

잔디 동전마름병의 생물학적 방제를 위한 길항 미생물의 선발과 효력 검증

신태수¹ · 정우철¹ · 도기석¹ · 심규열² · 이재호¹ · 최기현¹

¹(주)그린바이오텍 부설 생명공학연구소, ²한국잔디연구소

Development of Antagonistic Microorganism for Biological Control of Dollar Spot of Turfgrass

Taek-Su Shin¹, Woo-Cheol Jung¹, Ki-Seok Do¹, Gyu-Yul Shim²,
Jae-Ho Lee¹ and Kee-Hyun Choi¹

¹Green Biotech Co., Ltd, Paju 413-830, Korea

²Korea Turfgrass Research Institute, Seongnam 463-840, Korea

ABSTRACT

Dollar spot caused by *Sclerotinia homeocarpa* is one of major diseases in putting greens. Microorganisms antagonistic to *S. homeocarpa*, a pathogen of dollar spot, were primarily screened through *in vitro* tests, including dual culture method and triple layer agar diffusion method. *In vivo* tests were also conducted to select the best candidate for a biocontrol microorganism, using pot experiment. *Bacillus subtilis* EW42-1 and *Trichoderma harzianum* GBF-0208 were finally selected as biocontrol agents against dollar spot. Relative Performance Index(RPI) was used as a criterion of selecting potential biocontrol agents. *B. subtilis* EW42-1 and *T. harzianum* GBF-0208 showed resistance to several agrochemicals mainly used in a golf course. *B. subtilis* EW42-1 and *T. harzianum* GBF-0208 suppressed effectively the disease progress of dollar spot like synthetic fungicide tebuconazole in the nursery where dollar spot had seriously occurred. *B. subtilis* EW42-1 and *T. harzianum* GBF-0208 have a potential to be biocontrol agents for the control of dollar spot.

Key words: biological control, *Bacillus subtilis* EW42-1, dollar spot, resistance to agrochemicals, *Trichoderma harzianum* GBF-0208

서 론

동전마름병(dollar spot)은 세계적으로 문제가 되고 있는 잔디병 중 하나로 잔디밭의 태취층(thatch layer)이나 토양에 분포하는 토양 전염성병원균인 *Sclerotinia homeocarpa*에 의해 발생한다. 심 등(2000)은 전국 골프장의 동전마름병 발생에 관한 연구에서 병이 우리나라 전역의 골프장에서 발생하고, 주요 가해 초종은 한지형 잔디인 *creeping bentgrass*이지만, 한국잔디(*Zoysia japonica*)와 금잔디(*Zoysia matrella*) 같은 난지형 잔디에도 발생 가능하다고 보고하였다. 동전마름병은 주로 봄과 가을에 발병하며, 병반의 크기는 직경 5 cm 이하이지만 병이 진전되면서 불규칙한 큰 병반을 형성하기도 한다(Varges, 1981). 발병률은 태취의 축적이 높고, 토양에 질소 성분이 낮을 때와 토양 습도가 낮은 상태에서 자란 잔디일 경우가 높다고 한다(Burpee, 1986; Couch와 Bloom, 1960).

동전마름병의 방제 및 예방을 위해서는 적당한 질소원의 공급과 잔디 잎의 물기 제거, 토양의 적당한 수분 유지, 저항성 품종의 파종, 화학 농약을 이용한 화학적 방제 등이 있는데(Smiley, 1992), 이 중 국내의 골프장에서는 주로 화학 농약을 통한 방제에 의존하고 있다. 하지만, 과도한 화학 농약의 사용은 환경오염, 생태계 파괴, 인축 독성 등의 부작용을 일으키고, 동전마름병의 병원균인 *S. homeocarpa*의 균주 특성상 약제 저항성 발현이 빈번하기 때문에 새로운 저독성 방제법 개발이 필요하다(Massie 등, 1968).

동전마름병을 방제하기 위한 화학 농약의 대안으로 생물학적 방제법이 국외에서 다수 보고되었다. Zhou과 Boland(1998)는 *creeping bentgrass*에 발병한 동전마름병을 골프장 토양에서 분리한 미생물을 이용하여 방제하였고,

Hodges 등(1993)은 *Streptomyces* 균주를 이용하여 *S. homeocarpa*에 대한 항균활성을 조사하였다. *Streptomyces* spp. 외에도 *Trichoderma* spp., *Pseudomonas* spp., 그리고 *Bacillus* spp. 등의 균주가 잔디병 방제제로 골프장에서 이용되고 있다.

본 연구에서는 동전마름병의 생물학적 방제를 위하여 경기와 강원, 충청 지역의 몇몇 골프장의 토양과 골프장외의 일반 토양에서 *S. homeocarpa*에 항균활성을 가지고 있는 길항 미생물을 분리하였고, 균주 선발을 위한 *In vitro* 실험과 풋트와 골프장 예비 묘포지에서 실시한 생물 검정 실험을 통해 길항 미생물의 동전마름병에 대한 방제력을 검정하였다.

