

갈색여치에 대한 백강균의 병원력 검증

방혜선 · 정명표 · 김명현 · 한민수 · 강기경 · 이덕배 · 남성희^{1*}

농촌진흥청 국립농업과학원 농업환경부 기후변화생태과

¹농촌진흥청 국립농업과학원 농업생물부 잠사양봉소재과

(2010년 4월 29일 접수, 2010년 9월 18일 수리)

Pathogenicity Screening of Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana* against *Paratlanticus ussuriensis*

Hea-Son Bang, Myung-Pyo Jung, Myung-Hyun Kim, Min-Su Han, Kee-Kyung Kang, Deog-Bae Lee and Sung-Hee Nam^{1*}(Climate Change & Ecology Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon, 441-707, Korea, ¹Sericultural & Apicultural Materials Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon, 441-707)

Laboratory trial on the control effect of *Beauveria bassiana* against *Paratlanticus ussuriensis* was carried out with fungi collected from South Korea, China and Peru. All *B. bassiana* species from collected at each site had a strong fungicidal activity against *P. ussuriensis*. The Abbott's formula was the highest showing 100% mortality and the others also showed over 60% mortality. It took 3 to 6 days until katydid attained to death after inoculation with all *B. bassiana* treatments. From this trial, *B. bassiana* fungus was found to have some effects as pathogenicity of entomopathogenic activity against *P. ussuriensis*. So *B. bassiana* could be considered as one of the environment-friendly and effective pesticides for the control of *P. ussuriensis*.

Key Words: *Beauveria bassiana*, Mortality, *Paratlanticus ussuriensis*, Pathogenicity

서 론

갈색여치(*Paratlanticus ussuriensis*) 메뚜기목 여치과에 속하는 곤충으로 2001년 충북 충주 및 단양 지역의 과수농가에 피해가 보고된 이후, 충북 영동, 옥천, 청원, 보은 지방을 중심으로 해마다 지속적으로 발생하였고, 2006년 및 2007년 충북 영동지역 과수원에 대발생하여 과수농가에 경제적 피해를 주었다(Bang *et al.*, 2008).

국내에서 갈색여치의 연구는 일부 진행되어 왔으나 이들의 출현 및 대발생기가 불규칙적이므로 생태학적 특성분석 및 구멍의 어려움으로 인해 현재까지 뚜렷한 방제책은 제시되지 않은 실정이다(Ahn *et al.*, 2007; Bang *et al.*, 2008, 2009; Jung *et al.*, 2009; Na *et al.*, 2007; Noh, *et al.*,

2008; Moon *et al.*, 2009).

곤충병원성진균은 목적 곤충만을 가해하는 기주특이성을 가지는 진균류로써, 산업적 활용면에서 특이적 장점을 가지므로 해충방제제로 개발하기 위한 연구가 진행되고 있다. 즉 곤충병원성진균은 다른 방제 수단과 병행한 해충방제가 가능하며, 균주의 개량 및 대량생산이 용이하고, 환경 및 인축에 대한 무독성과 비잔류의 특성을 갖는다. 또한 이병 해충에서 분리, 증식된 포자를 이용한 지속적인 방제와 키티나제와 프로테아제 등의 효소 작용 및 침입균사의 물리적인 작용으로 저항성 출현을 억제하는 장점이 있어 친환경적 해충 방제법으로도 관심이 증가하고 있다(Lomer *et al.*, 2001). 특히 곤충병원성진균 중 백강균(*Beauveria bassiana*)과 녹강균(*Metarhizium anisopliae* var. *acridum*)은 친환경적 방제제의 소재로 주로 이용되는데, 백강균은 최근까지 국내외에서 점박이응애, 뽕나무이, 배추좀나방, 파밤나방 등 다양한 곤충목을 대상으로 한 살충제로 제품화되었으며(Wraight *et al.*, 2010; Monchan *et al.*, 2009; Mutimura *et al.*, 2009), 녹강균은 아프리카, 호주, 북미, 남미, 중국 등지에서 메뚜기류

*연락처:

Tel: +82-31-290-8529 Fax: +82-31-290-8503

E-mail: creative716@korea.kr

방제에 널리 이용되고 있다(Lomer *et al.*, 2001).

