

고사목에서 발견되는 저병원성 소나무재선충 및 이의 인공접종에 의하여 유도되는 소나무의 저항성

박승찬* · 문일성¹ · 김동수¹

전남대학교 산림자원학부, ¹국립산림과학원

Low-pathogenic Pinewood Nematode Found in Dead Trees and Resistance of Pines Induced by Its Pre-inoculation

Seung-Chan Park*, Yil-Sung Moon¹ and Dong-Soo Kim¹

Department of Forest Resources, Chonnam National University, Korea

¹Forestry Research Institute, Korea

ABSTRACT: Pinewood nematode (PWN: *Bursaphelenchus xylophilus*) is known to kill pine tree species that are indigenous to countries where the pest was inadvertently imported, but some cultures from the extraction of dead pines do not damage trees. Experiments were conducted to examine the effect of pre-inoculation of these low-pathogenic pinewood nematode on resistance of pine trees against the pest species. The pre-inoculated pine saplings showed induced resistance which lasted for a year, and repeated inoculation of these low-pathogenic nematodes enhanced tree resistance. All nematode samples extracted from dying or dead pines that had been killed not more than three months before the extraction were pathogenic, and most of those extracted from pines that had been killed 2-3 years before were low-pathogenic. When inoculated in pine saplings, number of low-pathogenic nematodes settled, as studied two days after inoculation, was not different from that of pathogenic ones. However, as studied after 30 days of inoculation, rate of reproduction in low-pathogenic nematodes was far lower than that of pathogenic nematodes. The rate of reproduction of several nematode isolates growing on fungal mat media of *Botrytis cinerea* varied, but three of four low-pathogenic isolates showed same level of reproduction rates as pathogenic ones.

Key words: Pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, Low-pathogenic, Pre-inoculation, Induced resistance

초록: 소나무재선충은 현재까지 도입된 국가의 토착수종인 소나무류를 모두 치사시키는 것으로 알려져 있으나, 고사목으로부터 추출배양된 계통 중에는 소나무에 피해를 주지 않는 계통이 존재한다. 이러한 저병원성 계통 선충의 사전접종이 고병원성 소나무재선충에 대한 소나무의 저항성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 연구가 수행되었다. 치수에 저병원성 소나무재선충을 선접종한 결과, 선접종에 의하여 소나무재선충에 대한 저항력이 유도되었다. 그 유도저항성은 1년 후까지 유지되었으며, 저병원성 선충의 반복 감염은 보다 저항성 유도 효과가 큰 것으로 나타났다. 소나무재선충에 의하여 고사한 후 경과기간이 3개월 이하인 피해목 및 피해진행목에서 분리된 선충은 모두 고병원성이었으며, 고사 후 2-3년이 경과한 별채목에서 분리된 선충 5계통 중 4계통은 저병원성이었다. 저병원성 선충이 소나무 치수에 인공접종 되었을 때 초기 정착률은 고병원성 선충과 차이가 없었으나, 접종 30일 후에 수목내의 부위별 개체수를 조사한바 저병원성 선충의 증식률은 고병원성보다 현저히 낮았다. 저병원성 선충의 갯빛곰팡이병 균사배지에서의 선충증식 속도는 계통에 따라 차이가 있었으며, 증식속도가 빠른 계통은 대체로 고병원성 선충의 증식속도와 차이가 없었다.

검색어: 소나무재선충, 저병원성, 선접종, 유도저항성

*Corresponding author: pscpine@hanmail.net

Received February 25 2014; Revised March 10 2014

Accepted March 31 2014

우리나라에서 소나무재선충(pinewood nematode: PWN, *Bursaphelenchus xylophilus*)의 방제는 소나무림 내의 피해입목을 색출, 절단하여 파쇄, 박피 또는 살충제의 혼중처리 등에 의하여 선충의 매개충인 하늘소류가 피해목으로부터 탈출하지 못하게 하는 방법이 주로 적용되고 있다. 그러나 광활한 소나무림에서 선충의 피해목을 모두 찾는다는 일은 거의 불가능한 일이며, 매년 엄청난 규모의 인력과 경비가 투입됨에도 불구하고 색출되지 못한 피해목에서 매개충이 탈출, 새로운 피해 확산이 반복되고 있는 실정이다. 따라서, 장소에 따라(예를 들면, 피해 확산이 격리되어 있는 도서지방을 대상으로) 어느 정도의 소나무재선충 피해는 허용을 하더라도 항구적인 대응 방법으로서 생물적 방제법의 개발을 적극 고려하여야 할 필요성이 있다.

