

잔디 근권에서 분리한 식물생장촉진 균류

박명수 · 유승현*

충남대학교 농업생명과학대학 응용생물학과

Plant Growth Promoting Fungi Isolated from Rhizosphere of Zoysiagrass in Korea

Myung Soo Park and Seung Hun Yu*

Department of Applied Biology, College of Agriculture and Life Sciences, Chungnam National University, 305-764, Korea

(Received May 9, 2005)

ABSTRACT: Fifteen PGPF (plant growth promoting fungi) isolates were selected from 728 fungal isolates collected from rhizosphere of zoysiagrass in Korea. Identification of the 15 isolates was based on their morphological characteristics. They were classified as *Gliocladium* sp. (n = 1), *Penicillium* sp. (n = 5), *Trichoderma* sp. (n = 3), *Fusarium* sp. (n = 3), and unidentified species (n = 3). Of the 15 isolates, six (PF-31, PF-136, PF-238, PF-255, PF-395, PF-420) significantly promoted the growth of tomato seedlings, and three (PF-31, PF-101, PF-255) also promoted the growth of hot pepper and two (PF-31, PF-225) also promoted the growth of cucumber. The 15 PGPF isolates were divided into 4 groups based on root colonizing ability. Isolates PF-17, PF-101 and PF-225 were included in the group 1, which had high root colonizing ability.

KEYWORDS: PGPF, Root colonizing, Zoysiagrass

작물의 근권 및 근면에는 많은 종류의 미생물들이 혼재되어 있다. 그중에는 식물체를 침입하여 병을 일으키는 식물병원미생물들이 있는가 하면 식물생장을 촉진하면서 식물병을 억제하는 능력을 갖고 있는 유용미생물들도 있다. 유용미생물 중 식물생장촉진근권세균(plant growth promoting rhizobacteria : PGPR)에 관한 연구는 오래전부터 활발히 진행되고 있다.

PGPR의 식물생장촉진 기작은 식물생장조절제의 생산에 의한 직접적인 생장촉진과 항생물질이나 siderophores의 생산에 의한 토양병원균 또는 해로운 미생물 억제체를 통한 간접적인 생장촉진 효과 등이 보고 되어 있다(Liu *et al.*, 1995b). 최근에는 PGPR 중 일부에서 식물체의 병저항성을 유도하는 능력을 갖고 있음이 밝혀졌고, 이러한 유도저항성의 기작에 관한 관심이 높아지고 있다(Liu *et al.*, 1995a, b; Yun, 1996).

잔디의 근권에서 분리한 균류들은 다양한 작물에 생장촉진효과 나타내었고, 이들 균류를 총칭하여 식물생장촉진균류(plant growth promoting fungi : PGPF)라 하였다(Meera *et al.*, 1994). 지금까지 여러 작물의 근권 및 근면으로부터 분리한 *Trichoderma*속, *Phoma*속, *Penicillium*속, 비병원성 *Fusarium*속과 *Rhizoctonia*속 및 무포자형성균(sterile fungi) 등에 의한 식물 생장 촉진 효과가 보고

되어 있다. 잔디의 근권으로부터 분리한 PGPF는 오이, 무, 토마토 등에 대한 여러 작물의 생육촉진효과가 다른 작물의 근권, 근면에서 분리한 균류에 비하여 우수하였으며(Hyakumachi *et al.*, 1992; Shivanna *et al.*, 1993, 1994, 1995), 이들 PGPF를 밀, 토마토, 무에 처리할 경우 각각 1.5배, 5.1배, 1.9배의 생장촉진효과를 나타내었고, 생장촉진효과는 영양분이 결핍된 토양에서 더 우수하였다(Hyakumachi, 1994). 특히, *Phoma*속 균주 처리구에서 식물의 초장 및 생체중 뿐만 아니라 수확량에서도 특이적인 증가를 나타내었다(Meera *et al.*, 1995).

