

잔디 토양전염성병원진균에 대한 길항미생물의 분리 및 길항효과

이용세*, 전하준**, 이창호, 송치현***
대구대학교 농학과*, 원예학과**, 생물공학과***

Isolation of Antibiotic-producing Microorganisms Antagonistic to Soilborne Pathogenic Fungi of Bentgrass and Their Antifungal Activity

Lee Yong-Se* · Jun Ha-Joon** · Lee Chang-Ho · Song Chi-Hyun***
Dept. of Agronomy*, Dept. of Horticulture Science**,
Dept. of Biotechnology***, Taegu University, Kyongbuk 712-714.

ABSTRACTS

Recently, the importance of management and cultivation of grasses has been increased in Korea. Among these cultural practices, the appropriate control of diseases is considered more important than other cultivation techniques such as fertilization and irrigation. The damages of brown patch and large patch caused by *Rhizoctonia* spp. and Pythium blight caused by *Pythium* spp. are serious in the major cultivation area of turfgrass in Korea. Since these diseases are difficult to control by agrochemicals, the damages are very serious if these diseases are occurred. The periodic spray of agrochemicals to protect and control these diseases could make some problems of toxicity and environmental pollution as well as rising of non-target diseases. Therefore, the biological methods to control diseases have been required to decrease problems resulted from overuse of agrochemicals, to conserve natural ecosystem, and to control effectively diseases of grasses in the long period. The number of studies about biological control using antagonistic microorganisms have been increased for last half century. However, the application of biological control method has been very limited.

In this study, thirteen isolates of *R. cerealis*, 8 isolates of *R. solani* and 3 isolates of *Pythium* spp. have been isolated from diseased turfgrass in golf course and grass-culture area that have patch and wilting symptoms of zoysia grass and

creeping bentgrass. Isolation frequency of *R. cerealis* and *R. solani* was high in especially zoysiagrass, while *Pythium* spp. was isolated from bent grass at low frequency but showed high pathogenicity.

Totally, 205 isolates of soil microorganisms were isolated in this study as primary antagonistic microorganism by Herr's triple agar layer plate and dual culture method using rhizosphere of grasses, soil of crop field as the source of antagonistic microorganisms. Among the 205 isolates, 23 isolates were actinomycetes and 182 isolates were bacteria. All of the actinomycetes were isolated by Herr's method. Antagonistic effect of primary isolated microorganisms was tested for *in vitro* mycelial growth inhibition against pathogenic fungi isolated from grasses and for inhibition of disease occurrence in 24 well tissue culture plate and pot experiment.

Then, four isolates of bacteria which are BG23, BG74, BG136 and BG171 were selected as antagonistic microorganisms against soil-born pathogenic fungi of bentgrass.

I. 서 론

잔디는 기능적 측면(토양의 안정화, 먼지 발생 완화, 소음 흡수 등)과 오락적 측면(각종 경기장의 완충 효과) 및 관상적 측면에 있어서 인간 생활에 매우 중요한 역할을 하는 것으로서, 최근 우리 나라에서도 국민 생활 수준의 향상으로 잔디의 조성이 급격히 증가하고 있다. 특히 잔디를 이용한 공원 조성이나 각종 경기장 및 골프장의 건설에 따라 잔디의 재배가 급속히 증가하였으며, 이에 따라 관리의 중요성이 증대되었다. 그 중에서도 병의 적절한 관리는 시비 및 관배수 등 다른 재배 기술적인 면에 비하여 더욱더 중요한 것으로 인식되고 있다(정, 1990).

국내에서 조성된 잔디로는 대부분이 난지형 잔디에 속하는 한국 들잔디(*Zoysia japonica*)와 한지형잔디에 속하는 creeping bentgrass(*Agrostis* spp.)이며, *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Curvularia* spp., *Gaeumannomyces graminis*, *Typhula* spp. 및 *Fusarium* spp. 등이 잔디의 병원균으로 분리되어 보고되어 있다(김 등, 1992 ; 성재모와 박영준, 1992 ; 이두형과 김진원, 1992 ; 정 등, 1991).

외국에서는 주로 creeping bentgrass(*Agrostis palustris*)가 재배되고 있으며, *Rhizoctonia* spp.에 의한 rhizoctonia blight(brown patch), *Pythium* sp.에 의한 pythium blight, basidiomycotina에 의한 snow mold, *Sclerotinia* sp.에 의한 dollar spot disease 및 *Gaeumannomyces graminis*에 의한 take-all blight 등의 병이 잔디 조성지에서 큰 문제가 되는 것으로 보고되어 있다(Burpee와 Goulty, 1984 ; Couch와 Smith, 1991 ; Kackley 등, 1989 ; Schumann 등, 1994).

이중에서 *Zoysia*속 잔디에 발생하는 *Rhizoctonia* spp.에 의한 large patch를 비롯한

brown patch, yellow patch, 춘고병과 *Pythium* spp.에 의한 pythium blight, *Fusarium* spp.에 의한 fusarium patch 및 *Typhula* spp.에 의한 설부병 등은 특히 국내 잔디 재배지에서 심각한 병으로 보고되어 있다. 이들 병원균은 주로 토양전염성 균들로서 대취충 밑에 서식하기 때문에 약제의 효과를 올릴 수 없어 방제가 매우 곤란하다. 이들 병은 또한 병이 발생된 이후에는 거의 방제가 어렵기 때문에 주로 예방적인 농약의 살포가 실시되고 있다(안, 1992).

전 세계적으로 잔디 재배지에 있어서 각종 잔디병을 예방 및 방제하기 위한 무기농약과 유기합성 농약의 사용은 점차 증대되어져 왔다(Goodman과 Burpee, 1991). 이에 따라 사용되는 농약량, 노동력 등 경제적인 부담이 커졌으며, 농약 살포에 따른 잔류 독성 및 약해 문제는 매우 심각하다(Burpee 등., 1987). 또한 잔디 재배에서 주로 문제가 되는 상기 병원균들을 방제하기 위해 정기적으로 농약을 살포할 경우, 농약을 사용하지 않았을 때에는 문제가 되지 않던 미병원균의 만연에 의해 일어나는 non target diseases의 발생은 농약 사용에 의해 발생하는 부수적인 영향으로서 문제가 되는 것으로 보고되어 있다(Couch와 Smith, 1991 ; Smith, 1970). 따라서 이들 병에 대한 적절한 방제법으로서 농약의 사용에 따른 문제점을 줄여 나가고, 자연생태계를 보전하며, 장기적으로 잔디병을 효과적으로 방제할 수 있는 생물적방제법의 도입이 요구된다.

