

기주특이성 잡초 활성 미생물을 이용한 잡초방제 기술

홍연규^{1*} · 이봉춘¹ · 송석보¹ · 박성태¹ · 김정남² · 전민구² · 김인섭²

¹농촌진흥청 영남농업연구소, ²테크노그린 부설연구소

Weed Management Technology with Host Specific of Biological Control Agents

Yeon-Kyu Hong^{1*}, Bong-Choon Lee¹, Seok-Bo Song¹, Sung-Tae Park¹,
Jeong-Nam Kim², Min-Goo Geon² and In-Seob Kim²

¹Yeongnam Agricultural Research Institute, NICS, Milyang 627-803, Korea

²Technogreen Co., Ltd Research Institute, Yongin 449-821, Korea

ABSTRACT

The term mycoherbicide started in 1970, but its interest heightened due to increase costs of chemical herbicides. A classical biocontrol agent is expected to become a permanent part of its new environment and do no harm to it. Contemporary biological control agent(BCA) must be produced by artificial culture and could be applied like chemical herbicides over weeds. BCA is different from the classical approach in that it released through natural spread. To date 26 species of fungi are used as classical BCA against 26 species of weeds in seven countries. There are a number of examples of pathogens attacking non-target plants. But through risk assessments which include understanding the taxonomy, biology and ecology, the target and non-target species, it will be safe to introduce of exotic pathogens to control weeds. But pathogens have not been successfully used in practice. Many mycoherbicides show potential in laboratories, but are ineffective in the field and not consistent from year to year or field to field. There is also a lack of understanding humidity, dew formation and temperature and their effects on suppression of weeds by plant pathogens. Potential pathogen must be selected as a BCA. Previous studies suggest that these pathogens must (1) produce abundant and durable inoculum in artificial culture, (2) be genetically stable and weed specific and (3) kill weeds in wide areas. The delivery and distribution of BCA is of great importance in affecting biological

*Corresponding author. Tel: 055-350-1147
E-mail: hongyk@rda.go.kr

control. A granular preparation of mycoherbicide into sodium alginate is lighter than liquids and less bulky than organic matter. Gel forms have also been used.

Key words: biocontrol agent, biological control, chemical herbicide, mycoherbicide

서 론

미생물제초제란 잡초에 기주 특이적으로 기생하면서 병원력을 발휘하여 잡초를 고사시키며 작물에는 안전한 생물 제초제이다. 미생물 제초제의 장점은 환경친화적인 제초제로서 한번 사용 후 2차 감염에 의한 제초의 지속효과를 나타내어 연중 방제가 가능하고 그 비용이 매우 저렴하며 목표로 하는 잡초만을 골라서 죽일 수 있고 또한 작물에는 안전한 장점을 가진 반면에 살아 있는 미생물이기에 장기보존이 곤란하고 제제화의 어려움이 단점으로 지적이 되고 있다.

현재 세계적으로 개발된 미생물제초제의 현황을 보면 미국에서 콩과잡초인 자귀풀 방제용으로 개발된 COLLEGO(상표명)는 자귀풀 단저병인 *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene*의 포자를 제재화하여 만든 최초의 미생물 제초제이다. 이후 DEVINE 등 여러 개의 미생물제초제가 등록이 되어 실용되고 있고 이외 많은 미생물들이 분리되어 산업화의 전 단계까지 발전해 있는 실정이다. 국내에서는 논 잡초 올방개 방제용 지문무늬병균이 개발되어 있고 이외 자귀풀, 올챙이고랭이, 클로버, 피, 콩에 기생하는 새삼 대해서 방제효과가 있는 미생물을 분리하여 개발 전단계에 와 있으며 생물제초제에 대한 관심이 몇몇 연구자들에 의해 개발이 되고 있다. 그러나 국내의 미생물제초제의 개발현황은 연구자의 수가 너무 적고 보다 적극적인 개발환경이 조성되지 못하여 개발수준이 매우 낮은 상황이다.

국내연구동향

국내의 경우 잡초방제는 주로 화학적 방제법에 의존되어 왔으나 최근에는 유기농산물 생산을 위해 쌀겨 농법, 우렁이 농법 등 생물적/생태적 방법이 조금씩 도입되고 있다. 미생물을 이용한 잡초방제 연구의 경우 올방개, 올챙이고랭이, 자귀풀, 클로버 등에 대해 연구 보고 되었고 올방개, 클로버 방제용 미생물제제는 산업화를 위해 기술이전 되었다.

올방개지문무늬병균(*Epicoccossorus nematosporus*)을 이용한 올방개 방제

한국의 수도재배지대에서 문제가 되는 다년생 논 잡초 올방개에 기생하여 줄기를 고사시키는 병원균을 국내 최초로 분리하여 이 병원균의 동정, 병원성, 기주범위 및 포자형성 방법, 이에 관여하는 환경적 요인 및 포장에서의 제초력에 관여하는 요인에 대해서 연구하였다(Hong 등, 1991, 1992, 1996, 1997, 2001, 2002). 이 병원균은 올방개 줄기에 생기는 갈색의 병반상에 흑색의 분생자층을 만들어 특이한 지문무늬를 형성하며 그 후 올방개 줄기 주위를 병반이 완전히 감싸게 되면 15~20일 이내에 줄기는 고사하게 된다. 분생포자는 분생자층 위에서 형성되며 무격막, 단핵으로, 44.5~72 μ m 크기의 양 끝이 뾰족한 선충 모양을 하고 있다. 이 균은 *Epicoccossorus nematosporus*로 동정되었으며 올방개 지문무늬병(Fingerprint Stem Blight Disease of Water chestnut, FSBD)으로 명명하였다(Table 1). 온실에서의 병원성 검정 결과

Table 1. Comparison of mycological characteristics between isolates of *Epicoccosorus nematosporus* collected from Korea(YCSJ-112) and Japan(Nip-4).

Characteristics	YCSJ-112	Nip-4
Conidia		
Length	45~72 μm	46~81.7 μm
Width	3.5~4.8 μm	3.9~5.5 μm
Color	Hyaline	Hyaline
Septum	Aseptate	Aseptate
Nucleus	1	1
Shape	Lunate at each end like a nematoda	Lunate at each end like a nematoda
Conidiophore		
Size	35~67 μm	42.5~79.7 μm
Septum	1~2 septate	1~2 septate
Shape	Short palisade cylindrical ampuliform to doliform	Short palisade cylindrical ampuliform to doliform
Appressoria		
Size	25~35 μm	not reported
Color	Chocolate brown	not reported
Shape	Clavate, circular, irregular	not reported
Mycelia		
Width	8~10 μm	8~10 μm
Color	Hyaline	Hyaline
Septum	Septate	Septate
Mat on PDA	Blackish gray	Blackish gray

Hong 등, 1996. Kor. J. Plant Pathology 12(1): 58-65

각지에서 분리된 병원균 모두가 올방개에 병원성을 나타내었으며 지역에 따른 병원균주의 제초력은 78~99.3% 이었고, 이중 상주에서 분리된 YCSJ-112 균주의 병원성이 가장 높았다.

