

Trichoderma sp. GL02에 의한 고추 식물의 건조 스트레스 완화 효과*

김상태** · 유성제*** · 송재경**** · 원항연***** · 상미경*****

Effect of *Trichoderma* sp. GL02 on alleviating Drought Stress in Pepper Plants

Kim, Sang Tae · Yoo, Sung-Je · Song, Jaekyeong ·
Weon, Hang-Yeon · Sang, Mee Kyung

Drought stress is one of major environmental stresses in plants; this leads to reduce plant growth and crop yield. In this study, we selected fungal isolate for mitigating drought stress in pepper plants. To do this, 41 fungi were isolated from rhizosphere or bulk soils of various plants in Jeju, Gangneung, Hampyeong in Korea. Out of 41 isolates, we screened two isolates without phytotoxicity through seed germination of tomato, pepper, and cabbage treated with fungal spores; through following plant assay, we selected GL02 as a candidate for alleviating drought stress in pepper plants. As a result of greenhouse test of pepper plants in drought condition, the stomatal conductance on leaves of pepper plants treated with GL02 was increased, whereas the malondialdehyde (MDA) and electrolyte leakage were decreased compared to that in control plants. When stressed plants were rewatered, stomatal conductance of the plants treated with GL02 was increased; the electrolyte leakage was decreased. Based on internal transcribed spacer (ITS) sequencing analysis, isolate GL02 was belonging to genus *Trichoderma*. Taken together, drought stress in pepper plants treated with GL02 was alleviated, when it was rewatered after drought-stressed, the plants could be recovered effectively. Therefore, *Trichoderma* sp. GL02 could be used as a bio-fertilizer to alleviate drought stress in pepper plants.

Key words : *chili pepper, drought, fungi*

* 본 연구는 국립농업과학원 연구개발사업(과제번호: PJ01351902)의 지원에 의해 수행되었음.

** 국립농업과학원 농업미생물과, 동아대학교 응용생명과학과 박사과정

*** 국립농업과학원 농업미생물과, 경상대학교 농업생명자원학과 박사

**** 국립농업과학원 농업미생물과 농업연구관

***** 국립농업과학원 농업미생물과 농업연구사

***** Corresponding author, 국립농업과학원 농업미생물과 농업연구사(mksang@korea.kr)

I. 서 론

식물은 급격한 이상기후로 인하여 건조, 염류, 고온 및 저온 등의 다양한 환경요인에 대해 받는 스트레스가 증가하고 있다. 특히, 건조는 심각히 여겨지는 환경 스트레스 요인 중 하나로 식물의 성장과 생산량을 감소시킨다고 알려져 있다(Hasanuzzaman et al., 2014). 식물은 건조 스트레스를 받게 되면 수분 손실을 최소화하기 위해 기공을 닫아 증산량을 감소하여 수분 이용 효율을 증가시키지만, 이로 인해 광합성량이 감소하게 되면서 식물의 성장과 생산량이 감소하게 된다(Assefa et al., 2010). Matiu 등(2017)이 만든 모델에 따르면 고온과 건조가 같이 있는 조건에서는 옥수수의 수확량이 11.6% 감소하며, 건조에서는 7.8% 감소할 것이라고 한다. 우리나라는 홍수기인 6월에서 9월에 여름철 장마와 가을철 태풍으로 50% 이상의 강우가 집중되어 있어 홍수기 직전인 봄철의 경우 건조의 영향을 많이 받고 있다(Bang et al., 2018).

식물은 건조 스트레스에 의해 세포 내에 superoxide (O_2^-), hydroxyl radicals (OH), hydrogen peroxide (H_2O_2), singlet oxygen (1O_2)이 포함된 활성산소가 축적되고, 이로 인해 지질 과산화와 세포막 파괴 등의 2차인 산화적 스트레스를 받게 된다(Mittler, 2002) 이렇게 과잉된 활성산소는 식물의 malondialdehyde (MDA) 함량을 증가시키기 때문에 MDA는 식물의 산화적 피해를 확인할 수 있는 biomarker로 이용이 된다(Miller et al., 2007). 또한, 식물은 과잉된 활성산소를 줄여 스스로를 보호하기 위해 catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) 등과 같은 항산화 효소를 생성하거나 ascorbate acid (AsA), glutathione (GSH) 등의 항산화 효소가 아닌 물질을 이용하기도 한다(Xie et al., 2019).

식물의 건조 스트레스를 감소시키기 위해 내건성 품종 육종과 규소(Si)를 사용하는 재배적인 방법 등 다양한 시도가 진행되고 있으며, 한편에서는 친환경적 방법으로 식물생장근권세균, 내생곰팡이, 균근균 등의 유용한 미생물을 이용한 방법도 연구되고 있다(Chen et al., 2011; Mona et al., 2017; Kim et al., 2019; Lin et al., 2020). Salam 등(2017)에 따르면 다마스크 장미에 수지상균근균(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)를 건조조건에서 처리하였을 때, 성장과 꽃 수확량이 증가하였으며, 프롤린 함량이 감소하는 등의 건조스트레스가 완화되는 효과를 확인하였으며, Yang 등(2014)에 따르면 내생곰팡이 AL16을 창출에 처리하면 프롤린, 항산화 효소 활성을 증가시켜 건조스트레스에 대해 식물에 내성을 유도한다고 한다.

