

PGPR균 EXTN-1 처리에 의한 벼의 생육촉진 및 벼줄무늬잎마름병(RSV)에 대한 유도저항성 발현

박진우 · 박경석* · 이기운¹

농촌진흥청 국립농업과학원 농업미생물팀, ¹경북대학교 응용생명과학부

(2011년 12월 1일 접수, 2011년 12월 19일 수리)

Rice Plant Growth Promotion and Induced Systemic Resistance Against Rice stripe tenuivirus by a Selected PGPR, *Bacillus amyloliquefaciens*

Jin-Woo Park, Kyungseok Park* and Key-Woon Lee¹

Applied Microbiology Laboratory, Agricultural Microbiology Team, NAAS, RDA, 441-707, Korea,

¹Applied Biology and Chemistry Division, Kyungpook National University, Daegu, 702-701, Korea

Abstract

In previous reports, the treatment of *Bacillus amyloliquefaciens* strain EXTN-1 showed a broad disease-controlling spectrum to the plant diseases caused by viral, bacterial, and fungal pathogens as well as the promotion of plant growth. In mechanisms of EXTN-1, treatment of EXTN-1 increased oxidative burst in early stage and induced the expression of resistance genes, PR-1a, PDF1.2. Mechanism involved in induced systemic resistance by EXTN-1 was revealed as simultaneous activation of SA and JA or ethylene metabolic pathways. The purpose of this study was to determine whether *B. amyloliquefaciens* EXTN-1 has a similar effect on rice plant against *Rice stripe tenuivirus* (RSV) under greenhouse conditions. When rice seeds were soaked in *B. amyloliquefaciens* strain EXTN-1, rice plants showed significant systemic resistance against RSV as well as promoted growth. In the case of plant growth, in 30-day old plants treated with *B. amyloliquefaciens* EXTN-1, the heights, weights, and lengths of roots increased by 12.6%, 9.8%, and 16.0%, respectively confirming the effects of PGPR. When the induced systemic resistance to RSV was examined, in 20-day old plants were treated with *B. amyloliquefaciens* EXTN-1, the heights, weights, and lengths of roots increased by 8.4%, 10.9%, and 4.8%, respectively compared to the control. Induced systemic resistance was more prominent in susceptible cultivars - Chucheong and Ilpum compared to the resistant cultivar, Nakdong.

Key words *Rice stripe tenuivirus* (RSV), PGPR, *B. amyloliquefaciens* strain EXTN-1

서 론

근권의 생육촉진세균이나 비병원성 미생물의 군집에 의해 식물은 병원균에 대응하는 광범위한 방어기작을 발현하는 경우가 많으며 최근에 생육촉진근권세균(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)을 다양한 식물 병의 생물

적 방제를 위해 적용하는 연구가 시도되고 있다(Jetiyanon & Kloepper, 2002). *Fusarium oxysporium* f. sp. *dianthi*에 의한 카네이션시들음병 방제를 위해 *Pseudomonas* sp. strain WCS 417r을 이용하고 있으며(Van Peer *et al.*, 1991), 오이탄저병(Wei *et al.*, 1991, 1996), *Fusarium*에 의한 오이시들음병(Liu *et al.*, 1995a), 벼잎집무늬마름병(Vidhyasekaran & Muthamilan, 1999) 등 진균 병의 방제 뿐 아니라 세균에 의한 콩세균성갈색점무늬병(Alstrom, 1991), 오이세균성시들음병(Kloepper *et al.*, 1993), 오이세균성모무늬병의 병반

*연락처 : Tel. +82-31-290-0424, Fax. +82-31-290-0424

E-mail: kspark3383@korea.kr

면적 감소에도 효과가 보고되고 있다(Liu *et al.*, 1995b, Wei *et al.*, 1996). PGPR은 바이러스 병에 대해서도 저항성 발현 효과가 있어 토마토와 오이의 오이모자이크바이러스(Raupach *et al.*, 1996)와 담배의 담배괴저바이러스(Maurhofer *et al.*, 1994, 1998)에서 효과가 확인되었다.

