

국내 매미나방(나비목: 태극나방과) 천적 및 매미나방 핵다각체병바이러스의 유전적 다양성 조사

황활수 · 이영수^{1*} · 이희아¹ · 최덕수² · 이경열^{**}

경북대학교 농업생명과학대학, ¹경기도농업기술원, ²전남농업기술원 친환경농업연구소

Natural Enemies of the Asian Gypsy Moth, *Lymantria dispar asiatica* (Lepidoptera: Erebidae) and the Genetic Variation Analysis of *L. dispar* Multiple Nucleopolyhedrovirus

Hwal-Su Hwang, Young Su Lee^{1*}, Hee A Lee¹, Duck Soo Choi² and Kyeong-Yeoll Lee^{**}

College of Agriculture and Life sciences, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

¹Gyeonggi Agricultural Research and Extension Services, Hwaseong 18388, Korea

²Jeonnam Agricultural Research and Extension Services, Naju 58213, Korea

ABSTRACT: Asian gypsy moth, *Lymantria dispar asiatica* (Lepidoptera: Erebidae), which is an indigenous pest in Korea, a large outbreak has been reported in Gyeonggi-do, Chungcheong-do, and northern Gyeongsangbuk-do from 2019 in forest and nearby downtown areas, causing emotional damage to forests and city dwellers. During the indoor culture of gypsy moth eggs collected in Yecheon, Gyeongbuk in 2021 we found that 79.65% (321/403 of first instar larvae) were died due to *Lymantria dispar* multiple nucleopolyhedrovirus (LdMNPV) infection. Sequence analyses of 36 gypsy moths collected from 12 regions in Korea using LdMNPV late expression factor-8 (*lef-8*) and polyhedrin (*polh*) genes showed a genetic variation of 0.80% and 0.86%, respectively. Comparison to GenBank data showed that the Korean samples were most similar to LdMNPV in Japan, whereas most different to those of Turkey. These results showed a high infection rate of LdMNPV in Korea and LdMNPV is one of the important population regulators of the gypsy moth.

Key words: Gypsy moth, Natural enemy, Biopesticide, Nuclearpolyhedrovirus, Insect outbreak

조 록: 아시아계통의 매미나방(*Lymantria dispar asiatica*) (나비목: 태극나방과)은 국내 토착해충으로서 지역에 따라 돌발적으로 대발생한 사례가 있으며, 다양한 수목 및 농작물에 피해를 끼치는 광식성 해충이다. 특히 2019년 이후로 경기도, 충청도, 경북 북부지역에서 대발생하여 산림 및 인근지역 도심에 발생하여 산림 및 도시민들의 정서적 피해를 끼치기도 했다. 본 연구에서는 2020-2021년 경북 예천지역에서 알집을 채집하여 사육한 결과, 매미나방 핵다각체병바이러스(LdMNPV) 감염에 의해 79.65% (321/403마리)는 사육중 사망하였다. 염기서열 분석은 2021년 국내 12 지역에서 매미나방 유충을 36마리를 조사한 결과, LdMNPV의 late expression factor-8 (*lef-8*), polyhedrin (*polh*) 유전자의 종내변이율이 0.80%, 0.86%로 확인됐다. NCBI database 자료와 비교 분석한 결과 일본의 LdMNPV와 가장 유사했으며, 터키의 LdMNPV와 가장 큰 차이를 나타냈다. 본 조사를 통하여 LdMNPV는 높은 감염율을 나타냈고 매미나방 중요한 개체군 조절인자중 한가지로 작용할 것으로 판단된다.

검색어: 매미나방, 천적, 생물농약, 핵다각체병바이러스, 돌발해충

매미나방 *Lymantria dispar* (Linnaeus, 1758) (나비목: 태극나방과)는 다양한 수목 및 농작물에 피해를 끼치는 광식성 해충으로서 생물지리학적으로 구북구지역(Palaearctic region)에 광범위하게 분포할 뿐만 아니라 북미대륙으로도 유입되어 산림의 막대한 피해를 끼치고 있다(Pogue and Schaefer, 2007; Schintlemister,

*Corresponding author: yslee75@gg.go.kr

**Corresponding author: leeky@knu.ac.kr

Received October 12 2021; Revised November 3 2021

Accepted November 5 2021

2004). 매미나방은 지리적 분포와 유전적 특징의 차이로 인하여 크게 3개의 아종으로 구분한다. 즉, 유럽 및 북아메리카에 분포하는 유럽 계통(*Lymantria dispar dispar*), 그리고 한국, 일본, 아무르, 시베리아에 분포하는 *Lymantria dispar asiatica*와 일본 본토에 서식하는 *Lymantria dispar japonica*를 함께 아시아 계통으로 구분한다(Kang et al., 2017). 유럽계통은 활엽수를 가해하는 반면에 아시아계통은 침엽수도 가해할 수 있을 뿐만 아니라 암컷 성충의 비행능력이 뛰어나기 때문에 기주범위와 서식지가 더 넓게 활동함으로써 산림부터 농경지, 도심지까지 이동하여 피해를 끼친다(Keena et al., 2001; Limbu et al., 2017).

