

## 길항세균 *Bacillus subtilis* YBL-7 건조포자체의 종자피막화에 의한 생물학적 방제

장종원 · 김상달\*  
영남대학교 응용미생물학과

### Seed Coating for the Application of Biocontrol Agent *Bacillus subtilis* YBL-7 against Phytopathogens

Jong-Won Chang and Sang-Dal Kim\*

Department of Applied Microbiology, Yeungnam University, Kyungsan 712-749, Korea

**Abstract** — Agrochemicals for the plant-disease control are criticized severely for causing environmental pollution and residual problems, and consequently microbial disease control agents are expected to be safer and more economical for sustainable agriculture. Treatment of biological control agents to seed requires the use of effective delivery systems that allow full expression of the beneficial qualities of the bioprotectant. For the activation and establishment of bioprotectant around the plant seed which are able protect the seeds and seedlings from pathogen attack, the optimal liquid coating formulation was obtained using 2% sodium carboxymethyl cellulose (binder), 20% sesame dregs (solid particulate material), and dried spore of *Bacillus subtilis* YBL-7 (bioprotectants, 10 mg/g of seed). Suppressive of root rot was demonstrated in pot trials with coated kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. Coated seeds with *B. subtilis* YBL-7 spore in *F. solani*-infested soil reduced disease incidence by 85% to 90% after 30 days.

식물병원균의 방제를 위해 과도하게 사용되는 화학농약의 심각한 부작용을 감소시키기 위해 길항미생물을 이용하는 생물학적 방제법의 연구가 활발히 진행되고 있다. 그러나 종래의 생물방제 방법은 그 시행의 복잡성과 방제효과의 미흡 때문에 아직까지 본격적인 실용화 단계에 진입하지 못하고 있는 실정이다(1-3). 이러한 문제점을 해결하기 위해 식물종자에 생물방제균을 직접 처리하는 종자처리법에 대한 연구가 진행되어 오던 중(4-10) 최근에는 Harman 등에 의해 보다 높은 밀도로 생물방제균을 처리하기 위한 종자피막화 방법이 개발되어(11, 12) 그 실용화 방법을 연구하고 있다. Harman 등은 식물병원균 *Pythium*의 방제를 위하여 진균인 *Trichoderma hamatum*을 이용하였는데(11-14) 이 방법은 피막화한 방제균의 포자가 발아하기 전에 이미 식물종자가 발아하여 식물병원균의 공격을 받는 단점이 있었다. 따라서 본 연구에서는 피막화한 생물방제균을 그 포자의 발아 속도가 빠르고 토양내 쉽게 우점화 할 수 있는 방제력

우수한 길항세균 *Bacillus subtilis* YBL-7(15)을 이용하였으며, 식물종자 표면에 쉽게 고정화되고 피막밀도도 높힐 수 있는 지지물질을 선발하였다. 아울러 피막처리된 방제균의 포자체가 신속히 영양형으로 발아, 증식할 수 있고 통기성도 제고할 수 있는 입상영양물질도 조사하였으며 이들을 이용한 피막방법의 최적화에 대해서 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 사용균주 및 배지

본 실험에서 사용한 길항세균은 김 등에 의해 분리된 바 있는 포자형성형 길항세균인 *Bacillus subtilis* YBL-7(15)을 사용하였고, 포자생산을 위한 길항세균의 배양에는 장 등(16)에 의해 개발된 spore forming (SF) broth(0.8%, nutrient broth, 0.05% yeast extract,  $10^{-1}$  M  $MgCl_2$ ,  $10^{-4}$  M  $MnCl_2$ ,  $10^{-5}$  M dipicolinic acid, pH 6.5, 이하 SF broth)를 이용하였다. 또한 식물병원균으로는 한국인삼연초연구소에서 분양받은 인삼근부균인 *Fusarium solani*를 gentamycin이 50  $\mu$ g/ml의 농도로 첨가된 potato dextrose broth(PDB)

**Key words:** Biological control, seed coating antifungal bacillus

\*Corresponding author

에 배양하였다.

### 길항세균의 건조포자체 제조

포자체 생산을 위한 *Bacillus subtilis* YBL-7(15)의 배양은 SF broth에서 30°C, 60시간 동안 배양한 후 9,000 rpm으로 원심분리하여 회수한 균체를 50°C 건열건조 방법(16)을 이용하여 건조시켰으며, 이렇게 해서 얻은 건조포자체를 본 실험에 사용하였다.

### 식물종자

실험에 사용한 식물종자로는 *F. solani*에 의한 뿌리썩음병 발병율이 높고 생장도 빠른 강남콩(*Phaseolus vulgaris* L.)종자를 2.5% sodium hyperchloride에 1시간 동안 침적시켜 소독한 후 3시간 정도 수차례 증류수로 수세하여 이용하였다.

