

고추 플러그묘 초기 생육을 촉진시키는 *Bacillus amyloliquefaciens* MJ-3의 분리 및 상토내 처리 효과

김진호* · 최용화 · 강상재¹ · 주길재² · 서장선³ · 임태헌⁴

상주대 식물자원학과, ¹원예학과
²경북대 농화학과, ³농촌진흥청 농업환경부
⁴상주대 지역기술혁신센터

Isolation of *Bacillus amyloliquefaciens* MJ-3 and Its Effect on the Early Growth Promotion of Red Pepper Plug Seedlings in Compost

Jin-Ho Kim*, Yong-Hwa Choi, Sang-Jae Kang¹, Gil-Jae Joo², Jang-Sun Suh³ and Tae-Heon Lim⁴

Dept. of Plant Resources

¹Dept. of Horticulture, Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

²Dept. of Agricultural Chemistry, Kyungpook Nat'l University, Daegu 702-711, Korea

³Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea

⁴Techology Innovation Center, Sangju Nat'l Univ, Sangju 742-711, Korea

Abstract

The effect of useful rhizobacterium added in bed soil on the early growth promotion of red pepper plug seedlings was investigated. Total 540 colonies of rhizobacteria from 385 samples of eggplant family roots were isolated. Among these, 5 isolates were selected for antifungal activity against pathogenic fungi such as *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporium*, *Phytophthora capsici*, and *Sclerotia sclerotiorum*. Of all the isolates, MJ-3 having the most pronounced growth-promoting ability for red pepper was finally selected and identified as *Bacillus amyloliquefaciens* through characterization of biochemical and bacteriological aspects and 16S rDNA sequence. The plant height, stem diameter, root length and fresh weight of red pepper plants which were grown with inoculation of *B. amyloliquefaciens* MJ-3 were higher than those without inoculation. Especially the root weight of the inoculated red pepper plant increased by 44.3%, the content of endogenous plant hormone (GA₁) being 0.556ng/g (dry weight).

Key words – Antagonistic, *Bacillus amyloliquefaciens*, gibberellins, red pepper

서 론

상토는 양질의 육묘 생산에 적합한 물리성, 화학성 및

생물성을 갖춘 자재로서 식물체를 기계적으로 지지시켜 주고, 작물의 생육에 필요한 각종 양분과 수분을 공급해주는 역할을 한다[1]. 상토가 상업적으로 생산되면서 재료 및 방법과 시기에 따라 품질이 균일치 못하고 특히 제조자의 기술수준이나 상토의 중요성을 인식하는 정도에 따라 천차만별의 상토가 양산되어 모잘록병균과 근부병균, 뿌리썩

*To whom all correspondence should be addressed
Tel : 054-530-5202, Fax : 054-530-5202
E-mail : kimjh@sangju.ac.kr

음균핵병균, 무름병균, 역병균 등 병원균이 유묘기에 감염되거나 영양분의 불균형으로 인해 육묘에 많은 어려움이 발생하고 있다. 최근에 화학비료 및 농약의 남용과 축산폐기물의 무단방류 등에 의한 농업환경의 오염이 점차적으로 늘어남에 따라 유용미생물을 이용한 환경정화와 환경친화적 농업의 개발이 요구되고 있으며, 이러한 관점에서 유용미생물을 원예적으로 이용하여 식물의 생장을 촉진시키며 각종 비료성분을 공급하고 또한 뿌리전염병 등의 병해에 대하여 생물학적 방제력을 높이는 연구가 진행되고 있다[16]. 따라서 상토에도 병원균에 대한 생육억제력이 우수한 길항균을 첨가함으로써 육묘기 또는 본포에서 곰팡이 병해에 대한 생물학적 방제기능(biocontrol)을 수행할 수 있는 능력을 보유할 수 있을 것이며, 이들 길항균 이외에도 식물생육촉진미생물(plant promoting growth rhizobacteria, PGPR)[13], 질소고정균[9], 호르몬 생산균[2], 불용성 인산가용화균[10] 등 각종 유용미생물들을 첨가하여 상토의 기능성을 증가시킬 수 있을 것이다. 그러나 상토에 각종 유용미생물을 첨가한다고 해도 실제 작물의 근권에 생육하기가 어렵거나 토착화되기가 용이하지 않을 것이다. 대상식물 근권에 길항미생물을 정착시키려면 외래 유용미생물을 묘상이나 작물의 심는 부위에 집중적으로 투입하는 것도 중요하지만, 투입되는 외래 유용미생물이 대상 작물이 생산하는 타감물질이나 미생물 생육억제 물질에 의해 대부분 사멸되거나 생육에 어려움을 겪게 되므로 올바른 미생물의 효과를 볼 수가 없다. 따라서 대상작물의 근권에 토착화되어 있거나 우점화되어 서식하는 근권 길항미생물을 직접 분리하고 이들 근권미생물을 재투입하면 대상 식물에 친화성을 가지고 있기 때문에 토착화·우점화가 더욱 유리할 것이다[8]. 따라서 본 연구에서는 미생물 상토를 개발하기 위하여 가지과 작물의 근권에서 유용한 균주를 분리하고 다기능 유용 미생물을 선별하여 제제화하고 상토에 첨가한 후 고추 플러그묘의 초기 생육에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

