

## 국내 미기록 콩씨스트선충 기생세균, *Pasteuria nishizawae* Sayre, Wergin & Nishizawa의 보고

이영기\* · 김동근<sup>1</sup> · 이재국 · 이수현 · 최용철  
농업과학기술원, <sup>1</sup>성주과채류시험장

### First Report of *Pasteuria nishizawae* Sayre, Wergin, & Nishizawa Attacking *Heterodera glycines* in Korea

Young Kee Lee\*, Dong Geun Kim<sup>1</sup>, Jae Kook Lee, Su Heon Lee and Yong Chul Choi

National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea

<sup>1</sup>Songju Fruit Vegetable Experiment Station, Songju, Kyongbuk, 719-860, Korea

**ABSTRACT:** Obligate bacterial parasite attacking *Heterodera glycines* was firstly found from Chungju soybean field in Korea. Diameters of sporangium and central body were 5.6  $\mu\text{m}$  and 1.9  $\mu\text{m}$  under light microscopy (LM), and 3.9  $\mu\text{m}$  and 1.8  $\mu\text{m}$  under transmission electron microscopy (TEM). Endospore showed cup-shaped with smooth-type exosporium without peg-like thickening in polar area under SEM and TEM. Bacteria completed its life cycle in female of soybean cyst nematode after adhering on cuticle of second-stage juvenile. From these results, the *Pasteuria* found from Chungju was identified with *P. nishizawae*.

**Key words:** bacterium, biological control, morphology, taxonomy, soybean cyst nematode.

절대기생세균인 *Pasteuria*는 세계적으로 4종이 알려져 있으며 물벼룩이나 선충에 기생한다. *P. ramosa* Sayre, Gherna, & Wergin(12)는 1888년 물벼룩에서 처음 발견되었다. 선충에 기생하는 종으로 처음 발견된 기생세균은 *P. penetrans*로서, 1940년대에는 포자충강(sporozoa)인 *Duboscqia penetrans*로 불렸었고(21), 그후 *Bacillus penetrans*로 바뀌었다가(7), 1975년 Sayre에 의해 *Pasteuria penetrans*로 확정되었다. 그외 *Pasteuria* 종으로서는 뿌리썩이선충(*Pratylenchus brachyurus*)에 기생하는 *P. thornei* Starr & Sayre(19), 콩씨스트선충(*Heterodera glycines*)에 기생하는 *P. nishizawae* Sayre, Wergin, & Schmidt(15) 등이 보고되어 있다. 일반적으로 인공배양이 가능한 세균의 분류는 형태적 특징과 배양적 특성을 이용하지만 이들 절대기생세균은 광학 및 전자현미경 관찰에 의한 포자의 형태적 특징과 기주 기생관계에 의한 동정법을 사용한다(11, 15).

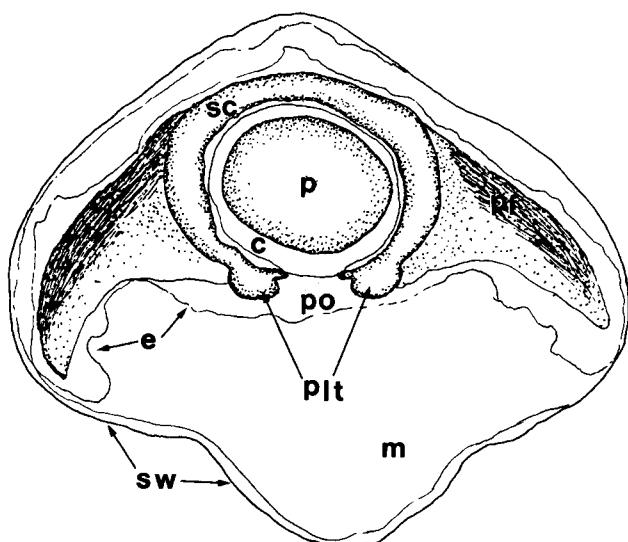
선충에 기생하는 *Pasteuria*는 전세계 68개국 102속 236종의 선충에서 보고되어 있으나(2) 국내에서는 아직 보고된 바 없다. 1995년, 충청북도 충주시 양성면 지당리(이하 '충주')에서 콩씨스트선충(*Heterodera glycines*)에 기생하는 *Pasteuria* 1종을 국내 처음으로 발견하였기에

그 형태적 특성을 조사하여 보고한다.

