

# 인공사료를 이용한 네눈썹가지나방(*Ascotis selenaria*) (나비목: 자나방과) 실내 사육법

최경산 · 박영미<sup>1</sup> · 김동순<sup>2\*</sup>

농촌진흥청 국립원예특작과학원 온난화대응농업연구센터, <sup>1</sup>국립식물검역원 중부지원, <sup>2</sup>제주대학교 생명자원과학대학 식물자원환경전공

## Rearing Method for *Ascotis selenaria* (Lepidoptera: Geometridae) using an Artificial Diet

Kyung San Choi, Young Mi Park<sup>1</sup> and Dong Soon Kim<sup>2</sup>

Agricultural Research Center for Climate Change, National Institute of Horticultural & Herbal Science, Rural Development Administration, 690-150

<sup>1</sup>Jungbu Regional Office, National Plant Quarantine Service, 433-1

<sup>2</sup>Majors in Plant Resource Sciences & Environment, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea.

**ABSTRACT:** This study was conducted to develop an artificial diet for the mugwort looper, *Ascotis selenaria* (Lepidoptera: Geometridae), which is an insect pest to leaves of citrus (*Citrus unshiu*). Corn and soybean powder were selected as main nutrient sources for larvae of *A. selenaria* after several diets consisted of wheat germ, corn, kidney bean and/or soybean were tested for larval development and survival. A higher amount of the main nutrients in the diet increased the larval survivorship. Addition of yeast and cholesterol in diet increased the larval survivorship. Finally the composition of diet was decided as followings; corn 100 g, soybean 100 g agar 25 g, Brewers' yeast 30 g, cholesterol 0.5 g, Vanderzant vitamin mixture 2 g, Wesson's salt mixture 2 g, sorbic acid 2 g, ascorbic acid 2 g, and methyl-4-hydroxybenzoate 2.5 g, and distilled water 1 liter. Development periods of larvae and pupae, survival rate and fecundity of *A. selenaria* reared on the diet were not significantly different with those on the host plant, citrus leaves. Larvae of early instars were reared in a group, while larvae of later instars (5-6th) were reared individually. Adult mating was conducted in a plastic cage and an oilpaper covered with a gauze was provided as an oviposition site.

**Key words:** *Ascotis selenaria*, Artificial diet, Mass rearing, Citrus, Oviposition

**조 록:** 본 연구는 감귤에 발생하는 해충인 네눈썹가지나방의 실내 사육용 인공사료를 개발하고자 수행하였다. 인공사료의 주 재료로 옥수수과 메주콩을 조합한 사료에서만 정상적으로 발육하였으며, 옥수수와 메주콩의 전체 함량이 높은 사료에서 유충 생존성이 높았다. 효모와 콜레스테롤을 인공사료에 첨가하였을 때, 유충 발육기간은 짧아지고, 생존율은 높은 것으로 나타났다. 발육기간, 누적 생존율, 산란량에 차이는 인공사료와 감귤 잎을 먹은 개체들 간에 없었다. 최종적으로 네눈썹가지나방 사육에 최적인 인공사료 조성은 물 1 L당 환천 25 g, 옥수수 100 g, 메주콩 100 g, 효모 30 g, 콜레스테롤 0.5 g, 비타민혼합물(Vanderzant vitamin mix.) 2 g, 염혼합물(Wesson's salt mix.) 2 g, 소르브산 2 g, 메틸과라벤(methyl-4-hydroxybenzoate) 2.5 g, 아스코르브산 2 g이었다. 사육법으로 유충은 플라스틱 원형용기(φ90×40 mm) 안에서, 갓 부화 유충부터 4령까지는 40마리씩 집단으로, 5령과 6령은 개체별 사육하였다. 성충들에는 10% 설탕물을 먹이로 하여 플라스틱 상자 안(25×25×25 cm)에서 암컷 3마리와 수컷 5~6마리가 교미하도록 했고, 난괴는 거즈(눈 크기 1 mm)를 붙인 기름종이에 받았다. 기타 인공사료로 사육한 네눈썹가지나방의 발육단계별 형태적 특징에 대하여 기술하였다.

**검색어:** 네눈썹가지나방, 인공사료, 대량 사육, 감귤, 산란

\*Corresponding author: dongsoonkim@jeju.ac.kr

Received February 1 2011; Revised March 12 2011;

Accepted March 15 2011

네눈썹가지나방(*Ascotis selenaria* Schiffenmüller)은 감귤(*Citrus unshiu*), 사과(*Malus pumila*), 콩(*Glycine max*), 당근(*Daucus carota*) 등 작물을 가해하는 해충으로 전 세계적으로 분포하고 있다(Kim and Beljaev, 2001). 제주도 감귤에는 자나

방과 해충으로 네눈썹가지나방과 줄고온가지나방(*Ectropis excellens*)이 주로 발생하고 있으며, 특히 네눈썹가지나방은 감귤 잎 외에도 과실을 가해하기 때문에 경제적 피해가 크다. 그 외 노랑띠알락가지나방(*Biston panterinaria*), 먹그림가지나방(*Menophra senilis*), 남방갈고리나방(*Odontopera arida*) 등이 드물게 발생하고 있다.

경제적 피해를 유발하는 곤충의 방제수단을 강구하기 위해서는 생활사, 행동, 섭식, 산란 등 해당 곤충의 생물학적 속성이 파악되어야 하고, 이런 연구를 위해 실험곤충이 지속적으로 공급되어야 한다. 실험곤충은 인위적인 사육을 통해 얻어질 수 있는데, 곤충을 사육하기 위한 방법으로 곤충의 기주식물을 이용하거나 식물의 분말가루를 이용한 인공사료를 사용하는 경우가 있다. 지금까지 네눈썹가지나방은 식물의 분말가루가 함유된 누에나방 반인공사료인 Insecta LF(S)를 이용하여 사육한 것으로 기록되어 있다(Ando *et al.*, 1997). 그러나 기주식물이나 식물분말가루는 취득이 용이하지 않거나 경제성이 문제가 되는 경우가 있다. 따라서 Dougherty(1959)가 정의한 곤충사료 중에서 곤충의 발육에 필요한 영양원이 풍부하고 쉽게 구할 수 있는 재료인 두류, 옥수수, 밀배아 등을 사용한 인공사료인 혼합사료(meridic diet)가 곤충사육에 많이 이용되고 있다.

