곤충병원성선충, *Steinernema arenarium*의 수확시기와 유충 체장이 병원성과 발육 및 증식에 미치는 영향

한건영 · 이동운¹ · 추영무² · 추호렬^{3*}

경상대학교 응용생명과학부(BK21), 응용생물학과, 농업생명과학연구원, ¹경북대학교 생태환경관광학부 생물응용전공, ²경상대학원 농업생명과학대학 농업생명과학원 응용생물학과

Effect of Harvest Time and Infective Juvenile Size of the Entomopathogenic Nematode, *Steinernema arenarium*, on Pathogenicity, Development, and Propagation

Gun Yeong Han, Dong Woon Lee¹, Young Moo Choo² and Ho Yul Choo^{3*}

Division of Applied Life Science (BK21), Department of Applied Biology, Institute of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea

¹Major of Applied Biology, School of Ecology, Environment and Tourism, Kyungpook National University, Sangju, Kyungpook 742-711, Korea

²Department of Entomology, University of California, Davis, CA95616, U.S.A

³Department of Applied Biology, Institute of Agriculture and Life Sciences, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam, 660-701, Korea

ABSTRACT: The size of infective *Steinernema arenarium* juveniles is variable and ranges from 724 to 1408 μm . Effects of harvest time and infective juvenile size on pathogenicity, development, and reproduction were examined in the last instar of the great wax moth, *Galleria mellonella*. Harvest time of infective juveniles (IJs) of *S. arenarium* affected pathogenicity. IJs harvested at the 10th day from trapping were more pathogenic than those harvested the 3rd day from trapping. Mortality of *G. mellonella* also depending on harvest time, i.e., 100% died within 48h when IJs were harvested at the 10th day, without relation to size. However, mortality was 40% in the small size group (SSG) compared with 18% in the large size group (LSG) within 48h when IJs were harvested at the 3rd day. Establishment of *S. arenarium* within the host was different depending on IJ size. The number of established IJs was 1.8 in the SSG, 3.3 in the LSG, and 3.2 in the mixed size group (MSG) when IJs were harvested at the 3rd day, and 5.3 in the SSG, 7.4 in the LSG, and 7.6 in the MSG when IJs were harvested at the 10th day. The length of the female adult was 7,070.5 μm in the SSG and 7,893.9 μm in the LSG and that of the male was 1,460.5 μm in the SSG and 1,688.2 μm in the LSG when IJs were harvested at the 3rd day. The length of the female adult was 7,573.6 μm in the SSG and 8,305.4 μm in the LSG and that of the male adult was 1,733.4 μm in the SSG and 1,794.4 μm in the LSG when IJs were harvested at the 10th day. Harvest time and size of IJs did not influence numbers of progeny or size of IJS.

Key words: Infective juvenile size, Harvest time, Pathogenicity, Progeny, *Steinernema arenarium*

초 록: 곤충병원성선충, *Steinernema arenarium* 유충의 체장은 724 to 1408 μm 로 변이가 크다. 따라서 *S. arenarium*의 수확시기와 침입태 유충의 체장이 병원성과 발육 및 증식에 미치는 영향을 꿀벌부채명나방(*Galleria mellonella*) 노숙유충을 대상으로 조사하였다. *S. arenarium* 침입태 유충의 수확시기는 병원성에 영향을 미쳐 10일째에 수확한 것이 3일째 수확한 것에 비하여 병원성이 높았다. 10일째에 수확한 선충은 선충의 체장에 관계없이 처리 48시간 후에 꿀벌부채명나방 유충을 100% 치사시켰으나 3일째 수확한 체장이 작은 집단 집중 시에는 40%의 치사율을 보였으며 체장이 큰 집단은 18%의 치사율을 보였다. 기주 체내에 정착한 선충의 수도 침입태 유충의 체장에 따라 차이가 있었다. 3일째 수확한 선충들 중 체장이 작은 집단과 큰 집단, 혼합 집단 집중 시 기주에 정착한 선충 수는 각각 1.8, 3.3, 3.2마리였으며 10일째 수확한 선충들은 각각 5.3, 7.4, 7.6마리가 정착하였다. 3일째 수확한 유충의 체장이 작은 집단과 큰 집단을 구분하여 처리하였을 때 기주 체내의 암컷 체장은 각각 7,070.5 μm 와 7,893.9 μm 였고, 수컷 체장은 각각 1,460.5 μm 와 1,688.2 μm 였다. 10일째 수확한 체장이 작은 집단과 큰 집단 집중 시에는 기주 체내에서 성숙한 암컷의 체장은 각각 7,573.6 μm 와 8,305.4 μm 였고, 수컷의 체장은 1,733.4 μm 와 1,794.4 μm 였다. 수확시기와 집중 선충의 체장은 침입태 유충의 체장과 증식수에 영향을 미치지 않았다.

