

## ***Streptomyces sampsonii* KK1024를 이용한 뿌리혹선충 (Root-knot nematode)의 생물학적 방제**

김상수<sup>†</sup> · 강선이<sup>†</sup> · 김진시<sup>1</sup> · 이용성<sup>2</sup> · 홍성현<sup>2</sup> · Kyaw Wai Naing<sup>2</sup> · 김길용<sup>2\*</sup>

광주과학고등학교, <sup>1</sup>조선대학교 여자고등학교, <sup>2</sup>전남대학교 농업생명과학대학

### **Biological Control of Root-knot Nematode by *Streptomyces sampsonii* KK1024**

Sang-Su Kim<sup>†</sup>, Seon-I Kang<sup>†</sup>, Jin-Si Kim<sup>1</sup>, Yong-Sung Lee<sup>2</sup>, Sung-Hyun Hong<sup>2</sup>,  
Kyaw Wai Naing<sup>2</sup>, and Kil-Yong Kim<sup>2\*</sup>

Gwangju Science High School, 1-5 oryongro, Bukgu, Gwangju, 500-480, Republic of Korea

<sup>1</sup>Chosun University Girl's High School, 36 jismro, Donggu, Gwangju, 501-838, Republic of Korea

<sup>2</sup>Division of Applied Bioscience and Biotechnology, Institute of Agriculture Science and Technology,  
Chonnam National University, Gwangju, 500-757, Republic of Korea

***Streptomyces sampsonii* KK1024 having strong chitinolytic activity was isolated from crab-shell rich soil at Muan, Jeollanamdo. The KK1024 produced chitinase, protease, gelatinase and lipase. When 50% of KK1024 culture broth was treated to juveniles and eggs of root-knot nematode, juvenile mortality at 3 days was 81.67% and egg hatch rate at 5 days was 2.00%. When 183.7  $\mu\text{g mL}^{-1}$  of crude enzyme produced by KK1024 was treated, juvenile mortality at 3 days was 96.00% and egg hatch rate at 5 days was 5.33%. At 1% of butanol extract from KK1024, juvenile mortality was highest with 90.00% and egg hatch rate was lowest with 0%. The comparison of the effect of KK1024 culture broth with only medium, synthetic fertilizer, and commercial nematicide on tomato growth and nematode infection was examined in pot trials. KK1024 culture broth showed lower number of egg mass and gall in plant, and population of juveniles in soil compared with only medium and synthetic fertilizer treatment, but not in commercial nematicide. However, the highest shoot weight and length was discovered in KK1024 culture broth. These results suggest that *Streptomyces sampsonii* KK1024 producing lytic enzymes and nematicidal compounds can be one of candidates for biocontrol agents against root-knot nematodes.**

**Key words:** Biological control, *Streptomyces sampsonii* KK1024, Root-knot nematodes, Butanol extract, Crude enzyme

## 서 언

뿌리혹선충은 잔디에서부터 나무에 이르기까지 2000여 종의 식물에 피해를 주고 있고, 작물생산량 감소로 연간 1,000억 달러의 손실을 발생시키고 있는 해충이다 (Oka et al., 2000; Sasser, 1980). 우리나라의 경우 시설재배지에서 연작으로 인해 토양 중 선충 발생이 증가하고 피해액과 피해 대상작물이 확대되고 있다 (Lee, 2003).

식물기생선충인 뿌리혹선충 (*Meloidogyne* spp.)은 2령

유충 때에 식물 뿌리 성장점 부근에 침입하여 식물세포를 거핵세포로 만들고 3령, 4령을 거쳐 성충이 된다. 4령 시기에 암수가 나누어지며 암컷은 난낭에 500-600개의 알을 낳는다. 이 뿌리혹선충은 주로 시설원예작물인 오이, 수박, 참외, 토마토 등에 많은 피해를 주며 뿌리혹선충에 심하게 감염된 식물은 바이러스, 곰팡이 등의 2차 감염이 수반되며, 수확량이 크게 감소한다 (Choi, 1982; Kwon et al, 1998).

이러한 뿌리혹선충의 피해를 방제하기 위하여 주로 살선충제를 사용하고 있다. 하지만 살선충제의 남용은 뿌리혹선충의 저항성을 키우고, 인체 및 자연환경에 유해한 문제점을 야기 시키고 있다 (Atkins et al., 2003). 한편 토양개량, 담수처리 및 태양열 소독 등을 이용한 물리적 방제와 윤작과 같은 경종적 방제 등의 다양한 방제법이 사용되고 있으

접수 : 2011. 11. 16 수리 : 2011. 12. 8

<sup>†</sup>공동 제1저자

\*연락처 : Phone: +82625302138

E-mail: kimkil@jnu.ac.kr

나 (Zhu et al., 2005) 비용 및 시간 등의 제약으로 실질적 사용은 제한적이다.

다행히도 근근미생물을 이용한 생물학적 선충방제법이 관심을 받고 있다. 대표적으로 알려진 선충방제 미생물은 *Pseudomonas* 속 (Abo-Elyousr et al., 2010), *Bacillus* 속, *Clostridium* 속, *Desulfovibrio* 속, *Serratia* 속, *Streptomyces* 속 등이 있다 (Siddiqui and Mahmood, 1999). 이러한 미생물들에 의해 뿌리혹 선충이 억제되는 기작은 크게 분해효소나 항생물질과 같은 2차 대사산물 등에 의한 것으로 보고되고 있다 (Dufour et al., 2003). Sela et al. (1998)에 의하면 *Bacillus cereus*가 생산한 protease에 의해 *M. javanica*의 표피가 분해되었으며, Li et al. (2002)은 *B. ambifaria*의 배양액 내의 protease와 chitinase에 의해 알 부화와 유충이 억제되었음을 보고하였다. 또한, *Fusarium oxysporum*이 생산한 fusaric acid는 강한 살선충 활성이 있는 것으로 알려져 있다 (Kwon et al., 2007).

