

유용 미생물을 활용한 식물 병원 곰팡이의 억제와 식물 성장촉진 효과

정진희 · 김상우 · 김윤석 · 거비르 람살 · 이윤수*

강원대학교 농업생명과학대학 식물자원응용공학과

Inhibition Effects Against Plant Pathogenic Fungi and Plant Growth Promotion by Beneficial Microorganisms

Jin Hee Jung, Sang woo Kim, Yun Seok Kim, Kabir Lamsal and Youn Su Lee*

Department of Applied Plant Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

ABSTRACT : The experiment was carried out to analyze the inhibition effect of plant pathogenic fungi and growth promotion activity induced by the bacterial strains isolated from peatmoss. Among the isolated bacterial strains, B10-2, B10-4, B10-5 and B10-6 which showed more than 30% inhibition rate against *Botrytis cinerea* and *Rhizoctonia solani* *in vitro*, were further analyzed in the greenhouse for the growth promotion activity on lettuce (*Lactuca sativa*), pak-choi (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis*) and Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis*). The results showed the treatment of B10-4 on lettuce showed the highest growth promotion activity with the leaf area (169.17 cm²), fresh weight (leaf: 40.29 g, root: 8.80 g) and dry weight (leaf: 11.24 g, root: 4.17 g), which was about two folds as compared to control. On pak-choi, the growth promotion rate was the highest with the leaf area of 112.87 cm², leaf fresh weight of 60.70 g, root fresh weight of 3.37 g, leaf dry weight of 14.34 g, and root dry weight of 1.90 g. As a result of treatment of B10-13 on chinese cabbage, the growth promotion rate was the highest with the leaf area (293.56 cm²), fresh weight (leaf: 113.67 g, root: 2.40 g) and dry weight (leaf: 6.03 g, root: 0.53 g). The production of Indole Acetic Acid (IAA) and Indole-3-Butyric Acid (IBA) were also analyzed in these bacterial isolates. The IAA and IBA analyses were carried out in all bacterial isolates each day within the 5 days of incubation period. The highest production of IAA was observed with 112.57 µg/mg protein in B10-4 after 3 days of incubation and IBA production was the highest in B10-2 with 58.71 µg/mg protein after 2 days of incubation. Also, phosphate solubilizing activity was expressed significantly in B10-13 in comparison to that of other bacterial isolates. Bacterial identification showed that B10-2 was Bacillaceae bacterium and B10-5 was *Bacillus cereus*, B10-4 and B10-6 were *Bacillus* sp. and B-13 was *Staphylococcus* sp. by ITS sequence.

KEYWORDS : *Bacillus* sp., Growth promotion, Indole Acetic Acid (IAA), Indole-3-Butyric Acid (IBA)

서론

토양에 있어서 유기물 시용효과는 화학성 보다는 물리성 개선 효과에 주안점을 두고 있음에도 불구하고 유기물 종류별 토양 물리성 개선 효과 연구가 국내외적으로 미비한 것이 사실이다. 농경지 토양의 물리성은 작물 근권에서 토양의 강도와 공기 및 수분의 전달 및 저장 특징으로 주로 언급될 수 있다(Topp *et al.*, 1997). 이러한 토양물리성의 양호여부를 판단할 수 있는 변수로서 유기탄소함량, 용적밀도, 총 공극률, 대 공극률, 포장 이수량, 영구 위조점, 유효수분을 제안하였으며 이들은 토양강도, 보수력, 통기성을 나타낸다고 언급하였다(Reynolds *et al.*, 2002). 토양 입단은 토양미생물, 토양뿌리 등의 생물학적 작용과 토양의 골격을 형성하는 무기입자 그리고 유기물, 양이온 등이

Kor. J. Mycol. 2013 June 41(2): 118-126
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2013.41.2.118>
 pISSN 0253-651X
 ©The Korean Society of Mycology

*Corresponding author

E-mail : younslee@kangwon.ac.kr

Received March 13, 2013

Revised June 6, 2013

Accepted June 20, 2013

©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.

함께 작용할 뿐만 아니라 온도와 수분 등의 환경 인자에 의존하여 형성 및 파괴되는 것으로 토양생태계의 다양한 작용의 종합적인 산물이라 할 수 있다(Boix-Frayos *et al.*, 2001). 유기물이 토양에 투입되면 유기영양미생물을 중심으로 빠르게 번식하여 유기물을 분해시킨다. 미생물 중에는 끈기가 많은 점성물질을 분비하여 토양 입자를 입단 화시켜 공기의 유통을 양호하게 하고 보수성이나 보비력 등 화학적인 성상을 좋게 하며 뿌리의 신장을 촉진하는 환경을 조성해 주고 있다. 유기물질의 토양시용은 토양의 유기물질 농도를 증가시키고 토양의 수분 보유능, 공극량, 입단 안정화 및 온도 절연성 등을 높이는 것으로 알려져 있으며(Hortenstine and Ruthwell, 1973), 토양중 수분 보유능의 증가는 유기물 퇴비의 시용으로 공극의 크기와 분포가 증대되었기 때문이다(Pagliai *et al.*, 1981). 퇴비시용으로 토양 pH가 증가됨으로 pH 5.5 이하의 토양에서 나타나는 Al과 Mn의 독성현상을 방지하며 전기 전도도는 증가한다(Chu and Wong, 1987)고 하였다. 현재 우리나라에서 작물을 재배하는 대부분의 토양은 화학비료의 과다 사용과 연작으로 산성을 나타내고 있지만 화학비료의 사용량은 지속적으로 증가하고 있어, 환경오염뿐만 아니라 인체에도 유해한 영향을 끼치고 있다. 화학비료 및 농약의 과다사용으로 생태계 교란은 물론, 토양양분의 불균형이 초래되어 수질오염 및 농산물의 안정성이 문제시 되고 있어 국제적으로도 리우선언 이후 유기농산물에 대한 새로운 기준이 제정되었고, OECD에서도 농업환경지표를 제정하여 그 이행압력이 가중되면서 친환경농업에 대한 관심이 대내외적으로 집중되고 있다. 최근 들어 지속 가능한 친환경농업에 대한 관심이 집중되면서 정부에서도 친환경 농업 육성법을 제정하여 환경과 농업을 조화시켜 경제성 확보뿐 아니라 환경보전 및 생산된 농작물의 안정성을 동시에 추구하기 위해 노력하고 있으며 그 일환으로 유용 미생물을 이용한 친환경 유기농 자재를 활용하여 작물생육 촉진 및 병해충방생억제 등 생태계보존을 하기 위한 노력이 확산되고 있다(Ahn *et al.*, 2003). 농업 분야에서는 토양의 힘을 살리는 토양 개량제, 농작물의 생육촉진제, 미네랄 양분의 공급, 근권 토양 내 유용미생물 증대 등에 관한 효과를 검토하고 유효한 이용법을 어느 정도 확립하는 단계에 있으며 다각적인 용도 개발에 주력하고 있다. 특히 일본에서는 간벌제와 용제로 이용하기 곤란한 나무를 사용하여 목탄과 목초액을 생산하여 그 이용성과 효과에 관해 연구하며 활용하고 있다. 또한 골프장과 같이 다량의 비료와 농약 사용이 불가피한 분야에 있어서도 비료 사용량을 효과적으로 감소시킬 수 있다(Lee *et al.*, 2002). 이를 보완하는 식물성장촉진 미생물은 근래 농작물 재배 시 과다한 화학농약과 비료의 사용으로 여러 가지 악영향으로 말미암아 친환경농법에서 친환경농산물을 생산하기 위한 화학비료와 다양한 화학농약 대신에 사용되고 있다(Egamberdiyeva, 2007). 이들이 생물비료로서 주목 받고

