

사과탄저병균(*Glomerella cingulata*)에 대한 *Pseudomonas* sp. DGUM 5051의 항진균 활성

김정미¹ · 이민웅² · 한영환*

¹동국대학교 교육대학원 생물교육전공
²동국대학교 생명자원과학대학 응용생물학과
동국대학교 자연과학대학 생물학과

Antifungal Activity of *Pseudomonas* sp. DGUM 5051 Against Apple Bitter-rot Causing Fungus, *Glomerella cingulata*

Jung-Mi Kim¹, Min-Woong Lee² and Yeong-Hwan Han*

¹Major of Biology Education, Graduate School of Education, Dongguk Univ., Seoul 100-715
²Department of Applied Biology, College of Life Resources Science, Dongguk Univ., Seoul 100-715,
Department of Biology, College of Natural Science, Dongguk Univ., Kyongju 780-714, Korea

ABSTRACT: The strain DGUM 5051, an antagonistic bacterium against apple-bitter rot causing *Glomerella cingulata*, was isolated from soil in Kyongju. Based on the morphological and physiological characteristics, the bacterium was identified as *Pseudomonas* sp. and named as *Pseudomonas* sp. DGUM 5051. The optimal pH and temperature for cell growth were pH 6.0 and 30°C, whereas those for antifungal activity were pH 7.0 and 24°C, respectively. Among the complex media tested, brucella medium, brain heart infusion medium and Luria-Bertani medium were good for both cell growth and antifungal activity. The high antifungal activity was found in the mineral salts medium, in which sucrose, KNO₃, and K₂HPO₄ were used as sources of carbon, nitrogen and phosphorus, respectively.

KEYWORDS: Antifungal, Apple bitter-rot, *Glomerella cingulata*, *Pseudomonas* sp.

Glomerella cingulata(분생포자세대: *Colletotrichum gloeosporioides*)는 Pyrenomycetes강, Sphaeriales 목, Diaporthaceae과에 속하는 자낭균으로 습도가 높은 시기의 성숙기 사과나무, 포도나무, 배나무, 감나무, 감귤, 양벚나무, 고추 등의 작물에 감염하여 탄저병(bitter rot, ripe rot)을 일으킨다. 분생포자(conidiospore)·자낭포자(ascospore) 형태로 열매나 토양에 존재하며 수매분산을 통하여 기주작물에 침입한다. 현재까지 사용되는 방제약으로 Bordeaux액, captan, ferbam, dikar, mancozeb, captafol, benomyl, thiophanate-methyl 등의 유기합성 및 화학합성제가 방제에 이용되고 있으나(이와 백, 1987; Agrios, 1988), 농작물의 잔류독성, 환경오염 유발 등의 폐해로 인하여

그 사용이 제한되고 있는 실정이다(Hardar 등, 1979).

항진균 항생물질은 방선균, 세균, 곰팡이와 식물 등에서 발견되었으나, 상업적 생산은 주로 *Streptomyces*속의 방선균, *Bacillus* 및 *Pseudomonas*속 등의 세균 등에서 이루어 지고 있다. 현재까지 알려진 항진균 물질은 그 구조와 기능에 따라 세포막 투과 파괴성 항생물질(polyene macrolide계: amphotericin, candicidin, nystatin, griseofulvin 등), 세포벽 합성효소 억제 항생물질(nucleoside계, disaccharide계, cyclic peptide계 및 lipopeptide계 등)과 세포벽 분해능을 갖고 있는 항생물질 등(chitinase, glucanase 등)으로 대별된다.

병원성 진균의 방제를 목적으로 국내에서는 주로 진균의 세포벽 분해효소 및 세포벽 합성효소 억제제를 생산하는 미생물의 탐색과 특성 규명에 관한

*Corresponding author

연구가 증점적으로 이루어져 왔다. 세포벽 분해효소에 관한 연구는 내생포자 생성 세균인 *Bacillus subtilis*(백과 김, 1995; 손 등, 1994; 이 등, 1994; 장과 김, 1995; Kim 등, 1994; Kim과 Kim, 1994)에 대하여 활발히 이루어지고 있고, *Pseudomonas*속 세균에 대해 *P. aeruginosa*(Kim과 Hwang, 1993), *P. stutzeri*(Lim과 Kim, 1994), *P. pseudoalcaligenes*(김과 이, 1994), *Serratia*속 세균에 대해 *Serratia*(차 등, 1996), *S. marcescens*(Lee 등, 1992)와 *Acinetobacter*(Shin 등, 1995) 세균을 이용한 연구가 보고되었다. 항생물질 생산에 가장 많이 사용되어온 방선균은 주로 *Streptomyces*속으로 *S. neyagawaensis*(김 등, 1993), *S. lydicus*(이, 1993; 이 등, 1996), *Streptomyces*속(서 등, 1996; 윤 등, 1996)에 관하여 연구가 수행되어 왔다.

