

파프리카에 발생하는 주요 병원균에 대한 길항미생물,  
*Serratia marcescens*-YJK1, 분리와 특성

양수정\*\* · 김형무\* · 주호종\*

The Isolation and Characterization of the Antagonistic  
Microorganisms, *Serratia marcescens*-YJK1,  
for Major Pathogens on Paprika

Yang, Soo-Jeong · Kim, Hyung-Moo · Ju, Ho-Jong

Synthetic agro-chemicals have been widely used to control diseases on paprika but these days negative attention has been increasing to use of them because of several adverse effects. This research was conducted to isolate and to characterize the antagonistic microorganism to control major paprika diseases, gray mold rot, fruit and stem rot, phytophthora blight, sclerotium rot, and wilt disease. Analysis of the fatty acid and analysis of the 16S rDNA gene sequence revealed that YKJ1 isolated in this research belongs to a group of *Serratia marcescens*. Specially, 16S rDNA gene sequence of YKJ1 showed 99% of sequence similarity with *S. marcescens*. Observation through the optical microscope revealed that YKJ1 suppressed the spore germination and the hyphal growth of pathogens. YKJ1 treatment on pathogens induced marked morphological changes like hyphal swelling and degradation of cell wall. In the case of phytophthora blight, the zoosporangium formation was restrained. *S. marcescens* found in this study call as *S. marcescens*-YKJ1 and it may be valuable as one of biological control agents against major diseases of paprika in the future even though it is require to be tested with more study on field test

Key words : *antifungal microorganism, biological control, paprika, serratia marcescens*

\* Corresponding author, 전북대학교 농생물학과 식물의학연구소(m1258@jbnu.ac.kr, juhojong@jbnu.ac.kr)

\*\* 전북대학교 농생물학과

## I. 서 론

파프리카(*Capsicum annuum* L. var. *grossum*)는 현재 우리나라의 수출유망작물로써 재배면적과 생산량이 꾸준히 증가하고 있으며, 과거에는 생산량의 대부분이 수출에만 의존되었지만, 최근 건강에 대한 관심이 높아지고 웰빙문화가 확대되면서 파프리카나 토마토와 같은 기능성 농산물의 구매가 늘어나고 있다(남, 2003). 친환경농산물에 대한 관심이 높아지고 있으나 지난 2009년 4월과 2012년 12월, 파프리카의 일본수출검역과정에서 발생한 잔류농약 허용치 초과검출로 인해 일본에서 한국산 파프리카에 대한 검역을 강화하였다(이, 2013). 이에 따라 수출용 채소류의 농약 안전 사용에 대한 중요성이 어느 때보다 부각되고 있다. 국내에서도 소비자들은 농산물의 품질뿐만 아니라 농산물의 안전에 대한 요구가 증가하고 있으며, 무분별한 화학적 방제로 인하여 농약이 잔류되는 등의 농업생태계와 환경적으로 문제가 되고 있다(김, 2011). 이에 따라 착색단고추 재배 중 발생하여 피해를 주는 병해를 대상으로 농약사용을 최소화하여야 하며 농약을 대체할 수 있는 기술 개발이 절실히 요구된다.

파프리카는 가지과(Solanaceae) 고추속(Capsicum) 고추종(*Annuum*) 단고추 아종에 속하며, 발생하는 병해의 종류는 일반고추와 비슷하지만, 일반고추에 비하여 병해에 대한 감수성이 높고, 재배환경에 대해서도 훨씬 민감하다(지 등, 2005). 파프리카에 발생하는 주요병해로 바이러스병(Kim 등, 2002; Mun 등, 2008), 시들음병(Cha, 2009), 역병(조, 2010), 잣빛곰팡이병(Yoon 등, 2008), 줄기 및 과실썩음병(Jee 등, 2005), 균핵병(Jeon 등, 2006) 등의 병해를 비롯하여 여러 요인에 기인하는 여러 종류의 병해가 있다. 이러한 병해 방제를 위해서 경종적, 물리적방제 등 여러 가지 방제법이 있는데 대부분이 다수의 농약을 사용하는 화학적 방제에 의존하는 경향이 있다(농촌진흥청, 2002). 화학비료 및 유기합성농약의 과다사용으로 토양의 염류 집적, 양분 불균형 초래, 토양 미생물 및 천적 감소 등의 생태계 교란, 수질 오염, 농산물의 안전성 문제 등을 야기하고 있으며, 이와 같은 환경문제로 인하여 전 세계적으로 지속 가능한 농업을 위해 친환경적 농업을 장려하고 있다. 따라서 작물의 병해방제법도 화학농약 대신 토양 내 서식하는 길항 미생물이나 친환경제제를 이용하는 방제법으로 바뀌고 있으며, 이를 위한 방제연구가 많아지고 있다.