식물생육촉진근권균(plant growth promoting rhizobacterium, PGPR)으로 선발된 *Bacillus amyloliquefaciens* EXTN-1은 여러 작물에 생육촉진과 광범위한 유도저항성을 발현하는 것으로 알려져 있다(Park *et al.*, 2001). 이전의 연구에서 EXTN-1 세포 현탁액을 오이에 처리하였을 때 식물체에 HR, oxidative burst, lignifications의 유도와 cyclo dipeptides 생산 및 PR 관련 유전자가 활성화되는 것이 보고되었으며(Park *et al.*, 2001; Ahn *et al.*, 2002; Jeun *et al.*, 2004) EXTN-1을 *Arabidopsis* wild type Col-0에 처리하였을 때 PR-1과 PDF 1.2 유전자가 활성화된다. EXTN-1을 토양관주나 종자침지 처리하였을 때(10^6 cfu/ml) 벼의 성장과 종자발아가 촉진되며, EXTN-1의 처리에 의해 오이모자이크바이러스(*Cucumber mosaic virus*), 담배모자이크바이러스(*Tobacco mosaic virus*), 감자바이러스Y(*Potato virus Y*) 등의 바이러스 병, 청고병 등의 세균병과 도열병, 탄저병, 시들음병 등 진균 병에 대하여 광범위한 방제효과가 보고되고 있다(Van Peer *et al.*, 1991; Wei *et al.*, 1991; Liu *et al.*, 1995a, Raupach *et al.*, 1996; Vidhyasekaran & Muthamilan, 1999; Jeun *et al.*, 2001; Jetiyanon & Kloepper, 2002; Ahn *et al.*, 2002).

본 연구의 목표는 EXTN-1 처리에 의한 벼의 주요 바이러스인 *Rice stripe tenuivirus*(RSV)에 대한 병 저항성 발현과 생육촉진 효과를 검증함으로써 PGPR에 의한 식물 바이러스 병의 방제 가능성을 검토하는 데 있다.

재료 및 방법

PGPR 균주와 식물 병원체

벼줄무늬잎마름병(RSV) 방제용 PGPR 균주로는 다양한 식물 병에 대해 유도저항성을 발현하는 *Bacillus amyloliquefaciens* strain EXTN-1을 사용하였다. EXTN-1은 20% glycerol을 첨가한 tryptic soy broth 배지에 배양한 후 -80°C 에 보존하면서 사용하였으며 RSV는 매개충인 애멸구(*Laodelphax striatellus*; small brown planthopper-SBPH)를 이용해 인공적으로 벼에 RSV를 접종한 후 온실에서 유지하였다.

공시 벼 품종

RSV에 의한 피해해석과 EXTN-1에 의한 생육촉진 효과 검정을 위한 벼의 감수성 품종으로는 충청과 일품, 저항성 품종으로는 낙동을 사용하였다.

RSV의 접종

EXTN-1 처리구의 종자와 미처리구의 종자에서 발아한지 14일된 유묘는 뿌리를 면봉으로 조심스럽게 감싸고 물이 담긴 직경 3 cm의 test tube에 넣은 후 각 test tube에 보독충인 애멸구 3개체씩을 접종하였으며 대조구는 애멸구를 접종하지 않았다. 접종한 test tube는 망사로 덮어 보독충의 유실을 방지하였으며 접종 3일 후 빛사 유제를 살포하여 보독충을 모두 제거한 후 포트에 심어 온실에서 재배하였다.

EXTN-1의 처리 및 조사내용

EXTN-1을 증류수로 10^6 cfu/ml의 농도로 조정하고 범씨를 4시간 동안 침지한 후 PGPR 처리를 마친 종자와 처리하지 않은 종자를 각각 파종하였다. 접종 30일 후 처리구별로 RSV의 발생주율을 육안으로 조사하였으며 초장은 5일 간격으로 40일까지 측정하였고 생체중과 뿌리길이는 접종 30일 후 일괄적으로 측정하였으며 모든 처리구의 반복수는 40주로 하였다.

