

미생물제에 의한 잔디의 토양전염병 방제 효과

박규진 · 김영호* · 박은경 · 김동성¹
한국인삼연초연구원, ¹ 파천연구소

Effect of a Microbial Product on the Control of Soilborne Diseases of Turfgrasses

Kyu Jin Park, Young Ho Kim*, Eun Kyung Park and Dong Sung Kim¹

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute, 302 Shinseong-Dong, Yuseong-Ku, Taejon 305-345, Korea
¹Pah-Chun Research & Development Laboratory, 59-3 Hwaam-Dong, Yuseong-Ku, Taejon 305-348, Korea

ABSTRACT : A microbial product composed of three antagonistic fungal isolates (*Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. and *Trichoderma* sp.) and three bacterial isolates (*Arthrobacter* sp., *Bacillus* sp., and *Pseudomonas* sp.) was tested for the control of *Pythium* blight caused by *Pythium* sp., brown patch by *Rhizoctonia solani* (anastomosis group(AG) 1-1) and large patch by *R. solani* (AG 2-2) of turfgrasses. Cultures of the antagonistic fungi and bacteria varied in the effectiveness in reducing disease severity of *Pythium* blight and brown patch on bentgrass. The antagonistic fungal and bacterial isolates were mixed and cultured at 20-25°C for 3 days in a growth medium, and the diluted solution of the microbial culture was applied under the field conditions after inoculation of the above turfgrass pathogens. The treated turfgrass was incubated at 28°C in a growth chamber. In this experiment, *Pythium* blight was almost completely controlled and brown patch was slightly decreased by the microbial product, while no control was observed in large patch of zoysiagrass. In zoysiagrass treated with the microbial culture, thatch accumulation was notably reduced.

Key words: microbial product, *Pythium* blight, brown patch, large patch, turfgrass.

골프장, 공원, 정원의 잔디는 밀식, 시비 등 인위적인 환경 조건에서 자라며, 풀깎기와 보행에 의해 식물체가 상처를 입고, 토양이 다져지는 등 재배관리 중에 여러가지 stress를 받는다. 이러한 위락시설에서의 잔디는 야생의 잔디보다 병원균에 의해 쉽게 발병될 수 있는 조건을 갖추고 있다. 잔디에 발생하는 염성병은 대부분 곰팡이 병원균에 의해 발생하고, 병의 방제는 주로 약제 살포와 경종적인 방법에 의해 이루어지고 있다(13). 우리나라 골프장 잔디의 경우도 곰팡이에 의한 전염성병이 주종을 이루고 있으며(3,7,10,11, 14), 그 중 *Rhizoctonia* spp.와 *Pythium* spp.에 의한 마름병 등 토양전염성병의 발생빈도가 높아 골프장의 잔디 관리에 문제가 되고 있다. 특히 골프장의 그린(green)에서 주로 발생하는 피시움성마름병은 습도가 높을 때 전염되며 잔디를 고사시켜 단기간에 큰 피해를

줄므로 많은 골프장에서는 장마철을 전후로 주로 이 병의 방제에 전력하고 있는 실정이다.

잔디는 일년생 작물과는 달리 지속적으로 한 곳에서 재배되기 때문에 토양전염성 병을 방제하기 위한 적용 가능한 방법이 상대적으로 제한되어 있어서 잔디에 토양전염성 병이 발생하면 효과적으로 방제하기가 여간 어렵지 않다. 살균제 농약은 발병기에 병의 발생을 한시적으로 억제하나 전염원의 완전 제거는 어려워, 다음 시기에 발병 조건이 갖추어지면 병이 재발할 가능성이 높다. 따라서 농약과 경종적인 방법을 병합한 종합적인 방제 방법만이 잔디 토양병을 지속적으로 방제할 수 있을 것이다. 하지만 최근 우리나라 골프장에서 농약 과다 사용이 환경오염과 관련하여 사회적으로 문제시되고 있으며, 또한 앞으로 생활수준 향상과 더불어 골프장을 위시한 휴식 및 오락 공간과 그 이용의 증가에 따른 잔디의 식재면적과 이용성이 증대될 전망으로 농

* Corresponding author

약의 사용을 줄일 수 있는 효과적인 병해충의 방제법 개발이 요구되고 있다. 따라서 미생물에 의한 병해충의 생물학적 방제는 이러한 요구에 부응할 수 있는 하나의 방법이 된다.

지금까지 미생물에 의한 토양병의 생물학적 방제에 대한 많은 연구가 이루어져 왔다(15). 이들 대부분 미생물은 식물의 뿌리나 종자에 처리하는 방법을 사용하는데, 포장 토양에 직접 처리하는 경우는 극히 드물다. 우리나라에서도 벼(9), 고추(4,8), 딸기(12), 오이(2) 등의 곰팡이병에 대한 생물학적 방제 효과 검증이 이루어졌다. 그러나 아직 농가에서 실용화된 사례는 거의 없다. 이러한 이유는 미생물제의 병방제 효과가 유기합성 농약처럼 효과가 가시화되기 힘들며, 약의 포장에서는 병방제 효과가 상실되거나 지역이나 환경에 따라 방제 효과의 균일성이 결여되기 때문이다.

