

최 종  
연구보고서

우리나라 Steinernematid와 Heterorhabditid  
선충을 이용한 시설 엽채류 해충의  
친환경적 방제 기술 개발

Environmentally Friendly Control Development of  
Greenhouse Foliage in Insect Pests with Korean  
indigenous Steinernematids and Heterorhabditids

연구 기관  
경 상 대 학 교

협동연구기관  
원예연구소

농 립 부

우 단 단 단 Steirnermaid 와 Heterorhabditid 선충을 이용한 시설 열채류 해충의 친환경적 방제 기술 개발 농 립 부

## 주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서는 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.

최 종  
연구보고서

우리나라 Steinernematid와 Heterorhabditid  
선충을 이용한 시설 엽채류 해충의  
친환경적 방제 기술 개발

Environmentally Friendly Control Development of  
Greenhouse Foliage in Insect Pests with Korean  
indigenous Steinernematids and Heterorhabditids

연구 기관  
경 상 대 학 교

협동연구기관  
원예연구소

농 립 부

# 제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “우리나라 Steinernematid와 Heterorhabditid선충을 이용한 시설 엽채류 해충의 친환경적 방제 기술 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2005년 11월 일

주관연구기관명 : 경상대학교

총괄연구책임자 : 추 호 렬

세부연구책임자 : 추 호 렬

연 구 원 : 이 동 운

연 구 원 : 조 성 래

연 구 원 : 이 상 명

연 구 원 : 임 채 석

연 구 원 : 이 정 한

연 구 원 : 이 상 희

연 구 원 : 한 건 영

연 구 원 : 송 창 대

연 구 원 : 유 황 빈

협동연구기관명 : 원예연구소

협동연구책임자 : 전 흥 용

연 구 원 : 양 창 열

연 구 원 : 김 형 환

# 요 약 문

## I. 제 목

우리나라 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충을 이용한 시설 엽채류 해충의 친환경적 방제 기술 개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

토착 병원성 미생물인 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충을 이용한 엽채류 해충의 방제는 환경을 중요시 하는 세계적인 추세에 부합하는 것이며 나아가 화학살충제에 대체할 수 있는 효과적으로 IPM을 실현 가능케 할 생물적 방제인자이다. 현재 우리나라의 화학농약사용량은 ha당 약 12 kg으로 OECD국가 중 일본(14 kg) 다음으로 높아 정부에서는 전체농약사용량을 50% 감축시키겠다고 선언해 이의 실천방안으로 곤충병원성 선충의 이용기술 개발연구가 대안이 될 수 있을 것으로 사료된다. 현재 해충의 생물적 방제에 이용되고 있는 천적 곤충으로 약 140여종이 이미 개발되어 상품화되었으며, 미생물 살충제도 18종정도가 일부 해충에서 개발되어 시판 중에 있다. 이처럼 천적 곤충이나 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충과 같은 미생물 살충제 등과 같은 농약 대체 방제 인자가 전체 농약 중에 차지하는 비중이 점차 증가할 것으로 예상되고 있으나 현재 우리나라의 생물적 방제는 주로 외국에서 도입한 천적에 의존하고 있다. 그러나 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 탐색과 이용 기술 연구로 우수한 병원성을 지닌 토착 천적을 다수 확보할 수 있을 것으로 생각되며 국내 천적 자원들 중 산업화의 진행이 현재 이루어지고 있지만 이들의 활용성 제고를 위해서는 자원 탐색과 생물적, 생태적 특성 연구, 현장 적용시험 및 처리 기술 개발 등이 절실히 요구되고 있다. 따라서 본 연구의 목표는 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충을 이용한 시설 엽채류 해충의 생물적 방제 체계 기술의 개발을 통해 시설 엽채류 재배 농가에서 효율적으로 곤충병원성 선충을 활용하여 생물적 해충 제어 기술을 취득케 하는데 있다.

곤충병원성선충인 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충은 인체나 환경에 매우 안전하며 표적해충만 기생하여 치사시키고 작물생육에는 전혀 지장을 주지 않는 대량생산이 가능한 환경친화형 생물농약 자원으로 현재 우리나라에서는 몇몇

Steinernematid와 Heterorhabditid 선충이 골프장 잔디를 가해하는 곰팡이류 방제에서 실용화 단계에 있다.

생물농약으로 이용 개발된 곤충병원성 곰팡이나, 세균 등이 스스로 표적해충에 침입을 하지 못하는 반면 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충은 스스로 표적해충을 탐색하여 침입하는 매우 능동적이고 활발한 운동성을 지닌 효과가 뛰어난 병원성 미생물로 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충은 해충의 자연 개구부를 통하여 침입하게 되면 공생세균과 작용하여 24-48시간 이내에 해충에 패혈증을 일으켜 치사를 시킨다. 특히 *Steinernema carpocapsae*라는 종은 250종 이상의 곤충에 병원성을 가질 만큼 다른 생물농약보다 기주범위가 대단히 넓은 것이 특징이다.

기존의 기생성, 포식성 천적이 지상부 해충에만 효과가 한정적인 반면, Steinernematid와 Heterorhabditid 선충은 지상부는 물론 토양내의 지하부 해충에도 효과가 매우 탁월하여 특히, 농약의 효과가 떨어지거나 도달하기 어려운 수중이나 토양심층에서도 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충은 효과가 있으며 농약과 혼용이 가능하기 때문에 혼용 처리를 통해 해충방제의 시너지효과를 올릴 수 있다.

Steinernematid와 Heterorhabditid 선충은 특히 엽채류를 비롯한 채소에 심각한 피해를 주는 나방류나 딱정벌레류에 대하여 병원성이 우수하고, 포장 살포시 특별한 장비가 필요 없을 정도로 다루기가 간편한 생물농약이다. 포장에 살포된 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충은 기주곤충이 존재하는 한 토양 내에서 증식을 반복하며 지속적으로 생존할 수 있고, 기주곤충이 없더라도 약 6개월 이상이나 지속할 정도로 생존력이 강한 병원 미생물이다.

엽채류 저작성 해충은 그 종류가 다양할 뿐만 아니라 과다하고 빈번한 농약사용으로 인한 저항성의 발달로 살충제의 효과가 매년 감소하고 있는 상황이며 서울을 중심으로 경기지방 및 기타 전국의 도시 인근에서는 유기농법을 이용한 엽채류 생산이 급증하고 있지만 엽채류 해충 출현 시 적절한 방제법이 없는 실정이다.

국내 주요 엽채류 해충으로는 배추좀나방, 담배거세미나방, 파밤나방, 거세미나방, 배추흰나비, 좁은가슴잎벌레 외 많은 종류가 있는데 시설원예작물 중 천적을 이용한 생물적 방제의 도입이나 개발이 시급한 분야는 시설채소재배 분야이나 시설채소에 발생하는 해충 중 엽채류 해충에 대한 생물적 방제 연구는 배추좀나방을 방제하기 위하여 병원성 곰팡이를 이용한 연구 사례 정도만 있을 뿐이다.

시설원예작물 중요해충인 진딧물, 총채벌레, 온실가루이, 아메리카잎굴파리, 응애류

에 대한 천적인 진디벌, 흑파리류, 애꽃노린재, 온실가루이좀벌, 굴파리좀벌, 칠레이리응애, 긴털이리응애의 연구와 이용사례에 비하여 엽채류 해충에 대한 연구는 매우 빈약한 실정으로 화훼류에 비하여 상대적으로 농약잔류가 문제되는 청정 채소류 재배에 생물적 방제의 도입은 절실한 시대적 요구이다.

### III. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 세 분야의 세부과제별로 나누어 수행하였는데 각 세부과제별 연구의 범위는 제 1 세부과제의 경우 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충 자원 조사 및 생산 기술 개발을 위하여 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 자원 조사와 선충의 분류 동정 및 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 생산에 관한 연구를 수행하였고, 제 2 세부과제의 경우 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 생태적 특성에 관한 연구를 위하여 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 생태적 특성 연구와 분리된 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충별 병원성과 보관, 증식 등에 관여하는 온도 등 최적조건연구 및 식물의 지상부와 지하부에서의 병원성과 생존력, recycling 등 생태적 특성에 관한 연구, Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 보관력 향상에 관한 연구 등을 수행하였다. 제 3세부과제는 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충을 이용한 시설 엽채류 해충의 생물검정 및 이용 기술 개발을 위하여 각 해충에 대한 우수 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 선발 및 적정 처리농도 구명, 온도, 습도 등 환경조건에 따른 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 병원성 검정, 포장 처리 시 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 적정농도, 처리시기, 처리회수 구명, Steinernematid와 Heterorhabditid 선충과 혼용처리가 가능한 저독성 농약 선발 등으로 구성하였다.

### IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

#### 1. 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충 자원조사 및 생산 기술 개발

가. 9개도 453지역의 토양 시료 중 46지역에서 곤충병원성선충이 검출되었다. Steinernematid 선충이 40지역에서 검출되었으며 Heterorhabditid 선충은 6지역에서

만 검출되었다. 검출지 수는 산림에서 40곳, 밭에서 3곳, 강변에서 3곳이었다. 검출지 식생은 참나무(*Quercus* spp.)와 낙우송(*Taxodium distichum*)이 많았다. 검출지의 d 연평균기온은 9.9°C에서 16.4°C였으며 연평균강수량은 1,116.9 - 2,018 mm였다.

나. 검출된 곤충병원성선충은 형태적 특징과 분자생물학적 특징을 이용하여 분류하였는데 *Steinernema* GSNS-4 계통과 *Heterorhabditis* GSNH-1이 신종으로 확인되었다. 추후 다른 계통들에 대한 분자생물학적 비교 분석과 전자현미경적 분석이 수행되면 미기록 종이나 신종의 추가 기재가 예상된다.

다. 꿀벌부채명나방의 경제적 인공사료가 개발되었다. 꿀벌을 당원으로 사용하는 사료에 비하여 물엿과 설탕을 대체할 경우 6배와 13배의 경비 절감효과가 있었다. 당 종류별에 따른 유충의 두께와 체장은 비슷하였고, 무게는 벌꿀과 설탕을 1 : 1로 혼합한 것이 가장 무거웠다.

라. 꿀벌부채명나방을 이용한 곤충병원성선충의 in vivo 대량 배양법이 개발되었다. 저온저장법을 이용하여 꿀벌부채명나방의 고치 형성율을 현저히 줄일 수 있었다. 꿀벌부채명나방의 고치 형성율과 치사율을 최소화 할 수 있는 조건이 설정되었다. 플라스틱 바구니를 이용한 선충의 증식기구가 고안되었으며 효율적인 수거장치가 개발되었다.

마. 곤충병원성선충의 공생세균의 증식 적온과 온도가 병원성에 미치는 영향에 대한 결과를 얻었다. *Steinernema carpocapsae* GSN1 계통에서는 *Xenorhabdus nematophila*가 분리되었으며 *S. glaseri* Dongrae 계통에서는 *X. poinarii*가 분리되었고, *S. longicaudum* Gongju 계통에서는 *X. beddingii*가 분리되었다. 모든 공생세균은 온도가 높아질수록 병원성이 증가하여 LT<sub>50</sub>은 35°C에서 가장 짧았다. YS broth 배지에서 각 공생세균들은 30°C와 35°C에서 24시간 이내에 급격한 증식을 보였다.

바. 곤충병원성선충의 공생세균이 식물병에 대한 길항효과가 있음이 입증되었다. Steinernematidae에서 분리된 공생세균들에 비하여 Heterorhabditidae에서 분리된 *Photorhabdus luminescens*의 식물병에 대한 길항력이 높았다. *P. luminescens*는

*Rhizoctonia* 균과 역병균(*Phytophthora* sp.), 모잘록병균(*Fusarium oxysporum*)에 길항효과가 있었다.

## 2. 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 생리, 생태적 특성 연구

가. 온도는 곤충병원성선충의 병원성에 영향을 미쳤다. 곤충병원성선충의 종이나 계통에 따라 최적 병원성 발현 온도는 차이가 있었다. *S. carpocapsae* GSN1 계통은 24°C가 병원성 발현의 최적 온도였고, *S. longicaudum* Gongju 계통은 30°C, *S. glaseri* Dongrae 계통은 35°C였다. *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통은 30°C, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 계통은 24°C에서 병원성이 가장 높았다.

나. 온도는 곤충병원성선충의 기주침입력과 증식에 영향을 미쳤다. 곤충병원성선충의 종이나 계통에 따라 최대 기주침입수와 증식수에 차이를 보였다. 선충의 증식 가능 온도는 병원성 발현 온도보다 폭이 좁았다. *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *S. longicaudum* Gongju 계통, *S. glaseri* Dongrae 계통은 모두 15°C와 35°C에서는 증식이 되지 않았다. *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *S. longicaudum* Gongju 계통의 증식 적온은 24°C였고, *S. glaseri* Dongrae 계통은 30°C였다.

다. 온도에 따라 곤충병원성선충의 보관력은 차이가 있었다. 선충의 종이나 계통에 따라 보관력에 차이가 있었다. *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *S. longicaudum* Gongju 계통, *S. glaseri* Dongrae 계통은 모두 13°C내외의 보관 온도에서 보관력이 좋았다. 가정용 zip-lock 용기는 Tissue culture container와 동일한 선충 보관력을 보유하고 있었다.

라. 곤충병원성선충은 토양의 깊이와 수분함량 및 곤충병원성선충의 종이나 계통에 따라 기주 침입력에 차이를 보였다. *S. longicaudum* Gongju 계통은 토양깊이별에 따른 기주 침입 선충의 수가 차이를 보이지 않았으나 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통은 2 cm 깊이에 비하여 7 cm 깊이에서 침입선충수가 적었다. 반면 *Steinernema* sp. GSNUS-18과 *Steinernema* sp. GSNUS-36 계통은 7 cm 깊이에서 침입선충수가 많았다. 토양 수분 함량이 15% 이상일 경우 기주침입이 저해되었다.

마. 토양이 깊은 곳에서는 *S. carpocapsae* GSN1 계통에 비하여 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통의 병원성이 높았다. 기주에 침입하는 선충수도 *S. carpocapsae* GSN1 계통은 2 cm 깊이에 비하여 10 cm 깊이에서 적었다.

바. 토양 내에 기주곤충의 유무는 곤충병원성선충의 병원성에 영향을 미쳤다. 선충의 종이나 계통에 따라 기주곤충의 존재유무에 따른 병원성이 차이를 보였다. *Steinernema* sp. GSNUS-3 계통과 *Steinernema* sp. GSNUS-6 계통의 경우 기주곤충의 유무와 상관없이 병원성을 나타내었다. 그러나 *Steinernema* sp. GSNUS-2 계통의 경우 기주가 없는 조건에서는 병원성이 낮게 나타났다. *Heterorhabditid* 선충의 경우도 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 계통이나 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 계통의 경우 기주의 유무와 상관없이 높은 병원성을 보였으나 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통은 기주가 없을 때는 병원성이 낮게 나타났다.

사. 토양 내에 기주곤충의 유무는 곤충병원성선충의 기주침입에 영향을 미쳤다. 실험에 이용한 모든 선충들이 선충 접종 시 기주가 있을 때 기주에 침입하는 선충의 수가 기주가 없는 조건에서 4일 후에 기주를 넣었을 때에 비하여 기주침입 선충수가 적었다.

아. 자외선은 선충의 생존과 병원성에 영향을 미쳤다. 곤충병원성선충의 크기가 작은 종들이 자외선에 감수적 이었다. 자외선에 60분 노출 시, 대부분의 곤충병원성선충은 치사하였다. 자외선 노출 30분대에는 살아있는 선충의 수는 많지만 병원성은 대부분 상실하였다.

자. 차광의 정도나 잎의 위치에 비하여 처리시간이 곤충병원성선충의 생존에 영향을 더 미쳤다. 사철나무 잎에서 *S. carpocapsae* GSN1 계통의 생존은 오전 9시 처리와 오후 2시 처리에서는 6시간을 넘지 못하였고, 오후 6시 처리의 경우 12시간까지 생존하였다.

차. 엽채류의 종류나 성장정도 및 처리시간에 따라 곤충병원성선충의 생존에 영향을 미쳤다. 배추는 양배추나 케일에 비하여 많은 선충이 생존하였다. 어린 식물체보

다 생육이 진행된 식물체에서 더 많은 선충이 생존하였다. 오전 9시와 오후 2시에 곤충병원성선충을 처리할 경우 지속성이 6시간을 넘지 못하였다.

카. 곤충병원성선충은 수정벌과 붉은줄지렁이에 안전하였다. 수정벌은 곤충병원성 선충을 직접 살포하여도 감염이 이루어지지 않았고, 지렁이는 실내, 온실, 야외 실험 모두에서 선충에 감염되지 않았다.

타. 개미는 곤충병원성선충 감염충을 기피하였다. 개미는 자연치사충을 가장 선호 하였으며 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통에 감염되어 치사된 꿀벌부채명나방을 가장 싫어하였다. *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통 감염 치사체는 처리 6시간 후까지 섭식을 하지 않았고, 처리 16시간 후에도 자연치사충에 비하여 배정도 선호 성이 낮았다.

파. 곤충병원성선충은 포식성천적의 종류에 따라 미치는 영향이 달랐다. 온실가루 이좀벌과 칠레이리응애, 싸리진디벌, 가루진디벌, 콜레마니진딧벌은 *S. carpocapsae* GSN1 계통에 감염되지 않았다. 그러나 굴파리좀벌이나 잎굴파리고치벌, 진디혹파리, 무당벌레, 어리줄풀잠자리는 *S. carpocapsae* GSN1 계통에 의해 감염되어 치사되었다.

### 3. 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충을 이용한 시설 엽채류 해충의 생물검정 및 이용 기술 개발

가. 한국산 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충들은 엽채류 해충인 배추좀나방과 담배거세미나방, 파밤나방에 대한 실내 실험결과 병원성이 뛰어난 계통을 선발하였다. 또한 이들 해충이 단독 또는 혼합적으로 발생하여도 방제효과가 높아 해충의 동시방제가 가능할 것으로 기대되었다.

나. 한국산 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충들은 배추좀나방에 대하여 15°C에서 35°C까지 병원성을 나타내었다. 병원성 발현의 최적 온도는 25°C 내외였다. 배추좀나방 유충에서 선충의 증식은 15°C에서 30°C에서 이루어졌고, 최적온도는 25°C

었다.

다. 곤충병원성선충은 배추줄나방과 담배거세미나방, 과밤나방, 배추흰나비, 도둑나방, 흰띠명나방, 무잎벌, 좁은가슴잎벌레에 대하여 우수한 방제효과를 pot와 포장실험에서 확인하였다. m<sup>2</sup>당 10만마리의 곤충병원성선충을 살포할 경우 대부분의 엽채류 해충에 효과가 있었다. 해충발생기에 3일 간격으로 2회나 3회의 방제를 할 경우 효과가 높았다. 배추흰나비가 상대적으로 곤충병원성선충에 대한 감수성이 높았다.

라. 엽채류 종류에 따라 곤충병원성선충의 효과는 차이가 있었다. 배추와 양배추, 케일, 적겨자, 싹추, 잎브로콜리, 적근대, 청경채에서 해충별에 따라 곤충병원성선충을 처리한 결과 배추와 싹추, 적겨자에서는 방제가가 높았으며 양배추와 케일, 잎브로콜리에서는 방제가가 낮았다.

마. 곤충병원성선충을 처리하기에 적합한 노즐은 접이형 이었다. 노즐의 크기가 클수록 곤충병원성선충의 배추흰나비 방제효과는 높았다. 초당 5 ml 노즐에 비하여 15 ml 노즐이 13% 이상의 높은 방제가를 보였다.

바. 곤충병원성선충은 시설엽채류에 사용하는 농약에 대해 비교적 안전하였다. 살충제인 에토펜프록스유제와 디메칠빈포스유제, 비펜스린유제, 다수진유제, 에마멕틴벤조에이트유제와 살균제인 디메쏘모르프·염기성염화동수화제, 메타실수화제, 옥소리닉에시드수화제와 살비제인 밀베멕틴유제, 테부펜피라드유제, 피라크로포스수화제를 이용하여 곤충병원성선충에 미치는 영향을 조사한 바, 밀베멕틴유제와 피라크로포스수화제를 제외하고는 선충의 병원성에 영향을 미치지 않았다.

#### 4. 활용에 대한 건의

##### 가. 시책건의

- 1) 곤충병원성선충은 시설엽채류 재배지 생물적 방제인자로 유망하므로 친환경농산물 생산을 위해 이들의 사용 활성화를 건의 함
- 2) 외국산 곤충병원성선충의 국내 시판에 대비한 법적, 제도적 보완책과 안전성 확

보 문제에 대한 대책 강구를 건의 함

3) 국내 생물자원 보호를 위한 제도적 장치 마련과 유용생물자원의 종합적 연구지원을 건의 함

4) 항목 3을 위하여 곤충병원성선충 종자은행의 설립을 건의 함

5) 곤충병원성선충의 공생세균 이용 신기술 개발에 대한 국가적 지원을 건의 함

#### 나. 지도사업반영

1) 곤충병원성선충을 이용한 봄배추 문제 나방류 생물적 방제법(2004년 영농활용자료로 제출)

2) 시설재배지에서 엽채류 해충 방제를 위한 곤충병원성선충 처리적온은 15 - 35℃ 이므로 이 온도를 유지하도록 권장

3) 곤충병원성선충 처리 적기는 흐린 날이나 일몰 직전이 바람직하고, 습도가 높은 조건을 유지하도록 권장

4) 시설엽채류 재배지에서 배추좀나방과 파밤나방, 담배거세미나방 유충이 단독 또는 혼합 발생하면 발생초기에 곤충병원성선충의 살포를 권장

5) 시설엽채류 재배지에서 나방류 해충이 발생할 경우 3일 간격으로 2 - 3회 곤충병원성선충 살포를 권장

6) 시설엽채류 재배지에서 나방류 해충의 방제를 위한 곤충병원성선충의 적정 처리농도는 m<sup>2</sup>당 5만에서 10만 마리가 적당함을 권고

7) 곤충병원성선충의 살포를 위한 적합한 노즐은 접이형이고, 노즐은 초당 15 ml 정도가 적합함을 권장

8) 시설엽채류 사용 농약들 중 에토펜프록스유제와 디메칠빈포스유제, 비펜스린유제, 다수진유제, 에마멕틴벤조에이트유제, 디메쏘모르프·염기성염화동수화제, 메타실수화제, 옥소리닉에시드수화제, 테부펜피라드유제 등은 곤충병원성선충에 비교적 안전함을 공지

9) 곤충병원성선충과 온실가루이좀벌, 칠레이리응애, 싸리진디벌, 가루진디벌, 콜레마니진딧벌의 동시 처리는 안전하나 굴파리좀벌이나 잎굴파리고치벌, 진디혹파리, 무당벌레, 어리줄풀잠자리와의 동시 처리는 피할 것을 홍보할 것을 권고 함

10) 곤충병원성선충은 수정벌과 지렁이, 개미에 안전함을 고지할 것을 권고 함

# SUMMARY

## I. Title

Environmentally Friendly Control Development of Greenhouse Foliage Insect Pests with Korean Indigenous Steinernematids and Heterorhabditids

## II. Introduction

Not only control of foliage insect pests with indigenous microbial pathogens, steinernematids and heterorhabditids is corresponded to the world-wide tendencies to preserve stable environment but also these are alternative effective biological control agents to realize efficient IPM of insect pests instead of chemical insecticides. About 140 insect species have been developed and being commercialized as natural enemies. 18 kinds of microbial insecticides are also developed from some insects and commercialized. Although the proportion of predators and/or parasitoids or microbial pathogens such as steinernematids and heterorhabditids to total agricultural pesticides are expected to be increased to control of insect pests, biological control of insects in Korea are dependent upon exotic natural enemies. However, many effective indigenous natural enemies such as steinernematids and heterorhabditids can be obtained from searching of potential control agents and development of utilization technique of them. Detection of control agencies and studies on biological and ecological characters, field tests, application techniques of them are required to enhance utilization. Therefore, the objective of this study is to control of greenhouse foliage insect pests efficiently with entomopathogenic nematodes, steinernematids and heterorhabditids.

Because entomopathogenic nematodes, steinernematids and heterorhabditids, are safe to vertebrates including man, plants, and other nontarget organisms, killing

only target insects, and can be easily cultured, some steinernematids and heterorhabditids are practically being used in golf courses to control white grubs.

Developed biopesticides such as entomopathogenic fungi or bacteria do not penetrate into host insects whereas steinernematids and heterorhabditids can actively search hosts, penetrate, and kill them quickly. These nematodes penetrate hosts through natural openings. In addition, the invasive stage (infective juveniles) of these two families carries cells of a symbiotic bacterium in the genus *Xenorhabdus* for *Steinernema* and *Photorhabdus* for *Heterorhabditis*, respectively. When infective juveniles enter the haemocoel of a host, they release the bacterium. The bacterium multiplies rapidly in the insect blood and kills the insect by septicemia, usually within 24-48 h. Especially, *Steinernema carpocapsae* has a wide host range at least more than 250 hosts.

Although predators and parasitoids are effective only against above-ground part insects, steinernematids and heterorhabditids are effective not only against above-ground part insects but also under-ground part insects. These two nematodes are effective to insect pests which agri-chemicals can not reach in water and soil. Moreover, steinernematids and heterorhabditids are compatible with agri-chemicals and bring synergetic effect by the mix-application.

Not only steinernematids and heterorhabditids are highly virulent to foliage insect pests such as caterpillars and coleopteran pests but also these bioinsecticides can be easily applied without special instrument. The applied steinernematids and heterorhabditids recycle in soil as far as hosts are present in the niche. They also persist about 6 months without hosts.

There are many foliage insect pests on vegetables being used leaves as food. In addition, the pests developed resistance to agri-chemicals by frequent and many applications. The effectiveness of agri-chemicals decreases thereby. Despite

the leaf vegetables are being produced by organic farming in the center of Seoul and Gyeonggi province and expanded to all the country, there are no suitable control tactics.

The main insect pests of leaf vegetables are diamondback moth, *Spodoptera litura*, *S. exigua*, *Agrotis segetum*, *Artogenia rapae*, *Phyllotreta striolata*, and so forth. Although biological control of leaf vegetables in greenhouses is necessarily required, biological control is tried to only diamondback moth using entomopathogenic fungi in greenhouses. Therefore, biological control of foliage insect pests using entomopathogenic nematodes is recommended as environmentally friendly control tactics of leaf-feeding insect pests in greenhouses.

### **III. Research scopes and prospective**

This study was divided into three parts, that is, 1). Detection and isolation of Korean steinernematids and heterorhabditids and mass production; 2). Study on ecological characters of isolated steinernematids and heterorhabditids and on storage, temperature effect on proliferation, virulence, persistence on top and below of plants, and recycling; and 3). Bioassay of isolated steinernematids and heterorhabditids against foliage insect pests and practical utilization study on them. This study obtained many new isolates of Korean steinernematids and heterorhabditids and investigated ecological characters of isolated Korean steinernematids and heterorhabditids, better storage methods, optimum temperature for storage and proliferation, and proved persistence and recycling in fields. In addition, optimum dosage, application hour and time, innovative approach to use steinernematids and heterorhabditids were examined.

### **IV. Result and suggestions**

1. Detection and isolation of Korean steinernematids and heterorhabditids and development of nematode production

1). 46 sites were nematode positive out of 453 samples in 9 provinces. Steinernematids were isolated from 40 sites but heterorhabditids were found from 6 sites. Positive sites were 40 from forest, 3 from upland field, 3 from riparian. Nematodes were frequently isolated from *Quercus* spp. and *Taxodium distichum* forest, average temperature was from 9.9°C to 16.4°C, and average precipitation was 1,116.9-2018 mm.

2). Morphological and molecular biological characters were used to identify nematodes. *Steinernema* sp. GSNUS-4 strain and *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 were new species. Some other species will be added as unrecorded species in Korea by analyses of continuing molecular biology and SEM investigation..

3). Economical artificial diets was developed for the great wax moth larvae, *Galleria mellonella*. Malt and sugar decreased production expenses by 6 times and 13 times, respectively compared with honey. Head width of *Galleria mellonella* larvae was not different, but weight was the heaviest in the mixed diet of honey and sugar at the rate of 1 : 1.

4). In vivo mass production using *Galleria mellonella* was developed. *Galleria mellonella* stored at low temperature was less pupated and developed methods inducing low mortality and low pupation. Proliferation method using plastic materials and new harvesting equipment were developed.

5). Effect of temperature on propagation of symbiotic bacteria and virulence was clarified. *Xenorhabdus nematophila* was separated from *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain, *X. poinarii* from *S. glaseri* Dongrae strain, and *X. beddingii* from *S. longicaudum* Gongju strain. Virulence of all the bacteria

increased with increasing temperature.  $LT_{50}$  was the shortest at 35°C. Each bacterium was highly propagated in YS broth at 30°C and 35°C within 24 h.

6). Symbiotic bacteria showed antagonistic against phytopathogens. Symbiotic bacteria from steinernematids showed higher antagonistic against plant pathogens than *Photorhabdus luminescens* from heterorhabditids. *P. luminescens* was antagonistic against *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* sp., and *Fusarium oxysporum*.

2. Ecological and physiological characters of Korean steinernematids and heterorhabditids

1). Temperature influenced pathogenicity of entomopathogenic nematodes. Optimum temperature for inducing high pathogenicity was different depending on entomopathogenic nematode species and strains. Optimum temperature for *S. carpocapsae* GSN1 strain was 24°C, 30°C for *S. longicaudum* Gongju strain, 35°C for *S. glaseri* Dongrae strain, 30°C for *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain, and 24°C for *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 strain.

2). Temperature influenced nematode penetration to host and proliferation. Maximum numbers of penetration nematodes and propagated progenies were different depending on nematode species and strains. Temperature range for nematode propagation was narrower than range for pathogenicity. *S. carpocapsae* GSN1 strain, *S. longicaudum* Gongju strain, and *S. glaseri* Dongrae strain were not propagated at 15°C and 35°C. Optimum temperature for propagation of *S. carpocapsae* GSN1 strain and *S. longicaudum* Gongju strain was 24°C while that for *S. glaseri* Dongrae strain was 30°C.

3). Storage period of entomopathogenic nematodes was different depending on temperature, that is, different depending on nematode species and strains. *S. carpocapsae* GSN1 strain, *S. longicaudum* Gongju strain, and *S. glaseri* Dongrae

strain were the best at 13°C. Zip-lock for home use was as good as tissue culture container for keeping nematodes.

4). Penetration of entomopathogenic nematodes was different depending on soil depth, moisture, nematode species, and strains. Although *S. longicaudum* Gongju strain was not different in penetration by soil depth, numbers of penetration of *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain were higher at 2 cm than at 7 cm. However, numbers were higher at 7 cm in *Steinernema* sp. GSNUS-18 strain and *Steinernema* sp. GSNUS-36 strain. Over 15% was negative against entomopathogenic nematodes.

5). Pathogenicity of *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan strain was higher than *S. carpocapsae* GSN1 strain in deeper soil. The number of penetrated *S. carpocapsae* GSN1 strain was higher at 2 cm than 10 cm.

6). Presence of host in soil influenced pathogenicity of entomopathogenic nematodes depending on species and strains. However, *Steinernema* sp. GSNUS-3 strain and *Steinernema* sp. GSNUS-6 strain showed high pathogenicity regardless of host presence. Pathogenicity of *Steinernema* sp. GSNUS-2 strain was low in the absence of host. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 strain and *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 strain showed high pathogenicity regardless of host presence, but *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain showed low pathogenicity in the absence of host.

7). Presence of host in soil influenced penetration of entomopathogenic nematodes. The number of penetrated nematodes was lower at the release of host 4 days later than at the same time release with nematodes.

8). Ultra violet influenced survival and pathogenicity of entomopathogenic nematodes. Small nematodes were more susceptible against ultra violet than large

nematodes. Most of entomopathogenic nematodes were dead when exposed to ultra violet for 60 minutes. Although many nematodes exposed to ultra violet for 30 minutes were alive, pathogenicity was almost lost.

9). Nematode application time was more important in nematode survival than level of shading the light or position of leaves. Persistence of *S. carpocapsae* GSN1 strain on leaves of *Euonymus japonica* persisted for no longer 6 h at the application of 09:00 and 14:00. The nematodes survived for 12 h at the application of 18:00.

10). Kinds of leaf vegetables, growth, application time influenced pathogenicity of entomopathogenic nematodes. More nematodes survived on Chinese cabbage leaf than on cabbage or kale and persisted longer on old leaves than young leaves. When nematodes were applied at 09:00 and 14:00, nematodes did not survive for 6 h.

11). Entomopathogenic nematodes were safe to bumble bee, *Bombus terrestris* and earthworm, *Eisenia fetida*. Bumble bees were not dead at the direct exposure and earthworm was not infected in laboratory, greenhouse, and field, either.

12). Ants avoided infected cadavers by entomopathogenic nematodes, especially by *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan strain. Ants preferred natural dead cadavers. Ants did not feed on cadavers by *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan strain for 6 h and showed less preference than natural dead cadavers even after 16 h.

13). Effect of entomopathogenic nematodes on predators or parasitoids were different. *Encarsia formosa*, *Phytoseiulus persimilis*, *Aphidius gifuensis*, *Diaeretiella rapae*, and *Aphidius colemani* were not infected by *S. carpocapsae* GSN1 strain whereas *Diglyphus isaea*, *Dacnusa sibirica*, *Aphidoletes aphidimyza*, *Harmonia axyridis*, and *Chrysoperla carnea* were infected and killed.

3. Bioassay and utilization development of Korean steinernematids and heterorhabditids against greenhouse foliage insect pests

1). Korean steinernematids and heterorhabditids showed high pathogenicity against diamondback moth, *Spodoptera litura* and *S. exigua* in laboratory and screened. The nematodes were highly virulent against them alone or mixed occurrence.

2). Korean steinernematids and heterorhabditids were effective against diamondback moth even from 15°C to 35°C. The optimum temperature was around 25°C. Entomopathogenic nematodes were propagated on diamondback moth larvae from 15°C to 30°C, but optimum temperature was 25°C.

3). Entomopathogenic nematodes were effective against diamondback moth, *Spodoptera litura*, *S. exigua*, common cabbage worm, cabbage armyworm, *Hymenia recurvalis*, cabbage sawfly, and striped cabbage flea beetle in pot and field. When nematodes were applied at the rate of 100,000 infective juveniles per m<sup>2</sup>, they were very effective against most of foliage insect pests. Two or three applications by every 3 days showed more effectiveness. Common cabbage worm was more susceptible.

4). Pathogenicity of entomopathogenic nematodes was different depending on kinds of leaf vegetables. The pathogenicity was higher on Chinese cabbage, lettuce, and leaf mustard than on cabbage, kale, and broccoli.

5). The suitable nozzle for the application of entomopathogenic nematodes was folded type. The bigger in size of nozzle, the better for common cabbage worm control. Pathogenicity was higher more than 13% with nozzle 5 ml/second than 15 ml/second.

6). Entomopathogenic nematodes were resistant to agri-chemicals using for

foliage insect pest control. When resistance of entomopathogenic nematodes were tested to insecticides, etofenprox EC, dimethyvinphos EC, bifenthrin EC, daiazion EC, emamectin benzoate EC, fungicides, dimethomorph + copperoxychloride(Cu) WP, metalaxy WP, oxolinic acide WP, acaricides, milbemectin EC, tebufenpyrad EC, and pyraclofos WP, only milbemectin EC and pyraclofos WP affected nematodes.

#### 4. Proposal for utilization

##### 1). Proposal policy

(1). Utilization of entomopathogenic nematodes is strongly recommended in greenhouses because these nematodes are highly effective biological control agents against foliage insect pests.

(2). Law on the selling of exotic entomopathogenic nematodes in Korea should be made to protect domestic natural enemies owing to safety.

(3). System for protecting domestic biological resources should be made and supported for synthetic researches.

(4). Foundation of seed bank of entomopathogenic nematodes is recommended for the purpose of (3).

(5). National support is recommended to develop new technique of symbiotic bacteria.

##### 2). Guidance for farmers to utilize entomopathogenic nematodes

1). Environmentally friendly control of main insect pests of Chinese cabbage in spring cultivation with entomopathogenic nematodes (Suggested for 2004 farming guidance)

2). Keeping optimum temperature, 15-35°C, is recommended to control foliage insect pests in greenhouses.

3). Application of entomopathogenic nematodes is recommended on cloudy day or just before sunset with keeping high humidity.

4). Application of entomopathogenic nematodes is recommended at the beginning of insect pest occurrence regardless of outbreak of diamondback moth, *Spodoptera exigua*, and *S. litura* alone or mixed.

5). Two or three applications of entomopathogenic nematodes are recommended every three 3 days for the control of greenhouse foliage insect pests.

6). Optimum dosage of entomopathogenic nematodes is 50,000 to 100, 000 infective juveniles per m<sup>2</sup>.

7). Folded type of nozzle with 15 ml per second is suitable for entomopathogenic nematodes.

8). Insecticides, etofenprox EC, dimethyvinphos EC, bifenthrin EC, daiazion EC, emamectin benzoate EC, fungicides, dimethomorph + copperoxychloride(Cu) WP, metalaxy WP, oxolinic acide WP, acaricides, EC, and tebufenpyrad EC, are comparatively safe to entomopathogenic nematodes.

9). Because predators or parasitoids, *Encarsia formosa*, *Phytoseiulus persimilis*, *Aphidius gifuensis*, *Diaeretiella rapae*, and *Aphidius colemani* are not infected by *S. carpocapsae* GSN1 strain whereas *Diglyphus isaea*, *Dacnusa sibirica*, *Aphidoletes aphidimyza*, *Harmonia axyridis*, and *Chrysoperla carnea* are infected and killed, entomopathogenic nematodes should be not to use when *Diglyphus isaea*, *Dacnusa sibirica*, *Aphidoletes aphidimyza*, *Harmonia axyridis*,

and *Chrysoperla carnea* are present.

10). Let people know that entomopathogenic nematodes are safe to bumble bee, earthworm, and ants.

# Contents

Summary in Korean .....	2
Summary in English .....	11
Contents in English .....	22
Contents in Korean .....	25
Chapter 1. Introduction .....	27
Section 1 Research purpose .....	27
Section 2. Necessity of research .....	27
Section 3. Content of research .....	30
Chapter 2. Present situation of international technical development .....	32
Chapter 3. Perspectives of research and results .....	33
Section 1. Isolation of Korean Steinernematid and Heterorhabditid and development of production technic .....	33
1. Isolation of Korean Steinernematid and Heterorhabditid .....	33
2. Classification and identification of Korean Steinernematid and Heterorhabditid .....	37
3. Production technic development of entomopathogenic nematode ..	88
.....	
4. Technic development of entomopathogenic nematode's symbiotic bacteria .....	98
Section 2. Physiological and ecological research of Korean Steinernematid and Heterorhabditid .....	105
1. Effect of temperature on pathogenicity, development and storage of Steinernematid and Heterorhabditid .....	105
2. Effect of soil moisture and depth on pathogenicity of Steinernematid and Heterorhabditid .....	123

3. Effect of UV and sun-light exposure on entomopathogenic nematodes, Steinernematid and Heterorhabditid .....	147
4. Effect of beneficial entomopathogenic nematode, Steinernematid and Heterorhabditid on beneficial animals .....	155
Section 3. Bioassay and development of application technic by Korean entomopathogenic nematode, Steinernematid and Heterorhabditid .....	167
1. Bioassay of entomopathogenic nematode, Steinernematid and Heterorhabditid against greenhouse vegetable insect pest in petri dish .....	167
2. Pathogenicity, invading number and preogeny of entomopathogenic nematode, Steinernematid and Heterorhabditid depending on temperature .....	174
3. Bioassay of entomopathogenic nematode, Steinernemati and Heterorhabditid against greenhouse vegetable insect pest in pot .....	182
4. Pathogenicity of entomopathogenic nematode, Steinernemati and Heterorhabditid dependind on vegetable species .....	197
5. Effect of application methods of entomopathogenic nematode on pathogenicity of greenhouse vegetable insect pests .....	214
6. Effect of nematode concentration on vegetable insect pests in greenhouse .....	215
7. Selection of low toxicity pesticide against entomopathogenic nematode .....	228
Chapter 4. Research achievement and its contribution .....	230
Section 1. Research achievement .....	230
Section 2. Research contribution .....	231
Section 3. Research results .....	234
Chapter 5. Using plan of research's results .....	239
1. Application field .....	239
2. Application type and methods .....	239

3. Industrialize plan .....	240
4. Necessity of additional research .....	240
Chapter 6. List of international scientific information .....	241
Chapter 7. Reference .....	242

# 목 차

요약문 .....	2
영문요약문 .....	11
영문목차 .....	22
목차 .....	25
제 1 장 연구 개발과제의 개요 .....	27
제 1 절 연구의 목적 .....	27
제 2 절 연구의 필요성 .....	27
제 3 절 연구의 범위 .....	30
제 2 장 국내외 기술개발 현황 .....	32
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 .....	33
제 1 절 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 자원 조사 및 생산 기술 개발 .....	33
1. 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충 자원 조사 .....	33
2. 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 분류·동정 .....	37
3. 곤충병원성선충의 생산 기술 개발 .....	88
4. 곤충병원성선충 공생세균 이용 기술 개발 .....	98
제 2 절 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 생리, 생태적 연구 ...	105
1. 온도가 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 병원성과 증식 및 보관에 미치는 영향 .....	105
2. 토양 수분과 깊이가 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 병원성에 미치는 영향 .....	123
3. 자외선과 직사광선이Steinernematid와 Heterorhabditid 선충에 미치는 영향 .....	147
4. Steinernematid와 Heterorhabditid 선충이 유용곤충에 미치는 영향 ...	155
제 3 절 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충을 이용한 시설 업체류 해	

충의 생물검정 및 이용 기술 개발 .....	167
1. 시설 엽채류 해충에 대한 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 Petri dish 생물검정 .....	167
2. Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 온도별 병원성과 침입수 및 증식수 조사 .....	174
3. 시설 엽채류 해충 종에 대한 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 pot 생물검정 .....	182
4. 엽채류 품종에 따른 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 pot 병원성 비교 .....	197
5. 선충 처리 방법별 시설 엽채류 해충에 대한 병원성 비교 .....	214
6. 시설 엽채류 해충에 대한 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 농도별에 따른 야외실험 .....	215
7. Steinernematid와 Heterorhabditid 선충과 혼용가능한 저농약 선발 .....	228
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	230
1. 연차별 연구목표 달성도 .....	230
2. 관련분야 기술발전예의 기여도 .....	231
3. 주요 연구 성과물 .....	234
제 5 장 연구개발경과의 활용계획 .....	239
1. 활용분야 .....	239
2. 활용유형 및 활용방안 .....	239
3. 현장보급 방안 및 산업화 계획 방안 .....	240
4. 추가연구의 필요성 및 타연구에의 응용 .....	240
제 6 장 연구 개발 과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	241
제 7 장 참고문헌 .....	242

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

### 제 1 절 연구의 목적

토착 병원성 미생물인 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충을 이용한 엽채류 해충의 방제는 환경을 중요시 하는 세계적인 추세에 부합하는 것이며 나아가 화학살충제에 대체할 수 있는 효과적으로 IPM을 실현 가능케 할 생물적 방제인자이다. 현재 우리나라의 화학농약사용량은 ha당 약 12 kg으로 OECD국가 중 일본(14 kg) 다음으로 높아 정부에서는 전체농약사용량을 50% 감축시키겠다고 선언해 이의 실천방안으로 곤충병원성 선충의 이용기술 개발연구가 대안이 될 수 있을 것으로 사료된다. 현재 해충의 생물적 방제에 이용되고 있는 천적 곤충으로 약 140여종이 이미 개발되어 상품화되었으며, 미생물 살충제도 18종정도가 일부 해충에서 개발되어 시판 중에 있다. 이처럼 천적 곤충이나 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충과 같은 미생물 살충제 등과 같은 농약 대체 방제 인자가 전체 농약 중에 차지하는 비중이 점차 증가할 것으로 예상되고 있으나 현재 우리나라의 생물적 방제는 주로 외국에서 도입한 천적에 의존하고 있다. 그러나 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 탐색과 이용 기술 연구로 우수한 병원성을 지닌 토착 천적을 다수 확보할 수 있을 것으로 생각되며 국내 천적 자원들 중 산업화의 진행이 현재 이루어지고 있지만 이들의 활용성 제고를 위해서는 자원 탐색과 생물적, 생태적 특성 연구, 현장 적용시험 및 처리 기술 개발 등이 절실히 요구되고 있다. 따라서 본 연구의 목표는 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충을 이용한 시설 엽채류 해충의 생물적 방제 체계 기술의 개발을 통해 시설 엽채류 재배 농가에서 효율적으로 곤충병원성 선충을 활용하여 생물적 해충 제어 기술을 취득케 하는데 있다.

### 제 2 절 연구의 필요성

#### 1. 기술적 측면

곤충병원성선충인 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충은 인체나 환경에 매우 안전하며 표적해충만 기생하여 치사시키고 작물생육에는 전혀 지장을 주지 않는 대량생산이 가능한 환경친화형 생물농약 자원으로 현재 우리나라에서는 몇몇 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충이 골프장 잔디를 가해하는 굼벵이류 방제에서 실용화 단계에 있다.

생물농약으로 이용 개발된 곤충병원성 곰팡이나, 세균 등이 스스로 표적해충에 침입을 하지 못하는 반면 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충은 스스로 표적해충을 탐색하여 침입하는 매우 능동적이고 활발한 운동성을 지닌 효과가 뛰어난 병원성 미생물로 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충은 해충의 자연 개구부를 통하여 침입하게 되면 공생세균과 작용하여 24 - 48시간이내에 해충에 패혈증을 일으켜 치사를 시킨다. 특히 *Steinernema carpocapsae*라는 종은 250종 이상의 곤충에 병원성을 가질 만큼 다른 생물농약보다 기주범위가 대단히 넓은 것이 특징이다.

기존의 기생성, 포식성 천적이 지상부 해충에만 효과가 한정적인 반면, Steinernematid와 Heterorhabditid 선충은 지상부는 물론 토양내의 지하부 해충에도 효과가 매우 탁월하여 특히, 농약의 효과가 떨어지거나 도달하기 어려운 수중이나 토양심층에서도 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충은 효과가 있으며 농약과 혼용이 가능하기 때문에 혼용 처리를 통해 해충방제의 시너지효과를 올릴 수 있다.

Steinernematid와 Heterorhabditid 선충은 특히 엽채류를 비롯한 채소에 심각한 피해를 주는 나방류나 딱정벌레류에 대하여 병원성이 우수하고, 포장 살포시 특별한 장비가 필요 없을 정도로 다루기가 간편한 생물농약이다. 포장에 살포된 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충은 기주곤충이 존재하는 한 토양 내에서 증식을 반복하며 지속적으로 생존할 수 있고, 기주곤충이 없더라도 약 6개월 이상이나 지속할 정도로 생존력이 강한 병원 미생물이다.

엽채류 저작성 해충은 그 종류가 다양할 뿐만 아니라 과다하고 빈번한 농약사용으로 인한 저항성의 발달로 살충제의 효과가 매년 감소하고 있는 상황이며 서울을 중심으로 경기지방 및 기타 전국의 도시 인근에서는 유기농법을 이용한 엽채류 생산이 급증하고 있지만 엽채류 해충 출현 시 적절한 방제법이 없는 실정이다.

국내 주요 엽채류 해충으로는 배추좀나방, 담배거세미나방, 파밤나방, 거세미나방, 배추흰나비, 좁은가슴잎벌레 외 많은 종류가 있는데 시설원예작물 중 천적을 이용한 생물적 방제의 도입이나 개발이 시급한 분야는 시설채소재배 분야이나 시설채소에

발생하는 해충 중 엽채류 해충에 대한 생물적 방제 연구는 배추좀나방을 방제하기 위하여 병원성 곰팡이를 이용한 연구 사례 정도만 있을 뿐이다.

시설원예작물 중요해충인 진딧물, 총채벌레, 온실가루이, 아메리카잎굴파리, 응애류에 대한 천적인 진디벌, 흑파리류, 애꽃노린재, 온실가루이좀벌, 굴파리좀벌, 칠레이리응애, 긴털이리응애의 연구와 이용사례에 비하여 엽채류 해충에 대한 연구는 매우 빈약한 실정으로 화훼류에 비하여 상대적으로 농약잔류가 문제되는 청정 채소류 재배에 생물적 방제의 도입은 절실한 시대적 요구이다.

## 2. 경제·산업적 측면

세계의 생물농약은 전체 농약시장 규모인 약 3백억 달러(1997)의 3%에 지나지 않지만 2010년에는 약 500%가 증가되어 전체 농약시장 4백30억 달러의 10% 정도를 차지할 것으로 예측되고 있고, 국내에서도 생물농약은 현재의 0.16%에서 2010년에는 약 10%로 증가하여 년 간 약 1천2백20억원의 시장이 예상되고 있다.

현재 시설재배 면적은 전 세계적으로 300,000ha에 달하고 있고, 그 중에 73%는 전혀 생물적 방제가 이루어지지 않고 있으며 7%는 천적을 활발히 이용하고 있고, 20% 정도는 천적이 일부 활용되고 있는데 포식성 천적의 이용이 많은 편이다. 미국 BC사는 연평균 천적 시장 성장율이 11%라고 예측하고 있으며 또한 천적 시장규모는 1990년대에 2 - 3억불이던 것이 2000년대는 60 - 80억불이 될 것으로 예측되고 있다.

채소류 해충의 방제는 주로 농약에 의존하고 있으며 그 종류가 매우 다양하여 기준살포회수와 살포량이 많아 방제비용이 높고 환경오염이나 천적에 악영향을 끼칠 우려가 높는데 반면 효과는 없는 편이다. 대부분의 엽, 경채류는 시설 내에서 생산되고 있는데 국내의 시설채소 재배면적은 '00년 현재 15,940ha에 이르며 총생산량은 연간 520,556톤이다. 시설재배면적과 생산량은 지난 30년간 꾸준한 성장을 보여 왔으며 '96년 대비 재배면적은 2.6%, 생산량은 9.5%의 증가를 나타내었고 국민생활수준의 향상과 더불어 신선채소류의 소비량은 지속적으로 증가할 것으로 전망되고 있다.

한편 천적의 국내개방 시 무분별한 선진국의 천적 도입은 국내 농림생태계의 파괴나 국내 천적 회사의 존립에 영향을 줄 수 있다.

### 3. 사회·문화적 측면

OECD와 WTO 체제하에서 안전농산물의 생산으로 생산성과 농가소득의 증가를 도모하기 위하여 지속농업(Sustainable agriculture) 및 친환경농업(Environment-friendly agriculture)이 전 세계적으로 확대 실행되고 있다. 1992년 Rio 환경회의에서는 유기합성 농약의 사용량을 2004년까지 50% 감소하자는 국가 간의 협약을 체결하였고, 우리나라에서는 2004년까지 1993년을 기준으로 농약 50%, 비료 40%를 절감하는 환경농업법을 시행하여 환경친화형 저투입 농업으로의 전환을 꾀하고 있다.

국민소득의 증가에 따라 건강에 대한 관심이 증대하고 안전 농산물에 대한 선호도도 높아지고 있어 화학적으로 합성된 비료, 농약, 성장조절제 사용을 가급적 피하고 윤작이나 농업 부산물, 농업외적 유기물, 경운, 천연광물 및 생물적방제 기술 등을 사용하여 토양을 물리적으로 건강하게 보전하면서 비옥도를 높이고 잡초 및 병해충은 환경 친화적으로 방제하는 유기농법이나 환경친화형 농법이 주목을 받고 있다. 또한 농산물의 자유무역체제하에서 경쟁력을 갖추기 위해서는 생물적 방제 등을 이용한 친환경농업이 시급히 이루어져야 할 과제이다. 따라서 환경이나 인체에 전혀 피해를 주지 않고 약제 살포횟수를 줄이며 한편으로는 타 방제인자와 혼용처리가 가능한 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충을 이용한 환경친화형 방제에 대한 기술 개발이 절실히 요구되고 있다.

## 제 3 절 연구의 범위

연구는 세 분야의 세부과제별로 나누어 수행하였는데 각 세부과제별 연구의 범위는 제 1 세부과제의 경우 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충 자원 조사 및 생산 기술 개발을 위하여 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 자원 조사와 선충의 분류 동정 및 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 생산에 관한 연구를 수행하였고, 제 2 세부과제의 경우 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 생태적 특성에 관한 연구를 위하여 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 생태적 특성 연구와 분리된 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충별 병원성과 보관, 증식 등에 관여하는 온도 등 최적조건연구 및 식물의 지상부와 지하부에서의 병원성과 생

존력, recycling 등 생태적 특성에 관한 연구, Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 보관력 향상에 관한 연구 등을 수행하였다. 제 3세부과제는 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충을 이용한 시설 엽채류 해충의 생물검정 및 이용 기술 개발을 위하여 각 해충에 대한 우수 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 선발 및 적정 처리농도 구명, 온도, 습도 등 환경조건에 따른 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 병원성 검정, 포장 처리 시 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 적정농도, 처리시기, 처리회수 구명, Steinernematid와 Heterorhabditid 선충과 혼용처리가 가능한 저독성 농약 선발 등으로 구성하였다.

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

우리나라 관행농가에서는 엽채류 중요 해충인 나방류, 딱정벌레류의 발생시 전적으로 화학 살충제에 의존하고 있으며 유기농 재배지에서는 목초액, 담배가루 등 그 효과가 구체적으로 검증되지 않은 방제법을 이용하고 있어 환경이나 인체에 대한 악영향이 우려됨과 동시에 효과는 미지수이다. 진딧물이나 총채벌레 천적인 기생성 곤충과 포식성 곤충에 비하여 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충은 효과는 뛰어난 데 비하여 연구자 수나 그에 대한 지식과 인식이 매우 부족한 실정이다.

Steinernematid와 Heterorhabditid 선충은 적용대상 해충이 매우 광범위함에도 불구하고 골프장해충인 굼벵이류 방제에만 그 실용화가 정착단계에 있을 뿐 여전히 연구할 부분이 많고 본 연구자들에 의하여 시설 육묘장의 뿌리해충에 성공적인 결과를 얻은 적이 있어 매우 고무적으로 시설채소에 활용할 수 있음을 확인한 바 있다. 우리나라에서 엽채류 해충방제에 이용된 병원성 미생물은 백강균(*Beauveria bassiana*)에 관한 연구만이 일부 발표되었을 뿐이다.

현재 전 세계적으로 알려진 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 종류로는 *Steinernema*속 18종, *Neosteinerema*속 1종, 그리고 *Heterorhabditis*속 8종 등 약 27종의 곤충병원성 선충이 기록되어 있으며 이들 27종의 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충 중 *S. carpocapsae*, *S. feltiae*, *S. riobravis*, *S. scapterisci*, *H. bacteriophora*, *H. megidis*, *H. marelatus* 등 7종이 상품화되어 시판되고 있는 실정이다. 미국, 일본 등에서는 *S. carpocapsae*, *S. feltiae*, *H. bacteriophora*를 이용하여 배추좀나방, 담배거세미나방, 과밤나방 등 나방류 방제에 성공하였으며, 골프장에서 문제가 되고 있는 굼벵이류와 과수에 문제가 되고 있는 바구미류, 잎벌레류 그리고 땅강아지, 사막메뚜기, 나무좀류, 버섯파리류, 모기 등 농림해충, 산림해충, 위생해충 등의 다양한 해충 방제에 이용되고 있는 실정이다. 최근들어 우리나라와 이웃하고 있는 일본의 경우 곤충병원성선충의 적용을 기존의 잔디나 시설채소 위주에서 과수와 같은 곳으로의 적용확대를 시도하고 있으며 중국에서도 자원 발굴과 대량배양을 통한 상업화 연구를 수행하고 있다. 그리고 태국에서는 가내 공업 수준으로 곤충병원성선충을 생산하여 상용화하고 있다.

## 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

### 제 1 절 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충 자원 조사 및 생산 기술 개발

#### 1. 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충 자원 조사

##### 가. 재료 및 방법

국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충 자원 조사를 위하여 시설 재배지와 목초지, 잔디밭, 산림 등 전국단위로 453지역을 조사하였다. 각 조사지역에서 삼을 이용하여 반경 10m 이내에서 3지점 이상의 토양을 500 g 이상 채취하였다. 채취한 토양은 아이스박스에 넣어 실험실로 운반한 다음 직경 7 cm, 높이 6.5 cm 크기의 플라스틱 용기에 고루 섞어 넣고, 꿀벌부채명나방 노숙 유충을 미끼 곤충으로 5마리씩 투입하였다. 미끼곤충을 투입한 용기는 25℃ 향온기에 보관하면서 7일 후에 유충의 치사유무를 조사하였다. 치사충이 발견되면 표면의 이물질을 제거한 후 White trap을 설치하여 선충을 분리하였다. 분리된 선충은 꿀벌부채명나방 유충에 재접종하여 병원성 유무를 2차로 검정하였고, 검정 후 White trap을 설치하여 선충을 수확한 다음 15℃ 냉장고에 보관하면서 분류 동정과 생태 실험에 이용하였다.

##### 나. 결과

9개도 453지역의 토양 시료에서 곤충병원성 선충이 검출된 것은 46지역으로 10.2%의 검출율을 보였다. 지역별로는 경북지역이 전체 121지역의 시료들 중 27지역의 시료에서 곤충병원성선충이 분리되어 22.3%의 높은 검출율을 보였다(Table 1, Fig. 1). 그러나 전라남도지역에서는 14지역의 토양 시료들 중에서 곤충병원성선충이 검출된 곳은 한 곳도 없었다. 46 지역의 곤충병원성선충 검출지들 중 Steinernematid 선충 검출지는 40지역으로 87.0%의 비율을 보였으며 Heterorhabditid 선충 검출지는 6지역에 불과하였다(Table 2). 산림 지역에서 곤충병원성선충의 검출율이 16.3%로 가장 높았으며 경작지인 밭에서는 1.8%의 낮은 검출율을 보였다(Table 2).



Fig. 1. Entomopathogenic nematode positive sampling sites.

Table 1. List of entomopathogenic nematode, Steinernematid and Heterorhabditid isolated sites

Province	No. of total collecting site				No. of positive entomopathogenic nematode sampling site			
	Mountain	Upland	Riverside	Total	Mountain	Upland	Riverside	Total
Gangwon	15	48	3	66	2	0	0	2
Gyeonggi	23	13	-	36	4	0	0	4
Gyeongnam	77	38	9	124	3	0	0	3
Gyeongbuk	82	23	16	121	22	2	3	27
Jeonnam	13	-	1	14	0	0	0	0
Jeonbuk	13	10	1	24	1	0	0	1
Chungnam	10	18	-	28	1	0	0	1
Chungbuk	6	11	-	17	3	0	0	3
Jeju	7	8	8	25	3	1	0	4
Total	246	169	38	453	40	3	3	46

Table 2. Detection rate of entomopathogenic nematode, Steinernematid and Heterorhabditid in Korea

Site	No. of collecting site	No. of positive sampling site(%)		
		Steinernematid	Heterorhabditid	Total(%)
Mountain	246	36(14.6%)	4(1.6%)	40(16.3%)
Upland	169	3(1.8%)	0	3(1.8%)
Riverside	38	1(2.6%)	2(0.8%)	3(7.9%)
Total	453	40(8.9%)	6(1.3%)	46(10.3%)

곤충병원성선충 분리 지역의 식생별로는 참나무류 서식지에서 30.4%가 분리되어

가장 검출율이 높았으며, 낙엽송 서식지에서 28.3%가 검출되었다(Table 3).

Table 3. Dominant species of entomopathogenic nematode isolated site

Dominant species	No. of positive sampling sites(%)		
	Steinernematid	Heterorhabditid	Total(%)
<i>Taxodium distichum</i>	12	1	13(28.3%)
<i>Quercus</i> spp.	13	1	14(30.4%)
<i>Alnus japonica</i>	1	1	2(4.4%)
<i>Robinia pseudoacacia</i>	1	0	1(2.2%)
<i>Fraxinus rhynchophylla</i>	1	0	1(2.2%)
Other broad leaf tree	10	1	11(23.9%)
Turfgrass	2	0	2(4.3%)
Weed	1	2	3(6.5%)

Table 4. Meteorological characteristic of entomopathogenic nematode isolated site

Isolated site	Mean temp(°C)	Max. temp(°C)	Min temp(°C)	Precipitation(mm)
Baegbongryeong	13.3	27.8	-2.9	1427.9
Ansung	12.8	30.4	-6.5	1217
Pocheon	11.17	30.1	-9.8	1534.5
Cheonan	12.31	30.6	-8.8	1363.3
Bongwha	9.9	28	-11.6	1354.8
Yeongyang	12.13	29.7	-7.9	1408.5
Yeongdug	13.55	29.7	-3.6	1272.9
Pohang	15.1	30.8	-1.6	1403
Sangju	13	30.6	-5.6	1284.8
Jeju	16.4	31.2	3.2	1333.8
Suguipo	17.8	32.3	3.8	2018
Ullung	13	26.7	-0.5	1955.3
Yeongdong	12.13	30.5	-8.3	1503.5
Mungyeong	11.9	29.3	-6.7	1505.3
Gumi	13.6	30.3	-5.3	1286.9
Milyang	14.4	32.7	-7.1	1377.4
Yeongcheon	13.1	30.2	-6.4	1116.9
Guchang	12.3	30.9	-8.5	1547.8
Jangsu	10.9	29.1	-8.8	1398.3
Wonju	12.9	28.2	-3.3	1401.9

곤충병원성선충 검출지의 기상환경의 특징은 Table 4와 같이 연평균기온은 9.9℃ - 16.4℃였으며 연평균강수량은 1,116.9 - 2018 mm였다.

곤충병원성선충 분리 지역의 토성은 경북 영덕군의 강변 한 곳을 제외하고는 모두 사양토 지역이었다.

## 2. 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 분류 · 동정

### 가. 재료 및 방법

#### 1) 형태적 분류

분리 된 선충들은 미끼 곤충의 체색변화로서 1차적인 속을 분류하였고, 이후 슬라이드 표본을 만든 다음 중요 형태적 특징들을 해부현미경하에서 측정하였다. 슬라이드표본의 제작은 선충을 꿀벌부채명나방 유충에 접종 한 후 2일과 5일째에 꿀벌부채명나방을 Ringer's solution 하에서 해부하여 선충을 분리해 내었다. 분리한 선충을 Ringer's solution이 담겨있는 고정병으로 옮기고, 고정병에 60℃로 끓인 물을 넣고 2분간 두었다. 물을 빼내고 TAF와 Ringer's 용액을 1 : 1로 섞어 60℃로 데워 고정병에 넣고는 12시간 후 고정액을 빼내고, double-stenth 용액을 첨가하여 12시간 두었다.

- TAF : Formalin(40% formaldehyde) 7 ml + Triethanolamin 2 ml + 증류수 91 ml

- Ringer's solution : NaCl 9 g + KCl 0.4 g + CaCl<sub>2</sub> 0.2 g + 증류수 1 ℓ

이후 Glycerin 침투과정으로 고정된 선충이 들어 있는 고정병에 고정액을 빼내고 Seinhorst's solution I 을 넣었다. 고정병을 용적의 1/2가량의 95% alcohol이 들어있는 desiccator에 넣어 35℃ 항온기에 12시간 보관한 뒤, 12시간 후 고정병을 꺼내고 Seinhorst's solution II를 몇 방울 첨가하고, Petri dish에 고정병을 옮겼다. Cover glass를 반쯤 덮고 40℃ 항온기에 3시간 동안 넣었다.

- Seinhorst's solution I : Glycerin 1 ml + 95% alcohol 20 ml + 증류수 79 ml

- Seinhorst's solution II : Glycerin 5 ml + 96% alcohol 95 ml

표본의 제작은 slide cleaning solution으로 slide glass와 cover glass를 잘 닦은 다음 glycerin을 몇 방울 떨어뜨리고, glycerin에 고정한 선충을 한 방향으로 정리한다. 길게 늘린 유리봉을 글리세린 가장자리에 삼각형으로 놓고, 산소방울이 생기지 않게

cover glass를 덮고 주위를 매니큐어로 봉입한다.

이후 전자현미경적 구조 조사를 위하여 SEM을 이용하여 곤충병원성선충의 분류상 중요한 부위를 촬영하였다. 전자현미경 시료제작은 선충을 분리하여 60°C 물을 선충이 들어 있는 고정병에 넣어 2분 동안 둔 뒤, 죽은 선충을 Ringer's solution(pH7.3)으로 3회 세척하였다. 전 고정 단계에서는 8% glutaraldehyde를 넣어 실온에서 2시간 두었다. 증류수로 3회 세척하고, Osmium tetroxide(O<sub>8</sub>O<sub>4</sub>)로 한 시간 후 고정 단계를 거쳤다. 증류수로 3회 세척한 뒤, 30, 50, 70, 90, 95, 100% ethanol로 탈수 시켰다. 건조 후에 주사현미경으로 관찰하였다.

## 2) 분자생물학적 분류

선충 DNA 분리: 선충 DNA의 분리는 특정 lysis용액이나 Phenol:Chloroform 방법을 이용하지 않고, nuclease-free water (Promega)에 물리적으로 선충을 갈아주어 즉시 PCR의 template로 이용하는 간단한 방법을 채택하였다. *Steinernema*의 경우 죽은 담배나방 유충의 몸에서 분리한 암컷성충을 살균된 증류수로 여러 번 헹구어 표면을 깨끗하게 씻어 준 다음, 선충의 표면의 물기를 kimwipes로 살짝 닦고, 10  $\mu$ l의 nuclease-free water (Promega Co., Madison, WI)가 채워진 multicell plate (Nalge Nunc International, Rochester, NY)로 옮겼다. 선충을 분쇄하기 위해서는 끝을 불꽃으로 동그랗게 봉합한 플라스틱 피펫팁을 만들어 사용하였다. 선충을 가능한 한 섬세한 입자로 갈아준 다음, 3  $\mu$ l를 PCR tube에 옮겨 다른 PCR reagent와 섞어 준 후 즉시 PCR을 시행하였다.

