

## 국내 분리 포식성곰팡이들의 고구마뿌리혹선충에 대한 포식 능력 비교

### Comparison of Predacity of Nematode Predatory Fungi against *Meloidogyne incognita*

이재국 · 김동근<sup>1</sup> · 이영기

Jae-Kook Lee, Dong-Geun Kim<sup>1</sup> and Young-Kee Lee

**Abstract** – Fifty-two nematode predatory fungi were isolated from 37 soil samples collected from eight provinces in Korea. Isolated fungi were tested their predacity against *Rhabditis* sp. and *Meloidogyne incognita* in petri dish, and against *M. incognita* in greenhouse pot experiments. Fifty isolates had trapping organ of adhesive networks and two isolates had adhesive column or adhesive knob. In petri dish experiments, 51 isolates against *Rhabditis* sp. and 26 isolates against *M. incognita* showed over 91% of predacity; in greenhouse experiments, however, only three isolates showed over 81% of predacity. These results imply that the results from the laboratory experiments are not consistent with those from the greenhouse experiments. Therefore, to select a promising biocontrol predatory fungi for plant-parasitic nematodes, the screening experiment should be conducted in conditions close to nature.

**Key Words** – *Arthrobotrys*, *Monacrosporium*, Predatory fungi, Predacity, Root-knot nematode, Saprophytic nematode

**초 록** – 1995년 전국 8개도 37점의 발토양으로부터 분리한 52균주의 선충 포식성곰팡이를 이용하여 실내 및 온실에서 부식성선충과 뿌리혹선충을 이용하여 포식력을 비교하였다. 실내검정에서 부식성선충에 대하여 91% 이상의 포식력을 보인 균주는 51균주였고, 뿌리혹선충에 대하여는 26균주였으나, 온실 검정에서는 81%의 포식력을 보인 균주가 3균주로 온실검정과 실내 검정 간 상관 유의성은 없었다. 선발된 3균주는 부식성선충 및 뿌리혹선충에 대하여 실내 및 온실실험에서 모두 높은 포식력을 나타내었다. 이 실험으로 미루어 볼때, 천적 포식성곰팡이 선발 시험은 반드시 포장 조건과 가장 유사한 상태에서 실시되어야 할 것으로 보인다.

**검색어** – 부식성선충, 뿌리혹선충, 생물적 방제, 포식력, 포식성곰팡이

뿌리혹선충 (*Meloidogyne* spp.)은 식물기생성선충으로 작물의 뿌리 생장점 부근으로 침입하여 식물의 뿌리내에서 양분을 흡수하면서 성장하는데, 이 과정에서 선충이 분비하는 호르몬의 작용으로 작물의 뿌리가 혹 모양으로 변하게 된다. 우리 나라에는 *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita*, *M. javanica* 등 4종의 뿌리혹선충이 작물에 피해를 주고 있는데 (Choi *et al.*, 1978;

Choi, 1996), 최근 과채류 재배가 대형화, 연중 재배화, 집단 재배화되고 있어서 뿌리혹선충의 피해도 증가되는 경향이다 (Kim *et al.*, 1987). 뿌리혹선충은 기주식물 범위가 700여종으로 아주 넓어 경제성이 있는 윤작작물을 찾기 어렵고 저항성 품종이 드물며 화학적 약제는 환경 안정성에 문제가 대두되어 (Taylor and Sasser, 1978), 최근에는 천적을 이용한 뿌리혹선충의 방제에

농업과학기술원 (Nat. Inst. Agric. Sci. & Tech., RDA, Suwon 441-707, Korea)

<sup>1</sup> 성주과채류시험장 (Songju Fruit Vegetable Exp. Sta., Daega, Songju, Kyongbuk 719-860, Korea)

대하여 많은 관심이 집중되고 있다(Mankau, 1980; Sayre, 1980; Kerry, 1990; Kim & Riggs, 1992).

