

山林害蟲의 微生物的 防除(第 1 報)

—미국흰불나방 核多角體病 virus 의 病原性—

李 應 來 · 黃 啓 性

(大韓山聯 · 特殊林產物事業所)

Microbial Control of Forest Insect Pests (I)

—Pathogenicities of the *Borrelina virus* of *Hyphantrea cunea* Drury—

LEE, Eung Rae and Kye Seong HWANG

(Forest Byproduct Center, Korea Forestry Association Federation)

ABSTRACT

*Borrelina virus* was inoculated into *Hyphantrea cunea* DRURY in the laboratory and in the field. The pathogenicity of *Borrelina virus* upon *Bompyx mori* L. and *Dendrolinus spectabilis* BUTLER, too, was examined with following results.

1)  $10^8/ml$ ,  $10^7/ml$ ,  $10^6/ml$  concentration of nuclear-polyhedrosis virus was inoculated into the larvae of *H. cunea* at various ages. The corrected mortality of the larvae were 97.4%, 95.2%, 94.7% in the 3rd instar, and 88.6%, 73.6%, 62.5% in the 6th instar, respectively, with three different concentration of NPV.

2) The symptom of disease of the larvae appeared on 4 days after inoculation and most of the larvae were dead within 18 days.

3) The youngest larvae treated with the highest concentration of NPV showed the highest mortality. With older larvae and lower concentration treated, it appeared that the time needed for death grew longer, marking slower death curve.

4) When we sprayed NPV of  $10^8/ml$  concentration to *H. cunea* in the field, the mortality was 94.8% in the first year, 84.6% in the second year and 78.3% in the third year. By this, we could admit the continuous effects of the pathogens for several years.

5) About the larvae of *B. mori* of 3rd and 5th instar and *D. spectabilis* of 3rd instar inoculated with  $10^8/ml$  concentration of inoculum, we could not see any pathogenic effects.

緒 論

輸入害蟲인 美國흰불나방 *Hyphantrea cunea* DRURY는 禹建錫(1961) 朴世旭(1961) 山林防疫(1968~1971) 등에 의하면 1958년에 서울에서 처음 발견되었고 그후 서울을 중심으로 도로망을 따라 전국 각지에 급속히 전파되어가고 있다고 하며 가로수를 비롯한 각종 활엽수에 큰 피해를 주고 있다.

한편 小山(1951)는 미국흰불나방이 大發生한 後期에 多角體 virus 病이 이 個體群에 流行하여 終息의 주요인이 되고 있음을 관찰하고 日本에서 처음으로 本病原을 發見하였으며 有賀(1960, 1961)는 미국흰불나방 個體群에서 이 多角體病을 報告하였고 福原(1965)는 本罹病蟲의 病徵을 관찰 보고 하였다.

川瀨(1966)는 昆蟲 virus 를 *Borrelina virus*

(核多角體病 Nuclear-Polyhedrosis Virus.NPV) *Bergoldia virus*(橢圓小體病 Granulosis Virus, GV) *Smithia virus*(細胞質多角體病 Cytoplasmic Polyhedrosis Virus, CPV) *Vagoia virus* 및 *Morator virus*(封入體非形成, Non-Inclusion Virus, ND)의 5屬으로 분류하고 있으며 Oliver, A.D.(1964)는 1962년에 미국 흰불나방에서 채집한 2種의 virus를 Steinhaus, E.A.에 감정의뢰하여 *Borrelina virus hyphantriae* Machy & Luas 및 *Bergoldia virus Koracherici schmidt* 임을 보고하였고 片桐 串田(1966)도 미국 흰불나방의 다角體病이 細胞核內에 다角體를 형성하는 核型多角體病 virus임을 확인하고 病徵, 病原 virus의 量產 및 本病에 의한 해충방제실험에 관한 보고를 하였으며 우리나라에서는 高濟鎭(1967)가 毒性試驗 結果를 보고하였다.

