

Auxin, Siderophore, 및 Cellulase 생산성 다기능 식물생장촉진미생물 *Bacillus licheniformis* K11의 선발 및 식물생장촉진 효과

정희경 · 김진락 · 우상민 · 김상달*

영남대학교 응용미생물학과

Selection of the Auxin, Siderophore, and Cellulase-Producing PGPR, *Bacillus licheniformis* K11 and Its Plant Growth Promoting Mechanisms

Hee-Kyung Jung, Jin-Rak Kim, Sang-Min Woo and Sang-Dal Kim*

Department of Applied Microbiology, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

Received December 5, 2006; Accepted January 15, 2007

Auxin-producing antagonistic bacterium K11, which can inhibit *Phytophthora capsici*, was isolated from a local red-pepper field soil in Gyeong-buk. In order to check for additional PGPR (plant growth promoting rhizobacterium) functions of the strain K11, we confirmed siderophore and cellulase productions by CAS (chrome azurol S) blue agar and CMC plate with congo red, respectively. The strain K11 was identified as *Bacillus licheniformis* with 98% similarity on 16s rDNA comparison and Biolog analyses. *B. licheniformis* K11 promoted mung bean adventitious root induction and enhanced root growth of mung bean (160%), pea (150%) and Chinese cabbage (130%). Also, *B. licheniformis* K11 was able to effectively suppress (63%) *P. capsici* causing red-pepper blight in the pot *in vivo* test. Therefore, we could select a triple-functional PGPR which has auxin, siderophore, and cellulase producing ability for effective crops production in organic farming.

Key words: PGPR (plant growth promoting rhizobacterium), auxin, biocontrol, siderophore, cellulase

서 론

지속가능한 친환경농업에 대한 관심이 집중되면서 식물병해를 방제하거나 농작물에 영양분을 공급하는 생물농약이나 미생물제제, 미생물비료를 개발하기 위하여 길항능력을 가지거나 식물성장촉진 기능을 가지는 근권의 토양미생물을 이용하는 생물학적 방법이 연구되고 있다. 식물 병해에 대한 길항미생물을 이용한 생물방제는 일반적으로 항진균 항생물질 생산성 토양미생물을 이용하는 것이 일반적이다. 그와 더불어 β-1,3-glucanase, chitinase, cellulase와 같은 식물병원성 진균의 외벽을 가수분해할 수 있는 효소를 생산하는 미생물과¹⁾ 식물병원성 진균의 포자발아를 억제하는 철이온을 특이적으로 결합하는 siderophore 생산성 미생물²⁾ 등을 이용하기도 한다. 또한 PGPR이나 식물병원성 진균에 길항성을 가지는 미생물에 의해 식물의 저항성을 유도하여 식물병원성을 방제하는 연구들도 보고³⁾되고 있으며, 이러한 방제기작을 이용하여 제형화하고자 하는 시도들도 많다.^{4,6)}

그러나 토양미생물 중에는 식물병원성 균주에 대한 길항능 외에도 식물성장촉진 및 조절 등에 관여하는 물질을 생산하는 사례도 많다. 식물성장조절 물질들 중 지베렐린은 작물의 발아 촉진, 개화촉진, 휴면타파 등 생리작용에 관여하는 것으로 알려져 있다. 지베렐린은 처음에 *Gibberella fujikuroi*라는 곰팡이에서 추출되어 미생물이 생산하는 식물성장조절제로 농업에 응용하여 성공한 사례중의 하나이다. 최근에는 이밖에도 *A. niger*,⁷⁾ *F. moniliforme*⁸⁾ 등에서도 지베렐린은 생산되는 것으로 알려져 있다. 그 외에도 cytokine과 비슷한 세포분열 촉진물질을 생산하는 미생물도 있다.⁹⁾ 특히 auxin은 최초로 알려진 식물호르몬으로 대표적인 식물성장조절제의 하나로 식물의 세포분열, 발아, 기관의 분화, 개화 등에 관여한다. 1930년대 Thianmann과 Link가 *Rhizobium*에 의하여 auxin이 유도 될 수 있다는 것을 보고한 이후 *Azospirillum* sp.,¹⁰⁾ *Azotobacter* sp.,¹¹⁾ *Bacillus* sp.,¹²⁾ *Methylobacterium* sp.,¹³⁻¹⁴⁾ *Paenibacillus* sp.,¹⁵⁻¹⁶⁾ *Pseudomonas* sp.¹⁷⁾ 등이 auxin을 생산 할 수 있는 미생물로 알려지고 있다. 최근에는 식물성장 호르몬을 생산하는 미생물들은 대부분이 식물의 근권군서(rhizosphere community)에 생육하는 미생물로 식물의 성장과 식물병원성 진균의 방제에 많은 영향을 끼쳐 주목을 받고 있다.¹⁸⁻¹⁹⁾ 그러나 현재 국내에서 근권 미생물의 농업적 이용은 식물병의 방제에만 치우쳐 있는 실정이다.

