

길항미생물 *Bacillus subtilis* GG95를 이용한 상추 균핵병의 생물학적 방제

이현주^{1*} · 김진영² · 이진구² · 홍순성³

¹경기도농업기술원 환경농업연구과, ²경기도농업기술원 소득자원연구소, ³경기도농업기술원 종자관리소

Biological Control of Lettuce Sclerotinia Rot by *Bacillus subtilis* GG95

Hyun-Ju Lee^{1*}, Jin-Young Kim², Jin-Gu Lee² and Soon-Sung Hong³

¹Division of Environmental Agricultural Research, Gyeonggido Agricultural Research & Extension Services, Hwaseong 445-774, Korea

²Agricultural resources Research Institute, Gyeonggido Agricultural Research & Extension Services, Yeoncheon 486-803, Korea

³Variety Service Center, Gyeonggido Agricultural Research & Extension Services, Suwon 443-400, Korea

ABSTRACT : *Sclerotinia sclerotiorum*, a plant pathogenic fungus, can cause serious yield and quality losses in the winter lettuce field. For biological control of *S. sclerotiorum*, soil-born microorganisms that inhibit the mycelia growth of *S. sclerotiorum* and *Fusarium oxysporum* were isolated from diseased soil. Among the isolates, bacterial isolate, GG95, which was identified as *Bacillus subtilis* according to the morphological, physiological characteristics and by 16S rRNA similarity, showed the highest level of inhibitory activity. The growth conditions for *B. subtilis* GG95 were optimized in TSB media (pH 7) by culturing at 28°C for 24 hrs. Maltose or fructose and peptone were selected as the best carbon and nitrogen sources, respectively. Greenhouse experiment was performed to test effectiveness of *B. subtilis* GG95 in the control sclerotinia rot. Drench application (1×10⁸ cfu/ml, 3 times) of the bacterial culture broth to lettuce showed an effectiveness value of 88%, suggesting that *B. subtilis* GG95 would be a promising biocontrol agent for control of sclerotinia rot.

KEYWORDS : *Bacillus subtilis*, Biological control, Fusarium wilt, Lettuce, Sclerotinia rot

서론

상추에 발생하는 병은 약 28종이 국내에 보고되어 있으며 [1], 그 중 *Sclerotinia sclerotiorum*에 의한 균핵병 (sclerotinia rot)은 다범성균으로 64과 225속 383종의 식물을 침해하고 [2], 특히 겨울철 저온 다습한 환경에서 발생이 심하며

기주 범위가 매우 넓어 상추 뿐만 아니라 거의 모든 채소작물에 발생하며 경제적 피해가 심각하다 [3-5]. 이러한 균핵병 등의 토양병해를 방제하기 위해 지금까지 농가에서는 프로파, 베노밀 등의 다양한 화학농약을 살포하고 있으나 그 효과가 크지 않고, 인축에 대한 독성과 잔류농약에 대한 환경오염 등의 화학적 방제의 문제를 해결하기 위한 대체수단이 절실히 요구되고 있다. 그 해결책으로 친환경 또는 유기농자재를 이용하는 생물학적 방제가 시도되고 있다 [4, 6-8]. 특히 생물적 방제를 위해서 외국에서는 *Coniothyrium minitans* [9], *Trichoderma viride* [10] 등 길항균을 이용한 균핵병 방제가 보고된 바 있으며, 우리나라에서도 다양한 길항균을 이용한 생물적 방제에 대한 시도가 이루어지고 있다 [11, 12].

본 연구는 상추 연작 재배지에서 심한 피해를 주고 있는 문제 병해인 균핵병과 시들음병 (fusarium wilt)을 대상으로 친환경 및 유기재배 농가에서 농약을 대체 사용할 수 있는 미생물 방제제를 개발하기 위하여, 시설재배 상추의 근권 토양에서 미생물을 분리, 길항미생물을 선발, 동정하고 생

Kor. J. Mycol. 2014 September, 42(3): 225-230
<http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2014.42.3.225>
 pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249
 © The Korean Society of Mycology

*Corresponding author
 E-mail: fungus72@gg.go.kr

Received July 31, 2014
 Revised August 22, 2014
 Accepted August 31, 2014

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

물적 방제 가능성을 탐색하고자 수행하였다.

