

골프장 잔디 및 농림해충 수종에 대한 곤충병원성 곰팡이 *Metarhizium anisopliae* J-22의 병원성

이상명 · 이동운* · 추호렬* · 문일성 · 이태우**

임업연구원 남부임업시험장 · *경상대학교 농과대학 농생물학과

**동래 베네스트 골프클럽

Pathogenicities of Entomopathogenic Fungus, *Metarhizium anisopliae* J-22 against Turfgrass and Some Agro-forest Insect Pests

Lee, Sang-Myeong, Dong-Woon Lee*, Ho-Yul Choo*

Yil-Seong Moon and Tae-Woo Lee**

Nambu Forestry Experiment Station, Forestry Research Institute, Chinju, 660-300, Gyeongnam, Korea

* Department of Agricultural Biology, College of Agriculture, Gyeongsang National University,

Chinju, 660-701, Gyeongnam, Korea

** Dongrae Benest Golf Club, Kumjeunggu, 609-380, Pusan, Korea

ABSTRACT

Biological control of turfgrass insect pest, *Blitopertha orientalis*, forest insect pests, *Agelastica coerulea*, *Meganola melancholia*, and *Glyphodes perspectalis*, vegetable insect pests, *Plutella xylostella* and *Agrotis segetum* were conducted with entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* J-22 isolated from black pine forest soil in Cheju province. Mortality of *B. orientalis* larvae was 53.3% at the rate of 3.4×10^7 conidia / ml. *A. coerulea* and *M. melancholia* larvae showed 100% mortalities at 9.6×10^6 conidia / ml and 2.7×10^7 conidia / ml as well. However, *G. perspectalis* larvae were not dead even at 4×10^7 conidia / ml. On the other hand, *M. anisopliae* J-22 was effective against *P. xylostella* larvae showing 100% mortality at 4×10^7 conidia / ml.

Key words: Entomopathogenic fungi, Biological control, *Metarhizium anisopliae*, Pathogenicity, *Blitopertha orientalis*, *Agelastica coerulea*, *Meganola melancholia*, *Glyphodes perspectalis*, *Plutella xylostella*, *Agrotis segetum*.

서 론

곤충병원성 곰팡이인 *Metarhizium anisopliae*는 곤충에 접촉, 감염하여 기주를 치사시키는 병

원균으로(鮎尺, 1986; 福原, 1991) 약 200여종의 해충에 대해 병원성을 나타내고 있는 바(Kawase, 1983) 해충방제에 이들을 활용하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. Daoust와 Donald (1982), 藏本과 島津(1992)는 위생해충인 집파리와 모기에 대한 방제 가능성을 보고하고 있고, Samuels 등(1989) Huxham(1989)은 수도해충인 벼멸구에 대해서, Liu 등(1989)은 코코넛해충 일종인 *Brontispa longissima*잎벌레에 대해, Villani 등(1994)은 잔디 식근성 해충인 웨콩풍뎅이 (*Popillia japonica*)에 대한 병원성 등을 보고하고 있다. 최근에는 농약 사용에 의한 각종 환경 문제나 건강에 대한 농약의 부정적인 영향으로 인하여 환경친화적 생물살충제로서 새롭게 인식되고 있으며, 해충의 종합적 방제시 이용 가능한 방제 인자로도 높은 관심을 받고 있다. 우리나라의 곤충 병원성 곰팡이 연구는 추 등(1994ab)이 *Beauveria brongniarti*의 대량배양법과 병원성을, 서 등(1996)과 이 등(1997)이 분포에 관하여 그리고 이 등(1997, 투고중)이 *B. bassiana*의 병원성에 대해 연구하는 등 곤충병원성 곰팡이를 활용하는 노력이 이루어지고 있으나 *Beauveria*속이 건 *M. anisopliae*에 대해서만 간접적으로 그칠 뿐이다. 한편, 곤충병원성 곰팡이를 생물적 방제에 활용하여 효과를 높이기 위해서는 동일 생태계에서 해충과 함께 공존하여온 인자를 이용하는 것이 바람직하다(Zoberi, 1995). 따라서 본 연구는 제주도의 해송림에서 분리된 *M. anisopliae* J-22주를 이용하여 잔디해충인 등얼룩풍뎅이(*Blitopertha orientalis*)와 산림해충인 오리나무잎벌레(*Agelastica coerulea*), 밤나무혹나방(*Meganola melanolica*) 및 회양목명나방 (*Glyphodes perspectalis*), 채소해충인 배추좀나방(*Plutella xylostella*)과 거세미나방(*Agrotis segetum*)에 대한 병원성을 검정하여 이를 해충의 생물적 방제 가능성을 알아보기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