결과 및 고찰

EXTN-1 처리에 의한 벼의 생육촉진 효과

PGPR을 이용한 RSV의 방제효과를 확인하기 위해 감수성 품종인 충청, 일품과 저항성 품종인 낙동 종자의 절반은 EXTN-1 처리하고 절반은 처리하지 않은 상태로 발아시켰다. 발아 14일 후, 각각의 시험 종자군을 다시 절반씩 나누어 한 쪽은 RSV를 접종하고 한 쪽은 미접종한 후 병의 발생과 생육상황 등을 조사한 결과 일품 품종의 경우 RSV 접종구의 생육은 미접종구의 생육에 비해 현저히 저하되었지만 RSV 접종구와 미접종구 각각에서 EXTN-1 처리구의 생육이 미처리구에 비해 촉진되었으며(Fig. 1) 뿌리의 생육 역시 EXTN-1 처리구의 경우가 미처리구에 비해 촉진되는 것을 확인하였다(Fig. 2). Figure 1에서 접종구의 생육이 현저히 저하되는 현상은 접종시기가 발아 14일 후로 지나치게 어린 묘에 접종한



Fig. 1. Rice plant protection against RSV by treatment of PGPR *Bacillus amyloliquefaciens* EXTN-1 on RSV susceptible Ilpum cultivar.

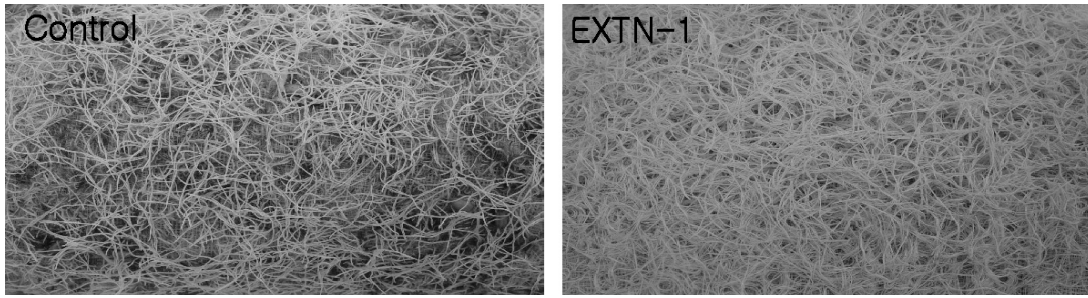


Fig. 2. Effect of growth promotion on rice root (Ilpum cultivar) by seed soaking with PGPR *Bacillus amyloliquefaciens* EXTN-1.

