

곤충병원성 곰팡이 *Beauveria bassiana* 포자 발아촉진제가 복숭아혹진딧물 살충효과에 미치는 영향

김정준^{1*} · Hong Zhu^{1,2} · 석순자¹ · 이상엽¹

¹농촌진흥청 국립농업과학원 농업미생물팀, ²중국 안휘농업대학

Influence of Germination Triggers on Control Efficacy of an Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana* against *Myzus persicae*

Jeong Jun Kim^{1*}, Hong Zhu^{1,2}, Soon Ja Seok¹ and Sang Yeob Lee¹

¹Agricultural Microbiology Team, National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration, Suwon 441-707, Korea

²Key Laboratory of Microbial Control, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, People's Republic of China

(Received 21, November 2011., 2nd Revised 25, November 2011., Accepted 29, November 2011)

ABSTRACT: This study was conducted to investigate agents inducing conidial germination of an entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* KK5. Different chemicals including carbohydrates were mixed with conidia of *B. bassiana* and incubated on water agar for 12 hours. Fructose, mannose and skim milk were useful for spore germination compared to other chemicals. Bioassays against green peach aphids were conducted with the fungal conidia suspended in 1% fructose, mannose and skim milk. Of them, a mixture of skim milk plus conidia of *B. bassiana* KK5 showed the highest mortalities against 3rd instar of green peach aphid.

KEYWORDS : Aphid, *Beauveria bassiana*, Entomopathogenic fungi, Germination trigger, Microbial pest control, *Myzus persicae*

진딧물은 전 세계적으로 분포하여 농작물에 큰 피해를 주는 해충의 하나이다. 대부분의 진딧물은 작물재배 기간 중 새끼를 낳는 단위생식을 하고 세대기간이 짧아 밀도 증가가 매우 빠른 해충이다. 진딧물은 작물의 잎을 흡즙함으로써 시들음 증상을 일으키고, 감로를 배설함으로써 작물에 그을음병을 유발하며, 각 종 바이러스병을 매개하여 작물 생산에 큰 피해를 주기도 한다. 진딧물 방제는 무당벌레 등 천적을 이용한 방법과 곤충병원성 곰팡이 등 곤충병원균을 이용한 방법이 많이 이용되고 있다(Völkl *et al.*, 2007). 국내에서도 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.나 *Lecanicillium*속 등이 목화진딧물과 복숭아혹진딧물 방제에 효과적인 것으로 보고되어 있다(Kim, 2007; Pham *et al.*, 2009).

급격한 진딧물 군집의 증가와 진딧물의 다양한 발육단계의 혼재는 곰팡이 등 미생물을 이용한 진딧물의 방제를 어렵게 한다(Wang and Kundsén, 1993). 따라서, 포자 발아가 빠른 곤충병원성균을 선발하거나 포자 발아 촉진제를 통해 포자의 곤충 체내 침입을 빠르게 하는 방법이 진딧물과 같이 발육 기간이 짧은 해충을 효과적으로 방제하는 방법이 될 수 있다. 본 연구에서는 복숭아혹진딧물에 병원성이 있는 것으로 확인된 곤충병원성 곰팡이 *B. bassiana*(Pham *et al.*, 2009)의

방제 효율 증진을 위해, 포자 발아 촉진물질을 선발하고, 선발된 물질과 포자를 혼합 처리함으로써 복숭아혹진딧물의 방제 기간을 단축 할 수 있는 방법을 개발하기 위해 수행하였다.

화합물의 발아 촉진 효과

본 실험에 사용한 곤충병원성 곰팡이 *B. bassiana* KK5 균주는 25±1°C에서 14일 동안 potato-dextrose agar (PDA)에서 배양하였다. 포자현탁액은 KK5균이 배양된 페트리 디쉬에 멸균한 5 ml 0.05% Tween80 용액을 넣고 유리봉을 이용하여 포자를 수거하고 2분 동안 혼합한 후 멸균 거즈를 이용하여 균사조각 등을 제거하였다. 포자농도는 혈구계수기를 이용하여 계수하고, 실험에 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