1. 곤충병원성 곰팡이의 분리 및 배양

제주도의 해송림 토양에서 부닐된 *M. anisopliae* J-22균주를 PDA(potato dextrose agar 39g, water 1,000ml) 배지에서 7일간 1차 배양하였다. 곰팡이의 대량 배양은 쌀을 1일간 물에 불린 다음 1ℓ의 병버섯 재배용 플라스틱 용기(가나화학, 충남 천안)에 600g씩 넣고 2회 살균하여 고두밥 배지를 만든 뒤, 1차 배양한 포자 혼탁액 1ml를 접종하고는 25±2℃ 항온기에서 2주간 배양하였다.

2. 해충에 대한 곤충병원성 곰팡이의 병원성 검정

등얼룩풍뎅이 유충(*Blitopertha orientalis*)에 대한 병원성 검정을 위하여 44×33×15cm 플라스틱 공구상자에 벤트그라스(*Agrostis palustris*)를 이식한 15일 후 부산 동래골프장에서 채집한 등얼룩풍뎅이 3령충 15마리를 접종하였다. 여기에 고두밥 배지에서 배양된 곰팡이를 살균수에 희석하여 가아제로 거른 뒤, 곰팡이 포자혼탁액(3.4×10^7 conidia / ml) 4ℓ를 살포하였으며, 처리 2주일 후에 병원성 곰팡이에 의한 치사 유무를 조사하였다. 대조구는 살균수 4ℓ를 살포하였으며, 대조 약제로는 굽벵이 방제용 약제로 고시되어 시판되고 있는 fenitrothion 50% EC 1000배액 4ℓ를 살포하였다. 각 처리는 3반복으로 하였다.

오리나무잎벌레유충(*Agelastica coerulea*)에 대한 병원성 검정은 9.6×10^6 , $\times 10^5$, $\times 10^4$, $\times 10^3$ conidia / ml 농도의 병원성 곰팡이 혼탁액 300cc에 오리나무잎을 1분간 침지시킨 다음 20분간 그늘에서 말렸다. 이를 여과지(Whatman #2) 1매를 깔고 살균수 1ml를 접종한 9cm 1회용

petri dish에 한장씩 넣고는 야외에서 채집한 오리나무잎벌레 3령충 10마리씩을 넣었다. 그리고 수분증발을 막기 위하여 비닐팩에 싸서 $25\pm2^{\circ}\text{C}$ 항온기에 보관하면서 1주일 후 병원균에 의한 치사유무를 조사하였다. 대조구는 살균수에 오리나무잎을 침지시켜 사용하였고 각 처리는 3반복으로 하였다.

밤나무혹나방 유충(*Meganola melancholica*)에 대한 병원성 검정은 오리나무잎벌레 유충에 대한 병원성 검정과 같은 방법으로 밤나무잎을 곰팡이 혼탁액에 침지시켜 이용하였다. 실험에 사용된 곰팡이 농도는 2.7×10^7 , 1.35×10^7 , 0.657×10^7 , 0.3375×10^7 conidia/ml였으며 대조구는 살균수에 밤나무 잎을 침지시켜 이용하였다. 처리는 3반복으로 하였다.

회양목명나방 유충(*Glyphodes perspectalis*)에 대한 병원성 검정은 회양목 1년생 가지를 4×10^7 , $\times10^6$, $\times10^5$, $\times10^4$ conidia/ml 농도의 곰팡이 혼탁액에 1분간 침지시켜 그늘에서 건조시킨 뒤 오리나무잎벌레에 대한 병원성 검정과 동일한 방법으로 수행하였으며, 각 petri dish당 회양목명나방 유충 1마리씩을 넣어 10마리를 1반복으로 처리하여 조사하였다. 대조약제로는 deltamethrin 1% EC 1000배액을, 대조구는 살균수를 이용하였으며 각각 3반복으로 처리하였다.

