

## 파밤나방 (*Spodoptera exigua* (Hübner))의 내한성유기 관련인자 분석

### Physiological factors affecting rapid cold hardening of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner)

송원례 · 김용균 · 조점래<sup>1</sup> · 김홍선<sup>1</sup> · 이정운<sup>1</sup>

Won Rye SONG, Yong Gyun KIM, Jum Rae CHO<sup>1</sup>, Hong Sun KIM<sup>1</sup> and Jung Oon LEE<sup>1</sup>

**ABSTRACT** The sublethal temperature (5°C for 2hr) led the fifth instar larvae of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner), to increase cold tolerance to subzero lethal temperatures ('rapid cold hardening'). The strength of rapid cold hardening was, however, varied among different populations which showed different cold tolerance in response to cold temperatures. To analyse the physiological factors affecting the rapid cold hardening, hemolymph osmolalities, supercooling points, glycerol contents, and cold stress proteins were measured by treating the fifth instar larvae with the sublethal low temperatures. The treated larvae showed increase of hemolymph osmolalities and glycerol contents. Changes of the osmolalities were greater in cold-hardy strains than in cold-susceptible strains. The sublethal temperature also induced them to express the cold-stress proteins (10~20kD) in the hemolymph, but did not to change supercooling points.

**KEY WORDS** *Spodoptera exigua* (Hübner), rapid cold hardening, glycerol, supercooling point, cold-stress protein

**초 록** 파밤나방 (*Spodoptera exigua* (Hübner))은 아치사온도(5°C, 2시간)에 노출된 뒤에는 빙점이하의 저온에서 내한성이 증가하였으며 내한성 및 내한성유기는 집단별로 차이가 났다. 파밤나방의 내한성에 관한 생리현상을 분석하기 위해서 내한성이 다른 집단들의 내한성유기, 체내글리세롤 함량, 혈림프의 몰 삼투압 농도, 체내빙결점, 저온유기단백질을 분석하였다. 처리된 5령충은 혈림프의 삼투압 및 체내글리세롤 함량의 뚜렷한 증가를 보였다. 이들 상승효과는 서로 다른 집단간 차이를 보였다. 아치사온도에서 유기되는 저온유기단백질은 10~20kD에서 특이적으로 발현되었으며 체내빙결점의 변화는 나타나지 않았다.

**검색어** 파밤나방, 내한성유기, 글리세롤, 체내빙결점, 저온유기단백질

파밤나방 (*Spodoptera exigua* (Hübner))의 발생과 피해는 최근 시설농업의 확대에 따른 겨울기간내 이 해충의 국내 월동가능성의 증대로 더욱 심각해지고 있다(안 등, 1991; Kim & Kim, 1997). 내한성은 낮은 온도에 노출되었을 때 생존할 수 있는 능력을 말하며 여기에 영향을 주는 요인들은 여러가지이며

많은 월동 곤충들이 생리적, 생화학적 적응 기작을 통해 0°C 이하의 온도에서 내한성을 가지며 살아간다(Storey, 1990). 월동 곤충들이 빙점 이하의 온도에서 살아남는 능력에 따라 크게 동결감수성(freeze-susceptible) 곤충과 내동결성(freeze-tolerant) 곤충으로 나뉠 수 있다(Lee et al., 1987). 동결감수성 곤충

경북 안동시 송천동 388번지 안동대학교 자연과학대학 생명자원과학부 곤충생리실 (Laboratory of Insect Physiology, School of Bioresource Sciences, College of Natural Sciences, Andong National University, Andong, Korea)

<sup>1</sup>경기도 수원시 서둔동 농업과학기술원 작물보호부 곤충과 (Division of Entomology, Department of Crop Protection, Agricultural Science and Technology Institute, Suwon, Korea)