곤충의 인공사료는 Bogdanow가 1908년 검정파리(*Calliphora vomitoria*) 사육에 처음 이용하였다고 보고되었는데(Cohen, 2003), 이후 Adkisson *et al.*(1960)이 목화다래나방(*Pectinophora gossypiella*) 사육에 밀배아(wheat germ)를 사용하면서 100종 이상의 곤충이 밀배아 기반 인공사료로 사육되고 있다(Cohen, 2003; Vanderzant, 1974). Shorey(1963)는 밀배아 대신 리마콩(*Phaseolus limensis*)을 함유한 간단한 인공 사료를 만들어 양배추은무늬밤나방(*Trichoplusia ni*)을 사육하였고, 콩 기반 사료로 9종의 밤나방 중에서 7종이 3세대 이상 사육이 가능하다고 보고하였다(Shorey and Hale, 1965).

본 연구는 네눈썹가지나방의 기초연구에 필요한 개체군을 확보하기 위하여 실내 대량 사육이 가능한 인공사료를 개발하고자 수행하였으며, 선발된 옥수수와 메주콩을 기본으로 인공사료에 다양한 성분을 조합하여 만든 처리들이 네눈썹가지나방의 발육 및 형태적 특징에 미치는 영향에 대하여 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 실험곤충

인공사료 선발 시험에 사용한 네눈썹가지나방(*Ascotis selenaria*)은 2007년 4월에 제주도 서귀포시 하례리에 소재한 감귤(한라

봉) 시설하우스에서 5~6령 유충을 채집하여 실내 사육실 온도 25±1℃, 상대습도 40~60%, 광 16L:8D 조건에서 감귤 잎으로 사육된 개체이다. 이후, 본 연구에서 최종 선발된 인공사료를 먹이로 네눈썹가지나방을 지속 사육하였고, 매년 부정기적으로 야외 개체를 투입하여 사육하였다. 기주식물인 감귤(*Citrus unshiu*) 잎과 인공사료와의 비교 시험에는 2010년까지 인공사료로 사육된 개체를 사용하였다.

### 인공사료 조성성분 및 제조

증류수 1 L를 끓여 한천(agar) 25 g을 넣어 녹인 후 주성분인 옥수수 100 g, 메주콩 100 g, 효모(Brewers' yeast) 30 g을 넣고 교반기로 고르게 섞었다. 주성분 혼합물의 온도가 약 50℃ 이하가 되었을 때, 보조성분인 비타민 혼합물(Vanderzant vitamin mix.) 2 g, 무기염 혼합물(Wesson's salt mix.) 2 g, 콜레스테롤(본 시험에서 A-6와 A-7 사료에만 첨가됨) 0.5 g과 사료의 부패방지 및 항산화 목적으로 소르브산 2 g, 메틸파라벤(methyl-4-hydroxybenzoate) 2. g, 아스코르브산 2g를 첨가하였다. 모든 성분이 고르게 섞인 혼합물은 플라스틱 용기(20×30×8 cm)에 옮겨 응고 시킨 후 냉장 보관하였다.

시험에 사용된 인공사료 재료 중 옥수수, 메주콩, 강낭콩(kidney bean)은 시중에서 건조된 종자를 구입하여 가루 상태로 만들어 사용하였고, 밀배아(Wheat germ, BIO-SERV)를 제외한 다른 재료는 시그마(Sigma)에서 구입하였다.

### 인공사료 성분 선발

네눈썹가지나방 사육에 적합한 주재료를 선발하기 위하여 옥수수, 메주콩, 강낭콩, 밀배아를 조합한 6종 인공사료를 Table 1과 같이 제작하였다. 감귤 잎으로 사육된 3령기 유충을 각각의 먹이가 든 원형용기(직경 90 mm, 높이 40 mm, SPL co.)에 5마리씩 접종하였고, 이후 6령 유충들은 개별 사육하였다. 매일 오전 10:00~12:00에 탈피 및 생존 여부를 조사하였는데, 이때 먹이를 더해주거나 새로 교체하였다. 각 처리별로 유충과 용기 기간 및 생존율을 조사하였고, 용화 2~3일 후 용 무게를 측정하였다.

주성분으로 선발된 옥수수와 메주콩 기반의 인공사료 A에서 주성분의 함량과 효모와 콜레스테롤, 비타민, 무기염류, 아스코르브산 등 보조성분의 첨가를 달리한 7가지 사료들을 Table 2와 같이 만들었다. 갖 부화한 유충을 각각의 사료가 들어있는 원형용기(직경 90 mm, 높이 40 mm, SPL co.)에 40마리씩 접종하였고, 유충이 3령이 되었을 때 사육컵(약 30 ml, BIO-

**Table 1.** Composition of main nutrients in six kinds of artificial diets tested for rearing larvae of *Ascotis selenaria*

Major ingredient (Each 100 g)	Diet combination					
	A	B	C	D	E	F
Corn	○	○			○	
Wheat germ			○	○	○	○
Soybean	○			○		
Kidney bean		○	○			

As common components, agar 25 g, yeast 30 g, vitamin mix. 2 g, salt mix. 2 g, sorbic acid 2 g, methyl-4-hydroxybenzoate 2.5 g, and ascorbic acid 2 g, and distilled water 1 liter were added into each diet.