미생물 길항작용은 식물병원균의 생육을 저지, 감소시키면서 작물의 조기 근권정착능력을 촉진하게 함으로써 성장을 좋게 하여 작물의 증수 효과를 볼 수 있는 방제법이라 할 수 있으며, 최근 전 세계적으로 연구가 활발히 이루어지고 있는 생물농약은 미생물을 이용한 것이 그 중심을 이루면서 매년 크게 발전하고 있다. 아직 선진국에 비해 많은 연구가 실용화 되어 있지 않지만 길항미생물의 제제화와 근권정착력 대량 생산 기술 개발 등 수행해야 할 일들이 많으며, 기술적 한계로 인하여 생물농약의 단점인 불안정하고 불충분한 약효에 대한 연구가 지속적으로 필요하다(이 등, 2008). 이에 본 연구는 파프리카에서 발생하는 주

요 균류병에 대한 길항미생물을 탐색하여 그 특성에 대한 연구를 실시하여 고품질 파프리카 생산을 위해 친환경적 방제의 기반에 기여하고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 병원균 분리

파프리카에 병을 일으키는 주요 병원균(*Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Phytophthora capsici*, *Sclerotinia sclerotiorum*)의 분리는 2010년 5월 전북 남원, 장수, 전주, 전남 화순, 경남 진주, 마산 등지의 파프리카 재배포장을 대상으로 감염된 포장에서 채집된 이병주에서 분리하였다. 채집된 이병주에서 이병부와 건전부 사이의 조직을 5×5 mm 크기로 잘라서 1% 차아염소산나트륨(NaOCl)용액에 1분간 표면 살균한 다음 멸균수로 3회 세척하여 Filter paper로 흡수하여 PDA(potato dextrose agar, 0.4% potato starch, 2.0% dextrose, 1.5% agar)배지에 치상하고, 28°C 암상태로 배양한 후 단포자를 다시 PDA 배지에 이식, 배양하여 균을 순수분리하였다.

### 2. 길항 미생물의 분리

실험에 사용된 토양시료는 전북 남원, 장수, 전주, 진주 등지의 파프리카 재배포장을 대상으로 2010년 6월 8월 10월에 걸쳐 채취하였으며, 파프리카 재배포장의 상토를 걷어 낸 후 파프리카 뿌리와 근접한 지하 10~15cm 지점의 토양을 각 지점별로 3곳의 토양을 채취 후, 혼합하여 사용하였다. 채취한 토양시료를 각각 1 g씩 정량하여 9 mL의 멸균생리식염수(0.85% NaCl)가 들어있는 시험관에 넣고 vortex를 사용하여 충분히 진탕하면서 연속희석법으로  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ 까지 희석한 후, 희석액 0.1 mL씩을 NA(nutrient agar, 0.5% peptone, 0.3% beef extract, 1.5% agar)배지에 접종, 도말하여 28°C에서 3일간 배양하였다. 이후 colony의 형태와 크기 등이 특이하거나 plate 상에서 우점양상을 보이는 균주들을 대상으로 순수분리를 실시하였다.

### 3. 병원균과 길항균의 대치배양과 길항균 선발

길항력 실험은 PDA 배지로 채워진 페트리디쉬를 이용하였으며, 배양기내의 배양온도는 25°C로 곰팡이의 생장에 양호한 온도로 배양하여 병원성 사상균의 생육에 적합한 환경조건에서 병원균에 대한 길항력이 우수한 세균성 균주를 분리하였다.

길항균 선발방법은 PDA 배지에 곰팡이 접종 후 4일간 배양하여 길항균을 접종하고 7일 정도 배양시켜 저지대를 형성하는 균주를 길항균으로 선발하였다. 생장저지율은 PDA 평판 배지에서 병원균과 7일간 대치배양하면서 병원균 균총의 직경을 측정하여 무처리구와 비교하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{생장억제율(\%)} = \frac{\text{무처리의 균총직경(mm)} - \text{처리구의 균총직경(mm)}}{\text{무처리구 균총직경(mm)}} \times 100$$

#### 4. 길항미생물 분리균주의 동정

세균의 동정으로는 MIDI(지방산분석), BIOLOG 및 API 등이 이용되고 있으며, 최근에는 16S rDNA 유전자 분석에 크게 의존하고 있다(Adhikari 등, 2001; Mehnaz 등, 2001; Sacchi 등, 2002; 이 2004). 착색단고추에서 발생하는 병원균에 대하여 길항력이 우수한 균주를 동정하기 위해 MIDI를 이용 지방산 분석시험과 16S rDNA 염기서열 분석을 실시하였다.