재료 및 방법

발병조사 및 병원균 분리

경기도 내 주요 시설채소 재배지역인 고양, 용인, 이천 등을 중심으로 2009년 1월부터 균핵병과 시들음병 발생을 조사하였다. 겨울철에는 균핵병이 발생한 상추를 채취하고, 여름철에는 시들음병 병징을 보이는 상추의 뿌리를 채취하여 병든 조직 또는 균사 및 균핵으로부터 균핵병을 분리하였고, 시들음병균은 감염된 뿌리의 절편을 분리하여 1% sodium hypochloride, 70% EtOH에 약 1분간 표면살균 후 멸균수로 세척하여 potato dextrose agar(PDA, BD Co., Sparks, MD) 평판배지 위에 놓고 25°C, 암조건 하에서 2일간 배양하였다. 평판배지에서 자라는 균사절편을 PDA 평판배지에 2~3회 반복 이식하여 병원균을 순수 분리하였다. 순수 분리된 병원균은 4°C 저온 배양기에 보존하면서 실험에 이용하였다.

길항미생물 분리 및 선발

경기도 내 주요 시설재배 포장에서 근권부위 토양을 채취하여 10 g의 토양을 살균수 90 mL과 혼합하고, 1 mL을 채취하여 9 mL 멸균수에 차례대로 희석한 후 nutrient agar (NA, BD co.)배지에 100 µL씩 평판희석법으로 25°C에서 3일 이상 배양하였다. 이후 생성된 다양한 콜로니에서 분리한 220균주를 대상으로, 수집 및 분리해 보관 중인 상추 균핵병균 *S. sclerotiorum*와 시들음병균 *Fusarium oxysporum*에 대하여 7일 이상 25°C에서 대치배양 후 형성되는 병원균의 균사생육 저지대를 조사하여 길항력이 높은 균주를 선발하였다.

길항미생물 동정

상추의 균핵병과 시들음병에 대해 모두 길항력을 가진 미생물 균주의 생화학적 특성은 세균동정기 Vitek 2 compact(BioMerieux, Inc., Hazelwood, MO)의 BCL카드를 이용하여 조사하였고, 16s rRNA 염기서열 분석을 통해 NCBI blast 검색으로 유전적 동정을 하였으며, 형태적 확인을 위해 주사전자현미경(HITACHI S-3000)으로 관찰하였다.

길항미생물 최적배양 조건

선발된 길항미생물에 대한 적정 배양조건 확인을 위해 온도범위 5°C 간격으로 10~35°C 사이에서 180 rpm 24시간 배양 후 분광광도계에서 OD 600 nm에서 값을 측정하였고, pH는 pH 3~8 사이에서 pH 1 간격으로 조사하였다. 적절한 영양원을 선발하기 위해 최소배지(K₂HPO₄ 0.7%, KH₂PO₄ 0.2%, glucose 0.5%, (NH₄)₂SO₄ 0.1%, MgSO₄·7H₂O 0.01%)에 탄소원을 결정하기 위해 glucose를 제외하고 sucrose 등 각각의 탄소원을 전체용액에 1% 농도로 첨가하여 25°C, 180

rpm으로 24시간 배양 후 배양정도와 균핵병균과 시들음병균에 대치 배양하여 항균활성을 측정하였다. 질소원은 최소배지에서 (NH₄)₂SO₄ 0.1% 대신 peptone 등 질소원을 0.5%씩 첨가하여 배양정도와 항균활성을 조사하였다. 무기염류는 최소배지에서 무기염류인 K₂HPO₄ 0.7%, KH₂PO₄ 0.2%, MgSO₄·7H₂O 0.01% 대신 MgCl₂ 등 각각의 무기염류를 5 mM씩 첨가하여 길항미생물의 배양과 항균활성을 비교하였다.

