

과제 구분	Code : LES0603	수행시기	전반기	연구기간	1999(3년차 완결)
연구과제명	가공용감자 안정생산체계 연구				
세부과제명	감자더듬이병 생물적방제를 위한 길항균 및 저항성품종선발				
색인 용어	감자더듬이병, 생물적방제, 길항균, 저항성 품종, 교배육종				
연구원별임무					
구분	소속	성명	전화번호	담당임무	
연구책임자	경영환경연구과	김성일	(0361)258-5724	길항균주 분의제 생산	
공동연구자	작물연구과	김용복	(0361)258-5731	병저항성계통 재배 및 선발	
	강원대학교	임춘근	(0361)250-6437	더듬이병원균 분리·동정	
	"	임학태	(0361)250-6425	병저항성 계통 교배육성	

ABSTRACT

The potato scab developed in the soil of pH 6.0 and the actinomyces population was more than 4 times than potato scab free fields. For biocontrol against potato scab, the bacteria collected from root were tested in dual culture test with *Streptomyces scabies*. The fluorescent *Pseudomonas* PFB111 collected from the rhizosphere of *Allium tuberosum* inhibited the growth of *S. scabies* in vitro. As an antagonism, PFB111 produced antibiotics in corn extract and glycerol added broth medium. The antibiotics could be separated with n-butanol and it inhibited the growth of *S. scabis*, *S. acidiscabies* and *S. turgidiscabies* at less than 100ppm. The seed potato planted after dipping in PFB111 cell suspension was less infested by potato scab. The bacterial formulation prepared by freeze-drying and nutrient addition maintained enough cell density for 11 month. The plot applied with lime at 200kg per 10a was severely infested by potato scab. The potato inoculated with bacterial formulation protected from potato scab in green house more than 90% and in field 60%. As a plant growth promoting effect, the yield of potato treated with PFB111 increased more 10% than control. According to these results PFB111 can be used as biocontrol agent for potato scab protection. Three strains, K9830001, K9830011, K9828023, selected by hybridization breeding did not infected by potato scab.

연구배경

감자더듬이병은 방선균 중 *Streptomyces scabies*에 의해 발생하는 병으로 감자표면에 움푹지 형태로 병반을 형성(Menzies, 1959)하여 상품성을 떨어뜨린다. 감자더듬이병은 토양병으로 토양 내 잔류기간이 길어 방제가 어렵고 농약사용, 운작, 유통시비에 의한 토양산도조정, 질소질비료 시비량축소, 토양내 수분과포화 상태유지 등으로 방제법 개발 연구를 국내외에서 수행하고 있으나 방제효과가 매우 낮은 것으로 보고되고 있다(Elad 등, 1980).

최근 토양병방제를 위한 기술로 길항미생물을 이용한 생물적 방제법(Cook 등 1983)에 대한 연구가 진균병(Ahamed 등, 1977, Ardrich 등 1970, Marshall, 1982)이나 세균병(Cooksey 등, 1982)에 대해 국내외적으로 활발히 진행되고 있으나, 감자더듬이병에 대한 생물적방제는 이 이에 비해 미비한 실정이며 외국의 경우 일부 연구자들은 감자에 비병원성이면서 *S. scabies*에 대해 길항력이 있는 균주로 *S. diastatochromogens* 등 3종을 보고하였고(Lorang 등, 1995) 이와 비슷한 *Streptomyces sp.*를 오리의 배설물에 처리하여 퇴비를 제조하여 처리한 결과 감자더듬이병이 효과적으로 방제되었다고 보고하였다. 이러한 생물적방제기술(Cook 등, 1983)은 토양에 서식하는 미생물중 방제대상병원균에 대해 항균물질생산(Kerr, 1980), 기생작용(Huang, 1976), 영양경쟁관계, 식물체병저항성 유도 등의 능력이 있는 미생물을 효과적으로 피해지역에 이용할 수 있도록하는 것이다(Bachman 등, 1975, Burdsall 등, 1980). 또한 육종기술의 발달로 더듬이병원균에 저항성이 있는 품종육성을 통한 고품질감자생산에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며 현재 더듬이병방제 기술개발의 한 분야로 가능성이 높은 것으로 평가받고 있다.

이에 본 시험은 식물근권에서 분리한 미생물 중 감자더듬이병원균에 대해 길항력이 있는 균주를 선발하고, 이 균주들을 대량배양하여 농가 보급이 가능하도록 제형화하여 생물농약으로 제품화하는데 필요한 기초자료를 준비하고자하였으며, 교잡육종을 통해 선발한 계통들을 병피해가 심한 포장에 파종하여 병발생유무를 확인하고자 연구에 임하였다.

재료 및 방법

(1) 감자재배지 토양 조사

감자더듬이병 발생요인을 조사하기 위해 건전지와 이병지토양을 채취하여 토양내 세균은 Huchinson's agar, 방선균은 Chitin agar(Davies 등, 1970, Kuster 등, 1964, Hsu 등, 1976) 사상균은 Martin's rosebengal agar(Martin, 1950)에 접종하고 배양 후 형성된 집락수를 세어 건조토양 1g 당 미생물수로 환산하여 비교하였다. pH는 증류수에 5배로 희석하여 조사하였다.

