발전을 이루었다. 특히 화학적으로 합성된 농약을 사용함으로써 병충해 및 잡초 방제를 효과적으로 수행하여 농업 생산이 크게 증가하였다(백수봉 등, 2002). 이러한 긍정적인 면과 다르게 과도한 화학농약의 사용으로 농업환경이 오염 되고, 인축에 대한 독성과 약제 저항성 병원균 및 해충의 발생 등으로 방제효과의 저하 등 여러 가지 문제가 나타나게 되었다(백수봉 등, 2002). 따라서 화학농약을 사용하지 않는 유기농업에 대한 관심 및 요구가 그 어느 때보다도 높다(김두호, 2005). 이에 따라 정부에서도 최근 친환경농업육성

※ 본 연구논문의 초록은 한국식물병리학회 2008년 추계학술대회에 발표하였다.

*연락저자 : Tel. +82-43-261-4414, Fax. +82-43-271-4414
E-mail: jscha@cbnu.ac.kr

법을 제정하고 2013년까지 화학비료와 농약 사용량을 40% 감축을 목표로 종합적인 친환경 농업정책을 추진하고 있다(하영효, 2003). 화학농약을 사용할 수 없는 친환경 유기농업에서 병해 방제는 재배적 방법에 의존하거나 미생물농약 등 친환경 유기농업에 사용이 허용된 농자재에 의존한다(지형진, 2007).

많은 우수한 길항력을 나타내는 세균이 분리되지만 이를 이용한 미생물농약으로 개발은 쉽지 않다. 길항균을 이용한 미생물 농약으로 개발이 어려운 이유는 길항력이 포장에서 방제효과로 연결되지 않는 이유와 함께 효과적인 제제화가 어렵기 때문이다. 특히 그람음성균의 경우 제제화 과정에서 생존율 확보가 쉽지 않으므로 높은 생존율 확보가 가능한 *Bacillus thuringiensis*(Bt)와 같은 그람양성균들이 미생물농약으로 개발되는 경우가 많다(Emmert와 Handelsman, 1999). 따라서 길항력이 우수한 그람음성 세균을 이용한 미생물농약으로의 개발을 위해서는 생존율을 높이는 제제화 방법의 개발이 필요하다.

미생물농약 제제화에 있어 가장 중요한 점은 길항 미생물의 길항력을 잃지 않고 장기간 보존하면서 필요한 때에 언제라도 손쉽게 사용할 수 있게 하는 것이다(이동희 등, 1992; Munoz-Rojas 등, 2006). 이를 위한 다양한 방법이 있지만 가장 흔히 사용하는 제제화는 수화제로의 제제화 방법이다. 수화제제제화를 위해서는 동결건조 또는 상온건조가 꼭 필요한 과정이다. 그런데 건조과정에서 세균은 극심한 탈수 환경에 처하게 되어 세균의 생존에 악영향을 미치게 되며(Zimmerman, 1962), 또한 건조된 세포가 다시 수화 되는 과정에서 복제와 전사 번역이 감소하게 되어 RNA와 DNA의 구조에 영향을 주게 된다(Corcoran 등, 2006).

여러 개의 기존 연구에서 배양과정에서 높은 농도의 염(NaCl)의 첨가가 미생물의 생존율을 증가 시킨다는 보고가 있었다. 고농도의 염이 들어 있는 배지에서 자란 그람음성 세균은 trehalose, N-acetylglutamine amide와 glucosyl-glycerol 등 삼투압조절제 osmolyte의 합성이 증가하고 이 물질이 건조 등 외부 환경의 stress로부터 미생물의 생존율을 높이는 것으로 보고되었다(Marin 등, 2002; Prasad 등, 2003; Silva 등, 2003; Goude 등, 2004; Bonaterra 등, 2005; Dreux 등, 2007).