최근 전 세계적으로 항세균, 항진균, 항기생충 활성을 가진 *Streptomyces* 속에 대한 관심이 고조되고 있다. *Streptomyces* 속은 방선균의 일종으로서 분류학적으로는 *Actinomyces* 목에 속하는 1군속으로 500개 이상의 종이 알려져 있다 (Euzéby, 2008; Kämpfer, 2006). 토양 내 우점군으로서 다양한 분해효소와 항생물질을 생성하여 길항작용을 함으로서 병해충 방제와 더불어 작물의 성장에도 도움을 주고 있다 (Lim et al., 2007).

본 연구에서는 토양으로부터 키틴분해능이 뛰어난 미생물을 분리하여 미생물 배양액, 미생물이 생성한 조효소와 유기용매 추출물질들의 유충 치사와 알 부화 억제에 미치는 영향을 조사하고, 미생물 배양액 처리 시 식물 성장 촉진과 선충방제 효과에 대하여 분석하고자 한다.

## 재료 및 방법

**KK1024의 분리 및 동정** 전남 무안 해안가에서 게껍질 성분이 풍부한 토양을 채취하여 균 분리용 시료로 사용하였다. 채취 시료 토양 10 g을 증류수 90 mL에 현탁하고, 이 현탁액을  $10^{-6}$ 까지 증류수로 희석한 후 chitin agar배지 (0.5% colloidal chitin, 0.2%  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0.1%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.5%  $\text{NaCl}$ , 0.1%  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 0.05%  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.05%  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.05% yeast extract, 2% agar 및 pH 7)에 도말한 후 투명한 형성을 하는 균주를 분리하여 동정 하였다. 동정은 (주)제노텍에 의뢰하여 16S rRNA분석을 통하여 동정하였다.

**뿌리혹선충 증식 및 분리** 전남 장성군 남면 방울토마토 농가에서 뿌리혹선충 피해가 심한 토마토 뿌리를 가져와 증식용 토마토 (*Lycopersicon esculentum*) 모종에 감염

시켜 실험에 사용하였다. 선충 분리는 선충에 감염된 토마토 뿌리를 흐르는 물에 잘 씻어서 1 cm 크기로 잘라 0.5%  $\text{NaOCl}$ 이 들어있는 병에 넣고 세게 흔든 후 45  $\mu\text{m}$  체와 25  $\mu\text{m}$  체를 2중으로 끼워 여기에 부어 선충 알을 모아 실험에 사용하였다. 또한, 변형된 Bearman법을 이용하여 분리한 알을 25  $\mu\text{m}$  체에 올린 후 부화시켜 수집한 2령 유충을 실험에 사용하였다.

**KK1024의 효소 활성** KK1024의 chitinase, protease, gelatinase 및 lipase 활성을 측정하기 위해서 chitin agar 배지, skim milk agar 배지 (10% skim milk, 15% agar), gelatin agar 배지 (1% gelatin, 0.05%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.05%  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0.1%  $\text{NaCl}$ , 0.15%  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 0.04%  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.02%  $\text{KCl}$ , 0.02% yeast extract, 15% agar 및 pH 7.0) 및 lipid agar 배지 (2.5% Luria-Bertani, 1% Tween-80)를 121°C에서 15분간 멸균한 후 각각 petri-dish에 분주하였다. KK1024를 각각의 배지에 희석을 갖고 30°C에서 3일간 배양하여 chitin 및 skim milk agar배지에 투명한 형성 유무를 확인하여 chitinase 및 gelatinase 활성을 하였다. Gelatinase 활성은 gelatin 배지에 30% trichloroacetic acid를 3 mL 첨가하여 투명한 형성 유무로 판단하였고, lipase 활성은 Tween-80 agar 배지에 콜로니 형성 유무로 판단하였다.

**KK1024 배양액이 뿌리혹선충 유충과 알에 미치는 영향** KK1024를 키틴/젤라틴 배지 (0.1% 게껍질 분말, 0.1% 젤라틴 분말, 0.3% 복합비료 (N:P:K:21:17:17), 0.3% 설탕, 0.003% Yeast extract 및 0.003%  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )에 접종하여 30°C에서 5일간 진탕배양 (170 rpm)한 후 각각 유충 200마리, 알 400개가 있는 각 24-well plate에 미생물 배양액을 50%, 30%, 20% 및 10% 농도로 희석 후 처리하여 알 부화율과 유충의 치사율을 조사하였다. 대조군으로는 배지 50% 농도 첨가와 물을 사용하였다. 알 부화율은 2일과 5일 후, 유충의 치사율은 1일과 3일 후에 각각 실체현미경 (SZX 16, Olympus, Japan)으로 관찰하였다.

**KK1024가 생성한 조효소가 뿌리혹선충 유충과 알에 미치는 영향** KK1024를 키틴/젤라틴 배지에서 5일간 배양한 후 배양액 2 L를 원심분리 (7,000 rpm, 15분)하여 상등액을 얻었다. 이 상등액에 황산암모늄 (Ammonium sulfate) 561 g  $\text{L}^{-1}$ 를 넣어 80% 농도로 포화시킨 후 배양액 내에 있는 단백질을 침전시켜 조단백을 얻었다. 얻은 조단백질을 각각 유충 200마리, 알 400개가 있는 각 24-well plate에 18.3  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , 91.5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , 183.7  $\mu\text{g mL}^{-1}$ 로 첨가하여 살선충 활성과 알 부화 억제 활성을 조사하였다. 단백질농도는 Bradford법으로 측정하였으며, 대조군으로는 멸균증류

수를 사용하였다. 알 부화율은 2일과 5일 후, 유충의 치사율은 1일과 3일후에 각각 실체현미경 (SZX 16, Olympus, Japan)으로 관찰하였다.

