

◀ 주제 5 ▶

근권미생물을 이용한 채소병의 생물학적 방제

박 경 석

(농촌진흥청 농업과학기술원 식물병리과)

1. 서 언

최근 유기 농약의 다량사용에 의한 농업환경악화와 저공해 안전농산물에 대한 국민적 욕구가 점차 증진됨에 따라 실제 농업생산에서도 이를 적용하고자하는 많은 노력들이 시도되고 있다. 이러한 노력에 부응하여 생물학적방제는 기존의 유기농약을 사용하지 않는다는 면에서 친환경적이라 할 수 있겠다. 그러나 생물학적 방제는 유기농약의 사용에 비하여 충분한 방제효과를 볼 수 없으며 사용에 번거로움이 따른다. 그러나 이러한 단점에도 불구하고 적지않은 생물학적 방제 제품들이 상업적으로 생산되고 있으며 최근 우리나라에서도 생물학적 방제제에 대한 가이드라인이 제정된 바 있어 앞으로 이 분야의 제품이 많이 생산 될 것으로 생각된다.

농업생산에서 근권 유용미생물의 유익한 기능을 활용하기위한 연구와 노력은 수세기 전부터 시작되었다해도 과언이 아니다. 이중에서 근권미생물에 의한 식물병의 억제는 기주식물, 병원균, 적용미생물, 식물근권미생물집단 및 물리화환경요인에 지배된다. 그러나 보통 생물학적 방제연구는 그 연구 여건상 기주, 병원균 및 적용미생물 3자간의 실험실적연구에만 국한되게 된다. 따라서 생물학적 방제의 농업적

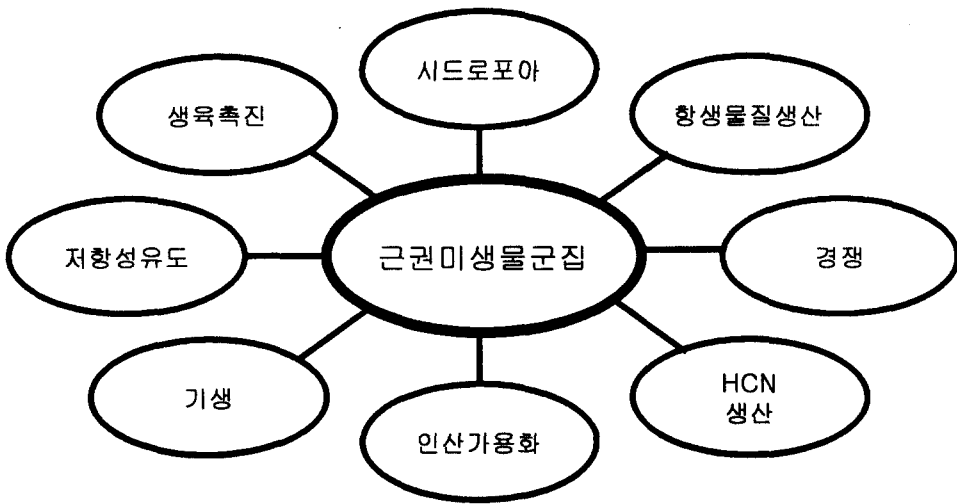
활용 가능성에도 불구하고 아직 충분히 실용화되지 못하는 이유는 기주 기생체간의 상호작용에 대한 불충분한 이해에 있다고 할 수 있다. 특히 토양병해를 대상으로 한, 근권미생물을 이용한 생물적 방제는 근권(뿌리를 싸고 있는 주변영역)의 뿌리와 토양사이에서 벌어지는 복잡 미묘한 동적환경에 좌우되는데 근권에서는 근권의 토양보다 높은 세균밀도를 가지며 미생물상의 빠른 변화를 보인다. 식물은 자라면서 뿌리생장을 통하여 근권내로 탄소원을 분비하게되는데 이러한 물질들은 기주 기생체간의 상호작용에 중요한 원동력이 된다. 근권은 시시각각으로 수많은 변화에 노출되는데 강우와 낮시간의 가뭄은 염류변화, pH, 삼투압, water potential, 토양 입상등에 변화를 초래하며, 이러한 빈번한 근권에서의 변화는 식물생장과 근권미생물상의 변화에 심각한 영향을 준다. 이와같은 생물학적 방제에서의 뿌리와 토양사이의 복잡성은 생물적방제의 실용화에 가장 큰 걸림돌이라 할 수 있으며 성공적인 방제를 위하여는 기주-기생체 및 근권에서 일어나는 많은 과학적 의문을 풀어 가는 것이라 하겠다.