PGPF는 식물 생장 촉진 효과 뿐 아니라 각종 토양전염성병과 지상부병에 대하여 발병 억제효과가 있는 것이 알려져 있다(Hyakumachi, 1994; Meera *et al.*, 1994a, b, 1995). Meera *et al.*(1994a)은 PGPF 균주의 보리접종원, 배양여액 및 균사체를 토양 및 오이 뿌리에 처리했을 때 오이 탄저병과 같은 지상부병에 저항성이 유도됨을 보고 하였다. 이와 같이 전신저항성의 유도는 각종 미생물 처리와 같은 생물성 요인에 의해 야기 될 뿐만 아니라 fosetyl-Al, metalaxyl, triazole, probenzol 등의 화학 화합물에 의하여도 유도된다(Ryals *et al.*, 1996). 식물체의 전신저항성 발현에는 salicylic acid(SA)가 중간신호전달자로 작용하는 것으로 알려져 있으며, SA를 외부에서 처리하였을 때에도 식물병저항성이 유도되는 것이 확인되었다(Malamy *et al.*, 1990; Rasmussen *et al.*, 1991).

*Corresponding author <E-mail: shunyu@cnu.ac.kr>

본 연구는 잔디의 근권에서 분리한 균류 중 식물 성장 촉진 효과를 나타내는 PGPF 균주를 선발하고, 이 균주들의 뿌리 정착력을 비교하여 이를 이용한 새로운 개념의 식물성장촉진제 및 식물보호제 개발의 가능성을 검토하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

공시균주의 분리

전국 각 지역의 야생잔디(*Zoysia japonica* Steud.) 근권 및 근면으로부터 다음과 같은 방법으로 균류를 분리하였다. 먼저 잔디의 근권에서 채취한 토양을 1g씩 9 ml의 멸균수가 들어있는 시험관에 넣어 1분간 vortex하고 침전물이 가라앉은 후 상등액을 취하여 10⁴로 희석하고 streptomycin (30 ppm)이 첨가된 PDA 배지에 올려놓았다. 토양희석액을 도말 하거나 뿌리 절편을 올려 놓은 PDA 배지를 25°C 항온기에서 5일간 배양한 후 형성된 단일 콜로니를 순수 분리하였다.

식물성장촉진 활성 검증

공시균주의 배양. 잔디의 근권 및 근면으로부터 분리한 균주의 성장촉진효과를 조사하기 위하여 공시균주들을 peatmoss(SunGro Hort., Bellevue, Wash.)-보리곡립(1 : 1, v/v) 배지에 접종하여 25°C 항온기에서 10일간 배양하였다. 배양이 끝난 peatmoss-보리곡립 배양체를 음건시킨 후 마쇄하여 접종원으로 사용하였다.

식물성장촉진 효과 검증. 공시균주의 식물성장촉진 효과를 조사하기 위하여 인공토양(peatmoss : vermiculite = 1 : 1, v/v)을 100 g씩 담은 연결꽃드에 공시균주의 접종원(PBI : peatmoss-barly grain inoculum)을 일정량(5%, v/v)씩 첨가한 다음 토마토(품종 : 서광) 종자를 3개씩 파종하였다. 꽃드를 25°C의 growth chamber에 넣고 토마토 종자를 발아시킨 후 1개체씩 남겨 25일간 생육시킨 후 초장, 생체중 및 건물중을 조사하였다. 대조구는 공시균주를 접종하지 않은 peatmoss-보리곡립 배지만을 토양에 혼합하여 같은 조건으로 조사하였다.

토마토에서 생육촉진효과를 나타낸 15균주 중에서 3균주를 택하여 오이(품종 : 백다다기) 및 고추(품종 : 부강)의 생육촉진효과를 검증하였다. 검증 방법은 토마토에서와 같은 방법을 사용하였다.

시험은 완전임의배치 3반복으로 하였고, 시험성적은 SAS GLM procedure와 Duncan's multiple range test를 이용하여 분석하였다(SAS, Institute, Cary, NC).

뿌리정착력 검증

PGPF 균주의 뿌리정착력을 조사하기 위하여 PGPF를 처리한 토양에서 생육중인 토마토(품종 : 서광) 식물체를 파종 후 10일 간격으로 4회 뽑아 다음과 같은 방법으로

뿌리정착력을 조사하였다.

