



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Modulation of plant chemistry by rhizosphere bacteria

Jeon, J.

Citation

Jeon, J. (2020, July 7). *Modulation of plant chemistry by rhizosphere bacteria*. NIOO-thesis. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/123229>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/123229>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/123229> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Jeon, J.

Title: Modulation of plant chemistry by rhizosphere bacteria

Issue Date: 2020-07-07

요약

식물과 미생물은 4억 5천만 년이 넘는 공진화(Coevolution)의 역사를 가지고 있다. 근권(Rhizosphere)은 식물의 뿌리 부근에서 뿌리의 영향을 받는 수 mm의 토양층을 지칭한다. 이 구역은 뿌리에 의해 방출된 풍부한 유기 화합물로 인한 미생물 활동 및 식물-미생물 상호작용이 활발하게 일어나는 구역 중 하나이다. 근권에서 일어나는 식물-미생물 상호 작용은 식물의 상태에 긍정적, 부정적 또는 중립적 영향을 미칠 수 있다. 이중 식물 성장 및 건강에 유익한 영향을 미치는 근권세균(Rhizobacteria)은 식물성장촉진근권세균(Plant growth promoting rhizobacteria: PGPR)으로 지칭된다. 더 나아가 최근 연구에 의하면 PGPR은 식물 속 화학물질을 변화시킬 수 있고 이 화학변화는 때론 식물-미생물간 협력/비협력적 상호관계의 원인이나 결과로 이어지기도 한다는 것이 밝혀졌다. 따라서 식물과 미생물이 상호 작용하는 동안 화학변화의 이해를 통한 식물 성장, 방어 및 고부가가치 천연물(High value natural product: HVNP)의 생산수단이 될 새로운 도구를 개발할 수 있을 것이다.

이 논문의 최종 목표는 근권세균이 식물의 대사(Metabolism)에 어떠한 영향을 미치고 이러한 대사체의 변화가 식물 성장 및 방어에 어떻게 관련되는가이다. 본논문에서 식물-미생물 상호작용 연구에 사용된 식물은 애기장대 *Arabidopsis thaliana*(표본식물), 브로콜리 *Brassica oleracea* var. *italica*(작물), 그리고 개똥쑥 *Artemisia annua*(약용식물)이고, 상호작용 상대인 근권세균으로는 계통발생적으로 상이한 3속 5종의 근권세균, *Pseudomonas fluorescens* SS101 (*Pf* SS101), *Microbacterium* (MB) 및 *Paraburkholderia* spp. (*Pbg*, *Pbh*, *Pbt*)이 사용되었다. 근권세균이 기주식물의 지상부 천연물질 변화에 미치는 영향은 비표적 대사체학(Untargeted metabolomics) 연구기법을 통해 분석하였으며, 미생물 전사체 프로파일링(Transcriptome profiling)을 통해 기주식물과 근권세균의 상호작용이 미생물의 유전자 발현에 미치는 영향을 분석하였다.

일련의 기내실험(*in vitro* bioassay)은 근권세균의 식물 뿌리정착이 기주식물의 특정 표현형 및 화학형을 끌어낸다는 것을 보여주었다. 예를 들어, *P. fluorescens* (*Pf* SS101)는 애기장대와 개똥쑥의 성장을 촉진 시키지만, 브로콜리의 지상부 성장은 유의적으로 줄이는 것을 확인했다. 유사하게, *P. graminis* (*Pbg*)는 개똥쑥과 브로콜리의 성장에 효과를 보였던 반면 애기장대와 상생은 좋지 않아 잎 내부에 스트레스와 관련된 대사체의 축적과 함께 성장을 저해함을 확인했다. 비표적 대사체 분석은 *Pf* SS101-브로콜리 및 *Pbg*-애기장대와 같이 비교 과적 조합에서 phenylpropanoid pathway의 하위 경로에 있는 flavonoids, anthocyanin 그리고 stilbenoids 등의 이차 대사산물(Secondary metabolites)이 급격하게 증가함을 보여주었다. 식물-근권세균의 효과적인 조합에서는 이러한 대사 산물의 변화가 없거나 억제되었음을 확인하였다. 특히, flavonoids의 축적은 auxin의 수송, 분포 및 전환을 방해함으로써 식물의 성장지연에 관련이 깊다.

본 연구는 식물-근권세균의 각 조합에 따라 기주식물에 지상부의 검출 가능한 물질 중 근권 세균 미처리구 대비 18~78%의 이차 대사물이 정량적으로 변한다는 것을 밝혔다. 기주식 물의 반응에 있어 식물의 성장을 저해하지 않으면서도 많은 에너지를 필요로 하는 탄소 골 격을 지속적으로 공급하기 위해서는 강력한 대사조절이 필요하다. 일차 대사산물(Primary metabolites)과 이차대 사산물의 통합 분석을 통해 기주식물 뿌리에 대한 근권세균의 처리가 식물 지상부의 가용성당(Soluble sugar)의 생산을 증가시켜, 식물이 성장 및 이차 대사산물 생 산을 향상시키는데 필요한 높은 에너지 및 탄소에 대한 수요를 수용할 수 있게 함을 증명했다.

