

RAPD 분자지표를 이용한 복숭아순나방(*Grapholita molesta*)의 집단 유전적 변동 분석

손예림 · 김용균*

안동대학교 자연과학대학 생명자원과학부 식물의학전공

Gene Flow of Oriental Fruit Moth, *Grapholita molesta*, Populations Analyzed by RAPD Molecular Markers

Son, Yerim and Yonggyun Kim*

Major in Plant Medicine, School of Bioresource Sciences, College of Natural Sciences, Andong National University, Andong 760-749, Korea

ABSTRACT : Oriental fruit moth, *Grapholita molesta*, is a serious pest on apples. To control this pest in an environmentally friendly method, mating disruption strategy using sex pheromone has been developed. Area-wide application of mating disruption has been needed to be effective, with little understanding on how much size of apple cultivating area should be treated in one time application of the mating disruption technique. On this matter, we needed to determine a minimal mating active zone of *G. molesta* that should be applied with mating disrupters to be effective. Molecular markers to discriminate a specific population should be developed to trace population migration for reproductive behaviors. Here we developed two effective molecular markers using random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique. Different field populations of *G. molesta*, based on locations and seasons, were analyzed with these markers. In a specific location, *G. molesta* populations varied in genetic composition with different seasons. Different local populations showed differential variation according to their relative distances among apple orchards. In overall, genetic variation among different populations became lessen with progression of seasons.

KEY WORDS : Apple, *Grapholita molesta*, Mating disruption, Molecular marker, RAPD, Sex pheromone

초 록 : 복숭아순나방(*Grapholita molesta*)은 사과에 주요 해충이다. 이 해충을 환경친화형 방법으로 방제하기 위해 성페로몬을 이용한 교미교란제 처리 기술이 개발되고 있다. 광범위한 영역에 대한 교미교란제의 처리는 복숭아순나방 방제에 효과적이거나 이러한 광범위영역에 대한 구체적 크기를 결정하는 방법은 알려지지 않았다. 이를 결정하기 위해서는 복숭아순나방의 교미행동 범위를 결정할 수 있는 방법이 개발되어야 하며, 이를 위해 복숭아순나방의 이동을 추적할 수 있는 분자지표의 개발이 필요하게 되었다. 본 연구는 RAPD (random amplified polymorphic DNA) 기술을 이용하여 효과적인 두 개의 분자지표를 개발하였다. 상이한 지역과 시기에 따라 구분되는 야외 복숭아순나방 집단들에 대해서 이들 분자지표를 이용하여 집단 유전 분석이 실시되었다. 이들 분자지표들은 특정지역에서 복숭아순나방 집단들이 시기적으로 유전적 구성에 뚜렷한 차이를 보여 주었다. 또한 서로 다른 지역의 복숭아순나방 집단들은 거리에 따라 상대적으로 차이가 증가하였지만, 계절이 진행함에 따라 그 차이가 감소하였다.

검색어 : 사과, 복숭아순나방, 교미교란, 분자지표, RAPD, 성페로몬

* Corresponding Author. E-mal: hosanna@andong.ac.kr

복숭아순나방(*Grapholita molesta* (Busck))은 중국 서북지역에서 유래되어 현재는 아시아, 유럽, 아메리카, 북부 아프리카, 중동, 뉴질랜드와 호주의 핵과 과실에 피해를 주고 있으며(Roehrich, 1961; Rothschild and Vickers, 1991), 복숭아는 물론이고 산업적으로 중요한 과수인 사과와 배를 가해하는 주요 나비목 해충이다(Ahn *et al.*, 1985). 특별히 신초와 과실을 직접 가해함으로 해충 피해가 직접 경제적 손실로 연결된다는 점에서 방제의 의의를 갖게 하고 있다. 그러나 여러 심식류에서 알 수 있듯이 일단 과실 속으로 가해가 진행되면, 방제가 어려워 다량의 약제 살포와 이에 따른 해충의 약제 저항성 및 환경과 식품의 안전성에 우려를 주고 있다(Pree *et al.*, 1998; Bochert *et al.*, 2004).

화학농약의 우려와 함께 환경친화형 방제 기술로서 복숭아순나방의 성페로몬을 응용한 교미교란방제 기술이 외국의 사례(Kovanci *et al.*, 2005)에 비추어 국내로 도입되고 있다. 이를 위해 국내 복숭아순나방에 대한 성페로몬 조성이 밝혀지고(Boo, 1998), 이를 이용한 야외 집단의 모니터링(Yang *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2004) 및 교미교란(Yang *et al.*, 2003)이 시도되었다. 또한 복숭아순나방의 성페로몬 화합물에 대한 유기합성 기술이 개발되었고(Kim *et al.*, 2006), 상품화된 교미교란제를 이용하여 월동세대를 효과적으로 교란시킬 수 있는 가능성을 보여 주었다(Jung *et al.*, 2006). 그러나 국내 사과원의 구조는 소형 및 이웃 사과원과의 근접성으로 인해, 광범위한 개별 과수원을 대상으로 방제효과를 거둔 외국의 사례를 국내에서 기대하기에는 근본적 차이점을 가지고 있다. 국내 사과농가에 대해서 교미교란제를 처리하고 연간 기주 피해 상황을 조사하여 보면 이러한 지형적 차이 및 주변 교미교란제 처리에 따라 방제 효과의 차이를 보였다(Jung and Kim, 2008). 이는 교미교란제 처리의 효율성을 얻기 위해서는 복숭아순나방의 이동(교미)영역에 대한 전면적 처리가 필요하다는 것을 제시하고 있다. 이러한 교미영역을 구체적으로 결정하기 위해서는 각 복숭아순나방 집단들의 이동 범위를 지역적 및 시기적으로 분석할 필요가 있다.

