

Auxin과 Siderophore 생산성 다기능 생물방제균 *Bacillus subtilis* AH18

정희경 · 김진락 · 우상민 · 김상달*
영남대학교 자연자원대학 응용미생물학과

An Auxin Producing Plant Growth Promoting Rhizobacterium *Bacillus subtilis* AH18 which has Siderophore-Producing Biocontrol Activity. Jung, Hee Kyoung, Jin-rak Kim, Sang-Min Woo, and Sang-Dal Kim*. Department of Applied Microbiology, College of Natural Resources, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea – To isolate a bacterium that produces plant growth promoting hormone, a total of 29 bacteria were obtained from the soil in Gyeongsan, Korea. Among these, 14 strains were selected by their positive reaction on Salkowski to produce auxin. All of these were then tested for their property to produce siderophore using CAS (chrome azurol S) blue agar, and one was chosen for its ability to produce both, auxin and siderophore. This strain, denoted, AH18, showed 1.5 times higher adventitious root induction rates than controls, using mung-beans. The strain also showed efficient biocontrol properties towards *Fusarium*-wilt of tomatoes in artificial pot assays. The strain was identified as *Bacillus subtilis* by 16s rDNA comparison and Biolog analyses. Growth and media conditions for *Bacillus subtilis* AH18 to highly produce siderophore were also investigated.

Key words: Biocontrol, siderophore, auxin, *Fusarium oxysporum*, *Bacillus subtilis*

서 론

식물의 근권(Rhizosphere community)에 서식하며 식물의 생장에 촉진 영향을 미치는 토양미생물을 plant growth promoting rhizobacteria(PGPR)이라 하며, 이들은 다양한 특성을 갖는 여러 균의 화학물질을 생산하는 능력을 가지고 있다. 이들이 생산하는 식물 성장의 유용물질로는 식물생장에 직접적으로 관여하는 auxin, gibberellin 등 식물생장촉진호르몬을 비롯하여, 항생물질[10], 식물병원균 세포외벽기수분해효소[1, 2] siderophore 등 토양전염성식물질병에 방제를 통해 직·간접적으로 식물생장을 촉진하고 식물건강을 증진할 수 있는 것과, 식물이 cytokinin, jasmonic acid, ethylene 등을 생산하도록 유도하는 저항성 유도기작도 있다.

대표적인 식물호르몬인 auxin은 식물의 세포신장, 발아, 기관의 분화, 개화 등에 관여하며, 이를 생산하는 미생물로 *Azotobacter*[17], *Pseudomonas*[12], *Rhizobium*[5], *Azospirillum* [3] 등이 보고되고 있다. 이들은 식물뿌리 주위에 auxin을 공급함으로써 식물의 뿌리 발근을 촉진하여 식물생장을 촉진시키는 것으로 알려져 있다[3]. Auxin 외에도 곰팡이 *Gibberella fujikuroi*에서 추출되어진 지베렐린은 작물의 발아촉진, 개화촉진, 휴면타파 등 생리작용에 관여하여 식물생장을 촉진 시키며[16], 최근에는 *Azotobacter*, *Arthzobacter*

등에서도 지베렐린이 생성되는 것으로 보고되었다.

식물병원성 진균에 대한 방제기작 중 주로 *Pseudomonas* spp.에 의해 생산되는 siderophore는 근권의 식물뿌리 표면에서 PGPR의 군집을 이루어 살면서 철이온(Fe^{3+}) 흡수의 경쟁에서 우위를 선점함으로써 식물병원균의 생육을 억제하는 것으로서, 이러한 경쟁적 길항작용은 토양유래 식물질병을 감소시키면서 그 방제력을 발휘한다[8, 19, 23].

식물병해 중 대부분을 차지하는 토양전염성 병원성 진균은 그들의 영양원이 되는 기주식물체 없이도 자가영양의 소실을 막기 위한 포자를 형성하여 수년간 토양 속에서 생존한다. 따라서 토양전염성 병해의 방제는 화학적 방제보다 생물학적 방제를 통해 지속적인 방제를 하는 것이 바람직하다. 그러나 토양전염성 병해는 병원균의 병리학적 특이성 때문에 그 방제효과가 낮으므로 병원균의 밀도의 감소와 동시에 식물자체의 토양 속 발근을 촉진시켜 감염된 뿌리이외에 다른 뿌리에 의해 영양분 흡수를 도모하여 식물체의 원활한 생육을 촉진, 유지시키는 것도 필요하다고 볼 수 있다.

