

프루텔고치벌(*Cotesia plutellae*) 유래 폴리드나바이러스의 비자연 기주 파밤나방(*Spodoptera exigua*)에 대한 발육 억제 효과

김용균* · 김지원

안동대학교 생명자원과학부

Inhibitory Effect of *Cotesia plutellae* Bracovirus (CpBV) on Development of a Non-natural Host, *Spodoptera exigua*

Yonggyun Kim* and Jiwon Kim

School of Bioresource Sciences, Andong National University, Andong 760-749, Republic of Korea

ABSTRACT : Polydnavirus is a symbiotic virus of some endoparasitic wasps and plays crucial roles in inhibiting immune responses and retarding development of the parasitized hosts. *Cotesia plutellae* bracovirus (CpBV) is a polydnavirus suggesting a major causative to change developmental physiology of the parasitized host. Here, we investigated whether CpBV can interrupt development of non-natural host. Beet armyworm, *Spodoptera exigua*, is used as a non-permissible host for parasitization of *C. plutellae*. Extract from the calyx region of *C. plutellae* contained CpBV, which was confirmed by immunoblotting with a polyclonal antibody raised against CpBV. One female equivalent of CpBV extract was injected into hemocoel of late 4th instar larvae of *S. exigua*. The injected larvae showed delayed larval period, decrease of body weight gain, and inability of pupal metamorphosis. These inhibitory effect of the CpBV extract was rescued by injection along with CpBV antibody, though the antibody itself did not give any effect on development of the larvae. This result clearly shows that CpBV can interrupt developmental physiology of a non-natural host for its symbiotic wasp.

KEY WORDS : *Cotesia plutellae*, Metamorphosis, Parasitization, Polydnavirus, *Spodoptera exigua*

초 록 : 폴리드나바이러스는 일부 내부기생충의 공생 바이러스로서 기생충 기생과정중 피기생자의 면역억제와 발육지연에 중요한 역할을 담당한다. 프루텔고치벌(*Cotesia plutellae*) 유래 브라코바이러스(CpBV)는 피기생자의 발육을 교란시키는 주요 원인자로서 작용하는 폴리드나바이러스의 일종이다. 본 연구는 이 CpBV가 비자연기주에게도 발육교란을 유발할 수 있는 지 조사하였다. 이를 위해 프루텔고치벌에 의해 기생되지 않는 비기주인 파밤나방(*Spodoptera exigua*)을 이용하였다. 이 용된 CpBV는 프루텔고치벌 난소받침(*calyx*) 추출물에서 얻었다. 이 추출물은 CpBV 항체에 대해서 뚜렷한 항원-항체반응성으로 CpBV 보유가 입증되었다. 고치벌 암컷 한 마리 CpBV 추출물을 후기 4령의 파밤나방 혈강내로 주입시켰다. CpBV 주입된 파밤나방 유충은 유충기간이 연장되고, 체중증가가 억제되며, 궁극적으로 변태가 억제되었다. 이러한 CpBV의 발육억제 효과는 이 바이러스의 항체를 함께 주입하여 줌으로 해소되었다. 여기서 항체 단독으로는 파밤나방 유충 발육에 아무런 영향을 주지 않았다. 이 결과는 CpBV가 공생 기생충의 비기주체에 대해서 발육교란 효과를 줄 수 있다는 것을 제시하고 있다.

검색어 : 기생, 변태, 파밤나방, 폴리드나바이러스, 프루텔고치벌

*Corresponding author. E-mail: hosanna@andong.ac.kr

폴리드나바이러스는 Polydnviridae에 속하며, 일부 맵시벌상과 내부기생봉류의 공생 바이러스로서 Ichnovirus와 Bracovirus의 두 속으로 분류되며, 이는 각각 기주 기생봉의 분류학적 체계에 따라 맵시벌과 및 고치벌과 기생봉에서 분리된 바이러스를 대변한다(Webb *et al.*, 2000). Ichnovirus의 입자는 단일 뉴클레오캡시드(nucleocapsid)가 두 층의 막 구조로 둘러싸인 형태이며, 85 nm × 330 nm의 비교적 크기가 일정한 크기의 타원형 구조를 지니 ascovirus와 유사한 구조를 보인다(Federici *et al.*, 1991; Bigot *et al.*, 1997). 내막은 바이러스에 의해 침입된 세포 내에서 합성되나, 외막은 바이러스 입자의 돌출과정에서 기주 세포 막에서 기인된다(Stoltz and Vinson, 1979). Bracovirus의 입자는 원통형으로 비교적 다양한 크기를 가지며(34-40 nm × 8-150 nm), 바이러스에 의해 합성된 단일막내에 여러 개의 뉴클레오캡시드를 지니 baculovirus와 nudivirus와 유사한 구조를 보인다(Stoltz *et al.*, 1976).