### 재료 및 방법

**형태적 구조.** *Pasteuria*는 세포의 미세한 형태적 구조가 분류의 중요한 열쇠이다. 문헌에 의하면, 동일 부분의 내생포자가 endospore(15), central core(4), central endosporal body(10), central body(15) 등으로 다양하게 사용되고 있어서 먼저 형태적 특징 및 명칭을 설명하고자 한다. 형태적 구조에 대한 명칭은 *Neurospora* spp.를 분류한 Sussman & Halvorson(20)과 그림 양성세균을 분류한 Iterson(5)의 방법을 *Pasteuria*에 적용한 Sayre(15) 등의 방법을 따랐으며 Fig. 1과 같다. 1) 포자낭(sporangium)은 선충 체내에 있는 성숙된 세균으로, 2) 포자낭 벽(sporangium wall)으로 덮혀있으며, 이 벽이 벗겨진 상태를 내생포자(endospore)라 하며, 내생포자 상태로 토양에 존재하면서 선충의 표피에 붙게 된다. 3) 내생포자는 둥근 비행접시모양의 외피(exosporium)로 덮혀있고, 4) 가운데에는 공 모양의 중심체(central core, central endosporal body, central body)가 있으며, 5) 중심체의 주위는 선충의 표피에 붙는 역할을하는 부착섬유(parasporal fibers, parasporal attachment fibers)가 있다. 6) 이 중심체는 내부의 원형질(protoplasm)과 이것

\*Corresponding author.



**Fig. 1.** Line drawing of cross-section of a spore of *Pasteuria penetrans* from *Meloidogyne incognita*. Photographed under transmission electron microscopy. The protoplast (p) surrounded by a cortex (c) and spore coat (sc) with peg-like thickenings (plt), parasporal fibers (pf), basal pore (po), exosporeum (e), matrix (m), and the surrounding sporangial wall (sw).

을 둘러싸고 있는 중심체 막(spore coat)으로 이루어져 있는데, 7) 중심체의 아래쪽에는 발아공(basal pore, central opening)이 있어 이 부분으로 발아관(germ tube)이 나와 선충의 표피를 뚫고 들어간다.

**기생세균 증식 및 선충분리.** 1996년 6월, *Pasteuria*의 발생이 확인된 '충주' 콩밭에서 5 kg의 흙을 채집하여, 일부는 선충 분리에 사용하고, 나머지는 직경 15 cm되는 토분에 담아 콩(cv. 'Lee 74')를 심고 온실에서 계속 증식시켰다. 선충의 분리는 채집된 토양을 잘 섞은 후 1 kg을 취하고 씨스트는 20 mesh(850 µm)와 60 mesh(250 µm) 체를, 유충은 500 mesh(26 µm)체를 이용하여 1차 분리한 후 설탕 부유원심분리법으로 씨스트와 유충을 각각 분리하였다(17).

**광학현미경 검정.** 유충은 글리세린법(17)으로 슬라이드 표본을 만들었으며, 광학현미경(Olympus BH-2) 200~400배율에서 유충 표피에 붙은 내생세균 포자의 유무, 포자의 형태적 특징, 포자의 부착부위 및 크기를 조사하였고, 내생포자의 크기는 20개를 측정하였다. 기생된 씨스트는, 씨스트를 잡아 터트려, 씨스트 내부에 생성된 포자를 관찰하였다.

**주사 전자현미경 검정.** 선충의 전자현미경 시료조제는 기준의 방법을 따랐다(6). 세균에 감염된 유충과 씨스트를 1% glutaraldehyde에 넣고 4°C에서 12시간 동안 고정한 후 0.05 M phosphate buffer(pH 6.8)를 이용하여 20분씩 2회 세척하였으며, 2% osmic acid에 2시간 동

안 이중 고정한 후 증류수로 2회 세척하였다. 고정된 표본은 30, 50, 70, 90, 95% ethanol에 1회, 100% ethanol에 3회, amyl acetate에 2회씩 각각 40분간 서서히 탈수한 후, 임계점 건조(Hitachi, HCP-2 Critical Point Dryer) 과정을 거쳐 200~300 Å의 gold-palladium을 입혀서 주사 전자현미경(Hitachi S570)을 20 kV로 작동하여 검정 하였다.