곤충병원성진균을 이용한 해충방제의 수많은 연구에도 불구하고, 최근 국내 과수원에서 고밀도로 발생하여 사회적 문제가 되고 있는 갈색여치에 관해서는 현재까지도 방제를 위한 적용사례가 없는 실정이다.

본 연구에서는 농작물에 피해를 주지 않고 갈색여치를 방제할 수 있는 친환경적 방제법을 연구하고자, 이병 곤충에서 분리된 백강균을 선발하고 갈색여치에 대한 감염 및 방제 가능성을 검증하고 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

균주의 수집

시험에 사용된 8개 균주는 2001년부터 2009년까지 국내 산지를 중심으로 고도 300-600m에서 백강균에 감염된 곤충

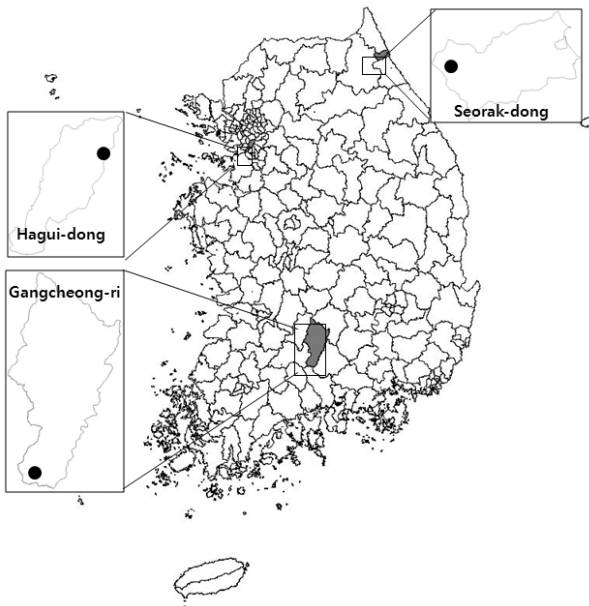


Fig. 1. Collection sites of *Beauveria bassiana* in Korea.

을 채집, 분리하거나(Fig. 1), 중국 또는 페루에서 도입된 균이다(Table 1). 균은 조사지역, 발생환경, 채집일자 등을 기록한 후 고체 감자한천배지(PDA) 상에서 분리되었으며, 동정된 균은 초저온 포자동결법에 의한 처리 후 국립농업과학원 농업생물부에 보존하였다.

SEM을 이용한 형태분석

PDA에서 14일간 배양된 균은 0.5 × 0.5 cm 크기로 잘라 2.5% glutaraldehyde(0.1 M Milonig's phosphate 완충액, pH 7.4)로 고정된 후 0.1 M Milonig's phosphate 완충액으로 3회 세척하고 1% osmium tetroxide로 2차 고정하였다. Ethanol로 시리즈(50, 75, 90, 95, 100%) 탈수 후 amylacetate로 40분간 2회 치환하였고, critical point dryer로 건조 후 gold-palladium으로 coating한 후 주사전자현미경(LEO 440, 1420 VP, LEO Sheep, USA)으로 관찰하였다.

갈색여치 약충

갈색여치는 충북 영동지역에서 2009년 5월에 약충을 채집하여 국립농업과학원 농업환경부 기후변화생태과 향온실(25±2°C, 40~60% RH, L:D = 14:10)에서 계대사육 하였다. 실내에서 부화된 유충은 25°C에서 밀기울과 어분을 1:1 (W/W) 비율로 섞은 먹이를 물과 함께 공급하였고, 미생물 등의 오염방지를 위해 매일 신선한 먹이로 교체하였다(Bang *et al.*, 2008). 부화 후 20일 경과 된 3령 약충 중 체장의 크기가 비슷한 개체를 골라 실험에 사용하였다.

