

곤충병원성 진균을 활용한 해충 관리와 개발 전략

이세진 · 신태영¹ · 김종철¹ · 김재수^{1,2*}

국립순천대학교 생명산업과학대학 농생명과학과, ¹전북대학교 농업생명과학대학 농생물학과, ²전북대학교 농업생명과학대학 농축산식품융합학과 BK21 사업단

Entomopathogenic Fungi-mediated Pest Management and R&D Strategy

Se Jin Lee, Tae Young Shin¹, Jong-Cheol Kim¹ and Jae Su Kim^{1,2*}

Department of Agricultural Life Science, Sunchon National University, Suncheon 57922, Korea

¹Department of Agricultural Biology, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

²Department of Agricultural Convergence Technology, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

ABSTRACT: Entomopathogenic fungi can be used to control a variety of sucking and chewing insects, with little effect on beneficial insects and natural enemies. Approximately 170 entomopathogenic fungal insecticides have been registered and used worldwide, with the recent focus being on the mode of action and mechanism of insect-fungal interactions. During the initial period of research and development, the industrialization of entomopathogenic fungi focused on the selection of strains with high virulence. However, improvement in productivity, including securing resistance to environmental stressors, is a major issue that needs to be solved. Although conidia are the primary application propagules, efforts are being made to overcome the limitations of blastospores to improve the economic feasibility of the production procedure. Fungal transformation is also being conducted to enhance insecticidal activity, and molecular biology is being used to investigate functions of various genes. In the fungi-based pest management market, global companies are setting up cooperative platforms with specialized biological companies in the form of M&As or partnerships with the aim of implementing a tank-mix strategy by combining chemical pesticides and entomopathogenic fungi. In this regard, understanding insect ecology in the field helps in providing more effective fungal applications in pest management, which can be used complementary to chemicals. In the future, when fungal applications are combined with digital farming technology, above-ground applications to control leaf-dwelling pests will be more effective. Therefore, for practical industrialization, it is necessary to secure clear research data on intellectual property rights.

Key words: Entomopathogenic fungi, Pest management, Endophyte, Ecological application, Digital farm

초록: 곤충병원성 진균은 다양한 흡즙형 및 저작형 해충 방제에 적용이 가능하며, 익충과 천적에 낮은 영향을 보여, 화학농약의 대체체로서 관심이 높아지고 있다. 현재까지 전세계적으로 170여개의 제품들이 등록되어 판매되고 있으며, 최근 연구측면에서는 작용기작 및 곤충-진균 상호작용체 구명에 집중하고 있다. 해충 방제를 위한 곤충병원성 진균의 산업화 연구는 초기 살충성이 높은 균주 선발에 집중하였으나, 최근에는 환경 스트레스 인자에 대한 저항성 확보를 포함한 생산성 향상이 해결해야 할 주요 과제이다. 분생포자(conidia)가 주된 처리 형태였지만, 액체배양을 통해 생산되는 아포자(blastospore)의 한계점을 극복하여 대량생산의 경제성을 확보하려는 노력들도 진행되고 있다. 추가로 살충효과를 향상시키기 위해, 형질전환을 비롯한 분자생물학적 연구와 유전자 및 유전체 기능 구명에 집중하고 있다. 해충방제 시장측면에서, 글로벌 작물보호제 기업들은 인수합병 또는 공동 연구개발 형태로 전문 생물농약 기업들과의 협력체계를 구축하고 있으며, 화학농약과 곤충병원성 진균의 tank-mix 전략을 주된 방향으로 삼고 있다. 현장에서 곤충 생태에 대한 이해를 기반으로 한 생태학적 처리(ecological application)는 곤충병원성 진균의 살충효과를 향상시킬 수 있는 기회가 된다. 앞으로의 디지털팜(digital farming) 기술과 접목된다면, 지상부 해충 방제를 위한 실질적인 적용도 가능하다. 곤충병원성 진균의 산업화를 위해서는 지적재산권 분쟁 해결을 위한 명확한 비교 연구자료 확보도 필요하다. 이와 같은 곤충병원성 진균이 식량생산의 안전성과 경제성을 확보하는 중요한 미생물자원으로 활발히 활용되고 개발되길 기대한다.

검색어: 곤충병원성 진균, 해충 방제, 내생균, 생태적 적용, 디지털 농업

*Corresponding author: jskim10@jbnu.ac.kr

Received December 29 2021; Revised February 12 2022

Accepted February 21 2022

곤충병원성 진균 연구의 역사

곤충과 곤충병원성 진균의 출현

지구 생물계에서 곤충(insects)은 현재 학자에 따라서 약 550만 종까지 추측되고 있는 가장 번성한 생물 그룹이다(Stork, 2018). 곤충은 뉴클레오타이드(nucleotide) 및 아미노산(amino acid) 서열의 계통유전학적 분석을 통해 4억 7,900만년 전(고생대-오르도비스기)부터 기원했을 것으로 추정되고 있으며(Misof et al., 2014), 4억 년 전(고생대-데본기) 살았던 것으로 추정되는 *Rhyniognatha hirsti* (Phylum: Arthropoda)가 많은 논란이 있지만 현재 가장 오래된 곤충의 화석으로 간주되고 있다(Engel and Grimaldi, 2004). 이처럼 오래 전부터 지구의 육상생태계를 지배하고 있는 곤충도 병원균 등으로 인한 전염병으로부터 자유로울 수 없었는데, 곤충에 병을 일으키며 살아가는 미생물을 곤충병원성 미생물(Entomopathogens)이라 하며 선충(nematodes), 세균(bacteria), 바이러스(viruses) 및 진균(fungi) 등이 알려져 있다(Shapiro-Ilan et al., 2012). 이들 중 곤충병원성 진균(entomopathogenic fungi)은 다른 미생물들과 다르게 주로 곤충의 체벽을 통해 곤충을 침입하여 병을 일으키는데, 이와 같이 곤충을 기주로 살아가는 특별한 생활 방식을 가지는 진균은 전체 균계 내에서 약 1% 내외로 알려져 있다(Molnár et al., 2010). 곤충병원성 진균에 감염된 곤충의 가장 오래된 보고는 약 2억 년 전부터 1,500만 년 전(중생대-신생대) 사이 지층의 화석 기록으로 확인되고 있다(Davidson, 2012). 그 중에서, 중생대 백악기 초기 지층에서 발견된 화석은 곤충에 기생하는 진균(*Paleoophiocordyceps coccophagus*)의 가장 오래된 보고이며,

비록 초기 곤충의 출현과는 약 2억 이상의 차이를 보이고 있지만, 이를 통해 곤충-미생물 상호작용이 오랜 시간 진행되고 있음을 확인할 수 있다(Sung et al., 2008) (Fig. 1).

곤충병원성 진균에 대한 인류의 첫 인식

비록, 곤충에 병을 일으키며 자실체를 형성하는 곤충병원성 진균의 일종인 동충하초(*Cordyceps* spp.)에 대한 발견과 약학적 이용이 서기 620년에 기록되었지만(Holliday and Cleaver, 2008), 곤충병원성 진균에 대한 산업적 연구는 화석 증거를 통해 오랜 기간 동안 진균이 곤충과 함께 생활하며 상호작용을 한 기간(약 2억년)과 비교하면 약 200년의 짧은 역사를 가지고 있다. 이 미생물에 대한 관심의 시작은 인류가 익충이라 인식한 꿀벌(honey bees)과 누에(silkworms)를 대량 사육 또는 관리를 하면서 시작되었으며, 당시 이들 곤충들이 곤충병원성 미생물에 감염되고 많은 유용 곤충들이 전염되는 것은 큰 문제 중의 하나였다(Davidson, 2012). 누에를 감염시키는 곤충병원성 진균의 과학적 첫 보고는 1835년 이탈리아 곤충학자 Agostino Bassi에 의해서였다. 그는 흰색 밀가루 형태(white chalk)의 미생물이 뒤덮인 누에 사충을 발견하고, 이 흰색의 미생물이 누에를 감염시킬 수 있음을 실험적으로 증명을 하였다. 이 누에에서 확인한 질병은 당시 ‘vegetable parasite’로 명명되었으며, 이는 현재 해충 방제를 위한 미생물 살충제로 가장 많이 개발되고 있는 곤충병원성 진균 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.에 대한 첫 보고였다(Davidson, 2012). 그 후, 1879년 러시아의 과학자 Eli Metchnikoff는 초록색 진균(green muscardine)에 감염된 딱정벌레(*Anisoplia austriaca*) 유충으로부터 곤충병원성 진균

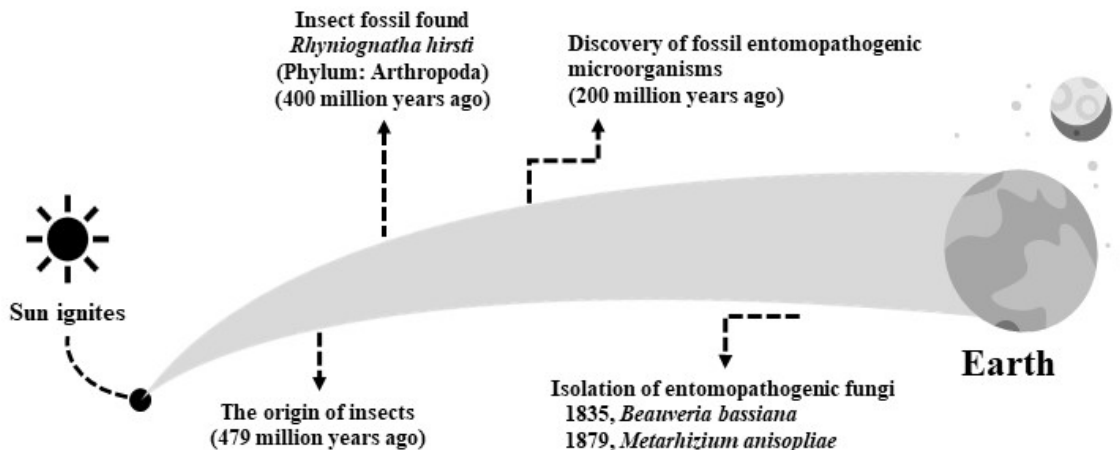


Fig. 1. Evolution of insects and entomopathogenic fungi on earth. The earliest evidence of insects infected with entomopathogenic fungi comes from the fossil record of strata between 200 and 15 million years ago. Among them, fossils found in the Mesozoic-Early Cretaceous strata are the oldest repository of insect parasitic fungi.

