

한라산 고지대 토양에서 분리한 미생물의 항균 및 단백질분해 활성, 옥신 생산 특성

김택수 · 고민정 · 이세원 · 한지희 · 박경석 · 박진우*

농촌진흥청 국립농업과학원 농업미생물팀

(2011년 12월 3일 접수, 2011년 12월 22일 수리)

Antifungal and Proteolytic Activity and Auxin Formation of Bacterial Strains Isolated from Highland Forest Soils of Halla Mountain

Tack-Soo Kim, Min-Jung Ko, Se-Weon Lee, Ji-Hee Han, Kyungseok Park and Jin-Woo Park*

Applied Microbiology Laboratory, Agricultural Microbiology Team, NAAS, RDA, 441-707, Korea

Abstract

Bacterial strains were isolated from forest soils of Halla mountain, Jeju island in Korea. The soil samples were collected at each altitude of 100m from 1,000 m above sea level. Total 398 strains were isolated and tested for their physiological characteristics of antagonistic and proteolytic activities, and auxin production. Among the isolates, 172 strains were selected as antifungal strains showing antagonistic activity against at least one of 8 plant fungal pathogens (*Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Collectotrichum acutatum*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora capsici*, *Pythium ultimum* and *Sclerotinia sclerotiorum*). In addition 203 strains for proteolytic activity and 26 strains for auxin production were characterized for further study. Je28-4 (*Rhodococcus* sp.) were showed 80% of control value against tomato gray mold *in vivo*. Thus, it is suggested that soil bacteria isolated from forest soils of Halla mountain can be important sources of bioactive compounds for improving plant growth or promising biocontrol agents.

Key words Antifungal activity, Proteolytic activity, Auxin formation, Halla mountain

서 론

농업에 있어서 미생물은 이미 오래 전부터 미생물 농약이나 비료 등 친환경자재가 화학농약을 대체할 수 있는 가능성에 대한 연구가 많이 수행되고 있다(Park *et al.*, 2001; Ahn *et al.*, 2002; Jeun *et al.*, 2004). 항균활성 보유 미생물을 이용한 생물적 방제제는 농작물 재배과정에서 발생하는 주요 병 방제를 위하여 살포되는 농약의 사용량을 감소시킴으로써 안전농산물 생산에 기여하고 있으며, 질소고정이나 인산가용화, 단백질 분해, Auxin 생산 능력 등을 가진 미생물은 작물

의 생육을 촉진하는 기능을 함으로써 화학비료를 대체하는 미생물비료로 사용되고 있다.

많은 미생물 농약-비료가 경작지 토양에서 분리된 미생물을 이용해 개발되고 있으며, 산림비경작지 토양에서 분리된 미생물의 농업용 자재로의 활용 가능성에 관한 연구도 많이 시도되고 있다. 산림에서 분리된 토양방선균 *Streptomyces* 속 균의 고추 등 작물에 대한 항균활성 및 생육촉진 효과(박 등, 2005; 임 등, 2005, 2006, 2007)에 대한 연구가 여러 그룹에서 시도되었으며, 불용성 인산 가용화 미생물 처리에 의한 작물의 생육촉진 효과(Dubey *et al.*, 1992), *Penicillium* 속 균의 토양처리에 의한 옥수수 성장과 생산량 증대와 관련된 보고(Kang *et al.*, 1999) 등 유용미생물의 농업적 활용에 관한 다양한 연구가 수행되고 있다.

*연락처 : Tel. +82-31-290-0487, Fax. +82-31-290-0406

E-mail: jinwoopark@korea.kr

본 연구는 항균활성 및 생육 촉진용 다기능성 미생물제제를 개발하고자 한라산에서 분리한 균주의 항균활성 능력, 단백질 분해 능력 및 Auxin 생성능력을 *in vitro* 검정과 생물검정을 통해 조사하였다.