개체들의 유전적 변이에 기초한 분자지표들이 곤충의 집단 분포 및 이동을 분석하는 데 이용되어 왔다. 단백질 수준의 지표들이 곤충집단분석에 이용되어 왔으나 DNA 분자지표들은 이 보다 더 고감도의 변별력을 보일 수 있다(Krafsur, 2002). PCR (polymerase chain reaction) 기술을 접목한 RAPD (random amplified polymorphic DNA bands), RFLP (restriction fragment length polymorphism) 또는 AFLP (amplified fragment length polymorphism) 등이

비교적 용이하게 대량의 시료를 분석하는 데 이용되고 있다(Loxdale and Lushai, 1998).

본 연구는 복숭아순나방의 집단 분석을 위한 분자지표로서 PCR-RAPD를 적용하였다. 이를 위해 RAPD 프라이머를 선발하였고, 선발된 프라이머를 중심으로 지역적으로 그리고 시기적으로 상이한 복숭아순나방 집단들에 대해서 유전 분석을 실시하였다. 본 연구는 복숭아순나방의 집단 유전 특성을 구분할 수 있었으며, 이러한 집단간 차이는 발생시기가 진행함에 따라 또 지역적 원인에 따라 차등성있게 변화한다는 것을 보여주었다.

재료 및 방법

복숭아순나방 채집

사과원에 발생하는 복숭아순나방 수컷이 성페로몬 트랩을 이용하여 주기적으로 채집되었다. 델타트랩(그린아그로텍, Model No. 50106, 경산, 한국)을 이용하였으며, 여기에 복숭아순나방의 성페로몬 성분인 Z8-12 : Ac, E8-12 : Ac, Z8-12 : OH를 각각 88.5 : 5.7 : 1.0%로 포함시켰다. 채집지역은 지역적 차이를 둔 5개 지역으로 설정하였다(Fig. 1). 주변 산악지형으로 고립된 분지형의 안동 지역에서 'AD1'과 'AD2' 사과원을 선정하였다. 이들 두 사과원 사이는 약 100 m 직선거리를 두고 떨어져 있었다. 이로 부터 고도 약 400 m의 산을 넘어 약 1 Km의 직선거리를 둔 'AD3' 사과원을 선정하였다. 다시 AD3에서 약 10 Km 떨어져서 길안 지역에 'KA' 사과원을 선정하였다. 원거리 대조지역으로서 KA에서 다시 약 100 Km 떨어져있는 영천지역의 'YC' 사과원을 선정하였다. 전체 사과 재배 기간 동안 매주 페로몬 트랩에 포획된 수컷을 수거하였지만, 월동세대(4월), 야외 1세대(6월) 및 야외 마지막 세대(9월)에 수거된 개체만 시기적 집단 분석에 이용하였다.

DNA 추출

각 개체의 수컷 성충을 날개를 제거하고 일반 게놈 DNA 분리 방식(Sambrook *et al.*, 1989)을 이용하여 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA 시료는 proteinase A를 처리하고 이후 phenol 추출과 에탄올 침강을 이용하여 순수 DNA를 분리하였다. 분리된 DNA는 정량분석하여 탈이온증류수를 이용하여 약 100 pg/μl으로 희석하여 PCR에 이용하였다.

RAPD

(주) 바이오니아(대전, 한국)로부터 10개의 RAPD-용 프라이머(catalog # N-8001, N-8011, N-8021, N-8031, N-8041, N-8051, N-8061, N-8071, N-8081, N-8083)를 구입하였다. 탈이온증류수를 이용하여 이들 프라이머를 25 pmol/μl로 희석하였다. 지역별 한 개씩 임의의 복숭아 순나방 계통 DNA를 선발하고, 이들 10개 프라이머들의 PCR 생성물을 분석하였다. PCR은 iTaq ((주)인트론, 서울, 한국) 중합효소와 이들 반응물을 이용하였다. 즉, PCR 전체 반응물(50 μl)의 조성은 1 μl의 DNA 시료(약 100 pg/μl), 5 μl의 10x 반응완충용액, 4 μl의 dNTP, 4 μl의 RAPD 프라이머(20 pg/μl), 0.5 μl Taq 중합효소 및 35.5 μl의 탈이온증류수로 구성되었다. 준비된 반응물을 95°C에서 1분간 열처리한 후 35회의 증폭 주기로 PCR 기기 (Multigene gradient, Labnet International, Inc., Edison, NJ, USA)를 이용하여 반응시켰다. 각 주기는 프라이머 N-8001 (5'-CAGGCCCTTC-3')의 경우 95°C에서 1분, 43.5°C에서 1분, 그리고 72°C에서 1분의 반응 단계로 구성된다. 프라이머 N-8061 (5'-GACCGCTTGT-3')의 경우는 DNA 주형에 프라이머 재결합 온도를 45.3°C로 맞추었고, 다른 조건은 N-8001과 동일하게 반응시켰다. RAPD 분석은 각 시기에서 각 지역 시료가 30개의 복숭아 순나방으로 구성되게 반복하였다. RAPD 결과 얻어진 증폭물은 크기별로 구분되었다. N-8001과 N-8061의 RAPD 결과물은 11개 및 10개로 구분되었다. 각 RAPD 유전좌위에 따라 검출빈도는 분석된 총 유효시료수를 기준으로 검출 증폭물 시료수의 상대비로 산출하였다.