본 문에서는 생물학적 방제에서 근권 미생물이 갖는 유익한 기능과 생물적방제의 주요 작용기작, 및 최근의 생물학적방제 연구동향에 대하여 소개하고 국내에서의 몇가지 실용적인 생물학적 방제 사례에 대하여 소개하고자 한다.

2. 근권 미생물에 의한 생물학적 방제 기작

<그림 1>에서와 같이 근권미생물이 갖는 유익한 기능은 대단히 많으며 근권 유용 미생물을 이용한 생물학적방제의 근권을 이루는 것은 항생기작이며, 시도로포아형성, 기생, HCN형성 등은 식물병원균에 직접작용하는 현상이며 생육촉진, 인산가용화, 질소고정등의 기능은 식물병의 생물적 방제와 직접관련이 없는 유익한 기능

이다. 또한 최근 알려지기 시작한 식물에 저항성을 유도하는 근권미생물의 이용은 한가지 병해를 대상으로 하는 것이 아니라 다양한 식물병원균에 저항력을 갖게 한다는 점에서 그 활용이 기대된다.



〈그림 1〉 식물병 억제 및 식물생육에 유익한 근권 미생물의 기능

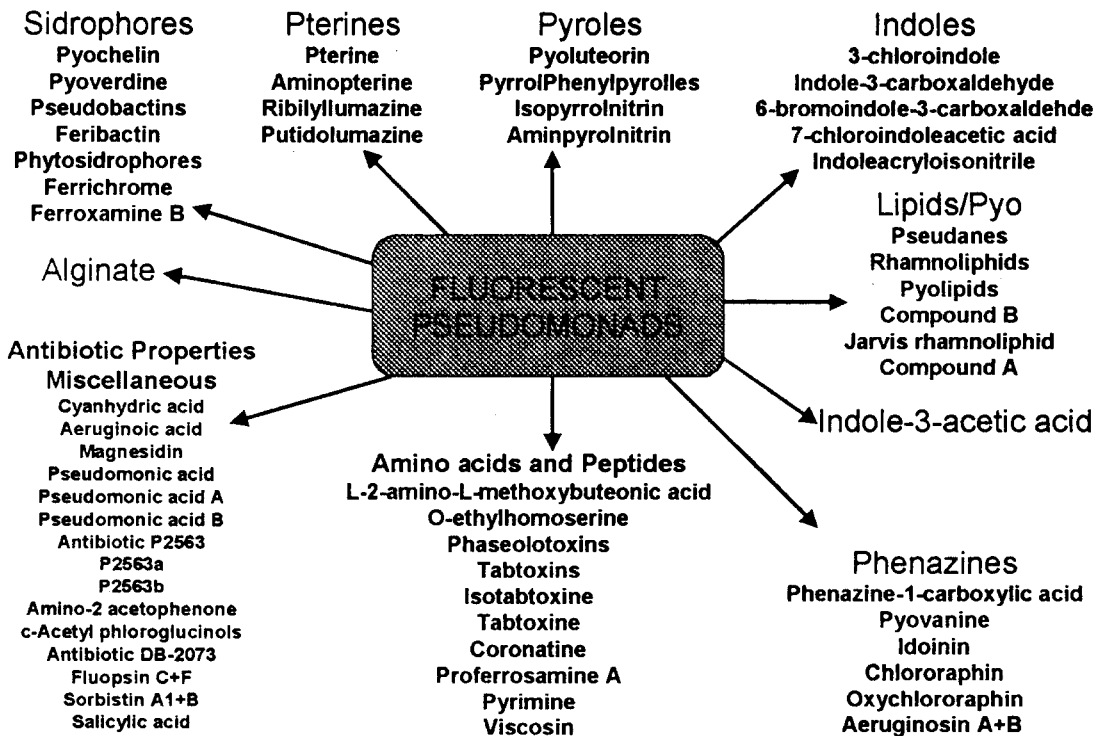
1) 항생기작

근권미생물에 의한 생물학적방제 효과는 항생기작에 의한 것으로 생각할 만큼 생물학적 방제 연구에서 많이 연구되어져 왔으며 보통 1-2종의 항생물질을 생산하여 병원균의 생육억제에 관여한다. 실제로 생물학적 방제효율은 근권미생물의 경우 어떤 종류의 항생물질을 얼마만큼 생산하는가가 좋은 척도가 된다.

근권미생물중에서 가장 효율적이면서 많이 사용되는 세균중에서 형광Pseudomonas 속의 경우 Phenazine 유도체의 생산이 대표적이다(그림 2).

토양에서의 항생기작을 증명하기 위하여 Phenazine 생산 형광 Pseudomonas 균주의 Phenazine 생산능력을 결여시킨 돌연변이 균주는 식물병의 억제능력이 크게 저하됨을 증명하였다(1988. Thomashow 등). 또한 Mazzola(1992)는 토양에서 자란