검색어: 침입태 유충 체장, 수확시기, 병원성, 증식수, *Steinernema arenarium*

*Corresponding author: hychoo@gnu.ac.kr

Received September 28, 2011; Revised January 12, 2012

Accepted February 1, 2012

해충의 생물적 방제인자로서 활용성이 높은 곤충병원성 선충, *Steinernematidae*과(*Steinernema* spp.)와 *Heterorhabditidae*과(*Heterorhabditis* spp.)는 종에 따라 다소의 차이는 있지만 대부분 알로부터 부화하여 4령을 경과한 뒤 성충이 되는 생활사를 가지고 있다(Poinar, 1986; Kaya and Gaugler, 1993; Boemare *et al.*, 1996). 그리고 침입태인 3령 유충은 곤충의 입이나 기문, 항문 등 자연 개구부를 통하여 기주에 침입한다. 침입한 선충은 공생세균(*Steinernema*=*Xenorhabdus*; *Heterorhabditis*=*Photorhabdus*)을 방출하고 기주는 세균에 의한 패혈증으로 죽게 된다(Bedding and Molyneux, 1982; Akhurst and Boemare, 1990).

*Steinernema arenarium*은 우크라이나의 Voronezh에서 채집되어 Artyukhovsky(1967)에 의해 최초로 기재된 종으로 Kozodoi (1984)가 러시아 Riazen의 *Anomala dubia* 풍뎅이 유충 치사체에서 발견하여 기재한 *S. anomalae*와 동종이명이다(Poinar, 1990). *S. arenarium*은 원 기재종의 채집지역인 우크라이나와 러시아를 비롯하여 체코의 소나무와 참나무류에서도 채집되었는데(Mráček *et al.*, 2005), Mráček *et al.*(2005)은 본 종을 미국에 광범위하게 분포하고 있는 *S. glaseri*의 유럽 분화 종으로 인식하고 있다.

*S. arenarium*은 옥수수뿌리벌레, *Diabrotica virgifera virgifera*와 십자화과 식물의 뿌리를 가해하는 *Delia radicum* 고자리파리 유충에 높은 병원성을 가지고 있다. 고자리파리에서는 알의 부화 억제 효과도 있다(Kuhlmann and der Burgt, 1998; Chen *et al.*, 2003a, 2003b). 또한 *Capnodis tenebrionis* 비단벌레 유충과(García del Pino and Jové, 2005), 검정포도바구미, *Otiorynchus sulcatus* 유충에 대한 방제 효과(Kakouli-Duarte and Hague, 1999)도 높다.

*S. arenarium*은 타 곤충병원성선충과는 상이한 몇 가지 형태적, 생태적 특징들을 지니고 있다. 형태적으로는 *Steinernematidae*과의 종들 중에 *S. glaseri*와 같이 체장이 긴 집단에 속한다(Poinar, 1990). 침입태 유충의 체장은 곤충병원성 선충의 종에 따라 차이가 있는데(Gaugler, 2001), *S. arenarium*의 침입태 유충의 길이는 724~1408 μm 로 변이가 심하다(Kakouli-Duarte and Hague, 1999). 생태적으로는 대부분의 곤충병원성 선충이 기주 체내에서 2-3세대를 경과하는 것과는 달리 꿀벌부채명나방과 검정포도바구미 유충에서 1세대만 경과하는 것으로 알려져 있다(Kakouli-Duarte and Hague, 1999).

곤충병원성 선충의 병원성은 선충의 종이나 계통, 기주 등 생물적 요인과 온도 및 습도와 같은 비생물적 요인에 의해 차이가 있다(Zervos *et al.*, 1991; Glazer, 1992; Nickle and Shapiro, 1994; Koppenhöfer *et al.*, 1995; Brown and Gaugler, 1997; Liu and Glazer, 2000; Hang *et al.*, 2007). 생태적 차이에 영향을 미치는 생물적 요인 중에서는 체장이나 연령도 포함된다(Schirocki

and Hague, 1997; Gouge and Hague, 1995; Lewis *et al.* 1995). 즉, Kakouli-Duarte and Hague(1999)는 침입태 유충의 체장이 작은 것은 기주의 크기가 작을 때에 발생하며 기주의 크기가 작을 때는 작은 크기의 유충이 병원성이 높다고 하였다. 그리고 곤충병원성 선충의 침입태 유충은 연령에 따라 기주탐색 행동에 차이를 보이기도 하는데(Hudson and Nguyen, 1989; Lewis *et al.*, 1997; Ishibashi, 2002), *S. glaseri*는 White trap에서 수확한 2~3일 동안 후성숙 시간을 거쳐야만 정상적인 침입태 유충이 될 수 있다(Woodring and Kaya, 1988).

*S. arenarium*에 대한 생태연구는 Kakouli-Duarte and Hague (1999)가 포도검정바구미와 꿀벌부채명나방에서의 생활사 연구와 기주 크기별 침입수 및 병원성, 유충과 암컷 성충의 크기 등을 조사한 것과 Han *et al.*(2010)이 접종농도가 병원성과 발육, 증식 및 체장에 미치는 영향을 조사한 것 밖에 없다.

본 연구는 곤충병원성 선충들 중 체장의 변이가 심하고, 기초적인 생태연구가 거의 없는 *S. arenarium*을 이용하여 침입태 유충의 체장 변이와 침입태 유충의 연령에 따라 선충의 병원성과 발육 및 증식에 미치는 영향을 알아 보고자 수행하였다.

