

양송이버섯으로부터 분리한 두 *Burkholderia* 속 세균에 의한 인산가용화 효과

오종훈 · 김영준 · 윤민호*

충남대학교 농업생명과학대학 생물환경화학과

Phosphate solubilizing effect by two *Burkholderia* bacteria isolated from button mushroom bed

Jong-Hoon Oh, Young-Jun Kim, and Min-Ho Yoon*

Department of Bio-Environmental Chemistry, College of Agriculture and Lifesciences, Chungnam National University, Daejeon, 34134, Korea

ABSTRACT: *Burkholderia contaminans* PSB-A and *Burkholderia ambifaria* PSB-B were isolated from button mushroom bed to estimate their phosphate solubility. The phosphate-solubilizing abilities of these strains were assessed by measuring the phosphorus content in a single and co-inoculation medium for 7 days. The co-inoculation of these two strains released the highest content of soluble phosphorus ($166.3 \mu\text{g mL}^{-1}$) into the medium, followed by single inoculation of *B. contaminans* PSB-A ($143.73 \mu\text{g mL}^{-1}$) and *B. ambifaria* PSB-B ($127.1 \mu\text{g mL}^{-1}$). The highest pH reduction, organic acid production, and glucose consumption were also observed in the co-inoculation medium. According to the plant growth promotion bioassay, co-inoculation enhanced the growth of romaine lettuce much more than the single inoculation (20.4% for leaf widths and 16.6% for root lengths). Although no significant difference was noted between single and co-inoculation of bacterial strains in terms of phosphorous release and plant growth, co-inoculation of PSB may have a beneficial effect on crop growth due to a synergistic effect between the strains.

KEYWORDS: Phosphate solubilization, *Burkholderia contaminans*, *Burkholderia ambifaria*, Lettuce growth

서 론

인산은 식물체의 성장과 발육에 가장 필수적인 다량영양소 중 하나이다(Illmer P and Schinner F, 1992). 인산은 토양 중에 0.05% (w/w)를 차지하고 있으나, 식물이나 미

생물이 이용할 수 있는 인산의 양은 그 중에서도 0.1%에 불과하다(Zou *et al*, 1992). 또한 토양 중에 제공된 인산은 거의 대부분이 Al^{3+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} 등의 양이온과 결합하여 불용성 상태인 AlPO_4 , FePO_4 , $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ 으로 고정화되거나, 또는 유기물과 결합하여 phytin과 같은 불용성 인산 형태로 토양에 존재하여 염류집적 및 농업환경 오염의 주요 원인이 되고 있다(Suh and Kwon, 2008; EI-Yazeid and Abou-Aly, 2011).

이러한 $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ 등과 같은 불용성 인산염을 가용화시키는 근권미생물(rhizosphere microorganism) 중의 하나인 인산가용화균을 이용한 연구가 많이 이루어져 왔다(Qureshi *et al*, 2011; Egamberdieva *et al*, 2015). 근권에서 식물생육을 촉진하는 미생물인 대표적인 PGPR(Plant growth promoting rhizobacteria)균으로 알려진 인산가용화균은 토양 중에서 chelate 물질로 작용하는 succinic acid, glutamic acid 등의 유기산을 분비하여 토양 내 pH 저하시킴으로서 고정화 인산의 용해도를 증가시키고, 이로 인해 인산과 결합된 Al^{3+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} 이온 등을 해리시켜 토

J. Mushrooms 2020 September, 18(3):208-213
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2020.18.3.208>
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
 © The Korean Society of Mushroom Science

Jong-Hoon Oh(Researcher), Young-Jun Kim(Researcher), and Min-Ho Yoon(Professor)

*Corresponding author
 E-mail : mhyoon@cnu.ac.kr
 Tel : +82-42-821-6731

Received August 12, 2020
 Revised September 7, 2020
 Accepted September 14, 2020

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

양 내 가용화 인산(soluble phosphorus) 함량을 증진시켜 주며, 또한 Al^{3+} 의 독성도 줄여주고, 토양의 양분순화 및 작물의 양분흡수를 도와주는 매우 중요한 역할을 하는 미생물이다(Rodríguez and Fraga, 1999; Reyes *et al.*, 2002; Mundra *et al.*, 2011).

