식물병연구 Res. Plant Dis. 23(1): 19-34 (2017)
Mini-Review Open Access https://doi.org/10.5423/RPD.2017.23.1.19

키틴분해세균의 현장 대량 배양방법을 이용한 효과적인 식물병의 생물적 방제 전략

An Effective and Practical Strategy for Biocontrol of Plant Diseases Using On-Site Mass Cultivation of Chitin-Degrading Bacteria

김영철[1] · 강범용[1] · 김용환[2] · 박서기[3]*

[1]전남대학교 친환경농업연구소, [2]단국대학교 식량생명공학과, [3]순천대학교 식물의학과

Young-Cheol Kim[1], Beom Ryong Kang[1], Yong Hwan Kim[2], and Seur Kee Park[3]*

[1]Institute of Environmentally-Friendly Agriculture, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea
[2]Department of Crop Science and Biotechnology, Dankook University, Cheonan 31116, Korea
[3]Department of Plant Medicine, Sunchon National University, Suncheon 57922, Korea

***Corresponding author**
Tel: +82-61-750-3864
Fax: +82-61-750-3208
E-mail: parksk@sunchon.ac.kr

Received February 8, 2017
Revised February 19, 2017
Accepted February 21, 2017

Recent worldwide demand for organic and sustainable agriculture products is driving the development of formulations of biopesticides effective in the field. Biopesticides have the benefit of environmentally-friendly qualities. However, biocontrol approaches largely have been ineffective in controlling plant pests in field conditions. Previously, we developed a cost-effective biocontrol formulation containing chitin and chitinase-producing biocontrol bacteria with field efficacy. This formulated product has successfully suppressed various plant diseases in the field conditions. In this review, we focus on ecological aspects and the potential mechanisms underpinning the success of chitinase-producing bacteria. In addition, we discuss the possibility on-site cultivation of the formulated products to further strengthen the approach as being farmer friendly and successful.

Keywords: Biocontrol, Biopesticide, Chitinase, Chitin-based bioformulated product

서 론

키틴(chitin)은 N-acetylglucosamine (포도당 2번 탄소에 N-아세틸이 붙어 있음)이 β(1,4) 결합된 다당류로서 곰팡이의 세포벽, 무척추동물의 외골격, 큐티클, 난각 등의 주요 구성 성분으로 외부 환경으로부터 세포를 보호한다(Nagpure 등, 2014; Sharp, 2013; Singh 등, 2014). 키틴은 지구상에서 셀룰로오스 다음으로 풍부한 자원으로서 인간에게 여러 유용한 용도로 활용되고, 자연계에서는 다양한 키틴분해미생물들에 의해서 분해되어 재순환된다(Brzezinska 등, 2014; Sharp, 2013). 토양에서는 방선균의 45%–69%, 곰팡이의 32%–40%가 키틴을 분해하고, 호수에서는 세균의 15% 정도가 키틴을 분해하여 탄소원과 질소원으로 이용한다(Brzezinska 등, 2014).

키틴분해효소(chitinase)는 바이러스에서 인간까지 거의 모든 생물이 생산하는 것으로 알려져 있다. 이들 중에서 곤충 병원성 바이러스, 생물적 방제 세균, 병원성 곰팡이들의 키티나아제는 기주의 침입 및 분해에 중요한 역할을 하고, 식물과 인간의 키티나아제는 병해충의 침입에 대한 방어 역할을 한다(Hodgson 등, 2013; Rathore와 Gupta, 2015).

Research in Plant Disease
pISSN 1598-2262, eISSN 2233-9191
www.online-rpd.org

©The Korean Society of Plant Pathology
©This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/ licenses/by-nc/4.0/), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

다양한 생물로부터 분리된 키티나아제 유전자들은 유용미생물 또는 직접 작물에 도입, 발현시켜서 식물 병해충 방제 효과를 높이려는 연구가 이루어졌고, 키틴분해미생물들을 이용한 생물적 방제와 그들의 억제 기작에 대한 연구들도 많이 이루어졌다(Brzezinska 등, 2014; Singh 등, 2014). 키틴과 그의 분해산물들도 병해충 방제에 직접 또는 간접적으로 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Sharp, 2013). 따라서 키틴과 키틴분해미생물들을 단독 또는 혼합 처리하여 생물적 방제효과를 높이려는 연구가 많이 이루어졌다(Ahmed 등, 2003; Cretoiu 등, 2013; Giotis 등, 2009; Muymas 등, 2015; Rajkumar 등, 2008).

본 리뷰 논문에서는 이들 키틴분해미생물을 활용하여 실제 포장에서 효과적으로 식물병 생물적 방제에 활용되는 방법에 대해 소개하고자 한다. 식물병원균과 선충을 억제하는 키틴분해세균의 종류와 그들의 억제 기작, 키틴과 키틴분해세균을 이용한 생물적 방제 효과의 증대 방법과 이들 방법을 이용하여 조제한 생물적방제원의 포장 실험 결과를 기술하였다. 이들 키틴과 키틴분해미생물을 활용한 키틴 기반 제형이 실제 포장에서 효율적인 생물적 방제의 활용에 도움이 되기를 기대한다.

식물병 방제용 키틴분해세균

작물의 재배 토양, 근권, 엽권에는 다양한 키틴분해미생물들이 존재한다. 한 연구에 의하면 토양으로부터 분리한 75개의 키틴분해미생물 중에서 세균이 51균주, 방선균이 13균주, 곰팡이가 11균주로 분리되었다(Divatar 등, 2016). 근권에서는 *Mitsuaria, Lysobacter, Serratia, Paenibacillus, Bacillus, Erwinia, Aeromonas, Pseudomonas, Achromobacter, Flavobacterium*과 *Microbacterium*속 등의 키틴분해세균들이 주로 분리되었다(Someya 등, 2011). 엽권에서는 주로 *Pseudomonas, Clavibacter, Acinetobacter, Micrococcus, Brevundimonas, Bacillus, Stenotrophomonas*와 *Rhizobium*속 키틴분해미생물들의 검출 빈도가 높았다(Chernov 등, 2013).

항균활성 키틴분해세균. 그람 음성의 키틴분해세균으로서 토양에서 분리된 *Alcaligenus xylosoxidans, Aeromonas hydrophila* SBK1과 *Pseudomonas fluorescens* PB27 등은 *Rhizoctonia bataticola, Fusarium* sp.와 *Aspergillus flavus* 등의 식물병원균의 생육을 억제하였다(Akocak 등, 2015; Halder 등, 2013; Vaidya 등, 2001). *Chromobacterium* strain C-61은 *Rhizoctonia solani*에 대한 *in vitro* 생육억제 능력이 높아 생물적 방제균으로 활용되고 있다(Park 등, 1995). *Lysobacter enzymogenes*는 토양, 근권, 엽권 모두에서 분리되고 strain에 따라 다양한 식물병원균을 억제하였다. 즉, 토양에서 분리한 *L. enzymogenes* strain LE429는 *Phytophthora capsici, Fusarium oxysporum, Pythium aphanidermatum, R. solani* 등에 항균 활성을 보였고(Han 등, 2010), 오이 근권 분리균 strain 3.1T8은 *P. aphanidermatum*에 강한 항균 활성을 보였다(Folman 등, 2003). 한편, 잔디 엽권 분리균인 strain C3은 *R. solani, Bipolaris sorokiniana, Uromyces appendiculatus, Fusarium graminearum* 등이 일으키는 지상부의 병과 *Magnaporthe poae, Pythium ultimum*에 의한 토양병 발생을 억제했다(Giesler와 Yuen, 1998; Jochum 등, 2006; Kobayashi와 Yuen, 2005; Kobayashi 등, 2005; Sullivan 등, 2003; Yuen 등, 2001, 2003; Zhang과 Yuen, 1999). 키틴을 분해하는 *Serratia*속 중에서 *S. marcescens*는 주로 엽권에서 분리되었는데, 토마토 잎에서 분리된 strain B2는 *R. solani, F. oxysporum, Botrytis cinerea* 등의 토양병 또는 지상부병을 억제하였다(Akutsu 등, 1993; Someya 등, 2000, 2001, 2005). 땅콩 잎에서 분리된 strain GPS는 *Phaeoisariopsis personata*, 땅콩 꼬투리로부터 분리한 strain JPP1은 *Aspergillus parasiticus*에 의해서 일어나는 지상부의 병을 억제하였다(Kishore 등, 2005a; Wang 등, 2013). 한편, *Serratia plymuthica*는 주로 토양과 근권에서 분리되었는데, *B. cinerea, Sclerotinia sclerotiorum, Verticillium dahlia, Phytophthora cactorum, R. solani, Cladosporium* sp.와 *Alternaria alternata*에 의해서 일어나는 지상부병 또는 토양병들을 억제하였다(Jankiewicz와 Brzezinska, 2015; Kamensky 등, 2003; Kurze 등, 2001).

식물병원균을 억제하는 그람 양성의 키틴분해세균으로서 *Bacillus*속과 *Paenibacillus*속의 다양한 종이 보고되었다. *Bacillus*속은 토양과 근권에서 분리되었는데, *B. amyloliquefaciens, B. atrophaeus, B. cereus, B. licheniformis, B. pumilus, B. subtilis, B. thuringiensis* 등의 다양한 종이 지상부와 토양의 여러 병을 억제하는 것으로 보고되었다(Azizah 등, 2015; Ghasemi 등, 2010; Hammami 등, 2013; Liu 등, 2010; Narasimhan와 Shivakumar, 2012; Reyes-Ramírez 등, 2004; Shanmugam 등, 2013; Slimene 등, 2015). *Paenibacillus*속은 토양으로부터 분리된 *P. illinoisensis*와 *P. kribbensis*가 지상부와 토양의 다양한 병원균들을 억제하였다(Subbanna 등, 2016; Xu 등, 2014).

살선충활성 키틴분해세균. 그람 음성 키틴분해세균으로 *Chromobacterium* sp., *Lysobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *S. plymuthica* 등이 주로 선충을 억제하는 것으로 보고되었다. 토양으로부터 분리된 *Chromobacterium* sp.는 감자시스트

선충인 *Globodera rostochiensis* 알의 부화를 억제하고(Cronin 등, 1997), *Pseudomonas chitinolytica*는 뿌리혹선충인 *Meloidogyne javanica* 유충의 감염과 생존을 억제하였다(Spiegel 등, 1991). 근권으로부터 분리된 *Pseudomonas* sp.는 *Trichodorus primitivus*에 대한 살선충 활성을 나타냈고(Insunza 등, 2002), *S. plymuthica*는 *Meloidogyne ethiopica*의 증식을 억제하였다(Aballay 등, 2013). *Lysobacter*속에서는 토양으로부터 분리된 *L. enzymogenes*가 *G. rostochiensis* 알의 부화를 억제하고, 근권 분리균인 *L. enzymogenes*가 *T. primitivus*에 대한 살선충 능력을 나타냈으며(Cronin 등, 1997; Insunza 등, 2002), 토양에서 분리된 *Lysobacter capsici* YS1215가 *Meloidogyne* sp.에 대한 생물적 방제 활성을 나타냈다(Lee 등, 2013). 또한 엽권 분리균인 *L. enzymogenes* C-3는 다양한 식물병 방제 능력뿐만 아니라 선충에서도 *Caenorhabditis elegans*, *Heterodera schachtii, M. javanica, Pratylenchus penetrans, Aphelenchoides fragariae*와 같은 다양한 종에 대해 살선충 능력을 보였다(Chen 등, 2006).

