

항온조건에서 긴등기생파리 [*Exorista japonica* (Townsend)] (Diptera: Tachinidae) 온도별 발육

박창규* · 서보운 · 최병렬

국립농업과학원 농산물안전성부 작물보호과

The Temperature-Dependent Development of the Parasitoid Fly, *Exorista Japonica* (Townsend) (Diptera: Tachinidae)

Chang-Gyu Park*, Bo Yoon Seo and Byeong-Ryoel Choi

Crop Protection Division, Department of Agro-Food Safety and Crop Protection, National Institute of Agricultural Sciences, Wanju 55365, Republic of Korea

ABSTRACT: *Exorista japonica* is one of the major natural enemies of noctuid larvae, *Mythimna separata* and *Spodoptera litura*. The examined parasitoid was obtained from host species *M. separata*, collected at Gimje city and identified by DNA sequences (partial cytochrome oxidase I, 16S, 18S, and 28S). For purposed of this study, laboratory reared *S. litura* served as the host species for the development of the *E. japonica*. The developmental period of *E. japonica* immature stages were investigated at seven constant temperatures (16, 19, 22, 25, 28, 31, 34±1°C, RH 20~30%). Temperature-dependent developmental rates and development completion models were developed. *E. japonica* was successfully developed from egg to adult in 16~31°C temperature regimes. Developmental duration was the shortest at 34°C (8.3 days) and the longest at 16°C (23.4 days) from egg to pupa development. Pupal development duration was the shortest at 28°C (7.3 days). Total immature-stage development duration decreased with increasing temperature, and was the shortest at 31°C (16.3 days) and the longest at 16°C (45.4 days). The lower developmental threshold was 7.8°C and thermal constant required to complete total immature-stage development was 370.4 degree days. Among four non-linear temperature-dependent developmental rate models, Briere 1 model had the highest adjusted R-squared (0.96). The distribution model of development completion for total immature stage development of *E. japonica* was well described by all model ($r_{adj}^2=0.90$) based on the standardized development duration. These results of study would be necessary not only to develop population dynamics model but also to understand fundamental biology of *E. japonica*.

Key words: *Exorista japonica*, Natural enemy, Temperature-dependent development rate model, Development completion model, DNA sequences

초 록: 야외에서 채집된 멸강나방(*Mythimna separata*) 유충 및 번데기로부터 우화된 기생파리를 NCBI 데이터베이스에 등록되어 있는 유전자 염기서열 정보(16S, 18S, 28S 그리고 CO I)와 비교하여 긴등기생파리(*Exorista japonica*)로 동정하였다. 긴등기생파리의 알부터 성충우화까지 발육 기간을 담배겨세미나방(*Spodoptera litura*) 5~6령 유충을 숙주 곤충으로 하여 7개 항온조건(16, 19, 22, 25, 28, 31, 34±1°C)에서 조사하였고 온도에 따른 발육율과 발육완료 모델들의 매개변수들을 추정하였다. 34°C를 제외한 다른 항온 조건에서 알부터 성충우화까지 발육이 가능하였다. 알부터 번데기까지 발육 기간을 보면 16°C(23.4일)에서 가장 길었고 34°C(8.3일)에서 가장 짧았으나, 번데기부터 성충까지 발육기간은 28°C(7.3일)에서 가장 짧았다. 알부터 성충우화까지 전체 발육 기간은 31°C에서 16.3일로 가장 짧았고 16°C에서 45.4일로 가장 길었으며 온도가 상승함에 따라 발육기간은 짧아졌다. 선형 발육율 모델을 이용하여 추정한 알부터 성충우화까지 발육영점온도와 유효적산온도는 각각 7.8°C, 370.4DD 였다. 4개 비선형 발육율 모델(Briere 1, Lactin 2, Logan 6, Performance) 중에서는 Briere 1 모델($r_{adj}^2 = 0.96$)이 가장 높은 해석력을 보여주었다. 동일 연령 집단의 발육완료 분포를 설명하기 위해 사용된 3개 모델(2-parameter Weibull, 3-parameter-Weibull, Sigmoid)은 모두 같은 결정력($r_{adj}^2 = 0.90$)을 보였다.

검색어: 긴등기생파리, 천적, 온도의존적 발육율 모델, 발육완료 모델, 유전자 염기 서열

*Corresponding author: changgpark@korea.kr

Received September 11 2016; Revised October 17 2016

Accepted November 6 2016

긴등기생파리(*Exorista japonica*)는 파리목 기생파리과에 속하며 멸강나방(*Mythimna separata*, 밤나방과), 담배거세미나방(*Spodoptera litura*, 밤나방과) 등 49종의 나방류 유충에 기생하는 천적으로(Shima, 2006), 일본, 중국, 대만, 인도, 네팔, 베트남(Crosskey, 1976) 및 국내(The Entomological Society of Korea & Korean Society of Applied Entomology, 1994)에 분포하는 것으로 알려져 있다. 성충은 숙주 곤충의 유충 표피에 산란하고 1령으로 부화한 유충이 숙주 곤충의 표피를 뚫고 체내로 들어가 기생한다(Nakamura, 1994). 긴등기생파리의 숙주 탐색과 피해, 식물 휘발성 물질의 유인 효과(Tanaka et al., 2001; Ichiki et al., 2008, 2011), 산란 행동(Nakamura, 1997; Tanaka et al., 1999)이 보고되었으나 온도에 따른 발육 특성에 관한 정보는 거의 알려져 있지 않다.