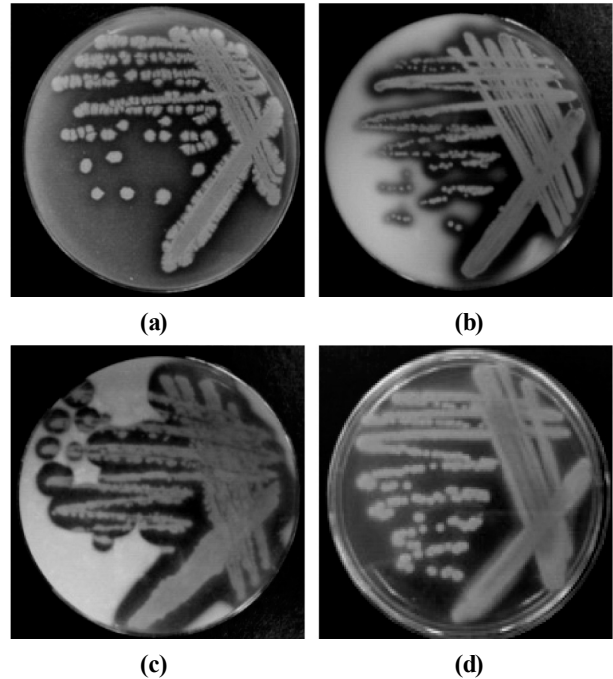
**부탄올 추출물이 뿌리혹선충 유충과 알에 미치는 영향**  
KK1024가 생산한 2차 대사물질의 추출을 위해 5일간 배양된 2 L의 배양액을 원심분리 (7,000 rpm, 15분)한 후, 상등액을 염산으로 pH 2가 되게 조절하였다. 이 상등액을 부탄올 (butanol)과 1:1 (v/v)로 혼합한 후 분리된 유기용매 층은 감압 회전농축기 (Büchi Rotavapor R-114, Switzerland)를 이용하여 70°C에서 농축하였다. 농축된 유기 용매층은 메탄올 (methanol)로 녹여 20% (w/v)로 조제하였다. 이것을 유충 200마리, 알 400개가 각각 들어있는 24-well plate에 첨가하고 멸균증류수로 희석하여 0.1, 1.0%가 되게 한 후, 유충의 치사율과 알 부화율을 측정하였다. 알 부화율은 2일과 5일 후, 유충의 치사율은 6, 12, 24시간 후에 각각 실체현미경 (SZX 16, Olympus, Japan)으로 관찰하였다.

**KK1024 배양액 처리가 식물생장 및 뿌리혹선충 억제에 미치는 영향** 뿌리혹선충에 대한 미생물 배양액의 억제효과 조사를 위해 발아 후 4주된 토마토를 포트 (10 cm × 15 cm)에 심은 후 300마리의 유충과 2,000여개의 알을 접종하였다. 선충 접종 후 0, 1, 2, 3주째에 미생물 배양액과 배지액을 각각 50 mL씩 처리하였다. 마찬가지로 비료와 농약 처리구도 각각 50 mL씩 처리하였다. 이 때, 비료 처리구는 복합비료 (N:P:K, 21:17:17) 3 g L<sup>-1</sup>와 요소비료 1.48 g L<sup>-1</sup>을 함께 물에 녹여서 처리하였고, 농약 처리구는 모캡 (Mocap, Bioscience Co. Korea) 1.44 g L<sup>-1</sup>, 복합비료 3 g L<sup>-1</sup>, 요소비료 1.48 g L<sup>-1</sup>을 섞어 물에 녹여 처리하였다. 처리 5주 후, 각 처리구별로 식물 생장 조사항목인 지상부 길이, 지상부 무게, 뿌리 무게와 선충 억제 효과 조사 항목인 뿌리혹 수, 난낭 수, 토양 내 유충 수를 측정하였다.

**통계분석** 이 실험의 결과는 SAS 프로그램 9.1 버전 (2006)을 사용하여 5% 수준에서 Turkey's Studentized Range Test를 하였다.

## 결과 및 고찰

**분리 및 동정** 토양으로부터 키틴분해활성이 있는 한균주를 분리하였고, 분리균의 16S rRNA 염기서열 분석결과 *Streptomyces sampsonii*와 99%의 상동성을 보였으며 *Streptomyces sampsonii* KK1024로 명명하여 NCBI 유전자은행에 등록하였다 (등록번호: JN180846).



**Fig. 1.** Visible enzyme activities of *S. sampsonii* KK1024 on each agar medium. The bacterium was grown on chitin agar medium (chitinase, a), gelatin agar medium (gelatinase, b), protease agar medium (protease, c) and lipid agar medium (lipase, d) at 30°C for 3 days.

**KK1024의 효소 활성** *S. sampsonii* KK1024의 chitinase, protease, gelatinase 및 lipase 활성을 측정하기 위해 각각의 선택배지가 사용되었다. Protease 활성은 skim milk agar 배지에서, chitinase 활성은 chitin agar 배지에서 투명환이 각각 관찰됨으로 활성을 확인하였다. Gelatinase 활성은 gelatin agar 배지에 30% trichloroacetic acid를 첨가한 후 투명환이 관찰되어 gelatinase 활성을 확인하였다. Lipase 활성은 Tween-80이 첨가된 배지에서 콜로니 (colony)를 형성하여 확인 되었다 (Fig. 1).

**KK1024 배양액이 뿌리혹선충 유충과 알에 미치는 영향**  
KK1024 배양액 농도에 따른 살선충 활성과 알 부화 억제 활성을 조사한 결과, 알 부화율은 조사 5일째 멸균증류수는 83%, 배지 50%는 67% 정도의 부화율을 보였다. 반면에 배양액 10%는 63%, 배양액 20%는 56%, 배양액 30%는 30%, 배양액 50%의 알 부화율은 12%로 나타났다. 결과적으로 대조군에 비해 실험군의 부화율이 낮으며 실험군에서는 배양액의 처리농도가 높을수록 선충의 알 부화율은 감소하였다 (Fig. 2a). 2령 유충에 대한 배양액의 살선충 활성은 3일째 유충의 치사율은 멸균증류수는 11%, 배지 50%는 15%을 나타내었고, 반면에 배양액 10%에서는 21%, 배양액 20%는 47%, 배양액 30%는 67%, 배양액 50%의 유충 치사율은 81%로 나타나 1일째 결과와 같은 경향을 나타냈다 (Fig. 2b). 이와 유

