

배추좀나방 (나비목: 집나방과)의 haplotype 다양성과 유전자 이동을

Haplotype Diversity and Gene Flow of the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae), in Korea

김익수 · 배진식 · 최광호 · 진병래 · 이경로¹ · 손홍대
Iksoo Kim, Jin-Sik Bae, Kwang-Ho Choi, Byung-Rae Jin,
Kyung-Ro Lee¹ and Hung-Dae Sohn

Abstract – A portion of mitochondrial COI gene (438 bp) was sequenced from the samples of *Plutella xylostella* from four localities in Korea to investigate the population genetic structure and characteristics by measuring the magnitude of genetic diversity and the degree of gene flow among populations. Thirteen haplotypes ranging in nucleotide divergence 0.3% to 1.4%, were obtained from 21 individuals. The nucleotide divergence was similar to the other related studies, but haplotype diversity was substantially higher (mean $h = 0.81$). The genetic distance among geographically remote Cheju Island population and the two Kimhae populations, distant 11km to each other, was not statistically significant ($p < 0.05$). Instead, a substantial or high female gene flow was detected ($Nm = 2-30$). One Hawaiian haplotype of the diamondback moth obtained through GenBank search also was genetically similar to the ones obtained from this study. Collectively, the genetic population structure of the diamondback moth in Korea can be characterized into two aspects. First, the diamondback moths in Korea possesses overall moderate genetic divergence based on a high number of haplotypes. Second, a high haplotype diversity within each population due to the long distance dispersal with a substantial dispersal power and the resultant genetic similarity among geographic populations is characteristic.

Key Words – Diamondback moth, mtDNA, COI gene, Population genetic structure, Haplotype diversity, Gene flow

초 록 – 국내 4개 지역으로부터 채집된 배추좀나방 (*Plutella xylostella*)의 미토콘드리아 DNA 중 COI 유전자 일부 (438 bp)의 염기서열을 결정, 유전적 다양도 및 유전자 이동정도를 파악함으로써 집단 유전적 구조 및 특성에 대하여 연구하였다. 총 21개체로부터 13개의 mtDNA haplotype을 얻었으며 이들의 변이는 0.3~1.4%로 다른 곤충을 대상으로 한 유사연구와 비슷한 크기를 나타내었으나 haplotype 다양도는 매우 높았다 (평균 $h = 0.81$). 지리적으로 먼 제주도의 개체군과 경남 김해 두 지역 (11 km 거리)의 개체군을 비교한 결과, 통계적으로 유의한 정도의 유전적 격리 ($p < 0.05\%$)는 전혀 관찰되지 않았으며, 대신 상당한 정도의 세대당 암컷 이동률 ($Nm = 2-30$)을 보였다. 또한 GenBank에 등록된 하와이의 배추좀나방 haplotype은 본 연구에서 얻은 것들과 유전적으로 흡사하였다. 종합적으로, 국내 배추좀나방은 전체적으로는 많은 haplotype 수에 기인한 적절한 크기의 유전적 분화율을 보유하고 있으며 국지적으로는 상당한 이동력에 의한 장거리 이동으로 개체군

동아대학교 생명자원과학대학 (College of Natural Resources and Life Science, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea)

¹ 건국대학교 이과대학 생물학과 (Dept. of Biology, Kon-Kuk University, Seoul 143-701, Korea)

내 높은 haplotype 다양도를 보이며 동시에 지역간의 유전적 유사성을 나타낸다고 요약되었다.

검색어 - 배추좀나방, 미토콘드리아 DNA, COI gene, 유전적 집단구조, Haplotype 다양도, 유전자 이동

생물 자연집단의 지역적 구조에 대하여 분자표식을 통한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 일반적으로 자연집단의 유전적 구조는 이주 또는 유전자 이동, 무작위적인 유전자 표류, 여러 가지 양상의 자연선택, 돌연변이, 교배체계에 따른 유전적 재조합 등에 의하여 결정된다고 알려져 있다. 예를 들면, 곤충이나 새 등 비교적 자유롭게 움직이는 동물들은 일부 양서류 등 거주성의 생물에 비해 평균적으로 유전적 구조가 간단하다고 알려져 있다 (Ward *et al.*, 1992). 이러한 일반적 범주는 다시 각 종 고유의 생물, 생태 또는 생물 역사적 요인들과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다 (Avice, 1994).

곤충에 있어서는 상당히 높은 이동능력, 신속한 성적 성숙, 빠른 세대교체, 온도조건의 호전에 따른 급속한 집단성장률 등이 집단구조에 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며 이들 요인들과 함께 공간 및 계절 등의 시간적 격리에 의한 영향 또한 상당히 큰 것으로 알려져 있다 (Tamura *et al.*, 1991). 해충은 이러한 요인들과 더불어 농약의 사용으로 인한 집단의 감소, 저항성 개체의 출현, 이들의 이주 및 정착 등 추가적인 요인들이 존재하고 있는 것으로 알려져 있다 (Roderick, 1996). 예를 들면, 과거 정착성을 가진 것으로 알려진 호주의 *Helicoverpa armigera*는 특별한 환경에서는 상당한 이동력을 갖게 되는데 이러한 특성은 DDT 저항성 개체의 지역적 확산과 이에 따른 *H. armigera*의 번성과 밀접한 관련이 있음이 보고된 바 있다 (Daly and Gregg, 1985). 그러나 지역에 따라 농약의 종류, 살포시기, 양이 달라짐에 따라 선택압의 지역적 차이가 존재하므로 (Lee *et al.*, 1993) 자연선택과 이동 등의 복합적 요인으로 인하여 지역적 해충집단의 유전적 구조를 예측하기란 매우 어려운 실정이다.

