



농학박사 학위논문

솔알락명나방(*Dioryctria abietella*)과 솔껍질깍지벌레(*Matsucoccus matsumurae*)의 더듬이 감각모 기능분석 및 성페로몬 활용 정밀모니터링 기법 개발

Functional analyses of antennal sensilla and developments of accurate monitoring method using sex pheromone in *Dioryctria abietella* and *Matsucoccus matsumurae*

2023년 8월

서울대학교 대학원

농림생물자원학부 산림환경학 전공

이성찬

솔알락명나방(*Dioryctria abietella*)과 솔껍질깍지벌레(*Matsucoccus matsumurae*)의 더듬이 감각모 기능분석 및 성페로몬 활용 정밀모니터링 기법 개발

지도교수 박 일 권

이 논문을 농학박사 학위논문으로 제출함 2023년 6월

> 서울대학교 대학원 농림생물자원학부 산림환경학 전공 이 성 찬

이성찬의 농학박사 학위논문을 인준함 2023년 7월

위육	원장_	강	규	석	(인)
부위	원장 _	박	일	권	(인)
위	원 _	김	현	석	(인)
위	원 _	탁	スモ	형	(인)
위	원	노	광	현	(인)

초 록

본 연구는 침엽수 주요 해충인 솔알락명나방과 솔껍질깍지벌레 의 감각모 미세구조를 확인하고 페로몬, 카이로몬 등 정보통신 물 질의 추출, 동정 및 새로운 합성법 개발을 통하여 보다 효율적인 침엽수 산림해충 관리방안 수립에 기여하고자 수행하였다.

솔알락명나방의 더듬이 미세구조를 주사전자현미경과 투과전자 현미경을 통해 관찰하였고 감각모의 형태적 특징에 따라 sensilla böhm's bristles (BB), 돌기함몰형 감각기(sensilla coeloconica; SCo), 털감각기(sensilla trichodea; STr), 센털감각기(sensilla chaetica; SCh), 돌출형 감각기(sensilla styloconica; SSt), 구두주걱형 감각 기(sensilla auricillica; SAu), sensilla squamiformia (SSq)등 총 7 종으로 구분하였다. 이 가운데 돌기함몰형 감각기, 털감각기, 구두 주걱형 감각기에서 미세구멍이 확인되어 화학적 기능을 담당할 것 으로 추정되었다. 솔알락명나방 한국 개체군 암컷 페로몬샘 추출물 에서 유럽 개체군의 성페로몬으로 알려진 (9Z,11E)-tetradecadienyl acetate (9,11E-14:OAc)와 (3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-pentacosapentaene (C25 pentaene)을 동정하였고 두 물질의 비율은 1 : 23(Ac : C25) 이었다. 성페로몬 후보 물질들에 대한 솔알락명나방 더듬이의 전 기생리반응(electroantennogram; EAG)을 확인한 결과, 수컷 더듬 이의 경우 9Z,11E-14:OAc에 대하여 높은 반응을 보였지만, C25 pentaene에서는 반응이 확인되지 않았다. 반면 암컷 더듬이의 경 우 수컷과 대조적으로 C25 pentaene에 높은 반응을 보인 반면 9Z,11E-14:OAc에 대해서는 낮은 반응을 보였다. 솔알락명나방 페 로몬의 유인력을 증진시킬 수 있는 협력제의 탐색을 위하여, 2년 생 잣나무 구과 휘발성분을 분석하여 8개의 주요 물질을 동정하였 다. 이중 대표적 휘발성 물질인 (±)-limonene, myrcene, (-)-a -pinene에 대한 솔알락명나방 더듬이의 EAG 반응을 확인하였다. 각각의 휘발성 물질에 대한 솔알락명나방 암컷과 수컷 더듬이의 EAG 반응 크기는 물질 처리량과 용량의존 관계를 보였다. 페로몬 후보물질들의 처리 비율에 따른 야외 유인 효과를 조사한 결과 솔 알락명나방 수컷은 9Z,11E-14:OAc와 C25 pentaene이 100:1000, 100:2000 및 100:3000 µg 비율로 처리된 트랩에 가장 많이 포획되 었다. 주요 구과 휘발성분의 페로몬에 대한 상승효과를 확인한 결 과, 9Z,11E-14:OAc + C25 pentaene + (±)-limonene이 처리된 트랩에 솔알락명나방 수컷이 가장 많이 유인되었다. 델타트랩, 윙 트랩, 다이아몬드트랩, 버켓트랩 간 포획 능력을 조사한 결과, 버 켓트랩을 제외한 모든 트랩의 유인 효과가 높게 나타났다.

주사전자현미경과 투과전자현미경을 이용하여 솔껍질깍지벌레의 더듬이 미세구조를 동정한 결과 böhm's bristles, 분절간 감각기 (Sensilla Intersegmental; Ins), 홈형 무공형 털 감각기(Sensilla grooved aporous trichodea; GAt), 단공형 간상 감각기(Sensilla uniporous pegs; Up), 종상 감각기(Sensilla campaniform; Ca), 다 공형 간상 감각기(Sensilla multiporous pegs; Mp), 다공형 털 감 각기(Sensilla multiporous trichodea; Mt), 매끈한 무공형 털감각기 (Sensilla smooth aporous trichodea; SAt), 못형 강모 감각기(Sensilla knobbed seta; Ks)등 9종의 감각모가 동정되었다. 이중 다공형 간 상 감각기, 단공형 간상 감각기, 다공형 털 감각기에서 미세구멍이 확인되어 화학적 기능을 담당할 것으로 추정되었다. 솔껍질깍지벌 레 성페로몬인 (6R.10R/S)-matsuone의 야외 유인력 검정 결과, 처 리량과 유인력 간 용량 의존적 관계가 확인되었고, 트랩을 지상부 50 cm에 설치할 경우 100 cm와 150 cm보다 더 많은 개체가 포획 되었다. (-)-a-Pinene, β-pinene, (±)-limonene등 기주 유래 휘발 성분 6종과 솔껍질깍지벌레의 성페로몬을 함께 처리하여 상승효과 를 비교시험 하였다. 이들 물질과 솔껍질깍지벌레의 유인력 간 상 승효과는 확인되지 않았으나 β-carvophyllene과 페로몬을 함께 처 리할 경우 유인되는 성충의 개체수가 감소하는 것이 확인되었다. 점착시트의 색상에 따른 유인력 차이를 비교 시험한 결과, 노란색 트랩에 평균적으로 더 많은 개체가 유인되었다. 솔껍질깍지벌레 성페로몬의 현장 적용을 위해 4개의 광학이성질체로 구성된 racemic matsuone (6R/S, 10R/S)의 새로운 합성법을 개발하였고 실외 유인력 검정을 하였다. 신규 합성법으로 제조한 racemic matsuone의 유인력은 (6R.10R/S)-matsuone 대비 50%가량 낮았지 만, 합성에 소요되는 시간, 노동, 비용 등을 크게 간소화하여 솔껍 질깍지벌레 성페로몬 트랩을 현장에 적용할 수 있게 되었다. 솔껍 질깍지벌레는 기존 2010년 조사에서 주로 해안지역을 따라 분포하 는 것으로 보고되어 있다. 하지만 영상기반 객체 검출법과 본 연 구를 통하여 신규 합성한 racemic matsuone을 활용하여 솔껍질깍 지벌레의 전국 모니터링을 진행한 결과 164개 지역의 모든 시/군 에서 분포하는 것으로 처음 확인되었다.

주요어 : 침엽수 해충, 솔알락명나방, 솔껍질깍지벌레, 성페로몬, 감각 모, 더듬이 전기생리

학 번 : 2015-31113

목

え

초록	i
List of Tables	vii
List of Figures	viii
제 1 장 서론	1
제 2 장 연구사	4
제 3 장 솔알락명나방 감각모 동정 및 모니터링기법 개빌	ŀ
1. 서론	8
2.1. 솔알락명나방 더듬이 감각기 분석	10
2.2.1. 공시충 채집	11
2.2.2. 페로몬 추출 및 분석	11
2.2.3. 구과 휘발성분 추출 및 분석	12
2.2.4. 솔알락명나방 성페로몬 합성	
2.2.4.1. 화합물	13
2.2.4.2. (3 <i>Z</i> ,6 <i>Z</i> ,9 <i>Z</i> ,12 <i>Z</i> ,15 <i>Z</i>)-pentacosapentaene의 합성 …	15
2.2.5. 페로몬 및 잣나무 구과 주요 휘발성분에 대한	
전기생리 반응 측정	19
2.2.6. 야외 유인력 검정	
2.2.6.1. 페로몬 조성비율에 따른 유인력 검정	21
2.2.6.2. 트랩 유형별 유인효과 비교	22
2.2.6.3. 기주유래 휘발성분의 상승효과 검정	22
3. 결과	
3.1. 솔알락명나방 감각기 구조	
3.1.1. Sensilla Böhm's Bristles (BB)	25
3.1.2. 돌기함몰형 감각기(Sensilla Coeloconica; SCo)	25

3.1.3. 털감각기(Sensilla Trichodea; STr)	26
3.1.4. 센털감각기(Sensilla chaetica; SCh)	28
3.1.5. 돌출형 감각기(Sensilla styloconica; SSt)	30
3.1.6. 구두주걱형 감각기(Sensilla auricillica; SAu)	31
3.1.7. Sensilla squamiformia (SSq)	32
3.2. 솔알락명나방 정밀 모니터링 기법 개발	
3.2.1. 솔알락명나방 암컷 페로몬 샘 분석	33
3.2.2. 잣 구과 휘발성분 분석	35
3.2.3. 성페로몬 및 잣 구과 휘발성분에 대한	
전기생리 반응	36
3.2.4. 야외 유인력 검정	
3.2.4.1. 페로몬 조성비율에 따른 유인력 검정	40
3.2.4.2. 기주유래 휘발성분의 상승효과 검정	41
3.2.4.3. 트랩 유형별 유인효과 비교	42
4. 고찰	43
5. 결론	47

제 4 장 솔껍질깍지벌레 감각모 동정 및 모니터링기법 개발

1.	서론	49
2.	재료 및 방법	
	2.1. 솔껍질깍지벌레 더듬이 감각기 분석	51
	2.2. 솔껍질깍지벌레 성페로몬 합성법 간소화	
	2.2.1. 화합물	51
	2.2.2. (6 <i>R,</i> 10 <i>R/S</i>)-matsuone의 합성	54
	2.2.3. Racemic matsuone의 합성	56
	2.3. 야외 유인력 검정	
	2.3.1. 성페로몬 처리량에 따른 솔껍질깍지벌레 유인효과 검정	61
	2.3.2. 트랩 설치 높이에따른 솔껍질깍지벌레 유인효과 검정	62
	2.3.3. (6 <i>R</i> ,10 <i>R</i> / <i>S</i>)-matsuone과 racemic matsuone의	
	유인력 비교	63
	2.3.4. 트랩 색상에 따른 유인효과 비교	63
	2.3.5. 기주유래 휘발성분의 상승효과 검정	64

2.4. 솔껍질깍지벌레 전국 분포 조사 2.4.1. 조사지 선정 및 트랩설치 ………………………………………… 65 2.4.2. 채집곤충의 계수 67 2.4.3. 기온변화에 따른 수컷 성충 발생시기 비교 …………… 68 3. 결과 3.1. 솔껍질깍지벌레 더듬이 감각기 구조 3.1.1. Sensilla Böhm's Bristles (BB) 72 3.1.2. 분절간 감각기(Sensilla intersegmental; Ins) 72 3.1.3. 홈형 무공형 털 감각기(Sensilla grooved aporous trichoid; GAt) ----- 73 3.1.4. 단공형 간상 감각기(Sensilla uniporous pegs; Up) ······ 74 3.1.5. 종상 감각기(Sensilla campaniform; Ca) 74 3.1.6. 다공형 간상 감각기(Sensilla multiporous pegs; Mp) ·· 75 3.1.7. 다공형 털감각기(Sensilla multiporous trichoid; Mt) … 76 3.1.8. 매끈한 무공형 털감각기(Sensilla smooth aporous tricoid; SAt) ----- 77 3.1.9. 못형 강모 감각기(Knobbed seta sensilla; Ks) 78 3.2. (6R, 10R/S)-matsuone과 racemic matsuone의 분석 ……… 79 3.3. 야외 유인력 검정 3.3.1. 성폐로몬 처리량에 따른 유인효과 ……………… 81 3.3.2. 트랩 설치 높이에 따른 유인효과 83 3.3.3. (6R, 10R/S)-matsuone과 rcemic matsuone의 유인력 비교 84 3.3.4. 트랩 색상에 따른 유인력 비교 85 3.3.5. 기주유래 휘발성분의 상승효과 검정 86 3.4. 솔껍질깍지벌레 전국 분포조사 3.4.2. 기온변화에 따른 수컷 성충 솔껍질깍지벌레 발생양상 90 참고문헌 98 Abstract 121

List of Tables

[Table 1] Instrument condition for analysis of pheromone extracts	
and volatiles of Korean pine cone	12
[Table 2] List of chemicals used for synthesis of sex pheromone	
and field attraction test for Dioryctria abietella	14
[Table 3] Composition ratio of each sex pheromone component for	
making lure	21
[Table 4] Distribution and length of sensilla on the antennae of	
male and female Dioryctria abietella	24
[Table 5] EI–MS m/z of the $9Z$,11 E –14:OAc and C25 pentaene	
from gland extracts and synthetic	33
[Table 6] Major chemical composition of Korean pine cone volatiles	35
[Table 7] Electroantennogram (EAG) response of male and female	
Dioryctria abietella to 9Z,11E-14:OAc and C25 pentaene	38
[Table 8] Electroantennogram (EAG) response of male and female	
Dioryctria abietella to Korean pine cone volatiles	39
[Table 9] List of chemicals used for synthesis of sex pheromone and	
field attraction test for Matsucoccus matsumurae	52
[Table 10] Gas chromatography condition for analysis of	
(6R,10R/S)-matsuone and racemic matsuone	53
[Table 11] Gas chromatography mass spectrometery condition	
for analysis of $(6R, 10R/S)$ -matsuone and racemic matsuone	53
[Table 12] Comparison of different models for counting	
Matsucoccus matsumurae ·····	67
[Table 13] Classification of sensilla according to functional characteristic	
of males and females Matsucoccus matsumurae	70
[Table 14] Distribution and length of sensilla on the antennae of	
male and female Matsucoccus matsumurae	71
[Table A1] Geographic information of the eight-side sticky traps	114

List of Figures

[Figure 1] Synoptic map for collection of volatiles	
from Korean pine cone	13
[Figure 2] Synthetic scheme of C25 pentaene	15
[Figure 3] $^1\mathrm{H-NMR}$ (a) and $^{13}\mathrm{C-NMR}$ (b) spectra of C25 pentaene	18
[Figure 4] Synoptic map for measuring electroantennogram responses of	
Dioryctria abietella	20
[Figure 5] Overview of the general morphology of male and female	
antennae of Dioryctria abietella	23
[Figure 6] Scanning electron micrographs of sensilla. Böhm's bristles	
(subtype 1, 2) and sensilla coeloconica (SCo) on the antennae of	
Dioryctria abietella	25
[Figure 7] Scanning and transmission electron micrographs of sensilla	
trichodea (subtype 1, 2) on the antennae of $Dioryctria \ abietella$	27
[Figure 8] Scanning and transmission electron micrographs of sensilla	
chaetica (s. chaetica subtype 1, 2 and 3) on the antennae of	
Dioryctria abietella ······	29
[Figure 9] Scanning electron micrographs of sensilla styloconica	
(s. styloconica 1, 2) on the antennae of Dioryctria abietella	30
[Figure 10] Scanning and transmission electron micrographs of sensilla	
auricillica (s. auricillica 1, s. auricillica 2) on the antennae of	
Dioryctria abietella	31
[Figure 11] Scanning and transmission electron micrographs of sensilla	
squamiformia (SSq) on the antennae of Dioryctria abietella	32
[Figure 12] Chromatograms of Dioryctria abietella female pheromone	
gland extracts, ionization spectra of female extract and synthetic	
9Z,11E-14:OAc, and female extract and synthetic C25 pentaene \cdot	34
[Figure 13] Total ion chromatogram showing that major volatiles from	
mature Korean pine cone	35
[Figure 14] EAG responses of Dioryctria abietella to sex pheromone	
components and major volatiles of Korean pine cone	37

[Figure	15]	Mean number of male Dioryctria abietella captured in delta trap	S
		baited with different ratios of 9Z,11E-14:OAc and	
		C25 pentaene ·····	40
[Figure	16]	Mean number of male Dioryctria abietella captured in delta trap	s
		baited with pheromone + (±)-limonene, pheromone + myrcene,	
		pheromone + (-)-a-pinene, and pheromone alone	41
[Figure	17]	Mean number of Dioryctria abietella captured in wing,	
		diamond, bucket, and delta traps baited with pheromone	42
[Figure	18]	Synthetic scheme of $(6R, 10R/S)$ -matsuone	54
[Figure	19]	Synthetic scheme of racemic matsuone	56
[Figure	20]	Eight-sided sticky trap	61
[Figure	21]	The traps installed at heights of 50, 100, and 150 cm	
		from the ground	62
[Figure	22]	Eight-sided sticky trap with different colors	64
[Figure	23]	Eight-sided sticky trap baited with host plant volatiles	65
[Figure	24]	Locations where the eight-side sticky traps were installed	66
[Figure	25]	The structure of an SSD Mobilent 640 input model	67
[Figure	26]	Overview of the general morphology of male and female	
		antennae of Matsucoccus matsumurae	69
[Figure	27]	Scanning electron micrographs of Böhm's bristles (BB) and	
		Intersegmental sensilla (Ins) on the antennae of	
		Matsucoccus matsumurae ·····	72
[Figure	28]	Scanning electron micrographs of grooved aporous trichoid	
		sensilla (GAt) on the antennae of Matsucoccus matsumurae ····	73
[Figure	29]	Scanning electron micrographs of uniporous pegs (Up)	
		on the antennae of Matsucoccus matsumurae	74
[Figure	30]	Scanning and transmission electron micrographs of campaniform	
		(Ca) on the antennae of <i>Matsucoccus matsumurae</i>	74
[Figure	31]	Scanning electron micrographs of multiporous pegs (Mp) on the	
		antennae of Matsucoccus matumurae	75
[Figure	32]	Scanning and transmission electron micrographs of multiporous	
		trichoid sensilla (Mt) on the antennae of	
		Matsucoccus matsumurae ·····	76
[Figure	33]	Scanning electron micrographs of smooth aporous tricoid	
		subtype sensilla 1, 2 and 3 (SAt1, SAt2, SAt3) on the antennae	
		of female and male Matsucoccus matsumurae	77

[Figure 34] Scanning and transmission electron micrographs of knobbed seta	
sensilla (Ks) on the antennae of Matsucoccus matsumurae	78
[Figure 35] Gas chromatogram of $(6R, 10R/S)$ -matsuone and	
racemic matsuone	80
[Figure 36] Number of adult male Matsucoccus matsumurae caught in	
eight-sided sticky traps baited with different doses of	
(6R, 10R/S) matsuone and racemic matsuone	82
[Figure 37] Effect of trap height on number of adult male	
Matsucoccus matsumurae caught in eight-sided sticky traps	
baited with (6R,10R/S)-matsuone	83
[Figure 38] Number of adult male Matsucoccus matsumurae caught in	
eight-sided sticky traps baited with racemic matsuone and	
(6 <i>R</i> ,10 <i>R</i> / <i>S</i>)-matsuone	84
[Figure 39] Comparison of attractiveness of Matsucoccus matsumurae	
according to the colour of eight-sided sticky	85
[Figure 40] Comparison of attractiveness of Matsucoccus matsumurae	
according to the addition of host volatile components	86
[Figure 41] Occurence trend of Matsucoccus matsumurae	
from February to June	88
[Figure 42] Peak period of Matsucoccus matsumurae in each region	89
[Figure 43] Average annual temperature, first appearance date and	
peak period of Matsucoccus matsumurae in each region	90
[Figure 44] Comaprison of mornitoring results of Matsucoccus matsumurae	
in 2021 and 2022	95

제 1 장 서론

우리나라 침엽수림의 면적은 2,324천ha로, 전체 산림면적 5,996천ha의 38.8%를 차지하고 있다. 이중 소나무와 곱솔이 1,580천ha 식재되어 가장 많은 면적을 차지하였고, 낙엽송 임분 260천ha, 리기다소나무 임분 234 천ha, 잣나무 임분 152천ha 순이었다(임업통계연보, 2022). IPCC (2014) 에 따르면, 최근 진행되고 있는 이상기후에 따른 기온상승 및 가뭄일수 증가로 산림 내 다양한 수종이 고사할 것으로 예측되고 있다. 특히 침엽 수는 기후변화에 민감한 수종으로, 연평균 기온이 2℃ 이상 상승할 경우 분포면적이 급격히 감소하여 다양한 수종이 멸종할 것으로 예측된다 (NIFoS, 2014). 유 등(2020)은 아고산 침엽수림의 분포면적은 2050년대에 2020년 대비 1/3수준으로 감소하고, 기후변화 취약 수종인 가문비나무, 구상나무, 분비나무, 눈잣나무 등의 경우 강원도 고산지대 일부에서만 생 육 가능할 것으로 예측하였으며, 이에 따른 생육 악화로 병해충 저항성 감소와 피해 증가가 예상된다.

해충의 발생은 기주식물의 생육도, 해충의 생태 및 환경 간 복잡한 상 호작용에 의하여 결정된다. 넓은 범위에 분포하고, 세대기간이 짧은 광식 성 해충의 경우, 기후변화로 인해 발생 세대수 증가, 분포범위 확장, 월 동 후 생존 개체수 증가 등이 예측되어(Skendžić *et al.* 2021) 침엽수를 비롯한 산림 수목에 큰 피해를 줄 것이다. 따라서, 건전한 산림생태계의 유지 및 산림생산량 증대를 위하여 이들 해충의 지속적인 모니터링 및 개체수 관리가 필요하다.

산림해충의 방제는 천적 및 곤충 병원성 미생물을 이용한 생물학적 방 제법, 살충제 및 곤충 생리활성물질을 활용한 화학적 방제법, 그밖에 기 계적/물리적방제법, 임업적 방제법을 통해 이뤄지고 있다. 이 가운데 살 충제를 이용한 화학적 방제는 효과가 즉각적이고 정확하게 나타난다는 특징으로 가장 보편적으로 사용되고 있는 산림해충 방제법이다. 산림 내 살충제 살포는 헬기를 이용한 대규모 항공살포, 드론을 이용한 정밀살포, 고압분무기 등을 이용한 지상살포를 통해 이루어지고 있다. 유기합성 살충제의 오/남용은 인축에 대한 독성(Yasser El-Nahhal. 2020, Alengebawy *et al.* 2021, Kumar *et al.* 2021), 저항성 기작의 발달 (Hawkins *et al.* 2019, Horowitz *et al.* 2020), 잔류(Bhandari *et al.* 2019, Li *et al.* 2021, El-Nahhal *et al.* 2021) 및 생물농축(Viana *et al.* 2022, Beecraft and Rooney. 2021) 등의 부작용을 유발한다. 산립청에서도 살 충제의 산립생태계에 대한 부작용을 우려하여 2015년 109,250 ha, 2020 년 28,721 ha, 2021년 24,958 ha, 2022년 23,087 ha로 항공방제 면적을 지 속적으로 줄여가고 있다. 따라서 다양한 생물 종들이 서로 상호작용하며 공존하는 산립생태계의 특성상 유기합성 살충제의 과도한 사용은 지양하 여야 하며, 안전하고 효율적인 방제를 위해서는 지속적인 모니터링을 통 한 방제 적기 파악이 필수적이다.