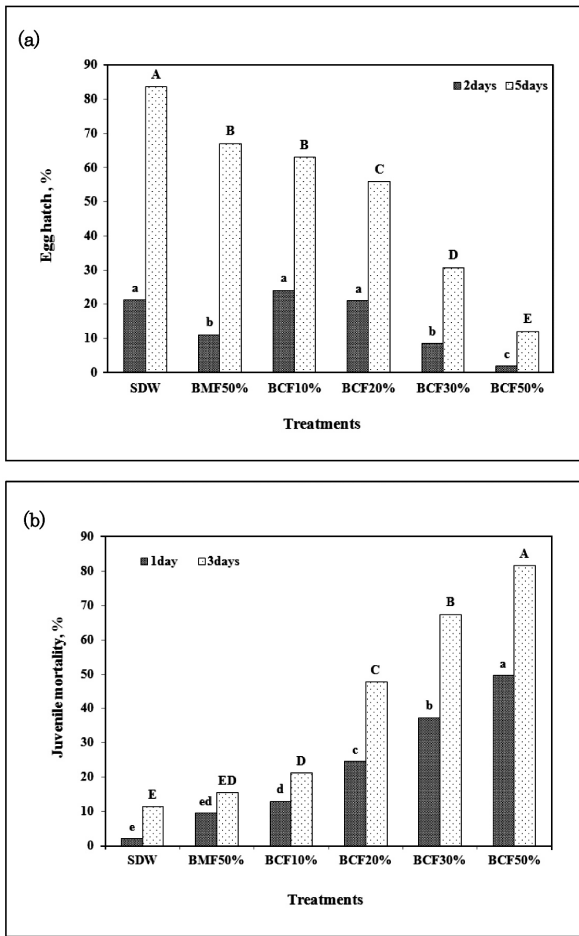


Fig. 2. Effect of culture filtrate from *S. sampsonii* KK1024 on egg hatch (a) of root-knot nematode at 26°C for 2 and 5 days, and juvenile mortality (b) at 26°C for 1 and 3 days. SDW, sterile distilled water; BMF, bacterial medium filtrate without a bacterium; BCF, bacterial culture filtrate. Different letters indicate significant difference at  $P \leq 0.05$  of Tukey's HSD multiple comparison test.

사한 결과로 Khan et al. (2008)은 *P. polymyxa* GBR-1의 배양 여과액 농도가 높아질수록 알의 부화율은 낮아지고 유충의 치사율은 높아진다고 보고하였다. 이러한 결과는 미생물 배양액 속에 들어있는 항생물질, 독성 2차 대사산물 및 효소 등이 알의 부화와 유충의 생존을 억제 한 것으로 사료된다 (Jung et al., 2002; Rosado and Seldi, 1993). 이는 *Bacillus firmus* 배양액 처리가 선충알의 부화와 2령 유충의 생존을 억제 한다는 Mendoza et al. (2008)의 보고와 일치하였다. 또한, Olubnmi and Rajani (2004)는 *M. incognita*에 *Trichoderma* 배양 여과액 처리에 의한 100%의 유충 치사율을 보고하였다.

**KK1024가 생성한 조효소가 뿌리혹선충 유충과 알에 미치는 영향** KK1024가 생성한 조효소가 뿌리혹선충 유충과 알에 미치는 영향을 조사한 결과, 5일째 알 부화율이 멸

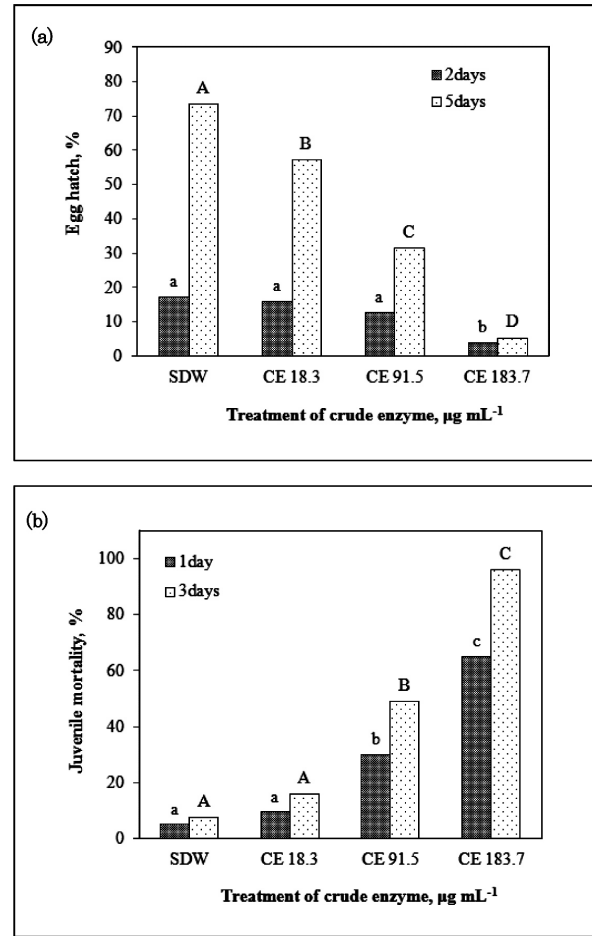


Fig. 3. Effect of crude enzyme from *S. sampsonii* KK1024 culture on egg hatch (a) of root-knot nematode at 26°C for 2 and 5 days, and juvenile mortality (b) at 26°C for 1 and 3 days. SDW, sterile distilled water; CE, crude enzyme. Different letters indicate significant difference at  $P \leq 0.05$  of Tukey's HSD multiple comparison test.