### 종자피막용 지지물질

*B. subtilis* YBL-7의 포자체를 식물종자 표면에 고정시키기 위해 본 연구에 사용한 지지물질로는 Oswalt 점도계로 동일한 점도(18 unit, Distilled water : 1 unit)로 조정된 sodium carboxymethyl cellulose(Fluka Chem., viscosity 4% 수용액 : 400~800 mPa·s, D.S. : 0.70~0.85), polyvinyl alcohol(PVA, # 5,000), gelatin, starch 등의 용액을 사용하였으며 이들 용액에 건조포자체를 혼합하여 종자에 피막화 하였다. 피막화 작업은 tumbling drum에 종자를 투여한 후 spray nozzle을 통해 각 지지물질과 길항균의 건조포자체의 혼합액을 분사하여 건조시켰으며 3회 반복으로 피막화 두께를 증대시켰다.

또한 지지물질은 종자의 발아에 물리적 장애 뿐 아니라 산소투과성, 흡습성 등에도 장애를 주므로 가장 작은 장애를 보이는 지지물질을 선별하기 위해 피막화된 종자를 완전히 건조시킨 다음 직경 15 cm의 petri dish에 멸균된 거즈를 깔고 파종하여 충분한 수분을 공급하면서 28°C에서 5일간 발아시켜 그 발아율을 관찰하였다.

### 종자피막용 입상영양물질

입상영양물질을 선별하기 위해 caorine 등 여러 입상물질을 지지물질 CMC와 혼합한 후 *B. subtilis* YBL-7의 건조포자체를 종자 1g 당 10 mg 수준으로 혼합하여 강남콩에 피막화시켰다. 각각의 입상영양물질로 피막화된 종자를 98% humidity chamber에서 4일간 전배양과정을 거친 후 *F. solani*가 접종되어 있는 토양에 파종하여 28°C 발아실에서 발아와 육묘를 시키면서 30일까지 기간별로 관찰하여 정상적으로

발아 및 육묘된 수를 계수하여 피막화하지 않은 무처리구와 비교하였다.

### 길항미생물 처리밀도

식물종자에 피막화된 *B. subtilis* YBL-7 포자체의 처리 밀도가 식물근부균 *F. solani*에 대한 방제력에 미치는 영향을 조사하기 위해 지지물질 2% sodium carboxy methyl cellulose(CMC)와 60 mesh의 참깨박 분말 혼합액에 *B. subtilis* YBL-7 포자체를 용량별로 첨가하여 강남콩 종자에 피막화 하였다. 이때 길항균의 건조포자체는 종자 1g 당 1 mg에서 10 mg까지 단계별로 처리하였으며 식물근부균 *F. solani* 포자체를 접종한 멸균토양에 파종하여 28°C에서 30일까지 배양시키면서 발아수와 정상묘수를 계수하여 백분율로 나타내었다.

### 발아율 및 정상묘율 측정

최대 발아율(maximum emergence, %)은 종자 파종 후 5일 후까지 관찰된 발아종자수를 계수하였고, 정상묘율(final stands, %)은 30일까지 건강하게 성장한 식물체 수를 계수하여 *F. solani*를 접종하지 않은 토양에서의 발아율과 정상묘율을 100%로 계산하여 비교함으로써 상대치로 나타내었다.

## 결과 및 고찰

### 식물종자 발아에 미치는 피막지지물질의 영향

길항미생물을 식물종자에 고정시키는 피막지지물질은 식물종자의 발아에 물리적 장애가 될 뿐 아니라 종자의 호흡, 통기, 흡습 등에도 장애요인으로 영향을 주게 된다. 각종 지지물질 중 가장 장애 정도가 작은 물질을 선별하기 위해 동일 점도가 되도록 제한 CMC, gelatin, PVA 등 여러 지지물질을 강남콩에 피막화시켜 본 결과 Table 1에서 나타난 바와 같이 가장 장애율이 낮은 지지물질은 CMC이었다. 이때 CMC의 농도는 5%까지 농도별로 조제하여 미리 조사하여 본 바, 종자의 피막 효과가 가장 좋은 2% 농도의 용액을 사용하였다. 2% CMC 용액과 혼합한 포자체 처리구는 지지물질 무처리구에 비해 91.3%까지의 발아율을 보여 사용한 지지물질 중 가장 작은 저해율을 보였다. 종래의 종자처리 연구 보고에는 1%의 methyl cellulose를 이용하여 길항균을 종자에 고정시킨 경우(17-19)가 많으나 본 연구에서는 2% CMC를 이용하였다. 이는 일정량의 길항균과 지지물질 혼합액에 종자를 침적하여 흡습하게 한 후 건조시키는 종래의 방법과는 달리 길항균과 지지물질,

**Table 1. Effect of various binders on the emergence of kidney bean seed**

Binder <sup>a</sup>	Bioprotectant <sup>b</sup>	Emergence (%) <sup>c</sup>	Relative Ratio (%)
None	None	92	100.0
CMC <sup>d</sup>	YBL-7 spore	84	91.3
Gelatin	YBL-7 spore	64	69.6
PVA <sup>e</sup>	YBL-7 spore	72	78.3
Starch	YBL-7 spore	80	86.9

*B. subtilis* YBL-7 was grown in spore forming (SF) broth at 30°C for 60 hrs (1.0×10<sup>9</sup> cfu/ml).

