

Weed & Turfgrass Science was renamed from both formerly Korean Journal of Weed Science from Volume 32 (3), 2012, and formerly Korean Journal of Turfgrass Science from Volume 25 (1), 2011 and Asian Journal of Turfgrass Science from Volume 26 (2), 2012 which were launched by The Korean Society of Weed Science and The Turfgrass Society of Korea founded in 1981 and 1987, respectively.

스트렙토마이세스를 이용한 잔디 갈색퍼짐병의 생물적 방제

전창욱^{1†} · 이정한^{2†} · 민규영³ · 곽연식^{4*}

¹한국잔디연구소, ²대정골프엔지니어링, ³경상대학교 생명과학부, ⁴경상대학교 식물의학과

Biological Control of Large Patch Disease by *Streptomyces* spp. in Turfgrass

Chang Wook Jeon^{1†}, Jung Han Lee^{2†}, Gyu Young Min³, and Youn-Sig Kwak^{4*}

¹Division of Life Science, Gyeongsang National University, Jinju, 52828 Korea

²Korea Turfgrass Research Institute, Seongnam, 13522 Korea

³Daejung Golf Engineering Co. Ltd., Yongin 17124 Korea

⁴Department of Plant Medicine and Institute of Agriculture & Life Science, Gyeongsang National University, Jinju, 52828 Korea

ABSTRACT. Large patch disease in *Zoysia japonica* Steud. is the most destructive disease in turfgrass. For large patch management, it has been dependent on chemical controls but pesticides are harmful to soil, water and biodiversity. In this study, we evaluated 4 *Streptomyces* spp. strains (S2, S5, S8 and S12) which were selected in previous studies using metagenome approaches. Root colonization of the strains, large patch suppressing effect and the pathogen density change in actual golf course were investigated to evaluate biological control potential of the strains. All strains exhibited reliable root colonization ability that strains populations were higher than 6 log cfu g⁻¹ in turfgrass rhizosphere. The pathogen density, with S8 treatment, was detected average of 0.7 after a week and average of 1.2 after 4 weeks. Disease control and suppressive the pathogen population by S8 strain showed higher efficiency than other strains. S8 was applied in an actual golf course for the large patch control and pathogen density. The pathogen density in S8 treatment plot was detected below 1.6 per toothpick and lower compared with untreated plot. The results indicated that pathogen density was suppressed by S8 and the stain has great potential as a biological control agent for the large patch.

Key words: Biological control, Rhizosphere, *Streptomyces*, Toothpick

Received on December 30, 2015; Revised on January 31, 2016; Accepted on February 3, 2016

*Corresponding author: Phone) +82-55-772-1922, Fax) +82-55-772-1929; E-mail) kwak@gnu.ac.kr

†These authors contributed equally to this work.

© 2016 The Korean Society of Weed Science and The Turfgrass Society of Korea

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서 론

한국잔디(Korean lawngrass)의 갈색퍼짐병의 원인균은 *Rhizoctonia solani* AG 2-2로 알려져 있다(Green et al., 1993). 갈색퍼짐병은 봄과 가을에 발생하며 한여름에는 병의 발생이 멈추고 겨울에는 휴면에 들어간다. 병의 발생조건은 다습하고 온도가 고온이기 보다는 낮은 27°C 전후이다. 병징은 원형의 크고 작은 패취형태로 나타나며 각각의 패취가 결합하여 병반의 크기가 커진다(Green et al., 1994).

*Streptomyces*속 세균은 그람 양성균으로 독립적으로 생장하거나 부생적으로 생장하는 균으로 토양이나 물 그리고 식물 근권부에서 발견되는 균이다. 농업적으로도 진균 병원균인 *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia solani*, *Alternaria brassicola*와 *Botrytis* spp.에 대한 방제에 이용하고 있다(Cao, 2004). 그 예로 *Streptomyces* sp. strain 5406의 경우 토양에 적용하면 토양성 병원균을 억제하고 대상작물인 목화를 보호하는 역할을 하며 *S. griseoviridis* K61와 *S. lydicus* WYEC108을 기본으로 하여 제조한 Mycostop은

토양병원균인 *Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp. 와 *Phytophthora* spp.를 방제한다는 결과가 있다(Mahadevan and Crawford, 1997). *Streptomyces*속 세균이 식물병 방제에 이용되고 있는 이유는 항균활성을 가진 다양한 이차대사 산물을 생성에 의한 것으로 *Streptomyces*속 세균은 22,500 가지 정도의 생물학적 활성물질이 있다고 보고되어 있다(Bérdy, 2005). 이러한 이차대사산물은 항암제, 항바이러스제, 살균제, 제초제 그리고 살충제의 원료로 쓰이고 있다(Sanglier, 1993).