균중류수는 73%를 나타내었고, 반면에 조효소 18.3  $\mu\text{g mL}^{-1}$  처리구에서는 57%, 91.5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  처리구는 31%, 183.7  $\mu\text{g mL}^{-1}$  처리구는 5% 정도를 나타냈다. 이 실험에서 미생물이 생성한 효소에 의해서도 선충의 알 부화가 억제됨을 알 수 있었다 (Fig. 3a). 이는 선충의 알 껍질은 단백질 50%와 키틴 30%로 구성되어있어서 (Bird and Bird, 1991) 미생물이 생성한 효소에 의해 알 껍질이 파괴되므로 알 부화가 억제 되었을 것으로 사료된다. 이러한 결과는 *P. chlamydosporium* 이 생산한 chitinase와 serine protease의 단독 또는 혼용에 의해 알껍질 표면의 구조가 손상되고 (Tikhonov et al., 2002), *P. illinoisensis* KJA-424가 생산한 chitinase에 의해 알껍질이 분해되어 결과적으로 부화가 억제된 실험의 결과로 (Jung et al., 2002) 뒷받침 할 수 있다. 또한, 유충의 3일째 치사율은 멸균중류수 처리구는 7%를 나타내었고, 반면에 18.3  $\mu\text{g mL}^{-1}$  처리구에서는 16%, 91.5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  처리구는 49%, 183.7  $\mu\text{g mL}^{-1}$  처리구는 96%로 나타났다. 이

실험에서도 미생물이 생성한 효소가 유충의 치사율을 높임을 알 수 있었다 (Fig. 3b). Costi et al. (2002)에 따르면 *Enterococcus faecalis*의 젤라틴 분해효소를 변형시키면 *Caenorhabditis elegans*의 치사율이 감소되었다고 보고하였다. 이는 *S. sampsonii* KK1024가 분비한 효소가 뿌리혹선충 유충에 영향을 주는 것으로 사료된다.

**부탄올 추출물이 뿌리혹선충 유충과 알에 미치는 영향**

부탄올 추출물이 뿌리혹선충 알 부화율에 미치는 영향에 대한 결과에서, 5일째 알 부화율은 멸균증류수에서 72%를 나타낸 반면, 부탄올 0.1% 처리구는 17%의 부화율이 측정되었다. 그러나 부탄올 1.0% 처리구에서는 유충의 부화가 관찰되지 않았다 (Fig. 4a). 실험결과 부탄올 추출물의 농도가 높을수록 알과 유충에 더 큰 영향을 주는 것을 알 수 있었다. 또한, 24시간째 유충 치사율이 멸균증류수 처리구에서는 8%를 나타내었고, 부탄올 0.1% 처리구는 20%, 부탄올 1.0%

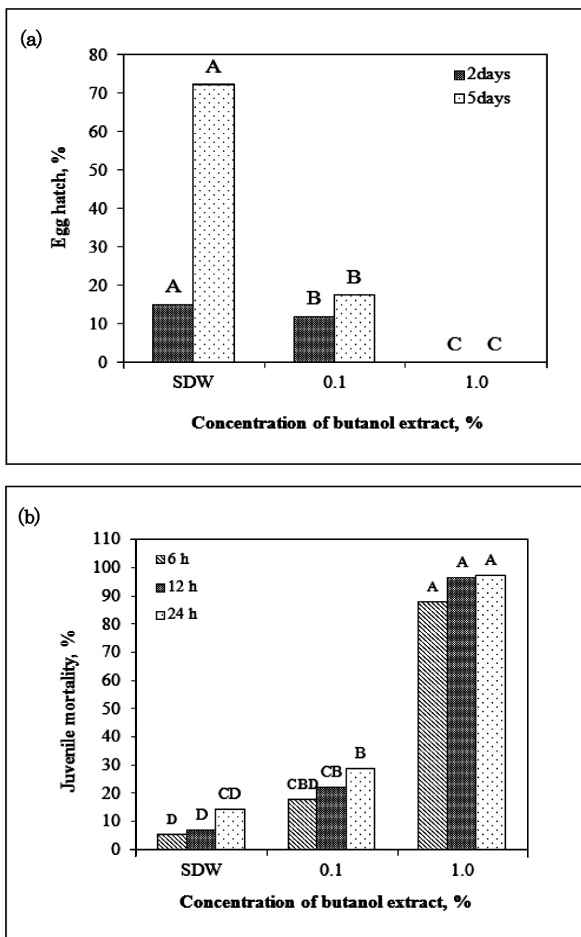
처리구는 90%의 치사율을 나타냈다 (Fig. 4b). 이러한 결과는 *Paecilomyces lilacinus* 배양액으로부터 에틸아세테이트 (ethylacetate)로 추출한 물질이 뿌리혹선충 (*Meloidogyne javanica*)를 억제하였다는 Siddiqui et al. (2005)의 보고와 일치한다. 또한, Khan et al. (2008)은 *P. polymyxa* GBR-1을 배양한 상등액의 Chloroform 추출물 처리 농도가 높아짐에 따라 알의 부화억제와 유충 치사율이 증가하였다고 보고하였다. 이것은 분리한 미생물이 가지고 있는 어떤 물질이 알 부화율은 낮추며, 유충 치사율은 높인다는 것을 의미한다. 차 후 정제를 거쳐 물질을 분석할 필요가 있다.

**KK1024 배양액 처리가 식물생장과 뿌리혹선충 억제에 미치는 영향**

정식 5주 후, 각 처리구 별 토마토 지상부 무게 (shoot weight)를 측정된 결과 미생물 배양액, 배지, 비료, 농약 처리구에서 각각 28.04 g, 24.15 g, 24.18 g, 21.15 g를 나타내었다. 토마토 지상부 길이 (shoot length)는 미생물 배양액, 배지, 비료, 농약 처리구에서 각각 33.87 cm, 30.00 cm, 31.43 cm, 29.10 cm를 나타내었다. 이러한 결과는 미생물 배양액 속에 들어 있는 효소와 미생물이 생성한 여러 2차 대사산물이 토마토 생장에 영향을 미친 것으로 생각된다. Broadbent et al. (1977)에 따르면 미생물이 뿌리혹선충의 감염을 억제하였거나 생리활성 물질을 분비함으로써 식물이 성장한 것으로 보고하였다. 농약 처리구의 결과가 가장 낮은 이유는 약해 때문인 것으로 보인다 (Fig. 5a and 5b).

