

항진균 세균과 난용성 인산염 가용화 효모의 혼합 배양액을 이용한 고추 병해의 생물학적 방제

이건웅^{1†} · 민병대^{2†} · 박수정² · 정원화² · 고은별¹ · 이귀재¹ · 채종찬^{1*}

¹전북대학교 생명공학부 및 환경생명신기술연구소, ²국립환경과학원 상하수도연구과

Biocontrol of Red Pepper Using Mixed Culture of Antagonistic Bacterium and Phosphate Solubilizing Yeast

Gun Woong Lee^{1†}, Byung-Dae Min^{2†}, Sujeong Park², Weonhwa Jheong², Eun Byeul Go¹,
Kui-Jae Lee¹, and Jong-Chan Chae^{1*}

¹Division of Biotechnology and Advanced Institute of Environmental and Bioscience,
Chonbuk National University, Iksan 570-752, Republic of Korea

²Water Supply and Sewerage Research Division, National Institute of Environmental Research,
Incheon 404-708, Republic of Korea

(Received November 1, 2013 / Accepted November 19, 2013)

This study was to investigate beneficial effects of microbial mixture on red pepper which was capable of promoting plant growth by solubilizing insoluble phosphate as well as protecting plants from pathogenic attack. *Saccharomyces* sp. L13 was isolated for phosphate solubilizing activity on aluminium phosphate, tricalcium phosphate, calcium hydrophosphate, and magnesium hydrophosphate. On the other hand, *Bacillus* sp. L32 was isolated for antagonistic activity against *Phytophthora capsisi* and *Colletotrichum gloeosporioides*, causing Phytophthora blight and Anthracnose disease in pepper, respectively. The strain L32 exhibited antagonistic activities both under dual culture assays and detached leaves assays. The each strain under the condition of mixed cultivation exhibited the same growth rates as one under pure cultivation. In greenhouse study, the mixed culture showed the both effect of plant growth promotion and reduction of disease symptom development against *P. capsisi* and *C. gloeosporioides* providing a potential as effective microbial agent for plant husbandry.

Keywords: *Bacillus*, *Saccharomyces*, biocontrol, phosphate solubilizing, red pepper

도시화 및 산업화로 인한 농촌 인구의 감소, 농업 면적의 축소와 지구 온난화로 인한 병원균과 매개충들의 확산 등은 농업 작물의 생산량 축소를 증가시키고 있다(Jin *et al.*, 2006). 상기된 생산 감소 요인들의 대안으로서 단위면적당 생산량을 극대화시키고 작물에 질병을 유발하는 병원균을 효율적으로 방제하기 위하여 현대 농업은 화학 합성 농약의 과잉 처리와 다량의 유기물 및 영양분, 화학비료를 공급하여 작물생산량을 증가시켜왔다. 하지만, 비료 및 농약의 과잉 사용으로 인해서 토양의 부영양화가 진행되고 있으며, 토양 염도로 인한 피해가 심각하게 발생되고 있다(Jin *et al.*, 2006). 또한, 화학농약의 무분별한 살포는 약효에 대한 저항성 병원균의 출현과 작물내의 농약 잔류 및 생태계 파괴 등의 심각한 환경 문제들을 초래하고 있다(Yin *et al.*, 2007).

토양에 시비된 인산질 비료는 인산기의 형태로 식물에 흡수되어 식물의 다양한 생리적 활성을 조절하며, 성장에 필요한 중요한 에너지 대사원을 제공한다. 그러나 토양 내에서 pH 조건에 따라 인산기들은 다양한 양이온들과 결합하게 되어 난용성 인산염으로 변하게 된다. 이러한 난용성 인산염은 식물이 이용할 수 없게 되는데 미생물이 중간 매개체 역할을 하여 식물들이 이용할 수 있도록 토양 내에서 해리시켜 주는 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Illmer and Schinner, 1992, 1995; Song *et al.*, 2001). 지금까지 난용성 인산염을 가용화 시키는 미생물로는 *Bacillus megaterium*, *Bacillus polymyxa*, *Pseudomonas striata*, *Penicillium simplicissimum*, *Penicillium bilaji*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus aculeatus*, *Aspergillus niger* 등이 보고되어 있다(Illmer and Schinner, 1992, 1995; Song *et al.*, 2001).