현재까지 사과탄저병균 *G. cingulata*에 대한 연구는 기주식물, 발병기작(이와 백, 1987; 정과 고, 1992; 고 등, 1996; Agrios, 1988)과 세포벽조성(Gomaa 등, 1992)에 관한 일부의 연구는 있었으나, 생리학적 및 배양학적 연구와 생물학적 방제를 위한 연구는 백과 김(1995)의 연구이외에는 거의 없는 실정이다. 이에 본 연구에서는 *G. cingulata* 균에 대해 길항작용이 있는 세균을 토양으로부터 선별하고, 항균물질의 생산을 위한 배양조건을 조사하여 사과탄저병의 예방과 방제에 관한 효과적인 방안을 모색하고자 실시하였다.

재료 및 방법

사용 진균 및 포자액 준비

실험에 사용한 사과탄저병균 *G. cingulata* KCTC 6104는 한국과학기술연구원 생명공학연구소의 유전자은행으로부터 분양받아 PDA 한천배지(Table 1)에서 계대 배양하여 사용하였다. 항진균활성의 측정을 위한 *G. cingulata*의 배양은 yeast-malt extract 한천배지(Table 1)에서 4일간 24°C에서 배양하였으며, 포자액의 준비는 10 ml의 생리식염수(0.85% NaCl)를 이용하여 한천배지 표면으로부터 포자를 현탁하여 사용하였다(1.4×10^5 spores/ml).

Table 1. The composition of the media used in this study^a

Compound	Medium					
	MS	B ^b	BHI ^b	LB	N ^b	YM
Bactotryptone	-	10	10	-	-	-
Bactopectone	-	-	-	-	5	-
Proteose peptone	-	-	10	-	-	5
Bactopectamin	-	10	-	-	-	-
Yeast extract	-	2	-	5	-	3
Beef extract	-	-	-	-	3	-
Malt extract	-	-	-	-	-	3
Calf brains	-	-	7.4	-	-	-
Beef heart	-	-	9.25	-	-	-
Dextrose	-	1	2	10	-	10
Sucrose	30	-	-	-	-	-
NaCl	0.5	5	5	10	-	-
Sodium bisulfite	-	0.1	-	-	-	-
K ₂ HPO ₄	1	-	-	-	-	-
Na ₂ HPO ₄	-	-	2.5	-	-	-
NaNO ₃	3	-	-	-	-	-
MgSO ₄	0.5	-	-	-	-	-
KCl	0.5	-	-	-	-	-
FeSO ₄	0.01	-	-	-	-	-

^aThe ingredients were dissolved in 1,000 ml of distilled water.

^bThe media used are commercially available from Difco Co., U.S.A.

길항균의 분리 및 동정

우수 항진균활성 길항세균의 분리를 위하여 경주 인근지역의 토양을 채취 후, 2 mm의 체로 쳐서 통과된 토양 1g을 멸균된 50 ml의 생리식염수로 희석하였다. 고형물이 제거된 상등액을 *G. cingulata* 포자액과 혼합하여 영양한천배지(Table 1)에 도말하여 30°C에서 3일간 배양하였다. 형성된 colony 중 *G. cingulata* 진균에 대하여 저지환을 형성하는 70여 종류의 균주를 선별하였으며, 그 중 길항능력이 우수한 DGUM 5051 세균을 분리하였다.

선별된 DGUM 5051 세균의 동정은 균주의 형태적 특성과 생리화학적 특성에 따라 Bergey's manual of systematic bacteriology(Palleroni, 1984)의 기준으로 동정하였다.

