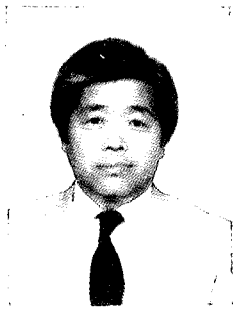


동 · 물 · 학 · 논 · 단

기생벌의 *In Vitro* 인공증식과 카이로몬



이 해 풍

1970. 2~현재 동국대학교 응용생물학과 교수
 1973. 12~1976. 5 미국 메인주립대학교 방문교수
 1984. 7~1986. 8. 미국 메사추세츠주립대학교 교환교수
 1970~현재 한국곤충학회 이사 (현재 부회장)
 한국응용곤충학회 이사
 한국동물학회 감사
 1994~현재 농업과학기술원 검입연구관

서 론

1940년대 후반부터 유기합성 살충제의 적극적인 사용들은 해충방제 전략에 혁명적 변화를 갖게 하였고 위생곤충을 포함한 다양한 해충류를 손쉽게 방제할 수 있어 인류의 생활을 보다 풍족하고 안락하게 하여 주었다. 그러나 이처럼 좋은 목적을 위해 대량으로 손쉽게 사용하였던 살충제들은 해충의 저항성 증가, 유용곤충의 파괴, 방제된 해충의 재기, 이차 잠재해충의 대발생, 음식물이나 환경에 농약 잔유물 축적 그리고 인류와 환경에 주는 해로움 등 많은 문제점을 유발시켰다.

따라서 해충방제 전략은 점차 살충제를 사용하는 화학적 방제 위주의 방제 방법에서 기생천적, 포식천적들을 이용하는 생물적 방제를 적극적으로 함께 활용하는 종합적 방제전략(Integrated pest management strategies)으로 변화되고 있는 것이 세계적인 추세이다.

특히 천적은 한번 정착되었을 때 비교적 반영구적으로 방제효과를 기대할 수 있어 경제적이다. 특정 기주 해충에 비교적 한정된 기주 범위를 갖고 있으므로 다른 곤충들에게는 안전한 편이고 또 천적 곤충류들은 기주 곤충이 있는 한 다음해에서 다음으로 그 방제효과를 계속 기대할 수 있어 영구적이라 할 수 있는 것이다.

이러한 이유들 때문에 기생성 곤충들은 생물적 방제수단으로서 그 중요성이 점차 확대 인식되어지고 있으며 적극적으로 천적 곤충을 확보하려는 연구들이 활발히 진행되고 있고 대량으로 인공증식 할 수 있도록 하기 위해 합성배지를 이용하려는 노력들이 급속히 확산되고 있다.

이와 같은 *In vitro*에서의 다양한 기생곤충에 인공증식 연구는 알벌과(Trichogrammatidae)에 속하는 기생벌에 대해서 집중적으로 이루어졌고 (Hassan and Guo, 1991; Salt, 1937; Thompson, 1986; Wu *et al.*, 1986) 성공적으로 증식을 가능하게 한 경우는 Li(1992)에 의해 알벌류의 여러 종들이 성공적으로 증식되어 대량 방사하였고 60~90%의 높은 기생율을 얻어 실질적 방제이용이 가능한 것으로 증명하였다.

본인등도 알좀벌과의 2~3종, 그리고 짙시알깡좀벌(*Ooencyrtus kuvanae*)의 인공증식을 부분적으로 성공시켰으며 그 응용도 가능하게 계속 연구중이다(Lee and Lee, 1994).

이렇게 천적 곤충을 인공 대량증식하려는 노력들은 1980년대 후반부터 활발한 연구성과들로 나타나고 있으며 그 실용화가 부분적으로 나타나 가능하게 되어지고 있는 것이다.

그러나 아직도 이 분야의 연구는 미생물의 배지배양이나 식물들의 조직 배양기술처럼 일반화되지 못하고 있으며 대체기주 곤충을 이용하기에는 그 비용과 노력이 많이 들어 합성 인공배지에 산란을 유도하고 성공적으로 발생하는 *In vitro*에서의 증식기술 연구에 관심이 모아지고

있다.

또한 배지의 조성조건과 산란을 유도하는 물리, 화학적 조건들과 산란행동에 대한 집중적인 연구들이 앞으로 계속 요구되고 있는 것이다. 이러한 문제들이 하나하나 해결될 때 필요로 하는 기생천적들이 항상 쉽게 대량증식되어져 부작용없이 안전하게 이용할 수 있어 경제적인 해충방제가 될 것이다.