생물적방제법을 이용한 잔디병의 방제에 관한 보고는, 여러 종류의 길항균인 bacteria와 fungi를 sand-cornmeal에 각각 배양 후 *Sclerotinia homoeocarpa*를 인위적으로 접종한 pot에 처리하여 dollar spot disease를 25-90% 까지 억제시킨 Goodman과 Burpee (1991)의 연구, *Enterobacter cloacae*를 이용하여 dollar spot disease를 63%까지 억제시킨 Nelson과 Craft(1991)의 연구, 비병원성 *Typhula phacorrhiza*를 이용하여 *Typhula* blight(snow mold)를 억제시킨 Lawton과 Burpee의 보고(1990)외에 Smith(1980)의 fairy rings에 대한 연구, Burpee 등(1987)의 snow mold에 대한 연구, Burpee와 Goulty(1984)의 brown patch에 대한 연구, Wong과 Worrad(1989)의 take-all patch에 대한 연구 등이 있다. 국내에서는 박 등(1995)이 인삼의 뿌리썩음병 방제용 미생물제를 이용하여 잔디의 *Pythium* blight, brown patch 및 large patch에 대한 방제효과를 온실 및 양묘장에서 조사하여 보고한바 있으며, 황 등(1996)은 동일 미생물제를 사용하여, 특히 *Pythium* blight에 대해 포장에서도 높은 방제효과가 있음을 보고하였다.

이들 대부분의 연구 결과는 잔디의 각종 병을 생물학적으로 방제할 수 있는 방향과 가능성을 제시해 주고 있으나, 다른 식물 병원균의 생물학적방제에 관한 연구 보고에 비하여 극히 소수에 지나지 않으며, 실제 재배지에서 미생물제제로서 사용할 수 있는 정도까지는 수행되지 않았다. 국내에서 잔디병에 관한 연구는 1989년 잔디연구소가 설립된 이후 각종 병에 대한 피해 조사, 병원균의 특성 조사 및 방제에 관한 체계적인 연구가 수행되어 왔다. 그러나 현재까지 잔디병의 방제는 품종의 선택과 경종 적인 방법을 사용하는 가운데 거의 농약 사용에 의존하고 있는 실정이며, 생물학적방제에 관한 연구는 최근에 미생물제를 이용한 박 등(1995)과 황 등(1996)의 보고가 있다.

잔디 토양전염성병의 방제에 있어서 농약 사용에 따른 제반 문제점을 감소시킬 수 있

는 잔디의 종합적인 관리 체계의 일환으로서 잔디의 토양전염성병원균의 방제에 생물학적방제법을 도입하기 위하여 본 연구를 수행하였다. 이를 위하여 이병 잔디에서 토양 전염성 병원균을 분리한 다음, 이들 병원균에 대한 길항미생물을 분리하여 길항효과를 검정하고, 항균 효과가 우수한 길항미생물을 선발하여, *in vivo*에서 이들 길항미생물의 효과를 검정하여 잔디병의 생물적방제에 적합한 길항미생물을 최종 선발하여 잔디병을 효과적으로 방제할 수 있는 방법을 탐색하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

병원균의 분리 및 병원성 검정 : 한국 들잔디(*Zoysia japonica*)와 bentgrass(*Agrostis palustris*)로 조성된 잔디밭을 중심으로 하여 잎, 잎집, 포복지에 병이 발생하여 잔디가 황갈색으로 변하거나 벗겨진 색으로 퇴색된 둥근 원형의 병반대나, 불규칙한 병반대를 보이는 곳에서 이병 식물을 채집하였다. 이병 부위의 흙을 흐르는 수돗물로 완전히 제거한 다음 멸균수로 3회 세척한 후 paper towel로 물기를 씻어내고 0.5cm 크기로 잘라 1.0% NaOCl 용액에서 1분간 표면 살균을 하였다. 이것을 멸균된 filter paper에 30초간 둔 뒤 1.5% water agar에 올려놓고 27°C 항온기에서 2-3일간 배양한 후 해부현미경하에서 이병 조직에서 자란 균사를 potato dextrose agar(PDA)에 배양하여 병원균을 분리하였으며, 이병 한국 들잔디와 creeping bentgrass에서 분리한 *Rhizoctonia* spp. 21균주, *Pythium* spp. 3균주의 병원성을 확인하였다. 접종원은 500ml 삼각플라스크에 200g의 sand-cornmeal-water (97:3:15, w/w/w)를 담은 다음 고압증기멸균기에서 121°C로 60분간 살균 후, PDA와 corn meal agar(CA)에서 각각 2-7일간 전 배양한 *Rhizoctonia* spp.와 *Pythium* spp.의 균총(10 mm) 5개씩을 각각 접종하여 25°C에서 2주일간 배양하여 사용하였다. 공시 식물로 creeping bentgrass와 한국 들잔디를 사용하였으며, 원예 육묘용 32구(28×56×6cm) 플라스틱 tray에 모래, 흙, TKS2 (Floragrad Vertriebs GmbH, Oldenburg, Germany)를 10:2:1 (W/W/W) 비율로 혼합하여 넣고, 종자를 파종하여 재배하였다. 파종 후 30-60일 경에 각기를 한 다음 plate의 각 구(5.6×5.6×6cm당 2g씩의 접종원을 토양 표면에 골고루 접종하고 36시간 동안 습실처리한 다음 계속 상대습도 90% 이상인 항온항습실의 재배상에 옮겨 발병을 유도하였으며, 접종 1주 후부터 병 발생을 관찰하였다.

길항미생물의 분리 : 이병주를 채집하는 동일 지역의 잔디밭에서 건전한 잔디가 자라는 장소를 중심으로 근권토양과, 일반 작물의 경작지 토양을 각각 20-50g씩 수시로 채집하여 길항미생물의 분리원으로 사용하였다. 길항미생물의 1차 분리는 Herr(1959)의 triple agar layer 방법과 dual culture방법에 의해서 하였다. Herr의 방법에서는 *Fusarium oxysporum* 과 *R. solani*(B-9581)를 target균으로 사용하여 다음과 같이 실시하였다. 채집한 토양 5g를 50ml의 살균수에 현탁한 다음 10³-10⁵로 살균수에 희석하여 1ml를 petri dish에 분주한 다음 9ml의 tryptic soy agar(TSA)와 혼합하여 굳혔다. 약 4시간 후 5ml의 water agar를 그 위에 도말한 다음 27°C에서 48시간 배양하였다. 배양 후 *F. oxysporum*의 포자가 혼합된

PDA(10^4 spores/ml) 5ml와 *R. solani*의 군사 현탁액과 혼합된 PDA(군사 현탁액 : PDA, 1:9, v/v) 5ml를 그 위에 각각 도말하여 27°C에서 2-3일간 배양한 다음 저지원을 형성시키는 미생물을 길항미생물로 1차선발하였다. 군사현탁액은 다음과 같이 만들었다. PDA에 배양한 *R. solani*의 균총(5mm) 5개를 25g의 sand-cornmeal-water (97:3:15, W/W/W)가 담긴 100 ml flask에 접종하여 27°C에서 4일간 배양 후 살균수 30ml를 첨가하여 격렬히 혼합한 후 2점의 멸균된 거즈로 여과하여 사용하였다. Dual culture방법은 희석한 토양현탁액(10^{-4} - 10^{-5}) 0.2ml를 TSA배지에 도말 후 27°C에서 배양한 다음 단일 colony를 취하여 *R. solani*(B-9581)를 target균으로 사용하여 실시하였다.