있는 이유는 다양한 식물성장촉진 기작을 갖고 있기 때문이다. 식물성장촉진 미생물 중 근권세균(rhizobacteria)은 식물 뿌리 주변의 2~3 mm 범위에 사는 세균으로 이것들의 식물성장 촉진 기작은 식물성장호르몬 생성, 인산 가용화, 질소 고정능, 항생물질 분비에 의한 식물병원성 진균 제어 등 여러 가지가 있다. 근권에서 분리한 일부 토양미생물은 식물 생장이나 생산성을 증가시킬 수 있으며, 이러한 미생물은 일반적으로 PGPR(plant growth promoting rhizobacteria) 또는 중국의 일부 학자들에 의하여 yield increasing bacteria(YIB)라고 한다(Dey *et al.*, 2004). 식물생장과 생산성 증가를 위한 식물과 PGPR의 연관성은 아직 충분히 연구되지 않은 실정이나, 현재까지 밝혀진 설명 가능한 이론은 PGPR이 여러 식물 생장 촉진 호르몬을 생산할 수 있으며, 불용성 인산과 다른 영양 염류를 식물이 이용할 수 있도록 한다는 것이다(Macros *et al.*, 1995). 특히 대표적인 식물생장 호르몬인 auxin 종류인 Indole acetic acid(IAA)와 Indole-3-butyric acid(IBA) 뿐만 아니라 gibberellins, cytokinin, benzyl adenine(BA), zeatin, trans-zeatin과 같은 다양한 식물호르몬들이 근권 세균에 의해 생성되어 직·간접적으로 식물성장 촉진에 큰 역할을 한다(Whitelaw and Harden, 1999). 이러한 특징의 PGPR을 통해 나타나는 다양한 생리활성 작용을 이용한 친환경적 농업에 대한 관심이 증가하고 있으며 이에 대한 다양한 연구들이 시도되고 있다(Mayak *et al.*, 2004). 그러나 현재 이용되고 있는 미생물제제는 미생물의 활성이 일정하지 못한 효과 등의 문제점들이 나타나고 있다. 따라서 이러한 문제들을 극복할 수 있는 방법 중 하나로 질소 고정능과 같은 직접적인 영향과 아미노산, 당과 같은 물질을 생산하여 간접적인 식물생장 촉진 기작을 나타내는 다양한 PGPR을 함께 처리함으로써 식물의 생장을 촉진시키는 방법들이 보고 되었다(Freitas *et al.*, 1997; Gray *et al.*, 2005). 식물 생장 촉진과 더불어 근권 세균은 토양 병원성 식물병원균에 대한 방제에도 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 토양 병원성 사상균에 대한 방제는 매우 어렵기 때문에 근래에는 토양병원균에 길항력이 우수한 미생물을 개발하여 병원균을 억제시키는 생물학적 방제에 관한 연구가 이루어지고 있다. 생물학적 방제로 이용되는 미생물로는 *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Rhizoctonia* sp., *Agrobacterium* sp., *Trichoderma* sp., *Streptomyces* sp. 등이 주로 이용되고 있다(Phae *et al.*, 1992; Turner and Bakman, 1991; Handelsman *et al.*, 1990; Rothrock and Gottlieb, 1981; Kloepper and Schroth, 1981; Kloepper *et al.*, 1980). 본 연구는 유용 미생물의 선발을 위해 초탄 분리한 유용 미생물을 이용하여 식물 병원 미생물에 길항력이 있고 선발된 유용 미생물이 상추, 청경채와 배추의 생장에 미치는 영향을 조사하고, 식물생장 촉진능력을 검증함으로써 미생물 농약 및 비료의 개발과 실용화를 위한 기초자료를 확립하고자 수행하였다.

재료 및 방법

미생물의 선별 및 동정

미생물 분리를 위하여 초탄 1g에 멸균 증류수 9 mL을 첨가하여 30분 동안 교반하여, 초탄 현탁액을 10^{-4} 희석하여 TSA(Tryptic Soy Agar)에서 100 μ L씩 도말 접종하여 30°C 에서 4일 동안 배양하여, 총 14개의 균주를 분리하였다. 분리된 세균은 활성검정을 거쳐 최종 선별된 5개의 균주에 대하여 16s rDNA 분석을 통하여 얻어진 sequencing은 BlastX 프로그램을 이용하여 최종 확인하였다. 사용된 primer는 universal primer 27F; 5'-AGAGTTTGTATCTGGCTCAG-3'와 1492R; 5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3'을 이용하였다.