균 접종 및 분석

접종용 백강균 분생포자를 현미배지 상에서 생산하였으며(Nam *et al.*, 1999), Tween 20을 포함한 증류수를 이용하여 1 × 10⁸ spore/ml 농도로 조정하였다. 갈색여치의 복면과 등면에 골고루 포자가 접종되도록 브러쉬를 이용하여 5회 도말하였다. 균 접종된 갈색여치 약충은 페트리접시(150 × 25 mm)에 발토양(모래 63%, 미사 18%, 양토 9%)을 2 cm 두께로 깔고 물과 함께 넣어 27.5°C, 70% 상대습도를 유지

Table 1. List of isolates of *Beauveria bassiana* and their hosts

Fungal isolates	Collected date	Host	Location
<i>Beauveria bassiana</i> J57	Aug., 2001	adult of lepidoptera	Jirisan (Mt.)
<i>Beauveria bassiana</i> J157	Aug., 2008	larva of silkworm, lepidoptera	Suwon NAAS Lab.
<i>Beauveria bassiana</i> J200	Sept., 2002	lepidoptera	Seoraksan (Mt.)
<i>Beauveria bassiana</i> J256	Jan., 2009	larva of silkworm, lepidoptera	Suwon NAAS Lab.
<i>Beauveria bassiana</i> J258	Jan., 2009	adult of lepidoptera	Cheonggyesan (Mt.)
<i>Beauveria bassiana</i> J259	Jan., 2009	adult of lepidoptera	Cheonggyesan (Mt.)
<i>Beauveria bassiana</i> J261	Feb., 2009	larva of silkworm, lepidoptera	China
<i>Beauveria bassiana</i> J269	Aug., 2009	adult of lepidoptera	Peru

하면서 정상 사육하였다. 접종 10일 동안 매일 동시간에 치사개체 및 군사형성을 관찰하였고, 각 처리당 5반복을 두었다. Abbott's formula를 이용하여 백강균에 대한 갈색여치의 치사율을 나타내었고(Abbott, 1925), 실험결과에 따른 유의성은 SYSTAT 프로그램(version 9.0, SPSS Inc.)의 Scheffe's test를 이용하여 채집지역별 백강균의 살충기간을 비교하였다.

결과 및 고찰

주사전자현미경에 의한 형태관찰 결과, 백강균은 영양균 사로부터 분생자병(conidiophore)이 발달하며 분생자병으로부터 과실 송이 형태의 conidiogenous cell로 구성되어 있었으며, 그 말단에는 백강균의 전형적인 구조물인 꽃대(rachis)와 함께 굵은 돌기형태를 확인할 수 있었다. 분생포자는 blastic으로 투명하였다. 갈색여치 치사율이 가장 높았던 *B. bassiana* J57은 표면이 약간 거칠었으며, *B. bassiana* J256은 매끄러운 표면이었다(Fig. 2). 포자크기는 직경 2 μ m 내외이며 구형 또는 타원형이었다.

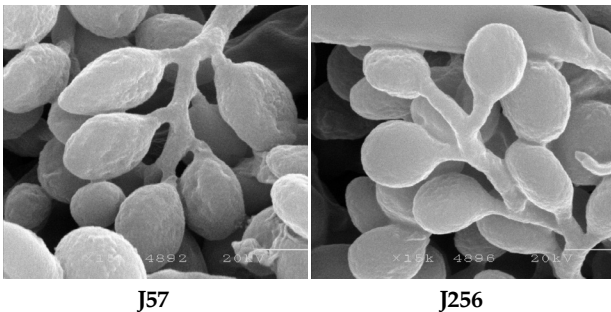


Fig. 2. Morphological characteristics by SEM analysis showing conidiogenous cells with globose bases.



