

밤 종실해충 방제를 위한 곤충병원성 선충,
Steinernema carpocapsae 포천 계통과 *Heterorhabditis*
bacteriophora 함양 계통의 실용적 활용

Practical Utilization of Entomopathogenic Nematodes,
Steinernema carpocapsae Pocheon Strain and *Heterorhabditis*
bacteriophora Hamyang Strain for Control of
Chestnut Insect Pests

추호렬 · 김형환 · 이동운 · 이상명¹ · 박선호² · 추영무³ · 김종갑⁴

Ho Yul Choo, Hyeong Hwan Kim, Dong Woon Lee, Sang Myeong Lee¹,
Sun Ho Park², Young Moo Choo³ and Jong Kab Kim⁴

Abstract – The entomopathogenic nematodes, *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain (ScP) and *Heterorhabditis bacteriophora* Hamyang strain (HbH) were evaluated against chestnut insect pests. The farmers' handling methods of chestnuts were taken into consideration to develop practical biological control with entomopathogenic nematodes. The major insect pests found with chestnuts were *Curculio sikkimensis*, *Dichocrocis punctiferalis*, and *Cydia kurokoi*. Although individual chestnut contained one species of insect was 58% representing 18% by *C. sikkimensis*, 27.7% by *D. punctiferalis* and 12.3% by *C. kurokoi*. The percentage of co-infection of *C. sikkimensis* with *D. punctiferalis* was 3.3%, *C. sikkimensis* with *C. kurokoi* 5.0%, *D. punctiferalis* with *C. kurokoi* 7.7%, and *C. sikkimensis* with *D. punctiferalis* and *C. kurokoi* 5.0%. The entomopathogenic nematodes, ScP and HbH were effective against all the species of chestnut insect pests. The LC₅₀ of ScP was 14.6 for *C. sikkimensis*, 4.6 for *D. punctiferalis*, and 5.6 for *C. kurokoi* and that of HbH was 49.2 for *C. sikkimensis*, 5.8 for *D. punctiferalis*, and 13.9 for *C. kurokoi*, respectively. When ScP was applied into pot including harvested chestnuts at the rate of 4,813 infective juveniles (Ijs)/pot (=1 × 10⁹/ha), mortality of *C. sikkimensis*, *D. punctiferalis*, and *C. kurokoi* was 85.3%, 96.9%, and 68.1%, respectively. The mortality of *C. sikkimensis*, *D. punctiferalis*, and *C. kurokoi* was 60.73%, 96.5%, and 66.8%, respectively when HbH was applied at the same rate. Combination of two nematode species produced similar effects and insects were more infected by ScP than HbH. When chestnuts were soaked in the suspension of ScP at the rate of 300, 3,000, and 30,000 Ijs for 10 minutes or 30 minutes, mortalities of all chestnut insects were high irrespective of soaking time, concentration, and nematode species.

Key Words – Biological control, *Curculio sikkimensis*, *Dichocrocis punctiferalis*, *Cydia kurokoi*, *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain, *Heterorhabditis bacteriophora* Hamyang strain

경상대학교 농생물학과 (Department of Agricultural Biology, Gyeongsang National University, Chinju, Gyeongnam, 660-701, Korea)
e-mail: hychoo@nongae.gsnu.ac.kr

¹ 산림청 임업시험장 남부임업시험장 (Nambu Forestry Experiment Station, Chinju, Gyeongnam, 660-300, Korea)

² 계명대학교 화공학과 (School of Chemical Engineering and Materials Engineering, Keimyung University, Taegu, 704-701, Korea)

³ 동아대학교 생명자원과학부 응용생물과학과 (Department of Applied Biological Science, College of Natural Resources and Science, Dong-a University, Pusan, 604-714, Korea)

⁴ 경상대학교 산림과학부 (Faculty of Forest Science, Gyeongsang National University, Chinju, Gyeongnam, 660-701, Korea)

초 록 - 곤충병원성 선충, *Steinernema carpocapsae* 포천 계통 (ScP)과 *Heterorhabditis bacteriophora* 함양 계통 (HbH)을 이용한 밤 종신헌충의 실용적인 방제를 위하여 밤나무 재배농가에서 취하는 여러 가지 종신헌처리법과 관련하여 알아보았다. 수확 후의 밤 종실에는 밤바구미, 복숭아명나방, 밤애기잎말이나방 유충이 발견되었으며, 한 종실에 한 종류의 해충이 발견된 것은 58%로 밤바구미가 18%, 복숭아명나방이 27.7%, 밤애기잎말이나방이 12.3%였다. 반면, 밤바구미와 복숭아명나방이 함께 발견된 종실은 3.3%, 밤바구미와 밤애기잎말이나방이 함께 발견된 종실은 5.0%, 복숭아명나방과 밤애기잎말이나방이 함께 발견된 종실은 7.7%, 밤바구미와 복숭아명나방, 밤애기잎말이나방 등 3종의 해충이 함께 발견된 종실이 5.0%였다. ScP와 HbH는 모든 종류의 종신헌충에 효과가 있었고, 밤애기잎말이나방보다는 밤바구미와 복숭아명나방에 더 효과적이었다. ScP의 LC₅₀값은 밤바구미 유충이 14.6마리, 복숭아명나방 유충이 4.6마리, 밤애기잎말이나방 유충이 5.6마리였고, HbH의 LC₅₀값은 밤바구미가 49.2마리, 복숭아명나방이 5.8마리, 밤애기잎말이나방이 13.9마리였다. ScP를 pot내의 종실에 4,813 마리/pot (1×10^9 마리/ha)의 농도로 처리한 것에서도 종실내의 밤바구미 유충은 85.3%, 복숭아명나방 유충은 96.9%, 밤애기잎말이나방 유충은 68.1%가 치사되었고, HbH의 처리에서는 각각 60.7%, 96.5%, 66.8%의 치사율을 보였다. 두 선충을 단독 처리의 반수 농도로 혼합 처리하였을 때는 ScP에 의한 치사가 HbH에 의한 치사보다 모든 농도에서 높았다. 그리고 ScP 현탁액에 종실을 처리하여도 침지시간과 농도에 관계없이 종실내의 밤바구미, 복숭아명나방, 밤애기잎말이나방 유충은 높은 비율로 치사되었다.

