

## 길항미생물 *Pseudomonas* sp. GRC3의 식물병원균에 대한 항균력

오지훈, 박신\*, 강선철

대구대학교 생물공학과, 농화학과\*

전화 (053) 850-6553, FAX (053) 850-6559

### Abstract

*Pseudomonas* sp. GRC3 produced extracellular chitinase(s) and  $\beta$ -1,3-glucanase(s), possible biocontrol agents. Both of enzymes appeared to inhibit the growth of plant pathogens, especially *Phytophthora capsici*. Antifungal activities of *Pseudomonas* sp. GRC3 determined was more than 78% inhibition rate against *P. capsici*.

### 서론

화학농약의 과다사용은 식물병원성균의 화학농약에 대한 저항성 획득, 농산물의 잔류독성, 토양의 산성화, 식수원의 오염 및 생태계의 파괴 등 극심한 부작용을 가져오고 있다. 이와 같은 부작용에서 벗어나기 위한 대체 방법의 하나로 토양내 길항미생물에 의한 식물병원균의 억제방법인 생물학적 방제법이 활발히 연구되고 있다. 길항미생물이 가진 생물학적 방제는 식물병원성 진균의 세포벽 구성성분인 chitin, glucan, mannan 등을 분해할 수 있는 가수분해 효소를 생성하는 기작, 토양 중 철( $Fe^{3+}$ )이온을 경쟁적으로 착화하는 siderophore를 생성하여 경쟁적으로 생육을 억제시키는 기작, 미생물이 분비하는 특히 대사산물인 항생물 질에 의해 병원성 진균의 생육이 억제되는 기작을 가지는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 식물병원성 진균의 외막 가수분해효소인 chitinase와  $\beta$ -1,3-glucanase를 분비하는 *Pseudomonas* sp. GRC3의 식물병원성 진균에 대한 항균력을 규명하였다.

### 재료 및 방법

#### 1. 공시균주

공시균주는 *Pseudomonas* sp. GRC3를 사용하였으며, 식물병원성 진균으로는 *Phytophthora capsici*를 사용하였다.

#### 2. 균체성장속도 및 효소활성 측정

균체의 성장속도는 *Pseudomonas* sp. GRC3를 7일간 배양(28°C, 160rpm)하면서 660nm에서의 흡광도를 측정하였다. Chitinase 활성(1Unit는 효소 1ml이 1분에 1 $\mu$ mol의 NAG를 생성하는 양)은 colloidal chitin을 기질로하여 효소 반응 후 생성되는 N-acetylglucosamin의 양을 측정하였으며,  $\beta$ -1,3-glucanase의 활성(1Unit는 효소 1ml이 1분에 1 $\mu$ mol의 D-glucose를 생성하는 양)은 효소 반응 후 생성되는 환원당을 DNS방법으로 550nm에서 흡광도를 정량하여 측정하였다.

#### 3. 길항력 검정 및 확인

*Pseudomonas* sp. GRC3를 *P. capsici*와 대치배양하여 길항력을 검정하였고, 배양시간에 따른 길항력의 변화는 7일간 배양시 생성된 균체의 배양여액을 식물병원성 곰팡이가 접종된 PDA broth배지에 일정량 첨가하여 28°C, 160rpm으로 4일간 배양하면서 균체량을 측정하여

배양시간에 따른 항진균력의 변화를 조사하였다.

#### 4. 길항균의 식물병원균에 대한 균사성장 저해 효과

5일간 진탕배양한 *Pseudomonas* sp. GRC3로부터 얻은 배양여액 중 10ml을 PDB배지 50ml이 들어있는 삼각플라스크에 첨가해 28°C, 160rpm에서 4일간 배양한 후 균체를 위상차 현미경으로 관찰하였다.

### 결과 및 고찰

공시균주를 식물병원성균과 대치배양 한 결과 길항작용에 의한 생육저지대를 나타내어 항진균력을 가짐을 검정하였고, 외막가수분해 효소인 chitinase와  $\beta$ -1,3-glucanase의 효소 활성이 증가함에 따라 식물병원균에 대한 항진균력이 증가함을 확인하였다. 4일 배양시 chitinase 활성이 38mU으로 최대가 되었고, 저해율 또한 최대치인 78%를 나타내었다. 또한 위상차현미경 관찰결과, 세포외막이 분해되는 현상을 확인하였으며, 이 결과로부터 이 균주는 fungicide effect에 의하여 항균효과를 나타낸다고 결론 지을 수 있었다.

### 요약

*Pseudomonas* sp. GRC3은 식물병원성 진균 *P. capsici* 에 대해 길항력을 가지며, 배양시 생성되는 가수분해 효소의 활성이 증가함에 따라 항진균력 또한 증가하여, 4일배양 시 균사 성장 저해율이 최대치를 기록하였다.

### 참고문헌

1. M. H. El-Katatny., M. Gudelj., K. H. Robra., M. A. Elnaghy., G. M. Gubitz. Characterization of a chitinase and an endo- $\beta$ -1,3-glucanase from *Trichoderma harzianum* Rifai T24 involved in control of the phytophathogen *Sclerotium rolfsii*. (2001), *Appl Microbiol Biotechnol*, 56, 137-143.
2. W. Fink., M. Liefland., and K. Mendgen. Chitinases and  $\beta$ -1,3-glucanases on the apoplast compartment of oat leaves(*Avena sativa* L.) (1988), *Plant Physiol*, 88, 270-275.

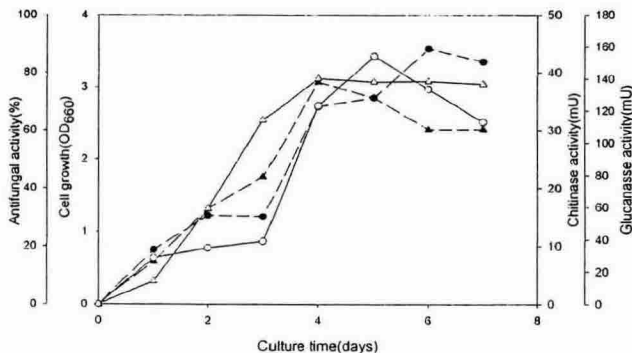


Fig 1. The production of lytic enzymes(chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase and antifungal activity by *Pseudomonas* sp. GRC3. ●-● : cell growth, ▲-▲: chitinase activity, ○-○: glucanase activity, △-△: antifungal activity(%)