따라서 본 연구는 토양전염성 식물병해의 방제를 위한 현재 시중에 유통되는 미생물제제의 낮은 효과를 보완하고자 식물병원균의 길항작용과 함께 식물의 생장을 촉진시킬 수 있는 auxin 및 siderophore 동시 생산성의 다기능적 생물방제균주를 선발하고, 선발된 유용 균주의 산업적 이용을 위하여 siderophore 생산성에 미치는 배지 조성 및 온도, pH에 대한 영향을 조사하여 보고하는 바이다.

*Corresponding author

Tel: 82-53-810-2395, Fax: 82-53-810-4663

E-mail: sdkim@yumail.ac.kr

재료 및 방법

근권토양에서 미생물의 분리

Auxin 생산성의 길항균주의 분리를 위해 경북 경산시 일대의 경작지 근권 토양 과 대구 달성군 가창댐 근처의 미 경작지 근권 토양 0.1 g을 멸균된 증류수 0.9 ml에 첨가하여 단계적으로 희석한 후 Nutrient agar(Nutrient broth 0.8%, agar 1.5%)에 0.1 ml씩 도말하여 30°C에서 24~48시간 배양하여 독립된 colony를 분리하였다.

Auxin 생산 균주의 선발

Auxin 생산성 균주의 선발을 위하여 L-Tryptophan을 0.02% 첨가한 King's B broth 배지(Peptone NO.3 2%, K₂PO₄ 0.15%, MgSO₄·7H₂O 0.15%, glycerol 1.5%) 5 ml에 토양으로부터 분리한 균주를 접종하고 30°C에서 24시간 배양하였다. 그 후 8,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 배양 원침상등액을 Salkowski 시약(5% perchloric acid 100 ml, 0.05 M ferric chloride 2 ml)에 1:2비율로 섞어 30분간 반응 시킨 후 분홍색으로 발색되는 균주를 선발하였으며, 선발된 균주는 Nutrient agar 배지에 계대하여 4°C에 보관하였다[9].

Siderophore의 생산성 조사

Auxin 생산성 균주의 siderophore 생산성을 조사하기 위하여 siderophore 생산균주의 분리배지인 CAS(chrome azurol S) blue agar 배지에[18] auxin생산성을 나타내는 균주를 접종하여 28°C에 배양시키면서 orange halo zone의 생성 유무를 관찰하여 siderophore 생산균을 일차적으로 분리하고 CAS liquid assay에 의해 siderophore 활성에 따른 CAS의 탈색율을 이용하여 siderophore 생산능이 우수한 균주를 선발하였다[11].

Auxin 생산균주의 녹두발근 생물검정

길항균주의 auxin생산성의 *in vivo* 조사는 실용면에서 가장 많이 사용하는 녹두발근생검법(Mung-bean adventitious root induction method)으로 수행하였다[5]. 즉, 녹두품종 중 식용으로 이용되는 녹두 종자를 0.3% sodium hypochlorite 용액에 3분간 침지 소독 후 흐르는 수돗물에 24시간 침종하고 무균토양에 파종하여 28°C, 5,000 lux 광원하의 식물배양실에서 6~7일간 배양하였다. 제 1본엽이 전개되고 첫 3소엽의 엽아가 약간 부풀어 있는 상태에서 녹두묘를 캐내어 균일한 크기로 선별된 녹두묘로부터 자엽을 제거하고 자엽 밑으로 하배축을 3 cm 남기고 칼로 절단한 후, 선발한 균주의 상등액 50 µl과 멸균증류수 5 ml가 채워진 test tube에 절단한 유묘를 1개씩 넣고 24시간마다 용액의 수준을 증류수로 일정수준까지 보충하여 28°C의 5,000 lux의 연속조명으로 6일간 발근 시킨 후 길이 1 mm 이상의 발근수를 계수하였다.

