

# Isolation and Characterization of Plant Growth Promoting Rhizobacteria From Button Mushroom Compost

Sung-Hoon Oh<sup>1</sup>, Chang-Jung Lee<sup>2</sup>, Min-Ho Yoon<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Bio-Environmental Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon 34134, Korea.

<sup>2</sup>Mushroom Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, Eumseong 27709, Korea

\*Corresponding author: [mhyoon@cnu.ac.kr](mailto:mhyoon@cnu.ac.kr)

## Abstract

An auxin-producing bacteria (strain 5-1) was isolated from button mushroom compost in Boryeong-Si, Chungcheongnam-Do. The 5-1 strain was classified as a novel strain of *Enterobacter aerogenes* based on chemotaxonomic and phylogenetic analyses. The isolated *E. aerogenes* 5-1 was confirmed to produce indole-3-acetic acid (IAA), one of the auxin hormones, using TLC and HPLC analyses. When the concentration of IAA was assessed by performing HPLC quantitative analysis, a maximum concentration of IAA of 109.9 mg L<sup>-1</sup> was detected in the culture broth incubated in R2A medium containing 0.1% L-tryptophan for 24 h at 35°C. Acidification of the culture was deemed caused by an increase of IAA because a negative relationship between IAA production and pH was observed. Supplementation with a known precursor of IAA production, L-tryptophan, appeared to induce maximal production at 0.1% concentration, but it reduced production at concentrations above 0.2%. To investigate the growth-promoting effects to crops, the culture broth of *E. aerogenes* 5-1 was used to inoculate water cultures and seed pots of mung bean and lettuce. In consequence, adventitious root induction and root growth of mung bean and lettuce were two times higher than those of the control.

**Keywords:** auxin, bio assay, *Enterobacter aerogenes*, plant growth promoting rhizobacteria

## Introduction

화학비료 및 농약의 과다사용으로 생태계 교란은 물론, 토양양분의 불균형이 초래되어 수질 오염 및 농산물의 안정성이 문제시 되고 있다. 국제적으로도 리우선언 이후 유기농산물에 대한 새로운 기준이 제정되었고, OECD에서도 농업환경지표를 제정하여 그 이행압력이 가중되면서 친환경농업에 대한 관심이 대내외적으로 집중되고 있다. 또한, 세계화에 따른 FTA 체결로 인해 우리 농산물이 경쟁력을 가지려면 농산물의 품질과 안전성이 중요시 된다. 정부에서도 친환경 농업 육성법을 제정하여 환경과 농업을 조화시켜 경제성 확보뿐 아니라 환경보전 및 생산된 농작물의 안정성을 동시에 추구하기 위해 노력하고 있다. 그 일환으로 유용미생물을 이용한 친환경 유기농 자재를 활용하여 작물생육촉진 및 병해충발생억제 등 생태계보존을 하기 위한 노력



## OPEN ACCESS

**Citation:** Oh SH, Lee CJ, Yoon MH. 2016. Isolation and Characterization of Plant Growth Promoting Rhizobacteria From Button Mushroom Compost. Korean Journal of Agricultural Science 43:100-108.

**DOI:** <http://dx.doi.org/10.7744/kjoas.20160012>

**Editor:** Taek-Keun Oh, Chungnam National University, Korea

**Received:** November 11, 2015

**Revised:** February 15, 2016

**Accepted:** March 11, 2016

**Copyright:** ©2016 Korean Journal of Agricultural Science.

This is an Open-Access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution Non-Commercial License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