*Corresponding author
Phone: +82-53-810-2395; Fax: +82-53-811-4319
E-mail: sdkim@yumail.ac.kr

따라서 본 연구는 친환경농업 시장에 경쟁력 있는 유기농업용 미생물제제를 개발하고자 작물의 생육촉진과 생물방제능 효과를 동시에 나타내는 식물생장촉진물질 생산성 길항미생물을 분리, 선발 하였으며, 이들의 식물생장촉진효과와 생물방제능에 대해 조사하여 유기농업용 미생물제제의 실용화 가능성을 타진하여 보고하는 바이다.

재료 및 방법

균주의 분리 및 선발. 식물생장촉진 호르몬인 auxin 생산성 길항균주를 분리하기 위하여 정 등의 방법¹²⁾을 기초로 수행하였다. 경북지역 저병해 경작지에서 채취한 토양 1g을 Nutrient agar를 이용하여 수십 종의 균들을 분리하였다. 분리된 균들을 L-Tryptophan 0.1% 첨가한 King's B(Proteose peptone No. 3 2%, K₂HPO₄ 0.15%, MgSO₄ · 7H₂O 0.15%, glycerol 1.5%, pH 7.2) broth배지에 접종하고 30°C에서 3일간 배양한 후 10,000 rpm에서 10분간 원심분리 하여 회수한 배양상등액 1ml에 Salkowski시약(35% HClO₄ 50 ml에 0.5 M FeCl₃ · 6H₂O 1 ml를 용해) 2 ml를 첨가하고 30분간 반응시킨 후 spectrophotometer를 이용하여 535 nm에서 측정하여 옥신 생산성을 확인하였다.

또한 auxin 생산성이 확인된 균주를 대상으로 Potato dextrose agar(PDA)배지에서 고추역병의 병원균인 *Phytophthora capsici* 대상으로 발육억제거리(pairing plate culture) test를 이용하여 저해능을 조사하였다. 즉 PDA배지에 곰팡이를 6mm정도의 크기로 접종하고 우측 3 cm 떨어진 곳에 균을 획선 접종하여 5일간 배양 후 병원성 진균의 생육 억제거리를 측정하여 옥신생산능과 고추 역병균 방제능을 동시에 가지는 균주를 선발하였다.

옥신생산성 균주의 siderophore와 cellulase 생산성 조사. 선발된 옥신 생산성 다기능 균주들의 siderophore와 cellulase 생산을 확인하기 위해 각각의 선발배지를 사용하였다. Siderophore 생산확인 배지는 CAS(chrome azurol S)이 함유된 CAS blue agar에 각 균주들을 toothpicking 하여 30°C에서 4일간 배양 후 orange halo zone의 형성유무를 확인하였으며,¹²⁾ cellulase 생산능은 Nutrient agar에 1% carboxymethyl-cellulose(CMC)를 함유한 CMC agar에 각 선발 균주를 toothpicking 하여 2일간 30°C에서 배양 후 Congo red plate방법²⁰⁾으로 cellulase의 생산을 확인하였다.

균주의 동정. 선발균의 분류학적 동정을 위하여 Bergey's manual of systematic bacteriology의 세균분류동정 지침서의 실험항목을 기준으로 형태 및 생화학적 조사 후 Biolog사의 동정 시스템(Micorolog™ System 4.0)으로 수행하였다. 또한 Solgent Co., Ltd. Korea에 의뢰하여 primer 8F(5'-AGT TGA TCC CTC AG-3')와 1492R(5'-ACC TTG TTA CGA CTT-3')을 이용, 선발균주의 16s rDNA를 PCR 증폭 후 증폭된 sequence를 NCBI에 등록된 염기서열과 비교하여 상동성을 조사 후 상기 실험결과를 바탕으로 최종 동정하였다. 각 실험에 사용한 배지 조성과 실험 방법은 Bergey's manual of systematic bacteriology²¹⁾을 참조하였다.