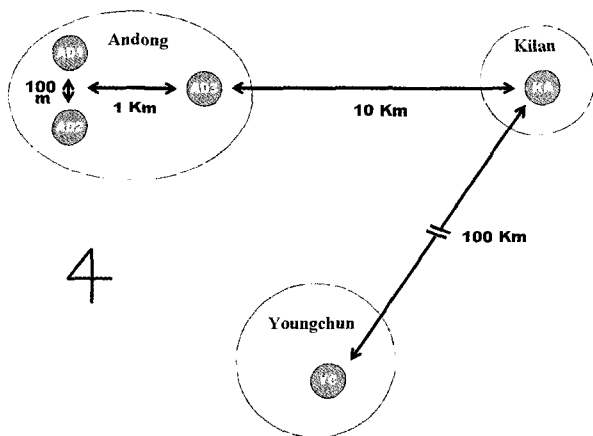


Fig. 1. Map illustrating sampling sites of *Grapholita molesta* in Andong ('AD'), Kilan ('KA'), and Youngchun ('YC'). Sampling was performed by sex pheromone trap installed in each sampling site.

통계분석

유전좌위 빈도분석은 각 시기별 및 지역별로 먼저 χ^2 검정법으로 SAS (SAS Institute, 1989)의 PROC FREQ를 이용하여 분석하였다. 시기 또는 지역별 집단간 군집분석은 SAS의 PROC CLUSTER를 이용하여 계보적 군집 형성방법을 통해 이뤄졌다.

결 과

복숭아순나방 성충의 지역간 이동 및 시기별 변동을 파악하기 위해 각 집단을 특징짓는 유전자 지표가 RAPD 방법으로 개발되었다. 이를 위해 먼저 복숭아순나방 발생 지역을 거리별로 구분하였다(Fig. 1). 지역적으로 안동, 길안 및 영천으로 구분하였고, 근거리 이동을 분석하기 위해 안동지역에서 세 지역으로 다시 세분하였다. 아울러 복숭아순나방의 유전물질에 대해서 PCR 증폭물을 만들어 낼 수 있는 RAPD 프라이머가 스크리닝되었다. 프라이머 스크리닝은 DNA 주형에 프라이머 재결합 온도를 40-50°C의 범위로 차등을 주고 얻어지는 증폭물의 수가 10개 내외인 것을 선발하였다. 이러한 선행 연구 결과 조사된 10개의 상용 RAPD 프라이머들 가운데 N-8001과 N-8061의 두 프라이머가 복숭아순나방 집단 유전지표를 판별하는데 선발되었다(Fig. 2).

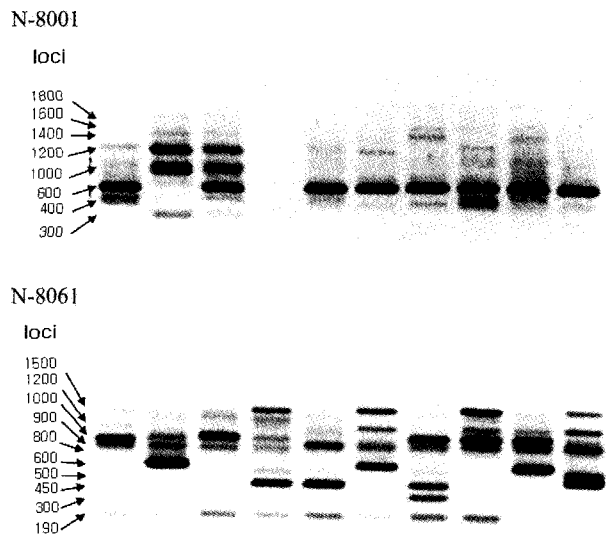


Fig. 2. Examples of PCR products of *Grapholita molesta* following RAPD reactions using N-8001 or N-8061 primers, in which each lane represents a genome analyzed. PCR products were separated on 0.8% agarose gel and stained with ethidium bromide.

