고추의 생장에 미치는 *Azospirillum brasilense* 및 *Methylobacterium oryzae* 접종 효과

Effect of Inoculation of *Azospirillum brasilense* and *Methylobacterium oryzae* on the Growth of Red Pepper Plant

정종배

Jong-Bae Chung

대구대학교 생명환경학부

Coll. of Natual Sciences, Daegu Univ.

서 론

1997년 친환경농업육성법의 제정으로 본격화된 우리나라의 친환경농업은 10년의 짧은 역사에도 불구하고 생산량 49배, 실천농가 66배, 시장규모 13배 등 빠른 성장세를 보이고 있다. 친환경농업에서는 화학비료와 농약의 사용을 크게 절감하는 것을 목표로 하고 있으며, 화학비료를 대체할 수 있는 유기질자재와 유용미생물의 개발 및 농업적 활용기술의 개발이 절실히 요구되고 있다. 특히 작물의 근권에서 양분의 가용화와 흡수 촉진, 식물생장호르몬의 분비, 병해발생 억제 등의 기작을 통해 식물의 생장을 촉진시킬 수 있는 미생물에 대한 연구는 전 세계적으로 매우 활발히 진행되고 있다 (Kloepper *et al.,* 1989; Bashan and Holguin, 1997; Vessey, 2003; Lucy *et al*., 2004; Bashan and de-Bashan, 2005; Wu *et al*., 2005; Rai, 2006). 우리나라에서도 농가에서 널리 자체적으로 미생물을 선발 배양하여 농업에 활용하고 있으며, 각종 연구기관과 기업에서도 인산가용화, 질소고정, 생장촉진물질분비 등과 관련된 유용미생물에 대하여 광범위한 연구와 개발을 시도하고 있다. 그러나 현재까지 이들 미생물을 실제 농가현장에 적용하였을 때 화학비료를 일정 수준 분명히 대체할 수 있는 성공 사례는 거의 없는 실정이다. 따라서 실험실에서 선발된 유용미생물을 실제 농업현장에서 실용화 할 수 있는 단계의 기술을 개발하는 것이 매우 긴요한 과제로 남아있다.

*Azospirillum*은 전 세계적으로 다양한 환경조건에서 밀, 옥수수와 같은 각종 곡류작물 뿌리와 근권 토양에 서식하는데, 미생물비료로서 작물생산에 활용 가능한 것으로 널리 보고되어 있다 (Okon and Kapulnik, 1986; Sarig *et al*., 1986; Burdman *et al*., 1997). *Azospirillum*은 질소고정능을 가지며 식물생장호르몬 IAA를 생성하는 것으로 밝혀졌다 (Okon *et al*., 1995; Bashan *et al*., 2004; Kim *et al*., 2005). *Azospirillum*의 접종에 따른 작물생산촉진효과는 항상 기대하는 수준으로 발현되는 것은 아니며, *Azospirillum*의 접종효과에 영향을 미치는 요인은 매우 다양하지만 아직 잘 밝혀져 있지 못한 부분이 많다 (Bashan and Holguin, 1997). 최근 우리나라에서 타로 토란에서 질소고정 및 식물생장호르몬 생성능을 갖춘 균주로서 *A. brasilense* CW903이 분리되었다 (Kim *et al*., 2005). *A. brasilense* CW903의 접종에 따른 토마토, 고추, 벼 등의 작물 생장촉진 효과가 포트시험을 통해 일부 확인되었으나 *Methylobacterium*의 생장촉진 효과에 비하여 미미한 수준이었으며, *Methylobacterium*과 함께 접종했을 경우 *A. brasilense* CW903의 생장촉진 효과는 나타나지 않았다 (Madhaiyan *et al*., 2010).

*Methylobacterium*은 근권, 종자, 식물지상부에서 발견되며, 공생미생물로서 다수의 기작을 통하

여 식물생장을 촉진할 수 있다. *Methylobacterium*은 cytokinin과 IAA와 같은 식물생장호르몬과 urease의 생성을 통하여 식물생장을 촉진하는 것으로 밝혀져 있다 (Omer *et al*., 2004; Madhaiyan *et al*., 2006a). 또한 *Methylobacterium*의 식물생장촉진 효과는 식물체내의 ethylene 생성억제 효소인 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase의 작용, siderophore 생성, 유도저항성의 발현에 의한 병원균 감염방어 등의 기작에 기인하는 것으로 알려져 있다 (Idris *et al*., 2004; Madhaiyan *et al*., 2004; Madhaiyan *et al*., 2006b).