검색어 - 생물적 방제, 밤바구미, 복숭아명나방, 밤애기잎말이나방, *Steinernema carpocapsae* 포천 계통, *Heterorhabditis bacteriophora* 함양 계통

밤나무 (*Castanea crenata* S. et Z.)는 연평균 12°C의 등온선을 중심으로 아열대 중앙부에서 온대 북부까지 분포하고 있으며, 우리 나라를 비롯한 중국, 일본 등 아시아지역과 북미, 이태리, 프랑스, 호주 등에서 재배되고 있다 (See Lee et al., 1998). 특히, 우리 나라는 약용으로 또 관혼상제용으로 밤을 많이 소비하고 있는 것 외에 수출도 하고 있기 때문에 재배면적이 꾸준히 증가하였다. 그리하여 우리 나라의 밤나무 재배면적은 82,000 ha에 생산량은 129,672톤이나 되며, 수출액도 미화 약 1억불이나 된다 (Anonymous, 1998).

밤을 재배하는 동안 직접 또는 간접으로 피해를 주는 해충은 217종이며 (Cho, 1995), 그 중에서도 종실을 가해하는 밤바구미 (*Curculio sikkimensis*)와 복숭아명나방 (*Dichocrocis punctiferalis*), 밤애기잎말이나방 (*Cydia kurokoi*) 등이 밤의 상품성과 저장성을 크게 떨어뜨리는 중요한 해충이다. 실제 밤나무 재배농가에서는 식엽성 해충이나 흡즙성 해충보다는 위의 종신헌충에 의하여 경제적으로 가장 큰 손해를 받고 있다. 밤바구미는 연 1회 발생하면서 9월 중·하순 부화한 유충이 과육 표면을 불규칙하게 식해하다가 점차 자라면서 과육 속으로 먹어 들어가 피해를 주며, 복숭아명나방은 연 2회 발생하면서 2화기 성충이 7월 중순~8월 상순에 우화하여 밤나무 종실에 1~2개의 알을 산란하고, 어린 유충이 밤의 가시를 식해하다가 성숙해지면서 과육을 식해한다. 밤애기잎말이나방은 연 1회 발생하며 9월 중순~10월 상순에 부화한 유충이 밤송이 속으로 먹어 들어가 피해를 준다 (Lee and Chung, 1997). 이들 종신헌충들의 방제는 대상해충에 따라 주로 파프분제나 유제 또는 수화제, 디프유제, 피레스유

제, 나크수화제 등의 농약에 의존하고 있지만 (Lee and Chung, 1997), 해충이 종실 속에 있는 관계로 효과는 기대한 만큼 인정되지 않고 있다. 한편 수확 후의 종실을 메칠브로마이드 등으로 훈증하기를 권유하고 있지만, 실제 재배농가에서는 훈증법을 취하지 않고 종실을 물에 침수시키는 방법을 사용하고 있다. 그러나 재배농가에서 사용하는 침지법만으로는 시간이 많이 걸리면서 해충 방제면에서 충분한 효과를 거두지 못하고 있다. 그리고 피해종실의 수거는 노동력이 많이 들기 때문에 떨어진 그대로 밤나무 재배지에 방치하는 경향이 있어, 종실 속에 있던 해충들이 이듬해의 발생 근원이 되고 있다 (Lee et al., 1998). 따라서 종신헌충은 어떤 방법으로든 방제되어야 하지만 농약에 의한 방제는 효과가 적으면서 환경오염 등의 사회 문제를 야기하고 있을 뿐만 아니라, 침지법은 경제성이 없어 환경친화적인 새로운 방제법 개발이 현실적으로 필요하다.

곤충병원성 선충은 공생세균인 *Xenorhabdus* spp. (*Steinernema*속 선충) 및 *Photorhabdus* spp. (*Heterorhabditis*속 선충)와 작용하여 곤충에 패혈증을 일으켜 48시간 이내에 기주를 치사시키는 매우 우수한 천적이다. 또한 기주범위도 넓고 병원성이 높으며 유용동식물에는 안전하면서도 농약과의 혼용이 가능하고 어떠한 방제장비로도 살포가 가능하기 때문에 매우 유용한 생물적 방제인자이다 (Kaya and Gaugler, 1993). 더욱이 곤충병원성 선충은 토양이나 은폐된 곳에서 식하는 해충에 효과적이기도 하다.

따라서 본 연구는 우리 나라에서 채집한 곤충병원성 선충 중 여러 가지 해충에 병원성이 높았던 *S. carpo-*

capsae 포천 계통과 *H. bacteriophora* 함양 계통을 이용하여 실제 재배농가에서 행해지고 있고, 또 있을 수 있는 여러 가지 조건에서의 효과적이고 현실적인 밤 종신햄충의 실용적 방제법을 개발하고자 실시하였다.

재료 및 방법

밤 종신햄충 조사 1999년 10월 경남 함양에서 밤을 수확한 당일 포대에 넣어 실험실로 가져와 피해종실과 건전 종실로 구분하였다. 그리고 피해종실은 예리한 칼로 침입부위를 절개하여 그 속에 들어 있던 해충들을 분리해 내어 목적인 실험에 사용하였다. 피해종실 하나에는 밤바구미 (*Curculio sikkimensis*), 복숭아명나방 (*Dichocrocis punctiferalis*), 밤애기잎말이나방 (*Cydia kurokoi*) 유충이 단독 또는 혼존하고 있었기 때문에 피해종실을 칼로 절개하여 실험에 필요한 숫자를 충분히 확보한 후 실시하였다. 그리고 30개의 피해종실을 한 반복으로 하여 4반복인 120개의 종실에서 밤바구미 유충, 복숭아명나방 유충, 밤애기잎말이나방 유충의 숫자를 헤아려 가해수와 비율을 조사하였다 (Table 1).