선충 방제용 그람 양성의 키틴분해세균은 토양으로부터 분리된 *Bacillus*속과 *Paenibacillus*속에서 보고되었는데, *Bacillus*속에서는 *B. pumilus* L1이 뿌리혹선충인 *Meloidogyne arenaria, B. licheniformis* MH48이 소나무재선충인 *Bursaphelenchus xylophilus*에 대해 살선충 효능을 보였다(Jeong 등, 2015; Lee 와 Kim, 2016). *Paenibacillus*속에서는 *P. ehimensis* RS820, *P. elgii* HOA73, *P. illinoisis* KJA-424, *P. polymyxa* GBR-1이 뿌리혹선충인 *Meloidogyne* spp.를 살선충하는 균주로 보고되었다(Hong 등, 2013; Jung 등, 2002; Khan 등, 2008; Nguyen 등, 2013) (Table 1) .

키틴과 키틴분해세균을 이용한 생물적 방제

키틴은 식물과 키틴분해세균들의 생육을 촉진하고, 키틴분해산물(키틴 및 키토올리고당)은 병원균이나 선충을 직접 억제하기도 하고 식물에 저항성을 유도하기도 한다(Sharp, 2013). 한편, 키틴분해세균들은 병원균이나 선충을 억제하는 다양한 물질을 생산하고, 식물에 저항성을 유도하거나 식물의 생육을 촉진하는 경우도 있다(Brzezinska 등, 2014; Nagpure 등, 2014; Singh 등, 2014). 따라서 키틴 단독 또는 키틴분해미생물과 혼합 처리하여 식물병의 방제 효과를 높이려는 보고가 많다.

키틴 단독 또는 키틴분해세균과의 혼합 처리에 의한 식물병 방제. 토양에 키틴을 처리함으로써 작물의 생육이 증가되었다는 보고들이 있다. 키틴 처리에 의해서 상추의 신선중 및 건물중, 잎의 수, 폭 및 길이가 증가하였고(Muymas 등, 2015), 약용식물의 생육과 엽록소함량이 증가하였으며(Liopa-Tsakalidi 등, 2010), 토마토 수확량이 현저히 증가하였다(Giotis 등, 2009). 키틴을 처리함으로써 토양병이 억제되었다는 보고들도 있다. 즉, *F. oxysporum*에 의한 셀러리의 토양병(Bell 등, 1998), *R. solani*에 의한 사탕무우의 토양병(Postma와 Schilder, 2015), *Pyrenochaeta lycopersici*와 *Verticillium albo-atrum*에 의한 토마토 토양병 등이 억제되었다(Giotis 등, 2009). 키틴을 토양에 처리하면 유용미생물, 특히 키틴분해미생물들이 크게 증가하여 토양병이 억제되고, 이러한 방제 효과는 장기간 지속되는 것으로 보고되었다(Cretoiu 등, 2013).

한편, 키틴분해세균 배양액과 키틴의 혼합액을 종자 침지 또는 토양관주하여 방제효과가 증대되었다는 보고가 있다. 즉, 키틴(0.5%)을 처리한 토양에 키틴분해세균인 *Pseudomonas* spp. 배양 현탁액에 침지된 고추 종자를 파종하면 키틴만 처리했을 때보다 *R. solani*에 대한 방제 효과가 증대되었고(Rajkumar 등, 2008), 키틴(0.5%)을 *Bacillus* 배양 현탁액에 첨가해서 종자 침지 또는 토양관주하면 세균현탁액만 처리했을 때보다 *Phytophthora*와 *Rhizoctonia*에 대한 방제 효과가 증대하였다(Ahmed 등, 2003). 또한, 키틴 첨가 peat에 *B. subtilis*를 조제하여 종자처리하면 세균현탁액을 처리했을 때보다 *Aspergillus niger*와 *Fusarium udum*에 대한 방제 효과가 더 높았다(Manjula와 Podile, 2001).

지상부병의 경우에는 분무 살포해야 하기 때문에 colloidal chitin으로 전환해서 키틴분해세균과 혼합하여 살포하는데, 대부분의 연구에서 키틴분해세균만 살포한 것보다 더 좋은 방제효과를 나타냈다. 즉, 키틴분해세균인 *Bacillus circulans* GRS243와 *S. marcescens* GPS5, *B. cereus* CRS7을 colloidal chitin과 혼합 살포함으로써 땅콩의 late leaf spot, chickpea의 잿빛곰팡이병에 대한 방제효과가 증대되었다(Kishore와 Pande, 2007; Kishore 등, 2005a). 또한, 키틴분해세균과 colloidal chitin을 혼합해서 살포하면 처리된 세균의 생존율이 증가하고 더 높은 키티나아제를 생산하며(Kishore 등, 2005a), 식물에서 병 방어에 관련된 여러 효소들(chitinase, β-1,3-glucanase, peroxidase 및 phenylalanine ammonia lyase)의 활성이 더 높아진다는 보고가 있다(Kishore 등, 2005b). 한편, 키틴분해세균을 키틴액체배지에서 배양한 액을 살포하면 키틴분해세균과 colloidal chitin을 혼합해서 살포한 것보다 더 좋은 방제 효과를 나타냈고, 이 배양액의 방제 효과는 화학 살균제와 비슷한 수준을 나타냈다고

Table 1. List of the chitinase-producing biocontrol bacteria reported to reduce plant diseases and nematode damage

Strain	Source	Target pest(s) for biological control	Reference
Gram negative bacteria		Plant pathogens	
Alcaligenus xylosoxidans	Soil	*Rhizoctonia bataticola, Fusarium* spp.	Vaidya et al., 2001
Aeromonas hydrophila SBK1	-	*Aspergillus flavus, Fusarium oxysporum*	Halder et al., 2013
Chromobacterium strain C-61	Soil	*Rhizoctonia solani, Sclerotinia sclerotiorum, Phytophthora capsici, Pythium ultimum*	Park et al., 1995
Lysobacter enzymogenes LE429	Soil	*P. capsici, F. oxysporum, Pythium aphanidermatum, R. solani*	Han et al., 2010
L. enzymogenes 3.1T8	Rhizosphere	*P. aphanidermatum*	Folman et al., 2003
L. enzymogenes C3	Phylloplane	*R. solani*	Giesler and Yuen, 1998
		Fusarium graminearum	Jochum et al., 2006 Yuen et al., 2003
		P. ultimum	Kobayashi et al., 2005
		Magnaporthe poae	Kobayashi and Yuen, 2005
		Uromyces appendiculatus	Yuen et al., 2001
		Bipolaris sorokiniana	Zhang and Yuen, 1999
Pseudomonas fluorescens PB27	Soil	*A. flavus*	Akocak et al., 2015
Serratia marcescens B2	Phylloplane	*R. solani, F. oxysporum, Botrytis cinerea*	Akutsu et al., 1993 Someya et al., 2000 Someya et al., 2001 Someya et al., 2005
S. marcescens GPS	Phylloplane	*Phaeoisariopsis personata*	Kishore et al., 2005b
S. marcescens JPP1	Phyllosphere	*Aspergillus parasiticus*	Wang et al., 2013
S. plymuthica MP44	Rhizosphere	*R. solani, Cladosporium* sp., *Alternaria alternata*	Jankiewicz and Brzezinska, 2015 Kamensky et al., 2003
S. plymuthica IC14	Soil	*B. cinerea, S. sclerotiorum*	Kamensky et al., 2003
S. plymuthica HRO-C48	Rhizosphere	*Verticillium dahlia, Phytophthora cactorum*	Kurze et al., 2001
Gram positive bacteria		Plant pathogens	
Bacillus amyloliquefaciens SAHA 12.07	Soil	*Ganoderma boninense*	Azizah et al., 2015
B. atrophaeus	Rhizosphere	*F. oxysporium*	Shanmugam et al., 2013
B. cereus IO8	Soil	*B. cinerea*	Hammami et al., 2013
B. licheniformis S213	Soil	*Phoma medicaginis*	Slimene et al., 2015
B. pumilus strain SG2	Soil	*R. solani, Verticillium* sp., *Nigrospora* sp., *Stemphyllium botryosum, Bipolaris* sp.	Ghasemi et al., 2010
B. subtilis	Rhizosphere	*Alternaria* spp., *Colletotrichum gloeosporioides, P. capsici, R. solani, Fusarium* spp., *Verticillum theobromae*	Narasimhan and Shivakumar, 2012
B. thuringiensis	-	*Sclerotium rolfsii, Aspergillus* spp., *Fusarium* sp.	Reyes-Ramírez, et al., 2004
Paenibacillus illinoisensis	Soil	*R. solani, F. solani, Sclerotium rolfsi*	Subbanna et al., 2016
P. kribbensis	Soil	*B. cinerea, Colletotricum acutatum, F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici, Magnaporthe oryzae, P. capsici, R. solani, Sclerotium cepivorum*	Xu et al., 2014

Table 1. Continued

Strain	Source	Target pest(s) for biological control	Reference
Gram negative bacteria		Nematodes	
Chromobacterium sp. *Lysobacter enzymogenes*	Soil	*Globodera rostochiensis*	Cronin et al., 1997
L. enzymogenes C3	Phylloplane	*Caenorhabditis elegans, Heterodera schachtii, Meloidogyne javanica, Pratylenchus penetrans, Aphelenchoides fragariae*	Chen et al., 2006
L. enzymogenes, Pseudomonas sp.,	Rizoplane	*Trichodorus primitivus*	Insunza et al., 2002
L. capsici YS1215	Soil	*Meloidogyne* sp.	Lee et al., 2013
P. chitinolytica	Soil	*M. javanica*	Spiegel et al., 1991
Serratia plymuthica	Soil	*Meloidogyne ethiopica*	Aballay et al., 2013
Gram positive bacteria		Nematodes	
Bacillus licheniformis MH48	Soil	*Bursaphelenchus xylophilus*	Jeong et al., 2015
B. pumilus L1	Soil	*Meloidogyne arenaria*	Lee and Kim, 2016
Paenibacillus ehimensis RS820	Soil	*M. incognita*	Hong et al., 2013
P. elgii HOA73	Soil	*M. incognita*	Nguyen et al., 2013
P. illinoisensis KJA-424	Soil	*M. incognita*	Jung et al., 2002
P. polymyxa GBR-1	Rhizoplane	*M. incognita*	Khan et al., 2008

하였다(Yuen 등, 2001).

키틴 처리에 의한 선충 방제. 키틴을 처리함으로써 토양 중에 분포하는 식물기생선충의 밀도가 감소하였다는 보고가 많은데, 뿌리혹선충인 *M. arenaria, M. incognita, M. javanica*와 시스트 선충인 *Heterodera glycines, H. trifolii*, 그리고 *Pratylenchus* spp., *Tylenchus* spp.의 밀도는 현저히 감소하였다(Godoy 등, 1983; Hallmann 등, 1999; Ladner 등, 2008; Mian 등, 1982; Radwan 등, 2012; Rodríguez-Kábana 등, 1984; Sarathchandra 등, 1996; Spiegel 등, 1987). 하지만, chitin-urea 처리에 의해서 토마토의 *M. incognita*, 감자의 *M. chitwoodi*, 호두의 *Pratylenchus vulnus*는 감소하였지만, *H. schachtii* (Westerdahl 등, 1992)와 토마토의 *M. hapla* 밀도에는 영향이 없다는 보고도 있다(Bélair와 Tremblay, 1995). 한편, 선충에 대한 억제효과는 토양에 처리된 키틴의 농도에 따라 차이가 있는데(Ladner 등, 2008; Mian 등, 1982; Spiegel 등, 1987), 고농도의 키틴을 처리하면 작물에 해가 되는 경우도 보고되었다(D'Addabbo, 1995; Godoy 등, 1983; Rodríguez-Kábana, 1986; Spiegel 등, 1987).

