

토양에서 식물생육촉진 활성을 가진 균주 *Bacillus subtilis* YK-5의 분리 및 특성

여수환¹ · 육영민² · 김현수*

¹농촌진흥청 농업과학기술원, ²(주)계명 바이오테크, 계명대학교 자연과학대학 미생물학과

Isolation and Characterization of Plant Growth Promoting Rhizobacterium *Bacillus subtilis* YK-5 from Soil

Soo-Hwan Yeo¹, Young-Min Yook², and Hyun-Soo Kim*

Department of Microbiology, College of Natural Science, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea.

¹Department of Korean Food Research for Globalization, NAAS, RDA, 160, Nokjiro, Gwonsun-gu, Suwon, 441-853, Korea,

²Keimyung Biotech Co., Seonnam Myeon, Seongju Gun, Gyeongsangbukdo 719-832, Korea.

Abstract For the isolation of a plant growth-promoting rhizobacteria, strain YK-5 was selected from approximately 400 thermostable strains isolated from special soil samples. Strain YK-5 produced an antifungal compound, and optimum carbon and nitrogen sources for the production of the antifungal compound were investigated against *Aspergillus flavus* as a test strain. Modified LB medium containing 1% peptone, 1% yeast extract and 5% black sugar was determined to be the optimal medium for growth and antifungal compound production. Culture broth of strain YK-5 potentially inhibited growth of the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* KACC 40052 for 7 days. The plant growth-promotion function of strain YK-5 was tested against radish and rice in pot trials. Leaf number, plant height and root length in YK-5-treated radish markedly exceeded (> 60%) those of untreated radish. Leaf length and white rootlet development were markedly more prominent than in commercially-treated rice plants. Strain YK-5 was determined to be *Bacillus subtilis* YK-5 by physiological, chemotaxonomical, and phylogenetical analyses.

Keywords: Plant growth-promoting rhizobacteria, antifungal activity, *Bacillus subtilis* YK-2, phytopathogenic fungi

서 론

식물의 뿌리주변의 토양은 다른 부위의 토양에 비해 무기물, 산소가 부족하고 CO₂와 유기물이 풍부한 환경을 형성하고 있다. 이들 토양환경에 있어 다양한 토양미생물이 서식하고 있으며, 뿌리주위의 토양부위를 근권 (rhizosphere), 그 토양을 근권토양 (rhizosphere soil)이라고 하며 뿌리에 존재하는 미생물은 내부근권 (endorrhizosphere), 뿌리의 표면 (rhizoplane), 뿌리근방의 토양 (근권, rhizosphere soil)

의 부분으로 분류한다. 근권에는 환경에 적응한 토양미생물군이 서식하며 비근권군과 비교하여 미생물의 종류, 활성, 생리적 성질이 다르다(1, 2).

근권미생물은 비근권미생물에 비해 일반적으로 protein, cellulose, starch, 각종 당류, gelatin 등의 분해활성, 탈질 활성, 호흡활성이 크며, 생리적 특징으로 영양 요구성이 단순하여 glucose, 무기염, 아미노산만을 요구하는 세균이 많다. 또한 미생물의 존재상태가 비근권미생물의 경우 일반적으로 휴면상태, 활성이 낮은 상태로 존재하나 근권미생물은 활발히 물질대사를 수행하고 있으며 새로운 기능의 토착유용미생물의 분리와 이용을 목적으로 한다.

근권미생물은 기능면에서 식물의 생육에 영향을 미치는 호세균군을 식물성장촉진 세균군 (PGPR, Plant growth-

*Corresponding author

Tel: +82-53-580-5284, Fax: +82-53-580-5509

e-mail: hskim@kmu.ac.kr

promoting rhizobacteria) 및 균류군 (PGPF, plant growth-promoting fungi)이 알려져 있으며, 세균으로는 *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azospillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia*, *Xanthomonas* 등이 있다(3, 4). 이들 PGPR세균의 식물성장 촉진 기능은 토양중의 유기태 및 불용성의 질소, 인, 황에 작용하여 무기물의 형태로 식물이 흡수하도록 가용화시키며, 이들 미생물이 생산하는 auxin, gibberelins, cytokins 같은 식물생육 조절인자인 식물호르몬 (phytohormone)의 생산, 철 이온과 친화성이 높은 가용성을 가지는 저분자량의 siderophores의 생산(4, 5, 6, 7, 8) 그리고 항균성 2차대사 산물을 생산하는 미생물이 다수 존재하여 병원균의 생육을 억제하여 감염을 방어하는 기능을 가지고 있다(9, 10, 11, 12).