선충의 천적으로는 톱툰이, 응애, 세균, 포식성곰팡이, 기생성곰팡이 등 여러 종류가 있는데(Mankau, 1980; Sayre, 1980; Kerry, 1990), 그 중에서도 가장 연구 역사가 깊은 분야는 포식성곰팡이이며, 포식성곰팡이는 세계적으로 거의 모든 토양으로부터 발견되고 있다. Linford *et al.* (1937)의 실험에 의하면 토양에 파인애플의 잎, 순 등의 유기물을 첨가하면 초기에는 부식성선충의 밀도가 증가하고 그 후 이 선충들을 포식하기 위해 포식성곰팡이 등 천적의 수가 증가하며 결국에는 토양내의 부식성선충 뿐 아니라 기생성선충의 밀도도 감소된다고 하였다. 포식성곰팡이의 분류(Barron, 1977; Schenck, 1977; van Oorschot, 1985), 작용 기작(Tunlid, *et al.*, 1992), 분비 물질(Tunlid *et al.*, 1992), 토양 내에서의 경쟁력(Cooke *et al.*, 1968), 방제(Cayrol *et al.*, 1983, 1991; Larsen *et al.*, 1992) 등에 대한 연구가 많이 이루어 졌으며, 그 중 몇 종은 선충 방제용 생물 농약으로 상품화되기도 하였다(Cayrol, 1983).

국내 연구는 아직 초기단계로 진주 지역에서 선충 천적 기생균을 분리하여 뿌리혹선충에 대한 방제 효과를 시험한 연구(Jeong, 1987) 외에는 우수한 포식성곰팡이가 선발된 기록이나 선발방법에 관한 연구가 없다. 포식성곰팡이 천적 연구의 가장 중요한 과제 중의 하나는 토양 내에서 경쟁력이 높으면서 식물기생성선충에 대한 포식력이 뛰어난 포식성곰팡이 균주를 선발하는 것이다(Cooke *et al.*, 1968). 본 시험은 1995년 국내에서 분리된 포식성곰팡이 52균주의 뿌리혹선충에 대한 포식력을 실내와 온실에서 비교하고, 그중 우수 포식성곰팡이를 선발하기 위하여 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 실험에 사용된 균주

1995년 6월부터 10월 사이에 전국 8개도 29개 시군으로부터 콩씨스트선충 및 뿌리혹선충이 감염된 37점의 밭 토양을 채집하고, 이 토양으로부터 분리된 선충 포식성곰팡이 52균주(*Arthrobotrys*속 30균주, *Monacrosporium*속 22균주)를 본 실험에 사용하였으며, 분리된 균주들의 분류 동정 및 형태적 특성은 논문에 일부 게재되었다(Kim *et al.*, 1997). 토양으로부터 포식성곰팡이 분리는 60 mesh와 400 mesh체를 이용하여 double sieving한 토양을 1.5% water agar 위의 두고, 2주간 매일 관찰하면서 포식된 선충 주위에 나타난 곰팡이들을 분리하였고(Barron, 1977), 분리된 곰팡이는 corn meal agar (Difco: CMA)에 이식하여 25°C에서 순수 배양하였다.

### 포식성곰팡이 접종원

CMA배지에서 순수 배양된 각 균주에서 직경 10 mm 균사 절편 15개를 떼어 미리 준비된 접종원 배양기에 접종하였다. 접종원 배양기는 20mesh체를 통과한 모래와 양토를 1:1로 섞고, 이 흙에 잘게 썬 감자(1~5 mm cube)와 potato dextrose broth (24 g potato dextrose broth per 1 liter water; Difco)를 각각 4:1:0.6 (w/w/v)으로 혼합하여 500 ml 삼각 flask에 250 g씩 넣은 후, 121°C (1.5 PSI)에서 30분간 2회 멸균하여 만들었다. 접종된 배양기는 25±1°C 항온기에 두고, 2일간격으로 흔들며 주면서 14일간 배양하였다. 배양 후 서늘한 실내에서 7일간 서서히 건조시킨 후, 잘게 부수고 18 mesh체를 통과한 것을 접종원으로 사용하였다.