식물생장촉진 미생물을 농가현장에서 활용하기 위해서는 다양한 토양환경조건과 작물에 대한 이들 미생물의 효능이 확보되어야 하며, 주요 생장촉진기작에 대한 확인 또한 필요하다. 특히 작물의 유묘 단계에서 확인된 생장촉진효과가 실제 포장조건에서는 잘 발현되지 못하는 이유가 무엇인지에 대한 연구가 필요하다. 본 연구에서는 근권에 접종한 *A. brasilense*와 *M. oryzae*이 고추의 생장에 미치는 영향을 포트실험을 통하여 조사하였다.

재료 및 방법

관행시비량의 1/2 처리수준에서 고추의 생장에 미치는 식물생장촉진미생물 *A. brasilense* CW903 및 *M. oryzae* CBMB20 접종효과를 포트시험으로 조사하였다.

고추재배에 사용된 토양은 경북 영천시 금호읍 냉천리 금호강 인근 농가 비닐하우스포장에서 채취하였으며, 사양질계 충적토인 덕천통(coarse loamy over sandy skeletal, mixed, mesic family of Typic Udifluvents)으로 이화학적 특성은 Table 1과 같았다.

Table 1. Some physicochemical characteristics of soil used in the experiment.

$pH_{1:5}$	$EC_{1:5}$	Organic matter	Total N	Available P_2O_5	Exchangeable cation			CEC	Texture
					Ca	Mg	K		
	ds/m	g/kg	g/kg	mg/kg	-----------	$cmol^+/kg$	-----------		
6.2	1.0	23.0	1.3	169	6.2	0.93	0.78	6.14	Sandy loam

식물생장촉진미생물로 토란에서 분리한 *A. brasilense* CW903과 벼 줄기에서 분리한 *M. oryzae* CBMB20을 사용하였다 (Kim *et al*., 2005; Madhaiyan *et al*., 2006). *A. brasilense* CW903과 *M. oryzae* CBMB20을 각각 yeast extract tryptone sodium chloride 배지와 yeast and malt extract peptone 배지를 이용하여 30°C에서 120 rpm으로 진탕 배양하였으며, 각각 4.0×10^9 및 5.8×10^8 CFU의 배양액을 시험에 사용하였다.

화학비료는 시설재배 고추에 대한 권장시비량인 22.5-6.4-10.1 kg/10a의 50% 수준으로 요소, 용성인비, 염화가리를 사용하여 처리하였으며, 퇴비는 1000 kg/10a 수준으로 처리하였다. 고추 유묘 정식 1주일 전에 화학비료와 퇴비를 5 mm 체에 통과시킨 토양에 골고루 혼합하였으며, 처리된 토양 2 kg을 상하부 직경과 높이가 각각 17, 12, 13 cm인 플라스틱 포트에 채웠다.

시험에 사용된 고추는 신젠타종묘의 다홍치마 품종이었으며, 미생물 배양액에 침지한 종자를 묘상에서 파종하여 25일 동안 육묘하였다. 파종 10일 후 상토에 각 미생물 배양액 5 mL를 첨가하였다.

대조구용 고추 육묘의 경우에는 멸균배양액을 처리하였다.

A. brasilense CW903 처리구와 *M. oryzae* CBMB20 처리구 및 멸균배양액을 처리한 대조구로 나누어 각 처리별로 준비된 포트에 고추 유묘 1주씩을 정식하였으며, 충분히 관수한 후 근부토양에 각 미생물 배양액 및 멸균배양액 20 mL를 처리하였다. 각 처리별로 5반복의 포트를 완전임의 배치하여 유리온실 내에서 시험을 수행하였으며, 재배기간 동안 10일 간격으로 처리별 해당 미생물 배양액 및 멸균배양액을 근부 토양에 주입 처리하였다. 정식 후 20일차에 초장과 엽수를 조사하였으며, 45일차에 초장, 엽수 및 지상부와 뿌리의 생체중을 조사하였다.