1990년에서 1992년 3개년간 8월에서 9월경에 전국의 22개 군의 논에서 올방개 지문무늬병의 발생을 조사한 결과 지역에 따라 발생 빈도에 차이가 있으나 모든 조사 논에서 발견되어 이 병이 한국의 수도재배 환경에 잘 적응된 것으로 생각된다. 본 병원균의 분생포자 현탁액을 3.2×10^5 conidia/ml의 농도로 벼 등 32개 작물 및 15개 잡초에 접종한 결과 올방개를 제외한 어떤 식물에도 병징을 나타내지 않았다(Hong 등, 1996).

YCSJ-112 균주는 PDA, 오토밀, 밀기울 및 쌀겨와 같은 천연배지 및 인공 합성배지에서도 잘 자라며 생육 적온은 20~28℃ 이고 pH 5~9 사이에서 균총의 형성이 양호하였다. 탄소원 중

glucose, 질소원에서는 arginine과 serine이 함유된 배지에서 잘 자랐다. 포자형성은 오토밀 배지에서 상대습도가 60%, 온도가 28℃일 때 포자수가 6.61×10^9 개/ml로서 가장 좋았고, 20~30℃, 4,500~7,500 lux의 광조건에서 410.4~494.8 mg의 분생포자를 얻어 포자형성이 가장 우수하였다. 포자현탁액의 pH를 5.2~7.2로 하고 올방개 줄기에 분무접종 하였을 때 분생포자의 발아와 부착기의 형성이 양호하였다.

포장처리시 지문무늬병균 포자현탁액의 적정 농도를 조사한 결과 10^5 conidia/ml 농도에서 80% 이상의 제초율을 나타내었고 1회 처리 후 3일 이내에 또 한번 처리하였을 경우 95.6%의 제초효과를 보였다. 포장에서 지문무늬병균 포자현탁액의 최적 처리 시기는 7월이었으며 이 시기는 결로 시간이 12.6~16.1 시간이고 그 시간대의 평균기온이 20.4~23.4℃로서 병원균의

Table 2. The suppression in fresh weight and seed production of *S. juncooides* caused by fungal isolate BWC 201.

Degree of infection ²	Fresh weight (g/5 plants)	Seeding amount (g/5 plants)
Normal	146	10.1
1/3	126	7.9
2/3	111	3.4
3/3	78	2.9

²Degree of diseased seed

(Hong 등, 2001)

침입에 매우 좋은 조건이었다. 하루 중 최적 처리 시기는 이슬이 맺히기 시작하는 오후 6시에서 8시 사이였으며 약 81~90%의 제초효과를 얻을 수 있었다.

지문무늬병균의 균사체를 alginic acid를 매체로 하여 조제한 pellet의 melanin화에 적합한 진탕배양 속도는 분당 180~220 rev.로써 약 5일 이내에 79.4~80.6%의 멜라닌화 된 pellet을 얻을 수 있었고 이때 형성된 분생포자과의 양은 약 55 mg/100 pellets 이었다. alginic acid pellet 제조시 농가부산물로서 밀기울, 쌀겨 등을 영양원으로 각각 넣어주면 80.1~83.3%의 멜라닌화된 pellet을 얻었으며 여기에서 형성된 포자과의 양은 각각 65.4mg/pellet 과 68.4 mg /100 pellets 이었다. 멜라닌화 정도에 따른 분생포자의 형성정도를 조사한 결과 충분히 멜라닌화 된 pellet은 많은 수의 포자를 형성하여 이를 포장에서 처리하였을 때 처리 후 약 30일 이내에 62%의 제초율을 나타내었다(Hong, 1999).

올챙이고랭이(*Scirpus juncooides*) 방제용 미생물제 BWC 201

7월 중순경에 자연 발병하기 시작하여 올챙이고랭이의 줄기를 고사 시키며 특히 종자형성 부위가 이병된 조직으로 부터 곰팡이를 분리하여 본 결과, 균사체는 PDA상에서 회흑색의 균총을 형성하며 기중균사의 발달이 양호하며 인공배양에서의 생육이 매우 양호하였다. 자연상태에서의 적당한 기상 조건하에서 병의 진전이 지속적이고

도 빠르게 진전하여 포장내의 거의 전체체를 이 병시키고 있으며 종자의 감염이 심한 경우(3/3) 건전종자에 비해 1/5 정도의 종자 형성 억제효과를 나타내었다(Table 2).

포장에서 *Echinochloa crus-galli* Beauv. var. *oryzicola* Ohwi 등 화본과와 *Scirpus juncooides* Ohwi를 제외한 *Cyperus amuricus* Maxim. 등의 사초과에 대해서는 전혀 병원성이 발현되지 않았다(Hong 등, 2001). 본 균은 기주 특이성이 매우 강하고 포장상태에서의 병원력 그리고 종자형성 억제 효과에서 매우 우수한 효과를 나타내고 있으므로 미생물 제초제로서의 개발 가능성이 매우 높다(Hong 등, 2000, 2001).

콩과잡초 방제용 미생물제 *Sclerotium sp.* BWC04-107

자귀풀(*Aeschynomene indica*)

BWC 04-107 균주는 벼 등 화본과 작물에는 전혀 병원성을 나타내지 않았으며 콩과작물의 일부 작물인 팥, 녹, 동부 등에 대해서는 병반을 형성하였으나 초기의 병반이 더 이상 진전하지 않고 식물체는 건전체로 유지되었다(Table 3). 접종 후 2일에 자귀풀(*Aeschynomene indica*) 줄기의 주위에 흰색의 균핵이 형성되면서 균사체가 침입하여 3-4일내에 줄기가 갈변하면서 침입부위 선단부위부터 시들면서 접종 후 약 7일 완전히 고사하였다. 또한, BWC 04-107 균주의 액체배양 시 분비하는 대사산물에도 제초활성물질의 존재가 확인이 되었다(Hong 등, 1998, 2000).

Table 3. Host range of fungal isolate BWC 04-107.