소나무재선충의 원산지는 미국남부이며, 본 해충이 현재까지 사람의 실수에 의하여 도입된 국가들, 즉 우리나라를 포함한 동부아시아 및 포르투갈에서 소나무재선충은 소나무류에 침입하면 거의 100%의 기주식물을 치사시키는 것으로 널리 인식되어 있다. 그러나 일본에서는 이미 1970년대에 소나무재선충 중에도 병원성이 약한 계통이 존재함을 입증하였고(Kiyohara, 1977), 그 후 이를 소나무 치수에 사전에 인공접종한 경우 소나무는 저항성이 유도되어 차후 병원성이 강한 재선충의 침해를 받게 되더라도 임목 치사율이 낮음이 보고되었다(Kiyohara, 1981). 계속된 연구에서 소나무재선충이 아닌 근연종의 선접종은 저항성 유도효과가 없었으며(Kiyohara, 1982), 생충(live nematode)만이 저항성을 유도하고 유도된 저항성은 systemic 하므로 전신적으로 저항성을 가지게 됨이 밝혀졌다(Kiyohara, 1984). 이상의 소나무 치수를 대상으로 한 실험 외에, Kiyohara et al. (1999)는 소나무림 내의 성목에서도 저병원성 선충의 인공접종이 저항성 유도에 유효함을 밝혔다. 그러나 그 후 일본에서 계속된 저병원성 선충의 인공접종에 의한 소나무의 유도저항성 연구(Kosaka et al., 2001a, 2001b; Kosaka, 2004)에서는 일관성 있는 실용적 방제효과를 얻을 수 없어 본 분야의 연구가 속행되지 않고 있다.

국내에서 저병원성 소나무재선충의 연구 초기 당시, 필자는 일본 삼림종합연구소로부터 저병원성 계통의 소나무재선충을 분양 받아 일본에서의 저병원성 소나무재선충 초기연구와 유사한 실험을 수행하는 과정에 국내의 소나무에서 분리된 재선충의 isolate (한개의 피해목 절편 샘플 또는 한 마리의 하늘소 매개충으로부터 분리배양된 단위)에서도 저병원성 계통을 발견하게 되었으며, 이어 저병원성 선충은 고사하고 수년이 경과한 고사목에서는 흔히 관찰됨을 알게 되었다. 본 연구는 우리나라의 소나무재선충 피해림에서 저병원성 선충의 출현 양상과 이의 인공접종에 의한 소나무의 유도저항성, 그리고 저병원성 선충의 번식 능력 등

을 검토함으로써 차후 이를 이용한 소나무재선충의 생물적 방제법 개발을 위한 기초자료를 제공하기 위하여 수행되었다.

재료 및 방법

저병원성 선충의 선접종에 의한 유도저항성 실험

2006~2007 실험에는 저병원성 소나무재선충 2계통(isolate: C14-5 및 OKD-1)을 일본삼림종합연구소에서 분양받아 사용하였으며, 2008년도에는 국립산림과학원 산림병해충과 및 남부산림연구소에서 계대배양하던 선충 계통 중 저병원성 계통이 우연히 발견되어(isolate: Jinju) 이들 3계통의 저병원성 선충이 사용되었다. 각 저병원성 계통의 선충을 선접종하고 일정기간 경과 후 고병원성 선충을 후접종하여 처리별 공시목에서의 고사율을 조사함으로써 저병원성 선충의 선접종에 의한 유도저항성 효과를 테스트하였다. 계통별 선충은 잣빛곰팡이병균(*Botrytis cinerea*)의 균사배지상에 배양하여, 만연된 배지는 Baermann funnel에 뒤집어 올려놓고 25°C 내외에서 12 시간 정도 경과 후에 기울여 놓은 4각통에 선충 현탁액을 따르고 2 시간 후 가라앉은 선충을 스포이드로 채취하였다. 실험을 위한 공시목은 근원경 1.5 cm, 수고 1 m 내외의 4-5년생 적송으로서, 저병원성선충 선접종은 지상 10-15 cm 부위에, 고병원성(isolate: Sacheon)의 후접종은 선접종 지점으로부터 위의 5 cm 정도 떨어진 지점에 처리하였다. 처리방법은 두께 약 2 mm, 길이 10 mm 정도를 위에서 아래로 잘라 절단부를 20° 정도 벌린 후 선충 현탁액 40 µl를 절개부위에 떨어뜨려 현탁액이 표면장력에 의하여 머물러 있게 하였으며 이때 접종은 2개 부위에 1본당 접종량의 절반씩 나누어 처리하였다. 현탁액이 수피 표면에 배어나오거나 흘러내린 경우는 근처에 1개 부위를 추가로 처리하였다. 접종 선충수는 저병원성의 경우 접종 부위당 5,000 마리, 즉 공시목당 1만 마리가었으며 고병원성은 접종 부위당 2,500 마리, 즉 공시목당 5,000 마리가었다. 계통별 선충을 접종하고 일정기간 경과 후 공시목의 고사율을 조사하였는데, 각 공시목의 갈변된 침엽이 20% 이하인 경우는 건전, 80% 이상은 고사, 20% 초과부터 80% 미만은 0.5본 고사로 간주하여 1개 반복내 공시목 4본의 평균치를 산정하였다. 실험 규모는 각 처리당 4본×4반복으로서, 처리간의 유의성 검정은 SPSS를 이용한 일원배치 분산분석에 따른 Duncan의 다중검정에 의하였다.