폴리드나바이러스는 이중나선형 DNA 바이러스로서 계놈이 조각 형태로 기주 기생봉 계놈에 흩어져서 자리하고 있는 프로바이러스(proviral) 형태를 유지하게 되며, 바이러스 복제는 암컷 기주의 특정 시기 및 조직에서만 일어난다(Webb, 1998). 즉, 암컷 난소소관의 기부영역과 측수란관 사이의 난소반침(calyx) 구조가 비대하게 발달된 영역에서 대부분의 바이러스 복제가 이뤄진다. 성충조직이 발육되는 용기간에 탈피호르몬에 의해 바이러스 복제가 유기된다고 알려지고 있으며, 형성된 바이러스는 난소반침과 측수란관 내강에 밀집해 있다가 기생봉의 숙주내 산란과 함께 대상 곤충 혈강내로 함께 주입된다(Webb and Summers, 1992). 기생봉에 의해 주입된 폴리드나바이러스는 혈구세포, 지방체 및 다양한 대상 세포로 침입하여 특정 유전자의 발현이 이뤄지는 것으로 보고되고 있다(Stoltz and Vinson, 1979; Webb, 1998). 그러나 이렇게 침입한 바이러스는 대상 세포내에서 자신의 복제는 이뤄지지 않아, 바이러스의 세대 유지는 기생봉내 프로바이러스 형태로 기생봉 세대 진행과 함께 수직적으로 이뤄진다(Stoltz, 1993).

피기생자에서 폴리드나바이러스의 유전자 발현은 피기생자 면역억제 및 발육지연 효과를 통해 기생봉의 기생 기작을 도와주게 된다. 폴리드나바이러스 유전자 발현 연구가 잘 진행된 *Campoletis sonorensis* Ichnovirus (CsIV)의 경우 다양한 cys-motif 유전자군을 가지며, 이들 단백질 발현체들은 혈구세포로 침입하여 세

포내골격 재구성을 억제시켜 혈구의 정상 생리 기작을 방해한다(Cui *et al.*, 1997). 또한 일부 cys-motif 유전자 발현체들은 피기생자 특정 생리 단백질을 전사후 과정에서 발현을 억제시켜, 주요 영양원을 피기생자 발육보다는 기생봉의 발육으로 유도하는 역할을 한다(Shelby and Webb, 1997; Kim and Webb, 2003). Bracovirus류에서 파생된 CrV1은 Ichnovirus의 cys-motif 유전자와 유사하게 혈구 기능을 억제시키는 것으로 보고되고 있고(Asgari *et al.*, 1997), 특별히 이들은 바이러스 렉틴 유전자를 가지고 있어 면역인식을 억제하는 기능을 보유하리라 여겨지고 있다(Glatz *et al.*, 2003).

국내에서 배추좀나방(*Plutella xylostella*)에 기생하는 프루텔고치벌(*Cotesia plutellae*)에서 Bracovirus (CpBV)가 분리되었다(Bae and Kim, 2004). 고치벌에 기생된 배추좀나방은 면역능력 저하, 발육 지연 및 변태 불능의 생리적 변화를 보였다(Bae and Kim, 2004; Lee and Kim, 2004). 기존의 연구들을 살펴보면, 비록 바이러스가 특정 기주체의 계놈상에 존재하여 자연계에서는 필연적으로 기생봉의 기주를 선택하게 되지만, 인위적으로 기생봉의 자연기주가 아닌 곤충류에 접종하였을 경우, 폴리드나바이러스에 의한 생리 교란이 이뤄질 수 있음을 보여 왔다(Cui *et al.*, 2000; Lovallo *et al.*, 2002). 본 연구는 CpBV가 비기주인 파밤나방(*Spodoptera exigua*)의 유충발육에 미치는 영향을 분석하였다. 이는 파밤나방이 농작물에 주는 경제적 피해 규모 뿐만 아니라, 배추좀나방에 비해 비교적 큰 크기의 파밤나방에 대한 교란 효과는 CpBV의 기능성 계놈연구에 또 다른 모델곤충으로서 도움을 줄 수 있다는 판단하에 시도되었다.

