

온도 및 농도가 곤충병원성 선충, *Steinernema carpocapsae* 포천 계통 (Nematoda: Steinernematidae)의 병원성과 증식에 미치는 영향

추호렬* · 이동운¹ · 윤희숙 · 이상명² · 함 다오 싸이

경상대학교 응용생명과학부, ¹상주대학교 농업과학연구소, ²임업연구원 남부임업시험장

Effects of Temperature and Nematode Concentration on Pathogenicity and Reproduction of Entomopathogenic Nematode, *Steinernema carpocapsae* Pocheon Strain (Nematoda: Steinernematidae)

Ho Yul Choo*, Dong Woon Lee¹, Hee Sook Yoon, Sang Myeong Lee² and Dao Thi Hang

Division of Applied Life Science, Institute of Agriculture & Life Sciences,
Gyeongsang National University, Jinju, 660-701, Republic of Korea

¹Institute of Agricultural Sciences, Sangju National University, Sangju, 742-711, Republic of Korea

²Nambu Forestry Experiment Station, Forestry Research Institute, Jinju, Gyeongnam, 660-300, Republic of Korea

ABSTRACT : Ecological studies on entomopathogenic nematodes are required to increase control efficacy against target insect pests and to obtain basic information for mass production. Thus, effect of temperature and nematode concentration on infectivity and reproduction of *Steinernema carpocapsae* Pocheon and that of exposure time and soil depth on infectivity were examined using *Galleria mellonella* larvae. Infectivity and reproduction were examined at five temperatures, 13, 18, 24, 30 and 35°C with seven concentrations, 0, 5, 10, 20, 40, 80 and 160 infective juveniles (IJs)/larva. Temperature and nematode concentration influenced infectivity and reproduction of *S. carpocapsae* Pocheon. Although *G. mellonella* larvae were killed by *S. carpocapsae* Pocheon at all given temperatures and nematode concentrations, mortality was higher at 24°C than other temperatures. Lethal time of *G. mellonella* by *S. carpocapsae* Pocheon was shorter with increasing temperature and nematode concentrations. *S. carpocapsae* Pocheon was not established in *G. mellonella* at 13 and 35 °C. Time for the first emergence from *G. mellonella* cadaver was longer 18°C (about 20 days) than 24 and 30°C (about 5 days). The highest number of progenies was obtained at 24°C with 80IJs/larva, i.e., 18.8×10^4 IJs were produced from a larva. In the exposure time assay, *G. mellonella* death was recorded in 10 minutes when 300 IJs were inoculated per larva. When *S. carpocapsae* Pocheon was inoculated at the rate of 10^9 IJs/ha to *G. mellonella* at the depth of 0, 2, 5 and 10 cm of sand columns, 100% mortality and similar sex ratio were observed but number of established IJs in cadaver was decreased with deepening the soil depth. The results indicated that optimum temperature for infectivity and reproduction of *S. carpocapsae* Pocheon was 24°C. In addition, *S. carpocapsae* Pocheon was effective to target insects within 5 cm from the soil surface.

KEY WORDS : *Steinernema carpocapsae*, Infectivity, Reproduction, Temperature effect, Nematode concentration effect, Lethal time

초 록 : 곤충병원성 선충의 대상 해충에 대한 방제효과를 증대시키고 대량생산을 위한 기초자료를 얻기 위하여 온도와 접종농도가 *Steinernema carpocapsae* Pocheon 계통의 꿀벌부채명나방

*Corresponding author. E-mail: hychoo@nongae.gsnu.ac.kr

(*Galleria mellonella*) 유충의 감염력과 증식에 미치는 영향 및 노출시간과 토양깊이가 감염력에 미치는 영향을 조사하였다. 실험은 13, 18, 24, 30, 35°C의 온도조건과 꿀벌부채명나방 유충 한 마리 당 0, 5, 10, 20, 40, 80, 160마리의 접종농도에서 수행하였다. 온도와 접종농도는 모두 *S. carpocapsae* Pocheon 계통의 꿀벌부채명나방에 대한 감염성과 증식에 영향을 미쳤는데 24°C에서 가장 좋았고, 온도와 접종농도가 증가할수록 치사시간은 단축되는 경향이였다. 그리고 *S. carpocapsae* Pocheon 계통은 모든 실험온도에서 꿀벌부채명나방 유충을 치사시켰지만 13°C와 35°C에서 발육은 하지 못하였다. *S. carpocapsae* Pocheon 계통이 꿀벌부채명나방 유충 체내에서 증식되어 최초로 탈출하는데 소요되는 기간은 18°C에서 20일 내외로 가장 길었고, 24°C나 30°C에서는 5일 내외로 짧았다. *S. carpocapsae* Pocheon 계통의 증식수는 24°C 80마리 농도에서 꿀벌부채명나방 유충 1마리 당 18.8×10^4 마리로 가장 많았다. *S. carpocapsae* Pocheon 계통은 꿀벌부채명나방 유충에 300마리 농도로 접종하였을 때 10분만에도 침입하였다. 한편 *S. carpocapsae* Pocheon 계통은 모래층의 깊이(0, 2, 5, 10 cm)에 상관없이 10^9 마리/ha 농도로 처리하였을 때 꿀벌부채명나방 유충에 대하여 100%의 치사율을 보였고, 토양 깊이별 선충의 성비도 차이가 없었으나 정착한 선충의 수는 깊이가 깊을수록 적었다. 따라서 *S. carpocapsae* Pocheon 계통을 이용한 해충방제와 증식은 24°C 내외가 적당할 것으로 보이며 토양에서의 처리는 5cm 이내에 서식하는 해충을 대상으로 하는 것이 바람직 할 것으로 보인다.