본 연구에서는 배추 무름병균 방제를 위한 미생물농약으로 개발중인 비병원성 길항균 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 9-3(*Ecc* 9-3)을 수화제로 제제화 하기 위하여 *Ecc* 9-3의 건조와 저장의 생존율에 미치는 염의 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

염 농도에 따른 생장변화

Erwinia carotovora subsp. *carotovora* 9-3(*Ecc* 9-3) 균주를 Luria-bertani agar medium(LBA-triptone 10g, yeast extract 5 g, NaCl 10 g, agar 16 g per 1L)에 배양하여 얻은 단콜로니를 LB 100 ㎖에 넣고 28℃에서 250 rpm으로 24시간 동안 배양하였다. LB 100 ㎖에 배양 된 *Ecc* 9-3균주 1 ㎖을 각각 0 M(GB에 NaCl을 첨가하지 않은 처리), 0.3 M, 0.5 M, 0.7 M의 염이 첨가된 GB(산업용Nutrient broth, (주)벤택바이오) 200 ㎖에 넣고 진탕배양기에서 28℃, 250 rpm으로 배양하였다. 배양 0, 6, 12, 18, 24, 32, 40, 48 시간 후에 각 배양액의 흡광도(OD_{600} nm)와 생균수(cfu)를 조사하였다.

상온건조 및 생균수 측정

각각의 0 M, 0.3 M, 0.5 M, 0.7 M의 NaCl이 들어있는 GB배지에서 전 배양된 *Ecc* 9-3를 배양배지 0 M, 0.3 M, 0.5 M, 0.7 M의 NaCl이 첨가된 GB배지(200 ㎖)에 5% (v/v)가 되도록 접종하였다. 접종한 배양액을 진탕배양기에서 28℃, 250 rpm으로 24시간 배양하였다. 각각의 배양액을 64,400 xg로 10분간 원심분리하여 *Ecc* 9-3을 수확하였다. 수확된 *Ecc* 9-3에 멸균수 20 ㎖를 넣고 흔들어 현탁시킨다음 현탁액에 첨가제를 Table 1의 조성으로 넣었다. 첨가제를 넣은 혼합물에서 100 ㎕의 시료을 채취하여 희석평판법으로 건조 전 생균수를 측정하였다. 혼합물을 Petri-dish에 5 ㎖씩 넣고 건조기에서 30℃로 24시간 건조시켰다. Petri-dish에서 건조된 제제를 긁어 모으고 건조 후 생균수를 측정하였다. 남은 건조물은 0.1 g씩 1.5 ㎖ microfuge tube에 넣은 다음 플라스틱 pouch(Food guard, (주)롤팩)에 넣어 진공포장하고 각각 4℃, 27℃ 및 37℃ 온도에 보관하였다.

Table 1. Formulation for drying of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*

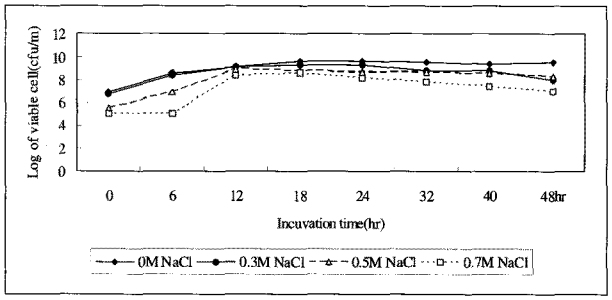
Ingredients	% (V/V)	Function
Skim Milk	5	Cryo-protectant, sun screen
Lactose	10	Cryo-protectant, stablizer
Dextrin	5	Binder
Zeolite	1.5	Carrier, dispersant
Tween 80	0.5	Surfactant