재료 및 방법

균주 분리

유용균주를 분리하기 위해서 2011년 6월 14일 한라산 해발 1000 m부터 정상까지 100 m의 간격으로 토양을 채취하였다. 토양시료는 상토층 5 cm를 제거한 후 그 이하의 토양을 채취하였다. 채집한 토양 10 g을 90 ml의 멸균수가 들어있는 시험관에 넣고 1시간 동안 28°C shaking incubator에서 진탕 배양한 후 시료를 10⁻³부터 10⁻⁵까지 10배 단위로 단계적으로 희석하고 희석액 150 µl를 TSA(Tryptic soy agar), LB(Luria Bertani), King's B 배지에 분주하여 도말한 후 28°C incubator에서 24시간 배양하였다. 배양된 균주를 형태적, 색깔별로 분리한 후 TSA 배지에 다시 배양하여 실험에 사용하였으며 배양과정 중 TSA 배지에서 생장하지 않는 균주는 처음에 분리되었던 배지에서 계대배양하였다.

분리균주의 *in vitro* 항균활성 검정

분리한 균주를 주요 식물병원균 8종(*Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum acutatum*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora capsici*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*)과 대치배양하여 균사생장 억제능력을 조사하였다. 공시한 각각의 병원균 균총을 8 mm cork borer를 이용하여 절단한 후 PDA(Potato Dextrose Agar) 배지 중앙에 치상하고 분리된 각각의 분리균주 현탁액에 침지한 paper disk를 열십자의 형태로 배치하였다. 대치배양된 각각의 병원균을 최적 생장온도(*B. cinerea* 18~20°C, *S. sclerotinia* 18°C, *A. alternata*, *C. acutatum*, *F. oxysporum*, *P. capsici*, *P. ultimum*, *R. solani* 28°C)에서 2~3일간 배양한 후 균사생장 억제능력을 조사하였다.

단백질분해활성 균주 선발

분리한 균주의 단백질분해 활성능력을 조사하기 위해 0.5% skim milk(Difco)가 첨가된 평판배지(peptone 0.6%, beef extract 0.3%, agar 2%)에 분리된 세균의 콜로니를 멸균된 이쑤시개를 이용하여 picking 한 후 28°C incubator에서 2~3일간 배양하여 단백질이 분해되어 나타난 투명한(clear zone)의 크기를 조사하였다(구 등, 2005; 이 등, 2006).

Auxin 생성 균주 선발

분리한 균주의 Auxin 생산능력을 조사하기 위해 L-Tryptophan

을 0.02% 첨가한 King's B broth 배지(peptone 2%, K₂PO₄ 0.15%, MgSO₄ · 7H₂O 0.15%, glycerol 1.5%) 5 ml에 분리한 균주를 접종한 후 30°C의 incubator에서 24시간 동안 배양하였다. 배양된 균주를 8,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상등액을 Salkowski 반응액(5% perchloric acid 100 ml, 0.05 M ferric chloride 2 ml)과 1:2 비율로 섞어 30분간 반응시킨 후 분홍색으로 발색되는 시료를 spectrophotometer로 535 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다(정 등, 2006).

선발균주의 동정

선발된 항균활성, 단백질분해 활성, Auxin 생산 균주의 종을 동정하기 위하여 16S 리보솜 RNA sequencing 분석을 하였다. 배양한 균주 45종의 colony를 (주)제노텍(Genotech, Korea)에 의뢰하였으며 기존의 NCBI의 gene bank 정보와 유사도를 비교하여 종을 동정하였다.

선발된 항균활성 균주의 토마토 잿빛곰팡이병 방제효과

8종의 작물 주요 병에 대한 항균활성효과가 우수한 균주를 선발하여 토마토잿빛곰팡이병에 대한 방제효과를 검정하였다. 1% 차아염소산나트륨으로 소독한 토마토 잎 표면에 항균활성 균주 배양액을 면봉으로 문질러 처리한 다음, 주사바늘로 상처를 내고 5 mm cork borer로 절단한 토마토잿빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)의 균사를 상처에 치상하여 인공접종하였으며 균주당 처리엽수는 3반복으로 수행하였다. 병원균이 접종된 토마토 잎을 병원균의 생장 최적온도인 20°C에서 3~5일간 배양한 후 발병정도를 조사하였다.