뿌리표면에서 형광슈도모나스세균이 항생물질을 생산함을 실험적으로 증명하였다. 이와 같은 결과를 고려해 볼 때 생물학적 방제에서의 항생물질의 역할은 매우 중요함을 알 수 있다. Phenazine계 뿐아니라 Pyrol, Indole, Lipid, Pyo compound 등 수십여종의 항균활성물질들이 알려져 있으며 그중 생물학적 방제에서 잘 알려진 물질로는 Phenazine, Pyoluteorin, Pyrrolnitrin, 및 2, 4 diphloroglucinol 등의 항생물질들이 형광성 슈도모나스균에서 생산된다(그림 3). 이 균주 중에서 항균활성이 조균류에 잘 나타나는 경우와 불완전 균류인 Phizoctonia, Fusarium 등에 더 좋은 효과를 나타내는 경우가 있는데 이것은 철저하게 형광성 슈도모나스가 어떤 종류의 항생물질을 생산하는지에 달려있다(그림 2).



〈그림 2〉 형광슈도모나스가 생산하는 항생물질

근권에서 형광 슈도모나스균의 항생물질 생산능력을 증진시키기 위한 노력으로 유전자 연구를 통하여 선발된 특정 항균물질 생산관련 DNA(22kb)의 삽입으로 2, 4-diphloroglucinol 및 pyoluteorin의 생산이 증가함을 증명하였다(Mauhofer 1992). 또 다른 연구로서 형광 슈도모나스의 2차대사산물을 조절하는 유전자 PhzR(Quorum sensor)로 *P. aureofaciens*의 경우 근권에서의 밀도(cell population density) 증가에 따른 2차대사 산물의 생산을 조절하는 호모세린 락톤이 발견되어 근권에서의 생물방제 효과의 증진에 기여할 것으로 생각된다(Pierson 1994).

