

식물 뿌리썩음병을 유발하는 *Fusarium solani*에 대한 *Pseudomonas* 속의 생물학적 방제기작

이은주 · 김경석 · 홍수형 · 하지홍*
경북대학교 자연과학대학 유전공학과

The mechanism of Biological Control of *Pseudomonas* spp. Against *Fusarium solani* Causing Plant Root-Rot Disease

Eun-Ju Lee, Kyung-Seok Kim, Su-Hyung Hong and Ji-Hong Ha*

Department of Genetic Engineering, College of Natural Sciences,
Kyungpook National University Taegu 702-701, Korea

Abstract — The 543 microbial strains were isolated from the rhizosphere in ginseng root rot-suppressive soil. From these, isolate KGM-100 was finally selected for the screening of powerful antagonistic bacterium for the soil-born *Fusarium solani* causing root rot of many important crops. The isolate KGM-100 was identified as *Pseudomonas aeruginosa*. Antibiotics produced by the *P. aeruginosa* KGM-100 were partially characterized as heat-stable and low-molecular weight antibiotics. The strain also produced siderophore, which was assumed to be pseudobactin. Pot test showed approximately 30~50% biological control effects when *Fusarium solani*-infected soil was treated with the *P. aeruginosa* KGM-100.

지난 수십 년간 유기합성농약의 사용은 농작물의 증산을 가져왔으나, 연속 및 과량사용으로 인한 잔류독성과 환경오염 문제를 야기하여 그 사용에 대한 규제가 강화되고 있는 추세이다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 길항미생물이나 이들이 분비하는 길항물질을 탐색하여 유기합성농약을 대체하고자 하는 연구가 활발히 진행되어 오고 있다. 지금까지의 연구 결과로 보아 유용 길항미생물로는 *Streptomyces*(1), *Pseudomonas*(2, 3), *Bacillus*(4, 5), *Trichoderma*(6) 등이 보고되고 있으며, 이들의 식물병원성 곰팡이에 대한 억제기작은 항생물질의 작용에 의한 antibiosis 기작(7-9), siderophore 등의 작용에 의한 competition 기작(10, 11), chitinase 등 세포벽 가수분해효소의 작용에 의한 exploitation 기작(2, 12, 13)의 세가지가 있는 것으로 보고되고 있다. 이 중에서 항진균성 항생물질에 의한 방제기작은 매우 중요하게 인식되고 있는데, 유기합성농약의 안정성이 문제가 되고 있는 현실에 비추어 볼 때 미생물에 의해 생성되는 항생물질은 천연물 농약이기 때문에 토양 잔류독성이 문제되지 않는 것이 특징이다.

본 연구에서는 저병해 인삼경작지로부터 인삼근부 병균인 *Fusarium solani*를 비롯한 여러 식물 병원성 진균에 강한 길항작용을 가지는 미생물의 분리와 선별 및 동정 그리고, 선별균의 항진균 기작을 조사하였으며, pot test를 통해 분리길항균의 이용가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

길항균주의 분리 및 선별

시료는 경북 영풍군의 저병해 인삼경작지 및 기타 토양에서 채취하였다. 균을 분리하기 위하여 토양 약 1g을 PBS buffer에 희석한 후 nutrient agar(NA)에 도말하여 육안으로 보아 뚜렷이 구별되는 500여주를 분리하였으며, 항균 활성조사를 통해 각종 식물병해를 유발하는 곰팡이에 대해 강한 활성을 보이는 균주를 선별하였다. 각종 곰팡이의 배양배지로는 potato dextrose agar(PDA) 배지를 사용하였다.

선별균주의 생리, 생화학적 특성 및 동정

선별된 균주의 동정은 Manual of Methods for General Bacteriology(14), Bergy's Manual of Systematic Bacteriology의 방법에 따라 조사하였으며, 균주의

Key words: Biological control, *fusarium solani*, *pseudomonas aeruginosa*, antibiotics, pseudobactin

*Corresponding author

형태 및 운동성은 transmission electron microscope (TEM)으로 관찰하였다.

항진균 활성조사

본 실험에 사용된 활성조사법은 paper disc agar diffusion method와 agar plug method를 사용하였다. 전자의 방법은 시험균의 배양액을 O.D₆₀₀=0.15 정도로 희석한 후 Kirby-Bauer 법(15)으로 agar 배지에 도말하여 사용하였으며, 분리된 균배양액을 직경 6 mm(Whatman 3 MM)의 filter paper에 묻혀 시험균을 도말한 plate 상에 둔 후 저지환을 조사하였다. 여기서 활성을 보이는 균을 분리한 후, agar plug method를 사용하였는데, petri dish의 가장자리에서 1 cm 떨어진 한쪽 끝의 위치에 균배양액을 점적하여 agar 배지에 스며들게 한다. 그 후 곰팡이의 5 mm plug을 plate 중심부에 두고 4~5일간 배양하여 길항균의 가장자리와 곰팡이 균사 사이의 거리를 측정하여 억제 여부를 조사하였다.

선별균주의 방제기작 조사

Chitinase 등과 같은 세포벽 가수분해효소는 대부분 분자량이 30,000 이상이며, 열에 불안정한 것으로 밝혀져 있다(16). 따라서, 선별균의 배양액을 10,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 얻은 culture filtrate를 cellulose dialysis sack(MW 12,000)에 투석한 후 항진균 활성을 조사하였으며, 상등액을 80°C에서 1시간 동안 가열한 후 agar 배지와 섞고 굳힌 뒤, 중심부에 곰팡이의 PDA agar plug을 놓고 배양하여 곰팡이 균사의 직경을 조사하여 세포벽 가수분해효소의 생성 여부를 결정하였다. Siderophore의 생성 여부 조사는 low iron 생성배지(SM 배지, sucrose 2%, L-asparagine 0.2%, K₂HPO₄ 0.1%, MgSO₄ 0.05%, pH 7.2)에서 길항균을 배양한 다음 결정하였다(2). 선별균을 50 ml SM 배지에 접종하고 28°C에서 24시간 배양한 후 12,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 pH 5.5로 적정하고 spectrophotometer tube에 3 ml 씩 넣은 후, 10⁻² M FeCl₃를 15 μl 가한다. 이때 철을 첨가하지 않은 tube를 blank로 사용하여 350~500 nm에서 흡광도를 조사하였다. 한편, King's medium B agar 배지(KMB 배지, proteose peptone 2%, glycerol 1%, KH₂PO₄ 0.15%, MgSO₄·7H₂O 0.15%, Agar 1.5%, pH 7.2)에 미생물을 배양했을 때 형광성 색소를 분비한다면 siderophore의 생성을 의미하므로(17), 선별균을 KMB agar 배지 상에 배양하여 형광성 색소의 유무를 UV-365 nm 하에서 관찰하였다. 또한, 선별균에 의한 병원성 진균의 생육억제가 sidero-

