

파밤나방과 배추좀나방의 고온 감수성 차이와 연중 발생 변이

김민현 · 이승희 · 김용균*

안동대학교 식물 의학과

Differential Susceptibility to High Temperature and Variation of Seasonal Occurrence between *Spodoptera exigua* and *Plutella xylostella*

Minhyun Kim, Seunghee Lee and Yonggyun Kim*

Department of Plant Medicals, Andong National University, Andong 36729, Korea

ABSTRACT: Climate change has been regarded as one of main factors to change Korean insect pest fauna. Especially, a global warming model predicts to expand habitat for insect pests originated from tropical or subtropical regions. Two insect pests, the beet armyworm (*Spodoptera exigua*) and the diamondback moth (*Plutella xylostella*), are known to overwinter in some greenhouse conditions without diapause induction in Korea. There was a clear difference between these two insects in seasonal occurrence. *P. xylostella* occurred only at early spring and fall seasons, but did not occur during summer. In contrast, *S. exigua* maintained their occurrence from late spring to fall seasons. This study set up a hypothesis that the difference in the seasonal occurrence may be resulted from variation in susceptibility to high temperature. To test the hypothesis, heat tolerance was compared between these two insects. Exposure to 42°C for 40 min killed 100% individuals of *P. xylostella* larvae. However, most larvae of *S. exigua* survived in response to 42°C even for 80 min. Heat tolerance varied among developmental stages in both insects. Highest tolerant stages were 4th instar larvae and adults for *P. xylostella*, but 1st instar larvae for *S. exigua*. Pre-exposure to 37°C for 30 min significantly increased heat tolerance in both insects. Induction of heat tolerance accompanied with significant increase of glycerol contents in the hemolymph in both insects and up-regulation of three heat shock protein expressions in *S. exigua*. These results suggest that the differential susceptibility to high temperature explains the disappearance of *P. xylostella* during summer, at which *S. exigua* maintains its occurrence.

Key words: Heat tolerance, *Spodoptera exigua*, *Plutella xylostella*, Glycerol, Heat shock protein

초록: 기후변화는 국내 해충상의 변화에 영향을 주는 주요 요인 가운데 하나로 알려지고 있다. 특히 지구 온난화 모델에 따라 남방계 곤충의 서식지 확대가 예상되고 있다. 휴면 기간을 가지고 있지 않은 파밤나방(*Spodoptera exigua*)과 배추좀나방(*Plutella xylostella*)은 시설재배지를 중심으로 국내에서 월동이 가능한 것으로 알려지고 있다. 그러나 두 해충은 계절적 발생 양상에서 뚜렷한 차이를 보여주었다. 배추좀나방은 이른 봄철과 가을기간에 발생하고 여름 기간 중에는 발생하지 않았다. 반면에 파밤나방은 늦은 봄철에 나타나기 시작해 가을까지 지속적으로 발생하였다. 본 연구는 이러한 두 남방계 곤충이 계절적 발생 차이를 보이는 것이 이들이 갖는 고온에 대한 감수성 차이에 기인한 것으로 가정하였다. 이 가설을 증명하기 두 곤충의 내열성을 비교 분석하였다. 동일한 열처리(42°C)에서 배추좀나방 유충은 40 분 노출에 100% 사망률을 보인 반면, 파밤나방은 대부분의 유충이 80 분의 노출에서도 생존하였다. 이러한 내열성은 두 곤충 모두 이들의 발육시기에 따라 상이했다. 배추좀나방은 4령 유충과 성충이 가장 높은 내열성을 보인 반면, 파밤나방은 1령 유충에서 가장 높게 나타났다. 두 곤충 모두는 37°C 에서 30 분간 전 처리 후 고온에 노출시키면 생존율이 뚜렷하게 증가했다. 이러한 내열성유기는 두 곤충 모두 혈림프의 글리세롤 함량 증가와 관련성을 보였다. 또한 파밤나방의 경우는 열충격단백질의 발현도 증가하였다. 따라서 이상의 결과는 여름기간 배추좀나방의 발생이 없는 것은 이 곤충의 고온에 대한 높은 감수성에 기인된 것으로 보이고, 반면에 파밤나방은 비교적 높은 내열성을 보유하여 여름 기간에도 발생을 지속시킨 것으로 해석되었다.

검색어: 내열성, 파밤나방, 배추좀나방, 글리세롤, 열충격단백질

*Corresponding author: hosanna@anu.ac.kr

Received November 24 2015; Revised January 5 2016

Accepted February 1 2016

기후변화는 농업생태계에 영향을 미쳐 병해충 발생과 개체군의 이동 및 생물다양성에 영향을 주는 것으로 알려져 있다 (Jung et al., 2013; Shim et al., 2013). 대표농도경로(Representative

Concentration Pathways, RCP)를 적용한 신 기후변화 시나리오에 의한 전망에 따르면 다가올 기후변화를 완화할 노력 없이 현재 추세로 온실가스 배출이 지속되는 경우(RCP 8.5) 21세기 말 한반도 평균기온은 6.0°C 상승하고, 강수량은 20.4% 증가할 것으로 예상하고 있다(NIMR, 2011).

파밤나방(*Spodoptera exigua*)과 배추좀나방(*Plutella xylostella*)은 채소류에 매우 심각한 경제적 손실을 끼치는 해충이다. 파밤나방은 채소 13 종, 전작물 12 종, 화훼류 6 종, 기타 11 종으로 총 42 종의 자연 기주를 가해하는 광식성 해충이다. 주로 아열대 지역에 분포하는 파밤나방은 국내에서 농작물에 피해를 주기 시작한 것은 1980년대 후반부터 시설재배지의 확대에 따라 문제시되었다(Goh et al., 1991). 더욱이 이 곤충이 보유한 내한성 기작은 비교적 극한의 저온을 피할 수 있는 간이 시설 재배지 조건에서는 국내 월동이 가능한 것으로 추정하고 있다(Kim and Kim, 1997). 국내 이 곤충의 연중 발생은 4-5 회로 추정되고 있다(Goh et al., 1993). 그러나 일정한 월동태를 지니고 있지 않는 파밤나방은 지역에 따라 발생 횟수 및 시기의 차이를 보일 수 있다. 또한 장거리 이주가 가능한 이 곤충은 아열대지역에서 온대지역으로 서식지를 확대하려 하기에(Mikkola, 1970; Fey and Carranza, 1973; Feng et al., 2003) 국내 파밤나방의 발생 패턴은 월동집단과 이주집단이 혼재한 양상으로 구성될 것으로 추정하고 있다.

배추좀나방은 배추를 포함한 다양한 십자화과 작물을 가해하는 나비목 해충으로 국내에서는 1980년 대 이후 급격하게 밀도가 증가하고 있다(Kim and Lee, 1991). 휴면기작을 보유하지 않은 채 국내에서 연중 여러 세대 발생하고, 다양한 농약 노출에 따라 약제 저항성이 발달하여 효과적으로 이 해충의 밀도를 낮추는 것이 어려운 것으로 알려져 있다(Kim et al., 2011). 비교적 높은 이주 능력으로 남쪽 온난한 지역에서 월동 개체들이 겨울을 지내고 다시 국내로 장거리 이주가 가능하지만, 국내 시설재배지의 증가에 따라 국내 월동 가능성이 지속적으로 제기되어 왔다(Kim et al., 1999). Kim et al. (2014)은 실내 장기 저온 노출실험과 야외 노출실험 및 연중 배추좀나방의 발생 소장을 분석하여 극한의 저온에 장기간 노출을 피할 수 있는 간이 시설에서 이 곤충이 월동하는 것으로 추정하였다.