배추좀나방 (*Plutella xylostella*)은 세계적으로 널리 분포하며 십자과 식물에 심한 피해를 주는 나비목 곤충으로 이 해충의 유충에 의한 피해는 연간 10억불에 이르고 있는 실정이다 (Talekar and Shelton, 1993). 1953년 자매종인 *P. maculipennis*는 세계 최초로 DDT 저항성을 가진 해충으로 지목되었으며 (Johnson, 1953) 이후 *Bacillus thuringiensis*에 대한 저항성을 가진 첫 번째 해충으로 밝혀졌다 (Tabashnik *et al.*, 1990). 동위효소 (allozyme)를 이용한 연구 결과, 이 해충은 유전적 표류에 의한 유전적 격리를 극복할 수 있는 이동성을 가진 것으로 알려져 있는 반면 (Caprio and Tabashnik, 1992a), 짧은 거리에서도 집단간 큰 농약저항성의 차

이가 존재하여 농약저항성이 이주라는 요인보다 크게 작용한다는 보고가 있다 (Caprio and Tabashnik, 1992b). 해충의 농약저항성에 관여하는 것으로 알려진 sodium channel 유전자좌를 이용한 유전적 분화 정도의 측정 결과, 동위효소에 의한 연구 결과보다 훨씬 복잡한 지역적 구조를 나타내어 배추좀나방의 집단 유전적 구조는 이동과 함께 선택 또한 중요한 요인으로 알려져 있다 (Roderick, 1996).

본 연구는 mtDNA의 cytochrome oxidase subunit I (COI) 유전자의 일부 염기서열을 이용하여 한국내 배추좀나방 (*Plutella xylostella*) 집단의 유전적 변이의 크기와 특성, 집단간의 이동양상 등에 대하여 연구하였다.

재료 및 방법

실험곤충

본 연구에 사용된 배추좀나방 (*Plutella xylostella*)은 1999년 5월 12일부터 6월 3일까지 경기도 수원, 경남 김해시 초정리와 죽림, 제주도 고성리의 배추밭에서 채집되었다 (그림 1). 곤충채집망을 이용, 한 포장 내에서 약 3 meter 당 한 개체씩을 채집하였다. 경기도 수원 개체는 농업과학기술원으로부터 계대사육 중인 두 개체를 얻어 사용하였다. 채집된 개체는 DNA 추출시까지 냉동 (-70°C) 보관하였다.

미토콘드리아 DNA 증폭 및 염기서열 결정

냉동 보관중인 배추좀나방으로부터 phenol-chloroform-isoamyl alcohol과 Proteinase K를 사용하는 방법으로 total DNA를 추출하였다 (Kocher *et al.*, 1989). MtDNA의 COI 유전자 438 염기 (bp)의 증폭을 위하여 초파리 (*Drosophila yakuba*)의 mtDNA의 염기서열을 이용, primer set를 제작하였으며 (Simon *et al.*, 1994) 이들의 염기서열은 다음과 같다. C1-J-1718, 5'-GGAGC-TCTGACATAG CATTCCC-3' 및 C1-N-2191, 5'-CC-CGGTAAATTTAAAATATAAACTTC-3'. PCR 증폭은 genomic DNA를 먼저 94°C에서 7분간 denaturing한 후 35 cycle 동안 92°C에서 1분간 denaturing, 50°C에서 1분간 annealing 그리고 72°C에서 2분간의 extension을 반복하였다. 마지막 cycle에서의 extension 과정은 총 9분간 실시하였다.

성공적인 PCR 증폭의 확인을 위하여 0.7% agarose gel에서 0.5% TAE buffer를 사용, 약 40분 동안 전기

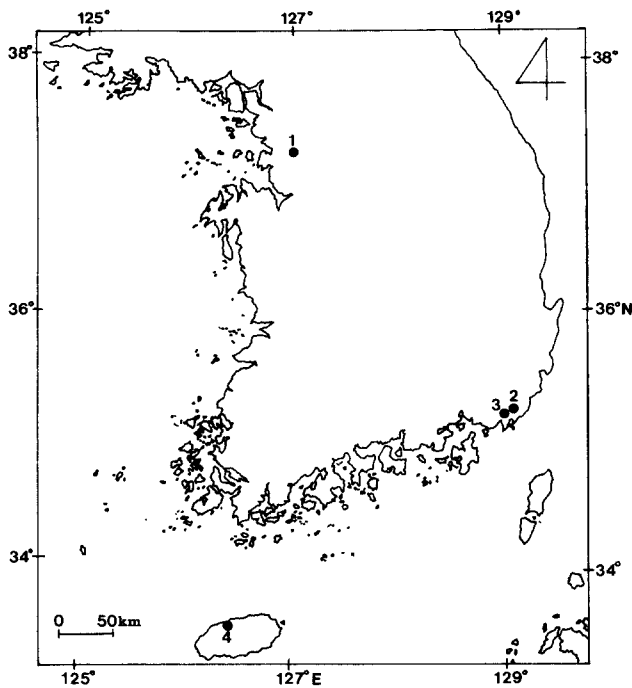


Fig. 1. Sampling locations of the diamondback moth, *P. xylostella*, in Korea. General locality names are as follows: 1, Suwon, Kyunggi Province; 2, Chojunglee, Kimhae City, Kyungsangnam Province; 3, Jukrim, Kimhae City, Kyungsangnam Province; and 4, Kosunglee, Cheju Province.