<sup>a</sup>All treatments for seeds were coated a mixture of an aqueous binder, respectively.

<sup>b</sup>The sporulated cells were dried at 50°C for 2 hrs in dry oven. All treatments except for the nontreated seeds contained 10 mg dried spores of the bacterium per gram of seeds (6×10<sup>9</sup> cfu/g seed).

<sup>c</sup>Emergence was calculated by counting the number of emergencing seeds on wet gauze.

<sup>d</sup>Sodium carboxymethyl cellulose

<sup>e</sup>Polyvinyl alcohol (# 5,000)

Each value represents the mean of three times.

그리고 입상영양물질의 혼합액을 식물종자에 분사함과 동시에 피막화된 물질들을 신속히 건조해야 했으므로 1%의 methyl cellulose의 경우 그 점성이 낮아 종자의 피막물질들의 고정이 어려웠기 때문에 지지물질 농도를 높여 2% CMC를 이용하여 종자를 피막화 하는 것이 최적으로 나타났다.

**방제력에 미치는 입상영양물질의 영향**

식물종자를 피막화할 때 지지물질의 물성을 호전시키고 건조포자체의 신속한 발아와 증식에 필요한 영양원으로써 입상영양물질이 필요하다. *B. subtilis* YBL-7의 피막화에 가장 우수한 입상영양물질을 선발하기 위해 지지물질로 선발된 2% CMC와 식물종자 g 당 건조포자체 10 mg의 혼합액에 여러가지 입상영양물질들을 피막화시켰을 때 Table 2에서 보는 바와 같이 참깨박의 경우 약 72%의 가장 높은 방제율을 보였다. 이때 사용한 참깨박은 종자표면의 물리성 제고에 좋은 영향을 미쳤을 뿐 아니라 약 66%의 유기물을 함유하고 있어서 길항세균의 발아 및 증식에 필요한 영양원으로서도 좋은 효과가 있었음이 입증되었다. 이때 사용한 참깨박은 영남대학교 식품가공 공장에서 분양받았으며 그 조성은 수분 함량 4.2%, 조지방 7.5%, 조단백 43.5%, 조섬유 4.2%, 회분 10.97%, free N substance가 29.63%로 측정되었다.

그리고 입상영양물질로서 참깨박을 사용하고 여러

**Table 2. Effect of various solid particulates on the bio-control efficacy of kidney bean on the *F. solani* infested soil**

Coating	Max. Emergence (%)	Final Stand (%)
None	18	12
Bentonite	28	16
Caorine	24	16
Volcanic ash	44	40
Geolite	32	32
Bituminous	68	52
Sesame dregs	85	72

*B. subtilis* YBL-7 was grown in SF broth at 30°C for 60 hrs (1.0×10<sup>9</sup> cfu/ml). All treatments except for the none were contained 10 mg dried spores of the bacterium per gram of seed (6×10<sup>9</sup> cfu/g seed), 2% CMC, and 20% solid particulate materials, respectively. Seeds were sown in *F. solani* infested soil. Seedling emergence was recorded after 5 days (Max. emergence, %) and after 30 days (final stand, %) Each value represents the mean of three times.

**Table 3. Effect of various binders and sesame dregs on the efficacy of kidney bean seed in the *F. solani* infested soil**

Binder <sup>a</sup>	Solid Particulate Material <sup>b</sup>	Max. Emergence (%)	Final Stand (%)
Non-treated	None	18	12
CMC <sup>d</sup>	Sesame dregs	82	70
Gelatin	"	60	58
PVA <sup>e</sup>	"	68	52
Starch	"	86	64

*B. subtilis* YBL-7 was grown in SF broth at 30°C for 60 hrs (1.0×10<sup>9</sup> cfu/ml). All treatments were contained 10 mg dried spores of the bacterium per gram of seed (6×10<sup>9</sup> cfu/g seed). Seeds were sown in *F. solani* infested soil. Seedling emergence was recorded after 5 days (Max. emergence, %) and after 30 days (final stand, %).

<sup>a</sup>All treatments were coated a mixture of an aqueous various binder (2%), respectively.

<sup>b</sup>Sesame dregs were throughly mixed with the aqueous binder solution in the 20% (w/v) to form the coating suspension.

