

*Ostrinia*속(나비목: 포충나방과) 팥 해충의 종 동정과 발육 특성

정진교* · 서보윤¹ · 박두상² · 오현우² · 이관석¹ · 박해철¹ · 조점래¹농촌진흥청 국립식량과학원, ¹농촌진흥청 국립농업과학원, ²한국생명공학연구원

Species Identification and Developmental Biology of a Red Bean Pest in *Ostrinia* sp. (Lepidoptera: Crambidae)

Jin Kyo Jung*, Bo Yoon Seo¹, Doo-Sang Park², Hyun-Woo Oh², Gwan-Seok Lee¹, Hae-Chul Park¹ and Jum Rae Cho¹

National Institute of Crop Science, 209 Seodun-dong, Suwon 441-857, Rep. Korea

¹National Academy of Agricultural Science, 249 Seodun-dong, Suwon 441-707, Rep. Korea²Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology, 125 Gwahak-ro, Yuseong-gu, Daejeon 305-806, Rep. Korea

ABSTRACT: *Ostrinia* larvae feed the pods and stem of red bean and seriously damage the bean production from farmers. In this study we investigated biological and developmental characteristics including field collection, host feeding preference, artificial rearing diet, morphological and molecular taxonomical identification, and pheromone analysis for an *Ostrinia* sp. in Korea. The male adults have massive tibia in the middle legs and 3-lobed uncus in the genitalia. The partial nucleotide sequences of mitochondrial cytochrome oxidase I (COI) and II (COII) were not corresponded to those DNA sequences from other *Ostrinia* species reported previously in Japan and China. Host plants for this species are also different from the previous species reported. In the gas chromatography (GC) analyses, (Z)-9-tetradecenyl acetate was not detected from the pheromone gland of our species while the component as a sex pheromone was found in *O. zaguliaevi* and *O. zealis*. With taken results, we conclude this *Ostrinia* species in Korea is *Ostrinia scapularis* or closely related species. When larvae collected in a fall were incubated in the outdoor condition, they emerged to adult between June and July in the next year. The result indicates that the winter diapause could be started in late larval stage. In addition, we developed a semi-synthetic artificial diet adopted for mass rearing of the *O. scapularis* in laboratory.

Key words: *Vigna angularis*, *Ostrinia* sp., Species identification, Development, Artificial rearing

초 록: 본 연구에서는 팥의 꼬투리와 줄기를 가해하는 *Ostrinia*속 해충에 대해 종 동정 과정을 기술하였고, 사육하면서 관찰된 발육특성들을 보고 하였다. 수컷의 생식기는 3-lobed uncus 형태였으며, 가운데다리 종아리마디에는 털을 많이 갖는 것으로 나타났다. 미토콘드리아 cytochrome oxidase I (COI)과 II (COII) 유전자의 부분 염기서열은 콩줄기명나방(*O. scapularis*), 큰섬들명나방(*O. zaguliaevi*), 큰조명나방(*O. zealis bipatrialis*)들에 대해 일본과 중국에서 보고된 서열들과 100% 일치할 보이는 종은 없었다. 기주식물 범위는 국내외 보고들 간에 일치하지 않았다. 암컷 성페로몬샘 추출물의 가스크로마토그래피 분석에서 큰섬들명나방과 큰조명나방의 성페로몬 성분인 (Z)-9-tetradecenyl acetate는 검출되지 않았다. 이상의 결과들을 종합하여 고려하였을 때, 본 연구의 팥 해충을 가해하는 곤충 종은 콩줄기명나방(*O. scapularis*)일 것으로 추정되었다. 가을 야외에서 채집된 유충들을 야외조건에서 보관하였을 때, 이듬해 6월과 7월 사이에 성충들이 우화하였는데, 이 결과로부터 본 곤충 종은 말령 유충 단계에서 겨울휴면을 하는 것으로 추정되었다. 이외에 반합성 인공사료를 이용하여 실내 사육이 가능하였다.

검색어: 팥, *Ostrinia*속 곤충, 종 동정, 발육, 인공사육

팥(*Vigna angularis*)은 국내에서 2011년 기준 약 3,300 ha의 면적에서 재배되었던 정도로, 콩(*Glycine max*) 재배면적의 약

20분이 1이 되는 소규모 식량작물이다(Korean Statistical Information Service, <http://kosis.kr/>). 따라서 그간 국내에서는 상대적으로 이 작물의 해충에 대한 연구는 거의 이루어지지 않았는데, 최근 팥의 생식생장기 중 꽃과 꼬투리, 줄기를 주로 가해하는 나비목 해충들로 콩명나방(*Maruca vitrata*)과 팔나방

*Corresponding author: jungjk@korea.kr

Received September 25 2012; Revised November 9 2012

Accepted November 11 2012

(*Matsumuraeses phaseoli*), *Ostrinia* sp.의 3종이 보고되었다 (Jung et al., 2009). 이중 *Ostrinia* sp.는 생식생장기 후반부에 우점하여 주로 꼬투리와 줄기를 가해하는 것으로 보고되었다 (Jung et al., 2009).

현재 국내에 기록된 *Ostrinia*속 곤충들은 조명나방(*O. furnacalis*), 오리엔트조명나방(*O. orientalis*), 분홍무늬들명나방(*O. palustralis memnialis*), 콩줄기명나방(*O. scapularis*), 큰섬들명나방(*O. zaguliaevi*), 큰조명나방(*O. zaelis bipatrialis*)의 6종이 기록되어 있다(Bae, 2001). 이중 기주식물로 콩과가 명기된 종은 콩줄기명나방과 큰섬들명나방이 있으며, 특히 팔이 기주식물로 명기된 것은 큰섬들명나방이다(Bae, 2001).

