

## 파밤나방의 생물적 방제를 위한 곤충병원성 곰팡이 *Metarhizium anisopliae*의 특성 및 병원성 검정

한지희<sup>1\*</sup> · 김형경<sup>1</sup> · 임훈태<sup>1</sup> · 김정준<sup>1</sup> · 이상엽<sup>1</sup>

<sup>1</sup>농촌진흥청 국립농업과학원 농업미생물과

## Characteristics and Virulence Assay of Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* for the Microbial Control of *Spodoptera exigua*

Ji Hee Han\*, Hyeonggyeong Kim, Hun Tae Leem, Jeong Jun Kim and SangYeob Lee

Agricultural Microbiology Division, National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon, 441-707, Republic of Korea.

(Received on November 8, 2013. Revised on November 28, 2013. Accepted on December 20, 2013)

**Abstract** Beet armyworm, *Spodoptera exigua* is difficult to control using chemical insecticides because of the fast development of insecticide resistance. For eco-friendly beet armyworm managements, various control agents are required. Entomopathogenic fungus is one of the promise control agents as an alternative to chemical control agent. We isolated entomopathogenic fungi from soil samples of Yangpyeong, Gyeonggi-do by insect-bait method using *Tenebrio molitor* and conducted bioassay to larva of beet armyworm. The result of bioassay, a selected strain FT83 showed 100% mortality against third instar larva of *S. exigua*. On the basis of morphological characteristics and analysis of 18srRNA sequence for ITS, the strain FT83 was identified as a *Metarhizium anisopliae*. The mortality of beet armyworm showed  $81.6 \pm 9.3\%$  at  $1 \times 10^6$  conidia/ml, 100% at  $1 \times 10^7$  conidia/ml and 100% at  $1 \times 10^8$  conidia/ml respectively. Therefore, we recommend to proper control efficacy against *S. exigua* in which more than  $1 \times 10^7$  conidia/ml suspension of *M. anisopliae* FT83.

**Key words** Beet armyworm, Entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae*

### 서 론

파밤나방(*Spodoptera exigua* Hüber)은 동남아시아가 원산지인 해충으로 주로 열대 및 아열대 지역으로 넓게 분포하였으나, 최근에는 온대지역에도 분포하는 등 전 세계적으로 발생하는 주요 농업해충이다. 우리나라에서는 1년에 4-5회 발생하고 남부지방의 경우 6월 초에서 11월 말까지 발생하는데 7월 하순에서 10월 하순에 성충의 발생이 많으며 최성기는 8월 중순으로 알려져 있다(Jin *et al.*, 2009). 또한 내한성 기작으로 월동이 가능하게 되고 시설재배지에서는 지역

과 시기를 불문하고 피해가 연중 발생하고 있다(Kang *et al.*, 2008). 파밤나방의 기주 범위는 광범위하여 채소, 화훼, 과수 등 40과 200여종에 피해를 입히고 있으며(Gho *et al.*, 1991), 국내에서는 파, 배추, 수박 등 다양한 농작물에 발생하여 큰 피해를 주고 있다. 파밤나방의 어린 유충은 식물 잎의 표피를 갉아먹거나 구멍을 뚫어 가해하며 노숙유충은 불규칙하게 폭식하면서 가해하는 특성이 있다. 특히 파 등 일부 작물에서는 초기 유충일 때 구멍을 뚫고 줄기 속 빈 공간으로 들어가 잎의 안쪽을 가해 함으로서 약제에 노출될 기회가 줄어들어 방제하기가 대단히 어려운 실정이다. 파밤나방의 방제를 위해서는 주로 유기인계, 카바메이트계, 피레로이드계 등 화학 살충제 등이 사용되었으나(Moulton *et al.*, 1999) 환경오염의 유발과 친환경 농산물의 수요 증대에 따라 이를 대체할 친환경 방제방법에 대한 관심이 증대되고 있다.

