

## Aspergillus sp. PS-104의 분생포자 생활력에 미치는 첨가제 효과

강선철\* · 김은량

대구대학교 생명공학과

(2007년 2월 21일 접수, 2007년 3월 8일 수리)

### Effect of Additives on the Conidial Viability of *Aspergillus* sp. PS-104

Sun-Chul Kang\*, and Eun-Lyang Kim (Department of Biotechnology, Daegu University, Gyungsan 712-714, Korea)

**ABSTRACT:** A fungus, *Aspergillus* sp. PS-104, with the high phosphate-solubilizing activities was isolated from Korean upland soil and formulated into a solid powder type with various additives. For the long-time preservation of conidia, some additives (Tween 80, SDS, Triton X-100, glucose, glycerol, corn oil, bio-ceramic, PEG 200,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mo}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$ ) were supplemented in the rice-cooked hard medium with various concentrations (0, 0.001, 0.01, 0.1, 1.0 and 5.0%). In case of surfactants, the highest relative viability of the *Aspergillus* sp. PS-104 conidia was recorded nearly to 80% by the addition of 0.01 to 0.1% Tween 80, while 50% in control. The number of conidia were found to be about 100 times higher when treated at 0.01 to 0.1% Tween 80 as compared to control. Relative viability of the conidia was decreased in order of Tween 80  $\geq$  SDS > Triton X-100 during the storage at 25°C. As regards the organic additives, the relative viability of *Aspergillus* sp. PS-104 conidia was also recorded nearly to 80% by the addition of 1.0% bio-ceramic, and 5.0% glucose and sucrose during the storage at 25°C. In case of metal ions, the relative viability of *Aspergillus* sp. PS-104 conidia was decreased in order of  $\text{Cu}^{2+}$  >  $\text{Ca}^{2+}$  >  $\text{Mo}^{3+}$  >  $\text{Zn}^{2+}$  >  $\text{Fe}^{2+}$  during the storage at 25°C.

**Key Words:** Phosphate-solubilizing microorganism, *Aspergillus* sp. PS-104, additives, bio-ceramic

## 서 론

미생물을 이용한 biofertilizer의 개발은 미국, 일본, 인도, 중국 등지에서 질소고정균인 VAM(vesicular-arbuscular mycorrhizae)<sup>1-4)</sup>과 *Rhizobium*이 주로 연구되어<sup>5,6)</sup> 세계 각지에서 생산하고 있으며, 특히 미국에서는 VAM과 인산가용화균의 혼용에 대하여 연구가 이루어지고 있다<sup>7)</sup>. 국내에서도 환경농업의 중요성이 인식되면서 여러 대학 및 연구소에서 미생물제제에 대한 연구를 시작하고 있으나 균주선발 및 배양특성 조사, 포장시험 등에 관한 폭넓은 연구의 부족으로 아직 실험실 수준의 초보적인 단계에 머무르고 있다<sup>8-10)</sup>. 2,000년대에는 환경보존을 위한 갖가지 규제강화로 화학비료에 대한 제약이 심화될 것으로 판단되기 때문에 난용성 인산염을

효율적으로 분해하여 작물이 필요로 하는 인산질 비료성분을 충분히 공급해 줄 수 있는 biofertilizers의 개발은 중요한 과제가 될 것이다.

인산가용화균을 이용한 환경친화형 생물비료의 개발노력은 부단히 이루어져 왔다. 이미 1950년대에 러시아와 동유럽에서 불용성 인산을 가용화시킬 수 있는 미생물(phosphobacteria)을 분리하여 토양에 처리한 결과 작물의 인산 흡수를 증대시킬 수 있었으며 평균 10%의 수량 증가를 보았다<sup>11)</sup>. 1980년대는 *Penicillium bilaji* 등의 사상균이 인산의 흡수를 증대시키는 것으로 밝혀졌다<sup>12)</sup>. 최근에는 토양에 천연 인광석을 시비하거나 *Bacillus megaterium*<sup>13)</sup>, *B. polymyxa*<sup>13)</sup>, *Pseudomonas striata*<sup>13,14)</sup>, *Pseudomonas* sp.(PI18/89)<sup>15)</sup>, *Penicillium simplicissimum*<sup>16)</sup>, *P. aurantiogriseum*<sup>17)</sup>, *P. bilaii*<sup>12)</sup>, *Aspergillus awamori*<sup>14,18)</sup>, *A. aculeatus*<sup>19)</sup>, *A. niger*<sup>16)</sup> 등의 인산가용화균을 biofertilizers로 사용했을 때 곡물류, 콩과 식물류, 감자류, 기타 작물들의 생산량이 증대하는 것으로 보고되고 있다<sup>11)</sup>.

\*연락처:

Tel: +82-53-850-6553 Fax: +82-53-850-6559

E-mail: sckang@daegu.ac.kr

한편 인은 식물체에서 핵산, 인지질, phytates 등의 중요 구성성분이며 식물성장에 필요한 에너지 대사에서도 중요한 역할을 한다. 인비료의 일종인 인광석을 작물에 사용하였을 때 토양중의 인산가용화균의 작용으로 식물에 이용될 수 있다<sup>20)</sup>. 그러나 토양에 잔존하는 인산가용화균은 그 수가 매우 적고 인산가용화 활성이 낮으므로 환경친화적인 유기농법에 적당하지 않다. 따라서 인산가용화능이 우수한 미생물을 생물비료(biofertilizers)로 개발하여 인광석과 같이 섞어 사용하면 작물의 인 공급 효과를 높일 수 있는 하나의 방법이 된다.