재료 및 방법

길항미생물의 분리

퍼팅그린에서 문제가 되고 있는 *Sclerotinia homeocarpa*에 대한 항균 활성을 갖는 미생물을 선발하기 위해서 경기 9개 지역, 충북 2개 지역, 충남 1개 지역의 골프장과 일반 토양을 채취하였고, 삼중층 평판배지를 이용하여 길항균을 분리하였다. 삼중층 평판배지를 만들기 위한 과정은 다음과 같이 진행 하였다. 양질의 토양 250g에 2배량의 증류수를 넣고 가압 멸균한 다음 거즈를 이용하여 여과하였다. 여액을 증류수를 사용하여 1L로 조정한 다음 agar 15g을 첨가하고 30ml용 시험관에 10ml씩 분주한 다음, 통상의 방법으로 가압 멸균하여 50℃의 항온수조에 보관하였다. 이어서 채취한 토양시료 1g을 멸균한 생리식염수 100ml에 잘 현탁한 다음, 현탁액 2-3 방울을 상기 시험관에 넣고 잘 혼합하여 plate를 제조하였다. 지금까지 제조한 plate 상에 soft agar 용액 5ml를 넣어 균한 후, 마지막으로

계대배양중인 사면배지로부터 *S. homeocarpa* 균사를 28℃의 항온기에 준비된 Potato Dextrose Agar(PDA) 10ml에 2~3 방울 첨가하고 잘 혼합한 후에 상기의 plate에 다시 분주하여 삼중층평판배지를 제조하였다. 제조된 평판배지를 30℃ 항온기에서 3~7일간 배양하고, 동진마름병의 병원균인 *S. homeocarpa*에 대해 길항성을 보이는 미생물을 순수 분리한 후, Tryptic Soy Broth(TSB) 배지를 이용하여 배양한 다음 대칭배양법과 생육 저지환 측정법을 이용하여 우수한 길항력이 있는 미생물을 선별하였다. 대칭배양법의 경우 다음의 식에 의해 생육 저해율을 계산하였고, 생육 저지환 측정법은 투명환의 직경으로서 길항력을 평가하였다.

균사생장억제율(%)

$$= \frac{\text{(공시 균주에 대한 병원균류의 생육 억제 반경)}}{\text{(대조구 상에서의 병원성 균류의 생육 반경)}} \times 100$$

길항 미생물의 잔디병 억제 효과 검증(풋트 실험)

In vitro 실험에서 우수한 효과를 보였던 균주들을 대상으로 풋트 수준에서 병 발생 억제 효과에 대한 실험을 실시하였다. 식물 재료로 퍼팅그린의 주요 초종 중에 하나인 펜크로스(*Agrostis palustris* Huds. cv. Pencross)를 예비 포지에서 채취하여 30×45 cm 사각 풋트로 옮긴 후에 20~30℃의 온실에서 30일 이상 활착을 시킨 것 또는 파종 후 같은 조건에서 60일 이상 재배한 것을 사용하였다. 병원균의 접종원은 1일 간격으로 2회 연속 살균한 sand-oatmeal 배양기(1,000ml 삼각플라스크에 모래 380g, oatmeal 20g을 넣어 혼합하고, 증류수 76ml를 첨가)에 PDA 배지를 이용하여 5일간 배양한 *Sclerotinia homeocarpa*의 균총을 코르크보이로 잘라 5개씩 이식하여

25℃ 항온기에서 20일간 배양하여 준비하였다. 준비된 병원균은 길항미생물 처리 전에 풋트당 20g 수준으로 접종하였으며, 길항미생물 처리는 후보 길항미생물이 충분히 자랄 수 있도록 Potato Dextrose Borth(PDB) 또는 TSB에서 충분히 배양한 다음 배양액을 100배 희석하여 풋트당 200ml 씩 각각 처리하여 효력을 검증하였다. 처리 방법으로는 잔디의 앞면보다 토양에 약제의 처리가 집중되도록 물조리개를 이용하여 관주 처리하는 방법과 잔디 앞면에 고무 약제가 도포되도록 분무기를 이용하여 처리하는 경엽 처리 방법을 이용하여 각각의 처리 결과를 통해 처리 방법에 따른 효력의 차이를 검증하였다. 대조 화학 농약으로는 터부코나졸 유제 1,500배 희석액을 살포하였고, 약제 처리 후에 습실상(온도 28℃, 상대습도 100%) 안에서 발병을 유도하였다. 처리 10일 후에 발병 면적율을 조사하고, 무처리 대비 방제가(%)를 구하여 높은 항균활성을 나타내는 미생물을 선발하였다.

