Bacillus velezensis YP2의 겨자채 흰가루병의 생물적 방제

이상엽* · 원항연 · 김정준 · 한지희

국립농업과학원 농업미생물과

Biocontrol of Leaf Mustard Powdery Mildew Caused by *Erysiphe cruciferarm* using *Bacillus velezensis* YP2

Sang Yeob Lee*, Hang Yeon Weon, Jeong Jun Kim and Ji Hee Han

Agricultural Microbiology Division, National Institute of Agricultural Sciences, RDA, Wanju 55365, Korea

(Received on October 30, 2016. Revised on November 24, 2016. Accepted on November 25, 2016)

Abstract *Bacillus velezensis* YP2 inhibited the mycelial growth of several plant pathogens including *Cercospora* spp., *Septoria* sp., *Phoma* sp., *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum* occurring in leafy vegetables. Control efficacy for powdery mildew caused by *Erysiphe cruciferarm* on red leaf mustard and cheong mustard by treatment of spraying with 10-fold diluted Luria-Bertani (LB) broth of *B. velezensis* YP2 was 91.8% and 80.9%, respectively. When *B. velezensis* YP2 was treated four times with five-day interval, three times at seven-day interval and two times at ten day interval in the greenhouse test, the control effect of red leaf mustard powdery mildew was 70.6%, 65.0% and 40.9%, respectively. Also *B. velezensis* YP2 could promote the seed germination and plant growth of led leaf mustard. The results showed that the culture broth of *B. velezensis* YP2 was very effective to control the powdery mildew of leaf mustard.

Key words Antifungal activity, *Bacillus velezensis*, biological control, *Erysiphe cruciferarm*, powdery mildew, leaf mustard

서 론

겨자채는 쌍떡잎식물로 십자화과에 속하는 *Brassica juncea*이며, 청겨자와 적겨자로 구분되며 쌈채소의 대표 작물 중에 하나로 재배되고 있다. 우리나라에서 겨자채에 발생하는 흰가루병은 2011년 5월에 경기도 화성에 비닐하우스 재배하는 청겨자에서 첫 발생을 보고하였다(Kim et al., 2013). 우리나라에서는 *Erysiphe cruciferarm*에 의한 흰가루병은 배추, 다닥냉이, 애기뽕풀, 애기장대와 풍접초에서 보고되어 있다(The Korean Society of Plant Pathology, 2009). 배추 흰가루병 경우에는 주로 온실 내의 채종 재배 시 피해가 크며, 자낭각으로 월동하여 1차전염원이 되며, 온실 내의 건조한 조건하에서 심하게 발생하며 일반적으로 노지재배 포장에서는 발생이 매우 드물다고 하였다(Jeong 2000). 겨자채

흰가루병도 유리온실이나 비닐하우스재배에서 주로 봄과 가을에 발생하며 농가 경우에는 재배관리가 제대로 되지 않은 경우에 심하게 발생한다. 이를 방제하기 위한 등록된 화학약제는 없으며 신선한 쌈채소를 생식하기 때문에 친환경 재배방법을 사용할 수 있으며, 작물에 대한 잔류 문제가 거의 없는 유용미생물을 이용하여 방제하는 것이 바람직한 하나의 방법으로 사료된다.

전 세계적으로 미생물농약은 149종이 등록되어 병해충과 잡초방제에 사용되고 있으며, 흰가루병을 비롯한 잿빛곰팡이병 방제용으로 *Bacillus subtilis* QST 713 (Rhapsody[®], Serenade[®])과 *Bacillus pumilus* QST 2808 (Sonata[®])이 개발되어 우리나라를 포함한 여러 나라에서 친환경방제제로 사용되고 있다(Copping, 2004; Helene et al., 2011). 우리나라에서는 흰가루병 방제 미생물 농약으로는 9종이 등록되어 있으며 주로 바실러스가 8품목이 등록되어 사용되고 있다. 식물병 방제와 관련이 있는 *Bacillus* 균주의 이차대사산물은 cyclic lipopeptides (bacillomycin D, fengycin, iturin, surfactin),

*Corresponding author
E-mail: lsy2014@korea.kr

siderophore (bacillibactin), polyketides (bacillaene, difficidin, and macrolactin), dipeptide (basilysin), acetoin, 2,3-butandiol 등이 있으며 (Lee et al., 2012; Soumitra et al., 2015), 병원 세균이나 곰팡이병균의 균사 생장이나 포자 발아 억제, 저항성 유도 및 바이오피름 형성 등의 작용기작으로 식물 병에 대한 친환경적 방제로 농가에서 사용되고 있다.