페로몬은 곤충의 종내 정보통신 물질로써 사용 목적에 따라 성페로몬, 집합페로몬, 경보페로몬, 길잡이페로몬 등 다양하게 구분되며, 소량으로 뚜렷한 행동 특성을 유발한다는 장점이 있다. 1959년 누에나방에서 최초 의 페로몬인 봄비콜(bombykol)이 동정된 이후 여러 종류의 곤충 페로몬 이 구명 되어 교미교란제, 대량포획, 유살 및 모니터링 등 해충의 예찰과 방제에 사용 중이다. 페로몬은 해충의 발생 현황을 가장 빠르고 정확하 게 모니터링 할 수 있는 도구이다. 페로몬의 유인효과를 증진시킬 수 있 는 트랩, 정보통신물질 등이 개발되고 있으며(Kehat *et al.* 1994, Sajeewani *et al.* 2020, Preti *et al.* 2020), 이를 통해 살충제 살포시기 등 방제전략 수립을 위한 정보의 확보가 가능하다(Cruz *et al.* 2012).

국내 침엽수에 큰 피해를 유발 중인 솔알락명나방과 솔껍질깍지벌레의 효율적 방제를 위해서는 페로몬을 활용한 지속적인 모니터링을 통하여 정확한 발생 시기 파악 및 방제전략 수립이 필수적이다. 하지만 현재 국 내 솔알락명나방의 성페로몬은 미동정 되었고, 솔껍질깍지벌레의 성페로 몬은 복잡한 합성과정으로 인하여 상용화에 어려움이 있다. 본 연구에서 는 침엽수의 주요 해충인 솔알락명나방과 솔껍질깍지벌레의 정밀 모니터 링기법을 개발하였고 이를 통해 방제 적기를 파악하여 효과적이면서 경 제적인 방제전략 수립을 가능케 하였다. 특히 본 연구를 통해 개발된 성

- 2 -

페로몬은 추후 환경 친화적 방제법인 교미교란제 개발을 위한 원천기술 로 활용될 수 있다.

제 2 장 연구사

곤충은 종내/종간 의사소통에 있어서 다양한 정보통신 물질을 활용한 다. 페로몬은 곤충의 종내 상호작용에 관여하는 물질로 누에나방의 성페 로몬인 bombykol이 동정된 이후(Butenandt *et al.* 1959) 현재까지 약 3,000여종의 페로몬이 확인되었다(Blomquist and Vogt 2021). 곤충 페로 몬에 관한 연구는 신규물질의 동정 및 합성(Peng *et al.* 2012; Bouwer *et al.* 2015; El Sayed *et al.* 2016; Guerrero *et al.* 2019)을 포함하여 페 로몬의 생합성(Jurenka 2004, 2017; Ding and Löfstedt 2015; Fujii *et al.* 2015), 작용기작 규명 및 후각수용체의 진화(Sato *et al.* 2008; Hansson and Stensmyr 2011; Montagné *et al.* 2015; Tian and Zhang 2016), 성 페로몬 자가감지에 관한 연구(Bartell and Lawrence 1977; Ochieng *el al.* 1995; Stelinski *et al.* 2014; Holdcraft 2016)등이 수행되고 있다.

기주식물로부터 유발되는 휘발성분은 곤충에게 다양한 행동특성을 유 발한다. 곤충은 식물로부터 유발하는 휘발성 물질인 카이로몬을 이용하 여 기주를 탐색한다. 카이로몬은 페로몬과 함께 사용하여 유인력 향상이 가능하며, 예찰과 모니터링의 효율 증진을 위하여 다양한 해충으로부터 동정되어 활용되고 있다. 소나무재선충을 매개하는 *Monochamus* 속 하 늘소의 경우, 기주식물인 침엽수의 주요 휘발성분(*a*-pinene, β-pinene, (±)-limonene, 에탄올)을 페로몬과 함께 사용하였을 때 유인력이 증가하 는 것으로 보고되었고(Fierke *et al.* 2012, Álvarez *et al.* 2016, Lee *et al.* 2017, 2018), 그밖에 복숭아순나방[*Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae)], *Rhynchophorus palmarum* (Coleoptera, Curculionidae), *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae), 큰검정풍뎅이[*Holotrichia parallela* (Coleoptera: Scarabaeidae)]등 다양한 분류군에서 페로몬과 기 주유래 휘발성분을 함께 사용할 경우 유인력이 증가하는 것으로 보고되 었다(Preti *et al.* 2020; Rochat *et al.* 2000; Yang *et al.* 2004; Ju *et al.* 2017).

최근 곤충의 정보통신 물질은 해충의 예찰 외에도 다양한 방제기법으

로 응용되어 사용되고 있다. El-Sayed et al. (2006), Hegazi et al. (2012)은 (2009).Cvdia pomonella Trematerra (Lepidoptera: Tortricidae), Zeuzera pyrina (Lepidoptera: Cossidae) 및 저장해충과 외 래 침입해충에서 페로몬을 활용한 대량 포획에 관하여 보고하였고, Schwalbe and Mastro (1988), Hoshi et al. (2016), Ortiz et al. (2004), Samietz et al. (2012)는 교미교란을 통한 매미나방 (Lymantria dispar) (Lepidoptera: Lymantriidae), Cossus insularis (Lepidoptera: Cossidae), Euzophera pinguis (Lepidoptera: Pyralidae) 및 Contarinia nasturtii (Diptera: Cecidomyiidae)의 방제에 관하여 보고하였다. 그밖에 유인물질 과 기피물질을 함께 활용한 Push-Pull 방제전략에 관한 연구가 수행되 었다(Khan et al. 2014; Xu et al. 2018; Khan and Pickett 2008).

곤충 더듬이는 다수의 감각모(sensilla)로 구성되어 있으며 외부환경에 대한 정보를 수집하는 역할을 한다. 감각모는 종내/종간 상호작용에 사 용되는 다양한 정보통신물질을 인지하는 기관으로, 감각모의 연구는 곤 충의 생리/생태학적 특성을 이해하고 다양한 기술분야에 응용하기 위하 여 매우 중요한 역할을 한다. Schneider (1964)는 감각모를 형태에 따라 chaetica, trichodea, basiconica, coeloconica, styloconica, squamiformia, campaniformia, squamiformia, campaniformia, scolopalia로 구분하였고 기능에 따라 냄새, 맛 등을 인지하는 화학적 감각 수용기 (chemoreceptor)와 중력, 압력 등을 감지하는 기계적 감각 수용기 (mechanoreceptor)로 구분하였다. 화학적 감각 수용기는 일반적으로 표 피벽에 구멍이 발달하였고 구멍은 수상돌기와 연결된다(Schneider 1964). 정보통신물질은 구멍을 통해 표피벽 내부의 후각수용단백질(ordorant binding protein)과 결합하고 전기신호를 전달한다(Leal 2013). 대표적 후 각수용 감각기로는 trichodea, basiconica, auricillica, coeloconica등이 보 고되었다. 기계적 감각 수용기 중 촉각 수용기(touch receptor)는 소켓이 발달하여 유동성이 있으며, 소켓 내부로 감각모의 수상돌기가 연결되어 전달한다(Keil and Steinbrecht; 1984). 고유감각 수용기 자극을 (proprioceptors)는 각 체절의 위치, 운동의 상태, 저항, 중량 등을 감지하

는 역할을 한다. 기계적 감각 수용기 중 가장 간단 구조를 갖는 감각기 로, 여러개로 분지된 수상돌기가 비교적 유동성이 있는 표피 하단에 위 치하고 있다(Finlayson, 1968). 각각의 감각기는 외부형태에 따라 다시 여러 형으로 구분되며 암수별 각 유형의 감각기 분포수에 차이가 있다 (Ma *et al.* 2017). Xu *et al.* (2021)은 *Dioryctria rubella* (Lepidoptera: Pyralidae)의 감각기 구조를 동정하여 화학감각기로써 trichodea, coeloconica, auricillica, basiconica등 4개의 감각기를 보고하였고, Wang *et al.* (2016)은 솔껍질깍지벌레에서 multiporous pegs, uniporous pegs, multiporous trichoid등 3종을 보고하였다.

Fatzinger and Asher (1971)은 솔알락명나방의 calling 행동을 확인하 여 솔알락명나방의 성페로몬 가능성에 관하여 최초로 보고하였고, 1972 년 페로몬샘을 적출하여 형태특성을 기술하였다. 이후 Löfstedt et al. (1983)은 솔알락명나방 페로몬으로 (9Z,11E)-tetradecadienvl acetate (9Z,11E-14:OAc)를 최초 보고하였으나 단일물질의 유인력은 매우 낮은 것으로 확인되었다. Millar *et al.* (2005, 2010a,b)는 Diorvctria abietivorella, D. ebeli, D. amatella등 일부 Dioryctria속 곤충에서 긴 사 슬구조를 갖는 탄화수소(3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-pentacosapentaene (C25)pentaene)을 유인력에 결정적 역할을 하는 또 다른 페로몬으로써 보고하 였고, Löfstedt et al. (2012)은 솔알락명나방 유럽 개체군 암컷 페로몬샘 분석을 통해 C25 pentaene을 동정하여 보고하였다.

박 등(1986)은 *Matsucoccus resinosae* (Coccomorpha: Matsucoccidae) 페로 몬샘 추출물에 솔껍질깍지벌레가 강력하게 유인되는 것을 확인하였고, Lanier *et al.* (1989)는 솔껍질깍지벌레를 포함한 *Matsucoccus*속 해충의 성페로 몬으로써 (2*E*,4*E*)-4,6,10,12-tetramethyl-2,4-tridecadien-7-one을 최초 동정하였다. Cywin *et al.* (1991)은 (*S*)-(-)-glycidol을 시작물질로 하여 두 개의 부분입체이성질체 [(6*R*,10*R*)-1와 (6*R*,10*S*)-1]를 합성하였고, 솔 껍질깍지벌레의 페로몬을 (2*E*,4*E*,6*R*,10*R*)-4,6-10,12-tetramethyl-2,4-tridecadi ene-7-one으로 최종 명명하였다. Mori *et al.* (1993)은 citronellol을 시작 물질으로 한 (6*R*,10*R*)-1의 비대칭 합성에 대하여 보고하였으며, Shi *et*

- 6 -

al. (1995)는 tertiary bisallylic ether의 [2,3]-Wittig rearrangement을 통 한 새로운 합성법을 개발하였고. Lin and Xu (1996) 솔껍질깍지벌레 페 로몬의 효소적 합성에 대하여 보고하였다. 국내에서는 인공합성 성페로 몬[(2E,4E,6R,10R)-4,6-10,12-tetramethyl-2,4-tridecadiene-7-one]에 대한 솔껍 질깍지벌레의 반응연구가 활발히 수행되었다. 박 등(1994)은 솔껍질깍지 벌레의 비행습성과 성페로몬에 대한 반응을 연구하여 10~50 μg 처리부 터 무처리구 대비 유인력이 증가하는 것을 확인하였고, 수컷 성충이 페 로몬에 의해 영향을 받는 거리를 10 m 이하로 보고하였다. 또한, 서로 다른 수관율 울페율의 임지에서 성페로몬 사용 시 지상부 0.1 m에 트랩 을 설치하였을 때 가장 높은 유인력을 확인하였고(박 등, 2000), 위 등 (2001)은 풍속을 페로몬의 감응에 영향을 미치는 주요인으로 보고하였 다. 정 등(2000)은 솔껍질깍지벌레의 확산 속도를 조사하여 해송 밀도가 높은 지역에서 내륙으로의 확산속도를 약 4.3 km/년, 서해안쪽 북향과 남해안쪽 동향의 확산속도를 각각 5.9 km/년, 3.3 km/년으로 보고하였 고, 임 등(2012)은 7개 도 686 읍면동의 솔껍질깍지벌레 분포 밀도를 조 사하여 전남 해남군, 경남 부산광역시의 밀도가 높은 것으로 보고하였다.

딥-러닝 기반 사물인식 지형 및 보행자 인식등 다양한 분야에 적용증 이다. 특히, 최근에는 다양한 정보처리 방법을 기반으로 한 이미지 인식 에 관한 연구가 수행중이다. Ding *et al.* (2016)은 포획된 이미지에서 나 방을 검출하기 위해 sliding window method와 convolutional neural network (CNN)을 이용하였으며, Nam *et al.* (2018)은 해충의 이미지 검 출을 위하여 single-shot multibox detector (SSD), sliding window, CNN등 다양한 방법으로 이미지를 분석하여 비교하였다. Nieuwenhuizen *et al.* (2018)은 포획된 곤충의 검출을 위하여 Faster Region-based CNN (Faster R-CNN)을 사용하였고, 홍 등(2020)은 Faster R-CNN, R-FCN, Retinanet 및 SSD등 다양한 딥러닝 객체 검출 모델을 적용하여 트랩에 포획된 이미지에서 세 종류의 나방을 검출하고 각 모델의 속도와 성능을 비교하였다.

제 3 장 솔알락명나방 감각모 동정 및 모니터링 기법 개발

1. 서론

솔알락명나방(Dioryctria abietella)은 나비목 명나방과(Lepidoptera: Pyralidae)에 속하는 해충으로 한국, 일본을 포함한 동아시아 지역 및 유 립, 북아메리카 등 광범위한 지역에 분포한다. 성충의 출현 시기는 5월 하순 ~ 6월 하순이며, 우화 최성기는 6월 상순이고 성충의 수명은 약 9 일이다. 소나무와 잣나무를 포함한 침엽수류의 주요 구과 해충으로 구과 의 과육 부분을 식해하여 종자생산에 큰 피해를 유발한다(이와 정, 1997). 구과 형성 초기 단계에 솔알락명나방에 의한 피해를 받은 구과는 종자 생장이 크게 저하될 뿐 아니라 발아율 또한 감소한다. 과거 솔알락 명나방에 의한 구과 피해는 주로 소나무, 잣나무등 일부 침엽수에서 확 인되었으며, 춘천 잣나무 채종원에서 솔알락명나방에 의한 구과 피해율 이 93.3%로 보고되었다(강 등 2019). 하지만 최근 낙엽송, 구상나무 등 기타 침엽수 수종에서도 심각한 피해가 보고되고 있으며, 한라산 구상나 무 군락지에서 솔알락명나방에 의한 구과 피해율이 최대 80.1%로 보고 되었다(Kim et al. 2020).

출알락명나방의 방제는 페니트로치온, 아진포스메틸 등 화학살충제의 지상 약제살포를 통해 이뤄지고 있다. 하지만 생활사의 대부분을 구과 내에서 보내는 솔알락명나방의 생태적 특성 상 화학살충제를 사용한 방 제에는 큰 어려움이 있다. 강 등(2019)은 페니트로치온(50% EC), 티아메 톡삼(10% WG), 티아클로프리드(10% SC) 등 7종의 화학살충제를 사용 하여 솔알락명나방의 방제가를 조사하였으며, 평균 40.2% ~ 68.7%의 낮은 방제가를 확인하였다. 따라서 솔알락명나방의 효율적인 방제를 위 해서는 페로몬을 활용한 지속적인 모니터링을 통하여 방제적기의 파악 등 체계적인 방제전략 수립이 필요하다.

솔알락명나방의 페로몬 물질인 (9*Z*,11*E*)-tetradecadienyl acetate와 (3*Z*,6*Z*,9*Z*,12*Z*,15*Z*)-pentacosapentaene이 유럽 개체군에서 확인되었다 (Löfstedt *et al.* 1983, 2012). 하지만, 동일 종이라 할지라도 개체군간 서

식하고 있는 지역이 현저히 떨어져 있을 경우, 사용는 페로몬에 변이가 발생할 수 있다. 페로몬의 지리적 변이는 솔알락명나방의 유사종인 [Dioryctria abietivorella (Lepidoptera: Pyralidae)]를 비롯하여 복숭아심 식나방 [Carposina sasaki (Lepidoptera: Carposinidae)], 조명나방 [Ostrinia furnacalis (Lepidoptera: Crambidae)], [Ostrinia nubilalis (Lepidoptera: Crambidae)] 그리고 사과굴나방 [Phyllonorycter ringoniella (Lepidoptera: Gracillariidae)]등 다양한 종에서 확인되었다(Grant et al. 2009; 부, 1998; 부와 박, 1998; Klun and Cooperators, 1975; 부와 정, 1998). 솔알락명나방 한국 개체군의 성페로몬에 관한 연구는 전무한 실 정으로, 기 동정된 유럽개체군의 성페로몬을 바로 국내 도입하기에는 문 제점이 있다.

따라서 본 연구는 솔알락명나방의 성페로몬을 활용한 정밀 모니터링 기법을 개발하기 위하여 솔알락명나방 한국 개체군이 사용하는 성페로몬 의 동정 및 각 물질의 조성비율을 구명하고, 기주유래 휘발성분으로부터 솔알락명나방 유인효과를 증진시킬수 있는 협력제를 확인하였으며, 솔알 락명나방의 포획에 효과적인 트랩을 선발하였다. 또한, 페로몬 및 기주유 래 휘발성분 등 냄새물질을 인지하는 작용기작을 확인하기 위하여 솔알 락명나방 더듬이 감각기의 내/외부 미세구조를 파악하였다. 이로써, 침엽 수의 주요 구과해충인 솔알락명나방의 정확한 우화소장 파악이 가능하고 이를 통해 방제적기 선정 등 체계적인 방제전략의 수립이 가능하다. 특 히 추후 솔알락명나방 성페로몬을 활용한 교미교란제 개발을 통해 환경 친화적인 방제가 가능하다.

2. 재료 및 방법

2.1. 솔알락명나방 더듬이 감각기 분석

주사전자현미경(Field-Emission Scanning Electron Microscope, SUPRA 55VP, Carl Zeiss, Germany)과 투과전자현미경(Transmission Electron Microscope, 80 kV, JEM1010, JEOL, Japan)을 이용하여 솔알 락명나방 암컷과 수컷 더듬이 감각기의 미세구조를 촬영하였다. 실험에 사용한 공시충은 강원도 춘천시(37°52′53.45″N 127°37′5.11″E) 소재의 국립산림품종관리센터 잣나무 채종원에서 솔알락명나방의 피해를 받은 2년생 구과를 채취한 후, 실험실에서 사육하여 우화하는 성충을 이 용하였다. 암/수별 성충(N=3)은 head cutting 한 후, 2.5% glutar aldehyde in PBS buffer (0.1 M, PH 7.2)를 이용하여 전고정(overnight) 하였으며, 1% osmium tetroxide in PBS buffer를 이용하여 후고정 하였 다(4hr). 이후, EtOH series (30, 50, 70, 90, 95, 100%)를 이용하여 탈수 하였으며, 탄소테이프를 부착한 stub에 거치 후, 60℃의 Dry oven (Vision scientific co. Daejeon-Si, Republic of Korea)에서 3일 동안 건 조시켰다. 건조한 더듬이는 백금코팅기(Sputter Coater, EM ACRE200, Leica, Austria)로 표면을 백금 코팅한 후 더듬이 복부를 주사전자현미경 으로 촬영하였다. 촬영한 이미지는 Photoshop CS 6 (ver.13.0, Adobe, USA)을 이용하여 병합 후 감각모 동정 및 계수하였고, 감각모의 길이는 Image J (ver.1.8.0, National Institutes of Health, USA)를 이용하여 측 정하였다.

내부구조 확인을 위하여, 상기 기술한 방법과 동일하게 전고정/후고정 하였다. 이후, 0.5% uranyl acetate 수용액을 이용하여 En Bloc Staining 하였다. 고정이 완료된 시료는 증류수를 이용하여 세척 후, EtOH series (50, 70, 90, 95, 100%)를 이용하여 탈수하였다. 탈수가 완료된 시료는 propylene oxdie series (spurr's resin을 용해, 25%, 50%, 75%)를 이용하 여 치환 후 spurr's resin 100%를 이용하여 포매하였다. 제작이 완료된 시료는 ultra microtome을 이용하여 박편한 후 투과 전자현미경을 이용 하여 관찰하였다.

2.2. 솔알락명나방 모니터링 기법 개발

2.2.1. 공시충 채집

충청북도 충주시(36° 52′ 15.89" N 127° 59′ 10.85" E)와 강원도 춘 천시(37° 52′ 53.45" N 127° 37′ 5.11" E) 소재의 국립산림품종관리센 터 잣나무 채종원에서 구과해충에 의해 피해를 받은 2년생 구과를 채취 하였다. 채취한 구과는 실내로 반입한 후 플라스틱 케이지(30×40×20 cm)에서 종령유충이 될 때까지 사육하였다. 탈출한 종령유충의 용화를 유도하기 위하여 플라스틱 케이지 하단에 산업용 와이프올(유한킴벌리, 서울특별시)을 깔아주었고, 용화하는 번데기를 채집하였다. 번데기는 성 별에 따라 구분한 뒤, 곤충 사육용기(지름 9.5 cm×높이 4 cm)에서 개별 사육 하였다. 우화한 성충은 온도; 26 ± 1°C, 습도; 60 ± 5%, 광주기; 16:8 (L:D) 조건에서 사육하며 ascorbic acid (0.005%)와 sucrose (3%)를 혼합한 수용액을 공급하였다.

2.2.2. 페로몬 추출 및 분석

우화 후 3일 경과한 암컷 솔알락명나방의 페로몬샘을 암주기(3~6h) 시간대에 적출하였다(N=68). 적출한 개별 페로몬샘은 10 µl의 hexane에 3분간 침지하여 추출하였으며, 질소농축 후 초저온냉동고(DTF-35 Japan, Tokyo)에서 분석 전까지 저온 보관(-80°C)하였다. 추출물의 분 석은 gas chromatography (7890 B GC, Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA) - mass spectrometry (Agilent 5977)를 사용하였다. 컬럼은 DB-5 MS capillary column (30 m × 0.25 mm i.d. × 0.50 µm film thickness; J&W GC column; Agilent)을 사용하였고 운반기체는 헬 륨가스(1.0 ml/min)를 사용하였다. 페로몬 샘 추출물을 hexane 10 µl에 용해한 뒤 auto sampler (7693, Agilent)를 이용하여 splitless mode로 1 µl 주입하였다. 분석을 위한 주입구, 오븐 및 mass spectrometery 조건 은 Table 1과 같다.

