

## 파밤나방 (*Spodoptera exigua* (Hübner))의 동위효소 유전좌위 분석

### Analysis of the Isozyme Loci of the Beet Armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner)

김용균 · 김경성  
Yonggyun Kim and Kyungseong Kim

**Abstract** – Number of loci, allele frequencies, and subunit structures of 17 kinds of isozymes were analyzed in a laboratory strain of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) to get genetic markers. These isozymes had 30 loci with 21 polymorphic (70.0% polymorphism); effective number of alleles per locus, average heterozygosity ( $H_e$ ), and inbreeding coefficient ( $F$ ) were 2.52, 32.8%, and 21.0%, respectively.

**Key Words** – *Spodoptera exigua*, Genetic variation, Isozyme

**초 록** – 파밤나방 (*Spodoptera exigua* (Hübner))의 유전자표를 결정하기 위해 17종 동위효소의 좌위수, 대립유전자빈도 및 각 효소의 4차구조가 분석되었다. 총 분석된 좌위수는 30개였으며 이중 70.0%가 다형유전좌위를 보였다. 좌위당 유효대립유전자수는 1.72개였고 평균이형접합율 ( $H_e$ )은 32.8%로 추정되었다. 조사된 집단의 동계교배효과 ( $F$ )는 21.0%이었다.

**검색어** – 파밤나방, 유전변이, 동위효소

동위효소(isozyme)는 같은 효소활성을 나타내지만 분자구조를 달리하여 전기영동상에 다형을 보이는 단백질군(Markert & Moller, 1959)으로서 특별히 대립유전자간에 전기영동상에서 표현될 때 공우성을 보여 쉽게 유전자형을 파악할 수 있는 장점을 가짐으로 집단 유전변이 연구에 널리 이용되어 왔다(Buth, 1984).

파밤나방(*Spodoptera exigua* (Hübner))은 기주범위가 매우 넓으며 열대 및 아열대를 통해 전세계적으로 분포하고 있는 해충이다. 이 해충은 기존의 살충제에 대해 생리적, 생태적 및 생화학적 저항성 기작을 발현시켜 방제에 큰 어려움을 주고 있다. 그러나 약제 저항성의 정도가 지역적, 시기적으로 다양함을 보여 준다(김 등, 1997). 또 우리나라에서는 이 해충의 월동기작에 관해 알려져 있으나(Kim & Kim, 1997) 어느 정도의 규모가

국내 월동하여 매년 이주해오는 집단과 혼재하는 지가 알려져 있지 않다. 이러한 집단 변동에 관한 의문점을 해결하기 위해서는 파밤나방의 유전적 지표들이 결정되어야 한다.

곤충의 이동경로를 결정하기는 매우 어렵다. 개체들을 표시하고 재채집(mark & recapture)하는 방법으로 성공한 예(Urquhart 1960, Kuang-Po *et al.*, 1964)도 일부 있지만 광범위한 지역에 분포하는 커다란 집단들의 경우에는 부적합하고 이러한 경우 집단간 유전분석이 더욱 적합하겠다. 서로 떨어져 있는 다른 집단이 유전적으로 유사하다면 이 두 집단간에는 이주에 따른 상호교잡이 가능하거나 또는 최근에 분리된 집단들이라 여겨질 수 있다.

몇몇 이주하는 해충의 집단간 유전변이가 전기영동방

법으로 분석되었다. 옥수수잎진딧물 (*Rhopalosiphum maidis* (Fitch))의 경우 미국의 Illinois 집단과 중남부지역 집단간에 몇몇 유전자좌위에서 차이를 보여 이들 집단이 유전자교환이 일어나지 않음을 밝혔다(Steiner *et al.*, 1985). 밤나방의 일종인 *S. exempta* (Walker)는 4000 km 떨어진 집단간에 6개 유전자좌위에서 같은 변이를 일으켜 두 집단은 상호 교잡함을 증명하였다(Den Boer, 1978). 비슷한 결론이 미국과 동북부 멕시코의 *Heliothis virescens* (F.) 두 집단간에 나타났다(Sluss & Graham, 1979). Pashley (1986)는 11개의 다형을 보이는 동위효소를 이용하여 *S. frugiperda* (J.E. Smith)의 집단들이 기주에 따라 유전적 변이를 보임을 증명하였다.

본 연구에서는 이러한 동위효소 유전자표인자를 결정

하는 것이 주요 목적이며 이러한 동위효소를 분석하는데 일반적으로 수평전분젤을 이용하나 한꺼번에 100개 이상의 시료를 분석하기 위해 Black & Krafur (1984)가 개발한 냉각장치가 수반된 수직 polyacrylamide젤이 이용되었다.

