

Penicillium sp.를 이용한 토끼풀의 생물학적 방제

김판경 · 박동진 · 최정섭¹ · 황인택¹ · 홍경식¹ · 김창진*

KIST 생명공학연구소, ¹한국화학연구소

초록 : 유기합성농약에 의한 환경오염 문제를 해결할 수 있는 미생물제초제를 개발할 목적으로 토끼풀로부터 분리된 *Penicillium* 곰팡이를 사용하였다. 토끼풀에 대한 제초활성 검정 실험을 통하여 선발된 F40362, F40496, F40497 등 3 균주의 포자를 여러 가지 생물고분자물질과 담체를 이용하여 제제화한 후 다양한 식물에 대한 제초활성을 조사하였다. 선발된 3 균주의 제제형태에 따른 제초활성은 $2 \times 10^6 \sim 4 \times 10^6$ 포자농도에서 토끼풀에 대하여 100%의 활성을 나타내는 rice bran-corn starch 제제가 가장 우수하였다. 동일한 제제로 잔디와 주요 식량작물, 그리고 밭잡초에 대하여 제초활성을 조사한 결과 잔디종인 *Zoysia japonica*에서 1×10^{10} 포자농도에서도 영향이 없었으며 작물중에서는 목화에 대하여 비교적 높은 감수성을 나타내었고 콩과 식물에 대해서는 4.5×10^7 포자농도에서 30 이상의 병해를 나타내었다. 농도에 따른 밭잡초 실험결과에서는 rice bran-corn starch 제제(4.5×10^7 포자수/g)를 2~2.5 g/350 cm² pot 수준으로 처리하는 것이 적당한 것으로 나타났다. 이상에서 본 제제는 잔디와 토끼풀에 있어서는 높은 선택성을 나타내며 다른 작물과 잡초에 있어서는 비선택적인 제초활성을 나타내었다. (1996년 10월 9일 접수, 1996년 11월 21일 수리)

서 론

잡초는 작물의 생장에 필수적인 수분, 영양분, 그리고 태양광선을 작물과의 경쟁에 의해 차지하므로써 작물의 질과 수량을 떨어뜨리는 농업생산에 있어 중요한 제한요인이다. 그동안 유기합성 농약의 개발은 농업의 생산성에 크게 기여하여 왔다. 그러나 유기합성 농약의 많은 문제점¹⁻³⁾으로 인해 환경오염을 줄일 수 있는 생물농약을 개발하기 위하여 세계각국에서는 많은 연구를 수행하고 있다. 특히 미생물제초제 분야에서는 미생물 대사산물 및 잡초 병원균을 이용하여 문제잡초를 생물학적으로 방제하려는 연구가 이루어지고 있다. 이 방법은 잡초에 대한 선택성이 뛰어나고 유기합성 농약에 비해 환경오염이 적을 뿐 만아니라 개발 비용이 적게 든다는 장점이 있다.⁴⁻⁷⁾

생물농약의 제제화에 관해서는 여러 가지 생물 고분자물질과 담체를 사용하여^{8,9)} 포장에서 균체의 안정성과 지속성을 높이고자 하는 연구 보고가 많으며 특히 미생물살충제로서는 *Bacillus thuringiensis*의 exotoxin을 코팅하는 방법에 대하여 많이 보고되었다.¹⁰⁻¹²⁾ 그 밖에 독일산 느릅나무병의 방제를 위한 carbendazim 제제,¹³⁾ 곤충병원성 곰팡이를 alginate와 corn starch로 제제화한 연구¹⁴⁾ 등이 있다. 현재 세계적으로 상품화되거나 등록 시험중인 미생물제초제는 미국 Florida주 감귤농장의 stangler vine(Milkweed vine, *Morrenia odorata*) 방제용으로 *Phytophthora palmivora* 균주를 이용한 액체 제제인 DeVine,¹⁵⁾ 벼와 콩 경작지의 자귀풀 방제용으로 *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* 균주의 포자를 분체 형태로 이용한 Collego,¹⁶⁻¹⁸⁾ 콩 경작지의 기생 식물인 새삼(dodder, *Cuscuta* sp.)을 방제