근권미생물의 분리 및 보관

균원시료로는 경상도 일원에서 일반적으로 재배되고 있는 가지, 토마토, 고추 등 가지과 작물의 뿌리를 수집하여

이용하였다. 근권미생물은 뿌리를 잘 세척하고 크기가 1mm 가 되게 절단한 균원시료 1g에 0.85% NaCl 멸균수 10mL를 첨가하고 3단 희석한 후 Nutrient agar (NA) 배지나 Tryptic soy broth (TSB) 배지에 100 μ m씩 도말한 후 37 $^{\circ}$ C에서 3일간 배양하고 순수 독립 colony만을 분리하였다. 근권미생물의 보관은 NA 배지나 TSB 배지(pH 6.0-7.0)에서 3-5일 동안 30-37 $^{\circ}$ C에서 진탕 배양시킨 후 미생물 세포의 수가 1mL당 콜로니 형성단위(colony forming unit; cfu)로서 10⁸-10⁹개 포함되어 있는 배양액을 4 $^{\circ}$ C에 보관하거나 동결건조기로 건조하여 분말상태로 보관하면서 사용하였다.

병원균의 배양 및 길항력 조사

길항균을 얻기 위해 사용한 병원균은 가지과 작물에서 공통적으로 발생되는 겍무늬병균(*Alternaria solani*), 잿빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*), 질록병균(*Fusarium oxysporium*), 역병균(*Phytophthora capsici*), 균핵병균(*Sclerotinia sclerotiorum*) 등의 병원성 곰팡이들을 이용하였고, 이들은 농촌진흥청과 KCTC (유전자은행) 등에서 분양 받아 PDA(potato dextrose agar) 배지에서 28 $^{\circ}$ C에서 7일 이상 배양하여 4 $^{\circ}$ C에 보관하면서 실험에 사용하였다. 길항력은 근권미생물과 병원균의 대치배양(pair plate culture)에 의해 조사하였으며, PDA 배지에서 키운 병원균체 덩어리를 새로운 PDA 배지 중앙에 올려놓고 가장자리 4곳에 순수분리한 근권미생물을 한 백금이씩 접종하여 28 $^{\circ}$ C에서 7~10일간 배양한 후 병원균의 균사체의 생장억제 정도(inhibition zone)를 조사하여 생성된 clear zone의 길이로 결정하였다.

생육촉진미생물의 선별

고추의 생육 촉진미생물은 상기 근권·길항미생물 중에서 고추의 초기 생육을 촉진하는 미생물로 선별하였다. 공시 작물인 고추(녹광, 세미니스코리아)는 55 $^{\circ}$ C에서 25분간 침지하여 온탕소독하고, 28 $^{\circ}$ C 내외에서 2일간 최아시킨 후 살균된 살레(petri dish, 9cm)에 여과지를 2겹 깔고 증류수 4mL와 길항미생물 배양액 1mL를 각각 넣고 여기에 최아시킨 고추종자를 파종하여 5일간 배양한 후 생체중량을 측정하여 증류수만 들어 있는 대조구에 비해 생육이 촉진된 구간의 미생물을 생육촉진미생물로 선별하였다.

미생물의 동정

미생물은 Bergey's manual of systematic bacteriology의

방법[18]에 준하여 미생물의 형태학적, 배양학적, 생리·생화학적 특성을 조사하고 16S rDNA sequence 법[14]으로 동정하였다. 이때 PCR primer는 R14 (5'-ACg ggC ggT gTg TAC-3')와 R15(5'-gCC AgC AgC CgC ggT A-3')를 이용하였고 sequencing data는 ribosomal database(<http://rdp.cme.msu.edu/html/analyses.html>)에서 상동성을 검색하여 동정하였다.