따라서 본 연구에서는 소비자가 흰가루병을 친환경적으로 방제하고 안심하고 먹을 수 있는 겨자채를 생산하기 위하여 선발한 *Bacillus velezensis* YP2균주가 겨자채 흰가루병 발생 억제 효과 검정을 실시하였다.

재료 및 방법

선발 미생물 보관

Bacillus velezensis YP2 균주는 양평의 토마토 잎을 마쇄하여 80°C에서 10분간 처리한 후 1/10 trypticase soy agar (TSA, Bacto Tryptone 15 g, Bacto Soytone 5 g, NaCl 5 g, Agar 15 g/L) 배지에 도말하여 25°C에서 2일간 배양한 다음, 분리하여 TSA 배지에 다시 희석배양하여 재분리한 후, TSA 배지에서 28°C에서 2일간 배양한 후 균체를 멸균한 글리세롤 20%액에 넣고 -20°C에 보관하면서 계대 배양하여 사용하였으며, 국립농업과학원에 기탁하여 KACC92130P 수탁번호를 받았다.

미생물 배양

Bacillus velezensis YP2 균주를 Luria-Bertani 액체배지 (LB, tryptone 10 g, yeast extract 5 g, NaCl 10 g)를 사용하여 미리 배양한 균주를 2% (v/v)으로 접종하여 28°C, 180 rpm으로 조절된 진탕배양기에서 48시간 배양하여 사용하였다.

B. velezensis YP2 균주의 싹채에서 분리한 식물병원균에 대한 항균활성 검정

식물병원균 *Cercospora* sp. 1~3, *Septoria* sp., *Colletotrichum* sp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phoma* sp., *Botrytis cinerea*를 potato dextrose agar (PDA, Potato 200 g, Dextrose 20 g, Agar 15 g/L) 배지에 이식 후 *Cercospora* sp. 1~3, *Septoria* sp., *Colletotrichum* sp., *Phoma* sp. 균주는 25°C에서 *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea* 균주는 20°C에서 각각 7~25일간 배양하여 직경 5 mm 코르크보러를 이용하여 병원균의 균총을 PDA 배지가 분주된 일회용 펠트리디쉬 중앙에 치상하였다. YP2 균주는 TSA 평판배지에 배양하여 루프를 이용하여 균을 떼어내어 PDA 배지가 분주된 일회용 펠트리디쉬 3개소에 치상하여 병원균별로 25°C와 20°C 항온기에서 7~20일간 배양 후 저지원의 직경을 조사하였다.