소나무재선충 피해 입목에서 분리된 선충의 병원성

일본의 소나무재선충 피해림에서 수집된 선충의 상당수가

저병원성이었던 결과(Kiyohara and Bolla, 1990)에 의거, 국내에서 저병원성 선충의 발생빈도를 조사하였다. 일본의 경우 피해연혁이 오래된 남부지역에서 저병원성 선충의 발생빈도가 높았으므로, 이에 착안하여 국내 소나무재선충 최초발생지와 가까운 경상남도 5개 지역의 소나무재선충 피해림에서 피해고사목 및 인근의 고사진행목과 건전목 106본으로부터 공시목당 1개씩의 목편을 채취했다. 목편은 지상 5-6 m의 측지 중 줄기와 가장 가까운 부분에서 채취하였으며, 약 3 × 3 × 3 mm 크기의 chip을 만들어 Baermann funnel로 선충을 분리한 후 잿빛곰팡이병 균사배지에서 증식시켜 소나무치수에 접종하였다. 각 isolate는 4본씩의 소나무치수에 접종하여 3본이상 고사한 경우 고병원성으로 판명하였다.

소나무재선충 피해 벌채목에서 분리된 선충의 병원성

소나무재선충에 의하여 고사가 진행중인 피해목 또는 최근 고사한 나무에서 채집된 선충은 모두 고병원성 선충임이 판명됨에 따라 고사한지 오래된 피해목에서 선충을 채집하여 병원성을 검정하였다. 경상남도 진주시 소나무재선충 피해림에 존치된 피복망(소나무재선충 피해목의 처리방법으로서, 우화탈출한 하늘소는 밖으로 빠져 나오지 못하고 하늘소의 기생벌은 탈출할 수 있도록 고안되었음.) 내의 2007년도 고사목 6본 및 2008년도 고사목 7본에서 본당 4부위의 목편을 2010년도에 채취하여 선충을 분리하였다. 분리-배양된 선충은 isolate별로 각 6본의 소나무치수에 접종하여 병원성을 검정하였다.

계통별 선충의 소나무 수체내 정착률 및 증식률

계통별 선충의 현탁액을 수고 60 cm 정도의 소나무 치수 줄기 중앙부에 접종한 후 소나무의 부위별 선충 밀도를 조사하였다. 사용된 isolate는 Sacheon (고병원성)과 Jinju (저병원성)로서 선충 계통별로 소나무 치수 10본에 접종하였다. 접종 방법은 줄기를 2 mm 정도 두께로 약 10 mm를 칼로 내려 자르고 약 20° 벌린 틈에 선충현탁액(선충 약 1,000 마리)을 50 µl 떨어뜨렸다. Tamura (1984)에 의하면 접종된 선충은 4일후까지는 접종부위에 머물러 있으므로, 본 실험에서는 접종 후의 정착률은 접종 2일 후 접종부위의 줄기 2 cm를 채취하였고, 수체내 부위별 선충 밀도는 접종 30일 후 접종부위, 접종부위로부터 약 15 cm 떨어진 상부, 하부의 줄기, 그리고 측지를 채취하여 조사하였다. 채취된 샘플은 전정가위로 3 × 3 × 3 mm 크기의 절편을 만든 후 Kimwipes 여과지로 싸고 증발접시(90 ml, 직경 80 mm, 높이 45 mm) 안의 그릇 모양으로 구부린 철망(1.1 mm mesh, 철