**투과 전자현미경 검정.** 세균에 기생된 씨스트를 콜라서 Karnovsky 고정액(2% glutaraldehyde, 2% paraformaldehyde in 0.05 M cacodylate buffer, pH 7.2)에 넣고 약한 진공상태를 유지하면서 2시간 동안 고정한 후 0.05 M cacodylate buffer(pH 7.2)로 20분씩 2회 세척하였고, 다시 1% osmic acid로 2시간 동안 고정한 후, 증류수로 2회 세척하였다. 세척한 씨스트는 0.5% uranyl acetate를 넣고 4°C에서 12시간 두었다(6). 전처리가 완료된 시료는 주사 전자현미경 시료 조제시와 동일한 농도의 ethanol 및 propylene oxide로 각각 20분씩 탈수시킨 후, Spurr 수지에 포매하였으며 70°C에서 8시간 동안 중합시켰다(18). 중합된 시료는 초박절편기(LKB 5000)를 이용하여 60~100 nm 두께로 자르고 2% uranyl acetate와 lead citrate액으로 염색한 후 투과 전자현미경(Zeiss 109)으로 검정 하였다.

## 결 과

1996년 전국 8개도에서 37점의 콩씨스트선충 감염 토양을 채집하여 조사한 결과, 밀양과 충주, 2개지역에서 콩씨스트선충에 기생하는 절대기생세균인 *Pasteuria* sp.를 발견하였으며 본 연구는 충주에서 발견된 *Pasteuria* sp.를 대상으로 하였다.

**광학현미경 검정.** 광학현미경 400배에서 유충의 표피에 컵 모양으로 둥글게 돌출되어 붙어 있는 포자를 확인할 수 있었으며(Fig. 2), 포자가 붙어 있는 부위는 두부, 복부 및 꼬리 부위에 관계없이 부착되어 있어 기생 부위가 특별히 정해진 것은 아니었다. 내생포자의 직경과 높이는 Table 1과 같으며, 수컷의 표피에는 포자가 붙어있지 않았다. *Pasteuria* 세균에 감염된 씨스트는 크기가 약간 작고, 색깔은 흰색 또는 불투명한 우유빛으로(전전한 씨스트는 반짝이는 진한 갈색), 씨스트를 깨트렸을 때, 전전한 씨스트에는 알과 유충이 들어 있었으나 기생된 씨스트에는 점액성 물질과 함께 컵 모양의 많은 포자가 나왔다(Fig. 3A). 씨스트 1개에는  $1.7 \pm 1.1 \times 10^5$  개의 포자가 들어 있었다.

**주사 전자현미경 검정.** 유충의 표피에 붙은 포자는 타원형 또는 원형의 컵 모양이었으며 표면은 비교적 매끈하였다(Fig. 3B, D, F). 유충의 표피에 붙은 포자는 2종류였는데, 외피에 덮여 있는 내생포자(Fig. 3D)와 외

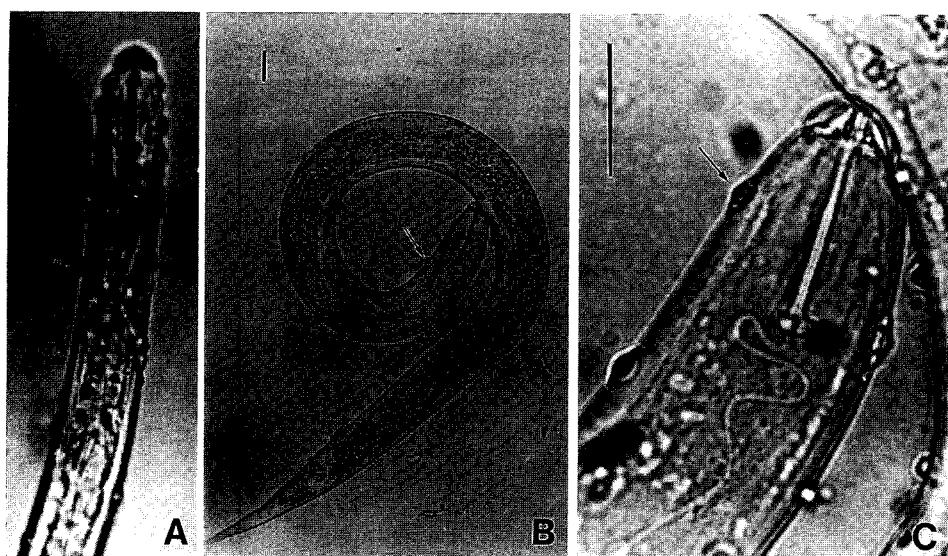


Fig. 2. Light photomicrographs of *Pasteuria nishizawae* spores (arrow) attached on juveniles of *Heterodera glycines* in Korea; anterior (A), entire (B) and head part (C) of juvenile (bar=10  $\mu\text{m}$ ).