Plant	Disease incidence(%)
<i>O. sativa</i>	0
<i>H. vulgare</i>	0
<i>T. aestivum</i>	0
<i>A. sativa</i>	0
<i>S. cereale</i>	0
<i>S. italica</i>	0
<i>P. miliaceum</i>	0
<i>Z. mays</i>	0
<i>S. bicolor</i>	0
<i>F. esculentum</i>	0
<i>P. vulgaris</i>	1.5
<i>P. angularis</i>	0.1
<i>P. radiatus var. aurea</i>	0.3
<i>V. sinensis</i>	1.1
<i>Aeschynomene indica</i>	95.7

(Hong 등, 1998, 2000)

클로버(*Trifolium repens*) 방제용 미생물제초제 *Sclerotium sp.* BWC98-105

BWC98-105 균주는 담자균의 일종으로 탄소원이 첨가된 영양배지에서 잘자라며 균총의 색깔은 백색이고 유격균사이다. PDA상에서 배양 후 약15일경에 균핵을 형성하는데 크기는 1-2mm내외의 갈색이다. 자연 상태에서는 균핵의 크기가 0.5 mm 정도로 매우작고 초기에는 흰색이나 시일이 경과하면 갈변한다. 접종 후 2~3일후 클로버 뿌리주위에 흰색의 균핵이 형성되면서 균사체가 침입하여 4~5일내에 줄기전체가 고사한다. 뿌리는 병반이 점차 진전하여 약 10일내에 뿌리 전체가 말라 죽는다. BWC98-105 균주의 잔디에 대한 병원성을 확인한 결과 본 균의 균사체 현탁액을 20일된 잔디묘에 접종한 결과 접종 후 10일까지 병반의 형성이 전혀 나타나지 않고 정상적으로 생육하였다. 몇 가지 잔디품종에 대한 본 병원균의 병원성을 조사한 결과 클로버를 제외한 재래잔디인 *Zoysia grass* 등에 대해서는 전혀 병원성을 나타내지 않았다(Hong 등, 1998).

화본과 잡초 방제용 미생물제초제 BWC 99-12 및 BWC99-29 균주

BWC 99-12 및 BWC 99-29 균주의 강피 및 물피에 대해 매우 높은 수준의 제초활성을 나타내었다(Hong, unpublished). 두 균주 모두 배양액의 10 % 농도에서도 높은 제초력을 보였다. 이들 균주의 배양액을 여과한 여액을 각 농도별로 희석하여 분무기로 접종한 뒤 24시간 후에 잎 표면에 수침상의 함몰 병반이 형성되면서 잎 전체가 급격히 고사하기 시작하여 48~72시간 사이에 완전히 고사한다(Tables 4, 5).

Table 4. The weeding efficacy of fungal isolate BWC 99-12 on *E. crus-galli* Beauv. var. *oryicola* Ohwi.

Concentration of culture filtrate(%)	Percent of plant mortality
100	100
75	100
50	100
25	15
10	23
Untreated control	0

Table 5. The weeding efficacy of fungal isolate BWC 99-12 on *E. crus-galli* Beauv. var. *candata* Kitagawa.

Concentration of culture filtrate(%)	Percent of plant mortality
100	100
75	100
50	100
25	95
10	100
Untreated control	0

제초제 저항성 잡초 방제용 미생물제초제

Sulfonylurea 저항성 잡초 물달개비 방제용 *Phoma macrostoma* BWC05-8-3-2

Sulfonylurea는 우리나라에서 70년대 초부터 오랫동안 사용되어, 단일 또는 혼합제로서 우

리나라 제초제 생산량의 약 70% 정도로 가장 폭 넓게 사용되어 온 제초제이다. 동일 제초제를 계속 사용함으로써 이 약제에 대한 내성을 가진 잡초가 발생하기 시작하여 2004년 현재 물달개비를 비롯 약 7종이 보고 되고 있다. 이러한 유기합성제초제에 대해 저항성을 가진 잡초는 방제할 수 있는 수단이 없는 현실이다. 제초제 저항성 잡초를 효과적으로 방제할 수 있는 방법으로는 미생물을 이용한 생물 제초제를 개발하여 방제할 수 있는 방법이 유일한 대안이라 할 수 있다.

유기합성제초제로 가장 많이 사용되어 온 sulfonyleurea계에 저항성을 가진 물달개비에 기주 특이적으로 기생하는 *Phoma macrostoma* BWC05-8-3-2 균주를 이용하여 물달개비에 대한 제초능력이 우수한 미생물제초제로 개발되었다. 유기합성 농약의 무차별한 남용이 전 세계적으로 억제되고 특히 고독성 농약의 사용을 지양하고 있는 상황 하에서 신규 미생물제초제의 개발은 중요한 대안이 되고 있다. 작물에는 안전한 기주특이적 잡초병원균을(*Phoma macrostoma* isolate BWC05-8-3-2) 이용하여 유기합성제초제 sulfonyleurea(SU)계 저항성 잡초를 생물적으로 방제함을 목적으로 한다. *Phoma macrostoma* BWC05-8-3-2 균주는 본 연구자들에 의해 최초로 발견이 되었으며 자연 상태에서 균사가 SU계 저항성 물달개비(*Monochoria vaginalis*(Burm. f.) Presl var. *plantaginea*)의 줄기, 잎을 침입하여 식물체 전체를 고사시키는 특성을 나타낸다. *Phoma macrostoma* BWC05-8-3-2 균주는

PDA 배지상에서 비교적 성장 속도가 빠르고 균층의 형태가 다양하다. 기증균사는 백색 또는 회색이며 올리브기름을 함유한 것처럼 점성이 있으며 조밀하게 형성이 된다. 콜로니의 색은 검붉고 sodium hydroxide를 첨가하면 푸른빛이 섞인 자주색으로 변한다. 분생포자의 크기는 5.5-10.5×2.5-3.5 μ m 이고 배양 조건에 따라 그 크기가 매우 다양하다. 포자의 격막은 1개 존재하며 분생포자의 형태는 원통형으로 둥글고 편평하다.

Phoma macrostoma BWC05-8-3-2 균주의 액체 배양한 균사체를 분쇄기에 갈아 만든 균사체 현탁액(105 cfu/ml)을 물달개비의 잎, 줄기에 분무 접종하면 초기에는 갈색의 작은 반점이 잎, 줄기에 나타나기 시작하며 시간이 경과함에 따라 접종 후 15일 경에는 식물체 전체가 고사하게 된다. *Phoma macrostoma* isolate BWC05-8-3-2 균주를 액체 배양한 포자 및 균사체 현탁액을 벼 등 36 종의 작물에 상기와 같은 방법으로 접종하였을 때 전혀 병징을 나타내지 않았으며 물달개비 등 6종의 잡초에만 강력한 제초효과를 나타내었다. Sulfonyleurea 저항성 잡초 물달개비에 제초력이 우수한 *Phoma macrostoma* BWC05-8-3-2 균주를 선발하고 그 균사체 현탁액을 접종함으로써 잎과 줄기를 고사시키고 다음해의 물달개비의 발생을 억제시킬 수 있다. 또한 화학제초제의 남용을 지양함으로써 환경오염을 경감시키는 측면에서도 그 실용성이 우수하다.

Table 6. The weeding efficacy of the isolate BWC05-8-3-2 with some chemical herbicide on the *Monochoria vaginalis*.

Isolate	Weeding efficacy(%)	Duration(day)	Reshoot(%)
BWC05-8-3-2	96.1	4.9	7.1
Pyrazosulfuron-ethyl(a.i.0.07%) +molinate(a.i. 5%)	22.8	25.6	89.1
Piperophos(a.i.4.4%) +dimethametryn(a.i. 1.1%)	30.5	28.9	101.2
Untreated check	-	-	254.6

물달개비 방제용 sulfonylurea계 전문약제인 pyrazosulfuron-ethyl(a.i. 0.07%)+molinolate(a.i. 5%) 및 piperophos(a.i. 4.4%)+dimethametryn(a.i. 1.1%)과의 제초효과를 비교한 결과는 Table 6와 같다. BWC05-8-3-2 균주의 균사체 현탁액은 제초율에 있어서도 전문약제에 비해 효과가 약 3배 수준으로 높고 제초소요 일수도 5일 정도로 신속한 제초효과를 보이고 있다. 또한 처리 후 연중 지속되는 제초 효과에 의해 신초의 재생율이 현저히 감소되는 양상을 나타내었다.