을 분리하여 *Entomophthora anisopliae*라 명명하였고, 이 진균은 이후 Sorokin에 의해 *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorok.로 재명명 되었다(Zimmermann, 1993). 현재까지 다양한 환경 및 사층에서 700여 종의 곤충병원성 진균(*Akanthomyces* spp., *Aschersonia* spp., *Hirsutella* spp., *Isaria* spp.)이 분리되고 있으며, 이들 중 언급된 *Beauveria* spp.와 *Metarhizium* spp.은 가장 많이 분리되고 있는 분류군이다(Shin et al., 2013).

곤충병원성 진균에 대한 연구 영역

초기 곤충병원성 진균의 연구영역은 익충을 병으로부터 지키기 위해 질병의 본질적인 성질을 연구하는 전염병학(epizootiology)에 국한되었지만, 최근에는 이들 미생물을 해충의 친환경적인 생물학적 방제인자로서 사용하기 위한 연구 분야(applied epizootiology or microbial control)까지 크게 확장되었다(Lacey et al., 2001). 곤충병원성 진균을 이용한 연구 논문의 수를 NCBI PubMed (검색어, entomopathogenic fungi)를 이용하여 확인한 결과, 2011년에 158편의 논문이 게재되었고, 이후 매년 그 수가 증가하여 2021년에는 340편의 관련 논문이 게재되어 지속적인 증가세를 보이고 있다(Fig. 2A). NCBI PubMed를 통해 최근 5년간 게재된 곤충병원성 진균 연구 논문(약 1021편) 분야를 분류한 결과, 해충방제 분야와 곤충병원성 진균의 작용기작(곤충-진균 상호작용) 분야가 각각 38% 및 28%로 큰 영역을 차지하고 있는 것으로 파악되었으며, 그 뒤로 진균 생태(14%), 대사체(6%), 분류(5%), 유전체 및 전사체 분석(4%), 포자안정성(2%),

그 외(1% 미만 분야: 형질전환, 배양, 바이러스) 분야가 뒤따랐다(Fig. 2B). 이상의 결과는 곤충병원성 진균 연구에 대한 관심은 지속해서 커지고 있으며, 연구 분야도 해충 방제 분야뿐만 아니라 다양한 영역에서도 활발하게 진행되고 있음을 나타낸다.

곤충병원성 진균 연구의 필요성

화학농약의 대체제로서 주목받는 곤충병원성 진균

화학합성농약은 살충효과, 가격 등의 측면에서 해충을 방제하는데 큰 장점을 가지고 있어, 현재까지도 다양한 해충을 방제하는데 주요 수단으로 이용하고 있다. 그러나, 화학농약에 의한 환경오염, 저항성, 인축독성 등이 보고되면서 많은 국가에서 화학농약의 사용을 법적으로 규제하고 있다. 그에 따라, 환경과 해충의 저항성에 영향이 적은 생물적 방제 수단이 각광받기 시작하였으며, 그 중에서도 곤충병원성 진균은 다양한 해충과 환경에 적용이 가능하며, 화분 매개 곤충, 산업 곤충, 천적 곤충 등과 같은 유용 곤충에 대한 낮은 영향을 보여 화학농약의 대체제로서 관심이 증대되었다(St Leger and Screen, 2001).

곤충병원성 진균은 자연계에서 흔히 존재하는 미생물 중 하나로 곤충 개체군을 조절하는 데 중요한 역할을 하며(Hajek, 1997), 식물이나 인축에 대한 독성을 보이지 않고 곤충강과 진드기 등 다양한 절지동물에게만 특이적으로 병원성을 보여 농업해충을 방제하는데 큰 이점을 가지고 있다(Fig. 3) (Lacey et al., 2015). 또한, 해충 방제 수단으로 활용되고 있는 곤충병원

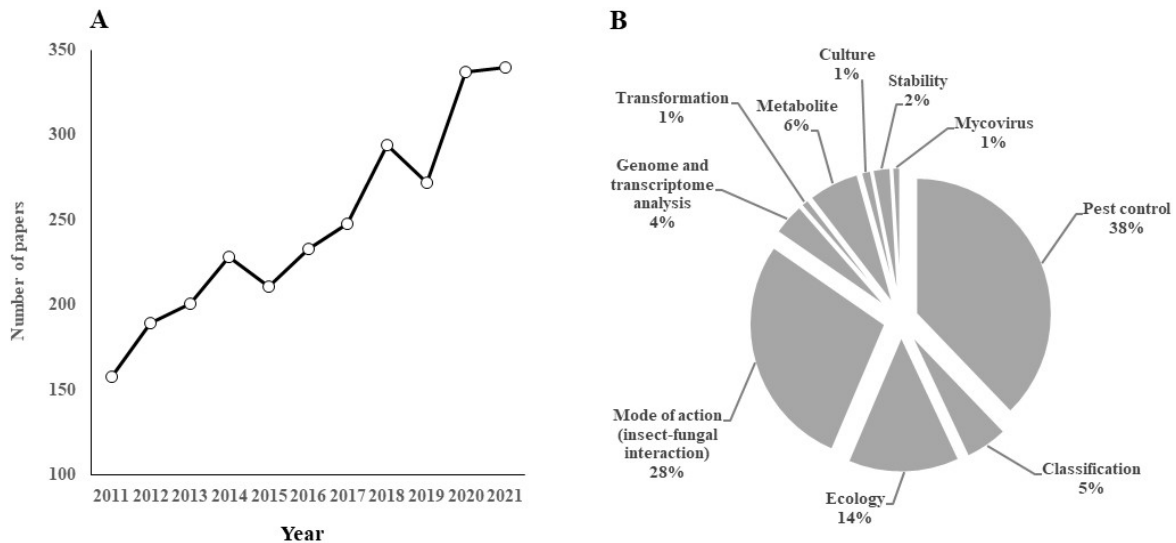


Fig. 2. Recent research trends in the field of entomopathogenic fungi. A, Research papers (retrieved from NCBI) related to entomopathogenic fungi from the last 10 years; B, Major research areas on entomopathogenic fungi over the past five years.



Fig. 3. Application of entomopathogenic fungi to control arthropod pests. The effects of fully sporulated fungal conidia and hyphae on infected arthropods were investigated. All the pictures of infected pests were generated in the lab of Jae Su Kim at Jeonbuk National University.

성 진균은 수십년 동안 *Beauveria*, *Metarhizium*, *Lecanicillium* 및 *Isaria* 속의 주요 균주를 포함한 최소 12종을 기반으로 170 개 이상의 상업화 제품이 개발되었다. 이 진균들은 대량생산이 가능하다는 경제성, 다른 미생물에 비해 생존력과 병원성의 손실이 적다는 안정성, 진균 포자를 활용하여 기존의 화학농약 제형과 유사하게 사용할 수 있는 편의성 등의 측면에서 장점을 가지고 있어 농업 해충 방제용 소재로 지속적으로 개발되고 있다 (de Faria and Wraight, 2007).

생물학적 방제제로서 곤충병원성 진균의 이점

곤충병원성 진균은 토양과 식물에서 흔히 발견될 정도로 광범위한 서식지를 가지고 있으며, 토양에서 쉽게 분리가 가능하다. 절지동물문에 속하는 곤충과 응애 등에 병원성을 가지고 있지만, 식물과 포유류에는 영향을 미치지 않아 오랫동안 해충을 방제하는데 널리 사용되어 왔다. 세균과 바이러스 등의 다른 곤충병원성 미생물과 달리 넓은 기주 범위를 가지고 있어 다양한 해충을 방제하는 데 이용되고 있으며, 특히 농업분야에서 많이 사용되고 있는 *Beauveria* 속과 *Metarhizium* 속은 각각 707종, 200 종 이상의 곤충에 병원성을 보이는 것으로 보고되었다(Imoulan et al., 2016; Jitendra et al., 2012).

곤충병원성 진균은 섭취를 통해 감염되는 것이 아니라 접촉만으로도 곤충을 감염시킬 수 있어 곤충이 식물을 섭식하는 방식에 구애받지 않고 다양한 해충 방제가 가능하며, 곤충의 모든 령기(알-유충-번데기-성충)에 병원성을 가지고 있어 해충을 방제하는 데 큰 이점으로 작용한다(Srinivasan et al., 2019). 게다가, 접촉을 통해 대상 해충에 침입한 진균은 곤충 체내에서 생장을 하며, 곤충이 치사 후 곤충 표면에 새로운 포자를 생성하여 다른 해충으로 전파될 수 있다. 또한, 치사된 개체 뿐만 아니라 감염 초기 단계에서도 다른 해충과 접촉을 통해 감염을 유발시킬 수 있다(Pereira et al., 2021).