재료 및 방법

시험곤충 사육 및 기생봉 접종

배추좀나방(*P. xylostella*)과 파밤나방(*S. exigua*) 유충은 각각 배추잎과 인공사료(Gho *et al.*, 1991)로 사육되었다. 이들 성충은 모두 10% 설탕물을 공급받았다. 전 사육기간 동안 온도 25 ± 1°C, 상대습도 60 ± 10%, 광주기 16:8h(L:D)의 조건에서 유지되었다.

프루텔고치벌은 안동에서 채집되어 실내 누대 사육된 집단(Bae and Kim, 2004)을 이용하였다. 우화된 암수 모두에게 50% 설탕물이 공급되고, 24시간동안 상

기의 일반 사육 조건에서 교미하게 했다. 배추좀나방 2령충 시기에 교미된 암수를 투입시켜 상기의 사육조건에서 24시간 기생시켰다. 이때 배추좀나방과 암컷 고치벌의 비율은 3:1로 맞추었으며, 약 95% 이상의 기생율을 보였다. 동일 고치벌 집단은 3회 이상 기생에 이용되지 않았다.

CpBV 분리 및 항체 형성

바이러스 분리는 Beckage *et al.* (1994)의 여과지분리법을 변형시켰다. 프루텔고치벌 암컷 난소를 적출하고(Fig. 1A), 이를 21 G 주사바늘 크기의 3 CC 일회용 주사기를 이용하여 흡입과 배출을 반복하며 분해시켰다. 이 추출액은 0.45 μ m 구멍 크기의 필터를 이용하여 바이러스 또는 이하 크기의 물질만 통과하게 했다. 추출된 바이러스와 단백질 복합체는 15,000 g에서 원심분리시켜 바이러스만 분리하였다. 최종 분리된 바이러스는 세척후 펩트론 항체 제작회사(대전, 한국)로 보내져 토끼를 대상으로 polyclonal 항체를 얻었다.

CpBV 접종 및 생리 교란 분석

한 마리 암컷의 CpBV를 얻기 위해 우화후 2일된 암컷으로부터 난소를 적출하고, 5 μ l의 50 mM 인산완충식염수(pH 7.4)에서 난소받침을 열었다(Fig. 1B). 이후 2-3회 피펫 움직임을 통해 CpBV의 확산을 돕게 되고, 얻어진 CpBV 추출액을 파밤나방 4령말기(4령 탈피후 3일째)에 혈강으로 주입시켰다. 처리후 24시간마다 개체별 체중을 기록하였으며, 용화까지의 유충기간 및 용화율을 측정하였다. CpBV의 항체를 CpBV와

함께 주입시키는 처리에서는 CpBV 추출액에 1 μ l의 항체가 포함되었으며, 항체없는 처리에서는 같은 부피의 정상혈청이 포함되었다.

CpBV 단백질 분석

CpBV 추출액에 해당 바이러스의 존재 유무를 증명하기 위해 추출액을 10% SDS-PAGE (sodium dodecylsulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)에서 변성 전기영동한 후, 반건조상태로 단백질을 nitrocellulose membrane으로 옮겼다(Moon and Kim, 2003). CpBV 항체(1,000배 희석)와 결합시킨 후 2차 항체의 alkaline phosphatase를 대상으로 nitro blue tetrazolium /5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate (NBT/BCIP, Sigma, USA)로 발색 반응시켰다.

자료 분석

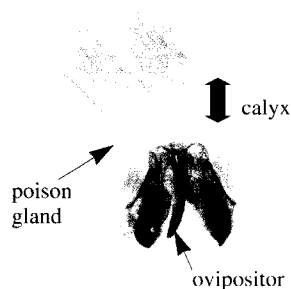
파밤나방 발육기간 및 체중 결과 분석은 SAS 프로그램(SAS Institute, 1989)의 one-way ANOVA 분석후 최소유의차 검정법으로 평균간 비교를 실시하였다. 용화율 자료는 X^2 검정법에 의해 처리간 빈도자료 분석을 실시하였다.

결 과

CpBV 추출

프루텔고치벌 난소받침의 특징적 비대 구조와 금속색같은(Fig. 1A) 이 부분이 CpBV를 함유하고 있음을

A



B



Fig. 1. Female reproductive organ of *Coteia plutellae*. (A) Calyx region where CpBV particles are located. (B) By rupturing the calyx, the calyx lumen fluid is released to surrounding medium. Observation at 50 \times magnification.

