

생물방제 및 생물비료 활성을 가지는 세균의 분리 및 특성

정호일 · 김근기 · 박현철 · 이상몽 · 김용균 · 김홍성 · 이충렬¹ · 손홍주*

부산대학교 생명응용과학부, ¹부산대학교 생명자원과학부

Received October 30, 2007 / Accepted November 14, 2007

Isolation and Characteristics of Bacteria Showing Biocontrol and Biofertilizing Activities. Ho Il Jung, Keun Ki Kim, Hyeon Cheal Park, Sang Mong Lee, Yong Gyun Kim, Hong Sung Kim, Chung Yeol Lee¹ and Hong Joo Son*. *School of Applied Life Science, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea, ¹School of Bioresource Science, Pusan National University, Miryang 627-706, Korea* - To develop multifunctional microbial inoculant, microorganisms with antagonistic activity and biofertilizing activity were screened. *Pantoea agglomerans* and *Bacillus megaterium* from our laboratory culture collection, and strain MF12 from soil near poultry farm in Miryang were selected. On the basis of morphological, physiological studies and 16S rDNA sequence analysis, isolate MF12 was identified as the *Bacillus pumilis*. Three strains were studied for insoluble phosphate solubilization, indole-3-acetic acid (IAA) and siderophore production, ammonification ability, hydrolytic enzyme production and antifungal activity against phytopathogenic fungi. *P. agglomerans* did not produce any visible clear zone on agar plate containing 0.5% $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ as a sole phosphorus source. However, this strain could solubilize insoluble phosphate in liquid medium. All strains produced IAA ranged from 3~639 $\mu\text{g}/\text{ml}$ depending on culture time and had ammonification ability. Among three strains, only *P. agglomerans* produced siderophore. *P. agglomerans* produced pectinase and lipase, *B. megaterium* produced amylase, protease and lipase while *B. pumilis* produced protease and lipase. *P. agglomerans* showed antifungal activities against phytopathogenic fungi, *Fusarium oxysporum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *B. pumilis* showed antifungal activities against *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Phythium ultimum*.

Key words : Biofertilizer, biological control, multifunctional microbial inoculant, phytopathogenic fungi

서 론

급속한 경제성장과 인구의 도시집중 그리고 농산물의 수출개방 등으로 인하여 국내의 농업 여건이 크게 변화하고 있고, 이와 같은 현상은 향후 더 심화되리라 예상된다. 과거의 우리 농업정책은 식량 자급을 위해 다비(多肥)에 의한 최대 수확을 추구하였으나 오늘날의 농정 기본방향은 저비용에 의한 적정 생산과 소비자가 선호하는 고품질의 농산물을 생산하는 쪽으로 대폭 전환되었다.

다수확을 달성하기 위하여 화학농약과 화학비료를 장기간 사용함으로써 식량생산성이 크게 증가된 것은 사실이지만 이들 화학물질의 남용에 따른 토양 생산성 감소, 농산물의 품질 저하 및 생태계 파괴 등 심각한 피해가 속출하고 있는 바, 전 세계적으로 화학비료 및 화학농약 사용에 따른 규제가 점점 더 강화되고 있다[3]. 일례로, 유엔환경개발회의(UNCED)는 각국의 화학농약 사용량을 25%씩 줄이도록 권장하고 있으며, 우리나라도 2010년까지 화학비료는 40%, 화학농약은 50%까지 사용량을 감축시키겠다고 발표한 바 있다[13].

따라서 소비자가 선호하는 고품질 농산물의 생산성을 증

가시키기 위하여 환경친화적인 새로운 방법이 필요하게 되었고, 그 중에서도 생물비료 및 생물농약 등 생물학적 방법의 개발이 주목을 받고 있다[21]. 현재, 인간의 안전한 삶과 부가가치가 높은 무공해 농산물을 생산하는 영농 시스템에 부응할 수 있는 새로운 형태의 생물학적 조절법이 폭넓게 연구되고 있다[15,18,19]. 지금까지의 연구결과를 간단하게 요약하면 다음과 같다. 농경지 토양에서 분리된 *Pseudomonas* sp.는 무기 인산원으로부터 74.6 mg/ml의 가용성 인산을 생성하는 것으로 증명되었다[2]. 최근 Dey 등[5]은 9종의 분리균 가운데 8종이 siderophore를 생산하며, 5종은 indole-3-acetic acid, ammonia를 생산하는 동시에 *Sclerotium rolfsii*와 같은 토양유래 곰팡이 병원균의 생육을 억제하였다고 보고하였다. 또한 *Bacillus subtilis*, *P. fluorescens*, *Aspergillus awamori*, *A. niger*, *Penicillium digitatum*의 root-dip 처리는 근권에서 *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*의 수를 크게 감소시키는 것으로 알려져 있다[12].

