

흰불나방 핵多角體病바이러스의 性狀과 病原性에 關한 研究

任大準* · 玄在善** · 白雲夏** · 林鍾聲***

Studies on the Nature and Pathogenicity of Nuclear Polyhedrosis Virus of the Fall Webworm, *Hyphantria cunea* (Drury)

Im, Dae Joon.* Hyun, Jae Sun,** Paik, Woon Hah.** Lim, Jong Sung.***

ABSTRACT

An inclusion forming virus isolated from a fall webworm, *Hyphantria cunea*, in 1975 was identified as a nuclear polyhedrosis virus. With the virus isolated in Korea, it was considered that the virus would be one of the valuable microorganism in microbial control. In this connection, 1) the shape and size of the virus for identification, 2) susceptibility of the various instar larvae to the virus, 3) the effects of storage condition on the pathogenicity and the cross infection of the virus to the larvae of *Bombyx mori* were examined.

The results are summarized as follows;

1. The polyhedron was tetrahedron or hexahedron of 2μ in size and the rod-shaped virus particles consisting of 2~14 rods in a bundle were $330m\mu \times 35m\mu$ in size.
2. The hexagonal nuclear polyhedra were found only in the nucleus of the midgut cells but were variable in size.
3. The LD_{50} values for the various instar larvae of *H. cunea* were $8,377 \times 10^4$ PIBs/ml for the second, $4,974 \times 10^5$ PIBs/ml for the fifth instar larvae. The LT_{50} values for 10^6 PIBs/ml were 9.6 days for the second, 11.5 days for the third, 12.0 days for the fourth and 17 days for the fifth instar larvae.
4. The susceptibility of *H. cunea* to the nuclear polyhedrosis virus was greater in the first generation than in the second generation.
5. The effect of the storage conditions on the pathogenicity of the nuclear polyhedra was less in refrigerator ($5^{\circ}C$) and in freezing ($-80^{\circ}C$) than in room temperature ($18.5^{\circ}C$), especially as

*蠶業試驗場 蠶桑保護研究擔當官室

**서울대학교 農科大學 農生物學科

***慶北大學校 農科大學 蠶糸學科

*Silkworm & Mulberry Protection Research Room, Sericultural Experiment Station, ORD, Suwon, Korea

**College of Agriculture, Seoul National University, Suwon, Korea

***College of Agriculture, Kyung Buk National University, Taegu, Korea

air-dried polyhedra than as suspension.

The pathogenicity of the polyhedra seemed to decrease by sunlight during storage as cadavers, since rather greater decrease in pathogenicity was found in sunny condition than in shady condition.

6. The effective spray concentration was 6.4×10^7 PIBs/ml in the field and its LT_{50} values for the third and the fifth instar larvae were 4.8 days and 14.2 days, respectively.
7. No cross infections were found in the nuclear polyhedrosis virus between *H. cunea* and *B. mori* larvae.

緒 言

흰불나방 바이러스病은 1919年 Chapman 등에 의해 "wilt disease"로記錄된 것이 처음이며, 電子顯微鏡의發明과 함께 흰불나방 바이러스病의種類도核多角體 바이러스病(nuclear polyhedrosis virus),^{4,5)}細胞質多角體 바이러스病(cytoplasmic polyhedrosis virus),¹⁾顆粒病(granulosis virus)⁹⁾ 등으로 同定分類하기에 이르렀으며核多角體 바이러스病은 1951년에 처음發見되었다.¹²⁾

이核多角體 바이러스病에感染된幼虫은寄主植物의葉裏面に腹肢를中心으로梢頭症狀를 나타내는 것이特徵이며, 주로寄主昆蟲의眞皮細胞, 脂肪組織細胞, 器管皮膜細胞, 筋肉細胞 등의核에增殖感染한다.^{12,24)}

有賀等,^{4,5)} 福原等¹⁰⁾는核多角體의形態에 따라 6面體보다 4面體의多角體가病原성이強하다하였고 Oliver²⁰⁾는흰불나방幼虫의體色에 따라 바이러스에對한感受性の差異가 있음을報告하였다. 이러한核多角體 바이러스의病原性差異는飼育環境에 따라서도 다르며 國見等¹⁵⁾은桑葉成分이 적은飼料일수록細胞質多角體 바이러스보다感受성이 높아진다고 하였다. 또한桑葉과 같이葉質이 좋을수록發病時期가 빠르게 나타날뿐 아니라病的流行性이 매우 빠르게傳播된다.

이와 같은特性으로核多角體 바이러스는昆蟲바이러스 중에서害虫의微生物的防除에 많이利用되고 있으며一部實用化되고 있는 것도 있다.²²⁾ 그러나實際應用上多角體의保存條件과狀態에 따른病原力の減退與否는 큰問題가 되어 많은研究가進行되고 있다. 鮎澤⁵⁾는家蠶核多角體의保存條件과病原性關係를調査한結果, 凍結乾燥하여 10^{-2} mgHg로室溫에保存하면 9~10個月後에는活性도가顯著히低下하나多角體를室溫에서乾燥保存時는 무려 37年間이나感染力이持續된다 하였고, Neilson等¹⁸⁾도 *Diprion hercyniae*의乾燥된核多角體 바이러스를 4.5°C 에保存하던 12年間病原力を 나타낸다 하였다. 또한 Morris

等¹⁷⁾은太陽光線, 紫外線, γ -線, 高熱 등에 의해多角體 바이러스가不活化됨을報告하였다.

