

양송이버섯으로부터 분리한 *Klebsiella michiganensis* Jopap-1의 식물성장촉진효과

김예슬 · 윤민호*

충남대학교 농업생명과학대학 생물환경화학과

Plant growth promotion effect of *Klebsiella michiganensis* Jopap-1 isolated from button mushroom bed

Ye-Seul Kim and Min-Ho Yoon*

Department of Bio-Environmental Chemistry, College of Agriculture and Lifesciences, Chungnam National University, Daejeon 305764, Korea.

ABSTRACT: An auxin-producing bacterium, *Klebsiella michiganensis* Jopap-1, was isolated from a button mushroom bed in Buyeo-Gun, Chungcheongnam-Do. The strain Jopap-1 was classified as a novel strain of *K. michiganensis* based on a chemotaxonomic and phylogenetic analysis. The isolated *K. michiganensis* Jopap-1 was confirmed to produce indole-3-acetic acid (IAA), which is one of auxin hormones by TLC and HPLC analyses. The maximum concentration of IAA (96.05 mg L⁻¹) was detected in the culture broth incubated in R2A medium containing 0.1% L-tryptophan for 48 h at 35°C by HPLC quantity analysis. A negative relationship between IAA production and pH variation was estimated to show that the increase of IAA caused acidic pH in the culture. The effect of the supplement on L-tryptophan (precursor of IAA) production was observed to be highest at 0.1% concentration, but was significantly lowered above a concentration of 0.2%. To investigate the growth-promoting effects on the crops, the culture broth of *E. michiganensis* Jopap-1 was infected to water cultures and seed pots of mung bean and lettuce. Consequently, the adventitious root induction and root growth of mung bean and lettuce were observed to be 2.1 and 1.8 times higher than those of the control.

KEYWORDS: Plant Growth Promoting Rhizobacteria, IAA, *Klebsiella michiganensis* Jopap-1, Button Mushroom Bed

서론

지속적인 화학 비료의 공급은 토양의 염류집적과 산성화 등을 초래하고 작물의 생산성과 품질을 저하시키며, 나아가 부영양화 등 환경오염 문제를 발생시킨다. 이러한

문제를 해결하기 위해 화학 비료의 사용을 줄이며 화학 비료를 대체할 생물학적 제제의 개발에 관한 연구들이 진행되고 있다(Emmert *et al.*, 1999; Park *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2013).

식물의 근권에는 다양한 토양미생물이 군집을 이루어 서식하고 있으며 이들 근권미생물 중 기능적으로 식물의 생육에 영향을 미치는 식물성장촉진세균(PGPR, Plant Growth-Promoting Rhizobacteria)은 식물의 성장, 영양분 흡수의 촉진, 면역성 증대 및 식물병원성 진균에 대한 길항작용으로 감염을 방지하는 역할을 한다(Glick *et al.*, 1999; Jung *et al.*, 2006; Loon *et al.*, 2007). 이와 같은 PGPR 세균은 식물생육 조절인자인 식물 호르몬(Phyto Hormone)을 생산함에 따라 나타나며, 식물 성장 관련 식물 호르몬들로는 auxin, gibberellin, cytokinin 등이 알려져 있다(Barea *et al.*, 1976; Glick, 1995). 그 중 auxin 호르몬은 대표적인 식물성장 호르몬으로서 세포의 성장과 분화, 결실 성장, 뿌리신장, 꽃과 열매의 발달 등의 기능을 수행하는데, 식물근권에서 일부 세균들이 auxin을 생

J. Mushrooms 2018 September, 16(3):218-224
<http://dx.doi.org/10.14480/JM.2018.16.3.218>
 Print ISSN 1738-0294, Online ISSN 2288-8853
 © The Korean Society of Mushroom Science

*Corresponding author

E-mail : mhyoon@cnu.ac.kr

Tel : +82-42-821-8890, Fax : +82-42-821-6733

Received September 3, 2018

Revised September 17, 2018

Accepted September 17, 2018

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.

성, 분비하고 이를 식물이 흡수하여 생장에 이용할 수 있다 (Spaepen and Vanderleyden, 2010).

여러 미생물 중 auxin을 생성하는 미생물로는 *Acinetobacter* 속, *Bacillus* 속, *Chryseo bacterium*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Hafnia* 속, *Jantnobacterium*, *Klebsiella* 속, *Lysinibacillus* 속, *Microbacterium* 속, *Pseudomonas* 속, *Rhizobium* 속, *Serratia* 속, *Streptomyces* 속 및 *Xanthomonas* 속 등이 알려져 있다 (Denvender and David, 1984; Glick *et al.*, 1999; Jung *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2011; Kwon and Song, 2014; Lee *et al.*, 2004; Leonid *et al.*, 2000; Mehdi pour *et al.*, 2012; Ravikumar *et al.*, 2004).