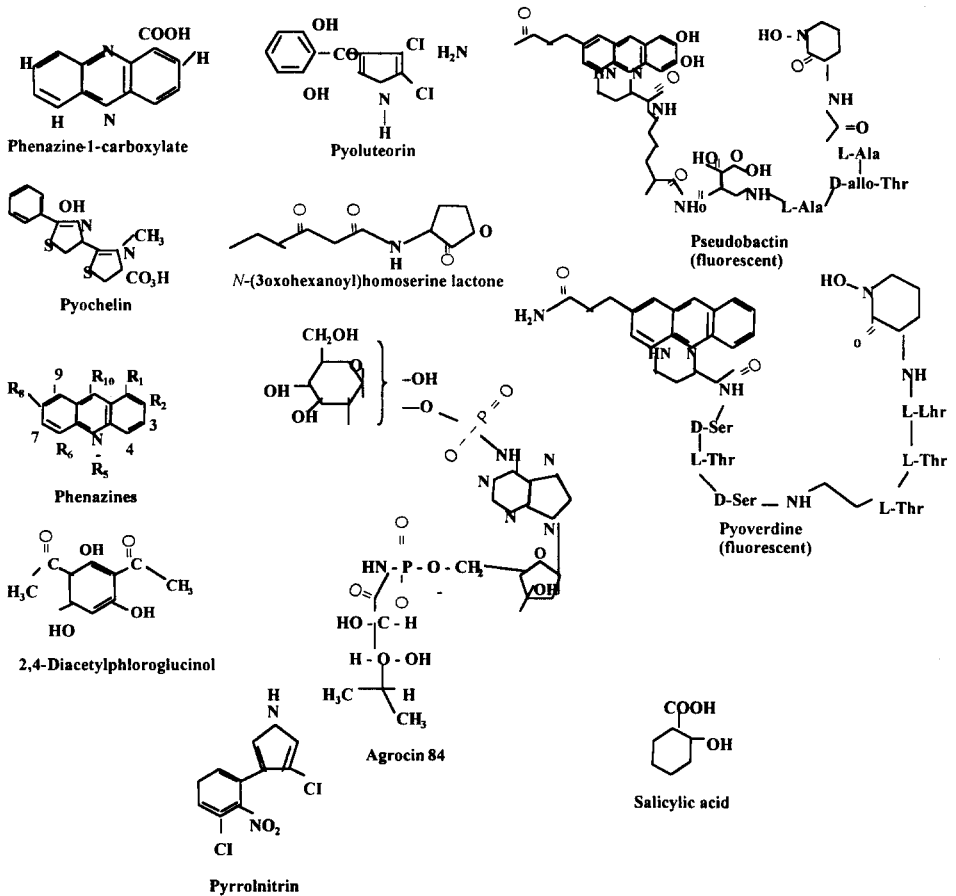
Bacillus속 균주를 이용한 생물학적방제도 방제기작으로 항생물질의 생산으로 증명되고 있는데, Bacillus 속에서 가장 빈번하게 분리되는 항균물질로는 Pimaricin과 Iturine 유도체 등이 있다(그림 2). 이들 물질들은 조균류 혹은 불완전균류 등의 광범위한 식물병원균에 억제효과를 갖는다.

생물학적 방제용으로 쓰이는 대표적인 진균 미생물로서 Gliocladium과 Trichoderma 등에 의한 항생기작을 들 수 있는데 글리오비린 또는 글리오톡신 등의 항균성 물질을 생산하여 식물병원균에 대한 항균활성을 나타낸다.

근권세균은 식물의 뿌리에서 생산되는 분비물과 분해산물을 영양원으로 살아가는데 뿌리의 표면에는 많은 수의 근권세균들이 존재한다. 이들 균주중 식물 생육촉진근권세균으로 언급되는 PGPR은 뿌리의 표면이나 내부에 기생하면서 근권내에서 식하는 식물 생육저해균(deleterious microorganism)의 생육을 억제할 뿐 아니라 토양전염성 병해의 침입으로부터 식물을 보호한다.

이와같은 PGPR균의 유익한 기능으로 식물의 생육촉진현상이 일어나는데 전전한 토양조건보다는 식물 생육조건이 불충분한 조건에서의 식물생육촉진이 두드러지게 나타난다. 이러한 원인중의 하나를 보면 이들 균주가 생산하는 Sidrophore에 의한 기능이 잘 알려져 있는데 Sidrophore는 토양내에서의 ion 경쟁, chitinase, glucanase 등 병원균의 군사체를 용해할 수 있는 효소와 항생기능을 가져 식물병원

균을 억제한다. 또한 병원균의 생육을 억제할 수 있는 항생물질 분비에 의한 식물 병의 방제효과는 많은 작물과 다양한 병원균을 대상으로 시험되어져 왔다.