키틴을 처리하여 토양 선충이 생물적 방제된 토양에서는 전반적으로 다양한 미생물들이 크게 증가한 것으로 보고되었다. 즉, 키틴을 처리함으로써 토양 세균이 13배, 곰팡이가 2.5배 증가하였고(Sarathchandra 등, 1996), 처리되지 않은 토양에서 발견되지 않았던 새로운 세균이나 식물 생육에 이로운 내생 세균, 그리고 키틴분해미생물의 밀도가 증가하였으며(Hallmann 등, 1999), 선충의 난에 기생하는 곰팡이가 많이 증가하였다는 보고가 있다(Mian 등, 1982; Rodríguez-Kábana 등, 1984). 또한, 키틴을 처리한 토양에서는 pH, conductivity, nitrate-nitrogen, ammonia-nitrogen과 chitinase 활성이 증가하였고(Godoy 등, 1983), aryl phosphatase, chitinase와 urease 활성 등이 증가하였다(Mian 등, 1982). 따라서 키틴의 처리에 의한 토양 선충 억제는 키틴분해미생물의 증가에 의한 chitinase 생산의 증가(Sarathchandra 등, 1996)와 키틴이 분해되면서 발생한 암모니아에 의한 결과로 추정되었다(Spiegel 등, 1987).

키틴분해세균들의 혼합 처리에 의한 방제. 키틴분해세균들의 단독 또는 혼합 처리에 의한 방제 효과는 대상 작물병과 생물적 방제균의 조합에 따라 달랐다. 즉, *F. oxysporum*에 대한 작물병 방제 효과는 *Paenibacillus* sp.와 *Streptomyces* sp.를 단독 처리한 것보다 혼합 처리함으로써 증대하였지만(Singh 등, 1999), *Sclerotinia minor*에 대한 방제효과는 *S. marcescens*를 단독 처리하였을 경우와 *S. marcescens, S. viridodiasticus* 및 *Micromonospora carbonacea*를 혼합 처리하

였을 경우에 비슷하였다(El-Tarabily 등, 1996). 하지만, 식물병 억제 기작이 다른 균주들을 혼합 처리하였을 경우에는 전반적으로 병 방제효과가 증가하였다. 즉, cellulase를 생산하는 *M. carbonacea*와 항생물질을 생산하는 *Streptomyces violascens*의 혼합 처리에 의한 *Phytophthora cinnamom*에 대한 방제 효과(El-Tarabily 등, 1996)와 siderophore를 생산하는 *Pseudomonas putida* WCS358과 식물에 저항성을 유도하는 *P. putida* RE8의 혼합 처리에 의한 무 시들음병에 대한 방제 효과는 상승하였다(de Boer 등, 2003). 또한, 식물생장촉진균인 *B. subtilis*, 식물병 저항성 유도균인 *B. amyloliquefaciens*와 chitosan으로 구성되어 있는 제형(LS213)에 3종류의 생육촉진세균을 첨가하였을 경우, 모든 조합에서 고추와 토마토의 생육 및 방제효과가 증가되었지만 생육촉진 효능은 *B. licheniformis*를 첨가한 제형에서, 병 방제 효능은 *P. fluorescens*를 첨가한 제형에서 증진되었다(Domenech 등, 2006). 따라서 키틴분해세균들 중에서도 병 억제 기작이 다른 균주들을 혼합해서 처리하면 방제효과가 더 상승될 것으로 추정된다.

키틴분해세균들의 생물적 방제기작

식물병에 대한 생물적 방제 기작은 길항 세균에 따라 다양하지만, 주로 효소 및 항생물질(독소)의 생산, 영양분에 대한 경쟁, 식물의 생장 촉진 및 저항성 유도 등을 통하여 일어나는 것으로 알려져 있다(Pal과 Gardener, 2006). 식물병을 억제하는 키틴분해세균들 중에서도 생물적 방제에 관여하는 효소(chitinase, β-1,3-glucanase), 항생물질(pyrrolnitrin), 영양분 경쟁(siderophore), 생육촉진물질(IAA) 등을 생산하는 균주(Kalbe 등, 1996), 효소(chitinase, chitobiase)와 항생물질을 생산하는 균주(Someya 등, 2001), chitinase, 인산분해 효소, IAA를 생산하는 균주(Abiala 등, 2015), 식물에 저항성을 유도하여 병을 억제하는 균주(Sato 등, 2014) 등 다양한 기작이 관여할 것으로 추정되었다. 선충에 대한 생물적 방제균들 중에서도 항생물질, 독소, chitinase, protease 등을 생산하거나 식물에 저항성을 유도하는 다양한 키틴분해세균들이 보고되었다(Bottjer 등, 1985; Chen 등, 2006; Niu 등, 2006; Ramamoorthy 등, 2001; Tian 등, 2007a, 2007b).

이 리뷰에서는 본 연구실에서 키틴 기반 제형을 조제하는 데 키틴분해미생물로 이용된 3종류의 그람 음성 세균에 대해서만 생물적 방제 기작에 대해서 서술한다(Table 2).

***Lysobacter enzymogenes*의 생물적 방제기작.** 다양한 식물병에 효과를 보이는 *L. enzymogenes*는 길항 균주와 병원체의 조합에 따라 다양한 억제 기작이 관여한다(Hayward 등, 2010). *L. enzymogenes* strain C3는 chitin, β-glucan, alginate, gelatin, carboxymethyl cellulose 분해 효소를 분비하는데(Sullivan 등, 2003), chitinase는 *B. sorokiniana*의 포자 발아 및 발아관신장을 억제하는 중요 인자로 보고되었고(Zhang 등, 2001), β-1,3-glucanases는 tall fescure의 Bipolaris leaf spot과 사탕무의 Pythium 잘록병 방제에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었다(Palumbo 등, 2005). 동일한 strain은 *B. sorokiniana, F. graminearum, R. solani, S. sclerotiorum, P. ultimum*과 *P. sojae* 등 다양한 식물병원곰팡이와 선충을 억제하는 항생물질인 dihydromaltophilin (heat-stable antifungal factor, HSAF) (Li 등, 2008; Yu 등, 2007; Yuen 등, 2006), 잔디병 방제에 기여하는 biosurfactant (Kobayashi와 Yuen, 2005) 등의 항균물질뿐만 아니라, 식물에 저항성을 유도하여 *B. sorokiniana*의 포자 발아 및 병 발생을 억제하였다(Kilic-Ekici와 Yuen, 2003, 2004). Strain OH11은 protease, chitinase 및 β-1,3-glucanase (Qian 등, 2009)의 생물적 방제에 관련된 효소와 세균을 억제하는 cyclic lipodepsipeptide (Zhang 등, 2011)가 중요한 인자로 보고되었다. 또한 strain LE429은 chitinase, β-1,3-glucanase, protease, gelatinase, lipase 등의 분해효소를 생산하며(Han 등, 2010), strain 3.1T8도 protease, lipase 및 항균 물질이 생물적 방제에 중요한 기작으로 보고되었다(Folman 등, 2003, 2004). *L. enzymogenes*의 genome sequence는 이미 보고된 효소와 항균물질 이외에 더 많은 항균 물질을 생산할 것으로 분석되어 앞으로 식물병 억제에 기여할 수 있는 더 다양한 물질들이 밝혀질 것으로 생각된다(de Bruijn 등, 2015).

***Serratia plymuthica*의 생물적 방제 기작.** 키틴분해미생물인 *S. plymuthica*의 생물적 방제 기작도 균주에 따라 매우 다양하였다(de Vleesschauwer와 Höfte, 2007). 특히, 동일 지역(유채 근권)에서 분리된 *S. plymuthica*들 중에서도 chitinase, β-1,3-glucanase, pyrrolnitrin, siderophore, IAA 등의 생물적 방제 인자를 모두 생산하는 균주, 이들의 어떤 인자를 생산하지 못하는 균주 등 매우 다양하였다(Kalbe 등, 1996). 또한 오이 잿빛곰팡이병(*B. cinerea*)과 균핵병(*S. sclerotiorum*)을 억제한 strain IC14는 chitinase, protease, pyrrolnitrin, siderophore 및 IAA를 생산하고(Kamensky 등, 2003), 딸기 생장을 촉진하고 *V. dahliae, P. cactorum*을 억제한 strain HRO-C48은 chitinase, protease, pyrrolnitrin, 휘발성 유기화합물, siderophore, IAA를 생산하는 것으로 보고되었

Table 2. Bacterial determinants involved in biocontrol of plant diseases and nematode damage for chitinase-producing *Serratia*, *Lysobacter* and *Chromobacterium* isolates

Strain	Target pests for biological control	Bacterial determinant	Reference
Lysobacter enzymogenesis Strain C-3, Strain OH11, Strain LE429	Fungi	Chitinase, β-1,3-glucanase, protease, etc.	Sullivan et al., 2003 Qian et al., 2009 Han et al., 2010
Strain C-3	Fungi Nematodes	Dihydromaltophilin (HSAF)	Li et al., 2008 Yu et al., 2007 Yuen et al., 2006
Strain C-3	Fungi	Biosurfactant	Kobayashi and Yuen, 2005
Strain C-3	Fungi	Induced systemic resistance	Kilic-Ekici and Yuen, 2003, 2004
Strain OH11	Bacteria	Lipodepsipeptide (WAP-8294A2)	Zhang et al., 2011
Serratia plymuthica Strain IC14	Fungi	Chitinase, protease, pyrrolnitrin, siderophores, IAA	Kamensky et al., 2003
Strain HRO-C48	Fungi	Chitinase, protease, pyrrolnitrin, siderophore, volatile organic compounds, IAA	Frankowski et al., 2001 Kurze et al., 2001 Müller et al., 2009
Strain A153	Fungi	Pyrrolnitrin, haterumalide NA, B, NE	Levenfors et al., 2004
	Bacteria	Andrimid	Matilla et al., 2016b
	Nematode	Zeamine	Hellberg et al., 2015
Chromobacterium violaceum	Fungi, bacteria Protozoa	Chitinase, violacein, cyanide	Barreto et al., 2008 Chernin et al., 1998 Michaels and Corpe,1965 Leon et al., 2001
	Bacteria	Aerocyanidin, aerocavin	Parker et al., 1988 Singh et al., 1988
Chromobacterium strain C-61	Fungi	Chitinases, lipopeptide	Kim et al., 2014 Park et al., 2005

HSAF, heat-stable antifungal factor.

다(Frankowski 등, 2001; Kurze 등, 2001; Müller 등, 2009). 이들 중에서 병 억제에 대한 chitinase의 역할은 매우 낮은 것으로 추정되었다(Frankowski 등, 2001). 한편, strain A153은 식물병원균에 대해 항균 spectrum이 다른 다양한 항생물질들(pyrrolnitrin, haterumalide NA, B 및 NE)을 생산하고(Levenfors 등, 2004), 항세균성 물질인 andrimid와 살선충 물질인 zeamine을 생산하였다(Hellberg 등, 2015; Matilla 등, 2016b). 이 외에 항세균성 물질로서 박테리오신인 serracin P를 생산하는 균주(Jabrane 등, 2002), 휘발성 유기화합물인 dimethyl disulfide를 생산하는 생물적 방제균(Dandurishvili 등, 2011), 기주 식물에 저항성을 유도하여 병을 억제하는 균주도 보고되었다(Benhamou 등, 2000). 한편 strain A153의 genome sequence에 의하면 아직까지 보고되지 않은 다양한 항생물질 생합성 유전자군이 보고되었다(Matilla 등, 2016a). 따라서 *S. plymuthica*에 의한 생물적 방제는 더 다양한 물질들의 생산에 의해서 이루어질 것으로 추정된다.