영동을 실시하였다. 여분의 primer와 nucleotide를 제거하기 위하여 PCR Purification Kit (QIAGEN, Germany)를 사용하였다. DNA 염기서열 분석은 ABI 310 Genetic Analyzer (PE Applied Biosystems, CA)의 short capillary를 사용하여 염기서열을 파악하였다. 얻어진 각 개체의 염기서열은 IBI MacVector (ver. 6. 1)를 이용하여 정렬하였으며 각 개체로부터 새로운 염기서열을 얻는 대로 haplotype의 번호를 부여하였다.

유전적 다양도 지수

각 집단의 유전적 변이의 크기와 유형을 파악하기 위하여 집단내 haplotype간의 최대 염기서열 변이, 집단내 haplotype사이의 평균 염기수 차이, haplotype 다양도, nucleotide 다양도 등을 Arlequin ver. 1.1 (Schneider et al., 1996)을 사용하여 구하였다. 집단내 haplotype간의 평균 염기수 차이는 두 haplotype이 분화된 이래 발생했을 것으로 추정되는 돌연변이 수와 이 계산에 연루된 haplotype의 발생 빈도를 고려한 가운데 집단내의 모든 haplotype 사이의 짝짓기 비교 결과에 의해 발생하는 염기수의 평균 차이를 측정하여 계산하였다. 집단내의 nucleotide 다양도는 두 개의 무작

위로 선택한 haplotype이 다를 확률을 계산하는 방식으로 계산되었다 (Nei, 1987). 경기도 수원 시료는 계대사육 중인 개체들로 집단유전학적 분석에서 제외하였다. 또한 통계적 신뢰도를 높이기 위하여 집단의 분석은 4개체 이상이 채집된 지역만을 실시하였다.

집단간 유전적 거리, 유전자 이동률

집단간의 유전적 거리 (F_{ST}) 및 이동률 (Nm)은 Excoffier 등 (1992)에 기술된 방법대로 Arlequin ver. 1.1 (Schneider et al., 1996)을 사용하여 구하였다. 각 집단 사이의 유전적 차이에 대한 통계적 유의 정도는 permutation test에 의해 구하였다 (10,000 bootstraps; Excoffier et al., 1992). 집단간의 F_{ST} 수치는 세대당 암컷의 이동률 Nm 을 구하기 위하여 사용되었으며 이를 위한 공식은 $F_{ST} = 1/(2Nm + 1)$ 이었다. F_{ST} 수치는 분화 시간에 따른 직선적 증가를 나타내지 않는다. 그래서 돌연변이율이 낮고 분화의 시간이 비교적 짧을 것이라는 가정하에서 직선화가 가능한데, 이러한 가정하에서 사용되는 공식은 $D = -\log(1 - F_{ST})$ 로 D 는 시간의 분화 정도에 따른, 대략적으로 직선적인 공동조상 계수다 (Reynold et al., 1983).

결 과

COI 유전자 염기서열 분석

경기도 수원, 경남 김해시 초정리와 죽림, 제주도 고성리에서 채집한 배추좀나방 21마리의 COI 유전자 일부 (438 bp)의 염기서열을 파악한 결과, 13개의 haplotype을 얻었다 (그림 2; DB1-DB13). 이들 haplotype의 염기서열을 정렬한 결과, 13개의 염기자리에서 치환이 발견되었으며 그 중 12개는 transition 치환이었으며 312번 염기위치만이 transversion 치환 ($A \leftrightarrow C$)이었다. 코돈 위치별 치환을 살펴본 결과, 모든 경우 세 번째 위치에서의 치환만이 발견되어 haplotype 사이의 아미노산 변이는 발견되지 않았다. 하와이에서 채집된 *P. xylostella*의 염기서열 (Chang et al., 1997; GenBank accession number AF19040)을 본 연구의 13개 haplotype과 함께 정렬한 결과, 46번 염기자리에서 유일한 치환이 발견되었으며 이는 transversion 치환으로 코돈의 첫 번째 위치에 해당하나 같은 leucine ($TTA \rightarrow CTA$)을 지정하였다.

Haplotype의 지역적 분포

Haplotype의 지역적 분포와 개체수는 표 1에 나타내었다. 대부분의 haplotype은 지역적으로 극히 제한되어 각 지역에서 지역 특유의 haplotype이 단지 한 개체에서 발견되었으나 예외적으로, DB1 haplotype은 총 21개체 중 6개체 (28.6%)로 초정리, 죽림, 고성리

		30		60
DB01	CGAATAAATA ATATAAGATT	CTGACTACTT	CCCCCTCAT	TAACTTATT AATTTCCAGA
DB02	T.....
DB03
DB04	T.....
DB05	T.....
DB06	T.....
DB07	T.....
DB08	T.....
DB09	T.....
DB10	T.....
DB11	T.....
DB12	T.....
DB13	T.....
AF19040	NNNNNNNNN NNNNNNNNN	NNNNNNNN..C.....

		90		120
DB01	AGAATGTGTG AAAATGGAGC	AGGTACTGGA	TGAACTGTTT	ATCCTCCTTT ATCTTCAAAT
DB02
DB03
DB04
DB05G
DB06
DB07
DB08
DB09
DB10
DB11
DB12
DB13
AF19040

		150		180
DB01	ATCGCTCATA GAGGAAGATC	TGTCGATTTA	GCTATTTTTT	CCTTCATTT AGCCGGTATT
DB02
DB03
DB04
DB05	..T.....
DB06
DB07	..T.....
DB08
DB09T.....
DB10
DB11
DB12C.....
DB13
AF19040T.....