〈그림 3〉 근권미생물이 생산하는 항균물질의 구조

2) 시드로포아

생물학적방제에서 생육에 꼭 필요하면서 미량으로 존재하는 어느 특정 영양성분을 선취함으로써 해서 식물병원균을 억제 할 수 있는 기작이 있는데, 잘 알려진 모델로서 형광성 슈도모나스가 갖는 토양중의 iron 경쟁을 들 수 있다. 지구상에는 풍

부한 량의 iron이 존재하는데 대부분 불용성의 ferric hydroxide 형태로 존재한다. 형광 슈도모나스의 경우 아주 낮은 농도에서 iron을 흡수하여 체내로 흡수할 수 있는 시스템을 가지고 있는데 시드로포아로 잘 알려진 슈도바틴이라는 이온 킬레이터를 말한다. 이 물질은 분자량이 비교적 큰 물질로 hydroxamate 그룹과 quinoline 그룹을 가진 구조로서 강력한 iron 킬레이터 역할을 한다(그림 4). 철분 경쟁에 의한 생물적 방제는 iron 부족 조건에서 식물병원균과 형광성 슈도모나스의 영양경쟁 관계에서 식물병원균보다 먼저 철이온을 선취하여 병원균이 이용할 수 없게 하여 생물학적 방제 활성을 나타낸다. *P. putida*의 경우 시드로포아에 의한 기작이 잘 알려졌는데 발병억제효과는 뿌리표면의 시드로포아가 Fe^{+++} 이온과 결합하여 병원균의 철 이용을 저해하기 때문인 것으로 생각된다. 그러나 최근의 연구를 보면 iron 스트레스에 의한 유도저항성이 보고되고있어 시드로포아의 작용기작은 더 규명되어야할 것으로 생각된다.

3) 기 생

항생기작이나 철분의 선취 등에 의한 생물학적 방제 방법 외에 식물병원균의 균사체에 직접 기생 함으로서 생물학적 방제 효율을 높일 수 있는 방법으로 *Trichoderma* 혹은 *Gliocladium*속에 의한 생물학적 방제방법이 있다. 이들 곰팡이 균주는 병원균의 표피조직을 감아 부착기와 유사한 기관으로 병원균의 표피조직을 뚫고 병원균의 체내로 들어간다. 이러한 기작에는 기주기생체간의 특이성이 있어야한다. 즉 트라이코데르마의 균사는 피숙균사의 둘레를 감아 침입하는데 반하여 비슷한 두께의 프라스틱 섬유는 감지 않았다. 기주세포를 침입하기 위하여는 많은 분해효소들을 생산하는데 프로티아제, 키치나아제, 글루카나제 등의 효소활성을 보인다. 분자생물학적 연구로서 세포벽 분해효소인 카이티나제뿐만아니라 글루카나제 등의 병원균균사의 침입에관련된 효소유전자를 *Trichoderma* 균주에 넣어 생물학적 방제활성을 높이는

방안이 연구 중이며, 이러한 연구 결과를 토대로 보다 명료한 방제기작과 방제효율을 배가시킬 수 있을 것으로 생각된다.

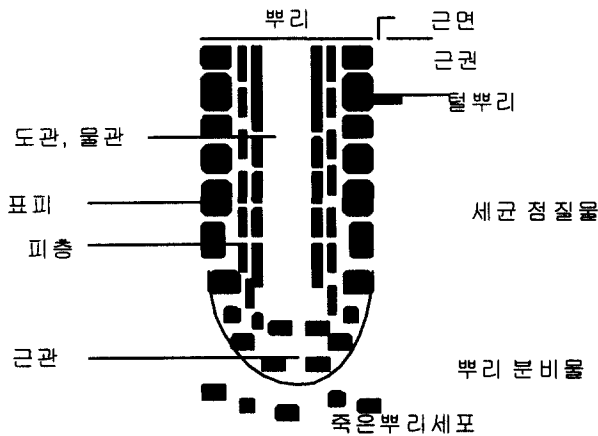
4) 근권정착(Rhizosphere Colonization)

