

근권토양의 환경이 고추역병 억제 미생물 *Serratia plymuthica* A21-4의 고추뿌리와 근권 토양 정착에 미치는 영향

조 박 · 신순선* · 문재예 · 송 상¹ · 박창석²

중국 하남농업대학 식물보호학원, ¹중국 하남농업대학 생명과학학원,

²경상대학교 농업생명과학대학

The Effect of the Colonization of *Serratia plymuthica* A21-4 in Rhizosphere Soil and Root of Pepper in Different Soil Environment

Pu Cao, Shun-Shan Shen*, Cai-Yi Wen, Shuang Song¹ and Chang-Seuk Park²

College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China

¹College of Life Sciences, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China

²College of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

(Received on April 15, 2009)

The biocontrol agent *Serratia plymuthica* A21-4 was selected and proved as an excellent inhibitor of *Phytophthora* blight of pepper through *in vitro* and *in vivo* experiments in previous studies. To enhance the colonizing density of *S. plymuthica* A21-4 on plant root and rhizosphere soil, some soil conditions might effect on the colonization of the bacteria were examined. The results obtained from the study indicated that the soils containing more sand were favorable to root colonization of *S. plymuthica* A21-4. Organic amendment such as 3% maize straw(w/w) was helpful to colonize the bacteria in root and soil. The soil temperature about 20°C, water content around 40%, and soil pH near to neutral or slightly acidic, were optimum condition for the colonization of *S. plymuthica* A21-4 in the rhizosphere soil and roots of pepper. In addition, existence of indigenous biotic entities was beneficial to the colonization of *S. plymuthica* A21-4.

Keywords : *Phytophthora* blight, *Serratia plymuthica* A21-4, Soil colonizations

토양병은 여러 작물에서 막대한 경제적 손실을 초래하고 있지만 방제에 많은 어려움이 있다. 지금까지 토양병의 방제는 주로 화학농약에 많이 의존하고 있는데 이는 토양환경오염을 가져오고 또 많은 병원균들이 화학 농약에 내성을 가져 방제효과가 많이 떨어지고 있다(Weller, 1988). 이러한 문제를 해결하기 위하여 유용미생물을 이용한 토양병의 생물적방제 연구가 많이 진해되고 있다(Weller, 1988). 하지만 생물적 방제는 그 효과가 안정적이 못되어 실제적으로 농업현장에 적용되는 생물적방제제는 많지 않다. 토양병의 생물적방제 효과의 불안정성을 초래하는 원인들로 여러 가지가 있다. 생물적방제제 자체의 특성, 기주식물, 토양미생물 그리고 환경요인들이 관

여한다(Zhang 등, 2000). 토양병의 생물적 방제에 있어서 외부에서 도입된 미생물이 안정적으로 근권토양과 식물 뿌리에 정착하는 것은 생물적방제 성공 여부의 관건이라고 할 수 있다(Zhang 등, 2000; Kloepper 등, 1991). 또한 생물적방제 미생물의 근권정착 능력은 미생물자체의 유전적 특성, 기주식물과 토양생태환경 등 여러 가지 요소의 영향을 받는다(Zhang 등, 2000).

Serratia plymuthica A21-4균주는 양파 근권에서 분리된 고추역병 생물적방제 미생물이다. *S. plymuthica* A21-4는 고추역병균인 *Phytophthora capsici*에 대하여 강력한 길항 능력을 나타내는 macrolide 계열의 항균물질을 생산할 뿐 아니라 고추 근권토양과 뿌리에 정착하여 고추 역병을 효과적으로 방제한다(Shen 등, 2005). 선행 연구에서 *S. plymuthica* A21-4균주의 고추 역병 방제효과는 *S. plymuthica* A21-4의 근권 정착밀도와 밀접한 관계가 있다는 것을 발견하였다(Shen, 2004). 본 연구는 *S. plymuthica* A21-4의

*Corresponding author

Phone) +86-135-9266-0053, Fax) +86-371-6355-8170

E-mail) shen0426@hanmail.net

근권정착 밀도를 높이고 고추역병 방제효과를 높이기 위하여 몇 가지 토양 환경이 *S. plymuthica* A21-4의 식물뿌리와 근권토양의 정착에 미치는 영향을 알아보았다.