사 굵기 0.4 mm) 위에 올려 놓았다. 철망 아래부위와 증발접시 바닥간의 간격은 약 10 mm이었고 수면과 증발접시 상부 테두리간의 거리는 약 10 mm이었다. 실험실의 온도는 약 23°C 이었으며 침적 15시간 후 철망을 걷어내고 약 3시간 후 가라앉은 선충들의 개체수를 검정하였다.

계통별 선충의 잿빛곰팡이병 균사배지 상에서의 증식률

잿빛곰팡이병 균사배지 상에 만연된 계통별 고병원성 및 저병원성 선충 배지로부터 1 × 2 cm의 절편을 채취하여 선충 계통별로 10개의 잿빛곰팡이병 균사가 만연된 배지 상에 접종한 후, 모든 배지에서 선충의 90%이상이 만연될 때까지 각 배지에서 선충의 만연에 소요되는 시일을 조사하였다. 배양은 27-28°C의 암실조건에서 이루어졌다.

결과 및 고찰

저병원성 선충 선접종에 의한 유도저항성 효과

일본 삼림총합연구소에서 분양받은 두 계통의 저병원성 소나무재선충 C14-5 및 OKD-1을 소나무 치수에 선접종하고 일정시간 경과후 고병원성 선충을 후접종하여 공시목의 상태를

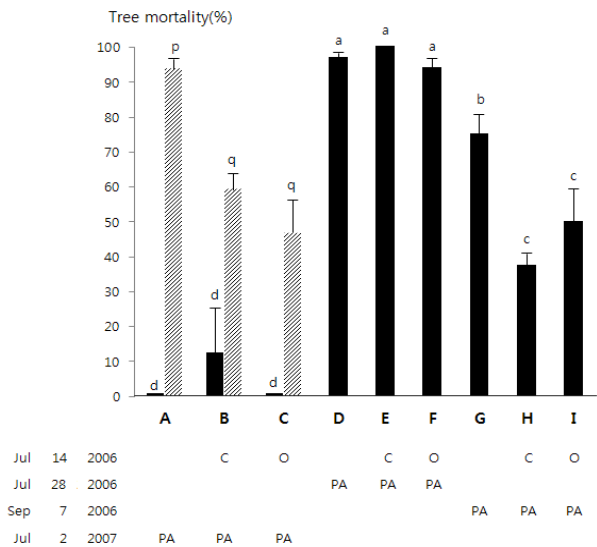


Fig. 1. Mortality of Japanese red pine saplings after inoculation with two low-pathogenic PWN isolates (C: C14-5, O: OKD-1) and a pathogenic isolate (PA) on various dates. Values of black columns (from A to I) were obtained in May 2007, and shaded columns (from A to C) in October 2007. Different letters above standard error bars indicate significant difference among means ($P < 0.05$, Duncan's multiple-range tests). Letters from a to d are comparisons between black columns; p and q are between shaded columns.

관찰한 결과는 Fig. 1과 같다. 저병원성 선충의 선접종(2006년 7월 14일) 14일 후 고병원성을 후접종한 처리구(E와F)의 공시목 고사율은 고병원성 선충만 처리한 것(D)과 차이가 없어 2주

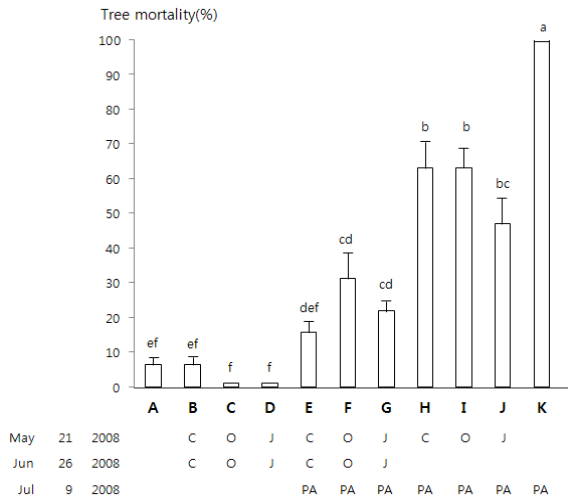


Fig. 2. Mortality of Japanese red pine saplings after inoculation with three low-pathogenic PWN isolates (C: C14-5, O: OKD-1, J: Jinju) and a pathogenic isolate (PA) on various dates. Tree mortality was examined in November 2008. Different letters above standard error bars indicate significant difference among means ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