Paraquat 저항성 망초 방제용 Sclerotium delphinii BWC04-107 균주의 제초효과

Paraquat 계 제초제는 우리나라에서 70년대 초부터 장기간 사용되어 온 제초제이다. Paraquat계에 저항성을 가진 망초에 기주 특이적으로 기생하는 *Sclerotium delphinii* BWC04-107 균주를 이용하여 망초류, 콩과잡초인 자귀풀, 클로버, 쑥에 대한 제초능력과 미생물 제초제로서의 개발되었다. 망초에서 분리한 *Sclerotium delphinii* BWC04-107 균주는 본 발명자들에 의해 최초로 발견이 되었으며 이 균주의 균사가 비선택성 paraquat[paraquat dichloride(24.5% a.i.)]에 저항성을 발현하는 망초(*Conyza canadensis*)의 줄기, 잎 및 뿌리를 침입하여 식물체 전체를 고사시키는 특성을 나타낸다.

Sclerotium delphinii BWC04-107 균주는 분류상 담자균에 속하는 사상균으로 PDA 배지 상에서 비교적 성장 속도가 빠르고 고체 배양 시 기주 균사의 발달이 매우 왕성하며 그 색깔은 백

색이고 배양 후 15~20일 후에는 균사체 상에 갈색 또는 적갈색의 균핵(Sclerotia)을 형성하며 그 크기는 2~3 mm 이다. 배양조건에 따라 균핵의 색깔과 크기는 약간 차이가 있다 기주균사는 백색이며 조밀하게 형성이 된다. *Sclerotium delphinii* BWC04-107 균주를 PD Broth 액체 배지에서, 배양 조건을 28℃, 150 rpm 로 조정하여, 배양하면 반고체 상태의 균사체 덩어리를 형성하며 이를 다시 정치 배양하면 기주균사가 발달하고 그 위에 균핵을 형성한다.

전국에서 분리된 8 종의 균주 중 그 형태적 특성이 비슷하고 제초력이 확인이 된 균주 중 BWC04-107 균주를 선발하고 2004년에 분리된 BWC 04-107 균주의 균사체 현탁액을 paraquat 저항성 망초에 분무 접종한 결과 제초율이 90.5%로 그 제초효과가 우수하였다(Table 7).

콩 기생잡초 새삼류 방제용 미생물제초제 Colletotrichum spp., strain BWC04-49-3

우리나라는 콩 자급율을 2020년 까지 50%수준까지 높이는 국가 농정 정책을 설정하고 있어 금후 국내 콩 재배면적이 현저히 증가될 것이다. 다른 작물에 비하여 콩 재배 시 특히 문제가 되는 것은 콩에 기생하여 생산성을 현저히 감소시키는 새삼이라는 잡초의 피해이다. 소각 이외에는 적절한 방제법이 아직 없어 심각한 농가현장 애로 사항으로 지적되고 있다. 따라서 본 연구는 새삼의 환경친화적 방제를 위한 종합적 방제 체계(IPM)를 구축하고자 새삼의 화학적 방제기술 확립과 미생물을 이용한 생물적 방제 기술을 개발하는 것으로 새삼 생육 특성상 기존 기술 어느 한

Table 7. The weeding efficacy of BWC04-107 compared to nonspecific broad-spectrum chemical herbicide on the Canadensis in greenhouse.

Treatment	Weeding efficacy(%)	Duration(day)
BWC04-107	90.5	5.1
paraquat dichloride(a.i. 24.5%)	45.7	18.5
Untreated check	-	-

가지로는 완전한 방제가 어렵고, 더욱이 환경친화적으로 새삼을 방제해야 하는 점때문에 향후의 새삼 방제는 화학적 방제(30%)와 생물적 방제(70%)를 포함하는 종합적 방제 체계로 접근하는 것이 바람직하다.

외국의 미생물제초제 개발

미생물제초제는 유기합성제초제의 살초효과를 특정 화학성분의 작용기작과 같이 병원성 곰팡이를 이용해서 살초 목적을 달성시키는 방법이다 (TeBeest와 Templeton, 1985)(Table 8).

미국에서는 두 종류의 곰팡이를 이용하여 미생물제초제로 개발이 되어 잡초를 방제하고 있다. *Phytophthora palmivora*를 이용하여 Devine을 개발, 감귤 밭의 잡초방제에 이용되고 있다 또한 콩과잡초에 기주특이성이 강한 *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* 병원균을 이용하여 Collego (Upjohn Co, USA)를 개발 콩밭, 벼에서 자귀풀 (*Aeschynomene virginica*)을 방제하는데 사용이 되고 있다(Bateman과 Bsshham, 1976). 새삼을 화학적으로 방제하기 위해 토양처리제(예, dinitroaniline계) 살포로 발생개체를 감소시키고 있으나, 후기에 발생하여 콩 경엽에 번무한 새삼은 방제하지 못하고 있다. 일부 glyphosate나 sulfonylurea계 제초제를 처리하고 있으나 방제 효과가 낮고 약해가 문제 되고 있다. 이를 해결하기 위해 비선택성 제초제 저항성 품종을 육성하여 약해를 경감시키는 연구를 하였으나 새삼 자체가 이들 제초제에 내성을 가져 완전한 방제는 어렵다. 최근에 환경보호에 대한 규제 강화로 방제 효과가 낮더라도 친환경제품의 사용이 요구되고 있어 환경친화적 살포방법이 강구되고 있으나 자체적으로는 방제효과가 낮은 상태이다. 한편 미생물제초제 개발이 시도되고 있으며, 새삼의

경우 *Alternaria* spp.를 분리 동정하여 이를 생물적 방제제로 실용화 하고자 중국에서 실험하고 있으나 본 연구에서 수행 중인 *Colletotrichum* spp., strain BWC04-49-3 균주에 대해서는 전혀 연구가 진행되지 않았다.

캐나다에서는 *C. gloeosporioides* f. sp. *malvae*를 분리하여 *Malva pusilla* 방제용 미생물제초제를 개발하였다(Grant 등, 1988; Grant 등, 1990; Makowski, 1987; Mortensen, 1988; Mortensen, 1990). 이 곰팡이는 round-leaved mallow에서 분리하였지만 다른 몇종의 *Malva*속 잡초(*Abutilon theophrasti* and *Althea rosea*)를 방제할 수 있다고 보고가 된 이후로 호주에서 이를 이용 재평가 한 후 *Xanthium spinosum*을 방제하는 미생물제초제로 개발에 성공하였다(Auld과 Tisdell, 1985; Auld 등, 1990). 이들을 직접 포장에 처리하였을 때 최저 50%에서 최고 100%까지의 제초효과를 나타내었다. 많은 미생물들이 미생물제초제로 개발하기 위해 연구되어 지고 있다. 특히, *Alternaria*, *Aschochyta*, *Bipolaris*, *Cercospora*, *Colletotrichum*, *Drechslera*, *Fusarium*, *Microsphearopsis*, *Phoma*, *Phomopsis*, *Phytophthora*, *Sclerotinia* 속들의 미생물제초제로서의 개발가능성에 대해 검토되어지고 있는데 이들 병원균의 필요한 습도, 온도 요구성등과 같은 역학적인 분야에 중점을 두고 연구되어지고 있다(Daniel, 1973).