곤충병원성 진균의 작용기작

곤충의 구강을 통해서 침입하는 곤충병원성 세균과 바이러스와 다르게 곤충병원성 진균은 분류학적으로 매우 다양하지만 모든 곤충의 표피에 부착, 발아 및 침투 후 포자를 생성하는 감염 방식을 보인다(Fig. 4) (Wang and St. Leger, 2005). 먼저, 곤충병원성 진균의 분생포자가 점액질과 접착 단백질의 도움으로 곤충의 표피에 부착되는 것으로 감염이 시작되며, 충분한 습도와 온도 조건에서 탄소와 에너지원이 존재할 때 포자의 발아가 일어나 부착기(appressorium)라고 하는 특수 구조를 형성한다(Wang and Wang, 2017). 곤충의 표피에 부착하기 위해서 진균은 소수성 및 정전기력의 작용에 의존하며 adhesin-like protein (*mad1/mad2*)과 hydrophobin protein (*hyd1/hyd2*)이라고 하는 저분자량 단백질의 활성을 필요로 한다(Wang and St Leger, 2007; Holder et al., 2007; Sevim et al., 2012; Shin et al., 2020; Valero-Jiménez et al., 2016). 진균이 성장 및 발아를 하기 위한 최적 온도는 20~30°C이며, 명확한 메커니즘은 밝혀지지 않았지만 autophagy-related gene (*BbATG11*), MADS-box transcriptome factor Mcm1 (*Bbmcm1*)의 발현을 억제한 돌연변이체에서 발아 속도가 감소된 것을 확인하였으며 이를 통해 두 유전자가 발아와 관련된 것으로 추정된다(Ding et al., 2018; Zhao et al., 2019; Shin et al., 2020).

발아한 포자는 균사를 형성하고 해당 진균의 균사는 곤충의 표피 안으로 침입하기 위해 강한 기계적 압력을 가할 뿐만 아니라 chitinases, esterase, kinase, lipases, phospholipase C, protease 등과 같은 많은 효소를 생산 및 분비한다(Beys da Silva et al., 2010; Wei et al., 2017). 곤충의 체강에 도달한 진균은 균사 생장을 통해 곤충의 마비를 유발시키고 곤충의 생리학적 과정, 주로 면역 반응을 방해하는 2차 대사산물을 생성 및 분비한다. 진균의 균사 생장으로 인해 곤충의 몸은 내부 장기의 기계적 손상과 영양 고갈로 파괴가 되며 최종적으로 치사하게 된다. 이치

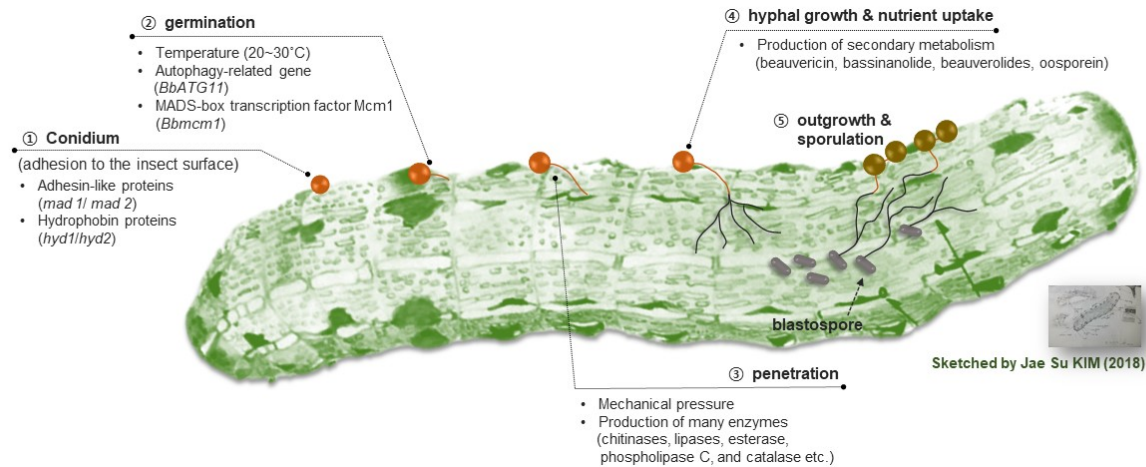


Fig. 4. Mode of action of entomopathogenic fungi in insects. The fungal pathogenesis consists of conidial adhesion, germination and penetration into the insect cuticles, hyphal growth, and nutrient uptake in haemocoel. This is followed by outgrowth toward the cuticles and sporulation on the insect cadavers, which is a symptom of mycosis.

럼, 곤충병원성 진균은 세균과 바이러스와 달리 접촉 살충제로 곤충 표피에 직접 침투하므로 생물학적 방제제로서 적합한 특성을 가지고 있다(Lovett and St. Leger, 2018).

최근 연구를 통해, 곤충병원성 진균 중 *M. anisopliae*를 통해 초기 침입 시 lipid degradation과 detoxification 관련 유전자가 높게 발현되는 것이 확인되었으며(Lee et al., 2021), *B. bassiana*를 통해 침입 후기에는 아미노산 대사과정, 해당과정 그리고 TCA 회로 과정과 관련된 유전자가 높게 발현되는 것이 확인되었으며, 그와 반대로 세포 주기와 관련된 유전자는 발현이 억제되는 것이 확인되었다(Yang et al., 2016). 이를 통해, 곤충병원성 진균이 곤충을 침입하는 동안 표피를 쉽게 분해할 수 있는 요인 중 하나라고 추측되고 있으며, 앞으로의 연구를 통해 곤충병원성 진균의 작용 기작을 이해하는데 도움이 될 것으로 추측된다.

곤충병원성 진균에 대한 새로운 관점

많은 연구를 통해 곤충병원성 진균이 식물 내생균, 식물병원체의 길항제 및 식물 성장 촉진제 등의 예상치 못한 다양한 역할을 할 수 있다고 보고되었다(Vega et al., 2009). 내생균(endophyte)라는 용어는 de Bary (1866)에 의해 도입되었으며, 살아 있는 독립영양생물의 조직 내에서 발견되는 모든 유기체를 광범위하게 나타내는 용어이다. Nishi et al. (2021)에 따르면 다양한 곤충병원성 진균이 내생 상태의 식물체에서 분리되었으며, 다양한 식물에 약영양 없이 내생이 가능하다고 밝혀졌다. 곤충병원성 진균 중 일부의 종이 식물체에서 내생할 수 있음이 보고되었고, 대표적으로 옥수수 식물체에서 내생하는 *B. bassiana*

가 있다(Vega et al., 2008). 최근 연구를 통해 식물에 내생한 *B. bassiana*와 *M. brunneum*에 의해 beet armyworm (*Spodoptera littoralis*)의 유충과 sweet potato whitefly (*Bemisia tabaci*) 약충을 치사될 수 있음을 보여주었다(Resquín-Romero et al., 2016). 이러한 생태적 특성을 활용하여 해충 방제 전략의 수단으로 곤충병원성 진균을 보다 효과적으로 활용하기 위해, 산업적인 방제 전략에서도 진균의 적용 방향 전환이 이뤄지고 있다. 산업적인 측면에서 곤충병원성 진균의 연구 및 개발은 시장 가치의 증가에 반영되는데, 최근 *B. bassiana*의 세계 시장 가치는 약 6,600만 달러이며 2025년까지 1억 3,000만 달러 이상으로 증가할 것으로 예상된다(Market Research, 2020).

해충방제 연구의 흐름 변화

초기 해충방제 연구

곤충병원성 진균을 이용하여 해충을 방제하려는 첫 번째 시도는 1888년 러시아에서 Eli Metchnikoff에 의해 수행되었다. 그는 딱정벌레(*A. austriaca*) 유충으로부터 분리한 *M. anisopliae* 균주를 액체 배지가 들어있는 맥주 제조용 통(beer mash)에 배양하여 사탕무바구미(*Cleonus punctiventris*) 방제용으로 사용하였는데, 이 시도는 곤충병원성 진균이 곤충에 치명적인 병원균이라는 사실에 기반한 생물학적 방제로서의 첫 가능성을 제안한 실험이었다. 그 후, 1965년 구소련에서 *B. bassiana* 기반의 미생물살충제(상품명: Boverin)가 콜로라도감자잎벌레(*Leptinotarsa decemlineata*) 방제용으로 개발되었으며, 1981년에는 곤충병

원성 진균 *Hirsutella thompsonii* Fisher를 기반으로 한 미생물 살충제인 Mycar가 미국에서 흑응애과 해충 *Phyllocoptruta oleivora* Ashmead를 방제하는데 활용되었다(de Faria and Wraight, 2007). 초기의 곤충병원성 진균을 이용한 해충방제 연구는 농업 해충 방제에 국한되었으나, 현재는 도시, 산림, 가축 및 수생 환경에서 곤충 및 진드기를 방제하기 위해 많은 연구들이 진행되고 있다(Kim et al., 2020a; Lee et al., 2019; Shah and Pell, 2003).

균주 선발의 기준 변화

고전적으로 해충방제용 곤충병원성 진균 균주 선발을 위하여 목적 해충에 대한 살충활성이 주로 평가되었으나, 근래에는 환경에 대한 안정성(고온, 저온, 자외선)도 평가 고려 항목이 되고 있다(Ko et al., 2021; Santos et al., 2011). 그 이유는 실험실 조건에서 목적 해충에 높은 살충활성을 가지는 곤충병원성 진균 균주라 할지라도 외부 환경은 실험실 환경과 다른 환경 조건(온습도의 변화, 고온 및 자외선 노출, 저온 스트레스)이기 때문에 높은 방제효과를 기대하기 어렵기 때문이다(Fernandes et al., 2015; Rangel et al., 2015). 그리하여 목적 해충에 대한 높은 살충활성과 환경 안정성이 높은 균주들을 미생물 살충제 개발을 위한 후보 균주로 선발하려는 연구들이 진행되고 있으나, 모든 조건을 만족하는 우수한 균주의 선발은 어려운 실정이며, 처리되는 환경 조건에 적합한 맞춤형 균주(예) 봄가을, 저온에서도 활성이 뛰어난 균주 사용; 여름, 고온 안정성이 뛰어난 균주 사용) 선발 방법 및 균주의 단점을 보완할 수 있는 제제화 기술이 요구되고 있다(Lee et al., 2015; Shin et al., 2017).