이러한 근근 미생물의 다기능을 이용해 작물 생육을 위한 생물학적 자원으로 적용할 수 있으며, 본 연구에서는 양송이 배지로부터 식물생장촉진물질인 auxin의 생성능력이 우수한 균주를 분리한 후 분리균의 배양 조건별 auxin 생산능을 조사하였다. 또한, Bio assay 실험법을 이용한 재배실험을 통해 작물의 생육효과를 검토함으로써 새로운 미생물 자원을 선별하기 위한 목적으로 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

균주의 분리

Auxin 생산균의 분리를 위하여 충청남도 부여군 석성면 양송이 재배농가의 양송이 배지 1 g을 채취하였다. 채취한 토양 1 g을 멸균된 생리식염수 (0.85% NaCl) 99 mL에 희석하여 진탕 배양기에서 170 rpm으로 30분간 진탕시킨 후 단계적 희석 평판법을 이용해 각 희석액을 auxin 생성균 분리용 배지인 0.1% L-tryptophan이 첨가된 R2A 고체 배지에 도말하여 35°C에서 배양하였다. 고체 배지에서 순수분리된 colony를 auxin 기본배지에 tooth-picking 한 후 Salkowski 시약(35% perchloric acid 50 mL, 0.5 M FeCl₃)을 분산시켜 외관상 colony 주변에 분홍색을 띠는 균주들을 auxin 생성 균주로 1차 선별하였다.

Auxin 생성균주의 선별

선별한 1차 균주의 auxin 생산성을 확인하기 위해 분리균의 배양액을 R2A broth 배지(pH 7.0)에 1% 되게 접종 후 35°C, 170 rpm에서 24시간 이상 전배양, 본배양으로 진탕 배양한 배양액을 4°C, 4000 rpm, 15분 간 원심분리하여 배양 상등액을 회수하였다. 배양 상등액과 Salkowski 시약을 1:3(v/v)의 비율로 섞은 후 암조건에 30분간 반응시킨 후 이 반응액을 분광 광도계를 이용하여 535 nm에서 흡광도를 측정하여 선별균들의 auxin 생성능을 확인하였다. 표준물질은 Sigma사의 IAA를 10, 30, 50, 70, 100 mgL⁻¹ 농도로 methanol에 첨가 후 535 nm에서 흡광도를 측정해 표준곡선을 작성하였다. 또한, 선별균의 배양조건

과 auxin 생산능을 비교하기 위하여 35°C에서 24시간 배양하면서 배양기간에 따른 균주의 생장, IAA의 전구체인 L-tryptophan의 최적 농도, IAA 생성 및 최종 pH를 측정하였다.

TLC에 의한 IAA의 확인

TLC를 이용하여 선별 균주들의 auxin 생성능을 정성 분석하기 위해 배양 상등액을 염산으로 pH 2.8까지 산성화시킨 후, 2배의 cold ethyl acetate로 분획 추출하였다. 수용액층은 버리고 회수한 ether 층을 Evaporator 장치로 감압증류하여 날린 후 얻어진 잔사를 methanol 2 mL에 녹여 TLC 분석을 위한 시료로 사용하였다. TLC 전개용매는 1-propanol : NH₄OH : H₂O (6 : 3 : 1) 혼합액을 사용하며, 발색시약은 증류수 100 mL, 농 염산 150 mL, p-dimethylamino benzaldehyde 0.7 g을 용해한 Ehrlich 시약을 사용하였다(Lim *et al.*, 1995).

HPLC에 의한 IAA의 정량분석

HPLC를 이용하여 추출한 ether층 methanol 수용액 내의 IAA 함량을 정량 분석하였다. 사용한 분석 기기는 Agilent(USA) 사의 1260 Infinity system의 UV detector를 이용하여 285 nm에서 측정하였고, Column은 Luna 5U C18 (250 × 4.60 mm), mobile Phase는 MeOH (HPLC grade)을 용매 A로, 그리고 0.6% acetic acid을 용매 B로 사용하였다. 이동상의 농도 구배는 용매 A를 5%로, 용매 B를 95%로 분석을 시작해서 13분 경과 후에는 용매 B가 25%가 되고, 15분 경과 까지 지속하며, 17분 경과 후에는 용매 B가 95%가 되고, 20분 경과까지 지속하도록 조절하였다. flow rate는 1 mL/min이었다.