Table 1. Comparison of Chungju *Pasteuria* sp. from *Heterodera glycines* in Korea, *Pasteuria nishizawae*, and *P. penetrans*

Characteristics <sup>a</sup>	Chungju isolate	<i>Pasteuria nishizawae</i> <sup>b</sup>	<i>Pasteuria penetrans</i> <sup>b</sup>
Sporangium			
Shape	Cup-shape	Cup-shape	Cup-shape
Diameter LM	5.6±0.4 <sup>c</sup>	5.3±0.3	4.5±0.3
TEM	3.9±0.4	4.4±0.3	3.4±0.2
Exosprium	Present: relatively smooth surface	Present: velutinous to hairy surface	Present: relatively smooth surface
Endospore			
Shape	Oblate spheroid, ellipsoid, broadly elliptic in section	Oblate spheroid, ellipsoid, narrowly elliptic in section	Oblate spheroid, ellipsoid, broadly elliptic in section
Diameter LM	1.9±0.2	2.1±0.2	2.1±0.2
TEM	1.8±0.2	1.6±0.2	1.4±0.1
Partial epicortical wall	Entirely surrounds endospore	Entirely surrounds endospore	Surrounds endospore laterally, not basal or polar areas
Pore			
Shape	Thickness of basal wall and depth of pore constant	Thickness of basal wall and depth of pore constant	Basal annular opening formed from thickened outer wall
Diameter LM	0.2±0.0	0.2±0.0	0.3±0.1
TEM	1.8±0.2	1.6±0.2	1.4±0.1
Peg-like thickening	Absent	Absent	Present
Host	Cyst nematode: <i>Heterodera</i> spp.	Cyst nematode: <i>Heterodera</i> spp.	Root-knot nematode, <i>Meloidogyne incognita</i>
Complete life cycle	No; only in adult in juveniles	No; only in adult	No; only in adult