일은 유도저항성을 발현시키는데 충분하지 않은 기간으로 보인다. 한편, 저병원성 선충을 2006년 7월 14일 선접종하고 동년 9월 7일에 고병원성 선충을 후접종한 결과(H와I), 선접종을 하지 않은 처리구(G)보다 수목고사율이 다소 낮아 저항성유도효과가 인정되었다. 이와 관련된 일본에서의 연구 결과는 Kiyohara (1984)의 경우 선접종 5일후부터 유도저항성 효과가 나타났으며 선접종 21일내지 30일 후의 유도저항성 효과가 가장 높았고 그 이후에는 효율성이 다소 떨어졌음을 보고한바 있다. 한편 Kosaka (2004)의 경우 선접종 2개월 후가 1개월 후보다 유도저항성 효과가 높아 현재까지의 실험에 따라 다소 상이한 결과가 나타났으므로 앞으로 실험환경 등을 포함한 보다 구체적인 연구가 필요하리라 사료된다. 저병원성 선충을 2006년 7월 14일에 선접종하고 익년 7월 2일에 고병원성 선충을 후접종한 처리구(B와C)는 고병원성 선충만 같은 시기에 접종한 것(A)에 비하여 수목고사율이 낮아 저병원성 선충의 선접종 효과가 최소 1년 가량 지속되는 것으로 나타났다. 2006년도에 고병원성 선충만 접종한 처리구(D와G)에서, 9월 7일에 접종한 공시목은 7월 28일에 접종한 것에 비하여 고사율이 낮았는데, 이는 접종 후 기온이 낮아 선충의 급속한 증식이 억제되었기 때문으로 보인다.

저병원성 선충의 반복접종 효과를 테스트하기 위한 실험에서, 대부분의 경우 저병원성 선충을 2회 선접종한 처리구(E, F,

Table 1. Pathogenicity of PWN isolates extracted from collection of pine branches from several districts in Kyungnam Province, where PWN was first found in Korea

Area Collected	Tree appearance	No. of trees from which branch samples were collected	No. of nematode isolates propagated from branch extracts	No. of pathogenic isolates within propagated nematodes	Percentage of pathogenic isolates among tested ones
Jinju City	Dead ^a	10	4	4	100
	Dying	10	3	3	100
	Healthy	12	1	1	100
Sacheon City	Dead	7	2	2	100
	Dying	3	0	0	-
	Healthy	8	0	0	-
Tongyoung City	Dead	5	2	2	100
	Dying	5	1	1	100
	Healthy	5	0	0	-
Haman County	Dead	6	1	1	100
	Dying	8	0	0	-
	Healthy	6	0	0	-
Gosung County	Dead	3	0	0	-
	Dying	10	2	2	100
	Healthy	8	1	1	100

^aTrees had been killed not more than three months before the sample branches were collected in June 2009.

G)는 1회 선접종한 것(H, I, J)보다 수목피해 정도가 낮았다(Fig. 2). 즉 저병원성 선충의 반복감염은 보다 저항성 유도효과가 큰 것으로 보이며 Kosaka (2004)에 의하여도 유사한 결과가 얻어진바 있다.

재선충 피해입목에서 분리된 선충의 병원성

채집된 106개의 목편 중 완전히 고사한 소나무입목에서 분리·배양된 9개의 소나무재선충 isolate 및 부분적으로 고사하였거나 외견적으로 건전한 소나무입목에서 분리·배양된 8개의 isolate, 도합 17개 isolate의 병원성을 검정한 결과, Table 1과 같이 모두 고병원성으로 판명되었다.