기 보고된 연구(Bae and Kim, 2004)에서 알 수 있다. 이 부위를 열어 보면 금속 색깔의 물질이 주변 완충 식염수 용액으로 빠져 나오는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 1B). 이러한 추출 용액에 CpBV가 함유되어 있는 지를 알아보기 위해 CpBV 항체를 통해 면역 반응으로 분석하였다.

우선 이상의 구조를 지닌 암컷 난소(약 2,000마리)로부터 여과지법에 의해 바이러스를 추출하였고, 토끼를 대상으로 항체를 형성하였다. 형성된 항체는 분리된 CpBV 단백질중 특징적 두 밴드(p40과 p35)에 대해 면역반응을 보였다. 본 연구에서 난소반침을 통해 추출한 CpBV 추출용액은 여러 단백질이 SDS-PAGE 상에서 검출되었다(Fig. 2A). 이들 중 p40과 p35가 주요 단백질 밴드였고, 이 두 단백질은 CpBV 항체에 대해 특징적 항원-항체 반응을 보였다(Fig. 2B). 이러한 결과는 본 연구에서 추출한 난소반침 추출물이 CpBV를 포함하고 있음을 나타냈다.

CpBV의 파밤나방 유충발육 교란 효과

CpBV 추출물을 파밤나방 4령 말기에 혈강으로 주입시킨 결과, 용화까지의 유충기간을 연장시켰다(Fig. 3). 이러한 유충 연장 효과가 CpBV에 기인되었는 지를 알기 위해 추출물에 CpBV 항체를 포함시켜 주입한 결과, CpBV 단독효과보다 유충기간 연장 효과가 뚜렷하게 감소되는 것을 나타냈다. 물론 항체 자신은

유충기간 변화에 아무런 효과를 보여주지 못하였다.

CpBV 추출물은 파밤나방 유충 체중변화에 뚜렷한 영향을 주었다(Fig. 4). CpBV 처리된 파밤나방은 다른 세 처리구에 비해 낮은 체중 성장을 보였다($F=201.67$; $df=1, 32$; $P<0.0001$). 반면 CpBV와 항체를 함께 처리하면 무처리구 또는 항체 단독 처리구와 유사한 체중증가를 보였다($F=4.03$; $df=1, 32$; $P=0.0531$).

CpBV 추출물은 파밤나방 용화를 억제시켰다(Fig.

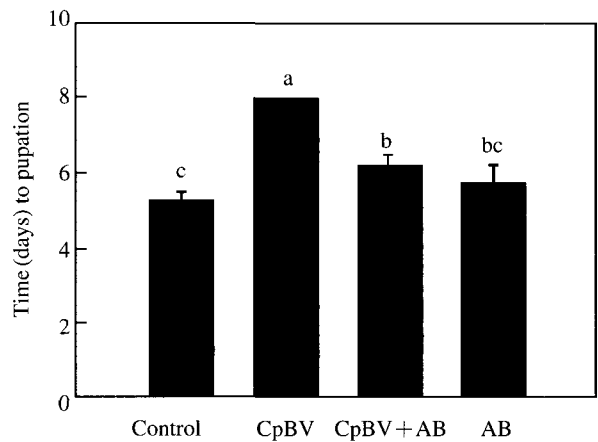


Fig. 3. Effect of calyx fluid of *Cotesia plutellae* on larval period of *Spodoptera exigua*. The fluid (a female equivalent) was injected into 3 day-old 4th instar larvae of *S. exigua*. The larval period represents the period until pupation after the treatment. Each value consists of 10 measurements. Different letters above the standard deviation bar indicate significant difference between means at Type I error = 0.05 (LSD test). 'AB' represents a polyclonal antibody raised against CpBV.

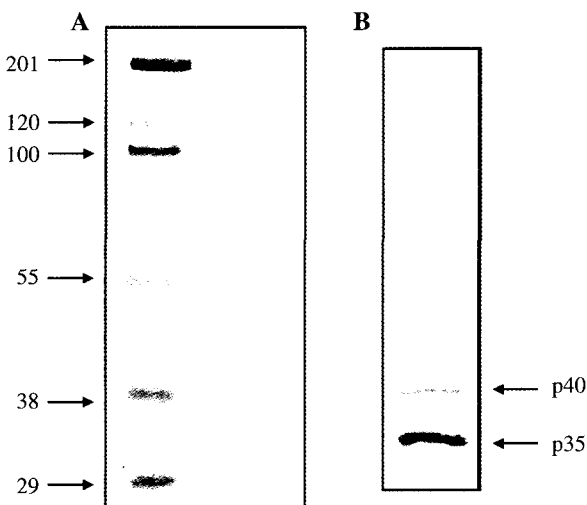


Fig. 2. Proteins of calyx fluid of *Cotesia plutellae*. (A) 10% SDS-PAGE (B) Immunoblotting against CpBV polyclonal antibody and color reaction of alkaline phosphatase with nitro blue tetrazolium/5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate.