병원균에 의해 고추에 발병되어 가장 큰 해를 입히는 식물병은 역병과 탄저병으로 토양과 공기를 통해 전염된다. 이들 병원균들의 감염으로부터 작물의 생산량 감소와 농가 소득 감소를 방지하기 위하여 현재 다양한 화학합성 농약이 사용되고 있으나

[†]These authors contributed equally to this work.

*For correspondence. E-mail: chae@jbnu.ac.kr; Tel.: +82-63-850-0840; Fax: +82-63-850-0834

친환경적인 생물학적 방제를 위한 항진균 미생물들이 보고되고 있고 이들을 상품화하기 위한 많은 연구들이 진행되고 있다 (Loeffler *et al.*, 1986; Yin *et al.*, 2007).

미래 농업의 발전은 기존 농업에서 실시되었던 화학합성농약과 비료에 의한 환경오염문제에서 벗어나 환경친화적 방법을 통해 작물에 대한 안정적인 영양공급 및 병해방제 방법에 달려있다고 할 수 있다. 이를 위해서는 기존 화학 비료와 농약을 대체할 수 있는 생물학적인 비료의 개발과 생물학적 방제 방법이 절실히 필요하며, 활용가치가 있는 미생물의 분리, 제제화 및 시비 방법의 확립이 중요하다. 본 연구에서는 난용성 인산을 가용화시킴으로써 식물의 생장을 촉진시키는 균주와 식물병원균의 생장을 억제하는 길항 미생물의 혼합 배양을 통해 고추의 역병과 탄저병 발생을 억제하는 생물학적 방제제로의 활성을 조사하였다.

재료 및 방법

항진균 활성 미생물의 분리

항진균 활성을 가지는 미생물을 분리하기 위하여 고추 역병균 (*Phytophthora capsici*)과 탄저병균(*Colletotrichum gloeosporioides*)의 포자가 도포되어 있는 potato dextrose agar (PDA) 배지를 준비하였다. 토양에서 시료를 채취한 후 멸균된 생리식염수를 사용하여 단계희석한 후 배지 위에 도말하고 30°C 암조건에서 72 시간 동안 배양하여 병원균에 대한 억제 효과를 보이는 미생물을 선별하였다.

대치배양을 통한 길항력 실험

분리된 미생물은 대치배양 방법(Yoshida *et al.*, 2001)을 사용하여 PDA 배지에서 역병균과 탄저병균 생장에 억제 능력이 있는지 검정하였다. Cork borer를 사용하여 역병균과 탄저병균 균사를(직경 1 cm) PDA 배지 중앙에 치상하고 plate의 가장 자리에 멸균시킨 filter paper (직경 1 cm)를 병원균에서 30 mm 떨어진 지점에 놓았다. 그리고 분리된 미생물들의 현탁액을 filter paper에 접종하고 48시간 동안 배양한 후 접종시킨 미생물로부터 병원균의 생장 억제거리를 측정함으로써 길항력 활성을 검정하였다.

고추 역병 및 탄저병의 방제효과

선발된 미생물과 고추 역병균과 탄저병균의 포자를 각각 증류수로 현탁하고, 약 한 달 정도 자란 고추의 잎(길이 약 5 cm)에 선발된 미생물 현탁액을 분무하였으며 같은 부위에 병원균의 포자 현탁액을 분무하였다. 접종된 잎은 10일 동안 20°C, 12시간 광/암 조건에서 배양하였고 발병 정도는 갈변한 잎의 부분에 따라 0-4단계로 평가하였다(Chiou and Wu, 2001). '0'은 무병징, '1'은 12% 이하, '2'는 25% 이하, '3'은 50% 이하, 그리고 '4'는 50% 초과로 평가하였다.