PCR 증폭 및 sequencing: PCR을 위해서는 PCR buffer (10 mM Tris-HCl, 40 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 9.0), 250  $\mu$ M dNTP, 각각 0.5  $\mu$ M primer, 1.0 U of Taq DNA polymerase (TaKaRa Bio Inc. Shiga, Japan), 그리고 3  $\mu$ l DNA template를 혼합한 총 50  $\mu$ l가 반응에 이용되었다. Ribosomal DNA dml ITS를 증폭하기 위한 primer는 forward primer, 18s: 5'-TTGATTACGTCCCTGCCCTTT-3'와 reverse primer, 28s: 5'-TTTCACTCGCCGTTACTAAGG-3'가 선별되었다 (Vrain et al., 1992). 적정 PCR 조건은 95°C에서 denaturation (1 min), 56°C에서 annealing (30 sec), 72°C에서 extension(1min)의 기본 35cycle과 초기 95°C, denaturation (5 min) 그리고, 마지막 72°C, extension (10 min)이 첨가 되었다. PCR program은 DNA thermal cycler (Biometra, UNOII)에서 수행되었으며, PCR products (5  $\mu$ l)는

1% agarose gel electrophoresis를 통하여 확인하였다. 증폭된 PCR 산물은 QIAquick PCR purification kit (QIAGEN Inc., Santa Clarita, CA)를 이용하여, 정제한 다음 바로 CoreBio sequencing service center에서 sequence 되었다. 약 1 kb크기의 DNA 전체 크기를 sequence하기 위하여, 다음의 두 개의 internal primer를 첨가하였다 KN58, 5'-GTATGTTTGGTTGAAGGTC-3'와 KNRV, 5'-CACGCTCATACAACACTGCTC-3' (Nguyen et al., 2001).

Multiple Sequences Alignment: *Steinernema* sp. GSNUS-4로부터 얻어진 ITS DNA sequence 데이터는 GenBank에 이미 등록된 10종의 다른 *Steinernema* ITS sequence 데이터와 함께 CLUSTAL W (Thompson et al., 1994) 프로그램을 이용하여 비교, 분석되었다. GenBank에서 수집된 10종의 *steinernema* 종명과 access 번호는 다음과 같다 *S. carpocapsae* (AF121049), *S. bicornutum* (AF121048), *S. feltiae* (AF121050), *S. oregonense* (AF122019), *S. monticolum* (AF122017), *S. neocurtillae* (AF122018), *S. glaseri* (AF122015), *S. scapterisci* (AF122020), *S. ceratophorum* (AF440765), *S. intermedium* (AF122016).

Restriction enzyme mapping: *Steinernema* sp. GSNUS-4의 ITS DNA에 대한 제한효소들의 작용 위치 및 cutting size 등의 정보는 internet program인, Restriction Mapper <http://www.restrictionmapper>를 통하여 얻었다. 한편, 기존의 10종의 *Steinernema* ITS에 대한 제한효소의 정보는 website <http://kbn.ifas.ufl.edu/50seqcut.htm>에 나타난 Table을 참고하였다.

나. 결과

1) 측정치 조사

Table 5. Length of first generation male of Steinernematid (cm, N=20)

계통 번호	체장	최대 체폭	구강 길이	구강 폭	EP	NR	식도 길이	꼬리 길이	항문 부위 폭	교접 자길 이	교접 자폭	부자 길이	부자 폭	D율	추정 종
S-16	1.367	0.126	0.006	0.005	0.068	0.115	0.157	0.033	0.054	0.068	0.013	0.035	0.005	0.433	Sc
S-14	1.226	0.107	0.006	0.006	0.083	0.111	0.159	0.030	0.060	0.083	0.013	0.059	0.008	0.521	Scer
S-13	1.303	0.109	0.006	0.005	0.069	0.101	0.149	0.035	0.050	0.067	0.010	0.031	0.005	0.472	Sc
S-10	1.335	0.122	0.005	0.005	0.077	0.086	0.155	0.033	0.055	0.067	0.013	0.031	0.005	0.497	Sm
S-9	1.420	0.114	0.005	0.006	0.076	0.108	0.149	0.036	0.053	0.070	0.012	0.032	0.005	0.510	Sm
S-8	1.465	0.113	0.005	0.005	0.082	0.111	0.147	0.033	0.047	0.070	0.012	0.033	0.005	0.556	Sm
S-7	1.489	0.126	0.006	0.007	0.075	0.107	0.152	0.042	0.056	0.067	0.014	0.029	0.006	0.495	Sm
S-6	1.542	0.112	0.005	0.005	0.076	0.103	0.154	0.037	0.053	0.072	0.012	0.029	0.006	0.493	Scer
S-5	1.137	0.089	0.005	0.063	0.061	0.090	0.129	0.032	0.040	0.063	0.010	0.035	0.006	0.476	Sc
S-4	1.396	0.106	0.006	0.006	0.076	0.112	0.155	0.036	0.051	0.070	0.012	0.033	0.006	0.492	Scer
S-3	1.491	0.126	0.005	0.006	0.077	0.104	0.151	0.033	0.044	0.073	0.011	0.040	0.004	0.511	Sm
S-2	1.296	0.112	0.005	0.006	0.073	0.094	0.150	0.033	0.053	0.065	0.012	0.032	0.005	0.485	Sc
S-1	1.279	0.097	0.005	0.007	0.063	0.108	0.132	0.030	0.047	0.064	0.012	0.030	0.008	0.483	Sc

EP; 두부-배설공까지 길이, NR; 두부-신경환까지 길이, D율; EP/ES, Sc; *Steinernema carpocapsae*, Sm; *Steinernema monticolum*, Scer; *Steinernema ceratophorum*

Table 6. Length of first generation female of Steinernematid (cm, N=20)

계통 번호	체장	최대 체폭	구강 길이	구강폭	EP	NR	식도 길이	꼬리길 이	항문 부위 폭	두부- 음문까지 길이	D율
S-16	3.717	0.227	0.010	0.009	0.068	0.141	0.193	0.037	0.042	2.028	0.358
S-14	3.533	0.212	0.014	0.011	0.073	0.150	0.224	0.033	0.039	2.007	0.324
S-13	2.934	0.187	0.008	0.009	0.066	0.143	0.157	0.025	0.029	1.507	0.421
S-10	3.022	0.230	0.008	0.008	0.069	0.126	0.168	0.040	0.049	1.676	0.416
S-9	3.516	0.186	0.007	0.008	0.067	0.122	0.156	0.039	0.058	1.236	0.428
S-8	3.849	0.186	0.008	0.008	0.069	0.152	0.191	0.024	0.031	2.102	0.361
S-7	2.643	0.224	0.008	0.008	0.073	0.121	0.158	0.038	0.062	1.412	0.464
S-6	2.498	0.160	0.008	0.008	0.062	0.123	0.158	0.039	0.040	1.257	0.393
S-5	2.791	0.169	0.008	0.008	0.057	0.118	0.155	0.039	0.052	1.670	0.366
S-4	2.676	0.191	0.009	0.008	0.065	0.118	0.178	0.037	0.041	1.399	0.367
S-3	2.885	0.227	0.009	0.009	0.068	0.121	0.181	0.042	0.045	1.500	0.566
S-2	2.490	0.177	0.008	0.008	0.064	0.135	0.166	0.039	0.035	1.301	0.386
S-1	2.805	0.172	0.010	0.008	0.052	0.105	0.159	0.027	0.037	1.563	0.326

EP; 두부-배설공까지 길이, NR; 두부-신경환까지 길이, D율; EP/ES.

Table 7. Length of second generation male of Steinernematid (cm, N=20)

계통 번호	체장	최대 체폭	구강 길이	구강 폭	EP	NR	식도 길이	꼬리 길이	항문 부위 폭	교접 자길 이	교접 자폭	부자 길이	부자 폭	D율
S-16	0.793	0.053	0.004	0.004	0.059	0.091	0.126	0.028	0.031	0.049	0.008	0.022	0.004	0.470
S-14	1.141	0.067	0.006	0.006	0.067	0.107	0.149	0.028	0.037	0.077	0.010	0.043	0.006	0.450
S-13	1.022	0.062	0.004	0.005	0.071	0.102	0.140	0.034	0.035	0.054	0.008	0.021	0.004	0.502
S-10	0.973	0.059	0.004	0.004	0.075	0.094	0.137	0.029	0.033	0.054	0.008	0.039	0.003	0.550
S-9	0.933	0.063	0.005	0.006	0.069	0.104	0.106	0.033	0.036	0.053	0.010	0.022	0.004	0.655
S-8	0.977	0.059	0.004	0.005	0.071	0.108	0.143	0.029	0.034	0.058	0.009	0.025	0.004	0.497
S-7	1.017	0.059	0.005	0.005	0.064	0.097	0.132	0.031	0.034	0.054	0.012	0.021	0.004	0.486
S-5	0.706	0.053	0.004	0.004	0.050	0.076	0.111	0.027	0.029	0.040	0.007	0.020	0.004	0.452
S-4	0.986	0.058	0.005	0.005	0.052	0.102	0.139	0.031	0.031	0.054	0.010	0.022	0.005	0.371
S-3	0.887	0.052	0.004	0.004	0.064	0.095	0.137	0.028	0.029	0.052	0.009	0.027	0.004	0.468
S-2	0.935	0.057	0.005	0.006	0.071	0.103	0.133	0.027	0.027	0.050	0.008	0.031	0.004	0.537
S-1	0.783	0.047	0.004	0.004	0.052	0.080	0.110	0.025	0.027	0.052	0.009	0.025	0.005	0.475

EP; 두부-배설공까지 길이, NR; 두부-신경환까지 길이, D율; EP/ES.

Table 8. Length of second generation female of Steinernematid (cm, N=20)

계통 번호	체장	최대 체폭	구강 길이	구강폭	EP	NR	식도 길이	꼬리 길이	항문 부위폭	두부- 음문까지 길이	D율
s-16	2.548	0.168	0.008	0.007	0.076	0.108	0.167	0.037	0.034	1.281	0.456
s-14	1.811	0.116	0.006	0.006	0.080	0.135	0.171	0.057	0.035	0.949	0.465
s-13	1.560	0.110	0.008	0.008	0.071	0.145	0.163	0.050	0.034	0.687	0.435
s-10	1.520	0.109	0.005	0.006	0.070	0.100	0.147	0.057	0.036	0.864	0.478
s-9	1.420	0.116	0.007	0.012	0.082	0.098	0.161	0.059	0.044	0.434	0.509
s-8	1.557	0.127	0.007	0.007	0.074	0.112	0.165	0.036	0.039	0.815	0.447
s-7	1.755	0.127	0.007	0.007	0.066	0.116	0.143	0.040	0.028	0.990	0.458
s-5	1.232	0.107	0.004	0.006	0.052	0.093	0.134	0.039	0.032	0.735	0.391
s-4	1.492	0.108	0.008	0.008	0.077	0.125	0.168	0.052	0.038	0.854	0.459
s-3	1.584	0.095	0.006	0.007	0.075	0.097	0.144	0.049	0.030	0.880	0.517
s-2	1.499	0.118	0.006	0.007	0.056	0.095	0.141	0.039	0.030	0.843	0.397
s-1	1.497	0.102	0.007	0.006	0.064	0.104	0.129	0.040	0.025	0.809	0.501

EP; 두부-배설공까지 길이, NR; 두부-신경환까지 길이, D율; EP/ES.

Table 9. Length of first generation adult of Heterorhabditid (cm, N=20)

계통 번호	체장	최대 체폭	구강 길이	구강폭	EP	NR	식도 길이	꼬리 길이	항문 부위폭	D율
H-3	2.642	0.147	0.008	0.011	0.094	0.142	0.193	0.083	0.041	0.484
H-1	2.187	0.125	0.008	0.007	0.079	0.122	0.177	0.082	0.035	0.449
H-2	3.933	0.220	0.017	0.015	0.200	0.164	0.212	0.080	0.043	0.945
H-4	2.163	0.142	0.007	0.009	0.190	0.155	0.200	0.075	0.035	0.948
H-5	3.029	0.177	0.009	0.010	0.218	0.151	0.191	0.069	0.037	1.156
H-6	2.574	0.165	0.008	0.009	0.169	0.145	0.190	0.068	0.033	0.894

Table 10. Length of second generation adult of Heterorhabditid (cm, N=20)

계통 번호	체장	최대 체폭	구강 길이	구강 폭	EP	NR	식도 길이	꼬리 길이	항문 부위 폭	교접 자길 이	교접 자폭	부자 길이	부자 폭	D율
H-3	0.881	0.044	0.003	0.003	0.049	0.067	0.100	0.031	0.021	0.050	0.005	0.018	0.001	0.490
H-1	1.008	0.050	0.004	0.004	0.051	0.076	0.107	0.039	0.021	0.053	0.005	0.001	0.001	0.474
H-2	1.002	0.049	0.004	0.004	0.140	0.086	0.113	0.031	0.024	0.049	0.007	0.021	0.001	1.242
H-4	0.948	0.046	0.003	0.004	0.138	0.088	0.116	0.034	0.023	0.052	0.006	0.020	0.001	1.190
H-5	0.854	0.044	0.003	0.004	0.131	0.079	0.105	0.032	0.026	0.043	0.006	0.018	0.002	1.249
H-6	0.974	0.054	0.004	0.004	0.143	0.083	0.108	0.036	0.027	0.048	0.007	0.020	0.001	1.326

Table 11. Length of second generation female of Heterorhabditid (cm, N=20)

계통 번호	체장	최대 체폭	구강 길이	구강폭	EP	NR	식도 길이	꼬리 길이	항문 부위 폭	두부-음문 까지길이	D율
H-3	1.947	0.123	0.008	0.009	0.073	0.103	0.137	0.057	0.020	1.005	0.531
H-1	1.376	0.104	0.007	0.006	0.053	0.082	0.114	0.059	0.022	0.071	0.465
H-2	2.037	0.123	0.007	0.010	0.155	0.110	0.150	0.062	0.025	1.014	1.034
H-4	1.834	0.138	0.005	0.008	0.154	0.108	0.144	0.058	0.022	0.953	1.074
H-5	1.725	0.105	0.004	0.007	0.156	0.104	0.134	0.075	0.028	0.879	1.162
H-6	1.895	0.117	0.006	0.008	0.153	0.108	0.143	0.065	0.023	0.907	1.069

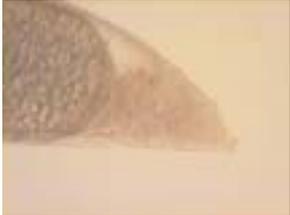
Table 12. Length of 3rd instar juvenile of Heterorhabditid (cm, N=20)

계통 번호	체장	최대 체폭	구강 길이	구강폭	NR	식도 길이	꼬리 길이	항문 부위 폭	A율	B율	C율
H-3	0.727	0.025	0.002	0.002	0.108	0.147	0.079	0.015	29.392	4.956	9.223
H-1	0.706	0.025	0.002	0.002	0.106	0.133	0.081	0.015	27.869	5.312	8.675

2) 형태적 특징

가) Steinernematid 선충의 광학현미경적 구조

a. GSNUS-4 1세대 성충 암컷



<두부 ×100>



<음문 ×250>

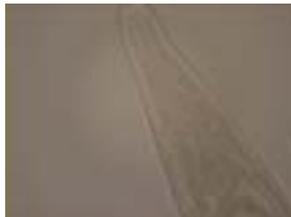


<꼬리 ×250>

b. GSNUS-4 1세대 성충 수컷



<측면부 ×25>



<두부 ×250>



<교접자 ×400>

c. GSNUS-4 2세대 성충 암컷



<두부 ×250>



<음문 ×400>



<꼬리 ×400>

d. GSNUS-4 2세대 성충 수컷



<측면부 ×25>



<두부 ×250>



<교접자 ×400>

e. GSNUS-14 1세대 성충 암컷



<두부 ×250>



<음문 ×400>



<꼬리 ×250>

f. GSNUS-14 1세대 성충 수컷



<측면 ×25>



<두부 ×250>



<교접자 ×400>

g. GSNUS-14 2세대 성충 암컷



<두부 ×250>



<음문 ×400>



<꼬리 ×400>

h. GSNUS-14 2세대 성충 수컷



<측면 ×25>



<두부 ×250>



<교접자 ×400>

i. GSNUS-8 1세대 성충 암컷



<두부 ×100>



<음문 ×400>



<꼬리 ×400>

j. GSNUS-8 1세대 성충 수컷



<측면 ×25>



<두부 ×250>



<교접자 ×400>

k. GSNUS-8 2세대 성충 암컷



<두부 ×250>



<음문 ×400>



<꼬리 ×400>

l. GSNUS-8 2세대 성충 수컷



<측면 ×25>



<두부 ×250>



<교접자 ×400>

m. GSNUS-9 1세대 성충 암컷



<두부 ×250>



<음문 ×400>



<꼬리 ×400>

n. GSNUS-9 1세대 성충 수컷



<측면 ×25>



<두부 ×250>



<교접자 ×400>

o. GSNUS-9 2세대 성충 암컷



<두부 ×250>



<음문 ×400>



<꼬리 ×400>

p. GSNUS-9 2세대 성충 수컷



<측면 ×25>



<두부 ×250>



<교접자 ×400>

q. GSNUS-13 1세대 성충 암컷



<두부 ×100>



<음문 ×400>



<꼬리 ×400>

r. GSNUS-13 1세대 성충 수컷



<측면 ×25>



<두부 ×250>



<교접자 ×400>

s. GSNUS-13 2세대 성충 암컷



<두부 ×250>



<음문 ×400>



<꼬리 ×400>

t. GSNUS-13 2세대 성충 수컷



<측면 ×25>



<두부 ×250>



<교접자 ×400>

나) Heterorhabditid 선충의 광학현미경적 구조



<두부 ×250>

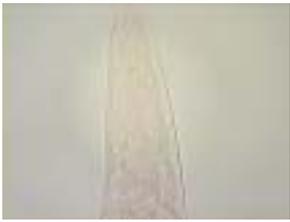


<음문 ×400>



<꼬리 ×400>

a. GSNUH-1 자웅이체세대 성충(암컷)



<두부 ×250>



<음문 ×400>



<꼬리 ×400>

b. GSNUH-1 자웅이체세대 성충(수컷)



<측면 ×25>



<두부 ×400>



<꼬리 ×400>

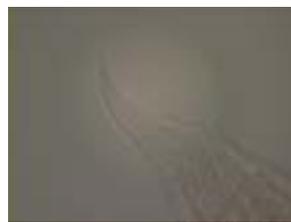
c. GSNUH-2 자웅동체세대 성충



<두부 ×100>



<음문 ×400>



<꼬리 ×250>

d. GSNUH-2 자웅이체세대 성충(암컷)



<두부 ×100>



<음문 ×400>



<꼬리 ×250>

e. GSNUH-2 자웅이체세대 성충(수컷)



<측면 ×25>



<두부 ×250>



<교접자 ×400>

f. GSNUH-3 자웅동체세대 성충



<두부 ×100>



<음문 ×400>



<꼬리 ×250>

g. GSNUH-3 자웅이체세대 성충(암컷)



<두부 ×250>



<음문 ×400>



<꼬리 ×250>

h. GSNUH-3 자웅이체세대 성충(수컷)



<측면 ×25>



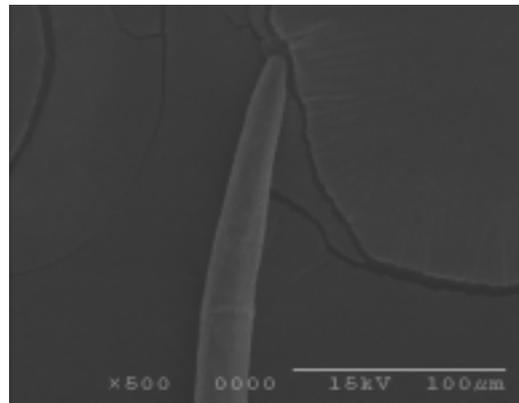
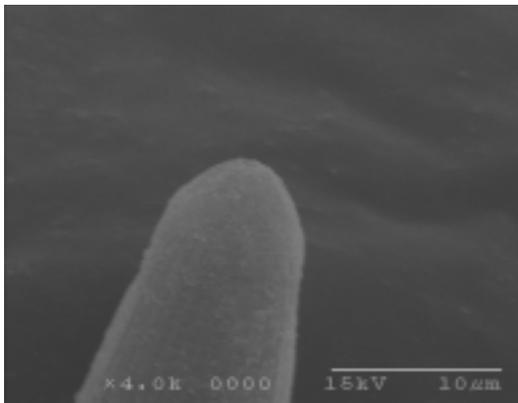
<두부 ×400>



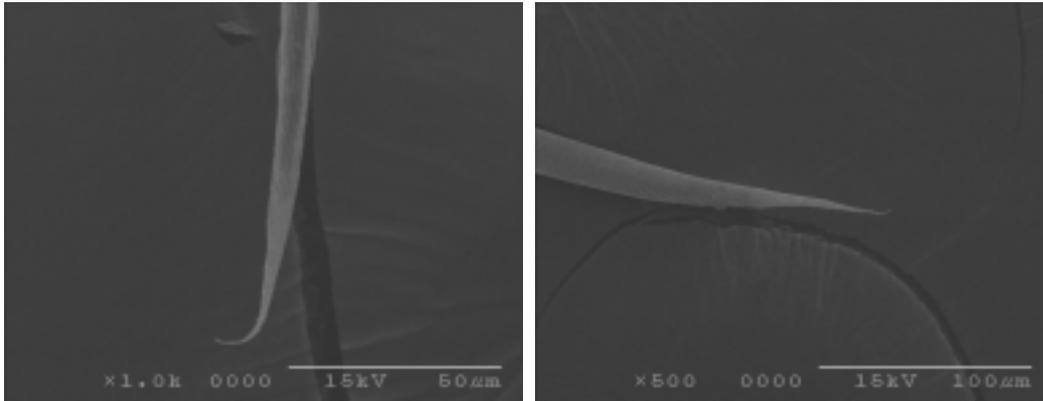
<교접자 ×400>

다) 곤충병원성선충의 전자현미경적 구조

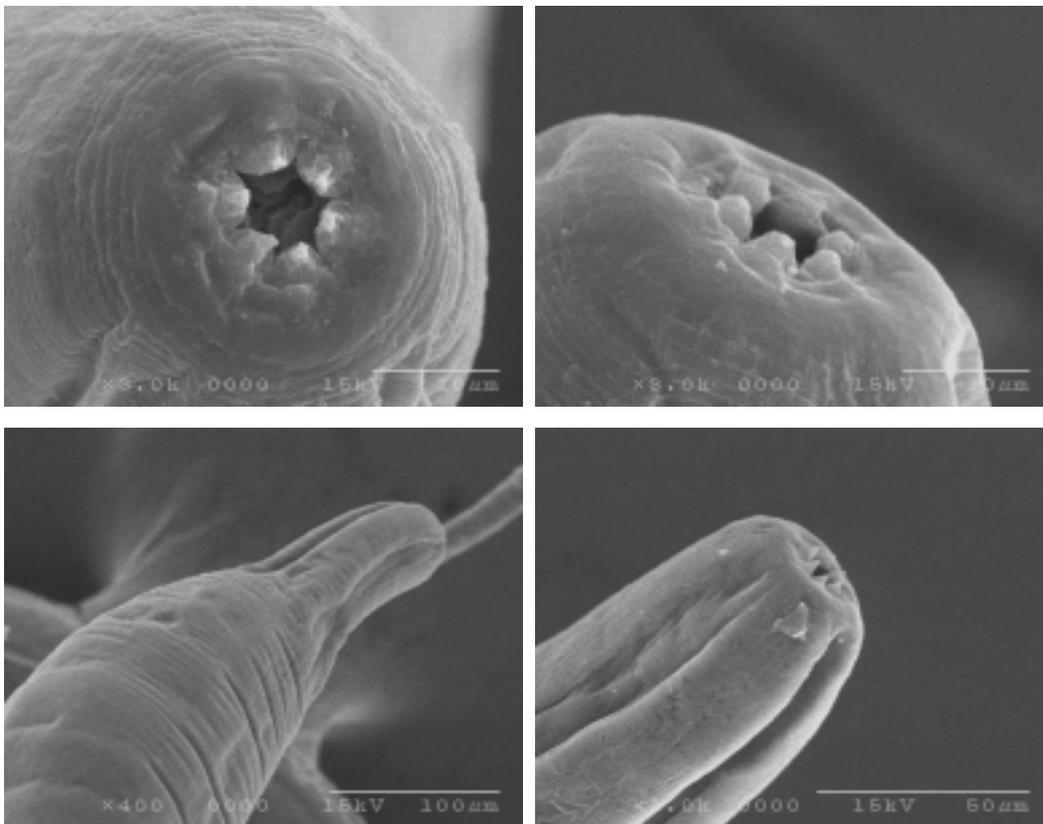
a. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 침입태유충(두부)



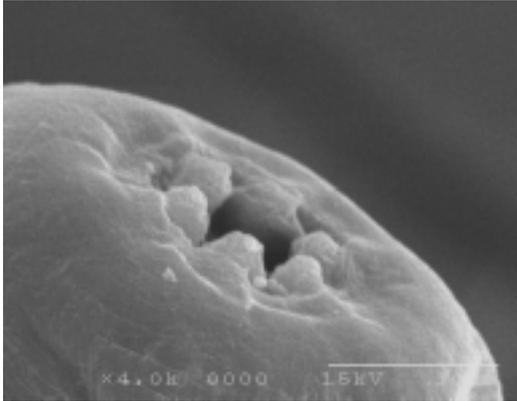
b. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 침입태유충(꼬리)



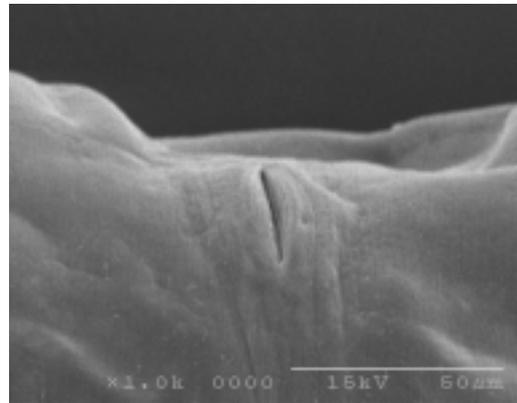
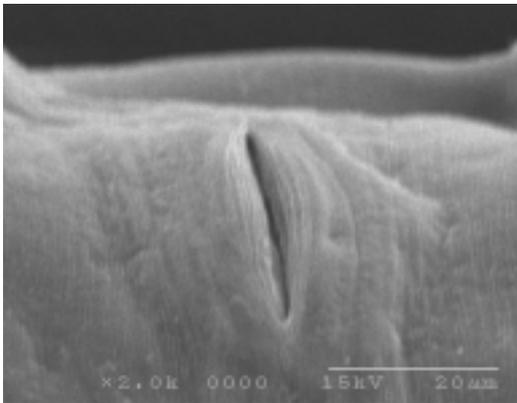
c. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 자웅동체세대(두부)



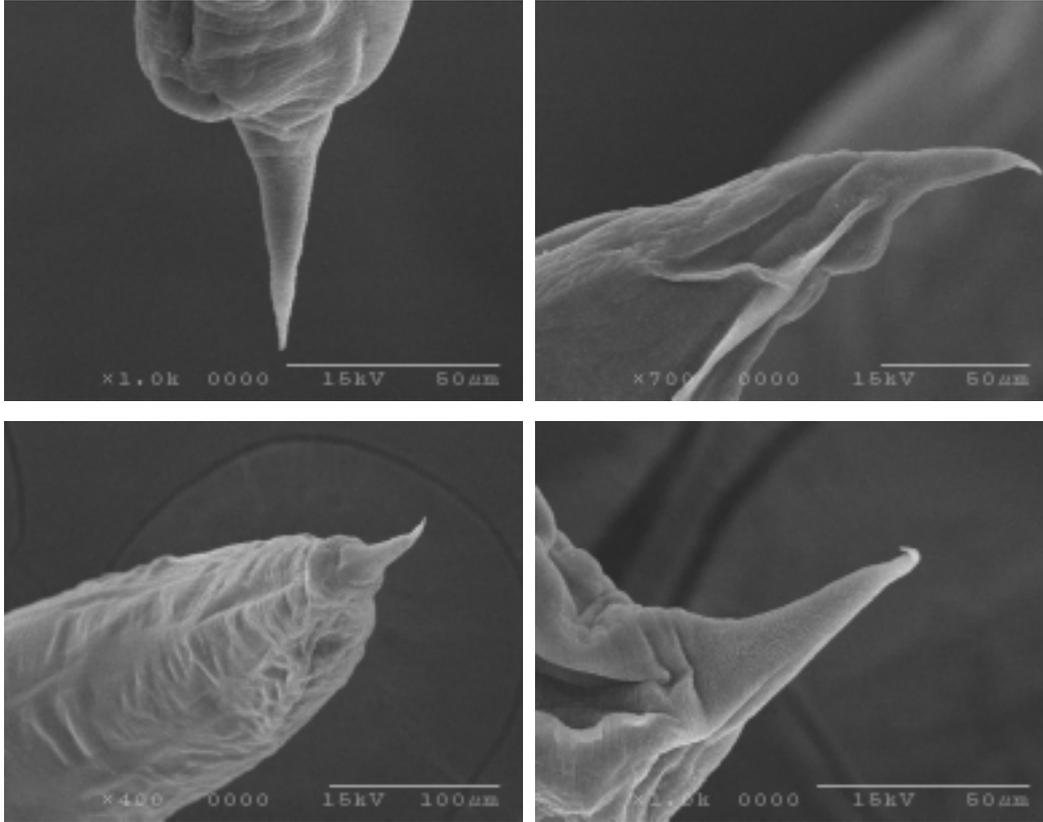
d. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 자웅동체세대(입술돌기)



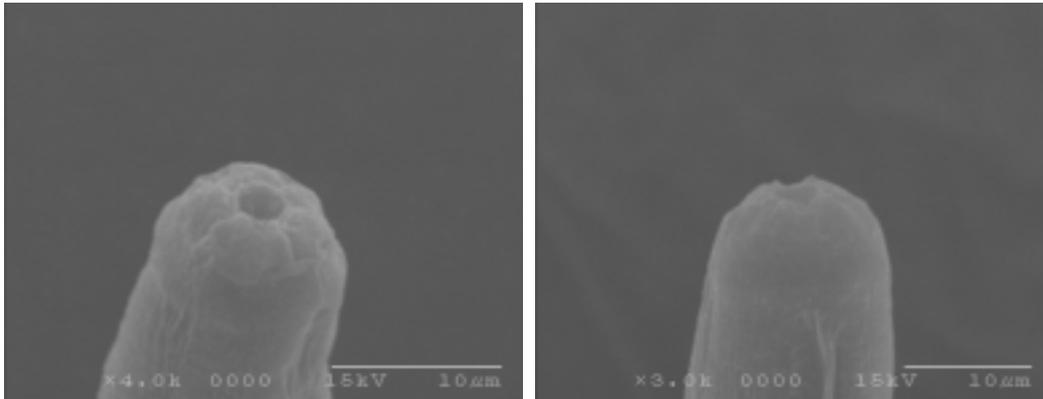
e. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 자웅동체세대(음문)



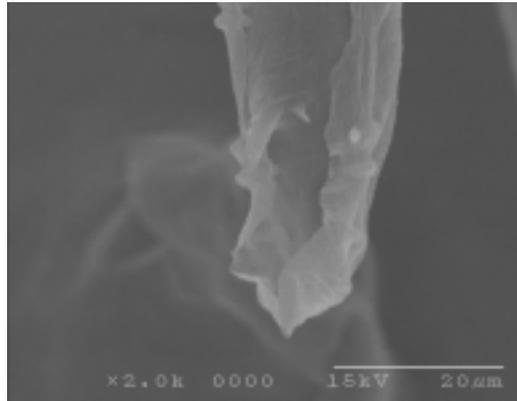
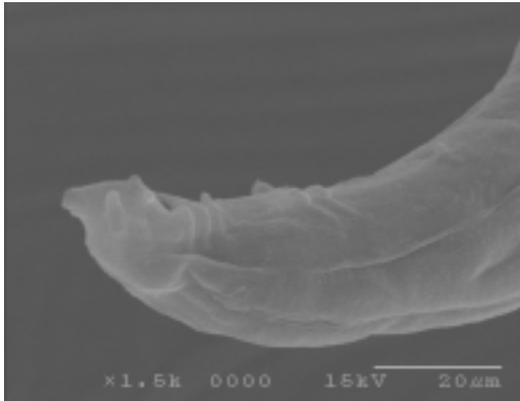
f. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 자웅동체세대(꼬리)



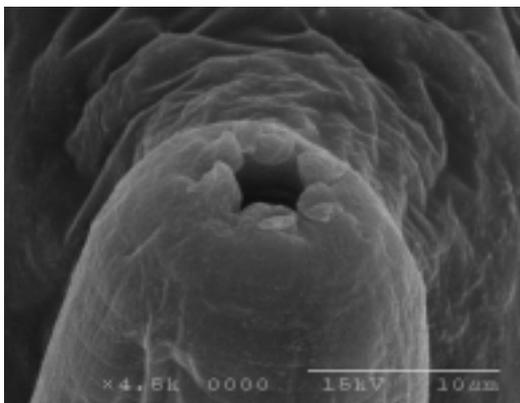
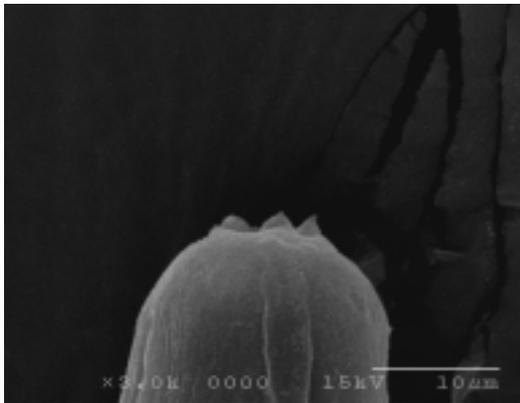
g. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 자웅이체세대 암컷(두부)



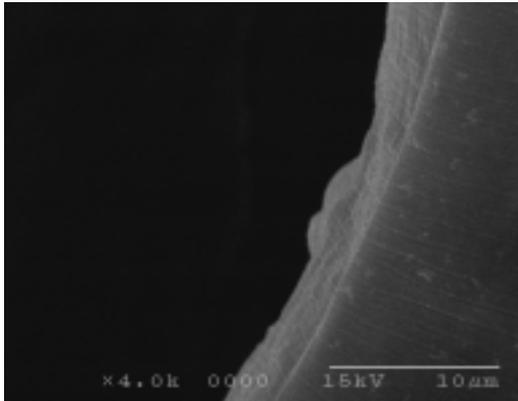
h. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 자웅이체세대 암컷(꼬리)



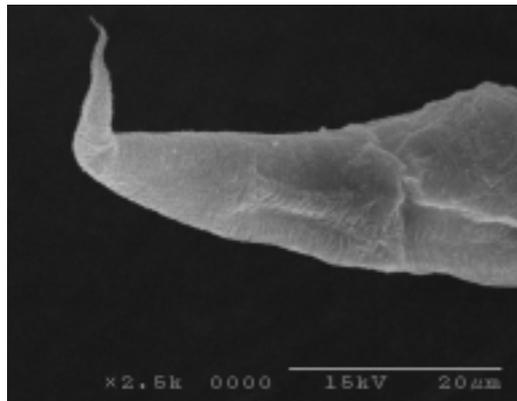
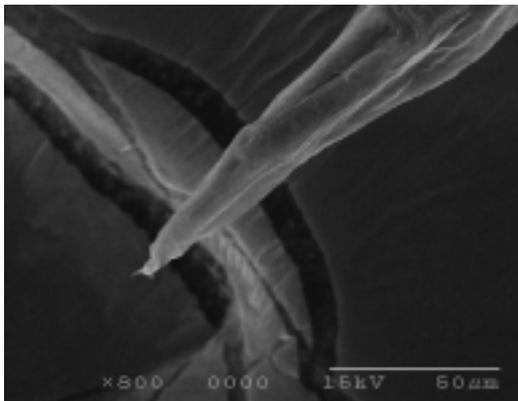
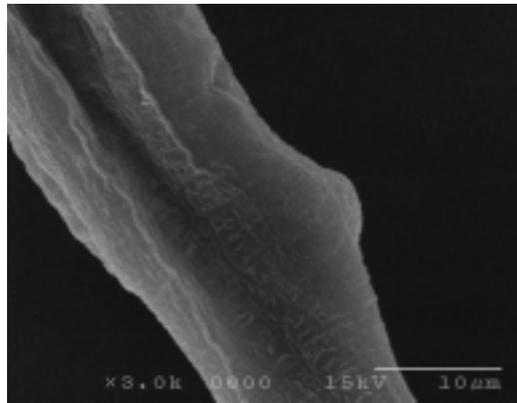
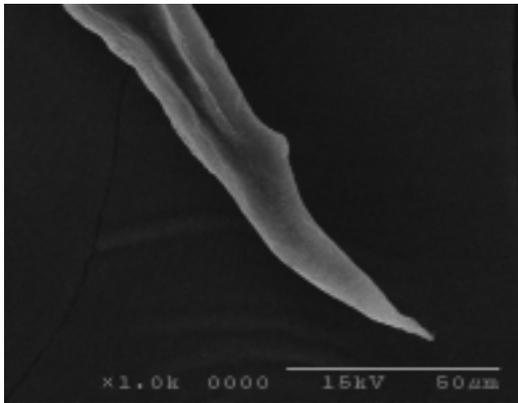
i. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 자웅이체세대 암컷(두부)



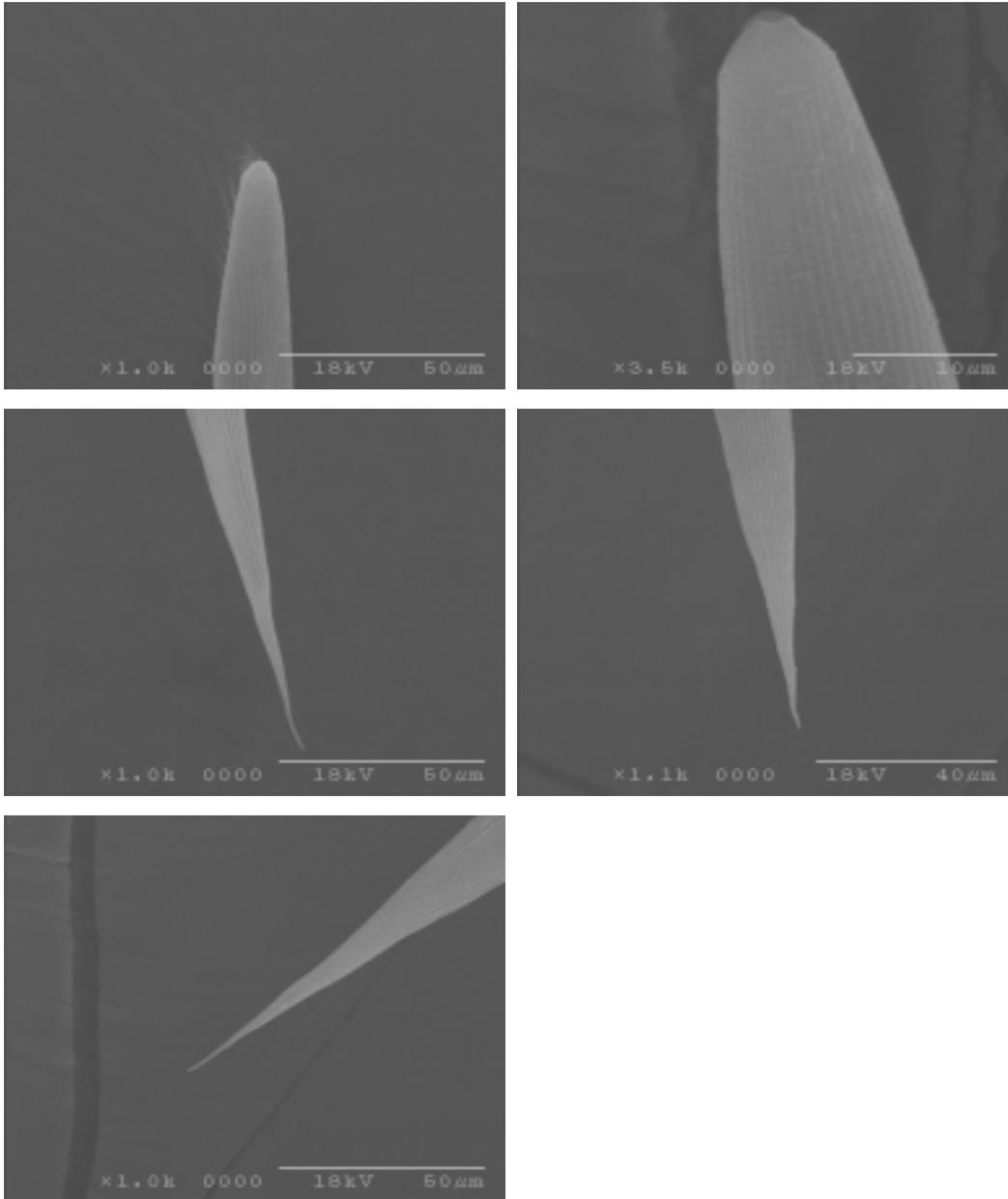
j. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 자웅이체세대 암컷(음문)



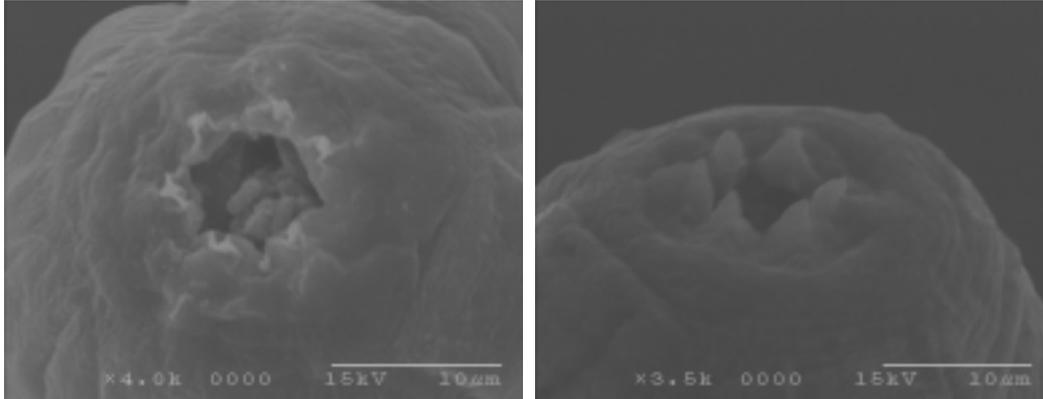
k. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 자웅이체세대 암컷(꼬리)



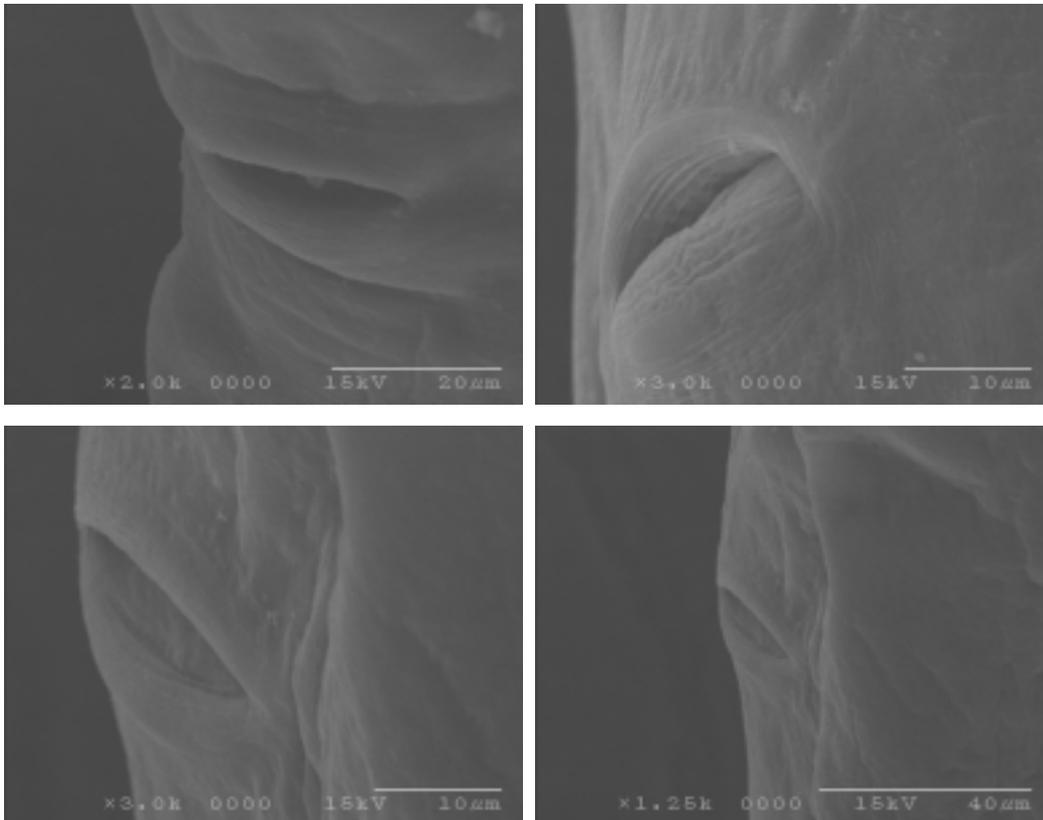
1. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 침입태유충(두부)



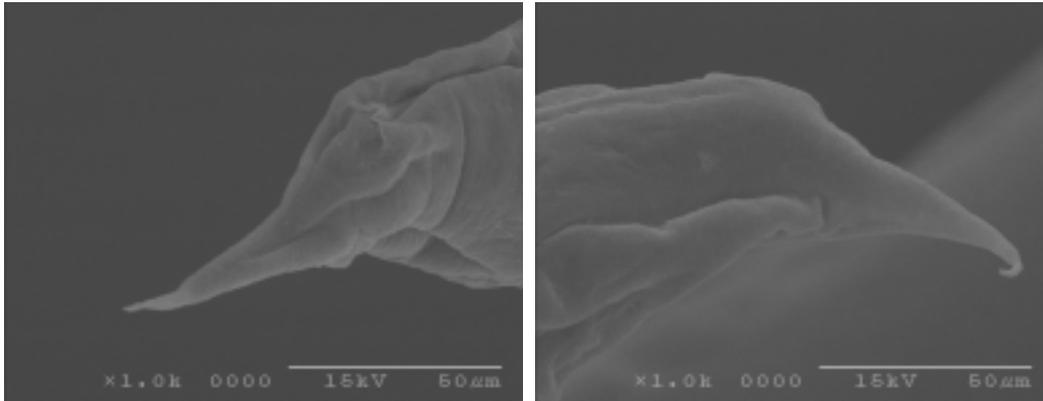
m. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 자웅동체세대(두부)



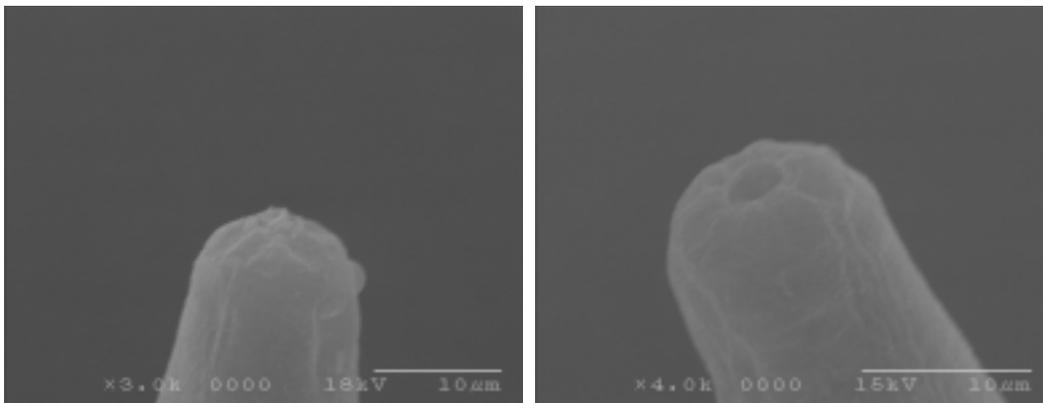
n. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 자웅동체세대(음문)



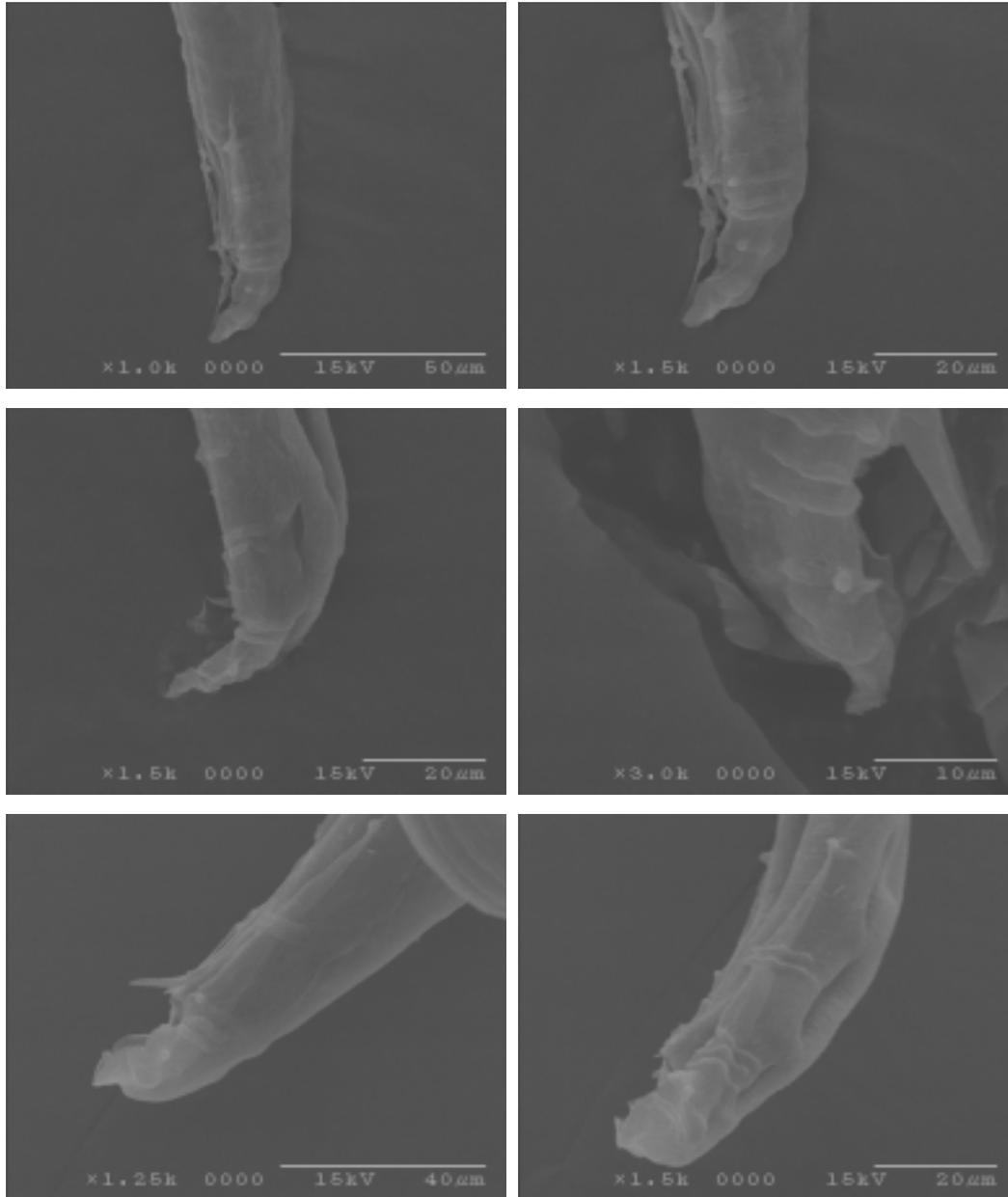
o. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 자웅동체세대(꼬리)



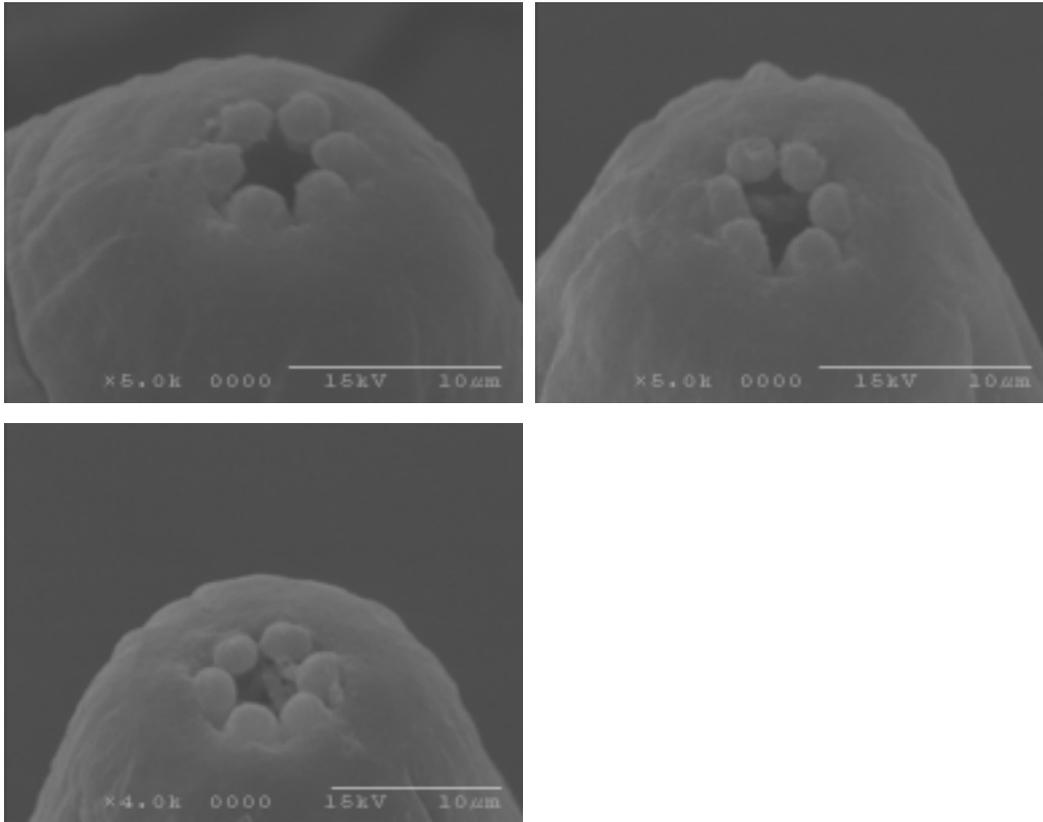
p. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 자웅이체세대 수컷(두부)



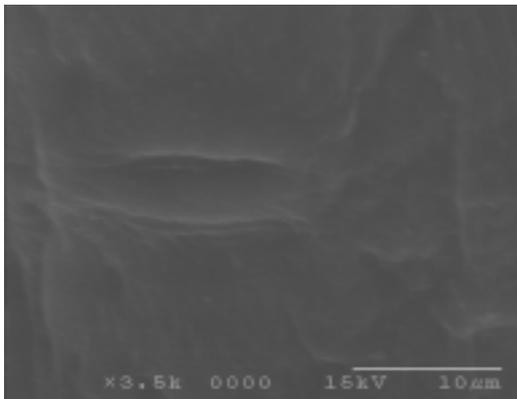
q. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 자웅이체세대 수컷(꼬리)



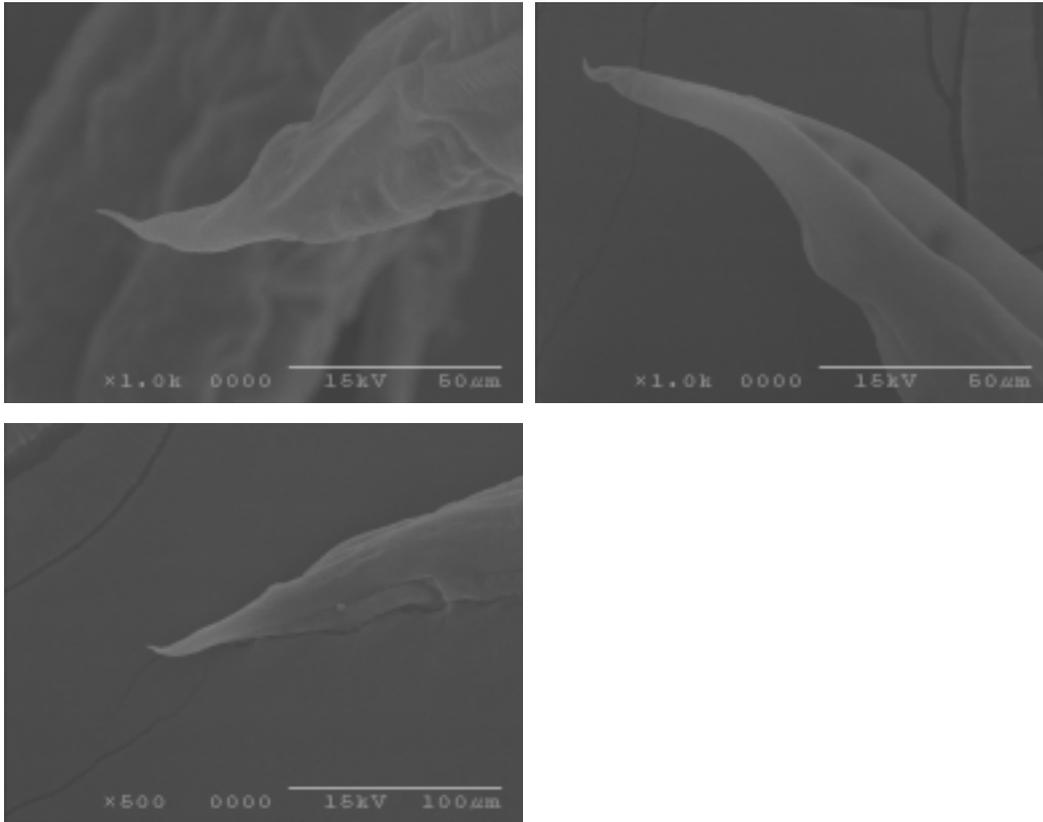
r. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 자웅이체세대 암컷(두부)



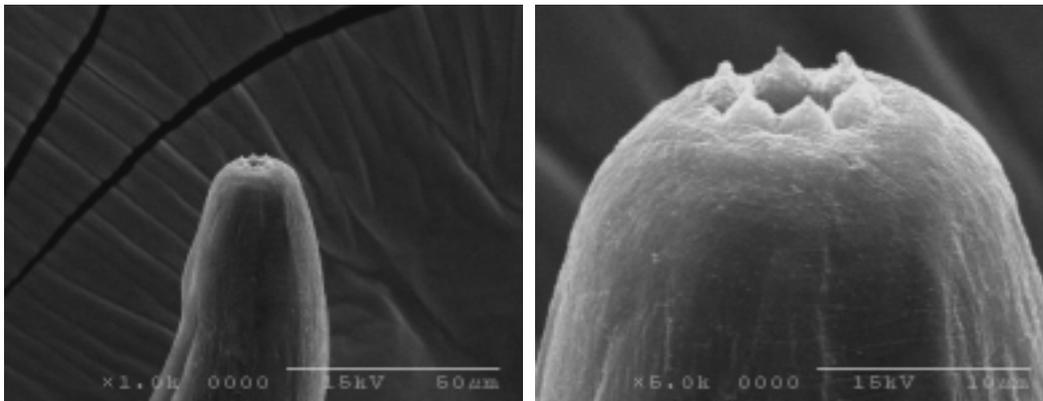
s. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 자웅이체세대 암컷(음문)



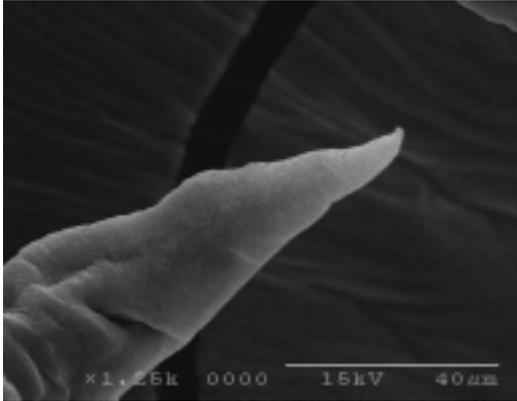
t. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 자웅이체세대 암컷(꼬리)



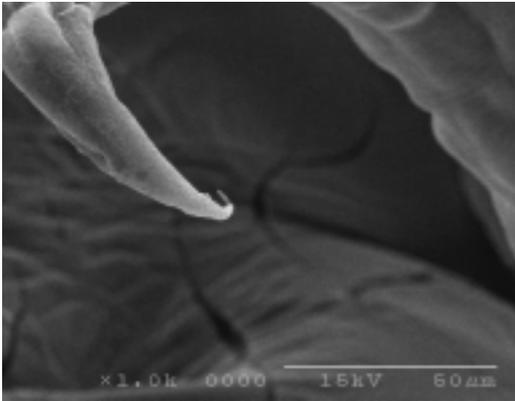
u. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 자웅이체세대 암컷(두부)



v. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 자웅이체세대 암컷(꼬리)

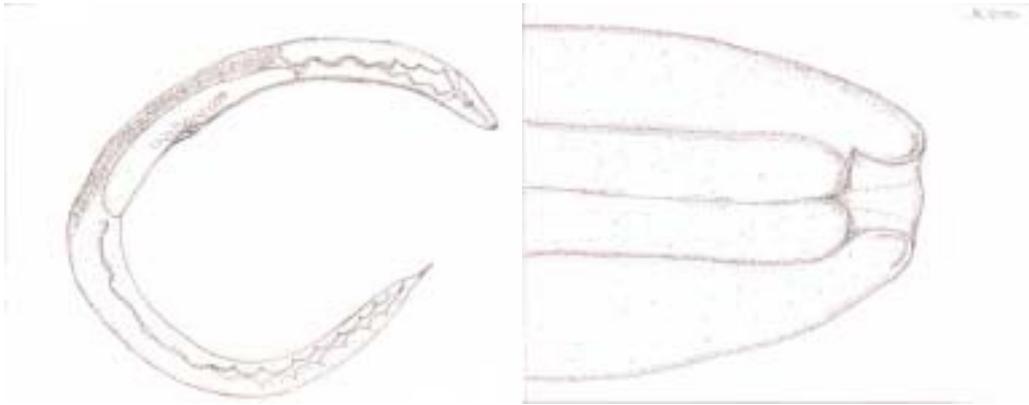


w. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 자웅이체세대 암컷(꼬리)



