

곤충 병원성 선충에 의한 집누에 감염증과 병인론적 발병생리

한상미 · 남기수 · 한명세

경북대학교 농과대학 곤충병리연구실

Causal Pathogenesis on the Silkworm, *Bombyx mori*, Associated with Entomopathogenic Nematoda

Sang Mi Han, Ki Soo Nam and Myung Sae Han

Insect Pathology Laboratory, College of Agriculture,
Kyungpook National University, Daegu, 702-701 Korea

ABSTRACT

Entomopathogenic nematodes, Heterorhabditidae and Steinernematidae, were isolated from the soil of mulberry field, and the high infectivity and invasiveness were confirmed in the silkworm, *Bombyx mori*. The cause of non-microbial and acute flacherie was found as a disease by infection with soil-born nematodes through the mulberry leaves contaminated with soil and rainwater. The causal nematodes were isolated by silkworm trap from all of the 5 soil samples collected on the 5 mulberry fields, and identified as 3 strains of *Heterorhabditis* sp. and 2 of *Steinernema* sp. Rainwater itself, however, wasn't engaged in the silkworm disease, mulberry leaves with rainwater was rather profitable for cocoon production when the leaf quality was too hard to feed silkworm. Feeding of wet mulberry leaves with rain might not so harm to silkworm when the condition of rearing room to be kept at suitable temperature and ventilated well. Nematode infection of silkworm could be occurred by harvesting and feeding of contaminated mulberry leaves on the weather condition of rainy and wind. For the prevention of nematode infection, silkworms should be fed the leaves harvested from the higher portion of the mulberry tree in rainy days. For an oppositional application of this susceptibility of silkworms to nematode, might be useful on the collection and amplification of nematode agents for biotic control of pest insects.

Key words : Entomopathogenic nematoda, Heterorhabditis, Steinernema, Silkworm trap

서 론

곤충병의 유행에 직접 및 간접적으로 크게 영향을 미치는 환경은(Price Walbauer, 1982), 각 요인이 복합적으로 작용하고(Benz, 1987), 유기적으로 연계되어 매우 다양한 방식으로 질환의 발생에 관여한다(Han and Lim, 1997; Maddox, 1987). 양잠 현장에서는 장마철에 비미생물성 급성 연화병이 발생하는 경우가 있으며, 이와같은 질환은 정확한 진단을 내리지 못하고 생리이상 또는 원인불명으로 간주되는 경우가 많다. 다습환경의 경우 곤충의 진균병 발생과 정의 상관성이 있고(Wilding, 1975), 강우와 토양의 경우

일조량 등은 해다각체병(NPV)의 발생과 밀접한 관계가 있다(Mitchell & Fuxa, 1990). *Rhabditis* sp.에 의한 집누에의 선충 감염사례(Mizuta & Sato, 1965)와 같이, 장마철 환경은 숙주곤충과 병원체의 상호작용에 관여하여 감염의 기회를 조장하므로 질환이 발생하기 쉽다. 한편, 생태계에 존재하는 천연의 살충성 인자는 사람이나 가축 및 야생동물에 부작용이 거의 없고 환경오염을 야기하지 않는 장점이 인정되므로(Kaya 1988) 적극적인 활용 방안이 강구되어야 한다. 생물살충제 개발의 측면에서, 집누에의 질환은 야생곤충의 발생밀도 조절에 관여하는 병원체의 분포밀도 조사 및 생태환경 평가에 유리한 수단을 제공

할 수 있다. 장마철에 발생하는 누에의 급성 무름병에 대한 병인론적 발병생리의 규명은 누에병 예방에 도움이 되는 물론, 자연환경의 곤충병원성 선충 탐색을 위한 모니터로서 집누에의 새로운 활용가치 개발에도 기여할 것이다.

재료 및 방법

1. 무름병의 진단 및 병원성 검증

장마기에 우려되는 사육온도 저하, 빗물의 오염, 불양한 뽕잎 조건 등을 대상으로 경구침식법과 경피접종법 및 선충실험법을 종합적으로 적용하고 병리학 적 입장에서 발병요인을 규명하였다. 시험용 누에는 칠보잠 계통인 본 연구실 표준 교잡종 Aj×Bc(Han, 1997)로서 사육환경은 표준사육법에 준하였고, 누에의 질환은 외부병징의 관찰 및 해부학적 진단과 병원체 검출을 위한 현미경 검사를 병행하였다. 선충은 white trap(Glaser, 1932)으로 분리 검색하였고, 병원성 검증용 선충계통은 wild type의 분리 후 최소한 6~7세대 이상 경과한 개체를 3령 및 5령 누에를 이용하여 3반복으로 실시하였다. 접종은 eelworm counter(Advanced Equine Products, U.S.A)로 감염태 유충(infective juvenile: IJ) 수를 계측하고, 여과지를 간 10 cm petri dish에 3 ml의 증류수와 함께 주입하였으며, 갓깁누에를 투입 후 6시간 마다 감염치사율을 조사하였다.