아시아 계통 매미나방은 국내 토착해충으로서 지역에 따라 돌발적으로 대발생한 사례가 있다(Koh, 2014; Jung et al., 2020). 특히, 2019년 이후로 경기도, 충청도, 경북 북부지역에서 대발생하여 참나무 등 활엽수뿐만 아니라 일본잎갈나무, 리기다소나무 등 침엽수의 피해가 심했다(Jung et al., 2020; Choi et al., 2021). 매미나방의 피해는 산림뿐만 아니라 인근지역 도심 공원에도 유충 및 나방이 대발생하여 도시민의 정서적 피해를 끼치기도 했다. 또한 산림 발생지 주변 농경지로의 유입빈도가 높아지면서 과수 등 농작물의 피해가 예상된다. 매미나방의 도발적 발생에 대한 예찰 분석 및 종합적 방제대책이 절실하다.

미국이 경우, 1869년 동북부의 메사추세츠주에 유입된 이후 매미나방 관리를 위하여 다양한 방제방법을 개발하여 적용한 바 있다(Mcmanus and Csóka, 2007). 최근에는 환경보호 및 생태계 보존을 위하여 기존 화학적 방제를 줄이고 생물적 방제 적용 사례가 증가하고 있다(Elkinton et al., 2019; Liebhold et al., 2021; Mannu et al., 2020). 오래전에 기생성 천적으로서 알기생벌인 짙시알강총좀벌(*Ooencyrtus kuvanae* (Howard))과 짙시나방벼룩좀벌(*Anastatus japonicus* Ashmead) 등을 아시아에서 도입한 적이 있다(Crossman, 1917; 1925). 또한, 병원성 천적으로서 곤충병원성 곰팡이인 *Entomophaga maimaiga*, 곤충병원성 세균인 *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, baculovirus인 매미나방 핵다각체병바이러스(*Lymantria dispar* multiple nucleopolyhedrovirus, LdMNPV) 등을 활용하여 방제효과를 증대한 바 있다(Blackburn and Hajek, 2018).

LdMNPV는 매미나방 유충에 특이적으로 감염하는 바이러스로서 제재(Gypchek, USDA)로 개발되어 실용화된 적이 있다(Cunningham and Kaupp, 1995). 또한 유럽 계통과 아시아 계통의 매미나방에 관해서 LdMNPV의 살충활성을 비교 분석하였다(Harrison et al., 2016). 최근 여러 국가에서 LdMNPV의 다양한 계통이 발견되고 감염률 및 살충활성의 다양성이 제시된 바 있다(Gencer et al., 2018). 국내에서도 토착 매미나방의 LdMNPV 유전자 및 살충활성을 비교분석한 바 있다(Shim et al., 2003). 그러나, 국내 매미나방 LdMNPV의 지역적 발생, 감염률 및 유전적

다양성 등 다양한 특징에 대한 연구는 부족한 실정이다.

본 연구에서는 국내 여러 지역에서 채집한 매미나방 유충 및 실내 사육 개체들을 대상으로 LdMNPV 감염률 및 유전적 다양성을 비교분석하였다. 그리고 국내 매미나방 방제를 위하여 LdMNPV를 생물적 방제인자로 적용 가능성을 진단하였다.

재료 및 방법

매미나방 채집 및 인공사육

2021년 국내 12 지역에서 매미나방 알집 및 유충을 채집하여서 계대 사육을 실시했다. 2021년 3월에 채집한 알집은 실온에서 부화를 유도하였다. 부화한 유충은 3령충까지 페트리 디쉬(35 × 10 mm) (SPL, Pocheon, Korea)에 키웠고 그 이후 노숙 유충은 조금 큰 사육용기(60 mL) (SPL, Pocheon, Korea)를 사용하여 개별로 사육하였다. 매미나방 유충의 인공먹이 F9630B (Frontier Scientific, Newark, USA)를 제조하여 1~2일에 한번씩 신선한 먹이를 제공하였다. 번데기는 천장에 그물망이 있는 플라스틱 상자(72 × 72 × 100 mm) (SPL, Pocheon, Korea)를 사용하였다. 사육상자 내에 암수 한 쌍의 성충을 넣고 산란을 유도하였다. 성충 사육상자의 천장에 핸드타올로 덮었고, 상자 벽면에는 72 × 100 mm 골판지를 넣었다. 매미나방 사육실은 25°C ± 1°C, 40-60% RH, 12:12h (Light:Dark) 조건을 유지하였다. 사육기간 중에 바이러스 감염증상을 보이며 죽은 유충은 70% 알코올에 넣은 후 -20°C에 보관하였다(Fig. 1A).

LdMNPV 분리 및 정제

바이러스에 의해 죽은 매미나방 LdMNPV를 정제하기 위해 매미나방 유충을 0.1% SDS (1 ml/larva) 용액에 넣고 파쇄봉을 이용하여 분쇄한 후 4°C 냉장고에서 1일 보관했다. 하루 경과한 용액을 솜과 60 ml 주사기를 이용하여 곤충의 잔해물과 용액을 분리한다. 25°C에서 3,600×g로 10분 동안 원심분리 후 상층액을 제거하고 0.5% SDS와 0.3M NaCl 용액도 같은 방법으로 재현탁후 원심분리를 했다(Ahmad et al., 2018). 마지막으로 상층액을 제거한 침전물을 증류수를 넣어 4°C에 보관했다. 현탁한 용액에서 Cheng et al. (1990)의 방법을 참조하여 Polyhedral occlusion body (POB)를 다음과 같이 순수분리했다. 보관한 현탁액을 2,500 × g로 10분간 원심분리하여서 상층액을 제거 후 침전물과 증류수를 재현탁했다. 재현탁한 용액을 40-60% sucrose 용액을 이용하여 sucrose gradients로 1,500 × g로 30분간 원심분리했다. 원심분리 후 튜브의 중간에 확인된 흰 밴드를 추출하여서 증류수로 희석후 2,500 × g로 30분간 원

심분리하여 sucrose 용액을 제거하고 증류수로 재현탁 후 -20°C에 보관했다. 분리된 POB를 확인하기 위해 혈구계산판(Hemocytometer)을 이용하였다(Fig. 1B).