갈색퍼짐병은 한국잔디로 조성된 골프장이나 잔디 재배지에서는 가장 문제되는 병으로 알려져 있다(Song et al., 2012). 이병을 방제하기 위한 방법으로 골프장에서는 주로 화학적 방제에 의존하고 있다(Chang et al., 2007). 이러한 농약 사용으로 인해 토양, 수질, 생물다양성에 문제를 일으키며, 또한 병원균이 농약에 저항성을 가지게 하여 궁극적으로는 더 높은 농도의 농약을 사용하여야 방제가 되는 악순환이 반복 되고 있다.

이러한 문제를 극복하기 위하여 본 연구는 잔디 재배지에서 생물적 방제제로 이용하기 위한 목적으로 근권부 메타게놈 선행연구(Lee et al., 2015b)에서 분리, 확보된 *Streptomyces* spp. 균주의 근권정착 능력 및 균주 처리에 따른 갈색퍼짐병 병원균 밀도 억제효과를 검증하였다. 또한 실제 골프장에 생물적 방제 균주를 적용하여 잔디 근권에 분포하는 갈색퍼짐병 병원균의 밀도를 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

Streptomyces spp. 공시 균주 및 병원균 접종원 제조

공시 균주는 본 연구진이 메타지노믹스 분석(Lee et al., 2015b), 갈색퍼짐병 방제 농약별 살균제내성(Lee et al., 2015a), 분리 균주의 생리학적 특성(Lee et al., 2015c)을 조사하여 선발된 균주를 이용하였다. 최종 선발된 균주로 본 연구에 사용된 균주는 S2, S5, S8와 S12 균주이다. 갈색퍼짐병 병원균 접종원은 농촌진흥청의 농업유전자원정보센터에서 분양 받은 균주 *Rhizoctonia solani* AG-2-2 (IV) (KACC No. 40132)를 이용하여 제조하였다. 제조방법은 모래 700 g과オート밀 300 g을 넣고, 증류수 150 ml를 첨가하여 혼합한 후 멸균한 배지에 Potato Dextrose Agar (PDA: PDB 10 g, agar 15 g per 1 L)배지에서 5일간 배양한 *R. solani* 균주를 접종하고 27°C에서 3주간 배양하였다.

Hygromycin 저항성 유전자 삽입 및 확인

Hygromycin 저항성 유전자 삽입은 Kieser et al. (2000) 등의 방법을 변형하여 수행하였다. 선발된 4개 균주를 27°C에서 포자가 형성될 때까지 7일간 mannitol soya 배지(MS:

soya 20 g, mannitol 20 g, agar 20 g per 1 L)에 배양하였으며 글리세롤(20%)을 이용하여 포자를 현탁 및 채취하였다. 채취된 포자를 주사기를 이용하여 여과하여 포자현탁액을 제조하였으며 -20°C에 보관하며 실험에 사용하였다. 한편 pIJ10257 백터가 삽입되어있는 *E. coli* ET12567 (pUZ8002)를 hygromycin (80 µg ml⁻¹)이 첨가되어있는 LB 고체배지에 배양하여 단일콜로니를 채취하여 LB 액체배지에 37°C에서 9시간동안 배양하였다. 선발된 균주의 포자현탁액 300 µl와 2XYT (1.6% tryptone, 1% yeast extract, 0.5% NaCl, pH 7) 500 µl 혼합하여 50에서 10분간 반응 시킨 후 반응물과 37에서 9시간동안 배양된 *E. coli* ET12567 250 µl를 혼합하여 30분간 접합(conjugation) 반응을 수행하였다. 다음으로 접합반응이 끝난 세균을 hygromycin (80 µg ml⁻¹)이 첨가되어있는 MS 배지에 도말 한 후 27°C에서 4일간 배양하여 형성된 균총을 수집하였다.