인산가용화균에 관한 연구는 *Pantoea agglomerans* (Khalimi *et al.*, 2012), *Burkholderia cepacia* (Braz and Nahas, 2012), *Pseudomonas aeruginosa* (Ahuja *et al.*, 2007), *Paraburkholderia* 속(Yu and Yoon, 2019) 등의 세균과, *Aspergillus awamori* (Walpolo and Yoon, 2013) 및 *Penicillium rugulosum* (Reyes *et al.*, 2002) 등의 곰팡이를 이용한 식물생장촉진효과 및 병원성 박테리아에 대한 항균효과에 대한 연구결과도 보고되었다. 또한 인산가용화 능력은 인산가용화균의 상호작용에 의하여 시너지효과를 발생시키는 것으로 알려져, 인산가용화 세균과 세균 간의, 그리고 인산가용화 세균과 인산가용화 곰팡이 사이의 상호작용에 의한 길항작용 또는 시너지효과에 관한 연구결과도 보고되었다(Braz and Nahas, 2012; Walpolo and Yoon, 2013; Sane and Mehta, 2015; Park *et al.*, 2016).

인산가용화 능력을 가지는 PGPR 미생물을 이용한 미생물비료의 개발은 화학비료를 대체하여 화학비료의 연속적 사용에 의해 발생하는 여러 환경문제와 농업 생산성의 감소와 같은 문제를 해결할 수 있다. 따라서 복합미생물을 이용한 미생물비료를 개발하는 과정에서 미생물간의 상호작용에 의한 길항작용이나 시너지효과를 확인하고, 작물생육에 미치는 영향을 조사함으로써 더욱 효율적인 미생물비료 개발에 도움이 될 것이다. 따라서 본실험에서는 양송이버섯으로부터 분리한 인산가용화 세균인 *Burkholderia contaminans* PSB-A 와 *Burkholderia ambifaria* PSB-B 를 이용하여 배지 배양 및 포트 재배실험을 통해 두 균주간의 인산가용화능에 관한 상호작용과 작물생장효과를 확인하기 위하여 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

인산가용화균의 분리

인산가용화 박테리아는 충청남도 부여군 석성면 양송이 재배농가의 양송이버섯으로부터 분리 하였다. 각 농가로부터 23개의 양송이 배지를 채취하여 배지 1 g을 0.85% NaCl 용액 99 mL이 담긴 플라스크에 넣어 30 분간 진탕한 후 진탕한 용액 1 mL을 0.85% NaCl 용액이 9 mL 담긴 플라스크에 넣어 희석한 후 희석용액을 같은 방법으로 한번 더 희석하여 희석액 100 μ L을 National Botanical Research Institute's phosphate (NBRIP) 배지에 도말하여 균주분리를 하였다. 도말한 배지는 40°C Incubator에 넣고 배양하였고 배지 내 투명한 부분이 형성된 Colony를 다시 NBRIP 배지에 계대배양 하여 순수분리 하였다. 38

개의 시료 중 10 개의 시료에서 인산가용화 능력을 갖는 박테리아를 발견하였고 이 중에서 배지 내 투명환(Clear zone)을 형성하는 크기가 크고 빠르게 형성하는 *Burkholderia contaminans* 와 *Burkholderia ambifaria*을 분리하여 실험에 사용하였다.

미생물 배양

전배양은 투명환을 형성하는 단일 Colony를 갖는 선발한 두 종의 박테리아를 각각 NB(Nutrient Broth)배지 25 mL이 담긴 100 mL Flask에 접종하여 30°C의 항온실에서 150 rpm으로 48 시간 진탕배양 하였다. 전배양액을 NBRIP 액체배지 200 mL가 담긴 500 mL Erlenmeyer Flask에 각각 1 mL 접종하여 본배양 하였다. 그리고 두 종의 인산가용화 박테리아의 시너지효과를 확인하기 위하여 *B. contaminans* 와 *B. ambifaria*을 배양한 전배양액을 각각 0.5 mL씩 합이 1 mL이 되도록 동시접종 하였고, 멸균한 NBRIP 액체배지를 대조군으로 설정하였다. 본배양한 액체 배지는 30°C의 항온실에서 7 일간 150 rpm으로 진탕배양 하였다. 처리구는 control(무접종구), *B. contaminans* 접종구, *B. ambifaria* 접종구, 그리고 *B. contaminans* 와 *B. ambifaria*의 동시접종구로 구분하여 3 회 반복 실험하였다.