phore 이외의 항생물질에 의한 것인지를 조사하기 위하여, siderophore는 추출되지 않는 buthanol, ethyl acetate, benzen, n-hexane 등으로 추출하여 항진균 활성을 조사하였다.

Siderophore의 분리 및 특성

Siderophore의 분리는 Misagi(18)의 방법에 따라 행하였다. 시험균을 50 ml SM 배지에 접종하고 24~26°C에서 38시간 정지배양 후 12,000 rpm에서 20분간 원심분리한 상등액에 두배의 acetone을 가하고 다시 원심분리하였다. 그 후 다시 두배의 acetone을 가하고 원심분리하여 얻은 침전물을 acetone으로 세번 washing 한 후 0.03 M acetone buffer(pH 5.2) 4 ml에 녹였다. 이중 2.4 ml를 취하여 sephadex G-25 column (1.5×25 cm)에 charge 시킨 후 fraction collector를 사용하여 24~25°C에서 분당 1.0 ml 씩 증류수로 chromatography를 행하였다. 그 후 fraction 당 2 ml 씩 모아 403 nm에서 흡광도를 조사하고 각 peak를 이루는 분획을 모았다. 여기에 10⁻⁴ M FeCl₃를 100 μl 가한 뒤 철과의 착화능력을 조사하여 siderophore의 peak를 결정하고 기존의 siderophore와 비교하였다. 길항균이 분비하는 siderophore가 항진균 활성을 가지는지의 여부를 결정하기 위해 먼저 선별균의 형광성 색소에 대하여 iron과 iron chelator가 미치는 영향에 대해 조사하였다.

Pot test

길항 미생물이 *in vivo* 상태에서 *Fusarium solani*의 생육 및 발병을 억제하는지를 조사하기 위하여 pot test를 행하였다. 길항균을 LB 배지에 배양한 후 원심분리하여 pellet을 0.1 M MgSO₄(19)에 현탁시키고, *Fusarium solani*는 PDA에 10일간 배양한 후 멸균 증류수로 현탁하였으며, 길항균과 *Fusarium solani*를 각각 1~2×10⁹ CFU/g, 5×10⁴ CFU/g의 양으로 멸균된 vermiculite에 섞어 시료로 사용하였다. 그 후 sodium hypochlorite 용액으로 10분간 표면 살균처리한 후 발아시킨 red kidney bean(*Phaseolus vulgaris* L.)을 pot 당 2개씩 심고 25°C 배양기에서 매일 한차례 관수하며 약 20일간 키운 후 뿌리째 뽑아 발병 여부를 조사하였다. 발병 여부는 root와 hypocotyl 부분이 썩은 것을 대조군과 비교하여 결정하였으며(20), 이를 확인하기 위해 각 부분을 잘라 표면 살균처리 후 gentamycin(30 μg/ml)을 함유한 half-strength PDA에 배양하여 *Fusarium solani*의 생육 여부를 조사하였다. 대조군은 미생물을 처리하지 않은 pot와 *Fusarium solani* 만을 처리한 pot로 비교하였다. Pot test는 각

실험당 60개의 bean을 사용하여 4회 반복하였으며, 그 결과는 Chi-square 검정과 Duncan's Multiple Range Test로 통계처리하였다.

결과 및 고찰

균주 분리 및 선별

저병해 인삼경작지 및 기타 토양에서 분리한 543 균주중 항진균 활성을 가진 균주는 Table 1과 같다. 이 중에서 다양한 경제작물의 근부 병균인 *Fusarium solani* 및 기타 식물 병원성 곰팡이에 대해 재현성 있게 강한 억제활성을 보이는 균주를 최종 선별하였으며, 이를 분리주 KGM-100이라 명명하였다.

선별균주의 동정

KGM-100 균주의 형태학적 생리학적 특성을 조사한 결과를 Table 2, 3에 나타내었으며, 전자 현미경 사진을 Fig. 1에 나타내었다. 선별균은 그람음성간균으로, 운동성이 있는 것으로 확인되었다. Oxidase 및 arginine dihydrolase 생산능, pyocyanin pigment, pyoverdine pigment의 생성 그리고 41°C에서의 생육 등은 전형적인 *Pseudomonas aeruginosa*의 특징을 보이고 있다. 따라서, 선별균은 *Pseudomonas aeruginosa*로 동정되었다.

선별균주 KGM-100의 항진균기작

곰팡이 세포벽 가수분해효소 생성가능성을 조사한 결과, Table 4와 같이 *P. aeruginosa* KGM-100은 세포벽 가수분해 효소를 생성하지 않는 것으로 확인되었다. 한편 low iron medium에서 *P. aeruginosa* KGM-100에 의해 생성되는 siderophore는 형광성

색소로 확인되었으며, 상등액에 FeCl₃를 가한 후 350~500 nm에서 흡광도를 측정하였다(Fig. 2). 이 결과로 볼 때, low iron medium에서 배양한 상등액에 철을 가했을 경우 405 nm에서 극대 흡광도가 나타났으나, 철이 첨가된 배지에서 배양한 상등액에 철을 가했을 경우에는 흡광도가 나타나지 않았다. 따라서, *P. aeruginosa* KGM-100은 철이 부족한 환경에서 철을 효과적으로 이용하기 위해 siderophore를 분비함을 알 수 있었다. 405 nm에서의 극대 흡광도는 Teintze 등에 의해 보고된 mixed hydroxamate-catechol siderophore인 pseudobactin의 흡수파장인 400 nm peak와 유사하였다(17). 따라서 *P. aeruginosa* KGM-100에 의해 생성되는 siderophore는 pseudobactin인 것으로 추정되었다. 또한 *P. aeruginosa* KGM-100 배양액을 동량의 ethyl acetate로 추출한 후, 농축하여 활성을 조사한 결과 강한 억제환을 보였으므로, 수용성인 siderophore 이외의 항생물질이 존재함을 확인하였다.

