

방선균의 식물생육촉진 효과와 식물병원균에 대한 항균활성

한지희* · 박경석 · 이상엽 · 김정준

농촌진흥청 국립농업과학원 농업미생물과

(Received on November 14, 2012. Revised on November 28, 2012. Accepted on December 20, 2012)

Effects of *Streptomyces* spp. on Growth of Plants and Antifungal Activity of Plant Pathogens

Ji Hee Han*, Kyung Seok Park, Sang Yeob Lee and Jeong Jun Kim

Agricultural Microbiology Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-707, Korea

Abstract *Streptomyces* spp. were isolated from rhizosphere in fallow lands. The *Streptomyces* spp. were identified as *Streptomyces griseus* (MSS181), *Streptomyces griseoaurantiacus* (MSS269), *Streptomyces microflavus* (MSS275), *Streptomyces herbaricolor* (MSS276) based on 16S rRNA gene sequences. Afterwards, cucumber, pepper, tobacco and tomato were drenched with the isolates at early growth stages and plant growth such as height and dry weight of plants was measured. By treatment of *Streptomyces* spp., plant height of cucumber was increased by 16-29% compared to the control, But there were no statistically significant differences in dry weight. When the same isolates were treated on chili-pepper, plant height and dry weight of chili-pepper were increased respectively by 10-19% and 19-25% compared to the control. The dry weight of tobacco and tomato were increased by 44-73% and 65-165%, respectively compared to the control. When antifungal activities of the isolates were tested against plant pathogenic fungi, *Streptomyces microflavus* (MSS275) effectively inhibited the mycelial growth of *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum*.

Key words *Streptomyces*, Plant growth promotion

환경변화와 건강에 대한 관심이 증대되면서 최근 몇 년 사이에 화학비료의 대체제에 대한 관심이 높아지고 있다. 이에 대한 해결책으로 식물생육촉진 근권 미생물의 활용이 주목받고 있다. 식물 뿌리주변의 토양은 다른 부위의 토양에 비해 무기물, 산소가 부족하고 CO₂와 유기물이 풍부한 환경을 형성하고 있어 다양한 토양미생물이 서식하고 있으며 미생물은 내부근권(endorhizosphere), 뿌리의 표면(rhizoplane), 뿌리근방의 토양(근권, rhizosphere soil)에 존재한다(Yeo 등, 2009). 근권미생물 중 식물 생육에 영향을 미치는 식물생육촉진 근권미생물(PGPR, Plant growth promoting rhizobacteria)은 유용미생물로서 토양 중의 유기태, 불용성 질소, 인, 황에 작용하여 식물이 흡수할 수 있는 무기물형태로 가용화시키며 auxin(Jung 등, 2006), gibberelins, cytokines

같은 식물생육 조절인자인 식물호르몬(phytohormone)과 siderophores의 생산하여 식물의 생육을 촉진하기도 하며 항균물질을 분비하여 토양 내 식물병원균으로부터 뿌리를 보호하는 역할도 한다(Mahadevan과 Crawford, 1997).

토양에 존재하는 주된 미생물 중 하나인 *Streptomyces*는 항생제, 비타민, 효소 같은 다양한 생리활성물질을 생산하고 토양 비옥화에 중요한 역할을 한다. 또한 식물병원균으로부터 뿌리를 보호하고(Vasconcellos과 Cardoso, 2009), 식물체의 발달에 영향을 주기도 한다. *Streptomyces* 속균이 생산하는 indole-acetic acid(IAA) (Aldesuquy 등, 1998)와 siderophore (Tokala 등, 2002)에 의한 식물의 생육촉진효과가 보고한 바 있고(Sadeghi 등, 2012), *Streptomyces griseoluteus*에 의해 생산되는 식물생육 조절인자인 putrescine, spermidine, spermine과 같은 polyamine류의 생육촉진효과 또한 보고되고 있다(Nassar 등, 2003). 본 연구에서는 근권 토양으로부터 분리된 방선균을 활용하기 위한 기초자료를 확보하고자

*Corresponding author

Tel: +82-31-290-8482, Fax: +82-31-290-8488

E-mail: bijouhee@korea.kr

방선균이 다양한 작물의 초기 생육에 미치는 영향과 항균활성 등을 조사하였다.