昆蟲 virus의 研究는 益蟲의 保護와 害蟲의 驅除라는 相反된 目的을 위하여 이루어지게 되므로 本報에서는 미국 흰불나방에 대한 本病의 濃度別 令期別 接種效果 및 殘効性과 누에와 솔나방 幼蟲에 대한 病原性 有無등을 調査한 結果를 발표하여 앞으로의 微生物的 防除 技術 確立에 資하고자 한다.

## 材料 및 方法

### 1. 供試蟲

미국 흰불나방 *Hyphantria cunea* DRURY 버즘나무 *Platanus orientalis* L.(서울 貞陵所在)에 群棲生活하고 있는 孵化幼蟲을 채집하여 飼育箱에서 버즘나무잎을 飼料로 사육해 가면서 3令에서 6令까지의 幼蟲을 令期別로 구분하여 供試하였다.

누에 *Bombyx mori* Linne

農村振興廳 蠶業試驗場에서 분양받은 101×102系統의 秋蠶 3令과 5令 幼蟲을 供試하였다.

솔나방 *Dendrolinus spectabilis* Butler

소나무 *Pinus densiflora* D. & Z.(서울 貞陵所在)에 자연 발생하고 있는 3令幼蟲을 채집하여 供試하였다.

### 2. 供試病原

1957년에 日本林業試驗場 東北支場 木村重義氏로부터 분양 받은 미국 흰불나방 核型 virus 罹病體 磨碎原液을 50배의 蒸溜水로 稀釋하여 버즘나무 葉面에 塗沫 陰乾한후 미국 흰불나방 5~6令 幼蟲에 攝食 接種케 하여 斃死한 罹病蟲의 磨碎液을 0°~5°C.되는 冷藏庫에 보관하였다.

미국 흰불나방의 1匹當 生體重量이 250mg 되는 壯令 罹病蟲의 核型 virus의 多角體數는 Thoma 血球計算盤으로 測定한 結果 平均  $4.4 \times 10^9$ 로 算出되었으므로 各病原處理濃度는 多角體數로  $10^6/ml.$ ,  $10^7/ml.$ ,  $10^8/ml.$ 의 3段階로 稀釋調製하여 실시하였다.

### 3. 實驗方法

(1) 室內實驗에서는 上記와 같이 調製한 病原液을 버즘나무잎 솔잎 뽕잎에 各各 Atomizer로 供試蟲 10匹當 1ml 該當液을 골고루 撒布 陰乾하여 미국 흰불나방 솔나방 누에 에게 各各 攝食시켜 接種하였다.

病原接種은 첫 飼料에 한하여 처리하였고 처리사료를 완전히 攝食 완료 후에는 無處理 飼料를 계속 更新 給與하였다.

미국 흰불나방, 솔나방에 있어서는 30cm×30cm×50cm 되는 四面鐵網 飼育箱에서 사육하고 사료는 잎이 시들지 않도록 枝條切斷 下部를 물병에 꽂아 두었으며 누에는 20~24°C되는 飼育室에서 사육하였다.

한편 各試驗區마다 蒸溜水만으로 처리 撒布한 對照區를 설치하여 비교하였다.

(2) 野外實驗에서는 미국 흰불나방의 被害를 입고 있는 10年生 버즘나무에 대해서 初年度에 미국 흰불나방이 群棲生活을 하고 있는 3令 初期인 68년 8월 23일 1회에 한해서  $10^6/ml$ 로 調製한 病原液을 분무기로 1株當 5l씩 나무 全體에 골고루 撒布한후 當年과 2年 3년에 걸쳐 每年 8月부터 10月上旬까지 病原殘効性을 조사하였다.

對照區에 있어서는 接種區에서 18m 떨어진 곳에 있는 10年生 버즘나무에 井戶水만을 분무기로 撒布하였다.

