

병원성사상균이 Alfalfa 유식물의 생육에 미치는 영향

최기춘 · 김종섭 · 임계택 · 김동후 · 김광현 · 윤 창* · 문승주 · 전우복

Effect of Pathogenic Fungi on Growth of Alfalfa Seedling

Ki Chun Choi, Jong Seop Kim, Kye Tack Lim, Dong Hoo Kim, Kwang Hyun Kim,

Chang Yoon*, Soung Ju Moon and Woo Bock Chun

Summary

This study was conducted to investigate the effects of pathogenic fungi (*Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*), pregermination time (0, 6, 9, 12, 18, 24, 48 hrs.) and temperature (12°C, 18°C, 28°C) on growth of alfalfa seedling. The survival rate of alfalfa was decreased by pathogenic fungi and treatment of pregermination and survival rate of alfalfa resulted in higher than that of nontreatment of pregermination. Pathogenicity of fungi was increased as increased the temperature ($P < 0.05$). The emergence rate of alfalfa was decreased when pathogenic fungi were inoculated. However, the emergence rate was increased when seeds were pregerminated ($P < 0.05$).

I. 서 론

근래들어 옥수수, 소맥 등의 국제곡물가격의 급속한 상승과 더불어 양질의 콩과목초인 alfalfa 건초의 수입도 매년 급증하고 있는 실정이다. 앞으로 2000년도가 되면 우리나라는 현재 alfalfa 건초의 수입물량보다 약 2.5배(약 28만톤)정도 증가할 것으로 추정됨에 따라, 국내 축우산업을 선진축산수준으로 발전시키기 위해서는 양질의 조사료 증산계획을 마련해야 하고 특히 수입조사료의 의존도를 낮추고 자급기반을 마련함으로써 국내 축우산업을 건전하게 유지발전시켜야 한다고 축산관계자들은 언급하고 있는 실정이다. 그리고 축산의 발전과 더불어 능력이 우수한 개체들이 많아지면서 양질의 조사료 생산시책

을 마련해야 한다는 주장이 대두됨에 따라 사초생산성 증대 및 영양적분야에 많은 관심을 가지게 되었으며, 이제까지 초지관리기술의 발달과 화학비료의 사용은 목초의 양적증가를 가져 왔으나 이들 목초의 계속 재배와 화학비료의 다량사용은 토양물리성 악화, 토양의 산성화, 유해물질 축적, 토양 전염성병원균의 증가등 토양 환경을 변화시켜 목초의 생육에 좋지 않은 영향을 주고 있다.

Alfalfa는 예취 또는 방목으로 이용되며 일반목초에 비해 영양소가 풍부하고 근류균과 공생하여 토양과 대기중의 질소를 고정하는 생리적 특성이 있기 때문에 많은 재배적 장점을 가지고 있다. 그러나 alfalfa는 fungi, bacteria, virus, nematode 등에 의해 다양한 병해를 입기 때문에 목초관리 측면에서 대단히

전남대학교 농과대학(College of Agriculture, Chonnam National University, Kwangju, 500-757, Korea)

*이리농공전문대학(Dept. of Livestock Industry, Iri National College of Agriculture and Technology, Iri 570-110, Korea)

중요하며 특히 토양전염성사상균은 alfalfa의 유식물기부터 심각한 병해를 일으키는 것으로 보고됨에 따라 중요한 병원균으로 취급되고 있다(Campbell등, 1990; Rodriguez등, 1990; Graham등, 1972). 토양병원성 사상균인 *Fusarium spp.* 및 *R. solani*는 두과식물의 뿌리, 관부 및 줄기부위에 병해를 일으키기 때문에 (Burk 및 Miller, 1983; Agrios, 1978; Crall, 1951) 유식물 생장에 불리하게 할 뿐아니라 수량 손실을 초래한다고 하였다(Graham등, 1972; Aube 및 Gagnon, 1970; Mead, 1963).

한편 축산선진국의 연구자들은 목초병해를 방제하기 위하여 길항 미생물(Phae등, 1992; Krieg 및 Holt, 1984; Baker 및 Cook, 1982; Swinburne등, 1975)을 이용한다던가 화학약품을 이용한 종자처리분야(Falloon, 1985; Holmes, 1977; Michail 및 Carr, 1966)에 많은 연구가 수행되고 있으나, 우리나라에서는 주로 원예, 식용작물의 병해(정 및 오, 1981; 김, 1978; 한보희, 1972)에 관한 연구가 보고되고 있을 뿐 목초의 병해에 대한 연구가 미흡한 실정이다(최등, 1995).