그런데 *Ostrinia*속 곤충들의 분류기준은 애매한 것이 지적되어 있는데 (Frolov et al., 2007, 2012), 우선 형태형질에 의한 분류로 *Ostrinia*속 곤충들의 수컷 생식기 모양에 따라 one-lobed uncus, 2-lobed uncus, 3-lobes uncus의 세 집단으로 나눈다(Mutuura and Monroe, 1970). 3-lobed uncus 집단은 다시 수컷 성충의 가운데 다리 종아리마디의 모양에 따라 ‘단순한(simple)’, ‘약간 털이 있는(medium)’, ‘털이 아주 많은(massive)’의 세 집단으로 나눈다(Mutuura and Monroe, 1970). 그러나 더 이상의 분류가 어렵기 때문에, 미토콘드리아 효소 유전자 서열 분석(Kim et al., 1999)에 기초한 종 추정과 기주식물의 범위, 교미행동, 성페로몬 조성의 차이, 지리적 분포 등의 형질들이 더해 그 이상의 종 분류에 사용되어 왔다(Ishikawa et al., 1999b; Frolov et al., 2007).

이에 본 연구에서는 기존에 고찰되어진 분류 기준들을 적용하여 본 해충의 종을 추정하였고, 여기에 더해 채집과 인공사료 선발, 사육과정에서 조사된 발생과 발육에 관련된 간단한 생물학적 정보를 보고한다.

재료 및 방법

실험곤충 채집과 인공사육, 발생 관찰

경기도 수원시 서둔동 국립식량과학원 작물환경과 팔(충주 팔, 6월 말 파종) 포장(37°16'N 126°59'E)에서 2008년 9월 11일 팔의 꼬투리 혹은 줄기 안에서 가해하고 있는 *Ostrinia*속 말령 유충 17마리, 콩명나방 182마리, 팔나방 5마리를 각각 채집하였다. 이중 *Ostrinia*속 유충들은 소형 반투명 플라스틱 사육컵(약 35 g들이, Bio-Serv, 미국)에 개체별로 넣고 여기에 조명나방 인공사료(Jung et al., 2005)와 콩명나방 인공사료(Jung et al., 2007)를 같이 더해 바로 곤충사육실에서 25°C(광조건 15L:9D, 상대습도 60%)로 가온 사육하였다.

이들 중 이듬해 2월말 동시기 우화한 성충 암수 1쌍을 짝짓기 시켰고 여기에서 알을 받아 사육하였다. 실내 누대사육에 필요한 인공사료를 선발하기 위해 알에서 갓부화한 유충들을 사육컵 안에서 조명나방 사료와 콩명나방 사료 각각에 30마리씩을 개체별로 접종하여 동일한 사육조건(25±1°C, 광조건 15L:9D, 상대습도 60±5%)에서 사육하고, 우화율, 유충과 번데기 발육기간, 번데기 무게를 조사하였다.

다시 2009년 9월 22일부터 10월 16일 사이 5차례에 걸쳐 2008년과 같은 장소의 팔 포장에서 팔꼬투리 혹은 줄기로부터 *Ostrinia* sp. 유충 28마리를 채집하였다. 채집한 유충은 개체별로 사육컵에 콩명나방 인공사료 조각과 함께 넣어 뚜껑을 닫은 후 그늘막이 쳐진 야외에서 이듬해 성충이 우화할 때까지 보관하면서 사망일, 용화일, 용무게, 우화일을 기록하였다. 용무게는 용화 당일 표피층 경화가 끝난 후 측정하였다. 우화한 성충을 짝짓기 시켜 얻은 자손을 전년도 것과 합쳐 누대사육하면서 실험곤충으로 사용하였다. 실험용 집단 사육에서 유충 먹이로는 콩명나방 먹이를 이용하였고, 성충에는 10% 설탕물과 증류수를 공급하였는데, 방법은 조명나방을 사육하는 방법(Jung et al., 2005)을 따랐다. 사육환경은 곤충사육실에서 25±1°C, 광조건 15L:9D, 상대습도 60±5%로 하였다.

통계 처리

인공사료 선발 실험에서 조사된 발육특성 자료에서 각 사육 집단의 암수의 결과를 따로 산출하였는데, 평균들 사이의 차이에 대한 유의성 검정은 사육 집단이나 암수에 관계없이 특성별로 모두 동시에 Duncan검정법으로 수행하였다.

수컷 생식기와 가운데다리 종아리마디 형태 관찰

사육 집단에서 우화한 수컷을 이용하여, 복부 끝 몇 마디를 잘라 10% KOH 용액에 넣고 약 15분간 중탕 가열하여 조직을 제거한 후 해부현미경(Leica M205A)으로 생식기를 관찰하였다. 종아리마디는 가운데다리를 떼어내어 현미경 아래에서 관찰하였다. 생식기와 종아리마디 형태특징은 Mutuura and Monroe(1970)의 수컷 성충 분류기준과 Frolov et al.(2007)의 리부문헌을 참고하여 생식기 uncus 부분의 lobe 수를 관찰하였고, 다리 종아리는 두께를 관찰하면서 곤충핀으로 표피층의 접힌 부분을 들어내 종아리 표피층 안쪽에 털 문치가 있는가를 확인하였다. 각각의 형태적인 특징은 해부현미경에서 사진(Leica DFC 500)을 찍었고, 소프트웨어(Leica, LAS Ver. 4.0)를 이용하여 디지털그림으로 출력하였다.

미토콘드리아 cytochrome oxidase I과 II의 DNA 염기서열 분석

DNA는 3령 유충 다리를 Qiagen(Hilden, 독일)사의 DNeasy kit를 이용하여 제조사의 방법에 따라 추출하였는데, 마지막 단계는 200 μ l 완충액을 사용하는 대신에 60 μ l 증류수를 사용하였다. 추출된 게놈 DNA로부터 cytochrome oxidase I 유전자 658 bp영역이 두 개의 프라이머, LepF1-5'ATTCAA CCAATCATAAAGATATTGG3'와 LepR1-5'TAAACTTCT GGATGTCCAAAAATCA3'(Hajibabaei et al., 2006)를 사용하여 증폭되었다. cytochrome oxidase II 유전자 920 bp영역은 BILYS_F-5'GTTTAAGAGACCAGTACTTGG3'과 OtLEU_R-5'TAGTGCAATGGATTTAAACC3'의 프라이머들로 증폭되었는데, 이들은 각각 tRNA-Lys and tRNA-Leu 유전자 영역들로부터 설계되었다. PCR반응은 Maxime[®]PCR PreMix (iNTRON Biotechnology, Seongnam, 한국)에 각 프라이머 2.0 pmol과 주형DNA 2-50 ng을 넣고 전체 20 μ l 용량으로 하여 반응시켰다. PCR 반응조건은 초기 95°C에서 2분간 열처리한 후, 94°C에서 40초, 45°C에서 40초, 72°C에서 60초씩 5반복을 하고, 다시 94°C에서 40초, 51°C에서 40초, 72°C에서 60초 반응을 40반복 하였다. 이후 72°C에서 5분 반응시키고 4°C로 유지하였다. PCR반응산물은 2% 아가로즈젤에서 전개하여 ethidium bromide로 염색하였다. PCR 산물을 이용하여 ABI 3730XL capillary sequencer에서 BigDye Terminator ver. 3.1 Cycle Sequencing Kit(Applied Biosystems Inc., Foster, CA)를 이용하여 두 방향으로 염기서열을 결정하였다. 결정된 염기서열은 MegAlign (DNASar, 미국) 프로그램을 이용하여 GenBank에서 검색한 콩줄기명나방, 큰섬들명나방, 큰조명나방의 것과 상동성을 비교하였다. 또 아미노산 서열로 치환하여 위 보고된 것들과 비교하였다.