Auxin 생산성 식물생장촉진 균주의 식물병원균 방제력 검증

Auxin 및 siderophore 생산능을 가지는 다기능 식물생장촉진균의 *in vitro*상에서 방제력은 *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora capsici*를 대상 식물병원균의 시험 균주로 하여 발육저지대 측정법(pairing plate culture)을 통하여 조사하였다. 즉, PDA(Potato dextrose broth, agar 1.5%)배지에서 중간에 식물병원균을 3 mm disc 크기로 접종한 후 선발균을 백금으로 획선 접종하여 28°C에서 배양하여 식물병원성 진균의 균사체 성장 억제 거리를 측정하였다.

Siderophore 생산에 의한 *in vivo* 방제능 조사

Auxin 및 siderophore 생산능을 가지는 다기능 식물생장촉진균이 실제로 *in vivo* pot상에서 토양전염성병에 대한 방제효과 있는지는 조사하기 위하여 121°C, 20분간 멸균된 실험토양(밭흙 : 모래 : 퇴비 = 2 : 1 : 1)에 심은 토마토를 기주 식물로 하여 조사하였다.

우선 *F. oxysporum* 포자를 관주 접종하고 1일간 습실(28°C, 습도 70%)처리하여 병을 유발시키고 여기에 선발된 다기능 식물생장촉진균을 2.0×10⁶ CFU/ml의 균수로 5 ml 처리하여 이를 28°C, 70% 항온항습실에서 키우면서 주기적으로 발병을 확인하였다[13]. 이때 대조구로 방제균만을 처리하거나 무처리한 pot와 비교하여 토마토 시들음병의 발병 억제력을 확인하였다.

Auxin, siderophore 생산성 다기능 식물생장촉진균의 동정 선발된 auxin 및 siderophore 생산 균주의 동정은 형태 및 생화학적 특성을 시험한 후 Biolog사의 동정시스템(MicrologTM 4.0)과 16s rDNA의 분석을 통해 Bergey's manual에 의해 동정하였다[7].

배양시간, 배양 조성에 따른 선발 균주의 siderophore 생산능 조사

선발된 auxin 및 siderophore 생산 균주의 siderophore 최적 배지를 조사하기 위하여 King's B(proteose peptone 2%, glycerol 1.5%, K₂HPO₄ 0.15%, MgSO₄·7H₂O 0.15%), Alexander(glucose 0.2%, manitol 0.2%, NH₄Cl 0.1%, NaCl 0.05%, KH₂PO₄ 0.03%, MgSO₄·7H₂O 0.05%, casamino acids 0.3%), SAM(sucrose 2%, L-asparagine 0.2%, K₂HPO₄ 0.1%, MgSO₄·7H₂O 0.02%), SMM(succinic acid 0.4%, K₂HPO₄ 0.16%, KH₂PO₄ 0.3%, MgSO₄·7H₂O 0.02%, (NH₄)₂SO₄ 0.1%) medium에 선발균주의 전배양액을 0.1%되게 접종하고 5일 동안 매일 배양액을 회수하여 spectrophotometer를 이용해 600 nm에서 흡광도를 측정하여 균주생육을 조사하였고 siderophore 생산성은 CAS liquid assay[11]방법을 통해 탈색율로 나타내었다.

- Siderophore 생산에 온도와 pH가 미치는 영향

선발된 다기능 길항균주의 온도와 pH에 따른 siderophore 생산성 조사를 위하여 King's B 배지에 선발균주 전배양액을 0.1% 되게 접종하고 이를 10°C, 20°C, 30°C, 40°C, 50°C 에서 각각 3일 배양한 후 온도변화에 따른 siderophore 생산능을 CAS liquid assay방법을 이용해 조사하였으며, pH에 따른 선발균주의 siderophore생산능은 pH 3-pH 11까지로 적정 한 King's B 배지에 선발균주의 전배양액을 접종하고 3일 배양 후 역시 CAS liquid assay방법으로 siderophore 생산성을 조사하였다.

결과 및 고찰

Auxin 생산성 균주의 선발

경작지 토양으로부터 분리한 29균주들을 배양 후 상등액에 Salkowski 시약과 1 : 2(v/v)로 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 535 nm 파장에서 측정된 후 auxin 생산성을 나타내는 14 균주를 1차 선발하였고, 그 중에서 옥신 생산성이 가장 높은 AH18 균주를 최종 선발하였다(Table 1). 추후 녹두발근 bioassay에서도 타 분리균주에 비해 AH18균주가 가장 큰 식물성장 촉진능을 보였다. 따라서 Salkowski test와 bioassay의 결과가 동일하게 비례하는 것을 알았다.