소나무재선충 피해벌채목에서 분리된 선충의 병원성

2007년도에 고사하여 벌채되었던 소나무로부터 2010년도에 채집한 24개의 목편(6본×4부위)중 분리·배양된 1개의 소나무재선충 isolate는 저병원성, 2008년도에 고사한 벌채목으로부터 채집한 28개의 목편(7본×4부위)에서 분리·배양된 4개의 isolate중 3개는 저병원성이고 1개는 고병원성이었다(Fig. 3). Kiyohara and Bolla (1990)는 일본전역의 소나무재선충 피해림에서 샘플을 채취, 이에서 분리·배양된 선충을 소나무치수에 접종하여 병원성을 검정한 결과, 총 37개 지역 중 14개 지역은 저병원성 선충의 비율이 50%이상으로서, 저병원성 선충이 자연계에 매우 흔히 존재함을 밝혔다. 같은 연구에서 도쿄[東京]-돗토리[鳥取]보다 고위도에 위치한 9개 지역에서 발견된 선충은 대부분이 고병원성이었는데, 소나무재선충 피해연혁이 짧

은 일본북부의 선충은 병원성이 높은 경향이 있는 것으로 추론되었다.

본 연구에서는 국내의 저병원성 소나무재선충을 탐색하는 과정에 한반도에서 가장 피해가 오래된 경남지역에서 샘플을 채취하여 병원성을 검정한 바 Table 1과 같이 모두 고병원성이었는데, 현재 국내에서는 소나무재선충 피해목은 발견되는 즉시 벌채하므로 생물검정에 사용된 선충은 모두 고사한지 수개월 이내의 나무에서 채집된 것으로 보이며, 따라서 신규고사목에 존재하는 선충은 고병원성이었던 것으로 판단된다. 반면 고사한지 2-3년 된 벌채목에서의 선충은 저병원성일 가능성이 높았다(Fig. 3).

Kiyohara and Bolla (1990)는 같은 입분에서도 단목에 따라 병원성의 변이가 크며, 동일목에서는 수체내 부위별로 병원성의 차이가 없음을 밝혔는데, 이들의 실험 당시 일본에서는 피해목을 그대로 방치하는 사례가 많아 피해가 오래된 고사입목이 흔하게 존재하였으므로 자연계에서 저병원성 선충이 많이 발견되었을 것으로 추측된다.

계통별 선충의 소나무 수체내 정착률 및 증식률

저병원성선충 3계통(C14-5, OKD-1, Jinju) 모두 소나무치수에의 접종 2일 후의 초기정착률은 고병원성 선충보다 낮지 않았으나 접종 30일 후의 증식률은 수목의 모든 부위에서 고병원성 선충보다 현저히 낮았다(Table 2). Kiyohara (1984)는 고병원성선충만 접종한 소나무, 저병원성선충만 접종한 소나무, 저병원성선충의 선접종 후 고병원성선충을 후접종한 소나무에서의 시일 경과 별 선충밀도를 조사한 결과 고병원성 선충 처리구에서는 접종 10일 후부터 선충 개체수가 괄목할만한 증가를 보인 반면, 저병원성 선충만 접종한 소나무 및 저병원성선충의 선접종 후 고병원성 선충을 후접종한 처리구에서는 선충의 증식이 되지 않았음을 보고하였다. 이들 결과에서 보면 소나무는 선충류에 대하여 Painter (1951)가 제시한 기주식물의 해충에 대한 저항성의 3요소 중 항생성(antibiosis)을 가지고 있는데, 저병원성 소나무재선충은 수목항생성의 영향을 받아 증식이 어렵다는 것, 그리고 고병원성선충은 소나무 고유의 항생성을 극복하는 능력이 있어 기주체내에서 쉽게 증식한다는 것이 추론된다. 한편 저병원성선충을 선접종한 나무의 경우 항생성이 보다 증대되어 고병원성 선충의 증식을 억제하는 능력을 갖게 되는 것인지, 또는 저병원성 선충과의 간접현상에 의하여 고병원성 선충의 증식이 억제되는 것인지 등에 대하여는 보다 면밀한 연구가 요구된다.

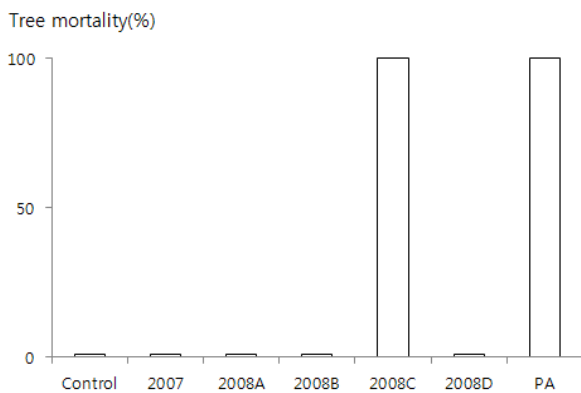


Fig. 3. Mortality of Japanese red pine saplings after inoculation with a PWN isolate extracted from a pine log which died in 2007 and four isolates (2008A to D) extracted from pine logs which died in 2008. Nematode extraction and bioassay were conducted between March and July, 2010.