미생물 분리를 위한 토양 시료는 작물의 재배과정 중에 투여되는 미생물을 배제하기 위해 수원의 비경작 식물근권의 토양을 채집하여 사용하였다. 공시균주의 분리는 토양시료 10 g을 증류수 90 ml을 첨가하여 증류수로 10³, 10⁴, 10⁵으로 희석한 후 1 ml씩 R2A배지에 도말하여 28°C의 배양기에 배양하면서 전형적인 방선균의 균총에서 균을 분리하여 4°C의 냉장고에 보관하며 사용하였다. 분리한 방선균의 식물생육촉진 효과는 R2A (MB cell, korea)배지를 이용하여 28°C, 150 rpm/min 및 pH 6.8의 조건으로 7일간 배양한 균체를 포함한 배양액의 20배 희석액 50 ml을 1회 관주처리하였다. 오이(품종: 은성백다다기), 고추(품종: 마니파), 토마토(품종: 선명토마토), 담배(Xanthi-nc)를 피종하여 제1분엽이 나왔을 때 난괴법 3반복으로 공시균주를 처리하여 한 달간 재배한 후 총 신장과 엽장, 엽폭, 건물 중 등의 초기 생육 정도를 조사하였다. 식물병원균에 대한 항균 활성은 감자렉스트로스한천배지에 공시 균주를 이식하여 28°C에서 6일간 정지 배양한 후 식물병원균을 직경 5 mm cork borer로 떼어내서 치상하여 28°C와 15°C에서 배양하여 저지원을 측정하

Table 1. Antifungal activity of *Streptomyces* isolates against plant pathogens

Isolates	Antibiosis			
	^{a)} PC	FO	RS	SS
MSS 181	-	-	-	-
MSS 269	-	-	-	-
MSS 275	+++	+++	+++	+++
MSS 276	-	-	-	-

^{a)}PC, *Phytophthora capsici*; FO, *Fusarium oxysporum*; RS, *Rhizoctonia solani*; SS, *Sclerotinia sclerotiorum*. Clear zone was measured 4 to 7 days after culture at 20-28°C. +; below 1.5 mm, ++; < 1.6-3.0 mm, +++; above 3 mm.

였다. 실험에 사용된 식물병원균인 *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*와 *Sclerotinia sclerotiorum*은 15°C와 28°C에서 5일간 배양한 후 사용하였다. 최종 선발된 미생물의 동정은 16S rDNA의 염기서열 분석을 통하여 수행하였다. 선발균주의 chromosomal DNA를 분리한 후 primer 518F(5'-CCAGCAGCCGCGGTAATACG-3')와 800R (5'-TACCAGGGTATCTAATCC-3')를 사용하여