그러나 지금까지의 연구 결과들을 종합해 보면, 대부분의 연구들이 생물농약으로서의 활성과 생물비료로서의 활성을 서로 연계시키지 않은 채 각각 독립적으로 검토되어져 왔다. 즉, 생물농약 활성과 생물 비료 활성을 동시에 가지는 다기능성 미생물 제제(multifunctional microbial inoculant)에 대한 연구는 많이 이루어지지 않고 있는 실정이다[10,18].

*Corresponding author

Tel : +82-55-350-5544, Fax : +82-55-350-5544

E-mail : shjoo@pusan.ac.kr

본 연구는 생물비료 활성(불용성 인산 가용성, 식물생장 호르몬 생성능), 생물방제 활성(siderophore 생성능, ammonification, 식물병원성 진균 세포성분 분해효소 생성능) 등 식물에 대한 다양한 생리활성을 동시에 가지면서 야외에 적용이 가능한 미생물 제제 개발을 최종목적으로 설계되었으며, 이에 따라 먼저 상기 목적에 부합하는 다목적 미생물을 분리한 후, 각종 생리활성을 조사함으로써 새로운 생물자원을 확보하고자 하였다.

재료 및 방법

다목적 미생물의 탐색

다목적 미생물의 탐색을 위하여 일차적으로 본 연구실에서 분리 및 동정되어 보존중인 각 세균을 대상으로 다양한 생리활성을 조사하였다. 동시에 경남 일원의 경작지에서 재배되고 있는 농작물의 근권 토양 및 양계장 부근 부엽토를 채취하여 다목적 미생물을 분리하였다. 근권 토양 채취를 위하여 각종 농작물의 뿌리를 수집한 후, 손으로 강하게 진탕하여 부착된 대부분의 토양을 제거하였다. 이 농작물의 뿌리를 멸균된 0.75% NaCl 용액에 첨가하여 200 rpm에서 1 시간 동안 진탕하였다[14]. 단계적으로 희석한 상등액을 nutrient agar plate에 접종하여 30°C에서 배양함으로써 각 미생물을 순수분리한 후, 다양한 생리활성을 조사하였다.

분리균주의 동정

분리균주의 형태학적, 배양적 특성은 Manual of methods for general bacteriology[6]에 준하여, 생화학적 특성은 API kit(Biomérieux, France)를 이용하여 검토하였으며, 도출된 결과를 Bergey's manual of determinative bacteriology[8]를 참조하여 일차 동정하였다. 또한 분리균주의 16S rDNA의 염기서열을 Ausubel 등[1]의 방법에 준하여 분석한 후, Blast network service를 이용하여 GenBank, EMBL, DDBJ에 등록된 다른 균주의 염기서열과 비교함으로써 최종 동정하였다.

불용성 인산 가용성 조사

불용성 인산 가용성은 NBRIP agar plate(glucose 1%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.01%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.025%, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.5%, KCl 0.02% 및 불용성 인산원으로 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 0.5%, pH 7.0)를 사용한 plate assay method로 확인하였다[14]. 순수분리된 미생물을 NBRIP agar plate에 희석 도말한 후, 30°C에서 일정시간 배양하면서 콜로니 주위에 투명대를 생성하는 것을 불용성 인산 가용성이 있는 것으로 결정하였다. 투명대는 미생물에 의해 불용성 인산이 가용화되었음을 나타내는 지표이다[7]. 또한 순수분리된 미생물을 NBRIP broth에 접종한 후, 30°C 및 200 rpm에서 배양하면서 생성된 가용성 인산을 vanadomolybdophosphoric acid colorimetric method[4]에 의

하여 정량하였다. 균주를 접종하지 않은 배지를 대조구로 사용하였으며, 표준곡선은 KH_2PO_4 를 이용하여 작성하였다.

Indole-3-acetic acid (IAA) 생성능 조사

대표적인 식물생장 호르몬인 IAA의 생성능은 Tang과 Bonner의 방법[20]에 의하여 확인하였다. 순수분리된 미생물을 King's B medium(proteose peptone No.3 2%, K_2HPO_4 0.15%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.15%, glycerol 1.5%, pH 7.0)에 접종한 후, 30°C 및 200 rpm에서 일정시간동안 배양하였다. 균체를 제거한 배양 상등액을 Salkowsky reagent와 혼합하여 30 분간 반응시킨 후, 반응액의 색상이 분홍색으로 전환된 것을 IAA 생성능이 있는 것으로 결정하였다. 또한 순수분리된 미생물을 0.02%, 0.1%의 L-tryptophane이 각각 첨가된 King's B medium에 접종하여 배양하면서 생성된 IAA를 530 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다[20]. 균주를 접종하지 않은 배지를 대조구로 사용하였으며, 표준곡선은 IAA(Sigma)를 이용하여 작성하였다.

