

## 항진균성 활성 *Bacillus* sp.의 분리 및 생산 조건

정 용 준

전주대학교 대체건강관리학부

### Isolation and Cultural Conditions of an with Antifungal Activity *Bacillus* sp.

Yong Joon Chung

School of Alternative Medicine and Health Science, Jeonju University,  
Jeonju 560-759, Korea

**Abstract** – An antifungal antibiotic-producing bacterium was isolated from soil and identified as *Bacillus* sp. CJ-1. The culture supernatant was found to have a strong and stable antifungal activity against *Colletotrichum gloeosporioides*. Culture conditions for the maximum antifungal activity were examined. Glucose and yeast extract were selected as the best carbon and nitrogen sources. The optimum C/N ratio was 3. The optimum temperature and initial pH were determined as 35°C and 6.0, respectively. Under these conditions, the production for the antibiotic was maximized at 72 hr at 35°C after cultivation. Microscopic observation showed that the culture supernatant of *Bacillus* sp. CJ-1 had a strong inhibitory activity on the mycelial growth of the test strain at above 12.5 µL mL<sup>-1</sup> of concentration.

**Key words** : antifungal, *Bacillus* sp., *Colletotrichum gloeosporioides*

## 서 론

지금까지 전 세계적 식량수요를 해결하기 위한 가장 현실적이고 경제적인 농작물의 병해충 방제방법 중 하나로써 유기합성농약을 이용한 방제가 주로 이루어져왔다. 만약 이러한 농약을 사용하지 않고 작물을 재배 수확할 경우, 수량 및 출하금액의 감소치를 기준하였을 때 벼, 맥류는 20~30%의 감소를 보였고 사과, 복숭아를 비롯한 다른 작물도 병해충에 의한 막대한 피해를 입는다고 알려져 있다(Ferreira 1991). 하지만 이렇게 농업 생산성에 커다란 영향을 주고 병해충 및 잡초의 방제를 위하여 널리 사용되어 온 유기합성농약은 현재 잔류 독

성에 의한 환경오염 및 생태계 파괴 그리고 비대상 생물체에 대한 2차적 악영향 등으로 심각한 환경문제를 야기하고 있다(Ames 1979). 따라서 그동안 주로 사용되어 온 유기합성농약의 사용규제가 점차 강화되고 있으며 안전한 농작물의 생산을 위한 무공해 생물학적 방제법의 필요성이 대두되고 있다(Henis and Chet 1975; Demain 1983). 유기합성농약의 이러한 문제점을 해결하고자 자연 상태에서 쉽게 분해되고 환경에 미치는 영향을 최소화할 수 있으며 방제대상 생물에 대하여 높은 선택성을 지닌 천연물농약, 미생물농약과 같은 효과적인 생물학적 방제방법을 개발하여 친환경농법의 수단으로서 활용하려는 시도가 관심의 대상이 되고 있다(Cook 1985; Lange *et al.* 1993; Shoda. 2000). 최근 특별히 토양에 서식하는 미생물로부터 생산되는 대사산물로서 항생물질뿐만 아니라 vitamins, alkaloids, 효소, 효소억제 물

\* Corresponding author: Yong Joon Chung, Tel. 063-220-2560,  
Fax. 063-220-2054, E-mail. chungyj@jj.ac.kr

