

프루텔고치벌(*Cotesia plutellae*)의 촉각 감각기 분포와 편절제거가 기생력에 미치는 영향

김용균* · 박정아
안동대학교 생명자원과학부

Distribution of Antennal Sensilla in *Cotesia plutellae* and Effect of Flagellectomy on Parasitism

Yonggyun Kim* and Junga Park

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

ABSTRACT : A solitary endoparasitoid, *Cotesia plutellae*, parasitizes diamondback moth, *Plutellae xylostella*. It has been suggested that its antennae are a major sensory organ to search host and recognize host developmental and other physiological condition during parasitization. This research was performed to understand the parasitic behavior of *C. plutellae* by analyzing sensory types and their numbers on the antennae using scanning electron microscope. There was no significant difference in antennal length in both male and female *C. plutellae*, in which both sexes had 16 flagellomeres. Three different types of sensilla (trichoid, seta, and placodea sensilla) were located mostly on flagella and analyzed in their density on the different antennomeres. Trichoid sensillum was the major sensory type and showed about 87% density among all sensilla. Both trichoid and placodea types of sensilla exhibited even numbers on all flagellomeres with some decrease at terminal segments. In contrast, seta form of sensilla showed drastic increase in its density at distal part after 9th flagellomere. When distal half of flagellomeres were cut off, the *C. plutellae* could not parasitize host larvae. Even when only four distal flagellomeres were removed, the parasitism showed only 30%. These results indicate that *C. plutellae* antennae are required for parasitism and suggest that seta form of sensilla may play significant roles in recognizing host for parasitization.

KEY WORDS : Parasitism, Antenna, *Cotesia plutellae*, *Plutella xylostella*, Sensillum, Flagellectomy

초 록 : 프루텔고치벌(*Cotesia plutellae*)은 단독형 내부기생충으로 배추좀나방(*Plutella xylostella*)을 기주로 생활한다. 이 기생충이 배추좀나방을 탐색하고 기주의 발육상태 및 다른 생리 상태를 인식하는데 촉각은 매우 중요한 감각기관으로 작용할 것으로 주목 받아왔다. 본 연구는 이 기생충의 촉각 구조를 주사전자현미경으로 관찰하고, 관찰된 감각기 종류와 밀도를 바탕으로 기생생리를 이해하고자 수행되었다. 촉각 전체 길이에서 암수간 차이가 없으며 모두 16개 편절마디를 가지고 있다. 감각기 구조는 크게 긴털형감각기, 센털형감각기 그리고 판상감각기로 나누어 밀도조사를 실시하였고, 대부분 감각기는 편절에 집중적으로 분포했다. 이 가운데 긴털형감각기가 암수 모두 약 87%를 차지하였다. 편절에서 긴털형감각기와 판상감각기는 말단 부위에서 밀도가 감소하는 반면, 센털형감각기는 말단 부위로 갈수록 증가하여, 암컷의 경우 9번째 편절 마디 이후로 급격하게 밀도 증가를 보였다. 촉각 부위별 제거에 따른 기생에 미치는 효과를 분석한 결과 편절 후반부를 제거하면 기생능력을 완전히 상실하고, 말단

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

4개 편절 마디를 제거해도 불과 30% 이하의 낮은 기생율을 기록했다. 이상의 결과는 프루텔고치벌의 기생에 촉각의 중요성을 보여주었으며, 특히 센털형감각기가 기주 탐색에 밀접히 관여될 가능성을 제시하였다.