Siderophore의 분리 및 특성

Sephadex G-25 column chromatography를 행하여

Table 2. Morphological characteristics of isolate KGM-100 and *P. aeruginosa*

Characteristics	KGM-100	<i>P. aeruginosa</i>
Cell form	rod	rod
Motility	+	+
Flagellar number	1	1
Flagellar arrangement	polar	polar
Cell size (μm)	1.2~2.5	1.5~3.0
Cell diameter (μm)	0.9~1.0	0.5~0.7

Table 1. Antifungal spectrum of isolated microorganisms from soil

Isolate	Test Fungi					
	<i>Maduralla grisea</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium solani</i>	<i>Magnaporthe grisea</i>	<i>Pythium ultimum</i>	<i>Valsa ceratosperma</i>
15	B*			B		C
46			D			
75	B	B	C	B		C
100	A	B	B	A	B	A
152	C	C	C	B	C	B
223	C			C		
261				C		
369	B			C		
464	C			C		

*Agar plug test (Inhibition zone: A≥15, 15>B≥10, 10>C≥5, 5>D)

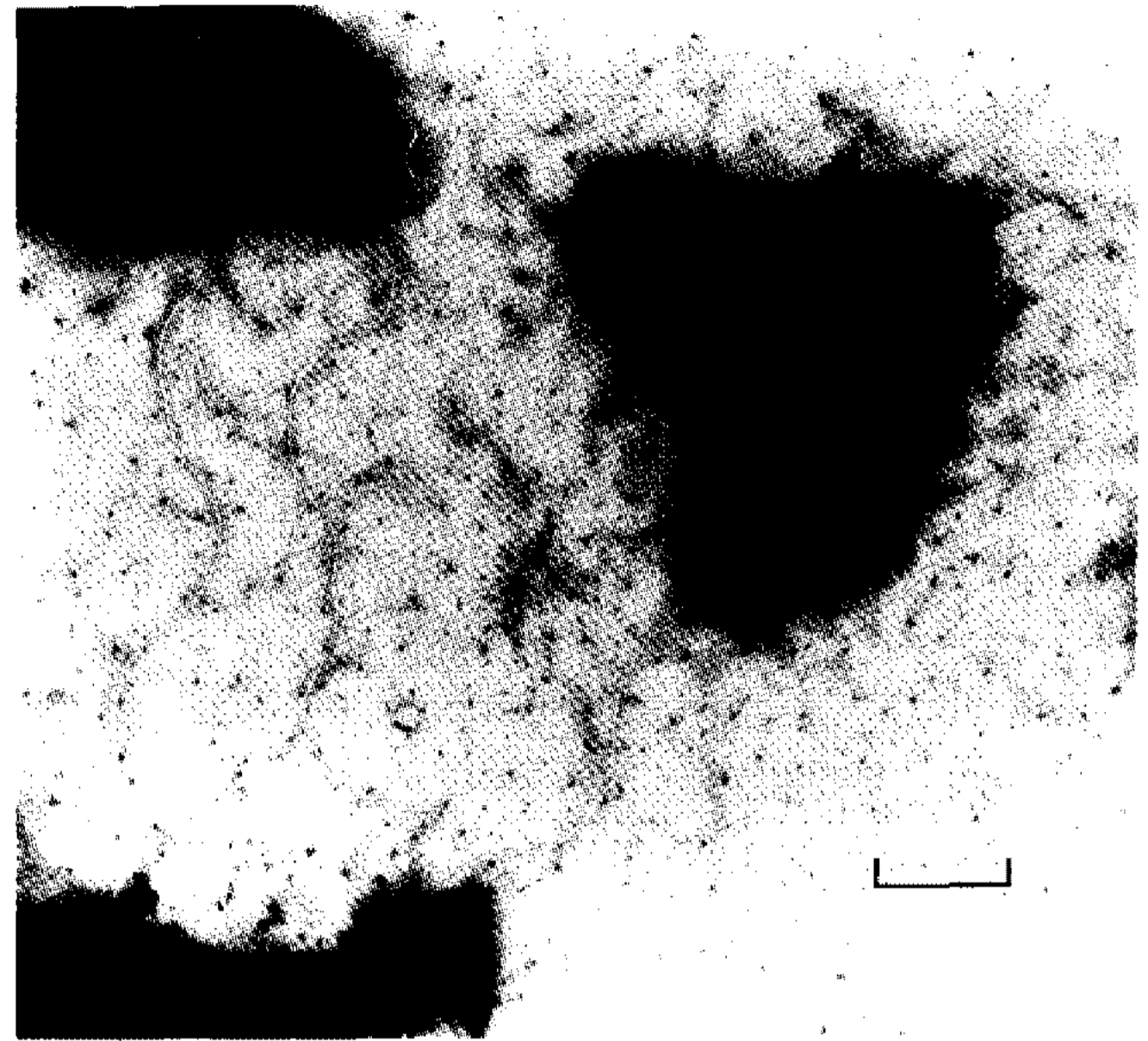
Table 3. Physiological and biochemical characteristics of isolate KGM-100 and *P. aeruginosa*