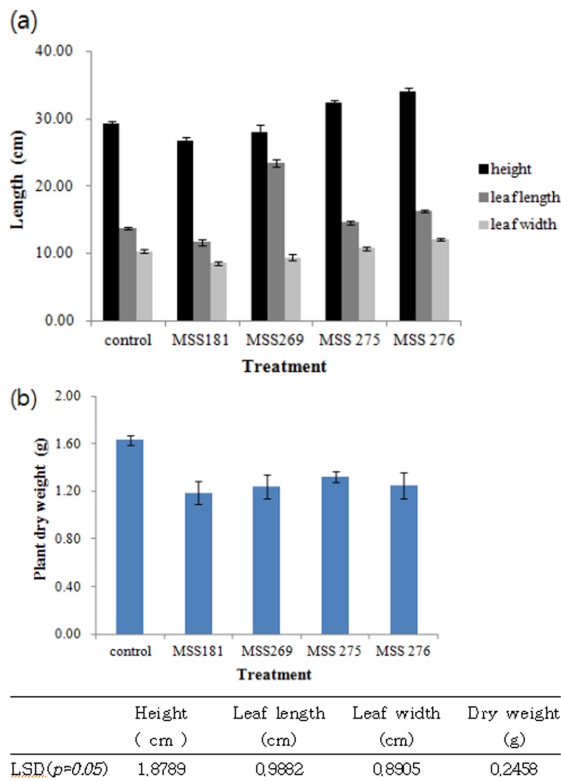


Fig. 1. Plant growth promotion effect of *Streptomyces* spp. on cucumber. *Streptomyces* isolates were treated to cucumber when the normal leaves were put out. Leaf width, leaf length, height (a) and dry weight (b) of cucumber were measured 15 days after treatment. *Statistically different ($P<.05$) based on Fisher's protected least significant difference (LSD).

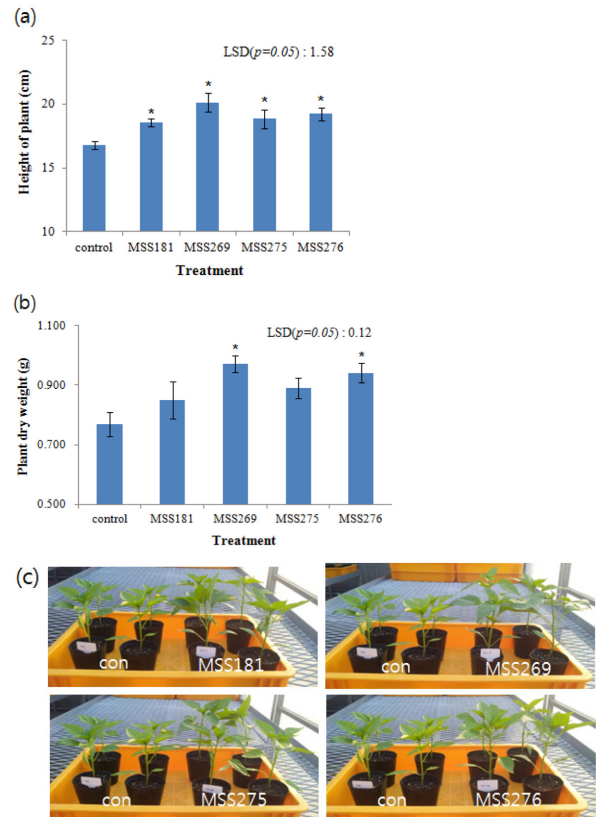


Fig. 2. Plant growth promotion effect of *Streptomyces* spp. on chili-pepper (c). *Streptomyces* isolates were drenched to chili-pepper when the normal leaves were put out. Height (a) and dry weight (b) of chili-pepper were measured one month after treatment. *Statistically different ($P<.05$) based on Fisher's protected least significant difference (LSD).

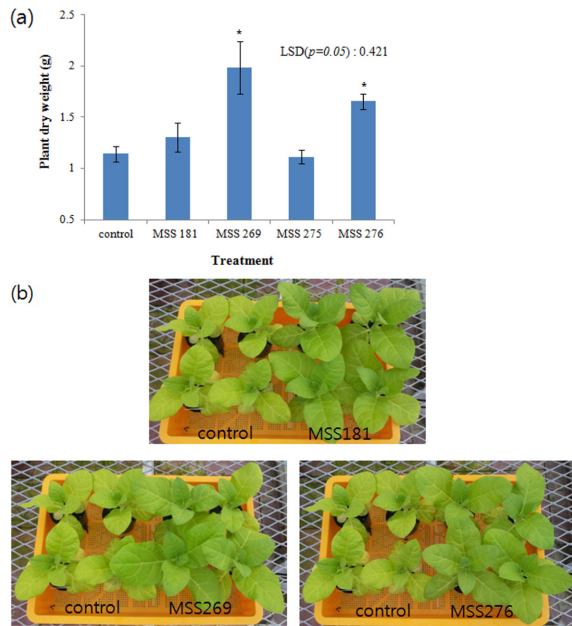


Fig. 3. Plant growth promotion effect of *Streptomyces* spp. on tobacco. *Streptomyces* isolates were treated to tobacco when the normal leaves were put out. Dry weight (a) of tobacco was measured one month after treatment. *Statistically different ($P < .05$) based on Fisher's protected least significant difference (LSD).