근권미생물 중 식물에 장애를 미치는 병원미생물이 다수 존재하여 토양전염병 (soil-borne disease)이 문제가 되어 야채, 일반작물의 연작장애의 주된 원인이 되고 있다. 이들 토양병원균은 접근한 식물뿌리의 자극에 반응하여 활동을 개시하여 뿌리, 뿌리지하부, 토양과 접한 경엽에 침입하여 병을 유발시키는 생리적 특성을 가지고 있다. 따라서 토양 전염병의 방제를 위해 근년에 들어 지구환경보전형 농업을 지향하여 화학농약을 사용하지 않는 식물병해방제법이 강구되고 있다. 그 예로 토양미생물의 기능, 특성해명, 자연의 구조를 응용하는 연구 즉, 생물방제연구가 전 세계적으로 수행되고 있다. 최근에는 식물성장촉진능과 식물병원성 진균의 방제능을 동시에 가지는 PGPR균주에 대한 연구가 대두되어 활발히 진행 중에 있다(6).

본 연구는 우리 농촌의 경작토양에 사용하는 발효퇴비, 화학비료, 화학농약 등의 장기사용으로 인하여 토양중의 오염, 각종 불용성 염의 축적, 토양미생물의 생태적 변화 등으로 연작장애, 종자발아율의 저하, 작물 수확량의 저하 등의 문제를 해결하기 위한 일환으로 고온, 건조에 내성을 가진 유용토착미생물을 수종 분리하였다. 그 중 식물성장 촉진능과 식물병원성 진균의 방제능을 동시에 가지는 신균주로 동정된 토양세균의 분리 및 특성을 보고하고자 한다.

재료 및 방법

균주분리 및 사용배지

공시균주의 분리는 농가에서 사용하는 특수토양시료를 사용하여 증류수 9 mL에 각 토양 1 g을 첨가하여 10^1 , 10^3 으로 희석하여 NA (bacto peptone 0.5%, beef extract 0.3%, agar 1.5%, pH 7.2)배지에 0.1 mL씩 도말한 후 50°C에서 배양하여 400여개의 단일 colony를 분리하였다. 이들 분리균주는 LB액체 (peptone 1.0%, yeast extract 0.5%, NaCl 0.5%)에 접종하여 48~72시간 배양 후 육안으로 균 생육이 우수한 균의 배양액을 이용하여 식물성장촉진능을 검토하

였으며, 9개 균주가 기능이 우수한 균주로 선별되었다. 이들 중 가장 우수한 기능을 가진 균을 동정하였으며, 공시균으로 선발하였다. 공시균주 (*Bacillus subtilis* YK-5)는 LB액체배지에 접종하여 37°C, 36~48시간 전배양한 다음 5% black sugar가 함유된 LB액체배지에 전배양균 1%를 접종하여 37°C에서 5일간 본 배양을 수행하였다.

항진균성 물질의 생산 및 항균활성

공시균주의 항진균성물질의 생산은 시판중인 M사 및 S사의 제품과 비교하기 위해 대량생산 조건을 검토하였으며, LB기본배지에 다양한 탄소원 및 질소원을 사용하여 항진균성 물질의 생산능을 검토하였다. 각각의 배지에 분리균주를 1 백금이 접종한 후, 이들을 37°C, 160 rpm에서 5일간 배양하였다. 항진균 활성을 검토하기 위하여 공시균주의 배양액은 4°C에서 12,000 rpm, 10분간 원심분리 하여 상등액을 사용하였다. 항진균활성은 김 등(13)의 방법에 따라 시험균주인 *Aspergillus flavus*를 대상으로 agar diffusion법을 이용하였으며, PDA (potato starch 0.4%, dextrose 2%, agar 2%, pH 5.1)plate 위에 *Asp. flavus*포자 (1×10^8 spores/mL)를 도말한 후 상등액 20 μ L씩을 분주한 paper disc (Φ 8 mm, Whatman Co.)를 얹고, 25°C에서 3일간 배양하면서 생성된 clear zone의 크기로 항진균 활성을 확인하였다.

탄소원의 영향

항진균성 물질 생산에 미치는 탄소원의 영향을 알아보기 위하여 LB기본배지에 black sugar, dextrin, fructose, glucose, glycerol, maltose, soluble starch, sucrose를 각각 5% 첨가하여 동일조건에서 5일간 배양하였으며, 최적탄소원은 배양 상등액 중에 생산된 항진균성물질의 생산능으로 결정하였다. 항진균활성은 agar diffusion법을 이용하여 clear zone의 크기로서 확인하였다.

질소원의 영향

항진균성 물질 생산에 미치는 질소원의 영향을 검토하기 위하여 질소원을 제외한 LB기본배지에 유기질소원으로 asparagine, malt extract, meat extract, peptone, soybean meal, tryptone, urea, yeast extract와 무기질소원으로 NaNO_3 , NH_4Cl , NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 를 각각 1%로 첨가하여 배양하였다. 사용한 질소원에 대한 항진균 활성은 agar diffusion법으로 clear zone의 크기로 확인하였다.

