

Bacillus velezensis YP2 균주의 근권 정착에 의한 케일의 생육 촉진 및 건조 스트레스 완화 효과*

김다연** · 한지희** · 김정준** · 이상엽***

Enhancement of Plant Growth and Drying Stress Tolerance by *Bacillus velezensis* YP2 Colonizing Kale Root Endosphere

Kim, Da-Yeon · Han, Ji-Hee · Kim, Jung-Jun · Lee, Sang-Yeob

Drought is a major obstacle to high agricultural productivity, worldwide. In drought, it is usually presented by the simultaneous action of high temperature and drying. Also there are negative effects of plant growth under drying conditions. In this study, the effect of *Bacillus velezensis* YP2 on plant growth-promotion and soil drying stress tolerance of kale plants, *Brassica oleracea* var. *alboglabra* Bailey, were investigated under two different conditions; greenhouse and field environments. Root colonization ability of *B. velezensis* YP2 was also analysed by using plating culture method. As a result of the greenhouse test, the YP2 strain significantly promoted the growth of kale seedlings in increasement of 26.7% of plant height and 142.2% of shoot fresh weight compared to control. *B. velezensis* YP2 have the mitigation effect of drying injury of kale by decreasing of 39.4% compared to control. In the field test, *B. velezensis* YP2 strain was also found to be effective for plant growth-promotion and mitigation of drying stress injury on kale plants. Especially, relative water contents (RWC; %) were higher in *B. velezensis* YP2 treated kales than in control at 7, 10, 14 day after non-watering. The root colonization ability of YP2 strain was continued at least for 21 days after soil drenching treatment of *B. velezensis* YP2. Our result suggested that enhancement of plant growth and drying injury reduction of kale plants were involved in kale root colonization by *B. velezensis* YP2, which might be contributed to increasing water availability of plants. Consequentially, the use of *B. velezensis* YP2 might be a beneficial influence for improving productivity of kale plants under drying stress conditions.

Key words : *Bacillus velezensis*, drying stress, plant growth-promotion, root colonization

* 본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 연구과제(과제번호 : PJ01004904)에 의해 수행되었습니다.

** 농촌진흥청 국립농업과학원

*** Corresponding author, 농촌진흥청 국립농업과학원, +82632383048(lsy2014@korea.kr)

I. 서 론

농업생태계 내의 식물은 생물적 스트레스와 비생물적 스트레스 또는 이 두 가지 스트레스의 결합에 노출된다(Ramegowda et al., 2015; Yoo and Sang, 2017). 쌈채소(Leafy vegetables)에 발생하는 생물적 장애 중 하나로는 시설재배에서 환기가 잘 이루어지지 않을 때 많이 발생하는 흰가루병이 있으며, 비생물적 장애로는 고온, 가뭄, 한발, 열, 염분, 중금속, 빛, UV 등 여러 가지 환경적 요인이 있다(Jee et al., 2008; Zandalinas et al., 2017). 여름철 높은 일사량과 고온에 의한 토양 건조 스트레스는 신선한 쌈채소를 수확하기 어렵게 만들고 유통 과정을 거치면서 신선도는 더욱 저하되어 물량부족 및 가격 폭등의 원인이 되기도 한다. 건조 스트레스로 인한 식물대사 기능 저하와 광합성 색소의 손상으로 인한 동화작용 억제는 작물 수확량 감소의 원인이 된다(Jaleel et al., 2009). 생물적·비생물적 스트레스의 극복 방안으로서 화학적으로 합성된 비료, 농약, 성장조절제 등이 있다. 그러나 쌈채소는 주로 씹이나 샐러드용으로 재배되어 가열조리 없이 그대로 섭취하기 때문에 무농약 고품질, 안전농산물에 대한 소비자 수요가 가장 많은 농산물 중 하나이다(Namgung et al., 2014).

미생물은 친환경 농업에서 농약의 대체 가능한 대안으로서 큰 역할을 하고 있다(Fravel, 2005; Bhardwaj et al., 2014; Borriss, 2015; Gupta et al., 2015). 미생물체는 식물병 또는 해충 방제에 효과를 나타내는 세균, 진균, 바이러스 등으로 만든 제품을 일컬으며, 병해충 방제 외에도 농업에 이용할 수 있는 영역은 토양개량, 병해방제, 유기물 분해촉진, 양·수분 흡수 촉진, 생육촉진 및 제초 등이 있다(Johansson et al., 2004; Khan et al., 2007; Chandler et al., 2008). 주로 식물의 근권으로부터 분리된 세균 또는 진균이 유용한 농업미생물로서 이용되었고 최근에는 내생미생물을 활용하고자 하는 연구가 많이 이루어지고 있다(Nejad and Johnson, 2000; Compant et al., 2010). 내생미생물은 식물 뿌리나 잎에 내생하는 미생물로 식물과 다양한 메커니즘으로 공생관계를 유지하며, 식물은 내생미생물을 위한 영양분과 주거지를 제공하고, 내생미생물은 여러 가지 기작으로 식물 성장을 도움으로서 상보적인 관계를 형성한다(Doty, 2011). 미생물이 식물의 성장을 돕는 방법으로 인산가용화, 질소고정, 식물성장촉진 호르몬 생산 등 생물비료기작이 알려져 있으며 그 외에도 용균작용, 기생작용, 공간이나 양분 경쟁을 통한 길항작용, 항생물질 생산, 병저항성 유도 등 생물방제기작으로 알려진 방법으로 식물 성장을 간접적으로 돕는다(Mahaffee and Backman, 1993; Szczech and Shoda, 2006; Haggag and Timmusk, 2008; Park et al., 2010; Abd El Daim et al., 2015). 내생미생물은 숙주 식물과 관계를 형성하는 과정에서 식물병해충의 효율적인 생물적 방제 또는 작물 수확량 증진에 이용될 가능성이 있어 미생물의 농업적 활용도를 높일 수 있을 것이다(Ryan et al., 2008).