이러한 문제들의 해결들은 곤충학자를 포함한 영양학자, 생리학자, 생화학자들의 몫으로 생각하면서 본 글에서는 기주수락행동(Host acceptance)과 *In vitro* 조건에서의 문제점들을 카이로몬과 관련하여 소개하고 요약해 보려한다.

기생곤충의 산란행동

지난 15~20여년 사이에 새로운 미량화학 분석기와 분석기술은 곤충에서 화학적 자극들에 대한 발견을 가능케 하였으며 기주곤충과 기생곤충 관계에서 이들의 중요성이 인식되기 시작하였다.

특히 화학물질같은 자극제는 기생곤충이 기주곤충을 찾고 감별하는데 신호물질로서 역할한다는 사실이 알려져 왔다. Douth(1959)나 Vinson(1977)같은 사람들은 이 분야에 많은 연구결과를 발표한 바 있고 기주곤충의 발견과 식별로부터 산란에 이르기까지의 행동에는 하나의 프로그램화된 연속적 행동으로 이루어지며 다양한 화학적 자극물질들이 관여하는 것으로 알려져 있다.

Bragg(1974)나 Weseloh(1974)같은 사람들은 기주선택 및 수락행동에서 접촉이나 화학적인 자극물질이 어떤 것인가를 밝혔고 Tucker와 Leonard(1977)는 매미나방의 번데기에 기생하는 수중다리좀벌류(*Brachymeria intermedia*)의 경우 번데기 큐티클에 포함되어 있는 물질로서 n-Hexane 으로 용해되는 화학물질이 경험적으로 관여한다는 것을 알 수 있었다. Salt(1935)는 *Trichogramma evanescens*의 경우 암컷이 antennae로 대상물체를 두들겨 본 후 산란관으로 탐침행동을 하면서 이어 산란행동으로 이어지는 것을 알게 되었고 이때 크기가 기주수락 결정에 중요한 영향을 미친다고 하였다. 그러나 형태는

그렇게 중요하지 않으며 Texture 또한 쪼이지 않고 냄새가 나거나 끈적거리지 않는 한 크게 문제되지 않는 것으로 알려져 있다.

사실 알좀벌류는 각각 다른 냄새를 갖는 다양한 곤충 종들의 알을 구별하기 때문에 이 종의 경우 냄새는 기주 선택에 있어 신호물질로서 중요하지 않은 경우도 있다(Salt, 1935).

그러나 이 종들은 다른 기생 벌류가 지나간 기주 알과 지나가지 않은 깨끗한 알을 쉽게 구별하며 기주가 지나간 것도 물론 세척한 후에는 구별하지 못하고 산란관으로 탐침행동을 한다. 그리고 이미 산란이 되었을 때는 곧 행동을 중지하고 산란관을 다시 뽑는 것을 쉽게 확인할 수 있다. 이 경우 기주 외부에 있는 냄새로 기생곤충의 기주수락 행동을 유발시키는 신호물질은 외부 카이로몬(External kairomone) 그리고 내부에 포함되 있으며 산란행동을 유발시키는 자극물질은 내부 카이로몬(Internal kairomone)이라 한다.

이처럼 기생곤충이 기주곤충을 선택하고 식별하여 기주수락 행동을 유발시켜 최종적으로 산란을 하기까지에는 다양한 물리적 조건과 화학적 신호물질들이 관여하는 복잡한 요인들이 있음을 알 수 있는 것이다.

암컷 기생곤충의 안테나에 있는 화학 수용기를 통하여 감지되는 냄새는 기주 곤충을 탐색하는 동안에 가장 일반적인 신호물질로서 기주 곤충에 의해 손상된 먹이식물이 있으나 식물자체로부터 발산되고 기생곤충을 유인하여 기주를 탐색토록 행동 유발시키는 것도 있다.

또 어떤 기생곤충 종류는 기주곤충의 배설물 냄새에 의해 유인되기도 하고 알좀벌류중 어떤 것들은 기주 곤충이 산란할 때 남기고 간 몸의 인편에 있는 자극물질에 의해 유인되기도 한다(Lewis et al., 1979).

휘발성 냄새에 의해 기주를 찾는 기생곤충류들은 많은 경우 기주의 몸이나 큐티클에 있는 화학적 자극에 의해 산란행동이 유발되고 이런 것들은 antennae, tarsi 또는 산란관을 통해 감지한다.