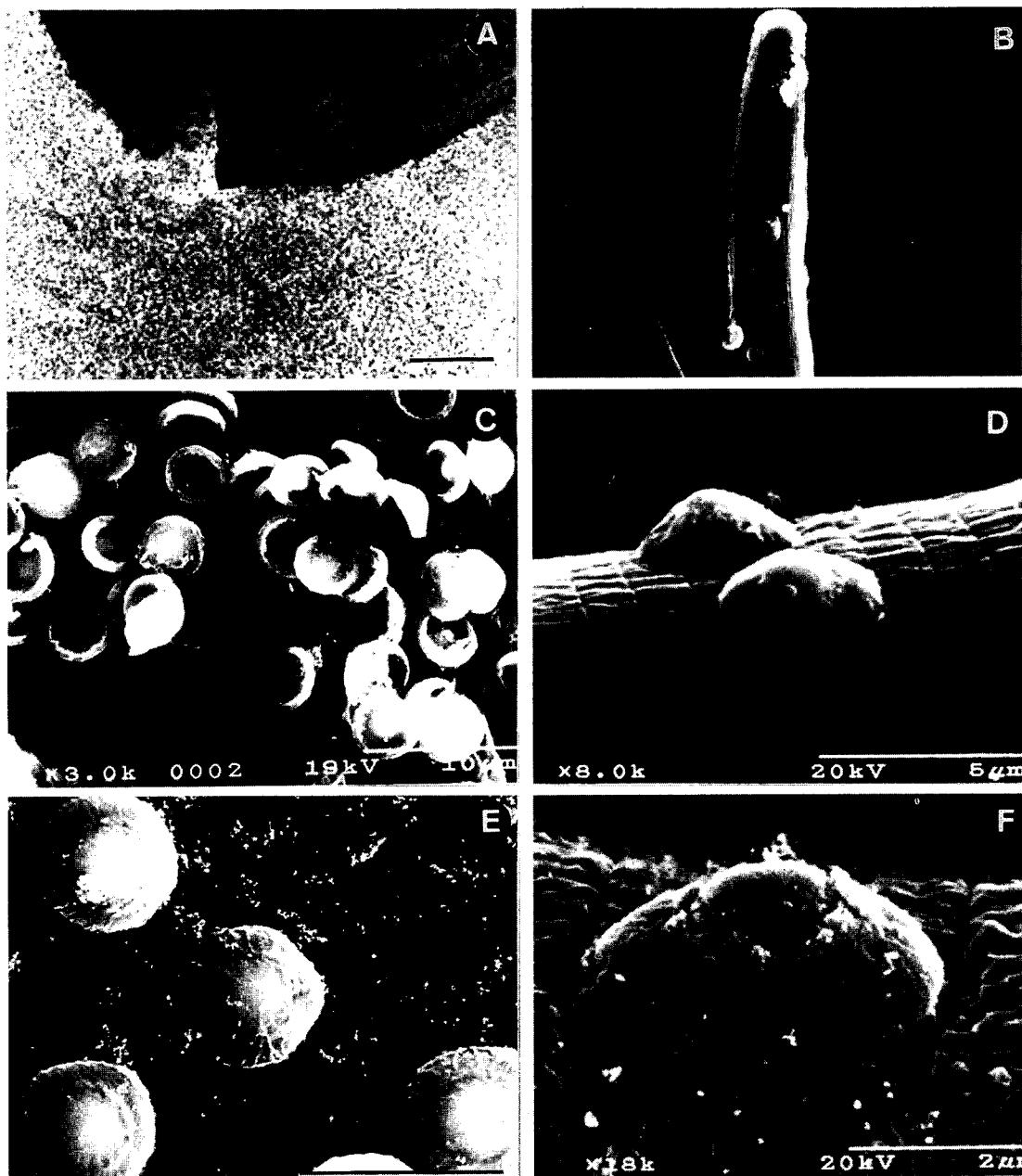
<sup>a</sup>LM: light microscopy, TEM: transmission electron microscopy.

<sup>b</sup>Data was referenced from Sayre (11).

<sup>c</sup>All measurements are in micrometers.

피를 상실하고 중심체와 중심체를 싸고 있는 부착점유가 노출된 모양이었으며(Fig. 3F), 이때 포자의 위 표면(dorsal surface)은 약간 수축된 매끈한 둥근 모양이었고(Fig. 3E), 밑면(ventral surface)은 거칠고 움푹 들어간 모양이었다(Fig. 3C).

투과 전자현미경 검정. *Pasteuria*에 기생된 씨스트 내에는 다양한 형태의 포자낭 단면이 나타났다(Fig. 4A). 포자낭, 내생포자, 발아공의 크기는 3.9  $\mu\text{m}$ , 1.8  $\mu\text{m}$ , 0.2  $\mu\text{m}$ <sup>d</sup>이었으며(Table 1), 내생포자는 볼록렌즈 모양을 유지하고 있었고 외부는 외피로 덮혀있는 것을 확인할 수 있었



**Fig. 3.** Light and scanning electron micrographs of *Pasteuria nishizawae* from *Heterodera glycines* in Korea. A: Numerous sporangia released from crushed cyst (bar=100  $\mu\text{m}$ ), B: Spores attached on the cuticle of juvenile of *H. glycines* (bar=20  $\mu\text{m}$ ) and higher magnification (D, E). Spores viewed from their ventral (C) and dorsal (E) surfaces (bar=5  $\mu\text{m}$ ).

다(Fig. 4B). 중심체 주위에는 중심체로부터 직접 발생한 것으로 보이며 선충 표피에 부착하는 기능을 하는, 짧은 섬유들이 많이 있었으며, 이들이 모여 부착섬유를 형성하였다. 원형질을 둘러 싸고 있는 중심체 막은 *P. penetrans*에서 특징적으로 나타나는 밀아공 부분의 끊어진 부분이나 그 아래로 이어진 돌기가 없이 이어져 있어 충주에서 발견된 *Pasteuria*는 *P. penetrans*가 아님이 확인되었다.