재료 및 방법

공시균주 및 식물. TSA(Tryptic Soy Broth, Difco.) 배지에서 2-3일 배양된 *S. plymuthica* A21-4균주를 모아 0.1 mol/l MgSO₄ 용액으로 희석하여 10⁸ cfu/ml의 A21-4 현탁액을 만들었다. 다음 각각 한 포트(직경 12 cm, 높이 15 cm)에 100 ml씩 첨가하여 충분히 혼합한 후 실험에 공시하였다.

고추(품종: 豫園新 16-A)는 육묘용 상토에서 육묘된 50 일된 묘를 실험에 공시하였다.

근권정착 밀도 측정. 근권토양 1 g을 취하여 0.1 mol/l MgSO₄ 용액으로 희석하여 50 µg/ml Rifampicin을 첨가한 1/10 TSA배지에 도말하고 28°C incubator에서 48시간 배양한 후 형성된 colony 수를 세어 토양에서의 *S. plymuthica* A21-4의 정착밀도를 조사하였다. 뿌리에서의 정착밀도는 고추뿌리 1g을 취하여 흐르는 수돗물에 뿌리를 깨끗하게 씻은 후 막자 사발로 뿌리를 잘 마쇄한 후 0.1 mol/l MgSO₄ 용액으로 희석하여 50 µg/ml Rifampicin 을 첨가한 1/10 TSA 배지에 도말하고 28°C incubator에서 48시간 배양한 후 형성된 colony 수를 세어 뿌리에서의 정착밀도를 조사하였다.

토양 환경 조절. 토양물리성 조절은 점토와 모래를 각각 1:0, 2:1, 1:1, 1:2, 0:1 비율로 섞어서 서로 다른 토양을 만들었다. 토양온도 조절은 *S. plymuthica* A21-4가 처리된 토양에 고추를 이식한 후 각각 15°C, 20°C, 25°C, 30°C와 35°C 항온 온실에서 배양하였다. 토양 수분함량 조절은 A21-4가 처리된 토양에 고추를 이식한 후 물 양을 조절하여 토양 수분 비율이 각각 80, 60, 40, 20%를 유지할 수 있도록 관리하였다. 일정한 토양수분 유지를 위하여 매일 실험포트의 무게를 측정하여 증발된 수분을 보충하였다. 토양 pH는 석회와 염산으로 토양 pH가 각각 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9가 되도록 조절하였다. 토양 유기물 함량에 미치는 영향을 조사하기 위해서는 충분히 완숙된 계분, 옥수수 줄기 그리고 땅콩껍질을 각각 3% 중량 비율로 토양에 혼합하여 유기물이 근권정착에 미치는 효과를 알아보았고, 토착미생물과 접종미생물간의 효과를 알아보기 위해서는 일반 고추밭 토양을 하루간격으로 3회 고압살균(121°C, 30분)하여 토착미생물을 제거한 토양과 일반 토양에서의 A21-4의 근권정착 밀도를 비교하였다.

결과 및 고찰

근권 정착에 미치는 토성의 영향. 근권토양에서의 *S. plymuthica* A21-4 근권정착 밀도는 이식 후 20일째까지 큰 차이를 나타내지 않았지만 이식 30일 이후에는 점토와 모래 1:1 비율토양에서 정착밀도가 현저하게 높았다 (Table 1). 고추뿌리에서는 이식 초기에는 모래에서 정착 밀도가 높았고 이식 30일 후에는 점토와 모래 1:2 비율에서 정착밀도가 높았다. 이는 토성이 모래가 많이 함유되어 공극이 비교적 많은 토양에서 *S. plymuthica* A21-4가 정착할 수 있는 물리적 공간을 제공하기 때문에 근권 정착에 유리하다고 추측된다.

