

선충 포식성 곰팡이를 이용한 뿌리썩이선충(*Pratylenchus* spp.)의 생물학적 방제

김성렬 · 최광호 · 추호렬¹ · 손흥대*

동아대학교 생명자원과학부

¹경상대학교 농과대학

Biological Control of Root-Lesion Nematodes (*Pratylenchus* spp.) by Nematode-Trapping Fungi

Seong Ryul Kim, Kwang Ho Choi, Ho Yul Choo¹, Hung Dae Sohn*

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

¹College of Agriculture, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

Abstract

For the biological control of the root-lesion nematodes, *Pratylenchus* spp., which damage directly and indirectly to the leaf perilla, the nematical effect of three nematode-trapping fungi, *Arthrobotrys oligospora*, *A. conoides* and *A. dactyloides* was evaluated in the field. Three species of *Arthrobotrys* were isolated from the culture soil of leaf perilla in 1998 and were observed the capture of the root-lesion nematodes, *Pratylenchus* spp. by adhesive hyphal networks or constricting rings on agar. At 40 days after treatment, the plant-parasitic nematodes and root-lesion nematode populations were approximately increased 3.5 fold in untreated control plot, while the nematode population in fungi treatment plots was similar to initial population. In the *A. dactyloides* plot, however, the population of plant-parasitic nematodes and *Pratylenchus* spp. was approximately reduced 65% and 53%, respectively. Thus, the fungus *A. dactyloides* should provide as biological agent for the control of *Pratylenchus* spp.

Key words – Root-lesion nematode, *Pratylenchus* spp., Nematode-trapping fungi, *Arthrobotrys*, Biological control

서 론

선충포식성 곰팡이(nematode-trapping fungi)는 수축성 올가미(constricting ring)와 끈끈이 그물(adhesive network) 등과 같은 특이한 군사구조를 형성하여 선충을 포식하는 곰팡이 군으로 알려져 있다[2,4,6]. 수축성 올가미를 형성하여 선충을 포식하는 곰팡이는 선충이 없는 곳에서는 올가

미를 거의 형성하지 않고 부생균으로 존재하며, 선충 존재 시 올가미를 형성하여 선충을 포식한다[6]. 올가미는 몇 개의 세포로 구성되어 있는데 선충이 올가미 안으로 들어오면 세포가 급격히 팽창하여 선충을 포획하고, 이후 군사가 선충 체벽을 침입하여 선충을 포식하는 것으로 알려져 있다[4,11]. 끈끈이 그물을 형성하는 곰팡이의 군사표면은 점액질 물질로 되어있어 용이하게 선충을 포획한다[4]. 일반적으로 이들 선충포식성 곰팡이는 농작물 재배지 토양에서 쉽게 발견할 수 있으며, 전세계적으로 약 150여종이 알려져 있다[9]. 포식성 곰팡이들은 주로 *Arthrobotrys*, *Dactylaria*,

*To whom all correspondence should be addressed

Tel : (051) 200-7553, Fax : (051) 200-7594

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

*Dactylenchus*와 *Monacrosporium* 속에 속하여 있으며, *Arthrobotrys* 속에는 약 42종이 보고 되어 있다[13]. 국내에서는 *A. conoides*, *A. arthrobotryoides*, *A. oligospora*, *A. dactyloides*, *A. borchopaga*, *A. vermicola* 등 모두 6종의 *Arthrobotrys*가 보고된 바 있다[9].

최근까지 많은 연구자들은 식물기생성 선충에 대한 생물학적 방제제로서 이용 가능성 때문에 이들 곰팡이에 대해서 높은 관심을 가져왔으며[2,6,11,14], 우리나라에서도 이들 곰팡이를 이용한 뿌리혹선충(*Meloidogyne* spp.)의 생물학적 방제제로서 그 활용 가능성에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다[7,8,16].

본 연구는 남부지방의 잎들깨 재배지에서 잎들깨의 생육저하 및 고사의 원인이 되는 뿌리썩이선충(*Pratylenchus* spp.)을 방제하기 위해서 3종의 선충포식성 곰팡이, *A. oligospora*, *A. dactyloides*와 *A. conoides*를 잎들깨 재배지 토양에서 분리하였으며, 포장시험을 통하여 생물학적 방제제로서 그 활용 가능성을 검정하였다.