선발균주의 동정

YP2균주의 계통분류학적 동정은 일반적으로 사용되는 16S rRNA 유전자의 염기서열을 사용하였고, 추가로 *Bacillus* spp.의 분류에 유용한 것으로 알려진 DNA gyrase 유전자 (*gyrB* 유전자)의 염기서열을 이용하여 선발균주의 분류학적 위치를 분석하였다(Wang et al., 2007). YP2 균주는 TSB (Difco, Detroit, MI, USA)배지에 접종하여 30°C에서 24시간 이상 배양 후 원심분리하여 균체를 수거하였다. Genomic DNA는 Genomic Plus DNA Prep kit (Inclone, Yongin, Korea)를 이용하여 추출하였다. 16S rRNA 유전자의 증폭을 위해 범용 프라이머인 27F와 1492R을 사용하였고, *gyrB* 유전자의 증폭을 위해 범용 프라이머인 UP-1과 UP-2r을 사용하여 PCR한 후 각각 유전자의 증폭산물을 얻었다(Yamamoto et al., 1955; Song et al., 2004). 3개의 프라이머(518F; CCAGCAGCCGCGTAATACG, 800R; TACCAGGGTATCTAATCC, 984F; ACGCGARGAACCTTAC)를 이용하여 16S rRNA 유전자의 염기서열을 결정하였고, *gyrB* 유전자는 두 개의 염기서열 분석용 프라이머(UP-1S; GAA GTC ATC ATG ACC GTT CTG CA, UP-2Sr; AGC AGG GTA CGG ATG TGC GAG CC)를 이용하여 제노텍(GenoTech, Daejeon, Korea)에 분석 의뢰하였다. 얻어진 염기서열은 SeqMan (DNASTAR, Madison, WI, USA)을 이용하여 직접 오류를 검정하고 연결하였다. 각 유전자의 비교분석을 위해서 16S rRNA 유전자의 염기서열 및 균주간 상동성은 EzTaxon (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>)을 통해서 얻었으며(Kim et al., 2012), *gyrB* 유전자의 염기서열은 GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank)를 통하여 얻었다. 계통도의 작성을 위해 MEGA 5.0 프로그램의 Clustal W 프로그램으로 염기서열을 정렬하고 염기서열 길이를 맞추었다. 계통도를 작성하기 위해 neighbor-joining 알고리즘을 사용하였으며, 계통도의 신뢰성을 확보하기 위해 1,000회 반복 bootstrapping을 수행하였다(Tamura et al., 2011).

B. velezensis YP2 균주의 겨자채 흰가루병에 대한 방제효과 검정

청겨자(아시아종묘) 종자를 흑색비닐포트(직경 9.6 cm)에 바로커상토(서울바이오)를 담아서 파종하여 20일간 생육한 청겨자에 흰가루병이 자연 발생한 다음, YP2 균주를 LB 배지에서 28°C에서 200 rpm으로 48시간 진탕 배양하여 배양액을 10배 희석하여 구당 10주씩 3반복으로 7일 간격으로 3회 분무 처리하여 최종 처리 7일 후 병반면적율(%)을 육안으로 달관조사하였다.

B. velezensis YP2 균주의 처리간격 및 횟수에 따른 적겨자 흰가루병 방제효과 검정

적겨자(아시아종묘) 재배중에 흰가루병이 자연 발생한 초

기에 LB 배지에서 배양한 YP2 균주의 배양액을 10배 희석하여 구당 15주씩 3반복으로 5일 간격 4회, 7일 간격 3회와 10일 간격 2회 분무 처리하여 최종 처리 10일 후 병반면적율(%)을 육안으로 달관조사하였다. 대조구는 시판 미생물제를 500배 희석하여 7일 간격 3회 처리하였다.

B. velezensis YP2 균주의 침지에 의한 적겨자 종자발아 및 생육촉진 효과 검증

적겨자 종자발아의 영향을 조사하기 위하여 YP2 균주를 LB액체 배지에 25°C, 200 rpm에서 48시간 진탕배양 후 원심분리하여 균체를 회수 후 hemacytometer (Bright-Line, USA)로 계수하여 1×10^8 cell/ml로 조절하여 적겨자 종자를 1시간 침지 후 100립씩 5반복으로 페트리디쉬에 치상하여 25°C도 항온기내에서 3일간 보관한 다음 종자발아율(%)을 조사하였다.

적겨자 생육촉진 효과는 YP2 균주를 LB 액체 배지에 25°C, 200rpm에서 48시간 진탕배양한 후 원심분리하여 균체를 회수하여 1.0×10^8 cell/ml로 농도를 조절하였다. 적겨

자 종자를 BM-6 상토에 파종하고, 파종일로 부터 7일 간격으로 50 ml 씩 4회 관주처리하였다. 100립씩 5반복으로 실험하였으며, 최종 처리 8일 후에 반복당 20주씩 초장, 근장과 생체중을 각각 조사하였다.