Hygromycin 저항성 유전자의 삽입여부를 확인하기 위하여 채취 콜로니를 CTAB방법(Graham et al., 2003)을 이용하여 DNA를 추출하였으며 Hyg det3 5'-TCCGCTGTGACACAAGAATC-3' Hyg det5 5'-CGGCTCATCACCAGGTAGG-3' 프라이머를 이용하여 증폭하였다. PCR조건은 98°C에서 3분간 열변성, 98°C에서 30초 변성, 55°C에서 45초간 결합, 72°C에서 1분간 신장을 30회 반복하였으며 마지막으로 72°C에서 5분간 반응 후 신장으로 PCR을 수행하고 전기영동 하여 형질전환 유무를 확인하였다. Hygromycin 저항성 유전자가 삽입된 균주를 근권정착 실험에 사용하였다.

병원균 접종 및 균주처리

배양된 갈색퍼짐병 접종원은 잔디를 파종하여 4주 동안 성장한 잔디에 한 개 포트당 5 g씩 접종하였으며 접종원의 밀도는 10⁷ cfu g⁻¹으로 사용하였다. Hygromycin 저항성 유전자가 삽입된 4개 균주는 병원균 접종 7일 후 2일 간격으로 3회 분주하였으며, 포트당 50 ml (10⁷ cfu ml⁻¹) 씩 분주하는 방법으로 처리하였다.

Streptomyces spp. 의 근권정착 능력, 병원균 밀도억제 및 갈색퍼짐병 방제효과 조사

근권정착 능력은 저항성 유전자가 삽입된 균주 처리 1주일 후 잔디 뿌리를 1 g을 채집하였다. 뿌리를 멸균수 9 ml에 넣고 10⁻⁶까지 희석하여 희석평판 배양법으로 밀도를 조사하였으며 TSB (hygromycin 80 µg ml⁻¹) 선택배지가 이용되었다. 이후 4주동안 1주 간격으로 같은 방법으로 시험을 수행하였다. 병원균 밀도조사는 병원균과 저항성 유전자를 삽입한 균주가 처리된 포트에서 1주간격으로 이쑤시게 3개를 근권 부위에 삽입하고 24시간이 지난 후 *Rhizoctonia* 선택배지(PDA, chloramphenicol 100 µg ml⁻¹, benomyl 1 µg ml⁻¹

1)에 치상하여 27°C에서 24시간 배양하여 이쭉시게 3개에서 뺀어 나온 균사의 수를 현미경하에서 관찰하여 밀도를 조사하였다. 갈색퍼짐병 방제효과는 병원균 접종 및 균주 처리 후 4주 동안 일주일 간격으로 조사하였다. 발병이 0~20%는 0으로 20~40%는 1, 40~60%는 2, 60~80%는 3, 80~100%는 4로 병의 심각한 정도를 0~4까지 인덱스화하여 조사하였다. 모든 실험은 3반복으로 진행 되었으며, 통계분석은 ANOVA분석(Tukey's HSD)을 사용하여 분석하였다.

선발된 균주처리의 골프장 처리 및 갈색퍼짐병 병원균 밀도 변화 조사

실험은 경남 사천에 위치한 골프장의 페어웨이와 러프에서 진행하였다. 실험을 진행한 페어웨이와 러프는 한국잔디(*Z. japonica*)로 조성된 2년차의 잔디이며 골프장의 페어웨이와 러프의 총 면적은 1,100 m²였다. 그 중 약 3,000 m² 면적을 두 구간으로 나누어 S8 균주 처리구와 무처리구로 이용하였다.