검색어 : 기생, 촉각, 프루텔고치벌, 배추좀나방, 감각기, 편절제거

프루텔고치벌(*Cotesia plutellae*)은 단독형 내부기생충으로 기주 특이적이고, 동일한 기주에서도 발육시기에 따라 선택적으로 기생한다(Bae and Kim, 2004). 국내에서는 배추좀나방(*Plutella xylostella*)과 미국흰불나방(*Hyphantria cunea*)을 기주로 한다(Kim *et al.*, 2004). 이 고치벌의 기생에 따라 기주는 면역능력을 상실하고, 기생충의 발육을 허용하게 되는데(Ibrahim and Kim, 2006), 숙주곤충은 유충기간이 연장되면서 궁극적으로 변태능으로 고치벌 탈출 이후에는 치사하게 된다(Lee and Kim, 2004). 숙주곤충의 면역체계를 교란하는 요인으로 기생충 배자 발육 외막에서 파생된 기형세포는 면역억제 뿐만 아니라 살충기능까지 포함했다(Basio and Kim, 2005, 2006). 또한 프루텔고치벌의 공생바이러스인 폴리드나바이러스는 다양한 기생관련 유전자를 함유하고 있어 기주의 면역과 발육을 위협하고 있다(Lee *et al.*, 2005; Ibrahim *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2006). 다른 기생충과 같이 프루텔고치벌도 기생시기 동안 기주의 영양분 이용을 최소화시키고, 잉여 영양분을 기생충 발육에 사용되어지도록 영양 대사과정을 교란하게 된다(Kaeslin *et al.*, 2005; Kim and Son, 2006). 자연히 이러한 효과적 기주 생리 교란 기작을 갖고 있는 프루텔고치벌은 배추좀나방에 가장 효과적 생물적 방제인자로서 주목받고 있다(Talekar and Shelton, 1993; Kwon *et al.*, 2006; Rincon *et al.*, 2006).

한편 외부로부터 프루텔고치벌 성충이 숙주곤충을 탐지하는 과정은 아직 자세하게 밝혀져 있지 않은 가운데, 촉각 감각기의 형태와 분포, 그리고 위치 관찰로부터 암컷 성충의 산란 유도에 접착성 촉각감각기의 관련성이 제시되어 왔다(Roux *et al.*, 2005). 감각기는 체표면 큐티클 구조의 변형산물로 외부 구조에 따라 긴털형, 센털형, 원추형, 판상, 종상 및 체벽에서 안쪽으로 함입되는 함몰형 감각기들로 구분될 수 있다(Boo *et al.*, 2005).

본 연구에서는 현미경 관찰을 통해 프루텔고치벌의 기생 행동에 관여하는 촉각의 감각기들의 종류, 밀도 및

분포를 조사한 후, 비교적 많은 수의 감각기가 분포하는 촉각 편절을 부위별로 제거함을 통해 유발되는 기생율 변화를 분석하여 특정 감각기와 기생행동과의 연관성을 추적하였다.

재료 및 방법

프루텔고치벌 사육

고치벌의 증식 기주로서 배추좀나방(*P. xylostella*)을 이용하였다. 배추좀나방 유충은 배추잎으로 사육하였고, 성충은 10% 설탕물을 공급하였다. 전 사육기간 동안 온도 25±1°C, 상대습도 60±10%, 광주기 16:8h (L:D)의 조건을 유지하였다.

프루텔고치벌은 안동에서 채집되어 실내 누대 사육된 집단(Bae and Kim, 2004)을 이용하였다. 성충은 40% 설탕물이 먹이로 공급되었다. 우화직후 24시간동안 상기의 사육 조건에서 교미하게 한 후, 배추좀나방 2령충 시기에 교미된 암수를 투입시켜 24시간 기생시켰다. 이때 암컷 고치벌과 배추좀나방의 비율은 약 1:3으로 맞추었다.

촉각감각기 관찰

촉각의 전체 구조와 편절 마디수 결정은 약 50개체를 이용하여 광학현미경(Zeiss, 독일) 50배 배율로 측정하였다. 감각기 관찰을 위해 성충의 머리부분만 따로 잘라낸 다음, 양면테이프를 이용하여 시료대에 부착시켰다. 이 시료를 60°C 오븐에 10분 동안 건조시켰다. 이후 Spurr Coater CP 3030 SCD 005/Baltec을 사용하여 금으로 증착한 뒤 주사현미경(JSM-6300, Jeol)으로 15-25 KV에서 관찰하였다.

편절마디 제거와 기생율 분석

결 과

프루텔고치벌의 산란행동을 살펴보면, 배추좀나방 기주를 인식하기 위해 촉각의 말단부위를 기주에 접촉해 보는 탐침행동이 관찰되었다. 이는 촉각 말단부위에 산란을 결정하게 하는 감각기가 존재한다는 것을 의미할 수 있어 말단 부위로부터 상대적 길이로 제거하는 연구를 실시하였다. 이러한 편절제거는 이산화탄소로 마취된 기생봉 암컷(우화 후 1일 경과)을 가는 편셋으로 편절마디 전체 제거, 말단 8마디 제거, 그리고 말단 4마디를 각각 제거하였다. 이후 직경 15 cm의 페트리디쉬에 편절마디가 제거된 3마리 기생봉과 15마리의 배추좀나방을 투입한 후 실온에서 6시간 동안 산란이 이뤄지도록 하였다. 이후 3일 이후 각 배추좀나방을 해부하여 기생유무를 확인하였다. 각 처리는 3반복으로 실시되었으며, 기생율은 arcsine 변환되어 one-way ANOVA로 처리간 비교되었다.

