

곤충 핵다각체병 바이러스를 이용한 담배거세미나방의 미생물적 방제 I. 기주식물, 온도, 보관 및 태양광선이 바이러스의 병원성에 미치는 영향

Microbial Control of the Tobacco Cutworm, *Spodoptera litura* (Fab.), Using *S. litura* Nuclear Polyhedrosis Virus. I. The Effect of Spray on Soybean Leaves, Temperature, Storage, and Sunlight on the Pathogenicity of the Virus

任 大 準¹·陳 炳 來²·崔 鏞 文¹·姜 錫 權²

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

ABSTRACT A nuclear polyhedrosis virus (NPV) of the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* would be a promising agent for the control of the insect. To develop a viral insecticide using *S. litura* NPV, effect of spray on soybean leaves, temperature, storage, and sunlight on the pathogenicity of the virus were studied as follows: Median lethal concentration (LC₅₀) of the virus sprayed on the leaves against the third and the fifth instar larvae were 1.318×10^3 PIBS/ml and 1.087×10^5 PIBS/ml, respectively. On the concentration of 1.0×10^6 PIBS/ml, median lethal times (LT₅₀) were 7.3 days for the 3rd and 8.9 days for the 5th instar larvae. Stability of *S. litura* NPV was quickly decreased at the higher temperature than 60°C and at the longer exposure to the higher temperature. Storage of the virus at -20°C was kept higher pathogenicity than 4°C and 25°C. Viral activity was maintained more than 10 days in the sprayed-under leaves, but decreased at 3day after spray in the sprayed-on the leaf surface when exposed the virus to sunlight.

KEY WORDS *Spodoptera litura*, nuclear polyhedrosis virus, pathogenicity, stability, microbial control

초 록 담배거세미나방 핵다각체병 바이러스(*Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus: SINPV) 미생물살충제로 개발하기 위하여 기주식물, 온도 보관조건 및 태양광선에 의한 병원성 및 안정성에 대하여 조사하였다. 콩잎에 살포한 SINPV의 담배거세미나방 3령과 5령 유충에 대한 LC₅₀은 각각 1.301×10^4 PIBS/ml와 1.087×10^5 PIBS/ml였으며 1.0×10^6 PIBS/ml에 대한 LT₅₀은 3령과 5령에 대하여 각각 7.3일과 8.9일이었다. SINPV는 60°C에서 4시간, 70°C에서 10분 처리하였을 때 활성이 저하되었으며 처리시간이 길어질수록 급격한 활성감소현상을 보였다. 또한 SINPV는 -20°C 동결보관이 4°C나 25°C 보관보다 안정적인 활성을 유지하였다. 콩잎표면에 살포한 SINPV는 콩잎표면에 살포한 경우 3일 후에 불활화하였으나 콩잎 이면살포에서는 10일간 활성이 지속되었다.

검 색 어 담배거세미나방, 핵다각체병 바이러스, 병원성, 안정성, 미생물살충제, 미생물적 방제

1 농업기술연구소 곤충과(Entomology Division, Agricultural Sciences Institute, RDA, Suwon, Korea, 441-707)

2 서울대학교 농과대학(College of Agriculture, Seoul National University, Suwon Korea, 441-744)

담배거세미나방 (*Spodoptera litura* (Fab.)) (Lepidoptera: Noctuidae)은 동남아시아를 중심으로한 온난지역 농작물에 큰 피해를 주고 있는 돌발적 잡식성 해충으로 우리나라는 남부지방

Table 1. Median lethal concentration(LC₅₀) value of *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus tested against 1st, 3rd, and 5th instar of *S. litura* larvae fed on soybean leaves

Larval						
instar	LC ₅₀ (PIBS/ml)	Slope(b)	Intercept	X ²	df	
1st	1.318 × 10 ³	0.572	3.213	2.798	3	
3rd	1.301 × 10 ⁴	0.541	2.771	1.844	3	
5th	1.087 × 10 ⁵	0.621	1.872	1.892	3	

