

풀무치 사육을 위한 보조먹이로서 반합성 인공사료

정진교* · 이관석¹ · 고영호² · 서보윤¹ · 김광호¹ · 문윤호³ · 허성기

국립식량과학원 증부작물부, ¹국립농업과학원 농산물안정성부, ²한림대학교 일송생명과학연구소, ³국립식량과학원 바이오에너지작물연구소

A Meridic Artificial Diet as a Supporting Meal for *Locusta migratoria* Rearing

Jin Kyo Jung*, Gwan Seok Lee¹, Young Ho Koh², Bo Yoon Seo¹, Kwang Ho Kim¹, Youn-Ho Moon³ and Sunggi Heu

Department of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, Suwon 16616, Korea

¹Department of Agro-food Safety and Crop Protection, National Academy of Agricultural Science, Wanju 55365, Korea

²Ilson Institute of Life Science, Hallym University, Anyang 14068, Korea

³Bioenergy Crop Research Institute, National Institute of Crop Science, Muan 58545, Korea

ABSTRACT: A meridic artificial diet, including whole milk powder, wheat bran, maize leaf powder, and sucrose as the main nutrients, was tested for rearing *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae). When locusts were supplied with only the artificial diet over their entire life cycle, a second generation was not produced. The same result was observed when the diet was supplied daily and fresh maize leaves were supplied every other day. However, when the diet and fresh maize leaves were supplied alternately every other day, four generations of *L. migratoria* were produced. Fecundity in adults reared with the alternating diet was higher than that in adults supplied with both the diet and maize leaves daily. These results indicate that this artificial diet could be used as a supplementary food for rearing of *L. migratoria*.

Key words: *Locusta migratoria*, Artificial diet, Maize, Diet-supply method

초록: 풀무치 [*Locusta migratoria* (메뚜기목: 메뚜기과)]를 사육할 때 보조먹이로서 전지분유, 밀기울, 옥수수잎 가루, 설탕을 주성분으로 한 혼합 인공사료를 제조하였다. 갓부화 약충에 인공사료만을 제공하여 성충 사망 때까지 사육하였을 때, 다음 세대 집단을 얻지 못했다. 인공사료를 매일 제공하면서 옥수수 잎을 하루걸러 제공하였을 때도 다음 세대 개체를 얻지 못했다. 그러나 인공사료와 옥수수 잎을 하루걸러 번갈아 제공하였을 때는 이후 4세대까지 사육이 가능하였다. 성충의 생식력도 옥수수 잎과 인공사료를 매일 같이 제공한 경우보다, 두 먹이를 하루걸러 번갈아 제공한 경우가 더 높았다. 이상의 결과로 본 연구에서 개발된 인공사료를 주먹이인 식물체의 보조먹이로 삼아 일정기간 풀무치 집단 유지에 이용할 수 있을 것으로 추정되었다.

검색어: 풀무치, 인공사료, 옥수수, 먹이공급법

풀무치(*Locusta migratoria*) (Orthoptera: Acrididae)는 서식 밀도에 따른 반응 차이에 의해 형태와 생리적 기작이 서로 다른 단독형과 군집형이 나타나는 다현현상(polyphenism)을 보이는 곤충이고, 군집형이 나타나면 이들은 서로 집합행동을 보이면서 떼를 지어 먹이를 찾아다니고 성충은 원거리 이동을 하면서 농작물에 심한 피해를 입힌다(Tanaka and Zhu, 2005; Ernst et al., 2015).

풀무치는 국내에서는 역사 기록 이래 조선시대까지 군집형이 몇 번 발생하였다고 추정되었으나, 과학적 수단을 이용한 조사 기록한 이후에는 단독형만이 관찰되어 왔다(Park et al., 2010). 그런데, 2014년 8월 전라남도 해남에서 군집형으로 추정된 풀무치가 대량으로 발생하여 주변 벼를 비롯한 벼과 식물들에 피해를 입히고, 긴급하게 방제한 사건이 있었다(Lee et al., 2016). 이후 대발생 피해에 대비하여 국내에서 풀무치에 대해 처음으로 과학적 방법론을 이용하여 전남지역에 발생하는 풀무치 형태 특징과 생태(Choi et al., 2017), 국내 분포 집단의 유전 계통 분석(Kim et al., 2016; Lee et al., 2016, 2017), 표현형

*Corresponding author: jungjk@korea.kr

Received September 11 2018; Revised October 8 2018

Accepted October 17 2018

에 따른 유전자 발현 차이(Jung et al., 2017; Lee et al., 2018) 등의 연구가 진행되어 왔다. 한편, 풀무치는 국제적으로 인간이나 가축의 대체식량으로 식용 가능한 곤충으로 평가되고 있고(Van Huis, 2013), 국내에서는 ‘곤충산업의 육성 및 지원에 관한 법률(제12050호, 2013.8.13.)’ 농림축산식품부 시행령(2015.12.02.)에 의해 학습 애완용 곤충종의 하나에 포함되어 있어, 익충으로서 활용성도 검토되고 있다. 따라서 해충이나 익충으로서 풀무치에 관련된 실내의 연구를 위해서 실험곤충으로 공급하거나, 특정 개체군의 유전속성을 유지하기 위해서는 실내에서 지속적으로 세대를 유지할 필요가 있다.

