

***Lysobacter antibioticus* HS124를 이용한 배추좀나방 (*Plutella xylostella* L.)의 생물학적 방제**

강성준 · 이용성 · 이소연 · 윤근영 · 홍성현 · 박윤석¹ · 김익수 · 박노동 · 김길용*

전남대학교 농업생명과학대학, ¹(주) 푸르네

Biological Control of Diamondback Moth (*Plutella xylostella* L.) by *Lysobacter antibioticus* HS124

Seong-Jun Kang, Yong-Sung Lee, So-Youn Lee, Gun-Young Yun, Sung-Hyun Hong, Yun-Suk Park¹,
Ik-Soo Kim, Ro-Dong Park, and Kil-Yong Kim*

Chonnam National University, Gwangju, ¹Purne Co., Ltd.

Lysobacter antibioticus HS124 was isolated from rhizosphere soil in previous experiments, which produced lytic enzymes such as chitinase, gelatinase, lipase and protease. In addition, HS124 released an antibiotic compound, 4-hydroxyphenylacetic acid (4-HPAA). When larvae of *P. xylostella* was treated with HS124 culture broth, its body was destroyed, and degraded with the increase of incubation time, yielding glycine which was detected from HS124 culture broth. When 4-HPAA produced from HS124 was sprayed, larvae mortality increased with increasing concentration of 4-HPAA. When HS124 culture supplemented with Tween 80 was sprayed, its insecticidal activity against larvae was approximately 1.4 times higher compared to the culture without Tween 80. Insecticide (IS), HS124 culture broth (HS124), Magic-pi (MP) and HS124 culture broth+Magic-pi (HS124+MP) were each treated against larvae of *P. xylostella* to investigate their insecticidal effect where sterile diluted water (SDW) was used as a control. The highest mortality of larvae was found in HS124+MP, followed by IS, MP, HS124 and SDW respectively. Mortality of larvae in HS124 was 31% higher than that in SDW, but 41% lower than that in HS124+MP, meaning that both enzymes and antibiotics produced from HS124 may synergistically act as active agents with plant extract containing neem oil and turmeric in HS124+MP treatment. These results suggested that *L. antibioticus* HS124 together with plant extract can be one of candidates for biocontrol agents against *Plutella xylostella*.

Key words: Biological control, *Lysobacter antibioticus* HS124, *Plutella xylostella* L., Plant extract

서 언

배추좀나방 (diamondback moth; *Plutella xylostella* L.)은 배추 (*Brassica campestris* L.)를 비롯한 십자화과 (Cruciferae) 작물에 가장 많은 피해를 주는 나비목 (Lepidoptera) 집나방상과 (Yponomeutoidea)에 속하는 해충으로서 전 세계적으로 광범위하게 분포하고 80개국 이상에서 그 피해가 보고된 바 있으며 (Salinas, 1972), 최근까지 배추좀나방의 방제는 주로 화학 살충제에 의존함으로써 연간 10억 달러 이상의 방제비용이 소요되고 있다 (Talekar and Shelton, 1993). 막대한 방제비용과

더불어 계속되는 화학 살충제의 연용은 배추좀나방의 저항성 발달을 야기시켰다 (Stern et al., 1959). Ankersmit (1953)가 최초로 배추좀나방이 DDT에 대하여 저항성을 가졌다고 보고한 이래 유기인계, 카바메이트계, 합성 피레스로이드계 등과 IGR (Insect Growth Regulator) 계통의 teflubenzuron과 chlorfluazuron에도 저항성이 보고되었다 (Cho and Lee, 1994). 이러한 저항성은 화학 살충제의 살포 농도와 횟수를 증가 시켰으며 생물농축을 일으켜 인간의 삶에도 악영향을 끼치게 되었다 (Cox and Sacks, 2003).

이러한 화학 살충제의 피해를 줄이기 위해 미생물 및 식물추출물 등을 이용한 배추좀나방 방제제가 개발되었다. 미생물을 이용한 배추좀나방의 방제에는 *Bacillus thuringiensis* (Bt)가 대표적으로 알려졌으며 (Ishiwata, 1901), Graciela et al. (2000)에 따르면 Bt는 살충성

접수 : 2010. 9. 14 수리 : 2010. 10. 21

*연락처 : Phone: +82625302138

E-mail: kimkil@jnu.ac.kr

내독소 (δ -endotoxin)를 분비하여 해충을 죽인다고 보고 하였다. Yoon et al. (1998)은 백강균 (*Beauveria bassiana*)의 포자현탁액을 배추좀나방 유충에 처리한 결과 멸균수를 처리한 대조구와 비교하여 살충율이 54% 증가하였다고 보고 하였다.

식물추출물을 이용한 해충의 방제에는 대표적으로 neem oil이 알려져 있다. Neem oil은 님 나무 열매 (*Azadirachta indica* A. juss, *Meliaceae*)의 추출물로서 주성분은 azadirachtin으로 구성되어 있고 다양한 병원성 세균과 해충을 억제하는 것으로 보고되었다 (Butterworth and Morgan, 1968). 한편 azadirachtin과 terpenoids를 포함하고 있는 *Meliaceae*과에 속한 멸구들은 몇몇 곤충 종의 생장억제 효과가 있다고 알려져 있다 (Hwang et al., 2009).

