

## 백강균(*Beauveria bassiana*)에 감염된 잣나무넓적잎벌 (*Acantholyda posticalis posticalis* Matsumura) 토중 유충의 병징

### Effects of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* on the Larva of the Black Tipped Sawfly, *Acantholyda posticalis posticalis* Matsumura

김형준<sup>1</sup> · 홍옥기<sup>1</sup> · 이창근<sup>2</sup> · 신상철<sup>2</sup> · 박용철<sup>1</sup>

Hyeong Jun KIM<sup>1</sup>, Oak Kee HONG<sup>1</sup>, Chang Keun LEE<sup>2</sup>, Sang Chul SHIN<sup>2</sup> and Yong Chul PARK<sup>1</sup>

**ABSTRACT** Four strains of *Beauveria bassiana* F101, F587, F9 and FJ8, were received from Forestry Research Institute, Seoul. The strain, *B. bassiana* F101, was the most active in the enzymatic activity and spore production. When spores of *B. bassiana* F101 were sprayed on the female larva of the black tipped sawfly with various concentrations of  $6 \times 10^{10}$ - $10^4$  spores/ml, insects started to die from 5~7 days, and were covered with mycelia and spores in 24~28 days at 25°C, while the insect did not show visible symptoms even after 50 days at 4°C. The insect injected with 5  $\mu$ l of spore solution ( $3 \times 10^{10}$ - $10^4$  spores/ml) died within 30~98 and 38~218 hours at 25°C and 4°C, respectively. About 3 days (60 hours) after the injection with a concentration of  $3 \times 10^9$  spores/ml, at the point of the insect's death, lots of proteins started to disappear in the hemolymph, fat body and carcass at 25°C. Esterase activity in the tissues was gone suddenly after that time. Six days after the spray, many protein and esterase bands were lost in the hemolymph, but not those in the fat body and carcass. When the fungi growing in the host were exposed in the air, they put energy for spore production, while numerous long and thin mycelia branched out from the host body in the soil.

**KEY WORDS** *Beauveria bassiana*, *Acantholyda posticalis posticalis* Matsumura, Symptoms, Proteins, Esterases

**초 록** 산림청으로부터 분양받은 백강균의 균주 F101, F587, F9, FJ8의 포자형성력과 균사와 포자의 esterase 활성도를 비교한 결과 F101이 가장 우수한 것으로 나타났다. 균의 포자를 도말한 후 25°C 조건에서 보관하면 5~7일 부터 충이 치사하며 24~28일 후에는 충의 표면에 균사와 포자가 분출한다. 그러나 4°C보관조건에서는 뚜렷한 병적 증상이 나타나지 않았고 50일 이상이 경과하여도 충밖으로 균사나 포자가 분출되는 것을 관찰할 수 없다. 백강균의 포자를 충체에 주입하였을 경우에는 충의 치사시기가 빨라지며 4°C 보다 25°C에서 병적증상의 진행속도가 빨라진다. 백강균의 포자를  $3 \times 10^9$ /ml 농도로 5  $\mu$ l씩 충의 체내에 주입하여 25°C에 보관하면서 지방체, 표피, 혈림프로 구분하여 전기영동법으로 조사한 결과 각 조직의 일반단백질과 esterase는 충 치사시기인 3일(60시간)을 기점으로 상당수가 사라지는 현상을 보인다. 백강균은 기주에 재차감염을 일으킬 수 있는 확율을 최대한으로 하기 위하여 공기중에 있을 때는 포자를, 토중에서는 길고 가는 균사를 형성하는 생리적인 적응을 한다.

**검색어** 백강균, 잣나무넓적잎벌, 병적증상, 단백질, esterases

19세기 말부터 곤충병원균은 해충의 생물적방제자로 인식되어져 왔으며(Ferron 1985) 백강균(*Beauveria bassiana*)을 대상으로한 본격적인 연구는 1956년 적합한 배양법을 제시한 Muller-Kogler(cited in Vey 1994)에 의해서 시작되었다.