지역간 차이가 있는 복숭아순나방에 대해서 두 RAPD 프라이머가 적용되었다(Fig. 3). 조사된 전체 복숭아순나방 개체들로부터 N-8001 프라이머는 11개의 상이한 증폭물을 나타냈다. 그러나 이 프라이머는 복숭아순나방의

월동세대에 해당하는 4월의 지역별 집단들은 뚜렷이 구분하지 못했다(Fig. 3, Table 1). 반면에 N-8061 프라이머는 10개의 상이한 증폭물을 나타냈으며, 4월 집단들이 지역적으로 뚜렷이 구분되었다(Fig. 3, Table 1). 야외 마지막

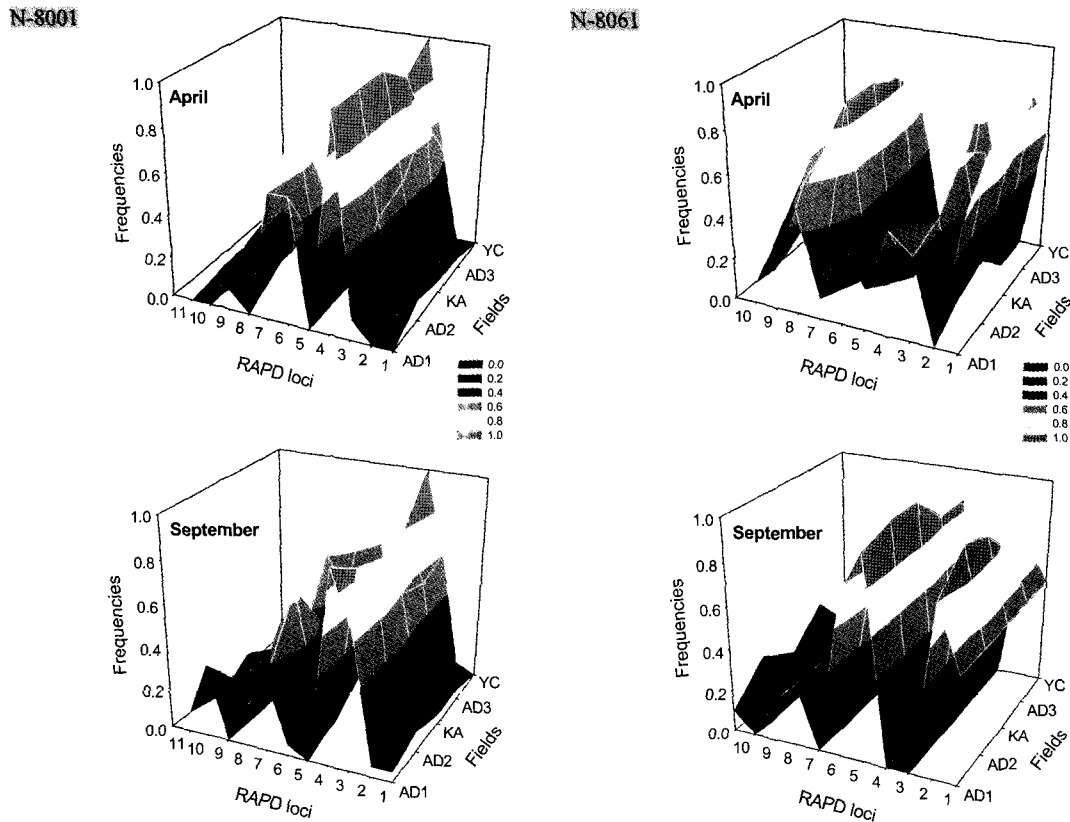


Fig. 3. Frequencies of PCR-RAPD products in *Grapholita molesta* populations collected in different locations and seasons, in which PCRs were performed with N-8001 or N-8061 random primers. RAPD loci represent different sized-PCR products separated on 0.8% agarose gel. In both seasons of April and September, three Andong local ('AD1', 'AD2', and 'AD3'), Kilan ('KA'), and Youngchon ('YC') populations were compared.

Table 1. Statistics on genetic changes of different geographical and seasonal populations of *Grapholita molesta*

Genetic marker	Population	χ^2	df	P
Geographical analysis¹				
N-8001	April	41.78	36	0.2341
N-8001	September	34.24	30	0.2712
N-8061	April	77.96	36	<0.0001
N-8061	September	11.55	20	0.9308
Seasonal analysis²				
N-8001	AD1	44.23	20	0.0014
N-8001	YC	21.17	18	0.2707
N-8061	AD1	38.15	18	0.0027
N-8061	YC	50.82	18	<0.0001

¹Four different locations: AD1, AD2, AD3, KA, and YC. See details in Fig. 1.

²Three different seasons at

고찰

세대에 해당하는 9월 집단을 대상으로 N-8061의 유전좌위를 살펴보면 이러한 지역적 차이가 없어지는 것으로 나타났다(Fig. 3, Table 1). 이러한 지역적 차이를 다변량 통계인 군집분석을 통해 분석하였다(Fig. 4). N-8001 RAPD를 살펴보면, 발생초기에 같은 안동지역이라도 ('AD3'와 나머지 두 안동집단) 집단간 차이가 뚜렷했지만, 9월 집단에서 보면 유사 군집으로 분류되어 이들 차이에 군집 차이가 줄어드는 것을 볼 수 있었다. 이러한 경향은 N-8061 RAPD에서 AD1과 AD2의 사이에서도 나타났다.