(2) 공시병원균 및 더듬이병원균 분리

본 시험에 사용한 감자 더듬이병원균은 강원대학에서 분양받은 우리나라 주요 감자더듬이 병원균인 *Streptomyces scabies*(Kim 등, 1996), *S. acidiscabies*(Kim 등, 1999),

S. turgidiscabies(Kim 등, 1999)과 더듬이병 피해감자의 병반으로 부터 병원균을 분리하기 위해 병반표면을 1.5% NaOCl로 표면살균하고, Phenol:증류수(1:140)에 넣어 마쇄하였다. 마쇄한 조직은 NPPC 한침배지에 접종하여 배양한 후 균을 분리하였다. 균의 동정을 위해 세포벽 지방산구성(Labeda 1984, Lechevalier 등 1984, Becker 등 1965), 생화학적 분해능(Pridahm 등 1965), 현미경적 형태등을 조사하여 동정하였다.

(3) 길항세균분리

근권미생물분리 : 감자, 부추, 무 근권토양을 5g씩 채취하여 45ml 멸균수에 105 ~ 107 배로 희석한 후 0.1ml씩 King's B 배지(King 등, 1954)와 NA(Nutrient agar, Difco Co.) 배지에 도말접종하여 배양하였다. King's B 배지에 형성된 집락들 중에서는 자외선 등으로 조사하여 형광성 빛을 발하는 집락을, NA배지에서 자라는 집락은 집락의 형태, 색깔 등에 따라 분리하였다.

길항력조사 : PDA와 NA를 1:1로 섞어 준비한 평판배지에 분리한 세균을 spot접종하여 28℃ 항온배양기에서 48시간 배양하고, 각 페트리디시 당 chloroform을 3ml씩 넣어 12시간 방치하여 균체를 죽인 다음 그 위에 더듬이병원균 포자를 0.2% 한침배지(45℃)에 현탁한 후 분주하여 배양하면서 저지원형성 균주를 길항균(Vidaver 등, 1972)으로 분류하였다.

(4) PFB111의 항균물질 생성능조사

길항세균이 생산한 항생물질을 추출하여 이들의 항균력을 조사하기 위해 100ml삼각플라스크에 NB(Nutrient Broth Difco Co.)를 10ml씩 분주하여 고압증기멸균한 다음 여기에 보존중인 세균을 접종하여 12시간 동안 진탕배양(120rpm, 28℃)하여 접종원으로 준비하였다. 4종의 액체배지(NB, NB+PDB, Corn extract+NB+2% Glycerol, Corn extract+Skim milk, 20g+NB+2% Glycerol)를 준비하여 5개의 1,000ml 삼각플라스크에 200ml씩 분주한 다음 준비된 접종원을 1ml씩 접종하고 5일간 진탕배양하였다. 항균물질추출은 배양한 1,000ml배양액에 n-Butanol을 같은 양만큼 넣고 충분히 흔들어 준 다음 n-Butanol 층에 분리된 물질들을 45℃ 회전감압장치로 감압건조하고 50% Methanol 10ml로 수확한 다음 Filter paper disc에 5회에 걸쳐 50 μ l씩 건조시키면서 흡습시킨 후 건조시켜 역가조사 재료로 준비하였다. 더듬이병원균을 NB액체배지에 접종하여 진탕배양한 후 원심분리(4℃, 5,000rpm, 10min)로 균체를 수확한 다음 멸균수로 2회 세척하고, 균체를 10,000rpm 으로 1분간 마쇄하여 균질화한 현탁액을 NA평판배지에 도말하고 그 위에 준비한 Filter paper disc를 올려놓고 배양하면서 형성된 저지원을 조사하였다.

(5) 동결건조 및 분의처리제 안정성조사

더듬이 병원균에 대해 항균물질생산능이 있는 PFB111을 분말상태에서 살아있는 상태

로 보존하기 위해, NB에 PFB111을 접종하여 진탕배양기에서 배양하면서 2시간 간격으로 세균현탁액을 채취하여 연속희석법으로 세균의 밀도를 조사하였다. 동결건조를 위해 생육이 지수적 증가기에 도달한 시점에 도달할 때까지 배양하여 4℃에서 원심분리(8,000rpm, 15min)하여 균체를 수확하고, 수확된 균체는 멸균수로 3회 세척하여 동결건조재료로 준비하였다. 세척된 세균균체는 Corn extract+Skim milk 20g+NB 8g+2% Glycerol 1,000ml 배지에 현탁한 후 냉동건조용 시험관(2,000ml)에 300ml씩 분주하여 -30℃에서 시험관 전면에 최대한 얇게 골고루 얼리고, 시료를 넣은 냉동건조용시험관은 -50℃ 초저온냉동고에서 3시간 이상 열린 다음 운반중 녹지 않도록 최대한 신속하게 동결건조기에 옮겨 건조시켰다.