동결건조 및 생균수 측정

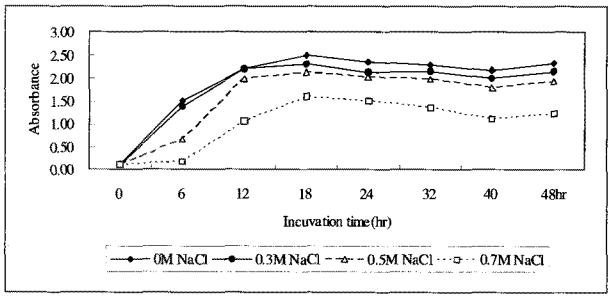
상온건조 실험에서와 동일한 방법으로 배양 및 수확하였고 Table 1의 첨가제를 넣었다. 상온건조와 같은 방법으로 100 ㎕의 시료로부터 희석평판법으로 건조 전 생균수를 측정하였다. 혼합물을 동결건조용 둥근 플라스크에 넣고 액체 질소를 이용하여 동결시킨 후 동결건조기(FDU-506, Tokyo Rikakikai Co., Ltd.)에서 12시간 동결건조하였다. 플라스크에서 건조물을 수확하여 0.1 g을 덜어내 건조 후 생균수를 측정하고, 각 시료를 0.1 g씩 1.5 ㎖ microfuge tube에 넣은 다음 플라스틱 pouch(Food guard, (주)롤팩)에 넣어 진공포장하고 각각 4℃, 27℃및 37℃에서 보관하였다.

보관과정에서 생균수 측정 및 생존에 미치는 첨가제의 효과

각 저장온도(4℃, 27℃, 37℃)에 저장 중인 시료를 저장 2, 4, 8, 12, 16주 후에 희석평판법으로 생균수를 측정하여 생존력을 조사하였다. 상온건조 실험에서와 동일한 방법으로 배양하고 얻어진 세균현탁액에 각각 다른 조합의 첨가제를 넣어 혼합액을 만들고 동결건조와 상온건조를 하였다. 희석평판법으로 동결건조와 상온건조 전 후의 생균수를 측정하여 첨가제의 효과를 조사하였다. 각 처리 당 3반복으로 실험하였다.



(A)



(B)

Fig. 1. Effect of NaCl on growth of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 9-3 in nutrient broth. (A) cfu, (B) Optical density at 600 nm.

결과 및 고찰

Ecc 9-3의 생장에 미치는 염(NaCl)의 효과

각각의 염 농도(0 M, 0.3 M, 0.5 M, 0.7 M)에서 *Ecc* 9-3을 48시간 배양하면서 흡광도와 생균수를 측정한 결과, 각각의 염 농도에 따라 생장곡선에 차이를 보였다(Fig. 1). 0.3 M은 0 M과 생장곡선에서 거의 차이가 없었으며, 0.5 M과 0.7 M에서는 0 M과 0.3 M보다 초기 생장속도가 낮았다. 0.5 M의 경우 최고 생균수가 0 M과 0.3 M과 큰 차이가 없었지만 0.7 M의 경우 상당히 낮은 생균수를 보였다. 염의 농도에 따라 초기 생장에 차이가 있었지만 모든 염 농도에서 배양 18시간 후에 가장 높은 생균수에 도달하였다(Fig. 1). 이 결과는 배지 내의 높은 염은 초기에 세균 세포에 스트레스을 주어 초기 배양 속도는 낮아지지만 *Ecc* 9-3이 높은 농도의 염에 적응하는 시간이 지날수록 생장이 회복되어 정상적인 생장곡선을 보여 주었다고 생각된다(Bonaterra 등, 2007).