昆蟲바이러스는一般的으로寄主昆蟲에對한感染特異性을 나타내 흰불나방核多角體 바이러스는 다른 나비目昆蟲과交叉感染(cross-infection)을 일으키지 않으나,^{2,4,14)} 불나방科에屬하는 *Spilosoma* spp.에對해病原성이強하여代用寄주로利用할 수 있다.^{11,12,23)}

한편 有賀等^{3,4)}은흰불나방核多角體 바이러스增殖方法의 하나로化學藥品(EDTA: Ethylene Diamine Tetraacetic Acid, HgCl, Na-EDTA, Phagon)을幼虫에添食하여核多角體病的誘發效果를 얻었으나家蠶과 달리低溫處理(5°C , 24時間)에서는效果가 없음을報告하였다.

Nordin等¹⁹⁾은흰불나방核多角體 바이러스, *Pleistophora schubergi hyphantria*와 *Nosema* sp.의胞子를各各單獨과複合處理하여異種病原體에依한本 바이러스의侵入및增殖에 미치는影響을調査하였다.

우리나라에서는李等¹⁶⁾에 의해日本에서分讓받은흰불나방核多角體 바이러스를害虫驅除에利用하였으며高等¹⁴⁾도 이 바이러스의毒性調査와細菌殺虫劑인 thuricide를應用하여흰불나방防除를試圖한 바 있다.

이와 같이核多角體 바이러스에對한 많은研究가 되어 있으나實際 바이러스를利用한害虫驅除時 바이러스의性狀과利用時病原體의保存狀態, 保存方法 등에 따른病原性的究明은 무엇보다重要하다고 생각된다. 따라서本試驗은 이에對한基礎資料를 얻어 앞으로微生物的防除에應用코지研究를遂行하였다.

材料 및 方法

1. 供試虫

野外에서 흰불나방卵塊를採集하여 1% NaOCl로卵消毒後 孵化한幼虫을 屋外網室에서飼育하면서供試하였고 室內飼育室은 3% formalin, 飼育用紗籠(18cm×2.5cm)는 140°C 에서 30分間消毒하였다. 野外試驗은 뽕나무가지에 45cm×60cm 크기의網絲를 씌워

幼虫의 分散을 防止하였다.

家蠶(*Bombyx mori* L.)品種은 蠶 103X 蠶 104 로 飼育은 慣行法에 準하였다.

2. 病原體

罹病된 幼虫은 個體別로 光學顯微鏡下에서 鏡檢後 核多角體 罹病幼虫만을 골라 homogenizer 로 磨碎後 가래 또는 얇은 脫脂綿을 通過시킨다음 3,000r.p.m.에서 15分間 遠心分離하여 생긴 침전에 蒸溜水를 加하여 다시 6,000r.p.m.에 30分間 2回 洗滌하여 核多角體를 濃縮시킨 後 hemacytometer 를 使用, 10^9 PIB/ml 의 濃度를 만들어 原液으로 하였다.

病原體 接種은 이 原液에 蒸溜水를 加하여 $10^4 \sim 10^9$ PIB/ml 로 만들어 桑葉에 塗末, 陰乾後 各 齡 脫皮 2 時間後에 24 時間 添食하였으며 野外試驗은 各 濃度別로 atomizer 를 利用하여 桑葉에 散布한 다음 幼虫을 接種하였다.

家蠶 核多角體 바이러스는 흰불나방 核多角體 바이러스와 區別하기 쉽도록 本 試驗場에서 保有하고 있는 6 角形을 供試하였다.

罹病幼虫의 調査는 處理後 14日까지 調査하였으며 LT_{50} 은 化蛹時까지 調査하였고 本 試驗에서 計算된 LD_{50} 및 LT_{50} 은 Finney 法⁹⁾에 依해 農村振興廳 電算室에 依濼하여 算出하였다.

3. 電子顯微鏡 觀察

흰불나방 核多角體의 內容物을 觀察하기 爲한 試料 製作은 多角體를 슬라이드¹¹⁾에서 0.5M Na_2CO_3 로 5~10分間 處理後 formvar 로 被覆된 mesh grid 에 採取 陰乾하고 2% PTA (Potassium Phosphotungstic Acid) 로 negative staining 하여 電子顯微鏡(Hitachi-Hu-III)으로 觀察하였다.

本 試驗을 爲해 電子顯微鏡 觀察을 도와 주신 農業 技術研究所 植物病理科 李淳炯님께 깊은 感謝를 드립니다.

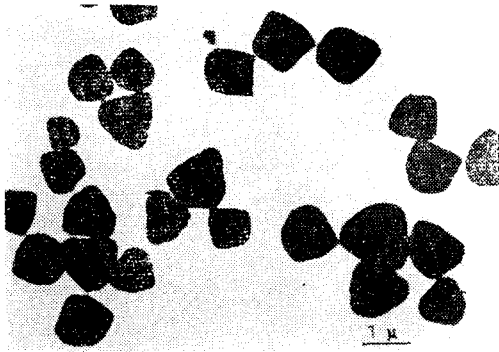


Fig. 1. Triangular polyhedra of *H. cunea* mixed with a few numbers of tetragonal polyhedra.

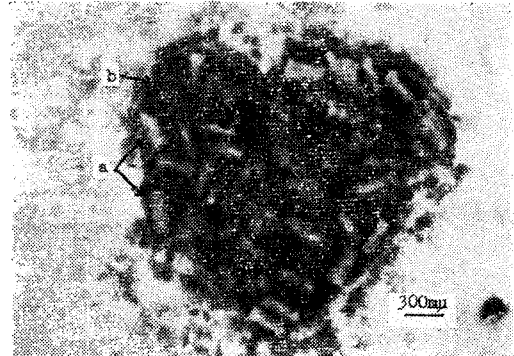


Fig. 2. *H. cunea* virus bundles (a) and virus particles (b) of nuclear polyhedrosis virus disclosed after alkaline dissolution (sodium carbonate).

