

채소류 모잘록병균에 길항하는 *Bacillus ehimensis* YJ-37의 선발과 항진균성

주길재* · 김진호¹ · 강상재²

*경북대 농화학과, ¹상주대 식물자원학과, ²원예학과

Isolation and Antifungal Activity of *Bacillus ehimensis* YJ-37 as Antagonistic against Vegetables Damping-off Fungi

Gil-Jae Joo*, Jin-Ho Kim¹ and Sang-Jae Kang²

*Dept. of Agricultural Chemistry, Kyungpook Nat'l Univ., Daegu 702-701, Korea,
¹Dept. of Plant Resources and ²Dept. of Horticulture, Sangju Nat'l Univ., Sangju 742-711, Korea

Abstract

This study was carried out to isolate of antagonistic bacterium against *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani* AG-4, causal pathogens of vegetables damping-off. Total of 600 strains were isolated from soil and plant roots. The isolates were screened for antagonism against *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani* AG-4. One strain, named YJ-37, was selected for detained study among those microorganisms screened. It was identified as *Bacillus ehimensis* based on morphological and physiological characteristics according to the Bergey's manual of systematic bacteriology, Sherlock system of Microbial ID Inc. and 16S rDNA sequences methods. Furthermore *Bacillus ehimensis* YJ-37 showed antifungal activities against *Alternaria alternata*, *Collectotrichum gloeosporioides*, *Didymella bryoniae*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*, *F. oxysporum cucumerinum*, *F. oxysporum niveum*, *Gloeosporium* sp., *Glomerella* sp., *G. cingulata*, *G. lagenaria*, *Penicillium digitatum*, *P. italicum*, *Phytophthora capsici*, *Sclerotinia sclerotiorum*, and *Stemphylium solani*.

Key words – Antagonistic, *Bacillus ehimensis*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* AG-4

서 론

채소류는 유묘 생산이 농사의 성패를 좌우할 만큼 중요한데 대부분 채소류 재배 농가에서는 병원균에 오염된 인공 용토나 자재 등을 사용함으로써 인하여 모잘록병에 의한 피해를 많이 보고있다. 채소류 모잘록병은 과중상이나 가식상의 지온이 낮고 다습할 때 모잘록병원균의 발생이 심

하며 산성토양이면 발병이 더욱 심하다. 특히 기온 17~23℃ 일 때 번식력이 가장 왕성하며, 피해가 심할때는 재파종을 해야 하는 경우도 있다[8,15,18]. 일반적으로 작물에서 모잘록병을 일으키는 병원 미생물로는 *Rhizoctonia solani* AG-4, *Pythium ultimum*, *P. aphanidermatum*, *P. echinocarpum*, *P. butleri*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae* 등이 알려져 있으며, 채소류 모잘록병균은 주로 *Pythium ultimum*에 의해 많은 피해를 보고있다[22].

지금까지 모잘록병의 방제는 살균제 처리에 의한 토양 소독과 종자침지 등 농약을 주로 사용하며, validamycin,

*To whom all correspondence should be addressed
Tel : 053-950-6854, Fax : 053-950-6853
E-mail : gjoo@knu.ac.kr

choropicrin, captan, tachigaren, homai, captafol, PCNB, maneb 등의 농약이 이용되고 있으나 합성 농약에 의한 방제도 어려움이 많은 실정이다[9,10,13,16]. 최근 길항미생물을 이용한 생물학적 방제가 환경오염문제나 인축의 농약중독성 문제를 감소시킬 수 있는 친환경 생물학적 방제로 인식되면서 각종 미생물비료나 미생물농약들이 국내외적으로 제제화되어 등록되거나 시판되고 있다[5,11]. *Pythium ultimum*에 길항하는 미생물로는 지금까지 *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *Gliocladium virens*[12] 등의 진균류와 *Streptomyces lydicus*[24], *Actinomyces* spp.[4] 등 방선균류, *Pseudomonas aeruginosa* 7NS K2[2], *P. cepacia*[7], *P. fluorescens* DR54[23], *Enterobacter agglomerans*[3], *Stenotrophomonas maltophilia* W81[6], *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus pumilus*[19] 등의 세균류가 보고되었다.

