

담배거세미나방 (*Spodoptera litura* Fabricius)의 내한성

Cold hardiness of *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae)

김용균 · 박형근 · 송원례

Yong Gyun KIM, Hyung Keun PARK and Won Rye SONG

ABSTRACT Supercooling points (SCP) and cold tolerance of the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* Fabricius, were measured in response to subzero temperatures. SCPs were varied among developmental stages. Eggs showed the lowest SCP (-27°C). Pupae and adults had the intermediate SCP (-18°C). The SCPs (-10 to -16°C) of larvae increased with their ages. Lethal low temperature of each stage was higher than its SCP. Preexposure of eggs and larvae to a sublethal low temperature increased their survival capacities under lethal low temperatures. The sublethal temperature also induced the fifth instar larvae to increase hemolymph osmolality and to produce cold-induced proteins of apparent molecular weights of 20 and 27 kD. These results indicate that this species is classified into a freeze-susceptible insect.

KEY WORDS *Spodoptera litura*, cold hardiness, supercooling point, rapid cold hardening, osmolality, cold-induced proteins

초 록 담배거세미나방 (*Spodoptera litura* Fabricius)의 체내빙결점과 내한성이 검정되었다. 체내빙결점은 발육시기에 따라 다양했다. 알(약 -27°C)이 가장 낮았고 용과 성충(약 -18°C)이 다음이었으며 유충이 ($-10 \sim -16^{\circ}\text{C}$) 가장 높은 온도를 기록했다. 유충의 체내빙결점은 유충의 영기가 진행함에 따라 상승했다. 각 발육단계의 치사저온온도는 각자의 체내빙결점보다 높았다. 알과 유충을 아치사온도에 미리 노출시킴으로서 치사온도에 대한 생존력을 높였다. 아치사온도는 또한 5령충의 혈림프 삼투압을 증가시켰으며 저온에 특이적인 단백질들(20과 27kD)을 발현하게 했다. 이상의 결과는 이 해충이 동결감수성 곤충류에 속함을 나타낸다.

검색어 담배거세미나방, 내한성, 체내빙결점, 내한성유기, 삼투압, 저온유기단백질

온대지방의 대다수 곤충은 겨울 기간중 빙점이하의 온도에 노출된다. 빙점이하의 온도는 곤충들에게는 심각한 생존의 위협을 주게 된다(Kim & Krafsur 1995). 이러한 피해 양상은 크게 냉해('cold injury')와 빙해('freezing injury')로 나뉘게 된다. 냉해는 생체의 빙점이상의 온도에서 일어나며 세포막의 무기능과 대사조절능력의 상실로부터 야기된다(Quinn 1985). 빙해는 빙점 이하의 온도에서 빙핵형성에 따

른 물리적인 대사 파괴 형태를 일컫는다(Lee & Denlinger, 1991). 많은 월동 곤충들이 생리적 그리고 생화학적 적응 기작을 통해 0°C 이하의 온도에서 내한성을 가지며 살아간다(Storey, 1990).

이들 월동 곤충들은 빙점이하의 온도를 견디는 양상에 따라 크게 동결감수성('freeze-avoidance')과 내동결성('freeze-tolerance')으로 나뉠 수 있다. 동결감수성 곤충은 유해한 얼음형성을 체내액의

빙결점 ('supercooling point')을 낮춤으로 피하게 된다. 그들은 낮은 온도에 반응하여 glycogen phosphorylase의 활력을 증진시켜 글리코겐의 분해에 따른 글리세롤이나 sorbitol과 같은 다가알콜류들의 합성으로 유도하게 된다(Lee *et al.*, 1987). 내동결단백질 ('antifreeze proteins') 또한 체내빙결점을 낮춰줌으로 내한성에 역할을 담당하게 된다(Duman 1977, Duman & Horwath, 1983). 내동결성 곤충은 세포의 용액의 얼음형성을 견디어 내는 능력을 갖게 된다. 즉 얼음의 형성을 세포밖으로 국한시킴으로 세포부피감소와 수분부족을 막으며 빙핵단백질 ('ice-nucleating proteins')이 세포의 얼음형성을 야기시키게 된다.

담배거세미나방 (*Spodoptera litura* Fabricius)은 우리나라를 비롯하여 호주, 일본 등 열대지방으로부터 아열대, 온대지방에 걸쳐 광범위하게 분포하고 있으며 우리나라의 남부지방에서는 5월 상순에서 9월 하순까지 연간 약 5회 발생한다(신 등, 1987). 유충은 잡식성으로 콩을 비롯한 전작물과 배추, 토란 등 채소류를 가해하여 경제적 피해를 가중시키고 있다(안 등, 1991). 최근 시설농업의 확대에 따른 겨울기간내 이 해충의 국내 월동가능성의 증대로 더욱 심각해지고 있다.

