

아열대성 콩명나방의 국내 집단에 대한 유전적 특성과 살충제 감수성 분석

김용균^{1,2*} · 엠디 사데쿠자만² · 김민현¹ · 김규순¹ · 박영진² · 정진교³

¹안동대학교 식물의학과, ²안동대학교 생명자원과학과, ³농촌진흥청 국립식량과학원 중부작물부 재배환경과

Genetic Character and Insecticide Susceptibility on a Korean Population of a Subtropical Species, *Maruca vitrata*

Yonggyun Kim^{1,2*}, Md. Sadekuzzaman², Minhyun Kim¹, Kyusoon Kim¹, Youngjin Park² and Jin Kyo Jung³

¹Department of Plant Medicals, Andong National University, Andong 36729, Korea

²Department of Bioresource Sciences, Andong National University, Andong 36729, Korea

³Division of Crop Cultivation and Environment Research, Department of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon 16429, Korea

ABSTRACT: Subtropical insect pests expand their habitats by migration to temperate zones along with global climate change. A subtropical insect pest, *Maruca vitrata*, is infesting leguminous crops including azuka beans in Korea and gives significant economic damages. Its great genetic variation raised an issue of the origin of a Korean *M. vitrata* population. To understand the genetic character of the Korean population, its *cytochrome oxidase subunit 1 (cox I)* gene was sequenced and phylogenetically analyzed with other regional populations. The world populations of *M. vitrata* were grouped into three clusters: Asia-African, American, and Oceanian. The Korean population was classified into Asia-African cluster. To characterize the insecticide susceptibility of the Korean population, seven different insecticides (4 neurotoxic insecticides, 1 insect growth regulator, 2 biopesticides) were assessed. Young larvae of *M. vitrata* were relatively susceptible to all tested insecticides. However, old larvae were much less susceptible than young larvae. No test insecticides effectively (> 50%) killed the old larvae of *M. vitrata* within 7 days.

Key words: *Maruca vitrata*, Cytochrome oxidase, Insecticide, Genetic relatedness

초 록: 지구 기후변화에 따라 아열대성 해충이 온대지역으로 이주를 통해 서식지를 넓히고 있다. 아열대성 해충인 콩명나방(*Maruca vitrata*)이 국내에서 팥을 비롯한 콩과작물에 경제적 피해를 일으키고 있다. 비교적 유전적 변이가 큰 곤충으로 알려진 콩명나방에 대해서 국내 집단의 기원에 대해서 의문을 갖게 되었다. 국내 콩명나방 집단의 유전적 특성을 이해하기 위해 *cytochrome oxidase subunit 1 (cox I)* 유전자의 염기서열을 관독하였고, 이를 다른 지역 집단들과 분자계통학적으로 분석하였다. 전 세계에 분포하고 있는 콩명나방은 크게 3 그룹(아시아-아프리카, 아메리카, 오세아니아)으로 분류되었다. 이 가운데 국내 콩명나방은 아시아-아프리카 그룹에 속했다. 국내 집단의 살충제 감수성을 분석하기 위해 작용기작이 서로 다른 7 가지(4 종류의 신경독 약제, 1 종류의 곤충성장조절제, 2 종류의 생물농약)의 약제로 평가하였다. 콩명나방의 어린 유충은 분석된 모든 약제에 비교적 감수성이 높았다. 그러나 노숙 유충의 경우는 어린 유충에 비해 감수성이 현저하게 저하되었다. 처리 후 7 일간 분석된 살충력 조사에서 조사된 어느 약제도 콩명나방의 최종령 유충을 효과적(> 50% 방제가)으로 방제하지 못하였다.

검색어: 콩명나방, 사이토크롬 산화효소, 살충제, 유전적 연관성

콩명나방(*Maruca vitrata* Fabricius) (syn. *M. testulalis*)은 포충나방과(Crambidae)의 들명나방아과(Pyraustinae)에 속하는데(Paek et al., 2010), 열대 및 아열대 지역을 중심으로 분포

하면서 콩과, 백합과, 아욱과, 미모사과 식물의 잎, 꽃 및 꼬투리를 가해하는 해충이다(Bae, 2001; Sharma, 1998). 동부(*Vigna unguiculata*)에서는 암컷 성충이 꽃 봉오리에 주로 산란하고, 유충은 꽃 봉오리, 꽃 및 꼬투리에 그물망을 만들면서 그 내부에서 가해한다. 가장 큰 피해를 주는 부위는 꽃이고 다음으로 꽃봉오리, 꼬투리, 잎으로 진행되는데, 발육시기별로 가해부위

*Corresponding author: hosanna@anu.ac.kr

Received May 3 2016; Revised June 24 2016

Accepted July 15 2016

가 달라 꼬투리는 3령 이후부터 가해할 수 있다(Jackai, 1981). 이 해충으로 인한 콩과작물의 막대한 경제적 손실이 동남아시아, 남아시아, 중앙아메리카 및 남아메리카에서 보고되었고, 특히 사하라 남부지역의 아프리카에서는 연간 20-80%의 동부 수확량 손실을 기록하고 있다(Sharma, 1998). 국내에서는 팥 생식생장기 전반기의 주 해충으로 꽃과 꼬투리를 가해하여 종실 생산에 직접적인 피해를 입히는 것이 보고되었다(Jung et al., 2007, 2009).

콩명나방을 포함하여 모두 7 종이 포함된 *Maruca* 속은 인도네시아와 말레이시아 지역에서 유래된 것으로 추정되고 있다(Periasamy et al., 2015). 이 가운데 콩명나방이 유일한 주요 해충으로 알려지고 있으나, 지속적으로 종 복합체 이슈가 제기되어 왔다(Margam et al., 2011). 실제로 호주에서는 두 가지 다른 생태형이 존재한다고 추정되고 있다(Herbison-Evans et al., 2011). 이러한 사실은 콩명나방의 지역적 차이를 제시하였다. 이를 규명하고자 전 세계에 분포하는 콩명나방 집단을 대상으로 미토콘드리아 *cytochrome oxidase subunit 1 (cox 1)* 유전자의 염기서열을 이용하여 집단분석한 결과 콩명나방은 지역(라틴아메리카, 인도네시아 포함 오세아니아, 아시아-아프리카-오세아니아)에 따라 적어도 3 종으로 분화되어 있는 것으로 추정하였다(Periasamy et al., 2015). 국내에 존재하는 종에 대해서 이와 같은 유전 분석이 수행되지 않았다.