Characteristics	Isolate KGM-100	<i>P. aeruginosa</i>
Gram stain	—	—
Gelatin liquefaction	+	+
Starch hydrolysis	—	—
Denitrification	+	+
Catalase production	+	+
Citrate utilization	+	+
Arginine dihydrolase	+	+
Oxidase	+	+
H ₂ S formation	+	—
Esculin hydrolysis	+	+
Growth at 4°C	—	—
Growth at 41°C	+	+
Fluorescent pigment	+	+
Pyocyanin	+	d
Lecithinase	—	—
Lipase(Tween 80)	+	+
Utilization of carbon sources*		
ribose, glucose, arginine, succinate, glutamate, mannitol, gluconic acid, n-propanol, ethanol, citrate, tyrosine, fructose, glycerol,	+	+
xylose, arabinose, mannose, galactose, sucrose, sorbitol, myo-inositol, maltose, iso-propanol, phenol	—	—

+: positive, -: negative, d: doubtful

*Each carbon source was added with concentration of 0.5% to the minimal medium of Palleroni and Doudoroff, and the growth was checked after 10 days cultivation at 30°C.

연구는 각 분획을 403 nm의 흡수파장에서 조사한 결과를 Fig. 3에 나타내었으며, 철과의 착화능력을 조사한 결과 fraction number 9~12에서 나타나는 peak가 siderophore인 것으로 확인되었다. Siderophore peak를 이루는 분획을 모아, 이들의 흡수파장을 조사하였으며, 이 결과를 Fig. 4에 나타내었고, 여기서 403 nm의 peak를 확인할 수 있었다. *In vitro*에서 iron과 iron chelator가 *P. aeruginosa* KGM-100의 형광성 색소 생성 및 활성에 미치는 영향을 Table 5에 나타내었다. 10 µg/ml 농도의 iron과 EDTA를 각각 KMB 배지에 가했을 경우 형광성 색소를 분비하지 않았으나, *Fusarium solani*에 대한 *P. aeruginosa*

**Fig. 1. Micrograph of *P. aeruginosa* KGM-100 (by TEM, X 12,000).****Table 4. Assay results on extracellular enzyme production by KGM-100**

	Antifungal activity		
	Disk diffusion method		Agar plug method
	Inhibition zone (mm)	Colony size (mm)	Relative activity (%) ⁵
Culture filtrate ¹	20	24	100
Dialyzed sol. ²	0	40	6
Heat-treated sol. ³	20	26	90
Ethyl acetate ext. ⁴	18	n.e*	n.e

¹ Culture filtrate was concentrated to one tenth by volume.

² Dialyzed culture filtrate, against water at 4°C for 48 hrs through cellulose dialysis sack (MW 12,000).

³ Heat-treated culture filtrate at 80°C for 1 hr.

⁴ Concentrated soln. after equal volume extraction by 5 ml ethyl acetate.

⁵ Relative inhibition of culture filtrate against a control without incorporated culture filtrate.

*n.e: not examined

KGM-100의 억제활성은 이들을 가해 주지 않은 KMB 배지에서 보이는 항균활성과 동일하였다. 따라서, *P. aeruginosa* KGM-100이 분비한 siderophore는 *in vitro*에서 항균 활성에 관여하지 않는 것으로 보이며, 이는 정제 과정에 의해 얻어진 siderophore의 활성 조사의 경우와도 같은 결과로 나타남을 알 수 있었다. 이러한 결과는 Brisbane 등(21)의 연구와는 일치하지만 Kloepper 등(10)의 연구결과와는 일치하지 않

