

알지닌캡슐을 이용한 곤충병원선충(*Steinernema carpocapsae*)의 섭식유도형 제제화 기술

김용균* · 이승화 · 유용만¹ · 한상찬

안동대학교 생명자원과학부, ¹(주) 경농 중앙연구소

An Edible Alginate Microcapsulation of Entomopathogenic Nematode, *Steinernema carpocapsae*

Yonggyun Kim*, Seunghwa Lee, Yongman Yu¹ and Sangchan Han

School of Bioresource Sciences, Andong National University, Andong, Republic of Korea

¹Center Research Institute, Kyung-Nong Corporation, Kyungju, Republic of Korea

ABSTRACT : Field application of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae*, is limited by its susceptibility to UV irradiation and desiccation especially at leaf spray control. This study was conducted to develop the control technique using alginate biocapsulation of the nematodes against the beet armyworm, *Spodoptera exigua* and the tobacco cutworm, *Sp. litura* that are normally infesting hosts above ground level. The alginate capsules including infective juveniles gave significant feeding toxicities to the larvae of the two lepidopteran species. The lethality followed a typical sigmoid dose-mortality pattern with increase of the nematode densities embedded in the capsules. Moisture content in the capsule was critical to the survival of the infective juveniles. More than 80% nematodes could survive above 10% moisture content remained in the capsule. Remaining moisture content within the capsule was dependent on relative humidity, ambient temperature, and capsule size, but not on citric acid reaction time during capsule formation. More than 80% of infective juveniles in the alginate capsules could survive in distilled water at 15°C for 60 days. When these nematode capsules containing welsh onion extract as another phagostimulant were applied on the 3rd instar larvae of *Sp. exigua* infesting peanut plants, they resulted in about 90% control efficacy. These results indicate that the alginate capsulation can be used for leaf-spray agent of the entomopathogenic nematodes as well as for improved storage purpose.

KEY WORDS : Entomopathogenic nematode, Microcapsulation, Alginate, Beet armyworm, Tobacco cutworm

초 록 : 곤충병원선충(*Steinernema carpocapsae*)을 이용한 지상부 가해 해충 방제는 자외선과 건조 등의 제약점 때문에 적용의 한계를 갖고 있다. 본 연구는 이를 극복하기 위한 방제 기술을 개발하는 데 목적을 두고, 기주의 지상부를 가해하는 두 나비목 해충인 파밤나방(*Spodoptera exigua*)과 담배거세미나방(*Sp. litura*)을 대상으로 실시하였다. 감염태 선충을 포함하는 알지닌캡슐은 이들 두 해충에 대해 뚜렷한 섭식독성을 보였다. 이러한 독성은 캡슐내에 함유되어 있는 감염태 선충의 밀도에 따라 증가하는 전형적인 양독곡선을 나타냈다. 캡슐내에 잔존하는 수분함량은 감염태 선충의 생존력에 가장 중요한 요인으로 작용했다. 캡슐내에 약 10% 이상의 수분이 함유되었을 때 약 80%의 감염태 선충이 생존하였다. 캡슐내 보습 능력은 상대습도, 온도 및 캡슐의 크기에 따라 변동되나, 캡슐 형성 과정 중의 시트릭산 반응 시간과는 무관하였다. 알지닌캡슐이 15°C

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

중류수에 보관되었을 때, 60일 경과후에도 80% 이상의 생존 능력을 보였다. 이러한 감염태 선충이 함유된 캡슐을 섭식유도제로서 사용된 파추출물을 함유시킨 후 야외 땅콩을 가해하는 파밤나방 3령충에 적용시켰을 때, 약 90%의 방제 효과를 나타냈다. 이러한 결과는 알지닌캡슐이 곤충병원선충의 저장 형태의 캡슐 용도 뿐만 아니라 지상부 해충 방제용 제제화로서 이용될 수 있다고 제시한다.

검색어 : 곤충병원선충, 마이크로캡슐, 알지닌산, 파밤나방, 담배거세미나방

곤충병원선충은 토양에 서식하는 해충에 대해 효과적인 생물적 방제자로서 주목받게 되었다(Gaugler and Kaya, 1990; Kaya and Gaugler, 1993). 이들은 주로 Steinernematidae와 Heterorhabditidae의 두 과에 속하며, 이들 선충이 보유하고 있는 장내 공생 세균의 도움으로 기주 곤충에 대해서 신속하고, 높은 살충 효과를 보여주는 인자로서 작용하고 있다(Kim and Park, 1998; Park and Kim, 2000). 특히 이들이 보유하고 있는 넓은 곤충 기주 범위, 감염 대상 해충에서 재증식을 통한 처리 지역 잔효 기간 연장 가능성, 환경과 인축에 대한 안전성, 대량 생산 및 야외 적용의 용이성, 그리고 타 방제 수단과의 호환성 등으로 추후 개발 및 적용 확대가 예상되고 있다(Grewal, 1998). 그러나 이러한 효과적 방제 수단을 지상부 해충에 적용하기 위해서는 몇 가지 제약점이 대두된다.