미생물제제 첨가 상토의 제조

미생물제제는 흡착제(담체)로는 훈탄을 100mesh이하로 분쇄하고 121℃에서 15분간 살균하여 이용하였고, 미생물 배양액(2.0×10⁹ cfu/mL) 1L에 담체 3kg을 넣고 혼합하여 30℃에서 24시간 배양시켜 건조기(40℃)에서 48시간 건조하여 수분의 함량이 20% 미만인 미생물제제를 제조하였다. 상토는 상용적으로 많이 사용하고 있는 원료를 이용하여 일반적인 제조법에 따라 코코피트 44%, 피트모스 29%, 펄라이트 16%, 버미큘라이트 11%를 혼합하여 제조한 후 상기 제조한 미생물제제를 4% 혼입하여 제조하였다.

고추 재배 시험

고추 재배시험은 가온 비닐하우스 육묘장에서 미리 준비된 40공 트레이에 상기 제작한 미생물제제를 첨가한 상

토와 첨가하지 않은 상토로 나누어 각각 최아시킨 고추를 파종하였다. 2002년 11월 13일 파종하여 2003년 1월 17일 까지 67일간 재배하여 초장(plant height), 경경(stem diameter), 뿌리의 길이, 생체중량 등 초기 생육도를 조사하였다. 시험구 배치는 난괴법 3반복으로 하여 제반 생육을 조사하였다

Gibberellin(GA₁)의 분석

지베렐린의 추출과 분석은 Foster와 Morgan(1995), Lee (1998) 등의 방법에 준하여 행하였다. 내부표준물질(Internal standard, ISTD)은 ²H₂ GA₁을 사용하였다. HPLC (Table 1)로 GA₁ 활성분위를 분획하였고, GC/MS SIM (Table 2)으로 GA₁의 함량을 조사하였다.

결과 및 고찰

유용미생물의 선발

유용미생물은 가지과 작물의 뿌리에 서식하는 근권미생물로 병원균에 대한 길항력이 높고 또한 작물의 생육을 촉진시키는 미생물로서 근권·길항·생육촉진미생물을 제형화하고 상토에 적용하였다. Table 3과 같이 근권미생물은 가지과 작물의 뿌리와 재배토양 등 385점의 균원시료로부터

Table 1. HPLC operation conditions for the fractionation of gibberellin in Red pepper

HPLC	Waters Co., model 510, USA		
Column	μ Bondapak C ₁₈ (3.9×300mm)		
Solvent A	28% MeOH in 1% HOAc		
Solvent B	100% MeOH		
Gradient	100% Sovent A→100% Solvent B	100% Solvent B→100% Solvent B	100% Solvent B
	(0~5 min)	(5~36 min)	(36~40 min)
Flow rate	1.5 ml/min		

Table 2. GC/MS conditions used for analysis and qualification of the gibberellin

GC/MS SIM	Hewlett-Packard 6890, 5973N Mass Selective Detector
Column	HP-1 capillary column (30×0.25mm i.d. 0.25μm film thickness)
Carrier gas	He (40 ml/min)
Source temperature	250℃
Oven conditions	GA : 60℃(1 min.) → 15℃/min. → 200℃(1 min.) → 5℃/min. → 285℃(5 min.)
Injector temperature	200℃
Ionizing voltage	70 ev

Table 3. Isolation of rhizobacteria and antagonistic bacterial isoates from the roots of eggplant family samples

Sample sources	No. of samples tested	No. of isolates obtained	No. of antagonistic bacterial isolates
Rhizosphere	234	368	12
Eggplants roots	151	177	10
Total	385	545	22

터 540여점을 분리하였다. 이들 근권미생물 중에서 길항미생물은 가지과 작물에 공통적으로 발생되는 *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporium*, *Phytophthora capsici*, *Sclerotinia sclerotiorum* 등의 병원균과 대치배양하여 길항력이 우수한 20여 주를 1차 선별하고 재현성 실험을 통하여 비교적 높은 길항력을 나타내는 분리주 MJ-1~MJ-5 까지 5주를 2차 선별하였다. *Alternaria solani*에는 MJ-2와 3 균주가 높은 길항력을 나타내었으며, *Botrytis cinerea* 및 *Fusarium oxysporium*에는 MJ-1과 4균주가, *Phytophthora capsici* 및 *Sclerotinia sclerotiorum*에는 MJ-3과 5 균주가 높은 길항력을 나타내었다. 생육촉진미생물을 선발하기 위해 상기 5주의 근권·길항미생물을 대상으로 7일 동안 재배한 고추의 생체중량을 조사한 결과, 증류수만 첨가한 대조구의 생체중량이 0.90(g/plant)이었으나 MJ-3 균주 배양액을 첨가한 시험구에서는 1.18(g/plant)로 30% 이상 초기 생육이 촉진되어 MJ-3 균주를 최종 유용미생물로 선발하여 실험에 이용하였다.

