

담배거세미나방 핵多角體病 바이러스의 病原性

Pathogenicity of Nuclear Polyhedrosis Virus Isolated from the Tobacco Cutworm, *Spodoptera litura*

任大準¹·朴範錫¹·陳炳來²·崔鎮文¹·姜錫權²

Dae Joon Im¹, Beom Seok Park¹, Byung Rae Jin², Kui Moon Choi¹, and Seok Kwon Kang²

ABSTRACT Rearing of *Spodoptera litura* fed on artificial diet basically formulated with kidney bean powder was much promising for production of *S. litura* nuclear polyhedrosis virus(SINPV) than that on kidney bean leaves. The LC₅₀ of SINPV against 3rd and 5th instar larvae were 4.48×10⁸ PIB/ml and 4.52×10⁴ PIB/ml, respectively. The LT₅₀ of SINPV varied from 5.8 days to 7.7 days at higher inocula in the testes. The larval growth of 1st and 3rd instar larvae fed on virus were much delayed and the larvae were killed within 4th instar in the former and within 5th instar in the latter. *S. litura* larvae were very susceptible to multinucleocapsid nuclear polyhedrosis virus (MNPV) of *Autographa californica*, *S. littoralis* and *Trichoplusia ni*.

KEY WORDS *Spodoptera litura*, artificial diet, nuclear polyhedrosis virus, pathogenicity, cross infection

抄 錄 담배거세미나방을 人工飼料로 飼育했을 경우 經過日數는 約 42日(강낭콩잎 飼育은 37.9日)이었고 담배거세미나방 幼虫에 대한 핵多角體病 바이러스의 LC₅₀은 1,3,5齡에 대해 각각 5.04×10⁸, 4.48×10⁸, 4.52×10⁴ 多角體/ml이었으며, LT₅₀은 1齡은 1.1×10⁵ 多角體/ml에서 7.1日, 3齡은 1.1×10⁶ 多角體/ml에서 7.7日, 5齡은 1.1×10⁷ 多角體/ml에서 7.0日로 나타났다. 1齡幼虫은 비교적 高濃度인 10⁵⁻⁶ 多角體/ml로 접종했을 때 2-4齡期, 3齡의 경우는 10⁷ 多角體/ml 농도에서 100% 致死되었고, 病死虫은 5齡때 발생했다. 담배거세미나방은 *A. californica* MNPV, *S. littoralis* MNPV 및 *T. ni* MNPV에 의해 病原性이 나타났으며, 1.1×10⁷ 多角體/ml로 접종했을 때 각각 92.0, 92.0, 60.0%의 死亡率을 보였다.

檢 索 語 담배거세미나방, 人工飼育, 핵多角體病 바이러스, 病原性, 交叉感染

담배거세미나방, *Spodoptera litura* (Fab.)은 인도를 중심으로 한국, 일본, 필리핀 및 태평양 연안국에 주로 분포하고 있는 것으로 알려져 있고(Mochida & Okada 1974), 豆類, 菜蔬類, 薯類 및 飼料作物등 광범위한 기주식물을 갖는 突發害虫으로서 주로 溫暖地方에서 피해가 큰 것으로 보고하고 있다(岡田 1968). 특히 최근에 남부지방에서 年 3回 發生하고 施設菜蔬園藝하우스 주변 농작물에 피해를 주고 있으며, 해마다 그 발생면적이 광대되어 문제해충화 되고 있다(申 등 1987).

따라서 본 시험에서는 有機合成殺虫劑의 획일적인 대량사용으로 인한 문제의 심각성을 경감시키기 위한 소위 總合的 害虫防除(Integrated Pest Management)의 일환으로 핵多角體病 바이러스를 이용하여 담배거세미나방을 방제코자 선행과제인 핵多角體病 바이러스의 病原性 檢定에 관한 시험을 수행하였다.

材料 및 方法

人工飼育 및 生活史

담배거세미나방 사육은 岡田(1984)의 組成을 변형한 人工飼料(표 1)를 사용하여 人工飼育室(25°C±2°C, RH 65%, L16, D8)에서 3齡까지는 集團飼育하고 4齡부터는 個體飼育하였다.

1 農業技術研究所, 昆虫科 (Entomology Division, Agricultural Sciences Institute, RDA, Suwon. Korea.

2 서울大學校 農科大學 (College of Agriculture, Seoul National University, Suwon. Korea.)