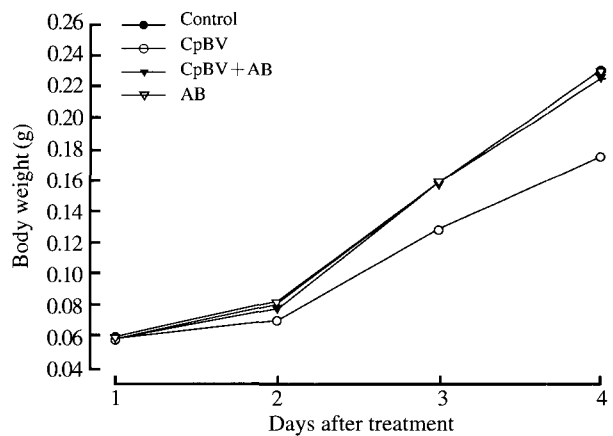


Fig. 4. Effect of calyx fluid of *Cotesia plutellae* on body weight of *Spodoptera exigua*. The fluid (a female equivalent) was injected into 3 day-old 4th instar larvae of *S. exigua*. Each value consists of 10 measurements. 'AB' represents a polyclonal antibody raised against CpBV.

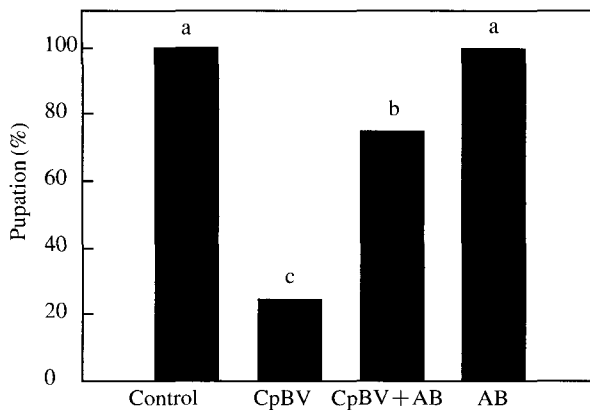


Fig. 5. Effect of calyx fluid of *Cotesia plutellae* on pupation of *Spodoptera exigua*. The fluid (a female equivalent) was injected into 3 day-old 4th instar larvae of *S. exigua*. Each value consists of 10 measurements. Different letters above bars indicate significant difference between means at Type I error = 0.05 (X^2 test). 'AB' represents a polyclonal antibody raised against CpBV.

5). 무처리구에 비해 CpBV(암컷 1마리 양) 처리구는 약 80% 용화율 감소를 보였다. 반면에 항체와 함께 처리될 경우 용화율은 뚜렷하게 회복되었으며, 항체 자체는 용화율 변동에 영향을 주지 않았다.

고 찰

프루텔고치벌은 고치벌류에서 폴리드나바이러스가 가장 많이 발견된 분류군인 밤나방살이고치벌아과(Microgastrinae)에 속한다(Oh *et al.*, 1997; Webb, 1998; Bae and Kim, 2004). 주로 배추좀나방에 기생하며, 본 연구실에서는 미국흰불나방(*Hyphantria cunea*)에도 기생하는 것을 확인하였다. 그러나 파밤나방에 대해서는 모든 유충 시기를 처리하여도 기생이 되지 않는다는 것을 확인하였다. 이러한 기생봉의 대상 숙주에 대한 기생 가능성은 기생봉이 가지는 숙주 면역 억제 능력과 관련이 있다는 것이 제시되었다(Cui *et al.*, 2000). 예를 들어, 세포성 면역 능력에 차등성을 보이는 초파리 유전집단에서, 면역능력이 낮은 감수성 집단의 경우 기생봉은 정상적으로 발육하는 반면, 면역능력이 높은 저항성 집단은 기생봉 알이 혈구세포에 의해 둘러싸이는 혈구피막형성이 이뤄져 기생봉이 발육하지 못했다(Carton and Nappi, 1991; Vass *et al.*, 1993). 이러한 면역을 억제하기 위해서 이들 내부기생봉류는 숙주

곤충에 산란할 때 폴리드나바이러스 이외에 난소단백질(ovarian proteins: OP), 독샘물질(venom) 및 기형세포(teratocytes)를 함께 전달한다(Schmidt *et al.*, 2000). 독샘물질이나 OP는 기생 초기에 폴리드나바이러스나 기형세포의 유전자 발현이 이뤄지기 전의 초기 면역억제에 관여하는 것으로(Webb and Luckhart, 1994), 숙주 특이성이 결여된다(Cui *et al.*, 2000).