***Chromobacterium*속의 생물적 방제기작.** *C. violaceum*은 chitinase, violacein, cyanide 등이 생물적 방제에 중요한 인자로 알려져 있다(Barreto 등, 2008; Chernin 등, 1998; Michaels와 Corpe, 1965). Violacein은 인간의 주요 병원균인 *Mycobacterium tuberculosis, Trypanosoma cruzi* 및 *Leishmania* sp. 등을 억제하고 피부 질환치료에 유용한 것으로 알려져 있다(De Souza 등, 1999; Durán 등, 1994; Leon 등, 2001). 또한 이 세균은 항세균, 항바이러스 및 항암 활성을 갖는 것으로 보고되었고(da Silva Melo 등, 2000; Rettori와 Durán, 1998; Ueda 등, 1994), 항세균성 물질인 aerocyanidin과 aerocavin이 알려져 있다(Parker 등, 1988; Singh 등, 1988). 아울러, *C. violaceum*의 게놈 분석에 의하면 chitinase와 violacein, phenazine, cyanide 및 lipopeptide 등의 생물적 방제에 관여되는 유전

자가 존재하여 이들이 중요한 생물적 방제 인자로 작용할 것으로 추정된다(Brazilian National Genome Project Consortium, 2003). 본 연구팀에서 분리한 *Chromobacterium* strain C-61 균주는 다른 키틴분해세균들에 비하여 토양에서 분리되는 빈도가 낮았지만(Park 등, 1995), 다른 키틴분해세균들에 비하여 키틴분해능력이 높고 특히 *R. solani*에 대한 억제력이 높았으며, 작물의 모잘록병 억제에 관여하는 여러 chitinases를 분비하였다(Park 등, 2005). 최근 이 균주로부터 식물병 억제에 중요한 역할을 하는 신규 cyclic lipopeptide가 중요한 항균 물질로 동정되었고(Kim 등, 2014), 이들 이외에도 다양한 생물적 방제인자들이 있을 것으로 draft genome sequence에 의해 분석되었으며(Kim 등, 2011), 그들 중 extracellular chitinase와 항생물질은 quorum sensing에 의해서 조절됨을 증명하였다(Kim 등, 2017).

키틴 기반 제형 조제 및 포장에서 생물적 방제 효능

키틴 기반 제형 조제. 키틴분해세균을 키틴+최소영양배지에서 배양하면 세균의 증식은 물론 그들이 키틴을 분해하기 위한 여러 효소들을 분비하고, 그러한 효소들에 의해서 분해되었거나 분해 과정에 있는 다양한 키틴 올리고머, 아직 분해되지 않은 키틴들이 존재하며, 세균에 따라 다양한 항균물질들을 분비한다. 따라서 키틴+최소영양배지에서 자란 키틴분해세균의 배양액 속에는 고농도의 세균, 다양한 세포외 분해효소와 항균물질, 다양한 키틴 올리고머와 키틴들이 포함되어 있다(Fig. 1). 이러한 요소들은 모두 식물병원균이나 선충 방제에 직접 또는 간접적으로 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 즉, 키틴은 식물의 생장을 촉진하고 키틴분해미생물들을 증식시켜 방제에 기여하고, 키틴 올리고머들은 식물병원진균이나 선충을 직접 억제하거나 인식 및 침입의 방해, 식물에 방어 반응을 일으켜 방제에 기여하는 것으로 알려져 있다(Barber 등, 1989; Kielak 등, 2013; Sharp, 2013; Shibuya와 Minami, 2001). 또한 세균, 분해효소 및 항균물질들은 상호복합적으로 작용하여 방제효과를 증대한다(Brzezinska 등, 2014; Nagpure 등, 2014; Singh 등, 2014). 이와 같이 조제된 키틴분해세균들의 배양액은 세균만으로 이루어진 현탁액보다 균주에 따라 10배에서 25배 정도 더 높은 항균 활성을 나타냈고, 뿌리혹선충에 대한 살충률도 훨씬 더 좋았다.

한편, 토양 중에는 다양한 병원균, 선충이 분포하고, 그들이 상호 복합적으로 작용하여 피해를 상승시킨다. 따라서 방제효과를 높이기 위해서는 그들 모두를 억제할 수 있어야 하는데, 이를 위해서는 특정 병원균을 억제하는 각 균주를 혼합 배양해서 사용해야 할 것이다. 예를 들면, 고추 역병의 주요 병원균은 *P. capsici*이지만, *R. solani, F. oxysporum, Fusarium solani, Ralstonia solanacearum* 등이 복합적으로 작용하여 발생하고(Park과 Kim, 1991), 여기에 선충이 존재하면 피해는 더 커질 것이다. 따라서 본 연구팀에서는 토양에 분포하는 키틴분해세균 중에서 *P. capsici*에 항균 활성이 높은 *S. plymuthica, R. solani*에 항균 활성이 높은 *Chromobacterium* sp C-61, *Fusarium* spp.에 항균 활성이 높은 *L. enzymogenes*를 선발하여 키틴영양배지에서 혼합 배양하였다(Kim 등, 2008). 이들 키틴분해세균들은 다양한 식물병원균 및 선충을 억제하고, 그들을 억제하는 다양한 물질들을 생산하는 것으로 보고되었다(Table 2). 따라서 이들을 혼합 배양하면 더 다양한 억제 물질이 생성될 것으로 추정된다. 그러나 배양액 자체를 살포하여 병해충을 방제하고자 할 경우에는 식물병원균들의 생육에 필요한 영양원들이 포함되어 있지 않아야 할 것이다. 따라서 본 연구팀에서는 식물병원균들은 자라지 못하면서 키틴분해세균들만 자랄 수 있는 '키틴+최소영양배지(키틴 기반 제형)'를 개발하고, 이 배지에서 방제 활성이 최대로 될 수 있는 배양 조건을 확립하였다(Kim 등, 2008). 또한 농민들이 자가 배양하여 사용할 수 있도록 대량배양기에서의 배양 조건을 확립(Fig. 1)하여 포장에서 다양한 식물병에 대한 방제효과를 검증하였다.

포장에서 키틴 기반 제형의 식물병 방제 효과. *S. plymuthica, Chromobacterium* sp. C-61, *L. enzymogenes*가 키틴 최소영양배지에서 배양된 키틴 기반 제형은 포장에서 고추 역병, 오이와 호박의 뿌리혹선충에 대해 생물적 방제 효능이 높았다(Fig. 2). 고추 역병 방제 효과는 키틴 기반 제형의 처리 농도 및 처리 시기, 포장의 병 발생 정도에 따라 차이가 있었지만, 원액의 토양 관주는 모든 조건에서 높은 방제 효과(77%–100%의 방제가)를 나타냈다. 그러나 10배 희석액의 경우 병이 적게 걸린 포장에서는 우수한 방제 효과(75%–92% 방제가)를 나타냈지만 병이 심하게 걸린 포장(41%–75% 발병주율)에서는 36%–50% 정도의 방제효과를 나타냈다(Kim 등, 2008). 선충이 발생한 포장에 대조구인 배지를 처리한 오이는 거의 생육하지 못하였으나 키틴 기반 제형 처리구에서는 선충을 접종하지 않은 멸균 토양에서 생육한 오이와 동일한 생장률을 나타냈다. 또한 포장에 오이를 정식하고 물 대신에 75배 희석한 키틴 기반 제형을 5일 간격 점적 관주하였을 경우, 30일과 60일 후 오이의 초장

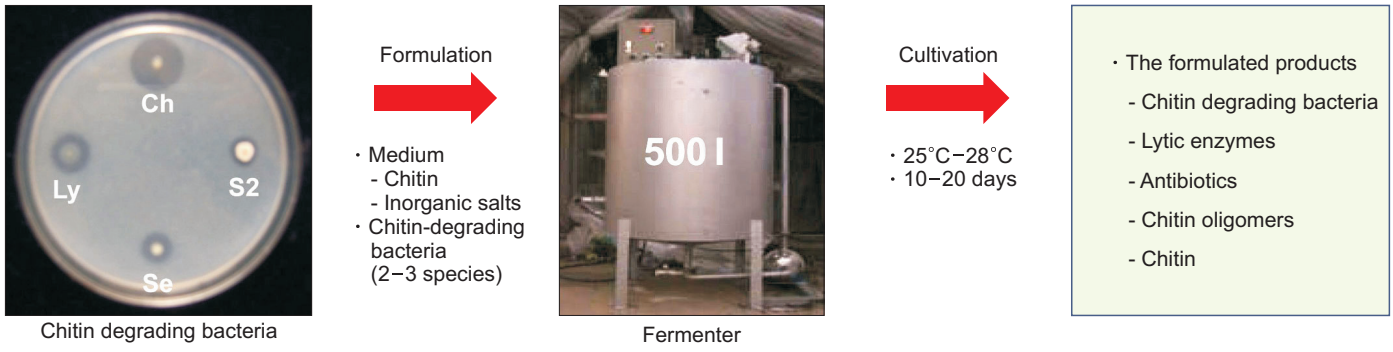

Fig. 1. Growth by fermentation of a formulation with biocontrol activity. The fermentation can be conducted on site with a defined mixture of two to three chitin-degrading bacterial species. The growth medium can be cost effective and includes chitin to induce both effective multiplication of the active biocontrol agents and the production of chitinases. The bacteria are selected to provide unique biocontrol potentials of an array of plant pests. Fermentation can occur to field applicable levels within two weeks. The formulation not only contains cells of the biocontrol active bacteria but also a mixture of their metabolites, degradative enzymes and bioactive chitin oligomers with varied potentials in biocontrol. Control of microbial diseases, as well as insect and nematode pests is feasible.

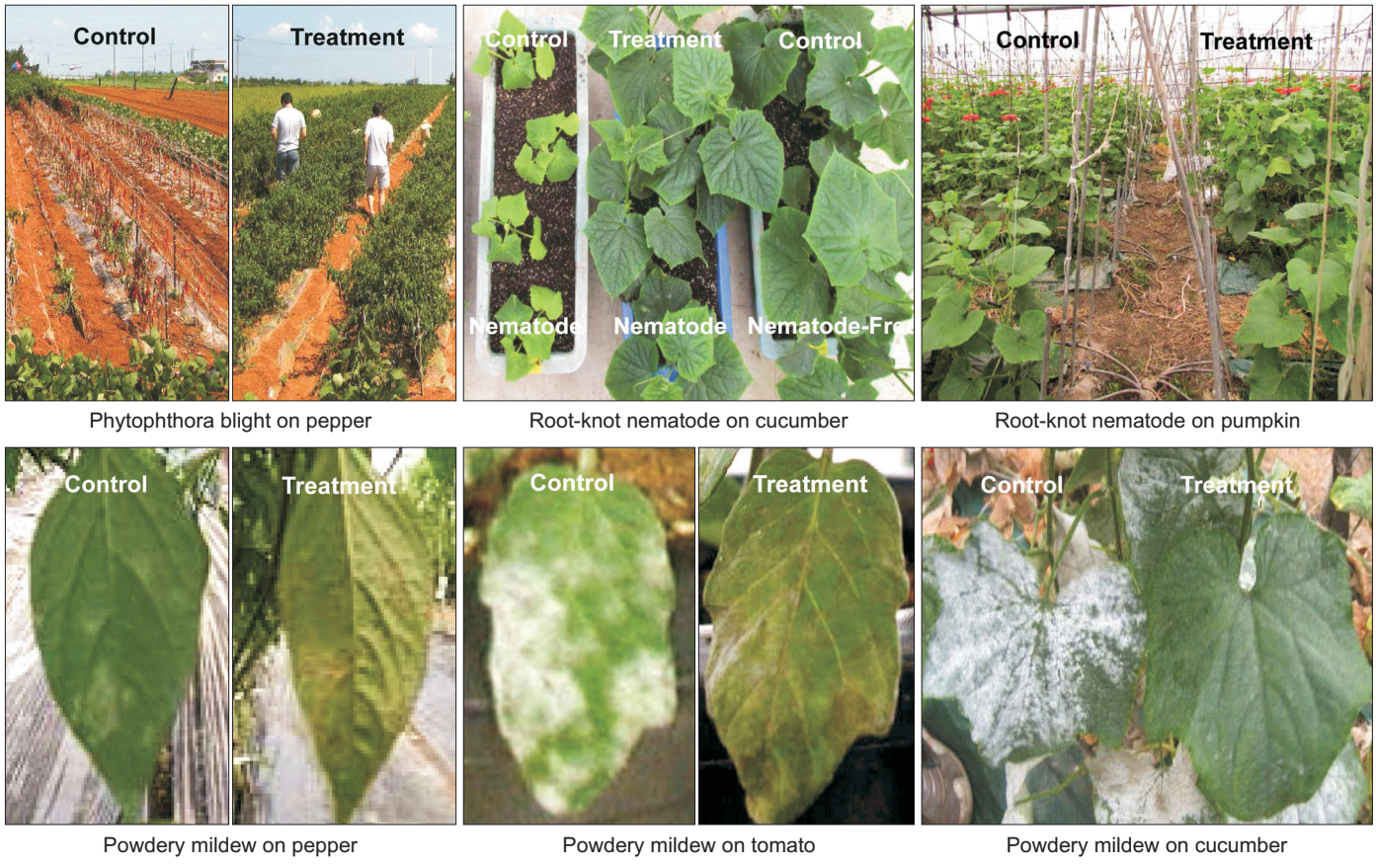

Fig. 2. Effective biocontrol of formulations based on chitin-degradation microbes against plant diseases and root-knot nematode damage under commercial crop-growing conditions. The fermented formulation was treated three times at 10-day intervals by foliar or root-drenches to the different crops. Significant biocontrol efficacy was observed when the crop plants were treated with 5-fold or 10-fold diluted product. Images of root-knot nematode on cucumber and powdery mildew on pepper were cited from paper of Ha et al. (2014) and Seo et al. (2007), respectively.