Table 1. Composition of artificial diet for continuous-rearing of *Spodoptera litura* larvae

Ingredients	Amount(g)
Kinsey bean powder	100.0
Wheat germ	100.0
Yeast dried	40.0
Vitamin C	4.0
m-p-Hydroxybenzocate	3.0
Sorbic acid	1.5
Agar	10.0
Formalin 37%	3.0(ml)
Distilled water	650.0(ml)

Table 2. Composition of artificial diet for mass production of *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus

Ingredients	Amount(g)
Wheat germ(Raw)	120.0
Casein	25.0
Salt mixture	8.0
Sorbic acid	2.0
m-p-Hydroxybenzoate	1.0
Vitamin mixture	10.0
Agar	15.0
Distilled Water	800.0(ml)

飼育容器는 페트리디쉬 (ϕ 6cm \times 1.0cm, ϕ 9cm \times 1.5cm)를 사용하였다.

生活史는 上記 飼育條件에서 繼代飼育하면서 세대별로 각 虫態의 發育經過日數를 조사하였으며 50마리씩 個體飼育하면서 5回 反復하였다.

病原性 檢定

病原性 檢定을 위한 核多角體病 바이러스 接種液은 農業技術研究所 昆虫病理實驗室에서 分離 保管中인 담배거세미나방 核多角體病 바이러스를 사용하였다.

核多角體病 바이러스는 蔗糖密度勾配遠心分離하여 정제한 후 光學顯微鏡下에서 多角體를 血球計數器로 計數하여 原液을 1.1×10^8 多角體/ml로 調製하고 증류수로 희석하여 1齡幼虫은 $1.1 \times 10^{2-6}$ 多角體/ml, 3齡幼虫은 $1.1 \times 10^{3-7}$ 多角體/ml, 5齡幼虫은 $1.1 \times 10^{4-8}$ 多角體/ml의 각각 5수준의 농도로 사용하였다.

이때 사용한 인공사료는 Bell 등(1981)의 組成을 변형한 것으로 30ml 용량의 뚜껑이 있는 투명 플라스틱 컵에 인공사료를 5ml씩 분주하여

4°C 냉장실에서 식혔다. $1.1 \times 10^{2-8}$ 多角體/ml 농도의 接種液을 컵당 100 μ l씩 塗抹하고 1시간 정도 음건한 다음, 齡期別로 1마리씩 접종하여 27°C에서 개체사육하면서 매일 일정한 시간에 病死虫을 조사하였다.

以上の 시험은 공시충이 蛹化되기 전까지 수행하였고, 病原性 검정을 위한 LC₅₀ 및 LT₅₀值의 산출은 Finney(1971)방법에 準하였다.

數種 Baculovirus에 의한 交叉感染

本 實驗에 사용한 *Spodoptera frugiperda* MNPV(multinucleocapsid nuclear polyhedrosis virus) 및 Granulosis virus(GV), *S. littoralis* MNPV, *S. exigua* MNPV, *Autographa californica* MNPV, *Heliothis armigera* MNPV 및 *Trichoplusia ni* MNPV는 美農務省 昆虫病理研究室 Dr. Adams와 Dr. Shapiro로부터 *H. zea* SNPV(single nucleocapsid nuclear polyhedrosis virus)는 美農務省 生物的防除 研究所의 Dr. Ignoffo로부터 분양받은 것을 실험에 사용하였다.

交叉感染 조사는 上記의 각 바이러스 浮遊液 (10^{6-8} 多角體/ml)을 표 2의 인공사료 표면에 塗抹하여 3齡虫 25마리에 접종한 후 個體飼育하면서 매일 死虫數를 조사하고, 3回 反復 실시하였다.

交叉感染이 확인된 *A. californica* MNPV, *T. ni* MNPV 및 *S. littoralis* MNPV는 담배거세미나방 幼虫에서 2回 接種 증식된 각 바이러스를 1.0×10^7 多角體/ml로 농도를 맞춘후 약 0.5g의 인공사료 표면에 50 μ l씩 塗抹하여 담배거세미나방 5齡幼虫 25마리에 接種 2回 反復하면서 病原性을 조사하였다.

結果 및 考察

人工飼育 및 生活史

담배거세미나방 人工飼育法은 여러 연구자에 의해서 비교적 잘 알려져 있다(Navon 1985, 岡田 1984, 小山, 金野 1976, Patel 등 1973). 本 試驗에서는 岡田(1984)의 飼料組成을 변형하여 繼代飼育을 하였다(표 1, 그림 1).