풀무치 세대유지를 위한 실내 사육에는 적절한 먹이를 공급하는 것이 우선인데, 풀무치는 쌍떡잎식물 보다는 외떡잎식물인 벼목(Poales) 벼과(Poaceae)에 속하는 많은 식물종과 사초과(Cyperaceae)와 골풀과(Junaceae)에 속하는 몇 식물 종을 섭식한다고 보고되었다(Bernays et al., 1976). 국내에서는 해남과 무안에서 채집한 풀무치 집단이 벼과의 옥수수(*Zea mays*), 조(*Setaria italica*), 기장(*Panicum miliaceum*)을 벼(*Oryza sativa*)나 억새(*Miscanthus sinensis*) 보다 더 선호하였다는 보고가 있다(Choi et al., 2017). 따라서 그간 실험 곤충 공급을 목적으로 실내에서 증식되었던 풀무치는 *Bromus* (참새귀리속) *catharticus*, 큰이삭풀(*B. unioloides*), 억새, 수수(*Sorghum bicolor*), 밀(*Triticum aestivum*), 오리새(*Dactylis glomerata*)의 신선한 잎이 제공되어 왔다(Suzuki, 1978; Charlet et al., 1988; Hasegawa and Tanaka, 1996; Shi et al., 2011; Nishide et al., 2015). 한편, 특이하게 쌍떡잎식물로 당근(*Daucus carota* subsp. *sativus*) (Apiales: Apiaceae)이나 콜리플라워(cauliflower, a cultivar of *Brassica oleracea*) (Brassicales: Brassicaceae) 잎이 제공되는 경우도 있었다(Gupta, 1968; Rodgers et al., 2006).

본 연구실에서는 봄부터 가을 사이 풀무치 집단 유지를 위해 생체량이 많은 이유로 옥수수를 야외에서 재배하여 그 잎을 주 먹이로 제공하여 왔다. 그런데 우리나라와 같이 늦가을에서 봄까지 야외에서 식물체를 쉽게 얻을 수 없는 시기에는 가온이 되는 온실에서 식물체를 키워 공급하여야 한다. 그러나 이 기간 동안은 경제적인 비용이 크게 투입되어 집단유지에 충분한 양의 식물체를 얻기가 어려운 경우가 많기 때문에, 이 시기에는 부족한 식물체 양을 보충할 수 있는 대체 먹이가 필요한 형편이다. 이를 위해 대체먹이로 인공사료를 이용할 수 있다. 곤충의 인공사료는 실험을 위한 집단 유지뿐만 아니라 곤충이 요구하는 영양분을 파악하는데 이용되는데, 일반적으로 질소원(단백질, 유리아미노산), 지질, 탄수화물, 비타민, 무기염류로 구성되어 제작되고, 나비목, 파리목, 딱정벌레목 곤충에서 제일 많이 이용되어 왔다. 인공사료는 성분이 모두 알려진 화합물로 구성된 경

우를 순수(holidic)사료로, 물을 제외한 다른 성분들의 화학적 구성이 불확실한 경우를 oligidic 사료, 순수사료와 oligidic 사료의 중간 정도로 하나 이상의 불확실한 성분이 포함된 경우를 혼합 혹은 반합성(meridic or semi-synthetic) 사료로 구분하여 왔다(Singh, 1977; Cohen, 2003; Boo et al., 2005). 풀무치 인공사료로는 갈대(*Phragmites australis*) (Poaceae)와 밀기울, 우유, 효모, 설탕, 아스코빈산, 콜레스테롤, 무기염류 등을 기반으로 조제되는 혼합사료(Howden and Hunter-Jones, 1958; Borisova, 1966, 1969)와 셀룰로오스, 콜레스테롤, 설탕, 텍스트린, 카제인, 펩톤 등으로 구성된 순수사료(Dadd, 1960a)가 보고되어 있고, 영양분 요구도를 알기 위해 몇 가지 변형된 사료들이 시도되었다(Dadd, 1960b, 1960c, 1961a).

이에 본 연구에서는 국내에서 풀무치를 실내에서 사육할 때 겨울철에 식물체 먹이 공급이 충분하지 않을 경우, 보조사료로 사용하기 위해 혼합 인공사료를 제작하고, 이 사료가 풀무치 발육과 생식에 미치는 영향을 조사하여, 그 결과를 토대로 제작된 인공사료를 공급하는 방법을 제시하였다.

재료 및 방법

실험곤충

풀무치는 2014년 8월 말 전남 해남에서 대발생한 풀무치 노숙 약충을 채집하여 국립농업과학원 온실에서 옥수수 잎을 먹이로 사육하여 증식한 집단을 2015년 1월 분양방아 경기도 수원 소재의 국립식량과학원 중부작물부 곤충사육실(temperature $30 \pm 3^\circ\text{C}$, relative humidity $50 \pm 20\%$, photo-regime 15h:9h = light:dark)에서 옥수수 잎으로 사육하였다. 여기에 2015년과 2016년 각각 전라남도 무안에서 가을에 발생한 풀무치 성충들을 채집하여 섞어 주었고 실내에서 집단을 유지하였다. 옥수수는 봄부터 여름 사이에 포장에 일미찰 옥수수를 증식하였고, 늦가을부터 초봄 사이에는 가온한 유리온실에서 유묘판에 여러 사일리지용 옥수수 품종(주로 광평옥)을 증식하였다. 이른 봄과 늦은 가을에 먹이가 부족한 때는 하천 변에 자라는 갈대나 가을에 파종한 밀 잎을 제공하였다. 식물체는 잎을 잘라 증류수에 담가 제공하였다. 성충 사육용 아크릴상자($57 \times 40 \times 35$ cm)에는 산란용 흙을 담은 원형 산란통(103 mm in internal diameter, 78.6 mm in height) (SPL Life Sciences, Korea)을 넣어주었다. 산란에 사용한 흙은 사질토를 야외에서 채취하여 2 mm 체로 거르고 여기에 모래를 1:1 비율로 섞어 만들고, 고압멸균기(Dasol, Korea)에서 살균하였다. 흙은 6~10% 정도의 수분 함유량을 갖게 하였다. 산란이 확인된 산란통은 사육상자에서 꺼내 밀폐형

뚜껑(101 mm in internal diameter, 32.5 mm in height) (SPL Life Sciences, Korea)을 덮은 다음, 같은 사육실 안에 부화할 때까지 보관하였다. 부화한 유충들은 사육실 안에서 망실(90 × 110 × 110 cm)에 넣고 옥수수 잎을 제공하여 성충 때까지 사육하였다.

