

유용곤충과 포유류에 대한 곤충병원선충(*Steinernema carpocapsae*)과 공생세균(*Xenorhabdus nematophilus*)의 독성

Toxicological Analysis of the Entomopathogenic Nematode, *Steinernema carpocapsae*, and the Symbiotic Bacteria, *Xenorhabdus nematophilus* on Beneficial Insects and Mammals

박영진 · 김미경¹ · 김 진² · 양경형² · 김용균*

Park Youngjin, Mikyung Kim¹, Jin Kim²,
Kyunghyung Yang² and Yonggyun Kim*

Abstract – Toxicological studies of two potential biological control agents, the entomopathogenic nematode (*Steinernema carpocapsae*) and the symbiotic bacteria (*Xenorhabdus nematophilus*) were conducted against two beneficial insects and one mammal species. Two microbial agents varied in their toxicities between two insect species: an ant, *Pristomyrmex pungens*, and silkworm, *Bombyx mori*. In oral toxicity test, the symbiotic bacteria resulted in significant lethal effect [half lethal concentration of 1.4×10^3 colony-forming units (cfu)/ml] on the ants, while they gave little lethal effect (half lethal concentration of more than 10^8 cfu/ml) on the silkworms. The nematodes, however, gave significant lethal effect [half lethal concentration of 4 infected juveniles (IJs)/ml] on the silkworms, while they did little lethal effect (half lethal concentration of 150,000 IJs/ml) on the ants in topical assays. Both the nematodes and the bacteria did not give any lethal effect to the albino rats, *Rattus norvegicus*, when they were fed orally into the rats. Also, any of these microbial agents were not detected in the internal organs of the treated rats.

Key Words – Biological control, Entomopathogenic nematode, Entomopathogenic bacteria, Toxicity, Risk assessment

초 록 – 해충의 생물적 방제 인자로서 주목받고 있는 곤충병원선충(*Steinernema carpocapsae*)과 이들의 공생세균(*Xenorhabdus nematophilus*)이 유용곤충과 포유동물에 미치는 독성학적 영향을 조사하였다. 두 생물적 방제 인자는 유용곤충인 누에(*Bombyx mori*)와 그물등개미(*Pristomyrmex pungens*)에 상이한 독성을 보였다. *S. carpocapsae*는 누에에 대해 매우 높은 살충력(반수치사농도: 4 IJs (감염태 유충수)/ml)을 보이는 반면, 그물등개미에 대해서는 매우 약했다(반수치사농도: $> 150,000$ IJs/ml). 반면에 *X. nematophilus*는 그물등개미에 대해 매우 높은 경구 독성(반수치사농도: 1.4×10^3 cfu (콜로니 형성수)/ml)을 보였으나, 누에에 대해서는 낮았다(반수

*Corresponding author. E-mail: hosanna@andong.ac.kr

안동대학교 자연과학대학 생명자원과학부(School of Bioresource Sciences, College of Natural Sciences, Andong National University, Andong 760-749, Republic of Korea)

¹ 고려바이오 연구소(Institute of Korea Biotech, Suwon, Republic of Korea)

² (주) 경농 중앙연구소 독성연구실(Central Research Institute, Kyung-Nong Corporation, Kyungju, Kyungbuk, Republic of Korea)

치사농도: $> 10^8$ cfu/ml). 또한 실험동물 랫드(*Rattus norvegicus*)에 *S. carpocapsae*와 *X. nematophilus*를 강제로 경구투여 한 결과 시험 전기간(21일) 동안 치사개체는 없었으며, 내부 장 기에서 처리한 공생세균과 선충은 발견되지 않았다.

검색어 - 생물적 방제, 곤충병원선충, 곤충병원세균, 독성, 위험도 분석

미생물을 이용한 생물방제법은 대상 해충에 토착 병을 유발시키는 자연계 내 미생물을 이용하는 것으로 세균, 진균, 바이러스, 방선균, 원생동물 등이 포함된다. 그 중 곤충에 대해서 병원력이 높은 것은 세균과 바이러스(Kim *et al.*, 1991)이며, 특히 세균 중에서는 Bacillaceae(科)에 속하는 *Bacillus thuringiensis*가 가장 많은 연구가 되었고 생물 살충제로 이용되고 있다.