곤충병원성 선충 꿀벌부채명나방 (*Galleria mellonella*) 노숙유충을 미끼로 (Bedding and Akhurst, 1975) 토양에서 분리한 ScP와 HbH를 Dutky *et al.* (1964)의 방법으로 다시 증식하여 이용하였다. 증식된 선충은 White trap으로 수확하여 10°C 냉장고에 보관하였고, 실험에는 수확한 지 3주 이내의 선충을 이용하였다 (Woodring and Kaya, 1988).

종신햄충에 대한 곤충병원성 선충의 효과 우리나라의 밤나무 재배농가는 피해종실을 낙과된 그대로 방치하거나 모아서 땅에 묻는다. 그리고 저장할 때에는 밤을 묻기도 하지만, 최근에는 시멘트 물탱크(2.0 × 3.0 × 1.5 m)에 침지처리를 하고 난 후 저온 창고에

보관하는 방법을 이용하고 있다. 따라서 위와 같은 점을 고려하여 실용적인 종신햄충의 방제법을 개발하고자 다음과 같이 실험하였다.

실내실험

petri dish와 플라스틱 컵을 이용하여 곤충병원성 선충의 LC₅₀와 치사율을 구하였다. 대상 해충의 특성에 따라 밤바구미 유충은 플라스틱 컵을, 복숭아명나방 유충과 밤애기잎말이나방 유충은 petri dish를 이용하였다.

1) 밤바구미

0.2 mm의 체에 친 모래를 2회 살균(120°C, 15 psi)하여 건조시킨 후 살균수로 수분함량을 12%로 조정하였다. 그리고 30 ml들이 플라스틱 컵 (sweetheart cup)에 밤바구미 유충을 한 마리씩 넣고, 모래를 30 g씩 넣었다. 그리고는 각 컵에 20, 100, 200, 400마리 농도의 ScP와 HbH 현탁액 1 ml씩을 접종하였다. 선충 무처리 컵에는 살균수만 1 ml 처리하였다. 처리된 컵들은 25 ± 2°C의 실온에 보관하였고, 선충 처리 14일 후 컵 속의 유충을 분리하여 선충에 의한 치사유무를 해부 현미경하에서 확인하였다. 실험은 10개의 컵을 한 반복으로 하여 4반복으로 수행하였다.

2) 복숭아명나방과 밤애기잎말이나방

여과지 (Wattman # 2) 2장이 깔려 있는 petri dish (55 Ø × 15 mm)에 복숭아명나방 유충과 밤애기잎말이나방 유충을 한 마리씩 넣고는 ScP와 HbH를 petri dish당 5, 10, 20, 40, 80마리 농도로 각각 1 ml씩 접종하였다. 무처리는 살균수만 1 ml 처리하였다. 처리된 petri dish는 위와 같이 25 ± 2°C의 실온에 보관하였고, 선충 처리 7일째 유충을 꺼내어 해부현미경하의 Ringer's 용액에서 해부하여 선충에 의한 치사유무를 확인하였다. 실험은 10개의 petri dish를 한 반복으로 하여 4반복으로 행하였다.

Table 1. Composition rate and number of insect pests in a chestnut

Insect pest	% coexist of larvae/chestnut ± SD (range)	Number of larvae/chestnut (range)
Nil	21.0 ± 6.7 (13.3~33.3)	-
<i>Curculio sikkimensis</i> (Cs)	18.0 ± 5.7 (13.3~26.7)	2.1 (1~7)
<i>Dichocrocis punctiferalis</i> (Dp)	27.7 ± 5.9 (16.7~36.7)	1.2 (1~2)
<i>Cydia kurokoi</i> (Ck)	12.3 ± 7.4 (6.7~30.0)	1.1 (1~2)
Cs+Dp	3.3 ± 4.2 (0.0~10.0)	2.6 (1~7)+1.0 (1~1)
Cs+Ck	5.0 ± 3.3 (0.0~10.0)	2.3 (1~4)+1.0 (1~1)
Dp+Ck	7.7 ± 4.7 (3.3~16.7)	1.0 (1~1)+1.3 (1~2)
Cs+Dp+Ck	5.0 ± 3.6 (0.0~10.0)	2.0 (2~2)+1.0 (1~1)+1.5 (1~2)

Thirty chestnuts after harvest were observed with 4 replications.

Pot 실험

0.2 mm 체에 친 모래를 2회 살균(120°C, 15 psi)하여 건조시킨 후 토양수분을 12%로 조정하였다. 27.5 × 17.5 × 9.0 cm 플라스틱 pot에 600 g씩 넣었다. 그리고 재배농가에서 피해 종실을 방치하는 것과 같은 유사한 조건을 만들기 위하여 피해 종실 30개를 그대로 각 pot의 모래 위에 놓았다. 그리고는 4,813마리/pot (1 × 10⁹마리/ha), 14,438마리/pot (3 × 10⁹마리/ha), 43,313마리/pot (9 × 10⁹마리/ha) 농도의 ScP와 HbH 현탁액 20 ml씩을 처리하였다. Pot는 수분의 손실과 피해종실에서 탈출하는 유충의 이탈을 막기 위하여 랩을 씌워 광 조건 16시간과 암 조건 8시간으로 25 ± 2°C의 상온에 보관하였다. 한편, ScP 및 HbH의 혼합처리구도 다음과 같이 두어 ScP와 HbH 단독처리와 비교하였다. 즉, ScP 2,407마리 + HbH 2,407마리/pot (0.5 × 10⁹마리 + 0.5 × 10⁹마리/ha)와 ScP 7,219마리 + HbH 7,219마리/pot (1.5 × 10⁹마리 + 1.5 × 10⁹마리/ha), ScP 21,657마리 + HbH 21,657마리/pot (4.5 × 10⁹마리 + 4.5 × 10⁹마리/ha) 처리구를 두었다. 선충 처리 14일째 피해종실과 pot의 모래에서 해충들을 분리하여 각 해충의 선충에 의한 치사유무를 해부현미경하의 Ringer's 용액에서 해부하면서 확인하였다. ScP와 HbH 혼합 처리 pot에서 치사된 해충들은 각각 ScP에 의한 치사와 HbH에 의한 치사로 구분하였는데 구분은 치사된 해충의 표피색으로 구분하였다 (Woodring and Kaya, 1988). 피해종실에 있던 해충은 침입공이 있는 부위를 조심스럽게 칼로 절개하여 분리하였고, 종실을 탈출하여 모래 속에 있던 유충들은 모래를 조금씩 취하여 헤치면서 찾아내었다. 처리는 5반복으로 하였다.