## 고 칠

*Pasteuria* 세균은 토양 중에 존재하다가, 지나가는 선충의 표피에 부착된 후 발아관이 선충 표피를 뚫고 들어가서 선충의 내부에서 기생하는데, 선충의 발육에는 최소한의 영향을 미치나 마지막 생식생장 단계에서 생식을 방해하여 성숙된 씨스트의 내부는 알 대신 포자로 가득 차게 된다. 이 세균은 인공 배양이 불가능하기 때문에 일반 세균 분류에 사용하는, 균총모양, 균총 색, 균주의 생리, 적응 온도, 세포벽 물질 등의 배양적 특성을 이용할 수 없으므로 주로 포자의 형태와 기주 선충과의 생물학

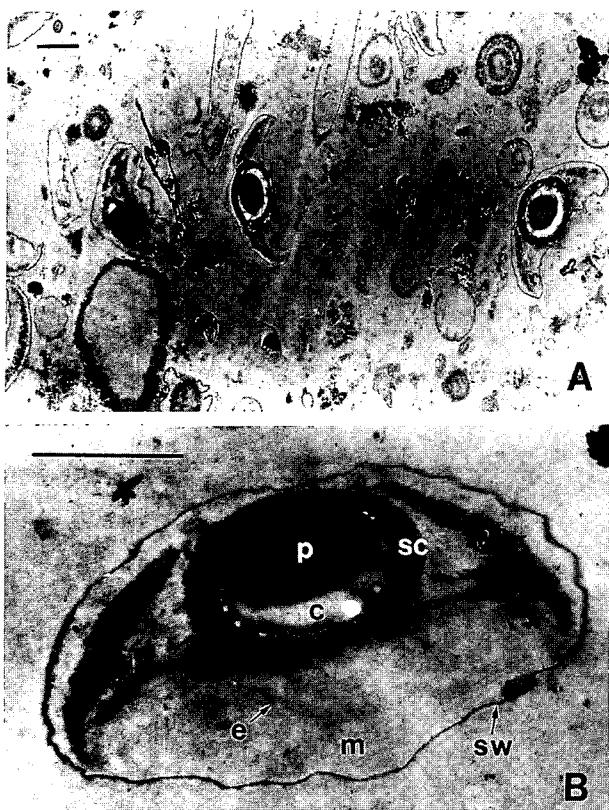


Fig. 4. Transverse median section of a spore of *Pasteuria nishizawae* from *Heterodera glycines*. Photographed under transmission electron microscopy (A, B) show protoplast (p) surrounded by a cortex (c) and spore coat (sc), parasporal fibers (pf), an exosprium (e), a matrix (m), and the surrounding sporangial wall (sw). Bar=1  $\mu$ m.

적 상호관계에 따라 분류한다. 일반적으로 광학현미경 검경은 형태 변형이나 수축 현상이 적어 정확성을 떨 수 있으나 해상력이 낮고, 주사 전자현미경(SEM) 검경은 형태 변형이 다소 일어날 수 있지만 높은 해상력으로 외부 특징을 상세히 관찰할 수 있는 장점이 있다. 이번 관찰에서도 SEM에서 형태적 크기는 광학현미경에서 측정된 크기보다 작은 것으로 나타났는데, 이러한 결과는 주사 전자현미경을 이용할 때 기생 세균의 크기는 고정, 탈수 및 임계점 건조 과정에서 수축 현상이 일어나기 때문으로 생각되며, SEM 관찰시 세균 포자의 크기는 광학현미경이나 2% formalin으로 조사한 것보다 크기가 작다고 보고한(15) 내용과 일치한다.

4종 *Pasteuria*의 특성은 비교적 잘 알려져 있는데(7, 11-15, 19) *P. ramosa*와 *P. thornei*는 포자가 각각 물방울 모양과 곤봉 모양이며, *P. penetrans*와 *P. nishizawae*는 컵 모양이다. 충주 *Pasteuria* sp.의 포자는 컵 모양으로서 *P. nishizawae*나 *P. penetrans*의 모양과 비슷하였으며 포자낭의 크기는 광학현미경에서 5.6  $\mu$ m, TEM에서 3.9  $\mu$ m로 *P. nishizawae*에 가까웠다(Table 1).