콩명나방의 종 복합체 의문성은 특별히 야외 집단을 모니터링하는 데 사용되는 성페로몬 유효 조성의 차이에서도 발견된다. 서아프리카에 서식하는 콩명나방 집단의 성페로몬은 (*E,E*)-10,12-hexadecadienal, (*E,E*)-10,12-hexadecadienol 및 (*E*)-10-hexadecenal 세 성분이 10:5:5의 비율로 구성되어 있다(Adati and Tatsuki, 1999; Downham et al., 2003). 그러나 이 조성이 아프리카 내의 다른 지역은 물론이고 대만, 중국, 인도 등에서 유인효과를 발휘하지 못하거나 다른 성페로몬 조성에 유인되었다(Downham et al., 2004; Hassan, 2007; Schläge et al., 2012; Lu et al., 2013). 따라서 콩명나방의 성페로몬 조성이 지역에 따라 다르기 때문에 국내 집단이 어느 지역집단과 유전적으로 유사한지를 밝히는 것은 국내 집단을 모니터링하는 성페로몬 조성을 결정하는 데 중요한 정보를 제공할 수 있다.

콩명나방을 방제하는 데 주로 화학 살충제를 사용하고 있다(Grigolli et al., 2015). 그러나 콩명나방 유충이 자신의 서식지 주변으로 그물망을 형성하여 살충제의 직접적 노출을 피할 수 있고, 또 약제 저항성 발달로 화학방제의 효율이 감소하고 있다(Ekesi, 1999). 비화학적 방법으로 동부 작물 가운데 해충저항성 품종을 선발하는 전략이 검토되었으나, 대부분 산업적으로 우수한 품종들은 해충저항성을 갖고 있지 않았다(Oghiakhe et

al., 1995). 이에 생명공학기술을 통해 콩명나방에 살충력이 높은 *Bacillus thuringiensis* 유래 독소단백질인 Cry1Ab (Srinivasan, 2008)를 발현시키는 형질전환 동부 품종을 개발하였고 아프리카 지역을 중심으로 이 형질전환 작물의 재배가 고려되었다(Popelka et al., 2006; McPherson and MacRac, 2009). 그러나 비록 살충성이 높은 작물로 전환되었지만, 이를 재배하여 소비자에게 공급하기 위해서는 형질전환 작물의 인축에 대한 안전성과 생태계에 미치는 영향을 고려해야 한다(Huesing et al., 2011). 또 다른 방법으로 콩명나방에 특이적 곤충병원성 벡클로바이러스를 탐색하여 이 해충의 생물적 방제 가능성도 시도하였다(Lee et al., 2007). 국내에서는 현재 이 해충을 대상으로 비화학적 방제 기술이 개발되어 있지 않아, 효과적 화학 살충제 선발이 우선시 되고 있다.

본 연구는 *cox 1* 유전자를 분석하여 국내 콩명나방 집단의 유전적 속성과 유사한 국외 집단을 결정하고자 하였다. 또한 콩명나방의 방제에 적합한 살충제 선발을 위한 기초 연구로 발작물 해충에 널리 사용되고 있는 상용 살충제 7 종을 대상으로 콩명나방의 살충제 감수성을 분석하였다. 이를 위해 살충제 저항성 발달로 잘 알려진 파밤나방(*Spodoptera exigua*) (Kim et al., 1998)과 배추좀나방(*Plutella xylostella*) (Kwon et al., 2004; Kim et al., 2012)과 함께 분석하여 콩명나방의 화학 살충제 방제 효율성을 상대적으로 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

실험곤충과 실내사육

콩명나방은 2004년 수원시 팥 포장에서 채집되어 실내에서 유지되어 온 집단을 분양받아 Jung et al. (2007)의 인공사료를 바탕으로 유충을 사육하였다. 성충은 10% 설탕물을 제공하였고, 키친타월을 이용하여 산란을 유도하였다. 파밤나방은 1994년 안동시 대파 재배지에서 채집하여 실내 누대 사육하여 온 집단을 이용하였는데 유충은 인공사료(Goh et al., 1990), 성충은 10%의 설탕물을 먹이로 제공하였고, 설탕물 주변에 페트리디쉬 뚜껑을 설치하고 산란을 유도하였다. 배추좀나방은 1994년 안동시 배추 재배지에서 채집하여 실내 누대 사육하여 온 집단으로 유충은 배추, 성충은 10% 설탕물을 제공하였고, 구겨진 알루미늄 포일을 이용하여 산란을 유도하였다. 사육실의 환경 조건은 온도 25±1°C, 광조건 16:8 시간 (L:D), 상대습도 60 ± 10%를 유지하였다.

DNA 추출

콩명나방 유충을 일반 계놈 DNA 분리방식(Sambrook et al., 1989)을 이용하여 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA 시료는 proteinase K를 처리하고, 이후 페놀추출과 에탄올 침강을 이용하여 순수 DNA를 분리하였다.

PCR과 염기서열 분석

보존형 서열을 중심으로 제작된(Simon et al., 1994) 프라이머인 CI-N-2191 (5'-CCC GGT AAA ATT AAA ATA TAA ACT TC-'3)과 CI-J-1751 (5'-GGA TCA CCT GAT ATA GCA TTC CC-'3)을 이용하여 *cox 1* 유전자의 PCR 반응을 실시하였다. PCR 반응용액은 총 25 µl로서 1 µl의 계놈 DNA 시료, 2.5 µl 10x 완충용액, 2.5 µl dNTP, 2 µl 씩 각 프라이머, 그리고 0.5 µl의 Taq polymerase (Intron, Seoul, Korea)로 구성되었다. PCR 기기는 Bio-Rad 회사의 MyCycler™ Personal Thermal Cycler 모델을 이용하였다. PCR 조건은 94°C에서 5분 변성 처리 이후 35회 증폭반응이 진행되었다. 각 증폭 반응은 94°C 변성 1분, 50°C 프라이머 결합 1분, 72°C 사슬연장 1분으로 구성되었다. 모든 증폭반응 후 72°C에서 10분간 사슬연장 반응을 추가로 주었다. 이후 4°C에 증폭물을 보관하였다. PCR 증폭물은 1.5% 아가로오즈 젤을 이용하여 1x TAE 완충용액 조건

에서 150 V 정전압으로 분리하였다. 분리된 PCR 증폭물은 ethidium bromide를 이용하여 염색시킨 후 관찰하였다. PCR 증폭물은 PCR quick-spin (Intron Biotechnology, Daejeon, Korea)을 이용하여 프라이머를 제거시켰고, PCR2.1 TOPO 키트(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 사용하여 클로닝벡터에 재조합시켰다. 재조합된 벡터를 (주)마크로젠(Seoul, Korea)에 의뢰하여 삽입부위를 양방향으로 판독하였다.

cox 1 유전자 서열 상동성 분석

얻어진 염기서열은 Lasergene 버전 7.1 (DNASTAR, Madison, WI, USA)의 EditSeq 기능을 이용하여 벡터 서열을 제거하고 PCR로 얻어진 영역만 확보하였다. 결정된 콩명나방의 *cox 1* 염기서열은 GenBank에 KU670674의 등록번호로 수록하였다. 이 서열을 NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov)에서 제공하는 BlastN의 검색 기능을 통해 GenBank에 수록된 서열들과 유사도를 분석했다. 단순 서열 비교는 Lasergene의 MegAlign 프로그램의 Clustal W를 이용하였다.