먹이에 따른 각 虫態別差異는 인공사료육에서

는 幼虫期인 5, 6 齡과 蛹期에 있어 經過日數가 길어진 반면 寄主植物을 먹이로 한 경우 成虫期에서 2.6日 더 길게 나타났다.

Patel 등(1973)은 알팔파 1 種인 *Medigo sativa* 잎을 主成分으로 만든 인공사료에서 10.98 日, 콩을 위주로 한 인공사료에서 19日(Navon 1985)과 같이 幼虫期間의 차이는 사료성분에 의한 결과로 생각된다. 이와같은 차이는 寄主植物에서도 같은 경향으로(堀出 1964, 申 등 1987) 피마자, 알팔파, 땅콩을 먹이로 할 때는 幼虫生育期間이 단축되었다(Singh & Hoi 1972).

上記 결과를 검토하여 볼때 本 試驗에서는 비교적 안정화된 인공사료와 사육을 통한 생활사 등 기초연구가 이루어졌기 때문에 앞으로 大量飼育體系의 확립에 의한 바이러스 양산의 가능성을 제시하게 되었다고 생각한다. 바이러스 量産을 위한 바이러스의 접종 시기는 본 바이러스의 替伏期間과 幼虫經過日數를 고려할 때 5 齡이 적합하다고 생각된다.

病原性

바이러스 接種後 담배거세미나방 幼虫은 대체적으로 6, 7, 8日째에 높은 死虫率을 보였으며, 1, 3, 5齡의 경우 각 10^{6-8} 多角體/ml에서 100% 死虫率을 유도할 수 있었고 이를 Finney(1971)의 方法에 따라 Probit analysis한 結果, 回歸方程式은 1 齡의 경우 $Y=3.249+4.053X$, 3 齡은 $Y=2.018+5.300X$, 5 齡은 $Y=0.385+6.909X$ 이었다. 核多角體病 바이러스에 감염된 담배거세미나방 幼虫은 感染後 5—7日에 斃死되고 死虫率에 있어서도 1.0×10^8 多角體/ml의 바이러스를 담배거세미나방 5 齡幼虫에 접종하였을때 6 齡期에 100% 致死시켰다는 岡田(1977)의 보고와도 일치하였다.

各齡에 대한 LC_{50} 값은 1, 3 및 5 齡幼虫에 대하

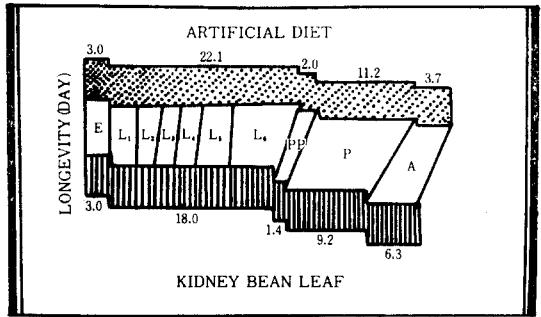


Fig. 1. Life cycle of *Spodoptera litura* reared on artificial diet based on kidney bean powder and on kidney bean leaf.

A : Egg L : Larva PP : Prepupa
P : Pupa A : Adult

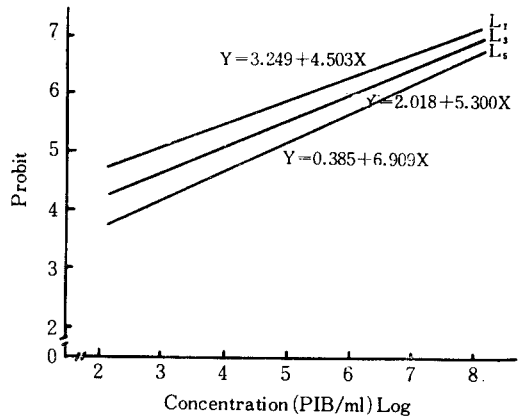


Fig. 2. The regression of polyhedral dosage on mortality probit against 1st, 3rd, and 5th instar *S. litura* larvae infected with nuclear polyhedrosis virus.

여 각각 5.038×10^2 , 4.484×10^3 및 4.518×10^4 多角體/ml로서 齡期가 진전됨에 따라 LC_{50} 값이 약 10배 정도씩 높았고 그 값의 범위도 1 齡($\chi^2=7.087$, $df=3$)보다 5 齡($\chi^2=3.087$, $df=3$)에서 좁게 나타났다.