가용화인의 함량분석

본배양한 배지는 1일, 3일, 5일, 7일차 간격으로 pH, 배지 내 잔류당, 가용화된 인의함량, 유기산 생성분석을 하였으며 배지 내 가용화된 인의 함량분석은 Phosphomolybdate blue color method (Park *et al.*, 2016)를 참고하여 분석하였다. 배양액 1.5 mL을 1.5 mL Tube에 담은 후 Centrifuge를 이용하여 13000 rpm으로 3분간 원심분리 후 상등액을 50 mL Volumetric Flask에 100 μ L넣은 후 발색시약을 8 mL 넣어 증류수를 Volumetric Flask의 50 mL 표시선 까지 채운 후 10 분간 대기 하였다. 가용화된 인의 함량이 많을수록 Ammonium para-molybdate 발색시약과 반응하여 진한 푸른빛을 띄게 되며 10 분이 지난 후에 Spectrophotometer(GENESYS 10S UV-VIS. Thermo, USA) 를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하여 분석하였다.

배지의 pH 및 잔류당 분석

pH 는 배지가 오염되지 않도록 멸균된 pipet 으로 일정량 덜어 pH meter를 이용하여 측정하였다. 배지 내 잔류당 분석은 DNS(3,5-dinitrosalicylic acid)법을 이용하여 측정하였고 시험관(18mm Φ × 150mmH)에 시료 1 mL과 DNS시약 3 mL를 첨가 후 100°C의 물이 있는 수조에 15 분간 반응시킨 후 실온에서 냉각한 후 Spectrophotometer (GENESYS 10S UV-VIS. Thermo, USA)를 이용하여 550 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

HPLC에 의한 유기산 분석

유기산 생성분석은 배지 내 존재하는 균이 생성한 유기산을 정성적, 정량적 분석하였으며 1260 series HPLC(Agilent Technologies, CA, USA)을 사용하여 분석하였다. 이동상 용매는 0.008M H₂SO₄를 100%로 사용하였고 칼럼은 Inertsil ODS-3V column (150 × 30 mm I.d. particle size 3 μm)을 사용하였으며 칼럼온도는 40°C, 검출과장 (Detection wavelength)은 210 nm로 설정하였고 시료는 자동주입으로 10 μL 주입하였으며 유속(flow rate)은 0.2 mL min⁻¹로 20 분간 분석하였다.

상추재배실험

두 종의 인산가용화 박테리아를 각각 접종하였을 때와 동시접종 하였을 때 식물생장에 미치는 효과를 비교하기 위하여 상추를 이용한 Pot실험을 하였다. 2018년 5월 6일부터 2018년 6월 5일까지 총 4주 동안 충남대학교 농업

생명과학대학의 온실에서 재배하였으며 상추는 묘목상태로 구입하여 사용하였고 화분에 상토를 담은 후(NH₂)₂CO₃ 20 mgKg⁻¹, KCl 60 mg Kg⁻¹를 각 Pot마다 처리하였으며 인은 Ca₃(PO₄)₂를 350 mg Kg⁻¹ 처리 하였으며 처리 조건은 접종하지 않은 Control, Control + TCP (Tri-Calcium phosphate) 처리구, *B. contaminans* YH3 와 *B. contaminans* + TCP 처리구, *B. ambifaria* 와 *B. ambifaria* YH4 + TCP 처리구, 그리고 동시 접종구로 *B. contaminans* YH3 + *B. ambifaria* 와 *B. contaminans* YH3 + *B. ambifaria* YH4 + TCP 접종구로 총 8 개의 처리구를 이용하여 실험하였다(n=3). 접종할 배양액은 25 mL NB배지에 배양한 액을 사용하였으며 1 주일 간격으로 각 포트당 1 mL씩 배양하였으며 물에 10배 희석하여 고르게 분배되도록 접종하였다. 매주마다 잎의 길이, 잎의 폭, 잎의 수, 뿌리길이, 전체길이를 측정하여 처리군마다 성장변화를 비교하였다.