질 등 다양한 생리활성물질이 알려져 있다 (Katz and Demain 1977; Omura 1992). 이들 물질 가운데 고추역병과 같은 진균 유래의 식물병원성 질병에 효과적인 항진균성 항생물질이 개발된다면 유기합성농약을 이용한 방제에 비해 자연분해가 가능한 친환경적인 생물농약으로서의 가치와 유용성이 크다고 할 수 있다. 항진균성 항생물질은 주로 방선균, 세균, 곰팡이와 식물 등에서 주로 발견되고 있으며 현재 알려진 항진균성 항생작용은 그 작용기작에 따라 세포막투과 파괴성 항생작용과 세포벽 합성 효소 억제 항생작용과 세포벽 가수분해효소에 의한 용균작용 등 다양한 방제기작을 들 수 있다 (이와 김 2000; Vincente *et al.* 2003). 미생물을 이용한 식물병원균의 방제 방법은 길항작용을 지닌 활성미생물 자체를 식물의 잎이나 종자표면에 도포함으로써 병원균의 발아를 억제하거나 식물생장을 보호하는 방법과 미생물이 분비하는 대사산물을 생물농약으로 개발하여 이용하는 방법 및 그 대사물질을 새로운 유기합성농약유도체의 전구물질로 이용하는 방법 등이 있다 (Staub and Sozzi 1984). 특히 미생물의 2차 대사산물을 농약으로 이용하는 농업용 항생물질의 개발에 대한 연구는 1960년대 중반에 blasticidin S의 개발을 시작으로 급속히 진전, kasugamycin, polyoxin, validamycin 등의 살균제와 aermectin, tetranactin 등의 살충제 및 bialaphos, cyclohexamide 등의 제초제가 개발, 실용화되었다 (배 1978). 특히 토양서식 미생물 중 주로 *Bacillus* 속과 *Pseudomonas* 속 길항미생물에 대한 연구가 광범위하게 이루어져왔으며 *Pseudomonas* 속 길항세균을 이용한 식물병 방제방법 개발에 대한 연구가 가장 많이 보고가 되고 있다 (Xu and Gross 1986; Elad and Chet 1987; Fravel 1988; 서 등 1993; Kim *et al.* 1998). *Bacillus* 속의 경우 대부분 인간에게 비병원성이며 식물병 방제 및 식물생장효과가 잘 알려져 있으며 내생포자 (endospore)를 형성하므로 균 자체를 이용한 분제, 수화제, 유제 등의 여러 가지 제형으로 이용할 수 있다고 알려져 있다 (Phae *et al.* 1990). 또한 *Bacillus* 속은 진균의 세포벽분해효소 뿐만 아니라 (Phister *et al.* 2004) 많은 종류의 항진균성 항생물질을 생산하므로 효과적인 생물학적 방제제로서의 개발 가치가 높다고 알려져 있다 (Gueldner *et al.* 1988; Ferrira *et al.* 1991; 김 등 1991; 손 등 1994; Vanittanakam and Loeffler 1994; Spadaro *et al.* 2005).

따라서 본 연구에서는 환경오염문제와 독성이 없는 생물농약을 개발할 목적으로 토양으로부터 고추탄저병균 (*Colletotrichum gloeosporioides*)에 강한 항진균 활성을 가진 미생물을 분리하고 그 활성미생물의 형태적 및 생리적인 특성을 검토하고 항생물질 생산을 위한 기초

배양조건을 조사한 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 항생물질 생산균주의 분리

전국 토양으로부터 시료를 채취하여 각 시료를 0.85% (w/v) 생리식염수로 현탁·희석한 후 nutrient agar 배지 (0.3% beef extract, 0.5% bacto peptone, 1.5% agar)에 도말하고 30°C에서 24~48시간 배양하여 단일 균락을 분리하였다. 생육된 colony들 중 형태, 색깔 등 외관상 상이한 균주들을 순수 분리하여 사면배양한 후 저온에 보관하면서 항균활성의 검색에 이용하였다. 각각의 분리한 균주는 nutrient broth (NB) 액체배지에 백금으로 1회 접종하고, 30°C에서 5일 동안 진탕배양 하였다. 배양액을 12,000 × g에서 20분간 원심분리한 후 고추 탄저병균 (*Colletotrichum gloeosporioides* KACC 4003)을 피검균으로 사용하여 paper disc method로 배양 상등액의 항균활성을 측정하였다. 분리균주 중에서 피검균에 대하여 가장 높은 활성을 나타내는 균주를 선별하였다.

### 2. 항생물질 생산균주의 동정

선발 미생물에 대한 현미경 관찰을 통한 형태학적 특징과 생리적 및 생화학적 특성을 조사하고 이들 결과를 토대로 Bergey's manual of determinative bacteriology (Holt *et al.* 1994)에 준하여 일반적인 세균 동정법에 따라 동정하였다.

### 3. 항균활성의 측정

항균활성의 측정은 고추 탄저병균 (*C. gloeosporioides* KACC 4003)을 피검균으로 사용하여 cup method로 행하였다. PDA배지 (Difco Co.) 15 mL를 멸균한 후 45~50°C로 냉각하고, 여기에 피검균 현탁액 0.5 mL를 접종하여 증충하였다. 이와 같이 만든 평판 배지의 표면에 cup (내경 6 mm, 외경 8 mm, 높이 10 mm)을 올려 놓고 분리균주의 배양 상등액을 넣어 30°C에서 48시간 동안 배양한 후 형성된 생육 저지환의 직경을 측정하였다.