콩명나방 집단들의 분자계통 분류는 BioEdit 7.2 프로그램 (Hall, 1999)을 이용하여 각 염기서열을 정렬하였으며, MEGA 6.0 프로그램(Tamura et al., 2013)의 Neighbor-joining 방법을 이용하였다. 이 분석에 이용된 염기서열은 Table 1에 수록되었다.

Table 1. Different *M. vitrata* populations analyzed in phylogenetic analysis using *cox 1* sequence

Gene ID	GenBank accession #	Size (bp)	Location	Host ¹
India SAS1	KJ559398.1	660	India	<i>Lablab purpureus</i>
Laos SEAS1	KM987761.1	626	Laos-Nonglom	<i>Vigna unguiculata</i> ssp. <i>sesquipedalis</i>
India SAS2	KM987737.1	626	India-Bangalore	<i>Phaseolus vulgaris</i>
Taiwan EAS1	KM987741.1	626	Taiwan-Ligang, Pingtung	<i>Vigna unguiculata</i> ssp. <i>sesquipedalis</i>
Thailand SEAS1	KM987739.1	626	Thailand-Huai Khwang	Hailand, Huai Khwang
India SAS3	KM987738.1	626	India-Ranchi	<i>Dolichos lablab</i>
Laos SEAS2	KM987734.1	626	Laos-Phongvang	<i>Vigna unguiculata</i> ssp. <i>sesquipedalis</i>
Taiwan EAS2	KM987706.1	626	Taiwan-Pingtung	<i>Sesbania cannabina</i>
Laos SEAS3	KM987704.1	626	Laos-Xhos	<i>Vigna unguiculata</i> ssp. <i>sesquipedalis</i>
Australia O2	HQ953023.1	658	Australia	-
Taiwan EAS3	KM987762.1	626	Taiwan	<i>Sesbania grandiflora</i>
Thailand SEAS2	KM987760.1	626	Thailand-Huai Khwang	<i>Psophocarpus tetragonolobus</i>
Gabon AF1	HM893763	658	Gabon	-
Gabon AF2	HM892981.1	621	Gabon	-
Laos SEAS4	KM987756.1	626	Laos-Xayfong	<i>Phaseolus</i> sp.
Nigeria AF1	GU288703.1	500	Nigeria	<i>Vigna unguiculata</i>

Table 1. Continued

Gene ID	GenBank accession #	Size (bp)	Location	Host ¹
Vietnam SEAS1	KM987742.1	626	Viet Nam	<i>Sesbania grandiflora</i>
Laos SEAS5	KM987740.1	626	Laos-Somsanouk	<i>Vigna unguiculata</i> subsp. <i>sesquipedalis</i>
Vietnam SEAS6	KM987736.1	626	Vietnam-Khuyenluong	<i>Phaseolus vulgaris</i>
Malaysia SEAS1	KM987735.1	626	Malaysia-Selangor	<i>Vigna sinensis</i>
Benin AF1	KM987722.1	626	Benin-Ilara	<i>Tephrosia bracteolata</i>
Malaysia SEAS2	KM987721.1	626	Malaysia	<i>Vigna sinensis</i>
Vietnam SEAS2	KM987718.1	626	Vietnam	<i>Vigna unguiculata</i> ssp. <i>cylindrica</i>
Vietnam SEAS3	KM987717.1	626	Vietnam	<i>Phaseolus vulgaris</i>
Laos SEAS7	KM987714.1	626	Laos	<i>Vigna unguiculata</i> ssp. <i>sesquipedalis</i>
Vietnam SEAS4	KM987712.1	626	Vietnam	<i>Vigna unguiculata</i> subsp. <i>cylindrica</i>
Laos SEAS8	KM987711.1	626	Laos	<i>Vigna unguiculata</i> ssp. <i>sesquipedalis</i>
China EA1	KJ623250.1	524	China	-
Costa Rica SAM1	JQ577238.1	658	Costa Rica	-
Costa Rica SAM2	JQ577193	658	Costa Rica	-
Costa Rica SAM3	JQ578503	658	Costa Rica	-
Costa Rica SAM4	JQ551820	658	Costa Rica	-
Puerto Rico SAM1	KJ466365.1	658	Puerto Rico	-
Puerto Rico SAM2	GU288674.1	500	Puerto Rico	<i>Phaseolus vulgaris</i>
Australia O1	HQ953026.1	658	Australia	-
Benin AF2	KM987731.1	626	Benin	<i>Vigna unguiculata</i>
Benin AF3	KM987730.1	626	Benin	<i>Tephrosia bracteolata</i>
Burkina Faso AF1	GU288702.1	500	Burkina Faso	<i>Vigna unguiculata</i>

¹Hyphen indicates no record.

Table 2. Insecticides used in this study

Classification	Common name	Trade name	Formulation	Active gradient	Recommended dilution	Company
Neuro toxic	Benfuracarb (BEN)	더원	WP	30%	1,000	Dongbang agro
	Methidathion (MET)	수프라사이드	SC	40%	1,000	Kyung Nong
	Chlorfenapyr + Bifenthrin (BIF)	파발마	WP	2%+1%	1,000	Dongbu Farm Hannong
	Indoxacarb (IND)	암메이드	WP	10%	2,000	Kyung Nong
Insect growth regulator	Tebufenozide (TEF)	미믹	WP	8%	1,000	Kyung Nong
Bio pesticide	<i>Bt</i> subsp. <i>aizawai</i> (BtA)	쎄타리	WG	35000 DBMU/mg	2,000	Nonghyup Chemical
	<i>Bt</i> subsp. <i>kurstaki</i> (BtK)	슈리사이드	WP	16BIU/Kg	1,000	Bayer Crop Science