이 확산되고 있다. Kloepper 등(1980)은 식물의 성장을 촉진시키는 PGPR (plant growth promoting rhizobacteria) 미생물들의 존재를 발표하였고 이러한 PGPR에 의해 작물의 수확량이 증대 되고 토양 병을 방제할 수 있다는 연구결과들이 보고되어 이들 미생물에 대한 관심이 높아졌다. 미생물에 의한 식물생장촉진 기작으로는  $\beta$ -1,3-glucanase, chitinase, cellulase와 같은 식물병원성 진균의 외벽을 가수분해 할 수 있는 효소를 생성하는 길항미생물들에 의한 병해억제 기능(Jung et al., 2007; Pozem et al., 1999), 식물병원성 진균의 포자발아를 억제하는 철( $Fe^{3+}$ )이온을 특이적으로 결합하는 siderophore 생성 미생물(Gamalero et al., 2003; Kloepper et al., 1980), 그리고 Ramamoorthy 등(2001), Wei 등(1996)은 lipopolysaccharide, salicyic acid, cyclo-dipeptide 등의 유도 저항성 물질을 생성하는 미생물들을 보고하였다. 또한, *Rhizobium* 군에 의해 식물의 세포신장, 발아, 기관의 분화, 개화 등에 관여하는 식물호르몬 auxin이 유도 될 수 있다는 것을 보고 한 이후 *Aeromonas veronii* (Mehnaz et al., 2001), *Alcaligenes piechaudii* (Barazani and Friedman, 1999), *Azospirillum* sp. (Zimmer et al., 1998), *Azotobacter* sp. (Joshi et al., 2006), *Bacillus* sp. (Jung et al., 2006), *Bradyrhizobium* sp. (Anroun et al., 1998) 및 *Rahnella aquatica* (Jung et al., 2011) 등 많은 미생물들이 auxin을 생성할 수 있다고 보고하였고, Pishchik 등 (2002)은 카드뮴 오염토양에서 보리의 성장을 촉진하는 미생물로 *Pantoea rwardensis*를 사용하여 indole-3-acetic acid (IAA)를 126-330 nmol mg<sup>-1</sup>농도로 생성함은 물론 보리의 수확량도 증가하였다고 보고하였다.

본 실험에서는 양송이 퇴비로부터 식물생장 촉진물질인 auxin 의 생성능력이 우수한 균주를 분리한 후 분리 균의 배양조건 별 auxin 생산성을 조사하였고, 또한, bio assay 실험을 통해 분리 균에 의한 작물의 생육효과를 검토함으로써 새로운 미생물자원을 선별하기 위한 목적으로 실험을 수행하였다.

## Materials and Methods

### 균주의 분리

PGPR 생성균 분리를 위해 충남 보령시 청라면 양송이 재배농가의 양송이 발효 퇴비를 채취하였다. 채취시료 1 g을 멸균 생리식염수 99 mL에 첨가해 진탕 배양기에서 170 rpm, 30분간 진탕 후 단계적 희석 평판법에 의해 각 희석액을 분리용 배지인 0.1% (w/v) L-tryptophan이 첨가된 R2A 고체배지에 도말하여 30°C에서 배양하였다. 고체 배지에서 순수분리 된 colony를 고체배지에 tooth-picking 후 Salkowski시약을 분산시켜 colony 주변에 분홍색을 띠는 균주를 auxin 생성 균주로 1차 선별 하였다.

### Auxin 생성균주의 선별

선발균주를 R2A broth 배지(pH 7.0)에 접종하여 30°C, 170 rpm에서 24시간 이상 전배양, 본배양으로 진탕 배양한 배양액을 4°C, 4000 rpm, 15분간 원심분리해 상등액을 회수하였다. 상등액과 Salkowski 시약을 1:3 (상등액: 시약)의 비율로 혼합하여 30분(in dark) 간 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 535 nm에서 흡광도를 측정하여 선발균들의 auxin 생성능을 확인하였다. 표준곡선 작성은 Sigma사의 IAA를 10, 30, 50, 70, 100 mg L<sup>-1</sup> 농도로 methanol에 첨가 후 535 nm에서 측정하였다. 또한, 균의 배양조건과 auxin 생성능을 비교하기 위해 35°C에서 24 시간 배양하면서 배양기간에 따른 균주의 성장, IAA생성 유도 전구물질인 L-tryptophan 의 최적농도, IAA 생성 및 최종 pH를 측정하였다.

### TLC 에 의한 IAA 의 확인

선발 균주들의 auxin 생성능을 TLC 분석으로 확인하기 위해 배양 상등액을 염산으로 pH 2.8까지 산성화 시킨 후, 2배의 ethyl acetate로 분획추출 하였다. 수용액 층은 버리고 회수한 ether층을 rotavapor 장치로 감압증류로 날려버려 얻어진 잔사를 methanol 2 mL에 녹여 TLC 분석을 위한 시료로 사용하였다. TLC 전개용매는

1-propanol:NH<sub>4</sub>OH:H<sub>2</sub>O (6:3:1)혼합액을 사용 하며, 발색시약은 증류수 100 mL, 농 염산 150 mL, p-dimethylaminobenzaldehyde 0.7 g을 용해한 Ehrlich 시약을 사용하였다(Lim et al., 1995).