침지법 실험

최근 밤 재배농가에서는 수확한 밤을 저온시설에 보관하는 방법을 취하고 있다. 저온창고에 밤을 저장하기 전 건전 종실의 선별, 저장 중 수분유지 및 해충의 방제를 목적으로 약 10~20분 동안 물에 침지한다. 따라서 실내 실험과 pot실험에서 효과가 인정되었던 ScP의 침지법에 따른 효과도 검정하였다. 버섯재배용 (320 ml) 플라스틱 병에 30개의 피해종실을 넣은 후 296 ml의 살균수를 부었고, 다시 병당 300마리, 3,000마리, 30,000마리의 ScP 현탁액 4 ml을 처리하여 300 ml이 되게 하였다. 무처리는 4 ml의 물만 처리하였다. 각 병은 5분 간격으로 흔들어서 주었으며, 10분과 30분 후 각 병에 들어있는 물을 완전히 없앤 다음, 다시 버섯재배용 (320 ml) 플라스틱 병에 옮겨 광 조건 16시간과 암 조건 8시간의 25 ± 2°C 상온에 보관하였다. 그리고 14일째 종실을 꺼내어 위와 같이 침입공이 있는 부위를 조심스럽게 칼로 절개하는 방법으로 해충을 분리하여 선충에 의한 치사유무를 확인하였다.

처리는 피해종실 30개가 들어있는 하나의 병을 1반복으로 하여 5반복으로 하였다.

통계분석 밤바구미, 복숭아명나방, 밤애기잎말이나방 유충에 대한 곤충병원성 선충의 실내 병원성 검정은 백분율로 환산하여 Student-Newman-Keuls test로 처리농도간의 치사율 차이를 분산 분석하였으며, LC₅₀은 probit로 분석하였다 (SAS Institute, 1996). Pot실험과 침지실험에서의 각 해충 치사율도 Student-Newman-Keuls test로 분산 분석하여 처리간 유의성을 검정하였으며 pot 실험 때 혼합처리시의 ScP와 HbH에 의한 치사율 비교는 t-test로 분석하였다. 모든 분산 분석에서의 유의성 정도는 P < 0.05 범위에서 이루어졌으며, 값은 평균 ± 표준편차 (SD)로 나타내었다.

결과 및 고찰

하나의 종실에서는 한 종류의 해충만 발견되는 경우가 많았지만, 2~3 종류의 해충이 함께 발견되는 경우도 있었다 (Table 1). 무작위로 취한 120개의 피해종실 중 해충이 이미 탈출한 종실의 비율은 21.0%였고, 나머지 79%는 밤바구미 유충이나 복숭아명나방 유충, 밤애기잎말이나방 유충이 들어 있었다. 그 중 밤바구미만 발견된 종실이 18%로 평균 2.1마리 (1~7마리)이었으며, 복숭아명나방 유충만 발견된 종실이 27.7%로 평균 유충수는 1.2마리 (1~2마리)였다. 그리고 밤애

Table 2. Lethal concentration at 50 and 90 with 95% fiducial limits (FL) for the infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain and *Heterorhabditis bacteriophora* Hamyang strain against chestnut insect (FL : Lower-Upper)

Insect pest	<i>Steinernema carpocapsae</i> Pocheon strain		<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> Hamyang strain	
	LC ₅₀ * (95% FL)	LC ₉₀ * (95% FL)	LC ₅₀ (95% FL)	LC ₉₀ (95% FL)
<i>Curculio sikkimensis</i>	14.6 (3.61-27.78)	189.1 (112.78-488.73)	49.2 (26.17-74.56)	553.5 (309.47-1691.53)
<i>Dichocrocis punctiferalis</i>	4.6 (3.02-5.68)	10.5 (8.55-15.66)	5.8 (4.23-7.13)	15.4 (12.25-22.66)
<i>Cydia kurokoi</i>	5.6 (3.93-6.95)	15.6 (12.33-23.10)	13.9 (10.40-17.92)	74.2 (50.27-140.02)

* *Curculio sikkimensis* was released into sand and sprayed with entomopathogenic nematodes. Checking mortality after treated 14 days. *Dichocrocis punctiferalis* and *Cydia kurokoi* were released into petri dish and inoculated entomopathogenic nematodes. Checking mortality after treated 7 days.