살충제 감수성 분석

어린 유충(2령)과 최종령(파밤나방과 콩명나방은 5령, 배추 줄나방은 4령)을 대상으로 7 종의 살충제(Table 2)의 약효가 분석되었다. 생물검정은 먹이 침지법을 이용하였다. 약제 희석은 각 상용 살충제의 추천농도를 기준으로 실시하였다. 파밤나방과 배추줄나방을 대상으로는 3 × 3 cm의 배추 잎 조각을 약제에 1 분간 침지하였다. 콩명나방은 인공사료 조각(1.5 × 1.5 × 1.5 cm)을 약제에 1 분간 침지하였다. 원형 용기(직경 9 cm)에 여과지를 깔고 약제 처리된 먹이를 올려놓았다. 처리된 먹이 주변으로 6 시간 동안 굶긴 유충을 옮겨 놓고 24 시간 섭식시켰다. 이후에는 약제가 처리되지 않은 먹이를 제공하고 7 일 동안 하루 간격으로 사망한 개체수를 조사하였다. 각 처리는 10 마리씩

3 반복으로 실시하였다. 이때 사망한 유충은 외부 자극에 대해서 자발적 움직임이 없는 개체로 규정하였다. 반수치사시간 (median lethal time: LT₅₀)은 probit 분석법(Raymond, 1985)을 이용하여 산출하였다.

결과

국내 콩명나방의 유전적 특성

국내 수원지역의 팔 재배지에서 채집된 콩명나방의 유전적 특성을 파악하기 위해 미토콘드리아 유전체에 존재하는 *cox 1* 염기서열을 분석하였다(Fig. 1). 곤충 미토콘드리아 *cox 1* 영역에 보존서열을 중심으로 제작된 프라이머를 이용하여 PCR을

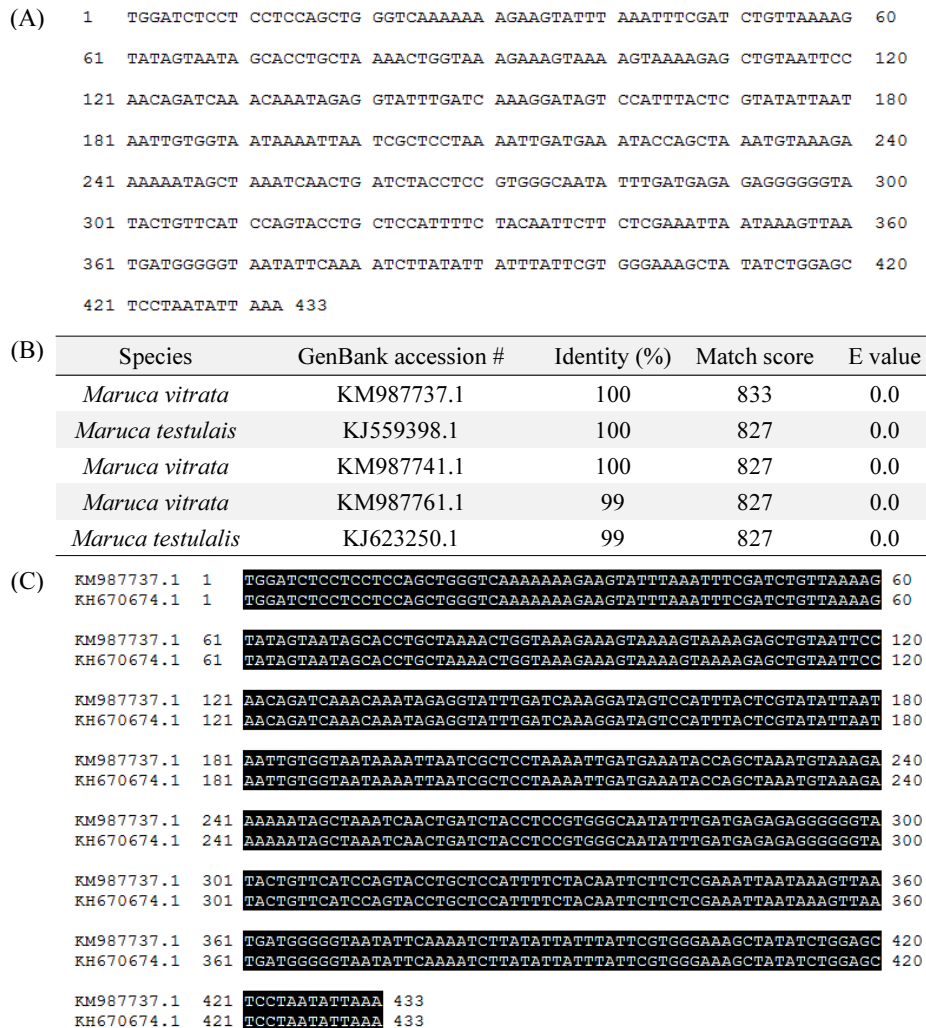


Fig. 1. Cytochrome oxidase subunit 1 (*cox 1*) partial sequence (GenBank accession number: KU670674) of a Korean *M. vitrata* population. (A) A partial sequence (498 bp) located in 5' terminus of *cox 1* (B) Blast search and top five hits. *M. testulais* is a synonym of *M. vitrata*. (C) Sequence alignment of the Korean population and a Chinese population (KJ623250.1) using Clustal W in Lasergene (DNASTAR, Madison, WI, USA).

시킨 결과 약 500 bp의 증폭물을 얻었다. 이를 양방향으로 염기 서열을 판독한 후 PCR 프라이머를 제거한 결과 433 bp의 콩명나방 *cox 1* 서열을 얻었다(Fig. 1A). 이 서열을 GenBank에 수록된 database에 검색하여 본 결과 *M. testulalis*와 *M. vitrata*와 거의 일치하는 상동성을 얻었다(Fig. 1B). *M. testulalis*는 *M. vitrata*와 같은 이름으로 현재는 모두 *M. vitrata*로 통일화하였기에 본 염기서열 분석 결과는 판독된 염기서열이 국내 콩명나방의 *cox 1* 유전자로 판명되었다. GenBank의 BlastN 프로그램을 통해 국내 콩명나방과 가장 유사도가 높은 집단을 추정할 결과, 최고의 서열 유사성 점수(833 점)는 인도 집단(KM987737.1)

으로 분석된 전체 염기 서열과 100% 일치하였다(Fig. 1C). 이 집단은 인도 벵갈루루 지역에서 2011년 12월에 강남콩 재배지에서 채집된 집단이다.