하기 위하여 *Colletotrichum gloeosporioides* 균주를 이용한 Lubao,¹⁹⁾ 미국과 캐나다의 아마와 밀 경작지의 원형잎말뚝(*Malva pusilla*) 방제용으로 *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *malvae* 균주의 포자를 분말화하여 제제로 만든 Biomal,²⁰⁾ 호주의 spiny cocklebur(*Xanthium spinosum*) 방제용으로 *Colletotrichum orbiculare*이라는 병원균을 이용한 Bur Anthracnose,²¹⁾ 콩과 잡초인 sicklepod(*Cassia obtusifolia*)와 coffee senna(*C. occidentalis*)의 방제용으로 *Alternaria cassiae*를 이용한 Casst²²⁾ 등이 있다. 이와 같이 외국에서는 잡초병원균을 이용한 미생물제초제가 이미 개발되었거나 현재 개발 연구 중에 있다.^{23,24)}

본 연구에서는 전보²⁵⁾에서 선발된 *Penicillium* sp. F40362, F40496, F40497 등 3균주를 사용하여 토끼풀의 방제에 적합한 제제조건을 실험하였으며 몇가지 콩과식물을 비롯하여, 주요 식량작물에 대한 제초활성을 조사하였다. 그리고 밭작물 재배시 문제가 되고 있는 잡초를 대상으로 제초활성과 적정 포자농도를 조사하였다.

재료 및 방법

사용 균주

토끼풀의 병반에서 분리된 곰팡이 균주중에서 전보²⁵⁾의 제초활성 검정 및 발병력시험을 거쳐 선발된 *Penicillium* sp. F40362, *Penicillium* sp. F40496, *Penicillium* sp. F40497 등 3균주를 사용하였다.

실험 식물

방제대상 잡초로서는 토끼풀(*Trifolium repens* L.)을 사

찾는말 : 미생물제초제, 토끼풀, 제제, 제초활성, *Penicillium* sp.
*연락처자

용하였고 대비식물로서는 2 종의 잔디(*Zoysia japonica*, *Agrotis palustris*)를 사용하였으며 화학연구소 농약스크리닝 연구실의 다양한 작물과 콩과식물, 발잡초를 사용하였다. 공시작물로서는 수수(sorghum), 벼(rice), 옥수수(corn), 콩(soybean), 목화(cotton), 밀(wheat)을 사용하였다. 콩과 식물은 강남콩(kidneybean), 완두(pea), 루핀(lupine) 등을 사용하였다. 공시잡초로써 돌피(*Echinochloa crusgalli* P. Beauv), 개밀(cheatgrass), 바랭이(large crabgrass), 미국개기장(Fall panicum), 까마중(black nightshade), 자귀풀(Indian jointvetch), 어저귀(velvetleaf), 도꼬마리(cocklebur), 메꽃(bindweed) 등을 사용하였다.

미생물의 제제화

Corn starch, alginate, wheat bran, rice bran 등 몇가지 생물 고분자물질 및 담체를 사용하여 선발된 균주의 포자를 제제화 한 후 각 식물에 처리하여 봄으로써 제초활성을 검정하였다. 이 때 각 제제별 제제화는 다음과 같은 방법으로 실시하였다.

(1) Sodium alginate 제제

Potato dextrose agar배지에서 성장한 식물병원균 포자를 일정농도로 현탁한 500 ml의 멸균수와 100% ethanol 10 ml에 sodium alginate 5 g을 가하여 혼합한다. 이 혼합물을 교반기상에서 교반하면서 4% $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 를 한방울씩 떨어 뜨려 불용성 침전물을 형성시킨다. 2~3분 간 반응시킨 후에 여과하여 혼합액의 액상을 제거하고 남아 있는 침전물을 금속접시로 옮겨서 hood 내에서 건조시킨다. 건조 후 blender로 잘 갈아 120 mesh 크기의 sieve에 통과시켜 분말제제화 한다.

(2) Corn starch 제제

멸균수에 10% corn starch를 가하고 121°C에서 30분간 멸균하여 젤라틴화 시켜 약 40°C로 식힌 다음 일정 농도의 포자와 섞은 후 3~4시간 동안 굳히고 젤라틴화 되지 않은 corn starch 50 g과 잘 섞어서 만든 작은 조각을 hood 내에서 12시간 이상 건조시킨다. 완전히 건조 후에 blender로 갈아 120 mesh 크기의 sieve에 통과시켜 분말제제화한다.