생산된 분의제를 생산·수송·농가분배 및 소비까지 걸리는 최대기간을 1년으로 계산하여 그 동안 장기보존에 의한 생균손실 유무를 조사하기 위해 준비한 분의제를 실내에 보관하면서 1997년 6월부터 미생물밀도변화를 1개월 간격으로 희석배양법을 이용하여 조사하였다.

(6) 더듬이병방제효과 조사

●**분의처리** : 더듬이병방제 실험에 사용된 감자품종은 대서, 대지, 조풍, 수미등 4종을 실험재료로 사용하였다, 준비된 종서들은 그늘에서 최아시키고 크기와 눈의 수에 따라 2~4 조각으로 나눈 다음 종서 20kg당 준비한 분의제를 20g 씩 처리(Kommedal 등 1978)하여 3일간 방치하여 건조시킨 다음 포장에 파종하였다.

●**포장선정** : 시험포장은 강릉시 연곡면에 위치한 농가로 더듬이병피해로 감자농사를 포기한 밭이었으며 전년도에 가을배추를 심기 위해 석회를 10a 당 200kg이상 시비하여 pH가 6.2인 마사질 토양으로 수직배수가 잘되고 갈수기에 한발을 심하게 받는 토양조건을 갖춘 더듬이병이 잘 발생할 수 있는 여건을 갖추고있었다.

●**포장관리 및 종서파종** : 임대한 포장 10a에 농가에 권장하는 표준시비량에 준하여 N:10kg, P2O5: 8.8kg, K2O:13kg, 발효계분 60kg, 토양살충제로 모캡(영일화학) 5kg을 전면시비하고, 석회는 각각 무처리구, 반량처리구-100kg/10a, 중화량처리구-200kg/10a 다르게 시비하였다. 전면시비한 포장은 20cm 깊이로 3회 로타리쳐 흙과 함께 골고루 섞고, 이랑폭을 90cm가 되도록 골을치고 흙색 비닐로 멀칭하였다. 감자의 정식거리는 30X45cm로 파종하고 포장관리 시 제초제나 추비는 뿌려주지 않았다. 수확한 감자는 물에 씻어 감자표면에 나타난 병반을 관찰하여 발병정도에 따라 5단계(1 : 병반 1~2개, 또는 병반전체 넓이 1cm²이하, 2 : 병반넓이 10%이하, 3 : 11~25%, 4 : 26~50%, 5 : 51%이상)로 이병도지수를 정하여 감자괴경 당 조사하여 아래와 같은 공식에 대입하여 이병율을 산정하였다,

$$\text{더덩이병 이병도지수(\%)} = \frac{(1B + 2C + 3D + 4E + 5F)}{\text{조사감자 수} \times 5} \times 100$$

(B ~ F는 각 이병도지수에 속하는 감자 수)

(7) 저항성품종선발

감자더덩이병 저항성 품종은 교잡육종을 통해 준비한 320계통을 전년도에 병피해가 심한 포장을 선택하여 석회를 단보 당 200kg을 뿌리고 기타 시비는 관행시비하였다. 더덩이병 저항성 유무는 수확한 감자표면에 나타난 병반형성유무로 확인하였다.

결과 및 고찰

(1)감자재배지 토양 조사

감자더덩이병에 걸린 감자는 표피가 손상되어 움 딱지형태의 병반이 형성되었고, 재배 포장에서 굴취한 감자의 이병부위에는 회색의 균사 및 포자가 관찰되어 감자더덩이병에 의한 전형적인 병징임을 알 수 있었다. 감자이병부위를 선택배지에 접종하여 배양한 후 배지상에서 자란 집락을 조사한 결과 80% 이상이 10일 후에 포자를 형성하였고 집락은 회색으로 변했다.

더덩이병 피해농가와 건전농가의 토양을 조사한 결과 감자 더덩이병 피해농가는 전년도에 석회를 200kg 이상 시비하여 pH가 5.8로 더덩이병 발생에 최적조건인 6.0에 근접하였으며, 토양도 사질토로 수확기에 한밭이 빈번한 토양이었다. 채취한 토양을 조사한 결과 토양 1g 당 방선균수가 건전농가 토양에 비해 4배이상 높은 것으로 조사되었다. 또한 피해농가의 감자표면은 70% 이상 병반으로 덮여 상품성이 전혀 없고 판매도 불가능한 상황이었다(표 1)

표 1. 더덩이병피해농가 및 건전농가 토양미생물 분포 및 pH.