진딧물 병원성 곰팡이 포자의 발아 촉진 효과는 글루코스(glucose) 등 탄수화물 9종, 인돌아세트산(indolyacetic acid) 등 유기화합물 2종, 브롬화칼륨(potassium bromide, KBr) 등 무기화합물 4종, 스테아릭산(stearic acid), skim milk 등 총 18종의 화합물을 이용하여 조사하였다. 발아 촉진제 선발을 위해, 포자 현탁액과 화합물의 최종농도가 각각 10⁵ conidia/ml와 0.5, 1, 2, 5, 또는 10%가 되도록 혼합하였다. 혼합 용액을 1.5% water agar가 도말된 직경 3 cm 페트리디쉬에 떨어뜨려 25°C에서 12 및 16시간 배양 후

*Corresponding author <E-mail : jjkim66@korea.kr>

lactophenol cotton blue를 처리하여 성장을 정지시킨 후 현미경을 이용하여 발아율을 조사하였다. 포자 발아는 발아관이 포자의 직경과 동일하거나 큰 경우 발아한 것으로 조사하였다. 대조구로 포자만 포함한 용액을 처리하였다.

화합물의 발아촉진 효과를 조사한 결과, 12 및 16시간 배양 후 탄수화물 종류 중 fructose, mannose 및 skim milk의 발아 촉진효과가 통계적으로 유의하게 촉진되었다 (12시간: $F=7.30$; $P<0.0001$; 16시간: $F=18.76$; $P<0.0001$) (Fig. 1). 실험에 사용된 18 화합물 중 indolyacetic acid를 제외한 모든 화합물에서 농도에 따라 발아촉진 또는 억제 효과를 보이지 않았으나, 예외적으로 indolyacetic acid는 농도가 증가하면서 발아가 억제되는 경향을 보였다. *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin는 균주와 첨가되는 당의 종류 및 조합에 따라서 발아가 촉진되거나 저해되는데, 이 균주의 경우 글루코스 첨가에 의해 촉진되는 것으로 나타났으나(St Leger, et al., 1994), 본 연구에 사용된 KK5 균주에는 발아 촉진

효과가 없는 것으로 나타났다. Dillon과 Chamley(1985)는 곤충병원성 곰팡이 *M. anisopliae* 포자를 영양배지(0.3% pepton, 2% glucose, 0.03% NaCl, 0.03% K_2HPO_4 , 0.03% $MgSO_4 \cdot H_2O$)에 혼합하였을 때 포자발아가 촉진된다고 보고 하였다. 이는 곰팡이 포자 발아는 다양한 화합물에 의해 촉진되거나 억제되어 각 균주에 적절한 발아 촉진 물질 선택이 중요하다는 점을 시사하고 있다.

발아 촉진 물질과 포자 혼합 처리에 의한 진딧물 살충 효과

발아 촉진 효과가 확인된 fructose, mannose 및 skim milk를 KK5 균주와 혼합하여 복숭아혹진딧물에 살포할 경우, KK5 균주의 포자 발아가 촉진되어 포자가 보다 빨리 충에 침입하여 살충효율을 증진시킬 것으로 사료되어 진딧물 방제 효과를 검증하였다. 복숭아혹진딧물(*Myzus persicae* Sulzer)은 온도 $25\pm1^\circ C$, 광주기 16L:8D의 사육실에서 배추를 먹이로 사육하였다. 동일 발육단계의 약충 생산을 위하여, 성충을 붓을 이용하여 식물체에 옮겨 6시간 동안 약충을 생산 하도록 한 후 성충을 제거하고 약충은 실험에 사용 할 발육단계 까지 사육 하였다. 생물검정을 위해 복숭아혹진딧물 3령 약충과 성충 15~20마리를 붓을 이용하여 배추 잎 조각 ($\phi 8.5$ cm)에 옮겨 놓았다. 살포용액은 화합물과 포자의 최종농도가 각각 1%와 1×10^7 conidia/ml이 되도록 조제한 후 분무기를 이용하여 진딧물이 접촉된 배추 잎에 1 ml를 분무 처리하였다. 처리된 잎 조각은 상온에서 풍건 후 9 cm 페트리디쉬에 넣고 $25\pm1^\circ C$ 의 항온실에 보관하면서 5일 동안 매일 살아있는 진딧물을 조사하였다. 무처리로 0.05% Tween 80 용액을 살포하였고, 처리대조로 KK5 포자현탁액을 처리하였다. 생물검정에 사용된 페트리디쉬는 습도 조절을 위해 바닥에 필터페이퍼를 놓고 500 μ l 멸균수를 1~2일 간격으로 살포하였다.