분리균의 배양 및 성장 측정

분리균 DGUM 5051의 배양조건에 따른 성장 및 항진균 물질의 생산 특성을 조사하기 위하여, 배양

액 50 ml이 담긴 250 ml의 삼각플라스크에 균주를 접종하고 진탕배양(120 rpm)하였다. 배양액의 pH는 4.0에서부터 10.0까지, 배양온도는 20°C에서부터 42°C까지 6단계로 조정하였다. 분리균의 생장은 배양액을 분광광도계(UV-160A UV-Vis spectrophotometer, Shimadzu Co.)의 660 nm에서 흡광도를 측정하였다.

항균력 측정

분리세균을 액체배지(Table 1)에서 24시간 배양한 후, 원심분리하여 상등액을 준비하였다. 상등액 50 μ l를 paper disc(Avantec, 8 mm thick, Toyo Rossi Kaiser Co.)에 흡수시킨 후, *G. cingulata* 포자액을 도말한 YM 한천배지(Table 1)의 중앙에 위치시키고, 24°C에서 2~3일간 배양한 후, *G. cingulata* 진균의 균사 생육이 저지된 생육저지환(inhibition zone)의 직경(mm)을 측정하여 항균력으로 결정하였다.

결 과

분리균의 동정

분리된 70여종의 균주 중 DGUM 5051 세균의 항균력이 가장 우수하였다. 분리균의 형태 및 생리화학적 특성은 포자를 형성하지 않는 Gram 음성 간균으로 크기는 $0.8 \times 1.5 \mu\text{m}$ 로 말단부에 편모가 있었다(Table 2, Fig. 1). 호기적 조건에서 잘 생육하였으며, catalase/oxidase 검사에 양성반응을 보였다. 형태적 특성과 당자화성 및 효소반응 등의 생리화학적 특성에 따라 분리세균 DGUM 5051을 *Pseudomonas* sp.로 동정하고, *Pseudomonas* sp. DGUM 5051로 명명하였다.

pH 및 온도의 영향

분리 세균의 생장 및 항균활성 규명을 위하여, LB 배지의 pH 조건을 4.0에서부터 10.0까지 적용하여 배양한 결과 생장은 pH 6.0에서부터 8.0까지 양호하였으며, 최적 pH는 6.0이었다. 항균활성은 pH 7.0에서부터 8.0까지의 범위에서 양호하였으며, 항균물질의 최적 생산을 위한 pH는 7.0이었다(Fig. 2). 온도를 20°C에서부터 42°C까지 6단계로 나누어

Table 2. The morphological and physiological characteristics of the isolate DGUM 5051

Characteristics	The isolate DGUM 5051	Genus ^a <i>Pseudomonas</i>
Shape	Straight rod	Straight rod
Gram reaction	Negative	Negative
Cell size (width \times length; μm)	0.8×1.5	0.7×1.4
Motility	+	+
Anaerobic growth	-	-
Catalase test	+	+
Oxidase test	+	+
Indol test	-	-
Methyl red test	+	-
Voges-Proskauer test	-	-
Citrate utilization test	+	+
Starch hydrolysis	-	-
Utilization of		
glucose	+	+
trehalose	+	-
meso-inositol	+	-
L-valine	+	+
β -alanine	+	+
arginine	-	+

^aBergey's manual of systematic bacteriology (Palleroni, 1984).

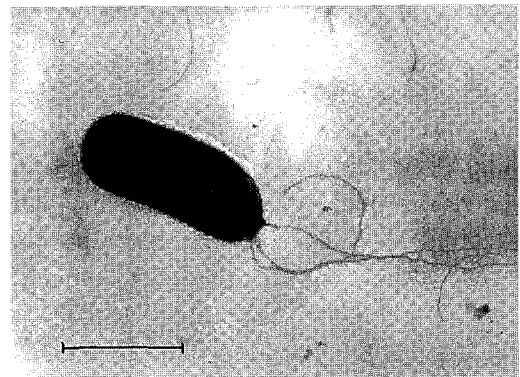


Fig. 1. The transmission electronmicrograph of the isolate DGUM 5051. The horizontal bar represents 1 μm .

실험한 결과 분리균이 생장할 수 있는 적정온도는 24°C에서부터 37°C이었으며 최적온도는 30°C이었다. 항균활성은 실험한 20~42°C의 전 범위에서 양호하였으며 최적온도는 24°C이었다(Fig. 3).