### 4. 현미경에 의한 항균활성의 관찰

고추 탄저병균 (*C. gloeosporioides* KACC 4003)을 피검균으로 사용하여 PDA배지상에서의 피검균의 생육저지 현상을 관찰하기 위해 피검균 현탁액 0.5 mL를 접종하고 여기에 분리균주의 72시간 배양한 배양 상등액을 각

각  $50 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $12.5 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $6.25 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $3.125 \mu\text{L mL}^{-1}$  되게 희석하고 혼합하여 증충한 후  $30^\circ\text{C}$ 에서 48시간 동안 배양하였다. 배양된 PDA agar배지상의 피검균을 백금이로 취한 후 400배율의 현미경하에서 피검균의 포자형태 및 균사생육의 저해현상을 관찰하였다.

### 5. 균체량의 측정

건조 균체량(DCW)을 구하기 위해 일정 조건으로 배양한 배양액 50 mL를 취해  $12,000 \times g$ 에서 20분간 원심분리한 후 균체만 취하여 증류수로 세척 후  $105^\circ\text{C}$ 에서 3시간 건조 후 평량하여 건조 균체량을 측정하였다.

### 6. 항생물질의 생산 조건

탄소원, 질소원, 배양 초기 pH 및 배양온도 등을 달리 한 효소생산 기본배지(NB)에 종배양액을 1% (v/v) 수준으로 접종하여 180 rpm으로 회전진탕배양한 후 원심분리하여 얻은 상등액의 항균활성을 측정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 활성균주의 분리

토양으로부터 시료를 취하여 평판희석배양법에 의하여 nutrient agar 배지에 도말하고  $30^\circ\text{C}$ 에서 24~48시간 배양한 다음 외관상 형태가 상이한 단일균락을 분리한 결과 시료토양으로부터 300여 주의 외견상 상이한 균주를 분리하였다. 분리된 300여 주의 균주에 대한 항균활성을 조사하기 위해 고추 탄저병균(*C. gloeosporioides* KACC 4003)을 피검균으로 사용하여 paper disc 및 cup method로 항균활성을 조사한 결과, 활성을 가진 10여 주의 균주를 1차 분리하였다. 그중 가장 저지환의 반경이 큰 CJ-1균주를 선별하여 본 실험에 사용하였다. 이때 측정된 CJ-1의 저지환의 반경은 cup(외경 8 mm)을 사용했을 경우 24~25 mm의 저지환을 나타내어 분리균주 중 최대의 활성을 나타냈다 (data not shown).

### 2. 항생물질 생산균주의 동정

#### 1) 형태 및 배양학적 특성

선발된 균주의 동정을 위해 현미경 관찰을 통한 형태학적 관찰과 배양학적 특성을 조사한 결과 그람 양성의 단간균이며 운동성이 있고, 호기성이며 포자를 형성하는 것으로 관찰되었다. Nutrient 한천 평판배지에서의 colony

**Table 1.** Physiological properties of strain CJ-1

Characteristics	
Temperature range for growth	20~50°C
pH range for growth	5~10
NaCl tolerance for growth	≤5%
Catalase	+
Oxidase	+
Urease	+
Lipase (Tween 80 hydrolysis)	+
β-Galactosidase	+
Arginine dihydrolase	+
Phenylalanine deaminase	+
Hydrolysis of;	
Starch	+
Casein	+
Cellulose	+
Esculin	-
Indole production	+
H <sub>2</sub> S Production on TSI agar	+
Levan formation from sucrose	+
NH <sub>3</sub> production from arginine	+
NH <sub>3</sub> production from peptone	-
Gelatin liquefaction	+
Utilization of citrate	+
Methyl red test	+
Nitrate reduction	+
Denitrification	+
Action on milk;	
Coagulation	-
Peptonization	+
O-F test	Fermentation
Degradation of tyrosine	-

**Table 2.** Sugar utilization by strain CJ-1

Sugars	
Arabinose	+
Cellobiose	+
Cellulose	-
Dextrin	+
Fructose	+
Galactose	+
Glycerol	+
Inositol	+
Inulin	+
Lactose	+
Mannitol	+
Mannose	+
Raffinose	+
Soluble starch	+
Sorbitol	+
Sucrose	+

+: Utilized; -: Not utilized

형태는 원형이었고, 색깔은 크림색이었으며, 표면은 광택이 나면서 매끄러운 상태였다. 그리고 nutrient 액체 배지에서 균체의 생육은 좋았고, pellicle을 형성하면서 균체의 침전 현상을 나타냈다.