월동시 휴면태를 가지고 있지 않은 담배거세미나방이 어떠한 기작으로 겨울기간 중에 냉해와 빙해를 피할 수 있는지에 대한 연구는 미비하다. 월동가능 조건을 이해하는 것은 이 해충의 월동개체군 파악에 중요하고 이듬해 이 해충에 의한 피해지역 범위와 정도를 예측하는데 중요한 정보를 제공하게 된다(Petersen *et al.*, 1996). 이러한 문제의 해답을 얻기 위해서는 이 해충의 내한성 정도를 파악하는 것이 매우 중요하다. 또한 내한성 유발인자의 확인 및 동정은 내한성 기작을 이해하는데 필요하다.

본 연구는 담배거세미나방의 월동 본질에 대한 연구로서 내한성의 정도와 기작을 밝히는데 연구 목적을 둔다. 이를 수행하기 위해 이 곤충에 빙해를 일으키게 하는 체내빙결점을 각 발육시기마다 측정했으며 이 온도를 기준으로 빙점 이하의 온도 범위에서 냉해를 입게되는 온도와 노출시간을 각 발육시기별로 측정했다. 이렇게 해서 얻어진 각 발육시기별 내한성정도는 저온에 의한 내한성유기 ('rapid cold hardening')와 비교함으로써 담배거세미나방의 내한성유기 능력의 유무와 정도를 분석했다. 다음으로

내한성 기작을 밝히고자 내한성유기에 관여하는 인자의 규명은 아치사온도 처리후 5령충의 혈림프 삼투압 및 단백질 변화를 분석했다.

재료 및 방법

시험곤충 사육

시험곤충은 1995년 8월말에서 9월말에 경상북도 안동시 일직면 고추밭에서 채집하여 인공사료(고 1990)로 실내에서 8~9세대 누대 사육되었다. 사육상자의 조건은 온도 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 광주기 16:8(L:D) h 이었다. 10% sucrose가 성충의 산란상자에 공급되었다.

체내빙결점 (supercooling point: SCP) 측정

담배거세미나방의 체내빙결점은 Pt100 sensor를 이용하여 Kim과 Kim(1997)의 방법으로 측정하였다. 온도감지기 끝에 담배거세미나방을 붙이고 냉동실 (-70°C)내에서 담배거세미나방의 체온변화를 측정했다. 빙핵이 형성되면서 나오는 발열량을 온도감지기가 감식하면서 일어나는 변화 온도점을 SCP로 기록했다. 냉동실내의 급속한 온도변화속도를 줄이기 위해 절연물질의 styroform상자를 만들어 상자내의 온도변화속도를 $1^\circ\text{C}/\text{min}$ 로 낮추었다. 각 발육시기의 SCP는 개체별로 측정되었으나 알의 경우 발열량이 작아 난괴(50~100개)를 이용하여 변화온도를 기록했다.

내한성 생물검정

여섯가지 빙점 이하의 온도(0, -5, -7, -10, -15, -20°C)에 담배거세미나방을 0, 1, 2, 4, 6, 8시간씩 각각 노출한 후에 알과 용의 부화율과 우화율을 각각의 생존율로 조사하였고 유충은 처리후 25°C에서 6시간 후 머리, 가슴, 배를 각각 한번씩 누른 후 움직임이 없으면 사망한 것으로 간주하여 생존율을 조사했다. 각 온도와 시간의 처리는 10마리씩 3반복 실험하였다. 내한성유기 효과는 2시간동안 미리 0°C로 처리한 후 빙점이하의 온도에서 내한성 검정으로 실시하였다.

혈림프 추출

모든 혈림프의 추출은 5령충에서만 이루어졌다. 복부 첫째마디 다리를 자른 후 나오는 혈림프를 약

간의 phenylthiourea가 들어있는 0.5 ml tube에 수거했다. 추출된 혈림프는 4°C, 14,000rpm에서 원심분리한 후 상등액을 내한성 유기인자를 분석하는 데 이용하였다.

전기영동

혈림프시료는 같은 양으로 2X denaturing buffer (4% SDS, 20% glycerol, 10% β-mercaptoethanol, 62.5 mM Tris-HCl, pH 6.8)로 혼합, 100°C에서 90초동안 열처리한 후 15,000rpm에서 5분간 원심분리하여 상등액을 얻었다. 시료단백질은 수직전기영동장치로 변성조건하에서 7.5~15% gradient gel로 분리되었다(Laemmli, 1970). 전기영동은 35 mA/gel의 일정 전류에서 tracking dye가 바닥까지 도달할 때까지 이루어졌다. 단백질염색은 0.125% Coomassie Blue R-250 (50% methanol, 10% acetic acid), 1차탈색은 50% methanol, 10% acetic acid에서 2시간, 2차탈색은 5% methanol, 7% acetic acid에서 약 48시간 동안 이루어졌다.