곤충병원성 백강균은 주로 곤충표피를 통하여 내부로 침입하여 곤충의 면역작용을 차단하거나 독성물질

을 분비하여 기주를 치사시킨다(Bidochka & Khachatourians 1991, Pendland et al. 1993). 현재까지 백강균에 대한 병원생리학적 연구는 주로 백강균으로부터 생성되는 독성물질과 균사와 포자가 충의 표피를 침투할 때 분비하는 곤충 큐티클 분해효소인 단백질가수분해효소, 키틴분해효소, esterase의 특성에 대한 것에 중점을 두었다(Ferron 1985, Leger et al. 1987, Bidochka &

<sup>1</sup>강원대학교 농과대학 농생물학과(Department of Agricultural Biology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea)  
<sup>2</sup>산림청 임업연구원(Forestry Research Institute, Forestry Administration, Seoul, Korea)

Khachatourians 1990, Gupta *et al.* 1994, Bidochka & Khachatourians 1994). 그러나 백강균이 층의 생리, 생화학적 활동에 미치는 영향에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 백강균(*Beauveria bassiana*)에 감염된 층의 병적증상과 효소학적 변화를 조사하기 위하여 산림청 입업연구원에서 분양받은 백강균 F101 균주의 포자를 잣나무넓적잎벌에 도말과 체내 주입을 실시한 후 25°C와 4°C에 보관하면서 관찰 및 전기영동적 비교를 하였다. 동시에 백강균 F101, F587, F9, FJ8 균주의 esterase의 활성과 층체의 표면에 형성되는 균사의 형태적 차이를 비교하였다.

### 재료 및 방법

#### 백강균의 배양 및 잣나무넓적잎벌의 채집

균주는 산림청 입업연구원으로부터 분양받은 백강균(F101, F587, FJ8, F9)을 사용하였다. 균주는 PDA(200 g starch, 20 g dextrose, 18 g agar/l)와 PD(200 g starch, 20 g dextrose/l)배지를 이용하여 25°C 배양기에서 7일간 배양하였다. 잣나무넓적잎벌의 유충은 10~11월에 토양속에 있는 것을 채집하여 외관상 건전한 것으로 보이는 암컷을 선발하여 4°C 또는 25°C에 보관하면서 시료로 사용하였다.

#### 균주간 esterase활성 비교

각 균주의 포자는 PDA배지에서 형성시켜 수거한 후 막자사발에 일정량을 넣은 후 질소가스를 부어 마쇄를 실시하였다. 마쇄된 포자 30  $\mu$ l에 0.025 M Tris-HCl buffer pH6.8 60  $\mu$ l를 넣어 13,000 rpm, 4°C에서 15분간 원심분리를 실시한 후 상층액을 -70°C 냉동고에 보관하였다. 균사는 액체배지상(PD)에서 7일간 배양 후 배지를 여과지(Whatman No 2)로 거른 후 포자와 동일한 방법으로 마쇄하였다. 시료는 Hames법(1981)에 따라 9% Native-PAGE를 하였으며 esterase염색을 통하여 포자와 균사의 효소활성을 알아보았다.

#### 포자처리 방법과 온도에 따른 층의 병의 발현

4가지 균주의 병원성검정을 위하여 포자를 0.1% Tween 20에 현탁시켜 5  $\mu$ l( $3 \times 10^5$  cfu/ml)를 미세한 유리관을 이용하여 전용상태의 잣나무넓적잎벌의 암컷 복부끝마디에 주입하였다. 주사된 공시충은 25°C에 보관하면서 병적증상과 백강균 균주간 포자형성의 차이

를 관찰하였다.

백강균 F101 균주의 포자를 공시충에 도말 및 주입하여 병적증상이 진행되는 과정을 관찰하였다. 포자를 0.1% Tween 20에 현탁시켜  $6 \times 10^{10}$ - $10^6$ /ml로 희석하여 사용하였다. 플라스틱 샤아레에 여과지(Whatman No 41)를 깔고 잣나무넓적잎벌의 토중유충 암컷 10마리씩 넣은 후 농도별로 1 ml씩 표피에 균을 도말하여 4°C와 25°C에 보관하면서 층과 균사의 변화를 관찰하였다.

미세한 유리관을 이용하여 층체내부로 균의 포자를 주입하였다. 포자를 0.1% Tween 20에 현탁시켜  $3 \times 10^{10}$ - $10^4$ /ml로 10배씩 희석하였다. 각 농도별로 10마리의 전용 암컷에 5  $\mu$ l씩 유충의 복부 끝마디에 균을 주입하였다. 플라스틱 샤아레에 여과지(Whatman No 41)를 깔고 주사된 공시충을 넣은 후 4°C와 25°C조건에 보관하면서 치사시기와 균의 성장을 관찰하였다.