PDK배지(pepton 10 g, PDA10 g per 1 L)에 S8 균주를 28°C에서 대량으로 배양하였으며, 배양된 균을 3×10⁹ cfu m⁻² 처리하였다. 처리횟수는 3회로 4, 5월과 7월초에 각각 처리하였으며 S8 균주 처리 후 포장 관리방법은 매년 골프장에서 진행한 방식으로 진행하였다. 병원균 밀도조사는 S8 균주 처리구와 무처리구에서 홀커터를 이용하여 잔디와 대취토양을 3반복씩 채취하여 각 샘플당 이쭉시게 3개를 근권부에 삽입하였다. 이후의 앞서 서술한 병원균 밀도조사 방법과 동일하게 진행하였으며 반복수는 3반복으로 조사하였고 통계분석은 ANOVA분석(Tukey's HSD)을 사용하여 분석하였다. 밀도 조사 횟수는 2015년 4월 14일, 5월 12일, 6월 3일, 8월 3일, 8월 27일, 9월 14일과 10월 13일로 7회였다.

결과 및 고찰

선발된 균주의 잔디 근권정착 능력조사

선발된 S2, 5, 8과 12 균주의 근권정착 능력을 조사한 결과 S2 균주는 1주차에 6.8 log cfu g⁻¹에서 4주차 조사에서는 6.4 log cfu g⁻¹로 밀도가 유지되는 것으로 나타났다. S5 균주의 경우 1주차에 6.5 log cfu g⁻¹에서 4주차에는 6.6 log cfu g⁻¹로 밀도가 유사하게 나타났다. S8 균주는 1주에서 4주차까지 6.6, 6.7, 6.6과 6.7 log cfu g⁻¹로 밀도의 변화가 거의 없는 것으로 나타났다. S12 균주 또한 1주차에 6.5 log cfu g⁻¹에서 4주차 조사에서는 6.8로 밀도가 일정하게 유지되었다. 시험에 사용된 S2, 5, 8과 12 균주는 모두 근권정착 능력이 우수한 것으로 나타났다(Fig. 1).

현재까지 토양 병원성 진균이나 세균에 대한 생물적 방

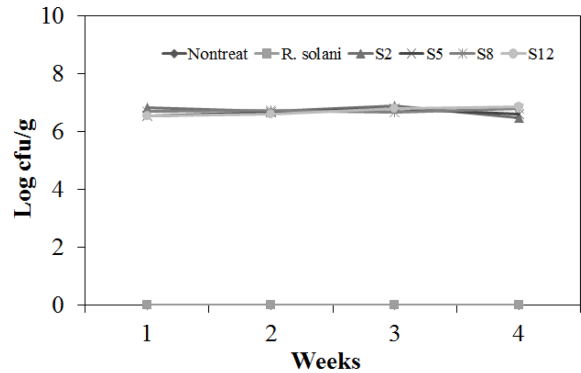


Fig. 1. Root colonization of 4 selected strains on turfgrass rhizosphere. All strains exhibited reliable root colonization ability that strains populations were higher than 6 log cfu g⁻¹ in turfgrass rhizosphere. Statistical analysis with Tukey's HSD ($p=0.05$).

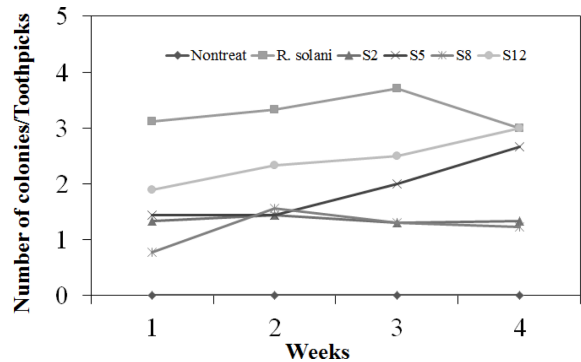


Fig. 2. Large patch disease control effect of 4 strains for 4 weeks. The pathogen density, with S8 treatment, was detected average of 0.7 after a week and average of 1.2 after 4 weeks. Disease control and suppressive the pathogen population by S8 strain showed higher efficiency than other strains. Statistical analysis with Tukey's HSD ($p=0.05$).