**Table 2.** Composition of nutrients in artificial diets examined for rearing larvae of *Ascotis selenaria*

Ingredient	Diet combination (g)							
	A-1	A-2	A-3	A-4	A-5	A-6	A-7	A
Corn	100	50	100	100	100	100	100	100
Soybean	100	100	50	100	100	100	100	100
Yeast	0	0	0	30	30	0	30	30
Cholesterol	0	0	0	0	0	0.5	0.5	0
Vitamin mix.	2	2	2	0	2	2	2	2
Salt mix.	2	2	2	0	2	2	2	2
Ascorbic acid	2	2	2	0	0	2	2	2

As common components, agar 25 g, sorbic acid 2 g, methyl-4-hydroxybenzoate 2.5 g, and distilled water 1 liter were added into each diet.

SERV)에 옮겨 개별사육 하였다. 한편 위의 실험에서 다른 성분들을 고정하고 효모와 콜레스테롤의 첨가를 달리한 A-6(콜레스테롤 첨가), A-7(효모와 콜레스테롤 첨가), A(효모 첨가)를 선택하여 이 두 성분이 유충 발육에 미치는 영향을 다시 조사하였다. 이때 이전까지 사용했던 사육컵의 크기가 6령 유충의 몸길이보다 작아 정상적인 용화과정에 악영향이 있는 것 판단되어 부화 1령 유충부터 성충이 될 때까지 같은 원형용기에서 사육하였다. 부화한지 1일된 1령 유충을 40마리씩 원형용기에 접종하였고, 탈피한 개체들은 새로운 원형용기에 옮겨 사육하다가, 5령부터는 개별 사육하였다. 조사 시간과 항목은 위에 기술된 내용과 동일하였다.

마지막으로 선발된 인공사료(A-7)와 감귤의 잎(여름에 발생하는 경화되기 전의 어린 잎)으로 갓 부화한 유충을 각각 사육하여 유충과 발육상태를 비교하였다. 갓 부화한 유충을 약 60마리씩 4반복으로 각각의 먹이가 들어 있는 원형용기에 접종하였고, 다음날 먹이를 먹지 않는 개체 및 사망한 개체는 제거하였다. 기타 사육방법 및 조사시간과 항목은 위에 기술된 것과 동일하게 수행하였다. 산란실험에서는 각 처리별로 우화한 지 1일된 암컷 한 마리와 1~3일된 수컷 두 마리를 아크릴 산란상자(15×15×15 cm)에 넣어 교미시켰는데, 암컷 생존기간 동안 산란한 총수를 조사하였다. 처리 당 15반복으로 수행하였고,

성충먹이로 10% 설탕 혼합물을 제공하였다.

## 형태와 산란습성 관찰

네눈썹가지나방의 알, 유충, 번데기, 성충의 크기를 캘리퍼스(Mitutoyo co., Japan)와 현미경 시스템(Leica MZI16A, Leica Microsystems Ltd., Hongkong, China)을 이용하여 측정하였다. 알은 장폭과 단폭, 유충은 탈피한지 1일된 개체의 두피 폭과 몸 전체 길이를, 번데기는 용화한지 2~3일된 개체의 몸길이와 폭을, 성충은 우화 1일 후 개체의 몸길이와 날개 편 길이를 측정하였다. 이외에 채색과 무늬 등 다른 형태적 특징을 관찰하여 기술하였다.

산란습성을 조사하고자 아크릴 산란상자(25×25×25 cm)에 교미하지 않은 암컷성충 3마리와 수컷성충 5마리를 넣어주었다. 산란매질로는 거즈(크기 8×8 cm; 눈 크기 1 mm), 수직방향으로 주름 잡힌 기름종이(크기 8×8 cm; 높이 1 cm), 수평방향으로 주름 잡힌 기름종이(폭 1 cm × 길이 8 cm)의 3종류를 준비하여 이들을 함께 커다란 기름종이(22×22×22 cm)에 임의로 배열하여 부착하였다. 산란매질들이 배열된 기름종이를 3개 준비하여 산란상자 내부 3면(좌, 우, 후)에 각각 부착하였다(Fig. 2a). 산란매질에 따른 산란유무와 산란행동을 관찰하여 기술하였다.

## 통계분석

통계분석은 SAS(SAS Institute, 2006)를 이용하여 분산분석을 수행하였으며 평균간 비교는 유의수준 5%에서 던칸의 다중검정법(Duncan's multiple range test)을 이용하여 실시하였다. 두 처리평균 간 비교는 *t*-검정을 적용하였다. 또한 생존율 자료는 Fisher's Exact Test(Langsrud, 2004)를 적용하였다.

## 결과

### 인공사료 조성

옥수수, 강낭콩, 메주콩, 밀배아의 조합을 달리한 인공사료에 3령 유충을 각각 접종하고 발육 및 생존율을 조사한 결과, 용 발육기간은 차이가 없었고( $F=2.47$ ;  $df=2, 37$ ;  $P=0.0987$ ), 유충 발육기간( $F=52.01$ ;  $df=4, 46$ ;  $P<0.0001$ )과 용무게( $F=$

$7.95$ ,  $df=3, 41$ ;  $P=0.0003$ )에 유의한 차이가 있었다(Table 3). 유충의 발육기간과 생존율은 옥수수와 메주콩 조합인 인공사료 A가 대조구인 감귤 잎을 먹이로 공급한 것과 비슷하였다. 그러나 그 외의 조합으로 만든 사료에서는 유충의 발육이 이루어지지 않거나 매우 낮은 생존율을 보였고, 유일하게 성충 우화까지 발육이 가능했던 사료 C의 경우에도 누적생존율이 6.7%로 매우 낮은 생존율을 보였다.