온도는 곤충의 발육과 개체군의 계절적 변동과 같은 생물학적인 특성에 영향을 주는 중요한 요소 중 하나이다(Zahiri et al., 2010; Wang et al., 2013). 따라서 절지동물인 천적의 경우에도 온도는 발육 속도에 가장 크게 영향을 미치는 요소일 것이며 이들의 관계를 이해하는 것은 대량 사육을 위한 최적 조건 탐색이나, 생활사와 같은 생물적 특성을 이해하는데 필수적인 정보가 될 것이다.

긴등기생파리는 포장에서 담배거세미나방 유충에 대한 기생율이 11.8~62.2%에 달한다고 보고되어 있어(Takahashi and Sawaki, 1969) 새로운 생물학적 방제 재료로써 개발 가능성이 크다고 판단된다. 이에 본 연구에서는 멸강나방 유충으로부터 채집된 긴등기생파리를 몇 가지 유전자들의 염기서열을 이용하여 종을 확인하고, 알부터 성충우화까지 온도에 따른 발육 기간을 조사하여, 동일 연령 집단의 온도의존적 발육모델과 발육완료 모델을 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 곤충의 채집과 종 동정, 세대 유지

실험에 사용된 기생파리는 2015년 7월 7일 김제시 금산면 원평리 화본과 잡초에 발생한 멸강나방 유충을 실험실로 옮겨 사육하는 과정에서 채집되었다. 채집된 기생파리를 유전자 수준에서 종 동정을 하기 위하여 핵내 28S, 18S ribosomal DNA와 미토콘드리아내 mitochondrial COI, 16S rDNA의 염기서열 정보를 이용하였다. 유전자 염기서열 정보 확인을 위하여 게놈 DNA를 Seo et al. (2014)의 방법으로 추출하였으며, 중합효소 연쇄반응(PCR)에 사용된 PCR 프라이머는 다음과 같다: 28S rDNA 정방향: 28yy (5'-CTAACAAGGATTTTCTTAGTAG-

CGGCGAGC-3'), 역방향: 28b (5'-TCGGAAGGAACCAGC-TACTA-3'); 18S rDNA 정방향: 18e (5'-CTGGTTGATCCT-GCCAGT-3'), 역방향: 18g (5'-CACACCGCCCGTCGCTAC-TACCGATTG-3'); mtCOI 정방향: LCO1490 (5'-GGTCAA-CAAATCATAAAGATATTGG-3'), 역방향: HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3'); 16S rDNA 정방향: 16Sbr (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3'), 역방향: 16Sar (5'-CGCCTGTTTAACAAAACAT-3') (Folmer et al., 1994; Tachi and Shima, 2010). PCR 반응액은 Accu-PowerH PCR PreMix (Bioneer, Korea) 20 µl에 게놈 DNA, 정방향, 역방향 프라이머 각각 1 µl씩을 넣었다. PCR 반응은 처음 95°C에 5분간 가열 후 94°C에서 30초, 50°C에서 30초를 거쳐 72°C에서 30초를 34회 반복하였으며 마지막으로 72°C에서 5분간 반응하였다. PCR 증폭 결과는 100V로 25분간 전기영동하여 확인하였으며 증폭이 확인된 산물은 염기서열 해독을 위하여 (주)마크로젠(Korea)에 direct sequencing을 의뢰하였다. 양방향으로 해독된 염기서열은 Gene Runner Version 6.1.00 Beta 프로그램을 이용하여 단일 염기서열로 정리하였다. 미국 국립생물정보센터(NCBI)에서 제공하는 BLAST 서비스를 통해 본 연구의 기생파리에서 해독된 mtCOI, 28S, 18S, 16S rDNA 영역의 각 부분 염기서열과 유사도가 매우 높은 생물종을 탐색하였고 기생파리 종을 추정하였다. 채집된 성충은 사각형의 아크릴 트레이(가로×세로×높이 = 35 cm×35 cm×62 cm)에 설탕물(5%)과 피망 1주를 넣은 산란케이지로 옮긴 후 인공사료(Table 1)로 사육중인 담배거세미나방(*Spodoptera litura*) 5-6령 유충 20~30마리를 넣은 다음 1~2일간 산란시켰다. 산란된 담배거세미나방 유충은 10마리씩 직경 10 cm 높이가 4 cm 원통형 사육용기(SPL Life sciences, Korea) 넣은 후 인공사료를 제공하며 발육 시켰다. 동 사육용기에서 우화한 긴등기생파리

Table 1. Composition of an artificial diet used for rearing *Spodoptera litura*

Ingredient	Amounts
Kidney bean power	113 g
Wheat germ	113 g
Wasson's salt mixture	7.5 g
Vitamin	15 g
Dried yeast	60 g
Agar	27 g
Methyl p-hydroxybenzoate	4.5 g
Ascorbic acid	15 g
Sorbic acid	2.3 g
Formalin	2.5 ml
Distilled water	1 L

성충은 다시 산란케이지로 옮겨 세대를 유지 하였다.

발육기간 조사

누대 사육중인 산란케이지에 담배거세미나방 5-6령 유충을 20~30마리를 넣은 후 4시간 동안 노출시켜 기생파리에게 산란을 받았다. 산란 유무는 육안으로 확인하였으며, 산란되지 않은 개체들은 다시 산란케이지에 넣어 재 산란을 받았다. 산란이 확인된 유충은 직경 5.0 cm, 높이 1.5 cm 사육 용기(SPL Life sciences, Korea)에 넣어 인공사료를 제공한 후 13, 16, 19, 22, 25, 28, 31, 34°C, 명기:암기=14:10 조건의 항온기(NK-system TG-100-ADCT, ±1.0°C, RH 20~30%, L:D=14:10)에 옮겨 사육하면서 용화 및 우화시기를 조사하였다. 기생파리 알의 부화시기를 정확하게 조사하기 어려워 산란일로부터 용화일까지의 기간과 용화일로부터 우화일까지의 기간을 24시간 간격으로 조사하였다. 각 온도마다 산란된 30마리의 담배거세미나방 유충을 사용하였다. 알부터 성충우화까지 평균 발육기간을 계산할 때 기생파리가 숙주 내부에서 용화하여 번데기 기간을 조사하지 못하고 직접 성충으로 우화한 개체도 추가로 포함시켰다. 이러한 연유로 16°C를 제외한 모든 온도 조건에서 번데기 기간을 조사한 개체들의 숫자보다 알부터 성충 우화까지 발육기간을 조사한 개체들의 수가 많았다.