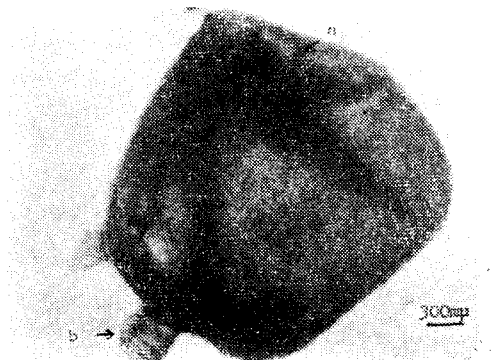


Fig. 3. *H. cunea* polyhedron membrane after alkaline dissolution. Notice the virus bundles (a) and virus particles (b) are contained.

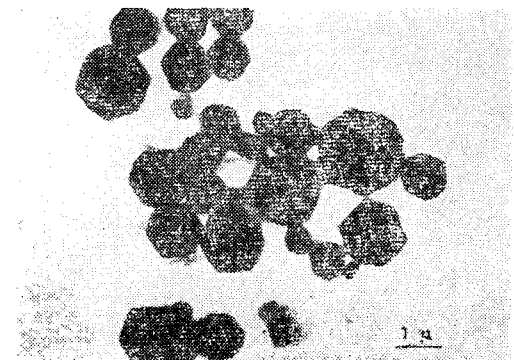


Fig. 4. *H. cunea* hexagonal polyhedra of nuclear polyhedrosis virus purified by sucrose density gradient centrifugation.

니다.

實驗結果

1. 흰불나방 핵多角體 바이러스의 性狀

흰불나방 핵多角體는 3角形의 4面體 또는 4角形의 6面體로 이들은 大部分 한組織內에 混合感染되어 있고 6面體보다 4面體의 것이 더 많은 比率을 차지하고 있으며 크기는 1.2 μ 부터 2.7 μ 으로 平均 2.0 μ 이었다 (Fig.1). 핵多角體를 0.5 μ Na₂CO₃로 5分間 處理結果 핵多角體 蛋白質이 溶解되기 始作하여 10分 處理에서는 virus bundle 이 보였으며 一部는 virus bundle 內에 virus particle, 즉 virion 이 觀察되었고 그 數는 2~12 本으로 크기는 330m μ ×35m μ 의 桿狀이었다 (Fig. 2,3).

한편 飼育中 發見된 中腸核多角體는 6角形으로 크기의 變化가 매우 甚하여 작은 것은 0.3 μ 에서 큰 것은 1.5 μ 이었다 (Fig.4). 이 病原體를 흰불나방 幼虫에 經口接種結果 中腸細胞의 核에만 增殖하며 病狀은 中腸의 膨大, 몸의 縮少, 舉動의 不活發, 食慾이 不振하며 病原性이 매우 弱하며 4面體, 6面體의 核多角體와 混合感染도 일으켰다.

2. 흰불나방 핵多角體 바이러스의 病原性

가. 令期別 病原性

核多角體 바이러스의 令期別 病原性을 檢定하기 爲

하여 8個月間 室溫에 保存된 原液을 1.45×10⁴, 1.45×10⁵, 1.45×10⁶, 1.45×10⁷, 1.45×10⁷, 1.45×10⁸, 및 1.45×10⁹ PIBs/ml의 6個 濃度로 稀釋하여 桑葉에 塗末 陰乾한다음 1化期 各齡 脫皮 2時間 後 添食시켜 室內에서 飼育하면서 致死率을 調査한 結果는 Table 1. 과 같다.

即 2,3습에서는 1.45×10⁷ PIBs/ml에서 90% 以上の

Table 1. Comparative mortality of four instars of *H. cunea* larvae to the nuclear polyhedrosis virus

Approx. Numbers PIB s/ml	Second instar	Third instar	Fourth instar	Fifth instar
1.45×10 ⁹	100.0	100.0	96.4	94.1
1.45×10 ⁸	100.0 ^a	96.4	83.3	73.6
1.45×10 ⁷	98.2	94.7 ^c	59.2	54.7
1.45×10 ⁶	74.1 ^b	53.6	43.5 ^b	28.3
1.45×10 ⁵	37.7	31.5	24.1	17.0
1.45×10 ⁴	22.9	15.0	14.8	1.9

*a:all data were based on two replications of 60 larvae and corrected for the mortality of controls by Abbott's formula.

b,c:the numbers of tested larvae were 59 for b and 61 for c.

Table 2. Comparison of median lethal time in various concentration of the nuclear polyhedrosis virus for four instars of *H. cunea* larvae

Approx. numbers PIB s/ml	Second Instar			Third Instar		
	LT ₅₀	95% Confidence limit	Slope (b)	LT ₅₀	95% Confidence limit	Slope (b)
1.45×10 ⁹	7.14	0.19	20.878	7.39	0.27	21.073
1.45×10 ⁸	8.01	0.17	31.788	8.09	0.73	19.201
1.45×10 ⁷	8.82	0.57	17.165	9.21	1.49	18.782
1.45×10 ⁶	9.55	0.28	14.504	11.49	1.27	15.235
1.45×10 ⁵	15.15	2.23	8.718	15.20	2.11	7.292
1.54×10 ⁴	18.04	2.92	7.448	18.72	3.23	4.847
	Fourth Instar			Fifth Instar		
1.45×10 ⁹	7.38	0.20	14.036	9.76	0.28	14.138
1.45×10 ⁸	8.69	2.60	12.994	11.27	0.55	6.994
1.45×10 ⁷	9.65	0.41	6.592	12.09	0.75	5.692
1.45×10 ⁶	12.01	0.90	5.302	17.32	3.20	5.297
1.45×10 ⁵	15.84	2.11	4.984	— ^a	—	—
1.45×10 ⁴	19.11	1.26	4.328	—	—	—

^a:because of the low mortality the LT₅₀ values could'nt obtain.