따라서 본 연구는 alfalfa의 병해를 일으키는 병원성사상균을 이용하여 온도 및 pregermination이 alfalfa의 초기생육에 미치는 효과를 구명하기 위하여 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시품종

Alfalfa 품종중 vernal을 공시품종으로 사용하였다.

2. 공시균주

병원성사상균(*Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*)과 근류균(*Rhizobium meliloti*)은 KCTC에서 분양 받아 이용하였다.

3. 시험구 처리

1) 생존율

병원성사상균인 *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. solani* 및 *R. solani*를 각각의 PDA(potato dextrose agar)에 7일 동안 25℃ incubator에서 배양시킨 후 직경 0.4mm인 cork borer를 이용하여 균체를 채취한 다음 20ml PD broth에 재접종하여 25℃ shaking incubator에서 7일간 배양하였다. 이 배양액을 원심분리(Beckman JA20-1 Roter, 10,000rpm, 20min.)하여 상등액을 제거한 다음 균체를 멸균수로 2~3회 세척하고 멸균수로 20ml로 희석한 후 homogenizer로 30초동안 균질화하여 병원성 사상균 접종액을 조제하였다.

Alfalfa 생존율 시험은 멸균된 petri dish에 filter paper 2장을 깔고 멸균된 종자를 50립씩 파종한 다음 멸균수와 상기 병원성 사상균 접종액을 각각 4ml를 주입하여 일정한 조건에서 4반복으로 수행하였다. 이때 배양온도(12℃, 18℃, 28℃)와 pregermination time(0, 6, 9, 12, 18, 24, 48 시간)를 각각 달리하여 파종 후 9일째에 유식물의 생존여부를 조사하여 생존율로 환산하였다.

2) 출현율

출현율은 전남대학교 농과대학 부속동물사육장 시험포장내 비닐하우스에서 pot(직경11cm, 높이9cm)로 수행하였으며 pot는 멸균한 양토와 vermiculite를 1:1로 혼합하여 사용하였다. 시험설계는 근류균을 주구(접종, 무접종), 병원성사상균 (*F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. solani*)을 세구, pregermination time(0, 24, 48 시간)을 세세구로 한 세세구 배치법 3반복으로 설계하여 배치하였다.

병원성사상균은 상기와 같은 방법으로 병원성사상균 배양액을 조제하여 각각의 pot에 병원성사상균 25ml, 근류균 28ml를 주입하여 pregermination time(0, 24, 48시간)별로 alfalfa 종자를 파종한 다음 파종 후 14일에 유식물의 출현여부를 조사하여 출현율로 환산하였다.

이때 근류균 배양조건은 근류균을 YMA배지에 접종하여 30℃에서 overnight 시킨 다음, 그 배양액 0.5ml를 fresh YM broth에 재접종하여 대수 증식기 말기까지 증식시킨 다음 균주 배양액을 원심분리하

여 균체를 회수한 후, 멸균수로 현탁액을 조제하였다.

4. 통계분석

모든 자료의 통계처리는 SPSS/PC*를 이용하여 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 생존율

병원성사상균, pregermination 시간 및 온도가 alfalfa의 생존율에 미치는 영향을 조사하고자 수행하였는데 그 결과는 그림 1, 2, 3 및 4와 같다.