Vinson(1975)은 담배나방류에 알기생벌 종류의 산란행동을 유발시키는 자극물질이 기주 알

덩어리를 형성케 하는 세멘트 물질에 있는 것으로 확인하였고 산란자극물질이 기주유충의 큐티클에 존재하여 알코올이나 에테르에 쉽게 추출된다고 하였다. 매미나방 번데기에 기생하는 수중다리좀벌류인 *Brachymeria intermedia*는 앞에서 언급했듯이 번데기를 n-hexane으로 추출한 카이로몬에 적극적으로 기주수락 행동을 취하며 이렇게 n-hexane으로 세척한 번데기에는 수락 행동을 대부분 취하지 않는 것도 확인되었다 (Tucker and Leonard, 1977).

사탕수수굴나방의 기생벌 종류는 굴나방 소화관의 추출물로 처리된 물체에만 산란을 시도하여 카이로몬 기주 체내에 특수한 분비샘으로 나오는 배설물에 섞임으로서 그 배설물로부터의 화학물이 기생벌을 유인함이 알려져있다. 이 외에도 기주수락 행동이나 산란행동을 유발시키는 카이로몬은 기주의 혈림프, 지방체, 하순샘, 큰턱샘등으로부터 확인되는(Corbet, 1973) 등 다양한 근원으로부터 분비되고 발산되는 화학물질들이 기생곤충의 행동에 결정적으로 관여 하는 것이다.

In Vitro의 인공증식

기생곤충 중 많은 종들은 살아있는 기주곤충의 생리 및 대사작용과 차원 높은 상호관계를 유지하고 기주곤충의 성장, 발달과 번식행동에 관련한 내분비 생리와의 직접, 간접적으로 밀접하게 의존하는 것으로 알려져있다. 이와 같은 생리, 대사작용적 상호관계를 정확하게 이해하고 기주곤충의 홀몬상호관계, 더 나아가서 기주곤충의 방어기작을 억제시키는 요인들에 대한 정보 및 기생곤충발생을 위한 최적 영양조건등을 철저히 이해하는 것은 인공증식을 성공적으로 완성시키기 위해 절대적으로 필요한 조건들이다.

기생곤충을 계속적으로 인공증식 시키기 위하여 해결해야할 중요한 문제로는 첫째, 인공란에 산란된 알이 정상적으로 부화하여 성장 발육할 수 있는 최적영양조건인 인공배양액이 준비되어야 하고, 둘째는 이렇게 준비된 배양액에 성공적으로 기생곤충들이 산란할 수 있도록 조건을 갖추어 주는 것이다. 사실 기생성 곤충종들

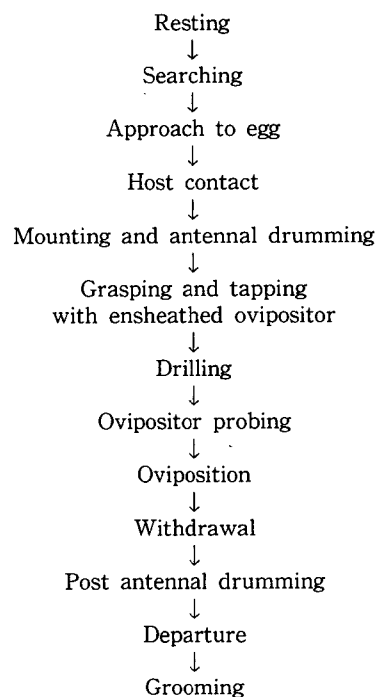


Fig. 1. Kinematic graph of host acceptance behavior by female *Ooencyrtus kuvanae*.

