

노랑테 불나방과 솥검은 밤나방으로 부터 分離된 微孢子蟲의 形態的 性狀 및 누에에 대한 感染性

金漢洙 · 蔡洙君 · 李 鏞 · 金宇建 · 金在錫*

國立蠶絲所

Morphological Characteristics and Infectivity of Microsporidian Isolates Derived from Yellow-hind Winged Arctiid, *Eilema griseola* (Hübner) and Cutworm, *Agrotis tokionis* Butler, to Silkworm Larvae

Han Soo Kim, Soo Kun Chae, Doh Lee, Woo Geon Kim and Jae Seok Kim*

National Silk Inspection and Silkworm breeding Office

Summary

Microsporidian spores were isolated from yellow-hind winged arctiid, *Eilema griseola* (Hübner), and cutworm, *Agrotis tokionis* Butler, and their morphological characteristics and their infectivity to silkworms were investigated. The shape of the microsporidian isolates was oval and the size of the spore isolated from yellow-hind winged was measured in $2.6 \times 1.5 \mu$ and that of the isolated from cutworm was measured in $3.7 \times 2.0 \mu$. Both the isolated microsporidians showed the infectivity to silkworms, but the isolate derived from rice leaf beetle did not infect silkworms. However, none of the isolates did transovarian transmission in silkworms and the silkworm moth infected with the isolate from yellow-hind winged laid eggs irregularly.

I. 緒 言

누에 微粒子病(病原體: *Nosema bombycis* Nageli)은 그 病原體가 經卵傳染을 통하여 다음 대에 까지 感染이 이어지는 점에서 누에병 가운데에서 가장 위험한 병으로 취급되어지고 있다. 그런데 最近 母蛾 검사를 하는 과정에서 *Nosema bombycis* 이외의 다른 微孢子蟲이 檢出되어지고 있어서 問題가 되고 있다. 이러한 微孢子蟲으로는 石原(1971)이 分離한 細型 微孢子, 田中等(1972)이 報告한 小型 微粒子를 위시 해서 河部, 藤原(1979)은 *Pleistophora sp.*에 대하여 報告하였고 藤原(1980)도 *Nosema sp.*에 속하는 3種의 微孢子蟲을 누에로 부터 分離하여 報告하였다.

또한 藤原(1984)은 누에로부터 *Thelophania sp.*를

분리하기도 하였다. 한 편 廣瀨(1979)는 102種의 野外昆蟲으로부터 62種의 微孢子蟲을 檢出하여 이것들을 누에에 接種한 바 그 중 12種의 微孢子蟲이 누에에 感染되는 것을 確認하였다.

韓國에서는 林等(1980 a, b, 1981 a, b)이 母蛾로부터 最初로 *Nosema bombycis* 이외의 微孢子蟲을 報告한 이후로 林·趙(1982)가 小型의 微孢子蟲을 分離 報告한 바 있고, 蔡等(1986)도 땅쉬파리등 13種의 野外昆蟲으로부터 14種의 微孢子蟲을 分離하였으나 이들이 누에에 感染을 일으키는지는 確認되지 않고 있다. 趙等(1980)도 누에로부터 새로운 *Pleistophora sp.*를 분리 報告하였다.

이처럼 누에에 感染되는 微孢子蟲들은 되도록 많이 分離되어 同定되어져야 母蛾檢査에서의 혼돈을 막을

수 있으리라고 생각한다. 著者들은 母蛾로부터 이러한 微孢子蟲들을 分離하고 있는 同時에 母蛾感染의 根源인 野外昆蟲들로부터 微孢子蟲들을 分離해 왔다.

本 論文은 노랑테 불나방(*Eilema griseola* Hubner), 솟검은나방(*Agrotis tokionis* Butler) 그리고 벼잎벌레로부터 分離된 微孢子蟲들의 形態를 觀察하고 이것들의 누에에 대한 感染性을 調査 報告한 것이다.

材料 및 方法

1. 野外昆蟲 採集 및 同定

野外昆蟲으로부터 微孢子蟲을 分離키 위하여 國立 蠶絲所 蠶種管理所 甁밭과 甁밭주변에 棲息하는 昆蟲들을 5月 中旬부터 9月 下旬까지 誘蛾燈과 捕蟲網을 利用하여 採集하였고 이들을 農村振興廳 農業技術研究所 昆蟲科에서 分類 同定하였다.