성페로몬 성분 분석

실험곤충 번데기들로부터 암컷을 골라 소형 반투명 플라스틱컵(약 35g들이, Bio-Serv) 안에 개체별로 넣고 컵 안에서 우화시켜 10% 설탕물을 솜에 적서 공급하였다. 우화한 지 1~3일 된 암컷들을 복부 끝을 잘라 핵산에 약 5분간 담가 성페로몬을 추출하였는데, 추출물은 개체별 혹은 여러 마리를 합친 것을 가스 크로마토그래피로 분석하였다. 가스 크로마토그래피 분석에는 GC2010 Plus 시스템(Shimadzu, 일본)을 사용하였는데, 컬럼은 sp-2380(0.2 μ m, 100 m, 0.25 mm, Supelco)을 장치하였다. 주입구 온도는 230°C로 하였고, 탐지는 불꽃이온화검출기

(FID)를 사용하였고, 검출기 온도는 230°C로 하였다. 온도프로그램은 70°C에서 1분 유지하고, 이후 분당 20°C로 상승시켜 180°C까지, 여기서 30분 유지, 다시 분당 20°C로 상승시켜 250°C까지, 여기서 10분 유지하였다. 주입은 1분간 splitless모드에서 하였다. 운반기체는 질소(속도 0.98 ml/min)를 사용하였다. 추출물은 질소가스를 이용하여 5~10 μ l 정도로 농축한 후 1 μ l를 주입하였다. 검출된 피크들은 동일조건에서 분석된 표준화합물인 tetradecanyl acetate(14OAc), (Z)-9-tetradecenyl acetate(Z9-14OAc), (Z)-11-tetradecenyl acetate(Z11-14OAc), (E)-11-tetradecenyl acetate(E11-14OAc)의 컬럼 용출시간과 비교하여 동일화합물의 존재를 추정하였다. 14OAc는 Sigma에서, 다른 3 화합물은 Shinetsu(일본)에서 구입하였는데, 순도는 모두 95% 이상이었다. 23개의 시료를 분석하였는데, 전체 분석 시료 중 예상 화합물이 출현한 빈도를 구하였고, 크로마토그램 위에 피크별로 차지한 면적으로 각 화합물의 양을 대략 추산하였다.

결과 및 고찰

발생 및 발육 특성

2008년 9월 중순에 채집한 *Ostrinia* sp. 유충 17마리를 25°C로 가온 사육하였을 때, 우화에 성공한 개체들은 9마리였다. 11월말부터 이듬해까지 불규칙적으로 우화하였는데, 그 중 암수 각각 1마리씩이 약 5개월이 걸려 이듬해 2월말 비슷한 시기 우화하여 짝짓기 시킬 수 있었다. 이들 쌍이 산란한 알에서 부화한 유충들을 콩명나방 사료로 사육하여 다음 세대를 만들어 낼 수 있었고, 이후 실험실에서의 누대사육이 가능하였다. 또 2009년 9월 하순부터 10월 중순 사이에 채집된 유충 28마리는 그 중 2마리를 제외하고는 대부분 말령 유충으로 추정되었다. 2령으로 추정되는 유충이 1마리 확인되었는데, 일주일 이내에 사망하였고, 4령으로 추정되는 유충 1마리는 5령으로 탈피하여 월동에 들어간 것이 확인되었다. 최종 10마리만이 우화하였는데, 이들은 이듬해(2010) 5월 15일과 6월 29일 사이에 채집 후 230일 이상을 지나 용화한 것이 확인되었다(Table 1). 그러나 성충은 6월 4일과 7월 7일 사이에 약 10~13일의 상대적으로 짧은 번데기 기간을 거쳐 우화하였다. 이 결과들로부터 본 연구의 *Ostrinia* sp.는 9월과 10월에 걸쳐 서식하는 노숙 유충들은 이미 월동 조건을 받은 상태로, 이듬해 늦봄부터 초여름 사이에 용화하는 장기간의 월동기간을 지내는 유충 휴면을 하는 특성을 갖는 것으로 추정되었다. 이와 같은 특성은 가을철 유충으로 휴면에 들어가는 *Ostrinia*속의 조명나방에서도 보고(Goto et al., 2001) 되었다. 월동과 휴면에 관련된 특성은 앞으로 자세히

Table 1. Developmental characteristics (mean±SD) of *O. scapularis* larvae collected in a red bean field, 2009 (Suwon) under an outside natural condition

Gender	Larvae No. collected	Pre-pupation period (day)	Pupal weight (mg)	Pupal period (day)	Collection date	Emergence date
Female	2	257.0±21.2	72.0± 2.8	10.0±2.8	10/8~10/16, 2009	6/19~7/7, 2010
Male	8	230.0±11.3	62.8±14.4	13.1±3.1	9/30~10/8, 2009	6/4~6/26, 2010

Table 2. Developmental characteristics(mean±SD) of *O. scapularis* larvae reared on two different artificial diets

Diet source	Start No.	Emergence rate (%)	Gender	Replicate	Development period(day)			Pupal weight (mg)
					Larva	Pupa	Larva-pupa	
<i>M. vitrata</i> (Jung et al., 2007)	30	76.7	Female	14	26.1±2.6 a*	8.4±0.9 a	34.5±3.1 a	97.1±16.3 a
			Male	9	27.8±5.7 a	8.1±2.1 a	35.9±5.8 a	78.6±11.3 ab
<i>O. furnacalis</i> (Jung et al., 2005)	30	16.7	Female	2	30.5±3.5 a	10.0±0.0 a	40.5±3.5 a	64.5±16.3 b
			Male	3	25.3±4.0 a	9.0±0.0 a	34.3±4.0 a	54.0± 8.2 b

*Different letters in a column indicate significant difference among means at $\alpha=0.05$ (Duncan test). Larvae were maintained at 25°C, 15L/9D photo-regime and 60% RH condition.

