

가지 잿빛곰팡이병 방제용 생물농약 개발 및 방제 효과

김철승 · 이재필 · 송주희 · 임은경 · 정순재 · 하상영 · 문병주*

동아대학교 생명자원과학대학

Development of Biofungicide for Control of Gray Mold Rot of Eggplant Caused by *Botrytis cinerea*, and Bioassay in the Greenhouse Condition

Choul-Soung Kim, Jae-Pil Lee, Ju-Hee Song, Eun-Kyung Lim, Soon-Je Chung,
Sang-Young Ha and Byung-Ju Moon*

Faculty of Natural Resources and Life Science, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea

Abstract

To select the antagonistic bacteria against *B. cinerea*, isolates were screened from the eggplant leaves and rhizosphere soils in the eggplant fields in the greenhouses. W1 and P99 isolates were selected by the inhibition of mycelial growth of *B. cinerea* E12 *in vitro* test. These isolates, W1 and P99, were identified as *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas putida*, respectively, by the Bergey's manual and API systems. For the formulation of the antagonistic bacteria, the media for the mass production were prepared with biji(soybean curd residues) or soybean flour. *B. subtilis* W1 or *P. putida* P99 was mass cultured in biji broth or soybean flour extract broth, and then, soybean flour, corn starch flour, rice glutinous flour and biji flour as high molecular substrates were added. These mixtures were dried, grinded and formulated as biofungicides of wettable powder type. To assess the control effect of biofungicides against the infection of *B. cinerea*, six types of formulations were assayed at the pot culturing with eggplant in the greenhouse. According to the results, there were no significant differences among the formulation methods. However, P99S or P99B formulated with *P. putida* P99 showed the highest control values as 90.4% and 96.1%, respectively. Then, BSB or BSD formulated with *B. subtilis* W1 were 80.8% and 83.0%, respectively. There aforementioned values were more effective than that of chemical fungicide, Ipro W.P which showed as 72.6%.

Key words – *Botrytis cinerea*, identification, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida*, biological control, biofungicide, mass production

서 론

*Botrytis cinerea*는 다범성균으로서 딸기, 오이, 강남콩 등

의 많은 식물에 병을 일으키는데 가지에서도 잎, 꽃 및 열매에 발병하여 심각한 피해를 주는 것으로 김 등[8]에 의해 확인된바 있다. *Botrytis cinerea*는 유전적 변이가 심해 약제 내성균의 출현 빈도가 높고, 방제가 어려워 이로 인한 농약의 다량살포로 인해 인축에 대한 잔류독성 및 심각한 환경오염 문제를 일으키고 있다[14]. 따라서 화학적 방제의 대

*To whom all correspondence should be addressed

Tel : (051) 200-7554, Fax : (051) 200-6993

E-mail : bjmoon@mail.donga.ac.kr

체 방법으로 생물학적 방제 연구가 활기를 띠고 있으며, 생물농약의 개발과 실용화에 관한 연구 결과들이 많이 보고되고 있다[16,17].

전세계적으로 약 40여종의 생물농약 제품이 식물병 방제용으로 시판되고 있으며 이 중 감귤나무와 사과류의 잣빛곰팡이병 방제용으로 *Pseudomonas syringae*를 이용한 Biosave110과 딸기, 포도나무 등의 잣빛곰팡이병 방제용으로 *Trichoderma harzianum*을 이용한 Trichodex등의 제품이 시판되어 방제 효과가 입증되고 있다[2]. 하지만 가지 잣빛곰팡이병에 대한 효과적인 생물학적방제 연구는 국내외적으로 미약한 실정에 있다. 따라서, 본 논문에서는 가지 잣빛곰팡이병을 효과적으로 방제하기 위해 근권토양에서 분리한 길항균을 제제화하여 생물농약을 제조하고 이에 대한 방제 효과를 구명하고자 한다.

재료 및 방법

길항세균의 선발

가지 재배하우스내의 근권토양을 채취하여 1g을 100ml의 멸균수에 넣고 10단계 희석법으로 NA배지와 King's B agar 배지에 도말하여 세균을 분리하였다. 분리한 세균 75균주를 각각 Nutrient agar (NA)배지에 24시간 배양하여 PDA 배지상에서 공시 병원균 직경 1cm의 균사절편과 대치배양하고 20°C incubator에서 7일간 배양한 후 저지대의 크기를 조사하여 길항력을 가지는 균주를 길항균으로 선발하였다.