Fig. 3. Infected *Paratlanticus ussuriensis* with many dry powdery conidia of *B. Bassiana* containing distinctive white spore balls.

백강균에 감염된 갈색여치 약충은 접종 1-2일까지는 정상적인 섭식활동 및 행동을 보였으나, 접종 3일 경과 후부터 행동이 둔화되고 섭식량이 줄어드는 경향을 보이면서 최초 치사충이 발생하였다. 백강균 감염충은 대부분 감염 후 3-6일 사이에 치사하였다. J57 균주에서 100%의 치사율을 보였고, J258 균주를 제외하고 모든 균주에서 치사율이 80% 이상을 보였기 때문에 백강균은 갈색여치에 대한 병원력이 매우 높다고 판단된다(Table 2). 치사 1~2일 경과 후 경과가 진행되면서 약충의 배면, 복면, 측면 및 다리 등 전면에서 군사가 발아하였다(Fig. 3). 백강균을 도포한 후 유충이 사망하기까지 걸린 시간은 J259, J200, J256 균주가 4일 미만으로 가장 빨랐지만, 균주별 갈색여치의 사망시기는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($F=1.269$ $p=0.307$).

본 실험에 사용된 8개 균주는 나비 및 누에에서 분리된 균주이지만, 갈색여치에도 병원력을 가지는 것으로 확인되었다. 백강균은 발생기주와 무관하게 갈색여치 뿐만 아니라 기타 대상곤충에 적용될 수 있으나, 균주 별 활성은 차이를 보일 수 있을 것으로 예상된다. 일반적으로 녹강균은 25-35 $^{\circ}$ C 사이에서 높은 병원력을 보이지만(Hunter *et al.*, 2001), 백강균은 10 $^{\circ}$ C 이하의 온도에서도 높은 병원력을 가지기 때문에(Milner and Hunter, 2001), 갈색여치 뿐만 아니라 표적해충에 있어 병원성 진균에 대한 감수성이 높은 유충단계에 적용할 수 있다. 특히 갈색여치가 과수원으로 이동하기 전인 3-4령 약충기에 야산에 유인먹이나 살포 등의 방법으로 적용할 수 있어, 갈색여치의 친환경적 방제수단의 일환으로 고려할 수 있을 것이다.

국내에서 친환경농산품에 대한 소비가 증가하기 때문에 향후 생물농약에 대한 중요성 및 역할이 강조될 것으로 예상된다. 하지만 아직까지 대상 해충을 방제함에 있어 곤충병원성 진균의 생활사, 약량, 제조법, 방제법 등에 대한 이해가 부족하기 때문에 이에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 어젠다프로그램(PJ006701&PJ006727)로 수행되었으며, 연구를 원활히 수행할 수 있도록 도와주신 홍혜경님께 감사드립니다.

요 약

본 연구에서는 갈색여치의 친환경적 방제를 위해 곤충병원성 진균인 백강균(*B. bassiana*)의 병원력에 대한 실험을 수행하였다. 실험에 이용된 모든 균주에서 60% 이상의 병원력을 나타냈으며, 살충시간 또한 10일 이내로 짧았다. 따라서 백강균은 갈색여치의 생물학적 방제원으로 이용 가능성이 높다고 판단할 수 있다.