### HPLC를 통한 IAA의 정량분석

추출한 ether층 methanol 수용액내의 IAA 함량을 HPLC 정량분석을 통해 확인하였다. 사용한 분석기기는 Agilent (USA) 사의 1260 infinity system의 UV detector를 이용하여 285 nm에서 측정하였고, 컬럼은 Luna 5U C18 (250×4.60 mm), 이동상은 MeOH: H<sub>2</sub>O (5:5)를 사용하였으며, 용출속도는 1 mL min<sup>-1</sup>였다.

### Bio assay를 통한 식물생장 실험

#### 녹두발근생검법(수경법)

선발된 auxin 생성균주의 생육촉진효과를 검토하기 위하여 auxin 생성검정방법으로 많이 활용되고 있는 녹두 발근검정법(mungbean adventitious root induction method)을 이용하여 뿌리발근 촉진효과를 조사하였다. 녹두 종자를 0.3% (v/v) sodium hypochloride 용액에 3분간 침지하여 소독 후 흐르는 물에 24시간 침종하고, 무균도양에 파종하여 28°C, 5000 Lux 광원하의 배양실에서 5일간 배양한 후 제1 본엽이 전개되고 첫 3소엽의 엽아가 다소 부풀어 있는 상태에서 녹두묘를 캐냈다. 균일한 크기로 선별된 녹두묘로부터 자엽을 제거하고 자엽 밑으로 하배축을 4 cm남기고 소독된 예리한 칼로 절단한 후 Salkowski test에서 auxin생산성이 높게 나타난 균주의 배양 상등액 50 μL와 멸균증류수 5 mL (배양 상등액: 멸균증류수 = 1:100)와 NPK양액이 첨가된 vial에 절단한 묘 3개씩 넣어 24시간 마다 멸균증류수로 일정수준까지 수분 보충하여 동일한 환경조건하에서 연속조명으로 10일간 발근시킨 후 1 mm이상의 발근수를 계수하였고, 뿌리 길이를 측정하여 합산하였다.

#### 녹두발근생검법(Pot실험)

Auxin 생산능 확인시험으로 pot 재배를 통한 녹두발근검정법을 병행 수행하였다. 상기 '녹두발근생검법'에 따라 얻어진 녹두 자엽의 하배축을 멸균된 상토(발토양: 버미큘라이트: 상토 = 2:1:1)에 선발균주의 배양 상등액을 100배 희석하여 3일에 한번씩 20일 동안 관주한 후 형성된 발근수와 발근 길이를 측정하여 뿌리발근 효과를 조사하였다.

#### 상추발근생검법(Pot실험)

Auxin 생산능 확인시험으로 pot 재배를 통한 상추발근검정법을 병행 수행하였다. 자라고 있는 상추 묘목을 구입해 멸균된 상토(발토양: 버미큘라이트: 상토 = 2:1:1)에 선발균주의 배양 상등액을 100배 희석하여 3일에 한번씩 24일 동안 관주한 후 형성된 발근 길이와 뿌리의 무게를 측정하여 뿌리발근 효과를 조사하였다.

### 분리 균주의 동정

본 균주의 생리학적 특성은 Gram 음성 세균의 동정에 사용되는 API 20NE kit (Bio Merieux)를 제조회사의 시행방법에 따라 사용하였다. DNA-DNA hybridization 실험은 photobiotin-labelled DNA probe 와 micro-dilution wells을 이용하여 Ezaki 등(1989)에 의해 기술된 방법에 의해 수행하였다. 또한 16S rRNA 염기서열 해석 및 계통수 작성을 위하여 16S rRNA의 부분서열의 상동성은 DDBJ/ EMBL/ GenBank database의 Blast program을 이용하여 분석 하였으며, 각 염기서열의 alignment는 Cluster X program package (version 1.8)를 이용하여 정렬하였고, 계통도의 작성은 근린결합법에 의거하여 결정되었다.