제 연구는 많은 선행 연구들이 진행되었다(Burr and Caesar, 1984; Handelsman and Parke, 1989; Weller, 1988). 하지만 실험실내에 길항작용을 관찰하고 실제포장에 적용하여 성공한 예는 극히 드물다. 그 이유는 세균이 식물 뿌리 주위에서 생존할 수 있는 근권정착 능력의 부재이다. 근권정착 능력은 토양 병원균을 방제하거나 억제하는데 생물적 방제인자가 가져야 할 반드시 필요한 능력으로 알려져 있다(Liddell and Parke, 1989; Loper et al., 1985; Suslow, 1982). 식물근권에 존재하는 생물적 방제인자의 밀도가 높을수록 병 발생이 감소한다는 연구결과가 있다(Bull et al., 1991). 본 연구에서 선발된 S2, 5, 8과 12 균주는 모두 근권정착 능력이 우수한 것으로 나타나 생물적 방제제로 이용하는데 적합할 것으로 예상되었다.

선발된 균주 처리에 의한 갈색퍼짐병 병원균 밀도 억제효과

S2, 5, 8과 12 균주를 처리하여 병원균 밀도를 조사한 결

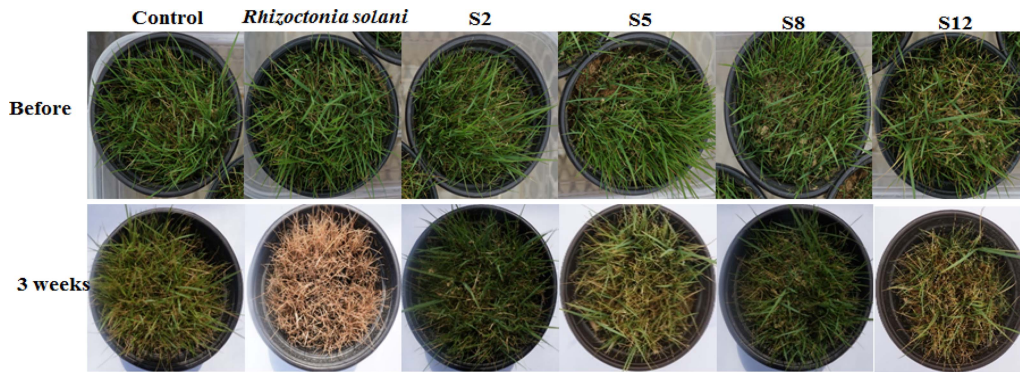


Fig. 3. Large patch disease symptoms and control effect by *Streptomyces* strains. Upper panel: before treatments; lower panel: 3 weeks after treatments of each *Streptomyces* strain.

과 무처리구는 병원균이 검출되지 않았으며 병원균만 처리한 시험구에서는 1주차에 평균 3.1, 2주차에 3.3, 3주차에 3.7, 4주차에는 3으로 이썬시개당 3 이상으로 검출되었다. 균주 처리구는 병원균의 밀도가 무처리구에 비하여 현저하게 낮게 검출되었다. S2 균주의 경우 4주차까지 1.4 이하로 병원균의 밀도가 검출되었으며 S5 균주는 3주차까지 2 이하로 유지되다가 4주차때는 2.6으로 나타났다. S8 균주의 경우 1주차에 평균 0.7에서 4주차에는 1.2로 병원균 밀도 억제효과가 가장 좋은 것으로 나타났다. S12 균주는 1주차에서 4주차까지 1.8에서 3으로 점점 밀도가 증가하였다(Fig. 2).

선발된 균주 처리에 의한 갈색퍼짐병 방제효과

선발된 S2, 5, 8과 12 균주의 갈색퍼짐병 방제효과는 S8 균주가 가장 우수한 것으로 나타났다. 무처리구는 병이 발생하지 않았으며 병원균 처리구는 2주차부터 70%로 병이 심각하게 발생하였다. S2 균주 처리구는 4주차까지 병발생이 진전되지 않고 25% 정도로 유지되었으며, S5 균주의 경우 2주차에 50%에서 4주차에는 70%로 발병하였다. S12 균주 처리의 경우 2주차에 60%에서 4주차에는 65% 발병하여 방제효과가 높지 않은 것으로 나타났다(Fig. 3, 4).