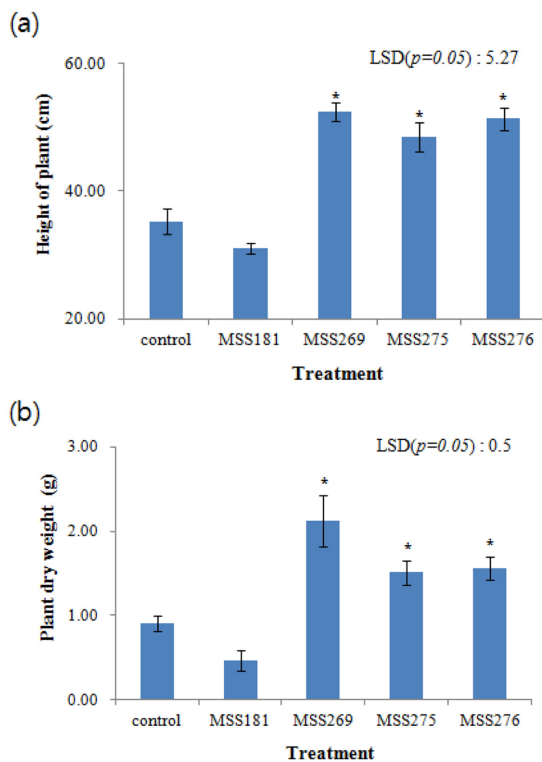


Fig. 4. Plant growth effect of *Streptomyces* spp on tomato. *Streptomyces* isolates were drenched to tomato when the normal leaves were put out. Height (a) and dry weight (b) of tomato were measured 20 days after treatment. *Statistically different ($P < .05$) based on Fisher's protected least significant difference (LSD).

94°C에서 1분간 denaturation, 60°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 1분 30초, 30 cycle로 polymerization시키는 조건에서 PCR로 증폭하였다. 증폭된 PCR 결과물을 0.8% agarose gel electrophoresis를 수행한 후 분리 정제하여 ABI PRISM 3700 DNA Analyzer를 이용하여 염기서열을 분석하였다. 분석된 염기서열은 BLASTN프로그램을 이용하여 GENE-BANK의 ribosomal RNA sequencing과 비교하여 분석하였다(Lim 등, 2007).

선발된 균주의 16S rDNA염기서열을 분석한 결과, MSS181균주는 *Streptomyces griseus* subsp.와 99% 상동성을 보였고, MSS269균주는 *Streptomyces griseo-aurantiacus*, MSS275는 *Streptomyces microflavus*, MSS276 *Streptomyces herbaricolor*와 100% 상동성을 보였다.

선발 방선균을 오이 유묘에 처리한 결과, MSS275와 MSS276균주처리구의 초장이 대조구에 비해 29%, 16% 증가되었으나(Fig. 1) 건조중량이 통계적으로 유의한 차이를 볼 수 없었다. 선발 방선균을 고추에 처리했을 때 MSS269와 MSS276균주처리구의 초장은 19%, 14% 건조중량은 25%, 22% 증가하였고(Fig. 2) 담배의 유묘에 처리했을 때도 MSS269와 MSS276균주처리구의 건조중량이 대조구에 비해 76%, 44% 증가하였다(Fig. 3). 토마토의 유묘에 처리하였을 때 MSS269, MSS275와 MSS276균주처리구의 초장은 46%, 37%, 45% 증가하였고, 건조중량은 132%, 65%, 71% 증가하였다(Fig. 4). 이와 같은 식물생육촉진은 미생물에 의한 배양 배지 또는 토양의 유기 질소원의 분해에 따른 무기 질소원 공급과 미생물 대사산물에 의한 것으로 생각된다(Doumbou 등, 2001).

작물의 생육을 촉진하는 방선균 *Streptomyces microflavus* MSS275균주는 식물병원성 진균 *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*와 *Sclerotinia sclerotiorum*에 대하여 강한 활성을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 국립농업과학원의 기관고유사업(PJ907092032-012)의 지원에 의해 수행되었습니다.