Bio assay를 통한 식물생장실험

가. 녹두발근생검법(수경법)

선별균의 생장촉진능을 검증하기 위해 auxin 생산 검정 방법으로 많이 활용되고 있는 녹두발근검정법(mungbean adventitious root induction method)을 이용하여 auxin 호르몬의 주요 기능 중 하나인 뿌리 발근촉진효과를 조사하였다. 녹두종자를 0.3% sodium hypochloride 용액에 3분간 침지하여 소독한 후 흐르는 물에 24시간 침종하고, 무균 토양에 과중하여 28°C, 5000Lux 광원하의 배양실에서 7일간 배양한 후 제 1본엽이 전개되고 첫 3소엽의 엽아가 다소 부풀어 있는 상태에서 녹두묘를 캐냈다. 균일한 크기로 선별된 녹두묘로부터 자엽을 제거하고 자엽 밑으로 하배축을 4 cm 남기고 소독된 예리한 칼로 절단하였다. 그리고 Salkowski test에서 auxin 생산성이 높게 나타난 균주의 배양상등액 50 μL, 멸균증류수 5 mL(배양 상등액 : 멸균증류수 = 1 : 100) 그리고 NPK 양액이 첨가된 Vial에 절단한 유묘 3개씩 넣어 24시간 마다 멸균 증류수로 일정 수준까지 수분 보충하여 동일한 환경조건 하에서

연속 조명으로 10일간 발근시킨 후 1 mm 이상의 발근수를 계수하였고, 뿌리 길이를 측정하여 합산하였다.

나. 녹두발근생검법(Pot실험)

Auxin 생성능 확인 시험으로 pot 재배를 통한 녹두발근 검정법을 병행 수행하였다. 상기의 기술한 수경법에 따라 얻어진 녹두 자엽의 하배축을 멸균된 상토(발효 : 버미큘라이트 : 상토 = 2 : 1 : 1)에 선발균주의 배양상등액을 100 배 희석하여 3일에 한 번씩 20일 동안 관주한 후 형성된 발근수와 발근길이를 측정하여 뿌리발근효과를 조사하였다.

다. 상추발근생검법(Pot실험)

Auxin 생성능 확인 시험으로 pot 재배를 통한 상추발근 검정법을 병행 수행하였다. 자라고 있는 상추 묘목을 구입해 멸균된 상토(발효 : 버미큘라이트 : 상토 = 2 : 1 : 1)에 선발균주의 배양 상등액을 100배 희석하여 3일에 한 번씩 약 한 달 동안 관주한 후 형성된 발근길기와 뿌리의 무게를 측정하여 뿌리발근효과를 조사하였다.

분리 균주의 동정

본 균주의 생리학적 특성은 Gram 음성 세균의 동정에 사용되는 API 20NE kit(Bio Merieux)를 제조 회사의 시행방법에 따라 사용하였다. DNA-DNA Hybridization 실험은 photobiotin-labelled DNA probe와 micro-dilution wells을 이용하였다(Ezaki *et al.*, 1989). 또한 16S rRNA 염기서열 해석 및 계통수 작성을 위하여 16S rRNA의 부분서열의 상동성은 DDBJ/EMBL/GenBank database의 Blast program을 이용하여 분석하였으며, 각 염기서열의

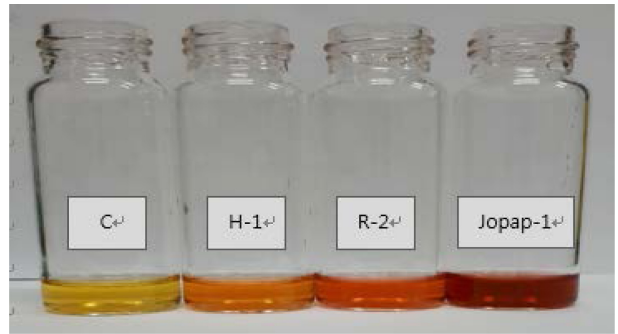


Fig. 1. Isolation of auxin-producing strains from button mushroom bed using Salkowski-R2A broth.

alignment는 Clu ster X program package(version 1.8)를 이용하여 정렬하였고, 계통도의 작성은 근린결합법에 의거하여 결정되었다.