Table 2. Median lethal time(LT₅₀) value of *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus tested against 1st, 3rd, and 5th instar of *S. litura* larvae fed on soybean leaves

Larval						
instar	Inoculum(PIBS/ml)	LT ₅₀ (day)	Slope(b)	Intercept	X ²	df
1st	1.0 × 10 ⁶	5.46	15.43	-6.38	1.31	3
	10 ⁵	6.52	6.31	-0.14	8.36	4
	10 ⁴	7.07	10.62	-4.03	2.28	2
	10 ³	10.47	2.98	1.95	2.18	4
	10 ²	14.45	3.92	0.45	1.24	4
3rd	1.0 × 10 ⁷	6.12	13.84	-5.89	2.55	3
	10 ⁶	7.31	7.06	-1.10	15.03	5
	10 ⁵	8.57	5.42	-0.06	4.70	5
	10 ⁴	9.39	6.97	-1.78	3.56	3
	10 ³	12.68	4.39	0.15	1.52	3
5th	1.0 × 10 ⁸	6.01	13.52	-5.53	3.40	4
	10 ⁷	7.04	8.59	-2.29	3.55	4
	10 ⁶	8.91	6.72	-1.39	0.12	4
	10 ⁵	11.48	4.72	-0.01	2.28	5
	10 ⁴	13.14	4.62	-0.22	0.21	3

역, 일본에서는 전 지역에서 피해를 주는 문제 해충이다(岡田 1977, 申 등 1987). 본 해충의 바이러스병은 핵다각체형 바이러스 (Nuclear Polyhedrosis Virus; NPV), 세포질다각체형 바이러스 (Cytoplasmic Polyhedrosis Viurs; CPV), 과립병바이러스 (Granulosis Viurs; GV)와 홍색바이러스 (Iridescent Virus; IV)가 보고되어 있다 (Martignoni & Iawi 1986). 담배

거세미나방의 핵다각체형 바이러스는 생물적 방제에 이용가능성이 높기 때문에 (FAO & WHO 1973) 해충의 대량사육, 바이러스 증식, 바이러스의 활성유지 등에 관한 연구가 보고되어 있다 (岡田 1977). 任 등(1988)은 본 해충으로부터 국내에서 핵다각체형 바이러스를 분리하여 해충의 생물적 방제에 이용하고자 인공 사료로 사육한 유충에 대한 병원성과 바이러스

대량생산방법을 보고한 바 있다.

곤충바이러스를 생물적 방제 매체로 이용할 경우, 바이러스의 병원력, 기주식물에 대한 영향(David 1978), 태양광선에 의한 바이러스의 불활화(McLeod 등 1977), 바이러스 보관시 온도의 영향(任 등 1979) 등 환경에 대한 안정성 연구가 수행되어야 살충효과를 증진시킬 수가 있다. 특히 태양광선에서 나오는 자외선(Ultraviolet; U.V.)은 핵다각체를 둘러싸고 있는 결정성 단백질을 불활화시키기 때문에 이를 방지하기 위한 U.V. 차단제 개발 연구가 중요시 되고 있다.

따라서 담배거세미나방 핵다각체병 바이러스의 기주식물 및 온도에 의한 영향, 보관조건 및 태양광선에 의한 불활화 등에 대한 안정성을 밝힘으로 본 바이러스에 의한 방제효과를 높이고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

공시충 및 바이러스

공시충과 바이러스는 인공사육 담배거세미나방 유충과 핵다각체병 바이러스(*S. litura* Nuclear Polyhedrosis Virus; SINPV)로 본 시험에 사용된 바이러스는 정제된 다각체를 대상으로 하였다.