참고문헌

- Abbott, W. S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18, 265-267.
- Ahn, K.-S., Yang, J.-O., Noh, D.-J., Yoon, C., Kim, G.-H., 2007. Susceptibility of ussur brown katydid, to *Paratlanticus ussuriensis* (Orthoptera: Tettigoniidae) commercially registered insecticides, *Korea J. Pest. Sci.* 11(3), 194-200.
- Bang, H.-S., Na, Y.-E., Han, M.-S., Kim, M.-H., Roh, K.-A., Lee, J.-T., 2008. Oviposition characteristics of the ussur brown katydid, *Paratlanticus ussuriensis* (Orthoptera: Tettigoniidae), *Korea J. Environ. Agric.* 27(3), 274-278.
- Bang, H.-S., Kim, M.-H., Jung, M.-P., Han, M.-S., Na, Y.-E., Kang, K.-K., Lee, D.-B., Lee, K.-Y., 2009. Effects of chilling and overwintering temperature conditions on the termination of egg diapause of the ussur brown katydid *Paratlanticus ussuriensis*, *Koran J. Appl. Entomol.* 48(2), 221-227.
- Hunter, D. M., Milner, R. J., Spurgin, P. A., 2001. Aerial treatment of the Australian plague locust *Chortoicetes terminifera* (Orthoptera: Acrididae), with *Metarhizium anisoploae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Bull. Entomol.* 91, 93-99.
- Jung, M.-P., Bang, H.-S., Kim, M.-H., Han, M.-S., Na, Y.-E., Kang, K.-K., Lee, D.-B., 2009. Response of ussur brown katydid, *Paratlanticus ussuriensis* to light-emitting diodes(LED). *Korea J. Environ. Agric.* 28(4), 468-471.
- Lomer, C. J., Bateman, R. P., Johnson, D. L., Lange-wald, J., Thomas, M., 2001. Biological control of locusts and grasshoppers, *Annu. Rev. Entomol.* 46, 667-702.
- Na, Y.-E., Bang, H.-S., Kim, M.-H., Han, M.-S., Kim, M.-K., Roh, K.-A., Lee, J.-T., Choi, D.-R., 2007. The characteristic on egg-laying and vegetation grazing of *Paratlanticus ussuriensis*, *Korea J. Environ. Agric.* 26(4), 364-366.
- Nam, S.-H., Jung, I.-Y., Ji, S.-D., Cho, S.-Y., 1999. Cultural condition and morphological characteristics of *Paecilomyces Japonica* for the artificial cultivation. *Kor. J. Seric. Sci.* 41(1) 36-41.
- Noh, D.-J., Yang, J.-O., Moon, S.-R., Yoon, C., Kang, S.-H., Ahn, K.-S., Kim, G.-H., 2008. Attractants and trap development for ussur brown katydid, *Paratlanticus ussuriensis* (Orthoptera: Tettigoniidae), *Korea J. Pest. Sci.* 12(3), 256-261.
- Milner, R. J., Hunter, D. M., 2001. Recent developments in the use of fungi as biopesticides against locusts and grasshoppers in Australia. *J. Ortho. Res.* 10, 271-276.
- Monchan, M., Patricia, O-C, and Dararat, H., 2009. Laboratory and field evaluation of *Beauveria bassiana* for controlling Mulberry whitefly *Pealius mori* Takahashi (Homoptera: Aleyrodidae) in mulberry (*Morus alba* Linn), *J. Pest. Sci.* 82(3), 251-259.
- Moon, S.-R., Noh, D.-., Yang, J.-O., Yoon, C., Ahn, K.-S., Kim, G.-H., 2009. Seasonal occurrence and developmental characteristics of ussur brown katydid, *Paratlanticus ussuriensis* Uvarov (Orthoptera: Tettigoniidae), *Koran J. Appl. Entomol.* 48(1), 11-19.
- Mutumura, G., Mark, L., Miller, R., 2009. Effects of adjuvant and conidial concentration on the efficacy of *Beauveria bassiana* for the control of the two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*, *Exp. Appl. Acarol.* 50(3), 217-229.
- Wraight, S. P., Ramos, M. E, Avery, P. B, Jaronski, S. T., Vandenberg, J. D., 2010. Comparative virulence of *Beauveria bassiana* isolates against lepidopteran pests of vegetable crops. *J. Invertebr. Pathol. Mar.* 103, 186-99.