결과 및 고찰

균주의 분리

충청남도 부여군 석성면 양송이 재배농가의 양송이 배지로부터 순수 분리된 균주들을 auxin 생성균 분리용 배지인 R2A agar 배지 상에서 colony를 형성시킨 후, Salkowski 시약과 반응시켜 colony 주변에 붉은색을 형성하는 3개의 균을 1차 선발하였다. 고체 배지 상에서 양성 반응을 보인 1차 선발균들을 0.1% L-tryptophan이 첨가된 R2A broth 배지(pH 7.0)에 접종하여 35°C, 24시간 진탕 배양한 배양액을 원심분리하여 상등액을 회수하였다. 배양 상등액과 Salkowski 시약을 1 : 3의 비율로 혼합하여 30분간 암반응시킨 후 형성된 붉은색의 강약을 분광광도

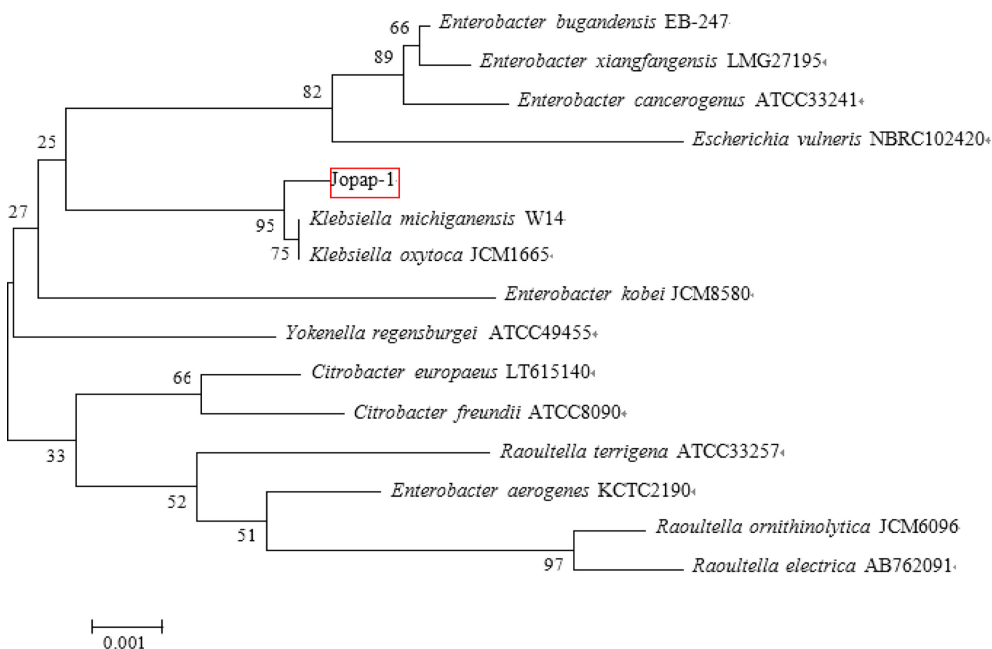


Fig. 2. Phylogenetic trees of the strain Jopap-1 estimated from 16S rRNA gene sequence.

계를 이용하여 확인한 결과, 선발균주 중 흡광도가 가장 높고 상대적으로 붉은색이 가장 짙게 형성하는 Jopap-1 균주를 IAA 생성능이 높은 균주로 선별하였다(Fig. 1).

분리균의 동정

Auxin 생성능이 가장 우수한 Jopap-1 균주의 16S rRNA

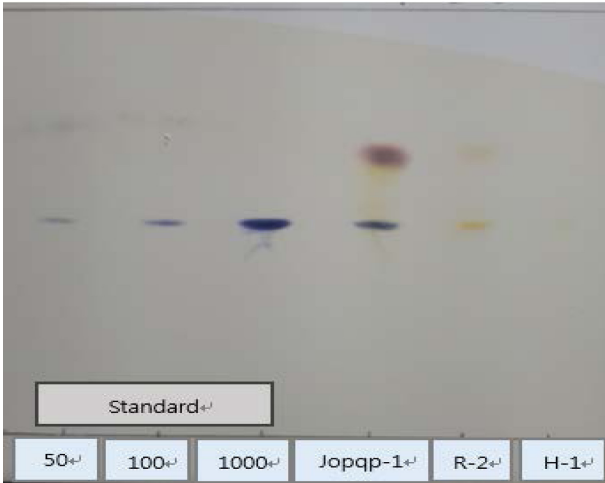


Fig. 3. TLC analysis of IAA produced from the selected strains. Concentration of IAA standard: 50, 100, 1000 mg L⁻¹

염기서열을 결정하여 BLAST 프로그램을 이용해 근린 결합법에 의거하여 계통학적 위치를 검토한 결과, Jopap-1은 *Klebsiella michiganensis*와 99.93%의 상동성을 나타냄으로서 *Klebsiella michiganensis*로 동정되었다(Fig. 2).

