

벼 담수직파재배에서 *Pythium arrhenomanes*에 의한 벼모싹음병의 생물학적 방제

문병주* · R. W. Schneider¹ · 박현철
동아대학교 생명자원과학대학 농생물학과
¹미국 루이지아나 주립대학교 식물병리 및 작물생리학과

Biological Control of Seed and Seedling Rot Caused by *Pythium arrhenomanes* in Water-Seeded Rice

Byung Ju Moon*, R. W. Schneider¹ and Hyeon Cheal Park
Department of Agricultural Biology, College of Natural Resources and Life Science,
Dong-A University, Pusan 604-714, Korea

¹Department of Plant Pathology & Crop Physiology, Louisiana State University,
Baton Rouge, LA 70803, USA

ABSTRACT : Corn meal agar (CMA) assay, growth chamber assay and green house assay were conducted to select a biological control agent and to estimate the effect of the agent on the suppression of seed and seedling rot in water-seeded rice. Among the tested 66 bacterial isolates, an antagonistic bacterium isolate 91-110 was selected. In CMA assay, the disease incidence rates of seeds inoculated with *Pythium arrhenomanes* isolate 1398 were 100% for control, 25.0% for isolate 91-110 treatment, and 21.7% for metalaxyl treatment. In the growth chamber assay, the seedling emergence rate in seeds treated with only *P. arrhenomanes* isolate 1398 was 27.7%, but the rate in seeds treated with isolate 91-110 and *P. arrhenomanes* isolate 1398 was 59.1%. The disease suppression by isolate 91-110 was shown only when the seed surface was sterilized with 50% of household bleach. The seedling emergence rate of rice seeds soaked and shaken for 3 hrs in the bacterial suspension was slightly increased compared with the seeds soaked without shaking. In the greenhouse experiments, seeds treated with both isolate 91-110 and *P. arrhenomanes* emerged more (62.3%) than *P. arrhenomanes* 1398 alone (30.8%). The tested antagonistic bacterium, isolate 91-110 was identified as *Bacillus brevis*.

Key words : seed and seedling rot in water-seeded rice, *Pythium arrhenomanes*, CMA medium assay, *Bacillus brevis*, biological control.

Pythium 속에 의한 벼모싹음병은 Metalaxyl 등 종자 소독제 처리에도 불구하고 미국 Louisiana와 한국의 벼 재배 지역에서 담수직파하는 벼에 계속 발생되어 심한 문제를 야기하고 있다(4, 9, 10, 11). 이 병이 발생하면 일정한 양질의 입모 확보가 어렵기 때문에 미국의 Louisiana에서는 피해를 최소화하기 위하여 한번 또는 그 이상 재파종한다(1, 10, 11). 또한, 이 병의 발생으로 인하여 물바구미와 잡초가 대량 발생한다고 한다(1, 13). 더욱이 미국에서는 현재 시판되고 있는 종자 소독제는 U. S. Environmental Protection Agency

에 의해 시장에서 배제될 가능성이 있다고 한다(12). 따라서 약제 처리를 대체할 방제법으로서 생물학적 방제법이 요망되는 실정에 있다.

볍씨를 담수 상태에서 토양 표면에 쉽게 가라앉게 하여 볍씨의 동요를 막고 또한 발아와 출아를 촉진시키기 위하여 볍씨를 침종하는데 미국에서는 일반적으로 볍씨를 대형의 다공성 주머니에 넣어 물탱크의 물에 침지하고 물을 배수시킨 다음 볍씨를 습한 상태에서 하루 동안 유지한 후에 담수직파하는 것으로 알려져 있다(1). 이러한 침종 과정은 생물학적 방제로서 세균을 이용하기 위한 최적 조건으로 된다. 즉 길항 세균을 침종하는 물에 넣고 담수에 파종할 때까지 볍씨

*Corresponding author.

를 습한 상태로 유지하기 때문에 건조한 종자나 건조한 토양에서처럼 세균을 높은 농도로 유지시킬 필요가 없다. 또한 모썽음병 방제에 요구되는 기간도 모가물에서 출아할 때까지 1주 내지 2주일이면 충분할 뿐만 아니라 이 기간은 모썽음병에 대한 벼의 감수성 시기와도 일치하기 때문에 담수직파하는 벼모썽음병의 생물학적 방제로서 길항세균을 이용하는 것이 성공 가능성이 높다고 하였다(12). 그러나 모썽음병에 대한 생물학적 방제 분야에 관한 연구는 미진한 실정에 있다(12).