Auxin 생산균주의 생물학적 검증. Auxin생산균주의 bioassay는 auxin류의 주요작용 중 하나인 발근 촉진이라는 것을 이용하여 녹두발근검법에 의해 수행되었다.¹⁵⁾ 즉, 녹두품종은 식용으로 이용되는 선화녹두 종자를 0.3% sodium hypochlorite 용액에 3분간 침지 소독 후 흐르는 수돗물에 씻고, 무균토양에 파종하여 28°C, 5000 lux 광원하의 식물배양실에서 5~7일간 배양한 후 제 1본엽이 전개되고 첫 3소엽의 엽아가 다소 부풀어 있는 상태에서 균일한 크기의 녹두묘를 골랐다. 그리고 이 녹두묘로부터 자엽을 제거하고 자엽 밑으로 하배측의 3 cm 아래를 예리한 칼로 절단하여 선발균주의 배양상등액 50 µl와 멸균 증류수 5 ml가 채워진 vial에 유묘 1개씩을 vial에 넣고 24시간마다 용액의 수준을 증류수로 일정수준까지 보충하여 위와 동일한 환경조건하에서 연속조명으로 6일간 발근 시킨 후 6일 후에 길이 1 mm 이상의 발근수를 계수하였다.

TLC를 이용한 옥신류의 확인. *B. licheniformis* K11의 auxin 생산성의 재확인을 위하여 L-tryptophan 0.1%이 첨가된 King's B 배지에 선발균주를 접종하고 30°C에서 3일간 진탕배양 후 원심분리하여 상등액을 회수하여 phosphoric acid로 상등액의 pH를 pH 2.8로 조정하고 ethyl acetate로 2회 추출 후 37°C에서 감압 농축하여 이를 조정제 옥신시료로 하여 silica gel 60 F₂₅₄를 이용하여 thin layer chromatography를 수행 후 Ehrlich reagent²²⁾를 분무하여 발색반응을 조사하였다. 이때 전개액으로는 ethyl acetate와 1-propanol : ammonia : water(6 : 3 : 1)를 1 : 1로 혼합한 것을 사용하였다.

옥신류 생산성 미생물에 의한 완두, 녹두, 배추식물에 생장촉진 조사. *B. licheniformis* K11의 식물 생장 촉진능을 조사하기 위하여 sodium hypochlorite에서 2분간 살균시킨 후 3번 멸균수로 수세하고 25°C, 암조건하에서 24시간 동안 물에 침지시킨 완두, 녹두, 배추의 종자를 시험 종자로 이용하였다. 옥신생산성 길항균주의 토양에 접종은 일반적으로 농가에서 미생물제제를 사용하는 방법에 의거하여 121°C에서 15분간 멸균된 상토(동부한농 원예범용)에 옥신생산성 길항균주를 10⁵ CFU/g로 관주 접종하고 실험 종자를 각각 100개 씩 파종하였다. 이때 대조구는 옥신생산성 길항균주를 접종하지 않은 상토에 심은 종자로 하였으며, 실험구와 대조구는 동일하게 28°C, 12시간 주기로 빛을 조사하여 3주간 생육 시킨 후 수확하여 흙을 물로 씻어 내고 실온에서 완전히 건조 시킨 후 뿌리의 무게를 측정하였다.

Pot test를 통한 옥신생산성 길항균주의 생물방제력 확인. 선발된 옥신생산성 길항균주가 식물병 방제력을 효과적으로 발휘하는지 여부를 검증하기 위한 방법²⁴⁾으로 고추를 대상 기주 식물로 식물방제실험을 실시하였다. 고추가 이식되어 있는 pot에 고추역병균인 *P. capsici*를 관주접종하고, 여기에 옥신생산성 길항방제균(10⁵ CFU/g)을 관주 처리하여 28°C, 70% 항온습실에서 키우면서 주기적으로 발병을 확인하였다. 위 방제실험은 병원성 균만을 처리한 pot와 병원성균과 길항균을 함께 처리한 pot를 비교하여 방제율을 확인하였으며, 방제능의 재현성 확인은 실험구와 대조구 모두 고추가 이식되어 있는 pot 8개씩을 대상으로 5회 반복하여 확인하였다.

Table 1. Inhibition of plant pathogenic fungi and auxin productivity by indigenous antagonistic microorganism

Strains	Inhibition rate (%) ¹⁾ against <i>P. capsici</i>	Auxin production ²⁾ (Ab 535 nm)
K4	41 ± 1.3 ⁶⁾	0.038 ± 0.009
K5	37 ± 2.1	0.029 ± 0.006
K9	12 ± 0.9	0.038 ± 0.008
K11	75 ± 2.8	0.049 ± 0.01
KH1	48 ± 1.3	0.042 ± 0.009
KH3	76 ± 2.5	0.015 ± 0.004
KH4	21 ± 1.4	0.019 ± 0.005
IAA ³⁾	ND ⁵⁾	0.104 ± 0.001
King's B broth ⁴⁾	ND	0.008 ± 0.001

¹⁾Inhibition rate (%) = {1 - mycelium growth of treatment (mm)/mycelium growth control (mm)} × 100

²⁾Measured by Salkowski test.