삼투압측정

혈림프의 삼투압은 용액의 어는점과 용액농도와 의 관계를 이용하여 그 용액의 삼투압을 측정하는 삼투압측정기(Osmette model 2007, Precision systems, Inc.)를 이용하였다. 5령충으로부터 얻은 혈림프를 4°C, 14000rpm에서 원심분리한 후 상등액을 2mM EDTA 용액으로 희석하여 삼투압 측정에 이용되었다.

통계분석

생존율의 분석은 각도수변형 (arcsine transformation)을 취한 후 SAS의 PROC GLM (SAS Institute 1988)을 이용하여 평균간 비교 및 분산분석을 하였다.

결 과

실내에서 인공사료로 증식한 담배거세미나방의 체내빙결점은 약 -10°C에서 -27°C까지 발육시기에 따라 다양했다(Fig. 1). 알이 가장 낮은 체내빙결점(-27.7°C)을 나타냈고 용(-18.8°C), 성충(-17.8°C), 유충(-10.4~-16.5°C)의 순으로 높은 수치를 나타냈다. 유충기간내에서도 변이를 보여 영기가 진

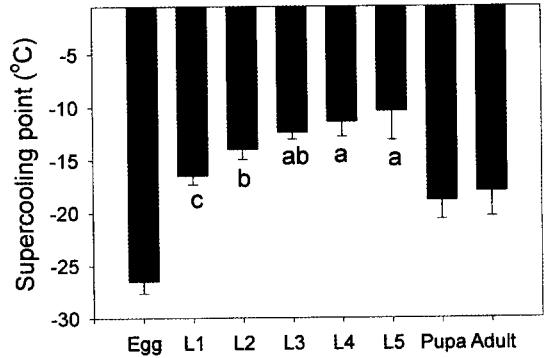


Fig. 1. Supercooling points of *S. litura*. 'L1' stands for the first instar larva. Different letters indicate significant difference among means at α=0.05 (LSD test).

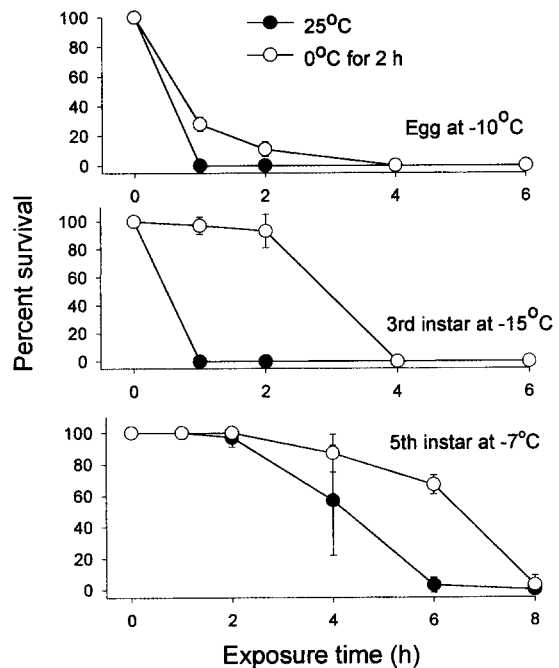


Fig. 2. Rapid cold hardening of *S. litura*. Each point represents 90 observations. Control treatment (solid circle) stands for direct transfer of the test animals from 25°C culturing environment to the cold environment. Pretreatment (open circle), however, had preexposure to 0°C for 2 h before transfer to the cold environment.