MIDI를 이용한 지방산 분석시험은 Yang 등(1993)의 방법을 변형하여 실시하였으며, 선별된 균주를 1.5% tryptic soy agar(TSA, Difco, USA, 0.17% tryptose, 0.3% soytone, 0.25% glucose, 0.5% sodium chloride, 0.25% dipotassium phosphate, 0.15% agar)배지에 streak한 후, 28°C에서 24시간 동안 배양하였고, 40~60 mg의 colony를 시험관에 옮겼다. 15%의 NaOH를 첨가한 50% methanol 용액 1 mL을 가하고, 10초 동안 vortexing하였으며, 100°C에서 25분 동안 열을 가하고, 1분 동안 식혀주었다. 여기에 2 mL의 methanolic-HCl (6N HCl 325 mL + Methanol 275 mL)을 첨가한 후, vortex를 이용하여 10초 동안 섞어주었다. 80°C에서 10분 동안 열을 가한 후, 5분 동안 식혀 주었다. 1.25 mL의 hexane/methyl-tert-butylether (1:1)을 첨가하고, 10분 동안 섞어준 후, 반응액을 실온에 정치하여 2개의 층으로 분리시킨 후, 하층액을 제거하였다. 3 mL의 희석 NaOH(10.8 g NaOH/900 mL 증류수)를 첨가하고 5분 동안 섞어주고, saturated NaCl을 몇 방울 떨어 뜨려, 불순물을 가라앉히고, 지방산이 추출된 상층액의 2/3를 GC vial로 옮겨주었다. GC 분석은 gas chromatography를 이용하였으며, 분석은 MIDI (MIDI Inc., Newark, DE, Sherlock database TSBA40, version 4.1, USA)으로 실시하였고 지방산조성은 MIS Library entry에서의 similarity index로 나타내었다(Osterhout 등, 1991).

선별 균주의 16S rDNA 염기서열 분석은 ABI사의 BigDye<sup>®</sup> Terminators v3.1 Kit(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)와 Capillary electrophoresis system의 ABI 3730xl Genetic Analyzer를 사용하였으며, 2종의 프라이머 27F(5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3'), 1492R(5'-TACGGYTACCTTGTTACG ACT T-3')를 사용하였다(Reysenbach 등, 1992). National Center for Biotechnology Information(NCBI)의 BLAST 검색프로그램을 통해 염기서열의 유사도를 분석하였다. MEGA v4.0 program(Tamura 등, 2007)의 neighbor joining method Saitou과

(Nei, 1987)를 이용하여 phylogenetic tree를 작성하였으며, sequence distance는 Kimura 2-parameter method(Kimura, 1980)로 계산하여 bootstrap analysis (Felsenstein, 1985) 1,000반복으로 수행하였다.

#### 5. 길항균 배양여액이 잣빛곰팡이병원균과 시들음병원균, 줄기 및 과실썩음병원균의 분생포자발아에 미치는 영향

잣빛곰팡이병원균과 시들음병원균, 줄기 및 과실썩음병원균의 분생포자발아에 대한 길항균 배양여액의 효과를 조사하기 위해 이(1994)의 방법을 변형하여 실험하였다. Test tube에 potato dextrose broth(PDB, 0.4% potato starch, 2.0% dextrose)(Difco, USA) 2.7 mL와 0.3 mL의 길항균 배양여액을 9:1로 혼합한 후 0.1 mL의 포자현탁액( $10^9$  cell/mL)을 접종 후 24시간, 48시간, 72시간에 정지 배양하여, 광학현미경(Leica, ICC50)을 사용하여 400배에서 포자발아율을 조사하였다.

#### 6. 길항균 배양액이 균사 성장에 미치는 영향

이(1994)의 방법을 변형하여 길항균이 잣빛곰팡이병원균과 시들음병원균, 줄기 및 과실썩음병원균, 역병원균, 균핵병원균의 균사생장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 다섯 가지 병원균과 길항균을 각각 tryptic soybean broth (TSB, 1.7% tryptone, 0.3% soytone, 0.5% sodium chloride, 0.25% dipotassium phosphate, 0.25% dextrose)(Difco, USA)에 접종 후 24시간 동안 진탕배양하였다. 배양한 길항균을 각각 0.2 mL씩 취한다음, 배양중인 병원균(1.8 mL)에 접종하여, 다시 48시간 동안 진탕배양 후 광학 현미경을 사용하여 400배에서 균사의 성장상태를 조사하였다.

#### 7. 통계처리

실험의 결과에 대한 통계처리는 Statistical Analysis System(SAS version 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)프로그램에 의해 분석하여 유의성을 검정하였으며,  $p < 0.05$  이하의 유의수준에서 평균값을 최소유의차(LSD) 검정에 의해 처리간의 결과를 비교하였다.

### Ⅲ. 결과 및 고찰

#### 1. 길항미생물의 분리 및 길항능력 검증

착색단고추 재배 농가 포장에서 채취한 토양 시료로부터 *B. cinerea*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *P. capsici*, *S. sclerotiorum*의 5가지 주요 병원균과 길항미생물들을 분리하였다. 분리된 길항미생물들을 5가지 병원균과 대치배양하여 병원균의 생장억제율이 40% 이상인 균주를 분리하여 YKJ1라 하고 실험에 이용하였다(Fig. 1과 Table 1).