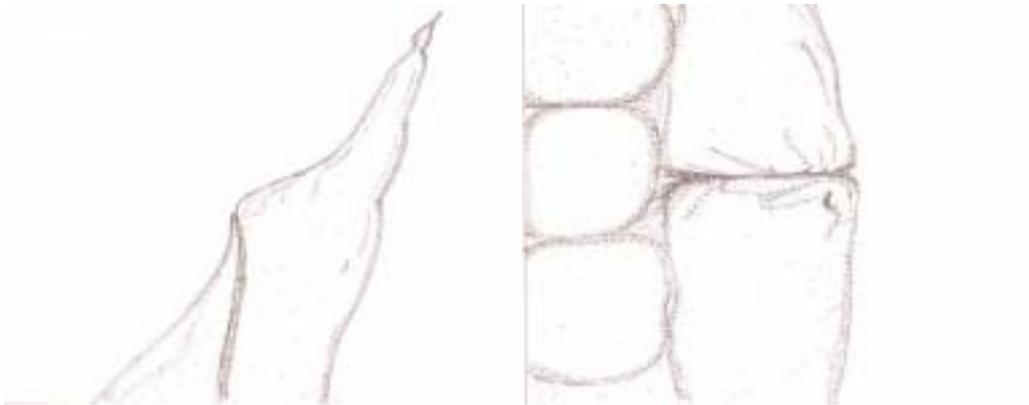
라) 곤충병원성선충의 묘사

a. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 자웅동체세대 성충



<측면 ×25>

<두부 ×400>



<꼬리 ×250>

<음문 ×400>

b. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 자웅이체세대 암컷



<측면 ×25>

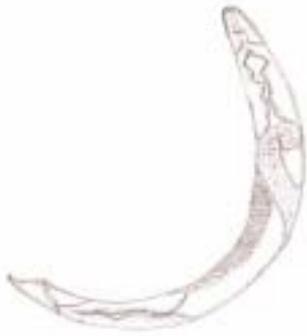
<두부 ×250>



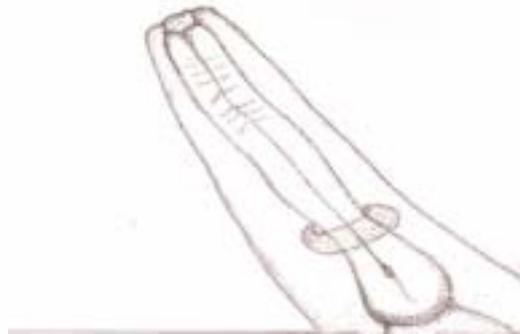
<꼬리 ×400>

<음문 ×400>

c. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 자웅이체세대 수컷



<측면 ×25>



<두부 ×400>



<꼬리 ×400>



<교접자 ×1000>

d. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 자웅동체세대 성충



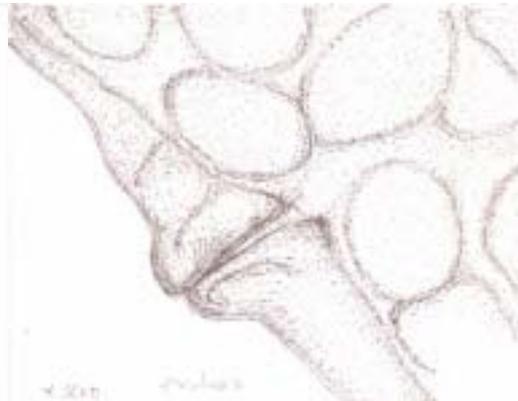
<측면 ×25>



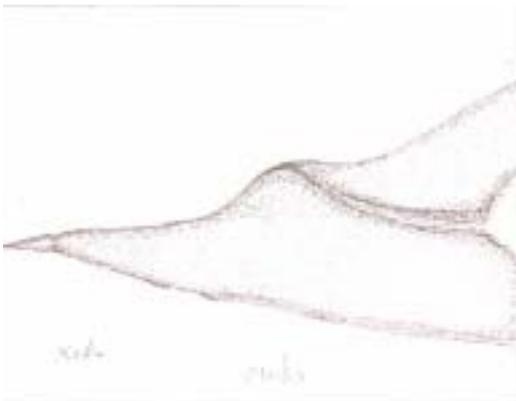
<두부 ×205>



<두부 ×400>



<음문 ×400>



<꼬리 ×250>

e. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 자웅이체세대 암컷



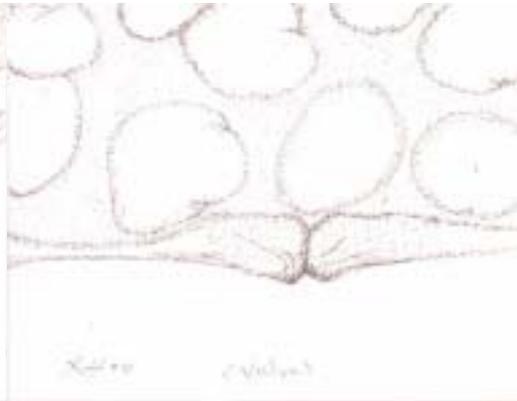
<측면 ×25>



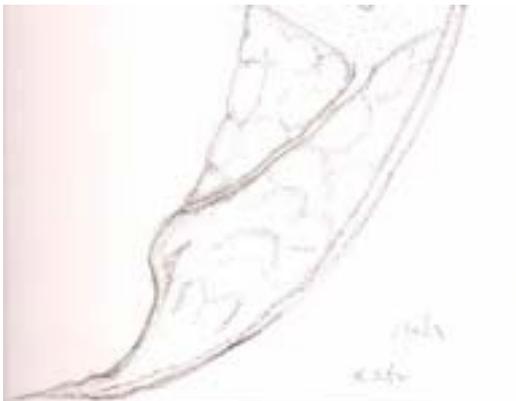
<두부 ×100>



<두부 ×250>

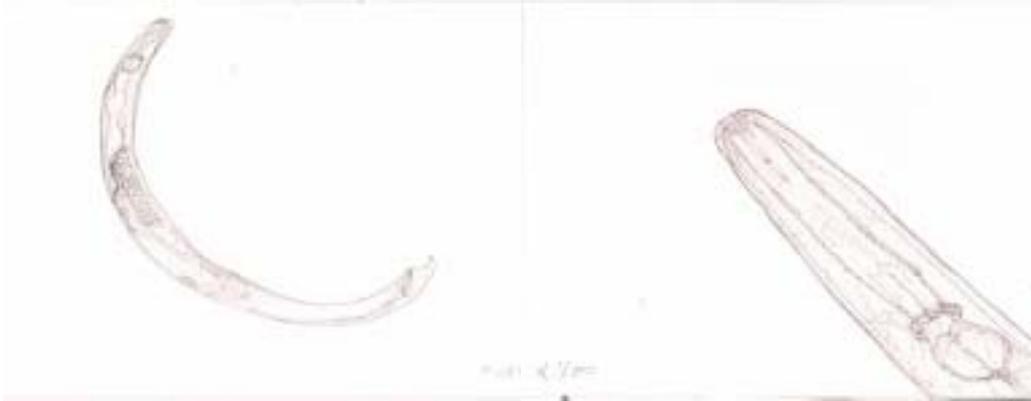


<음문 ×400>



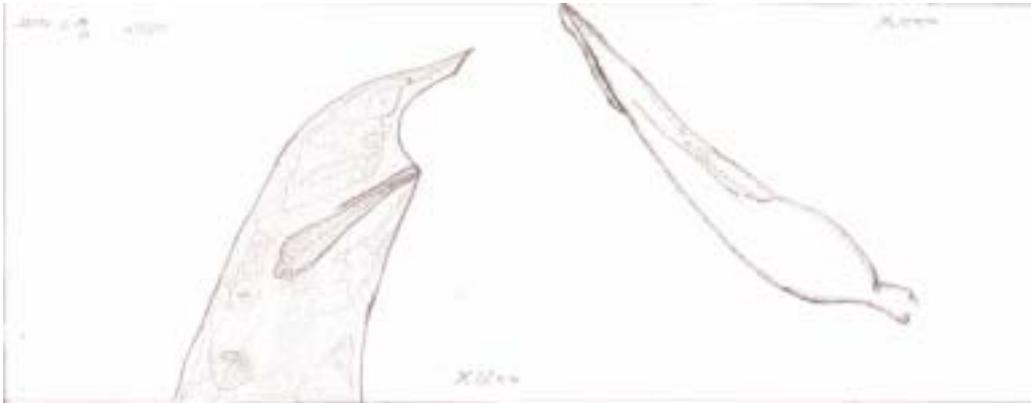
<꼬리 ×250>

f. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 자웅이체세대 수컷



<측면 ×25>

<두부 ×400>



<꼬리 ×400>

<교접자 ×1000>

g. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 자웅동체세대 성충



<측면 ×25>

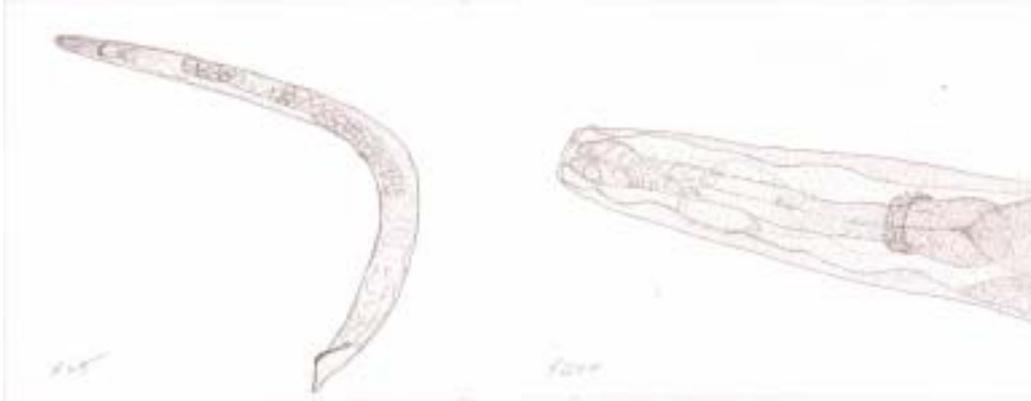
<두부 ×100>



<음문 ×400>

<꼬리 ×250>

h. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 자웅이체세대 암컷



<측면 ×25>

<두부 ×400>



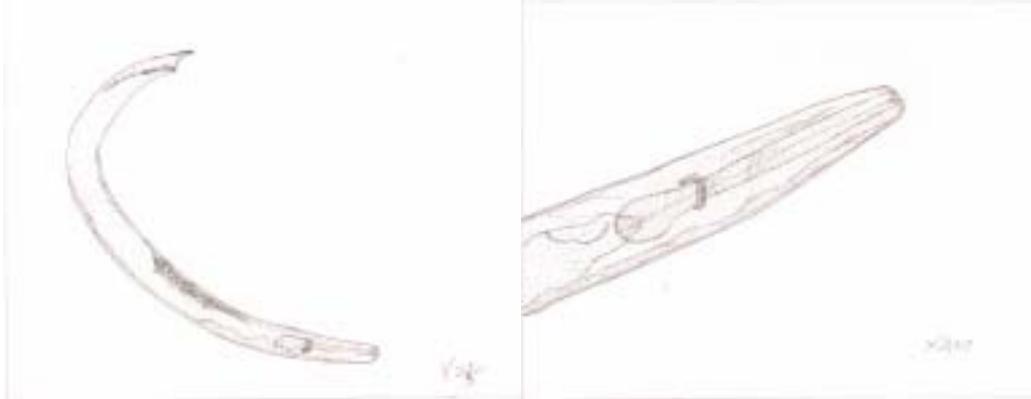
<음문 ×400>

<꼬리 ×100>



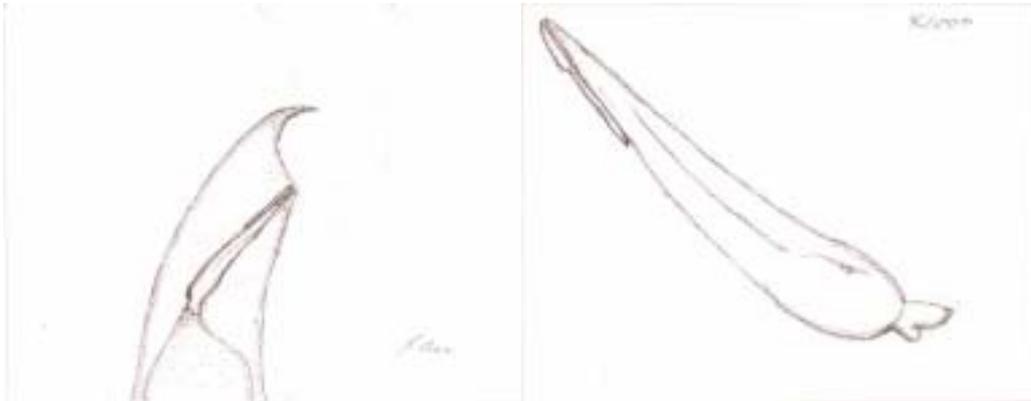
<꼬리 ×250>

i. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 자웅이체세대 수컷



<측면 ×25>

<두부 ×400>



<꼬리 ×400>

<교접자 ×1000>

2) 분자생물학적 분류 : PCR을 위한 template DNA는 *Steinernema* 암컷을 살균수에 여러 번 행구고 마지막 단계에 nuclease free water에 갈아주어 준비함으로써 성공적인 PCR 산물을 얻을 수 있었다. *Steinernema* sp. GSNUS-4의 경우, 56°C Annealing temperature의 PCR조건 하에서, 약 1 kb 크기의 ITS ribosomal DNA가 증폭 되었다 (Fig. 2). GSNUS-4의 계통 내에서 증폭된 PCR의 총 산물간에는 변이가 나타나지 않는 것으로 확인되었다.

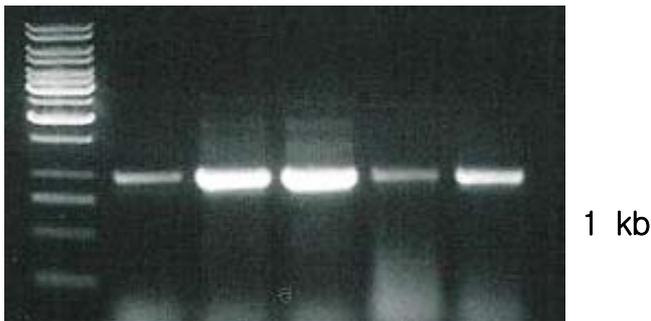


Fig.2. PCR amplification of ITS ribosomal DNA from single female of *Steinernema* sp. GSNUS-4 on 1% agarose gel. GSNUS-4 represent a *Steinernema* isolate originally collected from GSN1, Gyeonggi in Korea. Arrow indicates a PCR product selected for sequencing. The molecular marker is an 1 kb ladder form (Promega Co., Madison, WI).

Sequencing 결과 primer sequence를 제외한 총 PCR 증폭된 DNA의 양은 956 bp로 확인되었다 (Fig. 2). Figure 2에서 살펴보면, 총 DNA는 1 - 21 bp는 Forward primer, 22-193 bp는 부분적인 18s ribosomal DNA, 194 - 439 bp는 ITS-1, 440 - 607 bp는 5.8S, 608 - 901 bp는 ITS-2, 그리고 902 - 977 bp는 부분적 28S ribosomal DNA, 그리고 마지막 978-998 bp는 reverse primer로 구성되어 있다. 같은 primer를 사용했을 때, *S. biconutum*과 *S. intermedium* 두 종을 제외한 나머지 *Steinernema* 종들은 대부분 1,000 bp미만의 총 PCR product를 나타내었고, GSNUS-4와 가장 유사한 크기의 DNA 산물을 나타낸 것은 *S. capterisci*로서 959 bp였다 (Table 13). Multiple sequence alignment에서, 이와 같은 PCR 산물의 크기에 대한 다양성은 주로 ITS-1과 ITS-2에 위치한 잦은 deletion과 insertion 등의 DNA의 변이에서 기인하는 것으로 나타났고, 상대적으로 18S와 28S에서는 DNA 변

이의 정도가 낮은 안정적인 양상을 보였다.

TTGAT TACGT CCCTG CCCTT TGTAC ACACC GCCCG TCGCT GCCCG GGACT 50  
GAGTT GTTTC GAGAA AAGCG GAGAC TGCTT CTCTG AGCGC TTTCG GGCCT 100  
GAATT GAGGC GAGAA CCGCG TTAAT CGAAA CGGCT TGAAC CGGGC AAAAG 150  
TCGTA ACAAG GTTTC CGTAG GTGAA CCTGC GGAAG GATCA TTATT GAGCT 200  
TATCA TTTTA TGATT TGAAG TTCGG AACGG CACTG TCGGC ATCTA GGTGT 250  
CGATT TCGTT CGCAA ACGGC TTCGA ATGGT TTCTA TAGGT GTCTG GAGCA 300  
GCTGT ATGAG CGCGG CTGTG GTGAA GGACA TTTTA CATCG CTTTG CTGAT 350  
GTAGA ATTAA AGAGG TCAGT CGGAG ACCCG CCGTT CACAA ACCCT ACTAT 400  
TAACA TTTTA CTTGA TGATG CTCCA TTAAC TATGG TGCAA ACAA GTTAT 450  
CAAGT CTTAT CGGTG GATCA CTCGG TTCGT AGTTC GATGA AAAAC GGGGC 500  
AAAAA CCGTT ATTTG GCGTG AATTG CAGAC ATATT GAACG CTAAA ATTTT 550  
GAACG CAAAT GGCAC TATCA GGTTT ATATC TGATA GTATG TTTGG TTGAG 600  
GGTCG ATTAA CTCGT GACTT GCAGT CAGCT GAGAC TGTTT TTTCG ATGAG 650  
CTACT TTTTT GAAGT ACCTT TTCGG TATGG TCGCA ATGAA AAACG CGATA 700  
GGTTA ATGGA AGTGT GCAAC TTCTG CTATC ATATC GGTTT TGTGC GTTGG 750  
TGGTT TGGCG CGTCT CTTGC CAGCT GACTT GTGCG GACAG CTTCG TTCGT 800  
GCGTA AGTTT CTAGA AGTCG GTAGC CATT TTAGT TGACT CAACT TGTTT 850  
CCGTT GGTCA ACGGA CGTAC GTGAA CTTTG AATTC GATGT TTTCG AATTA 900  
CGACC TCAAC TCAAG CAAGA CTACC CGCTG AACTT AAGCA TATCA GTAAG 950  
CGGAG GAAAA GAAAC TAACT AGGAT TTCCT TAGTA ACGGC GAGTG AAA 998

Fig.3. The full sequence of ITS from Korean GSN1 isolate of *Steinernema* sp. GSNUS-4. ITS sequence includes partial 18S (22 bp-193 bp) and 28S (902 bp-977 bp), and full sequence of 5.8S (440 bp-607 bp). Underlined sequences are primers used for amplification of ITS ribosomal DNA.

ITS DNA상에 제한효소의 작용위치를 조사하였을 때, 기존의 보고된 10종의 *Steinernema* 와는 차별화 될 수 있는 *Steinernema* sp. GSNUS-4의 독특한 패턴이 나타났다 (Table 13). 이 특징은 제한효소, Acil I, Alu I, EcoR I, Hinf I, Mbo I, Rsa I에서 볼 수 있는데, 그 중에서도 *Steinernema* sp. GSNUS-4의 Acil I과 Alu I의 경우에는 작용부위의 숫자에서 이미 다른 종과 차이가 나고, 그 나머지는 효소의 작용부위의 숫자는 같지만, 그 위치는 서로 다른 경우이다. 그 외 Hae III, Hind III 등을 포함한 대부분의 다른 제한효소에서는 *Steinernema* sp. GSNUS-4가 차별화 되지 않았다.

Table 13. Comparison of the total PCR products and the number of cuts by 8 restriction enzymes between *Steinernema* sp. GSNUS-4 and other 10 *Steinernema* species

Species	PCR products	Restriction enzymes							
		Acil I	Alu I	EcorR I	Hinf I	Mbo I	Rsa I	Hae III	Hind III
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-4	956 bp	9	6	1: 859*	1: 816	2 :164,444	3 :2,644,847	0	0
<i>S. biconutum</i>	1016 bp	6	2	0	4	4	2	0	0
<i>S. carpocapsae</i>	987 bp	7	5	0	3	3	3 :2,308,671	0	1
<i>S. feltiae</i>	980 bp	7	3	0	3	4	5	1	0
<i>S. glaseri</i>	988 bp	11	5	0	0	3	5	0	1
<i>S. intermedium</i>	1061 bp	8	3	0	0	2 :61,386	2	1	0
<i>S. monticolum</i>	916 bp	7	1	0	4	5	5	0	0
<i>S. neocurtillae</i>	968 bp	6	1	0	1:348	3	3 :2,769,788	0	0
<i>S. capterisci</i>	973 bp	7	4	1: 728	4	7	4	0	0
<i>S. capterisci</i>	959 bp	7	5	0	2	3	3 :2,644,776	0	0
<i>S. ceratophorum</i>	992 bp	6	2	0	4	3	6	0	1

Represents the number of cut and the cut position of restriction enzymes in ITS DNA sequence.

3) 신종 *Heterorhabditis exomali* n. sp.의 형태적 특징:

- 자웅동체 성충( $\mu\text{m}$ ) : 체장  $3557.66 \pm 322.10$ , 최대체폭  $196.26 \pm 20.92$ , 구강길이  $16.31 \pm 4.21$ , 구강폭  $21.88 \pm 2.99$ , NR  $138.50 \pm 16.66$ , 식도길이  $170.23 \pm 12.86$ , 꼬리길이  $49.36 \pm 9.89$ , 항문부위폭  $39.73 \pm 8.65$ , 음문길이  $1671.75 \pm 187.67$ .

- 1세대 암컷 성충 : 체장  $1360.86 \pm 368.09$ , 최대체폭  $81.22 \pm 22.58$ , 구강길이  $4.63 \pm 1.03$ , 구강폭  $6.76 \pm 1.71$ , NR  $83.73 \pm 19.17$ , 식도길이  $111.36 \pm 22.10$ , 꼬리길이  $51.67 \pm 8.95$ , 항문부위폭  $24.08 \pm 4.42$ , 음문길이  $666.43 \pm 194.51$ .

- 1세대 수컷 성충 : 체장  $888.39 \pm 50.44$ , 최대체폭  $46.73 \pm 2.95$ , 구강길이  $4.12 \pm 1.01$ , 구강폭  $5.11 \pm 0.94$ , NR  $80.63 \pm 4.46$ , 식도길이  $105.67 \pm 10.94$ , 꼬리길이  $23.88 \pm 2.37$ , 항문부위폭  $20.51 \pm 1.32$ , 교점자길이  $42.51 \pm 2.37$ , 교점자폭  $6.02 \pm 0.79$ , 부자길이  $21.80 \pm 1.76$ , 부자폭  $2.04 \pm 0.33$ .

- 유충 : 체장  $560.62 \pm 20.42$ , 최대체폭  $21.12 \pm 0.89$ , 구강길이  $2.76 \pm 0.48$ , 구강폭  $1.80 \pm 0.39$ , NR  $102.43 \pm 8.49$ , 식도길이  $115.76 \pm 7.60$ , 꼬리길이  $55.30 \pm 3.68$ , 항문부위폭  $12.52 \pm 1.12$ .

◎ 해부현미경 사진

<자웅동체세대 성충 암컷>



<측면부  $\times 25$ >



<음문  $\times 400$ >



<두부 ×250>



<꼬리 ×400>

<자웅이체세대 수컷>



<측면부 ×25>



<교접자 ×400>



<생식돌기 ×400>

<침입태유충>



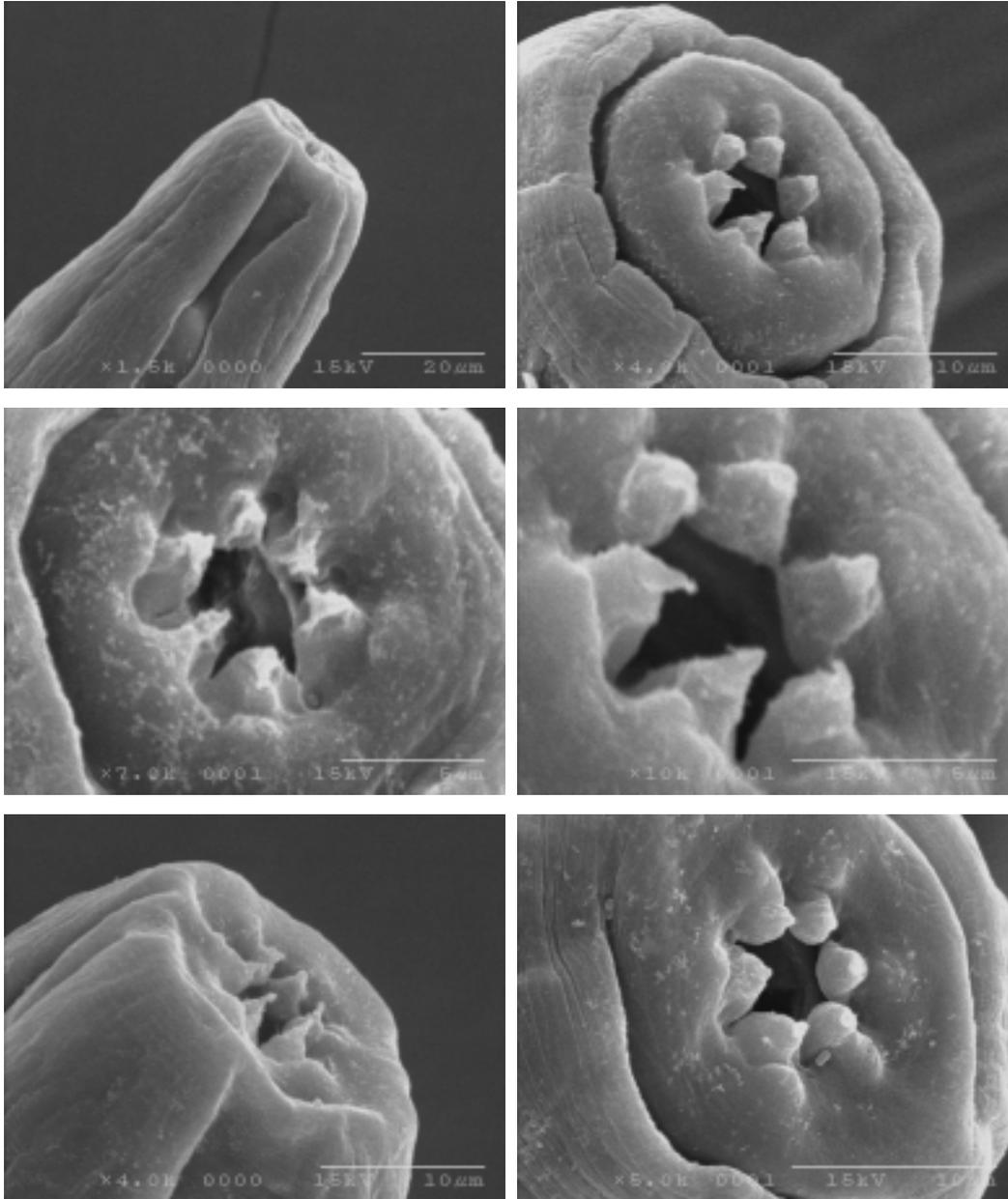
<두부 ×400>

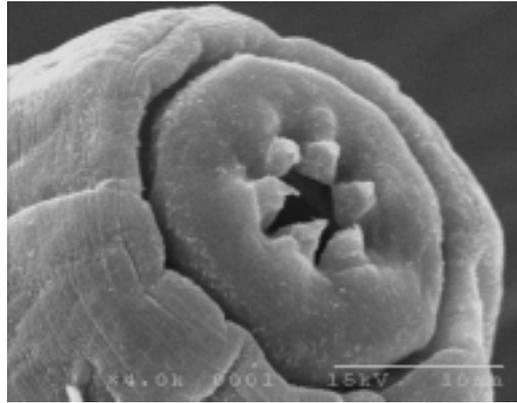
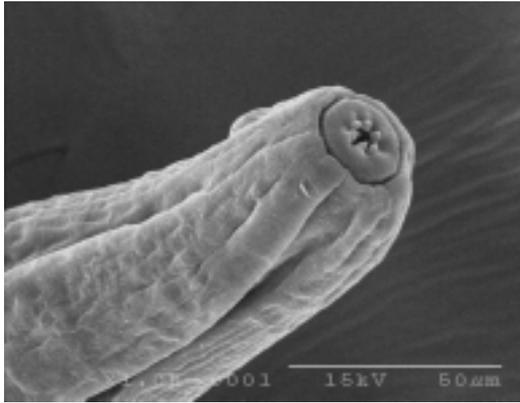


<꼬리 ×400>

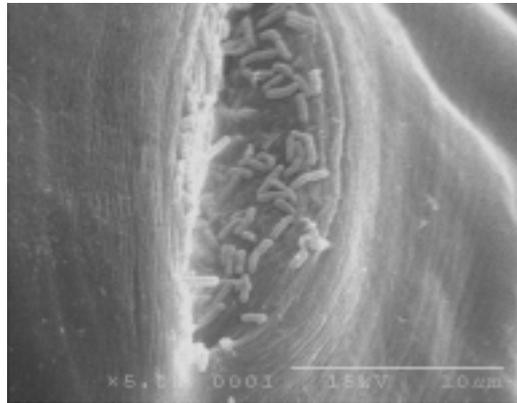
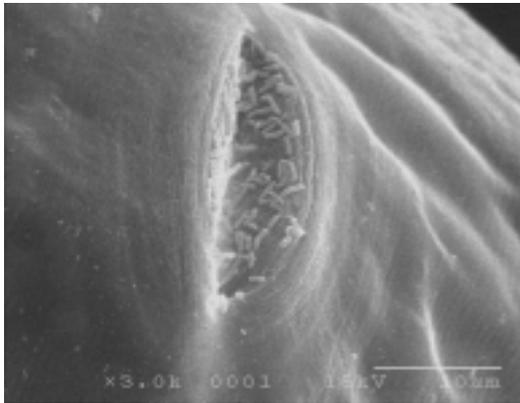
© 전자현미경 사진

<자용동체세대 성충 두부>

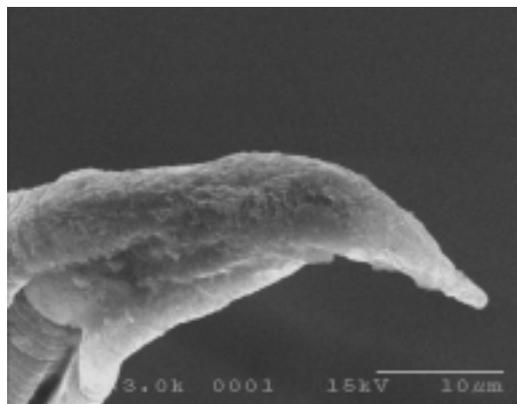
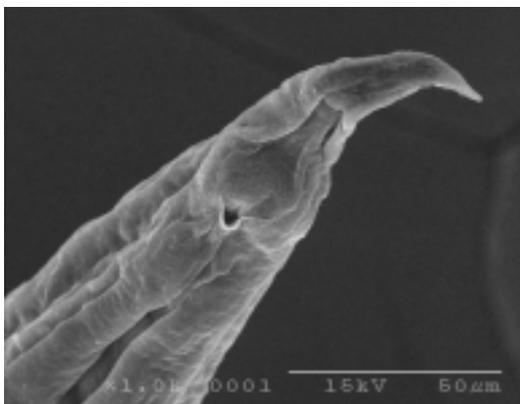
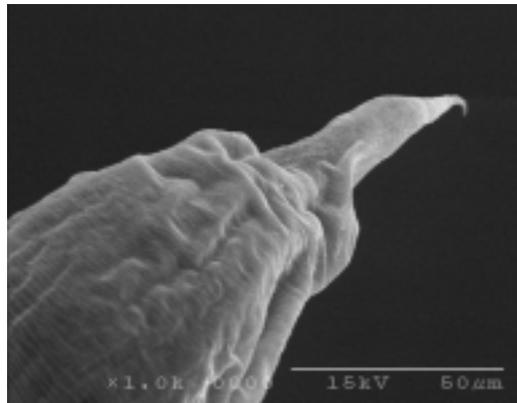
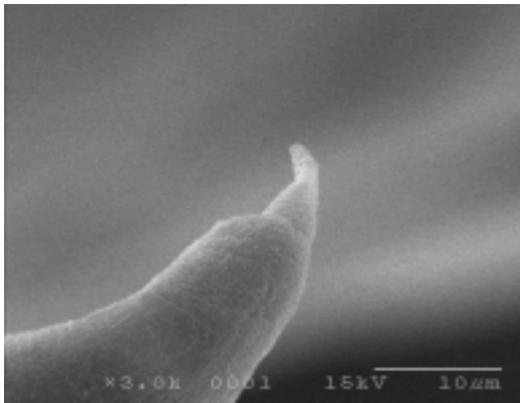
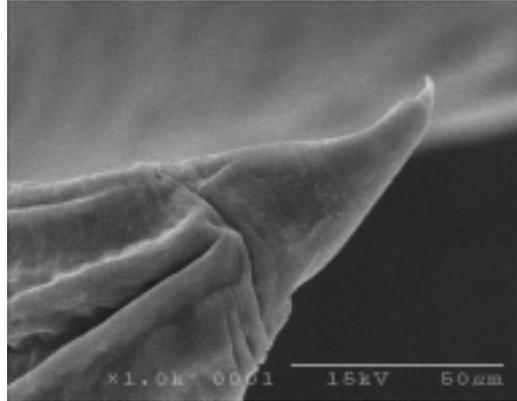
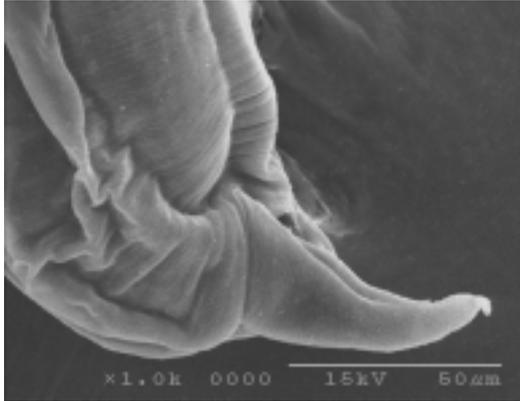




<자웅동체세대 성충 음문>



<자용동체세대 성충 꼬리>



◎ 묘사

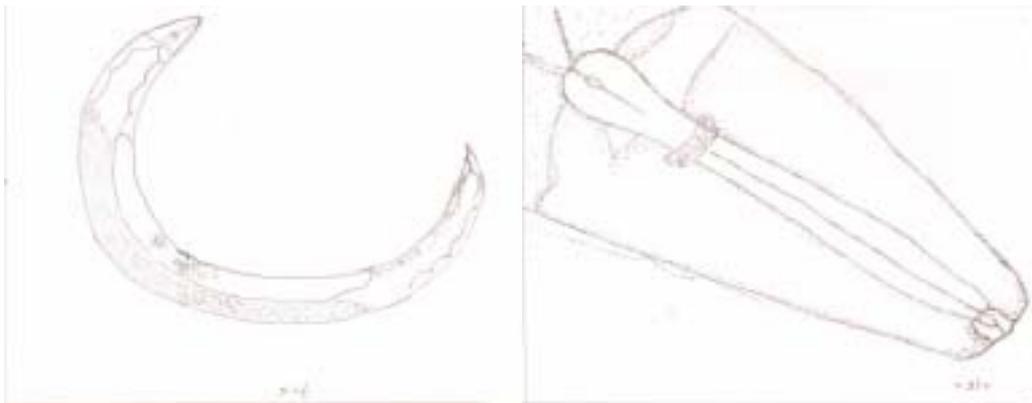
<침입태유충>



<두부 ×400>

<꼬리 ×400>

<자웅동체세대 성충>



<측면 ×25>

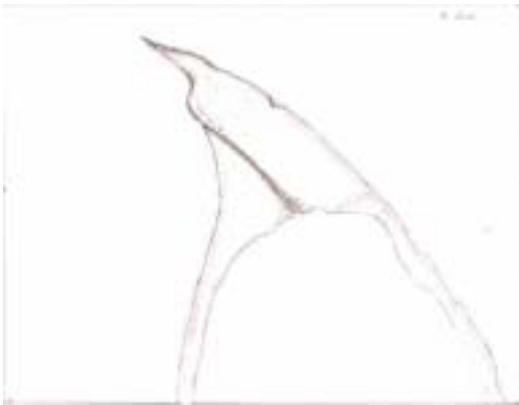
<두부 ×250>



<두부 ×400>

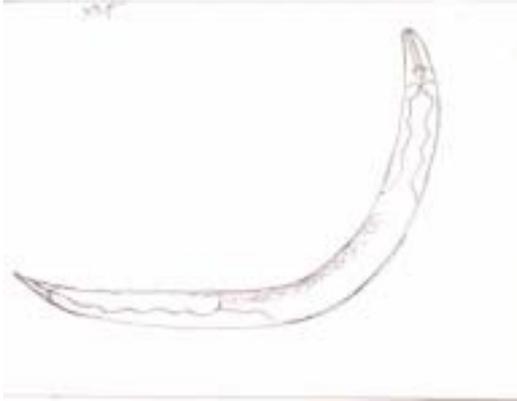


<음문 ×400>



<꼬리 ×400>

<자웅이체성충 수컷>



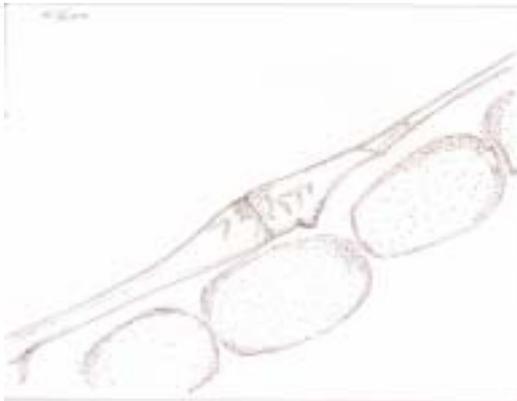
<측면 ×25>



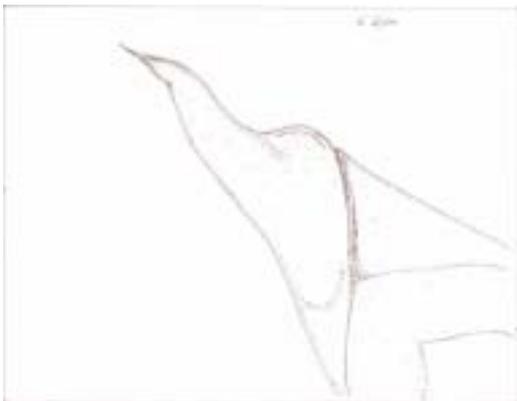
<두부 ×250>



<두부 ×400>



<음문 ×400>



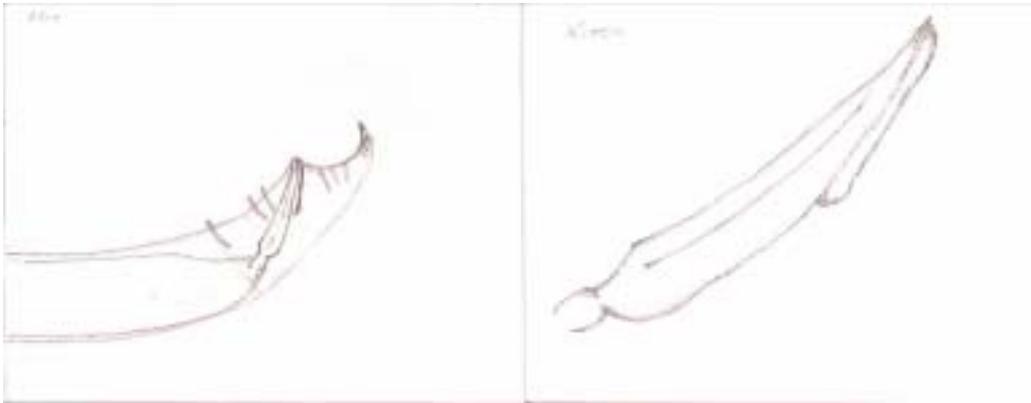
<꼬리 ×400>

<자웅이체성충 수컷>



<측면 ×25>

<두부 ×400>



<꼬리 ×400>

<교접자 ×1000>

### 3. 곤충병원성선충의 생산 기술 개발

#### 가. 재료 및 방법

1) 꿀벌부채명나방 유충의 경제적 사육을 위한 인공사료 개발: 전라북도 무주에 있는 한 양봉장에서 벌집을 가해하던 꿀벌부채명나방(*Galleria mellonella*) 노숙유충을 채집하여 실험실로 가져와 사육하면서 건강한 번데기로부터 우화된 성충의 알을 인공사료로 증식 시켰다. 사육은 30℃의 항온기에서 24시간의 암조건으로 하였다. 그리고 Poinar(1975)의 인공사료를 개량하여 먹이로 제공하면서 누대사육 시켰다. 각 실험에 이용한 유충들은 지속적으로 이들 사료로서 사육시켰다.

꿀벌부채명나방을 증식하는 인공사료로 기존의 방법은 벌꿀에 비타민, 글리세린, yeast 등을 섞어 사용하고 있다. 그러나 우리나라에서는 벌꿀의 값이 고가여서 벌꿀 함량이 높은 인공사료의 경우 대량생산에 비용이 많이 든다. 따라서 상업적으로 생산비가 적게 드는 인공사료를 개발하기 위하여 벌꿀을 대체할 수 있는 sucrose source를 찾고자 현재 시중에서 판매되고 있는 4가지 type의 당을 이용하여 실험을 수행하였다. 인공사료의 조성은 Table 12와 같다. 각 사료를 골고루 섞은 후 127℃의 고압멸균기에서 15분간 살균하였다. 그리고 대조구로 Poinar(1975)가 개발한 사료(Table 14, E)를 사용하였다. 당 종류별 인공사료는 벌꿀(A type), 1/2벌꿀 + 1/2물엿(B type), 물엿(C type), 설탕(D type)으로 구분하여 꿀벌부채명나방을 사육하였다.

Table 14는 인공사료별 꿀벌부채명나방 500마리를 사육하기 위한 먹이 조성표이다.

인공적으로 조성한 각 사료를 21 × 22 cm의 원형플라스틱 용기에 넣고는 건강한 성충으로부터 채란한 알을 넣었다. 그리고 30℃의 항온기에서 24시간 암조건으로 사육하였다. 개체 사육은 12 × 17.5 cm의 원형플라스틱 용기를 이용하였다. 그리고 각 인공사료별 꿀벌부채명나방의 사육 유충수는 통 당 약 500마리 정도였다. 이와 같이 사육한 꿀벌부채명나방 유충 중 임의로 50마리를 취하여 노숙 유충의 두폭과 길이, 무게, 발육기간 등을 조사하였다. 한편으로는 9 × 1.5 cm의 petri dish에 노숙 유충한 마리씩을 옮겨 개별 사육하면서 용기간, 용화율, 우화율 등을 조사하였다. 성충은 9.5 × 5 cm의 원형플라스틱 용기를 사용해서 성충의 산란수와 수명 등을 조사하였다.

Table 14. Compositions of artificial diets for *Galleria mellonella* rearing with different sucrose source

Components	Diets <sup>1</sup>				
	A	B	C	D	E <sup>2</sup>
Honey (ml)	200	100	0	0	200
Malt (ml)	0	100	200	0	0
Sucrose (g)	0	0	0	300	0
Wheat bran (ml)	1200	1200	1200	1200	2400
Rice bran (ml)	1200	1200	1200	1200	0
Glycerin (ml)	200	200	200	200	200
Multi-vitamin	0.9	0.9	0.9	0.9	12
Calcium propionate (g)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Yeast (tsp)	1	1	1	1	1
Water (ml)	100	100	100	100	100

<sup>1</sup>Diets for rearing of about 5 hundreds of *G. mellonella* larvae.

<sup>2</sup>Diet for *G. mellonella* by Poinar (1975).

벌집에서의 꿀벌부채명나방의 유충기간이 30℃ 일 때 43.4일이기 때문에(Hwang *et al.*, 1998) 각각의 인공사료에서 사육시킨 유충은 산란한지 40일 후 각 사육 통에서 50마리씩을 임의로 선발하여 유충의 두께, 길이, 무게를 컴퓨터와 측정기가 부착된 해부 현미경과 화학저울(Chemical balance)을 이용하여 조사·비교하였다. 어린 유충의 령기는 구분이 쉽지 않고 주로 노숙 유충을 많이 활용하기 때문에 노숙 유충만 측정하였다. 특히, 곤충병원미생물의 증식과 실험에는 180 - 200 mg의 노숙 유충을 주로 사용한다. 따라서 노숙 유충이 되는 시기인 40일 정도의 유충을 취하여 조사하였다.

꿀벌부채명나방을 인공사육 할 때 경제적으로 유리한 인공사료를 조성하고자 값이 비싼 벌꿀 대신에 물엿과 설탕을 이용하여 인공사료를 조성하고 그 비용을 분석하였다. 모든 사료의 비용 산출은 종합물가정보와 인터넷을 통하여 가격을 조사하여 분석하였으며, 인공사료에 대한 각 사료 구성분의 경제적 가치는 사료의 양에 따른 경제적 비용으로 비교하였다. 가치의 기준은 우리나라 원화(Won)를 기준으로 사용하였다.

각 사료별 꿀벌부채명나방 유충의 생육실험은 21 × 22 cm 원통플라스틱 용기를 이용하여 각 인공사료에 산란이 유도된 Kimwipes 용지(215 × 210 mm)(유한김벌리, 경기 군포) 5장(알 500개)을 계단식으로 넣어 30℃, 24 시간 암조건의 항온기에서 4반복으로 수행하였다. 그리고 사료별 꿀벌부채명나방의 발육기간에 대한 실험에서 알의 경우에는 24시간 내에 우화한 성충으로부터 산란을 유도한 후 9 × 1.5 cm petri dish에 넣어서 알기간과 부화기간을 조사하였다. 유충기간은 21 × 22 cm 원통플라스틱 용기에 사육하면서 조사하였으며, 번데기 기간은 노숙유충을 9 × 1.5 cm petri dish에 하나씩 옮겨 우화까지의 기간으로 결정하였다. 각 조사에 사용한 개체 수는 난 기간 조사에 이용된 알은 500개, 부화조사에 이용한 알은 30개, 유충은 50마리, 번데기는 10마리였다. 모든 조사는 4반복으로 하였고, 각 인공사료에 대한 꿀벌부채명나방 유충의 두폭, 길이, 무게는 산란 된지 40일 후의 유충을 50마리씩 임의로 취하여 petri dish에 1마리씩 옮기면서 조사를 하였으며 두폭과 길이를 측정 시에는 움직임을 방지하기 위해 냉동실에 잠깐 넣었다가 움직임을 둔화시켜 해부현미경과 화학저울을 이용하여 조사하였다. 그리고 사료별 꿀벌부채명나방 유충의 용화율 조사는 번데기 무게, 길이를 조사하고 있던 외관상 건강한 번데기와 함께 원통플라스틱 용기에 각각의 인공사료를 넣고 여기에 알을 30개씩 넣어 4반복으로 개체 사육을 한 번데기를 통해 용화율을 조사하였다. 사료별 꿀벌부채명나방 번데기 조사는 4반복으로 인공사육하고 있던 21 × 22 cm 원통플라스틱 용기에서 번데기 10마리씩을 각각 선발하여 번데기의 길이와 무게를 해부현미경과 화학저울을 이용해서 조사하였고, 이것은 꿀벌부채명나방의 발육기간이 30℃일 때 번데기 기간이 52.7일이기 때문에 (Hwang *et al*, 1998) 50일째에 조사를 하였다. 사료별 꿀벌부채명나방의 우화율 조사는 12 × 17.5 cm 원통플라스틱 용기에 각각의 인공사료를 넣고 여기에 알을 30개씩 넣어 4반복으로 사육하면서 번데기가 되면 9 × 1.5 cm petri dish에 1마리씩 넣어서 우화율을 조사하였다. 성비는 21 × 22 cm 원통플라스틱 용기에 유충을 계속 사육하면서 우화해 나오는 성충의 성비를 조사하였다. 본 실험에서는 계속 사육하면서 colony에서 성충이 우화하는 기준으로부터 30일 동안 나오는 성충의 성비를 조사하였고, 실험은 4반복으로 하였다. 또한 개체 사육을 통한 꿀벌부채명나방의 성비도 조사를 하였는데, 이것은 집단 사육을 통한 성충의 성비와 개체 사육을 통한 성충의 성비가 차이가 있는지 알아보았고, 성충의 성비는 배 부분의 생식기와 크기를 이용해 구분하였다.

사료별 꿀벌부채명나방 성충의 수명조사는 사료별 꿀벌부채명나방의 성비 조사와 병행해서 행하였다. 각 성충에 대한 수명은 교미를 하면서 살아가는 성충의 수명을 조사한 것으로 용기에 암수 1마리씩을 넣어 매일 성충이 죽을 때까지 조사하였다. 조사는 2개의 9.5 × 5 cm 원통플라스틱 용기를 한 반복으로 하여 5반복으로 수행하였다.

사료별 꿀벌부채명나방의 산란 수는 21 × 22 cm 원통플라스틱 용기에서 사육하고 있던 colony로부터 우화해 나오는 성충 중 24시간 내의 암수 1마리씩을 선발하여 9.5 × 5 cm 플라스틱 용기에 넣었다. 여기에 20 × 21 cm 크기의 Kimwipes 용지를 1/4 크기로 잘라 1장을 집어넣고 산란을 유도하였다. 그리고 매일 Kimwipes 용지를 갈아주면서 해부현미경하에서 산란된 알의 수를 헤아렸다. 산란 수 조사는 암컷이 죽을 때까지 매일 조사하였으며, 수컷이 먼저 죽게 되면 새로운 수컷을 넣어 주면서 조사를 하였다. 실험은 한 쌍의 암수가 들어 있는 2개의 용기를 한 반복으로 하여 5반복으로 수행하였다.

2) 꿀벌부채명나방 유충에 대한 곤충병원성선충 접종효율 제고 기술 개발 : 꿀벌부채명나방 유충에서 in vivo 대량생산을 위하여 꿀벌부채명나방을 효율적으로 불활성화 시켜 고치의 형성을 최소화하고, 미끼곤충의 생존율은 최대화시키기 위한 실험을 수행하였다. 플라스틱 바구니를 이용하여 대량으로 선충을 꿀벌부채명나방에 접종시켜야 하는데 이 경우 살아있는 노숙유충들이 용기 밖으로 탈출하거나 고치를 형성하여 선충의 접종율을 감소시키거나 감염이 이루어지더라도 고치를 형성하는 문제점이 있다. 이를 개선하기 위하여 냉동 조건을 달리하여 꿀벌부채명나방은 살아있으면서 활동이 저하되고, 고치를 짓지 않는 조건을 규명하였다. 또한 이러한 꿀벌부채명나방 유충에 선충을 효율적으로 접종하고, 증식된 선충을 수확하기 위하여 다층 선반형 선충 접종 및 수거대를 고안하였다. 고안된 선충 접종 및 수확기의 효율을 높이기 위하여 접종 선충의 적정 농도와 접종 후 적정 수확 시기 및 기간에 관한 조사를 수행하였다.

## 나. 결과

1) 꿀벌부채명나방 유충의 경제적 사육을 위한 인공사료 개발 : 사료별 인공사

료 구성에 대한 비용은 Table 15와 같았다.

사료별 인공사료 구성에 대한 경제적 비용을 보면 밀겨가 953원으로 쌀겨의 92원보다 10배정도 비용이 많이 들었으며, 단위 무게 당 물엿은 487원, 설탕은 212원 이었던 반면에 벌꿀은 2,778원으로 훨씬 많은 비용이 들었다. 따라서 꿀벌부채명나방 유충 500마리를 사육하는데 드는 각 사료별 경제적 비용은 A는 5,782원, B는 4,937원, C는 3,491원, D는 3,216원, E는 6,643원이었다.

Table 15. Unit cost of each artificial diet for *Galleria mellonella* based on Korea price information index

Ingredients	Unit cost (Won, ₩) of diet <sup>1</sup>				
	A	B	C	D	E
Honey	2,778	1,389	0	0	2,778
Malt	0	244	487	0	0
Sucrose	0	0	0	212	0
Wheat bran	953	953	953	953	1,906
Rice bran	92	92	92	92	0
Glycerin	1,512	1,512	1,512	1,512	1,512
Multi-vitamin	120	120	120	120	120
Yeast	162	162	162	162	162
Calcium propionate	165	165	165	165	165
Water	0	0	0	0	0
Total	5,782	4,937	3,491	3,216	6,643

<sup>1</sup>See table 1 for the amount of each ingredient of diets.

각 사료에서 사육시킨 꿀벌부채명나방 유충의 두폭과 길이 및 무게는 Table 15와 같았다. 두폭은 당 종류에 따라 차이가 없었으며, 유충의 길이도 21 - 23 mm으로 차이가 없었다. 그러나 무게는 벌꿀은 238 mg, 물엿은 171.8 mg, 1/2벌꿀 + 1/2물엿은 255.5 mg, 설탕은 144.3 ± 25.7 mg으로 차이가 있었다.

Table 16. Pupal length and weight (mean±SD) of *Galleria mellonella* reared on artificial diets with different sucrose sources (n=10)

Pupal measurement	Sucrose source			
	Honey	Malt	1/2Honey+1/2Malt	Sucrose
Length (mm)	17.24±0.73	15.25±1.21	16.84±0.72	13.91±0.60
Weight (mg)	151.27±14.19	155.0±16.84	196.65±19.34	113.33±9.82

사료별 꿀벌부채명나방 번데기의 크기와 무게는 Table 16과 같다. 크기는 벌꿀사료에서 17.24 ± 0.73 mm로 가장 길었으나 무게는 벌꿀이 151.27 ± 14.19 mg 이었던데 비하여 1/2벌꿀+1/2물엿은 크기가 16.84 ± 0.72 mm에 무게는 196.65 ± 19.34 mg로 가장 무거웠다.

Table 17. Larval size (mean±SD) of *Galleria mellonella* reared on artificial diets with different sucrose source (n=50)

Sucrose source	Egg	Larva	Pupa	Total
Honey	5.6±1.2	31.4±3.6	8.9±0.7	45.9±3.5
Malt	6.8±0.4	35.3±3.3	7.9±1.3	50.0±2.7
1/2Honey+1/2Malt	6.6±1.2	30.9±2.6	6.9±0.9	44.4±3.3
Sucrose	6.8±1.0	36.5±2.6	9.3±1.0	52.5±3.4

인공사료별 꿀벌부채명나방의 발육기간은 Table 17과 같았다. 각 사료별 꿀벌부채명나방의 알기간과 유충기간, 번데기기간을 보면 벌꿀은 각각 5.6 ± 1.2일, 31.4 ± 3.6일, 8.9 ± 0.7일로 총 45.9 ± 3.5일이었고, 물엿은 6.8 ± 0.4일, 35.3 ± 3.3일, 7.9 ± 1.3일로 총 50 ± 2.7일이었으며, 1/2벌꿀+1/2물엿은 6.6 ± 1.2일, 30.9 ± 2.6일, 6.9 ± 0.9일로 총 44.4 ± 3.3일이었다. 그리고 설탕은 6.8 ± 1.0일, 36.5 ± 2.6일, 9.3 ± 1.0일로 총 52.5 ± 3.4일이었다. 따라서 알기간은 4종류 모두 6 - 7일로 비슷하였고, 번데기 기간도 8 - 9일로 비슷하였다. 그러나 유충기간은 1/2벌꿀 + 1/2물엿이 30.9 ± 2.6일로 제일 짧았으며, 물엿과 설탕이 각각 35.3 ± 3.3일과 36.5 ± 2.6일로 길었다.

Table 18. Developmental period days (mean±SD) of *Galleria mellonella* reared on artificial diets with different sucrose sources

Sucrose source	Larval measurement		
	Head width (mm)	Length (mm)	Weight (mg)
Honey	1.96±0.06	22.48±1.27	238.0±33.8
Malt	1.94±0.08	23.03±0.93	171.8±23.6
1/2Honey+1/2Malt	1.99±0.07	21.01±1.12	255.5±32.4
Sucrose	1.90±0.11	22.46±1.44	144.3±25.7

사료별 꿀벌부채명나방의 용화율과 우화율은 Fig. 4와 같았다.

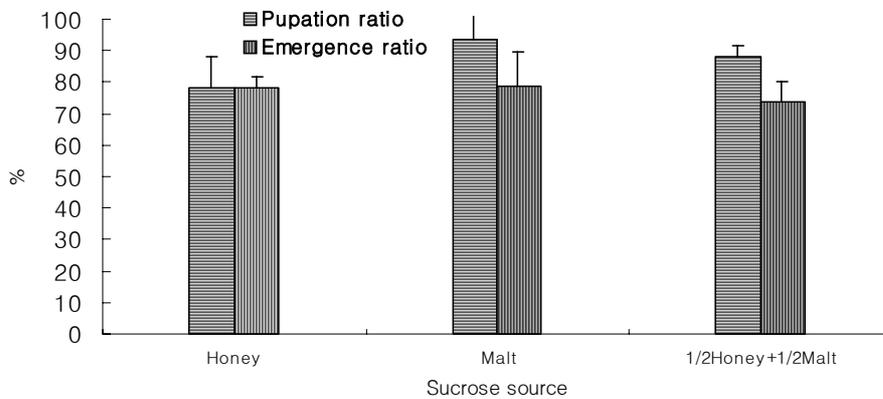


Fig. 4. Pupation and emergence ratios of *Galleria mellonella* depending on artificial diets (n=30).

용화율은 꿀벌에서는 78.3%, 물엿에서는 93.4%, 1/2벌꿀 + 1/2물엿에서는 88.3%이었다. 우화율은 벌꿀에서는 78%, 물엿에서는 78.6%, 1/2벌꿀 + 1/2물엿에서는 74% 이었다.

사료별 꿀벌부채명나방 성충의 성비에서 우의 비율은 집단에서 사육한 벌꿀에서 55.8%, 물엿에서 56.6%, 1/2벌꿀 + 1/2물엿에서 53.0%, 설탕에서 54.1%였다(Fig. 5).

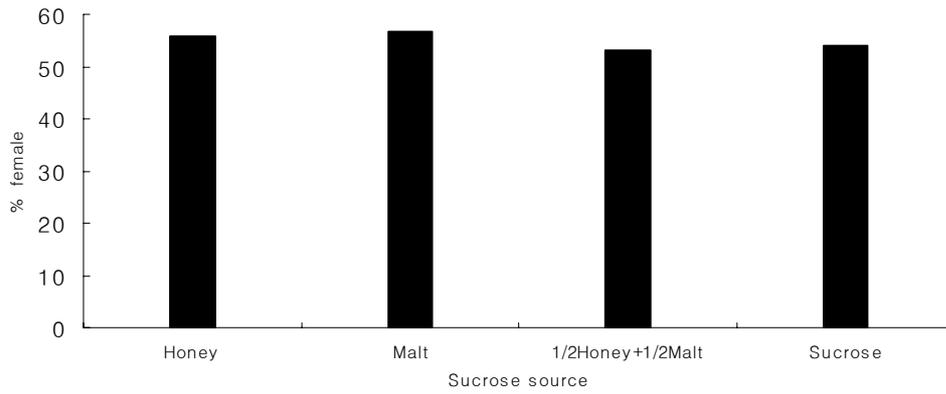


Fig. 5. Sex ratio of *Galleria mellonella* reared in a mass with different artificial diets.

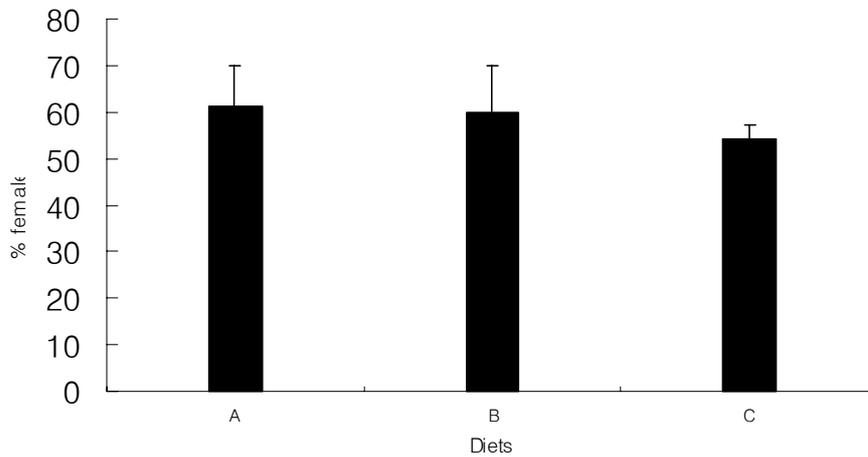


Fig. 6. Sex ratio of *Galleria mellonella* reared individually with different artificial diets (n=30).

그리고 사료별로 30마리를 개체 사육한 꿀벌부채명나방 우의 비율은 벌꿀(A)에서는 61.2%, 물엿(B)에서는 59.9%, 1/2벌꿀 + 1/2물엿(C)에서는 54.3%로 집단 사육에서 얻어진 성비와 비슷하였다(Fig. 6). 그 결과 집단 사육과 개체 사육을 통한 꿀벌부채명나방의 우의 비율은 비슷하였다.

사료별 꿀벌부채명나방의 교미한 성충 수명은 4가지 사료 모두 다 수컷이 더 오래 사는 것으로 나타났다(Fig. 7). 즉, 벌꿀에서는 우이  $8.0 \pm 1.7$ 일, ♂은  $8.1 \pm 1.0$ 일이었고, 물엿에서는 우이  $7.6 \pm 1.3$ 일, ♂은  $8.8 \pm 1.8$ 일이었으며, 1/2벌꿀+1/2물엿에서는 우이  $6.3 \pm 0.8$ 일, ♂은  $11.2 \pm 1.6$ 일이었다. 그리고 설탕에서는 우이  $8.2 \pm 2.0$ 일, ♂은  $10.0 \pm 2.4$ 일이었다. 그러나 교미를 하지 않았던 성충은 17일 이상이었다.



Fig. 7. Adult longevity of *Galleria mellonella* depending on artificial diets.

사료별 꿀벌부채명나방 암컷이 사망 할 때까지의 산란 수는 벌꿀사료에서는  $612 \pm 123$ 개, 물엿은  $716 \pm 155$ 개, 1/2벌꿀 + 1/2물엿은  $828 \pm 168$ 개, 설탕은  $1269 \pm 162$ 개로 설탕사료에서 가장 많았다(Fig. 8). 산란은 설탕으로 사육하는 것이 좋고 볼 수 있지만 꿀벌부채명나방 유충을 필요로 하는데 있어서는 비현실적이기 때문에 산란수가 많다고 해서 설탕을 이용한 인공사육이 좋다고는 말할 수 없을 것으로 사료된다.

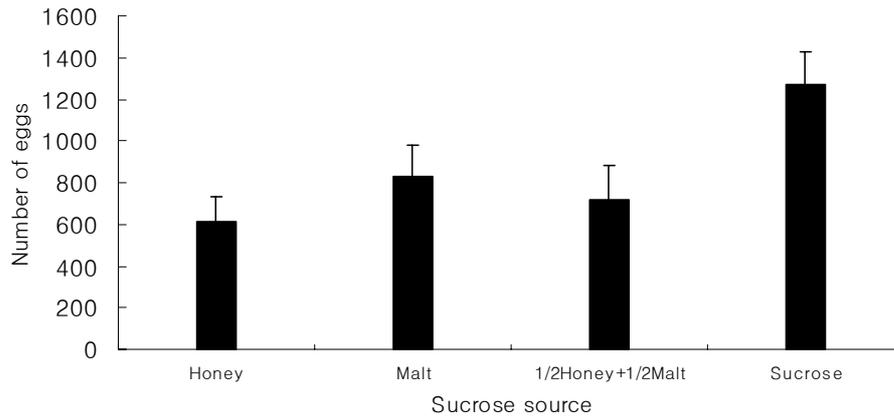


Fig. 8. Number of eggs laid by a female *Galleria mellonella* emerged from the larvae reared on artificial diets with different sucrose source (n=10).

2) 꿀벌부채명나방 유충에 대한 곤충병원성선충 접종효율 제고 기술 개발: 꿀벌 부채명나방 고치 미형성을 위한 저온 처리법과 플라스틱 체와 김타올을 이용한 in vivo 대량 생산 법 및 *Steinernema carpocapsae* 계통의 최적 접종밀도 및 최적 수확시기를 규명하여 “꿀벌부채명나방 유충을 이용한 곤충병원성선충의 생산방법”이라는 제목으로 특허 출원하였음 (출원번호: 10-2005-0094876).

#### 4. 곤충병원성선충 공생세균 이용 기술 개발

##### 가. 재료 및 방법

1) 공생세균의 분리와 병원성 : 곤충병원성선충의 공생세균은 *Steinernema carpocapsae* GSN1 계통과 *S. glaseri* Dongrae 계통, *S. longicaudum* Nonsan 계통을 이용하여 분리하였다. 공생세균은 Akhurst (1980)의 방법을 응용하여 분리하였는데 MacConkey agar (Difco, Sparks, MD)에서 배양시켜 이용하였다. 공생세균의 동정은 Kaya와 Stock (1997), Boemare (2002a)의 방법에 따라 수행하였으며 colony의 형태적 특징을 이용하여 phase I 형의 공생세균을 이용하였다 (Kaya and Stock, 1997). 공생세균의 온도별 병원성을 알아보기 위하여 MacConkey agar 배지에서 1차적으로 증식시킨 공생세균을 YS broth 배지에 넣어 24°C에서 증식시켰다. 증식 후 공생세균의 밀도는 OD값을 이용하여 측정하였는데 *Xenorhabdus nematophila*와 *X. beddingii*는 약 100 cell, *X. poinarii*는 10,000 cell이 되게 하였다. 각 공생세균은 살균한 Ringer's solution (9 g NaCl, 0.4 g KCl, 0.4 g CaCl<sub>2</sub>, 0.2 g NaH<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in 1 liter of sterilized distilled water)과 함께 20 µl 량으로 꿀벌부채명나방 노숙유충에 주사하였다. 공생세균 접종 전, 꿀벌부채명나방 유충은 70% ethanol로 주사부위를 표면살균 한 다음 1 ml 용량의 1회용 주사기에 27 gauge 바늘을 이용하여 주사하였다. 공생세균을 접종시킨 꿀벌부채명나방 유충은 9 cm petri dish에 살균수를 흡습시킨 여과지 1장을 깔고, 10마리씩 넣은 뒤, 13, 18, 24, 30, 35°C의 항온기에 보관하면서 12시간 단위로 치사유무를 조사하였다.

2) 공생세균 증식을 위한 최적온도 조사 : 곤충병원성선충의 공생세균은 *X. nematophila*와 *X. poinarii*, *X. beddingii*의 Phase I colony를 이용하였다. MacConkey agar배지에서 온도별 공생세균의 증식을 알아보기 위하여 Phase I colony를 선별하여 시험관에 넣어 현탁한 뒤 0.1 ml를 MacConkey agar배지에 도말하였다. 공생세균의 농도는 몇 단계로 희석하여 30 - 300 colony forming units (cfu)/dish가 되게 하였다. 접종 후 각 petri dish는 13, 18, 24, 30, 35°C의 항온기에 보관하면서 매일 colony의 수를 조사하였다. 두 번째 실험은 YS broth배지에서 실험을 수행하였는데 MacConkey agar 배지에서 1차적으로 증식시킨 공생세균 49.9 ml의 YS broth 배지를 함유하고 있는 플라스크에 0.1 ml 접종하였다. 접종 후 삼각플라스크는 13, 18, 24, 30, 35°C의 항온기에 보관하면서 4시간 단위로 MacConkey agar 배

지에 도달하여 colony형성수를 조사하였다. 초기 접종 시 공생세균의 농도는  $10^4$  cfu/0.1 ml였다.

3) 곤충병원성선충의 공생세균과 몇 가지 길항미생물의 주요 식물 병에 대한 길항효과 검증 : 식물병원균은 *Rhizoctonia solani* 2-2, *Rhizoctonia* spp., *Phythium*, *Phytophthora*, *Fusarium oxysporum*을 사용하였다. 길항 후보균으로 곤충병원성선충 *Steinernema carpocapsae* GSN1 계통과 *S. glaseri* Dongrae 계통, *S. longicaudum* Nonsan 계통, *Heterorhabditis bacteriophora* Hamyang 계통의 공생세균 *X. nematophila*와 *X. poinarii*, *X. beddingii*, *Photorhabdus luminescens*을 이용하였다. 공생세균은 Akhurst (1980)의 방법을 응용하여 분리하였는데 MacConkey agar (Difco, Sparks, MD)에서 배양시켜 이용하였다. 공생세균의 동정은 Kaya와 Stock (1997), Boemare (2002a)의 방법에 따라 수행하였으며 colony의 형태적 특징을 이용하여 phase I 형의 공생세균을 이용하였다 (Kaya and Stock, 1997). Petri dish 길항력 검정을 위해 식물병원균과 길항균을 PDA배지나 MacComky agar배지에 증식시키기 위해 25°C 인큐베이터에 보관하였다. 직경 8 cm petri dish에 PDA배지를 분주한 후 중앙선을 중심으로 각 2 cm거리에 5 mm 코르크보어로 병원균과 길항균을 떼어내어 대치배양 시켰다. 각 petri dish는 오염을 방지하기 위해 파라필름으로 싸서 27°C 인큐베이터에 보관하고, 성장량과 clean zone형성 유무를 조사하였다. 실험은 5반복으로 수행하였다.