길항균의 균핵병에 대한 포장내 예방효과

비닐하우스에 상추를 정식한 후 포장 내 토양에 25°C, 180 rpm으로 TSB배지에서 24시간 배양한 길항미생물 배양액을 1×10⁸ cfu/mL 농도로 포기당 10 mL씩 일주일 간격으로 3회 관주하였다. 그 후 상추 균핵병에서 분리한 병원균을 15°C PDA 배지에서 2주 이상 배양하여 형성된 균핵을 상추 포기당 3개씩 뿌리 부분의 토양 속에 5 cm 깊이로 접종하고, 1주 후부터 균핵병의 발병정도를 조사하면서 6주 후의 방제가를 조사하였다.

결과 및 고찰

발병조사 및 병원균 분리

경기도 내 시설채소 재배지역에서 발병되는 토양병의 발병을 조사한 결과 균핵병은 10월부터 발생되기 시작하여 이듬해 5월까지 계속 병 발생이 관찰되었으며 12월경 이전의 재배농가에서는 40%까지 병이 발생하여 피해가 심각한 포장도 있었다. 한편, 상추 시들음병은 연작 재배한 시설하우스에서는 3월부터 발생되기 시작하여 9월까지 꾸준히 발생하였으며, 기온이 높은 여름철엔 최대 95%까지 발생하여 큰 피해를 주었다(Table 1). 균핵병의 병징을 관찰한 결과, 상추의 지제부와 잎에 수침상의 병반이 형성되어 갈색 내지 흑갈색으로 변하다가, 습도가 높아지면서 발병부위의 무름 증상이 심해지고, 흰색 균사가 덮이면서 식물체 전체가 고사하고 잎은 종잇장처럼 마르기도 하며, 균사와 함께 흑색의 균핵이 형성되었다. 이는 Baek 등 [13]이 보고한 수침상의 담갈색 병반을 나타내고, 흰색 솜모양의 균사가 자란 후 검고 둥근 균핵이 형성된다는 결구상추의 균핵병 증상과도 유사하였다. *Fusarium*균에 의한 시들음병은 김 등 [14]이 보고한 바와 같이 생육이 저조하고 포기 전체가 위축되며 하엽이 황화되는 증상을 보이며 줄기 기부를 절단해보면 도관부가 원형으로 갈변되는 증상을 보였다. 본 시험에 사용된 병원균은 조사지역에서 위와 같은 병징을 보이는 식물체에서 분리된 균핵병균과 시들음병균을 이용하였다.

길항미생물 분리 및 선발

분리된 균핵병균과 시들음병균에 대해 상추 재배지 토양에서 분리한 220균주를 대상으로 PDA 배지에서 1주일간

Table 1. Occurrence of sclerotinia rot and fusarium wilt in lettuce greenhouse at Gyeonggi area

| Year | Month | Disease occurrence (%) | | Geographic origin |
|------|-----------|---------------------------------|---------------------------|---------------------|
| | | <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> | <i>Fusarium oxysporum</i> | |
| 2009 | October | 0.1 | 0 | Yicheon |
| | December | 2~40 | 0 | Yicheon |
| | January | 1.5 / 2.6 | 0 | Pyengtaek / Youngin |
| | February | 1.0~5.0 | 0 | Youngin |
| | March | 3.8 | 2~85 | Namyangju-Goyang |
| 2010 | May | 0.5 | 24~84 | Youngin |
| | June | 0 | 0.5~73 | Namyangju |
| | July | 0 | 5~95 | Namyangju |
| | September | 0 | 5~30 / 1~65 | Youngin / Yicheon |

Table 2. *In vitro* antifungal activity of microbial isolates from lettuce field soils

| Isolates | Mycelia growth Inhibitory activity (mm) ^a | |
|----------|------------------------------------------------------|---------------------|
| | <i>S. sclerotiorum</i> | <i>F. oxysporum</i> |
| GG-B7 | ++ | +++ |
| GG95 | +++ | +++ |
| GG110 | ++ | +++ |
| GG214 | +++ | ++ |
| GG251 | +++ | ++ |

^a+++ : Inhibition region above 12 mm, ++: 7~12 mm, +: below 7 mm. Inhibition region was measured 7 days after dual culture at 25°C.

대치 배양을 통해 균사생육 억제효과가 좋은 균주 5종을 1차 선발하였다(Table 2). 그 중 두 병원균에 대해 모두 12 mm 이상의 저지대를 형성하며 길항효과를 보인 GG95 균주를 최종 선발하였다(Fig 1(B)).