분리 미생물의 항균 활성 검정

유용 미생물의 항균 활성을 검정하기 위해 분리된 14개의 균주에 대한 항균실험을 위하여 농업유전자원센터(Genebank)에서 분양 받은 식물병원균 *Rhizoctonia solani* (KACC No. 401-01), *Sclerotinia minor* (KACC No. 41067), *Botrytis cinerea* (KACC No. 40573), *Phytophthora drechsleri* (KACC No. 40190), *Colletotrichum coccodes* (KACC No. 40009)와 대치배양(Dual culture) 하였다.

PDA(Potato Dextrose Agar)배지에 배양한 식물 병원균을 직경 4 mm의 코르크 보러(Cork borer)를 이용하여 균층을 떼어내어 새로운 PDA배지 한쪽 끝에 접종하고 3 cm 떨어진 곳에 분리한 균주를 접종하여 대치배양 하였다. 30°C 에서 4일 배양 후, 식물 병원균과 유용 미생물 간의 거리를 측정하여 억제율(Inhibition rate)을 측정 하였다.

$$\text{Inhibition rate(\%)} = \frac{(R-r)}{R} \times 100$$

Where, R is the maximum radius of the fungal colony away from the bacterial colony, r is the radius of the fungal colony opposite the bacterial colony

식물생장촉진호르몬(IAA, IBA)의 생성활성 조사

식물생장촉진호르몬 생성능을 조사하기 위해 IAA (Indole acetic acid)와 IBA (Indole-3-butyric acid)의 생성을 확인 하였다. 배지는 TSB (Tryptic Soy Broth) 배지를 사용하여 각각의 미생물을 3일 배양하여 준비하였다. IAA와 IBA의 전구물질인 L-tryptophan을 5 mM 첨가한 TSB 배지 100 mL에 각각의 배양액 (OD 600 nm; 2×10^8)을 10 mL을 접종하여 130 rpm으로 30에서 배양하였다. 접종 배양 후, 각각의 미생물 배양액을 1 mL씩 채취하여 식물 호르몬 측정을 하였다. 배양액 1 mL을 10,000 rpm으로 20분 동안 원심 분리하여 상등액 0.5 mL를 Salkowski reagent (H_2SO_4 ; 150 mL, H_2O ; 250 mL, 1.5 M $FeCl_3 \cdot 6H_2O$; 75 mL) 2 mL과 섞어 상온에서 30분 간 반응시켰다. 반응 후 분광광도계를 사용하여 450, 530 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 측정은 1, 2, 3, 4일에 일정

한 시간에 채취하여 측정하였다. 표준 IAA (I2886, Sigma Aldrich Co., USA)와 IBA (I5386, Sigma Aldrich Co., USA)를 이용하여 측정하였다. 단백질량은 Bradford method를 이용하여 균주별 시료를 측정하였다.

인산 가용화(Phosphate solubilizing)활성 조사

유용 미생물의 불용성 인산 가용화를 확인하기 위해 분리된 미생물을 TSB 배지에서 2일 동안 배양 후, 불용성 인산($Ca_3(PO_4)_2$)이 0.5% 포함된 Pikovskaya's agar($Ca_3(PO_4)_2$; 5 g, glucose; 10 g, $(NH_4)_2SO_4$; 0.5 g, KCl; 0.2 g, $MnSO_4$; 0.01 g, $FeSO_4$; 0.005 g, yeast extract; 0.5 g, agar; 15 g, distilled water; 1 L)배지에 지름 8 mm의 paper disk를 깔고 각각의 균주를 20 μ L씩 접종하였다. 배양 후, 페이퍼디스크(paper disk, Advantech, 8 mm) 주변의 저지원(clean zone) 형성 유무를 확인하였다.

식물 생장 촉진 실험

식물병원균에 길항력이 있고 식물호르몬의 생성능을 보이는 균주를 대상으로 온실에서 식물 생장 촉진 실험을 실시하였다. 상추와 청경채는 20 cm \times 15 cm의 포트를 이용하였으며, 배추는 30 cm \times 20 cm의 포트를 이용하여 원예상토(서울바이오)와 토양(마사토)을 3:7(v/v)의 비율로 섞어 묘를 심어 실험하였다. 미생물은 TSA 배지에서 48시간 배양하여 각 포트 당 100 mL씩 7일 간격으로 3회 관주 처리하였다. 실험 종료 후(3회 처리 후 7일경과) 처리된 상추, 청경채, 배추를 대상으로 잎을 선별하여 전체 엽면적, 지상부와 지하부의 생체 중량, 건조 중량을 측정하였다. 실험은 한 식물체 당 5개씩 3반복으로 실시하였다.

통계분석

모든 실험의 결과는 SAS (Version 9.2, SAS institute inc., Cary, USA)를 이용하여 통계 분석하였고 Duncan's Multiple Range Test (DMRT, P = 0/05)로 유의성 검정을 실시하였다.

결 과

식물병원균 저지원 검정

초탄에서 14개의 분리균과 *Botrytis cinerea*를 대치배양한 결과, 무처리와비교하였을 때 B10-2는 37.23%, B10-6은 35.29% 억제율을 보였고 B10-13은 38.07 %로 가장 높은 억제율을 보였다(Table 1, Fig. 1).

14개 분리 균주의 식물 병원균 *Rhizoctonia solani*와 대치배양한 결과 B10-2, 3, 4, 5, 6, 13에서 좋은 활성의 길항력을 확인할 수 있었다. B10-5는 *Rhizoctonia solani*에 대하여 38.11%의 생장 억제율을 나타냈고, B10-5는 37.41%의 억제율을 나타냈다. *Rhizoctonia solani*에 길항성이 있는 6개 균주(B10-2, 3, 4, 5, 6과 13)의 높은 수준을 나타냈다(Table 1, Fig. 2).

분리균주와 *Sclerotinia minor*를 대치 배양한 결과 B10-13

Table 1. Inhibition effects of the bacterial isolates against five different plant pathogenic fungi.