배추좀나방 유충(*Plutella xylostella*)에 대한 병원성 검정은 병원성 곰팡이를 4×10^7 , 2×10^7 , 1×10^7 , 0.5×10^7 conidia/ml 농도로 희석하여 실내 pot에서 20일간 키운 배추(춘하왕배추) 잎을 1분간 침지시킨 뒤 20분간 그늘에서 건조시켰다. 그리고 여과지(Whatman #2) 1매를 깔고 살균수 1ml를 넣은 9cm petri dish에 한잎씩 넣었다. 그리고 경남 농촌진흥원에서 사육중이던 화현 계통 4령 유충을 10마리씩 접종하여 $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 의 하온기에 두고 5일후에 치사율을 조사하였다. 대조구는 배추잎을 살균수에 침지시켜 이용하였으며 대조 약제로는 prothiofos 50% EC 1000배액을 이용하였다. 처리는 3반복으로 수행하였다.

거세미나방 유충(*Agrotis segetum*)에 대한 병원성 검정은 등얼룩풍뎅이 유충에 대한 병원성 검정과 동일한 방법으로 수행하였으며 2.6×10^7 conidia/ml 농도로 병원성 곰팡이를 처리하였고 7일후 치사 유무를 조사하였다.

결과 및 고찰

등얼룩풍뎅이유충에 대한 *M. anisopliae* J-22의 효과는 Fig. 1과 같이 53.6%의 치사율을 보였다. 반면 대조 약제로 사용한 fenitrothion은 전혀 효과가 없었다. 등얼룩풍뎅이는 골프장에서

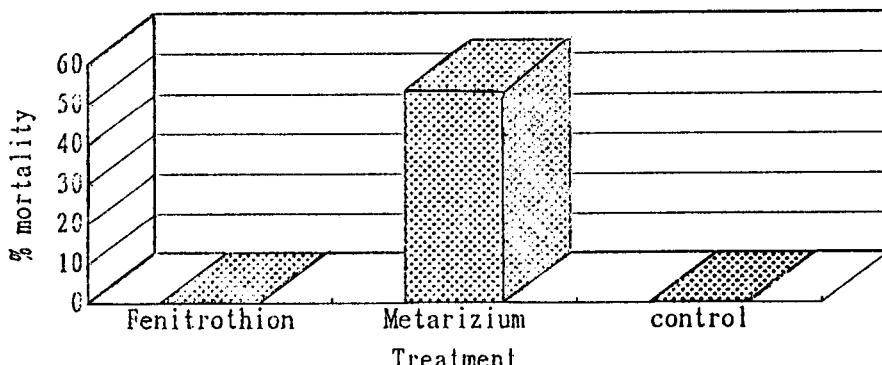


Fig. 1. Effect of *Metarhizium anisopliae* J-22 on the *Blitopertha orientalis* in turfgrass.

잔디뿌리를 식해하는 문제 해충으로(Porter and Braman, 1991; Alm *et al.*, 1995) 주동무너차색풀뎅이와 함께 다발생하고 있다(이, 1996). 이들의 방제는 농약 일변도에 의존하여 왔으나 토양내에 서식하고 있는 생태적 특성 때문에(Tashiro, 1987) 농약의 침투가 어려워 실효를 거두지 못하고 있는 실정이다. 본 실험에 나타난 곤충병원성 곰팡이에 의한 53.6%의 치사율은 곰벵이방제에 곰팡이를 농약과 대체하여 활용할 수 있는 고무적인 결과로 생각된다. 특히, *M. anisopliae*는 딱정벌레목에 효과적인 병원미생물로 곰벵이 방제에 있어서도 많은 효과를 거두고 있다(Samuels *et al.*, 1990; Krueger *et al.*, 1992; Villani *et al.*, 1994). 따라서 등얼룩풀뎅이 성충이 우화하여 탈출하는 시기나 산란시기에 잔디에 살포하면 효과가 있을 것으로 생각되며, 특히 5cm이내의 토양깊이에서 4개월 이상 지속성을 유지하는 것으로 나타나(이 *et al.*, 1997; 투고중), 월동기 이전 곰벵이가 잔디의 thatch층에 서식하고 있는 동안에는 실효를 거둘 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 방제 효과를 증대시키기 위해서는 등얼룩풀뎅이 성충에 대한 방제 가능성의 연구도 수행되어야 할 것으로 사료된다. 한편, Blanco-montero와 Hernandez(1995)는 곰벵이의 방제를 위하여 airator를 이용한 기계적 방제 가능성을 보고하고 있는데, aeration작업때 병원성 곰팡이를 살포하는 방법도 종합적인 해충관리 측면에서 시도해봄직하다.