한편 농업생태계에 미생물을 적용할 때에는 여러 가지 예상치 못한 환경적 요인에 의해 실험실에서 보였던 미생물의 효과를 얻지 못할 가능성이 항상 존재한다(Gerhardson and

Larsson, 1991; Hornby et al., 1993; Tahvonen et al., 1995; Almaghrabi et al., 2013; Sarbadhikary et al., 2017). 환경에 따른 미생물의 가변적인 효과는 앞으로 보완되어야 할 부분 중 가장 중요한 부분이다. 미생물 처리에서 효과를 내기 위해서는 미생물이 해당 생태계에 정착하여 일정 밀도 이상을 유지해야한다(Baker et al., 1968, Haggag and Timmusk, 2008; Krzyzanowska et al., 2012; Liu et al., 2014). 토양에 처리할 경우 미생물은 근권에 생물막(Biofilm)을 형성하여 정착함으로써 식물과 상호작용하고 유용한 역할을 한다. 미생물의 생물막 형성은 식물 뿌리 삼출물이나 미생물이 분비하는 항균물질 또는 생물적·비생물적 스트레스 환경에 미생물이 노출되었을 때 촉진될 수 있다(Pandin et al., 2017). 그러나 미생물 처리에 의한 미생물-토착미생물-식물의 상호작용과 토양미생물 군집구조 변화에 미치는 영향 등에 대한 연구가 부족하며, 포장 조건에서 처리된 미생물의 생태와 작용범위를 정확히 모니터링 하는 것 또한 방법론적인 면에서 부족한 부분이 많아 이에 대한 분석과 평가가 세밀하게 이루어져야 할 것이다(Singh et al., 2016).

본 연구에서는 *Bacillus velezensis* YP2 균주를 케일에 처리했을 때 생육촉진과 건조 스트레스에 대한 내성 증진 효과가 있는지 분석하였다. *B. velezensis* YP2 균주는 토마토 엽권에서 분리된 균주로서 썸채류 흰가루병 병원균인 *Erysiphe cruciferarm*에 대하여 방제 효과가 있다(Lee et al., 2016). 병 방제 효과가 있는 미생물의 생육촉진과 환경내성 증진 효과를 구명함으로써 미생물의 다양한 기능을 평가하고 이를 기반으로 하여 보다 효과적인 유용미생물의 현장적용 방법개발에 활용할 수 있을 것으로 기대한다.

II. 재료 및 방법

1. *Bacillus velezensis* YP2 균주의 배양

배추, 겨자채 등의 흰가루병 병원균인 *Erysiphe cruciferarm*에 대해 방제 활성이 있는 *Bacillus velezensis* YP2 KACC92130P는 토마토 잎에서 분리되었다(Lee et al., 2016). *B. velezensis* YP2 균주를 Tryptic Soy Agar (TSA; Difco) 배지에 희석 도말하여 28°C에서 24시간 동안 배양한 후 단일 콜로니를 Tryptic Soy Broth (TSB; Difco) 배지에 접종하고 28°C에서 150 rpm으로 48시간 동안 배양하였다. 배양액은 8,000 rpm으로 15분 간 원심분리한 후 상층액을 제거하여 균체를 수거하였다. 수거한 균체는 멸균수로 희석하여 사용하였다. 또한 균체 현탁액을 토양에 처리했을 때 흘러내리지 않고 스며들 수 있도록 처리 전날부터 작물의 토양 수분 상태를 관리하였다.

2. *B. velezensis* YP2 균주의 케일 생육촉진 및 건조내성 증진 효과(온실 검정)

B. velezensis YP2 균주의 케일유묘에 대한 생육촉진을 검정하기 위해 바로커상토(Seoul Bio Co., Korea)를 이용하여 32공 트레이에 케일(*Brassica oleracea* var. *alboglabra* Bailey, Asia Seed Co., Korea)을 파종하였다. 본엽이 3매 전개된 케일에 YP2 균주 처리구는 주당 50 mL 씩 10^7 cell mL⁻¹ 농도의 균체 현탁액을 관주 처리하였고, 무처리구에는 증류수를 같은 양으로 처리하였다(n=8). 균주 처리 2주 후 케일의 생육조사 항목은 초장, 엽장, 엽폭, 엽수, 근장, 지상부 생체중, 뿌리 생체중을 측정하였다. 조사 항목 중 엽장과 엽폭은 길이가 가장 큰 엽을 측정하였다.

YP2 균주에 의한 건조내성 증진 효과를 검정하기 위해 위와 같은 방법으로 32공 트레이에 파종한 케일에 균체 현탁액을 주당 50 mL씩 10^6 cell mL⁻¹ 또는 10^7 cell mL⁻¹ 농도로 관주 처리하였고 무처리구에는 증류수를 같은 양으로 처리하였다(n=12). 균주 처리 10일 후부터 7일간 관수하지 않는 건조 스트레스를 주었고 7일 후 모든 처리구에 증류수를 주당 50 mL 처리하였다. 그 후 7일간 건조 스트레스를 주었고 균주 처리 24일 후 피해도를 조사하였다. 건조 내성 증진 효과는 Table 1을 기준으로 피해의 범위를 0~5단계로 나누어 조사하였다. 조사 결과는 다음 계산식 (1)에 의해 결과 값을 %로 환산하였으며 건조 피해를 받지 않고 건강한 식물의 피해도는 0%, 고사한 식물의 피해도는 100%로 나타내었다.

Table 1. Severity scale of drying stress injury and extent of damage

Severity scale of drying stress injury	Extent of damage
0	healthy
1	1-10% damage
2	11-25% damage
3	26-50% damage
4	51-80% damage
5	>80% damage or death

$$Injury\ severity\ (\%) = \frac{Sum\ of\ all\ injury\ rating}{Total\ No.\ of\ rating \times Max.\ injury\ grade} \times 100 \quad (1)$$

3. *B. velezensis* YP2 균주의 케일 생육촉진 및 건조내성 증진 효과(시설하우스 포장 검정)

YP2 균주에 의한 케일 건조내성 증진 효과를 검정하기 위해 파종 후 3주 된 케일을 국립농업과학원 농업생물부 시설하우스 시험포장(완주, 35°49'33.99"N, 127°2'39.89"E)에 정식하