국내 콩명나방의 유전적 연관성을 알아보기 위해 위에서 얻은 *cox 1* 유전자 서열을 중심으로 전 세계에 분포하는 콩명나방 지역 집단들과 분자계통수로 비교 분석하였다(Fig. 2). 전체 집단은 크게 아시아-아프리카, 아메리카 및 오세아니아 집단으로 나뉘었다. 여기에서 국내 콩명나방은 아시아-아프리카 집단과 높은 유연관계를 나타냈다.

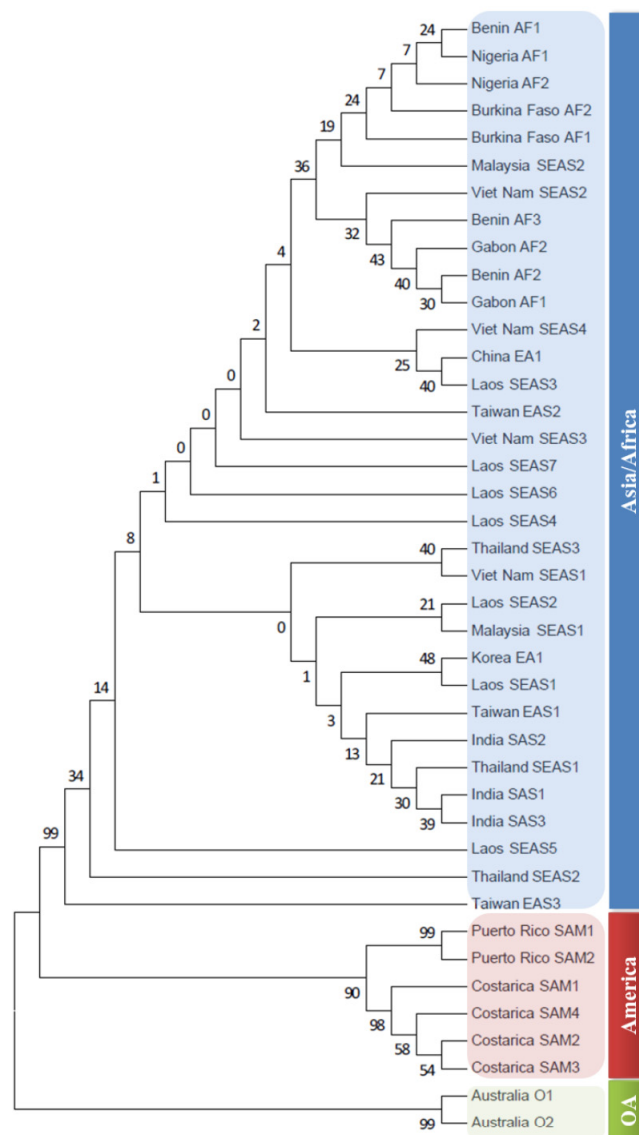


Fig. 2. A phylogenetic analysis of world populations of *M. vitrata* using *cox 1* sequences. All *cox 1* sequences were obtained from GenBank with accession numbers described in Table 1. All sequences were aligned with BioEdit 7.2 program and trimmed off. The processed sequences were phylogenetically analyzed with Neighbor-joining method using MEGA 6.0 program (Tamura et al., 2013). Figures at tree nodes indicate bootstrap values obtained after 1,000 repetitions. Three clusters represent Asia-Africa, America, and Oceania ('OA').

국내 콩명나방의 살충제 감수성

국내 콩명나방 집단의 살충제 감수성을 파악하기 위해 7 종의 서로 다른 살충제를 처리하여 분석하였다. 분석된 살충제 가운데 4 종은 신경독, 1 종은 곤충성장조절제, 나머지 2 종은 생물농약으로 구성되었다(Table 2). 콩명나방은 어린 유충과 종령 유충으로 구분하여 살충제 감수성을 비교하였다. 더불어 비교적 살충제 감수성이 잘 알려진 나비목 해충인 파밤나방과 배추좀나방에 대한 생물검정도 실시하여 상대적 살충제 감수성 정도를 파악하였다. 어린 유충에 대해서 살충제 감수성을 치사속도로 조사한 결과 3 종의 신경독 살충제와 전체적으로 파밤나방이 가장 낮은 감수성을 보였고, 뒤를 이어 콩명나방 그리고 배추좀나방 순으로 감수성이 높아지는 경향을 나타냈다(Fig. S1). 특히 카바메이트계(benfuracarb)와 유기인계(methidathion)에 대해서 파밤나방은 매우 낮은 감수성을 나타냈다. 유기인계 살충제인 methidathion을 제외하고 콩명나방 어린 유충은 2-4 일 경과 후 반수치사를 나타냈다(Table 3).

최종령에 대한 살충제 감수성을 치사속도로 비교하였다. 어

린 유충에 나타난 살충제 감수성 경향과는 달리 대부분의 경우에서 콩명나방이 가장 낮은 살충제 감수성을 나타내고, 뒤를 이어 파밤나방 그리고 배추좀나방 순으로 감수성이 높아졌다(Fig. S2). 이러한 이유는 콩명나방의 경우 나이가 경과함에 따라 감수성이 크게 둔화되는 데에서 나타났다(Table 4). 가장 크게 감수성이 둔화된 약제는 tebufenozide로서 어린 유충에 비해 최종령 유충이 약 6.02 배 둔화되었고, 뒤를 이어 benfuracarb의 경우 약 4.95 배 감수성이 둔화되었고, 가장 낮게는 methidathion으로 약 1.82 배 감수성이 둔화되었다.

고찰

본 연구에서는 국내에서 채집된 콩명나방의 유전적 특성과 살충제 감수성을 결정하는 데 목적을 두었다. 이를 위해 *cox 1* 유전자의 서열을 판독하여 분자 계통수로 국외 집단과의 근연관계를 분석하였으며, 7 종의 상이한 작용기작을 갖는 상용 살충제에 대한 약제 감수성을 조사하였다.

