ISSN 0367-6315
Korean J. Soil Sci. Fert. Vol. 45, No. 2, 169-176 (2012)

보문

인산가용화 미생물에 의한 토양 내 인산이온 가용화 기작

이강국 · 목인규 · 윤민호 · 김혜진 · 정덕영*

충남대학교 농업생명과학대학 생물환경화학과

Mechanisms of Phosphate Solubilization by PSB (Phosphate-solubilizing Bacteria) in Soil

Kang-Kook Lee, In-Kyu Mok, Min-Ho Yoon, Hye-Jin Kim, and Doug-Young Chung*

Dept. of Bio-environmental Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, Daejeon, 305-764, Korea

Among the major nutrients, phosphorus is by far the least mobile and available to plants in most soil conditions. A large portion of soluble inorganic phosphate applied to soil in the form of phosphate fertilizers is immobilized rapidly and becomes unavailable to plants. To improve the plant growth and yield and to minimize P loss from soils, the ability of a few soil microorganisms converting insoluble forms into soluble forms for phosphorus is an important trait in several plant growth-promoting microorganisms belonging to the genera Bacillus and Pseudomonas and the fungi belonging to the genera Penicillium and Aspergillus in managing soil phosphorus. The principal mechanism of solubilization of mineral phosphate by phosphate solubilizing bacteria (PSB) is the release of low molecular weight organic acids such as formic, acetic, propionic, lactic, glycolic, fumaric, and succinic acids and acidic phosphatases like phytase synthesized by soil microorganisms in soil. Hydroxyl and carboxyl groups from the organic acids can chelate the cations bound to phosphate, thereby converting it into soluble forms.

Key words: Phosphorus, Phosphate-solubilizing bacteria, Phosphate solubilization

서 언

인은 식물 생장에 필요한 영양소 가운데 중요한 역할을 하는 성분으로 주로 핵산, 인지질, phytates 등을 구성하며 (Kang and Choi, 1999), 세포분열이 활발히 일어나는 생장점과 어린 식물에 가장 많이 함유되어있다. 인산이 식물체에서 부족하게되면 단백질 합성이 줄어들고, RNA 합성이 감소하여 영양 생장에 문제를 일으킨다. 인산이 부족한 식물체는 줄기와 뿌리 발달이 약해지며, 과수의 신초 발육, 화아 발달, 그리고 개화 상태가 불량해지고, 종자와 과실을 형성하는 정도가 균일하지 못하게 되어 품질과 수량의 저하를 초래하게 된다 (Park, 1992).

인산은 우리 농업에서 화학비료로써 많이 시용되어 왔지만, 이렇게 비료로 공급한 인산이 산성 토양에서 철 및 알루미늄 이온과 결합하고, 알칼리성 토양에서 칼슘이온과 쉽게 결합하여 불용화되므로 식물체가 흡수하지 못하는 형태로 고정된다 (Paul and Clark, 1989). 이러한 단점은 토양 비옥도 면에서도 악영향을 주고 화학비료의 가격을 높이는 역효과를 가져온다 (Vassilev, 2003). 하지만 미생물을 이용한 인산가용화는 이러한 단점을 보완해 줄 뿐만 아니라, 토양에 인산을 공급하는 역할을 한다 (Rodriquez and Fraga, 1999).

인산가용화 미생물은 인산염을 가용하여 인산을 공급하는 미생물로써 (Wu et al., 2005), 미생물과 작물이 스스로 난용성 인산염을 이용할 수 있게 해주는 기능을 하는 미생물이다 (Illmer and Schinner, 1992). 이는 토양 내 전체 미생물의 일부에 불과하지만, 식물 근권에서 다수 발견된다 (Vassilev et al., 1997). 이러한 인산가용화 미생물을 분리하여 불용성 인산을 가용화시키는 연구는 1950년대 러시아와 동유럽에서부터 시작되었다. 인산가용화균은 토양 중에 널리 분포하며 그 종류도 다양하다. 이에 속하는 세균으로는 *Arthrobacter*속, *Bacillus*속, *Pseudomonas*속, *Escherichia*속 등이 있고, 방선균으로는 *Streptomyces*속이 있으며, 사상균으로는 *Penicillium*속, *Aspergillus*속 등이 대표적으로 보고되었다 (RDA, 2000).

불용성 인산을 가용화하기 위해서 생물학적으로는 *Pseudo*-

접수 : 2012. 2. 27 수리 : 2012. 3. 15
*연락저자 : Phone: +82428216739
E-mail: dychung@cnu.ac.kr

*monas putida*와 *Aspergillus niger* 등의 우수균을 이용하는 방법과 (Suh, 1994), *Enterobacter intermedium*을 이용하는 법 (Park et al., 2005), 그리고 *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.* 등의 인산가용화 능력을 이용하는 법 (Kucey, 1988; Seo, 1994) 등이 있다. 화학적으로는 유기산을 이용하는 방법과 천연인광석을 시비하는 방법이 연구되어 있다. 지금까지 알려진 난용성 인산의 가용화에 관여하는 미생물의 작용은 황 및 암모니아 산화에 의한 황산과 질산 생성 (Jansson, 1987), 2-ketogluconate와 같은 킬레이트 물질의 생성, H_2S 생성에 의한 FeS로의 철 이온의 침전 et al., 매우 다양하다 (Varsha and Patel, 2000). 또한 토양 인산가용화균 밀도와 인산가용화량은 LSD 5% 수준에서 유의성이 있음이 조사되었다. 이는 인산가용화균의 밀도를 높임으로 토양의 유효인산 함량도 증가시킬 수 있음을 말한다. 따라서 토양의 난용성인산염을 이용하기 위해서는 이런 미생물의 활성을 높이는 방법이 필요하다 (Suh and Kwon, 2005).