한국인삼연초연구원에서는 1980년 부터 인삼 뿌리썩음병에 대한 생물학적 방제연구를 실시한 결과 토양으로 부터 곰팡이 3 균주와 세균 3 균주의 유용미생물을 분리하였고, 이들을 혼합배양하여 인삼포에서 병방제에 이용하고 있다(6). 여러가지 미생물을 사용하므로 이의 대상이 될 수 있는 병원균의 범위가 넓어질 것으로 생각되며, 또한 위에서 언급한 잔디의 토양병원균이 인삼 뿌리썩음병 토양병원균 종류(16)와 유사하여 이 미생물제의 잔디 토양병 방제에 적용 가능성이 있다고 하겠다. 따라서 이 시험에서는 잔디의 주요 토양병 방제용 미생물제의 개발을 목적으로 미생물제 균주의 항균성, 혼합배양액의 항균성 그리고 실제 포장상태에서의 방제 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

길항미생물. 본 시험에서는 인삼연초연구원 에서 1980년 부터 생물학적 방제 연구를 실시한 결과 인삼뿌리썩음병을 억제하는데 유효한 6종의 미생물을 사용하였다. 사용된 길항미생물 균주는 AN 101 (*Arthrobacter* sp.), AN 202 (*Bacillus* sp.), AN 303 (*Pseudomonas* sp.) 등 3 종의 세균과 A 101 (*Aspergillus*

sp.), B 202 (*Penicillium* sp.), C 303 (*Trichoderma* sp.) 등 3 종의 곰팡이였다. 곰팡이 균주의 경우는 1000ml 배양병내 감자물배지 (potato dextrose broth; PDB)에서 25℃로 15일간 정치배양하였다. 배양 후 균체 (포자 + 균사)를 수거하여 Homogenizer로 분쇄하고, 20ml의 vial에 분주한 후 동결건조하였다. 또한 세균의 경우는 M523 배지 (soluble starch 0.5%, yeast extract 0.05%, peptone 0.05%, K₂HPO₄ 0.3%, MgSO₄ 0.02%)에서 27℃로 2일간 72rpm으로 진탕배양하고, 0.2% calcium chloride로 균체를 침전시켜 수거한 후 동결건조하였다. 각각의 균체 침전액에 skim milk를 5% 되게 혼합한 후 20ml vial에 8ml씩 분주하여 Freezer drier에서 진공동결건조하였다. 각 균주는 단독으로 또는 곰팡이 균주 모두 또는 세균 균주 모두를 혼합하여 동결건조하였다.

잔디 병원균 및 병원성 확인. 시험에 사용된 병원균으로 브라운패취 (brown patch)의 병원균인 *Rhizoctonia solani* (anastomosis group (AG) 1-1)와 라지패취 (large patch) 병원균인 *R. solani* (AG 2-2)는 각각 서울시립대학교와 잔디연구소에서 분양받았으며, 피시움성마름병 (*Pythium* blight)의 병원균인 *Pythium* sp.는 이병잔디에서 분리하였다. 각각의 병원균은 감자찬천배지 (potato dextrose agar medium; PDA)에서 배양한 후, 호밀과 모래 (1:10, v/v) 혼합 살균토양에 접종한 다음, 28℃에서 2주간 배양하여 접종원으로 사용하였다. 잔디는 유성칸트리 클럽의 보식용 묘포지에서 bentgrass (*Agrostis palustris* Huds. cv. Pencross) (벤트그라스)와 zoysia-grass (*Zoysia japonica* Steud.) (한국들잔디)를 보식용 원통삽으로 채취하여 지름 12cm, 깊이 15cm pot에 옮겨 심었다. 잔디의 병원균을 배양한 호밀과 모래 혼합토양을 지제부에 골고루 뿌려주어 접종한 후 28℃ 접종상에 놓아두었다. 각각의 잔디는 수분을 유지하기 위하여 vinyl을 덮어주었으며, 접종 2 주후에 병발생을 관찰하였다.

유용미생물의 항균력 조사. 길항세균의 항균활성의 조사에 있어서는 M523 agar 배지,

PDA, King B agar, dextrose glutamic acid agar 배지를 aluminum foil로 바닥을 봉한 aluminum ring (지름 5cm, 높이 1cm)에 넣고, 배지의 표면에 길항세균을 접종하였다. 길항세균의 접종 후 배지를 25°C에서 48시간 배양한 다음, aluminum ring을 뒤집어서 aluminum foil을 제거하고 배지의 중앙에 병원균의 균사 절편을 접종하였다. 병원균 접종 후 25°C에서 배양하면서 병원균의 균사 생육을 관찰하였다.

길항미생물 균주별 잔디병 억제 효과 (pot 실험). 이 실험에서는 피시움성마름병과 브라운패취에 대한 길항미생물의 방제효과를 조사하였다. 길항곰팡이는 PDB에 각각의 균주를 접종하여 25°C에서 14일간 배양하였고, 세균의 경우는 M523배지에 세균 균주를 각각 접종하고 25-27°C로 2일간 배양하였다. 각각의 배양여액은 물로 10배 희석하여 처리하였다.

이 실험에서는 이 두 병에 피해를 받는 벤트그라스 (cv. Pencross)를 검정식물로 사용하였다. 유성 칸트리 클럽에서 얻은 잔디 종자를 살균된 잔디 묘포지용 토양이 담긴 지름 12cm, 깊이 15cm의 pot에 파종하였다. 파종 18일 후 잔디가 출아하여 1cm 정도 자랐을 때 병원균을 배양한 호밀과 모래 혼합토양을 pot당 2teaspoon씩 지제부에 골고루 뿌려주고, 길항미생물의 배양희석액을 pot 당 100ml 씩 뿌려주었다. 처리 후 수분을 유지하기 위해 잔디를 vinyl로 덮어 주었으며 28°C 놓아두었다. 처리 1주후 병발생을 관찰하여 길항미생물의 배양액의 방제효과를 조사하였다. 처리 당 3 반복으로 실시하였다.