LdMNPV genomic DNA 추출 및 증폭

LdMNPV의 감염증상이 있는 매미나방에서 DNA mini kit (Invitrogen, Carlsbad, CA)를 이용하여 genomic DNA를 추출하였다. PCR을 수행하기 위해 NanoPhotometer™ (Implen GmbH,

Schatzbogen, Germany)를 이용하여 농도를 측정하였다. 두개의 LdMNPV 유전자 증폭을 위한 프라이머 쌍은 다음과 같다: polyhedrin (*polh*)의 forward primer 5'-GCCAAGCGCCAA AAGCACTT-3'와 reverse primer 5'-AGGCGTGATCGTCG TTTAG-3', late expression factor-8 (*lef-8*)의 forward primer 5'-CTCAAGTGC GGAATGTAGG-3'와 reverse primer 5'-AGC TTCTTCCACG GCGAG-3' (Harrison et al., 2016). PCR 혼합액은 SolgTM2x TaqPre-Mix (Solgent, Daejeon, Korea) 15 µl, 각 프라이머 2 µl, DNA 용액 11 µl (100 ng)으로 전체 30 µl 양

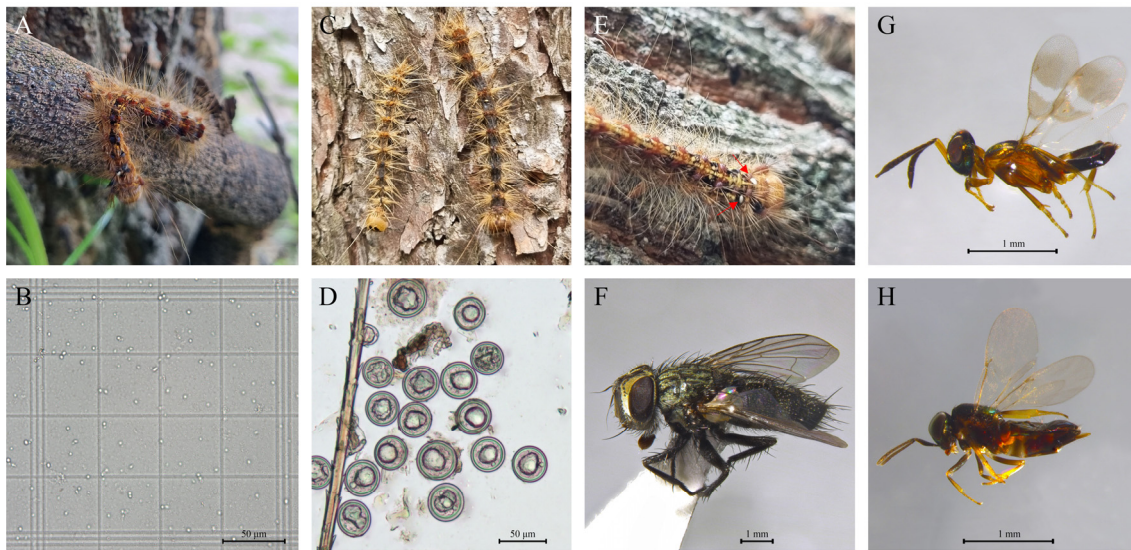


Fig. 1. Natural enemies of *Lymantria dispar asiatica* collected in Yecheon, Korea. Dead larva by the infection of LdMNPV (A) and microscope observation of POB (B), Dead larvae by the infection of entomopathogenic fungus *Entomophaga maimaiga* (C) and microscope observation of *E. maimaiga* conidia (D), larval parasitic eggs (two red color arrows) of *Parasetigena silvestris* (E) and a newly eclosed adult (F). Two egg parasitoids, *Anastatus japonicus* (G) and *Ooencyrtus kuvanae* (H), newly hatched from gypsy moth eggs.