Instrument		Condition
	Inlet	250°C
	Oven	$40^{\circ}\mathrm{C} \sim 190^{\circ}\mathrm{C}$
		(Increase 30°C/min)
Coo abromatagraphy		$190^{\circ}C \sim 215^{\circ}C$
Gas chromatography		(Increase 10°C/min)
		Held 5 min
		$215^{\circ}C \sim 320^{\circ}C$
		(Increase 10°C/min)
	Ionization voltage	70 eV
Mass spectrometery	Source temperature	230
	Scan range	41 ~ 400 amu

Table 1. Instrument condition for analysis of pheromone extracts and volatiles of Korean pine cone

2.2.3. 구과 휘발성분 추출 및 분석

강원도 춘천시에 위치한 산림품종관리센터 잣나무 채종림(37°52' 53.45" N 127° 37 ' 5.11"E)에서 2년생 성숙 구과를 채집하여 휘발성분 을 포집하였다. 2~3개의 성숙 구과를 유리용기(15 cm i.d. × 18 cm height)에 넣은 뒤 밀봉하였다. 흡착제인 Porapak Q (80/100 mesh, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen, Germany) 100 mg로 충진 한 두 개의 유리관(length 100 mm, o.d. 6 mm, i.d. 4 mm)을 hexane으 한 뒤 삽입하였고, 그중 한 개의 유리관은 로 세척 공기펌프 (MV-6005VP, Enomoto Micro Pump., Ltd., Tokyo, Japan)와 연결하였 다(Figure 1). 유입되는 기체의 양을 조절하기 위하여 에어플로어미터 (RMA-21 SSV, Dwyer Instruments, Inc., Michigan City, IN)를 사용하 였다. 휘발성분은 24시간 동안 포집하였으며, 흡착제에 포집된 물질은 hexane 3 ml을 이용하여 용출 후 초저온냉동고(-80℃) 에서 분석 전까 지 저온 보관하였다. 정성분석은 페로몬샘 분석에 사용한 gas chromatography (7890 B GC, Agilent Technologies, Inc, Santa Clara, CA)-mass spectrometry (Agilent 5977)를 사용하였다. 포집-농축 한 잣 나무구과 휘발성 물질을 hexane 10 µl에 용해한 뒤 auto sampler (7693,

Agilent)를 이용하여 splitless mode로 1 µl주입하였다. 오븐의 초기 온도 는 40°C로 설정하였으며 320°C까지 분당 10°C의 속도로 승온하였다. 그 외 기타분석 조건은 상기 기술한 암컷 페로몬샘 분석 조건과 동일하다. 페로몬과 잣나무 구과 주요 휘발성 물질의 Kovats 머무름 지수(KIs)는 n-alkane (C8-C22)을 기준으로 산출하였다.



Figure 1. Synoptic map for collection of volatiles from Korean pine cone

2.2.4. 솔알락명나방 성 페로몬 합성

2.2.4.1. 화합물

본 연구에서 사용한 화합물은 Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI), Tokyo Chemical Industry Co., Ltd. (Tokyo, Japan), Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (Osaka, Japan), Bedoukian Research Inc. (Danbury, CT, USA) 그리고 AGROS Organics (Fair Lawn, NJ)에서 구입하였다(Table 2). 2016년과 2017년 야외실험에 사용한 C-25 pentane 은 Christer Löfstedt 교수가(Lund University, Lund, Sweden) 제공한 것을 사용하였고, 2019년 야외실험 및 전기생리반응 시험에 사용한 C-25 pentaene은 자체 합성하여 사용하였다.

¹H NMR 및 ¹³C NMR 분광 데이터는 Advance 400 MHz와 600 MHz spectrometer (Bruker, Berlin, Germany)를 이용하여 측정하였고 용매는 CDCl₃을 이용하였다.

Chemicals	Purity (%)	Source
Acetone	99.9	Sigma-Aldrich
Ammonium chloride	99.5	Sigma-Aldrich
Dichloromethane	99.8	Sigma-Aldrich
Dilithium tetrachlorocuprate (II)	0.1 M in THF	Sigma-Aldrich
Ethyl acetate	99.8	Sigma-Aldrich
Heptadecane	99	Sigma-Aldrich
Lithium aluminum hydride	95	Sigma-Aldrich
NaI	99.5	Sigma-Aldrich
Nonane	99	Sigma-Aldrich
Nonadecane	99	Sigma-Aldrich
Octadecane	99	Sigma-Aldrich
Octane	98	Sigma-Aldrich
Penthyl magnesium bromide solution	2.0 M in diethyl ether	Sigma-Aldrich
Pyridine	99.8	Sigma-Aldrich
Sodium hydroxide	95	Sigma-Aldrich
Tetrahydrofuran	99.9	Sigma-Aldrich
Tridecane	99	Sigma-Aldrich
p-Toluenesulfonyl chloride	98	Sigma-Aldrich
Docosane	99	Tokyo Chemical Industry
Eicosapentaenoic acid ethyl ester	96	Tokyo Chemical Industry
Heneicosane	99.5	Tokyo Chemical Industry
Heptacosane	97	Tokyo Chemical Industry
Hexacosane	99	Tokyo Chemical Industry
(±)-Limonene	>95	Tokyo Chemical Industry
Myrcene	>70	Tokyo Chemical Industry
Nonacosane	98	Tokyo Chemical Industry
Octacosane	98	Tokyo Chemical Industry
Pentacosane	99	Tokyo Chemical Industry
Tricosane	95	Tokyo Chemical Industry
Tetracosane	99	Tokyo Chemical Industry
Decane	99.5	Wako Pure Chemical Industries
Dodecane	99	Wako Pure Chemical Industries
Hexadecane	97	Wako Pure Chemical Industries
Pentadecane	97	Wako Pure Chemical Industries
Tetradecane	99	Wako Pure Chemical Industries
Undecane	99	Wako Pure Chemical Industries
(-)-a-Pinene	98	AGROS Organics
9Z,11E-14:OAc	92	Bedoukian Research Inc.
C25 pentaene	92.7/97.2	Lund university/Synthesized

Table 2. List of chemicals used for synthesis of sex pheromone and field attraction test for *Dioryctria abietella*

2.2.4.2. (3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-pentacosapentaene의 합성

Ethyl (5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-eicosapentaenoic acid ethyl ester (2)를 이 용하여 중간물질인 (5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-eicosapentaen-1-ol (3)와 (5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-eicosa-pentaen-1-yl 4-methylbenzenesulfonate (4) 를 합성하였고, (5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-eicosa-pentaen-1-yl 4-methylbenz enesulfonate와 penthyl magnesium bromide solution를 반응하여 (3*Z*,6*Z*,9*Z*,12*Z*,15*Z*)-pentacosapentaene (1)을 합성하였다(Figure 2).



Figure 2. Synthetic scheme of C25 pentaene

(1) (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-eicosa-pentaen-1-ol (<u>3</u>)의 제조

반응기 내부 온도를 -15°C로 유지하며 lithium aluminum hydride (LAH, 4.82 g)을 anhydrous tetrahydrofuran (THF, 250 ml)으로 용해하 였다. 이후 (5*Z*,8*Z*,11*Z*,14*Z*,17*Z*)-eicosapentaenoic acid ethyl ester (2) (30 g, 90.770 mmol)을 THF 250 ml에 희석하여 드로핑 편넬을 통해 반 응기에 약 1 시간에 걸쳐 적가하였다. 혼합액은 자연 승온하여 약 12 시 간동안 실온에서 교반하였고, 반응을 종결하기 위하여 내부온도를 -10℃ 로 냉각 후 증류수를 적가하였다. 이후, 실온에서 30분간 교반하며 소량 의 THF와 15% NaOH solution 5 ml를 추가하였다. 유기물층을 증류수 를 이용하여 세척하였고, 염화나트륨 포화 수용액과 anhydrous MgSO₄ 를 사용하여 건조하였다. 여액은 감압증류기로 농축하고 실리카겔 컬럼 정제하여 표제화합물 (<u>3</u>) 25.0 g을 수득하였다. 수율 83.0%, ¹H-NMR (400 MHz, CDCl3): δ 5.20-5.40(m, 10H), 3.60(m, 2H), 2.87-2.65 (m, 8H), 2.15-1.95 (m, 4H), 1.58 (m, 3H), 1.42 (m, 2H), 0.94 (t, 3H).

(2) (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-eicosa-pentaen-1-yl 4-methylbenzen sulfonate (4)의 제조

상기 제조한 (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-eicosa-pentaen-1-ol (25.0 g)과 pyridine (13.71)g)을 300 ml의 dichloromethane에 용해하였다. p-toluenesulfonyl chloride (24.78 g, 0.13 mol)을 dichloromethane (150 ml)에 용해한 후 드로핑 펀넬을 이용하여 혼합액에 적가하였다. 12시간 동안 상온에서 교반하며 반응시킨 후 감압 농축하여 dichloromethane을 제거하였다. 농축된 물질은 200 ml의 ethyl acetate (EtOAc)에 용해하였 고, 증류수를 이용하여 유기물층을 세척하였다. 세척된 유기물층은 sodium chloride 포화 수용액과 anhydrous MgSO4를 사용하여 건조하였 고 감압 농축하여 용매를 제거한 뒤 실리카켈 컬럼으로 정제하여 표제화 합물 (4) 18.2 g을 수득하였다. 수율 72.8%, ¹H-NMR (400 MHz, CDCl3): 6 7.76 (d, J = 8.2Hz, 2H), 7.32 (d, J = 8.1Hz, 2H), 5.28-5.36 (m, 10H), 4.00 (t, J = 6.4Hz, 2H), 2.83-2.72 (m, 8H), 2.43 (s, 3H), 2.07-1.97 (m, 4H), 1.63 (m, 2H), 1.37 (m, 2H), 0.95 (t, J = 7.5Hz, 3H).

(3) (3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-pentacosapentaene (<u>1</u>)의 제조

상기 제조한 (5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-eicosa-pentaen-1-yl 4-methylbenzen sulfonate (4) 2.0 g을 THF에 용해한 후, -15℃에서 pentyl magnesium bromide solution (2.99 g, 5.03 mmol)와 dilithium tetrachlorcuprate (II) (4.4 g)을 적가하였다. 반응 온도를 -15℃로 유지하며 40분간 교반하였 고, 추가로 실온에서 2시간 교반하였다. 반응 종료를 위하여 ammonium chloride 수용액을 천천히 적가 하였고 감압농축기를 이용하여 농축하였 다. 농축된 물질을 EtOAc (200 ml)에 용해하였고, 증류수를 이용하여 유 기물층을 세척 후 sodium chloride 포화 수용액과 anhydrous MgSO₄를 사용하여 건조하였다. 여액은 감압 농축하여 용매를 제거한 뒤 실리카켈 컬럼으로 정제하여 표제화합물 (<u>1</u>) 1.15 g을 수득하였다. 수율 57.3%, ¹H-NMR (400 MHz, CDCl3): δ 5.35-5.33 (m, 10H), 2.81-2.77 (m, 8H), 2.04-2.00 (m, 4H), 1.36-1.22 (m, 14H), 0.94 (t, 3H), 0.84 (t, 3H). ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl3): 132.26, 130.73, 128.79, 128.76, 128,42, 128.39, 128.13, 128.11, 127.75, 127.25, 32.14, 29.84, 29.81, 29.57, 27.50, 25.87, 25.76, 22.92, 20.79, 14.50, 14.36 (Figure 3).



Figure 3. $^1\mathrm{H-NMR}$ (a) and $^{13}\mathrm{C-NMR}$ (b) spectra of C25 pentaene

2.2.5. 페로몬 및 잣나무 구과 주요 휘발성분에 대한 전기생리 반응 측정 우화 후 3일 경과한 솔알락명나방 암컷과 수컷 성충(N=6)을 대상으로 성페로몬 및 주요 잣나무 구과 휘발성분에 대한 전기생리반응을 측정하 였다. 성체의 몸을 고정하기 위하여 끝부분을 약 2 mm 절단한 micropipette tip (Eppendorf AG, Hamburg, Germany)을 사용하였다. 반 응의 측정을 위하여 공시충의 왼쪽 더듬이 끝 부분에 전해질(0.1 N KCl)로 충전된 electrode를 연결하였고, 텅스텐(0.005 in., 0.18 ft; A-M Systems, Sequim, WA)을 전기분해 하여 연마한 reference electrode를 오른쪽 눈에 관통하여 연결하였다.

솔알락명나방 성페로몬 후보물질인 9Z,11E-14:OAc, C25 pentaene 및 주요 구과 휘발성분 물질 (±)-limonene, myrcene, (-)-*a*-pinene의 처리량 에 따른 전기생리 반응의 크기를 측정하기 위하여 paper disc (8 mm; Advantec MF, Inc., Dublin, CA)에 각 물질을 총 5개의 농도(페로몬: 1 µg, 10 µg, 100 µg, 1 mg, 2 mg; 구과 휘발물질: 100 µg, 300 µg, 500 µ g, 1 mg, 2 mg)로 처리하였다. 페로몬 및 구과 휘발성분이 처리된 paper disc는 pasteur pipette (L = 150 mm; Witeg, Wertheim, Germany)에 장착 후 stimulus controller (CS-55; Ockenfels Syntech GmbH, Buchenbach, Germany)를 이용하여 솔알락명나방 암/수 더듬이 에 1.5초간 분사하였다(Continuous flow: 6 ml/s, Pulse flow: 3.5 ml/s). 발생한 자극은 50초 간격으로 3회 측정하였으며, 4-channel IDAC system (Ockenfels Syntech GmbH) 및 Auto spike (v.3.0; Ockenfels Syntech GmbH)를 이용하여 기록하였다. EAG 진폭 값(mV)은 log변환 하여 one-way ANOVA를 진행하였고, 사후검정은 Tukey's HSD test를 사용하였다(SAS v. 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC).



Figure 4. Synoptic map for measuring electroantennogram (EAG) responses of *Dioryctria abietella*

2.2.6. 야외 유인력 검정

야외 유인력 검정은 2016년, 2017년, 2019년 강원도 춘천시 소재의 국 립산림품종관리센터 잣나무 채종원(37° 53′02.7″N 127° 37′44.7″E) 에서 진행하였다. 유인물(인공합성 성폐로몬 및 주요 잣 구과 휘발성분) 을 부착한 트랩은 잣나무 임지 내 2 m 높이에 설치하였다. 반복 내 트 랩 간 거리는 약 15 m였고, 반복 간 거리는 약 50 m로 구획하였다. 위 치효과를 최소화하기 위하여 트랩의 위치를 2주 간격으로 무작위로 재배 치하였고 유인물은 1개월 간격으로 교체하였다. 각 조합별 채집된 솔알 락명나방 수컷의 개체수는 log변환 하여 one-way ANOVA를 진행하였 고, 사후검정은 Tukey's HSD test를 사용하였다(SAS v. 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC).

2.2.6.1. 페로몬 조성비율에 따른 유인력 검정

솔알락명나방의 성페로몬 후보물질(9Z,11E-14:OAc, C25 pentaene)을 Table 3과 같은 질량비율로 2 ml의 hexane에 용해한 후 rubber septa (bottom I.D. × O.D. 2.4 mm × 5.3 mm, Sigma Aldrich, Milwaukee, WI)당 100 ul씩 처리하였다. 상온에서 hexane을 증발시킨 후 초저온냉 동고(-80°C)에서 사용 전까지 저온 보관하였다. 트랩은 델타트랩(그린 아그로텍, 경산시, 경상북도, 대한민국)을 사용하였고, 2016년 5월 25일부 터 7월 7일까지 진행하였다.

Treatment	9Z,11E-14:OAc (µg)	C25 pentaene (µg)
1	100	0
2	0	100
3	100	100
4	100	300
5	100	1,000
6	100	1,500
7	100	2,000
8	100	2,500
9	100	3,000
Cont	0	0

Table 3. Composition ratio of each sex pheromone component for making lure

2.2.6.2. 트랩 유형별 유인효과 비교

트랩 종류(델타트랩, 윙트랩, 다이아몬드트랩, 버켓트랩)에 따른 유인효 과 조사는 2017년 5월 27일부터 7월 7일까지 진행하였다. 델타트랩, 윙트 랩, 버켓트랩은 그린아그로텍에서 구매하여 사용하였고, 다이아몬드트랩 은 Con-Tech Enterprise Inc. (Victoria, BC, Canada)에서 구매하여 사용 하였다. 루어는 9*Z*,11*E*-14:OAc과 C25 pentaene을 1:20으로 혼합하여 사 용하였다(100:2,000 μg).

2.2.6.3. 기주유래 휘발성분의 상승효과 검정

작나무 구과 주요 휘발성분[(-)-*a*-pinene, (±)-limonene, myrcene]을 poly urethane sachet (60 mm width × 100 mm height × 0.2 mm film thickness, Sejin Poly, Seoul, Republic of Korea)에 충진 후 성페로몬 (9*Z*,11*E*-14:OAc, C25 pentaene)을 1:20 질량비로 혼합한 루어와 함께 처 리하여 상승효과를 조사하였다. 트랩 설치 전/후 각 휘발성분의 무게를 측정하여 일 평균 방출량을 확인하였다[(-)-*a*-pinene: 80.36 mg/day, (±)-limonene: 96.79 mg/day, myrcene: 72.74 mg/day]. 실험은 2019년 5 월 21일부터 7월 23일까지 진행하였다.

3. 결과

3.1. 솔알락명나방 감각기 구조

솔알락명나방 암컷과 수컷의 더듬이는 모두 실모양(filiform) 이었으며 자루마디(scape), 팔굽마디(pedicel), 채찍마디(flagellum) (암컷: F1-F69, 수컷: F1-F64)로 구성되었고, 암컷 더듬이와 수컷 더듬이의 평균 길이는 각각 8,818.6 ± 188.3 μm (N=3), 8,081.5 ± 263.5 μm (N=3) 이었다. 자루 마디의 평균 길이는 암컷 109.0 ± 3.1 μm, 수컷 106.4 ± 2.6 μm이었고, 팔굽마디는 각각 438.6 ± 3.4 μm, 540.1 ± 9.4 μm이었다. 채찍마디의 경 우 암컷과 수컷 간 성적 이형이 확인되었다. 수컷의 경우, 더듬이 기부의 마디(F1-F7)가 상대적으로 크게 발달하였다(Figure 5). 등판(dorsal part) 은 인편으로 덮여있었고, 대부분의 감각모는 복판(ventral part)에 분포하 였다. sensilla böhm's bristles (BB), 돌기함몰형 감각기(sensilla coeloconica; SCo), 털감각기(sensilla trichodea; STr), 센털감각기(sensilla chaetica; SCh), 돌출형 감각기(sensilla styloconica; SSt), 구두주격형 감각기 (sensilla auricillica; SAu), sensilla squamiformia (SSq) 등 총 7개의 감 각모를 확인하였다. 각 감각모의 암/수별 분포수는(Table 4) 과 같다.



Figure 5. Overview of the general morphology of male (A) and female (B) antennae of *Dioryctria abietella*.
		Male (me	ean ± S.E.)			Female (m	nean ± S.E.)	
Sensilla ^a	Number of sensilla		Length	Nu	Number of sensilla			
-	Scape	Pedicel	Flagellum	(µm)	Scape	Pedicel	Flagellum	(µm)
BB1	29 ± 12	_	-	19.6 ± 2.0	24 ± 7	-	-	17.0 ± 3.0
BB2	36 ± 23	—	_	35.3 ± 6.4	45 ± 11	_	_	43.4 ± 2.6
SSq	-	6 ± 2	_	47.2 ± 2.6	_	2 ± 1	_	43.1 ± 4.8
STr1	-	_	$2,\!317 \pm 43$	$93.5~\pm~9.0$	_	-	-	_
STr2	-	_	1,954 ± 27	$48.9~\pm~4.0$	_	_	4,459 ± 32	42.4 ± 1.5
SA1	-	_	$248~\pm~11$	27.2 ± 2.5	_	-	696 ± 2	24.1 ± 3.1
SA2	-	_	106 ± 9	$14.0~\pm~6.3$	_	_	15 ± 3	13.3 ± 2.8
SCo	-	_	117 ± 27	$4.4 ~\pm~ 0.8$	_	_	277 ± 22	3.1 ± 1.0
SCh1	_	_	72 ± 9	$67.1~\pm~9.2$	_	_	0.3 ± 0.5	62.1
SCh2	_	_	165 ± 13	27.2 ± 4.7	_	_	335 ± 26	$23.6~\pm~5.9$
SCh3	_	_	3 ± 2	15.4 ± 2.8	_	_	_	_
SSt1	_	_	52 ± 2	17.5 ± 2.2	_	-	69 ± 7	17.8 ± 3.7
SSt2	_	_	1	25.8 ± 2.9	_	_	1	23.7 ± 1.1

Table 4. Distribution and length of sensilla on the antennae of male and female Dioryctria abietella

^a BB: s. Bohm's bristles; SSq: s. squamiformia; STr: s. trichodea; SA: s. auricillica; SCo: s. coeloconica; SCh: s.chaetica; SSt: s. styloconica.

3.1.1. Sensilla Böhm's bristles (BB)

주름이 없는 가시모양으로 더듬이 표면의 소켓에서 수직으로 발달하였 다. 자루마디와 팔굽마디의 기부에 분포하였으며, 형태적 특성에 따라 2 가지 부속감각기로 구분하였다. Böhm's bristles 부속감각기 1(BB1)의 평균길이는 암컷: 17.0 ± 3.0 μm, 수컷: 19.6 ± 2.0 μm 이었으며 끝이 굽 은 형상을 보였다. 부속감각기 2(BB2)의 평균길이는 암컷: 43.4 ± 2.6 μ m, 수컷: 35.3 ± 6.4 μm 으로 BB1보다 길었으며, 끝이 굽지 않은 강모 였다(Figure 6A).

3.1.2. 돌기함몰형 감각기(Sensilla coeloconica; SCo)

중앙에 돌출한 감각모를 14~19개의 돌기가 원형으로 둘러싼 꽃 모양 의 형상을 나타내었다. 감각모는 끝이 뭉툭한 형태로, 세로 주름이 발달 하였고, 돌기에서 구멍이 소수 관찰되었다. 암/수 모두 각 채찍마디에 2 ~5개의 돌기함몰형 감각기가 분포하였다(Figure 6B).



Figure 6. Scanning electron micrographs of sensilla. (A) Böhm's bristles (subtype 1, 2) and (B) sensilla coeloconica (SCo) on the antennae of *Dioryctria abietella*

3.1.3. 털 감각기(Sensilla trichodea; STr)

모든 채찍마디에서 가장 많이 분포하는 감각기로 표면에 나선형의 주 름이 발달하였고 다수의 구멍이 존재하였다(Figure 7D). 털 감각기는 형 태적 특성에 따라 두 가지 유형으로 구분되었다. 털 감각기의 부속 감각 기 1(STr1)은 얇고 긴 감각모로 수컷에서만 분포가 확인되었으며 평균 길이는 93.5 ± 9.0 µm 이었다. 끝부분이 굽은 형태로 더듬이 표면에서 40°~65°의 각도로 발달하였다. 털 감각기의 부속 감각기 2(STr2)는 아 치형으로, STr1에 비해 짧고(암컷: 42.4 ± 1.5 µm, 수컷: 48.9 ± 4.0 µm) 더듬이 표면에서 40°~50°의 각도로 발달하였다. STr1과 STr2 모두 소 켓은 발달하지 않았다. STr1과 STr2는 각 감각모의 분포에 있어서 암/ 수간 성적 이형이 확인되었다. 수컷 채찍마디의 각 마디에서 분포하는 STr1과 STr2의 갯수는 각각 2,317 ± 32개, 1,954 ± 48개로 STr1의 분포 밀도가 우세하였고, 암컷은 STr2만 분포하였다(Figure 7A,B). 투과전자 현미경을 통하여 횡단면을 확인한 결과, 감각모 내부에 다수의 수상돌기 와 구멍이 존재하였다(Figure 7E,F).