최근의 배추좀나방 야외 발생 연구(Kim et al., 2015)는 기존에 이 곤충이 국내 10-11 회 발생할 것이라는 사실과 다르게 최대 4 회의 성충 발생 피크를 관찰하였다. 이러한 이유는 봄과 가을에만 발생하고 여름 기간 중에는 이 곤충의 발생을 거의 찾아볼 수 없는 데 기인된다. 반면에 이 여름 기간에 파밤나방은 지속적 발생 피크를 보이는 것이 과거의 자료에서 볼 수 있다(Goh et al., 1991). 이러한 발생 피크의 차이는 기주 작물의 재배 시기

와 일치할 수 있다. 즉, 배추좀나방의 기주 십자화과 작물인 배추가 주로 봄과 가을에 재배되는 반면 파밤나방은 광식성으로 연중 지속적으로 기주를 찾을 수 있는 데에서 비롯될 수 있다. 또 다른 가능성은 이 두 곤충의 고온에 대한 감수성이 상이한 데에서 비롯될 수 있다. 즉, 배추좀나방이 파밤나방에 비해서 고온에 견디는 내열성이 낮다면 여름 기간 중 발생이 어려웠을 것이라는 가설을 세울 수 있다.

본 연구는 배추좀나방과 파밤나방의 여름 기간 발생 차이가 두 곤충의 내열성의 차이에서 비롯된다는 가설을 검증하였다. 이를 위해 두 곤충의 모든 발육 시기에서 고온에 대한 감수성을 분석하였다. 또한 야외는 항온 조건이 아니라 점진적 온도 변화가 있기에 낮은 고온 조건이 이들 곤충의 내열성을 유기할 수 있는 지도 분석하였다. 최종적으로 이러한 내열성 유기인자를 열충격단백질 발현과 혈림프에 존재하는 다가알콜류 분석을 통해 추적하였다.

재료 및 방법

공시충 사육

파밤나방은 경북 안동시 송천동 대파 밭에서 채집하여 실내(온도 25 ± 1°C, 광조건 16:8 (L:D) h, 상대습도 60 ± 10%)에서 인공사료(Goh et al., 1990)로 유충을 사육하였다. 배추좀나방도 동일한 지역의 배추 밭에서 채집하여 동일 조건에서 배추를 먹이로 유충을 사육하였다. 두 곤충 모두 성충 먹이로 10% 설탕물을 제공하였다.

야외 파밤나방과 배추좀나방 연간 발생 모니터링

2013년 12월 15일 ~ 2015년 11월 21일 기간 동안 경기도 구리시(37°33'N 127°06'E) 지역을 대상으로 파밤나방과 배추좀나방 성페로몬 트랩(그린아그로텍, 경산, 한국)을 각각 1 개씩 설치하여 1 주일 간격으로 포획된 개체수를 모니터링하였다. 성페로몬 루어는 2 달 간격으로 교체하였다.

내열성 생물검정

고온처리는 40, 41, 42, 43, 44°C의 5 개 다른 온도를 이용하였다. 각 온도에서 40 분(배추좀나방 2령, 4령) 또는 80 분(파밤나방 1령, 5령)을 처리한 후 상온에 옮겨 2 시간 경과 후 치사 개체를 계수하였다. 각 처리는 유충 10 마리씩 3 반복으로 실시되었다. 배추좀나방의 4령과 파밤나방의 5령은 각 곤충의 최종 유

충량에 해당된다.

발육시기별 생물검정은 알에서 성충까지 모든 발육태를 이용하였다. 배추좀나방은 42°C에서 40 분간 노출 후 상기의 방법으로 생존율을 분석하였다. 단, 알은 부화율을 통해 생존율을 얻었다.

노출시간별 생물검정은 각 곤충의 유충을 이용하였으며, 내열성이 낮은 배추좀나방은 42°C 조건에서 0-40 분간 노출을 실시하였고, 비교적 내열성이 높은 파밤나방은 44°C 조건에서 0-120 분 노출을 실시하였다.

내열성 유기 생물검정

내열성 유기 조건은 시험 유충을 고온에 대한 살충효과가 없는 37°C에서 30 분간 노출처리를 의미했다. 파밤나방 유충(1령, 5령)과 배추좀나방(2령, 4령)을 대상으로 처리되었으며, 각 처리는 10 마리씩 3 반복으로 실시되었다. 생존율은 상기 방법으로 관찰하고 산출하였다.

열충격단백질 발현 분석

내열성 유기 조건으로 처리된 유충을 대상으로 Trizol 용액 (MRC, OH, USA)을 이용하여 전체 RNA를 추출하였고, 이 전체 RNA (1 µg)를 주형으로 oligo-dT (5'-CCA GTG AGC AGA GTG ACG AGG ACT CGA GCT CAA GCT TTT TTT TTT TTT TTT-3') 프라이머로 RT-premix (바이오니어, 대전)를 이용하여 역전사하였다.

유전자 발현량 분석은 각 유전자의 특이적 프라이머(Table 1)를 바탕으로 Exicycler™ Quantitative Thermal Block (바이오니어, 대전)을 이용하여 SYBR 그린 형광물질과 형광분석방법을 가미한 real time quantitative PCR (RT-qPCR) 기술로 측정하였다. qRT-PCR 반응은 Accupower Green star™ PCR premix (바이오니어, 대전)로 진행하였다. 이 반응물(20 µL)은 1× Greenstar™ master mix, 10 mM MgCl₂, 0.5 µM의 각 프라이머, 250 ng의 cDNA가 포함되어 있다. 반응조건은 Hotstart Taq DNA polymerase를 활성화시키기 위해 95°C에서 15 분간 가열하였으며, 이후 94°C에서 30 초, 55°C에서 30 초, 72°C에서 1 분의 반응 순으로 40 회 PCR 산물을 증폭시켰고, 증폭된 산물의 형광반응이 실시간으로 측정되었다. 각 처리는 3 반복으로 각 반복은 독립된 반응을 의미한다. 나비목 유충의 보존적 β-actin 유전자 부위를 결정하여 이를 바탕으로 프라이머를 제작하였고(Table 1), 이 유전자 증폭물을 각 유전자 반응의 정량적 표준화 대조구로 이용하였다. 얻어진 PCR 증폭물의 형광량을 Exicycler™ 프로그램에 의해 실시간으로 도식화하였고, 정량적 임계 반응횟수(critical threshold, CT)를 산출하였다. 다시 각 유전자의 CT는 β-actin 유전자 CT에 대한 차이(ΔCT)로 산출한 후, 이를 상대적 수치(2^{-ΔΔCT})로 환산하여 비교하였다(Livak and Schmittgen, 2001).