포자 및 발아 촉진제 혼합물의 살충효과를 조사한 결과, 복숭아혹진딧물 성충에 대한 처리 5일 후 누적 살충율은 포자만 처리한 구에서 약 90%, fructose 혼합 처리구에서 48%, mannose 혼합 처리구에서 73.2% 그리고 skim milk 혼합 처리구에서 80.6%였다 ($F=17.60$; $P=0.0002$). 3령 약충에 대한 누적 살충율은 포자만 처리한 구에서 약 32%, fructose 혼합 처리구에서 29.2%, mannose 혼합 처리구에서 40.9% 그리고 skim milk 혼합 처리구에서 57.6%로, 발아 촉진제와 포자가 혼합된 처리에서 살충 효과가 증가하는 경향을 보였으나(Fig. 2.) 통계적으로 유의성은 없었다($F=1.85$; $P=0.1968$). Skim milk와 포자 혼합액은 fructose나 mannose와 포자 혼합액 처리에 비해 3령 약충과 성충에 높은 살충율을 보였다. 발아 촉진 효과는 fructose, mannose, skim milk의 순으로 높았으나, 살충 효과에서는 반대의 결과를 보여 배지상에서 발아율과 총체 표면에서 발아율 그리고 살충 효과의 연관성에 대한 보다 많은 검토가 필요한 것으로 사료된다.

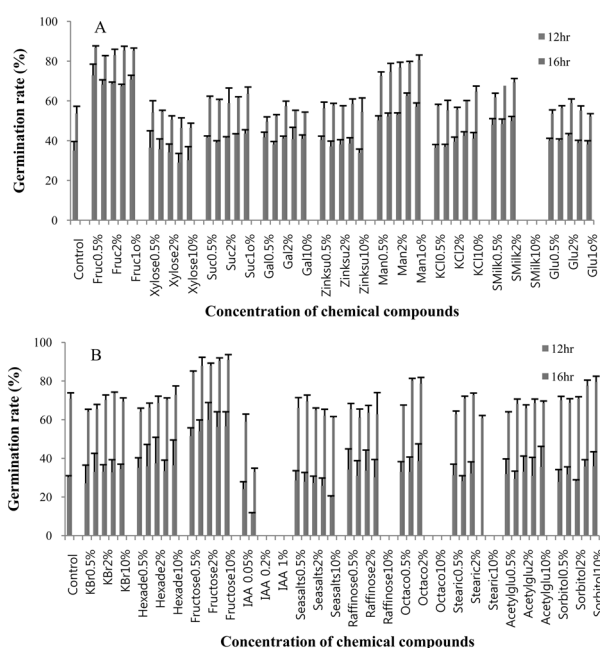


Fig. 1. Effects of carbohydrates, organic or inorganic compounds on spore germination of *Beauveria bassiana* KK5. The concentration of inoculums mixed with conidia and chemical compounds were 1×10^5 conidia/ml and 0.5, 1, 2, 5, or 10%, respectively. The suspension was incubated on 1.5% water agar for 12 and 16 hours. This test was conducted two different times (A, B) because of too many samples. Fructose was used as treatment control in 2nd test (B).

(Fruc:Fructose; Suc:Sucrose; Gal:Galactose; Zinksul: Zink sulfate ($ZnSO_4$); Man:Mannose; KCl:Potassium Chloride; SMilk:Skim Milk; Glu:Glucose; KBr:Potassium bromide (KBr); Hexade:N-Hexadecane; IAA:Indolyacetic acid; Raffinose:Raffinose pentahydrate; Octaco:Octacosane; Stearic:Stearic acid; Acetylglu:N-acetylglucosamine; Sorbitol:Liquid sorbitol)