Literature Cited

- Aldesuquy, H. S, F. A. Mansour and S. A. Abo-Hamed (1998) Effect of the culture filtrates of *Streptomyces* on growth and productivity of wheat plants. *Folia Microbiologica*. 43: 465-470.
- Doumbou C. L., M. K. H. Salove, D. L. Crawford and C. Beaulieu (2001) Actinomycetes, promising tools to control plant diseases and to promote plant growth. *Phytoprotection*. 82(3):85-102.

- El-Tarabily, K. A. (2008) Promotion of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant growth by rhizosphere competent 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-producing streptomycete actinomycetes. *Plant Soil*. 308:161~174.
- Jung H. K., J. R. Kim, S. M. Woo and S. D. Kim (2006) An auxin producing plant growth promoting rhizobacterium *Bacillus subtilis* AH18 which has siderophore-producing biocontrol activity. *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*. 34:94~100.
- Lim T. H., S. Y. Kwon and J. H. Kim (2007) Effects of *Streptomyces* sp. MG121 on growth of pepper plants and antifungal activity. *Research in Plant Disease*. 13(2):93~97.
- Mahadevan, B. and D. L. Crawford (1997) Properties of the chitinase of the antifungal biocontrol agent *Streptomyces lydicus* WYEC108. *Enzyme and Microbial Technology*. 20:489~493.
- Nassar A. H., K. A. El-Tarabily and K. Sivasithamparam (2003) Growth promotion of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by a polyamine-producing isolate of *Streptomyces griseoluteus*. *Plant Growth Regulation*. 40:97~106.
- Sadeghi, A., E. Karimi, P. A. Dahaji, M. G. Javid, Y. Dalvand and H. Askari (2012) Plant growth promoting activity of an auxin and siderophore producing isolate of *Streptomyces cauder* saline soil conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 28:1503~1509.
- Tokala, R. K., J. L. Strap, M. J. Carina, D. L. Crawford, M. H. Salove, L. A. Deobald, J. F. Bailey and M. J. Morra (2002) Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the Pea Plant (*Pisum sativum*). *Applied and Environmental Microbiology*. 68(5): 2161~2171.
- Vasconcellos, R. L. F. and E. J. B. N. Cardoso (2009) Rhizospheric *Streptomyces* as potential biocontrol agents of *Fusarium* and *Armillaria* pine rot and as PGPR for *Pinus taeda*. *Biocontrol*. 54:807~816.
- Yeo S. H., Y. M. Yook and H. S. Kim (2009) Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacterium *Bacillus subtilis* YK-5 from soil. *KSBB Journal*. 24: 334~340.

방선균의 식물생육촉진 효과와 식물병원균에 대한 항균활성

한지희* · 박경석 · 이상엽 · 김정준

농촌진흥청 국립농업과학원 농업미생물과

요 약 비농경지의 식물 근권토양에서 식물체의 초기생육촉진 효과가 있는 방선균을 분리하였다. 분리된 미생물의 16S rDNA 염기서열을 분석한 결과 *Streptomyces* spp.로 동정되었다. *Streptomyces griseus* (MSS181), *Streptomyces griseoaurantiacus* (MSS269), *Streptomyces microflavus* (MSS275), *Streptomyces herbaricolor* (MSS276)의 배양액을 오이, 고추, 담배와 토마토의 생육초기단계에 관주 처리하여 식물체의 초장, 건조중량을 측정하였다. 방선균 처리에 의해 오이의 초장은 대조구에 비해 16-29% 증가하였으나 건조중량에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 같은 방선균을 고추에 처리하였을 때 고추의 초장은 대조구에 비해 10-19%, 건조중량은 19-25% 증가하였다. 담배의 건조중량은 44-73% 증가하였고 토마토의 건조중량도 65-165% 증가하였다. 공시균주의 식물병원균에 대한 항균활성을 검정한 결과, MSS275의 *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*와 *Sclerotinia sclerotiorum*에 대한 강한 항균활성을 확인하였다.

색인어 방선균, 식물생육촉진