항진균능 및 관련 생리활성 조사

항진균능은 potato dextrose agar plate를 이용한 대치배양법으로 확인하였다. 각종 식물병원성 진균인 *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Phythium ultimum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotrichum gloeosporioides*를 대상으로 potato dextrose agar plate에서 대치배양을 실시하여 생육저지대 생성 유무를 조사하였다. 순수분리된 미생물의 siderophore 생성능은 Chrome azurol S assay[17]에 의하여, ammonification은 Dey 등[5]의 방법에 의하여, 식물병원성 진균 세포성분 분해효소(chitinase, cellulase, pectinase, protease, amylase, lipase)의 활성은 표준방법[6]에 의하여 정성분석하였다.

결과 및 고찰

식물 생육에 긍정적인 영향을 미치는 다목적 미생물을 확보하기 위하여 본 연구실에서 보존중인 32 균주를 대상으로 각종 생리활성을 검토한 결과, 콩의 근권 토양 및 가금 폐기물로부터 각각 분리, 동정되었던 *Pantoea agglomerans* 및 *Bacillus megaterium*이 생물비료 및 생물방제 활성을 가지고 있는 것으로 조사되었다. 또한 양계장 주변의 부엽토 시료 30점으로부터 콜로니의 성상이 다른 15 균주를 순수분리하였으며, 그 중 MF12가 다양한 생리활성을 가진 것으로 확인되었다.

상기 균주들의 다양한 생리활성 유무는 Table 1, 2, 3에서 보는 바와 같으며, 보유하고 있는 식물에 대한 생리활성을 정성 분석한 결과는 Fig. 1, 2, 3에 나타내었다. *P. agglomerans*는 NBRIP agar plate에서 불용성 인산을 가용화시킴으로써

Table 1. Plant growth promoting and antagonistic activities of the selected bacterial strains

Strain	Solubilization of inorganic phosphate	Production of indole-3-acetic acid	Production of siderophore	Ammonification	Microorganism source
<i>Pantoea agglomerans</i>	+	+	+	+	Laboratory culture collection
<i>Bacillus megaterium</i>	-	+	-	+	Laboratory culture collection
Isolate MF12	-	+	-	+	Soil near poultry farm in Miryang

Table 2. Hydrolytic activity of the selected bacterial strains

Strain	Chitinase	Cellulase	Pectinase	Amylase	Protease	Lipase
<i>Pantoea agglomerans</i>	-	-	+	-	-	+
<i>Bacillus megaterium</i>	-	-	-	+	+	+
Isolate MF12	-	+	-	-	+	+

Table 3. Antifungal activity of the selected bacterial strains against phytopathogenic fungi

Strain	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Phythium ultimum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
<i>Pantoea agglomerans</i>	-	-	-	-	+	+
<i>Bacillus megaterium</i>	-	-	-	-	-	-
Isolate MF12	+	+	+	-	-	-

콜로니 주위에 투명대를 형성하였으며, Chrome azurol S agar plate에서 콜로니 주위에 orange zone을 형성함에 따라 siderophore 생성능이 있음을 알 수 있었다. 경작지 토양에 식물이 흡수하기 어려운 불용성 형태로 다량 축적되어 있는 인산염을 가용화시킬 수 있는 미생물은 합성인산 비료의 사용을 경감시키면서 지력의 소실없이 작물의 생산성을 향상시킬 수 있는 것으로 보고되어 있다[9]. Siderophore는 철이온 특이 결합물 질로서, 식물병원균의 생육을 저해하는 경쟁적 길항작용을 합과 동시에 식물이 이용할 수 없는 철을 가용화시킴으로서 식물 성장에 도움이 되는 것으로 알려져 있다[16]. 한편, 균체를 제거한 배양 상등액이 Salkowsky reagent 및 Nessler reagent에 의하여 각각 분홍색 및 노란색으로 변화됨에 따라 *P. agglomerans*는 IAA 생성능과 ammonification activity가 있음을 알 수 있었다. IAA는 대표적인 식물생장 호르몬으로서, 식물의 신장을 촉진시키는 작용 외에 뿌리 신장, 과실 형성 등을 촉진하는 것으로 알려져 있으며, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bacillus* 속 등에서 보고되어져 있다[11]. 또한 미생물은 ammonification action을 통하여 농작물의 성장에 유해한 진균의 생육을 억제하는 것으로 알려져 있다[5]. *P. agglomerans*는 pectinase, lipase 등 식물병원성 진균의 세포성분을 분해할 수 있는 효소를 생성할 수 있었으며, 시들음병균인 *Fusarium oxysporum*과 고추탄저균인 *Colletotrichum gloeosporioides*에 대해서 길항능이 있었다.