Isolate	Inhibition rate (%)				
	<i>B. c.</i> ^a	<i>R. s.</i> ^b	<i>S. m.</i> ^c	<i>C. c.</i> ^d	<i>P. d.</i> ^e
B10-1	26.07	0	18.58	0	0
B10-2	37.23	30.58	24.11	0	23.05
B10-3	33.29	31.41	20.58	8.42	20.17
B10-4	0	36.94	22.82	12.94	23.52
B10-5	35.05	37.41	37.50	41.17	42.35
B10-6	35.29	36.11	27.05	35.05	22.35
B10-7	0	0	0	17.64	0
B10-8	29.05	0	0	0	21.17
B10-9	28.23	0	0	0	0
B10-10	20.52	0	18.23	20.00	3.52
B10-11	0	0	0	16.47	0
B10-12	22.35	0	7.64	0	0
B10-13	38.07	38.11	40.47	40.47	45.47
B10-14	0	0	0	23.52	0

a; *Botrytis cinerea*, b; *Rhizoctonia solani*, c; *Sclerotinia minor*, d; *Colletotrichum coccodes*, e; *Phytophthora drechsleri*.

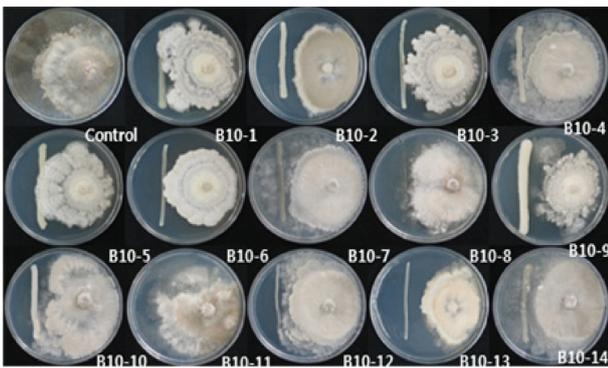


Fig. 1. *In vitro* inhibition of *Botrytis cinerea* by fourteen bacterial isolates on PDA media.

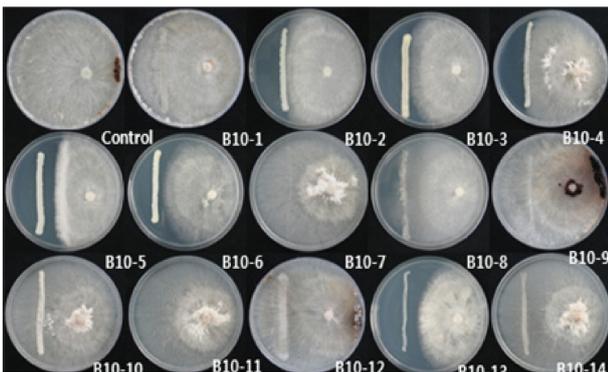


Fig. 2. *In vitro* inhibition of *Rhizoctonia solani* by fourteen bacterial isolates on PDA media.

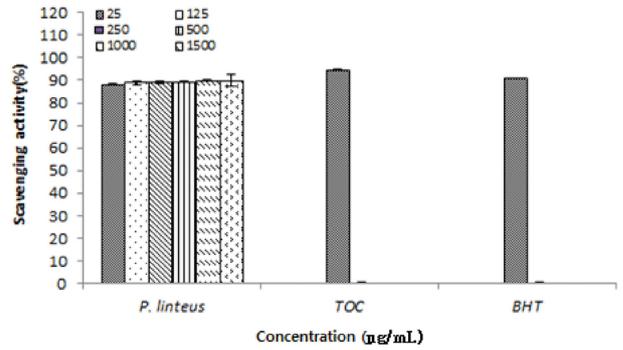


Fig. 3. *In vitro* inhibition of by *Sclerotinia minor* fourteen bacterial isolates on PDA media.

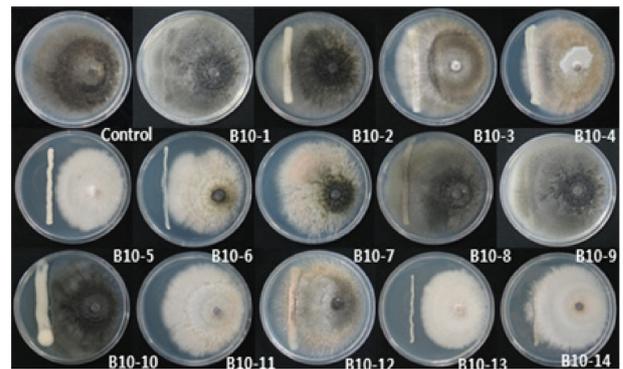


Fig. 4. *In vitro* inhibition of *Colletotrichum coccodes* by fourteen bacterial isolates on PDA media.

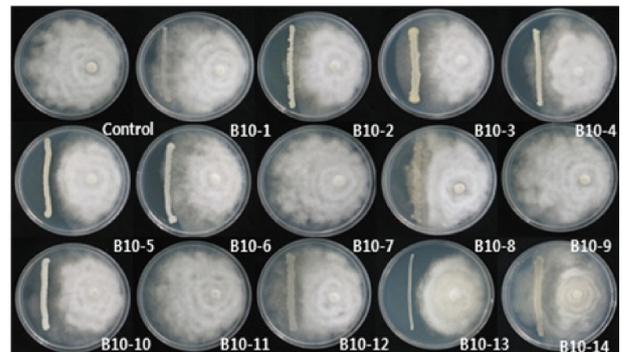


Fig. 5. *In vitro* inhibition of *Phytophthora drechsleri* by fourteen bacterial isolates on PDA media.

이 40.47%, B10-5는 37.50%의 길항력을 보였다. *Sclerotinia minor*의 경우 *Sclerotinia minor*의 균핵 형성도 지연시킴을 확인 할 수 있었다(Table 1, Fig. 3).

*Colletotrichum coccodes*과 대치 배양한 결과, B10-5는 41.17%로 가장 높은 길항력을 보였고, B10-13 경우 40.47%로 높은 길항력을 나타냈다(Table 1, Fig. 4).

*Phytophthora drechsleri*를 분리 균주와 대치 배양 한 결과, B10-13이 45.47%, B10-5 경우 42.35%로 높은 길항력을 보였다(Table 1, Fig. 5). 식물병원균과 대치 배양한 결

과 B10-2, 4, 5, 6과 13의 길항력이 우수하여 이를 선발하여 추후의 실험에 사용하였다.