調査方法은 供試蟲의 移動을 防止하고 斃死蟲을 採集하기 위하여 3令期의 群棲生活 中에는 被害枝條를 망사주머니로 싸웠다가 4令期後부터는 地面에서 50cm 되는 곳의 나무 줄기를 中心으로 우산을 거꾸로 된 것과 같이 망사를 펴 놓고 落下하는 斃死蟲을 採集 調査하였다.

結果 및 考察

1. 미국흰불나방에 대한 室内接種

미국흰불나방의 生育過程에 따른 本病의 病原性を 알아보기 위해서 各令期에 따라 病原濃度別로 실시한 室内接種 實驗 結果는 Table 1과 같다.

Table 1. Number and ratio of *H. cunea* diseased by the *Borrelina virus* in laboratory.

Instar	Treatment	Number of Polyhedrosis (ml)	<i>H. Cunea</i>			
			Total Number	Number of Death	Mortality	Corrected Mortality
3rd	Inoculation	10 <sup>8</sup>	450	440	97.9	97.4
		10 <sup>7</sup>	450	431	95.7	95.2
		10 <sup>6</sup>	450	429	95.3	94.7
	Control		200	21	10.5	0
4th	Inoculation	10 <sup>8</sup>	300	288	96.0	95.6
		10 <sup>7</sup>	300	269	89.6	89.0
		10 <sup>6</sup>	300	226	75.3	73.8
	Control		300	18	6.0	0
5th	Inoculation	10 <sup>8</sup>	400	374	93.5	93.0
		10 <sup>7</sup>	400	312	78.0	76.3
		10 <sup>6</sup>	400	257	64.2	61.5
	Control		200	14	7.0	0
6th	Inoculation	10 <sup>8</sup>	150	134	89.1	88.6
		10 <sup>7</sup>	150	112	74.7	73.6
		10 <sup>6</sup>	150	97	64.6	62.5
	Control		100	4	4.0	0

病原濃度 10<sup>8</sup>/m, 10<sup>7</sup>/ml, 10<sup>6</sup>/ml 3區의 補正死蟲率은 3令幼蟲에서는 各各 97.4%, 95.2%, 94.7%이고 4令幼蟲은 95.6%, 89.0%, 73.8%이며 5令幼蟲은 93.0%, 76.3%, 61.5%이고 6令幼蟲은 88.6%, 73.6%, 62.5%로 나타났으며 모두 對照區에 比해서 높은 斃死率을 보여주고 있다.

本實驗 結果는 片桐 申田(1966)의 報告에 對照無接種區에서 75%의 蛹化를 나타내고 10<sup>6</sup>/ml 區에서 70%, 10<sup>8</sup>/ml 區에서 24%를

나타낸 結果나 高濟鎬(1967)의 2令幼蟲의 死亡率의 80%이상 3令蟲이 70% 내외로 報告한 結果와 같은 傾向을 나타내고 있다.

各令期別幼蟲에 있어서의 病原處理濃度間의 分散分析 結果는 Table 2와 같이 3令期幼蟲에서는 濃度間에 何等의 有意差를 認定할 수 없이 모두 높은 斃死率을 보였으나 4令期幼蟲에 있어서는 濃度에 따라 5% 水準에서 有意性を 보여 斃死率이 10<sup>8</sup>/ml=10<sup>7</sup>/ml > 10<sup>6</sup>/ml의 順位로 나타났다.

또한 5令 및 6令幼蟲에 있어서는 斃死率이  $10^8/ml.$  >  $10^7/ml.$  >  $10^6/ml.$ 의 順位로 나타났고 各濃度間에 高度의 有意성을 보였다.