<sup>d</sup>Sodium carboxymethyl cellulose

<sup>e</sup>Polyvinyl alcohol (# 5,000)

Each value represents the mean of three times.

가지 지지물질을 함께 피막화시켜 보았을 때 Table 3과 같이 seedling emergence는 starch가 우수하였지

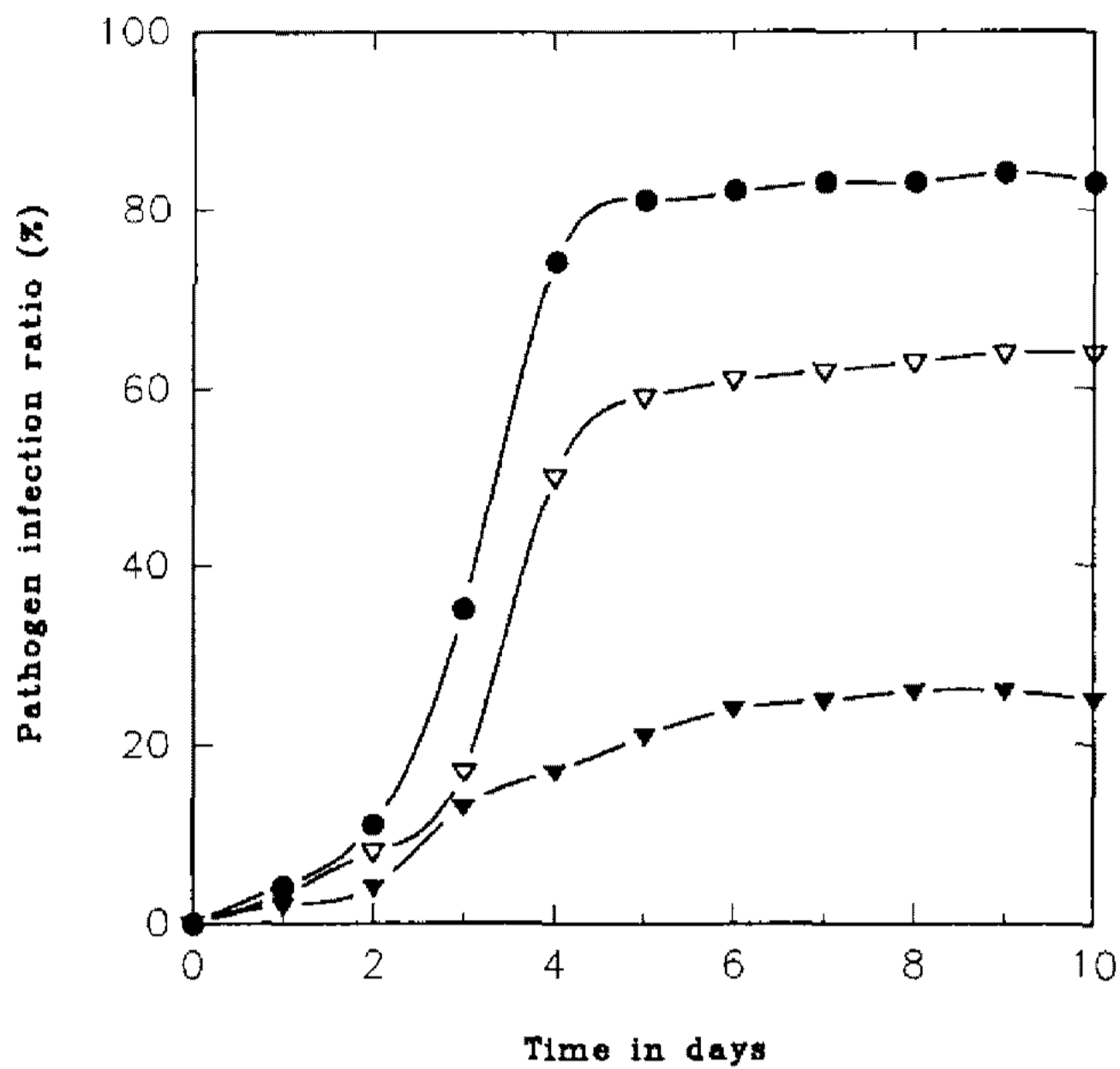


Fig. 1. The effect of sesame dregs and bioprotectant on the *F. solani* infection of kidney bean seeds during seedling emergence.

●-●: Non-treated seed

▽-▽: Bioprotectant (*B. subtilis* YBL-7 dried spore, 10 mg/g seed) with 2% CMC solution

▼-▼: 20% sesame dregs powder and bioprotectant (10 mg/g seed) with 2% CMC solution

만 30일 이후의 final stands에서는 2% CMC와 참깨박을 사용한 조성 조건에서 70% 이상의 방제력을 나타냄으로서 다른 지지물질보다 CMC가 우수함이 확인되었다.