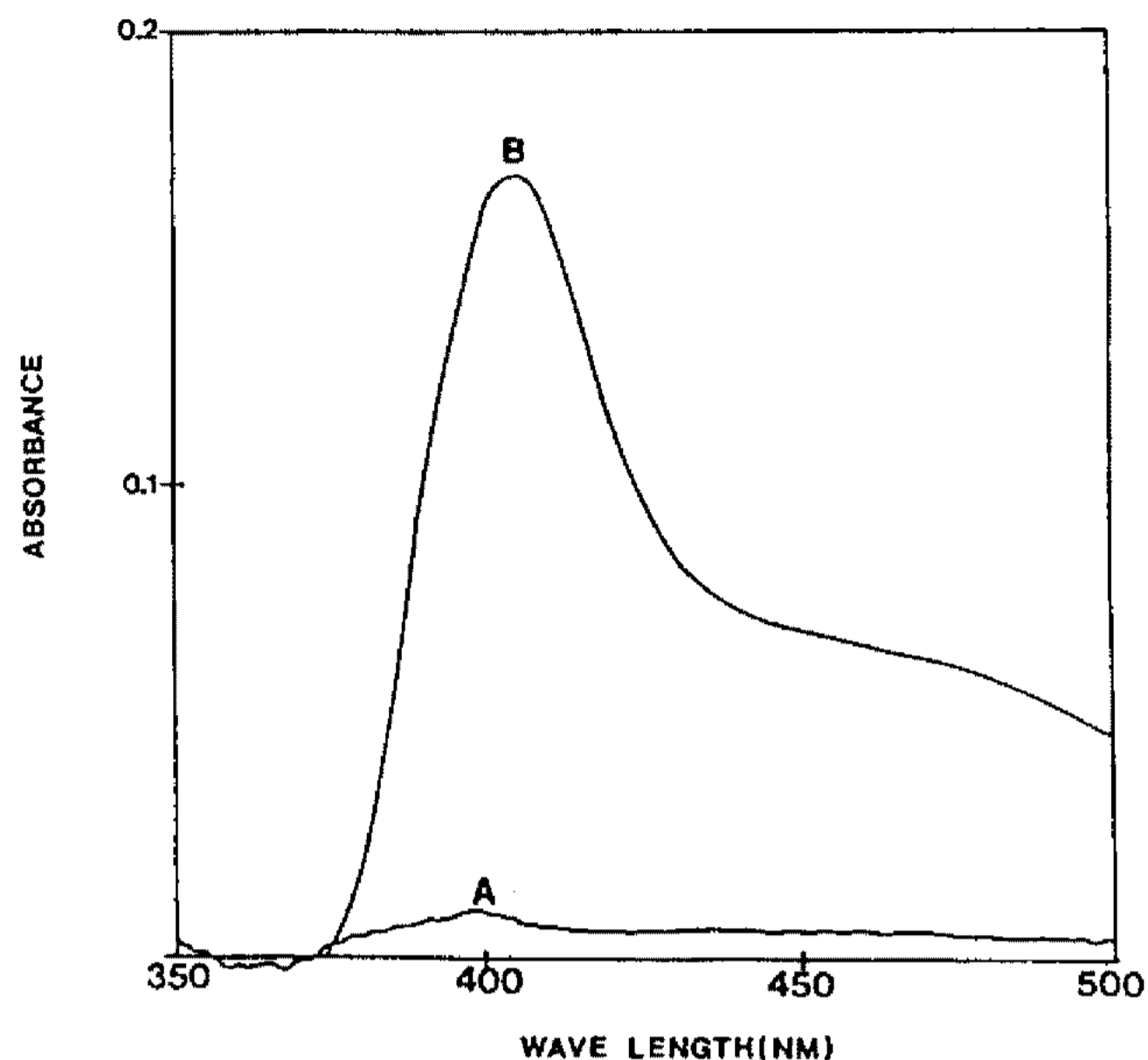


Fig. 2. UV spectrum of the culture filtrates of *P. aeruginosa* KGM-100.

A: Iron added (0.1 g FeCl_3/l), B: Iron not added

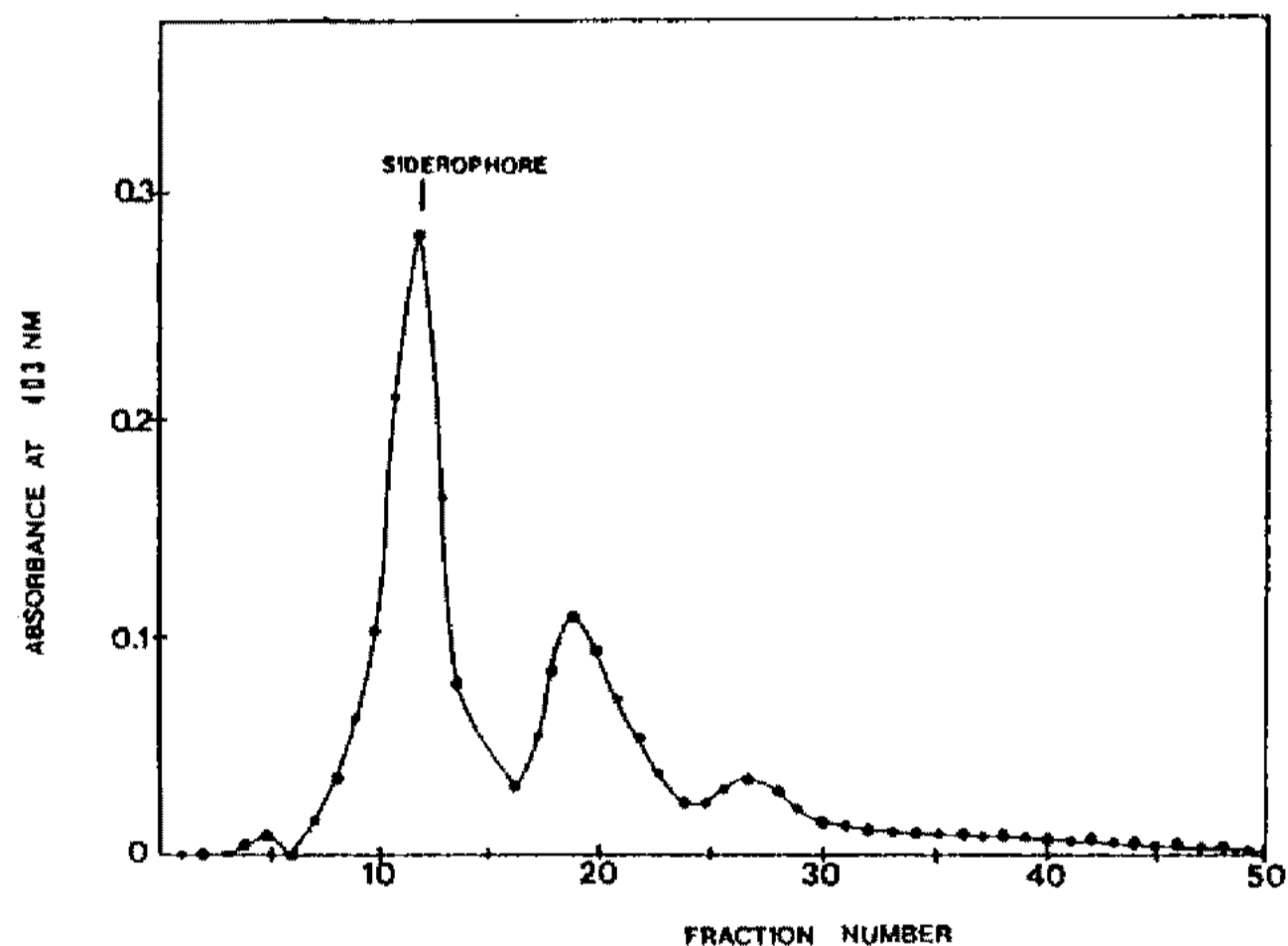


Fig. 3. Gel filtration chromatography of siderophore using a column of Sephadex G-25.

Sephadex G-25 column (1.5×25 cm) was equilibrated and eluted with deionized water. Fractions of 2 ml were collected at a flow rate 1 ml/min.