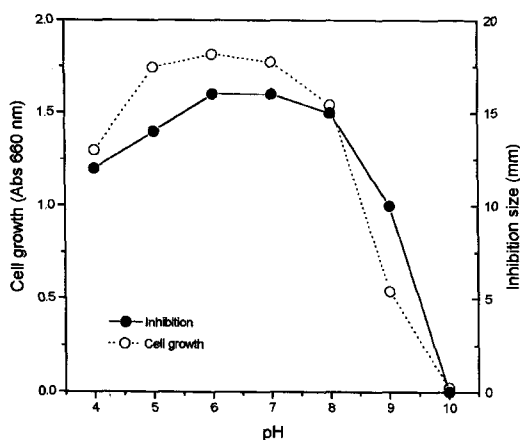


Fig. 2. Optimal pH for cell growth and antifungal activity of the isolate DGUM 5051 against *G. cingulata*.

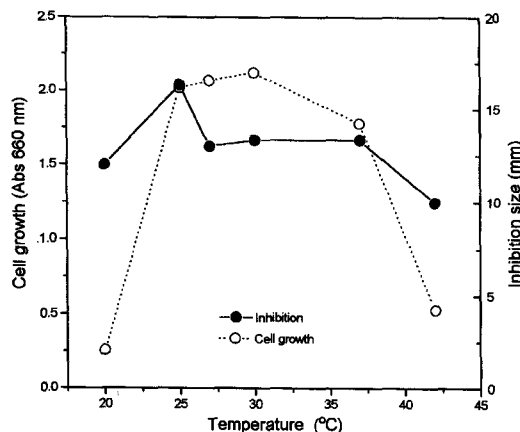


Fig. 3. Optimal temperature for cell growth and antifungal activity of the isolate DGUM 5051 against *G. cingulata*.

배지의 영향

pH를 7.0으로 조절한 각각의 복합배지인(mineral salts medium(MS), brucella medium(B), brain heart infusion medium(BHI), luria-bertani medium(LB), nutrient medium(N), yeast-malt extract medium(YM))를 사용하여 배양하였을 때, 복합배지 B, BHI 및 LB 배지의 경우에 생장이 우수하였다. 항균활성이 가장 우수한 배지는 BHI 배지였다(Table 3).

탄소원, 질소원 및 인산원의 영향

Pseudomonas sp. DGUM 5051의 성장 및 항

Table 3. Cell growth and inhibition of the isolate DGUM 5051 against *G. cingulata*^a

Medium	Cell growth of the isolate against DGUM 5051	Inhibition size against <i>G. cingulata</i> ^b
Mineral salts	0.139 ^c	14.7
Brucella	2.097	17.7
Brain heart infusion	2.051	18.3
Luria-Bertani	2.007	16.3
Nutrient	1.525	14.3
Yeast-malt extract	0.794	15.0

^aCells of the isolate DGUM 5051 were grown at 30°C for 24 hr in the media (pH 7.0) with shaking (120 rpm).

^bThe 24-hr-old culture broth of the isolate DGUM 5051 was used to measure the inhibition size (mm) against *G. cingulata* after 48 hr cultivation at 30°C.

^cThe values (Abs 660 nm) are the averages for three replicates.

균활성에 미치는 탄소원, 질소원 및 인산원의 영향을 조사하기 위하여 MS 배지를 사용하였다. Table 4에서와 같이 탄소원으로 3%의 sucrose, glucose, erythrose, galactose, raffinose를 탄소원으로 주었을 때 항균활성은 우수하였으며, sucrose를 탄소원으로 첨가하였을 때 가장 우수하였다. Mannose가 탄소원으로 첨가되었을 때 생장은 우수하였으나 항균활성은 미미하였다. 질소원으로 0.3%의 NH₄Cl, (NH₄)₂SO₄ 첨가시 생장은 가장 우수하였으나, 항균활성은 KNO₃, NH₄Cl, (NH₄)₂SO₄, NH₄OH 첨가시 우수하였으며 KNO₃에서 가장 우수하였다. Urea, NaNO₃, CaNO₃, NaNO₂ 첨가시 항균활성은 없었다. 인산원으로 0.1%의 KH₂PO₄를 첨가하였을 때 생장이 가장 우수하였고, 항균활성은 K₂HPO₄를 인산원으로 주었을 때 가장 우수하였다. 그러나 KH₂PO₄ 및 Na₂HPO₄가 인산원으로 주었을 때에는 항균활성은 나타나지 않았다(Table 4).