Herr 방법에 준하여 1차 분리한 길항미생물은 *in vitro*에서 *R. solani*(B-9581)에 대한 길항효과를 검정함으로써 2차 분리하였다. Petri dish의 양쪽에 1차 분리한 길항미생물을 4cm 길이로 두 균주를 서로 대칭되게 접종 후 25°C 항온기에서 48시간 배양한 다음, 중앙에 PDA에서 3일간 전 배양한 *R. solani*(B-9581)의 균총(dia. 5.0mm)을 접종하여 25°C 항온기에서 배양하였다. 48시간 배양 후 target 병원균의 군사생장을 억제시키는 균주를 길항미생물로서 2차 선발하였다.

길항미생물의 항균력 검정 : *In vitro*에서 길항미생물의 항균력은 병원성이 확인된 *R. solani* 2균주(BR-9581, ZR-9571), *R. cerealis* 2균주(BR-9531, ZR-9564), *P. aphanidermatum* 1균주(BP-9571), *P. graminicola* 1균주(BP-9573) 등 6균주에 대해 dual culture 방법에 의해 조사하였다(Lee 등, 1995).

길항미생물의 *in vivo* 실험 : *In vitro* 실험에서 잔디의 토양전염성병원진균에 대해 길항효과가 우수하였던 균주들(bacteria 26 균주, actinomycetes 10 균주)을 선발하여 *in vivo*에서 병 발생억제력을 조사하였다. 식물재료로 creeping bentgrass(*Agrostis palustris*)를 사용하였으며, *P. aphanidermatum* (BP-9571) 및 *P. graminicola*(BP-9573)와 bentgrass에서 분리한 *R. solani*(BR-9581)에 대한 효과를 Nelson과 Craft(1992)의 방법에 준하여 multi well tissue culture plate를 사용하여 병 발생 억제효과를 조사하였으며, pot에서의 병 발생 억제효과는 온실에서 다음과 같이 실시하였다. 32구 원예용 육묘 플라스틱 tray를 2등분하여 16구로 만들어 사용하였으며, 접종원은 병원성검정 실험에서의 동일하게 만들었다. 이병토는 모래:흙:TKS2:corn meal(1993g:400g:200g:7g)을 혼합하여 121°C에서 1시간 동안 고압증기살균한 후 32g의 접종원을 혼합하여 만들었다. Plate의 바닥 구멍을 비닐 tape로 밀봉한 다음, 1구(5.6×5.6×6.0cm)당 이병토 약 160g를 넣고, 처리별(배양체, 배양여액, cell현탁액, crude extract, 농약 등)로 30ml 씩 관주한 후, creeping bentgrass종자 0.4g를 35g의 모래와 혼합하여 16구에 골고루 파종하였다. 모래로 복토한 후 습기를 유지시키기 위하여 비닐 랩으로 씌운 후 성장상에 두었다. 72시간 후 랩을 벗긴 다음 계속 재배 관리하였으며, 파종 2주일 후부터 병 발생정도를 조사하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 병원균의 분리 및 동정

1995년 3월부터 1996년 4월까지 한국 들잔디(*Zoysis japonica*) 및 bentgrass(*Agrostis palustris*)로 조성된 골프장 및 잔디 재배지의 이병부위를 원통삽으로 지름 12cm, 깊이 10 cm 정도의 크기로 채취하여 실험실로 옮겨 이병조직으로부터 *Rhizoctonia* spp. 21균주, *Pythium* spp. 6균주를 분리하였다. *R. cerealis* 13 균주 중 한국 들잔디에서 4월에서 10월에 걸쳐 11균주, bentgrass에서 3월에 2 균주씩 각각 분리하였으며, *R. solani*는 한국 들잔디에서 6-8월에 6균주, bent grass에서 8월에 2균주 등 8균주를 분리하였다. *Pythium* spp.는 7월에 bent grass에서 3균주를 분리하였다. 분리한 각 병원균의 병원성을 bent grass와 한국들잔디에 대한 병원성을 조사한 결과, 모든 균주가 bent grass에 대해 병원성이 높은 경향을 보였다. 분리된 각 균주를 PDA에 접종하여 25°C에서 배양하면서 성장속도, 균사의 형태, 균핵의 특성 등을 조사하여 이 등(1995)의 보고와, 잔디연구소에서 분양 받은 *Rhizoctonia* spp. 및 *Pythium* spp.와 비교하여 분류한 결과 Table 1과 같다. *R. cerealis*와 *R. solani*의 분리빈도가 특히 한국 들잔디에서 많았으며, 잔디가 집중적으로 관리되는 bent grass에서는 상대적으로 분리빈도가 낮은 경향을 보였다.

Table 1. Isolates of *Rhizoctonia* spp. and *Pythium* spp. from turfgrasses in several places in Korea

Species of isolate	No. of Isolates	Host	Isolated Month	Place of Collection
<i>R. cerealis</i>	2	Bentgrass	March	Kyungsan and Keumkang
<i>R. cerealis</i>	11	Zoysiagrass	April-October	Chungju and 10 other places
<i>R. solani</i>	2	Bentgrass	August	Yusung and Kyungsan
<i>R. solani</i>	6	Zoysiagrass	June-August	Kyungju and 5 other place
<i>P. aphanidermatum</i>	2	Bentgrass	July	Yusung and Kwanak
<i>P. graminicola</i>	1	Bentgrass	July	Kyungju

2. 길항미생물의 분리

잔디의 근권토양과 일반 작물의 경작지 및 일반토양 등을 유용미생물의 분리원으로 사용하여 Herr의 다층 배양법에 의해 참깨이병식물에서 분리한 시들음병균인 *Fusarium oxysporum*을 target균으로 사용하여 72개 isolate, 이병 bent grass에서 분리한 *Rhizoctonia solani*를 target균으로 사용하여 95개 isolate 등 총 167개 isolate를 분리하였다. 또한 토양 현탁액을 배양하여 형성된 단일 colony 620개를 취하여 직접 dual culture에 의해 *R. solani*