## Results and Discussion

### 균주의 분리

충남 보령시 청라면 지역 양송이 재배단지 부근의 양송이 퇴비로부터 순수 분리된 각 균주들을 auxin 생성균 분

리용 R2A agar 배지 상에서 colony를 형성시킨 후, Salkowski시약과 반응시켜 colony 주변에 붉은색을 형성하는 3개의 균(BR6, 1-1, 5-1)을 1차 선발하였다. 고체 배지 상에서 양성반응을 보인 1차 선발균주들을 0.1% L-tryptophan이 첨가된 R2A broth 배지(pH 7.0)에 접종하여 30°C, 24시간 진탕 배양 한 배양액을 원심분리하여 상등액을 회수하였다. 배양 상등액과 Salkowski 시약을 1:3의 비율로 혼합하여 30분 간 암반응 조건에서 반응시킨 후 형성된 붉은색의 강약을 분광광도계를 이용하여 선발균들의 auxin 생성능을 확인한 결과, 선발균주 중 흡광도가 가장 높은 5-1균이 상대적으로 붉은색이 가장 짙게 나타남으로써 IAA 생성능이 높음을 육안으로 확인할 수 있었다(Fig. 1).

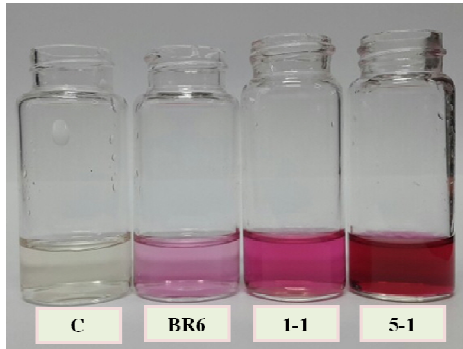


Fig. 1. Isolation of auxin-producing bacteria from button mushroom compost using Salkowski-R2A broth.

### Auxin 물질의 확인 및 생산능 비교

선발균주들이 생성하는 auxin물질을 TLC를 이용하여 확인 한 결과, 표준시약으로 사용한 IAA의 RF값 0.75와 일치 함으로서 IAA계 auxin 물질임을 확인 할 수 있었다(Fig. 2). 또한, 비색법에 의해 auxin 생성능이 우수한 선발균주들의 auxin 생성능을 정량적으로 비교하기 위하여 각 배양액으로부터 추출한 ether 분획을 HPLC 분석을 통해서 선발균주들이 생성하는 IAA 함량을 정량적으로 확인 한 실험 결과에서도 모든 배양 농축물의 IAA peak가 RT 150초 내외로 검출되었고(Fig. 3), 각 균주별 농도는 5-1이  $109.9 \text{ mg L}^{-1}$  으로 가장 높게 나타났으며, 1-1은  $33 \text{ mg L}^{-1}$  그리고 BR6는  $21.3 \text{ mg L}^{-1}$  순으로 검출됨 으로서 비색법의 결과와 비슷한 경향을 보였다(Table 1). 이 결과는 Jung 등(2011)이 양송이 폐상배지로 부터 분리한 *Rahnella aquatica*가 생성한 IAA 보다는 약 2배 낮은 수준 이었고, Lim 등(2002)이 논 토양과 밭 토양에서 분리한 호기성균인 *Pseudomonas fluorescens*와 Jung 등(2006)이 보고한 *Bacillus subtilis*가 생성한 IAA 농도와는 비슷한 수준이었다.



Fig. 2. TLC analysis of IAA produced from the selected strains. Concentration of IAA standard: 10, 30 and  $100 \text{ mg L}^{-1}$ .

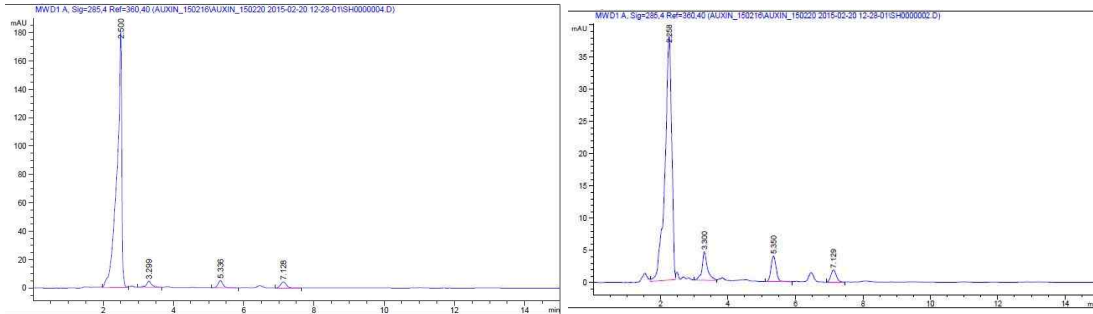


Fig. 3. HPLC chromatogram of IAA extracted from the strains 5-1 (Left) and 1-1 (Right).

Table 1. Estimation of IAA produced from the isolated strains by HPLC.