증식배양액에서의 길항미생물 밀도 및 배양액의 항균력 조사. 길항미생물의 접종으로 증식배양액 (지하수 1000ml에 soluble starch 0.6g, K₂HPO₄ 0.24g, CaCO₃ 0.24g, MgSO₄ 0.12g, Urea 0.24g, sucrose 10g 비율로 조제)에 10 L 당 동결건조한 곰팡이 혼합균주 및 세균 혼합균주를 각각 1 병씩을 주입하였다. 길항미생물의 접종 후 증식배양액을 27°C에서 2일간 (1일 2-3 회 흔들어 줌) 배양하였다. 배양후 곰팡이와 세균의 밀도를 dilution pour

plate 법으로 조사하였다. 곰팡이의 밀도는 lactic acid를 0.1% 첨가한 PDA 배지에, 세균의 밀도는 soil extract agar (SEA) 배지 (물과 토양을 동량으로 섞어서 살균한 후 filter paper로 걸른 여과액을 4 배 희석한 용액 1L에 dextrose 10g, K₂HPO₄ 0.4g, MgSO₄ · 7H₂O 0.2g, Yeast extract 1g, agar 15g을 첨가하여 조제)에 배양희석액을 평판하여 3-4 일후 형성된 균총수로 조사하였다. Urea (요소) 대신 동량 (500ppm)의 다른 질소원인 NaNO₃와 NH₄NO₃를 첨가한 증식배양액에서도 미생물혼합균주를 배양하여 질소원을 달리한 증식배양액에서의 미생물의 밀도 증식과 배양액의 항균활성을 비교하였다.

길항미생물 배양액 10ml를 20ml vial에 분주하고 동결건조한 후 여기에 1ml의 methanol을 첨가하였다. 이 methanol 용액을 지름 8mm의 paper disc에 0.06ml씩 흡수시키고, methanol을 실온에서 휘발시킨 후 잔디의 3 가지 병원균 (*R. solani* AG 1-1, *R. solani* AG 2-2, *Pythium* sp.)의 균사 agar 절편 (지름 7 mm)과 2.5cm 간격을 두어 PDA 배지에 올려 놓고, 25°C에서 병원균을 배양하였다. 병원균 접종 4일 후 배양액이 흡수된 paper disc와 그 반대편의 균사생육 정도를 비교하여 배양액의 항균력을 조사하였다.

또한 증식배양액에 주입되는 길항미생물의 접종량을 원래 접종량의 10, 1, 1/10, 1/100 배로 하여 길항미생물을 증식하였다. 증식된 배양액에서의 곰팡이 및 세균의 밀도와 배양액의 항균력을 위에서 언급한 방법으로 조사하였다. 항균력 조사는 *R. solani*를 대상으로 실시하였다.

길항미생물제의 야외 포장 처리에 의한 잔디병 방제효과 조사. 동결건조한 길항미생물의 균주 (곰팡이 혼합균주 및 세균 혼합균주)를 각각 1 vial씩 증식배양액에 접종한 후 실온 (20-25°C)에서 3일간 배양하였고, 이 미생물 배양액을 10배 희석하여 길항미생물제로 사용하였다. 시험포는 유성 칸트리 클럽 보석용 묘포지를 사용하였는데, 묘포지를 1m×1m로 구획을 짓고 호밀과 모래의 혼합토양에서 배양한 접종원을 평방 미터당 약 5g 씩 골고

루 살포한 후 길항미생물제를 평방 미터당 1.5L 씩 살포하였다. 피시움성마름병과 브라운패취의 경우는 벤트그라스 묘포지에서, 라지패취의 경우는 한국들잔디 묘포지에서 시험을 수행하였다. 각 시험의 처리는 3 반복으로 실시하였다.

병원균 접종 및 길항미생물제 살포 후 처리구 안쪽 (50cm×50cm)의 잔디를 원통삽으로 지름 12cm, 깊이 15 cm 정도의 크기로 각각 4-5개 씩 채취하여 25cm×75cm×15cm plastic pot에 옮겨 심고 28℃ 접종상에 보관하였다. 수분을 유지하기 위해 잔디를 vinyl로 덮어 주었으며, 2주후 병의 발생과 길항미생물제에 의한 방제효과를 조사하였다.

결 과

잔디 병원균의 병원성 확인. 잔디의 토양전염성 병원균인 *R. solani* AG 1-1 (브라운패

취), *R. solani* AG 2-2 (라지패취), *Pythium* sp. (피시움성마름병)의 병원성을 조사한 결과 이들 병원균은 모두 병원성이 있는 것으로 확인되었다. *R. solani* AG 1-1과 *Pythium* sp.에 의해서는 벤트그라스 잎과 엽초가 고사하는 병징이 유발되었다. *R. solani*에 의한 병발생이 가장 빨라 1주 이내에 증상이 나타났으며, *Pythium* sp.에 의해서는 1주에서 2주 사이에 나타났다. 이 두 병원균에 의해서는 발병 후기에 잔디가 대부분 고사하였다. 그러나 *R. solani* AG 2-2에 한국들잔디에서의 병발생은 15일 이후에나 관찰할 수 있었는데 병의 증상이 미약하여 식물의 자연적인 노쇠에 의한 증상과 구분하기 어려웠고, 병의 진전 속도가 느려 신초의 재생에 의해 잔디가 빨리 회복되었다.

유용미생물의 항균력 조사. 잔디 토양전염성병의 3가지 주요 병원균에 대한 길항미생물제의 세균 균주의 항균력은 Table 1에 나타난

Table 1. Antibiotic effects of the useful bacterial isolates on the growth of turfgrass pathogens in different media^a

Medium ^b	Bacterial isolate	Growth status ^c of turfgrass pathogens		
		<i>Pythium</i> sp.	<i>R. solani</i> AG 1-1	<i>R. solani</i> AG 2-2
PDA	Control	++	++	++
	AN 101 (<i>Arthrobacter</i> sp.)	--	--	--
	AN 202 (<i>Bacillus</i> sp.)	-	-	-
	An 303 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	++	++	++
M523	Control	++	++	++
	AN 101	-	-	--
	AN 202	-	-	--
	An 303	--	--	+
KBA	Control	+	+	+
	AN 101	++	++	+
	AN 202	+	++	+
	An 303	+	++	-
DGA	Control	++	++	++
	AN 101	-	-	-
	AN 202	--	-	--
	An 303	++	+	+

^a Tested by agar ring method.