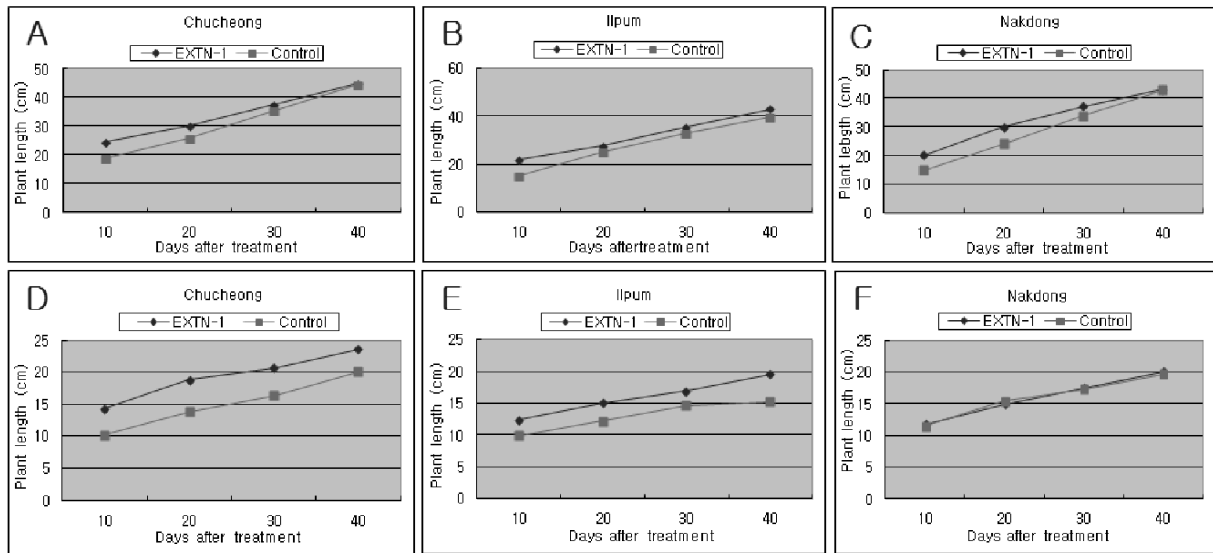


Fig. 3. Effect of treatment by PGPR *Bacillus amyloliquefaciens* EXTN-1 and inoculation of RSV on the plant length in susceptible (Chucheong and Ilpum) and resistant cultivars (Nakdong). Inoculation was carried out 14-days after germination and seedlings were inoculated by viruliferous SBPH. A~C: RSV non-inoculated. D~F: inoculated with RSV.

데서 기인한 것으로 추정되며, 실제 포장에서는 묘판에서 자란 묘를 심은 후 애벌레가 유입되므로 본 실험보다는 묘령이 높아 PGPR 군 처리와 무처리간의 차이가 보다 선명하게 드러날 것으로 생각한다.

일품과 추청, 낙동 품종 모두에서 EXTN-1 처리를 하였을 때 초장이 접종 30일경까지 EXTN-1 미처리구에 비해 증가하여 PGPR 효과가 인정되었지만 40일 후에는 육안으로 초장의 차이가 크게 나지 않아 PGPR의 효과는 생육초기에 발현됨을 알 수 있었다(Fig. 3. A~C). RSV를 접종하였을 때 감수성 품종에서는 EXTN-1 처리구의 초장이 EXTN-1 미처리구보다 높아 PGPR 효과가 인정되었지만 저항성 품종에서는 양 처리간에 큰 차이가 나타나지 않았다(Fig. 3. D~F). 감수성 품종에서는 RSV 접종구에서 미접종구에 비해 PGPR 효과가 큰 것으로 조사되었지만 저항성 품종에서 RSV 접종 시 PGPR 효과가 상쇄되는 결과에 대해서는 저항성 관련 유전자 분석 등 보완실험을 통해 추후 규명해야 할 것으로 생각한다.

앞의 초장조사 결과와 같은 PGPR 발현효과가 EXTN-1을 처리한 구의 뿌리길이 및 생물중 조사에서도 관찰되었으며 (자료 미제시) RSV를 접종한 경우에도 초장조사 결과와 마찬가지로 감수성 품종에서는 EXTN-1 처리구의 뿌리길이나 생물중이 EXTN-1 미처리구보다 높아 PGPR 효과가 인정된 반면 저항성 품종에서는 EXTN-1 처리, 미처리구간에 큰 차이가 나타나지 않았다(Fig. 4, Fig. 5).

EXTN-1 처리에 의한 RSV의 발병감소 효과

RSV 접종구에서 EXTN-1 처리구와 미처리구의 발병도를 품종별로 비교한 결과 감수성 품종인 추청에서 EXTN-1 미처리시 발병도가 6.9인데 반해 처리시에는 6.0으로 EXTN-1의 발병감소 효과가 인정되었고 일품에서도 EXTN-1 미처리시 7.8, 처리시 6.5로 같은 결과를 얻었다. 반면 저항성 품종인 낙동에서는 발병도가 각각 1.8과 1.7로 EXTN-1 처리효과가 인정되지 않았다(Fig. 6). 이 결과를 놓고 볼 때 감수성 품종에 비해 저항성 품종은 PGPR 군 처리에 의한 발병억제