#### 2) 생리학적 특성

선발균주의 생리 및 생화학학적 특성을 검토한 결과는

Table 1과 같다. 본 균주의 생육온도 범위는 20~50°C이었고, 생육 pH 범위는 3~10이었으며, 염농도 5%까지

**Table 3.** Sugar fermentation by strain CJ-1

Sugars	Production of	
	Acid	Gas
Arabinose	-	-
Cellobiose	+	-
Cellulose	-	-
Dextrin	-	-
Fructose	+	-
Galactose	-	-
Glycerol	+	-
Inositol	-	-
Inulin	-	-
Lactose	-	-
Mannitol	+	-
Mannose	+	-
Raffinose	+	-
Soluble starch	-	-
Sorbitol	-	-
Sucrose	+	-

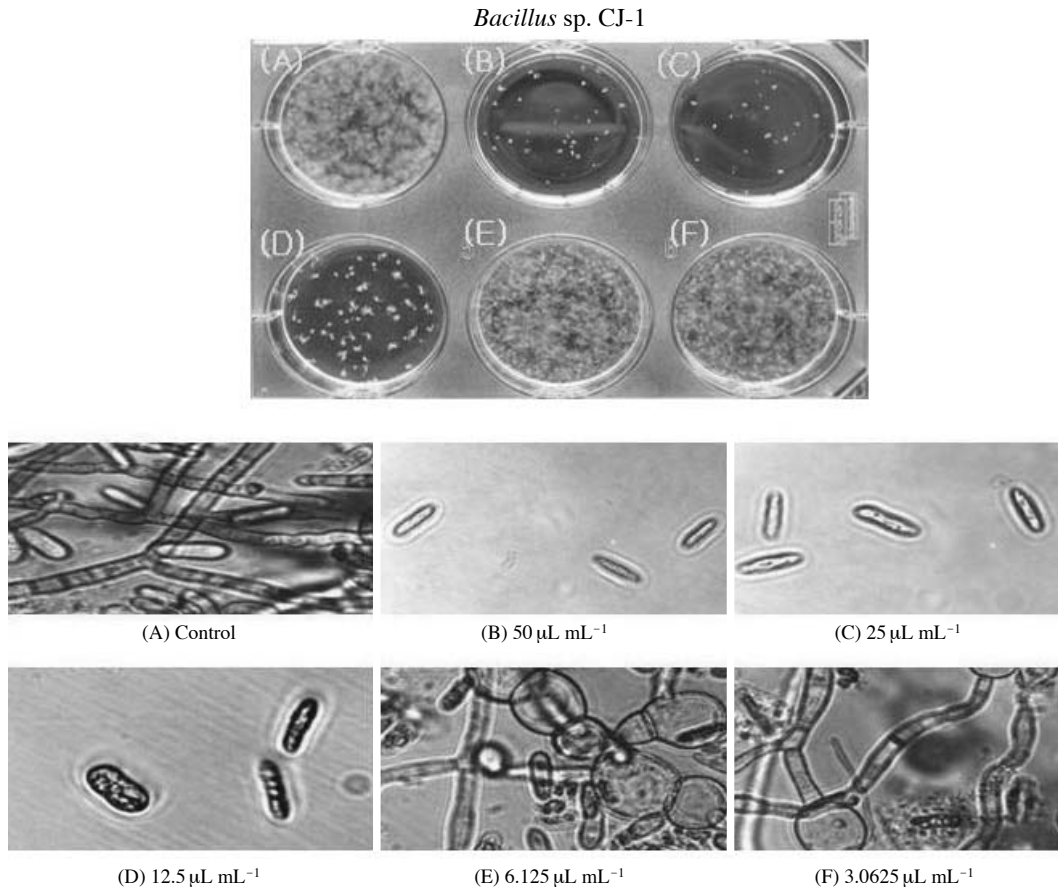
+: Positive; -: Negative

생육이 가능하였다. 그리고 catalase 양성, oxidase 음성 및 propionate 이용성을 나타내었으며 전분을 가수분해하였다. 또한 당의 이용성을 검토하여 본 결과 실험에 사용한 여러 가지 당 중에서 cellulose를 제외한 모든 당을 균체의 생육에 이용하였고(Table 2), 당의 발효성 실험 결과 일부 당으로부터 산이 생성되었지만 가스는 모든 당으로부터 생성되지 않았다(Table 3).

