

식물근권에서 분리한 세균을 처리한 감귤열매에서 감귤 역병 억제 효과

강소영 · 전용철*

제주대학교 생명자원과학대학 생물산업학부 식물자원환경전공

Suppressive Effect of Bacterial Isolates from Plant Rhizosphere against Late Blight Caused by *Phytophthora citrophthora* on Citrus Fruits

So Young Kang and Yong Chull Jeun*

Major of Plant Resources and Environment, College of Applied Life Sciences,
Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

(Received on March 22, 2010)

Suppression effect of the 12 bacterial isolates from plant rhizosphere against late blight caused by *Phytophthora citrophthora* were investigated on citrus fruits. Among the bacterial isolates, THJ609-3, TRH423-3, BRH433-2, Lyso-chit and KRY505-3 presented disease suppression after wound inoculation with the fungal pathogen *in vivo*. The anti-fungal activity was evaluated by measuring the length of inhibition zone of the mycelium *P. citrophthora* adjacent to the effective bacterial isolates in which all of the 5 bacterial isolates showed antagonistic effects. However, there was no positive correlations between the efficacy of disease suppression and the antagonistic effect. On the other hand, Lyso-chit and KRY505-3 were identified as *Bacillus cereus*, BRH433-2 as *B. circulans* and TRH423-3 as *Burkholderia gladioli*, respectively, by analysis of rDNA sequence on the internal transcript spaces. It is suggested that the effective bacterial isolates may be useful for finding biological control agents against late blight especially on environment-friendly farm where the application of fungicide is limited.

Keywords : Antibiotics, Biological control, Citrus diseases, ITS, Rhizobacteria

전 세계적으로 감귤 역병은 *Phytophthora citrophthora*, *P. nicotianae*, *P. citricola*, *P. palmivora* 등에 의해 발생되며(Graham과 Menge, 2000), 그 중에서 *P. citrophthora*는 유자, 레몬, 오렌지, 부지화, 감귤, 복숭아 등 넓은 기주범위를 갖는다(Jee, 1999; Thomidis, 2002). 제주에서 감귤 재배는 전체 경지면적의 37%, 전체 농가의 87%를 차지하고 있으며, 온주밀감의 재배 면적은 1975년 1만 ha에서 2009년에는 18,457 ha로 지속적으로 증가하였으며(고, 2009), 온주밀감에서 발생하는 감귤 역병은 주로 *P. citrophthora*에 의해 열매에서 발생한다(Hyun 등, 2001).

제주의 온주밀감은 *Phytophthora* spp.에 저항성인 탕자를 주로 대목으로 사용하므로써 역병에 의한 피해를 감소시키고 있으나, 태풍 또는 폭우 등 기상 악조건에 의해 종종 역병이 심하게 발생한다(Hyun 등, 2001). 감귤

역병 발생시기는 주로 6~7월의 장마철이지만 9~10월에도 기상이변에 따른 강우일수와 강우량의 증가로 종종 침수된 과원에서 발생되기도 한다(현, 2008). 감귤 역병에 대해 방제는 cyazofamid(미리카트®, 경농) 또는 dimethomorph(포름®, 동방아그로) 등의 농약을 이용한 화학적 방제가 주로 이루어진다(제주도특별자치도 제주·서귀포시청 친환경감귤농정과, 2007).

그러나 지난 10년간 환경의 중요성이 언론매체에 의해 보도되면서, 소비자는 신선하고 안전한 농산물에 대한 관심도가 높아졌으며, 무농약 또는 유기농재배에 의한 상품에 대한 요구가 증가하고 있다(Hong과 Cho, 2007; Yang 등, 2007; Weller, 1988). 이러한 소비자의 요구는 정부의 농업정책이 환경친화적인 작물재배를 육성하는 방향으로 바뀌는 계기가 되었고 친환경 농업의 확대를 위한 많은 연구가 진행되고 있다(Jeun 등, 2001; Jung 등, 2007; Winding 등, 2004).

본 연구는 식물에서 분리한 길항근권세균들을 이용하

*Corresponding author

Phone) +82-64-754-3319, Fax) +82-64-725-2351

Email) ycjeun@jejunu.ac.kr

여 *in vitro*에서 활성 검증 및 생물검정 시험을 통해 감귤 역병에 대한 효과적인 예방 및 방제 가능성을 제시하고자 했으며, 생물적 방제제로 유용될 수 있는 길항근권세균을 중심으로 DNA의 특정부위 염기서열분석을 통한 동정을 수행하였다.