프루텔고치벌 촉각 감각기 미세구조

프루텔고치벌 암컷의 촉각이 수컷에 비해 가늘게 보였으며, 전체적 길이는 크게 차이 없이 모두 16마디의 편절마디를 보유하고 있었다(Fig. 1). 그러나 편절 마디 길이는 말단 부위로 갈수록 가늘어졌다. 암수 촉각 모두에서 5가지의 감각기 구조를 관찰할 수 있었다. 먼저 긴털형으로 sensilla trichodea NP (무공형), 센털형으로 s. trichodea TP type I (유공형, 말단에 뚜껑모양의 돌기없음)과 II (유공형, 말단에 뚜껑모양의 돌기있음), 판상으로 s. placodea, 함몰형으로 s. coeloconica type I (계란형돌기)과 II (도우넛모양 판상)가 관찰되었다. 이 가운데 긴털형이 약 87%를 차지하였다. 함몰형감각기는 전체 촉각을 통해 10개 미만을 보였다. 본 연구에서는 긴털형감각기와 센털형감각기 그리고 판상감각기로 나누어 촉각감각기 분포를 조

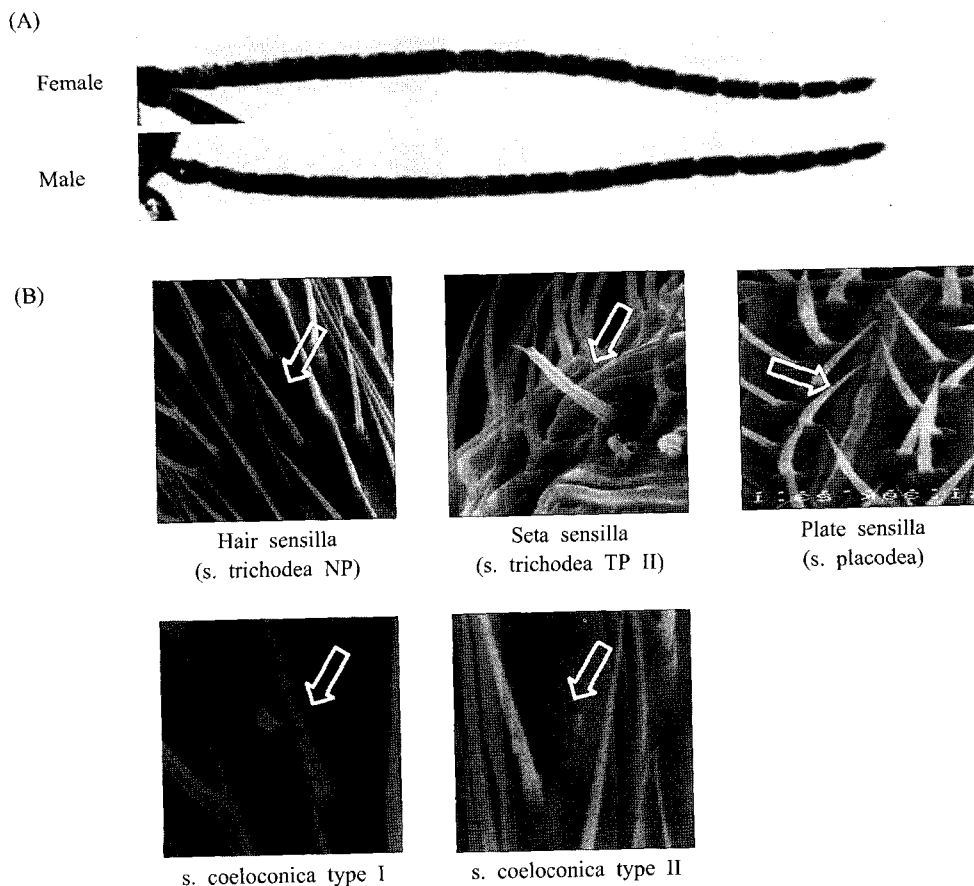


Fig. 1. Antennal structure of *Cotesia plutellae*. (A) Overall parts of antenna showing 16 flagellomeres in both sexes under light microscope of flagella (50 x) (B) Ultrastructure of five different sensilla photographed under SEM (1,500 x).