결과 및 고찰

균주분리

복합적인 기능을 가지는 친환경 미생물자재를 개발하기 위해 한라산에서 채집한 토양으로부터 단백질 분해활성, Auxin 생성, 항균활성을 가지는 미생물을 총 398균주 분리하여 기능성 검정을 실시하였다.

분리균주의 *in vitro* 항균활성 검정

한라산의 산림부속토에서 분리된 398균주를 식물 주요 병원균과 대치배양하여 항균활성을 조사한 결과, 172균주가 1종 이상의 병원균에 대해서 항균활성을 나타냈으며 이들 중 여러 종의 병원균에 대한 항균활성 효과를 동시에 보이는 26균주를 1차적으로 선발하였다. 선발된 균주는 8종의 식물병원균에 대해서 고르게 항균활성 효과를 보임으로써(Table 1, Fig. 1) 추후 생물검정을 통해 여러 종의 식물 병에 대한 생물적 방제제로서의 가능성을 확인해야 할 것으로 생각한다.

Table 1. Antifungal activity of bacterial strains isolated from highland forest soils of Halla mountain

Isolate	Degree of clear zone formation ^{a)}							
	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Colletotrichum acutatum</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Phytophthora capsici</i>	<i>Pythium ultimum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
Je1-3	++	-	-	++	-	++++	-	-
Je5-6	-	++++	+++	++	+	+++	-	+++
Je5-9	+++	+++	+	++	++++	-	-	+++
Je7-6	+	++++	++	++	+	+++	-	+
Je9-2	+++	++++	++++	+	-	-	-	+++
Je9-8	+	+++	++	++	++++	-	-	+++
Je13-1	++++	++++	+++	+	+	-	+	+++
Je17-6	+	++++	-	-	+++	++++	-	+
Je18-4	++++	+++	++	++	+	++	+	++++
Je20-1	+	++++	++++	+	++	++++	+	+
Je20-5	-	++	++	+++	++	+++	-	++
Je20-7	+++	++	++	+	+	-	++	+
Je20-8	+	+	+++	+	-	+	+++	+++
Je28-4	-	+	+++	+++	++	++++	++	-
Je33-9	+++	-	+++	++	++++	++++	-	-
Je35-2	-	++++	+++	+	-	+++	-	++++
Je36-6	++	+	++	++	+	++++	-	-
Je37-6	++++	+++	+++	+++	+++	++++	++++	++++
Je39-6	+++	++	++	-	+	+	+++	-
Je39-7	+++	+	-	+++	+	+	++++	-
Je40-1	++++	++	++	++	++	+	+++	+++
Je45-1	-	++	++++	+	+++	+++	-	++++
Je46-2	+++	++++	+++	++++	++	+	+++	-
Je46-4		++++	++	+++	++	+	++	-
Je46-6	+	-	++++	-	++++	++++	++++	-
Je46-11	++++	+++	++++	+++	+	-	++	-

^{a)} A degree of fungal growth suppression by bacterial strains was measured by investigating the diameters of clear zones caused by fungal growth inhibition; -: 0 mm, +: 1~2, ++: 3~4, +++: 5~6, ++++: 7 mm or above.

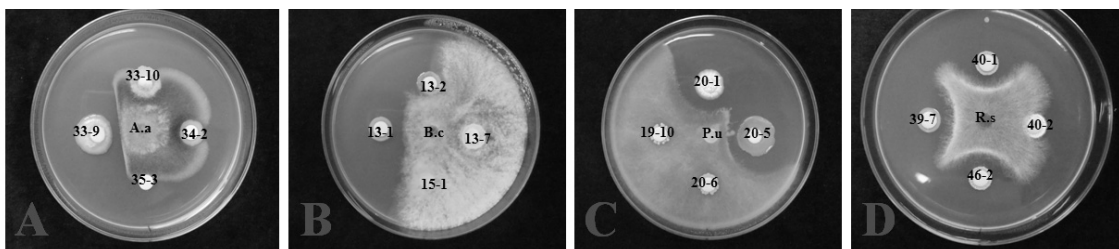


Fig. 1. Inhibition of mycelium growth of plant pathogens by antifungal bacterial isolates. A; *Alternaria alternata*, B; *Botrytis cinerea*, C; *Pythium ultimum*, D; *Rhizoctonia solani*.