따라서, 본 연구에서는 건조로 인한 고추 식물체의 스트레스를 줄일 수 있는 유용한 곰팡이를 선발하고, 선발 유용 곰팡이에 의한 식물체에서의 건조 스트레스 완화 효과를 확인하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 미생물 분리

국내 함평의 딸기 근권, 강릉의 부추 일반 토양과 근권 토양, 오이와 강황의 근권 토양과 제주의 딸기와 토마토 근권 토양에서 곰팡이를 분리하였다. 이를 위해 샘플링한 토양(10 g)을 100 mL의 10 mM MgSO₄에 혼합한 후 160 rpm, 28°C에서 1시간 동안 진탕 배양하여 토양 현탁액을 만든 후, dichloran rose bengal chloramphenicol (DRBC, difco) 배지에 희석 평판 도말하여 28°C에서 4일간 배양한 후 형태적으로 상이한 41 균주를 분리하였다. 분리한 균주는 단포자 분리하여 potato dextrose agar (PDA, difco)에 배양하여 slant로 4°C에서 보관하여 사용하였다.

2. 발아율 검정

작물 생육을 저해하지 않는 균주를 확보하기 위하여, 분리한 41 균주에 대한 종자 발아율을 평가하였다. 고추(마니따, 농우바이오), 배추(불암 3호, 팜한농), 토마토(슈퍼도태랑, 코레곤)의 종자를 1% NaOCl에 1분 동안 담근 후 멸균수로 3회 세척하여 표면살균하였다. 분리한 곰팡이는 potato dextrose agar에 접종하여 28°C에서 7일 동안 배양한 후 멸균수 10 mL와 멸균 거즈(3겹)를 사용하여 포자를 수확하였다. 수확한 포자는 광학현미경으로 haemocytometer를 사용하여 10⁷ spores/mL로 맞추었으며, 0.02%의 tween20을 넣은 후 표면 살균한 종자를 3시간 동안 침지하였다. 분리한 곰팡이 포자에 침지한 종자를 water agar (agar 1.5%)에 올려 놓은 후 28°C에서 3~5일 동안 배양한 후 종자의 발아율을 평가하였다. 종자 발아율 검정을 위하여 10개씩 3반복 하였으며, *Aspergillus terreus* JF27를 positive control로 사용하였다(Yoo et al., 2018).

3. 건조스트레스 완화 곰팡이 선발 및 검정

실험한 41 균주 중 작물 생육을 저해하지 않는 2 균주인 GL02와 JSRF04 균주에 대한 고추 식물에서의 건조 스트레스 경감 효과가 있는지 알아보기 위하여 50 mL conical tube에 멸균한 calcined clay와 버미큘라이트를 1:1(v/v)로 혼합하여 30 mL 담고 2주된 고추(마니따)를 옮겨 심은 후 1주 동안 growth chamber (28°C, 16 hrs light, 8 hrs dark)에서 배양하였으며, 매일 멸균수 10 mL를 관주하여 동량의 물을 주었다. 1주일 후 GL02와 JSRF04 균주의 포자 현탁액(10⁷ spores/mL)을 20 mL 관주 처리한 후 관수를 중단하여 건조 스트레스를 주었다. 관수 중단 3일 후 고춧잎(2엽)을 샘플링하여, 잎의 상대수분함량(Relative water content, RWC)

(Tiwari et al., 2016)을 측정하고, Barrs와 Weatherley (1962)의 계산법 $RWC (\%) = (FW-DW)/(TW-DW) \times 100$ 으로 계산하여 이용하였다.

선발한 GL02의 건조에 대한 내성을 평가하기 위하여 PDA에 glycerol을 0, 5, 10, 20% 혼합하여 삼투 조건이 다른 배지를 조성한 후 GL02 (10 μ L, 10^7 spores/mL)를 접종한 후 7일 동안 28°C에서 배양하여 균사 생장을 평가하였다. 또한, 직경 1 cm의 코르크보리로 균사가 자랄 자리를 자른 후 1 mL의 멸균수에 넣고 30초 동안 vortexing한 후 포자 형성량(sporulation)을 광학현미경에서 haemocytometer로 측정하였다.

자연 건조 조건에서의 스트레스 경감 효과를 포트 검정하기 위해, 발 흙(산림토양: 퇴비=2:1)을 섞어서 15일 후숙한 후 사용하였으며, 고추 식물은 72구 트레이에서 3주간 키운 후 포트(직경 12 cm)에 발 흙으로 옮겨 심어 사용하였다. 사용 전에 발 흙은 90°C에서 1시간 동안 2회 저온 살균하였다. 고추 유묘 정식 2주 후(4-5엽), GL02의 포자현탁액(20 mL, 10^7 spores/mL)을 관주 처리한 후 관수를 중단하여 자연적인 건조 스트레스를 주었다. 건조 스트레스 후 20 mL의 물을 동일하게 관수하여 re-watering 하였다. 자연건조 5일 후 SC-1 Leaf porometer (Decagon Devices, WA, USA)를 이용하여 잎의 기공전도도(stomatal conductance), malondialdehyde (MDA) (Bao et al., 2009)와 잎의 전기누출량(electrolyte leakage)을 평가하여 건조에 의한 식물의 생리적 피해 현상을 측정하였다.