^b KBA; King B agar, DGA; dextrose glutamic acid agar.

^c Growth status is indicated as ++ (very good), + (good), - (poor) and -- (very poor) on the medium.

바와 같이 잔디 병원균에 대한 유용 세균의 항균력은 균주와 배지 종류에 따라 차이가 있었다.

King B 배지에서는 유용세균의 항균력이 거의 나타나지 않았다. AN 303 (*Pseudomonas* sp.)의 경우는 M523 배지에서 *R. solani*에 대한 항균력이 높았으나 그 외의 배지에서는 뚜렷한 항균효과를 관찰할 수 없었다. AN 101 (*Arthrobacter* sp.)는 PDA에서 (Fig. 1), AN 202 (*Bacillus* sp.)는 DGA배지에서 항균활성이 가장 컸다. 전체적으로 볼 때 길항미생물체의 유용세균의 균주 중 AN 101과 AN 202가 항균활성이 높으며, AN 303은 상대적으로 항균활성이 낮은 것으로 나타났다.

길항미생물의 균주별 잔디병 억제 효과 (pot 실험). 길항미생물의 곰팡이 균주 배양액, 세균 균주 배양액을 처리하였을 때 피시움성마름병과 브라운패취에 대한 발병억제효

과가 미생물체 균주간에, 그리고 대상 병원균간에 차이가 있었다 (Table 2). 즉 *Pythium* sp.에 대해서는 B 202 (*Penicillium* sp.)와 AN 101 (*Arthrobacter* sp.), AN 202 (*Bacillus* sp.)의 병발생 억제 효과가 컸으며, C 303 (*Trichoderma* sp.)과 AN 303 (*Pseudomonas* sp.)은 그 효과가 미미하였다 (Fig. 2A). 반면에 *R. solani* AG 1-1에 대해서는 C 303의 효과가 가장 컸으며, B 202의 병발생 억제 효과는 거의 없었다 (Fig. 2B).

증식배양액에서의 길항미생물의 밀도 및 배양액의 항균력. 증식배양액에서 6 가지 길항미생물을 혼합하여 접종하고 3 일간 실온에서 배양하였을 때 배양액은 탁해졌으며 독특한 냄새를 지니고 있었다 (이 길항미생물체의 혼합배양액은 탁도와 냄새로 배양상태를 어느 정도 가늠할 수 있다). 배양액에서의 길항미생물의 밀도는 길항곰팡이가 2.4×10^5 /ml, 길

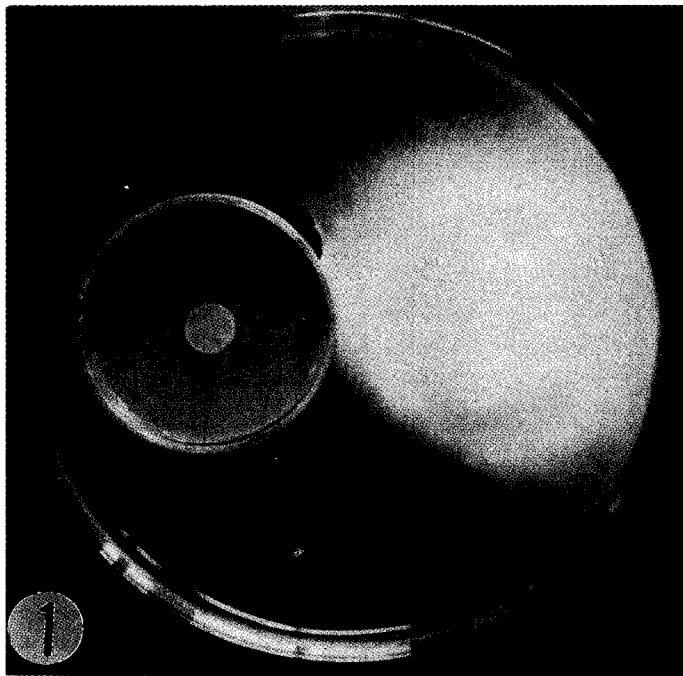


Fig. 1. Inhibition of mycelial growth of *Pythium* sp. by AN 101 (*Arthrobacter* sp.) inoculated on the back side of the agar medium. Note no mycelial growth on the medium inoculated with the bacteria (left) and prominent mycelial growth on the control medium.

Table 2. Effect of the cultures of useful fungal and bacterial isolates on soilborne diseases of turfgrass in the growth chamber

Microbial isolate ^a	Plant growth status ^b	
	Pythium blight	Brown patch
No treatment	—	—
AN 101 (<i>Arthrobacter</i> sp.)	++	+
AN 202 (<i>Bacillus</i> sp.)	++	+
AN 303 (<i>Pseudomonas</i> sp.)	+	±
A 101 (<i>Aspergillus</i> sp.)	+	+
B 202 (<i>Penicillium</i> sp.)	++	—
C 303 (<i>Trichoderma</i> sp.)	—	++
Healthy control	++	++

^a Each fungal isolate was cultured in PDB for 14 days, and each bacterial isolate was cultured in M523 for 2 days. Each culture solution was diluted ten times, and applied to pots (100 ml/pot).

^b Plant growth status was observed 7 days after inoculation and treatment:—; very poor growth (severe blight), ±; poor growth, +; intermediate growth, and ++; good growth.