곤충병원선충인 *Steinernema carpocapsae*는 Steinernematidae에 속하고 다양한 곤충에게 빠르고 높은 살충 효과를 발휘한다. 이들은 지금까지 인간과 유용동식물에 안전한 것으로 인식되어 해충방제를 위한 새로운 생물적 방제인자로 주목받아 왔다(Georgis, 1990; Han *et al.*, 1996). *S. carpocapsae*의 곤충에 대한 치사인자는 이 선충의 장 속에 공생하는 공생세균 *Xenorhabdus nematophilus*에 의해서 기인된다고 보고되었다(Akhurst, 1980; Park *et al.*, 1999). 즉, 곤충의 입, 항문 또는 기문 등의 개구부를 통하여 침입한 *S. carpocapsae*는 기주의 혈강으로 들어가 그곳에서 장내세균과에 속하는 *X. nematophilus*를 방출하며(Akhurst and Boemare, 1990; Forst *et al.*, 1997; Poinar, 1990), 방출된 공생세균은 기주 곤충의 면역작용을 억제시키는 독소와 항생물질을 분비하여 패혈증으로 기주를 치사시킴과 동시에 기주곤충의 체내에 다른 미생물들이 자라지 못하게 한다(Kaya and Gaugler, 1993; Park and Kim, 2000). 이것은 기주곤충 체내에서 곤충병원선충이 잘 증식할 수 있는 환경을 제공하고, 기주곤충의 부산물을 먹은 선충은 감염태로 재 증식되어 기주에서 빠져 나온 후 새로운 기주를 찾는다(Park *et al.*, 1999; Forst *et al.*, 1997).

국내에서 곤충병원선충을 이용한 생물적 방제에 관한 지금까지의 연구는 주로 *S. carpocapsae*를 이용한 새로운 생물농약의 실용화를 위하여 이루어져 왔으나 아직까지 이러한 곤충병원선충과 공생세균에 의한 인축과 환경계 내에 대한 유용동식물의 안전성 조사는 미진하였다. 따라서 본 연구에서는 생태계 내에서 이런 미생물들에 의해서 발생할 수 있는 독성학적인 영향을 경제적으로 중요한 유용곤충인 누에, 주변환경에서 쉽게 관찰할 수 있는 그물등개미 그리고 포유동물인 랫드를 대상으로 조사하였다.

재료 및 방법

미생물, 실험곤충, 실험동물

*S. carpocapsae*와 *X. nematophilus*는 안동대학교 농생물학과 곤충생리실험실의 15°C 배양기와 동결 보관중인 것을 이용하였다. 선충은 파밤나방 (*Spodoptera exigua*) 5령충을 이용하여 증식시켰으며, 감염태 선충 분리 후 5°C 배양기에서 실험에 사용하기 전까지 보관하였다. 세균은 현탁액 상태에 있는 것을 Tryptic soy broth (Difco, USA) 배지에서 48시간 동안 28°C에서 배양하였으며, *X. nematophilus*의 확인을 위한 준선택성 배지로는 NBTA (Nutrient agar, 0.0025% bromothymol blue, 0.004% triphenyl-tetrazolium chloride)를 이용하였다(Akhurst, 1982).

누에(*Bombyx mori*)는 상주산업대학교에서 분양 받았으며, 실험에 사용된 누에는 5령 3일된 유충을 이용하였다. 그물등개미(*Pristomyrmex pungens*) 성충은 안동대학교 사범대학 건물 주변에 있는 국화밭에서 수집하였다. 포유동물인 랫드는 (주)경농 중앙연구소의 독성연구실에서 체내에 특정 병원체가 없는 Sprague Dawley (SD)계를 암수 동일하게 실험에 이용하였다.

공생세균의 그물등개미에 대한 경구독성 조사

TSB 배지에서 배양된 공생세균을 4,000 rpm에서 3분간 원심분리(Eppendorf, Germany) 하여 상층액을 제거하고 살균수로 3회 세척하였다. 세균 처리방법은 농도별(10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 cfu/ml)로 조성된 세균 현탁액에 식용 비스켓(버터코코넛비스켓, 롯데)을 5분 동안 침지시켜 시약스푼을 이용하여 처리하였다. 각 처리별로 121°C, 30분간 고압 살균된 25g의 토양이 담긴 500 ml 비이커 안에 세균을 처리한 비스켓 1개를 놓았다. 수분공급은 직경 1 cm 크기의 솥에 증류수를 묻혀서 다시 비이커 안에 공급하였다. 처리구는 농도 당 3반복으로 구성되었으며, 반복당 50마리의 개미 집단으로 구성되었으며, 대조구는 살균수에 침지된 식용 비스켓을 처리하였다. 치사율은 48시간 후 헤부현미경(Olympus, Japan)으로 조사하였다.