*B. megaterium*은 IAA 생성능 및 ammonification activity

는 가지고 있었으나 siderophore 생성능은 없었으며, NBRIP agar plate에서 불용성 인산 가용능은 관찰되지 않았다. 또한 amylase, protease, lipase 생성능은 있었으나 조사된 모든 식물병원성 진균에 대해서 길항능은 없었다.

새로이 분리된 균주 MF12는 IAA 생성능 및 ammonification activity는 가지고 있었으나 *B. megaterium*과 마찬가지로 siderophore 생성능 및 불용성 인산 가용능은 없었다. 또한 cellulase, protease, lipase 생성능이 있었으며, 잣빛곰팡이균인 *Botrytis cinerea*, 균핵균인 *Sclerotinia sclerotiorum*의 균사 생육을 억제할 수 있었다. 특히 모잘록병균인 *Phythium ultimum*에 대해서는 강력한 길항능이 있음을 알 수 있었다.

0.02% 및 0.1% L-tryptophane이 첨가된 King's B broth에서 *P. agglomerans*의 배양시간 경과에 따른 IAA 생성능을 정량 분석한 결과는 Fig. 4에서 보는 바와 같다. 균체 생육은 L-tryptophane의 농도에 관계없이 비슷하였으나 IAA 최대 생성량은 0.1% L-tryptophane이 첨가된 배지에서 높았으며 (46 µg/ml), 정지기부터 IAA 생성량이 크게 증가하였다. 분리균주 MF12 역시 정지기부터 IAA 생성량이 증가하기 시작하였으며, 최대 생성량(156 µg/ml)은 *P. agglomerans*보다 많았다(Fig. 5). *B. megaterium*의 경우, 균체 생육도 및 IAA 생성량(639 µg/ml)이 상기 두 균주보다 월등히 많았으며, 두 균주와 달리 균체 생육과 비례하여 IAA를 생성하였다. 이것은 2차 대사산물 생산의 일반적인 패턴과 다른 양상이므로 이에 대한 추가적인 연구가 필요함을 알 수 있었다(Fig. 6).

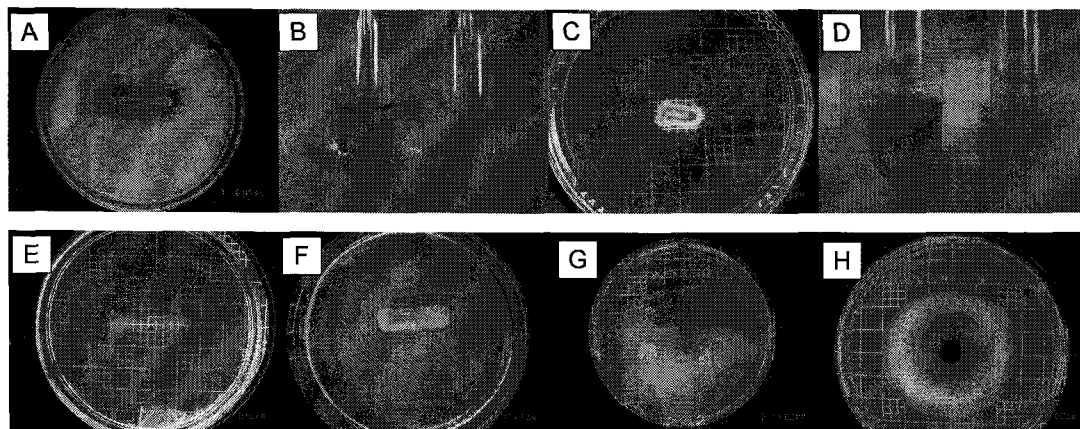


Fig. 1. Biochemical parameters showing biological activities of *Pantoea agglomerans*. A, phosphate solubilization on NBRIP agar plate; B, IAA production (left) and control (right) in King's B broth; C, siderophore production on Chrome azurol S agar plate; D, ammonification (left) and control (right) in peptone water; E, pectinase production; F, lipase production; antifungal activity against *Fusarium oxysporium* (G) and *Colletotrichum gloeosporioides* (H).