선발된 인공사료 A의 구성성분 조성을 달리하여(Table 2), 네눈썹가지나방의 발육 및 생존에 미치는 영향을 조사한 결과, 인공사료 조성 성분에 따라 네눈썹가지나방 유충 발육기간( $F=15.79$ ;  $df=6, 169$ ;  $P<0.0001$ )과 용무게( $F=5.45$ ;  $df=6, 145$ ;  $P<0.0001$ )에 통계적으로 유의한 차이가 있었고, 용 발육기간은 A-2사료가 다른 사료를 먹은 개체들에 비하여 짧은 것으로 나타났다( $F=8.69$ ;  $df=6, 100$ ;  $P<0.0001$ ) (Table 4). 옥수수와 메주콩 함량비율을 달리한 사료들에서 옥수수와 메주콩의 전체 양이 많았던 A-1사료에서 유충 생존율이 높았고, 옥수수나

**Table 3.** Development time, survival rates and pupal weight of *Ascotis selenaria* reared on the artificial diets composed with corn, soybean, kidney bean and wheat germ diets in Table 1

Diet	No. of larvae examined	Developmental time (days)				Survival (%)			Weight of pupae (g)
		n	Larvae	n	Pupae	Larvae	Pupae	Cumulative	
Citrus leaf	25	25	14.2 a <sup>1</sup>	25	10.3 a	100.0	100.0	100	0.48 a
A	15	14	13.5 a	14	11.0 a	93.3 <sup>(ns)3</sup>	100.0 <sup>(ns)</sup>	93.3 <sup>(ns)</sup>	0.50 a
B	15	6	19.0 b	0	- <sup>2</sup>	40.0 <sup>(***)</sup>	0.0 <sup>(***)</sup>	0.0 <sup>(***)</sup>	0.27 b
C	15	4	25.0 c	1	10.0 a	26.7 <sup>(***)</sup>	25.0 <sup>(**)</sup>	6.7 <sup>(***)</sup>	0.30 b
D	15	0	-	0	-	0.0 <sup>(***)</sup>	0.0 <sup>(***)</sup>	0.0 <sup>(***)</sup>	-
E	15	2	22.0 b	0	-	13.3 <sup>(***)</sup>	0.0 <sup>(**)</sup>	0.0 <sup>(***)</sup>	-
F	15	0	-	0	-	0.0 <sup>(***)</sup>	0.0 <sup>(***)</sup>	0.0 <sup>(***)</sup>	-

<sup>1</sup> Means followed by same letters in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at  $p=0.05$ .

<sup>2</sup> No survival.

<sup>3</sup> Fisher's Exact Test comparing the citrus leaf with each diet was applied for all % survival data (ns, not significant; \* $P<0.05$ ; \*\* $P<0.01$ ; \*\*\* $P<0.001$ ).

**Table 4.** Development time, survival rates, and pupal weight of *Ascotis selenaria* larvae reared on the artificial diet A and its modification diets in table 2

Diet	No. of larvae examined	Developmental time (days)				Survival (%)			Weight of pupae (g)
		n	Larvae	n	Pupae	Larvae	Pupae	Cumulative	
A-1	120	21	30.8 a <sup>1</sup>	14	13.3 a	17.5 <sup>(ns)3</sup>	66.7 <sup>(ns)</sup>	11.7 <sup>(ns)</sup>	0.45 c
A-2	120	3	32.0 a	3	8.3 b	2.5 <sup>(***)</sup>	100.0 <sup>(ns)</sup>	2.5 <sup>(***)</sup>	0.58 ab
A-3	120	8	32.4 a	5	12.8 a	6.7 <sup>(***)</sup>	62.5 <sup>(ns)</sup>	4.2 <sup>(**)</sup>	0.51 abc
A-4	120	0	- <sup>2</sup>	0	-	-	-	-	-
A-5	120	38	25.5 c	20	12.9 a	31.7 <sup>(ns)</sup>	52.6 <sup>(ns)</sup>	16.7 <sup>(ns)</sup>	0.55 abc
A-6	120	45	28.2 b	32	12.6 a	37.5 <sup>(*)</sup>	71.1 <sup>(ns)</sup>	26.7 <sup>(*)</sup>	0.49 bc
A-7	122	28	25.5 c	19	13.3 a	23.0	67.9	15.6	0.63 a
A	124	27	26.7 bc	14	13.3 a	21.8 <sup>(ns)</sup>	51.9 <sup>(ns)</sup>	11.3 <sup>(ns)</sup>	0.61 ab

<sup>1</sup> Means followed by same letters in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at  $p=0.05$ .

<sup>2</sup> No survival.

<sup>3</sup> Fisher's Exact Test comparing the diet A-7 with each diet was applied for all % survival data (ns, not significant; \* $P<0.05$ ; \*\* $P<0.01$ ; \*\*\* $P<0.001$ ).

메주콩 함량이 반이었던 A-2사료와 A-3사료에서 유충의 생존율이 매우 낮았다. 효모와 콜레스테롤 성분이 없는 A-1사료는 효모가 첨가된 A와 A-5사료나 콜레스테롤이 첨가된 A-6사료에 비해 유충기간이 현저히 길었다. 비타민과 무기염이 첨가되지 않은 A-4사료의 경우 유충의 생존이 불가능하였고, 아스코르브산이 첨가된 A사료와 첨가되지 않은 A-5사료 사이에 유충 발육기간이나 생존율에 차이는 없었다. 그런데 위 실험에서 유충 사망률이 높아 효모와 콜레스테롤이 포함된 사료 사이의 비교가 충분하지 않다고 판단되어, 사육용기를 바꾸어 두 성분에 대한 영향을 다시 검정하였다. 효모와 콜레스테롤을 모두 첨가한 A-7사료가 효모만 첨가한 A사료나 콜레스테롤만 첨가한 A-6사료보다 유충 발육기간 크게 증진되었고( $F = 60.41$ ;  $df = 2, 269$ ;  $P < 0.0001$ ), 누적 생존율도 높았다 (Table 5).