재료 및 방법

식물근권세균의 감귤 역병균에 대한 항균 활성. 제주의 산간지역, 중산간지역, 해안지역에 자생하고 있는 일년생식물 근권에서 근권세균들을 분리했으며(Lee 등, 2003), 그 중에서 식물병원균에 대해 항미생물 효과가 확인된 12가지의 균주를 선택하여 실험에 이용하였다.

선택된 근권세균을 각각 Trypticase Soy Agar(TSA) 배지에 옮긴 후 28°C에서 48시간동안 배양하였다. 감귤 역병균 *Phytophthora citrophthora*를 Korea Agricultural Culture Collection (KACC)에서 분양받아 10% V8 배지에 옮긴 후 25°C에서 7일 동안 배양하였다. 배양된 근권세균 및 감귤 역병균을 포함한 배지(직경 5 mm)를 각각 절취하여 Potato Dextrose Agar(PDA) 배지에 직경 1/3지점에 근권 세균을, 반대편의 직경 1/3 지점에 감귤 역병균을 치상한 후 25°C에서 10일간 대치 배양하였다. 식물근권세균의 감귤 역병균에 대한 항균 활성은 대치된 근권세균의 반대편에서 생장한 감귤 역병균사체의 길이에 대한 근권 세균과 대치 배양으로 인해 생장이 억제된 균사체의 길이의 비로 나타내었다.

식물근권세균 현탁액 작성. 선발된 식물근권세균을 각각 TSA배지에서 28°C, 48 hr 동안 배양하였다. 배양된 배지에 10 ml 살균수를 넣고 loop를 이용하여 현탁액을 만든 후 UV-Visible Spectrophotometer(Varian Aust, AU/CARY 50 Conc.)를 이용하여 세균농도를 측정 후 농도를 1.0×10^7 cfu/ml가 되도록 조정하였다. 감귤 역병에 대한 식물근권세균의 억제효과를 비교하기 위해 한국작물보호협회에 등록되어 있는 살균제 cyazofamid(미리카트®, 경농)를 약제사용지침서에 따라 660 µl/l의 농도로 조정하여 준비하였다.

감귤열매에 길항세균 현탁액 처리. 2009년 9월부터 2010년 1월까지 제주도 서귀포시 남원리 소재의 무농약 재배된 과원에서 감귤열매의 8번과(직경 7 cm)에 해당하는 감귤을 채집하여 실험에 사용하였다. 준비된 식물근권세균의 현탁액(1.0×10^7 cfu/ml)에 tween 20을 총부피의 0.01%가 되도록 첨가한 후 감귤의 과피가 흥건히 젖을 정도로 분무하였다. 감귤의 과피에 처리된 현탁액이 건조될 때까지 상온(20°C)에서 자연 건조하였다. 식물근권세

균의 현탁액에 대신하여 음의 비교구로 살균수를 처리하였고, 양의 비교구로서 cyazofamid를 동일한 방법으로 처리하였다.

감귤 역병균 접종. 감귤 역병 접종원은 항균활성을 위한 실험과 동일하게 작성하였으며 배양된 역병균 균사체를 cork borer(직경 7 mm)로 떼어내어 접종원으로 준비하였다. 한 개의 감귤 열매에 서로 다른 3부분의 각각 4개씩 살균된 침으로 과피에 상처를 낸 다음 접종원으로 준비된 배지조각을 역병균의 균사가 감귤의 과피 표면에 닿게 접종하였다. 접종된 열매를 습도 100%를 유지하도록 습실 처리된 용기(340×270×93 mm; 가로×세로×높이)에 넣고 28°C 배양기에서 보관하였다. 시험구는 완전임의법에 의해 배치하였으며, 각 처리는 감귤열매 9개씩 완전 분리된 실험으로 4반복하였다.

감귤 역병에 의한 감염정도 조사. 감귤 역병균에 의해 감염된 병반의 직경을 접종 5일 후에 버니어캘리퍼스로 측정하였다. 시험결과는 분산분석과 처리평균 사이의 비교를 위하여 Duncan 검정($P=0.001$)을 실시했으며, Statistical Analysis System(SAS Institute, version 8.02) program을 이용하였다.