길항미생물 동정

상추의 균핵병과 시들음병에 대해 길항력을 가진 GG95 균주를 16s rRNA 염기서열 분석을 통해 NCBI blast 검색으로 유전적 동정한 결과 *Bacillus subtilis* strains와 99%의 상동성을 보였으며, 전자현미경 검경결과 간균 형태로 전형적인 바실러스 모양이었다(Fig 1(A)). 생화학적 특성검사를 위한 VITEK compact의 BCL 카드의 검경결과 김 등 [15]과 같이 phenylalanine 음성반응과 mannose, glucose, mannitol, xylosidase에 양성반응 등 유사한 생화학적 반응을 보임으로 *B. subtilis* strains으로 동정되었다(Table 3). 이에 분리된 동정균을 *B. subtilis* GG95로 명명하였다. Handelsman 등[16]은 *Bacillus* 속균은 내생 포자를 형성하여 내

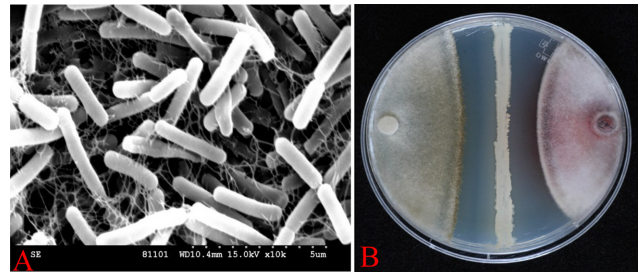


Fig. 1. Scanning electron microscope image of *B. subtilis* GG95 (A) and inhibitory effects of *B. subtilis* GG95 against *Sclerotinia sclerotiorum* (left) and *Fusarium oxysporum* (right) (B).

Table 3. Effect of carbon sources on the cell growth and the inhibitory activity of *B. subtilis* GG95

| Carbon source | Cell growth (OD600) | Fungal growth Inhibition zone (mm) ^a | |
|---------------|---------------------|-------------------------------------------------|---------------------|
| | | <i>S. sclerotiorum</i> | <i>F. oxysporum</i> |
| Arabinose | 0.15 | 6.5 | - ^b |
| Fructose | 0.22 | 8.5 | 3.0 |
| Glucose | 0.17 | 6.5 | 7.0 |
| Glycerol | 0.06 | 5.5 | 5.5 |
| Lactose | 0.03 | 5.0 | 2.0 |
| Maltose | 0.18 | 3.0 | 9.0 |
| Mannitol | 0.06 | 7.0 | 5.0 |
| Starch | 0.84 | 5.0 | 4.0 |
| Sorbitol | 0.05 | 4.5 | 1.0 |
| Sucrose | 0.06 | 5.5 | 3.0 |

^aMeasured on minimal medium after incubated 25°C for 7 days.

^bno inhibition.

열성과 내건성 특성을 가져 제형화에 많은 장점을 가지고 있다고 하였으며, 이에 선발한 *B. subtilis* GG95도 식물 병원균에 대한 생물학적 방제에 유용할 것으로 생각된다.

길항미생물 최적배양 조건

B. subtilis GG95에 대한 배양적 특성을 조사한 결과 Fig 3과 같이 배양온도 25°C에서 600 nm 흡광도 1.0으로 배양이 가장 우수하였으며 그 이상의 온도에서는 균 배양에 대한 흡광도가 떨어지는 것으로 나타나 35°C 이상의 고온배양은 피해야 할 것으로 판단된다. 적절한 배양 산도는 pH 7에서 흡광도 1.0으로 가장 잘 배양이 되었으며, pH 6이하에서는 급격히 배양이 떨어지는 것으로 나타났다(Fig 2). 김 등[14]은 25°C에서 균의 생장이 가장 높았으며 항진균 물질 생산은 25~30°C에서 가장 높았다는 결과와 유사하였으나 최적 pH는 4.5~9.5로 그 범위가 넓어 pH 6 이상에서 배양이 되는 본 연구와 차이가 있었다.