미생물을 이용한 biofertilizer의 개발은 인도 등의 나라에서 일부 실용화되어 사용되고 있는 상태이지만, 국내에서는 발효공정 개발, 균주선발 및 배양특성 조사, 포장시험 등에 관한 폭넓은 연구가 아직 부족하다 (Kim et al., 1984; Suh et al., 1995; Uo et al., 1985). 2000년대에는 환경을 위한 규제도 강화되고 있기 때문에 난용성 인산염의 효율적 분해와 작물이 필요로 하는 인산질 비료성분을 충분히 공급해주는 biofertilizers의 개발이 요구되는 상황이다 (Kang and Choi, 1999).

본 연구에서는 앞서 간략히 설명한 인산집적 문제, 인산가용화 미생물의 종류 및 특징 등의 내용을 중심으로 인산가용화 미생물에 의한 토양 내 인산이온의 가용화 기작을 검토하였다.

농업 토양의 인산과 염류집적 문제

농업 토양의 인산집적 문제 인 (phosphorus)은 비료의 성분 중 중요한 3대 원소에 속한다. 식물체에 충분한 양의 인을 공급하기 위해서 인산염 형태의 비료가 공급되고 있다. 그러나 토양에 처리된 인산비료 중 실제로 식물이 이용하는 인산의 양은 아주 적으며 대부분은 화학적, 생물학적 반응을 거쳐 유실현상이나 비료성분의 불용화가 일어나게 된다. 특히 비료로 공급된 인산의 70~75%는 산성토양에서 철 또는 알루미늄 이온과, 그리고 알칼리성 토양에서 칼슘 이온과 쉽게 결합하여 불용화되므로, 토양 중에 식물체가 이용할 수 있는 유리인산 (free phosphate)의 양이 거의 없어지게 되고 식물체가 이용할 수 없는 불용성 인산의 양만 증가된다 (Paul and Clark, 1989). 이렇게 토양에 염의 형태로 고정된 인산은 점점 누적되어 작물의 생육을 저해하는 원인이 된다. 보통 토양의 염류 농도는 0.16% (1,600ppm 또는 2.5dS·m-1) 정도가 표준농도이며, 0.4% (4,000ppm 또는 6.25dS·m-1) 이상이 되면 비료장애를 일으켜 양분의 흡수가 멈추게 된다고 알려져 있다 (Oh and Lee, 1997). 그러므로 인 자원의 재활용이라는 측면에서 불용성 인산을 가용화시킬 수 있는 인산가용화 미생물의 탐색과 실용화는 비료 성분의 이용효율성을 높일 수 있는 방법이다 (Kang and Choi, 1999).

또 다른 문제점으로는 염류집적을 들 수 있다. 토양에 염류가 축적되면 작물의 발아가 느려지고, 고사병, 미성숙, 성장 및 발육 저해, 황엽현상, 잎마름병, 뿌리 죽음, 뿌리발달 저해, 낙엽 등으로 인한 작물의 점진적 또는 급진적인 치사를 불러일으킨다. 고농도의 토양염류로 인해 뿌리가 직접 영향을 받지 않는다 해도 작물의 잎과 줄기에는 실질적인 염류장해가 온다.

시설재배에는 연중 다작에 따른 과다시비재배와 토양교란 등의 원인으로 물리성 악화, 미생물상의 이상, EC상승, 지하수의 오염 등의 역기능도 많이 나타나고 있으며, 대부분의 시설재배지에서 가축분뇨 및 화학비료의 과다시용과 시설에 의한 강우차단, 고온에 의한 표면증발, 작물의 증산작용으로 인해 토양용액 중 용해되어있는 염류들도 함께 이동하여 표층토의 염류 과다축적을 유발한다. 그리고 국내 시설재배지 토양의 물리화학성에 대한 조사에서 토양 중 염류농도가 적정함량 이상인 경작지의 분포 비율이 증가하며, 경작년수가 길수록 염류가 집적되어 있는 것으로 밝혀졌다 (Kim and Kim, 2006).

Table 1. Annual change of chemical properties in plastic film house soil.

Year	Number of Samples	pH	OM	Avail. P	Exchcation			Nitrate-N	EC
					K	Ca	Mg		
		(1:5)	%	$mg \cdot kg^{-1}$	----------	$cmol_c \cdot kg^{-1}$	---------	$mg \cdot kg^{-1}$	$dS \cdot m^{-1}$
1~5	32	5.5	3.0	1,087	1.35	7.3	2.5	136	3.4
4~6	119	5.8	3.3	1,504	1.43	8.0	2.8	220	4.3
7~9	117	5.8	3.3	1,599	1.58	8.0	2.8	208	4.3
10~12	126	5.8	3.5	1,712	1.58	8.2	3.1	234	4.3

(Kim and Kim, 2006)

인산가용화 미생물의 종류

밭 토양 및 시설재배지 토양의 인산가용화 미생물 난용성 인산염은 세균에 의해 유효인산으로 전환된다. 이러한 작용에 관련된 세균은 *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium* 등이 있다 (Asea et al., 1988; Salih et al., 1989; Rodriguez and Fraga, 1999). 그리고 Perez et al. (2007)이 갈철광 표면에서 *Burkholderia*, *Serratia*, *Ralstonia*, *Pantoea* 등의 인산가용화 세균을 분리했다고 한 바와 같이 배양이 가능한 여러 종류의 인산가용화 세균이 토양에 서식하고 있다.