길항균의 동정

균사생장 억제효과가 확인된 길항세균을 동정하기 위하여 생화학적, 배양적 및 생리적 특성을 Bergey's manual[6, 9]에 따라 조사하여 동정하였으며, 아울러 정확성을 높이기 위하여 API system 20E와 50CHB를 이용하여 동정하였다.

대량배양 배지의 선발

선발된 우수 길항균을 제제화하여 생물농약으로 제조하기 위하여 250ml의 플라스크에 증류수 100ml를 넣고, 대량 배양 배지를 선발하기 위하여 시중에서 쉽게 구할 수 있는 엽가의 비지, 대두박, 보리맥아 등 농가 부산물 및 농가 폐기물을 각각 5%씩 첨가하고, 여기에 Nutrient broth (NB)

에 24시간 배양된 W1 균주 및 P99 균주 2ml(10^7 cells/ml)를 접종하여 30°C, 160rpm으로 72시간 배양하고 4시간 간격으로 세균의 밀도를 spectrophotometer (660nm)로 측정하여 세균의 밀도가 최고에 도달하는 시점에서 세균 밀도가 가장 높은 배지를 대량배양 배지로 선발하였다.

생물농약의 제조

선발된 길항세균을 제제화하여 생물농약으로 제조하기 위해 앞서의 실험에서 대량배양 배지로 선발된 대두박 또는 비지 배지 4ℓ에 W1 균주 및 P99 균주를 접종하고 7ℓ 발효기에서 30°C, 300rpm으로 72시간 배양하여 그 배양액에 여러 종류의 전착제 길항균의 보호제 및 영양원으로서의 기능을 갖는 여러 가지의 물질을 각각 다른 비율로 혼합하고 50°C 원디오븐에서 48시간 건조하여 브라인더로 분쇄하고 200mesh 체를 쳐 통과하는 분말을 수집하여 수화형 생물농약으로 제조하였다. 전착제로서 콩가루, 옥수수 전분, 쌀가루, 찹쌀가루, 밀가루 등을 공시하고 길항균의 보호제로서 콩기름, 올리브 오일, 옥수수 기름 등을 공시하였으며, 길항균의 영양원으로서 검은설탕, 흰설탕, 노란설탕 등을 공시하였고, 이것을 상온에서 유리병에 넣고 마개에 구멍을 뚫어 탈지면으로 봉인한 후 공기가 통하게 하여 보관하면서 실험에 사용하였다.

생물농약의 하우스내 포트 검정

길항세균으로 제조한 여러 종류의 수화형의 생물농약을 (10^9 cells/g) 100배 희석하여 분무기를 이용하여 하우스내에 포트에 파종하여 재식한 8~12엽기의 가지 잎의 앞, 뒷면에 골고루 분무 접종하고, 24시간 후에 병원균을 접종하여 상대 습도 90%, 25±5°C의 하우스내에서 보관하면서 2일 간격으로 발병도를 조사하여 방제가로 환산하였다. 이상의 생물농약의 방제효과 검정에서 병원균은 분생포자 형성에 양호한 것으로 선발된 배지에서 배양한 E12 균주의 분생포자 10^6 conidia/ml를 30% 토마토 주스에 부유하여 접종원으로 하였으며[10], 발병정도는 농약의 등록시험 기준과 방법[15]에 따라 다음과 같이 발병도를 조사하고 방제가로 환산하였다. 그리고, 병원균 접종 일주일 후부터 1주일 간격으로 생물농약을 3번 더 처리하고 마지막 처리 1주일 후에 처리별 가지열매의 수와 무게를 조사하였다.

$$\text{방제가(\%)} = \frac{\text{병원균 단독처리의 발병도} - \text{병원균과 생물농약등 조합처리의 발병도}}{\text{병원균 단독처리의 발병도}} \times 100$$

$$\text{발병도(\%)} = \frac{\sum(\text{발병수} \times \text{계수})}{4 \times \text{엽수}} \times 100$$

계수; 0-발병무, 1-병반면적을 1~5%, 2-병반면적을 5.1~20%, 3-병반면적을 20.1~40%, 4-병반면적을 40% 이상.

