

## Liquid culture of entomopathogenic nematodes

박선호<sup>\*,\*\*</sup>, 유연수<sup>\*,\*\*</sup>

계명대학교 화학·재료공학부\*, (주)바이코시스\*\*

전화 (053)580-5457, FAX (053)633-4929

### Abstract

An *in vitro* liquid culture media for the cultivation of entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* was developed. Supplementation of whole milk powder with basal liquid culture media showed a remarkable increase in productivity compared to that without whole milk powder and the maximum nematode concentration reached about  $1.5 \times 10^5$ /mL within 20 days. Five to twenty gram per liter of liver extract addition revealed highest pathogenicity against 3rd instar of *Galleria mellonella* which was above about 90% mortality after 48 hr.

### 서론

차세대 생물살충제로 관심이 집중되고 있는 곤충병원성 선충의 대량증식은 초기에는 돼지의 장, 신장, 소의 응고혈액과 같은 가축의 장기와 각종 곡물 사료가 주로 사용되었으나 최근에는 고농도 액체대량배양이 가능한 달걀 노른자위, 효모, 옥수수 기름 등을 포함한 인공배지에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 그러나 이들 배지를 이용할 경우 최대수확량이 낮고 대상 해충에 대한 살충력 또한 감소하는 것으로 나타나고 있어 앞으로도 많은 연구가 필요한 실정이다<sup>1-2)</sup>. 본 연구에서는 국내에서 선별된 *Steinernema carpocapsae* 곤충병원성 선충에 대하여 고농도 인공액체배지를 개발하였으며 이를 이용한 최대 수확량과 살충력을 비교, 조사하였다.

### 재료 및 방법

곤충병원성 선충 *Steinernema carpocapsae* 종의 인공배양을 위한 최적 배지조성을 조사하기 위해서 효모추출물과 대두분을 주요 단백질원으로 이용한 액체배지에서 동물성 단백질원인 전지분유(whole milk powder)의 농도를 0, 5, 10, 20, 50, 100 g/L로 달리하여 배지를 조제하였다. 배지는 250mL 삼각플라스크에 실제 액량 20mL로 넣고 선충은 mL당 1000마리를 접종하여 25℃에서 20일간 200rpm으로 진탕배양을 실시한 후 마리수를 측정하였다. 또한 *S. carpocapsae* 종의 액체배지에서 동물성 단백질원인 간추출물(liver extract)의 첨가농도에 따른 곤충병원성 선충의 꿀벌부채명나방 3령 유충에 대한 살충력을 조사하기 위하여 간추출물을 0, 2, 5, 10, 20, 50 g/L로 달리하여 배지를 조제하였으며, 조제된 배지에서 20일간 진탕배양한

후 선충을 수확하였다. 수확한 선충은 수확 후 20일 이내에 이용하였으며 각각의 조건에서 수확된 선충은 *G. mellonella*의 유충당 선충을 각각 5마리씩 접종하여 접종 48시간 후에 유충의 사멸율을 조사하였다.

### 결과 및 고찰

Fig. 1은 기본 액체배지에서 특히 중요한 전지분유의 농도가 곤충병원성 선충 *S. carpocapsae* 종의 성장에 미치는 영향을 나타낸 것이다. 이 경우 전지분유의 농도가 약 10~20 g/L로 첨가된 배지에서 선충의 증식이 가장 좋았으나 그 이상의 농도에서는 오히려 증식이 억제되었다. Fig. 2는 액체배지에서 첨가물로 간추출물의 농도가 *S. carpocapsae* 종의 꿀벌부채명나방 3령 유충에 대한 살충력에 미치는 영향을 나타낸 것이다. 이 경우 간추출물이 접종농도가 약 5 g/L까지는 간추출물의 농도가 증가함에 따라서 꿀벌부채명나방에 대한 살충력이 계속 향상되어 5~20 g/L에서 최대 90%이상의 사멸율을 나타냈다. 인공액체배지를 이용하면 배지조성 및 배양 조건에 따라 수율과 배양시간은 크게 달라지지만(data not shown) 최적의 조건에서 20일만에 곤충병원성 선충을 최대  $1.5 \times 10^5$ /mL까지 고농도로 배양할 수 있었다. 이는 in vivo 배양에 비해 매우 경제적인 선충 대량배양방법으로 사료되며, 살충력면에서도 in vivo로 배양된 선충에 비해 크게 떨어지지 않는 결과이다.

### 참고문헌

1. 유연수, 박선희, "생물살충제를 위한 곤충병원성 선충 및 공생박테리아의 in vitro 배양"(1999), 한국생물공학회지, 14(3), 303-308.
2. 김도완, 박선희, "*Galleria mellonella* 유충을 이용한 곤충병원성 선충의 배양 조건"(1998), 한국생물공학회지, 13(1), 31-37.

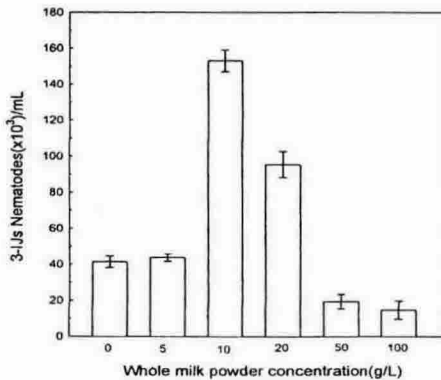


Fig. 1. Effect of Whole milk powder concentration on nematode growth.

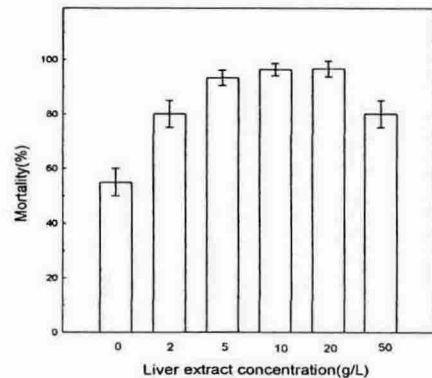


Fig. 2. Effect of Liver extract concentration on nematode mortality against *Galleria mellonella* larva.