동결건조 및 상온건조 과정이 *Ecc* 9-3의 생존률에 미치는 염 효과

염농도 별 동결건조 전과 후의 생균수를 측정하여 생존율을 조사한 결과, 배양 배지에 염 농도가 높을수록 *Ecc* 9-3의 건조후의 생존율이 높았다(Table 2). 0 M은 14.8%의 생존율을 보였으며 0.3 M, 0.5 M, 0.7 M의 생존율은 각각 0 M보다 약 1.7배, 2.9배, 5.3배 증가하였다. 상온건조에서도 동결건조와 마찬가지로 염 농도가 증가할수록 생존률이 증가하였는데, 0.3 M, 0.5 M, 0.7 M의 생존율은 각각 0 M 보다 약 1.1배, 1.8배, 2.1배 증가하였다(Table 3). 염에 의한 생존율의 증가는 동결건조가 상온건조보다 더 높았다. 이상의 결과는 배양 배지의 높은 염이 세균 세포의 내부에서 삼투압 조절제(osmolyte)를 유도하여 건조에 견디는 능력이 향상되어 생존율이 높아 진 것으로 생각된다. 여러 연구(Marin 등, 2002; Prasad 등, 2003; Silva 등, 2003; Goude 등, 2004; Bonaterra 등, 2005; Dreux 등, 2007; Bonaterra 등, 2007)

Table 2. Survival rate of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 9-3 after freeze drying

NaCl concentration (M)	cfu (Log)/g		Survival rate (%)
	Before	After	
0	11.6 ± 0.1	10.8 ± 0.0	14.8
0.3	11.1 ± 0.2	10.5 ± 0.2	25.4
0.5	11.3 ± 0.1	10.9 ± 0.1	42.3
0.7	10.5 ± 0.2	10.4 ± 0.6	78.9

에서 삼투압 조절제인 osmolyte는 NaCl에 의해 유도 된다는 것이 보고되어 있다.

Table 3. Survival rate of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 9-3 after drying at 30℃

NaCl concentration (M)	cfu (Log)/g		Survival Rate (%)
	Before	After	
0	11.2 ± 0.3	10.5 ± 0.4	21.8
0.3	11.2 ± 0.1	10.6 ± 0.1	24.7
0.5	11.1 ± 0.1	10.7 ± 0.3	39.2
0.7	11.0 ± 0.2	10.6 ± 0.6	46.9

건조 후 저장 중 생존율에 미치는 염 효과

각각의 염 농도로 배양 후 동결건조와 상온건조 한 *Ecc* 9-3을 진공 포장한 후 4℃, 27℃ 및 37℃에서 보관 한 시료의 2, 4, 8, 12, 16주 후 생균수를 측정하여 저장중의 생존율의 변화를 조사하였다. 염 농도와 상관없이 건조 후 저장온도가 균주의 생존율에 절대적인 영향을 미치는 것으로 나타났다. 4℃에 보관한 시료에서는 16주 후까지 생존율의 감소가 거의 나타나지 않았지만 37℃에서 보관한 시료에서는 염 농도와 상관없이 16주 후 모든 시료에서 *Ecc* 9-3이 검출되지 않았다 (Fig. 2). 37℃에서 생존율 감소는 상온건조 시료에서 동결건조 시료에서보다 더 급격하게 일어났다. 또한 37℃에서 저장한 시료 중에서 상온건조 시료에서는 염 농도별 생존율의 차