**Table 2.** Analysis of variance on the number of diseased *H. cunea* in each instar.

(3rd Instar)				
Factor	d.f	S.S	M.S	F
Total	8	89		
Replication	2	15		
Treatment	2	23	11.5	0.90
Error	4	51	12.7	

(4th Instar)				
Factor	d.f	S.S	M.S	F
Total	8	788		
Replication	2	40		
Treatment	2	672	336	17.68*
Error	4	76	19	

(5th Instar)				
Factor	d.f	S.S	M.S	F
Total	11	1,789		
Replication	3	11		
Treatment	2	1,715	857.5	80.89**
Error	6	63	10.5	

(6th Instar)				
Factor	d.f	S.S	M.S	F
Total	8	257		
Replication	2	11		
Treatment	2	231	115.5	30.8**
Error	4	15	3.75	

各 令期에 따라 各 病原濃度別로 接種處理後 罹病經過를 살펴보기 위하여 2日間隔으로 死亡蟲數를 調査한 成績은 Table 3과 같다.

**Table 3.** Duration and number of *H. cunea* diseased by the *Borrelina virus* in laboratory.

Instar	Treatment	Total Number	Duration										Total
			After 2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	
3rd	$10^8$	450	0	29	76	185	120	13	10	7	0	0	440
	$10^7$	450	0	18	81	140	136	41	11	4	0	0	431
	$10^6$	450	0	21	64	114	126	74	13	14	3	0	429
	Control	200	0	0	0	6	4	0	8	2	0	1	21
4th	$10^8$	300	0	7	46	81	70	14	29	34	7	0	288
	$10^7$	300	0	11	38	90	64	18	21	14	13	0	269
	$10^6$	300	0	4	21	64	74	42	10	0	4	7	226
	Control	300	0	0	1	0	0	7	0	5	3	2	18
5th	$10^8$	400	0	14	36	79	124	88	11	8	14	0	374
	$10^7$	400	0	8	27	52	74	76	44	19	8	4	312
	$10^6$	400	0	8	21	43	62	70	34	10	3	6	257
	Control	200	0	0	0	3	0	0	7	0	4	0	14
6th	$10^8$	150	0	4	18	24	27	36	6	8	10	1	134
	$10^7$	150	0	6	8	18	20	22	19	11	8	0	112
	$10^6$	150	0	1	9	14	11	28	16	17	1	0	97
	Control	100	0	0	1	0	0	2	1	0	0	0	4

病菌接種區에 있어서의 發病은 대체로 4日頃부터 나타나기 始作하며 令期에 따라 多少 差異는 있으나 接種後 18日이 經過하는 사이에 大部分이 斃死한다.

各 令期別 各病原濃度別 總斃死率은 Fig.1 과 같이 令期가 어린 幼蟲일수록 그리고 病原濃度가 높을수록 斃死率이 높았다.

接種處理後 經過日數에 따른 死亡曲線은 Figure 2와 같으며 病原濃度에 따라 若干의 差異는 있으나 3~4令幼蟲은 8~10日頃에 5令 幼蟲은 10~12日頃에 6令 幼蟲은 12日頃에 가장 높은 死率을 나타내고 있고 어린 幼蟲일수록 그리고 病原濃度가 높을수록 死亡日數가 短縮되는 傾向이 나타났다.

反對로 壯令幼蟲일수록 死亡期間이 길어지

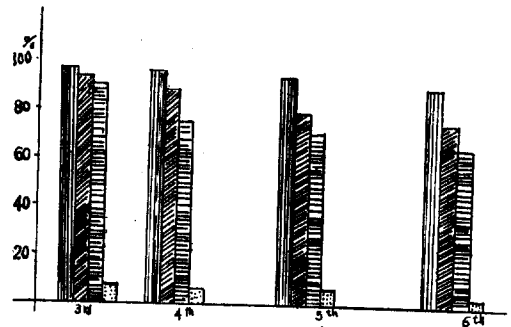
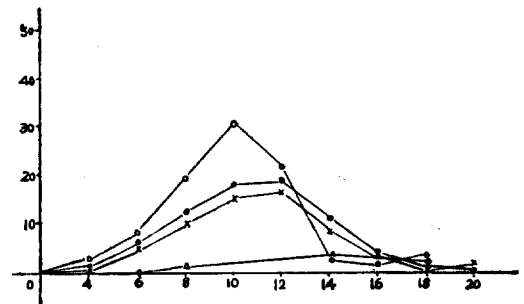
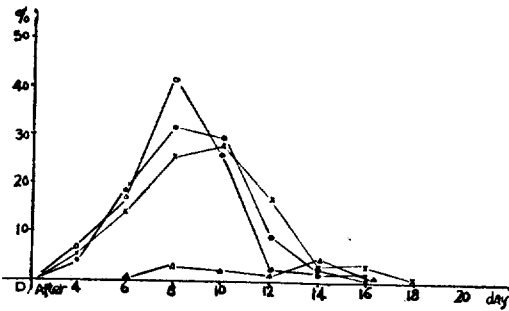