인공사료

풀무치 인공사료는 Singh (1977)의 서적에 요약하여 수록되어 있는 여러 연구자들 중 1~2세대 풀무치 사육에 성공한 Borisova (1966, 1969)의 사료조성을 참고하여, 몇 차례 성분과 조성 변경을 거쳐 국내에서 쉽게 구할 수 있는 재료들을 이용하여 혼합사료로 제조하였다(Table 1). 참고한 두 보고의 사료 구성 성분에는 한천(agar), 밀기울(wheat bran)과 효모(yeast), 갈대 잎 가루, 카제인(casein) 혹은 전지분유(whole milk powder), 녹말(starch), 콜레스테롤(cholesterol)과 아스코빈산(ascorbic acid)이 있었는데, 본 연구에서는 식물체 영양원으로 갈대 잎 가루 대신에 처음에 거대역새(*Miscanthus sacchariflorus* cv, Goedae 1) (Poaceae) 잎과 줄기를 말려 만든 가루를 제공하였으나, 곰팡이가 쉽게 생겨, 후에 실내에서 먹이로 주는 옥수수(*Zea mays*) (Poaceae)의 말린 잎 가루로 대체하였다. 효모는 처음 검토된 사료 조성들에서는 포함시켰는데, 이 성분이 포함된 인공사료를 잘 먹지 않는 것이 관찰되어 이후 제외하였다. 이와 같은 현상은 Dadd (1960a)의 연구에서 보고된 바 있다. 카제인은 사료 개발 초기 단계에 사용하였으나 이후에 가격이 저렴하고 지질 성분을 제공할 수 있는 전지분유로 교체하였다. 이외에 설탕(sucrose), 무기염류(Wesson's salt mixture), 아스코빈산, 콜레스테롤을 초기 조성부터 포함하였고, 항균제로 메틸파라벤(methyl-*p*-hydroxybenzoate)를 넣어주었다. 옥수수 잎 가루는 4월 말에 일미찰을 파종하여 재배하였는데, 출사기 직전의 잎

을 수확하여 55°C 건조기(Dasol, Korea)에서 며칠 동안 충분히 건조한 후에 분쇄기로 분쇄하고 500 µm 체로 걸러 가루를 얻었다. 인공사료는 증류수에 한천 가루를 타서 끓이고, 거기에 다른 성분들을 모두 넣어 믹서를 이용하여 섞었다.

먹이 처리와 발육 조사

첫 번째 실험으로 실험곤충 유지 환경에서 옥수수 잎을 먹이로 제공하면서 사육하는 실험곤충 발육특성을 조사하였다. 약충 39마리를 개체별로 사육하였는데, 사각폴리스티렌 용기(72 × 72 × 200 mm) (SPL Life Sciences, Korea)에 갓부화한 약충 한 마리를 넣고, 옥수수 잎을 증류수가 담긴 소형 용기에 꽂아 먹이로 제공하였다. 성충 우화 때까지 매일 조사하여 약충기간과 우화율을 산출하였다. 성충의 경우에는 유지 집단에서 갓부화한 성충 한 쌍을 소형 아크릴 사육상자(20 × 20 × 20 cm) (Gaia, Korea)에 방사하고, 옥수수 잎을 증류수가 담긴 삼각플라스크에 꽂아 제공하였다. 30쌍 반복 처리하였다. 사육상자 안에는 매일 산란통을 넣어 산란하도록 하였고, 다음날 산란통을 꺼내 같은 사육실 안에서 산란통 흡속의 알이 부화할 때까지 두었다. 부화가 확인된 통은 일주일 후 흡을 해체하면서 알주머니에 남은 부화하지 못한 알 수를 기록하였다. 부화가 확인되지 않은 통은 같은 환경에서 추정되는 알 발육기간 일주일 후에 산란통 안의 흡을 해체하면서 알주머니를 확인하고, 발견된 알주머니는 해체하여 알 수를 기록하였다. 처리된 성충쌍 수에 대한 부화한 약충을 생성한 성충쌍의 비율로 성충의 교미율을 계산하였다. 이외에 암수 수명, 암컷당 산란한 알주머니수, 알주머니당 알수, 알주머니당 부화한 약충 수, 부화율을 산출하였다.

두 번째 실험으로, 약충 발육과 성충 생식에서의 인공사료의 적합성을 검증하기 위해 갓부화 약충에 인공사료만을 매일 제

Table 1. Composition of a meridic diet used for rearing *Locusta migratoria*

Ingredient	Amount	%
Whole milk powder (Seoul Dairy Cooperative, Korea)	20 g	13.20
Wheat bran (purchased from local market)	40 g	26.40
Maize leaf powder (self-made after drying leaves at 55°C)	20 g	13.20
Sucrose (Samyang Corporation, Korea)	40 g	26.40
Wesson's salt mixture (Bio-Serv, USA)	12.5 g	8.25
Ascorbic acid (Duksan Pure Chemicals Co. Ltd., Korea)	1.0 g	0.66
Cholesterol (90%) (Wako Pure Chemical Industries Ltd., Japan)	1.5 g	0.99
Methyl- <i>p</i> -hydroxybenzoate (Sigma-Aldrich, USA)	1.5 g	0.99
Agar (Duksan Pure Chemicals Co. Ltd., Korea)	15 g	9.90
Distilled water	750 ml	