길항미생물을 이용한 생물학적 방제는 실제 길항미생물의 역가가 우수한 미생물을 사용하나 재배환경에서는 그 역가가 현저히 감소하는 경향이 있다. 특히 모잘록병은 지하부 뿌리주변에서 서식하는 병원균에 의해 발생되므로 지하부 근권의 환경을 잘 이해 해야하는 것이 무엇보다도 중요하다. 그러므로 기존 채소류의 근권에 서식하고 있는 토착미생물이나 우점미생물 중에서 모잘록병에 길항력이 있는 미생물을 분리·선별하여 적용함으로써 미생물학적 방제가 용이하리라 본다.

본 연구는 채소류 모잘록병균의 미생물학적 방제의 일환으로 먼저 모잘록병균 *Pythium ultimum*과 *Rhizoctonia solani* AG-4에 길항하는 미생물을 채소류 뿌리에 서식하는 근권미생물 중에서 분리·선별하여 동정하고 그 균의 항진균 특성을 조사하였기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

근권미생물의 분리 및 보관

균원시료는 경상남도 창원, 경상북도 성주, 고령 일원에서 일반적으로 재배되고 있는 무, 배추, 수박, 참외, 마늘 등 채소류의 뿌리를 수집하여 균원시료로 이용하였다. 근권미생물은 균원시료인 뿌리를 잘 세척하고 그 크기가 1mm 가 되게 절단하여 그 1g에 0.85% NaCl 멸균수 10ml를 첨가하고 3단 희석한 후 Nutrient agar (NA) 배지나 Tryptic soy broth (TSB) 배지에 100 μ m씩 도말한 후 37 $^{\circ}$ C에서 3일간 배양하여 순수 독립 colony 만을 분리하여 근권미생물

로 사용하였다.

근권미생물의 보관은 NA 배지나 TSB 배지 (pH 6.0~7.0)에서 30~37 $^{\circ}$ C에서 3-5일 동안 진탕 배양시킨 후 미생물 세포의 수가 1ml당 콜로니 형성단위(clony forming unit; cfu)로서 10⁸~10⁹개 포함되어 있는 배양액을 4 $^{\circ}$ C에 보관하거나 동결건조기로 건조하여 분말상태로 보관하면서 사용하였다.

병원성 진균의 배양 및 보관

모잘록병균은 본 연구실에서 분리·동정하여 보관 중인 *Pythium ultimum*과 *Rhizoctonia solani* AG-4을 이용하였고, 각종 식물의 병원성 진균에 대한 길항력조사를 위해 사용한 병원성 진균으로는 *Alternaria alternata*, *Collectotrichum gloeosporioides*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*, *F. oxysporum cucumerinum*, *F. oxysporum niveum*, *Gloeosporium* sp. *Gloeosporium juglandis*, *Glomerella* sp. *G. cingulata*, *G. lagenaria*, *Penicillium italicum*, *P. digitatum*, *Phytophthora capsici*, *Stemphylium solani*, *Didymella bryoniae*, *Sclerotinia sclerotiorum* 등을 농촌진흥청 식물병리과, 한국과학기술원 유전자은행(KCTC), 경북대학교 농생물학과 등에서 분양받아 이용하였다. 이들 병원성 곰팡이 균주는 PDA (Potato Dextrose Agar) 배지상에서 28 $^{\circ}$ C 조건으로 4~10일간 배양한 다음 4 $^{\circ}$ C에서 보관하면서 사용하였다.

길항력조사

모잘록병균에 길항하는 미생물의 선발은 분리균과 병원균을 대치배양(pairing plate culture)하여 생육억제환의 크기로 선발하였다. PDA 배지에서 키운 병원균체 덩어리를 PDA 배지 중앙에 올려놓고 가장자리 4곳에 순수분리한 미생물을 한 백금이씩 접종하여 30 $^{\circ}$ C에서 7~10일간 배양한후 병원균의 균사체의 생장억제 정도(inhibition zone)를 조사하여 생성된 clear zone의 길이(mm)나 대치배양거리 5cm에 대한 생육억제정도(%)로 길항력을 나타내었다.