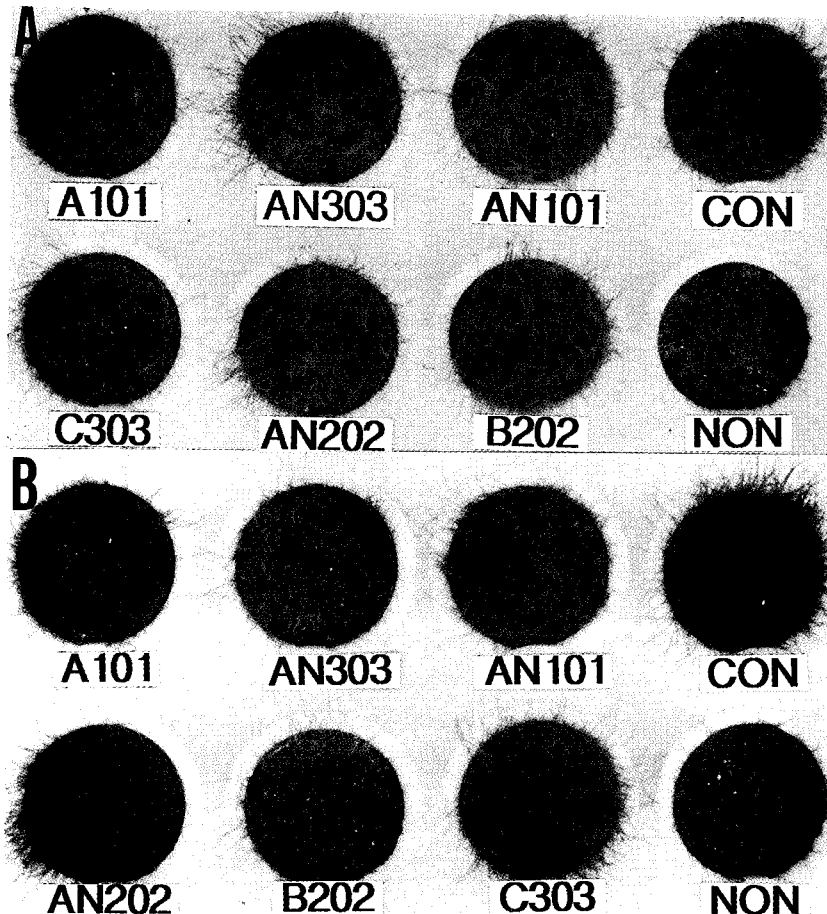


Fig. 2. Effects of cultures of antagonistic microorganisms on the control of *Pythium* blight caused by *Pythium* sp. (2A) (upper) and brown patch by *R. solani* AG 1-1 (2B) (lower). AN101; *Arthrobacter* sp., AN202; *Bacillus* sp., AN303; *Pseudomonas* sp., A101; *Aspergillus* sp., B202; *Penicillium* sp., C303; *Trichoderma* sp., NON; no microorganism treated, CON; healthy control (no inoculation of the pathogens and no treatment of antagonistic microorganisms).

Table 3. Population densities of useful fungi and bacteria and antibiotic activity of the microbial culture with different nitrogen sources

Nitrogen source	Population density (cfu/ml) ^a		Inhibition of mycelial growth ^b		
	Useful fungi	Useful bacteria	<i>Pythium</i> sp.	<i>R. solani</i> (AG 1-1)	<i>R. solani</i> (AG 2-2)
Urea	2.4×10^5	1.4×10^7	36.8	13.3	8.4
NaNO ₃	1.9×10^5	1.2×10^7	33.3	12.5	7.5
NH ₄ NO ₃	1.7×10^5	0.5×10^7	17.9	8.7	0.0

^a Numbers are averages of 8 replications. ^b Numbers are averages of 3 replications.

Table 4. Population densities of useful fungi and bacteria and antibiotic activity of the microbial culture with different inoculum concentrations

Inoculum concentration	Population density (cfu/ml) ^a			Mycelial growth inhibition(%) ^b
	Useful fungi	Useful bacteria	Other microbes	
× 10	6.2×10^4	7.7×10^7	- ^b	16.0
× 1	1.2×10^4	7.4×10^7	-	17.0
× 0.1	0.7×10^4	0.4×10^7	3.1×10^7	0.0
× 0.01	-	-	3.2×10^7	0.0

^b Numbers are averages of 3 replications; -: not detected at the concentration of 10^4 (bacteria and other microbes) and 10^7 (fungi) population density levels.

^a Inhibition of mycelial growth of *R. solani*. Numbers are averages of 3 replications.

항생균이 1.4×10^7 /ml 이었다 (Table 3). 길항미생물체 혼합배양액의 3 가지 잔디 토양병원균에 대한 항균력 조사에서는 *R. solani* AG 1-1가 13.3%, *R. solani* AG 2-2가 8.4%, *Pythium* sp.가 36.3% 균사생육이 저지되는 등, *Pythium* sp.에 대한 항균력이 가장 강하였고, *R. solani* AG 2-2에 대해서는 가장 낮은 것으로 나타났다.

요소 대신에 다른 질소원을 배지에 첨가하였을 때 NaNO₃는 미생물의 증식과 배양액의 항균활성이 요소를 첨가한 배양액과 유사하였으나 NH₄NO₃를 첨가한 배지는 미생물의 밀도 증식이 현저히 저하되었으며 배양액의 항균력도 낮아졌다.

접종량에 따른 증식배양액에서의 길항미생물의 생장은 Table 4에서 나타난 바와 같이 길항곰팡이에 있어서는 접종량이 낮아질수록 배양액에서의 밀도가 낮아져 1/100 접종량에서는 검출되지 않았다. 길항세균은 기준접종량 (×1)과 10배의 접종량의 배양액에서 유사

한 정도의 밀도를 보였으나, 1/10 접종량에서는 배양액의 세균 밀도가 크게 낮아졌고 1/100 접종량에 있어서는 검출되지 않았다. 특히 1/10 접종량 이하의 배양액에서는 길항미생물이 아닌 다른 잡균이 많이 번식하였다. 배양액의 항균력에 있어서는 10배 및 기준 접종량의 배양액에서 항균력이 있었으나, 1/10 접종량 이하에서는 항균력이 나타나지 않았다.