4. GL02 동정

선발 곰팡이 GL02를 동정하기 위하여 potato dextrose broth에서 28°C, 7일 동안 160 rpm에서 진탕 배양한 후 멸균 거즈(3겹)에 거른 균사를 액체질소에서 막자사발로 파우더로 만든 후, G-spin™ total DNA extraction kit (iNtRON, Korea)를 사용하여 genomic DNA를 분리하였다. 곰팡이 동정을 위해 internal transcribed spacer (ITS) (ITS1-F, 5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3', ITS4-R, 5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3')를 사용하여 증폭하였으며, Macrogen sequencing service (Daejeon, South Korea)에서 염기서열을 분석하였다. GL02의 DNA 염기서열은 National Center for Biotechnology Information (NCBI)의 BLAST network service를 사용하여 *Trichoderma*의 type isolates와 비교하였으며, 계통도는 Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) version 6.06 program (The Biodesign institute, Tempe, AZ, USA)를 사용하여 neighbor-joining method로 구성하였다.

5. 통계분석

통계분석은 Statistical Analysis System (SAS) (version 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC)를 이용하였으며, 모든 실험은 모두 2회 반복하여 수행하였고 Leven's test를 통하여 실험 간

분산의 균일성을 확인한 후 data를 풀링하였다. ANOVA 분석 후 최소유의차 검정(least significant difference; LSD, $P < 0.05$)을 하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 곰팡이 선발

국내 함평의 딸기 근권, 강릉의 부추 일반 토양과 근권 토양, 오이와 강황의 근권 토양과 제주의 딸기와 토마토 근권 토양에서 서로 다른 형태의 곰팡이 총 41 균주를 분리하였다 (Table 1). 분리한 곰팡이 균주가 식물에 독성 또는 병원성이 있는지 확인하기 위하여 water agar에서 토마토, 고추, 배추 종자의 발아율을 확인하였다. 토마토에서는 positive control로 사용한 JF27 균주는 100.0±0.0%의 발아율을 보였으며, GL02는 96.7±3.3%, JSRF04는 96.7±3.3%였으며, 배추에서는 JF27은 93.3±6.7%, GL02는 93.3±6.7%, JSRF04는 96.7±3.3%, 고추에서는 JF27 96.7±3.3%, GL02는 96.7±3.3%, JSRF04는 96.7±3.3%로 분리한 41 균주 중 식물 독성 또는 병원성이 없는 2 균주 GL02와 JSRF04를 일차 선발하였다(Fig. 1).

GL02와 JSRF04의 건조 스트레스 감소 효과가 있는지 확인하기 위해 선발 곰팡이를 처리한 고추 유묘에 20%의 PEG를 처리하여 인위적인 건조(수분) 스트레스를 주어 상대 수분함량(RWC, %)를 확인하였다. 대조구의 경우 식물의 상대 수분함량이 33.56±1.82%였으나, GL02를 처리한 식물에서는 40.62±1.10%로 수분함량이 대조구 대비 유의하게 높게 유지되었으며, 이후 식물 검정을 위해 최종적으로 GL02 균주를 선발하게 되었다(Fig. 2).

Table 1 List of fungi isolated from rhizosphere or bulk soil of various plants in Korea

NO.	Isolate	Source	Host	Location
1	HSF01	Rhizosphere	Strawberry	Hampyeong
2	HSF02	Rhizosphere	Strawberry	Hampyeong
3	HSF03	Rhizosphere	Strawberry	Hampyeong
4	HSF04	Rhizosphere	Strawberry	Hampyeong
5	HSF05	Rhizosphere	Strawberry	Hampyeong
6	HSF06	Rhizosphere	Strawberry	Hampyeong
7	HSF07	Rhizosphere	Strawberry	Hampyeong
8	HSF08	Rhizosphere	Strawberry	Hampyeong
9	HSF09	Rhizosphere	Strawberry	Hampyeong

NO.	Isolate	Source	Host	Location
10	HSF10	Rhizosphere	Strawberry	Hampyeong
11	HSF11	Rhizosphere	Strawberry	Hampyeong
12	HSF12	Rhizosphere	Strawberry	Hampyeong
13	HSF13	Rhizosphere	Strawberry	Hampyeong
14	HSF14	Rhizosphere	Strawberry	Hampyeong
15	HSF15	Rhizosphere	Strawberry	Hampyeong
16	GLS01	Bulk soil	Chive	Gangneung
17	GLS02	Bulk soil	Chive	Gangneung
18	GLS03	Bulk soil	Chive	Gangneung
19	GLS04	Bulk soil	Chive	Gangneung
20	GLS05	Bulk soil	Chive	Gangneung
21	GLS06	Bulk soil	Chive	Gangneung
22	GL01	Rhizosphere	Chive	Gangneung
23	GL02	Rhizosphere	Chive	Gangneung
24	GL03	Rhizosphere	Chive	Gangneung
25	GLC01	Rhizosphere	Chive	Gangneung
26	GC01	Rhizosphere	Cucumber	Gangneung
27	GC02	Rhizosphere	Cucumber	Gangneung
28	GC03	Rhizosphere	Cucumber	Gangneung
29	GCH01	Rhizosphere	Cucumber	Gangneung
30	GT01	Rhizosphere	Turmeric	Gangneung
31	GT02	Rhizosphere	Turmeric	Gangneung
32	GTH01	Rhizosphere	Turmeric	Gangneung
33	JSRF01	Rhizosphere	Strawberry	Jeju
34	JSRF04	Rhizosphere	Strawberry	Jeju
35	JSRF05	Rhizosphere	Strawberry	Jeju
36	JTRF02	Rhizosphere	Tomato	Jeju
37	JTRF03	Rhizosphere	Tomato	Jeju
38	JTRF04	Rhizosphere	Tomato	Jeju
39	JTRF05	Rhizosphere	Tomato	Jeju
40	JTRF06	Rhizosphere	Tomato	Jeju
41	JTRF07	Rhizosphere	Tomato	Jeju