또한 병 방제활성을 비가림 시설내에서 토양관주와 엽면시비를 통하여 확인하였다. 선발 균주를 액체배지에 접종하고 48시간 배양 후에 1×10^8 CFU/ml로 조절하여 7일 간격으로 근권과 엽면에 2회 처리하고, 처리 24시간 후 고추 역병균과 탄저병균

을 1×10^6 spores/ml로 조정하여 5 ml씩 접종하였다. 접종방법은 관주와 스프레이법으로 근권과 엽면에 처리하여 발병을 유도하였다. 7일 후 방제가[(병원균 처리구의 이병율-미생물 처리구의 이병율)/병원균 처리구의 이병율 \times 100]의 환산식 (Lee *et al.*, 2012)에 의거하여 방제값을 구하였다.

난용성 인산염의 가용화 미생물 분리

난용성 인산염의 가용화 능력을 가진 미생물을 분리하기 위하여 토양 시료 1 g을 취하고 9 ml 멸균 증류수를 첨가하여 약 180 rpm에서 30분간 진탕한 후 멸균수를 이용하여 단계별로 10^{-5} 까지 희석하였다. 희석된 현탁액은 PVK 배지[glucose 1%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.05%, NaCl 0.02%, KCl 0.02%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01%, $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, yeast extract 0.05%, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 0.5%, agar 1.5%, pH 7.0]에 도말한 후 30°C에서 7일간 배양하였다(Gupta *et al.*, 1994). 배양된 집락 주변에 생성된 투명대(halo zone)를 확인하여 난용성 인산염의 가용화 능력이 있는 균주를 선별하였다.

난용성 인산염의 가용화 활성 측정

선발된 효모는 YM 배지(yeast extract 0.3%, malt extract 0.3%, peptone 0.5%, dextrose 1%)에 접종하여 30°C 진탕배양기에서 24시간 배양하고 4,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후, 50 mM phosphate buffer (pH 7.0)로 2회 세척하고 멸균된 0.85% NaCl을 이용하여 595 nm에서 흡광도 값이 약 1.0이 되도록 조정하였다. 난용성 인산염 가용화 활성을 알아 보기 위하여 AlPO_4 와 CaHPO_4 , MgHPO_4 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 가 각각 0.5% 첨가된 100 ml PVK 액체배지에 배양된 미생물을 10 ml 접종하고 30°C에서 진탕 배양하면서 배양시간에 따라 배양액을 5 ml씩 채취하였다. 그리고 배양액 시료를 4,000 rpm에서 15분 동안 원심분리한 후, 0.45 μm 필터로 잔존하는 고형물을 제거하였고 상등액을 이용하여 ion chromatography (Metrohm-761 compact IC, UK)로 가용화 인산농도를 측정하였다.

식물생장에 대한 인산 가용화 효과를 실증실험하기 위해 난용성 인산염을 고르게 교반하여 0.3% 염류 집적 토양을 준비하였다. 그리고 미생물 처리구를 제조하기 위해 2회에 걸쳐 3일 간격으로 10 ml씩 YM 배지에서 배양된 미생물배양액을 50 g 염류 집적 토양에 접종하여 고르게 교반시켰다. 그리고 발아 후 3일된 고추를 제조한 염류 집적 토양에 이식하고 7일 후 고추를 채취하여 지상부, 지하부 길이와 생체중량을 측정하고 60°C에서 7일간 식물체를 건조시켜 건조량을 측정하였다. 토양의 전기전도도 측정을 위해 토양은 그늘에서 열처리 없이 48시간 동안 풍건시키고, 막자 사발을 이용하여 곱게 갈은 후 토양 10 g과 멸균된 증류수 50 ml를 넣고 30분간 200 rpm에서 진탕하였다. 진탕된 토양시료는 2시간 동안 정치시킨 후 상등액을 No. 2 필터에 투과시켜 전기전도도를 전기전도도 측정기(Horida D-54 meter, Japan)로 측정하였다.