유용 미생물 MJ-3의 동정 및 특성조사

근권·길항·생육촉진미생물인 MJ-3 균주는 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology의 방법으로 배양학적 생리·생화학적 특성을 조사한 결과, gram 염색에서 양성으로 나타났고, 전자현미경 관찰하에서는 여러 개의 편모를 가지고, 내생포자를 형성하였다(Fig. 1). 세포는 전형적인 간균이며, 크기는 0.5×3.8 μ m 정도이며, flagella가 측면에 부착되어 있고, catalase를 생성하여 대표적인 *Bacillus* 속으로 확인되었다. 또한 glucose를 이용하여 산을 생성하며 전분을 가수분해하고 혐기적 조건이나 3 $^{\circ}$ C 저온에서는 생육이 불가능하였다. 이러한 특징은 *Bacillus* 속의 전형적인 특징이며 *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. maroccanus*, *B. pacificus* 등의 종들이 여기에 속한다(Table 4).

16S rDNA 염기서열(590bp)을 결정하고 Jukes와 Cantor

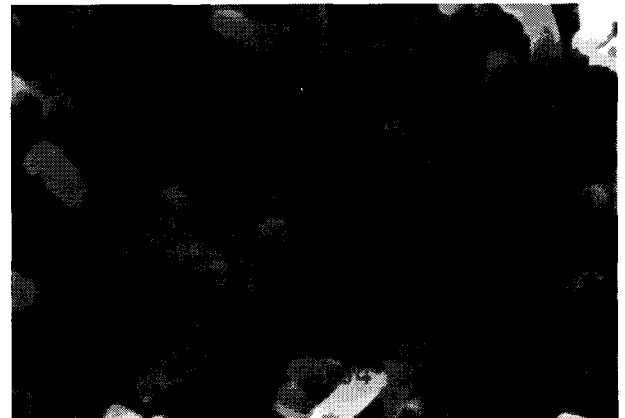


Fig. 1. Scanning electron micrograph of the isolated strain' No. MJ-3.

model에 의하여 evolutionary distance를 계산하여 Neighbor-joining method로 계통수를 작성한 결과 Fig. 2와 같이 분리주 MJ-3은 *Bacillus amyloliquefaciens*와 99.48%의 높은 유사도를 보였으며, *B. atrophaeus*와는 99.28%, *B. vallismortis*와는 99.15, *B. subtilis*와는 98.98%의 유사도를 나타내어 *B. subtilis* complex에 속하는 것으로 동정되었다. 이상의 결과로부터 MJ-3 균주는 *Bacillus amyloliquefaciens*이거나 그 유연균으로 동정되었기에 *Bacillus amyloliquefaciens* MJ-3으로 명명하였다.

B. amyloliquefaciens MJ-3 미생물제제 혼입 상토에 의한 고추 식물의 초기 생육에 미치는 영향

미생물제제를 첨가하지 않은 상토(대조구)와 미생물제제를 4% 첨가한 상토(시험구)를 이용하여 온실 내에서 67일간 고추 플러그 묘를 재배하여 초기 생육을 조사한 결과 Table 5에서와 같이 시험구 고추 식물의 초장은 21.69cm로 처리하지 않은 상토보다 약 6.3% 증가되었고, 경경은 미생물제제를 첨가한 상토와 처리하지 않은 상토간에 큰 차이가 없이 2.5cm로 나타났다. 뿌리의 길이는 처리구가 대조구

Table 4. Characteristics of an antagonistic bacterial isolate strain No. MJ-3 as compared with the *Bacillus* spp. in Bergey's manual^{a)}

	MJ-3	<i>B. subtilis</i>	<i>B. amyloliquefaciens</i>	<i>B. maroccanus</i>	<i>B. pacificus</i>
Spore shape	E ^{a)}	E	E	E	E
Spore distends sporangium distinctly	-	-	-	-	-
Spore dominant position	C	C	C	C	C
Acid from glucose	+	+	+	+	+
Starch hydrolysis	+	+	+	+	+
Anaerobic growth	-	-	-	-	-
Growth at 3°C	-	-	-	-	-