결과 및 고찰

B. velezensis YP2 균주의 싼체에서 분리한 식물병원균에 대한 항균활성

쌈채류에서 분리한 식물병원균 *Cercospora* sp. 1~3, *Septoria* sp., *Colletotrichum* sp., *Phoma* sp., *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*에 대한 *B. velezensis* YP2 균주의 군사생장 억제효과를 조사한 결과에서 *Cercospora* sp. 1~3에 대하여 8.3~8.8 mm, *Septoria* sp.에 대하여 4.4 mm, *Colletotrichum* sp.에 대하여 5.8 mm, *Phoma* sp.에 대하여 8.5 mm, *Botrytis cinerea*에 대하여 6.1 mm, *Sclerotinia sclerotiorum*에 대하여 5.9 mm의 군사생육을 저지하였다 (Table 1). *Bacillus* 균주는 cyclic lipopeptides (bacillomycin

(A)

(B)

Fig. 1. Phylogenetic dendrogram based on partial 16S rRNA (A) and *gyrB* (B) gene sequences (1,416 bp and 1,065 bp, respectively) of *Bacillus* strains. Numbers above branches indicate bootstrap values (>50%) from 1,000 replicates. Strain or culture collection and accession numbers are indicated next to species name. T means type strain.

Table 1. Antifungal activity of *B. velezensis* YP2 on fungal pathogens of leafy vegetables on PDA agar

Plant pathogen	Inhibition zone of mycelial growth (mm) $\pm$ SD
<i>Cercospora</i> sp. 1	8.7 $\pm$ 0.4 ^{a)}
<i>Cercospora</i> sp. 2	8.8 $\pm$ 0.2
<i>Cercospora</i> sp. 3	8.3 $\pm$ 0.4
<i>Septoria</i> sp.	4.4 $\pm$ 0.1
<i>Collectotrichum</i> sp.	5.8 $\pm$ 0.3
<i>Phoma</i> sp.	8.5 $\pm$ 0.4
<i>Botrytis cinerea</i>	6.1 $\pm$ 0.0
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	5.9 $\pm$ 0.2

^{a)} average of three replicates.

D, fengycin, iturin, surfactin), siderophore (bacillibactin), polyketides (bacillaene, difficidin, macrolactin), dipeptide (basilysin), acetoin, 2,3-butandiol 등의 이차대사물질을 생산하는 것으로 보고되었으며(Lee et al., 2012; Soumitra et al., 2015), 이러한 이차대사물질들이 식물 병원 세균이나 곰팡이의 성장과 포자발아를 억제 및 저항성 유도 등으로 식물 병 방제가 가능하며 본 연구에서 선발된 균주도 식물 병원균의 균사 생육억제와 관련 유전자를 지니고 있다고 추정된다.

선발 균주의 동정

16S rRNA와 *gyrB* 유전자를 바탕으로 MEGA5 프로그램을 이용하여 분자유전학적인 계통도를 작성하고, 선발 균주의 분류학적 위치를 확인하였다(Fig. 2). 16S rRNA 유전자를 바탕으로 작성한 계통도에서 YP2 균주는 *Bacillus velezensis* BCRC 17467(T) 균주와 높은 상동성(100%)을 보였다(Fig. 1A). *B. siamensis* 균주와는 계통도의 신뢰성을 확보하기 위한 bootstrap 값도 81%로 비교적 높은 값을 보였다. YP2 균주는 *gyrB* 유전자를 바탕으로 작성한 계통도에서 *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 균주에 높은 상동성(100%)을 보였으며, 99%의 Bootstrap 값을 보이며 높은 계통도의 신뢰성을 보였다(Fig. 1B). 최근 계통유전체학을 근거로 한 *Bacillus* spp.의 분류연구는 근연종 *Bacillus* 4종, 즉 *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*, *B. methylotrophicus*, *B. oryzicola*, 및 *B. velezensis*를 모두 *B. velezensis*로 분류되어야 한다고 보고된바 있다(Dunlap et

Fig. 2. Morphology of cells of *B. velezensis* YP2 by microscopy (Leica DM2500).

al., 2016). 본 연구의 선발 균주인 YP2 균주는 16S rRNA와 *gyrB* 유전자를 이용하여 분석한 결과 Dunlap 등의 보고에 따라 *B. velezensis*로 동정되었으며, YP2균주를 배양하여 현미경상에서 세균이다(Fig. 2).