2. 野外昆蟲으로부터의 微孢子蟲의 分離

採集된 昆蟲들은 種別로 分類한 후 磨碎, 濾過, 遠心分離를 通하여 微孢子蟲을 分離하고 이들을 光學顯微鏡으로 觀察하여 形態적으로 微孢子蟲임을 確認하였다. 한 편 分離된 微孢子蟲들에 5% H_2O_2 液을 處理하여 極絲를 抽出함으로써 微孢子蟲임을 再確認하였고 微孢子蟲의 크기는 電子顯微鏡을 通하여 測定하였다.

3. 分離된 微孢子蟲의 누에에 대한 感染性

分離된 微孢子蟲 中에서 누에에 대한 添食試驗을 하기에 그 量이 充分한 노랑테불나방, 솟검은불나방 그리고 벼잎벌레로부터 分離된 微孢子蟲들을 각각 10^7 / ml의 浮遊液을 만들어 甁잎에 塗抹하여 陰乾한 후 陽秋蠶의 2령 갓 누에에 1回 添食시켰다.

結果 및 考察

1. 野外昆蟲으로부터 分離된 微孢子蟲의 크기와 形態

노랑테불나방外 7種의 昆蟲으로부터 8種의 微孢子蟲을 分離 蒐集하였다(표 1). 이들 크기를 보면 길이가 작은 것은 1.9μ 로부터 가장 큰 것은 4.2μ 이었고 폭은 작은 것이 1.3μ 가장 큰 것은 2.1μ 이었으며 그 중 노랑테불나방 *Eilema griseola* Hubner)으로부터 分離한 것은 그 크기가 $2.6\mu \times 1.5\mu$ 로 蔡等(1986)이 같은 나방으로부터 分離한 $4.3\mu \times 2.1\mu$ 보다 훨씬 작았다. 이것들이 서로 同種의 微孢子蟲인지는 微孢子蟲 表面의 血清學的 性狀에 의해서만 區分되어 질 수 있다.

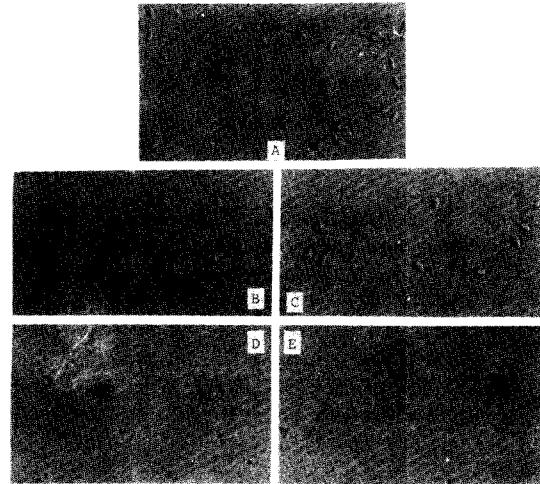


Fig 1. Microsporidian spores observed with light microscope in 600 times magnification.

A : *Nosema* sp. K79, B : Isolate from yellow-hind winged arctiid, C : Isolate from cutworm, D : *Nosema bombycis*, E : *Pleistophora* sp. s85

Table 1. Insects from which microsporidian spores isolated.

Common name	Scientific name	Size of spore
Yellow-hind winged arctiid(노랑테불나방)	<i>Eilema griseola</i> (Hubner)	$2.6\mu \times 1.5\mu$
Rice leaf beetle(벼잎벌레)	<i>Lema oryzae</i> Kuwayama	2.5×1.4
Common cabbage worm(배추흰나비)	<i>Artogeia rapae</i> L.	3.0×1.9
Mulberry leaf beetle(뽕나무잎벌레)	<i>Fleutiauxia armata</i> (Baly)	3.7×2.0
Chestnut tyridid(참나방)	<i>Striglina cancellata</i>	4.2×2.0
Spruce pyralid(등심무의들명나방)	<i>Nomophila noctuella</i>	3.7×2.1
Muberry leafroller(뽕큰애기잎말이나방)	<i>Olethreutes mori</i>	3.9×2.0
Cutworm(솟검은밤나방)	<i>Agrotis tokionis</i> Butler	3.7×2.0