Auxin 물질의 확인 및 생산능 비교

분리된 *Klebsiella michiganensis* Jopap-1의 auxin 생성을 확인하기 위해 TLC와 HPLC를 실시하였다. 추출된 배양액의 TLC와 HPLC 결과는 IAA를 표준물질로 비교하였다. 그 결과 Jopap-1에서 추출된 물질은 TLC상에서 IAA와 동일한 RF치인 0.75와 일치함으로써 IAA계 auxin 물질임을 확인 할 수 있었다(Fig. 3). 또한, 배양액으로부터 추출한 ether 분획의 선발균주가 생성하는 IAA 함량을 정량적으로 확인한 실험 결과에서도 표준 시료와 배양 농축물의 IAA peak가 RT 14분 7.11초의 같은 retention time을 보여 동일한 물질로 확인되었다(Fig. 4), *Klebsiella michiganensis* Jopap-1 균주의 농도는 96.05 mg L⁻¹으로 표준시료보다 약간 낮은 농도로 검출되었다(Table 1).

Bio assay를 통한 식물생장 실험

분리한 Auxin 생성균 Jopap-1이 작물의 뿌리 생육에 미치는 효과를 검토하기 위하여 녹두묘와 상추묘를 공시작

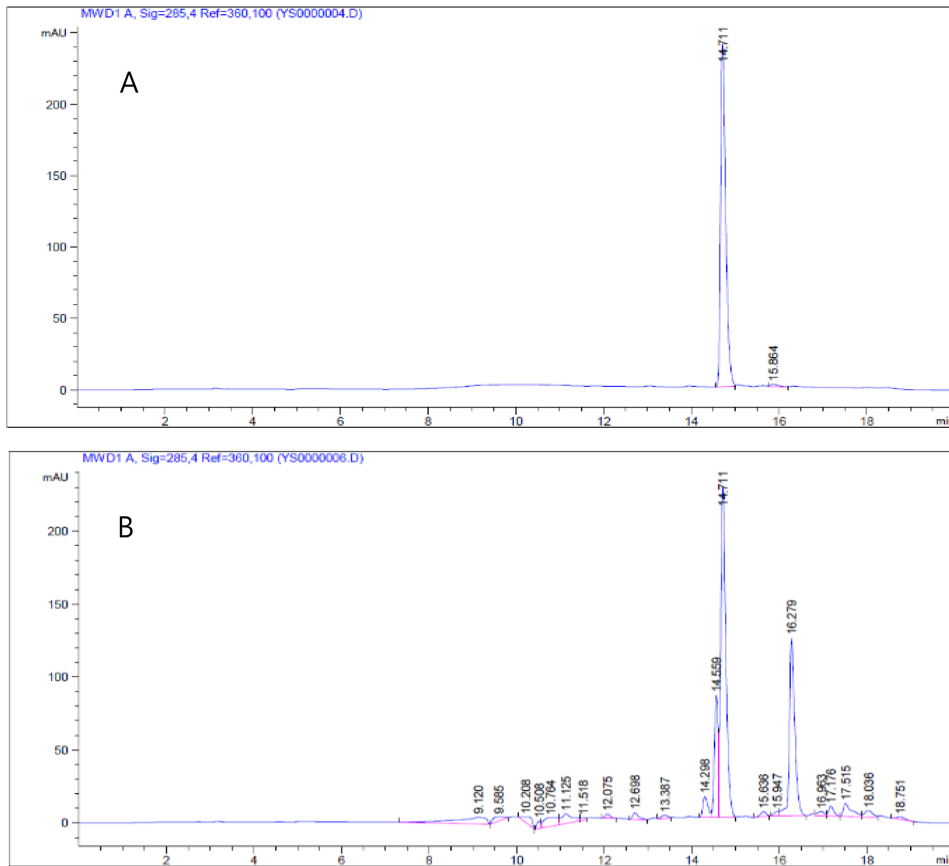


Fig. 4. HPLC chromatogram of IAA extracted from *Klebsiella michiganensis* Jopap-1. (A) IAA standard 100 mg L⁻¹, (B) Jopap-1

Table 1. Estimation of IAA produced from *Klebsiella michiganensis* Jopap-1 by HPLC analysis

Strain No.	RT	Area	Height	IAA
	min	mAU*s	mAU	mg mL ⁻¹
Control	-	-	-	-
100ppm	14.711	1904.170	239.975	100.0
Jopap-1	14.711	1844.399	226.225	96.05

물로 이용하여 수경법과 pot 재배실험을 통한 분리균 배양액의 접종효과를 실시하였다.