방제 효과가 확인된 생물농약(10^9 cells/g)을 농도별로 하우스내에서 방제효과를 검정하기 위해 50, 100, 300, 500배로 희석하여 가지의 잎, 꽃 및 열매에 처리한 후 24시간 후에 병원균을 접종하고 상대습도 90%, $25 \pm 5^\circ\text{C}$ 의 하우스에 보관하면서 2일 간격으로 발병도를 조사하여 방제가로 환산하였다.

결 과

길항세균의 선발

경남 김해시와 부산시 대저동 지역의 가지 재배 하우스 내 근원 토양에서 세균 75균주를 분리하여 PDA배지 상에서 병원균에 대한 균사생장 억제 효과를 검정한 결과 W1, P99, R1, R2 및 R3 균주가 균사생장 억제효과를 보였으며 그 중 W1과 P99 균주에 의한 억제효과가 가장 높았다(Table 1, Fig. 1).

Table 1. Inhibitory effects of 5 antagonistic bacteria on the mycelial growth of *Botrytis cinerea* E12 on PDA

Antagonistic bacteria	Inhibition zone(mm) ^a
P99	32.0
W1	41.0
R1	21.0
R2	12.0
R3	15.0

^aGrowth inhibition was determined after 7days of incubation at 25°C .

길항균의 동정

병원균에 대한 길항력이 우수한 것으로 확인된 W1 균주와 P99 균주를 동정하기 위하여 생리적, 배양적 특성을 조사하고 Bergey's manual에 따라 동정한 결과, W1 균주는 *Bacillus subtilis*, P99 균주는 *Pseudomonas putida*로 동정되었다(Table 2, 3). 동정의 정확성을 기하기 위해 2균주를 API system으로 동정한 결과, W1 균주의 유사도는 88.5%, P99 균주는 82.1%로 Bergey's manual에 의한 동정과 일치하였다.

대량배양배지의 선발

대량배양 배지를 선발하기 위하여 5%의 보리맥아, 대두박 및 비지 배지에 각각 P99와 W1 균주를 접종하고 3일간 배양하여 10단계 평판 희석법으로 세균수를 측정된 결과 P99 균주는 비지 배지에서 3.5×10^9 CFU/ml으로 세균수가 가장 많았으며, W1 균주는 대두박 배지에서 3.7×10^9

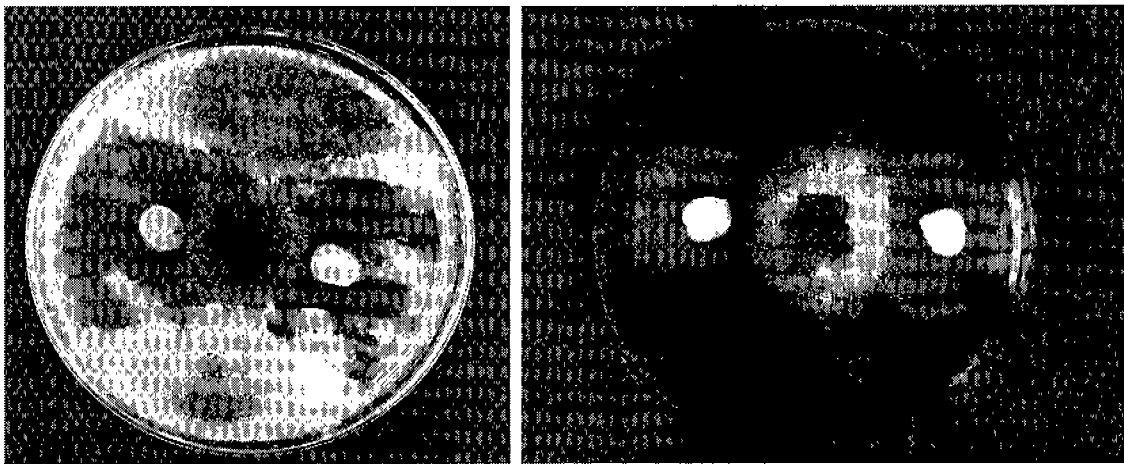


Fig. 1. Growth inhibition of *Botrytis cinerea* E12 by 2 antagonistic bacteria, W1 *Bacillus subtilis*(left) and P99 *Pseudomonas putida* (right).