cox 1 유전자 서열 분석 결과 국내 콩명나방은 아시아 집단

Table 3. Toxicities of 7 insecticides against young larvae of *M. vitrata*

Insecticide	Insect	LT ₅₀ (95% CI)	Slope ± SE	X ²	df	P
BEN	<i>Se</i>	10.29	0.42 ± 0.32	1.32	1	0.75
	<i>Px</i>	1.00 (0.78~1.22)	1.65 ± 0.27	5.36	2	0.93
	<i>Mv</i>	2.26 (2.01~2.51)	1.23 ± 0.17	1.20	3	0.25
MET	<i>Se</i>	14.15 (9.59~52.70)	0.14 ± 0.06	2.08	6	0.09
	<i>Px</i>	- ¹	-	-	-	-
	<i>Mv</i>	7.19 (6.86~9.76)	0.44 ± 0.11	3.20	3	0.64
BIF	<i>Se</i>	7.55 (6.16~11.37)	0.18 ± 0.05	8.04	5	0.85
	<i>Px</i>	-	-	-	-	-
	<i>Mv</i>	3.50 (3.17~3.82)	0.72 ± 0.08	8.46	6	0.79
IND	<i>Se</i>	-	-	-	-	-
	<i>Px</i>	1.83 (1.51~2.13)	0.82 ± 0.1	7.05	4	0.87
	<i>Mv</i>	2.83 (2.58~3.07)	1.24 ± 0.17	9.05	4	0.94
TEF	<i>Se</i>	4.21 (3.17~5.27)	0.39 ± 0.09	13.22	5	0.98
	<i>Px</i>	5.01 (4.49~5.67)	0.36 ± 0.05	9.01	5	0.89
	<i>Mv</i>	2.09 (1.83~2.35)	1.12 ± 0.15	2.21	3	0.47
<i>BtA</i>	<i>Se</i>	7.49 (6.337~9.96)	0.24 ± 0.05	4.97	5	0.58
	<i>Px</i>	2.48 (2.26~2.71)	1.57 ± 0.24	2.48	3	0.52
	<i>Mv</i>	2.67 (2.42~2.93)	1.19 ± 0.16	4.07	4	0.60
BtK	<i>Se</i>	11.19 (8.41~21.73)	0.17 ± 0.05	2.34	6	0.11
	<i>Px</i>	2.28 (2.04~2.52)	1.39 ± 0.21	4.51	2	0.90
	<i>Mv</i>	2.58 (1.40~3.74)	0.45 ± 0.11	27.63	6	0.99

¹Hyphen indicates no assessment.

Table 4. Toxicities of 7 insecticides against old larvae of *M. vitrata*

Insecticide	Insect	LT ₅₀ (95% CI)	Slope ± SE	X ²	df	P
BEN	<i>Se</i>	8.25 (6.77~12.29)	0.21 ± 0.05	4.43	5	0.51
	<i>Px</i>	3.59 (2.52~4.67)	0.31 ± 0.06	13.52	6	0.96
	<i>Mv</i>	11.18 (8.33~22.36)	0.16 ± 0.05	2.83	6	0.17
MET	<i>Se</i>	10.29 (2.51~20.29)	0.18 ± 0.09	18.08	6	0.99
	<i>Px</i>	1.96 (0.51~3.37)	0.41 ± 0.11	31.56	6	0.99
	<i>Mv</i>	13.07	0.15 ± 0.08	3.12	4	0.46
BIF	<i>Se</i>	5.94 (5.33~6.82)	0.35 ± 0.06	4.79	5	0.56
	<i>Px</i>	1.85 (0.27~3.40)	0.40 ± 0.12	34.32	6	0.99
	<i>Mv</i>	9.41 (7.32~20.47)	0.18 ± 0.07	5.34	4	0.75
IND	<i>Se</i>	1.91 (0.00~4.25)	0.23 ± 0.09	28.20	6	0.99
	<i>Px</i>	3.12 (2.32~3.91)	0.52 ± 0.09	16.28	6	0.99
	<i>Mv</i>	9.86 (3.70~6.13)	0.30 ± 0.06	12.75	6	0.95
TEF	<i>Se</i>	5.09 (3.81~6.48)	0.32 ± 0.08	12.21	5	0.97
	<i>Px</i>	4.29 (3.08~5.59)	0.27 ± 0.06	12.76	6	0.95
	<i>Mv</i>	12.59 (9.27~75.14)	0.13 ± 0.06	1.70	5	0.11
<i>BtA</i>	<i>Se</i>	10.03 (7.72~23.22)	0.19 ± 0.07	4.32	4	0.64
	<i>Px</i>	1.52 (0.94~2.11)	1.81 ± 0.52	8.94	3	0.97
	<i>Mv</i>	8.03 (6.83~10.75)	0.27 ± 0.06	3.28	5	0.34
BtK	<i>Se</i>	9.19 (7.24~15.99)	0.18 ± 0.05	7.92	5	0.84
	<i>Px</i>	1.94 (0.00~4.07)	0.64 ± 0.36	46.10	5	0.99
	<i>Mv</i>	11.64 (8.72~23.74)	0.18 ± 0.06	2.46	6	0.13

들과 유사한 것으로 나타났다. 본 계통분류에서 전 세계의 콩명나방이 크게 4 개 그룹으로 나뉘었고, 이 가운데 아시아 그룹이 두 가지로 분지하였다. 동일한 나라에서도 두 개의 아시아 그룹으로 나뉘어 아시아 집단에 속한 콩명나방은 복합 분류군의 가설(Margam et al., 2011)을 뒷받침하고 있다. 본 연구에 이용된 *cox 1* 서열은 이 효소 유전자의 앞부분에 위치한 영역으로 일반적으로 DNA 바코드에 속해 있다. 이 시토크롬산화효소의 경우 세균과 진핵생물체의 미토콘드리아 막 단백질로서 전자전달에 중요한 역할을 담당하고 있다. 유전자 서열 변화에 의해 이 효소 활성의 변화는 대사작용에 치명적 손상을 입히게 된다. 따라서 이 유전자의 돌연변이는 극도로 제한적으로 일어난다. 예를 들어, 초파리와 사람의 *cox 1* 유전자의 상동성은 69%이고, 사람과 침팬지는 91%를 나타내고 있다(Lomax et al., 1992). 특별히 아미노산 서열로 비교하면 이들의 상동성은 더욱 높아 지는데 이는 기능적 아미노산 서열을 유지하려는 침묵돌연변이(synonymous mutation)에 기인된 것이다. 한편 생명의 바코드 계획 컨소시엄(Barcode of Life)에서는 *cox 1* 유전자 가운데 앞부분 1/3 영역을 DNA 바코드(DNA barcoding region)로 규