였다. YP2 균주의 균체 현탁액을 10^7 cell mL⁻¹ 농도로 주당 100 mL씩 2주 간격으로 관주 2회 처리하였고, 무처리구에는 같은 양의 물을 처리하였다. 최종 균주처리 시점(0일)부터 관수하지 않고 건조 스트레스를 주었고 케일 시료를 채취하여 생육조사 및 상대수분함량(RWC; relative water content (%))을 조사하였다(최종 균주처리 후 건조 스트레스 4, 7, 10, 14일). 상대수분함량은 식물의 수분 함유량을 나타내는 값으로서 물 부족 스트레스를 받는 식물의 생리학적 상태를 평가하는 중요한 지표이다(Lawlor and Cornic, 2002; Saeidi and Zabih, 2009; Goltsev et al., 2012). 건조 스트레스에 의해 상대수분함량 값이 감소하면 세포 팽압 감소와 잎 조직의 수분포텐셜 감소와 같은 생리학적 변화로 인해 세포막 손상, 기공 폐쇄, CO₂ 농도 감소 등 광합성을 저해하게 된다(Kalaji and Nalborczyk et al., 1991; Hoekstra et al., 2001; Reddy et al., 2004; Rascio and Rocca, 2005). 상대수분함량을 분석하기 위해 본3엽의 동일부위에서 직경 30 mm 코르크보러를 사용해 절취한 잎의 생체중(FW; fresh weight)을 측정하였다. 절취한 잎은 멸균수를 첨가하여 포화 수분상태가 되도록 4°C, 암조건에서 1시간 동안 처리한 후 포화중(TW; turgid weight)을 측정한 후, 60°C에서 48시간 건조하여 건물중(DW; dry weight)을 측정하였고 다음 계산식 (2)에 의해 결과 값을 %로 나타내었다.

$$RWC(\%) = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100 \quad (2)$$

4. *B. velezensis* YP2 균주의 근권 및 뿌리 정착을 조사

B. velezensis YP2 균주의 관주처리에 의한 케일 근권 및 뿌리 정착을 평가하기 위해 배양 방법에 의하여 상대 정량하였다. 본엽이 3~4매 전개된 케일에 주당 10^7 cell mL⁻¹ 농도의 YP2 균주의 균체 현탁액 50 ml를 관주 처리하고 무처리구에는 증류수를 같은 양 처리하였다. 처리 전과 직후 그리고 7일 간격으로 3회 케일 시료를 채취하여 균밀도를 조사하였다(n=3). 균밀도는 근권 균밀도(log cfu g⁻¹ soil)와 뿌리 균밀도(log cfu g⁻¹ root)를 각각 조사하였다. 근권 토양의 균밀도를 조사하기 위해 붓을 100% 에탄올에 담가 5분간 흔들어 행구고 무균대에서 6시간 이상 건조한 후 케일 뿌리로부터 2 mm 내외에 붙어있는 토양을 붓으로 긁어모았다. 모은 토양의 0.1 g은 멸균 15 ml 튜브에 담아 멸균수 10 ml를 첨가하고 균질기로 충분히 혼합하여 28°C, 180 rpm에서 15~16시간 진탕한 후 단계희석액을 TSA 배지에 도말하여 28°C에서 48시간 배양 후 계수하였다(CFU mL⁻¹; Colony forming unit mL⁻¹). 뿌리 균밀도를 조사하기 위해 뿌리에 붙어 있는 토양 등의 이물질을 물로 씻어내고 75% 에탄올, 2% NaClO, 멸균수로 뿌리표면을 살균하였다. 표면 살균한 뿌리를 멸균한 막자사발과 막자로 같은 뒤 뿌리 0.1 g을 15 ml tube에 넣고 위와 같은 방법으로 처리하고 배양한 뒤 계수하였다(CFU mL⁻¹).

5. 통계분석

통계분석은 R 통계 프로그램(ver. 3.4.1)을 이용하였으며, 처리구 간 평균의 유의차 검증은 $\alpha=0.05$ 수준에서 T-검정(Student's t-test) 하였다. 처리구 내의 평균 간 유의차 검증은 분산분석(analysis of variance, ANOVA) 후, $\alpha=0.05$ 수준에서 던칸의 다중 범위 검정법(Duncan's multiple-range test)을 실시하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. *Bacillus velezensis* YP2 균주의 케일 생육촉진 및 건조내성 증진 효과(온실 검정)

B. velezensis YP2 균주의 케일 생육 촉진 효과를 검정한 결과, YP2 처리구는 무처리구와 비교하여 초장 26.7%, 근장 30.7%, 지상부 생체중 142.2% 증가하였다(Fig. 1). YP2 균주 처리구의 초장과 지상부 생체중 값의 증가는 무처리구와 비교하여 통계적인 차이가 있었다. 케일의 근장은 YP2 처리구에서 무처리구에 비해 증가하였지만 통계적인 차이는 없었다.

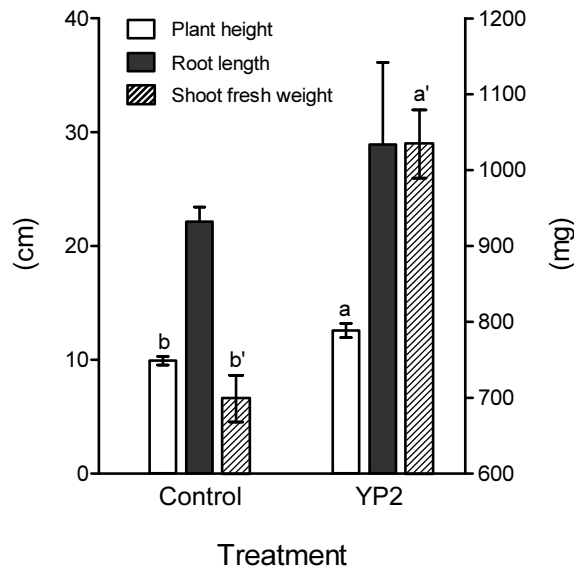


Fig. 1. Plant growth promotion effect of kale plant by *Bacillus velezensis* YP2.

Plant height (cm), root length (cm) and shoot fresh weight (mg); Means \pm standard error (n=8) are presented as bars, which show how the data are spread. Bars with lowercase letters are significantly different between treatments; $p<0.05$ using Student's t-test.

B. velezensis YP2 균주 처리에 의한 케일의 내건성을 검정한 결과, 10^6 또는 10^7 cell mL⁻¹ 농도의 균체 현탁액을 처리했을 때 무처리구와 비교하여 내건성 증진 효과가 있었다(Fig. 2).