Table 2. Biochemical, physiological and cultural characteristics of antagonistic bacteria, W1 isolate compared with *Bacillus subtilis*^d

Characteristics	W1	<i>Bacillus subtilis</i> ^d
Spore	+ ^b	+
Catalas	+	+
Anaerobic growth	-	-
Voges-Proskauer	+	+
Acid from D-Glucose	+	+
L-Arabinose	+	+
D-Xylose	+	+
Gas from glucose Hydrolysis of		
Casein	+	+
Gelatin	+	+
Starch	+	+
Utilization of citrate	+	+
Nitrate reduction	+	+
Indole	-	-
Growth at pH		
6.8	+	+
5.7	+	+
Growth at		
5°C	-	-
10°C	-	-
30°C	+	+
50°C	-	-
Growth in NaCl		
2%	+	+
5%	+	+
7%	+	+
10%	-	-

^aDate from Bergey's manual of systematic bacteriology. 1986 williams & wilkins.

^bsymbol: 90% or more strain positive -, 90% or more of strains are Negative : ND, no data available.

CFU/ml으로 가장 효과가 좋았다(Table 4).

생물농약의제조

길항세균 W1 및 P99 균주는 비지배지에 배양하고 여기에 전착제와 보호제 및 영양원을 혼합하여 원디오브에서 건조한 후 브라인더로 마쇄하여 여러종류의 수화제 형태의 생물농약으로 제조하였는데 *P. putida* P99 균주에 대해서는 P99S(콩가루 200g/l, 밀가루 200g/l, 올리브 오일 50cc/

Table 3. Biochemical, physiological and cultural characteristics of antagonistic bacteria, P99 isolate compared with *Pseudomonas putida*^a

Characteristics	P99	<i>Pseudomonas putida</i> ^a
Fluorescent	+ ^b	+
Pigments	-	-
Growth at 41°C	-	-
Levan	+	+
Agarginine		
Dihydrolase oxidase reaction	+	+
Denitrification	-	-
Hydrolysis of Gelatin	-	-
starch	-	-
Utilization of Glucose	+	+
Trehalose	-	-
MESO-Inositol	-	-
DL-Arginine	+	+

^aDate from Bergey's manual of systematic bacteriology. 1986 williams & wilkins.

^bsymbol: 90% or more strain positive -, 90% or more of strains are Negative : ND, no data available.

Table 4. Effects of Mass production media for antagonistic bacteria, *Pseudomonas putida* P99 and *Bacillus subtilis* W1

Media	CFU/ml media($\times 10^9$)	
	P99	W1
Biji ^a	3.5a ^d	1.3b
Starch ^b	0.2c	0.8bc
Soybean flour ^c	1.0bc	3.7a

^aBiji = Biji(Soybean curd residues) broth.

^bStarch = Barley starch extract broth.

^cSoybean flour = Soybean flour extract broth.

^dMeans within a column followed by the same letters are not significantly different by DMRT at 0.05 level.

l), P99B(비지가루 200g/l, 밀가루 200g/l 올리브 오일 50cc/l)제제, *B. subtilis* W1 균주에 대해서는 BSA(옥수수 전분 400g/l, 콩기름 50cc/l, 검은설탕 25g/l), BSB(콩가루 200g/l, 밀가루 200g/l, 올리브 오일 50cc/l), BSC(쌀가루 200g/l, 옥수수전분 200g/l 콩기름 50cc/l), BSD(찹쌀가루 400g/l, 해바라기유 50cc/l) 제제로 제조하였다.

생물농약의 하우스내 포트 검정

B. subtilis W1 균주로 만든 BSA, BSB, BSC, BSD 등 4종의 제제와 *P. putida* 균주로 만든 P99S, P99B 등 2종의 제제를 공시하여 가지 잿빛곰팡이병균에 대한 생물농약의 방제 효과를 하우스내에서 포트 검정한 결과, 유의성은 없으나 P99S와 P99B 제제에 의한 방제 효과가 90.4%와 96.1%로서 가장 높았으며, 다음은 BSB와 BSD의 80.8% 및 83.0%로서 이프로수화제의 72.6%보다 높았다(Table 5, Fig. 2). 또한, 접종 일주일 후부터 1주일 간격으로 생물농약을 3번 더 처리하고 일주일 후 가지 열매의 수와 무게를 비교한 결과, 열매의 수에는 큰 차이가 없었으나 무게에 있어서는 P99 균주의 제제에서는 35.0~37.5g으로 평균 36.5g이며, W1 균주의 제제에서는 35.0~65.0g 평균 67.3g으로 병원균 처리구 17g에 비하여 증대되었다(Fig. 3). 방제 효과가 확인된 생물농약중 W1 균주의 제제인 BSD와 P99 균주의 제제인 P99B를 선발하여 농도별 방제 효과를 검정한 결과 BSD와 P99B 제제 모두 300배 희석액까지는 방제 효과가 90.4~95.7%로 이프로수화제 방제가 88.3%보다 높았으나, 500배 희석액에서는 방제 효과가 61.3%~79.5%로 방제 효과가 저하되었다(Table 6).