세균의 동정

길항미생물의 동정은 3가지 방법으로 행하였다. 먼저 Bergey's manual of systematic bacteriology의 방법[21]에 준하여 미생물의 형태학적, 배양학적, 생리·생화학적 특성을 조사하며, 두 번째는 미생물의 세포벽의 지방산의 조

성으로 자동 동정하는 Microbial ID Inc.의 Sherlock system (미생물동정장치, GC : HP Co., 6890 series)을 이용하여 제조사가 추천하는 방법에 따라 분석하였고, 세번째는 16S rDNA sequence 법[17]은 길항균의 염색체 DNA를 추출한 후 PCR primer로 R14 (5'-ACg ggC ggT gTg TAC-3')와 R15 (5'-gCC AgC AgC CgC ggT A-3')를 이용하여 PCR 산물을 얻고 이를 분석 의뢰하였으며, 그 sequencing data는 ribosomal database (<http://rdp.cme.msu.edu/html/analyses.html>)에서 상동성을 검색하여 동정하였다.

결과 및 고찰

채소류 모잘록병균에 길항하는 미생물의 선발

채소류 모잘록병균에 길항력을 가지는 미생물을 선발하기 위하여 경상남북도 일원의 균원시료로부터 600여종의 근권미생물을 순수분리하였고, 이들 근권미생물은 모잘록병균인 *Pythium ultimum*과 *Rhizoctonia solani* AG-4에 각각 서로 대치배양하여 생육저지대 측정법으로 조사한 후 모잘록병원균에 길항력이 우수한 5종의 세균을 선별하였다(테이타 미제시). 이들 5종의 근권 길항미생물을 다시 2차 선별한 결과 그들 중에서 가장 강한 균사 생장억제 효과를 나타내는 YJ-37 균주를 최종 선발하였다. 선발한 YJ-37 균주는 무, 마늘 등 채소류의 뿌리에서 많이 존재하였다.

미생물의 일반적인 동정

상기 선발균주 YJ-37은 gram 염색에서 양성이었고, 운

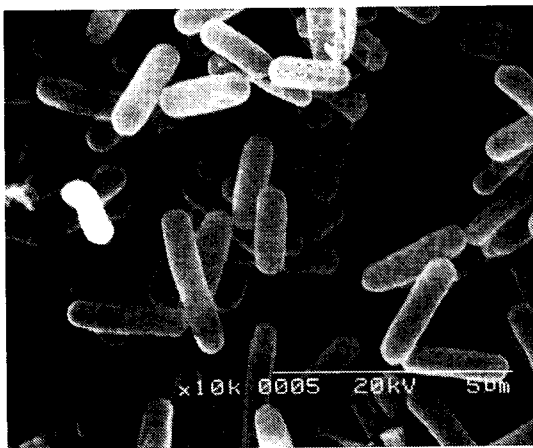


Fig. 1. Scanning electron micrograph of the isolated strain No. YJ-37.

동성이 없으며, 전자현미경 관찰하에서는 여러 개의 편모를 가지고, 내생포자를 형성하는 간균(Fig. 1)이며, Table 1과 같이 배양학적 특성을 조사한 결과, catalase는 음성, 혐기적 조건에서는 생육이 불가능하였으며, Voges-Prostaure test 양성, D-glucose, L-arabinose, D-xylose, D-mannitol에서는 산을 생성하였고, glucose에서 배양할 경우 가스를 생성하였으며, casein, gelatin, starch를 가수분해하며, tyrosine을 분해하지 못하였고, 또한 nitrate reduction과 citrate 이용성 및 indole 생성능은 음성, 2% NaCl 이하 농도에서는 생육이 가능하며, 50℃까지 생육하는 특성을 가지고 있어 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology에 의거하여 조사한 결과, *Bacillus* 속으로 확인하였다.