원 서식처가 토양인 이들 곤충병원선충이 지상부로 노출되었을 때 접하게 되는 건조와 자외선은 이들의 생존을 위협하는 중요한 물리적 요인들이 되고 있다. 이를 극복하기 위해 다양한 제제화 기술들이 개발되고 있다(Georgis, 1990). 건조에 내성을 보이는 곤충병원선충이 선발되기도 하였다(Glazer and Navon, 1990). 다양한 내건제와 부착제가 선발되어 건조와 고온에 대한 야외 생존 능력을 제고하게 하였다(Glazer et al., 1992; Georgis and Manweiler, 1994).

마이크로캡슐화 방법으로 인공종자코팅 기술에 사용되고 있는 알지닌겔을 응용하여 감염태선충을 제제화시키려는 기술이 도입되었다(Kaya and Nelson, 1985; Kaya et al., 1987). 이러한 기술의 원리는 알지닌캡슐을 이용하여 선충이 건조와 자외선에 대해 보호를 받게 하면서, 선충과 함께 포집된 종자의 발아를 통해 캡슐이 열릴 때, 빠져 나오는 감염태선충이 대상 해충을 공격할 수 있게 한다. 그러나 이러한 기술의 적용 한계성 때문에 지상부 엽면 살포에는 부적합한 제제화 기술로 판명되었다. 이를 보완하기 위해 섭식유인제를 함유한 알지닌캡슐이 등장하여 엽면 살포 응용

성을 제시하였다(Navon et al., 1998).

파밤나방(*Spodoptera exigua*)과 담배거세미나방(*S. litura*)과 같은 지상부 가해 해충을 방제하는 데 곤충병원선충을 응용화시키려는 노력이 시도되었다. 우선 곤충병원선충의 일종인 *Steinernema carpocapsae*의 대량증식 및 효과적 회수법이 개발되었다(Han et al., 2000; Lee et al., 2000a). 증식된 곤충병원선충의 감염태를 효과적으로 저장하기 위한 기술이 단기저온 저장기술(Park et al., 1998)과 장기냉동 저장기술(Lee et al., 2000b)로 나뉘어 개발되었다. Keltrol-F와 같은 우수한 내건제를 선발하여 땅콩을 가해하는 파밤나방에 대한 엽면 살포 방제 가능성을 제시하였다(Lee et al., 2000a). 그러나 후자는 제한된 환경과 노출시간의 한계를 드러냈다. 이를 보완하기 위한 새로운 제제화 기술의 개발이 요구되었다. 본 연구는 현재 이용 가능성이 높은 섭식형 알지닌겔을 응용하여 파밤나방에 대한 섭식유인력을 보강시키고, 야외 생존 능력을 높이기 위한 수화형 마이크로캡슐을 개발하고, 이를 포장 조건에 적용하여 실제 방제 효율을 확인하는 데 연구 목적을 두었다.

재료 및 방법

곤충사육

파밤나방(*Sp. exigua*)은 1994년 안동시에 소재한 파공사료(*Allium fistulosum* L.) 밭에서 채집한 후 실내에서 인공사료(Gho et al., 1990)로 누대 사육하였다. 사육 배양기의 조건은 온도 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 광주기 16:8h (L:D)이었다. 성충의 먹이로 10%의 설탕물을 산란상자에 공급하였다. 농업과학기술원 농업해충과 곤충사육실에서 분양받은 담배거세미나방(*Sp. litura*)의 유충도 동일조건에서 실내에서 인공사료(Gho et al., 1990)로 누대 사육하였다.

곤충병원선충

곤충병원선충(*St. carpocapsae*)은 파밤나방 5령충을 증식기주로 하여 실내에서 누대증식시켰다. 증식된 감염태는 Lee et al. (2000c)의 방법으로 수거하였으며, Park et al. (1998)의 방법으로 저온 보관하였다.

알지닌캡슐화

곤충병원선충이 포함된 알지닌캡슐은 Navon et al. (1998)의 방법대로 제작되었다. 모든 시약은 Sigma (MO, USA) 회사의 제품을 이용하였다. 간략하게 기술하면 sodium alginate (2%), methyl-*p*-hydroxybenzoate (0.05%), yeast extract (0.25%), sodium hexametaphosphate (0.4%), calcium carbonate (2.4%)의 용액을 만든 후, 실험의 목적에 따른 상이한 선충수가 들어있는 용액을 섞었다. 이 선충용액을 일정크기의 젤로 고형화하기 위해 0.7%의 citric acid 용액에 피펫으로 분주하였다. 약 15초 동안 고형화시키고, 증류수로 옮긴 후 시험에 이용될 때까지 저온(15°C) 보관하였다.