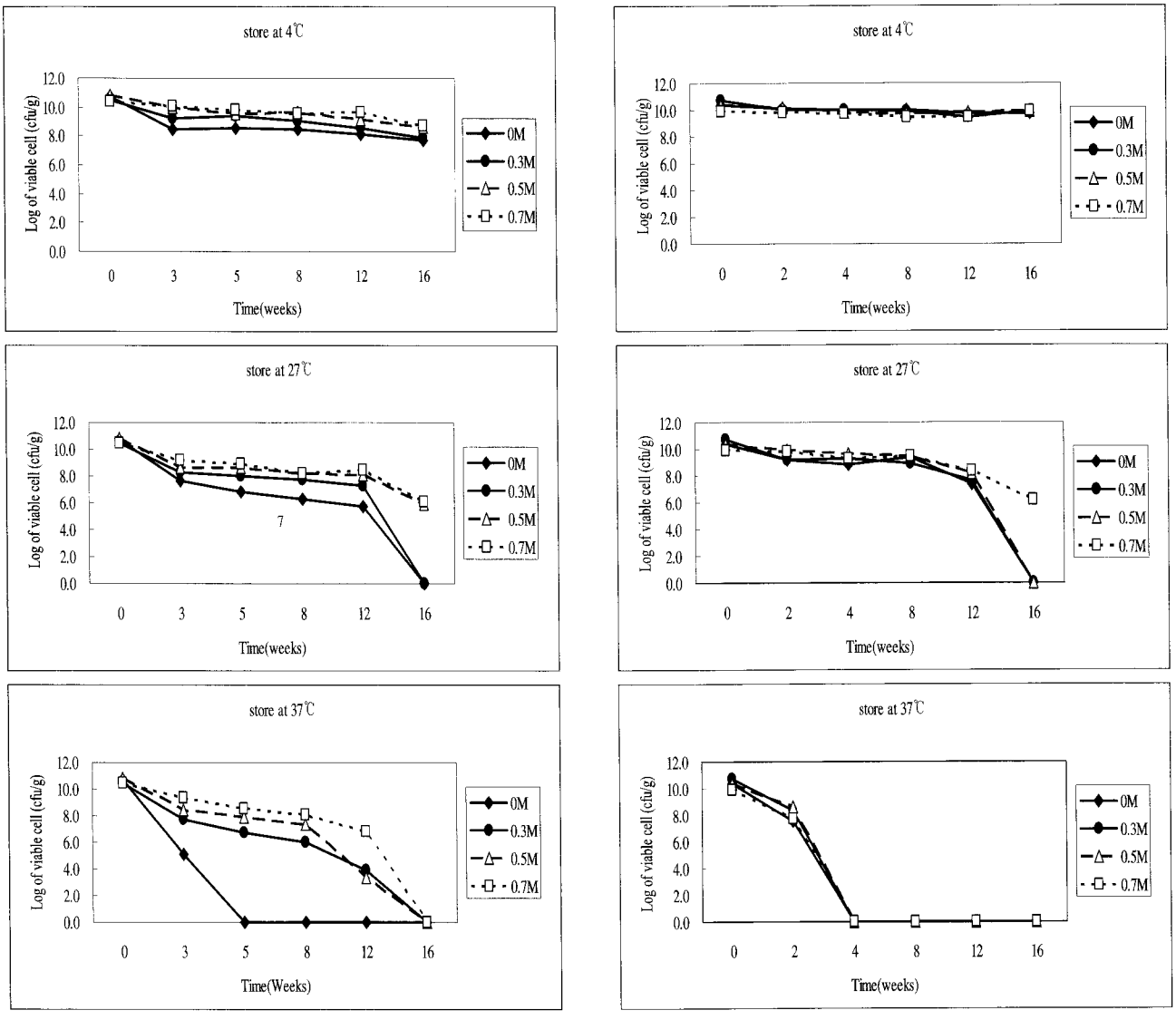


Fig. 2. Effect of storage temperature on viability of dried *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 9-3. (A) Freeze drying, (B) Drying at 30℃.

이가 나타나지 않았지만 동결건조 시료에서는 염 농도가 높을수록 생존지속 기간이 길어지는 것을 알 수 있었다(Fig. 2). 27℃에 보관 시료에서도 염 농도가 높을수록 생존기간이 길어지는 것으로 나타났다. 동결건조 시료에서 보관 16주 후 0 M과 0.3 M의 경우 생존율이 0이 되었지만 0.5 M과 0.7 M의 경우 50% 이상의 생존율을 유지하고 있었으며, 상온건조의 경우도 0.7 M 시료의 경우 높은 생존율을 유지되고 있었다(Fig. 2). 이상의 결과는 저장 동안 생존율에는 온도(Wu와 Hsiang, 1998; Honeycutt와 Benson, 2001; Eley 등, 2006)가 가장 큰 영향을 미치지만 배양 중 높은 농도의 염이 생존율을 높인다 것을 암시하고 있다. 저장 온도가 낮을수록 생존기간이 길어지고 생존율이 높아지는 이유는 일부 논문에서 미생물의 경우 상대적으로 낮은 온도에서 저장 할 때 대사활동이 낮게 유지되기 때문이라고 보고하였다(Costa 등, 2002).