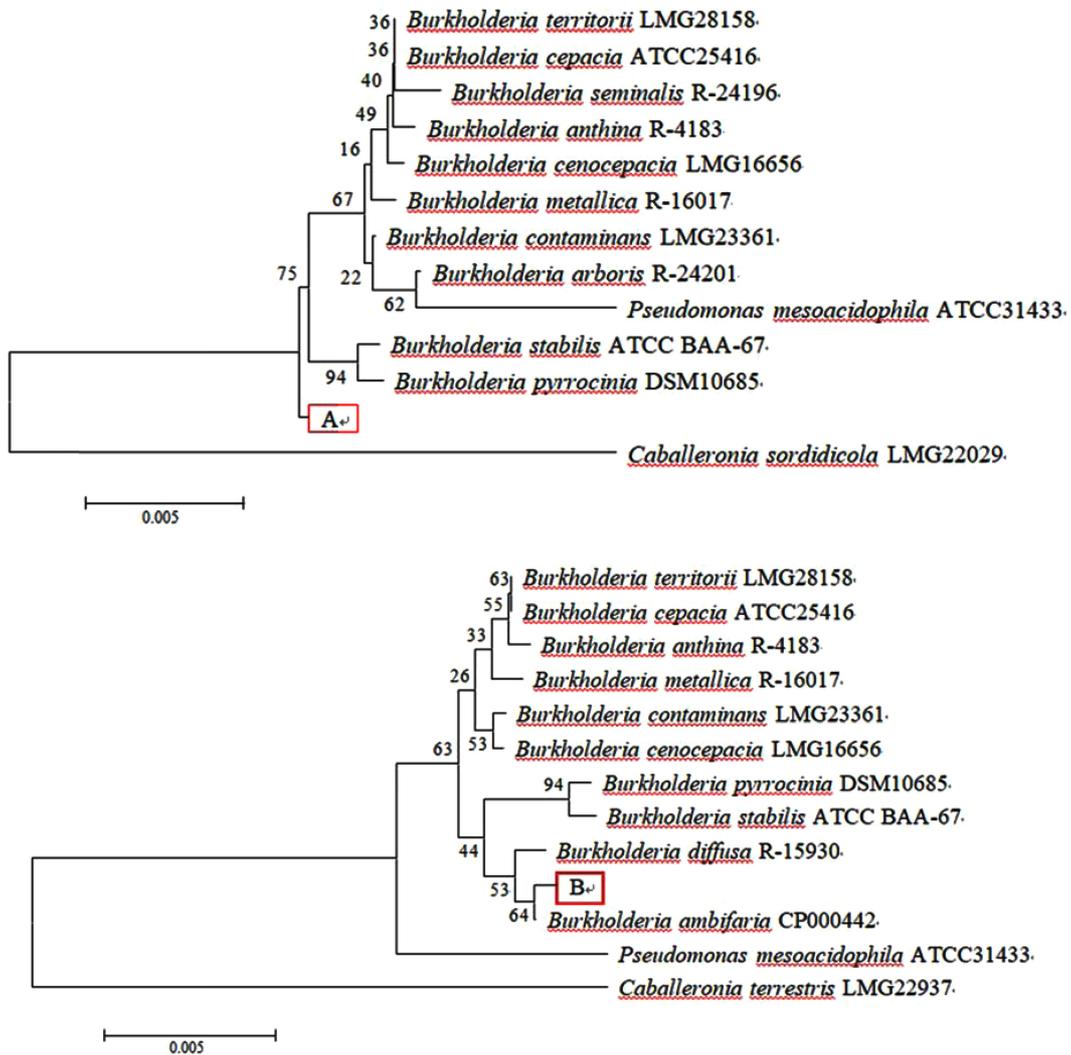


Fig. 1. Phylogenetic tree showing the position of isolate phosphate solubilizing bacterial strains PSB-A and PSB-B with respect to related species. The scale bar indicates 0.005 substitutions per nucleotide position and accession number are given in parenthesis.