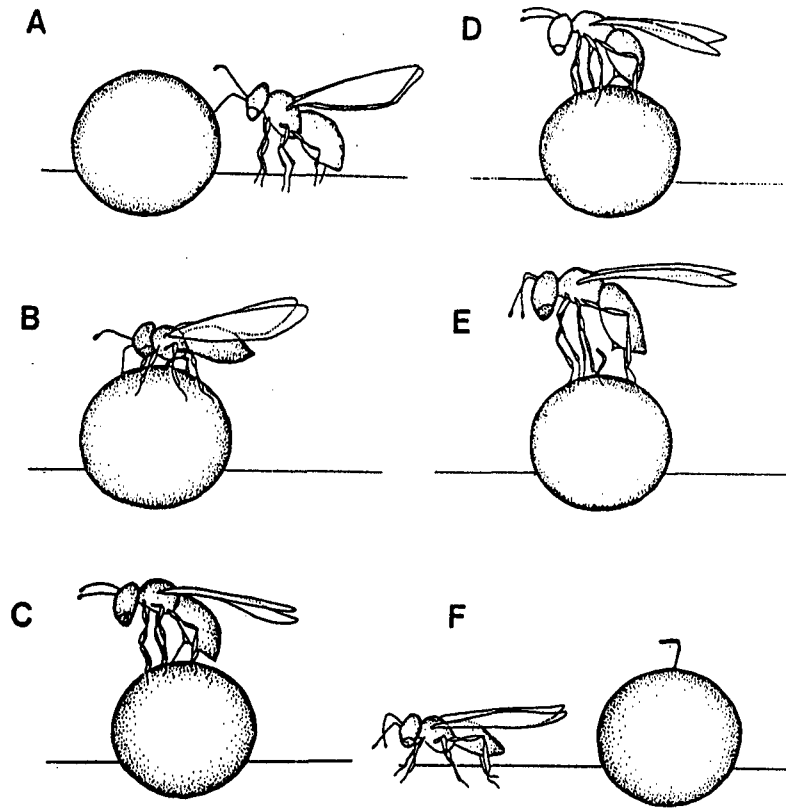


Fig. 2. An oviposition behavior exhibited by female *Ooencyrtus kuvanae* on egg of *Lymantria dispar*.
 A. Host contact B. Antennal drumming C. Drilling D. Oviposition E. Withdrawal F. Departure

은 산란을 위한 기주선택에 있어 복잡하고 연속적인 행동형(Fig. 1, 2)을 보여주는데(Lee and Lee, 1995) 이같은 행동들은 모두 물리적, 화학적인 신호에 의해 유발되는 것이며 결과적으로 성공적인 산란에 이르게 된다.

기주수락에 관여하는 요인들은 다양한데 대부분의 경우 기주감별이나 수락행동에는 기주곤충이나 먹이식물에서 생산되는 화학물질들이 크게 관여한다.

또 다른 여러 종류들은 산란관을 가지고 대상 기주를 천공할 때 유출되는 혈림프에 특정 화학물질을 인지함으로써 기주수락 및 산란이 이루어지기도 한다.

Arthur(1969) 등은 인공배지에 산란을 유도하는 것이 트레하로스나 마그네슘 같이 다양한 아미노산에 의해 이루어진다고 하였다.

이처럼 최근까지의 연구들은 몇몇 기생벌 종들이 지속적 인공증식의 가능성을 상당히 보여

주고 있으나 *Trichogramma*속에 속하는 것들만큼 큰 관심을 갖는 것도 드물다. 이러한 이유는 기주범위가 넓고 난 기생벌이기 때문으로 볼 수 있는데 이것들은 역사적으로도 생물적 방제인자로서 가장 바람직한 것으로 인식되고 있다.

오늘날 다양한 종의 알벌류가 세계도처에서 해충방제에 사용되고있으며 이들의 산란습성에 관하여도 상세하게 조사되었고 Rajendram과 Hagen(1974)은 인공기주에 대한 암컷 기생벌의 행동반응을 기술한 바 있고 본인 등도 이 같은 행동에 대해 계속 연구하고 있다(Cardé and Lee, 1989; Lee and Lee, 1991).

알벌류종의 경우 기주수락 행동에 Semiochemical이 관여하기도 하지만 어떤 경우는 대상물의 구형 형태에 산란행동 반응을 보이는 것으로 알려져 있으며 Rajendram(1978)은 파라핀 방울로 encapsulated 된 생리식염수나 Neisenheimer's salt 용액에 성공적으로 산란한다고 보고

하였고 산란된 알의 부화 그리고 부분적인 유충 발생도 몇몇 인공란에서 성공하였다.

Hoffman(1973) 등은 *Trichogramma pretiosum*이 두께 98 μ m 정도의 wax resin capsule 0.5mm로 담배나방 헐림프가 포함된 용액에 산란한 것으로 보고한 바 있다.

Liu(1979) 등도 송충알벌(*T. dendrolimi*)를 이용한 실험에서 비슷한 결과를 얻을 수 있었고, 배지의 구성이 산란에 영향 있는 것으로 보고한 바 있다. 즉 배지의 아미노산 구성은 기주의 헐림프와 비교될 정도로 산란을 유도하는데 필수적이다.