검색어 : *Steinernema carpocapsae*, 감염력, 증식, 온도 영향, 농도 영향, 치사 시간

곤충병원성 선충은 넓은 기주범위와 높은 병원성, 빠른 기주 치사력을 가지면서도 인축이나 유용동물에는 안전한 생물적 방제 인자로 특히 토양해충에 효과적이다(Kaya and Gaugler, 1993). 이러한 장점 때문에 세계 각지에서 곤충병원성 선충의 탐색을 위한 연구들이 지속적으로 수행되고 있다. *S. carpocapsae*는 *S. feltiae*와 더불어 세계적으로 가장 많이 기록된 *Steinernema*속 선충의 하나이다(Hominick, 2002). *S. carpocapsae*는 북유럽의 체코슬로바키아에서 1955년 최초로 기록된 이래 호주, 프랑스, 독일, 이탈리아, 미국 등지에서 확인되었고, 아시아에서는 1994년 중국에서 발견되었다(Hominick, 2002). 우리나라에서는 중부지방의 산지에서 1995년 최초로 확인되었다(Choo et al., 1995). 곤충병원성 선충은 동일 종이더라도 계통에 따라 병원성에서 차이를 보이며(Mason and Hominick, 1995; Converse and Miller, 1999; Simões et al., 2000) 생태적 특성도 다르다(Yeh and Alm, 1992; Westerman, 1999; Hazir et al., 2001). 곤충병원성 선충의 특성은 해충 종류에 따른 스크리닝을 통하여 적용 범위와 처리 시기, 양을 결정지을 수 있고 증식을 위한 기초 생태 자료 확보 등에도 이용할 수 있다. 특히 생태적 차이는 곤충병원성 선충의 대량증식을 위한 기초 자료와 계통별 특징을 결정짓는데 중요한 역할을 하고 있다. 본 실험에 이용한 *S. carpocapsae* 포천 계통(SCP)은 이미 다수의 해충에 대하여 병원성 연구가 수행된 바 있다. 즉, 큰집파리 유충에 대해서는 *S.*

carpocapsae All 계통에 비하여 다소 낮은 병원성을 보였으나(Choo et al., 1996) 거세미나방(*Agrotis segetum*) 2-3령충에서는 높은 치사율을 보였고(Lee et al. 1997), 밤바구미(*Curculio sikkimensis*)와 밤에기잎말이나방(*Cydia kurokoi*), 복숭아명나방(*Dichocrocis punctiferalis*)과 같은 종실해충에도 효과가 있었다(Choo et al., 2001). 그리고 목화바둑명나방(*Palpita indica*) (Kim et al., 2001b)과 긴수염버섯파리(*Lycoriella mali*)에도 높은 병원성을 나타내고 있다(Kim et al., 2001a). 이와 같은 다양한 효과 연구에도 불구하고 SCP의 생태에 관한 연구는 이루어지지 않았다. 곤충병원성 선충의 생태적 특성을 알아보기 위한 방법은 병원성과 관련된 부분과 증식과 관련된 부분으로 나눌 수 있는데, 전자는 치사율이나 치사유발시간, 기주에 침입하여 정착하는 선충의 수 등을 조사하며 후자는 기주에서 증식된 선충이 최초로 빠져나오는 시간, 증식기간, 증식된 선충이 기주에서 모두 탈출하는데 걸리는 시간, 증식수 등을 조사한다(Koppenhöfer and Kaya, 1999). 이밖에도 반수치사량(Saunders and Webster, 1999; Simões et al., 2000)이나 1:1 처리법(one-on-one) (Converse and Miller, 1999), PVC파이프 등에 토양이나 모래를 넣어 토양조건에서 행하는 방법(Georgis and Poinar, 1983; Gouge et al., 2000)도 있다. 이러한 각각의 방법들은 실험의 목적이나 선충의 종류에 따라 달라 질 수 있는데 Ricci et al. (1996)은 실험 방법에 따른 곤충병원성 선충의 병원성을 비교하기도 하

였다. 본 연구는 SCP의 생태적 특징을 알아보기 위하여 온도와 농도 조건을 달리하였을 때 침입성과 증식에 미치는 영향을 Koppenhöfer *et al.* (2000)의 방법에 의거하여 수행하였으며 토양처리시 효용을 알아보기 위하여 토양 깊이별 침입성도 알아보았다.

재료 및 방법

SCP와 꿀벌부채명나방

실험에 이용한 곤충병원성 선충 SCP는 꿀벌부채명나방(*Galleria mellonella*) 유충을 미끼로 하여 우리나라 중부지방의 산 토양에서 Bedding과 Akhurst (1975)의 방법으로 분리하였으며 다시 꿀벌부채명나방 노숙 유충에서 Dutky *et al.* (1964)의 방법으로 대량 증식시켜 이용하였다. 증식된 선충은 White trap을 이용하여 수확하였으며 10°C 냉장고에 보관하였고, 수확 후 3주 이내의 것을 사용하였다. 꿀벌부채명나방 유충은 2001년 야외에서 채집한 야생 개체를 Woodring과 Kaya (1988)의 방법을 응용하여 실험실에서 누대 사육하였다. 실험에 이용한 꿀벌부채명나방 노숙유충의 체중은 180-200mg이었다.

온도와 접종농도가 SCP의 병원성에 미치는 영향

55 Φ × 15 mm 플라스틱 petri dish에 여과지 2장을 깔고 SCP 침입태 유충을 5, 10, 20, 40, 80, 160마리/0.5 ml 농도로 골고루 접종하였다. 그리고 꿀벌부채명나방 노숙유충 한 마리씩을 각 petri dish에 넣었다. 처리된 petri dish는 수분 증발을 방지하기 위하여 polyethylene film에 싸서 통기를 위하여 4-5개의 구멍을 뚫은 다음 13, 18, 24, 30, 35°C의 인큐베이터(Hanback Multi-Room Incubator, Korea)에 보관하였다. 대조구는 살균수 0.5 ml만을 처리하였으며 실험은 10개의 petri dish를 한 반복으로 하여 4반복으로 수행하였다. 처리 후 15일 동안 매일 꿀벌부채명나방 유충의 치사유무를 확인하였다.

온도와 접종농도가 SCP의 기주체 내 정착에 미치는 영향

SCP의 병원성에 미치는 영향 실험에서 치사한 꿀벌부채명나방을 치사 3일 후에 각 처리 당 10마리씩을 임의로 선택하여 40배의 해부현미경하에서 해부하

여 살아있는 선충의 수를 조사하였다.