벼 담수직파재배에서 벼모썽음병에 관련된 *Pythium*속 균의 병원성 연구에서 공시한 *Pythium* 5종, 16 균주 중 *P. arrhenomanes* 1398 균주의 병원성이 가장 강한 것을 확인한 바 있다(6). 따라서, 본 연구에서는 *P. arrhenomanes* 1398 균주에 의한 벼모썽음병에 대한 발병 억제효과가 높은 길항 세균을 배지 검정과 growth chamber 검정을 통하여 선별하고 이의 억제효과를 제고하기 위한 몇 가지 요인을 분석한 다음 온실 검정에서 이 병의 생물학적 방제효과를 규명 하고저 실시하였다.

재료 및 방법

공시 세균. 미국 Louisiana주의 Crowley에서 벼 재배 포장의 토양, 벼 뿌리, 볏씨로부터 세균을 분리하였으며, 모든 세균은 적어도 3회의 평판 도말법에 의해 순수 배양하여 65 균주를 분리하였으며 Dr. David Weller(14)로부터 분양 받은 *Pseudomonas fluorescens* 2-79-85 균주 등 모두 66 균주를 공시하였다. 이들 세균은 -70°C 에서 10% glycerol에 저장하거나 동결 건조하여 보관하면서 실험에 사용하였다.

공시 병원균. 담수직파재배에서 벼모썽음병에 관련된 *Pythium*속 균 중 병원성이 가장 강한 것으로 확인된 *P. arrhenomanes* 1398 균주(이하 Pa 1398)를 공시하였다(6).

배지 검정. 공시한 Pa 1398 균주를 3종류의 평판 배지에 이식하여 4일간 배양한 다음 살균수 3 ml를 붓고 고루 폈다. 여기에 공시 세균을 처리한 볏씨를 20립씩 파종하여 낮에는 30°C , 밤에는 20°C 에서 배양하면서 1주 후에 발병율을 조사하였다. 한편, 볏씨의 세균 처리 방법은 공시 세균을 corn meal agar(CMA) 배지에 28°C 에서 24시간 배양 시킨 후 buffered water(pH 7.0)로 부유액을 만들고 농도는 $A_{600}=0.5$ 로 조정하였다. 이 세균 부유액에 볏씨를 침지하여, 1~5시간 후에 그 부유액을 부어내고 28°C 에서 10시간 배양한 것

을 사용하였으며, 공시 66 세균중 먼저 15 균주에 대하여 검정하였으며 다음은 나머지 51 균주에 대하여 동일하게 배지 검정하였다.

Growth chamber 검정. Growth chamber 검정을 하기 위하여 Pa 1398 균주의 배양은 벼알접종원(rice seed-inoculum)을 이용하였는데 볏씨 100 ml와 물 20 ml를 삼각 flask에 넣고 2회 고압 살균한 후 공시한 Pa 1398 균주의 균사 절편을 flask당 5개씩 접종하여 28°C 에서 10일간 배양하였다. 이 벼알접종원 0.5 g을 멸균 토양 200 ml와 탈이온수 300 ml가 들어 있는 1 L plastic hamburger bowl에 접종하였으며(6), 여기에 세균을 처리한 볏씨를 용기당 50립씩 파종하여 낮에는 30°C , 밤에는 20°C 로 조정된 growth chamber에 보관하면서 2주 후에 모 출아율을 조사하였다. 한편 볏씨의 세균 처리 방법은 공시 세균을 앞서의 배지 검정에서와 동일한 방법으로 배양하여 부유액을 만들고 농도는 $A_{600}=0.5$ 로 조정하였으며 배지의 검정 결과를 고려하여 볏씨를 세균 부유액에 24시간 침지한 것을 사용하였으며 모두 66 세균을 공시하였다.

Growth chamber 검정에서 세균의 발병 억제효과에 미치는 요인 실험으로서 가장 효과적인 세균 1균주를 선별하여 공시하였으며 우선 표면 소독한 것과 무소독한 볏씨를 세균 부유액($A_{600}=0.5$)에 24 또는 48시간 침지한 것을 앞서와 같은 병원균이 접종된 용기에 파종하여 모출아율을 조사하였다. 다음은 볏씨를 세균 부유액에 침지할 때 통기성 증가를 고려하여 볏씨를 세균 부유액($A_{600}=0.5$)에 침지하고 3시간 진탕한 후 그 부유액을 부어내고 24시간 배양한 것과 세균 부유액에 침지하여 진탕하지 않고 24시간 배양한 것을 병원균이 접종된 용기에 파종하여 모출아율을 조사하였다. 이때, *Pythium*의 접종원으로서 벼알접종원은 무게를 측정할 때에 다소 불편하고 시간이 많이 소모되어 대신에 균사 조각 부유액(triturated mycelia-inoculum)을 용기당 10 ml로 접종한 것을 이하의 모든 실험에서 사용하였는데 예비 실험에서 2종류의 접종원간에 병원성 수준에서 유사하였기 때문이었다. 균사 조각 부유액의 조제는 공시 Pa 1398 균주를 PDB에서 5일간 진탕 배양한 후 균사를 걸러내어 탈이온수로 5회 정도 세척하였다. 이것을 waring blender에 넣고 10초 동안 균사를 절단하였으며 이 균사 부유액을 buffered water(pH 7.0)을 사용하여 $A_{600}=0.5$ 로 조정한 것을 접종원으로 사용하였다. 세균 농도와 발병 억제효과와의 관계를 검토하기 위하여 볏씨를 $A_{600}=0, 0.3, 0.9$ 및 1.5 농도로 조정된 세균 부유액에 침지하여 3시간 진탕한 후 그 부유액을 따라내고 24시간 배양한 것을 병