미생물제초제로서의 조건을 충족시키기 위해 실험실과 온실에서 실험이 성공적으로 행해지고 있으나 대부분의 미생물들이 포장에서의 제초효과는 좋지 못했다. 게다가 미생물제초제의 가장 중요한 항목 중의 하나인 제초효과 지속적인 측면에서 조건을 충족시키지 못했다. 이런 결과는 결국 선발된 미생물의 포장조건하에서의 생리·생태적인 특성을 깊이 고려하지 못했던 데서 기인한다(Colhoun 등, 1973). 이런 관점에서 대

상 잡초를 방제하는데 있어서 이들 선발된 미생물들의 적당한 온도, 습도조건의 탐색이 우선되어야 할 것이다. 그리고 포장에서의 결로 조건이 미생물제초제로서의 성공여부를 결정짓는 중

요한 관건이 되고 있다.

Daniel 등(1973)에 의하면 미생물제초제로 개발되어지기 위한 미생물이 갖추어져야 할 조건으로는 1) 인공 배지상에서 충분한 양의 포자를 형

Table 8. Status of bio-herbicide development in the world

Weed ^z	Weed type	Pathogen	Fungal class	1982 Status	1989 Status	Commercial/practical prospects (Product name)
<i>Abutilon</i>	A/H/CW	<i>Colletotrichum coccodes</i>	Coelomycetes	NL	E	2(VELGO)
<i>Theophrasti</i> (Velvetleaf)		<i>Fusarium lateritium</i>		NL	D	2
<i>Aeschynomene indica</i> (northern joint vetch)	A/H/CW	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> f.sp. <i>aeschynomene</i>	Coelomycetes	E	F	4(COLLEGO)
<i>Cassia obtusifolia</i> (sicklepod)	A/H/CW	<i>Alternaria cassiae</i>	Hyphomycetes	NL	E	4(CASST, pending registration)
<i>Cuscuta</i> spp. (dodders)	A/V/PW	<i>Alternaria</i> sp	Hyphomycetes	NL	D	3
<i>Disobeyers</i> (persimmon)	P/T/RW	<i>Cephalosporium diospyri</i>	Hyphomycetes	E	F	4(Under practical use)
<i>Eichhornia crassipes</i> (water hyacinth)	R/H/AW	<i>Cercospora rodmanii</i>	Hyphomycetes	E	D	3(ABG 5003)
<i>Eleocharis kuroguwai</i> (water chestnut)	P/sr/AW/CW	<i>Epicoccosorus nematosporus</i> gen. et. sp.nov.	Hyphomycetes	NL	D	3
<i>Malva pusilla</i> (round-leaf mallow)	A/H/CW	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> f. sp. <i>malvae</i>	Coelomycetes	NL	E	4(BioMal, awaiting registration)
<i>Morrenia odorata</i> (strangler vine or milkweed vine)	P/V/CW	<i>Phytophthora citrophthora</i> (later identified as <i>P.palmivora</i>)	Oomycetes	E	F	4(DeVine)
<i>Orobanche</i> spp. (broomrape)	P/H/PW	<i>Fusarium oxysporum</i> var. <i>orthoceras</i>	Hyphomycetes	F	F	4(presumably under practical use in USSR)

^zSome of the weed species from Templeton(1982)'s list(156) have been grouped under "spp"NL=Not in the previous list. Weed type: A=Annual; B=biennial; P=perennial; F=fern; G=grass; H=herb; S=shrub; Sg=sedge; Sr=spike; T=tree; and V=vine; AW=aquatic weed; FW=forest weed; IC=illegal crop; PW=parasitic weed; RS=roadside weed; and RW=rangeland weed. The most important situation or weedy nature by which the weed is most commonly known is listed first; a weed may be problematic in more than one situation. Status: A=planning stage; B=Surveys completed; C=completed or under laboratory/greenhouse tests; D=completed or under small-scale field tests; E=completed or under large-scale field tests comparable to commercial evaluation; F=in commercial or public use; and G=status unknown or projects inactive. Commercial/Prospects: 0=not good; 1=unknown; 2=fair; 3=good; and 4=excellent. Current status and Commercial/Practical Prospects are based on this author's best estimate considering data on host specificity, efficacy, regulatory aspects, and technological feasibility. All with Current Status of G=Prospect 0 at this time. Similarly, all F=4.

성하고, 2) 대상 잡초에 대해서 기주특이적이고 또한 유전적으로 안정성이 요구되어 지고, 3) 다양한 환경조건에서도 살초효과가 우수해야한다.

미생물제초제의 개발초기 단계에서 이들 미생물의 초기 전염원으로서 성공적인 침입이 매우 중요시 되어진다(TeBeest 등, 1978; TeBeest, 1985). 이러한 예는 초기 전염원으로서 성공적인 침입이 이루어지려면 침입시의 결로 상태와 온도 조건이 매우 중요하다는 여러 보고가 있다(Elwakil 등, 1990; Kirkpatrick 등, 1982; Makowski와 Mortenson, 1990; TeBeest, 1985; Walker, 1981). 즉, 환경조건이 나빠서 초기 전염원의 밀도가 낮으면 제초효과는 2차 전염원의 분산, 밀도는 기능적으로 미생물의 밀도증가에 영향을 미치기 때문이다.

잡초 생육후기에 사용되는 경엽처리제용 미생물제초제는 처리시의 환경에 영향을 많이 받는다. 자귀풀방제용 Collego의 경우 벼 재배시 논에 담수가 된 상태에서는 논 전체에 균일한 습도와 온도조건이 유지되므로 처리시 초기전염원의 침입이 성공적으로 이루어지고 2차 전염에 이상적인 환경조건을 유지하게 됨으로써 연중 제초효과를 극대화시킬 수가 있다. 기상조건이 미생물제의 2차 전염에 미치는 영향에 대해서는 여러 연구자가 보고한 바 있다(Morris, 1989; Mortensen과 Makowski, 1990; Yorinori와 Gazziero, 1990). Zadoks와 Schein(1979)에 의해서 개발된 모델을 각 미생물제초제 개발 시 이를 수정 보완하여 새로운 모델을 개발할 수가 있다. 제초의 지속성에는 두 가지 요인으로 구성이 되어 있다. 첫째, 초기전염원의 정착, 둘째 2차 전염 전반기 생육 후기 감염조건이다. 처리할 당시의 기상조건에 의해서 초기전염원의 밀도는 살초효과에 상당한 영향을 미친다. 이러한 문제는 20년 이상의 미생물제초제 개발 역사에서 가장 문제되는 과제로 남아 있다.