단백질분해활성 균주 선발

분리된 398균주의 단백질 분해활성 정도를 조사한 결과 203균주가 Skim milk 배지에서 투명환(clear zone)을 형성하여 단백질 분해효소를 생산하는 것으로 나타났으며 그 중 단백질 분해활성이 높은 34균주를 선발하였다(Table 2, Fig. 2).

Auxin 생성 균주의 선발

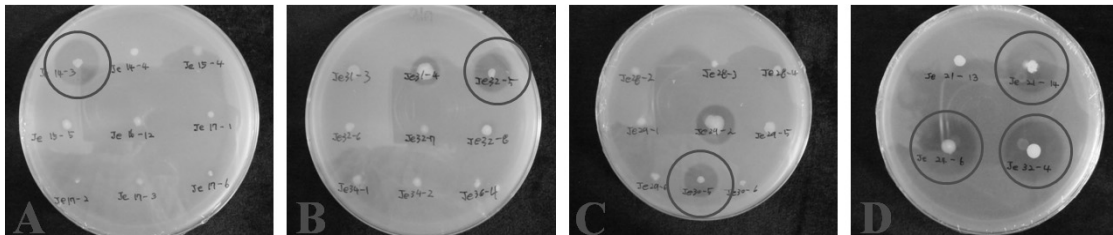
한라산에서 분리된 세균 중 26균주가 Auxin을 생산하였

으며(Table 3), Je45-1, Je7-6, Je32-3, Je21-11 균주는 535 nm에서의 흡광도가 각각 0.319, 0.240, 0.228, 0.218로 다른 균주들보다 Auxin의 생산 능력이 우수하였다. 특히 Je7-6, Je45-1 균주는 모두 *Streptomyces* 속에 속하는 방선균으로 항균활성, 단백질분해활성, Auxin 생성 등 기능적으로 우수한 효과가 있을 것으로 추정되지만 토마토잰빛곰팡이병에 대한 생물검정 결과는 기대에 미치지 못하였다. 그러나 방선균은 항생물질을 포함한 다양한 생리활성물질을 생산하고, 지금까지 알려진 약 10,000여 종의 항생물질 중 75% 이상이

Table 2. Proteolytic activity of bacterial strains isolated from highland forest soils of Halla mountain on skim milk agar medium

No.	Isolate	Proteolytic activity ^{a)}	No.	Isolate	Proteolytic activity
1	Je2-6	++++	18	Je23-12	++++
2	Je3-1	++++	19	Je24-4	++++
3	Je3-5	++++	20	Je24-6	++++
4	Je3-6	++++	21	Je24-8	++++
5	Je3-10	++++	22	Je27-4	++++
6	Je5-5	++++	23	Je30-1	++++
7	Je6-3	++++	24	Je30-5	++++
8	Je7-1	++++	25	Je30-9	++++
9	Je8-2	++++	26	Je32-4	++++
10	Je11-4	+++++	27	Je32-5	++++
11	Je14-3	+++++	28	Je33-1	++++
12	Je14-6	++++	29	Je39-1	++++
13	Je14-7	+++++	30	Je39-4	++++
14	Je19-4	++++	31	Je39-6	++++
15	Je21-10	++++	32	Je39-11	++++
16	Je21-12	++++	33	Je41-13	++++
17	Je21-14	++++	34	Je46-8	++++

^{a)}A degree of proteolytic activity on skim milk agar medium by bacterial strains was measured by investigating the diameters of clear zones; +: 3-4, ++: 4-5, +++: 5-6, ++++: 7 mm or above.

**Fig. 2.** Proteolytic activity of six bacterial strains isolated from highland forest soils Halla mountain on skim milk agar medium. A; 14-3, B; 32-5, C; 30-5, D; 21-14, 24-6, 32-4.