B. velezensis YP2 균체 현탁액 10^7 cell mL⁻¹ 농도 처리구에서는 건조 스트레스 피해도가 50.0%로, 무처리구의 피해도(82.5%)와 비교했을 때 39.4% 감소하였고 통계적인 차이가 있었다. 따라서 *B. velezensis* YP2 균체 현탁액을 10^7 cell mL⁻¹ 농도로 처리했을 때 케일의 생장을 향상시키는 동시에 건조 스트레스 경감에 효과가 있는 것으로 생각된다.

한편 *B. velezensis* YP2 균체 현탁액 10^6 cell mL⁻¹ 농도 처리구와 무처리구에서는 건조 스트레스 유발 7일 후까지 지상부가 시드는 건조 피해가 빠르게 발생하였다(Fig. 2). 증류수를 재 관수했을 때 무처리구에서 케일의 위조는 대부분 회복되지 못하였으나, 이와 대조적으로 *B. velezensis* YP2 균체 현탁액 10^6 cell mL⁻¹ 농도 처리구에서는 재 관수 시점 이후 일부 케일에서 위조가 회복되어 건조 피해도가 72.5%로 무처리구의 피해도와 비교하여 12.1% 감소하였다.

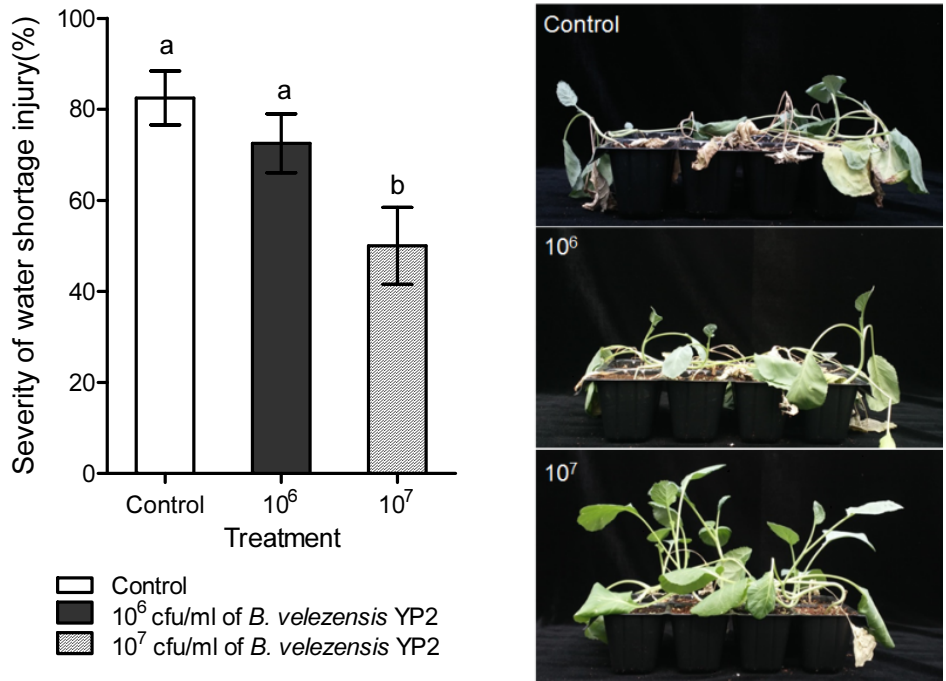


Fig. 2. Soil drying tolerance effect of *B. velezensis* YP2 for two weeks on kale plant.

Severity of water shortage injury (%); Means ± standard error (n=12) are presented as bars, which show how the data are spread. Bars with lowercase letters are significantly different between treatments; $p < 0.05$ using Duncan's multiple range test.

*B. velezensis*에 의한 식물 생육촉진 효과는 다른 연구에서도 보고되었다. *B. velezensis* BAC03은 당근, 오이, 고추, 감자, 무 등의 작물에서 생장촉진 효과가 있으며, IAA (indole-3-acetic acid)와 NH_3 을 생성하고 ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid) deaminase 활성을 갖는다고 보고된 바 있다(Palencia et al., 2015; Meng et al., 2016). *B. velezensis* GH1-13 균주는 작물의 생육촉진과 병 방제에 모두 효과가 있어 다기능 미생물체로서의 가능성이 있지만 실제 현장 적용성 평가가 필요하다고 하였다(Kim et al., 2016). *Bacillus* sp.에 의한 건조 내성 증진 효과도 보고되었는데, *B. licheniformis* K11 균주는 ACC deaminase를 생산하여 가뭄 조건에서 뿌리와 지상부 생육을 억제하는 식물 호르몬인 에틸렌의 농도를 감소시키며 *B. thuringiensis* AZP2 균주도 가뭄 조건에서 식물 생육을 촉진한다고 하였다(Lim et al., 2013; Timmusk et al., 2014; Rubin et al., 2017). 그러나 *Bacillus* sp.의 식물 생육촉진과 건조내성 등 환경스트레스 경감 효과는 대부분 실험실이나 온실 조건에서 검증된 것으로서, 포장에서 처리했을 때에도 같은 효과가 있는지 검증이 요구되고 있다.

2. 시설하우스 포장에서 *B. velezensis* YP2 균주의 케일 건조 스트레스 경감 효과

시설하우스 포장에서 *B. velezensis* YP2 균주에 의한 건조 스트레스 경감 효과를 검증하기 위해 케일 생육과 상대수분함량을 분석하였다. 케일 생육 조사 결과, 무처리구와 비교하여 *B. velezensis* YP2 균주 처리구의 초장은 10.3%, 생체중은 21.7% 증가하였다(데이터 미첨부). 상대수분함량 조사 결과, *B. velezensis* YP2 균주 처리구의 상대수분함량 값은 0일과 4일에 무처리구와 비교하여 각각 통계적인 차이가 없었다(Fig. 3). 건조 스트레스 처리 7일 후 *B. velezensis* YP2 균주 처리구의 상대수분함량은 -1, 0일과 비교하여 큰 변화가 없었던 반면, 무처리구의 상대수분함량은 88.1%로 감소되었기 때문에 *B. velezensis* YP2 균주 처리구는 무처리구보다 상대수분함량이 4.9% 높은 통계적인 차이가 있었다. 한편 5일부터 14일까지 내린 평균 11.7 mm 강우의 영향으로 시설하우스 주변으로 스며든 물이 포장 내의 토양으로 스며들었을 것이다. 5, 9, 10일에 내린 평균 22.2 mm 강우의 영향으로 10일에 무처리구의 상대수분함량이 7일에 비해 증가하여 92.3%로 증가하였고, *B. velezensis* YP2 균주 처리구의 상대수분함량은 94.0%로 증가하여 무처리구보다 유의하게 높았다. 14일에도 *B. velezensis* YP2 균주 처리구의 상대수분함량이 무처리구보다 4.8% 높은 통계적인 차이가 있었다. 따라서 *B. velezensis* YP2 균주 처리구에서 상대수분함량이 높아 케일의 토양수분 이용률이 무처리구보다 높은 것으로 생각되었다.