이상의 결과를 바탕으로 분리균주를 Bergey's manual of systematic bacteriology (Holt *et al.* 1994)에 준하여 검토하였을 때 *Bacillus* sp.로 동정하였고, *Bacillus* sp. CJ-1으로 명명하였으며 향후 보다 자세한 동정이 요구된다.

### 3. 현미경에 의한 항균활성의 관찰

피검균인 고추 탄저병균 (*C. gloeosporioides* KACC 4003)의 분리균주의 활성에 의한 생육저지현상을 현미경하에서 관찰하기 위하여 피검균의 포자형태 및 군사생육의 저해정도를 조사한 결과, Fig. 1에서와 같이 배양상등액 대신 증류수를 첨가한 대조구의 경우 전혀 피검



**Fig. 1.** Microscopy of fungal inhibition by culture filtrate. (A): Distilled water was added instead of culture filtrate as control. (B)-(F): Various concentrations of culture filtrate were added.

균의 생육저해가 관찰되지 않은 반면 12.5  $\mu\text{L mL}^{-1}$  이상의 농도부터 농도가 증가함에 따라 포자가 발아되지 않은 상태로 관찰되어 균사로의 생육저해현상이 뚜렷이 관찰되었다. 6.25  $\mu\text{L mL}^{-1}$ 나 3.125  $\mu\text{L mL}^{-1}$ 의 농도에서도 균사의 생육은 가능하였으나 포자의 형태가 일부 변형이 되는 특성을 보여주었다. 따라서 본 분리균주의 항진균 활성기작은 피검균의 포자발아억제와 연관이 되어 있을 것으로 추측된다. 이러한 작용기작에 대해서는 앞으로 지속적인 연구가 요구된다.

#### 4. 배양조건의 검토

##### 1) 배양시간에 따른 영향

NB 배지 20 mL에 종균 배양액 1.0% (v/v)씩을 접종하고 30°C에서 진탕배양하면서, 24시간 간격으로 배양액을 취하여 원심분리한 후 배양 상등액의 항진균활성을 측정하였다. 배양시간에 따른 *Bacillus* sp. CJ-1 균주의 생육과 항생물질 생산을 검토한 결과는 Table 4와 같다. 균체의 생육은 48시간 이후에 정지기에 도달하였다. 그리고 항진균활성은 균체의 생육이 정지기에 도달한 후인 72시간에서 최대를 나타냈고 72시간 이후에는 점차 감소하였다. 따라서 이 후의 실험에서는, 항생물질 생산을 위한 배양은 72시간 행하였다.

##### 2) 배양온도의 영향

종균 배양액을 NB 배지 20 mL에 1.0% (v/v)되게 접종하고, 각각 온도를 달리하여 진탕 배양시킨 후 원심분리하여 배양 상등액의 항진균활성을 측정하였다. 배양온도에 따른 *Bacillus* sp. CJ-1 균주의 생육과 항진균활성을 검토한 결과는 Table 5와 같다. 이 결과 균체의 생육과 항진균활성은 35°C에서 최대가 되었다. 따라서 *Bacillus* sp. CJ-1균주의 생육과 항생물질 생산은 배양온도에 따라 차이가 있음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 다른 연구에서 보고된 *Bacillus* sp.의 항진균 물질 최적생산온도가 24~30°C라는 결과들과 다소 차이를 보여주었다(박 등 2005; 박 등 2006; 이 등 2008).

##### 3) 초기 pH의 영향

항생물질 생산을 위한 최적 pH를 검토하기 위하여 기본배지의 pH를 4~10까지 조절하고 종균 배양액을 1.0% (v/v)씩 접종하여, 35°C에서 진탕 배양시킨 후 원심분리하여 배양 상등액의 항진균활성을 측정하였다. 초기 pH를 3~9까지 변화시키면서 항진균활성을 검토한 결과 pH 6에서 가장 좋았다(Table 6). 이 결과로 본 균주가 항진균물질 생산 시 초기 pH가 중성조건에서 배양하는 것보다는 약산성의 조건에서 보다 더 생산성이 증가