잣빛곰팡이병 균사배지에서의 계통별 소나무재선충 증식 속도

Kiyohara and Bolla (1990)와 Wang et al. (2005)은 고병원성 및 저병원성계통의 잣빛곰팡이병 균사배지에서의 번식속도는 고병원성계통이 보다 빨랐음을 보고하였다. 본 연구의 고병원성선충 및 저병원성선충의 잣빛곰팡이병 균사배지에서의 증식속도에 있어 고병원성계통 Chuncheon은 접종 4일 후 만연이 완료되었고, 저병원성계통 C14-5중 빠른 것은 접종 6일 후에 만연되고 늦은 것은 11일 후에 만연되어 증식속도에 큰 차이를 보였다. 그러나 이들을 제외한 고병원성 2계통과 저병원성 3계통은 증식속도에 큰 차이가 없었다(Table 3). 또한 제반 실험에 사용되었던 Sacheon (고병원성)과 Jinju (저병원성)의 만연된 petri dish당 수집량은 공히 3만 마리 정도였다. 이러한 결과를 Table 2 및 Kiyohara (1984)의 결과, 즉 고병원성 선충은 소나무 수체내에서 활발히 증식하지만 저병원성 선충은 증식하지

못한다는 내용과 비교하여 보면, 저병원성 선충의 고유의 번식 능력(reproductive potential)이 고병원성선충과 크게 차이가 없는 경우도 있으나 수목항생성에 의하여 저병원성 선충은 수체내 증식이 억제된다는 추측을 뒷받침한다고 볼 수 있다.

저병원성 선충의 자연계 존재 및 이의 활용에 관한 고찰

현재로서 구체적인 실험자료는 없으나, 잣빛곰팡이병 균사배지에서 저병원성 선충은 같은 저온저장(3-4°C) 조건에서 고병원성 선충보다 오랜기간 생존함이 관찰되었다. Iwahori et al. (1998)은 고병원성 및 저병원성 소나무재선충의 ribosomal DNA의 염기서열이 다름을 밝혔는데, 자연계에서 동일한 수목 개체에 고병원성 선충과 저병원성 선충이 동일한 매개충에 의하여 동시에, 또는 각각의 매개충에 의하여 비슷한 시기에 침입하였을 경우, 저병원성선충은 수체내 증식이 되지 않으므로 그 존재가 나타나지 않을 것이다. 그러나 고병원성 선충에 의하여

Table 2. Number of PWN^a recovered from various portions of 4-year-old Japanese red pine saplings inoculated with three low-pathogenic isolates and a pathogenic one

Days after inoculation	Portion of tree	Isolate			
		Low-pathogenic			Pathogenic
		C14-5	OKD-1	Jinju	
2	Middle of stem (inoculated spot)	47.0 ^b	78.3	54.2	36.7
	Upper stem	39.5	22.9	25.8	1024.2
	Twig	1.2	4.1	1.8	88.5
30	Middle of stem (inoculated spot)	30.1	17.0	9.3	695.3
	Lower stem	10.8	9.5	22.7	245.5

^aNumber of nematodes at two days after inoculation was examined by extracting nematodes from a 2 cm long stem including the inoculated spot. Number of nematodes at 30 days after inoculation was per 1 gram of wood sample at each portion.

^bMean of ten observations.

Table 3. Propagation rates of several PWN isolates on fungal mats^a as studied by number of nematode cultures that completed propagation in various days

Isolate	Days after PWN inoculation when the nematode propagated over 90% of fungal mat										Total
	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
	Pathogenic	Sacheon	4	2	3	1					
Chuncheon		8	2								10
Donghae			3	3	2	1	1				10
Low-pathogenic	C14-5				1	2	4	1	1	1	10
	OKD-1		2	3	3	1	1				10
	Jinju	4	3	3							10
	Gwangnung	2	5	1	2						10

^aHyphae of *Botrytis cinerea* grown on 9 cm diameter petri dish.