원균이 접종($A_{600}=0.5$)된 용기에 파종하여 모출아울을 조사하였다. 이상의 모든 growth chamber 검정에서 세균의 발병 억제효과를 제고시키기 위한 요인 실험에서는 세균을 처리한 범씨를 용기당 50립씩 파종하여 낮에는 30°C, 밤에는 20°C의 growth chamber에 보관하면서 2주 후에 모출아울을 조사하였으며 5~7 반복으로 3회 실시하였다. 배지 검정과 growth chamber 검정에서 공시한 세균의 농도는 spectrophotometer로 이용하여 조정하였는데 평판 배양하여 CFU를 계산한 결과 $A_{600}=0.5$ 는 3.9×10^8 , $1.0=6.3 \times 10^8$, $1.5=2.4 \times 10^9$ CFU/ml이었다.

온실 검정. Pa 1398 균주의 접종원은 growth chamber 검정에서와 같은 방법으로 조제한 10 ml의 균사 조각 부유액($A_{600}=0.5$)을 멸균 토양 300 ml와 용기 가장 자리까지 가득 채운 탈이온수가 들어 있는 4 L plastic salad bowls에 접종하였다. 범씨의 세균 처리는 앞서의 배지와 growth chamber 검정의 결과를 고려하여 발병 억제효과가 가장 높은 세균 1 균주를 공시하였으며 범씨를 세균 부유액에 침지하여 3시간 동안 진탕한 후 그 부유액을 따라내고 24시간 배양한 것을 앞의 병원균이 접종된 용기에 50립씩 파종하였다. 이것을 낮에는 약 30°C, 밤에는 약 20°C의 온실에 보관하면서 파종 2주 후에 모출아울을 조사하였는데 7반복으로 3회 실시 하였다. 이때, 세균 부유액에 methyl cellulose 1.0% 첨가와 무첨가한 것을 비교하였다.

이상의 생물학적 방제에 대한 모든 검정에서 사용된 범씨는 미국 남부의 미작 지대에서 가장 많이 재배하고 있는 Lemont 품종을 사용하였으며 범씨를 표면 소독하기 위하여 50% household bleach(pH 7.0)에 2시간 침지한 다음 증류수로 3번 씻고 3번째 씻은 물에 24시간 침지한 다음 4번째 다시 씻고 부어내어 막 째기 시작한 범씨를 사용하였다.

*Pythium*에 대한 세균의 항생 효과. 전 연구(6)에 공시하였던 *Pythium* 5종, 16 균주 모두와 세균 66 균주를 각각 대치 배양하기 위하여 PDA 배지 중앙에 *Pythium* 균사 절편을 놓고 3 cm 떨어진 4곳에 세균 부유액 10 µl를 점적 이식하고 24°C에서 배양하여 형성된 균사 생육 저해 지대의 크기를 비교하였다.

결 과

배지 검정. 효과적인 biological agent를 선별하기 위한 검정법을 확립하기 위하여 병원성이 높은 Pa 1398 균주를 3종류의 배지에 배양하고 공시 세균 66 균주 중 먼저 15 균주에 의한 발병 억제효과를 배지

검정법에 의해 검정한 결과(Table 1) 공시 세균중 91-110 균주에 의해서만 발병이 억제되었으며 이 억제효과도 CMA배지를 이용하는 것이 PDA와 Soil extract agar(SEA) 배지에 비하여 50% 이상 높았다. CMA배지에서 Pa 1398 균주만을 접종한 경우에는 범씨는 완전히 썩어서 발아되지 않거나 발아하더라도 모가 곧 썩고 고사되어 100% 발병율을 보인 반면 91-110 균주와 Pa 1398을 함께 처리한 범씨에서는 25.0% 발병되었으며, 발아한 것은 뿌리와 모의 발육이 양호하였다(Fig. 1). 이와 같은 91-110 균주에 의한 발병 억제효과는 metalaxyl을 처리한 범씨에서의 21.7%와 유사한 효과를 보였다. Biological agent를 선별하는데 효과적인 것으로 확인된 CMA 배지를 이용하여 나머지 51개 세균에 의한 발병 억제효과를 배지 검정법에 의해 검정한