공시균주의 식물병원균에 대한 길항효과

공시균주 YK-5의 식물병원균에 대한 방제효과는 식물병원균 *Fusarium oxysporum* KACC 40052균주를 대상으로 수행하였다. PDA 평판배지에서 충분히 생육시킨 식물

병원균 *F. oxysporum* KACC 4005균주의 agar piece (0.5cm × 0.5cm)를 제조하여 PDA 평판배지위에 얹고 24시간 배양한 다음, 최적배지에서 생육한 공시균주 YK-5의 배양액 20 μL를 paper disc에 첨가한 후 7일간 배양하여 시험균주에 대한 생육저해를 조사하였다.

공시균주의 생육촉진 포장시험

공시균주의 식물성장촉진능을 검토하기 위한 실험작물은 궁중무 및 벼를 대상으로 pot실험을 수행하였으며, 해당 씨앗을 petri-dish에서 발아시킨 후 모종을 이식하였다. 재배방법으로는 기존의 기비 (밑비료)는 동일하게 처리하고, 추비 (엽면시비)의 경우 10일 간격으로 3회 각 농도별로 처리하였다. 재배시험에 사용한 시료는 대조균으로 물과 시중 판매중인 미생물비료를 사용하였으며, 시험균은 본 공시균으로 5일간 배양한 배양액으로 제조한 제품을 비교 실험을 하였다. 재배실험은 무처리구, 기존제품 처리구, 본 공시균주 처리구로 구분하여 궁중무의 경우 이식 40일 경과 시에 30개의 작물을 채취하여 경엽의 수, 줄기의 길이, 뿌리의 길이 등 생육상태를 측정하여 비교하였으며, 벼의 경우 잎의 길이와 세근의 형성상태 등 뿌리의 발육상태를 비교하였다.

공시균주의 동정

토양에서 분리한 *Bacillus* sp. YK-5균주의 동정은 형태학적, 배양학적, 생리학적, 화학적 및 분자계통분류학적 분석을 통하여 수행하였으며, DNA 특정영역인 16S rDNA 염기서열 결정에 의한 분자계통분류학적 분석으로 동정하고자 했다. 16S rDNA의 염기서열 결정은 대장균 유래의 2개의 primer 9F[5'-GAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' (*Escherichia coli* 16S rRNA numbering)]와 1542R[5'-AGAAAGGAGGTGATCCAGCC-3'; 1542-1523]을 사용하였으며 Yoon 등의 방법(14)으로 16S rDNA를 증폭시켰다. 16S rDNA 염기서열은 PRISM dye dideoxy terminator cycle sequencing kit(Perkin-Elmer, Calif, USA)를 이용한 Applied Bio System Image (Calif, USA)모델 377의 자동 DNA sequencer를 사용하여 16S rDNA 염기서열을 분석하였다. 16S rDNA 염기서열은 NCBI (National Center for Biotechnology Information) Data library (Multiple Alignment Biochnology Information) Program(15)을 사용하여 이들이 가진 염기서열을 비교 분석하였다.

결과 및 고찰

식물성장촉진능을 가진 균주의 분리

농가에서 사용하는 특수토양시료로부터 분리한 400여개의

균주는 1차적으로 LB액체에 접종하여 48~72시간 배양 후 육안으로 균 생육이 우수한 균의 배양액을 이용하여 식물성장촉진능을 검토하였으며, 9개 균주가 기능이 우수한 균주로 선발되었다. 이들 9개의 선발균주 중 식물성장실험을 통해 식물성장촉진능이 가장 우수한 기능을 가진 균 (결과 미계제)을 본 연구의 공시균주 (*Bacillus* sp. YK-5)로 선정하였다.

항진균성 물질 생산 조건

공시균주는 생육촉진기능을 가지며 그의 식물병원균에 대한 방제기능을 확인하기 위하여 항진균성 물질생산능을 검토하였다. 항진균성물질 생산최적배지를 조사하기 위해 LB배지를 기본으로 탄소원 및 질소원에 대한 항진균성물질의 생산을 비교하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 시험균으로 *Asp. flavus*를 대상으로 agar diffusion법을 이용하여 항진균효과를 검토한 결과, 탄소원으로는 dextrin, glucose, sucrose에서 항진균성물질의 생산이 우수하였으며, 특히 sucrose 대신 black sugar를 사용하였을 경우 항진균성물질의 생산이 매우 우수하였다(Fig. 1, Table 1). 질소원의 경우 유기질소원인 peptone, yeast extract, soybean meal이 양호하였으나, 무기질소원은 항진균성물질 생산에 영향을 미치지 못하였다(Table 2). 이들 결과로부터 공시균의 생육배지는 생육촉진효과와 식물병원균에 대한 방제능을 위해 peptone 및 yeast extract가 각각 1% 함유된 LB배지에 탄소원으로 black sugar가 5% 함유된 modified LB배지 (MLB배지)를 공시균주의 생육배지로 사용하였다.