공한 것과, 인공사료는 매일 제공하면서 옥수수 잎을 하루 간격으로 제공한 것, 옥수수 잎과 인공사료를 하루씩 번갈아 제공한 것의 세 종류 처리를 하였다. 각 처리를 위해 실내 유지집단에서 갓부화한 약충을 무작위로 선택하여 사육상자(30 × 25 × 30 cm)에 넣고 먹이를 넣어주었다. 인공사료는 20 × 30 × 6 mm 크기로 잘라 페트리접시에 3~4개씩 담아 제공하였고, 옥수수 잎을 증류수가 담긴 삼각플라스틱에 담아 제공하였다. 인공사료만을 매일 제공한 처리는 약충 20마리를 한 상자에 넣어 사육하였는데, 3반복으로 수행하였다. 인공사료를 매일 제공하면서 옥수수 잎을 하루걸러 제공하는 처리는 약충 32마리를 한 사육상자에 넣어 사육하였고, 하나의 반복만 처리하였다. 인공사료와 옥수수 잎을 하루걸러 번갈아 제공한 처리는 약충 30마리를 사육상자에 넣어 사육하였고 하나의 반복만 처리하였다. 사육 환경은 실내 유지집단과 동일한 조건을 제공하였다. 성충이 우화하였을 때에는 사육상자 안에 산란통을 넣어 산란하도록 하였고, 산란이 확인된 통은 상자에서 빼내 약충이 부화할 때까지 두었다. 사육 시작 후 사망한 약충 수와 우화한 성충 수를 모든 성충이 사망할 때까지 매일 조사하였다. 우화율과 약충기간은 처리별로 우화한 개체들을 반복수로 하여 계산하고, 처리 사이에 비교하였다. 각 처리에서 산란된 알주머니수와 우화한 암컷수당 산란된 알주머니수, 각 처리에서 부화한 전체 약충 수, 알주머니당 부화한 약충 수, 투입된 약충에 대한 다음 세대 약충 수 비율을 증식율(growth ratio)을 계산하여 표현하였다.

세 번째 실험으로, 옥수수 잎과 인공사료를 하루씩 번갈아 제공하면서 사육했던 방식만을 사용하여 세대를 계속하여 실험하였다. 먼저 2세대 처리는 앞 실험(1세대) 처리에서 수일에 걸쳐 부화한 약충들 중 41마리를 부화 후 바로 한 상자에 넣어 같은 방식으로 사육하였다. 이후 3세대와 4세대 처리는 각각 이전 세대에 부화한 약충들 중 처리 이전에 사망한 약충을 제외한 모든 약충을 한 상자에 넣어 사육하였다. 세대별 발육 비교를 위해, 각 처리별로 우화율, 전체 알주머니수, 암컷당 알주머니수, 알주머니당 알수, 각 처리에서 부화한 전체 약충 수, 알주머니당 부화약충 수, 부화율, 증식율을 계산하였다.

네 번째 실험으로, 성충 발육과 생식에 대한 먹이 공급방식의 직접적 효과를 알기 위해 옥수수 잎으로 키우는 실내 유지집단에서 갓부화한 성충을 우화 당일 무작위로 선택하여 아크릴 사육상자(57 × 40 × 35 cm)에 10쌍을 넣고 사육하였다. 먹이 처리로는 인공사료와 옥수수 잎을 하루씩 번갈아 제공하는 것과 두 사료를 같이 매일 제공하는 두 가지 방식을 적용하였다. 성충이 모두 사망할 때까지 조사하여 암수의 수명, 산란횟수, 알주머니당 알수, 알의 부화율을 계산하였다. 모든 실험은 실험 곤충집단 유지를 하는 같은 사육실 안에서 수행되었다.

통계처리

약충기간, 알주머니당 알수, 알주머니당 부화약충 수, 부화율, 암수 수명과 같이 사료 공급방식 처리들 사이에 결과 자료들이 반복을 갖는 경우, SAS Proc GLM으로 분산분석으로 검정한 후, 처리 사이의 유의성은 95% 신뢰수준에서 Tukey 검정으로 비교하였다. 우화율과 암컷당 산란한 알주머니 수, 산란횟수와 같이 반복이 없는 결과의 경우에는, 처리집단들이 동등한 결과를 산출한다는 가정 하에 SAS Proc FREQ로 카이제곱 검정을 하였다(SAS institute, 2008).

결과 및 고찰

인공사료를 이용하여 풀무치를 사육한 결과와 간접적인 비교를 하기 위해, 풀무치 실내유지집단에 제공하는 먹이인 옥수수 잎으로 풀무치를 사육하여 얻은 발육특성을 구하였다. 풀무치 약충을 30°C 곤충사육실에서 옥수수 잎을 먹이로 하여 개체별로 사육하였을 때, 평균 우화율은 61.5%, 발육기간은 약 31일로 나타났다. 또 성충을 한쌍씩 교미시켰을 때, 교미율은 약 63%, 암수 수명은 약 54~69일, 암컷당 산란한 알주머니수는 평균 3.8개, 알주머니당 알수는 약 54개, 부화율은 약 40%로 나타났다(Table 2).

인공사료와 옥수수 잎 두 가지를 제공하면서 약충을 집단사육한 결과에서, 약충 기간은 인공사료와 옥수수 잎을 하루씩 번갈아 제공한 처리에서 가장 빨랐다. 이에 비해 인공사료를 매일 제공하고 잎을 하루걸러 제공하여 사육한 집단의 약충 기간은 유의한 차이를 보이며 약간 길었다(Table 3). 두 처리는 옥수수 잎만으로 사육한 경우와 크게 다르지 않았다(Table 2). 그러나 인공사료만을 제공한 처리에서는 다른 두 처리에 비해 약충기간이 약 2배 길어 발육속도가 늦은 결과를 보였다(Table 3). 이들 약충들의 우화율은 세 처리 모두 30% 이하로 옥수수 잎으로 사육한 경우보다 훨씬 낮았고 특히 인공사료만을 제공한 집단은 다른 두 처리에 비해 1/2로 정도로 낮았으나, 처리 사이에 유의한 차이는 나타나지 않았다(Tables 2, 3). 인공사료만을 제공한 집단에서 우화한 암컷들은 사망 전까지 모든 개체가 산란하지 못했다. 인공사료를 매일 제공하고 옥수수 잎을 하루걸러 제공한 처리에서 우화한 암컷들은 4마리였고, 이들이 사망 전까지 전부 3개의 알주머니를 비정상적으로 사육상자 바닥에 산란하였다. 이 알주머니를 휴에 묻어 발육시켰으나 모두 부화하지 못했다. 인공사료와 옥수수 잎을 하루씩 번갈아 제공한 처리에서는 4개의 알주머니가 산란통 안에 정상적으로 산란되었고, 여기서 부화한 약충 수는 알주머니당 평균 16개로 옥수수 잎