온도에 따른 발육율 및 발육완료 분포 모델

발육율은 평균 발육기간의 역수로 표현하였다. 선형 모델은 최소자승법(Campbell et al., 1974)을 사용하였고(수식 1), 비선형 모델은 Briere 1 (Briere et al., 1999) (수식 2), Lactin 2 (Lactin et al., 1995) (수식 3), Logan 6 (Logan et al., 1976) (수식 4), Performance (Shi et al., 2011) 모델(수식 5)을 사용하였다. 이들 수식에서 공통적으로 $r(T_c)$ 은 온도에 따른 발육율, T_c 은 온도(°C)를 의미한다.

$$r(T_c) = aT_c + b \quad (\text{수식 1})$$

수식 (1)에서 a는 직선회귀식의 기울기, b는 0°C에서 발육율이다. 발육영점온도는 회귀직선식의 X절편(-b/a) 값이고, 발육 완료에 필요한 유효적산온도(degree day)는 기울기의 역수(1/a)가 된다.

$$r(T_c) = aT_c(T_c - T_0)(T_L - T_c)^{1/2} \quad (\text{수식 2})$$

수식 (2)에서 a는 매개변수, T_0 는 발육영점온도, T_L 은 치사 상한온도를 의미한다.

$$r(T_c) = e^{(\rho T_c)} - e^{(\rho T_L - (T_L - T_c)/\Delta T)} + \lambda \quad (\text{수식 3})$$

수식 (3)에서 ρ 는 최적온도에서 발육율 상수, T_L 은 치사 상한온도, ΔT 는 고온부분 경계지역의 온도 범위로서 생리적인 장애가 최우선 영향이 되는 온도 범위를 의미하며, λ 는 이 식에서 음의 y절편 값을 가지게 만들므로써 발육영점온도를 추정할 수 있도록 해주는 값이다.

$$r(T_c) = \psi(e^{(\rho T_c)} - e^{(\rho T_L - (T_L - T_c)/\Delta T)}) \quad (\text{수식 4})$$

수식 (4)에서 ψ 는 최대발육율, ρ 는 최적온도에서 발육율 상수, T_L 은 치사 상한온도, ΔT 는 고온부분 경계지역의 온도 범위로서 생리적인 장애가 최우선 영향이 되는 온도 범위를 의미한다.

$$r(T_c) = m(T_c - T_{\min})(1 - e^{K_1(T_c - T_{\max})}) \quad (\text{수식 5})$$

수식 (5)에서, T_{\min} 은 발육 가능 하한 온도 T_{\max} 는 발육 가능 상한 온도, m 과 K_1 은 비선형 회귀식 매개변수이다.

각 발육단계별로 동일 연령집단의 발육완료 분포를 알기 위하여 2-parameter, 3-parameter Weibull 모델(Wagner et al., 1984) (수식 6과 7), Sigmoid 모델(Neter and Wasserman, 1974) (수식 8)을 사용하였다.

$$F(x) = 1 - \exp[-((x - \gamma)/\eta)^\beta] \quad (\text{수식 6})$$

$$F(x) = 1 - \exp[-(x/\eta)^\beta] \quad (\text{수식 7})$$

$$F(x) = e^{(\beta_0 + \beta_1 x)} / (1 + e^{(\beta_0 + \beta_1 x)}) \quad (\text{수식 8})$$

이들 세 발육완료 분포 모델에서 $F(x)$ 는 표준화된 시간 x (발육기간/평균발육기간)에서 동일한 연령집단의 개체들 중에 다음 연령단계로 발육이 완료된 누적 개체수들의 비율을 의미한다. 수식 6과 7의 γ, η, β 와 수식 8의 β_0, β_1 은 비선형 회귀식의 매개변수들이다.

발육율 모델과 발육완료 분포 모델들에서 매개변수들은 윈도우용 TableCurve 2D ver. 5.01 (SYSTAT, 2002)의 사용자 정의 비선형 모델 분석 모듈을 사용하여 추정하였다.

결과 및 고찰

기생파리 DNA 부분 염기서열 분석과 종 동정

본 연구에서 획득된 핵내 28S, 18S rDNA와 미토콘드리아 mtCOI, 16S rDNA의 부분 염기서열(Fig. 1)을 이용하여 NCBI 웹페이지(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)에서 BLAST를 수행한 결과 *Exorista japonica* 각각의 염기서열과 99~100% 일치하였다(Table 2).