岡田(1977)의 報告에 의하면 核多角體病 바이

Table 3. Median lethal concentration(LC_{50}) value of *S. litura* nuclear polyhedrosis virus against 1st, 3rd, and 5th instar of *S. litura* larvae

Instar	LC_{50} (PIB/ml)	Slope(b)	Intercept	95% Fiducial limits		χ^2	df
				Lower	Upper		
1st	5.038×10^2	4.053	3.249	0.836×10^2	3.035×10^3	7.087	3
3rd	4.483×10^3	5.300	2.018	1.403×10^3	1.435×10^4	5.248	3
5th	4.518×10^4	6.909	0.385	1.109×10^4	1.841×10^5	3.087	3

Table 4. Median lethal time(LT₅₀) value of *S. litura* nuclear polyhedrosis virus against 1st, 3rd, and 5th instar

Instar	Inoculum (PIB/ml)	LT ₅₀ (day)	Slope (b)	Intercept	95% Fiducial limits		χ ²	df
					Lower	Upper		
1st	1.1×10 ⁶	5.79	16.07	-7.25	5.00	6.58	4.57	3
	10 ⁵	7.06	7.99	-1.79	6.21	7.92	1.67	5
	10 ⁴	8.24	7.52	-1.88	7.31	9.17	5.58	4
	10 ³	10.05	4.76	0.22	9.03	11.07	7.15	6
	10 ²	13.54	3.56	0.96	12.29	14.80	3.65	5
3rd	1.1×10 ⁷	6.42	11.54	-4.32	5.60	7.24	6.23	5
	10 ⁶	7.72	6.10	-0.41	6.71	8.73	0.63	5
	10 ⁵	9.44	6.36	-1.20	8.45	10.43	0.97	4
	10 ⁴	10.11	5.40	-0.42	9.11	11.11	2.98	5
	10 ³	11.86	6.02	-1.47	10.43	13.27	1.26	3
5th	1.1×10 ⁸	6.01	20.07	-10.63	5.13	6.87	0.75	2
	10 ⁷	6.96	10.53	-3.87	5.90	8.02	0.03	2
	10 ⁶	7.57	5.57	0.09	6.62	8.56	0.02	3
	10 ⁵	8.57	6.00	-0.59	7.62	9.51	1.43	2
	10 ⁴	11.22	3.36	1.46	10.43	12.00	0.11	3

러스에 대한 담배거세미나방 幼虫 1, 3, 5齡의 LC₅₀값이 각각 5×10³, 6×10³, 2×10⁵ 多角體/ml로 本 實驗의 결과와 비슷한 경향을 보이거나 대체로 높은 값을 보이는데 이는 幼虫이나 바이러스의 생물학적 차이 또는 접종방법 등의 실험방법에 따라 차이가 나타날 수 있는 것으로 생각된다.

바이러스 接種濃度에 따른 LT₅₀값은 표 4에 나타나 있다. 1齡幼虫은 1.1×10⁶, 1.1×10⁵

多角體/ml로 接種했을 때의 LT₅₀값은 각각 5.79, 7.06日이었으며, 3齡幼虫은 1.1×10⁷, 1.1×10⁶ 多角體/ml로 접종했을 때 각각 6.42, 7.72日이었고 5齡幼虫에서는 1.1×10⁸과 1.1×10⁷ 多角體/ml일 때 6.01日과 6.96日이었다.

이 결과는 같은 농도로 접종된 경우에 어린幼虫의 LT₅₀값이 대체로 작은 것은 어릴수록 바이러스에 대한 抵抗性이 약하기 때문인 것으로 생

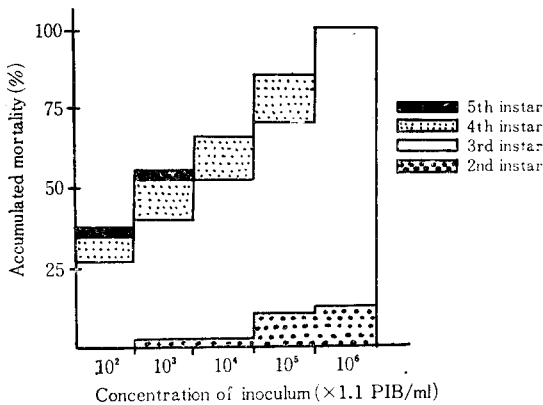


Fig. 3. Composition of mortality in the larval stage of *Spodoptera litura* infected with various concentrations of inocula in 1st instar.