결과 및 고찰

분리균의 동정

NBRIP배지에 희석평판법을 이용하여 순수분리한 선발 균주들 중 투명한 크기가 큰 두 균주(PSB-A와 PSB-B)를 최종 선발하여 16S rRNA 유전자염기서열을 분석하여 NCBI Genbank System을 이용하여 염기서열을 확인하였다. 확인 결과 분리균 PSB-A는 *Burkholderia contaminans* LMG23361와 99.79%의 유사성을 보였고, PSB-B는 *Burkholderia ambifaria* CPO 000442와 99.93%의 유사성을 보였다(Fig. 1)

가용화 인의 함량

인산칼슘이 함유된 NBRIP 액체배지에 분리균을 단일 또는 동시접종하고 배양기간에 따른 배지내 가용화된 인의 함량을 측정하였다. 배양기간에 따라 가용화된 인의 함량은 단독 접종 배지와 동시 접종한 배지 모두 배양 3일차에 가장 높았으며, 동시 접종한 배지는 3일차에 166.3 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 로 가장 높았고, 단일 배지의 경우 *B. contaminans* PSB-A의 143.73 $\mu\text{g mL}^{-1}$, *B. ambifaria* PSB-B 127.1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 의 순이었다(Fig. 2). 결과적으로 단일 접종구보다 동시 접종구에서의 가용화효과가 증진되었으나 동시접종에 의한 큰 시너지 효과는 관찰되지 않았다.

배지 내 pH의 변화

인산가용화 균이 배양된 배지는 균의 생육이 증가함에 따라 인산가용화 균이 생성하는 유기산에 따라 pH변화가 나타나게 된다. 배양 기간 동안 각 배지의 pH 변화는 접종 1일차에 pH가 급격히 감소하는 경향을 보여 배양 3일차에 *B. contaminans* PSB-A는 3일차에 pH 3.9로 가장 낮은 값을 보였고, *B. ambifaria* PSB-B는 5일차에 pH 3.7로 가장 낮은 값을 보였다. 동시접종구의 경우 배양 3일차에 pH 4.06으로 가장 낮았다(Fig. 3). 각 처리구간 유

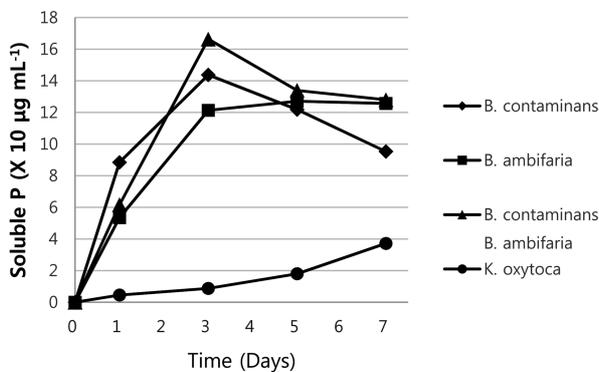


Fig. 2. Comparison of efficacy between single inoculation and co-inoculation of *Burkholderia contaminans* and *Burkholderia ambifaria* on phosphate solubilization. Values given here are the means of three replicates (n=3).

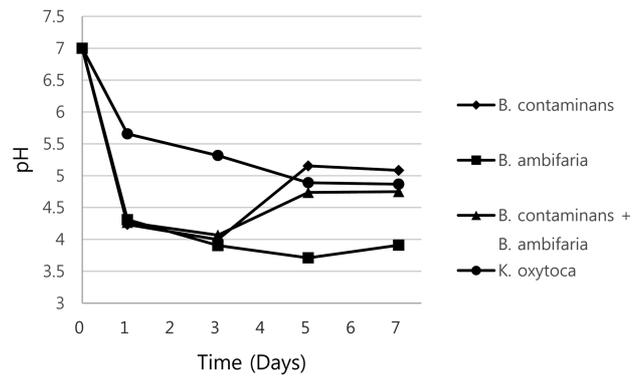


Fig. 3. Comparison of pH change during single and co-inoculation of *Burkholderia contaminans* and *Burkholderia ambifaria*. Values given here are the means of three replicates (n=3).

의수준의 차이는 없었으나 배양 5일차에 pH 4.9를 보인 양성대조구의 *Klebsiella oxytoca* 보다 유기산 생성량이 높음을 확인할 수 있었다.