근권정착에 미치는 온도의 영향. 근권 토양에서의 *S. plymuthica* A21-4 정착밀도는 낮은 온도 조건이 높은 온

Table 1. Colonizing population of *Serratia plymuthica* A21-4 in rhizosphere soil and root of pepper in the pot soils with different combination of clay and sand

Treatment (clay:sand)	Soil (Log cfu/g soil)			Root (Log cfu/g root)		
	10d	20d	30d	10d	20d	30d
1:0	6.24a ^a	6.50a ^b	6.29c	4.19b	4.64c	4.53c
2:1	6.22a	6.45a	6.29c	4.36b	4.99c	5.00b
1:1	6.21a	6.49a	6.56a	4.36b	5.15b	5.06b
1:2	6.24a	6.47a	6.48b	4.47b	4.74c	5.44a
0:1	5.75b	6.47a	6.11d	4.88a	5.59a	5.10b

^aThe numbers indicate average log cfu of *S. plymuthica* form on 1/10 TSA with 50 µg/ml rifampicin. when the bacteria were retrieved from soil and pepper roots.

^bMeans with the same letter are not significantly different at P=0.05.

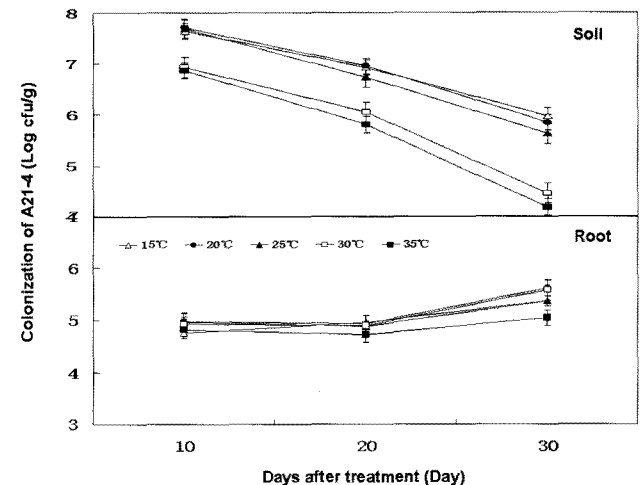


Fig. 1. Effect of temperature on the colonization of *Serratia plymuthica* A21-4 in rhizosphere soil and root of pepper when the bacteria were inoculated by drenching 100 ml of cell suspension (10⁸ cfu/ml) to pot soil grown 50 days old pepper seedlings.

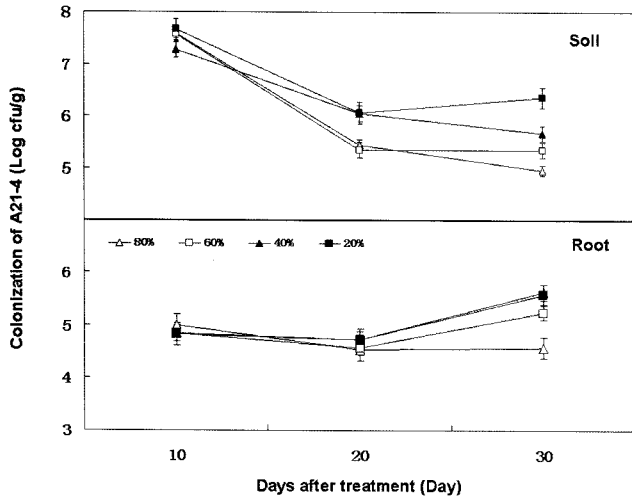


Fig. 2. Effect of soil moisture content on the colonization of *Serratia plymuthica* A21-4 in rhizosphere soil and root of pepper when the bacteria were inoculated by drenching 100 ml of cell suspension (10^8 cfu/ml) to pot soil grown 50 days old pepper seedlings.