오리나무잎벌레에 대한 병원성 검정의 결과는 Table 1과 같이 9.6×10^6 conidia/ml 농도에서 100%의 유충치사율을 나타내었는데, 10^4 conidia/ml 농도에서는 전혀 치사효과가 없어 본 곰팡이를 오리나무잎벌레 방제에 활용하기 위해서는 높은 농도가 필요할 것으로 생각된다. 오리나무잎벌레는 섭식후 성충태로 토양에서 월동한다. 신 등(1992)은 이 시기에 *Beauveria*균을 이용하여 병원성 곰팡이에 의한 방제 가능성을 보고하고 있어, 토양처리를 통한 방제의 가능성도 있을 것으로 사료되나 처리시기나 방법에 관하여는 더 많은 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다. 한편, 밤나무의 개화기때 발생하여 꽃과 잎을 가해하는 돌발해충인 밤나무혹나방에 대한 병원성 검정의 결과는 Table 2와 같다. 2.7×10^7 conidia/ml 농도에서 100%의 치사율을 보였고 3.375×10^6 농도에서는 73.3%의 치사율을 나타내었다. 그러나 회양목명나방유충은 4×10^7 conidia/ml 농도에서도 전혀 치사되지 않았다. 따라서 회양목명나방 방제에 있어서 본 균은 적합하지 않을 것으로 보인다. 같은 나비목 해충이면서 병원성에서 차이를 보이는 것은 기주 표피층의 형태적, 생화학적 차이나 물리적 특성으로 인한 병원성 곰팡이의 감염 및 침투 능력의 차이(Leger, 1993), 또는 곰팡이 혼탁액에 처리시 기주식물의 형태적, 구조적 차이에 의한 병원성 곰팡이의 부착력에 따른 차이, 대상 해충 자체의 내성에 의한 차이 등으로 생각된다.

거세미나방 유충에 대해서는 2.6×10^7 conidia/ml 농도에서도 100%의 치사율을 보여 매우 효과적인 생물적 방제인자였다. 토양 중에 같이 서식하는 등얼룩풀뎅이 유충에 대한 치사율 53.6%

Table 1. Effect of entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* J-22 on the *Agelastica coerulea* in petri dish

Treatment	Conidia / ml	% mortality \pm SD
<i>M. anisopliae</i> J-22	9.6×10^6	100 \pm 0.0 a*
	9.6×10^5	73.3 \pm 15.3 b
	9.6×10^4	20.0 \pm 10.0 c
	9.6×10^3	0.0 \pm 0.0 d
Control	-	0 d

* Figures followed by different letters in a column are significantly different ($P < 0.05$) according to Duncan's multiple range test.

Table 2. Effect of entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* J-22 on the *Meganola melanoloma* in petri dish

Treatment	Conidia / ml	% mortality ± SD
<i>M. anisopliae</i> J-22	2.7×10^7	100 ± 0.0 a*
	1.35×10^7	80.0 ± 0.0 b
	0.675×10^7	80.0 ± 10.0 b
	0.3375×10^7	73.3 ± 5.8 b
Control	—	0 c

* Figures followed by different letters in a column are significantly different ($p < 0.05$) according to Duncan's multiple range test.

Table 3. Effect of entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* J-22 on the *Glyphodes perspectalis* in petri dish

Treatment	Conidia / ml	% mortality ± SD
<i>M. anisopliae</i> J-22	4×10^7	0 b*
	4×10^6	0 b
	4×10^5	0 b
	4×10^4	0 b
Deltamethrin	$\times 1000$	100 a
Control	—	0 b

* Figures followed by different letters in a column are significantly different ($p < 0.05$) according to Duncan's multiple range test.

와 차이가 있는 것은 기주에 의한 차이인 것 같다.