18S rDNA 영역 부분 염기서열의 경우 *E. japonica*와 근연종인 *E. larvarum*과는 100% 일치하여 구별되지 않았으나 핵내 28S rDNA와 미토콘드리아 mtCOI과 16S rDNA 영역의 부분 염기서열에서 *E. japonica*와 *E. larvarum*, *E. mella*, *E. cantans* 등 *Exorista* 속 근연종들과 염기서열 차이가 확인되었다. NCBI database에는 현재 *Exorista*속 24종(*E. aureifrons*, *E. bisetosus*, *E. cantans*, *E. civilis*, *E. deligata*, *E. doddi*, *E. dydas*, *E. flaviventris*, *E. globosa*, *E. hyalipennis*, *E. japonica*, *E. ladelli*,

E. larvarum, *E. lepis*, *E. mella*, *E. mimula*, *E. patelliforceps*, *E. rustica*, *E. sabahensis*, *E. sorbillans*, *E. thula*, *E. tubigera*, *E. xanthaspis*, *E. bombycis*)에 대한 핵내 28S, 18S rDNA와 미토콘드리아 mtCOI, 16S rDNA 영역들의 유전자 염기서열 정보가 등록되어 있다. 이중 긴등기생파리(*E. japonica* (Townsend))와 잠아기생파리(*E. sorbillans* Wiedemann) 2종이 분포하는 것으로 알려져 있다(The Entomological Society of Korea & Korean Society of Applied Entomology, 1994). 따라서 본 연구에 사용된 멸강나방 기생파리는 핵내 28S, 18S rDNA와 미토콘드리아 mtCOI, 16S rDNA의 부분 염기서열 BLAST 결과에서 가장 유사도가 높은 긴등기생파리(*E. japonica* (Townsend))로 추정된다.

온도별 발육기간과 발육율 모델

16°C 부터 34°C 까지 실험에 사용된 모든 항온 조건에서 긴등기생파리는 알부터 번데기까지 발육이 가능하였다. 발육기간은 34°C 에서 8.3일로 가장 짧았고 16°C 에서 23.4일로 가장

28S ribosomal DNA

```
GCACCTAAGTCACCTTTGTCTTTATGGCAAATGTGAGATGCAGTGTATGGAGTGTGCAATACCTAGTATGAGAAATTAACGATTTAAGTCCTTCTTAAATGA 100
GGCCATTTACCCAAAGAGGGTGCACGGCCCGTATAACGTTAATGATTACTAGACGGCATTTCCAAAGAGTTCGTGTTGCTTGATAGTGCAGCACTAAGTGG 200
GTGGTAACTCCATCTAAAATAAATAACCATGAGACCGATAGTAAACAAGTACCCTGAGGGAAAGTTGAAAAGAACTCGAATAGAGAGTTAAATAG 300
TACGTGAACTGCTTAGAGGTTAAGCCCGATGAACCTGAATATCCATTATAGAAAATTCATCATTATGATTTTAAATATTTGTAATATTTATAAAAATGGTG 400
TGCATTTTTCTATATAAGGACATTTGTAATCTATTAACATTATAAATATTTATCAAAAGATCATTTCGGAAGGTTTAAATCAAATATTTTGTCTTCAAT 500
TAACATAGTTTTAAATGCTTATGATTTGATAAAGTGTGATAGATTTTATATATAGTGTTCGAATATTTATTTCTATAATAGCATATTAATTTATAAT 600
TTTTATGTTTTATATATGCACTTATATGATTTAACAATGCGAAGGATTTCAGGATACCTTCGGGACCCGCTCGAAACACGGACCAAGGAGTCTAACATAT 700
TGCAAGTTATTTGGGAATTAACCTAATAGCAAAATTAACAATACTTTAATAATGGGATTAGTTTTTAGCCTATTTATAGTCTATTAATTCATACCCGGG 800
GCGTCTTATACGGTTATGATAATAGTATTTATATTTTATACCTTAACCCAGAAGTACCCTGAGCATATATGCTGTGACCCGAAAGATGGTGAACCTA 900
TACTTGATCAGGTTGAAGTCAGGGGAAACCTGATGGAAGACCGAAACAGTTCTGACGTGCAAAATCGAT 969
```

18S ribosomal DNA

```
TGCATGTCTAAGTACACGAATTAAGTGAACCCGAAAAGGCTCATTATATCAGTTATGGTTCCTTAGATCGTTAACAGTTACTTGGATAACTGTGG 100
TAATTTCTAGAGCTAATACATGCAATTAACACACGGACCTTTGGGACGTGTGCTTTTATAGGCTAAAACCAAGCGATCGAAAGATCGTATTTATGGTTGA 200
ACTCTAGATAAATTCGAGATCGACCGGTACGTACCCGGCAGACATTTTCAAATGCTGCGCTATCAACTTTTGTGGTAGTATCTAGGACTACCATGG 300
TTGCAACGGGTAAACGGGAATCAGGGTTCGATTCGGGAGAGGGAGCCTGAGAAACGGCTACCCACATCTAAGGAAGGCAGCAGGCGGTAATTTACCCACT 400
CCCAGCTCGGGGAGGTAGTGACGAAAAATAACAATACAGGACTCAATAAGAGGCCCTGTAATTTGGAATGAGTACACTTTAAATCCTTTAAACAAGGACCT 500
ATTTGGAGGCAAGTCTGGTCCAGCGCCGCGTAACCTCAGCTCCAATAGCGTATATTAAGTTGTTGCGGTTTAAACGTTTCGTAGTTGAACTTGTGCT 600
TCATACGGGTAGTATACTATAATGTAGTTTGTACTGTACCTTATGATGTAAGCGTATTACCGGTGGAGTTCTTATGTGTGTTAAATCTTGTATTTA 700
TCATATGTTCTCCTATTTAAACCTGCTCAGTGTCTTTATCGAGTGTGTTGTTGGGCGGTAACAATTTACTTTGAACAAATAGAGTGTCTAAAGCAGG 800
CTCCAAATGCCTGAATATTTTGTGATGGAATAATGAAATAAGACCTCTGTTCTACTTTCAATGGTTTTAGATCAAGAGGTAATGATTAATAGAAGCAG 900
TTTGGGGCATTAGTATTACGACGCGAGAGGTGAAATCTTGACCGCTGTAAGACTAATTAAGCGAAAGCATTTCGCAAAAGATGTTTTTCAATATCAA 1000
GAACGAAAGTTAGAGGTTGCAAGGCGATCAGATACCCGCCATG 1044
```