식물근권세균의 total DNA 추출. 식물근권세균의 DNA를 Ausubel 등(1987)의 제시된 방법에 따라 추출하였다. 선발된 식물근권세균 중 감귤 역병에 억제효과가 있는 THJ609-3, TRH423-3, BRH433-2, Lyso-chit, KRY505-3을 각각 Tryptic Soy Broth(TSB) 배지에 옮긴 후 28°C에서 24시간 진탕 배양하였다. 근권세균 현탁액 1.5 ml를 10,000 rpm으로 1분간 원심분리한 후 상층액은 제거하고 500 µl TE-buffer(10 mM Tris-HCl, pH8.0, 1 mM EDTA)를 첨가하여 잘 섞은 후 -80°C에 10분간 냉동하였다. 냉동된 세포가 녹은 후 10 mg/ml의 lysozyme을 포함한 250 mM tris buffer 50 µl을 첨가하여 천천히 섞은 후 4°C에 45분간 보관하였다. 다음으로 증류수 110 µl, 10% SDS 13 µl, 10N NaOH 3 µl 각각 첨가하여 제조한 용액 10 µl를 첨가하고 세포가 녹을 때까지 50°C water bath에 두었다. 투명해진 시료에 최종농도가 1 mg/ml가 되도록 proteinase K를 첨가한 후 천천히 섞어준 후 tris saturated phenol을 시료의 총량과 1:1비율로 섞은 다음 10,000 rpm 15분간 원심 분리하였다. 상층액을 취하고, 총량에 대해 0.1 volume의 3 M sodium acetate와 0.7 volume의 isopropanol을 넣고 천천히 섞어서 실온에 10분 동안 두었다. 이후 10,000 rpm으로 4°C에서 5분간 1차의 원심 분리하여 상층액을 제거하고 70%의 에탄올 500 µl을 넣고 -20°C에서 10분간 보관하였다. 2차의 원심분리도 10,000 rpm으로 4°C에서 10분간 진행하였고 상층액을 완전히 제거한 후 37°C 건조

기에서 30분간 두었다. DNA를 TE-buffer 30 μ l로 녹여 수 집하였고 -20°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

PCR 조건 및 염기서열 분석. 각각의 길항근세균에서 유래된 total DNA에서 rDNA의 internal transcribe spaces(ITS) 염기서열을 universal 프라이머 38r: 5'-CCG GGT TTC CCC ATT CGG-3'와 72f: 5'-TGC GGC TGG ATC TCC TT-3' (Gurtler와 Stanisich, 2001)를 이용하여 분석함으로써 동정하였다. PCR 반응액은 2 μ l의 분리된 DNA(5 ng/ml), 2.5 mM의 dNTP 1 μ l, 10 pmol의 primer 각 1 μ l, 10 \times Buffer 4 μ l, 5 unit/ μ l의 Taq DNA polymerase (iNtRON Co.)를 1 μ l 첨가하고, 멸균수로 반응용액의 부피를 최종 40 μ l가 되게 하였다. PCR증폭 조건은 PCR Thermal Cycler Dice TP600(TaKaRa, Japan)을 사용하여 96°C에서 2분간 처리 후, 94°C에서 30초, 55.9°C에서 30초, 72.0°C에서 30초의 조건에서 30회 반복하였으며, 마지막으로 72.0°C에서 2분 동안 처리하였다. DNA증폭 유무를 1% agarose gel에서 전기 영동한 후 ethidium bromide(EtBr)로 염색하여 UV하에서 확인하였고, DNA elution은 NucleoSpin[®]kits(Macherey-Nagel, Germany)에 기술된 방법대로 수행하였다. DNA sequence는 Genetic Analyzer(Applied Biosystems 3130xl, USA)에 의해 시행 후 Applied Biosystems(AB, version 1.0)을 이용하여 분석하였고 분석된 자료는 National Center for Biotechnology Information(NCBI)의 홈페이지의 Basic Local Alignment Search Tool(Blast; <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)를 이용하여 동정하였다.