또 한편 *B. subtilis* YBL-7의 건조포자체로 피막화된 강남콩의 종자가 *F. solani* 감염 토양내에서 발아하여 식물체로 성장하는 과정 중에 입상영양물질로 첨가한 참깨박의 영향을 본 결과 Fig. 1과 같이 참깨박을 혼합한 경우 bioprotectant로 *B. subtilis* YBL-7 포자체만 피막한 종자보다 40% 정도 감염율을 저하시켰음을 알 수 있었다. 특히 식물종자의 발아 초기인 3일 이후에 그 효과가 급격히 증가하였다. 따라서 입상영양물질로 첨가하는 참깨박은 길항세균이 증식하면서 길항물질을 생산하는데도 상승작용을 한 것으로 생각된다.

#### 길항세균 포자체 처리밀도의 영향

길항미생물의 식물병원균에 대한 방제력은 길항미생물의 밀도와 작용기작에 따라 결정된다. 종자피막화의 연구는 종래의 단순한 종자처리와는 달리 식물종자 주위에 고밀도의 길항균체를 대량으로 피막화하여야 하고 이들 길항세균의 포자체를 신속하고 왕성하게 발아, 증식시켜 식물종자 파종시 식물병원균

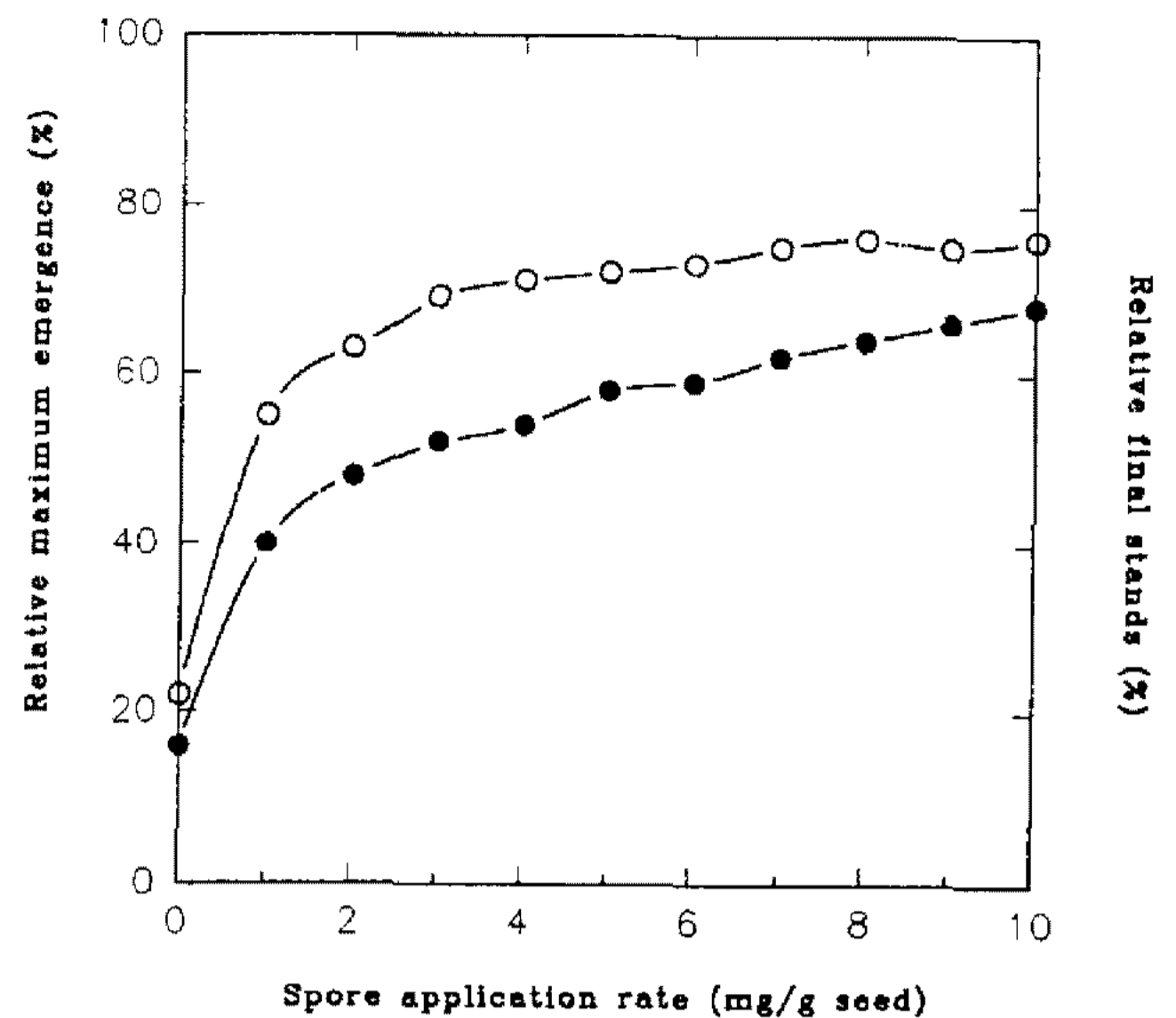


Fig. 2. The effect of *B. subtilis* YBL-7 spore coated to kidney bean seeds on maximum seedling emergence and final stands.