은 체내의 삼투압을 높임으로써 그들 조직내에 얼음형성을 피하게 된다. 체내삼투압을 높이기 위해 낮은 온도에 반응해서 글리세롤이나 sorbitol과 같은 polyol들을 합성하거나(Lee *et al.*, 1987) 내동결성 단백질들을 만들어서 결과적으로는 체내빙결점(supercooling point)을 낮춰 낮은 온도에 견디게 된다(Duman & Horwath, 1983). 내동결성 곤충은 세포밖의 얼음형성에 견디어 내는 능력을 갖고 있다. 얼음형성을 세포밖에만 국한시킴으로 세포내에서의 얼음형성을 막고 세포부피감소와 수분부족을 막는다. 대부분의 내동결성 곤충은 세포외에 빙핵단백질(ice-nucleating protein)에 의해 얼음을 형성하며 동결되어 있는 상태에서는 최소한의 에너지만 필요하게 되어 축적된 에너지의 보존에 의해 겨울동안 생존하게 된다(Baust & Gojas, 1985).

월동시 휴면태를 가지고 있지 않은 파밤나방이 어떠한 기작으로 겨울을 나는지는 밝혀지지 않았으며 이러한 것을 알기 위해서는 파밤나방의 내한성 기작을 밝히는 것이 매우 중요하다. 이 해충의 정확한 월동기작을 밝힘으로 월동가능한 지역을 파악할 수있어 이 해충의 피해 지역범위와 정도를 예측하는데 큰 도움이 될 것이다. 이를 위해 내한성 유기, 체내빙결점, 혈림프 물 삼투압 농도, 저온유기단백질 및 글리세롤함량을 측정해서 파밤나방의 내한성 유

기에 관여하는 인자를 분석했다. 또 내한성 관여인자의 유전영향을 조사하고자 지역적 및 시기적으로 다른 4개의 집단에 자료들을 비교 분석하였다.

**재료 및 방법**

**실험곤충**

안동대학교와 농업과학기술원의 실내사육실에서 인공사료로 누대사육한 두 집단(LAB 1, LAB 2) 및 9월과 10월 안동의 파밭에서 채집한 두 야외충 집단(Field 1, Field 2)을 시험곤충집단으로 이용하였다. 이들 집단은 모두 25±1°C, 16:8(L:D)h, 상대습도 60±10% 조건에서 인공사료(고 등, 1991)로 사육하였다.

**내한성 생물검정**

3령충을 -8°C에서 1, 2, 4, 또는 8시간 처리한 뒤 25°C에서 5시간 방치한 후에 머리, 가슴, 배를 눌러도 움직이지 않는 개체를 사망한 것으로 보고 생존율을 조사하였다. 내한성유기 실험은 5°C에 2시간동안 처리한 후 -8°C에서 내한성 검정을 실시하였다.