16S ribosomal DNA

```
AACCTGGCTTACACCGGTTTGAACCTCAGATCATGTAAGAAATTTAAAAGTCAACAGACTTAAAATTTAAGCGGCTACACCTAAAATATATCTTAAATCCA 100
ACATCGAGGTCGCAACTTTTTTATCGATATGAACCTCCAAAAAATTAACGCTGTTATCCCTAAAGTAACTTATTTTTTAAATCGTTAATAACGGATCA 200
TTTTATTCAATAATTAAGTAAATATAAAATTAAGGTTTATTAATTTTAAATATACCCCAATAAAATATTTAATTAATAATAATAAAATATTTCTCAA 300
AAATTTATAATAATTTAAATATAAAGATTTATAGGGTCTTCTCGCTTTTTAAATAAATTTTAGCTTTTAACTAAAATAAAATTTCAATAAAATTTTT 400
ATGAAACAGTTAATATTTGCTCCAACCTTATCTAGCCTTCAATTAAGAGACTAATATATGCTACCTTTGACACAGTCAAAATACTGCGGCCATTTA 500
AATTTAATTCAGTGGGCGAGTTAGACTTTAAATATAATTCATAAAGACATGTTTTTTGTT 559
```

Mitochondria Cytochrome oxidase 1

```
CAAATTTTAAACGTAATTGTTACAGCTCATGCATTTTATAATTTTTTTTATAGTAATACCAATTAATAATGGAGGATTTGGAATTTGATTAGTTCCCT 100
TAATATTAGGAGCTCCAGATATAGCCTTTCCACGAATAAATAATATAAGCTTTTGGCTACTACCTCCTTAAATCTTTTGTAAACAAGCAGTATAGT 200
GGAAAACGGAGCTGGAACAGGATGAACAGTTTACCCTCCTTTATCATCAGTAATGCTCATGGAGGAGCTTCTGTTGATTTAGCAATTTTTTCTCTTCA 300
TTAGCTGGAATTTCTCAATTTTAGGAGCTGTAATTTTATACAACAGTTAATATACGATCAGTAAATTTTACATTAGATGCAATACCTTTATTTG 400
TGTGATCAGTAGTTATTACAGCTTTTACTTTTTATTACCTTACCAGTATTAGCTGGAGCAATTTACTATACCTTTTAAACAGATCGAAATTTAAATACATC 500
TTTCTTTGATCCTGCTGGTGGAGGAGATCCAATTTTATATCAACATTTATTTGATTTTTTG 562
```

Fig. 1. Nucleotide sequences of four different barcoding regions, 28S ribosomal DNA (969 bp), 18S ribosomal DNA (1044 bp), 16S ribosomal DNA (559 bp), and mitochondria cytochrome oxidase 1 (562 bp) obtained from the tachinid fly, *Exorista japonica*, collected from the host, *Mythimna separata*.

길었다. 번데기는 34°C를 제외한 모든 온도 조건에서 성충으로 발육이 가능하였다. 발육기간은 28°C에서 7.3일로 가장 짧았고, 16°C에서 22.8일로 가장 길었으며, 31°C의 경우 1 개체만 성충으로 발육에 성공하였다(Table 3). 각각의 발육 단계별로 보면 전체적으로 온도가 상승함에 따라 발육기간이 짧아져 처리 온도 간 발육기간에 차이가 있었다(알부터 용화까지: $F_{6,73} =$

55.24, $P < 0.0001$; 번데기: $F_{5,36} = 46.78$, $P < 0.0001$, 전체: $F_{5,55} = 138.12$, $P < 0.0001$) (Table 3). 그러나 알부터 용화까지는 22°C부터 31°C 사이의 처리 온도 간에는 발육기간이 통계적으로 유의한 차이가 없었으며, 번데기 발육의 경우 22°C와 25°C, 25°C와 28°C 간에서 발육기간이 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 알부터 용화까지 비교적 넓은 온도 범위에서 발육기간이 유의

Table 2. BLAST Hit results (Top 3) in NCBI database on four different gene regions (28S rDNA, 18S rDNA, 16S rDNA, mtCO1) which were obtained from the dipteran parasitoid, *Exorista japonica* in this study

Gene	Length (bp)	BLAST hit results (Top 3)				
		Species	Total score	E value	Identity (%)	NCBI Accession number
28S rDNA	969	<i>Exorista japonica</i>	1727	0.0	100	AB699982.1
		<i>Exorista larvarum</i>	1711	0.0	99	KC177833.1
		<i>Exorista mella</i>	1690	0.0	99	AF366668.1
18S rDNA	1044	<i>Exorista japonica</i>	1929	0.0	100	AB699956.1
		<i>Exorista larvarum</i>	1929	0.0	100	KC177316.1
		<i>Exorista larvarum</i>	1929	0.0	100	AB465999.1
16S rDNA	559	<i>Exorista japonica</i>	937	0.0	100	AB257225.1
		<i>Exorista larvarum</i>	885	0.0	98	KC177447.1
		<i>Exorista larvarum</i>	885	0.0	98	AB257226.1
mtCO1	562	<i>Exorista japonica</i>	935	0.0	99	AB700012.1
		<i>Exorista larvarum</i>	857	0.0	97	KB665721.1
		<i>Exorista larvarum</i>	857	0.0	97	KC192967.1