재료 및 방법

뿌리썩이선충(root-lesion nematode)의 분리 및 배양
뿌리썩이선충은 Barker의 진동법[1]에 준하여 고사한 잎들깨 뿌리에서 분리하였다. 잎들깨 뿌리는 부산 대저동 잎들깨 재배지에서 채취하였으며, 이후 선충 분리전 까지 4°C의 냉장고에 보관하였다. 잎들깨 뿌리를 증류수로 3회 세척한 후, 칼로 잘게 절단하여 증류수 100 mL에 침지시켜 25°C, 100 rpm에서 24시간 동안 배양하였다. 이후 뿌리를 제거하고 200 mesh를 이용하여 선충을 분리하였다. 분리된 뿌리썩이선충은 carrot disc을 이용한 뿌리썩이선충 배양 방법에 준하여 배양하였다[12]. 분리된 뿌리썩이선충을 1% streptomycin sulfate, 0.01% chlorhexidine 용액에 24시간 동안 침지하여 표면을 소독한 후, 화염 살균된 carrot disc에 접종하여 25°C 항온기에 2개월간 배양하였다. 잎들깨 뿌리의 cortex에 침입한 뿌리썩이선충은 acid fuchsin-lactophenol(0.005% acid-fuchsin, 20% liquid phenol, 18% lactic acid, 35% glycerin) 염색법으로 확인하였다[5]. Acid fuchsin-lactophenol 50 mL을 비등점까지 가열한 후, 잎들깨 뿌리를 1분간 침지하여 뿌리를 염색하였다. 염색된 뿌리는 lactophenol(21.5% liquid phenol, 19% lactic acid, 36.6% glycerin) 용액에 3일간 침지시켜 탈색하였다.

선충포식성 곰팡이(nematode-trapping fungi)의 분리 및 배양

선충포식성 곰팡이는 1998년 부산 대저동 및 밀양 삼문동 일대의 잎들깨 재배지에서 채취한 토양에서 분리하였다. 토양으로부터 선충포식성 곰팡이의 분리는 체취한 토양을 0.75% water agar 매지에 두는 방법으로 실시하였으며[2], 순수 분리된 곰팡이는 corn meal agar(Difco; CMA)에 접종하여 25°C에서 배양하였다. 분리된 곰팡이의 형태적 특성 관찰은 김 등[9]이 보고한 방법에 준하여 실시하였다. Water agar(2%)를 직경 9 cm petri dish에 부어 굳힌 후, 미리 증식시킨 뿌리썩이선충을 약 100마리씩 접종하였으며, 곰팡이를 그 중앙에 접종하였다. 접종 7일 후 해부현미경으로 선충 포식기관(Trapping organ)의 형태 및 크기, 분생포자의 형태, 크기, 가지의 유무, 포자마디(node)의 존재 여부 등 그 형태적 특성 관찰을 통하여 선충포식성 곰팡이를 동정하였다[9]. 동정된 선충포식성 곰팡이는 고체 배지인 pellet에서 대량 배양하였다. Pellet 500 g과 증류수 150 mL를 polypropylene bag에 넣은 후, 121°C, 50분간 멸균하였다. 이 후, potato dextrose broth(Difco; PDB)의 액체매지에서 전탕 배양(25°C, 120 rpm)한 선충포식성 곰팡이를 접종하여 25°C에서 22일간 배양하였다.

포장시험

뿌리썩이선충의 감염밀도가 높은 부산 대저동 잎들깨 재배지를 선정하여 고체 매지에 배양된 선충포식성 곰팡이의 선충 방제효과를 검정하였다. 각 곰팡이 처리구 및 대조구는 10 m²으로 각각 3구역씩 설정한 후, 선충 포식성 곰팡이를 처리하기 전에 토양내 선충의 평균밀도를 조사하였다. 이 후, 고체매지(pellet)에 배양 중식한 선충포식성 곰팡이를 각 처리구당 5 Kg씩 살포한 후, 40일 경과후 각 처리구 및 대조구에서 선충밀도를 조사 비교하였다.