방선균으로부터 분리되었을 만큼 기능적으로 우수하므로 (Berdy, 1989; Higton, 1998) 농작물 병 방제를 위한 미생물 자재로 개발하기 위해 토마토잰빛곰팡이병을 제외한 다른 병해에 대한 생물검정 실험을 거쳐 보다 광범위한 항균활성 효과에 대한 확인이 필요할 것으로 생각된다. 분리된 Auxin 생산 균주는 추후 생물검정을 통하여 뿌리발근 및 생장 실험을 통하여 효과를 확인해야 할 것이다.

선발균주의 동정

항균활성, 단백질분해활성, Auxin 생산의 기능을 가지는 45종의 선발균주는 16S rRNA 분석을 통해 종을 동정하였다. 그 결과 다양한 속에 속하는 미생물이 동정되었으며 *Bacillus* 속이 12균주로 가장 많았고 *Streptomyces* 8균주, *Paenibacillus* 속 5균주, *Chryseobacterium* 속 5균주, *Pseudomonas* 속 4균

주, *Rahnella* 속 2균주, *Lysinibacillus* 속 2균주, *Burkholderia* 속 2균주로 동정되었으며, *Enterobacter*, *Janthinobacterium*, *Microbacterium*, *Rhodococcus*, *Sphingomonas* 속은 각각 1균주씩 동정되었다(Table 4). 한라산 산림토양에서 분리한 항균 및 단백질 분해활성, 오옥신 생산균주는 갯벌이나 간척지 토양에서 분리된 균주에 비해 의 종 다양성이 풍부한 것으로 생각되며(Kim *et al.*, 2010), 고도별로 종 분포의 차이는 크지 않은 것으로 생각된다.

선발된 항균활성 균주의 토마토 잰빛곰팡이병 방제효과

In vitro 검정 결과 효과가 우수한 균주들을 토마토 잎에 병원균을 접종하여 방제율을 조사한 결과 13균주가 효과를 나타내었다(Table 5). Je28-4(*Rhodococcus* sp.) 균주의 방제효과가 80%로 가장 높았으며(Fig. 3), Je17-6(*Streptomyces*

Table 3. Auxin activity of microorganisms selected by Salkowski test

Isolate	Auxin activity ^{a)}
IAA (1 µg/ml)	0.900
control	0.070
Je 1-3	0.106
Je 2-2	0.127
Je 1-8	0.070
Je 3-1	0.108
Je 7-6	0.240
Je 14-3	0.136
Je 15-4	0.154
Je 15-8	0.109
Je 15-10	0.110
Je 16-2	0.088
Je 18-2	0.134
Je 19-9	0.150
Je 21-1	0.115
Je 21-11	0.218
Je 24-4	0.115
Je 24-6	0.088
Je 30-5	0.122
Je 32-3	0.228
Je 32-5	0.118
Je 32-8	0.102
Je 33-2	0.146
Je 36-5	0.100
Je 40-5	0.113
Je 41-7	0.087
Je 44-11	0.110
Je 45-1	0.319

^{a)}Auxin activity was estimated at 535 nm of absorbance. Control : King's B broth, IAA : Indole-3-acetic acid (1 µg/ml).

tsukiyonensis), Je20-8(*Streptomyces psammoticus*) 및 Je46-11 (*Bacillus amyloliquefaciens*)도 66.7%의 방제효과를 나타냈다. 대치배양 결과 항균활성 효과가 낮아 Table 1에서 언급되지 않았던 Je18-2 균주는 토마토에 대한 생물검정 결과 예상 외로 80%의 높은 방제효과를 나타내었으며 항균활성 이외에도 Auxin 생산 능력이 있어(Table 3) 작물병의 생물적 방제제와 작물의 성장 촉진제로의 동시활용 가능성에 대한 추가적인 검토가 필요할 것으로 생각한다. 이 외에 Je1-8 (*Pseudomonas* sp.), Je5-6(*Streptomyces tsukiyonensis*), Je33-9 (*Paenibacillus terrae*), Je36-6(*Streptomyces nigrogriseolus*), Je37-6(*Streptomyces cinnamoneus*) 그리고, Je46-6(*Paenibacillus polymyxa*) 균주도 약간의 항균활성 효과가 있었다. 대치배양