(3) Wheat (or rice) bran-corn starch 제제

Wheat bran 혹은 rice bran 200 g에 멸균수 300 ml을 부어 수분이 완전히 스며들도록 한 다음 1 l 플라스크에 넣고 121°C에서 30분간 멸균하여 식힌 다음 균주를 접종한다. 25°C에서 10일 이상 배양하여 포자가 충분히 형성 되도록 한다. 멸균수 500 ml에 corn starch 20 g, agar 7 g을 넣고 121°C에서 30분간 멸균하여 젤라틴화 시킨 후 약 40°C로 식힌다. 이것을 bran 배지에서 충분히 자란 포자가 들어 있는 플라스크에 넣어 섞는다. 이 혼합액을 금속접시에 옮겨 굳히고 작은 조각으로 부수어 hood 내에서 12시간 이상 건조시켜 만든다. 완전 건조 후에 blender로 갈아 120 mesh 크기의 sieve에 통과시켜 분말제제화한다.

제초활성 실험

제초활성 평가는 한국화학연구소 농약활성 연구팀의 평가 방법²⁰⁾에 따라 달관조사하였다. 0; (no effect), 10~30; (slight effect), 40~60;(moderate effect), 70~90;(severe effect), 100;(complete death)를 기준으로 하여 11등급으로 각각의 제초활성 정도를 평가하였는데 70 이상의 활성을 나타내면 제초활성이 있다고 인정하였다.

토끼풀과 잔디에 대한 실험

토양 150 g이 충전된 직경 6.5 cm, 높이 7.0 cm의 비닐 pot에 수원 축산시험장에서 분양 받은 토끼풀 종자 20~30립을 파종한 후 2~4주 성장시켜 사용하였다. 잔디는 유성 컨트리 크립에서 분양받았으며 골프장용 잔디로 사용하는 한국 들잔디(*Zoysia japonica*)와 한지형 잔디(*Agrostis palustris*)를 비닐 pot(40 cm²)에 일정한 크기씩 옮겨 심어 약해를 조사하였다. 분말화 된 각 미생물제제를 일정 농도로 증류수에 현탁하여 식물에 분무처리한 후 28~30°C로 조절된 온실내에서 계속적으로 관찰하면서 실험하였고 14일 후에 평가하였다.

식량작물과 발잡초에 대한 실험

공시작물과 콩과식물, 발잡초의 종자를 각각 표면적 350 cm²의 사각 pot에 파종 후 28°C 온실에서 14일 이상 생장시킨 후 실험에 사용하였다. 공시작물은 rice bran-corn starch 제제(1.0×10^8 포자수/g)을 pot당 3 g씩 분무처리하여 약해를 관찰하였다. 콩과 식물에 대한 반응은 rice bran-corn starch 제제(4.5×10^7 포자수/g) 3 g을 증류수에 현탁하여 분무처리 후 관찰하였다. 발잡초에 대한 활성은 rice bran-corn starch 제제(4.5×10^7 포자수/g)을 각 pot에 0.5 g, 1 g, 1.5 g, 2 g, 2.5 g씩 처리한 후 관찰하였다. 이상의 실험은 28°C로 조절된 온실내에서 계속적으로 관찰하면서 실시하였고 14일 후에 평가하였다.

결과 및 고찰

제제 형태에 따른 제초활성

식물병원균의 포자를 corn starch, alginate, wheat bran-corn starch, rice bran-corn starch 등 4가지 형태의 제제를 만들어 2~3엽기로 성장된 토끼풀에 처리하였으며 발병력에 따른 실험결과를 Table 1에 나타내었다.

Alginate 제제는 식물체 표면에 처리 되었을 때 포자 발아력이 현저히 떨어지며 이에 따른 발병력도 저하되어 활성이 가장 낮았다. Corn starch 제제는 3~4일 경과 후에 서서히 발아하기 시작하여 느린 속도로 식물체에 손상을 주기 시작하여 약 15일 경과 후에 부분적으로 숙주식물을 고사시켰다. 제초활성은 주로 bran류와 corn starch를 함께 사용하여 만든 제제에서 높게 나타났다.