최근 Han and Kim (1999)은 lytic enzyme과 항생물질을 동시에 생산하는 다기능 길항균주를 이용한 배추좀나방의 생물학적 방제가 가능하다고 보고하였다. 대표적 길항미생물인 *Lysobacter* sp.는 활주성을 가진 그람 음성 박테리아로서 다양한 lytic enzymes와 항생물질을 분비하여 식물 병원성 곰팡이를 억제하고 식물생장 호르몬을 생성하여 작물의 생장을 촉진시키는 것으로 알려져 있다 (Christensen and Cook, 1978). 최근 선행연구자에 의해 분리된 *L. antibioticus* HS124는 다양한 2차 대사산물 (chitinase, glucanase 및 4-hydroxyphenylacetic acid)을 생성하여 *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopesci*, *Pythium aphanidermatum* 및 *Rhizoctonia solani*를 억제하였으며 특히 고추 역병균인 *P. capsici*의 세포벽을 파괴하였다 (Ko et al., 2009). 또한 HS124는 collagenase, lipase, gelatinase 및 protease를 생성하여 고구마 뿌리혹 선충의 유충을 분해하여 괴사시켰다 (Lee, 2010). 이러한 선행연구 결과를 바탕으로 본 연구는 *L. antibioticus* HS124의 배추 좀나방 유충에 대한 살충효과 및 식물추출물과의 혼합살포 시 효과에 대하여 조사하고 평가함으로써 이들의 화학 살충제 대체제 가능성 여부를 보기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

***Lysobacter antibioticus* HS124의 분리 및 동정** 전남 나주시지역에서 채취한 토양을 균 분리용 시료로 사용하였다. 토양 10 g을 증류수 90 mL에 현탁하고, 이 현탁액을 10^{-6} 까지 멸균수로 희석한 후 chitin agar배지 (0.5% colloidal chitin, 0.2% Na_2HPO_4 , 0.1% KH_2PO_4 , 0.5% NaCl, 0.1% NH_4Cl , 0.05% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.05% $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.05% yeast extract, 2% agar 및 pH 7)에 도

말한 후 분리 동정 하였다 (Ko, 2009).

배추좀나방 사육 배추좀나방 유충은 전남대학교 내 곤충 분류 및 생태 실험실에서 배추좀나방 (*Plutella xylostella*) 유충을 분양 받아 사용하였다. 배추좀나방 유충은 사육 상자 (40 × 40 × 35 cm) 안에서 어린 배추잎을 먹이로 하여 실내배양 하였다. 배양조건은 온도 25 ± 1°C, 광주기 16 : 8 (L : D), 상대습도 (RH) 40~60%로 유지하였다. 다 자란 성충은 10% 설탕물을 먹이로 하여 산란을 유도하고 부화된 3~4령의 유충을 실험에 사용하였다 (Jeong et al., 2007).

HS124 배양액 살포가 배추좀나방 외피 변화에 미치는 영향

배추좀나방 유충의 외피 변화를 관찰하기 위해 CG 배지 (0.14% 키틴 분말 (삼성키틴토산, 한국), 0.06% 젤라틴 분말 (젤텍, 한국), 0.1% 복합비료 (21-17-17, 남해화학, 한국), 0.003% $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 및 0.003% yeast extract, pH 7.0)에서 5일간 배양한 *L. antibioticus* HS124 배양액을 배추좀나방 유충에 살포하였다. 배양액을 처리한 후 24, 48 및 72시간 간격으로 유충을 채취하여 slide grass 위에 올려놓고 50% glycerol과 paraffin으로 고정한 후 실체현미경 (SZX 16, Olympus)과 위상차현미경 (BX 41, Olympus)을 이용하여 유충외피의 형태를 관찰하였다. 관찰 배율은 실체현미경은 120배, 위상차현미경은 400배로 하였다.

HS124의 cell growth와 효소활성 HS124의 cell growth를 측정하기 위해 250 mL 삼각플라스크에 150 mL의 LB (Luria-Bertani) 액체배지를 넣고 121°C에서 15분간 멸균한 후 *L. antibioticus* HS124를 접종하고 이를 24시간 간격으로 5일간 취하여 UV-spectrophotometer (Shimadzu)를 이용하여 600 nm에서 흡광도를 측정하였다.

HS124의 chitinase, protease 및 gelatinase 활성을 측정하기 위해서 chitin agar 배지, skim milk agar 배지 (10% skim milk, 15% agar) 및 gelatin agar 배지 (1% gelatin, 0.05% KH_2PO_4 , 0.05% K_2HPO_4 , 0.1% NaCl, 0.15% NH_4NO_3 , 0.04% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.02% KCl, 0.02% yeast extract, 15% agar 및 pH 7.0)를 121°C에서 15분간 멸균한 후 petri-dish에 분주하였다. CG 배지에서 5일간 배양한 HS124를 chitin, skim milk 및 gelatin agar 배지에 접종한 후 30°C에서 3일간 배양하여 투명한 형성 유무를 관찰하였다. Gelatinase 활성은 콜로니 주위에 30% trichloroacetic acid 용액을 가한 후 투명환을 관찰하였다.