#### 백강균이 층의 일반단백질과 esterase에 미치는 영향

백강균이 잣나무넓적잎벌의 전용 암컷의 일반단백질과 esterase의 활성에 미치는 영향을 알아보기 위하여  $3 \times 10^9$ /ml 포자를 5  $\mu$ l 주입한 후 25°C에 보관하면서 암컷 3마리씩 복부끝마디에서 혈림프를 추출한 후 해부현미경( $\times 20$ )하에서 지방체와 표피를 구분하여 1일 간격으로 5회 시료채취를 하여 -70°C 냉동고에 보관하였다.  $3 \times 10^9$ /ml 농도의 포자를 10마리당 1 ml로 도말 후 층의 조직추출은 25°C조건에서 2일 간격으로 4회 시료를 채취하였다.

#### 전기영동

공시충의 혈림프는 0.025 M Tris-HCl buffer pH6.8로 50배 희석(v/v)하였고 지방체와 외피는 3배 희석(w/v)한 후 원심분리(13,000 rpm, 4°C, 3분) 후 상층액을 -70°C에 보관하였다. 시료는 Hames법(1981)에 따라 9% Native-PAGE에 0.025 M Tris-glycine buffer pH8.3로 12 mA, 100 V로 3시간동안 전기영동하였다. 일반단백질은 24시간동안 0.1% Coomassie blue R-250에 염색 후 탈색하였고 esterase는 0.2 M sodium phosphate buffer pH7.2, 40 mg fast blue RR salt, 1%  $\alpha$ -naphthyl acetate를 이용하여 발색하였다.

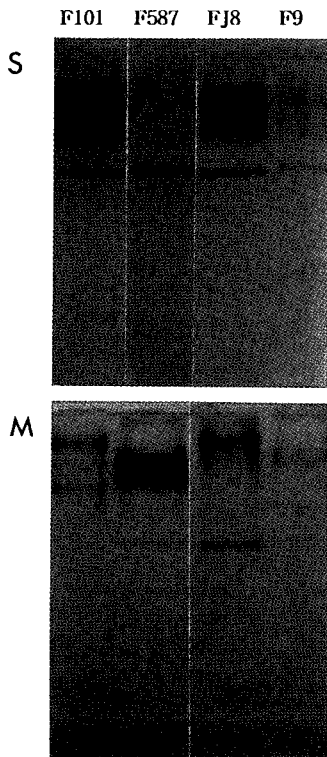
### 결과 및 고찰

#### 백강균의 효소활성과 성장특성

백강균의 포자와 균사가 생성하는 esterase와 단백질

가수분해효소 그리고 키틴분해효소는 곤충 표면의 큐티클층을 뚫고 내부로 침투하는데 중요한 역할을 한다 (Ferron 1985, Leger *et al.* 1987, Bidochka & Khachatourians 1990, Bidochka & Khachatourians 1994, Gupta *et al.* 1994). 백강균의 각 균주의 포자에 존재하는 esterase활성을 비교하여본 결과 F101은 2개, F587은 6개, FJ8은 2개, F9은 3개의 주 밴드를 가지고 있으며 전기적 이동도에 있어서도 균주간 차이를 나타낸다 (Fig. 1). 균사의 esterase 밴드는 각 균주간에 비슷한 양상을 보이고 있으나 F101과 FJ8이 가장 강한 활성을 나타낸다 (Fig. 1).

포자를 잣나무넓적잎벌의 내부로 주입하여 충의 치사후 증상과 표면에 형성되는 균사의 형태를 비교하여본 결과 F101과 F587은 충 표면의 경화를 유도하고 외



**Fig. 1.** General esterases of the spore and mycelium in *Beauveria bassiana*. S and M represent spores and mycelia, respectively. The labels indicate strains of *B. bassiana* strains were from Forestry Research Institute, Seoul, Korea. The fungi were cultured in PDA for the spore, in PD for the mycelium for 7 days at 25°C. Esterase was stained with  $\alpha$ -naphthyl acetate as a substrate and Fast blue RR after a native 9% PAGE.