건조 과정에서 생존율에 미치는 첨가제 효과

일부 첨가제를 넣지 않는 시료의 건조 전후의 생균수를 비교하여 건조과정에서 각 첨가제의 생존율에 미치는 영향을 비교하였다. 동결건조와 상온건조 모두에서 zeolite 혹은 zeolite와 Tween-80 만을 넣은 시료의 생균수는 건조 전에 다른 첨가를 넣은 시료보다 이미 1000 -10,000배 낮았다(Table 4, 5). 이는 zeolite와 Tween-80은 *Ecc* 9-3의 생존에 악영향을 미치는 것으로 여겨진다. 또한 dextrin, skim milk, 그리고 lactose을 모두 넣지 않는 시료에서는 동결건조 및 상온건조 모두에서 생존하지 못하였으므로 이들 첨가제가 건조과정에서 *Ecc* 9-3 균주에 절대적인 영향을 미치는 것으로 나타났다(Table 4, 5).

동결건조에서 dextrin, skim milk, lactose의 세 가지 첨가제를 각각 첨가하지 않은 시료의 생존율을 비교해보았을 때

Table 4. Effect of each additive on freeze-drying

Additives	cfu (Log)/g		Survival rate (%)
	Before freeze -drying	After freeze -drying	
F	8.0 ± 0.4	0.0	0
E	7.8 ± 0.4	0.0	0
D	11.2 ± 0.2	11.0 ± 0.1	57.5
C	11.1 ± 0.3	10.2 ± 0.1	10.8
B	11.5 ± 0.2	8.2 ± 0.4	0.06
A	11.2 ± 0.0	11.1 ± 0.1	77.6

※ A: zeolite+Tween 80+dextrin+lactose+skim milk, B: A-lactose, C: A-skim milk, D: A-dextrin, E: zeolite, F: zeolite+Tween80.

Table 5. Effect of each additive on drying at 30℃

Additives	cfu (Log)		Survival rate (%)
	Before-drying	After-drying	
F	8.1 ± 0.2	0.0	0.0
E	7.4 ± 1.2	0.0	0.0
D	10.7 ± 0.2	7.3 ± 0.6	0.05
C	11.0 ± 0.2	9.7 ± 0.6	7.6
B	11.2 ± 0.0	8.0 ± 0.6	0.07
A	11.1 ± 0.0	10.3 ± 0.3	20.6

※ A: zeolite+Tween 80+dextrin+lactose+skim milk, B: A-lactose, C: A-skim milk, D: A-dextrin, E: zeolite, F: zeolite+Tween80.

lactose을 첨가하지 않은 시료의 생존율이 가장 크게 감소했으며, skim milk을 첨가하지 않는 시료의 생존율도 크게 감소하였고 dextrin을 첨가하지 않는 시료에서도 감소하였지만 그 정도는 크지 않았다(Table 4). 상온건조의 경우 lactose와 dextrin을 첨가하지 않는 시료의 생존율이 크게 감소하였고 skim milk을 첨가하지 않는 시료에서도 감소하였지만 그 정도는 크지 않았다(Table 5).