결과 및 고찰

부산 대저동 잎들깨 재배지에서 채취한 잎들깨 뿌리 및 토양을 분석한 결과, 상당수의 뿌리썩이선충이 토양 및 뿌리에 기생하고 있는 것을 확인하였다(Fig. 1). 잎들깨 재배지에서 확인된 뿌리썩이선충은 다년간 연작재배로 인하여 그 밀도가 증가하였으며, 생육저해 및 식물 고사등 이들

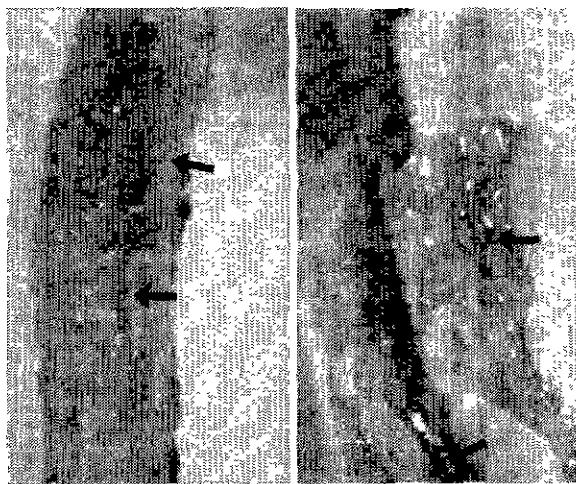


Fig. 1. Root-lesion nematode, *Pratylenchus* spp. in the root of leaf perilla ($\times 50$). Nematodes were stained with acid fuchsin-lactophenol.

선충에 의한 피해가 매우 큰 것으로 생각된다. 뿌리썩이선충(*Pratylenchus* spp.)은 식물 뿌리의 cortex에 침입하여 기생하는 내부기생성 선충(endoparasite-nematode)으로 기주 식물이 광범위하며, 뿌리를 직접 가해하여 식물을 고사시키는 등 그 피해가 매우 심각하다. 국내에서도 1984년 삼랑진에서 발생한 땅기 고사원인이 이를 뿌리썩이선충(*P. vulnus*)에 의한 피해로 밝혀진 바 있다[3].

뿌리썩이선충의 생물학적 방제제로 사용된 3종의 선충포식성 곰팡이, *Arthrobotrys oligospora*, *A. conoides* 와 *A. dactyloides*는 1998년 8~9월에 부산 대저동 일대 깨배지 토양에서 분리하였다(Table 1). *A. conoides*는 CMA 배지에서 2~3 일내에 끈끈이그물을 형성하여 선충을 잡으며(Fig. 2A), 포식된 선충 주위에는 가지가 없는 많은 분생포자병이 배지로부터 직립으로 형성하였다. 분생포자병 끝에는 약 10~20 개의 분생포자가 붙어있다. 국내에서는 박 등[15]이 경기도 인삼밭에서 분리하였으며, 정 등[8]에 의해 뿌리혹선충의 생물학적 방제실험에 사용된 바 있다. *A. oligospora*는

Table 1. Infective structures of nematode-trapping fungi used in study

Fungus	Infective structures	Date of isolation
<i>Arthrobotrys oligospora</i>	Adhesive networks	Apr.1998
<i>A. conoides</i>	Adhesive networks	Apr.1998
<i>A. dactyloides</i>	Constricting ring	Aug.1998

CMA 배지에 선충과 함께 접종하였을 때 2~3일 내에 끈끈이그물을 형성하였으며(Fig. 2B), 죽은 선충 주위에는 많은 분생포자병을 형성하는데 가지는 형성하지 않고 포자마다(node)를 형성하였다. 분생포자의 하단부는 *A. conoides* 와 *A. dactyloides*에 비해 매우 굵고 튼튼하였다. 포자마다에 약 10~15개의 분생포자가 둥글게 붙어 있었다. 국내에서 가장 흔히 발견되는 포식성 곰팡이로 알려진 *A. oligospora*는 정과 김[7]에 의해 1987년 경상남도 진주와 진양 일대의 토양에서 처음 발견되었으며, 뿌리혹선충의 생물학적 방제실험에 많이 사용되고 있다[8,10]. *A. dactyloides*는 2% water agar 배지에서 수축성 올가미를 형성하여 선충을 포식하였다(Fig. 2C). 3개의 세포로 구성된 올가미는 자루(stalk)에 붙어있으며, 선충이 올가미 한쪽을 자극하면 이 올가미가 갑자기 수축하여 선충을 졸라 죽이는 것으로 알려져 있다. 분생포자병은 죽은 선충의 주위에 직립으로 형성하였으며, 분생포자병 끝에는 3~5개의 분생포자가 붙어있으며 가지는 관찰되지 않았다. *A. dactyloides*의 성장 속도는 다른 포식성 곰팡이에 비하여 매우 느린 것으로 알려져 있다[9].