정하고 여러 종에서 database를 구축하고 있다(Ratnasingham and Hebert, 2007). 이 서열을 중심으로 종을 구분하는 것은 무리가 있으나 일반적으로 같은 종이라면 1-2% 차이를 보이며, 2% 차이가 넘으면 다른 종으로 간주할 수 있다(Cognato, 2006). 그러나 자매종의 경우는 1% 이내의 차이를 보일 수 있다. 따라서 정확한 종 동정을 위해서는 DNA 바코드를 바탕으로 전통적 형태분류가 병행되어야 한다. 본 연구에서 얻은 국내 집단의 *cox 1* 서열은 GenBank에 수록된 100 개의 콩명나방 서열과 비교하여 99%의 유사도를 보여 이들이 DNA 바코드 기준으로 같은 종으로 분류된다고 볼 수 있다. 그러나, 이 유전자 영역의 서열 유사성으로 모든 생물학적 특성이 동일하다고 결론내릴 수는 없다. 위에서 언급한 성페로몬의 이질성으로 생식적 고립으로 이끌 수 있기에 서로 다른 생태형의 존재는 충분히 가능하다. 일례로 중국의 콩명나방의 성페로몬 조성을 살펴보면, 지역적으로 큰 변이를 나타내고 있다. 중국 Wuhan 지역에서는 (E,E)-10,12-hexadecadienal, (E,E)-10,12-hexadecadienol, (E)-10-hexadecenal의 세 성페로몬 성분이 79.5:100:12.1인 반면에 Huazhou 지역은 10.3:100:0.7로서 뚜렷한 조성 차이를 보이고

있다(Lu et al., 2013). 국내 콩명나방이 이들 중 어느 지역 집단과 유사한 지는 *cox 1* 유전자 서열만으로 결정하기는 어렵다. 국내 콩명나방이 아시아 집단에 분류되고, 이 아시아 집단이 크게 두 그룹으로 분류된다는 점은 중국 집단의 두 가지 서로 다른 성페로몬 조성을 국내 집단에 적용하면서 유인력이 높은 조성을 탐색해 나갈 수 있을 것으로 본 연구는 제시한다.

국내 콩명나방에 대한 살충제 감수성이 조사되었다. 본 연구에서 처리한 7 종의 살충제는 발작물에 피해를 주는 나비목 해충을 대상으로 등록된 제품을 이용하였다. 이들의 작용 기작은 서로 상이하였다. 네 종류의 신경독 살충제는 유기인계, 카바메이트계, 피레스로이드계 및 옥사디아진계로 구분된다. 그리고 IGR 계통의 한 종과 Cry 독소 단백질의 구성에서 차이를 보이는 두 종의 생물농약을 병행하여 분석하였다. 비교적 살충제 저항성 발달로 잘 알려진 배추좀나방(Kwon et al., 2004; Kim et al., 2012)과 파밤나방(Kim et al., 1998)과 비교하여 콩명나방의 방제 효율을 검증하였다. 어린 콩명나방 유충의 경우 비교적 처리된 모든 살충제에 대해서 높은 감수성을 보였다. 그러나 최종령으로 성장하면, 이들 모두의 살충제에 대해서 감수성이 현격하게 감소하였다. 즉, 유충 발육과 함께 콩명나방은 살충제에 대한 저항능력을 발달시켰다고 볼 수 있다. 콩명나방 종령의 경우는 야외에서 그물망에 둘러싸여 약제 노출이 어렵게 하나, 본 연구에서 처리된 방법은 먹이 자체에 약제를 노출시키고, 이를 섭취하게 하였기에 이러한 가능성은 배제된다. 따라서 약제 감수성 저하는 콩명나방의 발육에 따라 체내 해독효소 활성의 증가 또는 작용점 변화에 비유할 수 있다. 유사한 경우가 다른 해충류에서도 발견되었다. 파밤나방의 경우 유기인계에 대해 높은 저항성은 최종령 유충에서 현격하게 나타나는 데 이러한 이유가 해독효소의 활성 증가 뿐만 아니라 상이한 아세틸콜린에스테라제의 발현으로 추정하였다(Kim et al., 1998). 콩명나방의 약제 감수성 저하 현상에 대한 추후 생화학적 분석이 필요하다. 외국의 사례에서 보면, 콩명나방은 야외에서 약제에 대한 저항성 발달이 보고되었다. 나이지리아의 경우 Shika와 Samaru 두 지역에서 채집된 콩명나방이 살충제에 대해서 저항성을 나타냈다(Ekesi, 1999). Cypermethrin에 대해서 이들 지역의 저항성 정도는 17 배와 53 배로 나타났고, dimethoate에 대해서 27 배, 92 배 그리고 endosulfan에 대해서는 15 배와 37 배를 기록하였다. 비교적 낮은 저항성이 lambda-cyhalothrin으로서 3-4 배의 감수성 저하를 기록하였다. 현재 국내에서는 콩명나방을 대상으로 과도한 약제 방제가 이뤄지지 않고 있다. 그러나 기후변화와 기주 작물의 경작 규모의 증가에 따라 이 해충이 대발생할 경우 본 연구는 방제의 초점을 이 해충의 어린 유충으로 가져가야 하고, 종령에 가까우면 화학적 방제 보다는 천

적류를 포함한 종합방제 체계로 가져가야 저항성 발달을 늦출 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 농촌진흥청 아젠다연구사업(과제번호: PJ01182003)으로 지원되었다.

Literature Cited

- Adati, T., Tatsuki, S., 1999. Identification of female sex pheromone of the legume pod borer, *Maruca vitrata* and antagonistic effects of geometrical isomers. *J. Chem. Ecol.* 25, 105-116.
- Bae, Y.S. 2001. Family Pyraloidea: Pyraustinae & Pyralinae. *Economic Insects of Korea* 9. Ins. Koreana Suppl. 16, 252pp.
- Cognato, A.I., 2006. Standard percent DNA sequence difference for insects does not predict species boundaries. *J. Econ. Entomol.* 99, 1037-1045.
- Downham, M.C.A., Hall, D.R., Chamberlain, D.J., Cork, A., Farman, D.I., Tamo, M., Dahounto, D., Datinon, B., Adetonah, S., 2003. Minor components in the sex pheromone of legume pod-borer: *Maruca vitrata* development of an attractive blend. *J. Chem. Ecol.* 29, 989-1012.
- Downham, M.C.A., Tamo, M., Hall, D.R., Datinon, B., Adetonah, S., Farman, D.I., 2004. Developing pheromone traps and lures for *Maruca vitrata* in Berlin, West Africa. *Entomol. Exp. Appl.* 64, 183-186.
- Ekesi, S., 1999. Insecticide resistance in field populations of the legume pod-borer, *Maruca vitrata* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae), on cowpea, *Vigna unguiculata* (L.), Walp in Nigeria. *Intl. J. Pest Manage.* 45, 57-59.
- Goh, H.G., Lee, S.G., Lee, B.P., Choi, K.M., Kim, J.H., 1990. Simple mass-rearing of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), on an artificial diet. *Kor. J. Appl. Entomol.* 29, 180-183.
- Grigolli, J.F.J., Lourencao, A.L.F., Avila, C.J., 2015. Field efficacy of chemical pesticides against *Maruca vitrata* Fabricius (Lepidoptera: Crambidae) infesting soybean in Brazil. *Am. J. Plant. Sci.* 6, 537-544.
- Hall, T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids Symp. Ser.* 41, 95-98.
- Hassan, M.N., 2007. Re-investigation of the female sex pheromone of the legume pod-borer, *Maruca vitrata* (Lepidoptera: Crambidae). PhD Dissertation, University of Greenwich, London, UK.
- Herbison-Evans, D., Crossley, S., Hacobian, B., 2011. *Maruca vitrata* (Fabricius, 1787). <http://lepidoptera.butterflyhouse.com.au/spil/vitrat.html>.