Table 1. Antifungal activity against *Asp. flavus* by the culture broth from strain YK-5 grown on various carbon sources

Carbon sources	Inhibitory zone (Φ, mm)
Black sugar	45
Dextrin	20
Fructose	-
Glucose	21
Glycerin	-
Malt extract	-
Maltose	-
Soluble starch	-
Sucrose	20

The strain YK-5 was incubated on LB medium containing 5% of carbon source at 37°C for 5 days.

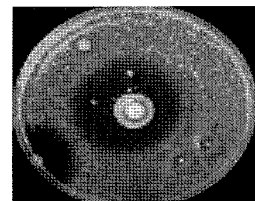


Fig. 1. Antifungal activity of the culture broth of the strain YK-5 against *Asp. flavus*. The strain YK-5 was incubated on LB medium containing 5% black sugar at 37°C for 5 days. 20 μL of the culture broth was inoculated on *Asp. flavus* plate containing spores (1×10^8 spores/mL) and incubated at 25°C for 3 days.

Table 2. Antifungal activity against *Asp. flavus* by the culture broth from strain YK-5 grown on various nitrogen sources

Nitrogen sources		Inhibitory zone (Φ, mm)
Organic	Asparagine	-
	Meat extract	-
	Peptone	12
	Soybean meal	13
	Tryptone	-
	Urea	-
	Yeast extract	14
Inorganic	NaNO ₃	-
	NH ₄ Cl	-
	NH ₄ NO ₃	-
	(NH ₄) ₂ SO ₄	-

The strain YK-5 was incubated on LB medium containing 5% black sugar and 1% of nitrogen source at 37°C for 5 days.

공시균주의 식물병원균에 대한 길항효과

공시균주의 식물병원균에 대한 길항효과는 시험균주인 식물병원균 *F. oxysporum* KACC 40052균을 대상으로 수행하였다. Fig. 2에서 보인 바와 같이 생육시킨 시험균 plate에 배양액을 paper disc에 20 μL를 첨가하여 계속 배양한 결과, 식물병 방제용으로 판매되고 있는 시판제품은 시험균주의 생육이 활발하여 길항효과가 없는 결과(Fig. 2-A)에 비해 배양 7일째까지 공시균주는 강한 생육저해를 보였다(Fig. 2-B).

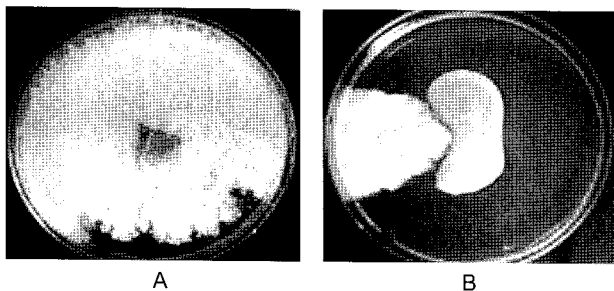


Fig. 2. Antifungal activity of the strain YK-5 against *Fusarium oxysporum* KACC 40052. The strain YK-5 was incubated on LB medium containing 5% black sugar at 37°C for 5 days. 20 μL of the culture broth was inoculated on the grown *Fusarium oxysporum* KACC 40052 plate and incubated for 7 days.
A : commercial product, B : strain YK-5.

공시균주의 생육촉진 효과

공시균주의 식물성장촉진능을 검토하기 위하여 궁중무 및 벼를 대상으로 pot실험을 실시하였다. 공시작물을 이식 후 대조군으로 물과 시판중인 제품 그리고 5일 동안 배양한 공시균주의 배양액으로 40일간 시비하여 비교 한 결과, Table 3에서 보는 바와 같이 궁중무의 경우 30포기를 대상으로 경엽수, 줄기의 길이 및 뿌리의 길이를 측정하여 평균한 값으로 나타내었으며 공시균주의 처리구가 무처리

구에 비해 약 60%이상 우수한 결과를 나타내었고 기존 타사제품에 비해서는 20~30%정도 우수한 결과를 나타내었다. 특히 뿌리의 경우 이식 후 시비 12일째 궁중무 무처리구는 뿌리의 세근이 잘 끊어지고, 고루 형성되지 못한 반면(Fig. 3-A), 공시균주 처리구는 뿌리의 생육이 매우 우수하고 세근의 발달이 매우 우수하였다(Fig. 3-B). 또한 벼의 경우 이식 후 시비 8일째 시판제품 처리구(Fig. 4-A)에 비해 공시균주 처리구는 잎의 길이와 흰 세근의 발달이 우수한 것을 알 수 있었다(Fig. 4-B). 이들 결과로부터 공시균주는 무처리 및 시판제품보다 식물성장촉진기능이 매우 우수하다고 평가되었으며(Fig. 5-C), 특히 뿌리의 발육에 현저한 생육촉진효과를 나타내었다.