결과 및 고찰

정식 후 20일차에 조사한 처리별 고추의 초장과 엽수는 Table 1과 같았다. *A. brasilense* CW903 접종처리에서는 대조구와 비교하여 초장과 엽수 조사결과 모두 유의성 있는 차이를 보이지 않았다. 반면 *M. oryzae* CBMB20 접종처리에서는 고추의 생장이 유의성 있게 촉진되는 것으로 조사되었다. *M. oryzae* CBMB20 접종처리 고추의 초장과 엽수는 대조구와 비하여 각각 27.5% 및 61.1% 증가한 결과이며, Fig. 1에서 볼 수 있는 바와 같이 뚜렷한 생장 차이를 관찰할 수 있었다. *M. oryzae* CBMB20 접종처리에서 엽수의 증가뿐만 아니라 엽면적 또한 대조구에 비하여 현저히 큰 것을 볼 수 있었다.

Table 2. Effect of plant growth promoting bacteria on the growth of red pepper plant. Growth parameters were measured 20 days after transplant and each value represents mean of three replicates per treatment. In the same columns, significant differences according Duncan's test at *P*<0.05 levels are indicated by different letters.

Treatment	Height of shoot	Number of leaf
	cm	ea
Control	16.7±2.3 a	11.0±1.2 a
A. brasilense CW903	15.7±1.2 a	9.7±1.2 a
M. oryzae CBMB20	21.3±0.6 b	17.7±1.8 b

Fig. 1. Inoculation effect of *A. brasilense* CW903 and *M. oryzae* CBMB20 on the growth of red pepper plants 20 days after transplant. The plants were grown at 50% recommended levels of chemical fertilizers and organic manure. Left: *A. brasilense* CW903, Center: *M. oryzae* CBMB20, and Right: Control.

정식 후 45일차 조사에서는 *M. oryzae* CBMB20 접종처리의 경우 대조구와 비하여 고추의 초장과 지상부 생체중이 각각 14.9% 및 29.8% 증가하였으며, 뿌리 생체중도 대조구와 비하여 22.1% 증가한 것으로 나타났다 (Table 2, Fig.2). 정식 후 20일차 조사결과와 비교하면 대조구와의 생장 차이가 약간 감소하였지만 *M. oryzae* CBMB20의 고추 생장촉진 효과는 정식 후 45일차까지 통계적으로 유의성 있게 나타났다. *A. brasilense* CW903 접종처리의 경우에는 20일차 조사 결과와 마찬가지로 대조구와 비교하여 고추의 지상부 생장촉진 효과가 전혀 나타나지 않았다. *M. oryzae* CBMB20 처리의 경우 고추의 지상부 생장뿐만 아니라 뿌리 생장도 현저히 증가시킨 반면 *A. brasilense* CW903은 고추의 뿌리 생장에도 영향을 미치지 못한 것으로 나타났다.

Table 3. Effect of plant growth promoting bacteria on the growth of red pepper plant. Growth parameters were measured 45 days after transplant and each value represents mean of three replicates per treatment. In the same columns, significant differences according Duncan's test at $P<0.05$ levels are indicated by different letters.

Treatment	Height of shoot	Number of leaf	Fresh weight of shoot	Fresh weight of root
	cm	ea	g	g
Control	36.3±0.6 a	96.0±5.7 a	39.2±4.6 a	24.9±2.7 a
A. brasilense CW903	35.0±1.0 a	97.0±9.6 a	33.5±3.4 a	21.1±2.1 a
M. oryzae CBMB20	41.7±2.1 b	130.1±3.1 b	50.9±6.2 b	30.4±3.6 b

Fig. 2. Inoculation effect of *A. brasilense* CW903 and *M. oryzae* CBMB20 on the growth of red pepper plants 45 days after transplant. The plants were grown at 50% recommended levels of chemical fertilizers and organic manure. Left: Control, Center: *A. brasilense* CW903, and Right: *M. oryzae* CBMB20.

두 종류의 식물생장촉진미생물 접종 시험에서 이상의 결과와 같이 *A. brasilense* CW903은 고추의 생장을 촉진시키지 못한 반면 *M. oryzae* CBMB20은 정식 후 45일차까지 고추의 생장을 뚜렷하게 촉진시키는 것으로 확인되었다. *M. oryzae* CBMB20 처리에서 고추의 뿌리 생체중이 다른 처리에 비하여 현저히 증가한 결과를 고려하면 *M. oryzae* CBMB20의 고추 생장촉진 효과는 뿌리의 발달과 매우 밀접하게 연관된 것으로 판단된다. 뿌리 발달을 현저히 촉진시킴으로써 물과 양분의 흡수를 증가시키고 그 결과 지상부 생장이 다른 처리에 비하여 증대된 것으로 추측할 수 있다. 고추 생장에 영향을 미치지 못한 *A. brasilense* CW903 처리의 경우 고추 뿌리 발달정도는 대조구와 비교하여 차이를 보이지 않았다. 따라서 뿌리 발달에 영향을 미치지 못하는 *A. brasilense* CW903는 고추의 전체 생장을 촉진하는 효과를 발휘할 수 없는 것으로 추정된다.