미생물농약 개발을 위해서는 우수한 길항미생물을 선발 하는 것도 중요하지만 선발한 미생물을 어떻게 제제화 하여 제품을 생산하는 것이 중요하다. 제제화는 유효성분인 미생물의 효과를 지속시키는 동시에 사용하기에 편리하고 안전하게 하기 위해 다양한 보조제 및 부재를 혼합하고 일정한 형태를 부여 하는 것이 목적이라 하겠다(김호산 등, 1998). 미생물농약을 개발하는데 있어 제제화는 핵심기술로 다루어 지고 있는데, 건조과정에서 생존율 확보가 어려운 그람음성 세균의 수화제 제제화에 대한 많은 연구가 이루어지고 있다(Schisler 등, 2004). 본 연구에서는 배추 무름병균에 길항력을 가진 박테리오신 생산 비병원성의 Ecc 9-3의 건조과정에서 생존력에 미치는 염의 효과를 분석하였는데 배양과정에서 높은 염의 첨가는 건조과정에서 Ecc 9-3의 생존률을 높이고 저장기간 동안 생존기간을 연장하는 것으로 나타났다. 앞으로 염의 발효조를 이용한 다양한 염 첨가 방법을 이용한 생존율의 극대화에 대한 연구가 계속된다면 그람음성 세균의 제제화에 큰 진전을 가져올 것으로 기대된다.

감사의 글

본 논문은 2007년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의해 연구되었다.

>> 인 / 용 / 문 / 헌

Bonaterra, A., J. Camps and E. Montesinos (2005) Osmotically induced trehalose and glycine betaine accumulation improves tolerance to desiccation, survival and efficacy of the postharvest biocontrol agent *Pantoea agglomerans* EPS125. FEMS Microbiol. Lett. 250:1~8.

Bonaterra, A., J. Cabrefiga, J. Camps and E. Montesinos (2007) Increasing survival and efficacy of a bacterial biocontrol agent of fire blight of rosaceous plants by means of osmo-adaption. FEMS Microbiol Ecol. 61(1):185~195.

Corcoran, B. M., R. P. Ross, G. F. Fitzgerald, P. Dockery and C. Stanton (2006) Enhanced survival of GroESL- over-producing *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 under stressful conditions induced by drying. Appl. Environ. Microbiol. 72(7):5104~5107.

Costa, E., J. Usall, N. Teixido, R. Torres and I. Vinas (2002) Effect of package and storage condition on viability and efficacy of the freeze-dried biocontrol agent *Pantoea agglomerans* strain CPA-2. J. Appl. Microbiol. 92:873~878.

Dreux, N., C. Albagnac, R. D. Sleator, C. Hill, F. Carlin, C. E. Morris and C. Nguyen-the (2007) Glycine betaine improves *Listeria monocytogenes* tolerance to desiccation on parsley leaves independent of the osmolyte transporters BetL, Gbu and OpuC. J Appl Microbiol. 104(4):1221~1227.

Eley, A., I. Geary, A. Bahador and H. Hakimi (2006) Effect of storage temperature on survival of *Chlamydia trachomatis* after lyophilization. J. Clincal Microbiol. 44(7):2577~2578.

Emmert, E. A. B. and J. Handelsman (1999) Biocontrol of plant disease: A (gram-)positive perspective. FEMS Microbiol, lett. 171:1~9.

Schisler, D. A., P. J. Slininger, R. W. Behle, and M. A. Jackson (2004) Formulation of *Bacillus* spp. for biological control of plant diseases. Phytopathoiogy, 94:1267~1271.

Honeycutt, E. W. and D. M. Benson. (2001) Fomulation of binucleate *Rhizoctonia* spp. and biocontrol of *Rhizoctonia solani* on impatiens. Plant Dis. 85:1241~1248.

Prasad, J., P. McJarrow and P. Gopal (2002) Heat and osmotic stress responses of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (DR20) in relation to viability after drying. Appl. Environ. Mirobiol. 69(2):917~925.

Munoz-Rojas, J., P. Bernal, E. Duque, P. Godoy, A. Segura and J. L. Ramos (2005) Involvement of cyclopropane fatty acid in the response of *Pseudomonas putida* KT2440 to freeze-drying. Appl. Environ. Microbiol. 72(1):472~477.