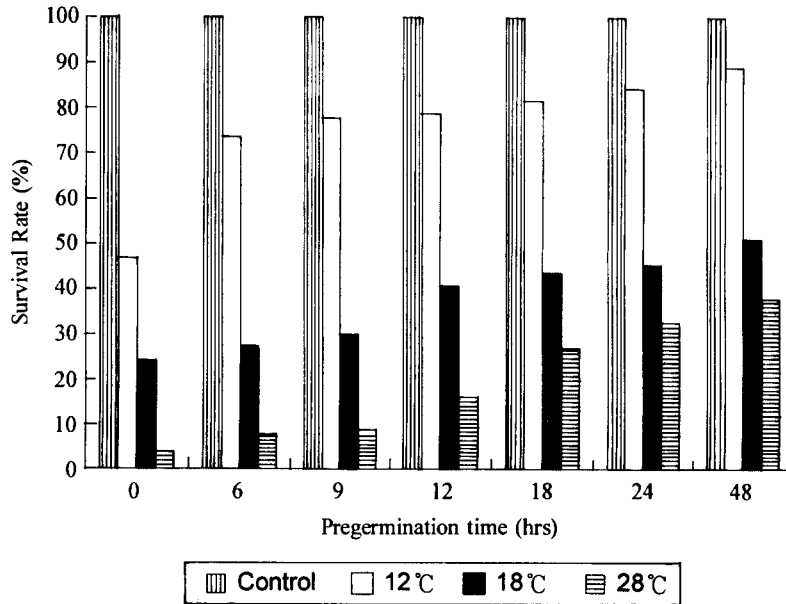


Fig. 1. Effect of pregermination time and temperature on survival rate of alfalfa inoculated with *F. culmorum*

Pregermination 무처리구의 생존율을 비교해 보면 병원성 사상균 처리구는 대조구보다 생존율이 현저하게 감소하였으며 온도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타냈다.

Pregermination 시간에 따른 생존율을 비교해 보면 병원성 사상균 처리구는 pregermination 시간이 증가될수록 pregermination 무처리구보다 생존율이 현저하게 증가하는 경향을 나타냈으나 온도가 증가함에 따라 감소되는 경향을 나타냈다.

F. culmorum 처리구에서 온도 28°C 및 18°C의 생존율은 12°C 보다 현저한 감소를 보였으며 ($P < 0.05$) 12°C에서는 24시간 이상 pregermination 함으로써 약 80% 이상의 생존율을 나타냈다. 그리고 28°C 및

18°C에서는 48시간 pregermination 함으로써 35% 이상의 생존율을 나타냈다.

F. oxysporum, *F. solani* 및 *R. solani* 처리구에서 온도 28°C의 생존율은 18°C 및 12°C 보다 현저한 감소를 보였으며 ($P < 0.05$) *F. oxysporum* 및 *F. solani* 처리구에서는 12°C 및 18°C에서 48시간 pregermination 함으로써 약 80% 이상을 나타냈다. 그리고 28°C에서 48시간 pregermination 함으로써 64% 이상의 생존율을 나타냈다.

R. solani 처리구에서는 12°C 및 18°C에서 48시간 pregermination 함으로써 약 80% 이상의 생존율을 보였으며 28°C에서 48시간 pregermination 함으로써 48% 생존율을 나타냈다.

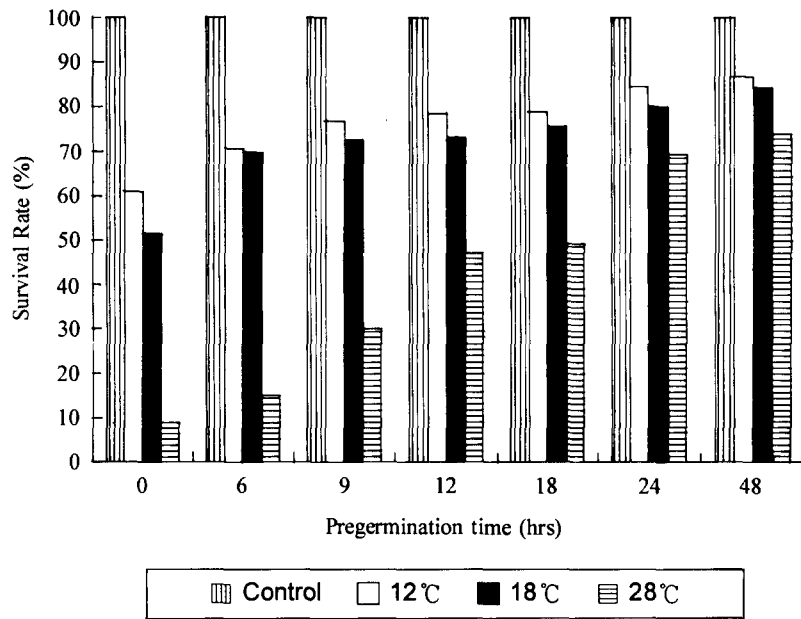


Fig. 2. Effect of pregermination time and temperature on survival rate of alfalfa inoculated with *F. oxysporum*