		210		240
DB01	TCTTCAATTT TAGGGGCAAT	TAATTTTATT	ACGACTATTA	TTAATATAAA AAGAAATGGA
DB02A.....
DB03A.....
DB04A.....
DB05A.....
DB06A.....
DB07A.....
DB08
DB09A.....
DB10
DB11
DB12
DB13
AF19040

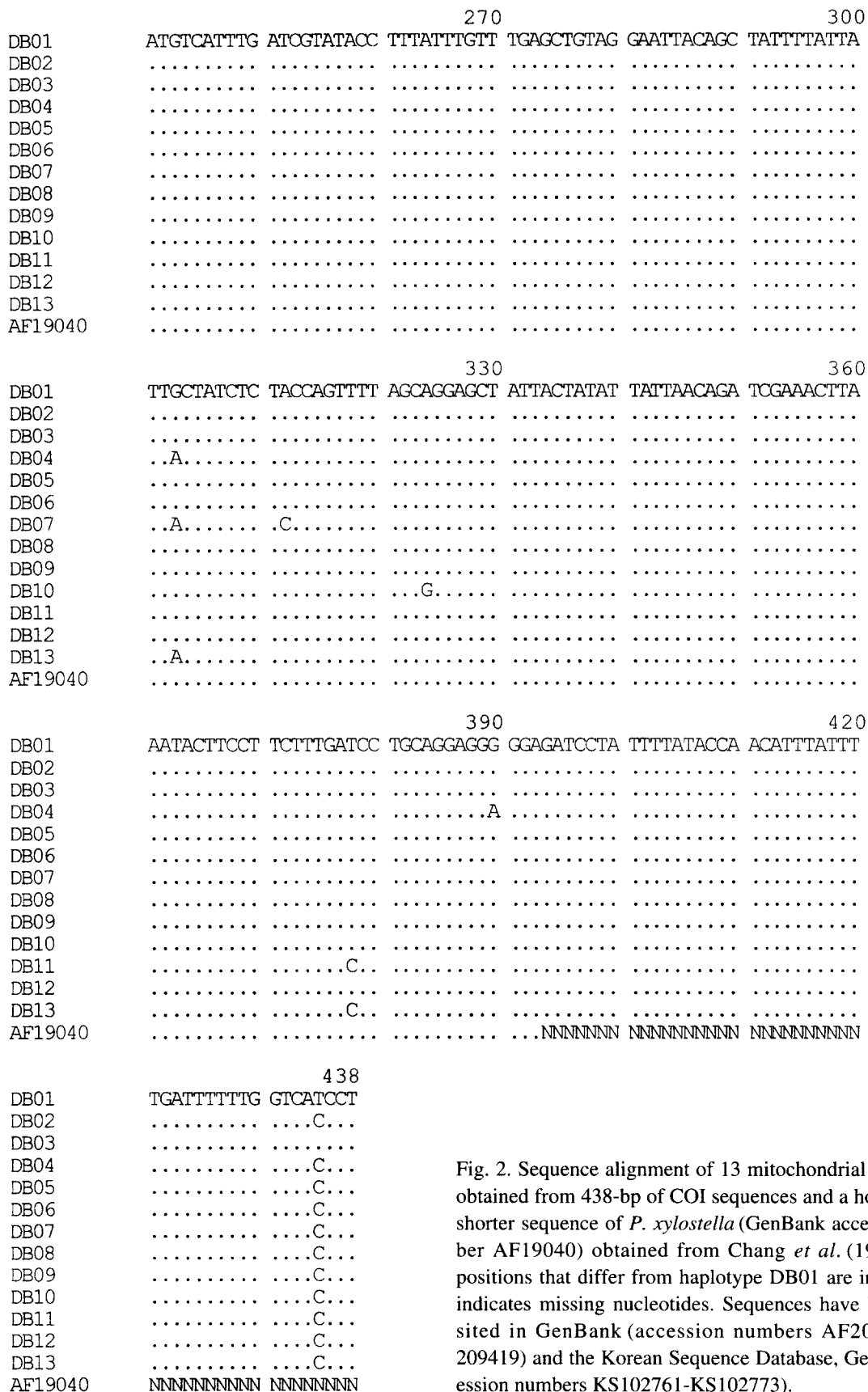


Fig. 2. Sequence alignment of 13 mitochondrial haplotypes obtained from 438-bp of COI sequences and a homologous, shorter sequence of *P. xylostella* (GenBank accession number AF19040) obtained from Chang *et al.* (1997). Only positions that differ from haplotype DB01 are indicated. N indicates missing nucleotides. Sequences have been deposited in GenBank (accession numbers AF209407-AF-209419) and the Korean Sequence Database, GenNuri (accession numbers KS102761-KS102773).