온도와 접종농도가 SCP의 최초탈출일과 증식기간, 증식량에 미치는 영향

SCP의 병원성에 미치는 영향 실험에서 치사한 꿀벌부채명나방을 치사 일주일 후 임의로 4-11마리를 선택하여 White trap을 설치하였다. White trap은 100 Φ × 15 mm 크기의 petri dish에 55 Φ × 15 mm 크기의 petri dish 뚜껑을 그대로 넣고, 55 mm 여과지(Whatman No. 2)를 사다리꼴 모양으로 양쪽을 자른 후 반쯤 걸쳐놓은 다음 피펫을 이용하여 살균수 8ml를 바닥에 넣었다. 그리고는 치사된 꿀벌부채명나방 유충 한 마리를 여과지 위에 걸쳐 놓았다. 그리고 White trap들은 치사율 조사를 위하여 처리하였던 원래 온도인 13, 18, 24, 30, 35°C의 항온기에 30일동안 보관하면서 매일 탈출해 나오는 선충의 수를 해부현미경($\times 40$)하에서 헤아렸다. 반복수에 차이가 있는 것은 처리별 치사된 꿀벌부채명나방 유충의 수에서 차이가 있었기 때문이다.

SCP가 기주에 침입하는 시간

55 Φ × 15 mm petri dish에 여과지(Whatman No. 2, $\Phi 55$ mm) 2장씩을 깔 후 피펫을 이용하여 SCP를 300마리/0.5 ml 농도로 0.5 ml씩 접종하였다. 그리고 꿀벌부채명나방 노숙유충 한 마리씩을 각 petri dish에 넣었다. 처리된 petri dish는 수분 증발을 방지하기 위하여 polyethylene film에 싸고는 통기를 위하여 4-5개쯤 구멍을 뚫은 다음 24°C 항온기에 보관하면서 10분, 30분, 1시간, 4시간, 12시간, 24시간만에 유충을 꺼내어 70% ethyl alcohol로 표면을 씻은 후 다시 살균수로 씻었다. 그리고 난 다음 100 Φ × 15 mm petri dish에 여과지 2장을 깔고, 살균수 1 ml을 주입하였으며 여기에 각 시간대별로 꿀벌부채명나방 유충 10마리씩을 넣어 다시 polyethylen film에 싸 24°C 항온기에 보관하였다. 그리고는 48시간 후 선충에 의한 치사 유무를 확인하였고, 치사된 유충은 해부현미경($\times 40$)하에서 해부하여 침입한 선충수를 조사하였다. petri dish 하나를 한 반복으로 하여 4반복으로 처리하였다.

토양 깊이별 SCP의 기주 침입과 기주내 정착수

토양의 깊이에 따른 SCP의 기주 침입력 차이는 내

부에 철망이 든 직경 6.5 cm의 아크릴 파이프 용기를 이용하여 실험하였다. 용기의 전체 길이는 14 cm였고 바닥으로부터 4.5 cm 부근에 눈금 간격이 1 mm인 철망을 파이프의 내면에 고정 시켜 체처럼 만들었다. 이 용기의 철망 아래쪽에는 꿀벌부채명나방 유충을 넣고, 위쪽에는 모래를 일정한 높이로 채운 뒤 SCP를 처리하였다. 모래는 121°C에서 15분간 살균한 후 자연 건조 시킨 뒤 13% (W/V)로 수분을 맞추었다. 용기의 철망 밑 부분에 꿀벌부채명나방 노숙유충 10마리를 넣고는 0.5 cm 높이로 모래를 얇게 채운 후 플라스틱 뚜껑을 원통 안 쪽으로 밀어 넣어 유충이 아래쪽으로 탈출하지 못하도록 하였다. 철망의 위 부분에는 모래를 각각 0, 2, 5, 10 cm로 채운 뒤 선충을 790 마리/ml 농도로 피펫을 이용하여 1 ml씩 고루 접종하였다. 무처리는 살균수만 1 ml 처리하였으며 처리 후 수분 손실 방지를 위하여 용기의 위쪽을 플라스틱 뚜껑으로 막았다. 이렇게 처리한 아크릴 파이프 용기는 24°C 항온기에 보관하였고 처리 4일 후 유충을 꺼내어 선충에 의한 치사유무를 확인하였다. 그리고 살균수로 표면을 씻은 후 해부현미경(×40)하에서 해부하여 생존 선충의 수와 암수를 조사하였다. 실험은 높이별로 4반복으로 수행하였다.

통계처리

모든 실험의 결과는 Student-Newman-Keuls test로 분산분석(PROC GLM)하였는데, 치사율, 정착수 및 증식수에 미치는 온도와 접종농도의 영향은 상관분석

(PROC CORR)하였다(Cho, 1996). 결과는 평균±표준편차(SD)로 표기하였다.

결 과

온도와 접종농도가 SCP의 병원성에 미치는 영향

온도와 접종농도는 SCP의 꿀벌부채명나방 유충 치사율에 영향을 미쳤다(Table 1). 35°C를 제외한 모든 온도에서 접종농도가 증가할수록 치사율이 증가하는 경향이였다. 40마리 이상의 접종농도에서는 35°C를 제외한 모든 온도에서 100%의 치사율을 보였다(Fig. 1). 온도별로는 24°C에서 10마리 이상의 접종농도에서 100%의 치사율을 보여(F = 1569.0, df = 6,21, P >

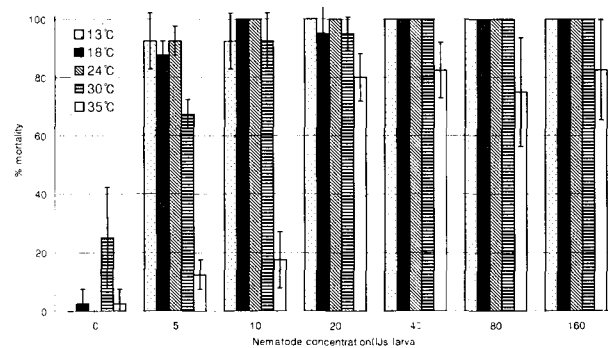


Fig. 1. Mortality of *Galleria mellonella* larvae by *Steinernema carpocapsae* Pocheon at different temperature and nematode concentration. Vertical error bars represent standard deviations of the means.