기주식물에 살포한 SINPV의 병원성

SINPV원액(1.0×10^9 PIBS/ml)을 0.1% Triton X-100로 희석하여 1령을 $1.0 \times 10^{2-6}$ PIBS/ml, 3령은 $1.0 \times 10^{3-7}$ PIBS/ml, 5령은 $1.0 \times 10^{4-8}$ PIBS/ml의 5농도를 분무기로 각각 폼트에 식재된 콩에 살포하였다. 유충접종은 바이러스를 살포한 콩잎을 3일동안 먹인후 개체사육용기에 옮기었다. 이후 신선한 콩잎을 급여하면서 매일 일정시간에 감염된 病死蟲數를 조사하였다. 조사기간은 공시충이 번데기가 되기전까지 조사하였으며 병원성에 대한 기주식물의 영향은 Finney(1971)방법에 의하여 LC_{50} 및 LT_{50} 값으로 산출하였다.

주요 환경에 대한 SINPV의 안정성

온도처리가 SINPV의 불활화에 미치는 영향

온도처리에 의한 SINPV의 안정성은 바이러스농도 1.0×10^8 PIBS/ml을 30°, 40°, 50° 및 60°C에서 각각 1시간, 4시간, 8시간, 60°, 80°, 100°C에서 각각 5분, 10분, 15분간 처리하여 상기와 같은 방법으로 온도에 의한 영향을 조사하였다.

보관조건이 SINPV의 병원성에 미치는 영향

보관조건에 따른 SINPV의 안정성은 1.0×10^7 PIBS/ml를 -20°C, 4°C, 25°C에 보관하면서 각각 1, 3, 6, 9개월째에 꺼내어 인공사육 표면에 살포 후 3령유충에 접종하여 병사충수를 조사하였다.

태양광선에 의한 SINPV의 불활화 영향

SINPV 1.0×10^8 PIBS/ml에 0.1% Triton X-100을 가한후 분무기를 이용하여 폼트에 식재된 콩의 잎표면과 뒷면에 골고루 살포하여 태양광선에 노출시킨 후 0일, 1일, 3일, 5일, 7일, 10일, 15일째에 콩잎을 채취하여 상기와 같은 방법으로 바이러스의 불활화 정도를 조사하였다.

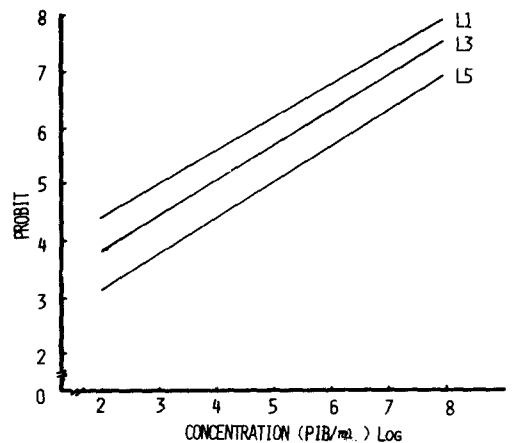


Fig. 1. Linear regression of *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus against 1st, 3rd, and 5th instar of *S. litura* larvae.

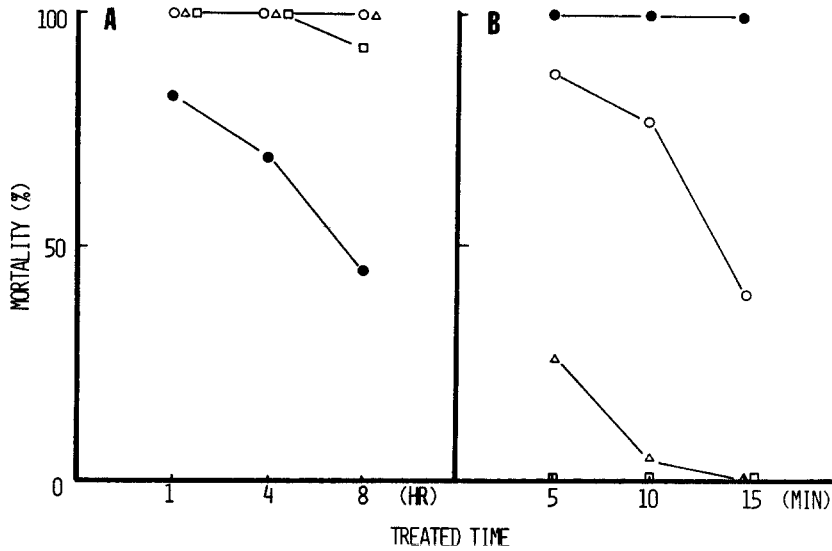


Fig. 2. Activity of *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus treated with various temperature.