보고할 예정이다.

인공사료 선발실험의 결과에서 *Ostrinia* sp. 유충은 콩명나방 사료로 사육하였을 때 우화율이 더 높았고, 암컷 번데기 무게는 조명나방 사료로 사육한 *Ostrinia* sp. 집단 번데기 암수보다 유의하게 무거웠다(Table 2). 유충과 번데기 발육기간은 두 사료 간에 유의한 차이는 없었다. 이 결과로 콩명나방 사료가 본 연구의 *Ostrinia* sp. 사육에 더 적합하다고 판단되어, 이후 실내 인공사육에 이용하였다. 한편 25°C와 15L/9D의 광조건, 60% 상대습도의 실내사육 조건에서는 유충기간이 약 25~30일 정도로 휴면 혹은 휴지 상태에 들어가지 않는다는 것을 알 수 있었다(Table 2).

수컷 생식기 형태

수컷 생식기 형태는 uncus 부분이 뚜렷하게 세 개의 lobe를 갖는 것으로 관찰되었다(Fig. 1a,1b). Mutuura and Monroe (1970)의 분류기준에 의해 국내에 기록된 *Ostrinia*속 6종(Bae, 2001) 중 분홍무늬들명나방은 2-lobed uncus 집단에 속하고, 나머지는 모두 3-lobed uncus 집단으로 분류된다. 한편, 본 연구의 실험곤충의 수컷의 가운데다리 종아리마디는 외관상으로는 두텁게 보이고 털이 관찰되지 않으나(Fig. 1c), 종아리마디의 표면 접힌 부분 안쪽을 들어내면 털이 수북한 모양으로 드러났다(Fig. 1d). 이 형태는 Mutuura and Monroe(1970)의 수컷 가운데다리 종아리마디 형태 분류 기준으로 털이 아주 많은 (massive) 형태로 판정되었다. 따라서 본 연구의 실험곤충의 중

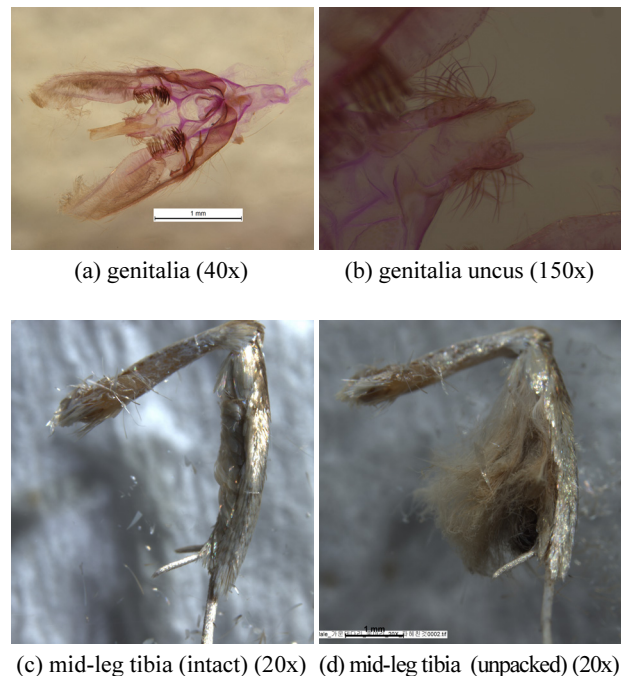


Fig. 1. Photos of male genitalia and mid-leg tibia of *Ostrinia* sp. found in the red bean.

동정에서는 국내에 보고된 *Ostrinia*속에서 수컷의 생식기 형태가 3-lobed uncus이면서 가운데다리 종아리마디에 많은 털을 갖는 종인 콩줄기명나방, 큰섬들명나방, 큰조명나방을 후보종으로 결정하였다. 종아리마디 모양이 단순한(simple) 조명나방과 오리엔트조명나방은 고려대상에서 제외하였다.