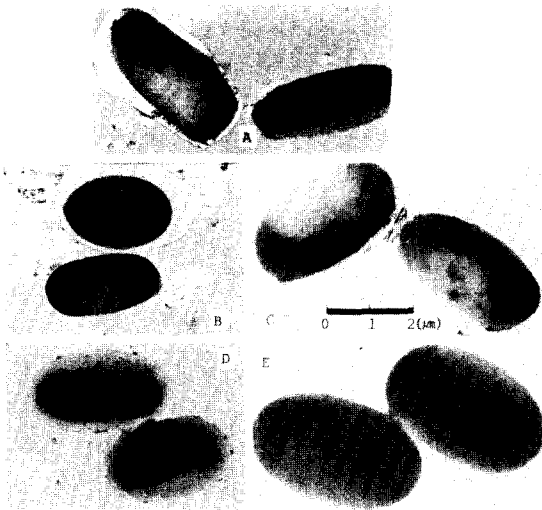


Fig 2. Microsporidian spores observed with electron microscope in 10,000 times magnification
 A : *Nosema* sp. K79, B : Isolate from yellow-hind winged arctiid, C : Isolate from cutworm, D : *Nosema bombycis*, E : *Pleistophora* sp. s85.

著者들은 分離 蒐集한 微胞子蟲 가운데서 노랑테불나방, 솟김은 밤나방으로 부터 分離한 微胞子蟲들을 林等(1980 a, b)이 分離 報告한 *Nosema* sp. K79와 그리고 趙等(1988)이 報告한 *Pleistophora* sp. s85와 光學顯微鏡과 電子顯微鏡 上에서 그 形態들을 比較하였다. 그림 1에서 보는 바와같이 光學顯微鏡 上에서 이들을 각기 分離해서 觀察했을 때는 그림 2 形態와 크기가 比較的 뚜렷하게 識別할 수 있었다.

그러나 實際로 母蛾檢査에서 한 視野에 形態가 다른 2種 以上の 微胞子蟲들이 混在해 있을 때는 이들을 識別하기는 거의 不可能하리라고 생각한다. 노랑테불나방과 솟김은 밤나방으로부터 分離된 微胞子蟲들을 누에에 각각 接種 感染시킨 뒤 다시 이들을 分離하여 原來宿主로부터 分離했던 微胞子蟲들과 서로 각각 光學顯微鏡 上에서 比較 檢討하였다(그림 3).

누에로 宿主를 바꾸어 增殖된 微胞子蟲들은 그 形態와 크기가 原來의 宿主로부터 分離한 것보다 약간씩 다르게 나타났다. 一般的으로 微胞子蟲의 胞子の 形態는 寄主의 發育단계, 寄生組織, 飼育溫度에 따라서 變化하는 것으로 알려져 있고(Walters, 1958 ; Thomson, 1960 ; Milner, 1972) 또 누에에 寄生하는 胞子들은 대개 野外昆蟲으로부터 오는데(廣瀨, 1979 a, b) 宿主의 變化에 따라서 微胞子蟲의 胞子の 形態가 變化하는 것으로 報告되고 있다(藤原, 1976 ; 廣瀨·

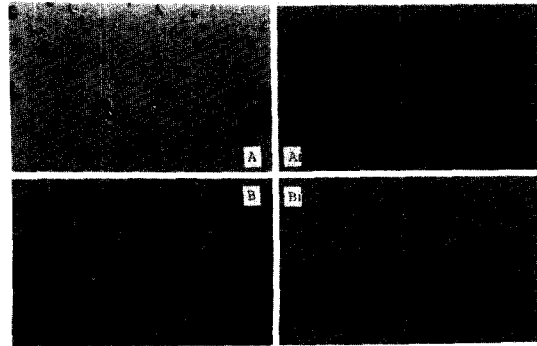


Fig 3. Comparison of microsporidian spores isolated from insects and silkworm moths after infected with the isolates