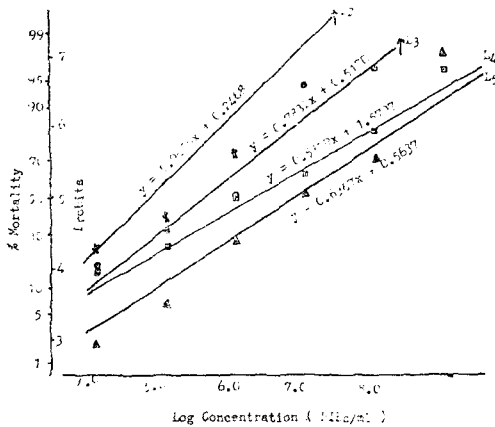


Fig. 5. Dose mortality response in four instars of *H. cunea* larvae following ingestion of different concentration of nuclear polyhedrosis virus. Arrow indicates 100% mortality.

致死률을 나타냈으나 4.5수에서는 59.2%와 54.7%였으며 이들에 대한 LD₅₀은 2, 3, 4 및 5수 각각 8.377×10⁴, 4.974×10⁵, 2.621×10⁶ 및 9.471×10⁶ PIBs/ml로 수가進展됨에 따라 핵多角體·바이러스에 대한抵抗性이 나타났다(Fig. 5.).

한편 수期別 LT₅₀은 1.45×10⁶ PIBs/ml에 대해 각각 9.6, 11.5, 12.0 및 17.3일로幼虫出일수목 빠르게 나타났으나 低濃度에서는 5수의 境遇 致死률이 매우 낮아 LT₅₀算出이 不可能하였다(Table 2).

나. 化期別 病原性

室溫에서 保存한 핵多角體를 1化期 흰불나방 幼虫에 口接種하여 얻은 핵多角體 바이러스를 當年 1, 2化期 5수 幼虫에 添食시킨 後 病原性을 調査한 結果는 Table 3과 같다.

Table 3. Differences in mortality of the first-and the second-generation larvae of *H. cunea* to the nuclear polyhedrosis virus

Approx. numbers PIB s/ml	Fifth Instar	
	First-generation	Second-generation
2.9×10 ⁹	100.0 ^a	98.4
2.9×10 ⁸	93.3	96.7
2.9×10 ⁷	78.3	88.4
2.9×10 ⁶	70.0	78.4
2.9×10 ⁵	46.7	60.0
2.9×10 ⁴	28.3	45.0 ^b

*a: see footnotes a of Table 1.

b: one larva was died of hexagonal nuclear polyhedrosis viruses in the midgut.

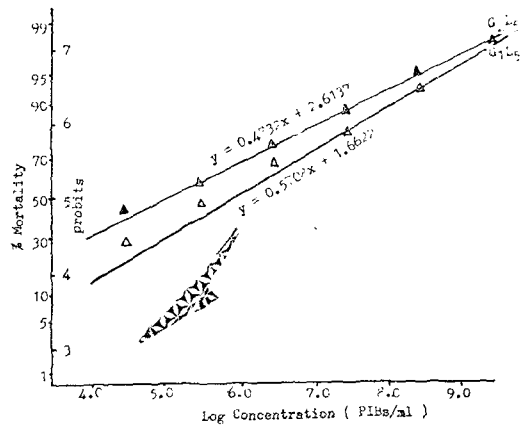


Fig. 6. Dose mortality response of nuclear polyhedrosis virus to the first-(G1) and the second-generation larvae (G2) of the fifth instar larvae of *H. cunea*.

특히 2化期에서는 1化期에서와 달리 低濃度에서 높은 致死률을 보여 2.9×10⁵ PIBs/ml에서도 60% 이상이었으며 飼育中 發見된 또 다른 바이러스病은 中腸 핵多角體 바이러스病임이 判明되었다. 한편 LD₅₀도 각각 7.045×10⁵ PIBs/ml와 8.878×10⁴ PIBs/ml, 回歸直線의 기울기는 0.4823과 0.5708로 2化期에서는 病原性이 매우 크게 나타났다. (Fig. 6)

다. 保存條件에 따른 病原性

純化된 핵多角體와 羅病死體內 핵多角體의 保存條件에 따른 病原性을 檢定고져 1975年 11月부터 1976年 6月까지 條件別로 保存하였다. 即 前記에 依해 만든 原液을 高速遠心分離하여 沈澱된 핵多角體와 이의 同量의 懸濁液을 室溫(18°C), 冷蔵(5°C) 및 冷凍(-80°C)에 各各 保存하였으며 羅病死體內 핵多角體는 陰地와 太陽光線下에 保存하였다.

懸濁液과 乾燥粉末狀態別로 보면 Table 4와 같이 어느 條件에서나 粉末狀態의 핵多角體가 病原性이 強하게 나타났으며 特別로 冷凍과 冷蔵保存이 室溫保存보다 훨씬 높게 나타났다.

即 懸濁液의 경우 3齡幼虫에 對한 LD₅₀은 室溫, 冷蔵 및 冷凍別로 各各 3.739×10⁵, 9.392×10⁴ 및 4.359×10⁴ PIBs/ml로 室溫保存의 경우 病原性은 매우 크게 減少하였다.