활성의 특징으로서는 제제가 살포된 옆면에서 부터 포자가 발아되기 시작하여 3일 경과 후에는 엽병과 줄기로 전이되어 식물체 전체로 확산되고 6일 경과 후에는 식물체의 90% 이상을 도복시키는 것이 관찰되었다. 따라서 bran류

Table 1. Mycoherbicidal activity of various spore doses of formulation prepared by *Penicillium* sp. strains against *Trifolium repens* L. (number of spores/40 cm² pot)

<i>Penicillium</i> sp.	Alginate			Corn starch			Wheat bran-corn starch			Rice bran-corn starch		
	1×10 ⁸	2×10 ⁸	4×10 ⁸	1×10 ⁸	2×10 ⁸	4×10 ⁸	1×10 ⁸	2×10 ⁸	4×10 ⁸	1×10 ⁸	2×10 ⁸	4×10 ⁸
F40362	10	20	40	ND	0	10	20	50	100	10	40	80
F40496	ND	ND	ND	ND	0	10	10	40	90	50	60	100
F40497	ND	ND	ND	ND	0	10	10	20	60	30	100	100

ND; not determined. Mycoherbicidal activities were observed at 14 days after treatments.

Table 2. Mycoherbicidal activity of various spore doses of rice bran-corn starch formulation prepared by *Penicillium* sp. strains against turfgrasses (number of spores /40 cm² pot)

<i>Penicillium</i> sp.	<i>Zoysia japonica</i>			<i>Agrostis palustris</i>		
	1×10 ⁸	1×10 ⁹	1×10 ¹⁰	1×10 ⁸	1×10 ⁹	1×10 ¹⁰
F40362	0	0	0	0	0	20
F40496	0	0	0	0	10	20
F40497	0	0	0	0	10	20

제제가 발병에 우수한 매개체 역할을 하는 것으로 평가되었다.

효과적인 포자농도로서는 F40362 균주의 경우 4×10⁸ 포자농도로 처리시 wheat bran-corn starch 제제로 처리하였을 때 효과적이었으며, F40496 균주의 경우는 rice bran-corn starch 제제로 처리하였을 때 동일한 농도에서 효과적이었다. F40497 균주는 rice bran-corn starch 제제의 사용시 F40496 균주의 경우 보다 다소 낮은 2×10⁸ 포자농도에서도 아주 강한 제조활성을 나타내었다(Table 1). 따라서 bran류 제제에서는 2~4×10⁸ 포자농도/pot가 적절한 유효 포자농도로 판단된다.

잔디에 대한 약해 검정

가장 높은 제조활성을 나타낸 rice bran-corn starch 제제로써 대조 식물인 잔디에 대한 약해를 조사하였다. 최적 활성농도인 1×10⁸ 포자수/g을 포함하여, 1×10⁹, 1×10¹⁰ 포자농도로 한국 들잔디(*Zoysia japonica*)와 한지형 잔디(*Agrostis palustris*)에 처리한 결과 한국 들잔디에는 전혀 손상을 주지 않았으며 한지형 잔디에 대해서는 역시 식물체 조직에 발병하지 않았지만 1×10⁹ 포자수/g 이상의 고농도로 처리할 경우 처리 후 약 20일 째에 대조구에 비해 생장이 약간 저해되는 현상이 관찰되었다(Table 2).

작물에 대한 반응실험

준비된 미생물제조제로서 옥수수, 콩, 목화, 밀, 벼 등의 주요 작물에 대한 약해정도를 조사한 결과 벼와 밀에는 비교적 약한 약해를 보였으나 괴사 또는 고사되는 부위가 관찰되었다. 옥수수와 콩은 벼와 밀보다 전반적으로 약간 높은 약해를 보였으며 F40496 균주는 옥수수에서 F40497 균주는 콩에서 생육억제 현상이 나타났다. F40362 균주는 콩에서 가장 낮은 약해를 보였으며 작물 가운데 특히 목화는 F40362와 F40497 균주에 대해 감수성이 높은 것으로 나타났다. 괴사와 생육억제 현상이 관찰되었다(Table 3).

Table 3. Response of several crops to spraying rice bran-corn starch formulation of *Penicillium* sp. strains

Plant species ^a		Herbicidal activity of <i>Penicillium</i> sp. strain at 1×10 ⁸ spores/g		
Common name	Scientific name	F40362	F40496	F40497
Corn	<i>Zea mays</i> L.(grass)	50(A)*	50(AB)	40(A)
Soybean	<i>Glycine max</i> L.	20	45(A)	50(AB)
Cotton	<i>Gossypium hirsutum</i> L.	60(AB)	40(A)	70(AB)
Wheat	<i>Triticum aestivum</i> L.	30(AC)	20(A)	30(C)
Rice	<i>Oryza sativa</i> L.	25(A)	30(A)	20(A)

* () A; necrosis, B; stunting, C; desiccation ^aEach plant was grown to 3~4 leaf stage and inoculated with formulation (3 g/350 cm² pot).