#### 나. 결과

1) 공생세균의 분리와 병원성 : *X. nematophila*와 *X. poinarii*, *X. beddingii*의 꿀벌부채명나방 유충에 대한 병원성은 온도가 높아질수록 증가하였다(Table 19). *X. beddingii*는 12시간 후에 92.5%의 꿀벌부채명나방 유충에 대한 치사율을 보였다. 그리고 56시간 후에는 전 온도대에서 100%의 병원성을 보였다. 반면 *X. poinarii*는 30°C와 35°C에서는 48시간 후에 18°C에서는 192시간 후에 꿀벌부채명나방 유충을 100% 치사시킬 수 있었다. 반면 13°C에서는 432시간 후에 72.5%의 치사율을 보였다. *X. nematophila*와 *X. beddingii*가 *X. poinarii*에 비하여 병원성이 더 높았다(Table 19, 20).

Table 19. LT<sub>50</sub>s and LT<sub>90</sub>s (Fiducial limits) for symbiotic bacteria *Xenorhabdus nematophila*, *X. poinarii*, and *X. beddingii* on *Galleria mellonella* larvae at different temperatures

Symbiotic bacteria	Lethal time	13°C	18°C	24°C	30°C	35°C
<i>Xenorhabdus nematophila</i>	LT50	45.1 (44.1-46.0)	43.8 (42.1-44.9)	18.4*	15.1 (13.4-16.9)	12.6 (12.3-12.9)
	LT90	49.4 (48.1-51.8)	49.7 (48.1-52.1)	18.7	16.4 (15.3-24.5)	9.7 (13.3-14.4)
<i>X. poinarii</i>	LT50	334.8 (322.0-349.0)	140.2 (138.2-142.2)	63.6 (61.1-65.5)	33.4 (32.4-35.10)	29.9 (29.2-30.7)
	LT90	469.0 (434.0-525.0)	147.8 (145.3-151.8)	67.7 (65.5-74.5)	38.2 (35.5-47.5)	33.4 (32.4-35.1)
<i>X. beddingii</i>	LT50	56.4 (55.7-57.7)	40.8 (40.5-41.1)	16.0	14.6 (14.4-14.8)	11.4
	LT90	52.7 (52.1-53.2)	42.5 (42.1-43)	17.4	15.3 (15.1-15.7)	11.9

\*Mortality occurred so quickly that the upper and lower limits could not be determined.

모든 공생세균의 병원성은 35°C에서 가장 높아 *X. nematophila*의 반수치사시간은 12.6시간이었으며 *X. poinarii*는 29.9시간, *X. beddingii*는 11.4시간이었다. 세 공생세균 모두 18°C에 비하여 24°C의 반수치사시간이 현저히 단축되었다. *X. beddingii*는 12시간 후에 92.5%의 꿀벌부채명나방 유충에 대한 치사율을 보였다. 그리고 56시간 후에는 전 온도 대에서 100%의 병원성을 보였다. 반면 *X. poinarii*는 30°C와 35°C에서는 48시간 후에 18°C에서는 192시간 후에 꿀벌부채명나방 유충을 100% 치사시킬 수 있었다. 반면 13°C에서는 432시간 후에 72.5%의 치사율을 보였다.

Table 20. Effect of temperature on pathogenicity of symbiotic bacteria against *Galleria mellonella* larvae

Symbiotic bacteria	Time of postinjection(h)	13°C	18°C	24°C	30°C	35°C
<i>X. nematophila</i>	12	0.0±0.0b	0.0±0.0b	0.0±0.0b	2.5±2.5b	22.5±4.8a
	24	0.0±0.0b	0.0±0.0b	100±0.0a	100±0.0a	100±0.0a
	36	2.5±2.5c	12.5±2.5b	100±0.0a	100±0.0a	100±0.0a
	48	77.5±7.5b	77.5±8.5b	100±0.0a	100±0.0a	100±0.0a
	56	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a
<i>X. beddingii</i>	24	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	48	0.0±0.0b	0.0±0.0b	0.0±0.0b	100.0±0.0a	100.0±0.0a
	72	0.0±0.0b	0.0±0.0b	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a
	96	0.0±0.0b	0.0±0.0b	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a
	120	0.0±0.0b	0.0±0.0b	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a
	144	0.0±0.0b	0.0±0.0b	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a
	168	0.0±0.0c	67.5±4.8b	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a
	192	0.0±0.0b	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a
	240	7.5±4.7b	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a
	288	32.5±4.7b	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a
	336	45.0±6.3b	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a
384	70.0±7.0b	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a	
432	72.5±4.7b	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a	
<i>X. poinarii</i>	12	0.0±0.0b	0.0±0.0b	0.0±0.0b	0.0±0.0b	92.5±4.8a
	24	0.0±0.0b	0.0±0.0b	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a
	36	0.0±0.0b	0.0±0.0b	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a
	48	0.0±0.0b	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a
	56	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a	100.0±0.0a

Mean percentages of mortality followed by the same letters are not significantly different among temperatures (P=0.05, Student-Newman-Keul's Test).

2) 공생세균 증식을 위한 최적온도 조사 : MacConkey agar배지를 이용하여 온도별 공생세균의 증식을 조사한 결과 모든 공생세균은 실험에 이용한 전 온도대에서 colony를 형성하였다. *X. beddingii*는 다른 두 공생세균에 비하여 24°C이하의 온도에서는 colony 형성이 늦었다. 즉, 13°C에서는 *X. nematophila*와 *X. poinarii*는 2일 후에 colony를 형성한 반면 *X. beddingii*는 3일 후부터 colony를 형성하였다(Fig. 9).

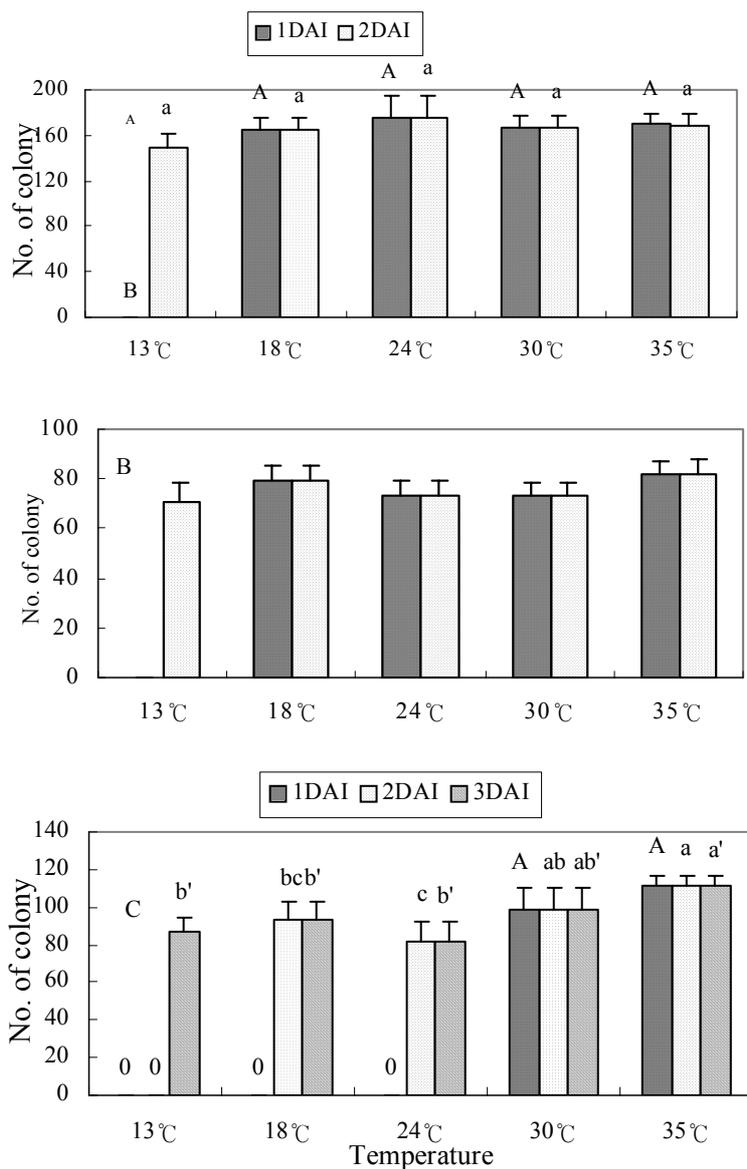


Fig. 9. Growth of symbiotic bacteria, *X. nematophila* (A), *X. poinarii* (B) and *X. beddingii* (C), on MacConkey agar at given temperatures. The same letters on uppercase and lowercase over the bars indicate that there is no significant difference among means in one day, 2 days and 3 days after inoculation ( $P=0.05$ , Student–Newman–Keul’s test).

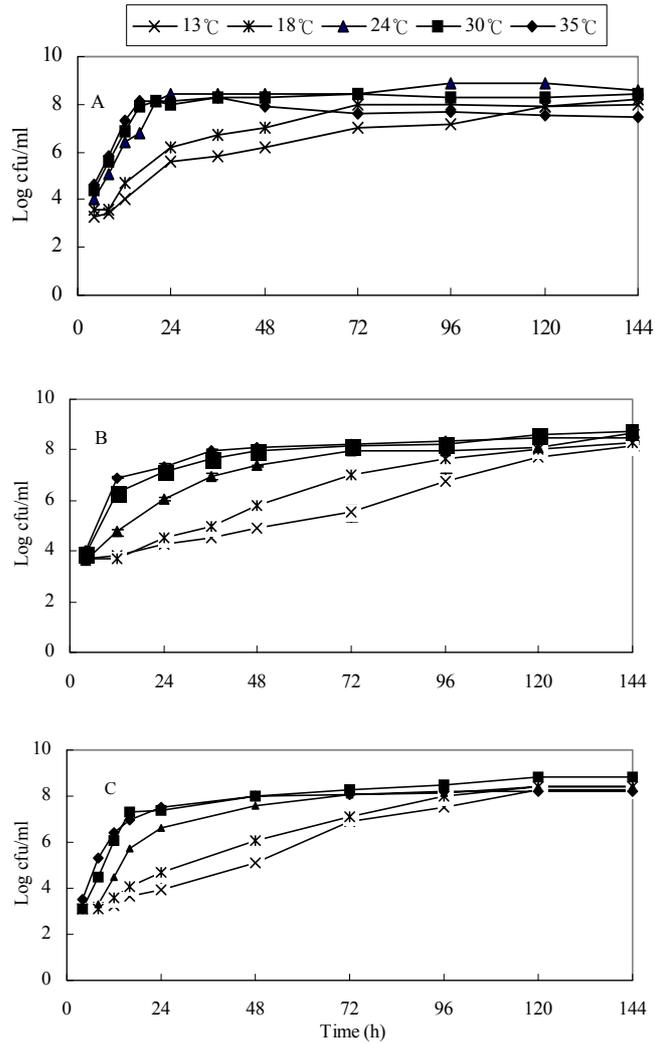


Fig. 10. Growth of symbiotic bacteria, *Xenorhabdus nematophila* (A), *X. poinarii* (B) and *X. beddingii*(C) in YS broth at given temperatures.

YS broth배지에서 공생세균의 증식은 Fig. 10과 같았다.

액체배지 상에서 배양온도가 높아짐에 따라 증식속도도 빨라졌다. 특히 24°C, 30°C, 35°C에서의 증식속도는 18°C와 13°C에 비하여 초기 증식속도가 빠른 것으로 나타났다. *X. nematophila*는 고온에서 *X. poinarii*나 *X. beddingii*에 비하여 빠른 증

식을 보였다. 접종 4시간 이후의 초기 생장은 *X. nematophila*가 다른 두 종에 비하여 유의하게 빨랐다. 저온에서는 공생세균의 증식이 느리게 진행되었는데 *X. nematophila*는 정지기에 들어가는 시간이 35℃와 30℃에서는 각각 16시간과 20시간이었으며 18℃와 13℃에서는 96시간과 120시간이었다.

3) 곤충병원성선충의 공생세균과 몇 가지 길항미생물의 주요 식물 병에 대한 길항효과 검정 결과 :

Table 21.

균주	길 항 력				
	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Rhizoctonia</i> 2-2 spp.	Phythium	<i>Phytophthora</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>
<i>X. nematophila</i>	-	-	-	+	-
<i>X. poinarii</i>	-	-	-	-	-
<i>X. beddingi</i>	-	-	-	-	-
<i>P. luminescens</i>	-	+++	-	+++	++++

- : clean zone, + : < 5 mm, ++ : 5-10 mm, +++ : 10-15mm, ++++ : 15-20 mm

## 제 2 절 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 생리, 생태적 특성 연구

1. 온도가 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 병원성과 증식 및 보관에 미치는 영향

### 가. 재료 및 방법

1) 온도가 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 병원성에 미치는 영향: 온도가 곤충병원성선충에 미치는 영향을 알아보기 위하여 1차로 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *S. glaseri* Dongrae 계통, *S. longicaudum* Nonsan 계통을 이용하여 실험을 수행하였고, 2차로는 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통과 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 계통으로 실험을 수행하였고, 3차로는 *Steinernema* sp. GSNUS-2 계통과 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 계통을 이용하여 실험하였다. 꿀벌부채명나방 노숙유충에서 Dutky *et al.*(1964)의 방법으로 대량 증식시켜 이용하였는데 증식된 선충은 White trap을 이용하여 수확하였으며 13°C 냉장고에 보관하면서 수확 후 3주 이내의 것을 사용하였다(Woodring and Kaya 1988). 꿀벌부채명나방은 실험실에서 누대 사육하면서 180 - 200 mg의 노숙 유충들을 이용하였다.

실험은 1차 실험에서는 55 × 15mm 플라스틱 petri dish에 여과지 2장을 깔고는 각 선충의 침입태유충을 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 항온기에 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. 2차 실험에서는 1차 실험과 동일하게 수행하였는데 선충의 처리 농도를 0, 5, 10, 20, 40마리/0.5 ml 농도로 처리하였다. 3차 실험도 1차 실험과 유사하게 수행하였는데 선충의 처리 농도를 0, 10, 20, 40마리/0.5 ml 농도로 처리하였다.

2) 온도와 접종농도가 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 기주 체내 정착에 미치는 영향 : 온도가 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 병원성에 미치는 영향 실험의 1차와 2차 실험과 같은 조건에서 치사된 꿀벌부채명나방 유충을 각 처리 당 10마리씩을 치사 3일 후 임의로 선택하여 40배의 해부현미경하에서 해부하여 살아있는 선충의 수를 조사하였다.

3) 온도와 접종농도가 Steinernematid의 최초 탈출일과 증식기간, 증식량에 미치는 영향 : 온도가 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 병원성에 미치는 영향 1차 실험에서 치사된 꿀벌부채명나방 유충을 일주일 후 임의로 4 - 11마리를 선택하여 White trap을 설치하였다. White trap은 100 × 15mm 크기의 petri dish에 55 × 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 8 ml를 넣었다. 그리고는 치사된 꿀벌부채명나방 유충 한 마리를 여과지 위에 걸쳐놓았다. 그리고 White trap들은 치사율 조사를 위하여 처리하였던 원래 온도인 13, 18, 24, 30, 35℃의 항온기에 30일 동안 보관하면서 매일 탈출해 나오는 선충의 수를 해부현미경하에서 헤아렸다.

4) 온도가 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 보관에 미치는 영향 : 온도가 곤충병원성선충의 보관에 미치는 영향을 알아보기 위하여 3차에 걸쳐 실험을 수행하였다. 1차 실험은 *S. glaseri* Dongrae 계통, *S. longicaudum* Nonsan 계통, *S. monticolum* Jiri 계통을 이용하여 4℃와 13℃, 18℃에서 선충의 생존율을 2개월째까지 조사하였다. 각각의 선충들은 100 Ijs/ml 농도로 5ml를 multi-well tissue culture plate에 넣고, 한 달과 두 달 후에 생존수를 조사하여 생존율을 계산하였다. 2차 실험은 *Steinernema* sp. GSNU5-14 계통과 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 계통을 이용하여 1000Ijs/ml 농도로 30ml씩을 tissue culture container에 넣고, 13℃ 냉장고에 보관하면서 1, 2, 3, 4, 5개월 후에 생존율을 조사하였다. 3차 실험은 *S. carpocapsae* GSN1 계통을 이용하여 온도별, 선충의 배양방법별 및 용기 종류별에 따른 선충의 생존수와 병원성을 1, 2, 3, 4개월 후에 조사를 하였다. 선충의 배양방법은 꿀벌부채명나방 유충을 이용한 In vivo 배양에서 직경 9 cm의 petri dish에 여과지 1매를 깔고, 꿀벌부채명나방 유충 10마리씩을 넣어 선충을 200 Ijs/ml 접종하여 소량으로 증

식시킨 선충과 다충선반법을 이용하여 대량으로 증식시켜 상품화 하고 있는 (주)세실의 선충을 이용하였다. 보관 용기는 기존에 실험실에서 이용하고 있는 100 cc 용량의 tissue culture container와 가정용으로 사용되고 있는 100 cc 용량의 사각 지퍼락 용기를 사용하여 비교하였다. 보관온도는 4℃와 9℃, 13℃, 18℃였다. 1개월 단위로 1 ml씩 선충을 피펫으로 뽑아내어 생충수를 조사하였으며 선충들의 병원성 조사를 위하여 직경 9 cm의 petri dish에 여과지 1매를 깔고, 꿀벌부채명나방 유충 10마리씩을 넣은 뒤, 선충을 100 Ijs/ml 농도로 접종하였다. 접종 후 petri dish는 건조 방지를 위해 비닐로 싸서 4-5개의 환기구멍을 핀셋으로 뚫은 뒤, 25℃ 항온기에 보관하면서 1, 2, 3일 후 선충에 의한 감염여부를 조사하였다.

#### 나. 결과

1) 온도가 *Steinernematid*와 *Heterorhabditid* 선충의 병원성에 미치는 영향 :

Table 22. Effect of temperature and dosage on infectivity of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain

Dosage (Ijs)	% mortality ± SD				
	13℃	18℃	24℃	30℃	35℃
0	0.0±0.0	2.5±5.0	0.0±0.0	25.0±17.3	2.5±5.0
5	92.5±9.6	87.5±5.0	92.5±5.0	67.5±5.0	12.5±5.0
10	92.5±9.6	100.0±0.0	100.0±0.0	92.5±9.6	17.5±9.6
20	100.0±0.0	95.0±10.0	100.0±0.0	95.0±5.8	80.0±8.2
40	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	82.5±9.6
80	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	81.0±5.0
160	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	82.5±17.1

온도가 곤충병원성선충에 미치는 영향을 알아보기 위하여 1차로 *S. carpocapsae*

GSN1 계통과 *S. glaseri* Dongrae 계통, *S. longicaudum* Nonsan 계통을 이용하여 실험을 수행한 결과는 Table 22과 23, 24, 25와 같았다. 온도와 접종농도는 *S. carpocapsae* GSN1 계통의 감염유충에 의한 꿀벌부채명나방 유충 치사율에 영향을 미쳤다. 35℃를 제외한 모든 온도에서 접종농도가 증가할수록 치사율이 증가하는 경향이였다. 40마리 이상의 접종농도에서는 35℃를 제외한 모든 온도에서 100%의 치사율을 보였다(Table 22). 온도별로 24℃는 10마리 이상의 접종농도에서 100%의 치사율을 보여 다른 온도에 비하여 치사율이 높았다. 반면 35℃에서는 160마리 농도에서도 82.5%의 치사율을 보였다.

각 온도 및 접종 농도별 꿀벌부채명나방 유충의 치사가 이루어지는 시간은 Table 18 과 같았다.

Table 23. Effect of temperature and dosage on lethal time of *Galleria mellonella* larvae by *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain

Dosage (Ijs)	Lethal time (day) ± SD				
	13℃	18℃	24℃	30℃	35℃
5	5.6±0.5	4.7±0.7	2.7±0.7	2.5±0.4	5.0±1.2
10	5.9±0.3	4.3±0.9	2.2±0.0	2.6±0.5	5.5±1.3
20	4.9±0.4	3.7±0.3	2.3±0.3	2.1±0.3	1.5±0.2
40	4.2±0.1	3.8±0.6	2.1±0.1	1.8±0.2	1.9±0.1
80	3.9±0.1	3.4±0.4	2.0±0.0	1.3±0.2	1.0±0.0
160	3.5±0.2	3.4±0.5	2.0±0.0	1.1±0.1	1.7±0.5

치사율과 동일한 경향으로 치사시간도 온도와 접종농도에 의하여 영향을 받았다. 치사에 소요되는 시간은 13℃가 가장 길었다. 대체로 온도가 높아질수록 치사시간이 짧은 경향이였다. 35℃에서는 5마리와 10마리 농도에서 치사시간이 5일 이상이었으나 20마리 이상의 농도에서는 1.0-1.8일이 소요되어 접종농도별로 차이가 있었다. 그러나 18℃에서는 접종농도에 따라 치사시간에서 차이가 없었으며 24℃에서는 다른 온도와 달리 모든 접종농도에서 치사 일수의 변화 폭이 가장 적었다. 30℃에서는 20

마리 이하의 접종농도에서는 치사일수가 24℃와 비슷하였지만 40마리 이상의 농도에서는 35℃와 유사한 경향을 보였다.

*S. glaseri* Dongrae 계통은 35℃에서 병원성이 가장 높게 나타나 반수치사량이 선충 처리 2일째 1.1 Ijs, 7일째와 14일째 0.9 Ijs였다. 반면 *S. longicaudum* Nonsan 계통을 24℃에서 병원성이 가장 높았다(Table 24).

Table 24. LD<sub>50</sub>s and LD<sub>90</sub>s for entomopathogenic nematodes, *Steinernema glaseri* Dongrae strain and *S. longicaudum* Nonsan strain on *Galleria mellonella* larvae at different temperatures

DAT*	LD	13℃		18℃		24℃		30℃		35℃	
		SgD	SIN	SgD	SIN	SgD	SIN	SgD	SIN	SgD	SIN
2	LD <sub>50</sub>	-**	-	-	-	7.63	6.2	4.4	2.8	1.1	3.0
	LD <sub>90</sub>	-	-	-	-	49.1	33.8	19.4	8.3	9.0	14.2
7	LD <sub>50</sub>	308.3	-	83.4	5.4	1.65	1.8	1.8	4.3	0.9	3.5
	LD <sub>90</sub>	302.7	-	632.8	84.8	13.9	9.5	9.5	5.0	7.7	6.9
14	LD <sub>50</sub>	33.8	11.3	19.7	1.2	1.65	1.8	1.8	4.3	0.9	3.5
	LD <sub>90</sub>	502.3	325	441.29	59.3	13.9	9.5)	9.5	5.0	7.7	6.9

\*Day after treatment. \*\*No larval mortality. SgD, *Steinernema glaseri* Dongrae strain; SIN, *Steinernema longicaudum* Nonsan strain

반수치사시간의 경우도 반수치사량과 유사하게 *S. glaseri* Dongrae 계통은 35℃에서 28.3시간으로 13℃의 269.6시간에 비하여 10배가량 짧았다. 반면 *S. longicaudum* Nonsan 계통은 30℃에서 27.4시간으로 가장 짧았다(Table 25). *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통은 선충 처리 농도와 접종온도에 따라 다양한 병원성을 보였는데 13℃에서는 보정사충율 0%를 나타내어 저온적응성이 떨어지는 것으로 나타났다. 그러나 18℃ 이상의 온도에서는 높은 병원성을 보여 선충을 10Ijs만 처리하여도 83.3% 이상의 병원성을 보였다. 그러나 35℃의 고온에서는 30℃에 비하여 병원성이 현저히 떨어졌다. 따라서 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통의 병원성 발현 적온은 18℃에서 30℃로 사료된다.

Table 25. LT<sub>50</sub>s and LT<sub>90</sub>s for entomopathogenic nematodes(EPN), *Steinernema glaseri* Dongrae strain and *S. longicaudum* Nonsan strain on *Galleria mellonella* larvae at different temperatures

EPN	Lethal time	13℃	18℃	24℃	30℃	35℃
SgD	LT <sub>50</sub>	269.6 (251.2-292.3)	169.5 (163.8-177.5)	44.6 (26.1-58.1)	30.1*	28.3 (27.6-29.1)
	LT <sub>90</sub>	367.9 <sup>b</sup> (345.7-397.9)	210.9 (197.0-235.9)	82.4 (63.2-141.8)	31.1	33.3 (32.2-33.9)
SIN	LT <sub>50</sub>	226.0 (217.2-234.7)	106.7 (102.3-111.0)	42.1 (27.7-53.1)	27.4 26.1-28.6	30.5 (29.2-31.7)
	LT <sub>90</sub>	367.9 (345.7-397.9)	146 (138.3-157.8)	71.9 (56.9-114.2)	32.5 31-35.1	37.5 (35.7-40.4)

SgD, *Steinernema glaseri* Dongrae strain; SIN, *Steinernema longicaudum* Nonsan strain. EPN were inoculated 40 IJs/larva concentration on *Galleria* larva.

반면 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 계통은 18℃와 24℃에서 높은 병원성을 보였고, 13℃에서도 꿀벌부채명나방 유충에 대하여 병원성을 나타내었으나, 35℃에서는 보정사충율이 0%로 고온에 대한 적응성이 떨어지는 것으로 나타났다(Table 26).

*Steinernema* sp. GSNUH-2 계통과 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 계통은 저온 활성이 높은 선충들이었다. 두 선충 모두 13℃에서 높은 병원성을 보였으며 *Steinernema* sp. GSNUH-2 계통은 24℃ 이상에서 병원성이 급감하였다(Table 27). 따라서 이들 두 종은 저온지역이나 저온 상태에서도 처리가 가능 할 것으로 기대된다.

Table 26. Effect of temperature and nematode concentration on pathogenicity of *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain and *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 strain against *Galleria mellonella* in petri dish

Concentratio n(Ijs)	Nematod e strain	% mortality $\pm$ SD				
		13°C	18°C	24°C	30°C	35°C
0	Control	3.3 $\pm$ 5.8	0.0 $\pm$ 0.0	3.3 $\pm$ 5.7	3.3 $\pm$ 5.8	20.0 $\pm$ 10.0
10	S223*	3.3 $\pm$ 5.8	86.7 $\pm$ 5.8	83.3 $\pm$ 15.3	100.0 $\pm$ 0.0	63.3 $\pm$ 15.3
	H217	0.0 $\pm$ 0.0	86.7 $\pm$ 5.8	93.3 $\pm$ 11.5	6.7 $\pm$ 11.5	0.0 $\pm$ 0.0
20	S223	3.3 $\pm$ 5.8	100.0 $\pm$ 0.0	93.3 $\pm$ 11.5	100.0 $\pm$ 0.0	66.7 $\pm$ 20.8
	H217	6.7 $\pm$ 11.5	86.7 $\pm$ 11.5	100.0 $\pm$ 0.0	6.7 $\pm$ 11.5	16.7 $\pm$ 5.8
40	S223	0.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	96.7 $\pm$ 5.8	76.7 $\pm$ 11.5
	H217	0.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	6.7 $\pm$ 11.5	10.0 $\pm$ 10.0

Check at 5 days after treatment. \*S223; *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain, H217; *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 strain.

Table 27. Effect of temperature and nematode concentration on pathogenicity of *Steinernema* sp. GSNUS-2 strain and *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 strain against *Galleria mellonella* in petri dish

Concentratio n(IJS)	Nematod e strain	% mortality $\pm$ SD				
		13°C	18°C	24°C	30°C	35°C
0	S24	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
	H205	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
5	S24	23.3 $\pm$ 11.5	20.0 $\pm$ 0.0	13.3 $\pm$ 5.8	20.0 $\pm$ 10.0	13.3 $\pm$ 5.8
	H205	60.0 $\pm$ 10.0	63.3 $\pm$ 5.8	43.3 $\pm$ 5.8	36.7 $\pm$ 11.5	26.7 $\pm$ 11.5
10	S24	63.3 $\pm$ 15.3	20.0 $\pm$ 0.0	40.0 $\pm$ 10.0	40.0 $\pm$ 10.0	20.0 $\pm$ 10.0
	H205	63.3 $\pm$ 15.3	86.7 $\pm$ 15.3	83.3 $\pm$ 5.8	40.0 $\pm$ 10.0	36.7 $\pm$ 5.8
20	S24	80.0 $\pm$ 10.0	66.7 $\pm$ 11.5	50.0 $\pm$ 10.0	33.3 $\pm$ 11.5	13.3 $\pm$ 5.8
	H205	73.3 $\pm$ 5.8	93.3 $\pm$ 5.8	86.7 $\pm$ 11.5	50.0 $\pm$ 17.3	56.7 $\pm$ 20.8
40	S24	96.7 $\pm$ 5.8	90.0 $\pm$ 0.0	53.3 $\pm$ 5.8	56.7 $\pm$ 11.5	10.0 $\pm$ 0.0
	H205	93.3 $\pm$ 5.8	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	56.7 $\pm$ 11.5	40.0 $\pm$ 17.3

Check at 5 days after treatment. \*S24; *Steinernema* sp. GSNUS-2 strain, H205; *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 strain.

2) 온도와 접종농도가 *Steinernematid*와 *Heterorhabditid* 선충의 기주체내 정착에 미치는 영향 : 온도와 접종농도는 *S. carpocapsae* GSN1 계통의 꿀벌부채명나방 유충 내 침입과 생존에 영향을 미쳤다(Table 28). 35℃의 경우 20마리 이하의 접종농도에서는 생존 선충이 전혀 없었으며 다른 온도에서는 10마리 이하의 접종농도에서는 비슷한 생존수를 보였다. 13℃, 18℃, 24℃, 30℃에서는 접종농도별로 생존 선충수가 비슷한 경향이었지만 35℃에서는 생존 선충수가 다른 온도에 비하여 현저히 적었다. 가장 많이 선충이 정착된 조건은 24℃의 160마리 접종농도에서 34.2마리였다.

Table 28. Effect of temperature and dosage on the establishment of infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain in *Galleria mellonella* larvae

Concentration (Ijs)	Mean number of Ijs established $\pm$ SD				
	13℃	18℃	24℃	30℃	35℃
5	1.0 $\pm$ 0.7	1.4 $\pm$ 0.8	1.4 $\pm$ 1.1	1.2 $\pm$ 1.1	0.0 $\pm$ 0.0
10	0.9 $\pm$ 0.7	1.1 $\pm$ 1.0	2.1 $\pm$ 1.5	1.3 $\pm$ 1.3	0.0 $\pm$ 0.0
20	3.0 $\pm$ 1.9	4.2 $\pm$ 2.0	3.9 $\pm$ 2.3	4.3 $\pm$ 2.7	0.0 $\pm$ 0.0
40	4.7 $\pm$ 3.3	3.3 $\pm$ 3.0	6.7 $\pm$ 3.7	10.5 $\pm$ 3.3	0.1 $\pm$ 0.3
80	8.2 $\pm$ 4.6	11.4 $\pm$ 5.7	16.3 $\pm$ 4.6	15.5 $\pm$ 8.0	0.3 $\pm$ 0.5
160	12.2 $\pm$ 7.0	13.6 $\pm$ 6.9	34.2 $\pm$ 7.2	26.9 $\pm$ 13.7	0.3 $\pm$ 0.7

*S. glaseri* Dongrae 계통과 *S. longicaudum* Nonsan 계통도 온도가 높아짐에 따라 성충으로 발육하는 침입성충의 수가 증가하였다. *S. glaseri* Dongrae 계통의 최대 성충 발육 조건은 30℃, 160 Ijs 처리로 47.2마리가 성충으로 발육하였다(Fig. 11). *S. longicaudum* Nonsan 계통의 최대 성충 발육 조건은 *S. glaseri* Dongrae 계통과 마찬가지로 30℃, 160 Ijs 처리로 42.3마리가 성충으로 발육하였다. 35℃에서는 15.3 Ijs만이 성충으로 성장하였다(Fig. 11).

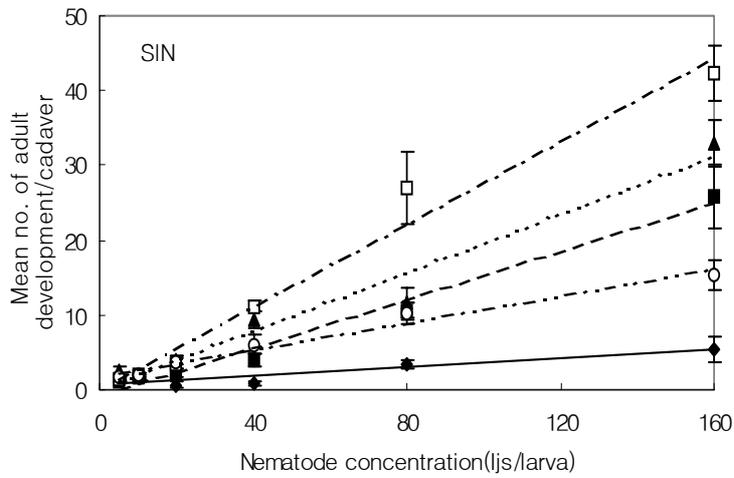


Fig. 11. Effect of temperature and dosage on the establishment of infective juveniles of *Steinernema glaseri* Dongrae strain and *S. longicaudum* Nonsan strain in *Galleria mellonella* larvae.

처리온도별에 따른 *Steinernema* sp. GSNUH-14 계통과 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 계통의 기주정착 선충수도 선충 접종 농도와 온도별에 따라 차이가 있었다(Table 29). 두 계통 모두 농도가 높을수록 정착 선충의 수는 증가하였으나 온도별에 따라서는 두 선충의 최적 조건에 차이가 있었다.

*Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 계통은 18℃에서 정착 선충의 수가 3.6 Ijs로 가장 많았으며 30℃나 35℃에 비하여 저온인 13℃에서의 정착 선충의 수가 더 많았다.

Table 29. Effect of temperature and dosage on the establishment of infective juveniles of *Steinernema* sp. GSNUS-14 isolate and *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 isolate in *Galleria mellonella*

Concentration (Ijs)	Nematode strain	Mean number of Ijs established $\pm$ SD				
		13°C	18°C	24°C	30°C	35°C
10	S223*	1.2 $\pm$ 0.7	2.6 $\pm$ 0.3	2.8 $\pm$ 0.6	3.6 $\pm$ 0.5	0.3 $\pm$ 0.3
	H217	0.6 $\pm$ 0.2	1.5 $\pm$ 0.4	1.2 $\pm$ 0.2	0.2 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.1
20	S223	0.5 $\pm$ 0.5	4.9 $\pm$ 0.3	4.0 $\pm$ 0.6	6.5 $\pm$ 1.6	0.5 $\pm$ 0.2
	H217	0.0 $\pm$ 0.0	2.1 $\pm$ 0.8	2.3 $\pm$ 0.3	0.2 $\pm$ 0.4	0.4 $\pm$ 0.1
40	S223	0.7 $\pm$ 1.2	7.6 $\pm$ 1.4	7.6 $\pm$ 2.2	11.5 $\pm$ 2.6	1.5 $\pm$ 1.0
	H217	1.6 $\pm$ 1.3	3.6 $\pm$ 0.9	3.4 $\pm$ 0.5	0.2 $\pm$ 0.2	0.0 $\pm$ 0.0

\*S223; *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain, H217; *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 strain.

3) 온도와 접종농도가 Steinernematid의 최초 탈출일과 증식기간, 증식량에 미치는 영향 : *S. carpocapsae* GSN1 strain은 18°C와 24°C, 30°C에서만 증식이 되었다. 꿀벌부채명나방 유충체내에서 증식되어 White trap으로 탈출해 나오는 최초 시간은 30°C의 40마리 농도를 제외하고는 농도가 증가됨에 따라 단축되는 경향이였다(Table 30).

증식 총 기간은 18°C에서 24.5-31.0일로 가장 길었는데 처리 농도 간에는 차이가 없었다. 24°C에서도 15.7일에서 21.5일로 처리 농도 간에 차이가 없었으나 30°C에서는 160마리 처리에서 9일로 가장 짧았다. 그러나 유의성은 없었다(Table 31).

Table 30. Effect of temperature and dosage on the first emergence day of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain from *Galleria mellonella* larvae

Dosage (Ijs)	First emergence day $\pm$ SD				
	13°C	18°C	24°C	30°C	35°C
5	0	22.0 $\pm$ 1.4	4.0 $\pm$ 1.0	3.0 $\pm$ 1.6	0
10	0	22.3 $\pm$ 2.3	3.9 $\pm$ 0.9	2.6 $\pm$ 0.9	0
20	0	22.5 $\pm$ 2.0	3.3 $\pm$ 0.9	4.8 $\pm$ 2.6	0
40	0	20.0 $\pm$ 3.2	2.4 $\pm$ 1.3	5.2 $\pm$ 2.9	0
80	0	18.8 $\pm$ 2.7	2.7 $\pm$ 1.1	2.3 $\pm$ 3.5	0
160	0	19.3 $\pm$ 3.2	1.8 $\pm$ 0.5	1.3 $\pm$ 0.5	0

Table 31. Effect of temperature and dosage on propagation period of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain in *Galleria mellonella* larvae

Dosage (Ijs)	Propagation period (day) $\pm$ SD				
	13°C	18°C	24°C	30°C	35°C
5	0	25.5 $\pm$ 0.7	21.4 $\pm$ 6.1	12.6 $\pm$ 5.5	0
10	0	26.0 $\pm$ 6.1	18.4 $\pm$ 5.5	11.6 $\pm$ 8.3	0
20	0	30.0 $\pm$ 2.5	21.5 $\pm$ 8.5	17.0 $\pm$ 6.0	0
40	0	24.5 $\pm$ 5.8	15.7 $\pm$ 4.3	18.8 $\pm$ 6.9	0
80	0	27.4 $\pm$ 3.0	17.9 $\pm$ 4.0	15.0 $\pm$ 6.5	0
160	0	31.0 $\pm$ 2.0	20.1 $\pm$ 9.2	13.1 $\pm$ 7.5	0

증식 수는 18°C가 가장 적었으며 24°C가 30°C보다 많았고 24°C의 80마리 농도에서  $1.88 \times 10^5$ 마리로 가장 많았다(Table 32).

Table 32. Effect of temperature and dosage on progeny of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain in *Galleria mellonella* larvae

Dosage (Ijs)	Number of Ijs $\pm$ SD				
	13°C	18°C	24°C	30°C	35°C
5	0	3,200 $\pm$ 4,324	70,383 $\pm$ 44,506	53,834 $\pm$ 28,621	0
10	0	26,943 $\pm$ 45,255	59,168 $\pm$ 33,032	63,292 $\pm$ 56,316	0
20	0	32,119 $\pm$ 28,635	100,688 $\pm$ 46,534	27,258 $\pm$ 11,842	0
40	0	15,380 $\pm$ 20,297	123,480 $\pm$ 43,043	48,567 $\pm$ 24,131	0
80	0	51,062 $\pm$ 56,798	188,903 $\pm$ 73,318	61,692 $\pm$ 31,372	0
160	0	77,785 $\pm$ 15,555	163,997 $\pm$ 33,150	54,898 $\pm$ 34,556	0

온도는 *Steinernema glaseri* Dongrae 계통과 *S. longicaudum* Nonsan 계통의 꿀벌부채명나방 유충에서 증식 후 탈출하는 시간에 영향을 미쳤다(Fig. 12). 꿀벌부채명나방 유충으로부터 선충의 최초 탈출은 24°C와 30°C에서는 접종 후 9 - 10일이 소요되었다. 18°C에서는 다른 두 온도 대에 비해 탈출 시간이 현저하게 길어져 25 - 30일이 소요되었다. 온도와는 달리 선충의 접종농도는 최초 탈출 일에 영향을 미치지 않았다.

온도와 농도는 *Steinernema glaseri* Dongrae 계통과 *S. longicaudum* Nonsan 계통의 증식 수에 영향을 미쳤다(Fig. 13, 14).

*Steinernema glaseri* Dongrae 계통의 증식 수는 24°C에 비하여 30°C에서 약간 높았다(Fig. 13). 최대 증식 수는 30°C, 160 IJs 처리의 94353마리였다. 유충 당 5-10 IJs 농도 처리에서는 다른 농도에 비하여 유의하게 증식수가 적었다.

*S. longicaudum* Nonsan 계통의 최적 증식 온도는 24°C, 160 또는 80 IJs 농도 처리로 증식된 유충의 수는 각각 71,102마리와 72,571마리였다(Fig. 14).

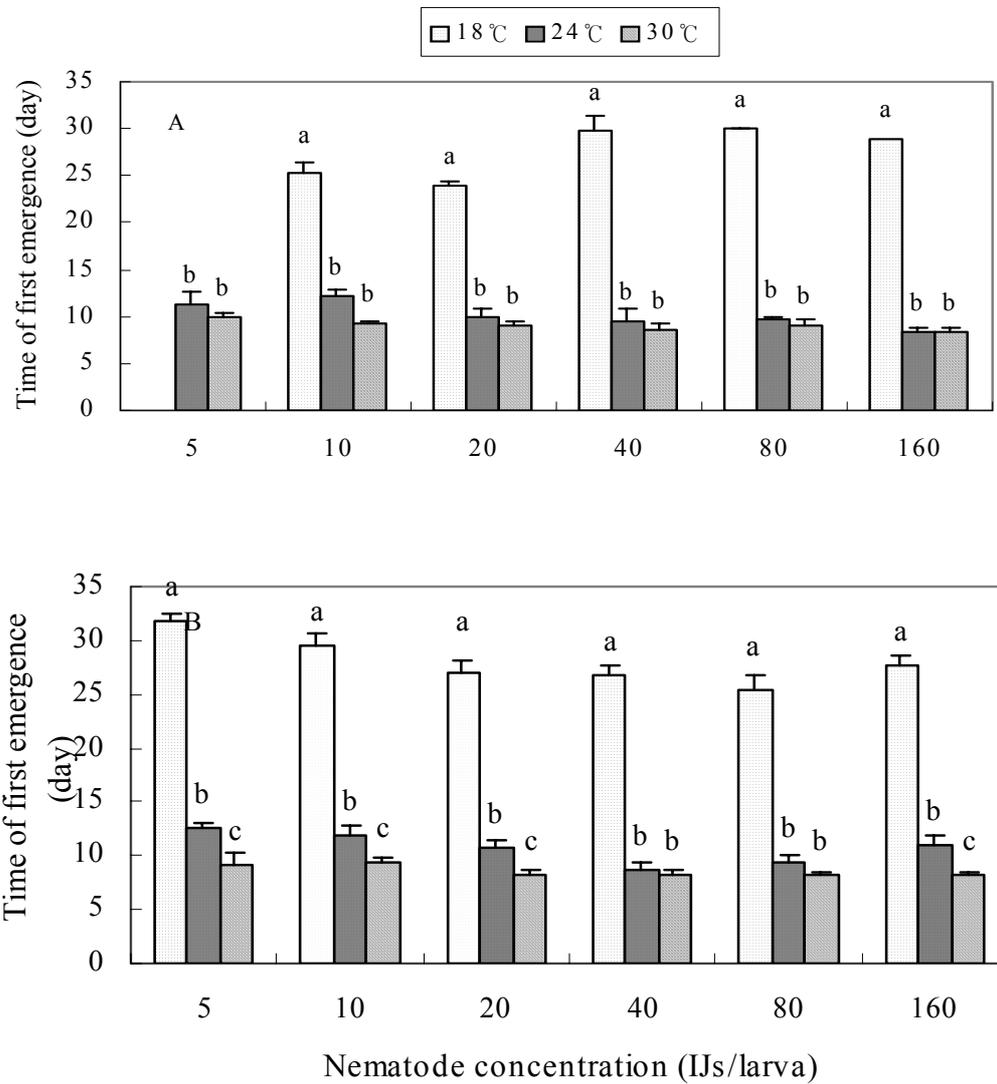


Fig. 12. Effect of temperature on the time of first emergence of progeny of *Steinernema glaseri* Dongrae strain (A) and *S. longicaudum* Nonsan strain (B). At the same concentration, the same letters over the bars indicate that there is no significant difference (P=0.05, Student-Newman-Keul's test).

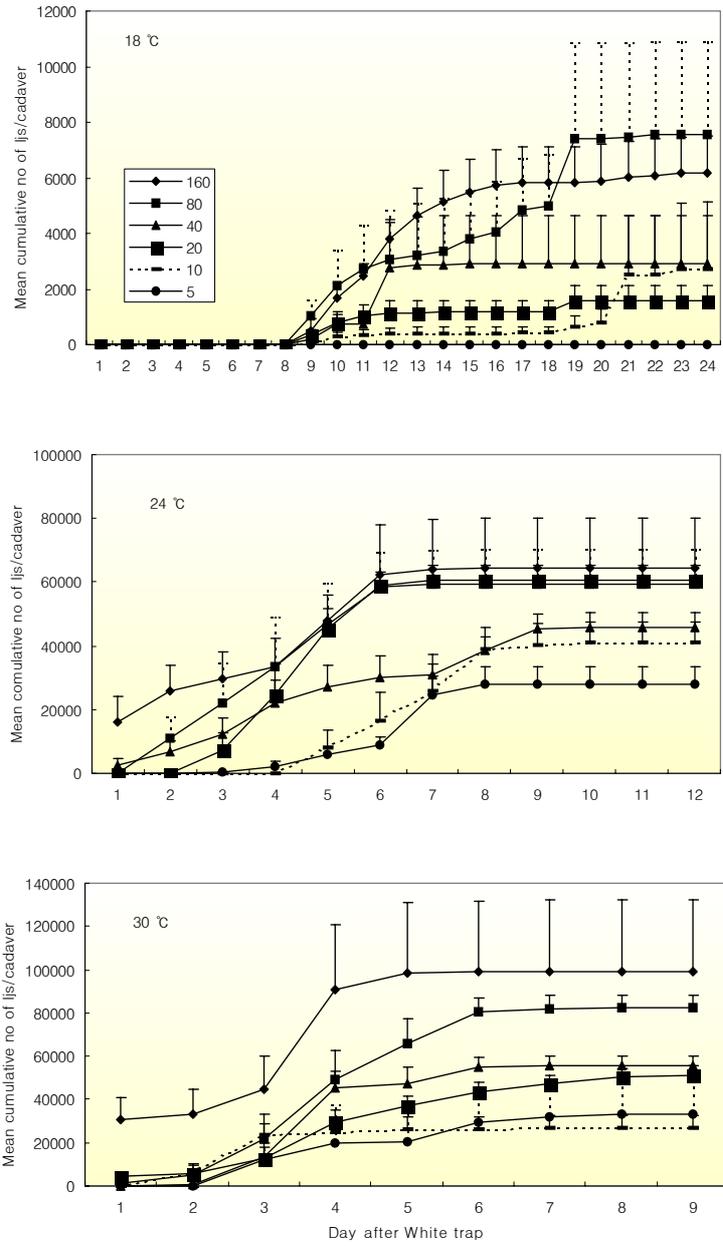


Fig. 13. Effect of temperature and dosage on progeny of *Steinernema glaseri* Dongrae strain in *Galleria mellonella* larvae.

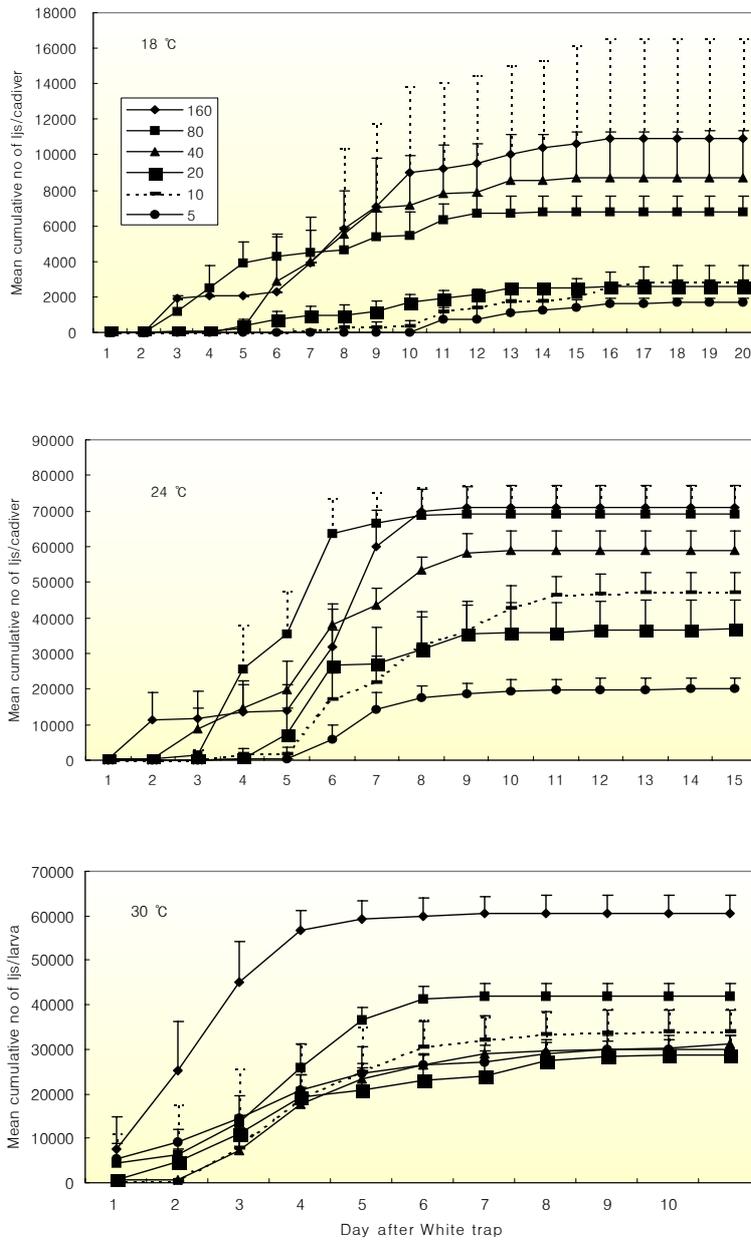


Fig. 14. Effect of temperature and dosage on progeny of *Steinernema longicaudum* Nonsan strain in *Galleria mellonella* larvae.

4) 온도가 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 보관에 미치는 영향 : 보관 온도는 곤충병원성선충의 생존에 영향을 미쳤다. *S. glaseri* Dongrae 계통과 *S. longicaudum* Nonsan 계통, *S. monticolum* Jiri 계통을 이용하여 4℃와 13℃, 18℃에서 선충의 생존율을 2개월째까지 조사한 결과 *S. glaseri* Dongrae 계통은 13℃에서 생존율이 가장 높았고, *S. longicaudum* Nonsan 계통은 13℃와 18℃가 비슷한 생존율을 보였다(Table 33). *S. monticolum* Jiri 계통은 세 온도 모두에서 비슷한 생존율을 보였으나 18℃가 다소 높은 생존율을 보였다.

Table 33. Effect of keeping temperature on alive of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* spp.

Keeping temperature (°C)	% alive ± SD					
	<i>S. glaseri</i> Dongrae		<i>S. longicaudum</i> Nonsan		<i>S. monticolum</i> Jiri	
	1 MAT*	2 MAT	1 MAT	2 MAT	1 MAT	2 MAT
4	3.0±2.6	1.6±2.8	60.9±3.8	62.3±16.4	89.0±5.1	73.7±7.0
13	95.6±4.6	97.0±5.3	85.3±6.6	68.0±11.8	84.8±9.5	87.5±5.1
18	87.1±2.6	91.6±4.8	77.6±3.7	86.4±12.0	94.2±5.8	91.4±7.1

Entomopathogenic nematode was kept in multi-well tissue culture plate. \*Month after treatment.

*Steinernema* sp. GSNUS-14 계통과 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 계통을 이용하여 1000Ijs/ml 농도로 30ml씩을 tissue culture container에 넣고, 13℃ 냉장고에 보관하면서 1, 2, 3, 4, 5개월 후에 생존율을 조사한 결과는 Table 34와 같았다. *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 계통은 보관 3개월 후부터 생존율이 50%대로 하락하였다. 반면 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통은 보관 4개월째까지 90% 대의 생존율을 보였으며, 보관 5개월 후에도 76.6%의 비교적 높은 생존율을 보였다.

보관온도와 선충의 배양방법은 *Steinernema carpocapsae* GSN1 계통의 보관력에

영향을 미쳤다(Table 35).

Table 34. Effect of keeping temperature on alive of entomopathogenic nematode

Entomopathogenic nematode	% alive				
	1 MAT	2 MAT	3 MAT	4 MAT	5 MAT
<i>Heterorhabditis</i> sp. GSNUH-3	95.7	93.8	50.2	27.0	31.5
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-14	98.4	92.0	89.7	91.4	76.6

Entomopathogenic nematode was kept in 100 ml tissue culture container. \*Month after treatment.

Table 35. Effect of keeping temperature on alive of entomopathogenic nematod, *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain depending on culture type and keeping material at different keeping temperature

Keeping temperature	Culture type	Keeping material	% alive $\pm$ SD			
			1 MAT	2 MAT	3 MAT	4 MAT
4°C	Small	Container	10958 $\pm$ 1545	12875 $\pm$ 1408	13250 $\pm$ 1536	15092 $\pm$ 1134
		Zip-lock	13600 $\pm$ 997	15617 $\pm$ 1415	17234 $\pm$ 1400	18967 $\pm$ 373
	Large	Container	4244 $\pm$ 316	5250 $\pm$ 623	6017 $\pm$ 368	7117 $\pm$ 2256
		Zip-lock	4644 $\pm$ 570	6167 $\pm$ 390	5367 $\pm$ 688	5233 $\pm$ 574
9°C	Small	Container	13833 $\pm$ 1145	15367 $\pm$ 1266	17325 $\pm$ 1017	17442 $\pm$ 1531
		Zip-lock	15825 $\pm$ 1759	15607 $\pm$ 1237	15567 $\pm$ 2260	18600 $\pm$ 2064
	Large	Container	5360 $\pm$ 463	6350 $\pm$ 531	7283 $\pm$ 923	7524 $\pm$ 919
		Zip-lock	5320 $\pm$ 951	7035 $\pm$ 705	6567 $\pm$ 542	6558 $\pm$ 838
13°C	Small	Container	14058 $\pm$ 1964	15625 $\pm$ 1300	16300 $\pm$ 1446	17950 $\pm$ 3155
		Zip-lock	16742 $\pm$ 2458	17067 $\pm$ 2395	14608 $\pm$ 1881	19008 $\pm$ 491
	Large	Container	7244 $\pm$ 1426	7146 $\pm$ 1110	9025 $\pm$ 2823	8459 $\pm$ 3222
		Zip-lock	5813 $\pm$ 1126	6319 $\pm$ 845	6350 $\pm$ 550	7300 $\pm$ 1101
20°C	Small	Container	12242 $\pm$ 1237	14267 $\pm$ 1243	15025 $\pm$ 1653	16133 $\pm$ 1423
		Zip-lock	18875 $\pm$ 2221	18690 $\pm$ 2902	17934 $\pm$ 2960	16875 $\pm$ 2047
	Large	Container	6257 $\pm$ 969	6471 $\pm$ 1677	6183 $\pm$ 507	4068 $\pm$ 2660
		Zip-lock	4554 $\pm$ 1207	4848 $\pm$ 770	5708 $\pm$ 532	5492 $\pm$ 1245

Table 36. Effect of keeping temperature on pathogenicity of entomopathogenic nematod, *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain depending on culture type and keeping material at different keeping temperature against *Galleria mellonella* larva

Keeping temp.	Culture type	Keeping material	% <i>Galleria mellonella</i> mortality $\pm$ SD							
			1 MAT		2 MAT		3 MAT		4 MAT	
			2DAT	3DAT	2DAT	3DAT	2DAT	3DAT	2DAT	3DAT
4°C	Small	Container	75.0 $\pm$ 12.9	92.5 $\pm$ 5.0	77.5 $\pm$ 9.6	82.5 $\pm$ 12.6	82.5 $\pm$ 15.5	82.5 $\pm$ 15	95.0 $\pm$ 5.8	97.5 $\pm$ 5.0
		Zip-lock	95.0 $\pm$ 5.8	100.0 $\pm$ 0.0	80.0 $\pm$ 27.1	85.0 $\pm$ 17.3	95.0 $\pm$ 10.0	97.5 $\pm$ 5.0	95.0 $\pm$ 10.0	100.0 $\pm$ 0.0
	Large	Container	92.5 $\pm$ 15.0	95.0 $\pm$ 10.0	80.0 $\pm$ 18.3	95.0 $\pm$ 5.8	90.0 $\pm$ 14.1	97.5 $\pm$ 5.0	92.5 $\pm$ 5.0	97.5 $\pm$ 5.0
		Zip-lock	87.5 $\pm$ 5.0	90.0 $\pm$ 0.0	92.5 $\pm$ 9.6	97.5 $\pm$ 5.0	85.0 $\pm$ 17.3	92.5 $\pm$ 9.6	85.0 $\pm$ 19.1	92.5 $\pm$ 15.0
9°C	Small	Container	90.0 $\pm$ 11.5	92.5 $\pm$ 9.6	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	92.5 $\pm$ 9.6	92.5 $\pm$ 9.6	97.5 $\pm$ 5.0	100.0 $\pm$ 0.0
		Zip-lock	97.5 $\pm$ 5.0	95.0 $\pm$ 5.8	92.5 $\pm$ 5.0	95.0 $\pm$ 5.8	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	95.0 $\pm$ 5.8	95.0 $\pm$ 5.8
	Large	Container	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	92.5 $\pm$ 9.6	100.0 $\pm$ 0.0	95.0 $\pm$ 10.0	95.0 $\pm$ 10.0
		Zip-lock	92.5 $\pm$ 9.6	100.0 $\pm$ 0.0	97.5 $\pm$ 5.0	97.5 $\pm$ 5.0	87.5 $\pm$ 12.0	95.0 $\pm$ 5.8	95.0 $\pm$ 5.8	95.0 $\pm$ 5.8
13°C	Small	Container	97.5 $\pm$ 5.0	100.0 $\pm$ 0.0	92.5 $\pm$ 9.6	92.5 $\pm$ 9.6	92.5 $\pm$ 9.6	92.5 $\pm$ 9.6	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0
		Zip-lock	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	87.5 $\pm$ 12.6	90.0 $\pm$ 14.1	92.5 $\pm$ 5.0	97.5 $\pm$ 5.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0
	Large	Container	97.5 $\pm$ 5.0	97.5 $\pm$ 5.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	77.5 $\pm$ 22.2	92.5 $\pm$ 15.0	92.5 $\pm$ 15.0	97.5 $\pm$ 5.0
		Zip-lock	97.5 $\pm$ 5.0	97.5 $\pm$ 5.0	97.5 $\pm$ 5.0	97.5 $\pm$ 5.0	97.5 $\pm$ 5.0	97.5 $\pm$ 5.0	92.5 $\pm$ 9.6	92.5 $\pm$ 9.6
20°C	Small	Container	97.5 $\pm$ 5.0	97.5 $\pm$ 5.0	95.0 $\pm$ 5.8	95.0 $\pm$ 5.8	95.0 $\pm$ 5.8	97.5 $\pm$ 5.0	97.5 $\pm$ 5.0	100.0 $\pm$ 0.0
		Zip-lock	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	95.0 $\pm$ 5.8	95.0 $\pm$ 5.8	97.5 $\pm$ 5.0	100.0 $\pm$ 0.0	92.5 $\pm$ 9.6	97.5 $\pm$ 5.0
	Large	Container	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	92.5 $\pm$ 15.0	95.0 $\pm$ 10.0	95.0 $\pm$ 5.8	97.5 $\pm$ 5.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0
		Zip-lock	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	92.5 $\pm$ 9.6	92.5 $\pm$ 9.6	95.0 $\pm$ 5.8	97.5 $\pm$ 5.0	97.5 $\pm$ 5.0	100.0 $\pm$ 0.0
Control	Small	Container	100 $\pm$ 0.0	100 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	95.0 $\pm$ 5.8	95.0 $\pm$ 5.8
	Large	Zip-lock	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	97.5 $\pm$ 5.0	97.5 $\pm$ 0.0	97.5 $\pm$ 5.0	100.0 $\pm$ 0.0	95.0 $\pm$ 5.8	97.5 $\pm$ 5.0

*S. carpocapsae* GSN1 계통은 4 - 20°C 온도조건에서 조사기간 4개월 동안 생존하였는데 생존수는 기간이 경과함에 따라 다소 증가하는 경향을 보였다. 이는 용기

내의 수분 손실로 인해 보관 중인 선충의 농도가 초기에 비해 상대적으로 떨어졌기 때문으로 생각된다. 온도별로는 4℃를 제외하고는 9 - 20℃ 온도조건에서 비슷한 생충수를 보였다. *S. carpocapsae* GSN1 계통은 tissue culture container와 지퍼락 용기에서 생충수에 큰 차이를 보이지 않아 보관 용기로 지퍼락 용기를 대체할 수 있을 것으로 판단된다. 한편 *S. carpocapsae* GSN1 계통은 소량 배양에 비하여 대량 배양 시 생충수가 두 배에서 세 배가량 떨어졌으나 보관 기간의 경과에 따른 보관력은 조사기간 동안 유지되었다. 대량배양으로 수확한 선충의 보관력이 실험실 상에서 증식된 선충에 비하여 현저히 떨어지는 요인은 생산과정에서 살균수 대신에 일반 물을 사용하는 점과 보관 시 지나치게 고농도로 보관하면서, 수확 시 선충의 세척이 충분히 이루어지지 않았기 때문으로 사료된다. 한편 1-4개월 동안 생충수의 변화가 없는 것으로 보아 보관력에는 문제가 없는 것으로 판단되며 초기 밀도 감소요인을 제거시키면 문제 시 되지 않을 것으로 생각된다.

모든 실험 온도에서 4개월 보관 때까지 *S. carpocapsae* GSN1 계통은 꿀벌부채명나방 유충에 대하여 처리 3일 후 90% 이상의 병원성을 유지하였다(Table 36). 또한 보관용기나 곤충병원성선충의 생산방법에 따른 병원성의 차이도 발생하지 않았다. 따라서 *S. carpocapsae* GSN1 계통은 상품화하여 유통되었을 때 병원성은 4개월간 유지할 것으로 판단된다. 한편 15,000IJs/ml 농도로 보관 시 20℃에서도 4개월 간 지퍼락 용기에서 보관이 가능하였는데 실제 상품화하여 유통시킬 경우에도 동일 한 결과를 얻기 위해서는 상품화 용기와 제형, 부재의 선택 등의 사항을 고려하여야 할 것으로 생각된다.

## 2. 토양 수분과 깊이가 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 병원성에 미치는 영향

### 가. 재료 및 방법

1) 곤충병원성선충 한 종 단독 처리 시 토양의 수분과 깊이가 병원성에 미치는 영향 : 토양의 깊이와 수분함량별에 따른 곤충병원성선충의 기주 침입력과 병원성 차이는 내부에 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 철

망을 파이프의 내면에 고정시켜 체처럼 만들었다. 이 용기의 철망 아래쪽에는 꿀벌부채명나방 유충을 넣었고, 위쪽에는 모래를 일정한 높이로 채운 뒤 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *S. longicaudum* Nonsan 계통, *Steinernema* sp. GSNUS-14, *Steinernema* sp. GSNUS-18, *Steinernema* sp. GSNUS-36, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2를 처리하였다. 모래는 121℃에서 15분간 살균한 후 자연 건조 시킨 뒤 각각 3, 6, 9, 12, 15, 18%(W/V)로 수분을 맞추었다. 용기의 철망 밑 부분에 꿀벌부채명나방 노숙유충 10마리를 넣고 10 g의 모래를 얇게 채운 후 플라스틱 뚜껑을 원통 안쪽으로 밀어 넣어 유충이 아래쪽으로 탈출하지 못하도록 하였다. 철망의 위 부분에는 모래를 각각 2 cm와 7 cm로 채운 뒤 각각의 선충을 처리하였다. 선충의 농도는 322마리/ml(=10<sup>9</sup>마리/ha)로 하여 피펫을 이용하여 1ml 씩 토양에 고루 접종하였다. 무처리는 살균수만 1 ml 처리하였으며 처리 후 수분 손실 방지를 위하여 용기의 위쪽을 플라스틱 뚜껑으로 막았다. 이렇게 처리한 아크릴 파이프 용기는 24℃ 항온기에 보관하였고 처리 3일 후 유충을 꺼내어 선충에 의한 치사유무를 확인하였다. 치사된 꿀벌부채명나방 유충은 살균수로 표면을 씻은 후 해부현미경하에서 해부하여 기주체에 침입한 선충 수와 침입 선충의 성비를 조사하였다. 실험은 높이별로 3반복으로 2회 실시하였다.