재료 및 방법

곤충병원성 선충과 꿀벌부채명나방

실험에 사용된 곤충병원성 선충 *S. arenarium*은 University of California Davis 선충학과의 Dr. Kaya 실험실에서 2003년 분양받아 꿀벌부채명나방(*G. mellonella*) 노숙유충을 이용하여 증식시켜 사용하였다(Woodring and Kaya, 1988). 9°C의 냉장고에 보관 중이던 *S. arenarium*을 꿀벌부채명나방의 노숙유충에 접종하여 White trap (White, 1927)으로 수확한 뒤 실험에 사용하였다. *S. arenarium*은 해부현미경 하에서 체장이 짧은 소형 집단(636~923 μm)과 체장이 긴 대형 집단(1209~1496 μm), 체장을 구분하지 않고 다양한 크기의 선충이 섞여 있는 혼합집단으로 구분하였다. 기주로 사용된 꿀벌부채명나방은 Lee *et al.* (2007)의 인공사료를 이용하여 실내에서 사육한 것을 사용하였는데, 실험 오차를 줄이기 위해 180~200 mg 이내의 노숙유충을 사용하였고 선충은 White trap 설치 후 2주 이내의 것을 사용하였다.

수확시기 및 *Steinernema arenarium* 침입태 유충 체장이 병원성에 미치는 영향

수확시기와 *S. arenarium* 침입태 유충의 체장이 병원성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 선충이 기주를 탈출한 3일과 10일

째에 White trap으로부터 침입태 유충을 수확하였다. 5.5 × 15 mm 플라스틱 Petri dish에 여과지(Whatman #2, 55 mm) 2장을 깔고, 수확한 선충을 소형과 대형, 혼합집단으로 구분하여 각각 20마리/0.5 ml 농도로 처리한 후 꿀벌부채명나방 노숙유충 한 마리를 넣었다. 처리된 Petri dish는 polyethylene film에 싸서 통기를 위해 약 10개의 구멍을 뚫은 다음 24 ± 1 °C의 항온기에 보관하였다. 대조구로는 살균수만 0.5 ml 처리하였으며, 처리 24, 48, 72, 96시간 후 꿀벌부채명나방 유충의 치사여부를 조사하였다. 실험은 10개의 Petri dish를 한 반복 단위로 5반복으로 수행하였다.

수확시기 및 *Steinernema arenarium* 침입태 유충 체장이 기주체 내의 정착에 미치는 영향

수확시기와 *S. arenarium* 침입태 유충의 체장이 기주 체내에서의 발육에 미치는 영향을 알아보기 위하여 수확시기 및 *S. arenarium* 침입태 유충 체장이 병원성에 미치는 영향 실험과 같은 조건에서 치사된 꿀벌부채명나방 유충을 처리 후 3일째 각 처리 당 치사된 기주를 임의로 선택하여 해부현미경하에서 해부하여 선충의 암, 수를 구분하여 조사하였다. 유리 Petri dish에 Ringer's solution(9 g NaCl, 0.4 g KCl, 0.4 g CaCl₂, 0.2 g NaH₂CO₃, 1 l 살균수)을 반쯤 담고 암컷과 수컷을 옮겨 담은 후 TAF 용액(7 ml 40% formaldehyde, 2 ml triethanolamine, 91 ml 살균수)을 80 °C로 가열하여 고정하였다. 고정시킨 선충은 MC Camera Moticam 2000과 Motic Images Plus version 2.0 ML (Motic사, 중국)을 이용하여 사진을 찍고 길이를 측정하였다. 반복수는 처리별로 치사된 꿀벌부채명나방의 수와 기주 체내에 정착한 수에 따라 상이하게 하여 조사하였다.

수확시기 및 *Steinernema arenarium* 침입태 유충 체장이 증식에 미치는 영향

수확시기와 *S. arenarium* 침입태 유충의 체장의 변이가 증식에 미치는 영향을 알아보기 위하여 수확시기 및 *S. arenarium* 침입태 유충 체장이 병원성에 미치는 영향 실험과 같은 조건에서 치사된 꿀벌부채명나방 유충을 처리 후 5일째 White trap을 설치하였다. White trap은 직경 100 × 15 mm 크기의 유리 Petri dish에 50 mm 크기의 Petri dish 뚜껑을 넣고, 55 mm 여과지(Whatman #2, 55 mm)를 부채꼴 모양으로 잘라 반쯤 걸친 후 살균수 15 ml를 바닥에 넣었다. 그리고 치사된 꿀벌부채명나방 유충 한 마리를 여과지 위에 걸쳐 놓았다. White trap은 24 ± 1 °C의 항온기에 넣어 두고, 침입태 유충이 모두 탈출한 7일 후에 증식수를 조사하였다. 그리고 마이크로 파이펫을 이용하여 침입태

유충을 뽑아내어 Ringer's solution이 담겨있는 유리 Petri dish에 넣고 TAF 용액을 80 °C로 가열하여 고정하였다. 고정시킨 침입태 유충은 성충과 같은 방법으로 사진을 찍어 체장을 측정하였다. 체장은 증식된 침입태 유충 1마리를 한 반복으로 120마리를 조사하였다.

통계분석

S. arenarium 침입태 수확시기와 유충의 체장에 따른 꿀벌부채명나방의 치사율은 arcsin으로 변환시켜 분산분석 하였고 (PROC ANOVA), Tukey test로 처리 평균간 차이를 검정하였다. 결과는 변환전의 평균 ± 표준편차로 표기하였다. 발육수와 증식수, 길이는 Tukey test로 분산분석(PROC ANOVA)하였고, 처리간의 반복수가 다른 것은 Student-Newman-Keul test로 평균간 차이를 검정하였다(SAS Institute, 1999).