미생물을 이용한 갈색퍼짐병 방제에 대한 연구로 토양에서 분리된 *Streptomyces arenae*는 *R. solani* AG2-2에 대하여 길항효과를 가지며 갈색퍼짐병을 억제하는 결과가 있으며 또한 분리된 11개 균주는 잔디의 성장촉진효과(PGPR)가 나타난 것으로 보고되었다(Song et al., 2012). 본 연구에서 선발된 4 균주 중 S8 과 S2 균주도 갈색퍼짐병을 억제하는 유사한 결과가 나타났으며 잔디의 성장촉진효과에 대해서는 추가적인 연구가 필요한 것으로 판단된다.

골프장에서 선발된 S8 균주의 갈색퍼짐병 병원균 밀도 억제 및 방제효과

실내 실험결과 갈색퍼짐병 방제효과가 가장 높았고, 병

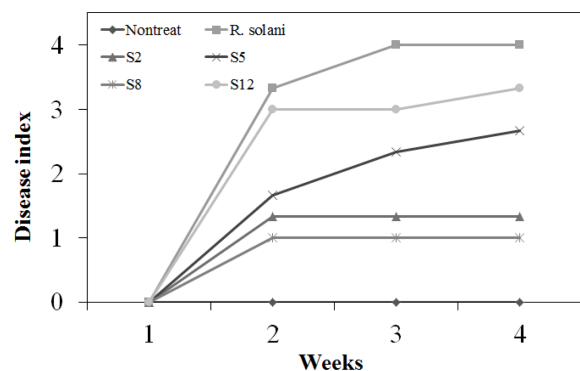


Fig. 4. The disease suppressive effect by *Streptomyces* strains. Control and suppressive density effect of S8 isolate against large patch was appeared higher than other isolates. Statistical analysis with Tukey's HSD ($p=0.05$).

원균의 밀도 억제효과가 가장 우수한 S8 균주를 이용하여 실제 골프장에 적용하였다. 2015년 04월 13일 균주 처리전에는 무처리구에서 병원균의 밀도가 1.3의 빈도로 측정되었고, S8 균주를 처리할 포장은 2로 무처리구에 비하여 병원균의 밀도가 낮게 나타났다. 5월 12일 조사에서는 무처리구의 경우 2.8로 S8 균주 처리구는 0.7로 병원균의 밀도가 최초 조사결과와 반대되는 결과가 나타났다. 6월 3일, 8월 3일과 8월 30일 조사에서 무처리구는 1.3, 3.5와 4로 점점 병원균의 밀도가 증가하였다. S8 균주 처리구 역시 0.4, 0.8과 1.4로 밀도가 증가하였으나 무처리구에 비하여 현저히 낮게 조사되었다. 9월 14일과 10월 13일 조사에서 무처리구는 3.2에서 2.5로 밀도가 낮게 검출되었으며 S8 균주 처리구 역시 1.3에서 0.5로 밀도가 감소하였다. 시험기간 동안 병원균의 평균 밀도는 무처리구의 경우 2.6, S8 균주 처리구는 1.0으로 조사되었으며 이는 S8 균주 처리가 병원균의 밀도를 감소시키는 증거라 판단된다(Fig. 4).

본 연구에서 포트에 병원균을 접종하여 S2, 5, 8과 12 균주 처리한 결과와 실제 골프장에서 S8 균주를 대규모로 처리하여 갈색퍼짐병 병원균의 밀도를 조사한 결과는 처리

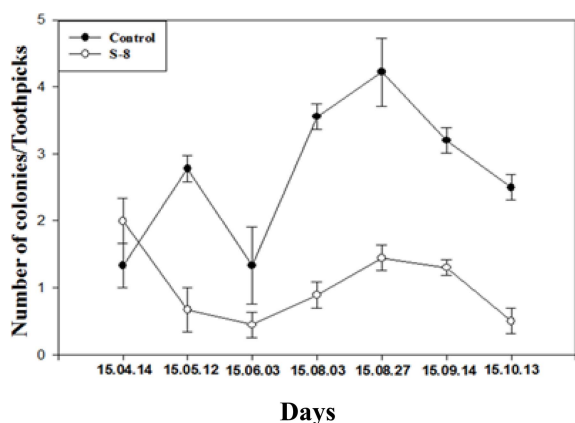


Fig. 5. Population density of *Rhizoctonia* spp. after the biocontrol agent treatments in a country club. S8 isolate was applied for large patch control and pathogen density was investigated pathogen density in actual golf course. Pathogen density of S8 isolate treatment plot was detected below 1.6 per toothpick and lower compared with untreated plot. Statistical analysis with Tukey's HSD ($p=0.05$). Error bars represent the standard deviation of three replicates.