다가알콜류 분석

내열성 유기 이후 배추좀나방과 파밤나방의 복부 첫째 마디 헛다리를 절단하고 이후 빠져 나오는 혈림프를 수거하였다. 이

Table 1. Primer sequences used in this study for RT-PCR and RT-qPCR analyses

Genes	Direction	Primer sequences (5'-3')	Amplicon size (bp)	Tm ¹ (°C)
Hsp19.5	Forward	GGGCTTTTCGACCAGAGTTT	195	50
	Reverse	CCGTCTTCACTGTGATCTCTTC		
Hsc70	Forward	GGTAGCATACAAGGGAGAAGAC	450	50
	Reverse	GTGAGGTCTTCTTGTACTTCC		
Hsp90	Forward	CAGTTCGGAGTGGGTTTCTAC	466	50
	Reverse	AGATGGGCTTGGTCTTGTTTC		
Hsp70	Forward	CATGAATCCTCGCGCACTGC	906	50
	Reverse	CCTCGTCGTTCTTGATCACG		
Hsp74	Forward	CCTACCTGAACACCTCAGT	716	50
	Reverse	ATCGTAGTATTTCTGGTG		
Hsp83	Forward	GCTGACATTAGCATGATTGG	522	50
	Reverse	GGCAGGTCTCACTGTCTAC		

¹Tm stands for annealing temperature during PCR.

를 5,000 × g의 원심분리로 상등액 혈장을 수거하였다. 이 혈장 시료를 3차증류수로 10 배 희석하고, Sep-Pak C18 cartridge (Waters Associates, Inc., Milford, MA, USA)를 이용하여 지질 성분을 제거하였다. 다시 필터 공극 크기가 0.22 μm의 주사위 필터(Pall Corporation, Ann Arbor, MI, USA)를 이용하여 세균을 포함한 불순물을 제거하였다. 혈당 분석은 보조컬럼(CarboPac MA1, 4×50 mm, Dionex, Sunnyvale, CA, USA)과 주 컬럼(CarboPac MA1, 4×250 mm, Dionex)이 부착된 이온크로마토 그래프(BioLC, Dionex)를 이용하여 분석되었다. 시료는 25 μL를 주입하였고, 이동상은 400 mM NaOH를 분당 0.4 mL로 흘려보냈다. 각 피크의 검출은 electrochemical detector (ED40, Dionex)를 pulse amperometry 모드로 하여 진행하였다. 각 처리는 3 반복으로 실시하였다.

통계분석

백분율 자료 결과는 arcsine 변환 후 SAS의 PROC GLM (SAS Institute, 1989)을 이용하여 ANOVA를 실시하였다. 자

료의 도형화는 Sigma Plot 8.0 (Systat Software, Inc., Point Richmond, CA, USA)을 이용하여 도식화하였다. 처리별 평균 간 비교는 대조구 대비 또는 소수의 처리간 비교로서 LSD 검정법을 이용하였다. 여기서 가설검정은 제1형 오류의 확률을 0.05 수준으로 설정하고 대조구 대비 또는 처리 간 차이에 유의성을 부여하였다.

결과

파밤나방과 배추좀나방의 계절적 발생 차이

두 곤충의 야외 연간 발생 소장을 같은 장소에서 2 년간 모니터링하였다(Fig. 1). 3 월(Julian date 기준으로 90 일)을 기준으로 배추좀나방은 이 시기 이전에 연중 최대 발생최성기를 나타냈다. 그러나 파밤나방의 경우는 이 시기 이후에 야외에 나타나기 시작하여 7-8 월(Julian date 기준으로 210-240 일)에 최대 발생최성기를 나타냈다.

여름 기간에 배추좀나방의 발생은 매우 낮았다. 2014 년의

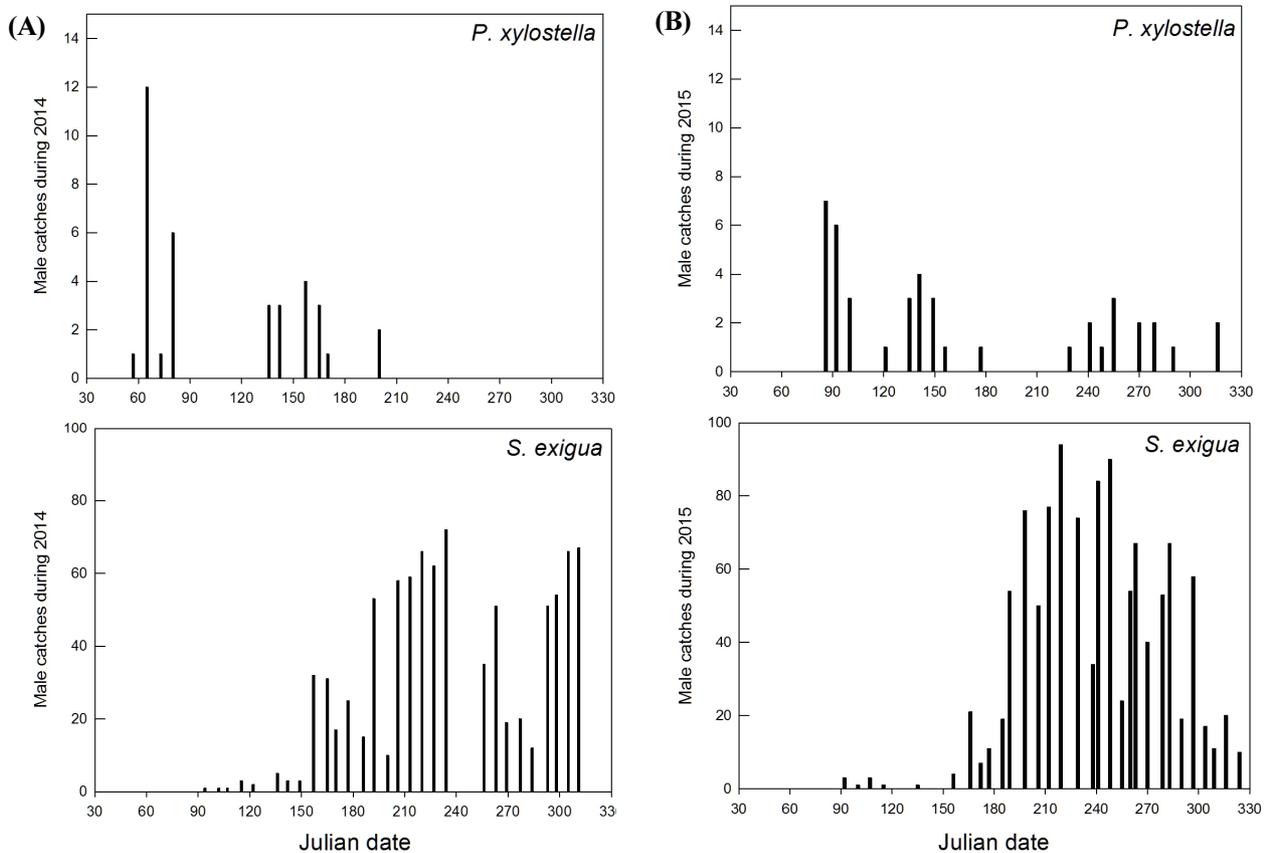


Fig. 1. Seasonal occurrence of *S. exigua* and *P. xylostella* adults in 2014 (A) and 2015 (B). Monitoring used sex pheromone traps, which were installed near cabbage and welsh onion fields in Guri. Monitoring was performed once a week.

경우 배추좀나방은 7 월 이후에는 전혀 성충 발생이 없었다. 2015 년도 6-8 월 초(Julian date 기준으로 180-220 일) 기간에 전혀 성충 발생최성기를 보이지 않았다. 반면에 파밤나방은 5 월 이후에 지속적 발생최성기를 보였고, 비교적 가을 기간이 길었던 2015 년은 11 월까지 성충 발생을 보였다.