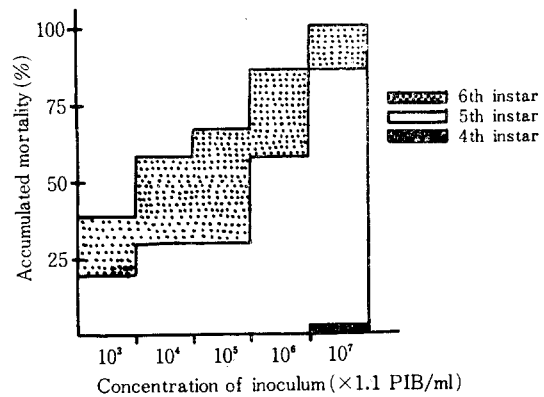


Fig. 4. Composition of mortality in the larval stage of *Spodoptera litura* infected with various concentration of inocula in 3rd instar.

각된다. 그러나 같은 농도를 접종시킨 5齡과 3齡幼虫에서 LT_{50} 값이 뚜렷한 차이를 보이지 않거나 오히려 5齡때의 LT_{50} 값이 작은 것은 幼虫體重에 대한 飼料攝食量이 相對적으로 5齡때 훨씬 많아 바이러스를 먹은 량 역시 많기 때문이라 생각된다.

核多角體病 바이러스를 幼虫에 접종한 후 접종농도에 따른 罹病虫의 발생기간을 幼虫齡期別로 구분하였다.

그 결과 1齡의 경우 病死虫의 대부분이 3齡때 나타났으며, 1.1×10^6 多角體/ml에서는 2, 3齡때 각각 12.5, 87.5%의 死虫率을 보이면서 100% 死虫率을 나타냈다(그림 3).

3齡에 접종했을 때는 고농도인 1.1×10^7 과 1.1×10^6 多角體/ml에서는 病死虫의 대부분이 5齡때 발생했으나, 저농도에서는 5, 6齡期에서 비슷한 비율로 발생했다(그림 4).

5齡의 경우는 모든 농도에서 6齡期때 病死虫이 발생했다(자료 생략).

이상의 病原性 檢定 결과 幼虫의 齡期가 진전됨에 따라서 LC_{50} 값과 LT_{50} 값이 증가하는 경향

을 보이는데, 이는 幼虫의 발육에 따라 바이러스에 대한 저항성이 증가되는 것에 기인하는 것으로 생각된다.

數種 Baculovirus에 의한 交叉感染

담배거세미나방 防除를 위하여 他昆虫에서 分離된 바이러스를 利用, 담배거세미나방 幼虫에 接種하여 病原性을 檢定한 結果는 표 5와 같다.

다른 昆虫 바이러스의 담배거세미나방에 대한 感染性調査는 病原性이 높은 바이러스의 選別은 물론 代替宿主昆虫을 利用 바이러스를 增殖하여 微生物的 害虫防除를 하고자 함에 있다.

本 結果에서 도입된 8種의 NPV와 2種의 GV 중 담배거세미나방에 感染性을 나타낸 것은 *A. californica* MNPV, *S. littoralis* MNPV 및 *T. ni* MNPV였다(표 5).

담배거세미나방 5齡幼虫에 대한 病原性은 1.0×10^7 多角體/ml를 접종한 결과 *A. californica* MNPV 및 *S. littoralis* MNPV는 92.0%로 높게 나타났으며, *T. ni* MNPV는 60.0%의 殺虫率을 보였다(표 6).

Table 5. Infectivity of baculoviruses against 5th instar *Spodoptera litura* larvae

Viruses		Infectivity
Nuclear polyhedrosis viruses		
<i>Heliothis zea</i>	SNPV ^a	—
<i>H. zea</i>	MNPV(chemicals)	—
<i>Autographa californica</i>	MNPV ^b	++
<i>Heliothis armigera</i>	MNPV	—
<i>Spodoptera exigua</i>	MNPV	—
<i>S. frugiperda</i>	MNPV	—
<i>S. littoralis</i>	MNPV	++
<i>S. litura</i> (Korea)	MNPV	++
<i>Trichoplusia ni</i>	MNPV	+
Granulosis Virosis		
<i>Heliothis armigera</i>	GV	—
<i>Spodoptera frugiperda</i>	GV	—

^a Single nucleocapsid NPV ^b Multinucleocapsid NPV

Table 6. Pathogenicity of viruses secondly passed through *Spodoptera litura* against 5th instar *S. litura* larvae

Virus ^a	No. of larvae tested	No. of larvae killed	Mortality (%)
<i>A. californica</i> MNPV	25	23	92.0
<i>S. littoralis</i> MNPV	25	23	92.0
<i>T. ni</i> MNPV	25	15	60.0

^a Fifty μ l of 1.0×10^7 PIB/ml of each NPV were inoculated to each larva.