한 미생물과 조사시기에 따라 병원균의 밀도가 약간의 차이는 있지만 모두 무처리구에 비하여 현저하게 낮게 병원균의 밀도가 검출되었다. *Rhizoctonia*의 밀도조사에서 한 개의 이쑤시개에서 대부분 뺀어 나온 균사가 5개 이하로 조사되었다. 이는 균사의 밀도가 너무 적은 것이라 생각할 수 있지만 Paulitz and Schroeder (2005)의 연구에 의하면 갈색퍼짐병 병반의 중심과 병반의 안쪽 끝에는 이쑤시개 1개당 약 1개의 균사가 관찰되었으며 패취 바깥쪽 끝부분과 건전한 부분에는 거의 검출되지 않는다는 보고가 있다. 본 실험에서는 이보다 많은 수의 균사가 무발병 지역에도 관찰이 되었다. 이 같은 결과는 이쑤시개의 재질과 삽입방법 또는 환경적인 요인에 따라 다를 수 있다고 사료되며 정량화 할 수 있는 연구가 진행되어야 할 것으로 판단된다.

요 약

갈색퍼짐병은 한국잔디(Korean lawngrass)에 발병하는 병으로 골프장이나 재배지에서 심각하게 발생하는 것으로 알려져 있다. 갈색퍼짐병 방제를 위하여 주로 화학적 방제에 의존하고 있으며 이는 토양, 수질, 생물다양성에 문제를 일으킬 수 있다. 이에 따라 본 연구는 갈색퍼짐병 방제를 위하여 선발된 균주를 이용하여 균주의 근권정착 능력, 갈색퍼짐병 병원균 억제효과와 실제 골프장에 적용하여 병원균 밀도변화를 조사하였다. 실험실 내부에서 근권 정착력 평가를 통하여 선발된 S2, 5, 8과 12 균주의 근권정착 능력을 조사한 결과 4주차까지 $6 \log \text{ cfu g}^{-1}$ 이상으로 생물적 방제 인자의 필수조건이라 할 수 있는 근권정착 능력이 우

수한 것으로 나타났다. S2, 5, 8과 12 균주를 처리하여 병원균 밀도를 조사한 결과 S8 균주의 경우 1주차에 평균 0.7에서 4주차에는 1.2로 병원균 밀도 억제효과가 가장 좋은 것으로 나타났으며 갈색퍼짐병 방제효과 또한 S8 균주가 가장 우수한 것으로 나타났다. 갈색퍼짐병 방제효과가 가장 뛰어난 S8 균주를 이용하여 실제 골프장에서 갈색퍼짐병 병원균의 밀도 억제효과를 조사한 결과 S8 균주 처리구는 무처리구에 비하여 병원균의 밀도가 이쑤시개당 1.6 이상 낮게 검출되었으며 S8 균주 처리에 의하여 병원균 밀도 감소한 것으로 판단할 수 있다.

주요어: 생물적방제, 근권, 방선균, 이쑤시개

Acknowledgements

This research was supported by the "Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (PJ01101201) from Rural Development Administration of Korea.