Table 3. Effect of plant-growth promotion of radish by treated culture broth of strain YK-5

Treatment	Observation Leaves number (Ea)	Stem length (cm)	Root Length (cm)
Control-1 ^{a)}	6.4 ^{d)}	17.9	9.8
Control-2 ^{b)}	8.9	22.7	13.3
Test ^{c)}	9.9	28.8	16.5

The strain YK-5 was incubated on modified LB medium containing 5% black sugar (SLB medium) at 37°C for 5 days.

- a) Treatment of Water.
- b) Treatment of commercial product.
- c) Treatment of strain YK-5 culture broth.
- d) Each value represents the average value of 30 plants after 40 days growth.

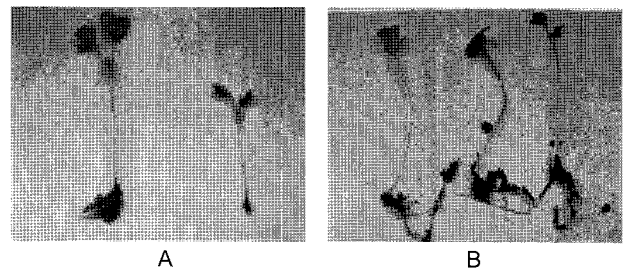


Fig. 3. Effect of YK-5 strain on root-growth promotion of radish. The strain YK-5 was incubated on LB medium containing 5% black sugar at 37°C for 5 days. A : after 12 days of treated water, B : after 12days of treated strain YK-5.

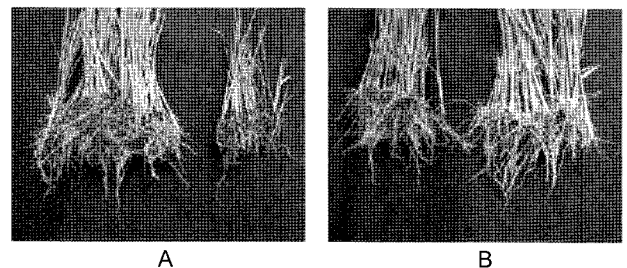


Fig. 4. Effect of YK-5 strain on root-growth promotion of rice plants. The strain YK-5 was incubated on LB medium containing 5% black sugar at 37°C for 5 days. A : after 8 days of treated commercial product, B : after 8 days of treated strain YK-5.

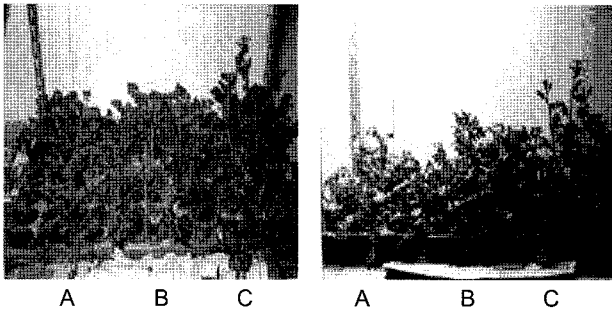


Fig. 5. Effect of YK-5 strain on plant-growth promotion of radish in pot trials. A : after 60 days of treated water, B : after 60 days of treated commercial product, C : after 60 days of treated strain YK-5.

공시균주의 동정

공시균주 YK-5의 colony의 형태는 주름지고 중앙이 돌출되었으며, 색깔은 옅은 갈색을 나타내었다(결과 미계재). 전자현미경으로 촬영한 결과 *Bacillus* 속(Fig. 6)으로 추정하였으며, 배양 및 생리학적 특징은 Type strain인 *Bacillus subtilis*와 상당히 유사하다고 판단되었다(Table 4).