수목이 고사하게 되면 저병원성 선충의 증식이 개시될 것이고 자원고갈에 의한 고병원성 선충의 사멸 이후에도 상당기간 저병원성 선충이 존재할 것으로 추론될 수 있으며, 이러한 추측은 Fig. 3의 내용으로 뒷받침된다.

수목이 고사하여 일정시간이 경과한 후 저병원성선충만 존재하는 시기에 하늘소가 고사목에서 탈출하도록 조절하는 것이 가능하다면(수목고사 후 일정기간에 한하여 메프유제 살포에 의한 고사목 탈출성충의 구제, 또는 일정기간의 피복망 이용 등에 의하여), 하늘소는 저병원성선충을 체내에 가지고 탈출하여 인근의 건전목에 전파할 것이고 이러한 현상이 반복되면 임분의 저항성이 유도되어 결국 소나무재선충의 피해를 자연적으로 억제하는 방법이 개발될 가능성이 있을 것이므로 앞으로 이와 관련된 구체적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 국립산림과학원의 지원에 의하여 수행되었음. 초기 연구시 저병원성 선충 2계통을 분양하여 주신 일본 삼림종합연구소 및 본 수입금지품의 통관에 적극 협력하여 주신 국립식물검역원에 감사드립니다.

Literature Cited

Iwahori, H., Tsuda, K., Kanzaki, N., Izui, K., Futai, K., 1998. PCR-RFLP and sequencing analysis of ribosomal DNA of *Bursaphelenchus* nematodes related to pine wilt disease. *Fund Appl. Nematol.* 21, 655-666.

Kiyohara, T., 1977. Variation in virulence and reproduction rate among isolates of pinewood nematode. *Trans. 30th Ann. Meeting of Kyushu Branch of Jap. For. Soc.* 241-242.

Kiyohara, T., 1981. Inhibition of the pine wilt disease by pre-inoculation with an avirulent isolate of pinewood nematode. *Trans. 92th Meeting of Jap. For. Soc.* 371-372.

Kiyohara, T., 1982. Induced resistance in pine wilt disease. *Trans. 35th Ann. Meeting of Kyushu Branch of Jap. For. Soc.* 161-162.

Kiyohara, T., 1984. Pine wilt resistance induced by prior inoculation with avirulent isolate of *Bursaphelenchus xylophilus*. in V. H. Dropkin ed, *Proc. U.S.-Japan Seminar, The resistance mechanisms of pines against pine wilt disease.* Univ. of Missouri Press, Columbia. 178-187.

Kiyohara, T., Bolla, R. I., 1990. Pathogenic variability among populations of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *For. Sci.* 36, 1061-1076.

Kiyohara, T., Kosaka, H., Aikawa, T., Ogura, N., Tabata, K., 1999. Experiments of induced resistance to pine wilt disease in pine forest. In Futai K., Togashi K. and Ikeda T. (eds.) *Sustainability of Pine Forests in Relation to Pine Wilt and Decline.* Proc. Int. Symp., Tokyo, 27-28 October 1998 (pp. 103-104) Shokado, Tokyo.

Kosaka, H., Aikawa, T., Ogura, N., Tabata, K., Kiyohara, T., 2001a. Pine wilt disease caused by the pinewood nematode: The induced resistance of pine trees by the avirulent isolates of nematode. *European Jour. Plant Pathol.* 107, 667-675.

Kosaka, H., Aikawa, T., Ogura, N., Tabata, K., Kiyohara, T., 2001b. Induced resistance of pine trees against pine wilt disease by avirulent nematode inoculation. *IUFRO World Series Vol. 11. Protection of World Forests from Insect Pests: Advances in Research.* pp. 181-184.

Kosaka, H., 2004. Induced resistance of pine trees against pine wilt disease: present situation and future prospects. *Ecology and Management of Pine Wilt Disease, Kor. For. Res. Inst.* 50-62.

Painter, R.H., 1951. *Insect Resistance in Crop Plants.* MacMillan, New York.

Tamura, H., 1984. Early development of *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae) population in the inoculated branches of pine seedlings. *Appl. Ent. Zool.* 19, 125-129.

Wang, Y., Yamada, T., Sakaue, D., Suzuki, K., 2005. Variations in life history parameters and their influence on rate of population increase of different pathogenic isolates of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*. *Nematol.* 7, 459-467.