곤충병원성 진균의 미생물 살충제로서의 개발을 위해서는 목적 해충에 대한 높은 살충활성과 더불어 효과적인 제제화 및 산업화(유통)를 위해 균주의 열 안정성이 필수적으로 인식되고 있다(Kim et al., 2019). 이러한 이유로 앞서 언급한 대로 기본적으로 열 안정성이 높은 균주 선발이 요구되고 있는데, 근래에는 균주의 열 안정성을 배양기술을 통해 증진하고자 하는 연구가 진행되고 있다(Park et al., 2018; Song et al., 2019). 곡물배지를 이용한 고체배양기술(grain-based solid substrate fermentation)은 곤충병원성 진균 포자의 대량 생산을 위한 고전적인 방법으로 다양한 천연기질(곡물)에 균주를 배양하여 가장 우수한 포자 생산성을 보이는 기질을 선발하는데 사용되어왔다(Jaronski and Jackson, 2012). 하지만 천연 기질에 따른 균주의 특성은 포자 생산성에만 국한되는 것이 아니라 균주 포자의 열안정성에도 영향을 미치는 것으로 확인되었고, 그중에서 기장(*Panicum miliaceum* L.)에 배양된 균주의 포자들은 다른 기질에 배양된 것보다 높은 열 안정성을 보이고, 포자 생산성도 높게 나타남에 따라 곤충병

원성 진균 균주의 산업화를 위한 기질로 각광받고 있다(Kim et al., 2011). 사용되는 천연 기질과 균주의 조합에 따라 생산되는 포자의 특성이 달라지는 현상을 보이는데, 이러한 연구 결과를 토대로 자연계에 존재하는 많은 기질들과 균주의 상관관계 분석을 통해 우수한 진균 포자 생산이 가능할 것으로 생각된다.

해충 생태 기반 방제

곤충병원성 진균 기반의 미생물 살충제는 일반적으로 스프레이 장비를 이용하여 목적 범위 내에 살포되는 방법이 적용되고 있다(Chandler, 2017). 이러한 살포 방식은 기존 화학농약 처리 방법으로부터 기인된 것으로 곤충병원성 진균 포자가 살포 즉시 목적 해충에 부착되거나 살포된 포자에 해충이 우연히 접촉되어 살충활성을 나타내는 두 가지 작용 기작으로 설명된다. 하지만 이러한 미생물 살충제의 살포는 대체로 작물의 옆면에 특정되는데, 잎 표면에서는 곤충병원성 진균이 위에서 언급된 환경 조건(온습도의 변화, 고온 및 자외선 노출, 저온 스트레스)에 노출되었을 때 높은 방제효과를 기대하기 어려울 수 있다. 그렇기 때문에 근래에는 해충의 생태를 기반으로 곤충병원성 진균의 처리 전략이 개발되고 있으며, 살충활성에 대한 환경적인 악조건을 회피하도록 하여 미생물 살충제의 방제효과를 극대화할 수 있는 연구가 진행되고 있다.

최근 국내에서도 곤충병원성 진균을 활용하여 농업 및 산림 해충을 방제하기 위한 연구 개발이 꾸준히 수행되고 있다. 대표적으로 농업 해충인 꽃노랑총채벌레와 산림 해충인 솔수염하늘소 방제 연구가 있다. 꽃노랑총채벌레(*Frankliniella occidentalis* Pergande)는 채소작물 및 거의 모든 원예작물을 가해하는 전세계적인 난방제 해충으로 성충이 되기 전 토양에서 전용(pre-pupa) 단계를 거치는 생태적 특성을 가지고 있다. 이를 활용하여 곤충병원성 진균 입제(granule)를 토양에 처리하여 곤충병원성 진균에게 환경적인 악조건을 회피할 수 있는 장소를 제공하며, 동시에 토양으로 내려오는 총채벌레를 방제하여 높은 방제효과를 얻을 수 있다(Lee et al., 2017). 이를 이용한 곤충병원성 진균 기반 총채벌레 방제제는 우리나라에서 ‘총채썩(주요성분 *B. bassiana* ERL836 conidia)’이라는 상품명으로 출시되어 높은 시장 호응을 얻고 있다(Kim et al., 2019). 이러한 개념의 방제제는 소나무재선충 매개충인 솔수염하늘소(*Monochamus alternatus* Hope) 방제제 연구에도 접목되고 있다. 우리나라에서는 소나무재선충 방제를 위해서 매개충인 솔수염하늘소 확산방지를 주요 방제 전략으로 다루고 있는데, 확산방지를 위해 솔수염하늘소의 침입공이 있는 산림의 소나무는 지름 1 m로 벌목되고 있다. 산림 지역에서 타포린이라고 하는 두꺼운 필름으로 벌목

된 소나무를 덮고 독성 혼증제를 더미 안쪽에 처리하는데, 이 혼증제를 대체하기 위해 곤충병원성 기반 미생물 살충제 개발 연구가 진행 중이다. 먼저, 벌목된 소나무 혼증을 위해 사용되는 타포린 필름으로부터 곤충병원성 진균이 회피할 수 있도록 환경을 만들어주고, 이와 더불어 높은 습도를 제공함으로써 벌목된 소나무에 처리된 곤충병원성 진균의 정착성을 높였다. 현재까지 소나무 속에서 우화(emergence)되어 나오는 소나무재선충 보균 솔수염하늘소가 정착되어 있는 진균에 의해 효과적으로 방제할 수 있음이 확인되었다(Kim et al., 2020a). 이러한 진균을 이용한 생물농약 개발 연구는 독성 혼증제를 대체할 수 있는 새로운 기작의 방제제로 계속 관심 받고 있다. 해충의 생태적인 특성을 활용한 곤충병원성 진균 기반 미생물 살충제 개발 연구는 다양한 방제 전략에 활용되어 작물보호제의 새로운 시장을 개척하고 있다.

최근 연구개발 동향

곤충병원성 진균의 산업화

기존 곤충병원성 진균 제품은 대상 해충에 대한 높은 병원성을 가지는 균주 선발을 중점적으로 연구가 진행되었으며, 분생포자(conidia)와 아포자(blastospore)라는 두가지 유형의 포자

중에서 2007년 기준 진균 소재 해충 방제제의 70%가 분생포자를 기반으로 제품화가 되었으며 오늘날에도 대부분의 상업용 제품은 분생포자로 구성되어 있다(Table 1) (Ruiu, 2018). 아포자는 분생포자에 비해 상대적으로 배양 과정이 단순하여 생산 비용이 낮을 뿐만 아니라 병원성이 높은 장점을 지니고 있지만 보관 안전성 등의 문제로 산업화에 어려움을 겪었다(Alkhaibari et al., 2016; Lohse et al., 2015). 최근 이러한 문제점을 극복하기 위하여 아포자를 기반으로 한 새로운 생산 방법이 연구되어 왔으며, 건조 내성 및 저장 안전성을 높이는 데 영향을 주고 있다(Dietsch et al., 2021). 실제로 *Isaria fumosorosea* 균을 이용한 제품은 건조된 아포자 제형으로 제품화되었으며, 기존 분생포자 제품에 비해 빠른 발아가 가능하다(Avery et al., 2013).

또한, 기존에는 곤충병원성 진균 단제로서 주로 수화제 및 과립 형태로 제품이 개발되었다면, 최근에는 다양한 제품을 조합하여 판매되고 있다. 대표적으로 피레트린(pyrethrin) 또는 오일류와 배합된 제품이 다양한 해충을 방제하기 위해 출시되어 판매되고 있다. 또한, 유화 가능한 분산성 오일에 진균을 함께 처리함으로써 작물에게 해충 방제에 상승 효과를 제공하고 있다. 최근 연구에서는 곤충병원성 진균을 화학농약과 함께 처리하여 기존 화학농약만으로 방제하기 어려웠던 해충을 효과적으로 방제하기 위한 시도를 하고 있다(Dara, 2015; 2016).

Table 1. Entomopathogenic fungal insecticides registered in local countries since 2010

Year	Trade name	Manufacturer	Country of origin	Source
2011	NoFly WP	Futureco	United States	<i>Isaria fumosorosea</i> FE 9901
2014	BioCeres WP	BioSafe	United States	<i>Beauveria bassiana</i> ANT-03
2016	Botanigard MAXX	Lam International	United States	<i>Beauveria bassiana</i> combination (GHA + pyrethrins)
2016	PFR-97™ 20% WDG	ARBICO Organics	EU	<i>Isaria fumosorosea</i> strain 97
2016	XPulse	Lam International	United States	<i>Beauveria bassiana</i> combination (GHA + neem oil)
2017	BioAct Prime	Bayer	Greece	<i>Paecilomyces liacinus</i> 251
2017	Broadband	BASF	Australia	<i>Beauveria bassiana</i> PPRI5339
2017	Chongchaesak GR	FarmHannong	Korea	<i>Beauveria bassiana</i> ERL836
2017	Ostrinil	Arysta LifeScience	EU	<i>Beauveria bassiana</i> 147
2017	ARY-0711B-01	Arysta LifeScience	EU	<i>Beauveria bassiana</i> NPP111B005
2018	Velifer	BASF	Canada	<i>Beauveria bassiana</i> PPRI 5339
2019	Approved	BASF	EU	<i>Beauveria bassiana</i> PPRI 5339
2019	Approved	Exosect	EU	<i>Beauveria bassiana</i> IMI389521
2019	Chongchaesak WP	FarmHannong	Korea	<i>Beauveria bassiana</i> ERL836
Pending	Bb-Protec	Andermatt	United States	<i>Beauveria bassiana</i> R444
Pending	Velifer	BASF	United States	<i>Beauveria bassiana</i> PPRI5539

This list of commercial products was referred to Arthus and Dara (2019), Rana et al. (2019) and local news.