길항미생물체제의 야외 포장 처리에 의한 잔디병 방제효과. 미생물체제의 배양액을 잔디밭에 처리를 하여 잔디의 3 가지 토양전염성에 대한 방제효과를 시험한 결과는 Table 5에 나타난 바와 같이 *Pythium* sp.에 의한 피시움성마름병 방제효과가 매우 우수하였다. *Pythium* sp.만 접종한 잔디는 거의 고사하였으나, 길항미생물을 처리한 잔디는 생육이 양호하였다 (Fig. 3A, 3B). *R. solani* AG 1-1에 의한 브라운패취의 방제효과에도 유의성은 있었으나 피시움성 마름병에 비하여 상대적으로 현저히 저조하여 잔디의 생육이 조금 호전되

Table 5. Effect of antagonistic fungal and bacterial isolates on soilborne diseases of turfgrass in the field conditions

Treatment ^a	Disease severity		
	Pythium blight	Brown patch	Large patch
Microbial product	-	++	+
No treatment	+++	+++	+

^a Culture solutions (diluted 10 times) were treated on turfgrass fields (bentgrass for Pythium blight and brown patch, and zoysiagrass for large patch) after inoculation of the pathogens.

^b Disease severity observed 2 weeks after inoculation and treatment:
-; no or very little disease, +; little disease, ++; intermediate disease, and +++; severe disease.

어 잔디의 밀도가 대조구에 비해 다소 높게 나타나는데 불과했다. 한국들잔디의 라지패취의 경우는 병발생이 심하지 않았으나, 대조구와 처리구가 모두 유사한 증상을 보여 유의성 있는 방제효과가 나타나지 않았다. 그러나 한국들잔디에서는 이듬해 봄에 잔디가 새로이 자랄 때 길항미생물 처리구에서 텃치 (thatch)의 축적이 정상 대조구에 비해 눈에 띄게 적었다 (Fig. 4A, 4B).

고 찰

이 시험에서 벤트그라스에 문제가 되는 토양전염성병의 병원균인 *Pythium* sp.와 *R. solani* AG 1-1은 병원성이 강하며 심한 피해를 줄 수 있는 것으로 나타났다. 한국들잔디에서 *R. solani* AG 2-2에 의한 병은 발병속도가 느리고 피해중상도 심하지 않는 것으로 나타났다. 그러나, 정 등 (3)에 의하면 *R. solani*의 한 균주가 한국들잔디를 완전히 고사시키는 병원성을 나타냈다. 그들의 연구와 우리 연구에서는 사용한 균주가 서로 다르고, 또한 그들의 연구에서는 종자를 파종하여 얻은 잔디인데 반해 우리의 연구에서는 포장에서 떠온 떼를 직접 사용하였다. 아마도 이러한 차이로 인하여 병원성에 차이가 있었을 것으로 생각된다.

길항미생물제에 의한 이들 3 가지 잔디병의 방제효과를 조사한 결과 *Pythium* sp.에 의한 피시움성마름병에 대해서만 탁월한 방제효과

를 얻을 수 있었던 반면, 다른 2 가지 병에 대해서는 직접적이고 빠른 방제가 이루어지지 않았다. 이 실험은 포장상태에서 길항미생물을 처리하였고 단지 병을 유발하기 위하여 처리한 잔디를 접종상에 옮겨 놓은 것으로 그 효과가 포장 상태에서의 효과로 간주할 수 있다고 생각한다. 포장에서의 전염원 밀도를 감안할 때 본 시험에서 사용된 병원균의 접종량은 매우 높았고 병발생에 좋은 조건 하에서도 피시움성마름병의 방제효과가 아주 높았다. 이는 실제 포장에서도 이와 유사한 또는 이보다 더 높은 방제효과가 기대된다고 하겠다. 실제로 유성 칸트리 클럽의 green에 이 미생물을 사용하기 시작한 1992년도 이후 피시움성마름병이 거의 문제가 되지 않고 있다. 그러나 미생물제의 처리시기에 따라 방제효과가 변하며, 길항미생물의 생육이 기상 상태, 잔디의 생육, 토양의 이화학성 등에 의해 달라질 수 있으므로 이에 대한 연구가 있어야 실용적인 방제 방법이 구축될 수 있을 것으로 사료된다. 이 시험에서는 브라운패취와 라지패취에 대한 방제효과가 낮거나 없었는데, 방제효과 개선의 위해 새로운 균주 선발, 균주 조합의 변화, 배양방법의 개선 등에 대한 연구가 이루어져야 할 것이다.

미생물의 길항작용의 기작은 중복감염 (hyperparasitism), 영양과 서식처에 대한 경쟁 (competition) 및 항생물질에 의한 항생작용 (antibiosis) 등으로 나눌 수 있다(1). 이 시험에 사용된 6 가지 균주는 대상 병원균에 따

