

## 곤충 병원성 선충 *Steinernema carpocapsae*와 *Heterorhabditis bacteriophora*를 이용한 삼림해충의 방제\*

Laboratory Evaluation of Entomopathogenic Nematodes,  
*Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabditis*  
*bacteriophora* against Some Forest Insect Pests

추 호 렬<sup>1</sup> · Harry K. Kaya<sup>2</sup> · 이 상 명<sup>3</sup> · 김 태 옥<sup>3</sup> · 김 준 범<sup>4</sup>

Ho Yul Choo<sup>1</sup>, Harry K. Kaya<sup>2</sup>, Sang Myeong Lee<sup>3</sup>, Tae Ok Kim<sup>3</sup>, and Joon Bum Kim

**ABSTRACT** The pathogenicity of entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapsae* and *Heterorhabditis bacteriophora* was evaluated against forest insect pests, alder leaf beetle *Agelastica coerulea*, pellucid zygænid *Pryeria sinica*, and box-tree pyralid *Glyphodes perspectalis*. Alder leaf beetle larvae were exposed to *S. carpocapsae* at concentration of 0, 25, 50, and 100 nematodes and to *H. bacteriophora* at concentration of 0, 10, 20, and 40 nematodes per larva on alder leaves. Mortalities of 1st instar larvae were  $85.4 \pm 4.1$ -100%, 2nd instar larvae  $80.0 \pm 5.8$ -100%, and 3rd instar larvae  $65.0 \pm 10.8$ -100% in *S. carpocapsae* and those of 1st instar larvae were  $82.5 \pm 6.9$ -100%, 2nd instar larvae  $77.5 \pm 4.7$ -100%, and 3rd instar larvae  $55.0 \pm 13.5$ -100% in *H. bacteriophora* treatment. When pellucid zygænid larvae were exposed to *S. carpocapsae* at concentration of 0, 5, 10, 20, 40, and 80 nematodes and to *H. bacteriophora* at concentration of 0, 2, 5, 10, 20, and 40 nematodes per larva, mortalities were  $98.9 \pm 1.1$ -100% in *S. carpocapsae* and  $26.7 \pm 5.1$ - $74.5 \pm 6.2$ % in *H. bacteriophora*. The mortalities of box-tree pyralid larvae were  $97.8 \pm 1.5$ -100% in *S. carpocapsae* treated with concentration of 0, 20, 40, and 80 nematodes per larva and those were  $92.0 \pm 6.2$ - $98.9 \pm 1.1$ % in *H. bacteriophora* treated with concentration of 0, 10, 20, and 40 nematodes per larva.

**KEY WORDS** Entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae*, *Heterorhabditis bacteriophora*, forest insect pests, *Agelastica coerulea*, *Pryeria sinica*, *Glyphodes perspectalis*

**초 록** 식염성 삼림해충인 오리나무잎벌레와 사철나무알락명나방, 회양목명나방에 대한 곤충병원성 선충, *Steinernema carpocapsae*와 *Heterorhabditis bacteriophora*의 살충력을 알아보기 위하여 실내 검정한 결과 선충의 종류, 농도, 기주에 따라 차이는 있었으나 높은 치사율을 보였다. 오

1 경상대학교 농대 농생물학과(Dept. of Agricultural Biology, Coll. of Agriculture, Gyeongsang Natl. University, Chinju, 660-701, Gyeongnam)

2 Dept. of Nematology, University of California, Davis, CA 95616, U.S.A.

3 산림청 입엽연구원 남부입엽시험장(Southern Regional Branch Station, Forest Research Institute, Chinju, 660-300, Gyeongnam)

4 전북대학교 농대농생물학과(Dept. of Agricultural Biology, Coll. of Agriculture, Chunbuk Natl. University, Chunju, 560-756, Chunbuk)

\* 본 연구는 한국과학재단 기초연구지원금(1988-1989)에 의한 연구의 일부임.