식물생장촉진호르몬(IAA와 IBA)의 생성

식물병원균에 대한 길항성이 좋은 B10-2, 4, 5, 6, 13을 선발하여 식물생장촉진호르몬(IAA와 IBA) 생성 여부를 실험한 결과, 무처리와 비교하여 Salkowski reagent의 발색 정도가 상대적으로 붉은 색으로 짙게 변함으로써 5개의 유용 미생물 모두 IAA 생성능이 높음을 확인할 수 있다(Fig. 6). 특히, B10-4와 B10-6의 색이 가장 많이 변한 것을 확인 할 수 있다(Fig. 6). 4일 배양 기간 동안 선발된 균주 모두 IAA와 IBA를 생산했고, 배양 2일 경과 후, 가장 많은 IAA를 생산함을 확인하다. B10-4의 경우 176.2 µg/mg protein으로 5개의 선발 균주 중 가장 많은 IAA를 생산하였으며, B10-6는 배양 2일 경과 후 116.1 µg/mg protein으로 많은 양의 IAA를 생산하였다. IAA를 가장 많이 생산하는 시간은 조금씩 달랐지만 B10-2, 5와

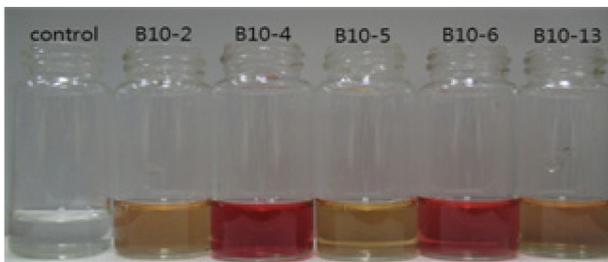


Fig. 6. Production of IAA and IBA by bacterial isolates B10-2, B10-4, B10-5, B10-6 and B10-13.

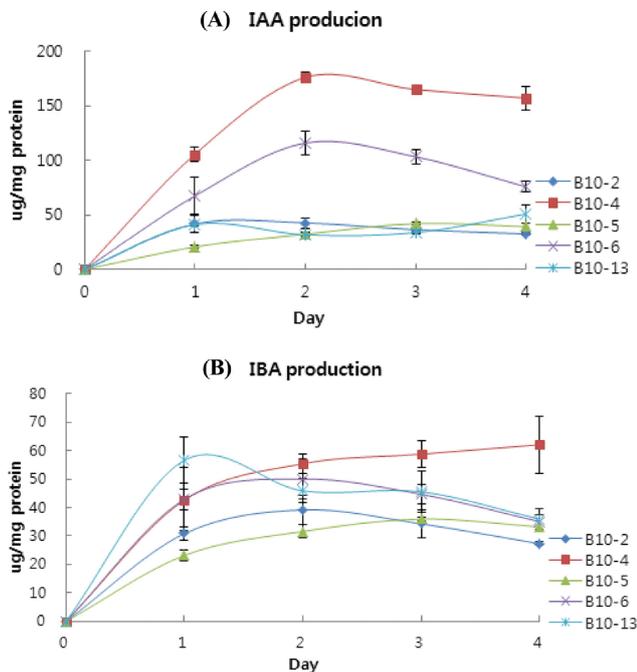


Fig. 7. IAA (A) and IBA (B) productions by bacterial isolates B10-2, B10-4, B10-5, B10-6 and B10-13.

B10-13 유용 미생물은 각각 42.8, 42.3, 51.0 µg/mg protein으로 생성함을 확인하였다(Fig. 7A). IBA의 경우 유용 미생물 접종 1일 후, B10-13이 56.6 µg/mg protein으로 가장 많은 양을 생산하였으나 배양 시간이 경과 될수록 급격히 생산량이 줄어드는 것을 확인 할 수 있다. B10-13을 제외 하곤 IBA의 생산은 IAA의 생산과 비슷한 양상을 보였다. B10-4는 배양 시간이 경과 될수록 점차 많은 양의 IBA를 생산해 냈고 62.1 µg/mg protein으로 가장 많은 양을 생산 하였다(Fig. 7B).

인산 가용화(Phosphate solubilization)활성

선발된 균주를 대상으로 Pikovskaya's agar 배지에 접종한 주변에 clean zone 형성의 유무로 인산 가용화능을 확인하였다. 그 결과 다섯 가지 5균주 중 B10-13만 인산 가용화 능력이 있음을 확인 하였다(Table 2, Fig. 8B).

식물생장촉진능

선발균주를 대상으로 식물 성장 촉진능을 조사하기 위해 pot 실험을 수행하였다. 상추의 경우 B10-4를 처리 하였을 때 엽면적이 169.17 cm²로 가장 높은 수치를 나타냈고 생물중도 및 40.29 g, 뿌리 8.80 g으로 가장 높은 성장 촉진능을 나타냈다. 건물중은 가장 높은 수치는 아니었지

Table 2. Phosphate solubilizing activity expressed by the selected bacterial isolates.

Strain	Phosphate solubilization ^a
B10-2	-
B10-4	-
B10-5	-
B10-6	-
B10-13	+

^a -, indicates no halo zone formation, +, indicate presence of halo zone.

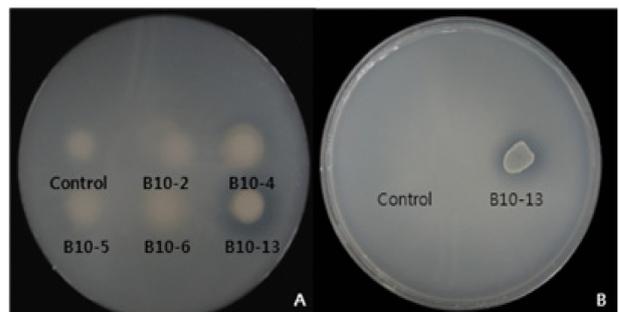


Fig. 8. Halo zone formation by solubilization of insoluble phosphate around filter paper with bacterial isolates B10-2, B10-4, B10-5, B10-6 and B10-13 on Pikovskaya's agar. Pikovskaya's agar inoculated with all the five selected bacteria (A) and B10-13 (B) streaked on Pikovskaya's agar (Control).