COI	AAATAAATGT	TGATATAAAA	TAGGATCTCC	CCCTCCAGCA	GGATCAAAAA	ATGATGTATT	
	TAAATTTTTCGA	TCTGTTAATA	ATATAGTGAT	AGCTCCAGCT	AAAACAGGAA	GTGATAATAA	
	TAATAATAAT	GCTGTAATTC	CTACAGATCA	TACAAATAAT	GGTATTTTGT	CAAAGATAT	
	TCCGTTAATT	CGTATGTTAA	TAATTGTTGT	AATGAAGTTA	ATTGCTCCTA	AAATTGAAGA	
	AATACCAGCT	AAATGTAATG	AAAAAATAGC	TAGGTCTACA	GATCTACCTC	CATGAGCAAT	
	ATTAGATGAA	AGTGGGGGGT	AAACAGTTCA	ACCAGTTCCT	GCTCCATTTT	CAACGATTCT	
	TCTTGAAATT	AAAAGGGTTA	ATGATGGGGG	TAATAATCAA	AATCTTATAT	TATTTATTCTG	
	TGGGAATGCT	ATATCAGGAG	CTCCTAATAT	TAGAGGTACT	AATCAATTTT	CAAATCCACC	
	AATTATAATA	GGTATTACTA	TAAAAAAAAT	TATAATAAAT	GCATGAGCTG	TTACAATTGT	
	ATTATAAATT	TGATCATCCC	CAATTAATGA	TCCAGGATT	CCTAATTTCAG	CTCGAATTA	
	TAAACTTAGA	GAAGTTCCTA	CTATTCTCT	TCAAATTCCA	AAAAATAAAT	ATAAAGTT	
	COII	TAAACCCCAT	TTATAAAGGA	TTATCCTTTT	TTTAGAAATA	GCAACTTGAT	CTAATTTTATG
		TCTACAAAAT	AGAGCCTCTC	CATTAATAGA	ACAAATTATT	TTTTTTTATG	ATCATACATT
		AATTATTTTA	GTTATAATTA	CAATTTTAGT	AGGATATTTA	ATAATAAGAT	TATTTTTTAA
TAAATATATT		AATCGATTTT	TACTTGAAGG	TCAAATAAAT	GAATTAATTT	GAACAATTAT	
TCCAGCTATC		ACATTAATCT	TTATTGCTTT	ACCATCACTT	CGATTATTAT	ATTTATTAGA	
TGAATTAAT		AAACCATTAA	TTACATTAAA	ATCAATTGGA	CATCAATGAT	ATTGAAGTTA	
TGAATATTCA		GATTTTAATA	ACATTGAATT	TGATTCTTAT	ATAACCCCTA	TAAATGAAAT	
AAATAAAAAAT		AATTTTCGTC	TTTTAGAAGT	AGATAATCGA	ATTATTTTAC	CAATAAATAA	
CCAAATTCAA		ATTATAGTTA	CCGCAACAGA	TGTTATTTCAT	TCATGAACCTA	TCCCATCATT	
AGGAGTAAAA		GTAGATGCTA	ATCCAGGTCC	CCTAAATCAA	ACTAATTTTT	TTATTAATCG	
ACCTGGAATT		TTTTTCGGGC	AATGTTTACA	AATTTGCGGA	GCAAATCATA	GATTTATACC	
TATTGTAATT		GAAAGAATCT	CAATTAAAAA	TTTTATTAAT	TGAATTAATA	ATTACTCATC	
ATTAGATGAC		TGAAAGCAAG	TATTCTCCCT	CTTTACAAAA	CAGGGGGTGC	GTCTGGCGCC	
GTAGGACAAA		CGAATGCCCA	ATGTCCTCGG	CCAGAAGTGA	TCCAGAGGAA	CGTACCCATG	
ACGAACTACT	CATACTCTAC	ACGGCCACCA	TCTCCAGGAG	AGAAGCAGCC	CAGACGGTAG		
TCCGCTGCAT	GGATCCAGCA						

Fig. 2. Partial DNA sequences of mitochondrial COI and COII genes of *Ostrinia* sp. found in the red bean.

Table 3. Homology of nucleotide (DNA) and amino acid (AA) sequences of mitochondrial COI and COII genes among *Ostrinia* spp.

Compared species and region	Homology (%)				References		Journal
	COI		COII		GenBank accession No. (for DNA)		
	DNA	AA	DNA	AA	COI	COII	
<i>O. scapularis</i>							
China	97.7	100.0	99.6	100.0	EU128656.1	EF622419.1	
Japan			99.6	100.0		AB029541.2	Kim et al. (1999)
<i>O. zaguliaevi</i>							
Japan			98.5	100.0		AB029542.2	Kim et al. (1999)
<i>O. zealis</i>							
China	96.7	97.7	98.8	100.0	EU128658.1	EU070915.1	
Japan			98.7	100.0		AB029543.2	Kim et al. (1999)

미토콘드리아 cytochrome oxidase I과 II

형태형질로 종 분류를 더 이상 진행할 수 없어, 분자형질에 의존한 동정으로 미토콘드리아 cytochrome oxidase I (COI)과 II (COII)의 유전자 부분의 염기서열을 분석하였고, 이 자료를 NCBI에 등록된 정보들과 비교하였다. 이용한 프라이머들로 미토콘드리아 COI과 COII의 유전자 부분은 각각 658 bp와

920 bp의 염기서열이 밝혀졌다(Fig. 2).

현재(2012. 9. 22.) NCBI에는 COI의 경우 중국으로부터 콩줄기명나방과 큰조명나방이 각각 1개의 경우만이 등록되어 있는데, 두 종의 서열 모두 본 연구 실험곤충의 COI 서열과 100% 상동성을 보이지 않았고, 콩줄기명나방의 경우가 97.7%의 가장 근접한 상동성을 보였다(Table 3). COII의 경우에는 중국으로부터 콩줄기명나방과 큰조명나방에서 각각 1개의 경우들이

보고되었고, 일본으로부터는 이 두 종과 큰섬들명나방에서 각각 1개의 경우들이 보고되었다. 그런데 이들 유전자의 염기서열 역시 본 연구에서 분석된 염기서열에 100% 상동성을 보이는 것은 없었고, COI과 마찬가지로 콩줄기명나방의 경우에 중국과 일본의 보고시료들과 99.6%로 가장 큰 상동성을 보였다. 한편, 두 효소 유전자의 일치된 염기서열들로 추정된 각각의 아미노산 서열에서, COII의 아미노산 서열의 경우는 중국과 일본에서 각각 보고된 콩줄기명나방, 큰섬들명나방, 큰조명나방의 것들 모두에 100% 일치하며 중간 차이를 밝힐 수 없었다(Table 3). COI 아미노산 서열은 콩줄기명나방과 100% 일치하였으나 큰조명나방은 5개의 아미노산이 다른 것으로 나타나 97.7%의 상동성을 보였다. 큰섬들명나방은 분석 보고가 없어 비교하지 못했다. 결과적으로 두 효소 유전자 염기서열에서 완전 일치하는 종을 발견할 수 없었기 때문에 이 유전자 분석 결과는 본 연구의 종 동정에 결정적 단서를 제공하지 못한다고 추정되었다. 단 추정된 아미노산 서열에서 COI의 경우에 큰조명나방에서 아미노산의 변이가 발견되어(Table 3), 본 연구의 실험곤충 종은 큰조명나방보다는 콩줄기명나방 혹은 큰섬들명나방에 더 가까운 것으로 생각되었다.