Coated kidney bean seeds were sown in a *F. solani* infested soil. Relative maximum emergence (%) and relative final stands (%) were calculated by non-infested soil.

○-○: Relative maximum emergence

●-●: Relative final stand

이 침입하기 전에 길항미생물을 식물체 주위 환경에서 효율적으로 우점화될 수 있도록 함으로서 방제율을 높일 수 있다. 따라서 *B. subtilis* YBL-7의 건조포자체를 강남콩 종자에 g 당 10 mg까지 참깨박 분말과 함께 CMC로 피막화하여 그 방제력을 조사하여 본 결과 Fig. 2에서 나타난 결과와 같이 종자 g 당 1 mg의 수준으로 *B. subtilis* YBL-7을 처리한 경우 약 40%의 방제율을 보였으나 10 mg의 수준으로 처리하였을 경우 약 75%의 방제율을 보였다. *Trichoderma* sp. 피막화의 경우 종자 g 당 1 mg의 밀도로 피막화하여 방제력이 우수하지 못했던 보고(12)와는 달리 10 mg까지 건조포자체를 피막화 할 수 있었다.

#### 피막화 포자체의 전배양 효과

한편 식물병원균 *Pythium* sp.에 길항하는 *Trichoderma* sp. 포자체를 종자에 처리한 후 파종했을 때 *Pythium* sp.은 식물종자에 침입하는데 약 4시간이 소요되는 반면 *Trichoderma* sp. 포자체는 포자 발아에 약 12시간을 소요한다는 보고가 있다(11, 12, 20). 그러므로 단순히 포자생성 균주의 밀도가 높다고 하더라도 길항균의 포자가 발아되지 않은 상태에서 병원균이 먼저 침입한다면 길항세균의 식물종자처리는 무의미하다 할 수 있을 것이다. 따라서 본 연구에서는

**Table 4. Effect of the humid preincubation of coated seeds on the emergence of kidney bean in the *F. solani* infested soil**

Treatment	Max. Emergence (%)	Final Stand (%)
Non-coating	18	12
Non-preincubation <sup>a)</sup>	76	54
Preincubation <sup>b)</sup>	80	78

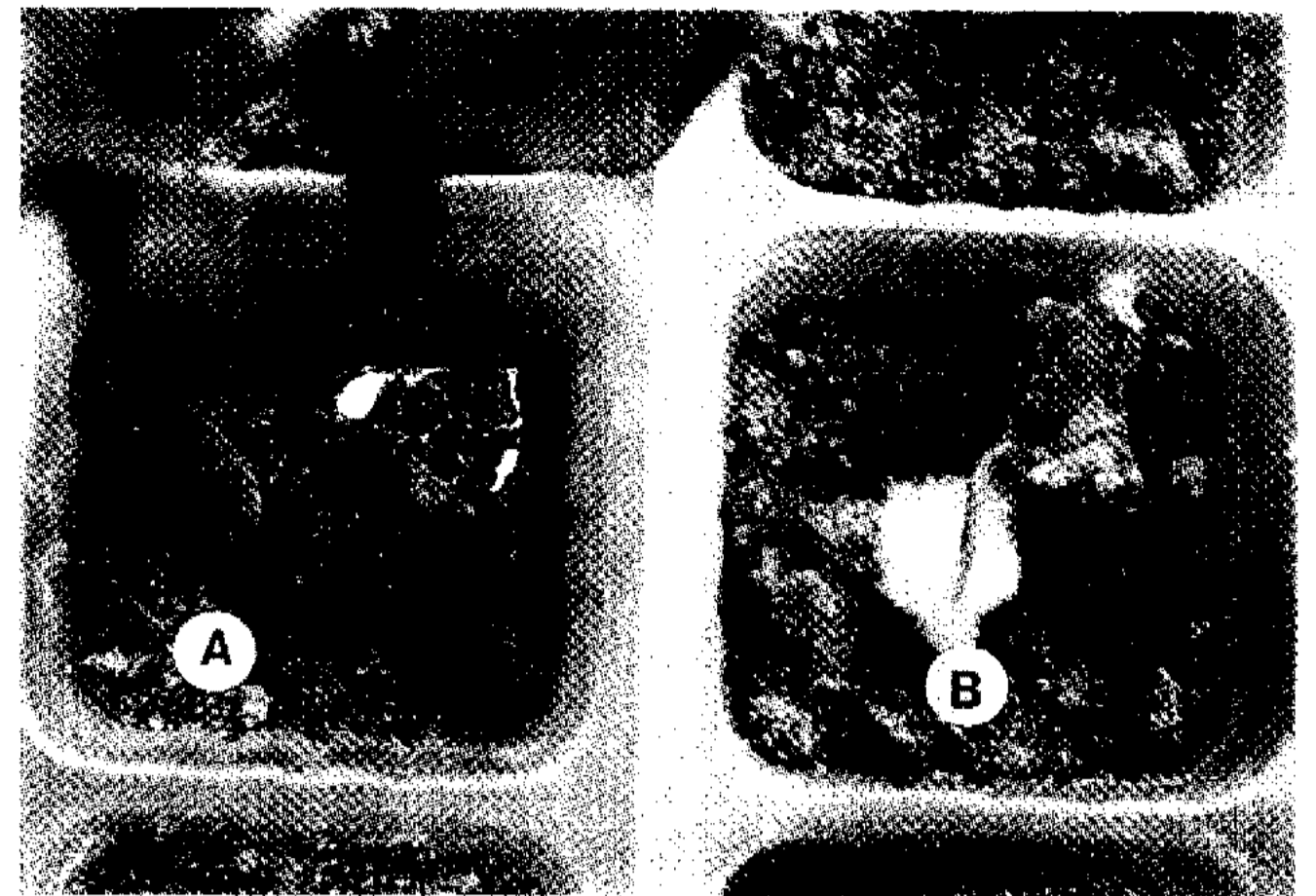
*B. subtilis* YBL-7 was grown in SF broth at 30°C for 60 hrs ( $1.0 \times 10^9$  cfu/ml). Seeds were sown in *F. solani* infested soil. Seedling emergence was recorded after 5 days (Max. emergence, %) and after 30 days (final stand, %).