Figure 7. Scanning and transmission electron micrographs of sensilla trichodea (subtype 1, 2) on the antennae of *Dioryctria abietella.* (A \sim C) shape of two types of s. trichodea (subtype 1, 2); (D) surface structure of s. tricodea; (E,F) cross sections of s. tricodea. CW, cuticular wall; D, dendrites; P, pores.

3.1.4. 센털 감각기(Sensilla chaetica; SCh)

감각모의 표면에 가로로 주름이 발달하였으며, 드물게 세로로 홈이 발 달하였다. 기부에 소켓이 발달하였고, 더듬이 표면에서 70°~80°의 각도 로 발달하였다(Figure 8A). 약간 구부러진 막대 모양으로 끝부분은 뭉툭 하며 2~4개의 구멍이 발달하였다(Figure 8C). 각 채찍마디에 3~4개의 센털 감각기가 분포하였으며, 마지막 체절은 다수의 센털 감각기가 분포 하였다(Figure 8E). 센털 감각기는 길이에 따라 세가지 부속 감각기로 구분되었다. 센털 감각기의 부속감각기 1(SCh1)은 긴형태의 센털 감각기 로 평균 길이는 67.1 ± 9.2 μm이었고, 부속속감각기 2(SCh2)는 중간형으 로 평균길이는 암컷: 23.8 ± 3.2 μm, 수컷: 27.2 ± 4.7 μm, 부속감각기 3(SCh3)은 짧은형으로 평균길이 15.4 ± 2.8 μm 이었다. 암컷의 경우 대 부분 길이가 짧은 SCh3이 분포하였고, 수컷은 SCh1과 SCh2이 혼재하여 분포하였다(Figure 8A). 투과전자현미경을 통하여 횡단면을 확인한 결 과, 구멍이 없는 두꺼운 표피벽을 가지고 있었다(Figure 8D).



Figure 8. Scanning and transmission electron micrographs of sensilla chaetica (s. chaetica subtype 1, 2 and 3) on the antennae of *Dioryctria abietella.* (A,B,E) shape of three subtypes of s. chaetica (SCh1, Sch2 and Sch3); (C) surface structure of SCh; (D) cross sections of SCh. CW, cuticular wall; D, dendrites.

3.1.5. 돌출형 감각기(Sensilla styloconica; SSt)

돌출형 감각기는 형태적 특성에 따라 두 가지 부속감각기로 구분되었 다. 부속감각기 1(SSt1)은 더듬이 말단부위를 제외하고 각 채찍마디 끝 중앙에 1개씩 분포하였다(Figrue 9A). 표면은 주름없이 매끈하였고 엄지 손가락 모양으로 말단에 원뿔모양의 구조물이 1개 부착되었다(Figure 9B). 감각모 기부에 소켓은 발달하지 않았고 평균 길이는 암컷: 17.8 ± 0.7 µm, 수컷: 17.5 ± 2.2 µm 이었다. 부속감각기 2(SSt2)는 채찍마디의 마지막 마디에서만 분포가 확인되었다(Figure 9C). 감각모 말단에 원뿔 모양의 구조물 2개가 부착되어 있었으며 표면은 산호 모양으로 융기하였 다(Figure 9D).



Figure 9. Scanning electron micrographs of sensilla styloconica (s. styloconica 1, 2) on the antennae of *Dioryctria abietella*. (A,C) Shape of two subtypes of s. styloconica (SSt1, SSt2); (C,D) surface structure of SSt1 and SSt2, respectively.

3.1.6. 구두주걱형 감각기(Sensilla auricillica; SAu)

더듬이 표면에서 상부를 향하여 구부러진 형상으로, 표면에는 세로 주 름이 발달하였고 다수의 구멍이 확인되었다. 구두주걱형 감각기는 형태 와 크기에 따라 두 가지 부속감각기로 구분되었다. 부속감각기 1(SA1)은 화본과 식물의 신엽 형상을 하였으며 길게 발달하였고, 부속감각기 2(SA2)는 토끼 귀 모양으로 비교적 짧게 발달하였다(Figure 10A,C). 투 과전자현미경을 통하여 횡단면을 확인한 결과, 표피벽이 얇게 발달하였 으며 구멍을 가지고 있었고, 다수의 수상돌기가 발달하였다(Figure 10B,D). 구두주걱형 감각기는 채찍마디 각 마디에 5~8개 분포하였다.



Figure 10. Scanning and transmission electron micrographs of sensilla auricillica (s. auricillica 1, s. auricillica 2) on the antennae of *Dioryctria abietella.* (A,C) Shape of two types of SAu (SAu1, SAu2); (B,D) cross sections of SAu1 and SAu2, respectively. CW, cuticular wall; D, dendrites; SL, sensilla lymph.

3.1.7. Sensilla squamiformia (SSq)

자루마디와 팔굽마디의 각 마디 측면에서 분포가 확인되었다. 감각모 기부에 소켓이 발달하였고 인편과 유사한 구조를 하고 있었으나 보통의 인편보다 작고 좁았다. 표면에서 세로 주름이 확인되었고, 구멍이 없는 두꺼운 표피벽을 가지고 있었다(Figure 11).



Figure 11. Scanning and transmission electron micrographs of sensilla squamiformia (SSq) on the antennae of *Dioryctria abietella*. CW, cuticular wall.

3.2. 솔알락명나방 정밀 모니터링 기법 개발

3.2.1. 솔알락명나방 암컷 폐로몬 샘 분석

솔알락명나방 페로몬 후보물질(9Z,11E-14:OAc, C25 pentaene)을 GC-MS를 이용하여 동정하였다. 각 물질의 retention time은 각각 7.505 와 15.018이었고, 9Z,11E-14:OAc와 C25 pentaene의 GC-MS상 질량 비율 은 1:23 이었다(Figure 12A). 페로몬샘 추출 및 인공합성한 9Z,11E-14:OAC과 C25 pentaene의 Electron ionization (EI) ions는 9Z,11E-14:OAC (extracts): 67(100), 55(91), 79(87), 57(73), 81(66), 95(59), 69(53), 82(51), 77(44), 93 (43). (synthetic): 67(100), 79(74), 95(48), 81(46), 82(45), 55(37), 93(36), 80(27), 94(23), 68(225). C25 pentaene (extracts): 79(100), 91(78), 67(59), 55(55), 135(53), 57(52), 80(46), 93(44), 71(41), 105(41). (synthetic): 79(100), 91(64), 67(56), 80(54), 93(40), 55(34), 108(33), 105(32), 77(29), 119(28)으로 추출물과 합 성 물질에서 유사한 것으로 확인되었다(Table 5, Figures 12B, C). 9Z,11E-14:OAc와 C25 pentaene의 kovats retention indexes는 각각 1,872와 2,456 이었다.

Table 5. EI-MS m/z of the 9Z,11*E*-14:OAc and C25 pentaene from gland extracts and synthetic

Pheromone compounds		Electron ionization (EI) ions		
9 <i>Z</i> ,11 <i>E</i> -14:OAc Gland extracts		67(100), 55(91), 79(87), 57(73), 81(66), 95(59), 69(53), 82(51), 77(44), 93 (43)		
	Synthetic	67(100), 79(74), 95(48), 81(46), 82(45), 55(37), 93(36), 80(27), 94(23), 68(225)		
C25 pentaene	Gland extracts	79(100), 91(78), 67(59), 55(55), 135(53), 57(52), 80(46), 93(44), 71(41), 105(41)		
	Synthetic	79(100), 91(64), 67(56), 80(54), 93(40), 55(34), 108(33), 105(32), 77(29), 119(28).		



Figure 12. Chromatograms of *Dioryctria abietella* female pheromone gland extracts (a), ionization spectra of female extract and synthetic 9*Z*,11*E*-14:OAc (b), and female extract and synthetic C25 pentaene (c).

3.2.2. 잣 구과 휘발성분 분석

작 구과 휘발성분을 GC-MS를 이용하여 동정한 결과, 주요 물질은 (±)·limonene (66.52%) myrcene (7.55%), terpinolene (4.82%), 3-carene (4.19%) 이었다(Figure 13). 주요 휘발성분의 Kovats retention indexes 은 Table 6과 같다.



Figure 13. Total ion chromatogram showing that major volatiles from mature Korean pine cone. 1 = a-pinene, 2 = β -myrcene, 3 = 3-carene, 4 = D-limonene, 5 = terpinolene, 6 = bornyl acetate, 7 = a-longipinene, 8 = β -caryophyllene.

Table 6. Major chemical composition of Korean pine cone volatiles

No	Compound	Kovats retention indexes	Composition rate (%)	
INO	Compound	(In this study / literature)		
1	a - Pinene	$936/934^{H\"ognadottir}$ and Rouseff (2003)	1.1	
2	β - Myrcene	$993/994^{H\"ognad\acute{o}ttir}$ and Rouseff (2003)	7.6	
3	3 - Carene	1015/1011 ^{Adams (2001)}	4.2	
4	D - Limonene	$1034/1036^{H\"ognad\acute{o}ttir}$ and Rouseff (2003)	66.5	
5	Terpinolene	$1092/1096^{H\"ognad\acute{o}ttir}$ and Rouseff $^{(2003)}$	4.8	
6	Bornyl acetate	1297/1288 ^{Adams (2001)}	2.5	
7	a - Longipinene	1360/1351 ^{Adams (2001)}	2.8	
8	β - Caryophyllene	$1432/1439^{H\"ognad\acute{o}ttir}$ and Rouseff (2003)	1.7	
Sum 91.1			91.1	

3.2.3. 성폐로몬 및 잣 구과 휘발성분에 대한 전기생리적 반응

솔알락명나방 암컷과 수컷의 성페로몬 후보 물질(9Z.11E-14:OAc와 C25 entaene)과 잣나무 구과 휘발성 물질[(-)-a-pinene, (±)-limonene, mvrcene]에 대한 전기생리적 반응 확인을 하였다(Table 6, 7), (Figure 14). 수컷의 경우, 페로몬 물질에 대하여 현저히 다른 반응의 크기를 나 타내었다. 9Z,11E-14:OAc에서 10 μg 처리부터 반응이 확인 되었으며, 처 리량이 높아짐에 따라 반응의 크기가 증가하는 용량의존적 관계가 확인 되었다. 하지만 1 mg 이상으로 처리할 경우, 반응의 크기가 더 이상 증 가하지 않았다(F_{5.30} = 5.776, P = 0.001). 반면 C25 pentaene의 경우 무 처리구와 통계적 유의차가 나타나지 않았다(F_{5.30} = 0.165, P = 0.974). 암 컷의 경우 페로몬 물질에 대하여 수컷과 대조적인 전기생리적 반응이 유 발되었다. C25 pentaene에 대하여 10 μg 처리부터 전기생리 반응이 유 발되기 시작하였고 처리량이 높아짐에 따라 반응의 크기가 증가하는 용 량의존적 관계가 확인되었다(F_{5.30} = 4.390, P = 0.004). 반면. 9Z.11E-14:OAc에 대하여 무처리구와 통계적 유의차가 나타나지 않았다 $(F_{5.30} = 0.118, P = 0.987)$ (Table 7, Figure 14A, B).

짓 구과 휘발성분 물질에 대한 솔알락명나방 암/수의 전기생리적 반응 은 페로몬 물질과 마찬가지로 처리량에 대한 용량의존적 관계를 유발하 였다(Table 8, Figure 14C, D).



Figure 14. Electroantennogram (EAG) responses of adult male (a) and female (b) *Dioryctria abietella* to 9Z,11*E*-14:OAc and C25 pentaene. EAG responses of adult male (c) and female (d) *Dioryctria abietella* to (-)-*a*-pinene, myrcene, and (±)-limonene.

	EAG responses (mV, mean ± S.E.)					
Concentration (µg)	Ma	ale	Female			
	9Z,11E-14:OAc	C25 pentaene	9Z,11E-14:OAc	C25 pentaene		
Blank	0.78 ± 0.07^{c1}	0.99 ± 0.12	0.79 ± 0.20	$0.68 \pm 0.08^{\rm c}$		
1	$1.11 \pm 0.16^{\rm bc}$	1.01 ± 0.18	0.80 ± 0.14	$0.79 \pm 0.16^{\rm bc}$		
10	$1.33 \pm 0.22^{\rm abc}$	1.07 ± 0.17	0.75 ± 0.21	$1.07 \pm 0.21^{\rm abc}$		
100	$1.84 \pm 0.26^{\rm ab}$	1.05 ± 0.21	0.90 ± 0.20	$1.38 \pm 0.21^{\rm abc}$		
1000	2.02 ± 0.29^{ab}	1.045 ± 0.16	0.89 ± 0.24	$1.69 \pm 0.30^{\rm ab}$		
2000	$2.06 \pm 0.24^{\rm a}$	1.21 ± 0.22	0.93 ± 0.22	1.83 ± 0.32^{a}		
	$F_{5,30} = 5.776$	$F_{5,30}$ = 0.164	$F_{5,30} = 0.118$	$F_{5,30}$ = 4.390		
	P < 0.001	P = 0.974	P = 0.987	P = 0.004		

Table 7. Electroantennogram (EAG) response of male and female *Dioryctria abietella* to 9*Z*,11*E*-14:OAc and C25 pentaene

¹Means within a row followed by the same letter do not differ significantly (Tukey's HSD Test)

	EAG responses (mV, mean ± S.E.)					
Concentration (11g)	Male			Female		
/ 84/	a-Pinene	Myrcene	(±)-Limonene	a-Pinene	Myrcene	(±)-Limonene
Blank	$1.78 \pm 0.34^{\rm b}$	$1.55 \pm 0.24^{\circ}$	$1.45 \pm 0.16^{\circ}$	$1.23 \pm 0.10^{\rm b}$	$0.94 \pm 0.10^{\rm b}$	$1.02 \pm 0.08^{\rm b}$
100	$1.92 \pm 0.35^{\rm b}$	$1.55 \pm 0.25^{\circ}$	$1.76 \pm 0.25^{\rm bc}$	$1.53 \pm 0.22^{\rm ab}$	$1.06 \pm 0.14^{\rm b}$	$1.26 \pm 0.09^{\rm b}$
300	$2.33 \pm 0.43^{\rm ab}$	$1.91 \pm 0.31^{\rm bc}$	$2.19 \pm 0.36^{\rm bc}$	$1.58 \pm 0.26^{\rm ab}$	$1.29 \pm 0.14^{\rm b}$	$1.49 \pm 0.06^{\rm b}$
500	2.29 ± 0.35^{ab}	$2.30 \pm 0.38^{\rm abc}$	2.81 ± 0.33^{ab}	$1.67 \pm 0.15^{\rm ab}$	$1.57 \pm 0.20^{\rm ab}$	$1.53 \pm 0.09^{\rm b}$
1000	2.92 ± 0.25^{ab}	3.11 ± 0.38^{ab}	3.50 ± 0.16^{a}	$1.98 \pm 0.17^{\rm ab}$	2.10 ± 0.23^{a}	2.39 ± 0.27^{a}
2000	3.60 ± 0.33^{a}	3.66 ± 0.29^{a}	3.75 ± 0.20^{a}	2.43 ± 0.33^{a}	2.12 ± 0.24^{a}	2.36 ± 0.17^{a}
	$F_{5,24}$ = 3.861	$F_{5,24}$ = 7.693	$F_{5,24}$ = 13.388	$F_{5,24} = 3.707$	$F_{5,24}$ = 7.957	$F_{5,24} = 15.324$
	<i>P</i> = 0.010	P < 0.001	P < 0.001	<i>P</i> = 0.013	P < 0.001	P < 0.001

Table 8. Electroantennogram (EAG) response of male and female Dioryctria abietella to Korean pine cone volatiles

¹Means within a row followed by the same letter do not differ significantly (Tukey's HSD Test)

3.2.4. 야외 유인력 검정

3.2.4.1. 페로몬 조성비율에 따른 유인력 검정

9*Z*,11*E*-14:OAc와 C25 pentaene의 조성비율에 따른 솔알락명나방 수 것의 유인력을 비교한 결과, 100:1,000 μg, 100:2,000 μg, 100:3,000 μg의 질량비율로 혼합조성 할 경우 각각 평균 54.0, 55.5, 50.5개체가 포획되어 유인력이 우수한 것으로 확인되었다(F_{7,24} = 21.745, *P* < 0.0001) (Figure 15).



Figure 15. Mean (±SEM) number of male *Dioryctria abietella* captured in delta traps baited with different ratios of 9Z,11*E*-14:OAc and C25 pentaene in Chuncheon, Gangwon province, Republic of Korea from 25 May to 7 July in 2016. Ac = 9Z,11*E*-14:OAc, C25 = C25 pentaene. Bars followed by different letter indicate statistically significant difference (Tukey's HSD test, $F_{7,24}$ = 21.745, P < 0.0001, n = 4). Error bars mean SEM.

3.2.4.2. 기주유래 휘발성분의 상승효과 검정

페로몬에 대한 (±)-limonene, myrcene, (-)-*a*-pinene 등 기주유래 주요 휘발성분 3종의 상승효과를 검정하였다. 3종 화합물을 페로몬과 함께 혼 용 시 각 트랩별 평균 유인 개체수는 각각 23.8, 14.0, 18.3개체로 페로몬 단일처리(8.8개체)보다 많은 개체가 유인되었고, pheromone + (±)-limonene 조합에서 보다 강한 유인효과가 확인되었다(F_{3,12} = 4.049, *P* = 0.033) (Figure 16).



Figure 16. Mean (±SEM) number of male *Dioryctria abietella* captured in delta traps baited with pheromone + (±)-limonene, pheromone + myrcene, pheromone + (-)-*a*-pinene, and pheromone alone in Chuncheon, Gangwon province, Republic of Korea from 21 May to 23 June 2019. Bars followed by different letter indicate statistically significant difference (Tukey's HSD test, $F_{3,12} = 4.049$, P = 0.033, n = 4). Error bars mean SEM.

3.2.4.3. 트랩 유형별 유인효과 비교

윙트랩, 다이아몬드 트랩, 버켓트랩, 델타트랩 등 트랩 유형에 따른 솔 알락명나방 성충의 유인력을 비교한 결과, 각 트랩별 평균 포획 개체수 는 각각 44.8, 26.3, 23.3, 1.0개체로 버켓트랩을 제외한 모든 트랩에 효과 적으로 포획되었다(F_{3.12} = 9.77, *P* < 0.0001) (Figure 17).



Figure 17. Mean (±SEM) number of male *Dioryctria abietella* captured in wing, diamond, bucket, and delta traps baited with pheromone in Chuncheon, Gangwon province, Republic of Korea from 25 May to 7 July 2017. Bars followed by different letter indicate statistically significant difference (Tukey's HSD test, F3,12 = 9.77, P < 0.0001, n = 4). Error bars mean SEM.

4. 고찰

솔알락명나방의 더듬이 미세구조를 분석하여 총 7종의 감각모를 확인 하였다. 이 가운데 털 감각기, 구두주걱형 감각기, 돌기함몰형 감각기 등 3개의 감각모 표피벽에 구멍이 발달한 것을 확인하였다. 이에, 상기 3종 의 감각모는 솔알락명나방의 후각 기능과 연관이 있음을 시사한다. 선행 연구에 따르면, 털 감각기는 주로 페로몬을 인지하는 것으로 보고되었다 (Keil, 1989; Dolzer et al. 2003; Chang et al. 2016). 솔알락명나방의 털 감각기는 형태적 특성에 따라 2가지 부속감각기로 구분되었으며, 부속감 각기 1은 수컷에서만 분포가 확인되었고 부속감각기 2는 암컷과 수컷 모 두에서 분포가 확인되었다. 이는 Pectinophora gossypiella (Cook et al. 1980), Ostrinia nubilalis (Cornford et al. 1973), Sitotroga cerealella (Ma et al. 2017)에 대한 기재와 유사하였다. 솔알락명나방 암컷과 수컷 에 대하여 성페로몬 2물질(9Z,11E-14:OAc, C25 pentaene)에 대한 전기생 리 반응을 확인한 결과, 수컷의 경우, 9Z,11E-14:OAc에 대하여 매우 높 은 EAG 반응이 유발되었고, 암컷은 C25 pentaene에 대하여 높은 반응 이 유발되었다. 솔알락명나방 암컷과 수컷 털 감각기의 부속감각기별 분 포밀도가 현저히 차이가 있다는 점을 고려할 경우, 부속감각기 1은 9Z,11E-14:OAc을 인지하고, 부속감각기 2는 C25 pentaene을 인지하는 기능을 담당할 것으로 생각된다. 추후, 단일섬모 기록법(single sensillum recording; SSR)을 통하여 9Z,11E-14:OAc와 C25 pentaene의 단일 감각 모에 대한 전기생리 반응을 확인할 필요가 있다.

구두주걱형 감각기는 주로 기주식물로부터 유발되는 휘발성 물질을 인 지한다(Anderson *et al.* 2000; Ansebo *et al.* 2005). 잣나무 구과 주요 휘 발성 물질 3종(*a*-pinene, myrcene, (±)-limonene)에 대한 솔알락명나방 암/수별 EAG 반응을 확인한 결과, 휘발성 물질을 인지할 수 있는 최소 농도가 높은 것을 확인하였다. 이는 기주식물의 휘발성 물질을 인지하는 구두주걱형 감각기가 페로몬을 인지하는 털 감각기보다 훨씬 적은 밀도 로 분포하였기 때문으로 생각된다.

본 연구에서 솔알락명나방 한국 개체군 역시 유럽 개체군(Löfstedt et

al. 1983, 2012)에서 보고된 2종의 페로몬(9Z,11E-14:OAc, C25 pentaene) 을 성페로몬으로 이용하는 것을 확인하였다. 페로몬샘 분석 결과 가스크 로마토그램 상 각 물질의 비율은 1:23으로 유럽 개체군의 비율(1:25)과 매우 유사하였다(Löfstedt *et al.* 2012). *Dioryctria* 속 다수의 종에서 성 페로몬의 지리적 변이가 보고되었다. *D. abietivorella* western North America 개체군은 1:10 조합의 9Z,11E-14:OAc, C25 pentaene에서 가장 높은 유인력을 보였지만(Strong *et al.*, 2008), western North America 개체군은 9Z-14:AC을 추가한 조합에서 활성이 나타났다 (Grant *et al.* 2009). 본 시험 결과 솔알락명나방에 유인력이 가장 높은 9Z,11E-14:OAc 와 C25 pentaene의 비율은 1:10~1:30이었으며, 이는 Löfstedt *et al.* (2012)의 결과와 차이가 없어, 솔알락명나방 한국 개체군과 유럽 개체군 간 페로몬의 지역적 변이는 없는 것으로 확인되며, 추후 지역적 유전자 변이에 관한 비교시험이 필요하다.

솔알락명나방 암컷에서 성페로몬 성분인 C25 pentaene에 대하여 EAG 반응이 유발되는 autodetection이 확인되었다. *Grapholita molesta*, *Choristoneura rosaceana, Choristoneura fumiferana* 등 일부 곤충에서 페로몬에 대한 autodetection이 보고된 바 있다(Palanaswamy and Seabrook 1978; Stelinski *et al.* 2014). Autodetection은 페로몬을 생산하 는 개체에 있어서 다양한 행동학적 반응을 유발한다(Holdcraft *et al.* 2016). Palanaswamy and Seabrook (1978)은 암컷 *C. fumiferana*에 동종 의 성페로몬을 처리하여 antennal grooming, 산란관 돌출 등의 행동특성 이 유발되는 것을 확인하였으며, Sanders (1987), Stelinski *et al.* (2014) 는 *C. fumiferana, G. molesta, C. rosaceana*의 암컷 개체에 성페로몬을 처리한 결과 비행시간이 증가하는 것을 보고하였다. 본 연구에서 솔알락 명나방 암컷이 C25 pentaene에 대하여 높은 전기생리적 반응이 유발된 것을 근거로 추후 autodetection에 대한 행동학적 시험을 진행할 필요가 있다.