³⁾IAA: indole-3-acetic acid (1 µg/ml)

⁴⁾King's broth: treatment of medium

⁵⁾ND: Not determined

⁶⁾STD: Standard deviation

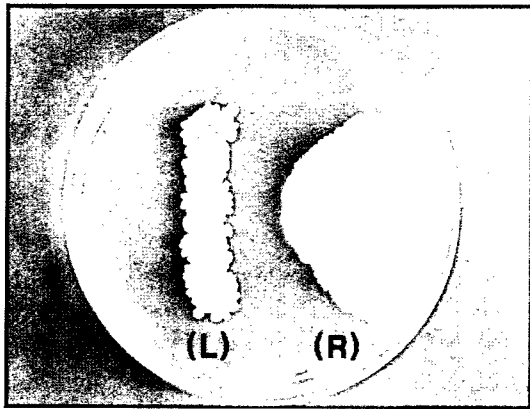


Fig. 1. Growth inhibition of *P. capsici* by auxin-producing antagonistic bacterium. L: *Phytophthora capsici*, R: Strain K11.

결과 및 고찰

균주의 분리 및 선발. 토양에서 분리된 균주들 각각 배양 후 원심분리한 상등액을 이용하여 Salkowski test²³⁾로 옥신 생산성을 검증한 결과 K4, K9, K11, KH1 균주에서 높은 옥신 생산을 간접적으로 확인 할 수 있었다(Table 1). 이들 균주를 대상으로 *P. capsici*에 대한 길항능을 조사하기 위해 발육억제 거리 측정방법을 수행한 결과, 옥신생산성이 높은 두 균주 K11은 75%, KH1은 48%의 저해율을 나타내었다(Table 1, Fig. 1). 그리고 CAS agar와 CMC agar를 통해 식물병원성 진균의 포자발아를 억제하는 siderophore와 식물병원성 진균의 세포벽 섬유소를 분해하는 항진균성 cellulase 생산을 확인한 결과 K11균주에서만 siderophore와 cellulase의 생산을 확인 할 수 있었다(Fig. 2). 그 결과 auxin, siderophore 그리고 길항성 cellulase를 생산하는 다기능 식물생장촉진 미생물 K11을 최종 선발하였다. *P. capsici*의 경우 세포벽이 cellulose로 구성되어져 있으며 K11이 생산하는 cellulase의 작용으로 세포벽의 용균작용이 일어날 수 있다고 사료되며, 차후 추가적인 실험을 통해서 확인하고자

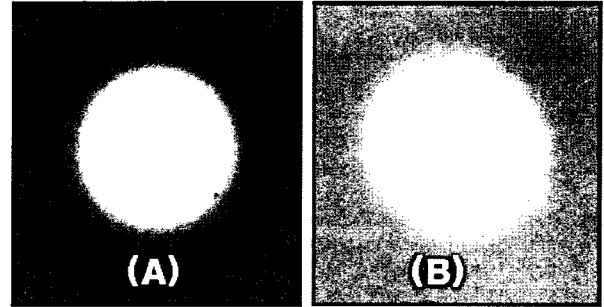


Fig. 2 Production of the siderophore and cellulase by strain K11 in selection medium. A: CAS(chrome azurol S) blue agar, B: Congo-red staining of Nutrient agar plates containing CMC.

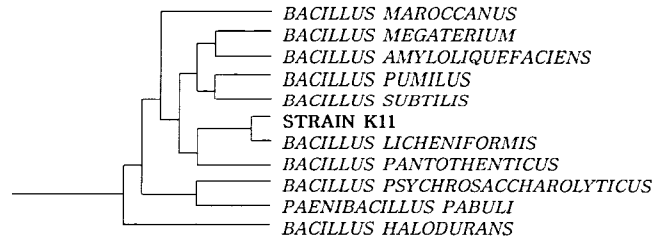


Fig. 3. Phylogenetic trees estimated from 16s rDNA comparison and Biolog analyses of the stain K11.

한다. 또한 강력한 길항기작으로 보아 siderophore 이외에 항생 물질과 같은 길항물질을 생산하는 것으로 예상되어 계속 실험 중이다.