도조건에 비하여 상대적으로 유의성이 있게 높았다. 하지만 고추뿌리에서의 *S. plymuthica* A21-4 정착밀도는 온도가 큰 영향을 미치지 않았다(Fig. 1). 일반적으로 미생물은 일정한 온도범위내에서 정상적으로 활동하고 성장한다(Michael, 1997). 토양미생물은 비교적 낮은 온도 범위내에서 활발하게 활동하고 근권에 잘 정착한다고 보고되었었는데(Kloepper, 1992; Du, 2008) A21-4 역시 낮은 온도 조건에서 토양에 많이 정착하였다. 15°C에서 25°C 범위내에서도 통계적으로는 유의차이는 나타내지는 않았지만 15°C에서 제일 많이 정착하였다.

근권정착에 미치는 토양수분의 영향. 근권토양에서의 *S. plymuthica* A21-4 정착밀도는 이식 10일째까지 크게 영향을 미치지 않았지만 시간이 경과함에 따라 낮은 습도에서 정착밀도가 높았다(Fig. 2). 고추 뿌리에서는 역시 시간이 경과함에 따라 이식 30일째는 토양 습도 40%와 20% 조건에서 정착밀도가 현저하게 높았다. 하지만 토양 습도가 20% 조건에서 고추 생육이 부진하였다(시험성적 미제시). 이는 높은 습도조건에서 토양내의 미생물의 생장이 불리함과 동시에 토양내 물리적 공간이 적어짐으로서 *S. plymuthica* A21-4 정착에 불리한 것으로 추측된다.

근권정착에 미치는 pH의 영향. 산성토양과 염기성토양에서 *S. plymuthica* A21-4의 근권정착 밀도가 현저하게 적었고 중성 혹은 약산성 토양에서 *S. plymuthica* A21-4의 정착 밀도가 높았다. 고추 뿌리에서의 정착 밀도도 근권토양에서의 정착밀도와 비슷한 경향을 보였다(Fig. 3). 일반적으로 중성과 약산성 토양 조건에서 토착미생물의

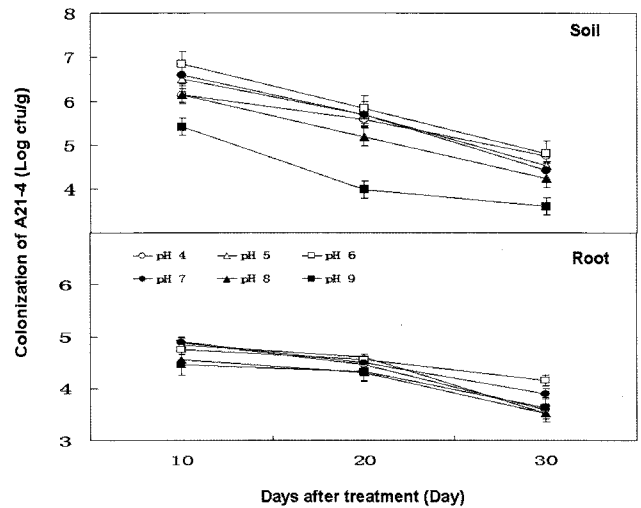


Fig. 3. Effect of soil pH on the colonization of *Serratia plymuthica* A21-4 in rhizosphere soil and root of pepper when the bacteria were inoculated by drenching 100 ml of cell suspension (10^8 cfu/ml) to pot soil grown 50 days old pepper seedlings.

Table 2. Colonizing population of *Serratia plymuthica* A21-4 in rhizosphere soil and root of pepper in the pot soils with amendment of different source of organic matter

Treatment (organic matter)	Soil (Log cfu/g soil)			Root (Log cfu/g root)		
	10d	20d	30d	10d	20d	30d
Fowl dung	7.32a ^a	6.26ab ^b	5.37b	5.22c	4.51b	4.11c
Maize straw	7.22ab	6.19ab	5.51a	6.00a	4.64a	4.97a
Peanut hull	7.11b	6.33a	4.96c	5.89b	4.66a	4.70b
Non treated	7.23ab	6.12b	4.59c	5.88ab	4.39b	4.88b

^aThe numbers indicate average log cfu of *S. plymuthica* form on 1/10 TSA with 50 µg/ml rifampicin. when the bacteria were retrieved from soil and pepper roots.