Table 4. Cultural and physiological characteristics of strain YK-5

Characteristics	YK-5	Characteristics	YK-5
Cultural condition	37°C	Hydrolysis of	
Voges-proskauer	+	A esculin	+
Catalase	+	Casein	+
Acid from		Gelatin	+
L-arabinose	-	Starch	+
D-glucose	+	Urea	-
D-mannitol	+	Decarboxylation of	
D-xylose	-	Arginine	+
Gas from		Lysine	+
L-arabinose	-	Ornithine	-
D-glucose	-	Citrate	+
D-mannitol	-	Indole	+
D-xylose	-	Hydrogen sulfide	+
Carbon utilization		Oxidation-Fermentation	F
L-arabinose	+	Methyl red	+
D-cellobiose	+	Degradation of tyrosine	-
D-fructose	-	Antibiotics resistance	
D-galactose	-	Ampicillin (10 µg/mL)	+
D-glucose	+	Chloramphenicol (5 µg/mL)	+
D-mannitol	+	Streptomycin (20 µg/mL)	+
Raffinose	-	Nitrate reduced to nitrite	+
L-rhamnose	+	Gas of nitrate	-
Raffinose	-	β-galactosidase	+
Salicin	+	Growth in NaCl	
D-sucrose	+	1%	+
D-xylose	-	2%	+
Growth in KCN	-	4%	-

+: positive reaction, -: negative reaction, F: fermentation.

또한 공시균 YK-5는 세포벽성분인 peptidoglycan의 구성 아미노산으로 type strain인 *B. subtilis*와 동일하게 Ala, Glu, Gly 및 meso-A_{2pm}을 가지고 있다(결과 미계재). 또한 분리된 균주의 GC함량을 HPLC로 분석한 결과, type strain인 *B. subtilis*와 유사 (52.8 mol%) 하였다(결과 미계재). 원핵 생물만이 가지는 유비퀴논을 분석한 결과, YK-5균주는 2,3-dimethoxy-5-methyl-1,4-benzoquinone 골격을 가지는 Q8의 isoprene 측쇄를 가지고 있었다(결과 미계재). 공시균주가 함유한 지방산 분석은 Table 5와 같이 C_{15:0} Iso, C_{15:0} Anteiso, C_{17:0} Iso, C_{17:0} Anteiso 이 주된 성분으로 구성되어 있었다. 이상과 같이 공시균 YK-5균주와 type strain인 *B. subtilis*와의 화학적 분류 특성이 유사하지만 종간의 상관관계를 보다 명확하게 할 필요성이 있어 특정영역인 16S rDNA 염기서열 결정에 의한 분자계통분류학적 분석으로 동정하였다. YK-5균주의 16S rDNA 염기서열(Fig. 7)과 데이터베이스(DDBJ, EMBL, GenBank)에 등록된 관련 *Bacillus* sp. 균주와의 상동성을 비교한 결과, type strain인 *B. subtilis* DSM 10과 99.9% 상동성이 유사한 것(Fig. 7, Fig. 8)으로 보아 토양에서 분리한 공시균주 YK-5는 분자계통분류학적 분석(형태, 배양, 생리, 화학적 및 분자생태학적 측면)에 의해 *B. subtilis* YK-5로 명명하였다.

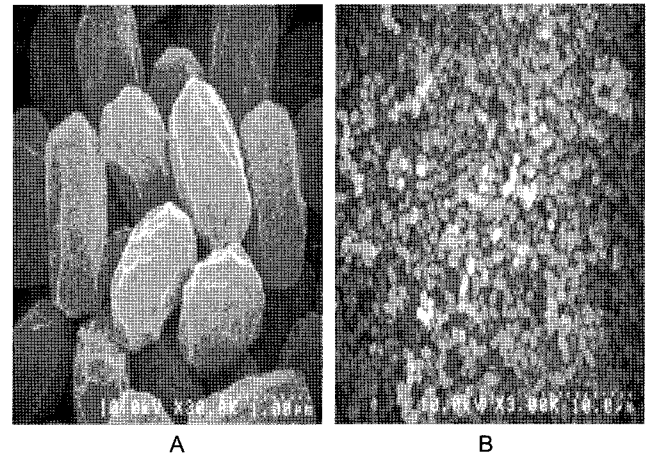


Fig. 6. Scanning electron micrographs of strain YK-5. A : x 30,000, B : x 3,000.

Table 5. Cellular fatty acid methyl esters of strain YK-5

Fatty acids	Composition (%)
C _{14:0} Iso	1.80
C _{15:0} Iso	20.38
C _{15:0} Anteiso	40.46
C _{16:0} Iso	6.57
C _{16:1} w11c	0.59
C _{16:0}	3.82
C _{17:0} Iso	10.62
C _{17:0} Anteiso	15.21
C _{18:0} 10Me	0.56