Table 1. LdMNPV collection locations and sequence information in Korea

No	Locations	Dates	Accession numbers	
			<i>lef-8</i>	<i>polh</i>
1	Chungcheongbuk-do (CB) Chungju	21.05.18	-	OK072710
2	Gyeongsangbuk-do (GB) Yecheon	21.03.03	OK072698	OK072707
3	Gyeonggi-do (GG) Anseong	21.05.28	-	OK072716
4	Gyeonggi-do (GG) Gimpo	21.05.25	OK072699	OK072718
5	Gyeonggi-do (GG) Icheon	21.05.18	OK072700	OK072708
6	Gyeonggi-do (GG) Paju	21.05.25	OK072701	OK072715
7	Gyeonggi-do (GG) Yeosu	21.05.28	-	OK072717
8	Gyeonggi-do (GG) Yongin	21.05.20	OK072706	OK072711
9	Gangwon-do (GW) Hoengseong	21.05.13	OK072702	OK072709
10	Gangwon-do (GW) Jeongseon	21.05.22	OK072703	OK072714
11	Gangwon-do (GW) Pyeongchang	21.05.22	OK072704	OK072712
12	Gangwon-do (GW) Yeongwol	21.05.22	OK072705	OK072713

으로 PCR을 진행하였다. PCR 반응은 초기반응(95°C, 5분), 35 cycles (95°C, 60초; 55°C, 60초; 72°C, 60초) 그리고 말기반응 (72°C, 5분)으로 진행하였다. 진행 후 PCR 산물은 1.5% Agarose gel을 이용하여 전기영동으로 분리하고 Wizard PCR Preps DNA purification system (Promega, Madison, WI, USA)를 이용하여 DNA를 정제하였다.

LdMNPV 유전자 염기서열 분석

정제된 DNA의 염기서열은 BigDyeTerminator v3.1 Cycle Sequencing Kits (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)으로 슬젠티(대전, 한국)에서 양방향으로 분석하였다. Bioedit 7.2.5 프로그램을 이용하여 정리하였고, National Center for Biotechnology Information (NCBI)의 Genbank database에서 BLASTN algorithm 방법으로 유사성을 분석하였고 각각의 유전자 서열은 GenBank database에 등록하였다(Table 1). Maximum likelihood (ML) 분석은 Bioedit 7.2.5과 MegaX 프로그램을 이용하였으며, 이때 LdMNPV (NC_001973) 염기서열을 기준으로 *lef-8* 유전자는 49607 - 50238 (632 bp) 영역을 사용했으며, *polh* 유전자는 551 - 1345 (465 bp) 영역을 사용하였다. HKY (Hasegawa-Kishino-Yano) model 계통분석방법으로 1,000회의 bootstrapping을 실시하였다(Felsenstein, 1985). LdMNPV의 Minimum Spanning Network (MSN) haplotype은 PopART - 1.7 프로그램으로 수행하였다(Bandelt et al., 1999).

결 과

야외 채집한 매미나방의 천적

2021년 3월 예천에서 채집한 매미나방 알집들을 실내 사육한 결과 알집에서 많은 기생벌들이 우화하였고 형태적으로 진단해 본 결과 2종으로서 짚시나방벼룩좀벌(*Anastatus japonicus* Ashmead, 1904)과 짚시알깡충좀벌(*Ooencyrtus kavanae* (Howard, 1910))이었다(Fig. 1G, H). 또한, 2021년 4-5월 예천에서 채집한 유충들을 관찰해 본 결과 곤충병원성 LdMNPV, 곤충병원성 곰팡이인 *Entomophaga maimaiga* Humber, Shimazu & R.S.

Soper, 그리고 유충의 기생성 천적인 집시나방기생파리(*Parasetigena silvestris* (Robineau-Desvoidy, 1863))가 발견되었다(Fig. 1C-F). 매미나방 발생지에서는 LdMNPV 및 *E. maimaiga*에 의해서 죽은 유충의 사체들이 혼재되어 나무 줄기에 수없이 걸려 있는 모습이었다. LdMNPV에 감염되어 죽은 개체들은 역V자 모양으로 걸려있었고 곤충병원성 곰팡이에 의해서 죽은 개체들은 머리를 아래로 하고 매달려 있는 모습이었다(Fig. 1A, C). 또한, 죽은 사체들의 몸 표면에 기생파리의 알이 산란되어 있는 모습을 쉽게 관찰할 수 있었다(Fig. 1E).

매미나방 인공사육

예천에서 채집한 매미나방 알집들을 25°C에서 40일 동안 관찰한 결과 부화기간은 5-15일이었고 부화율을 52.3-99.7%로 다양했으며 평균 부화율은 79.64%이었다(미보고 자료). 특히, 많은 알집들로 부터 알기생벌이 우화했으며 우화기간은 10-34일, 우화율은 10.6%이었다. 또한, 부화한 매미나방 1령 유충들을 인공사육하는 과정에서 NPV 감염증상이 심하게 나타났다. 총 403마리 중 321마리(79.65%)는 움직임이 둔하고, 먹이를 잘 먹지 못했으며, 이와 같은 증상 이후 1~2일 이내에 몸이 녹아내리는 듯한 NPV 감염증상이 나타나며 사멸했다(Black and Hajek, 2018). NPV 감염율은 어린 유충보다 5-6령일때에 56.58%로 가장 높았다(Table 2).

매미나방의 유충단계의 령 수는 다양하게 나타났다. 암컷은 유충의 령 수가 6령, 또는 7령인데 6령이 많았고 수컷은 5령, 6령, 7령인데 6령이 가장 많았다 (Table 3). 매미나방의 총 수명은 유충의 령 수가 많을수록 길었다. 즉, 암컷의 유충 령 수가 6령 또는 7령일 경우에 각각 75.40일, 79.0일이었다. 수컷의 유충 령 수가 5령, 6령, 7령일 경우에 각각 73.08일, 80.43일, 87.50일이었다(Table 3).