Nettles(1982) 등은 *T. pretiosum*과 *T. minutum*을 인공적으로 인공 파라핀 알에 산란유도 시키는데는 자연 기주곤충의 종령 유충의 것과 동일한 농도의 Potassium chloride(0.125 μ)와 magnesium sulphate(0.037M)용액이 필수적이라고 보고한 바 있다. 이러한 정보들을 바탕으로 몇몇 종의 알벌류 종들이 인공적으로 포장된 배지에 산란하는 것을 포함해서 지속적 증식에 성공한 바 있다. 그러나 기생성 곤충들에 대해서는 *In vitro*에서 성공적으로 증식 가능하게 공급해야 할 영양분에 관한 연구들이 아직도 부족한 상태이어서 특히 계속적 증식을 가능케 하기 위해서는 기생곤충들의 생물학적 기초연구가 보다 집중적으로 이루어져야 할 것이다.

In vitro 증식을 위한 최적의 영양상태를 준비해야 하는 문제 이외에도 지속적 증식이 계속될 때는 기생곤충의 활력이나 자연기주에 대한 산란능력에 퇴화와 같은 유전학적 문제들도 고려할 수 있다.

그러나 아직까지 이 같은 문제들에 관한 연구는 거의 전무한 상태이며, 특히 인공배지나 *In vitro* 배양기술들은 몇몇 연구들이 대부분 실험실내 colony에서 진행될 뿐이다. *Trichogramma* 종들이 일부 *In vitro* 증식방법으로 현재 중국 남서부 지역에서 실용화가 시도되고 있다. 우리나라의 경우도 저자 등에 의하여 1990년 경부터 알벌류속의 몇 종들의 *In vitro* 증식과 카이로몬 응용에 대한 연구가 진행되어 성공을 거두고 있으며 짚시알깡충좀벌(*Ooencyrtus kuvanae*)의 경우도 1994년부터 *In vitro* 사육의 성공을 확인하

였다(Lee and Lee, 1994).

이들 연구에서도 중요하게 문제되었던 것들은 인공배지와 인공난자를 만들게 되는데 난각의 재질과 두께 등이 산란관의 크기와 습성에 따라 적절하게 선택되어야 하는 것이다.

알벌류의 경우는 난각의 재료를 Polypropylene film 0.03mm 이하, *O. kuvanae*는 0.04 mm 이하를 사용하여 성공적인 산란을 하게 하였고 산란유도를 하기 위하여서는 자연 기주알의 Ethanol 추출액의 처리와 난각 형태를 반구형으로 하였다. 참고로 인공란 배지의 성분구성은 누에의 헐림프 40%, 계란난황 20%, 유아용분유 30%, Neisenhemer 염용액 10% 그리고 약간의 항생제를 이용하여 발생을 가능케 하였다.

결 론

기생천적을 대량으로 인공증식시키기 위한 연구들이 경제적으로 중요한 의미를 갖고 있으며, 몇몇 종들에 대해 집중적으로 이루어지고 있다. 그러나 아직도 성공적인 인공기주와 산란유도를 위해 필수적으로 밝혀져야 할 기주곤충으로부터의 다양한 카이로몬과 기주수락 행동들, 그리고 생리 및 영양에 관련하여 제한된 정보 때문에 *In vitro*에서의 대량증식과 그 실용화는 아직도 많은 시간이 필요할 것 같다. 그럼에도 불구하고 이 분야의 기술 및 기초연구는 계속될 것이며 기생곤충의 인공증식이 가축, 가금류의 대량사육처럼 일반화되어 해충류를 손쉽게 그리고 환경오염 없이 관리할 수 있을 때가 반드시 머지않은 장래에 도래할 것으로 본다.

참고문헌

- Arthur, A.P., B.M. Hegdekar, and L. Rollins, 1969. Component of the host haemolymph that induces oviposition in a parasitic insect. *Nature(London)* 223:966-967.
- Bragg, D.E., 1974. Ecological and behavioral studies of *Phaeogenes cyriarar*: Ecology, host specificity; searching and oviposition; and avoidance of superparasitism. *Ann. Entomol.*