2. 토양의 곤충병원성 선충의 분리

경북대학교 등 5개 지역의 뽕밭 토양에서 표면의 마른 흙은 얇게 걷어낸 다음 깊이 15 cm 이내의 토양 200~500 g 정도를 취하였다. 검사용 토양시료는 먼저 증류수를 분무하여 수분을 보충한 다음 사각형 플라ستيك 상자(29×22.5×15 cm)에 넣고 표면을 고르게 다듬었다. 그 위에 젖은 여과지를 깔고 5령 기잠을 넣은 다음 치사하는 개체를 수집하였고, 선충의 분리를 위한 White trap은 6×9×5의 4각형 glass chamber(가로×세로×높이) 내에 1×5×2 cm의 아크릴판 사각대(가로×세로×높이)를 놓고 크기에 맞게 평균 여과지를 덮었다. 2~3일 경과한 사체를 올려놓은 trap은 사각대의 1/3정도가 잠길 정도로 증류수를 채우고 실온(23~26°C)에서 15일 간 IJ를 분리하는 동시에 성충을 채집하였다.

3. 선충표본 제작 및 관찰

선충표본 제작은 Choi(1994)의 방법에 준하였으며, 고정병에 선충을 옮긴 다음, 80°C로 가열한고정액

FG 4-1(formalin 100 ml, glycerin 10 ml, 증류수 890 ml)을 넣었다. 그 다음 새 고정액이 든 병에 옮겨서 94%의 알코올이 들어있는 데시케이터에 넣고 뚜껑을 닫은 후 40°C의 항온기에 24시간 보관 후, Seinhorst's solution(glycerin과 96% alcohol의 5:95 혼합액)으로 채워³⁾ cover glass로 고정병을 1/2 정도만 덮어 40°C에 두었다. 1시간 마다 Seinhorst's solution을 3회 교체하고 항온기에서 24시간 보존하여 탈수와 동시에 glycerin으로 치환하고, 4각 coverglass의 paraffin화에 옮겨서 glycerin에 mounting하여 등근 coverglass로 덮은 다음 aluminium slideglass에 장착하여 Nikon eclipse E600 현미경으로 관찰하고, Image-Pro Plus 화학분석 시스템(Media Cybernetics)으로 형태와 크기를 측정하였다.

결 과

1. 비미생물성 급성 무름병의 원인

장마철에 발생하는 급성 무름병 누에는 병원미생물이 검출되지 않은 경우가 있었으며, 세균류가 검출되어도 경구침식에서 유의적인 병원력이 없거나 재현성이 인정되지 않아서 자유생활 세균의 2차적 증식으로 판명되었다. 광학현미경으로 진균이나 자유생활 세균 또는 핵다각체바이러스 및 세포질다각체바이러스, 등이 관찰되지 않는 시료는 마쇄 여과 후 상등액을 경구접종하였다. 생물검정에서 다각체 비형성 곤충바이러스의 존재가 부정적인 치사율 중, 악취가 심하지 않는 특유의 급성 비미생물성 무름병증 폐사감에서는 저배율의 현미경 검사에서 선충이 검출되었다. 선충은 세포내 기생성 원충인 *Nosema* sp.(Han, 1996) 보다 200배 이상 크고, 세포 외에서 활발한 운동성을 보이므로 원충이나 진균의 균사(Lee et al., 1989)와 명확히 구별되었다. 그러나, 식물병원성 선충이나 자유생활 선충의 혼입 가능성과, 곤충병원성인 경우 무름병증 간의 관련성 등에 관한 정밀 검토의 필요성이 제기되었다.

저온 다습 저기압 등 장마철 환경에서 발생할 수 있는 불양요인을 설정하여, 저온, 비에젖은 굳은뽕잎 급여, 젖은 흙에 오염된 뽕 통기불량 다습조건 등이 중복된 불량환경 시험사육에서 발병율을 조사하였다(Fig. 1). 토양의 영향을 배제하기 위해 지상에서 격리된 옥상으로부터 채취한 빗물을 실온에 보존하며 매 회 뽕을 적셔서 급여한 경우, 지표에서 1 m 이상 높이의 청결한 적숙염으로 사육한 대조구와 비교하여 특별한 병감의 발생은 인정되지 않았고, 저온처리에서는 핵다각체병이 다소 발생하였다(10% 이하). 그러

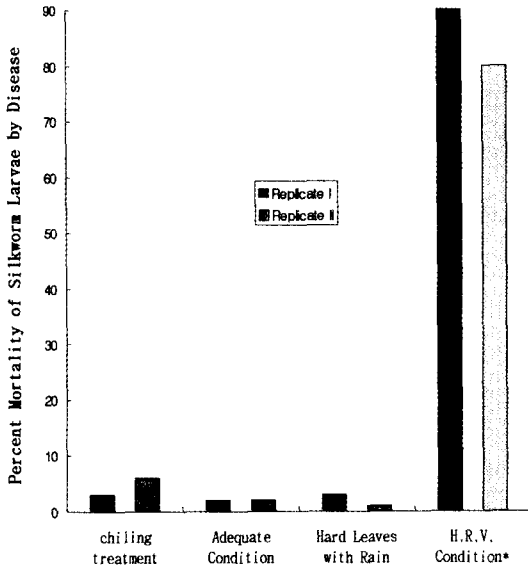


Fig. 1. Occurrence of silkworm disease by rearing condition during the 5th larval instar; Chilling treatment, silkworm larvae after molting were kept at 5°C for 12 hrs before feeding; adequate condition, fed on leaves of proper qualities with adequate ventilation; hard leaves with rain, reared on hard and wet leaves with rain water collected from the roof; HRV Condition, fed hard and wet leaves with rain water on the condition of poor ventilation with high humidity above 90% RH.