즉, 각각의 PGPF를 처리한 토양에서 생육한 토마토 뿌리절편을 살균수로 깨끗이 씻고 5 mm 크기의 100개 절편으로 잘라 1% 차아염소산나트륨 용액에서 1분간 표면을 소독한 다음, chloramphenicol(30 ppm)이 첨가된 PDA 배지에 놓고 25°C 항온기에서 3일 배양한 후 성장한 콜로니의 특징과 포자의 특징을 현미경으로 관찰, 원균주의 콜로니와 비교하여 동일한 콜로니를 형성한 뿌리절편의 수를 조사하였다.

결 과

잔디 근권에서 분리한 균류의 식물 성장 촉진 효과

전국 각 지역의 잔디 근권으로부터 분리한 728 균주를 peatmoss-보리배지에서 배양한 후 풋트 실험을 통하여 토마토의 성장촉진 효과를 조사하여 다음의 15 균주를 PGPF 균주로 선발하였다(Table 1).

선발된 15개의 PGPF 균주들은 *Gliocladium*속 1균주, *Penicillium*속 5균주, *Trichoderma*속 3균주, *Fusarium*속 3균주, 미동정균주 3균주였다. 선발된 PGPF 균주 중에서 PF-31, PF-136, PF-238, PF-255, PF-395, PF-420 균주 처리구에서 초장, 생체중, 건물중이 현저히 증가하였다. PGPF 처리는 토마토의 지상부 생육뿐만 아니라 뿌리의 성장도 현저히 촉진하였다(Table 2, Fig. 1).

PGPF 균주의 오이 및 고추 생육 촉진효과 검증

토마토에서 성장 촉진 효과를 나타낸 15균주 중 PF-31, PF-101, PF-225 균주의 고추 및 오이의 성장 촉진효과를 조사한 결과 고추에서는 PF-31 균주 처리시 초장, 생체중, 건물중이 대조구에 비하여 130%, 140%, 175% 증가했고, PF-101 균주 처리구에서는 초장, 생체중, 건물중이 대조구에 비하여 140%, 140%, 160%의 증가를 보였으며 PF-

Table 1. List of 15 selected plant growth promoting fungal isolates used in this study

Isolates	Genus	Host	Origin
PF-05	<i>Penicillium</i>	Zoysiagrass rhizosphere	Daejeon
PF-06	<i>Gliocladium</i>	"	"
PF-17	<i>Penicillium</i>	"	"
PF-31	<i>Trichoderma</i>	"	"
PF-53	<i>Penicillium</i>	"	Buyeo
PF-71	<i>Trichoderma</i>	"	"
PF-95	<i>Penicillium</i>	"	"
PF-101	<i>Penicillium</i>	"	"
PF-136	<i>Trichoderma</i>	"	"
PF-238	Unidentified	"	Gongju
PF-255	Unidentified	"	"
PF-395	<i>Fusarium</i>	"	"
PF-420	Unidentified	"	"
PF-430	<i>Fusarium</i>	"	"
PF-451	<i>Fusarium</i>	"	"

Table 2. Growth enhancement of tomato seedlings grown in potting medium amended with peatmoss-barley grain inocula (2%, w/w) of plant growth promoting fungal isolates for 4 weeks

Isolates	Plant height (cm)	Fresh weight (mg)	Dry weight (mg)
PF-05	35.6 ^{a)±1.1^{b)}}	7,400±300	850
PF-06	32.5±2.5	7,400±300	870
PF-17	32.0±2.0	7,000±500	810
PF-31	31.6±1.0	9,500±400	1,100
PF-53	34.0±2.0	8,500±300	800
PF-71	36.0±1.4	8,400±200	950
PF-95	34.0±3.0	9,200±300	850
PF-101	36.0±2.0	8,500±200	840
PF-136	37.0±2.5	9,500±200	1,200
PF-238	36.5±2.5	8,500±300	1,100
PF-255	38.0±1.6	9,500±200	1,200
PF-395	36.6±2.0	10,100±500	1,200
PF-420	38.0±2.0	9,500±200	1,200
PF-430	31.5±2.0	5,800±300	800
PF-451	33.0±1.5	7,500±400	800
Control	34.5±1.8	8,200±300	850

^{a)}Each value is the average of three replications of six plants.
^{b)}Standard error.