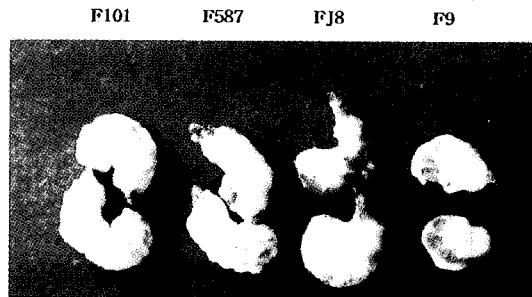
관상 분말과같은 형태의 균사와 포자를 형성하나 FJ8과 F9은 충체를 연화시키며 외관상 물에 젖은 습과같은 형태의 균사와 포자를 형성한다 (Fig. 2).

균주간 효소활성과 충에 대한 병적증상에 차이를 보이는 것은 병원성 및 해충방제 효과에 차이가 있을 수 있다는 것을 암시한다 (Gupta *et al.* 1994). 대상 해충을 효과적으로 방제하기 위해서는 백강균의 균주와 충간에 일어나는 생리와 생화학적 반응에 대한 좀더 상세한 연구가 필요하리라 생각된다.

백강균에 감염된 충이 공기중에 노출되어 있을 때는 충의 표면에 형성된 균사의 길이가 짧고 포자가 다량으로 생성된다 (Fig. 2). 반면 충이 토중에 있을때는 포자의 형성을 억제하고 충의 체장보다 훨씬 길고 다발로된 균사가 여러 방향으로 뻗는 특성을 나타낸다 (Fig. 3). 토중에서 균사가 형성된 충을 채집하여 공기중에 노출시키게 되면 수일 이내에 다량의 포자가 형성된다. 이러한 결과는 백강균이 주어진 조건에서(공기 또는 토양속) 주변의 기주에 재차감염을 일으킬수 있는 확율을 최대한으로 하기위한 생리적인 적응으로 생각된다.

**백강균 감염충의 병의 발현**

백강균은 아직 작용기작이 잘 알려지지 않았지만 작은 분자량의 독성물질 또는 당단백질과 같은 독성 단백질을 충체 내부에서 분비하여 충을 치사시킨다. (Bidochka & Khachatourians 1991, Pendland *et al.* 1993, Mollier *et al.* 1994). 백강균 F101을 사용하여 공



**Fig. 2.** Spores and mycelia of *Beauveria bassiana* grown on the surface of the female prepupa of the pine sawfly *Acantholyda posticalis posticalis*. The labels indicate strains of *B. bassiana*. Five microliters of spores ( $3 \times 10^5$  cfu/ml) dispersed in 0.1% Tween 20 were injected into the insect through the last abdominal segment. After injection, the insect was put at 25°C for 12 days and taken a photo.

시충인 잣나무넓적잎벌의 전용 암컷에 도말 또는 주입하여 충의 병적증상의 진전과정과 균사와 포자의 형성 과정을 25°C와 4°C 조건에서 비교, 조사하였다.

균포자를 충의 표피에 도말시 일반적으로 관찰되는 병적증상은 크게 3단계로 구분할 수 있다. 초기의 감염 증상에는 큐티클에 국부적인 반점(melanization), 몸의 부푼, 형태적 변화가 없는 3가지의 형태를 구분할 수 있으나 형태적인 변화가 없는 것이 가장 일반적이다. 이중 국부적 반점은 Ferron(1985)의 보고에서도 언급된 사실로 곤충의 방어작용의 부분적인 표출인지 아니면 균의 독자적인 활동에 의한 것인지는 아직 밝혀지지 않고 있다. 감염중기 증상은 충체가 물러지며 활력

이 떨어진다. 말기의 증상은 충이 치사되고 표피의 경화가 일어나며 입, 기공, 항문, 표피의 마디 사이로 부터 균사가 돌출한다.

포자를 충체에 도말하여 25°C에 보관하면  $3 \times 10^{10}$ - $3 \times 10^6$ /ml의 농도에서 3~7일 부터 충이 치사하기 시작하여 21~30일이 경과하면 충의 표면에 균사와 포자가 형성된다 (Table 1). 도말후 4°C보관조건에서는 50일 이상이 경과하여도 균사나 포자가 형성되지 않았다. 이러한 결과는 온도와 습도는 백강균의 성장과 포자형성 그리고 병원성 발현에 중요한 요인이 된다는 결과를(Marcandier & Khachatourians 1987, Moore & Erlanson 1988) 반영하는 것이다.