Table 1. Analysis of variance for main effects and interaction of nematode concentration and temperature or exposure time on infectivity and reproduction of *Steinernema carpocapsae* Pocheon (SCP) in *Galleria mellonella* larvae

Source of variance	df	Mean square	F value	Pr > F
Effect of nematode concentration and temperature on mortality of <i>G. mellonella</i> (Fig. 1)				
Nematode concentration	6	7923.93	252.8	0.0001
Temperature	4	20946.19	95.63	0.0001
Nematode concentration × temperature	24	893.51	10.78	0.0001
Effect of nematode concentration and temperature on establishment of SCP in <i>G. mellonella</i> (Fig. 2)				
Nematode concentration	6	18.82	14.87	0.0001
Temperature	4	24.97	19.74	0.0001
Nematode concentration × temperature	24	4.32	3.41	0.0001
Effect of nematode concentration and temperature on death time of <i>G. mellonella</i> by SCP (Fig. 3)				
Nematode concentration	4	23315.3	459.17	0.0001
Temperature	5	12896.7	252.33	0.0001
Nematode concentration × temperature	20	2333.7	45.66	0.0001
Effect of exposure time of SCP and temperature on mortality of <i>G. mellonella</i> (Fig. 5)				
Nematode concentration	5	215.47	236.5	0.0001
Exposure time	4	129.97	142.65	0.0001
Nematode concentration × exposure time	20	21.76	23.88	0.0001

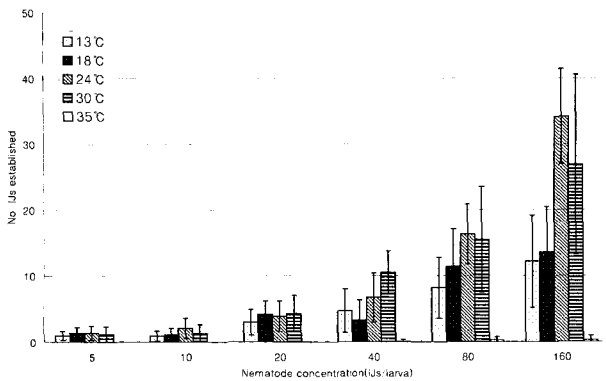


Fig. 2. Effect of temperature and nematode concentration on establishment of *Steinernema carpocapsae* Pocheon in *Galleria mellonella* larvae. Vertical error bars represent standard deviations of the means.

0.0001) 다른 온도에서(18°C: $F = 242.61$, $df = 6, 21$, $P > 0.0001$; 30°C: $F = 48.8$, $df = 6, 21$, $P > 0.0001$) 비하여 치사율이 높았다. 반면 35°C에서는 160마리 농도에서도 82.5%의 치사율을 보였다($F = 17.06$, $df = 6, 21$, $P > 0.0001$).

각 온도 및 접종농도별 꿀벌부채명나방 유충의 치사가 이루어지는 시간은 Fig. 2와 같았다. 치사율과 동일하게 치사시간도 온도와 접종농도에 영향을 받았다(Table 1). 치사에 소요되는 시간은 13°C가 가장 길었다($F = 45.28$, $df = 5, 18$, $P > 0.0001$). 대체로 온도가 높아질수록 치사시간이 짧은 경향이 있었지만 35°C에서는 5마리와 10마리 농도에서 5일 이상이 걸렸다. 그러나 20마리 이상의 농도에서는 1.0-1.8일이 소요되어 접종농도별로 차이가 많았다($F = 27.36$, $df = 5, 18$, $P > 0.0001$). 18°C에서는 접종농도에 따른 치사시간의 차이가 없었으며($F = 3.05$, $df = 5, 18$, $P > 0.0361$) 24°C에서는 다른 온도와 달리 모든 접종농도에서 치사 일수의 변화 폭이 가장 적었다($F = 3.03$, $df = 5, 18$, $P > 0.0369$). 30°C에서는 20마리 이하의 접종농도에서는 치사일수가 24°C와 비슷하였지만 40마리 이상의 농도에서는 35°C와 유사한 경향을 보였다($F = 14.73$, $df = 5, 18$, $P > 0.0001$).

온도와 접종농도가 SCP의 기주체 내 정착에 미치는 영향

기주체에 SCP가 침입하여 생존하는 수도 침입성과 같이 온도와 농도에 영향을 받았다(Table 1). 35°C의 경우 20마리 이하의 접종농도에서는 생존 선충이 전

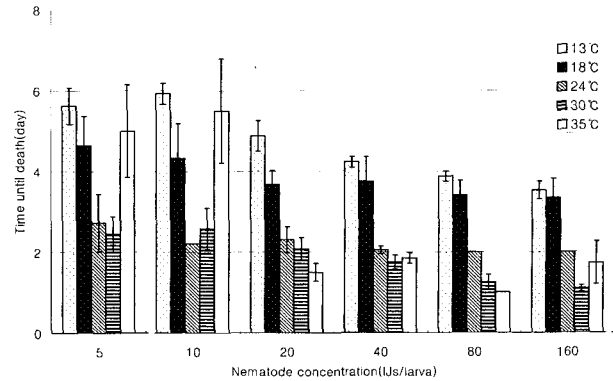


Fig. 3. Effect of temperature and nematode concentration on lethal time of *Galleria mellonella* larvae by *Steinernema carpocapsae* Pocheon. Vertical error bars represent standard deviations of the means.

혀 없었으며 다른 온도조건에서는 10마리 이하의 접종농도에서 비슷한 생존수를 보였다(Fig. 3). 그 외의 온도인 13°C, 18°C, 24°C, 30°C에서는 접종농도별로 생존 선충수가 비슷한 경향이 있었다. 35°C에서는 생존 선충수가 다른 온도에 비하여 현저히 적었다(13°C: $F = 13.88$, $df = 5, 54$, $P > 0.0001$; 18°C: $F = 18.1$, $df = 5, 54$, $P > 0.0001$; 24°C: $F = 101.25$, $df = 5, 54$, $P > 0.0001$; 30°C: $F = 22.08$, $df = 5, 54$, $P > 0.0001$; 35°C: $F = 1.65$, $df = 5, 54$, $P > 0.1632$). 가장 많이 정착된 선충수는 24°C의 160마리 접종농도에서 34.2마리였다.