Fig. 1. Total ratio of *H. cunea* diseased by the *Borrelina virus* in each instars and in each concentration of polyhedrosis.

Legend for Figure 1:  
 - 10<sup>8</sup>/ml (diagonal lines /)  
 - 10<sup>7</sup>/ml (diagonal lines \)  
 - 10<sup>6</sup>/ml (horizontal lines)  
 - Control (white)

3rd Instar

5th Instar



4th Instar

6th Instar

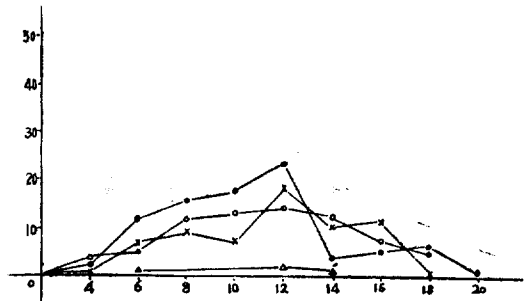
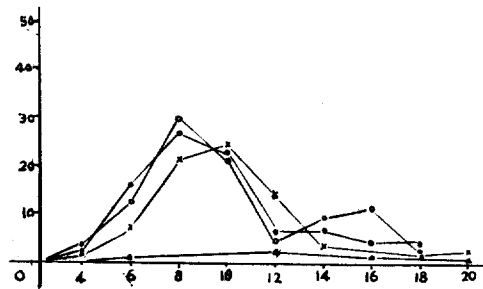


Fig. 2.-1,2,3,4. The mortality curve of *H. cunea* diseased by the *Borrelina virus*

\* Remark: ○ 10<sup>8</sup>, ● 10<sup>7</sup>, × 10<sup>6</sup>, △ Control

고 완만한 死亡曲線을 이루었으며 若干의 例外는 있으나 病原濃度도 얇을수록 死亡曲線이 緩慢해지고 길어지는 傾向이 있다.

本成績結果는 川瀨(1966)가 昆蟲은 幼蟲일수록 virus에 對한 感受性이 높다 라는 말과 부합된다.

2. 흰불나방에 대한 野外撒布

野外에서 미국흰불나방의 버즘나무 被害木에 病菌 多角體數를 10<sup>6</sup>/ml로 調製한 病菌液을 撒布한後 年次制로 調査한 成績結果는 Table 4와 같다.

病菌撒布區에 있어서는 撒布 當年에 3令

Table 4. Number and ratio of *H. cunea* diseased by the *Borrelina virus* in Field.