결 과

식물병원균에 대해 항미생물 효과가 있는 12개의 균주를 감귤의 과피에 분무 처리 후 감귤 역병을 접종한 결과 THJ609-3, TRH423-3, BRH433-2, Lyso-chit, KRY505-3 등 5개의 균주에서 역병 진전 억제효과를 확인하였다 (Table 1, Fig. 1). 무처리구에서 감귤 역병균에 의해 발생된 과피의 병반 크기는 평균 36.58 mm였으며, 발병된 병반에서 다시 병원균을 분리하여 검경한 결과 감귤 역병의 특징과 동일함을 확인할 수 있었다. 무처리구에서의 병진전은 접종 2일째부터 과피가 연한 갈색으로 변하면서 점차 흑갈색으로 변하면서 괴사되었다. 접종 3일째 과

Table 1. Lesion diameter on the citrus fruits pre-treated with effective bacterial isolates, cyazofamid and untreated at 5 days after pathogen inoculation with *Phytophthora citrophthora*

Treatment	Lesion diameter (mm)	Duncan test ^z
untreated	36.58 \pm 1.14	a
THJ609-3 ^x	33.29 \pm 1.51	ab
TRH423-3	31.39 \pm 1.34	bc
BRH433-2	30.02 \pm 1.65	bc
Lyso-chit	27.71 \pm 1.62	c
KRY505-3	27.61 \pm 1.72	c
Cyazofamid ^y	20.07 \pm 1.49	d

^xThe concentration of the bacterial suspension was 1.0×10^7 cfu/ml.

^yThe concentration of the fungicide was 660 μ l/l.

^zThe different letters are significantly ($P < 0.001$) different according to Duncan's multiple test.

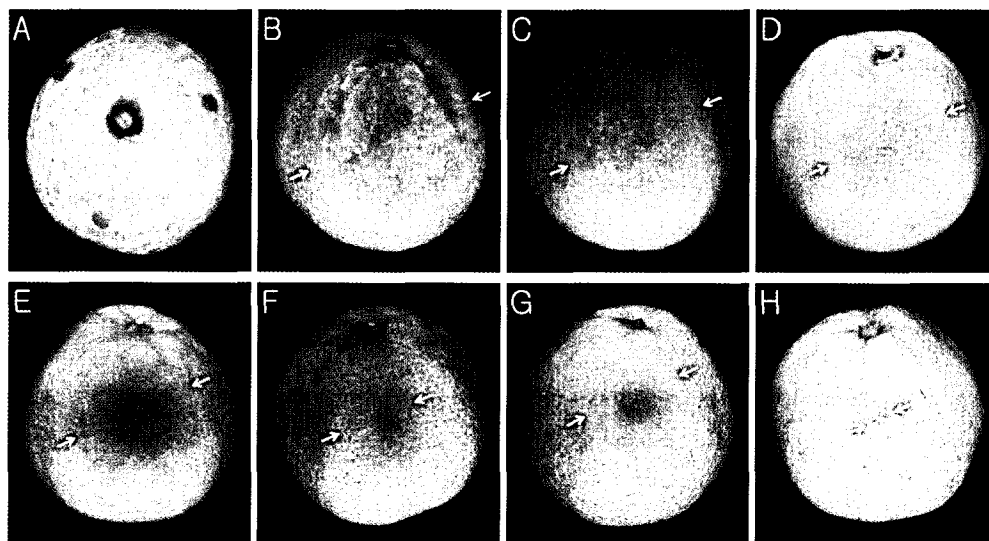


Fig. 1. Suppression of disease severity on the citrus fruits pre-treated with suspension of antifungal bacterial isolates THJ609-3 (C), TRH423-3 (D), BRH433-2 (E), Lyso-chit (F), KRY505-3 (G), commercial fungicide cyazofamid (H) and untreated control (A and B) at 5 days after inoculation with late blight pathogen *Phytophthora citrophthora*. The concentration of antifungal bacterial isolates and cyazofamid were 1.0×10^7 cfu/ and 660 μ l/l, respectively. The arrows indicate the measure points of lesion diameter.

피가 물러졌던 병반부위의 표면에서 감귤 역병의 흰색 균사를 육안으로 확인했으며, 접종 5일째 병징이 진행됨에 따라 병반부위에 역병의 균사가 도포되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 1A, B).