Table 2. Developmental and reproductive characteristics of nymphs and adults of *Locusta migratoria* individually reared on maize leaves at 30°C

Characteristics	Data
Emergence rate of nymph (%) ^a	61.5
Nymphal period (day)	31.0 ± 3.8 (24)*
Female ratio	0.57
Adult mating rate (%) ^a	63.3
Adult longevity (day) female	53.7 ± 34.0
male	69.3 ± 53.2
No. of egg pod laid per female	3.8 ± 4.2
No. of egg per pod	54.4 ± 12.8
No. of nymph hatched per pod	21.8 ± 18.7
Hatching rate (%)	40.4 ± 32.9

^aThirty nine neonate nymphs and thirty pairs of adults were treated.

*Number in parentheses indicates the number of adult emerged.

Table 3. Developmental and reproductive characteristics of *Locusta migratoria* supplied with an artificial diet and maize leaves, up to adult mortality

Characteristics	Diet supply type		
	Only artificial diet daily	Artificial diet daily, and maize leaves every other day	Artificial diet and maize leaves alternately every other day
No. of nymphs released	20	32	30
Replicates	3	1	1
Nymphal period (day) ^a	61.4 ± 3.0a (8)*	32.4 ± 2.5b (9)	28.5 ± 1.2c (8)
Emergence rate (%) ^b	13.3 ± 7.6	28.1	26.7
No. of female emerged per cage	1.0 ± 1.0	4	5
Female ratio	0.31 ± 0.34	0.44	0.63
Total No. of egg pod laid	0	3	4
No. of egg pod laid per female	0	0.75	0.80
Total No. of nymph hatched	-	0	63
No. of nymph hatched per pod	-	-	15.8 ± 5.9 (4)
Growth ratio	-	-	2.1

ANOVA ^a $F_{2,22} = 470.47, P < 0.0001$. The means were compared with Tukey's HSD test at 95% confidence level. Chi square test ^b $\chi^2 = 5.89, P = 0.0528$.

*Number in parentheses indicates the total number of adult emerged in the treatment.

로 키운 성충이 낳은 알주머니의 부화 약충 수에 비해 적었다 (Tables 2, 3). 자손 수는 투입된 어미세대 약충 수에 비해 2.1배 증식율을 보였다.

세대를 연속하여 인공사료와 옥수수 잎을 하루걸러 번갈아 먹인 실험에서 약충들의 우화율과 암컷당 산란된 알주머니 수는 옥수수 잎으로 키운 약충들에 비해 크게 낮았는데, 세대 간에 유의한 차이는 없었다(Tables 2, 4). 알주머니당 알수나 부화 약충 수, 부화율도 세대 간 유의한 차이는 없었고, 부화약충 수와 부화율은 옥수수 잎만으로 키운 성충들 보다 약간 높은 편이

었다(Tables 2, 4). 각 세대집단에서 증식율은 1.70 이상으로 1세대와 마찬가지로 2세대부터 4세대까지 모두 다음 세대 개체 수가 증가하였으나, 세대 진전에 따라 감소하는 경향이 있었다 (Table 4).

옥수수 잎을 먹여 키운 약충으로부터 우화한 성충에 먹이를 옥수수 잎과 인공사료를 하루걸러 번갈아 주었을 때, 두 사료를 동시에 매일 계속 주었던 처리보다 암컷 수명은 유의하게 길었고, 산란횟수도 유의하게 많았다. 알주머니당 알 수는 처리 간에 유의한 차이는 없었으나, 부화율은 먹이를 번갈아 먹인 처리

Table 4. Developmental and reproductive characteristics of *Locusta migratoria* supplied with an artificial diet and maize leaves alternately every other day through successive generations

Characteristics	Generation		
	2nd	3rd	4th
Total No. of nymph released	41	106	260
Emergence rate (%) ^a	19.5	26.4	13.1
Female ratio	0.38	0.39	0.41
Total No. of egg pod laid	4	10	11
No. of egg pod laid per female ^b	1.33	0.91	0.79
No. of egg per pod ^c	33.5 ± 5.4 (4)*	33.0 ± 18.1 (10)	55.1 ± 28.9 (8)
Total No. of nymph hatched	106	264	442
No. of nymph hatched per pod ^d	26.5 ± 18.0 (4)	26.4 ± 19.4 (10)	31.4 ± 22.7 (8)
Hatching rate (%) ^e	74.3 ± 49.5 (4)	69.7 ± 38.7 (10)	56.3 ± 37.4 (8)
Growth ratio	2.59	2.49	1.70

Chi square test ^a $\chi^2 = 4.50, P = 0.1054$; ^b $\chi^2 = 0.16, P = 0.9235$. ANOVA ^c $F_{2,19} = 2.63, P = 0.0981$, ^d $F_{2,19} = 0.15, P = 0.8595$, ^e $F_{2,19} = 0.36, P = 0.7027$. *Number in parentheses indicates the number of soil base oviposited.