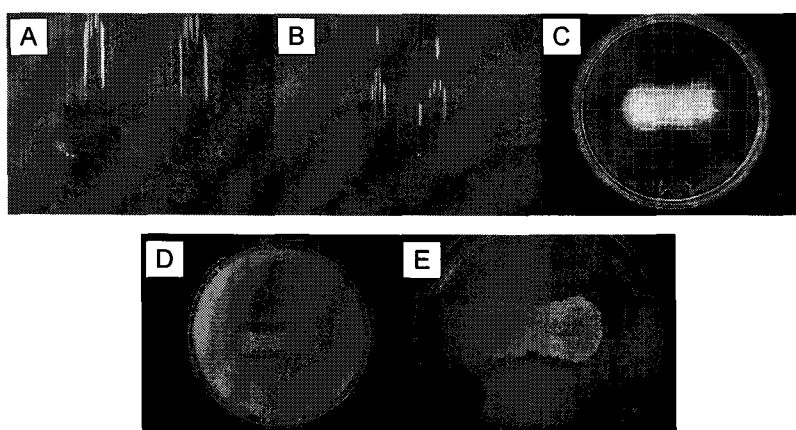


Fig. 2. Biochemical parameters showing biological activities of *Bacillus megaterium*. A, IAA production (left) and control (right) in King's B broth; B, ammonification (left) and control (right) in peptone water; C, amylase production; D, protease production; E, lipase production.

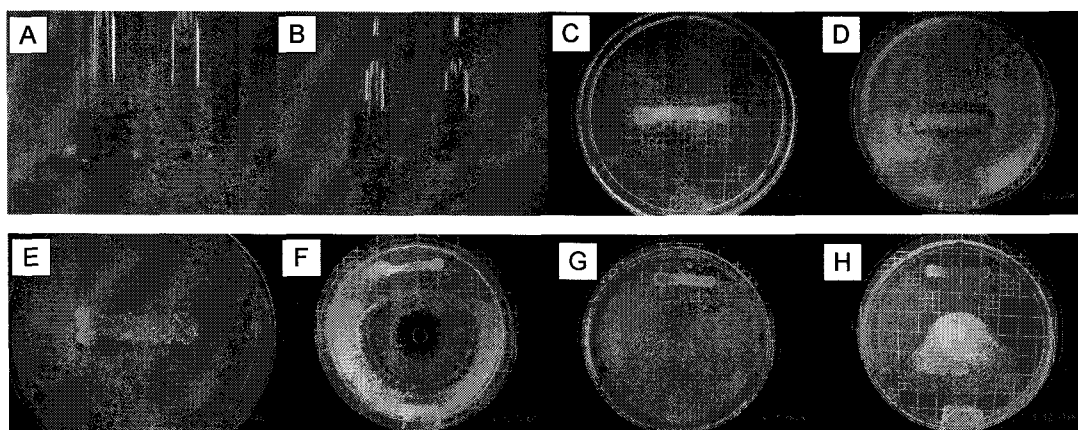


Fig. 3. Biochemical parameters showing biological activities of the isolate MF12. A, IAA production (left) and control (right) in King's B broth; B, ammonification (left) and control (right) in peptone water; C, cellulase production; D, protease production; E, lipase production; antifungal activity against *Botrytis cinerea* (F), *Sclerotinia sclerotiorum* (G) and *Phythium ultimum* (H).

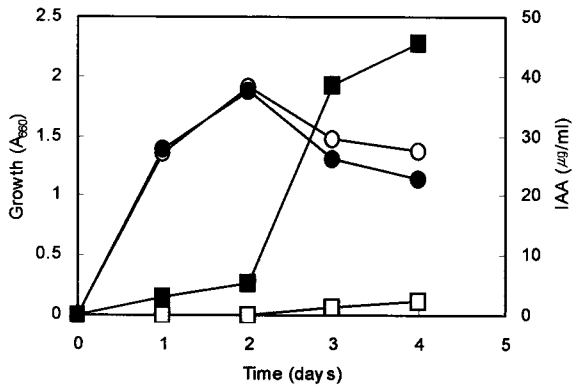


Fig. 4. Indole-3-acetic acid production by *Pantoea agglomerans* in King's B broth containing 0.02% and 0.1% L-tryptophane. ○, cell growth in 0.02% L-tryptophane; ●, cell growth in 0.1% L-tryptophane; □, IAA production in 0.02% L-tryptophane; ■, IAA production in 0.1% L-tryptophane.