### 공시 선충

부식성선충(*Rhabditis* sp.)은 1995년 시장에서 구입한 썩은 감자로부터 분리하였으며, nutrient broth에서 액체 배양하여 실험에 사용하였다(Kim *et al.*, 1997). 증식된 부식성선충은 해부현미경(×30)으로 ml당 숫자를 조사하였다.

고구마뿌리혹선충(*Meloidogyne incognita*)은 1995년 8월에 전라남도 황전면 내구리의 콩밭에서 채집하였으며 온실에서 토마토(*Lycopersicon esculantum* cv. 서광)에서 증식시켜 사용하였다. 접종에 사용한 난낭(eggmass)은 토마토의 뿌리를 물로 씻은 후 뿌리에 붙은 난낭을 해부현미경 하에서 핀셋으로 떼어서 사용하였다. 알의 분리는 토마토 뿌리를 물로 조심스럽게 씻고 1 cm 길이로 자른 후, 뿌리 100 g을 1% sodium hypochlorite (NaOCl) 용액 500 ml가 들어 있는 blender용 유리병 (1.5 l)에 넣어, homogenizer (OMNI MIXER, OCI instrument products; speed control 1~10)로 강하게(speed setting 7) 40초 동안 회전시켰다. 부서진 뿌리와 선충의 알이 섞인 용액은 100 mesh체를 통과시켜 뿌리는 제거하고, 500 mesh체에 모인 알을 실험에 사용하였다(Southey, 1986). 채집된 알은 해부현미경(×30)으로 ml당 숫자를 조사하였다.

### 실내 포식력 검정

1.5% water agar배지(87×15 mm petri dish)의 가운데에 포식성곰팡이 접종원 0.5 g을 두고, 1차 검정에서는 부식성선충(*Rhabditis* sp.) 500마리를, 2차 검정은 고구마뿌리혹선충 난낭 3개를 올려 놓고 실험하였다. 접종된 petri dish는 실온(24±5°C)에 두었으며, 10일 후 살아있는 선충의 마리수를 해부현미경으로 조사하였다. 대조구는 곰팡이 없이 선충만을 접종하였으며, 실험은 각 균주당(총 52균주) 2반복으로 하였다.

**온실 포식력 검정**

18 mesh체로 친 강모래 200 g과 포식성곰팡이 접종원 10 g과 고구마뿌리혹선충 알 6,000개를 비닐 봉지 (직경 20 cm × 길이 60 cm)에 넣고 잘 섞은 후, 육묘용 플라스틱 포트(6×6×6 cm)에 담고 물이 흐르지 않을 정도로 관수하였다. 포트는 마르지 않게 신문지를 덮어 온실에 1주일간 두었으며, 1주일 후 본엽 2~3엽기의 토마토(cv. 서광) 묘를 이식하였다. 이식에 사용한 토마토 묘는 살균된 모래가 담긴 프리그포트(3×3×5 cm)에서 키 약 10 cm (2~3엽기)까지 육묘한 후 사용하였으며, 1차 실험은 각 균주당 4반복으로, 2차 실험은 1개월 후 6반복으로 하였고(총 10반복), 시비는 하이포넥스 500배 용액을 한 포트당 10 cc 정도 되게 10일 간격으로 살포하였다. 각 처리별 선충의 증식 정도는 토마토 이식 60일 후에 뿌리에 생긴 뿌리혹선충의 난낭(eggmass)을 조사하였다. 난낭 조사는 토마토 뿌리를 물에 조심스럽게 잘 씻고 0.15% Phloxin B (Sigma) 용액에 담가 15분간 염색하였으며, 바닥이 흰색인 용기에서 붉게 염색된 난낭의 숫자를 육안으로 조사하였다. 실험 중 온실내의 온도는 25±5°C였고 위의 실험에 대한 상관 및 정규분포도 검정은 SAS 통계를 이용하였다(SAS, 1990).