Table 1. A list of trapping localities, animal numbers, sex, mitochondrial COI haplotypes, and estimates of genetic diversity in each population

Collecting locality (no. of individuals)	Collection date	Animal number	Sex	COI haplotype	h^1	MSD (%) ²	MPD ³	π^4
1. Suwon, Kyunggi Province (2)	99. 5. 22	S1	M	DB3	NA	NA	NA	NA
		S4	M	DB3				
2. Chojunglee, Kimhae City, Kyungsangnam Province (4)	99. 5. 12	D6	M	DB1	0.5	0.7	1.51	0.003
		D7	F	DB11				
		D8	M	DB1				
		D15	F	DB1				
3. Jukrim, Kimhae City, Kyungsangnam Province (7)	99. 5. 15	D19	M	DB4	1.0	1.4	3.75	0.009
		D20	M	DB1				
		D23	F	DB7				
		D24	M	DB13				
		D26	M	DB5				
		D28	F	DB2				
		D45	F	DB8				
4. Kosunglee, Cheju Province (8)	99. 6. 3	D56	M	DB9	0.93	0.9	2.41	0.005
		D57	F	DB1				
		D58	M	DB10				
		D59	F	DB2				
		D60	F	DB1				
		D70	F	DB2				
		D72	F	DB12				
		D73	M	DB6				

¹ Haplotype diversity² Maximum sequence divergence³ Mean number of pairwise differences⁴ Nucleotide diversity

NA, not available

등 광범위한 지역으로부터 발견되었으며 DB2 haplotype도 죽림(1개체) 및 고성리(2개체)에서 공통적으로 발견되어 본 연구에서 발견된 haplotype의 분포는 지역적 제한과 광범위한 공존으로 요약될 수 있다.

짜짓기 비교에 의한 변이율

본 연구로부터 획득된 13개의 haplotype사이의 염기치환은 1개(0.3%)부터 6개(1.4%)까지로 최대염기변이가 나타난 haplotype은 총 6개(DB1, 3, 4, 5, 7, 9; 표 2)이었다. 특히, 죽림의 경우, 7개의 haplotype 중 3개가 최대염기치환에 연루되었으며 DB4와 5는 모두 이곳에서 발견되어 이 지역에서의 큰 유전적 다양성을 암시하였다. 하와이 haplotype과의 비교시, 2개(0.5%)에서 6개(1.4%)의 치환을 나타내어 국내에서 발견된 haplotype과 특이한 차이점은 발견되지 않았다. 한편 하와이의 haplotype과 최대염기 변이는 DB7(김해시 죽림)과의 비교에서 나타났으며 반대로 최소의 염

기 치환수를 나타낸 haplotype은 모든 지역에서 발견된 DB1과의 비교에서 뿐만 아니라 죽림과 고성리에서 각각 발견된 DB8과 DB9와의 비교에서 나타났다.

유전적 다양도

각 집단내의 haplotype 다양도(h), haplotype사이의 최대 염기서열 변이(MSD), haplotype사이의 평균 염기수 차이(MPD), nucleotide 다양도(π) 순으로 표 1에 나타내었다. 김해시 초정리에서는 4마리로부터 2개의 haplotype을 얻어 haplotype 다양도 수치는 0.5로 나타났으나 김해시 죽림에서는 7마리로부터 7개의 haplotype을 얻어($h=1$) 최대의 haplotype 다양도 수치를 얻었고 제주도 고성리로부터 역시, 8개체로부터 6개의 haplotype을 얻어 여전히 높은 haplotype 다양도를 나타내었다. 이러한 결과는 최대 염기서열 변이, nucleotide 다양도, 평균 염기수 차이 등에도 반영되어 종합적으로 김해시 죽림 집단이 유전적으로 가장 큰 집단

Table 2. Pairwise comparisons among 13 haplotypes obtained from the partial sequences of mitochondrial COI gene and an internet down-loaded, homologous sequence of *Plutella xylostella* (AF19040)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1. DB01 (D8)	—	0.007	0.002	0.011	0.011	0.007	0.014	0.005	0.009	0.007	0.007	0.007	0.009	0.005	0.041
2. DB02 (D59)	3	—	0.009	0.005	0.009	0.005	0.011	0.002	0.002	0.005	0.005	0.005	0.007	0.007	0.039
3. DB03 (S4)	1	4	—	0.014	0.009	0.005	0.011	0.007	0.011	0.009	0.009	0.009	0.011	0.007	0.039
4. DB05 (D19)	5	2	6	—	0.014	0.009	0.011	0.007	0.007	0.009	0.009	0.009	0.007	0.011	0.039
5. DB06 (D26)	5	4	4	6	—	0.005	0.007	0.007	0.011	0.009	0.009	0.009	0.011	0.011	0.044
6. DB07 (D73)	3	2	2	4	2	—	0.007	0.002	0.007	0.005	0.005	0.005	0.007	0.007	0.039
7. DB08 (D23)	6	5	5	5	3	3	—	0.009	0.014	0.011	0.011	0.011	0.009	0.014	0.041
8. DB09 (D45)	2	1	3	3	3	1	4	—	0.005	0.002	0.002	0.002	0.005	0.005	0.041
9. DB10 (D56)	4	1	5	3	5	3	6	2	—	0.007	0.007	0.007	0.009	0.005	0.037
10. DB11 (D58)	3	2	4	4	4	2	5	1	3	—	0.005	0.005	0.007	0.007	0.044
11. DB12 (D7)	3	2	4	4	4	2	5	1	3	2	—	0.005	0.002	0.007	0.039
12. DB13 (D72)	3	2	4	4	4	2	5	1	3	2	2	—	0.007	0.007	0.044
13. DB14 (D24)	4	3	5	3	5	3	4	2	4	3	1	3	—	0.009	0.037
14. AF019040	2	3	3	5	5	3	6	2	2	3	3	3	4	—	0.037

Percent sequence divergence is presented above diagonals and their numbers of nucleotide differences are given below diagonals.

을 형성하고 있는 것으로 나타났다.