**체내빙결점 (supercooling point) 측정**

파밤나방의 체내빙결점을 측정하기 위해 Pt100

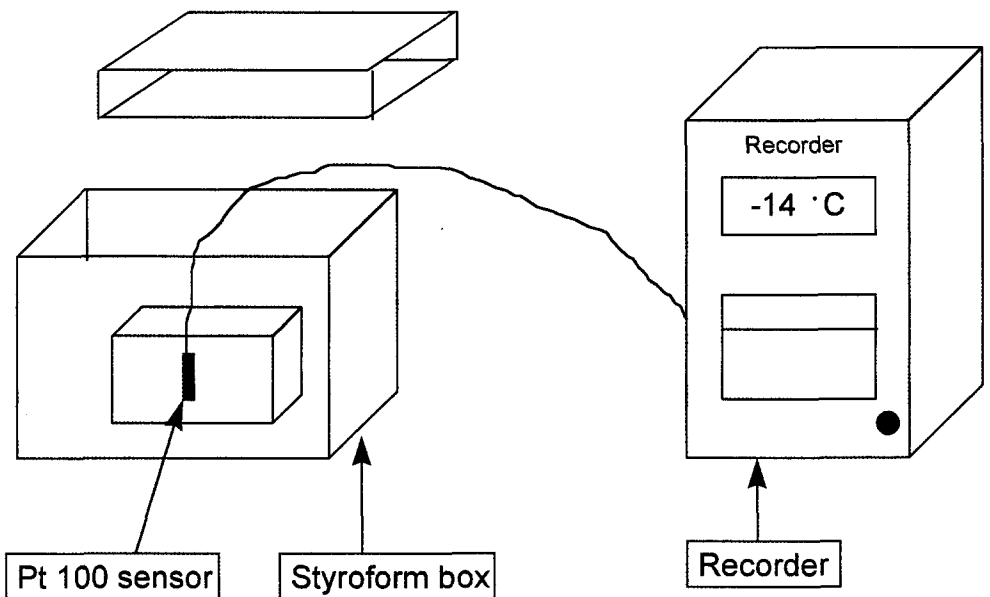


Fig. 1. Device for measuring supercooling point of *S. exigua*. The cooling rate in the styrofoam box was 1°C/min.

sensor를 이용한 온도감지기 끝에 유충을 붙이고 -70°C에서 체내빙결점을 측정하였다. 체내빙결점 측정장치는 그림 1과 같다.

**물 삼투압 농도 측정**

5령충에서 추출한 혈림프를 원심분리(4°C, 14,000 rpm)한 후 혈장을 뽑아서 2 mM EDTA용액으로 40 배 희석하였다. 물 삼투압 농도는 삼투압측정기 (Osmette model 2007. Precision Systems, Inc.)를 이용하였다.

**저온유기단백질 분석**

혈림프를 시료완충용액 (60 mM Tris, 25% 글리세롤, 2% SDS, 14.4 mM β-mercaptoethanol, 0.1% bromophenol blue)과 1:1로 섞은 뒤 100°C에서 90초 끓였다. 변성된 단백질시료를 7.5~15% 농도구배 SDS-PAGE (polyacrylamide gel electrophoresis)로 30 mA/gel하에서 전기영동하였다. 5시간 뒤에 전기영동을 끝내고 coomassie blue로 염색한 뒤 1차 탈색용액 (50% methanol, 10% acetic acid)으로 2시간 탈색한 뒤 2차 탈색용액 (5% methanol, 7% acetic acid)으로 24시간 이상 탈색시켰다. 분자량을 측정하기 위해 Sigma제품의 high molecular weight standard mixture (#MW-SDS-200)를 이용하였다.

**글리세롤함량 측정**

Hendrix 등(1981)의 방법을 토대로 다음과 같이 파밤나방에 변형시켜 체내 글리세롤을 추출하였다. 5령충을 80% ethyl alcohol에 갈아서 80°C에서 5분간 끓인다음 7,000 rpm으로 원심분리하였다. 상등액을 분리하여 60°C에서 농축한 다음 chloroform : methanol (2:1)로 분획하였다. 다시 7,000 rpm에서 30분간 원심분리한 뒤 농축시킨 다음 1 ml의 증류수로 추출물을 닦아내고 0.2 μm membrane filter로 여과하였다. 추출된 시료는 Sigma 제품의 triglyceride 진단장치 (#339-20)를 이용하여 spectrophotometer에서 흡수도 540 nm로 측정하여 글리세롤 함량을 산출하였다.

**결 과**

**내한성유기 현상**

네 개의 파밤나방 집단들은 -8°C에 대해서 내한

성 차이를 보였으며 내한성 정도는 LAB 1, Field 1, Field 2, LAB 2 순으로 높았다(그림 2). 모든 집단에서 5°C의 아치사온도에서 2시간 동안 적응시킨 뒤 -8°C의 치사온도에 시간별로 노출되었을때 직접 -8°C에 노출된 개체들보다 생존율이 높아 내한성유기 현상이 나타났으며 LAB1집단에서 내한성유기 효과가 가장 크게 나타났다.