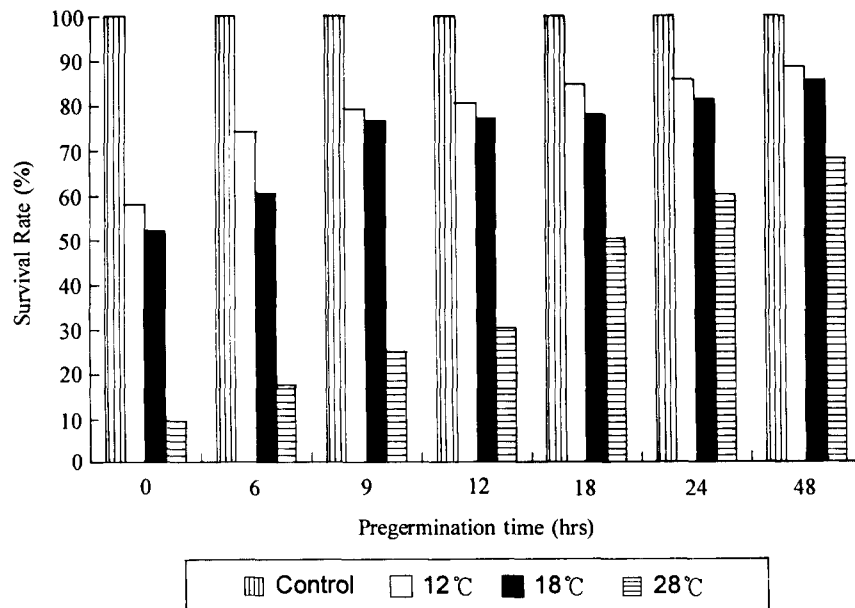


Fig. 3. Effect of pregermination time and temperature on survival rate of alfalfa inoculated with *F. solani*

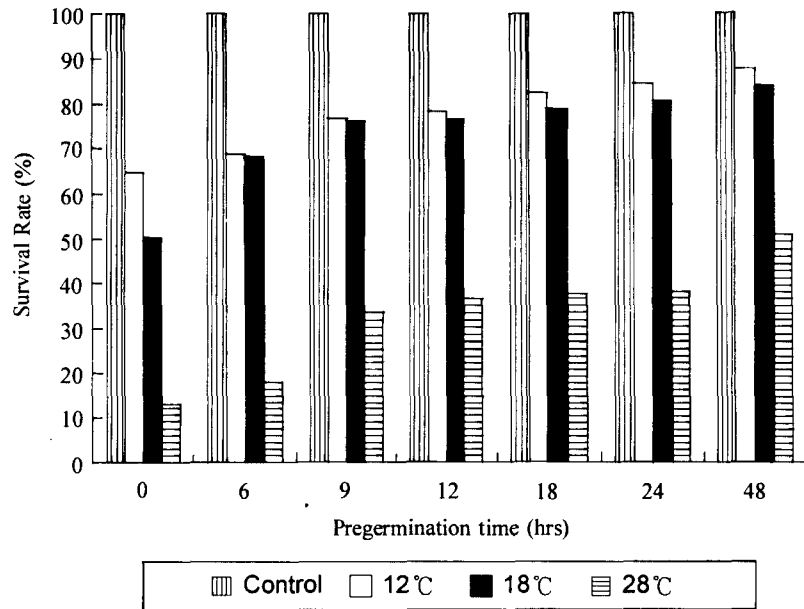


Fig. 4. Effect of pregermination time and temperature on survival rate of alfalfa inoculated with *R. solani*

Pregermination 무처리구보다 20% 이상의 생존율을 보인 시기를 병원성 사상균과 온도에 따라 비교해 보면 *F. culmorum* 처리구에서 12°C에서는 pregermination 6시간 이상 처리구에서, 18°C에서는 pregermination 24시간 이상 처리구에서, 28°C에서는 pregermination 18시간 이상 처리구에서 나타났으며, *F. oxysporum* 처리구에서도 12°C에서는 pregermination 48시간 처리구에서, 18°C 및 28°C에서는 각각 pregermination 9시간 이상 처리구에서 나타났다. 그리고 *F. solani* 처리구에서 12°C 및 18°C에서는 각각 pregermination 9시간 이상 처리구에서, 28°C에서는 pregermination 18시간 이상 처리구에서 나타났으며, *R. solani* 처리구도 12°C에서는 pregermination 24시간 처리구에서, 18°C 및 28°C에서는 각각 pregermination 9시간 이상 처리구에서 나타났다.