배양시간별 항균물질의 생성

LB 배지를 사용하여 시간대별 생육 및 항균능을 측정한 결과, 분리균은 6시간 후에 대수증식기에 도달하였으며, 14시간 후부터 평형에 도달하였다. 항균활성은 10시간이 경과한 후까지 나타나지 않았으

Table 4. Effect of carbon, nitrogen and phosphorus source on the cell growth of the isolate DGUM 5051 and growth inhibition against *G. cingulata*^a

Source	Cell growth of the isolate DGUM 5051	Inhibition size against <i>G. cingulata</i> ^b
Carbon compound		
Glucose	0.141 ^c	9.0
Sucrose	0.257	13.5
Mannose	0.693	0
Maltose	0.125	0
Erythrose	0.164	10.0
Galactose	0.151	11.0
Xylose	0.360	0
Raffinose	0.202	9.0
Arabinose	0.188	0
Nitrogen compound		
Urea	0.108	0
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.464	11.0
NH ₄ Cl	1.664	9.0
NH ₄ OH	0.081	9.0
KNO ₃	0.154	12.5
NaNO ₃	0.115	0
CaNO ₃	0.345	0
NaNO ₂	0.117	0
Phosphorus compound		
KH ₂ PO ₄	0.362	0
K ₂ HPO ₄	0.126	13.0
Na ₂ HPO ₄	0.358	0

^aCells of the isolate DGUM 5051 were grown at 30°C for 24 hr in the mineral salts broth (pH 7.0) with shaking (120 rpm). The final concentration of carbon, nitrogen and phosphorus were given at 3.0, 0.3 and 0.1%, respectively.

^bThe 24-hr-old culture broth of the isolate DGUM 5051 was used to measure the inhibition size (mm) against *G. cingulata* after 48 hr cultivation at 30°C.

^cThe values (Abs 660 nm) are the averages for three replicates.

며 12시간이 경과한 후부터 나타나기 시작하였고, 24시간 후의 평균활성은 16.0 mm로 최대의 평균 활성을 보여주었다(Fig. 4, 5).

고 찰

오늘날 널리 사용되고 있는 유기합성 농약은 안

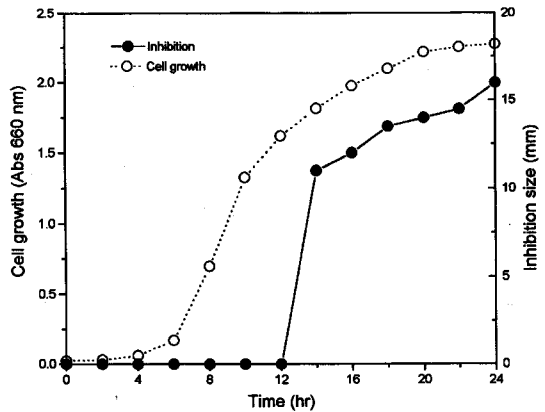


Fig. 4. Time course of antifungal activity of the isolate DGUM 5051 against *G. cingulata*. Cells were grown in the optimized mineral salts medium, in which sucrose, KNO₃ and K₂HPO₄ were added as sources of carbon, nitrogen and phosphorus.

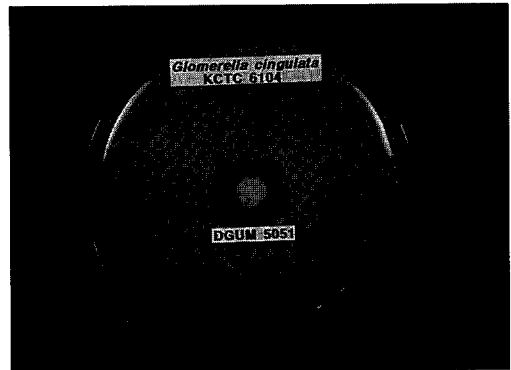


Fig. 5. Inhibition of the isolate DGUM 5051 against *G. cingulata*.