트랩의 형태는 다양한 곤충의 포획에 큰 영향을 준다(김과 박 2013; Malo *et al.* 2001; Strong *et al.* 2008). 트랩의 유형에 따라 방출되는 페 로몬 냄새 기둥의 형태가 변화하며, 델타트랩의 경우 가늘고 긴 형태의 냄새기둥을 형성하고 펀넬트랩(Covered-funnel trap)은 넓은 형태의 냄새 기둥을 형성한다(Lewis and Macaulay 1975). 본 연구에서 델타트랩, 다 이아몬드 트랩, 윙트랩, 버켓트랩 등 4종의 페로몬 트랩의 솔알락명나방 포획능력을 비교한 결과, 버켓트랩을 제외한 모든 트랩의 포획능력이 우 수한 것으로 확인되었다. 버켓트랩은 펀넬트랩과 유사한 구조의 트랩으 로, 버켓트랩 사용 시 트랩으로부터 방출되는 페로몬 냄새 기둥이 넓게 형성되어 솔알락명나방의 유인력을 감소시킨 것으로 생각된다.

곤충은 먹이를 탐색하는 과정에 있어 기주로부터 유발되는 다양한 신 호 화합물을 활용한다. Yang et al. (2004)은 페로몬과 기주식물의 휘발 성분인 (E)-β-farnesene과 linalool을 함께 사용하여 Cvdia pomonella (Lepidoptera: Tortricidae)의 유인력이 크게 향상됨을 보고하였고, Ju et al. (2017)은 페로몬과 기주 휘발성분 (E)-2-hexenvl acetate를 함께 사용 하여 Holotrichia parallela (Coleoptera: Melolonthidae)의 반응이 증가하 는 것을 확인하였다. a-Pinene, myrcene, (±)-limonene 등 침엽수로부터 발생하는 모노테르페노이드는 다양한 침엽수 해충의 카이로몬으로써 작 용한다. 소나무재선충병의 매개충인 솔수염하늘소와 북방수염하늘소는 페로몬과 a-pinene을 함께 사용할 경유 유인력이 증가하는 것으로 확인 되었고(Lee et al. 2017, 2018), a-pinene과 myrcene은 western white pine 의 주요 천공성 해충인 Dendroctonus ponderosae (Coleoptera: Scolytidae)의 카이로몬으로 보고되었다(Miller and Lindgren, 2000). Miller (2007)는 (±)-limonene을 구과해충인 Conophthorus coniperda (Coleoptera: Scolytidae)의 페로몬[(+)-E-pityol]의 유인력을 증가시키는 카이로몬으로 보고하였다. 본 연구에서 솔알락명나방에 대한 잣나무 구 과 주요 휘발성 물질 3종(*a*-pinene, myrcene, (±)-limonene)의 EAG 반응 을 확인하였고 이 가운데 (±)-limonene이 성페로몬의 유인력을 크게 향 상 시키는 것을 최초로 확인하였다.

이상의 결과로, 성페로몬 2물질(9*Z*,11*E*-14:OAc, C25 pentaene)을 1:25 의 질량 비율로 혼합하고, (±)-limonene을 함께 사용하면 솔알락명나방 한국 개체군의 효율적인 모니터링이 가능하다. 이를 통해 농약 살포 적 기를 파악하여 효과적인 솔알락명나방 방제가 가능할 것이다. 또한 본 연구에서 밝힌 성페로몬은 추후 환경친화적 방제제인 교미교란제 개발을 위한 원천기술로 활용될 수 있다.

5. 결론

침엽수 주요 구과해충인 솔알락명나방의 정밀 발생 모니터링 기법을 개발하고자 더듬이 감각기 구조 동정, 페로몬과 협력제의 동정 및 야외 유인력 검정을 진행한 본 연구의 결론은 아래와 같다.

- 솔알락명나방의 더듬이 감각기를 주사전자현미경과 투과전자현미경을 통해 관찰한 결과 화학물질을 인지하는 감각기로써 털 감각기, 구두주 걱형 감각기, 돌기함몰형 감각기 등 3개의 감각기를 확인하였다. 이 중, 페로몬을 인지하는 감각기는 털 감각기로 추정된다. 하지만 추후 단일섬모기록법(single sensillum recording)을 통하여 실제로 페로몬 물질에 대하여 반응을 하는지에 관한 추가적인 연구가 요구된다.
- 2. 솔알락명나방 한국 개체군의 성폐로몬 2물질 9Z,11E-14OAC와 C25 pentaene을 동정하였고 각 물질의 질량분석기 상 비율은 1:23이었다. 솔알락명나방에 대한 각 물질의 전기생리 반응을 확인한 결과, 수컷의 경우 acetate에 대하여 높은 반응이 유발되었고, 암컷은 C25 pentaene 에 대하여 높은 반응이 유발되었다. 이는 암/수별 폐로몬을 인지하는 더듬이 감각기의 분포 차이에서 유발한 것으로 생각된다.
- 2년생 잣나무 구과 휘발성분으로부터 페로몬의 유인력을 증진할 수 있는 협력제인 (±)-limonene을 동정하였고, 페로몬과 함께 적용하면 솔알락명나방 정밀 발생 모니터링이 가능하다.
- 4. 트랩 유형별 솔알락명나방 포획력을 비교한 결과, 델타트랩을 제외한 윙트랩, 다이아몬드트랩, 델타트랩의 포획력이 우수한 것으로 확인되 었다. 작업의 편리성을 고려할 경우, 다이아몬드 트랩과 델타트랩 사 용이 권장된다.
- 5. 이상의 결과로 본 연구는 솔알락명나방의 정밀모니터링 기법을 확립

하였으며, 지속적인 예찰을 통한 정확한 발생시기 파악이 가능하고 이 에 따른 방제전략 수립이 가능하다.

제 4 장 솔껍질깍지벌레 감각모 분석 및 모니터링 기법 개발

1. 서론

솔껍질깍지벌레(Matsucoccus matsumurae)는 노린재목 솔껍질깍지벌레 과(Coccomorpha: Matsucoccidae)에 속하는 흡즙성 해충으로, 암수의 생 활사가 서로 다른 특징을 갖는다. 곰솔, 소나무 등 소나무류의 가지를 흡 즙 가해하며, 11월~3월 후약충 시기에 가장 큰 피해를 준다. 피해목은 하부 가지부터 고사하여 갈변한다. 솔껍질깍지벌레의 피해는 1963년 전 남 고흥에서 최초로 보고되었으며 전국으로 확대 중에 있으며, 남해안 전역과 동해안의 포항, 서해안의 충남 보령지역까지 분포한다(임 등 2012). 솔껍질깍지벌레의 예방 및 방제는 아바멕틴, 에마멕틴벤조에이트, 이미다클로프리드 등 침투이행성이 있는 살충제의 수간주사를 통해 이루 어진다. 이 등(2008)은 아바멕틴(1.8% EC), 에마멕틴벤조에이트(2.15% EC)에 대한 솔껍질깍지벌레의 방제가를 조사하여 각각 89.1%와 91.4% 의 방제가를 확인하였다. 하지만, 유기합성농약의 과도한 사용은 환경 및 인축독성, 생물축적, 잔류 등 다양한 사회적 문제점을 유발한다. 산림이 라는 특성 상 인공합성 살충제의 사용은 매우 제한적으로 이루어져야 하 며, 안전하고 효율적인 방제를 위해서는 지속적인 모니터링을 통한 방제 적기 파악이 필수적이다.

솔껍질깍지벌레의 페로몬은 (2*E*,4*E*)-4,6-10,12-tetramethyl-2,4-tridecadiene-7-one 으로, 1989년 최초 동정 되었으나(Lanier *et al.* 1989), 합성의 어려움으로 인하여 상용화되지 못하였다. 따라서, 솔껍질깍지벌레의 모니터링은 산림 예찰원의 육안 조사에 의한 난낭수 파악을 통해 이루어지고 있다. 하지 만 솔껍질깍지벌레의 난낭은 대부분 수관 상층부에 분포하고 있다는 특 성상(고와 박 2017), 육안조사를 통한 솔껍질깍지벌레의 모니터링은 매 우 부정확하고, 많은 사회적 비용을 필요로 한다.

따라서, 본 연구는 솔껍질깍지벌레의 성페로몬을 활용한 정밀 모니터 링기법 개발을 위하여 성페로몬인 matuone [(6*R*,10*R*)-1]을 포함한 4가지 이성질체가 혼합된 racemic matuone [(6*R*/*S*,10*R*/*S*)-1]의 새로운 합성법 을 개발하여 합성과정을 간소화하였다. 또한 기존의 2방향 트랩을 개량 한 8방향 트랩을 개발하여 포획효율을 증진하였으며 트랩 설치방법 등을 구체화하였다. 솔껍질깍지벌레의 후각인지 관련 작용기작 연구의 기초자 료를 제공하기 위하여 더듬이 감각기의 내/외부 미세구조를 동정하였다. 특히, 본 연구에서 개발된 솔껍질깍지벌레 성페로몬 트랩과 기계적 학습 법을 통해 성페로몬 트랩에 잡힌 솔껍질깍지벌레 포획 개체수를 자동으 로 계수하는 프로그램을 적용함으로써 국내 솔껍질깍지벌레의 전국단위 모니터링을 진행하여 각 시/군별 솔껍질깍지벌레의 분포 및 발생시기를 확인하였다. 본 연구는 솔껍질깍지벌레 정밀 발생 모니터링을 위해 성페 로몬 트랩을 개발하고 현장 적용시험을 수행하였으며, 이를 통해 성페로 몬 트랩을 이용한 체계적인 솔껍질깍지벌레 밀도 관리가 가능하다는 것 을 보여주었다.

2. 재료 및 방법

2.1. 솔껍질깍지벌레 더듬이 감각기 분석

주사전자현미경과 투과전자현미경을 이용하여 솔껍질깍지벌레 암컷과 수컷 더듬이의 감각기 미세구조를 촬영하였다(N=5). 실험에 사용한 공시 충은 전라북도 군산(N35°57′55″, E126°33′20″)에서 채집하였다. 전 처리, 영상 촬영 및 더듬이 감각모의 측정은 상기 솔알락명나방의 분석 방법과 동일한 방법으로 진행하였다.

2.2. 솔껍질깍지벌레 성페로몬 합성법 간소화

2.2.1. 화합물

(6*R*, 10*R/S*)-matsuone과 racemic matsuone [(6*R/S*, 10*R/S*)-matsuone] 의 합성에 사용한 원료는 Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI)와 Tokyo Chemical Industry Co., Ltd. (Tokyo, Japan)에서 구입하였다(Table 8). ¹H NMR 및 ¹³C NMR 분광 데이터는 Advance 400 MHz spectrometer (Bruker, Berlin, Germany)를 이용하여 측정하였고 용매는 CDCl₃을 이용 하였다.

합성물의 순도 분석은 gas chromatography (7890B GC, Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA)-mass spectrometry (Agilent 5977) 를 사용하였다. 컬럼은 DB-5 MS capillary column (30 m × 0.25 mm i.d. × 0.50 µm film thickness; J&W GC column; Agilent)을 사용하였고 운반기체는 헬륨가스(1.0 ml/min)를 사용하였다. 분석을 위한 주입구, 오 븐 및 mass spectrometery 조건은 Table 9, 10과 같다. (6*R*, 10*R/S*)-matsuone과 racemic matsuone의 Kovats 머무름 지수(KIs)는 FID가 부착된 gas chromatography (7890N, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 n-alkane (C17-C21)을 기준으로 산출하였다. 운반기체는 헬륨 가스(1.0 ml/min)를 이용하였다.

Chemicals	Purity (%)	Source
trimethyl phosphonoacetate	98	Sigma-Aldrich
sodium hydride	dry, 95	Sigma-Aldrich
lithium aluminum hydride	powder, 95	Sigma-Aldrich
phosphorus tribromide	99	Sigma-Aldrich
pyridine	99.8	Sigma-Aldrich
methyl 2-bromopropionate	98	Sigma-Aldrich
zinc	≥ 98	Sigma-Aldrich
triethylamine	≥ 99	Sigma-Aldrich
methanesulfonyl chloride	98	Sigma-Aldrich
diisopropylamine	≥ 98	Sigma-Aldrich
n-butyllithium solution	1.6 M in hexanes	Sigma-Aldrich
potassium hydroxide	≥ 85	Sigma-Aldrich
N,N'-dicyclohexylcarbodiimide	99	Sigma-Aldrich
N,O-dimethylhydroxylamine hydrochloride	98	Sigma-Aldrich
magnesium turnings	99.95	Sigma-Aldrich
ethyldiphenylphosphine oxide	97	Sigma-Aldrich
cerium(III) chloride heptahydrate	≥ 98	Sigma-Aldrich
(carbethoxyethylidene) triphenyl phosphorane	94	Sigma-Aldrich
methyl (S)-(+)-3-hydroxyisobutyrate	≥ 99	Tokyo Chemical Industry
1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethy lcarbodiimide hydrochloride	≥ 98	Tokyo Chemical Industry
4-methyl-2-pentanone	≥ 99.5	Tokyo Chemical Industry
3,5-dimethylcyclohexanone	≥ 98	Tokyo Chemical Industry
4-methyl-2-pentanol	≥ 98	Tokyo Chemical Industry

Table 9. List of chemicals used for synthesis of sex pheromone and field attraction test for *Matsucoccus matsumurae*

Instrument		Condition
	Inlet	250°C
	Oven	70°C
		Held 1 min
		$70^{\circ}C \sim 180^{\circ}C$
Cas almonto merilior		(Increase 25°C/min)
Gas chromatography		$180^{\circ}C \sim 220^{\circ}C$
		(Increase 5°C/min)
		$220^{\circ}C \sim 260^{\circ}C$
		(Increase 25°C/min)
		Held 10 min

Table 10. Gas chromatography condition for analysis of (6R, 10R/S)-matsuone and racemic matsuone

Table 11. Gas chromatography mass spectrometery condition for analysis of (6R, 10R/S)-matsuone and racemic matsuone

Instrument		Condition
	Inlet	250°C
		70°C
		Held 1 min
Gas chromatography	Oven	70°C ∼180°C
		(Increase 10°C/min)
		Held 10 min
	Ionization Voltage	70 eV
Mass spectrometery	Source temperature	230
	Scan range	1-5 amu

2.2.2. (6R,10R/S)-matsuone의 합성

(2*E*,4*E*,6*R*)-4,6,10,12-tetramethyltrideca-2,4-dien-7-one (<u>1</u>)은 중간물질인 Weinreb amide (<u>14</u>)와 3,5-dimethylhexyl bromide (<u>5</u>)를 결합하여 합성 하였다(Figure 18, Kurosawa *et al.* 2000).



Figure 18. Synthetic scheme of (6R,10R/S)-matsuone. a) (EtO)2P(O)CH2CO2Et, NaH, THF, 76%; b) LAH, THF, 78%; c) PBr3,pyridine, 64%; d) TBSCl, CH2C12, 98%; e) DIBAL-H, −78°C. imidazole, DMF, quan.; f) Ph3P=C(Me)CO2Et, benzene, 67%; g) Ph2P(O)Et, n-BuLi, -78°C, 76%; h) CeCl3·7H2O, NaBH4, EtOH, -78°C, 51%; i) 1) NaH, DMF; 2) TBAF, THF, 47%; i) PDC, DMF, 85%, k) N,N-dimethylhydoxylamine hydrochloride, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride, DMAP, CH2Cl2, 0°C, 49%, 1) Mg, THF, -20°C, 63% (Purity 97%).

(1) 3,5-dimethylhexyl bromide (5)의 제조

4-methylpentan-2-one (2)을 시작물질로 하여 Wittig-Horner 반응을 통 해 불포화 ester (3)를 합성하였다. 이후, lithium aluminum hydride (LAH)를 첨가하여 포화 alcohol (4)를 합성하였고, phosphorus tribromide과 반응하여 브롬화합물(5)을 합성하였다.

(2) Weinreb amide (<u>14</u>)의 제조

Methyl (*S*)-2-methyl-3-hydroxylpropanoate (<u>6</u>)로부터 파생된 tert-buty ldimethylsilyl (TBS) ester (<u>7</u>)는 DIBAL-H를 통해 환원하여 aldehyde (<u>8</u>)로 전환하였다. 이후, Wittig-Horner 반응을 통해 unsaturated ester (<u>9</u>)로 전환하였고, ethyl diphenylphisphane oxide와 올레핀화 반응을 통 해 chiral dienol (<u>12</u>)을 합성하였다. Chiral dienol (<u>12</u>)과 pyridinium dichromate (PDC)를 반응하여 비정제 화합물(<u>13</u>)을 합성하였고, 표준조 건에서 *N*,*O*-dimethylhydroxylamine과 반응하여 Weinreb amide (<u>14</u>)를 합성하였다.

2.2.3. Racemic matsuone의 합성

(2E, 4E)-4,6,10,12-tetramethyl-2,4-tridecadien-7-one (1)은 중간물질인
(3E, 5E)-N-methoxy-N,2,4-trimethylhepta-3,5-dienamide (7)와 3,
5-dimethylhexyl bromide (8)를 결합하여 합성하였다(Figure 19).



Figure 19. Synthetic scheme of racemic matsuone. (A) Zn, THF, 70°C, 86%; (B) MsCl, triethylamine (TEA), CH2 Cl2, 0°C, 93%; (C) LDA, THF, -45°C, 64%; (D) KOH, MeOH, 78%; (E) DCC, *N*, *O*-dimethylhydroxylamine hydrochloride, TEA, CH2 Cl2, 85%; (F) Mg, THF, -78°C, 86%.

(1) Methyl (4*E*)-3-hydroxy-2,4-dimethylheptenoate ($\underline{4}$)의 제조

2구 플라스크에 Zn 500 (7.19 g. 110 무수 ml mmol)을 tetrahydrofuran (이하 THF) (150 ml)에 용해하였다. 질소를 충진한 상 태에서 methyl 2-bromopropionate (3) (14.83 g, 88.8 mmol)와 (2E)-2-methylpentenal (2) (6.74 g, 60.1 mmol)을 적가하였다. 30분간 교 반 후, 반응온도를 70℃ 까지 승온하였으며, 4시간 동안 추가 교반하였 다. 감압농축하여 용매를 제거한 후 ethyl acetate (EtOAc, 200 ml)에 용 해한 뒤 증류수를 이용하여 세척 분리하였으며 건조 후 농축하였다. 여 액은 실리카겔 컬럼 정제하여 표제화합물(4) 9.6 g (순도 86%)을 수득하 였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl3): & 5.52-5.37 (m, 1H), 4.15-04 (m, 1H), 3.70 (s, 3H), 2.70-2.61 (m, 1H), 2.03 (m, 2H), 1.58 (s, 3H), 1.14-1.02 (d, J = 6.9Hz , 3H), 0.94 (t, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl3): 8 175.96, 133.21, 128.94, 51.64, 43.07, 20.74, 13.91, 12.80, 12.12, 8.79.

(2) Methyl (3E,5E)-2,4-dimethylheptadienoate (<u>6</u>)의 제조

무수 dichloromethane (50 ml)에 상기 제조한 (4*E*)-hydroxy ester (<u>4</u>) (5.58 g, 30.0 mmol)를 용해한 후 질소 충진 후 상온에서 trimethylamine (6.30 ml, 45.0 mmol)을 적가하였다. 10분간 교반한 후, 0°C에서 methanesulfonyl chloride (2.67 ml, 34.5 mmol)를 한 방울씩 적가하였다. 반응물은 상온에서 12시간동안 교반하였고, dichloromethane (2 × 50 ml) 으로 추출하였다. 유기층은 5% HCI로 세척하고 무수 Na₂SO₄로 건조하 였다. 용매를 제거하여 다음 반응에 사용할 sulfonyl ester (7.34 g, 93%) 를 수득하였다. 무수 THF에 diisopropylamine (12.10 ml, 69.4 mmol)을 용해한 후, 반응온도를 -45°C로 유지하며 질소를 충진한 상태에서 n-BuLi (25.55 ml, 63.9 mmol, 2.5M in hexanes)을 적가하였다. 30분간 교반하여 반응하였으며, 이후 무수 THF (20 ml)에 상기 제조한 sulfonyl ester를 용해하여 천천히 적가하였다. -45°C의 반응조(PSL-1810, EYELA, Tokyo, JAPAN)에서 2시간 동안 교반하였다. 반응물은 상온에 서 자연승온 하며 15시간동안 교반하여 THF를 완전히 제거하였다. 잔여 물은 포화 NH4Cl처리한 후, dichloromethane (2 × 50 ml)으로 추출하였 다. 유기물층을 증류수로 세척한 후 무수 Na₂SO₄로 건조하였으며 실리 카겔 컬럼(hexane/EtOAc, 90:10)으로 정제하여 7:3 비율로 혼합된 methyl (3*E*, 5*E*)-2, 4-dimethylheptadienoate (<u>6</u>)와 methyl (3*E*, 5*Z*)-2, 4 -dimethylheptadienoate (<u>6</u>)를 수득하였다(수율 64%, 3.22g). Methyl (3*E*,5*E*)-2,4-dimethylheptadienoate (<u>6</u>): ¹H NMR (400 MHz, CDCl3): δ 6.03 (d, J = 15.6Hz, 1H), 5.67-5.60 (m, 1H), 5.31 (d, J = 9.4Hz, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.45-3.40 (m, 1H), 1.80-1.72 (m, 6H), 1.21 (d, J = 7.0Hz, 3H). Methyl (3*E*,5*Z*)-2,4-dimethylheptadienoate (<u>6</u>): ¹H NMR (400 MHz, CDCl3): δ 6.38 (d, J = 15.4Hz, 1H), 5.78-5.72 (m, 1H), 5.20 (d, J = 9.6Hz, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.58-3.54 (m, 1H), 1.80-1.72 (m, 6H), 1.21 (d, 3H).