파밤나방과 배추좀나방의 고온 감수성 차이

고온에 대한 두 곤충의 감수성 차이가 비교 분석되었다(Fig. 2). 배추좀나방은 42°C 온도 조건에서 40 분 처리한 결과 어린 유충과 노숙 유충 모두 사망하였다. 반면에 파밤나방은 전체 생존하였고, 이 온도에서 80 분을 노출시켜도 어린 유충은 생존하였고, 노숙 유충의 경우 다소 치사율이 줄어들었다. 그러나 44°C 고온에서 80 분간 처리하면 파밤나방 노숙 유충은 100% 치사

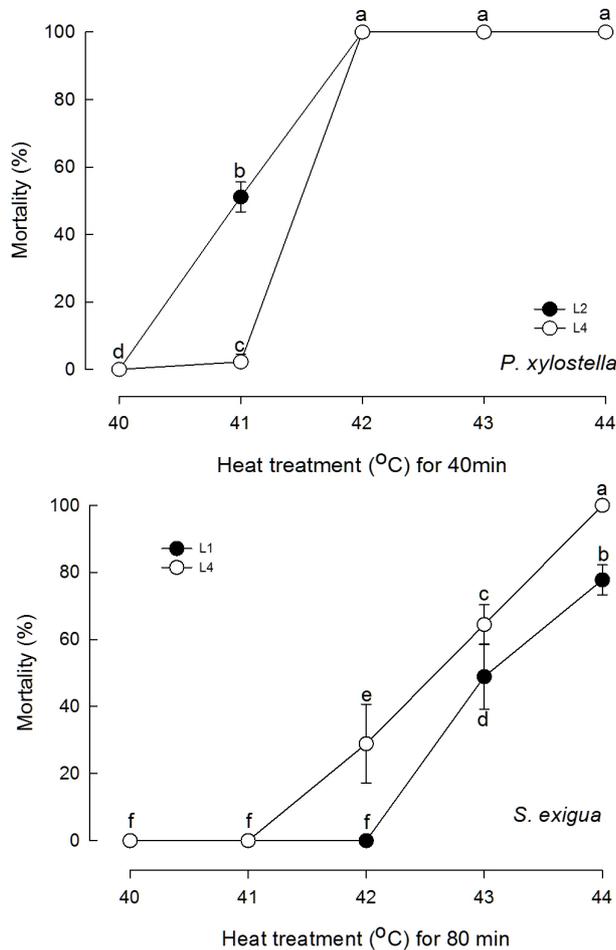
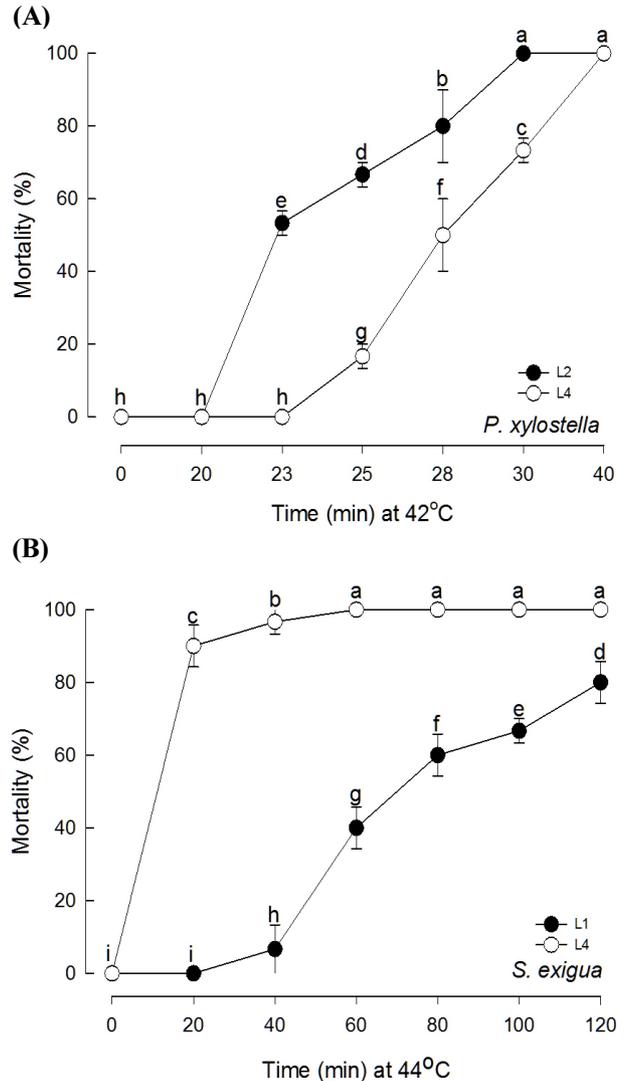


Fig. 2. Comparison of heat tolerance between two lepidopteran larvae. Each treatment was replicated three times. Each replication used 10 individuals. Different letters above standard deviation bars indicate significant difference among means at Type I error = 0.05 (LSD test).

하였고, 비교적 고온 내성이 높은 1령충의 경우 약 80%의 사망률을 나타냈다.

반수치사효과를 나타내는 노출시간을 살펴보면(Fig. 3), 42°C 처리에서 배추좀나방의 4령은 28.0 분을 기록하였다. 파밤나방의 경우는 44°C 처리에서 반수치사 노출시간을 측정하였고, 1령의 경우 77.9 분을 기록하였다. 이러한 결과는 배추좀나방이 파밤나방에 비해 높은 고온 감수성을 갖는 것으로 나타났다.



Species	Stage	LT ₅₀ (95% CI)	Slope ± SE	X ²	P
<i>P. xylostella</i>	L2	23.8 (23.0-24.6)	19.11 ± 2.58	10.34	0.99
	L4	28.0 (27.2-28.9)	23.25 ± 3.72	1.28	0.66
<i>S. exigua</i>	L1	77.9 (68.8-88.8)	4.11 ± 0.63	3.74	0.97
	L5	7.4 (0.0-14.4)	2.87 ± 1.24	0.63	0.99

Fig. 3. Time-course of heat tolerance in two lepidopteran species. Each treatment was replicated three times. Each replicated used 10 larvae.