Table 5. Control effects of various formulations in the form of wettable powder of *Pseudomonas putida* P99 and *Bacillus subtilis* W1 against gray mold rot of eggplants caused by *Botrytis cinerea* E12 in growth chamber

Formulations	Disease incidence(%)	Control value(%)
BSA ^a	27.0	64.1b ^d
BSB ^a	14.4	80.8ab
BSC ^a	21.4	71.6ab
BSD ^a	12.8	83.0ab
P99S ^b	7.1	90.4a
P99B ^b	2.9	96.1a
Iprodione ^c	20.6	72.6ab

^aWettable powder of *Bacillus subtilis* W1 were made of corn strach flour(BSA), soybean flour(BSB), rice flour(BSC) and rice glutinous flour(BSD) as bio-gel, respectively, and sprayed with 100× dilution.

^bWettable powder *P. putida* P99 were made of soybean flour (P99S) and biji flour(P99B) as bio-gel, respectively, and sprayed 100× dilution.

^cIprodione : spraying with 1000× dilution.

^dMeans followed by the same letters are not significantly different by DMRT at 0.05 level.



Fig. 2. Suppression effects of formulations of *Bacillus subtilis* W1 and *Pseudomonas putida* P99 on gary mold rot of eggplant caused by *Botrytis cinerea* E12. Top : *B. cinerea* E12 alone, Formulation of *Bacillus subtilis* W1, Control and Iprodion. Bottom : *B. cinerea* E12 alone, Formulation of *Pseudomonas putida* P99 and Control.

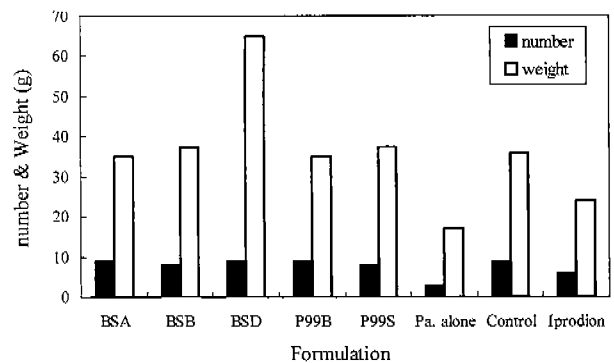


Fig. 3. Effects of various formulations of *B. subtilis* W1 and *P. putida* P99 to number and weight of eggplant fruits. BSA : corn strach flour, BSB : soybean flour, BSC : rice flour, BSD : rice glutinous flour, P99B : biji flour, P99S : soybean flour, Control : non-treatment.

Table 6. Control effects of 2 formulations of *B. subtilis* W1 (BSD) and *P. putida* P99(P99B) against *B. cinerea* E12 on eggplant in growth chamber

Dilutions	Control value(%)		
	BSD	P99B	Iprodion
1 : 50	95.7a ^a	95.5a	
1 : 100	94.1a	94.5a	
1 : 300	92.4a	90.4ab	
1 : 500	61.3c	79.5ab	
1 : 1000	—	—	88.3b

^aMeans within a column followed by the same letters are not significantly different by DMRT at 0.05 level.

