

Pseudomonas spp.의 Rhizoctonia solani 및 Pythium spp. 病原菌에 대한 길항작용

朱 沐 圭 · 韓 正 勳

延世大學校 生物資源工學科

Antagonism of *Pseudomonas* spp. against to *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp.

Joo-Yeong-Kyoo and Jung-Hoon Han

Dept. Biological Resources & Technology, Yonsei University

ABSTRACT

Attempts were made to investigate the antagonistic activity of soil borne microorganisms *Pseudomonas* spp. and *Trichoderma* spp. against to the pathogens of turf diseases *Rhizoctonia solani* spp. and *Pythium* spp. *in vitro* by a dual culture bioassay. Inhibition zone between the edge of the mycelium and the margin of each antagonistic bacteria, *Pseudomonas*, on potato dextrose agar was measured 3 days after incubation at 28°C. *Pseudomonas* spp. showed relatively high inhibition of mycelium growth of *R. solani* AG-1 and *Pythium* spp. which cause brown patch and pythium blight, respectively. Antagonistic fungi *Trichoderma* spp. also showed effective inhibition against mycelium growth of both pathogens, more proper methods of measuring the inhibition effects were required because of fast growth of *Trichoderma hypae*. Brown patch and pythium blight both, require most higher rate of fungicide use to control in golf courses in Korea. Application of antagonistic microorganisms are useful as biological resources an approach to sole environmental contamination.

서 론

토양 생태계에 존재하는 미생물의 식물체에 대한 이익과 불이익에 관여하는 토양 환경인자들은 오랫동안 연구와 논의가 계속되어 왔다. 그 요인들은 대부분 토양의 구성, 구조, 산도, 유기물의 함량 등의 물리화학적 복합인자들 복합요소 들이다. 토양내의 병균류와 토양의 분리, 화학적

* 본 연구는 1992-93년 연세대학교 학술연구비 지원으로 이루어졌음.

성질이 작물의 병에 연관된 연구는 토양 내의 무기물 영양, 전기적 진도성과 수분상태가 많은 농작물의 질병에 중요하게 영향을 준다고 밝혀져 있다.

우리나라는 근래에 들어 급격한 대규모 잔디의 조성과 더불어 잔디에서 발생하는 질병은 상당한 종류를 포함하고 있을 것이지만 그에 대한 국내의 연구는 아직 미흡하고 대부분 외국문헌에 의존하고 있는 실정이다(Couch, 1974; 韓國作物學會誌, 1986). 그러나 국내에서는 병 발생 환경조건에 대한 연구는 물론 병명에 대한 용어의 통일이나 방제대책 또한 뚜렷하지 않다.

다른 농경지와는 달리 골프코스의 대규모 잔디나 초지는 한번 조성되면 오랫동안 토양의 생신과 같은 작업이 불가능하다. 뿐만 아니라 잔디의 집중적인 사용이 수반되는 지역은 화학적 시비와 병해방제, 높은 담압, 관수를 비롯한 깍기, 배토 등의 집약적이고 계속적인 관리가 이루어지고 있다. 사용지에 의한 담압과 기계적 상처로 인해 자연상태의 식물체보다 더 많은 장해를 받기 때문에 상대적으로 질병이 늘어날 수 밖에 없는 특수한 상황에 의하여, 잔디에는 많은 종류의 병이 발생하고 발생빈도와 종류도 점점 복합해져 가고 있다. 이러한 현상은 이용 목적상 양질의 잔디상태를 유지시키기 위하여 화학적 성분의 농약을 과용하게 되는 요인으로 사회적인 문제로 까지 떠오르고 있다.

현재 잔디에는 약 60여종의 진균병이 발생하고 있으며 이에 관여하는 병원균은 90여종 이상으로(Couch, 1985) 이중 다핵성인 *Rhizoctonia* spp.에 의한 병해가 가장 막심하다고 알려져 있다(Dale, 1987; Ko and Kao, 1989; Kraft et al., 1967; Smiley et al., 1992). 우리나라에서는 *R. solani*에 의해 발생되는 병은 47종 이상의 식물에서 보고되어 있고(Hedrix, et al., 1973), Zoysiagrass등의 난지형 잔디와 Bentgrass등의 한지형 잔디에서 주로 엽신, 엽초, 관부에 침입하여 잎마름증상을 일으킨다(Couch and Haygood, 1990; Dale, 1987; 農業工學協會, 1991). 이 병은 1979년 이후 제주 지방에서부터 남부지방을 거쳐 최근에는 중부 이북으로 확산되고 있으며 전국적으로 발생되는 추이를 보이고 있다. 특히 본 병은 Zoysiagrass로 조성된 fairway에서 광범위한 면적에 반복적으로 발생하는 soil borne-pathogen이며 병 발생력과 부생능력이 크며 생존이 불리한 조건에서 내구체인 균핵을 형성하므로 방제가 어렵고 많은 양의 농약을 계속적 투여하게 한다. 또한 *Pythium* spp.에 의한 *Pythium* blight의 피해도 적지 않다. 이들 병은 1994년 장마기 중 경기지방을 비롯한 우리나라 전역에서 광범위하게 발병되었는데, Bentgrass로 조성된 golf course의 green에 매년 대규모로 발생하며 water borne-pathogen이므로 전염속도가 매우 빠르고 기상 조건과 토양상태, 그리고 식물체 활력 등의 복합적 요인에 의해 막대한 피해를 주는 병이다. 농약에 대한 내성을 가지는 병원균으로 단위 면적당 농약의 사용량이 매우 많기 때문에 농약에 의한 환경오염을 유발시키는 중대한 요인으로 지목되고 있다.