유전자 이동

집단씩 사이의 유전적 거리 (F_{ST}), 공동조상 계수 (D) 및 세대당 이동 암컷수 (Nm)는 표 3와 같다. 지리적으로 멀리 떨어진 제주도 고성리와 김해시 초정리 (F_{ST} = 0.148) 그리고 제주도 고성리와 김해시 죽림 (F_{ST} = 0.016) 사이의 유전적 거리는 근접한 죽림과 초정리 (11 km)보다 적었다 (F_{ST} = 0.181). 유전적 거리에 대한 통계적 유의성 검정결과, 통계적으로 유의한 정도 ($p < 0.05\%$)의 유전적 거리는 모든 경우에서 전혀 발견되지 않았다. 공동조상 계수 (0-1; 0 = 동일공동조상, 1 = 혈연적 무관)의 분석결과 역시, 이와 상응하여 고성리와 죽림 집단은 유전적으로 매우 흡사한 것으로 나타났다 (D = 0.017). 마지막으로, 집단간의 세대당 암컷의 이동정도를 분석한 결과, 제주도 고성리와 김해시

죽림사이에서의 Nm 은 약 30으로 높은 유전자 이동률을 나타내었다. 아울러 고성리와 초정리 및 죽림과 초정리 사이는 높지 않지만 상당한 이동률이 관찰되었다 (Nm = 2.89 또는 2.26).

고찰

유전적 분화율 및 haplotype 다양도

우리 나라에서의 배추좀나방의 유전적 집단구조는 먼저 적절한 크기의 유전적 분화율과 높은 haplotype 다양도로 요약될 수 있다. 개체간 최대 염기치환율은 차이는 1.4% (표 2)로 그 크기는 곤충이나 다른 동물의 종내 mtDNA 연구결과와 큰 차이가 없었다 (Kim, 1988; Kim *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 1999). 예를 들면, 세계 14개 지역에서 채집한 초파리 (*Drosophila melanogaster*)의 제한효소에 의한 mtDNA 분화율은 1.88% (Kim, 1988)이었으며 남미의 볼리비아, 브라질, 에콰도르, 베네주엘라에서 채집한 신열대구 모기인 *Anopheles rangeli*와 *A. trinkae*의 제한효소에 의한 mtDNA 분화율은 각 6% 및 1%이었다 (Conn *et al.*, 1997). 또한 COI gene을 이용한 잎말이나방과의 *Choristoneura fumiferana*의 유전적 분화율은 약 0.4% (Sperling and Hickey, 1994)이었으며 *Heliconius* 나비류는 0.5% (Brower, 1994)로 나타나 배추좀나방내 개체간의 nucleotide 분화율이 다른 곤충에 비해 특별히 낮다고는 할 수 없다. 이러한 결과는 농약 등이 개체군의 감소에 크게 기여해 왔으리라는 기대와 상반된 결과로, 농약 등이 개체군의 감소에 크게 기여해 왔다면 유전적

Table 3. Mitochondrial COI sequence data of genetic distance (F_{ST}), coancestry coefficients (D), and per generation female migration rate (Nm)

	1. Chojunglee	2. Jukrim	3. Kosunglee
1. Chojunglee		F_{ST} = 0.181 D = 0.200 Nm = 2.26	F_{ST} = 0.148 D = 0.160 Nm = 2.89
2. Jukrim			F_{ST} = 0.016 D = 0.017 Nm = 29.92

병목현상에 따른 낮은 유전적 분화정도가 기대된다고 할 수 있다.

따라서 일반적인 기대와는 달리 배추좀나방 집단이 적절한 크기의 유전적 분화율을 유지하는 데는 이에 상응하는 이유가 있을 것으로 추측할 수 있다. Haplotype 다양도(h)의 측정결과(표 1), 김해시 초정리의 h 는 0.5로 그 수치가 높다고는 할 수 없지만 단지 11 km 떨어진 김해시 죽림과 지리적으로 격리된 제주도 고성리는 그 수치가 아주 높게 나타나(각 1.0 또는 0.93) 우리 나라에 서식하는 배추좀나방은 큰 haplotype 다양도를 보유하고 있는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 다른 곤충의 연구결과와 다소 차이가 나는 결과이다. 예를 들면, 앞서 인용한 초파리(*D. melanogaster*)의 경우, 전세계 14개 지역의 시료로부터 얻은 유전자형이 단지 6개에 불과한데 비해(Kim, 1988) 본 연구 결과, 21개체에서 무려 13개의 haplotype이 발견되어 상당히 높은 haplotype 다양도를 보였으며 이러한 경향은 채집지역을 확대하였을 경우에도 마찬가지로 나타났다(Kim *et al.*, 미발표 문헌). 남미의 신열대구 모기 *A. rangeli*와 *A. trinkae*의 경우, 평균 haplotype 다양도(h)는 각 0.691과 0.599로(Conn *et al.*, 1997) 배추좀나방의 0.81에 못 미치는 실정이다. 특히 죽림의 경우 7마리의 배추좀나방으로부터 7개의 haplotype을 얻어 최고의 haplotype 다양도를 나타내었으며 이들간의 최대염기치환율 또한 1.4%로 본 연구 전체의 유전적 크기에 상응한다. 이러한 결과로 미루어 배추좀나방에서의 적절한 크기의 유전적 분화율은 높은 haplotype 다양도에 기인하고 있는 것으로 판단된다.