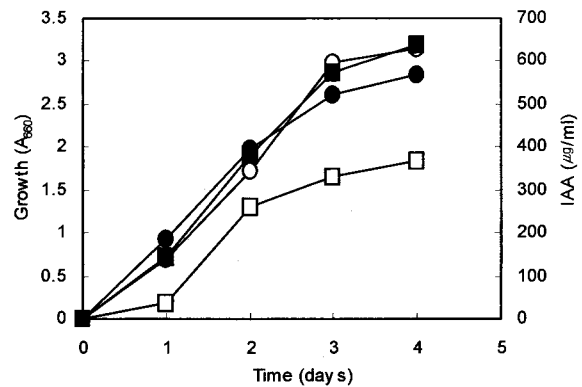


Fig. 6. Indole-3-acetic acid production by *Bacillus megaterium* in King's B broth containing 0.02% and 0.1% L-tryptophane. ○, cell growth in 0.02% L-tryptophane; ●, cell growth in 0.1% L-tryptophane; □, IAA production in 0.02% L-tryptophane; ■, IAA production in 0.1% L-tryptophane.

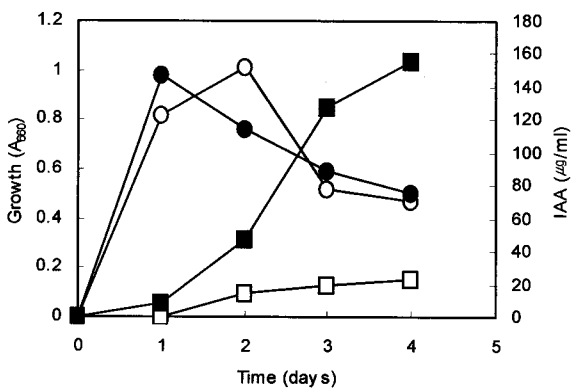


Fig. 5. Indole-3-acetic acid production by the isolate MF12 in King's B broth containing 0.02% and 0.1% L-tryptophane. ○, cell growth in 0.02% L-tryptophane; ●, cell growth in 0.1% L-tryptophane; □, IAA production in 0.02% L-tryptophane; ■, IAA production in 0.1% L-tryptophane.

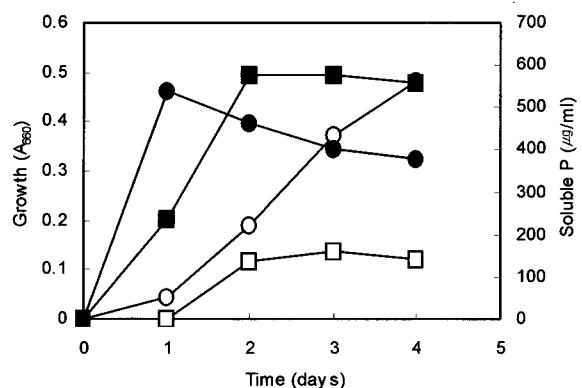


Fig. 7. Soluble phosphate production by *Pantoea agglomerans* and *Bacillus megaterium* in NBRIP broth containing 0.5% $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. ○, cell growth of *B. megaterium*; ●, cell growth of *P. agglomerans*; □, soluble phosphate production of *B. megaterium*; ■, soluble phosphate production of *P. agglomerans*.

NBRIP broth에서 *P. agglomerans*의 배양시간 경과에 따른 가용성 인산 생성능을 정량 분석한 결과는 Fig. 7에서 보는 바와 같이 배양 2일 후 578 $\mu\text{g/ml}$ 의 가용성 인산을 생성할 수 있었다. *B. megaterium*은 NBRIP agar plate에서 불용성 인산 가용능을 관찰할 수 없었으나 NBRIP broth에서는 배양 3일 후, 159 $\mu\text{g/ml}$ 의 가용성 인산을 생성할 수 있었다(Fig. 7). Gupta 등[7]은 고체 평판배지에서 불용성 인산 가용능의 지표인 육안 관찰 가능한 투명대를 형성하지 못하는 많은 미생물이 액체배지에서 불용성 인산을 가용화시킬 수 있다고 보고하였으며, 이것은 미생물에 의하여 생산된 유기산의 확산 속도가 너무 느리기 때문인 것으로 추정하였다.