나, 발병요인이 중복된 시험구 즉, 뽕밭의 흙으로 오염된 젖은 뽕을 급여하고 통기불량 환경에서 사육한 경우에는 다수의 핵다각체병과 세균에 의한 기회적 감염 외에 각종 질환을 합한 전체 발병율은 80~90% 정도였다. 그 중 20% 정도는 장마철에 발생한 비미생물성 무름병이 재현되었으며, 급성무름병 증상을 보이며 치사 후 악취가 심하지 않은 누에를 실온(23~26°C)에서 white trap(Glaser, 1932)을 설치한 결과 선충이 분리되었다. 생리이상과 기타 기회적 세균성 질환 및 핵다각체병(Han and Lim, 1997) 등 내적 요인이 개입되어 2종 이상의 병원체가 중복되어 검출되는 경우, 숙주의 생리상태와 무관하게 성립될 수 있는 병

인이 우세할 것이므로, 주요인은 병원성 선충으로 판단되었다.

9~12월에 채취한 5 점의 토양과 절식상태의 누에를 이용한 trap 에서 발생된 치사개체는 경피감염으로 인정되었고, 전형적인 병증이 입증되었으며, white trap 설치 후 2주일 내에 모든 표본에서 병원성 선충이 분리되었다. 감염치사후 1주일 정도 경과한 시기의 해부학적 병변은 누에사체 표면의 마디 사이와 내부의 체강 등에서 다수의 선충이 관찰되었고, 세균성 무름병 누에와 비교할 때 통상 및 부생성 미생물의 증식이 현저히 억제되어 심한 악취가 발생하지 않는 것으로 확인되었다. 뽕밭토양 채취는 경북대학 실습농장, 경상북도 잠사곤충사업장, 강원도원종장, 밀양산업대학, 농촌진흥청 잠사곤충부 등 장소가 격리된 지역에서도 모든 표본에서 선충이 분리된 결과는 주시할 가치가 있다. 토양에 분포하는 곤충병원성 선충은 본 감염증의 原死因으로서, 전염경로는 빗물에 젖은 흙과함께 이 뽕잎에 묻어서 토양과 함께 오염된 병원체가 누에로 전파되는 것으로 규명되었다 (Table 1).

누에의 감염이 확인된 선충은 모든 계통이 공통적으로 체형이 실처럼 가늘고 길며 좌우대칭형이며, 몸통이 분절되어 있지 않고 투명하여 내부기관이 관찰되는 등 고유의 형태적 특징이 인정되었다(Fig. 2). 치사 후 1주일 정도 경과한 숙주곤충 내의 선충은 직경이 약 5 μm 정도인 장타원 모양의 알이 가득차있는 경우도 있었다. 장마철에 주로 발생하는 비미생물성 무름병증의 原死因으로 확인된 선충은 모두 Rhabditia 목이었고, 2개科的 5 계통으로서, Steinernematidae의 *Steinernema* sp가 2계통, Heterorhabditidae의 *Heterorhabditis* sp가 3계통이었다. 일본에서 누에의 감염이 확인된 선충은 Rhabdiasidae의 *Rhabditis* sp. 로서(Mizuta & Sato, 1965), Rhabditia 목이지만본 시험에서 분리된 계통들과는 다른科에 속하였다. Steinernematidae의 형태적 특징은 *Steinernema* sp. NS 602의 경우를 Fig. 2에 제시하고, Heterorhabditidae는 *Heterorhabditis* sp. NH627의 형태를 Fig. 3에 나타내

Table 1. Investigation of entomopathogenic nematodes by using silkworm trap from the soil collected from 5 mulberry field of Kyung Gi, Daegu, Kyung Pook, Kyung Nam, Kangwon provinces

Soil samples	Locality of mulberry field	Date of collection	Nematode isolates
602	Kyungpook University, Dae Gu City	96. 9. 28	Steinernematidae
627	Sericultural Station, Sangju, Kyung Pook	96. 12. 5	Heterorhabditidae
628	Sericultural Station, Chunchon, Kang Won	96. 12. 24	Steinernematidae
629	Mil Yang College, Mil Yang, Kyung Nam	96. 11. 6	Heterorhabditidae
638	SERI, RDA, Suwon, Kyung Ki	96. 11. 29	Heterorhabditidae

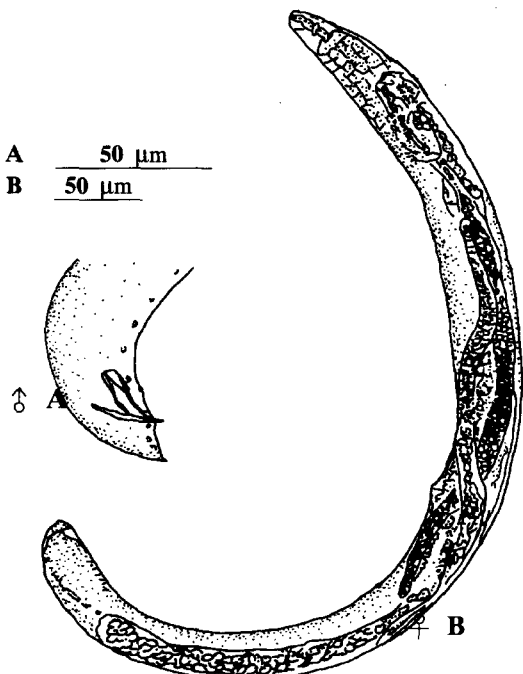


Fig. 2. *Steinernema* sp. NS602 adult with round tail of female, and genital papilla of male related with identical genus; A, tail part of the male; gt, genital papilla; sp, spicule; B, body shape of the female; eso, esophagus; ov, ovary; vu, vulva; an, anus; ta, tail.