**혈림프 물 삼투압 농도변화**

25°C에서 사육된 5령충의 혈림프 물 삼투압 농도는 366~500 mOsM/kg의 사이에 있었지만 5°C에 전

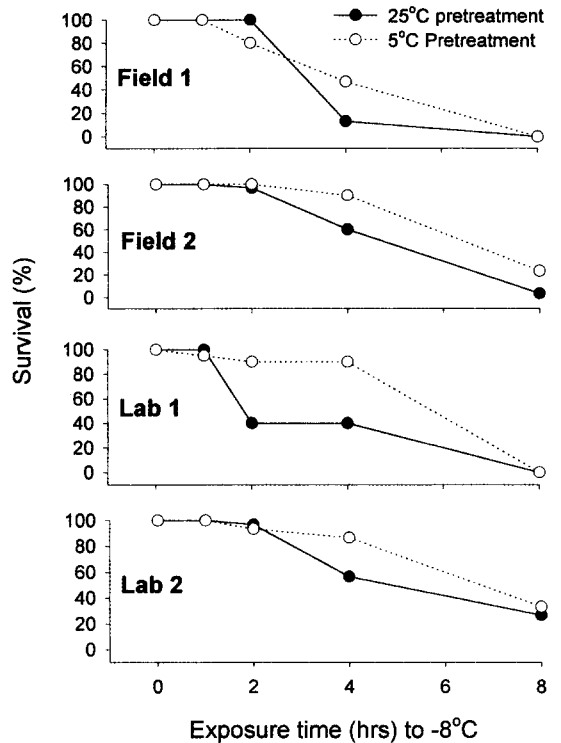


Fig. 2. Rapid cold hardening of the fifth instar larvae for different populations of *S. exigua*; 'Field 1' and 'Field 2' represent populations established from a field collection in Andong area in September and October, respectively. 'LAB 1' represents a laboratory colony originated in Andong area which has been reared in insectary of Andong National University for ca. 20 generations without any exposure to cold weather. 'LAB 2' represents a laboratory colony kept for ca. 25 generations in insectary of Rural Development Administration.

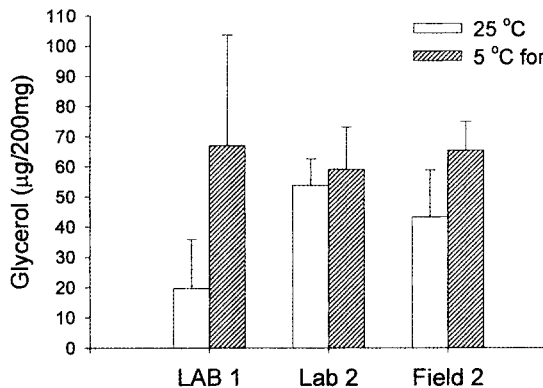
처리한 유충은 378~590 mOsM/kg으로 삼투압이 증가하였다(표 1). 집단간 혈림프의 삼투압 정도는

**Table 1. Effect of exposure to 5°C for 2h on hemolymph osmolalities of the fifth instar larvae of *S. exigua***

Population <sup>1</sup>	Treatment	N	mOsM/kg (Mean ± SD) <sup>2</sup>
Field 1	5°C for 2h	10	452.40 ± 40.81 <sup>a</sup>
	25°C	10	375.40 ± 45.18 <sup>b</sup>
LAB 1	5°C for 2h	10	420.0 ± 47.78 <sup>a</sup>
	25°C	10	408.40 ± 43.87 <sup>a</sup>
LAB 2	5°C for 2h	10	592.80 ± 16.59 <sup>a</sup>
	25°C	10	500.00 ± 48.33 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> 'Field 1' represents a field population collected from Andong area in September. 'LAB1' represents a laboratory colony originated in Andong area which was reared in insectary of Andong National University for ca. 20 generations without any exposure to cold weather. 'LAB 2' represents a laboratory colony kept for ca. 25 generations in insectary of Rural Development Administration.

<sup>2</sup> Means followed by different letters were significantly different at  $\alpha = 0.05$  (Least square difference test) between treatments in a population.