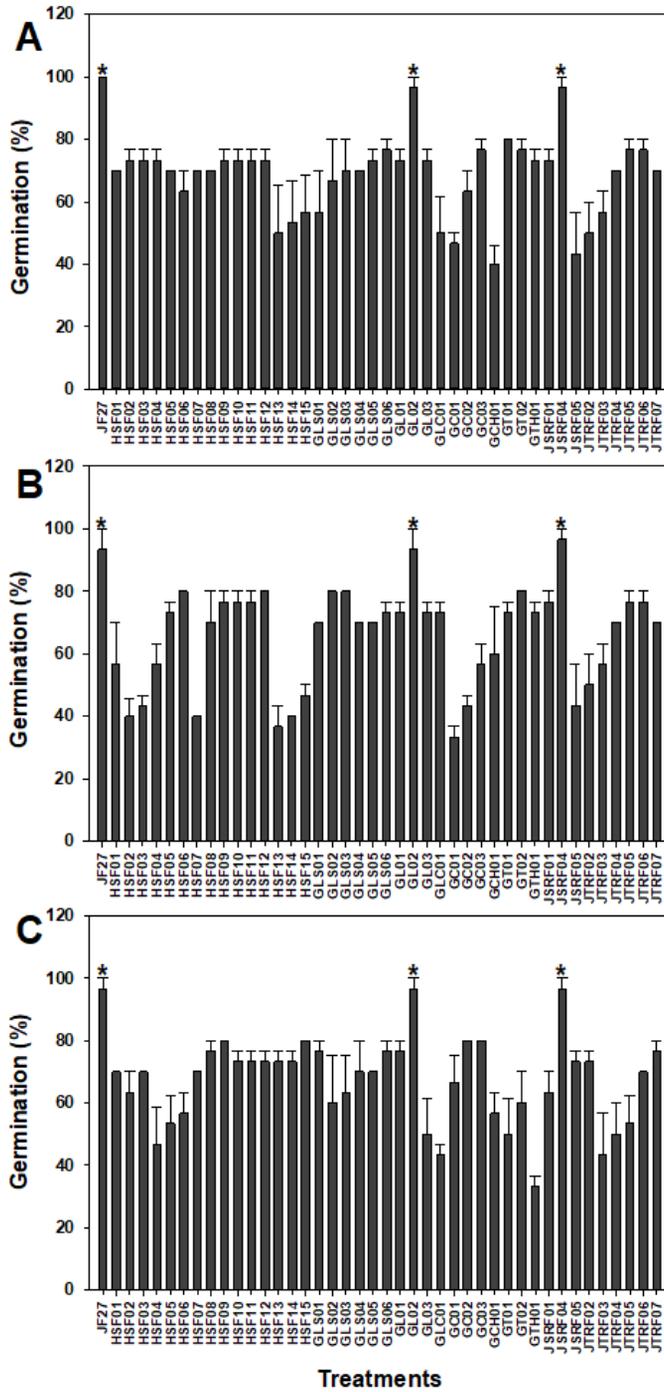


Fig. 1. Seed germination of tomato (A), cabbage (B) and pepper (C) in water agar grown with tested fungal isolates. Asterisks on the bar mean statistical difference by LSD ($P < 0.05$); error bars indicate standard errors.

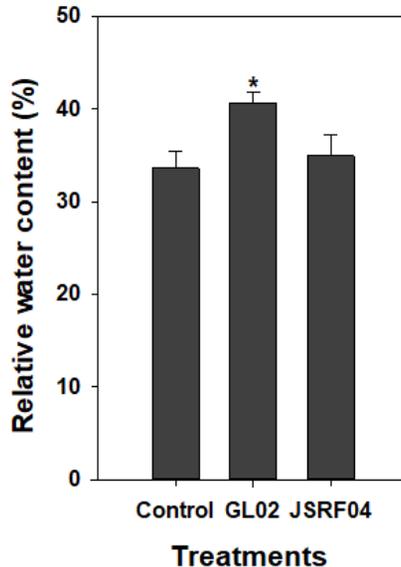


Fig. 2. Relative water content (%) of pepper seedling drenched with 20% PEG after treatment of fungal spores. Asterisk on the bar mean statistical difference by LSD; error bars indicate standard errors.

2. 선발 곰팡이 가뭄 내성 평가

선발한 균주 GL02 자체의 건조 조건에서의 내성을 확인하기 위하여, 곰팡이 생장 배지에 glycerol을 첨가하여 인위적인 수분 스트레스 조건을 조성하여 균주의 생장을 평가하였다. GL02 균주의 균사 생장은 glycerol의 함량이 증가하여 수분 스트레스가 증가함에 따라 생장이 감소하는데, glycerol이 10% 함유된 배지에서는 $84.48 \pm 12.59\%$, 20% 함유된 배지에서는 $26.72 \pm 1.17\%$ 로 수분 스트레스가 증가할수록 균사 생장이 감소하는 것을 보였다. 이러한 조건에서 GL02 균주의 포자 생성량은 무 처리 시 단위면적(cm^2) 당 $\log(6.48 \pm 0.08)$ 이고, glycerol이 5% 함유된 배지에서는 $\log(6.28 \pm 0.06)$ 로 다소 감소하였으나, glycerol이 10%와 20% 함유 배지에서는 확인되지 않았다(Fig. 3).