Table 1. Antagonistic effect of the YKJ1 on mycelial growth of pathogen in dual culture

Major pathogens	YKJ1	Control
	-----Inhibition rate (%)-----	
<i>Botrytis cinerea</i>	51.28 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>
<i>Fusarium oxysporum</i>	44.36 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>
<i>Fusarium solani</i>	46.67 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>
<i>Phytophthora capsici</i>	43.59 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	44.10 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>

\* The same letters are not significantly different according to a fisher's protected least significant difference (LSD) at 0.05 probability level

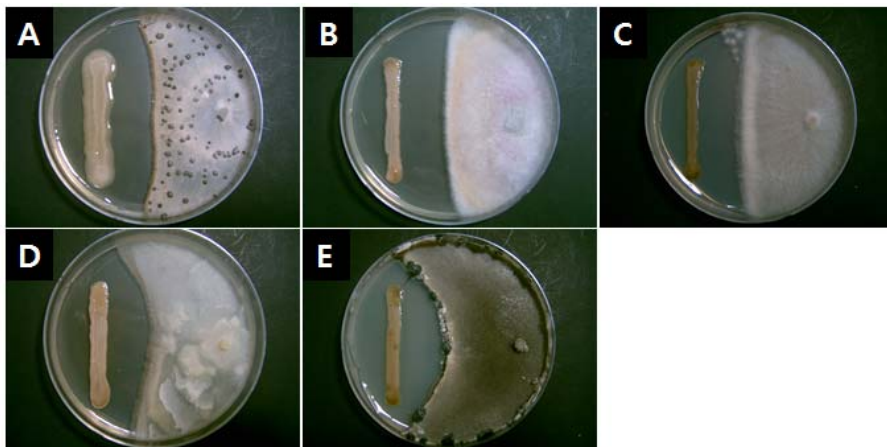


Fig. 1. Inhibitory patterns of the YKJ1 on growth of the 5 major pathogenic mycelial in dual culture for 10 days

A) *Botrytis cinerea*, B) *Fusarium oxysporum* C) *Fusarium solani*, D) *Phytophthora capsici*, E) *Sclerotinia sclerotiorum*

군사생장억제율(Table 1)은 *B. cinerea*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *P. capsici*, *S. sclerotiorum*에서 각각 51.82%, 44.36%, 46.67%, 43.59%, 44.10%로 나타났고 대치배양시에 inhibition-zone과 *B. cinerea*가 맞닿는 부분에서 포자 형성이 많이 되었다. Fig. 1에서 보여주는 것처럼 *B. cinerea*과 *S. sclerotiorum*에서는 균핵이 형성되었으나 *F. oxysporum*, *F. solani*, *P. capsici*에서는 예상한 바와 같이 균핵이 형성되지 않았다. 착색단고추에 주로 발생하는 병원균인 *B. cinerea*, *F. solani*, *P. capsici*과 대치배양을 통하여 *Pseudomonas putida* strain P84(정, 2011)를 선발하여 길항 미생물에 의한 파프리카 주요 병원균의 친환경적 제제선발의 가능성을 보고 하였고, 김과 김(1997)은 벼도열병 방제를 위해 군사 생육을 30% 억제하는 *Bacillus* sp.를 분리하여 사용한 것으로 보았을 때, 본 실험에서 분리한 YKJ1 균주는 40% 이상의 억제율을 보였으므로, 착색단고추에 발생하는 주요 병원균의 생물학적으로 우수한 균으로 예상된다.

## 2. 지방산 분석 및 16S rDNA염기서열 분석

미생물 중에 따라 세포막의 지방산 조성이 다르고 동일 종간 지방산의 비율은 일정하다 (Sasser, 1990)는 것을 이용하여 미생물의 지방산 분석 미생물 동정 시스템(MIDI) 내 세균데이터베이스는 *S. marcescens*와 유사도 비교를 통한 분리균주 동정결과 0.782값을 나타내었다. 일반적으로 유사도 값이 0.5 이상일 경우 MIDI 동정의 유의성이 인정되므로(Osterhout 등, 1991), 본 실험에서 분리한 균주의 MIDI 유사도 값은 다른 보고서에서 밝힌 균주(Li et al., 2011)와 *S. marcescens*간의 MIDI 유사도 값보다 높은 0.782로 *S. marcescens*로 판단이 된다. 분리한 길항미생물 YKJ1균주의 GC(gas chromatography) 분석 결과 주로 iso-와 cyclo fatty acid로 구성되어 있었으며, C<sub>16</sub> fatty acid가 41.34%, C<sub>17</sub> fatty acid 20.62%, 그리고 C<sub>18</sub> fatty acid가 10.74%로 다른 *S. marcescens* strain(Li 등, 2011)의 주요 지방산 성분과 유사한 경향을 보였다(Table 2).

Table 2. Cellular fatty acid composition of YKJ1 analyzed by gas chromatography

Fatty acids	Retention time	Percentage	Fatty acids	Retention time	Percentage
10:0	3.002	0.60	12:0 3OH	6.047	2.55
10:0 3OH	3.961	4.62	14:0 ANTEISO	6.383	0.38
12:0	4.430	0.44	14:0	6.733	4.33
11:0 3OH	4.889	0.13	unknown 14.502	7.457	0.61
13:1 AT 12-13	5.396	0.16	15:0	8.180	0.87
12:0 2OH	5.699	0.50	14:0 2OH	8.502	3.74
12:1 3OH	5.839	1.82	16:0	9.765	29.16