가. 수경법에 의한 녹두발근력 확인실험

Table 2에서 보는 바와 같이 무 접종구인 대조구의 발근수가 9개인 반면 100배 희석한 Jopap-1 균주의 배양상등액 첨가 시 발근수는 무려 25개이었으며, H-1 균주는 10개로 나타났다. Jopap-1의 발근길이는 228 mm로 대조구(110 mm)에 비해 약 2배의 신장효과를 나타냈으며, H-1 균주는 123 mm로 확인되었다. 또한, Jopap-1 균주의 총 발근수와 발근길이의 평균값을 백분율로 비교한 결과 대조구에 비해 Jopap-1은 212%로 나타나 2.1배까지 높게 나타났으며, H-1은 112%로 나타나 1.1배까지 나타나는 것으로 확인하였다.

나. Pot 실험에 의한 녹두발근생검법

Pot 실험을 통한 결과에서도 Jopap-1 균주의 발근효과가 높게 나타났으며 발근수는 34개, 발근길이는 244 mm 그리고 H-1 균주는 발근수 17개, 발근길이 175 mm로 확인되어 총 발근수와 발근길이의 평균값을 비교한 결과, 수경법의 결과와 차이가 있었으나 대조구에 비해 Jopap-1은 2.0배까지 높게 나타났으며, H-1은 1.35배까지 나타났다(Table 2). 이상의 수경법과 pot 실험의 결과를 통해 Jopap-1 균주는 높은 뿌리 생육촉진효과를 나타냄을 확인하였다.

다. Pot 실험에 의한 상추발근생검법

상추 Pot 실험을 통한 결과에서도 Jopap-1과 H-1 균주

Table 2. Growth effect of mung bean infected with auxin producing bacterium in water culture and seed pot culture

Strain No.	Uprooting No.		Uprooting length	
	Water culture	Pot culture	Water culture	Pot culture
	----- mm -----			
Control	9	14	110	128
100ppm	29	36	239	278
Jopap-1	25	34	228	244
H-1	10	17	123	175

Table 3. Growth effect of lettuce infected with auxin-producing bacterium in seed pot culture

Strain No.	Uprooting of lettuce	
	Length	weight
	----- mm -----	----- g -----
Control	139	1.36
100ppm	275	4.34
Jopap-1	256	3.50
H-1	142	1.65

의 발근길이는 각각 256 mm와 142 mm, 무게는 3.50 g과 1.65 g으로 확인되어 총 발근길이와 무게의 평균값을 비교한 결과, 대조구에 비해 Jopap-1은 1.8배까지 높게 나타났으며, H-1번은 1.1배로 나타났다(Table 3). 이상의 녹두발근 및 상추발근의 Pot 실험의 결과를 통해 Jopap-1 균주는 높은 뿌리생육촉진효과를 나타냈으며, 비색법 및 HPLC 분석을 통한 IAA 생성량 조사에서도 높은 IAA 생성능을 나타냄을 확인하였으므로 Jopap-1 균주를 auxin 생성 PGPR균으로 최종 선발하였다.

배양조건별 Auxin 생산능 비교

최종 선발균 Jopap-1을 0.1% L-tryptophan이 함유된 R2A broth(pH 7.0) 배지에 배양하면서 auxin 생성을 위한 최적 배양조건을 검토하였다. 분리균의 전 배양액 1%를 seed 접종 한 후 35°C에서 배양 시 균의 생육은 약 12시간에 대수기 후기에 도달하였다. 생육초기에는 IAA의 생성량이 5 mg L⁻¹ 이하의 낮은 수준을 유지하였으나, 생육이 최대인 배양 24시간에는 IAA가 60 mg L⁻¹ 이상으로 급격히 증가하였다. 또한, 배지 내 IAA의 농도와 pH 변화는 부의 상관성을 보였는데 이러한 결과는 IAA 농도 증가가 배지의 pH를 산성화시키는 원인인 것으로 확인되었다(Fig. 5).

또한, IAA 생성을 위한 전구물질로 알려진 L-tryptophan이 분리균의 IAA 생성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 R2A broth(pH 7.0) 배지에 L-tryptophan을 농도별(0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4%)로 첨가하여 IAA 생산능을 비교하였

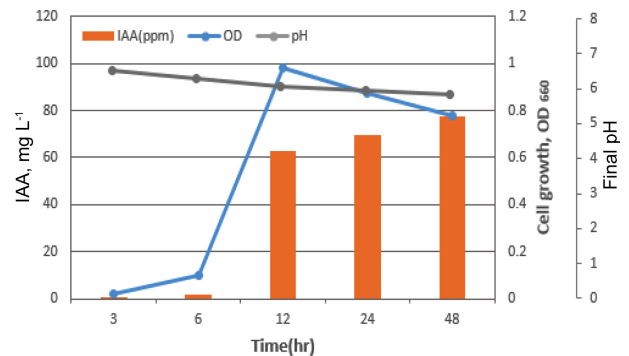


Fig. 5. The profile of IAA production and viable cells of *Klebsiella michiganensis* Jopap-1 based on incubation time.