Table 3. Developmental period (days) (mean±SEM) for immature stages of *Exorista japonica* at constant temperatures (°C)

Temperature (°C)	No. larvae treated	Oviposition to pupation	Pupation to adult emergence	Oviposition to adult emergence
16	30	23.4 ± 2.37a ¹ (7) ²	22.8 ± 1.10a (5)	45.4 ± 2.19a (5)
19	30	18.6 ± 3.16b (8)	17.3 ± 1.97b (6)	35.6 ± 3.05b (8) ⁴
22	30	11.1 ± 2.41cd (30)	12.0 ± 2.60c (14)	23.8 ± 3.13c (20)
25	30	11.5 ± 1.06c (15)	10.5 ± 0.97cd (13)	22.1 ± 1.46c (15)
28	30	10.3 ± 1.91cd (8)	7.3 ± 0.58d (3)	18.2 ± 1.10d (5)
31	30	8.4 ± 0.73cd (9)	8.0cd (1)	16.3 ± 0.71d (8)
34	30	8.3 ± 0.50d (4)	- ³	-

¹Values followed by the same letter within a column are not significantly different (Tukey's Test at $\alpha=0.05$ (ANOVA: oviposition to pupation $F_{6,73} = 55.24$, $P < 0.0001$; pupation to adult emergence: $F_{5,36} = 46.78$, $P < 0.0001$, oviposition to adult emergence: $F_{5,55} = 138.12$, $P < 0.0001$)).

²Values in parenthesis are the numbers of individuals examined.

³Not survived.

⁴Some larvae didn't escape from the hosts at pupation, and the pupae could not be observed. That's why the number of individuals of oviposition to adult emergence periods larger than the number of individuals of pupation to adult emergence periods.

한 차이가 나지 않게 하였던 가능한 원인중의 하나는 이들이 숙주인 담배겨세미나방 유충 또는 번데기 속에서 발육이 진행되는 탓에 숙주 곤충이 외기 온도에 의한 직접적인 영향을 어느 정도 완충하였던 것으로 짐작할 수 있을 것이다. 그러나 이의 증명을 위해서는 이후 보다 세밀한 실험을 통한 발육 특성 규명이 필요할 것으로 생각된다. 한편, 일본에서 멸강나방을 숙주 곤충으로 하여 조사하였을 경우 25°C에서 알 기간이 4.16일, 유충 10.22일, 수컷 번데기 11.42일, 암컷 번데기 기간은 11.89일로(Nakamura, 1994), 본 연구 결과와 비교할 때 알부터 용화까지 발육기간은 4일 정도, 용기간은 1일 정도 느려 본 연구 결과와 차이가 있었다. 같은 기생파리 종일 지라도 숙주 곤충의

종, 누대사육 세대 수, 조사방식, 시험 환경 등의 차이도 발육 기간 차이를 발생시킬 수 있는 요소들이므로, 이후 이러한 조건들에 대한 실험을 통해 본 기생파리의 발육 특성을 자세하게 밝힐 필요가 있다고 생각된다. 알부터 성충 우화까지 발육에 성공한 개체의 비율은 22°C와 25°C를 제외한 다른 온도에서는 상대적으로 낮았다(정확한 사망률을 기록하지 못한 이유는 최초 산란 숫자를 기록하지 못하였기 때문이다). 이는 일반적인 온도에 의한 영향으로 결과한 생존율의 차이 뿐 만 아니라 추가적인 이유도 몇 가지 있었을 것으로 생각된다. 첫 번째로 담배겨세미나방 유충에 산란된 기생파리 알이 부화하여 숙주 체내로 침투하기 전에 숙주가 다음 영기나, 번데기로 탈피하여 기생파리 유충

Table 4. Lower threshold temperatures (°C) and degree days (DD) estimated by linear regression for the development of *Exorista japonica*

Stage	Temperature range (°C)	Regression equation	Adjusted r^2	Lower threshold temperature (°C)	Degree days (DD)
Oviposition to pupation	16~34	$Y=0.0044X-0.024$	0.89	5.5	227.1
Pupation to adult emergence	16~31	$Y=0.0062X-0.056$	0.87	9.0	161.3
Oviposition to adult emergence	16~31	$Y=0.0027X-0.021$	0.97	7.8	370.4

Table 5. Parameter estimates for four non-linear models describing the relationship between temperature and development rate of all immature stages of *Exorista japonica*

Model	Parameter & adjusted r^2	Oviposition to pupation	Pupation to adult emergence	Oviposition to adult emergence
Briere 1	a	0.000035	0.000074	0.000020
	T_0	0.77	8.91	2.77
	T_L	43.57	37.57	43.87
	r^2	0.88	0.86	0.96
Lactin 2	ρ	0.10358	0.14596	0.13855
	T_L	43.19	36.84	38.82
	ΔT	9.61	6.84	7.21
	λ	-0.0176	-0.0174	0.0005
	r^2	0.80	0.79	0.89
Logan 6	ψ	0.02357	0.01018	0.00741
	ρ	0.10966	0.09210	0.12318
	T_L	42.04	31.27	39.33
	ΔT	7.94	0.21	6.79
	r^2	0.79	0.93	0.89
Performance	m	0.00483	0.00741	0.0031
	T_{min}	6.63	10.76	8.92
	K_1	6.1456	2.8348	0.0937
	T_{max}	34.40	31.63	54.87
	r^2	0.82	0.83	0.92