유전공학을 이용한 곤충병원성 진균

해충 방제제로서 곤충병원성 진균은 빠른 살충 효과와 다양한 환경 조건에서 적용 가능한 균주, 즉, 화학 농약과 유사한 살충 효과를 보이는 균주를 선발하였으며(Butt et al., 2016), 방제 효과를 높이기 위해 전통적인 접근 방식으로 진균의 제형화 및 적용 전략 개발이 활발히 진행되어 왔다. 하지만, 최근에는 곤충병원성 진균의 방제 효율을 높이기 위해 분자생물학적 방법을 이용하여 유전자 수준에서 다양한 연구가 진행되고 있다. 대표적으로, *M. roberstii*, *B. bassiana* 등의 곤충병원성 진균에 대한 AtMT (*Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation), CRISPR-Cas9 등의 형질전환 기술이 개발되고 있으며, 다양한 곤충병원성 진균에도 빠르게 적용될 것이다(Chen et al., 2017).

실제로, 곤충병원성 진균의 병원성은 독립적으로 진화해 왔으며 많은 요인이 관여한다. 대표적으로 곤충 표피에 침투하기 위해 분비되는 다양한 표피 분해 효소가 있는데, 유전자 조작을 통해 진균의 표피 분해 효소 발현량을 증가시킬 수 있으며, 이를 통해 높은 분해 효율을 보이는 효소를 발현할 수 있도록 유전적 변형이 가능하다. 그 외에도 새로운 기능을 갖는 유전자를 진균에게 도입시켜 빠른 살충효과를 기대할 수 있으며, 진균의 기주 범위 또한 관련 유전자의 변형을 통해 확장 또는 축소시킬 수 있다(Xu et al., 2014; Conlon et al., 2017). 이러한 유전자의 기능을 이해함으로써 기주 특이성 및 향상된 병원성 등의 새로운 살충성 인자 조합을 가진 곤충 병원성 진균을 만드는 것이 가능할 것이다(Lovett and St. Leger, 2017). 또한 최근에는 분자생물학적인 연구분야로

서 기주 진균 상호반응체 연구가 RNA-seq과 metabolite 중심으로 연구가 이뤄지고 있어 더 빠르게 유전공학적 방법으로 곤충병원성 진균의 균주 확보에 활용될 것으로 예상된다.

앞으로의 차별화 방안

유기합성 농약과 곤충병원성 진균의 협력 사용

유기 합성농약은 농업, 산림 및 위생 해충의 방제측면에서 높은 살충효과를 기대할 수 있으나, 저항성 해충의 출현과 환경 잔류문제의 큰 위기에 직면해 있다. 이러한 문제들을 극복하기 위한 노력으로 신규 물질개발에 대한 노력들이 전세계적으로 진행되고 있으며, 막대한 자본과 인력이 투입되고 있지만, 7~10년 이상의 장기간의 연구개발 로드맵이 필요한 실정이다. 대안으로 생각되는 생물농약(biopesticide, biological)은 안전하고 환경 친화적인 장점이 있으나, 안정적인 방제효과를 기대할 수 있는 품목들이 많지 않은 상황이다(Arthurs and Dara, 2019). 하지만 작물 생산의 안정성이 더욱 중요해짐에 따라 시장의 수요가 높아지는 현실에서, 생물농약 특히 미생물 소재에 대한 관심이 날로 많아지고 있다. 이 중에서 곤충병원성 진균(entomopathogenic fungi)은 유기 합성농약 대비 작용 기작이 상이하여 저항성 문제를 극복할 수 있는 우수 소재로 인식되고 있다. 해충을 방제할 수 있는 다양한 미생물 자원이 있지만, 곤충병원성 진균은 나비목, 딱정벌레목, 파리목, 벌목, 노린재목 등 농업, 산림, 위생 해충을 대부분 방제할 수 있는 강점이 있다. 이에 비해, *Bacillus thurin-*

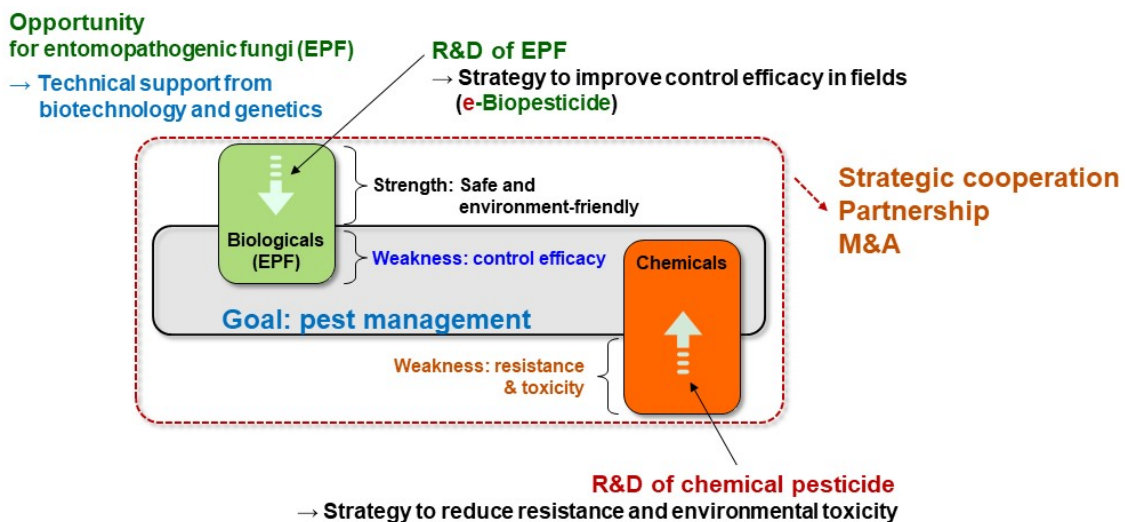


Fig. 5. Analysis of chemicals and biologicals used for pest management and the current status of the two pest control agents for collaboration. The effectiveness of biologicals including entomopathogenic fungi is recognized as a partner that can compensate for the shortcomings of research and development (R&D) and field application of chemicals.

giensis (Bt)로 대표되는 살충성 세균은 적용 스펙트럼이 일부 나비목과 딱정벌레목에만 국한되어 있고, baculovirus와 같은 살충성 바이러스는 살충 스펙트럼이 매우 협소하고, 경제성 확보가 용이하지 않아 유기 합성농약을 보완하기에는 한계점이 있다 (Lee et al., 2018). 곤충병원성 진균의 넓은 살충 스펙트럼에도 불구하고, 안정적인 살충효과를 확보하고, 살충효과의 극대화를 위해서는 다양한 생산 및 현장 적용 기술의 개발이 필요하다. 현재는 신규 유기합성 살충제 연구개발 및 현장적용의 단점을 보완할 수 있는 파트너로서 생물농약(곤충병원성 진균)의 중요성이 인식되고 있으며(Fig. 5), 실제로 글로벌 시장에서 대형 작물보호제 기업들이 생물농약 전문기업을 인수하거나 파트너십 구축을 통해 이러한 문제점들을 해결해 나가고 있다(Kim et al., 2020b). 이러한 시장구조의 변화는 2000~2010년까지 왕성하게 진행되었으며, 최근에도 유기합성 농약과 생물농약(곤충병원성 진균)과 사이의 효과증진을 위한 노력들이 진행되고 있다(Rana et al., 2018). 많은 연구개발 그룹의 리더들은 유기합성 농약과 생물농약(곤충병원성 진균)의 혼합 처리(tank-mix) 전략을 주된 실행 전략으로 삼고 있다(Lee et al., 2017, Rana et al., 2018). 각 소재의 기술개발 속도에 따라 유기합성 농약이 시장을 주도할 수 있겠지만, 생물농약의 개발 속도가 최근 가속화되고 시장의 요구가 증가하는 현실을 감안하면, 앞으로의 생물농약(곤충병원성 진균) 연구개발은 더욱 빛을 발할 것이다.

곤충병원성 진균의 생태학적 현장 적용기술 개발

최근까지 곤충병원성 진균과 같은 생물농약은 환경친화적 (eco-friendly solution) 가치 중심의 연구개발에 집중되어, 산

업화를 위한 기술적인 문제 해결에 많은 노력을 들이지 못했다. 곤충병원성 진균의 산업화를 위해서는 생산의 경제성(economic downstream process)과 안정적인 방제효과(effective control)가 확보되어야 한다. 그리고 높은 방제효과를 위해서는 곤충병원성 진균이 정착하고 증식할 수 있는 환경에 처리되는 것이 중요하다(ecological application). 이러한 생태학적 처리를 중심으로 하는 접근법은 유기합성 농약의 처리과정에서 발생하는 환경오염 문제를 극복하고 상호 보완적으로 사용될 수 있는 기회가 된다. 농업 생태계의 많은 부분을 차지하고 있는 토양과 수서 환경(논 또는 호수 및 저수지)에 유기합성 농약이 처리될 경우, 환경 잔류 및 생태 독성 발생의 가능성이 매우 높으며, 보다 안전한 생물 소재의 적용이 필요하다. 이러한 토양 및 수서 환경에 곤충병원성 진균을 처리함으로써 유기합성 농약의 환경오염 문제를 극복할 수 있을 뿐만 아니라, 미생물의 처리공간 내에서의 정착성을 높임으로써 높은 방제효과를 기대할 수 있다(Fig. 6) (Kim et al., 2014; Lee et al., 2017). 실제로 곤충병원성 진균은 작물의 지상부 엽권보다는 온도, 습도 및 영양분의 공급이 원활한 근권 토양에서의 정착성이 더 높다. 따라서 궁극적으로는 작물의 지상부 해충은 유기합성 농약을 사용하고, 지하부 근권에는 곤충병원성 진균을 처리함으로써 서로 상호보완적인 방제가 가능할 것으로 기대된다. 최근 *B. bassiana* ERL836, *B. bassiana* JEF-507을 활용한 총채벌레 방제 기술은 위와 같은 개념을 적용한 해충 방제기술로서, 지상부 성충 및 유충은 유기합성 농약으로 방제하고, 지하부 번데기 단계의 해충은 곤충병원성 진균으로 방제하는 대표적인 협력사용 사례이다(Lee et al., 2017; Li et al., 2021).