온도 12°C 및 18°C에서 pregermination 무처리구 및 처리구의 생존율은 병원성 사상균간에 약간의 차이를 나타냈으며 pregermination time이 증가됨에 따라 생존율은 증가되는 경향을 나타냈다. 그러나 온도 18°C에서 *F. culmorum* 3처리구는 *F. oxysporum*,

F. solani 및 *R. solani* 처리구보다 생존율이 현저하게 감소되었지만 pregermination time이 증가됨에 따라 생존율도 증가되는 경향을 나타냈다.

온도 28°C에서 pregermination 무처리구, pregermination 6시간 및 9시간 처리구는 생존율이 병원성 사상균간에 약간의 차이를 보였으나 pregermination 12시간부터는 현저한 차이를 보이기 시작했다. 그리고 *F. culmorum* 및 *F. oxysporum* 처리구의 생존율은 *F. solani* 및 *R. solani* 처리구보다 현저하게 감소되었지만 pregermination time이 증가됨에 따라 생존율은 증가되는 경향을 보였다. 또한 *F. culmorum* 처리구는 pregermination 초기부터 *F. oxysporum*, *F. solani* 및 *R. solani* 보다 생존율이 현저하게 감소되었다.

이상의 결과로 보아 병원성사상균에 의한 병해를 최소화하기 위해서는 각각의 온도에서 pregermination time을 48시간 이상 지속시킴으로써 alfalfa의 생존율을 증가시킬 수 있었으며 특히 12°C에서 24시간 이상 pregermination 시킴으로써 약 80% 이상의 생존율을 유지할 수 있음을 알 수 있었다. 그리고 병원성 사상균은 대조구보다 각각의 온도에서 현저하게 생

존율을 감소시키는 경향을 나타냈는데 이는 병원성 사상균인 *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. solani* 및 *R. solani*는 알팔파의 유식물에 병을 발생시키는 병원성 사상균일 뿐아니라 온도에 감수성이 있는 것으로 입증되었다.

2. 출현율

병원성사상균 및 근류균이 접종된 pot에 alfalfa 종자를 pregermination 시간별로 파종하여 alfalfa의 출현율에 미치는 영향을 조사하였는데 그 결과는 표 1과 같다. 이때 pregermination 시간은 alfalfa의 생존율을 근거로 선택하였으며 근류균접종은 생물학적 질소고정을 유도하기 위하여 실시하였다.

Table 1. Emergence rate of alfalfa at 14 days after sowing

<i>Rhizobium meliloti</i>	Pathogenic fungi	Pregermination time(hrs.)		
		0	24	48
Non-inoculation	Control	83.0±0.95 ^b	84.2±1.74 ^b	90.2±1.39 ^a
	<i>F. culmorum</i>	58.6±1.12 ^c	70.6±2.40 ^b	78.6±1.75 ^a
	<i>F. oxysporum</i>	58.6±2.21 ^c	68.6±2.36 ^b	78.6±1.47 ^a
	<i>F. solani</i>	62.2±2.03 ^c	68.8±2.04 ^b	78.0±1.34 ^a
	<i>R. solani</i>	57.0±2.21 ^c	68.2±2.43 ^b	79.8±0.74 ^a
Inoculation	Control	83.6±1.47 ^b	85.6±1.75 ^b	90.2±1.11 ^a
	<i>F. culmorum</i>	59.2±0.73 ^c	73.2±2.12 ^b	86.4±1.74 ^a
	<i>F. oxysporum</i>	65.2±1.20 ^c	71.2±1.20 ^b	80.2±1.86 ^a
	<i>F. solani</i>	62.2±1.53 ^c	72.4±1.99 ^b	80.6±1.12 ^a
	<i>R. solani</i>	56.8±1.80 ^c	68.8±1.53 ^b	80.4±2.01 ^a
Non-inoculation		63.9±2.11 ^c	72.1±1.54 ^b	81.0±1.10 ^a
Inoculation		65.4±2.02 ^c	74.2±1.39 ^b	83.8±1.04 ^a
Interaction effect (Significance)		PF × PT ¹⁾ **	PF × RM NS	PT × RM NS

^{a, b} and ^c : Values with different letters differ significantly(P<0.05)

** : Significant at 0.01 level NS: not significance

¹⁾ PF : Pathogenic fungi, PT : Pregermination time, RM : *Rhizobium meliloti*

근류균 무접종구 및 접종구에 있어서 대조구의 pregermination 48시간 처리구는 pregermination 무처리구, 24시간 처리구보다 출현율이 증가하였으며 (P<0.05) 병원성 사상균 처리구의 출현율도 pregermination time이 증가함에 따라 pregermination 무처리구보다 현저하게 증가되는 경향을 나타냈다 (P<0.05). 그리고 병원성 사상균 처리구는 대조구보

다 출현율이 현저하게 감소되었다(P<0.05).