배지 내 잔류당 변화

배지 내 남아있는 glucose 함량의 변화는 배양 1일 후 모든 처리구에서 50% 이상 크게 감소하였으나 그 이후 배양 7일 후까지 감소 폭의 변화가 2 mg mL^{-1} 정도의 미미한 수준이었다. 결과적으로 배양 1일 후 접종 전 10 mg mL^{-1} 에서 *B. contaminans* PSB-A와 *B. ambifaria* PSB-B의 동시 접종 배지에서 2.72 mg mL^{-1} 로 나타났고, 단일 접종배지의 경우 *B. contaminans* PSB-A는 4.68 mg mL^{-1} , *B. ambifaria* PSB-B의 경우 2.87 mg mL^{-1} 로 나타났다. 결과적으로 배양 1일후 glucose 함량이 PSB-A는 53.2%, PSB-B는 71.2%, 그리고 PSB-A와 PSB-B를 동시 접종한 경우에 72.8%가 감소하여 처리구간에는 큰 차이가 없

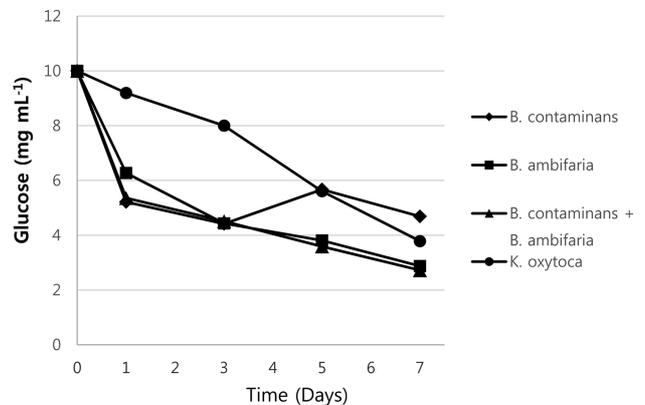


Fig. 4. Comparison of residual glucose in the medium between single and co-inoculation of *Burkholderia contaminans* and *Burkholderia ambifaria*. Values given here are the means of three replicates (n=3).

었으나, 양성대조군인 *Klebsiella oxytoca* 9.19 mg mL⁻¹보다 glucose의 이용능이 현저히 높았다(Fig. 4).

HPLC에 의한 유기산 분석

단일 접종 및 동시 접종에 의해 분리균에 의해 생성되는 유기산의 종류 및 함량을 분석하기 위하여 HPLC분석에 의하여 8종의 표준유기산 glutamic acid, gluconic acid, oxalic acid, malic acid, lactic acid, citric acid 및 succinic acid의 RT 및 함량을 결정하였다. 배양여액 중에 생성된 유기산 분석결과, 모든 접종구에서 gluconic acid, lactic acid, malic acid, glutamic acid 및 acetic acid 가 검출되었으며, Park et al(2016)에 의해 보고된 citric acid, succinic acid와 oxalic acid는 검출되지 않았다. 이 중 gluconic acid 와 malic acid의 농도가 높았고, glutamic acid, acetic acid 및 lactic acid 는 아주 낮은 수준이었다(자료미제시). 주요 유기산 중 gluconic acid 는 배양 5 일차에서 *B. contaminans* PSB-A 는 12.3 mg mL⁻¹ 수준이었고, 동시접종구는 13.4 mg mL⁻¹으로 가장 높았으나 *B. ambifaria* PSB-B 에서는 상대적으로 낮은 수준이었다(Table 1). 반면에 malic acid의 농도는 *B. ambifaria* 에서 높게 검출되어 배양 3일차에 *B. ambifaria* 단일접종구가 8.7 mg mL⁻¹, 동시접종구는 9.9 mg mL⁻¹으로 가장 높았다. 그러나 두 균주 간 단일접종과 동시접종에 의한 유의 수준의 유기산의 증가효과는 없었으나, 균주 및 배양기간에 따라 생성하는 주요 유기산의 종류 및 농도의 차이가 확인되었다(Table 1).