균의 동정. Auxin, siderophore 그리고 cellulase 생산성을 가지는 다기능 균주 K11을 동정을 위해 그람염색을 실시하여 형태를 관찰한 결과 그람 양성 간균으로 판명되어 Biolog사의 동정 시스템(Microlog™ 4.0)으로 수행결과 *Bacillus licheniformis*에 97%의 상동성을 나타내었다. 또한 증폭된 16s rDNA sequence를 GenBank database에 등록된 정보를 대상으로 BLAST search (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)한 결과, *B. licheniformis* BOH108 (AY947531) 및 *B. licheniformis* strain HDM02(DQ167473)의 16s rRNA gene에 각각 98%, 99% 상동성을 나타내었다(date not shown). 이러한 결과를 바탕으로 선발된 auxin, siderophore 그리고 cellulase 생산성 다기능 식물성장 촉진 길항균주 K11은 *Bacillus licheniformis* K11으로 최종 동정하였다(Fig. 3). *Bacillus* sp.는 불리한 환경에서 endospore를 형성함으로 제형화에 장점을 가지고 있는 것으로 알려져 있다.¹⁶⁾ 본 옥신생산성 길항 균주도 *Bacillus* sp.의 특성인 endospore를 이용하여 장기간 보관이 가능한 액상 및 고형 제제 등 여러 가지로 제제화에 쉽게 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

Auxin 생산 균주의 생물학적 검정. 선발균주 *B. licheniformis* K11을 녹두발근생검법을 실시한 결과(Table 2), *B. licheniformis* K11의 배양액을 10 ml/l로 처리한 녹두에서는 평균 발근 수는 5.5개였으며, 시제품 IAA를 0.1 mg/l로 처리한 것에는 4개로 K11 배양액을 첨가 시 IAA 보다 발근율이 15% 증가하였다. 따라서 선발균주 *B. licheniformis* K11은 in vitro test뿐만 아니라 bioassay를 통해서도 뿌리발근을 촉진할 수 있는 auxin을 생산함을 확인할 수 있었다. 이 녹두발근생검법은 식물의 꺾꽂이

Table 2. The effect of auxin produced from *B. licheniformis* K11 with Mung bean adventitious root induction method

Treatment	Number of roots
Control (none treatment) ¹⁾	2.0 ± 0.2 ⁴⁾
IAA (indole acetic acid) ²⁾	4.0 ± 0.3
K11 culture broth ³⁾	5.5 ± 0.8

¹⁾Control (none treatment): stabilized water

²⁾IAA: indole-3-acetic acid (1 µg/ml)

³⁾K11 culture broth: *B. licheniformis* K11 were grown for 72 h at 30°C in King's broth (0.1% L-tryptophan)

⁴⁾STD: Standard deviation

*Each value is the mean of 25 replicates.

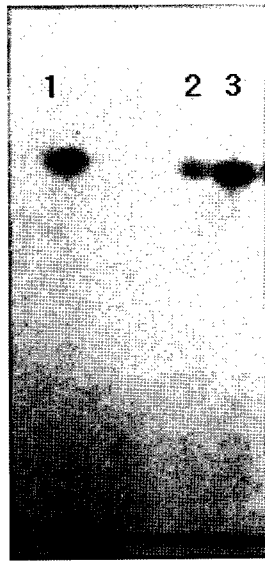


Fig. 4. TLC analysis of crude auxin of *B. licheniformis* K11 on the silica gel plate. 1: IAA, 2,3: crude auxin of *B. licheniformis* K11.

방법을 이용한 실험으로 *in vivo*상에서 auxin류의 특성인 식물의 세포신장과 발아를 확인하는데 유용하게 이용될 것이다.

B. licheniformis K11이 생산하는 옥신류의 화학적 특성. *B. licheniformis* K11의 옥신 생산성을 재확인하기 위하여 *B. licheniformis* K11의 배양 상등액을 이용하여 조정제 옥신 시료를 준비하여 시판 indole acetic acid(IAA)와 함께 silica gel 상에서 loading하고 이를 Ehrlich reagent²²⁾를 분무하여 발색반응을 조사한 결과, *B. licheniformis* K11의 조정제 옥신 및 IAA에서 purple색을 나타내어 indole 화합물임을 확인 할 수 있었다(Fig. 4). 이때 IAA의 R_f 값은 0.75였으며, *B. licheniformis* K11의 조정제 옥신은 0.72로, *Pseudomonas* sp. 및 *Bacillus* sp.가 생산하는 옥신류 들의 보고된 R_f 값이 0.7-0.75인 것과 유사 하였다.²²⁻²³⁾ 따라서 *B. licheniformis* K11의 옥신 생산을 TLC 상에서도 확인 할 수 있었으며, *B. licheniformis* K11생산하는 옥신은 indole 화합물로 R_f 값이 IAA와 동일하지는 않았지만 큰 차이가 없으므로 IAA 혹은 이와 유사한 물질로 추정 되어진다. 차후 HPLC를 통한 분리, 정제하여 구조분석 후 *B. licheniformis* K11가 생산하는 옥신류의 구조를 확인할 것이다.