3종의 선충포식성 곰팡이 pellet 처리에 의한 식물기생성 선충 및 뿌리썩이선충의 밀도는 대조구와 비교했을 때 상당한 차이를 나타냈다(Fig. 3). 곰팡이 제제 처리전 토양 10 g 당 식물기생성 선충의 밀도는 대조구에서 22.6마리, *A. oligospora* 처리구에서는 37.2 마리, *A. conoides* 처리구에서는 42.8 마리, *A. dactyloides*에서는 54.8 마리로 각각 조사되었으며, 처리 40일 경과후 토양 10g 당 식물기생성 선충의 밀도는 대조구에서 97.6마리, *A. oligospora* 처리구에서 45.6마리, *A. conoides* 처리구에서는 52.8마리, *A. dactyloides*에서는 36마리로 조사되었다(Fig. 3A). 결론적으로 식물기생성 선충의 밀도는 대조구 및 *A. oligospora*와 *A. conoides* 곰팡이 제제 처리구에서 각각 75, 8.4, 10마리가 증가한 반면, *A. dactyloides* 처리구에서는 18.8마리가 감소하였다. 뿌리썩이선충의 밀도는 처리전 대조구, *A. oligospora*, *A. conoides* 와 *A. dactyloides* 처리구에서 각각 7.2, 12.4, 16.4와 22.8마리로 조사되었고, 처리 40일 경과 후에는 대조구에서 31.2 마리, *A. oligospora*, *A. conoides*와 *A. dactyloides* 처리구에서 각각 9.6, 19.2, 12마리로 조사되었다(Fig. 3B). 즉, *A. conoides* 처리구와 대조구에서 뿌리썩이선충은 각각 2.8, 24마리가 증가하였지만, *A. oligospora*와 *A. dactyloides* 처리구에서는 각각 2.8, 10.8마리가 감소하였다.

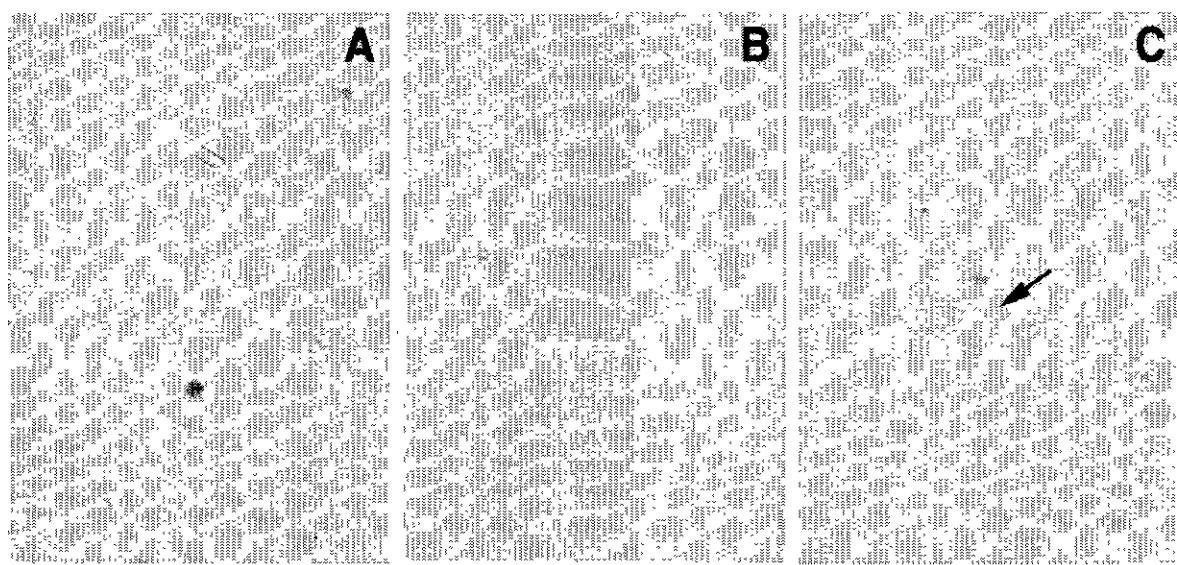


Fig. 2. Trapping organs of nematode-trapping fungi. A, adhesive networks of *Arthrobotrys conoides*; B, adhesive networks of *Arthrobotrys oligospora*; C, constricting ring of *Arthrobotrys dactyloides*. Arrow indicates the captured nematode by constricting ring.