그러나 乾燥粉末에서는 懸濁液의 경우와 달리 條件別로 큰 差異가 없었다. (Fig. 7)

한편 羅病死體內 保存된 핵多角體 바이러스의 病原性은 3.1×10⁶ PIB/ml에 對한 致死률이 陽地 및 陰地別로 3齡幼虫은 56.3%와 89.1%, 5齡幼虫의 境遇 56.2%와 65.3%를 各各 나타냈다. (Table 5)

Table 4. Comparative Pathogenicity of the nuclear polyhedrosis virus to the third instar larvae of *H. cunea* when the polyhedra were stored as suspension and air-dried in various conditions

Approx. numbers PIB s/ml	Room Temperature		Refrigerator		Freezing	
	Suspension	Air-Dried	Suspension	Air-dried	Suspension	Air-Dried
1.45×10^9	100.0 ^a	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
1.45×10^8	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
1.45×10^7	92.8	94.6	100.0	94.5	100.0	100.0
1.45×10^6	72.7	76.3	74.6	76.4	81.9	87.3
1.45×10^5	28.4	52.7	56.3	59.9	61.8	78.2
1.45×10^4	12.8	20.0	29.0	38.2	40.0	47.3

*a: see footnotes a of Table 1.

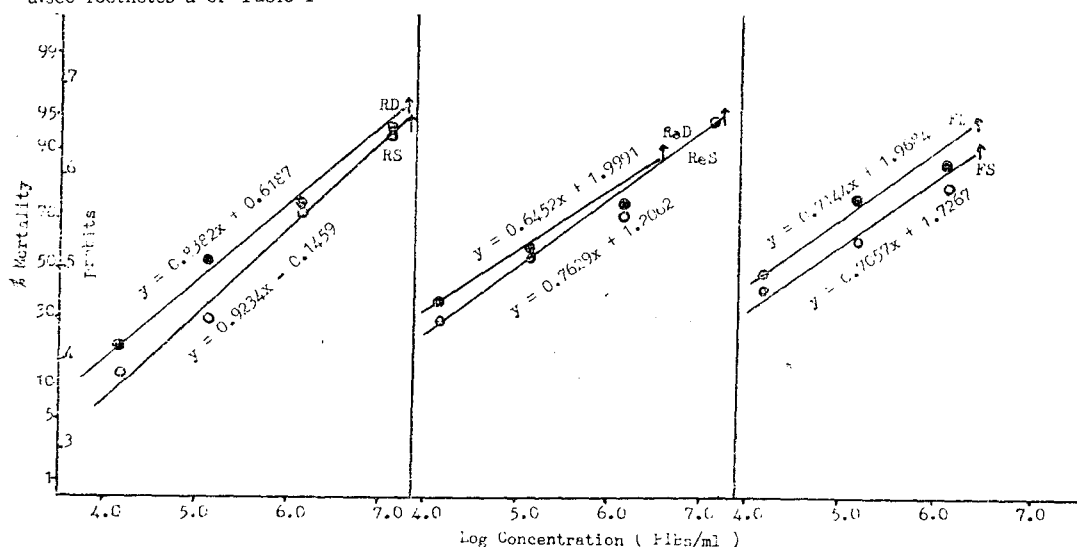


Fig. 7. Dose mortality response of the third instar *H. cunea* larvae following ingestion of suspension (S) and air-dried (D) nuclear polyhedrosis virus stored in room temperature (R), refrigerator (Re) and freezing (F) respectively. Arrow indicates 100% mortality.

Table 5. The effects of sun light on the virulence of the nuclear Polyhedrosis virus to the third and the fifth instars of *H. cunea* larvae

Approx. numbers PIB s/ml	Third Instar		Fifth Instar	
	Sunny spot	Shady spot	Sunny spot	Shady spot
3.1×10^9	100.0 ^a	100.0	94.7	96.5
3.1×10^8	89.5	100.0	89.5	89.5
3.1×10^7	87.4	100.0	61.5	77.3
3.1×10^6	56.3	89.1	56.2	65.3
3.1×10^5	36.4	63.7	49.2	52.6
3.1×10^4	20.0	38.2	40.3	42.1

*a: see footnotes a of Table 1.

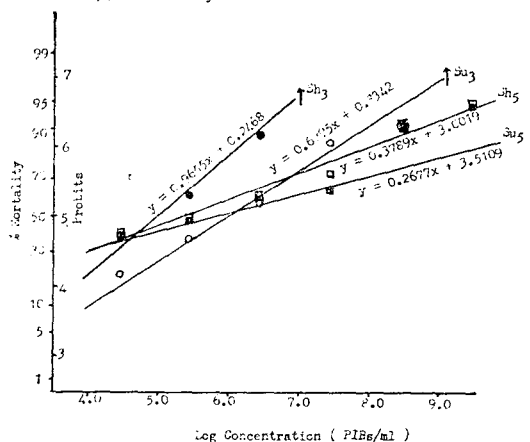


Fig. 8. The effect of sun light on the virulence of the nuclear polyhedrosis virus to the third and the fifth instars of *H. cunea* larvae. Arrow indicates 100% mortality.

Table 6. Mortality of *H. cunea* larvae in the third and the fifth instar following ingestion of the nuclear polyhedrosis virus sprayed on mulberry leaves in the field^a

Approx. numbers PIBs/ml	Third Instar	Fifth Instar
6.4×10^8	92.2	77.8
6.4×10^7	88.9	66.7
6.4×10^6	64.4	43.3
6.4×10^5	48.9	35.6

*a: the tests were carried out in Spring, 1977.
 b: three replications of 90 larvae for each treatment and corrected for the mortality of controls by Abbott's formula.