Relative Performance Index(RPI)

최종 길항 미생물의 선정은 병원균에 대한 길항력과 성장 속도를 복합적으로 고려할 수 있도록 세균의 성장 속도와 세포 분열 속도를 기본 값으로 하여 종합적인 세균의 배양 속도를 측정하는 RPI 기법(Slininger 등, 2003)을 본 실험에 적합하게 변형하여 이용하였다. 본 실험에 사용한 변형된 RPI를 구하는 방법은 다음과 같다. Efficacy는 앞서의 생물 검증 시험(풋트 시험)에서의 방제가를 X 값으로 계산하였고, Kinetics는 후보 균들을 5ml LBS 배지(soluble starch, 10g/L; Tryptone, 10g/L; Yeast extract, 5g/L; NaCl, 5g/L)에서 1차 사면배양(30℃, 16시간) 한 후, 10ml LBS 배지에서 2차 사면배양(30℃, 12시간)을 진행한 후보 균들의 최종 OD₆₀₀을 X값으

로 이용하였다.

$$RPI = RPI_{\text{Efficacy}} + RPI_{\text{Kinetics}}$$

i) 병원균에 대한 길항력에 관한 RPI_{Efficacy}

$$RPI_{\text{Efficacy}} = [\{ (X - \bar{X}) / \sigma \} - 2] \times 25$$

ii) 후보균의 성장속도에 대한 RPI_{Kinetics}

$$RPI_{\text{Kinetics}} = [\{ (X - \bar{X}) / \sigma \} + 2] \times 25$$

X : single observation value

\bar{X} : the average of all observations

σ : the standard deviation of observations

화학 농약과의 혼용 가능성 검정 실험

골프장에서 사용하고 있는 화학 농약에 대한 내성을 검정함으로써 IPM 소재로써 화학 농약과의 혼용 가능성을 검증해 보았다. 최종 선발 길항 미생물이 세균인 경우 LB 배지 (yeast extract 0.5%, tryptone 1.0%, NaCl 0.5%)에서 30℃에 12시간 동안 진탕 배양하고, 1×10^7 cell(spore)/ml 수준으로 조정하여 현탁액을 제조하였다. 곰팡이는 PDB에서 25℃에 5일 동안 진탕 배양하고, 1×10^7 cell(spore)/ml 수준으로 균수를 조정하여 현탁액을 제조하였다. 이 현탁액을 0.85% topping 용 soft agar 5ml에 100 μ l을 첨가하고 잘 혼합한 후, 세균과 곰팡이를 각각 LB 배지와 감자한천배지에 부어 풍건하여 농약 혼용성 평가를 위한 plate를 제조하였다. 물 처리를 대조구로 하고, 검정 대상 농약의 권장희석배수 1/10배, 1배, 2배 희석액을 제조하여 0.8 mm thick paper disc에 100 μ l씩 처리하여서 미리 제작한 농약 혼용성 평가 plate 위에 치상한 다음 25℃에서 배양하여 생육 저지원의 유무로 농약 혼용성을 평가하였다. 혼용성 여부는 전 농도에 걸쳐서 생육 저지원이 생기지 않는 것을 기준으로 하였다. 사용한 농약은 시장에서 판매되고 있는 제품으로 하였다.

예비 묘포지에서의 생물 검정

최종 선발된 길항 미생물의 약효 실험은 화산 C.C. 퍼팅 그린 예비 묘포지 내 동전마름병 자연 발생지에서 실시하였다. 실험구의 배치는 난괴법 3반복으로 한 실험구 당 1m²의 크기로 실시하였다. 실험구에 식재된 잔디는 펜크로스 품종이었고, 길항 미생물은 본 연구 기관에서 개발한 최적 생산 배지와 배양 공정을 통해 제조한 시제품을 이용하였으며, 물 1ℓ로 길항 미생물 제제를 100배 희석하여 발병 직후부터 7일 간격으로 실험구 당 1ℓ/m²씩 4주간 처리하였다. 대조 화학 농약은 터부코나졸 유제를 1,000 배 희석하여 역시 1주 간격으로 4회 경엽 살포하였다. 최종 약제 처리 7일 후, 발병 면적율을 조사하여 약효를 평가하였다. 약해 검증 실험은 한국 잔디인 조이시아(*Zoysia japonica*)와 펜크로스에 대하여 약효 검증 실험에 사용한 기준량과 그 배량을 처리하여 실시하였다. 퍼팅 그린 예비 묘포지의 잔디 관리는 골프장의 관행적인 관리를 따랐다.