Sherolock system에 의한 동정

Sherolock system에 의한 길항균 YJ-37의 세포벽 지방산 분석결과, Table 2에서와 같이 주로 C14:0 iso, C14:0, C15:0 iso, C15:0 anteiso, C15:0, C16:1 w7c alcohol, C16:0 iso, C16:1 w11c, C16:0, C17:1 w10c, C17:0 iso, C17:0 anteiso로 이루어져 있으며, 포화지방산인 C15:0 iso (7.80%), C15:0 anteiso (52.26%) 및 C17:0 iso (3.18%)가 많이 포함되어 있었다. 이러한 결과, *Bacillus ehimensis*는 표준균주와 0.869의 유의성 즉, 86.9%의 유사도를 가지는 것이며, *Paenibacillus gordonae*는 0.645, *Paenibacillus polymyxa*는 0.350의 유의성을 가지는 것으로 확인되었다.

16S rDNA 염기서열 결정에 의한 동정

상기 YJ-37 균주의 16S rDNA sequence는 일반적인 방법으로 염색체 DNA를 분리하고 PCR primer R14와 R15를 이용하여 PCR 산물을 얻고 이를 분석 의뢰하여 부분 염기서열 604bp를 결정하였다. 604bp의 염기서열은 ribosomal database에서 상동성을 검색한 결과, Fig. 2에서와 같이 분리주 YJ-37은 *Bacillus ehimensis*의 표준균주와 97.84%의 높은 유사도를 보였으며, *Paenibacillus koreensis*와 96.85%, *Paenibacillus validus*와 93.86%, *Paenibacillus chibaensis*와 92.79%의 유사도를 나타내었다. 이상의 3가지 동정법에 의해 동정한 결과 근권 길항미생물인 YJ-37 균주는 *Bacillus ehimensis*로 동정되었기에 *Bacillus ehimensis* YJ-3이라 명명하였다.

*Bacillus ehimensis*를 이용한 생물학적 방제는 Kuroshima

Table 1. Comparison of the characteristics of an antagonistic bacterial isolate strain No. YJ-37 with the *Bacillus* sp. in Bergey's Manual^{a)}

Characteristics	YJ-37	<i>B. circulans</i>	<i>B. polymyxa</i>	<i>B. pumilus</i>
Cell diameter (>1.0 μ m)	-	-	-	-
Spore round	-	-	-	-
Sporangium swollen	-	+	+	-
Catalase	+	+	+	+
Anaerobic growth	-	d	+	-
Voges-Proskauer test	+	-	+	+
Acid from D-glucose	+	+	+	+
L-arabinose	+	+	+	+
D-xylose	+	+	+	+
D-mannitol	+	+	+	+
Gas from glucose	+	-	+	-
Hydrolysis of casein	+	-	-	-
gelatin	+	d	+	+
starch	+	+	+	-
Degradation of tyrosine	-	-	-	-
Nitrate reduced to nitrite	-	d	+	-
Formation of indole	-	-	-	-
NaCl and KCl required	-	-	-	-
Growth of pH 6.8	+	+	+	+
5.7	+	d	+	+
Growth in NaCl 2%	+	ND	ND	+
5%	-	d	-	+
7%	-	d	-	+
10%	-	-	-	ND
Growth at 5 $^{\circ}$ C	-	-	d	-
10 $^{\circ}$ C	+	d	+	+
30 $^{\circ}$ C	+	+	+	+
40 $^{\circ}$ C	+	+	+	+
50 $^{\circ}$ C	+	-	-	d
55 $^{\circ}$ C	-	-	-	-
65 $^{\circ}$ C	-	-	-	-

^{a)}Symbols : +, 90% or more of strains are positive; -, 90% or more of strains negative; d, 11-89% of strains are positive; ND, no data available

등[14]이 chitosanase를 분비하는 고초균으로 토양으로부터 분리·동정하여 처음 보고하였으며, 1999년 일본에 Akiyama 등[1]이 chitosanase의 정제 및 그 유전자를 cloning하여 발표하였고, 2000년 일본에 Shmosaka 등[20]이 그 유전자의 특성에 관하여 발표하였으나 그 외 연구는 발표된 것이 없는 실정이다.