Strain No.	RT min	Area mAU*s	Height mAU	IAA mg mL <sup>-1</sup>
Control	-	-	-	-
100ppm	2.41	1612.298	92.043	100.0
1-1	2.36	527.219	37.875	33.0
5-1	2.50	1741.850	180.717	109.9
BR6	2.45	347.342	24.523	21.3

### Bio assay를 통한 식물생장 실험

Auxin 생성균이 작물의 뿌리 생육에 미치는 효과를 검토하기 위하여 녹두묘(mung bean)를 공시 작물로 이용하여 수경법과 pot 재배실험을 통한 선발균의 배양액 공급 효과를 확인하였다.

#### 수경법에 의한 녹두발근력 확인 실험

Table 2에서 보는 바와 같이 대조구의 발근수가 9개인 반면 100배 희석한 5-1번 균주의 배양 상등액 첨가 시 발근수는 무려 24개 이었으며, 1-1번 균주는 17개로 나타났다. 길이도 두 균주 모두 각각 336 mm와 153 mm로 대조구(72.6 mm)에 비해 약 3.3배의 신장효과를 보였다. 또한, 두 균주의 총 발근수와 발근길이의 평균값을 백분율로 비교한 결과 대조구에 비해 5-1은 364%, 1-1은 199%로 나타나 각각 약 3.64배와 1.99배까지 높게 나타나는 것으로 확인되었다.

Table 2. Estimation of IAA produced from the isolated strains by HPLC.

Strain No.	Uprooting No.		Uprooting length (mm)	
	Water culture	Pot culture	Water culture	Pot culture
Control	9	38	73	342
100ppm	22	67	272	651
1-1	17	44	153	556
5-1	24	61	336	680
BR6	13	42	104	496

#### Pot 실험에 의한 녹두발근 생검법

Pot 실험을 통한 결과에서도 5-1과 1-1 균주의 발근효과가 가장 높게 나타나 5-1번 균주의 발근수는 61개, 발근길이는 680 mm 그리고 1-1번 균주는 발근수 44개, 발근길이 556 mm 로 확인되어 총 발근수와 발근길이의 평균값을 비교한 결과, 수경법의 결과와 차이가 있었으나 대조구에 비해 각각 2배와 1.6배까지 높게 나타났다(Table 2).

이상의 수경법과 Pot 실험의 결과를 통해 선발균주 중 5-1 균주가 가장 높은 뿌리 생육촉진 효과를 나타냈다.

### Pot실험에 의한 상추발근 생검법

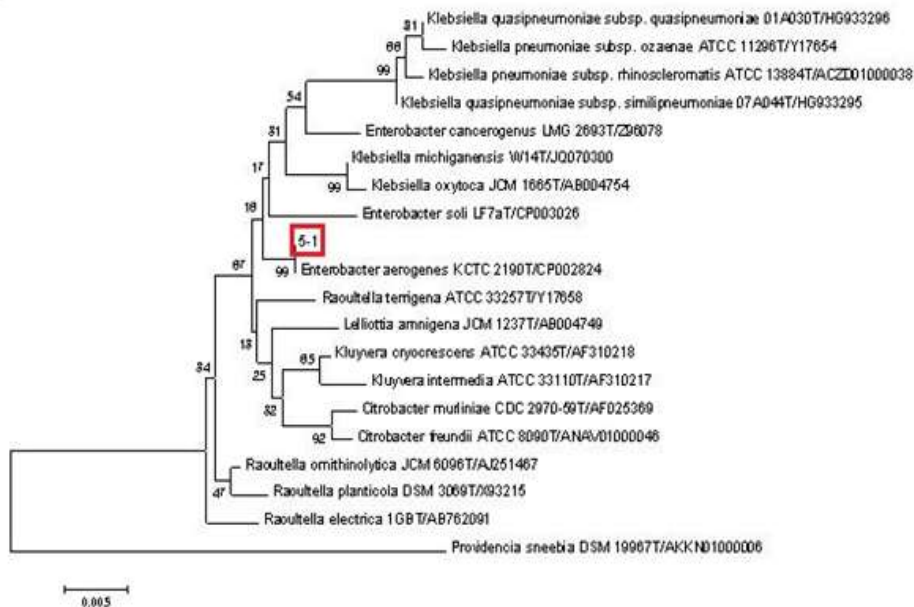
상추 Pot 실험을 통한 결과에서도 5-1과 1-1 균주의 발근효과가 높게 나타나 5-1번 균주의 발근길이는 1183 mm, 무게는 5.35 g 그리고 1-1번 균주의 발근길이 996 mm, 무게 3.75 g으로 확인되어 총 발근길이와 무게의 평균값을 비교한 결과, 대조구에 비해 각각 2.32배와 1.73배까지 높게 나타났다(Table 3). 상추 Pot 실험의 결과에서도 선발균주 중 5-1 균주가 가장 높은 뿌리 생육촉진 효과를 보여 녹두묘 실험 결과와 거의 유사한 생육촉진 효과를 나타냈으며, 비색법 및 HPLC 분석을 통한 IAA 생성량 조사에서도 타 균주들에 비해 월등히 높은 IAA 생성능을 나타낸 결과와도 일치하므로 5-1 균주를 auxin 생성 PGPR균으로 최종 선발하였다.