Table 1. Cold tolerance of *S. litura*

Temp (°C)	Time (h)	N	Survival ¹ (mean ± SD)	N	Survival (mean ± SD)	N	Survival (mean ± SD)	N	Survival (mean ± SD)	
Egg										
25	0	90	1.00 ± 0.00	30	1.00 ± 0.00	30	1.00 ± 0.00	30	1.00 ± 0.00	
	0	1	90	1.00 ± 0.00	30	1.00 ± 0.00	30	1.00 ± 0.00	30	1.00 ± 0.00
		2	90	0.98 ± 0.04	30	1.00 ± 0.00	30	1.00 ± 0.00	30	1.00 ± 0.00
		4	90	0.73 ± 0.08*	30	1.00 ± 0.00	30	1.00 ± 0.00	30	1.00 ± 0.00
		6	90	0.36 ± 0.32**	30	1.00 ± 0.00	30	1.00 ± 0.00	30	1.00 ± 0.00
-5	8	90	0.00 ± 0.00**	30	0.97 ± 0.06	30	1.00 ± 0.00	30	1.00 ± 0.00	
	1	90	0.07 ± 0.12**	30	1.00 ± 0.00	30	1.00 ± 0.00	30	0.70 ± 0.17*	
	2	90	0.01 ± 0.02**	30	0.97 ± 0.06	30	1.00 ± 0.00	30	0.83 ± 0.29*	
	4	90	0.00 ± 0.00**	30	0.97 ± 0.06	30	0.97 ± 0.06	30	1.00 ± 0.00	
-10	6	90	0.00 ± 0.00**	30	0.97 ± 0.06	30	0.90 ± 0.01	30	0.67 ± 0.23**	
	8	90	0.00 ± 0.00**	30	0.97 ± 0.06	30	0.97 ± 0.06	30	0.53 ± 0.15**	
	1	90	0.00 ± 0.00**	30	0.93 ± 0.12	30	0.90 ± 0.10	30	0.47 ± 0.25**	
	2	90	0.00 ± 0.00**	30	0.77 ± 0.23*	30	0.07 ± 0.12**	30	0.17 ± 0.15**	
-10	4	90	0.00 ± 0.00**	30	0.20 ± 0.10**	30	0.00 ± 0.00**	30	0.00 ± 0.00**	
	6	90	0.00 ± 0.00**	30	0.00 ± 0.00**	30	0.00 ± 0.00**	30	0.00 ± 0.00**	
	8	90	0.00 ± 0.00**	30	0.00 ± 0.00**	30	0.00 ± 0.00**	30	0.00 ± 0.00**	
	8	90	0.00 ± 0.00**	30	0.00 ± 0.00**	30	0.00 ± 0.00**	30	0.00 ± 0.00**	
5th instar										
25		30	1.00 ± 0.00	24	1.00 ± 0.00	15	1.00 ± 0.00			
0	1	-	-	-	-	15	1.00 ± 0.00			
	2	-	-	-	-	15	1.00 ± 0.00			
	4	-	-	-	-	15	0.67 ± 0.12**			
	6	-	-	-	-	15	0.00 ± 0.00**			
	8	-	-	-	-	15	0.00 ± 0.00**			
-5	1	30	1.00 ± 0.00	24	0.88 ± 0.13*	-	-			
	2	30	1.00 ± 0.00	24	0.38 ± 0.21**	-	-			
	4	30	0.90 ± 0.10*	24	0.00 ± 0.00**	-	-			
	6	90	0.83 ± 0.12**	-	-	-	-			
-7	8	90	0.37 ± 0.21**	24	0.00 ± 0.00**	-	-			
	1	30	1.00 ± 0.00	24	0.84 ± 0.08*	15	1.00 ± 0.00			
	2	30	0.97 ± 0.06*	24	0.67 ± 0.18**	15	1.00 ± 0.00			
	4	30	0.57 ± 0.35**	24	0.00 ± 0.00**	15	0.00 ± 0.00**			
-10	6	30	0.03 ± 0.05**	-	-	15	0.00 ± 0.00**			
	8	30	0.00 ± 0.00**	24	0.00 ± 0.00**	15	0.97 ± 0.06**			
	1	30	1.00 ± 0.00	24	0.46 ± 0.14**	15	1.00 ± 0.00**			
	2	30	0.43 ± 0.12**	24	0.00 ± 0.00**	15	0.00 ± 0.00**			
-10	4	30	0.03 ± 0.05**	24	0.00 ± 0.00**	15	0.00 ± 0.00**			
	6	90	0.00 ± 0.00**	-	-	15	0.00 ± 0.00**			
	8	90	0.00 ± 0.00**	24	0.00 ± 0.00**	15	0.00 ± 0.00**			

¹ Proportion of the number of survivals out of total number treated. Asterisk followed by the mean of a treatment represents a significant difference to that of 25°C treatment of each stage: * at $\alpha=0.05$, ** at $\alpha=0.01$ (LSD test)

행함에 따라 체내빙결점이 증가했다.

빙점이하의 온도에서 각 발육시기별 노출시간에 따라 생존율이 조사되었다(Table 1). 이 내한성의 정도는 발육시기, 처리온도, 기간에 따라 매우 다양했으나(Table 2) 모두 체내빙결점보다 낮은 온도에서

8시간 이내에 치사했다. 또 각 발육시기의 내한성은 체내빙결점과 역순으로 나타났다. 즉 처리된 담배거세미나방의 알에서는 -5°C의 온도를 2시간 이상 견디지 못했으며, 용과 성충은 -7°C에서 4시간이상 견디지 못했으며, 유충의 영기별 처리에서는 -10°C

를 기준으로 4시간 이상에서 견디지 못했다. 유충내에서도 어린 유충일수록 저온에 견디는 능력이 높았다.