에 대해 길항효과를 검정하여 38개 isolate를 분리하여, 본 실험에서 205개 isolate를 1차 유용미생물로 분리하였다. 205개 균주 중에서 actinomycetes가 23 isolate, bacteria가 182 isolate였으며, actinomycetes는 모두 다층 배양법에서 분리되었다. Herr의 다층 배양법에 의한 길항미생물의 분리시 filamentous soil microorganisms가 water agar 층까지 성장하여 target균을 접종시 오염원으로 작용하는 것을 방지하기 위하여, TSA와 토양현탁액을 혼합하여 균한 후 4시간 정도 무균상에서 petri dish의 뚜껑을 반 정도 열어 놓은 상태에서 배양기 표면을 완전히 건조시킨 다음, 그 위에 water agar를 도말하여 배양 후 target 균으로 *F. oxysporum* 및 *R. solani*를 접종하였다. 이때 *F. oxysporum*은 항상 일정한 포자의 농도로 균일하게 접종할 수 있어 뚜렷하게 저지원을 형성하는 미생물을 분리할 수 있었다 (Fig. 1). *R. solani*는 군사현탁액을 만들어 사용하였기 때문에 항상 일정한 농도로 실험이 이루어지지는 않았으나 *F. oxysporum*보다는 길항미생물에 의한 저지원이 잘 형성되기 때문에 저지원을 형성시키는 길항미생물을 분리 하기가 용이하였다. 토양현탁액을 만들어 TSA에 도말 배양하여 형성된 단일 colony를 취하여 직접 dual culture 방법에 의해 길항미생물을 분리하는 방법은 용이하였으나, 시간이 많이 소요되었다. 본 실험에서 1차분리한 총 205개 isolate의 길항효과를 PDA와 TSA에서 bent grass에서 분리된 *R. solani*에 대한 군사생장억제정도를 dual culture에 의해 검정하여 bacteria는 35%이상, actinomycetes는 60% 이상 *R. solania*의 군사생장을 억제시키는 bacteria 45 균주, actinomycetes 10 균주를 2차 유용길항미생물로 선별하였다(Table 2). *R. solania*에 대한 길항효과는 균주간 차이가 있었으나, 1차 분리시 사용한 분리방법 및 target균에 따른 균주간의 차이는 일정한 경향을 보이지 않았다. Dual culture에서 actinomycetes의 길항효과가 bacteria 보다 일반적으로 높은 경향을 보였다. TSA와 PDA에 따른 차이는 거의 없었으나, BG21, BG23, BG24, BG46 균주는 TSA에서 길항효과가 PDA보다 높았으며, actinomycetes는 거의 모든 균주가 TSA에서 길항효과가 높은 경향을 보였다.

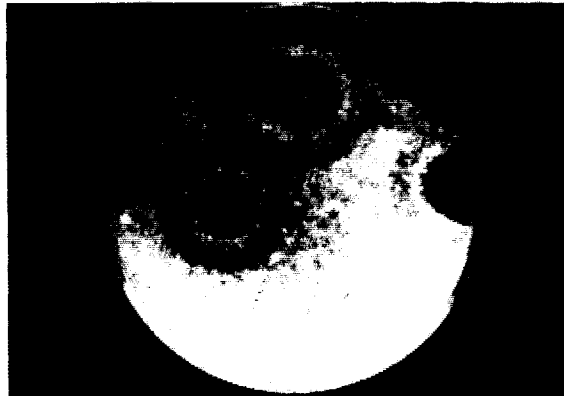


Fig. 1. Halo forming antagonistic microorganisms against *Fusarium oxysporum* on modified Herr's triple layer agar plate.

Table 2. Inhibition rates of mycelial growth of *Rhizoctonia solani* (BR-9581) on the two media by various antagonistic microorganisms isolated from soils^a

Antagonistic Microorganisms	Inhibition rate(%) on the media	
	Tryptic soy agar	Potato dextrose agar
BG 1	43.4 ^b	43.1
BG 4	56.7	43.1
BG 7	37.7	35.3
BG 8	57.5	50.0
BG 11	56.6	56.7
BG 12	46.9	46.9
BG 16	53.6	56.7
BG 19	48.4	48.4
BG 23	56.7	43.8
BG 25	43.1	43.4
BG 28	47.5	35.3
BG 34	44.2	43.1
BG 36	56.7	56.7
BG 37	34.4	37.5
BG 39	53.6	56.7
BG 41	53.6	56.7
BG 49	51.6	53.6
BG 50	38.7	38.7
BG 52	46.9	46.9
BG 54	46.7	46.7
BG 61	56.7	46.7
BG 62	40.0	37.5
BG 74	61.5	58.4
BG 76	43.7	43.7
BG 87	35.3	35.3
BG 88	34.4	35.3
BG 93	45.5	43.4
BG101	34.4	35.3
BG112	40.0	35.3
BG123	43.1	37.7
BG124	43.2	37.7
BG136	50.0	43.8
BG137	48.5	43.7
BG139	43.7	35.3
BG150	46.9	43.7
BG152	50.0	46.9
BG163	51.6	48.4
BG164	37.5	43.7
BG171	60.0	48.8
BG176	50.2	45.3
AG 1	61.8	56.7
AG 6	74.6	75.0
AG 13	77.2	75.0
AG 18	80.5	71.9
AG 27	80.3	71.9
AG 28	78.1	71.0
AG 34	61.8	67.8
AG 53	73.2	71.9
AG 54	76.4	65.6
AG 59	76.7	65.6

^aThe antagonistic microorganisms were streaked(40mm) on one side of plates of the test media, and 48 h after incubation 27°C mycelial disk(5mm in diameter) of *Rhizoctonia solani* was placed at a 35mm distant from the antagonistic microorganisms. They incubated at 27°C.

^bAfter 48 h incubation at 27°C, the mycelial growth of *R. solani* in distance(mm) of toward toward antagonistic microorganisms(a), and distance in the opposite direction from antagonistic microorganism(b) were measured. The fungal growth inhibition rate(IR) was determined as follows: IR(%)=100-(a/b×100).

3. 길항미생물의 항균력 조사

2차 선발한 길항미생물 중에서 길항효과가 비교적 높았던 bacteria 16 균주와 actinomycetes 10 균주를 선발하여 이병잔디에서 분리한 *Rhizoctonia* spp. 및 *Pythium* spp. 각각 분리한 기주에 따라 1 균주씩 선발한 6 균주에 대한 dual culture 방법에 의해 길항력과 배양여액의 항균효과를 조사한 결과는 Table 3 및 Table 4와 같다.

Dual culture에서 길항미생물에 의한 공시진균에 대한 균사생장억제효과는 동일한 균주에서도 대상 병원진균의 균사생장속도에 따라 다른 결과를 보였다. 접종 36시간 후에 35cm정도 성장하여 petri dish를 완전히 덮을 정도로 자라는 *Pythium* spp.에 대해서는 길항효과가 낮게 나타났으며, petri dish에서 완전히 자라는데 6일-7일이 소요되는 *R. cerealis*에 대해서는 일반적으로 길항효과가 높은 경향을 보였다. 즉 공시 *Rhizoctonia* spp.에 대한 길항효과는 거의 모든 균주가 50%이상 균사생장억제력을 보였으며, 특히 한국 들잔디에서 분리한 *R. cerealis* (ZR-9564)에 대해 길항효과가 높은 경향을 보였다. 그러나 BG11, BG36, BG39 및 BG41균주는 각각 bent grass에서 분리된 *R. cerealis* (BR-9531)에 대해 46.9, 42.2, 43.7, 40.7%로 다른 균주에 비해 낮은 경향을 보였다. *P. aphanidermatum* (BP-9571)과 *P. graminicola* (BP-9573)에 대한 길항효과는 공시 bacteria의 경우 BG23과 BG171균주만이 26.7%에서 40.0%정도만을 나타냈을 뿐, 다른 균주는 비교적 낮은 경향을 보였다. 전체적으로 actinomycetes는 공시 모든 균주가 bacteria보다 높은 길항효과를 보였다.