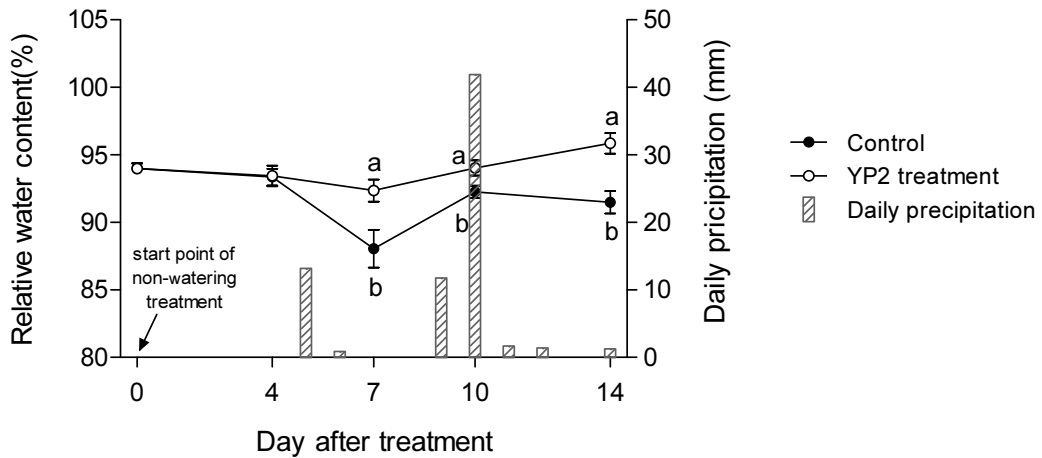


Fig. 3. Relative water content of kale leaves treated with *B. velezensis* YP2 under drying stress.

Means ± standard error (n=12) are presented as bars, which show how the data are spread. Bars with lowercase letters are significantly different between treatments; p<0.05 using Duncan's multiple range test.

3. *B. velezensis* YP2 균주의 케일 근권 및 뿌리 정착능

B. velezensis YP2 균주를 케일에 관주 처리한 후 근권과 뿌리의 세균을 상대 정량 분석한 결과, *B. velezensis* YP2 균주 처리 전(-1일)에 뿌리 균밀도는 1.5×10^4 cfu·root g⁻¹, 근권 균밀도는 8.2×10^6 cfu·soil g⁻¹로 나타나, 총 균밀도는 8.2×10^6 cfu·(root+soil)g⁻¹로 조사되었다(Fig. 4). 여러 연구 결과에 의하면, 배양적 방법에 의한 식물 근권(Rhizosphere)의 균밀도는 $10^7 \sim 10^9$ cfu·soil g⁻¹, 뿌리 표면조직(Rhizosphere)의 균밀도는 $10^5 \sim 10^7$ cfu·root g⁻¹인 반면, 뿌리 내권(Root endosphere)의 균밀도는 $10^2 \sim 10^3$ cfu·root g⁻¹으로 알려져 있다(Benizri et al., 2001; Bais et al., 2006; Long et al., 2010).

B. velezensis YP2 균주 처리 직후(0일) 근권 균밀도는 2.0×10^7 cfu·soil g⁻¹으로 무처리구와 비교하여 2.9배 증가하였다(Fig. 4). 그러나 0일에 뿌리 균밀도는 *B. velezensis* YP2 균주 처리구와 무처리구 간에 통계적인 차이가 없었다. 7일 후 *B. velezensis* YP2 균주 처리구의 뿌리 균밀도는 2.3×10^6 cfu·root g⁻¹으로 무처리구(5.6×10^2 cfu·root g⁻¹)와 비교하여 통계적인 증가가 있었다. 그러나 전체 조사 기간에서 무처리구의 근권 균밀도 및 뿌리 균밀도 간에는 통계적인 변화를 보이지 않았다.

B. velezensis YP2 균주 처리구에서 뿌리 균밀도는 처리 전(-1일)과 비교하여 7일에 약 180배 증가하였다. *B. velezensis* YP2 균주 처리구에서 전체 조사 시간 중 14일에 가장 높은 총 균밀도를 나타내었는데, 근권 균밀도(3.8×10^7 cfu·root g⁻¹)와 뿌리 균밀도(1.9×10^7 cfu·root g⁻¹)는 -1, 0, 7일의 근권 및 뿌리 균밀도 비교하여 각각 통계적인 증가가 있었다. 특히

14일에 *B. velezensis* YP2 균주 처리구의 총 균밀도는 -1일과 비교하여 약 7배 증가하였다. 또한 14일에 *B. velezensis* YP2 균주 처리구의 뿌리 균밀도는 0일과 비교하여 약 1,200배 증가하였다. *B. velezensis* YP2 균주 처리구의 총 균밀도는 14일까지 지속적으로 증가하다가 21일부터 감소하기 시작하였다. 21일에 *B. velezensis* YP2 균주 처리구의 근권 균밀도는 14일과 비교하여 유의한 변화가 없었으나, 뿌리 균밀도는 약 70배 감소하였다(2.7×10^5 cfu·root g⁻¹).