배추나 양배추와 같은 십자화과 식물의 잎을 식해하는 배추좀나방에 대한 병원성 검정의 결과는 Table 4와 같이 효과가 있었다. 즉, 4×10^7 conidia / ml 농도에서 100%의 치사율을 보여 대조 약제로 사용한 prothiofos와 같은 효과를 나타내었다. 그러나 배추의 경우, 농약에 의한 건강상의 염려와 농약에 대한 저항성 발달이 빠른 배추좀나방 자체의 특성때문에(조와 이, 1994) 농약에 대한 위험을 줄이고 해충의 약제 저항성에 대한 대처 방안으로서 곤충병원성 곰팡이의 활용도 새로운 방제법이 될 수 있을 것으로 생각된다.

이상의 결과들을 미루어 볼 때 희양목명나방 유충을 제외하고는 등얼룩풍뎅이 유충이나 거세미나방 유충, 밤나무혹나방 유충, 배추좀나방 유충, 오리나무잎벌레 유충에 대하여 *M. anisopliae* J-22의 효과가 있다.

Table 4. Effect of entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* J-22 on the *Plutella xylostella* in petri dish

Treatment	Conidia / ml	% mortality ± SD
<i>M. anisopliae</i> J-22	4×10^7	100 ± 0.0 a*
	2×10^7	93.8 ± 10.7 a
	1×10^7	93.2 ± 11.8 a
	0.5×10^7	70.7 ± 14.8 b
Prothiofos	$\times 1000$	100 ± 0.0 a
Control	—	0 c

* Figures followed by different letters in a column are significantly different ($p < 0.05$) according to LSD test.

*iae J-22*를 미생물적 방제 인자로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

적 요

제주도 해송림 토양에서 분리한 곤충병원성 곰팡이 *Metarhizium anisopliae* J-22를 이용하여 잔디해충인 동얼룩풀뎅이(*Blitopertha orientalis*), 산림해충인 오리나무잎벌레(*Agelastica coerulea*)와 밤나무혹나방(*Meganola melancholica*), 회양목명나방(*Glyphodes perspectalis*) 및 채소해충인 배추좀나방(*Plutella xylostella*)과 거세미나방(*Agrotis segetum*)의 생물적 방제 가능성을 알아보기 위하여 실험한 결과는 다음과 같다. 동얼룩풀뎅이 유충에 대해서는 3.4×10^7 conidia / ml 농도에서 53.3%의 치사율을 보였고 오리나무잎벌레 유충에 대해서는 9.6×10^6 conidia / ml 농도에서 100%의 치사율을 나타내어 효과가 있었다. 그리고 회양목명나방 유충은 4×10^7 conidia / ml 농도에서도 전혀 치사되지 않았지만 배추좀나방 유충은 4×10^7 conidia / ml 농도에서 100%가 치사되었다.

인용문현

- 서종복, 진병래, 신상철, 박호용, 이범영, 이창근, 강석근. 1995. 산림토양으로부터 솔잎혹파리 감염 사상균의 분리. 한응곤지, 34(4): 368-372.
- 신상철, 변명호, 박지두. 1992. *Beauveria bassiana*균의 분생포자 배양과 오리나무잎벌레 외 2종에 대한 병원성 검정. 임연연보. 46: 109-114.
- 이동운. 1996. 주동무늬차색풀뎅이(*Adoretus tenuimaculatus*)의 생태에 관한 연구. 경상대석사학위 논문. 35pp.
- 이상명, 이동운, 추호렬. 1996. 남부지방에서 곤충병원성 선충과 곤충병원성 곰팡이의 분리. 산림과학논문집. 53: 100-116.
- 이상명, 이동운, 추호렬, 문일성. 1997. 한국산 곤충병원성 곰팡이 *Beauveria bassiana* GY1-17의 몇종의 해충에 대한 병원성. 한응곤지(투고중)
- 이상명, 이동운, 추호렬. 1997. 농약이 곤충병원성 곰팡이 *Beauveria bassiana*와 *Metarhizium anisopliae*의 병원성과 지속성에 미치는 영향. 한응곤지(투고중)
- 조영식, 이승찬. 1994. 단제도태에 의한 배추좀나방(*Plutella xylostella*)의 약제저항성 발달과 교차저항성에 관한 연구. 한응곤지. 33(4): 242-249.
- 추호렬, 이상명, 허진. 1994a. 곤충병원성 *Beauveria* 곰팡이를 이용한 생물 살충제 개발연구.
 - Beauveria brongniartii*의 대량생산을 위한 경제배지 선발과 제제기술 개발. 농시논문집. 36: 119-129.
- 추호렬, 이상명, 허진. 1994b. 곤충병원성 *Beauveria* 곰팡이를 이용한 생물 살충제 개발연구.
 - 경제 배지에서 증식된 *Beauveria brongniartii*의 병원성과 지속성. 농시논문집. 36: 131-140.
- 福原敏彦. 1991. 昆蟲病理學. 學術出版セソタ-. 東京. pp77-103.
- 鮎尺啓夫. 1986. 微生物殺蟲濟の發展. 日本農藝化學篇 “生物に學す” 農藥創製. ソフトサイエソス社. pp125-138.
- 藏本博久, 島津光明. 1992. イエバエ成蟲に對する數種昆蟲病原絲狀菌の病原性. 應動昆. 36 (3): 202-203.