\*Corresponding author

Tel: +82-31-290-8482, Fax: +82-31-290-8488

E-mail: bijouhee@korea.kr

파밤나방을 방제하기 위한 친환경적 방제방법으로 파밤나방에 특이성을 가지는 바이러스와 세균을 이용한 친환경 방제기술이 개발되어 이용되고 있다. 나방류 해충방제를 위해 상용화되어 많이 이용되고 있는 Bt제(곤충병원성 세균 *Bacillus thuringiensis* 이용)의 경우 잦은 사용으로 파밤나방을 포함한 일부 해충에서 저항성이 발현이 보고되었으며 (Tabashnik *et al.*, 2004), 곤충병원성 바이러스(*Spooptera exigua* nucleopolyhedro virus: SeNPV)의 경우 대량생산이 어렵다는 단점이 있어 또 다른 친환경적 방제 수단의 개발이 절실한 실정이다.

곤충병원성 곰팡이는 대부분 불완전균류의 Hyphomycetes에 속하는 곰팡이로 사람과 동물, 식물에는 무해하나 곤충에만 특이적으로 병원성을 가진다(Lacey *et al.*, 2001). 곤충의 섭식에 의해 감염되는 곤충병원성 바이러스 및 세균과는 달리 곤충병원성곰팡이 종류는 곤충에 접촉하여 물리 화학적으로 표피를 침투하여 기주 곤충의 면역작용을 차단하고 독성물질을 분비하여 곤충을 죽인다(Charnley *et al.*, 1997). 또한 감염된 곤충병원성 곰팡이는 기주 곤충의 혈강 내에서 대량으로 증식하여 기주 곤충의 영양분을 고갈시켜 사망에 이르게 하고 기주 곤충의 치사 후에는 죽은 곤충의 표피에서 포자를 형성하여 건전한 개체를 2차 감염을 시키는 장점을 가진다. 이러한 곤충병원성 곰팡이는 현재 약 85속 750여종이 알려져 있으며 가장 일반적으로 이용되고 있는 균으로는 *Metarhizium*, *Beauveria*, *Verticillium* (*Lecanicillium*으로 재명명됨), *Isaria*, *Nomuraea*, *Entomophthora*, *Neozygites*를 등을 들 수 있다(Hajek *et al.*, 1994; Supakdamrongkul *et al.*, 2010).

본 연구에서는 국내 토착 미생물 자원을 활용한 난방제 해충 파밤나방의 친환경 방제를 위해 국내 토양에서 곤충병원성 곰팡이 균주를 수집, 파밤나방에 고병원성 곰팡이 균 선발 실험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 곤충사육

본 실험에 사용된 파밤나방은 국립농업과학원 작물보호과 실험실에서 분양 받아 온도 25°C, 광조건 16L:8D, 상대습도 70±5% 조건으로 사육하였고 인공사료(bioserve, mixing direction #F9219B)를 공급하여 누대 사육하였다.

### 토양채집

곤충병원성 곰팡이를 분리하기 위해 양평의 파 재배지에서 토양을 채취하였다. 각 토양샘플은 20 m<sup>2</sup>내 4 지점을 무작위로 설정하여 지름 7 cm 오거(auger)를 이용하여 5 cm 깊이로 0.5 L의 토양을 채취하였다. 채취한 토양은 지퍼백에 넣어 잘 섞은 후 실험 전까지 4°C에서 보관하였다.