Table 5. Longevity and reproductive characteristics of *Locusta migratoria* adults supplied with an artificial diet and maize leaves within one cage

Characteristics	Diet supply type	
	Artificial diet and maize leaves alternately every other day	Both artificial diet and maize leaves daily
Introduced pair No.	10	10
Longevity (day) female ^a	52.2 ± 23.1a	30.0 ± 15.8b
male ^b	31.3 ± 12.6a	38.6 ± 25.7a
Total oviposition frequency*	15	5
No. of egg laid per pod ^c	41.7 ± 11.6a	54.0 ± 25.9a
Egg hatching rate (%) ^d	67.2 ± 21.4a	39.8 ± 21.1b

ANOVA ^a $F_{1,17} = 6.10, P = 0.0244$; ^b $F_{1,18} = 0.65, P = 0.4307$; ^c $F_{1,18} = 2.25, P = 0.1511$; ^d $F_{1,18} = 6.15, P = 0.0233$. The means were compared between the two treatments with Tukey's HSD test at 95% confidence level.

*Chi square test $\chi^2 = 5.00, P = 0.0414$.

에서 유의하게 높았다(Table 5).

이상의 결과에서 본 연구에서 개발한 인공사료만을 먹이로 제공하면 풀무치 약충의 일부가 성충까지 발육이 가능하나, 약충이 정상적으로 발육하지 못하고 성충도 생식이 가능하지 않을 정도로 영양원을 공급할 수 없다는 것이 나타났다(Table 3). 따라서 본 연구에서 개발된 인공사료가 풀무치 누대 사육을 위한 대체먹이로 사용할 수 없다고 결론지었다. 그러나 인공사료와 옥수수 잎을 하루걸러 번갈아 제공했던 경우는 약충의 발육과 성충의 생식에 치명적인 장애를 일으키지 않았고, 같은 먹이 공급방식으로 적어도 4세대를 유지할 수 있는 것으로 나타났다 (Tables 3~5). 이 결과에 따라 본 연구에서 개발된 인공사료로 풀무치 발육과 생식에 필요한 영양원을 어느 정도 공급할 수 있

고, 식물체 먹이를 이용하는 동안 보조사료로 사용할 수 있다고 판단되었다. 즉, 식물체 공급이 원활하지 않은 시기에 인공사료를 식물체와 번갈아 제공하면 식물체 공급량을 줄이면서 상당 기간 실내 집단을 유지할 수 있을 것으로 판단되었다.

합성사료를 통해 풀무치 약충 발육에 필요한 것으로 연구된 영양성분들 중, 정상적인 발육을 위해 지질 성분들이 필요한데 (인공사료 건물중당 0.5~2.5%), 특히 불포화지방산 중 리놀레산(linoleic acid) 혹은 리놀렌산(linolenic acid)이 적정량(0.08~0.56%) 반드시 필요하고, 이에 더해 소량의 포화지방산이 요구된다고 보고되었다(Dadd, 1960a, 1961b). 스테롤(sterol) 성분들도 적정량(0.03~0.08%) 요구되며, 스테롤 중에는 콜레스테롤과 cholesteryl acetate, 베타시토스테롤(β -sitosterol), dihydro-

cholesterol이 영양원으로 이용될 수 있다고 보고되었다(Dadd, 1960b). 탄수화물은 셀룰로오스와 같은 비소화성 탄수화물 이외에, 소화성 탄수화물이 적정량(13~26%) 필요하며 여기에 포도당(glucose), 엿당(maltose), 마노스(mannose), 젓당(lactose)와 같은 6탄당의 단당류와, 여러 올리고당, 텍스트린(dextrin)과 녹말의 다당류가 이용될 수 있다고 하였다(Dadd, 1960c). 또 비타민 B군의 성분들 중 B₁, B₂, B₃, B₄, B₅, B₆, B₇, B₈, B₉도 필요할 것으로 추정되었다(Dadd, 1961a). 또 무기염 혼합물이 1~2% (최대 11%) 필요하고, 단백질은 카제인, 펩톤(peptone), 달걀흰자단백질(egg albumen)과 같은 여러 종류의 단백질원이 함께 제공되어야만 발육이 가능하며, 단백질 대신에 아미노산 혼합물을 제공하는 것으로는 발육이 불가능하다고 하였다(Dadd, 1961b).

본 연구의 인공사료는 기존 연구에서 보고된 반합성 인공사료에 포함된 성분들이 공통적으로 포함되어 있고, 별도로 본 연구의 인공사료에 식물체원으로 포함시킨 옥수수 잎에도 탄수화물, 단백질, 지질이 모두 포함되어 있다(Borisova, 1966, 1969; Li et al., 2014; Table 1 in this study). 또 지질 성분 중 필수 영양원인 리놀레산이나 리놀렌산과 같은 불포화지방산도 본 연구와 참조된 인공사료의 밀기울과 전지분유에 포함되어 있다(Borisova, 1966, 1969; Stevenson et al., 2012; Pereira, 2014; Kumar and Krishna, 2015). 따라서 본 연구의 인공사료는 풀무치 발육에 필요한 영양성분들을 어느 정도 갖추고 있었다고 생각될 수 있다. 그러나 인공사료만으로 사육을 할 수 없었던 원인에는, 아직 보고되지 않은 성분들이 있거나 혹은 이들 영양원들의 함량과 조성에 불균형인 것이 가정되었다. 실제 현재까지 풀무치를 소재로 한 여러 분야의 과거 연구들에서 인공사료만을 이용하여 세대를 유지하여 실험곤충을 공급한 경우는 발견할 수 없다. 대개의 경우 식물체만을 먹이로 공급하거나(Suzuki, 1978; Charlet et al., 1988; Hasegawa and Tanaka, 1996; Shi et al., 2011), 식물체에 더해 밀기울을 같이 제공하여 왔다(Hamouda et al., 2009; Dehghani et al., 2011; Guo et al., 2011; Nishide et al., 2015; Hamouda and Tanaka, 2016). 혹은 밀 잎에 더해 밀기울과 옥수수기름, 비타민으로 구성된 인공사료(Tu et al., 2012)를 먹이기도 하였다. 혹은 동결건조된 밀 유묘가 대체사료로 연구된 적도 있었으나(Louveaux et al., 1980), 그 이후 같은 기술로 사육한 사례를 보인 적은 없었다. 이런 결과들은 인공사료 개발이 시도되기는 하였으나, 그 인공사료로 세대를 유지하면서 만족할 만한 실험곤충 수를 공급하기에 적당하지 않았던 것이 원인으로 추정된다. 즉 향후 개선된 인공사료를 개발할 필요성을 나타냈다.