새로이 분리된 균주 MF12의 형태학적, 배양적 및 생화학적 특성을 조사한 결과, 본 균주는 그림양성의 호기성 간균

으로서 포자를 형성할 수 있었으며, citrate 이용능과 젤라틴 액화능을 가지고 있었으나 H_2S 생성능 및 urease 등은 가지고 있지 않았다(미제시). 이상의 데이터를 Bergey's manual of determinative bacteriology를 참조하여 동정한 결과, 분리균주는 *Bacillus* 속에 포함됨을 알 수 있었다. 분리균주의 보다 정확한 동정을 위하여 16S rDNA의 염기서열 분석을 실시하였으며, 16S rDNA 부분 염기서열을 NCBI GenBank에 등록된 유사 균주와 비교분석하여 유전자간의 상관성을 알아본 결과, 본 분리균주는 *Bacillus pumilis*와 99%의 상동성을 가지고 있었다(Fig. 8).

본 연구에서는 식물병원성 진균에 대한 길항능, IAA 및 siderophore 생성능, ammonification ability, 진균 세포성분 분해효소 생성능, 불용성 인산 가용능을 나타내는 3 균주를

```

Isolate 12 : 1  gctggcggcgtgcctaatacatgcaagtcgagcggacagaagggagcttgctcccggatg 60
B. pumilis : 2  gctggcggcgtgcctaatacatgcaagtcgagcggacagaagggagcttgctcccggatg 61

Isolate 12 : 61  ttagcggcggacgggtgagtaaacacgtgggtaacctgcctgtaagactgggataactccg 120
B. pumilis : 62  ttagcggcggacgggtgagtaaacacgtgggtaacctgcctgtaagactgggataactccg 121

Isolate 12 : 121 ggaaccggagctaataccggatagttccttgaaccgcatggttcaaggaagaagacgg 180
B. pumilis : 122 ggaaccggagctaataccggatagttccttgaaccgcatggttcaaggaagaagacgg 181

Isolate 12 : 181 ttcggctgtcacttacagatggaccgcggcgacattagctagttggtgggtaatggct 240
B. pumilis : 182 ttcggctgtcacttacagatggaccgcggcgacattagctagttggtgggtaatggct 241

Isolate 12 : 241 caccaaggcgacgatgcgtagccgacctgagagggtgatcgccacactgggactgagac 300
B. pumilis : 242 caccaaggcgacgatgcgtagccgacctgagagggtgatcgccacactgggactgagac 301

Isolate 12 : 301 acggcccagactcctacgggagcagcagtagggaatcttccgcaatggacgaaagtctg 360
B. pumilis : 302 acggcccagactcctacgggagcagcagtagggaatcttccgcaatggacgaaagtctg 361

Isolate 12 : 361 acggagcaacgccgctgagtgatgaaggtttcggatcgtaaagctctgtttaggga 420
B. pumilis : 362 acggagcaacgccgctgagtgatgaaggtttcggatcgtaaagctctgtttaggga 421

Isolate 12 : 421 ataacaagtgcgacagtaactgctcgcaccttgacgggtacctaacc 466
B. pumilis : 422 agaacaagtgcgagagtaactgctcgcaccttgacgggtacctaacc 467
    
```

Fig. 8. Alignment data of 16S rDNA nucleotide sequences of the isolated MF12 and *Bacillus pumilis* (AF 526907).

분리하였다. 현재, 이들 균주들의 구체적인 배양적 특성 및 항진균 기작에 대한 실험이 진행되고 있다. 이들을 적절하게 조합 및 병용 적용한다면 식물병원성 진균의 생육을 억제함과 동시에 각종 농작물의 성장도 촉진할 수 있을 것으로 예상되며, 이에 따라 환경오염 감소, 농작물의 품질 향상 및 수확량을 증가시킬 수 있을 것이다.

요 약

다기능성 농업용 미생물 제제를 개발하기 위하여 생물방제 및 생물비료 활성을 가지는 미생물을 탐색하였다. 본 연구실에서 분리 및 동정된 균주 가운데 *Pantoea agglomerans* 및 *Bacillus megaterium*을 실험균주로 선정하였으며, 경남 밀양에 위치하는 양계장 부근 부엽토로부터 새로운 다목적 세균 MF12를 분리하였다. 형태학적, 배양적, 생화학적 특성 및 16S rDNA 염기서열을 분석한 결과, MF12는 *Bacillus pumilis*로 동정되었다. 이 균주들의 불용성 인산 가용성, IAA 및 siderophore 생성능, ammonification ability, 식물병원성 진균 세포성분 분해효소 생성능 및 항진균능을 조사하였다. *P. agglomerans*는 고체배지에서 불용성 인산을 가용화할 수 없었으나 액체배지에서는 가용성 인산을 생성하였다. 상기 모든 균주들은 배양시간에 따라 3~639 µg/ml의 IAA를 생성하였으며, *P. agglomerans*만이 siderophore를 생성하였다. 이 균주는

pectinase와 lipase를 생성하였다. *B. megaterium*은 amylase, protease 및 lipase를 생성한 반면 *B. pumilis*는 protease와 lipase를 생성하였다. *P. agglomerans*는 *Fusarium oxysporum*과 *Colletotrichum gloeosporioides*의 생육을 억제하였으며, *B. pumilis*는 *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* 및 *Phythium ultimum*의 생육을 억제하였다.