구 분	피해농가	건전농가
세 균 수	8.3 X10 ⁶ cfu/g.soil	8.9 X10 ⁵ cfu/g.soil
곰팡이 수	5.7 X10 ⁴ "	2.3 X10 ⁴ "
방선균 수	5.7 X10 ⁵ "	1.3 X10 ⁵ "
pH	5.8	5.0
병발생율(%)	100	<1.0

(2)감자더덩이병 병원균 분리·동정

더덩이병에 걸린 감자로부터 분리한 균의 세포구성성분을 조사한 결과 DAP나 당 성분

이 검출되지 않아 다른 방선균 속들과 뚜렷이 구별되어 *Streptomyces* 속에 속하는 것을 확인할 수 있었다. 종들의 특성이다. 배지상 생육상태를 조사한 결과 Yeast extract-Malt extract agar, Oatmeal agar, Salts-starch agar, Glycerol-asparagine agar 등 4종의 배지상에서 모두 회색빛을 띠는 집락을 형성하였고, 전자현미경으로 관찰한 결과 성긴 나선형공중균사에는 표면이 매끈한 포자들이 일렬로 나열되어 있고, 각 포자들은 따로 따로 단리되었다. 탄소원 이용형태를 조사한 결과 D-Glucose, D-Mannitol, Rhamnose를 생육에 필요한 영양원으로 이용하고 Sucrose나 i-Inositol을 첨가한 배지에서는 생육이 부진한 등의 종합적인 특성을Gottlieb와 Shirling(1967)등이 보고한 특성과 유사함으로 보아 *Streptomyces scabies*(Lambert 등 1989)로 동정되었다(표 2).

표 2. 감자에서 분리한 방선균의 형태적·생화학적특성

조 사 내 용	
Sustrate mycelium fragmentation	-
Aerial mycelium	+
Spore surface	smooth
Whole cell sugar pattern	-
Color of colony	gray
Reverse side of colony	yellow
Melanoid pigments	-
Diaminophimelic acid isomers	-
Carbon utilization	
D-Glucose	+
D-Mannitol	+
Rhamnose	+
Sucrose	-
i-Inositol	-
Resistance to	
Penicillin G (10i.u)	-
Streptomycetes(10 i.u)	-
Gram's stain	+ 've

(3)길항세균 분리

식물근권 토양에서 King's B배지와 NA배지를 이용하여 분리한 300여점의 세균균주들 중 7균주가 더뎡이병원균에 대해 생육을 억제하는 길항력을 나타내었다(Lorang 등 1995). PFB111은 부추의 근권에 서식하는 세균으로 King's B 배지에 배양하여 자외선등 빛을 조사하면 푸른색을 띄는 형광물질을 배지에 분비하며 액체배양하여 광학현미경으로 관찰하면 운동성을 띄는 균이다. 이균이 생산하는 물질들의 길항력을 조사하기 위해 더뎡이병원균과 대치배양하면 PFB111이 자란 콜로니에서부터 저지원까지 거리가 8mm로 이들이 생산한 대사산물이 더뎡이병원균에 대해 생육억제효과가 큰 것으로 확인되었다(표 3.).

표 3. 근권분리 토양세균의 더뎡이병원균에 대한 길항력

균주번호	분리배지	기주식물	저지원(mm)
PFB104	King's B	부추	3
PFB109	King's B	부추	6
PFB111	King's B	부추	8
PFB207	King's B	부추	7
PNB303	NA	무	4
PFB312	King's B	무	4
PNB204	NA	감자	2

(4) PFB111의 항균물질 생성능조사

PFB111을 4종의 액체배지에 배양하여 각각의 배양여액에 포함된 대사산물에 대한 항균력을 조사한 결과 질소원이 풍부한 NB에서 균의 생장은 왕성하나 항균물질은 생산되지 않았고, 옥수수나 감자추출액을 첨가한 액체배지에서 더뎡이병에 효력이 있는 항균물질을 생산하였다. 특히 여기에 Glycerol을 첨가해주면 항균물질생산능이 증가하였다.

Ethyl acetate, Hexane, n-Buthanol 등의 용매를 이용하여 항균물질추출능을 조사한 결과 n-Buthanol용매에서 분리능이 가장 뛰어났다(표 4.) n-Buthanol용매에 추출된물질은 더뎡이병원균의 생육초기에는 14mm이상의 저지원을 형성하였으나 배양기간이 길어지고, 실내에 광을 쬐이는 상태에서 방치해 두면 저지원 부분에서도 더뎡이병원균이 성장하는 점으로 보아 PFB111이 생산하는 항생물질은 항균력은 높으나 빛에 의해 쉽게 변성되어 분해가 일어날 수 있는 물질로 추측된다.