콩과식물에 대한 반응 실험

황금콩, 강남콩, 완두, 루핀, 자귀풀, 토끼풀 등 몇종의 콩과 식물들에 대하여 본 실험에서 제제화한 미생물제조제로써 활성을 조사한 결과 선발된 3균주 모두 30 이상의 활성을 나타내었다. 자귀풀(Indian jointvetch)에 대해서는 3균주 모두 70 정도의 활성을 나타내었으며 F40496 균주는 자귀풀을 비롯하여 루핀, 크로버, 완두에서 강한 활성을 나타내었다. F40497 균주는 자귀풀과 루핀에서 비교적 높은 활성을 나타내었다(Table 4). 이와 같은 Table 3과 Table 4의 결과를 종합해 볼 때 본 연구에서 만든 미생물제조제는 비선택성 제조제로써 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

밭 조건에서의 농도 실험

수수와 국내 밭 경작지에서 많이 출현하는 8종의 잡초를 대상으로하여 본 실험에서 제제화한 미생물제조제의 적절한 사용농도 범위를 조사하였다. 그 결과 작물인 수수에서는 rice bran-corn starch 제제(4.5×10⁷spores/g)를 주어진 pot에 2.5 g을 처리하였을 때 효과가 있었다. 그 이하의 농도에서 메꽃은 0.5 g, 도꼬마리는 1 g 처리시 부터 유효한 제조활성을 나타내었으며 1.5 g 이상 처리시에는 완전한 제조활성 효과를 보였다. 그 외 바랭이, 까마중, 자귀풀, 어저귀 등은 1.5 g을 처리하였을 때부터 유효한 제조활성 효과를 보였다. 그리고 돌피와 개밀은 2.5 g 이상 처리했을 때 유효한 제조활성을 보였다. 따라서 밭조건에 있어서 본 미생물제조제(rice bran-corn starch 제제; 4.5×10⁷ 포자수/g)의 적절한 사용량은 2~2.5 g/350 cm² pot 정도라 할 수 있다(Table 5, Fig. 1).

Table 4. Response of several Leguminosae to spraying rice bran-corn starch formula of *Penicillium* sp. strain

Plant species ^a		Herbicidal activity of <i>Penicillium</i> sp. strain at 4.5×10^7 spores/g		
Common name	Scientific name	F40362	F40496	F40497
Soybean	<i>Glycine max</i> L.	50	55	50
Kidneybean	<i>Phaseolus multiflorus</i>	35	50	33
Pea	<i>Pisum sativum</i> L.	38	90	65
Lupine	<i>Lupinus arboreus</i>	50	85	78
Indian jointvetch	<i>Aeschynomene indica</i> L.	70	70	70
Clover	<i>Trifolium repens</i> L.	60	70	60

^aEach plant was grown to 3-4 leaf stage and inoculated with formulation (3 g/350 cm² pot).

Table 5. Response of sorghum and weeds to spraying rice bran-corn starch formula of *Penicillium* sp. F40497 at various doses

Plant species ^a		Herbicidal activity ^b at g/350 cm ²				
Common name	Scientific name	0.5	1	1.5	2	2.5
Common sorghum	<i>Sorghum bicolor</i> Moench*	0	0	0	0	20
Barnyardgrass	<i>Echinochloa crus-galli</i> P. Beauv*	15	33	68	63	78
Cheatgrass	<i>Agropyron smithii</i> Rydb*	5	8	63	60	70
Large crabgrass	<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scop*	35	40	70	60	80
Black nightshade	<i>Solanum nigrum</i> L.	8	50	95	100	95
Indian jointvetch	<i>Aeschynomene indica</i> L.	13	60	80	83	93
Velvetleaf	<i>Abutilon avicennae</i> Gacrtn	10	35	70	73	80
Cocklebur	<i>Xanthium strumarium</i> L.	50	88	100	100	100
Bindweed	<i>Calystegia japonica</i> Choisy	75	75	83	100	98

*Grass ^aEach plant was grown to 3-4 leaf stage and inoculated with formulation. ^bSpore content was 4.5×10^7 spores/g.