한편 잡초의 동일종 내에서도 미생물에 대한 저항성 정도가 상이하고 물리적 생리적인 장벽에 의해 감염이 다르게 이루어지고 기주의 생육정도, 밀도, 활력, 기주가 처해 있는 환경조건, 유전적인 다양성 등이 미생물제초제의 제초효과를 제한하는 요인이 되고 있다(Agrios, 1978; Cowling, 1978; Stevens, 1960; Tu, 1982). 미생물에 관련된 제한요인으로는 개체의 밀도, 자연 상태 하에서의 생존능력, 발아와 생장의 신속성, 다른 미생물들에 대한 길항능력, 불리한 환경조건에서의 생존능력, 부생적인 생활력, 기주의 유전적인 변화에 대응해서 공진화 할 수 있는 능력 등이 있다(Baker와 Basham, 1974). 이러한 요인들이 결여되면 우수한 미생물제초제로서의 개발이 어렵게 된다.

환경적인 요인으로서는 온도, 바람, 습도, 영양원, 자외선, 산소의 량, 이산화탄소, 수소이온농도 등이 직·간접적으로 기주와 미생물간에 영향을 미친다(Shrum, 1982; Stevens, 1960). 제초소요일수 또한 매우 중요한 요인으로서 처리 후 빠른 시일 내에 제초효과를 얻을 수 있어야 한다(Day, 1974).

미생물 유래 제초활성물질

식물병원 미생물의 2차대사산물이 분비하는 물질 중에서 잡초에 특이적 또는 비특이적으로 작용해서 살초효과를 나타내는 물질을 제초 활성 물질이라고 하는데 특히 기주특이적인 병원미생물이 분비하는 제초활성 물질일수록 기주의 선택성이 높다. 지금까지 미생물에서 유래하는 제초 활성 물질로서는 1976년에 herbicidin A, B로 처음 보고된 이래 단백질합성저해제인 cycloheximide(비선택성)가 단자엽 및 쌍자엽 식물에 활성을 나타내는 것과 anisomycin과 toyocamycin이 식물 종자발아 저해 활성을 나타

Table 9. Weeding compound derived from microorganisms.

Compound	Source	Activity
Herbicidins A,B	<i>Streptomyces saganonensis</i>	37.5 ppm; Poygonunl hydropiper; damage, 95%-100% 150 ppm; P. hydropiper; damage, 80%-95%
Herbimycins A,B	<i>S. hygrosopicus</i>	12.5 ppm; Cyperus micrairia Steud; damage, 90%-1005
Bialaphos(SF-1239)	<i>S. hygrosopicus</i>	broad spectrum, postemergent activity, application
Phosalacine	<i>S. phosalacinea</i> KA 338	10 ppm; Medicago satvia L.; complete kill
Oxetin	<i>Streptomyces</i> sp.	125 ppm; M. sastibva; low activity
SF-2492	<i>S. mirabilis</i>	Digitaria ciliaris; potent as bialaphos, Polygonum lapathifolium; more potent than bialaphos
6241-B	<i>Streptomyces</i> sp.	500ppm; Punicum crus-galli, remarkable activity
Homoalanosine	<i>S. galilaeus</i>	Plowed field test; 2.5g acre-1 Polygonum persicaria;
Phthoxazolin	<i>Streptomyces</i> sp. OM-5714	100ppm: Raphanus sativus: complete inhibition
Hydantocidin	<i>S. hygtoscopicus</i>	More potent than vialaphos at 500 ppm
Cornexitin	<i>Paecilomyces variotii</i> SANK 21086	Postemergent herbicidal activity at 100 ppm young annual & perennial mono & di - cotyledonous plant. selective protection for corn
Herboxidiene	<i>S. chromofuscus</i>	Postemergent herbicidal activity at 69g/ha in the field lf rice. soybean and wheat

낸다고 보고되었다. 이외 nucleoside 화합물 중 일 부와 aristeromycin, coaristeromycin, 5-deoxy-toyocamycin, coformycin, ara-A, toyocamycin, tubercidin, sangivamycin, isoxazole-4-carboxylate, harman, norharman, arabenoic acid, homoalanocin 등이 제조활성을 나타내는 것으로 알려져 있다.

미생물 유래의 제조활성물질로서 개발되어 상업적으로 사용 중인 것으로는 glutamin 생합성 저해제인 bialaphos가 있다. Bialaphos의 성공 은 이 화합물이 가지고 있는 광범위 스펙트럼, 강력한 제조활성, 발효에 의한 대량생산 조건의 확립, 생합성 기작과 활성기작에 대한 생화학 및 유 전학적 연구의 결과에 의한 것이다(Table 9). 국 내에서는 BWC98-105 균주가 분비하는 화합물 2에 의한 클로버, 자귀풀에 강력한 제조활성을 확인하고 구조 동정 중에 있고 *Streptomyces* spp. 균주에서 nucleotide계 제조활성 물질이 분리 보 고 된 바 있다(Muller-Scharer 등, 2000).

앞으로의 전망

제제화의 기술이 미생물제초제의 상업화에 있어 필수적이다. 그동안 많은 미생물제의 담체 로서 고분자화합물, 농가부산물 등이 개발이 되어 있고 이를 간편하게 사용할 방법들이 개발되어 있다. 그러나 대부분의 약제전달체계는 살아 있는 미생물을 장기간 활력을 유지한 상태에서 장기간 보존 할 수 있는 능력을 가지고 있어야 함 에도 불구하고 대부분이 조건을 충족시킬만한 담체가 없는 실정이다. 미생물제초제를 개발함에 있어 선발된 미생물, 기주, 환경에 대한 평가와 더불어 이를 이용할 수 있는 약제전달체계를 개발하기 위하여 주변의 과학이 동시해 발전해 주어야 한다.

