

Bacillus velezensis CC112 균주의 인삼 잘록병에 대한 생물적 방제

이상엽^{1*} · 송재경¹ · 박경훈² · 원항연¹ · 김정준¹ · 한지희¹

¹국립농업과학원 농업미생물과, ²국립원예특작과학원 인삼과

Biocontrol of Ginseng Damping-off by *Bacillus velezensis* CC112

Sang Yeob Lee^{1*}, Jaekyeong Song¹, Kyeong Hun Park², Hang Yeon Weon¹, Jeong Jun Kim¹ and Ji Hee Han¹

¹Agricultural Microbiology Division, National Institute of Agricultural Sciences, Wanju 55365, Korea

²Mushroom Research Division, National Institute of Horticultural and Herbal Science, Eumseong 27709, Korea

ABSTRACT : *Bacillus velezensis* CC112 inhibited the mycelial growth of several plant pathogens, including *Rhizoctonia solani*, causing damping-off on ginseng. The control efficacies of *B. velezensis* CC112 against *R. solani* by seed dipping in LB and BSM broth diluted 10 times, soil dipping, and soil drenching with LB broth diluted 10 times were 65.8%, 67.1%, and 64.2%, respectively. Treatment of soil drenching with the 100 times diluted prototype of *B. velezensis* CC112 against *R. solani* and *Pythium* sp. by soil revealed control efficacies of 77.3% and 65.7%, respectively. These results indicate that *B. velezensis* CC112 is a prospective biofungicide for the biological control of ginseng damping off.

KEYWORDS : Antifungal activity, *Bacillus velezensis*, Biological control, Damping-off, Ginseng

서 론

우리나라의 인삼에 발생하는 잘록병의 병원균은 *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *Pythium debaryanum*이 보고되어 있다[1]. 인삼 잘록병은 묘삼생산에 직결되는 가장 중요한 토양병으로 과도한 질 멀칭 등으로 토양습도가 높고 서늘하면서 다비, 밀식 재배환경에서 갑자기 집단적으로 발생한다[2]. 인삼에서 *R. solani*에 의한 잘록병은 4월 중하순에 시작하여 5월 상순에 발생하며 땅에 접한 줄기부

위가 암갈색으로 마르면서 쓰러진다. *Pythium ultimum*에 의한 잘록병은 5월 하순 이후 발생하고 줄기부위가 호물거리며 물러 썩는 증상으로 나타난다고 하였다[3]. 이러한 인삼 잘록병의 피해는 19~30% 보고된 바 있다[4].

인삼 모잘록병 방제에 과거에 pentachloronitrobenzene (PCNB)부터 tolclofos-methyl로 20년간 사용되어 왔고, 최근에는 fludioxinil이 등록되어 사용하고 있으나[5], 이들 화학약제의 오남용에 따른 약해, 약제내성 및 환경오염이 우려되며 친환경 인삼 모 생산 및 공급을 위하여 친환경 방제제 개발이 필요하다.

잘록병에 대한 생물적 방제 연구는 *Bacillus* spp, *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp., *Pseudomonas* spp. 등이 이용되었으며[10-12], 국내에서는 Kim 등[13]과 Joo 등[14]이 *Bacillus ehimensis*를 분리하여 *R. solani* AG-4와 *P. ultimum*에 의한 채소류의 모잘록병, Yang 등[15]은 *Bacillus steartophilus*를 이용하여 여러 제제로 제조하여 오이 잘록병균 *Pythium aphanidermatum*에 처리하여 화학 살균제와 비슷한 방제 효과를 나타내어 개발 가능성을 보여주었다. Jo 등[16]은 미국의 AgraQuest사가 개발한 Serenade (*Bacillus subtilis* QST713) 제품을 고추와 오이의 *R. solani*와 *P. ultimum*에 대한 방제 효과를 검토한 바 있다.

Kor. J. Mycol. 2016 September, 44(3): 176-183
http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2016.44.3.176
pISSN 0253-651X • eISSN 2383-5249
© The Korean Society of Mycology

*Corresponding author
E-mail: lsy2014@korea.kr

Received September 12, 2016
Revised September 22, 2016
Accepted September 26, 2016

©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 non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

식물병 방제와 관련이 있는 *Bacillus* 균주의 이차대사산물 중 cyclic lipopeptides (bacillomycin D, fengycin, iturin, surfactin), a dipeptide (bacilysin), siderophore (bacillibactin), polyketides (bacillaene, difficidin, and macrolactin) 등이 생합성 관련 유전자를 보유하고 있어[17], 병원 세균의 생육억제나 곰팡이 병균의 군사 성장 등을 억제하여 식물 병을 친환경적 방제에 가장 잘 상품화되어 농가에서 활용되고 있다.

따라서 본 연구에서는 환경친화적 안전한 인삼을 생산하기 위하여 선발한 *Bacillus velezensis* CC112 균주가 인삼 모에 발생하는 질록병균의 생육억제 효과와 인삼 질록병에 대한 방제 효과 검정을 실시하였다.