**Fig. 3.** Effect of exposure to 5°C for 2 h on glycerol contents of the fifth instar larvae of *S. exigua*.

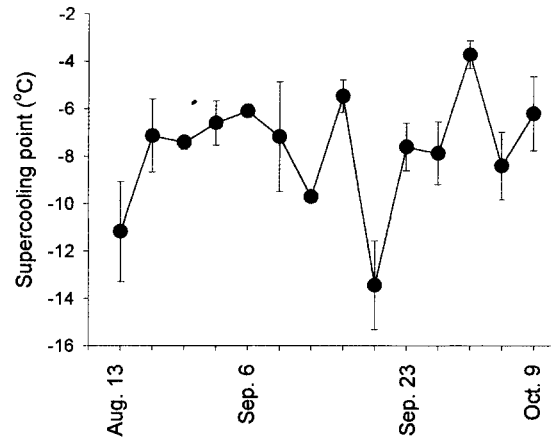
LAB 2집단이 가장 높았으며 Field 1과 LAB 2집단에서는 저온처리한 것과 대조구간에 유의성있게 차이가 났으나 LAB 1에서는 차이가 나지 않았다.

**체내 글리세롤 함량 변화**

저온처리한 집단들이 모두 대조구에 비해 높은 글리세롤 함량을 나타냈으며 LAB 1집단에서 내한성 유기한 것이 대조구에 비해 글리세롤 함량이 3 배 이상 차이가 났으나 다른 집단에서는 차이가 나지 않았다(그림 3).

**체내빙결점 (supercooling point)**

5°C에서 2시간 저온처리한 뒤에 체내빙결점을 측정해 본 결과 모든 집단에서 저온처리한 것과 대조구간에 차이가 없었다(표 2). 야외에서 채집된 파밤나방의 체내빙결점 변화를 보기 위해서 8월 중순에서 10월까지 3일 간격으로 5령충을 채집해서 측정



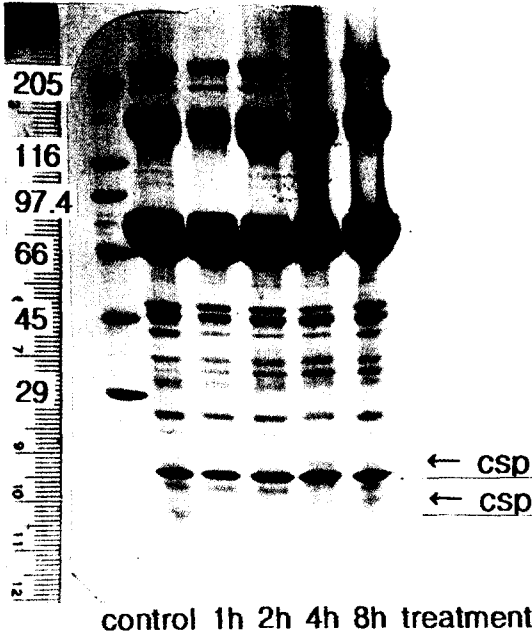
**Fig. 4.** Temporal change of supercooling points for the fifth instar larvae of *S. exigua* collected from a welsh onion filed in Andong.

**Table 2. Supercooling point (SCP) change of *S. exigua* in response to a low temperature (5°C) for 2h**

Population <sup>1</sup>	Larval stage	Treatment	N	SCP(°C) (mean ± SD) <sup>2</sup>	Population <sup>1</sup>	Larval stage	Treatment	N	SCP(°C) (mean ± SD) <sup>2</sup>
Field 2	3rd	25°C	10	-12.5 ± 1.8 <sup>a</sup>	Lab 2	3rd	25°C	5	-13.9 ± 1.3 <sup>a</sup>
		5°C, 2 h	10	-13.7 ± 2.8 <sup>a</sup>			5°C, 2 h	5	-14.3 ± 3.8 <sup>a</sup>
	5th	25°C	5	-9.7 ± 1.3 <sup>a</sup>		4th	25°C	3	-13.9 ± 0.7 <sup>a</sup>
		5°C, 2 h	5	-6.5 ± 2.5 <sup>a</sup>			5°C, 2 h	3	-12.4 ± 1.2 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> 'Field 2' represents a field population collected from Andong area in October. 'LAB 2' represents a laboratory colony kept for ca. 25 generations in insectary of Rural Development Administration.