Suh and Kwon (2008)은 밭과 시설재배지 토양에서 인산가용화균을 분리하였으며, 그 종류는 Table 2와 같다. 밭 토양에서는 *Bacillus pumilus*, *Cedecea davisae*, *Brevibacillus laterosporus*, *Paenibacillus peoriae*, *Pseudomonas chlororaphis* 및 *Serratia plymuthica*, 시설재배지 토양에서는 *Bacillus lentimorbus*, *Bacillus megaterium*, *Cellulomonas biazotea*, *Cellulomonas turbata*가 분리되었다. 인산가용화 세균의 수는 시설재배지 토양이 밭 토양보다 높았으나, 세균의 종류는 밭 토양이 더 많아 인위적인 작용이 더욱 가해지는 시설재배지 토양의 다양성이 상대적으로 낮음을 보여주는 결과라 생각된다.

Table 2. Phosphate-solubilizing bacteria isolated from upland and plastic film house soils.

Soil	Species
Upland	*Bacillus pumilus* 3-1
	Bacillus pumilus 5-1
	Bacillus pumilus 7-2, 3
	Bacillus pumilus 8-1, 2
	Cedecea davisae 7-1
	Brevibacillus laterosporus 6-1, 2
	Paenibacillus peoriae 5-3
	Pseudomonas chlororaphis 6-3
	Serratia plymuthica 2-2
Plastic film house	*Bacillus lentimorbus* 12-1
	Bacillus lentimorbus 15-1, 2
	Bacillus lentimorbus 16-2
	Bacillus megaterium 13-1
	Bacillus megaterium 16-1
	Cellulomonas biazotea 13-3
	Cellulomonas turbata 14-1

(Suh and Kwon, 2004)

논 토양의 인산가용화 미생물 토양내에는 유기태 인산가용화균 뿐만 아니라 무기태 인산가용화균이 있다. Suh and Kwon (2004)이 밭, 시설재배지, 그리고 논토양에서의 인산가용화균의 다양성에 대한 조사결과를 살펴보면 분리된 인산가용화균은 Table 3과 같이 *Bacillus, Pseudomonas, Micromonospora, Cellulomonas, Paenibacillus, Arthrobacter, Brevibacillus, Streptoverticillium, Aquasipirillum, Flavobacterium, Micrococcus, Rhodococcus, Spingobacterium, Staphylococcus, Xanthomonas* 속 등이 있으며 *Bacillus*와 *Pseudomonas*가 각각 33.5%, 21.9%로 가장 많았다. 한편 Tao et al. (2008)가 발표한 자료에 따르면 유기태 인산염가용화균으로 *Bacillus cereus*와 *B. megaterium*을, 무기태 인산염 가용화균으로 *B. megaterium*, *Burkholderia caryophylli*, *Pseudomonas cichorii*, *P. syringae*를 분리하였다. 이는 토양에 존재하는 유무기태 인산염에 다양한 미생물이 작용하되, 배지에서는 인산가용화능을 보이지 않지만 토양 환경에서는 인산을 가용화하는 여러 종류의 비배양성 미생물에 의해 영향을 받는 것으로 추정하였다 (Nautiyal, 1999).

인산의 가용화 기작

인산이온의 기본 흡착 기작 인산이온은 여러 가지 형태의 토양광물 표면에 흡착될 수 있다. 인산을 흡착하는 주요 광물로는 goethite나 ferrihydrite와 같은 철수산화물, 비정질의 aluminosilicate 광물, imogolite 및 allophane 등

Table 3. Distribution ratio of phosphobacterial genus in rice paddy soils. (Suh and Kwon, 2004)

Genus	Ratio	Genus	Ratio
	%		%
Bacillus	33.5	*Flavobacterium*	0.2
Pseudomonas	21.9	*Micrococcus*	0.2
Micromonospora	2.1	*Rhodococcus*	0.2
Cellulomonas	1.8	*Spingobacterium*	0.2
Paenibacillus	1.8	*Staphylococcus*	0.2
Arthrobacter	0.7	*Xanthomonas*	0.2
Brevibacillus	0.5	No match	11.5
Streptoverticillium	0.5	No growth on TSBA medium	14.5
Aquasipirillum	0.2	No growth on isolation medium	9.5

을 들 수 있다. 이들 광물은 Fe-OH와 Al-OH기를 표면에 가지며 토양의 pH에 따라 양전하나 음전하가 생성된다.

인산이온은 단순히 음이온 교환을 통하여 양전하 부위에 흡착될 수 있기도 하지만, 주로 특이적인 흡착기작에 의하여 흡착된다. 즉, $H_2PO_4^-$ 또는 HPO_4^{2-}와 광물표면의 Fe-OH·Al-OH·Fe-OH_2^+·Al-OH_2^+기들 사이에서 일어나는 배위자 교환에 의한 흡착이다.

수산화물에 비하여 그 정도는 매우 작지만 층상의 규산염광물 변두리나 표면에 노출되어있는 Al-OH기에도 인산이 흡착된다. 2:1형 광물보다는 kaolinite와 같은 1:1형 광물에서 많이 일어난다 (Kim et al., 2006).