공생세균의 누에에 대한 경구독성 조사

TSB 배지에서 배양된 *X. nematophilus*를 4,000 rpm에서 3분간 원심분리 하여 상층액을 제거하고 살균수로 3회 세척 후, 농도별(10^5 , 10^6 , 10^7 , 및 10^8 cfu/ml)로 조성된 세균 현탁액에 누에의 인공사료(약 1 cm³)를 5분 동안 침지시킨 후 필터 페이퍼가 깔려진 페트리디쉬(직경 9 cm)에 놓았다. 처리구는 3반복으로 구성되었으며, 반복 당 6마리의 누에가 처리되었다. 대조구는 살균수에 침지된 누에의 인공사료를 사용하였다. 치사율 조사는 48시간 후 핀셋으로 머리, 가슴 그리고 배 부분에 가별게 자극을 주어 곤충 체에 일어나는 움직임 유무로 판단하였다.

공생세균의 포유동물에 대한 영향

10^8 cfu/ml 농도의 *X. nematophilus* 현탁액을 준비하여 (주) 경농 중앙연구소의 독성 연구실에서 체내에 특정 병원체가 없는 랫드 암수 각 12마리에 대하여 1 ml씩 경구투여를 하였다. 처리구와 대조구는 각 3개의 중간도살균과 1개의 최종부검군을 두었다. 세균을 투여하기 전에 체중을 측정하고 세균을 경구 투여 1, 3, 7, 14 그리고 21일 후에 몸무게 측정하였다. 같은 날짜 간격으로 변을 수거하고 3, 7, 14 그리고 21일 간격으로 부검을 하였으며, 부검한 처리구에서는 혈액, 위, 소장, 그리고 대장을 채취하였다. *X. nematophilus*의 내부장기에 대한 잔존성 여부를 확인하기 위하여 절개한 장기는 3 cm 간격으로 자른 다음 2 ml의 살균수에 장기를 5분간 세척하고 장기가 세척된 살균수 200 μ l를 NBTA 배지에 도말하여 28°C에서 48시간 동안 배양 후 세균의 증식 여부를 확인하였다.

곤충병원선충의 그물등개미에 대한 영향

농도별(0, 50, 500, 5,000, 50,000 IJs/ml)로 조성된 감염태 유충(Infected juveniles: IJs)의 *S. carpocapsae*를 피펫을 이용하여 3 ml씩 경구독성 조사에서와 같은 방법으로 개미 집단이 처리된 500 ml 비이커에 골고루 처리하였다. 처리구는 농도 당 3반복으로 구성되었으며, 반복 당 50마리의 개미성충 집단으로 구성되었으며, 대조구는 살균수를 처리하였다. 치사율은 48시간 후 해부현미경으로 조사하였다.

곤충병원선충의 누에에 대한 영향

여과지 점정법에서는 농도별(0, 4, 8, 16, 32, 68, 136 IJs/ml)로 조성된 감염태 유충의 *S. carpocapsae*를 직경 9 cm의 여과지가 깔려진 페트리디쉬에 피펫을 이용하여 250 μ l씩 골고루 뿌려주었다. 선충이 처리된 페트리디쉬에 누에를 30분 후에 인공사료와

함께 처리하였다. 대조구는 살균수를 처리하였다.

극부처리법에서는 여과지 점정법과 같은 각각의 농도(0, 4, 8, 16, 32, 68, 136 IJs/ml)로 조성된 *S. carpocapsae*의 감염태 유충을 직경 9 cm의 여과지가 깔려진 페트리디쉬에 피펫을 이용하여 250 μ l씩 골고루 누에의 몸에 뿌려주었다. 처리구는 농도 당 3반복으로 구성되었으며, 반복 당 6마리의 누에가 처리되었다. 대조구는 살균수를 처리하였다. 치사율은 48시간 후 해부현미경으로 조사하였다.