빙점이하의 온도에서 내한성정도는 아치사온도에 미리 노출시킴으로 높아졌다(Fig. 2). 알은 0°C에서 2시간 노출시킴으로 -10°C에서 일부 생존할 수 있었다($F=80.09$, $df=1, 20$, $P=0.0001$). 이러한 내한성

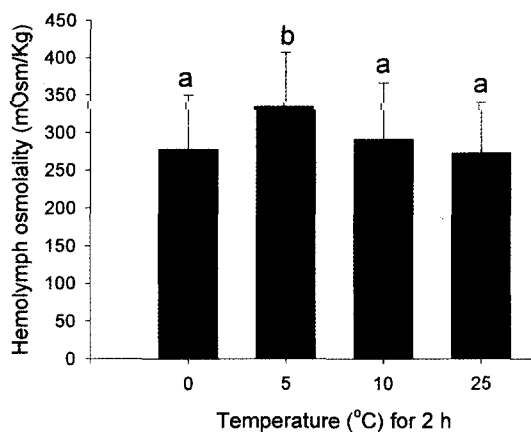


Fig. 3. Effect of cold temperatures on hemolymph osmolalities of the fifth instar larvae of *S. litura*. Different letters indicate significant difference among means at $\alpha=0.05$ (LSD test).

유기의 효과는 3령충에서 더욱 뚜렷했으며 ($F=2392.36$, $df=1, 20$, $P=0.0001$) 5령충에서도 보였다 ($F=11.48$, $df=1, 24$, $P=0.0024$).

내한성유기에 관여하는 인자를 규명하기 위해 아치사온도 처리후 5령충의 혈림프 삼투압을 측정하였다(Fig. 3). 2시간동안 0, 5, 10°C로 처리된 5령충의 혈림프는 모두 무처리보다 높은 수치를 보였으나 5°C처리된 혈림프에서만 유의성있는 차이로 증가를 보였다.

SDS-PAGE (7.5~15% gradient gel)의 전기영동에서 분리된 5령충의 혈림프 단백질 pattern에 있어서도 0°C에서 2시간 처리했을 때 무처리에 비해 특이한 단백질 밴드가 약 20kDa과 27kDa에서 발현되었

Table 2. ANOVA on effects of cold temperatures and exposure times on different stages of *S. litura*

Source	df	SS	MS	F	P
Stage	6	12.65	2.11	211.43	0.0001
Time	4	89.77	22.44	2250.08	0.0001
Temp	6	198.54	33.09	3317.62	0.0001
Stage*Time	23	11.99	0.52	52.30	0.0001
Stage*Temp	26	21.20	0.81	81.76	0.0001
Stage*Time*Temp	76	10.28	0.13	13.57	0.0001
Error	400	3.98	0.01		
Total	561	301.25			

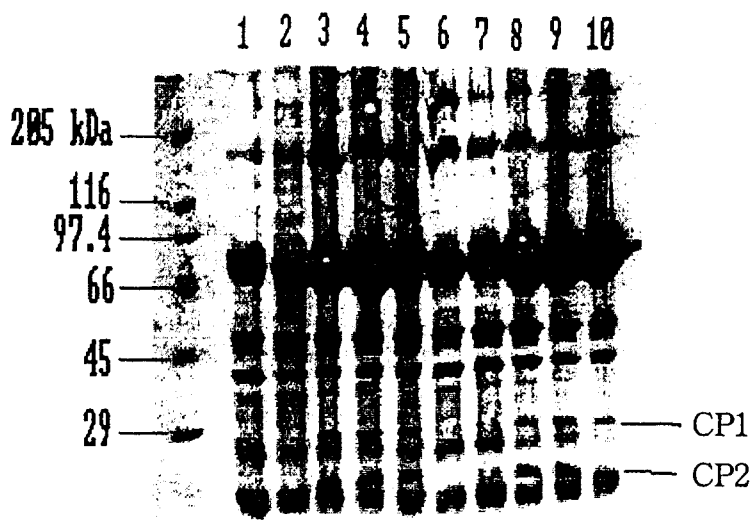


Fig. 4. Change in hemolymph proteins on SDS-PAGE (7.5~15% gradient) of the fifth instar larvae of *S. litura* in response to 0°C for 0 h (1 & 2 lanes), 1 h (3 & 4 lanes), 2 h (5 & 6 lanes), 4 h (7 & 8 lanes), and 8 h (9 & 10 lanes). 'CP' represents cold-induced protein.

다 (Fig. 4).

고 찰

담배거세미나방의 체내빙결점은 약 -10°C 에서 -27°C 까지 분포했고 발육시기에 따라 다양했으며 특히 유충에 비해 알과 용, 성충에서 낮은 SCP를 기록했다 (Fig. 1). 이러한 낮은 체내빙결점은 대부분의 담배거세미나방의 월동기작으로 과냉각점을 낮춤으로 체내빙결에 따른 물리적인 상해인 빙해를 피하려는 곤충류 즉 동결감수성 곤충류에 속함을 의미한다. 즉 이러한 곤충류에서는 SCP가 바로 빙점 이하의 온도에서 생존할 수 있는 최저온도를 의미한다 (Lee & Denlinger, 1991). 이러한 결론은 각 발육시기에서 담배거세미나방이 각 시기의 SCP 이상에서 8시간내에 치사한다는 결과 (Table 1)로 입증된다.