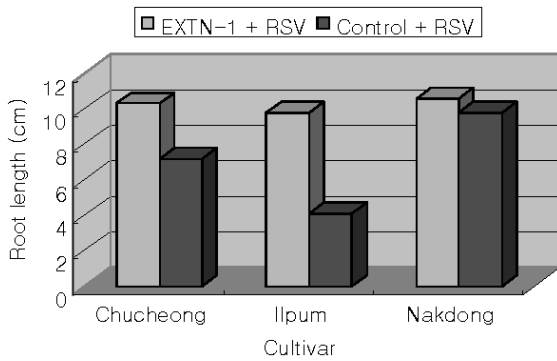


Fig 4. Effect of treatment by PGPR *Bacillus amyloliquefaciens* EXTN-1 and Inoculation of RSV on the root length in susceptible (Chucheong and Ilpum) and resistant cultivars (Nakdong). Inoculation of virus was carried out on the leaves of plants 14-days after germination and seedlings were inoculated by the viruliferous small brown planthopper (SBPH).

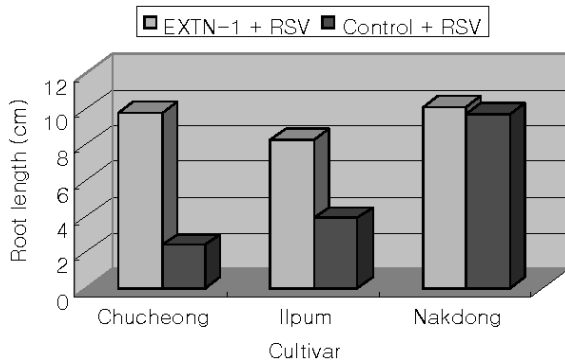


Fig 5. Effect of treatment by PGPR *Bacillus amyloliquefaciens* EXTN-1 and Inoculation of RSV on the weight in susceptible (Chucheong and Ilpum) and resistant cultivars (Nakdong). Inoculation of virus was carried out on the leaves of plants 14-days after germination and seedlings were inoculated by the viruliferous small brown planthopper (SBPH).

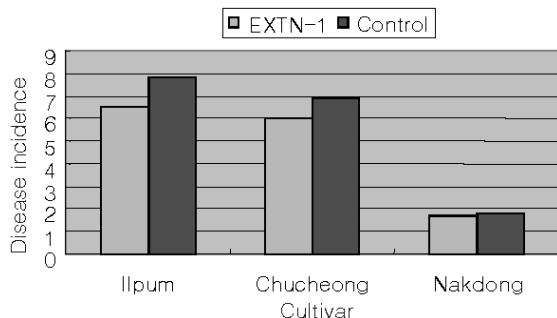


Fig 6. Effect of PGPR *Bacillus amyloliquefaciens* EXTN-1 on the incidence of RSV in susceptible (Chucheong and Ilpum) and resistant cultivars (Nakdong).

효과가 높지 않으며 이는 저항성 품종이 감수성 품종에 비해 상대적으로 발병이 적기 때문인 것으로 추정된다.

Acknowledgement

This study was carried out with the support of “Research Program for Agricultural Science & Technology Development(Project No. PJ007450022011)”, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Republic of Korea.

>> 인 / 용 / 문 / 헌

- Alstrom, S. (1991) Induction of disease resistance in common bean susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere pseudomonads. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 37:495 ~ 501.
- Ahn Il-Pyung, K. Park and C. Kim. (2002) Rhizobacteria-induced resistance perturbs viral disease progress and triggers defense-related gene expression. *Molecules and cells* 13(2): 302 ~ 308.
- Jeun Yong-Chull, K. Park and C. Kim. (2001) Different Mechanisms of Induced Systemic Resistance and Systemic Acquired Resistance Against *Colletotrichum orbiculare* on the Leaves of Cucumber Plants. *Mycobiology* 29(1):19 ~ 26.
- Jetiyanon, K. and J. W. Kloepper (2002) Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. *Biological control : theory and applications in pest management* 24(3):285 ~ 291.
- Kloepper, J. W., S. Tuzun, L. Liu and G. Wei. (1993) Plant growth-promoting rhizobacteria as induce systemic disease resistance. In : Lumsden, R. D., Waughn, J. L. (Eds.), *Pest management: Biologically based technologies*. American chemicals society books, Washington, DC, pp. 156 ~ 165.
- Liu, L., J. W. Kloepper and S. Tuzun. (1995a) Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85:695 ~ 698.
- Liu, L., J. W. Kloepper and S. Tuzun. (1995b) Induction of systemic resistance in cucumber against bacterial leaf spot by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85:843 ~ 847.
- Maurhofer, M., C. Hase, P. Meuwly, J. P. Metraux and G. Defago. (1994) Induction of systemic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by the root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 : influence of the *gacA* gene and of pyoverdine production. *Phytopathology* 84(2):139 ~ 146.
- Maurhofer, M., C. Reimmann, S. P. Schmidli, S. Heeb, D. Haas and G. Defago. (1998) Salicylic acid biosynthetic genes expressed in *Pseudomonas fluorescens* strain P3 improve the induction of systemic resistance in tobacco against