Table 1. Screening test for selecting biological control agents to the seed and seedling rot in water-seeded rice by agar plate assay

Bacterial isolate ^a	% Seed and seedling rot ^b		
	C-CMA	C-PDA	SEA
3B	100.0	100.0	83.3
4D	100.0	100.0	90.0
23E	100.0	90.0	80.0
90-1-7C	100.0	100.0	100.0
91-6	100.0	85.0	96.7
91-13B	100.0	81.7	100.0
91-19	100.0	100.0	93.3
91-37	98.3	80.0	90.0
91-72	100.0	88.3	88.3
91-85	100.0	100.0	100.0
91-86	100.0	100.0	80.0
91-97	100.0	98.3	93.3
91-110	25.0	50.0	45.0
91-123	100.0	95.0	95.0
2-79-85	100.0	95.3	96.7
Pa only	100.0	88.3	84.0
Metalaxyl	21.7	63.3	16.7

^a Rice seeds were respectively treated with each bacterial isolate plus *P. arrhenomanes* 1398, treated only with *P. arrhenomanes* 1398 (Pa only), or treated with metalaxyl

^b Percentages of seed and seedling rot were determined 7 days after the treatments. Each value represents the average of 21 replicates/20 seeds/replicate (7 replications by 3 experiments). Mycelial disk of *P. arrhenomanes* isolate 1398 was respectively incubated on the center of 3 different medium, cornmeal agar (CMA) containing 10 ppm of cholesterol, potato dextrose agar (PDA) containing 10 ppm of cholesterol, and soil extract agar (SEA) for 4 days at 28°C.



Fig. 1. The effect of biological control of an antagonistic bacterium, isolate 91-110 to seed and seedling rot of rice caused by *P. arrhenomanes* 1398 in a corn meal agar assay. Left: *P. arrhenomanes* 1398 only; Center: *P. arrhenomanes* 1398 plus antagonistic bacterium, isolate 91-110; Right: Control.

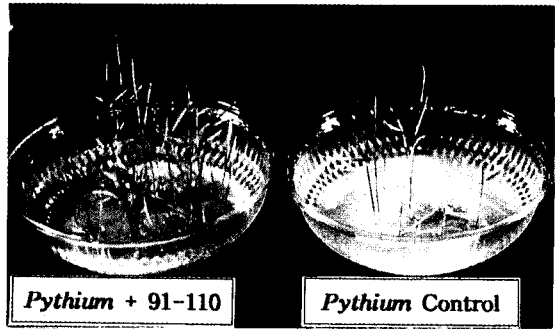


Fig. 2. The effect of biological control of an antagonistic bacterium, isolate 91-110 to seed and seedling rot of rice caused by *P. arrhenomanes* 1398 in a growth chamber assay. Left: *P. arrhenomanes* 1398 plus antagonistic bacterium, isolate 91-110; Right: *P. arrhenomanes* 1398 only.

Table 2. Effect of surface sterilization for rice seeds with 50% household bleach (pH 7.0) and their soaking time (hours) in the bacterial suspension on the suppression of seed and seedling rot in water-seeded rice by an antagonistic bacterium isolate 91-110 in a growth chamber

Soaking time (hours)	Bacterial suspension treatment ^a	% Emergence ^b	
		Seed not surface-sterilized	Seed surface-sterilized
24	91-110	27.5a	51.5a
	Pa only	21.3a	19.8b
48	91-110	18.7a	46.0a
	Pa only	13.5a	17.3b

^a Each bacterial suspension treated represents 91-110 as treated with isolate 91-110 plus *P. arrhenomanes* 1398, and Pa only as treated with only pathogen *P. arrhenomanes* 1398.

^b Rice seeds were surface sterilized with 50% of household bleach (Treated) or without it (Not treated). Percentages of seedling emergence of rice seeds were determined 2 weeks after the treatments. Each value represents the average of 21 replicates/50 seeds/replicate (7 replications by 3 experiments), and the significant differences were tested by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

였으나 공시한 모든 세균 균주에서 발병 억제효과가 없었다.