^{a)}Symbols : E, elliptical or cylindrical form; C, central; +, 90% or more of strains are positive; -, 90% or more of strains negative

Table 5. Plant growth-promoting effects by the compost mixed with the microbial agent on the plants in pot experiments

Plants	Treatment condition	Plant height (cm)	Stem diameter (cm)	Root length (cm)	Fresh weight (g/plant)		
					Top	Root	Total
Red pepper (Nogkwang)	Untreated	20.41	2.54	0.58	2.31	0.61	2.92
	Treated	21.69	2.57	0.68	2.53	0.88	3.41

All values are mean ±SD and the average of three samples.

1. 결정된 염기서열의 개수 : 590 bp.

2. 결정된 염기서열 :

GCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAGCGGACAGATGGAGCTTGCTCC
 CTGATGTTAGCGGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCTGTAA
 GACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGCTAATACCGGATGGTTGTCTGAA
 CCGCATGGTTGAGACATAAAAGGTGGCTTCCGGTACCACTTACAGATGGA
 CCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGTTGAGGTAAACGGCTCACCAGGCGACGA
 TCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCCACTGGGACTGAGACACGG
 CCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTCCGCAATGGACGAA
 AGTCTGACGGAGCAACCGCGGTGAGTGATGAAGGTTTTGGATCGTAA
 GCTCTGTTTATAGGGAAGCAAGTGGCGTTCAAATAGGGCGGCACCTTG
 ACGGTACCTAACCGAAGCAACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGT
 AATAGTGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATGGCGTAAAGGGCTCG
 CAGGCGGTTTCTAAGTCTGATGTGAAAGCCCGGCTCA

3. Similarity 분석결과 :

Strain	%Similarity	nt differences/ compared
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ATCC 23350T	99.48	3/582
<i>Bacillus atrophaeus</i> NCIB 12899T	99.28	4/558
<i>Bacillus vallismortis</i> DSM 11031T	99.15	5/590
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> ATCC 8051T	98.98	6/589
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> NRRL B-23049T	98.64	8/590
<i>Bacillus mojavensis</i> IFO 15718T	98.64	8/590
<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 14580T	97.11	17/589

Fig. 2. 16S rRNA sequence of the isolated strain No. MJ-3.

보다 약 17.2% 길었고, 생체중량은 16.8% 증가하였다. 그러나 특이하게도 뿌리의 생체중량은 대조구가 0.61g/plant이 었으나 시험구는 0.88g/plant로 44.3% 증가하였다.

PGPR이면서 biocontrol의 기능을 수행할 수 있는 근권 미생물로 siderophore를 생산하는 *Pseudomonas putida*[21]와 항생제를 생산하는 *P. fluorescens*[17], 항진균성물질을 생산하는 *Cladosporium werneckii*[20], chitinase 등의 효소를 생산하는 *Serratia maecescens*[3], 병원균과 영양분 경쟁관계의 *Trichoderma* sp.[15] 등의 그룹이 이미 많이 알려져 있다. 그러나 *B. amyloliquefaciens*가 iturins[19]을 생산하여 biocontrol기능을 나타내는 보고는 있으나 작물생육 촉진물질에 관해서는 알려진 바 없다. 따라서 *B. amyloliquefaciens*가 식물생장촉진 호르몬인 gibberellin을 생산하거나 또는 고추 식물체내 gibberellin 생합성에 관여하는 2β-hydroxylase 및 3β-hydroxylase 등의 효소활성을 촉진시키는 효소 활성 촉진제(activator)가 존재하거나 또는 IAA 등의 작물 생육촉진 호르몬을 생산하여 고추의 생육을 촉진시킬 것으로 판단하여 먼저 *B. amyloliquefaciens* 배양액과 고추 식물체내의 gibberellin의 함량을 조사하였다.