었다. 두 屬은 공통적으로 Stylet이 없는 점이 식물병 원성 선충들과 뚜렷이 구별되었고, *Steinernema* sp. NS602의 암컷은 꼬리가 둥근 편이며 nerve ring 앞쪽에 Excretory pore opening(epo)이 관찰되었다(Fig. 2B). *Heterorhabditis* sp. NH627의 암컷은 꼬리가 뾰족하며 nerve ring 뒷쪽에 epo가 위치하는 점(Table 2, Fig. 3C)이 대조적이었다. 수컷은 *Steinernema* spp. NS602, NS628 등이 꼬리의 spicule 끝이 분리되지 않

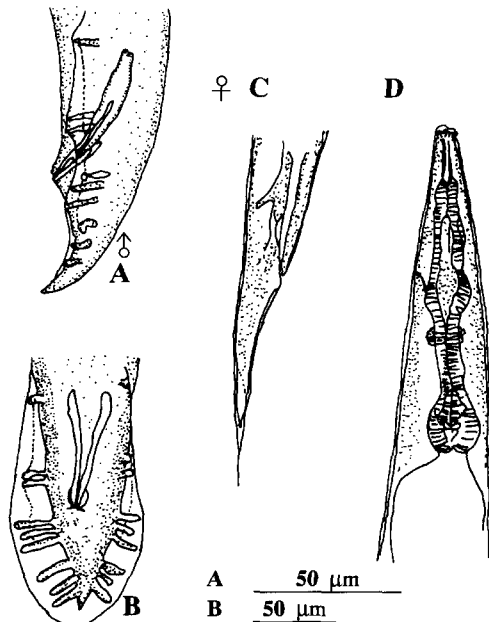


Fig. 3. *Heterorhabditis* sp. NH627 adult with pointed tail of female and genital papillae with bursa of the male; A, lateral view of tail in male adult; B, ventral view of tail in the male; sp, spicule; br, bursa; bp, bursa papilla; C, posterior part of female; an, anus; ta, tail; D, anterior part of the female and male body; ph, pharynx; nr, nerve ring; in, intestine; epo, excretory pore opens.

은 형태로 존재하고, *Heterorhabditis* spp. NH627, NH629, NH638 등은 수컷의 꼬리에 bursa 구조가 있고 spicule의 선단이 분리되어 있었다.

선충의 크기는 성충의 암컷이 몸체의 길이가 900~1,800 µm 폭은 50~90 µm 정도였고, 수컷은 길이 600~1,200 µm 정도이며 폭은 30~50 µm 로서 암컷보다 작았으며, 전체적인 외형은 암수 및 II가 모두 Fig. 2B와 유사하지만, 각 부위별 세부형태는 차이가 있었

Table 2. Morphological criteria on the systemics of nematoda, 3 isolates belong to the family of Heterorhabditidae, 2 of those found as Steinernematidae

Items for Taxa	<i>Steinernema</i> sp.	<i>Heterorhabditis</i> sp.
	NS602, NS628	NH627, NH629, NH638
Tail of Male	Pared spicules with no bursa.	Consist bursa with bursal papillae.
Tail of Female	Slightly round.	Slightly pointed.
Infective Stage	Excretory pore opening positioned anterior to nerve ring. Absent dorsal tooth	Excretory pore opening at posterior to nerve ring. Consist dorsal tooth on the anterior tip.
Stylet	Absent.	Absent.

Table 3. Body size of nematodes on female and male adults with infective juvenile in the 5 strains of nematodes, each strain for estimation was reproduced at least 6 to 7 generations in the silkworm host following isolation from the soil

Nematodes	Strain	Female		Male		Infective juvenile	
		Length	Width	Length	Width	Length	Width
<i>Steinernema</i> sp.	NS602	1,451±51.7	86±6.0	1,177±17.5	45±2.0	935±16.2	38±2.4
	NS628	1,175±62.5	61±4.2	975±85.0	48±5.9	867±11.8	39±1.7
<i>Heterorhabditis</i> sp.	NH627	912±20.8	61±2.1	657±18.9	33±1.7	692±11.1	33±1.2
	NH629	1,742±40.0	88±8.9	850±20.4	52±2.8	790±12.9	33±1.2
	NH638	1,287±42.7	67±3.2	1,087±31.0	47±1.5	793±10.5	45±4.0

다. II는 꼬리가 비교적 가늘며 성분화가 인정되지 않아서 꼬리에 특수한 부속기관이 관찰되지 않는 점으로 성충과 구별된다. 체구가 큰 암컷 중에서 특히 NH629는 길이 1,742±40.0 μm 폭 88±8.9 μm 으로서 가장 컸고, NH627은 길이 912±20.8 μm 폭 61±2.1 μm 으로서 가장 작았다. 암컷이 제일 작은 계통이 수컷의 크기도 작은 경향을 보였으나, 반드시 암컷의 크기와 비례하지는 않았고, 암수 간 크기의 차이는 NH629 에서 가장 크고, NS628 및 NH638 은 암수 간 체구의 차이가 작은 편이었다. 또한 Infective Juvenile(IJ)은 NS602가 길이 935±16.2 μm 폭 38±2.8 μm 으로서 제일 크고, NH627은 길이 692±11.1 μm 폭 33±1.2 μm 으로서 가장 작았다. IJ 의 체장은, NS628과 NH627은 성충 암컷의 74~76% 로서 차이가 작은 편이며, NH629는 암컷의 45% 로서 가장 큰 차이가 있었다. 그리고, 일반적으로 IJ 는 수컷보다 작았으나, NH627 에서는 IJ 가 오히려 성충의 수컷 보다 큰 특징을 나타내었다(Table 3).