2) Steinernematid 선충과 Heterorhabditid 선충 동시 처리 시 토양의 수분과 깊이가 병원성에 미치는 영향 : 두 종 이상의 해충이 발생하여 Steinernematid 선충과 Heterorhabditid 선충을 동시에 처리 할 경우 두 선충 간 발생하는 중간경쟁의 유무를 알아보기 위하여 꿀벌부채명나방 유충을 이용하여 기주에 대한 병원성과 침입력의 차이를 조사하였다. 전자의 토양의 깊이와 수분함량별에 따른 곤충병원성선충의 기주 침입력과 병원성 차이와 동일한 방법으로 실험을 수행하였는데 내부에 철망이 든 직경 6.5cm의 아크릴 파이프 용기를 이용하여 실험하였다. 용기의 전체 길이는 14 cm였고 바닥으로부터 4.5 cm 부근에 눈금 간격이 1 mm인 철망을 파이프의 내면에 고정시켜 체처럼 만들었다. 이 용기의 철망 아래쪽에는 꿀벌부채명나방 유충을 넣었고, 위쪽에는 모래를 일정한 높이로 채운 뒤 *S. carpocapsae* GSN1 계통을 처리하였다. 모래는 121℃에서 15분간 살균한 후 자연 건조 시킨 뒤 13%(W/V)와 5%(W/V)로 수분을 맞추었다. 용기의 철망 밑 부분에 꿀벌부채명나방 노숙유충 10마리를 넣고 10 g의 모래를 얇게 채운 후 플라스틱 뚜껑을 원통 안쪽으로 밀어 넣어 유충이 아래

쪽으로 탈출하지 못하도록 하였다. 철망의 위 부분에는 모래를 각각 2 cm(97 g)와 10 cm(463 g)로 채운 뒤 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통 두 선충을 두 그룹으로 나누어 처리하였다. 첫 번째 그룹은 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통을 단독 또는 혼합하여 각각 322 마리/ml(=10<sup>9</sup>마리/ha) 농도로 피펫을 이용하여 1 ml 씩 토양에 고루 접종하였다. 선충 처리시 용액의 양을 같게 하기 위하여 혼합처리의 경우는 322마리/0.5ml의 농도로 처리하였다. 그리고 두 번째 그룹은 선충 처리 농도를 반으로 하여 같은 조건으로 처리하였다. 무처리는 살균수만 1 ml 처리하였으며 처리 후 수분 손실 방지를 위하여 용기의 위쪽을 플라스틱 뚜껑으로 막았다. 이렇게 처리한 아크릴 파이프 용기는 24℃ 항온기에 보관하였고 처리 3일 후 유충을 꺼내어 선충에 의한 치사유무를 확인하였다. 치사된 꿀벌부채명나방 유충은 살균수로 표면을 씻은 후 해부현미경하에서 해부하여 기주체에 침입한 선충 수와 침입 선충의 성비를 조사하였다. 실험은 높이별로 3반복으로 2회 실시하였다.

3) 토양 내 곤충병원성선충 미끼곤충의 존재유무가 Steinernematid 선충과 Heterorhabditid 선충의 병원성과 기주침입에 미치는 영향 : 토양 내 해충의 발생에 대비하여 예방차원으로 곤충병원성선충을 처리하였을 때 효과의 차이 유무를 알아보기 위하여 꿀벌부채명나방 유충을 미끼로 이용하여 토양 깊이별로 기주에 대한 병원성의 차이를 조사하였다. 전자의 토양의 깊이와 수분함량별에 따른 곤충병원성선충의 기주 침입력과 병원성 차이와 동일한 방법으로 실험을 수행하였는데 내부에 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 고정시켜 체처럼 만들었다. 모래는 121℃에서 15분간 살균한 후 자연 건조시킨 뒤 13%(W/V)로 수분을 맞추었다. 용기의 철망 밑 부분에 미끼곤충 처리구에는 꿀벌부채명나방 노숙유충 10마리를 넣고, 수분 13%의 모래 10 g을 얇게 채운 후 플라스틱 뚜껑을 원통 안쪽으로 밀어 넣어 유충이 아래쪽으로 탈출하지 못하도록 하였다. 미끼곤충 무처리구는 수분 13%의 모래 10 g을 채워 넣었다. 철망의 위 부분에는 모래를 각각 2 cm와, 5 cm, 10 cm로 채운 뒤 *Steinernema* sp. GSNUS-2, *Steinernema* sp. GSNUS-3, *Steinernema* sp. GSNUS-4, *Steinernema* sp. GSNUS-6, *Steinernema* sp. GSNUS-14, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1,

*Heterorhabditis* sp. GSNUH-2, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3을 처리하였다. 각각의 선충들은 322마리/ml(=10<sup>9</sup>마리/ha) 농도로 피펫을 이용하여 1 ml 씩 토양에 고루 접종하였다. 무처리구는 살균수만 1 ml 처리하였으며 처리 후 수분 손실 방지를 위하여 용기의 위쪽을 플라스틱 뚜껑으로 막았다. 이렇게 처리한 아크릴 파이프 용기는 24℃ 항온기에 보관하였고, 미끼곤충 처리구는 처리 4일 후 유충을 꺼내어 선충에 의한 치사유무를 확인하였고, 여기에 다시 꿀벌부채명나방 유충을 10마리 투입하였고, 미끼곤충 무처리구의 sand column도 꿀벌부채명나방 유충을 10마리 투입하였다. 치사된 꿀벌부채명나방 유충은 살균수로 표면을 씻은 후 해부현미경하에서 해부하여 기주체에 침입한 선충 수와 침입 선충의 성비를 조사하였다.

#### 나. 결과

1) 곤충병원성선충 한 종 단독 처리 시 토양의 수분과 깊이가 병원성에 미치는 영향: 곤충병원성선충의 종과 계통에 따라 토양깊이별, 수분별에 따른 병원성과 기주 침입 수에 차이를 보였다. *S. carpocapsae* GSN1 계통은 sand column 2 cm 깊이에서는 토양수분별에 따라 병원성의 큰 차이를 보이지 않았지만 7 cm 깊이에서는 수분이 12% 이상일 경우 꿀벌부채명나방에 대한 병원성이 감소하였다(Table 32).

기주체에 침입한 선충의 수는 2 cm 깊이에 비하여 7 cm 깊이에서 암컷과 수컷 성충 모두 현저한 차이를 보여 토양 깊이가 깊은 곳에서는 침입수가 감소하였다. 15% 수분 처리를 제외하고 성비는 2 : 1정도였다.

*S. longicaudum* Nonsan 계통은 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 다른 양상을 보였다. 병원성은 토양 수분량이나 깊이별에 따라 차이가 없었고, 침입 성충의 수는 6% 수분 처리를 제외하고는 2 cm 깊이에 비하여 7 cm 깊이에서 많았다(Table 33).

성비의 경우 3 : 2정도로 암컷의 수가 많았다. 수분량의 증가에 따른 침입선충의 수는 9%와 18% 수분 처리를 제외하고는 큰 차이를 보이지 않았다.

Table 37. Effect of soil depth and soil moisture on mortality of *Galleria mellonella* larvae exposed to infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain at 24°C

Soil moisture (%)	Mortality(%)		Mean number of							
			Female		Male		Larva		Total	
	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm
3	100	97.7	8.9	2.6	4.9	1.3	0.6	0.1	14.3	4.0
6	100	100	7.1	2.3	4.0	0.6	0.1	0	11.2	2.9
9	100	93.3	5.4	1.4	2.9	0.4	0.1	0	8.4	1.8
12	97.7	83.3	6.9	0.6	4.7	0.1	0.4	0	12.0	0.7
15	97.7	70.0	3.8	0.2	3.2	0.1	1.4	0.01	8.4	0.4
18	100	53.3	6.8	0.9	3.9	0.5	1.0	0.3	11.7	1.7

Table 38. Effect of soil depth and soil moisture on mortality of *Galleria mellonella* larvae exposed to infective juveniles of *Steinernema longicaudum* Nonsan strain at 24°C

Soil moisture (%)	Mortality(%)		Mean number of							
			Female		Male		Larva		Total	
	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm
3	97.7	97.7	6.4	6.4	3.7	4.9	0.1	0.4	10.2	11.7
6	100	100	8.3	6.8	5.5	4.4	0.1	0.2	13.9	11.2
9	93.3	100	5.0	7.8	3.0	7.1	0.1	0	8.2	14.9
12	97.7	100	7.5	8.9	4.9	7.7	0	0	12.4	16.7
15	100	97.7	8.6	9.6	4.1	7.8	0	0	12.7	17.3
18	100	100	5.6	7.5	3.6	5.8	0	0	9.2	13.3

*Steinernema* sp. GSNUS-14 Isolate는 수분함량과 토양깊이별에 따른 병원성은

큰 차이를 보이지 않았다(Table 39). 그러나 침입 선충의 수는 토양 깊이에 따라 차이를 보여 7 cm 깊이에 비하여 2 cm 깊이에서 두 배정도 높았다. 토양 수분 함량별에 따른 선충의 정착수는 7 cm 깊이의 경우 큰 차이가 없었으며 2 cm 깊이에서는 18% 수분량에서 8.3마리로 다른 수분량에 비하여 적었다.

Table 39. Effect of soil depth and soil moisture on mortality of *Galleria mellonella* larvae exposed to infective juveniles of *Steinernema* sp. GSNUS-14 Isolate at 24°C

Soil moisture (%)	Mortality(%)		Mean number of							
			Female		Male		Larva		Total	
	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm
3	97.7	93.3	7.3	1.5	6.3	3.8	0.2	0.2	13.8	5.5
6	97.7	97.7	6.6	2.8	5.2	3.4	0.2	0.7	12.0	6.9
9	100	100	5.8	1.9	5.0	2.1	0.9	1.2	11.6	5.2
12	97.7	100	8.4	4.7	5.9	2.7	0.5	0.4	14.8	7.8
15	100	97.7	6.6	3.2	4.1	2.2	0.5	0.7	11.1	6.2
18	90.0	100	4.5	1.9	3.5	2.9	0.3	1.1	8.3	5.8

*Steinernema* sp. GSNUS-18 Isolate는 sand column의 깊이에 따라 병원성과 침입 선충의 수에 차이를 보였다(Table 40). 7 cm 깊이에 비하여 2 cm 깊이에서 병원성이 낮게 나타났으며 침입선충의 수의 경우도 7 cm 처리가 2 cm 깊이에 비하여 두 배정도 높았다. 성비는 대체적으로 1 : 1이었다.

*Steinernema* sp. GSNUS-36 Isolate는 다른 *Steinernema* spp.에 비하여 병원성이 현저히 낮았으며 7 cm 깊이에 비하여 2 cm 깊이에서 병원성이 높게 나타났으며 수분량 사이에는 병원성에 큰 차이를 보이지 않았다(Table 41).

Table 40. Effect of soil depth and soil moisture on mortality of *Galleria mellonella* larvae exposed to infective juveniles of *Steinernema* sp. GSNUS-18 Isolate at 24°C

Soil moisture (%)	Mortality(%)		Mean number of							
			Female		Male		Larva		Total	
	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm
3	83.3	100	2.0	7.6	2.6	7.1	0	0	4.6	14.8
6	97.7	100	2.9	6.0	4.5	6.1	0	0	7.4	12.1
9	90.0	100	2.8	5.9	2.3	5.2	0	0	5.1	11.1
12	77.7	100	1.1	4.7	2.2	4.6	0	0	3.3	9.3
15	97.7	100	3.8	4.8	3.0	5.0	0	0	6.7	9.8
18	83.3	97.7	2.6	4.3	2.9	4.8	0	0	5.5	9.1

Table 41. Effect of soil depth and soil moisture on mortality of *Galleria mellonella* larvae exposed to infective juveniles of *Steinernema* sp. GSNUS-36 Isolate at 24°C

Soil moisture (%)	Mortality(%)		Mean number of							
			Female		Male		Larva		Total	
	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm
3	70.0	40.0	1.4	8.1	0.5	4.9	0	0	1.9	13.0
6	70.0	47.7	2.8	7.6	1.1	4.1	0	0	3.9	11.7
9	73.3	37.7	2.1	8.6	0.9	4.5	0	0	3.0	13.2
12	77.7	37.7	2.6	5.5	1.3	3.2	0	0	3.8	8.7
15	70.0	27.7	2.3	3.5	1.2	2.3	0	0	3.6	5.8
18	67.7	50.0	2.3	3.3	1.3	2.5	0	0	3.6	5.7

*Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 Isolate와 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 Isolate 두 Heterorhabditid 선충간에도 토양깊이별로 따라 선충의 병원성이 차이를 보였다 (Table 42). *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 Isolate는 2 cm 깊이에서는 수분량에 관계없이 100%의 병원성을 보인 반면 7 cm 깊이에서는 병원성이 배정도 반감하였다. 그러나 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 Isolate는 두 깊이 모두에서 100%의 병원성을 보였다. 기주침입 선충의 수도 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 Isolate는 12% 수분량 처리를 제외하고는 비슷하였고, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 Isolate는 2 cm 깊이가 7 cm 깊이에 비하여 침입 선충수가 많았다.

Table 42. Effect of soil depth and soil moisture on mortality of *Galleria mellonella* larvae exposed to infective juveniles of *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 and *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 Isolate at 24°C

Soil moisture (%)	Mortality(%)				Mean number of hermaphroditic female			
	GSNUH-1		GSNUH-2		GSNUH-1		GSNUH-2	
	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm	2 cm	7 cm
3	100	30.0	100	100	0.9	2.3	4.6	3.5
6	100	50.0	100	100	1.5	2.0	5.1	2.3
9	100	50.0	100	100	1.9	2.3	3.1	1.1
12	100	60.0	100	100	4.8	1.1	3.0	1.7
15	100	50.0	100	100	1.3	1.1	3.0	2.8
18	100	53.3	100	100	0.9	1.8	3.5	1.4

2) Steinernematid 선충과 Heterorhabditid 선충 동시 처리 시 토양의 수분과 깊이가 병원성에 미치는 영향 : 꿀벌부채명나방 노숙유충의 기주치사율은 토양의 깊이와 수분, 그리고 처리 조건에 따라 영향을 받았다. *S. carpocapsae* GSN1 계통의 침입 태유충만 처리하였을 경우 토양수분이 5%일 때는 깊이에 상관없이 100%의 기주 치사율을 보였지만, 토양수분 13%일 때는 토양깊이 2 cm일 때 100%의 기주 치사가 이루어 졌다. 그러나 10 cm에서는 43%의 꿀벌부채명나방 유충만이 치사되었다(Fig. 15).

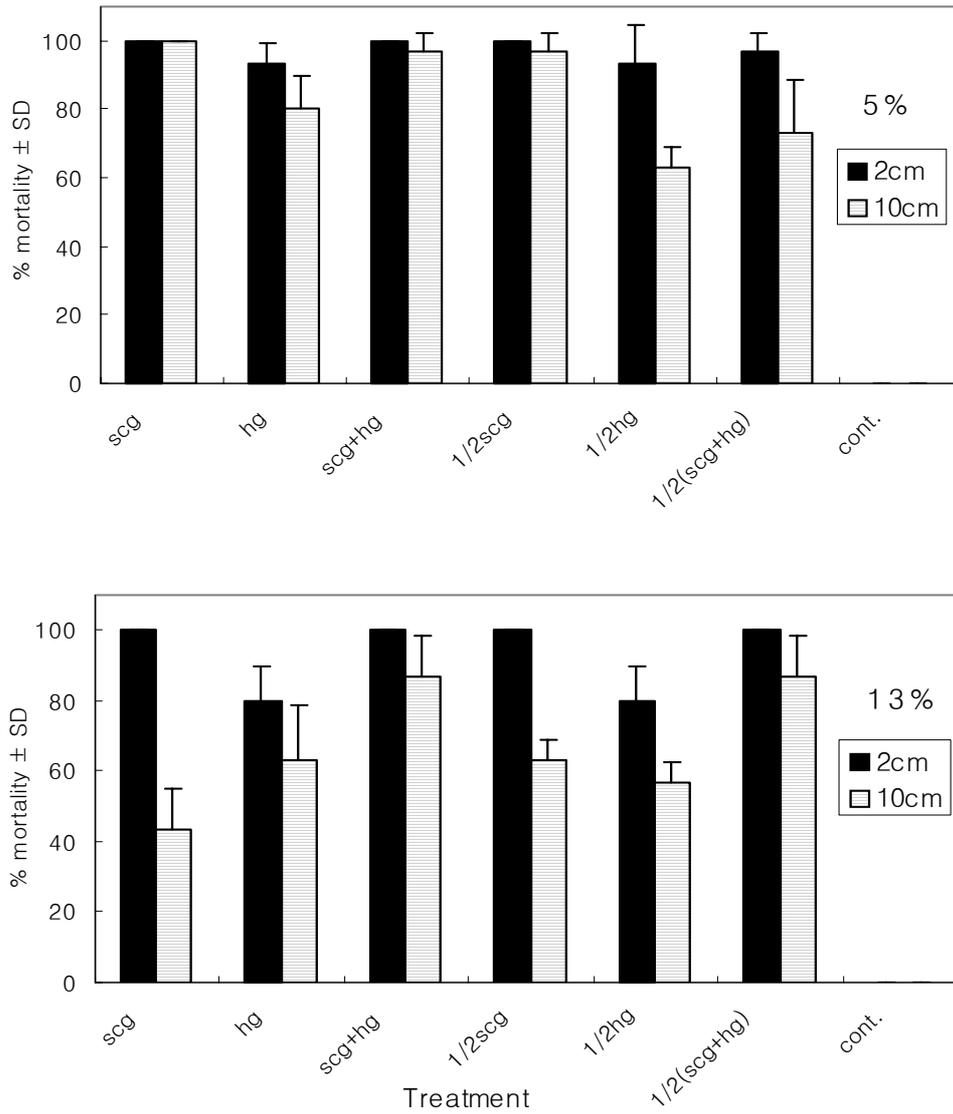


Fig. 15. Effect of soil depth and soil moisture on mortality of *Galleria mellonella* larvae exposed to infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* GSN 1 (scg) strain and *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan (hg) strain at 24°C.

그리고 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통 침입태유충만 처리하였을 때는 S.

*carpocapsae* GSN1 계통의 단독처리에서와는 달리 모든 토양수분과 깊이에서 꿀벌 부채명나방 노숙유충의 치사율이 다르게 관찰되었다. 토양수분 5%의 깊이 2 cm일 때의 기주 치사율이 93%로 가장 높았고, 토양수분 13%, 깊이 10cm일 때는 63%로 가장 낮았다. 토양수분 5%와 깊이 10 cm일 때와 수분 13%, 깊이 2cm 조건에서는 80%의 기주 치사율을 관찰할 수 있었다. *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통의 침입태유충을 혼합 처리하였을 경우는 토양수분 5%와 13%, 토양깊이 2 cm일 때 100%의 기주 치사율을 보였고, 토양수분 13%, 깊이 10cm일 때의 기주 치사율은 86%로 가장 낮았다. 그리고 토양수분 5%, 깊이 10 cm 조건에서는 97%의 기주 치사율을 관찰 할 수 있었다(Fig. 15). 위와 동일 한 처리 조건에서 침입태유충의 처리수를 반으로 줄였을 때는 모든 처리 조건에서 원 농도로 처리하였을 때와 유사한 결과를 얻을 수 있었는데, *S. carpocapsae* GSN1 계통의 침입태유충만 처리하였을 때는 토양수분 5%와 13%, 토양깊이 2 cm일 때 100%의 기주 치사율을 관찰할 수 있었고, 토양수분 13%, 깊이 10 cm일 때의 기주 치사율은 63%로 가장 낮았다. 그리고 토양수분 5%, 깊이 10cm 조건에서는 97%의 기주 치사율을 나타내었다(Fig. 15). *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통의 침입태유충 단독 처리에서는 수분 5%, 깊이 2 cm 조건에서는 기주가 93% 치사되어 치사율이 가장 높았고, 토양수분 13%, 10 cm 깊이 일 때는 치사율이 57%였다. 그리고 토양수분 5%, 깊이 10cm일 때는 63%의 치사율을 관찰 할 수 있었고, 토양 수분 13%, 깊이 2cm일 때는 기주 치사율이 80%였다(Fig. 15). *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통의 침입태유충을 혼합처리 하였을 때의 결과는 토양수분 13%, 깊이 2 cm일 때는 기주 치사율이 100%로 가장 높았으며, 토양수분 5%, 깊이 10 cm일 때는 기주 치사율이 73%로 가장 낮았다. 토양수분 5%, 깊이 2 cm 조건일 때는 97%의 기주 치사율을 관찰할 수 있었고, 토양수분 13%, 깊이 10 cm일 때는 치사율이 87%였다. 무처리에서는 모든 조건에서 꿀벌부채명나방 노숙유충이 치사되지 않았다(Fig. 15).

치사된 꿀벌부채명나방 노숙유충에 침입한 *S. carpocapsae* GSN1 계통의 수는 토양수분과 토양깊이에 영향을 받았다. *S. carpocapsae* GSN1 계통의 침입태유충만 단독처리 하였을 때 선충의 침입수는 토양수분 5%, 깊이 2 cm 조건에서  $18.5 \pm 7.0$ 마리로 가장 많았고, 토양수분 13%, 깊이 10 cm일 때  $3.6 \pm 4.6$ 마리로 가장 적었다.

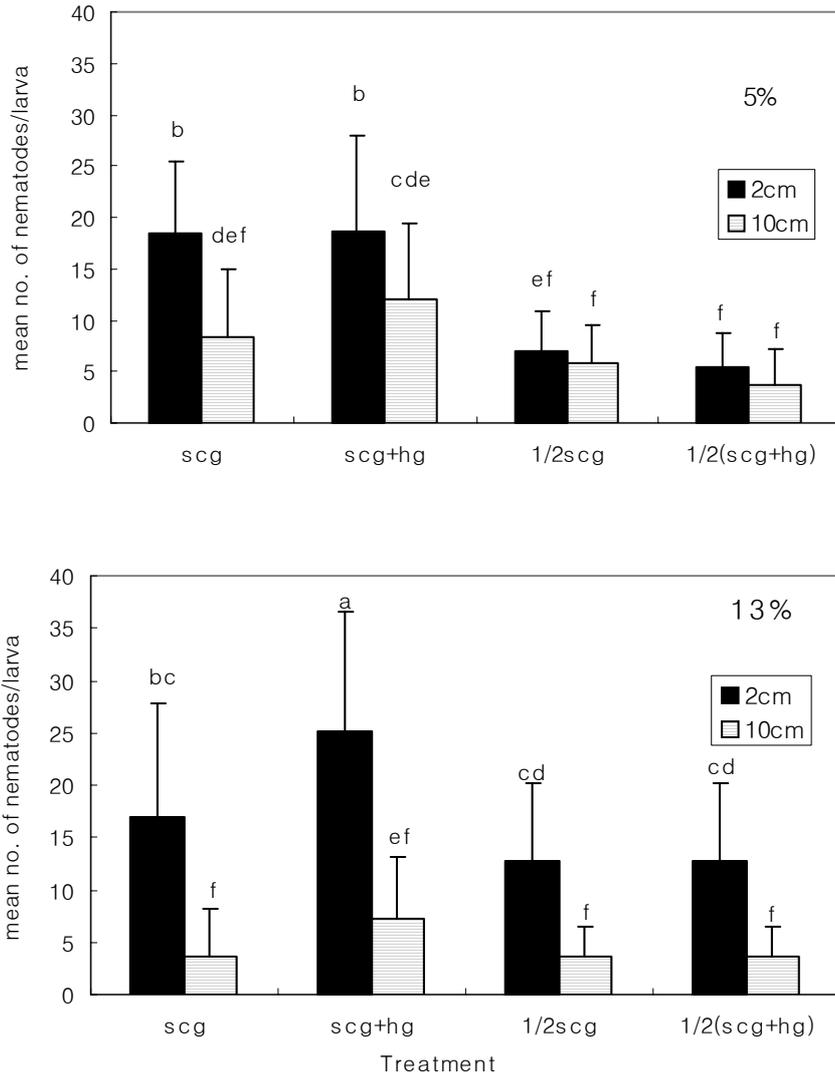


Fig. 16. Effect of soil moisture and depth on the establishment of infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* GSN 1(scg) strain in *Galleria mellonella* larvae at 24°C. hg ; *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan strain.

그리고 토양수분 5%, 깊이 10 cm일 때 선충의 침입수는  $8.4 \pm 6.6$ 마리였고, 토양수분 13%, 깊이 2 cm일 때의 침입 선충 수는  $17.0 \pm 10.9$ 마리였다(Fig. 16).

*S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통의 침입태유충을 혼합처리 하였을 때, 꿀벌부채명나방 노숙유충에 침입한 *S. carpocapsae* GSN1 계통의 수를 조사한 결과, 토양 수분 13%, 토양깊이 2 cm일 때,  $25.2 \pm 11.3$ 마리로 가장 많은 선충의 침입수가 관찰되었고 토양수분 13%, 깊이 10 cm일 때는  $7.2 \pm 5.9$ 마리로 가장 적은 수가 관찰되었다. 그리고 토양수분 5%일 때의 깊이 2 cm와 10 cm에서는 각각  $18.7 \pm 9.1$ 마리와  $12.1 \pm 7.4$ 마리였다(Fig. 16). 위와 동일 한 처리 조건에서 침입태유충의 처리를 반으로 줄였을 때는 모든 조건에서 원 농도로 처리하였을 때와 유사한 결과를 얻을 수 있었다. 즉, *S. carpocapsae* GSN1 계통의 침입태유충만 단독처리 하였을 경우 꿀벌부채명나방 노숙유충에 침입한 선충의 수는 토양수분 13%, 깊이 2 cm일 때  $12.8 \pm 7.4$ 마리로 가장 많았고, 깊이 10 cm일 때  $3.7 \pm 2.8$ 마리로 가장 적었다. 그리고 토양수분 5%일 때는 깊이 2 cm와 10 cm에서 꿀벌부채명나방 노숙유충에 침입한 선충의 수는 각각  $7.0 \pm 3.9$ 마리와  $5.8 \pm 3.7$ 였다(Fig. 16).

*S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통의 침입태유충을 혼합처리 하였을 때의 꿀벌부채명나방 노숙유충에 침입한 *S. carpocapsae* GSN1 계통의 수를 보면 토양수분 13%의 깊이 2 cm일 때  $12.8 \pm 7.4$ 마리로 가장 많았고, 토양수분 5%의 깊이 10 cm일 때는  $3.6 \pm 3.4$ 마리로 가장 적었다. 그리고 토양수분 5%, 깊이 2 cm일 때  $5.5 \pm 3.2$ 마리, 토양수분 13%, 깊이 10 cm일 때는  $3.7 \pm 2.8$ 마리의 선충이 관찰되었다(Fig. 16).

치사된 꿀벌부채명나방 노숙유충에 침입한 *S. carpocapsae* GSN1 계통의 암컷비율은 토양의 수분과 깊이에 영향을 받지 않았다. 그리고 모든 처리에서 토양의 수분과 깊이에 관계없이 암컷의 비율이 65% 내외로 수컷 보다 많이 관찰되었다(Fig. 17).

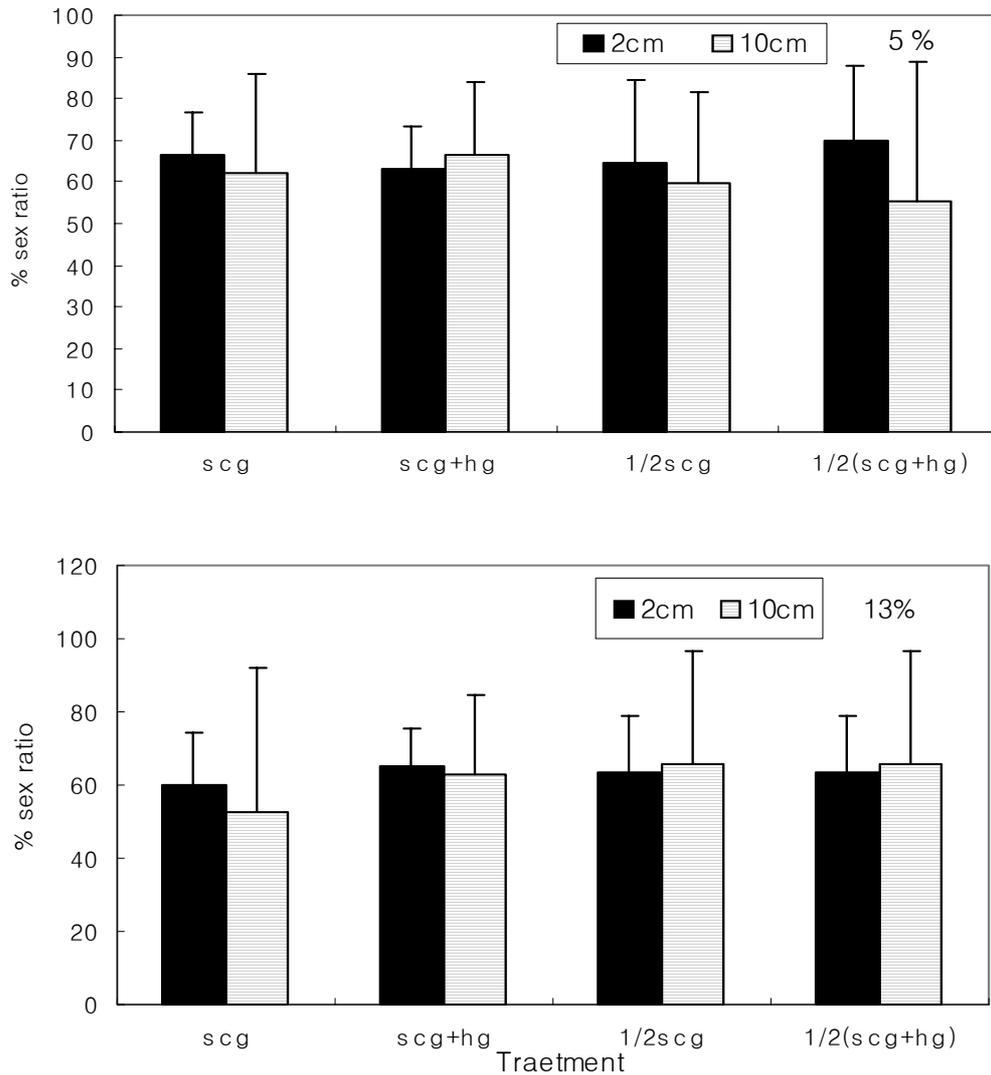


Fig. 17. Effect of soil moisture and depth on the sex ratio of *Steinernema carpocapsae* GSN 1 (scg) strain in *Galleria mellonella* larvae at 24°C. hg ; *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan strain.

치사된 꿀벌부채명나방 노숙유충에 침입한 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통의 침입태유충의 수는 토양수분과 깊이에 영향을 받았다(Fig.18).

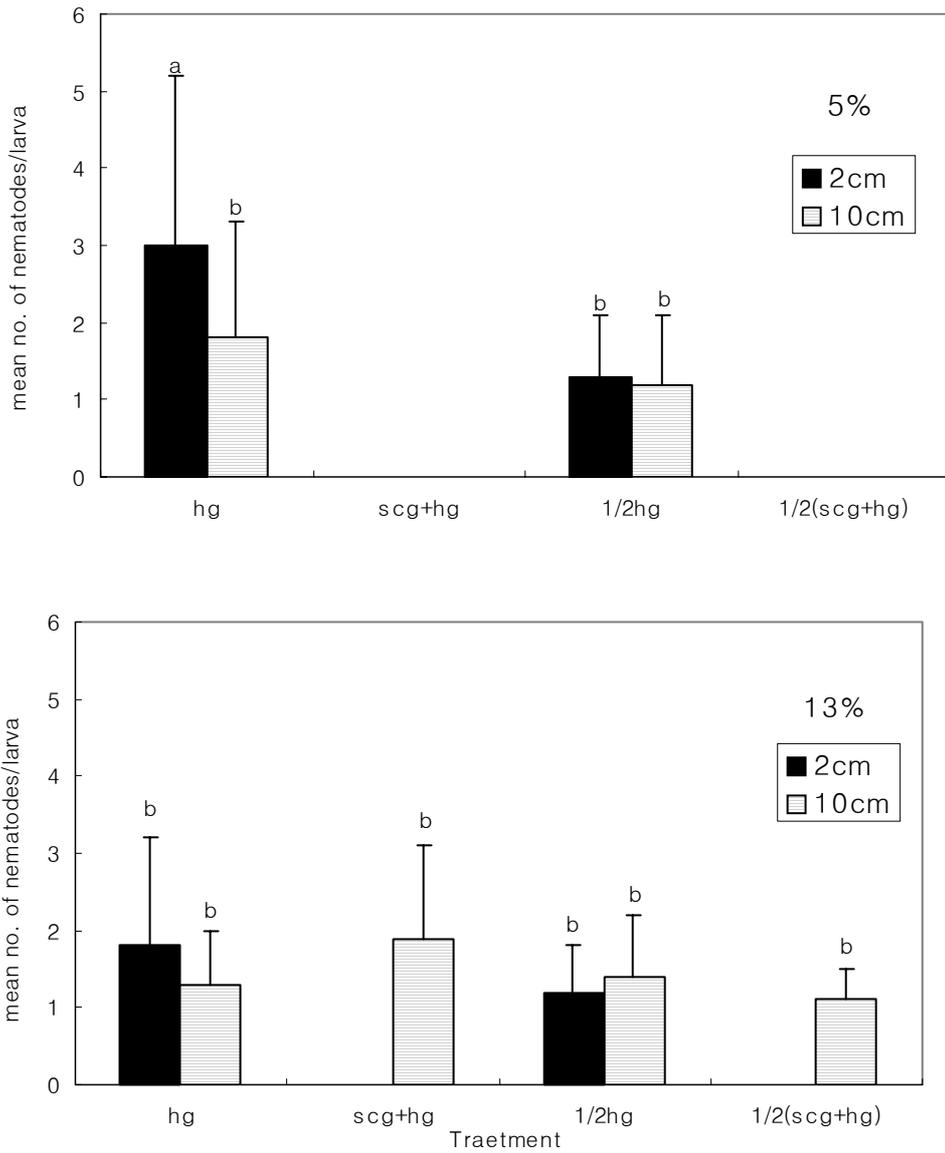


Fig. 18. Effect of soil depth and soil moisture on the establishment of infective juveniles of *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan (hg) strain in *Galleria mellonella* larvae at 24°C. scg ; *Steinernema carpocapsae* GSN 1 strain.

그러나 *S. carpocapsae* GSN1 계통의 침입태유충과는 달리 *Heterorhabditis* sp.

Gyeongsan 계통의 침입 수는 모든 처리에서 5마리 미만으로 적은 수만이 기록되었다. *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통의 침입태유충을 단독처리 하였을 때 꿀벌부채명나방 노숙유충에 침입한 선충의 수는 토양수분 5%, 깊이 2 cm일 때  $3.0 \pm 2.2$  마리로 가장 많은 수를 관찰 할 수 있었고, 토양수분 5%, 깊이 10 cm와 토양 수분 13%, 깊이 2 cm와 10 cm 조건에서는 2마리 미만의 선충만 관찰 할 수 있었다 (Fig.18).

*S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통의 침입태유충을 혼합처리 하였을 때 꿀벌부채명나방 노숙유충에 침입한 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통의 수를 보면, 토양수분 5%에서 2 cm와 10 cm일 때와 토양수분 13%, 토양깊이 2 cm일 경우는 침입이 이루어지지 않았지만, 토양수분 13%, 토양깊이 10cm 처리 조건에서는  $1.9 \pm 1.2$ 마리의 침입태유충이 관찰되었다(Fig. 18).

위와 동일 한 처리 조건에서 처리수를 반으로 줄였을 때도 원 농도로 처리하였을 때와 유사한 결과를 관찰 할 수 있었다. *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통의 침입태유충을 단독처리 하였을 때는 꿀벌부채명나방 노숙유충에 침입한 선충의 수는 모든 처리에서 2마리 미만 이었다 (Fig. 18).

*S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통의 침입태유충을 혼합처리 하였을 때는 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통은 토양수분 5%에서 2 cm와 10 cm일 때와 토양수분 13%, 깊이 2 cm였을 때는 유충의 침입이 이루어지지 않았지만, 토양수분 13%의 깊이 10 cm에서는  $1.1 \pm 0.4$ 마리의 침입태유충을 관찰 할 수 있었다(Fig. 18).

3) 토양 내 곤충병원성선충 미끼곤충의 존재유무가 Steinernematid 선충과 Heterorhabditid 선충의 병원성과 기주침입에 미치는 영향: 토양 내 미끼곤충의 유무는 Steinernematid 선충의 계통에 따라 상이한 병원성을 보였다(Fig. 15, 16, 17, 18, 19). *Steinernema* sp. GSNUS-2 Isolate는 접종 초기에 기주가 존재치 않으면 이동력과 병원성이 낮은 것으로 나타났으며(Fig. 19) *Steinernema* sp. GSNUS-3 Isolate와 *Steinernema* sp. GSNUS-6 Isolate는 초기에 기주가 존재치 않더라도 기주 침입력이 뛰어났다(Fig. 20, 22). *Steinernema* sp. GSNUS-14 Isolate도 접종 초기에 기주가 없더라도 높은 침입력을 보였으나 10 cm 깊이에서는 병원성이 현저히 저하되었다(Fig. 23).

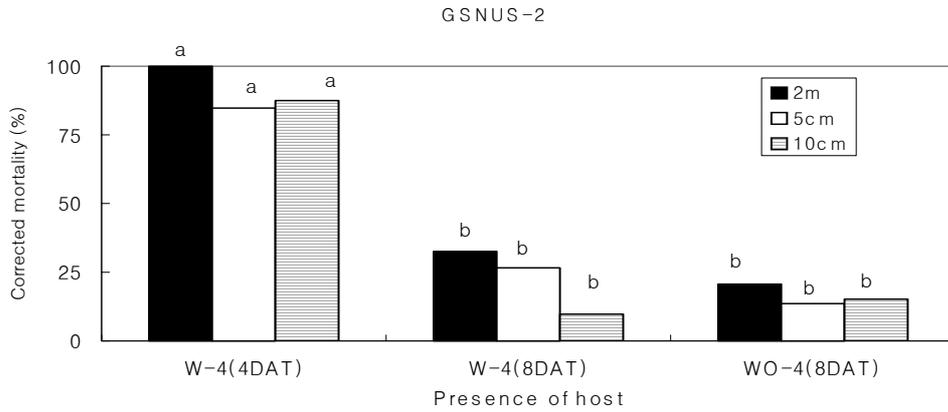


Fig. 19. Corrected mortality of *G. mellonella* by *Steinernema* sp. GSNUS-2 Isolate at various sand column depth and presence or absence of hosts in the first 4 days. W-4(4DAT) 4 days after treatment with presence of host introduced at the day of treatment. W-4(8DAT) 8 days after treatment. WO-4(8DAT) 8 days after treatment with absence of host during first 4 days.

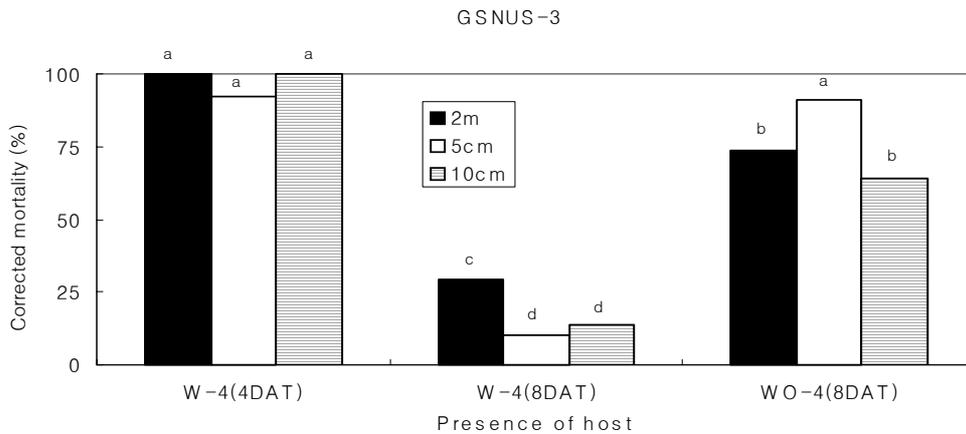


Fig. 20. Corrected mortality of *G. mellonella* by *Steinernema* sp. GSNUS-3 Isolate at various sand column depth and presence or absence of hosts in the first 4 days.

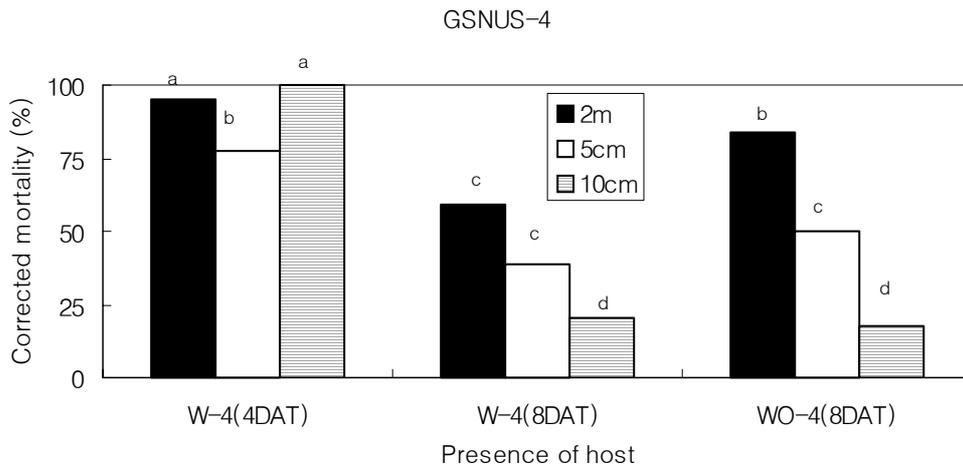


Fig. 21. Corrected mortality of *G. mellonella* by *Steinernema* sp. GSNUS-4 Isolate at various sand column depth and presence or absence of hosts in the first 4 days.

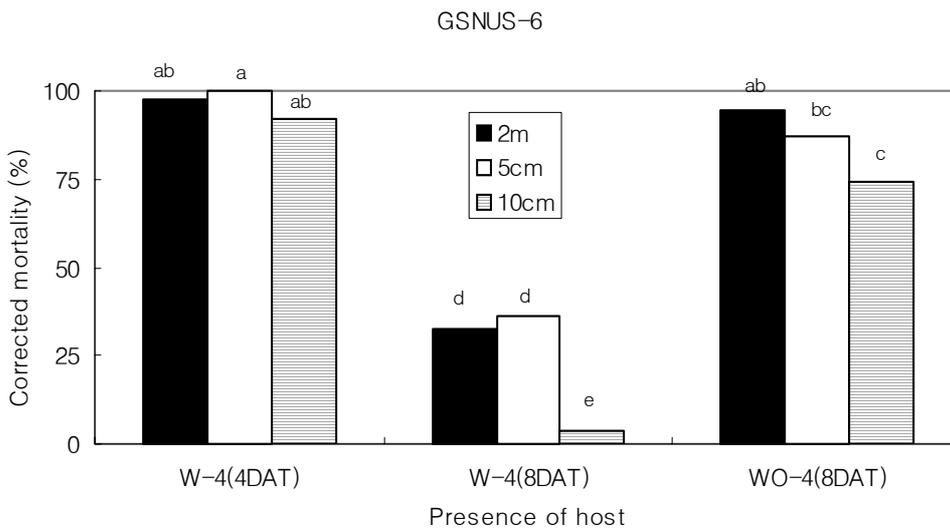


Fig. 22. Corrected mortality of *G. mellonella* by *Steinernema* sp. GSNUS-6 Isolate at various sand column depth and presence or absence of hosts in the first 4 days.

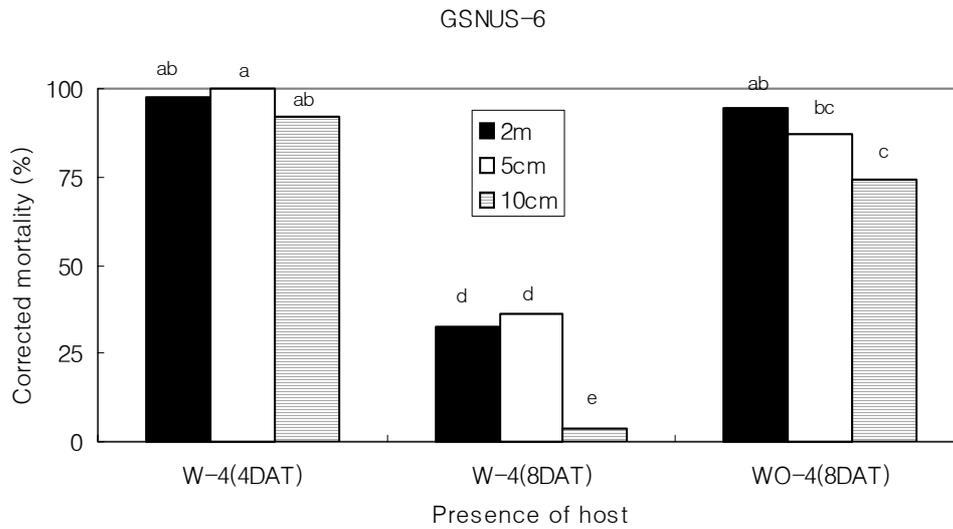


Fig. 23. Corrected mortality of *G. mellonella* by *Steinernema* sp. GSNUS-6 Isolate at various sand column depth and presence or absence of hosts in the first 4 days.

Heterorhabditid 선충도 계통별에 따라 기주유무에 따른 병원성에 차이가 있었다 (Fig. 24, 25, 26). *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 Isolate는 접종 초기에 기주가 없을 경우 병원성이 현저히 떨어졌다(Fig. 24). 반면 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 Isolate와 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 Isolate는 4일 후에 기주를 투입하여도 접종 당일 기주 곤충을 투입한 것과 유사한 병원성을 보였다(Fig. 25, 26). 전반적으로 Heterorhabditid 선충들이 Steinernematid 선충에 비하여 접종 초기에 기주가 없더라도 높은 병원성을 보였다. 이는 Heterorhabditid 선충들의 경우 기주를 적극적으로 찾아가는 탐색형의 기주 탐색 특성을 가지고, Steinernematid 선충들은 기주가 접근해 오기를 기다리는 잠복형의 특성을 가지고 있기 때문으로 생각된다.

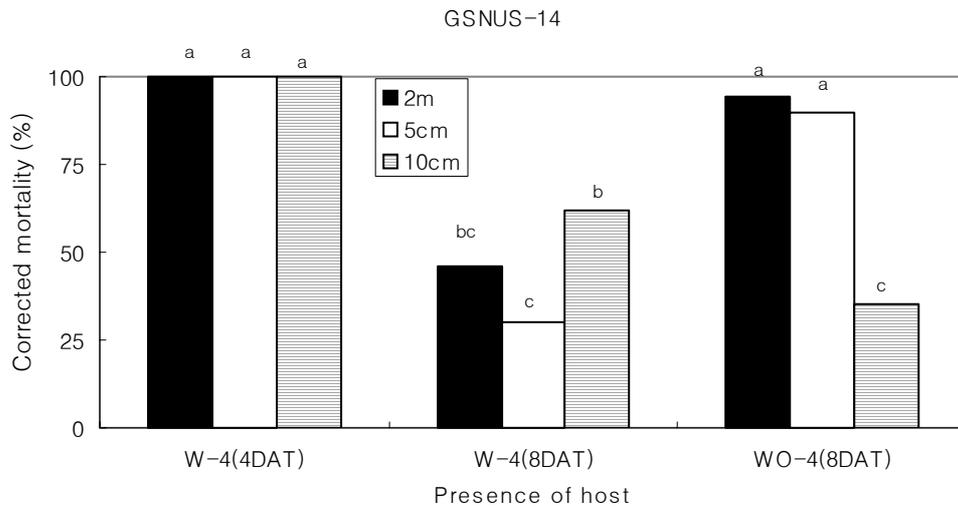


Fig. 24. Corrected mortality of *G. mellonella* by *Steinernema* sp. GSNUS-14 Isolate at various sand column depth and presence or absence of hosts in the first 4 days.

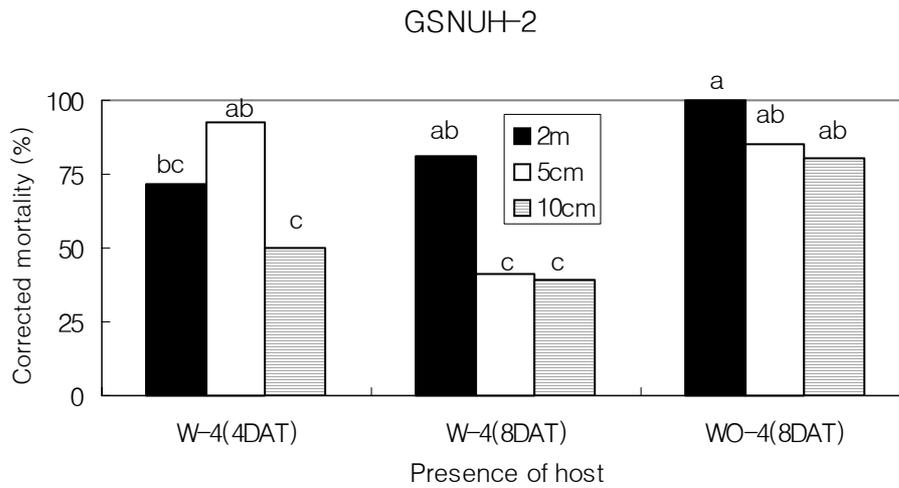


Fig. 25. Corrected mortality of *G. mellonella* by *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 Isolate at various sand column depth and presence or absence of hosts in the first 4 days.

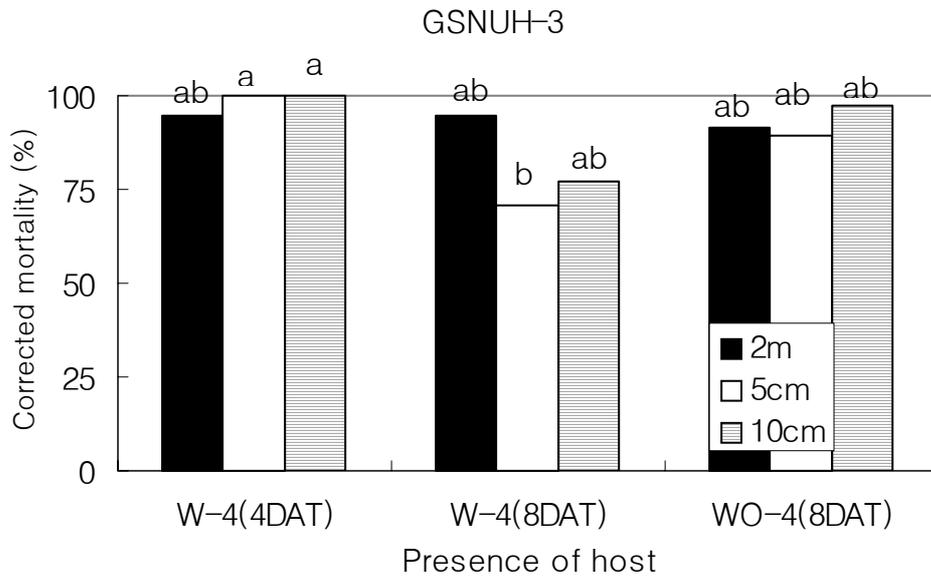


Fig. 26. Corrected mortality of *G. mellonella* by *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 Isolate at various sand column depth and presence or absence of hosts in the first 4 days.

미끼곤충의 유무에 따른 곤충병원성선충의 토양깊이별 침입선충의 수도 선충의 계통에 따라 상이하였는데 병원성과 유사한 양상을 보였다(Fig. 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34). *Steinernema* sp. GSNUS-2 Isolate는 실험에 이용한 Steinernematid 선충들 중 접종 시 미끼곤충이 있는 조건에서 정착 선충의 수가 가장 적었다(Fig. 27). *Steinernema* sp. GSNUS-3 Isolate는 접종 당시 미끼 곤충이 있는 조건과 접종 4일 후 미끼곤충을 투입 했을 때 병원성이 25% 정도 차이가 났었는데(Fig. 20) 두 조건에서 기주에 침입한 선충의 수는 배 이상 차이가 났다(Fig. 28). 이러한 차이는 *Steinernema* sp. GSNUS-6 Isolate와 *Steinernema* sp. GSNUS-14 Isolate에서도 유사한 경향을 보였다(Fig. 30, 31). Steinernematid 선충들의 기주 유무에 따른 침입선충의 수는 기주가 없는 조건에서 현저히 감소하였다. 따라서 토양 해충 방제를 위해 이들을 사용할 경우 처리 당시에 기주곤충이 없을 경우 방제효율이나 지속성에 악영향을 줄 것으로 생각된다. 또한 야외 조건에서 처리한 선충이 국지적으로 patch형

분포를 보이는 것은 이러한 원인에 기인한 것으로 생각된다.

Heterorhabdid 선충들은 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 Isolate를 제외하고, 접종 당시 미끼곤충이 존재할 때나 4일 후에 기주곤충을 빼 내고, 다시 미끼곤충을 투입 하였을 때나 또는 접종 당시 미끼곤충을 투입치 않고, 4일 후 미끼곤충을 투입하였 을 때나 기주에 침입한 선충의 수는 큰 차이를 보이지 않았다(Fig. 32, 33, 34). 이러 한 것은 Heterorhabdid 선충들의 경우 토양깊이나 수분별에 따라 기주에 침입하는 선충의 수가 크게 차이가 나지 않는 것과 같은 이유로 생각된다. 즉, Heterorhabdid 선충들은 기주 침입 후 1세대 때에는 자용동체로 발육하여 Steinernematid 선충들에 비하여 빠르고, 많은 수의 자손을 증식시킬 수 있기 때문으로 생각된다.

GSNUS-2

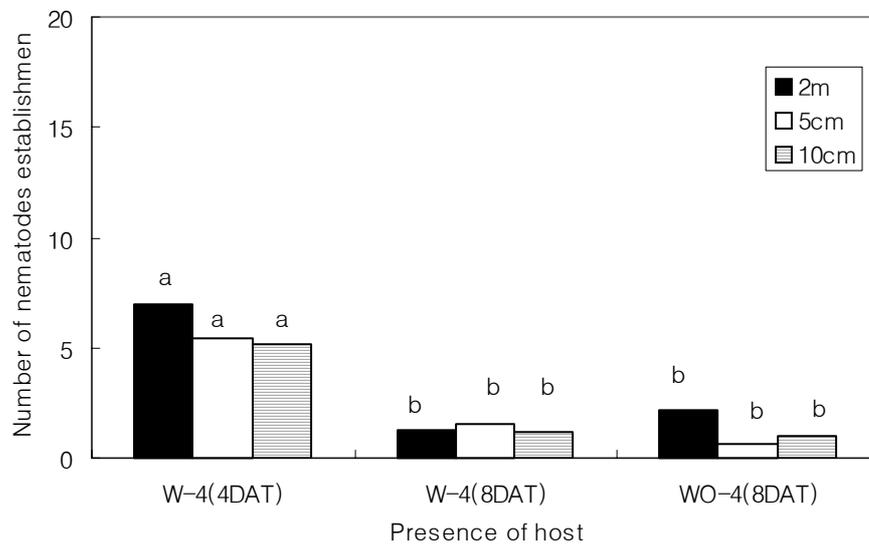


Fig. 27. Number of established nematodes at various sand column depth and presence or absence of hosts in the first 4 days. W-4(4DAT) 4 days after treatment with presence of host introduced at the day of treatment. W-4(8DAT) 8 days after treatment. WO-4(8DAT) 8 days after treatment with absence of host during first 4 days.

GSNUS-3

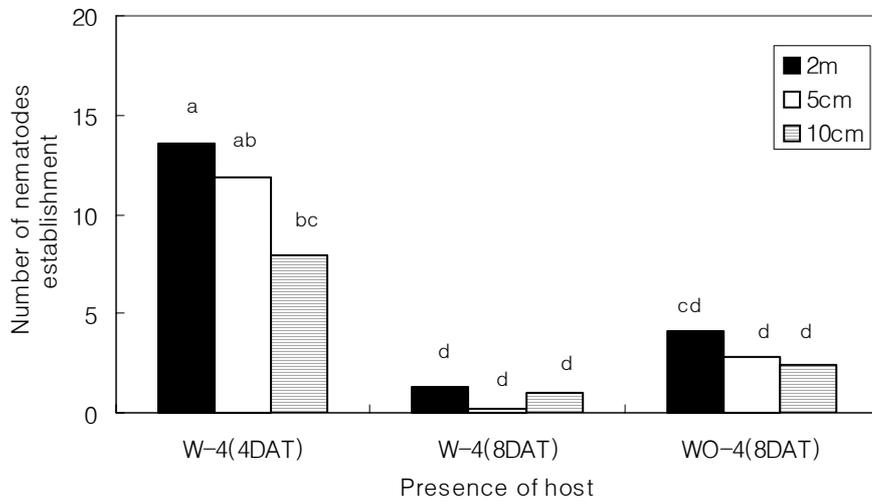


Fig. 28. Number of established nematodes at various sand column depth and presence or absence of hosts in the first 4 days.

GSNUS-4

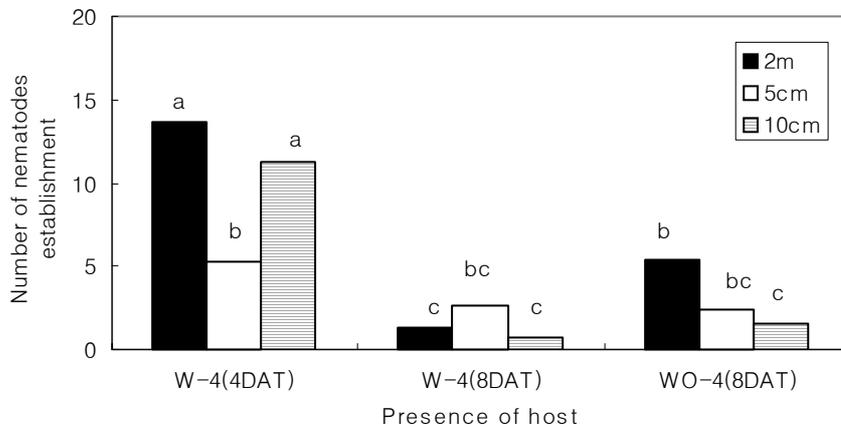


Fig. 29. Number of established nematodes at various sand column depth and presence or absence of hosts in the first 4 days.

GSNUS-6

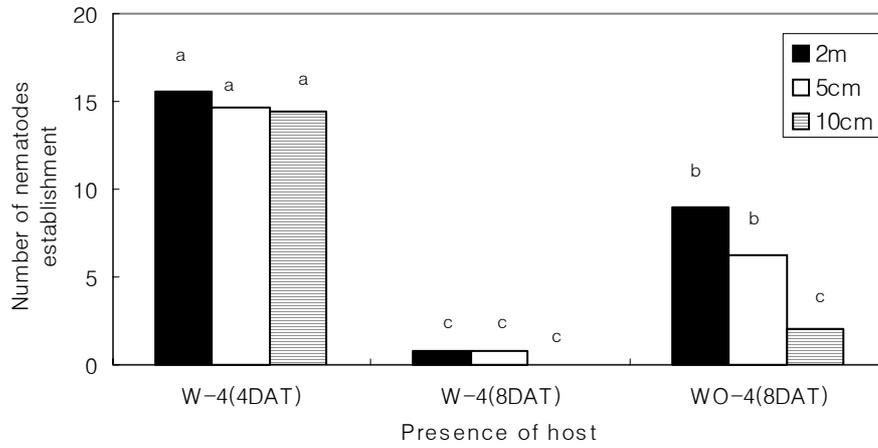


Fig. 30. Number of established nematodes at various sand column depth and presence or absence of hosts in the first 4 days.

GSNUS-14

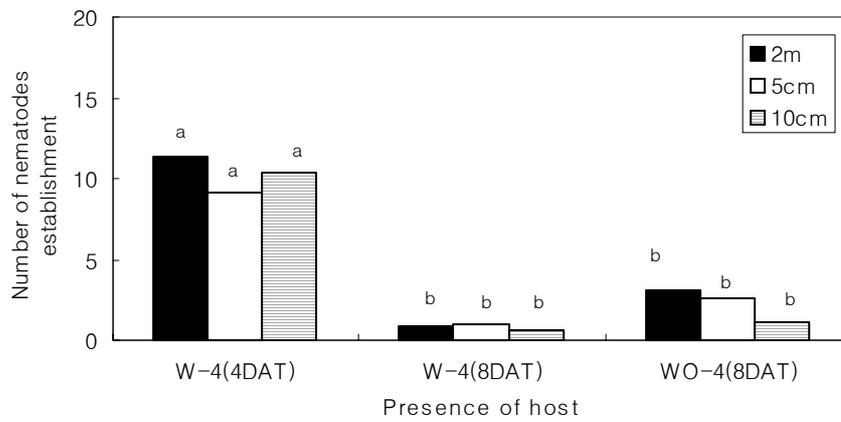


Fig. 31. Number of established nematodes at various sand column depth and presence or absence of hosts in the first 4 days.

GSNUH-1

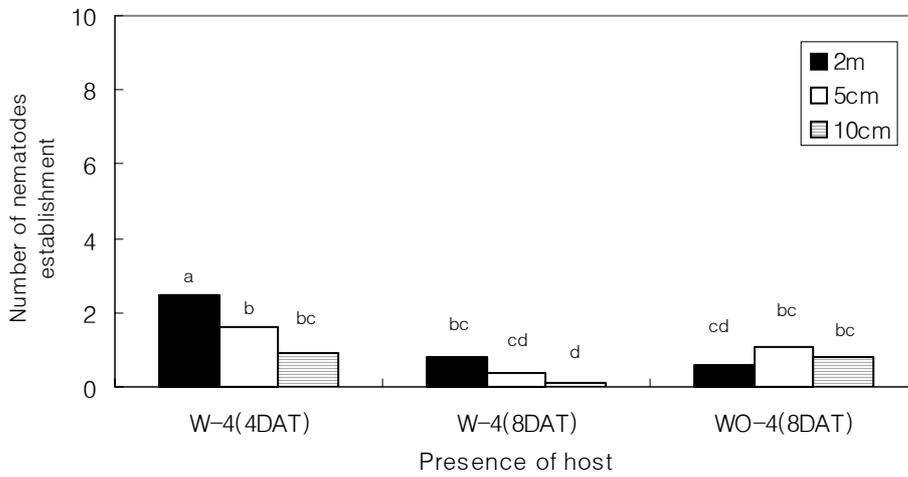


Fig. 32. Number of established nematodes at various sand column depth and presence or absence of hosts in the first 4 days.

GSNUH-2

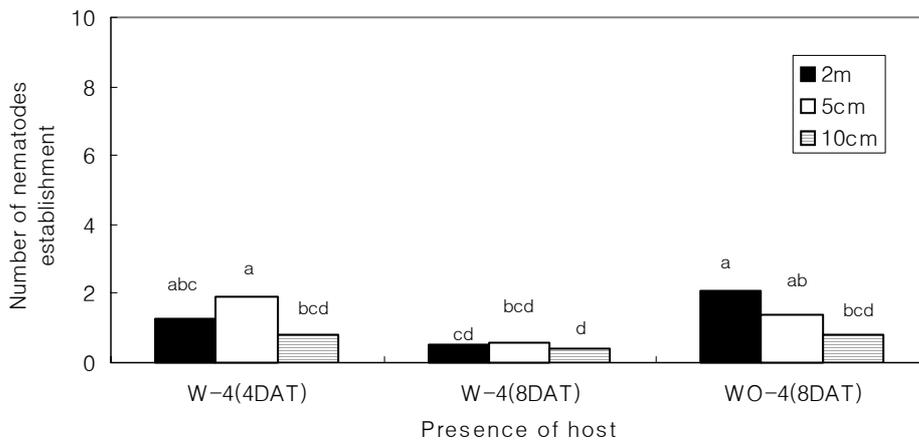


Fig. 33. Number of established nematodes at various sand column depth and presence or absence of hosts in the first 4 days.

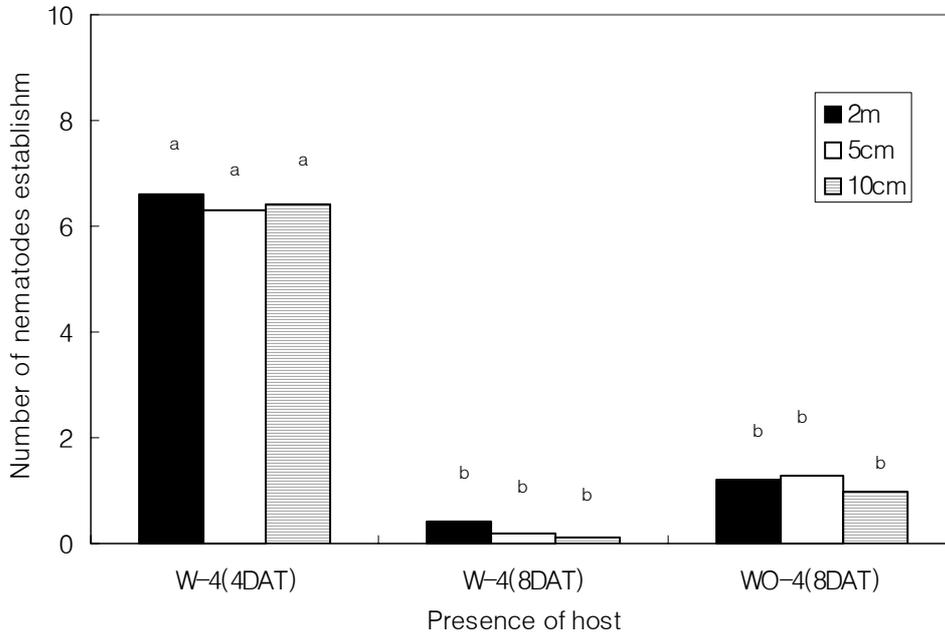


Fig. 34. Number of established nematodes at various sand column depth and presence or absence of hosts in the first 4 days.

### 3. 자외선과 직사광선이 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충에 미치는 영향

#### 가. 재료 및 방법

1) 자외선과 직사광선이 선충의 생존에 미치는 영향 : 자외선이 선충의 생존에 미치는 영향을 알아보기 위하여 직경 9 cm petri dish에 200 Ijs/ml 농도로 10 ml의 선충을 채웠다. 각 petri dish는 두 부류로 나누어 한 부류는 가정용 호일로 외부의 빛이나 UV 파장이 들어가지 못하도록 petri dish를 싸고, 다른 한 부류는 UV에 노출되도록 petri dish의 뚜껑을 열어두었다. 각 petri dish는 크린벤치 내에서 30W UV 램프를 이용하여 10분, 30분, 60분 동안 조사시키고, 이후에 선충의 생존수를 현

미경하에서 계수하였다. 실험에 이용한 곤충병원성선충은 *Steinernema* sp. GSNUS-14 Isolate와 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 Isolate, *S. carpocapsae* GSN1 계통, *S. glaseri* Dongrae 계통, *S. longicaudum* Nonsan 계통, *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통으로 꿀벌부채명나방 노숙유충에서 증식시켜 White trap으로 수확한 다음 13°C 냉장고에 보관해오던 2주 이내의 것을 이용하였다.