13. Alm, S. R., M. G. Villani., and M. G. Klein. 1995. Oriental beetle. In handbook of turfgrass insect pests. Brandenberg. R. L. and M. G. Villani. ESA publications department. Lanham.
14. Blanco-montero, C. A., and G. Hernandez. 1995. Mechanical control of white grubs (Coleoptera : Scarabaeidae) in turfgrass using aerators. Environ. Entomol. 24(3): 521-528.
15. Daoust, R. A., and W. R. Donald. 1982. Virulence of natural and insect-passaged strains of *Metarhizium anisopliae* to mosquito larvae. J. Invert. Pathology. 40: 107-117.
16. Feng, M. G, and J. B. Johnson. 1990. Relative virulence of six isolates of *Beauveria bassiana* on *Diuraphis noxia*(Homoptera:Aphididae). Environ. Entomol. 9(3): 785-790.
17. Huxham, M., K. D. Z. Samuels., J. B. Heale, M. J. McCorkindale. 1989. *In vivo* and *in vitro* assays for pathogenicity of wild-type and mutant strains of *Metarhizium anisopliae* for three insect species. J. Invert. Pathology. 53: 143-151.
18. Krueger, S. R., M. G. Villani., J. P. Nyrop, and D. W. Roberts. 1991. Effect of soil environment on the efficacy of fungal pathogens against scarab grubs in laboratory bioassays. Biological Control. 6: 417-422.
19. Leger, R. St. 1993. Biology and mechanisms of insect-cuticle invasion by Deuteromycete fungal pathogens. pp. 211-229. In N. E. Beckage, S. N. Thompson, B. A. Federici. Parasites and pathogens of insects. Vol. 2: pathogens. Academic Press. SanDiego.
20. Liu, S. D., S. C. Lin., and J. F. Shian. 1989. Microbial control of coconut leaf beetle (*Brontispa longissima*) with green muscardine fungus, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. J. Invert. Pathology. 53: 307-314.
21. Paris, S., and G. Segretain. 1975. Caracteres physiologiques de *Beauveria tenella* en rapport avec la virulence de souches de ce champignon pour la larve du hanneton commun, *Melolontha melonontha*. Entomophaga. 20(2): 135-138.
22. Potter, D. A., and S. K. Braman. 1991. Ecology and management of turfgrass insects. Annu. Rev. Entomol. 36: 383-406.
23. Samuels. K. D. Z., J. B. Heale., and M. Llewellyn. 1989. Characteristics relating to the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* toward *Nilaparvata lugens*. J. Invert. Pathology. 53: 21-31.
24. Shigemi Kawase. 1983. Microbiological control of insect pests. Korean J. Plant Prot. 22(2): 67-73.
25. Tashiro, H. 1987. Turfgrass insects of the United States and Canada. Cornell university press. Ithaca. 391pp.
26. Villani. M. G., S. K. Krueger., P. C. Schroeder., F. Consolie., N. H. Consolie., L. M. Preston-Wilsey., and D. W. Roberts. 1994. Soil application effects of *Metarhizium anisopliae* on Japanese beetle(Coleoptera : Scarabaeidae) behavior and survival in turfgrass microcosms. Environ. Entomol. 23(2): 502-513.
27. Zoberi, M. H. 1995. *Metarhizium anisopliae* a fungal pathogen of *Reticulitermes flaripes* (Isoptera : Rhinofermidae). Mycologia. 87(3): 354-359.