M. oryzae CBMB20 접종처리에 따른 고추 생장촉진효과는 선행연구에서도 확인된 바 있는데, *M. oryzae* CBMB20은 단독접종뿐만 아니라 *A. brasilense* CW903 또는 *Burkholderia pyrrocinia* CBPB-HOD와의 혼합접종에서도 고추의 생장을 현저히 증가시켰다 (Madhaiyan *et al*., 2010). 본 연구에서 사용한 *M. oryzae* CBMB20은 IAA와 cytokinin 생산능력 및 ethylene 생성저해효소인 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase 활성이 우수한 것으로 밝혀져 있다 (Madhaiyan *et al*., 2006a, 2007). Cytokinin은 기공이 열리도록 촉진하며 IAA 존재 하에 세포의 분열이 촉진되며 (Davies, 2004), 이러한 작용은 토양으로부터의 물과 양분의 흡수를 증대시키는 결과로 나타난다. 따라서 *M. oryzae* CBMB20에 의한 IAA와 cytokinin의 생산 또한 작물의 생장에 긍정적인 영향을 미치게 된다. *M. oryzae* CBMB20을 접종한 고추 유묘의 IAA 및 cytokinin 함량을 조사한 결과 비접종 유묘에 비하여 IAA 함량은 1.4% 증가하였고 특히 cytokinin 함량은 2배 이상 높게 나타났으며, 이러한 생장촉진호르몬의 증가와 함께 고추 뿌리의 생장이 현저히 증가하는 것으로 조사되었다 (Ryu *et al*., 2006). Cytokinin에 비하여 IAA 함량이 상대적으로 너무 높으면 뿌리 신장이 저해되는 것을 고려하면 (Leveau and Lindow, 2005), *M. oryzae* CBMB20 접종 결과 IAA에 비하여 cytokinin 함량을 현저히 증가시킴으로써 뿌리생장 촉진할 수 있는 것으로 판단된다.

다양한 작물의 근권에서 발견되는 *A. brasilense*는 질소고정능을 가지며 식물생장호르몬 IAA를 생산하는 것으로 밝혀져 있다 (Okon *et al*., 1995; Bashan *et al*., 2004). 본 연구에서 사용한 *A. brasilense* CW903은 질소고정능을 가진 균주이며 IAA 생산을 통하여 뿌리생장을 일부 촉진하는 것으로 선행연구에서 밝혀져 있다 (Kim *et al*., 2005). 또한 *Azospirillum* 균주들은 식물생장조절물질들을 분비함으로써 숙주식물의 뿌리생장을 증대시키고 결과적으로 양분흡수를 촉진시킨다는 연구결과가 보고되어있다 (Okon and Kapulnik, 1986). 그러나 Saubidet 등(2002)의 연구에서는 밀에 *A. brasilense*를 접종함으로써 생체량 및 수량이 증가하지만 뿌리생장에는 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다. 밀의 생체량 및 수량이 증가하는 것은 *A. brasilense*의 질소고정으로 질소 흡수량이 증가했기 때문이라고 설명하였다. Madhaiyan 등(2010)의 연구결과를 보면, 고추에 대한 *A. brasilense* CW903과 *M. oryzae* CBMB20의 생장촉진 효과 시험에서 비접종 대조구에 비하여 *A. brasilense* CW903 단독접종처리에서는 생장촉진효과가 미미하였으나 *M. oryzae* CBMB20 단독처리는 고추의 생장을 현저히 촉진시켰다. 그리고 *M. oryzae* CBMB20에 *A. brasilense* CW903을 혼합 처리한 경우에는 고추의 생장이 *M. oryzae* CBMB20 단독처리와 동일하여 *A. brasilense* CW903의 접종효과가 나타나지 않았다. 뿌리 생장을 억제시키는 ethylene은 ACC synthase, ACC oxidase 등의 작용에