온도와 접종농도가 SCP의 최초탈출일과 증식기간, 증식량에 미치는 영향

SCP는 18°C와 24°C, 30°C에서만 증식이 되었다. 꿀벌부채명나방 유충체 내에서 증식되어 White trap으로 탈출해 나오는 최초 시간은 30°C의 40마리 농도를 제외하고는 농도가 증가됨에 따라 단축되는 경향이 있었다(18°C: $F = 2.03$, $df = 5, 20$, $P > 0.1181$; 24°C: $F = 5.63$, $df = 5, 36$, $P > 0.0006$; 30°C: $F = 5.83$, $df = 5, 33$, $P > 0.0006$) (Fig. 4a). 증식 총 기간은 18°C에서 24.5-31.0일로 가장 길었는데 처리 농도간에 차이는 없었다($F = 1.78$, $df = 5, 20$, $P > 0.1623$). 24°C에서도 15.7일에서 21.5일로 처리 농도간에 차이가 없었으나($F = 0.77$, $df = 5, 36$, $P > 0.5773$) 30°C에서는 160마리 처리에서 9일로 가장 짧았다. 그러나 유의성은 없었다($F = 2.03$, $df = 5, 33$, $P > 0.1003$) (Fig. 4b). 증식수는 18°C가 가장 적었으며 24°C가 30°C보다 많았는데, 24°C의 80마리 농도에서 18.8×10^4 마리로 가장 많았다(18°C: $F =$

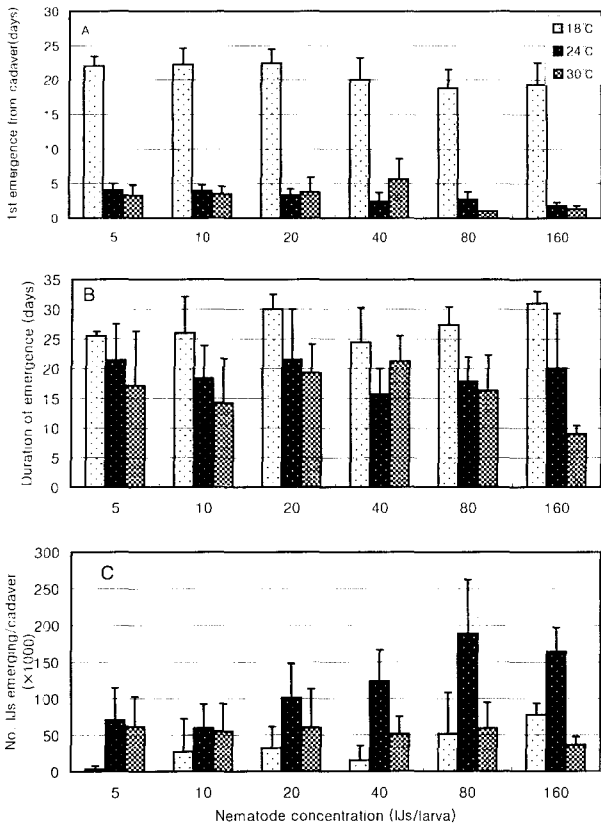


Fig. 4. Effect of temperature and nematode concentration on emergence of *Steinernema carpocapsae* Pocheon. A: Time for the first emergence of infective juveniles(IJs); B: Duration of IJ emergence; C: Number of IJs emerged from a cadaver. Vertical error bars represent standard deviations of the means.

1.37, df = 5, 20, $P > 0.2764$; 24°C: $F = 8.03$, df = 5, 36, $P > 0.0001$; 30°C: $F = 0.26$, df = 5, 33, $P > 0.9323$) (Fig. 4c).

SCP의 꿀벌부채명나방 유충 침입 시간

노출시간과 처리온도는 SCP의 기주 침입에 영향을 주었다(Table 1). 13°C에서는 24시간(1,440분) 동안 노출 시켜도 꿀벌부채명나방 유충이 전혀 치사되지 않았지만 18°C와 24°C에서는 10분만 노출시켜도 치사가 되었다(18°C: $F = 40.12$, df = 5, 18, $P > 0.0001$; 24°C: $F = 157.4$, df = 5, 18, $P > 0.0001$) (Fig. 5). 30°C에서는 노출 30분 이후부터 치사되는 꿀벌부채명나방 유충이 나타났으며 35°C에서는 60분 이상 노출 시켜야 치사가 되었다(30°C: $F = 155.72$, df = 5, 18, $P > 0.0001$; 35°C: $F = 40.21$, df = 5, 18, $P > 0.0001$). 24°C의 12시간(720분) 처리에서는 100% 치사되었다.

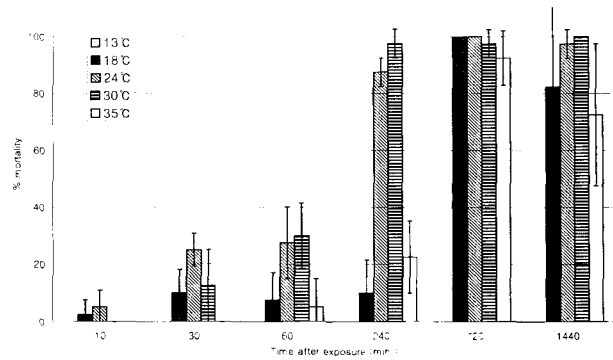


Fig. 5. Effect of exposure time of *Steinernema carpocapsae* Pocheon on mortality of *Galleria mellonella* larvae. 300 IJs were inoculated to *G. mellonella* larvae. Vertical error bars represent standard deviations of the means.

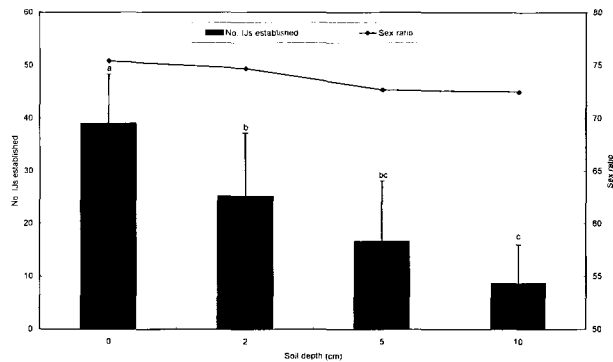


Fig. 6. Effect of soil depth on establishment and sex ratio of *Steinernema carpocapsae* Pocheon in *Galleria mellonella* larvae. Sex ratio are not significantly different (Student-Newman-Keuls test. $P < 0.05$).

토양 깊이별 SCP 병원성과 기주 침입 정착 선충수

SCP의 병원성은 실험에 이용한 모든 토양 깊이에서 꿀벌부채명나방 유충에 대하여 100%의 치사율을 보였다. 그러나 기주체내에 정착한 선충의 수는 토양 층이 깊을수록 감소하여 차이를 보였다($F = 16.1$, df = 3, 36, $P > 0.0001$) (Fig. 6). 기주체내에 정착한 선충의 암컷 비율은 모든 토양 깊이에서 차이가 없었다($F = 0.13$, df = 3, 36, $P > 0.9444$).