인산 가용화 (Solubilization)의 메커니즘 일부 박테리아 종들은 각각 유기인과 무기인을 위해 무기화와 가용화될 가능성이 있다 (Rodriguez and Fraga, 1999). 인의 가용화 작용은 유기산과 같은 대사산물을 방출하는 미생물의 능력에 의해 결정되는데, 유기산은 hydroxyl group과 carboxyl group을 통해 양이온을 인산염으로 킬레이트화하고, 인산염은 가용화되는 형태로 전환된다 (Sagoe et al., 1998). 인산가용화는 유기산 생성 및 양성자 분출을 포함한 미생물의 다양한 프로세스나 메커니즘을 통해 일어난다 (Surange, 1995). 토양 내 인산 가용화의 기본적인 개요는 Figure 2와 같다. 넓은 범위의 미생물의 인산가용화 메커니즘이 자연에 존재하고, 불용성 유기 토양 인산염과 불용성 무기 토양 인산염의 순환은 박테리아와 균류에 의한 것이라 할 수 있다 (Banik and Dey, 1982). 인의 가용화는 수많은 양의 부패세균과 균류에 의해 이행되는데, 그것들은 주로 간접적 킬레이트화 기작에 의해 가용화 토양 인산에 간간히 영향을 준다 (Whitelaw, 2000). 불용성 인은 인산가용화 미생물에 의해 분비된 유기산과 무기산의 작용으로 인해 가용화되는데, 그 작용은 산의 hydroxyl group 및 carboxyl group이 Al, Fe, Ca와 같은 양이온을 킬레이트화하고 기본 토양의 pH를 낮추는 것을 말한다 (Kpomblekou and Tabatabai, 1994). 인산가용화 미생물은 저분자량 유기산 (주로 gluconic과 keto gluconic acids)의 생성을 통해 토양의 인을 용해시킨다 (Goldstein, 1995). 그뿐 아니라 근권 pH도 감소시키는데, 이 근권 pH는 양성자의 생물학적 생산, 중탄산염 배출, 또는 가스 교환을 통하여 감소된다. 인산가용화 미생물의 인 가용화 능력은 배지 pH에 직접적인 연관성이 있다.

유기 리간드와 같은 뿌리 삼출물의 배출은 또한, 토양 용액 내 인 농도를 변화시킬 수도 있다 (Hinsinger, 2001). 인산가용화 미생물에 의해 생산되는 유기산은 토양 내 흡착위치를 위하여 불용성 인산염을 가용화하는데, 그것은 pH의 감소, 양이온의 킬레이트화, 그리고 인산염과의 경쟁에 의해 이루어진다 (Nahas, 1996). 염산과 같은 무기산 또한 인산염을 가용화할 수 있으나, 같은 pH에서 유기산에 비해 덜 효과적이다 (Kim et al., 1997). 어떤 경우에는, 인산 가용화가 인산염 부족에 의해 유발되기도 한다 (Gyaneshwar al., 1999).

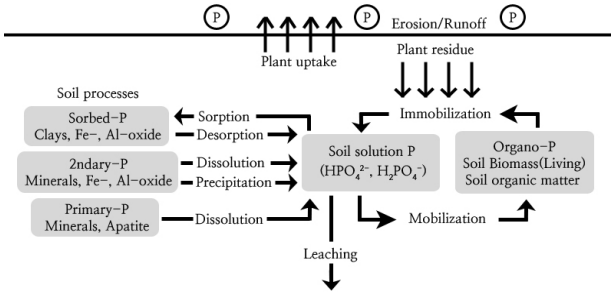

Fig. 1. Schematic overview of different phosphorus pools in soils.

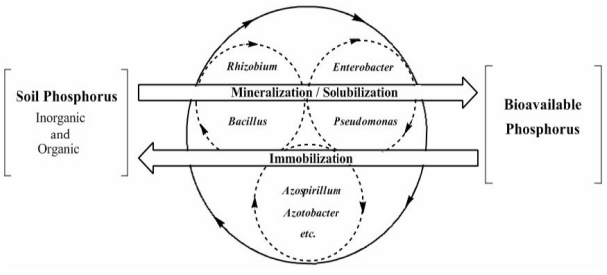

Fig. 2. Schematic diagram of soil phosphorus mineralization / solubilization and immobilization by bacteria. (Ahmad et al., 2009)

인의 무기화 (Mineralization) 토양 유기태인의 무기화는 인의 농업 시스템 내 순환에 있어서 아주 긴요한 역할을 한다. 유기태인은 토양 내 총 인 중 4-90%를 구성하고 있으며, 거의 반 정도의 토양 및 근권의 미생물은 phosphatase의 작용 하에 인 무기화의 가능성을 지니고 있다 (Cosgrove, 1967). 알칼리성과 산성 phosphatase는 인을 무기화형태로 전환시키기 위해, 유기인제를 기질로 사용한다 (Beech et al., 2001). 토양 유기태인 무기화의 중요 메커니즘은 산성 phosphatase의 생성이다 (Rodriguez와 Fraga, 1999). 식물뿌리나 미생물 (Yadaf and Tarafdar, 2001) 또는 알칼리성 phosphatase 효소 (Tarafdar and Claasen, 1988)에 의한 siderophore와 산성 phosphatase 생성 및 유기체 음이온의 방출 작용은 토양 유기태인이나 유기성 잔해물에서 나온 인을 가수분해한다. 세포 밖 토양 phosphatase의 가장 큰 부분은 미생물군으로부터 유도된다 (Donor and Tabatabai, 2003). *Enterobacter agglomerans*는 hydroxyapatite를 가용화하고, 유기태인을 가수분해한다 (Kim et al., 1988). 인산가용화균 (*Bacillus, Streptomyces, Pseudomonas* 등)의 혼합배양은 유기태인의 무기화에 가장 효과적이다 (Molla et al., 1984).