- tobacco necrosis virus. *Phytopathology* 88(7):678~684.
- Park Kyung-Seok, I. Ahn and C. Kim. (2001) Systemic Resistance and Expression of the Pathogenesis-Related Genes Mediated by the Plant Growth-Promoting Rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* EXTN-1 Against Anthracnose Disease in Cucumber. *Mycobiology* 29(1):48~53.
- Raupach, G. S., L. Liu, J. F. Murphy, S. Tuzun and J. W. Kloepper. (1996) Induced systemic resistance in cucumber and tomato against cucumber mosaic cucumovirus using plant growth promoting rhizobacteria(PGPR). *Plant Dis.* 80:891~894.
- Van Peer, R., G. J. Niemann and B. Schippers. (1991) Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *sedomonas* sp. strain WCS 417r. *Phytopathology* 81:728~734.
- Vidhyasekaran, P. and M. Muthamilan. (1999) Evaluation of powder formation of *Pseudomonas fluorescens* Pfl for control of rice sheath blight. *Biocontrol Sci. Technol.* 9:67~74.
- Wei, G., J. W. Kloepper. and S. Tuzun. (1991) Induction of systemic resistance of cucumber to colletotrichum orbiculare by select strains of plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 81:1508~1512.
- Wei, G., J. W. Kloepper, and S. Tuzun. (1996) Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology* 86:221~224.

PGPR균 EXTN-1 처리에 의한 벼의 생육촉진 및 벼줄무늬잎마름병(RSV)에 대한 유도저항성 발현

박진우 · 박경석* · 이기운¹

농촌진흥청 국립농업과학원 농업미생물팀, ¹경북대학교 응용생명과학부

요 약 *Bacillus amyloliquefaciens* strain EXTN-1 처리에 의해 생육촉진 효과와 함께 광범위한 식물 병 방제효과가 보고되었다. EXTN-1의 PGPR 효과는 생육초기에 PR-1a, PDF1.2 등의 저항성 관련 유전자 발현에 의한 oxidative burst의 증가나 SA, JA나 ethylene 대사에 의한 유도저항성의 발현에 기인한다. 이 연구의 목표는 *B. amyloliquefaciens* EXTN-1가 기존에 보고된 다른 작물의 경우에서와 마찬가지로 벼의 생육촉진이나 벼줄무늬잎마름병에 대한 저항성에 관여하는지를 확인하기 위해 수행되었다. 벼 종자를 *B. amyloliquefaciens* EXTN-1에 침지한 후 파종하였을 때 생육촉진 효과와 병에 대한 저항성 발현이 확인되었다. *B. amyloliquefaciens* EXTN-1을 처리한 30일묘에서 벼의 초장, 생물중, 뿌리길이는 무처리구에 비해 각각 12.6%, 9.8%, 16.0% 증가하여 PGPR 효과가 나타남을 확인할 수 있었다. RSV 접종구에서도 *B. amyloliquefaciens* EXTN-1 20일묘는 초장, 생물중, 뿌리길이는 무처리구에 비해 각각 12.6%, 9.8%, 16.0% 증가하였다. 유도저항성 발현효과는 감수성 품종에서 저항성 품종에서 상대적으로 뚜렷하게 나타났다.

색인어 벼줄무늬잎마름병, 식물생육촉진균, 바실러스 계통 EXTN-1