이들의 LD₅₀은 3齡에서는 陽地와 陰地別로 9.023 × 10⁵ PIBs/ml와 9.071 × 10⁴ PIB/ml로 陽地에서는 病原性이 크게 떨어진 것으로 나타났으나 5齡幼虫에서는 큰差異를 나타내지 않은 傾向이 었다. (Fig. 8)

라. 野外에서의 病原性

核多角體를 野外 뽕나무 가지에 撒布하여 1化期 흰불나방 幼虫을 接種한 後 14日까지 致死率을 調査한 結果는 Table 6과 같다.

野外에서의 致死率은 6.4 × 10⁶ PIBs/ml에 對해 3齡虫은 64.4%, 5齡虫은 43.3%로 野外에서도 높은 病原性을 나타냈으나 5齡虫에서는 多少 抵抗性을 보였다. LD₅₀은 3齡虫의 範圍 3.647 × 10⁵ PIBs/ml, 5齡虫은 3.790 × 10⁶ PIBs/ml로 齡別 病原性의 差異가 顯著하였다.

한편 LT₅₀은 6.4 × 10⁶ PIBs/ml에 對해 3齡虫은 8.78日, 5齡虫은 16.18일로 3齡보다 7.4日이 더 所要되었다. (Table 7)

3. 家蠶에 對한 交叉感染

흰불나방 核多角體 바이러스와 家蠶 核多角體 바이

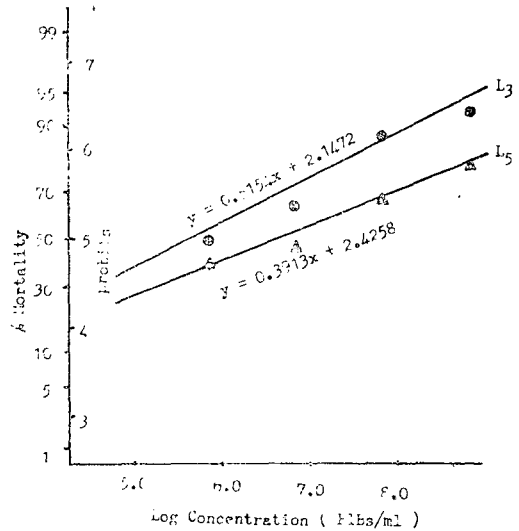


Fig. 9. Dose mortality response to the third and the fifth instars of *H. cunea* larvae inoculated with nuclear polyhedrosis viruses in the field

러스의 相互 各 寄主에 對한 經口接種 結果 全혀 交叉感染은 認定할 수 없었다. 即 흰불나방 核多角體 바이러스를 2齡起蠶에 接種한 結果 病原體 接種濃度에 關係없이 한, 두마리의 6角形 家蠶 核多角體 바이러스가 鏡檢되었으며 4,6面體의 흰불나방 核多角體 바이러스는 觀察되지 않았다.

또한 家蠶 核多角體 바이러스를 흰불나방 3齡幼虫에 接種하여도 家蠶에서의 같은 結果를 얻었다. 家蠶과 달리 흰불나방 核多角體 바이러스는 異形 바이러스에 의한 自然發病을 생각할 수 있다 (Table 8).

考 察

흰불나방 核多角體의 形態 및 크기는 4,6面體로 約 2.0μ이며 virus bundle內에 있는 virion은 桿狀形의 330mμ × 35mμ 크기로 한 個의 核多角體內에는 2~12本

Table 7. Median lethal time (LT₅₀) for the third and the fifth instar of *H. cunea* larvae inoculated with the nuclear polyhedrosis virus in the field

Approx. numbers PIBs/ml	Third Instar			Fifth Instar		
	LT ₅₀	95% Confidence limit	Slope (b)	LT ₅₀	95% Confidence limit	Slope (b)
6.4×10^8	4.02	0.13	7.295	12.59	0.37	9.388
6.4×10^7	4.78	0.26	6.363	14.24	0.96	11.859
6.4×10^6	8.78	0.15	7.578	16.18	0.39	11.089
6.4×10^5	12.05	0.23	7.748	16.52	0.36	16.008

Table 8. Cross infection of the nuclear polyhedrosis viruses between *H. cunea* and *B. mori* larvae

Approx. numbers PIBs/ml	HNPV Feeding ^a			Approx. numbers PIBs/ml	BNPV Feeding ^b		
	No. of tested larvae	HNPV ^c	BNPV ^d		No. of tested larvae	HNPV	BNPV
1.2×10 ⁹	27	0.0	0.0	7.6×10 ⁹	30	10.0	0.0
1.2×10 ⁸	39	0.0	0.0	7.6×10 ⁸	30	0.0	0.0
1.2×10 ⁷	42	0.0	2.4	7.6×10 ⁷	30	13.3	0.0
1.2×10 ⁶	36	0.0	2.5	7.6×10 ⁶	30	10.0	0.0
1.2×10 ⁵	46	0.0	0.0	7.6×10 ⁵	30	3.3	0.0
1.2×10 ⁴	35	0.0	0.0	7.6×10 ⁴	30	6.6	0.0
Control	26	0.0	0.0	Control	30	0.0	0.0

* a : administered to the second instar larvae of *B. mori*.

b : administered to the third instar larvae of *H. cunea*.

c : a nuclear polyhedrosis virus of *H. cunea*.

d : a nuclear polyhedrosis virus of *B. mori*.

의 virion으로構成되어 있다. 이는 有賀⁵⁾ 原等¹⁰⁾ 田中等²³⁾의 報告와 같은 結果로 나타났다. 그러나 飼育中 發病된 6角形의 中腸 核多角體바이러스는 Giemsa's staining 結果 negative로 나타나고 病原성이 매우 弱하여 潛伏期間도 길었다. 本 6角形의 中腸核多角體는 幼虫體內에서 潛伏狀態이던 것이 低濃度の 異型 바이러스接種에 의해 誘發된 것으로 생각되거나 病原體의 不足으로 이에 대한 究明이 不可能하였다.