만 잎 11.24 g, 뿌리 4.17 g으로 무처리군 과 비교하여 2배 이상의 높은 수치를 나타냈다. B10-5의 경우 142.27 cm²의 엽면적과 잎의 생물중 33.72 g, 뿌리의 생물중 8.83 g으로 높게 나타났고 비교적 부피가 컸던 B10-4에 비해 건물중이 더 높은 수치를 나타냈다. 그 외에 다른 균주들 모두 무처리군에 비해 좋은 성장 촉진능을 나타냈다(Table 3, Fig. 9).

유용 미생물을 청경채에 관주 처리한 결과 B10-2를 처리하였을 때 무처리군에 비해 두 배 이상 높은 성장 촉진 결과를 확인 할 수 있었다. 엽면적이 112.87 cm²로 가장 넓었고, 잎의 생물중은 60.70 g, 건물중은 14.34 g 으로 가장 높은 수치를 나타냈었다. B10-13을 처리한 청경채의 엽면적이 93.72 cm²로 높았다. 청경채의 경우 역시 다섯 가지 균주 모두에서 식물

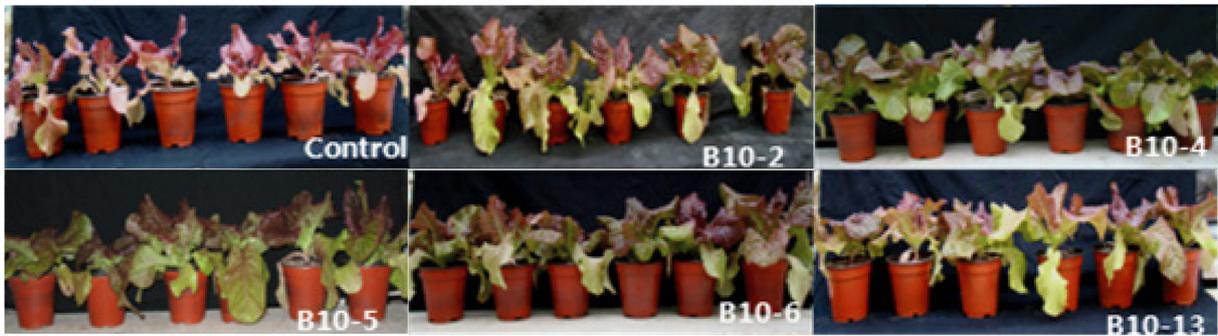


Fig. 9. Growth promotion of lettuce by five bacterial isolates B10-2, B10-4, B10-5, B10-6 and B10-13 on pot tests in the greenhouse.

Table 3. Growth promotion of lettuce treated with various bacterial isolates.

Strain	Leaf area (/cm ²)	Fresh weight (g)		Dry weight (g)	
		Leaf	Root	Leaf	Root
B10-2	105.00 ^c	20.01 ^d	8.52 ^{ab}	8.94 ^c	5.15 ^b
B10-4	169.17 ^a	40.29 ^a	8.80 ^a	11.24 ^b	4.17 ^c
B10-5	142.27 ^b	33.72 ^b	8.83 ^a	11.90 ^a	5.68 ^a
B10-6	130.83 ^b	26.68 ^c	8.20 ^b	9.36 ^c	4.01 ^c
B10-13	105.00 ^c	19.75 ^d	8.47 ^{ab}	8.90 ^c	5.10 ^b
Control	81.22 ^c	12.39 ^e	5.79 ^e	5.33 ^d	3.45 ^d

* Means followed by the same letter in the columns are not significantly different according to Duncan's Multiple Rang Test (DMRT) at ≤ 0.05.

Table 4. Growth promotion of pak-choi treated with various bacterial isolates.

Strain	Leaf area (/cm ²)	Fresh weight (g)		Dry weight (g)	
		Leaf	Root	Leaf	Root
B10-2	112.87 ^a	60.70 ^a	3.37 ^a	14.34 ^a	1.90 ^a
B10-4	89.61 ^b	43.29 ^b	3.42 ^a	13.48 ^a	1.67 ^a
B10-5	85.77 ^b	35.57 ^{bc}	3.03 ^a	13.38 ^a	2.00 ^a
B10-6	90.72 ^b	38.10 ^{bc}	3.03 ^a	11.75 ^b	1.63 ^a
B10-13	93.72 ^b	48.53 ^{ab}	4.17 ^a	14.63 ^a	1.70 ^a
Control	57.44 ^c	22.67 ^c	3.25 ^a	9.72 ^c	1.82 ^a

* Means followed by the same letter in the columns are not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test (DMRT) at ≤ 0.05.



Fig. 10. Growth promotion of pak-choi by five bacterial isolates B10-2, B10-4, B10-5, B10-6 and B10-13 on pot tests in the greenhouse.



Fig. 11. Growth promotion of Chinese cabbage by five bacterial isolates B10-2, B10-4, B10-5, B10-6 and B10-13 on pot tests in the greenhouse.

Table 5. Growth promotion of Chinese cabbage treated with various bacterial isolates.

Strain	Leaf area (/cm ²)	Fresh weight (g)		Dry weight (g)	
		Leaf	Root	Leaf	Root
B10-2	203.44 ^c	79.63 ^{abc}	2.20 ^a	4.70 ^a	0.53 ^a
B10-4	187.94 ^c	64.30 ^{bc}	2.23 ^a	4.40 ^a	0.53 ^a
B10-5	251.27 ^b	116.37 ^{ab}	3.70 ^a	5.80 ^a	0.63 ^a
B10-6	199.44 ^c	91.17 ^{abc}	2.93 ^a	3.63 ^a	0.57 ^a
B10-13	293.56 ^a	133.67 ^a	2.40 ^a	6.03 ^a	0.53 ^a
Control	157.05 ^d	48.90 ^c	2.30 ^a	3.67 ^a	0.56 ^a

* Means followed by the same letter in the columns are not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test(DMRT) at ≤ 0.05 .

생장 촉진능이 있음을 확인 할 수 있었다(Table 4, Fig. 10).