선충의 생존율에 미치는 알지닌캡슐 보습능력 분석

선충의 생존에 중요한 요인은 제제내 수분 함량이다. 알지닌캡슐의 보습능력을 알아보기 위해 온도, 상대습도, 캡슐 크기 및 citric acid 반응시간에 따른 캡슐내 수분 함량을 분석하였다. 수분함량은 소정의 알지닌캡슐이 함유하고 있는 전체 수분 함량(제제화 초기의 무게에서 건조기에서 완전히 수분을 제거했을 때 무게의 차이)에서 각 처리 시점의 캡슐내 수분무게를 백분율로 환산하여 분석하였다. 선충의 생존은 처리후 캡슐내에 존재하는 선충을 증류수로 수거한 후, 실내온도(약 25°C)에서 1시간 방치후, 살아있는 선충을 조사하였다. 살아있는 선충은 전형적인 “S”자형 움직임을 보이는 유충으로 판별하였다.

알지닌캡슐 살충력검정(실내 시험)

감염태선충이 포함된 알지닌캡슐의 섭식형 살충 능력은 파밤나방과 담배거세미나방에 대해서 이뤄졌다. 살충분석은 직경 9 cm 사육용기에 유충 개체별로 각 처리별 밀도의 선충이 포함된 알지닌캡슐(240 mg 크기)을 1개씩 투여하였다. 시험조건은 상기에 기술한 기주 곤충 사육조건에서 실시되었으며, 24시간 뒤 남아있는 캡슐을 제거하고, 사육용 인공사료로 대체하였

다. 이후 48시간내에 사망한 유충을 수거한 뒤, 다시 5일후 체내 증식된 선충을 확인 후, 선충에 의해 치사한 유충을 판별하였다.

알지닌캡슐 살충력검정(포장 시험)

온실내에서 높이 20 cm로 자란 땅콩 기주에 파밤나방 3령충을 식물체당 100마리씩 접종하였다. 시험구는 각 땅콩 식물체이었으며, 난괴법 3반복으로 설계되었다. 각 기주간에 파밤나방의 이동을 억제하기 위해 직경 0.2 mm 구멍크기의 방충천을 세웠다. 접종된 기주에 20마리의 선충이 함유된 알지닌캡슐을 갯수를 달리하며 농도별 처리하였다. 무처리인 선충이 함유되지 않은 알지닌캡슐을 처리하였다. 조사일에 살아있는 유충수를 관찰 조사하였다.

섭식유인제 추출 및 분석

일정 무게(50 g)의 대상 식물체(파, 배추, 시금치)가 증류수 100 ml과 함께 일반 믹서기를 통해 분쇄되었다. 추출물은 원심분리기(25°C, 5,000 rpm, 40 min)를 통해 상등액이 취하여졌다. 분리된 상등액을 100 ml의 ethyl ether가 포함된 분액깔때기에 넣고, 유기용매층에 녹는 성분이 분리됐다. 이후 ether 분리층은 회전농축기를 이용하여 용매를 증발시킨 후, 최종 추출물을 살균된 시험관에 넣고, 시험에 이용될 때까지 4°C 냉

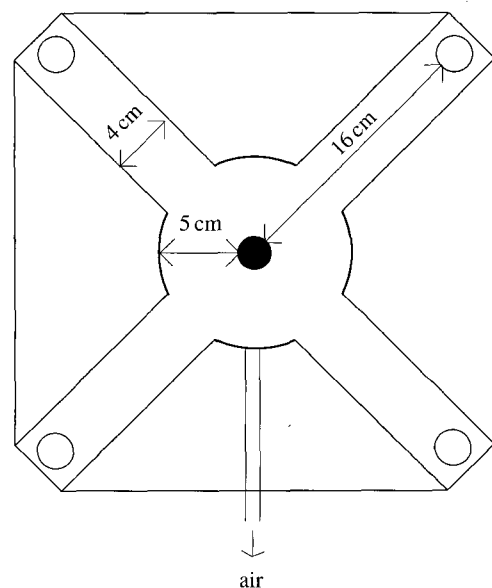


Fig. 1. X-shaped bioassay apparatus used for assessing feeding orientation behavior of *Spodoptera exigua* larvae.

장고에 보관하였다.

추출물에 대한 섭식유인력 분석은 파밤나방 3령충을 대상으로 다음의 X-자형 행동분석기구(Fig. 1)를 이용하여 진행하였다. 매 반복에 50마리의 유충이 이용되었으며, 3반복 시험하였다. 매 반복시 추출물의 위치를 바꿔가면서 실시했다. 이용된 유충은 1시간 절식하였으며, 분석시간은 파밤나방의 섭식시간대중 일부인(Kim and Yeo, 1995) 오후 4시부터 10시 사이에 이뤄졌다. 추출물(식물체 5g 상당)을 알지닌캡슐을 포함한 여과지에 뿌린 후 5분간 추출용매를 휘발시킨 뒤, X-자형의 각 시료 위치에 놓았다. 이후 공시충을 기점에 놓고 20분 동안 움직인 마리수로 검정하였다. 기점으로부터 추출물의 방향쪽으로 6cm가 이동되면, 해당 추출물에 반응한 것으로 판정하였다.