혼합배양을 위한 배지 조성

혼합배양을 위하여 yeast extract, malt extract, peptone,

Table 1. Dual culture assay for antifungal activities of isolates cultivated on PDA medium

Isolate	Inhibition zone in diameter (mm) ^a	
	<i>P. capsici</i>	<i>C. gloeosporioides</i>
L32	11.23±0.21	11.43±0.32
L44	10.53±0.15	10.53±0.25
L57	10.90±0.10	10.77±0.06

^a Mean±SD (n=3).

dextrose, sodium chloride (각 5 g, 2 g, 10 g, 2 g)를 멸균 증류수 1,000 ml에 첨가하고 pH를 6.0으로 조정후 혼합배양의 배지(LY 배지)로 사용하였다.

분리 미생물의 동정

원핵미생물은 고체 배지에서 배양된 균체를 0.85% NaCl 용액에 현탁한 후 API 50CHB kit (bioMérieux, France)로 생리학적 특성을 조사하여 동정하였다. 분자생물학적인 동정을 위하여 GeneAll 사의 genomic DNA extraction kit (GeneAll, Korea)를 이용하여 gDNA를 추출한 후 universal primer인 27f (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG)와 1492r (GGT TAC CTT GTT ACG ACT T)를 이용하여 중합효소 연쇄 반응(PCR) 방법으로 16S rRNA 유전자를 증폭하였다. 진핵미생물의 경우 genomic DNA를 추출하기 위하여 YM 액체배지에서 배양한 후 원심분리를 이용하여 미생물을 수거하고 GeneAll 사의 Exgene Cell SV (GeneAll, Korea)를 이용하여 gDNA를 추출하였다. 추출된 gDNA를 주형으로 18S rRNA 유전자의 증폭 프라이머인 ITS1 (5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3')과 ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3')를 이용하여 PCR을 실시하였다. 증폭된 PCR 산물들은 ABI 3730XL (Applied Biosystems, USA)로 염기서열을 분석하고 미국국립생물공학정보센터에서 운영하는 GenBank 데이터베이스를 활용하여 분자생물학적 동정을 실시하였다.

결과 및 고찰

항진균 물질 미생물의 분리 및 효과 검정

고추 역병균과 탄저병균의 생장을 억제할 수 있는 능력을 갖는 미생물을 분리하기 위하여 이중배양법을 실시하여 L32, L44, 그리고 L57 균주들을 분리하였다. 이 중에서 가장 높은 생장 억제능력을 보이는 균주는 L32로서 역병균과 탄저병균에 대해 각각 11.23±0.21 mm, 11.43±0.32 mm의 생장억제 거리를 보여주었다(Table 1). 분리된 미생물의 배지에서 활성 효과는 기주에 대한 직접적 효과를 입증하는 것이 아니므로 생체 외에 대한 접종실험을 통하여 분리된 미생물의 기주에 대한 효과를 조사한 결과, L32 균주가 역병균과 탄저병균에 대해 각각 91.3±6.3%, 91.6±7.6%의 가장 높은 발병억제력을 보임으로서(Table 2) 배지에서의 활성 실험과 동일한 결과를 나타내었다. 따라서 L32 균주를 혼합배양 실험에 사용하였으며 16S rRNA 유전자를 이용한 분자생물학적 동정 결과, *Bacillus subtilis*와 99% 상동성을

Table 2. Detached leaves assay with isolates for antagonistic activities on red pepper

Culture No.	Detached leaves assay ^{a, b}		Protection (%) ^b	
	<i>P. capsici</i>	<i>C. gloeosporioides</i>	<i>P. capsici</i>	<i>C. gloeosporioides</i>
Control	3.6±0.5	3.8±0.4	-	-
L32	1.0±0.7	0.8±0.4	91.3±6.3	91.6±7.6
L44	1.4±0.5	1.4±0.5	82.2±7.8	80.9±12.6
L57	1.8±0.8	1.6±0.5	74.7±11.4	76.9±10.5

^a In detached leaf assay disease severity was assessed based on 0-4 scale: 0, no symptoms; 1, 1-12%; 2, 13-25%; 3, 26-50%; 4, 51-100% of leaf were covered with brown lesions^b Mean±SD (n=5).