용과 성충의 SCP가 유충에 비해 낮은 것은 장내부가 5령 말기 이후 비어있거나 성충의 경우에는 전체 몸에 비해 상대적으로 적은 부분을 차지함으로써 외부물질로 인한 빙핵형성 ('heterogeneous nucleation')의 가능성 (Salt, 1936; Zachariassen, 1985)이 적어서 SCP를 낮출 수 있다. 쉬파리의 일종인 *Sarcophaga crassipalpis* (Lee & Delinger, 1985)와 축산해충인 *Musca autumnalis* (Rosales et al., 1994)에서도 섭식을 중단한 발육시기가 섭식이 진행중인 시기에 비해 SCP가 낮아짐을 보고했고 이는 먹이내에 있는 미지의 빙핵형성물질에 기인한다고 했다.

유충은 영기가 진행함에 따라 SCP가 높아지는 것으로 나타났다. 이러한 경향은 이 해충과 같은 속에 속하는 파밤나방에서 유충의 체중 증가에 따라 SCP가 높아진 것 (Kim & Kim, 1997)으로 미루어 몸의 크기와 연관성이 있다고 여겨진다. 일반적으로 몸이 작은 곤충이 큰 곤충에 비하여 낮은 SCP를 갖는다 (Angell, 1982).

빙점 이하의 온도에서 담배거세미나방이 나타내는 내한성 정도는 발육시기, 처리온도, 기간에 따라 매우 다양했으나 모두 체내빙결점보다 높은 온도에서 8시간 이내의 처리에서 뚜렷한 치사를 보였다 (Table 1). 빙점 이하에 견디는 능력은 알, 성충, 용, 노숙유충, 어린유충의 순으로 높았다. 이러한 발육시기별 내한성의 정도는 같은 곤충에서 Matsuura 등 (1991)에 의해 조사되었는데 차이점은 용의 내한성이 유충의

내한성보다 크다고 밝혔다. 이러한 차이점은 측정항목에서의 차이로 여겨진다. 본 연구는 우화율을 용 생존율로 결정한 반면 Matsuura 등 (1991) 연구에서는 용자체의 생존율로 측정한 차이로 하겠다. 이러한 0°C 이하의 저온에 따른 사망요인은 체내 빙결로 인한 빙해라기 보다는 생체의 빙점 이상의 온도에서 일어나는 냉해에 기인한다고 사려된다. 이러한 냉해는 주로 세포막의 무기능과 대사조절능력의 상실로 부터 야기된다 (Quinn, 1985). Storey와 Storey (1990)는 0°C 이하에서 일어나는 이와같은 피해를 세포 생체 전위막의 파괴에서 기인한다고 설명했다. 일반적으로 세포는 Na^+ 를 세포밖으로 내보내고 세포내에는 높은 수준의 K^+ 이온농도를 유지한다. 이러한 각 이온들의 세포막 내외의 불균등한 분포는 세포막 전위를 형성시키고 이 전위차가 세포가 외부의 반응에 대처할 때 필수 불가결한 역할을 담당하게 한다. 이 이온구배의 형성은 ATP (adenosine triphosphate)의 가수분해 힘에 의해 반대방향으로 작용하고 있는 삼투압을 상쇄시킨다. 0°C 이하의 낮은 온도에서 ATP의 형성은 원활하게 되지 못하고 생성되는 ATP에 의존하여야 하는 펌프들은 제 작용을 하지 못하여 이온의 역류를 방조하게 된다. 그러므로 야기되는 생체 전위막 상실은 Ca^{++} 이온의 세포내 흡수를 억제시키지 못하며 세포내의 중요한 이차전달자인 Ca^{++} 으로 인하여 각종 생체회로를 자극시켜 궁극적으로 세포파괴로 이르게한다.

조사된 알과 유충에서 담배거세미나방은 아치사 온도에 미리 노출함으로 대조구에 비해 치사온도에서 생존율이 높아졌다 (Fig. 2). 온대지방에 살고 있는 대부분의 곤충들에서 내한성유기 현상은 보고되었고 이러한 기능이 곤충들로 하여금 온도의 일주기성에 빠르게 적응하도록 하게 한다 (Lee et al., 1987). 이러한 내한성 유기는 담배거세미나방이 내한성기작을 가지고 있음을 내포한다.