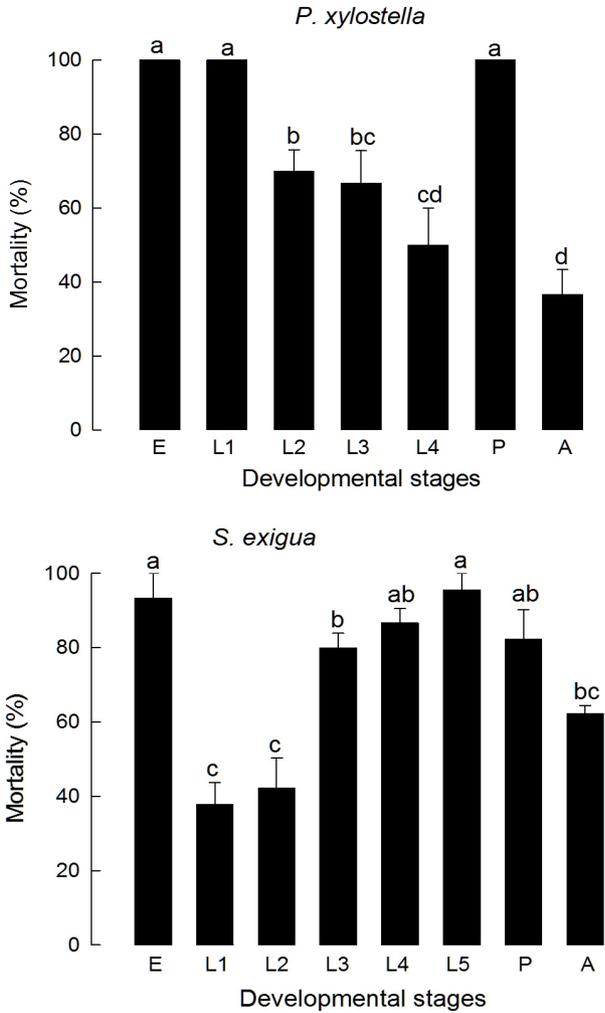


Fig. 4. Variation of heat tolerance with development in two lepidopteran species. Heat treatment used 44°C for 60 min in *Spodoptera exigua*, but 42°C for 30 min in *Plutella xylostella*. Each treatment was replicated three times. Each replication used 10 individuals. Different letters above standard deviation bars indicate significant difference among means at Type I error = 0.05 (LSD test).

고온에 대한 감수성은 두 곤충 모두 발육시기에 따라 상이했다(Fig. 4). 배추좀나방은 4령과 성충이 높은 고온 내성을 보인 반면, 알, 1령, 번데기는 높은 고온 감수성을 나타냈다. 파밤나방은 1령충이 가장 높은 고온 내성을 보인 반면, 노숙 유충(4령, 5령), 번데기 및 알은 높은 고온 감수성을 보였다.

파밤나방과 배추좀나방의 내열성 유기

두 곤충의 고온에 대한 내열성이 미리 낮은 고온을 처리하여 증가할 수 있는지를 검정하였다(Fig. 5). 37°C에서 30분간 미리 처리하고 치사 고온 조건(배추좀나방은 42°C, 40분; 파밤나

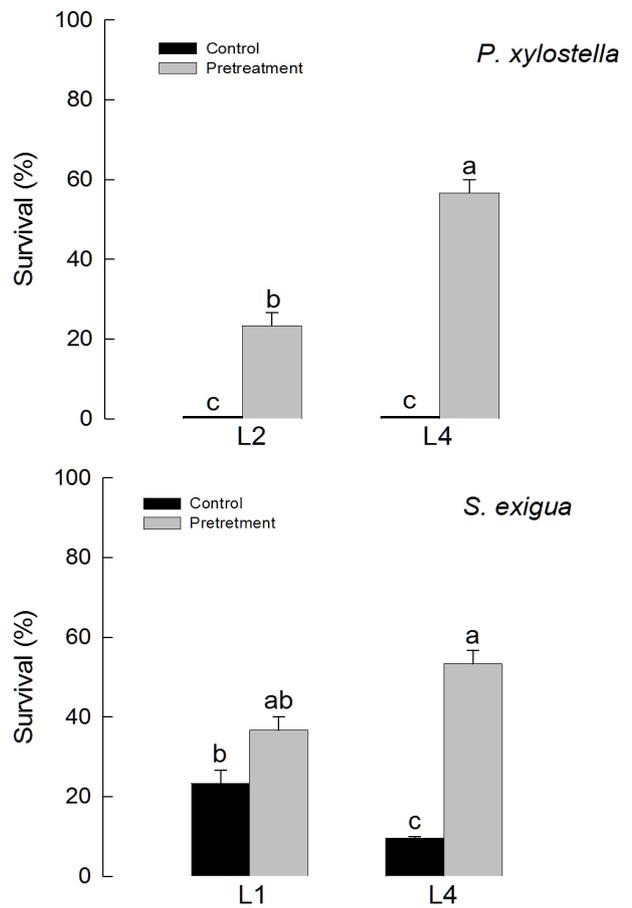


Fig. 5. Rapid induction of heat tolerance in response to 37°C for 30 min in *Spodoptera exigua* and *Plutella xylostella*. Final heat treatment essay used 44°C for 80 min in first instar (L1) and 44°C for 10 min in fourth instar (L4) of *S. exigua*. In *P. xylostella*, the final heat treatment used 42°C for 40 min. Each treatment was replicated three times. Each replicated used 10 larvae.

방은 44°C 80분)에 노출시켰다. 이때 두 곤충 모두 내열성 유기 현상을 보였다.

내열성 유기와 글리세롤 및 열충격단백질

두 곤충에서 나타난 내열성 유기 인자를 규명하기 위해 폴리오올과 열충격단백질의 변화를 분석하였다(Fig. 6). 내열성 유기 조건은 배추좀나방의 열충격단백질의 발현량 변화를 주었다. 내열성이 높은 2령충의 경우 *Hsp19.5*와 *Hsp90*의 발현량이 증가하였다. 그러나 4령충의 경우는 오히려 *Hsp19.5*와 *Hsc70*의 발현량이 낮아지는 결과를 보였다. 파밤나방의 경우 1령충의 *Hsp70*을 제외하고 모든 열충격단백질의 발현량이 내열성 유기 조건에서 증가하였다.

또 다른 내열성 유기인자를 규명하기 위해 혈림프에 존재하

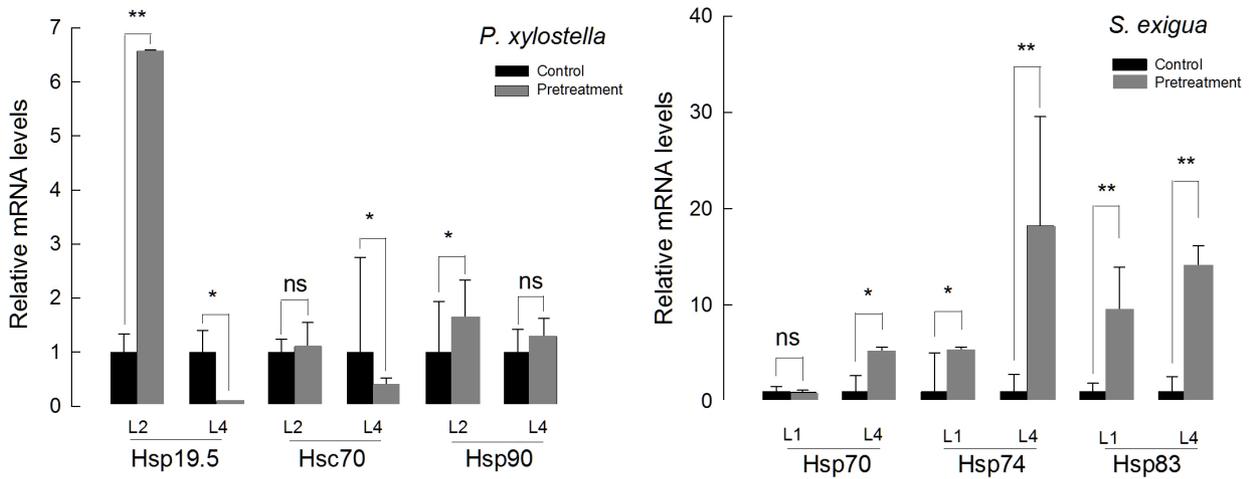


Fig. 6. Influence of heat pretreatment on induction of heat shock proteins (Hsps) in two lepidopteran insects. Each measurement was replicated three times with independent insect samples. Statistical analysis indicates 'NS' for not significant difference at $\alpha = 0.05$, '*' for significant difference at $\alpha = 0.05$, and '**' for significant difference at $\alpha = 0.01$.