결과 및 고찰

길항 미생물의 활성 검정

각 지역의 토양에서 삼중층평판배지를 이용하여 길항성이 있는 것으로 보이는 미생물의 colony를 분리하였다. 생육저지환의 형성 유무를 기준으로 순수 분리된 colony를 TSB에 배양하여 colony의 형태 및 현미경 관찰 결과를 통해 수종의 미생물을 선발하였고, 각각의 분류학적 위치와 분리 지역, 장소를 기준으로 일련의 명칭을 부여하였다. 순수 배양한 후보 균주는 생육 저지환 검정법을 통해 동전마름병의 병원균인 *S. homeocarpa*에 항균활성을 검

Table 1. Antifungal activity and inhibition of mycelial growth against *Sclerotinia homeocarpa* by antagonistic microorganisms isolated from soils

Antagonistic microorganism	Radius of clear zone ^z (mm)	Inhibition of mycelial growth (%) ^y
EW 15	30	56
EW 42-1	33	55
PseD	25	37
20(1)	26	50
19M	26	51
GB-0365	26	40
Gb-017	23	44
GBA-0927	29	55
GBF-0208	31	58
GB-0999	20	40

^zAntifungal activity by measuring radius of clear zone.

^yInhibition rate of mycelial growth by dual culture method.

증하였고, 생육 저지환의 측정 결과가 직경 15mm 이상인 것을 기준으로 하여 *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptomyce* spp., *Trichoderma* spp. 등을 포함한 총 10종을

선발하였다. 선발된 후보 미생물 중 항균활성 효과가 뛰어난 미생물 후보군들에 대해 배양법을 실시하여 균사 성장 억제력을 평가하였고, 이 중 4종인 EW15, EW42-1, GBA-0927, 그리고 GBF-0208이 높은 효과를 보였다(Table 1). 이들 후보군주를 colony의 형태와 배양학적 특성을 기준으로 판단하였을 때, GBF-0208은 곰팡이인 *Trichoderma harzianum*이었고, EW42-1와 EW15는 *Bacillus subtilis*, GBA-0927은 *Streptomyces kasugaensis*이었다. 길항 미생물의 선발 실험에 사용한 병원균은 골프장의 동전마름병 발생지 내 토양과 잔디의 병반에서 분리한 것을 실험실 내부에서의 이병 실험을 통해 고병원성 여부를 검증하여 사용하였다(심, 2000). 이중 선발 과정에서 높은 항균활성과 균사 성장 억제력을 보인 4종의 후보 길항 미생물에 대해 고병원성을 지닌 3종의 분리 병원균을 대상으로 대칭 배양법을 실시하였다. 길항미생물의 3종의 병원균에 대한 항균 활성 정도는 상호간의 약간의 차이를 보이지만, 특이적인 활성 차이는 거의

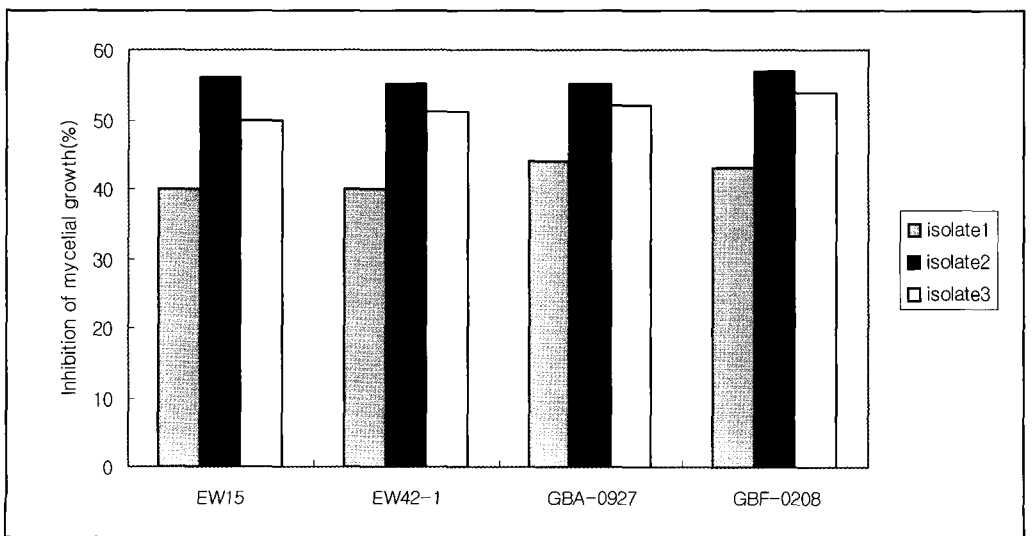


Fig 1. Activity of inhibition of mycelial growth against 3 isolates of *Sclerotinia homeocarpa* by antagonistic microorganisms.

없었다.(Fig. 1).