이와같이 多角體의 形態와 病原성은 密接한 關係가 있으며 Tanada²²⁾는 바이러스 粒子數에 따라 그 差異가 있음을 報告하였다.

核多角體 바이러스의 齡期別 幼虫에 對한 病原성은 病原體 濃도와 幼虫의 發育時期에 따라 差異가 있어 높은 濃도와 幼虫일수록 크고 壯齡虫 일수록 抵抗성을 보여 2齡虫에 對한 LD₅₀이 8.377×10⁴ PIBs/ml 임에 反하여 3齡虫은 2齡虫의 約 5.9倍, 4齡虫은 約 31.3倍 齡, 5齡虫은 約 115.1倍로 나타났다. 또한 病原體 濃도에 따른 潛伏期間도 같은 傾向이었으며 대개 4日부터 10日사이에 罹病幼虫이 나타나기 始作하였다. 幼虫 發育段階別 抵抗성의 差異는 小林等¹³⁾에 依하면 家蠶에 있어 壯齡일수록 腸內 바이러스에 對한 抑制作用이 增大한다는 것과 類似한 關係가 있는 것으로 알려졌다.

또한 蠶불나방 化期別 幼虫의 感受성은 1化期보다 2化期에서 높게 나타났으며 2化期에는 蛹期前後에 大部分 斃死하였다. 即 核多角體 바이러스는 溫度的 影響을 크게 받으며 飼料의 營養에도 깊은 關係가 있어 葉質이 不良하면 幼虫生長發育에 障害가 되므로 바이러스의 侵増殖이 容易한 것으로 推測된다.

核多角體 保存에 따른 病原성은 懸濁液 保存보다 乾燥粉末에서 높았으며 室溫, 冷蔵 및 冷凍條件에서는 保存溫度가 낮을수록 病原體 活性도가 低下되지 않았으나 室溫에서는 크게 減少하였다. 罹病死體를 陽地에 保存한 것은 太陽光線에 依해 바이러스의 活性도가 크게 低下하여 病原성이 弱하였으나 陰地에서는 低濃度에서도 致死率이 높은 것으로 보아 病原體 保存時 太陽光線의 影響을 考慮해야만 한다고 믿어진다.

鯨澤⁶⁾는 家蠶 核多角體바이러스를 -25°C에 保存한 것은 活性度 減少가 적었으나 懸濁液으로 室溫에서 凍線 保存하면 活性作用이 減退한다 하였으며 Morris¹⁷⁾는 昆蟲 바이러스는 太陽光線에 依해 不活化現象을 일으킨다고 報告한 바 있다. 特히 本 試驗에서 使用한 病原體 保存期間이 冬期中임으로 外部 溫度가 낮아 核多角體 바이러스에 對한 病原성에 크게 影響을 미치지 못하였으나 長期間 保存時 保存條件에 따른 바이러스의 活性도는 크게 變化할 것으로 생각된다.

以上の 結果로 보아 바이러스의 保存은 病原體를 陰地에 保存하는 것이 病原성의 減少가 적었으며 溶液狀態 保存은 溶液의 pH變化에 따라 活性도가 다르므로 乾燥粉末狀態 保存이 理想的이나 病原體·純化過程을 생각할 때 罹病死體를 低溫이나 그늘진 곳에 保存後 使用時 純化하는 것이 病原力 減退가 적으리라 생각된다.

한편 野外에서의 病原성은 室內에 比하여 큰 差異가 없이 6.4×10⁶ PIBs/ml에서도 致死率이 높았으며 高濃度일수록 潛伏期間도 짧게 나타났다. 本 核多角體 바이러스는 寄主昆蟲에 對해 病原성이 強할 뿐만 아니라 幼虫에 依한 病原體의 分散力이 빨라 傳染 및 増殖에

효과가 컸으며 특히 外界溫度 및 個體群 密度가 病原性과 潛伏期間에 影響이 크게 미쳤다.

흰불나방 核多角體 바이러스와 家蠶 核多角體 바이러스 相互間의 交叉感染 檢定結果 전혀 認定되지 않은 것은 이미 많은 研究에서 밝혀진 바와 같으며 이는 寄主昆蟲에 對한 特異性을 나타내며 荒武 等²⁾은 家蠶의 경우 다른 나비目 昆蟲과는 組織이나 器管에 對해 特異한 感受性을 報告하였다.

以上과 같이 흰불나방 核多角體 바이러스의 性狀 및 바이러스 保存狀態 및 方法에 따른 病原性 또는 感受性을 報告하였으나 앞으로 바이러스를 利用한 微生物的 防除時 이미 알려진 人工飼育에 依한 바이러스의 増殖^{12,15)} 越冬蛹의 休眠打破, 病原體의 撒布方法 및 撒布後 惹起될지 모를 公害 等 많은 問題가 檢討되어야 할 것이다.

摘 要

1975年 水原 蠶業試驗場에서 分離한 흰불나방 核多角體 바이러스 性狀과 齡期, 化期別 및 病原體 保存條件에 따른 病原性을 檢定하기 위하여 核多角體 바이러스를 懸濁液 및 乾燥시켜 室溫(18.5°C), 冷蔵(5°C), 冷凍(-80°C)에 各各 保存, 罹病死體는 그대로 陽地 陰地에 保存하였고 野外에서의 病原性, 家蠶에 對한 交叉感染을 檢定한 結果 다음과 같다.

1. 흰불나방 核多角體는 4面體와 6面體로 크기는 約 2.0 μ 이고 바이러스 粒子는 桿狀形의 2~12本으로 33 $m\mu$ ×35 $m\mu$ 이었다.