또한, 배양 시간에 따른 gelatinase 활성을 측정하기 위하여 HS124를 CG 배지에서 5일간 배양하면서 24시간 간격으로 시료를 채취하여 10,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 상등액을 분리하였다. GA 배지 (0.8% 젤라틴 (Sigma G9382), 5% agar)를 121°C에서 15분간 멸균하여 petri-dish에 분주한 후 punch로 2 mm의 구멍을 뚫었다. 이 구멍에 상등액 20 µL를 넣고 3일간 반응시킨 후 30% trichloroacetic acid를 첨가하여 투명환을 관찰하였다 (Wollum, 1982).

4-hydroxyphenylacetic acid와 매직파이가 배추좀나방 살충율에 미치는 영향 HS124가 생성하는 4-hydroxyphenylacetic acid (4-HPAA, Sigma)의 농도별 살충율을 검정하였다. 지름 15 cm 높이 10 cm의 petri-dish에 어린 배추 잎을 넣고 3~4령 유충 10마리를 방사하였다. 여기에 500, 1,000 및 5,000 mg L⁻¹의 4-HPAA 용액을 유충과 배추잎에 sprayer를 이용하여 3회 (약 4 mL) 살포하였다. 대조구에는 멸균수를 살포하였다. 살포 후 24, 48 및 72시간째에 활동성이 없는 유충은 치사한 것으로 간주하였다.

HS124의 배양시간과 Tween 80 첨가가 배추좀나방 살충율에 미치는 영향 HS124의 배양 시간에 따른 유충의 살충율을 조사하였다. CG 배지를 121°C에서 15분간 멸균한 후 *L. antibioticus* HS124를 접종하여 배양하면서 1, 3, 5, 7 및 10일째 배양액을 취하여 유충과 배추 잎에 sprayer를 이용하여 3회 (약 4 mL) 살포하였다. 또한 계면활성제의 첨가에 따른 유충 살충율을 조사하기 위하여 CG 배지에서 배양한 HS124 배양액에 Tween 80을 0.1%의 농도로 첨가하여 유충에 살포 후 24, 48 및 72시간째에 유충의 치사 여부를 조사하였다.

HS124 배양액, 농약, 식물추출물 및 혼합액이 배추좀나방 살충율에 미치는 영향 화학 살충제 (IS; Runner, (주)동부한농, 한국), HS124 배양액 (HS124), 식물추출물 (MP; 매직파이, (주)유니테크, 한국) 및 HS124 배양액과 매직파이 혼합액 (HS124+MP)의 살충율을 비교하였다. IS 처리구는 Runner를 2,000배로 희석하였고, HS124 처리구는 *L. antibioticus* HS124를 CG 배지에서 5일간 배양하여 원액을, MP 처리구는 매직파이를 1,600배의 농도로 희석하였으며, HS124+MP 처리구는 HS124 배양액과 매직파이 1,600배액을 1 : 1의 비율로 혼합하여 사용하였다. 지름 15 cm 높이 10 cm의 petri-dish에 어린 배추 잎을 넣고 3~4령의 배추좀나방 유충을 20마리씩 방사한 후 각각 조제된 용액을

sprayer에 넣어서 배추 잎 앞, 뒷면에 3회 (약 4 mL) 살포하였다. 살충율 검정은 살포 후 24, 48 및 72시간째에 유충의 치사여부를 조사하였다.

통계분석 조사된 결과는 ANOVA와 Tukey's Sudentized Range Test ($P \leq 0.05$)를 하였으며, SAS 프로그램 9.1 버전 (2002)을 사용하여 통계처리 하였다.

결 과

HS124에 의한 배추좀나방의 변화 *L. antibioticus* HS124 (HS124) 배양액을 처리하여 배추좀나방 유충의 외피변화를 실체현미경과 위상차현미경을 통해 관찰하였다. HS124 배양액 처리 3일째 실체현미경 관찰 결과 배추좀나방 유충의 외피는 완전히 분해되어 괴사하였다 (Fig. 1A). 위상차현미경 관찰결과 외피가 완전히 분해되어 상피세포 내 물질들이 팽압에 의해 세포외로 분출되어지는 것으로 관찰되었다 (Fig. 1B). 반면에 대조구인 Fig. 1C와 Fig. 1D에서는 외피가 분해되지 않고 구조가 유지되는 모습을 관찰 할 수 있었다.

HS124의 cell growth와 효소활성 *L. antibioticus* HS124의 protease, chitinase 및 gelatinase 활성을 측정하기 위해 각각의 선택배지가 사용되었다. Protease 활성은 skim milk agar 배지에서, chitinase 활성은 chitin agar 배지에서 투명환이 각각 관찰되었다. 또한 gelatinase 활성은 gelatin agar 배지에 30% trichloroacetic acid를 첨가한 후 투명환이 관찰되어 gelatinase 활성을 확인하였다 (data not shown).