3. 선충 감염증의 병인론적 발병생리

시험에 사용된 누에는 탈피 후 뽕잎을 급여하지 않은 상태로서 specific pathogen free 상태이며, 갓깁누에의 특성상 머리를 들고 있으므로 경구감염의 기회는 희박하다. 인위적으로 두부와 미부 및 기관을 폐쇄한 번데기당 5마리 및 20마리 이상의 선충을 투입한 트랩에 노출시킨 결과 두 시험구는 모두 100%의 감염이 확인되었으므로, 본 시험에서 분리된 선충 계통의 우선적인 침입경로는 피부부를 통한 경피감염인 것으로 판단되었다. 숙주 1마리당 선충은 IJ 5마리씩을 기준으로 구당 150마리의 IJ가 들어있는 petridish 에 30 마리의 누에를 투입하였을 때, 선충 5계통의 LT₅₀의 평균치는 30.0 시간, LT₁₀₀의 평균은 44.4 시간이었고, 60시간 이내에 모든 시험구의 누에가 100% 치사하였다(Table 4). 숙주 1마리당 동일 수의 병원체에 노출시킨 후 선충 계통 간의 병원력을 비교할 때, LT₅₀과 LT₁₀₀ 으로 결정되는 병원력의 순위가 일치하지 않아서 우열관계가 불명한 경우가 있었다. 그러나, 특별

Table 4. Mortality of 3rd instar silkworm larvae exposed to the pathogenic nematode of infective juvenile (IJ) ; 150 of dose were applied for 30 silkworms (5 of IJ per larval host) per each of 3 replicates, larval host introduced soon after molting

Duration of exposure (hr)	% Mortality of silkworms by nematode strains				
	<i>Steinernema</i> spp.		<i>Heterorhabditis</i> spp.		
	NS602	NS628	NH627	NH629	NH638
12	3±3.3	0±0.0	0±0.0	0±0.0	0±0.0
18	50±15.2	3±3.3	17±3.3	10±3.3	3±3.3
24	100±0.0	27±6.6	23±3.3	26±3.3	13±3.3
30		33±8.8	47±3.3	40±5.7	33±8.8
36		60±5.7	60±9.9	60±5.7	73±12.0
42		83±8.8	83±3.3	83±3.3	90±5.7
48		100±0.0	93±6.6	100±0.0	100±0.0
54			100±0.0		
LT ₅₀	18.0	33.7	32.3	33.0	32.8
LT ₁₀₀	24.0	48.0	54.0	48.0	48.0

Table 5. Mortality of 5th instar silkworm larvae exposed to the pathogenic nematode of infective juvenile (IJ); 50 of dose were applied for 10 silkworms (5 of IJ per larval host) per each of 3 replicates, larval host introduced soon after molting

Duration of exposure (hr)	% Mortality of silkworms by nematode strains				
	<i>Steinernema</i> spp.		<i>Heterorhabditis</i> spp.		
	NS602	NS628	NH627	NH629	NH638
12	0±0.0	0±0.0	10±5.7	0±0.0	0±0.0
18	3±3.3	7±3.3	23±3.3	0±0.0	3±3.3
24	13±13.4	30±15.3	70±5.7	0±0.0	7±3.3
30	36±13.4	47±3.3	80±5.7	7±3.3	10±5.7
36	50±26.4	63±8.8	86±8.8	13±3.3	30±9.9
42	76±18.5	80±5.7	93±6.6	30±5.7	60±17.3
48	76±18.5	93±6.6	100±0.0	47±6.6	70±15.2
54	93±6.6	100±0.0		60±5.7	80±9.9
60	93±6.6			83±12.0	93±6.6
66	96±6.6			93±6.6	96±3.3
72	100±0.0			100±0.0	100±0.0
LT ₅₀	36.0	31.9	21.5	50.9	40.0
LT ₁₀₀	72.0	54.0	48.0	72.0	72.0

히 병원력이 강한 NS602는 3령 유충에서 LT₅₀ 및 LT₁₀₀가 18.0 및 24.0 시간으로서 병원성이 제일 강한 것으로 판정되었다. 5령 유충에서는 NH627의 LT₅₀ 및 LT₁₀₀ 값이 가장 우월하였는데, 특히 이 계통은 암수 성충과 IJ의 크기가 5계통 중 가장 작고, 3령누에의 시험에서 LT₅₀은 32.3 시간으로서 2위였으나 LT₁₀₀은 가장 열등한 54.0 시간이었다. 그런데, NH627은 3령때 보다 5령때 오히려 급속한 치사를 나타내어, LT₅₀ 및 LT₁₀₀는 각각 21.5 및 54.0 시간으로서 5령 숙주에서는 다른 계통에 비해 월등하게 우세한 살충력이 입증되었다 (Table 5).