AH18 균주의 Siderophore 활성도 측정

선발균주 AH18 균주는 CAS 배지상에 toothpicking접종

시 분명한 오렌지 환을 생성하여 siderophore를 생산함을 확인하였으며(Fig. 1), 좀더 정확한 assay를 위하여 King's B broth배지에서 키운 AH18균주의 상등액을 회수하여 CAS liquid assay시 AH18이 생산한 siderophore에 의해 철이온을 흡착하여 CAS liquid assay용액이 탈색됨을 확인할 수 있었다. 또한 그 탈색율은 84.93%를 나타내어 옥신생산성 길항균의 AH18균주가 고 siderophore 생산성 균주임을 다시 확인할 수 있었다.

Auxin 생산 균주의 생물학적 검증

선발된 AH18균주의 배양 상등액과 control을 멸균 medium을 사용하여 녹두 발근 생검법을 3회 반복 실시하여 평균 발근수와 뿌리 길이를 bioassay 측정된 결과 AH18균주가 생산한 옥신에 의해 부정근의 생성이 멸균 medium만 첨가한 대조구와 비교하여 본 발근수와 길이가 약 1.5배 증가되어 선발된 AH18균주는 매우 큰 식물 성장촉진능이 있음을 확인하였다(Table 2).

AH18 균주의 in vitro 방제력 검증

선발된 AH18 균주의 식물병원성 진균에 대한 길항능조사를 위해 발육저지대 측정법(pairing plate culture)을 실시

Table 1. Auxin-producing microorganisms selected by Salkowski test.

	Auxin activity ^a
Control	0.003
IAA	0.104
AH1	0.021
AH2	0.009
AH7	0.018
AH8	0.052
AH15	0.008
AH16	0.028
AH17	0.013
AH18	0.063
AH20	0.015
AH23	0.041
K4	0.038
K5	0.029
K9	0.038
K11	0.059
King's B broth	0.008

^a Auxin activity was estimated with absorbance at 535 nm by Salkowski test Control : Treatment of water
King's broth : Treatment of medium
IAA : Indole-3-acetic acid (1 µg/ml)

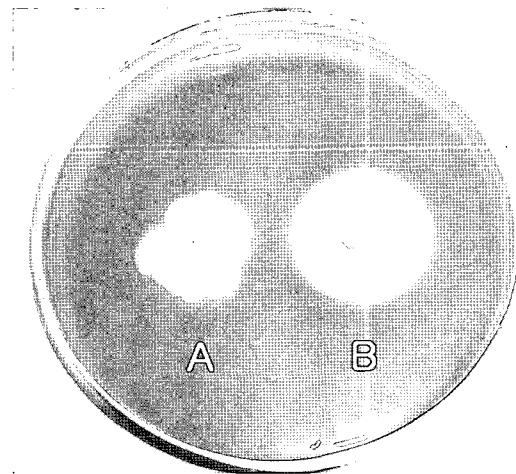


Fig. 1. Confirmation of orange halo zone on CAS medium by production of siderophore from the strain AH 18. A: Negative control (Bacterium not producing siderophore), B: Strain AH 18.

Table 2. Effect of auxin produced from the strain AH18 with Mungbean adventitious root induction method in vivo assay.

	Auxin activity ^a	Root length (mm)	Root number
Control	0.008	7.8	4
Test	0.063	10.6	6

^a Auxin activity was estimated with absorbance at 535 nm by Salkowski test Control : Treatment of medium
Test : Treatment of AH18 culture broth

한 결과 토마토 등 각종 작물의 시들음병균인 *F. oxysporum*에 대해 30.5%, 역병균인 *P. capsici*에 대해 48% 저해능, 근부병균인 *R. solanin*에 대해 35.5%의 병원균이 생육 저해능을 나타내었다. 따라서 선발된 AH18균주는 식물 성장

촉진 물질인 auxin과 주요 식물병원균의 생육을 길항하는 다기능 PGPR(식물 성장촉진 근권미생물)임을 확인할 수 있었다.