고 찰

현재 전세계적으로 농약 사용에 인한 환경오염이 심각한 문제로 대두되고 있는 것은 누구나 알고 있는 사실이다. 유독성 농약이 환경에 미치는 영향을 줄이기 위한 대체 기술로서 생물농약 중에서도 무공해 미생물 살균제를 개발하기 위한 많은 연구가 진행되고 있다. 이러한 연구의 하나로 길항미생물인 *Pseudomonas syringae*, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma* spp.을 이용하여 수확후 과실을 침지하거나 액상으로 분무처리하여 저장병을 억제 또는 방제한 보고가 있으며[2], *Botrytis cinerea*에 의한 잣빛곰팡이병 방제를 위해 *Gliocladium roseum*과 *Trichoderma viride*를 이용하여 나무딸기에서의 *Botrytis cinerea*를 방제하는데 상당한 효과를 보았다[5,11]. 또한 *Trichoderma harzianum*과 *Penicillium expousum*을 이용하여 콩과 작물 및 포도나무의 *Botrytis cinerea*를 방제하고[3, 5,12,13], *Ulocladium atrum*을 이용한 시클라멘의 잣빛곰팡이병 방제 등이 보고되어 있다[7]. 항생물질을 이용한 생물학적 방제에서는 *Pseudomonas cepacia*에서 분리된 항생물질인, Pyrrolnitrin을 이용한 장미 잣빛곰팡이병 방제에 관한 보고는 되었지만[4], *Pseudomonas putida*를 이용한 잣빛곰팡이병의 방제는 본 연구에서가 처음이다.

*Bacillus subtilis*가 생산하는 효소로 병원성 곰팡이를 억제하는 효과가 있는 Lichenase의 생성과 세균의 활성화에 대두박 가루가 효과가 좋았다는 보고[1]와 역시 *B. subtilis*가 생성하는 항생물질인 Iturin A의 생성을 위한 대량배양배지로 비지를 사용하였다는 등의 보고가 있는데[10] 본 실험에서도 *B. subtilis*의 대량배양배지로 대두박을 이용하였으며 *P.*

*putida*의 대량배양배지로 비지를 이용하여 높은 효과를 얻었다. 잣빛곰팡이병 방제를 위한 생물농약으로는 *Trichoderma* 속 균을 이용한 제제인 Trichodex와 *Pseudomonas syringae*를 이용한 Bio-save110 등이 시판되고 있으나[2], 이는 수확 후 발생하는 저장성 병해에 대한 방제용 생물농약 약제일 뿐 작물 살포용은 전혀 개발되지 않고 있다. 또한, 국내에서는 복 등[16]에 의해 *Bacillus subtilis*를 길항균으로 한 딸기 회색곰팡이병 방제용 생물농약의 개발을 성공적으로 수행하였으나 생물농약이 품목고시 되어 있지 않아 실용화되지 못하고 있다. 그러나, 최근 생물농약 등록 기준이 마련되어 품목고시가 실시될 예정에 있으므로 본 연구에서의 *Bacillus subtilis*와 *Pseudomonas putida*를 이용한 생물농약도 실용화 하므로서 큰 효과를 얻을 수 있을 것이라 생각된다.

생물농약이 실용화되어 상품화되기 위해서는 보관상의 안정성이 무엇보다 중요한데, 오랫동안 보관하여도 미생물의 농도와 그 길항력에 차이가 없어야 한다. 본 연구를 수행하는 과정에서 제제를 만들어 실온에서 3개월 이상 보관해두고 실험에 계속 사용하였으나 방제효과에는 차이가 없었으며 세균의 농도도 거의 일정하게 유지되었다. 따라서, 이를 제제화 하여도 보관상 큰 어려움은 없을 것으로 생각된다.

요 약

가지 잣빛곰팡이병균에 대한 길항세균을 선별하기 위해 가지 재배하우스내의 근권토양에서 세균을 분리하고 병원균과의 대치배양을 통해 병원균의 균사 생장억제효과가 가장 큰 W1과 P99 균주를 우수 길항균으로 선별하였으며, 이를 Bergey's manual과 API system으로 동정한 결과 W1 균주는 *Bacillus subtilis*, P99균주는 *Pseudomonas putida*로 각각 동정되었다. 선별한 길항세균을 제제화하기 위하여 P99 균주의 대량배양 배지로 비지 배지와 W1 균주는 대두박 배지를 선별하고, 여기에 콩가루, 옥수수 전분, 참쌀가루, 비지가루 등의 고분자 물질을 첨가하여 수화제 형태의 생물농약으로 제조하였다. 제조한 생물농약의 생육상내 방제효과를 하우스내 포트 검정한 결과 공시한 6제제 중 제제간 유의성은 없으나 *P. Putida* P99 균주로 제조한 P99S와 P99B 제제의 방제가가 90.4%, 96.1%로서 가장 높았으며, 다음은 *B. subtilis* W1 균주로 제조한 BSB와 BSD가 각각 80.8%,

83.0%로서 이프로 수화제의 72.6%보다 높았다. 또한 생물농약의 농도별 방제효과 검증에서는 300배로 희석하여도 이프로 수화제와 유사한 방제가를 나타내었다.