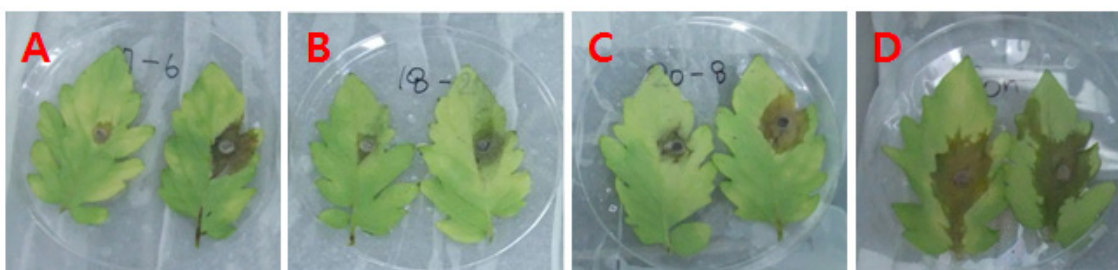
Table 4. Identification of the selected bacterial isolates highland forest soils of Halla mountain by 16S rRNA sequence analysis

No.	Isolate	Species	Identification (% identity)
1	Je1-3	<i>Enterobacter ludwigii</i>	99.0%
2	Je1-8	<i>Pseudomonas</i> sp.	99.0%
3	Je2-8	<i>Bacillus weihenstephanensis</i>	99.0%
4	Je3-1	<i>Chryseobacterium</i> sp.	99.0%
5	Je5-6	<i>Streptomyces tsukiyonensis</i>	99.0%
6	Je7-6	<i>Streptomyces aburaviensis</i>	99.0%
7	Je9-2	<i>Bacillus subtilis</i>	99.0%
8	Je9-8	<i>Paenibacillus terrae</i>	99.0%
9	Je13-1	<i>Pseudomonas frederiksbergensis</i>	99.0%
10	Je14-3	<i>Chryseobacterium</i> sp.	98.0%
11	Je15-4	<i>Rahnella aquatilis</i>	99.0%
12	Je15-8	<i>Rahnella</i> sp.	99.0%
13	Je16-2	<i>Janthinobacterium</i> sp.	99.0%
14	Je17-6	<i>Streptomyces tsukiyonensis</i>	99.0%
15	Je18-2	<i>Pseudomonas</i> sp.	98.0%
16	Je18-4	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	99.0%
17	Je19-9	<i>Bacillus arenosi</i>	100.0%
18	Je20-1	<i>Streptomyces nigrogriseolus</i>	99.0%
19	Je20-5	<i>Paenibacillus terrae</i>	99.0%
20	Je20-7	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	100.0%
21	Je20-8	<i>Streptomyces psammoticus</i>	99.0%
22	Je21-1	<i>Paenibacillus terrigena</i>	99.0%
23	Je21-11	<i>Microbacterium foliorum</i>	100.0%
24	Je24-4	<i>Chryseobacterium</i> sp.	100.0%
25	Je24-6	<i>Pseudomonas lurida</i>	99.0%
26	Je28-4	<i>Rhodococcus</i> sp.	98.0%
27	Je30-5	<i>Chryseobacterium</i> sp.	99.0%
28	Je32-3	<i>Bacillus</i> sp.	98.0%
29	Je32-5	<i>Chryseobacterium</i> sp.	99.0%
30	Je32-8	<i>Bacillus</i> sp.	99.0%
31	Je33-2	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	99.0%
32	Je33-9	<i>Paenibacillus terrae</i>	99.0%
33	Je36-5	<i>Bacillus bataviensis</i>	99.0%
34	Je36-6	<i>Streptomyces nigrogriseolus</i>	99.0%
35	Je37-6	<i>Streptomyces cinnamoneus</i>	99.0%
36	Je39-6	<i>Burkholderia cepacia</i>	99.0%
37	Je39-7	<i>Burkholderia cepacia</i>	99.0%
38	Je40-1	<i>Bacillus</i> sp.	99.0%
39	Je40-5	<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	99.0%
40	Je44-11	<i>Sphingomonas trueperi</i>	99.0%
41	Je45-1	<i>Streptomyces</i> sp.	99.0%
42	Je46-2	<i>Bacillus subtilis</i>	99.0%
43	Je46-4	<i>Bacillus subtilis</i>	99.0%
44	Je46-6	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	98.0%
45	Je46-11	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	99.0%