고찰

온도와 집중농도는 SCP의 병원성과 증식에 영향을 미쳤다. 그리고 24°C에서 병원성이 가장 높게 나타나 24°C가 SCP의 병원성 발현적으로 보이나 저온인

13°C와 고온인 35°C에서 각각 90% 이상과 80% 내외의 치사율을 보였다. 우리나라의 지리산에서 검출된 *S. monticolum*은 8°C에서도 78%의 병원성을 보여 저온 적응성이 높은 것으로 알려져 있는데(Koppenhöfer et al., 2000) 본 중도 중부지방의 포천에서 채집되었기 때문에 13°C에서도 병원성을 가질 수 있었을 것으로 생각된다. 이와 같은 저온에서의 병원성 발현은 SCP의 포장 적용력을 증대시킬 수 있는 하나의 요인이 될 것이다. 즉, SCP는 거세미나방에 효과가 있는데(Lee et al., 1997), 거세미나방 유충의 발육영점이 10.2°C이고(Kritani, 1997), 유충으로 월동하는 점(NIAST, 2000) 등을 고려해 볼 때 10월이나 3월에도 SCP를 처리하여 월동전후의 유충을 방제할 수 있을 것으로 보인다. 특히 골프장의 잔디는 거세미나방이나 검거세미나방(*Agrotis ipsilon*) 유충 뿐만 아니라 등얼룩풍뎡이나 녹색콩풍뎡이 유충에 의한 피해를 매년 빈번히 받고 있는데(Choo et al., 2000) 이러한 해충들에 대해서도 피해가 확산되기 전 조기 방제에 활용할 수 있을 것으로 생각된다. 실제 Lee et al. (2002)은 등얼룩풍뎡이 방제를 위하여 골프장 잔디에서 3월에 SCP를 처리하였을 때 55% 내외의 치사율을 보인다고 하였다. 35°C의 고온에서는 SCP의 병원성이 떨어짐과 동시에 증식은 전혀 이루어지지 않아 고온기인 여름철 시설재배지 해충을 대상으로 적용할 경우에는 한낮의 더위를 피해 처리하는 것이 바람직 할 것으로 생각된다. SCP의 병원성 발현이 35°C에서 낮았던 이유는 SCP 원 서식처의 온도 조건 때문으로 생각된다. 즉, 서식처 주변의 월평균 최고온도는 고온기인 7월과 8월에도 30°C를 넘지 않으며 이 시기의 평균 기온은 24°C 내외이다(www.kma.go.kr). 곤충병원성 선충의 병원성 발현 온도는 원서식처의 온도와 관계가 있다(Molyneux, 1986; Kung et al., 1991). 여름철 평균 지온이 32-35°C인 이스라엘의 네게브 지역에서 발견된 *Heterorhabditis* sp. IS-5는 25°C에 비하여 30°C에서 병원성이 우수하고, 꿀벌부채명나방 유충에의 침입수는 25°C, 30°C, 33°C에서 차이가 없는데 이는 원 서식처 온도에 기인하는 것이다(Glazer et al., 1996). Mason과 Hominick (1995)도 4종의 *Heterorhabditis*속 선충들 중 열대지방인 Trinidad에서 분리된 것만 35°C에서 꿀벌부채명나방 유충에 병원성을 나타내었다고 하면서 그들 서식처의 환경조건에 기인한다고 하였다. SCP가 꿀벌부채명나방을 치사시키는데 걸리는 시간이 24°C에서는 모든 농도에서 48-64.8시간으로 변이

의 폭이 작았던 반면 30°C와 35°C에서는 40마리 이상의 농도에서 24-45.6시간으로 짧았다. 특히 35°C에서는 치사율이 80% 내외임에도 불구하고 치사시간은 치사율 100%인 24°C에 비하여 빨랐는데 이것은 공생세균에 의한 것이 아닌가 생각된다. 곤충병원성 선충이 기주에 침입하면 선충 체내에 있던 공생세균이 분비되고, 이 공생세균으로 인하여 기주가 패혈증을 일으켜 치사하게 된다(Dowds and Peters, 2002). 35°C에서 SCP는 적은 숫자가 기주내에 생존하고 있었거나 생존 선충이 전혀 발견되지 않았는데, 24°C에 비하여 기주를 빨리 치사시켰던 것은 선충이 기주에 침입하여 공생세균을 분비하게 되면 이 공생세균에 의하여 기주는 빠른 시간 안에 치사되지만 온도조건은 선충의 생육에 부적당하여 정상적으로 발육하지 못하였던 것으로 생각된다. *S. kushidai*는 구리풍뎡이(*Anomala cuprea*) 유충을 15°C나 35°C에서는 치사시키지 못하고 25°C에서만 병원성을 보이지만 공생세균인 *Xenorhabdus japonicus*는 10°C와 35°C에서 구리풍뎡이 유충을 100% 치사시킨다(Fujiie et al. 1995). 한편 기주치사 시간은 13°C에서 가장 길었는데 이것은 선충이 기주체로의 침입이 늦었을 뿐만 아니라 기주체 내에서 공생세균의 증식이 늦었기 때문으로 생각된다. 실제로 SCP는 13-35°C의 모든 온도에서 병원성을 가졌음에도 불구하고, 증식은 24°C와 30°C사이에서만 이루어졌다. Mason과 Hominick (1995)도 꿀벌부채명나방 유충에 대한 *Heterorhabditis* 4종의 증식에 필요한 온도 범위는 병원성 발현의 온도 범위보다 좁다고 하였고, Schirocki와 Hague (1997)도 *S. feltiae* UK 계통은 7°C에서 꿀벌부채명나방 유충에 침입은 하지만 증식은 되지 않는다고 하였다. 곤충병원성 선충의 공생세균은 상 변화를 하는데 선충체내에서는 I형(stage I)으로 존재하다가 선충이 기주에 침입하게 되면 기주에 패혈증을 유발시키기 위하여 초기 II형(stage II early)으로 변화하고, 후기 II형(stage II late)이 되면 선충은 이들을 영양원으로 하여 증식하게 된다(Forst and Clarke, 2002). 따라서 SCP의 공생세균이 후기 II형으로 전환하지 못하여 기주를 치사만 시키고, 증식은 되지 않았던 것으로 생각되는데 명확한 결론을 얻기 위해서는 공생세균을 이용한 온도별 증식과 상 변화에 관한 실험을 수행하여야 할 것으로 생각된다. 그리고 공생세균의 적응 온도와 선충의 적응 온도에서 차이가 나는 것은 자연 생태계 내에서 두 생물의 진화와 관련된 환경적응력의 차이로 생각된다. 선충의 증식 속도와 증

식 세대는 공생세균에 비하여 느리고 길다(Schirocki and Hague, 1997). 따라서 환경에 대한 내성 취득에서 공생세균이 선충에 비하여 빨랐을 것으로 생각된다.