*P. penetrans*와 *P. nishizawae*의 가장 큰 차이는 발아공 주위의 미세구조에 있다. *P. penetrans*는 중심체 막(partial epicortical wall)의 발아공(polar basal) 부분이 끊어져 있고 그 주위에 돌기(peg-like thickening)가 존재하지만, *P. nishizawae*는 발아공 부분이 이어져 있고 돌기는 없다(15). 따라서, 충주 *Pasteuria* sp.는 발아공 부분이 이어져 있고 돌기가 없으므로 *P. nishizawae*와 일치하였다.

씨스트선충 중에서 *Pasteuria*의 기생이 알려진 종은 7종인데, 그중 *Globodera rostochiensis*(15), *Heterodera avenae*(3), *H. fici*(1), *H. goettingiana*(22) 등은 유충에서만 세균이 발견되었고, 반면에 유충과 씨스트 모두에서 세균이 발견된 종은 *H. cajani*(16), *H. elachista*, *H. glycines*(15)이다. 세균이 유충과 씨스트 모두에서 발견된다는 사실은 특히 중요한데, 그 이유는 세균이 씨스트 선충의 암컷에 기생할 수 있음을 보여주기 때문이다. 1994년 미국에서 콩씨스트선충의 유충에 기생하는 1종의 *Pasteuria*가 발견되었으나, 단지 유충에만 기생이 되고 씨스트에는 번식할 수 없어 Noel 등은 *P. nishizawae*가 아닌 다른 종이라고 추측하였다(10). *P. nishizawae*는 일본에서 벼씨스트선충 *H. elachista*로부터 처음 발견되었고, 콩씨스트선충에는 인공 접종을 통하여 씨스트에도 기생 할 수 있음이 확인되었는데(8, 9), 현재까지 알려진 바에 의하면 콩씨스트선충의 씨스트에 기생할 수 있는 *Pasteuria*는 *P. nishizawae* 1종 뿐이다.

충주 *Pasteuria* sp.는 1) 콩씨스트선충의 씨스트 내에서 포자가 발육한다는 점, 2) 발아공 부분이 끊어지지 않고 이어져 있는 점, 3) 발아공 부분에 돌기가 없는 점 등을 근거로 *P. nishizawae*로 동정하였다. 원기록(15)의 *P. nishizawae*는 외막이 거칠고 *P. penetrans*의 외막은 매끈한 모양인데, 충주 *Pasteuria*의 외막은 매끈한 모양으로 *P. penetrans*의 외막과 비슷하였다. 그러나 외막이 다르다는 특징만으로 새로운 종으로 기록하기는 충분치 않다.

## 요 약

국내 처음으로 절대기생세균인 *Pasteuria*가 콩씨스트 선충으로부터 발견되어 광학현미경, 주사 전자현미경, 투과 전자현미경을 이용하여 그 특성을 조사하였다. 포자낭(sporangium)의 크기는 광학현미경과 투과 전자현미경 하에서  $5.6 \pm 0.4 \mu\text{m}$ 과  $3.9 \pm 0.4 \mu\text{m}$ 였으며, 중심체의 크기는  $1.9 \pm 0.2 \mu\text{m}$ 과  $1.8 \pm 0.2 \mu\text{m}$ 였다. 내생포자(endospore)는 매끈한 형태의 외막(exosprium)을 가진 컵모양으로서 발아공(polar basal) 부분은 이어져 있었고 발아공 부분에 돌기(peg-like thickening)는 없었다. 이 세균은 유충에 기생되어 콩씨스트선충의 암컷(씨스트) 체내에서 생활사가 완료되었다. 이상의 결과로 충주에서 발견된 *Pasteuria*는 *P. nishizawae*로 동정되었다.