미생물제제 첨가 상토에서 재배한 고추식물의 gibberellin(GA1)의 함량조사

미생물제제 첨가 상토와 무첨가 상토에서 각각 재배한 고추의 GA₁의 함량 및 *B. amyloliquefaciens* 배양액에 존재

하는 GA₁을 조사하기 위해 내부표준물질(ISTD)인 ²H₂ GA₁과 체내 호르몬 GA₁의 GC-MS chromatogram을 조사한 결과, Fig. 3에서와 같이 ²H₂ GA₁은 parent ion이 508, GA₁은 506으로 나타났다. 이를 기준으로 대조구와 시험구의 GA₁ 함량을 조사한 결과, Table 6에서와 같이 GA₁함량은

각각 0.426ng/g DW과 0.559 ng/g DW로 큰 차이를 보이지 않았다. 그러나 이러한 차이는 작물의 생육에 관여하는 호르몬의 수준에서 생육촉진에 큰 영향을 끼칠 것으로 사료된다. 또한 *B. amyloliquefaciens* 배양액에는 GA₁이 존재하지 않았다(데이타미제시).

Table 6. The content of endogenous plant hormone, gibberellin (GA₁) in the red pepper plant

GA ₁ (ng/g DW)	
Untreated with microbial inoculant	Treated with microbial inoculant
0.426	0.559

일반적으로 미생물과 식물체를 사용한 in vivo 실험에서 GA의 생합성에 관한 연구 및 식물체 내의 80여종의 GA 분석은 많이 이루어졌다[4]. 가지과 작물 중 토마토(*Lycopersicon esculentum*) 앞에는 GA₁, GA₃, GA₄, GA₈, GA₁₉가 존재하며[6], 박과 작물인 오이(*Cucumis sativus*)에는 GA₁, GA₃, GA₄가 알려져 있고[7], 호박(*Cucurbita maxiuma*)의 embryo에서는 GA₁, GA₄, GA₁₇, GA₂₈, GA₃₇, GA₃₈, GA₄₈,