### 곤충병원성 곰팡이의 분리

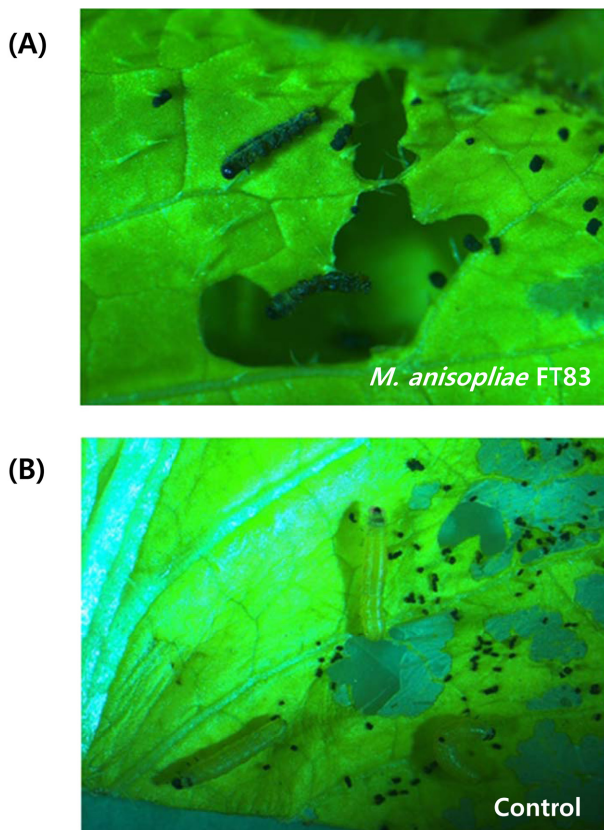
토양샘플을 채집 후 일주일 내에 insect-bait법을 이용하여 곤충병원성 곰팡이를 분리하였다(Meyling, N.V. *et al.*, 2007). 채집한 토양은 2 mm체에 내려 50 ml을 플라스틱 통에 담고 부화 후 60일 가량 된 갈색거저리(*Tenebrio molitor*) 10마리를 넣어 25±2°C에서 2주간 보관하면서 하루에 한번씩 7일 동안 뒤집어주었다. 2주 배양 후 이병곤충의 숫자를 기록하고 이병곤충의 표면을 3% 차아염소산나트륨용액으로 3분, 멸균수로 3분간 2회 살균한 후 멸균수로 적신 필터페이퍼가 깔린 90 mm 페트리디쉬에 넣어 25°C, 7-14일간 배양하며 곰팡이의 포자성장을 유도하였다. 사충의 표피로부터 포자를 취하여 PDA에 옮겨 하나의 콜로니를 분리하였다.

### 생물검정

분리한 곤충병원성 곰팡이는 PDA에 접종하여 25±1°C, 광주기 16:8의 조건에서 2주간 배양한 포자를 생물검정에 이용하였다. 생물 검정을 위한 포자현탁액은 포자가 형성된 배지에 5 ml의 멸균된 0.01% Tween80 용액을 넣고 유리막대로 표면을 긁어 포자를 회수한 후 거즈로 걸러 hemocytometer를 이용하여 계수하고 생물검정에 필요한 농도의 포자현탁액(1×10<sup>8</sup> conidia/ml)을 제조하였다. 생물검정은 파밤나방 3령(부화 후 7일) 유충 10마리가 접종된 직경 9 cm 배추 잎에 포자 현탁액을 살포하여 실시하였다. 포자현탁액 700 µl를 Plexyglass 스프레이타워(100kPa, 직경 1.5 cm의 polyvinyl acetal cone nozzle)를 이용하여 파밤나방 유충이 접종된 배추 잎 앞, 뒷면에 살포하였다. 살포된 잎은 상온에서 한 시간 동안 건조한 후 축축한 필터페이퍼가 깔린 페트리디쉬에 넣고, 25°C, 광조건 16L:8D, 습도 90% 이상으로 유지하여 6일 동안 매일 치사충 수를 관찰하였다. 치사충은 멸균수로 적신 필터페이퍼가 깔린 페트리디쉬에 옮겨 표피에서 곰팡이가 발생하는지 관찰하였다. 대조구에는 0.01% Tween80 용액만을 처리하였다. 생물검정은 3회 수행되었으며, 매 실험마다 3개의 반복을 두었다. 분리한 곤충병원성 곰팡이 중에 파밤나방에 높은 살충율을 나타내는 FT83 균주를 선발하였다. 선발한 FT83의 적정 처리농도를 알아보기 위해 1×10<sup>4</sup>-10<sup>9</sup>conidia/ml 농도의 포자현탁액을 이용하여 위와 같은 방법으로 생물검정 하였다. 또한 선발한 FT83의 처리 온도별 살충율을 알아보기 위해 10<sup>7</sup>-10<sup>9</sup>conidia/ml 농도의 포자현탁액을 이용하여 위와 같은 방법으로 처리하고 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 광조건 16L:8D, 습도 90% 이상으로 유지하여 6일 동안 매일 치사충 수를 관찰하였다.

### 형태학적 관찰

분리 균주의 형태학적 관찰을 위하여 slide grass culture 방법을 이용하였다.(Lawrence A. Lacey *et al.*, 2012). PDA

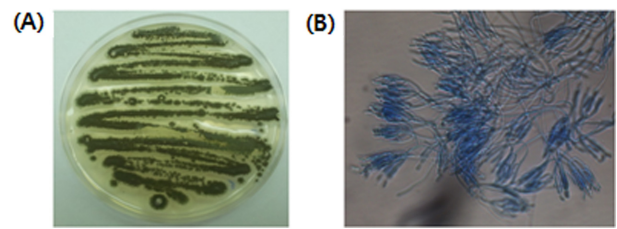


**Fig. 1.** The *S. exigua* 3rd instar larvae treated with *M. anisopliae* FT83 ( $1 \times 10^8$  conidia/ml) 3day after treatment (A). Control treated with 0.01% Tween80 (B).