빙점 이하의 온도에서 생존하기 위한 내한성 기작으로 많은 월동 곤충들이 생리적 그리고 생화학적 적응기작을 발휘한다 (Storey, 1990). 담배거세미나방의 경우 0°C 와 10°C 에 비해서는 5°C 의 아치사온도에서 혈림프 삼투압을 증가시켰다 (Fig. 3). 삼투압의 증가는 바로 혈림프의 빙점강하를 유발함으로 빙점 이하의 온도에 대한 내한성증가를 가져올 수 있다. 이러한 혈림프의 삼투압 증가는 혈림프내 다가알콜류의 질과 양에 관계를 가질 수 있고 이에 대한 양

적 질적 연구가 수반되어야겠다. 왜냐하면 동결감수성곤충으로서 담배거세미나방은 내한성을 획득하는데 있어서 이 다가알콜류의 이용이 필수 불가결하겠다. 낮은 온도에 반응하여 glycogen phospholylase의 활력을 증진시켜 글리코겐의 분해를 촉진시켜 글리세롤이나 sorbitol과 같은 다가알콜류들을 합성으로 유도하게 된다(Lee *et al.*, 1987). 다가알콜류의 종류는 글리세롤나 sorbitol 이외에도 C12으로 trehalose와 sucrose, C6으로 glucose와 fructose, C5으로 ribitol, C4으로 erythritol 등이 있다. 이들의 특성은 무독성이며 세포안락의 평형을 유지하기 위해 자유롭게 통과할 수 있다. 월동 생물체에 있어 이들의 주요 기작은 그들의 총괄성을 이용한 부동액 역할과 수소결합에 의한 세포막단백질의 안정화 등을 포함한다(Storey, 1988).

다가알콜류외에 빙핵형성을 막아주는 물질로 내동결단백질 또한 체내빙결점을 낮춰줌으로 내한성에 역할을 담당하게 된다(Duman, 1977; Duman & Horwath, 1983). SDS-PAGE (7.5 ~ 15% gradient gel)의 전기영동에서 분리된 5령충의 혈림프 단백질 pattern에 있어서도 0°C 2시간 처리했을 때 무처리에 비해 특이한 단백질 밴드를 20과 27 kD에서 발현되었다(Fig. 4). 이들 단백질이 내한성을 유지시키는데 관여한 단백질이라고는 본 연구만으로는 판정할 수 없다. 그러나 우선 내한성과 관련이 있는 빙핵단백질일 가능성은 배제된다. 왜냐하면 일반적으로 빙핵단백질은 지방단백질로서 알려져있으며 크기는 *Vespa maculata*에서 74 kD (Duman *et al.*, 1984), *Tipula trivittata*는 800 kD (Neven *et al.*, 1989)으로서 비교적 거대분자이기 때문이다. 또 담배거세미나방이 본 결과에서 밝혀졌 듯이 동결감수성 곤충이므로 빙핵단백질의 합성은 오히려 불리한 생리현상이므로 이들 단백질이 빙핵단백질일 가능성이 적다. 오히려 이들 단백질이 내동결단백질 또는 단순한 저온 충격에 의한 stress 단백질일 가능성이 있다. 내동결단백질은 2.5 ~ 34 kD의 당단백질형태로 빙핵이 형성초기에 빙핵에 달라 붙어 물분자들의 응집을 막아 전체적인 빙결을 억제시키는 것으로 제시되었다(Duman & DeVries, 1972; Raymond & DeVries, 1977). 내동결단백질은 야외에서는 가을 기간중에 동결감수성 곤충류의 체내에 합성되기 시작하여 겨울기간중에 높은 농도로 유지하며 봄기간중에 소멸되는 주기를 보여 낮은 온도와 짧은 일장조건에서

합성이 유발될 수 있다(Patterson & Duman, 1978; Horwath & Duman, 1986). 또 Joplin 등(1990)은 *Sarcophaga crassipalpis*에서 저온 충격에 의해 열충격에 의한 열충격단백질과 유사한단백질 뿐만 아니라 저온 충격에 의한 특이한 단백질을 23과 78 kD에서 보고하였다.

이상의 결과는 담배거세미나방이 체내빙결점이상의 저온에서 치사를 보이는 동결감수성 곤충류에 속함을 의미한다. 우리나라 겨울기간중 이 해충이 성공적으로 월동하기 위해서는 장시간의 빙점이하 온도에 노출은 피해야한다. 신 등(1983)은 남부지방에서 이 해충의 연중 발생장소를 조사하면서 특히 제1야외세대의 발생량이 노지보다는 시설재배지 주변에서 유인수가 높았다. Matsuura 등(1991)은 빙점이하의 온도에서 견디는 능력을 비교함으로써 이 해충의 어린 유충이 가장 높은 내한성을 가짐을 밝히고 가능한 월동태로 제시했다.