본 연구팀은 인산가용화균을 생물비료로 개발하기 위하여 인산염 분해능이 우수한 사상균을 토양으로부터 분리·동정하였으며 이 균주가 *Penicillium* sp. GL-101, *Penicillium* sp. PS-113, *Fomitopsis* sp. PS 102, *Aspergillus* sp. PS-104임을 밝혔다<sup>10,21,22)</sup>. 이들 사상균은 액체배양시 tricalcium-phosphate, rock phosphate, aluminium phosphate, hydroxyapatite 등의 불용성 인산염을 분해하여 다량의 유리인산을 생성하였다. 또한 이들 사상균 중에서 *Penicillium* sp. GL-101의 유리인산 생성기작을 연구한 결과 균체 성장에 따른 citric acid 생성에 의한 산성화가 주원인이며, 이 외에도 이 균주는 phosphatase를 생성분비함으로써 인산을 가용화시키는 것으로 밝혀졌다<sup>23)</sup>. 이 균주를 생물비료화하기 위한 다음 단계로 batch culture를 시도하였으나 배양용 배지에서 상당한 크기의 mycelial pellet이 형성되었다. 일반적으로 mycelial pellet이 형성되면 표면적 감소에 따른 산소 및 영양분 흡수를 감소, 성장률 감소 등의 비효율적 배양 특성이 나타난다<sup>24)</sup>. 따라서 이 균주의 배양균체를 액상으로 대량생산하기 위해서는 pellet 형성을 억제하는 배양기법이 필수적으로 요구된다<sup>25-33)</sup>. 현재까지 본 연구팀은 *Penicillium* 및 *Aspergillus* sp. 등 생물공학적으로 중요한 사상균을 대량 배양할 때 pellet 형성을 억제하거나 pellet의 크기를 줄일 수 있는 몇 가지 방안으로서 배양환경의 조절과 황토, 유화제, PEG 200 등의 첨가제 효과를 보고하였다<sup>34,35)</sup>.

본 연구에서는 *Aspergillus* sp. PS-104를 공시균주로 사용하여 이 균주의 제재화를 위한 필수단계로서 균체 자체보다 월등히 생존력이 높은 분생포자를 이용하여 저장성 시험을 수행하였다. 즉 배양하여 수확된 분생포자를 다양한 첨가제와 섞은 후 이들 각각을 6개월간 장기저장하면서 일정한 간격으로 생존포자수를 측정함으로써 분생포자 생활력에 미치는 첨가제의 효과를 조사함으로써 분말제재화를 위한 기초자료로 활용하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 공시균주, 배지 및 시약

공시균주는 본 연구실에서 인산가용화능이 우수한 균주를 탐색하여 발토양으로부터 선별 및 분리한 *Aspergillus* sp. PS-104 균주를 사용하였다. 이 균주는 PDA(potato dextrose

agar: potatoes infusion 200 g, dextrose 20 g, agar 15 g) 배지에서 배양하여 유지하였으며, 액체배양 시에는 PDA 배지에서 agar를 제외한 PDB(potato dextrose broth) 배지를 사용하였다. 균접종원으로 실험에 사용된 분생포자는 공시균주를 PDA 배지에서 25°C로 10일간 배양하여 형성된 포자이며, hemocytometer를 이용하여 현미경 하에서 정확히 포자수를 측정하여 사용하였다. 또한 배양배지에 첨가한 SiO<sub>2</sub>, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, CaCO<sub>3</sub>, CaSO<sub>4</sub>, MgCO<sub>3</sub> 및 SDS (sodium dodecyl sulfate), Tween(polyoxyethylsorbitan) 80, PEG(polyethylene glycol) 200, Triton X-100, CaCl<sub>2</sub>, ZnCl<sub>2</sub>, CuCl<sub>2</sub>, FeCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, MoCl<sub>3</sub> 등의 각종 시약은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, USA) 제품을 사용하였다.

### 인산가용화균의 고체배양

인산가용화균 PS-104의 분생포자(conidia)를 대량생산하기 위하여 쌀을 이용한 고체배지를 제조하였다. 배지 원재료의 전처리 과정은 쌀을 마쇄하지 않고 고두밥으로 만들어 사용하였다. 이렇게 준비한 배양용 원재료를 각각 5 g씩 정량한 후 50 ml의 conical tube에 넣고 121°C에서 30분간 멸균하여 배지를 제조하였다. 그리고 배지의 수분함량은 배지를 멸균한 후 멸균수를 첨가하여 최종적으로 50%로 조절하였다.

### 고체분말 제형화

인산가용화균의 포자를 6개월 이상 장기보존함과 동시에 균의 생활력 유지를 위하여 고두밥을 이용한 배지에서 배양한 균체에 증량제로서 diatomite, bentonite, zeolite 등의 점토광물을 1 : 9(v/v)의 비율로 첨가하였다.