- Huesing, J.E., Romeis, J., Ellstrand, N.C., Raybould, A., Kellmich, R.L., Wolt, J.D., Ehlers, J.D., Clementine Dabire-Binso, L., Fatokun, C.A., Hokanson, K.E., Ishiyaku, M.F., Margam, V.M., Obokoh, N., Mignouna, J.D., Nang'ayo, F., Ouedraogo, J.T., Pasquet, R.S., Pittendrigh, B.R., Schaal, B.A., Stein, J., Tamo, M., Murdock, L.L., 2011. Regulatory considerations surrounding the deployment of Bt-expressing cowpea in Africa. Report of the deliberations of an expert panel. *GM Crops* 2, 211-224.
- Jackai, L.E.N., 1981. Relationship between cowpea crop phenology and field infestation by the legume pod borer *Maruca testulalis*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 74, 402-408.
- 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. *Kor. J. Appl. Entomol.* 48, 29-35.
- 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. *Kor. J. Appl. Entomol.* 46, 393-399.
- Kim, J.I., Joo, Y.R., Kwon, M., Kim, G.H., Lee, S.H., 2012. Mutation in ace1 associated with an insecticide resistant population of *Plutella xylostella*. *J. Asia Pac. Entomol.* 15, 401-407.
- Kim, Y., Lee, J., Kang, S., Han, S., 1998. Age variation in insecticide susceptibility and biochemical changes of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner). *J. Asia Pac. Entomol.* 1, 109-113.
- Kwon, D.H., Choi, B.R., Park, H.M., Lee, S.H., Miyata, T., Clark, J.M., Lee, S.H., 2004. Knockdown resistance allele frequency in field populations of *Plutella xylostella* in Korea. *Pesti. Biochem. Physiol.* 80, 21-30.
- Lee, S.T., Srinivasan, R., Lo, Y.J., Talekar, N.S., 2007. Identification, characterization and bioassays of *Maruca vitrata* multiple nucleopolyhedrosis (MaviNPV) against *Maruca vitrata* (Lepidoptera, Pyralidae). *BioControl* 52, 801-819.
- Lomax, M.I., Hewett-Emmett, D., Yang, T.L., Grossman, L.I., 1992. Rapid evolution of the human gene for cytochrome c oxidase subunit IV. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 5266-5270.
- Lu, P.F., Qiao, H.L., Luo, Y.Q., 2013. Female sex pheromone blend and male response of the legume pod borer, *Maruca vitrata* (Lepidoptera: Crambidae), in two populations of mainland China. *Z. Naturforsch. C.* 68, 419-427.
- Margam, V.M., Coates, B.S., Ba, M.N., Sun, W., Binso-Dabire, C.L., Baoua, I., Ishiyaku, M.F., Shukle, J.T., Hellmich, R.L., Covas, F.G., Ramasamy, S., Armstrong, J., Pittendrigh, B.R., Murdock, L.L., 2011. Geographic distribution of phylogenetically-distinct legume pod borer, *Maruca vitrata* (Lepidoptera: Pyralidae: Crambidae). *Mol. Biol. Rep.* 38, 893-903.
- McPherson, R.M., MacRac, T.C., 2009. Evaluation of transgenic soybean exhibiting high expression of a synthetic *Bacillus thuringiensis* Cry1A transgene for suppressing lepidopteran population densities and crop injury. *J. Econ. Entomol.* 102, 1640-1648.
- Oghiakhe, S., Jackai, L.E.N., Makanjuola, W.A., 1995. Evaluation of cowpea genotypes for field resistance to the legume pod borer, *Maruca testulalis*, in Nigeria. *Crop Prot.* 14, 389-394.
- Paek, M., Hwang, J., Jung, K., Kim, T., Kim, M., Lee, Y., Cho, Y., Park, S., Le, H., Ku, D., Jeong J., Kim, K., Choi, D., Shin, E., Hwang, J., Lee, J., Kim, S., Bae, Y., 2010. Checklist of Korean insects. *Nature & Ecology*, Seoul, Korea.
- Periassamy, M., Schafleitner, R., Muthukalingan, K., Ramasamy, S., 2015. Phylogeographical structure in mitochondrial DNA of legume pod borer (*Maruca vitrata*) population in tropical Asia and Sub-Saharan Africa. *PLoS One* 10, e0124057.
- Popelka, J.C., Gollasch, S., Moore, A., Molvig, L., Higgins, T.J.V., 2006. Genetic transformation of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) and stable transmission of the transgenes to progeny. *Plant Cell Rep.* 25, 304-312.
- Ratnasingham, S., Hebert, P.D.N., 2007. BOLD: the barcode of life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Mol. Ecol. Notes* 7, 355-364.
- Raymond, M., 1985. Log-probit analysis Basic program for microcomputer. *Cah. ORS-TOM. Sér. Ent. méd. et Parasitol.* 23, 117-121.
- Sambrook, J.E., Fritsch and T. Maniatis. 1989. *Molecular cloning. A laboratory manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.
- Schläger, S., Ulrichs, C., Srinivasan, R., Beran, F., Bhanu, K.R.M., Mewis, I., Schreiner, M., 2012. Developing pheromone traps and lures for *Maruca vitrata* in Taiwan. *Gesund. Pflanz.* 64, 183-186.
- Sharma, H.C., 1998. Bionomics, host plant resistance, and management of the legume pod borer, *Maruca vitrata* - a review. *Crop Prot.* 17, 373-386.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H., Flook, P., 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 87, 651-701.
- Srinivasan, R., 2008. Susceptibility of legume pod borer (LPB), *Maruca vitrata* to δ -endotoxins of *Bacillus thuringiensis* (Bt) in Taiwan. *J. Invertebr. Pathol.* 97, 79-81.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A., Kumar, S., 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis, version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30, 2725-2729.