곤충병원선충의 포유동물에 대한 영향

10^5 IJs/ml 농도의 감염태 유충을 랫드에 경구투여를 하였다. 투여량은 개체당 1 ml로 하였으며 암수 각 12마리씩 실험하였다. 선충 투여 1, 3, 7, 14 그리고 21일 후에 변을 수거하고 체중을 측정하였다. 처리구들은 3, 7, 14 그리고 21일 후에 부검하였다. 부검한 처리구에서는 혈액을 채취하고 위, 소장, 대장을 각각 절개하여 *S. carpocapsae*의 잔존 여부를 확인하였다. 선충의 확인은 절개한 각각의 내부장기 전체를 2 ml의 살균수에서 세척한 다음 해부현미경으로 조사하였다.

통계분석

실험 곤충의 치사율은 SAS program의 PROC GLM을 이용하여 Student's t-test로 처리간 유의성을 분석하였다(SAS Institute, 1989). 또한 반수치사농도는 Probit 분석법을 이용하여 LC₅₀ 값을 산출하여 나타내었다(Raymond, 1985).

결 과

공생세균의 그물등개미와 누에에 대한 경구독성

공생세균(*X. nematophilus*)의 농도가 높을수록 그물등개미의 치사율이 증가하였다(Table 1). 그물등개미의 경우 10^5 cfu/ml에서 76%의 높은 치사율을 나타내었지만 통계적으로 10^8 cfu/ml와는 유의차가 없었다. *X. nematophilus*에 의한 그물등개미의 반수치사농도는 1.4×10^3 cfu/ml (95% 신뢰구간 = 122~9,944 cfu/ml, 기울기 = 0.7 ± 0.2)로 조사되었다.

누에에 대한 *X. nematophilus*의 영향은 공생세균의 농도가 10^7 cfu/ml 이상에서 유의있는 치사율을 보였으나, 세균의 농도가 10^8 cfu/ml이 되어도 반수치사량에 미치지 못했다.

곤충병원선충의 그물등개미와 누에에 대한 경구독성

*S. carpocapsae*는 처리된 최고 농도인 150,000 IJs/ml에서도 그물등개미에 매우 낮은 살충효과를 보였고 (Table 2), 해부결과 개미 체내에서 선충의 증식이 되지 않았다. 그러나 *S. carpocapsae*를 여과지 검정법과 극부처리법으로 누에에 처리를 하였을 때, 각각 반수치사농도는 3.5 IJs/larva (95% 신뢰구간 = 2.7~4.5 IJs/larva, 기울기 = 0.5 ± 8.5)와 3.8 IJs/larva (95% 신뢰구간 = 3.1~4.9 IJs/larva, 기울기 = 0.4 ± 7.9)로 조사되어, *S. carpocapsae*에 대해서 누에가 매우 감수성임을 알 수 있었다 (Table 3). 또한 누에에 대한 치사율은 각각의 선충 처리방법에 의해서 는 차이가 없는 것으로 조사되었다.

Table 1. Oral toxicities of *Xenorhabdus nematophilus* on the adults of *Pristomyrmex pungens* and the fifth instar larvae of *Bombyx mori*

Bacterial concentration (cfu/ml)	Mortality (%) ¹ of insects	
	<i>P. pungens</i>	<i>B. mori</i>
0	10.0 ± 8.0	0.0 ± 0.0
10 ⁵	76.0 ± 4.0***	20.0 ± 0.0
10 ⁶	90.7 ± 10.0***	0.0 ± 0.0
10 ⁷	100.0 ± 0.0***	11.1 ± 9.6*
10 ⁸	100.0 ± 0.0***	44.4 ± 9.6**

¹ The data represent the mean and standard deviation of three replicates. Each replicate consisted of 50 adults for the ants or 6 larvae for the silkworms.

² The asterisk indicates significant difference between control and bacterial treatments at $P < 0.05$ (*), $P < 0.001$ (***), and $P < 0.0001$ (****) by Student's *t*-test.