에서 3-4일간 배양된 균체를 2% water agar위에 놓인 두 장의 멸균 커버슬라이드(지름  $22 \times 30$  mm) 사이에 놓고  $25^\circ\text{C}$ 에서 7일간 배양 후 위상차 현미경 (400x)을 이용하여 균사 및 포자의 형태를 관찰하였다.

#### 염기서열분석

곰팡이의 genome DNA 추출을 위해 PDA에서 2주간 배양한 곰팡이 균체에 fungal DNA extraction buffer[0.2M Tris-Cl; pH 7.5, 0.5 M NaCl, 10 mM EDTA; pH 8.0, and 1% SDS (w/v)]과 phenol-chloroform-isoamyl alcohol (25 : 24 : 1)을 처리 한 후 원심 분리하여 DNA를 정제하였다. 정제된 DNA용액은 냉 에탄올을 이용하여 침전시키고 원심 분리 후 멸균 증류수에 녹여 실험에 이용하였다. 분리 균주의 분자생물학적 동정을 위해 ITS1(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')과 ITS2(5'-TTTCCTCCCGTCTATG-3') primer를 사용하여 internal transcribed spacer(ITS1-5.8S-ITS2)부분을 PCR증폭하였다. PCR증폭산물은 1.0% agarose gel을 이용하여 전기영동 후 Power Gel Extraction Kit(Dyne Bio Inc., Korea)를 이용하여 정제하였다. 정제된 PCR산물의 염기서열 분석은 제노셀(주)에 의뢰하였고 그 결과를 Clustal X를 이용하여 배열하였고, MEGA 4.1 프로그램 내의



**Fig. 2.** *M. anisopliae* FT83 was inoculated on PDA media and cultured at  $25^\circ\text{C}$  for 7 days (A). Dark green sporulation of fungus was observed. Morphology of *M. anisopliae* FT83 observed under phase contrast microscope (B).

neighbor-joining 방법을 사용하여 계통분석 및 계통도를 구축하였다.

#### 분리된 곤충병원성 곰팡이의 적정 생육 온도 검정

선발된 *M. anisopliae* FT83를 PDA배지에 접종하여  $25^\circ\text{C}$ 에서 14일간 배양하였다. 배양된 *M. anisopliae* FT83균총을 직경 7 mm의 코르크보러로 떼어내어 PDA배지의 중앙에 치상하고 15, 20, 25, 30,  $35^\circ\text{C}$ 에서 7일간 배양하였다. 실험은 3반복 하였으며 배양 7일 후 균사의 성장을 자(Digimatic Caliper, Mitutoyo corp.)를 이용하여 측정하였다.