의해 전구물질인 L-methioninedm로부터 ACC를 거쳐 합성된다. *M. oryzae* CBMB20을 접종한 식물에서 박테리아의 ACC deaminase에 의해 식물조직의 ACC의 함량과 ethylene의 함량이 현저히 감소하는 현상이 밝혀져 있다 (Madhaiyan *et al.*, 2006a). 그리고 Canola 유묘에 대한 실험에서 *M. oryzae* CBMB20을 접종한 경우 대조구에 비하여 뿌리생장이 44% 이상 증가한 반면 ethylene 생성은 35% 감소한 것으로 조사된 바 있다 (Madhaiyan *et al.*, 2007). 따라서 *M. oryzae* CBMB20에 의해 생성된 ACC deaminase는 ethylene의 뿌리생장 억제 작용을 효과적으로 제거할 수 있는 것으로 판단된다. *A. brasilense* CW903과 *M. oryzae* CBMB20의 고추 생장촉진 효과 차이는 ACC deaminase의 작용 여부에 의해서 결정된 결과일 수도 있는 것이다. 이러한 연구결과들을 보면 *A. brasilense* CW903이나 *M. oryzae* CBMB20이 모두 작물의 생장을 촉진할 수 있는 미생물이지만 다양한 토양조건에서 *M. oryzae* CBMB20이 보다 안정적인 생장촉진 효과를 발휘할 수 있는 것으로 판단된다.

*A. brasilense*의 작물 생장촉진 효과가 확인된 연구결과들이 국내외에서 많이 보고되어 있는데도 불구하고 본 연구에서 *A. brasilense* CW903 접종이 고추의 생장에 영향을 미치지 못한 이유는 무엇인가? 식물생장촉진미생물을 실용화하는 단계에서 가장 큰 걸림돌로 작용하는 문제는 생장촉진 효능이 일관적이지 못하며 또한 그 효능의 예측이 불가능하다는 것이다. 특히 위에서도 언급한 바와 같이 동일한 균주를 적용한 경우에도 작물 종류나 재배조건에 따라서 생장촉진 효과가 발현되는 경우와 그렇지 못한 경우가 흔히 나타나고 있다. 일관성이 결여된 식물생장촉진미생물의 효과는 근본적으로 생장촉진관련 호르몬들의 작용기작에서 찾아야 할 것이다. Auxin, gibberellin, cytokinin, ethylene 등의 호르몬은 각기 독자적인 기능을 가지고 있지만 이들 호르몬들은 절대함량 및 상호작용을 통하여 식물의 생장과 발달에 영향을 미친다. 예를 들어 IAA의 경우 1 nM 수준에서는 무의 뿌리생장을 촉진하나 1 uM 수준에서는 오히려 뿌리생장을 억제시키며, IAA 생산 미생물을 처리한 경우 미처리 대조구에 비하여 뿌리생장이 억제되나 IAA 대사미생물을 함께 처리할 경우 뿌리생장 억제현상이 완화된다 (Morgenstern and Okon, 1987; Leveau and Lindow, 2005). 또한 auxin, cytokinin 및 ethylene은 뿌리생장과 식물발달을 조정하는 중요한 호르몬이다. 식물체에서 ethylene 함량이 낮은 경우 뿌리생장이 촉진되며, 반대로 생장속도가 빠른 뿌리에서 ethylene이 많이 생성되면 뿌리 생장이 억제된다 (Ma, 1998). Auxin과 cytokinin은 공동작용으로 ethylene 생성을 촉진하며, 결국 auxin과 cytokinin의 작용과 효과는 ethylene에 의해 일부 조절된다 (Stenlid, 1982). 또한 밀에 대하여 여러 가지 식물생장촉진 미생물을 처리한 경우, 뿌리의 생장은 cytokinin과 IAA의 상대적인 비율에 밀접하게 영향을 받았으며, IAA 함량과는 부의 상관관계를 보였고 cytokinin 함량의 영향은 없는 것으로 나타났다 (Hussain and Hasnain, 2011). 지상부에서의 auxin 생성과 뿌리에서의 cytokinin 생성 과정에는 강한 상호작용이 존재하며, 이러한 조절작용이 식물의 뿌리와 지상부 생장 사이의 균형을 유지시키는데 중요한 것으로 알려져 있다 (Bangerth *et al.*, 2000). 따라서 몇 가지의 특정 호르몬 분비능이 우수한 균주가 작물생장을 촉진할 것이라고 예단하고 기대하는 것은 과학적으로 타당하지 못한 것이 사실이다.