직사광선이 곤충병원성선충에 미치는 영향을 알아보기 위하여 두 차례에 걸쳐 실험을 수행하였는데 1차는 사철나무에서 차광조건을 달리하여 실험을 수행하였고, 2차는 엽채류 앞에서 처리 시간을 달리하여 실험을 수행하였다. 1차 실험은 1.5 m 높이의 사철나무 수벽을 대상으로 4월 23일 수행하였다. 2 m 크기의 시험구를 선정하고 다음 차광망을 이용하여 직사광선을 차광시켰는데 차광조건은 차광율 35% 차광막과 55%, 75% 차광막 및 모기장을 이용한 차광을 하였으며 대조구는 차광을 시키지 않았다. 각 처리구에는 *S. carpocapsae* GSN1 계통을 10만 Ijs/m<sup>2</sup> 량으로 구당 20만 마리를 가정용 스프레이로 살포하였는데 살포시간은 오전 9시, 오후 2시, 오후 6시였다. 살포 후 지표면으로부터 20 cm, 50 cm, 1 m 높이에서 각 처리구당 10개의 잎을 채취한 다음 살아있는 선충의 수를 조사하였다. 처리당일의 평균온도는 13.1°C였고, 최고온도는 21.8°C였으며 평균 풍속은 1.6 m/sec, 운량은 1.5였다.

2차 실험은 엽채류 앞에서 선충의 지속성을 조사하였는데 배추와 케일, 양배추에서 실험을 수행하였다. 각각의 작물은 파종 후 30, 50, 60일 경과 된 유묘에서 수행하였는데 *S. carpocapsae* GSN1 계통을 10만 Ijs/m<sup>2</sup> 량으로 살포한 다음 1시간, 6시간, 12시간 후에 엽당 살아있는 선충의 수를 현미경하에서 조사하였다. 선충의 처리는 오전 9시와 오후 2시, 오후 6시에 하였다.

2) 자외선과 직사광선 노출이 선충의 병원성에 미치는 영향 : 자외선이 곤충병원성선충의 병원성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 세 차례에 걸쳐 실험을 수행하였는데 1차 실험은 직경 9 cm petri dish에 1,000 Ijs/ml 농도로 10 ml의 선충을 채웠다. 각 petri dish는 가정용 호일로 외부의 빛이나 UV 파장이 들어가지 못하도록 petri dish를 싼 다음 크린벤치 내에서 30W UV 램프를 이용하여 0분, 10분, 30분 동안 조사시키고, 이후에 0.1 ml의 선충을 피펫으로 뽑아내어 살균수 0.9 ml와 섞어 직경 9 cm Petri dish에 여과지 1매를 깔고, 고루 접종시켰다. 여기에 5령 1일째 누에를 한 마리씩 넣은 다음 2일 후에 치사유무를 조사하였다. 실험에 이용한 곤충병원성선

충은 *Steinernema* sp. GSNUS-14 Isolate와 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 Isolate, *S. carpocapsae* GSN1 계통, *S. glaseri* Dongrae 계통, *S. longicaudum* Nonsan 계통, *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통으로 꿀벌부채명나방 노숙유충에서 증식시켜 White trap으로 수확한 다음 13°C 냉장고에 보관해오던 2주 이내의 것을 이용하였다.

2차 실험은 직사광선 조사가 곤충병원성선충의 병원성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 *S. carpocapsae* GSN1 계통을 이용하여 실험을 수행하였다. 직경 9 cm petri dish에 1,000 Ijs/ml 농도로 10 ml의 선충을 채웠다. 2,000 Lux 이상의 직사광선이 내려찍는 그늘이 지지 않는 곳에 각 petri dish를 0분, 10분, 30분, 60분 동안 조사시켰다. 이후에 0.1 ml의 선충을 피펫으로 뽑아내어 살균수 0.9 ml와 섞어 직경 9 cm petri dish에 여과지 1매를 깔고, 고루 집종시켰다. 여기에 5령 1일째 누에를 한 마리씩 넣은 다음 2일 후에 치사유무를 조사하였다.

3차 실험은 뽕나무 잎에 *S. carpocapsae* GSN1 계통을 10만 Ijs/m<sup>2</sup> 량으로 엽면에 선충을 살포한 다음, UV 과장만 차단하는 비닐을 덮은 뒤 야외에 둔 뒤, 각각 0분, 30분, 60분 동안 직사광선에 노출시켰다. 1시간 후 각 처리 된 뽕잎은 4령 2일째 누에 50마리씩을 넣은 플라스틱 바구니에 급상시켜 누에의 치사유무를 조사하였다.

#### 나. 결과

1) 자외선과 직사광선이 선충의 생존에 미치는 영향 : 자외선 노출은 곤충병원성선충의 생존에 큰 영향을 미쳤다(Table 43).

*S. glaseri* Dongrae 계통과 *S. longicaudum* Nonsan 계통을 제외하고는 UV-C에 60분간 노출 시 100% 치사되었다. 자외선에 대한 선충의 생존율은 선충의 종류별에 따라서도 상이하게 나타났다. 즉, *Steinernema* sp. GSNUS-14 Isolate와 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 Isolate는 UV-C에 10분 노출 시에는 선충이 치사되지 않았지만 *S. carpocapsae* GSN1 계통은 노출 10분 후에 50.6%가 치사되었다. UV-C에 30분간 노출 시 *S. glaseri* Dongrae 계통과 *S. longicaudum* Nonsan 계통, *Steinernema* sp. GSNUS-14 Isolate는 60% 이상의 생존율을 보였지만 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 Isolate나 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통, *S. carpocapsae* GSN1 계통은 1%대 이하의 낮은 생존율을 보였다.

Table 43. Effect of UV-exposure time on mortality of entomopathogenic nematodes in petri dish

UV-exposure time(min)	% alive					
	<i>H. sp.</i> Gyeongsan	<i>H. sp.</i> GSNUH-1	<i>S. carpocapsae</i> GSN1	<i>S. glaseri</i> Dongrae	<i>S. longicaudum</i> Nonsan	<i>S. sp.</i> GSNUS-14
10	87.0	100	49.4	88.1	87.3	100
30	0	1.3	0.9	86.6	61.3	76.7
60	0	0	0	0.4	0.2	0

선충의 하루 중 처리시간대와 차광조건 및 잎의 위치는 사철나무 잎에서 곤충병원성선충 *S. carpocapsae* GSN1 계통의 지속성에 영향을 미쳤다. 오전 9시나 오후 2시 처리의 경우 처리 6시간 경과 후에는 9시 처리의 75% 차광막 조건을 제외하고는 살아있는 선충이 없었다(Table 44).

오후 6시 처리의 경우 처리 12시간 후에 엽당 0.08 마리의 선충이 생존하였다. 차광의 정도가 높아질수록 생존 선충의 수는 대체적으로 증가하는 경향을 보였다. 그리고 지표면에 근접한 부분의 엽이 상위 엽에 비하여 선충의 지속성이 높았다. 처리 시간대별에 따른 선충의 생존 수는 처리 30분 후까지는 오전 9시 처리가 오후 2시 처리나 오후 6시 처리에 비하여 비교적 높게 나타났다. 이는 오전 9시 처리의 경우 야간 동안에 내린 이슬이 잎에 잔존하여 오후 6시 처리에 비하여 초기에 선충의 건조를 막는데 기여하였기 때문으로 생각된다. 한편 오전 9시 처리의 경우 1시간 후에 엽당 1마리 내외가 되었으나 오후 두시 처리의 경우 처리 30분 후에도 엽당 1마리대로 감소하였다. 이는 오후 2시의 경우 강한 일사량에 의한 건조와 높은 자외선 수치 등에 기인한 것으로 생각된다. 오후 6시 처리의 경우 처리 12시간에도 선충이 생존하였으나 생존 수는 매우 낮아 엽당 1.7마리 이하였다. 차광정도에 따른 선충의 생존 수는 오후 두시 처리의 60분경과 후 조사에서는 차광 정도가 높을수록 생존 선충수가 높은 경향을 보였으나 전반적으로 큰 차이를 보이지 않았다. 이는 차광막이 태양광선을 차단 시켜 UV로부터 선충을 보호해 주지만 건조를 충분히 막을 수 없기 때문으로 생각된다.

Table 44. Persistence of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain on *Euonymus japonica* leaves in field

Treatment time	Shading condition	Leaf position	Mean number of alive nematodes/10 leaves $\pm$ SE					
			10 min.	30 min.	60 min.	360 min.	720 min.	
9 am	0	U	43.0 $\pm$ 2.4a-d	22.0 $\pm$ 3.3a	10.0 $\pm$ 3.5bc	0e	0f	
	0	M	39.0 $\pm$ 5.5a-e	23.8 $\pm$ 2.9a	16.0 $\pm$ 4.3a-c	0e	0f	
	0	D	33.8 $\pm$ 7.5a-e	23.3 $\pm$ 4.0a	8.3 $\pm$ 2.0c	0e	0f	
	Insect net	U	51.3 $\pm$ 8.3ab	18.5 $\pm$ 3.5a	12.0 $\pm$ 1.7bc	0e	0f	
	Insect net	M	57.0 $\pm$ 11.6a	21.5 $\pm$ 4.2a	10.3 $\pm$ 1.6bc	0e	0f	
	Insect net	D	33.0 $\pm$ 6.3a-e	25.5 $\pm$ 4.2a	10.8 $\pm$ 1.5bc	0e	0f	
	35	U	46.0 $\pm$ 6.5a-c	30.0 $\pm$ 5.4a	8.5 $\pm$ 2.1bc	0e	0f	
	35	M	35.5 $\pm$ 7.2a-e	21.5 $\pm$ 2.1a	10.3 $\pm$ 1.6bc	0e	0f	
	35	D	30.8 $\pm$ 4.5a-e	27.5 $\pm$ 4.5a	17.0 $\pm$ 4.4a-c	0e	0f	
	55	U	36.0 $\pm$ 8.8a-e	26.0 $\pm$ 6.9a	16.3 $\pm$ 4.6a-c	0e	0f	
	55	M	32.3 $\pm$ 4.2a-e	28.0 $\pm$ 8.4a	13.8 $\pm$ 4.4a-c	0e	0f	
	55	D	34.0 $\pm$ 7.2a-e	26.0 $\pm$ 6.4a	10.0 $\pm$ 2.7bc	0e	0f	
	75	U	31.0 $\pm$ 2.4a-e	22.0 $\pm$ 3.1a	14.0 $\pm$ 2.2a-c	0e	0f	
	75	M	35.5 $\pm$ 6.0a-e	22.0 $\pm$ 3.5a	10.8 $\pm$ 2.7bc	0.5 $\pm$ 0.5de	0f	
	75	D	51.0 $\pm$ 8.0ab	23.0 $\pm$ 2.2a	9.0 $\pm$ 2.6bc	0e	0f	
	2 pm	0	U	22.3 $\pm$ 3.7c-e	14.3 $\pm$ 2.3a	8.0 $\pm$ 1.9c	0e	0f
		0	M	17.3 $\pm$ 2.2de	16.3 $\pm$ 2.0a	9.5 $\pm$ 1.6bc	0e	0f
		0	D	23.8 $\pm$ 4.4c-e	16.3 $\pm$ 1.8a	9.8 $\pm$ 1.0bc	0e	0f
Insect net		U	16.3 $\pm$ 2.5de	13.5 $\pm$ 2.4a	10.8 $\pm$ 0.5bc	0e	0f	
Insect net		M	20.3 $\pm$ 2.9c-e	18.3 $\pm$ 2.2a	14.8 $\pm$ 1.7a-c	0e	0f	
Insect net		D	18.0 $\pm$ 2.1de	14.3 $\pm$ 2.4a	11.5 $\pm$ 1.5bc	0e	0f	
35		U	14.5 $\pm$ 2.3e	15.3 $\pm$ 3.7a	9.3 $\pm$ 0.9bc	0e	0f	
35		M	17.8 $\pm$ 3.2de	12.5 $\pm$ 2.6a	16.3 $\pm$ 3.0a-c	0e	0f	
35		D	18.5 $\pm$ 1.9de	12.8 $\pm$ 1.8a	13.3 $\pm$ 2.5bc	0e	0f	
55		U	14.0 $\pm$ 2.7e	18.0 $\pm$ 1.7a	14.8 $\pm$ 4.2a-c	0e	0f	
55		M	19.3 $\pm$ 2.5c-e	20.0 $\pm$ 0.8a	9.3 $\pm$ 2.5bc	0e	0f	
55		D	16.0 $\pm$ 1.6de	18.3 $\pm$ 2.6a	10.5 $\pm$ 1.9bc	0e	0f	
75		U	17.5 $\pm$ 3.5de	15.0 $\pm$ 2.8a	11.5 $\pm$ 2.4bc	0e	0f	
75		M	22.0 $\pm$ 3.2c-e	19.3 $\pm$ 1.5a	13.5 $\pm$ 1.9a-c	0e	0f	
75		D	20.8 $\pm$ 2.7c-e	18.3 $\pm$ 3.8a	11.5 $\pm$ 2.9bc	0e	0f	

\*Means in each column followed by the same letter are not significantly different at 5% level by Tukey's studentized range test.

Table 44. Persistence of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain on *Euonymus japonica* leaves in field(continued)

Treatment time	Shading condition	Leaf position	Mean number of alive nematodes/10 leaves $\pm$ SE				
			10 min.	30 min.	60 min.	360 min.	720 min.
6 pm	0	U	26.0 $\pm$ 4.2b-e	18.3 $\pm$ 2.2a	12.3 $\pm$ 1.3bc	9.8 $\pm$ 2.5bc	4.3 $\pm$ 1.6c-f
	0	M	28.3 $\pm$ 1.1b-e	18.8 $\pm$ 2.0a	9.5 $\pm$ 0.5bc	8.8 $\pm$ 1.3bc	5.0 $\pm$ 1.1b-f
	0	D	28.5 $\pm$ 3.0b-e	19.3 $\pm$ 3.4a	9.3 $\pm$ 2.2bc	7.0 $\pm$ 2.1c-e	2.0 $\pm$ 0.9ef
	Insect net	U	21.0 $\pm$ 4.7c-e	17.0 $\pm$ 4.3a	9.3 $\pm$ 1.1bc	7.8 $\pm$ 1.8cd	5.3 $\pm$ 1.4b-f
	Insect net	M	25.3 $\pm$ 3.7b-e	21.3 $\pm$ 1.5a	12.0 $\pm$ 1.2bc	8.8 $\pm$ 0.8bc	4.3 $\pm$ 1.7c-f
	Insect net	D	19.8 $\pm$ 2.0c-e	18.3 $\pm$ 3.6a	15.3 $\pm$ 1.6a-c	7.3 $\pm$ 3.4c-e	1.8 $\pm$ 0.9ef
	35	U	22.5 $\pm$ 0.7c-e	17.0 $\pm$ 2.5a	10.8 $\pm$ 2.0bc	7.0 $\pm$ 1.2c-e	3.8 $\pm$ 1.3d-f
	35	M	28.0 $\pm$ 6.3b-e	17.3 $\pm$ 4.2a	17.0 $\pm$ 4.1a-c	11.8 $\pm$ 1.5a-c	5.5 $\pm$ 1.3b-f
	35	D	29.8 $\pm$ 4.7b-e	22.8 $\pm$ 1.6a	18.5 $\pm$ 2.1a-c	11.3 $\pm$ 3.1a-c	6.3 $\pm$ 1.3a-e
	55	U	28.3 $\pm$ 4.4b-e	26.0 $\pm$ 1.9a	21.5 $\pm$ 4.9a-c	13.3 $\pm$ 2.3a-c	10.0 $\pm$ 3.1a-c
	55	M	37.5 $\pm$ 2.5a-e	28.8 $\pm$ 4.0a	28.8 $\pm$ 3.2a	18.5 $\pm$ 3.7a	10.5 $\pm$ 3.3ab
	55	D	34.3 $\pm$ 3.0a-e	31.5 $\pm$ 2.2a	18.5 $\pm$ 3.0a-c	14.0 $\pm$ 1.5a-c	6.8 $\pm$ 2.3a-e
	75	U	26.5 $\pm$ 3.4b-e	16.3 $\pm$ 1.9a	18.3 $\pm$ 4.6a-c	15.8 $\pm$ 1.8ab	12.0 $\pm$ 1.1a
	75	M	38.0 $\pm$ 1.2a-e	28.0 $\pm$ 6.2a	23.8 $\pm$ 2.2ab	15.3 $\pm$ 2.0ab	9.0 $\pm$ 2.0a-d
	75	D	39.8 $\pm$ 2.6a-e	30.8 $\pm$ 1.7a	16.5 $\pm$ 3.9a-c	13.3 $\pm$ 2.9a-c	6.0 $\pm$ 1.6b-e

Schroer and Ehlers (2005)는 배추 잎에서 Sc의 반수치사시간 (LT<sub>50</sub>)이 상대습도 80%에 비하여 상대습도 60%에서 9배 이상 짧다고 하여 건조가 선충의 생존에 큰 영향을 끼쳤다. 사철나무 잎은 엽 표면이 매우 매끄럽게 되어 물 부착능력이 배추 잎과 같이 작은 털들이 많은 잎보다는 감소하기 때문에 건조의 정도가 빠를 것으로 생각된다.

엽채류 잎에서 선충의 지속성을 조사한 결과 엽채류의 종류나 처리시간, 생육일수에 따라 곤충병원성선충의 지속성에 차이를 보였다(Table 45). 엽채류 종류별로는 배추에서 지속성이 가장 좋았고, 양배추에서 지속성이 가장 낮았다. 처리시간대별로는 오후 6시 처리에서 처리 후 12시간까지 선충이 엽에서 생존하였으나 오전 9시 처리와 오후 2시 처리의 경우 처리 6시간 후에도 선충의 생존수가 현저히 줄어들었다. 엽채류의 생장 일수별에 따른 선충의 지속성은 생육 일수가 많은 식물체의 잎에서 생존 선충의 수가 많았다. 한편 처리 1시간 후의 엽채류 잎에서 선충의 생존 수는 처리 시간에 관계없이 일정한 생존수를 보였다. 케일이나 양배추의 경우 배추에 비하여 엽 표면이 매끈하게 되어 살포된 선충이 부착 할 수 있는 여건이 불완전하여 물이 흘러내리기 쉽고, 수분 증발도 쉬울 것으로 생각된다.

Table 45. Persistence of entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain on leaf of different vegetable

Treatment time	Time after treatment	Vegetable	Number of alive nematode $\pm$ SD		
			30 day old-plant	50 day old-plant	60 day old-plant
am 9	1hr.	Chinese cabbage	30.2 $\pm$ 12.1	121.7 $\pm$ 54.1	150.4 $\pm$ 58.1
		Kale	1.7 $\pm$ 1.7	27.3 $\pm$ 37.9	94.2 $\pm$ 57.1
		Cabbage	1.2 $\pm$ 1.1	6.1 $\pm$ 6.8	22.6 $\pm$ 18.1
	6hr.	Chinese cabbage	0	0.1 $\pm$ 0.3	1.1 $\pm$ 2.6
		Kale	0	0	0.1 $\pm$ 0.3
		Cabbage	0	0	0
	12hr.	Chinese cabbage	0	0	0
		Kale	0	0	0
		Cabbage	0	0	0
pm 2	1hr.	Chinese cabbage	30.0 $\pm$ 16.7	73.4 $\pm$ 53.6	115.0 $\pm$ 81.2
		Kale	0.1 $\pm$ 0.3	9.8 $\pm$ 15.1	86.3 $\pm$ 144.1
		Cabbage	2.2 $\pm$ 2.3	12.9 $\pm$ 15.5	14.8 $\pm$ 15.5
	6hr.	Chinese cabbage	0	0.1 $\pm$ 0.3	1.1 $\pm$ 2.6
		Kale	0	0	0.1 $\pm$ 0.3
		Cabbage	0	0	0
	12hr.	Chinese cabbage	0	0	0
		Kale	0	0	0
		Cabbage	0	0	0
pm 6	1hr.	Chinese cabbage	36.8 $\pm$ 9.2	110.3 $\pm$ 53.6	134 $\pm$ 75.0
		Kale	1.2 $\pm$ 1.0	9.4 $\pm$ 14.6	22.7 $\pm$ 27.9
		Cabbage	4.6 $\pm$ 5.2	3.7 $\pm$ 4.3	26.8 $\pm$ 30.4
	6hr.	Chinese cabbage	30.0 $\pm$ 12.5	64.8 $\pm$ 32.0	67.6 $\pm$ 57.1
		Kale	2.1 $\pm$ 2.6	6.2 $\pm$ 6.3	19.6 $\pm$ 14.8
		Cabbage	4.1 $\pm$ 5.4	2.8 $\pm$ 4.1	11.3 $\pm$ 12.4
	12hr.	Chinese cabbage	16.5 $\pm$ 6.2	61.9 $\pm$ 35.2	11.8 $\pm$ 23.7
		Kale	0.5 $\pm$ 0.5	3.8 $\pm$ 3.3	7.0 $\pm$ 4.9
		Cabbage	1.3 $\pm$ 1.5	2.2 $\pm$ 2.8	6.3 $\pm$ 5.6

따라서 상대적으로 선충의 지속성이 떨어진 것으로 생각된다. 아울러 어린 묘 일 수록 선충의 지속성이 떨어지는 것도 엽면적이 좁기 때문에 상대적으로 표면의 수분이 건조가 빨리되기 때문으로 생각된다.

2) 자외선과 직사광선 노출이 선충의 병원성에 미치는 영향 : 자외선이 곤충병원성선충의 병원성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실험한 결과 UV-C 파장에 10분간만 노출시켜도 곤충병원성선충의 병원성이 크게 감소하였고, 30분 노출 시 *S. glaseri* Dongrae 계통을 제외하고는 병원성을 상실하였다(Table 46).

Table 46. Effect of UV exposure time on pathogenicity of entomopathogenic nematodes against 3rd instar of *Bombyx mori*

Exposure time(min)	% mortality						
	ScG*	S 223	SgD	H 202	SIN	HG	Control
0	100	73.0	100	30	93.3	13.3	0
10	3.3	0	3.3	6.7	3.3	6.7	0
30	0	0	3.3	0	0	0	0

\*S; *Steinenema*, H; *Heterorhabditis*.

반면 직사광선 노출의 경우 노출 60분 까지 병원성을 유지하였는데 전착제를 첨가할 경우, 무첨가에 비하여 치사율이 증가하였다(Table 47).

Table 47. Effect of sun light exposure time on pathogenicity of entomopathogenic nematode, *Steinernem capocapsae* GSN1 strain against 3rd instar of *Bombyx mori*

Exposure time(min)	% mortality	
	With spreading agent	Without spreading agent
0	100	100
10	97.6	87.8
30	97.6	75.6
60	75.6	2.5

자외선 차단 시간별에 다른 *Steinernem carpocapsae* GSN1 계통의 누에에 대한 병원성은 자외선 차단 시간이 길수록 높아지는 경향이었지만 큰 차이는 나지 않았다 (Fig. 35).

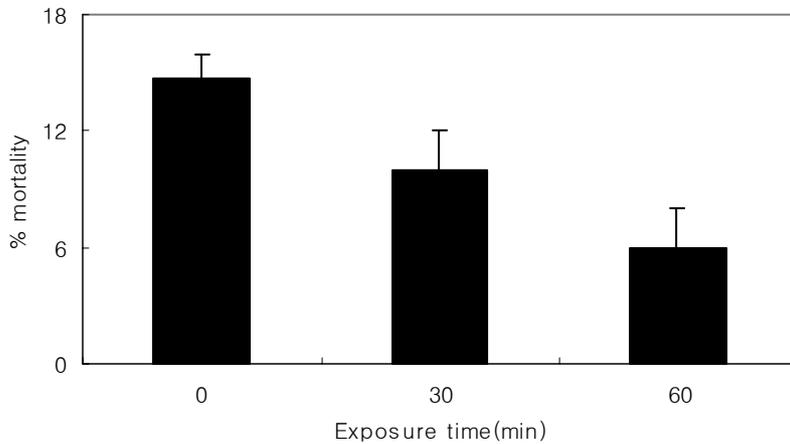


Fig. 35. Effect of UV exposure time on pathogenicity of entomopathogenic nematode, *Steinernem carpocapsae* GSN1 strain against 4th instar of *Bombyx mori*.

#### 4. Steinernematid와 Heterorhabditid 선충이 유용곤충에 미치는 영향

##### 가. 재료 및 방법

1) 벌에 대한 안전성 검정 : 벌에 대한 곤충병원성선충의 안전성 검정은 호박벌을 이용하여 수행하였다. 호박벌을 한 마리씩 아크릴 케이지에 방사한 다음 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Heterorhabditis* sp. KCTC 0991BP 계통을 10만마리/m<sup>2</sup> 농도로 가정용 스프레이를 이용하여 살포하였다. 벌이 지표면에 착지하게 하기 위해 바닥에 여과지 두 장을 깔고, 화분을 petri dish에 놓아 먹이로 공급하였다. 선충 살포 후 5분, 10분, 15분이 경과한 뒤 각 벌들을 꿀과 화분, 물이 들어있는 케이지로 옮겨주었다. 이후 매일 치사 유무와 선충에 의한 감염여부를 조사하였다.

2) 개미에 대한 안전성 검정 : 곤충병원성선충이 개미에 미치는 영향을 알아보

기 위하여 선충에 감염시킨 꿀벌부채명나방 치사충을 이용하였다. 치사체 곤충 준비를 위하여 곤충병원성 선충을 이용한 치사체로 꿀벌부채명나방 (*Galleria mellonella*) 유충을 이용하였다. 그리고 꿀벌부채명나방은 인공사료를 이용하여 (Lee, 2003) 실험실에서 사육하였다. 곤충병원성 선충은 *Steinernema carpocapsae* KCTC 0981BP (Sc)계통과 *Heterorhabditis* sp. KCTC 0991BP (He)계통을 실험에 이용하였다. Sc는 미끼법을 이용하여 분리한 계통이었고 (Bedding and Akhurst, 1975), He는 등얼룩풍뎡이 유충 치사체에서 분리한 계통이었다 (Choo *et al.*, 1995). 선충은 Dutky *et al.* (1964)의 방법으로 증식하여 White trap을 설치, 수거하여 10 °C 냉장고에 보관하였으며 수확한지 21일 이내의 것만 실험에 이용하였다 (Kaya and Stock, 1997).

Sc 및 He에 감염된 치사충들은 직경 8.5 cm petri dish에 여과지(Whatman #2) 한 장씩을 깔고, 1,000 Ijs/ml 농도의 Sc와 He를 각각 1 ml 집종하였다. 여기에 꿀벌부채명나방 유충 10마리씩을 넣고, 25°C 항온기에 5일간 보관한 후 곤충병원성 선충에 의한 치사체를 실험에 이용하였다. 골프장내 이들 치사충의 처리는 다음과 같이 하였다. 치사체는 옆 부분 사방에 1 cm 내외의 구멍을 뚫은 petri dish (직경 8.5cm) 바닥면에 원형으로 각각의 치사체 1마리씩을 무작위로 배열하였다. 10개의 petri dish를 한 반복으로 하여 3반복으로 수행하였다. petri dish에 치사충을 배열하기 전 각각의 치사요인별 사체는 유성펜 (Namepen, Monami)으로 색깔을 달리 표시하여 구분하였다. 실험은 2004년 6월 14일 동래베네스트골프장의 4번 홀 페어웨이와 러프에서 수행하였다. 선충 치사체 처리에 대한 대조구로는 실험 1일전에 골프장 잔디해충 방제용으로 등록되어 있는 fenitrothion EC로 치사시킨 꿀벌부채명나방 유충 사체와 꿀벌부채명나방 사육과정에서 자연치사 된 사체를 이용하였다. 따라서 한 개의 petri dish 안에는 Sc치사충, He치사충, fenitrothion치사충, 자연치사충 각 1개체가 임의로 배열되었다. 배열을 끝낸 petri dish는 러프와 페어웨이 부분의 경계선에서 2 m 거리를 두고, 10 m 간격으로 배치하였다. 골프들의 경기가 끝난 오후 4시에 처리하고는 2시간 간격으로 개미가 물고 간 치사체와 개미의 종 및 수 등을 조사하였다. 조사는 골프들의 경기가 시작되기 전인 아침 8시까지 16시간 동안 수행하였다.

3) 지렁이에 대한 안전성 검정 : 지렁이에 대한 안전성 검정을 위하여 붉은줄지렁이를 이용하여 실험을 수행하였다. 실험은 실내실험과 온실실험, 야외실험을 병행하여 수행하였다. 실내실험은 17 cm × 10.5 cm × 7.0 cm 크기의 플라스틱 화분에 골

프장에서 채취한 토양을 채운다음 포화 상태로 물을 주었다. 여기에 붉은줄지렁이 10마리씩을 넣고, 토양내로 모두 잠입하기를 기다린 다음, 곤충병원성선충을 10만마리/m<sup>2</sup> 농도로 가정용 스프레이를 이용하여 살포하였다. 살포 후 각 화분은 모기장을 이용하여 탈출을 방지하기 위하여 윗부분을 막았다. 일주일 후, 선충에 의한 치사유무를 조사하였다. 온실실험은 시설하우스에서 수행하였는데 1 m<sup>2</sup> 크기로 합판을 이용하여 구역을 설정한 다음, 붉은줄지렁이를 20마리씩을 넣고, 토양내로 모두 잠입하기를 기다린 다음, 곤충병원성선충을 10만마리/m<sup>2</sup> 농도로 10 l의 물과 함께 가정용 물조리기로 관주하였다. 야외에서 실험은 동래골프장 4번 러프에서 수행하였는데 100 × 100 cm 크기로 시험구를 정한 다음 25 × 25 cm내에 있는 지렁이의 수를 조사한 다음 곤충병원성선충을 10만마리/m<sup>2</sup> 농도로 4 l의 물과 함께 가정용 물조리기로 관주하였다. 곤충병원성선충은 *Steinernema carpocapsae* GSN1 계통과 *Heterorhabditis* sp. Gyeongsan 계통을 이용하였다.

#### 4) 포식성 천적에 미치는 영향

곤충병원성선충 : 실험에 이용한 곤충병원성선충은 *S. carpocapsae* GSN1 계통 (ScG)으로 꿀벌부채명나방(*Galleria mellonella*) 유충을 미끼로 하여 Bedding과 Akhurst(1975)의 방법으로 토양에서 분리한 것으로 순수 분리한 선충은 다시 꿀벌부채명나방 노숙유충에서 Dutky 등(1964)의 방법으로 대량증식 하였다. 증식한 선충은 White trap을 이용하여 수확한 후 약 10,000마리/ml 농도로 500 ml 용량의 tissue culture container에 50 ml씩 넣어 10℃ 냉장고에 보관하였다. 실험에는 수확한지 14일 이내의 선충을 이용하였다(Kaya와 Stock 1997).

ScG가 온실가루이 천적 온실가루이좀벌에 미치는 영향 : 온실가루이좀벌(*Encarsia formosa*) 머미와 성충에 대한 ScG의 영향을 조사하기 위하여 직경 5 cm 필터페이퍼 한 장이 깔려있는 직경 5.5 cm, 높이 1.5 cm petri dish에 온실가루이좀벌에 기생된 초기 머미 10개체를 제외한 나머지 온실가루이 약충과 기타 좀벌을 제거한 직경 5cm 담배 잎과 성충 10마리씩을 각각의 petri dish에 넣었다. 그리고 ScG 감염충(3령충)을 10,000마리 농도로 0.5 ml씩 각 petri dish에 접종 후 랩으로 싼 다음 온도 25 ± 3℃, 상대습도 60 ± 5%, 16L : 8D 광주기의 항온항습실에 넣었고 5일 후에 머미와 성충을 각각 꺼내어 해부현미경상에서 해부하여 ScG의 기생유무를 조사하였다. 또한 상기의 방법과 동일하게 온실가루이좀벌 머미에 ScG를 동일한 농도로 처

리한 후 24시간간격으로 매일 머미의 우화 유무를 조사하였다. 실험은 10개체가 들어있는 한 개 petri dish를 1반복으로 5반복 처리하였다.

ScG가 응애 천적 칠레이리응애에 미치는 영향 : 칠레이리응애(*Phytoseiulus persimilis*) 약충과 성충에 대한 ScG의 영향을 조사하기 위하여 직경 5cm 필터페이퍼 한 장이 깔려있는 직경 5.5 cm, 높이 1.5 cm petri dish에 칠레이리응애 약충과 성충을 각각 10마리씩 넣었다. 기타 ScG 처리 및 조사 방법은 온실가루이좀벌 실험과 동일하게 수행하였다.

ScG가 잎굴파리 천적 굴파리좀벌에 미치는 영향 : 굴파리좀벌(*Diglyphus isaea*) 유충, 번데기 및 성충에 대한 ScG의 영향을 조사하기 위하여 직경 5 cm 필터페이퍼 한 장이 깔려있는 직경 5.5 cm, 높이 1.5 cm petri dish에 굴파리좀벌 유충, 번데기 및 성충을 각각 10마리씩 넣었다. 또한 상기의 방법과 동일하게 굴파리좀벌 번데기에 ScG를 동일한 농도로 처리한 후 24시간간격으로 매일 번데기의 우화 유무를 조사하였다. 기타 ScG 처리 및 조사 방법은 칠레이리응애 실험과 동일하게 수행하였다.

ScG가 잎굴파리 천적 잎굴파리고치벌에 미치는 영향 : 잎굴파리고치벌(*Dacnusa sibirica*) 유충, 번데기 및 성충에 대한 ScG의 영향을 조사하기 위하여 직경 5cm 필터페이퍼 한 장이 깔려있는 직경 5.5 cm, 높이 1.5 cm petri dish에 잎굴파리고치벌 유충, 번데기 및 성충을 각각 10개체씩 넣었다. 또한 상기의 방법과 동일하게 잎굴파리고치벌 번데기에 ScG를 동일한 농도로 처리한 후 24시간간격으로 매일 번데기의 우화 유무를 조사하였다. 기타 ScG 처리 및 조사 방법은 굴파리좀벌 실험과 동일하게 수행하였다.

ScG가 진딧물 천적 진디혹파리에 미치는 영향 : 진딧물의 포식성 천적인 진디혹파리(*Aphidoletes aphidimyza*)에 대한 ScG의 영향을 조사하기 위하여 직경 5 cm 필터페이퍼 한 장이 깔려있는 직경 5.5 cm, 높이 1.5 cm petri dish에 알, 유충, 번데기 및 성충을 10개체씩 넣었다. 그리고 ScG 감염충을 10,000마리 농도로 0.5 ml씩 접종하였다. 선충 접종 후 petri dish는 비닐 랩으로 싼 다음 온도 25±3℃, 상대습도 60 ± 5%, 16L : 8D 광주기의 항온항습실에 넣었고 5일 후에 알, 유충, 번데기 및 성충을 각각 꺼내어 해부현미경상에서 해부하여 ScG의 기생유무를 조사하였다. 실험은 각각 10개체가 들어있는 한 개의 petri dish를 1반복으로 5반복 처리하였다.

ScG가 진딧물 천적 무당벌레와 어리줄풀잠자리에 미치는 영향 : 진딧물의 포식성 천적인 무당벌레(*Harmonia axyridis*)와 어리줄풀잠자리(*Chrysoperla carnea*)에 대한 ScG의 영향에 대한 실험은 진디혹파리 실험과 동일하게 수행하였다.

ScG가 진딧물 천적 진디벌류에 미치는 영향 : 곤충병원성 선충 ScG가 싸리진디벌(*Aphidius gifuensis*), 가루진디벌(*Diaeretiella rapae*) 및 콜레마니진디벌(*Aphidius colemani*)에 미치는 영향을 알아보기 위하여 직경 5.5 cm, 높이 1.5 cm 플라스틱 petri dish에 직경 5.0 cm 필터페이퍼 한 장을 깔고 진디벌 머미와 성충을 각각 10개씩 넣었다. 그리고 ScG 감염충을 10,000마리 농도로 각각 0.5 ml씩 처리하였다. 선충 접종 후 petri dish는 비닐 랩으로 싸 다음 온도  $25 \pm 3^\circ\text{C}$ , 상대습도  $60 \pm 5\%$ , 16L : 8D 광주기의 항온항습실에 넣었고 5일 후에 머미와 성충을 각각 꺼내어 해부 현미경상에서 해부하여 ScG의 기생유무를 조사하였다. 또한 상기의 방법과 동일하게 진디벌 머미에 ScG를 동일한 농도로 처리한 후 24시간 간격으로 매일 머미의 우화 유무를 조사하였다. 실험은 각각 10개체가 들어있는 한 개의 petri dish를 1반복으로 5반복 처리하였다.

ScG가 총채벌레 천적 으뜸애꽃노린재에 미치는 영향 : 총채벌레의 포식성 천적인 으뜸애꽃노린재(*Orius strigicollis*)에 대한 ScG의 영향을 조사하기 위하여 직경 5cm 필터페이퍼 한 장이 깔려있는 직경 5.5 cm, 높이 1.5 cm petri dish에 약충과 성충을 각각 10마리씩 넣었다. 그리고 ScG 감염충을 10,000마리 농도로 0.5 ml씩 접종하였다. 선충 접종 후 petri dish는 비닐 랩으로 싸 다음 온도  $25 \pm 3^\circ\text{C}$ , 상대습도  $60 \pm 5\%$ , 16L : 8D 광주기의 항온항습실에 넣었고 5일 후에 유충과 성충을 각각 꺼내어 해부현미경상에서 해부하여 ScG의 기생유무를 조사하였다. 실험은 10마리가 들어있는 한 개의 petri dish를 1반복으로 5반복 처리하였다.

ScG가 총채벌레 천적 오이이리응애에 미치는 영향 : 곤충병원성선충 ScG가 오이이리응애(*Amblyseius cucumeris*) 약충과 성충에 미치는 영향을 알아보기 위하여 직경 5.5 cm 높이 1.5 cm 플라스틱 petri dish에 직경 5.0 cm 필터페이퍼 한 장을 깔고 살균수 0.5 ml을 처리하였다. 그리고 약충과 성충을 각각 10마리씩 넣었다. 기타 ScG 처리 및 조사 방법은 으뜸애꽃노린재 실험과 동일하게 수행하였다.

나) 결과

1) 벌에 미치는 영향 : 곤충병원성선충의 처리는 벌의 생존에 영향을 미치지 않았다. 곤충병원성선충을 벌에 직접 살포한 후, 5, 10, 15분이 경과하여도 곤충병원성선충에 의해 기생되어 치사된 벌은 발생치 않았다. 그리고 딸기 포장에서 곤충병원성선충을 살포한 후, 수정벌을 방사시켜도, 치사되는 벌은 관찰되지 않았다(Kim, unpublished data). 이러한 것은 벌들의 경우 꿀을 빨기 위한 주둥이를 가지기 때문에 일반 나방류 유충들처럼 저작 활동 시 구기를 통해 침입이 불가능하기 때문으로 생각된다.

2) 개미에 미치는 영향: 동래베네스트골프장 7번 홀의 페어웨이와 러프에서 치사 원인별 개미의 섭식 선호성을 조사한 결과, 페어웨이에 처리한 치사체에는 개미가 방문하여 물고 갔으나 러프에 처리한 치사체에는 개미가 방문하지 않았다.

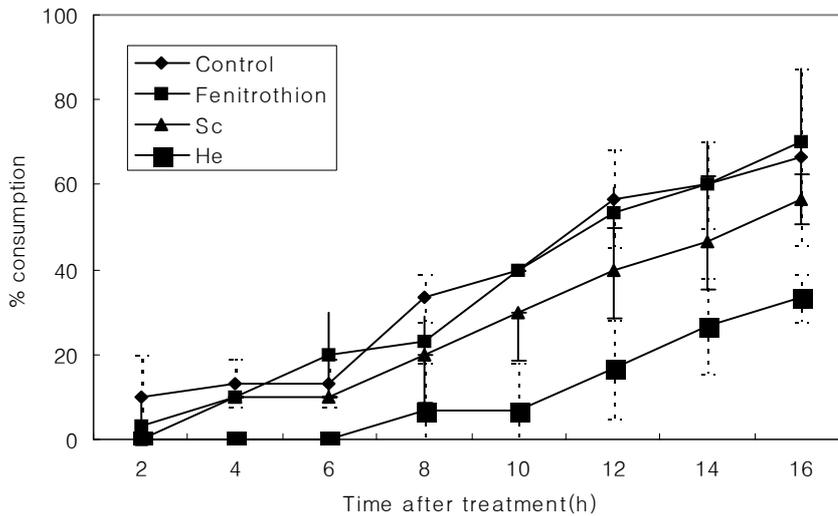


Fig. 36. Consumption ( $\pm$ SD) of 5-day-postinfected *Galleria mellonella* with *Steinernema carpocapsae* KCTC0981BP (Sc) or *Heterorhabditis* sp. KCTC0991BP (He) by ants in Dongrae Benest Golf Club. Percentage consumption was the ratio of cadavers taken away by ant from petri dish. Bars represented standard error.

페어웨이에서 개미들은 곤충병원성선충에 의한 감염충 보다는 자연페사충이나 fenitrothion 치사체에 대한 섭식 선호성이 높았다 (Fig. 36). 특히, He 처리의 경우 처리 6시간 후 까지 개미의 섭식이 전혀 없었으며, 12시간 후에도 16.7%의 섭식율만 보여 자연페사충의 56.7%, fenitrothion 처리구의 53.3%에 비하여 유의하게 낮았다. 치사체가 처리된 petri dish들 중 개미가 방문하지 않은 것은  $13 \pm 3.5\%$  였으며, 방문한 개미의 종류는 고동털개미 (*Lasius japonicus*)가  $76 \pm 2.9\%$ 를 차지하였고, 검정꼬마개미 (*Monomorium floricola*)가 10%를 차지하였다.

곤충병원성선충은 농림해충의 방제를 위하여 다양하게 활용되고 있다 (Kaya and Gaugler, 1993). 살포된 곤충병원성선충은 병원성과 함께 지속성이 중요하다. 특히 곤충병원성선충은 토양서식 해충의 방제에 많이 활용되고 있기 때문에 지속성은 방제의 효용성 측면에서 대단히 중요할 뿐만 아니라 살포된 곤충병원성선충이 생태계 내의 먹이사슬에 어떻게 영향을 미치는가를 파악하는 것도 중요하다. 특히 곤충병원성선충의 측면에서 그들을 포식하거나 기생하는 인자들은 생물적 방제의 효과를 감소시키는 인자이다. 생태계 내에는 곤충병원성선충의 천적이 다양하게 존재하고 있다 (Kaya *et al.*, 1998; Kaya, 2002). 그러나 이들 천적들이 곤충병원성선충에 미치는 영향에 관해서는 그렇게 연구되고 있지 않다. 특히 곤충병원성선충의 적용이 많은 골프장에서 곤충병원성선충의 천적과 관련된 연구는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구는 골프장에 곤충병원성선충을 살포했을 때 이들에게 영향을 미치는 인자들에 대한 기초적인 정보를 얻기 위하여 골프장에 분포하고 있는 개미를 대상으로 연구를 수행하였다.

골프장 잔디에 발생하는 해충은 거세미나방과 같은 나방류와 풍뎅이 유충인 굽벙이 및 여러 종류의 곤충이 분포하고 있다 (Choo *et al.*, 2000). 이들을 방제하기 위하여 곤충병원성선충이 활용되고 있는데, 지상부 해충인 나방류의 경우 Steinernematid 선충이, 지하부 해충인 굽벙이에는 Heterorhabditid 선충이 높은 효과를 보이고 있다 (Choo *et al.*, 1997).

본 연구의 결과, 개미들은 Heterorhabditid 선충의 치사충은 기피하였지만 Steinernematid 선충에 의한 치사충에 대해서는 기피하지 않는 경향을 보였다. 이것은 Baur *et al.* (1998)이 California의 농경지에서 수행한 실험의 결과와 일치하는 경향이었다. Baur *et al.* (1998)은 그 이유를 공생세균이 방출하는 섭식저해 물질의 존재나 치사체의 색깔 등에서 추정하였고, Zhou *et al.* (2002)은 *X. nematophila*와 *P.*

*luminescens*로부터 개미의 섭식 기피 인자로 추정되는 물질의 존재를 실험적으로 증명하여 공생세균의 phase변화나 공생세균의 증식 기간에 따라 개미의 섭식에 미치는 영향이 다를 것을 구명하였다. 그리고 동일 조건에서의 비교는 아니지만 Heterorhabditid 선충 감염 치사체 보다는 Steinernematidi 선충 감염 치사체에서 개미의 섭식 선호성이 높았던 것처럼 공생세균인 *Xenorhabdus nematophila* 처리가 *Photorhabditus luminescens* 처리에 비하여 개미의 방문이 많았다.

곤충병원성선충 치사체를 취한 개미는 6속 8종이 기록되어 있다 (Baur *et al.*, 1998; Zhou *et al.*, 2002). 본 조사에서는 이들 기존의 개미들과는 달리 고동털개미와 검정꼬마개미, 주름개미, 극동흑개미, 일본왕개미, 곰개미, 스미스개미, 마쓰무라밑들이개미의 8속 8종의 개미들이 곤충병원성선충 감염 치사체를 섭식 하였다. 이들 개미들 중 일본왕개미는 지면에 집을 지어 피해를 주는 종류로 (Choo *et al.*, 2000), 본종을 제외하고는 지표 배회성 개미들이다 (Brown, 2000).

본 실험에 이용한 선충 감염 치사체가 개미에 어떠한 영향을 미쳤는지는 불확실하다. 그러나 개미의 섭식 회피가 있었던 *Heterorhabditis* 선충이나 공생세균이 개미를 치사시킬 수 있다면 가옥해충으로 문제가 되는 개미류 (Back, 1995) 방제에 활용할 수 있을 것으로 생각된다. 그리고 일부 개미의 경우 *Heterorhabditis* 선충 감염 치사체를 petri dish에서 물고 가다가 중간에 놓아두는 것이 목격되었는데, 이런 경우 개미가 곤충병원성선충을 간접적으로 분산시키는 역할을 할 수 있을 것으로 기대된다.

3) 지렁이에 미치는 영향 : 곤충병원성선충은 붉은줄지렁이에 대해 실내나 온실, 골프장 모두에서 영향을 미치지 않았다. 실내실험에서 대조 약제로 사용한 모캡 처리를 제외하고는 치사된 지렁이가 전혀 발생하지 않았으며, 온실실험에서도 동일한 결과를 보였다. 골프장에서 지렁이의 감소율도 전혀 관찰되지 않았다.

#### 4) 포식성 천적에 미치는 영향

ScG가 온실가루이좀벌에 미치는 영향 : ScG는 온실가루이좀벌 머미에 대해 0%의 기생률을 보였다. ScG를 처리한 온실가루이좀벌 머미의 우화율은 80.0%로서 무처리 82.0%와 유의적인 차이가 없었다(Table 48).

Table 48. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Encarsia formosa*

Instar of <i>Encarsia formosa</i>	Infection rate(%)	Emergence rate of mummy(%)	
		With ScG	Without ScG
Mummy	0	80.0	82.0
Adult	0	-	-

ScG가 칠레이리응애에 미치는 영향 : ScG는 칠레이리응애의 약충과 성충에 0%의 기생률을 보였다(Table 49).

Table 49. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on infection of nymph and adult of *Phytoseiulus persimilis*

Instar of <i>Phytoseiulus persimilis</i>	Infection rate of ScG(%)
Nymph	0
Adult	0

ScG가 굴파리좀벌에 미치는 영향 : ScG는 굴파리좀벌 번데기와 성충에서는 0%의 기생률을 보였으나 유충에서는 100%의 기생률을 나타내었다(Table 50).

Table 50. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Diglyphus isaea*

Instar of <i>Diglyphus isaea</i>	Infection rate of ScG(%)	Emergency rate(%)	
		With ScG	Without ScG
Larva	100	-	-
Pupa	0	74.0	74.0
Adult	0	-	-

ScG를 처리한 번데기와 처리하지 않은 번데기에서의 우화율은 각각 74%와 74%

로서 차이가 없었다.

ScG가 잎굴파리고치벌에 미치는 영향 : ScG는 잎굴파리고치벌 유충에 100%의 기생률을 보였으나 번데기와 성충에는 0%의 기생률을 나타내었다(Table 51). 번데기의 우화율은 ScG를 처리한 것에서는 76%로서 무처리 한 것에서의 78%와 차이가 없었다.

Table 51. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Dacnusa sibirica*

Instar of <i>Dacnusa sibirica</i>	Infection rate of ScG(%)	Emergency rate(%)	
		With ScG	Without ScG
Larva	100	-	-
Pupa	0	76.0	78.0
Adult	0	-	-

ScG가 진디혹파리에 미치는 영향 : ScG는 진디혹파리 알과 성충에는 전혀 기생하지 않았으나, 진디혹파리 유충에서 100%, 번데기에서 4%의 기생률을 보였다(Fig. 33).

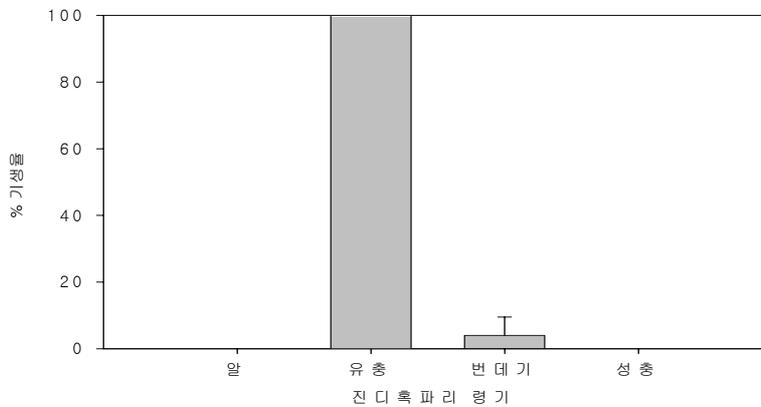


Fig. 37. Infection rate of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Aphidoletes aphidimyza*

ScG가 무당벌레와 어리줄풀잡자리에 미치는 영향 : ScG는 무당벌레 알에 기생하지 않았으나 유충에서는 100%, 번데기에서는 32%, 성충에서는 82%의 기생률을 보였다. 어리줄풀잡자리 알과 머미도 ScG에 기생되지 않았으나 유충에서 100%, 성충에서 68%의 기생률을 보였다(Fig. 38).

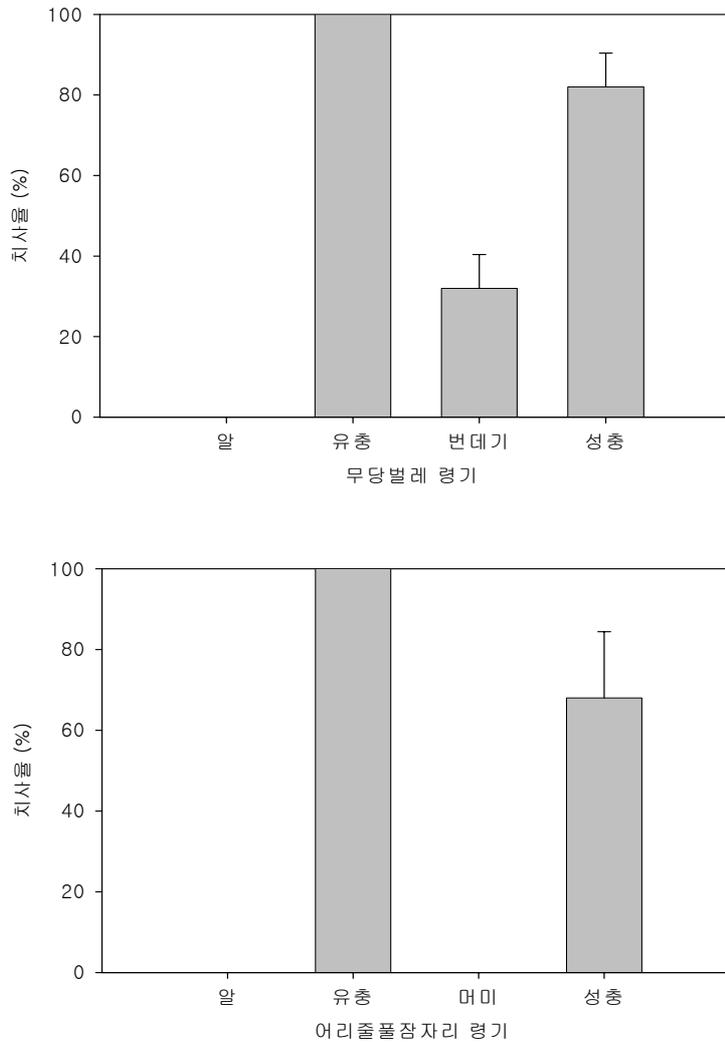


Fig. 38. Infection rate of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Harmonia axyridis* and *Chrysoperla carnea*.

ScG가 진디벌류에 미치는 영향 : 싸리진디벌, 가루진디벌, 콜레마니진디벌 머미와 성충에 ScG를 접종한 결과 0%의 기생률을 보였다. 그리고 ScG를 처리한 싸리진디벌, 가루진디벌, 콜레마니진디벌 머미의 우화율은 85.3%, 81.3%, 81.3%였고 무처리에서의 우화율은 88.0%, 79.3%, 82.7%로서 유의적인 차이가 없었다(Table 52).

Table 52. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Aphidius gifuensis*, *Diaeretiella rapae* and *Aphidius colemani*

Species	Infection rate(%)		Emergency rate of mummy(%)±SE	
	Mummy	Adult	With ScG	Without ScG
<i>Aphidius gifuensis</i>	0	0	85.3±2.3	88.0±1.7
<i>Diaeretiella rapae</i>	0	0	81.3±2.3	82.7±3.9
<i>Aphidius colemani</i>	0	0	81.3±3.1	79.3±1.2

ScG가 으뜸애꽃노린재에 미치는 영향 : ScG는 으뜸애꽃노린재 약충과 성충에 0%의 기생률을 보였다.

ScG가 오이이리응애에 미치는 영향 : ScG는 오이이리응애 약충과 성충에 0%의 기생률을 보였다.

### 제 3 절 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충을 이용한 시설 엽채류 해충의 생물검정 및 이용 기술 개발

#### 1. 시설 엽채류 해충에 대한 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 Petri dish 생물검정

##### 가. 재료 및 방법

1) 곤충병원성 선충 : 실험에 이용한 곤충병원성선충, Steinernematid 11종과 Heterorhabditid 3종은 꿀벌부채명나방(*Galleria mellonella*) 유충을 미끼로 하여 Bedding과 Akhurst(1975)의 방법으로 토양에서 분리한 것으로 순수 분리한 선충은 다시 꿀벌부채명나방 노숙 유충에서 Dutky 등(1964)의 방법으로 대량증식 하였다. 증식한 선충은 White trap을 이용하여 수확한 후, 약 10,000마리/ml 농도로 500 ml 용량의 tissue culture container에 50 ml씩 넣어 10℃ 냉장고에 보관하였다. 실험에는 수확한지 14일 이내의 선충을 이용하였다(Kaya와 Stock 1997).

2) 해충에 대한 일대 일 검정(One-on-one assay) : 배추좀나방(*Plutella xylostella*), 담배거세미나방(*Spodoptera litura*), 파밤나방(*Spodoptera exigua*)에 대한 한국산 곤충병원성 선충 Steinernematid 11종과 Heterorhabditid 3종의 병원성을 검정하기 위하여 채집한 유충을 2 - 3령, 4 - 5령 유충으로 구별하였다. 각 유충은 직경 5.5 cm 높이 1.5 cm 플라스틱 petri dish에 직경 5.0 cm 필터페이퍼 2장을 깔고 그 위에 직경 5.0 cm 배추 잎을 올려놓았다. 시험해충이 올려져있는 petri dish에 25 마리/0.5ml 농도로 선충 현탁액을 만들어 마이크로피펫으로 0.5 ml씩을 처리하였다. 처리 후 petri dish를 랩으로 산 다음 25 ± 2℃, 상대습도 60 ± 5%, 16L : 8D 광주기 조건의 항온기에 넣었다. 그리고 선충 처리 후 24시간간격으로 5일 동안 선충에 의한 배추좀나방, 담배거세미나방, 파밤나방의 치사유무를 육안으로 조사하고 이를 더욱 정확하게 관찰하기 위하여 해부현미경상에서 치사된 유충을 해부하여 선충의 감염을 재확인 하였다. 실험은 10마리 유충을 1반복으로 3반복 실험하였다.

3) 해충의 동시방제 효과 검정 : 배추좀나방, 담배거세미나방, 파밤나방이 두

종 혹은 세 종 해충이 동시에 발생하였을 경우 한국산 곤충병원성선충의 효과를 알아보기 위하여 Steinernematid 11종과 Heterorhabditid 3종을 이용하였는데 채집한 유충을 2 - 3령, 4 - 5령 유충으로 구별하였다. 각 유충은 직경 8.7 cm 높이 1.5 cm 플라스틱 petri dish에 직경 8.0 cm 여과지 2장을 깔고, 그 위에 직경 8.0 cm 배추 잎을 올려놓았다. 서로 다른 해충종이 2마리, 3마리가 올려져 있는 petri dish에 해충 두 종을 처리한 것에는 50마리/ml를, 세종을 처리한 것에는 75마리/ml 농도로 선충 현탁액을 만들어 마이크로피펫으로 1 ml씩을 처리하였다. 처리 후 petri dish를 랩으로 산 다음  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , 상대습도  $60 \pm 5\%$ , 16L : 8D 광주기 조건의 항온기에 넣었다. 그리고 선충 처리 후 24시간간격으로 5일 동안 선충에 의한 배추좀나방, 담배거세미나방, 파밤나방의 치사유무를 육안으로 조사하고, 이를 더욱 정확하게 관찰하기 위하여 해부현미경상에서 치사된 유충을 해부하여 선충의 감염을 재확인 하였다. 실험은 10마리 유충을 1반복으로 3반복 실험하였다.

#### 나. 결과

탐색된 한국산 Steinernematid 11종과 Heterorhabditid 3종은 배추좀나방, 담배거세미나방, 파밤나방에 대해서 병원성의 차이를 보였다(Table 53, 54). 즉 배추좀나방, 담배거세미나방, 파밤나방 2 - 3령충에 대한 치사율이 *Steinernema* sp. GSNUS-4 계통이 96.7%, 90.0%, 86.7%, *Steinernema* sp. GSNUS-6 계통이 96.7%, 83.3%, 90.0%, *Steinernema* sp. GSNUS-10 계통이 93.3%, 83.3%, 86.7%, *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통이 93.3%, 73.3%, 90.0%, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통이 86.7%, 76.7%, 93.3%였고 4-5령충에 대한 치사율은 *Steinernema* sp. GSNUS-4 계통이 96.7%, 60.0%, 80.0%, *Steinernema* sp. GSNUS-6 계통이 96.7%, 60.0%, 80.0%, *Steinernema* sp. GSNUS-10 계통이 93.3%, 80.0%, 80.0%, *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통이 100.0%, 60.0%, 73.3%, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통이 93.3%, 73.3%, 80.0%로서 한국산 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충 14종은 엽채류 주요 해충인 배추좀나방, 담배거세미나방, 파밤나방에 대한 병원성 정도는 배추좀나방이 가장 치사율이 높았고 파밤나방과 담배거세미나방은 유사한 경향을 나타내었다. 또한 유의적인 차이는 없었으나 전체적으로 어린 령기에서 병원성이 다소 높았다.

Table 53. Pathogenicity of entomopathogenic nematodes, Steinernematid and Heterorhabditid against second and third instar of vegetable leaf-feeding insects

Nematode	Mortality(%) $\pm$ SD		
	<i>Plutella xylostella</i>	<i>Spodoptera litura</i>	<i>Spodoptera exigua</i>
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-1	63.3 $\pm$ 5.8	43.3 $\pm$ 5.8	53.3 $\pm$ 5.8
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-2	90.0 $\pm$ 10.0	70.0 $\pm$ 10.0	76.7 $\pm$ 5.8
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-3	83.3 $\pm$ 5.8	83.3 $\pm$ 5.8	86.7 $\pm$ 5.8
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-4	96.7 $\pm$ 5.8	90.0 $\pm$ 0.0	86.7 $\pm$ 5.8
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-6	96.7 $\pm$ 5.8	83.3 $\pm$ 5.8	90.0 $\pm$ 0.0
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-7	83.3 $\pm$ 5.8	56.7 $\pm$ 11.6	73.3 $\pm$ 5.8
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-8	76.7 $\pm$ 5.8	40.0 $\pm$ 0.0	60.0 $\pm$ 10.0
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-9	90.0 $\pm$ 10.0	70.0 $\pm$ 0.0	83.3 $\pm$ 5.8
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-10	93.3 $\pm$ 11.6	83.3 $\pm$ 15.3	86.7 $\pm$ 11.6
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-13	63.3 $\pm$ 5.8	53.3 $\pm$ 5.8	66.7 $\pm$ 11.6
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-14	93.3 $\pm$ 11.6	73.3 $\pm$ 5.8	90.0 $\pm$ 10.0
<i>Heterorhabditis</i> sp. GSNUH-1	86.7 $\pm$ 5.8	76.7 $\pm$ 11.6	93.3 $\pm$ 5.8
<i>Heterorhabditis</i> sp. GSNUH-2	83.3 $\pm$ 5.8	66.7 $\pm$ 15.3	93.3 $\pm$ 5.8
<i>Heterorhabditis</i> sp. GSNUH-3	73.3 $\pm$ 5.8	63.3 $\pm$ 5.8	86.7 $\pm$ 5.8

Table 54. Pathogenicity of entomopathogenic nematodes, Steinernematid and Heterorhabditid against fourth and fifth instar of vegetable leaf-feeding insects

Nematode	Mortality(%) ± SD		
	<i>Plutella xylostella</i>	<i>Spodoptera litura</i>	<i>Spodoptera exigua</i>
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-1	63.3±5.8	26.7±11.6	40.0±0.0
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-2	90.0±0.0	46.7±11.6	53.3±11.6
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-3	0.0±10.0	66.7±11.6	66.7±11.6
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-4	96.7±5.8	60.0±20.0	80.0±20.0
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-6	96.7±5.8	60.0±0.0	80.0±0.0
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-7	86.7±5.8	26.7±11.6	46.7±11.6
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-8	73.3±5.8	46.7±11.6	66.7±11.6
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-9	90.0±0.0	60.0±20.0	60.0±0.0
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-10	93.3±5.8	80.0±0.0	80.0±20.0
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-13	76.7±5.8	46.7±11.6	60.0±0.0
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-14	100.0±0.0	60.0±20.0	73.3±11.6
<i>Heterorhabditis</i> sp. GSNUH-1	93.3±5.8	73.3±11.6	80.0±0.0
<i>Heterorhabditis</i> sp. GSNUH-2	90.0±0.0	60.0±0.0	73.3±11.6
<i>Heterorhabditis</i> sp. GSNUH-3	86.7±5.8	46.7±11.6	66.7±11.6

배추줄나방, 담배거세미나방, 과밤나방 2-3령충을 혼합처리하여 곤충병원성 선충의 병원성을 검정한 결과 *Steinernema* sp. GSNUS-4 계통이 배추줄나방과 담배거세미나방 혼재 시 80.0%+66.7%, 배추줄나방과 과밤나방 혼재 시 80.0%+73.3%, 담배거세미나방과 과밤나방 혼재 시 73.3%+80.0%의 치사율을 나타내었고, 배추줄나방, 담배거세미나방 및 과밤나방 3종 혼재 시에는 76.7%+63.3%+60.0%의 치사율을 나타내었다(Table 55). *Steinernema* sp. GSNUS-6 계통은 배추줄나방과 담배거세미나방 혼재 시 93.3%+80.0%, 배추줄나방과 과밤나방 혼재 시 86.7%+86.7%, 담배거세미나방과 과밤나방 혼재 시 80.0%+86.7%, 배추줄나방, 담배거세미나방 및 과밤나방 3종 혼재 시 83.3%+73.3%+63.3%의 치사율을 보였다. *Steinernema* sp. GSNUS-10 계통이 배추줄나방과 담배거세미나방 혼재 시 86.7%+60.0%, 배추줄나방과 과밤나방 혼재 시 86.7%+80.0%, 담배거세미나방과 과밤나방 혼재 시 73.3%+80.0%, 배추줄나방, 담배거세미나방 및 과밤나방 혼재 시 80.0%+70.0%+60.0%의 치사율을 나타내었다(Table 55). *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통은 배추줄나방과 담배거세미나방 혼재 시 80.0%+66.7%, 배추줄나방과 과밤나방 혼재 시 80.0%+86.7%, 담배거세미나방과 과밤나방 혼재 시 73.3%+86.7%, 배추줄나방, 담배거세미나방 및 과밤나방 혼재 시 83.3%+70.0%+63.3%의 치사율을 보였고, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통은 배추줄나방과 담배거세미나방 혼재 시 86.7%+66.7%, 배추줄나방과 과밤나방 혼재 시 86.7%+86.7%, 담배거세미나방과 과밤나방 혼재 시 80.0%+80.0%, 배추줄나방, 담배거세미나방 및 과밤나방 혼재 시 83.3%+80.0%+76.7%로서 해충이 혼재할 경우 각 선충의 병원성은 단독 처리때 보다 다소 낮았으나 유의적인 차이는 없었다. 병원성 정도는 해충이 혼재되어 있을 경우 다소 낮았으나 3종의 해충을 동시에 방제한다는 측면에서 포장 적용 시 매우 효과적인 방법으로 사료된다. 또한 탐색된 *Steinernema* 속종에서는 *Steinernema* sp. GSNUS-4 계통, *Steinernema* sp. GSNUS-6 계통, *Steinernema* sp. GSNUS-10 계통, *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통이 활용 가능성이 높은 선충 계통으로 조사되었고, *Heterorhabditis* 속종에서는 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1가 가장 활용 가능성이 높은 것으로 조사되었다. 해충이 혼재 할 경우에도 대상해충의 령기가 노숙화 될수록 병원성이 다소 떨어지는 경향을 보였다(Table 55, 56). 따라서 포장에서 이들 해충 발생 시 곤충병원성선충을 처리할 경우 조기 방제가 필요할 것으로 생각된다.