<sup>a)</sup>The coating formulation contained a mixture of 2% CMC as an aqueous binder, 20% sesame dregs as a solid particulate material, and 10 mg dried spores of *B. subtilis* YBL-7 ( $6 \times 10^9$  cfu/g seed) as a bioprotectant. <sup>b)</sup>Coated seeds were placed humidity chamber (relative humidity: 99%). The seeds were maintained under this condition for a period of 4 days at 30°C in the dark. Each value represents the mean of three times.

과중시 즉각적인 길항균의 발아와 증식을 위해 30°C에서 4일간 높은 상대습도(RH 99%) 조건하에서 길항세균의 포자체를 미리 발아시키는 전배양 과정을 거침으로써 피막종자를 토양내 과중하기 직전에 포자체의 영양형 세포로의 전환을 어느 정도 시킨 후 과중하여 보았을 때 Table 4에서 보는 바와 같이 전배양 시키지 않은 대조구에 비해 약 24%의 방제율 증가를 확인할 수 있었다. 따라서 식물종자에 피막화된 포자체를 과중 직전에 영양형 세포로 활성화하는 전처리 과정이 필요하다고 생각된다.

#### 피막화 종자에 의해 근부 방제된 식물체

길항세균 *B. subtilis* YBL-7의 건조포자체를 피막 지지물질 CMC와 입상영양물질 참깨박 분말과 함께 피막화한 강남콩 종자를 *F. solani* 감염 토양에 과중하였을 때 그 실제의 근부 방제 효과를 조사하여 본 결과 Fig. 3과 같이 피막화된 종자에서 자란 식물체는 건강하고 정상적으로 성장한 모습과는 대조적으로 피막 처리하지 않은 종자에서 자란 식물체는 생육도가 아주 불량하며 뿌리 부근에 *F. solani*의 심한 감염 모습을 볼 수 있다. 더욱이 발아하자마자 곧 감염되어 토양 밖으로 식물체가 나오지 못한 종자도 많았음을 감안한다면 *B. subtilis* YBL-7 포자체도 피막화된 식물 종자의 근부 방제 효과는 매우 크다고 생각되어진다.



**Fig. 3. In vivo pot assay of seed coating with *B. subtilis* YBL-7 against kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) wilt caused by *F. solani*.**

All of seeds were sown in a *F. solani* infested soil. A: Healthy plant from coated seed  
B: Infected plant from non-treated seed