본 연구에서 *M. oryzae* CBMB20이 고추의 생장을 촉진한 반면 *A. brasilense* CW903의 접종효과가 나타나지 않은 것은 작물체내의 개별 호르몬의 절대농도나 각 호르몬 사이의 상호작용이 결국 작물생장을 촉진시킬 수 있는 조건이 되느냐에 따라서 결정된 것으로 해석할 수밖에 없는 것이다. 개별 호르몬의 절대함량이나 그들의 비율을 알지 못하는 상태에서 호르몬 생성을 통하여 식물생장을

촉진하는 미생물들의 효과를 논의하기 어렵다. 이러한 문제는 식물생장촉진미생물의 실용화에 앞서 해결되어야 할 근본적인 과제이다.

결 론

식물생장촉진미생물 접종효과 시험에서 *A. brasilense* CW903은 고추의 생장을 촉진시키지 못한 반면 *M. oryzae* CBMB20은 정식 후 45일차까지 고추의 생장을 뚜렷하게 촉진시키는 것으로 확인되었다. *M. oryzae* CBMB20의 고추 생장촉진 효과는 뿌리의 발달과 매우 밀접하게 연관된 것으로 나타났으며, 뿌리의 발달에 따라 물과 양분의 흡수가 증가하고 그 결과 지상부 생장이 다른 처리에 비하여 증대된 것으로 추측할 수 있다. 선행연구에서 몇 가지 작물의 생장을 촉진시킬 수 있는 것으로 밝혀져 있지만 본 연구에서는 *A. brasilense* CW903의 고추생장촉진 효과가 발현되지 않았다.

예측 가능하고 일관성 있는 효과를 발휘하지 못할 경우에는 작물 생장촉진미생물을 농가현장에 적용하기 어려울 것이다. 따라서 작물의 생장을 촉진할 수 있는 근권미생물들이 포장조건에서 예측 가능하고 일관성 있는 효과를 발휘하는데 필요한 각종 토양환경조건이나 접종 이후 작물별 근권 정착 특성과 효과적인 기능 발휘에 필요한 조건에 대한 연구가 구체적으로 이루어져야 할 것이다.

참고문헌

Bangerth, F., Li, C., Gruber, J., 2000. Mutual interaction of auxin and cytokinins in regulating correlative dominance, *Plant Growth Regul.* 32, 205-217.

Bashan, Y., Holguin, G., 1997. *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990-1996), *Can. J. Microbiol*. 43, 103-121.

Bashan, Y., de-Bashan, L.E., 2005. Bacteria/plant growth-promotion, in: Hillel, D. (Ed), Encyclopedia of soils in the environment, Vol. 1, Elsevier, Oxford, UK, pp. 103-115.

Bashan, Y., Holguin, G., de-Bashan, L.E., 2004. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003), *Can. J. Microbiol.* 50, 521-577.

Burdman, S., Kigel, J., Okon, Y., 1997. Effects of *Azospirillum brasilense* on nodulation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *Soil Biol. Biochem*. 29, 923-929.

Davies, P.J., 2004. The plant hormones: their nature, occurrence, and functions, in: Davies, P.J. (Ed), Plant hormones: Biosynthesis, signal transduction, action, Kluwer Academic, The Netherlands, pp. 1-15.

Hussain, A., Hasnain, S., 2011. Interactions of bacterial cytokinins and IAA in the rhizosphere may alter phytostimulatory efficiency of rhizobacteria, *World J. Microbiol. Biotechnol.* Published online: 13 April.

Idris, R., Trifonova, R., Puschenreiter, M., Wenzel, W.W., Sessitsch, A., 2004. Bacterial communities associated with flowering plants of the Ni hyperaccumulator *Thlaspi goesingense*, *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 2667-2677.

Kim, C., Kecskes, M.L., Deaker, R.J., Gilchrist, K., New, P.B., Kennedy, I.R., Kim, S., Sa, T., 2005. Wheat root colonization and nitrogenase activity by *Azospirillum* isolates from crop plants in Korea, *Can. J. Microbiol.* 51, 948-956.