Fig. 1. Effect of plant growth promoting fungal isolates on growth of tomato seedlings. A : Tomato seedlings grown in potting medium amended with peatmoss-barley grain inocula (2%, w/w) of PGPF isolate for 4 weeks. 1; control, 2; PF-225 treated. B : Tomato seedlings and roots treated with PGPF isolates. 1; control, 2; PF-225, 3; PF-101, 4; PF-395.

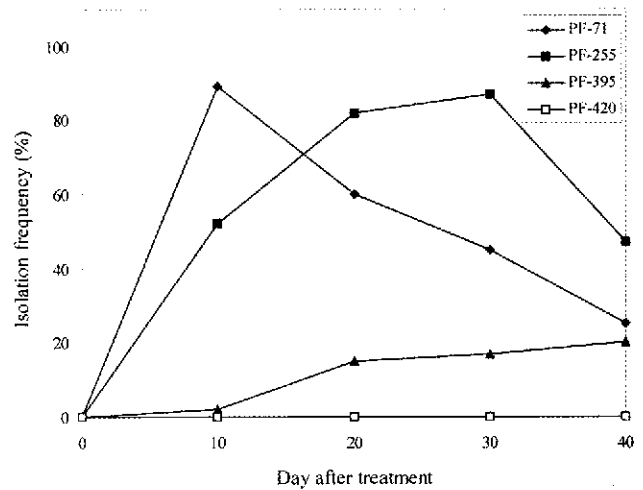


Fig. 2. Isolation frequencies of plant growth promoting fungal isolates recovered from roots of tomato seedlings grown in potting medium amended with barley grain inocula (2%, w/w) of PGPF isolates (group 1; PF-225, group 2; PF-71, group 3; PF-395, group 4; PF-420).

Table 3. Growth enhancement of pepper and cucumber seedlings grown in potting medium amended with peatmoss-barley grain inocula (2%, w/w) of three plant growth promoting fungal isolates for 4 weeks

Plants	Isolates	Plant height (cm)	Plant biomass (mg)	
			Fresh weight	Dry weight
Pepper	PF-31	11.5a ^{a)}	780ab	105a
	PF-101	12.0a	750ab	95a
	PF-225	13.2a	830a	125a
	Control	8.7b	550b	60b
Cucumber	PF-31	28.5a	17,500a	2,050a
	PF-101	25.0b	15,900ab	1,800b
	PF-225	30.0a	18,000a	2,150a
	Control	24.2b	14,500b	1,750b

^{a)}Means in a column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range tests at P = 0.05.

225 균주의 처리구에서는 각각 150%, 150%, 200%의 높은 성장 촉진 효과를 보였다. 오이에서는 PF-101 균주의 처리구에서 대조구에 비하여 특이한 성장 촉진 효과를 보이지 않았으나, PF-31 균주와 PF-225 균주의 처리구에서는 초장, 생체중, 건물중이 대조구에 비하여 각각 120%의 성장 촉진 효과를 보였다.

뿌리정착력 검정

PGPF 균주의 뿌리정착력을 10일 간격으로 조사한 결과는 Fig. 2과 같다. 공시한 13개 균주를 뿌리정착력의 특성에 따라 4개군으로 구분하였다. PF-05, PF-136, PF-420 균주 등은 뿌리정착력이 전혀 없는 균주군(group 4)이었고, PF-06, PF-31, PF-238, PF-395, PF-430, PF-451 균주

등은 40일 동안 약 20%의 낮은 정착력을 갖는 균주군 (group 3)이었으며, PF-53, PF-71, PF-95 균주 등은 약 10일까지 뿌리정착력이 80% 이상 유지되었다가 20일부터 급격히 감소를 나타내는 균주군(group 2)이었다. 또한, PF-17, PF-101, PF-225 균주 등은 30일까지 뿌리 정착력이 지속적으로 증가하여 80% 이상의 높은 정착력을 갖는 균주군(group 1)였다. 뿌리 정착력이 우수한 group 1, group 2도 30일 이후는 뿌리정착력이 감소하였다.