2. 6角形의 흰불나방 中腸核多角體 바이러스는 中腸의 核에서만 發見되었다.

3. 齡期別 LD₅₀. 2, 3, 4 및 5齡에 對해 8.377×10⁴, 4.974×10⁵, 2.621×10⁶ 및 9.471×10⁶ PIBs/ml 였으며 1.45×10⁶ PIBs/ml에 對한 LT₅₀은 各各 9.6, 11.5, 12.0 및 17.3日이었다.

4. 核多角體 바이러스는 1化期 幼虫보다 2化期 幼虫에서 感受性이 높았다.

5. 核多角體 保存은 純化乾燥하여 冷凍 및 冷蔵保存하거나 罹病死體를 陰地에 保存하는 것이 바이러스 活性化의 減少가 적었다.

6. 野外에서의 效果的인 撒布濃度は 6.4×10⁷ PIBs/ml이며 이의 LT₅₀은 3齡은 4.8日, 5齡은 14.2日이었다.

7. 흰불나방 核多角體 바이러스와 家蠶의 核多角體 바이러스는 相互 交叉感染을 일으키지 않았다.

引用 文 獻

1. Akutsu, K. 1971. Cytoplasmic polyhedrosis virus of the fall webworm, *Hyphantria cunea* DRURY (Lepidoptera : Arctiidae). Appl. Ent. Zool 1., 6 (4), 198-205.
2. 荒武義信, 栢村鶴雄, 1973. 카이코核多角體病ウイルス鱗翅目昆蟲에對する病原性. 應動昆, 17(3), 121-126.
3. Aruga, H. 1963. Induction of virus infection. In "Insect Pathology. An Advanced Treatise." ed. by E.A. Steinhaus, Academic Press, New York, 1, 499-530.
4. 有賀久雄, 吉武成美, 渡部仁, 福原敏彦. 1960. 數種りんし目こん虫の多角體病とその誘發. 應動昆, 4(1), 51-56.
5. 有賀久雄, 福原敏彦, 福田章一, 1964. 數種鱗翅目昆蟲の核多角體病ウイルスに關する電子顯微鏡的研究. 應動昆, 8(3), 222-226.
6. 鮎澤啓夫, 1953. 家蠶膿病ウイルス保存法の二, 三について. 蠶絲研究, 3, 75-77.
7. 鮎澤啓夫, 1954. 長期間室溫で保存した家蠶膿病多角體の溶解曲線とウイルス活性. 蠶絲研究, 8, 52-54.
8. Finney, D.J. 1971. "Probit Analysis", 3rd, Ed. 333pp. Cambridge at the University Press. London.
9. 福原敏彦, 有賀久雄, 小林正彦, 1969. アメリカンシロヒトリの顆粒病について. 應動昆, 13(1), 1-4.
10. 福原敏彦, 橋本陽子, 1966. アメリカンシロヒトリのウイルス病. 應動昆, 10(3), 143-155.
11. Injac, M., Vago, C., and Tadic, M. 1971. Affinité de la polyédrose nucléaire da *Hyphantria cunea* DRURY vis-a-vis de *Spilosoma menthastri* Esp. [Lepidoptera: Arctiidae]. Entomophaga, 16(2), 233-237.
12. 片橋一正, 串正保, 1965. ウイルスによるアメリカンシロヒトリの防除とウイルスの量産について. 山林防疫ニユース, 15(1), 8-11.
13. 小林藤, 山口定太郎, 横山好範, 1969. 카이코의核多角體ウイルス에對する 感染抵抗性의發育時期による變化. 日蠶雜, 38 : 481-487.
14. 고재호, 이범영, 1972. 솔나방과 미국흰불나방 방제를 위한 thuricide 및 virus 毒性調査. 임업시험

- 장연구보고, 19, 43-53.
15. 國見裕久, 有賀久雄, 1974. 飼料條件を異したアメリカンシロヒトリ幼虫の ウイルス感染抵抗性. 應動昆, 18(1), 1-4.
 16. 李應來, 黃啓性, 1971. 山林害虫의 微生物的 防除 (第一報, 미국 흰불나방 核多角體 virus의 病原性 調査). 한국미생물학회지, 9, 61-68.
 17. Morris, O.M. 1971. The effect of sunlight, ultraviolet and gamma radiation, and temperature on the infectivity of a nuclear polyhedrosis virus. J. Invertebrate Pathol., 18, 292-294.
 18. Neilson, M. M., and Elgee, B. E. 1960. The effects of storage on the virulence of a polyhedrosis virus. J. Invertebrate Pathol., 2, 165-171.
 19. Nordin, G.L., and J.V.Maddox. 1972. Effects of simultaneous virus and microsporidia infectious on larvae of *Hyphantria cunea*. J. Invertebrate Pathol., 20, 60-69.
 20. Oliver, A.D. 1964. Studies on the biological control of the fall webworm, *Hyphantria cunea*, in Louisiana. J. Econ. Ent., 57(3), 314-317.
 21. Steinhaus, E.A. 1949. Principles of Insect Pathology, 467 pp. McGraw-Hill, New York.
 22. Tanada, Y. 1959. Microbial control of insect pests. Ann. Rev. Entomol., 4, 277-301.
 23. 田中茂男, 清水孝未. 1967. アメリカンシロヒトリの核多角體病ウイルスの數種昆虫に對する病原性. 長野蠶試要報, 3, 15-131.
 24. Watanabe, H. 1968. Abnormal cell proliferation in the epidermis of the fall webworm, *Hyphantria cunea*, induced by the infection of a nuclear polyhedrosis virus. J. Invertebrate pathol., 12, 310-320.