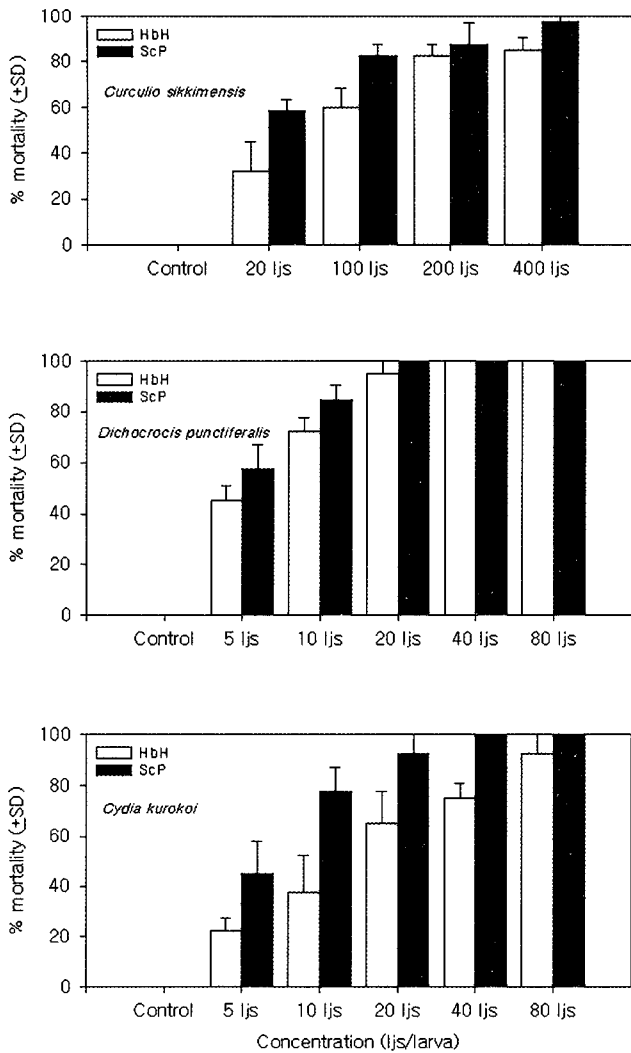


Fig. 1. Mortal effect of *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain (ScP) and *Heterorhabditis bacteriophora* Hamyang strain (HbH) against chestnut insect pests. Vertical error bars represent standard deviations of the mean.

기잎말이나방이 발견된 종실은 12.3%로 평균 1.1마리 (1~2마리)였다. 한편, 밤바구미와 복숭아명나방이 함께 발견된 종실은 3.3%로 유충수는 3.3마리였으며, 밤바구미는 2.6마리 (1~7마리), 복숭아명나방은 1.0마리였다. 또한 밤바구미와 밤애기잎말이나방이 함께 발견된 종실은 5.0%로 2.9마리였으며, 밤바구미는 2.3마리 (1~4), 밤애기잎말이나방은 1.0마리였다. 한편, 복숭아명나방과 밤애기잎말이나방이 함께 발견된 종실은 7.7%로 2.3마리였고, 복숭아명나방 1.0마리, 밤애기잎말 1.3마리 (1~2마리)였다. 흥미롭게도 밤바구미, 복숭아명나방, 밤애기잎말이나방이 함께 발견된 종실이 5.0%나 되었는데, 유충수가 4.0마리에 밤바구미는 2.0마리, 복숭아명나방은 1.0마리, 밤애기잎말이나방은

1.5마리 (1~2마리)였다. 이상의 결과에서 보듯이 하나의 종실에 여러 해충이 함께 가해한 것이 관찰되었는데, 밤 종실에서는 종종 발견되고 있으나 (Kobayashi and Taketani, 1994) 다른 종실에는 드문 일이다. 한편, 종실내의 가해 유충수는 품종과 지역에 따라 다를 수도 있다. 예를 들면, 丹澤, L-5, 大和, 波, 伊吹, 利平 품종에서 발견된 밤바구미 유충수는 평균 7.6마리였고, 靑森, 秋田, 岩手, 山形, 宮城, 福島縣에서는 평균 4.1마리의 밤바구미가 발견되었으며, 전남 지역에서는 한마리 기생이 48.0%, 두 마리 기생이 28.3%, 세 마리 기생이 15.8%, 네 마리 기생이 6.16%, 5~6마리 기생이 1.66%였다 (Kim, 1983). 그리고 밤나무의 종실해충으로는 밤바구미, 밤나방 (*Laspeyresia kurokoi*), 복숭아명나방, 꺾질밤나방 (*Characona ruficirra*), 잎말이나방 (*Acroclita aestuosa*) 등이 일본에서 기록되어 있으나 (Kim 1983) 본 조사에서는 밤바구미와 복숭아명나방, 밤애기잎말이나방 3종만 확인되었다.

곤충병원성 선충인 ScP와 HbH는 모든 종류의 종실해충에 효과가 있었다. ScP의 LC₅₀은 밤바구미 유충이 14.6마리, 복숭아명나방 유충이 4.6마리, 밤애기잎말이나방 유충이 5.6마리였으며, HbH의 LC₅₀은 밤바구미 유충이 49.2마리, 복숭아명나방 유충이 5.8마리, 밤애기잎말이나방 유충이 13.9마리였다 (Table 2). 곤충병원성 선충의 병원성은 대상해충이나 선충의 종에 따라 차이가 있을 수가 있다. 즉, *Diaphania nitidalis* 오이피클 명나방에 대한 *S. carpocapsae* 멕시코 strain의 LC₅₀값은 8마리로 *H. bacteriophora* HP88 strain의 15마리보다 낮아 2배 정도 더 효과가 있는 것으로 나타나 천공성 해충에서도 선충에 따른 병원성에서 차이가 있었다 (Shannag et al., 1994).

한편, 실내 실험에서도 같은 경향을 보였다 (Fig. 1). 밤바구미는 ScP를 컵당 100마리 처리에서도 82.5%의 치사율을 나타낸 반면, HbH는 200마리를 처리한 것에서도 82.5%의 치사율을 나타내었고, 밤애기잎말이나방도 ScP를 유충 한 마리당 10마리 처리에서 77.5%의 치사율을 보였지만, HbH는 40마리를 처리하였을 때 75.0%의 치사율을 나타내었다. 그러나 복숭아명나방의 치사율은 유충 한 마리당 10마리의 선충을 처리하였을 때만 ScP에서 85.0%, HbH에서 72.5%로 차이를 보였지만, 20마리 이상의 처리에서는 차이가 없었다.