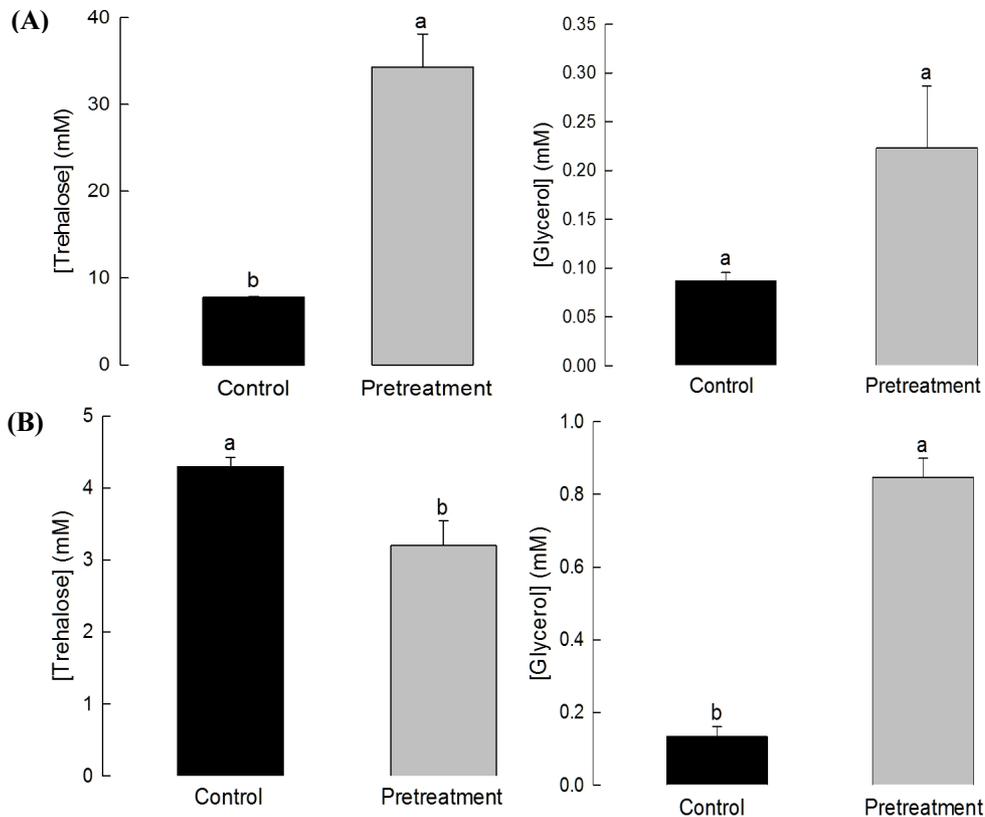


Fig. 7. Influence of heat pretreatment (37°C, 30 min) on hemolymph trehalose and glycerol titers of *P. xylostella* (A) and *S. exigua* (B). Each treatment was replicated three times. Different letters above standard deviation bars indicate significant difference among means at Type I error = 0.05 (LSD test).

는 트레할로스와 글리세롤 함량 변화를 분석하였다(Fig. 7). 내열성 유기 조건은 배추좀나방의 트레할로스 함량을 4 배 이상(8 mM에서 34 mM) 증가시켰다. 또한 글리세롤의 함량도 2.5 배

(0.09 mM에서 0.23 mM) 증가시켰다. 파밤나방의 경우는 트레할로스의 함량은 오히려 줄어든 반면에 글리세롤 함량은 약 6 배(0.14 mM에서 0.85 mM) 가량 증가시켰다.

고찰

아열대 지역에서 유래된 파밤나방과 배추좀나방의 경기도 구리 지역에서 연중 발생 패턴은 상이하였다. 연속적 2년간 모니터링한 자료에 의하면 파밤나방은 3월 이후 발생이 나타나서 11월까지 연중 지속적 발생 패턴을 보인 반면, 배추좀나방은 3월 이전에 나타나서 7-8월의 여름 기간에는 보이지 않다가 다시 가을 기간에 일부 발생하는 패턴을 보였다. 이러한 발생 패턴 분석은 보다 다양한 지역에서 조사해야 국내 이들 해충의 발생 상황을 정확히 파악할 수 있지만, 본 연구에서 조사한 구리지역을 볼 때는 두 해충의 발생 패턴의 뚜렷한 차이는 바로 여름기간이다. 이는 본 연구에서 세운 가설인 고온에 대한 감수성이 두 곤충 사이에 존재할 것을 뒷받침하여 주고 있다.

파밤나방에 비해 배추좀나방은 현격하게 낮은 내열성을 보여 주었다. 42°C의 온도는 파밤나방 유충들에게 다소 치사효과를 주었으나, 배추좀나방 유충은 40분 처리에 모두 사망하는 높은 감수성을 보여 주었다. 따라서 여름 기간 직사광선을 받는 작물의 경우 표면 온도가 40°C 이상으로 올라가기 때문에 배추좀나방의 경우 생존력에 위협을 받을 수 있다는 실험 결과이다. 한편 중국에서 진행된 배추좀나방에 대한 고온 생존력 추정 실험에서 최대한계온도(critical thermal maximum: CTMax)가 1령은 43.03°C, 2령은 46.39°C, 3령은 49.67°C, 4령은 50.31°C 그리고 성충 암컷은 45.76°C, 성충 수컷은 47.73°C로 추정하였다(Chang et al., 2012). 본 연구와 유사하게 4령충이 가장 높은 내열성을 보유하는 것으로 추정하였다. 그러나 중국 집단의 CTMax의 이론 추정치는 본 연구의 실험적 결과의 치사온도인 42°C와는 큰 차이를 보여주고 있다. 물론 범존종인 배추좀나방의 다양성을 고려할 때 내열성에 대한 국지적 집단 변이는 있을 수 있다. 그럼에도 불구하고 국내 배추좀나방 개체군은 한반도 여름 고온을 견디기 어렵다는 것이 본 연구의 야외에서 모니터링 자료를 기반으로 도출해낼 수 있는 결과이다. 더욱이 최근 배추좀나방에 대한 고온 충격 실험은 비록 유충의 생존력에는 크게 영향을 주지 않았지만, 이러한 고온 충격을 받아 성장된 성충이 수명이 짧아지거나 생식력이 감소한다는 결과를 보여 주었다(Zhang et al., 2015c). 따라서 배추좀나방의 고온 피해 및 이에 따른 여름 기간 중 밀도 감소는 이 곤충의 낮은 내열성에 기인된 것으로 해석된다. 또한 기후온난화는 배추좀나방의 기주 작물에도 악영향을 주게 된다. 일반적으로 기후온난화는 배추와 같은 저온성 작물에는 악영향을 주지만 고온성 작물인 고추는 유리하게 작용할 것으로 예견되고 있다(Lee et al., 2008). 따라서 이러한 기후변화에 따른 기주작물의 변화 또한 배추좀나방의 발생에 장애를 주는 요인이 될 수 있다. 또한 화

학 살충제에 저항성인 배추좀나방은 에너지 자원의 trade-off 견지에서 해독효소에 많은 에너지를 지출하고, 반면에 내열성 유기에 비교적 적은 에너지를 분배하여 고온에 대해서 낮은 내열성을 보이는 것으로 보고되었다(Zhang et al., 2015a). 따라서 국내 많은 배추좀나방 집단들이 약제 저항성을 나타내고 있기에(Kim et al., 2011) 고온에 대한 감수성은 더욱 높아질 것으로 예견된다.