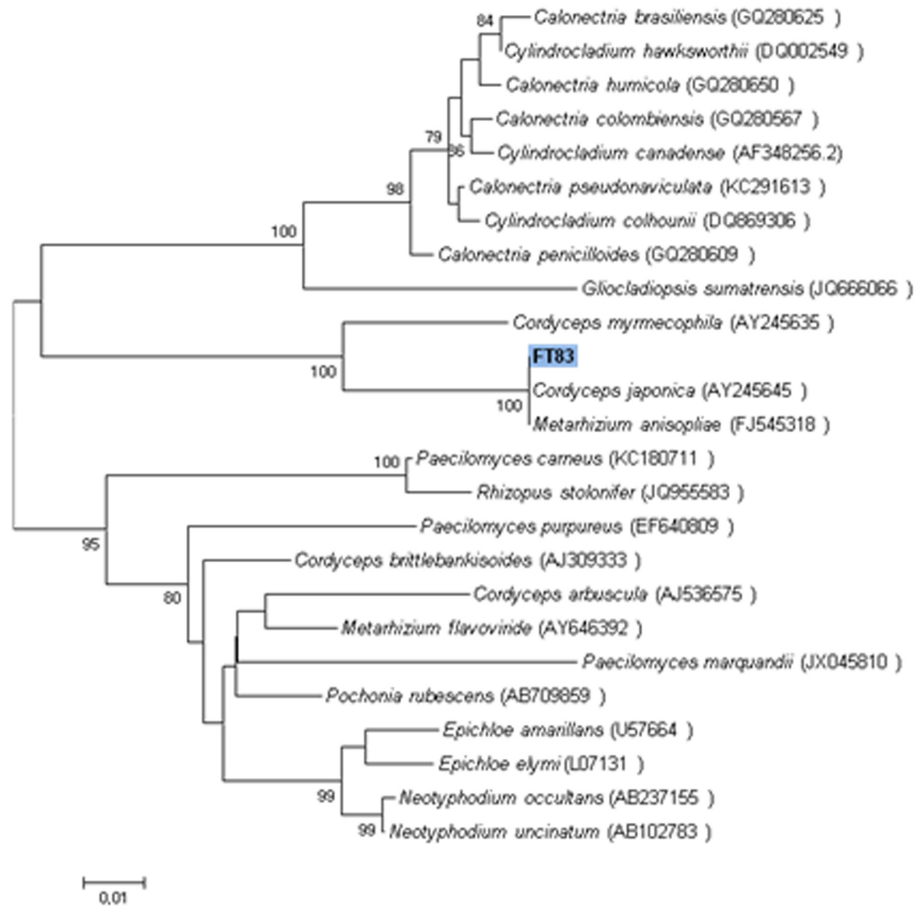
## 결과 및 고찰

#### 곤충병원성 곰팡이의 분리 및 형태학적 조사

토양으로부터 분리한 곤충병원성 곰팡이를 파밤나방에 3령유충에 생물 검정한 결과 파밤나방에 100%의 살충율을 보이는 *M. anisopliae* FT83 균주를 선발하였다. 선발한 균주를 PDA에 옮겨 생장을 관찰한 결과 처음에는 흰색으로 균사생장을 하다가 시간이 지나면서 사충에서 분리한 곰팡이의 색깔과 같은 짙은 녹색의 포자를 형성하는 것을 관찰하였으며 현미경적 관찰 결과에서는 분생포자는 장타원형 ( $5\sim 9 \mu\text{m}$ )으로 녹색의 색깔을 띠며 촛대모양의 분생자 자루 위에 연쇄상으로 존재하였다. 이와 같은 결과를 토대로 문헌(Lawrence A. Lacey, 2012)과 비교 관찰하여 선발 균주를 *Metarhizium* spp.로 1차적으로 동정하였다.

#### 분자생물학적 동정

선발 균주의 분자생물학적 동정을 위하여 ITS부분을 증폭하여 T-vector에 cloning 후 염기서열을 결정 한 결과 *M. anisopliae* 균주인 LSVT1 (FJ545318), CNHB3 (FJ545293), CNGU3 (FJ545289), CNGD10 (FJ545285), M1 (EF113330) 균주와 100% 상동성을 나타내었다. 형태학적 및 분자생물학적 동정 결과를 통해 분리 곰팡이는 최종적으로 *Metarhizium anisopliae*로 동정하였고, *M. anisopliae* FT83으로 명명하였다.



**Fig 3.** Phylogenetic tree based on the nucleotide sequences of ITS region of *M. anisopliae* FT83 with related fungal species from NCBI. The tree was constructed by the neighbor-joining method based on genetic distances calculated by the maximum composite likelihood method. Bootstrap values  $\geq 70\%$  are labeled.

**생물검정**

선발한 *M. anisopliae* FT83의 포자현탁액( $1 \times 10^4$ - $10^9$  conidia/ml with 0.01% Tween80)을 이용하여 파밤나방 3령 유충에 대하여 살충력을 검정한 결과(Table 2), 포자현탁액  $1 \times 10^4$ conidia/ml의 농도에서는  $43.3 \pm 12.71\%$ 의 살충율과 6.43일의 반수치사시간으로 파밤나방에 대한 낮은 방제효과를 보였지만  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$  conidia/ml의 농도에서는 각각  $65.9 \pm 4.96\%$ ,  $81.6 \pm 9.3\%$ , 100%의 살충율과 4.73, 3.7일, 2.21일의 반수치사시간을 나타내어 포자현탁액의 농도가 높을수록 살충율도 증가하는 경향을 보였다. 특히, 일반적인 포자처리 농도인  $1 \times 10^8$  conidia/ml의 처리구에서는 접종 후 4일 후 100%의 높은 살충율을 보였다.