그러나 식물근권세균 TRH423-3, BRH433-2, Lyso-chit 및 KRY505-3을 처리한 감귤에서는 병진전이 지연되어 무처리구보다 하루 늦은 접종 3일째에 과피에 병징이 나타나기 시작했으며, 접종 5일째에는 단지 소수의 병반에서만 역병의 표징을 관찰할 수 있었다. 병반 크기도 작아져서 TRH423-3, BRH433-2, Lyso-chit 및 KRY505-3을 처리한 감귤에서 병반의 직경은 평균 각각 31.39 mm, 30.02 mm, 27.71 mm 및 27.61 mm로 무처리한 비교구에 비해 유의성 있게 병 발생이 억제되었다(Fig. 1D, E, F, G 와 Table 1). THJ609-3을 처리한 감귤에서의 병반은 33.29 mm로 유의성은 없었지만 역병 억제효과는 나타났다(Fig. 1C와 Table 1). 양의 비교구로 시판농약인 cyazofamid가 함유된 약제를 처리한 감귤에서는 병진전이 매우 억제되어 병반크기가 평균 20.07 mm로 식물근권세균을 처리한 감귤보다 높은 방제효과를 나타냈다(Fig. 1H와 Table 1). 각 근권세균들은 감귤 역병에 대해 반복 간에 균일한 발병지연효과를 나타냈다(Table 1).

역병억제 효과가 확인된 5개의 식물근권세균을 대상으로 항진균성을 조사하기 위해 감귤 역병과 대치 배양하였다. 배양 10일 후 병원균의 생장에 뚜렷한 차이가 나타나서 식물근권세균의 반대쪽에서 성장한 감귤 역병의 균사체의 길이가 평균 32.61~34.88 mm인데 반해 식물근권세균 쪽 방향으로 성장하는 균사체의 길이는 평균 13.90~22.50 mm로 균사 생장이 억제되었다(Fig. 2와 Table 2). 대부분의 식물근권세균에 의해 균사생장억제율이 50% 이상을 나타냈으나 KRY505-3은 33.5%로 가장 낮은 항진균활성을 나타내었다(Fig. 2와 Table 2).

감귤 역병에 대한 억제력이 있는 길항근권세균을 ITS primer를 이용하여 rDNA의 특정유전자를 증폭하여 동정하였다(Fig. 3). 증폭된 유전자의 염기서열분석을 AB program에 의해 진행하여 TRH423-3, Lyso-chit 및 KRY505-3은 각각 761 bp, 268 bp, 266 bp의 sequence를 확인하였

고, BRH433-2에서는 340 bp와 241 bp 두 개의 sequence가 나타났다. NCBI의 GenBank에 등록된 균주들의 database에 대해 분석된 균주들의 DNA 염기서열을 각각 비교했더니, TRH423-3(NCBI NO.EF552070.1)은 *Burkholderia gladioli*로 동정되었고, Lyso-chit(NCBI NO.EJ932354.1)와 KRY505-3(NCBI NO.EV915688.1)는

Table 2. Mycelium of growth Inhibition of plant pathogen *Phytophthora citrophthora* by anti-fungal bacterial isolates from plant rhizosphere

Bacterial strain	Growth on PDA (mm)		Inhibition rate ^a of mycelium growth (%)
	Site of rhizobacteria	Opposing site of rhizobacteria	
THJ609-3	15.21 ± 1.30 ^b	33.19 ± 0.87	54.2
TRH423-3	13.90 ± 1.04	32.61 ± 1.36	57.2
BRH433-2	15.43 ± 0.96	34.88 ± 0.46	55.8
Lyso-chit	15.71 ± 0.82	34.33 ± 0.37	54.2
KRY505-3	22.50 ± 1.95	33.82 ± 0.34	33.5

^aInhibition rate(%) = [1-(length of fungal colony near the strain/length of fungal colony opposite of the strain)] × 100.

^bValues represent means ± standard deviation of three separated experiments, each containing nine plates per treatment.

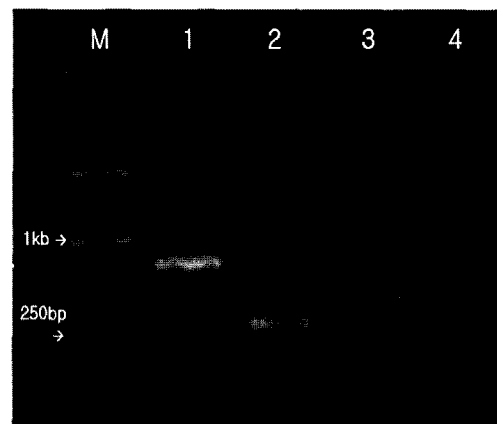


Fig. 3. Gel electrophoresis of PCR amplified 16S/23S internal transcript spacer regions from antifungal bacterial isolates TRH423-3 (lane1), Lyso-chit (lane2), KRY505-3 (lane3), BRH433-2 (lane4) using universal primers 38r and 72f. M:1kb ladder (iNtRON Bio.)