이 7%와 10% 촉진되었고, 근권 뿌리혹선충 밀도가 78%와 69% 감소하였다. 특히, 점적 관주된 부위의 뿌리에는 혹이 전혀 형성되지 않은 반면에 관주가 되지 않은 부위의 뿌리에는 무수한 혹이 형성되어 있었기 때문에 이 키틴 기반 제형은 뿌리혹선충 생물적 방제의 직접적인 원인으로 추정되었다(Ha 등, 2014). 호박에서도 키틴 기반 제형을 희석하여 점적 관주하였을 경우에는 물을 관주한 지역보다 작물의 생육이 높았고, 뿌리혹선충의 밀도와 뿌리혹이 감소되었다(Fig. 2).

지상부병에 대해서는 세 균주와 두 균주에 의해서 조제된 키틴 기반 제형의 방제효과가 비슷하였다. 따라서 두 균주(*Chromobacterium* sp C-61과 *L. enzymogenes*)에 의해서 조제된 키틴 기반 제형을 분무 살포하였는데, 흰가루병에 대한 방제효과가 높았다(Fig. 2). 즉, 고추, 토마토, 오이의 흰가루병 모두 살포 4–6일 후 흰가루병이 완전 방제되었지만, 방제 지속 기간은 살포 후의 환경조건에 크게 영향을 받았다. 예를 들어 오전 9시보다 오후 6시에 살포하거나 살포 다음날 비가 올 경우에는 그 방제지속기간이 더 오래 지속되었다. 그러나 전반적으로 고추 흰가루병의 경우 병 발생이 심한 포장에서는 5일 간격, 병 발생이 시작되는 포장에서는 7일 간격 살포하여 흰가루병이 100% 방제되었다(Seo 등, 2007). 오이 흰가루병의 경우 봄에는 10일 간격, 겨울철에는 15일 간격의 살포에 의해서 완벽하게 방제되었다. 인삼 탄저병과 점무늬병에 대한 방제 효과도 병 발생이 낮을 경우(탄저병 30%, 점무늬병 75%)에는 살균제에서와 비슷한 효과를 나타냈으나 병 발생이 심할 경우(탄저병 70%, 점무늬병 100%)에는 살균제의 효과보다 약간 낮았다(Kim 등, 2010). 오이 노균병, 토마토 잎곰팡이병, 잿빛곰팡이병 등에 대한 방제 효과는 살균제의 효과에 미치지 못하였다(data not shown). 하지만, 작물병 발생 초기 혹은 병원균이 식물조직 내로 들어가기 전에 예방적으로 살포하거나 화학 농약보다 살포 횟수를 늘려서 살포하면 방제가 가능할 것으로 판단되었다. 하지만 노지의 고추 탄저병이나 감 둥근무늬낙엽병에 대한 효과는 등록된 살균제에 비하여 방제 능력이 효과적이지 못하였다(data not shown). 결론적으로 본 연구팀에서 개발한 키틴 기반 제형은 포장에서 토양병 및 선충을 효과적으로 방제하고, 시설 내에서 발생하는 지상부병의 방제에도 활용될 수 있을 것으로 판단되었다. 그러나 이 제형은 병원균이나 선충에 직접 접촉해야만 효과가 있고, 그 효과가 환경에 크게 영향 받기 때문에 이런 점들을 고려해서 살포하면 성공적인 방제가 이루어질 수 있으리라 생각된다.

결론 및 앞으로의 전망

본 연구팀에서 개발한 키틴 기반 제형에는 생물적 방제 키틴분해미생물과 식물의 생육과 병 방제에 기여할 수 있는 다양한 물질들이 포함되어 있다. 이 제형은 세균만으로 이루어진 현탁액보다 훨씬 더 높은 방제 활성을 갖고, 고추 역병, 오이 뿌리혹선충, 각종 흰가루병의 경우에는 유기합성농약 대신 사용해도 될 정도의 방제효과를 나타냈다. 또한 특정 병원체 억제 키틴분해세균들을 혼합 배양하면, 방제 활성의 증가뿐만 아니라 방제스펙트럼이 확대되는 장점이 있다. 일반적으로 화학유기농약이나 미생물농약의 단점이 좁은 적용 스펙트럼이지만, 본 연구팀에서 개발한 키틴 기반 제형은 다양한 식물병을 방제하고 생물 비료의 역할도 할 수 있는 장점을 갖는다.

한편, 작물을 친환경적으로 재배하기 위해서는 식물병뿐만 아니라 해충까지 해결해야 한다. 키틴분해세균들 중에서 해충을 억제하는 균주들도 많이 보고되었다(Aggarwal 등, 2015; Liu 등, 2002; Otsu 등, 2003; Singh 등, 2016). 예를 들어 *B. thuringiensis*는 고추의 문제 해충인 담배거세미나방, 담배나방과 검거세미나방을 비롯한 여러 해충을 억제하고, 다른 키틴분해세균이나 다른 세균의 chitinase를 첨가하면 살충효과가 더 높아지고(Regev 등, 1996; Sneh 등, 1983), colloidal chitin을 첨가한 배지에서 자란 배양액은 더 높은 살충 활성을 갖는다(Wiwat 등, 2000). 따라서 살충효과가 좋은 키틴분해세균을 선발하여 본 시스템에 추가하면 해충 방제에 이용될 수 있는 생물적방제원이 될 수 있을 것이고, 여기에 식물병원균과 선충 억제 키틴분해세균들을 첨가해서 배양하면 식물병, 선충, 해충 모두를 방제할 수 있는 생물적 방제원이 될 수 있으리라 생각된다. 앞으로 이런 측면의 연구도 진행될 것으로 전망해 본다.

이 생물적방제원의 조제에 소요되는 비용은 저렴하고, 일반 농가에서 직접 배양해서 사용할 수 있다. 또한 다른 단계 거치지 않고 바로 분무 살포가 가능하고, 물에 희석하여 점적 관주도 가능하다. 따라서 시설 재배 농가, 특히 친환경 재배 농가에서는 활용해 볼 가치가 있다고 생각된다. 그러나 자가 배양된 세균을 계대 배양하면 오염된 세균들로 인하여 방제효과가 떨어진다. 따라서 생물적방제원을 만들 때는 항상 새로운 균주와 배지를 넣어주어야 하고, 이를 위해서는 앞으로 새로운 균주와 배지를 상업화해서 판매하거나 지자체에서 준비해서 공급해 줄 수 있는 시스템을 확립해야 한다.

요 약

유기농 및 지속 가능한 농산물에 대한 최근의 전 세계적인 수요는 농가 현장에서 사용 가능한 생물 농약의 개발 및 활용에 대한 요구가 증대되고 있다. 그러나 대부분의 생물학적 방제 방법은 실제 현장 조건에서 식물병 방제 스펙트럼이 제한적이고 효능이 높지 않다. 본 연구팀은 키틴분해미생물과 키틴을 활용하여 적은 비용으로 방제효과가 우수한 키틴 기반 제형을 개발했다. 이 제형은 포장 조건에서 다양한 식물병을 성공적으로 방제하였다. 본 리뷰에서는 성공적인 포장 연구와 관련하여 이 제형에 함유되어 있는 키틴분해미생물들의 생태학적 측면과 생물적 방제 기작에 대해 기술하였다 또한 현장에서 키틴분해미생물의 현장 대량 배양과 효과적인 생물학적 방제 방법을 사용하여 농민 친화적인 수단으로 확대 할 수 있는 생물적 방제 방법과 전략의 가능성에 대해 논의했다.

Conflicts of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Acknowledgement

This paper was supported by Sunchon National University Research Fund in 2016.

References

Aballay, E., Ordenes, P., Mårtensson, A. and Persson, P. 2013. Effects of rhizobacteria on parasitism by *Meloidogyne ethiopica* on grapevines. *Eur. J. Plant Pathol*. 135: 137-145.

Abiala, M. A., Odebode, A. C., Hsu, S. F. and Blackwood, C. B. 2015. Phytobeneficial properties of bacteria isolated from the rhizosphere of maize in southwestern Nigerian soils. *Appl. Environ. Microbiol*. 81: 4736-4743.

Aggarwal, C., Paul, S., Tripathi, V., Paul, B. and Khan, M. A. 2015. Chitinase producing *Serratia marcescens for* biocontrol of *Spodoptera litura* (Fab) and studies on its chitinolytic activities. *Ann. Agric. Res*. 36: 132-137.

Ahmed, A. S., Ezziyyani, M., Sánchez, C. P. and Candela, M. E. 2003. Effect of chitin on biological control activity of *Bacillus* spp. and *Trichoderma harzianum* against root rot disease in pepper (*Capsicum annuum*) plants. *Eur. J. Plant Pathol*. 109: 633-637.

Akocak, P. B., Churey, J. J. and Worobo, R. W. 2015. Antagonistic effect of chitinolytic *Pseudomonas* and *Bacillus* on growth of fungal hyphae and spores of aflatoxigenic *Aspergillus flavus*. *Food Biosci*. 10: 48-58.

Akutsu, K., Hirata, A., Yamamoto, M., Hirayae, K., Okuyama, S. and Hibi, T. 1993. Growth inhibition of *Botrytis* spp. by *Serratia marcescens* B2 isolated from tomato phylloplane. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn*. 59: 18-25.

Azizah, S. N., Mubarik, N. R. and Sudirman, L. I. 2015. Potential of chitinolytic *Bacillus amyloliquefaciens* SAHA 12.07 and *Serratia marcescens* KAHN 15.12 as biocontrol agents of *Ganoderma boninense*. *Res. J. Microbiol*. 10: 452-465.

Barber, M. S., Bertram, R. E. and Ride, J. P. 1989. Chitin oligosaccharides elicit lignification in wounded wheat leaves. *Physiol. Mol. Plant Pathol*. 34: 3-12.

Barreto, E. S., Torres, A. R., Barreto, M. R., Vasconcelos, A. T., Astolfi-Filho, S. and Hungria, M. 2008. Diversity in antifungal activity of strains of *Chromobacterium violaceum* from the Brazilian Amazon. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol*. 35: 783-790.

Bélair, G. and Tremblay, N. 1995. The influence of chitin-urea amendments applied to an organic soil on a *Meloidogyne* hapla population and on the growth of greenhouse tomato. *Phytoprotection* 76: 75-80.

Bell, A. A., Hubbard, J. C., Liu, L., Davis, R. M. and Subbarao, K. V. 1998. Effects of chitin and chitosan on the incidence and severity of Fusarium yellows of celery. *Plant Dis.* 82: 322-328.