Fig. 1. Effect of *Steinernema arenarium* larval size and harvest time on mortality of *Galleria mellonella*. The IJs were harvested at the 3rd day (A) and 10th day (B) from the White trap and divided into three groups (small, 636 ~ 923 μ m; large, 1209 ~ 1496 μ m; and mixed group) according to their length. The IJs of each group were inoculated into *G. mellonella*. Bars with the same letter in each day are not significantly different based on Tukey test ($\alpha=0.05$).

결 과

수확시기 및 *Steinernema arenarium* 침입태 유충의 체장이 병원성에 미치는 영향

수확시기가 다른 *S. arenarium*의 침입태 유충을 구분하여 꿀벌부채명나방에 처리한 결과, 3일째 수확하여 접종한 것은 소형 집단 접종 시 접종 후 5일 째 72%의 치사율을 나타내었고, 대형 집단과 혼합집단 접종 시에는 접종 후 5일 째에 94%의 치사율을 보여 침입태 유충의 체장은 병원성에 영향을 미치었다($F=79.8$, $df=3, 16$, $P<0.0001$)(Fig. 1). 그러나 10일째 수확하여 접종한 것은 소형, 대형, 혼합 세 집단 모두 접종 후 2일 째 기주가 100% 치사되어 체장 간 치사율에서 차이를 볼 수 없었다.

수확시기 및 *Steinernema arenarium* 침입태 유충의 체장이 기주 체내 정착에 미치는 영향

꿀벌부채명나방 노숙유충에 *S. arenarium*을 체장별로 구분

Fig. 2. Effect of *Steinernema arenarium* larval size and harvest time on number of adults in *Galleria mellonella*. See Fig. 1. for the explanation of experiment. Bars with the same letter are not significantly different based on Student-Newman-Keul test ($\alpha=0.05$).

하여 접종하고 48시간 후에 현미경 하에서 해부한 결과, 모든 처리에서 처리한 유충은 성충으로 발육하였다. 3일째 수확하여 접종한 것에서 성충으로 발육한 선충의 수는 소형, 대형, 혼합집단에서 각각 1.8, 3.3, 3.2마리로 소형그룹 접종 시 침입한 유충이 성충으로 발육된 수는 대형이나 혼합집단보다 적었다($df=2, 51$, $F=6.27$, $P<0.0037$)(Fig. 2A).

10일째 수확하여 접종한 것에서도 성충으로 발육한 선충의 수는 소형, 대형, 혼합집단에서 각각 5.3, 7.4, 7.6마리로 소형집단의 성충으로 발육한 수가 대형, 혼합집단보다 적었다($df=2, 57$, $F=4.44$, $P<0.0162$)(Fig. 2B).

발육한 성충의 성비는 3일째 수확하여 처리한 모든 집단에서 차이가 없었고($df=2, 69$, $F=2.32$, $P<0.1063$), 10일째 수확하여 처리한 것에서도 차이가 없었다($df=2, 72$, $F=1.52$, $P<0.2266$)(Fig. 3).

3일째와 10일째 수확하여 처리한 소형과 대형 집단에서 발육한 암컷의 평균길이는 차이가 없었다(Fig. 4). 그러나 3일째 수확하여 처리한 소형그룹에서는 발육한 수컷의 길이가 더 짧았으나(Fig. 4) 통계적 유의성은 없었다($df=1, 112$, $F=1.06$, $P<0.3062$)(Table 1).

꿀벌부채명나방 노숙유충에서 발육한 암컷의 체장은 다양하였는데, 3일째 수확하여 접종한 소형집단에서는 5,700 μm 이하

Fig. 3. Effect of *Steinernema arenarium* larval size and harvest time on sex ratio of *S. arenarium* in *Galleria mellonella*. See Fig. 1. for the explanation of experiment. Bars with the same letter are not significantly different based on Student-Newman-Keul test ($\alpha=0.05$).

Fig. 4. Females developed from small (636 ~ 923 μm , A, C, and E) and large (1209 ~ 1496 μm , B, D, and F) of *Steinerema arenarium* infective juveniles in *Galleria mellonella*.

Fig. 5. Males developed from small (636 ~ 923 μm , A, C, and E) and large (1209 ~ 1496 μm , B, D, and F) *Steinerema arenarium* infective juveniles in *Galleria mellonella*.

Table 1. Length (μm) of *Steinerema arenarium* female and male adults in *Galleria mellonella*

Harvest day from trap	Measurement	Female		Male	
		Small group*	Large group*	Small group*	Large group*
3	Mean $\pm$ SD	7070.5 $\pm$ 3334.5a	7893.9 $\pm$ 2457.7a	1406.5 $\pm$ 350.9a	1688.2 $\pm$ 211.6b
	Maximum	10647.0	11380.3	1770.2	2062.7
	Minimum	3468.3	3859.7	799.5	1176.1
10	Mean $\pm$ SD	7573.6 $\pm$ 2392.7a	8305.4 $\pm$ 2837.2a	1733.4 $\pm$ 299.7a	1794.4 $\pm$ 212.6a
	Maximum	12742.2	13383.0	2399.9	2096.2
	Minimum	2997.4	2668.1	720.8	1252.9

*Small group (636 ~ 923 μm in length), large group (1209 ~ 1496 μm in length). Means followed by the same letters within a column are not significantly different (Student-Newman-Keul test, $\alpha=0.05$).