상추생육효과

상추 포트 재배실험을 통한 생육효과를 조사하기 위하여 접종 4주 후의 상추의 생육 차이를 조사하였다. 조사 항목은 처리구 잎의 폭 과 뿌리길이의 변화를 조사하였다. 모든 조사항목에서 단일접종구 와 동시 접종구 모두 무처리구와 대조구에 비해 생육이 향상되었으며, 특히 TCP(인산칼슘)를 첨가 시 모든 처리구에서 생육증진 효과를 보여 그 중 *B. ambifaria* + TCP 처리구의 잎의 너비와 뿌리 길이가 각각 10.98 cm 와 21.6 cm 로 가장 높은 값을

나타냈다(Table 2). 결과적으로 TCP를 첨가하지 않은 *B. contaminans* 접종구와 *B. ambifaria* 접종구, 그리고 동시 접종구에 비해 TCA 첨가한 모든 처리구에서 7-9% 수준의 생육증진효과를 나타낸 것은 인산가용화균이 추가로 공급된 TCP를 분해하여 작물이 활용할 수 있는 인의 함량이 증가했기 때문이라고 여겨진다. 그러나 배지를 이용한 실험 결과와는 달리 동시접종에 의한 상추의 생육의 시너지 효과는 나타나지는 않았으나, 인(P) 결핍 토양 및 염류토양에 인산가용화균을 사용하면 식물에 의한 P 섭취가 증가하고 생육이 촉진된다는 다른 연구결과(Rodríguez et al, 1999; Suh et al, 2008; Park et al, 2016)와 유사한 경향을 보였다.

Table 2. Comparison on growth of romaine lettuce after 4 weeks inoculation with *Burkholderia contaminans* and *Burkholderia ambifaria*.

Treatment	Root length (cm)	Width of leaf (cm)
Control	15.7±2.11	8.59±0.7
Control + TCP	14.3±1.0	9.25±1.1
<i>K. oxytoca</i>	16.4±0.2	9.81±0.6
<i>K. oxytoca</i> + TCP	15.5±1.4	8.5±1.5
<i>B. contaminans</i>	20.1±0.8	10.24±10.8
<i>B. contaminans</i> + TCP	21.36±2.5	10.15±0.5
<i>B. ambifaria</i>	20.5±1.6	10.70±0.6
<i>B. ambifaria</i> + TCP	21.6±4.2	10.98±0.6
<i>B. contaminans</i> + <i>B. ambifaria</i>	21.0±4.1	9.90±0.8
<i>B. contaminans</i> + <i>B. ambifaria</i> + TCP	21.72±2.5	10.21±0.4

Values given here are the means of three replicates (n=3).

Table 1. HPLC analysis of organic acid between single- and co-inoculation of *Burkholderia contaminans* and *Burkholderia ambifaria*.

	Gluconic acid (mg mL ⁻¹)				Malic acid (mg mL ⁻¹)			
	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7
<i>B. contaminans</i>	1.39 (±0.72)	11.12 (±1.26)	12.33 (±1.18)	10.02 (±0.79)	0.82 (±0)	2.11 (±1.23)	1.78 (±0.56)	0.90 (±0.06)
<i>B. ambifaria</i>	0.68 (±0.06)	5.251 (±0.59)	5.96 (±0.18)	3.37 (±0.62)	1.90 (±0.05)	8.73 (±0.8)	6.26 (±1.73)	3.36 (±0.14)
<i>B. contaminans</i> + <i>B. ambifaria</i>	1.77 (±0.60)	12.27 (±1.18)	13.40 (±1.06)	7.37 (±2.89)	1.50 (±0.15)	9.92 (±0.68)	8.19 (±1.31)	7.05 (±0.75)

Values given here are the means of three replicates (n=3).