이처럼 다른 곤충과 달리 배추좀나방에서 높은 haplotype 다양도를 보이는 것은 농약 사용의 유형과 관련이 있을 것으로 생각해 볼 수 있다. 1950년도 중반부터의 광범위한 합성농약의 사용으로 배추좀나방의 주요 천적들이 제거된 상태에서 지속적이며 다양한 농약의 사용으로 다양한 농약저항성 개체가 발생하였다고 보고된 바 있다(Talekar and Shelton, 1993). 농약이 mtDNA haplotype의 선택에 직접적인 선택압으로 작용한다는 보고는 없지만 *D. melanogaster*의 경우, mtDNA의 적응도와 선택은 핵 DNA의 배경에 따라 간접적이지만 명백히 영향을 받는다고 보고된 바 있다(Kilpatrick and Rand, 1995). 우리 나라의 경우, 이 등(1993)은 광주, 김해, 제주 및 인제의 배추좀나방을 이용한 독성실험 결과, 지역이나 약제에 따라 다른 수준의 살충제 저항성을 나타내었다고 보고하였다. 이러한 정황에 비추어 지역적으로 광범위한 그리고 다양한 농약의 사용 유형으로 개체군 크기의 감소와 재팽창이 반복되는 가운데 핵 유전자의 적응도에 편승한 mtDNA haplotype의 다양도도 증가하였을 것

으로 추측해 볼 수 있으나 이에 대한 최종적인 결론은 핵 DNA 표식을 이용한 결과와 mtDNA에 대한 결과를 비교함으로써 가능할 것으로 생각된다.

유전자 이동

많은 haplotype이 지역적으로 국한되어 있음에도 불구하고(13개중 11개) DB1 haplotype은 초정리, 죽림, 심지어 제주도에서까지 공통적으로, 높은 빈도(28.6%)로 발견되었으며 DB2는 14.3%의 빈도를 나타내며 죽림 및 제주도에서 공통적으로 발견되어 배추좀나방의 지역간 이동 또한 상당함을 알 수 있으며(표 1) F_{ST} 분석결과, 통계적으로 유의한 정도의 집단간의 유전적 격리는 전혀 관찰되지 않았다(표 3). 이러한 결과는 세대당 암컷의 이동정도($Nm = 2.26 \sim 29.92$; 표 3)에 반영되었는데 특히, 제주도 고성리는 한반도로부터 약 100여 킬로미터가 떨어져 이동을 위한 여러 가지 생태적 환경이 열악할 것임에도 불구하고 김해 죽림과 높은 유전자 이동률($Nm = 29.92$)을 보였다. 이로써 배추좀나방의 유전적 구조의 특징은 높은 haplotype 다양도와 함께 높은 유전자 이동에 의존한 유전적 구조를 갖고 있는 것으로 생각된다. 다른 연구자의 연구결과 역시, 이와 일치하였는데 Caprio and Tabashnik(1992a)는 4개의 다형의 동위효소를 이용, 하와이 군도사이의 유전자 이동 정도를 파악한 결과, 군도간에는 약간의 변이만이 존재한다고 보고하였으며 또한 mark-recapture 방법을 이용한 야외 실험결과, 집단 내에서 하루당 최소 7.8%의 배추좀나방이 다른 곳으로 이주를 한다고 보고되었으며(Caprio and Tabashnik, 1992b) 이들의 이동거리는 수천 km에 이른다(Loimer, 1981).

Kim *et al.*(1999) 역시 동위효소를 이용, 우리 나라 배추좀나방의 상당한 이동율을 보고한 바 있다. 이로 미루어 최적의 기후조건에서 배추좀나방의 이동력과 이에 따른 이동거리는 상당한 것으로 판단된다.

결론적으로, 배추좀나방 집단은 높은 haplotype 다양도를 보이며 일부 지역 사이에는 상당히 높은 mtDNA 유전자 이동률을 나타내었다. 특히 하와이에 서식하는 배추좀나방으로부터 얻은 하나의 haplotype을 본 연구에서 발견된 13개의 haplotype과 비교했을 때 전지역에서 발견된 DB1, 김해시 죽림의 DB8, 제주도 고성리의 DB9 haplotype과 유전적으로 매우 유사한(각 두 개씩의 염기차이; 표 2) 점으로 미루어 배추좀나방의 이동은 그 정도가 매우 높은 것으로 추측된다. 본 연구는 제한된 지역을 기준으로 얻은 결론이므로 보다 확실한 결론과 생물학적 지식의 축적을 위하여 광범위한 지역을 대상으로 한 연구가 필수적이라고 생각된다.

사 사

염기서열 분석에 도움을 준 부경대학교 미생물학과 최태진 교수님과 대학원생 김대현군에게 감사드립니다. 제주도 시료의 채집을 도와준 고원삼씨께 감사드립니다.