감사의 글

이 논문은 1999년도 동아대학교 학술지원연구에 의하여 수행되었습니다.

참고 문헌

- Ehad, R. E. H. and M. E. A. Amnay. 1999. Lichenase production by catabolite repression-resistant *Bacillus subtilis* mutant: Optimization and formulation of agro-industrial by-product medium. *Microb. Technol.* **24**, 325-331.
- Fravel, D. R., W. J. Connick Jr and J. A. Lewis. 1998. Formulation of microorganisms to control plant disease, pp. 187-202, In Burges, H. D. (ed.), *Formulation of microbial biopesticides*, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- Harman, G. E., B. Latorre, E. Agosin, R. San, D. Martin, G. Riegel, P. A. Nielsen, A. Tronsmo and R. C. Pearson. 1996. Biological and integrated control of *Botrytis* bunch rot of grape using *Trichoderma* spp. *Biological control* **7**, 250-266.
- Hammer, P. E., K. B. Evensen and W. J. Janisiewicz. 1993. Postharvest control of *Botrytis cinerea* on cut rose flowers with pyrrolnitrin. *Plant Dis.* **77**, 283-286.
- Yu, H. and J. C. Sutton. 1997. Effectiveness of bumblebees and honeybees for delivering inoculum of *Gliocladium roseum* to raspberry flowers to control of *Botrytis cinerea*. *Biological control* **10**, 133-122.
- Jones, G. H., R. N. Krieg, H. Peter, A. Sneat, T. James, T. Staley and S. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th eds.
- Köhl, J., M. Gerlagh, B. H. Haas and M. D. Krijger. 1998. Biological control of *Botrytis cinerea* in cyclamen with *Ulocladium atrum* and *Gliocladium roseum* under commercial growing conditions. *Phytopathology* **88**, 568-575.
- Kim, C. S., J. P. Lee, J. H. Song, E. K. Lim, S. J. Chung, S. Y. Ha and B. J. Moon. 2001. Gray mold rot of eggplant caused by *Botrytis cinerea* in greenhouse. *Korean J. Life Science*, in press.
- Krieg, N. R. and J. G. Holt. 1984. *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*, Williams & Wilkins Co. Baltimore.
- Akihiro, O., A. Takashi and S. Makoto. 1995. Use of Soybean curd Residue, Okara for the Solid state Substrate in the Production of Lipopeptide Antibiotic, Iturin A, by *Bacillus subtilis* NB22. *Biochemistry* **8**, 8524-8530.
- Sutton, J. C. and G. Peng. 1993. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry leave. *Phytopathology* **83**, 615-621.
- Spotts, R. A. and G. Holz. 1996. Adhesion and removal of conidia of *Botrytis cinerea* and *Penillium expansum* from grape and plum fruit surfaces. *Plant Dis.* **80**, 688-691.
- Zimand, G., Y. Elad and I. Chet. 1996. Effect of *Trichoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* pathogenicity. *Phytopathology* **86**, 1255-1260.
- 김병섭. 1997. 잿빛 곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)의 살균제 저항성 및 생리생태적 다양성. 서울대학교 박사학위 논문.
- 농약공업협회. 1997. 농약관련법령 및 유관법령집. pp.165-170.
- 복성해, 이항우, 김성욱, 손광희, 권병목, 김무경, 윤수환, 정태숙, 최진자, 정원일, 김충우, 김성민, 권용국, 장남이, 이현주. 1992. 딸기 회색곰팡이병 방제용 생물농약의 개발. 과학기술처 특정연구개발 사업보고서 BSN70260. pp.10-27.
- 한국과학기술연구원 부설 유전공학연구소. 1993. 미생물 살균제 GEF-1의 생산공정 최적화, 전달체계 및 체제기술개발. 특정연구개발 사업보고서 BSN80820-504-3.

(Received March 27, 2001; Accepted April 27, 2001)