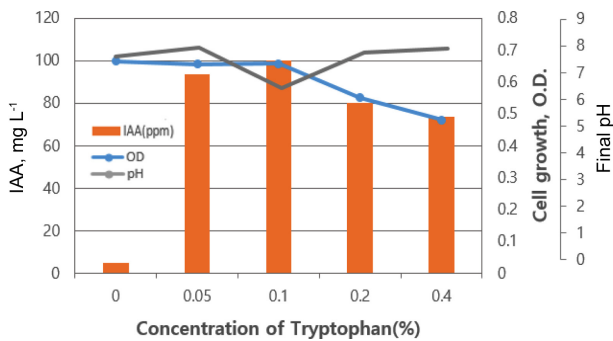


Fig. 6. The effect of concentration of L-tryptophan(%) on IAA production from *Klebsiella michiganensis* Jopap-1.

다. Fig. 6과 같이 분리균은 무 첨가 배지에서는 IAA 생성량이 낮으며, 0.1% 첨가 시 균의 생육과 IAA 함량이 증가하였고, pH의 경우도 초기 pH 7.59에서 6.5 수준으로 낮아지는 비슷한 경향을 보였다. 그러나 0.2% 이상 첨가 시에는 pH의 변화도 거의 없으며, 균의 생장이나 IAA 농도가 크게 감소하므로 고농도의 L-tryptophane 배지에서는 오히려 IAA의 생성에 저해됨을 확인 할 수 있었다.

이상의 결과를 통해 양송이 배지로부터 분리한 auxin 생성균 *Klebsiella michiganensis* Jopap-1은 IAA 생성능이 96.05 mg L⁻¹으로 대표적인 PGPR 균주들(Jung *et al.*, 2006; Ouzari *et al.*, 2008; Jung *et al.*, 2011)은 물론 느타리버섯재배 토양으로부터 분리한 다른 장내세균인 *Ochrobactrum anthropi* 속(Lee *et al.*, 2015)과도 비슷한 수준의 IAA 생성능을 보였다. 분리균주의 IAA생성을 위한 최적 배양조건은 0.1% L-tryptophan이 함유된 R2A broth 배지에서 pH 7.0, 배양온도 35°C에서 48시간 배양할 때 이며, 균의 생장뿐 아니라 IAA도 최대 생성되었다. 또한 수경법과 Pot 실험을 통해 녹두묘를 이용한 배양액의 식물생장효과를 확인한 실험에서도 선발균주 중 Jopap-1 균주는 높은 뿌리 생육촉진 효과를 나타내었으며, 실제로 auxin 식물호르몬이 작물에 직접 시비했을 때 발근효과를 나타내는 농도는 5~10 mg L⁻¹ 수준이면 충분하기 때문에 Jopap-1이 생성하는 IAA 농도는 작물 적용 시 뿌리 및 생장촉진을 유도할 수 있는 PGPR 미생물제로서 사용이 가능하다고 판단되었다.

결론

충청남도 부여군 석성면 양송이 재배 농가에서 양송이 수확 후 배지로부터 토양을 채취하여 auxin(IAA) 생성능이 뛰어난 세균 Jopap-1 균주를 분리하였다. TLC 및 HPLC 분석을 통해 분리균이 생성한 IAA 농도를 확인한 결과, 0.1% L-tryptophan를 함유한 pH 7.0의 R2A broth 배지에 35°C, 48시간 배양 시 최대 생성농도는 96.05 mg L⁻¹이었다. 생리적 특성 및 계통학적특성 분석을 통해 분리균은 Gram 음성 간균인 *Klebsiella michiganensis*

Jopap-1로 동정되었다. 배양조건별 IAA의 생산능 비교 시, IAA 농도의 증가가 배양액의 pH 산성화에 기인함으로써 IAA 생성량과 pH 변화에는 부의 상관성이 있는 것으로 관측되었다. IAA 생성을 위한 전구물질로 알려진 L-tryptophan의 첨가효과는 0.1% 첨가 시 균의 생육 및 IAA 생성량이 최대이었으며, 0.2% 이상 고농도 첨가 배지에서는 오히려 IAA의 생성이 저해되었다. 또한 분리균에 의한 식물 생육 촉진 효과를 조사하기 위하여 수경재배 및 pot 재배를 통한 녹두발근 생검법과 상추발근 생검법을 수행한 결과, *K. michiganensis* Jopap-1의 배양액 접종 시 녹두발근 생검법에서는 대조구에 비해 발근수와 뿌리길이에서 약 2.1배의 뿌리 신장 효과를 보였고, 상추발근 생검법에서는 대조구에 비해 뿌리길이와 무게에서 약 1.8배의 뿌리신장효과를 보였다.