토양 미생물에 의한 인의 Mobilization 메커니즘 미생물은 토양으로부터 인을 얻기 위하여 식물의 능력을 향상시킬 수 있다. 그 과정은 다음과 같은 메커니즘들로 요약되어진다. (1) indole-3-acetic acid, GAs와 식물 에틸렌 전구물질에 변경을 가하는 호르몬에 의한 뿌리시스템의 확장과 가지와 뿌리털 발달의 증가를 통해 뿌리 성장이 일어난다 (Richardson et al., 2009; Hayat et al., 2010) (2) 흡수 평행의 변화는 orthophosphate ion의 토양용액으로의 이동을 증가시키거나 미생물 전환을 통해 유기태인의 이동을 직간접적으로 가능하게 한다 (Seeling and Zasoski, 1993). (3) 대사과정의 유도를 통하는 것은 인의 직접 가용화와 무기화에 매우 효과적인데, 이때 인은 토양의 무기태와 유기태인으로 미미하게 활용 가능한 형태이다 (Richardson et al., 2009). 이러한 과정은 양성자와 유기음이온의 유출, side-rophore의 생성, 그리고 phosphatase와 유기인에서의 가수분해 혹은 유기물들의 무기화에 쓰이는 cellulolytic 효소의 방출까지 포함한다. 유기음이온과 양성자는 특히 인 침전물의 형태와 일반적으로 토양입자표면에 흡착된 형태의 인집합체로 된 킬레이트 금속이온 (Fe를 가용하는 siderophores), 흡착상태인 orthophosphate의 방출, 또는 리간드 교환 반응에 의한 유기인 가용화에 효과적이다 (Ryan et al., 2001). 그러나 이런 메커니즘이 관리된 온실상태와 실험 하에 널리 논증될 수 있는 반면, 식물에 직접적으로 공급하는 인의 정량화된 양은 아직까지 수량화하기가 어려운 상태이다. 식물은 인의 결핍으로 나타나는 뿌리의 형태학적이고 물리학적인 변화를 스스로 드러낸다 (Vance et al., 2003). 그리고 인의 mobilization을 위한 미생물과 식물간 간접과정은 상대적 중요성을 평가하는데 어려움이 있다. 그럼에도 불구하고, 미생물은 토양 인 순환에 필수적이고 이런 미생물의 근권에서의 활동 증가는 식물의 인 영양에 매우 중요한 영향을 미친다 하였다 (Alan and Richard, 2011).

유리인산 생성기작 Kang et al. (2001)은 대구, 경북 지역의 황도를 채취하여 적절히 선별 가공한 뒤 인산가용화균 *Penicillium* sp. GL-101 균주의 액상배양에 첨가함으로써 황토 내에 존재하는 미지의 성분에 의한 이 균주의 유리인산 생성 촉진효과 및 기작을 명확히 규명하고자 하였으며, 이를 위해 균주를 14일간 배양하면서 관찰했다.

토양에서 분리된 인산가용화 사상균 *Penicillium* sp. GL-101 균주를 PDB-인광석 배지에서 액침배양했을 때 유리인산을 배양액 속에 다량으로 방출함으로써 높은 인산가용화능을 보였다. 일반적으로 미생물에 의한 인산가용화 기작은 산성화, 킬레이트 대사산물의 생성, 산화환원 활성이 알려져 있다. 이 균체의 액침배양 중 pH의 변화를 측정한 결과, pH의 급격한 감소를 확인하였는데 이는 배지의 산성화가 주된 인산가용화 기작임을 의미한다. 이 균주는 배양 4일이 경과하면 pH가 4.0 이하로 떨어지며, 특히 1.0% (w/v)의 황토를 첨가할 경우 pH가 3.2까지 떨어졌다. 이때 pH 감소에 영향을 준 원인물질을 HPLC 분석한 결과 citric acid 임을 확인하였다. 그리고 이 균주는 2-ketogluconic acid와 같은 킬레이트 물질을 거의 생성하지 않았기에 이와 같은 기작에 의한 유리인산 생성이 거의 없을 것으로 보여진다. *Penicillium* sp. GL-101 균주의 유리인산 생성기작은 citric acid 생성에 의한 산성화 및 phosphatase 활성의 두 가지 기작에 인한 것으로 결론 내렸다.

인산가용화 미생물의 특징

인산가용화 미생물간에도 가용화 능이 차이가 있는 것으로 보고되었다. Kang and Choi (1999)이 조사한 바에 따르면 *Penicillium* sp. PS-113은 고체배지에서 배양 20일경 가장 높은 포자생성능을 보였으며 *Pantoea agglomerans* R-38은 *Penicillium radicum*, *Rahnella aquatilis*보다 훨씬 우수한 불용성인산 가용화능을 지닌다 (Son et al., 2003). 일반 토양온도 조건에서 가용화능력이 높으며 크기가 0.4~0.5 × 1.7~2 ㎛ 정도인 *Klebsiella* sp. DA 71-1은 glucose 3%에서 인산가용화능이 가장 좋으며 tri-calcium phosphate를 가용화시킬 뿐 아니라, 타 균주에 비해 hydroxyapatite를 가장 잘 가용화시키는 가용화균으로 보고하였다 (Lee et al., 2004; Joa et al., 2007). 각 인산가용화 미생물의 최대 인산가용화능에서 pH와 배양온도와의 특성은 Table 4와 같다.

인산가용화 미생물의 유전적 특징

Goldstein and Liu (1987)는 무기인산염 가용화와 관련이 있는 *Erwinia herbicola*에서 유전자를 복제하여 분리한 유

Table 4. Characteristics of phosphate-solubilizing bacteria.

PSB	Capacity of P availability
Penicillium sp. PS-113	Initial pH 7.5, Temp 30℃ (Kang and Choi, 1999)
Pantoea agglomerans R-38	Initial pH 7.5, Temp 30℃ (Son et al., 2003)
Klebsiella sp. DA 71-1	Initial pH 6.0, Temp 30℃ (Lee et al., 2004)
Bacillus sphaericus PSB-13	Initial pH 7.5, Temp 30℃ (Joa et al., 2007)

전자인 *E. coli* HB101는 gluconic acid의 생성과 무기인산염 가용화 작용을 촉진시켰다. 또한 Liu et al. (1992)는 유전자는 holoenzyme glucose dehydrogenase (GDH)-PQQ의 형성에 필수적 co-factor인 PQQ 합성을 이끄는 pyroloquinoline quinone (PQQ) 효소 합성과정에 영향을 미치며 glucose로부터 gluconic을 형성할 때 산화작용을 촉진하는 촉매작용을 하는 것으로 보고하였다.