근권미생물을 이용한 생물학적 방제에서 생물학적 방제균의 근권정착 능력은 방제효율을 높이기 위한 매우 중요한 기능중의 하나이다. 근권미생물의 입장에서 근권은 사막에서의 오아시스와 같다. 즉 근권에서 먼 토양은 거의 먹을것이 없는 황량한 지역인데 반하여 근권의 경우 뿌리로부터 공급되는 양분과 안락한 서식처를 제공받기 때문이다. 따라서 근권은 다양한 미생물의 서식처가 되며 이곳을 먼저 선점하기 위한 근권 미생물의 경쟁 또한 치열하다. 근권에서 어떤 미생물군집이 우점하느냐는 식물생육에 유익한 집단의 정착 또는 유해한 집단의 정착에 따라 식물의 건전한 생육이 보장되기 때문에 매우 중요하다(그림 1). 반면, 식물은 토양중의 유용미생물을 선택적으로 정착시킬 수는 방법은 없다. 따라서 유용 근권미생물을 선발하여 근권에 효과적으로 정착시킬 수 있는 기술의 개발이 절실하다.

보통 근권은 뿌리에서 5mm 이내의 범위를 의미하며 식물로부터의 대사산물이나 죽은세포 등이 존재하는 미소지역으로 식물의 뿌리로부터 영양 받는 토양부분으로 영양성분이 풍부하여 미생물의 생육이 왕성한 곳이다(그림 4). 근면 또한 생물학적 개념의 파악에 매우 중요한 의미를 지니는데 토양과 밀접하게 접해있는 식물의 뿌리 표면으로 근권과는 구별되나 실제 근권의 일부이기도 하다

슈도모나스균의 경우 세균의 근권내 행동, 생육시기별 밀도변이, 뿌리 정착부위, 토착미생물과의 관계가 비교적 잘 연구되어 있지만 아직 과학적인 의문은 많이 남아있다. 근권세균인 *P. fluorescens*의 경우 종자당 10-10000개 수준으로 코팅된 종자가 48시간후에는 종자당 1000개 수준으로 증식되었다. 발아종자로부터 아미노산 및 당 등 가용성 물질의 분비로 종자주변의 미생물의 활성이 높았으며 종자표면

에 코팅된 세균은 발아와 동시에 근권으로 이동되었다. 또한 형광성 슈도모나스는 뿌리에 정착시 종자에서 분비되는 화학성분에 주화성이 나타남을 보고하였다 (Scher, 1985). 많은 실험적 데이터를 참고하여 보면 유용근권세균은 식물에 코팅된 후 증식하다가 다시 감소되며 수확기가 되면 거의 자연상태로 소실된다. 근권세균 *Burkholderia cepacia*의 경우 근권내 밀도가 감소하면 식물병의 발생은 증가한다. 그러나 밀도가 높지 않아도 병해방제효과를 나타내기도 하며 또한 높은 밀도보다는 방제효율이 우수한 균주의 적용이 보다 중요하다.



〈그림 4〉 뿌리 주변의 근권 및 근면모식도

근권유용미생물의 정착에 따른 효과는 생육촉진현상을 들수 있는데 근권내에 분비되는 식물호르몬생산, 병원균으로부터의 근권보호, 원활한 양분흡수 등을 통하여 일어난다.

5) 근권미생물에 의한 유도저항성

지금까지 각종 식물병의 생물학적 방제는 항생기작에 기초한 방법이였으나 생물학적 방제능력이 있는 근권세균중 식물에 유도저항성을 일으키는 기작이 알려지면

서 유도저항성 능력이 우수한 근권 미생물을 선발하여 식물병의 생물학적 방제에 이용하기 위한 많은 연구가 수행되고 있다. 특히 유도저항성을 이용한 생물학적 방제는 식물체가 가지고 있는 자체방어 시스템을 가동시켜 줌으로서 식물 병을 방제할 수 있는 기술로서 일단 식물체에 저항성이 유도되면 곰팡이에 의한 병해뿐 아니라 세균, 바이러스 등 여러 가지 병해에 대한 복합적인 방제가 가능하다는 장점이 있다. 따라서 근권미생물의 근권정착에 의한 식물의 유도저항성 이용기술은 최근 농약의 과다사용에 따른 농업생태계의 개선뿐 아니라 저공해 무농약 과채류생산 등의 농업생산에 많은 장점이 있을 것으로 기대된다.