## 참고문헌

1. Abrantes, IM de O. and Vovlas, N. 1988. A note on parasitism of the phytonematodes *Meloidogyne* sp. and *Heterodera fici* by *Pasteuria penetrans*. *Can. J. Zool.* 66 : 2852-2854.
2. Ciancio, A., Bonsignore, R., Vovlas, N. and Lamberti, F. 1994. Host records and spore morphometrics of *Pasteuria penetrans* group parasites of nematodes. *J. Invertebr. Pathol.* 63 : 260-267.
3. Davies, K.G., Flynn C.A., Laird, V. and Kerry, B.R. 1990. The life-cycle, population dynamics and host specificity of a parasite of *Heterodera avenae*, similar to *Pasteuria penetrans*. *Rev. Nematol.* 13 : 303-309.
4. Inserra, R.N., Oostendorp, M. and Dickson, D.W. 1992. *Pasteuria* sp. parasitizing *Trophonema okamotoi* in Florida. *J. Nematol.* 24 : 36-39.
5. Iterson, W.V. 1988. Inner structures of bacteria. Van Noststrand Reinhold Co., New York. 302pp. (In Sayre et al., 1991)
6. Kim, D.G., Kim, K.S. and Riggs, R.D. 1992. Ultrastructure of *Heterodera glycines* parasitized by Arkansas fungus 18. *Phytopathology* 82 : 429-433.
7. Mankau, R. 1975. *Bacillus penetrans* n. comb. causing a virulent disease of plant-parasitic nematodes. *J. Invertebr. Pathol.* 26 : 333-339.
8. Nishizawa, T. 1984. Effects of two isolates of *Bacillus penetrans* for control of root-knot nematodes and cyst nematodes. *Proc. First Inter. Cong. Nematol.* 60-61.
9. Nishizawa, T. 1987. A decline phenomenon in a population of the upland cyst nematode, *Heterodera elachista*, caused by a bacterial parasite, *Pasteuria penetrans*. *J. Nematol.* 19 : 546.
10. Noel, G.R. and Stanger, B.A. 1994. First report of *Pasteuria* sp. attacking *Heterodera glycines* in North America. *Suppl. J. Nematol.* 26 : 612-615.
11. Sayre, R.M. 1993. *Pasteuria*, Metchnikoff, 1888. In: *Bacillus subtilis and other gram-positive bacteria; biochemistry, physiology, and molecular genetics*. Ed. by Sonenschein, A.L., Hoch, J.A. and Losick, R. pp.101-111. Amer. Soc. Microbiol., Washington, DC.
12. Sayre, R.M., Gherna, R.L. and Wergin, W.P. 1983. Morphological and taxonomic reevaluation of *Pasteuria ramosa* Metchnikoff 1888 and *Bacillus penetrans* Mankau. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 33 : 636-649.
13. Sayre, R.M. and Starr, M.P. 1985. *Pasteuria penetrans* (ex Thorne, 1940) nom. rev., comb. n., sp. n., a mycelial and endospore-forming bacterium parasitic in plant-parasitic nematodes. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 52 : 149-165.
14. Sayre, R.M. and Wergin, W.P. 1977. Bacterial parasite of a plant nematode: morphology and ultrastructure. *J. Bacteriol.* 129 : 1091-1101.
15. Sayre, R.M., Wergin, W.P., Nishizawa, T. and Starr, M.P. 1991. Light and electron microscopical study of a bacterial parasite from the cyst nematode, *Heterodera glycines*. *J. Helminthol. Soc. Wash.* 58 : 69-81.
16. Singh, B. and Dhawan, S.C. 1994. Effect of *Pasteuria penetrans* on the penetration and multiplication of *Heterodera cajani* in *Vigna unguiculata* roots. *Nematol. Mediter.* 22 : 159-161.
17. Southey, J.F. 1986. *Laboratory methods for work with plant and soil nematodes*. Her Majesty's Stationery Office, London. 202pp.
18. Spurr, A.R. 1969. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J. Ultra. Res.* 26 : 31-43.
19. Starr, M.P. and Sayre, R.M. 1988. *Pasteuria thornei* sp. nov. and *Pasteuria penetrans* sensu stricto emend., mycelial and endospore-forming bacteria parasitic, respectively, on plant-parasitic nematodes of the genera *Pratylenchus* and *Meloidogyne*. *Ann. Inst. Pasteur/Microbiol.* 139 : 11-31.
20. Sussman, A.S. and Halvorson, H.O. 1966. Spores: Their dormancy and germination. Harper and Row, New York. 354pp. (In Sayre et al. 1991)
21. Thorne, G. 1940. *Duboscqia penetrans* n. sp. (Sporozoa: Microsporidia, Nosematidae), a parasite of the nematode *Pratylenchus pratensis* (de man) Filipjev. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 7 : 51-53.
22. Winkelheide, R. and Sturhan, D. 1993. Light-microscopical studies on development and morphology of a bacterium of the genus *Pasteuria* parasitizing *Heterodera goettingiana*. *Zentr. Mikrobiol.* 148 : 109-116.

(Received December 9, 1998)