### 분생포자 생활력에 미치는 첨가제의 효과

포자의 장기보존 중 생활력 유지를 위하여 계면활성제(Tween 80, SDS, Triton X-100) 및 2가 금속이온 Ca<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> 및 3가 금속이온 Mo<sup>3+</sup>을 각각 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1.0%(v/v) 농도로 첨가하여 생활력에 미치는 영향을 시험하였다. 그리고 각종 유기물(PEG 200, glycerol, 식용유, 종합 vitamin, 설탕, 당밀)도 각각 0, 0.01, 0.1, 1.0, 5.0%(v/v) 농도로 첨가하여 2주, 4주, 2개월, 4개월, 6개월간 보관하면서 생활력을 검정하였다. 이상의 인산가용화균의 장기보존 시험의 생활력 검정에 관한 모든 실험은 3회 반복 수행하여 평균값을 구함으로써 실험오차를 최소화하였다.

## 결과 및 고찰

### 계면활성제가 인산가용화균의 생활력 유지에 미치는 영향

인산가용화균 *Aspergillus* sp. PS-104의 포자를 6개월 이상 장기보존함과 동시에 균의 생활력 유지를 위하여 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1.0%의 다양한 농도의 계면활성제(Tween 80, SDS, Triton X-100)를 첨가하여 상온(25°C)에서 보관한 후

2주, 4주, 2개월, 4개월, 6개월 간격으로 시료를 채취하여 PDA 평판배지에서의 균수를 측정하였다.

그 결과 계면활성제 처리 후 저장기간에 따른 균의 생활력은 Tween 80 > SDS > Triton X-100 순으로 감소하였다 (Fig. 1 ~ Fig. 3).

즉, Tween 80과 SDS를 0.01~0.1% 농도로 처리 후 6개월 저장시 균의 생활력을 비교한 결과 Tween 80이 SDS 처리구보다 균의 생활력이 조금 높았으며 대조구에 비해서 약 100배 높은 수준이었다. 이들 결과는 *Aspergillus sp.* PS-104 균주의 포자 생활력이 Tween 80 및 SDS를 0.001~1.0% 첨가했을 때 균의 생활력이 대조구에 비해 10배 이상 증가한 *Penicillium sp.* PS-113 균주보다 훨씬 더 높다는 것을 보여 주고 있다(미발표). 또한 이들 처리구는 Triton X-100 처리구보다 균의 생활력이 1.2~6배 정도 높게 나타났다.

이상의 결과를 종합하면 Tween 80을 0.01%~1.0% 농도로 첨가하여 장기간 저장시 다른 계면활성제보다도 균의 생활력을 높게 유지함을 알 수 있었다. 따라서 6개월째 상대 생존율이 80%에 이르렀으며, 이에 비해 대조구는 약 50%

수준이었다.

**각종 유기물이 인산가용화균의 생활력 유지에 미치는 영향**

인산가용화균 *Aspergillus sp.* PS-104의 포자를 6개월 동안 장기보존함과 동시에 균의 생활력 유지를 위하여 다양한 농도의 유기물(PEG 200, glycerol, 식용유, vitamins, glucose, 설탕, 당밀, bio-ceramic)을 첨가하여 25℃에서 보관한 후 2주, 4주, 2개월, 4개월, 6개월 간격으로 시료를 채취하여 PDA 평판배지에서의 균수를 측정하였다(Fig. 4 ~ Fig. 11).

그 결과 각종 유기물을 1.0% 농도로 처리 후 저장기간에 따른 균의 생활력은 맥반석 > vitamins > 설탕 > glucose > 식용유 > 당밀 > glycerol > PEG 200 순으로 감소하였다. 즉 맥반석의 경우 1.0% 농도로 처리 후 6개월 저장시 균의 생활력은 대조구에 비해서 120배 높았으며 고농도로 처리 후 저장시 균의 생활력이 현저히 감소하였다(Fig. 4). 이것은 맥반석을 고농도로 처리 후 장기간 저장시 균이 제대로 맥반석에 적응하지 못하여 균의 생활력이 감소한 것으로 사료된다. Vitamins,

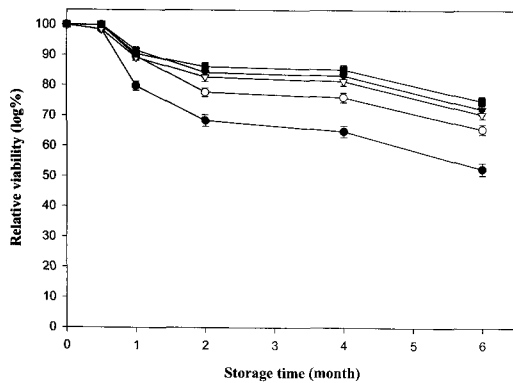


Fig. 1. Effect of Tween 80 on relative viability of *Aspergillus sp.* PS-104 conidia during the storage at 25°C. ●-●; 0%, ○-○; 0.001%, ▼-▼; 0.01%, ▽-▽; 0.1%, ■-■; 1.0%

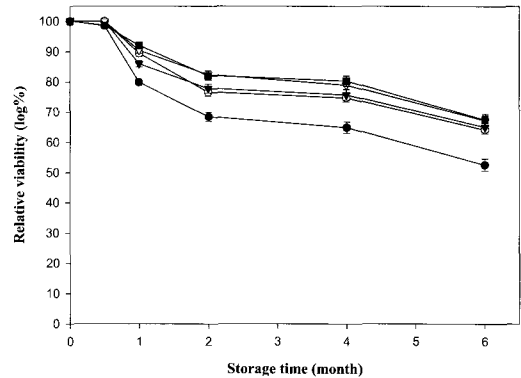


Fig. 3. Effect of Triton X-100 on relative viability of *Aspergillus sp.* PS-104 conidia during the storage at 25°C. ●-●; 0%, ○-○; 0.001%, ▼-▼; 0.01%, ▽-▽; 0.1%, ■-■; 1.0%