B. subtilis GG95 배양에 적절한 영양원은 전분을 탄소원

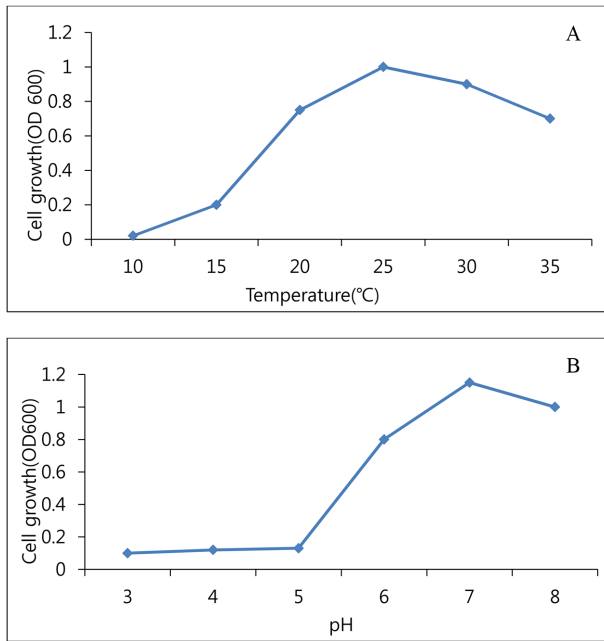


Fig. 2. Effects of temperature (A) and pH (B) on the growth of *B. subtilis* GG95.

Table 4. Effect of nitrogen sources on the cell growth and the inhibitory activity of *B. subtilis* GG95

| Nitrogen source | Cell growth (OD600) | Fungal growth Inhibition zone (mm) ^a | |
|--------------------|---------------------|-------------------------------------------------|---------------------|
| | | <i>S. sclerotiorum</i> | <i>F. oxysporum</i> |
| Ammonium chloride | 0.66 | 7.0 | 3.0 |
| Beef extract | 0.74 | 4.5 | 3.5 |
| Ammonium phosphate | 0.65 | 8.0 | 3.0 |
| Bacto peptone | 0.92 | 13.0 | 6.5 |
| Ammonium sulfate | 0.66 | 6.0 | 4.5 |
| Bacto tryptone | 1.25 | 6.5 | 7.5 |
| Corn steep | 0.77 | 3.5 | - ^b |
| Malt extract | 0.02 | 7.0 | 1.0 |
| Yeast extract | 0.32 | 4.5 | - |

^aMeasured on minimal medium after incubated 25°C for 7 days.
^bno inhibition.

으로 이용하였을 경우 배양이 가장 잘 되었으나 탄소원별 병원균에 대한 억제력은 균핵병에는 fructose, 시들음병에는 maltose를 탄소원으로 이용하였을 경우 억제대가 각각 8.5와 9.0 mm 이상으로 가장 크게 나타났다(Table 3). Table 4는 선발균에 대해 tryptone과 peptone을 질소원으로 이용하였을 때 배양이 가장 잘 되었으며, 질소원별 병원균에 대한 억제력은 peptone을 이용하였을 때 균핵병에 대한 억제대가 13 mm, 시들음병균에 대한 억제대는 tryptone 이용한 경우 7.5 mm로 억제대가 가장 좋았다. 이는 최적 탄소원으로 fructose, 질소원으로 peptone, yeast extract 결과를 얻은 정 등[17]의 결과와 비슷하였다.

무기염류의 경우 Table 5와 같이 MgCl₂를 배지의 영양원으로 이용하였을 때 흡광도 1.0 이상으로 균의 배양이 잘 되었고 균핵병에 대한 억제력은 CaCl₂를 이용하였을 경우 억제대가 10.0 mm로 가장 크게 나타났으며, 시들음병균에 대한 억제력은 대체로 낮은 편이었으나 MgSO₄·7H₂O을 이용한 경우 5.0 mm로 가장 억제대가 크게 나타났다.