Growth chamber 검정. 66개의 세균 균주를 공시하고 각각의 세균을 처리한 범씨를 Pa 1398 균주의 비알접종원으로 접종된 용기에 파종하여 세균에 의한 발병 억제효과를 growth chamber 검정법으로 검정하

였다. CMA 배지 검정법의 결과를 고려하여 범씨를 세균 부유액에 24시간 침지한 것을 사용하였는데 CMA 배지 검정 결과와 마찬가지로 91-110 균주를 제외한 모든 세균에서는 발병 억제효과가 없었다. 91-110 균주의 억제효과도 Pa 1398만을 접종한 범씨에서는 27.7% 모출아율을 보인 반면 91-110 균주와 Pa 1398을 함께 처리한 범씨에서는 59.1%로서 CMA 배지 검정 결과에 비하여 억제효과가 낮았다. 따라서, 91-110 균주에 의한 발병 억제효과를 제고하기 위한 요인으로써 범씨의 소독 유무와 세균 부유액의 침지 시간과 관련하여 growth chamber 검정법에 의하여 검정한 결과(Table 2, Fig. 2) 91-110 균주에 의한 발병 억제효과는 무소독한 범씨에서는 세균 부유액의 침지 시간과 관계없이 나타나지 않았다. 50% household bleach로 소독한 범씨에서만 발병 억제효과가 나타났으나, 침지 시간 24와 48시간 사이에는 유의적인 차이가 없었다.

다음은 91-110균주의 세균 부유액에 침지할 때 통기성 증가와 91-110 균주의 발병 억제효과와의 관계를 growth chamber 검정법으로 검토한 결과(Fig. 3) 범씨를 91-110 균주의 부유액에 넣고 3시간 진탕한 후 그 부유액을 부어내고 24시간 배양한 것이 진탕하지 않고 부유액에 계속 침지한 범씨에 비하여 유의성은 없으나, 모출아율이 54.3%에서 65.7%로 증가되었다.

91-110 균주에 의한 발병 억제효과를 growth chamber에서 검정할 때 91-110 균주 농도와와의 관계를 검토하기 위하여 91-110 균주의 농도 별로 만든 세균 부유액에 범씨를 침지하고 앞에서와 같이 3시간 진탕하고 그 부유액을 부어낸 다음 24시간 배양하여 growth

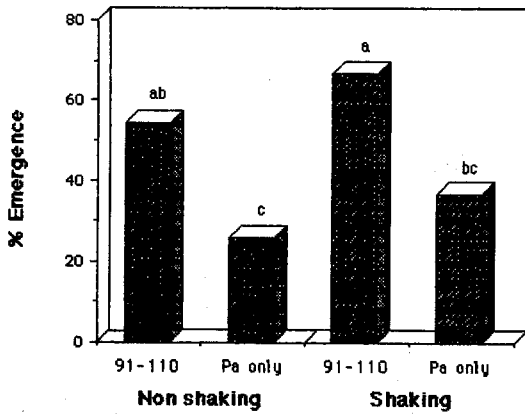


Fig. 3. Effect of shaking rice seeds in the bacterial suspension on the suppression of seed and seedling rot in water-seeded rice by an antagonistic bacterium, isolate 91-110 in a growth chamber. Each value represents the mean of 21 replicates/50 seeds/replicate (7 replicates by 3 experiments). The significant differences were tested by Duncan's multiple range test, and on each column in the graph, same letters do not differ significantly ($p < 0.05$). 91-110: treated with isolate 91-110 plus *P. arrhenomanes* 1398, Pa only: treated with only *P. arrhenomanes* 1398.

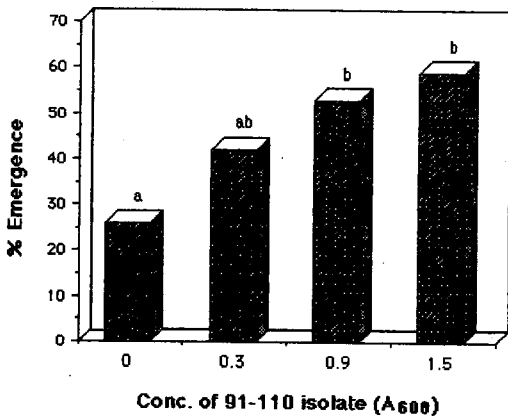


Fig. 4. Effect of concentration of the bacterial suspension on the suppression of seed and seedling rot in water-seeded rice by an antagonistic bacterium, isolate 91-110, in a growth chamber. Each value represents the mean of 15 replicates/50 seeds/replicate (5 replicates by 3 experiments). The significant differences were tested by Duncan's multiple range test, and on each column in the graph, same letters do not differ significantly ($p < 0.05$).

chamber 검정한 결과 (Fig. 4), 91-110 균주의 A_{600} = 1.5와 0.9 농도로 처리한 것이 A_{600} = 0.3에 비하여 모출아율이 높은 경향이였다.