B. velezensis YP2 균주의 겨자채 흰가루병에 대한 방제효과

20일간 생육한 청겨자에 흰가루병이 발생한 초기에 YP2 균주를 LB배지에서 배양한 배양액을 10배 희석하여 7일 간격으로 3회 분무 처리한 결과, YP2 균주는 적겨자에 처리하여 흰가루병이 5.3% 병반면적율을 나타내어 91.8% 방제 효과를 보였으며, 청겨자에 대해서는 청겨자에 대해서는 흰가루병 병반면적율이 14.2%로 80.9%의 높은 방제 효과를 나타내었다(Table 2).

B. velezensis YP2 균주의 처리간격 및 횟수에 따른 적겨자 흰가루병 방제효과

적겨자 흰가루병이 발생한 초기에 LB 배지에서 배양한 YP2 균주의 배양액을 10배 희석하여 5일 간격 4회, 7일 간격 3회와 10일 간격 2회 분무 처리한 결과에서 5일 간격 4회 처리구가 흰가루병 발생이 24.6%로 70.6% 가장 높은 방제 효과를, 7일 간격 3회 처리구는 29.3%의 흰가루 병 발생하여 65.0% 방제 효과를 보인 반면에 10일 간격 2회 처리구는 흰가루병 발생이 49.5% 발생하여 40.9%의 낮은 방제 효과를 나타내었다(Table 3, Fig. 3). 10일 간격 2회 처리구의 낮은 방제 효과는 흰가루병균의 분생포자가 식물체에 부

Table 2. Control effect of powdery mildew on leaf mustard variety by cultured broth of *B. velezensis* YP2

Treatment	Red-Kyeoja		Cheong-Kyeoja	
	Lesion area (%)	Control efficacy (%)	Lesion area (%)	Control efficacy (%)
YP2	5.3 a ^{a)}	91.8	14.2 a ^{a)}	80.9
Untreated check	63.8 b	-	74.4 b	-

^{a)}In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT (Duncan's multiple range test).

Table 3. Control effect of powdery mildew by treatment of cultured broth of *B. velezensis* YP2 at interval and frequency of treatment on red leaf mustard

Treatment	Application interval (day)	Application frequency	Lesion area (%)	Control efficacy (%)
YP2	5	4 times	24.6 a ^{a)}	70.6
	7	3 times	29.3 ab	65.0
	10	2 times	49.5 c	40.9
Microbial agent	7	3 times	65.7 d	21.6
Untreated check	-	-	83.8 f	-

^{a)}In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

Fig. 3. Control effect of red leaf mustard powdery mildew by the cultured broth of *B. velezensis* YP2 at interval and frequency of application. A; 5 days interval 4 times treatment, B; 7 days interval 3 times treatment, C; 10 days interval 2 times treatment, D; untreated check.**Table 4.** Growth promoting activity and seed germination of red leaf mustard by treatment of *B. velezensis* YP2

Treatment	Seed germination rate (%)	Height (cm)	Root length (cm)	Fresh weight (g)
YP2	81.4 a ^{a)}	10.8 a	28.5 a	2.1 a
Untreated check	75.6 b	8.5 b	30.1 ab	1.1 b

^{a)}In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

착하여 발아되어 5일~6일이면 한 세대가 경과하여 다시 분생포자가 형성되어 매우 빠른 속도로 분생포자세대를 유지하면서 식물체에 피해를 주어(Endo, 1989) 새로운 흰가루병균 포자가 비산되어서 병 발생하는 생활사와 깊은 연관이 있을 것으로 생각된다.