정성이나 환경보존의 측면에서 문제가 제기되므로, 최근에 미생물 유래의 blasticidin, kasugamycin, polyoxin, validamycin 등의 천연항진균제가 개발되어 실용화된 바 있다. 특히 농작물에 피해를 주는 식물 병원성 진균을 방제하기 위해서 길항작용을 지닌 미생물을 이용한 생물학적 방제법이 널리 연구되고 있다(Brisbane과 Rovira, 1988; Elad과 Baker, 1985; Elad와 Chet, 1987; Howell과 Stipanovic, 1979; Parker 등, 1984). 미생물의 길항작용에 관한 연구는 진균이나 방선균에 비해 세균에서 많은 연구가 보고되고 있으며(Kloeper, 1983; Kloeper 등, 1985), 길항세균 중 가장 많은

연구가 보고된 세균으로는 *Pseudomonas*속 세균으로 이들은 근권에서 길항작용을 나타낸다고 보고하였다(Cook와 Rovira, 1976; Smily, 1978; 1979).

토양에 서식하는 미생물 중 많은 종류의 세균들이 식물병을 방제 할 수 있는 생물방제제로서 가치를 지니고 있어서 그 중에서 *Bacillus*속 및 *Pseudomonas*속의 세균에 관한 연구가 광범위하게 이루어져 왔다. 길항미생물들을 이용한 식물병 방제방법에는 식물의 종자표면이나 식물근권에 도포하여 식물생장을 보조시키는 방법, 토양내 길항균을 접종하여 병원균의 발아를 억제시키는 방법 등이 시도되고 있으며, 오늘날 길항균들의 실용화를 위해 유용한 미생물을 개발하여 상품화하려는 노력이 진행되고 있다(Baker, 1985; Colyer와 Mount, 1984; Cook와 Weller, 1987; Fravel, 1988; Sakthivel과 Gnanamanicham, 1987; Suslow, 1982; Weller, 1988; Xu와 Gross, 1986).

본 실험에서 분리한 균은 사과나무에 탄저병을 일으키는 *G. cingulata*의 생육을 저해하는 호기성인 Gram 음성 간균으로 Bergey's manual of systematic bacteriology(Palleroni, 1984)의 기준에 따라 *Pseudomonas*속으로 동정되었다. 분리균의 생장을 위한 최적 조건과 항균활성을 위한 최적 조건은 항상 일치하지 않는 것으로 나타났다. pH의 조건은 중성에서 성장과 항균활성이 모두 우수하였으며 온도의 경우 생장은 30°C에서 항균활성은 24°C에서 최대 항균능을 보여 주었다. 배지의 최적 조건 또한 성장과 항균활성에서 각각 다른 경향을 보여주었다. 김과 이(1996)는 분리균주 *P. cepacia* AF2001에 의한 항진균성 물질의 생산은 탄소원 및 질소원의 종류에 따라 크게 영향을 받는다고 하고, 성장촉진에 영향을 많이 주는 효모추출물이 크게 영향을 준다고 하였다. 반대로 손 등(1991)은 이 *B. subtilis* subsp. *krietiensis*를 대상으로 조사한 성장에서는 효모추출물이 적합하지 않다고 한 것과 대조가 된다고 하여 항균활성물질의 생산성은 기질의 종류와 균주간에 차이가 있을 수 있다고 하였다(김과 이, 1996).

적 요

사과탄저병균, *Glomerella cingulata*에 선택적

으로 항균활성이 있는 세균을 분리한 후 형태 및 생리화학적 특성을 기준으로 동정하여 *Pseudomonas* sp. DGUM 5051로 명명하였다. 분리균의 생장을 위한 최적 pH와 온도는 각각 6.0과 30°C이었고, 최적 항균활성을 나타내는 pH와 온도는 각각 7.0와 24°C이었다. 사용한 복합배지 중 생장 및 항균활성에 있어서는 Brucella, Brain heart infusion과 LB배지가 우수하였다. Mineral salts 배지에 유일 탄소원, 질소원 및 인산원으로 각각 Sucrose, KNO₃ 및 K₂HPO₄를 첨가하였을 때 우수한 항균활성을 나타내었다. *Pseudomonas* sp. DGUM 5051의 항균활성은 배양 12시간 경과 후에 나타났다.