- A : Microsporidian spores isolated from yellow-hind winged arctiid
- A₁ : Isolates from silkworm moths after infected with A
- B : Microsporidian spores isolated from cutworm
- B₁ : Isolates from silkworm moths after infected with B

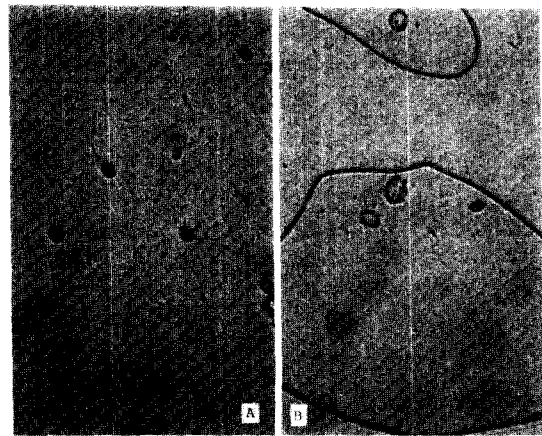


Fig 4. Polifilament of spores isolated from yellow-hind winged (A) and cutworm(B).

上田, 1979 ; 廣瀨, 1979 c). 이러한 점들로 미루어 볼 때 微胞子蟲의 胞子 形態에 의한 微胞子蟲의 同定은 高度의 熟練이 必要하고 現行의 光學顯微鏡에 依한 母蛾檢査에는 問題를 提起하고 있다.

分離된 微胞子蟲들은 모두 5%의 H₂O₂에 依하여 極絲가 抽出되었다(그림 4).

Table 2. Infectivity of microsporidian isolates to silkworm larvae

Name of insects from which microsporidia derived	Total No infected	Stage		
		Larva	Cocoon	moth
Yellow-hind winged Arctiid(<i>Eilema griseola</i> , Hubner)	22(29)	1(5)	3(4)	18(20)
Cutworm(<i>Agrotis tokionis</i> , Butler)	19(30)	0(8)	2(2)	17(20)
Rice leaf beetle(<i>Oulema oryzae</i> , kuwayama)	0(50)	0(4)	0(4)	0(42)

* Numbers in parenthesis indicate the numbers inspected at different stages.

Table 3. Number of eggs laid from infected moths with microsporidian isolates

Name of insects from which microsporidia derived	Average	Individual moth No.				
		1	2	3	4	5
Yellow-hind winged Arctiid(<i>Eilema griseola</i> , Hubner)	556	549	526	604	538	561
Cutworm(<i>Agrotis tokionis</i> , Butler)	652	676	477	656	745	708

* Silkwom variety : Pure lines of Yang Chu Jam

2. 微孢子蟲들의 누에에 대한 感染性

分離된 微孢子蟲 중에서 添食接種 試驗에 充分한 量이 確保된 노랑테불나방, 숫검은밤나방 그리고 벼잎벌레로부터 分離된 微孢子蟲들을 $10^7/ml$ 의 濃度로 만들어 2齡 갸 누에에 接種하고 幼蟲때와 번데기때는 죽은 것에 대하여 微孢子蟲 感染을 確認하고 나방이든 모두 磨碎하여 微孢子蟲 感染여부를 檢査하였다.

표 2에서와 같이 노랑테불나방으로부터 分離된 微孢子蟲의 경우 幼蟲때에 5마리의 죽은 누에중에서 1마리가 微孢子蟲의 感染이 確認되었고 번데기때는 4마리의 죽은 것중에서 3마리가 微孢子蟲의 感染이 確認되었으며 나방이든의 경우는 20마리를 檢査한 결과 18마리가 微孢子蟲의 感染이 確認되었다.