한편, 인공사료를 매일 제공하면서 옥수수 잎을 하루걸러 제

공하거나 두 사료를 매일 제공했던 경우들은 두 사료를 하루걸러 번갈아 제공한 경우에 비해 약충의 발육기간과 성충의 생식력이 떨어지는 것으로 나타났다(Tables 3, 5). 이는 두 사료가 동시에 존재하는 경우, 풀무치는 옥수수 잎 보다는 인공사료를 선택하여 섭취하였을 가능성이 높은 것을 제시하였다. 또 그 경우에 인공사료를 상대적으로 많이 섭취하여 생김 영양분 부족이나 불균형을 옥수수 잎 섭취를 통해 보상하지 않았다고 추정되었다. 두 사료가 같이 있는 경우 인공사료를 선택하여 섭취하는 것은 인공사료 안의 섭취자극제가 원인일 수 있는데, 풀무치에 대해서는 단당류와 이당류가 섭취자극에 매우 큰 영향을 주고, 이외에 아미노산 중의 l-proline과 serine이 섭취자극 역할을 한다는 보고가 있다(Cook, 1977). 따라서 본 연구에서 사용된 인공사료 성분으로 제공된 설탕이 강한 섭취자극 효과를 주었을 것으로 추정되었다(Table 1). 그러나 본 연구와 관련된 실험에서 상세한 먹이선택 빈도나 시간과 같은 행동을 관찰하거나 섭취된 먹이양과 배설물 양을 측정하지 않았기 때문에, 이 결과의 원인에 대해 합리적으로 추정할 수는 없다. 앞으로 풀무치의 영양원 요구도와 섭취자극 요인에 따른 섭취행동을 자세히 연구하여 먹이원 공급 방식에 대한 자세한 근거를 마련할 필요가 있다.

결론으로, 풀무치 보조사료로서 본 연구에서 개발된 혼합 인공사료를 사용할 경우, 식물체 먹이와 하루걸러 번갈아 먹이는 방식으로 적어도 4세대 이상 집단 유지가 가능한 것을 보였는데, 앞으로 인공사료만으로 세대를 어느 정도 유지할 수 있을 사료 조성에 대해 더 검토가 필요하다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 어젠다 연구과제(PJ01163002)를 수행하는 과정에서 얻은 결과를 바탕으로 작성되었다.

Literature Cited

- Bernays, E.A., Chapman, R.F., MacDonald, J., Salter, J.E.R., 1976. The degree of oligophagy in *Locusta migratoria* (L.). Ecol. Entomol. 1, 223-230.
- Boo, K.S., Kim, Y., Park, K.C., Choi, M.Y., 2005. Insect hormones and physiology. Seoul Univ. Press, Seoul.
- Borisova, A.E., 1966. Rearing *Locusta migratoria manilensis* (Mey.) and *Locusta migratoria migratoria* L. on semi-synthetic media. Zool. Zh. 45, 858-864.
- Borisova, A.E., 1969. The role of carbohydrates in the fertility of the Asian migratory locust, *Locusta migratoria migratoria* L. (Orthoptera,