**Table 3.** Growth effect on lettuce infected with auxin-producing bacteria in seed pot culture.

Strain No.	Uprooting of lettuce	
	Length (mm)	weight (g)
Control	836	1.66
100 ppm	1060	4.38
1-1	996	3.75
5-1	1183	5.35
BR6	970	3.99

### 분리균의 동정

Auxin 생성능이 가장 우수한 5-1 균주의 16S rRNA 염기서열을 결정하여 BLAST 프로그램 이용하여 근린 결합법에 의거 하여 계통학적 위치를 검토한 결과, 분리균 5-1은 100%의 상동성을 나타낸 *Enterobacter aerogenes* 로 동정되었다(Fig. 4).



**Fig. 4.** Phylogenetic trees of strain 5-1 estimated from 16S rRNA gene sequence.

### 배양조건별 Auxin 생산능 비교

최종 선발균 5-1을 0.1% L-tryptophan이 함유된 R2A broth (pH 7.0)배지에 배양하면서 auxin 생성을 위한

최적 배양조건을 검토하였다. 분리균의 전 배양액 1%를 seed 접종 한 후 35°C에서 배양 시 균의 생육은 약 24시간에 대수기 후기에 도달하였다. 생육초기에는 IAA의 생성량이  $22 \text{ mg L}^{-1}$  이하의 낮은 수준을 유지하였으나, 생육이 최대인 배양 24시간에는 IAA가  $109 \text{ mg L}^{-1}$ 으로 급격히 증가 하였다(Fig. 5). 또한, 배양액의 pH 변화는 배양 24시간 이전까지는 pH 6.5 수준을 유지하다가 IAA 생성량이 증가하는 24시간 이후부터는 최종 pH가 5.5 이하로 낮아지는 결과를 보임으로서 IAA 생성량과 pH 변화에는 부의 상관성이 있는 것으로 관측 되었고 IAA의 농도증가가 배지의 pH를 산성화시키는 원인으로 판단되었다.

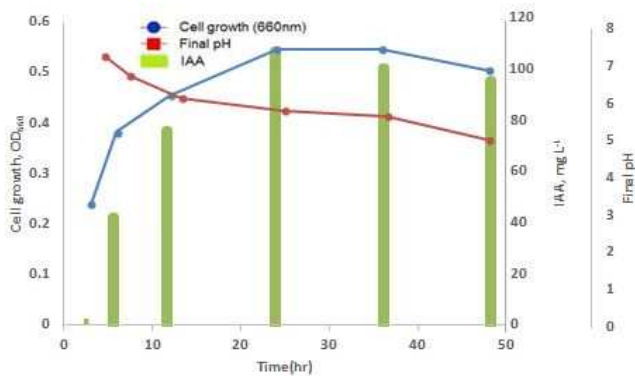


Fig. 5. The profile of IAA production and viable cells of *Enterobacter aerogenes* 5-1 based on incubation time.

또한, IAA 생성을 위한 전구물질로 알려진 L-tryptophan이 분리균의 IAA 생성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 R2A broth (pH 7.0) 배지에 L-tryptophan을 농도별(0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4%)로 첨가하여 IAA 생산능을 비교하였다. Fig. 6과 같이 분리균은 무 첨가 배지에서는 IAA를 거의 생성하지 않았으며, 0.1% 첨가 시 균의 생육과 IAA 함량이 최대이었고, pH의 경우도 초기 pH 7.0에서 5.8 수준으로 낮아지는 비슷한 경향을 보였다. 그러나 0.2% 이상 첨가 시에는 pH의 변화도 거의 없으며, 균의 생장이나 IAA 농도가 크게 감소하므로 고농도의 L-tryptophane 배지에서는 오히려 IAA의 생성에 저해 됨을 확인 할 수 있었다.