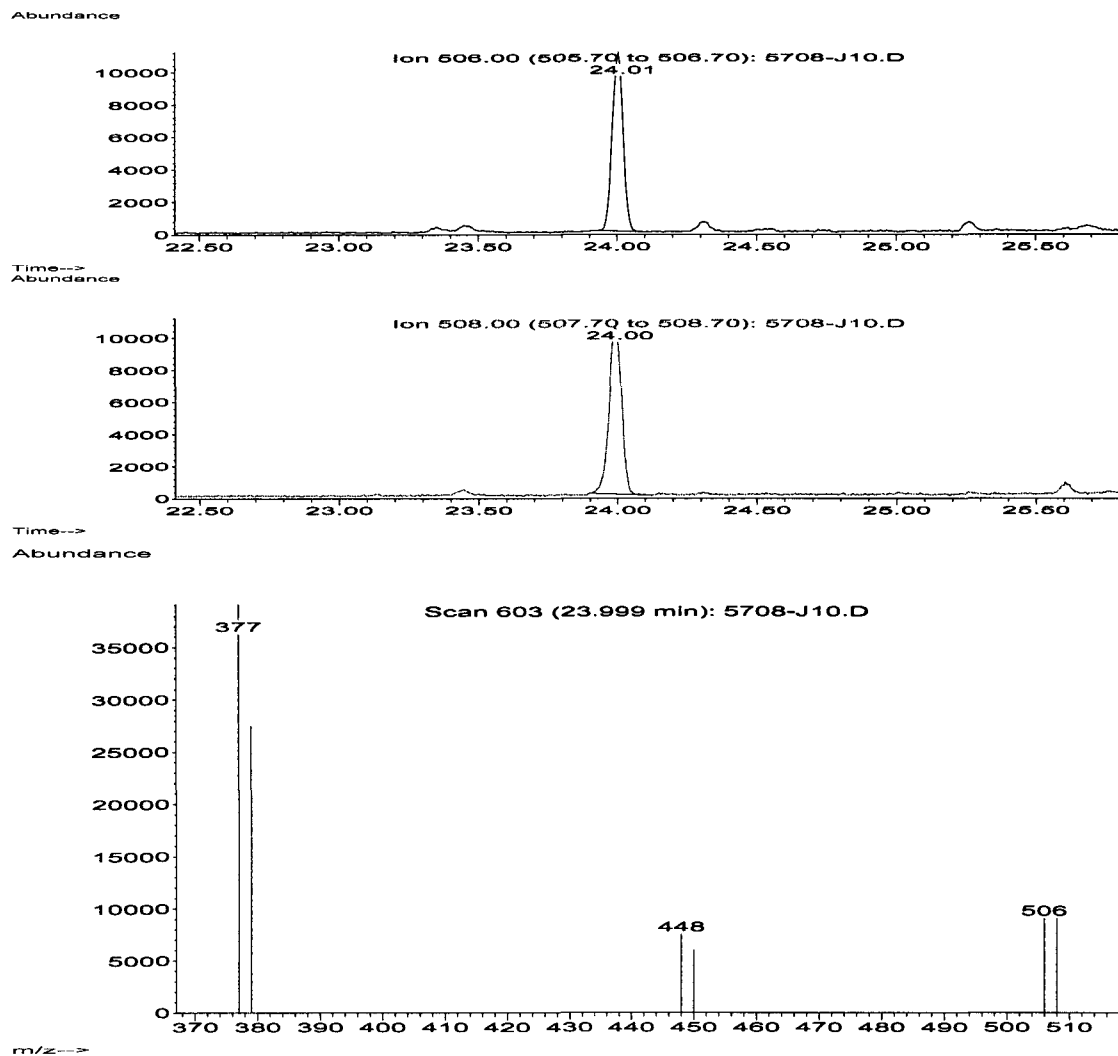


Fig. 3. GC-MS chromatogram of endogenous GA₁(506) and ²H₂ GA₁ (parent ion: 508).

GA₈₅ 등이 존재하는 것으로 보고되었다[11]. 그러나 가지과 작물인 고추(*Capsium annuum*)의 GA₁에 관해서는 보고된 바가 아직 없고 본 연구에서 GA₁이 존재함을 확인하였고 미생물제제 첨가 상토에서 GA₁의 함량이 다소 많이 존재하였다.

B. amyloliquefaciens 배양액에는 GA₁이 존재하지 않았지만 gibberellin 생합성에 관여하는 2β-hydroxylase 및 3β-hydroxylase 등의 효소활성을 촉진시키는 activator가 존재하여 GA₁의 함량이 증가된 것으로 추측되나 정확한 원인은 더 연구해야 될 것으로 사료된다. 그러나 부분적이지만 식물체내 GA 대사과정에서 활성 GA₁, GA₃, GA₄ 등의 함량이 증가함에 따라 작물의 생육이 촉진되는 것은 잘 알려져 있는 사실이므로 본 연구에서 *B. amyloliquefaciens*를 처리함으로써 GA₁의 함량이 다소 많이 존재하였고, *B. amyloliquefaciens*가 생산하는 생리활성물질 또는 효소활성 activator가 GA₁의 생산량을 증가시켜 작물 생육이 부분적이거나 촉진된 것 같다. 그러나 GA₁의 함량이 약간 더 많이 존재하는 정확한 이유에 대해서는 추가 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 가지과 작물의 근권에서 유용한 균주를 분리하고 근권·길항·생육촉진미생물을 선별·제제화하고 상토에 첨가하여 미생물제제 혼입 상토를 제조한 후 고추 플러그묘의 초기 생장에 미치는 영향을 조사하였다. 근권미생물로는 가지과 작물의 뿌리 및 재배 토양 등 385점의 균원시료로부터 540여점을 분리한 후, 가지과 작물에 공통적으로 발생하는 *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporium*, *Phytophthora capsici*, *Sclerotinia sclerotiorum* 등의 병원균에 높은 길항력을 가진 미생물 20여종을 선별하고, 이들 길항미생물 중에서 고추의 초기 생육을 촉진시키는 MJ-3균주를 최종 선별하였다. 근권·길항·생육촉진미생물인 분리주 MJ-3은 Bergey's manual of systematic bacteriology의 방법과 16S rDNA sequence법 등으로 조사하여 *Bacillus amyloliquefaciens*로 동정하였다. 제제화한 *B. amyloliquefaciens*를 상토에 첨가하여 미생물 혼입 상토를 제조하였고, 이를 이용하여 재배한 고추 플러그묘는 초장과 경경, 뿌리길이, 생체중량 등이 모두 대조구에

비해 소량 증가되었으나, 특히 뿌리의 생체중량이 대조구가 0.61g/plant인데 비해 시험구는 0.88g/plant로 44.3% 증가하였다. 미생물제제 첨가 상토에서 재배한 고추의 gibberellin (GA₁) 함량은 0.559ng/g(건조중량)이었다.