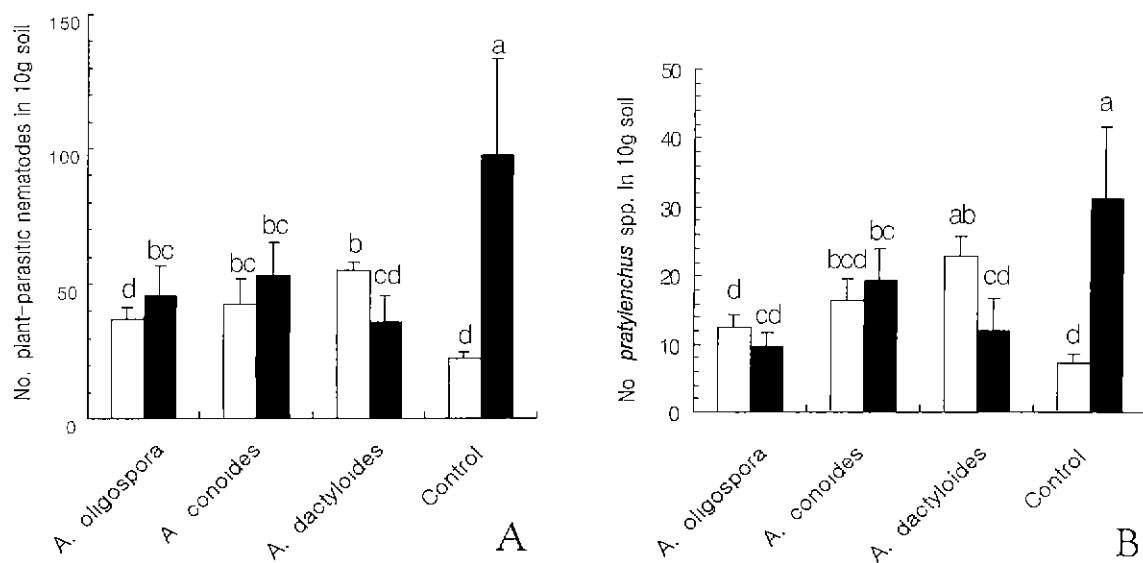


Fig. 3. Biological control of plant-parasitic nematodes (A) and *Pratylenchus* spp. (B) with the nematode-trapping fungi in the soil (10 g) of leaf perilla field. The significant differences were tested by Duncan's Multiple Range test ($P < 0.05$). □, Before treatment; ■, 40 days after treatment.

이상의 결과에 의하면 재배지 토양에 서식하고 있는 식물기생성 선충 및 뿌리썩이선충의 밀도는 대조구에서 약 3.5배 증가한 반면, *A. oligospora*와 *A. conoides* 처리시 선충

의 밀도는 거의 변화 없이 일정한 밀도를 유지하였으며, 특히 *A. dactyloides* 처리구에서는 식물기생성 선충의 밀도가 약 65% 감소하였고, 뿌리썩이 선충은 약 53% 감소하였다. 이

는 선충포식성 곰팡이에 의해 토양내 선충의 밀도가 일정하게 유지되었으며, 특히 *A. dactyloides*는 뿌리썩이 선충에 대한 생물학적 방제제로 그 가능성성이 매우 큰 것으로 사료된다.