이 숙주내로 침입할 기회를 놓치는 경우(특히 고온부에서 하루, 이틀 만에 탈피각이 발견되었고, 탈피각에 알이 붙어 있는 것이 발견됨), 두 번째는 산란된 기생파리 알의 위치에 따라 담배거 세미나방 유충에 의하여 알이 제거되는 비율이 달라지는 경우, 세 번째는 산란된 위치에 따라 숙주 침입 성공률에 차이가 생기는 경우 때문에 산란된 기생파리 알이 성충까지 발육에 성공하는 비율에 영향을 미쳤을 것으로 생각되었다. 긴등기생파리 알이 멸강나방 유충에 산란된 위치에 따라 유충에 의하여 제거되는 비율이나 숙주로 침입에 실패하는 비율이 달라지며, 특히 유충의 복부 5, 6, 7 마디에 산란되었을 경우 성충으로 우화하는 비율이 40%이하가 된다는 Nakamura (1997)의 보고 자료가 두 번째와 세 번째 이유가 본 연구에서 온도 영향 이외에 생존율을 낮게 한 이유가 되었을 가능성을 뒷받침하고 있는 것으로 보인다. 그러나 이러한 영향을 보다 정확하게 평가하기 위해서는 보다 세밀한 연구가 추가로 수행되어야 할 것이다.

본 연구에서는 선형모델을 이용하여 발육영점온도와 유효적산온도를 추정하였고 발육 상, 하한 온도 부근에서 발육율의 세밀한 해석을 위하여 비선형 모델들의 추정된 매개변수들을 제공하였다(Table 4, 5). 선형 모델을 이용하여 추정한 알부터 용화까지 발육을 위한 발육영점온도는 5.5°C, 발육완료에 필요한 유효적산온도는 227.1DD 였으며, 용 발육을 위한 발육 영점온도는 9.0°C, 유효적산온도는 161.3DD로 추정되었다(Table 4). 추정된 4개 비선형 모델들의 조정된 결정계수들은 알부터 용화까지 발육의 경우에는 0.79~0.88, 번데기 발육기간 동안에는 0.79~0.93으로 모델들 간에 다소 차이가 있었다. 알부터 성충 우화까지 온도에 따른 발육율 변화는 Briere 1 모델이 0.96으로 가장 해석력이 높았고 Lactin 2와 Logan 6 모델이 가장 낮았다 (Table 5).

발육완료 모델

연령이 동일한 집단(cohort)을 기본 단위로 하여 개체군 집단의 발육 변동 예측 프로그램을 만들기 위해서는 동일 시점에 모든 곤충 개체들의 발육이 동시에 완료되는 것이 아니기 때문에 동일 연령 집단 단위의 발육 완료 분포 모델이 필요하게 되나, 온도에 따라 발육 완료 분포 곡선의 모양이 달라지기 때문에 온도와 상관없는 정규화 된 분포 모델을 만들어야 된다. 이를 위해서는 각 온도에서 조사된 발육단계별 발육기간의 평균값이나 중앙값으로 개체들의 발육기간을 나누어 정규화 시키게 되면 온도에 관계없이 모양이 같거나 비슷한 모습을 지니는 발육완료 누적 빈도 분포 곡선을 얻을 수 있다(Sharpe et al., 1977; Curry et al., 1978).

이를 위해 본 연구에서는 각각의 온도조건에서 각 개체들의 발육기간을 평균 발육기간으로 나누어서 각 개체의 발육기간을 온도와 상관없이 정규화 시킨 후 모든 개체를 한 집단으로 묶은 후 생리적 연령에 따른 개체군의 발육완료를 자료들을 2-parameter, 3-parameter Weibull 및 Sigmoid 함수에 적용시켜 각 모델의 매개변수를 추정하였다. 사용된 3개의 모델 모두에서 각 발육 단계별 발육완료 곡선의 조정된 결정계수는 0.82~0.90 사이였으며 모델 간에는 큰 차이가 없었다. 단 알부터 성충 우화까지 전체 발육 기간을 이용하여 분석한 결과가 발육 단계를 나누어 분석한 결과 보다 높은 해석력을 보여주었다($r_{adj}^2 = 0.90$) (Table 6).

끝으로 이러한 모델들은 목적에 따라 선택적으로 활용될 수 있는데, 예를 들어 선형모델로 특정 시기에 개체군의 평균적인 발육 단계 변동을 간단하게 추정 할 수 있으며, 비선형 모델들과 발육완료 모델들을 결합하여 고온부나 저온부의 발육율 예측 정확성을 높여 특정 시기에서 개체군을 구성하는 개체들의

Table 6. Estimated parameters of the distribution models of development completion for each stage of *Exorista japonica*

Model	Parameter & adjusted r^2	Oviposition to pupation	Pupation to adult emergence	Oviposition to adult emergence
2-parameter Weibull	β	7.5740	14.6589	16.4275
	η	0.9929	0.9754	0.9987
	r^2	0.83	0.87	0.90
3-parameter Weibull	β	-3.5900	-57.3784	69.9135
	γ	1.3986	4.7632	-3.1938
	η	-0.3983	-3.7867	4.1931
	r^2	0.82	0.86	0.90
Sigmoid	β_0	-10.7849	-22.5821	-24.2978
	β_1	11.4577	23.8022	-24.9582
	r^2	0.82	0.87	0.90

연령 구조 등을 보다 정밀하게 예측할 수도 있다. 따라서 앞으로 긴등기생파리의 생활사 규명이나 최적 사육법 개발 등의 목적으로 개체군 밀도 변동을 모델링 할 경우 본 연구결과를 참고한다면 사용자가 원하는 목적과 모델을 구현 할 환경에 따라 효율적인 선택을 할 수 있을 것으로 생각된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 시험연구사업 “응애, 나방류 등 난방제 해충의 토착천적 및 도입천적 자원탐색” 과제(과제번호: PJ010945호)의 지원에 의하여 연구가 수행되었으며, 긴등기생파리 누대 사육에 도움을 주신 송경희 연구원과 발육 조사에 도움을 주신 박민주, 조은란 연구원에게 감사를 드립니다.