참 고 문 헌

1. Boodley, J. W. and Jr. Sheldrake. 1972. Cornell peat-lite mixes for commercial plant growing. N. Y. State College Agr., *Cornell Univ. Infor. Bull.* **43**, 1-9.
2. Brown, M. E. 1972. Plant growth substances produced by micro-organisms of soil and rhizosphere. *J. Appl. Bacteriol.* **35**, 443-451.
3. Chet, I. and J. Inbar. 1994. Biological control of fungal pathogens. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **48**, 37-43.
4. Colin G., N. Turnbull, A. Crozier, L. Schwenen and J. E. Graebe. 1985. Biosynthesis of gibberellin A12-aldehyde, gibberellin A12 and their kaurenoid precursors from [¹⁴C] mevalonic acid in a cell-free system from immature seed of *Phaseolus coccineus*, *Phytochem.* **25**, 97-101.
5. Foster, K. R. and P. W. Morgan. 1995. Genetic regulation of development in *Sorghum bicolor*. IX. The *ma₃^R* allele disrupts diurnal control of gibberellin biosynthesis. *Plant Physiol.* **108**, 337-343.
6. Grunzweig, J. M., H. D. Rabinowitch, J. Katan, M. Wodner and Y. Ben-Tal. 1997. Endogenous gibberellins in foliage of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Phytochem.* **46**, 811-815.
7. Hemphill, D. D., L. R. Baker, H. M. Sell. 1972. Isolation and identification of the gibberellins of *Cucumis sativus* and *Cucumis melo*. *Planta* **103**, 241-248.
8. Joo, G. J., I. H. Lee and J. H. Kim. 2002. Chitinase production and Isolation of *Serratia plymuthica* AL-1 antagonistic to white rot fungi from *Allium fistulosum* roots. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **30**, 135-141
9. Kucey, R. H. N. 1988. Alteration of wheat root systems and nitrogen fixation by associative nitrogen-fixing bacteria measured under field conditions. *Can J. Microbiol.* **34**, 735-739.
10. Kundu, B. S. and A. C. Gaur. 1980. Establishment nitrogen fixing and phosphate solubilizing bacteria in rhizosphere and their effect on yield and nutrient uptake of wheat crop. *Plant and Soil* **57**, 223-230
11. Lange, T., P. Hedden and J. E. Graebe. 1993. Gib-

- berellin biosynthesis in cell-free extracts from developing *Cucurbita maxima* embryos and the identification of new endogenous gibberellins. *Planta* **189**, 350-358.
12. Lee, I. J., K. R. Foster and P. W. Morgan. 1998. Effect of gibberellin biosynthesis inhibitors on native gibberellin content, growth and floral initiation in *Sorghum bicolor*. *J. Plant Growth Regul.* **17**, 185-195.
 13. Lifschitz, R., J. W. Kleopfer, M. Kozlowski, C. Simonson, J. Carlsson and E. M. Tipping. 1987. Growth promotion of canola seedlings by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. *Can. J. Microbiol.* **51**, 251-255.
 14. Löffler, F. E., Q. Sun, J. Li and J. Tiedje. 2000. 16S rRNA gene-based detection of tetrachloroethene-dechlorinating desulfuromonase and dehalococcoides species. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 1369-1374.
 15. McBeath, J. 1995. Cold tolerant *Trichoderma*. U.S. Patent #5,418,165.
 16. Nielands, J. B. and S. A. Leong. 1986. Siderophores in relation to plant growth and disease. *Annu. rev. Plant Physiol.* **37**, 187-208.
 17. Schnider, U., C. Keel, C. Voisard, G. Defago and D. Haas. 1995. Tn 5-directed cloning of pqq genes from *Pseudomonas fluorescens* CHAO: mutational inactivation of the genes results in overproduction of the anotic pyluteorin. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 3856-3864.
 18. Sneath, P. A., N. S. Mair, M. E. Sharpe and J. G. Holt. 1986. Bergey's manual of systematic bacteriology. vol. 2., The Williams & Wilkins, Baltimore.
 19. Syuntaro, H., S. Yoshida, H. Sugie, H. Yada and Y. Fujii. 2002. Mulberry anthracnose antagonists(iturins) produced by *Bacillus amyloliquefaciens* RC-2, *Phytochem.* **61**, 693-698.
 20. Toyoda, H. and R. Utsumi. 1991. Method for the prevention of *Fusarium* diseases and microorganisms used for the same. U.S. Patent #4,988,586.
 21. Vandenberg, P. A. and C. F. Gonzalez. 1984. Method for protecting the growth of plants employing mutant siderophore producing strains of *Pseudomonas putida*. U.S. Patent #4,479,936.

(Received March 17, 2003; Accepted September 29, 2003)