(A) ○ 30°C △ 40°C □ 50°C ● 60°C
 (B) ● 60°C ○ 70°C △ 80°C □ 100°C

결과 및 고찰

기주식물에 살포한 SINPV의 병원성

SINPV를 살포한 콩잎을 1령, 3령, 5령 유충에 접종하여 병원성을 검정한 결과, 각각 $Y = 3.213 + 0.572 \times (x^2 = 2.798, df = 3)$, $Y = 2.772 + 0.541 \times (x^2 = 1.844, df = 3)$, $Y = 1.872 + 0.621 \times (x^2 = 1.892, df = 3)$ 이었다. (그림 1.)

한편 1령, 3령, 5령에 대한 LC_{50} 은, 각각 1.318×10^4 PIBS/ml, 1.087×10^5 PIBS/ml로 매우 높은 병원성을 보였으며 령이 진전됨에 따라 약 1/10배의 감수성을 나타냈다. 또한 LT_{50} 은 1.0×10^6 PIBS/ml로 1령, 3령, 5령에 접종한 경우, 각각 5.5일, 7.3일, 8.9일로 바이러스 살포 효과는 살포후 6일경부터 나타났다. 이와같은 사실은 다른 곤충에서도 같은 경향으로 기주식물을 이용할 경우 인공사료육보다 병원성이 높게 나타났으며(Baughner & Yendol 1981, 任 등 1988) 병원성의 차이는 당농도(David & Tayler 1977), 기주식물체 잎 표면조건(Young & Yearian 1974)등에 기인하는 것으로 알려져 있다. 상기 결과로 볼 때 바이러스를 야외포장에서 해충방제로 이용할 경우에는 살충효과를

높이기 위해서 바이러스 살포농도를 높여야 하며 어린 유충때에 살포하는 것이 효과적이라 생각된다.

주요환경에 대한 SINPV의 안정성

온도처리가 SINPV의 불활화에 미치는 영향

SINPV를 30°C와 40°C에서 8시간 처리했을 때 바이러스 활동에는 영향을 미치지 않았으나 60°C처리에서 처리 시간을 길게 할수록 병원성이 급감하여 활성에 영향을 미쳤다(그림 2A). 한편 70°C이상의 고온에서 10분이상 가열했을 때 활성에 큰 영향을 나타내 병원성이 절반으로 감소 했으며, 100°C에서는 병원성이 완전히 상실되었다(그림 2B). 온도에 따른 바이러스의 불활화는 곤충의 종에 따라 다소 차이는 있어 *Lymantria dispar*는 38°C에서 수주일(Lewis & Rollinson 1978), *Cadra cautella*는 42°C에서 몇달이내에 급격히 불활화된다고 보고하였으며(Hunter 등 1973) Jaques(1977)는 대부분 바이러스는 50°C이상의 고온에서 장시간 처리하였을 때 병원성이 쉽게 불활화된다고 하였다. 이상의 결과로 볼때 SINPV를 야외살포할 경우 작물간 분포하는 포장온도가 바이러스

활성에 미치는 영향은 적은 것으로 사료된다.

보관조건이 SINPV의 병원성에 미치는 영향

SINPV는 그림3과 같이 4°C나 25°C에서 보관하는 것보다 -20°C에 동결보관하는 것이 활성이 비교적 안정되어 9개월이상 경과해도 3령 유충에 대한 살충율이 95%이상 나타났다. 이러한 결과는 이미 보고된 연구(岡田 1977, Lewis & Rollinson 1978, 任 등 1979)와 같은 경향으로 바이러스의 보관은 동결보관이 활성 면에서 가장 안정적임을 알 수 있다. 그러나 곤충의 바이러스를 이용하여 바이러스 살충제로 만들 경우 제품을 장기적으로 안정된 활성을 유지하기 위하여 이와같은 냉동시설과 규모의 소요등 많은 문제점은 앞으로 해결하여야 할 과제라고 본다.