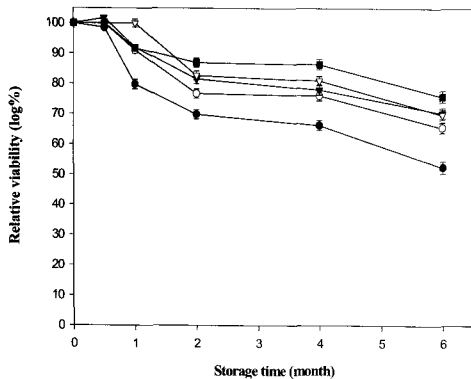


Fig. 2. Effect of SDS on relative viability of *Aspergillus sp.* PS-104 conidia during the storage at 25°C. ●-●; 0%, ○-○; 0.001%, ▼-▼; 0.01%, ▽-▽; 0.1%, ■-■; 1.0%

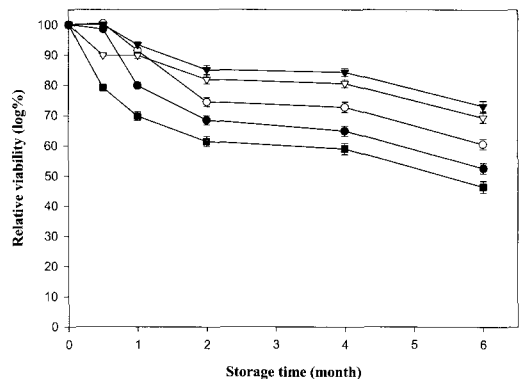


Fig. 4. Effect of bio-ceramics on relative viability of *Aspergillus sp.* PS-104 conidia during the storage at 25°C. ●-●; 0%, ○-○; 0.1%, ▼-▼; 1%, ▽-▽; 10%, ■-■; 100%

설탕 glucose 및 당밀의 경우 1.0% 농도로 처리 후 6개월 저장시 균의 생활력은 대조군에 비해서 각각 70, 54, 44, 23배 증가하였다(Fig. 5~9). 특히 설탕과 glucose을 5.0% 농도로 처리 후 6개월 저장시 균의 생활력을 조사한 결과 균의 생활력이 대조군에 비해서 각각 116, 82배 증가하였다. 이것은 장기간 저장시 균이 glucose와 설탕을 탄소원으로 잘 이용하는 것으로 사료된다. PEG 200과 glycerol의 경우 1.0% 농도로 처리 후 6개월 저장시 균의 생활력은 대조군에 비해서 각각 11, 13배 증가하였으며 5.0% 농도에서는 균의 생활력이 1.0%와 비슷하였다(Fig. 10~11). 이들 결과는 포자를 장기간 저장시 PEG와 glycerol의 경우 1.0% 농도에서 균의 생활력이 높게 유지됨을 나타낸다. 또한 본 연구팀에 의해 분리된 인산가용화균 *Penicillium* sp. PS-113의 경우 PEG를 0.1% 첨가했을 때 균의 생활력이 대조군에 비해 10배 이상 증가된 것과는 달리 *Aspergillus* sp. PS-104 균주의 경우에는 1.0%의 높은 농도에서 유사한 결과가 나타났다(미발표). 이상의 결과를 종합하면 유기물 중에서는 1.0% 백반석,

5.0% glucose 및 설탕을 첨가하였을 때가 장기 보존시 우수함을 확인하였다. 따라서 6개월에서의 상대생존율도 80%에

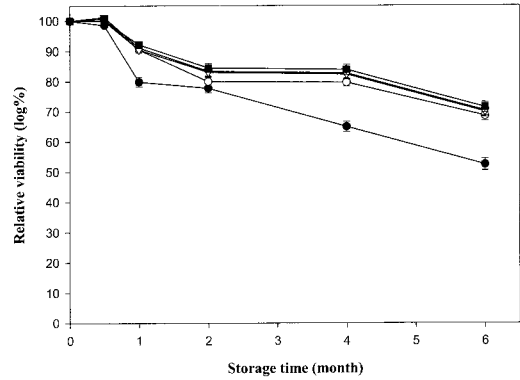


Fig. 7. Effect of vitamin as an organic additive on relative viability of *Aspergillus* sp. PS-104 conidia during the storage at 25°C. ●-● ; 0%, ○-○; 0.001%, ▼-▼ ; 0.01%, ▽-▽ ; 0.1%, ■-■ ; 1.0%.

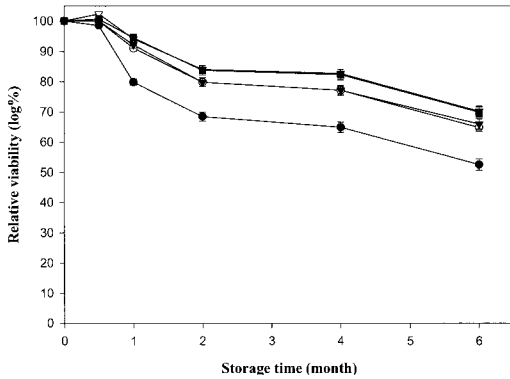


Fig. 5. Effect of corn oil as an organic additive on relative viability of *Aspergillus* sp. PS-104 conidia during the storage at 25°C. ●-● ; 0%, ○-○ ; 0.01%, ▼-▼ ; 0.1%, ▽-▽ ; 1%, ■-■ ; 5%.