백강균의 포자를 체내에 주입하였을 경우에는 외부적으로 병적증상이 나타나지 않고 단시일 내에 충이 치사되며 포자 농도가 높을수록 충의 치사와 표피의 경화 및 균의 충표면 포자형성 시기가 빨라진다.  $3 \times 10^{10}$ - $3 \times 10^4$ /ml의 농도의 포자를 5  $\mu$ l 주입하여 25°C에 보관한 경우에 농도에 따라 30~98시간 이면 충은 치사한다. 60~122시간이 경과하면 감염 말기 증상인 충표피 경화증상이 나타나며 128~200시간 후에는 충표피를 뚫고 분출되는 포자및 균사가 관찰된다 (Table 2).

포자 주입시 4°C에서는 38~218시간 이내에 모든 충이 치사되나 경화가 늦어지고 충표면에 균사와 포자가 형성되지 않는다 (Table 3). 치사되어 미이자가 된 충을 25°C로 온도를 올려주고 수분을 첨가하면 수일

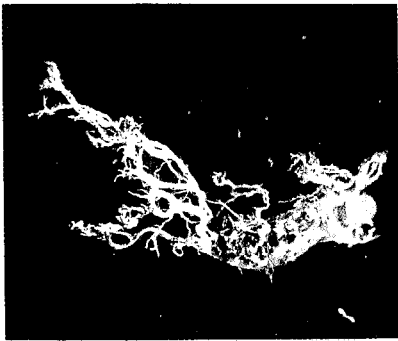


Fig. 3. Bundles of mycelia of *Beauveria bassiana* branched out from the female larva of the black tipped sawfly, *Acantholyda posticalis posticalis* M. The mummy was digged out from the soil in October.

Table 1. Effects of the spray of the spores of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, on the black tipped sawfly, *Acantholyda posticalis posticalis* M., female prepupa

Concentration*	control	$6 \times 10^{10}$	$3 \times 10^{10}$	$3 \times 10^9$	$3 \times 10^8$	$3 \times 10^7$	$3 \times 10^6$
First killed	-	3	4	6	6	7	7
Fungal discharge	-	21	24	24	28	30	30
Mortality(%)	0	100	100	100	100	90	90

\* Ten female prepupa at each concentration were sprayed with 1 ml of spores in 0.1% Tween 20 and stored at 25°C. The unit is day.

Table 2. Effects of the injection of the spores of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, into the black tipped sawfly, *Acantholyda posticalis posticalis* M., female prepupa at 25°C

Concentrations*	control	$6 \times 10^{10}$	$3 \times 10^{10}$	$3 \times 10^9$	$3 \times 10^8$	$3 \times 10^7$	$3 \times 10^6$	$3 \times 10^5$	$3 \times 10^4$
Killed	-	30	60	60	80	80	80	98	98
Mummification	-	60	80	80	98	98	98	122	122
Fungal discharge	-	128	128	146	146	170	170	200	200
Mortality(%)	0	100	100	100	100	100	100	100	100

\* Five microliters of spores were injected into the insect through the last abdominal segment. The unit is hour.

**Table 3. Effects of the injection of the spores of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, into the black tipped sawfly *Acantholyda posticalis posticalis* M., female prepupa at 4°C**

Concentrations*	control	6×10 <sup>10</sup>	3×10 <sup>10</sup>	3×10 <sup>9</sup>	3×10 <sup>8</sup>	3×10 <sup>7</sup>	3×10 <sup>6</sup>	3×10 <sup>5</sup>	3×10 <sup>4</sup>
Killed	-	38	60	60	80	98	188	218	218
Mortality(%)	0	100	100	100	100	100	100	100	100

\* Five microliters of spores were injected into the insect through the last abdominal segment. The unit is hour.

이내에 충의 표피에 균사와 포자가 형성된다. 이러한 결과는 도말실험에서와 마찬가지로 온도와 습도는 백강균의 균사성장과 포자형성에 중요한 역할을 한다는 것을 알 수 있다.