3. 고추 식물에서 건조 스트레스 완화 효과 검정

고추 식물에 건조 스트레스를 주었을 때 식물의 건조와 관련된 생리적 변화를 관찰하여 GL02 균주에 의한 고추 식물에서의 건조 스트레스 완화 효과를 검정하였다. 건조 스트레스를 받았을 때 고추 식물의 기공전도도(stomatal conductance)는 GL02 균주를 처리한 경우, $51.54 \pm 6.10 \text{ mmol/m}^2/\text{s}$ 로 대조군 $33.23 \pm 2.14 \text{ mmol/m}^2/\text{s}$ 대비 증가하였으며, 건조 후 다시 관

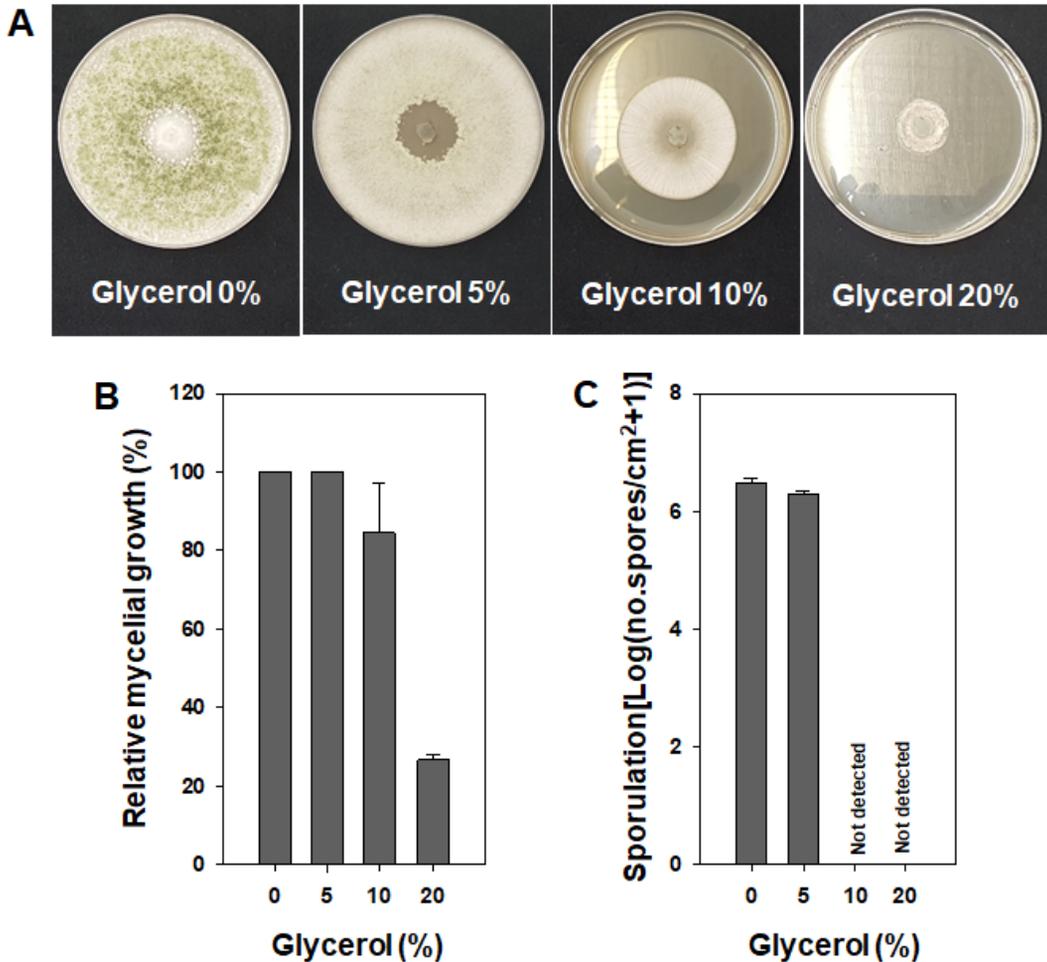


Fig. 3. Pictures (A), relative mycelial growth (B) and sporulation (C) of *Trichoderma* sp. GL02 on PDA amended with various concentrations (0, 5, 10, 20%) of glycerol.