Pythium spp.에 대한 길항미생물 배양여액의 항균효과는 dual culture에서와 유사한 경향을 보여 대부분의 bacteria는 전혀 없거나 아주 미미하였다. 그러나 BG23, BG 36, BG 136, BG 171 균주는 각각 *P. aphanidermatum*에 대해 6.7, 4.5, 10.0, 4.0, 52.7%, *P. graminicola*에 대해 70.5, 4.0, 19.7, 67.2, 49.2%의 균사생장억제효과를 보였다. *Pythium* spp.에 대한 actinomycetes의 배양여액의 항균 효과는 bacteria보다 높은 경향을 보였으며, *P. graminicola*에 대해 AG 1과 AG 59 균주는 각각 84.0% 및 83.0%의 높은 항균력을 보였다. Dual culture에서는 *Rhizoctonia* spp.에 대한 길항미생물들의 길항효과는 균주간 및 대상 *Rhizoctonia* spp.간에 뚜렷한 차이가 없이 대부분의 균주가 50% 이상의 균사생장억제효과를 보였으나, 배양여액의 항균효과는 균주간 차이가 있었다. 특히 이러한 균주간의 차이는 bacteria 균주간에 뚜렷하였으며, BG 8, BG 11, BG 36, BG 41, Bg 61 및 BG 152균주 등은 *R. cerealis*에 대해 미미한 항균력을 보였다. 그러나 BG 4, BG 16, BG 23, BG 39, BG 49, BG 74, BG 136, BG 171 및 BG 176 균주 등은 어느정도 일정한 항균력을 보였다. 이와 같이 dual culture상에서 대상 병원균에 대한 길항효과가 확인되었던 길항미생물의 배양여액의 항균력이 본 실험에서 전혀 없거나 미미하게 나타난 결과는 실험시 배양여액을 취하여 PDA에 1/10로 희석하여 길항효과를 조사하였기 때문으로 사료된다.

Table 3. Inhibition rates of mycelial growth of grass pathogenic fungi on the tryptic soy agar by various antagonistic microorganisms isolated from soils^a

Isolate	Grass Pathogenic fungi					
	<i>Rhizoctonia cerealis</i> (BR-9631)	<i>Rhizoctonia cerealis</i> (ZR-9564)	<i>Rhizoctonia solani</i> (BR-9581)	<i>Rhizoctonia solani</i> (ZR-9572)	<i>Pythium aphanidermatum</i> (BP-9571)	<i>Pythium graminicola</i> (BP-9573)
BG 4	61.6 ^b	69.3	56.7	53.4	18.2	12.5
BG 8	53.9	50.0	57.5	57.2	12.1	6.2
BG 11	46.9	66.7	56.6	53.1	6.1	3.2
BG 16	53.6	62.5	53.6	56.2	3.0	12.5
BG 23	75.0	67.5	56.7	67.7	26.7	28.1
BG 36	42.2	50.0	56.7	50.0	0.0	0.0
BG 39	43.7	54.2	53.6	53.1	3.0	3.1
BG 41	40.7	45.8	53.6	53.4	12.1	3.1
BG 49	50.0	62.5	51.6	53.3	15.2	9.4
BG 61	56.3	70.8	56.7	46.9	12.1	15.6
BG 74	71.9	79.2	61.5	71.9	13.3	25.0
BG136	56.3	83.3	50.0	53.2	20.0	21.9
BG152	59.4	75.0	50.0	56.2	9.1	18.8
BG163	56.3	79.2	51.6	56.2	9.1	15.6
BG171	81.3	75.0	60.0	63.4	40.0	43.7
BG176	53.9	62.5	50.2	53.4	6.1	18.8
AG 1	61.6	65.3	61.8	56.8	26.7	25.0
AG 6	80.9	83.2	74.6	61.7	31.4	28.1
AG 13	80.9	84.8	77.2	80.0	53.2	31.2
AG 18	65.4	69.3	80.5	73.5	28.4	19.7
AG 27	75.2	65.6	80.3	80.0	48.7	34.4
AG 28	71.0	83.6	78.1	87.6	22.4	18.7
AG 34	74.7	73.2	61.8	60.5	60.0	43.7
AG 52	65.8	61.2	73.2	59.6	44.8	37.5
AG 54	82.9	81.4	76.4	67.2	37.4	25.0
AG 59	81.8	85.7	76.7	71.8	41.6	34.4

^aThe antagonistic microorganisms were streaked(40 mm) on one side of plates of the test media, and 48 h after incubation 27°C mycelial disk(dia. 5 mm) of tested fungi were placed at a 35 mm distant from the antagonistic microorganisms. They incubated at 27°C.

^bAfter 1-7 days incubation at 27°C, the mycelial growth of tested fungi in distance(mm) of toward toward antagonistic microorganisms(a), and distance in the opposite direction from antagonistic microorganism(b) were measured. The fungal growth inhibition rate(IR) was determined as follows: IR(%)=100-(a/b×100).

Table 4. Antifungal activity of cell-free culture filtrates of antagonistic microorganisms isolated from soils^a

Isolate	Grass Pathogenic fungi					
	<i>Rhizoctonia cerealis</i> (BR-9631)	<i>Rhizoctonia cerealis</i> (ZR-9564)	<i>Rhizoctonia solani</i> (BR-9581)	<i>Rhizoctonia solani</i> (ZR-9572)	<i>Pythium aphanidermatum</i> (BP-9571)	<i>Pythium graminicola</i> (BP-9573)
BG 4	43.7 ^b	13.9	19.0	8.6	0.0	4.5
BG 8	4.0	0.0	10.7	2.9	0.0	4.5
BG 11	0.0	0.0	6.3	5.7	0.0	0.0
BG 16	20.7	25.7	34.2	25.7	4.0	3.5
BG 23	65.0	80.0	76.0	64.3	6.7	70.5
BG 36	6.2	8.6	16.5	14.3	4.5	4.0
BG 39	30.8	31.4	29.2	14.3	0.0	0.0
BG 41	4.0	11.4	24.1	25.7	3.4	4.8
BG 49	20.7	25.7	29.2	28.6	0.0	0.0
BG 61	0.0	8.6	16.5	14.3	0.0	0.0
BG 74	14.3	32.7	15.2	10.0	0.0	19.7
BG136	60.0	58.4	74.7	58.6	4.0	67.2
BG152	6.7	20.0	34.2	25.7	0.0	2.0
BG163	13.3	21.0	34.2	28.6	1.4	0.0
BG171	83.3	85.7	65.8	58.6	52.7	49.2
BG176	26.7	30.7	41.8	43.8	0.0	0.0
AG 1	65.4	62.1	58.3	60.0	42.4	84.0
AG 6	61.6	62.7	56.7	54.3	26.4	30.4
AG 13	84.7	84.7	80.6	77.2	46.7	68.2
AG 18	84.3	80.8	80.6	77.8	48.1	70.0
AG 27	69.3	55.4	74.2	82.2	26.7	67.2
AG 28	85.4	55.2	77.0	67.5	36.8	66.7
AG 34	84.7	80.8	86.7	77.4	36.7	84.7
AG 52	63.4	64.6	65.3	77.4	12.4	65.3
AG 54	65.4	50.0	65.3	70.3	12.8	64.6
AG 59	63.0	75.9	83.8	70.3	53.4	83.0