일반적으로 밤 종실 해충에는 ScP가 HbH 보다 효과적이었다. 잎말이나방류 유충은 실내실험에서 효과가 있고, 또 세계 여러 나라에서 *S. carpocapsae*가 *Cydia pomonella* 유충으로부터 검출되기도 하였지만 (Poinar, 1991), 밤애기잎말이나방에 대하여서는 복숭아명나방이나 밤바구미보다는 감수성이 낮았다. 일반적으로 *S. carpocapsae*는 천공성 해충인 메론의 *D.*

*hyalinata*에도 효과가 있고 (Shannag and Capinera, 1985), 수목의 *Prionoxystus robiniae* 굴벌레나방 (Lindgren *et al.*, 1981; Forschler and Nordin, 1988)이나 *Synanthedon* 유리나방 (Deseö and Miller, 1985; Kahounová and Mráček, 1991), *Pennisetia marginata* 유리나방 (Capinera *et al.*, 1986)에도 효과가 있어 종실을 천공하여 피해를 주는 해충에도 활용할 가치가 있는 생물적 방제 인자이다.

곤충병원성 선충의 효과를 pot 실험에서 확인한 바 선충의 종과 대상해충에 따라 차이가 있었다 (Table 3) (밤바구미: $F = 49.3$, $df = 6, 28$, $P < 0.0001$; 복숭아명나방: $F = 310.2$, $df = 6, 28$, $P < 0.0001$; 밤애기잎말이나방: $F = 25.2$, $df = 6, 28$, $P < 0.0001$). 즉, 복숭아명나방에서의 ScP과 HbH의 효과가 밤바구미와 밤애기잎말이나방보다는 높았다. ScP를 4,813마리/pot (1×10^9 마리/ha) 농도로 처리하였을 때 복숭아명나방은 96.9%의 치사율을 나타낸 반면, 밤바구미의 치사율은 85.3%였고, 밤애기잎말이나방은 68.1%였으며, HbH를 처리하였을 때도 같은 경향이였다. 그리고 두 선충을 단독 처리의 반수 농도로 혼합 처리하였을 때는 밤바구미와 밤애기잎말이나방에서 단독 처리보다 상승효과가 있었다. 즉, ScP 2,407마리와 HbH 2,407마리/pot (0.5×10^9 마리

/ha + 0.5×10^9 마리/ha)를 혼합 처리하였을 때, 밤애기잎말이나방 치사율은 81.1%로 ScP 단독 처리의 68.1%와 HbH 단독 처리의 66.8%와 차이가 있었다. 그리고 혼합 처리에서는 ScP에 의한 치사가 HbH에 의한 치사보다 모든 농도에서 현저히 높았다. 본 실험에서는 밤바구미에 대한 선충의 효과가 높게 나타났지만, 포장에서 채집한 밤바구미 3령충에 *S. feltiae* (= *S. carpocapsae*)를 50,800마리나 처리하여도 22.3%의 치사율밖에 보이지 않은 Nagata (1987)의 결과와는 현저한 차이가 있었다. 그러나 자두바구미 (*Conotrachelus nenuphar*)는 *S. carpocapsae*를 유충 한 마리당 10마리 농도로 처리하여도 91.6%의 치사율을 나타내었고, 토양에 10×10^9 마리/ha로 처리하였을 때는 90.8%의 치사율을 보여 본 실험의 결과와 유사하였다 (Olthof and Hagley, 1993). 최근, 곤충병원성 선충의 병원성을 높이기 위하여 다른 종류의 선충을 혼합 처리하는 방법도 시도되고 있다 (Kaya, 1993; Choo *et al.*, 1996). 그러나 그 결과는 다양하여 상승이나 첨가효과가 있는가 하면 아무런 영향이 없는 경우가 있는데, 본 실험에서는 밤바구미와 밤애기잎말이나방에서만 상승효과가 있었다.

밤 재배농가에서 이용하는 종실 침지법으로 ScP의

Table 3. Effect of *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain (ScP) and *Heterorhabditis bacteriophora* Hamyang strain (HbH) on the *Curculio sikkimensis*, *Dichocrocis punctiferalis*, and *Cydia kurokoi* in chestnuts

Concentration (No. of Ijs)	Treatment	% mortality (mean \pm SD)		
		<i>Curculio sikkimensis</i>	<i>Dichocrocis punctiferalis</i>	<i>Cydia kurokoi</i>
4,813	Only ScP	85.3 \pm 15.0ab**A***	96.9 \pm 6.9aA	68.1 \pm 19.6bA
	Only HbH	60.7 \pm 13.8cB	96.5 \pm 4.8aA	66.8 \pm 12.0bA
	ScP(2,407)* +	82.2 \pm 14.7abA	88.5 \pm 11.4aA	81.1 \pm 6.9abA
	HbH(2,407)	(ScP: 58.3 \pm 9.5 HbH: 23.9 \pm 8.4)****	(ScP: 80.0 \pm 15.4 HbH: 8.5 \pm 8.6)	(ScP: 60.4 \pm 14.4 HbH: 20.7 \pm 10.6)
14,438	Only ScP	86.2 \pm 4.2abA	100.0 \pm 0.0aA	82.6 \pm 11.4abAB
	Only HbH	64.0 \pm 11.0cB	95.7 \pm 6.0aA	72.5 \pm 9.3abB
	ScP(7,219) +	93.8 \pm 5.7aA	92.8 \pm 7.2aA	89.6 \pm 7.0abA
	HbH(7,219)	(ScP: 74.0 \pm 10.1 HbH: 19.8 \pm 7.3)	(ScP: 82.8 \pm 19.3 HbH: 10.0 \pm 14.9)	(ScP: 74.5 \pm 9.0 HbH: 15.1 \pm 10.3)
43,313	Only ScP	91.1 \pm 5.1aA	100.0 \pm 0.0aA	89.8 \pm 6.3abAB
	Only HbH	72.4 \pm 10.6bcB	96.9 \pm 6.9aA	72.0 \pm 20.9abB
	ScP(21,657) +	95.5 \pm 6.2aA	95.6 \pm 6.1aA	94.3 \pm 5.3aA
	HbH(21,657)	(ScP: 85.0 \pm 17.3 HbH: 10.5 \pm 12.3)	(ScP: 86.0 \pm 18.2 HbH: 9.5 \pm 14.7)	(ScP: 87.9 \pm 12.5 HbH: 6.4 \pm 9.8)
0	Control	0.0 \pm 0.0d	0.0 \pm 0.0b	0.0 \pm 0.0c

* Number of infective juveniles.