수(re-watering) 할 경우, GL02를 처리한 식물은 $103.23 \pm 15.38 \text{ mmol/m}^2/\text{s}$ 로 대조구인 $79.45 \pm 12.54 \text{ mmol/m}^2/\text{s}$ 보다 높은 것으로 보아 건조 스트레스에 대한 회복력이 더 증가한 것을 확인하였다. Anjum 등(2011)에 따르면 식물은 건조 스트레스를 받으면 기공을 점차 닫으며, 이로 인해 잎에 수분함량과 기공전도도 또한 감소한다고 보고하였다. 이러한 기공전도도의 감소는 광합성 효율 감소로 이어지는데(Kusvuran, 2012), GL02를 처리한 식물은 대조구 대비 기공전도도가 높게 유지하는 것으로 보아 광합성 효율도 증가하면서 건조에 대한 스트레스를 덜 받는다고 할 수 있다. 또한, 건조조건에서 MDA는 대조구 $6.16 \pm 0.72 \text{ nmol/g}$ 와 대비하여 GL02를 처리한 식물에서는 3.86 ± 0.40 으로 유의하게 감소하였으나, 건조 후 재 관수 할 경우에는 통계적 차이는 없었다. 전기전도도는 GL02를 처리한 식물에서 $6.23 \pm 0.56\%$, 건

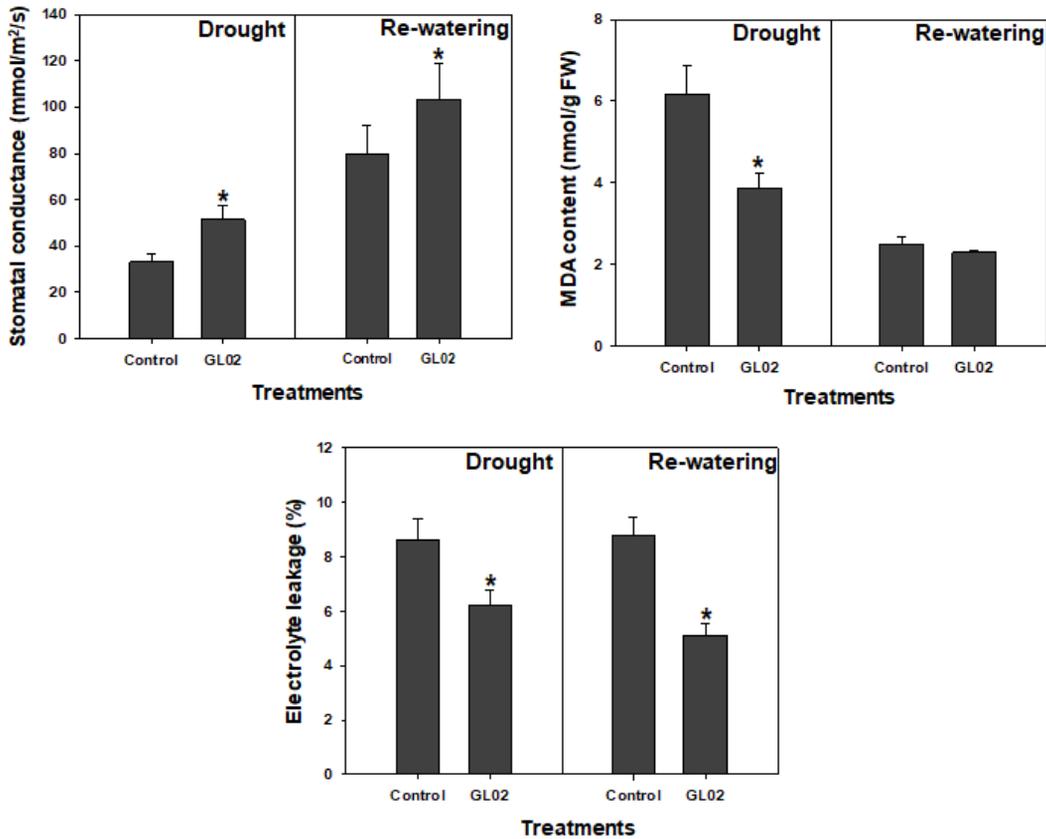


Fig. 4. Stomatal conductance (A), MDA (B) and electrolyte leakage (C) of pepper plants treated with GL02 spore suspension. Drought stress by water deficit was challenged for 5 days and then 40 mL of water was drenched into each pot. Asterisks on the bar mean statistical difference by LSD; error bars indicate standard errors.

조 후 재관수할 경우 $5.13 \pm 0.42\%$ 로 대조구 대비 현저히 감소하였다(Fig. 4). 식물은 건조 스트레스로 인해 2차적으로 산화적 스트레스를 받게 되면서 세포 내 활성산소가 증가하게 되고, 증가한 활성산소는 지질 과산화와 식물세포막 파괴를 유도하여 식물에 피해를 주게 된다. 이러한 산화적 스트레스를 확인하는 방법으로 MDA와 전기전도도는 각각 지질 과산화와 세포막피해를 확인하는 방법으로 이용되고 있다(Chomkitichai et al., 2014). 따라서, 본 결과를 통해 GL02를 고추 식물에 처리하면 MDA와 전기전도도가 감소하는 것으로 보아 고추 식물이 건조 스트레스를 받을 때 세포 내 2차적으로 발생하는 산화적 스트레스를 감소시켜주어, 식물이 받는 건조 스트레스를 완화시켜주는 것을 확인하였다.