본 연구에서 *B. velezensis* YP2 균주 처리에 의한 케일의 생육 촉진과 건조 내성 증진 효과는 근권균과 뿌리 내생균의 개체 수 증가와 양의 상관관계가 있는 것으로 보아, *B. velezensis* YP2 균주 처리가 생육 촉진과 건조 내성 증진에 관계가 있다고 생각한다. 식물 근권은 다양한 PGPB (Plant growth-promotion bacteria)의 서식지이며, 근권에 정착한 일부 미생물들은 뿌리 내부 조직으로 들어갈 수 있다고 알려져 있다. 뿌리에 서식하는 내생세균들은 주로 근권으로부터 유래한 것이며 식물의 많은 생리화학적 과정에 영향을 미친다고 알려져 있다 (Sturz and Nowak, 2000; Hardoim et al., 2008). *B. velezensis* YP2 균주 처리에 의해 근권균과 뿌리 내생균의 개체 수가 증가한 것은 이와 같은 맥락으로 보이며, 특히 *B. velezensis* YP2 균주 처리 후 14일째에 뿌리내생균이 0일과 비교하여 약 1,000배 이상 증가한 것은 *B. velezensis* YP2 균주가 근권과 뿌리에 대한 우수한 정착능을 가짐으로써 케일 생육 촉진과 건조 내성 증진에 영향을 준다고 생각한다.

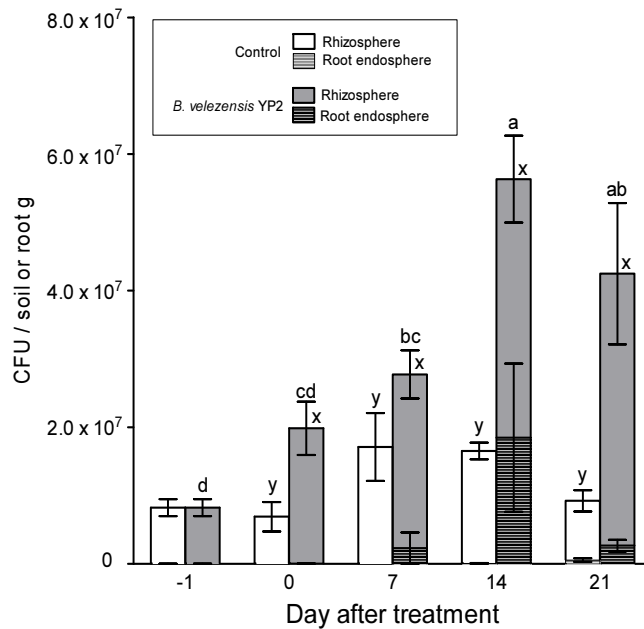


Fig. 4. Root-colonization ability of *Bacillus velezensis* YP2 on kale plant.

Means \pm standard error (n=12) are presented as bars, which show how the data are spread. Bars with lowercase letters are significantly different between treatments; $p < 0.05$ using Duncan's multiple range test.

Xu 등(2014)은 식물 뿌리의 분비물이 *B. amyloliquefaciens* SQR9의 주화성과 bacillomycin D의 생산을 유도하여 SQR9 균주의 생물막 형성 촉진 및 근권 정착을 유도한다고 보고한 바 있다. 또한 Zhou 등(2016)은 식물의 이병조작으로부터 분비되는 GltB가 *B. subtilis* Bs916의 bacillomycin L과 surfactant 생산을 유도하여 생물막 형성을 촉진한다고 보고한 바 있다. 이처럼 식물의 뿌리 분비물이나 생물적 스트레스에 의해 미생물의 근권 정착이 유도된다는 점에서 볼 때, 추후 연구를 통해 *B. velezensis* YP2의 근권 정착을 지속화할 수 있다면 식물 생육 촉진능과 건조 내성 유도능을 이용한 식물의 통합적인 재배관리에 *B. velezensis* YP2 균주를 더욱 유용하게 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

IV. 요약

전 세계적인 지구 온난화로 인한 가뭄은 농작물의 생산성을 저해하는 주요 원인 중 하나이며, 고온과 건조가 복합적으로 작용하여 식물 성장을 감소시킨다. 본 연구에서는 *Bacillus velezensis* YP2 균주의 식물 생육촉진 및 건조 스트레스 내성 증진 효과를 온실과 시설하우스 포장에서 조사하였다. 또한 *B. velezensis* YP2 균주의 처리 전과 후 케일 근권과 뿌리에 배양법에 의한 상대 정량 방법으로 *B. velezensis* YP2 균주의 근권 및 뿌리 정착능을 분석하였다. 온실 검정 결과 YP2 균주 처리구에서는 무처리구와 비교하여 케일 유묘의 초장 26.7% 및 지상부 생체중 142.2% 증가시키는 효과가 있었다. 또한 *B. velezensis* YP2 처리구에서는 무처리구와 비교하여 39.4%의 건조 피해 경감 효과가 있었다. 시설하우스 포장 검정 결과에서도 *B. velezensis* YP2 균주 처리에 의한 케일의 성장촉진 효과와 건조 스트레스 내성 증진 효과가 있었으며, *B. velezensis* YP2 처리구에서 케일 잎의 상대수분함량이 무처리구와 비교하여 7, 10, 14일에 모두 높은 것으로 나타났다. *B. velezensis* YP2 균주의 뿌리 정착능 분석 결과, 균주 처리 21일까지 케일 근권 및 뿌리 균밀도가 무처리구와 비교하여 *B. velezensis* YP2 처리구에서 유의하게 높은 것으로 나타났다. 따라서 균주 처리 후 최소한 21일이 경과할 때까지 *B. velezensis* YP2 균주가 케일 근권과 뿌리에 정착하여 식물과 상호 작용함으로써 생육을 촉진하고 식물의 물 이용률을 증가시켜 건조 스트레스 내성을 증진하는 데 관련이 있을 것으로 판단된다. 본 연구 결과를 통하여 *B. velezensis* YP2 균주는 가뭄으로 인한 건조한 토양 조건에서 작물 생산성을 향상시키는 가능성이 있는 유용한 미생물로 이용할 수 있을 것으로 생각된다.