고온에 대해서 곤충이 겪는 체내 피해는 궁극적으로 생화학적 현상으로 설명될 수 있다. 자연계에서 기후변화에 따라 극한의 온도 변화를 경험하게 된다. 즉, 예상하지 못한 극한의 저온 및 고온이 돌발적으로 나타나게 된다. 이들 극한(저온 및 고온)의 온도는 이에 민감한 단백질들의 변형을 유발하고, 생체막의 유동성에 변화를 유발하여 세포 피해를 주고 궁극적으로 생명체를 치사에 이르게 한다. 극한 온도 피해는 산화적 스트레스 개념에서 이해되고 있다. 즉, 고온 또는 저온의 경우 체내 활성산소의 조절 한계를 교란하여 산화적 피해를 입게 한다. 포식성 응애의 일종인 *Neoseiulus cucumeris* (Acari: Phytoseiidae)는 15°C 이하의 저온과 35°C 이상의 고온에 반응하여 항산화효소의 활성을 증가시켰으나, 활성산소의 피해로 볼 수 있는 지질 과산화(lipid peroxidation)가 유발되었다(Zhang et al., 2014). 한편 고온 지역에서 활동하는 포식성 무당벌레류인 *Propylaea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae)는 37°C 이상의 고온에서 항산화효소들의 활성을 높여 활성산소에 의해 피해를 줄였으나, 치사 고온인 43°C에서는 더 이상 이들 항산화효소의 활성을 증가시키지 못하고 산화적 피해를 입게 되었다(Zhang et al., 2015b). 본 연구에서 두 곤충은 비록 고온에 대한 감수성이 차이를 보였지만, 두 곤충 모두 한계 고온 이상에서는 과도한 활성산소 생성에 의한 산화적 피해를 억제하는 항산화반응의 장애로 세포 피해를 입고 궁극적으로 생체 치사에 이르게 되었고 추정된다.

두 곤충 모두는 극한의 고온에 직접 노출되기 전에 낮은 저온에 미리 노출되면 내열성이 높아지는 유기 현상을 보였다. 이는 생체 내 여러 생화학적 방어기작이 이러한 내열성 유기를 유발하였다고 추정해 볼 수 있다. 고온에 대한 체내 생화학적 방어기작으로 우선 열충격단백질을 고려할 수 있다. 본 연구에서 37°C에서 30분간 처리하면, 파밤나방의 경우 3가지 열충격단백질의 발현이 현격히 증가했다. Xu et al. (2011)은 이들 세 가지 열충격단백질의 유전자를 클로닝했으며, 이 가운데 *Hsp70*과 *Hsp74*는 저온과 고온의 온도 스트레스에 반응하여 발현되지만, *Hsp83*은 열충격 후 회복에 관여할 것으로 추정하였다. 따라서 본 연구에서 보여진 이들 유전자의 발현 증가는 파밤나방의 내열성 유기와 관련이 있을 것으로 해석된다. 반면에 배추

좁나방의 경우는 비록 내열성 유기는 일어났으나 열충격단백질의 발현 증가가 뚜렷하게 나타나지 않았다. 열에 대한 내성이 높은 4령충의 경우는 오히려 감소하거나 변화량이 없는 패턴을 나타냈다. 2령충의 경우 *Hsp19.5*와 *Hsp90*가 전처리 이후 증가하는 경향을 보였으나, *Hsc70*의 경우는 차이를 보이지 않았다. 이에 반해 Sonoda et al. (2006)은 열처리 이후 이들 세 유전자는 모두 발현량이 증가된 현상을 발표하였다. 이러한 차등적 결과는 본 연구에서 이용한 37°C에서 30 분 처리는 이들 열충격단백질의 발현을 증가시키는 데 충분한 열충격을 주지 못한 것으로 해석된다. 이러한 추측은 Bahar et al. (2013) 결과에서 설득력을 얻게 된다. 38°C에서 2 시간 처리하면 *Hsc70*의 발현이 미약하지만, 40°C에서 2 시간 처리하면 이 유전자의 발현이 크게 증가하였다. 결국 배추좁나방 내열성 유기에 이들 열충격단백질의 역할은 크지 않을 것으로 추정된다.

두 곤충 모두 내열성 유기 동안 다가알코올류인 글리세롤의 혈립프 함량을 증가시켰다. 글리세롤은 곤충의 내한성을 높여주는 내동결물질로 알려져 있다(Storey and Storey, 2012). 배추좁나방과 파밤나방 모두 이 물질이 내한성 유기에 관여하는 것으로 알려져 있다(Park and Kim, 2013, 2014). 배추좁나방의 경우 글리세롤의 생합성에 관여하는 glycerol kinase의 발현을 억제할 경우 내한성유기가 일어나지 않는 것을 확인하였다. 즉, 특정 glycerol kinase의 작용으로 글리세롤의 혈립프 함량을 증가시켜 내한성을 증가시킨 결과에 비추어 본 연구에서도 동일한 효소의 작용으로 혈립프의 글리세롤 함량을 증가시켜 내열성에 기인된 것으로 해석된다. 글리세롤은 자신의 알코올 관능기를 이용하여 단백질 및 생체막을 안정화시켜주는 기능을 갖는 것으로 알려져 있다. 따라서 고온 열충격에 대해서 글리세롤은 생체막과 주요 단백질을 보호할 것으로 추정된다. 배추좁나방의 경우는 글리세롤과 함께 트레할로스의 함량도 증가하였다. 트레할로스는 이당류로서 곤충의 주요 혈당이 된다. 벼물바구미와 사과애모무늬잎말이나방 등이 트레할로스를 내동결물질로 사용하고 있다(Jo and Kim, 2001; Lee et al., 2002). 즉, 트레할로스도 글리세롤과 유사하게 온도 스트레스에 대한 단백질의 변성과 이에 따른 상호 결합을 억제하여 주는 것으로 알려져 있다(Springer and Lindquist, 1998). 따라서 이들 다가알코올 및 탄수화물이 배추좁나방과 파밤나방의 내열성 유기에 관여하는 것으로 해석된다.

이상의 두 곤충에 대한 고온 감수성 차이에 의한 여름 기간 중 발생 차이를 토대로 향후 기후변화와 더불어 이들 해충의 발생량 추이를 예견하여 본다. 결국 기후변화가 이산화탄소 농도 축적에 따라 지구온난화 프로그램을 따라 기온 상승으로 이어질 경우 국내의 배추좁나방의 밀도는 차츰 감소하게 될 것이며,

비교적 고온에 내성을 보이고 광식성인 파밤나방의 경우는 경쟁자들의 밀도 감소로 이들의 발생이 증가할 것으로 본 연구 결과로부터 예상된다. 일본의 경우 지구온난화에 의해 배추좁나방이 줄어들고, 왕담배나방(*Helicoverpa armigera*)과 양배추은무늬밤나방(*Trichoplusia ni*)은 증가할 것으로 전망하였다(Kiritani, 2006). 이러한 해충상 변화에 대한 예측에 보다 과학적 근거를 제공하기 위해서는 국내의 여러 해충들에 대한 고온 감수성 분석을 실시하여 비교 분석해 볼 필요가 있다.