**Table 4.** Effect of the cultivation time on the cell growth and antifungal activity

Culture time (hr)	DCW* (g mL <sup>-1</sup> )	Final pH	Inhibitory zone (mm) against <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
24	0.04	6.92	15.4
48	0.06	6.60	21.4
72	0.05	6.84	24.3
96	0.03	6.70	20.0

\*Dry cell weight

**Table 5.** Effect of the temperature on the cell growth and antifungal activity

Temperature (°C)	DCW (g mL <sup>-1</sup> )	Inhibitory zone (mm) against <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
0	·	8
25	0.02	18.4
30	0.04	24.1
35	0.06	25.6
40	0.02	19.2

**Table 6.** Effect of the initial pH on the cell growth and antifungal activity

Initial pH	DCW (g mL <sup>-1</sup> )	Final pH	Inhibitory zone (mm) against <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
3	·	·	8
4	·	·	8
5	0.02	5.75	18.4
6	0.05	6.82	25.9
7	0.04	7.42	23.8
8	0.03	8.27	22.1
9	0.03	9.34	19.0

된다는 것을 보여주었다. 또 다른 *Bacillus* sp.를 사용한 항진균성 물질 생산조건에 관한 연구에 의하면 pH 7에서 최적 활성을 보였고(이 등 2008) 또 *B. licheniformis*를 사용한 연구에서는 최적 pH가 8로 보고된 바 있다(박 등 2005). 그러나 본 균주의 경우, 최적 pH가 6이라고 보고한 박 등의 *B. subtilis*를 사용한 항진균 활성연구결과와는 일치함을 보여주었다(박 등 2006).

##### 4) 탄소원의 영향

탄소원에 따른 항생물질의 생산을 검토하기 위하여 기본배지에 각종의 탄소원을 1.0% (w/v)씩 첨가하고 종균 배양액을 1.0% (v/v)씩 접종하여, 35°C에서 72시간 진탕 배양시킨 후 원심분리하여 배양 상등액의 항진균활성을 측정하였다. Table 7과 같이 glucose를 탄소원으로 사용하였을 때 생산성이 가장 높았다. 또한 항생물질 생산을 위한 glucose 농도를 검토한 결과 Table 8에서 보는 바와 같이 glucose의 농도를 1.5% (w/v) 첨가하였을 때 가장 좋았으며, 그 이상의 농도에서는 감소하는 경향을 나타

**Table 7.** Effect of the carbon sources on the antifungal activity

Carbon sources	Inhibitory zone (mm) against <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
Control	24.9
Dextrin	18.4
Glucose	26.8
Mannitol	18.2
Sucrose	24.1
Fructose	21.0
Lactose	21.1
Raffinose	18.0
Cellulose	14.0
Galactose	15.0
Maltose	18.0
Soluble starch	25.9
Xylose	19.0

**Table 8.** Effect of the glucose concentration on the cell growth and antifungal activity

Conc. (%)	DCW* (g mL <sup>-1</sup> )	Final pH	Inhibitory zone (mm) against <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
0.5	0.03	6.64	20.1
1.0	0.04	6.70	20.2
1.5	0.06	6.75	26.5
2.0	0.05	6.97	24.4
2.5	0.05	6.74	21.3
3.0	0.04	6.95	20.4

\*Dry cell weight

**Table 9.** Effect of the nitrogen sources on the antifungal activity

Nitrogen sources	Inhibitory zone (mm) against <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
Control	26.2
Yeast extract	27.5
Peptone	24.2
Tryptone	23.2
Beef extract	22.1
NH <sub>4</sub> Cl	8.00
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	8.00
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	8.00
(NH <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> HPO <sub>4</sub>	8.00

내었다. 이 결과는 탄소원의 종류에 따라 미생물의 생육과 이차대산산물인 항진균물질의 생산에 크게 영향을 준다는 사실과 일치하였으며 (Lounes *et al.* 1996) 적정 농도 이상의 glucose 첨가 시 항진균활성의 감소는 catabolite repression으로 인한 결과로 생각된다.