**결과 및 고찰**

실험에 사용한 포식성곰팡이 52균주 모두 CMA 및 접종원 배양기에서 잘 자랐으며, 배양 14일 후 플라스틱안에 많은 포자가 형성된 것을 관찰할 수 있었는데, 말려서 조제한 접종원 1g에는 평균 약 10<sup>4</sup>개의 포자가 있었다. 접종원으로 사용된 부식성선충은 활발하게 살아 있었고, 뿌리혹선충의 난낭 3개에서 평균 395마리의 유충이 부화하여 실험하기에는 충분한 조건으로 생각되었다.

52균주의 포식 능력을 실내(Fig. 1A, B) 및 온실실험(Fig. 1C)을 통해 검정한 결과, 실험방법 및 접종원 종류에 따라 균주간의 포식력에 큰 차이가 있었다. Water agar를 이용한 실내 실험에서 부식성선충을 접종하였을 때는, 검정대상 52균주 중 51균주가 91% 이상의 포식력을 보였고 10일내에 거의 모든 선충을 포식하였으며(Fig. 1A), 뿌리혹선충을 접종하였을 때는 검정대상 52균주중 26균주가 91% 이상의 포식력을 보여(Fig. 1B) 뿌리혹선충을 접종 했을 때가 부식성선충을 접종 했을 때 보다 포식력이 훨씬 낮게 나타났다.

포식성곰팡이는 선충의 움직임과 선충이 분비하는 물질에 반응하여 포식기관을 형성한다고 하는데(Soprnov, 1958), 부식성선충은 움직임이 활발한 반면 뿌리혹선충은 움직임이 느리기 때문에 부식성선충들

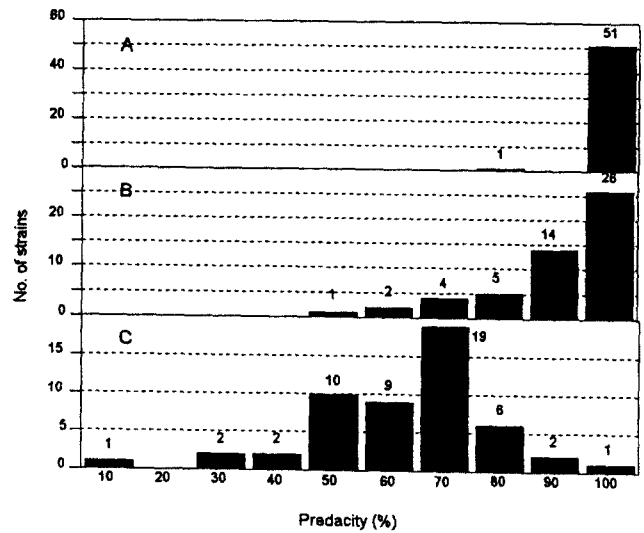


Fig. 1. Predacity distribution of isolates of predatory fungi in laboratory tests against *Rhabditis* sp. (A) and *Meloidogyne incognita* (B), and in greenhouse test against *Meloidogyne incognita* (C).

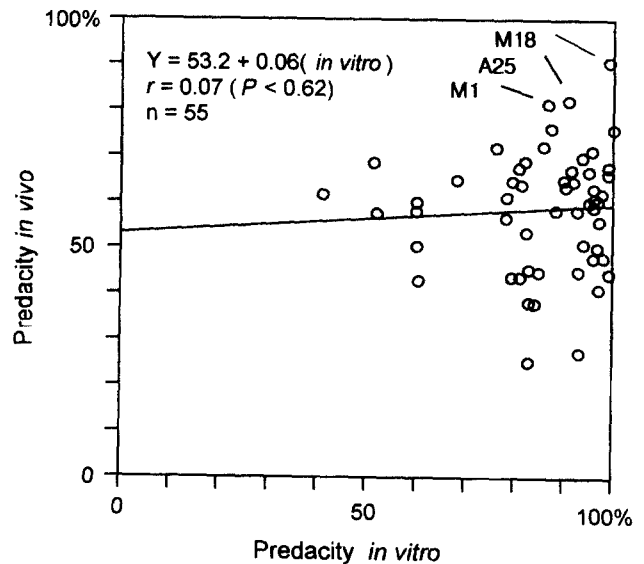


Fig. 2. Correlation of the predacity of isolates of predatory fungi between laboratory and greenhouse tests against *Meloidogyne incognita*. Arrows indicate three selected fungal isolates (See Table 1).