각종 병원성 진균에 대한 항진균성 조사

채소류 모잘록병균 *Pythium ultimum*과 *Rhizoctonia solani* AG-4 이외에도 길항균 *B. ehimensis* YJ-37에 의한 다른 식물 병원성 진균의 길항력을 조사한 결과, Fig. 3에서와 같이 *B. ehimensis* YJ-37이 *Alternaria altrata*에 대한 생육을 83%(inhibition percentage, %) 억제하였고, *Collectotrichum gloeosporioides* (45%), *Didymella bryoniae* (45%), *Fusarium*

Table 2. Gas chromatogram of cellular fatty acid methylesters of strain YJ-37 for identification by Sherlock system

ID	104	YJ-37							Date of run: 30-AUG-00 17:49:29
Bottle:	5	Sample	[TSBA40]						
RT	Area	Ar/Ht	Respon	ECL	Name	%	Comment 1	Comment 2	
1.818	434305531	0.029	. . .	7.007	SOLVENT PEAK	< min rt		
2.109	10422	0.023	. . .	7.598	< min rt		
2.153	230	0.017	. . .	7.689	< min rt		
2.455	4147	0.024	. . .	8.299	< min rt		
3.191	810	0.026	. . .	9.792			
6.836	2822	0.039	0.992	13.620	14:0 ISO	2.51	ECL deviates 0.001	Reference 0.004	
7.345	1247	0.042	0.982	13.999	14:0	1.10	ECL deviates-0.001	Reference 0.002	
8.292	9007	0.041	0.968	14.623	15:0 ISO	7.80	ECL deviates 0.000	Reference 0.004	
8.430	60468	0.042	0.966	14.714	15:0 ANTEISO	52.26	ECL deviates 0.001	Reference 0.005	
8.864	3042	0.044	0.961	15.000	15:0	2.61	ECL deviates-0.000	Reference 0.003	
9.503	2025	0.047	0.954	15.388	16:1 w7c alcohol	1.73	ECL deviates 0.001		
9.895	11167	0.046	0.951	15.627	16:0	9.50	ECL deviates 0.000	Reference 0.004	
10.112	6240	0.047	0.949	15.759	ISO	5.30	ECL deviates 0.002		
10.507	5638	0.047	0.946	16.000	16:1 wl1c	4.77	ECL deviates-0.000	Reference 0.003	
11.175	1271	0.048	0.941	16.390	16:0	1.07	ECL deviates 0.002		
11.331	985	0.051	0.940	16.481	ISO 17:1 wl0c	0.83	ECL deviates 0.005	17:1 ISO 1 ANTI 8	
11.586	3782	0.048	0.939	16.630	Sum In Feature 4	3.18	ECL deviates-0.000	Reference 0.004	
11.746	8756	0.045	0.938	16.723	17:0 ISO	7.35	ECL deviates 0.000	Reference 0.004	
18.350	376	0.036	. . .	20.537	17:0 ANTEISO	max rt		
.....	985	SUMMED FEATURE 4	0.83	17:1 ISO I/ANTI 8	17:1 ANTISO 8 i	

Slovent Ar	Total Area	Named Area	% Named	Total Amnt	Nbr Ref	ECL Deviation	Ref ECL Shift
434305531	117260	116450	99.31	111766	9	0.002	0.003
TSBA40[Rev 4.10]		Bacillus	0.869			
		B. ehimensis**	0.869			
		Paenibacillus	0.645 (Bacillus gordonae)			
		P. gordonae*	0.645 (Bacillus gordonae)			
		P. polymyxa*	0.350 (Bacillus)			

The Sherlock system consists of a gas chromatograph equipped with a flame ionization detector, 5% methylphenyl silicone fused-silica capillary column (25m by 0.2mm), automatic sampler, integrator, computer, and CFA analysis data bank. The isolates were analyzed according to the manufacturer's recommendations.