리나무잎벌레인 경우 *S. carpocapsae*를 유충 한마리당 25~100마리/ml 농도로엽상에 처리했을 때 1령충 85.0 ± 4.1~100%, 2령충 80.0 ± 5.8~100%, 3령충 65.0 ± 10.8~100%의 치사율을 보였으며, *H. bacteriophora* 10~40마리/ml 처리에서는 1령충 82.5 ± 6.9~100%, 2령충 77.5 ± 4.7~100%, 3령충 55.0 ± 13.5~100%의 치사율을 나타내었다. 사철나무 알락명나방은 유충 한마리당 *S. carpocapsae* 5~80마리/ml 처리에서 98.9 ± 1.1~100%, *H. bacteriophora* 2~40마리/ml 처리에서는 26.7 ± 5.1~74.5 ± 6.2%의 치사율을 나타내었으며, 회양목명나방은 유충한마리당 *S. carpocapsae* 20~80마리/ml 처리구에서 97.8 ± 1.5~100%, *H. bacteriophora* 10~40마리/ml 처리구에서 92.0 ± 6.2~98.9 ± 1.1%의 살충력을 보였다.

**검 색 어** 곤충병원성 선충, *Steinernema carpocapsae*, *Heterorhabditis bacteriophora*, 산림해충, *Agelastica coerulea*, *Pryeria sinica*, *Glyphodes perspectalis*

선충은 형태적으로는 단순하지만 다양한 서식처를 가지고 있는 풍부한 동물군으로 (Poinar 1979) 약 40과(family)의 선충이 곤충과 연관되어 있다(Gaugler와 Kaya 1990). 곤충과 선충과의 관계는 편승(phoresy), 임의기생(facultative parasitism), 완전기생(obligate parasitism)등으로 구분할 수 있는데, 임의기생과 완전기생을 통하여 기주의 치사, 불임유발, 해충의 가해행동 둔화, 수명단축, 비상력감소, 우화지연, 산란력감소, 형태변화, 변태실패유발, 조직파괴 또는 이상변이등 직접, 간접으로 곤충에게 악 영향을 미치고 있다(추 1987). 특히 Steinernematidae과의 *Steinernema* spp.와 Heterorhabditidae과의 *Heterorhabditis* spp.는 공생세균인 *Xenorhabdus* spp.와 작용하여 곤충에게 패혈증을 유발함으로써 기주를 24~48시간의 짧은시간내에 치사시킬 수 있어 해충의 잠재력이 있는 생물적 방제 인자로 취급되고 있다. 본 선충들은 유용동식물에게는 안전할 뿐만 아니라(Poinar 1979) 대량증식이 가능하고, 넓은 기주범위를 가지고 있으며 농약의 종류에 따라서는 혼용해서 사용할 수 있기 때문에 일반 농작물해충과 삼림해충의 방제에 많이 이용, 연구되어지고 있다.

본 실험은 Steinernematidae과의 *S. carpocapsae*와 Heterorhabditidae과의 *H. bacteriophora*를 선정하여 삼림해충인 오리나무잎벌레(*Agelastica coerulea*), 사철나무 알락나방(*Pryeria sinica*), 회양목명나방(*Glyphodes perspectalis*) 방제에 이용하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 선충의 증식 및 보관

곤충병원성 선충인 *S. carpocapsae* All계통과 *H. bacteriophora*를 꿀벌부채명나방(*Galleria mellonella*) 유충을 이용하여 대량증식한 후 약 30,000마리/ml 농도로 tissue culture container에 넣어 10°C의 냉장고에 보관하였다.

### 오리나무잎벌레에 대한 처리

실험에 이용된 오리나무잎벌레는 경상대학교 뒷산에 있는 오리나무(*Alnus japonica* Steud)에서 있을 가해하고 있던 유충을 채집하여 사용하였으며 1, 2 및 3령 유충을 각각 3반복으로 처리하였다. 선충은 90×15 mm petri dish에 여과지를 깔고 1 ml 증류수를 주입한 후 오리나무하얏을 한잎씩 넣는 *S. carpocapsae*는 유충한마리당 0, 25, 50, 100마리 수준으로, *H. bacteriophora*는 0, 10, 20, 40마리 수준으로 1 ml의 현탁액을 만들어 오리나무 잎표면에 고무 뿌린후 각 반복당 10마리씩의 잎벌레 유충을 령기별로 잎위에 놓았다. 그리고는 petri dish내의 수분 증발을 방지하기 위하여 0.02 mm polyethylene film bag에 넣고 25 ± 1°C에 보관하였으며 처리 4일후 유충을 다른 petri dish에 옮긴 후 다음 3일째 해부현미경하에서 선충에 의한 치사여부를 확인하였다.