근권 세균의 주된 목표중 하나는 식물내의 과당(Fructose) 대사에 있다. 비처리구와 비교했을 때, 근권세균이 처리 된 처리구의 과당 함량은 280배 증가했다. 과당은 phosphoenolpyruvate 와 erythros-4-phosphate 생합성의 주요 기질이고, 이 두 중간 물질은 에너지 및 이차대사의 중 심축이다. 또한, 과당은 박테리아에 대한 강력한 주화성 (Chemotaxis) 물질 중 하나이다. 이에, 근권세균이 이처럼 다양한 역할을 하는 대사 산물에 집중함에따라, 식물 내 일련의 과정에 변 화를 주어 효과적 식물-미생물 상호관계를 구축하는 것으로 짐작된다.

한편 근권세균중 *Paraburkholderia* 종들은 브로콜리의 전신유도저항성(Induced systemic resistance: ISR)을 일으켜 세균성 잎 병원균인 *Xanthomonas campestris*에 대한 저항성을 유 도하였다. 다만 유도저항 반응과 근권세균에 의해 변화된 대사체의 관계는 여전히 해결되어 야 할 과제로 남아있다.

근권세균이 식물의 성장 및 방어에 미치는 영향 이외에도 영양, 건강증진 및 약학적으로 중 요한 여러 고유대사체의 함량을 높이는 데 효과가 있음을 확인했다. 예를 들어, *Pbg*가 처리 된 개똥쑥에서는 단위 무게당 향말라리 성분인 dihydroartemisinin의 양이 획기적으로 증가 하는 것을 확인했고, *Pbg*와 *Pf*SS101는 브로콜리의 화학적 암 예방물질인 여러종의 indole glucosinolate 함량을 증가시켰다.

본 연구에서는 근권세균의 어떠한 특성이 변화를 촉진시키는지 알아보기 위해 기존에 알려 져 있는 세균의 특성을 이용해 세균내 황 대사가(Sulphur-metabolism) 식물의 표현형 및 화 학형에 미치는 영향을 알아보았다. *Pf*SS101의 전체 유전자 분석, 돌연변이생성 및 돌연변 이 유전자 재도입을 포함한 선행 연구에서 *Pf*SS101의 황 동화(Sulphur assimilation)와 관련 된 *cysH* 유전자가 애기장대의 성장과 방어작용에 중요한 역할을 하는 것을 밝혔다. 본고에서 는 *Pf*SS101의 *cysH* 돌연변이가 애기장대 내 aliphatic glucosinolate의 지방족 가지(aliphatic chain)의 생합성에 영향을 미치고, 브로콜리의 경우 indole glucosinolate와 flavonoid의 함량 을 증가시키는 역할을 하는 것으로 분석되었다. 이로써 *Pf*SS101의 황 대사에 의한 기주식물 내 대사산물 함량 변화는 식물의 종 특이성이라는 결과에 닿는다.

한편 근권세균과 기주식물간의 효과적인 상생을 찾기 위한 "blind date 실험" 에서, *Pbg*-브 로콜리 조합이 지상부의 생육 및 대사체의 변화를 효과적으로 일으키는 것을 확인했다. 근

근권세균-식물의 상호작용 중 세균의 특성을 밝히기 위한 연구의 일환으로, 기주식물인 브로콜리가 자라고 있는 배지와 없는 배지에서 자란 *Pbg* 균주의 전체 전자체 분석(Genome-wide transcriptome analysis)을 시도했다. *Pbg* 내 여러가지 차별발현 유전자 (Differently expressed genes: DEGs)를 봤을 때, 브로콜리 뿌리에 정착해 영향을 받고 있는 *Pbg*의 경우 편모의 조립 (Flagellar assembly), 주화성 및 운동 (Motility)과 관련된 유전자와 영양분의 흡수 (Nutrient uptake) 및 이온수송 ((an)Ion transporter)과 관련된 유전자의 발현이 훨씬 높은 것으로 분석됐다. 앞으로 식물과 근권미생물 생태계 사이의 화학적 연속체의 구조를 이해하기 위해서는, 근권세균의 유전자 발현에 영향을 주는 브로콜리의 식물뿌리 삼출액 (Root exudates)에 대한 연구가 후속되어야 할 것이다.

최신기술을 통한 기내실험, 식물 표현형 및 화학형을 포괄하는 연구를 통해, 본 논문은 근권세균과 식물이 서로에게 미치는 강력한 영향에 대한 새로운 통찰을 제공하고자 했다. 본연구의 결과는 식물과 미생물군집이 여러 부분으로 나뉜 독립체로서 공진화한 전생물체(Holobiont)라는 이론을 뒷받침한다. 앞으로 식물육종 전략 및 농업 관행은 식물의 표현형 및 화학적 특성에 영향을 미치는 미생물의 구성 및 기능을 향상시키는 쪽으로 발전할 것이고, 이는 다가오는 녹색혁명에 크게 기여할 것이다.