길항균의 균핵병에 대한 포장내 예방효과

비닐하우스에 상추를 정식한 후 1×10⁸ cfu/mL 농도의 길항미생물 배양액을 포기당 10 mL씩 3회 관주하고 균핵병

Table 5. Effect of mineral sources on the cell growth and the inhibitory activity of *B. subtilis* GG95

| Mineral source | Cell growth (OD600) | Fungal growth Inhibition zone (mm) ^a | |
|--------------------------------------|---------------------|-------------------------------------------------|---------------------|
| | | <i>S. sclerotiorum</i> | <i>F. oxysporum</i> |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 0.76 | 5.5 | 5.0 |
| NH ₄ Cl | 0.40 | 4.0 | 3.0 |
| NaCl | 0.91 | - ^b | - |
| K ₂ HPO ₄ | 0.57 | 9.0 | 2.0 |
| CaCl ₂ | 0.52 | 10.0 | 1.5 |
| LiCl | 0.93 | - | 3.0 |
| KCl | 0.96 | 4.0 | 1.0 |
| MgCl ₂ | 1.06 | 3.5 | 3.0 |
| ZnSo ₄ | 0.04 | - | 2.0 |
| CaCO ₃ | 2.24 | 4.0 | 2.0 |

^aMeasured on minimal medium after incubated 25°C for 7 days.
^bno inhibition.

Table 6. Disease control effect of *B. subtilis* GG95 on sclerotinia rot in the greenhouse

| Treatment | Occurrence rate of diseased plants(%) | | | | Effectiveness (%) |
|-----------|---------------------------------------|------|-----|-------------|-------------------|
| | A | B | C | mean | |
| GG95 | 0.0 | 2.9 | 3.0 | 2.0 ± 1.70 | 88.0 |
| Benomyl | 3.0 | 2.9 | 4.0 | 3.4 ± 0.61 | 80.0 |
| Control | 22.3 | 20.9 | 7.1 | 16.7 ± 8.40 | - |



Fig. 3. Effect of *B. subtilis* GG95 on sclerotinia rot in the greenhouse.

원균을 접종한 후 1주일 이후부터 균핵병의 발병정도를 조사한 결과 GG95를 처리한 경우 평균 발병주율이 2%로 농약처리 3.4%보다 발병주율이 낮았으며 Fig. 3과 같이 무처리 대비 방제가 88%로 베노밀 처리구와 대등한 효과를 보였다(Table 6). Lee 등[7]은 상추 정식직후에 균주를 관주 처리하는 방법이 균핵병에 대한 방제효과가 75.3~84.7%로 가장 효과적이었으며, Moon 등[18]의 *Bacillus* 균주를 이용한 수화제형 제제를 들개 균핵병에 대한 적용시 예방효과가 전반적으로 높았다. 본 연구에서도 토양병 방제를 위해 길항미생물인 *B. subtilis* GG95를 작물 정식 직후 관주 처리함으로써 균핵병의 발생을 예방할 수 있으며, 대량배양시 효능증진을 위한 제제화에 대한 연구와 함께 친환경 제제로써의 활용이 기대된다.

적 요

상추재배시 문제가 되고 있는 균핵병과 시들음병에 대한 미생물 방제제 개발을 위하여 병해가 발생된 상추 포장에서 미생물을 분리하고, 길항미생물을 선발하여 균의 특성을 조사하고 균핵병에 대한 예방효과를 검정한 결과는 다음과 같다. 경기도 주요 상추 재배지에서 균핵병은 10월부터 발생하여 다음해 5월까지 발생하였으며, 12월에는 최대 40%까지 발생하여 피해를 주고 있었다. 균핵병과 시들음병에 모두 억제효과가 있는 균주를 대치배양을 통해 선발하였다. 선발된 균주는 Vitek 2의 BCL카드를 이용한 생화학 적반응과 형태적 확인, 16s rRNA 분석을 통해 동정한 결과 *Bacillus subtilis*로 동정되었고 *B. subtilis* GG95로 명명하였다. *B. subtilis* GG95의 배양특성을 조사한 결과 온도 25~30°C, 산도 7의 배양조건에서 배양이 잘 되었으며, 배양에 적절한 영양원은 탄소원 전분, 질소원 tryptone과 yeast extract를 무기염류 MgCl₂를 사용하였을 때 가장 잘 되었다. 영양원에 따라 균핵병과 시들음병에 대한 길항효과가 좋은 탄소원은 fructose, maltose였고 질소원은 peptone였으며, 무기염류는 균핵병은 CaCl₂, K₂HPO₄, 시들음병은 MgSO₄·7H₂O로 병원균에 대한 길항효과가 차이가 있었다. 상추 균핵병에 대한 *B. subtilis* GG95의 포장검정 결과 1×

10⁸ cfu/mL 농도의 길항미생물 배양액을 포기당 10 mL씩 3회 관주하고 균핵병원균을 접종한 후 균핵병의 발병정도를 조사한 결과 88% 방제효과가 나타났다.