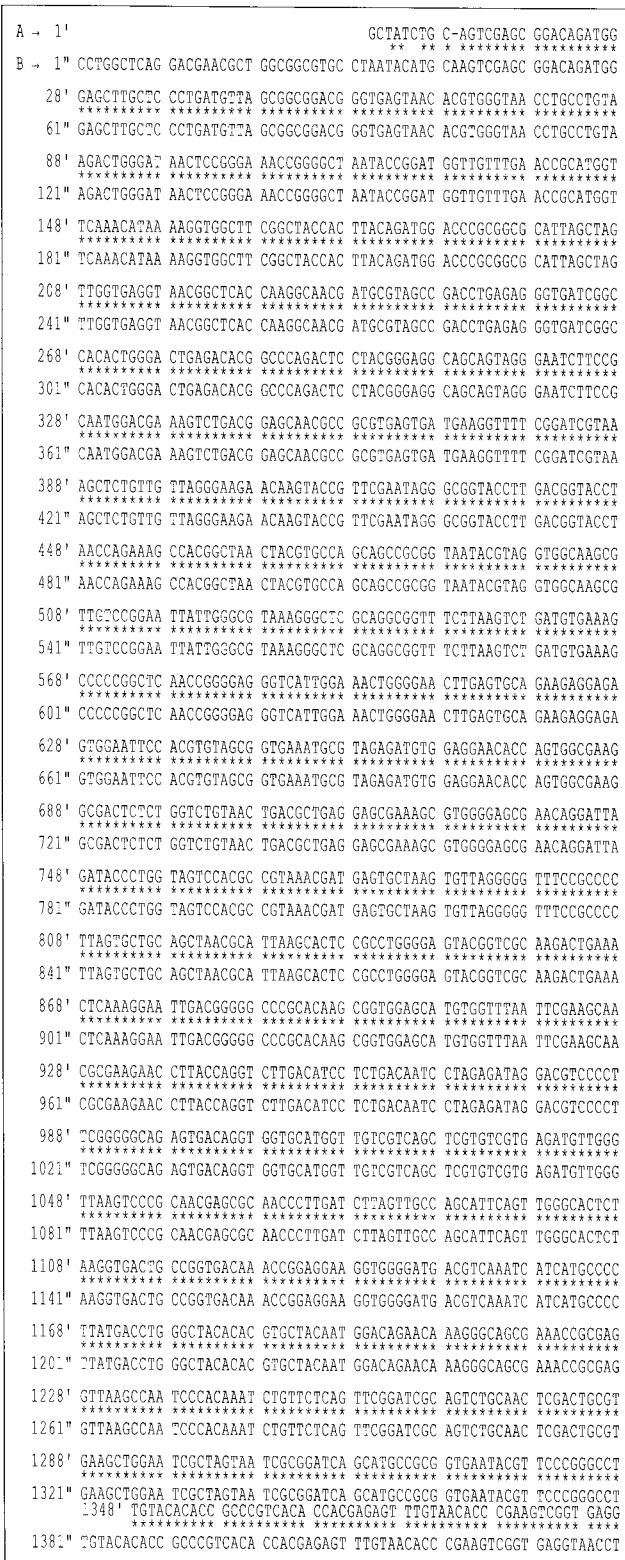


Fig. 7. Alignment of partial 16s rDNA sequence of the strain YK-5. A: Partial 16s rDNA sequence of the strain YK-5 with primer F(5'-GAGTTTGTATCCTGGCTCAG-3') and 1542R(5'-AGAAAGGAGGTGATCCAGCC-3), B: Partial 16s rDNA sequence of *Bacillus subtilis* DSM 10.

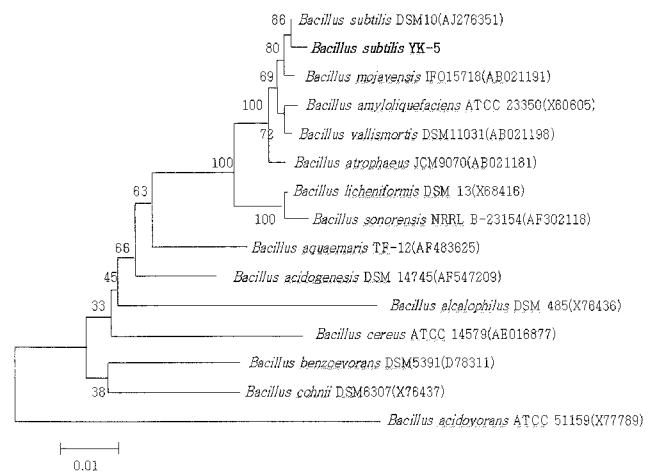


Fig. 8. Phylogenetic tree showing the relationships between strain YK-5 and related species.