참고문헌

- 고영진, 송장훈, 안미연, 문두길, 한해룡, 권혁모, 문덕영. 1996. 감귤 탄저병균의 형태 및 배양학적 특성. 한국균학회지 25: 30-34.
- 김성일, 이민용. 1994. 근권미생물과 토양병방제-유용 길항균이 인삼근부병원에 미치는 영향-. 한국균학회지 22: 50-61.
- 김성호, 이민용. 1996. *Pseudomonas cepacia* 균주가 생산하는 항진균성 Cyclic Lipopeptide의 생물학적 및 물리 화학적 특성. 한국균학회지 24: 310-321.
- 김창진, 이인경, 윤봉식, 유익동. 1993. *Streptomyces neyagawaensis* 38D10 균주가 생산하는 Concanamycin B의 항고추역병 활성. 한국산업미생물학회지 21: 322-328.
- 백수봉, 김동우. 1995. 고추탄저병(*Colletotrichum gloeosporioides*) 방제를 위한 엽면 길항미생물의 탐색. 한국균학회지 23: 190-195.
- 서원나, 박정희, 이지영, 김인섭, 이계준, 배 무. 1996. 진균 세포벽 형성 저해물질 생성 *Streptomyces*속 세균의 분리 및 수리동정. 한국산업미생물학회지 24: 27-36.
- 손광현, 이항우, 김성욱, 복성해, 김정희. 1994. *Bacillus subtilis*로부터 항진균 리포펩타이드 물질 Iturin의 생산. 한국생물공학회지 9: 224-229.
- 손광희, 권혜경, 이항우, 복성해. 1991. *Bacillus subtilis* subsp. *krietiensis*로부터 항진균물질 KRF-001의 생산을 위한 발효조건 및 돌연변이 연구. 한국산업미생물학회지 19: 614-618.
- 윤봉식, 김창진, 이인경, 히로유키 고시노, 유익동. 1996. *Streptomyces* sp. 3D3균주가 생산하는 항고추역병 항생물질. 한국산업미생물학회지 24: 77-

- 81.
- 이두형, 배수봉. 1987. 식물병리학. 도서출판 우성.
- 이상만. 1993. Chitinase를 생산하는 *Streptomyces lydicus* G-23의 동정 및 배양 특성. 한국산업미생물학회지 21: 6-12.
- 이승지, 엄재열, 이용현. 1996. Chitosan이 사과검무늬썩음병균 *Botryosphaeria dothidea*의 생육에 미치는 영향. 한국산업미생물학회지 24: 261-267.
- 이항우, 김무경, 김성욱, 손광희, 복성혜. 1994. 항진균 물질 KRF-001의 고생산성 변이주 분리. 한국생물공학회지 9: 378-384.
- 장종원, 김상달. 1995. 항진균성 길항세균 *Bacillus subtilis* YBL-7의 종자피막용 포자체의 생산과 발아조건. 한국산업미생물학회지 23: 236-242.
- 정희정, 고영진. 1992. *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.에 의한 유자 탄저병. 한국식물병리학회지 8: 70-74.
- 차진명, 진상기, 고태철, 이인화. 1996. Chitinase를 생성하는 *Serratia* sp. JM의 분리 및 특성. 한국생물공학회지 11: 92-99.
- Agrios, G. N. 1988. Plant pathology (3rd ed.), pp. 381-386. Academic Press, San Diego.
- Baker, K. F. and Cook, R. J. 1974. Biological control of plant pathogens. Freeman, San Francisco.
- Baker, R. 1885. Biological control of plant pathogens: definitions. p.25-39. Academic Press, Inc., New York.
- Brisbane, P. G. and Rovira, A. D. 1988. Mechanism of inhibition of *Gaeumannomyces* var. *tritici* by fluorescent *Pseudomonas*. *Plant pathology* 37: 104-111.
- Colyer, P. D. and Mount, D. M. 1984. Bacterization of potatoes with *Pseudomonas putida* and its influence on post harvested soft rot diseases. *Plant Dis.* 68: 703-706.
- Cook, R. J. Rovira, A. D. 1976. The role of bacteria in the biological control of *Gaeumannomyces gaminis* by suppressive soils. *Soil Boil. Biochem.* 8: 269-273.
- Cook, R. J. and Weller, D. M. 1987. Management of take-all in consecutive crops of wheat or barley. Pp.41-76. In Chet, I. Ed, Innovative approaches to plant disease control. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Elad, Y. and Baker, R. 1985. The influence of trace amounts of cations and siderophore-producing *Pseudomonas* on chlamydospore germination of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathol.* 75: 1047-1052.
- Elad, Y. and Chet, I. 1987. Possible role of competition for nutrients in biocontrol of *Pythium* damping-off by bacteria. *Phytopathol.* 77: 190-195.
- Fravel, D. R. 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26: 75-91.
- Gomaa, K., Kraus, J., Roskopf, F., Roper, H. and Franz, G. 1992. Antitumor and immunological activity of a β -1,3/1,6-glucan from *Glomerella cingulata*. *J. Cancer Res. and Clin. Oncol.* 118: 136-140.
- Hardar, Y., Chet, I. and Henis, Y. 1979. Biological control of *Rhizoctonia solani* damping-off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathol.* 69: 64-68.
- Howell, C. R. and Stipanovic, R. D. 1979. Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. *Phytopathol.* 69: 480-482.
- Kim, B. S. and Hwang, B. K. 1993. Production, purification and antifungal activity of antibiotic substances produced by *Pseudomonas aeruginosa* strain B5. *J. Microbiol. and Biotechnol.* 3: 12-18.
- Kim, Y. S. and Kim, S. D. 1994. Antifungal mechanism and properties of antibiotic substances produced by *Bacillus subtilis* YB-70 as biological control agent. *J. Microbiol. and Biotechnol.* 4: 296-304.
- Kim, Y. S., Lim, H. S. and Kim, S.-D. 1994. *Bacillus subtilis* YB-70 as a biological agent of *Fusarium solani* causing plant root-rot. *J. Microbiol. and Biotechnol.* 4: 68-74.
- Kloeper, J. W., 1983. Effect of seed piece inoculation with plant-growth promotion rhizobacteria on populations of *Erwinia cartovora* on potato roots and daughter tubers. *Phytopathol.* 73: 217-219.
- Kloeper, J. W., Leong, J., Teintze, M. and Schroth, M. N. 1985. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature* 286: 885-886.
- Lee, S. Y., Gal, S. W., Hwang, J. R., Yoon, H. W., Shin, Y. C. and Cho, M. J. 1992. Antifungal activity of *Serratia marcescens* culture extracts against phytopathogenic fungi: Possibility for the chitinase role. *J. Microbiol. and Biotechnol.* 2: 209-214.
- Lim, H. S. and Kim, S.-D. 1994. The production and enzymatic properties of extracellular