최종적으로 선발된 인공사료 A-7과 기주식물인 감귤 잎으로 사육된 개체들 간의 발육 비교 결과(Table 6), 두 처리 간 발육기간에 통계적인 차이가 없었고(유충 기간,  $t = 1.68$ ;  $df = 211$ ;  $P = 0.0954$ , 용 기간,  $t = 0.08$ ;  $df = 166.1$ ;  $P = 0.9395$ ), 생존율은 용에서만 유의한 차이가 있었고, 유충과 누적 생존율에는 차이가 없었다(유충 생존율,  $t = 1.2$ ;  $df = 6$ ;  $P = 0.276$ , 용 생

존율,  $t = 3.4$ ;  $df = 6$ ;  $P = 0.0146$ , 누적 생존율,  $t = 2.11$ ;  $df = 6$ ;  $P = 0.0792$ ). 용무게는 인공사료로 사육된 개체들이 유의하게 더 무거웠으나, 산란수에는 차이가 없었다(용무게,  $t = 2.21$ ;  $df = 119$ ;  $P = 0.0287$ , 산란수,  $t = 1.12$ ;  $df = 24$ ;  $P = 0.0664$ ).

### 발육단계별 형태적 특징

네눈썹가시나방의 알은 타원형 모양으로 폭이 0.46 mm이고, 길이가 0.73 mm였다. 주로 녹색의 알이 난괴로 산란 되는데, 드물게 청색이나 살색 알이 산란되는 경우도 있었다. 배자발육이 진행되면서 알 일부가 흰색으로 보이다가 부화 전에는 검은 줄무늬를 갖는 유충이 U자형으로 알 안에 있는 모습이 외부에서 관찰되었다(Table 7; Fig. 1. E1, E2).

부화한 1령 유충은 몸길이가 약 2 mm였고, 두 폭은 약 0.3 mm였다(Table 7). 머리부분이 황갈색을 띠고 있고 몸통은 흰색바탕에 머리에서부터 복부 끝까지 이어진 두꺼운 검은 줄이 2개가 있었다(Fig. 1. L1). 2령 유충은 몸길이가 약 5.5 mm, 두 폭은 약 0.5 mm였다. 1령 유충 때 있던 검은 줄무늬가 없고 체색은 회색을 띠었다. 3령 유충은 몸길이가 약 9 mm, 두 폭은 0.9 mm

**Table 5.** Effect of yeast and/or cholesterol in artificial diets on the development period and survival rates of *Ascotis selenaria*. The artificial diets were used with the same ones in Table 2

Diet (Treatment)	No. of larvae examined	Developmental period (day)				Survival (%)		
		n	Larvae	n	Pupae	Larvae	Pupae	Cumulative
A (Yeast)	180	101	26.6 b <sup>1</sup>	61	13.4 a	56.1 <sup>(ns)2</sup>	60.4 <sup>(***)</sup>	33.9 <sup>(***)</sup>
A-6 (Cholesterol)	150	72	28.4 c	64	13.4 a	48.0 <sup>(**)</sup>	88.9 <sup>(ns)</sup>	42.7 <sup>(**)</sup>
A-7 (Yeast and Cholesterol)	150	99	22.8 a	88	12.9 a	66.0	88.9	58.7

<sup>1</sup> Means followed by same letters in a column are not significantly different by Duncan's multiple range test at  $P = 0.05$ .

<sup>2</sup> Fisher's exact test comparing the diet A-7 with each diet was applied for all % survival data (ns, not significant; \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ).

**Table 6.** Comparison of the development time, survival rates, and fecundity of *Ascotis selenaria* reared on artificial diet A-7 and citrus leaves, respectively

Diet	No. of larvae examined	Developmental time (days)				Survival (%)			Weight of pupae (g)	Fecundity (No. eggs)		
		n	Larvae	n	Pupae	Larvae	Pupae	Cumulative		Mean	Max.	Min.
A-7	209	147	21.9 <sup>(ns)1</sup>	121	12.7 <sup>ns</sup>	70.9 <sup>ns</sup>	81.6 <sup>*</sup>	57.9 <sup>ns</sup>	0.61 <sup>*</sup>	2,168 <sup>ns</sup>	3,602	1,044
citrus leaves	117	94	22.4	91	12.7	79.9	96.3	77.3	0.58	1,857	2,955	1,019

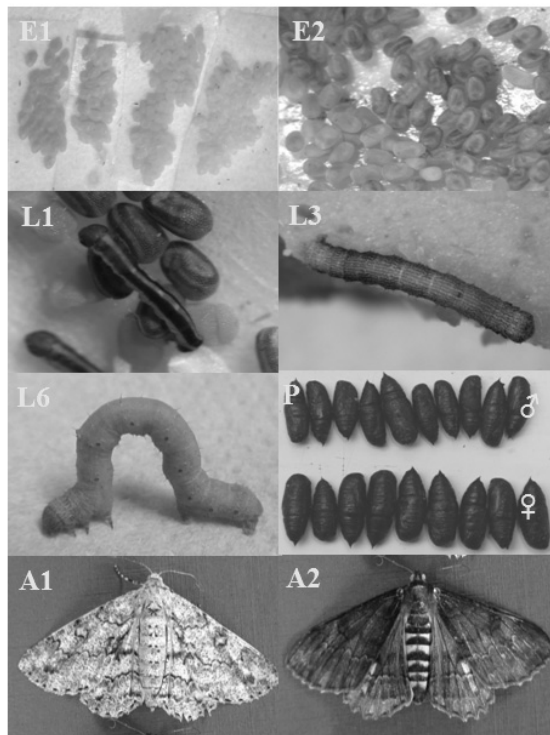
<sup>1</sup> A  $t$ -Test was applied to compare statistical difference between citrus leaves and the best artificial diet, A-7 for all data (<sup>ns</sup> not significant; \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ).