Benhamou, N., Gagné, S., Le Quéré, D. and Dehbi, L. 2000. Bacterial-mediated induced resistance in cucumber: beneficial effect of the endophytic bacterium *Serratia plymuthica* on the protection against infection by *Pythium ultimum*. *Phytopathology* 90: 45-56.

Bottjer, K. P., Bone, L. W. and Gill, S. S. 1985. Nematoda: susceptibility of the egg to *Bacillus thuringiensis* toxins. *Exp. Parasitol*. 60: 239-244.

Brazilian National Genome Project Consortium. 2003. The complete genome sequence of *Chromobacterium violaceum* reveals remarkable and exploitable bacterial adaptability. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*. 100: 11660-11665.

Brzezinska, M. S., Jankiewicz, U., Burkowska, A. and Walczak, M. 2014. Chitinolytic microorganisms and their possible application in environmental protection. *Curr. Microbiol*. 68: 71-81.

Chen, J., Moore, W. H., Yuen, G. Y., Kobayashi, D. and Caswell-Chen, E. P. 2006. Influence of *Lysobacter enzymogenes* strain C3 on nematodes. *J. Nematol*. 38: 233-239.

Chernin, L. S., Winson, M. K., Thompson, J. M., Haran, S., Bycroft, B. W., Chet, I., Williams, P. and Stewart, G. S. 1998. Chitinolytic activity in *Chromobacterium violaceum*: substrate analysis and regulation by quorum sensing. *J. Bacteriol*. 180: 4435-4441.

Chernov, T. I., Zhelezova, A. D., Manucharova, N. A. and Zvyagintsev, D. G. 2013. Monitoring of the chitinolytic microbial complex of the phylloplane. *Biol. Bull*. 40: 527-532.

Cretoiu, M. S., Korthals, G. W., Visser, J. H. M. and van Elsas, J. D. 2013. Chitin amendment increases soil suppressiveness toward plant pathogens and modulates the actinobacterial and oxalobacteraceal communities in an experimental agricultural field. *Appl. Environ. Microbiol.* 79: 5291-5301.

Cronin, D., Moënne-Loccoz, Y., Dunne, C. and O'gara, F. 1997. In-

hibition of egg hatch of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* by chitinase-producing bacteria. *Eur. J. Plant Pathol*. 103: 433-440.

da Silva Melo, P., Maria, S. S., Vidal, B. C., Haun, M. and Durán, N. 2000. Violacein cytotoxicity and induction of apoptosis in V79 cells. *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim*. 36: 539-543.

D'Addabbo, T. 1995. The nematicidal effect of organic amendments: a review of the literature, 1982-1994. *Nematol. Medit*. 23: 299-305.

Dandurishvili, N., Toklikishvili, N., Ovadis, M., Eliashvili, P., Giorgobiani, N., Keshelava, R., Tediashvili, M., Vainstein, A., Khmel, I., Szegedi, E. and Chernin, L. 2011. Broad-range antagonistic rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens* and *Serratia plymuthica* suppress *Agrobacterium* crown gall tumours on tomato plants. *J. Appl. Microbiol*. 110: 341-352.

de Boer, M., Bom, P., Kindt, F., Keurentjes, J. J., van der Sluis, I., van Loon, L. C. and Bakker, P. A. 2003. Control of Fusarium wilt of radish by combining *Pseudomonas putida* strains that have different disease-suppressive mechanisms. *Phytopathology* 93: 626-632.

de Bruijn, I., Cheng, X., de Jager, V., Expósito, R. G., Watrous, J., Patel, N., Postma, J., Dorrestein, P. C., Kobayashi, D. and Raaijmakers, J. M. 2015. Comparative genomics and metabolic profiling of the genus *Lysobacter*. *BMC Genomics* 16: 991.

De Souza, A. O., Girello-Aily, D. C., Sato, D. N. and Durán, N. 1999. *In vitro* activity of violacein against *Mycobacterium tuberculosis* H37RA. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 58: 59-62.

De Vleesschauwer, D. and Höfte, M. 2007. Using *Serratia plymuthica* to control fungal pathogens of plants. *CAB Rev.: Perspect. Agric., Vet. Sci., Nutr. Nat. Resour.* 2: 046.

Divatar, M., Ahmed, S. and Lingappa, K. 2016. Isolation and screening of soil microbes for extracellular chitinase activity. *J. Adv. Sci. Res*. 7: 10-14.

Domenech, J., Reddy, M. S., Kloepper, J. W., Ramos, B. and Gutierrez-Mañero, J. 2006. Combined application of the biological product LS213 with *Bacillus, Pseudomonas* or *Chryseobacterium* for growth promotion and biological control of soil-borne diseases in pepper and tomato. *BioControl* 51: 245-258.

Durán, N., Antonio, R. V., Haun, M. and Pilli, R. A. 1994. Biosynthesis of a trypanocide by *Chromobacterium violaceum*. *World J. Microbiol. Biotechnol*. 10: 686-690.

El-Tarabily, K. A., Sykes, M. L., Kurtböke, I. D., Hardy, G. E. S. J., Barbosa, A. M. and Dekker, R. F. H. 1996. Synergistic effects of a cellulase-producing *Micromonospora carbonacea* and an antibiotic-producing *Streptomyces violascens* on the suppression of *Phytophthora cinnamomi* root rot of *Banksia grandis*. *Can. J. Bot*. 74: 618-624.

Folman, L. B., De Klein, M. J. E. M., Postma, J. and Van Veen, J. A. 2004. Production of antifungal compounds by *Lysobacter enzymogenes* isolate 3.1 T8 under different conditions in relation to its efficacy as a biocontrol agent of *Pythium aphanidermatum* in cucumber. *Biol. Control* 31: 145-154.

Folman, L. B., Postma, J. and van Veen, J. A. 2003. Characterisation of *Lysobacter enzymogenes* (Christensen and Cook 1978) strain 3.1 T8, a powerful antagonist of fungal diseases of cucumber. *Microbiol. Res*. 158: 107-115.

Frankowski, J., Lorito, M., Scala, F., Schmid, R., Berg, G. and Bahl, H. 2001. Purification and properties of two chitinolytic enzymes of *Serratia plymuthica* HRO-C48. *Arch. Microbiol*. 176: 421-426.

Ghasemi, S., Ahmadian, G., Jelodar, N. B., Rahimian, H., Ghandili, S., Dehestani, A. and Shariati, P. 2010. Antifungal chitinases from *Bacillus pumilus* SG2: preliminary report. *World J. Microbiol. Biotechnol*. 26: 1437-1443.

Giesler, L. J. and Yuen, G. Y. 1998. Evaluation of *Stenotrophomonas maltophilia* strain C3 for biocontrol of brown patch disease. *Crop Prot*. 17: 509-513.

Giotis, C., Markelou, E., Theodoropoulou, A., Toufexi, E., Hodson, R., Shotton, P., Shiel, R., Cooper, J. and Leifert, C. 2009. Effect of soil amendments and biological control agents (BCAs) on soilborne root diseases caused by *Pyrenochaeta lycopersici* and *Verticillium albo-atrum* in organic greenhouse tomato production systems. *Eur. J. Plant Pathol.* 123: 387-400.

Godoy, G., Rodríguez-Kábana, R., Shelby, R. A. and Morgan-Jones, G. 1983. Chitin amendments for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. II. Effects on microbial population. *Nematropica* 13: 63-74.

Ha, W. J., Kim, Y. C., Jung, H. and Park, S. K. 2014. Control of the root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) on cucumber by a liquid bio-formulation containing chitinolytic bacteria, chitin and their products. *Res. Plant Dis*. 20: 112-118. (In Korean)

Halder, S. K., Maity, C., Jana, A., Das, A., Paul, T., Mohapatra, P. K. D., Pati, B. R. and Mondal, K. C. 2013. Proficient biodegradation of shrimp shell waste by *Aeromonas hydrophila* SBK1 for the concomitant production of antifungal chitinase and antioxidant chitosaccharides. *Int. Biodeterior. Biodegrad*. 79: 88-97.

Hallmann, J., Rodríguez-Kábana, R. and Kloepper, J. W. 1999. Chitin-mediated changes in bacterial communities of the soil, rhizosphere and within roots of cotton in relation to nematode control. *Soil Biol. Biochem*. 31: 551-560.

Hammami, I., Siala, R., Jridi, M., Ktari, N., Nasri, M. and Triki, M. A. 2013. Partial purification and characterization of chiIO8, a novel antifungal chitinase produced by *Bacillus cereus* IO8. *J. Appl. Microbiol*. 115: 358-366.

Han, T., Cho, M. Y., Lee, Y. S., Park, Y. S., Park, R. D., Nam, Y. and Kim, K. Y. 2010. Biocontrol of pepper diseases by *Lysobacter enzymogenes* LE429 and neem oil. *Korean J. Soil Sci. Fert*. 43: 490-497.

Hayward, A. C., Fegan, N., Fegan, M. and Stirling, G. 2010. *Stenotrophomonas* and *Lysobacter*: ubiquitous plant-associated gamma-proteobacteria of developing significance in applied microbiology. *J. Appl. Microbiol*. 108: 756-770.

Hellberg, J. E., Matilla, M. A. and Salmond, G. P. 2015. The broad-spectrum antibiotic, zeamine, kills the nematode worm *Caenorhabditis elegans*. *Front. Microbiol*. 6: 137.

Hodgson, J. J., Arif, B. M. and Krell, P. J. 2013. Role of interactions between *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus procathepsin and chitinase chitin-binding or active-site domains in viral cathepsin processing. *J. Virol.* 87: 3471-3483.

Hong, S. H., Anees, M. and Kim, K. Y. 2013. Biocontrol of *Meloidogyne incognita* inciting disease in tomato by using a mixed compost inoculated with *Paenibacillus ehimensis* RS820. *Bio-*

control Sci. Technol. 23: 1024-1039.

Insunza, V., Alström, S. and Eriksson, K. B. 2002. Root bacteria from nematicidal plants and their biocontrol potential against trichodorid nematodes in potato. *Plant Soil* 241: 271-278.

Jabrane, A., Sabri, A., Compère, P., Jacques, P., Vandenberghe, I., Van Beeumen, J. and Thonart, P. 2002. Characterization of serracin P, a phage-tail-like bacteriocin, and its activity against *Erwinia amylovora*, the fire blight pathogen. *Appl. Environ. Microbiol*. 68: 5704-5710.

Jankiewicz, U. and Brzezinska, M. S. 2015. Purification, characteristics and identification of chitinases synthesized by the bacterium *Serratia plymuthica* MP44 antagonistic against phytopathogenic fungi. *Appl. Biochem. Microbiol*. 51: 560-565.

Jeong, M. H., Yang, S. Y., Lee, Y. S., Ahn, Y. S., Park, Y. S., Han, H. R. and Kim, K. Y. 2015. Selection and characterization of *Bacillus licheniformis* MH48 for the biocontrol of pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *J. Korean For. Soc*. 104: 512-518. (In Korean)

Jochum, C. C., Osborne, L. E. and Yuen, G. 2006. Fusarium head blight biological control with *Lysobacter enzymogenes* strain C3. *Biol. Control* 39: 336-344.

Jung, W. J., Jung, S. J., An, K. N., Jin, Y. L., Park, R. D., Kim, K. Y., Shon, B. K. and Kim, T. H. 2002. Effect of chitinase-producing *Paenibacillus illinoisensis* KJA-424 on egg hatching of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*). *J. Microbiol. Biotechnol*. 12: 865-871.

Kalbe, C., Marten, P. and Berg, G. 1996. Strains of the genus *Serratia* as beneficial rhizobacteria of oilseed rape with antifungal properties. *Microbiol. Res*. 151: 433-439.