LdMNPV 진단

LdMNPV에 감염된 매미나방 5령 유충의 1차 추출물을 sucrose gradients로 원심분리 후 50% sucrose에서 흰 밴드를 확인하였다. 추출한 흰 밴드는 증류수로 재현탁 후 원심분리기

Table 2. LdMNPV infection rates during gypsy moth rearing

	Total number	Larva							Pupa
		1 st instar	2 nd instar	3 rd instar	4 th instar	5 th instar	6 th instar	7 th instar	
Mortality (%)	403	6.45	1.99	1.99	3.23	18.86	37.72	6.20	3.23
Accumulated mortality (%)	-	6.45	8.44	10.42	13.65	32.51	70.24	76.43	79.65

Table 3. Life cycle of gypsy moth using an artificial diet

Sex	Numbers	Egg	Larva							Pupa	Adult	Oviposition day	Total longevity
			1 st instar	2 nd instar	3 rd instar	4 th instar	5 th instar	6 th instar	7 th instar				
													(Day)
Female	5	7.00	8.00	7.20	6.20	6.40	7.40	14.40	-	12.60	6.20	1.40	75.40
	2	5.50	7.00	9.00	7.00	7.00	7.00	6.50	10.50	13.50	6.00	1.00	79.00
													73.08
Male	46	9.54	9.74	7.89	6.59	5.98	6.87	12.63	-	14.76	6.43		80.43
	6	8.67	10.33	8.17	6.50	6.83	7.00	6.17	11.33	15.00	7.50		87.50



Fig. 2. Phylogenetic tree based on *lef-8* sequences using Hasegawa-Kishino-Yano model (HKY) of maximum likelihood (ML). Ten *lef-8* sequences obtained from this study were compared with 36 sequences obtained from the GenBank database. Percentage bootstrap values (1,000 replicates) were shown above the branches. Asterisks indicated the Korean specimen. *Lymantria xylin* nucleopolyhedrovirus (NC_013953) was used as an outgroup.

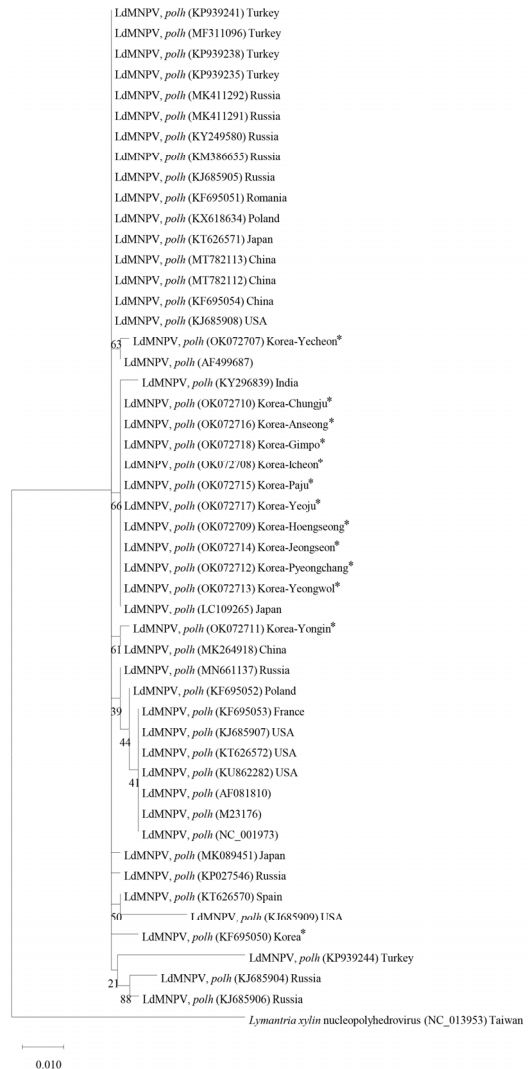


Fig. 3. Phylogenetic tree based on *polh* sequences using Hasegawa-Kishino-Yano model (HKY) of maximum likelihood (ML). Twelve sequences obtained from this study were compared with 37 sequences obtained from the GenBank database. Percentage bootstrap values (1,000 replicates) were shown above the branches. Asterisks indicated the Korean specimen. *Lymantria xylin* nucleopolyhedrovirus (NC_013953) was used as an outgroup.

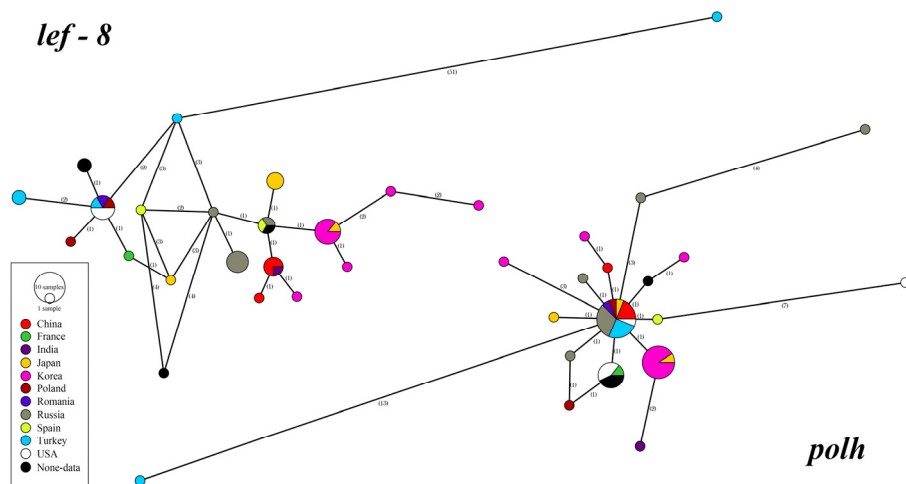


Fig. 4. Minimum spanning network analysis of the *lef-8* gene and *polh* gene haplotypes of LdMNPV from Korea and other countries.