꽃트를 이용한 생물 검정 실험

생물학적 방제법에 사용할 수 있는 길항 미생물을 선별하기 위하여 생물 검정 실험을 실시하였다. 동전마름병의 방제에 가장 효과가 있는 길항 미생물 후보는 *Bacillus subtilis* EW42-1과 *Trichoderma harzianum* GBF-0208이었다. 위의 두 균주는 관주 처리 시, 무처리 대비 방제가가 각각 45.7%와 37.2%로 화학 농약 대조구인 테부코나졸 유제의 방제가 51.3%와 통계적으로 비슷한 방제 효과를 보였다(Table 2). 처리 방법에 있어서는 관주 처리를 이용한 생물 검정 실험에서 길항 미생물은 높은 발병 억제 효과를 보였으며, 경엽 처리를 통한 약제 처리는 상대적으로 미미한 효과를 보였다(Fig. 2). 관주와 경엽의 두가지 다른 방법으로 미생물제제를 처리된 결과로는 토양과 잔디 근권에 약제가 직접 처리되는 관주 처리 방법이 높은 효력을 가지고 있음을 알 수 있었다.

기존에 수행된 실험 결과들은 동전마름병을 포함한 대부분의 토양 전염병은 토양과 잔디 근권에 병원균이 위치하기 때문에 관주처리가 더 높은 방제 효과를 보였다. 또 다른 처리방법으로는 Topdressing Aeration Core(TAC)가 있는데 이 처리방법도 효율성이 좋은 것으로 알려져 있다.” Lo 등(1996)은 *Trichoderma harzianum*을 이용한 동전마름병의 방제를 위해 TAC 처리에 적합한 입제를 이용하여 높은 방제 효과를 얻었다. 이는 경엽 처리에 의한 잔디 지상부 방제보다 토양 혹은 잔디 근권에 직접 처리하는 지하부 방제가 미생물의 토양 정착성이 향상되고, 더 지속적이

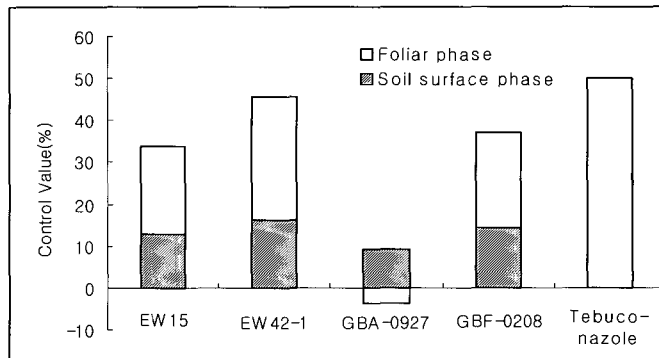


Fig 2. Antagonistic effects of 4 isolates of microorganisms on control of dollar spot through pot test using two different methods, spraying on foliage and pouring on soil surface.

Table 2 Suppression of dollar spot by antagonistic microorganisms isolated from various soil in pot test.

Treatment	Disease incidence(%)			Average ^z	Control value(%) ^y
	No. 1	No. 2	No. 3		
EW15	61	47	54	51.7bc	30.8
EW42-1	47	40	40	42.3c	45.7
GBA-0927	75	87	60	74.0ab	5.1
GBF-0208	40	40	67	49.0c	37.2
Tebuconazole(EC ^x)	47	47	20	38.0c	51.3
Control ^w	60	80	94	78.0a	-

^zDuncan's multiple range test, 95%.

^yCalculated from the equation(1 - D. I.treat / D. I.cont) × 100.

^xEC means emulsifiable concentrate.

^wTreatment with tap water.

고 높은 효율의 방제력을 보일 수 있음을 의미한다. 그러나, Lo 등(1997)은 이후 추가적인 연구를 통해 TAC 처리를 통한 방제는 초기의 병 발생을 억제하거나 토양에 존재하는 병원균의 방제에는 효과가 좋지만, 지상부인 잎을 통한 병의 전염이나 병징의 심화를 막을 수 없기 때문에 경엽 처리의 동반 사용이 효과적인 동전마름병 방제에 필요하다고 보고하였다. 일반적으로 골프장에서 문제가 되는 토양 전염병의 경우에도 지속적인 잔디깎기에 의한 잎면의 상처는 활성이 높은 균사의 침투에 무방비 상태이므로 관주처리와 경엽처리를 적절히 혼용하여 방제해야 할 필요가 있다. 이번 실험에서 경엽 처리를 통한 방제는 효과가 낮거나 거의 없지만, 방제 효과의 개선을 위하여 자외선으로부터의 보호, 옆면의 부착력 향상, 기타 외부의 물리적·화학적 영향으로부터의 영향 최소화 등 제형에 대한 연구가 이루어진다면 실제 현장 적용 시 높은 효과를 보일 수 있을 것이다.