Year		1st		2nd		3rd	
Treatment		Inoculation	Control	Inoculation	Control	Inoculation	Control
Number of polyhedrosis		10 <sup>6</sup>	—	—	—	—	—
Total number		11,653	13,830	4,100	2,720	3,930	10,024
Instar	3rd	Total	7,630	0	0	0	138
		Ratio	65.5	0	0	0	3.5
4th	Total	190	0	0	0	1,650	0
	Ratio	1.6	0	0	0	42.0	0
5th	Total	1,203	0	500	0	149	0
	Ratio	10.3	0	12.2	0	3.9	0
6~7th	Total	2,017	1,790	2,970	853	1,120	316
	Ratio	17.2	12.8	72.4	31.4	28.4	3.2
Total		11,040	1,790	3,470	85.3	3,057	316
Ratio		94.8	12.8	84.6	31.4	78.3	3.2

幼蟲時에 65.5%, 4令幼蟲時에 1.6%, 5令幼蟲時에 10.3%, 6~7令幼蟲時에 17.2%로 總 94.8%의 弊死率을 나타냈으나 對照區에 있어서는 6~7令幼蟲時에 12.8%의 弊死率을 나타냈다.

病菌撒布區와 對照區와의 距離는 18m였으며 對照區의 感染弊死 原因은 撒布區에서의 傳播로 推測되나 確實치는 않다.

接種後 2次年 調査에 있어서는 病菌撒布區에도 3~4令幼蟲時에는 正常的인 生育을 繼續하여 弊死蟲을 發見할 수 없었으나 5令幼蟲時부터 發病하기 始作하여 12.2%의 폐사율을 나타냈고 6~7令幼蟲時에는 72.4%로서 總 84.6%의 폐사율을 보였다. 對照區에 있어서도 6~7令幼蟲時에 31.4%의 폐사

율이었다.

接種後 3次年 調査結果 病菌撒布區에서는 3令幼蟲時부터 發病하여 4令幼蟲時에 42.0%의 높은 폐사율을 보였으나 5令유충시에는 3.9%로 오히려 낮아졌다가 6~7令幼蟲時에 다시 28.4%의 비교적 높은 폐사율을 보여 幼蟲期間中 總 78.3%의 폐사율을 나타냈으나 對照區에서는 6~7令期에 3.2%로 나타냈다.

以上 實驗 結果로 보아 야의 撒布에 있어서도 對照區에 비해 撒布區가 일정한 폐사율을 나타내고 있으며 이는 AD Oliver(1964)의 報告 結果인 1, 5, 10, 20 g infected larvae/gal water의 4濃度區에서 모두 3週日內에 거의 100%의 死蟲數를 나타낸 結果와도 부합

된다.

또한 2次年, 3次年에 있어서도 撒布區는 對照區에 비해 계속 일정한 폐사율을 나타낸 것으로 보아 撒布된 病原의 殘効성을 認定할 수 있으나 그 發病 原因에 對해서는 撒布된 殘留病原 多角體의 汚染接種인지 經卵傳染에 의한 發病인지는 確認하기 어렵다.

昆蟲의 核型 virus의 經卵傳染에 對해서는 學者에 따라 한다는 쪽과 하지 않는다는 엇갈린 報告가 있으며 有賀(1960)는 傳染한

다는 見解를 表明하고 있으며 本實驗에서 2次年의 幼令期에 發病이 적고 壯令期부터 發病이 많으며 3次年에는 幼令期부터 發病되고 있음은 흥미있는 일이나 앞으로 이에 對한 철저한 研究가 이루어져야 할 것으로 본다.

3. 他 昆蟲에 對한 室內接種

益蟲인 누에와 害蟲인 솔나방에 對한 本病에 病原성을 알아보기 爲하여 實施한 室內 接種實驗은 Table 5와 같다.

Table 5. Number and ratio of *B. mori* and *D. spectabilis* diseased by the *Borrelina virus*.