^bMeans with the same letter are not significantly different at $P=0.05$.

생장이 유리하며 외부에서 도입된 미생물도 중성과 약산성 조건에서 잘 정착할 수 있다(Sheng, 2003).

근권 정착에 미치는 유기물의 영향. 토양에 유기물을 첨가함으로써 근권토양과 고추 뿌리에서 *S. plymuthica* A21-4 정착 밀도가 모두 높게 나타났다. 공시한 유기물 중에서도 옥수수 줄기를 첨가한 처리에서 *S. plymuthica* A21-4 정착 밀도가 다른 유기물에 비하여 높았다(Table 2). 토양에 유기질비료를 첨가함으로써 길항미생물 생장에 필요한 영양성분을 공급하여 미생물의 생육을 촉진시킴과 동시에 통양중의 여러 가지 토착미생물의 수량을 증가시킴으로서 미생물간의 경쟁을 활발하게 하여 외부에서 도입된 길항미생물의 근권정착 능력도 증가시킨다(Chang 등, 2005; Sheng, 2003; Sheng과 Wu, 2007)는 것은 많이 알려져 있다. 본 연구결과에 의하면 부숙된 옥수수 줄기

Table 3. Effect of indigenous biological entities on the colonization of *Serratia plymuthica* A21-4 in rhizosphere soil and root of pepper

Treatment	Soil(Log cfu/g soil)			Root(Log cfu/g root)		
	10d	20d	30d	10d	20d	30d
Sterilized soil	6.27b ^a	5.19a ^b	4.51a	5.90a	4.97b	5.79b
Non sterilized soil	7.34a	5.15a	4.85a	6.04a	5.67a	6.05a

^aThe numbers indicate average log cfu of *S. plymuthica* formed on 1/10 TSA with 50 µg/ml rifampicin when the bacteria were retrieved from soil and pepper roots.

^bMeans with the same letter are not significantly different at $P=0.05$.

를 첨가한 처리에서 다른 유기물 첨가에 비하여 정착밀도가 높았는데 그 원인에 대해서는 앞으로 보충연구가 필요할 것으로 사료된다.

근권 정착에 미치는 토착미생물의 영향. 근권 토양에서의 *S. plymuthica* A21-4의 정착밀도는 이식 10일째는 살균하지 않은 토양에서 살균하여 토착미생물을 제거한 토양에 비하여 *S. plymuthica* A21-4 정착 밀도가 현저하게 높았지만 시간이 경과함에 따라 이식 20일째와 30일째는 큰 차이를 나타내지 않았다(Table 3). 이는 이식초기에는 살균하지 않은 토양과 살균한 토양의 토착 미생물의 차이가 현저하지만 시간이 경과함에 따라 살균한 토양과 살균하지 않은 토양의 미생물 차이가 적어졌기 때문에 추측된다. 고추뿌리에서의 정착밀도는 토양에서의 정착밀도와 반대로 초기에는 큰 차이를 나타내지 않았지만 시간이 경과함에 따라 살균하지 않은 토양처리에서 고추뿌리에 정착밀도가 살균한 토양에 비하여 높았다(Table 3). 이는 토착미생물과 *S. plymuthica* A21-4가 일정한 생태평형을 이루면서 *S. plymuthica* A21-4 근권정착에 미치는 촉진효과가 뒤늦게 나타난 것으로 추측된다. 이외, 고추역병균을 첨가한 토양에서의 *S. plymuthica* A21-4의 정착밀도가 고추 역병균을 첨가하지 않은 토양에 비하여 높았다(시험성적 미제시). 이는 고추 역병균의 존재가 *S. plymuthica* A21-4의 경쟁능력을 촉진시켜 근권토양에서의 생존능력을 높여줌으로서 정착밀도를 높여준 것으로 추정된다. 그 구체적인 기작은 앞으로 세밀한 연구가 필요하다.