(3) (3*E*, 5*E*)-*N*-methoxy-*N*,2,4-trimethylhepta-3,5-dienamide (<u>7</u>) 의 제조

상기 제조한 diene-ester isomers (<u>6</u>) (3.00 g, 17.8 mmol)를 메탄올 (30 ml)에 용해한 후 KOH (1.50 g, 26.8 mmol)를 상온에서 적가하여 12 시간 교반하였다. 교반 후 메탄올을 감압농축하여 제거하였다. 반응물은 EtOAc (50 ml)에 용해하였고 묽은 염산으로 산성화하였다. 이후, 증류수 를 이용하여 세척 및 건조, 농축을 진행하였다. 반응물은 실리카겔 컬럼 (hexane/EtOAc, 90:10)을 통해 정제하여 2.14 g의 (3*E*, 5*E*)-2,4-dimethyl heptadienoic acid (순도 78%)를 수득하였다. ¹H NMR (400 MHz, CDCl3): δ 6.06 (dd, J = 15.6, 0.98Hz, 1H), 5.71-5.64 (m, 1H), 5.34 (d, J = 9.2Hz, 1H), 3.48-3.43 (m, 1H), 1.78-1.75 (m, 6H), 1.25 (d, J=7.0Hz, 3H). 상기 제조한 (3*E*, 5*E*)-2,4-dimethylheptadienoic acid (2.00 g, 13.0 mmol)를 무수 dichloromethane (30 ml)에 용해한 후 질소충진하여 *N*,*N*'-dicyclohexylcarbodiimide (DCC, 3.21 g, 15.6 mmol)를 상온에서 적 가하여 30분간 교반하였다. 이후, *N*, *O*-dimethylhydroxylamine hydrochloride (1.52 g, 15.6 mmol)와 triethylamine (3.15 g, 31.1 mmol)을 적가하여 30분간 교반하였으며, 40°C까지 승온한 후 3시간 동안 추가 교 반하였다. 이후, 5% HCl (10 ml)을 적가하였고 혼합물은 dichlormethane (3 × 50 ml)을 이용하여 추출하였다. 유기물층은 5% NaHCO₃ (20 ml), 물, 포화염화나트륨 수용액으로 세척, 건조 후 농축하였다. 잔존물은 실 리카겔 컬럼(hexane/EtOAc, 80:20)으로 정제하여 목적 화합물(<u>7</u>) 2.18 g 을 수득하였다(순도 85%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl3): δ 6.04 (d, J = 15.6Hz, 1H), 5.68-5.54 (m, 1H), 5.37 (d, J = 9.7Hz, 1H), 3.93-3.82 (m, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.14 (s, 3H), 1.77-1.72 (m, 6H), 1.16 (d, J = 6.90Hz, 3H).

(4) (2E,4E)-4,6,10,12-tetramethyl-2,4-tridecadien-7-one (1)의 제조

100 ml 2구 플라스크에 THF (20 ml)에 magnesium turnings (0.40 g, 16.5 mmol)을 넣은 후 질소 충진하여 1-bromo-3,5-dimethylhexane (2.45 g, 12.69 mmol)을 한 방울씩 적가하였고, 50°C에서 1시간 동안 교반하였 다. 이후, 상기 제조한 (3E,5E)-N-methoxy-N,2,4-trimethylhepta-3,5-dienamide (7) (1.00 g, 5.1 mmol)를 THF (5 ml)에 용해한 후 -78℃ 조건에서 적가 하여 1시간 동안 교반하였다. 생성된 물질은 상온에서 교반하며 overnight 하였다. 잔존물은 포화 NH_4Cl (5 ml)로 조심스럽게 처리하여 dichloromethane (3 × 50 ml)으로 추출하였다. 유기물층은 증류수를 이용하 여 세척하였고 무수 MgSO4으로 건조하였다. 잔존물은 실리카겔 컬럼 (hexane/EtOAc, 80:20)으로 정제하여 두 가지 이성질체 (2E,4E)-4,6,10,12 -tetramethyl-2,4-tridecadien-7-one와 (2E, 4Z)-4,6,10,12-tetramethyl-2,4-tri decadien-7-one이 68.75 : 26.08로 혼합된 목적화합물 (2E, 4E)-4,6,10,12 -tetramethyl-2,4-tridecadien-7-one (1) (1.10 g)을 수득하였다. (2E)4E)-4,6,10,12-tetramethyl-2,4-tridecadien-7-one: ¹H NMR (400)MHz. CDCl3): δ 6.07 (d, J = 15.6Hz, 1H), 5.72-5.64 (m, 1H), 5.21 (d, J = 9.6Hz, 1H), 3.52-3.47 (m, 1H), 2.44-2.38 (m, 2H), 1.83-1.77 (m, 6H), 1.67-0.92 (m,11H), 0.85-0.74 (m, 7H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl3): 6 212.38, 135.73, 135.58, 128.88, 124.37, 46.72, 46.66, 46.60, 38.67, 38.62, 31.24, 30.13, 25.36,
22.47, 22.42, 19.77, 19.69, 18.45, 16.83, 16.80. EIMS m/e (%): 250(M+, 4), 141(6), 123(28), 110(10), 109(100), 81(20), 79(11), 77(8), 67(27), 57(11), 55(17). (2*E*, 4*Z*)-4,6,10,12-tetramethyl-2,4-tridecadien-7-one: ¹H NMR (400 MHz, CDCl3): δ 6.47 (d, J = 15.6Hz, 1H), 5.87-5.77 (m, 1H), 5.08 (d, J = 10.1Hz, 1H), 3.69-3.61 (m, 1H), 2.44-2.38 (m, 2H), 1.83-1.77 (m, 6H), 1.67-0.92 (m,11H), 0.85-0.74 (m, 7H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl3): δ 212.55, 134.40, 128.05, 127.72, 126.99, 45.69, 45.65, 38.55, 38.44, 23.72, 23.55, 23.52, 22.43, 21.02, 18.95, 17.03, 16.94. EIMS m/e (%): 250(M+, 3), 141(6), 123(29), 110(9), 109(100), 81(19), 79(11), 77(8), 67(28), 57(11), 55(17).

2.3. 야외 유인력 검정

야외 유인력 검정은 2016년, 2017년, 2018년 전라북도 군산시(N35°57 ' 55 ", E126°33 ' 20 ")와 충청남도 태안군(N36°47 ' 1 ", E126°07 ' 54 ") 의 곰솔 임분에서 진행하였다. 솔껍질깍지벌레 성페로몬의 야외 유인력 을 조사하기 위하여 기존에 보고된 8방향 트랩을 개선하여 Figure 20A 와 같은 트랩을 제작하였다. 솔껍질깍지벌레를 포획하기 위한 트랩판은 단프라박스를 만드는 플라스틱판을 이용하여 제작하였다(26 cm × 18 cm). 제작된 트랩판에 3M 양면테이프를 부착하여 솔껍질깍지벌레 수컷 성충을 포획하였다. 이후, 트랩을 개량하여 노란색의 양면 끈끈이 접착제 (11 cm width × 15.5 cm height)가 4방향으로 부착된 8방향 끈끈이트랩 (KIP, Daejeon City, Republic of Korea)을 이용하였다(Figure 20B). 동 일 조사구 내 트랩 설치 간격은 15~20 m 이었으며, 조사구 간 간격은 50 m, 시험구간 간격은 500 m 이었다. 채집된 곤충은 수거한 후 개체수 를 확인한 후 one-way ANOVA를 진행하였고, 사후검정은 Tukey's HSD test를 사용하였다(SAS v. 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC).



Figure 20. Eight-sided sticky trap. Proto type (A) and commercial product (B).

2.3.1. 성페로몬 처리량에 따른 솔껍질깍지벌레 유인효과 검정

(6*R*, 10*R/S*)-matsuone의 처리량에 따른 유인효과 조사는 2016년 4월 4일~28일까지(50, 100 200, 400 μg/septum) 충남 태안(N36°47'1", E126°07'54), 2017년 4월 14일~28일 까지(400, 800, 1,600, 3,200 μ g/septum) 전북 군산(N35°57'55", E126°33'20"), 2018년 4월 2일~5 월 10일까지(3,000, 4,000, 5,000, and 6,000 μg/septum) 전북 군산(N35°5 7'55", E126°33'20")에서 진행하였고, racemic matsuone의 처리량에 따른 유인효과 조사는 2017년 4월 14일~28일까지(400, 800, 1,600, 3,200 µg/septum) 전북 군산(N35°57'55", E126°33'20")에서 진행하였다. 각 페로몬과 동일한 양의 butylated hydroxyltoluene (BHT, Alfa Aesar, Lancs, United Kingdom)을 hexane에 용해 후 rubber septa (bottom I.D. × O.D. 2.4 mm × 5.3 mm, Sigma Aldrich, Milwaukee, WI)에 처리 하였다. 트랩은 지제부로부터 50 cm 높이에 케이블타이(8.8 mm width) 로 설치하였다. 위치효과를 최소화 하기 위하여 각 트랩의 위치를 조사 기간 중 1회(2016년 4월 18일, 2017년 4월 14일, 2018년 4월 16일) 재배 열하였다.

2.3.2. 트랩 설치 높이에 따른 솔껍질깍지벌레 유인효과 검정

2016년 4월 4일~28일까지 충남 태안(N36°47′1″, E126°07′54)에서 진행하였다. 루어는 septum당 (6*R*, 10*R/S*)-matsuone과 butylated hydroxyltoluene을 각각 50 µg 처리하여 사용하였으며, 트랩은 지제부로 부터 50, 100, 150 cm 높이에 케이블타이로 설치하였다. 위치효과를 최 소화 하기 위하여 4월 18 트랩의 위치를 무작위로 재배열하였다.



Figure 21. The traps installed at heights of 50, 100, and 150 cm from the ground.

2.3.3. (6*R*, 10*R/S*) matsuone와 racemic matsuone의 유인력 비교

(6*R*, 10*R/S*)-matsuone과 racemic matsuone의 유인효과 비교시험은 2017년 4월 14일~28일까지 전북 군산(N35°57′55″, E126°33′20″)에 서 진행하였다. 루어는 rubber septum에 400 µg의 (6*R*, 10*R/S*)-matsuone과 racemic matsuone을 각각 처리하였으며, 동일한 량 의 butylated hydroxyltoluene 첨가하였다. 트랩은 지제부로 부터 50 cm 높이에 케이블타이로 설치하였고, 위치효과를 최소화하기 위하여 4월 14 일 트랩의 위치를 랜덤으로 재배열하였다.

2.3.4. 트랩 색상에 따른 유인효과 비교

2016년 4월 4일~28일까지 충남 태안(N36°47′1″, E126°07′54)에서 진행하였다. 아래 그림과 같이 흰색, 녹색, 파랑색 그리고 노란색 트랩판 을 제작하여 시험하였고(Figure 22), 루어는 rubber septum당 (6*R*, 10*R/S*)-matsuone과 butylated hydroxyltoluene을 각각 50 μg 처리하여 사용하였다.



Figure 22. Eight-sided sticky trap with different colors.

2.3.5. 기주유래 휘발성분의 상승효과 검정

2018년 4월 2일~5월 10일까지 전북 군산(N35°57′55″, E126°33′2 0″)에서 진행하였다. Figure 23과 같이 곰솔의 주요 휘발성분으로 알려 진 (-)-*a*-pinene, β-pinene, (±)-limonene, myrcene, 3-carene, β -caryophyllene 등 총 6가지 물질을 poly-ethylene sachet에 개별 충진하 여 솔껍질깍지벌레 페로몬(3,000 μg)과 함께 처리 후, 지상부 50 cm에 설치하여 유인되는 개체수를 비교하였다.



Figure 23. Eight-sided sticky trap baited with host plant volatiles (blue sachet)

2.4. 솔껍질깍지벌레 전국 분포조사

2.4.1. 조사지 선정 및 트랩설치

각 시/군당 3개소의 조사지를 선정하였고, 각 조사지 당 1개의 8방향 끈 끈이트랩을 설치하였다. 동일 지번에 3개소의 조사지를 선정하는 것을 원 칙으로 하였으나, 여건상 불가능한 경우 인접한 지번의 임지에 특성을 고 려하여 트랩을 설치하였다. 트랩은 지상부 50 cm 높이에 설치하였고, 조사 지 간 거리는 약 50 m 였다. 트랩은 2022년 1월 25일부터 6월 28일까지 설 치하여 유인되는 솔껍질깍지벌레를 채집하였다. 각 조사지의 지번 및 좌표 는 Figure 24 및 Table A1과 같다. 루어 및 끈끈이 접착 시트는 2주 간격 으로 교체하였으며, 접착 시트를 영상 촬영하여 서울대학교의 딥러닝 서버 에 업로드하였다.



Q.

Figure 24. Locations where the eight-side sticky traps were installed.

2.4.2. 채집 곤충의 계수

홍 등(2021)이 개발한 SSD Mobilenet 640 input모델 기반의 개체수 카 운팅 프로그램을 이용하여 계수하였다. 솔껍질깍지벌레 카운팅을 위하여 Faster R-CNN, SSD 등의 여러 모델들이 테스트 되었고(Table 12), 선 행 결과에 따라 카운팅 속도와 정확도에서 우수한 성능을 보인 SSD Mobilenet 640 input 모델을 이용하였다(Figure 25).



Figure 25. The structure of an SSD Mobilent 640 input model.

Model	Input size	Counting time (s)	Counting error (%)
Faster R-CNN Resnet 101	1024	14.14	2.11
Faster R-CNN Resnet 101	512	9.17	3.69
EfficientDet	1024	14.44	3.37
EfficientDet	512	5.29	3.42
Retinanet50	1024	6.58	3.30
Retinanet50	640	4.78	2.95
SSD Mobilenet v.2	640	3.81	2.32
SSD Mobilenet v.2	320	3.63	3.32

Table 12. Comparison of different models for counting *Matsucoccus matsumurae*

2.4.3. 기온변화에 따른 수컷 성충 발생 시기 비교

기온 정보는 기상청 기상자료개방포털(https://data.kma.go.kr)의 방재 기상관측 데이터를 통하여 확보하였다. 시/군별 월평균 기온을 1월부터 6월까지 수집하였으며, 특정 시/군 내 기온 관측 지소가 2개 이상 존재 하는 경우, 해당 지역 내 모든 지소에서 관측된 월평균 기온의 평균값을 대푯값으로 사용하였다. 이후, 솔껍질깍지벌레 성충 발생량을 로그변환 하여 각 지역별 온도 변화와 비교하였다. 데이터 분석은 ArcGIS (ver. 10.8, Environmental Systems Research Institute, 2020)를 사용하였다.

3. 결과

3.1. 솔껍질깍지벌레 감각기 구조

솔껍질깍지벌레 더듬이는 암/수간 형태적 차이가 존재하였다. 암컷의 더듬이는 염주형(Moniliform)으로 자루마디(scape), 팔굽마디(pedicel), 채 찍마디[filagellum (F1-F7)] 등 총 9마디로 구성되었고, 평균 길이는 673.0 µm (N=3)이었다(Figure 26A). 자루마디(87.1 µm, N=3)와 팔굽마 디(99.5 µm, N=3)는 원통형 모양(Cylindrical shape)이었으며 채찍마디는 Flask-shaped로 말단으로 갈수록 크기가 작아지는 경향을 나타냈다. 수 컷의 더듬이는 털모양(Lash-like)으로 자루마디, 팔굽마디, 채찍마디 (F1-F8) 등 총 10마디로 구성되었고 평균 길이는 1,328.6 µm (N=4)이었 다(Figure 26B). 자루마디(49.18 µm, N=4)는 짧은 원통형(Short cylinder)이었으며 팔굽마디(31.58 µm, N=4)는 반구상(Hemispheric)의 모 양이었다. 채찍마디는 원통형 모양으로 말단으로 갈수록 크기가 작아졌 다.



Figure 26. Overview of the general morphology of male and female antennae of *Matsucoccus matsumurae*. (A) female (B) male.

솔껍질깍지벌레 암/수 더듬이에서 다공형 간상 감각기(Multiporous peg; Mp), 단공형 간상 감각기(Uniporous peg; Up), 다공형 털 감각기 (Multiporus trichodea; Mt) 등 3종류의 화학적 감각 수용체(Chemoreceptor) 와 Böhm's bristles, 홈형 다공형 털감각기(Grooved aporous tricoid sensilla; GAt), 매끈한 다공형 털감각기(Smooth aporous tricoid sensilla; SAt)등 6종류의 기계적 감각 수용체(Mechanoreceptor)가 확인 되었다. 이 가운데, Up, SAt1, SAt2는 암컷 더듬이에서만 확인되었고 Mt, Ks, Bb, GAt는 수컷 더듬이에서만 확인되었다. 암/수 모두에서 확 인된 감각기는 Mp, Ca, 그리고 Ins등 총 3개였다(Table 13). 각 감각모 의 암/수별 분포수는 Table 14와 같다.

Table 13. Classification of sensilla according to functional characteristic of males and females *Matsucoccus matsumurae*

Sensory receptor			Male
	Uniporous pegs (Up)		
Chemoreceptor	Multiporous Pegs (Mp)	0	0
	Multiporous trichoid sensilla (Mt)		0
Mechanoreceptor	Böhm's bristles (Bb)		0
	Campaniform (Ca)	0	0
	Intersegmental sensilla (Ins)		0
	Grooved aprous trichoid sensilla (GAt)		0
	Smooth aporous trichoid sensilla (subtype 1, SAt1)	0	
	Smooth aporous trichoid sensilla	0	0
	(subtype 2, SA(2)) Smooth aporous trichoid sensilla (subtype 3, SA(3))	0	
	Knobbed seta sensilla (Ks)		0

	Male (mean ± S.E.)			Female (mean ± S.E.)				
Sensilla ^a	Number of sensilla		Length	Νι	Number of sensilla			
	Scape	Pedicel	Flagellum	(µm)	Scape	Pedicel	Flagellum	Length
BB	10.5 ± 1.5	_	_	3.7 ± 0.4	_	_	_	-
Ins	-	-	1.5 ± 0.2	1.1 ± 0.6	_	-	_	-
Gat	3.4 ± 0.7	—	_	$12.8~\pm~1.7$	-	-	_	-
Up	_	_	_	_	_	-	4.0 ± 0.2	14.8 ± 2.6
Ca	_	3 ± 2.7	_	1.0 ± 0.3	_	3.0 ± 0.4	_	1.9 ± 0.8
Mp	-	-	5.7 ± 1.2	43.5 ± 8.6	_	-	5.6 ± 0.7	24.6 ± 4.3
Mt	_	_	$102.4~\pm~8.2$	39.2 ± 9.2	_	_	_	_
Sat1	_	_	-	_	6.2 ± 1.4	3.5 ± 0.7	3.7 ± 0.2	10.9 ± 3.2
Sat2	_	5.5 ± 0.8	6.5 ± 3.2	39.8 ± 7.4	_	_	$8.5~\pm~2.1$	30.8 ± 3.8
Sat3	_	_	_	_	-	$4.0~\pm~1.6$	14.2 ± 1.2	18.2 ± 2.6
Ks	_	_	17.5 ± 4.8	51.0 ± 7.1	-	_	_	_

Table 14. Distribution and length of sensilla on the antennae of male and female Matsucoccus matsumurae

^a BB: s. Bohm's bristles; SSq: s. squamiformia; STr: s. trichodea; SA: s. auricillica; SCo: s. coeloconica; SCh: s.chaetica; SSt: s. styloconica.

3.1.1. Sensilla Böhm's Bristles (BB)

Böhm's bristles는 수컷의 자루마디에서 확인되었다. 평균길이는 3.7 μ m로써 소켓 내부에 위치하였으며 주름이나 홈 없이 매끈한 표면을 갖고 있었다. 끝은 뭉툭하였으며 말단이 휘어진 형태로 존재하였다(Figure 27A).

3.1.2. 분절간 감각기(Sensilla Intersegmental; Ins)

분절간 감각기는 수컷 채찍마디의 각 연결부위에서 확인되었으며, 평 균길이는 1.1 μm였다. 원뿔형의 융기된 형태로 표면은 주름이 잘 발달하 였고 구멍은 관찰되지 않았다(Figure 27B).



Figure 27. Scanning electron micrographs of (A) Böhm's bristles (BB) and (B) Intersegmental sensilla (Ins) on the antennae of *Matsucoccus matsumurae*.

3.1.3. 홈형 무공형 털 감각기(Sensilla grooved aporous trichodea; GAt)
홈형 무공형 털 감각기는 수컷의 자루마디에서 확인되었으며, 평균 길
이는 12.8 µm이었다. 소켓 내부에 위치하였고, 표면은 매끈하였으며 표
면에 구멍이 존재하지 않았다(Figure 28).



Figure 28. Scanning electron micrographs of grooved aporous trichoid sensilla (GAt) on the antennae of *Matsucoccus matsumurae*.

3.1.4. 단공형 간상 감각기(Sensilla uniporous pegs; Up)

단공형 간상 감각기는 암컷 더듬이 채찍마디의 마지막 마디에서만 확 인되었으며, 평균 길이는 14.8 µm이었다. 곧은 막대 모양으로 소켓 내부 에 위치하였다. 표면은 전체적으로 매끄러웠으며, 물결모양의 주름이 일 부 관찰되었다. 감각기 말단은 뭉툭하였고 구멍이 확인되었다(Figure 29).



Figure 29. Scanning electron micrographs of uniporous pegs (Up) on the antennae of *Matsucoccus matsumurae*. Shape (A) and surface structure (B) of Up.

3.1.5. 종상 감각기(Sensilla campaniform; Ca)

종상 감각기는 암/수 팔굽마디에서 확인되었다. 원뿔형의 감각기로 평균 길이는 암컷 1.9 μm, 수컷 1.0 μm이었다(Figure 30).



Figure 30. Scanning and transmission electron micrographs of Campaniform (Ca) on the antennae of *Matsucoccus matsumurae*. (A) Shape of Ca and (B) cross section of Ca.

3.1.6. 다공형 간상 감각기(Sensilla multiporous pegs; Mp)

다공형 간상 감각기는 암컷과 수컷 모두에서 확인되었으며, 평균 길이 는 암컷 24.6 µm, 수컷 43.5 µm로 수컷의 길이가 더 길었다(t = -8.120, *P* < 0.001). 굵은 털 모양으로 약간 휘었으며, 표면에 물결모양의 주름 이 다수 발달하였고 주름 사이에 다수의 구멍이 확인되었다 (Figure 31).



Figure 31. Scanning electron micrographs of multiporous pegs (Mp) on the antennae of *Matsucoccus matumurae*. Shape of Mp in male (A) and female (B); (C,D) surface structure of Mp; P, pore.

3.1.7. 다공형 털 감각기(Sensilla multiporous trichodea; Mt)

다공형 털 감각기는 수컷의 채찍마디의 각 마디에서 확인 되었고, F5 에서 가장 많은 수가 확인되었다(F_{7,22} = 5.704, *P* = 0.001). 평균 길이는 39.2 µm이며 실모양으로 끝은 뭉툭하였다. 표면은 등각의 주름이 다수 발달하였고 주름 사이에 다수의 구멍이 존재하였다(Figure 32).



Figure 32. Scanning and transmission electron micrographs of multiporous trichoid sensilla (Mt) on the antennae of *Matsucoccus matsumurae*. Shape (A) and surface structure (B) of Mt; (C,D) cross sections of Mt. CW, cuticular wall; D, dendrites; SL, sensilla lymph; P, pore.

3.1.8. 매끈한 무공형 털 감각기(Sensilla smooth aporous trichodea; SAt) 매끈한 무공형 털 감각기는 소켓 내부에 위치하였고 구멍이 존재하지 않 았으며, 형태와 위치에 따라 3개의 부속감각기로 구분하였다. 무공형 털 감각기의 부속감각기 1(SAt1)은 직선 혹은 약간 굽은 형태로 평균 길이 는 10.9 μm 이었다. 부속감각기 2(SAt2)는 SAt1에비해 더 굽은 형태로 평균 길이는 암컷 30.8 μm, 수컷 39.8 μm이었다. 부속감각기 3(SAt3)은 SAt2와 형태적으로 비슷하였지만 평균 길이는 18.2 μm로 SAt2에 비해 짧았다. 암컷은 SAt1, SAt2, SAt3 모두 존재하였지만, 수컷은 팔굽마디와 일부 채찍마디에서 SAt2만이 확인되었다(Figure 33).