Marin, K., J. Huckauf, S. Fulda, and M. Hagemann (2002) Salt-dependent expression of glucosylglycerol-phosphate synthase, involved in osmolyte synthesis in the cynobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. J. Bacteriol. 184(11): 2870~2877.

Zimmerman Leonard (1962) Survival of *Serratia marcescens* after freeze-drying or aerosolization at unfavorable humidity. J. Bacteriol. 84:1297~1302.

Goude, R., S. Renaud, S. Bonnassie, T. Bernard and B. Carlos (2004) Glutamine, glutamate, and α-glucosylglycerate are the major osmotic solutes accumulated by *Erwinia chrysanthemi* strain 3937. Appl. Environ. Microbiol. 70(11):6535~6541.

Wu, C and T. Hsiang (1998) Pathogenicity and formulation of *Typhula phacorrhiza*, biocontrol agent of gray snow mold. Plant Dis. 82(9):1003~1006.

Silva, Z., S. Alarico, A. Nobre, R. Horlacher, J. Marugg, W. Boos, A. I. Mingote, and M. S. da. Costa. (2003) Osmotic adaptation of *Thermus thermophilus* RQ-1: lesson from a mutant deficient in synthesis of trehalose. J. Bacteriol. 185(20):5943~5952.

김두호 (2005) 친환경농업의 현재와 미래. 한국농약과학회 학술발표대회 논문집. 10~13.

김호산, 노종열, 이대원, 장진희, 제연호, 우수동, 김주경, 유용만, 강석권 (1998) 새로운 *Bacillus thuringiensis* NT0423 균주의 제제화. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 26(4):358~364.

백수봉, 구항모, 도은수, 천세연 (2002) 식물병의 생물적 방제. 한국미생물생명공학회 15(4): p. 51.

이동희, 조좌형, 이노운 (1992) 동결건조법이 Rifamycin 발효의 starter cell에 미치는 영향. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 20(4):470~476.

지형진 (2007) 친환경농업과 친환경농자재에 대한 이해. 한국농약과학회 학술발표대회 논문집. 15~20.

하영효 (2003) 한국유기농업학회 학술발표대회 논문집. 3~6.

비병원성 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 9-3의 건조 및 저장의 과정에서 생존에 미치는 염 효과

박경수 · 김건주 · 신윤주 · 김 식 · 차재순*
충북대학교 농업생명환경대학 식물의학과

요 약 길항력이 있는 그람음성균들의 생물적 방제제로 성공적인 개발은 균의 건조와 저장시의 낮은 생존율 때문에 건조 제형으로 만드는 것은 제한되어있다. 그람음성균의 배양시 높은 염(NaCl)의 첨가는 삼투압조절제인 osmolyte의 생성을 유도하여 건조 시 생존율을 높인다고 알려져 있다. 그람음성의 길항력을 내는 비병원성 *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (*Ecc*) 9-3의 건조와 저장시의 염의 영향에 관해 연구하였다. *Ecc* 9-3의 생장률은 0.5 M의 염이 첨가되어 있는 배지에서 큰 차이가 없었지만 0.7 M의 염이 첨가된 배지에서는 급격하게 낮아진 것을 확인 하였다. 건조와 저장시의 생존율은 0.5 M의 염을 넣은 배지가 염을 넣지 않은 배지보다 상온건조와 동결건조에서 각각 2배 그리고 3배의 높은 생존율을 얻었다. 건조 후 저장에서도 역시 염이 높을수록 *Ecc* 9-3의 생존율이 더 높았다. 그리고 상온건조와 동결건조 모두 4℃에 저장하였을 때 생존율에 큰 차이가 없었다. 그러나 생존율은 27℃, 37℃에 저장하였을 때 염의 농도가 높을수록 생존율이 증가하였다. 첨가제 실험에서는 lactose가 동결건조와 상온건조 모두에 영향을 주었고 dextrin은 상온건조에 큰 영향을 주었다.

색인어 염화나트륨, 동결건조, 미생물농약, 제제화