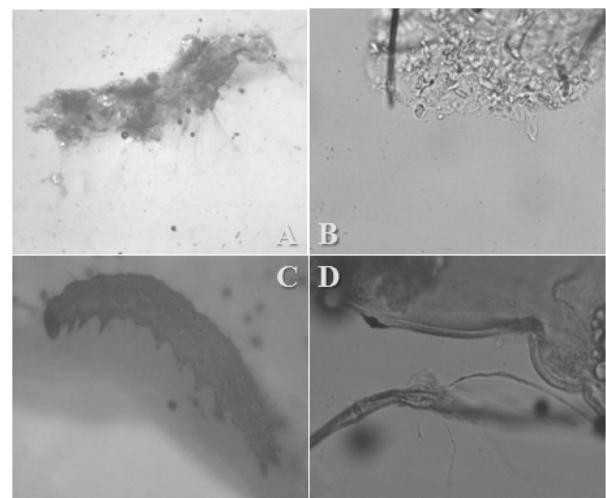


Fig. 1. Changes in epidermal cell and body of *P. xylostella* instar treated with *L. antibioticus* HS124 culture (A, B) and sterile distilled water (C, D) for 72 hours at 26°C.

L. antibioticus HS124를 LB (Luria-Bertani) 액체 배지에 배양하여 시간별로 cell growth를 측정된 OD 값과 GA 배지에 접종한 후 gelatinase 활성측정 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 600 nm에서 측정된 cell growth의 경우 2일째까지 급격히 증가한 후 3일째 가장 높은 값을 나타내었고, 그 뒤 4일째까지 서서히 감소한 후 5일째 급격히 감소한 것으로 나타났다. Gelatinase 활성은 2일째까지 급격하게 증가하여 최고점에 이른 후 3일째부터 조금씩 감소하여 4일과 5일째에는 빠르게 감소하였다.

4-hydroxyphenylacetic acid가 배추좀나방의 살충율에 미치는 영향 4-hydroxyphenylacetic acid (4-HPAA)의 배추좀나방의 유충 살충효과를 조사하기 위하여 농도와 시간별로 조사하였다 (Fig. 3). 4-HPAA 500 mg L⁻¹ 용액을 배추좀나방 유충에 처리한 72시간째 55%, 1,000 mg L⁻¹에서 61%, 5,000 mg L⁻¹에서 67%의 살충율을 보였다. 이는 4-HPAA의 농도가 증가함에 따라 배추좀나방 유충의 살충율도 비례하여 증가하였다. 또한 모든 처리구에서 처리시간이 증가함에 따라 살충율도 증가하였다.

HS124 배양액과 계면활성제의 첨가가 배추좀나방 살충율에 미치는 영향 *L. antibioticus* HS124의 배양시간에 따른 배추좀나방 유충의 살충율을 조사한 결과 1일 배양한 배양액 처리구에서 72시간째 35%, 3일 배양한 처리구에서 40%, 5일 배양한 처리구에서 50%, 7일 배양한 처리구에서 60%로 배양 일수에 따라 살충율이 증가하였다. 그러나 10일 배양한 배양액의 살충율은 45%로 7일 배양한 배양액의 살충율보다 낮게 나타났다 (Fig. 4).

계면활성제 Tween 80을 첨가한 배양액의 살충율을 조사한 결과 1일 배양한 배양액 처리구에서 72시간째

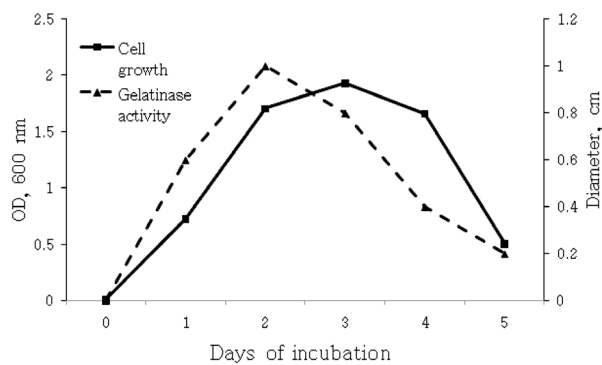


Fig. 2. Changes in cell growth (-■-) of *L. antibioticus* HS124 in LB broth and gelatinase activity (-▲-) produced by *L. antibioticus* HS124 in GA medium in according with incubation time.

46.7%, 3일 배양한 처리구에서 53.3%, 5일 배양한 처리구에서 70%로 나타났다. 하지만 7일 배양한 배양액 처리구에서는 60.2%, 10일 배양한 처리구에서는 50.7%의 살충율을 나타냄으로써 5일 배양한 처리구보다 각각 9.8%, 19.3% 낮게 나타났다 (Fig. 5). 위의 결과에서에서 보는 바와 같이 5일 배양한 배양액에 Tween 80을 첨가한 처리구의 살충율은 72시간째 70%로써 Tween 80을 첨가하지 않고 처리한 배양액에서 가장 높은 값을 가진 처리구 60% 보다 높았다.

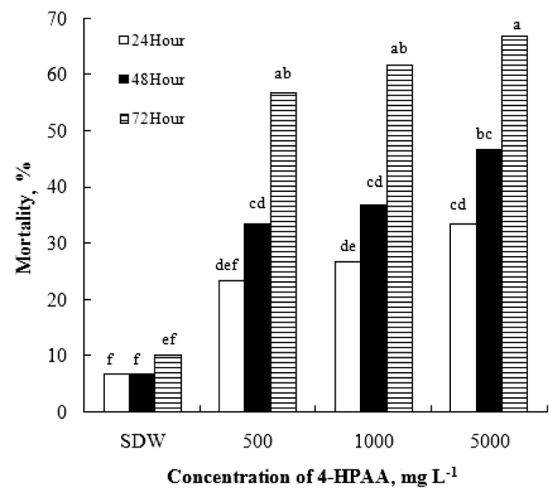


Fig. 3. Change in mortality of *P. xylostella* instar treated with different concentration of 4-hydroxyphenylacetic acid at 26°C for 24, 48 and 72 hours, respectively. SDW: sterile distilled water. 4-HPAA: 4-hydroxyphenylacetic acid. Different letters indicate significant difference at $P \leq 0.05$ of Tukey's HSD multiple comparison test.