통계분석

알지닌캡슐의 실내 살충력 시험에서 얻은 자료는 반수치사농도(50% lethal concentration: LC₅₀)로 살충력 대표치를 표기하였으며, 이는 Raymond (1985)의 probit 분석법을 이용하여 산출하였다. 백분율 자료의 평균간 비교는 arcsine transformation 후 최소유의차검정법(Least squared difference: LSD)으로 SAS (SAS Institute, 1988)의 PROC GLM을 이용하여 분석하였다.

결 과

알지닌캡슐화 및 살충력

곤충병원선충의 감염태 유충이 알지닌젤을 이용하여 캡슐화되었다. 캡슐화 직후 포획된 감염태 유충을 캡슐로부터 회수한 결과 모두 살아있어, 알지닌캡슐화 과정은 감염태 유충의 생존에 무해했다. 캡슐의 크기도 임의로 조절이 가능했다. 이렇게 형성된 선충 캡슐의 살충능력이 분석되었다(Fig. 2). 개체별로 알지닌캡슐이 처리된 생물검정에서 모든 유충은 알지닌캡슐을 섭식하였다. 이후 살충력은 대상 곤충 두 종 모두에서 알지닌캡슐에 포획된 선충의 농도에 따라 높아졌다. 활발한 5령충이 3령충에 비해 감수성이 높았다. 감염태유충에 기인된 기주 곤충들의 반수치사농도로 보면, 파밤나방 5령충은 31.4마리(95% 신뢰구간: 10.4-48.5)로서 3령충의 107.7마리(95% 신뢰구간: 80.3-

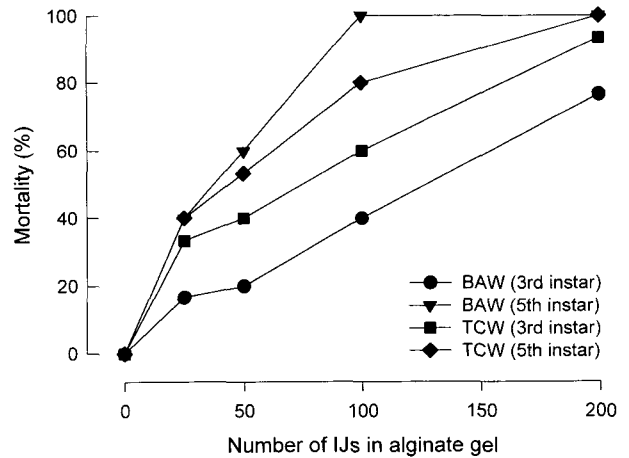


Fig. 2. Edible alginate capsules (240 mg) containing infective juveniles (IJs) of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae*, and their insecticidal activities on the beet armyworm (BAW), *Spodoptera exigua*, and the tobacco cutworm (TCW), *Sp. litura*. Each mortality measurement consisted of 30 larvae, which were assessed at 48h after 1 day feeding treatment.

162.4)에 비해 감수성이 높았다. 이와 유사하게 담배 거세미나방에서도 5령충은 38.0마리(95% 신뢰구간: 20.1-54.4)로서 3령충의 54.6마리(95% 신뢰구간: 29.6-84.8)에 비해 감수성이 높았다.

알지닌캡슐의 보습능력에 미치는 요인 및 저장력

일반적으로 수분이 곤충병원선충의 생존력에 미치는 영향이 크기 때문에 알지닌캡슐 내부의 수분 함량이 포획된 선충의 생존에 미치는 영향이 분석되었다(Fig. 3). 캡슐 내부의 수분 함량이 10% 이상일 경우 선충의 생존력은 80% 이상을 유지하였으나, 10% 이하가 될 경우, 선충의 생존력은 급격히 떨어진다는 것을 알 수 있었다.

알지닌캡슐 내부 수분 함량에 변동을 주는 요인을 분석하기 위해, 알지닌캡슐 제제화 과정에서의 요인과 일반 환경요인들로 나눠서 분석하였다. 알지닌캡슐 제제화 과정에서 모든 요인은 일정하나, citric acid에서의 반응시간은 변동될 수 있다. 실험자의 관찰에 의하면, 보통 반응시간이 길어짐에 따라 젤의 색깔이 투명하여지고, 젤의 강도가 높아진다는 것을 알 수 있었다. 이를 반응 시간별로 나눠서 알지닌캡슐의 보습능력을 비교 분석하였다(Table 1). 야외 노출 시간이 길어짐에 따라 알지닌캡슐 내부 수분함량은 감소하지만, citric acid의 반응시간과는 캡슐의 보습능력이 무관하다는 것을 보였다.