Figure 33. Scanning electron micrographs of smooth aporous tricoid subtype sensilla 1, 2 and 3 (SAt1, SAt2, SAt3) on the antennae of female (A) and male (B) *Matsucoccus matsumurae.*

3.1.9. 못형 강모 감각기(Sensilla knobbed seta; Ks)

못형 강모 감각기는 수컷 채찍마디의 모든 체절에서 확인되었다. 소켓 내부에 위치하고 있었고 평균 길이는 51.0 μm로 표면에 세로 줄무늬가 있었으며 구멍은 확인되지 않았다. 감각기 말단이 둥근 성냥개비 모양이 었다(Figure 34).



Figure 34. Scanning and transmission electron micrographs of knobbed seta sensilla (Ks) on the antennae of *Matsucoccus matsumurae*. Shape (A) and surface structure (B) of STr; (C) cross sections of Ks. CW, cuticular wall; D, dendrites; SL, sensilla lymph.

3.2. (6R, 10R/S) matsuone과 racemic matsuone의 분석

인공 합성한 (6*R*, 10*R/S*)-matsuone과 racemic matsuone의 가스 크로 마토그램과 전자 이온화 질량 스펙트럼(EI - MS)은 Figure 35와 같다. 기 보고된 공정을 통하여 합성한 (6*R*, 10*R/S*)-matsuone의 (2*E*, 4*E*)-4,6,10, 12-tetramethyl-2,4-tridecadien-7-one와 (2*E*, 4*Z*)-4,6,10,12-tetramethyl-2,4 -tridecadien-7-one의 비율은 97.3:2.7이었다(Figure 35A). 반면, 본 연구를 통하여 새롭게 합성한 racemic matsuone의 상기 2 물질 비율은 68.8:26.1 이었다(Figure 35B). (6*R*, 10*R/S*)-matsuone과 racemic matsuone의 electron ionization (EI) ion은 동일하였다(Figure 35C). HP-Innowax 컬 럼에서(6*R*, 10*R/S*)-matsuone과 racemic matsuone의 retention index는 2,049로 동일하였다.



Figure 35. (A) Gas chromatogram of (6R,10R/S)-matsuone. (B) Gas chromatogram of racemic matsuone. (C) Mass spectrum at retention time 12.474 in chromatogram A. This spectrum was identical to that of retention time 12.036 in chromatogram A and 12.045 and 12.471 in B. Retention time matches to standards indicated that peaks at 12.036 and 12.045 min in chromatogram A and B, respectively, were (2E,4Z)-4,6,10,12-tetramethyl-2,4-tridecadien-7-one; peaks at 12.474 and 12.471 (in A and B, respectively) were (2E,4E)-4,6,10,12-tetramethyl-2,4-tridecadien-7-one.

3.3. 야외 유인력 검정

3.3.1. 성페로몬 처리량에 따른 유인 효과

(6*R*, 10*R*/*S*)-matsuone은 처리량이 50~3,200 μg로 증가함에 따라 채 집되는 성충의 수 역시 증가하였고(F_{6,9} = 14.58, *P* = 0.008) (Figure 36A), (F_{6,9} = 12.37, *P* = 0.0015) (Figure 36B), racemic matsuone 역시 페로몬의 처리량을 400~3,200 μg으로 증가시킴에 따라 유인되는 성충의 개체수가 증가하였다(F_{6,9} = 28.26, *P* < 0.0001) (Figure 36C). 반면, (6*R*, 10*R*/*S*)-matsuone의 처리량을 루어당 3,000 μg 이상(3,000~6,000 μg) 처 리시 처리량과 유인되는 개체수 간 통계적 유의차를 확인하지 못하였다 (F_{6,9} = 2.28, *P* = 0.1488) (Figure 36D).



Figure 36. Number of adult male *Matsucoccus matsumurae* caught in eight-sided sticky traps baited with different doses of (6R,10R/S)-matsuone (A, B and D) and racemic matsuone (C) in the Republic of Korea. (A) From 4 to 28 April 2016 in Taean, Chungcheongnam-do; (B) From 31 March to 28 April 2017 in Gunsan, Jeollabuk-do; (C) From 31 March to 28 April 2017 in Gunsan, Jeollabuk-do; (D) From 2 April to 10 May 2018 in Gunsan, Jeollabuk-do. Bars marked by the same letter are not significantly different (Tukey's HSD test).

3.3.2. 트랩 설치 높이에 따른 유인효과

성페로몬 트랩을 50 cm에 설치한 조사구에서 가장 많은 개체가 채집 되었고, 트랩의 설치 높이가 높아짐에 따라 채집되는 개체수가 감소하였 다(Figure 37). 각 트랩 설치 높이별 채집된 평균 수컷 솔껍질깍지벌레의 개체수는 50, 100, 150 cm에서 각각 1,112.0, 576.7, 356.7 개체였다(F_{4,4} = 48.29, *P* = 0.0016).



Figure 37. Effect of trap height on number of adult male *Matsucoccus matsumurae* caught in eight-sided sticky traps baited with (6R,10R/S)-matsuone (50 µg) from 4 to 28 April 2016 in Taean, Chungcheongnam-do, Republic of Korea. Bars marked by the same letter are not significantly different (Tukey's HSD).

3.3.3. (6R,10R/S)-matsuone과 racemic matsuone의 유인력 비교

Racemic matsuone에 비해 (6*R*,10*R/S*)-matsuone에 더 많은 수컷 솔껍 질깍지벌레 성충이 유인되었다(df = 6, t = -7.42, *P* = 0.0003) (Figure 38). (6*R*,10*R/S*)-matsuone과 racemic matsuone에 유인된 평균 개체수는 각각 5,415.3과 2,896.8개체 였다.



Figure 38. Number of adult male *Matsucoccus matsumurae* caught in eight-sided sticky traps baited with racemic matsuone and (6R, 10R/S)-matsuone from 31 March to 28 April 2017 in Gunsan, Jeollabuk-do, Republic of Korea.

3.3.4. 트랩 색상에 따른 유인력 비교

트랩 색깔에 따른 솔껍질깍지벌레의 유인력은 각 처리구간 통계적 유 의차가 나타나지 않았다. 각 트랩별 채집된 평균 개체수는 초록: 358개 체, 파랑: 417개체, 노랑: 484.8개체, 흰색: 408.8개체로, 노란색 트랩에 가 장 많은 수의 성충이 포획되었고, 초록색 트랩에는 가장 적은 수의 성충 이 포획되었다(F = 4.712, *P* = 0.05) (Figure 39).



Figure 39. Comparison of attractiveness of *Matsucoccus matsumurae* according to the colour of eight-side sticky trap from 4 to 28 April in 2016 in Taean, Chungcheongnam-do, Republic of Korea.

3.3.5. 기주유래 휘발성분의 상승효과 검정

페로몬과 기주유래 휘발성분 6종을 혼용시험 한 결과, 혼용에 따른 상 승효과는 확인되지 않았다. 다만, β-caryophyllene을 함께 처리시 페로몬 단일처리 대비 더 적은 개체가 유인되는 것을 확인하였다(F_{6,14} = 3.390, *P* = 0.028, Tukey's HSD) (Figure 40).



Figure 40. Comparison of attractiveness of *Matsucoccus matsumurae* according to the addition of host volatile components from 2 March to 10 May 2018 in Gunsan, Jeollabuk-do, Republic of Korea. Bars marked by the same letter are not significantly different (Tukey's HSD).

3.4. 솔껍질깍지벌레 전국 분포조사

3.4.1. 지역별 발생 특성

솔껍질깍지벌레는 전국 164개 시/군 모든 조사지에서 발생이 확인되었 다(Figure 41). 다만, 발생 밀도의 경우 조사지 간 큰 차이가 나타났다. 솔껍질깍지벌레의 발생 밀도가 높은 지역은 부산, 울산 등을 포함한 경 남 및 전남으로 조사 기간 동안 각각 23만 9천 마리, 18만 7천 마리의 성충이 포획되었다. 성충의 발생 밀도가 낮은 지역으로는 전북 및 충북 권역으로 각각 2만 8천여 마리, 1만 7천여 마리의 성충이 포획되었다. 그 외, 수도권 및 강원, 경북, 충남권역에서는 4만~5만여 마리의 성충이 포 획되었다.

성충의 최초 발생 시기 역시 지역별로 상이하게 나타났다. 2월 초 상 대적으로 온화한 전남과 경남권역 등 남해안 지역을 중심으로 발생하여 3월 동해안과 서해안을 따라 북상하기 시작하였다. 동해안 대비 서해안 부근에서 솔껍질깍지벌레의 성충 출현이 빠르게 진행되었고 3월 말 충남 서산과 경북 영덕까지 성충이 발생하였다. 4월 중순부터 내륙지방에서 발생이 시작하여, 5월 초 전국 대부분 지역에서 포획되었다.

성충 최대 발생 시기를 기준으로 6개의 권역으로 구분하였다(Figure 42). 최대 발생 시기가 가장 빠른 1권역은 경남, 울산, 부산으로 3월 하 순이었으며, 2권역은 4월 상순의 경북, 3권역은 4월 하순에 인천, 서울, 충남, 대전, 전북, 광주, 전남, 4권역은 5월 상순의 대구, 5권역은 5월 하 순의 경기와 충북, 마지막으로 6권역은 6월 상순의 강원과 세종이었다.



Figure 41. Occurrence trend of *Matsucoccus matsumurae* from February to June in 2022.



Fegure 42. Peak period of Matsucoccus matsumurae in each region.

3.4.2. 기온변화에 따른 솔껍질깍지벌레 발생양상

2021년도 연평균 기온과 솔껍질깍지벌레 성충 최초 발생일을 비교해 보면, 전국의 대부분 지역에서 연평균 기온이 높을수록 성충 최초 발생 일이 빠른 것을 확인 가능하였다(Figure 43). 다만, 강원도의 경우 연평 균 기온이 매우 낮음에도 불구하고 상대적으로 성충 최초 발생 시기는 빨랐기 때문에 다소 이질적인 양상을 보였다. 우화 최성기를 2021년도 연평균 기온과 비교한 결과에서도 경남 및 전남권의 남해안 지역이나 전 북권 등 상대적으로 온난한 지역에서 솔껍질깍지벌레 성충 우화 최성기 가 더 빠르게 관찰된 반면, 강원권은 연평균 기온이 낮음에도 상대적으 로 성충 우화 최성기가 빠르게 나타났다.



Figure 43. Average annual temperature in each region (A); first appearance date (B) and peak period (C) of *Matsucoccus matsumurae*.

4. 고찰

솔껍질깍지벌레의 피해경감을 위하여 산림청은 1983년부터 집중 모니 터링을 진행하고 있다. 페로몬은 솔껍질깍지벌레의 예찰에 있어 매우 효 율적인 도구이다. 하지만, 솔껍질깍지벌레 페로몬의 복잡한 합성과정은 상업화와 현장 적용에 있어 큰 걸림돌이 되었다. *Matsucoccus josephi, M. feytaudi* 등 *Matsucoccus* 속 곤충에서 성페로몬과 이의 이성질체에 대한 유인력 검정이 진행되었고(Jactel *et al.* 1994; Mendel *et al.* 1995), 이성질체가 성페로몬의 antagonist로써 작용한다는 보고는 확인되지 않 았다. 따라서 성페로몬 합성의 간소화를 위하여, 이성질체가 포함된 솔껍 질깍지벌레 성페로몬 합성 방법이 개발되었다. 김 등(2016)은 솔껍질깍 지벌레 성페로몬의 구조이성질체 (*6R*,10*S*)-1을 포함한 성페로몬의 인공 합성법을 보고하였으나, 이 역시 많은 합성단계와 시간, 노동력을 필요로 한다. 본 연구는 lithium diisopropylamide (LDA)를 이용하여 mesylated (*4E*)-hydroxy ester를 재배열함으로써 솔껍질깍지벌레 성페로몬의 합성 방법을 간소화하였고, 이를통해 솔껍질깍지벌레 성페로몬의 효율적인 합 성을 가능케 하였다.

솔껍질깍지벌레의 성페로몬의 필드 적용을 위하여, Hibbard *et al.* (1991), 박 등(1994 a,b), 위와 박(2001), 김 등(2016)은 페로몬 처리량, 트 랩의 유형 및 설치 높이가 솔껍질깍지벌레의 유인력에 미치는 영향을 조 사하였다. 김 등(2016)은 솔껍질깍지벌레의 포획에 있어서 8방향 트랩이 가장 효과적이라 보고하였다. 본 연구는 기존 8방향 트랩의 상용화를 위 하여 개량하였으며(Figure 20), 트랩의 설치 높이가 솔껍질깍지벌레의 유 인력에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과 지상부로부터 50 cm 높이에 설치할 경우 유인효과가 가장 높은 것을 확인하였다. 이는, Hibbard *et al.* (1991), 박 등(1994a, b)의 연구 결과와 일치하였다.

페로몬 처리량은 페로몬트랩의 실용화를 위한 중요한 요소 중 하나이 다. *Matsucoccus*속 곤충의 페로몬 처리량이 수컷의 유인력에 미치는 영 향은 다양한 연구에 의해 보고된 바 있다(Branco *et al.*, 2004; 박 등, 1994a; Kim *et al.*, 2016). *Matsucoccus feytaudi*는 성페로몬 처리량이 1,500 µg/lure 까지 처리량과 포획 개체수 간 용량의존적 관계가 확인되 었고, Matsucoccus josephi는 400 ug/lure까지 용량의존적 관계가 확인 되었다(Branco et al. 2004). 박 등(1994a)은 트랩별 1~50 µg/lure의 페 로몬을 처리한 결과 50 ug/lure의 유인력이 가장 높은 것을 확인하였고. 이후 김 등(2016)은 50 µg/lure와 100 µg/lure의 비교시험을 하여 솔껍질 깍지벌레의 페로몬 포화농도를 약 50 μg/lure로 보고하였다. 하지만, 본 연구에서 솔껍질깍지벌레는 페로몬[(6R, 10R/S)-matsuone] 처리량(1,600 µg까지)과 포획 개체수 간 용량의존적 관계가 나타나는 것으로 확인되었 다. 한편, 새로운 방법으로 합성한 racemic matsuone은 3,200 µg/lure 처 리까지 처리량-채집 개체수 간 용량의존적 관계가 확인되어 솔껍질깍지 벌레의 racemic matsuone에 대한 페로몬 포화농도가 더 높은 것으로 나 타났다. 특히, (6R, 10R/S)-matsuone와 racemic matsuone간 유인력을 비교한 결과 (6R, 10R/S)-matsuone의 유인력이 약 1.8배 더 높은 것으로 확인되었다. 이처럼 (6R, 10R/S)-matsuone과 racemic matsuone간 페로 및 유인력의 차이가 나타난 몬 포화농도 이유로는 (6R.10R/S)-matsuone (97.3%)과 racemic matsuone (68.8%)간 순도의 차이 에서 기인한 것으로 생각된다. 또 다른 이유로, (6R, 10R/S)-matsuone은 솔껍질깍지벌레의 성페로몬인 (6R,10R)-matsuone외 1개의 이성질체 등 총 2개의 물질로 구성되고, racemic matsuone은 (6*R/S*, 10*R/S*)-matsuone 으로 총 4개의 이성질체로 구성되어 성페로몬의 함량 차이가 나타나기 때문이다. 페로몬과 이의 이성질체에 대한 곤충의 행동학적 연구는 다양 Lvonetia 하 종에서 진행되었다. 박 등(2002)은 은무늬굴나방 prunifoliella (Lepidoptera: Lyonetiidae)의 성페로몬과 2개의 입체 이성질 체에 대한 은무늬굴나방의 행동특성을 연구하여 성페로몬 10mel4me-1-ene-18Hy만이 은무늬굴나방의 유인력에 영향을 주는 것으 로 보고하였다. 본 연구를 통하여 신규 합성한 racemic matuone내 포함 된 솔껍질깍지벌레의 성페로몬 함량은 기존 (6R, 10R/S)-matsuone의 1/2 수준이기 때문에 포획 개체수간 차이가 유발되었으며, 기타 이성질 체는 솔껍질깍지벌레의 유인력에 영향을 주지 않을 것으로 생각된다.

식물은 포식자로부터 자신을 방어하기 위하여 다양한 방어 기구를 발 전시켰다. Ajowan과 oregano의 주성분인 thymol과 carvacrol은 톱다리 개미허리노린재, 모기, 응애, 진드기 등 다양한 해충에 대하여 기피/살충 효과가 보고되어 있으며(Pandev et al. 2009; Masoumi et al. 2016; Tabari et al. 2017; Lee et al. 2020), tea tree oil, cinnamon oil, Lemongrass oil은 모기, 파리류에 대하여 우수한 기피활성을 나타낸다 (Callander and James, 2012; Boito et al. 2018; Fonseca et al. 2019; Peach et al. 2019). 본 연구에서는 솔껍질깍지벌레의 성페로몬과 mvrcene, 3-carene 등 기주유래 휘발성분 6종을 함께 처리하여 솔껍질깍 지벌레의 반응성을 확인하였다. 그 결과 myrcene, 3-carene, (-)-a -pinene, β-pinene, (±)-limonene에 대하여 유인/기피효과가 확인되지 않 았으나, β-caryophyllene을 성페로몬과 함께 처리 시 유인되는 개체수가 감소하는 것을 확인하였다. *B*-Carvophyllene은 이집트숲모기(*Aedes aegypti*) (Diptera: Culicidae), 흰줄숲모기(A. albopictus) (Diptera: Culicidae), [Anopheles minimus (Diptera: Culicidae)], [An. dirus (Diptera: Culicidae)]에서 신경 흥분성 기피제로 보고되었고(Nararak et al. 2019, 2020), 그밖에 [Hypothenemus hampei (Coleoptera: Curculionidae)], 벚 나무사향하늘소 [Aromia bungii (Coleoptera: Cerambycidae)], 어리쌀도 둑거저리 [*Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrinoide)]에서 기피행 동을 유발하는 것으로 확인되었다(Góngora et al. 2020; Badji et al. 2021; Cao et al. 2022). 이상의 결과로, 추후 β-caryophyllene을 솔껍질 깍지벌레의 기피제로써 활용 가능하며, 이를 통해 "Push-Pull" 전략 등 새로운 방제법 개발이 가능하다.

시각 정보는 정보통신 물질과 함께 종간 상호작용에 있어 매우 중요한 역할을 한다(Schnaitmann and Reiff, 2020). 트랩의 색상은 곤충의 유인 력에 있어 큰 영향을 준다. 노란색의 트랩은 가루이 및 진딧물류를 비롯 한 다양한 미소곤충과 배추좀나방의 유인력을 증가시키고(Heathcote, 1957; Badenes *et al*, 2005; Zevallos *et al*, 2013), 파란색의 트랩은 총채 벌레의 유인력을 증가시킨다(Pobozniak *et al.* 2020). Clare *et al.* (2000) 은 페로몬 트랩의 색상이 비표적 곤충의 유인력에 미치는 영향을 조사하 여, 파란색과 흰색의 트랩에서 꿀벌과 뒤영벌의 포획이 증가하는 것을 보고하였다. 이에, 노란색, 파란색, 초록색, 흰색의 8방향 트랩을 제작하 여 각 트랩에 유인되는 솔껍깍지벌레 성충의 개체수를 비교한 결과, 통 계적 유의차는 확인되지 않았으나 노란색의 트랩에 가장 많은 개체가 유 인되는 것을 확인하였다. 따라서, 솔껍질깍지벌레의 모니터링 시 노란색 의 트랩을 사용하여 예찰의 정확성과 효율을 증진할 수 있을 것이다.

솔껍질깍지벌레의 감각기 미세구조를 동정한 결과 3종의 화학적 감각 수용기와 6종의 기계적 감각 수용기를 확인하였다. Wang *et al.* (2016) 은 *Matsucoccus matsumurae*의 감각기 미세구조를 동정하여 화학적 감 각 수용기와 기계적 감각 수용기등 총 10종의 감각모를 확인하였다. 본 연구에서 솔껍질깍지벌레 감각모의 미세구조를 동정한 결과, Sensill coeloconic를 제외한 모든 감각기가 확인되었고 형태적 특징이 일치하였 다.

본 연구에서 새롭게 개발한 8방향 트랩과 racemic matsuone을 활용하 여 솔껍질깍지벌레의 전국 모니터링을 수행하였다. 그 결과 전국 모든 시/군에서 솔껍질깍지벌레의 분포가 확인되어 기존 연구와 상이하게 나 타났다. 이는 기존의 솔껍질깍지벌레(*Matsucoccus thunbergianae* Miller et Park)가 소나무껍질깍지벌레(*M. matsumurae* Kuwana)와 동종임이 밝혀졌기 때문으로(Choi *et al.* 2019), 2010년 모니터링 당시 솔껍질깍지 벌레의 분포 조사가 남부지역의 곰솔 임분을 중심으로 수행되었기 때문 으로 생각된다(Figure 43). 2022년 전국 모니터링 진행결과, 평창, 음성, 김천 등 내륙지방 및 백두대간 인접 지역의 솔껍질깍지벌레의 밀도가 상 당히 높게 확인되었다. 내륙지역의 경우 솔껍질깍지벌레의 밀도가 높음 에도 불구하고 직접적인 피해는 적게 보고되고 있다. 이처럼 내륙지역의 솔껍질깍지벌레 분포밀도 대비 피해가 적은 이유로는, 기주식물인 소나 무류의 생육단계와 솔껍질깍지벌레의 우화 최성기에 도달하는 시기와 관 련이 있다. 소나무류의 송진은 *a*-pinene, β-pinene, sabinene 등 다양한 물질을 포함하고 있으며(Tsao *et al*, 2022), 나무좀류를 포함 한 다양한 해충에 대하여 방어기작을 갖는다(Phillips *et al*, 1999; Trapp and Croteau, 2001). 특히 수지산(resin acid), 파인유(pine oil)등은 점착 력이 매우 높은 물질로, 공격자의 침입을 방지하거나 이동을 방해하여 해충에 대한 물리적 저항성을 증가시킨다. 피해가 심한 남부지역의 경우 소나무류의 생장 휴지기인 3월경 우화 최성기에 도달하여 큰 피해를 유 발한다. 이 시기 소나무류는 수지 분비가 정지된 시기로 해충 피해에 대 한 저항력이 현저히 감소한다. 반면, 내륙지역에서 솔껍질깍지벌레가 우 화 최성기에 도달하는 시기는 5월 하순~6월 상순이다. 이 기간은 소나 무류가 왕성하게 생육하고 있는 시기로 수지 분비가 활발하며 병해충에 대한 저항력이 높게 유지된다. 이로 인해 솔껍질깍지벌레의 밀도가 높음 에도 불구하고 직접적 피해는 낮은 것으로 여겨진다.



Figure 44. Comaprison of mornitoring results of *Matsucoccus matsumurae* in 2021 and 2022.
5. 결론

소나무류 주요 해충인 솔껍질깍지벌레의 모니터링 기법을 개발하고자 더듬이 감각기 구조 동정, 페로몬 합성법 간소화 및 야외 유인력 검정을 진행한 본 연구의 결론은 다음과 같다.