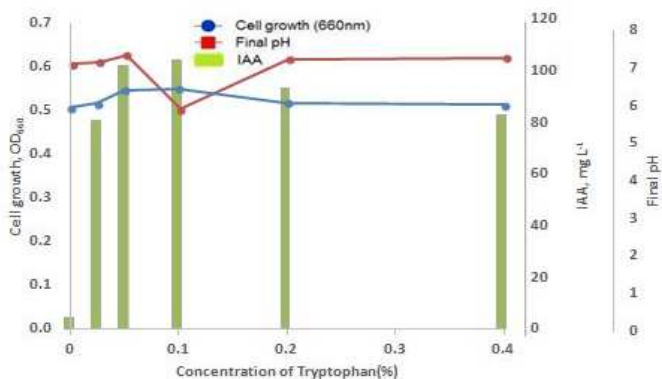


Fig. 6. The effect on concentration of L-tryptophan (%) on IAA production from *Enterobacter aerogenes* 5-1.

이상의 결과를 통해 양송이퇴비로부터 분리한 auxin 생성균 *Enterobacter aerogenes* 5-1은 장내세균 속(genus)이면서도 IAA 생성능이  $109.9 \text{ mg L}^{-1}$ 으로 대표적인 PGPR균주들(Jung et al., 2006, Ouzari et

al., 2008, Jung et al., 2011)은 물론 느타리버섯재배 토양으로부터 분리한 다른 장내세균인 *Ochrobactrum anthropi* 속(Lee et al., 2015)과 도 비슷한 수준의 IAA 생성능을 보였다. 분리균주의 IAA생성을 위한 최적 배양조건은 0.1% L-tryptophan이 함유된 R2A broth 배지에서 pH 7.0, 배양온도 35°C에서 24시간 배양 시 균의 생장뿐 아니라 IAA의 생성이 최대이었다.

또한 수경법과 Pot 실험을 통한 녹두묘와 상추묘를 이용한 배양액의 식물생장효과 확인 실험에서도 선발균주 중 5-1 균주가 가장 높은 뿌리 생육촉진 효과 및 발근효과를 나타냄으로서, *E. aerogenes* 5-1이 생성하는 IAA 농도는 작물 적용 시 뿌리 및 생장촉진을 유도할 수 있는 PGPR 미생물체로서 사용이 가능하다고 판단되었다.

## Conclusion

충남 보령시 청라면 양송이 재배 농가의 양송이퇴비로부터 auxin (IAA) 생성능이 뛰어난 세균 5-1균주를 분리하였다. 유전학적 및 계통학적 특성분석을 통해 분리균은 Gram 음성 소간균인 *Enterobacter aerogenes* 5-1로 동정되었다. HPLC 정량분석을 통해 분리균 *E. aerogenes* 5-1이 생성한 IAA 농도를 확인한 결과, 0.1% L-tryptophan를 함유한 pH 7.0의 R2A broth배지에 35°C, 24시간 배양 시 최대생성농도인 109.9 mg L<sup>-1</sup>를 생산하였다. 배양조건별 IAA의 생산능 비교 시, IAA농도의 증가가 배양액의 pH 산성화에 기인함으로서 IAA 생성량과 pH 변화에는 부의 상관성이 있는 것으로 관측되었다. IAA 생성을 위한 전구물질로 알려진 L-tryptophan의 첨가효과는 0.15% 첨가 시 균 생육 및 IAA 생성량이 최대이었으며, 0.2% 이상 고농도 첨가 배지에서는 오히려 IAA의 생성이 저해되었다. 또한 녹두발근 생검법과 상추 pot 재배를 통한 분리균의 식물생장촉진효과 실험에서 분리균 *E. aerogenes*, 5-1배양액의 첨가는 무첨가구인 대조구에 비해 발근수와 뿌리길이에서 약 2-3배의 생육촉진효과를 보임으로서 실제 작물 적용 시 뿌리 및 생장촉진을 유도할 수 있는 PGPR 미생물체로서 사용이 가능하다고 판단되었다.

## Acknowledgements

본 연구는 농업진흥청 국립원예특작과학원(PJ009961)의 지원으로 수행한 결과입니다.