### 사철나무알락나방과 회양목명나방에 대한처리

사철나무알락나방은 임업연구원 남부임업 시험장에서 사철나무(*Euonymus japonica* Thunb) 잎을 가해하고 있던 유충을 채집하여 사철나무 잎으로 사육한 노숙유충을 사용하였다. 90 × 15 mm petri dish에 여과지를 깔고 유충 한마리당 *S. carpocapsae*는 0, 5, 10, 20, 40, 80마리 수준으로, *H. bacteriophora*는 0, 2, 5, 10, 20, 40마리 수준으로 1 ml 현탁액을 만들어 주입하였으며 10마리씩의 유충을 각각의 petri dish에 넣었다.

회양목명나방은 경상대학교 농과대학에서 회양목(*Buxus microphylla* var. *koreana* Nakai) 잎을 가해하고 있던 유충을 채집하여 회양목잎을 공급하면서 사육하였고, 곤충병원성 선충은 90 × 15 mm petri dish에 여과지를 깔고 유충 한마리당 *S. carpocapsae*는 0, 20, 40, 80마리 수준으로, *H. bacteriophora*는 0, 10, 20, 40마리 수준으로 1ml 현탁액을 만들어 주입하였으며, 서로 잡아먹는 현상(cannibalism)을 방지하기 위하여 노숙유충 한마리씩을 각 반복당 10개의

petri dish에 넣었다. 처리는 3반복으로 행하였으며 petri dish는 수분의 증발을 막기 위하여 0.02 mm polyethylene film bag에 넣어 25 ± 1°C에 보관하였고 처리 일주일후 해부현미경하에서 선충에 의한 치사 여부를 각각 확인하였다.

### 결과 및 고찰

오리나무잎벌레에 대한 *S. carpocapsae*와 *H. bacteriophora*의 병원력은 높게 나타나 표 1에서 보는 바와 같이 무처리구에서는 령기에 관계없이 치사가 없었던 것에 비하여 *S. carpocapsae* 처리구에서의 치사는 1령충 85.0 ± 4.1~100%, 2령충 80.0 ± 5.8~100%, 3령충 65.0 ± 10.8~100%였으며, *H. bacteriophora* 처리구는 1령충 82.5 ± 6.9~100%, 2령충 77.5 ± 4.7~100%, 3령충 55.0 ± 13.5~100%로 낮은 농도에서는 치사율이 낮았으나 높은 농도에서는 령기에 관계없이 90%이상의 치사율을 보였다.

Table 1. Percent mortality of alder leaf beetle, *Agelastica coerulea* larvae exposed to entomopathogenic nematodes

Nematode	Dose of nematodes/larva	% mortality ± SD		
		1st instar	2nd instar	3rd instar
<i>S. carpocapsae</i>	Control	0	0	0
	25	85.0 ± 4.1b	80.0 ± 5.8b	65.0 ± 10.8c
	50	100a	100a	90.0 ± 0b
	100	100a	100a	100a
<i>H. bacteriophora</i>	Control	0	0	0
	10	82.5 ± 6.9a	77.5 ± 4.7b	55.0 ± 13.5b
	20	100a	100a	95.0 ± 7.1a
	40	100a	100a	100a

Percentages followed by the same letter are not significantly different at the 5% level using Duncan's multiple-range test.