재료 및 방법

선발 미생물 보관

Bacillus velezensis CC112 균주는 춘천의 토마토 근권토양에서 분리하여 trypticase soy agar (TSA, Bacto Tryptone 15 g, Bacto Soytone 5 g, NaCl 5 g, agar 15 g/L) 배지에서 28°C에서 2일간 배양한 후 균체를 멸균한 글리세롤 20%액에 넣고 -20°C에 보관하면서 계대 배양하여 사용하였으며, 국립농업과학원에 기탁하여 KACC92129P 수탁번호를 받았다.

병원균 보관

인삼에 병원성을 가지는 *Rhizoctonia solani*와 *Pythium* sp. 균주는 potato dextrose agar (PDA, glucose 20 g, potato extract 4 g, agar 15 g/L) 사면배지에서 배양한 후 10°C 항온기에 보관하면서 사용하였다.

미생물 배양

Bacillus velezensis CC112 균주를 Luria-Bertani (LB, tryptone 10 g, yeast extract 5 g, NaCl 10 g), trypticase soy broth (TSB, Bacto Tryptone 15 g, Bacto Soytone 5 g, NaCl 5 g), King's B agar (KB, Peptone 20 g, K₂HPO₄ 1.5 g, MgSO₄·7H₂O 1.5 g, Glycerol 15 ml), Bacillus-soytone medium (BSM, Soytone 0.5%, Sucrose 2%) 사용하여 각각의 배지에 미리 배양한 균주를 2% (v/v)으로 접종하여 25°C, 180 rpm으로 조절된 진탕배양기에서 48시간 후 배양액을 사용하였다.

B. velezensis CC112 균주의 식물병원균에 대한 항균활성 검정

식물병원균 *Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp. *Phytophthora* sp. *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea* 균주를 PDA배지에 이식 후 *Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp. *Phytophthora* sp. 균주는 25°C, *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*

균주는 20°C에서 각각 5~7일간 배양하여 직경 5 mm 코르크보러를 이용하여 병원균의 균총을 PDA 배지가 분주된 일회용 페트리디쉬 중앙에 치상하였다. CC112 균주는 TSA 평판배지에 배양하여 루프를 이용하여 방선균을 떼어내어 PDA 배지가 분주된 일회용 페트리디쉬에 3개소에 치상하여 병원균별로 25°C와 20°C 항온기에서 7~10일간 배양 후 저지원의 직경을 조사하였다.

B. velezensis CC112 균주의 휘발성 물질에 의한 *R. solani*와 *Pythium* sp. 균주의 항균활성은 I 플레이트를 이용하여 TSA 배지와 PDA 배지를 분주하여 CC112균주를 TSA 배지에 도말하여 1일간 28°C에서 배양한 다음 PDA 배지에서 배양한 *R. solani*와 *Pythium* sp. 균총을 직경 5 mm 코르크보러를 이용하여 병원균의 균총을 PDA 배지가 분주된 I 플레이트에 치상하여 25°C에서 5일간 배양하여 조사하였다.