***B. licheniformis* K11의 옥신류 생산에 의한 식물생장 촉진 능 확인.** 녹두, 완두, 배추를 대상으로 *B. licheniformis* K11에

Table 3. The effect of auxin-producing *B. licheniformis* K11 on root growth of various plants

	Control (mg) ¹⁾	Test (mg) ²⁾	Test/Control (%)
Mung bean root	75.2 ± 11.5 ³⁾	122.2 ± 18.7	160
Pea root	93.3 ± 12.4	145.2 ± 25.1	150
Chinese cabbage root	13.1 ± 1.5	18.1 ± 3.8	130

¹⁾Control: stabilized water

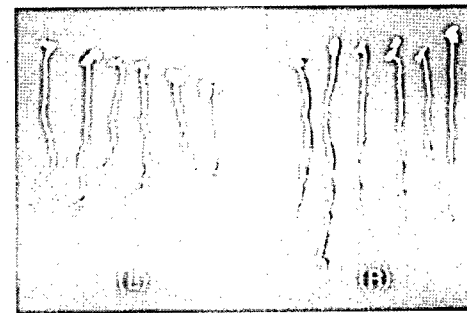
²⁾Test: Inoculation of *B. licheniformis* K11 (10⁵ CFU/g) in soil

³⁾STD: Standard deviation

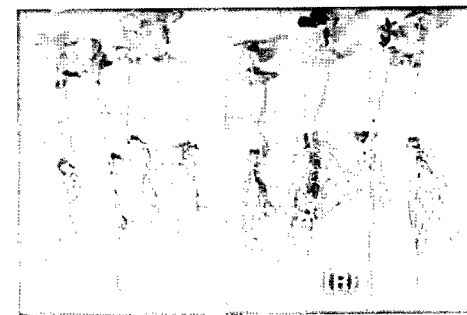
*Each value is the mean of 30 replicates.



(A)



(B)



(C)

Fig. 5. Effect on growth and root elongation of the plants in soil inoculated *B. licheniformis* K11. A: Mung bean, B: Pea, C: Chinese cabbage, L: control; R: Test.

의한 식물 생장촉진을 조사한 결과, *B. licheniformis* K11 관주 접종한 녹두의 생육은 대조구에 비해 약 160%, 완두는 150%, 배추는 130%의 높은 생육 촉진을 나타내었다(Table 3, Fig. 5). *B. licheniformis* K11의 접종된 토양에서 생육된 녹두는 육안으로 절간 및 뿌리의 신장 및 발근이 촉진되었음을 분명히 확인

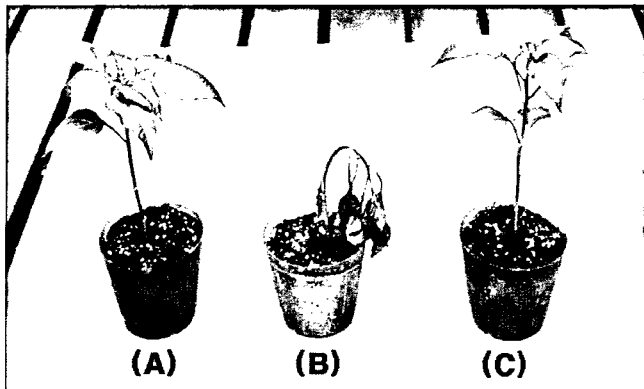


Fig. 6. *In vivo* antifungal activity against *P. capsici* in soil inoculated *B. licheniformis* K11. A: Control, B: Pathogen, C: Pathogen vs *B. licheniformis* K11.

할 수 있었으며, *B. licheniformis* K11의 식물생장 촉진능은 Vandana 등²⁾의 *P. fluorescens*에 의하여 녹두 뿌리의 길이를 신장에 의해 녹두 성장촉진능이 151.5% 증가되었다는 보고와 비교 시 본 균주의 녹두 성장 촉진능이 상당히 우수하였다.

B. licheniformis K11의 근권에서 서식이 배추생육에 미치는 영향을 조사한 결과, 무처리구와 비교시 *B. licheniformis* K11을 처리한 배추에서 뿌리의 신장이 증가됨을 확인하였다. 주 등의 미생물 제제를 이용하여 배추의 뿌리 신장이 110% 정도 증가되었다는 보고⁶⁾가 있으나, *B. licheniformis* K11은 무처리구에 비해서 배추의 뿌리 신장이 130% 증가 되어 식물 성장 촉진능이 매우 높았으며, 병원균의 방제가 상당히 어려운 배추의 무사마귀병 발병 시 뿌리의 생육을 촉진시키면서 방제를 실시한다면 뿌리의 빠른 발근 또는 신장에 의해 영양분과 수분의 차단을 다소 방지하여 방제 효율을 더 높일 수 있을 것으로 생각된다.

옥신생산성 근권 미생물들에 의하여 작물 생육이 촉진 된다는 보고^{13,17)}와 같이 상기 결과를 종합하면 *B. licheniformis* K11 역시 토양에서 여러 식물들의 발아촉진 및 뿌리의 신장 등 작물생육을 촉진하는 식물생장촉진형 생물방제제로의 개발이 가능하다고 생각된다.