국내에서는 '한국잔디연구소' 등에서 large patch균류의 분류, 동정을 통하여 잔디 토양내에서 길항균을 찾는 연구가 진행 중이며 토양에서 존재하는 길항균으로 생물학적 병체에 관한 연구는 현재까지는 전작의 일부 작물에서 연구되고 있다. 따라서 본 연구는 잔디에 가장 빈발하고 피해도가 높아 다량의 농약사용을 요구하는 몇 가지 곰팡이병인 *Rhizoctonia solani* AG-1, *R. solani* AG-2-2와 *Pythium* spp.를 토양내에서 우점종으로 분포하고 있는 *Pseudomonas* spp.의 길항성을 검정한다. 이 길항미생물을 응용한 생물학적인 병의 예방 및 조기방제에 대한 실용 가능성의 기초 연구와 이를 통하여 농약에 의한 환경오염을 줄일 수 있는 하나의 가능성을 모색하는데 본 실험의 목적을 둔다.

재료 및 방법

‘한국잔디연구소’가 안양골프코스에서 불리한 *Rhizoctonia solani* AG-1, *R. solani* AG-2-2와 *Pythium* spp. 가 공시균주로 쓰였고 순수하게 배양된 세균(*Pseudomonas* spp.)이 실험실 내 생물학적 2종 배양 정량법(a dual culture bioassay)으로 각각의 균주에게 길항작용의 검정에 사용되었다. 본 실험에 앞서 *Rhizoctonia solani* AG-1, *R. solani* AG-2-2와 *Pythium* spp. 의 pathogen 생육온도의 기상조건 예견실험에 따라 2종의 미생물(*Pythium* spp., *Trichoderma* spp.)을 길항을 길항미생물 공시 재료로 사용하였다. 각각의 petri dish에 filter paper disc(Schleicher and Schuel, 740E, 1.3cm)에 병원균 흔탁액 0.1ml가 한천 배지의 반대편에 각각 대치배양 되었다. 공시배지로 쓰인 감자 한천 배지(PDA)에 *Rhizoctonia solani* AG-1, *R. solani* AG-2-2와 *Pythium* spp. 가 든 직경 50mm인 한천 배지용 petri dish는 incubater내 28°C에서 3일간 배양하였다. 같은 조건하에서, 균사 생장은 병원성 세균의 균사들의 방사선상의 직경으로 측정되었다. 감자 한천 배지내 균사의 끝부분과 각각의 길항세균의 끝자리 사이를 억제부위(inhibition zone)로 측정하였다. 억제 부위내 병원균의 균사생장 억제율을 측정하고 항균작용의 척도로 삼았다.

결 과

우리나라에서 발생되는 대표적인 잔디병원균에 대한 길항미생물을 용용한 생물학적 병해방제에 대한 기초연구를 수행하기 위하여 브라파취병균(*Rhizoctonia solani* AG-1), 라지파치병균(*R. solani* AG-2-2)과 피시움블라이트병균(*Pythium* spp.)에 대하여 공시한 길항세균의 항균성을 실험내에서 검정하였다. 공시 길항세균은 *Pseudomonas* spp., *Trichoderma* spp. 이었고 길항세균의 길항성 검정 결과, 대조구에서의 *Rhizoctonia solani* AG-1균사의 생장은 배양 3일에 평균 40mm에 달하였으나 *Pseudomonas* spp. 가 대치 배양된 petri dish에서는 30.4mm의 균사생장을 보여 24.0%의 억제부위의 발생을 보였다. *Pseudomonas* spp. 와 *Pythium* spp. 가 대치배양된 경우에는 22.8%의 억제부위가 발생하였다. 그래서 *Pseudomonas* spp. 는 브라운파취 병원균과 피시움블라이트균에 대하여는 균사생장을 억제하였으며 라지파치 병원균에 대해서는 상대적으로 낮은 항균력을 나타내었다(Table 1). *Trichoderma* spp. 의 3일 후 반응은 길항균의 균사가 병원균의 균사를 완전히 뒤덮어 항균력 검정이 어려웠으나 3종의 병원균에 대하여 길항성이 뛰어난 것으로

Table 1. Inhibition of mycelial growth of brown patch, large patch and pythium blight pathogen by *Pseudomonas* spp. as antagonistic bacteria under dual culture on potato dextrose agar

Diseases	Pathogens	Mycelial growth(mm) ^a		Inhibition zone(mm) ^b
		Treated	Untreated	
Brown patch	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-1	30.4	40.0	9.6
Large patch	<i>Rhizoctonia solani</i> AG-2-2	23.5	25.7	2.2
Pythium blight	<i>Pythium</i> spp.	30.9	40.0	9.1

^a Mycelial growth was measured radial diameter of pathogen mycelium 3 days after incubation at 28°C

^b Inhibition zone between the edge of the mycelium and the margin of each antagonistic bacteria on PDA was measured 3 days after incubation at 28°C

14. Smiley, R. E. 1983. Compendium of Turfgrass Disease. APS Press. 102p. USA.
15. Smiley, R. W., P. H. Dernoeden and B. B. Clarke. 1992. Compendium of turfgrass disease, 2nd ed. p. 46-50.
16. 韓國作物保護學會誌. 1986. 韓國作物病. 昆蟲, 花草, 名鑑, 水原, 633p.
17. 化學工學日報社. 1990. コルブ場農薬カイト. Tokyo. 273p.
18. 李斗珩, 柳王根, 韓慶淑. 1992. Rhizoctonia菌의 栽培特性 및 잔디에 대한 病源性과 殺菌劑의 效果. 한잔지. 6(2) : 89-97.
19. 農藥工業協會. 1991, '91農藥使用指針書, 서울 560.