사철나무알락나방은 유충한마리당 50~80마리의 *S. carpocapsae* 처리구에서 98.9 ± 1.1% 이상의 치사율을 나타내었지만 *H. bacteriophora*는 2마리 처리구에서 26.7 ± 5.1%, 5마리처리구에서 35.6 ± 2.9%, 10마리처리구에서 52.2 ± 6.2%, 20마리처리구 70.0 ± 14.9%, 40마리

처리구에서 74.5 ± 6.2%의 치사율을 보여 선충의 종류와 농도에 따라 차이가 있었다(표 2). 그러나 회양목명나방은 *S. carpocapsae* 전처리구에서 97.8 ± 1.5~100%, *H. bacteriophora* 전처리구에서 92.0 ± 6.2~98.9 ± 1.1%의 살충력을 보여 높은 병원력이 인정되었다(표 3). 식

**Table 2. Percent mortality of pellucid zyaenid *Pryeria sinica* larvae exposed to entomopathogenic nematodes**

Nematode	Dose of nematodes /larva	% mortality $\pm$ SD
<i>S. carpocapsae</i>	Control	0
	5	100a
	10	100a
	20	98.9 $\pm$ 1.1a
	40	98.9 $\pm$ 1.1a
	80	100a
<i>H. bacteriophora</i>	Control	0
	2	26.7 $\pm$ 5.1c
	5	35.6 $\pm$ 2.9c
	10	52.2 $\pm$ 6.2b
	20	70.0 $\pm$ 14.9a
	40	74.5 $\pm$ 6.2a

Percentages followed by the same letter are not significantly different at the 5% level using Duncan's multiple-range test.

**Table 3. Percent mortality of box-tree pyralid *Glyphodes perspectalis* larvae exposed to entomopathogenic nematodes**

Nematode	Dose of nematodes /larva	% mortality $\pm$ SD
<i>S. carpocapsae</i>	Control	0
	20	97.8 $\pm$ 1.5a
	40	97.8 $\pm$ 2.3a
	80	100a
<i>H. bacteriophora</i>	Control	0
	10	94.4 $\pm$ 2.9a
	20	92.0 $\pm$ 6.2a
	40	98.9 $\pm$ 1.1a

Percentages followed by the same letter are not significantly different at the 5% level using Duncan's multiple-range test.

엽성 해충 방제를 위한 식물에의 선충살포는 건조로 인하여 선충이 오래도록 생존하지 못하기 때문에 토양이나 갯도 서식해충 보다는 적합하지 못하나 (Gaugler 1981) 선충의 방제력으로 보아 건조 방지제의 첨가나 새로운 수분보유제의 개발은 포장에서 선충의 이용효율성을 높이리라 생각된다. Creighton 등(1968)은 오이잎벌레인 *Diabrotica balteata*에 대한 *S. carpocapsae* 500~1,000마리를 실내 처리한 결

과 100%의 높은 효과를 거두었으며 1acre당 32억6천 마리의 포장 처리에서도 76%의 방제를 얻었는데 높은 농도의 선충처리가 낮은 농도의 선충 처리보다 더 효과적이었다고 보고하였다. 그러나 Morris(1987)는 십자화과 식물을 가해하는 버룩잎벌레(*Phyllotreta crucifera*)의 유충은 너무 작아서 *S. feltiae*(=*S. carpocapsae*)가 제대로 침입할 수 없기 때문에 선충만으로 잎벌레의 유충이나 성충을 방제하는데는 부적합하다고 하였다. 반면 Poinar 등(1983)은 미국 Nebraska 주의 옥수수 밭에서 옥수수 잎벌레(*Diabrotica* spp.) 방제에 *Neoplectana carpocapsae*(=*S. carpocapsae*) 100,000마리를 1m당 처리한 결과 살충제인 Lorsban 15 처리보다 효과가 있었다고 하였다. 즉 선충처리구의 유충발견수는 평균 0.5마리였으나 살충제 처리구는 2.5마리, 무처리구에서는 9.9마리로 선충처리구가 효과가 좋았으며 비용도 선충은 1ha당 25볼로 살충제의 30볼에 비하여 경제적이었다고 보고하고 있다. 선충의 해충치사력은 기주의 크기나 령기에 따라 차이가 있으나 (추 1988, Fuxa 등 1988, Kondo 1987), 토양서식 해충에는 많은 경우 높은 살충력을 가져오기 때문에 오리나무 잎벌레가 용화를 위하여 노숙 유충이 땅속으로 들어가는 시기에 선충을 처리하게 되면 용화기의 잎벌레를 치사시킴으로써 월동성충의 밀도를 현저히 감소시킬 수 있으리라 생각된다. 추(1989 미발표)는 오리나무 잎벌레 방제를 위하여 유충 한마리당 *H. bacteriophora* 40~80마리를 토양중에 처리하여 평균 97.5%의 잎벌레 유충이 치사되는 것을 확인 한 바 있다. Kaya 등 (1981)도 느릅나무 잎벌레(*Pyrrhalla luteola*)에 대한 *N. carpocapsae* 처리에서 실내에서는 효과가 뛰어나지만 야외에서는 기후에 의하여 밀도를 크게 감소시키지 못하였다고 보고 하면서 그러나 낙엽층의 잎벌레 번데기에 대하여는 뚜렷한 밀도감소를 가져왔다고 하였다. 나방의 경우에 있어서도 캐비지 식엽해충인 배추좀나방(*Barathra brassicae*(=*Mamestra brassicae*)에 *S. feltiae*와 *H.*