표 4. PFB111 배양여액에서 n-Buthanol로 분리한 추출물질의 항균력

배	지	저 지 대 (mm)
	NB	-
	NB+PDB	4
	Corn extract+NB+2% Glycerol	4
	Corn extract+Skim milk+NB+2% Glycerol	7

(5) 동결건조 및 분의처리제 상품안정성

세균 동결건조과정에서 발생하는 생균의 손실을 최소화하기 위해 PFB111의 성장곡선을 조사한 결과, 배양초기 8시간 동안은 정체기로 세포분열 속도가 늦었으나, 배양 10시간 이후에는 지수적 증가기에 도달하고, 배양 후 12~19시간 사이에 세균의 생장이 왕성함을 보였다. 이에 따라 균체수확시점은 PFB111의 활력이 최고에 달해 배양액 내 생균 농도가 가장 큰 배양 후 14시간으로 잡았다(그림 1). 배양한 균체는 항균물질생산능 조사에서 PFB111이 항균물질생산에 가장 좋은 조건을 부여한 Corn extract + Skim milk

20g + NB + 2% Glycerol 배지에 현탁하여 동결건조(그림 3)하였다. 준비한 생산당시의 분의제 내 균 밀도는 $1.4 \sim 1.7 \times 10^{10}$ cells/g.powder으로 동결과정에서 1/10정도의 손실이 있었으나, 11개월 동안 실내에 방치하면서 균밀도 변화를 조사한 결과 고온기인 7~8월에 1/10~1/100정도의 많은 균수 감소가 있었으나 그 후로는 균 밀도감소율이 낮아 나머지 조사기간 동안 거의 일정한 균밀도를 유지하였다(그림 2).