Kamensky, M., Ovadis, M., Chet, I. and Chernin, L. 2003. Soil-borne strain IC14 of *Serratia plymuthica* with multiple mechanisms of antifungal activity provides biocontrol of *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum* diseases. *Soil Biol. Biochem*. 35: 323-331.

Khan, Z., Kim, S. G., Jeon, Y. H., Khan, H. U., Son, S. H. and Kim, Y. H. 2008. A plant growth promoting rhizobacterium, *Paenibacillus polymyxa* strain GBR-1, suppresses root-knot nematode. *Bioresour. Technol*. 99: 3016-3023.

Kielak, A. M., Cretoiu, M. S., Semenov, A. V., Sørensen, S. J. and van Elsas, J. D. 2013. Bacterial chitinolytic communities respond to chitin and pH alteration in soil. *Appl. Environ. Microbiol*. 79: 263-272.

Kilic-Ekici, O. and Yuen, G. Y. 2003. Induced resistance as a mechanism of biological control by *Lysobacter enzymogenes* strain C3. *Phytopathology* 93: 1103-1110.

Kilic-Ekici, O. and Yuen, G. Y. 2004. Comparison of strains of *Lysobacter enzymogenes* and PGPR for induction of resistance against *Bipolaris sorokiniana* in tall fescue. *Biol. Control* 30: 446-455.

Kim, H. J., Choi, H. S., Yang, S. Y., Kim, I. S., Yamaguchi, T., Sohng, J. K., Park, S. K., Kim, J. C., Lee, C. H., Gardener, B. M. and Kim, Y. C. 2014. Both extracellular chitinase and a new cyclic lipopeptide, chromobactomycin, contribute to the biocontrol activity of *Chromobacterium* sp. C61. *Mol. Plant Pathol*. 15: 122-132.

Kim, H. J., Park, J. Y., Han, S. H., Lee, J. H., Rong, X., Gardener, B. B. M., Park, S. K. and Kim, Y. C. 2011. Draft genome sequence of the biocontrol bacterium *Chromobacterium* sp. strain C-61. *J. Bacteriol*. 193: 6803-6804.

Kim, I. S., Yang, S. Y., Park, S. K. and Kim, Y. C. 2017. Quorum sensing is a key regulator for the antifungal and biocontrol activity of chitinase-producing *Chromobacterium* sp. C61. *Mol. Plant Pathol*. 18: 134-140.

Kim, Y. C., Jung, H., Kim, K. Y. and Park, S. K. 2008. An effective biocontrol bioformulation against Phytophthora blight of pepper using growth mixtures of combined chitinolytic bacteria under different field conditions. *Eur. J. Plant Pathol*. 120: 373-382.

Kim, Y. C., Lee, J. H., Bae, Y. S., Sohn, B. K. and Park, S. K. 2010. Development of effective environmentally-friendly approaches to control Alternaria blight and anthracnose diseases of Korean ginseng. *Eur. J. Plant Pathol*. 127: 443-450.

Kishore, G. K. and Pande, S. 2007. Chitin-supplemented foliar application of chitinolytic *Bacillus cereus* reduces severity of Botrytis gray mold disease in chickpea under controlled conditions. *Lett. Appl. Microbiol*. 44: 98-105.

Kishore, G. K., Pande, S. and Podile, A. R. 2005a. Biological control of late leaf spot of peanut (*Arachis hypogaea*) with chitinolytic bacteria. *Phytopathology* 95: 1157-1165.

Kishore, G. K., Pande, S. and Podile, A. R. 2005b. Chitin-supplemented foliar application of *Serratia marcescens* GPS 5 improves control of late leaf spot disease of groundnut by activating defence-related enzymes. *J. Phytopathol*. 153: 169-173.

Kobayashi, D. Y., Reedy, R. M., Palumbo, J. D., Zhou, J. M. and Yuen, G. Y. 2005. A *clp* gene homologue belonging to the Crp gene family globally regulates lytic enzyme production, antimicrobial activity, and biological control activity expressed by *Lysobacter enzymogenes* strain C3. *Appl. Environ. Microbiol*. 71: 261-269.

Kobayashi, D. Y. and Yuen, G. Y. 2005. The role of clp-regulated factors in antagonism against *Magnaporthe poae* and biological control of summer patch disease of Kentucky bluegrass by *Lysobacter enzymogenes* C3. *Can. J. Microbiol*. 51: 719-723.

Kurze, S., Bahl, H., Dahl, R. and Berg, G. 2001. Biological control of fungal strawberry diseases by *Serratia plymuthica* HRO-C48. *Plant Dis*. 85: 529-534.

Ladner, D. C., Tchounwou, P. B. and Lawrence, G. W. 2008. Evaluation of the effect of ecologic on root knot nematode, *Meloidogyne incognita*, and tomato plant, *Lycopersicon esculenum*. *Int. J. Environ. Res. Pub. Health* 5: 104-110.

Lee, Y. S. and Kim, K. Y. 2016. Antagonistic potential of *Bacillus pumilus* L1 against root-knot nematode, *Meloidogyne arenaria*. *J. Phytopathol*. 164: 29-39.

Lee, Y. S., Park, Y. S., Kim, S. B. and Kim, K. Y. 2013. Biological control of root-knot nematode by *Lysobacter capsici* YS1215. *Korean J. Soil Sci. Fert*. 46: 105-111. (In Korean)

Leon, L. L., Miranda, C. C., De Souza, A. O. and Durán, N. 2001. Antileishmanial activity of the violacein extracted from *Chromobacterium violaceum*. *J. Antimicrob. Chemother*. 48: 449-450.

Levenfors, J. J., Hedman, R., Thaning, C., Gerhardson, B. and Welch, C. J. 2004. Broad-spectrum antifungal metabolites produced by the soil bacterium *Serratia plymuthica* A 153. *Soil Biol. Biochem*. 36: 677-685.

Li, S., Jochum, C. C., Yu, F., Zaleta-Rivera, K., Du, L., Harris, S. D. and Yuen, G. Y. 2008. An antibiotic complex from *Lysobacter enzymogenes* strain C3: antimicrobial activity and role in plant disease control. *Phytopathology* 98: 695-701.

Liopa-Tsakalidi, A., Chalikiopoulos, D., and Papasavvas, A. 2010. Effect of chitin on growth and chlorophyll content of two medicinal plants. *J. Med. Plants Res.* 4: 499-508.

Liu, D., Cai, J., Xie, C. C., Liu, C. and Chen, Y. H. 2010. Purification and partial characterization of a 36-kDa chitinase from *Bacillus thuringiensis* subsp. *colmeri*, and its biocontrol potential. *Enzyme Microb. Technol*. 46: 252-256.

Liu, M., Cai, Q. X., Liu, H. Z., Zhang, B. H., Yan, J. P. and Yuan, Z. M. 2002. Chitinolytic activities in *Bacillus thuringiensis* and their synergistic effects on larvicidal activity. *J. Appl. Microbiol*. 93: 374-379.

Manjula, K. and Podile, A. R. 2001. Chitin-supplemented formulations improve biocontrol and plant growth promoting efficiency of *Bacillus subtilis* AF 1. *Can. J. Microbiol*. 47: 618-625.

Matilla, M. A., Drew, A., Udaondo, Z., Krell, T. and Salmond, G. P. 2016a. Genome sequence of *Serratia plymuthica* A153, a model rhizobacterium for the investigation of the synthesis and regulation of haterumalides, zeamine, and andrimid. *Genome Announc*. 4: e00373-16.

Matilla, M. A., Nogellova, V., Morel, B., Krell, T. and Salmond, G. P. 2016b. Biosynthesis of the acetyl-CoA carboxylase-inhibiting antibiotic, andrimid, in *Serratia* is regulated by Hfq and the LysR-type transcriptional regulator, AdmX. *Environ. Microbiol*. 18: 3635-3650.

Mian, I. H., Godoy, G., Shelby, R. A., Rodríguez-Kábana, R. and Morgan-Jones, G. 1982. Chitin amendments for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. *Nematropica* 12: 71-84.

Michaels, R. and Corpe, W. A. 1965. Cyanide formation by *Chromobacterium violaceum*. *J. Bacteriol*. 89: 106-112.

Müller, H., Westendorf, C., Leitner, E., Chernin, L., Riedel, K., Schmidt, S., Eberl, L. and Berg, G. 2009. Quorum-sensing effects in the antagonistic rhizosphere bacterium *Serratia plymuthica* HRO-C48. *FEMS Microbiol. Ecol*. 67: 468-478.

Muymas, P., Pichyangkura, R., Wiriyakitnateekul, W., Wangsomboondee, T., Chadchawan, S. and Seraypheap, K. 2015. Effects of chitin-rich residues on growth and postharvest quality of lettuce. *Biol. Agric. Hortic.* 31: 108-117.

Nagpure, A., Choudhary, B. and Gupta, R. K. 2014. Chitinases: in agriculture and human healthcare. *Crit. Rev. Biotechnol*. 34: 215-232.

Narasimhan, A. and Shivakumar, S. 2012. Optimization of chitinase produced by a biocontrol strain of *Bacillus subtilis* using Plackett-Burman design. *Eur. J. Exp. Biol*. 2: 861-865.

Nguyen, X. H., Naing, K. W., Lee, Y. S., Jung, W. J., Anees, M. and Kim, K. Y. 2013. Antagonistic potential of *Paenibacillus elgii* HOA73 against the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Nematology* 15: 991-1000.

Niu, Q., Huang, X., Zhang, L., Li, Y., Li, J., Yang, J. and Zhang, K. 2006. A neutral protease from *Bacillus nematocida*, another potential virulence factor in the infection against nematodes. *Arch. Microbiol*. 185: 439-448.

Otsu, Y., Matsuda, Y., Shimizu, H., Ueki, H., Mori, H., Fujiwara, K., Nakajima, T., Miwa, A., Nonomura, T., Sakuratani, Y., Tosa, Y., Mayama, S. and Toyoda, H. 2003. Biological control of phytophagous ladybird beetles *Epilachna vigintioctopunctata* (Col., Coccinellidae) by chitinolytic phylloplane bacteria *Alcaligenes paradoxus* entrapped in alginate beads. *J. Appl. Entomol*. 127: 441-446.

Pal, K. K. and Gardener, B. M. 2006. Biological control of plant pathogens. *Plant Health Instr.* 2: 1117-1142.

Palumbo, J. D., Yuen, G. Y., Jochum, C. C., Tatum, K. and Kobayashi, D. Y. 2005. Mutagenesis of beta -1, 3-glucanase genes in *Lysobacter enzymogenes* strain C3 results in reduced biological control activity toward Bipolaris leaf spot of tall fescue and Pythium damping-off of sugar beet. *Phytopathology* 95: 701-707.

Park, S. K. and Kim, K. C. 1991. Pathogenicities of pathogens and disease complex associated with wilt of hot pepper plants cropped in plastic house. *Korean J. Plant Pathol.* 7: 28-36.

Park, S. K., Lee, H. Y. and Kim, K. C. 1995. Antagonistic effect of chitinolytic bacteria on soilborne plant pathogens. *Korean J. Plant Pathol*. 11: 47-52.

Park, S. K., Lee, M. C. and Harman, G. E. 2005. The biocontrol activity of *Chromobacterium* sp. strain C-61 against *Rhizoctonia solani* depends on the productive ability of chitinase. *Plant Pathol. J*. 21: 275-282.

Parker, W. L., Rathnum, M. L., Johnson, J. H., Wells, J. S., Prinipe, P. A. and Sykes, R. B. 1988. Aerocyanidin, a new antibiotic produced by *Chromobacterium violaceum*. *J. Antibiot*. 41: 454-460.

Postma, J. and Schilder, M. T. 2015. Enhancement of soil suppressiveness against *Rhizoctonia solani* in sugar beet by organic amendments. *Appl. Soil Ecol.* 94: 72-79.

Qian, G. L., Hu, B. S., Jiang, Y. H. and Liu, F. Q. 2009. Identification and characterization of *Lysobacter enzymogenes* as a biological control agent against some fungal pathogens. *Agric. Sci. Chin*. 8: 68-75.