이러한 지역적 분석은 이들 특정 지역의 복숭아순나방 집단이 시기적으로 변동한다는 것을 제시하고 있다. 이를 다시 확인하기 위해 동일한 지역에서 시기적으로 상이한 집단 사이에 유전적 차이 및 유사도를 분석하였다(Fig. 5). 영천집단('YC')의 N-8001 RAPD 분석을 제외하고 모든 분석은 동일한 지역에서 계절적 집단 변동이 뚜렷이 나타났다(Fig. 5, Table 1). 이러한 시기적 집단 변동은 월동세대로부터 야외 마지막 세대까지 점진적으로 차등을 보이면서 진행한다는 것이 이들에 대한 군집분석을 통해 나타났다(Fig. 6).

분자지표를 이용한 곤충의 집단 분석이 광범위하게 이용되고 있다. 초기의 동위효소를 이용한 분자지표는 DNA 지표를 이용하면서 개체간 유전적 차이를 보다 고감도로 판별하게 되었다(Avise, 1994). 본 연구에서 이용한 PCR-RAPD는 비교적 짧은 프라이머를 이용하여 복숭아순나방의 계놈을 따라 다수의 결합부위를 하도록 결합온도를 조절하여 여러 PCR 결과물을 형성하게 하였다. 그러나 개체간 계놈 염기서열의 차이점은 이 RAPD 프라이머의 결합 부위에 있어서 변이를 줄 수 있고 이는 바로 증폭물의 다형을 나타나게 한다(Williams *et al.*, 1990). 본 연구는 비록 RAPD용 프라이머라 하더라도 프라이머 염기서열에 따라 유효한 PCR 증폭물을 형성하는 데 차이를 주었다. 이는 대상 생명체의 유전적 구서에 대한 정확한 정보 없이도 유전적 분석이 가능하게 하는 RAPD의 특징에서 기인된다고 볼 수 있다(Haymer, 1994). 비교 분석된 10개의 프라이머 가운데 N-8001과 N-8061만 비교적 유효한 PCR 증폭물을 형성하여 본 연구에 사용되었지만, 다양한 복숭아순나방 집단들 사이에 보다 뚜렷한 다형을 형성시켜주는 DNA 지표를 찾기 위해서는 보다 다양한 프라이

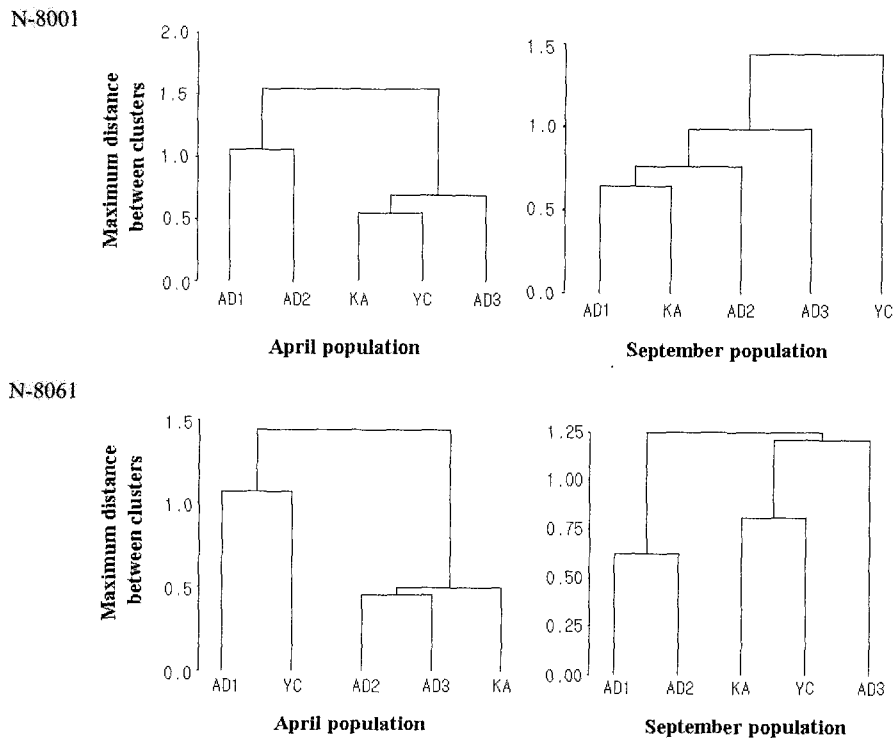


Fig. 4. Clustering analysis of three Andong local ('AD1', 'AD2', and 'AD3'), Kilan ('KA'), and Youngchon ('YC') populations of *Grapholita molesta* in both seasons of April and September in terms of the frequencies of PCR-RAPD products obtained with two random primers (N-8001 and N-8061).