CpBV의 바이러스 외피 단백질이 분석되었다. 우선 바이러스는 기존의 전자현미경 관찰(Bae and Kim, 2004)을 토대로 난소받침에서 추출되었다. 두 개 주요 단백질 p35와 p40 이외에 여러 단백질이 검출되었다. 두 주요 단백질은 CpBV 항체에 의해 반응성을 보여 바이러스 외피·주요 단백질로서 간주된다. 그러나 다양한 종류의 단백질들은 OP는 물론이고, 바이러스 외피 단백질 및 일부 추출과정중에 바이러스 외피와 친화력이 높은 단백질이 포함되었을 가능성이 있다. 비교적 폴리드나바이러스 외피 단백질의 연구가 많이 진행된 CsIV의 경우 약 24개의 단백질 밴드를 검출할 수 있었으며, 이중 6-7개의 주요 단백질 밴드를 보유하고 있었다(Krell *et al.*, 1982). 물론 두 바이러스는 바이러스 입자 형성 과정이 다르다. CsIV는 두 층의 바이러스 외피를 가지고 있는 형태로서, 난소받침 상피세포에서 조립된 후 기주 상피세포막을 외막으로 하여 난소관내로 나오는 반면, CpBV는 다른 고치벌류 바이러스와 같다면 단지 상피세포내 조립된 단일막만 가지고 난소관내로 나오게 된다(Webb, 1998). 바이러스 외피 단백질은 유전자가 바이러스 게놈에 존재한다면, 이는 기생봉 기주 난소기부 상피세포에서 합성되고 조립된 유전자군('Class 1')이다(Webb, 1998). 이러한 유전자의 확보는 특히 기주체내에서 CpBV 유전자 발현을 조절하는 기작을 파악하는 데 도움이 될 수 있다.

난소받침으로부터 추출된 CpBV는 파밤나방의 유충 발육을 억제시켰다. 처리시기는 파밤나방 4령 말기로서 변태에 중요한 5령초기(Kim *et al.*, 2004) 직전의 시기에 바이러스의 정착을 유도하였고, 이때 변태 관련 유전자 발현 및 관련 단백질 조절이 파밤나방 5령 기간 및 용화를 교란시킬 수 있다는 가설을 세웠다. 주입된 CpBV는 용화까지의 유충기간, 체중 증가 및 용화에 뚜렷한 효과를 보였다. 본 연구 결과로는 CpBV가 어떻게 파밤나방의 유충기간 연장과 체중증가 억제 및 용화 억제를 유도하였는지는 알 수 없다. 유사한 고치벌류인 *Cotesia kariyai*는 피기생 숙주의 체중증가 감소를 유도하였고, 이는 이 고치벌의 폴리

드나바이러스에 기인된 숙주의 소화전환효율 감소로 분석하였다(Nakamatsu *et al.*, 2001). 유충 기간 증가와 변태 억제 기작면에서, 일반적으로 고치벌류 기생에서 나타나는 변태억제 기작이 크게 유약호르몬 체내 증가 또는 변태호르몬 감소의 두 가지 전략을 갖고 있다는 점에서(Schmidt, 2000) 유추해 볼 수 있다. *Cardiochiles nigriceps* 고치벌 폴리드나바이러스는 피기생자 전홍샘의 기능을 무력화하여, 전홍샘축진호르몬의 자극에도 탈피호르몬 분비능력을 잃게 된다(Pennacchio *et al.*, 1998). 또한 또 다른 고치벌의 경우 *Toxoneuron nigriceps*는 피기생 숙주의 유약호르몬 대사 과정에 영향을 주어 최종령 시기에 유약호르몬 농도를 높게 유지시켜 변태 억제를 유도한다고 밝혔다(Li *et al.*, 2003). 이러한 유사 폴리드나바이러스의 작용 기작을 바탕으로 CpBV가 어떻게 파밤나방의 변태 억제를 유도하였는 지에 대한 기작적 연구가 필요하다.