** Means with the same lowercase letter within each column are not significantly different at the 0.05% level, based on Student-Newman-Keuls test (PROC GLM).

*** Means with the same uppercase letter within each column in same concentration are not significantly different at the 0.05% level, based on Student-Newman-Keuls test (PROC GLM).

**** All data were significantly different between ScP and HbH at the 0.05% level, based on t-test (PROC TTEST).

Table 4. Effect of *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain on insect pests of chestnut depending on concentration and dipping time

Concentration	Dipping time (minute)	<i>Curculio sikkimensis</i>		<i>Dichocrocis punctiferalis</i>		<i>Cydia kurokoi</i>	
		No. of insect*	CM** (%)	No. of insect	CM (%)	No. of insect	CM (%)
0	10	12.8 ± 1.9	—	10.0 ± 4.2	—	11.4 ± 1.5	—
	30	14.0 ± 2.9	—	8.8 ± 2.4	—	11.8 ± 3.3	—
300	10	9.6 ± 1.1	91.8a***	8.6 ± 2.6	97.8a	7.8 ± 1.8	71.0a
	30	9.6 ± 1.3	92.8a	7.6 ± 2.0	100.0a	8.0 ± 2.6	86.7a
3,000	10	10.2 ± 2.2	93.6a	9.0 ± 0.7	98.0a	7.4 ± 2.9	85.5a
	30	9.4 ± 2.0	100.0a	7.6 ± 2.0	100a	9.6 ± 2.3	91.5a
30,000	10	10.4 ± 2.7	96.3a	9.2 ± 2.4	100a	7.6 ± 2.1	86.8a
	30	12.0 ± 2.2	96.9a	9.0 ± 3.4	98.0a	7.6 ± 1.1	90.6a

* Mean numbers ± SD of insects from 30 chestnuts.

** Corrected mortality.

*** Means with the same lowercase letter within each column are not significantly different at the 0.05% level, based on Student-Newman-Keuls test (PROC GLM).

효과를 검정한 결과에서도 병원성이 우수하다는 것이 확인되었지만, 종실내의 해충 치사율은 침지시간과 농도에 따른 차이를 보이지 않았다 (Table 4). 즉, 10분간 300마리 농도에 침지한 종실에서의 밤바구미의 보정 사출율은 91.8%, 3,000마리 농도에서는 93.6%, 30,000마리 농도에서는 96.3%였고, 30분간 침지한 종실에서는 각각 92.8%, 100%, 96.9%였다. 그리고 복숭아명나방의 치사율도 침지시간과 농도에 관계없이 97.8~100%의 치사율을 나타내었으며, 밤애기잎말이나방에서는 300마리 농도의 10분간 침지한 것에서 보인 71.0%의 치사율을 제외하고는 85.5~91.5%였다. 이러한 결과는 ScP의 LC₉₀값이 대상 해충들에 대해 10.5마리에서 189.1마리로 (Table 2) 실험에 이용한 최저농도인 300마리 농도 이하이고, 선충의 이동과 침입이 용이한 물속에 침지를 시켰기 때문으로 생각된다.

곤충병원성 선충은 노출된 부분보다는 토양이나 은폐된 곳에 서식하는 해충에 효과가 있지만 (Gaugler and Kaya, 1990; Kaya and Gaugler, 1993; Kaya, 1993), 은폐된 부분이라 하더라도 밤 종실과 같은 견과류 해충에는 적용하기가 현실적으로 쉽지 않다. 그러나 본 실험의 결과 활용할 수 있는 방법의 개발이 수반되면 적어도 밤 종실해충에 적용할 수 있음을 알 수 있었다. 아몬드 해충인 *Amyelois transitella*나방 피해공에 피펫으로 *S. carpocapsae*를 주입하였을 때 해충이 치사되면서 선충도 증식이 되었다 (Agudelo-Silva et al., 1987).

곤충병원성 선충은 기주탐색행동에 따라 잠복형과 탐색형으로 구분된다 (Lewis et al., 1992; Kaya and

Gaugler, 1993). 본 실험에 사용한 선충 중 *S. carpocapsae*는 잠복형이고, *H. bacteriophora*는 탐색형이지만 우리 나라의 밤 종실해충에는 *S. carpocapsae*가 효과가 더 있어 선충의 종류 선택이 더 중요하였다. ScP가 잠복형임에도 불구하고 밤 종실해충들에 대하여 효과가 높은 것은 대상 해충들의 침입공을 통한 선충의 침입이 가능하였기 때문으로 생각된다. 곤충병원성 선충의 효과는 환경, 즉, 온도, 습도, 강우, 자외선 등을 감안한 처리기술이나 처리시간, 선충의 활력, 기주특이성에 따라 차이가 있다. 따라서 밤 종실해충을 효과적으로 방제하기 위하여 *S. carpocapsae*의 효과를 제고할 수 있는 방법을 개발하여야 할 뿐만 아니라, 수확 전의 밤송이에도 활용할 수 있는 방법도 개발하여야 할 것이다. 아울러 밤 재배농가에서 여러 가지 방법으로 종실을 처리하고 있기 때문에 선충현탁액에 종실을 침지한다든지, 수확 후 임시로 방치하거나 보관 중인 종실에 선충을 표면처리한다든지 하여 현실적이고 종합적인 방제계획을 수립함으로써 수확 후 더 이상의 지속적인 해충피해를 줄임과 동시에 이듬해의 종실해충 발생도 사전에 예방하여야 할 것으로 생각된다.