의 왜성 암컷(stunted female)의 발생이 50.0%로 10일째 수확하여 접종한 소형집단의 20.0%보다 많았다(Fig. 6).

꿀벌부채명나방 노숙유충에서 발육한 수컷은 체장이 대부분

1,300~2,150 μm 사이에 분포하였고, 1,300 μm 이하의 수컷은 수확 시기와 상관없이 소형집단 접종 처리에서만 발생하였다(Fig. 7).

Fig. 6. Female length of *Steinerema arenarium* matured from different infective juvenile size. The IJs were harvested at the 3rd day (A) and 10th day (B) from the trap and divided into two groups (small 636 ~ 923 μm ; large, 1209 ~ 1496 μm) according to their length.

Fig. 7. Male length of *Steinerema arenarium* matured from different infective juvenile sizes. The IJs were harvested at the 3rd day (A) and 10th day (B) from the trap and divided into two groups (small 636 ~ 923 μm ; large, 1209 ~ 1496 μm) according to their length.

Table 2. Length of *Steinernema arenarium* infective juvenile emerging from *Galleria mellonella*

Harvest day from trap	Measurement	Length (μm)		
		Small group*	Large group*	Mixed group*
3	Mean $\pm$ SD	1100.7 $\pm$ 152.2a	1092.4 $\pm$ 135.5a	1142.7 $\pm$ 141.6a
	Maximum	1395.2	1310.2	1496.1
	Minimum	663.5	649.7	655.2
10	Mean $\pm$ SD	1116.2 $\pm$ 129.5a	1137.6 $\pm$ 111.0a	1115.8 $\pm$ 128.8a
	Maximum	1335.4	1308.6	1298.4
	Minimum	731.8	842.6	693.4

*Small group (636~923 μm in length), large group (1209~1496 μm in length), mixed group (mixed with small, medium, and large IJs). Means followed by the same letters within a column are not significantly different (Student-Newman-Keul test, $\alpha=0.05$).

Fig. 8. Effect of infective juvenile size on progeny production of *Steinernema arenarium* in *Galleria mellonella*. See Fig. 1. for explanation of experiment. Bars with the same letter are not significantly different based on Student-Newman-Keul test ($\alpha=0.05$).

수확시기 및 *Steinernema arenarium* 침입태 유충의 체장이 증식에 미치는 영향

증식된 침입태 유충의 체장은 3일째 수확하여 접종한 소형, 대형, 혼합집단에서 각각 1,100.7, 1,092.4, 1,142.7 μm 로 차이가 없었으며($df=2, 357, F=0.91, P=0.4049$), 10일째 수확하여 접종한 소형, 대형, 혼합집단에서도 각각 1,116.2, 1,137.6, 1,115.8 μm 였다. 선충의 수확시기 및 체장에 따른 증식된 침입태 유충의

체장은 차이가 없었다($df=2, 357, F=1.22, P=0.2954$)(Table 2).

꿀벌부채명나방 노숙유충에서 증식된 *S. arenarium*의 수는 3일째 수확하여 접종한 소형 집단에서 10,138마리, 대형 집단에서 13,606마리, 혼합집단에서 10,294마리로 차이가 없었다($df=2, 31, F=0.65, P=0.5296$). 10일째 수확하여 접종한 소형, 대형, 혼합집단에서 증식된 수도 각각 12,083, 14,033, 14,334마리로 차이가 없었다($df=2, 57, F=0.44, P=0.6432$)(Fig. 8).

증식된 침입태 유충의 체장은 다양하였다. 특히, 10일째 수확하여 접종한 처리에서 증식된 침입태 유충의 체장과 3일째 수확하여 접종한 처리는 체장의 분포가 유사한 양상을 보였다(Fig. 9).

고찰

곤충의 체장은 생존율과 치사율에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Calder, 1983; Roff, 1992). 일반적으로 큰 체장은 생산 성공률을 증가시키는데 Miami blue butterfly(*Cyclargus thomasi bethunebakeri*)의 경우 큰 암컷은 수명이 더 길며 긴 수명과 큰 체장은 난 생산과 양의 상관관계를 가진다(Trager and Daniels, 2011). 또한 벌의 경우도 보통보다 큰 암컷들은 더 큰 알과 많은 산란수를 가진다(O'Neill, 1985; Honek, 1993). *Nicrophorus investigator* 송장벌레 유충의 경우 크기가 큰 것이 월동 후 생존율이 더 높으며(Smith, 2002), 크기가 큰 송장벌레들은 먹이 탐색과 섭취에 있어서도 유리하다(Smith et al., 2000).

체장이 곤충을 비롯한 동물생태계에서 생존과 경쟁 측면에서 중요한 의미를 가지고 있음에도 불구하고, 곤충병원성 선충의 경우 소수의 연구들만이 수행되었다(Kakouli-Duarte and Hague, 1999; Han et al., 2010).

Kakouli-Duarte and Hague(1999)의 경우 선충의 체장이 기주곤충의 크기에 따라 상이한 병원성을 나타내며 기주의 크기에 따라 침입수와 성숙한 암컷의 체장에 차이를 보인다고 하였

Fig. 9. Length of infective juveniles of *Steinernema arenarium* emerged from *Galleria mellonella*.