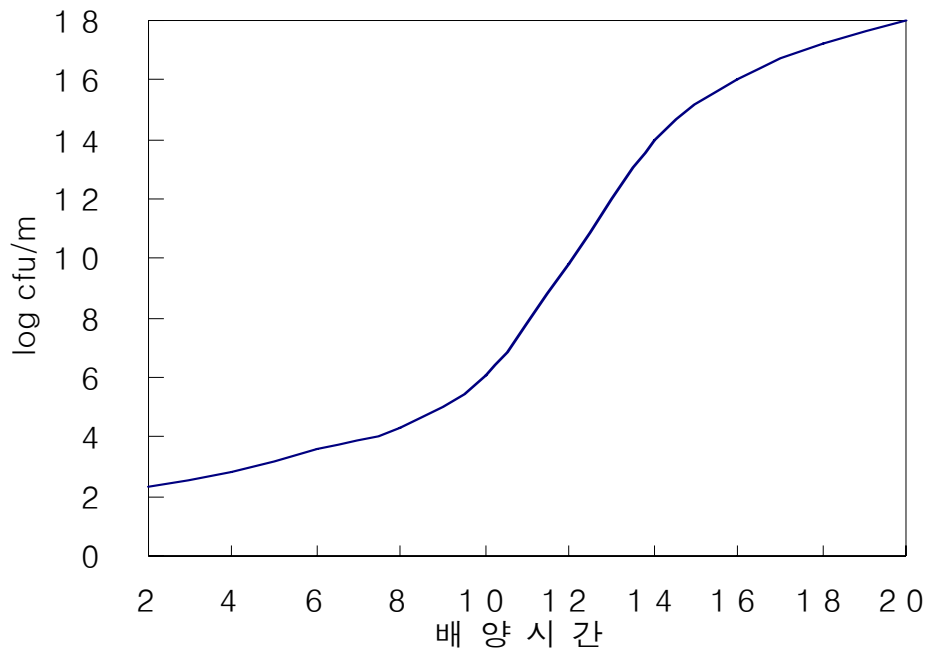


그림 1. PFB111 생장곡선

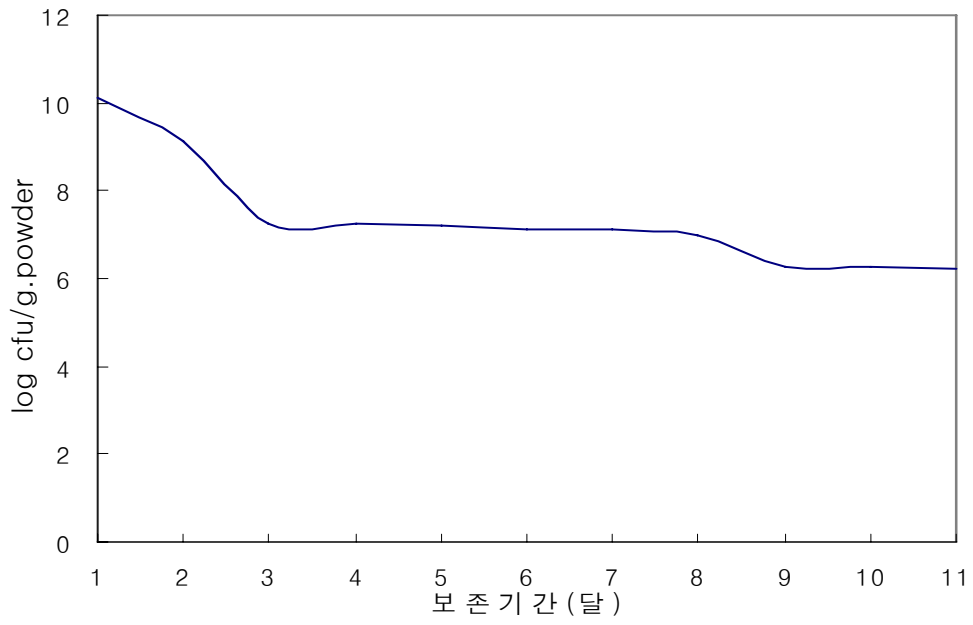


그림 5 . 분의처리제 보존기간 중 균 감모수

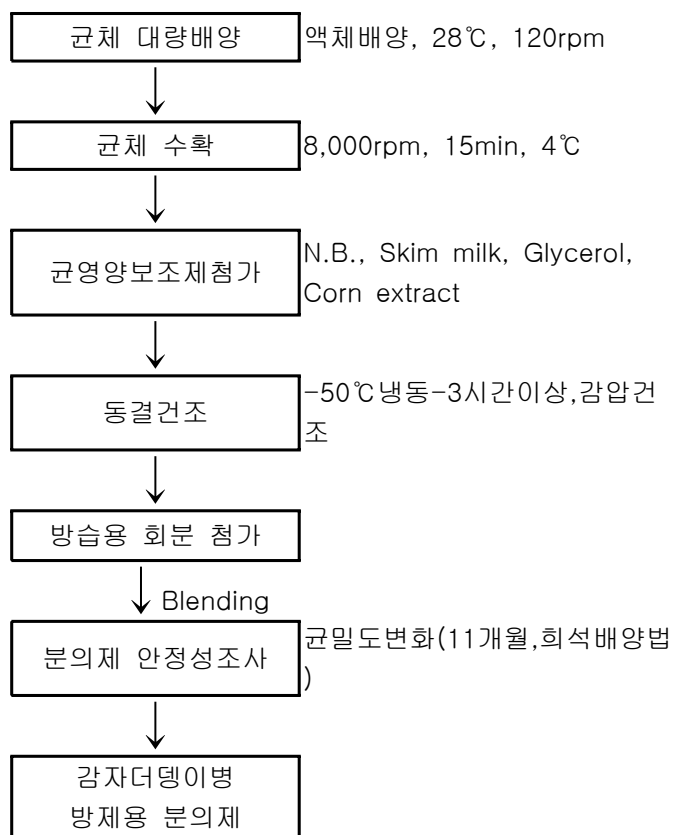


그림 3. PFB111 동결건조과정

(6) 더댕이병방제효과 조사

분의제 종서처리 : 4종의 감자품종(대지, 대서, 조풍, 수미)에 대한 생물적방제효과를 조사하기 위해 파종 전 절단한 종서 1개당 무게는 평균 50.363g이었고, 충분히 분의처리제가 묻도록 하였을 때 필요한 분의제의 양은 평균 0.097g이었다.

토양산도 조정을 위한 석회처리효과 : 감자 파종 후 표면에서 10cm 사이의 각 처리구 토양을 채취하여 산도를 조사한 결과 무처리구 5.6, 석회반량처리구 6.0, 석회중화량 처리구 6.8로 각각 조사되어 석회처리구의 산도는 6.0 이상으로 더댕이병발생에 적당한 산도를 보였다.

분의처리 증수효과(온실시험) : 수확 중기인 파종 60일 후에 각처리구에서 감자를 수확하여 감자생육을 조사한 결과, PFB111을 처리한 시험포의 대지, 대서, 조풍 3품종의 수량이 무처리구에 비해 수량이 각각 증수되었고, 생육중기까지 모든처리구에서 더댕이병은 관찰되지 않았다(표 5).

표 5. 감자 수확중기 수확량(g/주)

구분	대지	대서	조풍	수미
무처리	260	220	386	248
처리구	316	467	512	334

병방제효과(온실시험) : 유리온실내에서 대지품종에 분의제를 처리한 후 무얼칭 재배로 방제효과를 조사한 결과 석회무처리구에서는 64.3%의 방제효과를 보였으나 석회처리구에서는 방제효과가 43.7%로 낮았다(표 6).

표 6. 석회처리 온실 분의처리에 의한 더듬이병방제효과

	평균이병도지수		
	석회무처리	석회반량처리	석회중화량처리
무처리	0.65	1.76	2.37
분의제처리	0.23	0.94	1.34
병방제효과(%)	64.3	46.4	43.4

농가포장시험(겨울감자-수막하우스) : 겨울감자 재배는 12월 말에 정식하여 4월 중순에 수확하는 작형으로 지하수 수온을 이용하여 월동하는 재배형식으로 멀칭하여 2줄 파종하여 재배하였다. 분의제처리 시기는 정식시 종서 표면에 분의처리하여 파종하고 병방제효과는 수확하면서 병반생성유무로 조사한 결과 무처리구에서는 12.9% 분의제처리구는 0.4%의 발병율이 관찰되어 방제효과는 90%이상으로 확인되었다(표 7). 수확량은 무처리구에 비해 괴경크기가 300g이상 되는 개체수는 적었으나 상품성이 있는 감자의 수확량은 증가함이 확인되었다(표 8).