Table 55. Pathogenicity of entomopathogenic nematodes, Steinernematid and Heterorhabditid against mixed vegetable leaf-feeding insects(second and third instar)

Nematode	Mortality(%)			
	Px+Sl	Px+Se	Sl+Se	Px+Sl+Se
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-1	53.3+33.3	46.7+46.7	40.0+53.3	50.0+36.7+36.7
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-2	80.0+46.7	73.3+60.0	53.3+73.3	70.0+40.0+30.0
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-3	86.7+60.0	86.7+60.0	66.7+80.0	73.3+60.0+46.7
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-4	80.0+66.7	80.0+73.3	73.3+80.0	76.7+63.3+60.0
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-6	93.3+80.0	86.7+86.7	80.0+86.7	83.3+73.3+63.3
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-7	73.3+40.0	66.7+53.3	46.7+63.3	83.3+43.3+40.0
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-8	66.7+26.7	60.0+46.7	40.0+50.0	60.0+30.0+30.0
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-9	60.0+60.0	66.7+60.0	66.7+66.7	60.0+73.3+63.3
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-10	86.7+60.0	86.7+80.0	73.3+80.0	80.0+70.0+60.0
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-13	53.3+26.7	60.0+80.0	46.7+86.7	56.7+36.7+36.7
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-14	80.0+66.7	80.0+86.7	73.3+86.7	83.3+70.0+63.3
<i>Heterorhabditis</i> sp. GSNUH-1	86.7+66.7	86.7+86.7	80.0+80.0	83.3+80.0+76.7
<i>Heterorhabditis</i> sp. GSNUH-2	80.0+60.0	86.7+80.0	66.7+80.0	76.7+73.3+60.0
<i>Heterorhabditis</i> sp. GSNUH-3	66.7+40.0	60.0+66.7	53.3+63.3	56.7+63.3+60.0

Px: *Plutella xylostella*, Sl: *Spodoptera litura*, Se: *Spodoptera exigua*

Table 56. Pathogenicity of entomopathogenic nematodes, Steinernematid and Heterorhabditid against mixed vegetable leaf-feeding insects(forth and fifth instar)

Nematode	Mortality(%)			
	Px+Sl	Px+Se	Sl+Se	Px+Sl+Se
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-1	66.7+36.7	60.0+43.3	33.3+50.0	60.0+33.3+53.3
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-2	90.0+50.0	80.0+60.0	40.0+63.3	86.7+40.0+60.0
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-3	83.3+63.3	83.3+66.7	63.3+66.7	93.3+63.3+66.7
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-4	93.3+70.0	90.0+83.3	60.0+83.3	96.7+53.3+83.3
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-6	96.7+73.3	86.7+83.3	63.3+86.7	90.0+66.7+86.7
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-7	83.3+36.7	86.7+86.7	63.3+86.7	90.0+30.0+53.3
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-8	80.0+50.0	70.0+53.3	30.0+50.0	80.0+53.3+70.0
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-9	90.0+63.3	90.0+70.0	60.0+80.0	93.3+60.0+73.3
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-10	90.0+80.0	90.0+73.3	73.3+76.7	83.3+73.3+73.3
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-13	80.0+53.3	80.0+70.0	50.0+80.0	80.0+60.0+70.0
<i>Steinernema</i> sp. GSNUS-14	93.3+63.3	83.3+80.0	63.3+83.3	90.0+66.7+83.3
<i>Heterorhabditis</i> sp. GSNUH-1	93.3+70.0	90.0+86.7	80.0+90.0	93.3+70.0+86.7
<i>Heterorhabditis</i> sp. GSNUH-2	90.0+63.3	86.7+80.0	76.7+83.3	83.3+70.0+80.0
<i>Heterorhabditis</i> sp. GSNUH-3	80.0+56.7	73.3+70.0	63.3+66.7	70.0+63.3+70.0

Px: *Plutella xylostella*, Sl: *Spodoptera litura*, Se: *Spodoptera exigua*

## 2. Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 온도별 병원성과 침입수 및 증식수 조사

### 가. 재료 및 방법

1) 접종농도와 처리온도가 *Steinernema*와 *Heterorhabditis* 선충의 병원성에 미치는 영향 : 배추좀나방, 담배거세미나방, 과밤나방에 대한 한국산 곤충병원성 선충 *Steinernema* sp. GSNU-2, 3, 4, 6, 10 계통과 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1, 2, 3 계통의 병원성을 검정하기 위하여 채집한 유충을 2-3령충, 4-5령 유충으로 구별하였다. 각 유충 10마리는 직경 8.7 cm 높이 1.5 cm 플라스틱 petri dish에 직경 8.0 cm 여과지 2장을 깔고, 그 위에 직경 8.0 cm 배추 잎을 올려놓았다. 시험해충이 올려져 있는 petri dish에 5, 10, 20, 40, 80, 160마리/1ml 농도로 선충 현탁액을 만들어 마이크로피펫으로 1 ml씩을 처리하였다. 무처리는 살균수 1 ml만을 처리하였다. 처리 후 petri dish를 랩으로 싼 다음 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 상대습도 60 ± 5%, 16L : 8D 광주기 조건의 항온기에 넣었다. 그리고 선충 처리 후 24시간간격으로 5일 동안 선충에 의한 배추좀나방, 담배거세미나방, 과밤나방의 치사유무를 육안으로 조사하고 이를 더욱 정확하게 관찰하기 위하여 해부현미경상에서 치사된 유충을 해부하여 선충의 감염을 재확인 하였다. 실험은 10마리 유충을 1반복으로 3반복 실험하였다.

2) *Steinernema*와 *Heterorhabditis*의 접종농도와 기주 령기별 침입수 조사 : 배추좀나방, 담배거세미나방, 과밤나방에 대한 *Steinernema*와 *Heterorhabditis*의 침입수를 조사하기 위하여 병원성 조사와 동일한 방법으로 처리한 다음 선충 처리 후 3일째 배추좀나방, 담배거세미나방, 과밤나방 유충을 해부현미경상에서 유충의 치사유무를 조사하였고, 죽은 유충은 Ringer's 용액에서 해부하여 침입한 선충수를 조사하였다. 선충 침입수는 유충 1마리를 1반복으로 10반복하여 조사하였다. 증식수를 조사하기 위하여 병원성 조사와 동일한 방법으로 처리한 다음 선충 처리 후 5일째 죽은 각각의 유충을 수거하여 각각 White trap을 설치한 후, 치사율 실험 때와 동일한 온도대의 항온기에 보관하면서 24시간 간격으로 증식되어 나오는 선충을 수거하여 수를 해부현미경하에서 조사하였다. 실험은 치사된 유충 1마리를 1반복으로 10반복으로 하였다.

나. 결과

한국산 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충은 접종농도와 온도 및 해충의 령기에 따라 병원성의 차이를 보였다(Table 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64). Petri dish 검정결과 선발된 Steinernematid 다섯 계통의 배추좀나방에 대한 접종농도별 치사율에서 유충 한 마리당 40마리를 접종했을 때 73.3 - 100.0%의 높은 병원성을 나타내었고, 이러한 경향은 Heterorhabditid 세 계통도 유사한 양상을 보였다. 8계통의 선충은 배추좀나방 유충 한 마리당 20마리 내외의 선충만으로도 50% 이상의 치사 효과가 있었다. 온도는 한국산 곤충병원성 선충의 병원성에 영향을 미쳤는데 여덟 계통 선충의 적정처리 온도는 20℃, 25℃, 30℃였으며, 15℃, 35℃는 다른 온도에 비해 상대적으로 병원성이 낮았다.

Table 57. Effect of temperature and concentration on mortality of *Steinernema* sp. GSNUS-2 strain in *Plutella xylostella*

Concentration (IJs)	Mortality(%)									
	15℃		20℃		25℃		30℃		35℃	
	2-3	4	2-3	4	2-3	4	2-3	4	2-3	4
	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5	20.0	26.7	26.7	33.3	26.7	36.7	23.3	30.0	20.0	33.3
10	53.3	60.0	53.3	56.7	56.7	70.0	46.7	46.7	26.7	50.0
20	70.0	66.7	80.0	90.0	80.0	83.3	73.3	80.0	36.7	66.7
40	80.0	93.3	96.7	100.0	100.0	100.0	83.3	100.0	73.3	83.3
80	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	83.3	100.0
160	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	90.00	100.0

Table 58. Effect of temperature and concentration on mortality of *Steinernema* sp. GSNUS-3 strain in *Plutella xylostella*

Concentration (IJs)	Mortality(%)									
	15°C		20°C		25°C		30°C		35°C	
	2-3 instar	4 instar								
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5	23.3	30.0	33.3	36.7	36.7	46.7	33.3	36.7	20.0	36.7
10	60.0	60.0	60.0	50.0	66.7	73.3	50.0	50.0	26.7	53.3
20	73.3	73.3	83.3	86.7	90.0	93.3	73.3	86.7	36.7	73.3
40	83.3	96.7	100.0	100.0	100.0	100.0	90.0	100.0	73.3	83.3
80	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	83.3	100.0
160	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

Table 59. Effect of temperature and concentration on mortality of *Steinernema* sp. GSNUS- strain in *Plutella xylostella*

Concentration (IJs)	Mortality(%)									
	15°C		20°C		25°C		30°C		35°C	
	2-3 instar	4 instar								
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5	23.3	26.7	33.3	36.7	40.0	46.7	30.0	40.0	33.3	33.3
10	63.3	63.3	63.3	73.3	70.0	76.7	53.3	53.3	40.0	56.7
20	70.0	80.0	86.7	90.0	86.7	93.3	83.3	90.0	56.7	70.0
40	80.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	83.3	100.0	83.3	86.7
80	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
160	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

Table 60. Effect of temperature and concentration on mortality of *Steinernema* sp. GSNUS-6 strain in *Plutella xylostella*

Concentration (IJs)	Mortality(%)										
	15°C		20°C		25°C		30°C		35°C		
	2-3 instar	4 instar									
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5	30.0	33.3	40.0	40.0	36.7	40.0	33.3	40.0	30.0	36.7	
10	66.7	60.0	70.0	76.7	73.3	73.3	50.0	60.0	46.7	60.0	
20	76.7	83.3	90.0	93.3	90.0	90.0	76.7	93.3	60.0	73.3	
40	90.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	86.7	90.0	
80	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	
160	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	

Table 61. Effect of temperature and concentration on mortality of *Steinernema* sp. GSNUS-10 strain in *Plutella xylostella*

Concentration (IJs)	Mortality(%)										
	15°C		20°C		25°C		30°C		35°C		
	2-3 instar	4 instar									
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5	36.7	40.0	43.3	43.3	43.3	50.0	36.7	43.3	30.0	40.0	
10	66.7	66.7	76.7	80.0	76.7	80.0	66.7	83.3	43.3	56.7	
20	80.0	80.0	90.0	90.0	90.0	93.3	90.0	93.3	60.0	70.0	
40	90.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	83.3	86.7	
80	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	
160	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	

Table 62. Effect of temperature and concentration on mortality of *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain in *Plutella xylostella*

Concentration (IJs)	Mortality(%)									
	15°C		20°C		25°C		30°C		35°C	
	2-3	4	2-3	4	2-3	4	2-3	4	2-3	4
	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5	13.3	16.7	36.7	36.7	43.3	50.0	50.0	53.3	40.0	43.3
10	30.0	36.7	56.7	60.0	66.7	80.0	70.0	73.3	60.0	63.3
20	50.0	50.0	60.0	60.0	86.7	90.0	90.0	90.0	76.7	80.0
40	66.7	70.0	80.0	83.3	96.7	100.0	100.0	100.0	86.7	90.0
80	83.3	90.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
160	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

Table 63. Effect of temperature and concentration on mortality of *Heterorhabditis* sp. GSNUH-2 strain in *Plutella xylostella*

Concentration (IJs)	Mortality(%)									
	15°C		20°C		25°C		30°C		35°C	
	2-3	4	2-3	4	2-3	4	2-3	4	2-3	4
	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5	10.0	16.7	33.3	36.7	40.0	43.3	40.0	40.0	33.3	40.0
10	33.3	33.3	50.0	53.3	60.0	66.7	60.0	66.7	53.3	60.0
20	46.7	50.0	60.0	63.3	83.3	90.0	80.0	86.7	70.0	70.0
40	63.3	70.0	86.7	80.0	93.3	96.7	93.3	100.0	83.3	90.0
80	80.0	86.7	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
160	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

Table 64. Effect of temperature and concentration on mortality of *Heterorhabditis* sp. GSNUH-3 strain in *Plutella xylostella*

Concentration (IJs)	Mortality(%)									
	15°C		20°C		25°C		30°C		35°C	
	2-3 instar	4 instar								
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
5	10.0	13.3	20.0	26.7	30.0	36.7	30.0	33.3	16.7	23.3
10	20.0	23.3	33.3	40.0	53.3	53.3	43.3	43.3	30.0	36.7
20	36.7	40.0	50.0	60.0	76.7	83.3	53.3	60.0	46.7	56.7
40	50.0	53.3	73.3	73.3	86.7	90.0	76.7	80.0	73.3	76.7
80	66.7	76.7	90.0	100.0	93.3	100.0	93.3	96.7	80.0	86.7
160	93.3	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.00	90.0	100.0

한국산 *Steinernema* sp. GSNUH-10 계통은 배추좀나방 유충에 0.3-8.0마리가 침입하였으며 집중농도가 많을수록 침입수도 많아지는 경향을 나타내었다(Table 65).

*Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통은 *Steinernema* sp. GSNUH-10 계통에 비하여 침입선충의 수가 적었는데 1 - 2마리 내외의 선충이 침입하였다(Table 66). 일반적으로 *Heterorhabditis*속에 비하여 *Steinernema* 속 선충들의 기주 침입수가 적는데 배추좀나방에서도 동일한 경향을 나타내었다. *Steinernema* sp. GSNUH-10 계통은 배추좀나방 유충 한 마리에서 10.2 - 134.5마리가 증식되었으며 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통은 83.0 - 192.3마리가 증식되었다(Table 67, 68). 증식적온은 20 - 30°C였으며, 배추좀나방 2 - 3령충은 충체의 크기가 너무 작기 때문에 *Heterorhabditis* 계통의 선충은 증식이 용이하지 못한 것으로 생각되며 담배거세미나방이나 과밤나방에서는 모든 계통의 선충이 침입이나 증식이 불규칙하였다. 이러한 요인은 이들 두 해충의 경우, 배추좀나방에 비하여 기주으로써 부적합하거나 방어력의 차이에 의한 것으로 생각된다.

Table 65. Effect of temperature and concentration on the establishment of infective juveniles of *Steinernema* sp. GSNUS-10 strain in *Plutella xylostella*

Concentration (IJs)	Number of Ijs established $\pm$ SD									
	15°C		20°C		25°C		30°C		35°C	
	2-3	4	2-3	4	2-3	4	2-3	4	2-3	4
	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar
5	0.7±0.6	1.0±0.0	1.3±0.6	1.7±0.6	1.7±0.6	1.7±0.6	1.3±0.6	1.3±0.6	0.0±0.0	0.3±0.6
10	1.0±0.0	1.3±0.6	1.7±0.6	3.0±1.7	2.0±0.0	3.3±0.6	1.3±0.6	1.7±0.6	0.3±0.6	0.3±0.6
20	1.7±0.6	3.3±0.6	2.7±0.6	4.3±1.5	2.7±0.6	4.7±0.6	2.0±0.0	3.0±0.0	0.7±0.6	0.7±0.6
40	2.3±0.6	3.0±0.0	2.7±0.6	5.7±1.2	3.3±0.6	5.3±0.6	2.3±0.6	3.7±1.2	0.7±0.6	1.0±0.0
80	3.3±0.6	5.7±1.2	3.0±0.0	6.7±2.1	3.0±0.6	7.7±1.5	2.7±0.6	4.0±0.0	0.7±0.6	1.0±0.0
160	3.7±1.2	6.3±1.5	4.0±0.0	7.7±1.2	4.3±1.2	8.0±0.0	2.7±0.6	5.7±0.6	1.0±0.0	1.3±0.6

Table 66. Effect of temperature and concentration on the establishment of infective juveniles of *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain in *Plutella xylostella*

Concentration (IJs)	Number of Ijs established $\pm$ SD									
	15°C		20°C		25°C		30°C		35°C	
	2-3	4	2-3	4	2-3	4	2-3	4	2-3	4
	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar
5	0.3±0.6	0.7±0.6	0.7±0.6	1.0±0.0	1.0±0.0	1.3±0.6	1.0±0.0	1.0±0.0	0.3±0.6	0.3±0.6
10	0.7±0.6	1.0±0.0	0.7±0.6	0.7±0.0	1.0±0.0	1.3±0.6	1.0±0.0	1.3±0.6	0.3±0.6	0.7±0.6
20	0.7±0.6	1.0±0.0	1.0±0.0	1.0±0.0	1.3±0.6	1.7±0.6	1.3±0.6	2.0±0.0	0.7±0.6	1.0±0.6
40	1.0±0.0	1.3±0.6	0.7±0.6	1.3±0.6	1.7±0.6	1.7±0.6	1.7±0.6	2.3±0.6	1.0±0.0	1.0±0.6
80	1.0±0.0	1.7±0.6	1.3±0.6	1.7±0.6	2.0±0.0	2.0±0.6	2.0±0.0	2.3±0.6	1.3±0.6	1.3±0.6
160	1.3±0.6	1.7±0.6	1.3±0.6	2.0±0.6	2.0±0.0	2.3±0.6	2.3±0.6	2.7±0.6	1.3±0.6	1.7±0.6

Table 67. Effect of temperature and concentration on progeny of *Steinernema* sp. GSNUS-10 strain in *Plutella xylostella*

Concentration (IJs)	Number of progeny									
	15°C		20°C		25°C		30°C		35°C	
	2-3	4	2-3	4	2-3	4	2-3	4	2-3	4
	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar
5	-*	10.2	13.3	38.6	20.0	53.6	-	47.2	-	-
10	-	12.5	16.8	58.7	24.3	79.4	-	66.3	-	-
20	-	18.3	22.3	73.3	27.8	93.2	-	74.8	-	-
40	-	20.6	23.0	80.4	33.3	102.4	-	95.5	-	-
80	-	22.2	25.4	82.3	30.0	113.5	-	105.2	-	-
160	-	23.3	26.3	90.5	36.4	134.5	-	110.3	-	-

\*no progeny

Table 68. Effect of temperature and concentration on progeny of *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain in *Plutella xylostella*

Concentration (IJs)	Number of progeny									
	15°C		20°C		25°C		30°C		35°C	
	2-3	4	2-3	4	2-3	4	2-3	4	2-3	4
	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar	instar
5	-*	-	-	83.0	-	102.3	-	120.5	-	-
10	-	-	-	112.2	-	115.3	-	136.4	-	-
20	-	-	-	114.5	-	120.7	-	145.5	-	-
40	-	-	-	120.3	-	140.6	-	160.8	-	-
80	-	-	-	121.5	-	160.2	-	165.5	-	-
160	-	-	-	140.5	-	192.3	-	184.3	-	-

\*no progeny

### 3. 시설 엽채류 해충 중의 *Steinernematid*와 *Heterorhabditid* 선충의 pot 생물검정

#### 가. 재료 및 방법

1) 엽채류에 발생하는 주요 해충인 배추좀나방, 담배거세미나방, 과밤나방, 배추흰나비, 도둑나방, 흰띠명나방, 무잎벌, 좁은가슴잎벌레 유충을 대상으로 실내 병원성 검정결과 병원성과 증식률이 우수한 *Steinernema* sp. GSNUS-10, *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통과 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통을 이용하여 실내에서 포트 실험을 수행하였다. 배추좀나방은 원예연구소 천적온실에서 곤충사육상자를 이용하여 누대사육하던 개체를 이용하였으나, 기타 해충은 실내 사육이 어렵기 때문에 무농약 혹은 유기농 엽채류 재배농가나 원예연구소내 엽채류 포장에서 유충을 채집하여 실험에 이용하였다. 또한 채집한 유충들은 실험실로 가져와 기생봉과 기타 병원성 미생물에 자연기생 혹은 감염된 유충을 배제하기 위하여 신선한 무궁화 잎이 깔려있는 곤충사육용 아크릴케이지(30 × 30 × 28.5 cm)에 100마리씩 넣고, 2일 동안 관찰 한 후 활력이 좋은 유충만을 실험에 사용하였다. 그리고 해충별에 따라 서로 다른 엽채류를 기주로 제공하면서 실험을 수행하였는데 배추에서는 배추좀나방과 담배거세미나방, 과밤나방, 도둑나방을 케일에서는 배추흰나비를 실험하였고, 적겨자에서는 좁은가슴잎벌레, 적근대에서는 흰띠명나방을 청경채에서는 무잎벌을 대상으로 실험하였다. 각각의 엽채류 50 - 60일묘 한주가 심겨져 있는 직경 8 cm, 높이 7 cm 육묘용 포트 한 개씩을 곤충사육용 아크릴 상자(가로 30 cm, 세로 30 cm, 높이 28.5 cm)에 넣고 각 유충 10마리씩을 잎에 부착시켰다. 유충이 완전히 잎에 정착할 수 있게 1시간 경과한 후 잎에 유충이 완전히 정착하면 각 곤충사육상자에 *Steinernema* sp. GSNUS-10, *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통과 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1계통 그리고 대조선충으로 *Steinernema carpocapsae* GSN1 계통을 농도가 90,000Ijs, 30,000Ijs, 10,000Ijs가 되게 하여 30 ml 물량으로 조절하여 가정용 소형 분무기로 3일 간격으로 각각 1회, 2회, 3회 살포하였다. 무처리는 살균수 50 ml만을 살포하였다. 선충 처리 후 곤충사육용 상자는 25 ± 3°C, 60 ± 5% 상대습도, 16L : 8D 광주기 조건의 항온기에 넣은 다음, 최종 처리 후 5일째 유충의 치사유무를 조사하였다. 실험은 한 개의 상자를 1반복으로 3반복하였다.

나. 결과

배추좀나방 유충에 대한 *Steinernema* sp. GSNUS-10 계통과 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통의 살포회수별 치사율은 포트 당 10,000Ijs 농도로 1회만 살포해도 90.0% 이상의 치사율을 나타내었으며 2회 살포와 3회 살포에서는 각각 100%의 치사율을 나타내었다(Table 69, 70).

Table 69. Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema* sp. GSNUS-10(S210) and *S. carpocapsae*(ScG) on *Plutella xylostella* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30mℓ)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	S210	ScG	S210	ScG	S210	ScG
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
30,000	93.3	96.7	100.0	100.0	100.0	100.0
10,000	90.0	93.3	100.0	100.0	100.0	100.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 70. Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema* sp. GSNUS-14(S223) and *S. carpocapsae*(ScG) on *Plutella xylostella* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30mℓ)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	S223	ScG	S223	ScG	S223	ScG
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
30,000	96.7	96.7	100.0	100.0	100.0	100.0
10,000	90.0	93.3	100.0	100.0	100.0	100.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

그러나 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통은 1회 살포에서 73.3% - 90.0%, 3회 살포에도 포트 당 10,000Ijs를 처리에서도 83.3%의 치사율을 나타내어 *Steinernema* 속보다는 병원성이 낮았다(Table 71).

Table 71. Effect of entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain(S202) and *H. bacteriophora* Hamyang strain(HbH) on *Plutella xylostella* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30mℓ)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	H202	HbH	H202	HbH	H202	HbH
90,000	90.0	96.7	100.0	100.0	100.0	100.0
30,000	83.3	90.0	96.7	100.0	100.0	100.0
10,000	73.3	80.0	76.7	96.7	83.3	96.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

담배거세미나방 유충에 대한 살포회수별 치사율은 *Steinernema* sp. GSNUS-10 계통이 1회 살포 시 73.3% - 90.0%, 2회 살포 시 83.3% - 96.7%, 3회 살포 시 93.3% - 100.0%의 치사율을 나타내었고(Table 72), *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통이 각각 1회, 2회, 3회 살포 시, 70.0% - 93.3%, 86.7% - 100.0%, 96.7% - 100.0%의 치사율을 보였다(Table 73), *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통은 1회, 2회, 3회 처리 시, 70.0% - 86.7%, 86.7% - 100.0%, 96.7% - 100.0%의 치사율을 나타내어(Table 74) 담배거세미나방 유충에 대한 곤충병원성선충의 병원성은 배추좀나방에 대한 치사율보다는 다소 떨어졌으나 표준살포농도인 90,000Ijs( $1 \times 10^9$ Ijs/ha) 1회 살포에도 86.7% 이상의 높은 치사율을 나타내었다. 또한 표준살포농도보다 9배가 낮은 10,000Ijs를 살포하더라도 3일 간격으로 2회만 살포하면 83.3% 이상의 높은 치사율을

나타내었다. 즉, 농도를 낮추어 살포하더라도 살포회수를 증가시키면 치사율을 상승시킬 수 있다는 것을 알 수 있었다.

Table 72. Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema* sp. GSNUS-10(S210) and *S. carpocapsae*(ScG) on *Spodoptera litura* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30mℓ)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	S210	ScG	S210	ScG	S210	ScG
90,000	90.0	93.3	96.7	100.0	100.0	100.0
30,000	80.0	83.3	90.0	96.7	100.0	100.0
10,000	73.3	73.3	83.3	86.7	93.3	100.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 73. Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema* sp. GSNUS-14(S223) and *S. carpocapsae*(ScG) on *Spodoptera litura* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30mℓ)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	S223	ScG	S223	ScG	S223	ScG
90,000	93.3	93.3	100.0	100.0	100.0	100.0
30,000	83.3	83.3	90.0	96.7	100.0	100.0
10,000	70.0	73.3	86.7	86.7	96.7	100.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 74. Effect of entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain(S202) and *H. bacteriophora* Hamyang strain(HbH) on *Spodoptera litura* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	H202	HbH	H202	HbH	H202	HbH
90,000	86.7	90.0	100.0	100.0	100.0	100.0
30,000	70.0	76.7	90.0	93.3	100.0	100.0
10,000	70.0	73.3	86.7	93.3	96.7	100.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 75. Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema* sp. GSNU-10(S210) and *S. carpocapsae*(ScG) on *Spodoptera exigua* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	S210	ScG	S210	ScG	S210	ScG
90,000	90.0	93.3	96.7	100.0	96.7	100.0
30,000	73.3	83.3	90.0	93.3	96.7	100.0
10,000	73.3	73.3	83.3	86.7	90.0	96.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

과밤나방에 대한 치사율은 *Steinernema* sp. GSNUS-10 계통이 1회 살포 시 73.3% - 90.0%, 2회 살포 시 83.3% - 96.7%, 3회 살포 시 90.0% - 96.7%의 치사율을 보였고(Table 75), *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통은 1회 살포 시 70.0% - 90.0%, 2회 살포 시 80.0% - 96.7%, 3회 살포 시 90.0% - 100.0%의 치사율을 보였다(Table 76).

Table 76. Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema* sp. GSNUS-14(S223) and *S. carpocapsae*(ScG) on *Spodoptera exigua* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30mℓ)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	S223	ScG	S223	ScG	S223	ScG
90,000	90.0	93.3	96.7	100.0	100.0	100.0
30,000	76.7	83.3	86.7	93.3	93.3	100.0
10,000	70.0	73.3	80.0	86.7	90.0	96.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

*Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통은 1회 살포 시 60.0% - 80.0%, 2회 살포 시 73.3% - 86.7%, 3회 살포 시 86.7% - 96.7%로서(Table 77) 과밤나방에 대한 곤충병원성선충의 병원성은 담배거세미나방과 유사한 경향을 나타내었다.

배추흰나비에 대한 *Steinernema* sp. GSNUS-10 계통과 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통 및 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통의 살포회수별 치사율을 조사한 결과 포트 당 10,000Ijs를 1회만 살포하여도 93.3% 이상의 높은 유충 치사율을 나타내었다(Table 78, 79, 80). 따라서 배추흰나비의 경우 발생을 하면 1회의 방제만으로도 충분한 방제효과를 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

Table 77. Effect of entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain(S202) and *H. bacteriophora* Hamyang strain(HbH) on *Spodoptera exigua* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	H202	HbH	H202	HbH	H202	HbH
90,000	80.0	83.3	86.7	93.3	96.7	100.0
30,000	73.3	73.3	83.3	86.7	90.0	96.7
10,000	60.0	63.3	73.3	80.0	86.7	96.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 78. Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema* sp. GSNUS-10(S210) and *S. carpocapsae*(ScG) on *Artogeia rapae* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	S210	ScG	S210	ScG	S210	ScG
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
30,000	96.7	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
10,000	93.3	96.7	96.7	100.0	100.0	100.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 79. Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema* sp. GSNU-14(S223) and *S. carpocapsae*(ScG) on *Artogeia rapae* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30mℓ)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	S223	ScG	S223	ScG	S223	ScG
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
30,000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
10,000	90.0	96.7	96.7	100.0	96.7	100.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 80. Effect of entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain(S202) and *H. bacteriophora* Hamyang strain(HbH) on *Artogeia rapae* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30mℓ)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	H202	HbH	H202	HbH	H202	HbH
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
30,000	93.3	96.7	96.7	96.7	96.7	96.7
10,000	90.0	90.0	93.3	96.7	96.7	96.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 81. Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema* sp. GSNUS-10(S210) and *S. carpocapsae*(ScG) on *Mamestra brassicae* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30mℓ)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	S210	ScG	S210	ScG	S210	ScG
90,000	96.7	100.0	96.7	100.0	96.7	100.0
30,000	93.3	93.3	96.7	100.0	96.7	100.0
10,000	80.0	86.7	93.3	96.7	93.3	96.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

도둑나방에 대한 곤충병원성선충들의 치사율은 *Steinernema* sp. GSNUS-10 계통은 1회 살포 시 80.0% - 96.7%, 2회 살포 시 93.3% - 96.7%, 3회 살포 시 90.0% - 96.7%의 치사율을 보였다(Table 81). 그러나 전체적으로는 대조 선충으로 처리한 *S. carpocapsae* GSN1 계통에 비하여 병원성이 낮게 나타났다.

*Steinernema* sp. GSNUS-14 계통은 1회 살포 시 83.3% - 100.0%, 2회 살포 시 93.3% - 100.0%, 3회 살포 시 96.7% - 100.0%의 치사율을 보였다(Table 82). *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통은 도둑나방 유충에 대하여 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 유사한 병원성을 나타내어 *Steinernema* sp. GSNUS-10 계통에 비하여 효과적인 계통으로 생각된다.

*Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통은 1회 살포 시 73.3% - 90.0%, 2회 살포 시 86.7% - 96.7%, 3회 살포 시 93.3% - 100.0%의 치사율을 나타내었다(Table 83).

파밤나방 유충에 대한 곤충병원성선충들의 병원성은 전반적으로 *Steinernema* 속 선충들이 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통보다 다소 치사율이 높았으며 살포회수가 증가 할수록 치사율도 증가하였다(Table 81, 82, 83).

Table 82. Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema* sp. GSNU-14(S223) and *S. carpocapsae*(ScG) on *Mamestra brassicae* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	S223	ScG	S223	ScG	S223	ScG
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
30,000	90.0	93.3	96.7	100.0	100.0	100.0
10,000	83.3	86.7	93.3	96.7	96.7	96.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 83. Effect of entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain(S202) and *H. bacteriophora* Hamyang strain(HbH) on *Mamestra brassicae* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	H202	HbH	H202	HbH	H202	HbH
90,000	90.0	93.3	96.7	100.0	100.0	100.0
30,000	80.0	86.7	90.0	93.3	96.7	96.7
10,000	73.3	80.0	86.7	93.3	93.3	100.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 84. Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema* sp. GSNUS-10(S210) and *S. carpocapsae*(ScG) on *Hymenia recurvalis* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	S210	ScG	S210	ScG	S210	ScG
90,000	93.3	100.0	96.7	100.0	100.0	100.0
30,000	90.0	96.7	96.7	100.0	96.7	100.0
10,000	83.3	90.0	90.0	96.7	96.7	100.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 85. Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema* sp. GSNUS-14(S223) and *S. carpocapsae*(ScG) on *Hymenia recurvalis* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	S223	ScG	S223	ScG	S223	ScG
90,000	96.7	100.0	96.7	100.0	100.0	100.0
30,000	93.3	96.7	96.7	100.0	100.0	100.0
10,000	80.0	90.0	90.0	96.7	96.7	100.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 86. Effect of entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain(S202) and *H. bacteriophora* Hamyang strain(HbH) on *Hymenia recurvalis* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30mℓ)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	H202	HbH	H202	HbH	H202	HbH
90,000	93.3	96.7	96.7	100.0	100.0	100.0
30,000	80.0	90.0	90.0	96.7	96.7	100.0
10,000	73.3	83.3	83.3	93.3	96.7	96.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

흰띠명나방에 대한 곤충병원성선충의 처리 효과는 Table 84, 85, 86과 같았다. 치사율은 *Steinernema* sp. GSNUS-10 계통을 1회 살포하였을 경우 83.3% - 93.3%, 2회 살포 시 90.0% - 96.7%, 3회 살포 시 96.7% - 100.0%를 나타내었고(Table 84), *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통을 1회 살포 시 80.0% - 96.7%, 2회 살포 시 90.0% - 96.7%, 3회 살포 시 96.7% - 100.0%의 치사율을 보였다(Table 85).

*Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통은 1회 살포 시 73.3% - 93.3%, 2회 살포 시 93.3% - 96.7%, 3회 살포 시 96.7% - 100.0%의 치사율을 나타내어 살포회수가 증가할수록 치사율도 증가하였다(Table 86).

무잎벌에 대한 곤충병원성선충의 처리효과는 *Steinernema* sp. GSNUS-10 계통을 1회 살포 시 90.0% - 100.0%, 2회 살포 시 96.7% - 100.0%, 3회 살포 시 100.0% - 100.0%의 치사율을 보였다(Table 87).

*Steinernema* sp. GSNUS-14 계통은 1회 살포 시 93.3% - 100.0%, 2회 살포 시와 3회 살포 때에는 모두 100.0%의 치사율을 나타내어 상대적으로 높은 병원성을 보였다(Table 88).

Table 87. Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema* sp. GSNUS-10(S210) and *S. carpocapsae*(ScP) on *Athalis rosae ruficornis* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	S210	ScP	S210	ScP	S210	ScP
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
30,000	93.3	100.0	96.7	100.0	100.0	100.0
10,000	90.0	93.3	96.7	100.0	100.0	100.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 88. Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema* sp. GSNUS-14(S223) and *S. carpocapsae*(ScG) on *Athalis rosae ruficornis* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	S223	ScG	S223	ScG	S223	ScG
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
30,000	96.7	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
10,000	93.3	96.7	100.0	100.0	100.0	100.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 89. Effect of entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain(S202) and *H. bacteriophora* Hamyang strain(HbH) on *Athalis rosae ruficornis* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	H202	HbH	H202	HbH	H202	HbH
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
30,000	86.7	93.3	96.7	96.7	100.0	100.0
10,000	80.0	86.7	90.0	93.3	96.7	100.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

*Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통은 1회 살포 시 80.0% - 100.0%, 2회 살포 시 90.0% - 100.0%, 3회 살포 시 96.7% - 100.0%로서 매우 높은 치사율을 나타내었다 (Table 87, 88, 89).

좁은가슴잎벌레에 대한 치사율은 *Steinernema* sp. GSNUS-10 계통을 1회 살포 시에는 73.3% - 83.3%, 2회 살포 시에는 83.3% - 90.0%, 3회 살포 시에는 93.3% - 96.7%의 치사율을 보였다(Table 90).

*Steinernema* sp. GSNUS-14 계통은 1회 살포 시, 73.3% - 90.0%, 2회 살포 시, 86.7% - 93.3%, 3회 살포 시, 96.7% - 100.0%의 치사율을 나타내었다(Table 91).

*Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통은 1회 살포 시, 70.0% - 83.3%, 2회 살포 시, 80.0% - 93.3%, 3회 살포 시, 90.0% - 96.7%의 치사율을 나타내었다(Table 92).

좁은가슴잎벌레의 경우 다른 나방류와 벌류 해충보다 곤충병원성선충에 대한 감수성이 낮아 효과적으로 좁은가슴잎벌레를 방제하기 위해서는 적어도 2회 이상의 곤충병원성선충 살포가 수반되어야 할 것으로 생각된다.

Table 90. Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema* sp. GSNUS-10(S210) and *S. carpocapsae*(ScG) on *Phaedon brassicae* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	S210	ScG	S210	ScG	S210	ScG
90,000	83.3	90.0	90.0	96.7	96.7	100.0
30,000	76.7	83.3	83.3	90.0	93.3	96.7
10,000	73.3	76.7	83.3	90.0	93.3	96.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 91. Effect of entomopathogenic nematode, *Steinernema* sp. GSNUS-14(S223) and *S. carpocapsae*(ScG) on *Phaedon brassicae* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	S223	ScG	S223	ScG	S223	ScG
90,000	90.0	90.0	93.3	96.7	100.0	100.0
30,000	80.0	83.3	90.0	90.0	96.7	96.7
10,000	73.3	76.7	86.7	90.0	96.7	96.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 92. Effect of entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain(S202) and *H. bacteriophora* Hamyang strain(HbH) on *Phaedon brassicae* depending on nematode application time

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	One time application		Two times application		Three times application	
	H202	HbH	H202	HbH	H202	HbH
90,000	83.3	86.7	93.3	93.3	96.7	100.0
30,000	70.0	73.3	83.3	86.7	90.0	93.3
10,000	70.0	70.0	80.0	83.3	90.0	93.3
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

#### 4. 엽채류 품종에 따른 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 pot 병원성 비교

##### 가. 재료 및 방법

엽채류의 품종에 따른 주요 해충의 병원성을 알아보기 위하여 배추, 양배추, 케일, 적겨자, 쌈추, 잎브로콜리, 적근대, 청경채, 열무를 육묘용 트레이에 파종하여 유리온실에서 3주 동안 키운 후 떡잎이 2 - 3장이 나왔을 때 직경 8 cm 높이 7 cm 육묘용 포트에 이식한 후 30 - 40일 동안 물관리를 하며 육묘를 길렀다. 떡잎이 5-6장이 되면 각각의 포트 한 개씩을 곤충사육용 아크릴 상자(가로 30 cm, 세로 30 cm, 높이 28.5 cm)에 넣고 배추좀나방, 담배거세미나방, 파밤나방, 배추흰나비, 도둑나방, 흰띠명나방, 무잎벌, 좁은가슴잎벌레 유충을 각각 10마리씩 잎에 부착시켰다. 유충이 완전히 잎에 정착할 수 있게 1시간 경과한 후 잎에 유충이 완전히 정착하면 각 곤충사육상자에 *Steinernema* sp. GSNUS-10, *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통과 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통 그리고 대조선충으로 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *H. bacteriophora* Hamyang 계통을 농도가 90,000Ijs, 30,000Ijs, 10,000Ijs가 되게 하여 30 ml 물량으로 조절하여 가정용 소형분무기로 살포하였다. 무처리는 살균

수 30 ml만을 살포하였다. 선충 처리 후 곤충사육용 상자는  $25 \pm 3^\circ\text{C}$ ,  $60 \pm 5\%$  상대습도, 16L : 8D 광주기 조건의 항온기에 넣은 다음 처리 후 5일째 유충의 치사유무를 조사하였다. 실험은 한 개의 상자를 1반복으로 3반복하였다.

#### 나. 결과

*Steinernema* sp. GSNUS-10 계통은 엽채류의 종류별에 따라 배추좀나방에 대한 병원성에 차이를 보였다. 배추에서는 93.3% - 100.0%의 치사율을 보였고, 양배추에서는 83.3% - 93.3%, 케일에서는 76.7% - 90.0%의 치사율을 보였다(Table 93).

적겨자에서는 83.3% - 100.0%의 치사율을 보였으며 싹추에서는 86.7%-100.0%, 잎브로콜리에서는 배추좀나방에 대한 치사율이 76.7% - 86.7%를 보였다(Table 94).

*Steinernema* sp. GSNUS-10 계통은 싹추와 적겨자, 배추에서는 배추좀나방에 대한 효과가 높았으며 양배추와 케일, 잎브로콜리에서는 상대적으로 낮은 효과를 보였다.

Table 93. Effect of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* sp. GSNUS-10 strain(S210) and *S. carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Plutella xylostella* depending on Chinese cabbage, cabbage and kale

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Chinese cabbage		Cabbage		Kale	
	S210	ScG	S210	ScG	S210	ScG
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	86.7	100.0
30,000	96.7	100.0	86.7	96.7	83.3	96.7
10,000	93.3	93.3	80.0	86.7	70.0	80.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 94. Effect of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* sp. GSNUS-10 strain(S210) and *S. carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Plutella xylostella* depending on red mustard, Ssamchoo and leaf broccoli

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Red mustard		Ssamchoo		Leaf broccoli	
	S210	ScG	S210	ScG	S210	ScG
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	86.7	100.0
30,000	90.0	100.0	93.3	96.7	83.3	96.7
10,000	83.3	93.3	86.7	86.7	76.7	80.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 95. Effect of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain(S223) and *S. carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Plutella xylostella* depending on Chinese cabbage, cabbage and kale

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Chinese cabbage		Cabbage		Kale	
	S223	ScG	S223	ScG	S223	ScG
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	83.3	100.0
30,000	90.0	100.0	90.0	100.0	83.3	90.0
10,000	80.0	96.7	83.3	93.3	73.3	76.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

*Steinernema* sp. GSNUS-14 계통은 배추좀나방에 대하여 배추에서는 93.3% - 100.0%, 양배추에서는 80.0% - 100.0%의 치사율을 보였으나 케일에서는 70.0% - 86.7%의 낮은 치사율을 보였다(Table 95). 적겨자에서는 80.0% - 100.0%의 치사율을 보였고, 싹추에서는 83.3% - 100.0%, 꽃브루콜리에서는 73.3% - 83.3%의 낮은 치사율을 보였다(Table 96).

Table 96. Effect of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain(S223) and *S. carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Plutella xylostella* depending on red mustard, Ssamchoo and leaf broccoli

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Red mustard		Ssamchoo		Leaf broccoli	
	S223	ScG	S223	ScG	S223	ScG
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	83.3	100.0
30,000	90.0	100.0	90.0	100.0	83.3	90.0
10,000	80.0	96.7	83.3	93.3	73.3	76.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

*Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통은 배추좀나방에 대하여 배추에서는 76.7% - 93.3%, 양배추에서는 66.7% - 86.7%, 케일에서는 60.0% - 80.0%의 치사율을 보였다 (Table 97).

적겨자에서는 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통이 배추좀나방에 대하여 73.3% - 90.0%의 치사율을 보였으며, 싹추에서는 60.1 - 86.7%의 치사율을 보였고, 잎부로 콜리에서는 56.7% - 80.0%의 치사율을 보였다(Table 98).

다른 두 Steinernematid 선충에 비하여 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통이 상대적으로 낮은 병원성을 보였다.

Table 97. Effect of entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain(S202) and *H. bacteriophora* Hamyang strain(HbH) on *Plutella xylostella* depending on Chinese cabbage, cabbage and kale

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Chinese cabbage		Cabbage		Kale	
	H202	HbH	H202	HbH	H202	HbH
90,000	93.3	100.0	86.7	90.0	80.0	83.3
30,000	83.3	90.0	73.3	80.0	73.3	73.3
10,000	76.7	83.3	66.7	70.0	60.0	66.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 98. Effect of entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain(S202) and *H. bacteriophora* Hamyang strain(HbH) on *Plutella xylostella* depending on red mustard, Ssamchoo and leaf broccoli

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Red mustard		Ssamchoo		Leaf broccoli	
	H202	HbH	H202	HbH	H202	HbH
90,000	90.0	100.0	86.7	90.0	80.0	83.3
30,000	76.7	90.0	76.7	80.0	70.0	73.3
10,000	73.3	83.3	60.0	70.0	56.7	66.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

배추, 적겨자, 싹추와 같은 잎 표면에 털이 많고 굴곡이 많은 품종이 그렇지 않은 양배추, 케일, 잎브로콜리보다 치사율이 높았다. 즉 잎에 털과 굴곡이 많으면 물과 함께 현탁액 상태로 살포되어지는 선충이 털이나 굴곡 사이에 머물게 될 확률이 많기 때문에 상대적으로 잎 표면이 매끄러운 양배추나 케일처럼 물과 함께 흘러내리는 것보다 잎에 머무는 시간이 증가함으로 잎을 식이하는 저작구를 가진 해충의 유충과 접촉할 수 있는 기회가 늘어나는 것을 의미한다. 따라서 작물의 잎 조직 형태와 식물체의 성장에 따른 조직의 형태적 변화는 병원성 미생물을 활용하는 데 있어 매우 중요할 것으로 생각된다.

배추와 양배추, 케일에서 *Steinernema* sp. GSNUS-10 계통의 담배거세미나방에 대한 치사율은 각각 73.3% - 93.3%와 33.3% - 73.3%, 60.0% - 76.7%를 보였다 (Table 99).

Table 99. Effect of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* sp. GSNUS-10 strain(S210) and *S. carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Spodoptera litura* depending on Chinese cabbage, cabbage and kale

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Chinese cabbage		Cabbage		Kale	
	S210	ScG	S210	ScG	S210	ScG
90,000	93.3	100.0	73.3	83.3	76.7	86.7
30,000	83.3	86.7	53.3	70.0	70.0	73.3
10,000	73.3	76.7	33.3	50.0	60.0	63.3
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

또한 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통은 배추에서 73.3% - 93.3%, 양배추에서 36.7% - 76.7%, 케일에서 56.7% - 80.0%의 치사율을 보였고 (Table 100), *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통은 각각 63.3% - 86.7%, 30.0% - 73.3%, 36.7% - 76.7%의 치사율을 보였다 (Table 101).

Table 100. Effect of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* sp. GSNU-14 strain(S223) and *S. carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Spodoptera litura* depending on Chinese cabbage, cabbage and kale

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Chinese cabbage		Cabbage		Kale	
	S223	ScG	S223	ScG	S223	ScG
90,000	93.3	100.0	76.7	83.3	80.0	86.7
30,000	80.0	86.7	60.0	70.0	70.0	73.3
10,000	73.3	76.7	36.7	50.0	56.7	63.3
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 101. Effect of entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain(S202) and *H. bacteriophora* Hamyang strain(HbH) on *Spodoptera litura* depending on Chinese cabbage, cabbage and kale

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Chinese cabbage		Cabbage		Kale	
	H202	HbH	H202	HbH	H202	HbH
90,000	86.7	93.3	73.3	80.0	76.7	83.3
30,000	76.7	80.0	56.7	66.7	56.7	70.0
10,000	63.3	70.0	30.0	43.3	36.7	50.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 102. Effect of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* sp. GSNUS-10strain(S210) and *S. carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Spodoptera exigua* defending on Chinese cabbage, cabbage and kale

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Chinese cabbage		Cabbage		Kale	
	S210	ScG	S210	ScG	S210	ScG
90,000	90.0	93.3	70.0	80.0	76.7	83.3
30,000	76.7	80.0	60.0	66.7	60.0	70.0
10,000	70.0	76.7	46.7	50.0	56.7	63.3
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 103. Effect of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* sp. GSNUS-14strain(S223) and *S. carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Spodoptera exigua* defending on Chinese cabbage, cabbage and kale

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Chinese cabbage		Cabbage		Kale	
	S223	ScG	S223	ScG	S223	ScG
90,000	93.3	93.3	66.7	80.0	73.3	83.3
30,000	73.3	80.0	60.0	66.7	63.3	70.0
10,000	73.3	76.7	50.0	50.0	56.7	63.3
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 104. Effect of entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain(S202) and *H. bacteriophora* Hamyang strain(HbH) on *Spodoptera exigua* depending on Chinese cabbage, cabbage and kale

Concentration (Ijs/30mℓ)	Larval mortality(%)					
	Chinese cabbage		Cabbage		Kale	
	H202	HbH	H202	HbH	H202	HbH
90,000	80.0	86.7	73.3	76.7	80.0	83.3
30,000	73.3	76.7	53.3	60.0	63.3	70.0
10,000	53.3	63.3	33.3	40.0	40.0	53.3
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

배추와 양배추, 케일에서 *Steinernema* sp. GSNUS-10 계통의 파밤나방에 대한 치사율은 각각 70.0% - 90.0%, 46.7% - 70.0%, 56.7% - 76.7%를 보였고(Table 102), *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통은 73.3% - 93.3%, 50.0% - 66.7%, 56.7% - 73.3%(Table 103), *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통이 53.3% - 80.0%, 33.3% - 73.3%, 40.0% - 80.0%(Table 104)로서 치사율은 배추, 양배추, 케일 순이었다(Table 102, 103, 104).

*Steinernema* sp. GSNUS-10 계통의 배추흰나비에 대한 치사율은 배추에서 전 처리농도에서 100%를 나타내었고, 양배추에서는 96.7% - 100.0%, 케일에서는 전 처리농도에서 100%의 치사율을 보였다(Table 105).

*Steinernema* sp. GSNUS-14 계통은 모든 엽채류와 처리농도에서 100%의 치사율을 보여(Table 106) 다른 선충들에 비하여 상대적으로 높은 병원성을 보였다.

*Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통은 배추에서 86.7% - 100.0%, 양배추에서 80.0% - 100.0%, 케일에서 83.3% - 100.0%의 치사율을 보여 두 *Steinernema*속 선충에 비하여 병원성이 상대적으로 낮았다(Table 107).

Table 105. Effect of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* sp. GSNUS-10 strain(S210) and *S. carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Artogeia rapae* depending on Chinese cabbage, cabbage and kale

Concentration (I <sub>j</sub> s/30ml)	Larval mortality(%)					
	Chines cabbage		Cabbage		0	Kale
	S210	ScG	S210	ScG	S210	ScG
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
30,000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
10,000	100.0	100.0	96.7	100.0	100.0	100.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 106. Effect of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain(S223) and *S. carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Artogeia rapae* depending on Chinese cabbage, cabbage and kale

Concentration (I <sub>j</sub> s/30ml)	Larval mortality(%)					
	Chinese cabbage		Cabbage		Kale	
	S223	ScG	S223	ScG	S223	ScG
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
30,000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
10,000	100.0	100.0	96.7	100.0	96.7	100.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 107. Effect of entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain(S202) and *H. bacteriophora* Hamyang strain(HbH) on *Artogeia rapae* depending on Chinese cabbage, cabbage and kale

Concentration (Ijs/30mℓ)	Larval mortality(%)					
	Chinese cabbage		Cabbage		Kale	
	H202	HbH	H202	HbH	H202	HbH
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
30,000	96.7	100.0	90.0	93.3	93.3	96.7
10,000	86.7	93.3	80.0	83.3	83.3	86.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

배추흰나비에 대한 곤충병원성선충의 병원성이 다른 대상 해충들에 비하여 높은 것은 많은 다른 나방류 유충은 작물체의 잎 뒷면에 주로 서식하지만 배추흰나비는 잎 위에 주로 있고 몸체에 털이 매우 많기 때문에 물과 접촉하면 물이 흡수되거나 털에 잘 붙게 되는 특징을 지니고 있어 일단 선충 현탁액과 접촉이 이루어지면 거의 모든 유충이 치사하게 된 것으로 생각된다.

도둑나방에 대한 *Steinernema* sp. GSNUH-10 계통의 치사율은 배추에서는 83.3% - 100.0%, 양배추에서는 73.3% - 90.0%, 케일에서는 80.0% - 93.3%를 보였다(Table 108).

*Steinernema* sp. GSNUH-14 계통은 도둑나방에 대하여 배추에서는 80.0% - 100.0%, 양배추에서는 73.3% - 86.7%, 케일에서는 73.3% - 90.0%의 치사율을 보였다(Table 109).

*Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통은 배추에서는 70.0% - 93.3%, 양배추에서 66.7% - 80.0%, 케일에서 70.0% - 83.3%의 치사율을 보여(Table 110) 실험에 이용한 3계통의 선충 모두가 배추에서 가장 치사율이 높았다(Table 108, 109, 110).

Table 108. Effect of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* sp. GSNUS-10 strain(S210) and *S. carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Manestra brassicae* defending on Chinese cabbage, cabbage and kale

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Chines cabbage		Cabbage		Kale	
	S210	ScG	S210	ScG	S210	ScG
90,000	100.0	100.0	90.0	100.0	93.3	100.0
30,000	93.3	96.7	80.0	86.7	86.7	93.3
10,000	83.3	90.0	73.3	83.3	80.0	86.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 109. Effect of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain(S223) and *S. carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Manestra brassicae* defending on Chinese cabbage, cabbage and kale

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Chinese cabbage		Cabbage		Kale	
	S223	ScG	S223	ScG	S223	ScG
90,000	100.0	100.0	86.7	100.0	90.0	100.0
30,000	90.0	96.7	76.7	86.7	90.0	93.3
10,000	80.0	90.0	73.3	83.3	73.3	86.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 110. Effect of entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain(S202) and *H. bacteriophora* Hamyang strain(HbH) on *Manestra brassicae ruficornis* depending on Chinese cabbage, cabbage and kale

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Chines cabbage		Cabbage		Kale	
	H202	HbH	H202	HbH	H202	HbH
90,000	93.3	96.7	80.0	83.3	83.3	86.7
30,000	80.0	86.7	76.7	76.7	73.3	80.0
10,000	70.0	80.0	66.7	70.0	70.0	73.3
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

적근대에서 가장 피해를 많이 주는 흰띠명나방에 대한 *Steinernema* sp. GSNUH-10 계통의 처리 효과는 80.0% - 93.3%의 치사율을 보였으며(Table 111), *Steinernema* sp. GSNUH-14 계통이 83.3% - 96.7%(Table 112), *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통이 76.7% - 90.0%의 치사율을 보였다(Table 113).

Table 111. Effect of *Steinernema* sp. GSNUH-10 strain(S210) and *S. carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on pathogenicity of *Hymenia recurvalis* on red Swiss chard

Concentration(Ijs/30ml)	Larval mortality(%)	
	S210	ScG
90,000	93.3	100.0
30,000	86.7	100.0
10,000	80.0	86.7
0	0	0

Table 112. Effect of *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain(S223) and *S. carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on pathogenicity of *Hymenia recurvalis* on red Swiss chard

Concentration(Ijs/30ml)	Larval mortality(%)	
	S223	ScG
90,000	96.7	100.0
30,000	90.0	100.0
10,000	83.3	86.7
0	0	0

Table 113. Effect of *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain(H202) and *H. bacteriophora* Hamyang strain(HbH) on pathogenicity of *Hymenia recurvalis* on red Swiss chard

Concentration(Ijs/30ml)	Larval mortality(%)	
	H202	HbH
90,000	90.0	100.0
30,000	83.3	93.3
10,000	76.7	80.0
0	0	0

무잎벌에 대한 *Steinernema* sp. GSNUS-10 계통의 치사율은 청경채에서 90.0% - 100.0%, 짬추에서 93.3% - 100.0%, 열무에서 86.7% - 100.0%를 보였고(Table 114), *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통은 93.3% - 100.0%, 93.3% - 100.0%, 83.3% - 100.0%(Table 115), *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통은 86.7% - 100.0%, 80.0% - 93.3%, 76.7% - 93.3%였다(Table 116).

Table 114. Effect of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* sp. GSNUS-10 strain(S210) and *S. carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Athalia rosae ruficornis* defending on pak-choi, Ssamchoo and young radish

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Pak-choi		Ssamchoo		Young radish	
	S210	ScG	S210	ScG	S210	ScG
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
30,000	96.7	100.0	100.0	100.0	93.3	100.0
10,000	90.0	96.7	93.3	93.3	86.7	90.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 115. Effect of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain(S223) and *S. carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Athalia rosae ruficornis* defending on pak-choi, Ssamchoo and young radish

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Pak-choi		Ssamchoo		Young radish	
	S223	ScG	S223	ScG	S223	ScG
90,000	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
30,000	100.0	100.0	100.0	100.0	96.7	100.0
10,000	93.3	96.7	93.3	93.3	83.3	90.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 116. Effect of entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain(H202) and *H. bacteriophora* Hamyang strain(HbH) on *Athalia rosae ruficornis* depending on pak-choi, Ssamchoo and young radish

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Pak-choi		Ssamchoo		Young radish	
	H202	HbH	H202	HbH	H202	HbH
90,000	100.0	100.0	93.3	100.0	93.3	100.0
30,000	90.0	93.3	86.7	90.0	83.3	93.3
10,000	86.7	90.0	80.0	83.3	76.7	90.0
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

좁은가슴앞벌레에 대한 *Steinernema* sp. GSNUH-10 계통의 치사율은 배추에서 76.7% - 86.7%, 싹추에서 70.0% - 90.0%, 적겨자에서 70.0% - 83.3%, *Steinernema* sp. GSNUH-14 계통은 76.7% - 90.0%, 76.7% - 90.0%, 73.3% - 83.3%, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통은 66.7% - 83.3%, 70.0% - 80.0%, 70.0% - 80.0%였다(Table 117, 118, 119).

Table 117. Effect of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* sp. GSNUH-10 strain(S210) and *S. carpocapsae* GSNUH-1 strain(ScG) on *Phaedon brassicae* depending on Chinese cabbage, cabbage and red mustard

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Chinese cabbage		Ssamchoo		Red mustard	
	S210	ScG	S210	ScG	S210	ScG
90,000	86.7	93.3	90.0	96.7	83.3	90.0
30,000	80.0	86.7	83.3	90.0	73.3	83.3
10,000	76.7	80.0	70.0	83.3	70.0	76.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 118. Effect of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain(S223) and *S. carpocapsae* GSN1 strain(ScG) on *Phaedon brassicae* defending on Chinese cabbage, cabbage and red mustard

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Chines cabbage		Ssamchoo		Red mustard	
	S223	ScG	S223	ScG	S223	ScG
90,000	90.0	93.3	90.0	96.7	83.3	90.0
30,000	83.3	86.7	86.7	90.0	76.7	83.3
10,000	76.7	80.0	76.7	83.3	73.3	76.7
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Table 119. Effect of entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain(H202) and *H. bacteriophora* Hamyang strain(HbH) on *Phaedon brassicae* defending on Chinese cabbage, cabbage and red mustard

Concentration (Ijs/30ml)	Larval mortality(%)					
	Chines cabbage		Ssamchoo		Red mustard	
	H202	HbH	H202	HbH	H202	HbH
90,000	83.3	86.7	80.0	83.3	80.0	86.7
30,000	73.3	76.7	73.3	76.7	76.7	80.0
10,000	66.7	70.0	70.0	73.3	70.0	73.3
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

5. 선충 처리 방법별 시설 엽채류 해충에 대한 병원성 비교

가. 재료 및 방법

정식한 지 30일이 지난 28주의 케일이 심겨져 있는 1.2 m × 6.0 m(7.2 m<sup>2</sup>)구에 서 임의로 12주를 선정하여 배추흰나비 유충수를 조사하였다. 그리고 10리터 분무기 에 *S. carpocapsae* GSN1 계통을 이용하여 노즐종류와 노즐간격을 달리하여 살포한 후 3일과 6일째 배추흰나비 유충수를 재조사하여 방제가를 구하였다. 선충은 구당 7,000,000Ijs를 10리터 물에 희석하여 살포하였다. 노즐종류는 시중에 판매되고 있는 접이형과 직선형으로 구분하여 살포하였으며, 노즐간격은 방제효과가 더 높았던 접이형을 이용하여 초당 살포물량이 5 ml, 10 ml, 15 ml로 구분하여 살포하였다. 실험은 한주를 1반복으로 12반복하여 평균을 구한 다음 방제가를 구하였다.

나. 결과

엽채류에 대한 곤충병원성 선충의 살포에 적합한 노즐은 직선형보다는 접이형 이 더 효과적이었다(Table 120). 접이형은 처리 후 3일째 93.4%, 6일째 96.2%의 배추흰나비 방제 효과를 보였다. 반면 직선형은 처리 후 3일째 84.2%, 6일째 86.3%의 배추흰나비 방제 효과를 보였다.

Table 120. Effect of nozzle type of sprayer on pathogenicity of entomopathogenic nematode against *Artogeia rapae*

Nozzle type	Control efficacy(%)	
	3 days after treatment	6 days after treatment
Fold type	93.4	96.2
Strait type	84.2	86.3

노즐간격은 초당 15 ml의 물량을 살포할 수 있는 것이 가장 효과적이었다(Table 121). 초당 15 ml의 노즐간격에서의 배추흰나비 방제 효과는 처리 후 3일째 93.2%,

6일째 97.1%의 높은 방제효과를 보였다. 따라서 엽채류와 같이 웃자람이 없는 작물에 곤충병원성 선충을 처리할 때는 접이형 노즐로 간격을 약간 느슨하게 하여 살포하는 것이 가장 효과적으로 생각된다.

Table 121. Effect of nozzle size of sprayer on pathogenicity of entomopathogenic nematode against *Artogeia rapae*

Nozzle size(ml/sec.)	Control efficacy(%)	
	3 days after treatment	6 days after treatment
5 ml	79.8	84.2
10 ml	92.3	95.7
15 ml	93.2	97.1

6. 시설 엽채류 해충에 대한 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 농도별에 따른 야외실험

가. 재료 및 방법

수원의 원예연구소 온실에서 배추, 양배추, 케일을 4월 말에 50일 묘를 정식한 후 7 - 10일 간격으로 발생 해충의 밀도를 사전에 조사하여 적정처리시기를 정하고 *S. carpocapsae* GSN1 계통, *Steinernema* sp. GSNU-14 계통과 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통을 이용하여 방제 효과 실험을 수행하였다. 각 시험구의 면적은 1.2 m × 6.0 m(7.2 m<sup>2</sup>)였고 두 줄로 40 cm 간격으로 14주씩 28주를 심었다. 선충 처리 농도는 구당 3리터의 물에 7,200,000Ijs, 2,400,000Ijs, 800,000Ijs의 농도로 각각 희석하여 20리터 배부식분무기로 살포하였다. 또한 공주, 양평, 화성에서도 100평-180평 단 동형 비닐하우스에서 실험을 수행하였다. 시험구의 면적은 2.5 m × 4 m(10 m<sup>2</sup>)였고 15 cm~25 cm 간격으로 작물을 재식하였다. *S. carpocapsae* GSN1 계통 처리농도는 구당 4리터의 물에 10,000,000Ijs, 3,333,000Ijs, 1,111,000Ijs의 농도로 각각 희석하여 20리터 배부식분무기로 살포하였다. 살포는 3일 간격으로 1회, 2회, 3회 살포하였으며, 최종 살포 후 7일째 발생 해충의 밀도를 조사하여 사전 조사한 밀도와 비교

하여 방제가를 구하였다. 반복은 한 개의 구를 1반복으로 5반복하였으며 구당 10주를 임의로 정하여 해충 밀도를 조사하였다.

나. 결과

*S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통 및 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통을 이용하여 배추좀나방에 대한 방제실험을 배추포장에서 수행한 결과는 Table 122와 같았다.

*Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통에 비하여 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통의 방제효과가 높게 나타났으며 농도간에는 큰 차일르 보이지 않았다. 반면 선충의 처리 횟수가 많을수록 방제가가 높아졌다.

Table 122. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain(ScG), *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain and *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain on pathogenicity of *Plutella xylostella* in Chinese cabbage field

Concentration (Ijs/3 ℓ /7.2m <sup>2</sup> )	Application time	Control efficacy(%) at 7 days after treatment		
		ScG	GSNUS-14	GSNUH-1
7,200,000	1	79.8	73.2	70.6
	2	93.9	83.5	81.2
	3	97.7	91.9	89.5
2,400,000	1	72.6	70.0	63.8
	2	86.6	78.0	75.1
	3	94.0	87.6	84.6
800,000	1	71.6	69.3	60.0
	2	84.3	74.2	70.7
	3	90.5	80.8	80.5
0	-	-	-	-

*S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통 및 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통을 이용하여 배추좀나방에 대한 방제실험을 양배추포장에서 수행한 결과는 Table 123과 같았다.

배추포장에 비하여 양배추 포장에서는 각 선충들의 효과가 낮게 나타났으나 각 선충들의 방제효과는 배추포장에서와 마찬가지로 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통에 비하여 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통의 방제효과가 높게 나타났다. 또한 방제횟수가 증가함에 따라 방제가는 높아졌으나 처리농도별에 따른 차이는 없었다.

Table 123. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain(ScG), *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain and *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain on pathogenicity of *Plutella xylostella* in cabbage field

Concentration (Ijs/3 ℓ /7.2m <sup>2</sup> )	Application time	Control efficacy(%) at 7 days after treatment		
		ScG	GSNUS-14	GSNUH-1
7,200,000	1	70.6	66.4	65.3
	2	81.0	74.3	73.8
	3	89.9	84.5	80.6
2,400,000	1	68.2	63.1	60.8
	2	80.5	71.8	66.4
	3	86.2	81.5	74.8
800,000	1	63.5	62.7	59.3
	2	71.2	65.7	64.2
	3	81.5	79.7	71.7
0	-	-	-	-

케일포장에서 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통 및 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통을 이용하여 배추좀나방에 대한 방제실험을 수행한 결과는 Table 124와 같았다.

배추포장이나 양배추포장에 비하여 케일포장에서 각 선충들의 방제가가 대체적으로 가장 낮게 나타났으며 각 선충 계통간 방제효과의 차이는 배추나 양배추포장과는 달리 상대적으로 적었다. 선충 처리 농도별 병원성은 800,000Ijs 처리구를 제외하고는 유사하게 나타났으며 방제횟수가 증가함에 따라 방제가는 높아지는 경향을 보였다.

Table 124. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain(ScG), *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain and *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain on pathogenicity of *Plutella xylostella* in Kale

Concentration (Ijs/3 ℓ /7.2m <sup>2</sup> )	Application time	Control efficacy(%) at 7 days after treatment		
		ScG	GSNUS-14	GSNUH-1
7,200,000	1	67.2	63.7	62.2
	2	75.2	72.1	72.0
	3	81.5	76.7	75.3
2,400,000	1	59.9	59.2	58.8
	2	63.7	62.6	60.0
	3	73.5	72.1	70.6
800,000	1	53.2	54.4	52.3
	2	57.0	55.6	58.9
	3	70.8	70.2	69.8
0	-	-	-	-

배추포장에서 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통 및 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통을 이용하여 담배거세미나방에 대한 방제실험을 수행한 결과는 Table 125와 같았다.