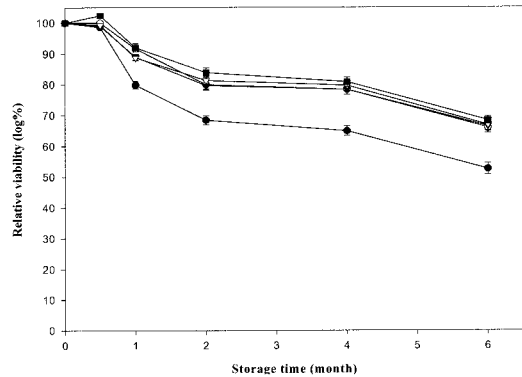


Fig. 8. Effect of molasses as an organic additive on relative viability of *Aspergillus* sp. PS-104 conidia during the storage at 25°C. ●-● ; 0%, ○-○ ; 0.01%, ▼-▼ ; 0.1%, ▽-▽ ; 1%, ■-■ ; 5%.

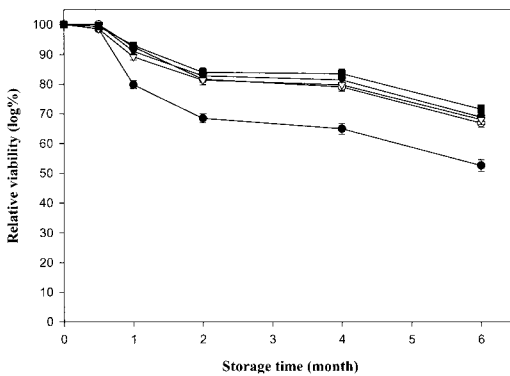


Fig. 6. Effect of glucose as an organic additive on relative viability of *Aspergillus* sp. PS-104 conidia during the storage at 25°C. ●-● ; 0%, ○-○ ; 0.01%, ▼-▼ ; 0.1%, ▽-▽ ; 1%, ■-■ ; 5%.

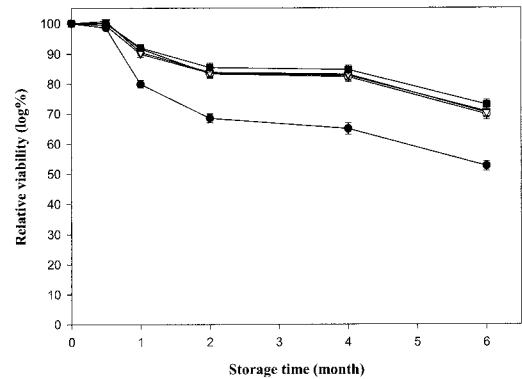


Fig. 9. Effect of sugar as an organic additive on relative viability of *Aspergillus* sp. PS-104 conidia during the storage at 25°C. ●-● ; 0%, ○-○ ; 0.01%, ▼-▼ ; 0.1%, ▽-▽ ; 1%, ■-■ ; 5%.

이르렀으며, 이에 비해 대조구는 약 50% 수준이었다.

**미량원소가 인산가용화균의 생활력 유지에 미치는 영향**

인산가용화균 *Aspergillus* sp. PS-104의 포자를 6개월 동안 장기보존함과 동시에 균의 생활력 유지를 위하여 다양한 농도의 금속이온( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mo}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ )을 첨가하여 25°C에서 보관한 후 2주, 4주, 2개월, 4개월, 6개월 간격으로 시료를 채취하여 PDA 평판배지에서의 균수를 측정하였다 (Fig. 12~Fig. 16). 그 결과 각종 금속이온을 0.1~1.0% 농도로 처리했을 때 가장 좋은 결과를 보여주었다. 이 조건에서의 저장기간에 따른 균의 생활력은  $\text{Cu}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Mo}^{3+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Fe}^{2+}$  순으로 감소하였다. 즉  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mo}^{3+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  및  $\text{Fe}^{2+}$ 의 경우 0.1% 농도로 처리 후 6개월 저장시 균의 생활력은 대조구에 비해서 각각 92, 44, 21, 15, 8배 증가하였으며  $\text{Zn}^{2+}$ 와  $\text{Fe}^{2+}$ 을 제외한 다른 금속이온은 1.0% 농도에서 균의 생활력이 다소 감소한 것으로 나타났다. 이들 결과는 *Aspergillus*

sp. PS-104 균주의 포자 생활력이  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$  등의 금속이온을 첨가했을 때 포자의 생활력이 대조구에 비해 2배 이상

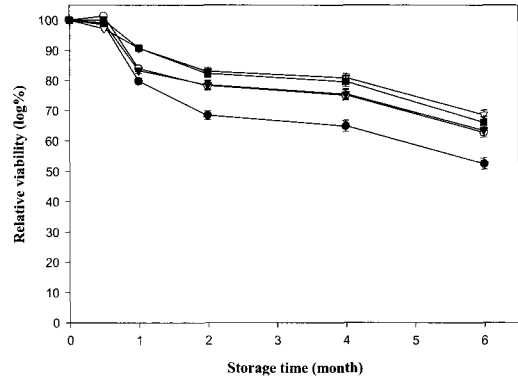


Fig. 12. Effect of  $\text{Ca}^{2+}$  ion as an additive on relative viability of *Aspergillus* sp. PS-104 conidia during the storage at 25°C. ●-● ; 0%, ○-○ ; 0.001%, ▼-▼ ; 0.01%, ▽-▽ ; 0.1%, ■-■ ; 1.0%.