Insects		<i>B. mori</i>			<i>D. spectabilis</i>	
Treatment		Inoculation in 3rd Instar	Inoculation in 5th Instar	Control	Inoculation in 3rd Instar	Control
Total number		100	100	100	90	90
Number of polyhedrosis(ml)		10 <sup>8</sup>	10 <sup>8</sup>	—	10 <sup>8</sup>	—
Disease Virus	Larvae stage	0	0	0	0	0
	Cocoon stage	0	0	0	0	0
Bacteria	Larvae stage	0	0	0	0	0
	Cocoon stage	0	0	1	0	0
Fungus	Larvae stage	2	0	1	1	0
	Cocoon stage	0	0	0	0	0
Other	Larvae stage	0	0	0	5	4
	Cocoon stage	1	1	2	0	0
Death	Total	3	1	4	6	4
	Ratio	3.0	1.0	4.0	6.7	4.4

미국흰불나방의 核型 virus의 10<sup>8</sup>/ml 되는 病原濃度液을 누에의 3令과 5令幼蟲에 處理한 結果 3.0%, 1.0%의 폐사율을 나타냈으나 解剖檢鏡하여도 病原多角體를 찾아 볼수 없었고 對照區도 4.0%의 폐사율을 보여 接種區와 對照區間에 差異를 認定할 수 없었다.

같은 方法으로 솔나방 3令幼蟲에 處理한

結果 接種區가 6.7% 對照區가 4.4%로서 亦是 病原성을 認定할 수 없었다.

本 實驗結果는 福原(1965)가 本病이 누에에 對한 交錯感染을 認定하지 않은 報告와 같은 結果이며 一般的으로 昆蟲 virus는 宿主特異性이 높다고 하며 Ig'nofa(1965)는 昆蟲 virus는 人畜에 無害하다고 報告하였다.

摘 要

미국흰불나방 核型 virus의 미국흰불나방에 對한 室內 및 野外接種과 누에와 솔나방에 對한 病原性有無를 調査한 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 미국흰불나방 유충의 各齡期別로 核型 virus 多角體 濃度를  $10^8$ /ml,  $10^7$ /ml,  $10^6$ /ml로 區分하여 各 室內에서 處理接種한 補正死蟲率은 3齡幼蟲에서 97.4%, 95.2%, 94.7%, 4齡幼蟲에서 95.6%, 89.0%, 73.8%, 5齡幼蟲에서 93.0%, 76.3%, 61.5%, 6齡幼蟲에서 88.6%, 73.6%, 62.5%로 나타났다.
2. 病原接種區에 있어서의 發病은 接種後 4月頃부터 나타나기 始作하여 18日이 경과하는 사이에 大部分이 폐사한다.
3. 各 齡期別 各病原濃度別 總斃死率은 幼齡蟲일수록 그리고 病原濃度가 높을수록 높고 反對로 壯齡幼蟲일수록 그리고 病原濃度가 낮을수록 死亡期間이 길어지고 死亡 曲線이 緩慢해지는 傾向이 있다.
4.  $10^6$ /ml 病原濃度液을 미국흰불나방에게 野外撒布한 結果 폐사율이 當年에 94.8% 2次년에 84.6% 3次년에 78.3%로 나타난 것으로 보아 病原의 殘効性을 認定할 수 있었다.
5.  $10^8$ /ml 病原濃度液을 3齡, 5齡幼蟲의 누에와 3齡 幼蟲 슬나방에 接種한 結果 그 病原性을 認定할 수 없었다.

### 引用文獻

1. 禹建錫 1961. 農生物 5(5): 11—23.
2. 朴世旭, 1961. 農林部
3. 山林防疫, 1968~1971. 林業試驗場
4. 小山良之助 1951~세코이아 (2)4~5.
5. 有賀久雄外 3, 1960. 日應動昆 4, 51~56.
6. 有賀久雄外 5, 1961. 日應動昆, 5, 141—144.
7. 福原敏彦, 1965. 日昆蟲病理學會談話會(7回)
8. 川瀬茂實, 1966. 바이러스, 143—164.
9. A.D. Oliver, 1964. *J. ECO, ENTO* 57(3): 314—318.
10. 片桐串田, 1966. 日森林防疫뉴스 15(1)8—11.
11. 高濟鎬, 1967. 林試研報, 787-794.
12. Ig'noffo C.M. 外 1, 1965. *J. Jnu. Pathol.* 7, 329—340.