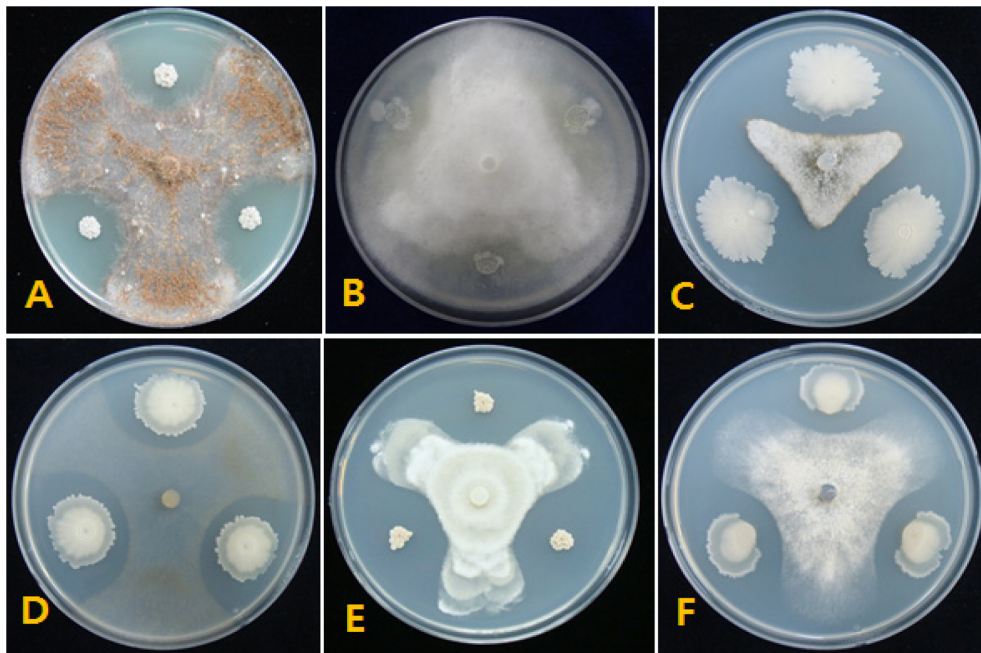
선발균주의 동정

선발균주의 동정을 위해 일반적으로 사용되는 16S rRNA 유전자의 염기서열을 사용하였으며, 추가로 *Bacillus* spp.의 분류에 유용한 것으로 알려진 DNA gyrase유전자(*gyrB* 유전자)의 염기서열을 이용하여 선발균주의 분류학적 위치를 분석하였다[18]. CC112 균주는 TSB (Difco, Detroit, MI, USA)에 접종하여 30°C에서 24시간 이상 배양한 후 원심분리하여 균체를 수확하였다. Genomic DNA는 Genomic Plus DNA Prep kit (Inclone, Yongin, Korea)를 이용하여 추출하였다. 16S rRNA 유전자의 증폭을 위해 범용 프라이머인 27F와 1492R을 사용하였고, *gyrB* 유전자의 증폭을 위해 범용 프라이머인 UP-1과 UP-2r을 사용하여 PCR한 후 각각 유전자의 증폭산물을 얻었다[19, 20]. 3개의 프라이머(518F; CCAGCAGCCGCGGTAATACG, 800R; TACCAGGGTATCTAATCC, 984F; ACGCGARGAACCTTAC)를 이용하여 16S rRNA 유전자의 염기서열을 이용하고 *gyrB* 유전자는 두 개의 염기서열 분석용 프라이머(UP-1S; GAA GTC ATC ATG ACC GTT CTG CA, UP-2Sr; AGC AGG GTA CGG ATG TGC GAG CC)를 이용하여 분석하도록 제노텍(Geno-Tech, Daejeon, Korea)에 의뢰하였다. 얻어진 염기서열은 SeqMan (DNASTAR, Madison, WI, USA)을 이용하여 직접 오류를 검정하고 연결하였다. 각 유전자의 비교분석을 위해서 16S rRNA 유전자의 염기서열 및 균주간 상동성은 EzTaxon (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>)을 통해서 얻었으며[21], *gyrB* 유전자의 염기서열은 GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank)를 통하여 얻었다. 계통도의 작성을 위해 MEGA 5.0 프로그램의 Clustal W 프로그램으로 염기서열을 정렬하고 염기서열 길이를 맞추었다. 계통도를 작성하기 위해 neighbor-joining 알고리즘을 사용하였으며, 계통도의 신뢰성을 확보하기 위해 1,000회 반복 bootstrapping을 수행하였다[22].

Table 1. Antifungal activity of *Bacillus velezensis* CC112 on fungal pathogens of ginseng incubated at 28°C for 6 days on PDA agar

Inhibition zone of mycelial growth (mm)					
<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Pythium</i> sp.	<i>Sclerotium cepivorum</i>	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	<i>Phytophthora</i> sp.	<i>Botrytis cinerea</i>
17.0	0	12.2	13.0	15.1	5.6

PDA, potato dextrose agar.

**Fig. 1.** Inhibition effect of mycelial growth of *Rhizoctonia solani* (A), *Pythium* sp. (B), *Sclerotium cepivorum* (C), *Sclerotinia sclerotiorum* (D), *Phytophthora* sp. (E) and *Botrytis cinerea* (F) by *Bacillus velezensis* CC112.

방선균의 인삼 잘록병 방제 효과 검증

상자(500 × 300 × 150 mm)에 인삼재배용 상토(Shinsung Mineral, Goesan, Korea)를 사용하여 개각 인삼 종자를 상자당 54립씩 3반복으로 파종하였다. 병원균 *R. solani*와 *Pythium* sp. 균주의 배양은 PDA 배지에 배양한 후 보리배지에 균총을 이식하여 25°C에서 15일간 배양하여 접종원으로 사용하였다.

CC112균주의 배지종류별 배양액의 *R. solani*와 *Pythium* sp. 균주에 대한 방제효과 검증

종자침지처리는 CC112균주의 LB, KB, BSM 배지에 28°C에서 2일간 180 rpm으로 진탕배양한 각각의 배양액을 10배 희석하여 인삼 개각 종자를 1시간 침지한 후 파종하였다. 그리고 관주처리는 인삼 개각종자를 침지처리하여 파종한 다음 균주별 배양액을 10배로 희석하여 주당 10 mL씩 7일 간격 6회 관주처리하였다. 모든 처리에서 3반복으로 하였으며, 병원균의 접종은 병원균 *R. solani*와 *Pythium* sp. 균주를 각각 배양한 보리를 상자당 0.5 g/상자 접종하였고, 최종 6회 처리 7일 후 이병주를 조사하였다.