NH627을 제외한 다른 계통의 LT₅₀ 및 LT₁₀₀ 평균은 5령에서 39.7 시간 및 67.5 시간으로서, 3령의 29.4 시간 및 42.0시간에 비하여 각각 10.3 시간 및 25.5 시간이 더 소요되었다. 한편, 5령누에 1마리당 30~40 마리 이상의 IJ를 투입한 조건에서는 수시간 내에 마비가 일어나고 누에는 일제히 그 상태로 치사하였으며, 숙주 수에 비하여 선충 수의 비율이 일정수준 이상이면 선충 수가 증가함에 따라 치사시간은 단축되지만, 치사율에는 변화가 없었다. 숙주의 치사에 요구되는 선충 수는 계통에 따라서 다소 차이가 있을 것이지만, 일정한 공간 내의 숙주 1마리에 대하여 선충 1~2 개체로서 이론상 100%의 치사조건이 충족된다는 결론이 도출되었다. 또한, 일정한 공간에서 이상적으로 선충이 분포할 경우 그 수에 따라 숙주곤충의 치사개체 수가 결정되므로 3령과 5령 누에의 치사율에 차이가 인정되지 않음은 당연할 것이다 (Table 4,

5). 선충은 체구가 상당히 클 뿐 아니라, 병세가 진전된 해부학적 조건은 1분 이내에 누에의 체내를 횡단하기에 충분한 정도로 강한 활동성을 나타내었고, 견사선을 제외한 체강 및 각 부위에 다수의 개체가 검출되었다. 누에의 直接死因은 활발한 운동성을 나타내는 선충에 의한 혈체강의 교란 또는 조직파괴에 기인하는 기계적 장애로 추정되었다.

고 찰

병원성은 병원체의 환경내성 전달성 침습성 등의 종합적인 표현이지만, 집누에의 線蟲감염증은 강한 환경내성과 침습성 및 증식성을 지닌 곤충병원성 선충이 뽕밭에 분포하므로서 1차적인 요건을 제공하는 것으로 밝혀졌다. 자연생태계의 생물성 및 비생물성 요인이 복합적으로 감염증에 관여하는 바와 같이 (Benz, 1987; Maddox, 1987; Price Walbauer, 1982), 선충 감염증은 장마철 환경이 숙주인 누에와 병원체인 선충 간의 관계에서 병원체에 유리한 감염의 기회를 조장하여 2차적인 요건을 제공한 결과로 인정되었다. 누에의 선충감염증 예방에는, 비오는 날 뽕 수확이 불가피할 때 지면에 가까운 아래쪽 잎을 피하고 흙이 묻지 않은 윗쪽 잎을 이용하는 것이 안전하며, 하위엽은 맑은 날씨가 수일간 지속된 후의 수확이 바람직할 것이다.

Steinernematidae의 *Steinernema* sp.와 Heterorhabditidae의 *Heterorhabditis* sp. 및 Rhabdiasidae의

Rhabditis sp.는 공통적으로 측미선구는 있으나 미선은 없으며, 두부감각기관이 감각돌기로 되어 있으므로 모두 *Secernentea* 綱의 *Rhabditia* 目に 속하는 것으로 인정된다. 일본에서 조사된 *Rhabditis* sp.의 감염경로는 누에가 雨期에 오염된 뽕잎을 먹음으로써, 함께 소화관으로 들어간 선충이 장관벽을 통과하여 체강으로 침입 증식하므로써 발병된다(Mizuta & Sato, 1965). 그러나, 이번에 한국에서 누에의 감염이 밝혀진 선충 5계통 즉, *Steinernema* spp. 및 *Heterorhabditis* spp.는 모두 경피감염되므로 *Rhabditis* sp.와는 크게 다른 점이다. 곤충 기생성 선충의 II는 주로 숙주의 입 항문 등 자연 開口部로 침입할 것으로 추정되지만(Gaugler, et al., 1980), 그것이 실험적으로 입증된 사실로 잘못 해석하거나, 주요 침입부위 또는 유일한 경로인 것으로 단정하는 오류도 있다. 나비목 곤충의 기문은 지면에 접촉될 빈도가 높은 다리나 복면의 피부보다 비교적 높은 위치에 있어서 침입구를 찾기에 불리하며, 기문 침입시 체강으로 들어가기 위해 다시 강한 기관 상피조직을 관통하는 2중의 노력이 필요하다. 생태계의 어떤 생명체든 에너지가 낭비되는 경로를 선택하는 예가 없으므로, 그 정도의 침투능력이 있다면 직접 피부를 관통하는 전략이 유력할 것이다. 이러한 주장을 뒷받침하는 사례로서 *Steinernema krausseri* 및 한국에서 분리된 *Heterorhabditis heliothis*는 꿀벌부채명나방 유충의 피부를 관통하여 침입할 수 있다(Mracek et al., 1988).