Table 5. Suppressive effect of the selected isolates against gray mold caused by *Botrytis cinerea* through inoculation method using detached tomato leaflet

Isolate	Treatment	Disease severity ^{a)}	Control value (%)
Je5-6	<i>Streptomyces tsukiyonensis</i>	30	20.0
Je17-6	<i>Streptomyces tsukiyonensis</i>	12.5	66.7
Je18-2	<i>Pseudomonas</i> sp.	7.5	80.0
Je20-8	<i>Streptomyces psammoticus</i>	12.5	66.7
Je28-4	<i>Rhodococcus</i> sp.	7.5	80.0
Je33-9	<i>Paenibacillus terrae</i>	32.5	13.3
Je36-6	<i>Streptomyces nigrogriseolus</i>	27.5	26.7
Je37-6	<i>Streptomyces cinnamoneus</i>	27.5	26.7
Je46-6	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	35	6.7
Je46-11	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	12.5	66.7
Control		37.5	-

^{a)}Disease severity index was made by estimating the percentage of diseased leaf area five days after inoculation.

**Fig. 3.** Disease Symptoms formed on tomato leaf-lets when mycelial discs of gray mold were inoculated after cell suspension of each bacterial isolates were treated. A; Isolate 17-6, B; Isolate 18-2, C; Isolate 20-8, D; Control.

결과 잿빛곰팡이병균에 효과가 가장 좋았던 Je9-2와 Je13-1 균주는 토마토 잎에 대한 생물검정 결과 예상과는 달리 효과가 우수하지 못하였는데, 이 부분에 대해서는 재실험을 통해 확인을 하여야 할 것으로 생각한다.

Acknowledgement

This study was carried out with the support of “Research Program for Agricultural Science & Technology Development(Project No. PJ006747062011)”, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Republic of Korea.

>> 인 / 용 / 문 / 헌

Ahn Il-Pyung, K. Park and C. Kim. (2002) Rhizobacteria-induced resistance perturbs viral disease progress and triggers defense-related gene expression. *Molecules and cells* 13(2):302~308.

Berdy, J. (1989). The discovery of new bioactive microbial

metabolites: Screening and identification. In M.E. Bushell (ed.), *Bioactive metabolites from microorganisms*, Elsevier, Amsterdam, Netherlands.

Dubey, S. K. and S. D. Biollere (1992) Phosphate solubilizing microorganism(PSM) as inoculant their role in augmenting crop productivity India-A review. *Crop. Res. Hissar*. 5:11~17.

Higton, A. A. and A. D. Roberts (1998) In B. W. Bycroft (ed.), *Dictionary of antibiotics and related substances*, pp. 10~18. Chapman and Hall, New York, USA.

Jeun Yong-Chull, K. Park and C. Kim. (2001) Different Mechanisms of Induced Systemic Resistance and Systemic Acquired Resistance Against *Colletotrichum orbiculare* on the Leaves of Cucumber Plants. *Mycobiology* 29(1): 19~26.

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 has siderophore-producing biocontrol activity. *Koran. J. Micro Bio.* 34(2):94~100.

Kang, S. C. and M. C. Choi (1999) Solid culture of phosphate-solubilizing fungus *Penicillium* sp. PS-113. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 27:1~7.