를 통해 POB로 정제하였다. POB는 혈구계산판내의 격자[$0.05 \times 0.05 \text{ mm}$ (0.25 nL)]의 면적으로 측정하였다(Fig. 1B). 측정을 토대로 매미나방 4령 유충에게 1×10^5 POB를 접종한 $5 \times 5 \text{ mm}$ 의 인공먹이를 제공하였다. 매미나방이 POB가 접종된 먹이를 먹은 후 일반 인공먹이를 제공하였으며, 이후 LdMNPV에 의해 죽은 매미나방을 관찰하였다.

매미나방 바이러스 조사 및 분석

2021년 국내 12 지역에서 채집한 매미나방 유충에서 LdMNPV가 확인되었다. LdMNPV의 유전적 다양성을 결정하기 위하여 지역별 3개체를 대상으로 2개의 유전자인 *lef-8*와 *polh*를 이용하여 maximum likelihood (ML) 방법으로 분석하였다. 국내 LdMNPV의 *lef-8* 유전자 변이율은 0.00 - 0.80%이며, 2015년 NCBI의 등록된 한국 개체의 염기서열(KF695050)과 0.48 - 1.12%의 차이를 나타냈다(Table S1). NCBI에 등록된 36개의 염기서열과 비교 결과 변이율이 0.00 - 9.28%이었다. 특히, 용인(OK072706)과 평창(OK072704) 개체를 제외한 7개체는 일본 개체(LC109268)와 0.00 - 0.16%의 변이율이 가장 낮고, 터키(KP939236)와 8.64 - 8.96%로 가장 높았다(Fig. 2, Table S1). LdMNPV의 *polh* 유전자 변이율은 0.00 - 0.86%이었다. 그러나, 2015년 NCBI에 등록된 한국의 LdMNPV의 *polh* 염기서열(KF695050)과 비교한 결과 0.86 - 1.08%의 차이를 나타냈다(Table S2). NCBI에 등록된 37개의 염기서열과 비교 결과 변이율이 0.00 - 4.09%이었다. 특히, 예천(OK072707)과 용인(OK072711)을 제외한 국내 10개체는 일본 개체(LC109265)와 0.00%로 변이율이 가장 낮았고, 터키 개체(KP939244)와 3.01 -

3.23%로 가장 높았다(Fig. 3, Table S2).

LdMNPV의 *lef-8*와 *polh*의 haplotype을 분석해 본 결과 *lef-8* 유전자는 러시아, 루마니아, 스페인, 일본의 일부 개체들이 아시아와 유럽 개체들과 일부 혼재되어 있지만 미국, 프랑스, 폴란드, 터키는 유럽 지역을 형성하였으며, 인도, 중국, 한국은 아시아 지역을 형성하였다. 그와는 반대로 *polh* 유전자는 유럽 지역과 아시아 지역이 구분이 되어 있지 않았다(Fig. 4). 특히, 터키에서 채집한 LdMNPV의 *lef-8*과 *polh*는 다른 나라의 샘플과 달리 가장 독특한 haplotype으로 나타났다.

고찰

2021년 경북 예천의 매미나방 발생지역을 조사해 본 결과 매미나방 알집과 유충들은 다양한 기생성 및 병원성 천적들에 의해 기생 또는 감염되어 있었다. 매미나방 알집에는 짚시알깡 총좀벌과 짚시나방벼룩좀벌 2종이 발견되었다. 또한, 유충들에는 곤충병원성 미생물 천적인 핵다각체병바이러스와 곤충병원성 곰팡이의 감염으로 인해서 죽은 개체들이 아주 많았다. 이러한 개체들에는 기생성 파리인 집시나방기생파리의 알들이 산란된 개체들도 많이 발견할 수 있었다(Fig. 1). 또한, 2021년 국내 다양한 지역(경기도, 강원도, 충청도 및 경상도)에서 채집한 유충들을 조사해 본 결과 모든 지역에서 LdMNPV로 인해서 죽은 유충들이 관찰되었다. 즉, 2021년에 관찰된 매미나방 개체군에는 천적의 활동이 왕성했을 것으로 판단된다. 이러한 현상은 그 이전(2019-2020)에는 관찰되지 않았던 현상이며 지난 2년간 매미나방의 돌발적인 발생 증가로 인해서 2021년에는 기생성 및 병원성 천적들의 활동이 증가한 것으로 판단된다.