## References

- Anroun H, Beauchamp CJ, Goussard N, Chabot R, Lalande R. 1998. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes: effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). *Plant Soil* 204: 57-67.
- Barazani O, Friedman J. 1999. Is IAA the major root growth factor secreted from plant-growth-mediating bacteria. *Journal of Chemical Ecology* 25:2397-2406.
- Ezaki T, Hashimoto Y, Yabuuchi E. 1989. Fluorometric deoxyribonucleic acid-deoxyribonucleic acid hybridization in micro-dilution wells as an alternative to membrane filter hybridization in which radioisotopes are used to determine genetic relatedness among bacterial strains. *International journal of Systematic Bacteriology* 39:224-229.
- Gamalerio E, Fracchia L, Cavaletto M, Garbaye J, Frey-Klett P, Varese GC, Martinotti MG. 2003. Characterization of functional traits of two fluorescent *Pseudomonas* isolated from basidiomycetes of ectomycorrhizal fungi. *Soil Biology & Biochemistry* 35:55-63.
- Joshi KK, Kumer V, Dubey RC, Masheshwari DK, Bajapai VK, Kang SC. 2006. Effect of chemical fertilizer-adaptive variants, *Pseudomonas aeruginosa* GRC2 and *Azotobacter chroococcum* ACI, on macrophomina paseolina causing charcoal rot of *Brassica juncea*. *Korean Journal of Environmental Agriculture* 25:228-235.



- Jung HK, Kim JR, Woo SM, Kim SC. 2006. An auxin producing plant growth promoting rhizobacterium *Bacillus subtilis* AH18 which has siderophore-producing biocontrol activity. *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology* 34:94-100.
- Jung HK, Kim JR, Woo SM, Kim SD. 2007. Selection of the auxin, siderophore, and cellulase-producing PGPR, *Bacillus licheniformis* K11 and its plant growth promoting mechanisms. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry* 50(1):23-28.
- Jung YP, Kyung KC, Jang KY, Yoon MH. 2011. Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria from waste mushroom bed from *Agaricus bisporus*. *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer* 44(5): 866-871.
- Kloepper JW, Leong J, Teintze M, Schroth MN. 1980. Enhancement plant growth by siderophore produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature* 286:885-886.
- Lee CJ, Lee HH, Yoon MH. 2015. Plant growth promotion effect of auxin producing bacteria isolated from soil of Oyster mushroom farmhouse. *Journal of Mushrooms* 13:1-7.
- Lim HS, Lee JM, Kim SD. 2002. A plant growth promoting *Pseudomonas fluorescens* GL20: Mechanism for disease suppression, outer membrane receptor for ferric siderophore, and genetic improvement for increased biocontrol efficacy. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 12:249-257.
- Mehnaz S, Mirza MS, Haurat J, Bally R, Normand P, Bano A, Malik KA. 2001. Isolation and 16S rRNA sequence analysis of the beneficial bacterium from the rhizosphere of rice. *Canadian Journal of Microbiology* 47:110-117.
- Ouzari H, Khsairi A, Raddadi N, Hassen A, Zarrouk M, Daffonchio D, Boudabous A. 2008. Diversity of auxin-producing bacteria associated to *Pseudomonas savastanoi*-induced olive knots. *Journal of Basic Microbiology* 48(5):370-377.
- Pishchik VN, Vorobyev NI, Chernaeva II, Kozhemyakov AP, Alexeev YV, Lukin SM. 2002. Experimental and mathematical simulation of plant growth promoting rhizobacteria and plant interaction under cadmium stress. *Plant Soil* 243:173-186.
- Pozem MJ, Aguilar CA, Gaudot CD, Barea JM. 1999. 1,3- $\beta$ -Glucanase activities in tomato roots inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and *Phytophthora parasitica* and their possible involvement in bio protection. *Plant Science* 141:149-157.
- Ramamoorthy V, Viswanathan R, Raguchander, Prakasam V, Samiyappan R. 2001. Induction of systemic resistance by plant promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protection* 20:1-11.
- Wei G, Kleopfer JW, Tuzun S. 1996. Induced systemic resistance to cucumber diseases plant growth by plant promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology* 86:221-224.
- Zimmer W, Wesche M, Timmermans L. 1998. Identification and isolation of indole-3-pyruvate decarboxylase gene from *Azospirillum brasilense*, sequencing and functional analysis of gene locus gene. *Current Microbiology* 36:327-331.