특히 *A. californica* MNPV 및 *S. littoralis* MNPV는 담배거세미나방 核多角體病 바이러스와 같이 높은 病原性を 보여 本 害虫 방제 이용에 可能性을 보였다.

Harpaz와 Raccah(1978)은 *S. litura*와 *S. exigua*, *S. littoralis*와 *S. exigua*는 서로 交叉感染이 일어나며 필자도 우리나라에서 분리한 *S. litura* MNPV를 北美産 *S. exigua* 幼虫에 접종한 결과 病原性は 인정하였으나, 核多角體病 특유의 症狀은 볼수 없음을 확인하였다. 이와 같은 交叉感染은 *A. californica* MNPV 증식을 위해 *T. ni*, *S. exigua*, *Estigmene acrea*를 代替宿主로 이용하고 있으나(Vail 등 1973), *S. littoralis* MNPV 寄主特異性を 보여 *A. californica* 幼虫에는 病原성이 나타나지 않았다(Abul Nasr & Elnagar 1980).

앞으로 본 바이러스를 利用한 害虫의 生物的防除를 위하여 人工飼料成分의 低廉化, 大量飼育體系 및 바이러스의 大量増進法等 많은 研究가 이루어져야 할 것이다.

謝 辭

本 論文은 科學技術處 特定研究 開發費에 의해 遂行하였음.

引 用 文 獻

- Abul Nasr, S. & Elnagar. 1980. The susceptibility of the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd), to different isolates of nuclear polyhedrosis virus. *Z. ang. Ent.* 90 : 289—292.
- Bell, R.A., C.D. Owens, M. Shapiro & J.R. Tardif. 1981. Development of mass rearing technology. USDA For. Serv. Tech. Bull., No. 1584, 599.
- Finney, D.J. 1971. *Frobit analysis*. Cambridge Univ. Press. Cambridge. pp. 313.
- Harpaz, I. & B. Raccah. 1978. Nucleopolyhedrosis virus of the egyptian cottonworm, *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). Temperature and pH relations, host range and synergism. *J. Invertebr. Pathol.* 31 : 368—372.
- 堀切正俊. 1964. ハスモンヨトウの生態と防除. 植物防疫. 18 : 269—274.
- Machida, O. & T. Okada. 1974. A bibliography of *Spodoptera* spp. (Lepidoptera: Noctuidae). *Misc. Bull. Kyushu Nat. Agr. Expt. Sta.* No. 49 : 1—100.
- 岡田齊夫. 1977. 核多角體病ウイルスよるハスモンヨトウの防除に關する研究. 中國農試報 E12 : 1—66.
- 岡田齊夫. 1984. ハスモンヨトウの核多角體病ウイルスの増殖手法と問題點. 植物防疫. 38 : 362—365.
- 岡田忠虎. 1968. ハスモンヨトウの核多角體病について九州病害虫研究會報. 14 : 34—37.
- Navan, A. 1985. *Spodoptera litura*(Boisdual) in "Handbook of insect rearing." Vol. II. pp. 469—475. ed. by Singh P. and R.F. Moore. Elsevier. Amst-erdam.
- 小山光男, 釜野靜也. 1976. ハスモンヨトウの大量飼育法. 植物防疫. 30 : 470—474.
- Patel, R.C., J.C. Patel & J.K. Patel. 1973. Biology and mass breeding of the tobacco caterpillar, *Spodoptera litura*(F.). *Israel J. Ent.* Vol. VIII. 131—142.
- 申鉉烈, 金昌洙, 朴昌圭, 李抽植. 1987. 담배거세미나방의 生態에 關한 研究. I. 南部地方에서의 發生消長, 作物別 幼虫의 發育, 蛹期間, 成虫의 壽命 및 産卵. 農試論文集(植環·菌茸·農加) 29 : 301—307.
- Singh, G. & V.C. Hoi. 1972. Effects of host plants on the biology *Spodoptera litura* (Fabr). *Mal. Agri. Res.* 1 : 14—23.
- Vail, P.V., D.L. Jay & D.K. Hunter. 1973. Infectivity of a nuclear polyhedrosis virus from the alfalfa looper, *Autographa californica*, after passage through alternate hosts. *J. Invertebr. Pathol.* 21 : 16—20.

(1988년 12월 3일 접수)