사 사

본 연구는 2015년도 안동대 학생교육지도비로 지원되었으며, 이 사업으로 학부생(김민현)의 전공 관련 연구를 진행하였다.

Literature Cited

- Bahar, M.H., Hegedus, D., Soroka, J., Coutu, C., Bekkaoui, D., Dossall, L., 2013. Survival and *Hsp70* gene expression in *Plutella xylostella* and its larval parasitoid *Diadegma insulare* varied between slowly ramping and abrupt extreme temperature regimes. PLoS ONE 8, e73901.
- Chang, X.Q., Ma, C.S., Zhang, S., Lü, L., 2012. Thermal tolerance of diamondback moth *Plutella xylostella*. Ying Yong Sheng Tai Xue Bao 23, 772-778.
- Feng, H.Q., Wu, K.M., Cheng, D.F., Guo, Y.Y., 2003. Radar observations of the autumn migration of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) and other moths in northern China. Bull. Entomol. Res. 93, 115-124.
- Fey, R.E., Carranza, R.L., 1973. Cotton pests: overwintering of three lepidopterous species in Arizona. J. Econ. Entomol. 66, 657-659.
- Goh, H.G., Choi, J.S., Eom, K.B., Choi, K.M., Kim, J.W., 1993. Seasonal fluctuation of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner), adult and larva. Kor. J. Appl. Entomol. 32, 389-394.
- Goh, H.G., Lee, S.G., Lee, B.P., Choi, K.M., Kim, H., 1990. Simple mass-rearing of beet armyworm, *Spodoptera exigua*. Kor. J. Appl. Entomol. 29, 180-183.
- Goh, H.G., Park, J.D., Choi, Y.M., Choi, K.M., Park, I.S., 1991. The host plants of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner), (Lepidoptera: Noctuidae) and its occurrence. Kor. J. Appl. Entomol. 30, 111-116.
- Jo, H.M., Kim, Y., 2001. Relationship between cold hardiness and diapause in the smaller fruit tortrix, *Adoxophyes orana* (Fischer von Roslerstamm). J. Asia Pac. Entomol. 4, 1-9.
- Jung, M.P., Park, H.H., Lee, S.G., Kim, K.H., 2013. Prediction of adult emergence time and generation number of overwintering

- small brown planthopper, *Laodelphax striatellus* according to RCP8.5 climate change scenario. *Kor. J. Appl. Entomol.* 52, 427-430.
- Kim, E., Choi, B., Park, Y., Cha, O., Jung, C., Lee, D., Kim, K., Kim, Y., 2014. Overwintering conditions of the diamondback moth and genetic variation of overwintering populations. *Kor. J. Appl. Entomol.* 53, 355-365.
- Kim, E., Park, A., Park, Y., Kim, J., Kim, Y., 2015. Decrease in genetic variation of overwintering populations of the diamondback moth during seasonal occurrence. *Kor. J. Appl. Entomol.*, 54, 303-310.
- Kim, M.H., Lee, S.C., 1991. Bionomics of diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) in southern region of Korea. *Kor. J. Appl. Entomol.* 30, 169-173.
- Kim, Y., Kim, K., Kim, N., 1999. Genetic difference of two field populations of *Plutella xylostella* (Linné) (Lepidoptera: Yponomeutidae) measured with four polymorphic allozymes. *J. Asia Pac. Entomol.* 2, 1-5.
- Kim, Y., Kim, N., 1997. Cold hardiness in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environ. Entomol.* 26, 1117-1123.
- Kim, Y.H., Lee, J.H., Lee, S.H., 2011. Determination of organophosphate and carbamate resistance allele frequency in diamondback moth populations by quantitative sequencing and inhibition tests. *J. Asia Pac. Entomol.* 14, 29-33.
- Kiritani, K., 2006. Predicting impacts of global warming on population dynamics and distribution of arthropods in Japan. *Popul. Ecol.* 48, 5-12.
- Lee, K.Y., Chang, Y., Kim Y., 2002. Trehalose, a major sugar cryoprotectant of the overwintering rice water weevil, *Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel (Coleoptera: Curculionidae). *J. Asia Pac. Entomol.* 5, 1-7.
- Lee, S., Heo, I., Lee, K., Kim, S., Lee, Y., Kwon, W.T., 2008. Impacts of climate change on phenology and growth of crops: in the case of Naju. *J. Kor. Geogr. Soc.* 43, 20-35.
- Livak, K.J., Schmittgen, T.D., 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods* 25, 402-408.
- Mikkola, K., 1970. The interpretation of long-range migrations of *Spodoptera exigua* Hb. (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Anim. Ecol.* 39, 593-598.
- NIMR (National Institute of Meteorological Research), 2011. Report on climate change scenarios for IPCC AR5, National Institute of Meteorological Research.
- Park, Y., Kim, Y., 2013. RNA interference of glycerol biosynthesis suppresses rapid cold hardening of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *J. Exp. Biol.* 216, 4196-4203.
- Park, Y., Kim, Y., 2014. A specific glycerol kinase induces rapid cold hardening of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *J. Insect Physiol.* 67, 56-63.
- SAS Institute, Inc., 1989. SAS/STAT User's Guide, Release 6.03, Ed. Cary, NC, USA.
- Shim, K.M., Kim, Y.S., Jung, M.P., Kim, S.C., Min, S.H., So, K.H., 2013. Agro-climate zonal characteristics of the frequency of abnormal air temperature occurrence in South Korea. *Clim. Change Res.* 4, 189-199.
- Sonoda, S., Ashfaq, M., Tsumuki, H., 2006. Cloning and nucleotide sequencing of three heat shock protein genes (hsp90, hsc70, and hsp19.5) from the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) and their expression in relation to developmental stage and temperature. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 62, 80-90.
- Springer, M.A., Lindquist, S., 1998. Multiple effects of trehalose on protein folding *in vitro* and *in vivo*. *Mol. Cell* 1, 639-648.
- Storey, K.B., Storey, J.M., 2012. Insect cold hardiness: metabolic, gene, and protein adaptation. *Can. J. Zool.* 90, 456-475.
- Xu, Q., Zou, Q., Zheng, H., Zhang, F., Tang, B., Wang, S., 2011. Three heat shock proteins from *Spodoptera exigua*: gene cloning, characterization and comparative stress response during heat and cold shocks. *Comp. Biochem. Physiol. B* 159, 92-102.
- Zhang, G.H., Liu, H., Wang, J.J., Wang, Z.Y., 2014. Effects of thermal stress on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of the predatory mite, *Neoseiulus cucumeris* (Acari: Phytoseiidae). *Exp. Appl. Acarol.* 64, 73-85.
- Zhang, L.J., Wu, Z.L., Wang, K.F., Liu, Q., Zhuang, H.M., Wu, G., 2015a. Trade-off between thermal tolerance and insecticide resistance in *Plutella xylostella*. *Ecol. Evol.* 5, 515-530.
- Zhang, S., Fu, W., Li, N., Zhang, F., Liu, T.X., 2015b. Antioxidant responses of *Propylaea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae) exposed to high temperature stress. *J. Insect Physiol.* 73, 47-52.
- Zhang, W., Rudolf, V.H., Ma, C.S., 2015c. Stage-specific heat effects: timing and duration of heat waves alter demographic rates of a global insect pest. *Oecologia* 179, 947-957.