미생물제제는 그 형태 및 이용성과 관련한 접근 방식에 따라 1) 단일 기주에 대해 고도의 특이성을 갖는 제제, 2) 단일 잡초종의 방제를 위한 혼합제제, 3) 다수 잡초종의 방제를 위한 혼합제제, 4) 광범위 제조활성 스펙트럼을 갖는 미생물 제

초제로 구분되며, 단일 기주의 기주 특이성을 갖는 미생물제제가 널리 사용되고 있는 실정이다. 지금까지 미생물제제의 개발은 생물학적, 환경기술적 및 상업적인 면에서 많은 제약을 받아왔다. 그러나 이러한 제약요인을 극복하기 위하여 병원균 생물학, 식물생장 및 미생물 community에 대한 정보와 지식을 바탕으로 Biological Control Agent(BCA)생태학에 대한 연구가 효율적으로 이루어짐으로써 성공적인 잡초관리가 이루어질 수 있을 것이다. 또한 제제원인 미생물 균주에 초점을 맞추어 연구가 이루어져야 하는데, 균주의 포자 생산 시 적절한 수분 스트레스를 준다든지 배지내 C: N비율을 조정하여 불리한 환경에 잘 적응할 수 있는 세포내 저항성 물질의 축적을 유도할 수도 있다. 또한 생물제제가 포장 용기 내에서 안정적으로, 그리고 지속적으로 활성을 유지하기 위해서는 long dew period를 유지 할 수 있는, 그리고 UV와 같은 유해환경으로부터 BCA가 보호될 수 있는 제형으로 개발이 이루어져야 한다. 또한 포자 생산량과 포자의 효능을 높이고 지속시킬 수 있으며, 생존력을 높이는 등 제형 최적화 연구가 요구된다. 그리고 가격경쟁력을 높이기 위해 제품 생산비용을 낮추는 것도 중요하다고 할 수 있다. 이외에도 기주 특이적 독소, 효소 및 promoter를 이용하거나, 곰팡이-기주간의 상호작용과 관련한 병원성, 면역조직화학(immunocytochemistry)적인 연구가 이루어지고 있다. 병원성이 낮고 광범위 제초활성 스펙트럼을 보이는 병원균을 특정 carrier와 결합시켜 대상 잡초에 처리하여 방제효능을 증진시키려는 시도도 이루어지고 있는데 이러한 특이성(specificity)은 기주를 침입하는 병원균과 이를 도와주는 carrier(자체로는 병을 일으키지는 않고 다른 균이 기주에 머물도록 도와주는 생물체)간의 상호작용에 기초한 것이다. 또한 제초활성의 증진을 위해 다양한 특성의 미생물들의 효과를 이용하는 제제혼합 기술이 이용되기도 한다.

또한 미생물 균주들 간의 상승효과를 이용하는 방법이 있는데 즉, 절대기생균(biotroph)의 높은 특이성과 부생균(necrotroph)의 강한 발병력(virulence)이 조합된 제제의 개발이 제시되고 있다. 아직 실용화되지는 않았지만 특정 환경조건에 의존적인, 즉 기주 의존성일 이용하기 위하여 복합적인 영양요구성 균주(auxotroph) 또는 변이주를 이용한 잡초방제가 시도되고 있다. 최근 급속히 발전하고 있는 부자생물학, 유전공학 등과도 연계하여 방제효과와 생태적 적합성을 향상시키려는 연구도 이루어지고 있다. 재조합 DNA 기술을 이용한 gene copy를 통해 클론된 병원성 유전자의 expression을 변경함으로써 병원성을 증가시키는 등의 종합적인 연구가 이루어지고 있으며, 기주 범위를 제한하거나 생존력을 증진시키려는 연구가 이루어지고 있다. 이와 같이 미생물제초제의 개발은 아직까지 괄목할 만한 성과는 보이지 않고 있지만, 다른 기타 생물제제와 마찬가지로 연구자 및 소비자의 인식전환이 이루어지고 관련 기술이 향상됨에 따라 그 개발 속도와 시장성은 크게 증대될 것이다. 또한 농업 생태계에서의 생물학적 잡초방제는 합성 제초제의 사용을 현격하게 감소시키고, 지속형 농업을 이루어 지구 생물 다양성을 보존, 확대에 크게 기여할 수 있을 것으로 전망된다.

요 약

미생물제제(mycoherbicide)라는 용어는 1970년대부터 사용되기 시작하였다. 하지만 미생물 제제에 대한 관심은 화학제제의 비용증가로 인해 최근 주목을 받게 되었다. 고전적인 생물학적방제제(Biological Control Agent, BCA)는 생태적으로 안전하다는 이유로 생태학적인 관점에서 관심을 끌고 있다. 반면, 현대적인 의미의 생물학적방제제는 인공적으로 배

양이 가능하고, 또한 그 잡초방제 효과도 화학제초제와 같은 수준이 요구된다. 현재 미생물제제는 7개국에서 곰팡이로부터 만들어지는 26종이 있다. 이들은 재배작물에는 안전한 기주특이성을 갖는다. 그러나 대부분의 약제전달체계는 살아있는 미생물을 활력을 유지한 상태로 장기간 보존할 수 있는 능력을 가지고 있어야 함에도 불구하고 대부분이 조건을 충족시키질 못하였다. 또한, 실험실 수준에서는 방제효과가 잘 나타나지만, 실무적으로 사용할 경우 사용년도 및 포장에 따라 방제효과의 발현성과 지속성이 다르게 나타났다. 이 밖에 미생물제제 사용 시 습도, 이슬, 온도 및 이들 요인이 잡초방제에 미치는 효과에 대한 연구결과도 미비한 상태이다. 따라서 잡초방제효과가 뛰어난 미생물제제를 선별해야한다. 선행된 연구에서 제안된 효과적인 미생물제제의 조건은 첫째, 인공 배양법으로 내구성이 있는 접종원(inoculum)의 대량 생산이 가능하고, 둘째, 유전적으로 안정하면서 기주 특이성이 있고, 셋째, 다양한 범위의 잡초방제효과 있어야 한다. 미생물제제의 생산과 보급은 잡초의 생물학적인 방제에 지대한 역할을 할 수 있다. 액상보다는 입상 형태의 미생물제제가 가벼워서 사용이 간편하며, 젤(gel) 타입의 미생물제제도 사용되는 것으로 알려져 있다.

주요어: 미생물제제, 미생물제초제, 생물학적 방제, 화학제초제

참고문헌

1. Agrios, G.N. 1978. Plant Pathology, 2nd. ed. Academic Press, New York, 703 p.
2. 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.
3. Auld, B.A. and C.A. Tisdell. 1985. Biological weed control-equilibria model. Agric. Ecosyst. Environ. 13: 1-8.
4. Baker, K.F. and R.J. Cook. 1974. Biological control of plant pathogens. Freeman, San Fransisco. 433 p.
5. Bateman, D.F. and H.G. Basham. 1976. Degradation of plant cell walls and membranes by microbial enzymes, pp. 316-355. in Encyclopedea of Plant Physiology new series vol. 4. Heitefuss, R and Williams P. H. eds. New York, USA.
6. Colhoun, J. 1973. Effects of environmental factors on plant disease. Ann. Rev. Phytopathol. 11: 343-364.
7. Colhoun, J. 1979. Predisposition by the environment. pp. 75-96. in: Horsfall, J. G. and Cowling, E.B. eds. Plant Disease: An Advanced Treatise. Vol. 4. How Pathogens Induce Disease. Academic Press, New York.
8. Cowling E.B. 1978. Agricultural and forest practices that favors epidemics. pp. 361-381 in: Horsfall, J.G. and Cowling, E.B. eds. Plant Disease: An Advanced Treatise. Vol. 2 How Disease Develops in Populations. Academic Press, New York.
9. Day, P.R. 1974. Genetics of host-parasite interaction. Freeman, San Fransisco. 238 p.
10. Daniel, J.T., G.E. Templeton, R.J. Smith, and W.T. Fox. 1973. Biological control of nothern jointvetch in rice with