적 요

양송이버섯으로부터 분리한 인산가용화균 *Burkholderia contaminans* PSB-A와 *Burkholderia ambifaria* PSB-B의 단일접종 및 동시접종에 따른 인산가용화 능력의 시너지 효과 및 상추생육효과를 조사하였다. 인산감습이 함유된 NBRIP 액체배지에 분리균을 접종하고 해리된 가용인산 (soluble phosphorus) 함량을 HPLC에 의해 분석하여 인산가용화능을 측정 한 결과, 배양 3일차에 동시접종구 166.3 $\mu\text{g mL}^{-1}$, *B. contaminans* 143.7 $\mu\text{g mL}^{-1}$, *B. ambifaria* 127.1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 의 순으로 나타나 두 종의 인산가용화세균 간의 동시접종에 의한 시너지효과가 다소 관찰되었다. 배지 내 pH와 잔류 glucose 함량 변화도 모든 접종구에서 배양 1 - 3일 후 pH 7.0에서 pH 4.0 수준으로 감소하였으며, glucose 함량은 초기 10 mg mL^{-1} 에서 4.3 mg mL^{-1} 수준으로 검출되어 인산가용화능과 거의 유사한 경향을 보였다. 배양여액의 유기산 분석결과 gluconic acid 약 12.3 mg mL^{-1} 와 malic acid 약 7.9 mg mL^{-1} 수준으로 가장 높게 검출되었으며, 결과적으로 두 세균이 분비하는 유기산이 배지의 pH를 감소시키고, 인산 가용화를 유도하는 주요 원인임을 확인할 수 있었다. 접종 4주 후 상추 생육차이를 조사한 결과, TCP를 첨가하지 않은 *B. contaminans* 접종구, *B. ambifaria* 접종구와 동시 접종구에 비해 TCA 첨가한 모든 처리구에서 약 7-9% 수준의 생육증진효과가 보였으나, 단일접종과 동시접종구간에 유의수준의 차이를 확인할 수 없었다.

REFERENCES

- Ahuja A, Ghosh SB, D'Souza SF. 2007. Isolation of a starch utilizing, phosphate solubilizing fungus on buffered medium and its characterization. *Bioresour Technol.* 98: 3408-3411.
- Bras RR, Nahas E. 2012. Synergistic action of both *Aspergillus niger* and *Burkholderia cepacea* in co-culture increases phosphate solubilization in growth medium. *FEMS* 332:84-90.
- Egamberdieva D, Shrivastava S, Varma A. (eds.) 2015. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and medicinal plants. *Soil Biology* 42:3-4.
- El-Yazeid AA, and Abou-Aly HE. 2011. Enhancing growth, productivity and quality of tomato plants using phosphate solubilizing microorganisms. *Australian J Basic Appl Sci* 5:371-379.
- Illmer P, and Schinner F. 1992. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soils. *Soil* 24:389-395.
- Khalimi K, Suprpta DN, Nitta Y. 2012. Effect of *Pantoea agglomerans* on growth promotion and yield of rice. *Agri Sci Res J.* 2:240-249.
- Mundra S, Arora R, Stobdan T. 2011. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a novel temperature, pH, and salt tolerant yeast, *Rhodotorula* sp. PS4, isolated from seabuckthorn rhizosphere, growing in cold desert of Ladakh, India. *World J Microbiol Technol* 27:2387-2396.
- Park JH, Lee HH, Han CH, Yoo JA, Yoon MH. 2016. Synergistic effect of co-inoculation with phosphate solubilizing bacteria. *Korean J Soil Sci Fert.* 43:401-414.
- Qureshi MA, Shakir MA, Iqbal A, Akhtar N, Khan K. 2011. Co-inoculation of phosphate solubilizing bacteria and rhizobia for improving growth and yield of mung bean (*Vigna radiata* L.). *J Animal Plant Sci.* 21:491-497.
- Reyes I, Bernier L, Antoun H. 2002. Rock phosphate solubilization and colonization of maize rhizosphere by wild and genetically modified strains of *Penicillium rugulosum*. *Microbial Ecology.* 44:39-48.
- Rodriguez H, Fraga R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnol Adv.* 17:319-339.
- Sane SA, Mehta SK. 2015 Isolation and evaluation of rock phosphate solubilizing fungi as potential biofertilizer. *J Fertil Pestic* 6: 2. DOI: 10.4172/2471-2728.1000156
- Suh JS, and Kwon JS. 2008. Characterization of phosphate-solubilizing microorganisms in upland and plastic film house soils. *Korean J Soil Sci Fert.* 41:348-353.
- Yu HJ, and Yoon MH. 2019. Phosphate solubilizing effect by two paraburkholderia bacteria Isolated from button mushroom medium. *J Mushrooms.* 17:64-89.
- Walpola BC, and Yoon MH. 2013. Phosphate solubilizing bacteria: Assessment of their effect on growth promotion and phosphorous uptake of mung bean (*Vigna radiata* [L.] R. Wilczek). *Chilean J Agri Res.* 73:275-281.
- Zou K, Binkley D, Doxtader KG. 1992. A new method for estimating gross phosphorus mineralization and mobilization rates in soil. *Plant Soil.* 147:243-250.