표 7. 농가포장 분의처리에 의한 더듬이병 방제효과

처리구	반복	병발생율(%)	
		무처리	분의제처리
1		19.5	0.6
2		6.5	0.2
3		12.7	0.1
평균		12.9	0.4

표 8. 농가포장 분의제처리에 의한 증수효과

품종:수미

	병발생율(%)		
	석회무처리	석회 반량처리	석회중화량처리
대조구	6	7	7
PFB111처리	4	5	3
방제효과(%)	43	29	57

(7) 저항성품종선발

교잡육종을 통해 선발된 계통 중 이병지포장실험에서 감자더듬이병 피해가 없는 계통은 13계통이었다(표 10). 이들의 생육특성을 조사한 결과 대부분 생육속도가 느렸으나 K9830001, K9830011, K9828023 괴경무게가 110g 이상으로 생육이 양호하였고 타원형으로 가공용감자 품종으로 이용 가능할 것으로 사료된다.

표 10. 생육중기 감자교잡육종계통 더듬이병발생 유무 및 생육특성

계통명	경중(g)	경장(cm)	경폭(cm)
K9830001	120.9	5.5	4.6
K9830011	119.8	6.6	5.4
K9830020	6.3	2.9	2.0
K9829712	63.1	4.3	4.0
K9829720	5.8	2.1	2.2
K9829730	56.7	3.5	3.2
K9829625	37.5	3.3	3.0
K9829628	55.2	5.4	5.4
K9828023	111.6	4.9	4.0
K9824906	38.2	2.7	2.2
K9830227	46.6	3.6	3.2
K9824211	40.3	3.1	2.7
K9828722	58.8	3.8	3.4

적 요

감자더듬이병 발생 토양은 pH가 6.0이었으며, 토양 내 방선균류 밀도는 건전지토양에 비해 4배정도 높았다. 감자더듬이병 생물적방제를 위해 식물근권에서 분리한 세균들을 *Streptomyces scabies*를 공시균주로 하여 대치 배양하였다. 알리움속 식물의 근권에서 분리한 형광성 슈도모나스인 PFB111은 시험조건 하에서 *S. scabies*의 생육을 억제하는 능력이 있었다. 길항작용으로 PFB111은 옥수수추출물과 글리세롤 첨가배지에서 항균물질을 생산하였다. 이 항균물질은 우리나라 감자더듬이병의 주 요인인 *S. scabies*, *S. acidiscabis*, *S. turgidiscabies*에 대해 100ppm 이하에서 항균력을 나타내었다.

PFB111 세균현탁액에 침종하여 종서를 파종하면 더뎡이병에 의한 피해가 감소하였다. 동결건조와 영양원을 첨가하여 준비한 세균 분의제는 생산후 11개월간 충분한 세균밀도를 유지하였다. 석회를 단보 당 200kg처리한 시험구는 더뎡이병 발생이 심하였고, 분의제를 처리하면 온실에서는 90% 이상 노지에서는 60% 정도 더뎡이병 방제효과가 있었다. 식물생장촉진효과로 PFB111을 처리하면 감자 수확량이 10% 정도 증가하였으며 이 결과들을 토대로 PFB111은 감자더뎡이병 방제를 위한 생물적 방제 재료로 사용될 수 있다고 사료된다. 교잡육종을 통해 선발한 계통 중K9830001, K9830011, K9828023 3계통은 이병지 토양에서 병발생이 없었을 뿐만 아니라 생육도 양호하였다.

인 용 문 헌

- Ahamed, A.H. and Tribe, H.T., Biological control of the white rot of onion(*Sclerotium cepivorum*) by *Coniothyrium minitans*, *Plant pathol.* 26;75, 1977.
- Ardrich, J. and Baker, R. Biological control of *Fusarium roseum* f. sp. *dianthi* by *Bacillus subtilis*. *Plant Dis. Rep.* 54;446. 1970.
- Backman, P.A. and Rodriguez-Kabana, R. A system for the growth and delivery of biological control agents to the soil. *Phytopathology*, 65; 819. 1975.
- Becker, B. M., Lechevalier M.P., and Lechevalier H. A., Chemical composition of cell-wall preparation from strains of various form-genera aerobic actinomycetes, *Appl. Microbiol.*, 13;236, 1965
- Burdsall, H. H., Jr., Hoch, H. C., Boosalis, M. G., and Setliff, E. C., *Laetisaria arvalis*(*Aphylophorales*, *Corticaceae*). A possible biological control agent for *Rhizoctonia solani* and *Pythium* species, *Mycologia*, 72; 728, 1980.
- Cook, R. J. and Baker, K. F., *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*, American Phytopathological Society, St. Paul, Minn., 539, 1983.
- Cook, R. J. and Rovira, A. D., The role of bacteria in the biological control of *Gaeumannomyces graminis* by suppressive soils, *Soil Biol. Biochem.*, 8; 267, 1976.
- Cooksey, D. A. and Moore, L. X., Biological control of crown gall with an agrocin mutant of *Agrobacterium radiobacter*, *Phytopathology*, 72; 919, 1982.
- Cooksey, D. A. and Moore, L. W., High frequency spontaneous mutations to agrocin 84 resistance in *Agrobacterium tumefaciens* and *A. rhizogenes*, *Physiol. Plant Pathol.*, 20;129, 1982.
- Davies, F. L. and Williams S.T., Studies on the ecology of actinomycetes in soil. I. The occurrence and distribution of actinomycetes un a pine forest soil, *Soil Biol. Biochem*, 2; 227, 1970.
- Elad, Y., Katan, J. and Chet, I., Physical, biological and chemical control integrated