- Soc. Am.* 67:931-936.
- Carde, R.T. and H.P. Lee, 1989. Effect of experience on the response of the parasitoid *Brachymeria intermedia*(Hymenoptera: Chalcididae) to its host, *Lymantria dispar*(Lepidoptera: Lymantriidae), and to kairomone. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 82: 653-657.
- Corbet, S.A., 1973. Concentration effects and the response of *Nemeritis canescens* to a secretion of its host. *J. Insect Physiol.* 19:2119-2128.
- Doutt, R.L., 1959. The biology of parasitic Hymenoptera. *Ann. Rev. Entomol.* 4:161-182
- Hassan S.A. and M.F. Guo, 1991. Selection of effective strains of egg parasites of the genus *Trichogramma*(Hym., Trichogrammatidae) to control the European corn borer *Ostrina nubilalis* Hb.(Lep., Pyralidae). *J. Appl. Entomol.* 111:335-341.
- Hoffman, J.D., Ignoffo, C.M., Long, S.H., 1973. *In vitro* cultivation of an endoparasitic wasp, *Pteromalus puparum*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 66(3):633-634.
- Lewis, W.J., M. Beevers, D.A. Nordlund, H. R. Gross, Jr., and K.S. Hagen, 1979. Kairomones and their use for management of entomophagous insects. IX. Investigations of various kairomone-treatment patterns for *Trichogramma* spp. *J. Chem. Ecol.* 5:673-680.
- Li Li-ying, 1992. *In Vitro* Rearing of Parasitoids of Insect Pests in China. *Korean J. Appl. Entomol.* 31(3): 241-246.
- Liu, W.H., Zie, Z.N., Ziao, G.F., Zhou, Z.F., Ou Yang, D.H., *et al.*, 1979. Rearing of *Trichogramma dendrolimi* in artificial diets. *Acta Phyto. Sin.* 6:17-24.
- Nettles, W.C., Morrison, R.K., Zie, Z.N., Ball, D., Shenkir, C.A., *et al.*, 1982. Synergistic action of potassium chloride and magnesium sulfate on parasitoid wasp oviposition. *Science* 218:164-166.
- Rajendram, G.F. and K.S. Hagen, 1974. *Trichogramma* oviposition into artificial substrates. *Environ. Entomol.* 3:399-401.
- Rajendram, G.F., 1978. Some factors affecting oviposition of *Trichogramma californicum*(Hymenoptera: Trichogrammatidae) in artificial media. *Can. Entomol.* 110:345-352.
- Salt, G., 1935. Experimental studies on insect parasitism. III. Host selection. Proc. R. Soc. London, Ser. B 117:413-435.
- Salt, G., 1937. The sense used by *Trichogramma* to distinguish between parasitized and unparasitized host. Proc. R. Soc. London, Ser. B 122:57-75.
- Thompson, S.N., 1986. Nutrition and *In Vitro* Culture of Insect Parasitoids. *Ann. Rev. Entomol.* 31: 197-219.
- Tucker, J.E., and D.E. Leonard, 1977. The role of kairomones in host recognition and host acceptance behavior of the parasite *Brachymeria intermedia*. *Environ. Entomol.* 6:527-531.
- Vinson, S.B., 1976. Host selection by insect parasitoids. *Annu. Rev. Entomol.* 21:109-133.
- Vinson, S.B., 1975. Source of material in the tobacco budworm which initiates host-searching by the egg-larval parasitoid, *Chelonus texanus*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 68:381-384.
- Weseloh, R.M., 1974. Host recognition by the gypsy moth larval parasitoid, *Apanteles melanoscclus*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 67:583-587.
- Wu Ju-wen, Fang Hui-lan, Yang Mu-dan, Lian Yue-yan, 1986. Rearing technology of *Trichogramma dendrolimi* Matsumura for controlling pine caterpillar(*Dendrolimus punctatus* Walker) and effect of releasing *Trichogramma* to control insect pest on a large scale for sixteen successive years in Zhejiang Province. 2nd International Symposium, Guangzhou(China), Nov. 10-15.
- 이해풍. 이기상, 1995. 매미나방 알좀벌(*Ooencyrtus kuvanae*)의 기주선택행동과 인공사육-기주수락행동에 미치는 산란경험의 영향. *Korean J. Entomol.*

25(2):127-133.
이해풍, 이장훈, 1991. 무늬수중다리좀벌 *Brachymeria lasus*(Walker) (벌목: 수중다리좀벌과)의 숙주식별에 영향을 미치는 요인. *Korean J. Appl. Entomol.* 30(4):233-240.

이해풍, 이기상, 1994. *In Vitro*에서 매미나방알좀벌 (*Ooencyrtus kuvanae* Howard)(벌목: 알좀벌과)의 인공사육 -배지와 산란 그리고 발생-. *Korean J. Entomol.* 24(4):311-316.