태양광선에 의한 SINPV의 불활화 영향

꽃트에 식재된 콩의 잎표면 뒷면에 SINPV를 살포하여 태양광선하에 방치후 일별로 콩잎을 채취하여 3령 유충에 먹인 결과, 살포 1일후부터 불활화현상이 나타나기 시작하여 5일 후에는 병원성을 거의 상실하였다. 반면 콩잎이면에 살포할 경우 표면보다 비교적 안정되어 5일 후 50%이상의 살충율을 보이고 10일 후에야 병원성이 상실되었다 (그림 4). 일반적으로 곤충바이러스는 태양광선의 자외선에 의해 급격히 불활화되는데 (McLeod 등) 1977, *Heliothis zea* NPV를 목화 상부표면에 살포했을 때 2일이 지나면서 활성을 잃었으나 이면살포시 4일 이상 활성이 지속되었다고 하였다(Bullcock, 1967 Young & Yearian 1974). 또한 Jaques(1972)는 *Trichoplusia ni* NPV를 양배추 뒷면에 살포한 것이 표면살포보다 효과적이고 살포 10일 후에도 약 15%의 바이러스활성을 유지하였다고 하였다. 본 시험 결과에서 급격한 바이러스의 불활화는 年中 일조시간이 비교적 길고 무더위가 계속되었던 7월과 8월에 시험을 수행했기 때문에 일부 보고보다 빨리 나타난 것으로 생각된다.

따라서 곤충의 미생물을 해충방제에 이용할 때 살포방법이나 살포시기를 충분히 고려하여

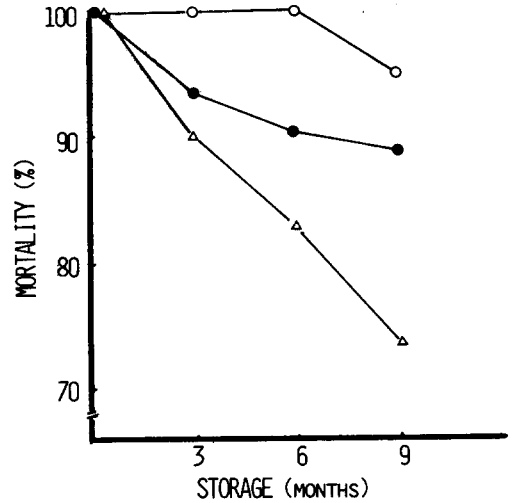


Fig. 3. Effect of storage of *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus on the pathogenicity against the 3rd instar larvae of *S. litura*.

- Stored at -20°C
- Stored at -4°C
- △ Stored at -25°C

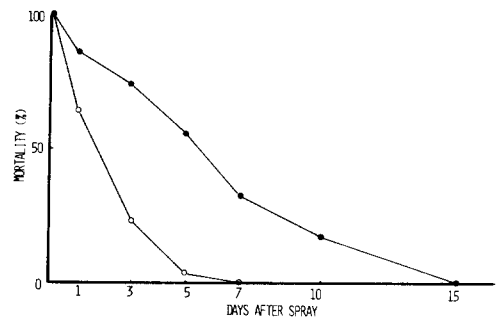


Fig. 4. Comparison of mortality of *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus sprayed on and under the surface of soybean leaf.

- Sprayed under the leaf surface
- Sprayed on the leaf surface

야만 보다 좋은 효과를 얻을 수 있으며 앞으로 곤충바이러스 보호, 기주식물에 강한 전착성 및 유충의 섭식을 촉진시킬 수 있는 물질을 찾아 내는 연구가 수행되어야 할 것으로 본다.