## 재료 및 방법

### 시험 곤충

안동시 송천동 파밭에서 채집한 파밤나방을 인공사료(고, 1993)로 실내에서 약 20세대 누대 사육하였다. 사육상자의 온도는  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 광주기는 16:8h(L:D) 이

Table 1. Enzyme loci of *S. exigua*

Enzymes	Loci		Larva (L) # Adult (A)	Genome	Subunit structure	
	EC #	Symbol				
aconitase	4.2.1.3	ACO	L	24	monomer	P <sup>2</sup>
acid phosphatase	3.1.3.2	ACP1	L	110	dimer	P
		ACP2	L	56	dimer	P
		ACP4	A	112	monomer	M
		ADH1	A	45	monomer	P
alcohol dehydrogenase	1.1.1.1	ADH2	L	45	- <sup>1</sup>	M
		ALD	L	24	monomer	P
aldolase	4.1.2.13	ALD	L	24	monomer	P
amylase	3.2.1.-	AMY1	A, L	84	-	M
		AMY2	A, L	31	monomer	P
aldehyde oxidase	1.2.3.1	AOX1	L	46	monomer	P
		AOX2	L	109	monomer	P
		AOX3	A	112	-	P
diaphorase	1.6.2.2	DIA1	A, L	212	-	M
		DIA2	A, L	212	monomer	P
esterase	3.1.1.1	ESTIII1	A	28	dimer	P
		ESTIII2	A	28	dimer	P
fructose-1,6-bisphosphatase	3.1.3.11	FBP1	A	28	tetramer	P
		FBP2	A	28	-	M
glucose-6-phosphate dehydrogenase	1.1.1.49	G6PDH	A, L	163	dimer	P
hexokinase	2.7.1.1	HK1	A, L	280	monomer	M
		HK2	A, L	252	monomer	M
isocitrate dehydrogenase	1.1.1.42	IDH	A	56	-	M
octanol dehydrogenase	1.1.1.73	ODH	A, L	28	dimer	P
6-phosphogluconate dehydrogenase	1.1.1.44	6-PGD	A	28	dimer	P
phosphoglucoisomerase	5.1.3.9	PGI1	L	71	monomer	M
		PGI2	A	112	monomer	P
phosphoglucomutase	2.7.5.1	PGM	A, M	138	monomer	P
shikimate dehydrogenase	1.1.1.25	SKDH1	A	28	monomer	P
		SKDH2	A	27	monomer	P
		SKDH3	A	28	monomer	P

<sup>1</sup> undecided because of complete monomorphism or too high complexity.

<sup>2</sup> 'P' and 'M' represent polymorphism and monomorphism, respectively.

었다. 산란상자에는 10% sucrose를 공급하였다.

**동위효소분석**

유충(3령충)은 100 µl, 성충은 날개를 제거한 후 300 µl의 grinding buffer (40% sucrose, 0.1% bromophenol blue, 0.04% basic fuchsin, 1.54% dithiothreitol, 0.372 % EDTA, 0.125 mM Tris-HCl, pH 8.3)로 분쇄 후 15,000 rpm에서 5분간 분리하여 상등액을 동위효소분석용 시료로 이용하였다. 전기영동은 0.05 M Tris-glycine buffer (pH 8.3) system의 10% 비변성 polyacrylamide gel (Davis 1961)에서 300 V 전압고정상태로 tracking dye가 바닥까지 이동할 때까지 진행되었다. 전기영동후 각 동위효소는 Black & Krafur (1985)와 Hillis & Moritz (1990)방법으로 염색하였다.

**통계분석**

유전변이정도인  $H_e$ 는 완전임의교미조건하에서 기대되는 이형접합자율을 의미하는데 이  $H_e$ 의 값과 분산은 Nei (1975) 방법으로 산출하였다. 관찰된 표본중의 이형접합율( $H_o$ )은 총 표본수 중 이형접합자의 빈도로 산출되었다. 유전자 좌위당 평균 이형접합자율은 모든 유전자 좌위에서 나타난 총 대립유전자수를 총 유전자좌위수로 나눈 값으로 산출했다. 유전자좌위당 유효 대립유전자수( $n_e$ )는 Nei (1975) 공식으로, 동계교배계수( $F$ )는 Li와 Horvitz (1953)의 공식으로 산출하였다.

**결과 및 고찰**

파밤나방의 유전지표로서 17종의 동위효소가 분석되었다 (Table 1). 이들 동위효소는 파밤나방의 발육시기와 먹이에 따라 변이를 보일 가능성 (Harris & Hopkinson, 1976)이 있으므로 먹이는 인공사료로 하였으며 발육시기는 유충과 성충으로 구분하여 각각 효소를 추출하여 분석했다. 조사된 동위효소들은 일반적으로 발육시기에 따라 유전자빈도가 큰 차이를 보이지 않은 반면 PGM의 경우 2개의 대립유전자가 각각 유충과 성충에 특이적임을 보였다. 모든 효소의 이름과 코드번호는 국제생화학협회의 기준 (IUBNC, 1984)을 따라 명명되었다. 이중 기질에 대한 반응에 따라 여러 코드를 가지는 효소인 AMY는 본 결과만으로 판정하기 곤란했다.