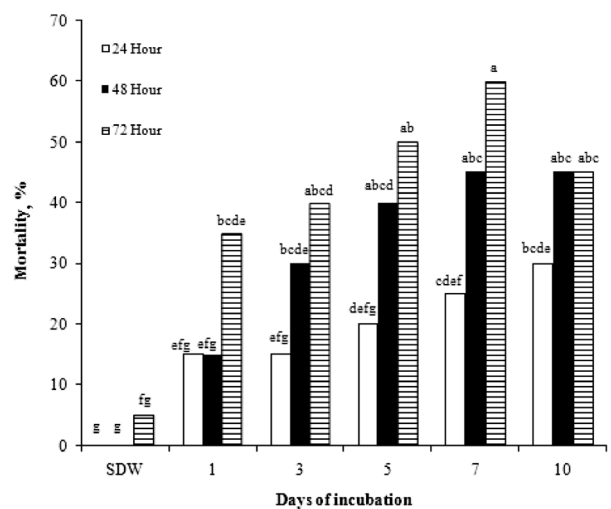


Fig. 4. Change in mortality of *P. xylostella* instar treated with *L. antibioticus* HS124, which was grown for different incubation days at 26°C for 24, 48 and 72 hours, respectively. SDW: sterile distilled water. Different letters indicate significant difference at $P \leq 0.05$ of Tukey's HSD multiple comparison test.

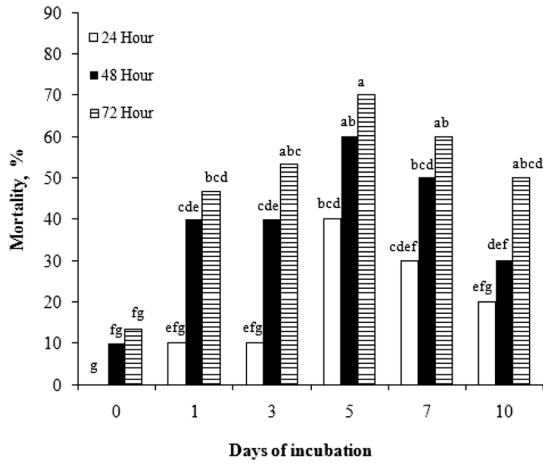


Fig. 5. Change in mortality of *P. xylostella* instar treated with *L. antibioticus* HS124, which was grown for different incubation days at 26°C for 24, 48 and 72 hours, respectively. Every treatment was adjusted to receive 0.1% Tween 80 just before spraying. SDW: sterile distilled water. Different letters indicate significant difference at $P \leq 0.05$ of Tukey's HSD multiple comparison test.

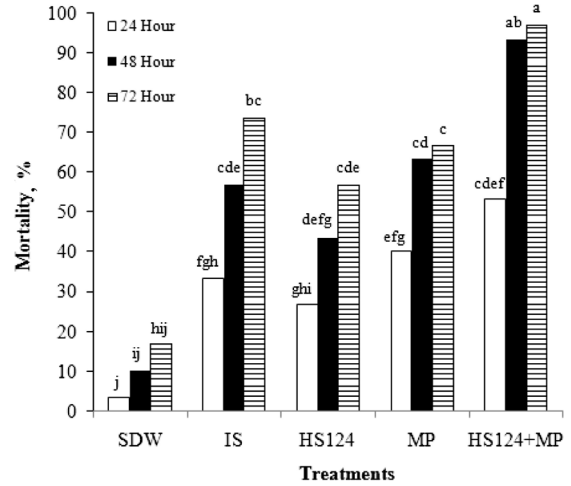


Fig. 6. Change in mortality of *P. xylostella* instar treated with SDW (sterile distilled water), IS (insecticide), HS124 (*L. antibioticus* HS124), MP (Magic-pi) and HS124+MP (*L. antibioticus* HS124+Magic-pi) at 26°C for 24, 48 and 72 hours, respectively. Every treatment was adjusted to receive 0.1% Tween 80 just before spraying. Different letters indicate significant difference at $P \leq 0.05$ of Tukey's HSD multiple comparison test.

HS124 배양액, 농약, 식물추출물 및 혼합액이 배추좀나방 살충율에 미치는 영향 살충제 (IS), *L. antibioticus* HS124 배양액 (HS124), 매직파이 (MP) 및 *L. antibioticus* HS124+매직파이 (HS124+MP) 처리구의 배추좀나방 유충의 살충율을 조사한 결과 MP 처리구에서 48시간째 살충율은 63% 였고, IS 처리구는 56%로써 IS 처리구가 MP 처리구보다 7% 낮았다. 하지만 IS 처리구에서 72 시간째 73.3%의 살충율로써 MP 처리구보다 7.3% 높은 것으로 나타났다. HS124를 유충에 단독으로 처리하였을 때 72시간째 56%로 IS 처리구와 MP 처리구보다 살충율이 각각 17.3%, 10% 감소하였으나, 대조구에 비해 31% 증가하였다. 하지만 HS124+MP 처리구에서 72시간째 96%의 살충율을 보임으로써 IS 처리구보다 23% 증가하였다 (Fig. 6).