*Bacillus pumilus*와 *Bacillus subtilis* 균주가 식물병 방제에 효과가 인정되어 미국의 아그라퀘스트사에서 흰가루병 등 방제제로 개발하여 세레나데, 랩소디와 쏘나타라는 미생물농약 제품으로 등록하여, 미국, 독일, 스위스, 페루, 캐나다 이태리와 프랑스 등에서 사용되고 있다(Helene et al., 2011). 국내에서는 *B. amyloliquefaciens* M27 (Lee et al., 2013), *B. subtilis* B29, *B. subtilis* M10과 *Streptomyces* sp. CC19 균주가 오이 흰가루병에 효과적인 균주로서 선발한 바 있으며(Lee et al., 2010), 그리고 *Bacillus* sp. BS061 균주의 20배 희석한 배양액은 오이 흰가루병을 62.4% 방제하였으며, 딸기흰가루병을 80.3% 방제효과를 나타내었다(Kim et al., 2013). 그리고 *B. subtilis*가 생성한 항균물질 이투린과 팬기신이 오이 흰가루병균(*Podosphaera fusc*)에 대한 길항력에 큰 주요 역할을 보고한 바 있다(Romero et al., 2007).

B. velezensis YP2 균주의 침지에 의한 적거자 종자발아 및 생육촉진 효과

적거자의 종자발아에 미치는 영향을 조사한 결과에서 YP2 균주 처리가 종자발아율이 81.4%로 무처리 75.6%보다 5.8% 종자 발아율이 증가되었으며, 적거자의 생육촉진을 조사한 결과에서는 초장은 10.8 cm과 생체중이 2.1 g으로 무처리에 비하여 각각 127.1%, 190.9% 각각 증가되었다(Table 4). 바실러스 균주의 식물체의 생육촉진에 관여하는 일차대사물질에서 2,3-butandiol과 IAA 생성 유전자가 가지고 있다고 밝혀져서(Lee et al., 2012; Soumitra et al., 2015), YP2 균주도 이런 유전자를 가지고 있다고 추정된다.

이상의 결과에서와 같이 *B. velezensis* YP2 균주는 겨자채 흰가루병에 방제효과가 우수하며, 종자 발아를 향상시키고 생육을 촉진하는 특성을 가지고 있어 친환경재배에 사용될 수 있는 우수한 균주라고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호 : PJ010049)의 지원에 의해 수행되었습니다.