이 더 많은 물질을 분비하였을 것이고, 따라서 더 많은 포식기관이 형성되었을 것이다. 포식기관 형성물질은 살아있는 선충 외에 선충 배양 여과액, 사람의 혈청, 지렁이 추출물(Barron, 1977), yeast extract, ammonium carbonate, 폭풍우 오기 전의 빗물, 눈 녹은 물,

1~2% 에틸알콜 등도 포식기관을 형성 시킬수 있다고 하며 (Sopruncov, 1958), Pramer & Stoll (1959) 등은 이 물질을 'Nemin'으로 명명하였다. 포식성곰팡이는 일생의 대부분을 뿌리속에 숨어있고 생활사가 30일인 뿌리혹선충보다 일생을 토양에 서식하면서 생활사가 3~5일인 부식성선충을 먹이감으로 선호할 것으로 생각된다. 이러한 기주 비선택성은 포식성곰팡이를 식물 기생선충 방제용 천적으로 이용하는데 있어서의 문제점중의 하나이다.

살균하지 않은 순모래를 이용한 온실 포트실험에서, 포식력은 최저 0%에서 최고 92%까지 균주에 따라 큰 차이가 있었는데 61~70%의 포식력을 보인 균주가 가장 많았다. 균주들의 포식력별 분포도를 보기 위해 Shapiro-Wilk test 검정을 한 결과 부식성선충을 이용한 실내실험은  $W=0.145, P<0.0001$ 로, 뿌리혹선충을 이용한 실내실험은  $W=0.84, P<0.0001$ 로, 온실 검정은  $W=0.98, P<0.67$ 로 나타나 포식력의 분포 정도는 실내검정에 비해 온실검정이 정규분포를 하고 있었으며 (SAS, 1990), 분리 균주들의 뿌리혹선충에 대한 실내검정과 온실검정간 포식력에는 상관 유의성이 인정되지 않았다 ( $r=0.07, P<0.60$ ) (Fig. 2). 이러한 불일치는 포식성곰팡이가 토양내의 여러 미생물에 의해 많은 영향을 받기 때문으로 생각되어지고있는데, Barron (1977)에 의하면 끈끈이그물 (adhesive networks)을 형성하는 포식성곰팡이는 agar배지에서는 경쟁 요인이 단순하여 포식기관을 잘 형성하나 토양내에서는 토양내 다른 미생물들이 분비하는 물질에 의해 영향을 받거나, 양분 경쟁으로 정착 및 포식기관의 형성이 저조하였다고 하였다. 그러나 온실 토양실험은 시간과 노력이 많이 소요되어 일시에 많은 균주를 검정하기

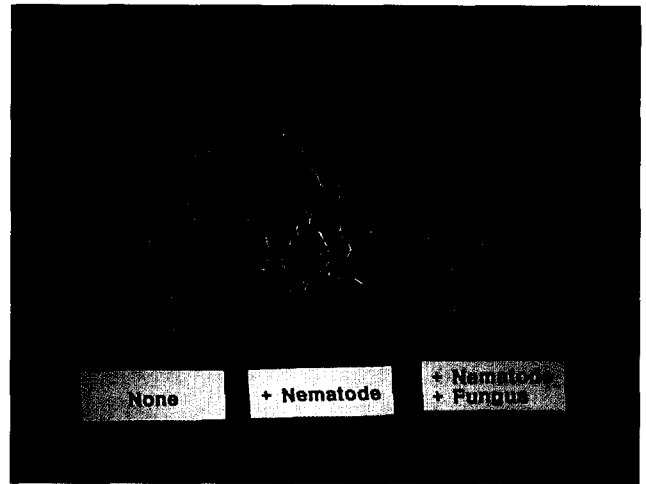


Fig. 3. Differences in growth of tomato root system. Left, uninoculated; middle, *Meloidogyne incognita* alone; right, inoculated with *M. incognita* and *Monacrosporium* sp. strain M18.