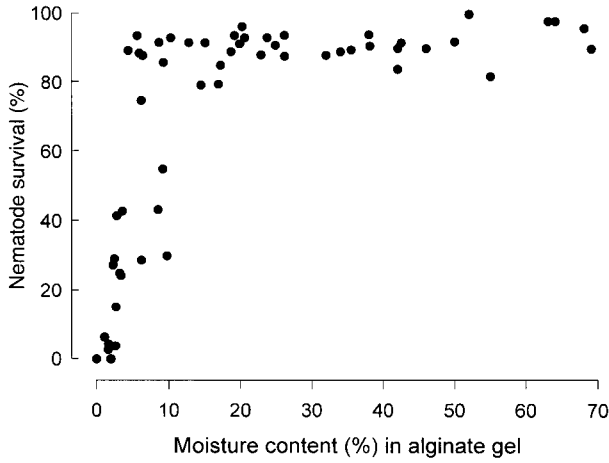


Fig. 3. Relationship between moisture content in alginate capsule and survival of infective juveniles (IJs) of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* in the capsule. Each measurement was made by counting more than 100 IJs. Different sizes (50-500 mg) of the capsules were prepared and exposed to a dry condition (25°C and 65% relative humidity) for 12 h. Moisture content was measured by $\{(\text{the capsule weight just after the treatment} - \text{the capsule weight after complete dry in oven at } 80^{\circ}\text{C for 6 h}) \div \text{the capsule weight just after the treatment}\} \times 100$.

Table 1. Effect of citric acid reaction time during alginate capsule formulation on the water retention capacity of the gel

Exposure time (min)	Reaction time (min) at citric acid	Moisture content Mean \pm SD (%) ¹
60	3	51.35 \pm 3.70a ²
	10	50.95 \pm 1.98a
	20	51.60 \pm 0.31a
90	3	33.07 \pm 3.67a
	10	33.07 \pm 3.70a
	20	33.95 \pm 2.82a
120	3	18.47 \pm 3.55a
	10	17.28 \pm 1.87a
	20	17.79 \pm 2.75a
150	3	7.69 \pm 3.11a
	10	6.73 \pm 1.48a
	20	6.49 \pm 1.44a

¹Measured after exposure at 25°C and 40% RH.

²Means followed by the same letter in each exposure time are not significantly different at $\alpha=0.05$ (LSD test).

제제화된 알지닌캡슐의 크기와 환경조건인 온도와 습도에 따라 보습능력이 비교 분석되었다(Fig. 4). 알지닌캡슐의 크기가 증가함에 따라 보습능력은 증가했고, 온도가 높을수록, 습도가 낮을수록 각각 알지닌캡슐의 보습능력은 감소했다. 그러나, 알지닌캡슐의 감염 태선충 저장력은 캡슐 내부의 습도가 유지된 조건에서(즉, 액침 저온 저장), 조사된 최대 기간인 60일까지 생존능력이 감소하지 않는다($P>0.05$)는 것을 보여주

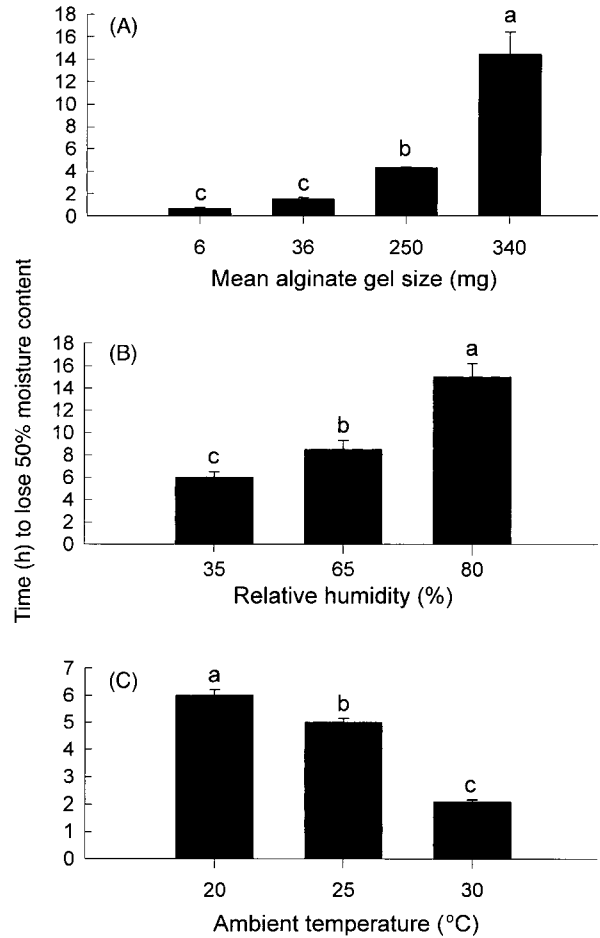


Fig. 4. Effect of three physical parameters on moisture content of the alginate capsule: (A) capsule size at 25°C and 80% relative humidity, (B) relative humidity at 25°C and 340 mg capsule size, and (C) ambient temperature at 35% relative humidity and 340 mg capsule size. Each measurement consisted of 5 replications. Different letters above mean bars in each parameter experiment were significantly different at $\alpha=0.05$ (LSD test).