참 고 문 헌

1. Ausubel, F. A., R. Brent, R. E. Kingston, D. D. Moore, J. A. Smith, J. G. Seidman and K. Struhl. 1988. *Current protocols in molecular biology*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
2. Cattelan, A. J., P. G. Hartel and J. J. Fuhrmann. 1999. Screening for plant growth promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **63**, 1670-1680.
3. Chang, J. W. and S. D. Kim. 1995. Bacterial sporulation and germination of biocontrol agent *Bacillus subtilis* YBL-7. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **23**, 236-242.
4. Clesceri, L. S., A. E. Greenberg and A. D. Eaton. 1998. *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 20th ed. APHA-AWWA-WEF. Washington, D.C.
5. Dye, R., K. K. Pal, D. M. Bhatt and S. M. Chauhan. 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-pro-

- moting rhizobacteria. *Microbiol. Res.* **159**, 371-394.
6. Gerhardt, P., R. G. E. Murray, R. N. Costilow, E. W. Nester, W. A. Wood, N. R. Krieg and G. B. Phillips. 1981. *Manual of methods for general bacteriology*. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
 7. Gupta, R., R. Singal, A. Shankar, R. Chander and R. K. Saxena. 1994. A modified plate assay for screening phosphate solubilizing microorganisms. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **40**, 255-260.
 8. Holt, J. G., N. R. Krieg, P. H. A. Sneath, J. T. Staley and S. T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th ed. The Williams and Wilkins Co., Baltimore.
 9. Illmer, P. and F. Schinner. 1992. Solubilisation of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soils. *Soil Biol. Biochem.* **24**, 389-395.
 10. Jung, H. K., J. R. Kim, S. M. Woo and S. D. Kim. 2007. Selection of the auxin, siderophore, and cellulase-producing PGPR *Bacillus licheniformis* K11 and its plant growth promoting mechanisms. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **50**, 23-28.
 11. Khalid, A., M. Arshad and Z. A. Zahir. 2004. Screening of plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *J. Appl. Microbiol.* **96**, 473-480.
 12. Khan, M. R. and S. M. Khan. 2001. Biomangement of *Fusarium* wilt of tomato by the soil application of certain phosphate-solubilizing microorganisms. *Int. J. Pest Manag.* **47**, 227-231.
 13. Kim, S. J., M. Y. Kim, B. S. Koo, S. H. Yoon, Y. S. Yeo, I. C. Park, Y. J. Kim, J. W. Kim and K. S. Whang. 2005. Isolation and phylogenetic characterization of chitinase producing oligotrophic bacteria. *Kor. J. Microbiol.* **41**, 293-299.
 14. Nautiyal, C. S. 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.* **170**, 265-270.
 15. O'sullivan, D. and F. O'gara. 1992. Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. *Mirobiol. Rev.* **56**, 662-676.
 16. Pandey, P., S. C. Kang, C. P. Gupta and D. K. Maheshwari. 2005. Rhizosphere competent *Pseudomonas areuginosa* GRC₁ produces characteristic siderophore and enhances growth of Indian mustard (*Brassica campestris*). *Curr. Microbiol.* **51**, 303-309.
 17. Schwyn, B. and J. B. Neilands. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal. Biochem.* **160**, 47-56.
 18. Sessitsch, A. S., B. Reiter and G. Berg. 2004. Endophytic bacterial communities of field-grown potato plants and their plant-growth-promoting and antagonistic abilities. *Can. J. Microbiol.* **50**, 239-249.
 19. Sutra, L., J. M. Risede and L. Garden. 2000. Isolation of fluorescent pseudomonads from the rhizosphere of banana plants antagonistic towards root necrosing fungi. *Lett. Appl. Microbiol.* **31**, 289-293.
 20. Tang, Y. W. and J. Bonner. 1947. The enzymatic inactivation of indoleacetic acid I. Some characteristics of the enzyme contained in pea seedlings. *Arch. Biochem.* **13**, 17-25.
 21. Verma, S. C., J. K. Ladha and A. K. Tripathi. 2001. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *J. Biotechnol.* **91**, 127-141.