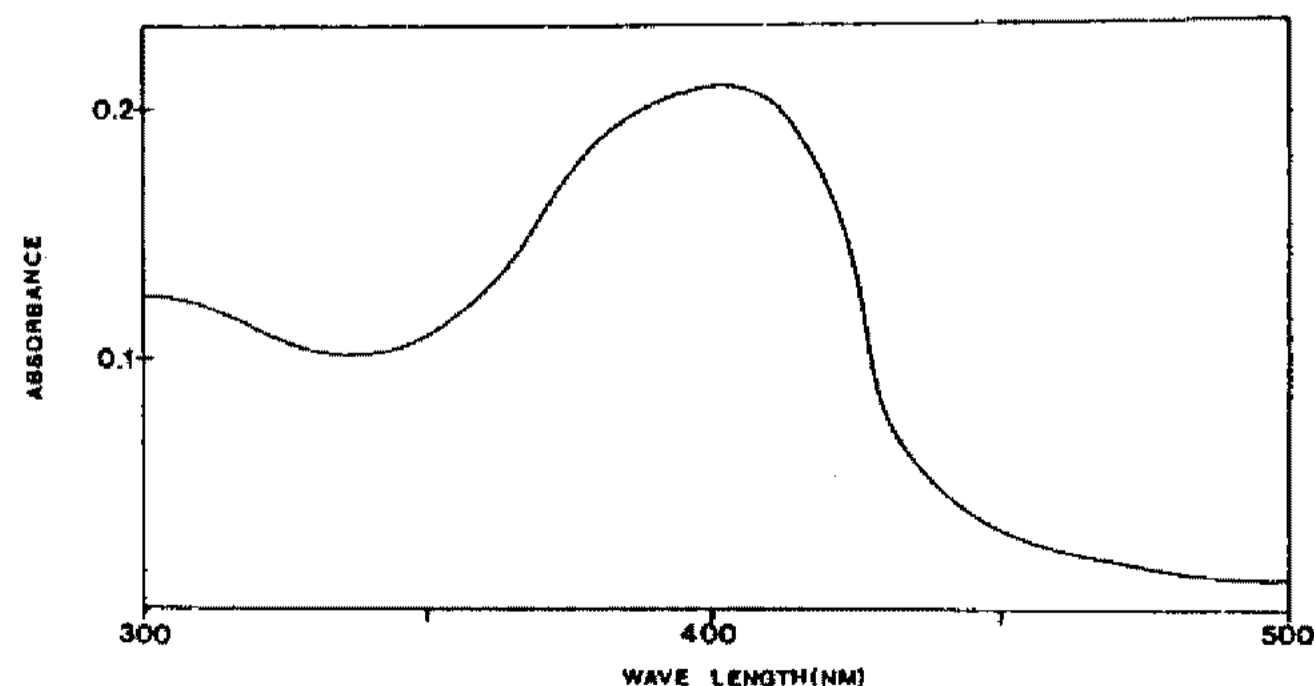


Fig. 4. UV spectrum of isolated siderophore.

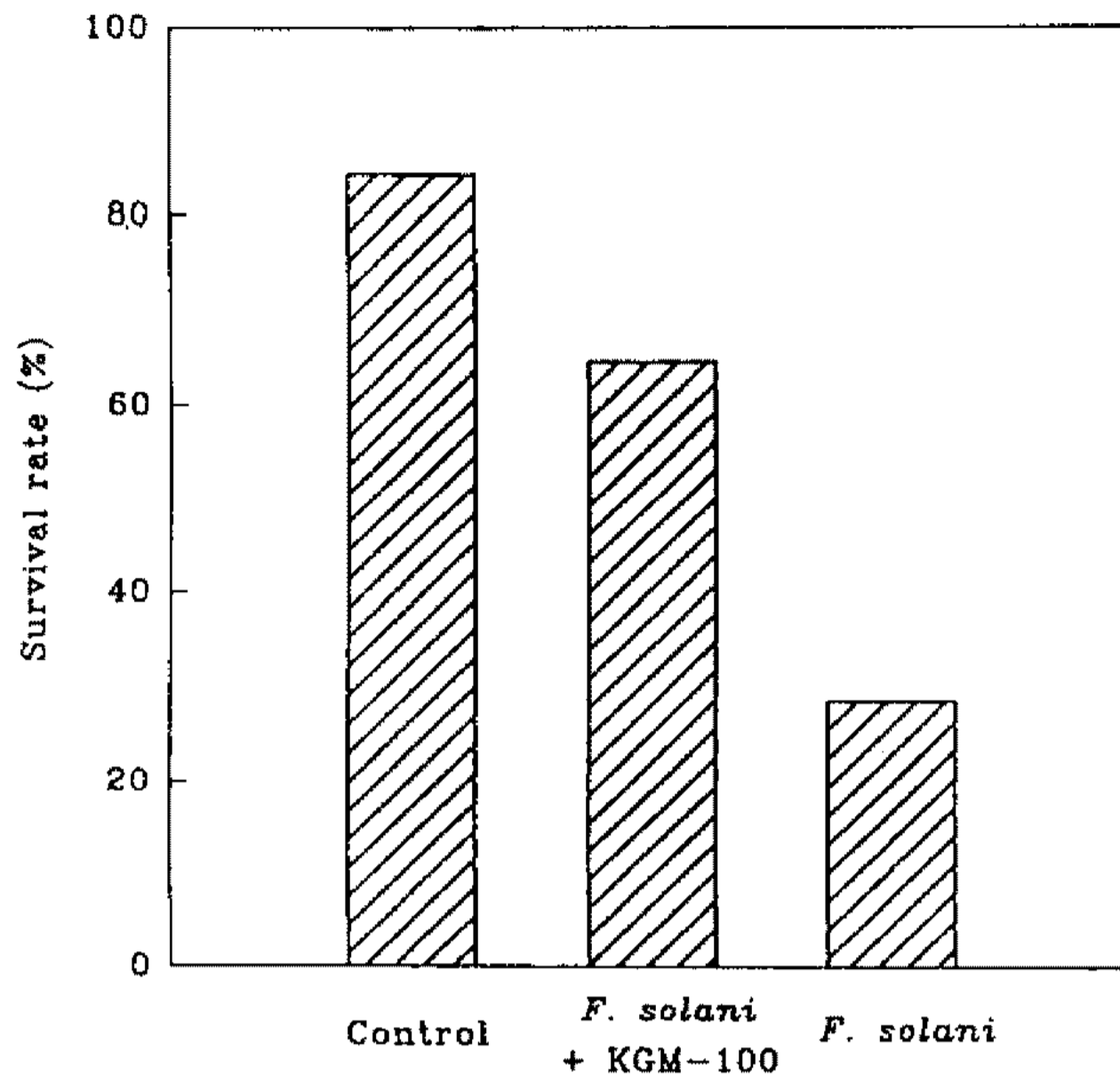


Fig. 5. Mean survival rate of red kidney beans when *P. aeruginosa* KGM-100 and *F. solani* were added to pots.