었다(Fig. 5).

섭식유인력 제고를 통한 알지닌캡슐의 파밤나방 방제 효과

대상 해충의 알지닌캡슐에 대한 섭식력 제고는 살충력을 높이는 결과를 얻을 수 있기 때문에, 파밤나방을 대상으로 섭식유인제가 추출되었다. 우선 이러한 섭식유인제를 자연 기주로부터 추출하였다. 이러한 추출물이 기타 다른 식물체 추출물에 비해 선호도가 높은 지가 섭식행동분석을 통해 이뤄졌다(Table 2). 파추출물은 기타 다른 추출물에 비해 유인력이 높다는 것이 증명되었다. 특히, 무처리된 알지닌캡슐(용매처리

구)에 비해서 월등하게 높다는 것이 보여졌다.

파추출물이 0.2% 포함된 알지닌캡슐을 이용하여 다양한 농도의 감염태선충을 파밤나방이 접종된 온실내 땅콩 밭에 처리하였다. 선충의 처리농도가 높아질수록 파밤나방 유충의 생존율은 낮아지고 방제 효과는 높

아졌다(Table 3). 최고농도의 처리구에서는 처리 후 96 시간이 경과하면 약 90%의 방제효과를 보였다.

고 찰

최근 상용화되고 있는 곤충병원선충의 생물적 방제 응용은 굼벵이류와 같은 주로 지하부 가해 해충을 대상으로 이뤄져왔다(Gaugler and Kaya, 1990; Kaya and Gaugler, 1993). 이러한 이유는 곤충병원선충의 자연계 서식처가 지하부이고, 지상부에 노출될 경우 건조 및 자외선 등에 감수성이 높아 적용하는 데 어려움이 있다. 이로 인하여, 지상부 해충에도 이러한 곤충병원선충을 이용한 방제 기술을 접목시키려는 시도가 다양한 방향으로 시도되었다. 우선, 유전적으로 건조에 내성을 보이는 계통을 선발하려는 시도가 있었다(Glazer and Navon, 1990). 또한 내건제를 포함하여 건조에 내성을 지니게 하려는 시도가 있었다(Glazer *et al.*, 1992; Georgis and Manweiler, 1994). 이러한 기술들을 포함하여, 제한된 지역에서 하루중 특정한 시각에 살포함으로써 감염태선충의 생존력을 극대화시키려는 기술도 개발되었다(Lee *et al.*, 2000a). 그러나, 이러한 기술들 모두는 시공간적으로 제약점을 내포하고 있다. 이를 해결하기 위해서는 감염태선충의 마이크로캡슐 기술이 요구되었다. 본 연구에서는 이러한 제제화 기술의 일환으로 섭식형 알지닌캡슐의 개발에 목적을 두었다.

국내에서 분리된 곤충병원선충인 *Steinernema carpocapsae*이 Navon *et al.* (1998)의 알지닌캡슐 제제화 기술에 의해 마이크로캡슐화되었다. 이 알지닌캡슐은 파밤나방과 담배거세미나방에 대해 섭식 살충력을 발휘하였다. 치사된 유충의 내부에서는 감염태선충 및

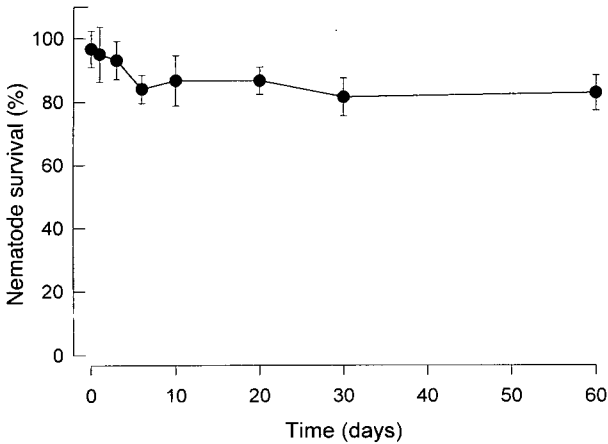


Fig. 5. Nematode storage capacity of the alginate capsule. Each capsule contained more than 100 infective juveniles of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae*. The capsules were kept in distilled water at 15°C. Each nematode survival was measured with three replications.

Table 2. Feeding orientation responses of the 3rd instar larvae of *Spodoptera exigua* on different host extracts assessed by X-shaped behavior assay

Source of extracts	Orientation responses (%) ¹ Mean ± SD
Welsh onion	54.7 ± 9.1a ²
Oriental cabbage	24.3 ± 1.3b
Spinach	2.8 ± 0.5c
Ethyl ether (extracting solvent)	1.3 ± 0.5c

¹Measured by 50 larvae with 6 replications. No behavioral response that did not show any orientation was recorded as 13.7 ± 4.9%.