Table 1. Distribution of different sensory structures on antennae of *Cotesia plutellae*

Antennal part	Hair type sensilla		Seta type sensilla		Plate type sensilla	
	female	male	female	male	female	male
Scape	80±18	84±15	0±0	0±0	0±0	0±0
Pedicel	74±11	69±8	5±3	5±4	0±0	0±0
Flagellum	3,954±51	3,649±52	233±13	199±15	333±6	316±8

사하였다.

촉각 부위별로 감각기를 조사한 결과 대부분의 감각기가 편절에 존재하는 것으로 나타났다(Table 1). 더욱이 프루텔고치벌의 기생 행동을 조사하여 보면, 암컷의 경우 편절마디가 직접 기주와 접촉하고 산란행동으로 이어지는 것을 관찰할 수 있었다. 암컷과 수컷의 편절에 존재하는 감각기 밀도를 비교하여 보면 조사된 모든 감각기 종류(긴털형($F = 70.63$; $df = 1,6$; $P = 0.0002$), 센털형($F = 11.87$; $df = 1,6$; $P = 0.0137$), 판상($F = 10.45$; $df = 1,6$; $P = 0.0179$))은 암컷에서 유의성있게 많이 존재하였다.

이들 세 종류의 감각기에 대해서 편절 마디별 감각기 분포를 조사하였다(Fig. 2). 이들 감각기의 분포가 편절마디별로 고르게 분포하지 않았는데, 긴털형감각기는 말단으로 진행하면서 밀도가 낮아졌다($F = 169.49$; $df = 15,96$; $P < 0.0001$). 센털형감각기는 오히려 기부보다는 말단으로 진행하면서 밀도가 높아졌다($F = 240.21$; $df = 15,96$; $P < 0.0001$). 판상감각기는 긴털형감각기와 유사하게 말단으로 진행하면서 밀도가 낮아졌다($F = 29.84$; $df = 15,96$; $P < 0.0001$).

편절마디 제거가 기생물에 미치는 영향

편절 부위별 절제는 기생봉 암컷의 산란에 뚜렷하게 영향을 주었다($F = 938.15$; $df = 3,8$; $P < 0.0001$). 편절 후반부를 제거하면(8마디 제거) 기생능력을 완전히 상실하고, 말단 4개 편절 마디를 제거해도 불과 30%의 낮은 기생율을 기록했다(Fig. 3).

고 찰

본 연구는 프루텔고치벌 촉각의 미세구조를 관찰하여 5가지 감각기 구조를 동정하였으며, 이들의 촉각 부위에 따른 상대적 밀도를 분석하였다. 또한 촉각 절제에 따른 암컷 산란 행동의 변화를 추적하여, 촉각 감각기 구조

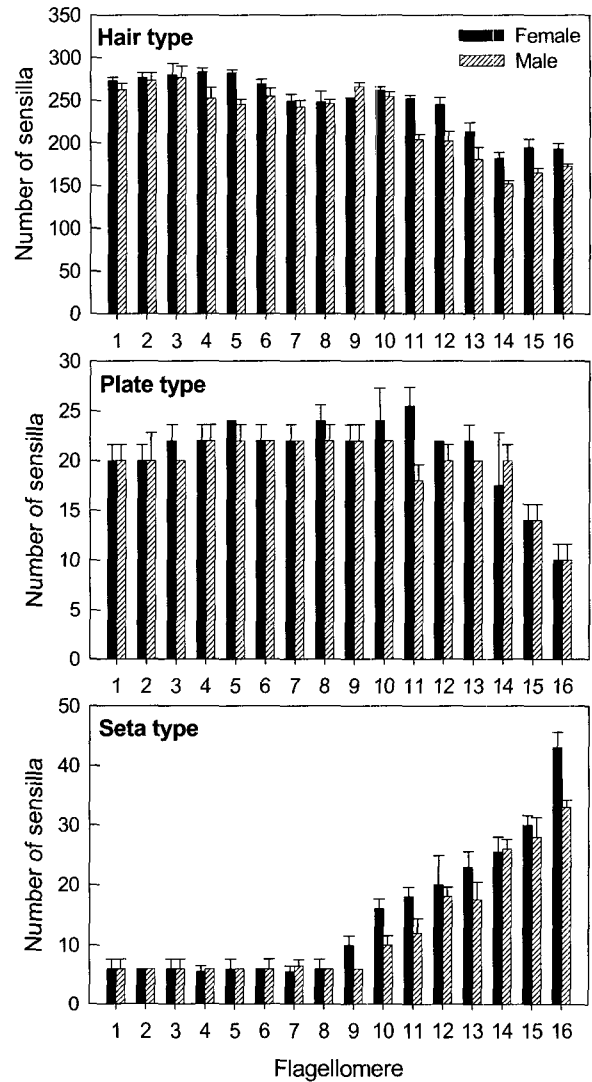


Fig. 2. Distribution of three different types of sensilla on antennae of *Cotesia plutellae*. The sensilla were counted on 16, flagellomeres with four replications. The error bars above mean bars indicate their standard deviations.