REFERENCES

- Barea JM, Navarro E, Montoya E. 1976. Production of plant growth regulators by rhizosphere phosphate solubilizing bacteria. *J Appl Bacteriol.* 40:129-134.
- Denverder KJ and David G. 1984. Characterization of a substance produced by *Azospirillum* which causes branching of wheat root hairs. *Can J Microbiol.* 31:206-210.
- Ezaki T, Hashimoto Y, Yabuuchi E. 1989. Fluorometric deoxyribonucleic acid-deoxyribonucleic acid hybridization in microdilution wells as an alternative to membrane filter hybridization in which radioisotopes are used to determine genetic relatedness among bacterial strains. *Int J System Bacteriol.* 39:224-229.
- Emmert EAB and Handelsman J. 1999. Biocontrol of plant disease: A gram-positive perspective. *FEMS Microbiol Lett.* 171:1-9.
- Glick BR, Patten CC, Holguin G, Penrose DM. 1999. Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria, Imperial College Press, London. p1-3.
- Glick BR. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can J Microbiol.* 41:680-685.
- Jung YP, Kyung KC, Jang KY, Yoon MH. 2011. Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria from waste mushroom bed from *Agaricus bisporus*. *Kor J Soil Sci Fert.* 44:866-871.
- Jung HK, Kim JR, Woo SM, Kim SD. 2006. An auxin producing plant growth promoting rhizobacterium *Bacillus subtilis* AH18 which has siderophore-producing biocontrol activity. *Kor J Microbiol Biotechnol.* 34:94-100.
- Kim TS, Ko MJ, Lee SW, Han JH, Park K, Park JW. 2011. Antifungal and proteolytic activity and auxin formation of bacterial strains isolated from highland forest soils of halla mountain. *Kor J Pesti Sci.* 15:495-501.
- Kwon HD, Song HG. 2014. Interactions between Indole-3-acetic acid and producing *Acinetobacter* sp. SW5 and Growth of Tomato Plant. *Kor J Microbiol.* 50:302-307.
- Lee EY, Hong SH. 2013. Assessment of the changes in the microbial community in alkaline soils using biolog ecoplate and DGGE. *Kor Soc Biotechnol Bioeng J.* 28: 275-281.

- Loon LC van. 2007. Plant responses to plant growth promoting rhizobacteria. *Eur J Plant Pathol.* 119:243-254.
- Lee KH, Madhaiyan M, Kim CW, Lee HS, Poonguzhali S, Sa TM. 2004. Isolation and characterization of IAA producing methylotrophic bacteria from phyllosphere of rice cultivars. *Korean J Soil Sci Fert.* 37:235-244.
- Leonid NT, Lee MJ, Lee MK, Park H, Yoon JH. 2000. Production of auxins and auxin-like compounds by ginseng growth-promoting bacterium *Pseudomonas fluorescens* KGPP 207. *Agric Chem Biotechnol.* 43:264-268.
- Lee CJ, Lee HH, Yoon MH. 2015. Plant growth promotion effect of auxin producing bacteria isolated from soil of Oyster mushroom farmhouse. *J Mush Rooms.* 13:1-7.
- Mehdipour Moghaddam MJ, Emtiazi G, Salehi Z. 2012. Enhanced auxin production by *Azospirillum* pure cultures from plant root exudates. *J Agr Sci Tech.* 14:985-994.
- Ouzari H, Khsairi A, Raddadi N, Hassen A, Zarrouk M, Daffonchio D, Boudabous A. 2008. Diversity of auxin-producing bacteria associated to *Pseudomonas savastanoi* - induced olive knots. *J Basic Microbiol.* 48:370-377.
- Park KS, Kim KJ, Shin YJ, Kim S, Cha JS. 2008. High concentration of sodium chloride increases on survival of non-pathogenic *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* 9-3 during drying and storage. *Kor J Pesticide Sci.* 12:368-374.
- Ravikumar S, Kathiresan K, Selvam MB, Shanthy S. 2004. Nitrogen-fixing *azoto* *bacters* from mangrove habitat and their utility as marine biofertilizers. *J Exp Mar Biol Ecol.* 312:5-17.
- Spaepen S and Vanderleyden J. 2010. Auxin and plant-microbe interactioncs. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* doi: 10.1101/cshperspect.a001438.
- So JH, Kim DJ, Shin JH, Yu CB, Rhee IK. 2009. Isolation and characterization of *Bacillus cereus* A-139 producing auxin from ease coast sand dunes. *Korean J Environ Agri.* 28:447-452.