Heterorhabditis 및 *Steinernema* 계통에서 비교적 잘 알려진 공생균은 선충의 증식 및 활력을 증대시키는 작용이 인정되기 때문에 결과적으로 살충력의 강화에 기여함은 부정할 수 없다(Dunphy et al., 1985; Poinar, 1979). 그러나, 공생균이 없는 선충종에서는 당연히 기계적 장애가 주된 살충기작일 수밖에 없으므로, 곤충병원성 선충류의 일반적인 살충기작으로 간주함은 적당하지 않다. 공생균의 역할은 살충작용의 절대적 요건이 아니라 일부 선충에 부가되는 특징이라는 견해가 바람직하며, 지나치게 공생균에 집착하거나 그 역할이 강조되면, 살충성 연구에 관련된 응용기술 개발에 지장을 초래할 수 있다. 탈피 직후 누에의 크기는 3령 1.2 cm 5령 4 cm 정도이며, 선충의 II는 700~900 μ m 로서 가시적인 크기에 달하며, 갓겐 누에 기준으로 3령의 7% 5령의 2%에 상당한다. 거대한 크기에도 고도로 활발한 운동성까지 감안하면, 조직 기관에 대한 격심한 파괴는 의심할 여지가 없다. 한편, 누에 체강의 혈액은 6.5 내외의 약산성이며, 소화액의 pH는 10 정도의 강알칼리성으로서, 소화관 손상에 따라 혈액 pH가 8 이상으로 교란되면 단시간

내에 전신마비가 일어난다. 3~5령 누에는 저농도 접종에서의 급성치사에 1~3일이 소요되지만, 누에 1마리당 30~40 마리 이상의 비율로 II를 투입하면 수시간 내에 마비를 수반한 치사가 관찰된다. 선충 감염증 숙주의 전신마비는 소화관의 파손에 따른 pH 교란에 기인할지라도 경구독성에 의한 것이 아니며, 경피감염된 선충에 의한 대규모적이며 급속적인 조직 기관의 상해가 주요인이다. 어린 숙주는 체구에 비해 지나칠 정도의 크기인 선충의 침입 자체로 큰 타격을 받게되어 감염 초기의 성질이 치사력에 절대적인 영향을 미친다. 그러나, 성장한 숙주에서는 그 후의 침습성이 고도로 발휘됨에 따라 3령 및 5령 누에의 접종시험에서 LT_{50} 값은 동일 병원체 내에서도 현저한 차이가 발생하고 계통별 병원력의 우열 순위가 변동한 것으로 해석된다.

나비목 곤충의 경우 성장한 유충일수록 병원체에 대한 감수성이 크게 저하되며, NPV의 LD_{50} 은 1령 유충에 비해 4령 유충은 40,000배 이상 증가하며, 1령때의 2,000,000배에 달하는 다각체를 침식하여도 생존하는 개체가 있다(Stairs, 1965). 또한, 일정량의 FV 또는 NPV를 2~4회로 나누어 12시간 간격으로 접종한 경우와 같은 량의 병원체를 일시에 접종하였을 때 누에의 감염율은 일치한다(Furuda and Ayuzawa, 1972). 이와같이 일반 병원미생물의 경구감염은 유충의 성장에 따라 증대하는 腸管 내부공간의 용적에 비례하여 감염에 필요한 병원체량은 증가하며, 이는 곧 병원체가 중장세포에 접촉할 수 있는 빈도에 따라 감염율이 결정됨을 의미한다. 그러나, 선충은 운동성이 강하여 행동반경이 넓고, 표적이 되는 숙주를 능동적으로 추적하므로 절대 개체수에 따라 치사하는 숙주 수가 결정되고 비확률적인 논리가 적용된다. 따라서, 행동반경 내에 분포하는 선충이 이상적으로 분산된다면, 선충 수 만큼의 숙주가 감염 치사된다는 이론이 성립된다. 병원성이 강한 선충은 숙주 1마리당 치사량이 1~5두면 족하기 때문에 접종량은 logarithm 으로 비교되지 않으며, 투입된 선충의 100%가 살충력을 발휘하더라도 숙주가 선충보다 많으면 치사율은 낮아지기 마련이다. 선충의 개체수보다 숙주가 많으면 숙주의 수에 따라 숙주의 치사율은 사전에 범위가 결정되며, 숙주보다 선충이 많으면 숙주의 치사율은 모두 100%가 되어, LD_{50} 의 적용이 애매하며 LT_{50} 이나 LT_{90} 또는 LT_{100} 의 비교가 유효한 경우가 많다. 곤충은 개방혈관계이며 비교적 소형이기 때문에 누에가 활동성이 강한 선충에 감염되면 격심한 손상을 받게된다. 病勢의 진전 및 공간적 확산은 점진적이기 보다는, 기회적 또는 돌발적으로 체내

의 기관 조직을 파손하여 급성적인 전신마비와 동시에 치사하게 되어 LT 값도 반복 간의 편차가 커질 수 있다. 본 연구에서 분리된 5계통의 곤충병원성 선충은 분산성 및 내구력의 차이가 병원성을 크게 좌우하며, 활성 선충의 비교에서는 단순히 숙주의 치사율만으로는 계통별 起病力의 차이는 명확하지 않는 것으로 판단되었다.