Fatty acids	Retention time	Percentage	Fatty acids	Retention time	Percentage
17:0 CYCLO	11.246	19.71	19:0 CYCLO $\omega$ 8c	14.691	6.55
17:0	11.433	0.91	Summed Feature2*	12.515	7.48
18:1 $\omega$ 7c	12.839	9.93	Summed Feature3	9.472	4.70
18:0	13.145	0.81			

\* Summed features represent group of two fatty acids which could not be separated by gas-liquid chromatography with the MIDI system. Summed feature 2 contained one or more of following fatty acids : unknown 14:0 3OH/16:1 ISO I, summed feature 3 contained one or more of following fatty acids: 15:0 ISO 2OH/16:1  $\omega$ 7c

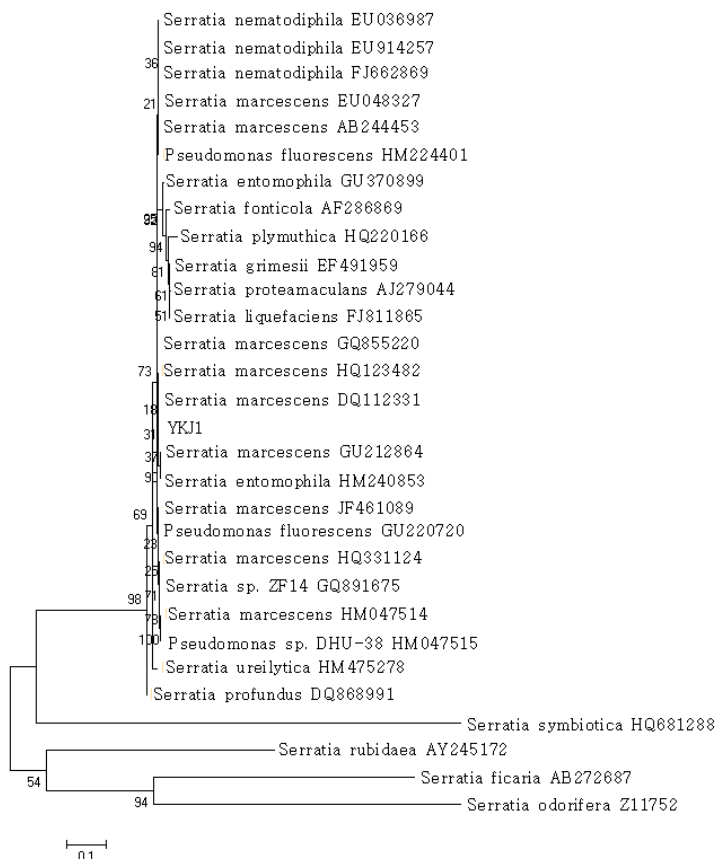


Fig. 2. Phylogenetic tree produced from the partial 16S rDNA sequence analysis on strain YKJ1 and those of other related *Serratia* species acquired from NCBI GeneBank. The tree was generated using the neighbor-joining method within MEGA 4.0. The percentage of replicate trees in which the associated taxa clustered together in the bootstrap tests (1000 replicates) is shown next to the branches.



파프리카 주요병원균에 대하여 길항능력이 있는 YKJ1의 분자생물학적 동정을 위하여 YKJ1균주의 genomic DNA로부터 16S rDNA의 ITS영역을 증폭하여 염기서열(932 bp)을 NCBI의 BLSATN을 이용하여 분석한 결과 NCBI GenBank 데이터베이스에 등록된 *S. marcescens* (accession no. KM018333)와 99%의 상동성을 확인하였으며, 또한 YKJ1과 *S. marcescens*로 분류된 분류군과의 관계를 조사하기 위하여 MEGA 4.0 프로그램 내 neighbor-joining 방법 (Tamura 등, 2007)을 이용하여 유연관계를 분석한 결과 YKJ1은 *S. marcescens*로와 같은 군에 속하는 것으로 나타났다(Fig. 2). 따라서 분리된 YKJ1은 “*S. marcescens* strain YKJ1”으로 명명하기를 제안한다.

### 3. 길항균 배양여액이 잣빛곰팡이병균과 시들음병, 줄기 및 과실썩음병의 분생포자 발아에 미치는 영향

본 실험에 사용한 착색단고추에서 발생하는 5가지 병원균 중 분생포자를 형성하는 잣빛곰팡이병과 시들음병, 줄기 및 과실썩음병의 병원균에 대하여 YKJ1의 배양여액을 이용해 병원균의 포자발아에 미치는 영향에 대하여 조사하였다. 역병원균의 경우 분생포자를 형성하지 않고 유주자, 유주자낭을 형성하며, 균핵병원균은 포자를 형성하지 않기 때문에 본 실험에서 제외시켰다.