Literature Cited

- Chowdhury, S. P., A. Hartmann, X. W. Gao and R. Borriess (2015) Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42-a review. *Frontiers in Microbiology*/www.frontiersin.org. 6:780.
- Copping, L. G. (2004) The manual of biocontrol agents. edition 4th, Alton: BCPC; UK, pp. 702.
- Dunlap, C. A., S. J. Kim, S. W. Kwon and A. P. Rooney (2016) *Bacillus velezensis* is not a later heterotypic synonym of *Bacillus amyloliquefaciens*; *Bacillus methylotrophicus*, *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* and '*Bacillus oryzicola*' are later heterotypic synonyms of *Bacillus velezensis* based on phylogenomics. *Int J Syst Evol Microbiol.* 66:1212-17.
- Endo, T. (1989) Studies on the life-cycle of cucurbit powdery mildew fungus *Sphaerotheca fuliginea* (schlecht) Poll. *Spec. Bull. Fukushima Pref. Agr. Exp. Stn.* 5:1-106.
- Helene, C., B. Wagner, F. Patrick and O. Marc (2011) *Bacillus*-based biological control of plant diseases in pesticides in the modern world - pesticides use and management. pp. 273-302. <http://www.intechopen.com>. Accessed 14 October 2013.
- Jeong, Y. H. (2000) Diagnosis and control of vegetables diseases and insects, Seoul : publisher Academy. 34.
- Kim, J. Y., B. S. Kim, S. E. Cho and H. D. Shin (2013) First report of powdery mildew caused by *Erysiphe cruciferarum* on indian mustard (*Brassica juncea*) in Korea. *Plant Disease.* 97:1383.
- Kim, Y. S., J. G. Song, I. K. Lee, W. H. Yeo and B. S. Yun (2013) *Bacillus* sp. BS061 Suppresses powdery mildew and gray mold. *Mycobiology.* 41(2):108-111.
- Kim, O. S., Y. J. Cho, K. Lee, S. H. Yoon, M. Kim, Na H, S. C. Park, Y. S. Jeon, J. H. Lee and H. Y, et al. (2012) Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *Int J Syst Evol Microbiol.* 62:716-21.
- Lee, S. Y., B. Y. Kim, J. H. Ahn, J. Song, Y. J. Seol, W. G. Kim and H. Y. Weon (2012) Draft genome sequence of the biocontrol bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* strain M27. *J Bacteriol.* 194:6934-5.
- Lee, S. Y., Y. K. Lee, K. Park and Y. K. Kim (2010) Selection of beneficial microbial agents for control of fungal diseases in the phyllosphere of cucumber plant. *Korean J. Pestic. Sci.* 14(4):326-331 (in Korea)
- Lee, S. Y., H. Y. Weon, J. J. Kim, J. H. Han and W. G. Kim (2013) Control effect of the mixture of *Bacillus amyloliquefaciens* M27 and plant extract against cucumber powdery mildew. *Korean J. Pestic. Sci.* 17(4):435-439.
- Romero, D., de Vicente A. Rakotoaly, R. H. Dufour, S. E. Veening, J. W. Arrebola, E. Cazorla, F. M. Kuipers, O. P. Paquot and M. A. Perez-Garcia (2007) The iturin and fengycin families of lipopeptides are key factors in antagonism of *Bacillus subtilis* toward *Podosphaera fusca*. *MPMI.* 20(4):430-440.
- Song, J., S. C. Lee, J. W. Kang, H. J. Baek and J. W. Suh (2004) Phylogenetic analysis of *Streptomyces* spp. isolated from potato scab lesions in Korea on the basis of 16s rRNA gene and 16s - 23s rDNA internally transcribed spacer sequences. *Int J Syst Evol Microbiol.* 54:203-9.
- Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei, S. Kumar (2011) MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol.* 28:2731-9.
- The Korean Society of Plant Pathology (2009) List of plant diseases in Korea. 5th ed. Seoul: Korean Society of Plant Pathology.
- Wang, L. T, F. L. Lee, C. J. Tai and H. Kasai (2007) Comparison of gyrB gene sequences, 16s rRNA gene sequences and DNA-DNA hybridization in the *Bacillus subtilis* group. *Int J Syst Evol Microbiol.* 57:1846-50.
- Yamamoto, S. and S. Harayama (1995) PCR amplification and direct sequencing of gyrB genes with universal primers and their application to the detection and taxonomic analysis of *Pseudomonas putida* strains. *Appl Environ Microbiol.* 61:1104-9.

Bacillus velezensis YP2의 겨자채 흰가루병의 생물적 방제

이상엽* · 원항연 · 김정준 · 한지희

국립농업과학원 농업미생물과

요 약 *Bacillus velezensis* YP2 균주는 써채소에서 분리한 *Cercospora* sp. 1~3, *Septoria* sp., *Colletotrichum* sp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phoma* sp., *Botrytis cinerea*에 대하여 균사생육을 억제하였다. *B. velezensis* YP2 균주의 LB배 양액을 10배 희석액은 적겨자와 청겨자에 발생하는 *Erysiphe cruciferarum*에 의한 흰가루병을 91.8%와 80.9% 방제효과를 보였다. *B. velezensis* YP2 균주의 배양액을 10배 희석하여 5일 간격 4회 처리구가 적겨자 흰가루병을 70.6%, 7일 간격 3회 처리구는 65.0%, 10일 간격 2회 처리구는 49.5% 방제하였다. 또한 *B. velezensis* YP2 균주는 적겨자 종자 발아를 증가시키고 생육을 촉진하였다. 이상의 결과에서 YP2 균주는 겨자채 흰가루병 방제에 매우 효과적이었다.

색인어 항균력, 바실러스 벨레젠시스, 생물적방제, *Erysiphe cruciferarum*, 겨자채, 흰가루병