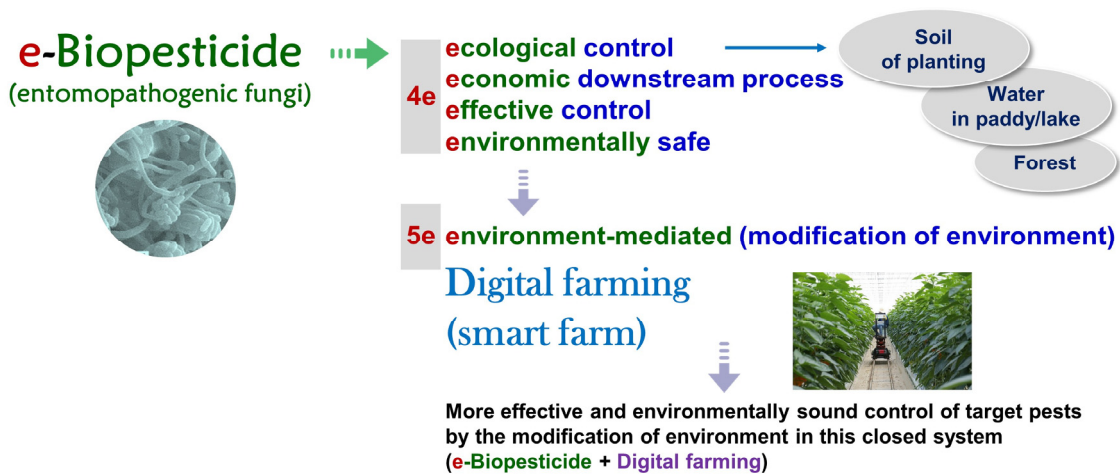


Fig. 6. Suggested e-Biopesticides for highly competitive biopesticide development. The pictures of the entomopathogenic fungal isolate and smart farm were provided by Jae Su Kim of Jeonbuk National University and a public resource, respectively.

미래 디지털 농업과 연계가능한 곤충병원성 진균

곤충병원성 진균은 정착성이 높은 토양 및 수서 환경에 처리 되는 것이 현재로서는 가장 바람직한 처리 방법으로 판단되나, 앞으로의 디지털팜(digital farming) 기술과 접목된다면 지상부 처리도 가능할 것으로 기대된다. 기존 곤충병원성 진균을 활용하여 지상부 해충을 방제하려는 시도가 많았으나, 현장 조건에서는 다양한 온도, 습도 및 광 조건이 상이하고 변동성 높아, 안정적인 방제효과를 확보하기가 어려웠다. 곤충병원성 진균은 처리되는 장소의 습도 조건에 따라 살충효과의 변동성이 높다. 습도 조건이 60% 미만일 경우, 곤충 큐티클에 부착된 포자(conidia 또는 blastospore)의 발아가 지연되거나, 발아 자체가 진행되지 않을 수 있다. 일반적으로 해충의 종류에 따라 큐티클 침입 시간이 상이하지만, 대략 6시간-2일이 경과하면 큐티클을 균사형태로 뚫고 들어갈 수 있다. 일단 큐티클 침입 과정이 완료되면, 외부의 환경 조건은 곤충병원성 진균의 살충활성에 큰 영향을 미치지 않는다(Shin et al., 2020). 환경 조건을 스마트 센싱 기술로 조절이 가능한 디지털팜에서는 곤충병원성 진균의 초기 발아 및 침입을 극대화할 수 있는 높은 습도 조건을 인위적으로 조성할 수 있어, 곤충병원성 진균의 단점인 환경에 대한 적응성 문제를 어렵지 않게 해결할 수 있다(Fig. 6). 디지털 농업에서는 위와 같은 환경인자뿐만 아니라, 곤충병원성 진균의 정착 및 증식을 위한 추가적인 영양분 공급 시스템 구축도 가능할 것이다. 토양처리 된 진균에 추가적인 영양분을 선택적으로 관수시스템을 통하여 공급할 수 있으며, 엽면에 처리된 진균에 대해서도 경엽살포와 같은 영양분 공급 방법을 설계할 수 있다. 앞으로 기초 기술로서 유전체 기술의 발달과 식품분야의 미생물 생산 및 제형화 기술의 발달과 지원으로 인해, 디지털 팜에서의 곤충병원성 진균과 같은 미생물 소재의 현장 처리 기술이 더욱 발달할 것으로 본다. 기존의 정형화된 제형에서 탈피하여, 디지털팜에 적용 가능한 진균 원체의 직접적인 공급이나, 배양 시스템과 적용시스템을 현장에서 바로 적용할 수 있는 시스템 구현도 가능할 것으로 판단된다.

곤충병원성 진균 생산의 경제성 확보를 위한 배양시스템 연구

현재까지의 곤충병원성 진균의 생산시스템은 주로 고체배양을 통한 포자(conidia; 분생포자) 생산에 집중되어 왔다. 경제성이 높은 곡물 배지를 사용하여 평판 배양을 하거나, 또는 고체배양 기기를 구축하여 생산하는 시스템이며, 7~10일 정도의 배양을 통하여 다량의 포자를 생산하고 있다(Kim et al., 2011; Yu et al., 2020). 고체 배양은 장기간의 배양으로 오염에 대한

리스크가 크며, 넓은 생산 시설을 확보해야 하고, 배양 과정중의 품질관리를 위한 많은 인력이 필요하다. 많은 양의 진균 포자를 생산하는 측면에서의 규모의 경제성을 확보하기 쉽지 않다. 최근 이러한 고체배양의 기술적인 문제점들이 식품 미생물 생산기술의 지원을 통하여 해결되고 있지만, 여전히 해결해야 하는 과제들이 있다. 곤충병원성 진균의 시장 확대를 위한 생산의 경제성 확보와 생산 방법에 대한 기술적 우위를 확보하는 차원에서, 고체 배양을 포함한 액체배양 기술개발이 필요하다(Kim et al., 2013). 액체배양은 종균 배양을 포함하여 3~5일 정도의 상대적으로 짧은 생산기간이 소요되고, 이로 인해 오염에 대한 리스크도 상대적으로 작다. 곤충병원성 진균은 액체배양 과정에서 종(species) 또는 분리주(isolate)에 따라 hyphal ball을 형성하는 경우가 있으며 이를 해결할 수 있는 연구과정이 병행되어야 한다. 액체배양과정에서 생산되는 다양한 2차 대사산물들을 미생물 살충제개발에 활용할 수 있는 장점도 있으나, 현재까지 물질 생산에 대한 연구가 활발히 진행되지 않아 많은 연구가 필요하다. 액체배양에서 생산되는 아포자는 일반적으로 conidia보다 안정성이 낮은 것으로 알려져 있으나, 최근 연구결과를 검토해 보면 종과 분리주에 따라 상이한 것으로 추정된다. 따라서 곤충병원성 진균의 액체배양에 대한 연구는 아포자의 생산성과 안정성을 높이고, 추가적인 2차대사산물에 대한 연구가 병행된다면 시장수요를 안정적으로 뒷받침할 수 있는 생산기술로 기대된다.

지적재산권 분쟁을 극복하기 위한 작용기작 연구

곤충병원성 진균의 작용기작 연구는 미생물 살충제의 가치를 높이는 일은 매우 중요하다. 저항성을 유발하는 유기합성 농약의 작용 기작과 다른 차별화된 특성을 주장하기 위해 필요한 연구과정이다. 이를 위해서는 생물학, 유전체학, 생화학, 대사공학 등의 연관 분야와의 협력이 필요하다. 또한 곤충병원성 진균은 자낭균과 접합균류를 포함하여 수백여 종의 미생물들이 학계에 보고되어 있지만, 현장에 적용되는 상업화된 미생물의 종수는 많지 않다. 대표적인 종으로는 *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae*, *M. acridum*, *M. robertii*, *L. lecanii* 그리고 *I. fomesorozea* 등이며, 동일종내에서 다양한 분리주들이 활용되고 있어, 시장에서 지적재산권에 대한 분쟁의 소지가 많다(Lee et al., 2018). 이러한 문제를 해결하기 위해서는 균주간의 유전적인 차이를 연구하는 시스템 미생물학과 계통분류학 측면의 연구가 필요하다(Gasmi et al., 2021). 상동 유전자(Conserved genes) 뿐만 아니라, 생물학적인 특성과 연관성이 높은 기능 유전자(functional genes)에 대한 비교 분석도 고려해야 한다

(Gasmi et al., 2021). 그럼에도 불구하고 유전적 비교분석 연구가 때로는 지적재산권에 대한 분쟁을 해결하기는 어려운 측면도 있다. 이러한 부분은 작용기작 연구를 통하여 해결할 수 있을 것으로 판단된다(Kim et al., 2020b). 방법론 측면에서, RNA-seq, gene methylation, long non-coding RNA 분석이 활용될 수 있으며, 대사체(metabolomics) 및 단백질체(proteome) 연구도 의미 있는 방법으로 판단된다. 균주 자체의 차별성을 주장하기 위한 비교 분석뿐만 아니라, 생산과 제형화 방법에 대한 연구를 통하여 미생물 살충제 제품의 차별화를 구현하고, 시장에서의 분쟁의 소지를 줄일 수 있을 것이다.

사 사

본 연구 성과물(리뷰 논문)은 농촌진흥청 연구사업 (세부과제번호: PJ016297032021)의 지원에 의해 이뤄진 것임.