**Table 7.** Size of egg, larvae, pupa and adults of *Ascotis selenaria*

Developmental stage	No. of Individuals examined	Means(mm)	
		Width <sup>1</sup>	Length <sup>2</sup>
Egg	20	0.46 ± 0.004	0.73 ± 0.007
Larvae	1st	0.31 ± 0.004	2.03 ± 0.06
	2nd	0.51 ± 0.007	5.49 ± 0.259
	3rd	0.85 ± 0.019	8.97 ± 0.421
	4th	1.37 ± 0.019	16.06 ± 0.786
	5th	2.14 ± 0.032	25.68 ± 0.929
	6th	3.19 ± 0.052	40.57 ± 1.870
Pupa	20	6.57 ± 0.093	21.36 ± 0.217
Adults	Female	53.2 ± 3.46	21.5 ± 0.30
	Male	49.1 ± 3.37	21.9 ± 0.35

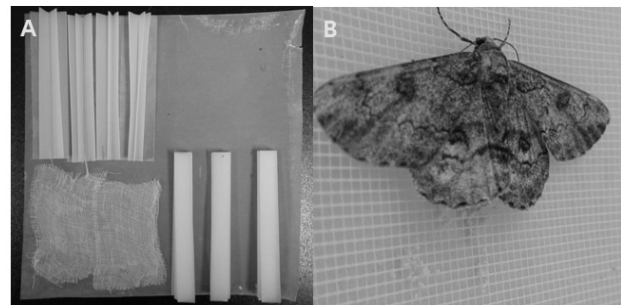
<sup>1</sup> The width of head capsule in larva and the length of wing span in adult.

<sup>2</sup> The body length from head to the end of abdomen in larva, pupa, and adult.



**Fig. 1.** Developmental stage of *A. selenaria*. E1: different color of egg, E2: egg just before hatching, L1: 1st instar, L3: 3rd instar, L6: 6th instar, P: pupa, A1&A2: different body color of adult male.

였다. 흉부 3번째 마디와 복부 첫 번째 마디 사이의 등 쪽에 검은 점이 이 시기에 나타났다(Fig. 1. L3). 4령 유충은 몸길이가 약 16 mm, 두 폭은 약 1.4 mm였고, 외형적 특징은 3령과 같았다. 5령 유충은 몸길이가 약 26 mm, 두 폭은 약 2.1 mm였다. 몸은 옅은 녹색을 띠고 등 쪽 검은 점 바로 아래쪽에 두개의 큰 간모가



**Fig. 2.** Oviposition substrates examined in this study (A) and *A. selenaria* female laying eggs (B).

나타났다. 탈피한지 1일된 6령 유충은 몸길이가 41 mm, 두 폭은 3.2 mm였고, 외형적 특징은 5령과 같았다(Fig. 1. L6). 용화 직전 6령 유충은 몸길이는 약 70 mm, 두 폭은 4 mm 정도로 성장하였다.

번데기의 길이는 약 21 mm, 폭은 약 6.6 mm였다(Table 7). 대개 암컷 번데기가 수컷보다 크고 두꺼운 경향을 보였다(Fig. 1. P). 성충의 경우 암수 간에 체색이나 무늬에 뚜렷한 차이는 없었으나, 날개가 검고 복부에 검은 줄무늬가 있는 개체들이 성별에 관계없이 나타나기도 하였다(Fig. A1, A2). 몸길이는 암수가 약 22 mm로 차이가 없었으나 날개 편 길이는 암컷이 약 53 mm로 수컷보다 약 4 mm 정도 컸다(Table 7).

### 산란습성

네눈썹가지나방 암컷은 두 종류의 주름이 있는 기름종이 위에 산란하지 않았다. 거즈가 붙어있는 쪽에만 산란하였는데, 거

즈 위 표면이 아닌 거즈 밑의 기름종이 위에 산란하였고(Fig. 2a), 암컷은 산란관을 거즈의 틈새에 넣은 다음 유산지 위에 산란하는 모습을 보여주었다(Fig. 2b).

## 실내사육법

네눈썹가지나방 대량사육을 위해서는 두 가지 과정 즉 채란과 1령 유충의 안정적 정착이 필요한 것으로 조사되었다. 네눈썹가지나방 암컷은 산란관을 좁은 틈새에 넣어 산란하는 독특한 행동을 보여 주었는데, 아크릴로 제작된 사육상자 접합부의 틈새에 거의 모든 암컷이 산란하였다. 이러한 산란행동은 산란관 옆에 자극이 주어지면 이루어지는 것으로 여겨지며, 실제로 거즈의 홀에 산란관을 넣은 다음 유산지에 산란하는 모습이 관찰되었다(그림 2b). 따라서 성공적인 채란을 위해서는 거즈와 같이 다공질 망을 유산지에 덧댄 매질을 산란상자에 도포하여 산란상자의 틈새에 암컷이 접근하지 못하도록 하는 조치가 필요하다. 네눈썹가지나방 암컷은 중복교미하기 때문에 산란상자(25×25×25 cm)에 암컷 3마리와 수컷 5~6마리 정도를 넣으면, 약 3,000~6,000개의 알을 쉽게 얻을 수 있었다. 네눈썹가지나방 사육과정에서 1령 유충이 바로 섭식 활동을 하는 경우는 보기 드물었고, 대체로 주변으로 분산하면서 위로 올라가려는 습성을 보였다. 특히 유충사육용기에 다량의 알이 들어있을 경우, 부화한 유충이 분비한 실에 의해 반투명한 끈끈한 막이 형성되었고, 이곳을 통해 유충들이 사육용기 위쪽으로 올라가게 되면서 유충이 죽는 경우가 많았다. 따라서 사육용기 크기에 맞춰 적절한 수의 알을 넣어 주고, 부화한 유충의 이동 분산을 최소화시켜 안정적으로 사료에 접근하도록 할 필요가 있다. 사육용기(직경 90 mm, 높이 40 mm)에 부화 직전의 약 100개의 알을 가운데에 놓고 주변에 사료를 잘게 잘라 넣어 줌으로써 유충을 조기에 정착시킬 수 있었다. 이후 사육용기 안에 안정적으로 정착한 유충의 수를 약 40마리 정도로 다른 사육용기에 분배하여 사육하다가 3령이 되었을 때 사육용기 안에 약 10마리 수준으로 유충을 다른 사육용기에 분배하여 사육하였다. 5령 유충부터는 개별 사육을 하였으며, 용화된 개체들은 우화시키기 전까지 10±1℃에서 냉장 보관하였다. 이와 같은 과정을 반복하여 네눈썹가지나방을 실내에서 지속적으로 사육할 수 있었다.