조사된 30개의 동위효소좌위의 4차구조 및 유전자의 다형현상이 판별됐다 (Table 1). 각 효소들의 4차구조는 이미 다른 종에서 보고된 이들의 일반적인 4차구조 (Harris & Hopkinson, 1976; Hillis & Moritz, 1990)와 거의 동일했다. 그러나 ADH1과 ALD이 일반적으로 dimer나 tetramer로 보고되었으나 파밤나방에서는 모두

monomer형태로 나타났다. 이러한 차이가 본래 파밤나방의 특수성인지 아니면 분석된 buffer차이에 따른 것인지는 더욱 조사되어야 한다.

일반적으로 나비목에 속한 종들이 높은 유전자변이를

Table 2. Genetic statistics of *S. exigua*

Locus	# Genome	# Allele	$n_e^1$	$H_o^2$	$H_e^3$	$F^4$	
ACO	24	3	2.72	0.500	0.633	0.210	
ACP1	110	2	1.92	0.755	0.478	-0.579	
ACP2	56	2	1.79	0.625	0.442	-0.414	
ACP4	112	2	1.04	0.018	0.035	-	
ADH1	45	3	1.46	0.244	0.317	0.230	
ADH2	45	1	1.00	0.000	0.000	-	
ALD	24	3	2.90	0.208	0.655	0.682	
AMY1	84	1	1.00	0.000	0.000	-	
AMY2	31	2	1.99	0.742	0.498	-0.490	
AOX1	46	2	1.49	0.196	0.328	0.402	
AOX2	109	3	2.22	0.257	0.549	0.532	
DIA1	212	1	1.00	0.000	0.000	-	
DIA2 (L)	100	6	2.90	0.500	0.655	0.237	
DIA2 (A)	112	6	2.50	0.250	0.595	0.580	
ESTIII1	28	3	1.62	0.179	0.383	0.533	
ESTIII2	28	3	2.56	0.321	0.610	0.474	
FBP1	28	2	1.88	0.607	0.404	-0.502	
FBP2	28	1	1.00	0.000	0.000	-	
G6PDH (L)	51	2	1.78	0.569	0.438	-0.299	
G6PDH (A)	112	2	1.08	0.063	0.077	0.182	
HK1 (L)	140	3	1.05	0.021	0.049	-	
HK1 (A)	112	3	1.10	0.098	0.094	-	
HK2 (L)	140	2	1.05	0.050	0.049	-	
HK2 (A)	112	2	1.06	0.018	0.053	-	
IDH	56	1	1.00	0.000	0.000	-	
ODH	28	2	1.77	0.143	0.436	0.672	
6-PDH	28	4	3.33	0.679	0.699	0.029	
PGI1	71	2	1.09	0.056	0.080	-	
PGI2	112	5	2.00	0.152	0.500	0.696	
PGM (L)	82	3	1.52	0.000	0.343	1.000	
PGM (A)	56	3	1.17	0.125	0.147	0.150	
SKDH1	28	3	1.75	0.286	0.428	0.332	
SKDH2	27	3	2.71	0.185	0.631	0.707	
SKDH3	28	3	2.15	0.821	0.536	-0.532	
mean			2.52	1.72	0.255	0.328	0.210
SD			1.15	0.68	0.256	0.007	-

<sup>1</sup> Effective number of alleles (Nei, 1975).

<sup>2</sup> Observed heterozygosity (Nei, 1975).

<sup>3</sup> Expected heterozygosity (Nei, 1975).

<sup>4</sup> Inbreeding coefficient which is calculated only in polymorphic loci by a formula provided by Li & Horvitz (1953).

보인다(Graur, 1985). 이러한 경향은 파밤나방에서 예외가 아니었다. 조사된 30개의 좌위중 21개가 다형이어서 70%의 다형율을 보였다(Table 1). 유충과 성충을 나누어서 분석된 총 34개 동위효소좌위중 25.5%의 이형접합율이 관찰되었고 이는 임의 교배를 가정하였을 때 평균이형 접합율이 32.8%로 추정된다(Table 2). 이는 일반적인 곤충의 유전자변이에 비해 매우 높은 수치로서(Nevo, 1978) 이동 해충으로서 파밤나방이 집단간 상당한 유전자 흐름이 있었으리라 사료된다.