References

1. Almaghrabi, O. A., S. I. Massoud, and T. S. Abdelmoneim, 2013. Influence of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on tomato plant growth and nematode reproduction under greenhouse conditions. *Saudi J. Biol. Sci.* 20(1): 57-61.
2. Bais, H. P., T. L. Weir, L. G. Perry, S. Gilroy, and J. M. Vivanco. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57: 233-266.
3. Baker, R. 1968. Mechanisms of biological control of soil-borne pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 6(1): 263-294.
4. Benizri, E., E. Baudoin, and A. Guckert. 2001. Root colonization by inoculated plant growth-promoting rhizobacteria. *Biocontrol Sci. Technol.* 11(5): 557-574.
5. Bhardwaj, D., M. W. Ansari, R. K. Sahoo, and N. Tuteja. 2014. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microb. Cell Fac.* 13(1): 66.
6. Borriss, R. 2015. *Bacillus*, a plant-beneficial bacterium. *Principles of Plant-Microbe Interactions*. Springer. 379-391.
7. Chandler, D., G. Davidson, W. Grant, J. Greaves, and G. Tatchell. 2008. Microbial biopesticides for integrated crop management: an assessment of environmental and regulatory sustainability. *Trends Food Sci. Technol.* 19(5): 275-283.
8. Choudhury, F. K., R. M. Rivero, E. Blumwald, and R. Mittler. 2017. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. *Plant J.* 90(5): 856-867.
9. Compant, S., C. Clement, and A. Sessitsch. 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biol. Biochem.* 42(5): 669-678.
10. Doty, S. L. 2011. Growth-promoting endophytic fungi of forest trees. *For. Sci.* 80: 151-156.
11. El Daim, I. A. A., P. Häggblom, M. Karlsson, E. Stenström, and S. Timmusk. 2015. *Paenibacillus polymyxa* A26 Sfp-type PPTase inactivation limits bacterial antagonism against *Fusarium graminearum* but not of *F. culmorum* in kernel assay. *Front. Plant Sci.* 6.
12. Fravel, D. 2005. Commercialization and implementation of biocontrol 1. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43: 337-359.
13. Gerhardson, B. and M. Larsson. 1991. Effects of *Trichoderma* and other fungal antagonists on the incidence of fungal pathogens. *Biotic interactions and soil-borne diseases.* 121-128.
14. Goltsev, V., I. Zaharieva, P. Chernev, M. Kouzmanova, H. M. Kalaji, I. Yordanov, V.

- Krasteva, V. Alexandrov, D. Stefanov, and S. I. Allakhverdiev. 2012. Drought-induced modifications of photosynthetic electron transport in intact leaves: analysis and use of neural networks as a tool for a rapid non-invasive estimation. *Biochim. Biophys. Acta, Bioenergetics* 1817(8): 1490-1498.
15. Gupta, G., S. S. Parihar, N. K. Ahirwar, S. K. Snehi, and V. Singh. 2015. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): current and future prospects for development of sustainable agriculture. *J. Microb. Biochem. Technol.* 7(2): 096-102.
 16. Haggag, W. and S. Timmusk. 2008. Colonization of peanut roots by biofilm-forming *Paenibacillus polymyxa* initiates biocontrol against crown rot disease. *J. Appl. Microbiol.* 104(4): 961-969.
 17. Hardoim, P. R., L. S. van Overbeek, and J. D. van Elsas. 2008. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends Microbiol.* 16(10): 463-471.
 18. Hoekstra, F. A., E. A. Golovina, and J. Buitink. 2001. Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends Plant Sci.* 6(9): 431-438.
 19. Hornby, D., G. Bateman, R. Payne, M. Brown, D. Henden, and R. Campbell. 1993. Field tests of bacteria and soil-applied fungicides as control agents for take-all in winter wheat. *Ann. Appl. Biol.* 122(2): 253-270.
 20. Jaleel, C. A., P. Manivannan, A. Wahid, M. Farooq, H. J. Al-Juburi, R. Somasundaram, and R. Panneerselvam. 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. *Int. J. Agric. Biol.* 11(1): 100-105.
 21. Jee, H.-J., K.-Y. Ryu, J.-H. Park, D.-H. Choi, G.-H. Ryu, J.-G. Ryu, and S.-S. Shen. 2008. Effect of COY (Cooking oil and yolk mixture) and ACF (Air-circulation fan) on control of powdery mildew and production of organic lettuce. *Korean Soc. Plant Pathol.* 14(1): 51-56.
 22. Johansson, J. F., L. R. Paul and R. D. Finlay. 2004. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiol. Ecol.* 48(1): 1-13.
 23. Kalaji, H. and E. Nalborczyk. 1991. Gas exchange of barley seedlings growing under salinity stress. *Photosyn.* 25(2): 197-202.
 24. Khan, M. S., A. Zaidi, and P. A. Wani. 2007. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture — a review. *Agron. Sustain. Dev.* 27(1): 29-43.
 25. Kim, S. Y., M. K. Sang, H.-Y. Weon, Y.-A. Jeon, J. H. Ryoo, and J. Song. 2016. Characterization of multifunctional *Bacillus* sp. GH1-13. *Korean J. Pestic. Sci.* 20(3): 189-196.
 26. Krzyzanowska, D., M. Obuchowski, M. Bikowski, M. Rychlowski, and S. Jafra. 2012. Colonization of potato rhizosphere by GFP-tagged *Bacillus subtilis* MB73/2, *Pseudomonas*