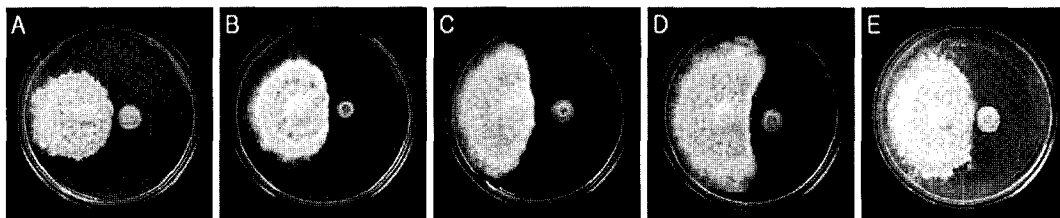


Fig. 2. Inhibition of mycelium growth of *Phytophthora citrophthora* by antifungal bacterial isolates THJ609-3 (A), TRH423-3 (B), BRH433-2 (C), Lyso-chit (D) and KRY505-3 (E) on the PDA medium. The present photographs were at 10 days after incubation.

*Bacillus cereus*로 동정되었으며 BRH433-2의 두 sequence는 모두 *Bacillus circulans*(NCBI NO.AF478111.1)로 동정되었다.

고 찰

농산물에 대한 잔류농약의 존재와 그 독성에 대한 위협, 약제 저항성 병원균의 발생 등이 주요 관심사가 되면서 농약사용에 제한이 따르게 되었고, 대안으로 천연물 제제와 미생물을 이용한 생물적 방제의 성공가능성이 언급되었다(Weller, 1988). 그 중 식물 뿌리에 생존하고 있는 근권세균들은 유기물분해활성이 뛰어나 토양 중에 잔류된 농약을 분해하거나(Hong과 Cho, 2007; Yang 등, 2007), 항생물질 및 세포벽 분해효소 생산, 전신적 유도 저항성(induced systemic resistance) 등 미생물의 다양한 대사 작용에 의해 여러 가지 식물 병에 대해 식물을 보호하는 역할 뿐만 아니라 식물생장촉진 등에 이용된다(Jeun 등, 2001; Jung 등, 2007; Winding 등, 2004). 식물 병에 대한 방제를 목적으로 선발된 미생물에는 *Bacillus*속, *Burkholderia*속 그리고 *Pseudomonas*속 등 여러 종이 포함되어 있다(Jung 등, 2007; Raupach와 Kloepper, 1998; Winding 등, 2004).

그 중 *Bacillus*속 세균을 단독으로 사용하거나 다른 살균제와 혼합 또는 교차 적용하여 인삼 점무늬병과 잔디 피시움마름병 등 다양한 식물 병의 진전을 저해하였다(Li 등, 2008; Jung 등, 2006). 특히, *B. cereus*는 널리 알려진 길항세균으로 벼 또는 오이에서 발생하는 *Pythium* spp.에 의한 모잘록병에 대한 억제 효과가 보고 되었으며(Sim 등, 2008; Smith 등, 1993), 담배 및 알파파에서 *Phytophthora* spp.에 의한 역병에서도 방제력이 있는 것으로 나타났다(Handelsman 등, 1991; Handelsman 등, 1990). 또한, *Burkholderia*속에 속하는 세균도 난균류에 의한 콩과식물의 모잘록병과 노균병에 효과가 있었으며(Clark와 Parke, 1996; Heunguns와 Parke, 2000), *B. gladioli*는 오이에 발생하는 *Colletotrichum orbiculare*에 의한 탄저병과 *Pythium ultimum*에 의한 모잘록병 방제에 이용되고 있다(Raupach와 Kloepper, 1998; Bae 등, 2007).