외부에서 도입된 생물적 방제 미생물이 식물 근권토양과 뿌리에 정착하여 그 기능을 발휘할 수 있는 데는 토성, 토양온도, 토양수분, 토양 pH, 토양유기물 그리고 토착미생물 등 다양한 토양 물리적 생태환경과 화학적 생태환경의 영향을 받는다(Zhang 등, 2000). 이런 여러 가지 토양 생태환경조건을 생물적 방제 미생물의 생육과 정착에 유리한 조건을 만들어 줌으로서 미생물의 정착밀도를 높이고 안정적인 생물적 방제 효과를 얻을 수 있다.

요 약

Serratia plymuthica A21-4는 양파(*Allium fistulosum* L.) 근권에서 분리된 고추 역병 생물적 방제 미생물이다. 토양 환경이 *S. plymuthica* A21-4 근권정착에 미치는 영향을 알아본 결과 사질이 많이 포함되어 공극이 많은 토양에 3% 중량(w/w)의 부숙된 옥수수 줄기를 첨가하고 토양 수분함량이 40% 정도, 토양온도가 20°C, 토양 pH가 중성이거나 약산성 토양이 *S. plymuthica* A21-4의 근권정착에 유리하였다. 그리고 토착미생물이 있는 것이 살균한 토양에서 보다 *S. plymuthica* A21-4의 근권정착에 유리하였다.

감사의 글

본 연구는 하남성 인사청 청년교사 지원사업(10400015)과 하남농업대학 연구지원 기금(2007-CX-012) 지원에 의하여 수행되었으며 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Chang, Z. Z., Ma, Y. and Huang, H. Y. 2005. Efficacy of compost riched with fungi F-310 against *Phytophthora capsici* Leonnian in pepper. *Soils and Fertilizers* 2: 28-30.
- Du, X. Y., Zhang, F. C. and Zhang, X. Y. 2008. Factors affect efficiency of bacterial inoculation. *Microbiology* 35: 815-819.
- Kloepper, J. W., Zaboltoiwiz, R. M., Tipping, E. M. and Lifshitz, R. 1991. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. In: *The rhizosphere and plant growth*. Edited by D. L. Keister and P. B. Cregan. *Kluwer Academic Publishers*, Cordrecht. The Netherlands. pp. 315-326.
- Kloepper, J. W. and Beauhamp, C. J. 1992. A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria. *Can. J. Microbiol.* 38: 1219-1932.
- Michael, T. M., John, M. M. and Jack, P. 1997. *Brock Biology of Microorganisms*. Eighth Edition. pp. 149-177.
- Shen, S. S. 2004. Biological Control of Phytophthora Blight of Pepper by *Serratia plymuthica* A21-4 and Characterization of the Bacterial Antibiotic Substance. Dr D. Thesis. *Gyeongsang National Uni.* pp. 52-54.
- Shen, S. S., Choi, O. H., Park, S. H. and Park, C. S. 2005. Root Colonizing and Biocontrol Competency of *Serratia plymuthica* A21-4 against *Phytophthora* Blight of Pepper. *The Plant Pathology Journal*, 21: 64-67.
- Sheng, X. F. 2003. Colonization of silicate bacterium strain NBT in wheat roots. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 14: 527-530.
- Sheng, J. M. and Wu, X. Q. 2007. Interaction between

- mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms. *J Northwest Forest Univ.* 22: 104-108.
- Weller, D. M. 1988. Biological control of soil-borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu. Rev. Phytophthology*, 96: 379-407.
- Zhang, B. X., Zhang, P. and Chen, X. B. 2000. Factors affecting colonization of introduced microorganisms on plant roots. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 11: 951-953.