***B. licheniformis* K11의 고추 역병에 대한 토양 내 방제능 조사.** 옥신 생산성 길항균주 *B. licheniformis* K11을 대상으로 고추역병에 대한 방제실험을 pot상에서 한 결과, 63%의 높은 방제능을 나타내었고(Fig. 6), 이는 정 등¹²⁾의 *Bacillus* sp.에서 나타난 48%의 저해능 보다 1.3배 정도 높게 나타났다. 이는 *B. licheniformis* K11이 *in vitro* 실험에서 확인된 항진균성 siderophore와 cellulase 이외에 항진균성 항생물질의 생산을 유추할 수 있는 결과이다. 그러므로 지금까지 확인된 식물생장촉진 생물방제균인 *B. licheniformis* K11을 미생물비료로 경작지에 적용한다면 토양전염성 질병의 방제와 함께 그들이 생산하는 옥신류로 인한 작물의 생육촉진으로 수확시기를 당김으로 농가에 수익 증대 효과를 줄 수 있을 것으로 사료 된다.

초 록

작물의 생육촉진과 식물 진균병의 생물방제능 효과를 동시에 나타내는 다기능 유기농업용 미생물제제를 개발하고자 경북지역 저병해 경작지 토양으로부터 옥신생산성 균주들을 분리하였다. 그 중 auxin, siderophore, 그리고 항진균성 cellulase를 동시에 생산하는 K11 균주를 선발하였으며, 선발된 K11 균주는 형태 및 생화학적 test 후 Biolog사의 동정시스템(Microlog™ 4.0)과 16s rDNA 상동성을 조사한 결과 *Bacillus licheniformis*로 동정되었으며, 이를 *Bacillus licheniformis* K11로 명명하였다. *B. licheniformis* K11은 고추역병의 원인균인 *Phytophthora capsici*에 대하여 *in vitro* 상에서 63%의 길항능을 보였으며, *in vivo* pot test에서도 뛰어난 방제능을 나타내었다. 또한 *B. licheniformis* K11의 배양액을 10 ml/l로 처리한 녹두발근생검법에서 시판중인 IAA(0.1 mg/l)보다 발근율이 15% 증가됨을 확인할 수 있었다. 또한 배추, 완두, 녹두를 대상으로 *B. licheniformis* K11에 의한 식물 성장촉진을 조사한 결과 녹두, 완두 그리고 배추의 뿌리 생육을 각각 160, 150, 130% 증가시켰다. 상기 연구 결과들로 미루어 볼 때 다기능 생물방제균인 *B. licheniformis* K11을 경작지에 관주하거나 적합한 미생물제제로 제제화한다면 토양전염성 질병의 방제와 함께 옥신 생산성에 의한 작물생육의 촉진으로 수확시기를 조기화 함으로 농가에 수익 증대 효과를 줄 수 있을 것이므로 친환경 농업용 미생물제제로 개발 가능성이 있음을 확인 할 수 있었다.

Key words: PGPR(plant growth promoting rhizobacterium), Auxin, 생물방제, siderophore, 섬유소분해효소

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린 21(과제번호:105649)에 의해 수행된 과제로 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Pozom, M. J., Azcon-Aguilar, C., Dumas-Gaudot, C. and Barea, J. M. (1999) 1,3-β-Glucanase activities in tomato roots inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and *Phytophthora parasitica* and their possible involvement in bioprotection. *Plant Sci.* **141**, 149-157.
- Vandana, K. and Goel, R. (2004) improved plant growth from seed bacterization using siderophore overproducing cold resistant mutant of *Pseudomonas fluorescens*. *J. Micro. Biotech.* **4**, 653-657.
- Vanpinder, S. and Deverall, B. J. (1984) *Bacillus subtilis* as a control agent against fungal pathogens of citrus fruit. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **83**, 487-490.
- Jung, H. K., Ryoo, J. C. and Kim, S. D. (2005) A multi-microbial biofungicide for the biological control against several