근류균 무접종구에서 병원성 사상균 처리구는 대조구보다 출현율이 현저하게 감소되었으며(P<0.05) 병원성 사상균 처리구간에는 비슷한 경향을 나타냈다. 그리고 근류균 접종구에서도 병원성 사상균 처리구의 출현율은 대조구보다 유의적으로 감소되었다(P<0.05). 그러나 병원성 사상균 처리구간에 유의차는 나타나지

않았으며 *R. solani* 처리구의 출현율은 *F. culmorum*, *F. oxysporum* 및 *F. solani* 처리구보다 감소되는 경향을 나타냈다. 근류균 무접종구에 있어서 pregermination 처리구의 출현율은 pregermination 무처리구에 비하여 증가되었으며($P < 0.05$) pregermination time이 증가함에 따라 출현율도 증가하는 경향을 나타냈다($P < 0.05$). 그리고 근류균 접종구도 pregermination 처리함으로써 출현율이 증가되었다($P < 0.05$) 근류균 접종구의 출현율은 근류균 무접종구보다 경미한 증가를 보였으며 pregermination 48시간 처리구는 약 80% 이상으로 대조구와 비슷한 수준까지 증가되는 경향을 보여주었다. 그리고 알팔파의 출현율에 있어서 근류균접종과 병원성 사상균, 근류균접종과 pregermination time 사이의 상호작용 효과는 나타나지 않았으나 병원성 사상균과 pregermination time 사이에서는 상호작용 효과가 인정되었다($P < 0.01$).

이상의 결과로 보아 pregermination time을 48시간 이상 지속시킴으로써 alfalfa의 출현율을 80%이상 증가시킬 수 있었으며 또한 근류균을 접종함으로써 경미한 출현율의 증가됨을 알 수 있었는데 이는 근류균이 병원성 사상균의 활성을 어느정도 완화시킨데 기인된 것으로 생각되며 근류균과 병원성사상균간의 상호작용에 관한 많은 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

토양병원성 사상균은 목초의 유식물에 병해를 일으켜 목초의 생육을 저해하든지 또는 살상효과를 가지고 있다고 하였고(Falloon, 1985, 1980; Renfro 및 Kernkamp, 1963; Renfro 및 Wilcoxson, 1963), Falloon (1985)은 perennial ryegrass 유식물에 대한 병해의 연구보고에서 *Chaetomium*속, *Fusarium*속 및 *Pythium*속은 모든 온도(7.5~27.5℃)에서 ryegrass 유식물에 병해를 일으킨다고 하였으며 특히 온도 12.5~22.5℃보다 7.5℃ 및 27.5℃에서 병원성 사상균의 활성이 가장 높게 나타났다고 하였다. Holme(1979)도 목초 유식물에 대한 *F. culmorum* 및 *F. nivale*의 병해활성은 온도에 따라 민감하게 변화된다고 하였다. 본 시험에서도 병원성 사상균에 따라 약간의 차이는 있으나 온도 28℃는 12℃ 및 18℃보다 alfalfa의 생존율이 현저하게 감소되었으며 특히 *Fusarium* 속의 활성은

고온(27.5℃)에서 강하게 나타났다고 보고한 Falloon (1985)의 보고와 동일한 결과를 나타냈다.

Renfro 및 Kernkamp(1963)는 *Phoma herbarum* 및 *Pseudoplea briosiana*는 30℃보다 18℃에서 alfalfa의 잎·줄기병해를 심하게 발생시켰으나 *Cercospora zebrina*는 18℃보다 30℃에서 병해를 현저하게 발생시켰다고 하면서 병원균의 종류 및 온도에 따라 alfalfa의 병해정도는 차이가 있다고 하였다.

Alfalfa 및 red clover의 damping-off는 온도에 따라 약간의 차는 있으나 파종 후 1~2일된 유식물에서는 현저한 감소를 보였다고 Chi와 Hanson(1961)은 보고하였으며 또한 Hanson(1956)도 alfalfa, red clover 및 sweetclover의 damping-off는 고수분 토양이라던가 고온에 쉽게 발생한다고 하였다.