^aA mycelial disk(5mm in diameter) of the activity growing culture of the test fungi was placed on a potato dextrose agar plate(15ml/plate) which contained 10ml of cell free-culture filtrates of antagonistic microorganisms mixed with 90ml molten potato dextrose agar.

^bAfter 2 or 7 days incubation at 27°C, depending on species, the diameter of the tested fungal mycelium(a) was measured, and the inhibition rate(%) was calculated from mycelial growth on the potato dextrose agar(control) as follow: Inhibitory rate(%)=100-(a/control)×100.

4. Multi well tissue culture plate를 이용한 잔디병 발생 억제효과 조사

생물학적방제법을 도입하는데 있어서 항상 문제가 되는 것은 *in vitro*에서 분리한 길항 미생물의 길항효과가 *in vivo*에서의 병 발생억제력과 반드시 일치하지는 않는다는 실험 결과들이다. 따라서 본 연구에서도 *in vitro*에서 dual culture 및 배양여액의 항균효과검 정에서 길항효과가 확인된 길항미생물들 중에서 *in vivo*에서도 효과가 있는 우수한 길항 미생물을 선발하기 위하여 *in vivo*실험을 실시하였다. *In vivo*실험은 일반적으로 growth

chamber 또는 온실에서 pot에 대상식물을 재배하면서 실시하나, 본 실험실에서는 빠른 시간내에 보다 많은 균주의 병 발생억제정도를 측정할 수 있는 방법으로 Nelson과 Craft(1992)의 방법에 준하여 multi well tissue culture plate를 사용하여 분리된 길항미생물의 효과를 조사하였다. *In vitro*에서 잔디병원균에 대해 길항효과가 있는 것으로 확인된 bacteria 16 균주와 actinomycetes 10 균주 등 총 26 균주의 Pythium blight에 대한 병 발생억제 정도를 조사한 결과는 Table 5와 같다.

Table 5. Suppression of Pythium blight by antagonistic microorganisms isolated from various soils in multi tissue culture plate test^a

Antagonistic microorganisms	<i>Pythium aphanidermatum</i> (BP-9571)	<i>Pythium graminicola</i> (BP-9573)
BG 4	2.00±0.82 f-i ^c	2.50±0.58 c-e
BG 8	2.50±0.58 d-h	2.50±0.58 c-e
BG 11	4.50±0.58 ab	2.25±0.50 d-f
BG 16	3.75±0.96 a-d	2.25±0.96 d-f
BG 23	1.25±0.50 g-i	1.25±0.50 fg
BG 36	3.75±0.96 a-d	3.25±0.96 b-d
BG 39	4.25±0.96 a-c	2.25±0.96 d-f
BG 41	4.50±0.58 ab	4.75±1.50 ab
BG 49	3.75±0.50 a-d	2.50±0.58 c-e
BG 61	3.00±0.82 c-f	2.25±0.96 d-f
BG 74	1.00±0.00 i	1.50±1.00 e-g
BG136	1.50±1.00 g-i	1.25±0.50 fg
BG152	2.25±0.96 e-i	2.75±0.50 c-e
BG163	2.50±0.58 d-h	2.75±0.96 c-e
BG171	1.50±0.58 g-i	1.25±0.50 d-f
BG176	2.50±1.00 d-h	2.25±0.96 fg
AG 1	2.75±0.96 d-g	2.75±0.50 c-e
AG 6	3.50±0.58 b-e	2.25±0.50 d-f
AG 13	3.25±0.50 b-f	2.25±0.96 d-f
AG 18	3.50±0.58 b-e	2.75±0.50 c-e
AG 27	3.25±0.96 b-f	3.25±0.50 b-d
AG 28	3.00±0.82 c-f	3.50±0.58 b-d
AG 34	3.50±0.58 b-e	3.25±0.50 b-d
AG 52	3.25±0.96 b-f	3.25±0.96 b-d
AG 54	3.00±1.41 c-f	4.25±0.50 ab
AG 59	2.50±1.29 d-h	2.75±0.50 c-e
Untreated ^b	5.00±0.00 a	4.75±0.50 a
Uninoculated	1.00±0.00 i	1.00±0.00 g

^aRate on a scale of 1-5, for which 1=no disease and 5=100% of the seedlings nonemerged or necrotic. Determined 7 days after inoculation. Numbers are averages of 3 replications.

^bInoculated with *P. aphanidermatum*, *P. graminicola* and *R.solani* but not treated with antagonistic microorganism.

^cNumbers in each column followed by the same letter are not significantly(p=0.05) different according to the Duncan-Waller Bayesian least significant difference test.

병원균을 접종하지 않은 무처리의 발아정도를 1로 표시하고 병원균을 접종하고 무처리한 구의 발아상태(거의 발아되지 않았음)를 5로 표시하였을 때, 길항미생물의 처리구에서는 1에서부터 4.50까지 나타내어 길항미생물간 병 발생억제정도의 차이를 확인 할 수 있었다. 특히 *P. aphanidermatum*에 대해 BG73, BG74, BG136 및 BG171균주의 처리에서는 각각 1.25, 1.00, 1.50 및 1.50으로 조사되었으며, *P. graminicola*에 대해서는 1.25, 1.50, 1.25 및 1.25로 병원균을 접종하지 않은 무처리구와 유사한 발아정도를 나타내어 병 발생 억제효과가 매우 우수하였다. 그러나 *in vitro*에서는 bacteria 보다 길항효과가 비교적 높았던 actinomycetes에서는 이들 bacteria 보다 높은 병 발생억제 정도를 나타내는 균주가 없었으며, AG 1과 AG 59균주만이 2.75와 2.50으로 조사되었다. 이와 같은 결과만으로는 길항균의 *in vitro*에서의 길항효과와 유의성을 확실히 검증할 수 없었으나, bacteria의 경우 *in vitro*에서 길항효과가 높았던 균주가 비교적 병 발생 억제효과가 높은 경향을 보였다.