Table 2. Toxicity of *Steinernema carpocapsae* on the adults *Pristomyrmex pungens* analyzed with topical application

Nematode concentration (IJs/ml)	Mortality (%) of <i>P. pungens</i> ¹
0	0.0 ± 0.0
150	0.0 ± 0.0
1,500	0.0 ± 0.0
15,000	4.0 ± 4.0
150,000	4.7 ± 1.2* ²

¹ The data represent the mean and standard deviation of three replicates. Each replicate consisted of 50 ants.

² The asterisk indicates significant difference between control and nematode treatment at $P < 0.05$ (*) by Student's *t*-test.

Table 3. Toxicity of *Steinernema carpocapsae* to the fifth instar larvae of *Bombyx mori* analyzed with two different bioassays

Bioassay methods ¹	N	LC ₅₀ (95% CI)	Slope ± SE	χ ²	df	P
Filter paper assay	126	3.5 (2.7~4.5)	0.5 ± 8.5	3.3	4	0.4
Topical application assay	126	3.8 (3.1~4.9)	0.4 ± 7.9	1.6	4	0.2

¹ The data represent the mean and standard deviation of three replicates. Each replicate consisted of 6 silkworm larvae.

공생세균에 의한 포유동물의 영향

본 실험에서 *S. carpocapsae*의 장내세균인 *X. nematophilus*를 강제 투여한 암컷과 수컷 랫드의 체중변화를 조사한 결과 세균의 영향이 없는 것으로 조사되었으며 (Fig. 1). 또한 실험기간 (21일) 동안 세균의 영향에 의해 사망 또는 빈사상태의 개체도 발견되지 않았다. 실험 종료 후 실시한 부검에서도 장기의 육안적 이상은 대조구와 비교하여 관찰할 수 없었다. 한편, 실험과정에서 수거한 암컷과 수컷 랫드의 분변과 장기에서 *X. nematophilus*의 유무를 확인하기 위해서 NBTA 배지에서 배양한 결과 *X. nematophilus*는 배양되지 않았으나, 장내세균과에 속하는 많은 종류의 세균 (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Proteus* spp.)들이 배양되었다.

곤충병원선충의 포유동물에 대한 영향

*S. carpocapsae*를 처리한 암컷과 수컷 랫드는 실험기간 동안 체중변화와 임상증상에서 대조구와 비

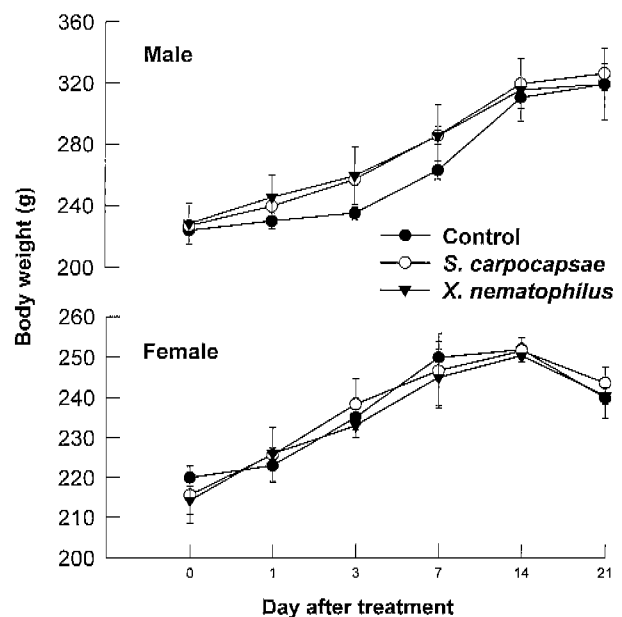


Fig. 1. Weight change on male and female rat treated with *Xenorhabdus nematophilus* and *Steinernema carpocapsae*. Vertical error bars represent standard deviations of the mean.

교하여 이상증상을 나타내지 않았으며(Fig. 1), 모든 개체가 생존하였다. 또한 실험 종료 후 실시한 부검에서 내부장기의 이상은 발견되지 않았다. 한편, 부검한 암컷과 수컷 랫드의 장기에서 *S. carpocapsae*는 관찰되지 않아 곤충병원선충이 포유동물인 랫드에 대해서 급성적인 영향은 없는 것으로 조사되었다.