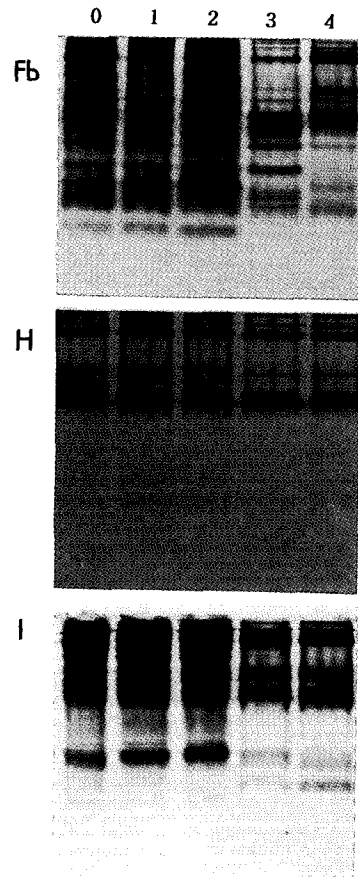
그러나 4°C라도 충이 일단 백강균에 감염되면 병의 진적속도는 늦지만 결국 충을 죽이게 되는 관계로 방제효과를 기대할 수 있을 것으로 생각된다. 백강균의 충체 침투는 물리적인 힘과 큐티클분해효소(Ferron 1985, Bidochka & Khachatourians 1987, Bidochka & Khachatourians 1992, Bidochka & Khachatourians 1994)의 활성도 그리고 충의 방어능력(Lecuona *et al.* 1991)에 따라 달라질 수 있다. 월동 해충의 방제를 위해서는 균사의 성장력은 다소 낮아도 저온에서 효소활성이 뛰어난 큐티클분해효소를 분비하는 균주의 선발을 시도하는 것도 하나의 방법이 될 수 있을 것으로 생각된다.

**감염된 충의 일반단백질과 esterase의 활성변화**

백강균 F101 균주의 포자를 주입 또는 도말후 잣나무뽕잎벌의 조직에 존재하는 일반단백질과 esterase의 활성변화를 전기영동을 통하여 관찰하였다. 균의 포자를 주입하여 (3×10<sup>9</sup>/ml, 5 µl) 25°C에 보관한 경우에 충의 지방체, 외피, 혈림프의 단백질이 빠른 속도로 소멸되어가는 양상을 보여주고있다. 특히 기주 치사시기인 약 3일(60시간)을 기점으로 단백질의 밴드양상에 현격한 차이가 난다 (Fig. 4).

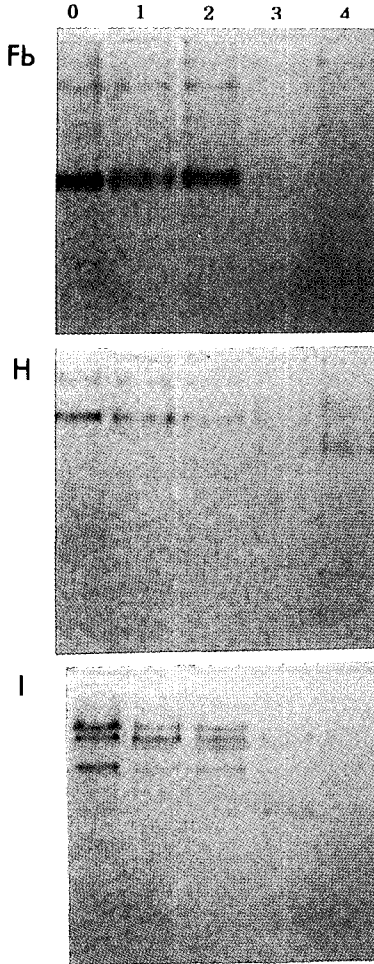
Esterase도 일반단백질과 동일한 양상을 보이는데 지방체의 esterase는 음극쪽에 4개의 밴드가 위치한다. 치사시기인 60시간경부터 밴드는 차츰 소멸되며 충의 표피가 경화되는 시기에는 모든 밴드가 소멸된다. 혈림프의 esterase는 음극쪽의 2개의 주밴드가 치사시기를 기점으로 약해지며 전기적 이동도가 빠른 새로운 밴드도 형성된다. 외피에 존재하는 4개의 esterase밴드는 치사시기를 기점으로 모두 소멸되는 양상을 나타낸다 (Fig. 5).