*bacteriophora*를 실내 실험한 결과는 90~100%의 치사율 초래하여 포장작용의 유용함이 인정되었다(Sandner와 Pezowicz 1986). 담배거세미나방(*Spodoptera litura*)도 *S. feltiae* 50~400마리 처리구에서 3령충 100%, 4령충 76.7~100%, 5령충 43.3~100%로 령기에 따라 차이가 있었지만 감수적이었고 *H. heliothidis*(=*H. bacteriophora*) 20~160마리 처리구에서 3령충 67.7~100%, 4령충 36.7~98%, 5령충 3.3~90%로 높은 농도에서 효과가 좋았으며(추 등 1988), *S. feltiae* 1,000마리를 10g의 토양에 처리했을 때도 6시간후 100%의 치사율을 보여 매우 유용한 천적으로 확인된 바 있다(Kondo와 Ishibashi 1986). 중요 산림해충의 하나인 짚시나방(*Lymantria dispar*)의 경우도 *S. feltiae*에 감수적이어서 16시간 이상 *S. feltiae*에 처리되었을시 평균 93%의 치사율을 보였고(Reardon 등 1986), 가문비나무잎말이나방(*Choristoneura fumiferana*)은 24 ± 1°C에서 유충 한마리당 120마리의 *H. heliothidis* 처리에서 48시간내 4~6령충에서 100%의 치사율을 보였으나 17°C에서는 120시간내 15% 밖에 되지 않아 온도가 선충의 병원력 발현에 중요한 요인이었다(Finney 등 1981). Kaya와 Reardon(1982)도 *C. occidentalis* 방제를 위하여 *N. carpocapsae* 16,000마리/ml를 건조 방지제에 혼합하여 한 나무당  $8 \times 10^6 \sim 1.3 \times 10^7$ 마리 처리한 결과 밀도 감소에 큰차이는 없었으나 치사된 77%의 유충에서 선충 감염에 의한 징후가 보였고 실내 실험에서 얻어진 100%의 치사 유충에서는 78%가 선충이 검출되었으며 야외에서 채집된 번데기는 더 감수적이어서 실내에서 96.4%가 방제되었다. 식염성 해충방제를 위한 곤충병원성 선충의 이용은 건조에 의한 선충의 손상을 고려하여 저녁이나 이른 아침에 살포하는 것이 권장되고 있는데 지역 또는 시기에 따라서는 낮은 온도로 인하여 기주에게 침입할 수 있는 충분한 시간이 되지 못하기 때문에(Finney 1981, Kaya와 Reardon 1982) 선충의 종류, 살포지역, 시기 및 기주에 따른 살포 방법의 개

발, 건조 방지제의 개발 및 활용등은 식염해충의 방제에 큰 효과를 거둘 수 있으리라 생각된다. 또한 식염성 해충중에는 생활사중 일부, 특히 유충기의 일부를 땅속에서 보내는 종류가 많은데 토양해충에 대한 살충효과, 농약의 종류에 따른 혼용가능성(石橋 1987), 곤충기생성 곰팡이와의 혼용에 의한 병원력 증가(Kamionek 등 1974), 넓은 기주 범위와 장기간의 보관 가능성등을 고려해 볼때 해충방제에 곤충병원성 선충을 적극적으로 이용해 볼 가치가 있다.