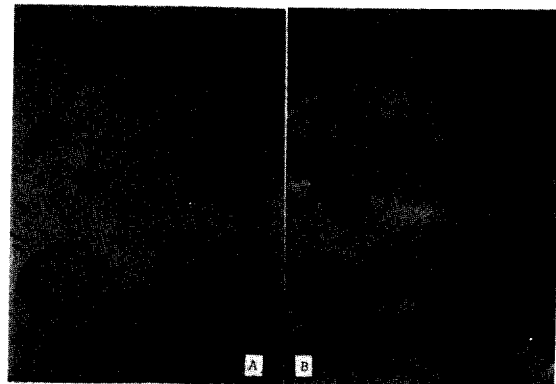
따라서 幼蟲, 번데기, 나방이때 모두 합하여 29마리를 檢査한 가운데에서 22마리가 微孢子蟲에 感染되었으며 이중의 大部分이 나방이때 檢出된 사실로 보아 이 微孢子蟲의 누에에 대한 病原性은 낮은 것으로 생각된다. 숫검은밤나방으로부터 分離된 微孢子蟲의 경우에는 幼蟲때 8마리, 번데기때 2마리가 죽어 이들을 檢査한 결과 幼蟲때는 微孢子蟲의 感染이 없었고 번데기 때는 2마리 모두가 微孢子蟲에 感染된 것이 確認되었으며 나방이든 20마리를 檢査한 결과 17마리가 感染되었었다. 이 경우에도 노랑테불나방 때처럼 接種된 幼蟲들이 나방이때까지 生存해 있었다.

따라서 이들 노랑테불나방과 숫검은밤나방으로부터 分離된 微孢子蟲들은 누에에 感染은 되나 누에 微孢子病의 病原體인 *Nosema bombycis*를 2령 갸 누에에 $10^7/ml$ 로 接種시켰을 경우 幼蟲때 大部分이 죽는 것을 고려하면(趙, 1988) 이들 微孢子蟲들의 누에에 대한

病原性은 낮은 것으로 생각된다.

벼잎벌레로부터 分離된 微孢子蟲의 경우는 幼蟲때 4마리 번데기때 4마리 그리고 나방이때 42마리를 檢査하였으나 어느 時期에도 微孢子蟲은 檢出되지 않음으로서 이 微孢子蟲의 누에에 대한 感染性은 없는 것으로 나타났다. 蔡 등(1986)도 뽕싹파리와 꿀벌로부터 分離된 微孢子蟲들을 누에에 接種하였으나 感染이 되지 않았다고 報告하고 있다.

이러한 사실들은 누에와 같은 目(Order)이 아닌

**Fig 5.** Eggs laid from infected moths with microsporidian isolates

A : Eggs laid from silkworm moths infected with microsporidian isolate from yellow-hind winged arctiid
B : Eggs laid from silkworm moths infected with microsporidian isolate from cutworm

Table 4. Transovarian transmission status of microsporidian isolates in silkworm

Name of insects from which microsporidia derived	Individual moth No.				
	1	2	3	4	5
Yellow-hind winged Arctiid(<i>Eilema griseola</i> Hubner)	—	—	—	—	—
Cutworm(<i>Agrotis tokionis</i> , Butler)	—	—	—	—	—

* “—” Indicates that transovarian transmission did not Occur in silkworms.

昆蟲으로 부터 分離된 微孢子蟲들은 누에에 感染성이 없음을 示唆하고 있는 것으로 생각된다.

노랑테불나방과 숫검은밤나방으로부터 分離된 微孢子蟲들에 感染된 나방이들의 産卵狀態를 調査한 바 노랑테불나방의 微孢子蟲에 感染된 나방이는 산란수가 556개, 숫검은밤나방의 微孢子蟲에 感染된 나방이는 그 産卵數가 652개로(표 3) 숫검은 밤나방의 微孢子蟲에 感染된 나방이가 100개 정도의 産卵을 더 하였고, 그림 5에서 보는 바와같이 노랑테불나방의 微孢子蟲에 感染된 나방의 産卵狀態는 숫검은밤나방의 微孢子蟲에 感染된 나방이의 産卵狀態보다 더 不規則한 것을 보여주고 있다. 이러한 사실은 幼蟲, 번데기, 나방이 때에서의 總感染率이 노랑테불나방의 微孢子蟲의 경우가 더 높았던 것과 一致하고 있다.

한 편 이들 微孢子蟲들이 經卵傳達 傳染이 되는가를 알아보기 위하여 感染된 母蛾들이 産卵한 것에 대하여 補正檢査를 實施하였으나 次代에서는 어느 微孢子蟲도 檢出되지 않음으로서 이들 微孢子蟲들이 經卵傳達 傳染은 되지 않는 것으로 確認되었다(표 4).