#### 5) 질소원의 영향

탄소원으로 glucose가 1.5%가 첨가된 기본배지에 각종의 유기질소원과 무기질소원을 각각 1.0% (w/v)씩 첨가하고 종균 배양액을 1.0% (v/v)씩 접종하여, 35°C에서 72시간 동안 진탕배양시킨 후 원심분리하여 배양 상등

**Table 10.** Effect of the yeast extract concentration on the cell growth and antifungal activity

Conc. (%)	DCW* (g mL <sup>-1</sup> )	Final pH	Inhibitory zone (mm) against <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>
0.5	0.07	6.64	27.8
1.0	0.05	6.70	26.7
1.5	0.04	6.75	25.5
2.0	0.04	6.67	24.9
2.5	0.04	6.74	24.8
3.0	0.05	6.75	24.0

\*Dry cell weight

액의 항진균활성을 측정하였다. 항진균활성에 미치는 각종 질소원의 영향을 검토한 결과, Table 9과 같이 yeast extract를 질소원으로 사용하였을 때 생산이 가장 좋았다. 또한 항생물질 생산을 위한 yeast extract 농도를 검토한 결과, Table 10에서 보는 바와 같이 yeast extract의 농도를 0.5% (w/v) 첨가하였을 때 가장 좋았으며, 그 이상의 농도에서는 서서히 활성이 감소하는 경향을 나타내었다. 이러한 적정농도 이상에서 활성이 감소되는 경향은 탄소원에서 나타난 저해와 마찬가지로 생각된다. 본 결과는 각각의 *B. licheniformis*와 *B. megaterium*을 사용한 항진균활성 연구들에서도 yeast extract가 가장 우수한 항진균 활성효과가 있었다고 보고한 결과와 유사한 결과를 보여주었다 (Lee *et al.* 2001; Jung *et al.* 2003).

## 적 요

새로운 항진균성 항생물질개발을 목적으로 고추탄저 병균인 *Colletotrichum gloeosporioides*에 대한 항생활성을 가지는 미생물을 토양으로부터 분리하여 동정한 결과, *Bacillus* sp. CJ-1로 동정하였다. 항생물질의 생산을 위한 배양조건을 검토한 결과, glucose 1.5% (w/v), yeast extract 0.5% (w/v), pH 6.0의 배지를 사용하여 35°C에서 72시간 진탕 배양하였을 때 항진균활성이 가장 좋았으며, 이때 피검균인 *C. gloeosporioides*에 대한 배양액의 생육저지환은 약 27.8 mm로 최대의 활성을 보여주었다. 피검균인 *C. gloeosporioides*에 대한 배양액의 생육저지현상을 현미경을 통해 관찰한 결과 배양액 12.5 μL mL<sup>-1</sup> 이상의 농도에서 뚜렷한 생육저해현상을 관찰할 수 있었으며 이는 피검균 포자의 발아억제현상과 연관되어 있을 것으로 추측된다.