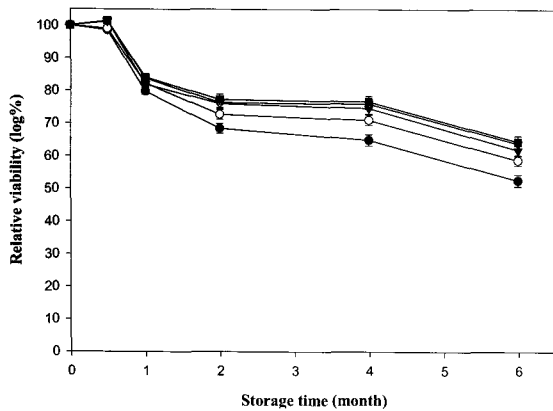


Fig. 10. Effect of PEG 200 on relative viability of *Aspergillus* sp. PS-104 conidia during the storage at 25°C. ●-● ; 0%, ○-○ ; 0.01%, ▼-▼ ; 0.1%, ▽-▽ ; 1%, ■-■ ; 5%.

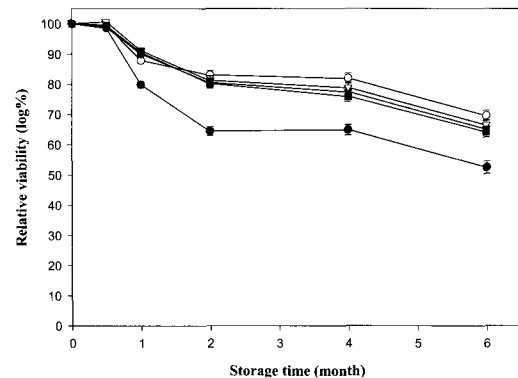


Fig. 13. Effect of  $\text{Mo}^{3+}$  ion as an additive on relative viability of *Aspergillus* sp. PS-104 conidia during the storage at 25°C. ●-● ; 0%, ○-○ ; 0.001%, ▼-▼ ; 0.01%, ▽-▽ ; 0.1%, ■-■ ; 1.0%.

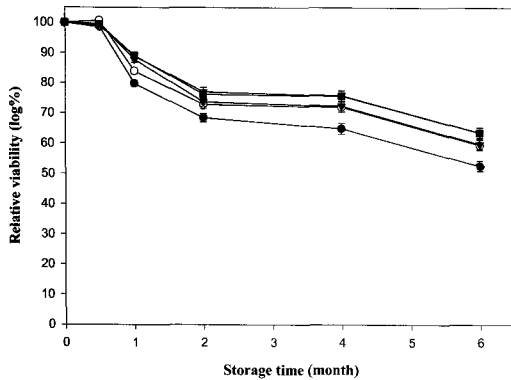


Fig. 11. Effect of glycerol as an organic additive on relative viability of *Aspergillus* sp. PS-104 conidia during the storage at 25°C. ●-● ; 0%, ○-○ ; 0.01%, ▼-▼ ; 0.1%, ▽-▽ ; 1%, ■-■ ; 5%.

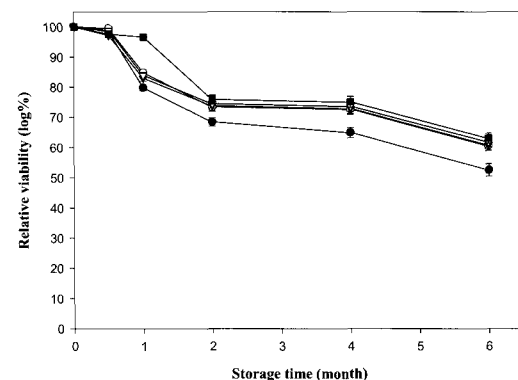


Fig. 14. Effect of  $\text{Fe}^{2+}$  ion as an additive on relative viability of *Aspergillus* sp. PS-104 conidia during the storage at 25°C. ●-● ; 0%, ○-○ ; 0.001%, ▼-▼ ; 0.01%, ▽-▽ ; 0.1%, ■-■ ; 1.0%.

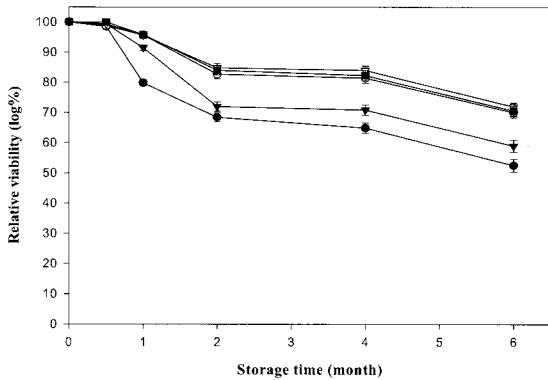


Fig. 15. Effect of  $\text{Cu}^{2+}$  ion as an additive on relative viability of *Aspergillus* sp. PS-104 conidia during the storage at 25°C. ●-● ; 0%, ○-○ ; 0.001%, ▼-▼ ; 0.01%, ▽-▽ ; 0.1%, ■-■ ; 1.0%.