AH18 균주의 Siderophore 생산에 의한 in vivo 방제력 검증

육신생산성 길항균주인 AH18을 대상으로 토마토 시들음병에 대한 식물방제실험을 실제 토양내에서 실시한 결과 in vivo pot test에서도 충분히 시들음병에 대한 방제능을 나타내었다(Fig. 2). 따라서 선발된 균주 AH18은 식물성장촉진능은 물론이고 식물질병 방제력도 동시에 가지는 다기능 생물방제균임을 다시 한번 확인할 수 있었다.

Auxin 생산성 길항균주 AH18 균주의 동정

Auxin과 siderophore 생산성이 높게 나타나는 다기능 생물방제균주 AH18을 동정을 위해 각종 생화학적 시험 후 Biolog사의 동정시스템 및 16s rDNA 염기서열을 분석한 후 NCBI의 BLAST를 이용한 기준세균과 유사성을 비교분석한 결과, *Bacillus subtilis*에 98% 상동성을 나타내어 *Bacillus subtilis* AH18로 동정, 명명하였다(Fig. 3, 4).

배양시간, 배지조성, pH, 온도에 따른 Bacillus sp. AH18의 siderophore 생산능 확인

선발된 다기능 PGPR 균주 *B. subtilis* AH18의 siderophore 생산성에 미치는 최적 배지조건을 검토한 결과 *B. subtilis* AH18는 Sucrose-asparagine-MgSO₄(SAM) medium(pH 6.0)에 전배양액을 접종하여 30°C에서 3일간 진탕배양시에 siderophore 생산성이 최대임을 알 수 있었다(Fig. 5, 6, 7).

요 약

식물성장 촉진 호르몬인 auxin을 생산하는 균주를 선발하기 위해 경산지역 경작지 토양에서 29종의 세균을 분리하였으며 Salkowsky test를 통해 auxin을 생산하는 14종을 선발하였다. 이 중 CAS(chrome azurol S) blue agar에서

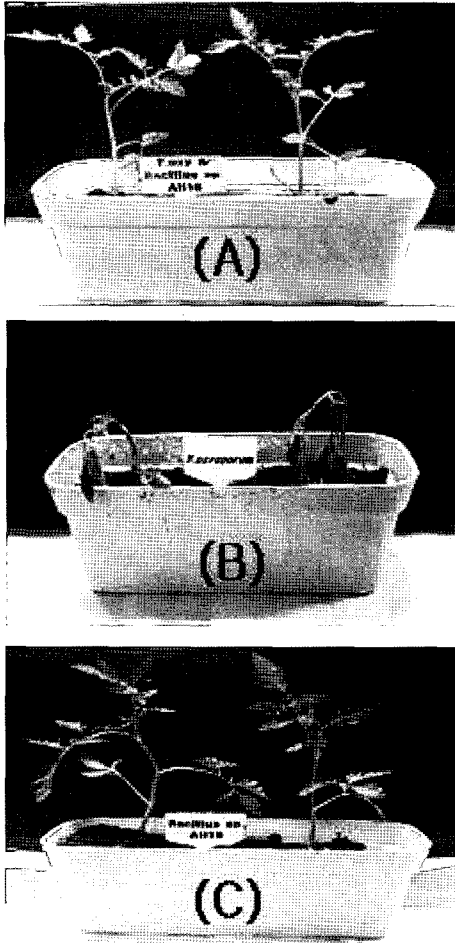


Fig. 2. In vivo antifungal activity of *Bacillus* sp. AH18 on the growth of tomato infected by *F. oxysporum*. A: Treatment of *F. oxysporum* and *Bacillus* sp. AH18, B: Treatment of only *F. oxysporum* (Fusarium wilt by *F. oxysporum*), C: Treatment of only *Bacillus* sp. AH18.