5. Pot 실험

Pot 실험에서는 multi well tissue culture plate를 이용한 잔디병 발생 억제효과 조사에서 비교적 높은 병 발생 억제효과를 보였던 bacteria 8 균주와 actinomycetes 2 균주를 선발하여 피시움성마름병과 브라운패취에 대한 방제효과를 조사하였다. 길항미생물의 cell 현탁액을 처리하였을 때 피시움성마름병과 브라운패취에 대한 병 발생 억제효과는 길항미생물 균주간에 차이가 있었다(Table 6). 즉 공시 *P. aphanidermatum*(BP-9571)에 대해서는 BG 23과 BG 136 균주의 병 발생 억제효과가 뚜렷하였으며, 다른 균주는 효과가 미미하였다. *P. graminicola*(BP-9573)에 대해서는 BG 23, BG 74, BG 136 및 BG 171 균주의 병 발생 억제효과가 높았으며, 공시 다른 균주는 효과가 낮았다. *R. solani*(BR-9581)에 대해서는 BG 23, BG74, BG136 및 BG171균주 등의 병 발생 억제효과가 컸다. Actinomycetes 인 AG 1과 AG 59균주는 시험한 대상병에 대한 병 발생 억제효과가 미미하였다. 대상병원균간에도 길항미생물의 병 발생 억제효과는 차이를 보여 특히 BG 136 균주는 *P. aphanidermatum*에 대해서는 효과가 미미하였으나, *P. graminicola*와 *R. solani*에 대해서는 효과가 높았다. Pot 실험에서의 결과와 multi well tissue culture plate를 이용한 잔디병 발생 억제효과 조사의 결과를 비교할 때 비교적 높은 유의성을 보였다. 즉 plate 실험에서 높은 병 발생 억제효과를 보였던 BG 73, BG 74, BG 136 및 BG 171 균주의 병 발생 억제효과가 pot 실험에서도 높은 경향을 보였다. 그러나 plate 실험에서는 어느 정도 병 발생 억제효과를 보였던 BG 4, BG 8, BG 61, BG 176 및 AG 1, AG 6 균주 등은 미미한 병 발생 억제효과를 보였다. 이러한 결과는 Nelson과 Craft (1992)의 실험결과와 유사하였으며, pot 실험에서 사용한 TKS2 상토, 흙 및 모래를 혼합하여 사용한 육묘용 토양이 plate 실험시 사용하였던 모래보다는 병원균의 생장에 유리하였기 때문이라 사료된다.

이상의 실험결과에 의해 BG 73, BG 74, BG 136 및 BG 171 균주 등 4 균주를 *in*

*vitro*와 *in vivo*에서 잔디의 토양 전염성 병원진균에 대해 병 발생 억제효과가 있는 균주로 선발하였다.

Table 6. Suppression of soil-born diseases of turfgrass by antagonistic microorganisms isolated from various soils in pot test^a

Antagonistic microorganisms	<i>Pythium aphanidermatum</i> (BP-9571)	<i>Pythium graminicola</i> (BP-9573)	<i>Rhizoctonia solani</i> (BR-9581)
BG 4	4.5±0.5 ab ^c	4.8±0.5 ab	3.5±0.5 b
BG 8	4.2±0.5 b	3.7±0.5 cd	3.2±0.5 b
BG 23	1.0±0.0 c	2.0±0.0 g	1.0±0.0 c
BG 61	4.2±0.5 b	3.2±0.5 de	3.5±0.5 b
BG 74	4.7±0.5 ab	1.0±0.0 h	1.2±0.5 c
BG136	1.0±0.0 c	2.7±0.9 ef	1.2±0.5 c
BG171	3.5±0.5 c	2.2±0.5 fg	1.7±0.5 c
BG176	4.5±0.5 ab	4.2±0.5 bc	3.5±0.5 b
AG 1	4.7±0.5 ab	5.0±0.0 a	3.5±1.0 b
AG 6	4.2±0.5 b	4.7±0.5 ab	4.7±0.5 a
Untreated ^b	5.0±0.0 a	5.0±0.0 a	5.0±0.0 a
Uninoculated	1.0±0.0 c	1.0±0.0 h	1.0±0.0 c

^aRate on a scale of 1-5, for which 1=no disease and 5= 100% of the seedlings nonemerged or ecrotic. Determined 14-21 days after inoculation. Numbers are averages of 3 replications.

^bInoculated with *P. aphanidermatum*, *P. graminicola* and *R.solani* but not treated with antagonistic microorganism.

^cNumbers in each column followed by the same letter are not significantly(p=0.05) different according to the Duncan-Waller Bayesian least significant difference test.

IV. 적 요

잔디의 토양전염성병을 생물학적으로 방제하고자 한국들잔디(*Zoysis japonica*) 및 bentgrass (*Agrostis palustris*)로 조성된 골프장 및 잔디 재배지의 이병잔디로부터 토양 전염성병원균을 분리하여, 이들 병원균에 대한 길항미생물을 토양에서 분리 후 *in vitro*와 *in vivo*에서 각각 길항효과와 병 발생억제력을 조사하여 유용길항미생물자원을 확보한 실험결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 한국들잔디 및 creeping bentgrass로 조성된 골프장 및 잔디 재배지의 이병잔디로부터 *Rhizoctonia* spp. 21균주, *Pythium* spp. 3균주를 분리하였다. *R. cerealis* 13균주중 한국들잔디에서 11균주, bentgrass에서 2균주씩 각각 분리하였으며, *R. solani*는 한국들잔디에서 6균주, bent grass에서 2균주 등 8균주를 분리하였다. *Pythium* spp.는 bent grass에서 3균주를 분리하였다. 분리한 각 병원균의 병원성을 bent grass와 한국들잔디에서 조사한 결과, 모든 균주가 bent grass에 대해 병원성이 높은 경향을 보였다. *R. cerealis*와

*R. solani*의 분리빈도가 특히 한국 들잔디에서 많았으며, 잔디가 집중적으로 관리되는 bent grass에서는 상대적으로 분리빈도가 낮은 경향을 보였다.

2. 잔디의 토양전염성병원진균에 대한 길항미생물의 분리는 Herr의 다층배양법과 분리원으로부터 단일 colony를 형성시킨 후 dual culture에 의해서 하였다. 205개 isolate를 1차 유용미생물로 분리하였다. 205개 균주 중에서 actinomycetes가 23 isolate, bacteria가 182 isolate였으며, actinomycetes는 모두 다층배양법에서 분리되었다. PDA와 TSA에서 bent grass에서 분리된 *R. solani*에 대한 군사생장억제정도를 dual culture에 의해 검정하여 bacteria는 35%이상, actinomycetes는 60% 이상 *R. solania*의 군사생장을 억제시키는 bacteria 45 isolate, actinomycetes 10균주를 2차 유용길항미생물로 선발하였다. *R. solania*에 대한 길항효과는 균주간 차이가 있었으나, 1차분리시 사용한 분리방법 및 target균에 따른 균주간의 차이는 일정한 경향을 보이지 않았다. Dual culture에서 actinomycetes의 길항효과가 bacteria보다 일반적으로 높은 경향을 보였다. TSA와 PDA에 따른 차이는 거의 없었으나, actinomycetes는 거의 모든 균주가 TSA에서 길항효과가 높은 경향을 보였다.