이상의 결과는 비자연기주인 파밤나방에 대해서 CpBV의 유충발육 억제 효과를 보였다. 이 결과는 두 가지면에서 의의를 가질 수 있다. 우선 CpBV의 단독 변태억제 효과로서 배추좀나방은 물론이고 파밤나방은 국내 전작 농작물에 주요 난방제 해충으로서 환경에 적합한 생물적 방제인자 개발 방향으로 이용될 수 있다는 점이다. 이를 더욱 실현화시키기 위해 본 연구실에서는 CpBV의 섭식에 따른 파밤나방과 배추좀나방의 변태 억제 효과 연구가 진행되고 있다. 또 하나의 다른 의의는 배추좀나방에 비해 비교적 차이가 큰 파밤나방이 인위적 CpBV 유전자의 발현 기주가 될 수 있다는 점이다. 접종의 용이성 및 조직학적 연구의 가능성이 높게 주어졌다. 파밤나방을 대상으로한 체내 CpBV 유전자 기능 연구가 가속화될 전망이다.

사 사

본 연구는 한국과학재단의 지역대학우수과학자 지원연구 사업으로 수행되었다. 연구 기자재와 시설은 농촌진흥청의 농학계특성화 육성사업에 의해 지원되었다.

Literature Cited

- Asgari, S., O. Schmidt and U. Theopold. 1997. A polydnavirus encoded protein of an endoparasitoid is an immune suppressor. *J. Gen. Virol.* 78: 3061~3070.
- Bae, S. and Y. Kim. 2004. Host physiological changes due to parasitism of a braconid wasp, *Cotesia plutellae*, on diamond-back moth, *Plutella xylostella*. *Comp. Biochem. Physiol.* 138A: 39~44.
- Beckage, N.E., F.F. Tan, K.W. Schleifer, R.D. Lane and L.L. Cherubin. 1994. Characterization and biological effects of *Cotesia congregata* polydnavirus on host larvae of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 26: 165~195.
- Bigot, Y., A. Rabouille, P.-Y. Sizaret, M.-H. Hamelin and G. Periquet. 1997. Particle and genomic characteristics of a new member of the Ascoviridae: *Diadromus pulchellus* ascovirus. *J. Gen. Virol.* 78: 1139~1147.
- Carton, Y. and A.J. Nappi. 1991. The *Drosophila* immune reaction and the parasitoid capacity to evade it: genetic and coevolutionary aspect. *Acta Oecol.* 12: 89~104.
- Cui, L., A.I. Soldevila and B.A. Webb. 1997. Expression and hemocyte-targeting of a *Campoletis sonorensis* polydnavirus cysteine-rich gene in *Heliothis virescens* larvae. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 36: 251~271.
- Cui, L., A.I. Soldevila and B.A. Webb. 2000. Relationships between polydnavirus gene expression and host range of the parasitoid wasp *Campoletis sonorensis*. *J. Insect Physiol.* 46: 1397~1407.
- Federici, B.A., J.J. Hamm and E.L. Stryer. 1991. Ascoviridae. pp. 339~349. *In Atlas of invertebrate viruses*, eds. by J.R. Adams and J.R. Bonam. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Gho, H.K., S.G. Lee, B.P. Lee, K.M. Choi and J.H. Kim. 1991. Simple mass-rearing of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), on an artificial diet. *Korean J. Appl. Entomol.* 29: 180~183.
- Glatz, R., O. Schmidt and S. Asgari. 2003. Characterization of a novel protein with homology to C-type lectin expressed by the *Cotesia rubecula* bracovirus in larvae of the lepidopteran host, *Pieris rapae*. *J. Biol. Chem.* 278: 19743~19750.
- Kim, D., Y.I. Lee and Y. Kim. 2004. Juvenile hormone action on vitellogenesis of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *J. Asia-Pacific Entomol.* 7: 73~79.
- Kim, Y. and B.A. Webb. 2003. Effect of a cys-motif protein, VHv1.4, of *Campoletis sonorensis* Ichnovirus on the translation of lysozyme mRNA. *J. Asia-Pacific Entomol.* 6: 243~246.
- Krell, P.J., M.D. Summers and S.B. Vinson. 1982. Virus with a multipartite superhelical DNA genome from the ichneumonid parasitoid *Campoletis sonorensis*. *J. Virol.* 43: 859~870.
- Lee, S. and Y. Kim. 2004. Alteration of endocrine signals in late larval stages of diamondback moth, *Plutella xylostella*, by parasitization of an endoparasitic wasp, *Cotesia plutellae*. *J. Asia-Pacific Entomol.* (submitted)
- Li, S., P. Falabella, I. Kuriachan, S.B. Vinson, D.W. Borst, C. Malva and F. Pennacchio. 2003. Juvenile hormone synthesis, metabolism, and resulting haemolymph titer in *Heliothis virescens* larvae parasitized by *Toxoneuron nigriceps*. *J. Insect Physiol.* 49: 1021~1030.
- Lovallo, N., B.A. McPherson and D.L. Cox-Foster. 2002. Effects of the polydnavirus of *Cotesia congregata* on the immune system and development of non-habitual hosts of the parasitoid. *J. Insect Physiol.* 48: 517~526.
- Moon, J. and Y. Kim. 2003. Purification and characterization of vitellin and vitellogenin of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Noctuidae: Lepidoptera). *J. Asia-Pacific Entomol.* 6: 37~43.
- Nakamatsu, Y., Y. Gytoku and T. Tanaka. 2001. The endoparasitoid *Cotesia kariyai* (Ck) regulates the growth and metabolic efficiency of *Pseudaletia separata* larvae by venom and Ck polydnavirus. *J. Insect Physiol.* 47: 573~584.
- Oh, M.R., S.S. Kim, J.D. Park, J.C. Paik and D.I. Kim. 1997. Biological characteristics of *Cotesia plutellae* (Hymenoptera:

- Braconidae), a larval parasitoid of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). Korean J. Entomol. 27: 79~84.
- Pennacchio, F., P. Falabella, R. Sordetti, P. Varricchio, C. Malva and S.B. Vinson. 1998. Prothoracic gland inactivation in *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae parasitized by *Cardiochiles nigriceps* Viereck (Hymenoptera: Braconidae). J. Insect Physiol. 44: 845~857.
- SAS Institute. 1989. SAS/STAT user's guide, Release 6.03, Ed. Cary, N.C.
- Schmidt, O. S. Asgari, M. Beck and U. Theopold. 2000. Host defence manipulation by parasitoid wasps and the problem of assessing host specificity. pp. 29~37. In Hymenoptera: evolution, biodiversity and biological control, eds. by A.D. Austin and M. Dowton. CSIRO Publishing, Australia.
- Shelby, K. and B.A. Webb. 1997. Polydnavirus infection inhibits translation of specific growth-associated host proteins. Insect Biochem. Mol. Biol. 27: 263~270.
- Stoltz, D.B. 1993. The polydnavirus life cycle. pp. 167~187. In Parasites and pathogens of insects. Volume 1: Parasites, eds. by N.E. Beckage, S.N. Thompson and B.A. Federici. Academic Press, New York.
- Stoltz, D.B. and S.B. Vinson. 1979. Viruses and parasitism in insects. Adv. Virus Res. 24: 125~171.
- Stoltz, D.B. and S.B. Vinson and E.A. Mackinnon 1976. Baculovirus-like particles in the reproductive tract of female parasitoid wasps. Can. J. Microbiol. 22: 1013~1023.
- Vass, E., A.J. Nappi and Y. Carton. 1993. Comparative study of immune competence and host susceptibility in *Drosophila melanogaster* parasitized by *Leptopilina bouvardi* and *Asobara tabida*. J. Parasitol. 79: 106~112.
- Webb, B.A. 1998. Polydnavirus biology, genome structure, and evolution. pp. 105~139. In The insect viruses, eds. by L.K. Miller and L.A. Ball. Plenum Press, New York.
- Webb, B.A., N.E. Beckage, Y. Hayakawa, P.J. Krell, B. Lanzrein, D.B. Stoltz, M.R. Strand and M.D. Summers. 2000. Polydnavirus. pp. 253~260. In Virus taxonomy, eds. by M.H.V. van Regenmortel, C.M. Fauquet, D.H.L. Bishop, E.B. Carstens, M.K. Estes, S.M. Lemon, J. Maniloff, M.A. Mayo, D.J. McGeoch, C.R. Pringle and R.B. Wickner. Academic Press, New York.
- Webb, B.A. and S. Luckhart. 1994. Evidence for an early immunosuppressive role for related *Campoletis sonorensis* venom and ovarian proteins in *Heliothis virescens*. Arch. Insect Biochem. Physiol. 26: 147~163.
- Webb, B.A. and M.D. Summers. 1992. Stimulation of polydnavirus replication by 20-hydroxyecdysone. Experientia 48: 1018~1022.

(Received for publication 2 March 2004;
accepted 29 May 2004)