SCP의 증식적온은 24°C였다. 18°C와 30°C에서는 접종농도별로 증식수에서 차이가 없었는데 비하여 24°C에서는 접종수가 많을수록 증식수가 증가하는 경향이였다. Mason과 Hominick (1995)는 기주에 성공적으로 정착하는 선충의 수는 공생세균의 증식과 영양조건에 기인한다고 하였고, Wright (1992)는 침입태 유충의 증식은 공생세균의 증식과 직접 관련이 있다고 하였다. 이러한 측면에서 보면 SCP나 공생세균의 증식 적온은 24°C로 대량증식은 24°C에서 행하는 것이 바람직 할 것으로 보인다. 또한 꿀벌부채명나방 유충을 이용한 증식에서는 유충 한 마리 당 SCP를 80-160 마리 접종농도로 처리하는 것이 좋을 것으로 보인다.

SCP는 18°C와 24°C에서 10분만에 꿀벌부채명나방 유충에 침입하였다. 이는 비록 곤충병원성 선충이 건조와 자외선에 약하여 지상부 해충에의 활용에 한계가 있긴 하지만 지상부 해충에도 충분히 이용할 수 있음을 시사하는 것이다. 그리고 24°C와 30°C에서는 12시간 후 각각 87.5%와 97.5%의 기주 치사율을 보였는데, 시설재배지가 아닌 노지에서 오후 4-7시 사이에 선충을 처리하게 되면 다음 날 해뜨기 전까지 자외선에의 노출을 최소화하여 충분한 효과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다. Kim *et al.* (2001a)도 비록 온실보다는 효과가 떨어지긴 하였지만 노지에서 SCP가 목화바둑명나방 유충에 대하여 60% 내외의 치사율을 보였다고 하였는데 이는 SCP의 빠른 기주침입에 의한 것으로 생각된다. 그리고 13°C에서는 기주 침입 시간이 오래 걸리므로 실제로 방제에 활용할 때에는 이러한 점을 충분히 고려하여야 할 것으로 생각된다.

SCP는 토양표면에 있던 꿀벌부채명나방 유충이나 10 cm 깊이에 있던 꿀벌부채명나방 유충에 대하여 100%의 치사율을 보였다. 그러나 침입 선충수는 토양 깊이가 깊어질수록 감소하는 경향이였다. Ferguson *et al.* (1995)도 *S. carpocapsae* NY001의 토양 깊이별 감염은 0-5 cm 토양층에 비하여 5-10 cm, 10-15 cm로 깊어질수록 감소한다고 하였고, 지속성도 동일한 경향을 보였던 반면 *H. bacteriophora*는 0-20 cm까지 감염율에서 차이를 보이지 않았다고 하였다. 한국산 *H. bacteriophora* 감염계통도 유사한 경향이였다(Lee *et al.*, unpublished data). 이는 곤충병원성 선충의 기주탐색

과 관련된 특성 차이 때문이다. 곤충병원성 선충은 탐색형과 잠복형의 두 가지 형이 있다. 전자는 토양내의 기주를 능동적으로 찾아가는 형이고 후자는 처리된 곳에서 이동하는 기주에 침입하는 경우이다(Lewis, 2002). *S. carpocapsae*는 후자의 특성을 가지는 것으로 알려져 있다(Lewis, 2002). 따라서 잠복형 선충은 이동성 해충에 활용하는 것이 바람직하다. 따라서 SCP는 거세미나방과 같이 토양 표면부위와 작물의 지상부에서 활동하는 해충이나 육묘장의 작은뿌리파리와 같이 토양층에 깊이 서식하지 않는 해충들의 방제에 효과적으로 이용할 수 있을 것으로 기대되며 아울러 본 연구에서 얻어진 결과들은 선충의 증식에 적극적으로 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

사 사

이 논문은 2002년도 농림부 농림기술개발 사업의 지원에 의하여 이루어졌다. 꿀벌부채명나방 사육과 실험 수행에 도움을 준 이승욱, 전순배 등에 감사한다.

Literature Cited

- Bedding, R.A. and R.J. Akhurst. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica* 21: 109-116.
- Cho, I.H. 1996. Practice and application of SAS. 665pp. Sungang-dang Pub. Co. Seoul.
- Choo, H.Y., D.W. Lee, S.M. Lee, T.W. Lee, W.G. Choi, Y.K. Chung and Y.T. Sung. 2000. Turfgrass insect pests and natural enemies in golf courses. *Korean J. Appl. Entomol.* 39: 171-179.
- Choo, H.Y., H.K. Kaya and S.P. Stock. 1995. Isolation of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from Korea. *Japanese Journal of Nematology* 25: 44-51.
- Choo, H.Y., H.H. Kim, D.W. Lee and Y.D. Park. 1996. Microbial control of fly maggots with entomopathogenic nematodes and fungus in outhouses of farmhouses. *Korean J. Appl. Entomol.* 35: 80-84.
- Choo, H.Y., H.H. Kim, D.W. Lee, S.M. Lee, S.H. Park, Y.M. Choo and J.K. Kim. 2001. Practical utilization of entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* Poche strain and *Heterorhabditis bacteriophora* Hamyang strain for control of chestnut insect pests. *Korean J. Appl. Entomol.* 40: 69-76.
- Converse, V. and R.W. Miller. 1999. Development of the one-on-one quality assessment assay for entomopathogenic nematodes. *J. Invertebr. Pathol.* 74: 143-148.
- Dowds, B.C.A. and A. Peters. 2002. Virulence mechanisms. pp. 79-98. In *Entomopathogenic nematology*, ed. by R. Gaugler. 388 pp. CABI publishing, Oxon.
- Dutky, S.R., J.V. Thompson and G.E. Cantwell. 1964. A technique for the mass production of the DD-136 nematode. *J. Insect Pathol.* 6: 417-422.
- Ferguson, C.S., P.C. Schroeder and E.J. Shields. 1995. Vertical