Kim Tack-Soo, G. Lee, G. Kim, S. Lee, K. Park and J. Park. (2010) Antifungal activity of bacterial strains isolated from tidal mudflat and salted seafood(Traditional Jeotgal) against six major plant pathogens. *The Korean Journal of Pesticide Science* 14(4): 421~426.

- Koo, K. W., Y. H. Chung, S. H. Hong, S. H. Oh, D. S. Kim and H. J. Jeon (2005) Isolation of new microorganisms which degrades the protein of a food garbage efficiently and its application. 한국기술학회논문지 6(4):342~348.
- Lim T. H. (2005) Antifungal activity of *Streptomyces griseofuscus* 200401 against pathogens causing late blight and anthracnose on pepper. The Korean journal of pesticide science. 9(1):102~107.
- Lim T. H., S. Kwon and J. H. Kim (2006) Effects of *Streptomyces griseofuscus* 200401 on growth of pepper plants and Phytophthora blight by *Phytophthora capsici*. Research in Plant Disease 12(1):46~50.
- Lim T. H., S. H. Cho and J. H. Kim (2007) Effects of *Streptomyces* sp. MG 121 on growth of pepper plants and antifungal activity. Research in Plant Disease 13(2):93~97.
- Park Kyung-Seok, I. Ahn and C. Kim. (2001) Systemic Resistance and Expression of the Pathogenesis-Related Genes Mediated by the Plant Growth-Promoting Rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* EXTN-1 Against Anthracnose Disease in Cucumber. Mycobiology 29(1):48~53.
- Park S. M., S. H. Han and T. S. Yu (2005) Culture conditions and antifungal activity of *Bacillus licheniformis* KMU-3 against crop pathogenic fungi. Korean journal of microbiology and biotechnology 33(2):112~116.
- Yi, H. S., J. H. Jeong, Y. M. Park, K. J. Seul and S. Y. Ghim (2006) Effect of thermophilic bacteria on degradation of food wastes. Korean J. Micro bio. 34(4):363-367.

한라산 고지대 토양에서 분리한 미생물의 항균 및 단백질분해 활성, 오옥신 생산 특성

김택수 · 고민정 · 이세원 · 한지희 · 박경석 · 박진우*

농촌진흥청 국립농업과학원 농업미생물팀

요 약 한라산에서 해발 1000미터부터 100미터의 고도 간격으로 산림토양 샘플을 채집하고 총 398점의 토양 세균을 분리하여 항균 및 단백질 분해활성과 Auxin 생산특성을 규명하였다. 항균활성 균주를 선발하기 위해 주요 작물병원균 8종에 대하여 대치배양한 결과 여러 종의 병원균에 대해 항균활성을 가지는 26균주를 1차적으로 선발하였으며, 단백질 분해활성이 높은 34균주, Auxin을 생산하는 26균주도 함께 선발하였다. 토마토잰빛곰팡이병에 대한 생물검정 결과 Je28-4(*Rhodococcus* sp.)가 80%의 방제효과를 나타내었다. 한라산에서 분리한 항균 및 단백질 분해활성, Auxin 생산균주 중 대표적인 균주를 선발하여 종을 동정한 결과 다양한 속에 속하는 미생물이 동정되었으며 *Bacillus* 속이 12균주로 가장 많았고 *Streptomyces* 8균주, *Paenibacillus* 속 5균주, *Chryseobacterium* 속 5균주, *Pseudomonas* 속 4균주, *Rahnella* 속 2균주, *Lysinibacillus* 속 2균주, *Burkholderia* 속 2균주로 동정되었으며, *Enterobacter*, *Janthinobacterium*, *Microbacterium*, *Rhodococcus*, *Sphingomonas* 속은 각각 1균주씩 동정되었다. 본 실험 결과 선발된 균주들은 추후 다각도의 *in vitro* 검정 및 생물검정을 걸쳐 식물 생장촉진 및 병 방제용 다기능성 미생물 자재의 소재로 활용 가능성을 검토할 필요가 있다고 사료된다.

색인어 항균활성, 단백질분해 활성, 오옥신 생산, 한라산