인용문헌

- 안성복, 이상범, 조왕수. 1991. 전남북지역 대과 및 쪽과 잎 가해 해충의 종류와 피해. 농시논문집. 33: 66-73.
- Angell, C.A. 1982. Supercooled water. In water: A comprehensive treatise. Vol. 7, ed. F. Franks. pp. 1-81. Plenum Press, New York.
- Duman, J.G. 1977. The role of macromolecular antifreeze in the darkling beetle, *Meracantha contracta*. J. Comp. Physiol. 115: 279-286.
- Duman, J.G. & A.L. DeVries. 1972. Freezing behavior of aqueous solutions of glycoproteins from the blood of an Antarctic fish. Cryobiol. 9: 469-472.
- Duman, J.G. & K.L. Horwath. 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 protein from queens of the hornet, *Vaspa maculata*. J. Com. Physiol. B. 154: 79-83.
- Horwath, K.L. & J.G. Duman. 1986. Thermoperiodic involvement in antifreeze protein production in the cold hardy beetle, *Dendroides canadensis*. Implications for photoperiodic time measurement. J. Insect Physiol. 32: 799-806.
- 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. & E.S. Krafur.** 1995. In vivo and in vitro effects of 20-hydroxyecdysone and methoprene on diapause maintenance and reproductive development in *Musca autumnalis*. *Physiol. Entomol.* **20**: 52-58.
- Kim, Y. & N. Kim.** 1997. Cold hardiness of *Spodoptera exigua* (Hübner) (Noctuidae: Lepidoptera). *Environ. Entomol.* In press.
- 김인수, 김지인, 안성복, 조왕수, 한상찬. 1988. 시설 원예작물의 해충발생과 피해조사. 농기연시연보, pp. 686-705.
- 고현관, 이상계, 이비파, 최귀문, 김정화. 1990. 인공 사료에 의한 파밤나방의 대량사육법. 한응곤지, **29**: 180-183.
- Laemmli, U.K.** 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**: 680-685.
- Lee, R.E. & D.L. Denlinger.** 1985. Cold tolerance in diapausing and nondiapausing stages of the flesh fly, *Sarcophaga crassipalpis*. *Physiol. Entomol.* **10**: 3090-315.
- 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-hardiness process in insects. *Science* **238**: 1414-1417.
- Matsuura, H., A. Naito & A. Kikuchi.** 1991. Studies on the cold-hardiness and overwintering of *Spodoptera litura* F. (Lepidoptera: Noctuidae). I. Viability of the insect under low temperatures. *Jpn. J. Appl. Ent. Zool.* **35**: 39-44.
- 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. Comp. Physiol.* **159**: 71-82.
- Patterson, J.L. & J.G. Duman.** 1978. The role of thermal hysteresis producing proteins in the low temperature tolerance and water balance of larvae of the mealworm, *Tenebrio molitor*. *J. Exp. Biol.* **74**: 37-45.
- Petersen, M.K., B. Ekbom & H.P. Ravn.** 1996. Temperature dependent winter survival of *Bembidion lampros* and *Tachyporus hypnorum*. *J. Insect Physiol.* **42**: 997-1005.
- Quinn, P.J.** 1985. A lipid-phase separation model of low-temperature damage to biological membranes. *Cryobiology* **22**: 128-146.
- Raymond, J.A. & A.L. DeVries,** 1977. Adsorption inhibition as a mechanism of freezing resistance in polar fishes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **74**: 2589-2593.
- Rosales, A.L., E.S. Krafur & Y. Kim.** 1994. Cryobiology of the face fly, *Musca autumnalis* DeGeer and House fly, *Musca domestica* L. *J. Med. Entomol.* **31**: 671-680.
- Salt, R.W.** 1936. Studies on the freezing process in insects. Technical Bulletin 116. University of Minnesota Agricultural Experimentation Station.
- SAS Institute.** 1988. SAS/STAT User's Guide, Release 6.03. Ed. Cary, N.C.
- 신현열, 김창효, 박정규, 이유식. 1987. 담배거세미나방의 생태에 관한 연구. I. 남부지방에서의 발생소장, 작물별 유충의 발육, 용기간, 성충의 수명 및 산란. 농시논문집. **29**: 301-307.
- Sømme, L.** 1982. Supercooling and wintern survival in terrestrial arthropods. *Comp. Biochem. Physiol. [A]*. **73**: 519-543.
- Storey, K.B.** 1988. Suspended animation: the molecular control of metabolic depression. *Can J. Zool.* **66**: 124-132.
- Storey, K.B.** 1990. Biochemical adaptation for cold hardiness in insects. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* **326**: 635-654.
- Storey, K.B., J.G. Baust & J.M. Storey.** 1981. Intermediary metabolism during low temperature acclimation in the overwintering gall fly larvae, *Eurosta solidaginis*. *J. Comp. Physiol.* **144**: 183-190.
- Storey, K.B. & J.M. Storey.** 1990. Metabolic rate depression and biochemical adaptation in anaerobiosis, hibernation and estivation. *Quart. Rev. Biol.* **65**: 145-174.
- Zachariassen, K.E.** 1985. Physiology of cold tolerance in insects. *Physiol. Rev.* **65**: 799-832.

(1997년 5월 16일 접수, 1997년 8월 22일 수리)