고찰

배추좀나방 (*Plutella xylostella* L.)의 생활환은 약 16일로서 연간 발생 세대수가 많고, 발육기간이 짧아 살충제에 의한 노출기회가 많으며 발생세대가 혼재하여 살충제에 대한 저항성 발달이 빠르게 나타날 수 있는 난방제 해충이다 (Kim et al., 1990). 전 세계적으로 배추좀나방의 방제는 주로 화학 살충제에 의하여 이루어지고 있으나 최근 생물학방제가 관심을 끌고 있다 (Shoda, 2000).

Fig. 1에서 보는바와 같이 배추좀나방 유충에 *L. antibioticus* HS124 배양액을 처리한 후 72시간 뒤에

현미경으로 관찰한 결과 HS124 배양액을 처리한 처리구의 유충외피가 파괴되어 괴사한 것으로 관찰되었다. 또한 HS124와 배추좀나방 유충을 혼합하여 배양한 배양액을 HPLC로 분석한 결과 glycine이 검출되었다 (data not shown). Eliana et al. (2007)은 백강균목 백강균과에 속하는 *Beauveria bassiana* 배양액으로부터 분리된 protease에 의해 커피좀벌레 (*Hypothenemus hampei*) 유충이 용해되어 괴사한다고 보고하였다. 선행연구에서 HS124는 protease, chitinase, gelatinase 및 lipase를 생성하여 곰팡이의 세포벽과 선충의 유충을 파괴하였다 (Ko et al., 2009; Lee, 2010). 이러한 결과를 비추어볼 때 배추좀나방 유충의 큐티클 층이 70%의 키틴과 지질화합물로 구성되어 있으므로 (Hepburn, 1985) HS124가 생성하는 효소가 배추좀나방 유충의 외피를 용해하였을 것으로 생각된다. Fallowfield and Daft (1988)의 실험에서 *Lysobacter* CP-1이 생성하는 2차 대사산물에 의해 *Anabaena cylindrica*의 세포외 물질이 용해되어 glutamate, isoleucine, glycine, histidine, serine 및 glutamine 등의 아미노산이 검출되었던 것으로 보아, 본 실험에서도 검출된 glycine이 HS124로부터 생성된 효소가 배추좀나방 유충의 외피를 파괴하여 (Fig. 1) 용해시킨 분해 산물이라고 보여 진다 (data not shown).

Lysobacter sp.는 quinoline 화합물 (Evans et al., 1978), tripropeptin C, xanthobaccin A 및 cephabacin (Hashidoko et al., 1999)과 같은 항생물질을 생성하는 것으로 보고되었다. Russell and Furr (1996)는 phenol

화합물을 포함하고 있는 항생물질인 4-hydroxyphenylacetic acid (4-HPAA)가 식물병원성 세균과 곰팡이의 세포벽을 손상시킴으로써 세포내 구성 물질을 파괴한다고 보고하였다. 또한 선행연구자 (Ko et al., 2009)의 실험에서 HS124가 분비하는 4-HPAA가 고추역병을 일으키는 *P. capsici*의 균사를 파괴한다고 조사되었다. 본 실험에서 HS124가 생성하는 4-HPAA를 배추좀나방 유충에 처리하였을 때 4-HPAA의 농도가 500, 1,000 및 5,000 mg L⁻¹로 증가할수록 유충의 살충율이 5%씩 상승하였다 (Fig. 3). 이러한 결과는 *Artocarpus incisus*로부터 분리된 4-dodecylresorcinol과 4-hexylresorcinol이 배추좀나방 유충의 번데기 탈피 과정의 필수적인 물질로 작용하는 monophenol과 O-diphenol의 산화를 촉진시키는 phenoloxidase의 활성을 저해함으로써 배추좀나방을 방제 (Luo, 2005)하는 것과 같이 HS124가 생성하는 항생물질인 4-HPAA는 배추좀나방을 저해 할 수 있는 요인 중 하나라고 생각된다.

Taoka et al. (2008)에 의하면 계면활성제 Tween 80이 인지질로 구성된 미생물 세포막 용해를 촉진 시키는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서 HS124 배양액에 0.1%의 Tween 80을 첨가하였을 때 Tween 80을 첨가하지 않은 처리구에 비해 배추좀나방 유충의 살충율이 대략 30% 정도 증가하였다 (Fig. 4 and Fig. 5). Damare and Raghukumar (2006)는 Tween 80을 미생물 배양액에 첨가하였을 때 미생물의 세포의 양분의 흡수를 증가시키고, 미생물 배양액의 lipase 활성을 증가시킨다고 보고하였다. 따라서 HS124 배양액과 Tween 80이 혼합된 형태는 HS124가 생성하는 효소와 항생물질이 계면활성제와의 혼합작용으로 먼저 효소가 배추좀나방 유충의 외피를 용해하고 그 다음 4-HPAA가 효과적으로 유충에 침투함으로써 배추좀나방의 살충율을 증가시키는 것으로 보여 진다.