Graham등(1956)의 보고에 의하면 ladino clover의 출현율은 18.9℃ 및 22.8℃에서, lespedeza는 30.5℃에서 가장 좋은 결과를 나타냈고 lespedeza 유식물에서 *R. solani* 및 *P. debarynum*에 의한 damping-off의 85~100%는 18.9~30.5℃에서 발생했으며 ladino clover 유식물에서 damping-off는 *R. solani*에 의해서 가장 크게 영향을 받았다고 하였다.

일반적으로 목초는 발아가 시작된 다음 일정한 시간안에 병원성 사상균에 의해 병해가 발생되는데, Falloon(1985)은 perennial ryegrass 경우 병원성 사상균에 영향을 받기 쉬운 시기가 25℃에서 2~3일이라고 하였는데, 본 시험에서도 pregermination 무처리구, 처리구 모두 병원성 사상균에 영향을 받아 생존율과 출현율이 대조구보다 현저하게 감소되는 경향을 나타냈다. 그러나 pregermination 24시간, 48시간 처리구는 pregermination 무처리구보다 생존율과 출현율이 향상됨을 알 수 있었다.

Michail(1956)은 ryegrass 지상부 생육의 최적온도가 18~20℃인데 이 온도에서 빠른 유식물의 성장을 유도함으로써 병원성 사상균에 의한 병해를 극복할 수 있다고 하였으며 Holmes(1983)도 19일령된 화분과목초 유식물에 *F. culmorum* 및 *F. nivale*를 접종했을 때 보다 종자를 파종함과 동시에 이들 사상균을 접종했을때가 유식물에 대한 병원성 사상균의 활성이 증가된다고 하였다.

Gregory 등(1952)은 파종 후 14-20일된 유식물에 병원성 사상균을 접종했을 때 유식물의 병해는 거의 나타나지 않았다고 하였으며, Halpin 및 Hanson (1958)의 경우 alfalfa, red clover는 파종후 3일후에 *Pythium* 속에 저항성이 생긴다고 하였다. 또한 Chi 및 Hanson(1962)도 *P. debaryanum*이 접종된 토양에 alfalfa와 red clover 종자를 파종하게 되면 목초의 damping-off가 현저하게 발생되나 파종 후 5일령이 된 유식물은 거의 이 병원성 사상균에 저항성을 보인다고 하였고 파종 후 2주 이상이 된 유식물은 거의 병해를 받지 않는다고 하였다. 본 시험의 결과에서도 pregermination 시간을 증가시켜 유식물의 빠른 성장을 유도함으로써 병원성 사상균에 대한 병해를 최대한 억제 시킬 수 있음을 확인할 수 있었다.

따라서 포장상태에 있는 유식물은 토양병원성 사상균에 노출되어 대부분 출현기에 유식물의 병해가 발생되기 때문에 병원성 사상균살균제의 종자처리 는 출현전에 죽어 없어지는 것으로부터 보호하여 유식물의 출현을 증가시킬 수 있으며 궁극적으로는 사상균에 의한 병해를 받지 않고 유식물이 정상적인 성장을 함으로써 성공적인 유식물정착을 향상시킬 수 있을 것으로 생각된다.

IV. 적 요

본 연구는 alfalfa의 병해를 일으키는 병원성사상균(*F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *R. solani*)을 이용하여 pregermination 시간(0, 6, 9, 12, 18, 24, 48 hrs.)과 온도(12℃, 18℃, 28℃)가 alfalfa 유식물에 미치는 영향을 조사하기 위하여 수행되었다. Alfalfa 생 존율은 병원성사상균을 접종함으로써 감소되었으나 pregermination 처리구는 무처리구보다 증가하는 경향을 나타냈다. 그리고 병원성사상균의 활성은 온도가 증가함에 따라 현저하게 증가하였다($P < 0.05$). Alfalfa 출현율은 병원성사상균을 접종함으로써 감소하였으나 pregermination 처리구는 무처리구보다 현저하게 증가하였다($P < 0.05$).