요 약

잎들깨 재배지에서 직·간접적으로 피해를 입히는 뿌리썩이선충(*Pratylenchus* spp.)의 생물학적 방제를 위해서 3종의 선충포식성 곰팡이, *Arthrobotrys oligospora*, *A. conoides*와 *A. dactyloides*의 선충방제 효과를 포장시험을 통하여 검증하였다. 3종의 *Arthrobotrys*는 1998년 잎들깨 재배지 토양에서 분리하였으며, 이를 곰팡이들은 한천매지상에서 끈끈이 그물 또는 수축성 올가미와 같은 특이한 균사구조를 형성하여 뿌리썩이선충을 포획하는 것으로 관찰하였다. 아외포장 시험 결과, 대조구에서는 40일 경과 후 식물기생성 선충 및 뿌리썩이선충의 밀도가 약 3.5배 증가한 반면 선충포식성 곰팡이 *A. oligospora*와 *A. conoides* 처리구에서는 단지 선충의 밀도가 큰 증감 없이 접종 전의 수준을 유지하는 효과를 보였다. 그러나 *A. dactyloides* 처리구에서는 식물기생성 선충의 밀도를 약 65%, 뿌리썩이 선충의 밀도를 약 53% 감소시켜, 선충포식성 곰팡이의 생물학적 방제효과가 높게 나타났다.

감사의 글

이 논문은 1997년 농림수산부의 연구비에 의하여 연구되었다.

참 고 문 헌

- Barker, K. R. and T. L. Niblack. 1990. Soil sampling methods and procedures for field diagnosis, pp. 10-19, In Zuckerman, B. M., W. F. Mai and L. R. Krusberg (eds.), *Plant Nematology Laboratory Manual*, Agricultural Experiment Station, University of Massachusetts.
- Barron, G. L. 1977. The nematode-trapping fungi. pp. 140, In *Canadian biological publications*, Guelph, Ontario, Canada.
- Choi, Y. E. and D. G. Kim. 1984. Effects of Fumigants for the Control of *Pratylenchus vulnus* on strawberry. *Kyungbuk Natl. Univ.* **2**, 62-66.
- Dropkin, V. H. 1989. Biological control, pp. 283-291, In *Introduction to Plant Nematology*, John Wiley and Sons Inc., New York
- Hussey, R. S. 1990. Staining nematodes in plant tissue, pp. 190-193, In Zuckerman, B. M., W. F. Mai and L. R. Krusberg (eds.), *Plant Nematology Laboratory Manual*, Agricultural Experiment Station, University of Massachusetts.
- Jansson, H. B., A. Tunlid and B. Nordbring-Hertz. 1997. Biological control: nematodes, pp. 38-50, In Anke T. (ed.), *Fungal Biotechnology*, Chapman and Hall, Weinheim.
- Jeong, M. J. and H. K. Kim. 1988. Isolation of nematophagous fungi against root-knot nematode and their growth in vitro. *Korean J. Appl. Entomol.* **27**, 149-158.
- Jeong, M. J., S. S. Jang, H. K. Kim, C. S. Park and H. Y. Choo. 1993. Evaluation for biocontrol potentials of nematophagous fungi against root-knot nematode. *Korean J. Appl. Entomol.* **32**, 382-388.
- Kim, D. G., J. K. Lee, Y. C. Choi and Y. K. Kim. 1997. Description on five species of *Arthrobotrys* (Corda) Schenck, Kendrick & Pramer in Korea and their key. *RDA. J. Crop protec.* **39**, 33-41.
- Kim, H. K., M. J. Jeong, H. Y. Choo and C. S. Park. 1988. Decrease of nematode population by introduction of nematophagous fungi into the soil as affected by inoculum concentration and temperature in vitro. *Korean J. Appl. Entomol.* **27**, 159-164.
- Mankau, R. 1980. Biological control of nematode pests by natural enemies. *Annu. Rev. Phytopathol.* **18**, 415-440.
- Moody, E. H., B. F. Lownsbury and J. M. Ahmed. 1973. Culture of the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* on carrot disks. *J. Nematol.* **5**, 225-226.
- Schenck, S., W. B. Kendrick and D. Pramer. 1977. A new nematode-trapping hyphomycete and a reevaluation of *Dactylaria* and *Arthrobotrys*. *Can. J. Bot.* **55**, 977-985.
- Stirling, G. R., M. V. McHenry and R. Mankau. 1979. Biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) on peach. *Phytopathology* **69**, 806-809.
- Park, J. S. and Y. K. Park. 1984. Electron microscopic observations on the trapping nematode by *Arthrobotrys conoides*. *Korean J. Mycol.* **22**, 19-28.
- Park, S. D., Y. D. Choo, K. C. Jung, Y. G. Sim and Y. E. Choi. 1993. Field application of egg and larval parasitic fungi and chemicals for controlling root-knot nematodes on some medicinal herb. *Korean J. Appl. Entomol.* **32**, 105-114.