摘 要

노랑테불나방과 숫검은밤나방으로부터 微孢子蟲을 分離하고 이들의 形態의인 性狀과 누에에 대한 感染성을 調査하였다.

1. 노랑테불나방과 숫검은밤나방의 6種의 野外昆蟲으로부터 8種의 微孢子蟲이 分離되었으며 노랑테불나방과 숫검은밤나방으로부터 分離된 微孢子蟲들의 크기는 각각 $2.6\mu \times 1.5\mu$, $3.7\mu \times 2.0\mu$ 였다.

2. 노랑테불나방과 숫검은밤나방으로부터 分離된 微孢子蟲들은 누에에 感染성을 나타냈으나 벼잎벌레로부터 分離된 微孢子蟲은 누에에 感染성을 나타내지 않았다.

3. 노랑테불나방과 숫검은밤나방으로부터 分離된 微孢子蟲들은 누에에 있어서 經卵傳達 傳染은 되지 않았으나 노랑테불나방에 感染된 누에 나방이의 産卵數도 적고 狀態도 不規則的이었다.

引 用 文 獻

- 阿部芳彦·藤原 公(1979) 카이코幼蟲の中腸上皮細胞に寄生する原蟲 *Pleistophora* sp.의 増殖樣式. 日蠶雜 48(1): 19~23.
- 蔡洙君·朴大陽·趙世衍·張大洙(1986) 野外昆蟲에 寄生하는 微孢子蟲類에 대하여. 韓蠶學誌 28(1): 54~60.
- 趙世衍(1988) 家蠶에서 分類된 새로운 微孢子蟲(S_{85})의 特性 및 分類學的 位置, 慶北大學校 大學院 博士學位 論文, pp. 10~33.
- 藤原 公(1980) 카이코에서 分離 された3種의 微孢子蟲에 對하여. 日蠶雜 49(3): 229~236.
- 藤原 公(1984) 蠶에서 分離された *Thelohania* sp. 日蠶雜 53(5): 459~460.
- 廣瀨安春·上田金時(1979 a) 柞蠶微粒子 病原蟲의 繼代 宿主による 感染性的變化. 蠶絲研究 110: 105~110.
- 廣瀨安春(1979 b) 野外昆蟲에서 採取された 微孢子蟲類의 交叉感染. 蠶絲研究 111: 124~128.
- 廣瀨安春(1979 c) 니카메이가 寄生 微孢子蟲의 카이코 及び 他種昆蟲への 感染性에 對하여. 蠶絲研究 112: 255~279.
- 石原 廉·小林正彦·藤原 公(1971) 家蠶의 新原蟲病. 日本蠶絲學會 講要 pp. 40~48.
- 林鍾聲·金鍾聲(1980 a) 家蠶에 寄生하는 새로운 微孢子蟲에 關한 研究. 慶北大學校 大學院 論文 pp. 1~50.
- 林鍾聲(1980 b) 韓國에서 發見된 새로운 微孢子蟲에 關한 研究. 韓國蠶絲學會 學術發表 要旨 2, 1~3.
- 林鍾聲(1981) 새로운 微孢子的 누에에 對한 病原性 및 經卵傳達에 關한 研究 農村振興廳 産學協同, 81-8, pp. 1~27.
- 林鍾聲·韓明世(1981) 家蠶에 寄生하는 Nuclear-polyhedrosis virus와 새로운 微孢子蟲 *Nosema* sp.(M_{12})間的 相互作用 慶北大學校 大學院 論文, pp. 1~53.
- 林鍾聲·趙世衍(1982) 누에로부터 分類된 새로운 Microsporidia(S_{80})의 特性. 慶北大學校 大學院 論文, pp. 1~37.
- Milner, R, J(1972) *Nosema whitei*, a microsporidian pathogen of some species of tribolium. J, Invert. pathol. 19: 239~247
- 田中茂男·清水孝夫·小林正彦·石原 廉(1972) 家蠶의 新原蟲病에 對하여. 日蠶雜 41(2): 89~95.
- Thomson(1960) A list and brief description of the microsporidia infecting insects. J. Insect. pathol. 2: 346~385.
- Walter, V. A.(1958) Parasitology 48: 113~120.