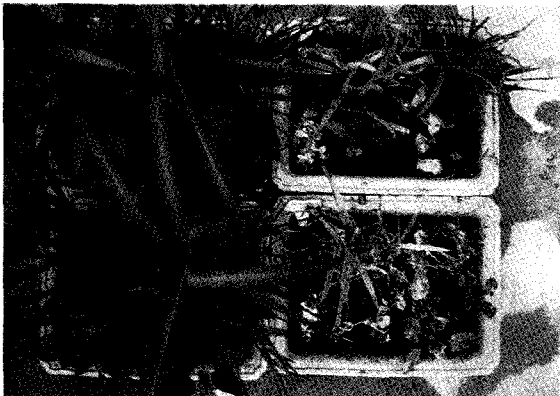


Fig. 1. Mycoherbicidal effect on several crops and weeds 14 days after treatment with rice bran-corn starch formulation (4.5×10^7 spores/g) of F40497.



Fig. 2. Mycoherbicidal effect on *Trifolium repens* L. 14 days after treatment with rice bran-corn starch formulation (4.5×10^7 spores/g) of F40497. a: treated, b: untreated.

포장시험

앞의 실험에서 가장 효과적인 것으로 나타난 rice bran-corn starch 제제를 직접 잔디밭에 자생한 크로버에 부분적으로 적용하여 보았다. 그 결과 처리 14일 후 한국 들잔디에는 발병되지 않고 크로버는 90% 이상 고사시키는 결과를 나타내었다. 따라서 차후 잔디밭 및 초지의 크로버를 선택적으로 제초할 수 있는 미생물제초제로서 실용화 될 수 있음을 시사하였다(Fig. 2).

참고 문헌

- Ames, B. N. (1979) Identifying environmental chemicals causing mutations and cancer. *Science* **204**, 587-593.
- Delp, C. J. (1988) Fungicide resistance in North America. APS press, 133pp.
- Staub, T. and D. Sozzi (1984) Fungicide resistance: A continuing challenge. *Plant Dis.* **68**, 1026-1031.
- Charudattan, R., and S. H. L. Walker (1982) Biological control of weeds with plant pathogen. John Wiley & Sons, Inc., New York, 293pp.
- Cutler, H. G. (1988) Perspectives on discovery of microbial phytotoxins with herbicidal activity. *Weed Tech.* **2**, 525-532.
- Hodgson, R. H., L. A. Wymore, A. K. Watson, R. H. Snyder and A. Collette (1988) Efficacy of *Colletotrichum*