고 찰

그물등개미는 한국, 중국, 일본, 대만, 타이완, 인도 등지에서 분포를 하며, 주로 돌 밑이나 나무 가지에서 서식을 한다. 또한 이들은 이주를 자주 함으로 6월에 많이 채집되고 잡식성으로 알려져 있다(Lee, 1998). 따라서 그물등개미는 우리 주변에서 쉽게 관찰할 수 있는 생물 중에 하나이며, 또한 그물등개미를 이용해 간접적으로 환경파괴의 영향을 조사할 수 있을 것이다. 이러한 그물등개미가 공생세균인 *X. nematophilus*가 처리되었을 때 10^5 cfu/ml에서 약 76%의 사망률을 나타내었고, 반수치사 농도가 1.4×10^3 cfu/ml로 조사된 것은 *X. nematophilus*가 그물등개미에 많은 영향을 미친다고 볼 수 있다. 이것은 그물등개미의 장내에서 소화를 도와주는 개미의 공생세균이 곤충병원선충의 장에서 분리한 *X. nematophilus*의 처리에 따라 이 세균이 분비하는 강력한 항균작용에 의해 개미의 장내세균들이 억제되는 것으로 추정된다. 실제로 소화관에 위치하는 미생물은 섬유소를 분해하는 흰개미와 바퀴에서 먹이의 소화와 관련 있다고 볼 수 있으며 특히, 바퀴는 후장에 세균들을 가지고 있으므로 xylan, raffinose와 같은 다당류를 이들 곤충이 소화시키는데 있어서 많은 도움을 주는 것으로 알려져 있다(Kaufmann and Klug, 1991; Chapman, 1998). 따라서 이런 미생물들이 억제됨으로 궁극적으로 영양분의 흡수와 소화의 문제가 야기되어 그물등개미에게 영향을 미치는 것으로 생각된다. 또한 캐나다에서는 생물적 방제인자로 같은 속에 속하는 *X. bovienii*의 강력한 항균효과를 이용해서 온실 내의 감자에 문제가 되고 있는 *Phytophthora infestans*의 식물병을 방제하기도 하였다(Ng and Webster, 1997).

그러나 누에의 경우에는 그물등개미와는 상대적으로 최고 처리농도인 10^7 cfu/ml에서도 불과 11.1%의 사망률을 보여 자연상태에서는 이 공생세균에 대해서 안전한 것으로 조사되었다. 이와 같은 현상은 누에의 소화관은 개미와 달리 미생물 소화작용에 덜 의존적인 데에 기인한다고 추정된다. 실제로

X. nematophilus 스스로는 기주 곤충의 치사를 유발시키지 못하며, 공생관계에 있는 곤충병원선충이 기주곤충의 체벽을 통과해서 혈강 안으로 이 세균을 전달시켜 주어야만 기주를 치사시킬 수 있다(Park and Kim, 2000).

곤충병원선충인 *S. carpocapsae*를 처리하였을 때 그물등개미에서 선충의 농도가 150,000마리의 감염태 유충이 처리되었을 때 4.7%의 사망률을 가진 것은 자연 생태계 내에 존재하는 일부 해충들 중 파밤나방과 담배거세미나방의 반수치사농도가 50마리의 감염태 유충인 것으로 조사된 것과 비교하면(Han et al., 1999), 상대적으로 개미에서는 선충의 영향이 극히 낮은 것으로 조사되었다. 그러나 누에의 경우 반수치사 농도가 4마리의 감염태 유충이 처리되었을 때로 조사됨으로서 곤충병원선충에 대해서 고도로 감수성인 것을 알 수 있었다. 이것은 누에 유충이 파밤나방과 담배거세미나방의 유충 크기에 비해 5령 단계에서 무려 10배 이상 차이가 나면서 상대적으로 선충에 노출될 확률이 더 높기 때문으로 추정된다. 그러나 실제로 양잠농가에서 누에가 곤충병원선충에 의해서 피해를 입는 것과, 직접적으로 노출되는지에 대해서는 앞으로의 보다 많은 연구가 필요하다.

포유동물인 랫드는 곤충병원선충과 공생세균에 대해서 안전한 것으로 나타났다. 이것은 이들 미생물들의 기주 특이성에 기인한다고 추정된다. 본 연구 결과는 생물농약으로 개발이 가능한 곤충병원선충과 공생세균이 포유동물에 대해 안전성을 보이거나 유용곤충에 대해 선별적인 독성을 보이는 것으로 실용화 단계에서 인축 및 환경 생물에 미치는 독성학적 영향이 자세히 구명되어야 한다는 점을 제시한다.