moniliforme (55%), *F. oxysporum* (90%), *F. oxysporum cucumerinum* (90%), *F. oxysporum niveum* (80%), *Gloeosporium* sp. (72%), *Glomerella* sp. (90%), *G. cingulata* (43%), *G. lagenaria* (45%), *Penicillium digitatum* (98%), *P. italicum* (30%), *Phytophthora capsici* (45%), *Pythium ultimum* (99%), *Rhi-*

zoctonia solani AG-4 (80%), *Sclerotinia sclerotiorum* (90%), *Stemprhylium solani* (85%) 등 대부분의 병원균에 대해서 항진균 활성을 나타내었다. 특히 *Alternaria altrata*, *F. oxysporum cucumerinum*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum niveum*, *Penicillium digitatum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Stemprhylium*

```
GCTGGCGCGGTGCCTAATACA1GCAAGTCGAGCGGACCCTTCGGGGTTAG
CGGCGGACGGGTGAGTAACGGGTAGGCAACCTGCGCTGTAAGACTGGGATA
ACTACCGGAAACGGGTAGCTAAGACCGGATAAGTGATTCTCTTACTGAGA
GGATCAAGAAACACGGGGCAACCTGTGGCTTACAGATGGGCCTGCGGGCC
ATTAGCTAGTTGGTGGGGTAACGGCTACCAAGGGCAGCATGCGTAGCCG
ACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCC
TACGGGAGGCGAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGCAAGTCTGACGG
AGCAACGGCGGTGAGTGATGAAGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGC
CAGGGAAGAAGCTCGTGAGAGTAACCTGCTCTGCGAATGACGGTACCTGA
GAAGAAAGCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCCGGTAATACGTAGGG
GGCAAGCGTTGTCCGGAATATTGGGCGTAAAGGGCGCGCAGGCGGGCCG
TTAAGTCTGGTGTAAAGCCCGAGGCTCAACCTCGGTTTCGCACTGGAAC
TGGG (604 bp)
```

요 약

채소류 모잘록병균인 *Pythium ultimum*에 길항하는 미생물을 분리하기 위해 채소류 뿌리를 균원시료로 하여 약 600여종의 근권미생물을 분리하였고, 그중 5종의 근권미생물이 길항력을 나타내어 가장 높은 길항력 높은 YJ-37 균주를 최종 선별하였다. 분리한 길항균 YJ-37을 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology의 방법에 준하여 미생물의 형태학적, 배양학적, 생리·생화학적 특성을 조사하였으며, 미생물의 세포벽의 지방산의 조성으로 자동 동정하는 Sherlock system을 이용하는 방법과 16S rDNA의 부분염기서열을 결정하여 동정하는 방법 등 3가지 방법으로 조사한 결과, 근권 길항미생물인 YJ-37 균주는 *Bacillus ehimensis*로 동정되었다. 채소류 모잘록병균 *Pythium ultimum* 과 *Rhizoctonia solani* AG-4 이외에도 *B. ehimensis* YJ-37에 의한 병원성 진균의 길항력을 조사한 결과, *Alternaria alternata*, *Collectotrichum gloeosporioides*, *Didymella bryoniae*, *Fusarium moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. oxysporum cucumerinum*, *F. oxysporum niveum*, *Gloeosporium* sp., *Glomerella* sp., *G.*

Strains	% Similarity
<i>Bacillus ehimensis</i> IFO 15659T	97.84
<i>Paenibacillus koreensis</i> YC300T	96.85
<i>Paenibacillus validus</i> DSM 3937T	93.86
<i>Paenibacillus chibensis</i> NRRL B-142T	92.79

Fig. 2. 16S rDNA partial sequence (604bp) of the isolated strain No. YJ-37.

The PCR primer was R14 (5'-ACg ggC ggT gTg TAC-3') and R15 (5'-gCC AgC AgC CgC ggT A-3'), The sequencing data (604 bp) were analyzed from ribosomal database (<http://rdp.cme.msu.edu/html/analyses.html>).

solani 등의 진균에서 채소류 모잘록병균 *Pythium ultimum*에서의 길항력과 거의 비슷하게 높은 항진균 활성을 가지고 있었다.