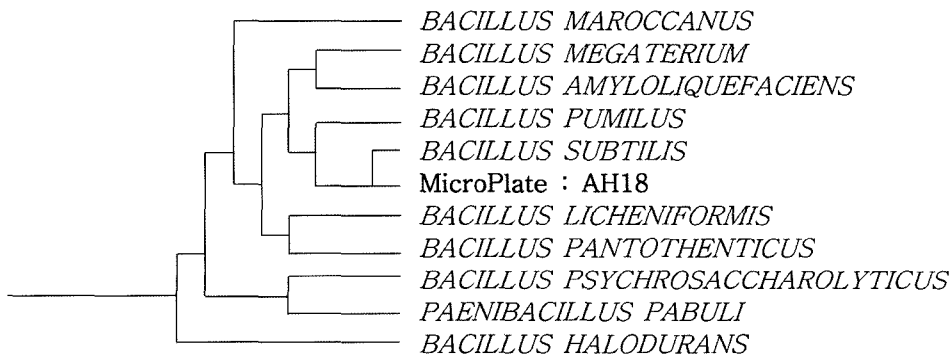


Fig. 3. Phylogenetic trees estimated from Biolog system of the strain AH18.

```

A   1   CTGGCTCCTAAAAGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTGACGG 60
      |||
B  1422 CTGGCTCCTAAAAGGTTACCTCACCGACTTCGGGTGTTACAAACTCTCGTGGTGTGACGG 1363

A   61   GCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGC 120
      |||
B  1362 GCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGC 1303

A   121  GATTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAAGTGAAGACAGATTTGTGG 180
      |||
B  1302 GATTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAAGTGAAGACAGATTTGTGG 1243

A   181  GATTGGCTTAACCTCGCGTTTTGCTGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAG 240
      |||
B  1242 GATTGGCTTAACCTCGCGTTTTGCTGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAG 1183

A   241  CCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCACCTTCCTCCGTTTTGTCACC 300
      |||
B  1182 CCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCACCTTCCTCCGTTTTGTCACC 1123

A   301  GGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGT 360
      |||
B  1122 GGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGT 1063

A   361  TGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCA 420
      |||
B  1062 TGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCA 1003

A   421  CTCTGCCCCGAAGGGGACGTCCTATCTCTAGGATTGTCAGAGGATGTCAAGACCTGGTA 480
      |||
B  1002 CTCTGCCCCGAAGGGGACGTCCTATCTCTAGGATTGTCAGAGGATGTCAAGACCTGGTA 943

A   481  AGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTC 540
      |||
B  942  AGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTC 883

A   541  AATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCAGGCGGAGTGGCTTAATGCGTTA 600
      |||
B  882  AATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCAGGCGGAGT-GCTTAATGCGTTA 824

A   601  GCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTTACGGCGTGG 660
      |||
B  823  GCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATC-GTTTTACGGCGTGG 765

A   661  ACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCTCCCCACGCTTTGCTCCTCAGCGTCAGTTACA 720
      |||
B  764  ACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCTCCCCACGCTTTGCTCCTCAGCGTCAGTTACA 705

A   721  GAACAANAGAGTCGCCTTCCNCCNCCTGGTGTTCTCCACATCTCT 766
      |||
B  704  G-ACCAGAGAGTCGCCTTC--GCCACTGGTGTTCTCCACATCTCT 662

```

Fig. 4. Alignment of partial 16s rDNA sequence of the strain AH18 with *Bacillus subtilis*. A: Partial 16s rDNA sequence of the strain AH18 amplified with Primer 8F (5'AGT TGA TCC CTC AG) and 1492R (5'ACC TTG TTA CGA CTT), B: Partial 16s ribosomal DNA gene of *Bacillus subtilis* CICC 10088 from blast result.

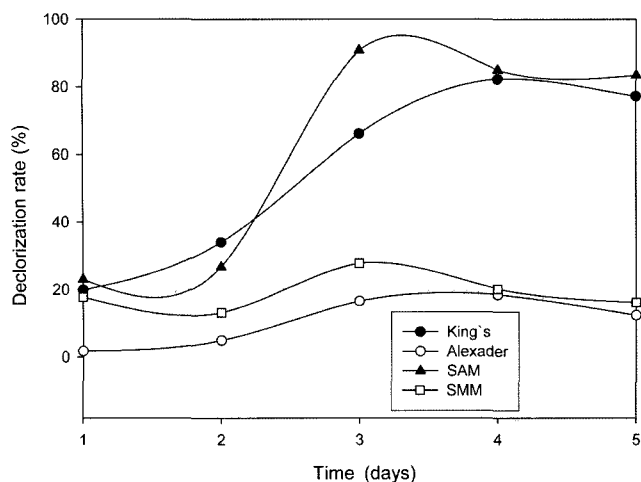


Fig. 5. Effect of various mediums on the siderophore production of *B. subtilis* AH18.