Table 3. Effect of cultural filtrates of YKJ1 on spore germination of pathogens causing diseases on paprika

		YKJ1	Control
		-----Spore germination (%)-----	
<i>Botrytis cinerea</i>	24h	0 <sup>b</sup>	67 <sup>a</sup>
	48h	0 <sup>b</sup>	75 <sup>a</sup>
	72h	3 <sup>b</sup>	93 <sup>a</sup>
<i>Fusarium oxysporum</i>	24h	2 <sup>b</sup>	47 <sup>a</sup>
	48h	5 <sup>b</sup>	65 <sup>a</sup>
	72h	10 <sup>b</sup>	98 <sup>a</sup>
<i>Fusarium solani</i>	24h	0 <sup>b</sup>	58 <sup>a</sup>
	48h	0 <sup>b</sup>	69 <sup>a</sup>
	72h	2 <sup>b</sup>	95 <sup>a</sup>

\* The same letter are not significantly different according to a fisher's protected least significant difference (LSD) at 0.05 probability level

*B. cinerea*의 경우 Table 3에서와 같이 YKJ1 배양액 처리구에서 48시간까지는 발아하지 않았고, 72시간 후에 3%의 발아율을 보였다. YKJ1 배양액 무처리구에서 72시간 후에 발아율이 93%임을 볼 때 분생포자의 발아가 YKJ1 배양액에 의해 억제 되었다고 할 수 있다. YKJ1 배양액 처리는 *F. oxysporum*과 *F. solani*의 분생포자 발아억제에도 관여함을 보이고 있다. 수확 후 발생하는 배의 잿빛곰팡이병 방제에 관한 길항 미생물의 효과(Nunes 등, 2001)를 포함한 잿빛곰팡이병 방제에 관한 길항미생물의 이용에 관한 많은 보고들이 있다. 특히 길항미생물인 *P. putida* strain84(정, 2011)를 포함한 *P. antimicrobica*(Walker 등, 2001)가 *B. cinerea*의 포자의 생장 및 발아를 억제하는 효과를 보고하였고, Moussa와 Rizk(2002)는 *Streptomyces aureofaciens*가 *F. solani*의 발아억제에 관여함을 보고하는 등 많은 미생물들의 배양과정 중에 포자발아 억제 물질을 분비함을 시사한 바 있다. 본 실험에서도 유사한 앞서 발표한 연구들과 유사한 결과를 얻었는데, 이는 앞서 발표한 연구 결과와 마찬가지로 YKJ1의 배양과정에서 *B. cinerea*, *F. oxysporum*, *F. solani*의 분생포자 발아억제에 효과적인 물질이 분비 되었기 때문이라고 생각되며 추후에 YKJ1이 배양과정에서 분비하는 대사산물에 대한 연구가 필요하겠다.

#### 4. YKJ1이 균사생장에 미치는 영향

일반적으로 길항균에 의한 식물병원균의 억제 기작은 항균물질에 의한 항생작용, 세포벽 분해, 세포막분해, 양분의 경쟁 등으로 설명된다(Gunji 등, 1983; 이, 1994). YKJ1의 처리가 잿빛곰팡이병균, 시들음병, 줄기 및 과실썩음병, 역병, 균핵병균의 균사생장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 YKJ1처리 후 각각 병원균의 균사 선단부를 현미경으로 관찰하였을 때 세포벽 용해, 균사의 팽윤, 균사 말단의 생육저해 등의 다양한 식물병원균의 억제기작을 고루 가지고 있음을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 이 등(1999)과 Lim과 Kim(1997)은 토양에서 siderophore를 생성하는 *Pseudomonas* sp.가 *F. solani*의 균사 생육을 억제하였다고 보고하였으며, 이와 김(2000)와 Seong과 Shin(1996)은 *P. capsici*의 균사와 *Pythium ultimum*과 *Pyricularia oryzae*의 균사의 생육을 억제함을 보고 하였다. 또한 그림 3에서 보여주는 바와 같이 *P. capsici*의 경우 YKJ1 처리 시 유주자낭형성을 거의 하지 않는 것으로 관찰되는데, 이는 김(1995)이 분리한 길항균인 *Bacillus polymixa* AC-1이 병원균의 유주자낭의 형성을 억제시킨 결과와 일치하였다.

파프리카 재배지에서 분리한 YKJ1은 분자생물학적 견지에서 *S. marcescens*의 strain으로 생각되고 위의 연구결과를 볼 때 친환경 유기농업에 적용이 가능하리라 생각이 된다.

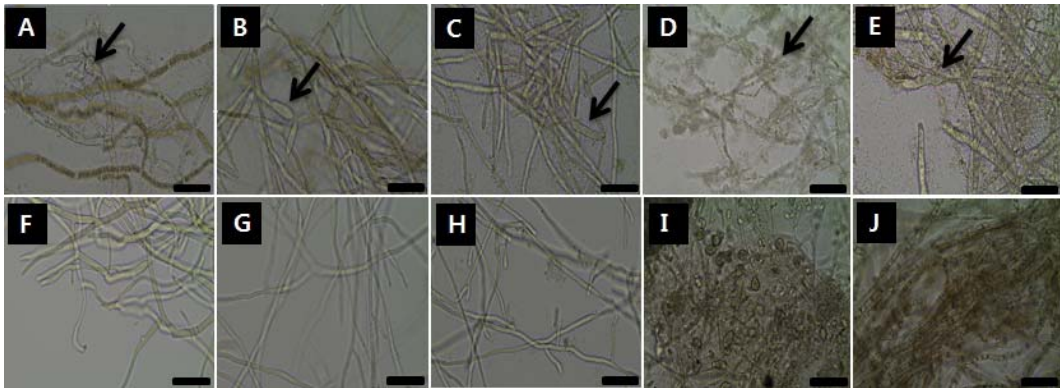


Fig. 3. Hyphal morphological abnormalities induced by culture of YKJ1 with several pathogenic microbes.