<sup>2</sup> Means followed by different letters were significantly different at  $\alpha = 0.05$  (Least square difference test) between treatments in a population.



**Fig. 5.** Change in hemolymph protein bands, on SDS-PAGE (7.5 ~ 15% gradient), of the fifth instar larvae of *S. exigua* in response to 5°C for 1, 2, 4 or 8 h. The 'csp' represent cold-stress proteins.

해 본 결과 전체 시기별로 체내빙결점의 차이를 보였다( $F=2.91$ ,  $df=13,29$ ,  $P=0.0081$ ). 그러나 각 시기별로 볼 때 8월말까지는 온도가 일정하게 측정되었으나 9월이후에는 온도차이가 크게 나타나 계절이 진행함에 따라 뚜렷한 체내빙결점의 저하를 나타내지 않았다(그림 4). 이 야외 5령충집단의 평균 체내빙결점은  $-7.66 \pm 2.46^\circ\text{C}$ 였다.

**저온유기 단백질 (cold-stress protein)**

5령충을 5°C에 처리했을 때 무처리에 비해 혈림프에 10~20KD 크기의 특이 단백질 밴드가 발현되었으며 처리 시간이 진행됨에 따라 그들의 농도가 더 진하게 나타나 시간별 발현의 정도가 커짐을 보였다(그림 5).

**고 찰**

파밤나방의 내한성 정도는 LAB 1, Field 1, LAB 2, Field 2 순으로 높았으며 모든 집단에서 내한성유기 효과가 있었다. 이러한 파밤나방의 내한성유기는 모

든 발육시기에서 나타나며 아치사온도중에서 0°C보다 5°C에서 더 효과적이었다(Kim & Kim, 1997). 그러나 이러한 내한성 및 내한성유기 정도가 집단별로 차이가 있는 것은 파밤나방 내한성 관련 유전자가 모든 집단에 고르게 분포되어 있지 않을 가능성을 제시한다. Chen & Walker (1993)는 *Drosophila melanogaster*의 내한성 집단 선발실험에서 이러한 내한성이 유전적이며 선발을 통한 집단내에 보다 많은 개체가 내한성을 보유하게 됨을 보였다. 또 이러한 내한성 선발효과가 장기적인 면에서 볼 때 겨울기간중에 저온치사온도에 대한 특정집단의 대처 방법(Tauber *et al.*, 1986)일 수 있음을 시사했다.

일반적으로 파밤나방과 같은 동결감수성곤충(Kim & Kim, 1997)의 경우 체내빙결점을 낮춤으로 겨울기간중에 빙점 이하의 온도에서 동결을 막을 수 있다. 그러므로 이 곤충이 아치사온도 처리에서 내한성이 유기됐다는 의미는 체내빙결점의 상승을 가져오리라 여겨진다(Coulson & Bale, 1990; Johnson & Lee, 1990; Chen *et al.*, 1991; Duman *et al.*, 1991). 그러나 파밤나방의 5령충을 아치사온도(5°C, 2시간)에 처리한 결과 모든 집단에서 대조구에 비해 체내빙결점에 차이가 없었고 야외에서 8월에서 10월까지 계절이 진행함에 따른 체내빙결점의 변화도 없었다. 이러한 내한성의 정도가 반드시 일치하지 않는 현상은 다른 동결감수성 곤충류에서도 보고되었으며(Knight *et al.*, 1986; Rosales *et al.*, 1994) 이러한 현상에 대한 설명으로 과냉각기작과 내한성기작이 서로 완전히 동일하지 않다고 제시되었다.