인 용 문 헌

- Avise, J.C. 1994. Molecular markers, natural history, and evolution. Chapman and Hall. 511pp. New York.
- Brower, A.V.Z. 1994. Phylogeny of *Heliconius* butterflies inferred from mitochondrial DNA sequences (Lepidoptera: Nymphalidae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 3: 159~174.
- Caprio, M.A. and B.E. Tabashnik. 1992a. Allozymes used to estimate gene flow among populations of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) in Hawaii. *Environ. Entomol.* 21(4): 808~815.
- Caprio, M.A. and B.E. Tabashnik. 1992b. Gene flow accelerates local adaptation among finite populations: simulating the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.* 85: 611~620.
- Chang, W.X.Z., B.E. Tabashnik, B. Artelt, T. Malvar, V. Ballester, J. Ferré and G.K. Roderick. 1997. Mitochondrial DNA sequence variation among geographic strains of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 90(5): 590~595.
- Conn, J.E., S.E. Mitchell and A.F. Cockburn. 1997. Mitochondrial DNA variation within and between two species of neotropical anopheline mosquitoes (Diptera: Culicidae). *J. Hered.* 88: 98~107.
- Daly, J.C. and P. Gregg. 1985. Genetic variation in *Heliothis* in Australia: species identification and gene flow in the two pest species *H. armigera* (Hübner) and *H. punctigera* Wallengren (Lepidoptera: Noctuidae). *Bull. Entomol. Res.* 75: 169~184.
- Excoffier, L., P.E. Smouse and J.M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131: 479~491.
- Good, S.V., D.F. Williams, K. Ralls and R.C. Fleischer. 1997. Population structure of *Dipodomys ingens* (Heteromyidae): the role of heterogeneity in maintaining genetic diversity. *Evolution* 51: 1296~1310.
- Johnson, D.R. 1953. *Plutella maculipennis* resistance to DDT in Java. *J. Econ. Entomol.* 46: 176.
- Kilpatrick, S.T. and D.M. Rand. 1995. Conditional hitchhiking of mitochondrial DNA: frequency shifts of *Drosophila melanogaster* mtDNA variants depend on nuclear genetic background. *Genetics* 141: 1113~1124.
- Kim, B.K. 1988. Mitochondrial DNA polymorphism in fourteen geographical strains of *Drosophila melanogaster*. *Korean J. Zool.* 31(3): 218~224.
- Kim, I., B.Y. Min, M.H. Yoon, M.S. Yoo and D.H. Kim. 1999. Unusual mitochondrial DNA polymorphism of the blue mussel (*Mytilus edulis*) species complex on the southern coast of Korea. *Korean J. Biol. Sci.* 3: 79~87.
- Kim, I., C.J. Phillips, J.A. Monjeau, E.C. Birney, K. Noack, D.E. Pumo, R.S. Sikes and J.A. Dole. 1998. Habitat islands, genetic diversity, and gene flow in a Patagonian rodent. *Molecular Ecology* 7: 667~678.
- Kim, Y.G., K.W. Kim and N.K. Kim. 1999. Genetic difference between two field population of *Plutella xylostella* (Linné) based on four polymorphic allozymes. *J. Asia-Pacific Entomol.* 2(1): 1~5.
- Kocher, T.D., W.K. Thomas, A. Meyer, S.V. Edwards, S. Pääbo, F.X. Villablanca and A.C. Wilson. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 86: 6196~6200.
- Lee, S.C., Y.S. Cho and D.I. Kim. 1993. Comparative study of toxicological methods and field resistance to insecticides in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Korean J. Appl. Entomol.* 32(3): 323~329.
- Lorimer, R.I. 1981. Lepidoptera immigrants to Orkney in 1890. *Proc. Trans. Br. Entomol. Nat. Hist. Soc.* 14: 108~109.
- Nei, M. 1982. Evolution of human races at the gene level. pp. 167-181 in *Human genetics, Part A: The unfolding genome*, Proceedings of the sixth international congress of human genetics, eds. by B. Bonnè-Tamir, T. Cohen and R.M. Goodman. 619 pp. Alan R Liss Incorporation, New York.
- Reynolds, J., B.S. Weir and C.C. Cockerham. 1983. Estimation for the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics* 105: 767~779.
- Roderick, G.K. 1996. Geographic structure of insect populations: gene flow, phylogeography, and their uses. *Annu. Rev. Entomol.* 41: 325~352.
- Schneider, S., J.-M. Kueffer, D. Roessli and L. Excoffier. 1996. Arlequin: a software package for population genetics. *Genetics and Biometry Lab., Department of Anthropology, University of Geneva.*
- Shelton, A.M., J.A. Wyman, N.L. Cushing, K. Apfelbeck, T.J. Dennehy, S.E.R. Mahr and D. Eigenbrode. 1993. Insecticide resistance of diamondback moth (Lepidoptera Plutellidae) in North America. *J. Econ. Entomol.* 86(1): 11~19.
- Simon, C., F. Frati, A. Beckenbach, B. Crespi, H. Liu and P. Flook. 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a composition of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 87(6): 651~701.
- Sperling, F.A.H. and D.A. Hickey. 1994. Mitochondrial

- DNA sequence variation in the spruce budworm species complex (*Choristoneura*: Lepidoptera). *Mol. Biol. Evol.* 11: 656~665.
- Tabashnik, B.E., N.L. Cushing, N. Finson and M.W. Johnson. 1990. Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera Plutellidae). *J. Econ. Entomol.* 83: 1671~1676.
- Talekar, N.S. and A.M. Shelton. 1993. Biology, ecology, and management of the diamondback moth. *Annu. Rev. Entomol.* 38: 275~301.
- Tamura, K., T. Aotsuka and O. Kitagawa. 1991. Mitochondrial DNA polymorphisms in the two subspecies of *Drosophila sulfurigaster*: relationships between geographic structure of population and nucleotide diversity. *Mol. Biol. Evol.* 8: 104~114.
- Ward, R.D., D.O.F. Skibinski and M. Woodwark. 1992. Protein heterozygosity, protein structure, and taxonomic differentiation. *Evol. Biol.* 26: 73~159.
- Weir, B.S. and C.C. Cockerham. 1984. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358~1370.

(1999년 9월 22일 접수, 2000년 2월 27일 수리)