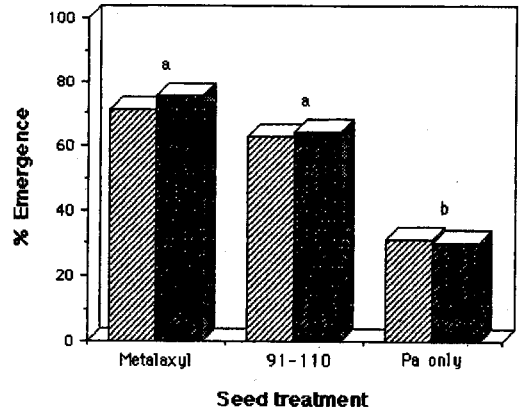


Fig. 5. Effect of an antagonistic bacterium, isolate 91-110 as a biological control agent for seed and seedling rot in water-seeded rice in a greenhouse assay. Each seed treatment amended with (▨) or without (▩) 1.0% methylcellulose represents 91-110 as treated with bacterium isolate 91-110 plus *P. arrhenomanes* 1398, Pa only as treated with only *P. arrhenomanes* 1398, and Metalaxyl as treated with metalaxyl. Each value represents the mean of 21 replicates/50 seeds/replicate (7 replicates by 3 experiments). The significant differences were tested by Duncan's multiple range test, and on each column in the graph, same letters do not differ significantly ($p < 0.05$).

온실 검정. 이상의 CMA 배지 검정과 growth chamber 검정 결과 확인된 91-110 균주에 의한 발병 억제효과를 제고시키기 위한 요인을 고려하여 온실에서 91-110 균주에 의한 담수직파 벼모썩음병의 억제효과를 검정한 결과(Fig. 5), 91-110 균주와 Pa 1398을 처리한 범씨의 출아율은 62.3%로서 Pa 1398만을 접종한 것의 30.8%에 비하여 높았으며, 이것은 metalaxyl을 처리한 범씨의 출아율 71.6%와 유사하였다. 그러나 세균 부유액에 1.0% methyl cellulose를 첨가할 경우에도 64.0%의 출아율을 보여 그 효과가 증진되지 않았다.

*Pythium*에 대한 세균의 항생 효과 및 세균 91-110 균주의 동정. 세균의 *Pythium*에 대한 항생 효과를 보기 위하여 *Pythium* 5종, 16 균주와 세균 66 균주를 각각 대치 배양한 결과 벼모썩음병에 대하여 발병 억제효과가 높았던 91-110 균주에서는 *Pythium*의 균사생육에 대한 저해효과가 낮았다. 그러나, 발병 억제효과가 전혀 없었던 *Pseudomonas fluorescens* 2-79-85 균주에서는 균사생육 저해효과가 가장 높았으며, 그외 6 균주에서도 높거나 낮은 효과를 보였으나, 나머지 58개 세균 균주에서는 균사생육 저해효과가 전혀 없었다. 91-110 균주에 의한 Pa 1398 균주의 항생 효과

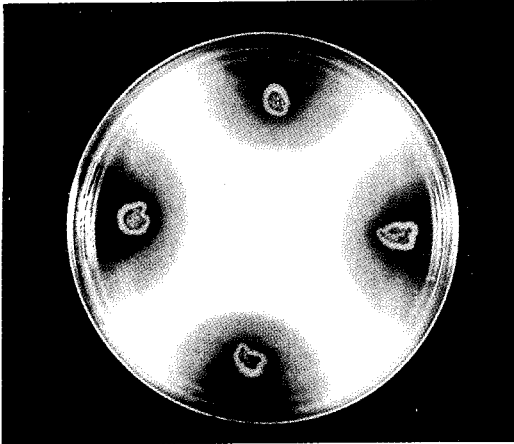


Fig. 6. The growth inhibition of *Pythium arrhenomanes* 1398 by an antagonistic bacterium, isolate 91-110 on corn meal agar containing 10 ppm of cholesterol.

에서는 저해 지대가 극히 적었으나 뚜렷하였으며, 군사 분해 지대가 시간이 경과할수록 더욱더 커지는 것이 특징이었다(Fig. 6).

이상의 실험 결과 담수직파한 벼모썩음병의 발병 억제효과가 높은 91-110 균주를 동정하기 위하여 glucose 1%를 첨가한 Biolog Universal Growth Medium (BUGM)에서 24시간 배양한 91-110 균주를 Biolog System(2)을 이용하여 동정한 결과 유사계수 0.779로써 *Bacillus brevis*로 동정되었다.

고 찰

포장 조건하에서 생물학적 방제가 실패하는 가장 큰 요인은 Cook(3)에 의하면 생물학적 방제 기작에 개 의치 않고 효과적인 길항세균을 선발할 수 있는 적당한 검정법의 부재 때문이라고 하였으며, Weller(14)는 초기 연구자들은 길항균 검정법으로서 항생 작용만을 기초로 하여 선발하는 대치 배양법에만 주로 의존하기 때문이라 하였다. 최근 Kloepper 등(5)은 생물학적 방제에 효과적인 길항 세균의 40%는 항생 작용이 없었고 따라서 검정법은 반드시 모든 작용 기작을 기초로 해야 한다고 결론지음으로서, 길항 세균을 선발하고 이용하기 위해서 극복해야 할 장애 요인 중에서 첫 번째로 믿을 만한 길항균 검정법 개발의 중요성을 지적하고 있다.