Literature Cited

- Briere, J.F., Pracros, P., Le Roux, A.Y., Pierre, J.S., 1999. A novel rate model of temperature-dependent development for arthropods. *Environ. Entomol.* 28, 22-29.
- Campbell, A., Frazer, B.D., Gilbert, N., Gutierrez, A.P., Markauer, M., 1974. Temperature requirements of some aphids and their parasites. *J. Appl. Ecol.* 11, 431-438.
- Crosskey, R.W., 1976. A taxonomic conspectus of the Tachinidae (Diptera) of the Oriental region. *Bull. Br. Mus. (Nat. Hist.) Entomol. Suppl. No. 26*: 1-357.
- Curry, G.L., Feldman, R.M., Sharpe, P.J.H., 1978. Foundations of stochastic development. *J. Theor. Biol.* 74, 397-410.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3, 294-299.
- Ichiki, R.T., Kainoh, Y., Kugimiya, S., Takabayashi, J., Nakamura, S., 2008. Attraction to herbivore-induced plant volatiles by the host-foraging parasitoid fly *Exorista japonica*. *J. Chem. Ecol.* 34, 614-621.
- Ichiki, R.T., Kainoh, Y., Yamawaki, Y., Nakamura, S., 2011. The parasitoid fly *Exorista japonica* uses visual and olfactory cues to locate herbivore-infested plants. *Entomol. Exp. Appl.* 138, 175-183.
- Lactin, D.J., Holliday, N.J., Johnson, D.L., Craigen, R., 1995. Improved rate model of temperature-dependent development by arthropods. *Environ. Entomol.* 24, 68-75.
- Logan, J.A., Wollkind, D.J., Hoyt, S.C., Tanigoshi, L.K., 1976. An analytical model for description of temperature dependent rate phenomena in arthropods. *Environ. Entomol.* 5, 1133-1140.
- Nakamura, S., 1994. Parasitization and life history parameters of *Exorista japonica* (Diptera: Tachinidae) using the common armyworm, *Pseudaletia separata* (Lepidoptera: Noctuidae) as a host. *Appl. Entomol. Zool.* 29, 133-140.
- Nakamura, S., 1997. Ovipositional behaviour of the parasitoid fly, *Exorista japonica* (Diptera: Tachinidae), in the laboratory: diel periodicity and egg distribution on a host. *Appl. Entomol. Zool.* 32, 189-195.
- Neter, J., Wasserman, W., 1974. Applied linear statistical models. regression, analysis of variance, and experimental designs. Ed. R. D. Irwin, Illinois.
- Seo, B.Y., Jung, J.K., Park, K.J., Cho, J.R., Lee, G.S., Jung, C.R., 2014. Molecular identification of *Trichogramma* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) egg parasitoids of the asian corn borer *Ostrinia furnacalis*, based on ITS2 rDNA sequence analysis. *Korean J. Appl. Entomol.* 53, 247-260.
- Sharpe, P.J.H., Curry, G.L., DeMichele, D.W., Cole, C.L., 1977. Distribution model of organism development times. *J. Theor. Biol.* 66, 21-38.
- Shi, P., Ge, F., Sun, Y., Chen, C., 2011. A simple model for describing the effect of temperature on insect developmental rate. *J. Asia-Pac. Entomol.* 14, 15-20.
- Shima, H., 2006. A host-parasite catalog of Tachinidae (Diptera) of Japan. *Makunagi/Acta Dipterologica, Supplement 2*, 1-171.
- SYSTAT software inc., 2002. TableCurve 2D Automated curve fitting analysis: version 5.01, Systat software. inc. San Jose, CA.
- Takahashi, A., Sawaki, T., 1969. The parasitic state of *Exorista japonica* on the common cutworm, *Spodoptera litura*, larvae. *Proc. Kansai Pl. Prot. Soc.* 11, 82-83.
- Tachi, T., Shima, H., 2010. Molecular phylogeny of the subfamily Exoristinae (Diptera: Tachinidae), with discussions on the evolutionary history of female oviposition strategy. *Syst. Entomol.* 35, 148-163.
- Tanaka, C., Kainoh, Y., Honda, H., 1999. Physical factors in host selection of the parasitoid fly, *Exorista japonica* Townsend (Diptera: Tachinidae). *Appl. Entomol. Zool.* 34, 91-97.
- Tanaka, C., Kainoh, Y., Honda, H., 2001. Host frass as arrestant chemicals in locating host *Mythimna separata* by the tachinid fly *Exorista japonica*. *Entomol. Exp. Appl.* 100, 173-178.
- The Entomological Society of Korea and Korean Society of Applied Entomology. 1994. Check list of insects from Korea, Kon-Kuk University Press, Seoul.
- Wagner, T.L., Wu, H., Sharpe, P.J.H., Coulson, R.N., 1984. Modeling distribution of insect development time: a literature review an application of Weibull function. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 77, 475-483.
- Wang, L., Shi, P., Chen, C., Xue, F., 2013. Effect of temperature on the development of *Laodelphax striatellus* (Homoptera: Delphacidae). *J. Econ. Entomol.* 106, 107-114.
- Zahiri, B., Fathipour, Y., Khanjani, M., Moharramipour, S., Zalucki, M.P., 2010. Preimaginal development response to constant temperatures in *Hypera postica* (Coleoptera: Curculionidae): picking the best model. *Environ. Entomol.* 39, 177-189.