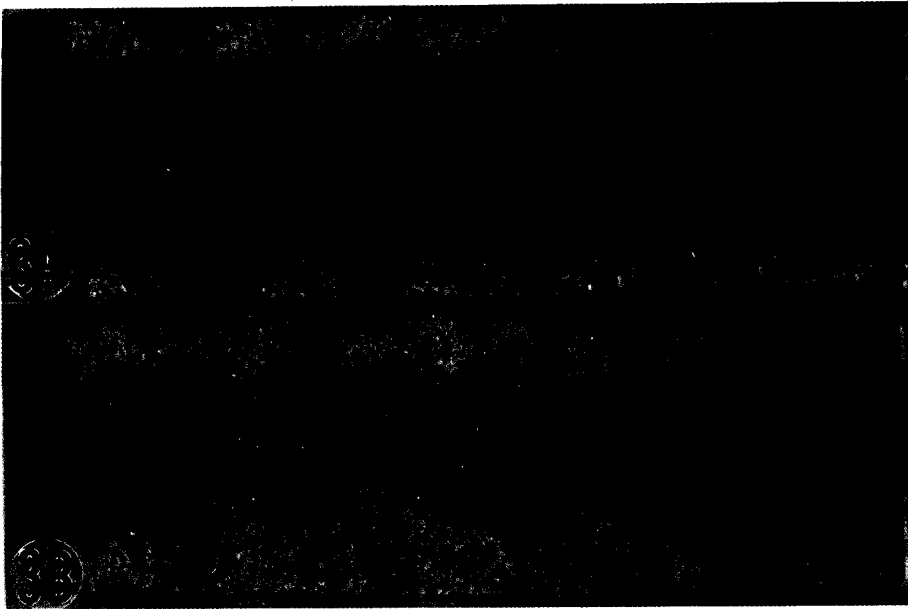


Fig. 3. Control effect of the microbial product on Pythium blight of bentgrass caused by *Pythium* sp., showing healthy plant status in the microbial-treated pot (3A) (upper) and almost completely blighted turfgrass in the pot without the microbial treatment (3B) (lower).



Fig. 4. Reduction of thatch accumulation in zoysiagrass by the microbial product. Note the difference in thatch accumulation between the microbial treatment (4A) (left) and control (4B) (right).

라 균주별 발병 억제 효과에 차이를 보였는데, 균주별로 병원균에 대한 길항작용의 기작이 다르며, 같은 기작을 가지더라도 그 능력에 있어서 차이가 있다고 생각한다. 길항세균의 실내 항균활성과 pot에서의 발병 억제 효과가 유사한 경향을 보였다. 즉 항균활성이 높은 AN 101과 An 202가 상대적으로 항균활성이 낮은 AN 303보다 피시움성마름병과 브

라운패취 발병 억제효과가 컸다. 따라서 세균의 경우 길항작용의 주요 기작이 항생물질에 의한 항생작용과 관련이 높을 것으로 사료된다. 그러나 *In vitro*에서 항균효과가 우수하였던 방선균 균주의 배양액이 이들 병발생의 억제에는 전혀 효과가 없었다 (미보고자료). 또한 이실험에서 길항곰팡이인 C 303은 브라운패취에 대해서는 효과가 컸으나, 피시움성마

름병에 대해서는 효과가 없었으며, B 202는 이와 정반대의 길항효과를 보였는데, 실내시험에서 이 두 길항곰팡이 모두는 *Pythium* sp.와 *R. solani*의 균사 생장 억제 효과가 매우 높은 것으로 나타나 있다(6). 따라서 미생물의 항생물질의 생산이 실제 병방제 효과와 직결되는 것은 아니라고 하겠다.

길항미생물을 사용한 생물학적 방제에 있어서 가장 문제가 되는 것은 실내 및 온실 시험에서 효과가 인정된 미생물제가 야외 포장에서는 기대 만큼의 효과가 나타나지 않는다는 점이다. 이와 관련된 중요한 요인으로는 길항미생물의 토양 정착과 토양에서의 생육이라 볼 수 있다. 특히 단일 균주를 사용하였을 때는 토양 정착이나 생육에 있어서 환경의 영향을 크게 받아 방제 효과의 균일성이 결여되기 쉽다. Jeong 등(5)은 길항미생물인 *Gliocladium virens*와 *Pseudomonas putida*의 균주가 작물의 근권에 함께 정착할 수 있을 뿐만 아니라 오히려 협력 효과가 있다고 보고하였다. 토양 중에 여러가지 미생물 균주를 처리하여 토양 환경에 노출시켰을 때가 단일 균주 사용시 보다 미생물의 정착, 생육 및 방제효과의 환경에 의한 역작용을 어느 정도 완화시킬 수 있을 것이다. 또한 이 실험에서 나타나 있듯이 혼합균주를 사용할 경우에는 살균되지 않은 배양액에서 추가적인 배양이 용이하여, 길항미생물을 경제적으로 증식시킬 수 있다.

이 혼합미생물 균주를 기준 접종량 이상을 접종하여 배양하였을 때 살균한 배지와 살균하지 않은 배지 사이의 미생물 밀도 증식에 차이가 없었으며, AN 101 단독으로 접종하였을 때 보다 AN 101과 AN 303을 혼합 접종하였을 때가 AN 101의 밀도가 300배 정도 증가하였다 (미보고자료). 또한 AN 303 (*Pseudomonas* sp.)은 금속이온을 킬레이팅하고 유해 미생물의 독성 물질의 생산을 억제하여 식물의 생육을 도모한다(6). 이는 미생물의 토양 정착, 생육 및 활동에 있어서 이들 균주간에 상호 보완적인 작용을 하여 병방제 효과를 제고할 수 있는 것으로 생각된다. 그러나 기준 접종량의 1/10 이하의 접종량에서는 증식배양액에서 잡균이 번식하고 배양액의 항균활성도

없어지므로 이 미생물제제의 사용시에는 주의 를 요한다. 즉 미생물제의 배양시에는 기준 접종량 이상을 접종하여야 유용미생물이 제대로 증식할 수 있으며, 배양액을 접종원으로 사용하면 잡균의 번식으로 배양액이 변질될 가능성이 높다고 생각된다.