가운데 센털감각기가 산란을 위한 기주 확인에 중요한 기능을 수행할 것으로 추정되었다.

프루텔고치벌 미세구조에 대한 연구가 Roux *et al.*

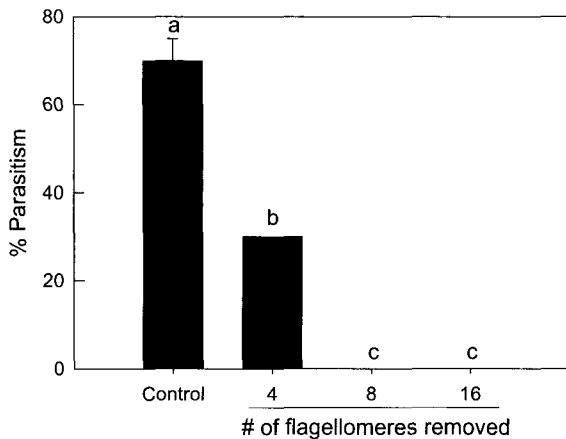


Fig. 3. Ablation effect of flagella segments on ovipositional behavior of *Cotesia plutellae*. Flagella segments were removed from distal end with different numbers in treatments. Each treatment was replicated three times. Different letters above standard deviations bars indicate significant difference among means at Type I error = 0.05 (LSD test).

(2005)에 의해 실시되었으며, 이 연구에서는 센털형감각기와 함몰형감각기에서 각각 세분화된 구조를 하나씩 추가하여 모두 7가지의 감각기 구조를 밝혔다. 이들 감각기들의 구조를 통해 기능을 우선 추정할 수 있다. 우선 긴털형감각기인 *s. trichodea* NP의 경우는 무공성으로 기계적 감각을 담당할 것으로 추정되며, 센털형감각기인 *s. trichodea* TP는 단공성으로 접촉 화학감각기로서, 판상감각기인 *s. placodea*는 냄새감각기 그리고 함몰형감각기는 냄새 또는 습도나 온도감각기로 작용할 가능성이 높다 (Altner and Prillinger, 1980; Keil, 1999; Bleeker *et al.*, 2004). 특별히 *s. trichodea* TP type II는 매우 특징적 감각기 구조로서 고치벌과와 깡충좀벌과에서 보고된 적이 있으며, 접촉 화학감각을 담당할 것으로 추정되고 있다 (Van Baaren *et al.*, 1996; Ochieng *et al.*, 2000). 프루텔고치벌이 기생행동을 보일 경우, 반드시 촉각으로 기주를 접촉한 후 산란을 하게 된다. Roux *et al.* (2005)은 이러한 행동을 보일 경우 이 센털감각기가 주요 접촉 위치에 있기 때문에 기주의 미각적 인식에 중요한 기능을 보인다고 지적하였다. 여기에 본 연구의 편절 제거 실험은 간접적으로 이 감각기가 밀접한 말단부의 중요성을 뒷받침하고 있다. 이 감각기는 또한 유사한 고치벌류(*C. glomerata*와 *C. rubercula*)에서는 발견되지 않고 있어, 기주 특이적 기생봉인 *C. plutellae*의 특이성을 보여주는 구조로 인식될 수 있다 (Roux *et al.*, 2005).

사 사

본 연구는 농촌진흥청 Biogreen 21 사업으로 지원되었다. 전자현미경 관찰에 도움을 주신 안동대 공동실습관 신명자 선생님께 감사드립니다. 또한 본 연구의 연구비 처리와 물품 조달에 수고를 아끼지 않은 송영임에게 감사드립니다.