으며 Han *et al.* (2010)은 접종 농도가 정착 선충수와 수컷 체장에 영향을 주며 접종농도가 많을수록 왜화암컷(stunted female)의 비율이 증가한다고 하였다. 따라서 본 연구에서는 선충의 수확 시기에 따른 크기별 병원성과 동일 크기의 기주에서 체장이 병원성과 기주정착, 증식에 어떤 영향을 미치며 체장은 다음세대에도 영향을 주는지를 조사하였다.

*S. arenarium*의 침입태 유충의 수확 시기는 병원성에 영향을 미쳐 10일째에 수확한 것보다 3일째에 수확한 선충의 병원성이 현저히 낮았다. 특히 10일째 수확한 선충의 경우 체장에 상관없이 처리 2일 후부터 동일한 병원성을 보였으나 3일째 수확한 선충은 체장이 짧은 선충을 접종한 처리구에서 병원성이 낮았다. 이것은 10일째 수확한 선충의 경우 침입태 선충으로 발육이 끝나거나 체장이 병원성에 영향을 주지 않았지만 3일째 수확한 선충의 경우는 미발육 또는 미성숙된 침입태 유충이 혼재되어 있어 체장이 병원성에 영향을 미치기 때문으로 생각된다. 따라서 *S. arenarium*은 유충의 수확시기가 체장에 비하여 병원성 발현에 더 중요하게 작용하는 것으로 생각되며, 침입태로의 발육은 체장이 작은 선충들이 긴 선충들에 비하여 느린 것으로 추정된다. 한편, Kakouli-Duarte and Hague (1999)는 기주의 크기가 큰 노

령유충에서는 선충의 체장이 병원성에 영향을 미치지 않지만 기주의 령기가 어린 작은 유충에서는 침입태 유충의 크기가 작은 것이 병원성이 높다고 하였다. 꿀벌부채명나방 노숙유충을 사용한 본 연구에서도 동일한 결과를 보였다. *S. arenarium*은 Steinernematidae과 중에서 침입태 유충의 체장이 큰 것에 속한다(Poinar, 1990). 체장이 크기 때문에 기문이나 항문이 아닌 입으로의 침입을 통하여 혈체강으로 직접 침입하는데(Georgis and Hague, 1981), 기주의 크기가 작을 때에는 침입태 유충의 크기가 작은 것이 이들 자연개구부를 통한 침입이 용이하기 때문이라고 하였다.

한편 *S. arenarium*은 *Steinernema*속의 다른 종들과는 달리 Wihite trap 설치 시에 치사된 꿀벌부채명나방을 얻은 여과지에 수분이 많이 흡수되지 않도록 해야 하고, 기주를 탈출한 침입태 유충은 탈출 후 며칠의 일정한 시간을 거쳐야 높은 병원성을 가졌는데(Han, personal observation) 실내에서 본 선충을 대량 증식하여 실험에 이용할 경우 이점을 고려하여야 할 것이다.

꿀벌부채명나방 노숙유충에서 *S. arenarium*의 침입태 유충의 수확시나 체장은 성충으로의 발육에 영향을 주었다. 기주를 침입하여 발육하는 시간에는 차이가 없었으나 침입한 수에

는 차이가 있었으며 초기에 수확한 선충 처리구의 침입수가 White trap 설치 후 10일 째 수확한 선충의 침입수에 비하여 체장에 관계없이 모두 적었다. 그리고 선충의 체장이 짧은 선충을 접종 하였을 때가 체장이 긴 선충이나 혼합집단 처리에 비하여 침입수가 적었다. 특히 White trap 설치 후 10일 째 수확한 선충의 경우 체장에 따른 병원성에는 차이가 없었으나 침입수는 체장이 짧은 선충 처리구에서 적었다. *S. arenarium*은 접종 후 48시간까지 기주 체내의 수가 증가한다(Kakouli-Duarte and Hague, 1999). 그리고 *S. arenarium*에 일단 감염된 기주에 동종의 침입태 유충이 유인된다(Grewal *et al.*, 1993).

본 실험의 결과 48시간 이내에 기주가 100% 치사되는 것으로 보아 기주의 치사는 24시간 이내의 초기에 침입한 선충에 의하여 유발되는 것으로 추정되어진다. 체장이 짧은 선충 처리에서 병원성과 침입수가 불일치하는 것은 선충의 침입밀도와 병원성이 1:1 상관관계를 형성하지 않고, 체장이 짧은 선충의 이동이 긴 선충에 비하여 어렵기 때문으로 생각된다. 즉, 기주체 내에 침입한 선충이 단 한 마리만 있어도 기주가 치사되기 때문에 침입한 선충의 수에 관계없이 기주의 치사는 이루어지지만 침입하는 선충의 수는 선충 자체의 활력이나 공생세균의 증식과 영양조건의 차이에 기인(Mason and Hominick, 1995)하기 때문으로 생각된다.