한편, 근권세균 THJ609-3는 감귤 역병균에 대해 높은 균사생장억제활성을 나타냈지만 다른 길항세균에 비해 감귤 역병에 대한 발병 억제효과가 다소 낮았다(Table 2). 반대로 KRY505-3에 의한 감귤열매의 역병억제력은 유의성 있게 나타났으나 역병균의 균사생장억제력을 낮았다. 이는 근권세균에 의한 역병균 균사생장억제력과 병진전

억제력 사이에 항상 양의 상관관계가 성립하지는 않는다는 것을 의미한다. 이와 유사하게 건전한 잔디의 근권에서 미생물을 분리하여 *Fusarium oxysporum*과 *Rhizoctonia solani*에 대한 길항효과실험 및 multi well tissue culture plate 실험으로 잔디뿌리의 병 발생억제를 조사한 결과 bacteria 4균주는 길항효과, plate 및 pot 실험 등 모두에서 효과가 있었으나, 다른 세균 네 균주와 방선균 두 균주는 길항효과실험과 plate 실험에서 병 발생 억제효과를 보였으나 pot 실험에서 효과가 미미했다고 보고하였다(Lee 등, 1997).

최근까지 감귤 역병에 대해 농약 이외엔 특별한 방제 대책이 없지만 환경요인에 의해 돌발적으로 병이 발병했을 때 생물적 방제인자로 미생물을 이용한다면 농약 사용량을 절감하는데 기여할 것으로 보인다. 따라서 본 연구를 통해 미생물을 이용한 농약 대체 수단을 개발하는데 도움을 줄 수 있으며 특히 친환경 농가와 같이 농약 사용이 제한된 농가에서는 본 연구에서 보고된 근권세균을 매우 유용하게 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

식물근권에서 유래된 12개의 근권세균이 *Phytophthora citrophthora*에 의해 발생하는 감귤 역병에 대해 감귤 열매에서 병진전 억제 효과를 나타내는지 조사하였다. 조사한 근권세균 중 THJ609-3, TRH423-3, BRH433-2, Lysochit 및 KRY505-3 등에 의해 역병이 억제되는 것을 역병균의 *in vivo* 상처접종을 통하여 밝혀졌다. 근권세균을 *P. citrophthora*의 균사체와 대치 배양하여 역병균 저지대의 길이를 측정된 결과 역병 진전억제효과를 보였던 5개의 균주에서 모두 항진균활성이 나타났다. 그러나 근권세균의 균사생장억제효과와 역병억제효과 사이에 양의 상관관계는 성립되지 않았다. 한편, 근권세균 rDNA의 internal transcript spaces(ITS)을 분석을 통해 동정한 결과 Lysochit과 KRY505-3은 *Bacillus cereus*로 동정되었고, BRH433-2은 *B. circulans*로, TRH423-3은 *Burkholderia gladioli*로 동정되었다. 이 연구는 친환경 농가와 같이 농약사용이 제한된 농장에서 감귤 역병에 대해 생물적 방제를 위한 활성균을 모색하는데 매우 가치가 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 2009년도 농림수산식품부 감귤수출연구사업단의 지원에 의해 이루어진 것임.