CC112균주 시제품의 *R. solani*와 *Pythium* sp. 균주에 대한 방제효과 검증

CC112균주 시제품은 벤토나이트를 증량제로 사용하여 9.2×10^7 /g로 제조한 시제품을 충남대학교로부터 받아서 실험하였다. 종자 침지처리구는 시제품을 50배와 100배로 각각 희석하여 개각종자를 1시간 침지하여 상자에 파종하였다. 또한 관주처리구는 인삼 개각종자를 상자에 파종한 다음 시제품을 50배와 100배로 각각 희석하여 주당 10 mL씩 처리하였고, 7일 간격 3회 토양에 관주처리하였다. 병원균의 접종은 병원균을 각각 배양한 보리를 종자 파종 12일 후에 상자당 8개씩 접종하였다. 인삼종자의 발아율은 파종 20일 후 조사하였으며, 인삼 잘록병 발생은 파종 40일 후에 이병주를 조사하였다.

결과 및 고찰

B. velezensis CC112 균주의 식물병원균에 대한 항균활성

식물병원균 *Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp., *Phytophthora* sp., *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotinia sclerotiorum*,

*Botrytis cinerea*에 대한 *B. velezensis* CC112 균주의 균사 생장 억제 효과를 조사한 결과, *R. solani*에 대하여 17.0 mm, *Pythium* sp.에 대하여 초기에는 억제효과가 있었으나 *Pythium* sp.의 균사가 재생하여 저지원이 거의 없어졌다. 그리고 *Phytophthora* sp.에는 15.1 mm, *Sclerotium cepivorum*에는 12.2 mm, *Sclerotinia sclerotiorum*에는 13.0 mm, *Botrytis cinerea* 균에 대하여 5.6 mm의 저지효과를 나타내었다(Table 1, Fig. 1). 또한 *B. velezensis* CC112 균주의 휘발성 물질생성에 의한 *R. solani*와 *Pythium* sp.의 균사 생육 억제 효과를 조사한 결과에서는 잘록병균에 대하여 억제 효과는 없었다. *B. velezensis* CC112 균주가 *R. solani* 등 여러 식물병원균에 대하여 항균활성을 나타낸 것은 식물병 방제와 관련이 있는 바실러스 균주의 이차대사산물 중 cyclic lipopeptides (bacillomycin D, fengycin, iturin, surfactin), a dipeptide (bacilysin), siderophore (bacillibactin), polyketides (bacillaene, difficidin, and macrolactin) 등이 생합성 관련 유전자를 보유하고 있는 것[17]으로 추정되며 이를 확인하기 위하여 유전체 분석이 필요하다.

선발 균주의 동정

16S rRNA와 *gyrB* 유전자를 바탕으로 MEGA5 프로그램을 이용하여 분자유전학적인 계통도를 작성하고 선발 균주의 분류학적 위치를 확인하였다(Fig. 2). 16S rRNA 유전자를 바탕으로 작성한 계통도에서 CC112 균주는 *Bacillus velezensis* BCRC 17467(T) 및 *B. methylotrophicus* KACC 13105(T) 균주와 높은 상동성(100%)을 보였다(Fig. 2A). 계통도의 신뢰성을 확보하기 위한 bootstrap 값도 89%로 비교적 높은 값을 보였다. CC112 균주는 *gyrB* 유전자를 바탕으로 작성한 계통도에서 *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 균주에 높은 상동성(100%)을 보였으며, 99%의 Bootstrap 값을 보이며 높은 계통도의 신뢰성을 보였다(Fig. 2B). 최근 계통유전체학을 바탕으로 한 *Bacillus* spp.의 분류연구에 의하면 근연종인 *Bacillus* 4종, 즉 *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*, *B. methylotrophicus*, *B. oryzae*, 및 *B. velezensis*를 모두 *B. velezensis*로 분류되어야 한다고 보고되었다[23]. 본 연구의 선발 균주인 CC112 균주는 16S rRNA 유전자와 *gyrB* 유전자를 이용하여 분석한 결과 Dunlap 등 [23]의 보고에 따라 *B. velezensis*로 동정되었다.