고 찰

잔디의 근권으로부터 분리한 728 균주 중 작물의 생육 촉진효과를 보이는 PGPF 15 균주를 선발하였고, 이들 균주는 토마토 유묘의 초장, 생체중 및 건물중을 증가시켰다. Hyakumachi *et al.*(1992)과 Shivanna *et al.*(1993)은 잔디의 근권으로부터 분리한 *Trichoderma*속, *Penicillium*속, *Mucor*속, *Fusarium*속, sterile fungus 등의 균류가 여러 작물의 생육촉진 효과가 있음을 보고하였고, 이들 PGPF 균주는 모두 발병 억제 능력을 가지고 있다고 하였다.

PGPF 처리에 의한 식물생장촉진 기작은 아직 명확하게 밝혀져 있지 않으나 1) 작물의 근권 및 근면에 존재하는 해로운 미생물과의 영양물질 또는 서식처의 경쟁이나 항생물질 생산에 의한 직접적인 억제를 통한 생장 촉진, 2) 성장조절인자의 생산에 의한 생장촉진, 3) 뿌리에 정착하여 식물에 이용할 수 있는 형태로의 영양분 분해를 통한 생장촉진 등의 가설이 보고 되어 있다(Shivanna *et al.*, 1994).

본 연구에서 선발된 PGPF 균주들의 뿌리 정착능력을 조사 하였던바 균주의 특성에 따라 4 group으로 구분할 수 있었다. 그 중에서 뿌리 정착능력이 우수한 group 1 (PF-17, PF-101, PF-225)과 group 2(PF-53, PF-71, PF-95) 균주들의 식물 생장 촉진효과는 이들의 높은 뿌리 정착 능력과 관련이 있는 것으로 생각된다. 또한, PF-71, PF-101, PF-225 균주의 배양여액과 균사체 분획의 식물 생장 촉진 효과를 조사한 결과 특정 분획에서 식물 생장 촉진 효과를 나타내었는데, 이는 이들 균주가 물질대사 과정에서 생장 촉진 물질을 분비함을 나타내는 것이다(미 제시 자료).

Meera *et al.*(1994a)은 잔디에서 분리한 PGPF 균주를 보리곡립배지에 배양한 후 토양처리를 통하여 오이의 생장촉진 효과를 보고하였고, 이들의 생장 촉진 효과는 뿌리 정착과 밀접한 관계가 있다고 하였다. 또한, 이들 균주의 균사체 및 배양여액을 종자처리 할 경우에도 생장촉진 효과를 나타낸다고 하였다. Shivanna *et al.*(1994)은 sterile red fungus가 생산하는 어떤 물질이 밀과 다른 작물의 생장촉진에 관여함을 보고하였고, 미생물에 의한 생장촉진 능력은 성장조절물질의 생산에 크게 작용된다고 하였다. 그러나, Meera *et al.*(1994a)은 PGPF 균주의 배양여액과

균사체 분획의 종자처리를 통하여 생장 촉진 효과를 나타낸 균주들에 있어서도 곡립배지에 접종한 균주들의 생장 촉진 효과는 배지로 사용한 보리곡립의 분해와 그 이용에 의한 생장 촉진 효과를 배제할 수 없다고 보고하였다. Shivamma *et al.*(1994)은 PGPF 균주를 접종한 보리곡립의 ammonium-N 함량은 이들 균주의 접종에 의해 증가하였고, 질소의 ammonium 형태는 식물의 뿌리에 의해 보다 빠르게 이용될 수 있다고 하였다. 또한 PGPF 균주에 의한 생장촉진은 작물의 품종, 토양의 영양상태 및 이들 균주의 타고난 능력에 따라 다르다고 하였다(Shivamma *et al.*, 1994, 1995).

본 연구에 사용한 PGPF 균주의 식물 생장 촉진 기작은 명확하지 않지만 균주의 뿌리 정착력에 의한 것으로 생각된다.