Each column is the means of four replicates.

Survival rate: Control (not-treated): 84.3%, *F. solani* + *P. aeruginosa* KGM-100: 64.6%, *F. solani*: 28.6%

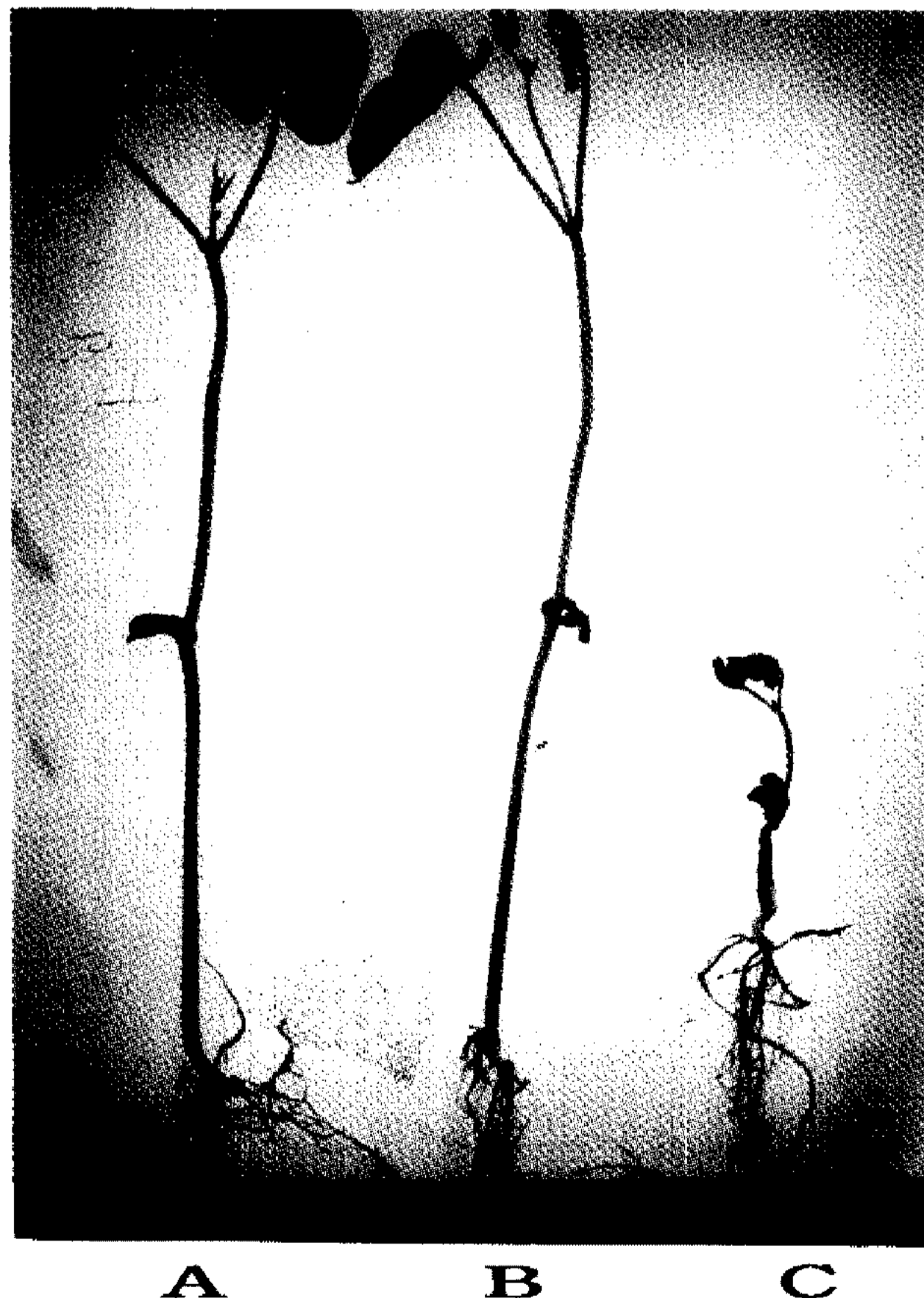


Fig. 6. Photograph of red kidney bean plants after 10 days.

A; Control (Not-treated), B; *P. aeruginosa* KGM-100 ($1\sim 2 \times 10^9$) + *F. solani* (5×10^4), C; *F. solani* (5×10^4)

Table 5. Effect of iron and iron chelator on the production of fluorescence and antifungal activity of KGM-100 in vitro

		Chelator added			
		None		EDTA ³	
		fluorescence observed	colony ⁴ size (mm)	fluorescence observed	colony size (mm)
Iron ² added	None Iron	+ ¹	30	-	25
	1 µg/ml	+	30	.	.
	3 µg/ml	+	28	.	.
	10 µg/ml	-	29	-	24

¹(+) signifies presence of fluorescence, ²Iron as FeCl₃ was added to the treatments, ³EDTA was added to the KMB medium at 2 mg/ml, ⁴Colony size of control (without KGM-100) was 62 mm.

았다. 또한, ferric iron(Fe³⁺)과 ferrous iron(Fe²⁺) 뿐 아니라, Cu²⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Zn²⁺ 등의 2가 이온과도 착화하는 성질을 보이므로, 이에 대한 후속 연구가 필요하리라 본다.