에는 어려운 점이 있다.

부식성선충을 이용한 실내검정에서는 거의 모든 균주가 91% 이상의 포식력을 보여 균주간 포식력 비교가 불가능하였으나, 뿌리혹선충을 이용한 실내검정에서는 91% 이상의 포식력을 보인 균주가 26균주로 약 50%로 줄어들었고, 온실실험에서 80% 이상의 포식력을 보인 균주는 3균주에 불과하였다 (Fig. 1). 이러한 결과는 포식성곰팡이를 이용한 선충의 생물적 방제에는 균주의 선발이 매우 중요하며, 균주 선발시 가능한 포장과 가장 유사한 상태에서 포식력을 검정해야

Table 1. Predacity of three selected isolates of predatory fungi against *Meloidogyne incognita* in laboratory and greenhouse experiments

Treatment	Laboratory <sup>a)</sup>		Greenhouse <sup>b)</sup>	
	No. of juveniles/dish ± std	Efficacy (%)	No. of eggmasses/plant ± std	Efficacy (%)
No fungus	395 ± 132.9	0.0	161 ± 37.1	0.0
<i>Arthrobotrys oligospora</i> strain A25	37 ± 7.5*	90.6	29 ± 13.3**	82.0
<i>Mönacrosporium</i> spp. strain M1	53 ± 10.0*	86.6	33 ± 8.0**	79.5
<i>Monacrosporium</i> spp. strain M18	4 ± 3.5*	99.0	17 ± 5.7**	89.4

Fungal formulation had an average of 10<sup>4</sup> spores/g of inoculum.

<sup>a)</sup> Three egg masses were inoculated in a petri dish (87 × 15 mm) with or without fungal inoculum and stored in room temperature for 14 days. Replicated two times.

<sup>b)</sup> Ca. 6,000 eggs were inoculated in 6 × 6 × 6 cm size of plastic pots with or without fungal inoculum (5% of inoculum by soil weight), planted tomato cv. Seogwang and placed at 28 ± 10°C for 60 days. Tests were replicated 6 times.

\*, \*\* No fungus vs fungus treatment are significantly different (P=0.05, P=0.01) based on LSD.

한다는 것을 보여주고 있다. 앞으로 포장 조건과 유사한 결과를 도출할 수 있는 효과적인 실내 검정법의 개발이 필요할 것으로 사료된다.

포식성곰팡이는 균주간 변이가 많으므로 역설적으로 말하면 균주에 따라서 뿌리혹선충을 잘 포식하는 균주도 있을 수 있다. 본 실험에서 실내 및 온실실험에서 모두 80% 이상의 높은 포식력을 보인 균주는 3균주였다(Table 1). 포트 시험에서 3균주의 포식성곰팡이 처리 60일후에 조사한 결과, 선충만을 처리한 토마토는 뿌리의 발달이 저조하고 뿌리에 흑이 많이 형성된 반면, 포식성곰팡이를 처리한 토마토 뿌리는 생육이 무처리와 같이 양호하고 뿌리에 흑도 적게 형성된 것을 알 수 있었다(Fig. 3). 이들 3균주를 뿌리혹선충의 천적으로 이용하기 위해서는 제제 개발과 포장에서의 선충 밀도 억제 효과, 그리고 이들의 생리 및 생태에 대하여 더 많은 연구가 이루어져야 할 것이다.