Co-cultivation of YKJ1; A) *Botrytis cinerea*, B) *Fusarium oxysporum*, C) *Fusarium solani*, D) *Phytophthora capsici*, E) *Sclerotinia sclerotiorum* Control; F) *B. cinerea*, G) *F. oxysporum*, H) *F. solani*, I) *P. capsici*, J) *S. sclerotiorum*. Scales: 50µm

#### IV. 요약

파프리카에 발생하는 병들을 방제하기 위하여 합성농약이 광범위하게 사용되어왔지만 최근에 수많은 농약사용의 부작용에 대한 관심이 증가 하고 있다. 파프리카 주요병인 잿빛곰팡이병, 줄기 및 과실썩음병, 역병, 균핵병, 시들음병을 방제하기 위한 미생물을 분리하고 특성을 파악하기 위하여 본 연구를 실시하였다. 지방산분석과 16S rDNA 염기배열은 이 연구에서 분리한 YKJ1가 *Serratia marcescens* 그룹에 속하는 것을 밝혔다. 특히, YKJ1의 16S rDNA 염기배열은 *S. marcescens*의 염기서열과 99% 상동성을 보였다. 광학현미경을 통해 YKJ1처리에 의해 병원균의 포자 발아 및 균사 생장이 저해됨을 확인 하였다. YKJ1처리는 팽윤균사와 같은 현저한 형태적 변화와 세포벽의 분해를 유발하였다. 역병균의 경우 유주자낭의 형성이 억제되었다. 본 연구에서 동정한 *S. marcescens*는 *S. marcescens*-YKJ1으로 부르고자 한다. 포장실험등과 같은 시험이 차후 더 요구되어지나 파프리카의 주요 병관리를 위한 생물적 방제제의 하나로 가치가 있을 것으로 생각된다.

[논문접수일 : 2014. 11. 10. 논문수정일 : 2014. 11. 14. 최종논문접수일 : 2014. 11. 15.]

## Reference

1. Adhikari, T. B., Joseph, C. M., Yang, G., Phillips, D. A., and Nelson, L. M. 2001. Evaluation of bacteria isolated from rice for plant growth promotion and biological control of seeding disease of rice. *Can. J. Microbiol.* 47: 916-924.
2. Cha, S. D. 2009. Characterization of fungal pathogens isolated from greenhouse grown paprika plants and imported paprika seeds. Dankook University Master's thesis. p. 79.
3. Cho, D. C. 2010. Pattern of Phytophthora blight occurrence in paprika grown in hydroponic system and application of sodium hypochlorite for its control. Gyeongsang National University, Master's thesis. p. 39.
4. Chung, Y. S. 2011. Characteristics of gray mold on paprika (*Capsicum annuum*) caused by *Botrytis cinerea* and evaluation of biological control agent. Korea University Master's thesis. p. 54.
5. Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
6. Gunji, S., K. Arima, and T. Beppu. 1983. Screening of antifungal antibiotics according to activities inducing morphological abnormalities. *Agric. Biol. Chem.* 47: 2061-2069.
7. Jee, H. J., K. Y. Ryu, C. K. Shim, and K. W. Nam. 2005a. Occurrence of stem and fruit rot of paprika caused by *Nectria haematococca*. *Plant Pathol. J.* 21: 317-321.
8. Jee, H. J., C. K. Shim, K. Y. Ryu, and K. W. Nam. 2005b. Effect of fungicides on control of stem and root rot of paprika caused by *Nectria haematococca*. *Res. Plant Dis.* 11: 179-184.
9. Jeon, Y. J., H. W. Kwon, J. S. Nam, and S. H. Kim. 2006. Characterization of *Sclerotinia sclerotiorum* isolated from paprika. *Mycobiology* 34: 154-157.
10. Kim, J. H., G. S. Choi, and J. K. Choi. 2002. Characterization of Cucumber mosaic virus subgroup II Isolated from paprika (*Capsicum annuum* var. *grossum*) in Korea. *Plant Pathol. J.* 18: 6-11.
11. Kim, K. Y. and S. D. Kim. 1997. Biological control of *Pyricularia oryzae* blast spot with the antibiotic substances produced by *Bacillus* sp. KL-3. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 25: 396-402.
12. Kim, Y. K. 1995. Biological control of phytophthora blight of Redpepper by antagonistic bacillus polymyxa 'AC-1'. Seoul National University. Doctorate thesis. p. 78.
13. Kim, Y. K. 2011. Trend of environment friendly agro material development on the plants of solanaceae (Pepper, Eggplant, Tomato). *KIC News* 14(4): 19-28.

14. Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* 16: 111-120.
15. Lee, D. K. 2013. <http://www.agrinet.co.kr/news/articleView.html?idxno=11787> 1(Accessed Sep. 12. 2014).
16. Lee, E. T. and S. D. Kim. 2000. Selection and antifungal activity of antagonistic bacterium *Pseudomonas* sp. 2112 against Red-Pepper Rotting *Phytophthora capsici*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 28: 334-340.
17. Lee, H. Y. 1994. Isolation and biological control of antagonistic microorganisms for sesame wilt. Daegu University Master's thesis. p. 47.
18. Lee, J. M., H. S. Lim, T. H. Chang, and S. D. Kim. 1999. Isolation of siderophore-producing *Pseudomonas fluorescens* GL7 and its biocontrol activity against root-rot disease for the development. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 27: 427-423.
19. Lee, S. K. 2004. Diversity of rice endophytic bacteria and antagonistic effect. Chonbuk National University Doctorate thesis. p. 150.
20. Lee, W. H., J. H. Kim, and I. Y. Choi. 2008. Advantages and disadvantages in using biological control of plant diseases and integrated control. *J. Agricult. Life Sci.* 39: 66-76.
21. Li, B., R. Yu, B. Liu, Q. Tang, G. Zhang, Y. Wang, G. Xie, and G. Sun. 2011. Characterization and comparison of *Serratia marcescens* isolated from edible cactus and from silkworm for virulence potential and chitosan susceptibility. *Braz. J. Microbiol.* 42: 96-104.
22. Lim, H. S. and S. D. Kim. 1997. Role of siderophores in biocontrol of *Fusarium solani* and enhanced growth response of bean by *Pseudomonas fluorescens* GL20. *J. Microbiol. Biotechnol.* 7: 13-20.
23. Moussa, T. A. A. and M. A. Rizk. 2002. Biocontrol of sugarbeet pathogen *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. by *Streptomyces aureofaciens*. *Pakistan J. Biol. Sci.* 5: 556-559.
24. Mehnaz, S., M. S. Mirza, J. Hanrat, R. Bally, P. Normand, A. Bano, and K. A. Malik. 2001. Isolation and 16S rRNA sequence analysis of the beneficial bacteria from the rhizosphere of rice. *Can. J. Microbiol.* 47: 110-117.
25. Mun, H. Y., M. R. Park, H. B. Lee, and K. H. Kim. 2008. Outbreak of Cucumber mosaic virus and Tomato spotted wilt virus on bell pepper grown in Jeonnam Province in Korea. *Plant Pathol. J.* 24: 93-96.
26. Nam, K. W. 2003. Ecology and management of main diseases of Sweet pepper in hydroponic culture. *Kor. Res. Soc. Protected Hort.* 16: 23-30.
27. Nunes, C., J. Usall, N. Teixido, and I. Vinas. 2001. Biological control of postharvest pear diseases using a bacterium, *Pantoea agglomerans* CPA-2. *Int. J. Food Microbiol.* 70: 53-61.

28. Osterhout, G. J., V. H. Shull, and J. D. Dick. 1991. Identification of clinical isolates of gram-negative non fermentative bacteria by an automated cellular fatty acid identification system. *J. Clin. Microbiol.* 29: 1822-1830.
29. Reysenbach, A. L., L. J. Giver, G. S. Wickham, and N. R. Pace. 1992. Differential amplification of rDNA genes by polymerase chain reaction. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 3417-341.
30. Sacchi, C. T., A. M. Whitney, L. W. Mayer, R. Morey, A. Steiferwalt, A. Boras, R. S. Weyant, and T. Popovie. 2002. Sequencing of 16S rRNA gene; A rapid tool for identification of *Bacillus anthracis*. *Emerg. Infect. Dis.* 8: 1117-1123.
31. Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406-425.
32. Sasser, M. 1990. Identification of bacteria by gas chromatography of cellular fatty acids. MIDI technical note 101. (MIDI, Inc. Newark, Del). pp. 1-7.
33. Seong, K. Y. and P. G. Shin. 1996. Effect of siderophore on biological control of plant pathogens and promotion of plant growth by *Pseudomonas fluorescens* ps88. *Agri. Chem. Biotechnol.* 39: 20-24.
34. Tamura K., J. Dudley, M. Nei, and S. Kumar. 2007. MEGA4: Molecular evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.* 24: 1596-1599.
35. Walker, R., C. M. J. Innes, and E. J. Allan. 2001. The potential biocontrol agent *Pseudomonas antimicrobica* inhibits germination of conidia and outgrowth of *Botrytis cinerea*. *Lett. Appl. Microbiol.* 32: 346-348.
36. Yang, P., Bauterin, L., Bancaneyt, M., Swing, J. and Kersters, K. 1993. Application of fatty acid methyl esters for the taxonomic analysis of the genus *Xanthomonas*. *Syst. Appl. Microbiol.* 16: 47-71.
37. Yoon, C. S., Ju, E. H., Yeoung, Y. R., and Kim, B. S. 2008. Survey of fungicide resistance for chemical control of *Botrytis cinerea* on paprika. *Plant Pathol. J.* 24: 447-452.