길항미생물제를 처리하였을 때 텃치의 축적이 줄어드는 것이 이 시험에서 관찰되었다. 텃치는 병원균의 서식지가 되며, 배수를 저해하고 토양의 통기성을 불량하게 하여 병발생에 좋은 조건을 조성한다. 따라서 이러한 길항미생물의 텃치 제거 효과는 병발생 억제에 간접적인 영향을 줄 수 있을 것으로 생각된다. 앞으로 길항미생물의 텃치 제거 효과의 정확한 평가와 또한 이의 효과를 제고하기 위한 연구가 있어야 할 것이다.

요 약

복합미생물 균주 (3가지 곰팡이: *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp.; 3가지 세균: *Arthrobacter* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp.)로 구성된 미생물제의 잔디 토양 전염성 병원 *Pythium* sp.에 의한 벤투그라스 피시움성마름병, *Rhizoctonia solani* AG 1-1에 의한 벤투그라스의 브라운패취, *R. solani* AG 2-2에 의한 한국들잔디의 라지패취의 방제효과를 조사하였다. 미생물제의 각각의 균주 배양액은 피시움성마름병과 브라운패취의 발병을 억제하는데 있어서 균주간 차이가 있었다. 이들 길항미생물 균주를 혼합하여 증식배양액에서 20-25°C에서 3일간 배양하여, 잔디밭에 각각의 병원균을 접종한 후 배양액을 희석하여 잔디밭에 처리하였다. 그 결과 피시움성마름병은 거의 완전히 방제가 되었으며, 브라운패취에 의한 피해는 다소 줄어들었으나, 한국들잔디의 라지패취에 대해서는 병방제효과가 관찰되지 않았다. 길항미생물을 처리한 한국들잔디는 텃치 (thatch)의 축적이 눈에 띄일 정도로 감소하였다.

감사의 말씀

이 연구는 과학기술처 특정연구개발사업의 연

구비에 의해 수행된 연구 결과이며, 이에 감사드립니다. 연구비의 일부와 진공 동결건조기 등 기기사용을 제공하여 주신 중앙가축전염병연구소 대표 윤지병 박사님께 감사를 드립니다. 잔디 시험포를 제공하여 주신 유성칸트리 클럽 관계관 여러분과 특히 시험에 협조하여 주신 황연성 씨께 감사드립니다. 아울러 균주를 제공하여 주신 서울시립대학교 이두형 교수님, 잔디연구소 심규열 연구원님께도 고마움을 표합니다.

참고문헌

- Baker, R. 1968. Mechanisms of biological control of soil-borne pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 6:263-294.
- 조종택, 손석련, 문병주. 1992. 길항세균 *Pseudomonas gladioli*와 유기물 첨가에 의한 오이 덩굴쪼김병의 억제효과. *한국식물병리학회지* 8:8-13.
- 정영륜, 김홍태, 김태준, 조광연. 1991. 한국들잔디 (*zoysiagrass*)와 bentgrass의 병반에서 분리된 *Rhizoctonia* spp.의 배양특성과 병원성. *한국식물병리학회지* 7:230-235.
- 지형진, 남충구, 김충희. 1988. 고추역병에 대한 생물학적 방제연구 I. 길항균 분리 및 실내와 온실에서의 역가검정. *한국식물보호학회지* 4:305-312.
- Jeong, M. J., Park, C. S. and Kim H. K. 1993. Compatibility and synergism of *Gliocladium virens* and *Pseudomonas putida* and their improved competitive potential with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Korean J. Plant Pathol.* 9:12-18.
- 김홍진, 박규진, 이순구, 이종화. 1987. 인삼연좌 장애의 생물학적 방제연구. 인삼연구보고서 (재배분야: 환경 및 육종편), 3-141p. 한국인삼연초연구소
- 김홍태, 정영륜, 조광연, 황연성. 1992. 한지형 잔디인 bentgrass (*Agrostis palustris*)에 고온성 검은 마름증상을 일으키는 *Curvularia* spp.의 동정과 발병에 영향을 미치는 환경요인. *한국식물병리학회지* 8:75-80.
- Kim, W. G., Shim, G. Y., Cho, W. D. and Lee, Y. H. 1991. Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* isolates causing Rhizoctonia blight of turfgrasses. *Korean J. Plant Pathol.* 7: 257-259.
- Lee, E. J., Lee, H. J., Park, K. S. and Kim, C. H. 1990. Studies on biological control of Phytophthora blight of red-pepper IV. Performance of antagonistic agents in field under polyethylene filmhouse. *Korean J. Plant Pathol.* 6:58-64.
- Lee, Y. H., Shim, G. Y., Lee, E. J. and Mew, T. W. 1990. Evaluation of biocontrol activity of fluorescent pseudomonads against some rice fungal disease in vitro and green-house. *Korean J. Plant Pathol.* 6:73-80.
- 심규열, 김진원, 김희규. 1994. 국내 골프장 한국잔디의 라이족토니아마름병 발생. *한국식물병리학회지* 10:54-60.
- 신동범, 小林紀彦, 이준탁. 1994. 길항미생물에 의한 시설재배 딸기 눈마름병의 생물학적 방제. *한국식물병리학회지* 10:112-118.
- Shurtleff, M. C., Fermanian, T. W. and Randell, R. 1987. *Controlling Turfgrass Pests*. A Reston Book, Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 449p.
- 성재모, 박영준. 1992. 잔디 (*Zoysia japonica*)의 병반에서 분리되는 진균의 종류와 *Gaeumannomyces graminis*의 형태적 특징 및 병원성. *한국식물병리학회지* 8: 170-176.7.
- Upadhyay, R. S. and Rai, Bharat. 1988. Biocontrol agents of plant pathogens: Their use and practical constraints. In: *Biocontrol of Plant Diseases*, Vol. 1, ed. by K. G. Mujerjii and K. L. Garg, 15-36p. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.
- 유연현, 오승환. 1993. 인삼 병 연구의 과거와 현재. *고려인삼학회지* 17:61-68.