꿀벌부채명나방 유충에서 발육한 선충의 체장은 처리별로 차이가 없었으나 작은 크기의 성충 발생비율은 소형 집단의 선충을 접종하였을 때 높게 나타났다. 그리고 모든 처리에서 왜화암컷 성충이 발생하였는데, 꿀벌부채명나방 노숙유충에서는 왜화암컷의 발생이 없다고 한 Kakouli-Duarte and Hague (1999)의 연구와는 상이한 결과를 보였다. 왜화암컷 성충의 비율은 미성숙 침입태 유충 처리에 비하여 성숙 침입태 유충 처리에서 낮았는데, 미성숙 침입태 유충 처리에서는 체장이 긴 처리에 비하여 짧은 체장 선충 처리에서 발생 비율이 높았다. 왜화암컷은 암컷의 형태를 모두 갖추고 있으며 보통의 암컷과 같은 생식활동을 할 수 있다. 그리고 수컷의 경우도 1300 μm 이하의 작은 선충은 체장이 짧은 선충을 처리하였을 때에만 나타났으며 성숙 침입태 선충 처리보다 미성숙 침입태 유충 처리에서 높게 나타났다. 그러나 증식된 침입태 유충의 체장은 접종한 선충의 수확시기나 체장에 영향을 받지 않았다. 이는 체장이 당대 발육한 성충의 체장에는 영향을 주지만 다음 세대에는 영향을 주지 않기 때문으로 생각된다.

*S. arenarium*의 침입태 유충 체장은 증식수에는 영향을 주지 않았다. 이것은 꿀벌부채명나방의 노숙유충이 *S. arenarium*이 발육하는 데에는 영양상으로 영향을 주었지만 증식을 하는데 있어서 공생세균의 증식에는 영향을 주지 않았기 때문이라 사료된다.

본 연구결과, 증식된 침입태 유충의 체장은 636~1496 μm 사이로 다양하였다. Gouge and Hague(1995), Kakouli-Duarte and Hague(1999)는 *S. arenarium*의 침입태 유충의 길이 분포는 540~640 μm , 920~1040 μm 두 범위에만 분포한다고 하였는데, 본 연구의 결과와는 차이가 있었다.

본 연구에서 새로이 확인된 결과는 *S. arenarium*의 침입태 유충의 수확시기가 병원성과 침입, 왜화암컷 성충의 발생에 영향을 미친다는 것과 침입태 유충의 체장이 발육에 영향을 미치지 만 증식에는 영향을 미치지 않는다는 것이었다. 그리고 체장이 636~1496 μm 로 변이의 폭이 넓다는 것과 꿀벌부채명나방 유충에 접종하여도 왜화암컷 성충이 발생한다는 새로운 사실들이었다. 이상의 결과들은 유충의 크기 차이가 생태적 특성에 미치는 영향에 대한 기초자료가 될 것이다.

Literature Cited

- Akhurst, R.J. and N.E. Boemare. 1990. Biology and taxonomy of *Xenorhabdus*. In: Gaugler, R. and H.K. Kaya (eds.), Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Boca Raton, Florida, 75-90 pp.
- Artyukhovskiy, A.K. 1967. *Neoaplectana arenarium* nov. sp. (Steinernematidae: Nematoda) inducing nematode disease in chafers of the Voronezh region. Trudy Voronezhskogo Gosudarstvennogo Zapovednika 15: 94-100.
- Bedding, R.A. and A.S. Molyneux. 1982. Penetration of insect cuticle juvenile of *Heterorhabditis* spp. (Heterorhabditidae: Nematoda). Nematologica 28: 354-359.
- Boemare, N., C. Laumond and H. Mauleon. 1996. The entomopathogenic nematode-bacterium complex: biology, life cycle, and vertebrate safety. Biocontrol Sci. Technol. 6: 333-345.
- Brown, M. and R. Gaugler. 1997. Temperature and humidity influence emergence and survival of entomopathogenic nematodes. Nematologica 43: 363-376.
- Calder, W.A. 1983. Body size, mortality and longevity. J. Theor. Biol. 102: 135-144.
- Chen, S., X. Han and M. Moens. 2003a. Biological control of *Delia radicum* (Diptera: Anthomyiidae) with entomopathogenic nematodes. Appl. Entomol. Zool. 38: 441-448.
- Chen, S., X. Han and M. Moens. 2003b. Effect of temperature on the pathogenicity of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis* spp.) to *Delia radicum*. Biocontrol 48: 713-724.
- Garcia del Pino F. and M. Jové. 2005. Compatibility of entomopathogenic nematodes with fipronil. J. Helminthol. 79: 333-337.
- Gaugler, R. 2001. Entomopathogenic nematology. CABI Publishing. 1: 14-15.
- Georgis, R. and N.G.M. Hague. 1981. A neoaplectanid nematode in the web-spinning larch sawfly *Cephalcia lariciphila* (Hymenoptera:

- Pamphiliidae). Ann. Appl. Biol. 99: 171-177.
- Glazer, I. 1992. Invasion rate as a measure of infectivity of steinernematid and heterorhabditid nematodes to insects. J. Invertebr. Pathol. 59: 90-94.
- Gouge, D.H. and N.G.M. Hague. 1995. The susceptibility of different species of sciarid flies to entomopathogenic nematodes. J. Helminthol. 69: 313-318.
- Grewal, P.S., S. Selvan, E.E. Lewis and R. Gaugler. 1993. Male insect parasitic nematodes, a colonizing sex. Experimentia 49: 605-608.
- Han, G.Y., D.W. Lee and H.Y. Choo. 2010. Effect of inoculation concentration on pathogenicity, development, propagation and body length of entomopathogenic nematode, *Steinernema arenarium* (Nematoda: Steinernematidae). Kor. J. Appl. Entomol. 49: 61-67.
- Honek, A. 1993. Intraspecific variation in body size and fecundity in insects-a general relationship. Oikos 66: 483-492.
- Hang, D.T., H.Y. Choo, D.W. Lee, S.M. Lee, H.K. Kaya and C.G. Park. 2007. Temperature effects on Korean entomopathogenic nematodes, *Steinernema glaseri* and *S. longicaudum* and their symbiotic bacteria. Journal of Microbiology and Biotechnology 17: 420-427.
- Hudson, W.G. and K.B. Nguyen. 1989. Effects of soil moisture, exposure time, nematode age, and nematode density on laboratory infection of *Scapteriscus vicinus* and *S. acletus* (Orthoptera: Gryllo-talpidae) by *Neoplectana* sp. (Rhabditida: Steinernematidae). Environ. Entomol. 18: 719-722.
- Ishibashi, N. 2002. Behaviour of entomopathogenic nematodes. In: Lee, D.L. (ed.), The biology of nematodes. Taylor & Francis. London. pp.511-520.
- Kakouli-Duarte, T. and N.G.M. Hague. 1999. Infection, development, and reproduction of the entomopathogenic nematode *Steinernema arenarium* (Nematoda: Steinernematidae) in the black vine weevil *Oriorynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae). Nematology 1: 149-156.
- Kaya, H.K. and R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. Annu. Rev. Entomol. 38: 181-206.
- Koppenhöfer, A.M., H.K. Kaya and S.P. Taormino. 1995. Infectivity of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae) at different soil depths and moistures. J. Invertebr. Pathol. 65: 193-199.
- Kozodoi, E.M. 1984. A new entomopathogenic nematode *Neoplectana anomali* sp. n. (Rhabditida: Steinernematidae) and observation on its biology. Zoological Journal 63: 1605-1609.
- Kuhlmann, U. and W.A.C.M. Der Burgt. 1998 Possibilities for biological control of the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, in Central Europe. Biocontrol News and Information 19: 59-68.
- Lee, S. W., D. W. Lee and H. Y. Choo. 2007. Development of economical artificial diets for greater wax moth, *Galleria mellonella* (L.). Korean J. Appl. Entomol. 46: 385-392.
- Lewis, E.E., J.F. Campbell and R. Gaugler. 1997. The effect of aging on the foraging behaviour of *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae). Nematologica 43: 1-8.
- Liu, Q.Z. and I. Glazer. 2000. Desiccation survival of entomopathogenic nematodes of the genus *Heterorhabditis*. Phytoparasitica 28: 331-340.
- Mason, J.M. and W.M. Homonick. 1995. The effect of temperature on infection, development and reproduction of *Heterorhabditis*. J. Helminthol. 69: 337-345.
- Mráček, Z., S. Bečvář, P. Kindlmann and J. Jersáková. 2005. Habitat preference for entomopathogenic nematodes, their insect hosts and new faunistic records for the Czech Republic. Biological Control 34: 27-37.
- Nickle, W.R. and M. Shapiro. 1994. Effects of eight brighteners as solar radiation protectants for *Steinernema carpocapsae* All strain. J. Nematol. 26: 782-784.
- O'Neill, K.M. 1985. Egg size, prey size, and sexual size dimorphism in digger wasps (Hymenoptera: Sphecidae). Can. J. Zool. 63: 2187-2193.
- Poinar, G.O., Jr 1986. Entomopathogenic nematodes. In: Franz, J.M. (ed.), Biological plant and health protection. Fischer Verlag, Stuttgart, Germany, pp. 95-121.
- Poinar, G.O., Jr 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: Gaugler, R. and H.K. Kaya (eds.), Entomopathogenic nematodes in biological control. Boca Raton. FL. USA. CRC Press. Boca Raton, Florida, pp.22-61.
- Roff, D. 1992. The evolution of life histories: theory and analysis. Chapman and Hall, New York.
- SAS Institute. 1999. SAS 8 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.
- Smith, R.J. 2002. Effect of larval body size on overwinter survival and emerging adult size in the burying beetle, *Nicrophorus investigator*. Can. J. Zool. 80: 1588-1593.
- Smith, R.J., A. Hines, S. Richmond, M. Merrick, A. Drew and R. Fargo. 2000. Altitudinal variation in body size and population density of *Nicrophorus investigator* (Coleoptera: Silphidae). Environ. Entomol. 29: 290-298.
- Trager, M.D. and J.C. Daniels. 2011. Size effects on mating and egg production in the Miami blue butterfly. J. Insect Behav. 24: 34-43.
- White, G.F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. Science 66: 302-303.
- Woodring, J.L. and H.K. Kaya. 1988. Steinernematidae and Heterorhabditidae nematodes: a handbook of techniques. Southern Coop. Ser. Bull. 331, Arkansas Agri. Exp. Stn. Fayetteville, AR. 29pp.
- Zervos, S., S.C. Johnson and J.M. Webster. 1991. Effect of temperature and inoculum size on reproduction and development of *Heterorhabditis heliothidis* and *Steinernema glaseri* (Nematoda: Rhabditidae) in *Galleria mellonella*. Can. J. Zool. 69: 1261-1264.