요약

식물성장 촉진 기능을 가지는 PGPR (plant growth-promoting rhizobacteria)균은 특수한 토양시료를 사용하여 내열성을 가지는 400개의 균주를 분리하였다. 이들 분리균주에서 선발한 공시균주 *Bacillus* sp. YK-5는 항진균성 물질을 생산하였으며, 시험균주 *Asp. flavus*를 대상으로 생산조건을 검토한 결과, 공시균주의 생육배지는 생육촉진효과와 식물병원균에 대한 방제를 위해 1% peptone 및 yeast extract, 5% black sugar가 함유된 modified LB배지를 사용하였다. 식물병원균에 대한 공시균주의 길항효과는 시험균주인 식물병원균 *Fusarium oxysporum* KACC 40052균에 대해 배양 7일째까지 강한 생육저해를 보였다. 공시균의 식물성장촉진능은 궁중무 및 벼를 대상으로 pot 실험한 결과, 궁중무의 경우 경엽수, 줄기의 길이 및 뿌리의 길이가 무처리구에 비해 약 60%이상 우수한 성장촉진 효과를 나타내었으며, 벼의 경우 이식 후 시비 8일째 시판 제품 처리구에 비해 공시균주 처리구는 잎의 길이와 흰 세균의 발달이 우수하여 뿌리의 발육에 현저한 생육촉진 효과를 나타내었다. 공시균주의 동정은 분자계통분류학적 분석 (형태, 배양, 생리, 화학적 및 분자생태학적 측면)에 의해 *B. subtilis* YK-5로 명명하였다.

감사

본 연구는 계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화 연구센터 (TMR)의 일부지원에 의해 연구되었음을 감사드립니다.

접수 : 2009년 4월 17일, 게재승인 : 2009년 7월 18일

REFERENCES

1. Sorenson, J. (1997), The rhizosphere as a habitat for soil microorganisms, In J. D. van Elsas, J. T. Trevors, and E. M. H. Wellington (eds), pp21-45. *Modern Soil Microbiology*. Marcel Dekker, New York, U.S.A.
2. Schroth, M. N. and J. G. Hancock (1982), Disease-suppressive soil and root-colonizing bacteria, *Science*. **216**, 1376-1381.
3. Glick, B. R., C. C. Patten, G. Holguin, and D. M. Penrose (1999), Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth-promoting bacteria, Imperial College Press, London.
4. Katiyar, V. and R. Goel (2004), Improved plant growth from seed bacterization using siderophore overproducing cold resistant mutant of *Pseudomonas fluorescens*, *J. Microbiol. Biotechnol.* **14**, 653-657.
5. Glick, B. R. (1995), The enhancement of plant growth by free-living bacteria, *Can. J. Microbiol.* **41**, 680-685.
6. Woo, S. M., J. U. Woo, and S. D. Kim (2007), Purification and characterization of the siderophore from *Bacillus licheniformis* K11, a multi-functional plant growth promoting rhizobacterium, *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **35**, 128-134.
7. Jung, H. K. J. R. Kim, S. M. Woo, and S. D. Kim (2006), An auxin producing plant growth promoting rhizobacterium *Bacillus subtilis* AH18 which hassiderophore-producing biocontrol activity, *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **34**, 94-100.
8. Joo, G. J., Y. M. Kim, J. T. Kim, I. K. Rhee, J. H. Kim, and I. J. Lee (2005), Gibberellins-producing rhizobacteria increase endogenous gibberellins content and promote growth of red pepper. *J. Microbiol.* **43**, 510-515.
9. Sessitsch, A., B. Reiter, and G. Berg (2004), Endophytic bacterial communities of field-grown potato plants and their planr-growth-promoting and antagonistic ability. *Can. J. Microbiol.* **50**, 239-249.
10. Kim, K. Y. and S. D. Kim (1997), Biological control of *Pyricularia aryzae* blast spot with the antibiotic substances produced by *Bacillus* sp. KL-3. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **25**, 396-402.
11. Leoffler, W. J., S. M. Tschen, N. Vanittanakom, M. Kugler, E. Knorpp, T. F. Hsieh, and T. G. Wu (1986), Antifungal effects of bacilysin and fengymycin from *Bacillus subtilis* F29-3 : a comparison with activaties of other *Bacillus* antibiotics. *J. Phytopathol.* **115**, 204-213.
12. Lee, E. T. and S. D. Kim (2000), Selection and antifungal activity of antagonistic bacterium *Pseudomonas* sp. 2112 against red-pepper rotting *Phytophythora capsici*. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **28**, 334-340.
13. Kim, M. H., H. S. Ko, Y. M. Yook, and H. S. Kim (2008), Isolation and characterization of microorganism with broad antifungal activity against Phytopathogenic fungi. *Korean. J. Biotechnol. Bioeng.* **23**, 219-225.
14. Yoon, J. H., S. T. Lee, and Y. H. Park (1998), Inter- and intra specific phylogenetic analysis of the genus *Nocardioiodes* and related taxa based on 16SrDNA sequences. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **48**, 187-194.
15. Thompson, J. D., D. G. Higgins, and T. J. Gibson (1994), CLUSTAL W : improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic. Acids. Res.* **22**, 4673-4680.