### 인 용 문 헌

- 추호렬. 1987. 천적선충을 이용한 해충의 방제. 경상대학교 새마을 연구소보 5: 129~149.
- 추호렬, H. K. Kaya & D.K. Reed. 1988. 곤충기생성 선충, *Steinernema feltiae*와 *Heterorhabditis heliothidis*를 이용한 고자리 파리 및 담배 거세미나방의 생물적 방제. 한용곤지. 27:185~189.
- Creighton, C.S., F.P. Cuthbert, Jr. & W.J. Reid, Jr. 1968. Susceptibility of certain coleopterous larvae to the DD-136 nematode. Journal of Invertebrate Pathology 10:368~373.
- Finney, J.R., K.P. Lin & G.F. Bennett. 1982. The susceptibility of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae) to *Heterorhabditis heliothidis* (Nematoda: Heterorhabditidae) in the laboratory. Can. J. Zool. 60: 958~961.
- Fuxa, J.R., A.R. Richter & F. Agudelo-Silva. 1988. Effect of host age and nematode strain on susceptibility of *Spodoptera frugiperda* to *Steinernema feltiae*. Journal of Nematology 20: 91~95.
- Gaugler, R. 1981. Biological control potential of neoaplectanid nematodes. Journal of Nematology 13: 241~249.
- Gaugler, R. & H.K. Kaya. 1990. Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC press 365pp. Florida.
- 石橋信義. 1987. 昆蟲寄生性線蟲による生物的防除方法の開発, 文部省試験研究(1) 研究成果報告書 pp.165~176.
- Kamionek, M., H. Sandner & H. Serczynska. 1974. Combined action of *Paecilomyces farinosus* Disks (Brown et Smith) (Fungi imp.: Moniliales) and *Neoapectana carpocapsae* Weiser, 1955 (Nematoda: Steinernematidae) on certain insects. Acta

- Parasitologica Polonica 22(34): 357~363.
- Kaya, H.K., A.H. Hara & R.C. Reardon. 1981. Laboratory and field evaluation of *Neoaplectana carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) against the elm leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) and the western spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae). Can. Ent. 113: 787~793.
- Kaya, H.K. & R.C. Reardon. 1982. Evaluation of *Neoaplectana carpocapsae* for biological control of the western spruce budworm, *Choristoneura occidentalis*: Ineffectiveness and persistence of tank mixes. Journal of Nematology 14: 595~597.
- Kondo, E. 1987. Size-related susceptibility of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae to entomogenous nematode, *Steinernema feltiae* (DD-136). Appl. Ent. Zool. 22: 560~569.
- Kondo, E. & N. Ishibashi. 1986. Infection efficiency of *Steinernema feltiae* (DD-136) to the common cutworm *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae), on the soil. Appl. Ent. Zool. 21: 561~571.
- Morris, O.N. 1987. Evaluation of the nematode, *Steinernema feltiae* Filipjev, for the control of the crucifer flea beetle *Phyllotreta cruciferae* (Goeze) (Coleoptera: Chrysomelidae). Can. Ent. 119: 95~102.
- Poinar, G.O. Jr. 1979. Nematodes for biological control of insects. CRC press 277pp. Florida.
- Poinar, G.O. Jr., J.S. Evans & E. Schuster, 1983. Field test of the entomogenous nematode, *Neoaplectana carpocapsae*, for control of corn rootworm larvae (*Diabrotica* sp., Coleoptera). Protection Ecology 5: 337~342.
- Reardon, R.C., H.K. Kaya, R.A. Fusco, F.B. Lewiz. 1986. Evaluation of *Steinernema feltiae* and *S. bibionis* (Rhabditida: Steinernematidae) for suppression of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantridae) in Pennsylvania. U.S.A. Agriculture, Ecosystems and Environment 15: 1~9.
- Sandner, H. & E. Pezowicz. 1986. Influence of the *Steinernema feltiae* (Filipjev) and *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar invasive larvae on the *Barathra brassicae* L. caterpillars and on their feeding. Ann. Warsaw Agricult. Univ-SGGW-AR, Anim. Sc. 20: 49~56.

(1991년 2월 28일 접수)