백강균의 포자를 이용한 도말실험(3×10<sup>9</sup>/ml)에서는



**Fig. 4.** General proteins of the female larva of the black tipped sawfly, *Acantholyda posticalis posticalis* M. injected with spores of *Beauveria bassiana* F101. Fb, H and I represent the fat body, hemolymph and integument. Numbers labeled indicate 0, 1, 2, 3 and 4 days after the injection. Spores of the strain, *B. bassiana* F101, was collected from the surface of PDA culture medium and dispersed in 0.1% Tween 20. Five microliters of spores (3×10<sup>9</sup> spores/ml) were injected into the insect through the last abdominal segment. The insect was put at 25°C and sampling was done everyday to the 4th day after injection. Tissue proteins were separated by a native 9% PAGE and stained with Coomassie brilliant blue R 250.

충의 일반단백질과 esterase의 변화가 비교적 늦게 일어나는 경향을 보인다. 외피와 지방체는 8일 경과후에도 일반단백질과 esterase의 활성에 큰차이를 보이지 않았다. 그러나 혈림프에서는 일반단백질과 esterase가

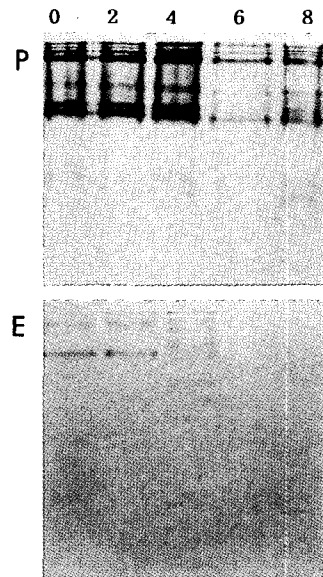


**Fig. 5.** General esterases of the female larva in the black tipped sawfly, *Acantholyda posticalis posticalis* M. injected with spores of *Beauveria bassiana* F101. Fb, H and I represent the fat body, hemolymph and integument. Numbers labeled indicate 0, 1, 2, 3 and 4 days after the injection. Spores of the strain, *B. bassiana* F101, was collected from the surface of PDA culture medium and dispersed in 0.1% Tween 20. Five microliters of spores ( $3 \times 10^9$  spores/ml) were injected into the insect through the last abdominal segment. The insect was put at 25°C and sampling was done everyday to the 4th day after injection. Esterase was stained with  $\alpha$ -naphthyl acetate as a substrate and Fast blue RR after a native 9% PAGE.

공시충의 치사시기인 6일 경과후부터 다수 소멸된다 (Fig. 6).

백강균은 기주의 표피를 통한 침투와 영양물질의 분해를 위하여 각종 효소를 분비하는 것으로 알려져 있다(Ferron 1985). 잣나무넓적잎벌의 치사시기를 기점으로 하여 상당수의 단백질이 소멸되고 esterase의 활성이 급격히 떨어지는 것은 백강균이 분비한 단백질가수분해효소의 작용에 의한 것으로 생각된다. 본 실험에서는 균이 충체 내부로 분비한 단백질 또는 효소는 확인할수 없었는데 이는 균이 생성하는 단백질은 기주가 가지고 있는 것보다 훨씬 적은 양으로 존재(Mollier *et al.* 1994)하기 때문인 것으로 생각된다.

이상의 결과를 요약하면, 백강균은 균주간에 효소활



**Fig. 6.** Hemolymph proteins and esterases of the female larva in the black tipped sawfly, *Acantholyda posticalis posticalis* M. sprayed with spores of *Beauveria bassiana* F101. P and E represent general proteins and general esterases, respectively. Numbers labelled indicate 0, 2, 4, 6 and 8 days after the spray. Spores of the strain, *B. bassiana* F101, was collected from the PDA culture medium and dispersed in 0.1% Tween 20. One milliliter of spores ( $3 \times 10^9$  spores/ml) was sprayed on the body surface of 10 prepupae. The insect was put at 25°C and hemolymph was sampled to the 8th day after the spray. General proteins was stained with Coomassie brilliant blue R250. Esterase was stained with  $\alpha$ -naphthyl acetate as a substrate and Fast blue RR after a native 9% PAGE.