기주식물 범위

종 추정의 다른 근거로 그간 보고된 기주식물의 범위 자료들이 검토되었다(Table 4). 일본에서는 콩줄기명나방은 다식성의 섭식습성을 갖고(Ishikawa et al., 1999b), 외떡잎식물의 벼과와 쌍떡잎식물의 7과에서 기주식물들이 보고되어 있다(Hattori and Mutuura, 1987). 한국에서는 콩줄기명나방 유충이 콩과 옥수수(*Zea mays*)(벼과)에서 발견되었다는 기록이 있

고(Park, 1975), Bae(2001)의 보고에는 출처가 기록되지 않은 'Im(1999)'이 인용되어 달리아(*Dahlia pinnata* Cav.)(국화과)가 기주식물로 기록되어 있다. 중국에서는 환삼덩굴(*Humulus scandens*)(삼과)에서 채집한 기록(GenBank accession No. EU128656.1, EF622419.1)이 있는데, 한국과 중국에서 기록된 식물종들은 일본에서 콩줄기명나방의 기주식물로도 보고되어 있다(Hattori and Mutuura, 1987).

큰섬들명나방은 일본에서 단식성으로 보고되어(Ishikawa et al., 1999b) 머위(*Petacites japonicus*)(국화과)를 먹이로 한다고 보고되어 있으나(Hattori and Mutuura, 1987), 국내에서는 큰섬들명나방의 기주식물로 Park(1983a)이 "팥이나 동부를 가해하는 것으로 알려져 있다."라고 언급하였는데, Bae(2001)는 이 문헌을 인용하여 팥과 동부(*V. unguiculata* (L.) Walp.)(콩과)를 기주식물로 기록하고 있다. 즉, 큰섬들명나방에 대해서는 한국과 일본 사이에 기록된 기주식물과 섭식습성이 전혀 다른 것으로 나타났다.

큰조명나방은 일본에서 국화과 안에서만 달리아와 엉겅퀴류(*Cirsium* spp.), 우영(*Arctium lappa*)의 세 식물종들을 섭식하는 협식성으로 보고되어 있는데(Hattori and Mutuura, 1987; Ishikawa et al., 1999a), 중국에서도 같은 종을 엉겅퀴(*C. arvense*)에서 채집한 기록을 보고하고 있다(GenBank accession No. EU128658.1, EU070915.1). 국내에서는 기주식물에 관한 기록은 없다(Bae, 2001). 본 연구에서의 실험곤충은 팥과 녹두(*V. radiata*)(콩과)에서 발견되었으니, 국내 기록의 기준으로 보면 큰섬들명나방으로 규정지을 수 있으나, 일본 기록으로 보면 콩줄기명나방으로 규정되어야 한다. 따라서 기주식물에 관한 기록으로 살펴보았을 때, 본 연구의 실험곤충은 콩줄기명나방이나 큰섬들명나방일 것으로 추정되었다.

Table 4. Host plants and feeding habits recorded for three *Ostrinia* species

Recorded area	<i>Ostrinia</i> species			Reference
	<i>O. scapularis</i>	<i>O. zaguliaevi</i>	<i>O. zealis</i>	
Korea	<i>Dahlia pinnata</i> (달리아), <i>Glycine max</i> (콩), <i>Zea mays</i> (옥수수)	<i>Vigna angularis</i> (팥), <i>Vigna unguiculata</i> (동부)	-	1, 2, 3, 4
Japan	<i>Vigna</i> spp. (팥류), <i>Humulus lupulus</i> (홉), <i>Xanthium</i> spp. (도꼬마리류), <i>Rumex</i> spp. (수영류)	<i>Petacites japonicus</i> (머위)	<i>Arctium lappa</i> (우영), <i>Cirsium</i> spp. (엉겅퀴류), <i>Dahlia</i> spp. (달리아류)	5, 6
China	<i>Humulus scandens</i> (환삼덩굴)	-	<i>Cirsium arvense</i> (엉겅퀴)	7
Feeding habit	polyphagous	monophagous	oligophagous	6

1. Bae (2001); 2. Park (1975); 3. Park (1983a); 4. Park (1983b); 5. Hattori and Mutuura (1987); 6. Ishikawa et al. (1999b); 7. GenBank accession No. (Table 1 in this study).

성페로몬 성분

일본 *Ostrinia*속 분류에 관한 기존의 고찰(Ishikawa et al., 1999b)을 참고로 하여 본 연구의 실험곤충의 암컷 성페로몬 성분을 분석하였다. 암컷 처녀성충의 복부끝 추출물에서는 가스 크로마토그래피 분석에 의해, Z11-14OAc와 E11-14OAc 표준 화합물들과 동일한 시간에 용출되는 화합물들이 탐지되었으나, Z9-14OAc는 탐지되지 않았다(Fig. 3, Table 5). 큰섬들명나방과 큰조명나방은 암컷의 성페로몬 성분으로 Z9-14OAc를 공통적으로 사용하고 있는데, 큰섬들명나방의 경우에는 전체 페로몬 양 중에 이 성분이 33~45%(Huang et al., 1998), 큰조명나방의 경우에는 60.7%(Ishikawa et al., 1999a) 포함되어 있는 것으로 보고되고 있다. 따라서 본 연구의 해충이 큰섬들명나방이나 큰조명나방이라면 암컷 성페로몬샘 추출물 중에 Z9-14OAc가 검출될 확률이 높을 것으로 추정되었으나, 가스 크로마토그