토마토 뿌리 무게 (root weight)는 미생물 배양액, 배지, 비료, 농약 처리구에서 각각 3.97 g, 2.76 g, 5.51 g, 2.53 g를 나타내었다. 토마토 뿌리 무게 측정에서 비료 처리구가 가장 높은 이유는 뿌리혹선충에 감염되어서 생긴 토마토 뿌리의 혹 때문인 것으로 사료된다 (Fig. 5c). 미생물 배양액, 배지, 비료, 농약 처리구가 뿌리혹선충에 미치는 영향을 조사하였다. 각 처리구별 난낭은 52개, 213개, 580개, 19개로 조사되었다. 난낭 수가 가장 적은 처리구는 농약 처리구였지만, 미생물 배양액 처리구가 배지 및 비료 처리구보다 적은 난낭 수를 나타냈다. 이 실험은 미생물 배양액이 뿌리혹선충 번식 억제에 효과가 있음을 보여 주었다. 뿌리혹 수는 미생물 배양액, 배지, 비료, 농약 처리구에서 각각 282개, 686개, 1,122개, 44개가 조사되었다. 뿌리혹 수도 난낭 수와 마찬가지로 농약 처리구가 가장 적었지만, 미생물 배양액 처리구가 배지 및 비료 처리구보다 적은 뿌리혹 수가 관찰되었다 (Fig. 6a and 6b). 이는 *Streptomyces costaricanus* 처리가 토마토와 고추의 생장을 유도하면서 *M. incognita*에 의한 뿌리혹 수가 감소되었다고 보고한 Chen et al. (2000)과 Dicklow et al. (1993)의 결과와 유사하다.

토양 내 유충의 수는 미생물 배양액, 배지처리, 비료처리, 농약 처리구에서 각각 2,483마리, 6,675마리, 10,388마리, 301마리가 관찰되었다. 이 실험 결과는 뿌리혹선충 난낭 수,



**Fig. 4.** Effect of butanol extract from *S. sampsonii* KK1024 culture on egg hatch (a) of root-knot nematode at 26°C for 2 and 5 days, and juvenile mortality (b) at 26°C for 1 and 3 days. SDW, sterile distilled water; Different letters indicate significant difference at  $P \leq 0.05$  of Tukey's HSD multiple comparison test.

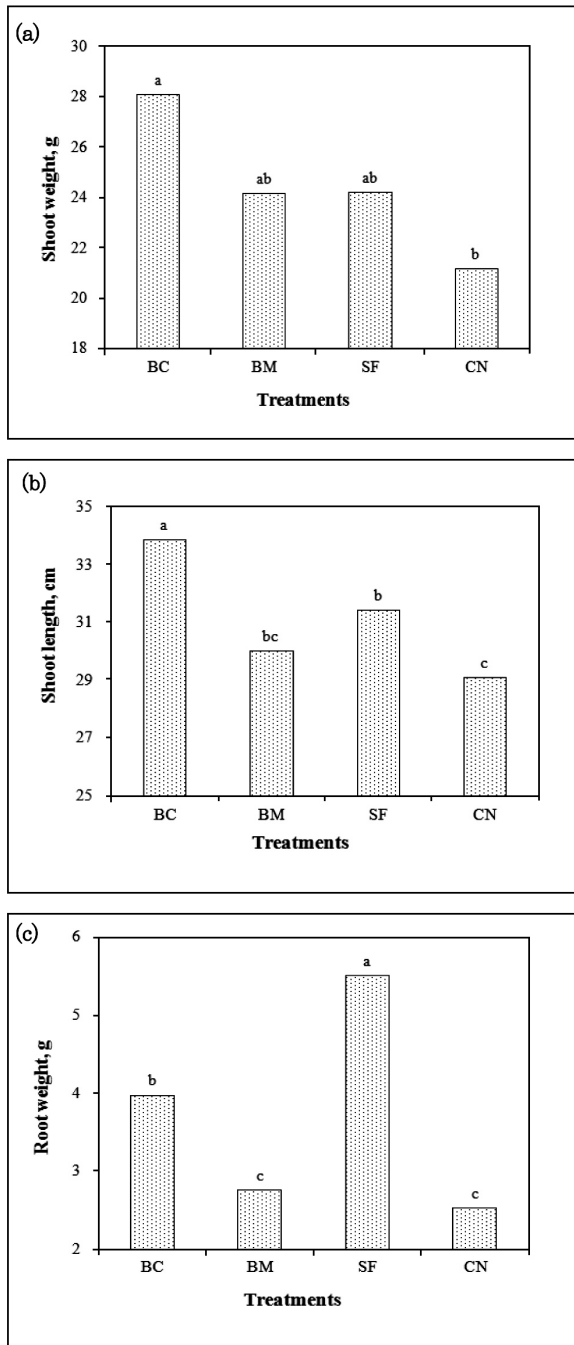


Fig. 5. Changes in fresh shoot weight (a) and length (b), and fresh root weight (c) of tomato plants as influenced by bacterial culture (BC), bacterial medium (BM), synthetic fertilizer (SF), and commercial nematicide (CN) at 5, 6 and 7 weeks after infection of root-knot nematodes. Different letters indicate significant difference at  $P \leq 0.05$  of Tukey's HSD multiple comparison test.