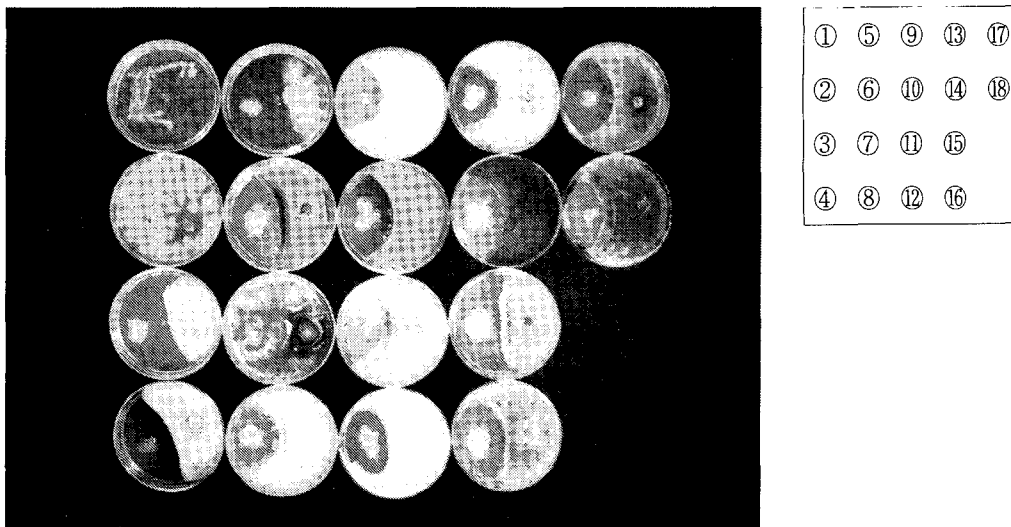


Fig. 3. Antagonistic effect of *B. ehimensis* YJ-37 on mycelial growth of phytopathogenic fungi.

①, *B. ehimensis* YJ-3; ②, *Penicillium italicum*; ③, *Pythium ultimum*; ④, *Stemphylium solani*; ⑤, *P. digitatum*; ⑥, *Fusarium moniliforme*; ⑦, *Gloeosporium* sp.; ⑧, *Collectotrichum gloeosporioides*; ⑨, *Didymella bryoniae*; ⑩, *Rhizoctonia solani* AG-4; ⑪, *G. lagenaria*; ⑫, *Phytophthora capsici*; ⑬, *G. cingulata*; ⑭, *Alternaria alternata*; ⑮, *Sclerotinia sclerotiorum*; ⑯, *Fusarium oxysporum*; ⑰, *F. oxysporum cucumerinum*; ⑱, *F. oxysporum niveum*. Each phytopathogenic fungi and *B. ehimensis* YJ-37 were inoculated on PDA medium using pairing plate culture method, the length between two strains were 5cm. Inhibition zone were observed after inoculation on PDA at 28°C for 7 days.

cingulata, *G. lagenaria*, *Penicillium digitatum*, *P. italicum*, *Phytophthora capsici*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Stemphylium solani* 등 대부분의 병원균에 대해서 항진균 활성을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 2000년 제8차 산학연공동기술개발 지역컨소시엄(과제번호:2000-11) 연구지원비에 의하여 수행된 연구 결과의 일부이며, 이에 깊이 감사 드립니다.