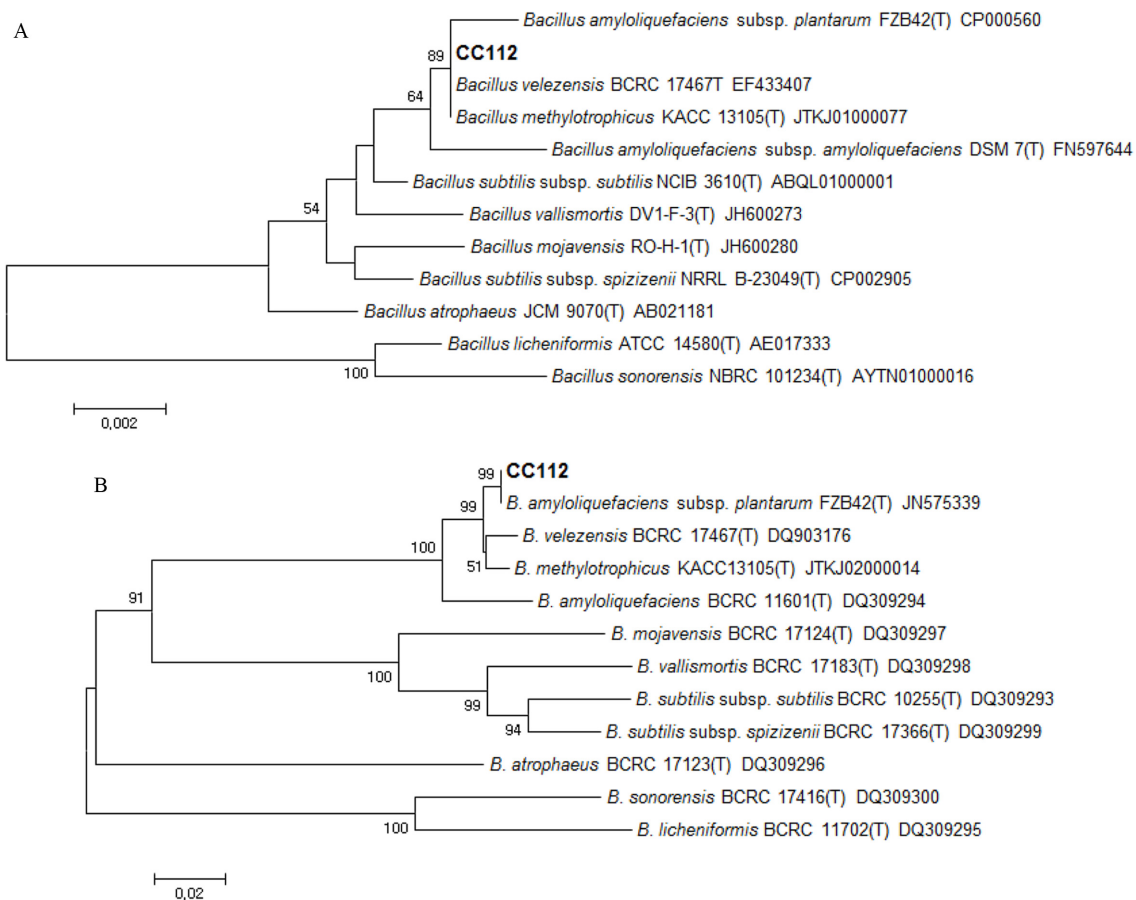


Fig. 2. Neighbor-joining phylogenetic tree based on partial 16S rRNA (A) and *gyrB* (B) gene sequences (1,416 bp and 1,065 bp, respectively) of *Bacillus* strains. Numbers above branches indicate bootstrap values (> 50%) from 1,000 replicates. Strain or culture collection and accession numbers are indicated next to species name. T means type strain.

CC112균주의 배지종류별 배양액의 *R. solani*와 *Pythium* sp. 균주에 대한 방제효과

LB, KB와 BSM 배지에서 배양한 CC112 균주의 배양액을 10배로 희석하여 종자침지처리와 종자침지+토양관주처리한 결과는 LB 배지와 BSM 배지의 배양액이 KB 배지 배양액보다 방제 효과가 높았다. 종자 침지처리 경우에는 LB 배지가 65.8%, KB 배지는 26.7%, BSM 배지는 67.1%, 종자 침지와 토양관주를 같이 처리하였을 때 LB 배지가 64.2%, KB배지가 24.4%, BSM 배지가 53.7% 방제효과를 각각 나타내었다(Table 2). 이 결과를 분석하면 종자를 파종할 때 1회 침지처리만 한 구가 종자침지 1회와 토양관주 6회 처리한 구보다도 종자침지처리구가 방제 효율이 높은 것으로 나타났다.

CC112균주 시제품의 *R. solani*와 *Pythium* sp. 균주에 대한 방제효과

CC112균주의 시제품을 50배와 100배로 각각 희석하여

*R. solani*에 대하여 처리한 결과, 토양관주가 종자침지처리보다 방제효과가 높으며, 50배액 종자의 침지처리가 30.7%, 100배액의 종자침지가 47.2%로 낮은 방제효과를 보였으나, 토양관주처리한 구에서 50배 희석액은 52.3%와 100배 희석액은 77.3% 방제효과를 나타냈다(Table 3, Fig. 3).

Pythium sp.에 대해서도 *R. solani*에 대하여 처리 결과와 같이 토양관주가 종자침지처리보다 방제효과가 높다. 종자 침지처리구가 38.3~39.1% 방제효과를 보인 반면에 토양관주 50배 처리가 56.5%, 토양관주 100배처리가 65.7%의 방제효과를 나타냈다(Table 4, Fig. 4).

이상의 결과에서 인삼 갈록병균 *R. solani*와 *Pythium* sp.에 대하여 CC112 균주의 시제품은 종자침지보다는 토양관주처리가 효과적이었으며, 100배액 관주처리가 50배액 관주처리보다 높은 65.7~77.3% 방제하였다.