V. 인 용 문 헌

1. Agrios, G.N. 1978. plant pathology. 2nd ed. Academic press. New york and London. p.703.
2. Aube, C. and C. Gagnon. 1970. Influence of certain soil fungi on alfalfa. Canadian J. Plant Sci., 50:159-162.
3. Baker, K.F. and R.J. Cook. 1982. Biological control of plant pathogens. The American Phytopath. Soc., St., Paul. Minnesota, p. 433.
4. Burk, D.W., and D.E. Miller. 1983. Control of *Fusarium* root rot with resistant beans and cultural management. Plant Dis., 67:1312-1317.
5. Campbell, J.N., D.D. Cass and D.J. Peteya. 1987. Colonization and penetration of intact canola seedling roots by an opportunistic fluorescent *Pseudomonas* sp. and the response of host tissue. Phytopath., 77:1166-1173.
6. Chi, C.C., and E.W. Hanson. 1962. Interrelated effects of enviroment and age of alfalfa and red clover seedlings on susceptibility to *Pythium debaryanum*. Phytopath., 52:985-989.
7. Crall, J.M. 1951. Wilt of red clover seedlings(Abs). Phytopath., 41:7.
8. Falloon, R.E. 1980. Seedling emergence responses in ryegrasses(*Lolium* spp.) to fungicide seed treatments. N. Z. J. Agric. Res., 23:85-391.
9. Falloon, R.E. 1985. Temperature and seedling age affect susceptibility of perennial ryegrass seedlings to pathogenic fungi. Plant and Soil, 86:87-93.
10. Graham, J.H., K.W. Kreitlow and L.R. Faulkner. 1972. Disease. Pages 497-526 in: Alfalfa Science and Technology. C.H. Hanson, ed. Am. Soc. Agron. : Madison, WI.
11. Gregory, K. F., O.N. Allen, A.J. Riker, and W.H. Peterson. 1952. Antibiotics and antagonistic microorganisms as control agents against damping-off of alfalfa. Phytopath. 42:613-622.
12. Halpin, J.E. and F.W. Hanson. 1958. Effect of age of seedlings of alfalfa, red clover, Ladino clover, white clover and sweet clover on susceptibility to

- Pythium*. Phytopath., 48:481-485.
13. Hanson, E.W. 1956. Effects of temperature on damping-off and response to seed treatment in forage legumes(Abs.). Phytopath., 46:13-14.
 14. Holmes, S.J.I. 1977. Grass establishment problems and their control by seed treatments. Proceedings of the Symposium on Problems of Pest and Disease Control in a Northern Environment, Dundee, pp. 7-8.
 15. Holmes, S. J. I. 1979. Effects of *Fusarium nivale* and *Fusarium culmorum* on the establishment of four species of pasture grass. Ann. Appl. Biol. 91:243-250.
 16. Holmes, S.J.I. 1983. The susceptibility of agricultural grasses to pre-emergence damage caused by *Fusarium culmorum* and its control by fungicidal seed treatment. Grass Forage Sci., 38:209-214.
 17. Krieg, N.R. and J.G. Holt. 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology, Williams and Wilkins, Baltimore.
 18. Mead, H.W. 1963. Comparison of temperatures favoring growth of *Ascochyta imperfecta* peck and development of spring black stem on alfalfa in Saskatchewan. Can. J. Bot., 4:312-314.
 19. Michail, S.H. and A. J. H. Carr., 1966. Effect of seed treatment on establishment of grass seedlings. Plant Path., 15:60-64.
 20. Phae, C.G., M. Shoda and N. Kita. 1992. Biological control of crown and root rot and bacterial wilt of tomato by *Bacillus subtilis* NB22. Ann. Phytopath. Soc., 58:329-339.
 21. Renfro B.L., and Kernkamp M.F. 1963. Fungi isolated from black stem of alfalfa and the influence of temperature on lesion formation and disease severity. Phytopath., 53:774-777.
 22. Renfro B.L. and Wilcoxon R.D. 1963. Spring black stem of alfalfa in relation to temperature, moisture, wounding and nutrients and some observations on pathogen dissemination. Phytopath., 53:1340-1345.
 23. Rodriguez, R., K.T. Leath, R.R. Hill, Jr. 1990. Pathogenicity of *Phoma medicaginis* var. *medicaginis* to roots of Alfalfa. Plant Dis., 74:680-683.
 24. Swinburne, T.R., J.G. Barr and A.E. Brown. 1975. Production of antibiotics by *Bacillus subtilis* and their effect on fungi colonists of apple leaf scars. Trans. Br. Mycol. Soc., 65:211-217.
 25. 鄭永倫, 吳承煥. 1981. 토양병해의 생물학적 방제 연구. 인삼연구보고서 pp. 56-72.
 26. 최기춘, 이영환, 전우복. 1995. 세포융합에 의한 신길항 미생물 육종에 관한 연구. -목초병해의 생물학적 방제-. 한초지 15(11):1-12.