사 사

본 연구를 진행하는 동안 도움을 준 독립기 윤병일 님과 실험실의 김연선, 김정삼, 정옥련, 윤희숙에게 감사한다. 본 연구는 한국과학재단 특정기초연구과제 지원 (97-0402-02-01-3)으로 이루어진 일부분이다.

인 용 문 헌

- Agudelo-Silva, F., J.E. Lindegren and K.A. Valero. 1987. Persistence of *Neoplectana carpocapsae* (Kapow Selection) infectives in almonds under field conditions. *Florida Entomologist*, 70: 288~291.
- Anonymous. 1998. Forestry statistical yearbook. The office of Forestry. Seoul. p. 406.
- Bedding, R.A. and R.J. Akhurst. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica* 21: 109~110.
- Capinera, J.L., W.S. Cranshaw and H.G. Hughes. 1986. Suppression of raspberry crown borer, *Pennisetia marginata* (Harris) (Lepidoptera: Sesiidae) with soil applications of *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 48: 257~258.
- Cho, J.M. 1995. A list of insect pests of trees and shrubs in Korea. Forestry Research Institute. Seoul. 360 pp.
- Choo, H.Y., A.M. Koppenhöfer and H.K. Kaya. 1996. Combination of two entomopathogenic nematode species for suppression of an insect pest. *J. Econ. Entomol.* 89: 97~103.
- Choo, H.Y., S.M. Lee, B.K. Chung, Y.D. Park and H.H. Kim. 1995. Pathogenicity of Korean entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) against local agricultural and forest insect pests. *Korean J. Appl. Entomol.* 34: 314~320.
- Deseö, K.V. and L.A. Miller. 1985. Efficacy of entomogenous nematodes, *Steinernema* spp., Against clearwing moths, *Synanthedon* spp., in north Italian apple orchards. *Nematologica* 31: 100~108.
- Dutky, S.R., J.V. Thompson and G.E. Cantwell. 1964. A technique for the mass propagation of the DD-136 nematode. *J. Insect Pathol.* 6: 417~422.
- Forschler, B.T. and G.L. Nordin. 1988. Suppression of carpenterworm, *Prionoxystus robiniae* (Lepidoptera: Cossidae), with the entomophagous nematodes, *Steinernema feltiae* and *S. bibionis*. *Journal of the Kansas Entomological Society* 61: 396~400.
- Gaugler, R. and H.K. Kaya. 1990. Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A.
- Kahounová, L. and Z. Mráček. 1991. Larval mortality of *Synanthedon myopaeformis* (Lepidoptera, Sesiidae) in apple trees sprayed with *Steinernema* sp. strain Hylobius (Nematoda, Steinernematidae). *Acta Entomol. Bohemoslov.* 88: 205~210.
- Kaya, H.K. 1993. Contemporary issues in biological control with entomopathogenic nematodes. *FFTC Ext. Bulletin* 375: 1~13.
- Kaya, H.K. and R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Ann. Rev. Entomol.* 38: 181~206.
- Kim, C.P. 1983. A study on ecological characters and overwintering pattern of chestnut curculio. M.S. thesis of Chonnam National University. 26 pp.
- Kobayashi, H. and A. Taketani. 1994. Forest insects. Yokendo Ltd. 567 pp.
- Lee, B.Y. and Y.J. Chung. 1997. Insect pests of trees and shrubs in Korea. Seongandang Publishing Co., Seoul. 459 pp.
- Lee, D.W., H.Y. Choo, K.S. Choi, S.M. Lee and K.S. Lee. 1998. Survey on the insect pests management of the chestnut cultivating farmers-Special references to Gyeongsangnamdo province. *J. Inst. Agr. Res. Util., Gyeongsang Nat'l. Univ.* 32: 49~59.
- Lewis, E., R. Gaugler and R. Harrison. 1992. Entomopathogenic nematode host finding: response to host contact cues by cruise and ambush foragers. *Parasitology* 105: 309~315.
- Lindegren, J.E., T.T. Yamashita and W.W. Barnett. 1981. Parasitic nematode may control carpenterworm in fig trees. *California Agriculture*, pp. 25~26.
- Nagata, T. 1987. Infectivity of *Steinernema feltiae* to the chestnut curculio, *Curculio dentipes* Roelofs. pp. 60-64. *In* Recent advances in biological control of insect pests by entomogenous nematodes in Japan, eds. by N. Ishibashi, etc. 179 pp. Grant-in Aid for Developmental Scientific Research Ministry of Education, Culture and Science, Japan.
- Olthof, T.H.A. and E.A.C. Hagley. 1993. Laboratory studies of the efficacy of Steinernematid Nematodes against the plum curculio (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.* 86: 1078~1082.
- Poinar, G.O.Jr. 1991. Nematode parasites. pp. 273~281. *In* Tortricid pests their biology, natural enemies and control, eds. by L.P.S. Van Der Geest and H.H. Evenhuis. Elsevier. Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo.
- SAS Institute. 1996. "SAS 6.11 for Window" SAS Institute, Cary, NC.
- Shannag, H.K. and J.L. Capinera. 1985. Evaluation of entomopathogenic nematode species for the control of melonworm (Lepidoptera: Pyralidae). *Environ. Entomol.* 24: 143~148.
- Shannag, H.K., S.E. Webb and J.L. Capinera. 1994. Entomopathogenic nematode effect on pickleworm (Lepidoptera: Pyralidae) under laboratory and field conditions. *J. Econ. Entomol.* 87: 1205~1212.
- Woodring, J.L. and H.K. Kaya. 1988. Steinernematid and heterorhabditid nematodes: A handbook of techniques. Southern Coop. Ser. Bull. 331, Arkansas Agri. Exp. Stn. Fayetteville, AR. 29pp.

(2000년 9월 14일 접수; 2001년 1월 15일 수리)