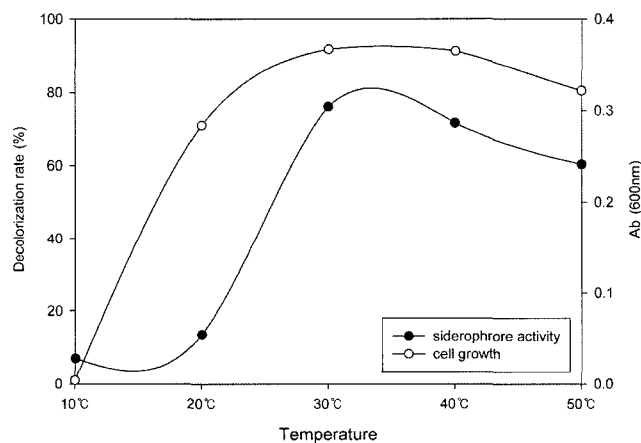


Fig. 6. Effect of temperature on production of the siderophore from *B. subtilis* AH18. Siderophore activity and cell growth was determined with AH18 culture broth incubated for 3day in King's B at various temperature. Siderophore activity was measured with decolorization rate by CAS liquid assay and cell growth was estimated with absorbance at 600 nm.

siderophore의 생산을 확인 후 auxin과 siderophore를 동시에 생산하는 AH18을 최종 선발하였다. AH18의 mung-bean adventitious root induction test를 통해 식물생장 촉진 능이 대조구에 비해 1.5배나 뛰어남을 알 수 있었고, 토마토 pot test에서 토마토 시들음병의 원인균인 *F. oxysporum*에 대해서 길항력도 나타내었다. 선발된 AH18 균주는 16S rDNA 와 Biolog system을 통해 *Bacillus subtilis*로 동정되었다. *B. subtilis* AH18은 Sucrose-asparagine-MgSO₄(SAM) medium (pH 6.0)에 접종하여 30°C에서 3일간 배양 시 siderophore를 가장 많이 생산하는 것을 알 수 있었다.

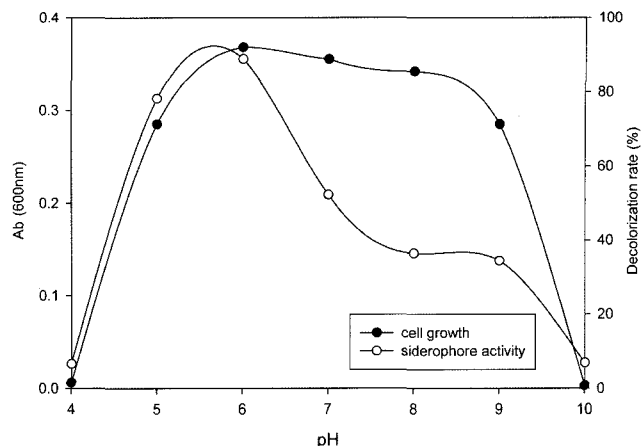


Fig. 7. Effect of pH on production of the siderophore from *B. subtilis* AH18. Siderophore activity and cell growth was determined with AH18 culture broth incubated for 3day in King's B adjusted with various pH. Siderophore activity was measured with decolorization rate by CAS liquid assay and cell growth was estimated with absorbance at 500 nm.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 Biogreen 21 사업(과제번호:105649) 지원에 의하여 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Chio, D. W. and I. G. Kim. 1996. Respeption of pectic enzyme among the hydrolysis enzymes of plant cell wall. *KOREAN J. Food Nutrit.* 9: 92-101.
- Chun, J. O., Y. S. Hwang and J. C. Lee. 1995. Effect of cell wall hydrolase and Ca⁺⁺ hydrolysis of isolated apple cell wall. *J. Kor. Soc. Hort. Sci.* 13: 206-207.
- Devender K. J. and G. David. 1984. Characterization of a substance produced by *Azospirillum* which causes branching of wheat root hairs. *Can. J. Microbiol.* 31: 206-210.
- Elad, Y. and R. Baker. 1985. Influence of trace amounts of cautions and siderophore producing *Pseudomonads* on chlamydospore germination of *Fusarium oxysprum*. *Phytopathology* 75: 1047-1052.
- Francine, M. P., B. G. Rolfe, M. F. Hynes and Charles H. H. 2004. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of indoleacetic acid and tryptophan following aqueous chloroformate derivatisation of *Rhizobium* exudates. *Plant Physiol. Biochem.* 42: 723-729.
- Hess, C. E. 1961. The mungbean bioassay for the detection of root promoting substances. *Plant Physiol. (suppl.)* 36: xxi.
- Holt, J. G, N. R. Krieg, P. H. Sneath, J. T. Staley and S. T. Williams. 1994. *Bergey's manual of determinative Bacteriology*. 9th., Williams and Wilkins, U.S.A. 1004-1139.
- Katiyar, V. and G. Reeta. 2004. Improved plant growth from seed bacterization using siderophore overproducing cold resistant mutant of *Pseudomonas fluorescens*. *J. Microbiol.*