Radwan, M. A., Farrag, S. A. A., Abu-Elamayem, M. M. and Ahmed, N. S. 2012. Extraction, characterization, and nematicidal activity of chitin and chitosan derived from shrimp shell wastes. *Biol. Fert. Soils* 48: 463-468.

Rajkumar, M., Lee, K. J. and Freitas, H. 2008. Effects of chitin and salicylic acid on biological control activity of *Pseudomonas* spp. against damping off of pepper. *S. Afr. J. Bot.* 74: 268-273.

Ramamoorthy, V., Viswanathan, R., Raguchander, T., Prakasam, V. and Samiyappan, R. 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Prot*. 20: 1-11.

Rathore, A. S. and Gupta, R. D. 2015. Chitinases from bacteria to human: properties, applications, and future perspectives. *Enzyme Res.* 2015: 791907.

Regev, A., Keller, M., Strizhov, N., Sneh, B., Prudovsky, E., Chet, I., Ginzberg, I., Koncz-Kalman, Z., Koncz, C., Schell, J. and Zilberstein, A. 1996. Synergistic activity of a *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin and a bacterial endochitinase against *Spodoptera littoralis* larvae. *Appl. Environ. Microbiol*. 62: 3581-3586.

Rettori, D. and Durán, N. 1998. Production, extraction and purificationof violacein: an antibiotic pigment produced by *Chro-*

mobacterium violaceum. *World J. Microbiol. Biotechnol*. 14: 685-688.

Reyes-Ramírez, A., Escudero-Abarca, B. I., Aguilar-Uscanga, G., Hayward-Jones, P. M. and Barboza-Corona, J. E. 2004. Antifungal activity of *Bacillus thuringiensis* chitinase and its potential for the biocontrol of phytopathogenic fungi in soybean seeds. *J. Food Sci*. 69: M131-M134.

Rodríguez-Kábana, R. 1986. Organic and inorganic nitrogen amendments to soil as nematode suppressants. *J. Nematol*. 18: 129-134.

Rodríguez-Kábana, R., Morgan-Jones, G. and Gintis, B. O. 1984. Effects of chitin amendments to soil on *Heterodera glycines*, microbial populations, and colonization of cysts by fungi. *Nematropica* 14: 10-25.

Sarathchandra, S. U., Watson, R. N., Cox, N. R., di Menna, M. E., Brown, J. A., Burch, G. and Neville, F. J. 1996. Effects of chitin amendment of soil on microorganisms, nematodes, and growth of white clover (*Trifolium repens* L.) and perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Biol. Fert. Soils* 22: 221-226.

Sato, I., Yoshida, S., Iwamoto, Y., Aino, M., Hyakumachi, M., Shimizu, M., Takahashi, H., Ando, S. and Tsushima, S. 2014. Suppressive potential of *Paenibacillus* strains isolated from the tomato phyllosphere against Fusarium crown and root rot of tomato. *Microbes Environ*. 29: 168-177.

Seo, C. C., Jung, H. C. and Park, S. K. 2007. Control of powdery mildew of pepper using culture solutions of chitinolytic bacteria, *Chromobacterium* sp. and *Lysobacter enzymogenes*. *Res. Plant Dis*. 13: 40-44. (In Korean)

Shanmugam, V., Thakur, H. and Gupta, S. 2013. Use of chitinolytic *Bacillus atrophaeus* strain S2BC-2 antagonistic to *Fusarium* spp. for control of rhizome rot of ginger. *Ann. Microbiol*. 63: 989-996.

Sharp, R. G. 2013. A review of the applications of chitin and its derivatives in agriculture to modify plant-microbial interactions and improve crop yields. *Agronomy* 3: 757-793.

Shibuya, N. and Minami, E. 2001. Oligosaccharide signalling for defence responses in plant. *Physiol. Mol. Plant Pathol*. 59: 223-233.

Singh, A. K., Singh, A. and Joshi, P. 2016. Combined application of chitinolytic bacterium *Paenibacillus* sp. D1 with low doses of chemical pesticides for better control of *Helicoverpa armigera*. *Int. J. Pest Manag*. 62: 222-227.

Singh, G., Bhalla, A., Bhatti, J. S., Chandel, S., Rajput, A., Abdullah, A., Andrabi, W. and Kaur, P. 2014. Potential of chitinases as a biopesticide against agriculturally harmful fungi and insects. *Res. Rev.: J. Microbiol. Biotechnol*. 3: 27-32.

Singh, P. D., Liu, W. C., Gougoutas, J. Z., Malley, M. F., Porubcan, M. A., Trejo, W. H., Wells, J. S. and Sykes, R. B. 1988. Aerocavin, a new antibiotic produced by *Chromobacterium violaceum*. *J. Antibiot*. 41: 446-453.

Singh, P. P., Shin, Y. C., Park, C. S. and Chung, Y. R. 1999. Biological control of fusarium wilt of cucumber by chitinolytic bacteria. *Phytopathology* 89: 92-99.

Slimene, I. B., Tabbene, O., Gharbi, D., Mnasri, B., Schmitter, J. M., Urdaci, M. C. and Limam, F. 2015. Isolation of a chitinolytic *Bacillus licheniformis* S213 strain exerting a biological control against Phoma medicaginis infection. *Appl. Biochem. Biotechnol*. 175: 3494-3506.

Sneh, B., Schuster, S. and Gross, S. 1983. Improvement of the insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* var. *entomocidus* on larvae of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera, Noctuidae) by addition of chitinolytic bacteria, a phagostimulant and a UV-protectant. *J. Appl. Entomol*. 96: 77-83.

Someya, N., Ikeda, S., Morohoshi, T., Tsujimoto, N. M., Yoshida, T., Sawada, H., Ikeda, T. and Tsuchiya, K. 2011. Diversity of culturable chitinolytic bacteria from rhizospheres of agronomic plants in Japan. *Microbes Environ*. 26: 7-14.

Someya, N., Kataoka, N., Komagata, T., Hirayae, K., Hibi, T. and Akutsu, K. 2000. Biological control of cyclamen soilborne diseases by *Serratia marcescens* strain B2. *Plant Dis*. 84: 334-340.

Someya, N., Nakajima, M., Hirayae, K., Hibi, T. and Akutsu, K. 2001. Synergistic antifungal activity of chitinolytic enzymes and prodigiosin produced by biocontrol bacterium, *Serratia marcescens* strain B2 against gray mold pathogen, *Botrytis cinerea*. *J. Gen. Plant Pathol*. 67: 312-317.

Someya, N., Nakajima, M., Watanabe, K., Hibi, T. and Akutsu, K. 2005. Potential of *Serratia marcescens* strain B2 for biological control of rice sheath blight. *Biocontrol Sci. Technol.* 15: 105-109.

Spiegel, Y., Chet, I. and Cohn, E. 1987. Use of chitin for controlling plant plant-parasitic nematodes. II. Mode of action. *Plant Soil* 98: 337-345.

Spiegel, Y., Cohn, E., Galper, S., Sharon, E. and Chet, I. 1991. Evaluation of a newly isolated bacterium, *Pseudomonas chitinolytica* sp. nov., for controlling the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Biocontrol Sci. Technol*. 1: 115-125.

Subbanna, A. R. N. S., Khan, M. S. and Shivashankara, H. 2016. Characterization of antifungal *Paenibacillus illinoisensis* strain UKCH21 and its chitinolytic properties. *Afr. J. Microbiol. Res*. 10: 1380-1387.

Sullivan, R. F., Holtman, M. A., Zylstra, G. J., White, J. F. and Kobayashi, D. Y. 2003. Taxonomic positioning of two biological control agents for plant diseases as *Lysobacter enzymogenes* based on phylogenetic analysis of 16S rDNA, fatty acid composition and phenotypic characteristics. *J. Appl. Microbiol*. 94: 1079-1086.

Tian, B., Yang, J., Lian, L., Wang, C., Li, N. and Zhang, K. Q. 2007a. Role of an extracellular neutral protease in infection against nematodes by *Brevibacillus laterosporus* strain G4. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 74: 372-380.

Tian, B., Yang, J. and Zhang, K. Q. 2007b. Bacteria used in the biological control of plant-parasitic nematodes: populations, mechanisms of action, and future prospects. *FEMS Microbiol. Ecol.* 61: 197-213.

Ueda, H., Nakajima, H., Hori, Y., Goto, T. and Okuhara, M. 1994. Action of FR901228, a novel antitumor bicyclic depsipeptide produced by *Chromobacterium violaceum* no. 968, on Ha-ras transformed NIH3T3 cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem*. 58: 1579-1583.

Vaidya, R. J., Shah, I. M., Vyas, P. R. and Chhatpar, H. S. 2001. Production of chitinase and its optimization from a novel isolate

Alcaligenes xylosoxydans: potential in antifungal biocontrol. *World J. Microbiol. Biotechnol*. 17: 691-696.

Wang, K., Yan, P. S., Cao, L. X., Ding, Q. L., Shao, C. and Zhao, T. F. 2013. Potential of chitinolytic *Serratia marcescens* strain JPP1 for biological control of *Aspergillus parasiticus* and aflatoxin. *BioMed Res. Int*. 2013: 397142.

Westerdahl, B. B., Carlson, H. L., Grant, J., Radewald, J. D., Welch, N., Anderson, C. A., Darso, J., Kirby, D. and Shibuya, F. 1992. Management of plant-parasitic nematodes with a chitin-urea soil amendment and other materials. *J. Nematol*. 24: 669-680.

Wiwat, C., Thaithanun, S., Pantuwatana, S. and Bhumiratana, A. 2000. Toxicity of chitinase-producing *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-1 (G) toward *Plutella xylostella*. *J. Invertebr. Pathol*. 76: 270-277.

Xu, S. J., Hong, S. J., Choi, W. and Kim, B. S. 2014. Antifungal activity of *Paenibacillus kribbensis* strain T-9 isolated from soils against several plant pathogenic fungi. *Plant Pathol. J*. 30: 102-108.

Yu, F., Zaleta-Rivera, K., Zhu, X., Huffman, J., Millet, J. C., Harris, S. D., Yuen, G., Li, X. C. and Du, L. 2007. Structure and biosynthesis of heat-stable antifungal factor (HSAF), a broad-spectrum antimycotic with a novel mode of action. *Antimcrob. Agents Chemother*. 51: 64-72.

Yuen, G., Broderick, K., Moore, W. and Caswell-Chen, E. 2006. Effects of *Lysobacter enzymogenes* C 3 and its antibiotic dihydromaltophilin on nematodes. *Phytopathology* 96: S128.

Yuen, G. Y., Jochum, C. C., Osborne, L. E. and Jin, Y. 2003. Biocontrol of Fusarium head blight in wheat by *Lysobacter enzymogenes* C3. *Phytopathology* 93: S93.

Yuen, G. Y., Steadman, J. R., Lindgren, D. T., Schaff, D. and Jochum, C. 2001. Bean rust biological control using bacterial agents. *Crop Prot*. 20: 395-402.

Zhang, W., Li, Y., Qian, G., Wang, Y., Chen, H., Li, Y. Z., Liu, F., Shen, Y. and Du, L. 2011. Identification and characterization of the anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* WAP-8294A2 biosynthetic gene cluster from *Lysobacter enzymogenes* OH11. *Antimcrob. Agents Chemother*. 55: 5581-5589.

Zhang, Z. and Yuen, G. Y. 1999. Biological control of *Bipolaris sorokiniana* on tall fescue by *Stenotrophomonas maltophilia* strain C3. *Phytopathology* 89: 817-822.

Zhang, Z., Yuen, G. Y., Sarath, G. and Penheiter, A. R. 2001. Chitinases from the plant disease biocontrol agent, *Stenotrphomonas maltophiliao* C3. *Phytopathology* 91: 204-211.