저자 직책 & 역할

- 이세진: 국립순천대학교 교수; 곤충병원성 진균 연구의 필요성과 최근 연구경향을 작성
- 신태영: 전북대학교 교수; 곤충병원성 진균의 역사와 해충 방제 흐름을 작성
- 김종철: 전북대학교 박사; 전체 논문 교정 및 선행연구 리뷰
- 김재수: 전북대학교 교수; 곤충병원성 진균의 차별화 전략을 작성, 전체 논문 집필을 주도

모든 저자는 원고를 읽고 투고에 동의하였음.

Literature Cited

- Alkhaibari, A.M., Carolino, A.T., Yavasoglu, S.I., Maffei, T., Mattoso, T.C., Bull, J.C., Samuels, R.I., Butt, T.M., 2016. *Metarhizium brunneum* blastospore pathogenesis in *Aedes aegypti* larvae: attack on several fronts accelerates mortality. *PLoS Pathog.* 12, e1005715.
- Arthurs, S., Dara, S.K., 2019. Microbial biopesticides for invertebrate pests and their markets in the United States. *J. Invertebr. Pathol.* 165, 13-21.
- Avery, P.B., Pick, D.A., Aristizabal, L.F., Kerrigan, J., Powell, C.A., Rogers, M.E., Arthurs, S.P., 2013. Compatibility of *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Cordycipitaceae) blastospores with agricultural chemicals used for management of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). *Insects* 4, 694-711.
- Beys da Silva, W.O., Santi, L., Correa, A.P., Silva, L.A., Bresciani, F. R., Schrank, A., Vainstein, M.H., 2010. The entomopathogen *Metarhizium anisopliae* can modulate the secretion of lipolytic enzymes in response to different substrates including components of arthropod cuticle. *Fun. Biol.* 114, 911-916.
- Butt, T.M., Coates, C.J., Dubovskiy, I.M., Ratcliffe, N.A., 2016. Entomopathogenic fungi: new insights into host-pathogen interactions. *Adv. Genet.* 94, 307-364.
- Chandler, D., 2017. Basic and applied research on entomopathogenic fungi. In: Lacey L.A. (Ed.), *Microbial control of insect and mite pests*. Academic Press, Amsterdam, pp. 69-89.
- Chen, J., Lai, Y., Wang, L., Zhai, S., Zou, G., Zhou, Z., Cui, C., Wang, S., 2017. CRISPR/Cas9-mediated efficient genome editing via blastospore-based transformation in entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Sci. Rep.* 7, 1-10.
- Conlon, B.H., Mitchell, J., De Beer, Z.W., Carøe, C., Gilbert, M.T.P., Eilenberg, J., Poulsen, M., Henrik, H., 2017. Draft genome of the fungus-growing termite pathogenic fungus *Ophiocordyceps bispora* (Ophiocordycipitaceae, Hypocreales, Ascomycota). *Data Brief.* 11, 537-542.
- Dara, S.K., 2015. Root aphids and their management in organic celery. *CAPCA Advi.* 18, 65-70.
- Dara, S.K., 2016. IPM solutions for insect pests in California strawberries: efficacy of botanical, chemical, mechanical, and microbial options. *CAPCA Advi.* 19, 40-46.
- Davidson, E.W., 2012. History of insect pathology. In: Vega, F.E., Kaya, H.K. (Eds.), *Insect pathology*, Elsevier, London, pp. 13-28.
- de Bary, A., 1866. *Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten*, Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- de Faria, M.R., Wraight, S.P., 2007. Myco-insecticides and myco-acaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biol. Control.* 43, 237-256.
- Dietsch, R., Jakobs-Schönwandt, D., Grünberger, A., Patel, A., 2021. Desiccation-tolerant fungal blastospores: from production to application. *Curr. Res. Biotechnol.* 3, 323-339.
- Ding, J.L., Peng, Y.J., Chu, X.L., Feng, M.G., Ying, S.H., 2018. Autophagy-related gene *BbATG11* is indispensable for pexophagy and mitophagy, and contributes to stress response, conidiation and virulence in the insect mycopathogen *Beauveria bassiana*. *Environ. Microbiol.* 20, 3309-3324.
- Engel, M.S., Grimaldi, D.A., 2004. New light shed on the oldest insect. *Nature* 427, 627-630.
- Fernandes, É.K., Rangel, D.E., Braga, G.U., Roberts, D.W., 2015. Tolerance of entomopathogenic fungi to ultraviolet radiation: a review on screening of strains and their formulation. *Curr. Genet.* 61, 427-440.
- Gasmi, L., Baek, S., Kim, J.C., Kim, S., Lee, M.R., Park, S.E., Shin, T.Y., Lee, S.J., Parker, B.L., Kim, J.S., 2021. Gene diversity explains variation in biological features of insect killing fungus, *Beauveria bassiana*. *Sci. Report* 11, 91.

- Hajek, A.E., 1997. Ecology of terrestrial fungal entomopathogens. In: Jones J.G. (Ed.) *Advances in microbial ecology*, Springer, Boston, pp. 193-249.
- Holder, D.J., Kirkland, B.H., Lewis, M.W., Keyhani, N.O., 2007. Surface characteristics of the entomopathogenic fungus *Beauveria (Cordyceps) bassiana*. *Microbiology* 153, 3448-3457.
- Holliday, J., Cleaver, M.P., 2008. Medicinal value of the caterpillar fungi species of the genus *Cordyceps* (Fr.) Link (Ascomycetes). a review. *Int. J. Med. Mushrooms* 10, 219-234.
- Imoulan, A., Wu, H. J., Lu, W. L., Li, Y., Li, B.B., Yang, R.H., Wang, X.L., Kirk, P.M., Yao, Y.J., 2016. *Beauveria medogensis* sp. nov., a new fungus of the entomopathogenic genus from China. *J. Invertebr. Pathol.* 139, 74-81.
- Jaronski, S.T., Jackson, M.A., 2012. Mass production of entomopathogenic Hypocreales. In: Lacey, L.A. (Ed.) *Manual of techniques in invertebrate pathology*, Academic Press, San Diego, pp. 257-286.
- Jitendra, M., Kiran, D., Ambika, K., Priya, S., Neha, K., Sakshi, D., 2012. Biomass production of entomopathogenic fungi using various agro products in Kota region, India. *Int. J. Biol. Sci.* 1, 12-16.
- Kim, J.C., Baek, S., Park, S.E., Kim, S., Lee, M.R., Jo, M., Im, J.S., Ha, P., Kim, J.S., Shin, T.Y., 2020a. Colonization of *Metarhizium anisopliae* on the surface of pine tree logs: A promising biocontrol strategy for the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus*. *Fungal Biol.* 124, 125-134.
- Kim, J.C., Lee, M.R., Kim, S., Lee, S.J., Park, S.E., Baek, S., Gasmil, L., Shin, T.Y., Kim, J.S., 2019. Long-term storage stability of *Beauveria bassiana* ERL836 granules as fungal biopesticide. *J. Asia Pac. Entomol.* 22, 537-542.
- Kim, J.S., Je, Y.H., Skinner, M., Parker, B.L., 2013. An oil-based formulation of *Isaria fumosorosea* blastospores for management of greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). *Pest Manag. Sci.* 69, 576-581.
- Kim, J.S., Kassa, A., Skinner, M., Hata, T., Parker, B.L., 2011. Production of thermotolerant entomopathogenic fungal conidia on millet grain. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 38, 697-704.
- Kim, J.S., Lee, S.J., Skinner, M., Parker, B.L., 2014. A novel approach: *Beauveria bassiana* granules applied to nursery soil for management of rice water weevils in paddy fields. *Pest Manag. Sci.* 70, 1186-1191.
- Kim, S., Kim, J.C., Lee, S.J., Lee, M.R., Park, S.E., Li, D., Baek, S., Shin, T.Y., Kim, J.S., 2020b. *Beauveria bassiana* ERL836 and JEF-007 with similar virulence show different gene expression when interacting with cuticles of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *BMC Genomics* 21, 836.
- Ko, S.H., Shin, T.Y., Lee, J.Y., Choi, C.J., Woo, S.D., 2021. Screening and evaluation of acaropathogenic fungi against the bulb mite *Rhizoglyphus robini*. *J. Asia Pac. Entomol.* 24, 991-996.
- Lacey, L.A., Frutos, R., Kaya, H., Vail, P., 2001. Insect pathogens as biological control agents: do they have a future? *Biol. Control* 21, 230-248.
- Lacey, L.A., Grzywacz, D., Shapiro-Ilan, D.I., Frutos, R., Brownbridge, M., Goettel, M.S., 2015. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. *J. Invertebr. Pathol.* 132, 1-41.
- Lee, J.Y., Woo, R.M., Choi, C.J., Shin, T.Y., Gwak, W.S., Woo, S.D., 2019. *Beauveria bassiana* for the simultaneous control of *Aedes albopictus* and *Culex pipiens* mosquito adults shows high conidia persistence and productivity. *AMB Express* 9, 1-9.
- Lee, M.R., Kim, J.C., Park, S.E., Lee, S.J., Kim, W.J., Lee, D.H., Kim, J.S., 2021. Interactive gene expression between *Metarhizium anisopliae* JEF-290 and longhorned tick *Haemaphysalis longicornis* at early stage of infection. *Front. Physiol.* 12, 643389.
- Lee, M.R., Li, D., Lee, S.J., Kim, J.C., Kim, S., Park, S.E., Baek, S., Shin, T.Y., Lee, D.H., Kim, J.S., 2019. Use of *Metarhizium anisopliae* sl to control soil-dwelling longhorned tick, *Haemaphysalis longicornis*. *J. Invertebr. Pathol.* 166, 107230.
- Lee, S.J., Kim, S., Kim, J.C., Lee, M.R., Hossain, M.S., Shin, T.S., Kim, T.H., Kim, J.S., 2017. Entomopathogenic *Beauveria bassiana* granules to control soil-dwelling stage of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Biocontrol* 62, 639-648.
- Lee, S.J., Lee, M.R., Kim, S., Kim, J.C., Park, S.E., Li, D., Shin, T.Y., Nai, Y.S., Kim, J.S., 2018. Genomic analysis of the insect-killing fungus *Beauveria bassiana* JEF-007 as a biopesticide. *Sci. Report.* 8, 12388.
- Lee, W.W., Shin, T.Y., Bae, S.M., Woo, S.D., 2015. Screening and evaluation of entomopathogenic fungi against the green peach aphid, *Myzus persicae*, using multiple tools. *J. Asia Pac. Entomol.* 18, 607-615.
- Li, D., Park, S.E., Lee, M.R., Kim, J.C., Lee, S.J., Kim, J.S., 2021. Soil application of *Beauveria bassiana* JEF-350 granules to control melon thrips, *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae). *J. Asia-Pacific Entomol.* 24, 636-644.
- Lohse, R., Jakobs-Schönwandt, D., Vidal, S., Patel, A.V., 2015. Evaluation of new fermentation and formulation strategies for a high endophytic establishment of *Beauveria bassiana* in oilseed rape plants. *Biol. Control*, 88, 26-36.
- Lovett, B., St. Leger, R.J., 2017. The insect pathogens. *Microbiol. Spectr.* 5, 5-2.
- Lovett, B., St. Leger, R.J., 2018. Genetically engineering better fungal biopesticides. *Pest Manag. Sci.* 74, 781-789.
- Market Research, 2020. Global *Beauveria bassiana* insecticide market growth (Status and Outlook) 2020-2025, LP Information, Inc., USA. <https://www.marketresearch.com/LP-Information-Inc-v4134/Global-Beauveria-Bassiana-Insecticide-Growth-1351516-9/> (accessed on 22 December, 2020).
- Misof, B., Liu, S., Meusemann, K., Peters, R.S., Donath, A., Mayer, C., Frandsen, P.B., Ware, J., Flouri, T., Beutel, R.G., 2014. Phylogenomics resolves the timing and pattern of insect evolution.