- Biotechnol.* **14**: 653-657.
9. Kwon, D. H., J. H. Choe, H. K. Jeong, J. H. Im, G. J. Ju and S. D. Kim. 2004. Selection and identification of auxin-producing plant growth promoting rhizobacteria having phytopathogenantagonistic activity. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **47**: 17-21.
 10. Lee, I. K., C. J. Kim, S. D. Kim and I. D. Yoo. 1990. Antifungal antibiotic against fruit rot disease of red pepper form *Streptomyces parvullus*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **18**: 142-147.
 11. Lee, J. M., H. S. Lim, T. H. Chang and S. D. Kim. 1999. Isolation of siderophore-producing *Pseudomonas fluorescens* GL7 and its biocontrol activity against root-rot disease. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **27**: 427-432.
 12. Leonid, N. T., M. J. Lee, M. K. Lee, H. Park and J. H. Yoon. 2000. Production of Auxins and Auxin - like Compounds by Ginseng Growth - promoting Bacterium *Pseudomonas fluorescens* KGPP 207. *Agric. Chem. Biotechnol.* **43**: 264-268.
 13. Lim, H. S., J. M. Lee and S. D. Kim. 2002. A plant growth - promoting *Pseudomonas fluorescens* GL20 - mechanism for disease suppression, outer membrane receptors for ferric siderophore and genetic improvement for increased biocontrol efficacy. *J. Microbiol. Biotechnol.* **12**: 249-257.
 14. Lim, S. U., T. G. Lee and D. M. Sa. 1995. Isolation and physiological characteristics of auxin-producing soil bacteria. *Korean J. Soil Sci. Fert.* **28**: 75-82.
 15. Nakano, M. M. and P. Zuber. 1990. Molecular biology of antibiotic production in Bacillus. *Crit. Rev. Biotechnol.* **10**: 223-240.
 16. Oh, Y. J., 2000. Cultural Conditions for the Improvement in Gibberellic Acid Productivity by a Mutant of *Gibberella fujikuroi* ATCC 12616 - *Gibberella fujikuroi* G - 36. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **28**: 152-155.
 17. Ravikumar, S., K. Kathiresan, M. B. Selvam and S. Shanthi, 2004. Nitrogen-fixing azotobacters from mangrove habitat and their utility as marine biofertilizers. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **312**: 5-17.
 18. Schwyn, B. and J. B. Neilands. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal. Biochem.* **160**: 47-56.
 19. Seong, K. Y. 1995. Factors influencing siderophore production by plant growth promoting rhizopseudomonas strains. *Kor. J. Soil Sci. Fert.* **28**: 287-294.
 20. Shivanna, M. B., M. S. Meera and M. Hyakumachi. 1994. Sterile fungi from zoysia grass rhizosphere as plant growth promoters in spring wheat. *Can. J. Microbiol.* **40**: 637-644.
 21. Stosola, F. H. Source book on Gibberellin. 1958. *U. S. Dept. of Agr. Washington.* 1828-1957.
 22. Takeru, T. 1993. Enzymatic Determination of Itoic Acid, a *Bacillus subtilis* Siderophore, and 2, 3-Dihydroxybenzoic Acid. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**: 2343-2345.
 23. Waring, W. S. and C. H. Werkman. 1942. Growth of bacteria in an iron-free medium. *Arch. Biochem.* **1**: 303-310.
 24. Weinberg, E. D. 1974. Iron and susceptibility to infectious disease. *Science* **184**: 952-956.

(Received Feb. 18, 2006/Accepted June 12, 2006)