그리고 *Pseudomonas cepacia*으로부터 무기인산염 가용화 유전체가 분리된다 (Babu-Khan et al., 1995). 이 유전자의 발현은 *Esherichia coli* JM109에서 gluconic acid 생산을 통해 무기인산염 가용화의 표현형을 유도하기도 한다. 이 유전자 (*gabY*)는 이전에 복제된 PQQ합성 유전자 (Liu et al., 1992; Goosen et al., 1989)와는 상동성을 보이지 않지만 permease system membrane protein과는 상동성을 보인다. 이 유전자는 *Pseudomonas cepacia* 내에서 산화작용의 발현과 제한, 둘 중 선택적 역할을 하므로 생체 내에서 무기 인산염가용화를 위한 유전자로 작용한다.

무기 인산염 가용화의 특성을 조정하는 유전자의 제한에 관해서는 거의 알려진 것이 없으나 Glucose, gluconate, manitol, 그리고 glycerol은 완전효소활성의 유도물질일 수도 있다 (Goldstein, 1994; Schie et al., 1987).

Goldstein and Liu (1987)는 무기 인산염 가용화 현상이 발현되는데 용해 가능한 P가 영향을 미칠 가능성이 있다는 것을 고려해서 *E. herbicola* 내에서 P의 결핍은 무기인산염 가용화 현상을 유발시키고 외부에서 P의 수치가 증가하면 억제된다고 추정하였다. 그러나 Halder et al. (1990)은 *Rhizobium leguminosarum*을 배양할 때는 인광석 용해화에 있어서 가용성 P의 영향력이 없다는 것을 발견했다. Mikanova et al. (1997)은 많은 인산가용화 미생물들을 분리해냈는데, 그것들 중 일부는 가용성 P가 있는 환경 하에서 그들의 특성이 억제되는 현상을 보였고, 다른 것들은 50의 농도까지는 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 따라서 이 자료들에 따르면 인의 가용성은 무기 인산 가용화에 있어서 몇몇 종들에게는 영향을 끼치지만 또 다른 종들에게는 영향을 끼치지 않는다는 점을 알 수 있다.

결 론

인산가용화 미생물은 토양 내에 존재하는 불용성 인산을 가용화시켜 식물체가 영양을 흡수하도록 만들어주는 역할을 한다. 생물학적 비료로 쓰이는 인산가용화 미생물은 현재 우리나라가 직면한 인산집적문제에 대한 해결책을 제시해준다. 무작정 사용된 인산비료는 추후 작물의 생육저하와 토질의 향상을 위해 쓰이는 비용증가 문제를 야기한다. 이는 단순히 토양만의 문제가 아니라, 집적된 인산염들이 빗물에 흘러들어 강이나 호수의 부영양화 현상을 유발하는 수질의 문제가 될 수도 있다.

Biofertilizer의 특성상 미생물들의 각 토양에 대한 생육조건이 까다롭기 때문에 이들 미생물들의 환경적응력 향상에 대한 연구가 필요할 것이다. 만약 이 연구들이 충분히 성공적으로 진행된다면, 현재 우리나라 토양에 과다 집적되어 있는 질소와 인의 가용화를 증대시켜 과다 시비되는 비료감소와 생산성 향상이라는 두 가지 과제를 해결할 수 있을 것이다.

인 용 문 헌

Ahmad A.K., J. Ghulam, S.A. Mohammad, M.S.N. Syed, and R. Mohammad. 2009. Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and their Role in Crop Production. J. Agric. Biol. Sci. 1:48-58.

Alan, E.R. and J.S. Richard. 2011. Soil microorganisms mediating phosphorus availability. Plant Physiol. 156:989-996.

Asea, P.E.A., R.M.N. Kucey, and J.W.B. Stewart. 1988. Inorganic phosphate solubilization by two *Penicillium* species in solution culture. Soil Biol. Biochem. 20:459-464.

Babu-Khan, S., T.C. Yeo, W.L. Martin, M.R. Duron, R.D. Rogers, and A.H. Goldstein. 1995. Cloning of a mineral phosphate-solubilizing gene from *Pseudomonas cepacia*. Appl. Environ. Microbiol. 61:972-978.

Banik, S. and B.K. Dey. 1982. Available phosphate content of an alluvial soil as influenced by inoculation of some isolated phosphate solubilizing microorganisms. Plant Soil. 69:353-364.

Beech, I.B., M. Paiva., M. Caus., and C. Coutinho. 2001. Enzymatic activity and within biofilms of sulphate-reducing bacteria. In: P. G. Gilbert, D. Allison, M. Brading, J. Verran and J. Walker (eds.), Biofilm Community Interactions: chance or necessity? BioLine, Cardiff, UK. pp.231-239.

Cosgrove, D.J. 1967. Metabolism of organic phosphates in soil. In: A.D. Mclaren and G.H. Peterson (eds.), Soil Biochemistry, Vol. I. Marcel & Dekker, NY. p.216-228.

Dodor, D.E. and A.M. Tabatabai. 2003. Effect of cropping systems on phosphatases in soils. J. Plant Nutr. Soil Sci. 166:7-3.