일반적으로 25°C에서 사육할 경우에 사충율은 2% 정도이며, 1령부터 번데기까지 사육기간은 암컷 46.7일, 수컷 43.2일 소요되고 보고한 바 있다(Lyu, 2015). 그러나, 본 조사에서 살피본 바와 같이 예천에서 채집한 알집들에서 부화한 유충을 인공사육해 본 결과 유충 성장과정에서 많은 유충들이 LdMNPV 감염에 의해서 사멸하였다. 특히, 사멸율은 어린 유충보다 5-6령 노숙유충들에서 높게 나타났다. 즉, 야외에서 채집한 매미나방의 알집들은 이미 LdMNPV에 감염되어 있는 상태인 것으로 판단된다. Myers et al. (2000)에 의하면 매미나방 알집의 0.5-2%는 LdMNPV에 감염되어 있으며 경란전염이 가능하다고 보고한 바 있다. 본 연구에서도 매미나방 알에서 추출한 DNA 샘플에서 LdMNPV를 PCR 진단할 수 있었다(미보고 자료). 또한, 사육기간중 LdMNPV의 병원성 증상은 어린 유충보다 5-6령 노숙유충에서 심하게 나타났다. 이러한 현상은 2021년 야외 관찰시 어린유충시기인 5월초보다 노숙유충시기인 6월초순경에 LdMNPV에 의해서 죽은 유충 사체가 훨씬 많았다. 발달단계에 따른 LdMNPV의 병원성에 대한 차이는 국내에서도 보고된 바 있다(Lee and Robert, 2009).

국내 다양한 지역의 LdMNPV를 채집하여 염기서열을 비교해 본 결과 일부 지역에서 변이율이 있었지만 모두 0.9% 이내로 나타났다. 그러나, 2015년에 국내에서 보고된 LdMNPV (KF695050)는 본 연구에서 조사한 LdMNPV의 변이율인 0.9%보다 더 높게(*lef-8*은 1.12%, *polh* 1.08%) 나타났다. 이러한 차이는 LdMNPV가 시간이 지남에 따라서 변할 수 있다는 가능성을 제시한다. 국내 LdMNPV는 유럽 샘플보다 주변국인 중국과 일본의 LdMNPV와 가장 유사했다. 그러나, 터키의 LdMNPV는 다른 나라의 샘플과 달리 유전적 다양성이 가장 높았다. 이러한 다양성은 Gencer et al. (2018)에 의하면 매미나방에 대한 병원성이 다른것을 시사한바 있다. 따라서, LdMNPV는 잠재적 다양성이 높을 가능성을 제시하며, 이에 따른 매미나방에 대한 병원성이 다를 것으로 추측되어진다.

LdMNPV의 계통에 따라서 다양한 유전적 특징이 차이가 날 수 있다. Harrison et al. (2016)은 한국, 일본 및 러시아에서 채집한 LdMNPV는 미국에서 현장에 사용된 Gypchek의 LdMNPV보다 살충율이 더 높았다고 보고한 바 있다. 국내 LdMNPV 계통들에 대한 다양한 살충효과를 분석하여 매미나방 방제를 위한 우수 살충계통 선발 및 실용화에 활용할 수 있을 것이라고 기대된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(PJ015670)의 지원으로 수행되었습니다.

Supplementary Information

Supplementary data are available at Korean Journal of Applied Entomology online (<http://www.entomology2.or.kr>).

저자 직책 & 역할

- 황활수: 경북대, 박사과정; 실험 수행, 자료수집 및 분석, 논문작성 및 수정
 이영수: 경기농업기술원, 농업연구사; 자료 수집, 논문검토 및 수정
 이희아: 경기농업기술원, 공무원; 자료 수집, 논문검토 및 수정
 최덕수: 전남농업기술원, 농업연구사; 자료 수집, 논문검토 및 수정
 이정열: 경북대, 교수; 논문구성, 자료분석, 논문검토 및 수정

모든 저자는 원고를 읽고 투고에 동의하였음.

Literature Cited

- Ahmad, J.N., Mushtaq, R., Ahmad, S.J.N., Maqsood, S., Ahuja, I., Bones, A.M., 2018. Molecular identification and pathological characteristics of NPV isolated from *Spodoptera litura* (Fabricius) in Pakistan. *Pak. J. Zool.* 50, 2229-2237. doi:10.17582/JOURNAL.PJZ/2018.50.6.2229.2237
- Bandelt, H.J., Forster, P., Röhl, A., 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 16, 37-48.
- Blackburn, L.M., Hajek, A.E., 2018. Gypsy moth larval necropsy guide. Gen. Tech. Rep. NRS-179. Newtown Square, Department of Agriculture, Forest Service, Northern Research Station. 30, PA, U.S. doi:10.2737/NRS-GTR-179.
- Cheng, X.W., Aguda, R.M. and Shepard, B.M., 1990. A nuclear polyhedrosis virus from the rice skipper. *Int. Rice Res. Inst. Newsl.* 15, 33-34.
- Choi, W.I., Kim, E.S., Yun, S.J., Lim, J.H., Kim, Y.E., 2021. Quantification of one-year gypsy moth defoliation extent in Wonju, Korea, Using Landsat Satellite Images. *For.* 12, 545
- Crossman, S.S., 1917. Some methods of colonizing imported parasites and determining their increase and spread. *J. Econ. Entomol.* 10, 177-183.
- Crossman, S.S., 1925. Two imported egg parasites of the gypsy moth, *Anastatus bifasciatus* Fonsc. and *Schedius kuvanae* Howard. *J. Agric. Res.* 30, 643-675.
- Cunningham, J.C., Kaupp, W.J., 1995. Insect viruses. In forest pest insects in Canada. Edited by J.A. Armstrong and W.G.H. Ives. Natural Resources Canada, Ottawa, Ontario. 327-340.