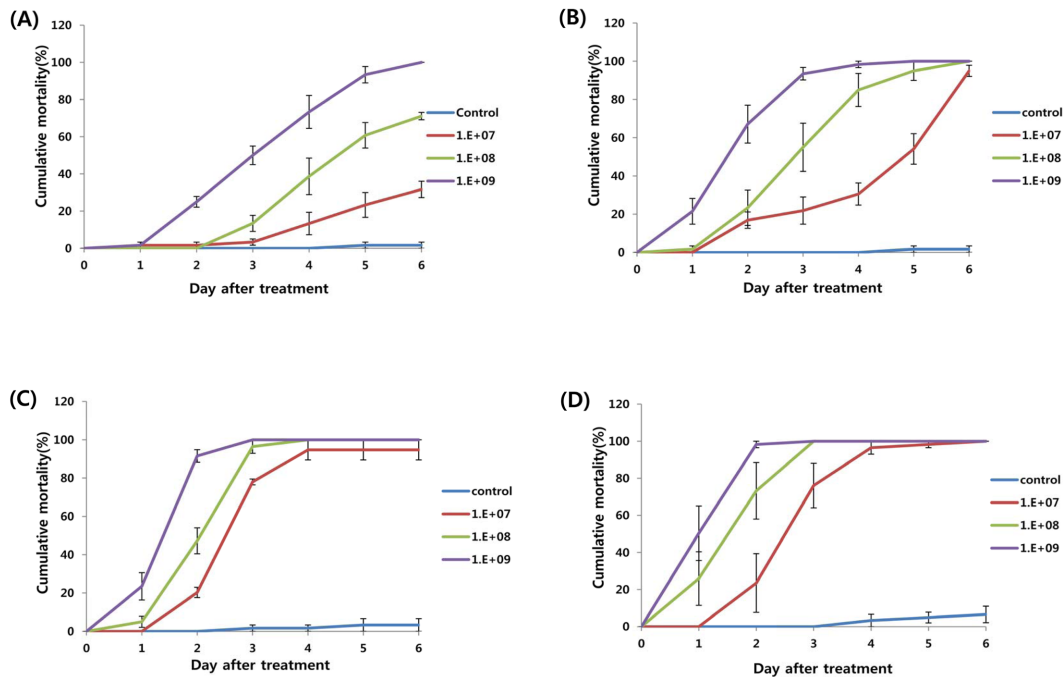
포자현탁액 처리 1일 후에 사멸한 파밤나방의 유충은 2-3일 후 미이라처럼 딱딱한 형태로 굳어졌으며, 체내에 침입하여 발아된 균사가 파밤나방의 표피를 뚫고 나와 충체의 표면이 하얀색의 균사로 완전히 뒤덮였다. 사멸 후 3일 후부터는 하얀색이던 침입 균사가 녹색으로 변하기 시작하여 5일후에는 *Metarhizium* 특유의 색상을 나타내었다.

Muhammad (2009) 등이 실험한 결과에 따르면 기존의 파

밤나방의 방제에 이용되는 *Bacillus thuringiensis*를 단독 처리하였을 때의 살충율이 90%, Bt와 tea saponin, *M. anisopliae*의 독소인 destruxin B를 혼합처리 하였을 때 파밤나방 살충율이 94.2%였으며, Shoaib 등(2012)에 의해 보고된 토양으로부터 분리한 *M. anisopliae* 균주의 파밤나방 3령 충에 대한 살충율이 87.5%인 것으로 볼 때 본 실험에서 선발한 *M. anisopliae* FT83균주가 Bt나 다른 *Metarhizium* 균주보다 우수한 살충율을 보이는 것을 알 수 있었다.