갖는 것으로 확인되었고 생리학적 동정 결과(결과 미제시)에서도 *Bacillus* 속으로 분류되어 *Bacillus* sp. L32로 명명하였다.

난용성 인산염의 가용화 미생물 분리

난용성 인산염의 가용화 능력을 가지는 미생물을 분리하기 위하여 tricalcium phosphate가 첨가된 PVK 배지를 활용하여 투명대(halo zone)를 형성하는 미생물 L13을 선발하였다. 분리된 L13 균주의 가용화 범위를 알아보기 위하여 aluminium phosphate와 tricalcium phosphate, calcium hydrophosphate, magnesium hydrophosphate에 대한 가용화 활성을 측정하였다. 실험에 사용된 4종류의 난용성 인산염은 Fig. 1에서와 같이 분리된 L13 균주에 의해 4종류 모두 가용화 된 것을 확인할 수 있었다. 따라서 본 연구에서 사용된 L13 균주는 다양한 난용성 인산염에 대하여 가용화 활성을 갖는 생물학적 비료로서 활용가치가 높을 것으로 판단된다. L13 균주의 분자생물학적 동정 결과, *Saccharomyces cerevisiae*와 99% 상동성을 보여 분리균주를 *Saccharomyces* sp. L13으로 명명하였다.

혼합배양을 위한 배지 조성 및 생장 확인

항진균 활성을 보이는 *Bacillus* sp. L32와 난용성 인산염의 가용화 활성이 보이는 *Saccharomyces* sp. L13의 혼합배양을 위하여 LY 배지를 제조하였으며 각 미생물들을 10³ CFU의 농도로 접종하고 그 생장을 72시간 동안 24시간 간격으로 관찰하였다. 대조군으로서 세균배양에 일반적으로 사용되는 LB 배지와 효모배양에 사용되는 YM 배지를 사용하여 각 미생물의 생장을 비교 측정하였다. 그 결과, LY 배지 내 혼합된 균주는 LB 또는 YM 배지에서 순수배양 될 때와 유사한 생장곡선을 보였다(Fig. 2). 이와 같은 결과는 병원균의 억제와 인산가용화 능력을 보유하는 각각의 균주를 혼합배양 후, 동시 처리가 가능하다는 것을 제시한다.

생물학적 방제 실증실험

혼합배양액의 실증실험을 위하여 비가림 시설내에서 고추 역병균과 탄저병균의 발병 억제 능력 및 토양 내 처리시 염류집적 토양의 개선 효과를 조사하였다. 미생물을 처리하지 않은 무처리군에서는 고추 역병과 탄저병의 발병률이 23.3%와 21.7%로서 방제력에 대한 평가를 하기에 충분하였으며, 미생물 혼합배