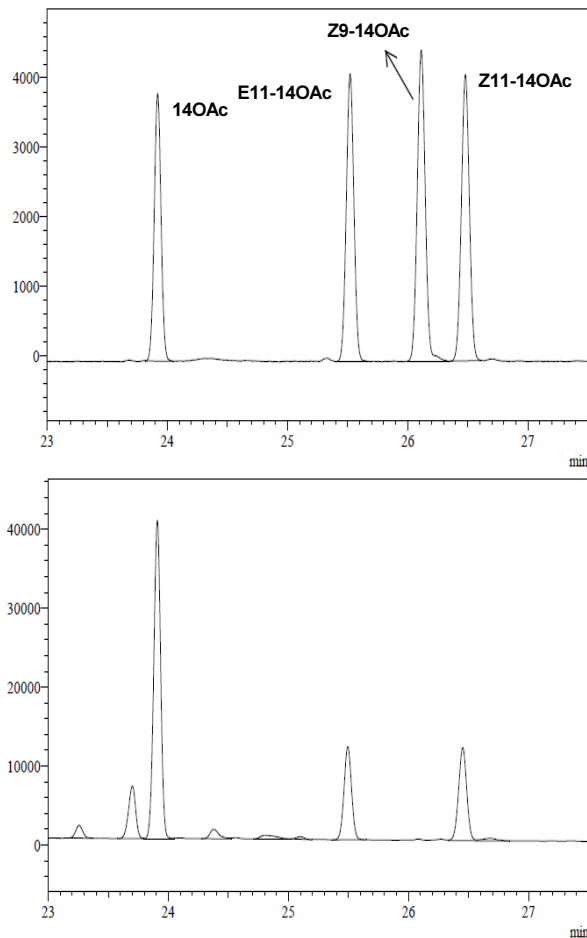


Fig. 3. A gas chromatography profile from pheromone gland extracts of *Ostrinia* sp. females (above: standard compounds, below: gland extract).

Table 5. Detected frequency and relative amount of sex pheromone components from *Ostrinia* sp. females

Candidate sex pheromone component	Detected No. /Analyzed No.	Mean ratio of amount (%)
14OAc	9/23	19.0±27.6
Z9-14OAc	0/23	-
E11-14OAc	8/23	9.0±16.4
Z11-14OAc	23/23	71.9±31.2

래피 용출시간 분석결과에서는 이 화합물이 전혀 검출되지 않았다(Table 5). 따라서 본 연구의 실험곤충은 Z9-14OAc을 성페로몬 성분으로 갖고 있지 않다고 추정되었으며, Z9-14OAc를 갖는 두 종을 동정대상에서 제외하면, 나머지 콩줄기명나방이 본 연구의 실험곤충 종으로 동정되는 것으로 결론지을 수 있다. 한편 콩줄기명나방의 성페로몬 성분은 Z11-14OAc과 E11-14OAc으로 구성된다고 보고되었는데(Huang et al., 1997, 2002), 일본 도쿄 근교인 Matsudo라는 동일지역에서 채집된 개체들 중에는 성페로몬 성분에 cis형의 비율이 97%인 Z-type과 조성이 거의 반대로 trans형의 비율이 99%인 E-type, trans 성분 비율이 약 64%인 두 집단의 중간이 되는 I-type 집단이 공존하는 것이 보고되어(Huang et al., 2002), 이 중 역시 아직 종분류에 확실한 기준이 마련되어 있지 않거나 종분화 과정에 있는 것을 시사하고 있다. 본 연구의 가스 크로마토그래피 분석에서 표준화합물들과 같은 시간에 용출된 피크들로부터 14OAc와 Z11-14OAc, E11-14OAc가 성페로몬샘에 있는 것으로 추정되었는데, Z11-14OAc는 모든 분석의 경우에서 검출되었으며 그 양이 가장 많을 것으로 추정되었다. 그러나 이 성분 동정은 가스 크로마토그래피의 화합물 용출시간에만 근거하고 있기 때문에 확신되는 결론이 아니고 추정에 불과하다. 특히 정량 과정은 그것이 비록 정확한 방법을 사용하는 경우에 얻어지는 결과와 큰 편차를 보이지 않을 것임을 예상됨에도 불구하고, 실험 방법 자체는 오류에 근거하고 있었다. 따라서 본 *Ostrinia* sp.의 성페로몬 성분 동정과 조성은 앞으로 축각전도도 측정이나, 질량분석, 행동 검정과 같은 조금 더 객관적 분석실험에 의한 결과들을 근거로 다시 결정되어야 한다.

종 동정에 관여된 요인들 종합 고찰

팔에서 발견된 *Ostrinia* sp. 종 동정 과정에서, 먼저 수컷 생식기의 3-lobed 및 가운데다리 종아리마디의 털이 많은 형태 형질로 국내 보고된 종들(Bae, 2001) 중에서 콩줄기명나방, 큰섬들명나방, 큰조명나방의 3종을 후보로 선별하였고, 미토콘드

리아 시토크롬 옥시다제 I 유전자에서 추정된 아미노산 서열에 의해 큰조명나방을 제외하였다. 다시 암컷 성페로몬 성분 중 Z9-14OAc를 탐지하지 못했던 결과에서 콩줄기명나방만이 본 연구의 해충종 후보로 결정되었다. 그런데 이런 결정에는 국내의 *Ostrinia*속 곤충들에 대해서 실험적 사실에 근거하여 일관되게 보고된 자료들이 전혀 없었기 때문에, 상대적으로 이에 관한 자료들을 보유한 외국 곤충집단에 관한 보고들이 더 신뢰되는 기준으로 이용되었다. 특히 기주식물에서 채집된 곤충종들과 성페로몬 성분의 차이에 관한 내용을 고찰한 문헌(Ishikawa et al., 1999b)은 본 연구의 결론을 유도하는데 가장 결정적으로 작용하였다.

그러나 동일 지역 동일 기주의 콩줄기명나방 집단들에서 성페로몬 조성에서의 변이(Huang et al., 2002)가 보고되어 있어, 그 종 자체의 유전적 독립성에 대해 의문이 있는 상태이다. 또 수컷의 종아리마디 형태는 이대립유전자(diallelic loci)에 의해 지배되는데, 종간의 생식적 격리와 관계없이 나타날 수 있고 단순한 다형형질의 하나일 수 있다는 추정을 하며 중간형태(털이 약간 있는)의 종아리마디를 갖는 *O. narynensis*나 단순모양(털이 거의 없는)의 종아리마디를 갖는 오리엔트조명나방을 콩줄기명나방과 동종 취급하는 것을 제안한 보고(Frolov et al., 2007)도 있다. 또 3-lobe를 갖는 수컷 생식기 집단안의 *Ostrinia*속 종들 사이의 유전적 분화는 가운데다리 종아리마디 형태에 의존하지 않고 기주식물에 따른다는 최근의 보고(Frolov et al., 2012)도 있어, 이 분류군에는 여전히 혼란이 제기되어 있는 상태이다. 따라서 궁극적으로 *Ostrinia*속 종들의 분류기준이 새롭게 만들어져야 할 것으로 보인다.