Yang 등[15]은 *B. stearothermophilus*를 이용하여 탈크, 제오라이트, 벤토나이트, 벤토나이트+탈크, 탈크+제오라이트, 벤토나이트+제오라이트 제제를 만들어서 오이 갈록병균

Table 2. Control effect of cultured broth of *Bacillus velezensis* CC112 at several media for ginseng damping-off caused by *Rhizoctonia solani*

Treatment	Dilution (×)	Infected plant (%)	Control efficacy (%)
Seed dipping in LB broth	10	10.5 ab ^{a)}	65.8
Seed dipping in KB broth	10	22.5 b-f	26.7
Seed dipping in BSM broth	10	10.1 a	67.1
Seed dipping and drenching in LB broth	10+10	11.0 a-d	64.2
Seed dipping and drenching in KB broth	10+10	23.2 d-e	24.4
Seed dipping and drenching in BSM broth	10+10	14.2 a-e	53.7
Untreated check	-	30.7 f	-

LB, Luria-Bertani; KB, King's B agar; BSM, Bacillus-soytone medium.

^{a)}In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Table 3. Control effect of the prototypes of *Bacillus velezensis* CC112 for ginseng damping-off caused by *Rhizoctonia solani*

Treatment	Dilution (×)	No. of seed germination	Infected plant (%)	Control efficacy (%)
Seed dipping	50	49.0 ab ^{a)}	12.2 ab ^{a)}	30.7
	100	46.0 b	9.3 ab	47.2
Drenching on the soil	50	49.0 ab	8.4 ab	52.3
	100	52.7 a	4.0 a	77.3
Untreated check		51.3 ab	17.6 b	-

^{a)}In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

Table 4. Control effect of the prototype of *Bacillus velezensis* CC112 for ginseng damping-off caused by *Pythium* sp.

Treatment	Dilution (time)	No. of seed germination	Infected plant (%)	Control efficacy (%)
Seed dipping	50	45.3 a ^{a)}	14.0 ab ^{a)}	39.1
	100	44.3 a	14.2 ab	38.3
Drenching on the soil	50	47.3 a	10.0 ab	56.5
	100	50.7 a	7.9 ab	65.7
Untreated check		45.0 a	23.0 b	-

^{a)}In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by Duncan's multiple range test.

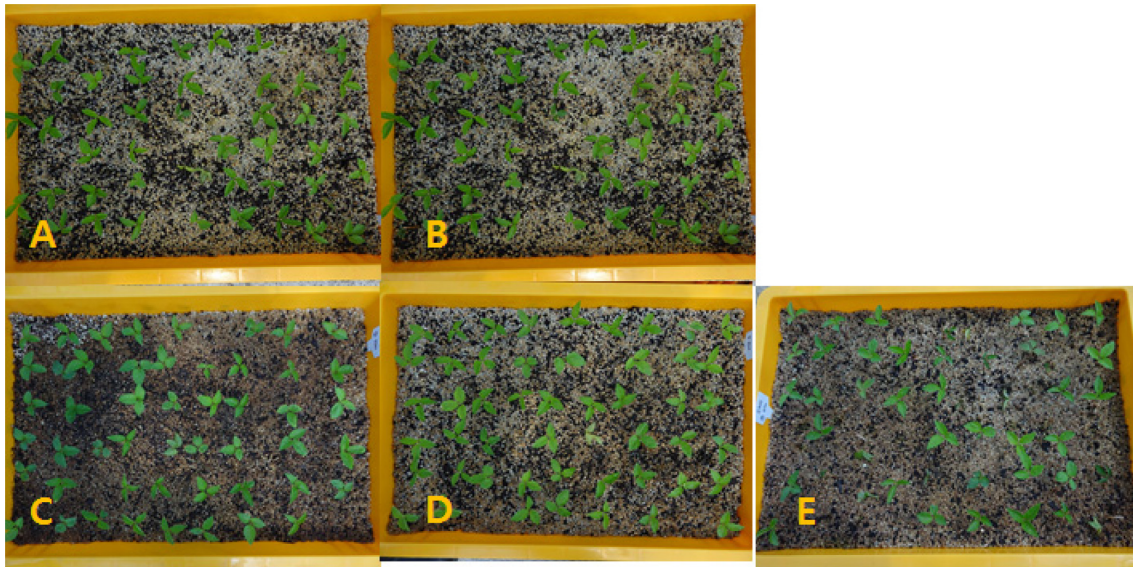


Fig. 3. Control effect of treatments of the prototype of *Bacillus velezensis* CC112 for ginseng damping-off caused by *Rhizoctonia solani*. A, Seed dipping (50 times); B, Seed dipping (100 times); C, Soil drenching (50 times); D, Soil drenching (100 times); E, Untreated check.