한편 식물추출을 이용한 배추좀나방의 방제에는 대표적으로 neem oil이 알려져있다. 본 실험에서 HS124 배양액에 neem oil과 울금 추출물로 이루어진 매직파이를 혼합하여 처리한 *L. antibioticus* HS124+매직파이 (HS124+MP) 처리구가 96%의 살충율로써 단독 처리구인 화학 살충제 (IS) 처리구 보다 23.3%, 매직파이 (MP) 처리구 보다 30%, 그리고 HS124 배양액 (HS124) 처리구 보다는 40% 증가하였다 (Fig. 6). Hwang et al. (2009)의 연구에서 고삼 추출물과 멀구슬 나무의 혼합추출물의 배추좀나방에 대한 방제가 95% 이상이었으며, Bt제와 neem oil을 혼용 하였을 때 배추좀나방 2령 유충의 살충율은 Bt제의 LC₅₀ 측정치 보다 30% 높았다. 이들은 배추좀나방 유충에 살충 효과가 높은 Bt제와 유충에 살충 효과가 낮고 약하지만 알, 번데기 및 성충에 강한 활성을 가진 neem oil을 혼합하여 사용함으로써 더 효과적으로 배추좀

나방을 방제 할 수 있을 것으로 보고하였다.

결론적으로 *L. antibioticus* HS124는 lytic enzyme과 항생물질인 4-HPAA 및 다양한 2차 대사산물을 생성하였다. 특히, 4-HPAA는 배추좀나방 유충에 대하여 살충 효과가 있었다. HS124 배양액에 Tween 80을 첨가하였을 때 Tween 80을 첨가하지 않은 처리구보다 배추좀나방 유충의 살충율이 증가하였으며, HS124+MP 처리구가 다른 처리구에 비하여 가장 높은 살충활성을 나타냈다. 따라서 *L. antibioticus* HS124와 매직파이 혼합액은 화학 살충제를 대체하여 배추좀나방을 생물학적으로 방제할 수 있다고 생각된다.

요 약

선행연구에서 근권 토양으로부터 분리된 *Lysobacter antibioticus* HS124 (HS124)는 lytic enzyme으로써 chitinase, gelatinase, lipase 및 protease 등의 효소와 항생물질인 4-hydroxyphenylacetic acid (4-HPAA)를 생성하였다. 본 실험에서는 HS124를 이용하여 배추좀나방 (diamondback moth, *Plutella xylostella* L.) 3~4령 유충의 살충활성을 검정하였다. HS124 배양액을 배추좀나방 유충에 처리하였을 때 유충은 파괴되어 분해되었다. HS124가 생성하는 4-HPAA를 유충에 처리하였을 때 처리 농도가 높을수록 살충율은 증가하였으며, HS124 배양액에 Tween 80을 첨가하였을 때 첨가하지 않은 처리구보다 살충율이 1.4배 높았다. 한편 화학 살충제 (IS), HS124 배양액 (HS124), 식물추출물 (매직파이; MP), HS124 배양액+식물추출물 (HS124+MP) 및 멸균수 (SDW)를 이용하여 배추좀나방 유충의 살충율을 검정하였다. HS124+MP 처리구에서 가장 높은 살충율을 나타내었고, IS, MP, HS124 및 SDW 처리구 순으로 살충율이 감소하였다. HS124 처리구는 대조구인 멸균수 처리구보다 31% 높은 살충율을 나타내었고, HS124+MP 처리구 보다 40% 낮은 살충율을 나타내었다. 이러한 결과로 보아 항생물질과 다양한 lytic enzyme을 생성하는 *L. antibioticus* HS124 배양액과 식물추출물의 혼합제제는 배추좀나방의 생물학적 방제제로써 가치가있다고 사료된다.

사 사

이 논문은 전남대학교 정책연구비 (2008)의 지원을 받아 수행된 연구내용의 일부이며, 연구비의 지원에 감사드립니다.