- an endemic fungal disease. *Weed Sci.* 21: 303-307.
11. Elwakil, M.A., E.A. Sadik, E.A. Fayzalla, and Y.M. Shabana. 1990. Biological control of waterhyacinth with fungal plant pathogens in Egypt. pp. 483-498 in: *Proc. 7th Int. Symp. Bio Control Weeds.* E.S. Delfosse, ed. Rome, Italy.
 12. Grant, N.T., E. Prusinkiewicz, R.M.D. Makowski. 1988. Herbicide interactions with *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *malvae*, a bioherbicide for round-leaved mallow(*Malva pusilla*) control. *Weed Technol.* 4: 716-23.
 13. Grant, N.T., E. Prusinkiewicz, R.M.D. Makowski, B.H. Ruddick and K. Mortenson. 1990. Effect of selected pesticides on survival of *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *malvae*, a bioherbicide for round-leaved mallow(*Malva pusilla*). *Weed Technol.* 4: 701-715.
 14. Hong, Y.K., J.M. Cho, J.C. Kim, and J.Y. Uhm. 1996. Identification, pathogenicity and host range of a potential *Epicoccossorus nematosporus*, causing fingerprint stem blight on water chestnut, *Eleocharis kuroguwai*. *Korean J. Plant Pathol.* 12(1): 58-65.
 15. Hong, Y.K., J.M. Cho, J.Y. Uhm, and K.R. Ryu. 1997. Potential application of *Epicoccossorus nematosporus* for the control of water chestnut. *Korean J. Plant Pathol.* 13(3): 167-171.
 16. Hong, Y.K., J.C. Kim, K.R. Ryu, and S.C. Kim. 1991. Pathogenicity and some related characteristics of the fingerprint blight pathogen(*Epicoccossorus nematosporus*) attacking water chestnut(*Eleocharis kuroguwai* Ohwi). *Korean J. Plant Pathology Newsletter* 2: 47(Abstr.)
 17. Hong, Y.K., J.C. Kim, and S.K. Lee. 1992. Biological control of rice weed, water chestnut(*Eleocharis kuroguwai*), using the fingerprint stem blight pathogen(*Epicoccossorus nematosporus*). *Korean J. Plant Pathology Newsletter* 3: 75(Abstr.)
 18. Hong, Y.K., S.B. Song, J.B. Hwang, D.B. Shin, and D.C. Lee, 2001. Isolation of host specific fungal isolate YK-201 to bulrush(*Scirpus hotarui* Ohwi) and weeding effect of the plants caused by natural infection in paddy field. *The Proc. of the 18th Asian-pacific Weed Sci. Soc. Conf.* 393-398 pp.
 19. Hong, Y.K. 1999. Pathogenicity and host range of potential bioherbicide isolate YK101, causing white root rot on white clover(*Trifolium repens*). *Korean J. Plant Pathology* 4(1). Abstr.
 20. Hong, Y.K. 1999. Biological culture of water chestnut(*Eleocharis kuroguwai*) by unendemic host specific pathogen (*Epicoccossorus nematosporus*) in rice field. *Dissert.* Kyungpook National University.
 21. Hong, Y.K. 2001. Evaluation of mycelium virulence of mycoherbicide agent, fungal isolate, BWC 101 to *Aeschynomene indica* L. *Korean. J. Plant Pathology*(Abstr.)

22. Kirkpatrick, T.L., Templeton, G.E., TeBeest, D.O. and Smith, R. J. Jr. 1982. Potential of *Colletotrichum malvarum* for biological control of prickly sida. *Plant Dis.* 66: 323-325.
23. Makowski, R.M.D. 1987. The evaluation of *Malva pussila* Sm. as a weed and its pathogen, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. f. sp. malvae as a bioherbicide. Ph.D. Dissert. University of Saskatchewan, Saskatoon, SK, Canada. 225 p.
24. Makowski, R.M.D. and K. Mortenson. 1990. *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. malvae as a bioherbicide for round-leaved mallow(*Malva pusilla*): conditions for successful control in the field. pp. 513-522 in: Proc. 7th Int. Symp. Bio. Control Weeds. E. S. Delfosse, ed. Rome. Italy.
25. Morris, M.J. 1989. A method for controlling *Hakea sericea* Shrad. seedlings using the fungus *Colletotrichum gloeosporioides*(penz.) Sacc. *Weed Res.* 29: 449-454.
26. Mortensen, K. 1988. The potential of an endemic fungus, *Colletotrichum gloeosporioides*, for biological control of round-leaved mallow(*Malvae pusilla*) and velvetleaf(*Abutilon theophrasti*). *Weed Sci.* 36: 473-478.
27. Mortensen, K., and R.M.D. Makowski. 1990. Field efficacy at different concentrations of *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. malvae as a bioherbicide for round-leaved mallow (*Malva pusilla*). pp. 523-530 in: Proc. 7th Int. Symp. Bio. Control Weeds. E.S. Delfosse, ed. Rome, Italy.
28. Muller-Scharer H., P.C. Scheepens, and M.P. Greaves. 2000. Biological control of weeds in European crops: recent achievements and future work. *Weed Research* 40: 83-98.
29. Shrum, R.D. Creating epiphytotics. In R. Charudattan, H.L. Walker(eds); *Biological control of weeds with plant pathogens*; John Wiley and Sons: New York, NY. 1982; 113-136 p.
30. Stevens, R.B. 1960. Cultural practices in disease control. pp. 357-429 In: J.G. Horsfall, and E.B. Cowling,(eds). *Plant Disease: An Advanced Treatise. Vol. 3. The Diseased Population: Epidemics and Control.* Academic Press, New York.
31. Tebeest, D.O., G.E. Templeton, and J. R. Smith. 1978. Temperature and moisture requirements for the development of anthracnose on northern jointvetch. *Phytopathology* 68: 389-393.
32. TeBeest, D.O. and G.E. Templeton. 1985. Mycoherbicides: progress in the biological control of weeds. *Plant Dis.* 69(1): 6-10.
33. Templeton, G.E. 1982. Status of weed control with plant pathogens. pp. 29-44. in: *Biological control of weeds with plant pathogens* R. Charuddattan and Walker, H.L. (eds): John Wiley and Sons, New York, NY.
34. Tu, J.C. 1982. Effect of temperature on incidence and severity of anthracnose

- on white beans. *Plant Dis.* 66: 781-783.
35. Walker, H.L. 1981. Factors affecting biological control of spurred anoda(*Anoda cristata*) with *Alternaria macrospora*. *Weed Sci.* 29: 505-507.
36. Yorinori, J.T. and D.L.P. Gazziero. 1990. Control of milkweed(*Euphorbia heterophylla*) with *Helminthosporium* sp. Pp. 571-578. in *Proc. 7th Int. Symp. Bio. Control Weeds*. E.S. Delfosse, ed. Rome, Italy.
37. Zadoks, C.J. and R.D. Schein. 1979. *Epidemiology and plant disease management*. Oxford University Press, NY. 427 p.