**균사 성장 속도 및 온도별 살충율**

선발한 *M. anisopliae* FT83의 균사 성장 속도(Table 1)는 15°C에서  $12.56 \pm 0.51$  mm, 20°C에서  $18.35 \pm 0.58$  mm, 25°C에서  $24.92 \pm 0.49$  mm, 30°C에서  $29.43 \pm 0.31$  mm으로 온도가 높아질수록 균사의 성장속도가 증가하였으나 35°C에서는 균사의 생장이 이루어지지 않았다. 선발된 *Manisopliae* FT83균주를 파밤나방 유충에  $1 \times 10^7$ ,  $10^8$ ,  $10^9$  conidia/ml 농도로 처리하고 15°C, 20°C, 25°C, 30°C에서 배양하였을 때 15°C에서의 농도별 살충율은  $31.67 \pm 4.4\%$ ,  $71.1 \pm 1.97\%$ , 100%였으며 반수치사시간은 7.27일, 2.91일,



**Fig 4.** Cumulative mortality of *Spodoptera exigua* larvae by *Metarhizium anisopliae* FT83 after treatment with different conidia concentration ( $1 \times 10^7$ ,  $10^8$ ,  $10^9$  conidia/ml) at different temperatures 15°C (A), 20°C (B), 25°C (C) and 30°C (D) respectively. Control treated with 0.01% Tween80.

**Table 1.** Mycelial growth of *M. anisopliae* FT83 at different temperature

Temperature (°C)	Mycelial growth for 7days (mm, mean ± SE)
15	12.56 ± 0.51d
20	18.35 ± 0.58c
25	24.92 ± 0.49b
30	29.43 ± 0.31a
35	7.00e

Means within the same column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test.

2.01일이었고, 20°C에서의 농도별 살충율은 94.92 ± 2.89%, 100%, 100%, 반수치사시간은 4.32일, 2.01일, 2.01일, 25°C에서의 농도별 살충율은 94.73 ± 5.26%, 100%, 100%, 반수치사시간은 2.59일, 2.11일, 1.95일, 30°C에서의 농도별 살충율은 100%, 100%, 100%, 반수치사시간은 2.54일, 1.98일, 1.94일로 온도가 높을수록 살충율이 증가하고 반수치사 시간도 단축되는 것을 확인하였다. 이는 온도가 높아질수록 *M. anisopliae* FT83의 생장이 빨라져 파밤나방을 방제하는 시간이 단축되는 것으로 추측할 수 있다.

*Metarhizium anisopliae*는 1879년 Elie Metchnikoff가 딱정벌레인 *Anisoplia austriaca*를 방제하기 위한 실험에 최초로 사용된 이래로 넓은 곤충 기주 범위와 더불어 인축 및 환경에 무해하여 해충방제 도구로서 많은 주목을 받아왔다. 본 연구에서는 국내의 토양으로부터 선발한 *M. anisopliae*

**Table 2.** Corrected mortality and  $LT_{50}$  of third instar larvae of *S. exigua* by *M. anisopliae* FT83 after treatment with different conidia concentration

Concentration	Corrected mortality (mean ± SE)	$LT_{50}$ (days)
Control	30.27 ± 0.83 c	8.2
$1 \times 10^4$ /ml	43.3 ± 12.71 c	6.43
$1 \times 10^5$ /ml	65.9 ± 4.96 b	4.73
$1 \times 10^6$ /ml	81.6 ± 9.3 a	3.7
$1 \times 10^7$ /ml	100 a	2.21
$1 \times 10^8$ /ml	100 a	2.34
$1 \times 10^9$ /ml	100 a	1.33

Means within the same column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test.

FT83균주를 고온성 난방제 해충인 파밤나방을 효과적으로 방제하기 위한 수단으로서의 가능성을 제시하는 바이다

### 감사의 글

본 연구는 국립농업과학원의 기관고유사업(PJ00865202)의 지원에 의해 수행되었습니다.