뿌리혹 수, 토양 내 유충의 수 측정 결과 경향이 비슷함을 알려준다. 비록 농약 처리구의 뿌리혹선충 피해가 가장 적었지만, 미생물 배양액 처리구가 배지 및 농약 처리구보다 토마토의 선충 피해를 줄이는데 효과가 있는 것으로 사료된다 (Fig. 6c). 이는 Gautam (1995)이 *Bacillus subtilis* 배양

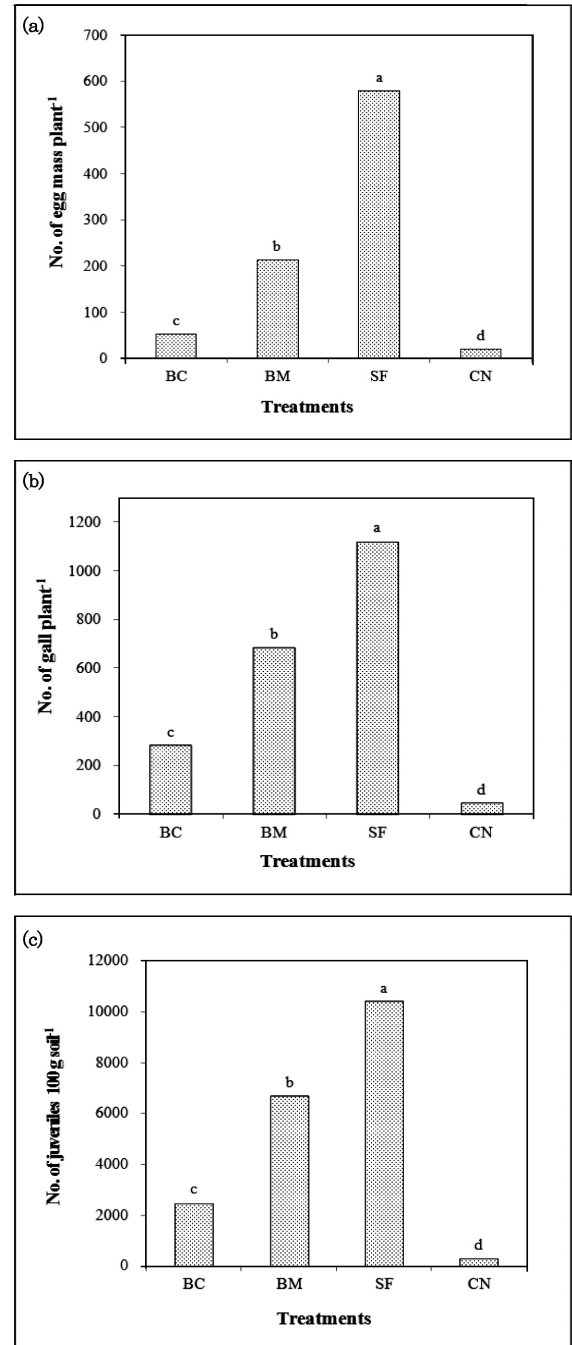


Fig. 6. Changes of egg mass (a) and gall (b) number in tomato plants, and J2 population (c) in 100 g soil as influenced by bacterial culture (BC), bacterial medium (BM), synthetic fertilizer (SF), and commercial nematicide (CN) at 5, 6 and 7 weeks after infection of root-knot nematodes. Different letters indicate significant difference at  $P \leq 0.05$  of Tukey's HSD multiple comparison test.

액을 처리하였을 때 난낭 수와 뿌리혹 수가 감소됨을 보고한 바와 같다. 또한, Jayakumar (2009)는 토마토를 살선충 물질로 알려진 avermectin을 생산하는 *Streptomyces avermitilis*의 배양액에 침지한 후 정식한 것에서 식물의 생장은 증가하고 뿌리혹 선충에 의한 감염은 억제되었다고 보고하였다.

## 요 약

친환경 뿌리혹선충 방제제로써의 활용을 위해 전남 무안 해안가 토양으로부터 chitin 및 gelatin 분해활성이 있는 *Streptomyces sampsonii* KK1024를 분리하였다. KK1024는 키틴분해효소, 단백질분해효소, 젤라틴분해효소 및 지질분해효소 활성이 있음이 조사되었다. KK1024의 뿌리혹선충 유충 치사 및 알 부화 억제 효과를 조사한 결과, 배양액 50% 처리 시 유충 치사율이 3일째 81%, 알 부화율이 5일째 2%로 나타났다. 또한, 조효소 183.7  $\mu\text{g mL}^{-1}$  처리 시 유충 치사율이 3일째 96%, 알 부화율이 5일째 5%를 나타냈다. 부탄올 추출물질 1% 처리 시 3일째 유충 치사율이 90%, 알 부화율이 0%로 나타났다. 미생물 배양액이 선충 피해 방제와 식물 성장에 미치는 영향을 조사해 본 결과, 식물 지상부 무게 및 크기에서 미생물 배양액 처리구가 배지, 비료, 농약처리구 보다 높게 나타났다. 선충 피해 방제에 있어서 미생물 배양액 처리구가 난랑 수, 뿌리혹 수, 토양 내 유충 수에서 농약 처리구 보다는 높게 나타났지만, 배지 및 비료 처리구 보다는 낮게 나타났다. 이러한 결과로 보아 다양한 분해효소 및 살선충 물질을 생성하는 *Streptomyces sampsonii* KK1024는 뿌리혹선충을 생물학적으로 방제할 수 있는 방제제로서 가치가 있다고 사료된다.

## 사 사

이 논문은 광주광역시 교육청주최 “제25회 광주광역시 과학전람회” 시 대표작으로 선정되어 지원을 받아 수행하였으며, 이에 감사드립니다.

## 인 용 문 헌

Abo-Elyousr, K.A., Z. Khan, M.E. Award, and M.F. Abedel-Moneim. 2010. Evaluation of plant extracts and *Pseudomonas* spp. for control of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato. *Nematopica* 40(2):289-299.

Atkins, S.D., L. Hidalgo-Diaz, H. Kalisz, T.H. Mauchline, P.R. Hirsch, and B.R. Kerry. 2003. Development of a new management strategy for the control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in organic vegetable production. *Pest Manag. Sci.* 59:183-189.

Bird, A.F. and J. Bird. 1991. *The Structure of Nematodes*, second ed. Academic Press, San Diego, London.

Broadbent, P., K.F. Baker, N. Franks, and J. Holland. 1977. Effect of *Bacillus* spp. on increased growth of seedling in steamed and in non treated soil. *Phytopathology* 67:1027-1034.

Chen, J., G.S. Abawi, and B.M. Zuckerman. 2000. Efficacy of *Bacillus thuringiensis*, *Paecilomyces marquandii*, and *Streptomyces costaricanus* with and without organic amendments against *Meloidogyne hapla* infecting lettuce. *J. Nematol.* 32:70-77.