사 사

누에 시험동물을 제공하여준 상주대학교 김길호 박사와 포유독성 시험을 수행하게 허락하여주신(주)경농 중앙연구소 유용만 소장께 감사를 표한다. 본 연구는 농림수산부 특정연구과제에 의해서 수행되었다.

Literature Cited

- Akhurst, R.J. 1980. Morphological and functional dimorphism in *Xenorhabdus* spp., bacteria symbiotically associated with the insect pathogenic nematodes *Neoplectana* and *Heteror-*

- habditis. J. Gen. Microbiol. 121: 303~309.
- Akhurst, R.J. 1982. Antibiotic activity of *Xenorhabdus* spp., bacteria symbiotically associated with insect pathogenic nematodes of the families Heterorhabditidae and Steinernematidae. J. Gen. Microbiol. 128: 3061~3066.
- Akhurst, R.J. and N.E. Boemare. 1990. Biology and taxonomy of *Xenorhabdus* pp. 79~90. In R. Gaugler and H.K. Kaya [eds.], Entomopathogenic nematodes in biological control, 365 pp. CRC Press. Boca Raton, FL.
- Chapman, R.F. 1998. The insects. 919 pp. Cambridge Univ. Press. Cambridge. London.
- Forst, S., B. Dowds, N. Boemare and E. Stackerbrandt. 1997. *Xenorhabdus* and *Heterorhabdus* spp.: bugs that kill bugs. Ann. Rev. Microbiol. 51: 47~72.
- Georgis, R. 1990. Formulation and application technology. pp. 173-187. In R. Gaugler and H.K. Kaya [eds.], Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press. 365 pp. Boca Raton, FL.
- Han, S.C., Y.G. Kim and B.J. Lee. 1996. Biological control of vegetable insect pests with entomopathogenic nematodes. Korean J. Soil. Zool. 1: 81~88.
- Han, S.C., S.S. Lee and Y.G. Kim. 1999. Pathogenicity and multiplication of entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* Weiser, on beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) and tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Fabricius). Korean J. Appl. Entomol. 38: 255~260.
- Kaufmann, M.G. and M.J. Klug. 1991. The contribution of hindgut bacteria to dietary carbohydrate utilization by crickets (Orthoptera: Gryllidae). Comp. Biochem. Physiol. 98A: 117~123.
- Kaya, H.K. and R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. Ann. Rev. Entomol. 38: 181~206.
- Kim, Y.K., S.H. Kim and S.K. Kwon. 1991. Comparison of pathogenicity parasporal crystal protein in some *Bacillus thuringiensis* strains. Korean J. Seric. Sci. 33: 75~81.
- Lee, J.W. 1998. Insects' life in Korea IV. 246 pp. Korea Univ. Seoul.
- Ng, N. and J. Webster. 1997. Antibiotics activity of *Xenorhabdus bovienii* (Enterobacteriaceae) metabolites against *Phytophthora infestans* on potato plants. Can. J. Plant Pathol. 19: 125~236.
- Park, Y. and Y. Kim. 2000. Eicosanoids rescue *Spodoptera exigua* infected with *Xenorhabdus* nematophilus, the symbiotic bacteria to the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*. J. Insect Physiol. 46: 1469~1476.
- Park, Y.J., Y.G. Kim and Y.K. Yi. 1999. Identification and characterization on the symbiotic bacterium of *Steinernema carpocapsae* collected in Korea. J. Asia-Pacific Entomol. 2: 105~111.
- Poinar, G.O. 1990. Biology and taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae. pp. 23~62. In R. Gaugler and H.K. Kaya [eds.], Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press. 365 pp. Boca Raton, FL.
- Raymond, M. 1985. Presentation d'un programme d'analyse log-probit pour micro-ordinateur. Cah. ORS-TOM. Ser. Ent. Med. et Parasitol. 22: 117~121.
- SAS Institute. 1989. SAS/STAT users guide, version 6.12. SAS Institute. Cary, NC.

(Received for publication 8 March 2001; accepted 4 July 2001)