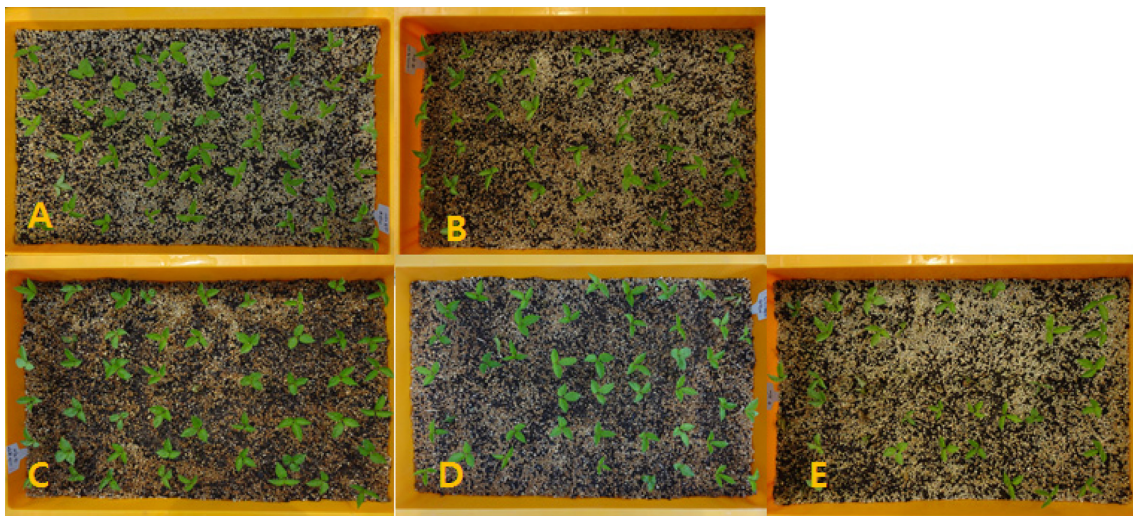


Fig. 4. Control effect of treatments of the prototype of *Bacillus velezensis* CC112 for ginseng damping-off caused by *Pythium* sp. A, Seed dipping (50 times); B, Seed dipping (100 times); C, Soil drenching (50 times); D, Soil drenching (100 times); E, Untreated check.

(*Pythium aphanidermatum*)이 처리된 상토 혼합처리한 결과에서 탈크, 제오라이트, 벤토나이트 각각의 단제는 45~55%, 두 보조제를 혼합한 벤토나이트+탈크, 탈크+제오라이트, 벤토나이트+제오라이트 제제는 단제보다 높은 58~70%의 방제효과를 나타내었으며, 화학살균제와 비교시에도 비슷한 방제 효과를 나타내었다고 하였다. CC112 균주의 벤토나이트 제제와 비교하면 토양관주 100배액 처리가 77.3%로 나타나 *B. stearothermophilus* 균주보다 높은 방제 효과

를 보여서 제품으로 개발 가능성을 보여주었다. 그리고 미생물제품 Serenade (*B. subtilis* QST713)를 9배 희석하여 관주처리하여 *R. solani*에 의한 고추와 오이의 잘록병을 58%와 54% 방제 효과를 각각 나타냈으며, 같은 방법으로 *P. ultimum*에 의한 고추와 오이의 잘록병에 57%와 7.7% 방제 효과를 나타냈다[16], CC112 균주의 시제품 100배액 관주 처리가 Serenade보다 높은 잘록병균 *R. solani*와 *Pythium* sp.에 높은 방제효과를 나타내어 잘록병 방제에 우수한 균

주라 생각된다.

이와 같이 CC112 균주는 *Rhizoctonia solani*와 *Pythium* sp.에 대하여 항균활성이 있어서 방제가 곤란한 토양병해 인삼 잘록병에 방제 효과를 나타내어 화학농약을 대체할 수 있는 친환경 인삼 잘록병 방제제로서 개발할 필요가 있다고 생각된다.

적 요

Bacillusvelezensis CC112 균주는 인삼 잘록병을 일으키는 *Rhizoctonia solani*를 비롯한 여러 식물병원균의 균사 생장을 억제하였다. 인삼 잘록병균 *R. solani*에 대하여 *B. velezensis* CC112 균주를 Luria-Bertani (LB)와 Bacillus-soytone medium 배지에 배양한 10배 희석액의 종자침지처리와 LB 배지에 배양한 10배 희석액을 토양관주처리하여 65.8%, 67.1%와 64.2% 방제효과를 나타냈다. *B.velezensis* CC112 균주의 시제품을 100배로 희석하여 토양관주처리하여 *R. solani*에 77.3%, *Pythium* sp.에 65.7% 방제효과를 각각 나타내었다. 이들 결과에서 *B. velezensis* CC112 균주는 인삼 잘록병의 방제에 유망한 미생물살균제가 될 수 있다.

Acknowledgements

This work was supported by a grant from the Agenda Project (Grant No. PJ009951032016) of the Rural Development Administration (RDA), Republic of Korea.