본 연구에서는 CMA 배지 검정법을 통하여 공시한 66세균 중 Pa 1398에 의한 담수직파한 벼모썩음병에 대한 발병 억제효과를 가진 *Bacillus brevis* 91-110 균

주를 선발하였으며 growth chamber와 온실 검정에서도 배지 검정에 비하여 효과는 약간 낮았지만 발병 억제효과를 보였다. 따라서 병원성 검정(6)에서와 마찬가지로 담수직파한 벼모썩음병에 대한 길항균의 선발법으로서 CMA 배지 검정법을 이용하는 것이 생력적인 면에서 효과적일 것으로 판단되었다. 더욱이 *Pythium*과 세균과의 대치 배양에서 군사생육 저해 효과가 월등한 *Pseudomonas fluorescens* 2-79-85등 항생 작용을 가진 몇 개의 세균에서는 발병 억제 효과가 전혀 없었는데 반하여 군사 생육 저해 효과가 낮은 *B. brevis* 91-110에 의해서는 발병 억제효과가 높은 결과로 보아 CMA 배지 검정법이 항생 작용만을 기초로 하여 길항균을 선발하는 종래의 대치 배양법에 비하여 실용적인 방법으로 생각되어 앞서의 연구자들의 의견과 일치되었다. 그러나 *B. brevis*가 생산하는 항생 물질 중에는 gramicidin과 tyrodine이 알려져 있으며 환상 펩타이드인 gramicidin S는 끈적균인 *Dictyostelium discoideum*의 포자 발아와 *Fusarium nivale*의 군사생육을 저해한다는 보고(7, 8)로 보아 *B. brevis* 91-110 균주가 분비하는 항생물질이 벼모썩음병의 생물학적 방제의 몇 가지 기작 중에서 어느 정도의 역할을 하는 것으로 추측된다. 현재 이 세균이 생산하는 물질을 추출하여 분리 동정하고 생물적 검정을 통한 이 물질의 항균 활성을 조사 중에 있다.

Growth chamber 검정에서 *B. brevis* 91-110 균주에 의한 발병 억제효과를 제고시키기 위한 요인 실험 결과 50% household bleach에 표면 소독한 범씨에서만 91-110 균주에 의한 발병 억제효과가 나타났을 뿐만 아니라 그 억제효과도 배지 검정 결과보다는 낮았는데 이것은 성급한 결론일지 몰라도 호기적 조건과 관련이 있을 것으로 추정되었다. *B. brevis*는 절대적 호기성 균이며(15) 또한 growth chamber와 온실 검정에서 사용된 용기 내에 들어 있는 물이 배지에 비하여 양이 많고 수심이 깊을 뿐만 아니라 범씨를 이 세균 부유액에 침지하여 3시간 진탕한 다음 24시간 배양한 것이 진탕없이 배양한 것에 비하여 발병 억제효과가 증가되는 결과로 보아서 이러한 추정이 가능하였다. 환언하면 이 세균 처리 범씨를 담수직파한 용기내의 물에 함유되어 있는 공기의 양으로는 소독한 범씨에서는 처리 세균의 정착과 증식이 가능할지라도 무소독한 범씨에서는 오염되어 있는 기존의 수많은 미생물과 처리 세균간의 상호 작용에서 범씨의 착생에 승리할 만큼 호기적 조건이 절대로 부족한 영향 때문인 것으로 해석되었다.

모썩음병의 발생기간이 매우 짧고 담수직파재배의

경종법은 길항 세균의 이용에 이상적인 조건으로 되기 때문에(12) 생물적 방제의 성공 가능성이 매우 높을 것으로 예상되었는데 *B. brevis* 91-110 균주에 의한 발병 억제효과가 growth chamber와 온실 검정에서는 기대한 것보다는 낮았을 뿐만 아니라 이 세균의 발병 억제효과를 제고시키기 위한 몇 가지 요인 실험에서도 앞에서 언급한 바와 같이 범씨 표면 소독과 범씨를 세균 부유액에 침지하여 진탕하는 것 외에는 발병 억제효과를 제고시키지 못하였다. 따라서 추후 본 연구에서 개발된 CMA 배지 검정법을 이용하여 공기가 불충분한 담수 상태에서라도 활성 능력이 우수한 길항 세균을 선발해야겠다.