배추의 경우 B10-13 균주는 엽면적이 293.56 cm²으로 가장 큰 식물 생장 촉진을 확인 할 수 있었다. 무처리군의 경우 선발된 균주를 처리한 것 보다 확연히 크기가 작음을 확인 할 수 있었다. 또한 선발된 균주를 처리한 배추와 비교하여 해충의 피해를 더 많이 받음을 확인 할 수 있었다. B10-13은 물론 B10-5를 처리한 경우도 엽면적이 251.27 cm²으로 생장이 촉진됨을 확인 할 수 있었다(Table 5, Fig. 10).

유용 미생물의 동정

초탄에서 분리한 미생물 14개 중 식물 병원균에 길항성을 보이고 식물 생장 촉진을 시키는 4개의 유용 미생물을 BlastX 프로그램을 이용하여 Similarity(%)가 99% 이상 상동성을 보이는 B10-2는 *Bacillaceae bacterium*, B10-4와 B10-6은 *Bacillus* sp., B10-5는 *Bacillus cereus*, B-13은 *Staphylococcus* sp. 동정 되었다 (Table 6).

Table 6. Identification of bacterial isolates.

Strain	Taxon
B10-2	<i>Bacillaceae bacterium</i>
B10-4	<i>Bacillus</i> sp.
B10-5	<i>Bacillus</i> sp.
B10-6	<i>Bacillus cereus</i>
B10-13	<i>Staphylococcus</i> sp.

고 찰

초탄에서 분리한 총 14개의 유용 미생물의 길항성을 알아보기 위하여 식물병원균인 *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia minor*, *Colletotrichum coccodes*, *Phytophthora drechleri*와 대치 배양하여 길항성을 확인하였다. 또한 식물 생육촉진(PGPR) 능력을 알아보기 위하여 온실에서 pot실험을 실시하여 확인 하였다. *B. cinerea*는 B10-1, 2, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 12와 B10-13에서 길항성이 나타났다. 그 중 B10-13은 38.07%로 가장 좋은 길항성을 나타냈고, B10-2가 37.23%로 좋은 활성을 나타냈다. *R. solani*를 유용 미생물과 대치 배양한 결과 유용 미생물 B10-2, 3, 4, 5, 6과 B10-13이 길항성을 나타냈다. *B. cinerea*와 마찬가지로 B10-13이 38.11%의 억제율로 가장 좋은 길항력을 나타냈다. 이어 B10-5가 37.41%로 좋은 길항력을 보였다. 길항성을 보인 균주 모두 30%가 넘는 억제율을 나타냈고 균주들은 평균 35.09%의 높은 길항성을 나타냈다. *S. minor*와 대치 배양한 14개의 균주 중 B10-1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 12와 B10-13이 길항력을 보였고 그 중 B10-13은 40.47%로 가장 좋은 길항성을 나타냈다. B10-5가 37.50%로 길항성을 나타냈다. *C. coccodes*에 길항성을 보인 유용 미생물은 B10-3, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 13, B10-14로 확인됐고, 그 중 B10-5가 41.17%

로 가장 좋은 길항성을 나타냈다. *C. cocodes*에서도 B10-13이 40.47%로 좋은 길항성을 나타냈다. *P. drechsleri*와 유용 미생물을 대치 배양 결과 B10-2, 3, 4, 5, 6, 8, 10과 B10-13이 길항성을 보였고 B10-13이 45.47%로 가장 좋은 길항성을 나타냈다. 길항성을 보인 균주 중에서 *P. drechsleri*와 B10-10을 대치 배양한 결과 값이 3.52%로 가장 낮게 나타났다. B10-13은 다섯 가지 식물 병원균에 대해 길항성을 나타냈고 모든 병원균에서 38% 이상의 길항성을 나타냈고 특히 *S. minor*, *C. cocodes*와 *P. drechsleri*에서는 40%가 넘는 좋은 길항성을 나타냈다. 뒤를 이어 B10-5의 경우도 5 가지 식물 병원균에서 모두 길항성을 나타냈으며 병원균에 대해 35%가 넘는 길항성을 나타냈다. 이는 토양 내에 존재하는 병원 미생물에 대해 우수한 방제 효과를 가질 것으로 기대된다. B10-5와 B10-13과 함께 좋은 길항성을 보인 B10-2, 4와 B10-6을 선발하여 식물 성장 촉진 활성 검정에 사용하였다. 식물 성장 촉진 근권 세균 (PGPR)은 병원 미생물의 성장을 억제하고 다양한 기작으로 성장을 촉진하는데 특히 auxin(IAA와 IBA), gibberellin (GA3), cytokinin (zeatin)과 같은 식물 호르몬을 생산하여 식물의 줄기, 뿌리 그리고 열매의 발달을 촉진한다. 본 연구에서는 길항력이 우수했던 유용 미생물의 식물 성장 호르몬 IAA와 IBA의 생성능을 확인한 결과 육안으로도 쉽게 B10-4와 B10-6이 IAA를 가장 많이 생산해 냄을 알 수 있었고 접종 배양 2일 후에 B10-4는 176.2 µg/mg으로 가장 많은 IAA를 생산해 냈고 IBA생산도 접종 배양 4일 후 58.7 µg/mg으로 가장 많은 양을 생산해 냄을 알 수 있었다. 뒤를 이어 B10-6 역시 116.1 µg/mg으로 많은 IAA를 생산해 냄을 확인하였다. 나머지 유용 미생물 B10-2, 5와 13은 각각 42.8, 42.3, 51.0 µg/mg으로 IAA생산이 높은 수치를 나타냄을 알 수 있다. IBA 생산 역시 50.0 µg/mg으로 좋은 생산능을 보였다. 반면 B10-13의 경우 접종 배양 1일 후 56.6 µg/mg으로 많은 IBA를 생산해 냈지만 배양 시간이 경과 할수록 급격히 수치가 떨어짐을 확인하였다. 수치가 떨어 졌어도 나타내는 수치가 낮은 수치가 아니기 때문에 IBA 생성이 유의한 수준이었다. 유용 미생물의 IAA와 IBA의 우수한 생성능을 가지므로 식물의 성장을 효과적으로 촉진 할 수 있음을 추측하였다. 선발된 유용 미생물을 상추와 청경채에 관주 처리 결과 상추의 경우 B10-4가 엽면적, 생물중과 건물중 모두 가장 좋은 성장 촉진을 나타냈다. 엽면적은 Control 81.22 cm²에 비해 약 두 배 이상인 169.17 cm²로 가장 넓은 엽면적을 나타냈다. 엽면적을 비교하였을 때 가장 뚜렷한 성장 촉진 결과를 확인할 수 있었고 뿌리의 생물중과 건물중은 Control에 비해 생장이 촉진 되었음을 확인했지만 유용 미생물 간의 차이는 비슷한 수준이었다. 유용 미생물을 청경채에 처리한 결과 B10-2를 처리 하였을 때 Control 57.44 cm²에 비해 약 두 배 이상인 112.87 cm²로 가장 좋은 활성을 보였고 잎의 생물중은 Control의 약 세 배 이상인 61.04 g으로 무게가 많이 나감을 알 수 있었다. 나머지 균들도 Control과 비교하였