Goldstein, A.H. and S.T. Liu. 1987. Molecular cloning and regulation of a mineral phosphate solubilizing gene from *Erwinia herbicola*. Bio/Technology. 5:72-74.

Goldstein, A.H. 1994. Involvement of the quinoprotein glucose dehydrogenase in the solubilization of exogenous phosphates by gram-negative bacteria. In: Torriani-Gorini, A., Yagil, E., and Silver, S. editors. Phosphate in Microorganisms: Cellular and Molecular Biology. Washington, DC: ASM Press. 197-203.

Goldstein, A.H. 1995. Recent progress in understanding the

molecular genetics and biochemistry of calcium phosphate solubilization by Gram-negative bacteria. Biol. Agri. Hort. 12:185-193.

Goosen, N., H.P. Horsman, R.G. Huinen, and P. van de Putte. 1989. *Acinetobacter calcoaceticus* genes involved in biosynthesis of the coenzyme pyrrolo-quinoline-quinone: nucleotide sequence and expression in *Escherichia oli* K-12. J. Bacteriol. 171:447-455.

Gyaneshwar, P., L.J. Parekh, G. Archana, P.S. Podle, M.D. Collins, R.A. Hutson, and K.G. Naresh. 1999. Involvement of a phosphate starvation inducible glucose dehydrogenase in soil phosphate solubilization by *Enterobacter asburiae*. FEMS Microbiol. Lett. 171:223-229.

Halder, A.K., A.K. Mishra, P. Bhattacharyya, P. and P.K. Chakrabartty. 1990. Solubilization of rock phosphate by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*. J Gen. Appl. Microbiol. 36:81-92.

Hayat, R., S. Ali, U. Amara, R. Khalid, and I. Ahmed. 2010. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. Ann Microbiol. 60:579-98.

Hinsinger, P. 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root induced chemical changes: a review. Plant Soil 237:173-195.

Illmer, P. and F. Schinner. 1992. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soil. Soil Biol. Biochem. 24:389-395.

Jansson, M. 1987. Anaerobic dissolution of iron-phosphorus complexes in sediment due to the activity of nitrate-reducing bacteria, Microb. Ecol. 14:81-89.

Joa, J.H., H.C. Lim, S.G. Han, S.J. Chun, and J.S. Suh. 2007. Characteristics of *Bacillus sphaericus* PSB-13 as phosphate solubilizing bacterium isolated from citrus orchard soil. Korean J. Soil Sci. Fert. 40:405-411.

Kang, S.C. and M.C. Choi. 1999. Solid culture of phosphate-solubilizing fungus, *Penicillium* sp. PS-113. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 27:1-7.

Kang, S.C., M.O. Kang, and U.H. Yang. 2001. Mechanism of free phosphate production by *penicillium* sp. GL-101, phosphate solubilizing fungus, in the submerged culture. Korean J. Environ. Agric. 20:1-7.

Kim, H.O., Z.K. Uo, S.C. Lee, and R.M.N. Kucey. 1984. Mycorrhizae distribution and rock phosphate dissolution by soil fungi in the citrus fields in Jeju-do. Cheju National University Journal. 17:45-50.

Kim, J.M. and K.H. Kim. 2006. Nutrient removal ability by phosphate solubilizing bacteria and effect on crop growth. Exhibition in National Science Fair. [in Korean]

Kim, K.H. 2006. Soil Science. Hyangmoonsa. p.313. [n Korean]

Kim, K.Y., D. Jordan D. and G.A. McDonald. 1997. Solubilization of hydroxyapatite by *Enterobacter agglomerans* and cloned *Escherichia coli* in culture medium, Biol. Fert. Soils 24:347-352.

Kim, K.Y., D. Jordan and G.A. McDonald. 1998. Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. Biol. Fert. Soils. 26:79-87.

Kpomblekou, K. and M.A. Tabatabai. 1994. Effect of organic acids on release of phosphorus from phosphate rocks. Soil Sci. 158:442-453.

Kucey, R.M.N. 1988. Effect of *penicillium bilaji* on the solubility and uptake of P and Micronutrients from soil by wheat. Can. J. Soil. Sci. 68:261-270.

Kuenen, J.G. and W.N. Konigns. 1987. Energy transduction by electron transfer via a pyrrolo-quinoline quinone-dependent glucose dehydrogenase in *Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, and *Acinetobacter calcoaceticus* (var. *lwoffii*). J Bacteriol. 163:493-499.

Lee, C.W., Y.J. Jung, K.A. Lee, S.L. Choi, Y.G. Kim, and Y.L. Choi. 2004. Isolation and characteristic of the phosphate solubilizing bacteria *Klebsiella* sp. DA 71-1. J. Life Sci. 14:174-179.

Liu, T.S., L.Y. Lee, C.Y. Tai, C.H. Hung, Y.S. Chang, J.H. Wolfram, R. Rogers, and A.H. Goldstein. 1992. Cloning of an *Erwinia herbicola* gene necessary for gluconic acid production and enhanced mineral phosphate solubilization in *Escherichia coli* HB101: Nucleotide sequence and probable involvement in biosynthesis of the coenzyme pyrroloquinoline quinone. J. Bacteriol. 174: 5814-5819.

Mikanova, O., J. Kubat, T. Simon, K. Vorisek, and D. Randova. 1997. Influence of soluble phosphate on P-solubilizing activity of bacteria. Rostlinna-Vyroba-UZPI. 43:421-424.

Molla, M.A.Z., A.A. Chowdhury, A. Islam, and S. Hoque. 1984. Microbial mineralization of organic phosphate in soil. Plant Soil. 78:393-399.

Nahas, E. 1996. Factors determining rock phosphate solubilization by microorganism isolated from soil. World J. Microb. Biotechnol. 12:18-23.