- chitinase from *Pseudomonas stutzeri* YPL-1, as a biocontrol agent. *J. Microbiol. and Biotechnol.* 4: 134-140.
- Palleroni, N. J. 1984. Genus *Pseudomonas*. pp. 140-199. In Krieg, N. R. and Holt, J. G. Eds. Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol 1. Williams & Wilkins.
- Parker, W. L., Rathum, M. L., Seiner, V., Trejo, W. H., Principe, P. A. and Sykes R. B. 1984. Cepacin A and Cepacin B, two new antibiotics produced by *Pseudomonas cepacia*. *J. Antibiotics* 37: 431-440.
- Sakthivel, N. and Gnanamanicham, S. S. 1987. Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* for suppression of sheath rot disease and for enhancement of grain yields in rice (*Oryza sativa* L.) *Appl. Environ. Microbiol.* 53: 2056-2059.
- Shin, W. C., Lee, D. S., Kim, T. H., Woo, J. H., Lee, J. M., Kim, J. G. and Hong, S. D. 1995. Isolation and characterization of *Acinetobacter* sp. WC-17 producing chitinase. *J. Microbiol. and Biotechnol.* 5: 80-86.
- Smily, R. W. 1978. Colonization of wheat roots by *Gaeumannomyces graminis* inhibited by specific soils, microorganism and ammonium-nitrogen. *Soil Biol. Biochem.* 10: 175-179.
- Smily, R. W. 1979. What rhizoplane *Pseudomonas* as antagonists of *Gaeumannomyces graminis*. *Soil Biol. Biochem.* 11: 371-376.
- Suslow, T. V. 1982. Role of root-colonizing bacteria in plant growth. pp. 187-223. In Mount, M. S. and Lacyed, G. H. Phytopathogenic prokaryotes, Vol. 1. Academic Press, Inc., New York.
- Weller, D. M. 1988. Biological control of soil borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26: 379-407.
- Xu, G. W. and Gross, D. C. 1986. Field evaluation of the interactions among fluorescent *Pseudomonas*, *Erwinia cartovora* and potato fields. *Phytopathol.* 71: 423-443.