## 고찰

네눈썹가지나방 유충을 경제적으로 사육할 수 있는 먹이를 개발하기 위하여 옥수수, 메주콩, 강낭콩, 밀배아를 주성분으로 조합한 인공사료에 대하여 네눈썹가지나방 유충의 발육과

생존율을 조사하였다. 그 결과 옥수수와 메주콩을 조합한 사료로 사육된 개체만이 기주식물인 감귤잎을 먹이로 제공된 개체와 유사한 발육과 생존율을 보여주었다. 이와 같이 네눈썹가지나방 유충의 발육과 생존율이 재료에 따른 큰 차이가 나타나는데, 이것은 재료의 영양가의 차이, 섭식을 유발 또는 저해하는 요인의 존재유무를 고려해 볼 수 있다. 콩 기반 인공사료는 Shorey(1963)가 양배추은무늬밤나방을 사육한 것이 효시로 이후 콩의 높은 영양가와 다른 재료들 보다 값싸고 구입이 용이하여 곤충 사료의 재료로 이용되는 재료이다(Vanderzant, 1974). 영양학적 측면에서 대두(soy bean)는 종류에 따라 다소 차이는 있지만 탄수화물이 25~34%, 단백질이 41~51%, 지질이 1.5~21%가 함유되어 있다(Wolf and Cowan, 1971). 밀배아는 Adkisson *et al.*(1960)이 목화다래나방 사육에 처음 이용한 이후, 곤충 사육에 획기적인 전기를 마련한 재료이다. 영양학적인 측면에서 밀배아가 대두보다 탄수화물 함량이 많고 지질과 단백질 함량이 상대적으로 낮지만, 단백질 함량이 23%가량 된다(Cohen, 2003). 따라서 콩과 밀배아는 탄수화물, 단백질, 지질 함량이 높은 재료로 곤충에 필요한 충분한 영양가를 갖고 있기 때문에 이들 영양가의 차이가 네눈썹가지나방 유충 생존율에 큰 영향을 끼칠 것으로 판단되지 않았다. Singh and Rembold(1988)도 각기 다른 재료인 병아리콩(chick pea), 대두, 옥수수를 함유한 사료로 왕담배나방(*Helicoverpa armigera*) 유충을 사육하였을 때, 옥수수를 함유한 사료가 다른 사료에 비하여 발육기간 길어지는 현상이 나타났다고 하였다. 그 원인은 옥수수가 다른 사료보다 낮은 영양가로 인하여 유충의 소화율이 낮은 것이 원인이라고 분석하였고, 영양가 차이가 크지 않을 경우의 발육지연이나 생존율 감소 현상은 섭식 행동을 억제하거나 자극에 관련된 요인이 원인일 것으로 지적하고 있다(Singh, 1999). 본 실험에서 밀배아 또는 강낭콩이 함유한 사료들을 먹이로 제공하였을 때, 공통적으로 유충의 발육이 지연되거나 생존율이 매우 낮았다(Table 3). 이것은 이들 재료의 영양가의 차이보다는 네눈썹가지나방 유충의 섭식을 억제하는데 영향을 미치는 요인이 있을 것으로 추정되었다.

섭식을 자극하는 영양원으로 자당(sucrose), 아미노산, 지질, 아스코르브산들이 있다(Cohen, 2003). Schoonhoven(1972)은 자당(sucrose)이 *Pieris brassica* 유충의 먹이 삼키는 반응을 자극한다고 하였고, Fraenkel(1969)은 식물의 이차대사산물은 영양학적으로 가치가 없지만 곤충이 식물체를 찾고 섭식하는 과정에 관여하는 단서로 작용하는데, 이 물질을 표시자극제(token stimulant)라고 명명하였다. 네눈썹가지나방 유충이 밀배아가 함유된 사료에서 발육이 거의 이루어지지 않았던 것과 메주콩보다 강낭콩이 함유된 사료에서 발육이 지연되고 생존

율이 크게 낮았던 것은 밀배아와 강낭콩에 섭식을 자극하는 당과 같은 물질의 함량이 낮거나 또는 표시자극제가 없거나 적은 것이 원인으로 추정되었다. Ave(1995)은 항산화제로 알려진 아스코르브산이 초식성곤충의 섭식자극제로 작용한다고 하였다. 비타민 혼합물(Vanderzant vitamin mix.)에 아스코르브산이 다량 함유되어 있어(Cohen, 2003), 아스코르브산이 첨가된 사료(A)와 첨가되지 않은 사료(A-5)간 유충 발육기간이나 생존율에 차이는 없었다(Table 4). 따라서 옥수수 등 주재료의 조합에 따른 네눈썹가지나방의 발육지연이나 생존율의 차이(Table 3)는 아스코르브산과 무관한 것으로 판단되었다. 마지막으로 천연재료에는 렉틴(lectin)과 같은 독성성분이 존재하므로, 먹이로 이용하기 전이나 후에 가열과정을 거치는 것이 필요하다고 지적하고 있다(Cohen, 2003; Wolf and Cowan, 1971). 본 시험에서 인공사료 제작 시, 주성분 재료들은 끓인 물에 섞는 과정에서 일정시간 고온에 노출되기 때문에, 메주콩, 강낭콩, 밀배아에 들어있는 천연 독성 성분이 변성되거나 분해되어 유충의 발육에 미치는 영향이 낮았을 것으로 추정된다.