REFERENCES

1. The Korean Society of Plant Pathology. List of plant diseases in Korea. 5th ed. Seoul: Korean Society of Plant Pathology; 2009.
2. Rahman M, Punja ZK. Biological control of damping-off an American ginseng (*Panax quinquefolius*) by *Clonostachys rosea* f. *catenulate* (= *Gladiolus catenulatum*). Can J Plant Pathol 2007;29:203-7.
3. Cho DH, Cho HS, Shin JS, Park DW. Control of damping-off and ginseng stem fungus gnat of ginseng. In: KT&G Ginseng re- search report. 2007. p. 28-33.
4. Hong SK. Survey of ginseng cultivation in Southern Korea. So-yeun (Central Monopoly Institute) 1964;6:27-44.
5. Yu YH, Cho DH, Ohh SH. Effect of tolclofos-methyl on damping-off of ginseng seedlings incited by *Rhizoctonia solani*. Korean J Ginseng Sci 1989;13:114-8.
6. Georgakopoulos DG, Fiddaman P, Leifert C, Malathrakis NE. Biological control of cucumber and sugar beet damping off caused by *Pythium ultimum* with bacterial and fungal antagonists. J Appl Microbiol 2002;92:1078-86.
7. Howell CR, Stipanovic, RD. Suppression of *Pythium ultimum*-induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin. Phytopathology 1980; 70:712-5.
8. Zamanizadeh HR, Hatami N, Aminaee MM, Rakhshandehroo F. Application of biofungicides in control of damping disease off in greenhouse crops as a possible substitute to synthetic fungicides. Int J Environ Sci Technol (Tehran) 2011;8:129-36.
9. Kim JH, Choi YH, Kang SJ, Rhee IK, Joo GJ. Biocontrol of vegetables damping-off by *Bacillus ehimensis* YJ-37. Korean J Life Sci 2002;12:416-22.
10. Joo GJ, Kim JH, Kang SJ. Isolation and antifungal activity of *Bacillus ehimensis* YJ-37 as antagonistic against vegetables damping-off fungi. Korean J Life Sci 2002;12:200-7.
11. Yang HS, Sohn HB, Chung YR. Biological control of *Pythium* damping-off of cucumber by *Bacillus stearothermophilus* YC 4194. Res Plant Dis 2002;8:234-8.
12. Jo EJ, Kang BG, Jang KS, Choi YH, Kim JC, Choi GJ. Control efficacy of Serenade formulation against *Rhizoctonia* and *Pythium* damping-off diseases. Res Plant Dis 2014;20:201-5.
13. Lee SY, Kim BY, Ahn JH, Song J, Seol YJ, Kim WG, Weon HY. Draft genome sequence of the biocontrol bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* strain M27. J Bacteriol 2012;194:6934-5.
14. Wang LT, Lee FL, Tai CJ, Kasai H. Comparison of *gyrB* gene sequences, 16s rRNA gene sequences and DNA-DNA hybridization in the *Bacillus subtilis* group. Int J Syst Evol Microbiol 2007;57:1846-50.
15. Yamamoto S, Harayama S. PCR amplification and direct sequencing of *gyrB* genes with universal primers and their application to the detection and taxonomic analysis of *Pseudomonas putida* strains. Appl Environ Microbiol 1995;61:1104-9.
16. Song J, Lee SC, Kang JW, Baek HJ, Suh JW. Phylogenetic analysis of *Streptomyces* spp. isolated from potato scab lesions in Korea on the basis of 16s rRNA gene and 16s-23s rDNA internally transcribed spacer sequences. Int J Syst Evol Microbiol 2004;54:203-9.
17. Lee SY, Kim BY, Ahn JH, Song J, Seol YJ, Kim WG, Weon HY. Draft genome sequence of the biocontrol bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* strain M27. J Bacteriol 2012;194:6934-5.
18. Wang LT, Lee FL, Tai CJ, Kasai H. Comparison of *gyrB* gene sequences, 16s rRNA gene sequences and DNA-DNA hybridization in the *Bacillus subtilis* group. Int J Syst Evol Microbiol 2007;57:1846-50.
19. Yamamoto S, Harayama S. PCR amplification and direct sequencing of *gyrB* genes with universal primers and their application to the detection and taxonomic analysis of *Pseudomonas putida* strains. Appl Environ Microbiol 1995;61:1104-9.
20. Song J, Lee SC, Kang JW, Baek HJ, Suh JW. Phylogenetic analysis of *Streptomyces* spp. isolated from potato scab lesions in Korea on the basis of 16s rRNA gene and 16s-23s rDNA internally transcribed spacer sequences. Int J Syst Evol Microbiol 2004;54:203-9.
21. Kim OS, Cho YJ, Lee K, Yoon SH, Kim M, Na H, Park SC, Jeon YS, Lee JH, Yi H, et al. Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. Int J Syst Evol Microbiol 2012;62:716-21.
22. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol Biol Evol 2011;28:2731-9.
23. Dunlap CA, Kim SJ, Kwon SW, Rooney AP. *Bacillus velezensis*

is not a later heterotypic synonym of *Bacillus amyloliquefaciens*; *Bacillus methylotrophicus*, *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* and '*Bacillus oryzicola*' are later heterotypic synon-

yms of *Bacillus velezensis* based on phylogenomics. Int J Syst Evol Microbiol 2016;66:1212-7.