Choi, Y.H. 1982. *Phytonematology* p. 58-69. Hyang-moon-sa, Korea.

Costi, D.S., M. Eleftherios, V.S. Kavindra, Q. Xiang, A.G. Danielle, E.M. Barbara, M.A. Frederick, and B.C. Stephen. 2002. Virulence Effect of *Enterococcus faecalis* Protease Genes and the Quorum-Sensing Locus *fsr* in *Caenorhabditis elegans* and Mice. *Infect. Immun.* 5647-5650.

Dicklow, M.B., N. Acosta, and B.M. Zucherman. 1993. A novel *Streptomyces* species for controlling plant-parasitic nematodes. *J. Chem. Ecol.* 19:159-173.

Dufour, R., M. Guerena, and R. Earles. 2003. Alternative nematode control. Appropriate technology transfer for rural areas. NCAT Agriculture Specialists, 16 pp.

Euzéby, J.P. 2008. “Genus *Streptomyces*”. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. <http://www.bacterio.cict.fr/s/streptomyces.html>

Gautam, A., Z.A. Siddiqui, and I. Mahmood, 1995. Intergated management of *Meloidogyne incognita* on tomato. *Nematologia Mediterranea* 23:245-247.

Jayakumar, J. 2009. *Streptomyces avermitilis* as a biopesticide for the management of root knot nematode, *Meloidogyne incognita* in tomato. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences* 22:564-566.

Jung, W.J., S.J. Jung, K.N. An, Y.L. Jin, R.D. Park, K.Y. Kim, B.K. Shon, and T.H. Kim. 2002. Effect of chitinase-producing *Paenibacillus illinois* KJA-424 on egg hatching of root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita*). *J. Microbiol. Biotechnol.* 12:865-871.

Kämpfer, P. 2006. The Family *Streptomycetaceae*, Part I: Taxonomy. p. 538-604. In M. Dworkin et al. (ed.) *The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria*. Springer, Berlin, Germany.

Khan, Z., S.G. Kim, Y.H. Jeon, H.U. Khan, S.H. Son, and Y.H. Kim. 2008. A plant growth promoting rhizobacterium, *Paenibacillus polymyxa* strain GBR-1, suppresses root-knot nematode. *Bioresource Technol.* 99:3016-3023.

Kwon, H.R., S.W. Son, H.R. Han, G.J. Choi, K.S. Jang, Y.H. Choi, S. Lee, N.D. Sung, and J.C. Kim. 2007. Nematicidal activity of bikaverin and fusaric acid isolated from *Fusarium oxysporum* against pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Plant Pathology J.* 23:318-321.

Kwon, T.Y., K.C. Jung, S.D. Park, Y.G. Sim, and B.S. Choi.

1998. Cultural and chemical control of root-knot nematodes, *Meloidogyne* sp. on oriental melon in plastic film house. RDA J. Crop Prot. 40:96-101.
- Lee, J.G. 2003. Occurrence, ecology and control of root-knot nematodes under greenhouse cultivation system. Ph.D. Thesis, Chungnam National University, Daejeon, Korea.
- Li, W., D.P. Roberts, P.D. Derby, S.L.F. Meyer, S. Lohrke, R.D. Lumsden, and K.P. Hebbar. 2002. Broad spectrum anti-biotic activity and disease suppression by the potential biocontrol agent *Burkholderia ambifaria* BC-F. Crop Protection. 21:129-135.
- Lim, T.H., S.H. Cho, and J.H. Kim. 2007. Effects of *Streptomyces* sp. MG 121 on Growth of Pepper Plants and Antifungal Activity. Res. Plant Dis. 13(2):93-97.
- Mendoza, A.R., S. Kiewnick, and R.A. Sikora. 2008. In vitro activity of *Bacillus firmus* against the burrowing nematode *Radopholus similis*, the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and the stem nematode *Ditylenchus dipsaci*. Biocontrol Sci. Technol. 18:377-389.
- Oka, Y., H. Koltai, M. Bar-Eyal, M. Mor, E. Sharon, I. Chet, and Y. Spiegel. 2000. New strategies for the control of plant-parasitic nematodes. Pest Manag. Sci. 56:983-988.
- Olubnmi, O.F. and S.N. Rajani. 2004. Biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) on tissue culture Banana (*Dwarf cavendish* var. Basarai.) ISHA Acta Horticult. 635:183-186.
- Rosado, A.S. and L. Seldin, 1993. Production of a potentially novel antimicrobial substance by *Bacillus polymyxa*. World J. Microb. Biot. 9:521-528.
- Sasser, J.N. 1980. Root-knot nematode: a global menace to crop production. Plant Dis. 64:36-41.
- Sela, S., H. Schickler, I. Chet, and Y. Spiegel. 1998. Purification and characterization of *Bacillus cereus* collagenolytic/ proteolytic enzyme and its effect on *Meloidogyne javanica* cuticular proteins. Eur. J. Plant. Pathol. 104:59-67.
- Siddiqui, I.A., H. Dieter, and H. Stephan. 2005. Extracellular Protease of *Pseudomonas fluorescens* CHA0, a Biocontrol Factor with Activity against the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita*. Appl. Environ. Microb. 71(9): 5646-5649.
- Siddiqui, Z.A. and I. Mahmood. 1999. Role of bacteria in the management of plant parasitic nematodes: a review. Bioresource Technol. 69:167-179.
- Tikhonov, V.E., L.V. Lopez-Llorca, J. Salinas, and H.B. Jansson. 2002. Purification and characterization of chitinases from the nematophagous fungi *Verticillium chlamydosporium* and *V. suchlasporium*. Fungal Genet. Biol. 35:67-78.
- Zhu, Y.Z., D.S. Park, M.R. Cho, J.H. Hur, and C.K. Lim. 2005. Suppression of *Meloidogyne arenaria* by different treatments of *Pasteuria penetrans*. The Korean J. Pesticide Science 9(4):437-441.