- Acrididae), when reared on semi-synthetic media. *Entomol. Rev. USSR* 48, 141-144.
- Charlet, M., Roussel, J.-P., Rinternecht, E., Berchtold, J.-P., Costet, M.-F., 1988. Developmental and morphogenetic alterations in larvae of *Locusta migratoria* reared on plant diet with a selectively modified sterol profile. *J. Insect Physiol.* 34, 787-796.
- Choi, D.-S., Ma, K.-C., Kim, H.-J., Lee, J.-H., Oh, S.-A., 2017. Morphological characteristics and ecology of *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae) in Jeonnam Province. *Korean J. Appl. Entomol.* 56, 421-426.
- Cohen, A.C., 2003. *Insect diets: science and technology*, CRC Press, Boca Raton.
- Cook, A.G., 1977. Nutrient chemicals as phagostimulants for *Locusta migratoria* (L.). *Ecol. Entomol.* 2, 113-121.
- Dadd, R.H., 1960a. The nutritional requirements of locusts-I. Development of synthetic diets and lipid requirements. *J. Insect Physiol.* 4, 319-347.
- Dadd, R.H., 1960b. The nutritional requirements of locusts-II. Utilization of sterols. *J. Insect Physiol.* 5, 161-168.
- Dadd, R.H., 1960c. The nutritional requirements of locusts-III. Carbohydrate requirements and utilization. *J. Insect Physiol.* 5, 301-316.
- Dadd, R.H., 1961a. The nutritional requirements of locusts-IV. Requirements for vitamins of the B complex. *J. Insect Physiol.* 6, 1-12.
- Dadd, R.H., 1961b. The nutritional requirements of locusts-V. Observations on essential fatty acids, chlorophyll, nutritional salt mixtures, and the protein or amino acid components of synthetic diets. *J. Insect Physiol.* 6, 126-145.
- Dehghani, M., Xiao, C., Money, T.G.A., Shoemaker, K.L., Robertson, R.M., 2011. Protein expression following heat shock in the nervous system of *Locusta migratoria*. *J. Insect Physiol.* 57, 1480-1488.
- Ernst, U.R., Van Hiel, M.B., Depuydt, G., Boerjan, B., De Loof, A., Schoofs, L., 2015. Epigenetics and locust life phase transitions. *J. Exp. Biol.* 218, 88-99.
- Guo, W., Wang, X., Ma, Z., Xue, L., Han, J., Yu, D., Kang, L., 2011. *CSP* and *Takeout* genes modulate the switch between attraction and repulsion during behavioral phase change in the migratory locust. *PLoS Genet.* 7(2): e1001291. doi:10.1371/journal.pgen.1001291.
- Gupta., P.D., 1968. Origin and cytochemical analysis of yolk in oogenesis of *Locusta migratoria*. *Cytologia* 33, 60-68.
- Hamouda, A.B., Ammar, M., Hamouda, M.H.B., Bouain, A., 2009. The role of egg pod foam and rearing conditions of the phase state of the Asian migratory locust *Locusta migratoria migratoria* (Orthoptera, Acrididae). *J. Insect Physiol.* 55, 617-623.
- Hamouda, A.B., Tanaka, S., 2016. Effects of egg temperature and moisture on phase characteristics of the hatchlings in *Locusta migratoria*. *J. Arid Environ.* 134, 56-61.
- Hasegawa, E., Tanaka, S., 1996. Sexual maturation in *Locusta migratoria* females: laboratory vs. field conditions. *Appl. Entomol. Zool.* 31, 279-290.
- Howden, G.F., Hunter-Jones, P., 1958. An artificial diet for the laboratory rearing of locusts. *Nature* 182, 1527-1528.
- Jung, J.K., Nguyen, P., Kim, A.-Y., Choi, A.-Y., Yu, Y., Lee, G.S., Koh, Y.H., 2017. Identification of microRNAs and their target transcripts in the migratory locust adult brain revealed their roles in the epigenetic regulation of polyphenisms. *J. Asia-Pac. Entomol.* 20, 1396-1401.
- Kim, Y.-H., Jung, J.-K., Lee, G.-S., Koh, Y.-H., 2016. Phylogenetic analysis of *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acridae) in Haenam-gun, Jeollanam-do, Korea using two mitochondrial genes. *Korean J. Appl. Entomol.* 55, 459-464.
- Kumar, G.S., Krishna, A.G.G., 2015. Studies on the nutraceuticals composition of wheat derived oils wheat bran oil and wheat germ oil. *J. Food Sci. Technol.* 52, 1145-1151.
- Lee, G.S., Kim, K.H., Kim, C.S., Lee, W.H., 2016. An outbreak of gregarious nymphs of *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae) in Korea and their genetic lineage based on mtDNA *COI* sequences. *Korean J. Appl. Entomol.* 55, 523-528.
- Lee, G.S., Kim, Y.H., Jung, J.K., Koh, Y.H., 2017. Phylogenetic analysis of *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acridae) in Haenam-gun and Muan-gun, Jeollanam-do, Korea using mitochondrial *NADH dehydrogenase subunits*. *Korean J. Appl. Entomol.* 56, 371-376.
- Lee, G.S., Nguyen, P., Choi, A.-Y., Kim, A.-Y., Yu, Y., Jung, J.K., Koh, Y.H., 2018. Coding and long non-coding RNAs regulating adult migratory locust (*Locusta migratoria*) brain polyphenism revealed via whole transcriptome analyses. *J. Asia-Pac. Entomol.* 21, 58-68.
- Li, H.Y., Xu, L., Liu, W.J., Fang, M.Q., Wang, N., 2014. Assessment of the nutritive value of whole corn stover and its morphological fractions. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 27, 194-200.
- Louveaux, A., Mainguet, A.M., Gillon, Y., 1980. Feeding locusts on freeze-dried plants: a new rearing method for herbivorous insects. *Entomol. Exp. Appl.* 27, 255-299.
- Nishide, Y., Tanaka, S., Saeki, S., 2015. Adaptive difference in daily timing of hatch in two locust species. *Schistocerca gregaria* and *Locusta migratoria*: The effects of thermocycles and phase polyphenism. *J. Insect Physiol.* 72, 79-87.
- Park, H.C., Han, M.J., Lee, Y.B., Lee, G.S., Kang, T.H., Han, T.M., Hwang, S.J., Kim, T.W., 2010. Biological identity of Hwangchung and history on the control of Hwangchung outbreaks in Joseon dynasty analyzed through the database program on the Annals of the Joseon Dynasty and the enrollment of Haegoeje. *Korean J. Appl. Entomol.* 49, 375-384.
- Pereira, P.C., 2014. Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition* 30, 619-627.
- Rodgers, C.I., Shoemaker, K.L., Robertson, R.M., 2006. Photo-

-
- period-induced plasticity of thermosensitivity and acquired thermotolerance in *Locusta migratoria*. *J. Exp. Biol.* 209, 4690-4700.
- SAS Institute, 2008. SAS OnlineDoc. version 9.1.3. SAS Institute. Cary, North Carolina.
- Shi, W.-P., Sun, H.-L., Edward, N., Yan, Y.-H., 2011. Fecal volatile components elicit aggregation in the oriental migratory locust, *Locust migratoria manilensis* (Orthoptera: Acrididae). *Insect Sci.* 16, 166-174.
- Singh, P., 1977. Artificial diets for insects, mites, and spiders. IFI/Plenum, New York.
- Stevenson, L., Phillips, F., O'Sullivan, K., Walton, J., 2012. Wheat bran: its composition and benefits to health, a European perspective. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 63, 1001-1013.
- Suzuki, N., 1978. Budgets of dry matter and phosphorus in a locust, *Locusta migratoria* Linné. *Jap. J. Ecol.* 28, 277-280.
- Tanaka, S., Zhu, D.-H., 2005. Outbreaks of the migratory locust *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae) and control in China. *Appl. Entomol. Zool.* 40, 257-263.
- Tu, X., Zhang, Z., Johnson, D.L., Cao, G., Li, Z., Gao, S., Nong, X., Wang, G., 2012. Growth, development and daily change in body weight of *Locusta migratoria manilensis* (Orthoptera: Acrididae) nymphs at different temperatures. *J. Orthop. Res.* 21, 133-140.
- Van Huis, A., 2013. Potential of insects as food and feed in assuring food security. *Annu. Rev. Entomol.* 58, 563-583.