### Literature Cited

Chamley, A. K. (1997) Entomopathogenic fungi and their role

- in pest control, The mycota IV environmental and microbial relationships, Berlin, Springer., 185-201.
- Gho, H. G., S. G. Lee, B. P. Lee, K. M. Choi and J. W. Kim (1991) Simple mass-rearing of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner)(Lepidoptera: Noctuidae), on an artificial diet. Kor. J. Appl. Entomol. 29:180-183.
- Hajek A. E. and R. J. St. Leger (1994) Interactions between fungal pathogens and insect hosts. Annu. Rev. Entomol., 39: 293-322.
- Jin, N. Y., S. Y. Jung, C. Park, S. K. Paek, M. J. Seo and Y. Y. Man (2009) The synergy effects of mixed treatment with tannic acid and *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* KB100 against *Spodoptera exigua*. Kor. J. Appl. Entomol., 48(4):519-526.
- Kang, E. J., M. G. Kang, M. J. Seo, S. N. Park, C. U. Kim and Y. M. Yu (2008) Toxicological effects of some insecticides against welsh onion beet armyworm (*Spodoptera exigua*). Kor. J. Appl. Entomol. 47:155-162.
- Lacey, L. A., R. Frutos, H. K. Kaya and P. Vail (2001) Insect pathogens as biological control agents : Do they have a future? Biol. Control. 21:230-248.
- Lawrence A. Lacey (2012) Manual of techniques in invertebrate pathology. Second edition, 179-180.
- Marcos R. de Faria, Stephen P. Wraigh (2007) Mycoinsecticides and mycoacaricides : A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. Biol. Control. 43:237-256.
- Meyling, N. V. (2007) Methods for isolation of entomopathogenic fungi from the soil environment. Manual for isolation of soil borne entomopathogenic fungi. p. 2-18.
- Moulton, J. K., D. A. Peppe, J. Dennehy, P. Dugger and D. Richter (1999) Studies of resistance of beet armyworm (*Spodoptera exigua*) to spinosad in field populations from the southern USA and southeast Asia. Proceedings of the Beltwide Cotton Conferences. Orlando. FL. USA 2, 884-887
- Muhammad, R. H., B. H. Qiong, Y. H. Mei, Z. Guohua and W. Qunfan (2009) Study of destruxin B and tea saponin, their interaction and synergism activities with *Bacillus thuringiensis kurstaki* against *Spodoptera exigua* (Hüber) (Lepidoptera: Noctuidae). Appl. Entomol. Zool. 44(3):419-428.
- Shoib, F., A. S. Mushtaq, M. B. Khan and N. Muhammad (2012) Prevalence and effectiveness of *Metarhizium anisopliae* against *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) in Southern Punjab, Pakistan. Pakistan J. Zool., 44(3):753-758.
- Supakdamrongkul, P., A. Bhumiratana and C. Wiwat (2010) Characterization of an extracellular lipase from the biocontrol fungus, *Nomuraea rileyi* MJ and its toxicity toward *Spodoptera litura*. J. Invertebr. Pathol. 105:229-235.
- Tabashnik, B. E. and Y. Carriere (2004) Bt transgenic crops do not have favorable effects on resistant insects. J. Insect Sci. 4:1-4.

## 파밤나방의 생물적 방제를 위한 곤충병원성 곰팡이 *Metarhizium anisopliae*의 특성 및 병원성 검정

한지희<sup>1\*</sup> · 김형경<sup>1</sup> · 임훈태<sup>1</sup> · 김정준<sup>1</sup> · 이상엽<sup>1</sup>

<sup>1</sup>농촌진흥청 국립농업과학원 농업미생물과

**요약** 난방제 해충의 하나인 파밤나방의 생물적 방제를 위하여 곤충병원성 곰팡이를 수집, 분리하여 파밤나방에 고병원성인 곰팡이를 선발하는 연구를 수행하였다. 곤충병원성 곰팡이의 수집은 친환경 농업지역인 경기도 양평 지역의 수집된 토양 샘플에 갈색거저리를 넣어 감염된 곤충에서 곰팡이를 분리, 수집하는 insect-bait법을 활용하였다. 분리한 곤충병원성 곰팡이를 파밤나방 3령 유충에 처리한 결과, FT83균주가 파밤나방에 병원성이 높았으며, 현미경을 이용한 형태학적 분석과 18srRNA의 ITS sequencing을 통한 분자생물학적 방법을 이용하여 동정한 결과 *Metarhizium anisopliae*로 동정되었다. 선발한 *M. anisopliae* FT83의 온도별 균사생장속도는 15°C에서 30°C까지는 온도가 증가할수록 균사의 생장이 촉진되었으나 35°C에서는 균사가 성장하지 않았다. 선발 균주의 농도별 살충율은 1 × 10<sup>6</sup> conidia/ml에서 81.6 ± 9.3%, 1 × 10<sup>7</sup> conidia/ml에서 100%, 1 × 10<sup>8</sup> conidia/ml에서 100%로 1 × 10<sup>7</sup> conidia/ml 농도가 경제적인 처리농도였다.

**색인어** 파밤나방, 곤충병원성곰팡이, 녹강균