## 요 약

식물근부균 *Fusarium solani*의 생물학적 방제를 위해 길항세균 *Bacillus subtilis* YBL-7의 포자를 식물종자에 피막화하고 피막화에 필요한 최적의 조건을 조사하였다. 종자피막화 최적조건 조사 결과 피막처리에 사용하는 지지물질로는 2% CMC가 가장 우수하였고, 피막의 물리성 제고와 길항세균의 포자 발아 및 길항물질 생산에 필요한 영양원으로 사용하는 입상영양물질은 참깨박 혼합 처리 방법이 아주 우수하였다. 그리고 피막 중의 방제균 건조포자체의량은 종자 g 당 10 mg의 수준으로 첨가하였을 때 가장 효율적이었다. 최적조건으로 피막화된 식물종자의 실제 토양내 방제력을 확인하기 위해 포트실험을 실시한 결과, 무처리구의 경우 약 12%의 종자만이 식물근부균 *F. solani*에 감염되지 않고 정상 식물로 성장한 데 반해 상기 최적조건으로 피막처리된 종자의 경우 *F. solani*를 접종하지 않은 대조구 토양에서의 식물 성장율에 가까운 약 90% 이상의 식물이 정상 성장할 수 있는 우수한 방제력을 나타내었다.

## 감사의 말

본 연구는 1993년도 영남대학교 학술연구조성비에 의하여 수행되었습니다.

## 참고문헌

1. Eklund, E. 1970. Secondary effects of some *Pseu-*

- domonas* in the rhizosphere of peat grown cucumber plants. *Acta Agri. Sacnd. Suppl.* **17**: 1-57.
2. Lang, D.S. and Kommedahl, T. 1976. Factors affecting efficacy of *Bacillus subtilis* and other bacteria as corn seed treatments. *Proc. Am. Phytopathol. Soc.* **3**: 272.
  3. Weinhold, A.R. and Bowman, T. 1968. Selective inhibition of the potato scab pathogen by antagonistic bacteria and substrate influence on antibiotic production. *Plant soil* **28**: 12-24.
  4. Windels, C.E. 1981. Growth of *Penicillium oxalicum* as a biological seed treatment on pea seed in soil. *Phytopathol.* **71**: 929-933.
  5. Lifshitz, R., Windham, M.T. and Baker, R. 1986. Mechanism of biological control of preemergence damping-off of pea by seed treatment with *Trichoderma* spp. *Phytopathol.* **76**: 720-725.
  6. Lewis, J.A. and Papavizas, G.C. 1987. Application of *Trichoderma* and *Gliocladium* in alginate pellets for control of *Rhizoctonia* damping-off. *Plant Pathol.* **36**: 438-446.
  7. Parke, J.L. 1987. Biological control of *Aphanomyces euteiches* F. sp. *Pisi* by bacteria applied to pea seeds. *Phytopathol.* **77**(12): 1688.
  8. Howell, C.R. and Stripanovic, R.D. 1979. Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedling with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. *Phytopathol.* **69**: 480-482.
  9. Weller, D.M. and Cook, R.J. 1981. Control of take-all of wheat with fluorescent *pseudomonads*. (Abstr.) *Phytopathol.* **71**: 1007.
  10. Dunleavy, J. 1955. Control of damping-off of sugar beet by *Bacillus subtilis*. *Phytopathol.* **45**: 252-258.
  11. Harman, G.E. and Taylor, A.G. 1988. Improved seedling performance by integration of biological control agents at favorable pH levels with solid matrix priming. *Phytopathol.* **78**: 520-525.
  12. Taylor, A.G., Min, T.G., Harman, G.E. and Jin, X. 1991. Liquid coating formulation for the application of biological seed treatments of *Trichoderma harzianum*. *Biol. Control.* **1**: 16-22.
  13. Harman, G.E., Chet, L. and Baker, R. 1981. Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seed as a biocontrol agent. *Phytopathol.* **71**: 569-572.
  14. Harman, G.E., Taylor, A.G. and Stasz, T.E. 1989. Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and soil matrix priming to improve biological seed treatments. *Plant Dis.* **73**: 631-637.
  15. Kim, Y.S. 1992. Biocontrol bacteria, *Bacillus subtilis* producing the antifungal antibiotics and genetic improvement. 영남대학교 석사학위 논문.
  16. Chang, J.W. and Kim, S.D. 1995. Bacterial sporulation and germination of biocontrol agent *Bacillus subtilis* YBL-7. *Appl. Microbio. & Biotech.* 투고중.
  17. Weller, D.M. and Cook, R.J. 1983. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent *pseudomonads*. *Phytopathol.* **73**(3): 463-469.
  18. C.R. Howell. 1978. Seed Treatment with L-Sorbose to Control Damping-off of Cotton Seedlings by *Rhizoctonia solani*. *Phytopathol.* **68**: 1096-1098.
  19. David M. Weller. 1984. Distribution of a Take-All Suppressive Strain of *Pseudomonas fluorescens* on Seminal Roots of Winter Wheat. *Appl. and Environ. Microbiol.* **48**(4): 897-899.
  20. Stasz, T.E., Harman, G.E. and Marx, G.A. 1980. Time and site of infection of resistant and susceptible germinating pea seeds by *Pythium ultimum*. *Phytopathol.* **70**: 730-733.

(Received 14 November 1994)