인공사료의 구성성분의 함량비와 특정 성분의 유무가 네눈썹가지나방 발육과 생존에 현저한 영향을 미쳤다(Table 4). 옥수수와 메주콩 함량비율을 달리한 사료들에서 옥수수와 메주콩의 전체 양이 많았던 A-1사료에서 유충 생존율이 높았고, 옥수수나 메주콩 함량이 반이었던 A-2사료와 A-3사료에서 유충의 생존율이 매우 낮았다. House(1974)는 식엽성 곤충의 경우 사료에 탄수화물이 적을 경우 생존에 문제가 발생한다고 지적하였는데, 본 실험에서도 옥수수의 함량이 낮았던 A-2사료에서 유충의 생존수가 매우 낮았다. 이것은 옥수수의 함량 감소로 인한 탄수화물 부족으로 판단된다. 반대로 옥수수의 함량이 많았던 A-3사료를 먹은 개체들이 콩의 함량이 많았던 A-2사료를 먹은 개체들보다 생존율은 다소 높으나 발육기간이 지연되는 현상이 나타났다. 이것은 콩의 함량 감소로 인한 단백질 부족인 것으로 판단되고, Singh and Rembold(1988)의 시험에서도 콩보다 옥수수의 영양가 부족이 발육을 지연시킨다고 보고하였다. 효모와 콜레스테롤은 네눈썹가지나방 유충 발육과 생존율에 긍정적인 영향을 미쳤다. 효모는 주영양소 외에도 비타민이나 밝혀지지 않은 영양 요소를 제공하기 위하여 곤충 인공사료에 종종 사용된다(Vanderzant, 1974). 콜레스테롤은 곤충이 스스로 스테롤을 합성하지 못하게 때문에 곤충사육에 매우 중요한 영양 요소로 보고되어 있다(Cohen, 2003; Hobson, 1935). 네눈썹가지나방 유충도 콜레스테롤이 첨가된 A-6사료가 콜레스테롤이 첨가되지 않은 A-1사료보다 유충의 생존율과 발육기간이 증진되었다. 또한, 효모와 콜레스테롤을 모두 첨가한 A-7사료가 효모만 첨가한 A사료나 콜레스테롤만 첨가한 A-6

사료보다 유충 발육기간이 크게 증진되었고 생존율도 높았다(Table 5). 따라서 네눈썹가지나방 효모와 콜레스테롤을 모두 첨가하는 것이 좋다고 판단되었다.

결론적으로 옥수수, 메주콩, 효모의 주성분과 비타민혼합물, 무기염혼합물, 콜레스테롤, 소르브산, 메틸파라벤, 아스코르브산 등의 보조성분으로 A-7과 같은 인공사료를 제조하면 네눈썹가지나방을 효과적으로 대량사육할 수 있을 것으로 기대된다.

## 사 사

본 연구는 농촌진흥청 시험연구과제인 ‘감귤원 자나방류 해충 발생 및 방제에 관한 연구(과제번호 : PJ004360)’로 수행되었습니다.

## Literature Cited

- Adkisson, P.L., E.S. Vanderzant, D.L. Bull and W.E. Allison. 1960. A wheat germ medium for rearing the pink bollworm. *J. Econ. Entomol.* 53: 759-762.
- Ando, T., K. Ohtani, M. Yamamoto, T. Miyamoto, X. Qin and Witjaksono. 1997. Sex pheromone of Japanese giant looper, *Ascotis selenaria cretacea*: Identification and field tests. *J. Chem. Ecol.* 23: 2413-2423.
- Ave, D.A. 1995. Stimulation of feeding: Insect control agents. pp. 345-363. *In* Regulatory mechanisms in insect feeding, eds. by R.F. Chapman and G. de Boer. Chapman & Hall, New York.
- Cohen, A.C. 2003. *Insect diets: science and technology.* 324pp, CRC press, Boca Raton.
- Dougherty, E.C. 1959. Introduction to axenic culture of invertebrate metazoan: a goal. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 77: 27-54.
- Fraenkel, G. 1969. Evaluation of our thoughts on secondary plant substances. *Ent. Exp. & Appl.* 12: 473-486.
- Hobson, R.P. 1935. On a fat-soluble growth factor required by blowfly larvae. II. Identity of the growth factor with cholesterol. *Biochem. J.* 29: 2023-2026.
- House, H.L. 1974. Nutrition. pp. 1-62. *In* The physiology of insecta, Vol. 5, eds. by M. Rockstein. 2nd ed., 648 pp. Academic Press, New York.
- Kim, S.S. and E.A. Beljaev. 2001. Family geometridae. Economic insects of Korea 8. *Ins. Koreana Suppl.* 15, 247 pp., Junghaeng-Sa, Seoul.
- Langsrud, O. 2004. Fisher's exact test (accessed in April, 2010 at <http://www.langsrud.com/fisher.htm>).
- SAS Institute. 2006. SAS enterprise guide 4.1 (4.1.0.471). SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.



- 
- Schoonhoven, L.M. 1972. Some aspects of host selection and feeding in phytophagous insects, pp. 557-566. *In* Insect and mite nutrition, eds. by J.G. Rodriguez. 702 pp. North-Holland, Amsterdam.
- Singh, A.K. 1999. Growth and induction in food consumption of *Helicoverpa armigera* Hbn. (Lep., Noctuidae) larvae on chickpea, soybean, and maize diets. *J. Appl. Ent.* 123: 335-339.
- Singh, A.K. and H. Rembold. 1988. Developmental value of chickpea, *Cicer arietinum*, soybean, *Glycine max* and maize, *Zea mays*, flour for *Heliothis armigera* larvae. *J. Appl. Ent.* 106: 286-296.
- Shorey, H.H. 1963. A simple artificial rearing medium for the cabbage looper. *J. Econ. Entomol.* 56: 536-537.
- Shorey, H.H. and R.L. Hale. 1965. Mass-rearing of the larvae of nine noctuid species on a simple artificial medium. *J. Econ. Entomol.* 58: 522-524.
- Vanderzant, E.S. 1974. Development, significant, and application of diets for insects. *Annu. Rev. Entomol.* 19: 139-160.
- Wolf, W.J. and J.C. Cowan. 1971. Soybeans as a food source. *Critical Rev. in Food Technol.* 2: 81-158.