요약하면, 팔에서 발견된 *Ostrinia* sp.가 현재 국내외 연구 상황, 특히 기존에 실험을 통해 보고되었던 기주식물 범위 및 성페로몬 성분을 고려할 때 우선 콩줄기명나방(*O. scapularis*)으로 명명하는 것이 합리적으로 생각되었다. 그러나 *Ostrinia*속에 속한 종들의 분류 기준이 아직 명확하게 결정되어 있지 않고, 본 연구의 관련된 내용들 역시 좀 더 객관적인 자료를 필요로 하는 만큼, 이후 관련 부분들은 더 연구되어 수정될 수 있을 것으로 생각된다. 특히 이 종만이 아니고 국내에 있는 관련 *Ostrinia*속 종들 모두에 대해 형태, 행동, 생리, 생태, 유전 부분에서 구체적이며 종합적 연구가 이뤄져야 할 것으로 생각된다.

사 사

본 연구에서 대상곤충 종의 형태적 특징에 의한 분류를 검토하고 의견을 주신 인천대학교의 배양섭 교수에게 감사드린다. 본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ008692,

PJ008695)의 지원으로 수행한 결과이다.

Literature Cited

- Bae, Y.S., 2001. Family Pyraloidea: Pyraustinae & Pyraliae. Economic Insects of Korea 9. Ins. Koreana Suppl. 16, 252p. Junghaeng-Sa, Seoul.
- Frolov, A.N., Bourguet, D., Ponsard, S., 2007. Reconsidering the taxonomy of several *Ostrina* species in the light of reproductive isolation: a tale for Ernst Mayr. Biol. J. Linnean Soc. 91, 49-72.
- Frolov, A.N., Audiot P., Bourguet, D., Kononchuk, A.G., Malysh, J.M., Ponsard, S., Streiff, R., Tokarev, Y.S., 2012. From Russia with lobe: genetic differentiation in trilobed uncus *Ostrinia* spp. follows food plant, not hairy legs. Heredity 108, 147-156.
- Goto, M., Sekine, Y., Outa, H., Hujikura, M., Suzuki, K., 2001. Relationships between cold hardiness and diapause, and between glycerol and free amino acid contents in overwintering larvae of the oriental corn borer, *Ostrinia furnacalis*. J. Insect Physiol. 47, 157-165.
- Hajibabaei M., Janzen, D.H., Burns, J.M., Hallwachs, W., Hebert, P.D., 2006. DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. Proc. Natl. Acad. Sci. 103, 968-971.
- Hattori, I., Mutuura, A., 1987. Identification of Japanese species belonging to the genus *Ostrinia* with the host relationship. Plant Protect. 41, 24-31.
- Huang, Y., Tatsuki, S., Kim, C.-G., Hoshizaki, S., Yoshiyasu, Y., Honda H., Ishikawa, Y., 1997. Identification of sex pheromone of adzuki bean borer, *Ostrinia scapularis*. J. Chem. Ecol. 23, 2791-2802.
- Huang, Y., Honda, H., Yoshiyasu, Y., Hoshizaki, S., Tatsuki, S., Ishikawa, Y., 1998. Sex pheromone of the butterbur borer, *Ostrinia zaguliaevi*. Entomol. Exp. Appl. 89, 281-287.
- Huang, Y., Takanashi, T., Hoshizaki, S., Tatsuki, S., Ishikawa, Y., 2002. Female sex pheromone polymorphism in adzuki bean borer, *Ostrinia scapularis*, is similar to that in European corn borer, *O. nubilalis*. J. Chem. Ecol. 28, 533-539.
- Ishikawa, Y., Takanashi, T., Huang, Y., 1999a. Comparative studies on the sex pheromones of *Ostrinia* spp. in Japan: the burdock borer, *Ostrinia zealis*. Chemoecology 9, 25-32.
- Ishikawa, Y., Takanashi, T., Kim, C., Hoshizaki, S., Tatsuki, S., Huang, Y., 1999b. *Ostrinia* spp. in Japan: their host plants and sex pheromones. Entomol. Exp. Appl. 91, 237-244.
- Jung, J.K., Park, J.H., Im D.J., Han, T.M., 2005. Parasitism of *Trichogramma evanescens* and *T. ostrinia* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) to eggs of the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Pyralidae). Korean J. Appl. Entomol. 44, 43-50.
- Jung, J.K., Seo, B.Y., Park, J.H., Moon, J.K., Choi, B.S., Lee, Y.H., 2007. Developmental characteristics of soybean podworm, *Matsumuraes phaseoli* (Lepidoptera: Tortricidae) and legume pod

-
- borer, *Maruca vitrata* (Lepidoptera: Pyralidae) on semi-synthetic artificial diets. Korean J. Appl. Entomol. 46, 393-399.
- Jung, J.K., Seo, B.Y., Cho, J.R., Kwon, Y.H., Kim, G.H., 2009. Occurrence of lepidopteran insect pests and injury aspects in Adzuki bean fields. Korean J. Appl. Entomol. 48, 29-35.
- Kim, C., Hoshizaki, S., Huang, Y., Tatsuki, S., Ishikawa, Y., 1999. Usefulness of mitochondrial COII gene sequences in examining phylogenetic relationships in the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis*, and allied species (Lepidoptera: Pyralidae). Appl. Entomol. Zool. 34, 405-412.
- Mutuura, A., Munroe, E., 1970. Taxonomy and distribution of the European corn borer and allied species: Genus *Ostrinia* (Lepidoptera: Pyralidae). Memoirs of the Entomological Society of Canada, 102, 1-112.
- Park, K.T., 1975. Taxonomic study of the corn stem borer in Korea with allied species of the Genus *Ostrinia* (Lep.; Pyralidae). Kor. J. Pl. Prot. 14, 221-225.
- Park, K.T., 1983a. Pyralidae, in: Shin, Y.H., Park, K.T., Nam, S.H. (Eds.), Illustrated Flora & Fauna of Korea Vol. 27 Insecta (IX). 1053pp. Ministry of Education, Seoul. pp.374-376, Plate 24.
- Park, K.T., 1983b. Microlepidoptera of Korea. Insects Koreana, Ser. 3, 149-157.