사 사

본 논문은 과학기술처 특정연구개발비에 의해 수행되었음.

인 용 문 헌

- Andrews, G. L. & P. P. Sikorowski. 1973. Effects of cotton leaf surfaces on the nuclear polyhedrosis virus of *Heliothis zea* and *Heliothis virescens*(Lepidoptera : Noctuidae). J. Invertebr. Pathol. 22 : 290~291.
- Baugher, D. G. & W. G. Yendo1. 1981. Virulence of *Autographa californica* baculovirus preparations fed with different food sources to cabbage looper. J. Econ. Entomol. 74 : 309~313
- Bullock, H. R. 1967. Persistence of *Heliothis* nuclear polyhedrosis virus on cotton foliage. J. Invertebr. Pathol. 9 : 434~436.
- David, W. A. L. 1978. The granulosis virus of *Pieris brassicae*(L.) and its relationship with its host. Adv. Virus. Res. 22 : 112~161.
- David, W. A. L. & C. E. Taylor. 1977. The effect of sucrose content of the diets on susceptibility to granulosis virus diseases in *Pieris brassicae*. J. Invertebr. Pathol. 30 : 117~118
- FAO & WHO. 1973. The use of viruses for the control of insect pests and diseases vectors. WHO Tech. Rep. Ser. No. 531, FAO Agr. Studies No. 91
- Finney, D. J. 1971. Probit analysis. 3rd ed. Cambridge University Press, London, pp. 333.
- Hunter, C. M., D. F. Hoffman & S. J. Coolier. 1973. pathogenicity of a nuclear polyhedrosis virus of the almond moth, *Cadra cautella*. J. Invertebr. Pathol. 21 : 282~286.
- 任大準, 玄在善, 白雲夏, 林鍾聲. 1979. 흰불나방 핵다각체병바이러스의 성장과 병원성에 관한 연구. 한식보지. 18 : 1~10.
- 任大準, 朴範錫, 陳炳來, 崔鑽文, 姜錫權. 1988. 담배거세미나방 핵다각체병바이러스의 병원성. 한웅곤지. 28 : 219~224.
- 任大準, 崔鑽文, 李文弘, 陳炳來, 姜錫權. 1989. 숙주곤충을 이용한 담배거세미나방 핵다각체병바이러스의 대량생산. 한웅곤지. 28 : 82~87.
- Jaques, R. P. 1972. The inactivation of foliar deposit of viruses of *Trichoplusia ni* and *Pieris rapae* and tests on protectants activities. Can. Entomol. 104 : 1985~1994.
- Jaques, R. P. 1977. Stability of entomopathogenic viruses. Misc. Publ. Entomol. Soc. Am. 10 : 99~116.
- Lewis, F. B. & W. D. Rollinson. 1978. Effect of storage on the virulence of gypsy moth. J. Econ. Entomol. 71~719~722.
- Martignoni, M. E. & P. C. Iwai. 1986. A catalog of viral diseases of insects, mites, ticks. 4th ed. Gen Tech. Rep. PNW-195. Portland. 51P.
- McLeod, P. J., W. C. Yearian & S. Y. Young. 1977. Inactivation of *Baculovirus heliothis* by ultraviolet irradiation, dew and temperature. J. Invertebr. Pathol. 30 : 237~241.
- 岡田齊夫. 1977. 核多角體病にするハスモンヨトウの防除に関する研究. 中國農試報. E12 : 1~66.
- 申鉉烈, 金昌効, 朴晶圭, 李抽植. 1987. 담배거세미나방 생태에 관한 연구 I. 남부지방에서의 발생소장, 작물별 유충의 발육, 용기간, 성충의 수명 및 산란. 농시논문집(植環, 菌草, 農加). 29(1) : 301~307.
- Young, S. Y. & W. C. Yearian. 1974. Persistence of *Heliothis* nuclear polyhedrosis virus on foliage of cotton, soybean and tomato. Environ. Entomol. 3 : 253~255.

(1990년 5월 21일 접수)