²Means followed by different letters are significantly different at $\alpha = 0.05$ (LSD test).

Table 3. Control efficacy of alginate capsules containing infective juveniles (IJs) of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* on the third instar larvae of *Spodoptera exigua* infesting peanut plants¹

Number of alginate capsules ²	Density of <i>S. exigua</i> larvae/plant	Survival (%) Mean ± SD		Control efficacy (%) Mean ± SD	
		48 h	96 h	48 h	96 h
0	100	57.0 ± 2.0a ³	51.0 ± 2.0a	—	—
10	100	33.0 ± 3.6b	23.7 ± 5.7b	70.8	53.6
20	100	26.7 ± 1.5c	18.0 ± 4.4c	53.2	64.7
40	100	16.6 ± 1.5d	8.0 ± 2.0d	70.8	84.3
80	100	16.6 ± 1.5d	5.3 ± 0.6d	70.8	89.6

¹Randomized block design with 3 replications.

²20 IJs per capsule (340 mg).

³Means followed by different letters at each column were significantly different at $\alpha = 0.05$ (LSD test).

이를 통한 차세대 발육이 확인되었다. 즉, 이들 해충이 알지닌캡슐의 섭식을 통해 감염태선충이 장내로 들어오게 되고, 일단 침입된 감염태선충은 해충의 장벽을 뚫고, 혈강내로 침입하여 자신들이 보유하고 있는 면역억제 및 살충 기작을 통해 궁극적으로 기주를 치사하게 했다(Kim and Park, 1998)고 추정할 수 있다. 이러한 살충 기작에 중요한 원인이 바로 알지닌캡슐이 보유하고 있는 섭식유도 물질인데, 이는 알지닌캡슐 내에 포함된 yeast extract가 이들 해충의 섭식유인제로 작용하였기 때문인 것(Navon et al., 1998)으로 추정된다. 이러한 살충 기작 때문에 섭식 능력이 높은 5령충은 더 많은 알지닌캡슐을 섭취하게 되어, 이는 더 많은 감염태선충을 장내로 침입시키게 되는 결과를 초래하여, 섭식능력이 낮은 3령충에 비해 낮은 농도의 알지닌캡슐 처리에도 높은 병원력을 나타내었다. 이러한 경향은 두 해충 모두에서 입증되었다.

제제화된 알지닌캡슐이 야외조건에서 어느 정도 감염태선충을 보호할 수 있는 지가 이 캡슐을 보습능력이라는 물리적 성질 분석을 통해 살펴보았다. 일반적으로 감염태선충의 생존능력은 주변의 수분 함량에 따라 결정되는데, 본 연구에서도 알지닌캡슐 내부의 수분 함량에 따라 감염태선충의 생존능력이 달라진다는 것을 알 수 있었다. 캡슐 내부에 10% 이하의 수분이 존재할 경우 감염태선충의 생존 능력은 급격하게 저하된다는 것을 알 수 있었다. 이러한 캡슐내 수분 함량 변동인자로서 본 연구에서는 캡슐의 크기, 습도 및 온도에 따라 결정되어진다는 것을 보여주었다. 그러나, 캡슐의 형성과정에서 변동인자가 될 수 있는 citric acid와의 반응시간은 캡슐의 보습능력과는 무관하였다. 이러한 결과를 종합하여 보면, 약 340 mg 크기의 알지닌캡슐이 25°C, 80% 상대습도에서 50%의 내부 수분을 잃게 되는 데는 약 15시간 이상을 견딜 수 있다는 결과로서, 치사한계인 10% 이하가 될 때까지는 24시간 이상을 견딜 수 있음을 제시하고 있다. 즉, 여름철 오후 파밤나방과 담배거세미나방들의 가해가 시작되는 시각에(Kim and Yeo, 1995) 감염태선충을 제제화한 알지닌캡슐이 이들 해충이 발생된 포장에 살포될 경우, 다음 날 섭식이 종료되는 오전까지 캡슐 내부에 선충의 생존이 보장되기 때문에 살충력을 보유한 유효한 제제 형태로서 작용할 수 있음을 내포하고 있다.

알지닌캡슐의 저장능력은 캡슐내에 수분 함량이 중요한 변수이기 때문에 수분저장을 고려하였다(Fig. 5).

증류수에 액침하여 저장할 경우 60일까지 생존력의 변화 없이 저장된다는 결과를 얻었다. 외국의 자료를 보면 알지닌캡슐의 경우 실내온도에서 3-4개월, 저온에서 6-9개월을 지속할 수 있다고 하였는 데(Grewal, 1998), 본 연구결과에서는 실내조건에서 훨씬 낮은 생존력을 보여(미보고 자료) 차이점을 나타냈다.