성과 포자형성에 차이를 나타내고 있어 균주간 병원성도 달리 나타날수 있을 것으로 생각된다. 백강균은 토중에 있을 때는 균사의 형태로 공기중에 있을때는 포자의 생성을 촉진하여 재차감염 확율을 최대한으로 높이고자하는 생리적 적응을 한다. 충의 단백질 변화에 대한 결과에 의하면 백강균은 기주의 치사시기를 기점으로 기주의 영양물질 이용율이 급격히 증가한다는 것을 알수 있다. 포자를 이용한 감염실험에 의하며 4°C 조건에서는 병적 진전속도는 늦지만 결국 충을 치사시키는 관계로 저온 조건에서도 충의 방제 효과를 기대할수 있을 것으로 기대된다.

### 인용문헌

- Bidochka, M. J. & G. G. Khachatourians. 1987. Purification and properties of an extracellular protease produced by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Appl. Environ. Microbiol. **53**(7): 1679-1684.
- Bidochka, M. J. & G. G. Khachatourians. 1990. Identification of *Beauveria bassiana* extracellular protease as a virulence factor in pathogenicity toward the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. J. Invertebr. Pathol. **56**: 362-370.
- Bidochka, M. J. & G. G. Khachatourians. 1991. The implication of metabolic acids produced by *Beauveria bassiana* in pathogenesis of the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. J. Invertebr. Pathol. **58**: 106-117.
- Bidochka, M. J. & G. G. Khachatourians. 1992. Growth of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on cutic lar components from the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. J. Invertebr. Pathol. **59**: 165-173.
- Bidochka, M. J. & G. G. Khachatourians. 1994. Protein hydrolysis in grasshopper cuticles by entomopathogenic fungal extracellular proteases. J. Invertebr. Pathol. **63**: 7-13.
- Ferron, P. 1985. Fungal control. In Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology (Edited by G. A. Kerkut and L. I. Gilbert). Pergamon Press, Oxford. **12**: 314-346.
- Gupta, S. C., T. D. Leathers, G. N. El-Sayed & C. M. Ignoffo. 1994. Relationships among enzyme activities and virulence parameters in *Beauveria bassiana* infection of *Galleria mellonella* and *Trichoplusia ni*. J. Invertebr. Pathol. **64**: 13-17.
- Hemes, B. D. 1981. An introduction to polyacrylamide gel electrophoresis. In Gel Electrophoresis of Proteins (Edited by B. D. Hemes and D. Rickwood), pp. 1-91. IRL Press, Oxford.
- Lecuona, R., G. Riba, P. Cassier & J. R. Clement. 1991. Alteration of insect epicuticular hydrocarbons during infection with *B. brongniartii*. J. Invertebr. Pathol. **58**: 10-18.
- Leger, R. J. ST., R. M Cooper & A. K Charnley. 1987. Distribution of chymolastases and trypsin-like enzymes in five species of entomopathogenic Deuteromycetes. Arch. Biochem. Biophys. **258**(1): 123-131.
- Marcandier, S. & G. G. Khachatourians. 1987. Susceptibility of the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes* (Orthoptera: Acrididae), to *Beauveria bassiana* (Bals.) vuillemin (Hyphomycete): influence of relative humidity. Can. Ent. **119**: 901-907.
- Moller, P., J. Lagnel, B. Fournet, A. Aioun & G. Riba. 1994. A glycoprotein highly toxic for *Galleria mellonella* larvae secreted by the entomopathogenic fungus *Beauveria sulfurescens*. J. Invertebr. Pathol. **64**: 200-207.
- Moore K. C. & M. A. Erlandson. 1988. Isolation of *Aspergillus parasiticus speare* and *Beauveria* (Bals.) *vuillemin* from melanoiline grasshopper (Orthoptera: Acrididae) and demonstration of their pathogenicity in *Melanoplus sanguinipes* (Fabricius). Can. Ent. **120**: 989-991.
- Pendland, J. C., S. Y. Hung & D. G. Bouclas. 1993. Evasion of defense by in vivo-produced protoplast-like cell of the insect mycopathogen *Beauveria bassiana*. J. Bacteriol. **175**(18): 5962-5969.
- Vey, A. J. 1994. Erwin muller-kogler: a pioneer of insect mycology and microbial control with fungi. J. Invertebr. Pathol. **63**: 113-118.

(1996년 3월 14일 접수)