모든 식물은 외부로부터 식물병원균이 침입하면 이를 극복하기 위한 세포내의 자체 방어기작을 가지고 있어 성공적으로 병원균의 침입을 막아낸다. 그러나 실제로 병원성이 있는 병원균은 이러한 자체 방어기작을 억제하거나 활성화 된 방어기작을 피하거나 무력화시켜 침입에 성공하게 된다. 만일 병원균에 의한 감염이 일어나기 전에 병 저항성이 활성화된다면 병은 발생하지 않거나 줄어들 수 밖에 없다. 유도 저항성 기작을 보면 일차적으로 기주식물에 침입한 병원균에 의하여 식물세포에서의 인식과정을 거쳐 과민감반응에 의한 조직의 괴사가 일어나면서 병 저항성에 돌입하게되는데 이때 식물체내에서 생산된 salicylic acid는 전신유도저항성을 일으키는 신호가 되어 기주식물의 전신에서 병원균에 대한 방어체계를 구축하게 된다. 병 저항성이 가동되게 되면 식물체내의 항균성 PR단백 등 병 저항성에 관련된 protein과 phytoalexine이 증가하게 되어 식물체는 차후의 병원균 침입으로부터 자신을 보호할 수 있게 된다. 이와 같이 병원균의 침입으로부터 유도된 저항성을 전신획득저항성(SAR : systemic acquired resistance)라 한다. SA는 병원균에 의하여 일어나는 SAR에서 가장 중요한 역할을 하는 물질로 밝혀져 있는데 저항성 단계에서 만들어지는 SA뿐 아니라 화학적으로 만들어진 SA에 의하여도 SAR과 동일한 유도저항성단계를 유지할 수 있음이 증명되었다. 식물체내에서 유도저항성은 병원균뿐 아니

라 SA(salicylic acid), INA, BABA(β -amino butyric acid) 및 BTH등의 화학 성분(그림 2)에 의하여도 일어나는데 실제적인 작용 기작은 병원균에 의한 유도저항성(SAR)과 동일한 것으로 알려져 있다.

ISR-PGPR균에 의한 유도저항성은 일차적으로 균체외벽에 존재하는 LPS (lipopolysaccharide)에 의하여 식물체에 저항성 유도를 위한 신호를 전달하는 것으로 Leeman 등에 의하여 연구 되어진바 있다. 또한 형광성 Pseudomonas에서 생산되는 ng 단위의 SA가 ISR의 신호 물질로 작용한다는 연구도 보고 되어지고 있다. 이와같이 ISP-PGPR에 의하여 식물체에 저항성이 유도되면 PR 단백질의 증가 뿐 아니라 식물조직의 리그닌화에 의한 조직세포를 강화시키며, Phenol 및 Phytoalexine 등의 저항성 관련 방어물질을 증가시켜 차후의 병원균의 침입으로부터의 감염을 억제하는 것으로 알려져 있다. 이와같은 기작으로 얻어지는 저항성은 ISR(Induced Systemic Resistance)로 칭하며, 병원균-기주 식물과의 관계에서 일어나는 전신획득저항성(SAR)과 매우 유사한 것으로 생각되어진다.

최근 ISR-PGPR균에 의한 유도저항성은 Jasmonic acid 및 에틸렌 대사에 관여하여 2-3가지의 아직 증명되지 않은 방어기작이 존재하는 것으로 연구되어지고 있는데 이와 같은 방어기작이 규명될 경우 ISR을 이용한 생물학적방제에 매우 중요한 단서를 제공하게 될 것이다.

ISR-PGPR(유도저항성-생육촉진근권세균)에 의한 생물학적 방제는 몇 가지 작물에 대하여 집중적으로 연구되어지고 있는데 ISR-PGPR균주는 보통 대상식물의 종자에 고농도로 코팅되거나 이식 전의 유묘를 ISR-PGPR균주의 현탁액에 침지하여 온실 및 포장시험에 사용된다.