요 약

벼 담수직파재배에서 *Pythium arrhenomanes* 1398에 의한 벼모썩음병의 발병 억제효과가 높은 biological control agent를 배지와 growth chamber 검정을 통하여 선발하고 생물학적 방제 효과를 온실에서 검정한 결과 공시한 66 세균 중 91-110 균주에 의해서만 벼모썩음병의 발병이 억제되었다. CMA 배지 검정에서는 *P. arrhenomanes* 1398 균주만을 접종한 범씨는 100% 발병율을 보인 반면 91-110 균주와 *P. arrhenomanes* 1398 균주를 함께 처리한 경우에는 25.0%가 발병되었으며, 이 효과는 metalaxyl을 처리한 범씨에서의 21.7% 발병율과 유사하였다. Growth chamber 검정에서는 *P. arrhenomanes* 1398 균주만을 접종한 범씨는 27.7% 모출아율을 보인 반면 91-110 균주와 함께 처리하면 59.1%가 출아되었다. 그러나 91-110 균주에 의한 발병 억제효과는 50% household bleach로 표면 소독한 범씨에서만 인정되었으며, 이 소독한 범씨를 91-110 균주의 세균 부유액에 침지하여 3시간 진탕한 후 그 부유액을 따라내고 24시간 배양한 것이 진탕하지 않고 배양한 것에 비하여 모출아율이 54.3%에서 65.7%로 증가되었다. 91-110 균주에 의한 발병 억제효과를 온실 검정법에 의하여 검정한 결과 91-110 균주와 *P. arrhenomanes* 1398 균주를 함께 처리한 범씨의 출아율은 62.3%로서 *P. arrhenomanes* 1398 균주만을 접종한 것의 30.8%에 비하여 높았다. 이상과 같이 담수직파한 벼모썩음병의 발병 억제효과가 높은 91-110 균주는 *Bacillus brevis*로 동정되었다.

감사의 말씀

이 논문은 1994년도 교육부 지원 한국학술진흥재단

의 자유공모과제학술연구 조성비에 의하여 연구되었음.

참고문헌

1. Bagent, J. L. et al. 1987. *Rice Production Handbook*. LSU Agricultural Center Pub. No. 2321. 63pp.
2. Biolog Manual. 1993. *MicroStation™ System* (Release 3.50). Biolog, Inc. U. S. A.
3. Cook, R. J. 1992. A customized approach to biological control of wheat root diseases. In : *Biological Control of Plant Diseases. Progress and Challenges for the Future*, ed. by E. C. Tjamos, G. C. Papavizas and R. J. Cook, pp. 211-222. Plenum Press, New York
4. Groth, D. E., Rush, M. C. and Hollier, C. A. 1991. Rice diseases and disorders in Louisiana. *Louisiana Agric. Exp. Stn. Bull.* No. 828. 37pp.
5. Kloepper, J. W., Wej, G. and Tuzon, S. 1992. Rhizosphere population dynamic and internal colonization of cucumber by plant growth-promoting rhizobacteria which induce systemic resistance to *Colletotrichum orbiculare*. In : *Biological Control of Plant Diseases. Progress and Challenges for the Future*, ed. by E. C. Tjamos, G. C. Papavizas, R. J. Cook, pp. 185-192. Plenum Press, New York.
6. Moon, B. J. and Schneider, R. W. 1996. The pathogenicity of *Pythium* species associated with seed and seedling rot in water-seeded rice. *Korean J. Plant Pathol.* 12(4) : In Press.
7. Murray, T., Leighton, F. C. and Seddon, B. 1986. Inhibition of fungal spore germination by gramicidin S and its potential use as a biocontrol against fungal plant pathogens. *Letters in Applied Microbiology* 3 : 5-7.
8. Oyama, M. and Kubota, K. 1990. Suppression of tyrocidine production by purine nucleotides and related substances in *Bacillus brevis*. *FEMS Microbiology Letters* 66 : 277-280.
9. 류재당. 1996. 벼 담수직파재배에서 모썩음병 방제. 농약 정보 3-4 : 24-27.
10. Rush, M. C., Marchetti, M. A. and Adair, C. R. 1972. Stand establishment in early seeded rice in the South. *The Rice Journal* 75 : 32-34.
11. Rush, M. C. and Schneider, R. W. 1990. Chemical control of seedling diseases of rice in Louisiana. In : *Pest Management in Rice*, ed. by B. T. Grayson, M. B. Green and L. G. Copping, pp. 53-70. Elsevier Applied Science, New York.
12. Schneider, R. W., Moon, B. J. and Giles, C. G. 1994. A screening procedure for biological control of seedling disease of water-seeded rice (Abstr.). *Phytopathology* 84 : 1092.

13. Webster, R. K. and Gunnell, P. S. 1992. *Compendium of Rice Disease*. APS Press, St. Paul, Mi. 62pp.
14. Weller, D. M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Ann. Rev. Phytopath.* 26 : 379-407.
15. Williams, S. T., Sharpe, M. E. and Holt, J. G. 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2. Williams & Wilkins, Baltimore. 1599pp.