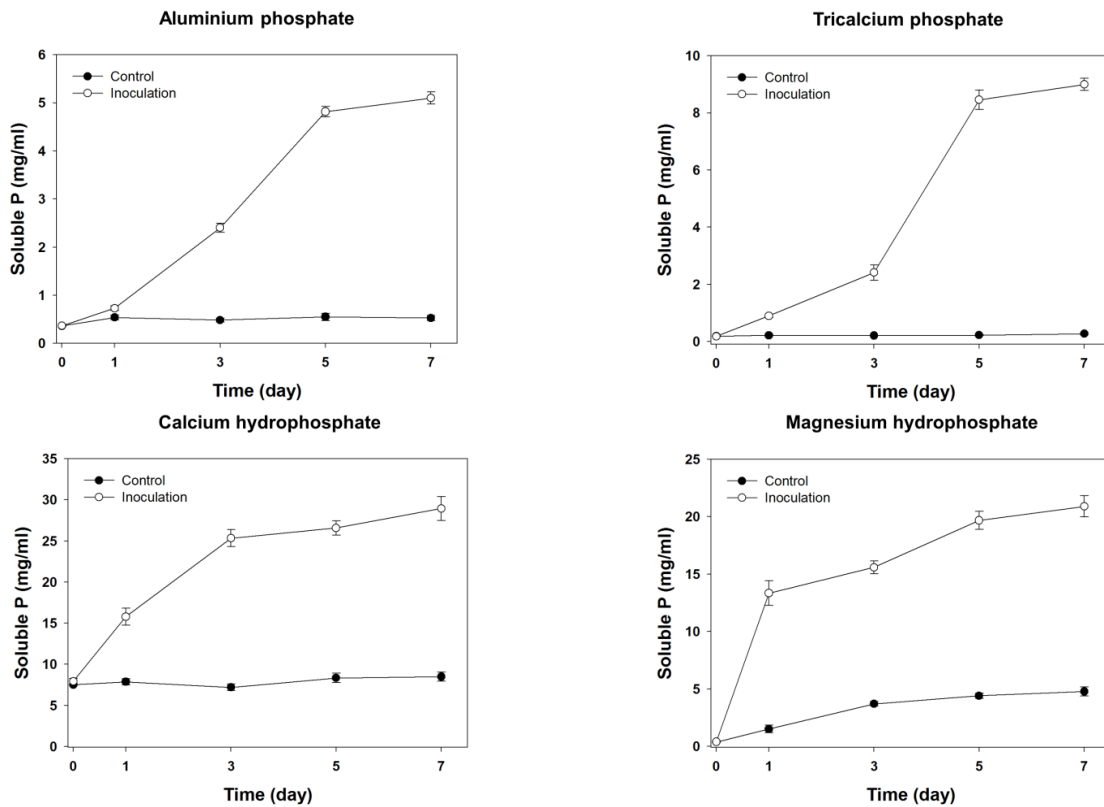


Fig. 1. Phosphate solubilizing activity of *Saccharomyces* sp. L13 on various insoluble phosphates.

양액 처리구에서 역병균과 탄저병균에 대해 각각 71.2%, 61.8%의 방제가를 보여주었다(Table 3). 또한 난용성 인산염이 첨가된 토양에서의 식물 생장은 대조구에 비하여 미생물 처리구에서 평균적으로 지상부 길이가 약 25%, 지하부는 약 30% 증가하였다. 생체중량의 경우 지상부는 약 62%, 지하부는 약 49% 증가하였으며 건체중량의 경우 지상부가 약 36%, 지하부는 약 40% 증가됨을 확인할 수 있었다(Table 4). 반면, 토양의 전기전도도는 약 50% 감소되었다(Table 4). 이와 같은 결과는 분리된 균주들의 혼합배양액을 생물학적 제제로 이용함으로써 식물이 이용하기

어려운 인산염을 효율적으로 가용화시켜 식물의 생장을 촉진시킬 수 있다는 것을 제시한다(Vassilev *et al.*, 1995). 또한, 생물학적 방제제로 이용될 수 있는 방제력 검증에서도 기존의 보고와 유사한 수준을 보였으므로 식물생장 촉진과 항진균 활성을 갖는 미생물제제로서의 활용 가능성이 크다고 판단된다(Nautiyal, 1997; Narsian and Patel, 2000; Patel *et al.*, 2004; Chaurasia *et al.*, 2005).