혈림프의 물 삼투압 농도를 측정된 결과 LAB2집단이 가장 높게 나왔으며 모든 집단이 아치사온도에 처리한 것이 대조구에 비해 혈림프의 삼투압이 증가함을 보였다. 대부분의 동결감수성 곤충은 체내의 글리세롤과 같은 polyol들의 함량을 높여서 혈림프의 삼투압을 높이는데(Lee *et al.*, 1987) 이것을 설명하기 위해서 체내 글리세롤 함량을 측정해 본 결과 아치사온도에 처리했을 때 모든 집단에서 대조구에 비해 글리세롤함량이 높아졌다. 글리세롤과 같은 polyol들의 내한성과의 관계는 빙점이하의 온도에서 이들 polyol들이 생체막 단백질과 수소결합을 통하여 생체막의 구조와 기능을 안정화시켜 준다. 또 물분자와의 연결로 물분자가 쉽게 빙핵을 형성하는 것을 막아주게 되어 체내빙결점을 낮추어 주게 된다(Lee, 1989; Lee & Denlinger, 1991).

전기영동에서 분리된 파밤나방 5령충의 혈림프 단백질은 5°C로 2시간 처리했을 때 무처리에 비해 특이한 단백질 밴드가 10~20 kD에서 발현되었다. 이러한 저온유기단백질은 내한성을 유지시키는데 관여하는 단백질이라고 단정지을 수는 없으나 내동결성 곤충류에서 주로 발견되는 빙핵단백질(ice nucleation protein)일 가능성은 없다. 왜냐하면 빙핵단백질은 일반적으로 분자량을 보면 *Vespula maculata*의 INP는 74 kD (Duman *et al.*, 1984)이고 *Tipula trivittata*의 INP는 80 kD (Neven *et al.*, 1989)으로서 비교적 거대분자이기 때문이다. 하나의 가능성으로 이 단백질이 주로 동결감수성곤충에서 발현되는 내동결성단백질(thermal hysteresis protein: THP) (Duman, 1977; Duman & Horwath, 1983)이라고 제시된다. 주요한 이유는 파밤나방이 동결감수성곤충이고 THP의 분자량이 2.5~34 kD으로서 비슷한 크기를 가지고 있다. 또 다른 가능성으로 이 단백질이 단기간의 저온자극에 의한 스트레스단백질로서 새로 합성이 되었거나 기존에 존재하던 단백질이 잘라져서 새로운 밴드가 전기영동상에 나타났을 수 있으며 Joplin 등(1990)은 *Sarcophaga crassipalpis*에서 저온자극에 의해 열충격으로 인한 열충격단백질과 유사한 단백질 뿐만아니라 저온자극에 의해 특이한 단백질을 78 kD과 23 kD에서 보고하였다. 그러나 이 단백질의 정확한 생리적 기능은 위의 가능성들을 토대로 추후 연구되어야 할 것이다.

파밤나방이 아치사온도에서 내한성을 유도시킴으로써 추위에 대한 내한성을 갖게 되며 이러한 내한성유도에 있어서 파밤나방은 체내 글리세롤을 이용하여 혈림프내 삼투압을 증가시키게 되고 아치사온도에서 저온유기단백질이 발현되어지는 것으로 보아 파밤나방의 내한성에는 혈림프의 삼투압, 체내 글리세롤함량, 저온유기단백질이 관여하는 인자로 제시된다. 또 이러한 인자들이 파밤나방의 내한성에 관여할 때 집단의 규모에서 보면 유전적인 영향이 저온을 견디어 내는 데 영향을 미치게 된다.