참고문헌

- Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Seidman, J. G., Smith, J. G. and Struhl, K. 1987. Current protocols in molecular biology. In: Preparation of genomic DNA from bacteria. ed. by K. Wilson. unit. 2.4.1~2.4.2. John Wiley, New York, USA.
- Bae, Y. S., Park, K. S. and Choi, O. H. 2007. Laboratory culture media-dependent biocontrol ability of *Burkholderia gladioli* strain B543. *Plant Pathol. J.* 23: 161-165.
- Clark, A. D. and Parke, J. L. 1996. Biological control of *Pythium* damping off of supersweet corn by seed-applied *Burkholderia cepacia* AMMDR1. *Phytopathology* 86: 54.
- Graham, J. H. and Menge, J. A. 2000. *Phytophthora*-induced diseases. In: Comendium of Citrus Diseases, 2nd edn. by L.W. Timmer, S.M. Garnsey, and J.H. Graham. pp. 12-15. APS Press, St. Paul. MN, USA.
- Gurtler, V. and Stanisch, V. A. 1996. New approaches to typing and identification of bacteria using the 16S-23S rDNA spacer region. *Microbiology* 142: 3-16.
- Handelsman, J., Nesmith, W. C. and Raffel, S. J. 1991. Microassay for biological and chemical control of infection of tobacco by *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. *Curr. Microbiol.* 22: 317-319.
- Handelsman, J., Raffel, S., Mester, E. H., Wunderlich, L. and Grau, C. R. 1990. Biological control of damping-off of alfalfa seedlings by *Bacillus cereus* UW85. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 713-718.
- Heungens, K. and Parke, J. L. 2000. Zoospore homing and infection events: Effects of the biocontrol bacterium *Burkholderia cepacia* AMMDR1 on two oomycete pathogens of pea (*Pisum sativum* L.). *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 5192-5200.
- Hong, S. H. and Cho, K. S. 2007. Effect of plants, rhizobacteria and physicochemical factors on the Phytoremediation of contaminated soil. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 35: 261-271.
- Hyun, J. W., Lee, S. C., Kim, K. S. and Jee, H. J. 2001. *Phytophthora*-induced diseases on citrus in Jeju Island. *Plant Pathol. J.* 17: 184-188.
- 현재욱. 2008. 감귤원예. (주)천제출판인쇄. 통권192호(172). pp. 60-61. 제주.
- Jee, H. J. 1999. The genus *Phytophthora* in Korea. Proceeding of Fall Meeting. *Kor. Soc. Plant Pathol.* 13: 6-7.
- 제주도특별자치도 제주 · 서귀포시청 친환경감귤농정과. 2007. 제 11호 태풍 나리 내습에 따른 긴급 병해충 방제. 제주특별자치도.
- Jeun, Y. C., Park, K. S. and Kim, C. H. 2001. Different mechanisms of induced systemic resistance (ISR) and systemic acquired resistance (SAR) against *Colletotrichum orbiculare* on the leaves of cucumber plants. *Mycobiology* 29: 19-26.
- Jung, W. C., Shin, T. S., Do, K. S., Kim, W. K., Lee, J. H. and Choi, K. H. 2006. Development of antagonistic microorganism for biological control of *Pythium* blight of turfgrass. *Res. Plant Dis.* 12: 260-266.
- Jung, H. K., Kim, J. R., Woo, S. M. and Kim, S. D. 2007. Selection of the auxin, siderophore, and cellulase-producing PGPR, *Bacillus licheniformis* K11 and its plant growth promoting mechanisms. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* 50: 23-28.
- 고복수. 2009. 감귤원예. (주)천제출판인쇄. 통권197호(177). pp. 2-7. 제주.
- Lee, C. S., Kim, K. D., Hyun, J. W. and Jeun, Y. C. 2003. Isolation of Rhizobacteria in Jeju Island showing anti-fungal effect against various plant pathogens. *Microbiology* 31: 251-254.
- Lee, Y. S., Jun, H. J., Lee, C. H. and Song, C. H. 1997. Isolation of antibiotic-producing microorganisms antagonistic to soilborne pathogenic fungi of bentgrass and their antifungal activity. *Kor. J. Org. Agric.* 6: 133-149.
- Li, X., Han, J. S., Jin, X., Yin, D. and Choi, J. E. 2008. Control of *Alternaria* leaf blight of ginseng by microbial agent and fungicides. *Res. Plant Dis.* 14: 102-106.
- Raupach, G. S. and Kloepper, J. W. 1998. Mixtures of plant growth promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. *Phytopathology* 88: 1158-1164.
- Sim, J. B., Chung, I. M., Ku, H. M., Choi, H. W., Lee, J. M. and Chun, S. C. 2008. Enhancing the biological control of rice seedling disease by adding specific carbon sources into the *Bacillus cereus* D324 formulation in water-seeded rice. *Plant Pathol. J.* 24: 58-62.
- Smith, K. P., Havey, M. J. and Handelsman, J. 1993. Suppression of cottony leak of cucumber with *Bacillus cereus* strain UW85. *Plant Dis.* 77: 139-142.
- Song, J. H., Kwon, H. M., Moon, D. Y., Kang, H. K. and Koh, Y. J. 1997. Isolation and identification of *Phytophthora citrophthora* from imported orange fruits. *Korean. J. Plant Pathol.* 13: 129-131.
- Thomidis, T. 2002. Variation in aggressiveness of Greek isolates of *P. citrophthora* as indicated by their relative abilities to cause crown rot on peach trees. *Phytoparasitica* 30: 191-193.
- Weller, D. M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26: 379-407.
- Winding, A., Binnerup, S. J. and Pritchard, H. 2004. Non-target effects of bacterial biological control agents suppressing root pathogenic fungi. *FEMS Microbiol. Ecol.* 47: 129-141.
- Yang, C., Dong, M., Yuan, Y., Huang, Y., Guo, X. and Qiao, C. 2007. Reductive transformation of parathion and methyl parathion by *Bacillus* sp. *Biotechnol. Lett.* 29: 487-493.