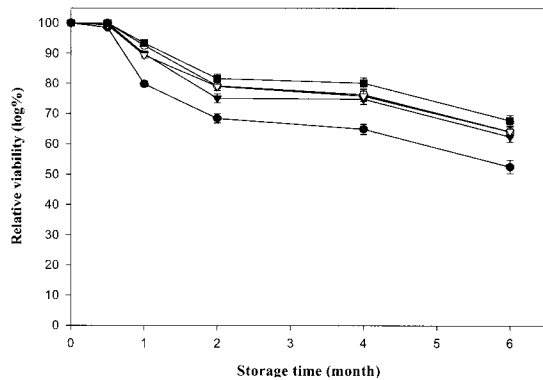


Fig. 16. Effect of  $\text{Zn}^{2+}$  ion as an additive on relative viability of *Aspergillus* sp. PS-104 conidia during the storage at 25°C. ●-● ; 0%, ○-○ ; 0.001%, ▼-▼ ; 0.01%, ▽-▽ ; 0.1%, ■-■ ; 1.0%.

증가한 *Penicillium* sp. PS-113 균주보다 훨씬 더 높다는 것을 보여주고 있다(미발표).

### 감사의 글

본 연구는 2001년도 대구대학교 학술연구비 지원에 의하여 수행된 연구결과이며 연구비 지원에 대하여 감사드립니다.

### 요약

포자의 장기보존 중 생활력 유지를 위하여 계면활성제 (Tween 80, SDS, Triton X-100) 및 2가 금속이온  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  및 3가 금속이온  $\text{Mo}^{3+}$ 를 각각 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1.0%(v/v) 농도로 첨가하여 생활력에 미치는 영향을 조사하였다. 또한 각종 유기물(PEG 200, glycerol, 식용유, 종합 vitamin, 설탕, 당밀)도 각각 0, 0.01, 0.1, 1.0, 5.0%(v/v) 농도로 첨가하여 2주, 4주, 2개월, 4개월, 6개월

간 보관하면서 생활력을 검정하였다. 계면활성제 중 Tween 80을 0.01%~1.0% 농도로 첨가하여 6개월 저장시 상대생존율이 80%에 이르렀으며, 이에 비해 대조구는 약 50% 수준이었다. 이때 분생포자수는 대조구에 비해서 약 100배 높은 수준이었다. 계면활성제 처리 후 저장기간에 따른 균의 생활력은 Tween 80>SDS>Triton X-100 순으로 감소하였다. 유기물 중에서 1.0% 맥반석, 5.0% glucose 및 설탕을 첨가하였을 때가 장기보존시 우수함을 확인하였으며 6개월 경과시 대조구는 초기에 비해 50%의 상대생존율을 보였으나 1.0% 맥반석 첨가시 상대생존율은 약 80%의 높은 수준을 유지하였다. 각종 금속이온을 0.1% 농도로 처리 후 저장기간에 따른 균의 생활력은  $\text{Cu}^{2+}$ > $\text{Ca}^{2+}$ > $\text{Mo}^{3+}$ > $\text{Zn}^{2+}$ > $\text{Fe}^{2+}$  순으로 감소하였다.

### 참고문헌

- Bolan, N. S. (1991) A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil* 65, 189-207.
- Elmes, R. P. and Mosse, B. (1984) Vesicular-arbuscular endo mycorrhizae inoculum production. II. Experiments with maize(*Zea mays*) and other hosts in nutrient flow culture. *Can. J. Bot.* 62, 1531-1536.
- Jensen, A. (1982) Influence of four vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on nutrient uptake and growth in Barley(*Hordeum vulgare*). *New Phytol.* 90, 45-50.
- Menge, J. A. (1983) Utilization of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture. *Can. J. Bot.* 61, 1015-1024.
- Kumar, H., Arora, N. K., Kumar, V. and Maheshwari, D. K. (1999) Isolation, characterization and selection of salt tolerant Rhizobia nodulating *Acacia catechu* and *A. nilotica*. *Symbiosis* 26, 279-288.
- Craig, G. F., Atkins, C. A. and Bell, D. T. (1991) Effect of salinity on growth of four strains of *Rhizobium* and their infectivity and effectiveness on two species of *Acacia*. *Plant and Soil* 133, 253-262.
- Kim, K. Y., Jordon, D. and McDonald, G. A. (1988) Effect of Phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. *Biol. Fertil. Soils.* 26, 79-87.
- Kim, H. O., Uo, Z. K., Lee, S. C. and Kucey, R. M. N. (1984) Mycorrhizae distribution and rock