참 고 문 헌

1. Akiyama, K., T. Fujita, K. Kuroshima, T. Sakane, A. Yokota and R. Takata. 1999. Purification and gene cloning of a chitosanase from *Bacillus ehimensis* EAG1. *J. Biosci. Bioengin.* **87**, 383-385.
2. Buysens, S., K. Heungens, J. Poppe and M. Hofte. 1996. Involvement of pyochelin and pyoverdinin in suppression of *Pythium*-induced damping-off tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NS K2. *Appl. Environ. Microbiol.* **62**, 865-871.
3. Chernin L., Z. Ismailov, S. Haran and I. Chet. 1995. Chitinolytic *Enterobacter agglomerans* antagonistic to fungal plant pathogen. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 1720-1726.
4. Crawford, D. L., J. M. Lynch, J. M. Whipps and M. A. Ousley. 1993. Isolation and characterization of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 3899-3905.
5. David, M. W. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* **26**, 379-407.
6. Dunne, C., Y. Moenne-Loccoz, F. J. de Bruijin, F. O'Gara. 2000. Overproduction of an inducible extracellular serine protease improves biological control of *Pythium ultimum* by *Stenotrophomonas maltophilia* strain W81. *Microbiol.* **146**, 2069-2078.
7. Fridlender M., J. Inbar and I. Chet. 1993. Biological control of soilborne plant pathogens by a β -1,3 glucanase-producing *Pseudomonas cepacia*. *Soil Biol. Biochem.* **25**, 1211-1221.
8. Garrett, S. D. 1970. *Pathogenic root-infecting fungi*. pp.294, Cambridge University Press. Cambridge.
9. Haglund, W. A., R. L. Gabrielson and D. R. Tompkins. 1972. Selective soil fungicides as an aid in the identification of soil-borne plant pathogens. *Phytopathol.* **62**, 287-289.
10. Hendrix, J. W. 1974. Physiology and biochemistry of growth and reproduction in *Pythium*. *Proc. Amer. Phytopath. Soc.* **1**, 207-210.
11. Kim, K. Y. and S. D. Kim. 1997. Biological control of *Pyricularia oryzae* blast with the antibiotic substances produced by *Bacillus* sp. KL-3. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **25**, 396-402.
12. Koch, E. 1999. Evaluation of commercial products for microbial control of soil-borne plant diseases. *Crop Protection* **18**, 119-125.
13. Kreutzer, W. A. 1963. Selective toxicity of chemicals to soil microorganisms. *Ann. Rev. Phytopathol.* **1**, 101-126.
14. Kuroshima, K., T. Sakane, R. Takata and A. Yokota. 1996. *Bacillus ehimensis* sp. nov. and *Bacillus chitinolyticus* sp. nov., new chitinolytic members of the genus *Bacillus*. *Intl. J. System. Bacteriol.* **46**, 76-80.
15. Leach, L. D. 1947. Growth rates of host and pathogen as factors determining the severity of preemergence damping-off. *J. Agri. Res.* **75**, 161-179.
16. Locke, J. C., G. C. Papavizas and J. A. Lewis. 1979. Seed treatment with fungicides for the control to *Pythium* seed rot of peas. *Plant Disease Rep.* **63**, 725-728.
17. Loffler, F. E., Q. Sun, J. Li and J. Tiedje. 2000. 16S rRNA gene-based detection of tetrachloroethene-dechlorinating desulfuromonase and dehalococoides species. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 1369-1374.
18. Lumsden, R. D. and W. A. Ayers. 1975. Influence of soil environment on the germinability of constitutively dormant oospores of *Pythium ultimum*. *Phytopathol.* **65**, 1101-1107.
19. Nielsen, P., J. Sorensen. 1997. Multi-target and medium-independent fungal antagonism by hydrolytic enzymes in *Paenibacillus polymyxa* and *Bacillus pumilus* strains from barley rhizosphere. *FEMS Microbiol. Ecol.* **22**, 183-192.
20. Shimosaka, M., Y. Fukumori, X. Y. Zhang, N. J. He, R. Kodaira and M. Okazaki. 2000. Molecular cloning and characterization of a chitosanase from the chitinolytic bacterium *Burkholderia gladioli* strain CHB101. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **54**, 354-360.
21. Sneath, P. A., N. S. Mair, M. E. Sharpe and J. G. Holt. 1986. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. vol. 2., The Williams & Wilkins, Baltimore.
22. Stanghellini, M. E. and J. G. Hancock. 1971. Radial

- extent of the bean spermosphere and its relation to the behavior of *Pythium ultimum*. *Phytopathol.* **61**, 165-168.
23. Thrane, C., T. H. Nielsen, M. N. Nielsen, J. Sorensen and S. Olsson. 2000. Viscosinamide-producing *Pseudomonas fluorescens* DR54 exerts a biocontrol effect on *Pythium ultimum* in sugar beet rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology* **33**, 139-146.
24. Yuan, W. M. and D. L. Crawford. 1995. Characterization of *Streptomyces lydicus* WYEC108 as a potential biocontrol agent against fungal root and seed rots. *Appl. Environ. Microbiol.* **61**, 3119-3128.

(Received February 27, 2002.; Accepted April 10, 2002)