## 인 용 문 헌

- Barron, G.L. 1977. The nematode-destroying fungi. Canadian Biological Publications Ltd, Guelph, Ontario, Canada. 140 pp.
- Cayrol, J.C. 1983. Biological control of *Meloidogyne* by *Arthrobotrys irregularis*. Rev. Nematol. 6: 265~273.
- Cayrol, J.C., J.P. Frankowski, R. Lanza and M. Tamonte. 1991. Nematodes in kiwifruit culture. Biological control trials with the nematophagous fungus T-350. Rev. Hort. 313: 54~56.
- Choi, Y.E. 1996. Nematodes in Korea. 383 pp. Ililsa, Daegu, Korea.
- Choi, Y.E. and H.Y. Choo. 1978. A study on root-knot nematodes affecting economic crops in Korea. Korean J. Plant Prot. 17: 89~98.
- Cooke, R.C. and V. Satchuthananthavale. 1968. Sensitivity to mycostasis of nematode-trapping Hyphomycetes. Trans. Brit. Mycol. Soc. 51: 555~561.
- Jeong, M.J. 1987. Isolation of nematophagous fungi and evaluation of their biological control potential against *Meloidogyne hapla* Chitwood in pepper. MS Thesis. Gyeongsang Nat. Univ., Jinju, 1987. 86 pp.
- Kerry, R.B. 1990. An assessment of progress toward microbial control of plant-parasitic nematodes. Suppl. J. Nematol. 22: 621~631.
- Kim, D.G., J.K. Lee, Y.K. Lee, Y.C. Choi and Y.K. Lee. 1997. Description on five species of *Arthrobotrys* (Corda) Schenck, Kendrick & Pramer in Korea and their key. RDA. J. Crop Protec. 39: 33~41.
- Kim, D.G., Y.K. Lee, J.K. Lee and Y.C. Choi. 1997. Simple cultivation of a *Rhabditis* sp. in nutrient broth. RDA. J. Crop Protec. 39: 42~46.
- Kim, D.G. and R.D. Riggs. 1992. Biological control. pp. 133~142 in R.D. Riggs. and J.A. Wrather (eds.). Biology and management of the soybean cyst nematode. Amer. Phytopathol. Soc, Press, St. Paul, Minnesota, USA.
- Kim, J.I., S.C. Han and K.M. Choi. 1987. Survey of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in continuous cultivation field of hot pepper. Res. Rept. RDA (P.M&U). 29: 120~123.
- Larsen, M., J. Wolstrup, S.A. Henriksen, J. Gronvold and P. Nansen. 1992. In vivo passage through calves of nematophagous fungi selected for biocontrol of parasitic nematodes. J. Helmin. 66: 137~141.
- Linford, M.B., F. Yab and J.M. Oliveira. 1937. Reduction of soil populations of the root-knot nematode during decomposition of organic matter. Soil Sci. 45: 127~141.
- Mankau, R. 1980. Biological control of nematode pests by natural enemies. Ann. Rev. Phytopathol. 18: 145~440.
- Pramer, D. and N.R. Stoll. 1959. Nemin: a morphogenic substance causing trap formation by predacious fungi. Science 129: 966~967.
- SAS, 1990. SAS/STAT User's guide. Version 6. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Sayre, R.M. 1980. Promising organisms for biocontrol of nematodes. Plant Dis. 64: 527~532.
- Schenck, S., W.B. Kendrick and D. Pramer. 1977. A new nematode-trapping Hyphomycete and a reevaluation of *Dactylaria* and *Arthrobotrys*. Can. Jour. Bot. 55: 977~985.
- Sopruncov, F.F. 1958. (Predacious fungi-Hyphomycetes and their application in the control of pathogenic nematodes. Academy of Sciences of the Turkmen SSR, 1958, Translated from Russian). 292 pp.
- Southey, J.F. 1986. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Technical Bulletin. No. 2. (6th edition 1986). Her Majesty's Stationery Office, London 220 pp.
- Taylor, A.L. and J.N. Sasser. 1978. Biology, identification and control of root-knot nematodes. North Carolina State University Graphics. 111 pp.
- Tunlid, A., H.B. Jansson and B. Nordbring-Hertz. 1992. Fungal attachment to nematodes. Mycol. Res. 96: 401~412.
- Tunlid, A., S. Rosen and B. Nordbring-Hertz. 1992. Molecular mechanisms of adhesion in the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*. Jour. Mycol. Medic. 2: 36~42.
- van Oorschot, C.A.N. 1985. Taxonomy of the *Dactylaria* complex. V. A review of *Arthrobotrys* and allied genera. Stud. Mycol. 26: 61~96.

(1999년 4월 14일 접수, 2000년 7월 26일 수리)