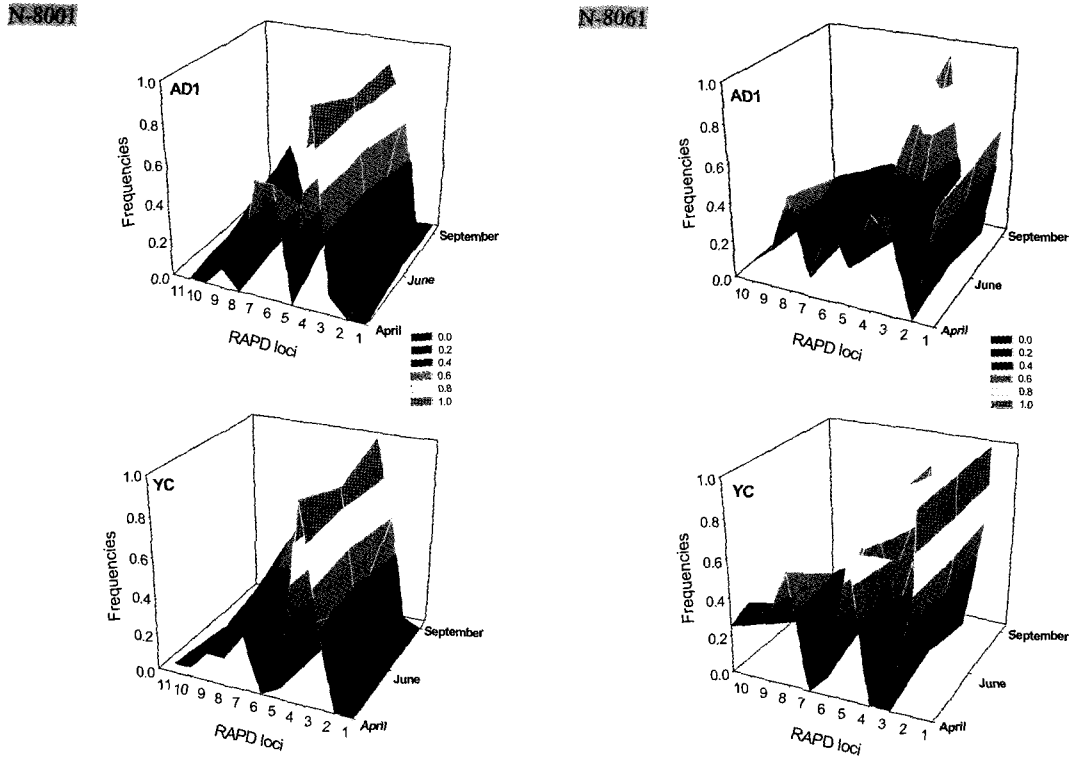


Fig. 5. Frequencies of PCR-RAPD products in *Grapholita molesta* populations collected in different seasons in each specific location, in which PCRs were performed with N-8001 or N-8061 random primers. RAPD loci represent different sized-PCR products separated on 0.8% agarose gel. In both primers, two locations of Andong ('AD1') and Youngchun ('YC') were used for analysis.

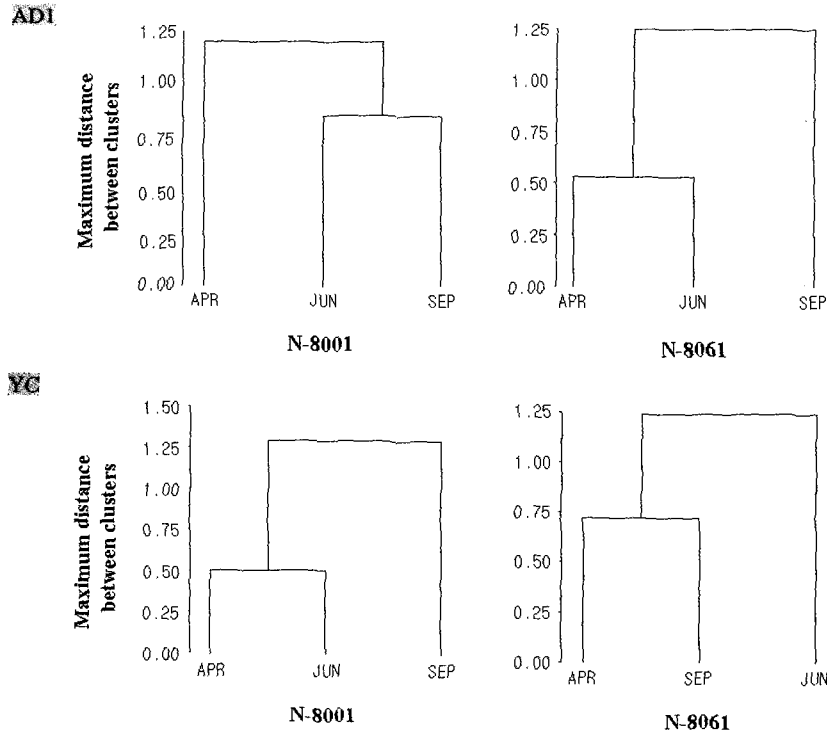


Fig. 6. Clustering analysis of three seasons in terms of frequencies of PCR-RAPD products obtained with two primers (N-8001 and N-8061) in *Grapholita molesta* populations collected in two locations of Andong ('AD1') and Youngchun ('YC').