3. Dual culture에서 길항미생물에 의한 공시진균에 대한 군사생장억제효과는 동일한 균주에서도 대상 병원진균의 군사생장속도에 따라 다른 결과를 보였다. 접종 36시간 후에 35cm정도 성장하여 petri dish를 완전히 덮을 정도로 자라는 *Pythium* spp.에 대해서는 길항효과가 낮게 나타났으며, petri dish에서 완전히 자라는데 6일-7일이 소요되는 *R. cerealis*에 대해서는 일반적으로 길항효과가 높은 경향을 보였다. 배양여액의 항균효과는 균주간 차이가 있었으며, bacteria 균주간에 뚜렷하였다.

4. 길항미생물의 병 발생 억제효과를 효과적으로 검정할 수 있는 방법을 multiwell tissue culture plate를 사용하여 확립하였다. 본 방법에 의해 길항미생물의 병 발생억제력을 효과적으로 검정할 수 있었다.

5. *In vitro*와 *in vivo*에서 실시한 길항효과 검정 및 multiwell tissue culture plate 실험, pot실험을 통해 병 발생억제효과를 조사하여 BG 23, BG 74, BG 136 및 BG 171 균주 등 4 균주를 잔디의 토양전염성병원진균에 대해 병 발생 억제효과가 있는 균주로 선발하였다. 선발한 BG 23, BG 74, BG 136 및 BG 171 균주는 특히 *P. aphanidermatum*에 대해 각각 pot 실험에서 병 발생 억제효과가 1.25, 1.00, 1.50 및 1.50으로 조사되었으며, *P. graminicola*에 대해서는 1.25, 1.50, 1.25 및 1.25로 병원균을 접종하지 않은 무처리구와 유사한 발아정도를 나타내어 병 발생 억제효과가 매우 우수하였다.

인 용 문 헌

1. 김홍태 · 정영륜 · 조광연 · 황연성, 1992. 한지형 잔디인 Bentgrass(*Agrostis palustris*)에 고온성 검은 마름증상을 일으키는 *Curvularia* spp.의 동정과 발병에 영향을 미치는 환경요인, 한국식물병리학회지 8 : 75-80.
2. 박규진 · 김영호 · 박은경 · 김동성, 1995. 미생물제에 의한 잔디의 토양전염성 방제 효과, 식물병과 농업, 1:19-29.
3. 성재모 · 박영준, 1992. 잔디(*Zoysia japonica*)의 병반에서 분리되는 진균의 종류와 *Gaeumannomyces graminis*의 형태적 특징 및 병원성, 한국식물병리학회지 8 : 170-176.
4. 안용태, 1992. Golf장 관리의 기본과 실제, 한국잔디연구소, 유천문화사.
5. 이두형 · 김진원, 1992. 화분과식물에 발생하는 설부소립균핵병균의 동정 및 발생생태, I. 설부병에 걸린 잔디에서 분리된 *Typhula incarnata*의 특징과 병원성, 한국식물병리학회지 8 : 101-106.
6. 이두형 · 최양운 · 이재홍 · 김진원, 1995. 잔디에서 분리한 *Rhizoctonia* spp.의 동정과 병원성, 한국균학회지, 23:257-265.
7. 정영륜, 1990. 잔디병의 효과적인 화학적방제를 위한 제안, 잔디연구 3 : 14-21.
8. 정영륜 · 김홍태 · 김태준 · 조광연, 1991. 한국들잔디(*Zoysiagrass*)와 Bentgrass의 병반에서 분리된 *Rhizoctonia* spp.의 배양적특성과 병원성, 한국식물병리학회지 7 : 230-235.
9. 황연성 · 최준수 · 김영호, 1996. Creeping Bentgrass에서 미생물제에 의한 Pythium Blight, Brown Patch 및 Dollar Spot 방제 효과, 한국식물병리학회지, 12:237-244.
10. Burpee, L.L., and Goult, L.G. 1984. Suppression of brown patch disease of creeping bentgrass by isolates of nonpathogenic *Rhizoctonia* spp.. *Phytopathology* 74 : 692-694.
11. Burpee, L.L., Kaye, L.M., Goult, L.G., and Lawton, M.B. 1987. Suppression of gray snow mold on creeping bentgrass by an isolate of *Typhula phacorrhiza*. *Plant disease* 71 : 97-100.
12. Couch, H.B., and Smith, B.D. 1991. Increase in incidence and severity of target turfgrass diseases by certain fungicides. *Plant Disease* 75 : 1064-1067.
13. Goodman, D.M., and Burpee, L.L. 1991. Biological control of dollar spot disease of creeping bentgrass. *Phytopathology* 81 : 1438-1446.
14. Herr, L.J. 1959. A method of assaying soils for numbers of actinomycetes antagonistic to fungal pathogens. *Phytopathology* 49: 270-273.
15. Kackley, K.E., Dernoeden, P.H., and Grybauskas, A.P. 1989. Effect of fungicides on the occurrence and growth *in vitro* of basidiomycetes associated with superficial fairy rings in creeping bentgrass. *Plant Disease* 73 : 127-130.

16. Lawton, M.B., and Burpee, L.L. 1990. Effect of rate and frequency of application of *Typhula phacorrhiza* on biological control of Typhula blight of creeping bentgrass. *Phytopathology* 80 : 70-73.
17. Lee, Yong Se, Ho Young Lee, Chang Ho Lee and Hee Sung Park. 1995. Isolation of antibiotic-producing bacteria antagonistic to *Fusarium oxysporum* from sesame-growing soils and evaluation of their antifungal activity. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 6 : 346-352.
18. Nelson, E.B., Craft, C.M. 1992. A miniaturized and rapid bioassay for the selection of soil bacteria suppressive to pythium blight of turfgrasses. *Phytopathology* 82 : 206-210.
19. Schumann, G.L., Clarke, B.B., Rowley, L.V., and Burpee, L.L. 1994. Use of environmental parameters and immunoassays to predict Rhizoctonia blight and schedule fungicide applications on creeping bentgrass. *Crop protection* 13 : 211-218.
20. Smith, A.M., Stynes, B.A., and Moore, K.J. 1970. Benomyl stimulates growth of a basidiomycete on turf. *Plant Dis. Rep.* 54 : 774-775.
21. Wong, P.T.W., and Worrall, D.J. 1989. Preventative control of take-all patch of bentgrass turf using triazole fungicides and *Gaumannomyces graminis* var. *graminis* following soil fumigation. *Plant protection quarterly* 4 : 70-72.