Nautiyal, C.S. 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. FEMS Microbiology Letters. 170:265-270.

Oh, S.H. and C.S. Lee. 1997. Saving soil and method of fertilization. National Agricultural Cooperative Federation. p.388. [in Korean]

Park, B.K., J.H. Na, B.H. Hwang, I.J. Lee, K.Y. Kim, and Y.W. Kim. 2005. Effect of phosphate bio fertilizer produced by *Enterobacter intermedium* on rhizosphere soil properties and lettuce growth. Korean J. Soil Sci. Fert. Vol. 38(1):15-24.

Park, J.S. 1992. Crop Physiology. Hyangmoonsa. p.437. [in Korean]

Paul, E.A. and Clark, F.E. 1989. Soil Microbiology and Biochemistry. Academic press, New York, USA.

Perez, E., M. Sulbaran, M.M. Ball, and L.A. Yarzabal. 2007. Isolation and characterization of mineral phosphate-solubilizing bacteria naturally colonizing a limonitic crust in the south-eastern Venezuelan region. Soil Biol. Biochem. 39: 2905-2914.

Richardson, A.E., J.M. Barea, A.M. McNeill, and C. Prigent-Combaret. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. Plant Soil. 321:305-39

Rodriguez, H. and R. Fraga. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Biotechnol. Adv. 17:319-339.

Rural Development Administration. 2000. Technical development and practical strategy of environmentally-friendly agriculture. p.368. [in Korean]

Ryan P.R., E. Delhaize, and D.L. Jones. 2001. Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 52:527-560.

Sagoe, C.I., T. Ando, K. Kouno and T. Nagaoka. 1998. Relative importance of protons and solution calcium concentration in phosphate rock dissolution by organic acids. Soil Sci. Plant Nutr. 44:617-625.

Salih, H.M., A.I. Yonka, A.M. Abdul-Rahem, and B.H. Munam. 1989. Availability of phosphorus in calcareous soil treated with rock phosphate or superphosphate as affected by phosphate dissolving fungi. Plant and Soil. 120:181-185.

Van Schie, B.J., K.J. Hellingwerf, J.P. van Dijken, M.G.L. Elferink, J.M. van Dijl, Z.K. Uo, H.O. Kim, and S.C. Lee. 1985. Improvement of rock phosphate utilization efficiency-Distribution of V. A. mycorrhizae on Cheju island, and isolation and cultivation of rock phosphate solubilizing fungi. Cheju National University Journal. 20:81-92.

Seeling, B. and R.J. Zasoski. 1993. Microbial effects in maintaining organic and inorganic solution phosphorus concentrations in a grassland topsoil. Plant Soil. 148:277-284.

Son, H.J., Y.G. Kim, and S.J. Lee. 2003. Isolation, identification and physiological characteristics of biofertilizer resources, insoluble phosphate-solubilizing bacteria. Korean J. Microbiol. 39(1):51-55.

Suh, J.S., S.K. Lee, K.S. Kim, and K.Y. Seong. 1995. Solubilization of insoluble phosphates by *Pseudomonas putida*, *Penicillium* sp. and *Aspergillus niger* isolated from Korean soils. J. Korean Soc. Soil Sci. Fert. 28:278-286.

Suh, J.S. 1994. Study of microbiological use of soil accumulated phosphorus by refractory phosphate solubilizing bacteria. Chonnam National University. [in Korean]

Suh, J.S. and J.S. Kwon. 2008. Characterization of phosphate-solubilizing microorganisms in upland and plastic film house soils. Korean J. Soil Sci. Fert. 41(5):348-353.

Suh, J.S. and J.S. Kwon. 2004. Evaluation of nutrient cycling function and application of the phosphate solubilizing microbes. Research of agricultural environment 2004. 911-937.

Surange, S., A.G. Wollum, N. Kumar and C.S. Nautiyal. 1995. Characterization of Rhizobium from root nodules of leguminous trees growing in alkaline soils. Can. J. Microbiol. 43:891-894.

Tao, G.C., S.J. Tian, M.Y. Cai, and G.H. Xie. 2008. Phosphate-solubilizing and mineralizing abilities of bacteria isolated from soils. Pedosphere. 18(4):515-523.

Tarafdar, J.C. and N. Claasen. 1988. Organic phosphorus compounds as a phosphorus source for higher plants through the activity of phosphatases produced by plant roots and microorganisms. Biol. Fert. Soils 5:308-312.

Ryan P.R., E. Delhaize, and D.L. Jones. 2001. Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 52:527-560.

Vance, C.P., C. Uhde-Stone, and D.L. Allan. 2003. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. New Phytol. 157:423-47.

Varsha, N. and H.H. Patel. 2000. *Aspergillus aculeatus* as a rock phosphate solubilizer, Soil Biol. Biochem. 32:559-565.

Vassilev, N., M. Toro, M. Vassileva, R. Azcon, and J.M. Barea. 1997. Rock phosphates solubilization by immobilized cells of *Enterobacter* sp. in fermentation and soil conditions. Bioresour. Technolo. 61:29-32.

Vassilev, N. and M. Vassilev. 2003. Biotechnological solubilization of rock phosphate on media containing agro-industrial wastes. Appl. Microbiol. Biotech. 61:435-440.

Whitelaw, M.A. 2000. Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. Adv. Agron. 69:99-151.

Wu, S.C., Z.H. Cao, Z.G. Li, K.C. Cheung, and M.H. Wong. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma. 125:155-166.

Yadaf, R.S. and J.C. Tarafdar. 2001. Influence of organic and inorganic phosphorus supply on the maximum secretion of acid phosphatase by plants. Biol. Fert. Soils. 34:140-143.