을 때 생장이 촉진됨을 알 수 있었고 활성이 가장 좋았던 B10-2를 제외한 나머지 유용 미생물은 비슷한 수준으로 나타났다. 식물 성장 촉진에는 큰 활성을 나타냈지만 다른 유용 미생물과 비교하여 IAA와 IBA 생산에선 낮은 수치를 나타냈던 B10-13은 인산 가용화 활성에선 B10-13만이 인산 가용화 능이 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 B10-13은 식물이 흡수 할 수 있는 유리 인산을 토양 대에 풍부하게 존재 하도록 형성할 것으로 사료된다. 이 다섯 가지 유용 미생물을 동정한 결과 B10-2는 *Bacillaceae bacterium*, B10-4와 B10-6은 *Bacillus sp.*, B10-5는 *Bacillus cereus*, B-13은 *Staphylococcus sp.*로 확인되었다. 식물체의 종류에 따라 성장 촉진을 시키는 세균의 종류는 달랐지만 두 가지 *Bacillus sp.*에서 모두 식물 성장 촉진과 식물병원균을 억제하는 효과를 나타냈고 *Staphylococcus sp.* 역시 좋은 길항성과 많은 IBA를 생성, 인산 가용화 활성이 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과를 토대로 초탄에서 분리한 이들 균주를 이용하여 다 기능성 미생물 제제로써의 활용이 기대된다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부의 농림수산식품 연구개발사업 및 생산업기술개발사업 연구비지원으로 수행되었으며, 이에 감사함을 전합니다.

참고문헌

- Ahn, B. J., Cho, S. T., Cho, T. S., Lee, S. J. and Lee, Y. S. 2003. Effect of wood charcoal and pyrolytic acid on soil microbiology and growth of red pepper. *J. Kor. For. En.* 22:49-56. (in Korean).
- Boix, C., Calvo, A. C., Imeson, A. C. and Soriano-Soto, M. D. 2001. Influence of soil properties on the aggregation of some Mediterranean soils and the use of aggregate size and stability as land degradation indicators. *Catena* 44:47-67.
- Dey, R., Pal, K. K., Bhatt, D. M. and Chauhan, S. M. 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis phygyea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbiol. Res.* 159:371-394.
- Egamberdiyeva, D. 2007. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. *Appl. Soil Ecol.* 36:184-189.
- Freitas, J. R., Banerjee, M. R. and Germida, J. J. 1997. Phosphate solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.). *Biol. Fertil. Soils* 24:358-364.
- Gray, E. J. and Smith, D. L. 2005. Intracellular and extracellular PGPR commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biol. Biochem.* 37:395-412.
- Handelsman, J., Raffel, S., Mester, E. H., Wunderlich, L. and Grau, C. R. 1990. Biological control of damping-off of alfalfa seeding with *Bacillus cereus* UW85. *Appl. Environ. Microbiol.* 56:713-718.
- Kloepper, J. W. and Schroth, M. N. 1981. Relationship of in vitro

- antibiosis of plant growth-promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. *Phytopathol.* 71:642-644.
- Kloepper, J. W., Schroth, M. N. and Miller, T. D. 1980. Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathol.* 70:1078-1082.
- Lee, S. J. and Huh, K. Y. 2002. The effect of pyroligneous acid on turfgrass growth - The case of Yong-pyong golf course green. *Korea Institute of Landscape Architecture.* 30:95-104. (in Korean).
- Macros, A., Gagne, S. and Antoun, H. 1995. Effect of compost on rhizosphere microflora of tomato and on the incidence of plant growth-promotion rhizobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:194-199.
- Mayak, S., Tarosh, T. and Glick, B. R. 2004. Plant growth-promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomatoes and peppers. *Plant Sci.* 166:525-530.
- Phae, C. G., Shoda, M. and Kita, N. 1992. Biological control of crown and root rot and bacterial wilt of tomato by *Bacillus subtilis* NB22. *Ann. Phytopath. Soc.* 58:329-339.
- Topp, G. C., Reynolds, W. D., Cook, F. J., Kirby, J. M. and Carter, M. R. 1997. Physical attributes of soil quality. In; E. G. Gregorich and M. R. Carter (ed.) *Soil Quality for Crop Production and Ecosystem Health. Develop. Soil Sci.* 25:21-58.
- Reynolds, W. D., Bowman, B. T., Drury, C. F., Tan, C. S. and Lu, X. 2002. Indicators of good soil physical quality : density and storage parameters. *Geoderma* 110:131-146.
- Rothrock, C. S. and Gottlieb, D. 1981. Importance of antibiotic production in antagonism of selected *Streptomyces* species to two soil-borne plant pathogens. *J. Antibiot.* 34:830-835.
- Turner, J. T. and Backman, P. A. 1991. Factors relating to peanut yield increases after seed treatment with *Bacillus subtilis*. *Plant Dis.* 75:347-353.
- Wei, G., Kloepper, J. W. and Tuzun, S. 1996. Induced systemic resistance to cucumber diseases plant growth by plant promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathol.* 86:221-224.
- Whitelaw, M. A., Harden, T. J. and Helyar, K. R. 1999. Phosphate solubilization in solution culture by the soil fungus *Penicillium radicum*. *Soil Bio. Biochem.* 31:655-665.