또한, 포트 실험 결과와 항균활성 실험 결과를 고려하여 미생물의 활성 기작을 살펴보면, 선발된 미생물 제제가 병원균에 대해 항균

활성을 나타내는 기작에는 중복감염(hyperparasitism), 영양과 서식처에 대한 경쟁(competition) 및 항생물질에 의한 항생작용(antibiosis) 등이 있다(Baker, 1968). 이번 실험을 통해 선발된 균주는 *In vitro* 실험에서 높은 항균활성을 나타내는 균주가 포트 수준의 생물 검증 실험에서도 높은 효과를 나타내기 때문에 주요 기작이 항생물질에 의한 항생작용과 관련이 높을 것으로 사료된다(박 등, 1995).

RPI를 이용한 길항 미생물의 선발

토양 전염성 병원균의 방제를 목적으로 하는 미생물 제제로 이용되기 위하여 길항 미생물은 병원균에 대한 항균 활성을 갖는 것 이외에도 토양에 정착하여 밀도를 유지함으로써 병원균에 대한 지속적인 억제력을 가져야 한다. 이를 평가하기 위하여 병 발생 억제력과 성장 속도를 함께 평가 할 수 있는 RPI값을 기준으로 동전마름병 방제용 미생물 제제의 후보 균주를 최종 선발하였다(Fig. 3). RPI값을 기준으로 가장 적합한 균주는 *B. subtilis* EW42-1이었지만, 성장 속도의 비교가 어려운

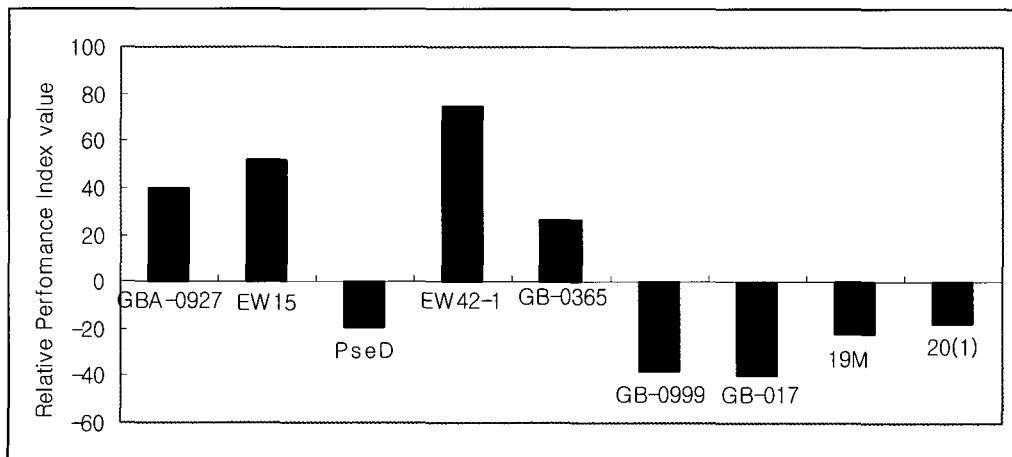


Fig 3. Use of RPI to achieve a 2-dimensional assessment of antagonistic organism based on growth and control effect against dollar spot of liquid-grown cells.

곰팡이 균주인 *T. harzianum* GBF-0208 역시 높은 병발생 억제력을 보이므로 최종 후보 균주로 선발하였다.

화학 농약과의 혼용 가능성 검정 실험

미생물 제제가 화학 농약에 대한 내성을 가지는 것은 골프 코스에 실제로 적용되기 위해서 매우 중요하다. 토양 전염병의 방제를 위해 선발한 길항 미생물이 골프장에서 사용하는 화학 농약에 대하여 반드시 내성을 가지고 있다고 말할 수 없기 때문에 약제 저항성 실험을 통한 검증은 필요하다. 본 연구를 통해 골프장에서 널리 사용되고 있는 화학 농약 제품 중 살균제 43종, 살충제 11종, 제초제 22종, 성장조절제 1종에 대하여 선발 길항 미생물의 농약 혼용 가능 여부를 조사하였다. *B. subtilis* EW42-1은 살균제의 경우, 아실아라닌계, 디카복시미드계, 트리아졸계, 카복시아닐라이드계, 요소계 등 7종, 살충제는 유기인계, 합성 피레스로이드계 등 5종이 혼용 가능하였다. 곰팡이인 *T. harzianum* GBF-0208은 살균제의 경우, 유기유황계, 카복시아닐라이드계, 유기염소계, 피리미딘계 등 총 5종, 살충제는 유기인계, 카바메이트계, 합성피레스로이드계 등 총 4종이 혼용 가능하였고, 제초제는 아마이드계, 디니트리아닌계, 설폰닐우레아계 등

총 4종이 가능하였다. *B. subtilis* EW42-1과 *T. harzianum* GBF-0208의 혼용 가능한 살균제, 살충제, 제초제의 원제를 Table 3과 Table 4에 각각 나타내었다.