적요

고추생장 촉진을 위해 병원균에 대한 방제력과 난용성 인산염에 대한 가용화 활성을 보이는 미생물 혼합배양액의 효과를 검증하였다. *Saccharomyces* sp. L13은 난용성 인산염에 대한 가용화 활성으로 분리되었으며 *Bacillus* sp. L32는 고추역병과 고추탄저병에 대한 길항력 활성으로 분리되었다. 특히 L32 균주는 대치배양법과 잎을 이용한 실증실험에서 모두 길항능력을 보였으며 시설재배를 이용한 실증실험에서도 병의 발병율을 저감시켰다. 두 균주의 혼합배양은 각 균주들의 성장율에 영향을 주지 않았으며 고추에 대한 혼합배양액 처리는 고추역병과 고추탄저병의 발병율을 저감시키는 동시에 난용성 인산염의 가용화를 통해 고추의 성장율을 증대시키는 효과를 확인할 수 있었다. 본 결과는 두 균주의 혼합배양액이 작물재배를 위한 미생물제제로서 잠재적 효용성이 높다는 것을 제시한다.

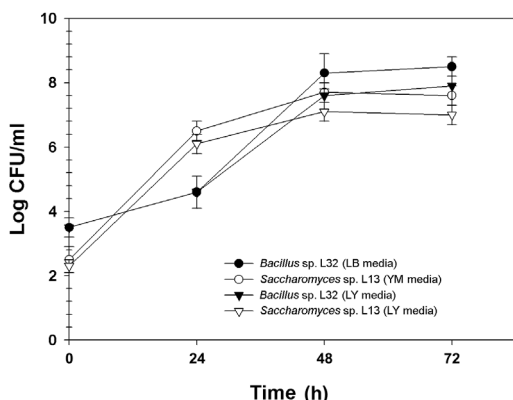


Fig. 2. Growth of *Bacillus* sp. L32 and *Saccharomyces* sp. L13 during mixed cultivation.

Table 3. Biocontrol effects of mixed culture of *Bacillus* sp. L32 and *Saccharomyces* sp. L13 on red pepper against *Phytophthora* blight and Anthracnose disease

Cultures	Phytophthora blight		Anthracnose	
	Disease incidence (%) ^a	Control efficiency (%)	Disease incidence (%) ^a	Control efficiency (%)
Nontreatment	23.3 ^a	-	21.7 ^a	-
Treatment	6.7 ^c	71.2	8.3 ^b	61.8

^{a, b, c}Data followed by the same letter in each column are not significantly different based on Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

Table 4. Growth promotion of red pepper by mixed culture of *Bacillus* sp. L32 and *Saccharomyces* sp. L13 when cultivated in soil amended with insoluble phosphate

Insoluble phosphate		Length		Fresh weight		Dry weight		EC(ds/m)
		Shoot	Root	Shoot	Root	Shoot	Root	
AlPO ₄	Nontreatment	5.88±0.33	9.12±0.98	1.12±0.39	0.10±0.05	0.059±0.028	0.012±0.006	2.58±0.27
	Treatment	7.29±0.12	11.33±0.26	1.89±0.24	0.16±0.05	0.072±0.023	0.018±0.002	1.37±0.05
CaHPO ₄	Nontreatment	6.23±0.48	10.56±0.44	1.28±0.76	0.13±0.08	0.068±0.012	0.015±0.008	2.07±0.05
	Treatment	7.69±0.41	13.55±0.37	2.01±0.18	0.20±0.03	0.092±0.012	0.020±0.004	1.07±0.06
MgPO ₄	Nontreatment	5.77±0.62	10.32±1.24	1.33±0.58	0.13±0.04	0.066±0.01	0.015±0.005	2.48±0.15
	Treatment	7.44±0.32	12.69±0.92	1.79±0.30	0.18±0.04	0.088±0.012	0.019±0.002	1.36±0.06
Ca ₃ (PO ₄) ₂	Nontreatment	6.08±0.33	10.09±0.99	1.15±0.42	0.15±0.06	0.059±0.047	0.014±0.04	2.34±0.16
	Treatment	7.65±0.51	14.62±0.13	2.21±0.29	0.22±0.04	0.091±0.014	0.021±0.003	1.04±0.06

EC, electrical conductivity.