REFERENCES

1. The Korean Society of Plant Pathology. List of plant diseases in Korea 5th ed. Korean Society of Plant Pathology 2009;112-5.
2. Mordue JEM, Holliday P. *Sclerotinia sclerotiorum*. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria 1976;No.513.
3. Shin DB, Lee JT. Ecological studies on lettuce drop disease occurring under controlled cultivation conditions in drained paddy fields. Kor J Plant Pathol 1987;3:252-60.
4. Hwang JY, Shim CK, Ryu KY, Choi DH, Jee HJ. Selection of *Brevibacillus brevis* B23 and *Bacillus stearothermophilus* B42 as biological control agents against Sclerotinia rot of lettuce. Res Plant Dis 2006;12:254-9.
5. Kim WG, Cho WD, Jee HJ. Occurrence of Sclerotinia Rot on cucurbitaceous vegetable crops in greenhouses. Kor J Microbiol 1999;27:198-205.
6. Kim HW, Lee KY, Baek JW, Kim HJ, Park JY, Lee JW, Jung SJ, Moon BJ. Isolation and identification of antagonistic bacterium active against *Sclerotinia sclerotiorum* causing Sclerotinia Rot on crisphead lettuce. Res Plant Dis 2004;10:331-6.
7. Lee SY, Hong SG, Kim JJ, Han JH, Kim WG. Biological control of *Paraconiothyrium minitans* CM2 on lettuce sclerotinia rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. Kor J Mycol 2012;40:271-6.
8. Chon BG, Park SJ, Kim JW. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* in lettuce using antagonistic bacteria. Res Plant Dis 2013;19:12-20.
9. Budge SP, Whipps HM. Potential for integrated control of *Sclerotinia sclerotiorum* in glasshouse lettuce using *Coniothyrium minitans* and reduced fungicide application. Phytopathol 2001;91:221-7.
10. Whipps JM, Gerlagh M. Biology of *Coniothyrium minitans* and its potential for use in disease biocontrol. Mycol Res 1992;96:897-907.
11. Park SM, Jung HJ, Kim HS, Yu TS. Isolation and optimal culture conditions of *Brevibacillus* sp. KMU-391 against black root pathogens caused by *Didymella bryoniae*. Kor J Microbiol 2006;42:135-41.
12. Kim KK, Kim YC, Choi YW, Park KD, Kang UG, Choi YL, Park HC. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* sp. AB02. J Life Sci 2008;18:858-64.
13. Baek JW, Kim HW, Kim HJ, Park JY, Lee KY, Lee JW, Jung SJ, Moon BJ. Occurrence of sclerotinia rot of crisphead lettuce caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and its pathogenicity. Res Plant Dis 2004;10:324-30.
14. Kim JY, Hong SS, Lee JG, Lee HJ, Lim JW, Kim JW, Kim HG. Occurrence of fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. lactucae and cultivar susceptibility on lettuce. Res Plant Dis 2008;14:79-84.
15. Kim SS, Joo GJ, Uhm JY, Kim YJ, Lee IG. Antifungal activity of *Bacillus* sp. SS279 and biocontrol of apple white rot fungus, *Botryosphaeria dothidea*. Kor J Appl Microbiol Biotechnol 1997;25:527-36.

16. Handelsman J, Stabb EV. Biocontrol of soilborne plant pathogens. *Plant Cell* 1996;8:1855-86.
17. Jung HK, Kim SD. Purification and characterization of an antifungal antibiotic from *Bacillus megaterium* KL39, a biocontrol agent of red-papper phytophthora blight disease. *Kor J Microbiol Biotechnol* 2003;31:235-41.
18. Moon BJ, Kim HJ, Song JH, Lee KY, Baek JW, Chung SJ. Biological control of perilla sclerotinia rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum* using *Bacillus megaterium* N4. *J Life Sci* 2004;14:761-9.