다형현상을 보이는 23개 좌위에서 동계교배에 따른 이형접합자의 부족  $(F)=1-(H_o/H_e)=0.21$ 로 나타났다. 이는 우선 조사된 실내 파밤나방 집단이 임의 교배되지 않음을 의미하거나 또는 편중된 적은 표본수에 따른 소규모집단에서 나타나는 Wahlund 효과에 기인될 수 있다(Hartl & Clark, 1989). 34개 동위효소중에서 발육시기에 따른 구분없는 29개 좌위에서 좌위당 평균 2.52개의 대립유전자가 관여했으며 이중 평균 1.72개의 유효대립유전자가 실제로 유전자변이에 관여했다.

이상의 동위효소분석은 파밤나방 집단에 있어 상당한 유전변이를 나타내며 본 결과로 얻어진 동위효소의 유전지표가 야외의 파밤나방 집단간 분석에 이용되어 이동해충의 집단간 변이와 이동에 연구될 수 있을 것이다.

## 사 사

이 연구를 수행하는 과정에서 실험곤충의 사육에 도움을 준 안동대학교 곤충생리실 실원인 송원례, 이준익에게 감사드린다. 본 연구는 한국과학재단 핵심전문연구사업(961-0603-025-1)의 연구비 지원으로 수행되었다.

## 인 용 문 헌

- Avise, J.C. & N.C. Saunders, 1984. Hybridization and introgression among allozyme makers. *Genetics* 108: 237~255.
- Black, IV, W.C. & E.S. Krafur. 1984. Vertical slab gel electrophoresis on a large number of samples: An apparatus with the capacity for central cooling. *Anal. Biochem.* 138: 210~216.
- Black, IV, W.C. & E.S. Krafur. 1985. Electrophoresis analysis of genetic variability in the house fly (*Musca domestica* L.). *Biochem. Genet.* 23: 193~203.
- Buth, D.G. 1984. The application of electrophoretic data in systematic studies. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 15: 501~522.
- Den Boer, M.H. 1978. Isoenzymes and migration in the African armyworm, *Spodoptera exempta* (Lepidoptera, Noctuidae). *J. Zool.* 185: 539~553.
- Graur, D. 1985. Gene diversity in Hymenoptera. *Evolution* 39: 190~199.
- Harris, H. & D.A. Hopkinson. 1976. *Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics*. North-Holland, Amsterdam.
- Hartl, D.L. & A.G. Clark. 1989. *Principles of population genetics* (2nd Ed.). Sinauer Associates, MA.
- Hillis, D.M. & C. Moritz. 1990. *Molecular systematics*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- IUBNC (International Union of Biochemistry, Nomenclature Committee). 1984. *Enzyme nomenclature 1984*. Academic Press, Orlando, FL.
- Kim, Y. & N. Kim. 1997. Cold hardiness of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera : Noctuidae). *Environ. Entomol.* 26: 1117~1123.
- 김용균, 이준익, 강성영, 한상찬. 1997. 파밤나방 (*Spodoptera exigua* (Hübner))의 살충제 감수성 변이-에스테라제와 아세틸콜린에스테라제 활성. *한응곤지* 36: 172~178.
- 고현관. 1993. 채소의 주요해충인 파밤나방의 생태학적 특성. 박사학위논문. 충북대학교.
- Kuang-Po, L., W. Hong-hsiang. & W. Wan-Sei. 1964. Route of the seasonal migration of the oriental armyworm moth in the eastern part of China as indicated by a three year result of releasing and recapturing of marked moths. *Acta Phytopy. Sin.* 3: 101~110.
- Li, C.C. & D.G. Horvitz. 1953. Some methods of estimating the inbreeding coefficient. *Am. J. Hum. Genet.* 5: 102~
- Markert, C.L. & F. Moller. 1959. Multiple forms of enzymes: Tissue, ontogenetic, and species-specific patterns. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 45: 753~763.
- Nei, M. 1975. *Molecular population genetics and evolution*. North-Holland, Amsterdam.
- Nei, M. & R.K. Kohen. 1983. *Evolution of genes and proteins*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Nevo, E. 1978. Genetic variation in natural populations: Patterns and theory. *Theor. Pop. Biol.* 13: 121~177.
- Pashley, D.P. 1986. Host associated genetic differentiation in fall armyworm (Lepidoptera : Noctuidae): A sibling species complex? *Ann. Entomol. Soc. Am.* 79: 898~904.
- Sluss, T.P. & H.M. Graham. 1979. Allozyme variation in natural populations of *Heliothis virescens*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 72: 317~322.
- Sperling, F.A.H. 1994. Sex-linked genes and species differences in Lepidoptera. *Can. Entomol.* 126: 807~818.
- Steiner, W.W.M., D.J. Voegtlin & M.E. Irwin. 1985. Genetic differentiation and its bearing on migration in North American populations of the corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) (Homoptera : Aphididae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 78: 518~525.
- Wright, S. 1938. Size of population and breeding structure in relation to evolution. *Science* 87: 430~431.

(1997년 7월 4일 접수, 1998년 1월 15일 수리)