1. Ames, B. N. (1979) Identifying environmental chemicals

- coccoides* and *Thidiazuron* for velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) control in soybean (*Glycine max*). *Weed Tech.* **2**, 473-480.
7. Kenfield, D., G. Bunkers, G. A. Strobel and F. Sugawara (1988) Potential new herbicides-phytotoxins from plant pathogens. *Weed Tech.* **2**, 519-524.
 8. Hackel U., J. Klein, R. Megnet, and F. Wagner (1975) Immobilization of microbial cells in polymeric matrices. *J. Appl. Microbiol.* **1**, 291-293.
 9. Fravel, D. R., J. J. Marois., R. D. Lumsden, and W. J. Connick, Jr. (1985) Encapsulation of potential biocontrol agents in an alginate-clay matrix. *Phytopathology* **75**, 774-777.
 10. Mcguire, M. R., and B. S. Shasha (1990) Sprayable self-encapsulating starch formulations for *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.* **83**, 1813-1817.
 11. Zehnder, G. W., and W. D. Gelernter (1989) Activity of the M-ONE formulation of a new strain of *Bacillus thuringiensis* against the Colorado potato beetle (Coleoptera:Chrysomelidae): Relationship between susceptibility and insect life stage. *J. Econ. Entomol.* **82**, 756-761.
 12. Bok. S. H, H. W. Lee, K. H. Son, S. U. Kim, and J. W. Lee (1992) Process for preparing coated microbial pesticides and pesticides produced therefrom. *United States Patent*. (patent no. 5,273,749)
 13. Cooke, L. R., R. Derek, P. G. Clifford and M. E. Holgate (1980) Carbendazim formulations for the eradication of dutch elm disease. *Pestic. Sci.* **11**, 297-300.
 14. Pererira, R. M., and D. W. Roberts (1991) Alginate and corn starch mycelial formulation of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *J. Econ. Entomol.* **84**, 1657-1661.
 15. Kenney, D. S. (1986) DeVine-The way it was developed-an industrialist's views. *Weed Sci.* **34**, (suppl.1) 15-16.
 16. Te Beest, D. O., X. B. Yang and R. Smith (1992) The status of biological control of weeds with fungal pathogens. *Ann. Rev. Phytopathol.* **30**, 637-657.
 17. Templeton, G. E., D. O. Te Beest and R. J. Smith Jr. (1984) Biological weed control in rice with a strain of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. used as a mycoherbicide. *Crop Prot.* **3**, 409-422.
 18. Te Beest, D. O. (1988) Addition to the host range of *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynme*. L. *Plant Dis.* **72**, 16-18.
 19. Watson, A. K. (1992) Biological and other alternative control measures. In Proceedings of the First International Weed Control Congress, ed. by L. H. Combellack, K. J. Levick, J. Parsons and R. G. Richardson, *Weed Sci. Soc. Victoria Inc.*, Melbourne, pp. 64-73.
 20. Mortensen, K. (1988) The potential of an endemic fungus *Colletotrichum gloeosporioides*, for biological control of round-leaved mallow (*Malva pusilla*) and velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). *Weed Sci.* **36**, 473-478.
 21. Auld, B. A., M. M. Say, H. I. Ridings and J. Andrews (1990) Field applications of *Colletotrichum orbiculare* to control *Xanthium spinosum*. *Agric. Ecosyst. Environ.* **32**, 315-323.
 22. Boyette, C. D. (1988) Biocontrol of three leguminous weed species with *Alternaria cassiae*. *Weed Technol.* **2**, 414-417.
 23. Baldwin, F. L. and J. W. Boyd (1989) Recommended chemicals for weed and brush control. MP-44 Arkansas, Cooper. Ext. Service, Univ. of Arkansas, and USDA. pp. 103.
 24. Sharad, C., R. Donala, D. Homer, K. Durham and C. Norman (1982) Biological control of yellow nutsedge with the indigenous rust fungus *Puccinia canaliculata*. *Science* **219**, 1446-1447.
 25. 김판경, 박동진, 최순용, 김창진 (1996) 토끼풀(*Trifolium repens* L.)에 제초활성을 나타내는 *Penicillium* sp.의 탐색. *한국농화학회지* **39**, 455-459.
 26. 조광연, 김진석, 홍경식, 황인택, 김병섭, 유주현, 김길하 (1994) 농약스크리닝(I,II,III) 과학기술처.

Biological Control of Clover by *Penicillium* sp.

Pan-Kyung Kim, Dong-Jin Park, Jung-Sub Choi¹, In-Taek Hwang¹, Kyung-Sik Hong and Chang-Jin Kim*
(Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology, KIST, P. O. Box 115, Yusong, Taejeon 305-600, Korea;
¹Korea Research Institute of Chemical Technology, P. O. Box 107, Yusong, Taejeon 305-606, Korea)

Abstract : Among 980 fungal strains isolated from the lesions of *Trifolium repens* L. and various weeds, three *Penicillium* sp. F40362, F40496, F40497 were selected by the first selection test and a pathogenicity test. The spores of these strains germinated readily 90 to 100% and readily infected the respective plant. The wheat bran-corn starch formulation of F40362 strain showed 100% mycoherbicidal activity against clover plant at 4×10^8 spores/pot. The same formulations of F40496 and F40497 strains showed 100% mycoherbicidal activity against clover plant at $2 \times 10^8 \sim 4 \times 10^8$ spores/pot. The same formulations of three strains showed over 30% mycoherbicidal activity against Leguminosae plants. This method of pelletiation was potentially useful for the production of inoculum formulation as mycoherbicides and it was effective enough to treat 2~2.5 g formulation (4.5×10^7 spores/mg) to a 350 cm² pot. The three strains, F40362, F40496 and F40497 have selective mycoherbicidal activity between *Trifolium repens* L. and *Zoysia japonica* and nonselective mycoherbicidal activities against some other crop plants and weeds.

*Corresponding author