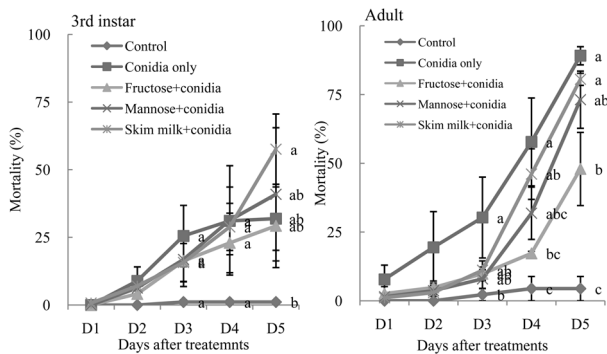


Fig. 2. Control efficacy of *Beauveria bassiana* KK5 and a mixture of conidia (1×10^7 conidia/ml) plus 1% fructose, mannose or skim milk against 3rd instar and adult of green peach aphid (*Myzus persicae*). Control was sprayed with 1ml of sterile 0.05% Tween 80 without spores and chemicals. Mean number of mortality (mean $\pm$ SE) followed by the same letter on the same day (day 3, 4 and 5) are not significantly different from each other (Duncan's multiple range test, $\alpha = 0.05$).

Kim(2007)은 목화진딧물 약충은 발육 시 약 24시간 간격으로 탈피를 하는데 이 과정에서 충체 표면의 포자를 제거함으로써 생존해 가는 것으로 추측하였다. *Lecanicillium attenuatum* Zare and Gams 균주의 목화진딧물에 대한 살충율은 1령 약충에서 낮았는데, 충체 표면에서 포자 발아율이 낮은 것이 그 이유 중 하나로 조사 되었다(Kim, 2004). 충체에 부착된 포자의 신속한 발아 및 동시 다발적인 침입은 기주 곤충의 면역체계를 교란하여 균주의 병원성을 증진시킨다(Dillon and Charnley, 1985). 본 연구 결과, skim milk와 같이 약충의 살충율을 증진할 수 있는 화합물을 선발하여 진딧물의 어린 약충에 살포함으로써 탈피 전 포자가 발아하고 충체에 침입하여 높은 살충효과를 얻어 효과적인 방제가 가능할 것으로 기대된다.

적 요

곤충병원성 곰팡이 *B. bassiana* KK5균의 포자 발아 속

진제를 조사하기 위한 연구가 수행되었다. 탄수화물을 포함한 18 화합물을 *B. bassiana* 포자와 혼합하여 12시간 동안 water agar에서 배양하였다. 18종의 화합물 중 fructose, mannose 그리고 skim milk와 혼합된 포자의 발아율은 배양 12시간 후 무처리와 비교하여 촉진되는 것으로 조사되었다. 발아 촉진 효과가 확인된 1% fructose, mannose 또는 skim milk와 포자 혼합액을 진딧물에 살포 하였을 때, skim milk와 포자 혼합액의 처리에서 복숭아혹진딧물 3령 약충에 대한 살충증진 효과를 보였다.

감사의 글

본 연구는 국립농업과학원 농업과학기술 연구개발사업(과제번호: PJ0068482010, PJ0068482011)의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사 드립니다.

참고문헌

- Dillon, R. J. and Charnley, A. K. 1985. A technique for accelerating and synchronizing germination of conidia of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Archives of Microbiology*. 142:204-206.
- Kim, J. J. 2004. Pathological studies of *Verticillium lecanii* on the cotton aphid control. Ph. D. thesis. Chonnam National University, Korea.
- Kim, J. J. 2007. Influence of *Lecanicillium attenuatum* on the development and reproduction of the cotton aphid, *Aphis gossypii*. *BioControl*. 52:789-799.
- Pham, T. A., Kim, J. J., Kim, S. G. and Kim, K. 2009. Production of blastospore of entomopathogenic *Beauveria bassiana* in a submerged batch culture. *Mycobiology*. 37: 218-224.
- St Leger, R. J., Bidochka, M. J. and Roberts, D. W. 1994. Germination trigger of *Metarhizium anisopliae* conidia are related to host species. *Microbiology*. 140:1651-1660.
- Völkl, W., Mackauer, M., Pell, J. K. and Brodeur, J. 2007. Aphids as crop pests, pp187-233. CABI, Oxfordshire.
- Wang, Z. G. and Kundsén, G. R. 1993. Effect of *Beauveria bassiana* (Fungi: Hyphomycetes) on fecundity of the Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae). *Environmental Entomology*. 22:874-878.