- phosphate dissolution by soil fungi in the citrus fields in Jeju-do. *Cheju Natl. Univ. J.* 17, 45-50.
9. Suh, J. S., Lee, S. K., Kim, K. S. and Seong, K. Y. (1995) Solubilization of insoluble phosphates by *Pseudomonas putida*, *Penicillium* sp. and *Aspergillus niger* isolated from Korean soils. *J. Korean Soc. Soil Sci. Fert.* 28, 278-286.
  10. Choi, M. C., Chung, J. B., Sa, T. M., Lim, S. U. and Kang, S. C. (1997) Solubilization of insoluble phosphates by *Penicillium* sp. GL-101 isolated from soil. *Agric. Chem. Biotechnol.* 40, 329-333.
  11. Dubey, S. K. and Billore, S. D. (1992). Phosphate solubilizing microorganism(PSM) as inoculant and their role in augmenting crop productivity in india - A review. *Crop Res. Hisar.* 5, 11.
  12. Kucey, R. M. N. (1988) Effect of *Penicillium bilaji* on the solubility and uptake of P and micronutrients from soil by wheat. *Can. J. Soil Sci.* 68, 261-270.
  13. Tiwari, V. N., Pathak, A. N. and Lehri, L. K. (1993) Rock phosphate-superphosphate in wheat in relation to inoculation with phosphate solubilizing organism and organic waste. *Ind. J. Agr. Res.* 27, 137-145.
  14. Agasimani, C. A., Mudlagiriappa and Sreenivasa, M. N. (1994) Response of groundnut to phosphate solubilizing microorganisms. *Groundnut News* 6, 5.
  15. Illmer, P., Barbato, A. and Schinner, F. (1995) Solubilization of hardly-soluble  $AlPO_4$  with P-solubilizing microorganisms. *Soil Biol. & Biochem.* 27, 265-270.
  16. Sayer, J. A., Raggett, S. L. and Gadd, G. M. (1995) Solubilization of insoluble metal compounds by soil fungi: Development of a screening method for solubilizing ability and metal tolerance. *Mycological Res.* 99, 987-993.
  17. Illmer, P. and Schinner, F. (1995) Solubilization of inorganic calcium phosphates-solubilization mechanisms. *Soil Biol. & Biochem.* 27, 257-263.
  18. Varsha, N., Jugnu, T. and Patel, H. H. (1993) Solubilization of natural rock phosphates and pure insoluble inorganic phosphates by *Aspergillus awamori*. *Ind. J. Exp. Biol.* 31, 747-749.
  19. Varsha, N., Jugnu, T. and Patel, H. H. (1995) Mineral phosphate solubilization by *Aspergillus aculeatus*. *Ind. J. Exp. Biol.* 33, 91-93.
  20. Paul, E. A. and Clark, F. E. (1989) Soil Microbiology and Biochemistry. Academic press, New York, USA.
  21. Kang, S. C. and Choi, M. C. (1998) Isolation and cultural characteristics of a phosphate-solubilizing fungus, *Penicillium* sp. PS-113. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 13, 497-501.
  22. Kang, S. C., Ha, C. G., Lee, T. G. and Maheshwari, D. K. (2002) Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a soil-inhabiting fungus *Fomitopsis* sp. PS 102. *Curr. Sci.* 82, 439-442.
  23. Kang, S. C., Yang, M. O. and Tae, U. H. (2001) Mechanism of free phosphate production by *Penicillium* sp. GL-101, phosphate solubilizing fungus, in the submerged culture. *Korean J. Environ. Agric.* 20, 1-7.
  24. Byrne, G. S. and Ward, O. P. (1989) Effect of nutrition on pellet formation by *Rhizopus arrhizus*. *Biotechnol. Bioeng.* 33, 912-914.
  25. Adamek, L. (1963) Submerged cultivation of the fungus *Metarhizium anisopliae*(Metch.). *Folia Microbiologia* 10, 255-257.
  26. Inch, J. M. M. and Trinci, A. P. J. (1987) Effects of water activity on growth and sporulation of *Paecilomyces farinosus* in liquid and solid media. *J. Gen. Microbiol.* 113, 247-252.
  27. Humphreys, A. M., Matewale, P., Trinci, A. P. J. and Gillespie, A. T. (1989) Effects of water activity on morphology, growth and blastospore production of *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces farinosus* in fed-batch culture. *Mycol. Res.* 92, 257-264.
  28. Kleespies, R. G. and Zimmermann, G. (1992) Production of blastospores by three strains of *Metarhizium anisopliae* (Metch.) sorokin in submerged culture. *Biocontrol Sci. and Technol.* 2, 127-135.
  29. Metz, B. and Kossen, N. W. F. (1977) The growth of molds in the form of pellets. *Biotechnol. Bioeng.* 19, 781-799.
  30. Elmayergi, H. (1975) Mechanisms of pellet formation of *Aspergillus niger* with an additive. *J. Ferment. Technol.* 53, 722-729.
  31. Takahashi, J. and Yamada, K. (1959) Studies on the effects of some physical conditions on the submerged mold culture. II. On the two types of pellet formation in the saking culture. *J. Agric. Chem.* 33, 707-710.
  32. Wainwright, M. P., Trinci, A. P. J. and Moore, D. (1993) Aggregation of spores and biomass of

- 
- Phanerochaete chrysosporium* in liquid culture and the effect of anionic polymers on this process. *Mycol. Res.* 97, 801-806.
33. Jimenez-Tobon, G. A., Penninckx, M. J. and Lejeune, R. (1997). The relationship between pellet size and production of Mn(II) peroxidase by *Phanerochaete chrysosporium* in submerged culture. *Enzyme Microbiol. Technol.* 21, 537-542.
34. Kang, S. C., Lee, D. G., Ha, C. G. and Lee, T. G. (1999) Culture conditions and additives affecting to the mycelial pellet size of *Penicillium* sp. GL-101 in the submerged culture. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 42, 188-192.
35. Kang, S. C., Koo, B. S. and Tae, U. H. (2002) Effects of loess on the mycelial pellet formation of phosphate-solubilizing fungus, *Aspergillus* sp. PS-104 in the submerged culture. *Korean J. Environ. Agric.* 21, 17-23.
-