*S. carpocapsae* GSN1 계통 처리 시 방제가가 가장 높았으며 선충의 처리 농도가 높아짐에 따라 방제가가 증가하였다. 또한 방제횟수가 증가함에 따라 방제가는 높아지는 경향을 보였다.

Table 125. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain(ScG), *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain and *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain on pathogenicity of *Spodoptera litura* in chinese cabbage field

Concentration (Ijs/3 ℓ /7.2m <sup>2</sup> )	Application time	Control efficacy(%) at 7 days after treatment		
		ScG	GSNUS-14	GSNUH-1
7,200,000	1	88.7	81.5	76.6
	2	93.1	83.1	82.5
	3	95.9	90.2	87.6
2,400,000	1	84.5	78.9	75.7
	2	87.6	80.3	79.0
	3	94.9	87.3	86.0
800,000	1	76.8	69.8	67.1
	2	83.5	76.5	76.3
	3	88.7	84.9	78.1
0	-	-	-	-

양배추포장에서 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통 및 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통을 이용하여 담배거세미나방에 대한 방제실험을 수행한 결과는 Table 126과 같았다.

Table 126. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain(ScG), *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain and *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain on pathogenicity of *Spodoptera litura* in cabbage

Concentration (Ijs/3 ℓ /7.2m <sup>2</sup> )	Application time	Control efficacy(%) at 7 days after treatment		
		ScG	GSNUS-14	GSNUH-1
7,200,000	1	80.2	70.0	66.5
	2	86.3	79.4	75.8
	3	92.1	86.9	84.9
2,400,000	1	77.7	60.0	60.4
	2	80.2	72.0	71.0
	3	88.1	80.8	80.7
800,000	1	74.5	57.3	59.1
	2	76.3	70.0	68.9
	3	86.1	77.8	75.8
0	-	-	-	-

배추포장에 비하여 양배추포장에서 담배거세미나방에 대한 곤충병원성선충의 방제효율은 상대적으로 낮게 나타났으며 배추포장과 동일하게 *S. carpocapsae* GSN1 계통 처리 시 방제가가 가장 높았으며 선충의 처리 농도가 높아짐에 따라 방제가가 증가하였다. 또한 방제횟수가 증가함에 따라 방제가는 높아지는 경향을 보였다.

케일포장에서 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통 및 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통을 이용하여 담배거세미나방에 대한 방제실험을 수행한 결과는 Table 127과 같았다.

케일포장에서는 배추와 양배추포장에 비하여 담배거세미나방에 대한 방제가가 가장 낮게 나타났으며 앞의 두 실험의 결과와 동일하게 선충의 처리 농도가 높아짐에 따라 방제가가 증가하였고, 방제횟수가 증가함에 따라서도 방제가는 높아지는 경향을 보였다.

Table 127. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain(ScG), *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain and *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain on pathogenicity of *Spodoptera litura* in kale field

Concentration (Ijs/3 ℓ /7.2m <sup>2</sup> )	Application time	Control efficacy(%) at 7 days after treatment		
		ScG	GSNUS-14	GSNUH-1
7,200,000	1	74.1	71.7	69.2
	2	84.9	79.4	76.9
	3	88.6	83.8	82.7
2,400,000	1	65.9	59.6	60.4
	2	72.7	66.1	65.4
	3	82.5	74.9	74.6
800,000	1	59.6	54.0	55.5
	2	67.6	57.6	58.5
	3	75.2	71.7	71.7
0	-	-	-	-

Table 128. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain(ScG), *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain and *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain on pathogenicity of *Spodoptera exigua* in chinese cabbage field

Concentration (Ijs/3 ℓ /7.2m <sup>2</sup> )	Application time	Control efficacy(%) at 7 days after treatment		
		ScG	GSNUS-14	GSNUH-1
7,200,000	1	83.9	73.3	75.0
	2	93.8	82.5	80.0
	3	100.0	93.1	90.0
2,400,000	1	81.3	72.0	73.3
	2	88.8	76.0	76.7
	3	92.0	87.2	84.0
800,000	1	71.9	64.0	65.7
	2	78.9	72.6	73.3
	3	87.5	84.0	81.8
0	-	-	-	-

배추포장에서 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통 및 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통을 이용하여 과밤나방에 대한 방제실험을 수행한 결과는 Table 128과 같았다.

*S. carpocapsae* GSN1 계통이 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통이나 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통처리에 비하여 방제가가 가장 높았으며 선충의 처리 농도가 높아짐에 따라 방제가가 증가하였다. 또한 방제횟수가 증가함에 따라 방제가는 높아지는 경향을 보였다.

양배추포장에서 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통 및 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통을 이용하여 과밤나방에 대한 방제실험을 수행한 결과는 Table 129와 같았다.

담배거세미나방이나 배추줄나방 실험에서와 마찬가지로 양배추포장에서는 배추포장에 비하여 과밤나방에 대한 방제효율이 낮게 나타났다. 처리 선충 간 방제가는 차이를 보이지 않았으며 방제횟수가 많을수록 방제가가 증가하였다.

Table 129. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain(ScG), *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain and *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain on pathogenicity of *Spodoptera exigua* in in cabbage field

Concentration (Ijs/3 ℓ /7.2m <sup>2</sup> )	Application time	Control efficacy(%) at 7 days after treatment		
		ScG	GSNUS-14	GSNUH-1
7,200,000	1	71.4	62.5	62.6
	2	78.6	70.3	71.4
	3	88.3	81.5	82.7
2,400,000	1	65.7	58.3	57.6
	2	76.9	67.6	70.2
	3	81.6	77.3	80.1
800,000	1	61.9	54.2	56.7
	2	74.3	63.0	63.4
	3	78.6	75.7	73.5
0	-	-	-	-

케일포장에서 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통 및 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통을 이용하여 과밤나방에 대한 방제실험을 수행한 결과는 Table 130과 같았다.

배추나 양배추포장에서보다 케일포장에서 곤충병원성선충의 효과가 떨어졌다. 담배거세미나방이나 배추좀나방 실험에서와 동일하게 케일포장에서도 처리횟수가 많을수록 방제가는 증가하였다. 그러나 7.2 m<sup>2</sup>당 7,200,000Ijs로 3회를 처리하여도 병원성이 가장 높은 *S. carpocapsae* GSN-1 계통에서도 86.5%의 방제가를 보였다. 그러나 처리농도가 2,400,000Ijs나 800,000Ijs의 경우 *S. carpocapsae* GSN1 계통을 3회 처리를 하여도 76.3%와 71.6%의 방제가를 보였다.

Table 130. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain(ScG), *Steinernema* sp. GSNUS-14 strain and *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 strain on pathogenicity of *Spodoptera exigua* in kale field

Concentration (Ijs/3ℓ/7.2m <sup>2</sup> )	Application time	Control efficacy(%) at 7 days after treatment		
		ScG	GSNUS-14	GSNUH-1
7,200,000	1	66.8	59.6	56.4
	2	73.0	64.6	61.6
	3	86.5	77.3	76.0
2,400,000	1	63.2	54.6	52.0
	2	69.9	62.8	57.3
	3	76.3	74.7	72.6
800,000	1	52.6	50.0	48.0
	2	64.5	54.6	52.0
	3	71.6	67.6	69.5
0	-	-	-	-

배추와 양배추, 케일포장에서 도둑나방에 대한 곤충병원성선충 *S. carpocapsae* GSN1 계통의 효과는 Table 131과 같았다.

식재된 엽채류의 종류와 관계없이 *S. carpocapsae* GSN1 계통의 처리횟수가 많을수록 방제효과는 높았다. 엽채류 종류별 도둑나방에 대한 방제효과는 배추포장에서 가장 높았으며 양배추와 케일포장에서는 유사한 효과를 나타내었다. 선충의 농도별에 따른 방제가는 800,000Ijs 처리에 비하여 2,400,000Ijs 처리나 7,200,000Ijs에서 높게 나타났다. 그러나 2,400,000Ijs 처리나 7,200,000Ijs 처리 간에는 방제가에 큰 차이를 보이지 않았다.

Table 131. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain on pathogenicity of *Mamestra brassicae* in Chinese cabbage, cabbage and kale field

Concentration (Ijs/3 ℓ /7.2m <sup>2</sup> )	Application time	Control efficacy(%) at 7 days after treatment		
		Chinese cabbage	Cabbage	Kale
7,200,000	1	83.5	71.7	73.0
	2	88.1	76.4	76.3
	3	92.3	86.1	85.4
2,400,000	1	79.9	65.5	67.8
	2	86.6	72.7	74.3
	3	92.0	79.5	81.0
800,000	1	70.2	59.5	61.5
	2	76.2	63.3	66.2
	3	86.6	74.0	74.5
0	-	-	-	-

적겨자포장에서 배추좀나방 방제를 위한 *S. carpocapsae* GSN1 계통 처리효과는 Table 132와 같았다. 시험 지역별 방제가의 차이는 없었고, 처리횟수가 많을수록 방제가는 높게 나타났다.

Table 132. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain on pathogenicity of *Plutella xylostella* in red mustard field in Gongju and Yangpyeong

Concentration (Ijs/4 ℓ /10m <sup>2</sup> )	Application time	Control efficacy(%) at 10 days after treatment	
		Gongju	Yangpyeong
10,000,000	1	85.4	87.1
	2	91.8	93.2
	3	93.9	94.0
3,333,000	1	79.5	77.9
	2	88.8	83.2
	3	93.5	91.5
1,111,000	1	72.0	71.1
	2	81.1	80.1
	3	86.3	84.1
0	-	-	-

Table 133. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain on pathogenicity of *Artogeia rapae* in kale field in Suwon, Gongju and Yangpyeong

Concentration (Ijs/3 ℓ /7.2m <sup>2</sup> )	Application time	Control efficacy(%) at 7 days after treatment		
		Suwon	Gongju	Yangpyeong
7,200,000	1	94.8	92.1	91.0
	2	96.7	94.3	93.5
	3	99.5	99.0	100.0
2,400,000	1	88.7	85.9	85.7
	2	95.8	92.6	92.0
	3	98.9	97.7	96.5
800,000	1	87.1	84.1	81.4
	2	93.1	91.4	93.5
	3	97.9	93.0	94.6
0	-	-	-	-

수원과 공주, 양평의 케일포장에서 배추흰나비에 대한 *S. carpocapsae* GSN1 계통의 처리 효과를 알아보기 위하여 케일포장에서 실험한 결과는 Table 133과 같았다.

케일포장의 경우 다른 해충들에 대해서는 배추포장에 비하여 방제가가 현저히 떨어졌으나 배추흰나비에 대해서는 처리농도나 횟수에 상관없이 81.4%이상의 방제가를 나타내었다.

청경채포장에서 *S. carpocapsae* GSN1 계통을 처리하여 무잎벌의 방제효과를 조사한 결과는 Table 134와 같았다. 처리지역간 방제가의 차이는 없었으며 처리횟수가 증가할수록 방제가는 높아져 선충의 농도에 상관없이 3회 처리의 경우 비슷한 방제가를 나타내었다.

Table 134. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain on pathogenicity of *Athalia rosae ruficornis* in pak-choi field in Hwasung and Yongin

Concentration (Ijs/4 ℓ /10m <sup>2</sup> )	Application time	Control efficacy(%) at 5 days after treatment	
		Hwasung	Yongin
10,000,000	1	84.3	82.7
	2	93.2	90.5
	3	97.8	96.8
3,333,000	1	76.9	72.6
	2	88.5	84.9
	3	95.4	95.8
1,111,000	1	66.6	63.1
	2	88.1	81.6
	3	93.9	93.9
0	-	-	-

적근대포장에서 흰띠명나방 방제를 위하여 *S. carpocapsae* GSN1 계통을 처리한 결과는 Table 135와 같았다.

Table 135. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain on pathogenicity of

*Hymenia recurvalis* in red Swiss chard field in Gongju and Yangpyeong

Concentration (Ijs/4 ℓ /10m <sup>2</sup> )	Application time	Control efficacy(%) at 7 days after treatment	
		Gongju	Yangpyeong
10,000,000	1	83.5	82.5
	2	91.9	90.3
	3	94.8	94.6
3,333,000	1	76.9	75.0
	2	85.5	85.3
	3	90.7	91.8
1,111,000	1	71.5	69.8
	2	80.8	79.5
	3	88.5	87.1
0	-	-	-

Table 136. Effect of *Steinernema carpocapsae* GSN1 strain on pathogenicity of *Phaedon brassicae* in red Swiss chard field in Gongju and Yangpyeong

Concentration (Ijs/4 ℓ /10m <sup>2</sup> )	Application time	Control efficacy(%) at 7 days after treatment	
		Gongju	Yangpyeong
10,000,000	1	80.7	81.3
	2	93.7	90.2
	3	97.8	95.2
3,333,000	1	75.0	72.6
	2	89.9	86.3
	3	95.1	92.4
1,111,000	1	70.1	70.5
	2	79.7	81.0
	3	84.9	86.3
0	-	-	-

적겨자포장에서 좁은가슴잎벌레를 방제하기 위하여 *S. carpocapsae* GSN1 계통을

처리한 결과는 Table 136과 같았다.

재배지역간 좁은가슴잎벌레의 방제가는 차이가 없었으며 선충의 처리횟수가 증가할수록 방제가는 상승하였다.

## 7. Steinernematid와 Heterorhabditid 선충과 혼용가능한 저농약 선발

### 가. 재료 및 방법

농약이 곤충병원성 선충, *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema* sp. GSNUS-10, *Steinernema* sp. GSNUS-14 계통과 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통에 미치는 영향을 알아보기 위하여 강에서 채취한 모래를 3.35 mm 체로 골고루 거른 다음 살균기에서 25분간 살균하였다. 살균한 모래는 빛이 잘 드는 곳에서 24시간 동안 완전히 말린 다음 뚜껑에 직경 4 cm 200 메쉬의 둥근 철망이 붙어있는 직경 8 cm 높이 8.5 cm 플라스틱 곤충사육용기에 350 g의 모래를 넣었다. 그리고 엽채류의 대표적인 작물인 배추에 고시된 살충제 에토펜프록스 유제(etofenprox EC, 20%), 디메칠빈포스 유제(dimethylvinphos EC, 25%), 비펜스린 유제(bifenthrin EC, 1%), 다수진 유제(diazinon EC, 34%), 에마멕틴벤조에이트 유제(emamectin benzoate EC, 2.15%), 살균제인 디메쏘모르프·염기성염화동수화제(dimethomorph+copper oxychloride(Cu) WP, 15+35%), 메타실 수화제(metalaxyl WP, 25%), 옥쏘리닉에시드 수화제(oxolinic acid WP, 20%)와 엽채류에 고시된 살비제가 없기 때문에 가장 일반적으로 사용하고 있는 살비제중 밀베멕틴 유제, 테부펜피라드 유제, 피라크로포스 수화제 등 11종의 농약을 실험에 이용하였다. 각각의 농약은 350g의 모래에 대해 13%의 수분량을 맞추기 위하여 권장농도로 45 ml 현탁액을 만들고 여기에 0.5 ml당 1,000Ijs 농도로 선충을 접종한 후 각각의 곤충사육용기내에 선충이 들어있는 농약 현탁액이 골고루 퍼지게 부었다. 무처리는 물만 45.5 ml을 처리하였다. 모든 처리가 끝난 후 곤충사육용기는  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 상대습도  $60 \pm 5\%$ , 16L : 8D 광주기 조건의 항온기에 넣었다. 그리고 7일째 각각 곤충사육용기를 꺼내어 각각의 곤충사육용기내의 모래 위에 꿀벌부채명나방 노숙유충 10마리씩을 넣고 사육용기를 뒤집은 후 다시 항온기에 넣었다. 그리고 7일후 곤충사육용기를 꺼내어 용기 내에 있는 꿀벌부채명나방 노숙유충을 분리하여 해부현미경상에서 해부하여 선충에 의한 치사유무를 조사하였다. 실험은 각 농약당 꿀벌부채명나방 노숙유충 10마리가 들어있는 곤충사육용기

한 개를 1반복으로 3반복하였다.

나. 결과

선충의 종과 농약의 종류에 따라 꿀벌부채명나방 노숙유충 치사율에 차이가 있었다(Table 137). *Steinernema carpocapsae* GSN1 계통은 살비제 밀베멕틴 유제에서 86.7%, 피라크로포스 수화제에서 96.7%의 꿀벌부채명나방 치사율을 제외한 9종의 농약에서 모두 100.0%의 치사율을 보여 농약에 매우 저항성임을 알 수 있다. 그러나 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통과 *Steinernema* sp. GSNUS-10 계통은 살비제에 다소 감수적이었으며 *Heterorhabditis* sp. GSNUH-1 계통의 경우 밀베멕틴 유제에서 50.0%의 꿀벌부채명나방 치사율을 보여 가장 감수적이었다.

Table 137. Effect of pesticide on mortality of entomopathogenic nematode

Pesticide	Chemical name	Dilution fold	Mortality of <i>Galleria</i> (%)			
			ScG	S210	S223	H202
Insecticide	Etofenprox EC	1,000	100.0	86.7	96.7	80.0
	Dimethylvinphos EC	1,000	100.0	90.0	100.0	86.7
	Bifenthrin EC	1,000	100.0	90.0	100.0	83.3
	Diazinon EC	1,000	100.0	96.7	100.0	93.3
	Emamectin benzoate EC	2,000	100.0	100.0	100.0	100.0
Fungicide	Dimethomorph · copper oxychloride WP	2,000	100.0	90.0	100.0	96.7
	Metalaxyl WP	2,000	100.0	100.0	100.0	100.0
	Oxolinic acid WP	1,000	100.0	90.0	100.0	93.3
	Acricide	Milbemectin EC	1,000	86.7	76.7	83.3
Tebufenpyrad EC		2,000	100.0	93.3	100.0	56.7
Pyraclufos WP		1,000	96.7	93.3	93.3	53.3
Control		-	100.0	100.0	100.0	100.0

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1. 연차별 연구목표 및 달성도

구 분	주요 개발 내용 및 범위	달성도(%)
1차년도 (2002- 2003)	○국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 자원 조사	100
	○Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 생태 연구	100
	○시설 엽채류 해충의 종류에 따른 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충 의 병원성 구명	100
	○Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 온도별 병원 성과 침입수와 증 식수 구명, 시설 엽채류 재배지 해충 조사	100
2차년도 (2003- 2004)	○국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충 자원 조 사	100
	○Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 대량생산 연 구	100
	○온도, 수분, 토양, 자외선이 선충에 미치는 영향 연구	100
	○Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 엽채류 해충 에 대한 병원성 구명	100
	○엽채류의 종류에 따른 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 병원성 구명	100
3차년도 (2004- 2005)	○Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 보관 용기 개발	100
	○온도, 수분, 토양, 자외선이 선충에 미치는 영향	100
	○Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 유용동물에 미치는 안정성검정	100
	○Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 처리농도에 따른 병원성 구명	100
	○농가 실증 시험	100
	○Steinernematid와 Heterorhabditid 선충과 혼용 가능한 저농약 선발	100

## 2. 관련분야 기술발전예의 기여도

가. 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충 자원조사 및 생산 기술 개발: 세계 각국은 자국의 생물자원의 보호와 자원의 산업화에 매진하고 있으며 국내뿐만 아니라 외국의 생물자원 수집과 유전자원 확보에 다양한 연구와 투자를 하고 있는 실정이다. 본 연구에서는 연구기간 중 총 46계통의 곤충병원성선충 자원을 신규로 발굴함으로써 추후에 이들의 다양한 활용을 가능케 하였다. 친환경농업의 개념이 보편화 되고, 농산물의 국제교역의 증가, WTO 체제의 가동 등으로 농산물의 국제 경쟁력 확보가 농업의 주요 화두가 되고 있는 가운데 주요 선진국에서는 친환경 자재 또는 천적의 생산과 판매에 매진하고 있다. 이러한 국제적 흐름은 곤충병원성선충 시장도 예외가 아니어서 이웃하고 있는 일본의 기업들을 중심으로 국내 시장에 대한 접근을 시도 중이다. 한편 이미 곤충병원성선충에 대한 연구가 우리나라에 비하여 수십년 앞선 미국이나 유럽에서는 아직도 신규 선충 자원 확보에 대한 조사를 계속 수행하고 있는데 이것은 다양한 환경에 좀 더 잘 적용된 선충 자원의 확보를 목적으로 하고 있고, 이러한 환경적응력이 특성화된 선충의 경우 적용성이 다른 종이나 계통에 비하여 월등히 우수하다. 따라서 본 연구를 통해 얻어진 46계통의 선충들은 향후 우리나라에서 발생하는 다양한 해충들에 대하여 외국으로 도입된 선충들을 대신하여 적용될 수 있을 것으로 기대된다. 이들 중, 두 계통의 경우 이미 국내에서 생산을 시작하여 상품화 되었고, 두 계통의 경우 추가적으로 상품화가 가능 할 것으로 생각된다. 또한 신규로 분리된 곤충병원성선충들 중 두 계통의 경우 신종으로 확인이 되었고, 추후 추가적인 연구 수행을 통해 새로운 종들의 기체가 기대된다. 꿀벌부채명나방 유충은 꿀벌의 해충으로 문제 시 되는 해충이기도 하지만 곤충병원미생물의 병원성 검정 및 생태실험을 위한 기주곤충으로 이용도가 매우 높은 실험곤충이다. 본 연구에서는 기존의 방법을 개량한 경제적 인공사료를 개발함으로써 향후 꿀벌부채명나방의 사육에 경제성을 제고시킬 수 있을 것으로 생각된다. 이러한 인공사료는 in vivo 선충 생산의 생산 단가를 낮추는데도 기여할 것으로 생각된다. 아울러 본 연구에서는 꿀벌부채명나방 유충을 이용한 in vivo 대량 배양법의 기술을 완성하였다. 이는 천적 시장이 소규모로 진행되고 있는 우리나라의 실정에 부합되는 방법의 하나로서 접종효율과 증식된 선충의 수확 용이성이 확보된 방법이다. 또한 본 연

구에서는 *Steinernema longicaudum*의 공생세균 배양에 대한 정보를 새로이 제공하였고, 선충의 공생세균을 병원균의 억제제로 활용할 수 있는 가능성을 제시하였다. 신규로 확보된 46종 선충들의 공생세균들을 이용한 연구가 앞으로 진행된다면 신규 살충, 살균 물질의 개발과 약리물질 탐색에 기여할 것으로 기대된다.

나. 국내 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 생리, 생태적 특성 연구: 본 연구에서는 다양한 조건에서 곤충병원성선충의 병원성 발현과 증식, 보관 등에 관한 연구들을 수행함으로써 곤충병원성선충의 생산에 대한 기초 자료를 제공하고, 아울러 야외에서 처리 시, 효과를 증대시킬 수 있는 방법에 대한 기초자료를 제공하고 있다. 곤충병원성선충의 생리, 생태에 가장 큰 영향을 미치는 인자의 하나는 온도인데 몇몇 계통들에 대한 병원성 발현의 적온과 병원성을 나타내는 온도를 조사한 결과 24°C에서 30°C가 적온으로 밝혀졌다. 그리고 *S. carpocapsae* GSN1 계통의 경우 온도와 농도별에 따른 최적 증식 조건을 확립하여 in vivo 생산에 응용하고 있다. 아울러 미국과 일본에서 상용화 되어 있는 *S. glaseri* Dongrae 계통에 대한 생태적 특성을 규명함으로써 추후 이종의 상용화에 활용할 수 있을 것으로 기대된다. 증식된 선충의 보관적온을 규명하기 위한 실험의 결과 13°C가 9°C에 비하여 보관력이 높은 것으로 나타났고, 20°C에서도 4개월까지 생존하는 선충의 수가 다른 온도와 차이가 없었다. 따라서, 15°C 내외의 보관 온도가 *S. carpocapsae* GSN1 계통과 *S. glaseri* Dongrae 계통에 적합한 것으로 밝혀졌다. 또한 실험실 내에서 선충의 보관 시, 또는 소규모 농가의 선충 처리 시, 증식된 선충을 세포 배양용기를 이용하여 수송하였지만 이는 비용과 수송량 면에서 불합리한 점이 많았다. 이의 개선을 위하여 zip-lock 용기를 활용하여 보관력을 조사한 결과 세포배양용기와 차이가 없었다. 따라서 저가의 실용성 용기 자원을 이용할 수 있게 되었다. 토양 수분량과 기주곤충의 유무 및 선충 중간 경쟁에 대한 영향을 연구함으로써 토양 생태계 내에서 곤충병원성선충의 적용성 향상에 대한 기초정보를 얻을 수 있었다. 미끼곤충의 유무에 따른 선충 중간 상호작용에 관한 연구는 선충의 생태적 연구 분야에 선충의 행동과 관련하여 많은 정보를 제공하였다. 자외선 또는 직사광선에 대한 선충의 영향은 노지 조건에서 선충의 활용 시 일반 농민들에게 처리 시기나 조건에 대한 과학적 근거를 제공해주었다. 특히 최근에 곤충병원성선충이 일반 농가에 보급되어 농민들의 다양한 민원들이 제기되고 있는데 이러한 의문에 효과적으로 정보를 제공할 수 있는 길을 열었

다. 벌이나 지렁이 및 다른 천적 곤충에 대한 곤충병원성선충의 영향은 친환경농업 적용 농가 또는 유기농업 적용농가에서 가장 절실히 알고 싶어 하는 내용으로서 다양한 천적들에 대한 영향을 조사함으로써 향후 농민 지도에 적절히 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

다. 시설엽채류 해충에 대한 Steinernematid와 Heterorhabditid 선충의 적용: 본 연구에서는 제 1세부과제와 2세부 과제의 연구개발 내용을 바탕으로 시설 엽채류 재배지에서 적용 가능한 기술 개발에 중점을 두고 연구를 수행하였다. 이로 인해 주요 시설 엽채류와 그 엽채류와 관련되어 발생하는 해충의 방제법을 개발하였고, 곤충병원성선충의 적용 방법에 관한 세부적인 기술을 완성하였다. 따라서 곤충병원성선충의 농가에서 실제적 활용을 위한 지침을 설정할 수 있게 되었다. 그리고 시설 엽채류 재배지에서 주로 사용하고 있는 농약들이 곤충병원성선충에 미치는 영향을 조사함으로써 현장에서의 적용성을 크게 개선시켰다. 한편 엽채류의 종류별에 따른 곤충병원성선충의 병원성 차이를 연구함으로써 대상 작물별에 따라 곤충병원성선충 적용을 달리해야 하는 부분에 대한 정보도 제공하였다. 본 연구에서 수행된 결과들은 앞으로 곤충병원성선충을 사용하는 농민들에게 실제적인 메뉴얼을 제공할 수 있을 것으로 기대되며 대상 해충별, 작물별에 따른 곤충병원성선충을 이용한 방제력을 제공할 수 있을 것이다.

### 3. 주요 연구 성과물

#### 가. 논문

- 1) 온도 및 농도가 곤충병원성 선충, *Steinernema carpocapsae* 포천 계통 (Nematoda: Steinernematidae)의 병원성과 증식에 미치는 영향. 한국응용곤충학회지. 41권 4호. 2002년 12월.
- 2) *Steinernema carpocapsae*(Rhabditida: Steinernematidae) as a biological control agent against the fungus gnat *Bradysia agrestis*(Diptera: Scarabaeidae) in propagation house. Biocontrol Science and Technology. 14권 2호. 2004년 3월
- 3) 작은뿌리파리에 대한 한국산 곤충병원성 선충의 방제 효과와 상토에서의 지속성. 한국원예학회지. 44권 3호. 2003년 6월
- 4) 느타리버섯 재배사에서 한국산 *Steinernema*와 *Heterorhabditis*를 이용한 버섯혹파리 (*Mycophila speyeri*)의 생물적 방제. 한국응용곤충학회지. 43권 3호. 2004년 9월
- 5) 초화류의 작은뿌리파리 피해 및 방제. 한국원예과학기술지. 45권 3호. 2004년 9월
- 6) 미국 흰불나방에 대한 곤충병원성선충 *Steinernema carpocapsae*의 병원성. 한국잔디학회지. 18권 4호. 2004년 12월.
- 7) 무궁화잎밤나방과 큰붉은줄잎밤나방에 대한 *Steinernema carpocapsae* Pocheon 계통의 병원성. 한국잔디학회지. 19권 1호. 2005년
- 8) 등얼룩풍뎡이에 대한 한국산 곤충병원성선충의 병원성. 한국잔디학회지. 19권 1호. 2005년

#### 나. 학술발표

- 1) Effect of soil depth on pathogenicity and invading of Korean isolates of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* and *Heterorhabditis*. Korea-Japan joint conference on applied entomology and zoology, 2003. 부산 해운대 그랜드호텔. 2003년 5월 28-31일.
- 2) Involvements for intraguild predation between *Aphidius gifuensis* and *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain. Korea-Japan joint conference on applied

entomology and zoology, 2003. 부산 해운대 그랜드호텔. 2003년 5월 28-31일.

3) 작은뿌리파리에 대한 한국산 곤충병원성 선충의 효과와 상토에서의 지속성. 한국원예학회. 서울 양재동 Agricultural Trade Center. 2003년 5월 30일-31일.

4) 초본류 육묘재배시 뿌리파리류의 피해 및 방제. 한국토양동물학회, 2003. 원광대학교 임해수련원(고사포해수욕장). 2003년 6월 13일-14일.

5) Intraguild predation interaction between *Orius strigicollis* and *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain on *Frankliniella occidentalis*. 2003년도 한국응용곤충학회 추계 학술발표회. 원예연구소. 2003년 10월 24-25일.

6) Effect of exsheathment on recovery and yield of entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis bacteriophora* NJ strain. 2003년도 한국응용곤충학회 추계 학술발표회. 원예연구소. 2003년 10월 24-25일.

7) Control efficacy of *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain against *Autographa nigrisigna* in littuce. 2003년도 한국응용곤충학회 추계 학술발표회. 원예연구소. 2003년 10월 24-25일.

8) Pathogenicity of Korean isolates of *Steinernema* spp. and *Heterorhabditis* spp. on *Plutella xylostella*, *Spodoptera litura*, and *Spodoptera exigua* in petridish assay. 2003년도 한국응용곤충학회 추계 학술발표회. 원예연구소. 2003년 10월 24-25일.

9) Host range, specificity, and virulence of *Steinernema arpopcapsae* Pocheon strain and *Heterorhabditis bacteriophora* Hamyang strain on 39 Lepidopteran pests. 2003년도 한국응용곤충학회 추계 학술발표회. 원예연구소. 2003년 10월 24-25일.

10) 누에의 령기와 자외선과 직사광선 노출이 곤충병원성선충의 병원성에 미치는 영향. 2003년도 한국응용곤충학회 추계 학술발표회. 원예연구소. 2003년 10월 24-25일.

11) 우리나라에서 곤충병원성선충, Steinernematid와 Heterorhabditid의 분포. 2003년도 한국응용곤충학회 추계 학술발표회. 원예연구소. 2003년 10월 24-25일.

12) 최근 한국에서의 곤충병원성선충 연구현황과 이용 사례. 2003년도 한국응용곤충학회 추계 학술발표회. 원예연구소. 2003년 10월 24-25일.

13) Species identification of entomopathogenic nematode(*Steinernema* spp.) by

sequencing of ITS region in ribosomal DNA. 2004년도 한국응용곤충학회 춘계 학술발표회. 한국생명공학연구원. 2004년 5월 21-22일.

14) Temperature effect on Korean *Steinernema glaseri* and *S. longicaudum* and symbiotic bacteria. 2004년도 한국응용곤충학회 춘계 학술발표회. 한국생명공학연구원. 2004년 5월 21-22일.

15) *Heterorhabditis exomali* n. sp.(Rhabditida: Heterorhabditidae) from white grub cadavers. 2004년도 한국응용곤충학회 춘계 학술발표회. 한국생명공학연구원. 2004년 10월 24-25일.

16) 노랑털알락나방(*Pryeria sinica*) 유충에 대한 곤충병원성선충 Steinernematid와 Heterorhabditid의 병원성. 2004년도 한국응용곤충학회 춘계 학술발표회. 한국생명공학연구원. 2004년 10월 24-25일.

17) 시설상추에서 *Steinernema* spp.를 이용한 맵시고추나방(*Cucullia fraterna*), 파밤나방(*Spodoptera exigua*), 담배거세미나방(*Spodoptera litura*)의 생물적 방제. 2004년도 한국응용곤충학회 춘계 학술발표회. 한국생명공학연구원. 2004년 10월 24-25일.

18) *Steinernema* spp.를 이용한 근대 주요해충 흰띠명나방(*Hymenia recurvalis*)의 생물적 방제. 2004년도 한국응용곤충학회 춘계 학술발표회. 한국생명공학연구원. 2004년 10월 24-25일.

19) 배추와 나방류에 대한 한국산 *Steinernema* 와 *Heterorhabditis*의 병원성. 2004년도 한국응용곤충학회 춘계 학술발표회. 한국생명공학연구원. 2004년 10월 24-25일.

20) 곤충병원성선충 *Steinernema anomali* 침입태유충의 크기가 병원성과 생식에 미치는 영향. 2004년도 한국응용곤충학회 춘계 학술발표회. 한국생명공학연구원. 2004년 5월 21-22일.

21) 우리나라에서 검출된 곤충병원성선충 Steinernematid와 Heterorhabditid의 꿀벌부채명나방과 등얼룩풍뎠이 유충에 대한 병원성. 2004년도 한국응용곤충학회 춘계 학술발표회. 한국생명공학연구원. 2004년 5월 21-22일.

22) 친환경 시설상추재배지 작기별 해충 피해 및 발생 소장. 2005년 한국응용곤충학회 춘계 학술발표회. 경주교육문화회관. 2005년 5월 19-21일.

23) 시설상추에서 진디혹파리를 이용한 싸리수염진딧물의 밀도억제 효과. 2005년 한국응용곤충학회 춘계 학술발표회. 경주교육문화회관. 2005년 5월 19-21일.

24) 곤충병원성선충, *Steinernema carpocapsae*가 진딧물 포식성 천적에 미치는 영향. 2005년 한국응용곤충학회 춘계 학술발표회. 경주교육문화회관. 2005년 5월 19-21일.

25) 곤충병원성선충 *Steinernema carpocapsae*를 이용한 봄배추 주요 나방류 생물적방제. 한국원예학회 춘계 학술발표회. 2005.

26) Biological control in greenhouses. 5th Asia-pacific congress of entomology. Jeju, Korea. 2005년 10월 18-21일.

27) Pathogenicity of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* against fall webworm, *Hyphantria cunea*(Lepidoptera: Arctiidae). 5th Asia-pacific congress of entomology. Jeju, Korea. 2005년 10월 18-21일.

28) Pathogenicity of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* against Hibiscus leaf caterpillar, *Anomis mesogona* and *Anomis commoda*(Lepidoptera: Noctuidae). 5th Asia-pacific congress of entomology. Jeju, Korea. 2005년 10월 18-21일.

29) Interaction between *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain(Nematoda: Steinernematidae) and predators of aphid. 5th Asia-pacific congress of entomology. Jeju, Korea. 2005년 10월 18-21일.

30) Control efficacy of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain(Nematoda: Steinernematidae) against turnip sawfly, *Athalia rosae ruficornis*(Hymenoptera: Tenthredinidae). 5th Asia-pacific congress of entomology.

31) Effect of irrigation on pathogenicity of entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis* sp. KCTC 0991BP strain and persistence in golf courses. 5th Asia-Pacific Congress of Entomology. Jeju, Korea. 2005년 10월 18-21일.

다) 특허: 꿀벌부채명나방 유충을 이용한 곤충병원성선충의 생산방법(출원번호: 10-2005-0094876)

라) 방송출연

▶ 배추를 가해하는 배추좀나방 등 식엽성 해충에 대한 생물적 방제 인자로 한국산 곤충병원성 선충의 효과가 우수하며, 기존의 천적과 차별되는 미생물 농약으로

앞으로 전망이 매우 밝다는 내용으로 2003년 6월 16일자 YTN, SBN, SBS, MBC 방송에서 촬영하였으며, 방송은 6월 16일 및 17일 양일간에 걸쳐 방송. 또한 농촌진흥청 홈페이지를 통해서도 “채소류 안정생산”이라는 제목으로 곤충병원성 선충의 효과와 이용방법등에 대해 홍보

마) 전시 등 홍보

▶ 2003년 10월 10일 서울 양재동 Agricultural Trade Center에서 개최된 전국원예대전에 전시물 전시

바) 지도사업반영

▶ “곤충병원성 선충을 이용한 봄배추 문제 나방류 생물적 방제”2004년 영농활용자료로 제출

사) 심포지엄

▶ 2005년도 전반기 천적연구회 심포지엄 발표

- 제 목 : 국내 시판 천적 곤충과 곤충병원성선충 *Steinernema carpocapsae*의 상호관계
- 발표자 : 김형환(원예연구소)
- 일 시 : 2005년 6월 3일 13:00-18:00
- 장 소 : 농업과학기술원 농업생물부(구 잠곤부) 회의실

아) 현장평가회 개최

- ▶ - 제 목 : 곤충병원성선충을 이용한 시설 엽채류 해충의 친환경 방제
- 일 시 : 2005. 6. 29. 15시-16시
- 장 소 : 원예연구소 원예환경과 탑동포장

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

### 1. 활용분야

가. 시설 업체류 해충의 환경친화형 방제 시스템 구축 활용

- 1) 업체류 작물별에 따른 곤충병원성선충 처리 시기 및 횟수 지도
- 2) 재배지 조건별에 따른 선충 처리법
- 3) 타 천적과의 혼용 적부 정보 제공
- 4) 저농약 사용 농가의 농약 혼용 정보 제공

나. 국가 단위의 친환경 농산물 생산 시책 수립에 활용

- 1) 종합적 방제의 수단으로서 곤충병원성선충 활용법 제공
- 2) 작물별, 해충별에 따른 곤충병원성선충 사용법 제공

다. 생물농약 또는 천적자원의 산업화 모델로 활용

- 1) 토착 천적의 자원화, 상품화 유도
- 2) 국내 고유 생물종의 산업화

라. 기술농업, 환경농업에 대한 일반인들의 인식 제고에 활용

- 1) 곤충병원성선충을 이용한 해충 방제기술에 대한 교육과 지도 및 홍보
- 2) 환경보호가 필요한 상수원보호지역 등에 우선 활용

마. 곤충병원성선충 연구 기여

- 1) 생태 및 행동 연구를 통해 학문 발전에 활용
- 2) 곤충병원성선충 연구로 국내 연구자의 학문적 인지도 향상

### 2. 활용유형 및 활용방안

가. 병원성이 우수한 주요 곤충병원성선충 종의 상품화 유도

- 1) 본 연구에서 발굴 된 신규 선충들 중 병원성이 뛰어난 2종 선충에 대한 상업화
- 2) 농민들에 대한 지속적 홍보와 교육

나. 시설 업체류 해충의 환경친화형 방제 모델제공

- 1) 업체류 해충별 발생생태와 곤충병원성선충을 이용한 방제법 매뉴얼화
- 2) 화학농약 수준의 사용법 등 이용지침 작성
- 3) 연구결과의 지도기관 및 농업컨설팅 회사의 피드백을 통한 정보 공유

### 3. 현장보급 방안 및 산업화 계획 방안

#### 가. 현장보급 방안

- 1) 주요 유기농업 단체나 친환경 독농가를 대상으로 실증 시험포지를 확대
- 2) 농민 교육기관이나 지도기관에 연구자료를 적극 홍보
- 3) 주요 성과의 시책건의와 지도사업 반연
- 4) IPM전문 회사를 대상으로 적용 방법 및 적용시 발생하는 문제점 수시 정보 교환

#### 나. 산업화 계획

- 1) 꿀벌부채명나방을 이용한 in vivo 증식법을 활용한 소규모 증식을 회사와 현재 진행
- 2) 곤충병원성선충에 대한 소비의 추이를 감안 in vitro 생산 체계 도입
- 3) 신규 우수 곤충병원성선충 seed에 대한 이용권 이양

### 4. 추가연구의 필요성 및 타연구에의 응용

곤충병원성선충을 이용한 최근의 세계적인 연구동향은 해충방제에만 제한적으로 이용하는 것이 아니고, 다른 분야에의 활용이 적극적으로 연구되고 있다. 특히 공생세균을 이용한 살균제로서의 이용가능성이나 의약품으로서의 이용가능성이 현실화되고 있다. 따라서 본 연구에서도 일부 선충의 공생세균이 식물병원균 억제 능력이 높았던 것을 감안하면 이러한 분야에로의 연구 확대가 절실히 필요할 것으로 판단된다. 아울러 식물기생선충의 타감작용에 관한 연구도 수행 할 가치가 높은 분야로 생각된다. 그리고 최근 식물체 유래 활성물질의 농업적 이용이 증가하고 있는데 이들 물질들과의 혼용을 통한 시너지 효과 창출과 같은 분야에 대한 연구도 농업 현장에 바로 적용할 수 있는 것이라 판단된다. 그리고 의약품 생산 분야의 경우 이미 캐나다 같은 곳에서는 진균에 의한 피부병 치료제로 상당한 연구가 수행되고 있는바 부가가치가 높은 의약 분야에도 연구의 확대가 필요할 것으로 판단된다. 그리고 본 연구에서는 다른 천적에 미치는 영향과 유용곤충에 미치는 영향을 조사하였는데 종합적 방제에 효과적으로 활용하기 위해서는 각종 병을 방제하는 환경친화적 방제인자들과의 관계를 연구하여 동시에 활용 가능한 방법을 찾는 연구도 필요할 것으로 생각된다.

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외 과학 기술 정보

연구 과정 중에 수집한 해외의 정보는 곤충병원성선충의 연구 영역의 확대와 기초 연구 및 생산기술과 관련된 것들이 있다. 곤충병원성선충 연구 영역의 확대는 기존의 농업적 이용의 범위를 벗어나 의학적 접근에 대한 연구들이 수행되고 있는 점이다. 즉 공생세균들이 가지고 있는 여러 가지 물질들이 항암 또는 항진균 효과를 나타내기 때문에 이들을 이용한 의약품 개발을 시도하고 있다. 따라서 향후 우리나라도 다양한 선충 자원들을 이용하여 이들의 공생세균이 가지는 부차적인 특성을 적극 연구해야 할 것으로 생각된다. 또한 우리나라의 주변국들의 연구 동태로는 일본의 경우 이미 선충의 상업화를 하였으나 경제사정 등의 영향으로 곤충병원성선충 산업이 침체기를 겪고 있는데 이러한 상황을 극복하기 위하여 다양한 작물과 해충에 대한 선충의 적용 확대를 도모하고 있었다. 따라서 우리나라의 경우 현재 곤충병원성선충 산업의 태동기에 있지만 향후 일본과 같은 상황을 대비하여 지속적으로 선충의 적용 대상지를 연구하여야 할 것으로 생각된다. 그리고, 중국의 경우 최근 몇 년 동안 곤충병원성선충 자원의 확보와 연구에 박차를 가하고 있었다. 따라서 머지않아 중국도 곤충병원성선충과 같은 생물적 방제 인자를 이용한 환경친화적 농산물 생산량이 증대 될 것으로 예견된다. 한편 태국과 같은 개발도상국에서도 선충을 생산하여 해충방제에 이용하고 있어 동남아시아 국가 전체로 곤충병원성선충의 이용이 확대 될 것으로 생각된다. 한편 일부 국가에서는 이들 곤충병원성선충 생산에 있어 품질관리가 상당한 문제로 대두 되고 있는 바, 우리나라에서도 이러한 부분에 대한 기술적, 제도적 보완이 있어야 할 것으로 생각된다.

## 제 7 장 참고문헌

- Akhurst, R.J. 1980. Morphological and functional dimorphism in *Xenorhabdus* spp., bacteriasymbiotically associated with the insect pathogenic nematodes *Neoaplectana* and *Heterorhabditis*. Journal of General Microbiology 121: 303-309.
- Akhurst, R. J. and N. E. Boemare. 1990. Biology and taxonomy of *xenorhabdus*. In: Gaugler, R., H. K. Kaya. (eds) Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Boca Raton, Florida, PP. 75-90.
- Alonso, L.E., and D. Agosti. 2000. Biodiversity studies, monitoring, and ants: an overview. pp. 1-8. In Ants standard methods for measuring and monitoring biodiversity, eds. by D. Agosti, J.D. Majer, L.E. Alonso and T.R. Schultz. Smithsonian institution Press. Washington.
- Anonymous. 2005. Manual of pesticides use in Korea. 1015 pp. Korean Agricultural Chemicals Industrial Association.
- Back, W.H. 1995. Insect pests. 475pp. Heangmunsa. Seoul.
- Barbercheck, M. E. and H. K. Kaya. 1991. Effect of host condition and soil texture on host finding by the entomogenous nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) and *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). Environ. Entomol. 20: 582-589.
- Baur, M.E., H.K. Kaya and D.R. Strong. 1998. Foraging ants as scavengers on entomopathogenic nematode-killed insects. Biological Control 12: 231-236.
- Bedding, R. A. 1981. Low cost *in vitro* mass production of *Neoaplectana* and *Heterorhabditis* species (Nematoda) for field control of insect pests. Nematologica 27: 109-114.
- Bedding, R. A. and R. J. Akhurst. 1975. A simple technique for the detection of insect pathogenic nematodes in soil. Nematologica 21: 109-110.
- Blackshaw, R. P. 1988. A survey of insect parasitic nematodes in Northern Ireland. Ann. appl. Biol. 113 : 561-565.
- Boemare, N., C. Laumond and H. Mauleon. 1996. The entomopathogenic

nematode-complex: biology, life cycle and vertebrate safety. *Biocontrol Science and Technology* 6: 333-345.

- Brown, W.L.Jr. 2000. Diversity of ants. pp 45- 79. *In* *Ants standard methods for measuring and monitoring biodiversity*, eds. by D. Agosti, J.D. Majer, L.E. Alonso, and T.R. Schultz eds. Smithsonian Institute Press. Washington.

- Brown, J.W. 2003. Biology statement: *Pryeria sinica* Moore (Lepidoptera: Zygaenidae) newly recorded for the United States. <http://www.ceris.purdue.edu/napis/pests/pryeria/index.html>

- Brown, J.W., Epstein, M.E., and E.R. Day. 2004. First report of *Pryeria sinica* Moore (Lepidoptera: Zygaenidae) in North America. *Proceeding of the Entomological Society of Washington* 106: 239-242.

- Campbell, J. F. and H. K. Kaya. 2002. Variation in entomopathogenic nematode (Steinernematidae and Heterorhabditidae) infective-stage jumping behaviour. *Nematology* 4(4): 471-482.

- Campbell, J. F. and R. Gaugler. 1993. Nictation behaviour and its ecological implications in the host search strategies of entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae). *Behaviour* 126: 155-169.

- Cho, I.H. 1996. *Practice and application of SAS*. 665pp. Sungandang Pub. Co. Seoul.

- Choo Ho Yul, Dong Won Lee, Pan Jung Ha, Hyeong Hwan Kim, Hye Jin Chung and Sang Myeong Lee. 1999. Temperature and dose-size effects on infectivity and reproduction of entomopathogenic nematode, *Steinernema longicaudum* GongJu Strain. *The Korean J. Pesticide Science*. 3(2) : 60-68.

- Choo Ho Yul, Harry K. Kaya, David K. Reed. 1988. Biological Control of Onion Maggot and Tobacco Cutworm with Insect-parasitic Nematodes, *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis heliothidis*. *Korean J. Appl. Entomol.* 27(4) : 185-189.

- Choo, H. Y., A. M. Kopenhofer, and H. K. Kaya. 1996. Combination of two entomopathogenic nematode species for suppression of an insect pest. *J. Econ. Entomol.* 89(1): 97-103.

- Choo, H. Y., H. K. Kaya, S. M. Lee, H. H. Kim & D. W. Lee. 1998. Biocontrol research with nematodes against insect pests in Korea. *Japanese Journal of Nematology* 28 : 29-41.
- Choo, H.Y., D.W. Lee, H.S. Yoon, S.M. Lee, and D.T. Hang. 2002. Effects on temperature and nematode concentration on pathogenicity and reproduction of entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain (Nematoda: Steinernematidae). *Korean J. Appl. Entomol.* 41: 269-277.
- Choo, H.Y., D.W. Lee, H.S. Yun, S.M. Lee and D.T. Hang. 2002. Effects of temperature and nematode concentration on pathogenicity and reproduction of entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain (Nematoda: Steinernematidae). *Korean J. Appl. Entomol.* 41: 269-277.
- Choo, H.Y., D.W. Lee, J.W. Park and J.W. Lee. 1999. Comparison of four major scarab beetles, *Ectinohoplia rufipes*, *Adoretus tenuimaculatus*, *Exomala orientalis* and *Popillia quadriguttata* in golf courses. *Korean Journal of Turfgrass Science* 13: 101-112.
- 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 D.W. Lee. 1997. Entomopathogenic nematodes: their potential for biological control of turfgrass insects. *Proc. Int. Symp. Biological control of insect pests.* Pp. 144-159.
- Choo, H.Y., H. K. Kaya and S.P. Stock. 1995. Isolation of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from Korea. *Japanese J. Nematol.* 25: 44-51.
- Choo, H.Y., H.K. Kaya, J. Huh, D.W. Lee, H.H. Kim, S.M. Lee and Y.M. Choo. 2002. Entomopathogenic nematodes (*Steinernemaspp.* and *Heterorhabditis bacteriophora*) and a fungus *Beauveria brongniartii* for biological control of the white grubs, *Ectinohoplia rufipes* and *Exomala orientalis*, in Korean golf courses. *BioControl* 47: 177-192.
- Choo, H.Y., H.K. Kaya, S.M. Lee, T.O. Kim, and J.B. Kim. 1991. Laboratory

evaluation of entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabditis bacteriophora*, against some forest insect pests. Korean J. Appl. Entomol. 30: 227-232.

- Choo, H.Y., S.M. Lee, B.K. Chung, Y.D. Park and H.H. Kim. 1995b. Pathogenicity of Korean entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) against local agricultural and forest insect pests. Korean J. Appl. Entomol. 34: 314-320.

- 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, *S. carpocapsae* Pochen 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.

- Crocker, R.L., R.M. Marengo-Lozada, J.A. Reinert and W.H. Whitcomb. 1995. Harvester ants. In Brandenburg R.L. and M.G. Villani eds. Handbook of turfgrass insect pests. ESA Publications Department. Lanham, USA.

- Dong Won Lee, Ho Yul Choo, Eun Jung Choi. 1999. Effect of Aqueous Solutions of Pesticides on Survival of Entomopathogenic Nematodes. Kor. Turfgrass Sci. 13(4) : 213-222.

- 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 propagation of the DD-136 nematode. J. Insect Pathol. 6: 417-422.

- Epsky, N. D. and Capinera, J. L. 1993. Quantification of invasion of two strains of *Steinernema carpocapsae* (Weiser) into three lepidopteran larvae. Journal of Nematology 25(2) : 173-180.

- Forst, S. and D. Clarke. 2002. pp. 57-77. *In* Entomopathogenic nematology, ed. by R. Gaugler. 388 pp. CABI publishing, Oxon.
- Forst, S., B. Dowds, N. Boemare and E. Stackebrandt. 1997. *Xenorhabdus* spp. and *photorhabdus* spp. : bugs that kill bugs. *Annu. Rev. Microbiol.* 51: 22-47.
- Fujiie, A., and T. Yokoyama. 1998. Effects of ultraviolet light on the entomopathogenic nematode, *Steinernema kushidai* and its symbiotic bacterium, *Xenorhabdus japonicus*. *Appl. Entomol. Zool.* 33: 263-269.
- Fujiie, A., M. Tachibana and Y. Takata. 1995. Effects of temperature on insecticidal activity of an entomopathogenic nematode, *S.Kushidai* (Nematoda: Steinernematidae), against *Anomala cuprea* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae. *Appl. Entomol. Zool.* 30(1): 23-30.
- Gaugler, R., and G.M. Boush. 1978. Effects of ultraviolet radiation and sunlight on the entomogenous nematode, *Neoaplectana carpocapsae*. *J. of Inverte. Pathol.* 32: 291-296.
- Georgis, R. 1990. Commercialization of steinernematide and heterorhabditide entomopathogenic nematodes. *Brighton Crop Prot. Conf. Insectic. Fungic.* 1: 275-280.
- Georgis, R. 1990. Formulation and application technology, in *Entomopathogenic Nematodes in Biological* (Gaugler, R. and Kaya, H. K., eds.), CRC, Boca Raton, FL, pp. 173-191.
- Georgis, R. and R. Gaugler. 1991. Predictability in biological control using entomopathogenic nematodes. *J. Econ. Entomol.* 84: 713-720.
- Glazer, I. 1992. Survival and efficacy of *Steinernema crpocapsae* in an exposed environment. *Biocontrol Sci. Technol.* 2: 101-107.
- Glazer, I., 2002. survival biology. In Gaugler, R. (ed.), *Entomopathogenic nematology*. CABI, Oxon, UK, pp. 169-187.
- 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
- Grewal, P. and R. Georgis. 1998. Entomopathogenic nematodes, in *Methods in Biotechnology*, Vol. 5: Biopesticides; Use and Delivery (Hall, F. R. and Menn, J. J., eds.) Humana Press Inc., Totowa, NJ pp. 271-298.
  - Hara, A. H. and H. K. Kaya. 1983. Toxicity of selected organophosphate and carbamate pesticides to infective juveniles of the entomogenous nematode *Neoplectana carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). *Environ. Entomol.* 12: 496-501.
  - 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.
  - Hölldobler, B. and O. Wilson. 1990. *The ants*. 633pp. Springer-Verlag, Berlin.
  - Hominick, W. M. and B. R. Briscoe. 1990. Survey of 15 sites over 28 months for entomopathogenic nematodes (Rhabditida : Steinernematidae). *Parasitology* 100 : 289-294.
  - Hominick, W.M. 2002. Biogeography. pp. 115-143. *In* *Entomopathogenic nematology*, ed. by R. Gaugler. 388 pp. CABI publishing, Oxon.
  - Ishii, M., Y. Johki and T. Hidaka. 1983. Studies on summer diapause in zygaenid moths (Lepidoptera: Zygaenidae). I. factors affecting the pupal durations in *Pryeria sinica*. *Kontyu* 51: 122-127.
  - Kang, Y.J., D.W. Lee, H.Y. Choo, S.M. Lee, T.W. Kweon and H.K. Shin. 2004. Biological control of *Spodoptera depravata*(Butler) (Lepidoptera: Noctuidae) using entomopathogenic nematodes. *Korean J. Appl. Entomol.* 43: 61-70.
  - Karuna, S., E.J. Kim, and S.M. Sohn. 2003. Use of neem as natural pesticide for organic agriculture in tropical Asian countries. *Kor. J. Intl. Agri.* 15: 241-257.
  - Kaya, H. K. 1993. Contemporary issues in biological control with entomopathogenic nematodes. Ext. Bull. No. 375. Food & Fertilizer Technology Center, Taipei City, Republic of China (Taiwan)

- Kaya, H. K. and Grieve, B. J. 1982. The nematode *Neoaplectana carpocapsae* and the beet armyworm *Spodoptera exigua*: Infectivity of prepupae and pupae in soil and of adults during emergence from soil. *Journal of invertebrate Pathology* 39 : 192-197.
- Kaya, H. K. and Hara, A. H. 1980. Differential susceptibility of lepidopterous pupae to infection by the nematode *Neoaplectana carpocapsae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 36 : 389-393.
- Kaya, H. K. and R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annu. Rev. Entomol.* 38: 181-206.
- Kaya, H.K. 2002. Natural enemies and other antagonists. pp. 189-203. *In* Entomopathogenic nematology, ed. By R. Gaugler. CABI Publishing. Oxon.
- Kaya, H.K., A.M. Koppenhöfer and M. Johnson. 1998. Natural enemies of entomopathogenic nematodes. *Japanese J. Nematol.* 28: 13-20.
- Kaya, H.K., and R Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annu. Rev. Entomol.* 38: 181-206.
- Kaya, H.K., and S.P. Stock. 1997. Techniques in insect pathology. *In* L.A. Lacey (eds). *Manual of techniques in insect pathology*. Academic Press, San Diego. pp. 281-324.
- Kaya, H.K., and S.P. Stock. 1997. Techniques in insect pathology. pp. 283-324. *In* *Manual of techniques in insect pathology*, eds. by L.A. Lacey. Academic Press, New York.
- Kim Hyeong Hwan, Ho Yul Choo, Heung Su Lee, Chung Gyoo Park, Dong Won Lee, Byung Rae jin and Young Moo Choo. 2001. Biological Control of *Lycoriella mali* (Diptera : Scaridae), a Pest of Oyster Mushroom, *Pleurotus ostreatus* Using Entomopathogenic Nematodes. *Korean J. Appl. Entomol.* 40(1) : 59-67.
- Kim, H.H., H.Y. Choo, C.G. Park, S.M. Lee and Y.M. Choo. 2001a. Biological control of cotton caterpillar, *Palpita indica* saunder (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.

- Kiritani, 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.

- Klein, M. G. and Georgis, R. 1994. Application techniques for entomopathogenic nematodes, in Proceedings of the VI International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control, Montpellier, France, pp. 483-484.

- Klein, M.G. 1990. Efficacy against soil-inhibiting insect pests, In R. Gaugler and H.K. Kaya, eds. Entomopathogenic nematodes in biological control, CRC Press, Boca Raton, Florida. pp. 195-214.

- Kondo, E. 1987. Size-related susceptibility of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae to entomogenous nematode, *Steinernema feltiae* (DD-136). *App. Ent. Zool.* 22(4) : 560-569.

- Kondo, E. and Ishibashi, N. 1986. Infectivity and propagation of entomogenous nematodes, *Steinernema* spp., on the common cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Appl. Ent. Zool.* 21(1) : 95-108.

- Kondo, E. and Ishibashi, N. 1987. Comparative infectivity and development of the entomogenous nematodes, *Steinernema* spp., on the lepidopterous insect larvae, *Spodoptera litura* (Noctuidae) and *Galleria mellonella* (Galleridae). Japanese Journal of Nematology 17 : 35-41.

- 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.

- Kung, S.P. 1990. abiotic factors affecting the persistence of two entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* and *Steinernema glaseri* (Nematoda: Steinernematidae), in the soil. PhD dissertation, Rutgers University,

NJ.

- 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.
- Kunkel, B.A., D.W. Held and D.A. Potter. 1999. Impact of halofenozide, imidacloprid, and bendiocarb on beneficial invertebrates and predatory activity in turfgrass. J. Econ. Entomol. 92: 922-930.
- Lee, B.Y., and Y.J. Chung. 1997. Korea tree insect pests. Sungandang, Seoul. pp. 459.
- Lee, D.W., H.Y. Choo, H.K. Kaya, S.M. Lee, D.R. Smitly, H.K. Shin and C.G. Park. 2002a. Laboratory and field evaluation of Korean entomopathogenic nematode isolates against the oriental beetle *Exomala orientalis* (Coleoptera: Scarabaeidae). J. Econ. Entomol. 95: 918-926.
- 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, 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: 918-926.
- Lee, D.W., H.Y. Choo, O.J. Shin, J.S. Yun and Y.S. Kim. 2002b. Damage of perennial ryegrass, *Lolium perenne* by chestnut brown chafer, *Adoretus tenuimaculatus* (Coleoptera: Scarabaeidae) and biological control with Korean isolate of entomopathogenic nematodes. Korean J. Appl. Entomol. 41: 217-223.
- 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.
- Lee, S.W. 2003. Development of economic artificial diets for great wax moth, *Galleria mellonella*(L.). MS Thesis, 28pp. Gyeongsang National University, Jinju,

Republic of Korea.

- Lewis, E.E. 2002. Behaviour ecology. pp. 205-223. *In* Entomopathogenic nematology, ed. by R. Gaugler. 388 pp. CABI publishing, Oxon.
- López, R. and D.A. Potter. 2000. Ant predation on eggs and larvae of the black cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) and Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) in turfgrass. *Environ. Entomol.* 29: 116-125.
- 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.
- McCarty, L.B. and E. Elliott. Pest management strategies for golf courses. pp. 193-202. *In* Handbook of integrated pest management for turf and ornamentals, ed. by A.R. Leslie. Lewis Publishers. Boca Raton. FL.
- Molyneux, A.S. 1986. *Heterorhabditis* spp. and *Steinernema* spp.: temperature, and aspects of behaviour and infectivity. *Experimental parasitology* 62: 169-180.
- Mitsuhiro Yoshida, Alexander P. Reid, Bernard R. Briscoe and William M. Hominick. 1998. Survey of entomopathogenic nematodes (Rhabditida : Steinernematidae and Heterorhabditidae) in Japan. *Fundam. appl. Nematol.*, 21(2) : 185-198.
- NIAST. 2000. Control and diagnosis of vegetable pests. 331 pp. Academy Press. Seoul.
- Nickle, W.R., and M. Shapiro. 1992. Use of a stilbene brightener, Tinopal LPW, as a radiation protectant for *Steinernema carpocapsae*. *Journal of Nematology* 24: 371-373.
- Nickle, W.R., and M. Shapiro. 1994. Effects of eight brightener as solar radiation protectants for *Steinernema carpocapsae*, All strain. Supplement to *Journal of Nematology* 26: 782-784.
- Park, H.S., H.H. Kim, H.G. Chung, Y.J. Cho, H.Y. Jeon, H.I. Jang, D.S. Kim and H.Y. Choo. 2004. Pathogenicity of entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* against fall webworm, *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae). *Korean Journal of Turfgrass Science.* 18: 193-200.

- Park, Y.J., M.K. Kim, J. Kim, K.H. Yang and Y.G. Kim. 2001. Toxicological analysis of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae*, and the symbiotic bacteria, *Xenorhabdus nematopilius* on beneficial insect and mammals. Korean J. Appl. Entomol. 40: 259-264.
- Poinar, G. O., Jr.. 1979. Nematodes for biological control of insects. CRC, Boca Raton, FL.
- Poinar, G. O., Jr.. 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae, in Entomopathogenic Nematodes in Biological Control (Gaugler R. and Kaya, H. K., eds.), CRC, Boca Raton, FL, pp. 23-61.
- Poinar, G.O., Jr. 1990. Biology and taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae. pp.23-61. *In* Entomopathogenic nematodes in biological control, eds. by R. Gaugler, & H.K. Kaya. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Poinar, G.O., Jr. 1990. Taxonomy and biology of steinernematidae and heterorhabditidae, *In* R. Gaugler and H.K. Kaya, eds. Entomopathogenic nematodes in biological control, CRC Press, Boca Raton, Florida. pp. 23-61.
- 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.
- Richardson, P. N. 1990. Uses for parasitic nematodes in insect control strategies in protected crops. Aspects Appl. Biol. 24: 205-210.
- Richardson, P. N. and Grewal, P. S. 1991. Comparative assessment of biological (Nematoda: *Steinernema feltiae*) and chemical methods of control for the mushroom fly *Lycoriella auripila* (Diptera: Sciaridae). Biocontrol Science and Technology 1 : 217-228.
- Roman, J. and J. B. Beavers. 1982. A survey of puerto rican soils for entomopathogenic nematodes which attack *Diaprepes abbreviatus* (L.) (Coleoptera : Curculionidae). J. Agric. Univ. Puerto Rico 67:311-316.
- Rothwell, N.L. and D.R. Smitly. 1999. Impact of golf course mowing practices on *Ataenius spretulus*(Coleoptera: Scarabaeidae) and its natural enemies. Environ. Entomol. 28: 358-366.

- SAS Institute. 1996. SAS 6.11 for Windows. Cary. NC.
- 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.
- Schroer, S., and R.-U. Ehlers. 2005. Foliar application of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* for biological control of diamondback moth larvae (*Plutella xylostella*). *Biological Control* 33: 81-86.
- Shiotsu, Y. and R. Arakawa. 1982. One host-one parasitoid system: seasonal life cycles of *Pryeria sinica* (Lepidoptera) and *Agrothereutes minousubae* (Hymenoptera). *Researches on Population Ecology* 24: 43-57.
- Shiotsu, Y., and Y. Tsubaki. 1986. One-host one-parasitoid system: population dynamics of a zygaenid moth *Pryeria sinica* Moore in an undisturbed habitat. *Researches on Population Ecology* 28: 333-346.
- Simões, N., C. Caldas, J.S. Rosa, E. Bonifassi and C. Laumond. 2000. Pathogenicity caused by high virulent and low virulent strains of *Steinernama carpocapsae* to *Galleria mellonella*. *J. Invertebr. Pathol.* 75: 47-54.
- Smart, G. C. Jr.. 1995. Entomopathogenic nematodes for the biological control of insects. *Journal of Nematology* 27: 529-534.
- Tamura, M. 1985. Adult emergence, sex ratio, flight, thermal reaction and longevity of *Pryeria sinica* Moore (Lepidoptera: Zygaenidae). *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*. 29: 166-168.
- Terry, L.A., D.A. Potter and P.G. Spicer. 1993. Insecticides affect predatory arthropods and predation on Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) eggs and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) pupae in turfgrass. *J. Econ. Entomol.* 86: 871-878.
- Vyas, R. V. and Yadav, D. N. 1992. Infectivity of entomopathogenic nematode *Steinernema glaseri* to two soil dwelling lepidopterans. *Annals of Biology* 8(1) : 59-63.
- 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.

- Wilson, M. J., Glen, D. M., George, S. K., and Hughes, L. A. 1995. Biocontrol of slugs in protected lettuce using the rhabditid nematode *Phasmarhabditis hermaphrodita*. *Biocontrol Science and Technology* 5 : 233-242.

- Wilson, M. J., Glen, D. M., Hughes, L. A., Pearce, J. D., and Rodgers, P. B. 1994. Laboratory tests of the potential of entomopathogenic nematodes for the control of field slugs (*Deroceras reticulatum*). *J. Invertebrate Pathology* 64 : 182-187.

- 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.

- Zhou, X., H. K. Kaya, K. Heungens and H. Goodrich-Blair. 200. Response of ants to a deterrent factor(s) produced by the symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 6202-6209.