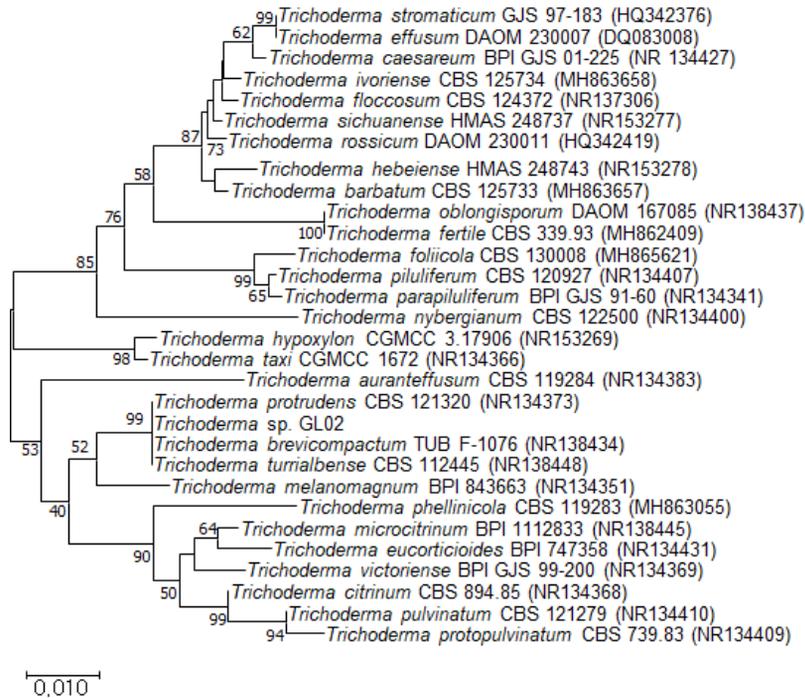


Fig. 5. Phylogenetic trees constructed by neighbor-joining method based on ITS gene sequences of GL02. Bootstrap values expressed as percentages of 1,000 replications are given at branching point. The scale bars represent 0.01 substitutions per site.

4. GL02 동정

건조 스트레스에 완화시켜주는 선발 균주 GL02를 ITS를 통해 염기서열 분석한 결과, GL02는 *T. turrialbense* CBS 112445, *T. brevicompactum* TUB F-1076과 100% 유사성을 보이며, *T. protrudens* CBS 121320과 99.8% 유사성을 보였다. 트라이코더마 종의 곰팡이는 여러 식물이 받는 다양한 생물적 또는 비 생물적 스트레스에 대해 식물에 내성을 유도하는 것으로 보고 되어있다(Hashem et al., 2014). 트라이코더마를 처리할 경우 식물 성장과 양분흡수가 증가하고 식물 내 수분함량을 유지시켜주는 것으로 알려져 있다(Mastouri et al., 2010). *T. hazianum* T35의 경우 항산화 효소의 활성을 증가시켜 스트레스에 의한 식물의 산화적 피해를 막았으며, *T. atroviride* ID20G의 경우 건조조건에서 식물의 생장이 증가하였고, 항산화 효소의 활성을 증가시켜 MDA와 H₂O₂의 함량을 감소시킴으로써 식물을 보호하였다(Gusain et al., 2014; Guler et al., 2016). Racic 등(2018)에 따르면 토마토에 *T. brevicompactum*을 처리하였을 때, ABA함량은 감소하고, 상대수분함량이 대조구에 비해 증가하는 것으로

보아 건조 스트레스에 *Trichoderma* sp.가 유용한 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다.

IV. 적 요

이상기후로 인한 건조 스트레스에 의해 식물의 기공전도도와 광합성의 감소로 생장과 작물생산량이 감소하는 피해가 발생하고 있다. 이러한 식물의 스트레스를 완화하는 유용 곰팡이를 선발하기 위해 국내 농경지에서 41 균주를 분리하였으며, 발아율 검사로 2종의 곰팡이를 선발하였으며, 식물검정을 통해 최종 *Trichoderma* sp. GL02를 선발하였다. GL02를 고추 식물체에 처리하였을 때, 대조구에 비해 기공전도도가 증가하고, MDA와 전기전도도는 감소하는 것으로 보아, GL02를 처리한 고추 식물체는 건조 스트레스가 완화되며, 건조 후 재관수하였을 때 회복도 효과적이었다. 이러한 결과는 GL02는 고추 식물체에 건조 스트레스를 완화시키는 유용한 소재로 사용될 수 있음을 시사한다. 또한, 추후 포장 실험을 통하여 *Trichoderma* sp. GL02의 건조 스트레스 완화 효과가 고추 생산량과 연관이 있는지 확인해 볼 예정이다.

[Submitted, March. 27, 2020 ; Revised, May. 12, 2020 ; Accepted, June. 2, 2020]

References

1. Anjum, S. A., L. C. Wang, M. Farooq, M. Hussain, L. L. Xue, and C. M. Zou. 2011. Brassinolide application improves the drought tolerance in maize through modulation of enzymatic antioxidants and leaf gas exchange. *J. Afr. Agric. Res.* 6: 2026-2032.
2. Assefa, Y., S. A. Staggenborg, and P. V. V. Prasad. 2010. Grain sorghum water requirement and responses to drought stress: A review. *Crop Management*. doi:10.1094/CM-20101-1109-01-RV.
3. Bang, N. K., W. H. Nam, E. M. Hong, M. J. Hayes, and M. D. Svoboda. 2018. Assessment of the meteorological characteristics and statistical drought frequency for the extreme 2017 spring drought event across South Korea. *Journal of the Korean Society of Agricultural Engineers*. 60: 37-48 (in Korean).
4. Bao, A. K., S. M. Wang, G. Q. Wu, J. J. Xi, J. L. Zhang, and C. U. Wang. 2009. Over-expression of the *Arabidopsis* H⁺-PPase enhanced the salt and drought tolerance in

- transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Plant Sci.* 176: 232-240.
5. Barrs, H. D. and P. E. Weatherley. 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Aus. J. Biol. Sci.* 15: 413-428.
 6. Chen, W., X. Yao, K. Cai, and J. Chen. 2011. Silicon alleviates drought stress of rice plants by improving plant water status, photosynthesis and mineral nutrient absorption. *Biol Trace Elem Res.* 142: 67-76.
 7. Chomkitichai, W., A. Chumyam, P. Rachtanapun, J. Uthaibutra, and K. Saengnil. 2014. Reduction of reactive oxygen species production and membrane damage during storage of 'Daw' longan fruit by chlorine dioxide. *Sci. Hortic.* 170: 143-149.
 8. Gusain, Y. S., U. S. Singh, and A. K. Sharma. 2014. Enhance activity of stress related enzymes in rice (*Oryza sativa* L.) induced by plant growth promoting fungi under drought stress. *Afr. J. Agric. Res.* 9: 1430-1434.
 9. Guler, N. S., N. Pehlivan, S. A. Karaoglu, S. Guzel, and A. Bozdeveci. 2016. *Trichoderma atroviride* ID20G inoculation ameliorates drought stress-induced damages by improving antioxidant defence in maize seedlings. *Acta Physiol Plant* 38: 132.
 10. Hasanuzzaman, M., K. Nahar, S. S. Gill, and M. Fujita. 2014. Drought stress responses in plants, oxidative stress, and antioxidant defense. In: Tuteja, N., Gill, S. S. (Eds.), *Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance*, first edition. pp. 209-210. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
 11. Hashem, A., E. F. Abd_Allah, A. A. Alqarawi, A. A. A. Huqail, and D. Egamberdieva. 2014. Alleviation of abiotic stress in *Ochradenus baccatus* (Del.) by *Trichoderma hamatum* (Bonord.) Bainier. *J Plant Interact.* 9: 857-868.
 12. Kim, S. T., S. J. Yoo, J. Song, H. Y. Weon, and M. K. Sang. 2019. Screening of bacterial strains for alleviating drought stress in chili pepper plants. *Res. Plant Dis.* 25: 1-7.
 13. Kusvuran, S. 2012. Effects of drought and salt stresses on growth, stomatal conductance, leaf water osmotic potentials of melon genotypes (*Cucumismelo* L.). *Afr. J. Agric. Res.* 7, 775-781.
 14. Lin, Y., D. B. Watte, J. W. Kloepper, Y. Feng, and H. A. Torbert. 2020. Influence of plant growth-promoting rhizobacteria on corn growth under drought stress *Commun Soil Sci Plant Anal.* 51: 250-264.
 15. Mastouri, F., T. Björkman, and G. E. Harman. 2010. Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedling. *Phytopathology* 100: 1213-1221.
 16. Matiu, M., D. P. Ankerst, and A. Menzel. 2017. Interactions between temperature and

- drought in global and regional crop yield variability during 1961-2014. PLOS ONE. 12: e0178339.
17. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci. 7: 405-410.
 18. Miller, G., N. Suzuki, L. Rizhsky, A. Hegie, S. Koussevitzky, and R. Mittler. 2007. Double mutants deficient in cytosolic and thylakoid ascorbate peroxidase reveal a complex mode of interaction between reactive oxygen species, plant development, and response to abiotic stresses. Plant Physiol. 144: 1777-1785.
 19. Mona, S. A., A. Hashem, E. F. Abd_Allah, A. A. Alqarawi, D. W. K. Soliman, S. Wirth, and D. Egamberdieva. 2017. Increased resistance of drought by *Trichoderma harzianum* fungal treatment correlates with increased secondary metabolites and proline content. J. Integr. Agric. 16: 1751-1757.
 20. Racic, G., I. Vukelic, L. Prokic, N. Curcic, M. Zoric, L. Jovanovic, and D. Pankovic. 2018. The influence of *Trichoderma brevicompactum* treatment and drought on physiological parameters, abscisic acid content and signalling pathway marker gene expression in leaves and roots of tomato. Ann Appl Biol. 173: 213-221.
 21. Salam, E. A., A. Alatar, and M. A. El-Sheikh. 2017. Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi alleviates harmful effects of drought stress on damask rose. Saudi J. Biol. Sci. 25: 1772-1780.
 22. Tiwari, S., C. Lata, P. S. Chauhan, and C. S. Nautiyal. 2016. *Pseudomonas putida* attunes morphophysiological, biochemical and molecular responses in *Cicer arietinum* L. during drought stress and recovery. Plant Physiol. Biochem. 99: 108-117.
 23. Xie, Z., Y. Chu, W. Zhang, D. Lang, and X. Zhang. 2019. *Bacillus pumilus* alleviates drought stress and increases metabolite accumulation in *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. Environ Exp Bot 158: 99-106.
 24. Yang, T., S. Ma, and C. C. Dai. 2014. Drought degree constrains the beneficial effects of a fungal endophyte on *Atractylodes lancea*. J. Appl. Microbiol. 117: 1435-1449.
 25. Yoo, S. J., D. J. Shin, H. Y. Weon, J. Song, and M. K. Sang. 2018. *Aspergillus terreus* JF27 promotes the growth of tomato plants and induces resistance against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. Mycobiology 46: 147-153.