for soil-borne disease in potatoes, *Phytopathology*, 70: 418, 1980

Elad, Y., Hardar, Y., Hardar, E., Chet, I., and Henis, Y., Biological control of *Rizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* in carnation, *Plant Dis.*, 65: 675, 1981

Gottlieb D. and Shirling E.B., Cooperative description of type cultures of streptomycetes, *Int System Bacteriology*, 17(4): 315, 1967.

Hsu, S. C. and Lockwood, J.L., Powdered chitin agar as a selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil, *Appl. Microbiology*, 29(3):422, 1975.

Huang, H. C., Biological control in Sclerotinia wilt in sunflower, *Ann, Conf. Manitoba Agron.* 1976, 1976, 69.

Huang, H. C., Control of Sclerotinia wilt of sunflower by hyperparasites, *Can. J. Plant Pathol.*, 2: 26, 1980.

Kerr, A., Biological control of crown gall through production of agrocin 84, *Plant Dis.*, 64: 25, 1980.

Kim Y. S., Cho J. M., Park D. H., Lee H.G., Kim J. S., Seo S. T. Production of Thaxtomin A by Korean isolates of *Streptomyces turgidiscabies* and their involvement in pathogenicity. *Korean J. Plant Pathol.* 15(3): 168, 1999

Kim J. H. and Lee W. H. Characteristics of potato common scab pathogens from continuous cropping fields in Korea. *Korean J. Plant Pathol.* 12:109, 1996.

Kim J. S., Park D. H., Lim C. K., Choi Y. C., Ham Y. I. Cho W. D. Potato scab caused by *Streptomyces acidiscabies*. *Korean J. Plant Pathol.* 14:689, 1999.

Kim J. S., Park D. H., Lim C. K., Choi Y. C., Ham Y. I., Cho W. D., Potato common scab by *Streptomyces turgidiscabies*. *Korean J. Plant Pathol.* 14: 551, 1999.

Kimmey, J. W., Inactivation of lethal-type blister rust cankers on Western White pine, *J. For.*, 67: 296, 1969.

King E.A. Ward M. K. and Raney D.E., Two simple media for demonstration of Pyocyanin and fluorescein, *J. Lab. Clin. Med.* 44: 301, 1954.

Kommedahl, T. and Windels, C. E., Evaluation of biological seed treatment for controlling root diseases of pea, *Phytopathology*, 68: 1087, 1978.

Kuster E. and Williams S.T., Selection of media for isolation of streptomycetes. *Nature.* 202:928, 1964.

Labeda, D.P., Testa H. A. and Lechevalier. M.P., *Saccharothrix* : a new genus of Actinomycetales related to *Nocardiosis*. *Int. J. Syst. Bactriol.* 34:426, 1984

Lambert D.H, and Loria R. *Streptomyces scabies* sp. nov., nom. rev. "Int. J. syst.

Bacteriol 39:387 1989.

Lechevalier, M.P., and Lechevalier H.A., Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 34; 426, 1984.

Marshall, D. S., Effect of *Trichoderma harzianum* seed treatment and *Rhizoctonia solani* inoculum concentration on damping-off of snap bean in acidic soils, *Plant Dis.*, 66; 788, 1982.

Lorang J. M. Liu D., Anderson N. A. and Schottel J. L., Identification of potato seed inducing and suppressive species of *Streptomyces*. 85; 1995.

Martin, J.P., Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci.*, 69: 215, 1950

Menzies J. D. Occurance and transfer of a biological factor in soil that suppress potato scab. 49; 648 1959.

Moody, A. R. and Gindrat, D., Biological control of cucumber black root rot by *Gliocladium roseum*, *Phytopathology*, 67; 1159, 1977.

Pridahm T.G., Anderson P., Foley C., Liderfelser H.A. Hesselstine C.W. and Benedict R.G., A selection of media for maintenance and taxonomic study of *Streptomyces*. *Antibiotics Annual 1956/57*;947. 1956/57.

Vidaver A. K., Mathys M. L., Thomas M. E., and Schuster M. L., Bacteriocins of the phytopathogens *Pseudomonas syringae*, *P. glycinea*, and *P. phaseolicola*. *Can. J. Microbiol.* 18; 705, 1972

연구결과 활용

◦특허출원 및 산업체기술이전