## 참 고 문 헌

김성욱, 이지우, 이상환, 복 성. 1991. 토양으로부터 분리한

- 항진균성 활성을 나타내는 세균의 동정과 그 생물활성. 한국산업미생물학회지. 19:337-342.
- 박성민, 이준석, 박치덕, 이정훈, 정혁준, 유대식. 2006. 검은별 무늬병균 *Cladosporium cucumerinum* KACC40576에 대한 길항균주 *Bacillus subtilis* KMU-13의 선발 및 항진균 활성. 한국생물공학회지. 21:42-48.
- 박성민, 한선희, 유대식. 2005. 작물병원성 곰팡이에 대한 *Bacillus licheniformis* KMU-3의 항진균활성과 배양조건. 한국미생물생명공학회지. 33:112-116.
- 배 무. 1978. 농업용 항생물질의 현황과 전망. 산업미생물학회지. 6:141-148.
- 배 무, 고영희, 이화양, 조진호. 1982. *Streptomyces* sp.가 생산하는 항진균성 항생물질에 관한 연구. 한국산업미생물학회지. 10:39-43.
- 서정우, 임용호, 김성호, 현봉철, 김창완, 연창석, 이덕근, 김광표, 정재경, 이철훈. 1993. 신규항진균물질 AF-011A의 생물학적 활성 및 구조분석. 한국산업미생물학회지. 21:564-5614.
- 손광현, 이항우, 김성욱, 복성해, 김정희. 1994. *Bacillus subtilis* 항진균리포펩타이드물질 Iturin의 생산. 한국생물공학회지. 9:224-229.
- 이은탁, 김상달. 2000. 생물방제균 *Pseudomonas fluorescens* 2112의 선발과 고추역병균에 대한 항진균성 길항작용. 한국미생물생명공학회지. 28:334-340.
- 이중복, 신정학, 장종욱, 신기선, 최충식, 김건우, 조민섭, 전준표, 김윤희, 권기석. 2008. 고추역병 유발병원 *Phytophthora capsici*에 대한 *Bacillus* sp. AM-651의 항진균활성. 한국미생물생명공학회지. 36:227-232.
- Ames BN. 1979. Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer. Science. 204:587-593.
- Cook RJ. 1985. Biological control of plant pathogens: Theory to application. Phytopathol. 75:25.
- Demain AL. 1983. New applications of microbial products. Science. 219:709-714.
- Elad Y and I Chet. 1987. Possible role of competition for nutrients in biocontrol of *Pythium* damping-off by bacteria. Phytopathol. 77:190-196.
- Ferreira JHS, FN Matthee and AC Thomas. 1991. Biological control of *Eutypa lata* on grapevine by an antagonistic strain of *Bacillus subtilis*. Phytopathology. 133:134-138.
- Fravel DR. 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. Annu. Rev. Phytopathol. 26:75-91.
- Gueldner RC, CC Reilly, PL Pusey and CE Costello. 1988. Isolation and identification of iturins as antifungal peptides in biological control of peach brown rot with *Bacillus subtilis*. Agric. Food. Chem. 36:366-370.
- Henis Y and I Chet. 1975. Microbial control of plant pathogen. Adv. Appl. Microbiol. 19:85-111.
- Holt JG, NR Kreig, PHA Sneath, JT Staley and ST Williams. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology., 9th. Williams Wilkins. U.S.A.
- Jung HK and SD Kim. 2003. Purification and characterization of an antifungal antibiotics from *Bacillus megaterium* KL39, a biocontrol agent of red-pepper phytophore blight disease. Kor. J. Microbiol. Biotechnol. 31:235-241.
- Katz E and A Demain. 1977. The peptide antibiotics of *Bacillus* Chemistry, biogenesis, and possible function. Bacteriol. Rev. 41:449-474.
- Kim JM, MW Lee and YH Han. 1998. Antifungal activity of *Pseudomonas* sp. DGUM5051 against apple bitter-rot causing fungus, *Glomerella cingulata*. Kor. J. Mycology. 26:458-466.
- Lange L, J Breinholt, FW Rasmussen and RI Nielson. 1993. Microbial fungicides-The natural choice. Pest. Sci. 39:155-160.
- Lee JP and BJ Moon. 2001. Cultural characteristic of antagonistic bacterium, *Bacillus licheniformis* NI against *Botrytis cinerea*. Kor. J. Life Science. 11:173-180.
- Lounes A, A Lebrihi, C Benslimane and G Lefebvre. 1996. Regulation of spiramycin synthesis in *Streptomyces ambofociens* effects of glucose and inorganic phosphate. Appl. Microbiol. Biotechnol. 45:204-211.
- Omura S. 1992. The Search for Bioactive Compounds from microorganisms. Springer-Verlag. Tokyo. 213-262.
- Phae CG, M Shoda and H Kubota. 1990. Suppressive effect of *Bacillus subtilis* and it's products on phytopathogenic microorganisms. J. Fermet. and Biolog. 69:1-7.
- Phister TG, DJO Sullivan and LL Mackay. 2004. Identification of baciliycin, chlorotataine and itulin A produced by *Bacillus* sp. strain CS93 isolated from Pozol, a Mexican fermented maize dough. Appl. Environ. Microbiol. 70:631-634.
- Shoda M. 2000. Bacterial control of plant diseases. J. Biosci. Bioeng. 89:515-521.
- Spadaro D and M Gullino. 2005. Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens. Crop Prot. 24:601-613.
- Staub T and D Sozzi. 1984. Fungicide resistance; A continuing challenge. Plant Dis. 68:1026-1031.
- Vanittanakam N and W Loeffler. 1986. Fengycin-A novel antifungal lipopeptide antibiotic produced by *Bacillus subtilis* F-29-3. J. Antibiotics. 36:888-901.
- Vincente MF, A Basilio, A Cabello and F Peldaez. 2003. Microbial natural products as a source of antifungals. Clinical Microbiol. Infect. 9:15-32.
- Xu GW and DC Gross. 1986. Field evaluation of the interactions among fluorescent *Pseudomonas*, *Erwinia cartovora* and potato fields. Phytopathol. 71:423-443.