예비 묘포지에서의 생물 검정

B. subtilis EW42-1과 *T. harzianum* GBF-0208의 약효와 약해를 실험하기 위하여 화산 C.C의 예비 묘포지에서 실험을 실시하였다. 기존의 풋트 수준의 생물검정 실험은 병원균을 접종하여 동전마름병을 유도하였지만, 예비 묘포지 수준의 생물검정 실험은 동전마름병의 자연 발생지에서 진행하였다. 실험 결과 *B. subtilis* EW42-1과 *T. harzianum* GBF-0208은 각각 무처리 대비 방제가 71.4%와 66.7%로 대조 화학 농약인 터부코나졸 유제의 81.0%와 통계적으로 유의한 방제효과를 가지고 있음이 입증되었다(Table 5). 약해는 기준 처리량의 두 배수를 처리한 경우에도 나타나지 않았다

동전마름병의 병원균인 *S. homeocarpa*는 잔디 근권의 토양과 태취층에 주로 분포하는 토양 전염성 병원균으로 수매성이기 때문에 방제 후에도 재발병하는 경우가 많은 난 방제 성병이다. 화산 C.C의 예비 묘포지의 경우, 봄에 동전마름병이 발병하여 문제가 되었던

Table 3. Agrochemicals applicable together with *B. subtilis* EW42-1

Products	
Fungicides	metalaxyl, iprodine, tebuconazole, mepronil, pencycuron, tebuconazole+pencycuron, propamocarb hydrochloride
Insecticides	chlorpyrifos-methyl, deltamethrin, ethoprophos, fenitrothion, feranimol

Table 4. Agrochemicals applicable to apply together with *T. harzianum* GBF-0208

Products	
Fungicides	mepronil, etridiazole, thiophanate-methyl, fenarimol
Insecticides	chlorpyrifos-methyl, carbaryl, phosalone, ethofenprox, tralomethrin
Herbicides	triclopyr, naproamide, pendimethalin, pyrazosulfuron-ethyl

Table 5. Effect of treatment of creeping bentgrass with *B. subtilis* EW42-1 and *T. harzianum* GBF-0208 on control of dollar spot in a nursery.

Treatment	Disease incidence(%) ^z				Control value(%) ^x
	1	2	3	Ave. ^y	
<i>B. subtilis</i> EW42-1	20	20	20	20.0b	71.4
<i>T. harzianum</i> GBF-0208	20	20	27	22.33b	66.7
Tebuconazol(EC ^w)	20	0	20	13.3b	81.0
Non-treated control	80	80	50	70.0a	-

^zMonitored at 7-days after final treatment.

^yDuncan's multiple range test, 95%.

^xCalculated from the equation $(1 - D. I_{\text{treat}} / D. I_{\text{cont}}) \times 100$.

^wEC means emulsifiable concentrate.

지역으로 예비 묘포지 실험에 앞서 실시한 토양 미생물 상의 측정 결과 *S. homeocarpa*의 밀도가 매우 높아 동전마름병의 발병이 예상되는 지역이었다. 병의 자연 발생지에서 생물검정 실험을 진행하는 것은 인위적인 발병에 의한 생물검정 실험보다 실험을 통하여 얻은 결과를 실제 필드에 적용할 때 유리한 점이 있다. 미생물 제제가 실제 골프 코스에서 효력을 발휘하려면 주어진 환경에 적응하여 대상 병원균의 밀도를 낮게 유지할 수 있어야 한다. 자연 발생지에서의 실험은 발병 시에 인위적으로 조작할 수 없는 병 발생의 조건인 토양 미생물 상, 토양의 유기질 함량, 미량 원소, 배수 조건, 기후 등의 환경적 요인을 충족시켜 줄 수 있기 때문에 후보 미생물의 실제 현장에서의 적응력을 검증할 수 있다. 또한, 병원균은 분리 지역과 초종에 따라 다른 병원성을 갖는다(심 등, 2000). 병원균은 병 발생지의 환경에 오랜 기간동안 적합한 형태로 적응하였기 때문에 인위적인 발병 유도를 위해 타 지역에서 분리한 병원균을 이용하여 발병 유도할 경우 원래의 병원성을 발휘하는 것이 어렵다(Elliston, 1982; Zhou와 Boland, 1998). 그러므로 인위적인 발병을 통한 생물검정 실험에서 효력이 입증된 미생물 제제가 실제 골프 코스에서는 효력을 재현하기 어려울 수도

있다. 이런 문제를 예방하기 위해서는 지역이 다른 여러 곳의 병 발생지에서의 실험을 진행하는 것이 효과적이다.