- Elkinton, J.S., Bittner, T.D., Pasquarella, V.J., Boettner, G.H., Liebhold, A.M., Gould, J.R., Faubert, H., Tewksbury, L., Broadley, H.J., Havill, N.P., Hajek, A.E., Ross, D., 2019. Relating aerial deposition of *Entomophaga maimaiga* conidia (Zoopagomycota: Entomophthorales) to mortality of gypsy moth (Lepidoptera: Erebidae) larvae and nearby defoliation. *Environ. Entomol.* 48, 1214-1222. doi:10.1093/ee/nvz091.
- Felsenstein, J., 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39, 783-791.
- Gencer, D., Bayramoglu, Z., Nalcacioglu, R., Kleespies, R.G., Demirbag, Z., Demir, I., 2018. Characterisation of three alphabaculovirus isolates from the gypsy moth, *Lymantria dispar dispar* (Lepidoptera: Erebidae), in Turkey. *Biocontr. Sci. Technol.* 28, 107-121.
- Harrison, R.L., Rowley, D.L., Keena, M.A., 2016. Geographic isolates of *Lymantria dispar* multiple nucleopolyhedrovirus: Genome sequence analysis and pathogenicity against European and Asian gypsy moth strains. *J. Invertebr. Pathol.* 137, 10-22. doi:10.1016/J.JIP.2016.03.014.
- Jung, J.K., Nam, Y., Kim, D., Lee, S.H., Lim, J.H., Choi, W.I., Kim, E.S., 2020. Tree-crown defoliation caused by outbreak of forest insect pests in Korea during 2020. *Korean J. Appl. Entomol.* 59, 409-410. doi:10.5656/KSAE.2020.10.0.054.
- Kang, T.H., Han, S.H., Lee, H.S., 2017. Genetic structure and demographic history of *Lymantria dispar* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Erebidae) in its area of origin and adjacent areas. *Ecol. Evol.* 7, 9162-9178. doi:10.1002/ECE3.3467.
- Keena, M.A., Wallner, W.E., Grinberg, P.S., Cardé, R.T., 2001. Female flight propensity and capability in *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) from Russia, North America, and their reciprocal F1 hybrids. *Environ. Entomol.* 30, 380-387. doi:10.1603/0046-225X-30.2.380.
- Koh, S., 2014. The status of major outbreaks of forest pests in 2013. *Tree Health*, 19, 45-50.
- Lee, J.H., Robert W.P., 2009. Parasitoid complex of the gypsy moth (*Lymantria dispar*) in the increase-phase populations in Korea. *J. Ecol. Environ.* 32, 75-81. doi:10.5141/JEFB.2009.32.2.075.
- Liebhold, A.M., Leonard, D., Marra, J.L., Pfister, S.E., 2021. Area-wide management of invading gypsy moth (*Lymantria dispar*) populations in the USA. in: Hendrichs, J., Pereira, R., Vreysen, M.J.B. (Eds.), *Area-wide integrated pest management*. CRC Press, New York, pp. 551-560. doi:10.1201/9781003169239-29.
- Limbu, S., Keena, M., Chen, F., Cook, G., Nadel, H., Hoover, K., 2017. Effects of temperature on development of *Lymantria dispar asiatica* and *Lymantria dispar japonica* (Lepidoptera: Erebidae). *Environ. Entomol.* 46, 1012-1023. doi:10.1093/EE/NVX111.
- Lyu, D., 2015. Temperature-dependant development of Asian gypsy moth (*Lymantria dispar* Linn.). *J. Agric. Life Sci.* 49, 75-80.
- Mannu, R., Cocco, A., Luciano, P., Lentini, A., 2020. Influence of *Bacillus thuringiensis* application timing on population dynamics of gypsy moth in Mediterranean cork oak forests. *Pest Manag. Sci.* 76, 1103-1111. doi:10.1002/ps.5622.
- Mcmanus, M., Csóka, G., 2007. History and impact of gypsy moth in North America and comparison to recent outbreaks in Europe. *Acta Silv. Lign. Hung.* 3, 47-64.
- Myers, J.H., Malakar, R., Cory, J.S., 2000. Sublethal nucleopolyhedrovirus infection effects on female pupal weight, egg mass size, and vertical transmission in gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae). *Environ. Entomol.* 29, 1268-1272. doi:10.1603/0046-225X-29.6.1268
- Pogue, M.G., Schaefer, P.W., 2007. A Review of Selected Species of *Lymantria* Hübner [1819] Including Three New Species (Lepidoptera: Noctuidae: Lymantriinae). Department of Agriculture Forest Health Technology Enterprise Team, Washington, DC, US.
- Schintlmeister, A., 2004. The taxonomy of the genus *Lymantria* Hübner, [1819] (Lepidoptera: Lymantriidae). *Quadriana*, 7, 1-248.
- Shim, H.J., Roh, J.Y., Choi, J.Y., Li, M.S., Woo S.D., Oh, H.W., Boo, K.S., Je, Y.H., 2003. Isolation and characterization of a *Lymantria dispar* multinucleocapsid nucleopolyhedrovirus isolate in Korea. *J. Microbiol.* 41, 306-311.