Pot test

동일한 실험을 4회 반복하여 얻은 결과를 Chi-square 검정과 Duncan's multiple range test로 통계처리하여 Fig. 5에 나타내었다. Control, *Fusarium solani*+*P. aeruginosa* KGM-100, 그리고 *Fusarium solani* 단독 처리시 각각 84.3, 64.6, 28.6%의 생존율을 보였다. 이 결과로 볼 때, *P. aeruginosa* KGM-100과 *Fusarium solani*를 혼합하여 처리하였을 경우는 *Fusarium solani* 단독 투여군에 비해 약 30~50%의 방제효과를 보였음을 알 수 있으며, 이는 *P. aeruginosa* KGM-100이 생물학적 방제용으로 사용될 수 있으리라 사료된다. Fig. 6은 control과 *Fusarium solani*+*P. aeruginosa* KGM-100, 그리고 *Fusarium solani* 만 처리하였을 때의 red kidney bean의 10일 후의 생육을 보여주는 사진이다.

요 약

저병해 인삼경작지로부터 근채류 식물의 근부원인이 되는 *Fusarium solani* 및 기타 식물 병원성 곰팡이의 생육을 강력히 억제하는 세균 KGM-100을 선발하였으며, 이 균주의 항진균 활성을 조사하였다. 선발된 KGM-100 균주의 형태적, 생리화학적 특성을 조사한 결과 *Pseudomonas aeruginosa*로 동정되었으며, 본 균주에 의해 생산되는 근부병원균 생육 억제 물질은 열에 안정한 저분자의 항생물질인 것으로 확인되었다. *P. aeruginosa* KGM-100은 또한 iron chelating agent인 siderophore를 생산하였으며, 이는

pseudobactin인 것으로 추정되나 *in vitro*에서 활성을 보이지 않았다. 또한, pot test 결과 *P. aeruginosa* KGM-100 균주를 *Fusarium solani*와 함께 처리하였을 경우 *Fusarium solani* 만 처리한 시험구에 비해 30~50%의 방제효과가 나타났다.

감사의 말

본 연구는 1993년도 대산농촌문화재단의 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Kim, C.J., I.K., Lee, B.S., Yun, and I.D., Yoo. 1993. Concanamycin B, active substance against *Phytophthora capsici* produced by *Streptomyces neyagawaensis* 38D10 Strain. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 21: 322-328.
2. Scher, F.M. and R. Baker. 1982. Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on Induction of soil suppressiveness to *Fusarium Wilt Pathogens*. *Phytopathology* 72: 1567-1573.
3. Weller, D.M. and R.J. Cook. 1983. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent *Pseudomonads*. *Phytopathology* 73: 463-469.
4. Pusey, P.L. 1989. Use of *Bacillus subtilis* and related organisms as biofungicides. *Pestic. Sci.* 27: 133-140.
5. Baker, C.J., J.R. Stavely, M.S. Thomas, and J.S. Macfall, 1983. Inhibitory effect of *Bacillus* on *Uromyces phaseoli* and development of rust pustules on bean leaves. *Phytopathology* 73: 1148-1152.
6. Kim, C.H. 1989. Biological control of phytophthora blight of red-peper in Korea. *Korean J. Plant Pathol.* 5: 100-105.
7. Messenger, A.M. and M. Turner. 1983. Effect of growth conditions on phenazine production by

- Pseudomonas phenazinium*. *J. Gen. Micro.* **129**: 1013-1018.
8. Brisbane, P.G., J.R. Harris, and R. Moen. 1989. Inhibition of fungi from wheat roots by *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biol. Biochem.* **21**: 1019-1025.
 9. Gutterson, N.I., Layton, T.J., Ziegler, J.S. and Warren, G.J. 1986. Molecular cloning of genetic determinants for inhibition of fungal growth by a fluorescent *Pseudomonad*. *J. Bacteriol.* **165**: 696-703.
 10. Kloepper, J.W., J.L. Leong, M. Teintze, and M.N. Schroth. 1980. *Pseudomonas siderophores*: A mechanism explaining disease-suppressive soils. *Current Microbiology* **4**: 317-320.
 11. Sally, A.O., T. Peterson, and J.B. Neilands. 1979. Agrobactin, a siderophore from *Agrobacterium tumefaciens*. *J. Bio. Chem.* **254**: 1860-1865.
 12. Michell, R. 1963. Addition of fungal cell-wall components to soil for biological disease control. *Phytopathology* **53**: 1068-1071.
 13. Lim, H.S. and S.D., Kim. 1990. Antifungal mechanism of *Pseudomonas stutzeri* YPL-1 for biocontrol of *Fusarium solani* causing plant root rot. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech.* **18**: 81-88.
 14. Smibert, R.M. and N.R. Krieg. 1981. General characterization. In *Manual of Methods for General Bacteriology* (G. Murray, C. Nester, K. Wood, and M. Phillips, eds.), Pp. 409-443. ASM.
 15. Cappuccino, J.G. and N. Sherman. 1987. *Microbiology, A Lab Manual*, 2nd ed., Pp. 248. The Benjamin/Cummings Publishing Co, Inc.
 16. Flach, J., P.E. Pilet, and P. Jolles. 1992. What's new in chitinase research? *Experientia* **48**: 701-716.
 17. Teintze, M., M.B. Hossain, C.L. Baines, J. Leong, and D. van der Helm. 1981. Structure of ferric pseudobactin, a siderophore from a plant growth promoting *Pseudomonas*. *Biochemistry* **20**: 6446-6457.
 18. Misaghi, I.J., L.J. Stowell, R.G. Grogan, and L.C. Spearman. 1982. Fungistatic activity of water-soluble fluorescent pigments of fluorescent *Pseudomonads*. *Phytopathology* **72**: 33-36.
 19. Suslow, T.V. and M.N. Schroth. 1981. Rhizobacteria of sugar beets: Effects of seed application and root colonization on yield. *Phytopathology* **72**: 199-206.
 20. Yigal, E. and B. Ralph. 1985. The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamydospore germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* **75**: 1053-1059.
 21. Brisbane, P.G. and A.D. Rovira. 1988. Mechanisms of Inhibition of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by Fluorescent *Pseudomonas*. *Plant Pathology* **37**: 104-111.

(Received 14 November 1994)