이번 실험을 통하여 동전마름병의 생물학적 방제법에 이용할 수 있는 *B. subtilis* EW42-1과 *T. harzianum* GBF-0208을 선발하였고, 대조 화학 농약에 준하는 동전마름병 방제 효력을 검증하였다. 앞으로 실제 골프 코스에 생물학적 방제법을 적용하기 위하여 미생물 제제의 효력을 증가시킬 수 있는 제형의 개발이 필요할 것이고, 실제 골프 코스에 적용할 생물학적 방제법에 기초한 종합적 병방제 관리(Integrated Pest Management) 모델에 대한 연구가 수행되어야 할 것이다.

요 약

퍼팅 그린의 한지형 잔디에 많은 문제가 되고 있는 동전마름병은 *Sclerotinia homeocarpa*에 의해 발생한다. 본 연구에서는 미생물 제제를 이용한 생물학적 방제법을 통하여 동전마름병을 방제하고자 전국의 골프장과 산, 밭 토양에서 길항 미생물을 분리하였다. 길항 미생물은 동전마름병의 병원균인 *S. homeocarpa*에 대한 항균활성 및 균사 생장 억제력, 배양

성 등을 고려하여 선발하였고, 풋트와 퍼팅 그린의 예비 묘포지에서의 생물 검정 실험을 통하여 효력을 검정하였다. 선발된 미생물은 *Bacillus subtilis* EW42-1과 *Trichoderma harzianum* GBF-0208이었고, 생물 검정 실험 결과 화학 농약 대조구인 터부코나졸 유제와 대비하여 높은 방제 효과를 보였다.

주요어: 갈색 잎마름병, 바실러스 서브틸리스, 생물학적 방제제, 트라이코더마 하이 지아눔

감사의 글: 본 연구는 한국환경기술진흥원 차세대 핵심환경기술개발사업의 지원에 의하여 수행되었으며, 지원에 감사드립니다.

참고 문헌

1. 심규열, 민규영, 신현동, 이현주. 2000. 한국 골프장에서 *Sclerotinia homeocarpa*에 의한 잔디동전마름병의 발생. 한국잔디학회지. 14: 241-250.
2. 박규진, 김영호, 박은경, 김동성. 1995. 미생물제에 의한 잔디의 토양전염병 방제 효과. 한국식물병리학회지. 1(1): 19-29.
3. Baker, R. 1968. Mechanism of biological control of soil-borne pathogens. Annu. Rev. Phytopathol. 6: 263-294.
4. Burpee, L.L., and L.G. Goulty. 1986. Influence of foliar applied nitrogen on the severity of dollar spot. The Greenmaster. 22(8): 19.
5. Couch, H.B., and J.R. Bloom. 1960. Influence of soil moisture stresses on the development of the root knot nematode. Phytopathol. 50: 319-321.
6. Elliston, J.E. 1982. Hypovirulence. pp. 1-33. In: Advances in Plant Pathology. Vol. 1. D.S. Ingram and P.H. Williams, eds. Academic Press. London.
7. Hodges, C.F., D.A. Campbell, and N. Christians. 1993. Evaluation of *Streptomyces* for biocontrol of *Bipolaris sorokiniana* and *Sclerotinia homeocarpa* on the phylloplane of *Poa Pratensis*. J. Phytopathol. 139: 103-109.
8. Lo, C.T., E.B. Nelson, and G.E. Harman. 1996. Biological control of turfgrass diseases with a rhizosphere competent strain of *Trichoderma harzianum*. Plant Dis. 80: 736-741.
9. Lo, C.T., E.B. Nelson, and G.E. Harman. 1997. Improved biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum* 1295-22 for foliar phases of turf diseases by use of spray applications. Plant Dis. 31: 1132-1138.
10. Massie, L.B., H. Cole. Jr., and J. Duitch. 1968. Pathogen variation in relation to disease severity and control of *Sclerotinia* dollar spot of turfgrass by fungicides. Phytopathol. 58: 1616-1619.
11. Slininger, P.J., and R. W. Behle, M.A. Jackson, and D.A. Schisler. 2003. Discovery and development of biological agents to control crop pests. Neotropical Entomology. 32(2): 183-195.
12. Smiley, R.W., P.H. Dernoeden, and B.B. Clarke. 1992. Compendium of

- turfgrass diseases. 2nd ed. The American Phytopathological Society. St. Paul, MN.
13. Vargas, J.M. 1981. Management of Turfgrass Diseases. Burgess Publishing, Co., Minneapolis, MN.
14. Zhou, T. and G.J. Boland. 1998. Suppression of dollar spot by hypovirulent isolates of *Sclerotinia homeocara*. Phytopathol. 88: 788-794.