수일후 ISR-PGPR균주에 의하여 저항성이 유도되면 대상병원균을 접종하여 병 발생을 평가한다. 토양병원균(soilborne pathogen)의 경우에는 뿌리를 나누어 ISR-PGPR을 접종한 부분과 병원균이 접종된 부분으로 나누어서 접종한 다음 병

발생을 평가한다.

ISR-PGPR에 의한 유도저항성 검정은 토양병원균에서 보다는 엽권 병원균을 통하여 연구되어지는데 이것은 처리된 ISR-PGPR 균주와 격리되어 손쉽게 검정 되기 때문이다. 실제로 많은 경우 ISR-PGPR균주는 ISR기능뿐 아니라 2, 4-diacetylphloroglucinol, phenazine 및 Pyrrolnitrine 등의 항균물질과 siderophore, SA 등을 동시에 생산되는데 이러한 특성은 ISR-PGPR균주의 생물학적 방제 효율을 상승시키는 요인으로 생각된다.

ISR-PGPR을 이용한 생물학적방제는 일반 재배포장에서 효과적으로 식물병을 방제할 수 있음이 증명되고 있다. Leeman은(1995) ISR균주인 *Pseudomonas fluorescens* strain wc374를 이용하여 자연 감염된 비닐하우스내의 무 시들음병을 50%이상 억제할 수 있음을 4년간의 연구 결과를 토대로 결론지었다. 또한 Wei(1991) 는 선발된 4종의 ISR-PGPR 균주를 종자 처리한 후 포장에 이식하여 오이탄저병(*Colletotrichum orbiculare*)과 반점세균병(*Pseudomonas lacrymans*)에 대한 방제효과를 2년에 걸쳐 시험한 바, 대부분의 ISR-PGPR균주는 포장에서 병해감소와 이에 따른 수량 증대효과를 나타내었다. ISR-PGPR에 의한 ISR의 유도는 식물체내의 방어기작이 가동되기에 충분한 밀도의 근권정착이 필요한 것으로 생각되는데 이러한 측면에서 식물세포에 직접 자극을 줄 수 있는 내생능력이 높은 근권세균의 선발은 유도저항성의 활성화에 매우 중요한 요인이 될 것으로 생각된다.

끝으로 ISR-PGPR균주를 이용한 식물병의 생물학적 방제의 잇점은 항생기작에 기초한 생물학적방제와 같이 무공해의 환경친화적인 방법이라는 점에서 크게 다르지 않다. 그러나 기작차원에서 ISR은 기주식물의 자체 방어시스템을 활성화시켜므로 방제효과가 전신적이라는 장점과 다양한 외부병원균에 대항한다는 점에서 식물병원균에 직접 작용하는 항생기작에 기초한 생물학적방제와는 구별된다. 또한 그 기능으로 보아 생물학적 방제의 효율을 좀더 경제수준에 맞게 적용할 수 있을 것으

로 보이며 아직 충분히 검증되지 않은 과채류의 신선도유지등 저장병해의 방제가능성도 엿보인다.

ISR-PGPR에 의한 식물병의 생물학적방제는 단 한차례의 종자 처리만으로도 토양병원균뿐 아니라 다양한 지상부의 식물병원균을 억제하며 식물생육촉진을 나타낸다. 그러나 ISR의 발현은 경제적 수준의 발현이 아직 어려운 실정에 있어 실용화를 위한 좀더 많은 연구가 필요하다.

3. 결론 및 미래 전망

생물학적방제에서 근권미생물을 이용한 식물병의 효과적인 억제를 위하여는 기주, 병원균 및 근권미생물간의 상호작용에 대한 의문을 하나씩 풀어가는데 있다. 최근 급속하게 발전하고 있는 분자생물학연구분야의 기술을 접목한 생태학적 연구가 필수적이며 이에 관련된 근권미생물의 2차대사산물 및 조절유전자의 분자생물학적연구가 생물학적방제 효율을 높이는데 필수적이다. 분자생물학적 기법을 활용한 생태학적 분석은 생물학적 방제균의 도입에 의한 미생물군집의 반응을 연구하는 좋은 도구가 된다. 이와 같은 연구결과의 발전에 따라 보다 현실적인 생물학적방제 체계가 수립되어질 것이다.