Kloepper, J.W., Lifshitz, R., Zablotowicz, R.M., 1989. Free living bacterial inocula for enhancing crop productivity, *Trends Biotechnol.* 7, 39-44.

Leveau, J.H.J., Lindow, S.E., 2005. Utilization of the plant hormone indole-3-acetic acid for growth by *Pseudomonas putida* strain 1290, *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 2365-2371.

Lucy, M., Reed, E., Glick, B.R. 2004. Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria, *Antonie van Leeuwenhoek* 86, 1-25.

Ma, J.H., Yao, J.L., Cohen, D., Morris, B., 1998. Ethylene inhibitors enhance in vitro root formation from apple shoot cultures, *Plant Cell Rep.* 17, 211-214.

Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Senthilkumar, M., Seshadri, S., Chung, H.Y., Yang, J.C., Sundaram, S.P., Sa, T.M., 2004. Growth promotion and induction of systemic resistance in rice cultivar Co-47 (*Oryza sativa* L.) by *Methylobacterium* spp, *Bot. Bull. Acad. Sin.* 45, 315-324.

Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Ryu, J.H., Sa, T.M., 2006a. Regulation of ethylene levels in canola (*Brassica campestris*) by 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase containing *Methylobacterium fujisawaense, Planta* 224, 268-278.

Madhaiyan, M., Suresh Reddy, B.V., Anandham, R., Senthilkumar, M., Poonguzhali, S., Sundaram, S.P., Sa, T.M., 2006b. Plant growth promoting *Methylobacterium* induces defense responses in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) compared to rot pathogens, *Curr. Microbiol.* 53, 270-276.

Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Sa, T.M., 2007. Characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase containing *Methylobacterium* spp. and interactions with auxins and ACC regulation of ethylene in canola, *Planta* 226, 867-876.

Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Kang, B.G., Lee, Y.J., Chung, J.B., Sa, T.M., 2010. Effect of co-inoculation of methylotrophic *Methylobacterium oryzae* with *Azospirillum brasilense* and *Burkholderia pyrrocinia* on the growth and nutrient uptake of tomato, red pepper and rice, *Plant Soil* 328, 71-82.

Morgenstern, E., Okon, Y., 1987. The effect of *Azospirillum brasilense* and auxin on root morphology in seedlings of *Sorghum bicolor* x *Sorghum sudanense, Arid Land Res. Manag.* 1, 115-127.

Okon, Y., Kapulnik, Y., 1986. Development and function of *Azospirillum*-inoculated roots, *Plant Soil* 90, 3-16.

Okon, Y., Itzigsohn, R., Burdman, S., Hampel, M., 1995. Advances in agronomy and ecology of the *Azospirillum*/plant association, in: Tikhonovich, I.A., Provarov, N.A., Romanov, V.I., Newton, W.E. (Eds), Nitrogen fixation: fundamentals and applications, Kluwer Academic, Dordrecht, The

Netherlands, pp. 635-640.

Omer, Z.S., Tombolini, R., Broberg, A., Gerhardson, B., 2004. Indole-3-acetic acid production by pink-pigmented facultative methylotrophic bacteria, *Plant Growth Regul.* 43, 93-96.

Rai, M.K., 2006. Handbook of microbial biofertilizers, The Haworth Press, Binghamton, NY, USA.

Ryu, J.H., Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Yim, W.J., Indiragandhi, P., Kim, K.A., Anandham, R., Yun, J.C., Sa, T.M., 2006. Plant growth substances produced by *Methylobacterium* spp. and their effect on the growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) and red pepper (*Capsicum annuum* L.), *J. Microbiol. Biotechnol.* 16, 1622-1628.

Sarig, S., Kapulnik, Y., Okon, Y., 1986. Effect of *Azospirillum* inoculation on nitrogen fixation and growth of several winter legumes, *Plant Soil* 90, 335-342.

Saubidet, M.I., Fatta, N., Barneix, A.J., 2002. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants, *Plant Soil* 245, 215-222.

Stenlid, G., 1982. Cytokinins as inhibitors of root growth, *Physiol. Plant.* 56, 500-506.

Tien, T.M., Gaskins, M.H., Hubbell, D.H., 1979. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.), *Appl. Environ. Microbiol.* 37, 1016-1024.

Vessey, J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers, *Plant Soil* 255, 571-586.

Wu, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C., Wong, M.H., 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial, *Geoderma* 125, 155-166.