- Science 346, 763-767.
- Molnár, I., Gibson, D.M., Krasnoff, S.B., 2010. Secondary metabolites from entomopathogenic Hypocrealean fungi. *Nat. Prod. Rep.* 27, 1241-1275.
- Nishi, O., Sushida, H., Higashi, Y., Iida, Y., 2021. Epiphytic and endophytic colonisation of tomato plants by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* strain GHA. *Mycology* 12, 39-47.
- Park, S.E., Kim, J.C., Lee, S.J., Lee, M.R., Kim, S., Li, D., Baek, S., Han, J.H., Kim, J.J., Koo, K.B., 2018. Solid cultures of thrips-pathogenic fungi *Isaria javanica* strains for enhanced conidial productivity and thermotolerance. *J. Asia Pac. Entomol.* 21, 1102-1109.
- Pereira, H., Willeput, R., Detrain, C., 2021. A fungus infected environment does not alter the behaviour of foraging ants. *Sci. Rep.* 11, 1-13.
- Rana, S., Beer, A., Birkett, R., Pegg, J.R., 2019. *Biologicals 2019 - An analysis of corporate, product and regulatory news in 2018/2019.* Agrow Agribusiness Intelligence. <https://docplayer.net/136726222-Agribusiness-intelligence-biologicals-an-analysis-of-corporate-product-and-regulatory-developments-in-2018-2019.html> (accessed on January, 2021).
- Rangel, D.E., Braga, G.U., Fernandes, É.K., Keyser, C.A., Halls-worth, J.E., Roberts, D.W., 2015. Stress tolerance and virulence of insect-pathogenic fungi are determined by environmental conditions during conidial formation. *Curr. Genet.* 61, 383-404.
- Resquín-Romero, G., Garrido-Jurado, I., Delso, C., Ríos-Moreno, A., Quesada-Moraga, E., 2016. Transient endophytic colonizations of plants improve the outcome of foliar applications of myco-insecticides against chewing insects. *J. Invertebr. Pathol.* 136, 23-31.
- Ruii, L., 2018. Microbial biopesticides in agroecosystems. *Agronomy* 8, 235.
- Santos, M.P., Dias, L.P., Ferreira, P.C., Pasin, L.A., Rangel, D.E., 2011. Cold activity and tolerance of the entomopathogenic fungus *Tolyocladium* spp. to UV-B irradiation and heat. *J. Invertebr. Pathol.* 108, 209-213.
- Sevim, A., Donzelli, B.G., Wu, D., Demirbag, Z., Gibson, D.M., Turgeon, B.G., 2012. Hydrophobin genes of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium brunneum*, are differentially expressed and corresponding mutants are decreased in virulence. *Curr. Genet.* 58, 79-92.
- Shah, P., Pell, J., 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 61, 413-423.
- Shapiro-Ilan, D.I., Bruck, D.J., Lacey, L.A., 2012. Principles of epizootiology and microbial control. In: Vega, F., Kaya, H.K. (Eds.), *Insect pathology.* Elsevier, San Diego, pp. 29-72.
- Shin, T.Y., Bae, S.M., Kim, D.J., Yun, H.G., Woo, S.D., 2017. Evaluation of virulence, tolerance to environmental factors and antimicrobial activities of entomopathogenic fungi against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Mycoscience* 58, 204-212.
- Shin, T.Y., Lee, M.R., Park, S.E., Lee, S.J., Kim, W.J., Kim, J.S., 2020. Pathogenesis-related genes of entomopathogenic fungi. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 105, e21747.
- Shin, T.Y., Lee, W.W., Ko, S.H., Choi, J.B., Bae, S.M., Choi, J.Y., Lee, K.S., Je, Y.H., Jin, B.R., Woo, S.D., 2013. Distribution and characterisation of entomopathogenic fungi from Korean soils. *Biocontrol Sci. Technol.* 23, 288-304.
- Song, M.H., Yu, J.S., Kim, S., Lee, S.J., Kim, J.C., Nai, Y.S., Shin, T.Y., Kim, J.S., 2019. Downstream processing of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*-based fungal biopesticides against *Riptortus pedestris*: solid culture and delivery of conidia. *Biocontrol Sci. Technol.* 29, 514-532.
- Srinivasan, R., Sevgan, S., Ekesi, S., Tamò, M., 2019. Biopesticide based sustainable pest management for safer production of vegetable legumes and brassicas in Asia and Africa. *Pest Manag. Sci.* 75, 2446-2454.
- St Leger, R., Screen, S., 2001. Prospects for strain improvement of fungal pathogens of insects and weeds. In: Butt, T., Jackson, C., Magan, N. (Eds.), *Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential.* CABI, Walingford, pp. 219-237.
- Stork, N.E., 2018. How many species of insects and other terrestrial arthropods are there on Earth?. *Annu. Rev. Entomol.* 63, 31-45.
- Sung, G.H., Poinar Jr, G.O., Spatafora, J.W., 2008. The oldest fossil evidence of animal parasitism by fungi supports a Cretaceous diversification of fungal-arthropod symbioses. *Mol. Phylogenet. Evol.* 49, 495-502.
- Valero-Jiménez, C.A., Wieggers, H., Zwaan, B.J., Koenraadt, C.J., van Kan, J.A., 2016. Genes involved in virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *J. Invertebr. Pathol.* 133, 4149.
- Vega, F.E., Goettel, M.S., Blackwell, M., Chandler, D., Jackson, M.A., Keller, S., Koike, M., Maniania, N.K., Monzón, A., Ownley, B.H., Pell, J.K., Rangel, D.E.N., Roy, H.E., 2009. Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. *Fungal Ecol.* 2, 149-159.
- Vega, F.E., Posada, F., Catherine Aime, M., Pava-Ripoll, M., Infante, F., Rehner, S.A., 2008. Entomopathogenic fungal endophytes. *Biol. Control.* 46, 72-82.
- Wang, C., St Leger, R.J., 2007. The MAD1 adhesin of *Metarhizium anisopliae* links adhesion with blastospore production and virulence to insects, and the MAD2 adhesin enables attachment to plants. *Eukaryot. Cell* 6, 808-816.
- Wang, C., St. Leger, R.J., 2005. Developmental and transcriptional responses to host and nonhost cuticles by the specific locust pathogen *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*. *Eukaryot. Cell* 4, 937-947.
- Wang, C., Wang, S., 2017. Insect pathogenic fungi: genomics, molecular interactions, and genetic improvements. *Annu. Rev. Entomol.* 62, 73-90.
- Wei, G., Lai, Y., Wang, G., Chen, H., Li, F., Wang, S., 2017. Insect pathogenic fungus interacts with the gut microbiota to accelerate

-
- mosquito mortality. Proc. Natl. Acad. Sci. 114, 5994-5999.
- Xu, C., Zhang, X., Qian, Y., Chen, X., Liu, R., Zeng, G., Zhao, H., Fang, W., 2014. A high-throughput gene disruption methodology for the entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii*. PLoS ONE 9, e107657.
- Yang, Y.T., Lee, S.J., Nai, Y.S., Kim, S., Kim, J.S., 2016. Up-regulation of carbon metabolism-related glyoxylate cycle and toxin production in *Beauveria bassiana* JEF-007 during infection of bean bug, *Riptortus pedestris* (Hemiptera: Alydidae). Fun. Biol. 120, 1236-1248.
- Yu, J.S., Lee, S.J., Shin, T.Y., Kim, W.J., Kim, J.S., 2020. Enhanced thermotolerance of entomopathogenic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* JEF-isolates by substrate modification. Int. J. Indus. Entomol. 41, 28-35.
- Zhao, X., Yang, X., Lu, Z., Wang, H., He, Z., Zhou, G., Zhang, Y., 2019. MADS-box transcription factor Mcm1 controls cell cycle, fungal development, cell integrity and virulence in the filamentous insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Environ. Microbiol. 21, 3392-3416.
- Zimmermann, G., 1993. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. Pestic. Sci. 37, 375-379.