Literature Cited

- Altner, H. and L. Prillinger. 1980. Ultrastructure of invertebrate chemo-, thermo-, and hygroreceptors and its functional significance. *Int. Rev. Cytol.* 67: 69-139.
- Bae, S. and Y. Kim. 2004. Host physiological changes due to parasitism of a braconid wasp, *Cotesia plutellae*, on diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Comp. Biochem. Physiol.* 138A: 39-44.
- Basio, N.A. and Y. Kim. 2005. A short review of teratocytes and their characters in *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae). *J. Asia-Pacific Entomol.* 8: 211-217.
- Basio, N.A. and Y. Kim. 2006. Additive effect of teratocyte and calyx fluid from *Cotesia plutellae* on immunosuppression of *Plutella xylostella*. *Physiol. Entomol.* 31: 1-7.
- Bleeker, M.A.K., H.M. Smid, A.C. Van Aelst, J.J.A. Van Loon and L.M.E. Vet. 2004. Antennal sensilla of two parasitoid wasps: a comparative scanning electron microscopy study. *Microsc. Res. Tech.* 63: 266-273.
- Boo, K.S., Y. Kim, K.C. Park and M.Y. Choi. 2005. *Insect hormone and physiology*. 875 pp. Seoul National University Press, Seoul.
- Ibrahim, A.M.A., J.Y. Choi, Y.H. Je and Y. Kim. 2005. Structure and expression profiles of two putative *Cotesia plutellae* bracovirus genes (CpBV-H4 and CpBV-E94a) in parasitized *Plutella xylostella*. *J. Asia-Pacific Entomol.* 8: 359-366.
- Ibrahim, A.M.A. and Y. Kim. 2006. Parasitism by *Cotesia plutellae* alters the hemocyte population and immunological function of the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *J. Insect Physiol.* 52: 943-950.
- Kaesslin, M., R. Pfister-Wilhelm and B. Lanzrein. 2005. Influence of the parasitoid *Chelonus inanitus* and its polydnavirus on host nutritional physiology and implications for parasitoid development. *J. Insect Physiol.* 51: 1330-1339.
- Keil, T.A. 1999. Morphology and development of the peripheral olfactory organs. pp. 5-47. *In* *Insect olfaction*, ed. by B.S. Hansson. Springer-Verlag, New York.
- Kim, Y., N.A. Basio, A.M.A. Ibrahim and S. Bae. 2006. Gene structure of *Cotesia plutellae* bracovirus (CpBV)-IkB and its expression pattern in diamondback moth, *Plutella xylostella*, parasitized by *C. plutellae*. *Kor. J. Appl. Entomol.* 45: 1-10.
- Kim, Y. and Y. Son. 2006. Parasitism of *Cotesia plutellae* alters morphological and biochemical characters of diamondback moth, *Plutella xylostella*. *J. Asia-Pacific Entomol.* 9: 37-42.

- Kwon, M., S.H. Lee and M.Y. Lin. 2006. An evidence to use *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Braconidae) as a field control agent against diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Asia-Pacific Entomol.* 9: 55-59.
- Lee, S., N.A. Basio, D. Kim and Y. Kim. 2005. Proteomic analysis of parasitization by *Cotesia plutellae* against diamondback moth, *Plutella xylostella*. *J. Asia-Pacific Entomol.* 8: 53-60.
- Lee, S. and Y. Kim. 2004. Juvenile hormone esterase of diamondback moth, *Plutella xylostella*, and parasitism of *Cotesia plutellae*. *J. Asia-Pacific Entomol.* 7: 283-287.
- Ochieng, S.A., K.C. Park, J.W. Zhu and T.C. Baker. 2000. Functional morphology of antennal chemoreceptors of parasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Archropod Struc. Dev.* 29: 231-240.
- Rincon, C., D. Bordat, B. Löhr and S. Dupas. 2006. Reproductive isolation and differentiation between five populations of *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoid of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellae). *Biol. Control* 36: 171-182.
- Roux, O., J. Van Baaren, C. Gers, L. Arvanitakis and L. Legal. 2005. Antennal structure and oviposition behavior of the *Plutella xylostella* specialist parasitoid: *Cotesia plutellae*. *Microsc. Res. Tech.* 68: 36-44.
- Talekar, N.S. and A.M. Shelton. 1993. Biology, ecology, and management of the diamondback moth. *Annu. Rev. Entomol.* 38: 275-301.
- Van Baaren, J., R. Barbier and J.P. Nénon. 1996. Female antennal sensilla of *Epidinocarsis lopezi* and *Leptomastix dactylopii* (Hymenoptera: Encyrtidae), parasitoids of pseudococcid mealybugs. *Can. J. Zool.* 74: 710-720.

(Received for publication 1 November 2006;
accepted 8 December 2006)