적 요

전국 각 지역의 잔디 근권에서 분리한 728 균주의 균류 중에서 식물(토마토) 생장 촉진 효과를 보이는 15 균주의 PGPF를 선발하였다. 분리된 PGPF 15 균주의 동정을 위하여 형태적 특징을 조사하였던 바 *Gliocladium* sp.가 1 균주, *Penicillium* sp.가 5균주, *Trichoderma* sp.가 3균주, *Fusarium* sp.가 3균주, 및 미동정균 3균주로 분류되었다. PGPF 15 균주 중 6균주(PF-31, PF-136, PF-238, PF-255, PF-395, PF-420)는 토마토 유묘의 생장을 현저히 촉진하였으며, 3균주(PF-31, PF-101, PF-255)는 고추의 생장을, 2균주(PF-31, PF-255)는 오이의 생장도 촉진하였다. PGPF 15 균주를 뿌리 정착 능력에 따라 4그룹으로 나눌 수 있었으며, 그 중 식물생장촉진 효과가 우수한 PF-17, PF-101, 및 PF-225은 뿌리 정착력이 우수한 group 1에 속하였다.

감사의 글

이 연구의 일부는 농촌진흥청 바이오그린 21 사업의 지원에 의하여 수행되었으며 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Hyakumachi, M. 1994. Plant growth promoting fungi from turf-grass rhizosphere with potential for disease suppression. *Soil Microorganisms*. 44: 53-68.
- _____, Ichikawa, M. and Kageyama, K. 1992. Plant growth promoting fungi from rhizosphere of *Zoysia japonica*. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* 59: 72.
- Liu, L., Klopper, J. W. and Tuzun, S. 1995a Induction of systemic resistance in cucumber Fusarium wilt by plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85: 695-698.
- _____, _____ and _____. 1995b Induction of systemic resistance in cucumber against bacterial angular leaf spot by plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85: 843-847.

- Malamy, J., Carr, J. P., Klessig, D. F. and Raskin, I. 1990. Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. *Science* **250**: 1002-1104.
- Meera, M. S., Shivanna, M. B., Kageyama, K. and Hyakumachi, M. 1993. Induction of systemic resistance in cucumber plants using turfgrass rhizosphere fungi. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* **59**: 279.
- _____, _____, _____ and _____. 1994a. Plant growth promoting fungi from zoysiagrass rhizosphere as potential inducers of systemic resistance in cucumber. *Phytopathology* **84**: 1399-1406.
- _____, _____, _____ and _____. 1994b. Some aspects of induction of systemic resistance in cucumber against anthracnose using plant growth promoting fungi. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.* **60**: 328.
- _____, _____, _____ and _____. 1995. Persistence of induced systemic resistance in cucumber in relation to colonization by plant growth promoting fungal isolates. *Crop Prot.* **14**: 123-130.
- Rasmussen, J. B., Hammerschmidt, R. and Zook, M. N. 1991. Systemic induction of salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science* **250**: 1004-1006.
- Ryals, J. A., Neuenschwander, U. H., Wilits, M. G., Molina, A., Steiner, and Hunt, M. D. 1996. Systemic acquired resistance. *Plant Cell*. **8**: 1809-1819.
- Shivanna, M. B., Kageyama, K. and Hyakumachi, M. 1993. The influence of rhizosphere sterile fungi on the growth promoting of soybean and wheat plant. Six International Congress of Plant Pathology, Montreal, Que., July-August, 1993. p. 282.
- _____, Meera, M. S., Kageyama, K. and Hyakumachi, M. 1995. Influence of zoysiagrass rhizosphere fungal isolates on growth and yield of soybean plants. *Mycoscience*. **36**: 25-30.
- _____, _____ and Hyakumachi, M. 1994. Sterile fungal from zoysiagrass rhizosphere as plant growth promoting in spring wheat. *Can. J. Microbiol.* **40**: 637-644.
- Yun, H. K. 1996. Molecular cloning of two pathogenesis-related protein genes from *Nicotiana glutinosa* L. and their expression during plant disease resistance. Chungnam University, Ph. D. Thesis.