감사의 말

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ009801)의 지원에 의해 이루어진 것임.

참고문헌

- Chaurasia, B., Pandey, A., Palni, L.M.S., Trivedi, P., Kumar, B., and Colvin, N. 2005. Diffusible and volatile compounds produced by an antagonistic *Bacillus subtilis* strain cause structural deformations in pathogenic fungi *in vitro*. *Microbiol. Res.* **160**, 75–81.
- Chiou, A.L. and Wu, W.S. 2001. Isolation, identification and evaluation of bacterial antagonists against *Botrytis elliptica* on Lily. *J. Phytopathol.* **149**, 319–324.
- Gupta, R., Singal, R., Shankar, A., Kuhad, R.C., and Saxena, R.K. 1994. A modified plate assay for screening phosphate solubilizing microorganisms. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **40**, 255–260.
- Illmer, P. and Schinner, F. 1992. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soils. *Soil Biol. Biochem.* **24**, 389–395.
- Illmer, P. and Schinner, F. 1995. Solubilization of inorganic calcium phosphate-solubilization mechanisms. *Soil Biol. Biochem.* **27**, 257–263.
- Jin, C.W., Yoon, B.S., and Cho, D.H. 2006. The desalination effect by corn as a cleaning crop and its physiological characteristics in salt accumulated soil of the plastic film house cultivation. *Korean J. Org. Agri.* **14**, 179–189.
- Lee, G.W., Ko, J.A., Oh, B.T., Choi, J.R., Lee, K.J., and Chae, J.C. 2012. Biological control of postharvest diseases of apples, peaches and

nectarines by *Bacillus subtilis* S16 isolated from halophytes rhizosphere. *Biocontrol Sci. Technol.* **22**, 351–361.

- Loeffler, W., Tschen, J.S., Vanittanakom, N., Kugler, M., Knorpp, E., Hsieh, T.F., and Wu, T.G. 1986. Antifungal effects of bacilysin and fengymycin from *Bacillus subtilis* F-29-3: a comparison with activities of other *Bacillus* antibiotics. *J. Phytopathol.* **115**, 204–213.
- Narsian, V. and Patel, H.H. 2000. *Aspergillus aculeatus* as a rock phosphate solubilizer. *Soil Biol. Biochem.* **32**, 559–565.
- Nautiyal, C.S. 1997. Selection of chickpea-rhizosphere-competent *Pseudomonas fluorescens* NBRI1303 antagonistic to *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceri, *Rhizoctonia bataticola* and *Phythium* sp. *Curr. Microbiol.* **35**, 52–58.
- Patel, V.J., Tendulkar, S.R., and Chattoo, B.B. 2004. Bioprocess development for the production of an antifungal molecules by *Bacillus licheniformis* BC98. *J. Biosci. Bioeng.* **98**, 231–235.
- Song, O.R., Lee, S.J., Kim, S.H., Chung, S.Y., Cha, I.H., and Choi, Y.L. 2001. Isolation and cultural characteristics of a phosphate-solubilizing bacterium, *Aeromonas hydrophila* DA57. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **44**, 257–261.
- Vassilev, N., Baca, M.T., Vassileva, M., Franco, I., and Azcon, R. 1995. Rock phosphate solubilization by *Aspergillus niger* grown on sugar-beet waste medium. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **44**, 546–549.
- Yin, J.F., Zhang, W.H., Li, J.Q., Li, Y.H., Hou, H.L., and Zhou, X.Y. 2007. Screening and antagonistic mechanism of biocontrol agents against pepper *Phytophthora* blight. *Acta. Phytopathol. Sinica* **37**, 88–94.
- Yoshida, S., Hiradate, S., Tsukamoto, T., Hatakeda, K., and Shirata, A. 2001. Antimicrobial activity of culture filtrate of *Bacillus amyloliquefaciens* RC-2 isolated from mulberry leaves. *Phytopathology* **91**, 181–187.