머들을 스크리닝해 볼 필요가 있음을 내포하고 있다.

복숭아순나방 월동세대(4월 집단)에 대한 조사된 지역 간 유전적 변이가 N-8061 RAPD에서 뚜렷하게 나타났다. 그러나 이러한 지역적 차이는 세대가 진행하여 가을 세대로 진행되면서 집단간 차이가 줄었다. 이러한 유전적 변동은 일반적으로 방향성이 없이 일어나는 돌연변이 또는 소규모집단의 고립에 의해 일어나는 유전적부동에 위해서 일어나거나 또는 일정 방향을 가지고 변동하는 집단 선발과 이동을 변동 요인들로서 고려할 수 있다(Hartl and Clark, 1988). 개체들의 집단간 이주는 격리되어 있던 집단들을 융합시켜줌으로 격리현상에서 비롯된 동계교배에 따라 증가된 동형접합자의 빈도를 감소시켜 소집단 내에서 일어나는 유전적부동에 의한 유전적 분화를 막아준다(Wahlund, 1928; Lynch and Gabriel, 1990). 그러나 군집 분석에서 보듯 이러한 지역 집단간 변동이 가까운 거리일 수록 비교적 유사한 방향으로 나타나서 복숭아순나방 개체들의 집단간 이동에 따른 집단변화로 이해될 수 있다. 또한 이러한 가설은 동일 지역의 계절적 집단 변동이 점진적으로 일어난다는 군집분석의 결과에서도 뒷받침되고 있다. 그러나 각 과수원에서 처리되는 화학농약 또는 다른 환경 영향에 의해 일어나는 수렴성 선발 효과 가능성도 본 연구에서 배제할 수 없다. 월동세대에서 보인 유전적 분화 현상은 이듬해 월동세대의 지역적 집단간 유전적 차이를 기대할 수 있다. 이러한 유전적 분화는 아마도 겨울 기간 동안 지역적으로 상이한 환경 영향에 의한 자연 선발(= 유전적 병목현상) (Nei *et al.*, 1975) 및 유전적부동 등이 소규모집단 간 차이를 형성할 수 있을 것으로 추측된다.

본 연구에서 나타내는 복숭아순나방의 집단의 인접 과수원지역으로의 이동 가능성은 현재 국내에서 진행하고 있는 성페로몬을 이용한 교미교란제 처리 방법에 대해서 처리 지역의 확대 필요성을 제시한다. 즉, 특정 과수원에 대한 교미교란제 처리는 인접한 무처리 과수원으로부터 교미된 암컷의 이입이 가능하다는 것이며, 이는 교미교란제 처리의 효율성을 크게 떨어뜨리게 된다. 실제로 먹이트랩을 이용하여 복숭아순나방의 암컷 채집이 가능하여졌고, 교미교란제가 처리된 사과원에서 채집된 암컷의 교미낭을 분석한 결과 정자주머니가 발견되어 교미된 암컷이 이입되었다는 보고가 있다(Kim *et al.*, 2007). 대부분의 복숭아순나방은 200 m 이상 이동하지 않는다고 하지만, 일부 개체들은 1 km 이상의 거리를 이동할 수 있다고 보고되고 있다(Rochschild and Vickers, 1991). 이러한 인접 과수원으로부터 이입을 막기 위해 교미교란제의 과수원 밖으로 주변 처리를 강조한 바 있다(Il'ichev *et al.*,

2004). 본 연구는 이러한 주변처리도 국내 사과원 여건상 주변 사과원에서 교미된 암컷의 이입은 막지 못할 것으로 사려된다.

본 연구는 성페로몬 트랩에 유인된 복숭아순나방을 대상으로 PCR-RAPD 기술을 이용하여 집단 변동 및 이들 집단의 이동을 추적할 수 있다는 것을 보여 주었다. 이 기술을 이용하여 지역별 복숭아순나방의 이동한계범위를 결정할 수 있을 것이다. 이러한 이동 한계는 복숭아순나방의 효과적 교미교란제 처리의 영역으로 규정될 수 있다. 그러나 본 연구에서 개발된 두 RAPD 프라이머들이 보여주는 지표들 사이에 나타난 변이에서 보듯 보다 다양한 고감도의 RAPD 프라이머의 개발이 필요하다. 이를 통해 복숭아순나방의 집단 이동에 대한 보다 정확한 분석이 가능하게 할 것이다.

사 사

본 연구는 농림기술관리센터에서 지원한 2007년도 농산업기술개발사업으로 수행되었습니다. 본 연구의 인프라는 교육부의 2단계 BK21 사업에서 지원받았다.