인 용 문 헌

- Ankersmit, G.W. 1953. DDT resistance in *Plutella maculipennis* (Curt.) (Lepidoptera) in Java. Bull. Entomol. Res. 44:421-425.
- Butterworth, J.H. and E.D. Morgan. 1968. Isolation of a substance that suppresses feeding in the locusts. Chem. Commun. 1:23-24.
- Cho, Y.S. and S.C. Lee. 1994. Resistance development and Cross-resistance of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) by single selection of several insecticides. Korea J. Pest. Sci. 33:242-249.
- Christensen, P. and D. Cook. 1978. *Lysobacter*, a new genus of non-fruiting, gliding bacteria with a high base ratio (soil and water organisms). Int. J. Syst. Bacteriol. 28:367-393.
- Cox, P.A. and O.W. Sacks. 2002. Sacks, Cycad neurotoxins, consumption of flying foxes, and ALS-PDC disease in Guam. Neurology. 58:956-959.
- Damare, S., C. Raghukumar, U.D. Muraleedharan, and S. Raghukumar. 2006. Deep-sea fungi as a source of alkaline and cold-tolerant proteases. Enzyme Microb. Technol. 39:172-181.
- Eliana, T.I., V.P. Geni, T.M. Dalva, H.P. Maria, and M.O.J.N. Pedro. 2007. Production of extra-cellular protease by a Brazilian Strain of *Beauveria bassiana* reactivated on Coffee Berry Borer, *Hypothenemus hampei*. Braz. Arch. Biol. Technol. 50:217-223.
- Evans, J.R., E.J. Napier, and R.A. Fletton. 1978. New quinoline compound isolated from the fermentation broth of *Cytophaga johnsonii*. J. Antibiot. 31:952-958.
- Fallowfield, H.J. and M.J. Daft. 1988. The extra-cellular release of dissolved organic carbon by freshwater Cyanobacteria and algae and the interaction with *Lysobacter* CP-1. Br. Phycol. J. 23:317-326.
- Graciela, B., B.J.E. Lozbetz-Meza, G. Cozzi, C.F. Piccinetti, and J.E. Ibarra. 2000. Characterization of INTA 51-3, a new atypical strain of *Bacillus thuringiensis* from Argentina. Microbiol. 41:369-401.
- Han, K.H. and S.D. Kim. 1999. Selection and identification of *Promicromonospora* sp. KH-28 producing chitinase and antifungal antibiotic. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 27:191-196.
- Hashidoko, Y., T. Nakayama, Y. Homma, and S. Tahara. 1999. Structure elucidation of xanthobaccin A, a new antibiotic produced from *Stenotrophomonas* sp. strain SB-K88. Tetrahedron Lett. 40:2957-2960.
- Hepburn, H.R. 1985. Structure of the integument. In Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology. eds. by Kerkut, G.A. and Gilbert, L.I. Integument, Res. Circ. Pergamon Press, Oxford, 3:1-8.
- Hwang, I.C., J. Kim, H.M. Kim, D. I. Kim, S.G. Kim, S.S. Kim, and C. Jang. 2009. Evaluation of toxicity of plant extract made by Neem and Matrine against main pests and natural enemies. Korean J. Appl. Entomol. 48:87-94.
- Ishiwata, S. 1901. On a kind of sever flacherie (sotto disease) Dainihon Sanshi Kaiho. 9:1-5.
- Jeong, H.U., H.H. Im, S.K. Chang, C.H. Paik, T.H. Han, I.S. Kim, and I. Kim. 2007. Test of larvicidal effect of some commercial natural products on lepidoptran *Plutella xylostella* and *Spodoptera litura* larvae. Korean J. Appl. Entomol. 15:87-91.
- Kim, H.H., Y.S. Seo, J.H. Lee, and K.Y. Cho. 1990. Development of fenvalerate resistance in the diamond-back moth, *Plutella xylostela* Linne (Lepidoptera : Yponomeutidae) and its cross resistance. Korean J. Appl. Entomol. 29:194-200.
- Ko, H.S., R.D. Jin, B.H. Krishnan, S.B. Lee, and K.Y. Kim. 2009. Biocontrol Ability of *Lysobacter antibioticus* HS124 Against *Phytophthora* Blight Is Mediated by the Production of 4-Hydroxyphenylacetic Acid and Several Lytic Enzymes. CurrMicrobiol 59: 608-615.
- Lee, Y.S. 2010. Biological control of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in tomato by *Lysobacter antibioticus* HS124. A Master' dissertation, College of Agriculture and Life Sciences, Chonnam National University, Gwangju, Republic of Korea.
- Luo, W.C., S.D. Wang, S.J. Xu, and D. Qi. 2005. Inhibitory effects of 4-dodecylresorcinol on the phenoloxidase of the diamondback moth *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera Plutellidae). Pestic. Biochem. Physiol. 82:52-58.
- Russell, A.D. and J.R. Furr. 1996. Biocides; Mechanisms of antifungal action and fungal resistance. Sci. Prog. 79:27-48.
- Salinas, P.J. 1972. Studies on the ecology and behaviour of the larvae of *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). Ph.D. Thesis Univ. of London. 356.
- Stern, V.M., R.F. Smith, R. Van den Bosch, and K.S. Hagen. 1959. The integrated control concept. Hilgardia. 29:81-101.
- Shoda, M. 2000. Bacterial control of plant diseases. J Biosci. Bioeng. 89:515-521.
- Talekar, N.S. and A.M. Shelton. 1993. Biology, ecology and management of diamondback moth. Annu. Rev. Entomol. 38:275-301.

Taoka, Y., N. Naoki, O. Yuji, I. Hitoshi, S. Shinichi, and H. Masahiro. 2008. Effect of addition of Tween 80 and potassium dihydrogenphosphate to basal medium on the isolation of marine Eukaryotes, Thraustochytrids. *J. Biosci. Bioeng.* 105:562-565.

Yoon, C.S., T.J. Yoon, H.S. Park, S.G. Lee, J.K. Yoo, and

J.O. Lee. 1998. Field evaluation of conidia of *Beauveria bassiana* (Baldamo) *Vuillemin* strain CS-1 against diamondback moth larvae. *J. Pesti. Sci.* 2:113-118.

Wollum, A.G. 1982. Cultural methods for soil microorganism. *Methods of Soil Analysis. Part2. Chemical and Microbiological Properties*, American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA. 781-802.