본 연구는 이러한 알지닌캡슐에 섭식유인력을 보강시켜 더욱 효율적인 제제를 만들기 위해 파밤나방을 대상으로 섭식유인제를 개발하고 이를 캡슐에 포함시켜 이 해충에 대한 살충력을 제고시키려 했다. 파밤나방의 주요 기주인 파에서 추출물을 얻었다. 이를 파밤나방의 다른 기주 추출물과 유인력에서 비교하였다. 이때 대조구로서는 이러한 유인물이 포함되지 않은 알지닌캡슐 단독을 비교하였다. 이러한 결과 파 추출물은 다른 기주의 추출물에 비해 유인력이 높았고, 알지닌캡슐 단독에 비해 월등하게 우수하였다고 판명되었다. 이러한 결과를 이용하여 파추출물이 함유된 알지닌캡슐을 포장조건에 적용하였고, 분석된 최대 농도에서 약 90% 방제 효과를 나타내었다.

이상의 결과는 알지닌캡슐을 이용한 곤충병원선충의 제제화는 섭식형 살충기작을 발휘할 수 있으며, 대상 해충에 특이적 섭식유인제가 포함될 경우 이러한 섭식 살충기작을 제고시켜, 실제 지상부 해충을 방제하기 위한 기술로서 포장에 적용할 수 있는 제제 형태임을 제시하고 있다.

사 사

본 연구는 농림부에서 시행한 농림수산특정연구사업에 의해서 수행되었다.

Literature Cited

- Gaugler, R. and H.K. Kaya. 1990. Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Boca Raton, FL. 365 pp.
- Georgis, R. 1990. Formulation and application technology. In Entomopathogenic nematodes in biological control, Eds. R. Gaugler and H.K. Kaya. pp. 173-s194. CRC, Boca Raton, FL.
- Georgis, R. and S.A. Manweiler. 1994. Entomopathogenic nematodes: a developing biocontrol technology. pp. 63-94. In Agricultural zoology reviews, ed. by K. Evans. Intercept, Andover.
- Gho, H.G., S.G. Lee, B.P. Lee, K.M. Choi and J.H. Kim. 1990. Simple mass-rearing of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), on an artificial diet. Korean J. Appl. Entomol. 29: 180-183.
- Glazer, I., M. Klein, A. Navon and Y. Nakache. 1992. Comparison of efficacy of entomopathogenic nematodes combined with

- antidesiccants applied by canopy sprays against three cotton pests (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 85: 1636~1641.
- Glazer, I. and A. Navon. 1990. Activity and persistence of entomopathogenic nematodes tested against *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 83: 1795~1800.
- Grewal, P.S. 1998. Formulations of entomopathogenic nematodes for storage and application. *Jpn. J. Nematol.* 28: 68~74.
- Han, S., S. Lee and Y. 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.
- Kaya, H.K., C.M. Annion, T.M. Burkando and C.E. Nelson. 1987. Escape of *Steinernema feltiae* from alginate capsules containing tomato seeds. *J. Nematol.* 19: 278~291.
- Kaya, H.K. and R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. *Annu. Rev. Entomol.* 38: 181~206.
- Kaya, H.K. and C.E. Nelson. 1985. Encapsulation of steinerematid and heterorhabditid nematodes with calcium alginate: a new approach for insect control and other applications. *Environ. Entomol.* 14: 572~574.
- Kim, Y. and Y. Park. 1998. Insecticidal mechanism of entomopathogenic nematodes. *J. ANU Ag-Biotech.* 5: 1~22.
- Kim, Y. and K. Yeo. 1995. Study on the feeding behavior of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner). *J. ANU Ag-Biotech.* 2: 9~15.
- Lee, S., Y. Kim and S. Han. 2000a. Leaf spray control efficacy of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* Weiser, supplemented with the selected antidesiccant, Keltrol-F, on the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner). *Korean J. Appl. Entomol.* 39: 199~205.
- Lee, S., Y. Kim and S. Han. 2000b. Cryopreservation of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* Weiser. *Korean J. Appl. Entomol.* 39: 149~152.
- Lee, S., Y. Kim and S. Han. 2000c. An improved collecting method of the infective juveniles of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* Weiser. *Korean J. Soil Zool.* 5: 97~100.
- Navon, A., S. Keren, L. Salame and I. Glazer. 1998. An edible-to-insects calcium alginate gel as a carrier for entomopathogenic nematodes. *Biocon. Sci. Tech.* 8: 420~437.
- 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., Y. Kim, Y. Yi and S. Han. 1998. Optimal storage conditions of the entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae*. *Korean J. Soil Zool.* 3: 10~16.
- 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. 1988. SAS/STAT User's Guide, Release 6.03. Ed. Cary, N.C.

(Received for publication 27 December 2002;
accepted 11 April 2003)