Literature Cited

- Ahn, S.B., H.W. Koh and Y.I. Lee. 1985. Study on apple pests and natural enemy. Res. Rept. RDA. Crop Protection: 417-428.
- Avice, J.C. 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman & Hall, NY.
- Bochert, D.M., R.E. Stinner, J.F. Walgenbach and G.G. Kennedy. 2004. Oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae) phenology and management with methoxyfenozide in North Carolina apples. J. Econ. Entomol. 97: 1353-1364.
- Boo, K.S. 1998. Variation in sex pheromone composition of a few selected lepidopteran species. J. Asia-Pacific Entomol. 1: 17-23.
- Hartl, D.L. and A.G. Clark. 1988. Principles of population genetics. 2nd ed. Sinauer, Sunderland, MA.
- Haymer, D.S. 1994. Random amplified polymorphic DNAs and microsatellites: what are they, and can they tell us anything we don't already know? Ann. Entomol. Soc. Am. 87: 717-722.
- Il'ichev, A.L., D.G. Williams and A.D. Milner. 2004. Mating disruption barriers in pome fruit for improving control of oriental fruit moth *Grapholita molesta* Busck (Lep., Tortricidae) in stone fruit under mating disruption. J. Appl. Entomol. 128: 126-132.
- Jung, S. and Y. Kim. 2008. Comparative analysis to damage reduction of host plant by applying a mating disruptor of the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* in two different cultivation environments of apple orchard. Kor. J. Appl. Entomol.

- 47: 51-57.
- Jung, S., C. Park, M. Park, S. Lee, K. Choi, Y. Hong and Y. Kim. 2006. Efficacy of commercial mating disruptors on field overwintering populations of Oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Busck). Kor. J. Appl. Entomol. 45: 235-240.
- Kim, D.S., K.S. Boo and H.Y. Jeon. 2004. Evaluation of pheromone lure of *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) and forecasting its phenological events in Suwon. Kor. J. Appl. Entomol. 43: 281-289.
- Kim, Y., S. Bae, S. Bae, H.M. Yoon and Y.P. Hong. 2006. Chemical synthesis and orientation disruption bioassay of sex pheromone of the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Busck). Kor. J. Appl. Entomol. 45: 309-316.
- Kim, Y., S. Bae, K.H. Choi, D.H. Lee and S.W. Lee. 2007. Efficacy test of mating disruptors using food trap of oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Busck). Kor. J. Appl. Entomol. 46: 269-274.
- Kovanci, O.B., C. Schal, J.F. Walgenbach and G.G. Kennedy. 2005. Comparison of mating disruption with pesticides for management of oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae) in North Carolina apple orchards. J. Econ. Entomol. 98: 1248-1258.
- Krafsur, E.S. 2002. Population structure of the tsetse fly, *Glossina pallidipes*, estimated by allozyme, microsatellite and mitochondrial gene diversities. Insect Mol. Biol. 11: 37-45.
- Loxdale, H.D. and G. Lushai. 1998. Molecular markers in entomology. Bull. Entomol. Res. 88: 577-600.
- Lynch, M. and W. Garbriel. 1990. Mutation load and the survival of small populations. Evolution 44: 1725-1737.
- Nei, M., T. Maruyama and R. Chakraborty. 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. Evolution 29: 1-10.
- Pree, D.J., K.J. Whitty, L. van Driel, G.M. Walker and L. Van Driel. 1998. Resistance to insecticides in oriental fruit moth populations (*Grapholita molesta*) from the Niagara Peninsula of Ontario. Can. Entomol. 130: 245-256.
- Roehrich, R. 1961. Contribution a l'étude écologique des populations de la tordeuse de pêcher (*Grapholita molesta* Busck) dans la région Aquitaine. Annales des Epiphyties. p.114.
- Rothschild, G.H.L. and R.A. Vickers. 1991. Biology, ecology and control of the oriental fruit moth. pp. 389-412. In World crop pests, Tortricid pests: their biology, natural enemies and control, Vol. 5. eds. by L.P.S. Van der Geest and H.H. Evenhuis. Elsevier, Amsterdam.
- Sambrook, J.E., F. Fritsh and T. Maniatis. 1989. Molecular cloning. A laboratory manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.
- SAS Institute, 1988. SAS/STAT user's guide, Release 6.03, Ed. Cary, N.C.
- Yang, C.Y., K.S. Han and K.S. Boo. 2001. Occurrence of and damage by the Oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) in pear orchards. Korean J. Appl. Entomol. 40: 117-123.
- Yang, C.Y., K.S. Han, J.K. Jung, K.S. Boo and M.S. Yiem. 2003. Control of the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) by mating disruption with sex pheromone in pear orchards. J. Asia-Pacific Entomol. 6: 97-104.
- Wahlund, S. 1928. Zusammensetzung von Populationen und Korrelationserscheinungen von standpunkt der vererbungslehre aus betrachtet. Hereditas 11: 65-106.
- Williams, J.G.K., A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski and S.V. Tingey. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucl. Acids Res. 18: 6531-6535.

(Received for publication March 4 2008;
accepted March 15 2008)