- sp. P482 and *Ochrobactrum* sp. A44 shown on large sections of roots using enrichment sample preparation and confocal laser scanning microscopy. *Sens.* 12(12): 17608-17619.
27. Lawlor, D. W. and G. Cornic. 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell Environ.* 25(2): 275-294.
 28. Lee, S. Y., H. Y. Weon, J. J. Kim, and J. H. Han. 2016. Biocontrol of leaf mustard powdery mildew caused by *Erysiphe cruciferarm* using *Bacillus velezensis* YP2. *Korean J. Pestic. Sci.* 20(4): 369-374.
 29. Lim, J.-H. and S.-D. Kim. 2013. Induction of drought stress resistance by multi-functional PGPR *Bacillus licheniformis* K11 in pepper. *Plant pathol. J.* 29(2): 201.
 30. Liu, Y., N. Zhang, M. Qiu, H. Feng, J. M. Vivanco, Q. Shen, and R. Zhang. 2014. Enhanced rhizosphere colonization of beneficial *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 by pathogen infection. *FEMS Microbiol. Lett.* 353(1): 49-56.
 31. Long, H. H., D. G. Sonntag, D. D. Schmidt, and I. T. Baldwin. 2010. The structure of the culturable root bacterial endophyte community of *Nicotiana attenuata* is organized by soil composition and host plant ethylene production and perception. *New Phytol.* 185(2): 554-567.
 32. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs (MAFRA). 2017. Status and production of vegetable plants in greenhouse 2016. Horticulture and Industry Division. MAFRA. 99-116.
 33. Mahaffee, W. F. and P. A. Backman. 1993. Effects of seed factors on spermosphere and rhizosphere colonization of cotton by *Bacillus subtilis* GB03. *Phytopathol.* 83(10): 1120-1125.
 34. Meng, Q., H. Jiang, and J. J. Hao. 2016. Effects of *Bacillus velezensis* strain BAC03 in promoting plant growth. *Biol. Control.* 98: 18-26.
 35. Namgung, M., B. S. Kim, S. J. Heo, Y. B. Choi, J. H. Hur, and D. H. Park. 2014. Assessment of pre-harvest environmental factors in domestic production of organic lettuce. *Korean J. Pestic. Sci.* (2): 88-94.
 36. Nejad, P. and P. A. Johnson. 2000. Endophytic bacteria induce growth promotion and wilt disease suppression in oilseed rape and tomato. *Biol. Control.* 18(3): 208-215.
 37. Palencia, P., F. Martínez, M. Pestana, J. A. Oliveira, and P. J. Correia. 2015. Effect of *Bacillus velezensis* and *Glomus intraradices* on fruit quality and growth parameters in strawberry soilless growing system. *Hort. J.* 84(2): 122-130.
 38. Pandin, C., D. Le Coq, A. Canette, S. Aymerich, and R. Briandet. 2017. Should the biofilm mode of life be taken into consideration for microbial biocontrol agents? *Microb. Biotechnol.* 10(4): 719-734.

39. Park, J.-W., S. Jahagirdar, Y.-E. Cho, K.-S. Park, S.-H. Lee, and K.-S. Park. 2010. Evaluation of *Bacillus subtilis* native strains for plant growth promotion and induced systemic resistance in tomato and red-pepper. *Korean J. Pestic. Sci.* 14(4): 407-414.
40. Ramegowda, V. and M. Senthil-Kumar. 2015. The interactive effects of simultaneous biotic and abiotic stresses on plants: mechanistic understanding from drought and pathogen combination. *J. Plant Physiol.* 176: 47-54.
41. Rascio, N. and N. L. Rocca. 2005. Resurrection plants: the puzzle of surviving extreme vegetative desiccation. *Critic. Rev. Plant Sci.* 24(3): 209-225.
42. Reddy, A. R., K. V. Chaitanya, and M. Vivekanandan. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J. Plant Physiol.* 161(11): 1189-1202.
43. Rubin, R. L., K. J. van Groenigen, and B. A. Hungate. 2017. Plant growth promoting rhizobacteria are more effective under drought: a meta-analysis. *Plant Soil.* 416: 309-323.
44. Ryan, R. P., K. Germaine, A. Franks, D. J. Ryan, and D. N. Dowling. 2008. Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS Microbiol. Lett.* 278(1): 1-9.
45. Saeidi, M. and R. Zabih-e-Mahmoodabad. 2009. Evaluation of drought stress on relative water content and chlorophyll content of sesame (*Sesamum indicum* L.) genotypes at early flowering stage. *Res. J. Environ. Sci.* 3(3): 345-350.
46. Sarbadhikary, S. B. and N. C. Mandal. 2017. Field application of two plant growth promoting rhizobacteria with potent antifungal properties. *Rhizosphere.* 3: 170-175.
47. Singh, J. S., S. Koushal, A. Kumar, S. R. Vimal, and V. K. Gupta. 2016. Book review: microbial inoculants in sustainable agricultural productivity-Vol. II: functional application. *Frontiers in Microbiology* 7.
48. Sturz, A. and J. Nowak. 2000. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. *Appl. Soil Ecol.* 15(2): 183-190.
49. Szczech, M. and M. Shoda. 2006. The effect of mode of application of *Bacillus subtilis* RB14C on its efficacy as a biocontrol agent against *Rhizoctonia solani*. *J. Phytopathol.* 154(6): 370-377.
50. Tahvonen, R., A. Hannukkala, and H. Avikainen. 1995. Effect of seed dressing treatment of *Streptomyces griseoviridis* on barley and spring wheat in field experiments. *Agric. Sci. Finland* 4(4): 419-427.
51. Timmusk, S., I. A. A. El-Daim, L. Copolovici, T. Tanilas, A. Kännaste, L. Behers, E. Nevo, G. Seisenbaeva, E. Stenström, and Ü. Niinemets. 2014. Drought-tolerance of wheat improved by rhizosphere bacteria from harsh environments: enhanced biomass production and reduced

- emissions of stress volatiles. PLoS ONE. 9(5): e96086.
52. Xu, Z., R. Zhang, D. Wang, M. Qiu, H. Feng, N. Zhang, and Q. Shen. 2014. Enhanced control of cucumber wilt disease by *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 by altering the regulation of its DegU phosphorylation. Appl. Environ. Microbiol. 80(9): 2941-2950.
 53. Yoo, S.-J. and M. K. Sang. 2017. Induced systemic tolerance to multiple stresses including biotic and abiotic factors by rhizobacteria. Res. Plant Dis. 23(2): 99-113.
 54. Zandalinas, S. I., R. Mittler, D. Balfagón, V. Arbona, and A. Gómez-Cadenas. 2017. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. Physiol. Plant. doi: 10.1111. ppl.12540 (Epub ahead of print).
 55. Zhang, J., J. Yang, P. An, W. Ren, Z. Pan, Z. Dong, G. Han, Y. Pan, S. Pan, and H. Tian. 2017. Enhancing soil drought induced by climate change and agricultural practices: Observational and experimental evidence from the semiarid area of northern China. Agric. For. Meteorol. 243: 74-83.
 56. Zhou, H., C. Luo, X. Fang, Y. Xiang, X. Wang, R. Zhang, and Z. Chen. 2016. Loss of gltB inhibits biofilm formation and biocontrol efficiency of *Bacillus subtilis* Bs916 by altering the production of γ -polyglutamate and three lipopeptides. PLoS ONE. 11(5): e0156247.