### 인용문헌

- 안성복, 이상범, 조왕수. 1990. 전남북지방의 파밤나방 해충종류 및 피해. 농시논문집. 33: 66-73.
- Baust, J.G. & R.R. Rojas. 1985. Review-insect cold hardiness: facts and fancy. *J. Insect Physiol.* 10: 755-759.
- Chen, C.P., R.E. Lee & D.L. Denlinger. 1991. Cold shock and heat shock: a comparison of the protection generated by brief pretreatment at less severe temperatures. *Physiol. Entomol.* 16: 19-26.
- Chen, C.P. & V.K. Walker. 1993. Increase in cold-shock tolerance by selection of cold resistant lines in *Drosophila melanogaster*. *Ecol. Entomol.* 18: 184-190.
- Coulson, S.J. & J.S. Bale. 1990. Characterization and limitations of the rapid cold-hardening response in the house fly, *Musca Domestica* (Diptera: Muscidae). *J. Insect Physiol.* 36: 207-211.
- Duman, J.G. 1977. The role of macromolecular antifreeze in the darkling beetle, *Meracantha contracta*. *J. Comp. Physiol.* 115: 279-286.
- Duman, J.G. & K.L. Howarth. 1983. The role of hemolymph proteins in the cold tolerance of insects. *Ann. Rev. Physiol.* 45: 261-270.
- Duman, J.G., J.P. Moris & F.J. Castellino. 1984. Purification and composition of an ice nucleating proteins from queens of the hornet, *Vaspula maculata*. *J. Com. Physiol. B.* 154: 79-83.
- Duman, J.G., D.W. Wu, L. Xu, D. Tursman & T.M. Olsen. 1991. Adaptations of insects to subzero temperatures. *Qt. Rev. Biol.* 66: 387-410.
- Hendrix, D.L., R.E. Lee, Jr., J.G. Baust & H. James. 1981. Separation of carbohydrates and polyols by a radially compressed high-performance liquid chromatographic silica column modified with tetraethylpen-tamine. *J. Chromatogr.* 210: 45-53.
- Johnston, S.L. & R.E. Lee. 1990. Regulation of supercooling and nucleation in a freeze intolerant beetle (*Tenebrio molitor*). *Cryobiology.* 26: 562-568.
- Joplin, K.H., G.D. Yocum & D.L. Denlinger. 1990. Cold shock elicits expression of the heat shock proteins in the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *J. Insect Physiol.* 36: 825-834.
- Kim, Y. & N. Kim. 1997. Cold hardiness of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner). *Environ. Entomol.* 26: (in press).
- Knight, J.D., J.S. Bale, F. Franks, S.F. Mathias & J.G. Baust. 1986. Insect cold hardiness: supercooling points and pre-freeze mortality. *Cryo-Lett.* 7: 194-203.
- 고현관, 이상계, 이비파, 최귀문, 김정화. 1991. 인공사료에 의한 파밤나방의 대량사육법. 한응곤지. 29: 180-183.
- Lee, R.E. 1989. Insect cold-hardiness: To freeze or not

- to freeze. *BioScience* **39**: 308-311.
- Lee, R.E. & D.L. Denlinger. 1991.** Insects at low temperature. Chapman and Hall, New York.
- Lee, R.E., C.P. Chen. & D.L. Denlinger. 1987.** A rapid cold-hardening process in insects. *Science*. **258**: 1415-1417.
- Neven, L.G., J.G. Duman, M.G. Low, L.C. Sehl & F.J. Castellino. 1989.** Purification and characterization of an insect hemolymph lipoprotein ice nucleator: evidence for the importance of phosphatidylinositol and apolipoprotein in the ice nucleator activity. *J. Com. Physiol.* **159**: 71-82.
- Rosales, A.L., E.S. Krafur & Y. Kim. 1994.** Cryobiology of the face fly and house fly (Diptera: Muscidae). *J. Med. Entomol.* **31**: 671-680.
- Storey, K.B. 1990.** Biochemical adaptation for cold hardiness on insects. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* **326**: 654.
- Tauber, M.J., C.A. Tauber & S. Masaki. 1986.** Seasonal adaptations of insects. Oxford University Press, New York.
- (1997년 3월 31일 접수, 1997년 8월 22일 수리)