- distribution, persistence, and activity of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Heterorhabditidae and Steinernematidae) in alfalfa snout beetle (Coleoptera: Curculionidae) infected fields. *Biological Control*. 149~158.
- Forst, S. and D. Clarke. 2002. pp. 57~77. *In* Entomopathogenic nematology, ed. by R. Gaugler. 388 pp. CABI publishing, Oxon.
- Fujitie, A., M. Tachibana and Y. Takata. 1995. Effects of temperature on insecticidal activity of an entomopathogenic nematode, *Steinernema Kushidai* (Nematoda: Steinernematidae), against *Anomala cuprea* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae. *Appl. Entomol. Zool.* 30: 23~30.
- Georgis, R. and G.O. Poinar. 1983. Vertical migration of *Heterorhabditis bacteriophora* and *H. heliothidis* (Nematoda: Heterorhabditidae) in sandy loam soil. *Journal of Nematology*. 15: 652~654.
- Glazer, I., E. Kozodoi, G. Hashmi and R. Gaugler. 1996. Biological characteristics of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis* sp. IS-5: a heat tolerant isolate from Israel. *Nematologica* 42: 481~492.
- Gouge, D.H., K.A. Smith, L.L. Lee and T.J. Henneberry. 2000. Effect of soil depth and moisture on the vertical distribution of *Steinernema riobrave* (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Nematology* 32: 223~228.
- Hazir, S., S.P. Stock, H.K. Kaya, A.M. Koppenhöfer and N. Keskin. 2001. Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). *J. Invertebr. Pathol.* 77: 243~250.
- Hominick, W.M. 2002. Biogeography. pp. 115~143. *In* Entomopathogenic nematology, ed. by R. Gaugler. 388 pp. CABI publishing, Oxon.
- Kaya, H.K. and R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Ann. Rev. Entomol.* 38: 181~206.
- Kim, H.H., H.Y. Choo, C.G. Park, S.M. Lee and Y.M. Choo. 2001a. Biological control of cotton caterpillar, *Palpita indica* saunders (Lepidoptera: Pyralidae) with entomopathogenic nematodes. *Korean J. Appl. Entomol.* 40: 245~252.
- Kim, H.H., H.Y. Choo, H.S. Lee, C.G. Park, D.W. Lee, B.R. Jin and Y.M. Choo. 2001b. Biological control of *Lycoriella mali* (Diptera: Sciaridae), a pest of oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus* using entomopathogenic nematodes. *Korean J. Appl. Entomol.* 40: 59~67.
- Koppenhöfer, A.M. and H.K. Kaya. 1999. Ecological characterization of *Steinernema rarum*. *J. Invertebr. Pathol.* 73: 120~128.
- Koppenhöfer, A.M., S. Ganguly and H.K. Kaya. 2000. Ecological characterization of *Steinernema monticolum*, a cold-adapted entomopathogenic nematode from Korea. *Nematology*. 2: 407~416.
- Kritani, K. 1997. The low development threshold temperature and the thermal constant in insects, mites and nematodes in Japan. *Miscellaneous Publications of The National Institute of Agro-Environmental Sciences* 21: 1~72.
- Kung, S.P., R. Gaugler and H.K. Kaya. 1991. Effects of soil temperature, moisture, and relative humidity on entomopathogenic nematode persistence. *J. Invertebr. Pathol.* 57: 242~249.
- Lee, D.W., H.Y. Choo, H.K. Kaya, S.M. Lee, D.R. Smitly, S.K. Shin and C.G. Park. 2002. Laboratory and field evaluation of Korean entomopathogenic nematode isolates against the oriental beetle, *Exomala orientalis* (Coleoptera: Scarabaeidae). *J. Econ. Entomol.* 95. (in press)
- Lee, S.M., D.W. Lee, H.Y. Choo, D.W. Kim and J.B. Kim. 1997. Pathogenicity of entomopathogenic nematodes to some agro-forest insect pests. *Korean J. Soil Zoology*. 2: 76~82.
- Lewis, E.E. 2002. Behaviour ecology. pp. 205~223. *In* Entomopathogenic nematology, ed. by R. Gaugler. 388 pp. CABI publishing, Oxon.
- Mason, J.M. and W.M. Homonick. 1995. The effect of temperature on infection, development and reproduction of *Heterorhabditis*. *Journal of Helminthology* 69: 337~345.
- Molyneux, A.S. 1986. *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* spp.: temperature, and aspects of behaviour and infectivity. *Experimental parasitology* 62: 169~180.
- NIAST. 2000. Control and diagnosis of vegetable pests. 331 pp. Academy Press. Seoul.
- Ricci, M., I. Glazer, J.F. Campbell and R. Gaugler. 1996. Comparison of bioassays to measure virulence of different entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology* 6: 235~245.
- Saunders, J.E. and J.M. Webster. 1999. Temperature effects on *Heterorhabditis megidis* and *Steinernema carpocapsae* infectivity to *Galleria mellonella*. *Journal of nematology* 31: 299~304.
- Schirocki, A.C. and N.G.M. Hague. 1997. The effect of selective culture of *Steinernema feltiae* at low temperature on establishment, pathogenicity, reproduction and size of infective juveniles. *Nematologica* 43: 481~490.
- Simões, N., C. Caldas, J.S. Rosa, E. Bonifassi and C. Laumond. 2000. Pathogenicity caused by high virulent and low virulent strains of *Steinernema carpocapsae* to *Galleria mellonella*. *J. Invertebr. Pathol.* 75: 47~54.
- Westerman, P.R. 1999. Aggregation of entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* spp., among host insects at 9 and 20°C and effects on efficacy. *J. Invertebr. Pathol.* 73: 206~213.
- Woodring, J.L. and H.K. Kaya. 1988. Steinernematidae and heterorhabditid nematodes: A handbook of techniques. Southern Coop. Ser. Bull. 331, Arkansas Agri. Exp. Stn. Fayetteville, AR. 29 pp.
- Wright, P.J. 1992. Cool temperature reproduction of steinernematid and heterorhabditid nematodes. *J. Invertebr. Pathol.* 60: 148~151.
- Yeh, T. and S.R. Alm. 1992. Effects of entomopathogenic nematode species, rate, soil moisture, and bacteria on control of Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae in the laboratory. *J. Econ. Entomol.* 85: 2144~2148.

(Received for publication 7 August 2002;
accepted 12 September 2002)