References

- Bérdy, J. 2005. Bioactive microbial metabolites: A personal view. *Antibiot.* 58:1-26.
- Bull, C.T., Weller, D.M. and Thomashow, L.S. 1991. Relationship between root colonization and suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas uorescens* strain 2-79. *Phytopathology* 81:954-959.
- Burr, T.J. and Caesar, A. 1984. Beneficial plant bacteria. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* 2:1-20.
- Cao, L., Qiu, Z., Dai, X., Tan, H., Lin, Y. et al. 2004. Isolation of endophytic actinobacteria from roots and leaves of banana (*Musa acuminata*) plants and their activities against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 20:501-504.
- Chang, T.H., Ru, Y.J. and Lee, Y.S. 2007. Soil mineral nutrients and microbes are responsible for large patch disease caused by *Rhizoctonia solani* AG2-2 in zoysiagrass turf. *Kor. Turfgrass Sci.* 21:113-126. (In Korean)
- Graham, J., Marshall, B. and Squire, G. 2003. Genetic differentiation over a spatial environmental gradient in wild *Rubus idaeus* populations. *New Phytol.* 157:667-675.
- Green, D.E., Fry, J.D., Pair, J.C. and Tisserat, N.A. 1994. Influence of management practices on *Rhizoctonia* large patch disease in zoysiagrass. *HortSci.* 29:186-189.
- Green, D.E., Fry, J.D., Pair, J.C. and Tisserat, N.A. 1993.

- Pathogenicity of *Rhizoctonia solani* AG 2-2 and *Ophiosphaerella herpotricha* on zoysiagrass. *Plant Dis.* 77:1040-1044.
- Handelsman, J. and Parke, J.L. 1989. Mechanisms in biocontrol of soilborne plant pathogens. pp. 27-61 in: *Plant-Microbe Interactions, Molecular and genetic perspectives*, vol. 3. T. Kosuge and E.W. Nester, eds. McGraw-Hill, New York. p. 511.
- Kieser, T., Bibb, M.J., Buttner, M.J., Chater, K.F. and Hopwood, D.A. 2000. *Practical Streptomyces Genetics*. The John Innes Foundation, Norwich, U.K.
- Lee, J.H., Min, G.Y., Chang, J.W., Choi, S.M., Shim, G.Y. and Kwak, Y-S. 2015a. Investigation of fungicide response of *Streptomyces* spp. isolated from rhizosphere in zoysiagrass. *J. Pesticide Sci.* 19:54-63. (In Korean)
- Lee, J.H., Min, G.Y., Shim, G.Y., Jeon, C.W., Choi, S.M., Han, J.J. and Kwak, Y-S. 2015b. Soil microbial community analysis in large patch (*Rhizoctonia solani* AG2-2 IV). *Weed Turf. Sci.* 4:124-128. (In Korean)
- Lee, J.H., Min, G.Y., Shim, G.Y., Jeon, C.W. and Kwak Y-S. 2015c. Physiological characteristics of Actinomycetes isolated from turfgrass rhizosphere. *Weed Turf. Sci.* 4:348-359. (In Korean)
- Liddell, C.M. and Parkem J.L. 1989. Enhanced colonization of pea taproots by a fluorescent pseudomonad biocontrol agent by water infiltration into soil. *Phytopathology* 79:1327-1332.
- Loper, J.E., Haack, C. and Schroth, M.N. 1985. Population dynamics of soil pseudomonads in the rhizosphere of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Appl. Environ. Microbiol.* 49:416-422.
- Mahadevan, B. and Crawford, D.I. 1997. Properties of the chitinase of the antifungal biocontrol agent *Streptomyces lydicus* WYEC108. *Enzyme Microb. Technol.* 20:489-493.
- Sangler, J.J., Haag, H., Huck, T.A. and Fehr, T. 1993. Novel bioactive compounds from actinomycetes: a short review (1988-1992). *Res. Microbiol.* 144:633-642.
- Paulitz, T.C. and Schroeder, K.L. 2005. A new method for the quantification of *Rhizoctonia solani* and *R. oryzae* from soil. *Plant Dis.* 89:767-772.
- Song, C.H., Islam, M.R., Chang, T. and Lee, Y.S. 2012. Isolation and identification of antagonistic bacteria for biological control of large patch disease of zoysiagrass caused by *Rhizoctonia solani* AG2-2 (IV). *Asian J. Turfgrass Sci.* 26:8-16. (In Korean)
- Suslow, T.V. 1982. Role of root-colonizing bacteria in plant growth. pp. 187-223 in: *Phytopathogenic Prokaryotes*, Vol. 1. G. Lacy and M. S. Mount, eds. Academic Press, New York. p. 541.
- Weller, D.M. 1988. Biological control of soilborne pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26:379-407.