적 요

장마철에 발생하는 급성 무름병 증상의 누에는 바이러스 세균 등 미생물성 요인이 아닌 것으로 확인된 경우, 原死因은 토양에서 유래하는 곤충병원성 선충의 감염인 것으로 판명되었다. 5개 뽕밭에서 채취한 토양표본에서 모두 병원성 선충이 분리되었으며, Steinernematidae에 속하는 *Steinernema* sp. 2계통 및 Heterorhabditidae에 속하는 *Heterorhabditis* sp. 3계통을 동정하였다. 이번에 한국에서 누에의 감염이 처음 확인된 선충계통은 일본에서 보고된 Rhabdiasidae 과의 *Rhabditis* sp.와 구별되지만, 이들은 모두 Secernentea 綱의 Rhabditia 目에 속하였다. *Steinernema* sp. 및 *Heterorhabditis* sp.는 경피감염이 특징적이었으며 *Rhabditis* sp.의 경구감염과 차이를 보였다. 장마철에 발생하기 쉬운 급성의 비미생물성 무름병증은 선충 감염증으로서 直接死因은 곤충병원성 선충으로 토양에 유래하며, 토양과 함께 선충이 뽕잎에 오염된 다음, 오염된 뽕잎을 급여할 때 누에로 전파되며, 병원체의 매개에는 비바람이 주요 환경인자로 판명되었다. 비맞은 뽕의 빗물 자체는 환기가 양호한 이상 누에의 발육에 나쁜 영향을 주지 않을 뿐 아니라, 엽령이 오래된 굳은 뽕잎의 경우 빗물의 침식은 사료가치의 개선효과로 나타났다. 비바람에 노출된 뽕잎을 수확하게될 경우, 가지 상부의 잎을 수확하는 방법이 토양으로부터 선충 오염을 예방하는데 유리할 것이다. 곤충은 개방형관계이며 비교적 소형이기 때문에 고도로 활동성인 선충의 감염은 누에의 기관 및 조직에 대규모적이며 급격한 파괴를 야기하므로 급성치사가 발생하는 것으로 판단되었다. 감염누에는 체내 병변의 진전 및 공간적 확산이 순차적이기 보다는 기회적 또는 돌발적인 성향을 띠며, 증장 및 각종 조직 기관을 파손하여 전신마비가 수반되는 치사의 양상을 보였다. 한편, 누에는 고도로 선충 감수성이므로 곤충 병원성 선충 탐색용 모니터로서 적합하였으며, 생물살충제로서 유용한 병원체의 채집과 선발 또는 대량증식용 대체숙주 등의 활용가치가 인정되었다.

인용문헌

- Benz, G. (1987) Environment. In "Epizootiology of insect disease" (J. R. Fuxa & Y. Tanada, eds.), pp. 174-214. John Wiley & Sons, New York.
- Choi, Y. E. and Ra, Y. J. (1994) Preparation of nematode specimen. In "Plant nematology" pp. 202-206. Hyang Moon Sa, Seoul.
- Dunphy, G. B., Rutherford, T. A., Webster, J. M., (1985) Growth and virulence of *Steinernema glaseri* influenced by different subspecies of *Xenorhabdus nematophilus*. *J. Nematol.*, **17**: 476-482.
- Furuda, Y., and Ayuzawa, C. (1972) Effects of the duration and the times of inoculation of virus on the infection to the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Sericult. Sci. Japan*, **41**: 371-374.
- Gaugler, R., LeBeck, L., Nakagaki, B., Boush, G. M. (1980) Orientation of the entomogenous nematode *Neoeplectana carpocapsae* to carbon dioxide. *environ. Entomol.*, **8**: 810-813.
- Glaser, R. W. (1932) Studies on *Neoeplectana carpocapsae* infection and reproduction in large pine weevil larvae, *Hylobius abietis*. *Exp. Parasitol.*, **46**: 1-11.
- Han, M. S. (1996) Maternal-mediated transmission of *Nosema bombycis* via the surface and internal site of silkworm eggs. *Korean J. Sric. Sci.*, **38**: 48-52.
- Han, M. S. (1997) Variation and sex-limited expression of fluorescent color by ultraviolet spectrum on the silkworm cocoon. *Korean J. Sric. Sci.*, **39**: 22-29.
- Han, M. S. and Lim, J. S. (1997) Environmental control accomodative to ecosystem on the prevention of nuclear polyhedrosis virus disease in the silkworm, *Bombyx mori*. *Agric. Res. Bull. Kyungpook Natl. Univ.*, **15**: 69-81.
- Maddox, J. V. (1987) Protozoan disease. In "Epizootiology of insect disease" (J. R. Fuxa & Y. Tanada, eds.), pp. 417-452. John Wiley & Sons, New York.
- Mitchell, F. L. and Fuxa, J. R. (1990) Multiple regression analysis of factors influencing a nuclear polyhedrosis virus in population of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in corn. *Environ. Entomol.*, **19**: 260-267.
- Mizuta, Y. and Sato, M. (1965) Some observations on a parasitic from the silkworm. *Sanshikenkyu*, **57**: 22.
- Mracek, Z., Hanzal, R., Kodrik, D. (1988) Sites of penetration of juvenile *Steinernema* and *Heterorhabditis* (Nematoda) into the larvae of *Galleria mellonella* (Lepidoptera). *J. Invertebr. Pathol.*, **52**: 477-478.
- Poinar, G. O. Jr. (1979) The presence of *Achromobacter nematophilus* in the infective sytage of a *Neoeplectana*

- sp. (Steinemematidae : Nematoda). *Nematologica*, **12**: 105-108.
- Price, P. W. and Walbauer, G. P. (1982) Ecological aspects of pest management. In "Introduction to insect pest management." (R. L. Metcalf & W. H. Luckmann, eds.), pp 33-68. John Wiley & Sons, New York.
- Stairs, G. R. (1965) Quantitative differences in susceptibility to nuclear polyhedrosis virus among larval instars of the forest tent caterpillar, *Malacosoma disstria* (Hübner). *J. Invertebr. Pathol.*, **7**: 427-429.
- Wilding, N. (1975) Entomophthora species infecting pea aphid. *Trans. R. Entomol. Soc.*, **127**: 171-183.