- Important plant pathogenic fungi. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **48**, 40-47.
5. Kim, K. S., Kim, Y. W. and Choi, Y. S. (1995) Studies on the various utilization of microbial formulation for the production of vegetable crops. *J. Korean Soc. Soil. Fert.* **28**, 191-205.
 6. Joo, G. J., Kim, Y. M., Woo, C. J., Lee, O. S., Kim, J. W., So, J. H., Kwak, Y. Y., Lee, J. J., Kim, J. H. and Rhee, I. K. (2005) Development of microbial inoculant using by-product of oriental herbal medicine. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **48**, 201-206.
 7. Ates, S., Ozenir, S. and Gökdere, M. (2006) Effect of silicone oil on gibberellic acid production by *Gibberella fujikuroi* and *Aspergillus niger*. *Appl. Biochem. Microbiol.* **42**, 500-501.
 8. Suruliranjan, M. and Sarbhoy, A. K. (2000) Gibberellic acid production by *Fusarium moniliforme*. *J. Mycopathol. Res.* **38**, 101-104.
 9. Timmusk, S., Nicamder, B., Granhall, U. and Tillberg, E. (1999) Cytokine production by *Paenibacillus polymyxa*. *Soil Biol. Biochem.* **31**, 1847-1852.
 10. Zimmer, W., Wesche, M. and Timmermans, L. (1998) Identification and isolation of indole-3-pyruvate decarboxylase gene from *Azopirillum brasilense* sp7, Sequencing and functional analysis of gene locus gene. *Curr. Microbiol.* **36**, 327-331.
 11. Joshi, K. K., Kumar, V., Dubey, R. C., Masheshwari, D. K., Bajpai, V. K. and Kang, S. C. (2006) Effect of chemical fertilizer-adaptive variants, *Pseudomonas aeruginosa* GRC2 and *Azobacter chroococcum* AC1, on Macrophominia phaseolina causing charcoal rot of Brassica juncea. *Korean J. of Envir. Agri.* **25**, 228-235.
 12. Jung, H. K., Kim, J. R., Woo, S. M. and Kim, S. D. (2006) An auxin producing plant growth promoting rhizobacterium *Bacillus subtilis* AH18 which has siderophore-producing biocontrol activity. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **34**, 94-100.
 13. Lee, K. H., Madhaiyan, M., Kim, C. W., Lee, H. S., Poonguzhali, S. and Sa, T. M. (2004) Isolation and characterization of the IAA producing methylotrophic bacteria from phyllosphere of rice cultivars. *Korean J. Soil Sci. Fert.* **37**, 235-244.
 14. Ryu, J. H., Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Yim, W. J., Indiragandhi, P., Kim, K. A., Anandham, R., Yun, J. C., Kim, K. H., Sa, T. M. 2006. Plant growth substances produced by *Methylobacterium* spp. and their effect on Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) and red pepper (*Capsium annuum* L.) growth. *J. Microbiol. Biotechnol.* **16**, 1622-1628.
 15. Lebuhn, M., Heulin, T. and Hartman, A. (1997) Production of auxin and other indolic and phenolic compounds by *Paenibacillus polymyxa* strains proposed isolated from different proximity of plant root. *FEMS Microbiol. Ecol.* **22**, 325-334.
 16. McSpadden-Gardener, B. B. (2004) The nature and application of biocontrol microbes, *Bacillus* sp. Ecology of *Bacillus* and *Paenibacillus* spp. in agricultural system. *Phytopathology* **94**, 1252-1258.
 17. Tarun, K., Bajpai, V. K., Maheswari, D. K. and Kang, S. C. (2005) Plant growth promotion and suppression of root disease complex due to *Medioidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* by *Pseudomonas fluorescens* in tomato. *Agric. Chem. Biotechnol.* **48**, 79-83.
 18. Lee, S. E., Yi, H. S., Park, S. H. and Kim, S. Y. (2005) Characterization of a rhizobacterium promoting early growth in Maize. *Korean J. micorobiol. Biotechnol.* **33**, 70-73.
 19. Ryu, C. M., Kim, J. W., Choi, O. H., Park, S. Y., Park, S. H. and Park, C. S. (2005) Nature of a root-associated *Paenibacillus polymyxa* from field-grown winter barely in Korea. *J. Microbiol. Biotechnol.* **15**, 984-991.
 20. Teather, R. and Wood, P. J. (1982) Use of congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Appl. Environ. Microbiol.* **43**, 777-780.
 21. Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, H. A., Staley, J. T. and Williams, S. T. (1994) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 9th, Williams & Wilkins, USA.
 22. Lim, S. U., Lee, T. G. and Sa, T. M. (1995) Isolation and physiological characteristics of auxin-producing soil bacteria. *J. Korean Soc. Soil. Sci. Fert.* **28**, 75-82.
 23. Kwon, D. H., Choi, J. H., Jung, H. K., Lim, J. H., Joo, G. J. and Kim, S. D. (2004) Selection and identification of auxin-producing plant growth promoting rhizobacteria having Phytopathogen antagonistic activity. *J. Korean Soc. Appl. Bio. Chem.* **47**, 17-21.
 24. Yun, G. H., Lee E. T. and Kim, S. D. (2001) Identification and antagonism of *Chryseomonas luteola* 5042 against *phytophthora capsici*. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **29**, 186-193.