- 솔껍질깍지벌레의 더듬이 감각기를 주사전자현미경과 투과전자현미경 을 통해 관찰한 결과 화학물질을 인지하는 감각기로써 단공형 간상 감각기, 다공형 간상 감각기, 다공형 털 감각기 등 3개의 감각기를 확 인하였다. 이중, 페로몬을 인지하는 감각기는 다공형 털 감각기로 추 정된다. 하지만 단일섬모기록법(single sensillum recording)을 통하여 실제로 페로몬 물질에 대하여 반응을 하는지에 관한 추가적인 연구가 요구된다.
- 솔껍질깍지벌레의 성페로몬인 matuone [(6R,10R)-1]을 포함하는 총 4개의 이성질체로 구성된 racemic matuone [(6R/S,10R/S)-1]을 합성 함으로써 합성과정을 간소화 하였다. Racemic matuone의 유인력은 기존 성페로몬에 비하여 다소 감소하였으나 대량합성을 통해 합성비 용을 크게 감소시킬 수 있으며 상업화에 성공하였다.
- 3. 솔껍질깍지벌레의 페로몬 감지 포화농도는 matuone은 1,600 μg, racemic matuone은 3,200 μg이었다. 솔껍질깍지벌레의 예찰을 진행함 에 있어 페로몬 최대 처리량을 1,600 μg (matuone)과 3,200 μg (racemic matuone)이하로 조절하여 경제적인 예찰을 진행할 수 있다.
- 솔껍질깍지벌레의 포획에 효과적인 8방향 트랩을 개발하고 트랩 설치 방법을 확인하였다. 본 연구를 통해 개발된 모니터링기법은 산림청 솔껍질깍지벌레 발생시기 예찰에 활용 중이다.
- 5. 본 연구를 통해 개발된 모니터링 기법에 홍 등(2019)이 개발한 영상

기반객체검출법을 접목하여 솔껍질깍지벌레의 전국 모니터링을 진행 한 결과 내륙지방을 포함한 전국 모든 지역에서 서식이 확인되었다. 솔껍질깍지벌레의 돌발 발생 시 임목의 집단 고사 등이 유발될 가능 성이 있으므로, 지속적 예찰을 통한 방제전략 수립 및 개체수 관리가 필요하다.

참 고 문 헌

- 반승찬, & 위안진. (1994). 솔껍질깍지벌레 수컷 성충의 비행습성 및 합성페로몬에 대한 반응. 한국응용곤충학회지, 33(4), 250-256.
- 박승찬, 위안진, & 김형선. (2000). 합성 (合成) 페로몬의 지상 (地上) 높이별(別) 위치(位置) 및 풍속(風速)에 따른 솔껍질깍지벌레 수 컷의 비행(飛行). 한국산림과학회지, 89(1), 135-140.
- 3. 정영진, 박영석, 전태수, 신상철, & 박지두. (2000). 솔껍질깍지벌레 (Matsucoccus thunbergianae) 의 확산 (擴散) 유형 (類型). 한국산림 과학회지, 89(3), 306-309.
- 4. 임유진, 이상명, 김동수, 김준범, 최광식, 이신혜, ... & 이동운. (2012).
 우리나라에서 솔껍질깍지벌레의 분포확산. 한국응용곤충학회지, 51(1), 59-65.
- 5. 윤원섭, & 조병관. (2020). 딥러닝을 이용한 솔껍질깍지벌레 탐지 알 고리즘 개발. 한국농업기계학회 학술발표논문집, 25(2), 227-227.
- 6. 유소민, 임철희, 김문일, 송철호, 김세진, 이우균.(2020).기후변화에 따 른 멸종위기 침엽수종 분포 변화 예측. 한국기후변화학회지, 11(4),215-226.
- 7. 강진택, 이석준, 김태수, 송진선, 이채민, 이동운.(2019).침엽수 채종원 에서 구과해충의 발생소장과 수종별 구과 피해 및 화학적 방제.농약과 학회지,23(4),241-250.
- 8. 이상명, 김동수, 김철수, 추호렬, & 이동운. (2008). 곰솔 (Pinus thunbergii) 에서 Abamectin 과 Emamectin benzoate 를 이용한 소나 무재선충과 솔잎혹파리 및 솔껍질깍지벌레의 동시방제 가능성. 농약과 학회지, 12(4), 363-367.
- 9. 이상명, 이신혜, 최광식, 김동수, & 이동운. (2010, May). 몇 가지 살 충제와 Emamectin benzoate 와 Imidacloprid 혼용처리의 솔껍질깍지 벌레에 대한 비효용적 효과. In 2010 한국응용곤충학회 정기총회 및 춘계학술발표회 (pp. 187-187).
- 10. Hoshi, H., Takabe, M., & Nakamuta, K. (2016). Mating disruption of a carpenter moth, Cossus insularis (Lepidoptera: Cossidae) in

apple orchards with synthetic sex pheromone, and registration of the pheromone as an agrochemical. Journal of chemical ecology, 42(7), 606–611.

- Ortiz, A., Quesada, A., & Sanchez, A. (2004). Potential for use of synthetic sex pheromone for mating disruption of the olive Pyralid moth, Euzophera pinguis. Journal of chemical ecology, 30, 991–1000.
- Samietz, J., Baur, R., & Hillbur, Y. (2012). Potential of synthetic sex pheromone blend for mating disruption of the swede midge, Contarinia nasturtii. Journal of chemical ecology, 38, 1171–1177.
- Khan, Z. R., Midega, C. A., Pittchar, J. O., & Pickett, J. A. (2014).
 Push pull: a novel IPM strategy for the green revolution in Africa. Integrated Pest Management: Experiences with Implementation, Global Overview, Vol. 4, 333–348.
- 14. Xu, Q., Hatt, S., Lopes, T., Zhang, Y., Bodson, B., Chen, J., & Francis, F. (2018). A push - pull strategy to control aphids combines intercropping with semiochemical releases. Journal of Pest Science, 91, 93–103.
- 15. Khan, Z. R., & Pickett, J. A. (2008). Push-pull strategy for insect pest management. Encyclopedia of Entomology; Capinera, JL, Ed.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany.
- Peng, C. L., Gu, P., Li, J., Chen, Q. Y., Feng, C. H., Luo, H. H., & Du, Y. J. (2012). Identification and field bioassay of the sex pheromone of Trichophysetis cretacea (Lepidoptera: Crambidae). Journal of economic entomology, 105(5), 1566–1572.
- 17. Schneider, D. (1964). Insect antennae. Annual review of entomology, 9(1), 103–122.
- Fatzinger, C. W., & Asher, W. C. (1971). Mating behavior and evidence for a sex pheromone of Dioryctria abietella (Lepidoptera: Pyralidae (Phycitinae)). Annals of the Entomological Society of America, 64(3), 612–620.

- Fatzinger, C. W. (1972). Bioassay, morphology, and histology of the female sex pheromone gland of Dioryctria abietella (Lepidoptera: Pyralidae (Phycitinae)). Annals of the Entomological Society of America, 65(5), 1208–1214.
- Svensson, G. P., Wang, H. L., Jirle, E. V., Rosenberg, O., Liblikas, I., Chong, J. M., ... & Anderbrant, O. (2018). Challenges of pheromone-based mating disruption of Cydia strobilella and Dioryctria abietella in spruce seed orchards. Journal of pest science, 91, 639–650.
- 21. Park, S. C., West, J. R., Abrahamson, L. P., Lanier, G. N., & Silverstein, R. M. (1986). Cross-attraction between two species of Matsucoccus: Extraction, bioassay, and isolation of the sex pheromone. Journal of chemical ecology, 12, 609–617.
- 22. Ma, M., Chang, M. M., Lu, Y., Lei, C. L., & Yang, F. L. (2017). Ultrastructure of sensilla of antennae and ovipositor of Sitotroga cerealella (Lepidoptera: Gelechiidae), and location of female sex pheromone gland. Scientific reports, 7(1), 40637.
- 23. Klowden, M. J. (2013). Physiological systems in insects. Academic press.
- Cook, B. J., Smith, R. L. & Flint, H. M. The antennal sense organs of the pink bollworm, Pectinophora gossypiella (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae). P. Entomol. Soc. Wash. 82, 117 - 123 (1980).
- 25. Klun, J. A., & Cooperators. (1975). Insect sex pheromones: intraspecific pheromonal variability of Ostrinia nubilalis in North America and Europe. Environmental Entomology, 4(6), 891–894.
- Cornford, M. E., Rowley, W. A. & Klun, J. A. Scanning electron microscopy of antennal sensilla of the European corn borer, Ostrinia nubilalis . Ann. Entomol. Soc. Am. 66, 1079 - 1088 (1973).
- 27. Ma, M., Chang, M. M., Lu, Y., Lei, C. L., & Yang, F. L. (2017). Ultrastructure of sensilla of antennae and ovipositor of Sitotroga

cerealella (Lepidoptera: Gelechiidae), and location of female sex pheromone gland. Scientific reports, 7(1), 40637.

- 28. Chang, H., Guo, M., Wang, B., Liu, Y., Dong, S., & Wang, G. (2016). Sensillar expression and responses of olfactory receptors reveal different peripheral coding in two Helicoverpa species using the same pheromone components. Scientific reports, 6(1), 1–12.
- 29. Dolzer, J., Fischer, K. & Stengl, M. Adaptation in pheromone-sensitive trichoid sensilla of the hawkmoth Manduca sexta . J. Exp. Biol. 206, 1575 1588 (2003).
- Keil, T. A. Fine structure of the pheromone-sensitive sensilla on the antenna of the hawkmoth, Manduca sexta . Tissue Cell 21, 139 - 151 (1989).
- 31. Anderson, P., Hallberg, E., & Subchev, M. (2000). Morphology of antennal sensilla auricillica and their detection of plant volatiles in the Herald moth, Scoliopteryx libatrix L.(Lepidoptera: Noctuidae). Arthropod Structure & Development, 29(1), 33–41.
- 32. Ansebo, L., Ignell, R., Löfqvist, J., & Hansson, B. S. (2005). Responses to sex pheromone and plant odours by olfactory receptor neurons housed in sensilla auricillica of the codling moth, Cydia pomonella (Lepidoptera: Tortricidae). Journal of Insect Physiology, 51(10), 1066–1074.
- 33. NIFoS(National Institute of Forest Science). 2014a. IPCC 5th report on climate change and its Implications. Seoul: NIFoS.
- 34. Kim, D., Lee, Y. D., Jwa, M. E., Lee, C. Y., & Nam, Y. (2020). Occurrence status of cone insects on Korean fir (Abies koreana) in Mt. Halla. Korean Journal of Applied Entomology, 59(4), 417 -420.
- 35. Hanks LM, Millar JG (2013) Field bioassays of cerambycid pheromones reveal widespread parsimony of pheromone structures, enhance₁ ment by host plant volatiles, and antagonism by components from heterospecifics. Chemoecology 3:21 44

- 36. Fierke MK, Skabeikis DD, Millar JG, Teale SA, Mcelfresh JS, Hanks LM (2012) Identification of a male-produced aggregation pheromone for Monochamus scutellatus scutellatus and an attractant for the congetner Monochamus notatus (Coleoptera: Cerambycidae). J Econ Entomol 105:2029 - 2034
- 37. Blomquist, G. J., & Vogt, R. G. (2021). Production and reception of insect pheromones - Introduction and overview. In Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology (pp. 1–12). Academic Press.
- 38. Álvarez G, Gallego D, Hall DR, Jactel H, Pajares JA (2016) Combining pheromone and kairomones for effective trapping of the pine sawyer beetle Monochamus galloprovincialis. J Appl Entomol 140:58 - 71
- 39. Lee, H. R., Lee, S. C., Lee, D. H., Jung, M., Kwon, J. H., Huh, M. J., & Park, I. K. (2018). Identification of aggregation-sex pheromone of the Korean Monochamus alternatus (Coleoptera: Cerambycidae) population, the main vector of pine wood nematode. Journal of economic entomology, 111(4), 1768–1774.
- 40. Lee, H. R., Lee, S. C., Lee, D. H., Choi, W. S., Jung, C. S., Jeon, J. H., & Park, I. K. (2017). Identification of the aggregation-sex pheromone produced by male Monochamus saltuarius, a major insect vector of the pine wood nematode. Journal of chemical ecology, 43, 670-678.
- 41. Preti, M., Knight, A. L., & Angeli, S. (2020). Improved monitoring of Grapholita molesta (Lepidoptera: Tortricidae) in stone fruit orchards with a pheromone-kairomone combination lure. Insects, 11(7), 412.
- 42. Rochat, D., Meillour, P. N. L., Esteban-Duran, J. R., Malosse, C., Perthuis, B., Morin, J. P., & Descoins, C. (2000). Identification of pheromone synergists in American palm weevil, Rhynchophorus palmarum, and attraction of related Dynamis borassi. Journal of

Chemical Ecology, 26, 155-187.

- 43. Yang, Z., Bengtsson, M., & Witzgall, P. (2004). Host plant volatiles synergize response to sex pheromone in codling moth, Cydia pomonella. Journal of chemical ecology, 30, 619–629.
- 44. Ju, Q., Guo, X. Q., Li, X., Jiang, X. J., Jiang, X. G., Ni, W. L., & Qu, M. J. (2017). Plant volatiles increase sex pheromone attraction of Holotrichia parallela (Coleoptera: Scarabaeoidea). Journal of chemical ecology, 43, 236–242.
- 45. El-Sayed A.M., Suckling D.M., Wearing C.H., Byers J.A. Potential of mass trapping for long-term pest management and eradication of invasive species. J. Econ. Entomol. 2006; 99:1550 1564.
- 46. Hegazi E., Khafagi W.E., Konstantopoulou M., Raptopoulos D., Tawfik H., El-Aziz G.M.A., El-Rahman S.M.A., Atwa A., Aggamy E., Showeil S. Efficient Mass-trapping method as an alternative tactic for suppressing populations of leopard moth (Lepidoptera: Cossidae) Ann. Entomol. Soc. Am. 2009;102:809 - 818.
- 47. Trematerra P. Advances in the use of pheromones for stored-product protection. J. Pest Sci. 2012;85:285 299.
- Schwalbe, C. P., & Mastro, V. C. (1988). Gypsy moth mating disruption: dosage effects. Journal of chemical ecology, 14, 581–588.
- 49. Klowden, M. J. (2013). Physiological systems in insects. Academic press.
- 50. Wang, X., Xie, Y., Zhang, Y., Liu, W., & Wu, J. (2016). The structure and morphogenic changes of antennae of Matsucoccus matsumurae (Hemiptera: Coccoidea: Matsucoccidae) in different instars. Arthropod Structure & Development, 45(3), 281–293.
- 51. Choi, J., Cha, D., Kim, D. S., & Lee, S. (2019). Review of Japanese pine bast scale, Matsucoccus matsumurae (Kuwana)(Coccomorpha: Matsucoccidae), occurring on Japanese black pine (Pinus thunbergii Parl.) and Japanese red pine (P.

densiflora Siebold & Zucc.) from Korea. Forests, 10(8), 639.

- 52. Venthur, H., and J.-J. J. F. i. p. Zhou. 2018. Odorant Receptors and Odorant Binding Proteins as Insect Pest Control Targets: A Comparative Analysis. 9:1163.
- 53. Leal, W. S. 2013. Odorant Reception in Insects: Roles of Receptors, Binding Proteins, and Degrading Enzymes. 58:373–391.
- 54. Xu, J., Deng, C., Lu, W., & Wu, S. (2021). Ultrastructure of Antennal Sensilla in Adults of Dioryctria rubella Hampson (Lepidoptera: Pyralidae). Insects, 12(9), 821.
- 55. Schneider, D. (1964). Insect antennae. Annual review of entomology, 9(1), 103–122.
- 56. Wang, X., Xie, Y., Zhang, Y., Liu, W., & Wu, J. (2016). The structure and morphogenic changes of antennae of Matsucoccus matsumurae (Hemiptera: Coccoidea: Matsucoccidae) in different instars. Arthropod Structure & Development, 45(3), 281–293.
- 57. Ding, W.; Taylor, G. Automatic moth detection from trap images for pest management. Comput. Electron. Agric. 2016, 123, 17 28.
- 58. Nam, N.T.; Hung, P.D. Pest Detection on Traps Using Deep Convolutional Neural Networks. In Proceedings of the ACM International Conference Proceeding Series; Association for Computing Machinery: New York, NY, USA, 2018; pp. 33 - 38.
- 59. Nieuwenhuizen. A.; Hemming, I.; Suh. H. Detection and Classification of Insects on Stick-Traps in a Tomato Crop Using Faster R-CNN. In Proceedings of the the Netherlands Conference The Computer Vision, Eindhoven, Netherlands. 26 - 27 on September 2018.
- 60. Hong, S.-J.; Kim, S.-Y.; Kim, E.; Lee, C.-H.; Lee, J.-S.; Lee, D.-S.; Bang, J.; Kim, G. Moth detection from pheromone trap images using deep learning object detectors. Agriculture 2020, 10, 170
- 61. Schnaitmann, C., Pagni, M., & Reiff, D. F. (2020). Color vision in

insects: insights from Drosophila. Journal of Comparative Physiology A, 206(2), 183–198.

- 62. Tsao, N. W., Lin, Y. C., Tseng, Y. H., Chien, S. C., & Wang, S. Y. (2022). Composition analysis of exudates produced by conifers grown in Taiwan and their antifungal activity. Journal of Wood Science, 68(1), 46.
- 63. Phillips, M. A., & Croteau, R. B. (1999). Resin-based defenses in conifers. Trends in plant science, 4(5), 184–190.
- 64. Trapp, S., & Croteau, R. (2001). Defensive resin biosynthesis in conifers. Annual review of plant biology, 52(1), 689–724.
- 65. Badenes-Perez, F. R., Shelton, A. M., & Nault, B. A. (2005). Using yellow rocket as a trap crop for diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). Journal of Economic Entomology, 98(3), 884-890.
- 66. Heathcote, G. D. (1957). The comparison of yellow cylindrical, flat and water traps, and of Johnson suction traps, for sampling aphids. Annals of Applied Biology, 45(1), 133–139.
- 67. Pinto-Zevallos, D. M., & Vänninen, I. (2013). Yellow sticky traps for decision-making in whitefly management: What has been achieved?. Crop Protection, 47, 74–84.
- Pobozniak, M., Tokarz, K., & Musynov, K. (2020). Evaluation of sticky trap colour for thrips (Thysanoptera) monitoring in pea crops (Pisum sativum L.). Journal of Plant Diseases and Protection, 127(3), 307–321.
- 69. Lee, S. C., Seo, S. M., Huh, M. J., Kwon, J. H., Nam, I., Park, J. H., & Park, I. K. (2020). Behavioral and electrophysiological effects of ajowan (Trachyspermum ammi Sprague)(Apiales: Apiaceae) essential oil and its constituents on nymphal and adult bean bugs, Riptortus clavatus (Thunberg)(Hemiptera: Alydidae). Insects, 11(2), 104.
- 70. Pandey, S. K., Upadhyay, S., & Tripathi, A. K. (2009). Insecticidal

and repellent activities of thymol from the essential oil of Trachyspermum ammi (Linn) Sprague seeds against Anopheles stephensi. Parasitology research, 105, 507–512.

- Ding, W., & Taylor, G. (2016). Automatic moth detection from trap images for pest management. Computers and Electronics in Agriculture, 123, 17–28.Löfstedt, C., J. N. C. van der Pers, J. Löfqvist, and B. S. Lanne. 1983. Sex pheromone of the cone pyralid Dioryctria abietella. Entomol. Exp. Appl. 34: 20 - 26.
- 72. Löfstedt, C., G. P. Svensson, E. V. Jirle, O. Rosenberg, A. Roques, and J. G. Millar.
- 73. 2012. (3Z,6Z,9Z,12Z,15Z) pentacosapentaene and (9Z,11E) tetradecadienyl acetate: sex pheromone of the spruce coneworm Dioryctria abietella(Lepidoptera: Pyralidae). J. Appl. Entomol. 136: 70 78.
- 74. Grant, G. G., J. G. Millar, and R. Trudel. 2009. Pheromone identification of Dioryctria abietivorella (Lepidoptera: Pyralidae) from an eastern North American population: geographic variation in pheromone response. Can. Entomol. 141: 129 135.
- 75. Boo, K. S., & Park, J. W. (1998). Sex pheromone composition of the Asian corn borer moth. Ostrinia furnacalis (Guenée)(Lepidoptera: Pvralidae) South in Korea. Iournal of Asia-Pacific Entomology, 1(1), 77-84.
- 76. Boo, K. S. (1998). Variation in sex pheromone composition of a few selected lepidopteran species. Journal of Asia-Pacific Entomology, 1(1), 17-23.Lanier, G. N., Y. T. Qi, J. R. West, М. S. F. X. Webster, and R. Silverstein1. 1989. C. Park, Identification of the sex pheromone of three Matsucoccus pine bast scales. J. Chem. Ecol. 15: 1645 - 1659.
- 77. Hibbard, B. E., G. N. Lanier, S. C. Parks, Y. T. Qi, F. X. Webster, and R. M. Silverstein. 1991. Laboratory and field tests with the synthetic sex pheromone of three Matsucoccus (1)

pine bast scales. J. Chem. Ecol. 17: 89 - 102.

- 78. Wi, A. J., and S. C. Park. 2001. Biological and meteorological factors affecting the responsiveness of Matsucoccus thunbergianae males to synthetic pheromone. J. Korean For. Soc. 90: 139 145.
- 79. Kim, J., D. S. Kim, S. Matsuyama, S. M. Lee, S. C. Lee, and I. K. Park. 2016. Development of a pheromone trap for monitor black pine bast scale, Matsucoccus thunbergianae (Hemiptera: Margarodidae). J. Asia-Pacific Entomol. 19: 899 902.
- 80. Branco, M., H. Jactel, E. B. Silva, A. Binazzi, and Z. Mende. 2004. Effect of trap design, trap size and pheromone dose on male capture of two pine bast scales species (Hemiptera: Matsucoccidae): implications for monitoring and mass-trapping. Agric. For. Entomol. 6: 233 - 239.
- 81. Klun, J. A., & Cooperators. (1975). Insect sex pheromones: intraspecific pheromonal variability of Ostrinia nubilalis in North America and Europe. Environmental Entomology, 4(6), 891–894.
- 82. Palanaswamy, P., and W. D. Seabrook. 1978. Behavioral responses of the female eastern spruce budworm Choristoneura fumiferana (Lepidoptera, Tortricidae) to the sex pheromone of her own species. J. Chem. Ecol. 4: 649 - 655.
- 83. Strong, W. B., J. G. Millar, G. G. Grant, J. A. Moreira, J. Michael Chong, and C. Rudolph. 2008. Optimization of pheromone lure and trap design for monitoring the fir coneworm, Dioryctria abietivorella. Entomol. Exp. Appl. 126: 67 - 77
- 84. Lewis, T., and E. D. M. Macaulay. 1976. Design and elevation of sex-attractant traps for pea moth, Cydia nigricana (Steph.) and the effect of plume shape on catches. Ecol. Entomol. 1: 175 - 187
- 85. Tabari, M. A., Youssefi, M. R., Maggi, F., & Benelli, G. (2017). Toxic and repellent activity of selected monoterpenoids (thymol, carvacrol and linalool) against the castor bean tick, Ixodes ricinus (Acari: Ixodidae). Veterinary parasitology, 245, 86–91.

- 86. Masoumi, F., Youssefi, M. R., & Tabari, M. A. (2016). Combination of carvacrol and thymol against the poultry red mite (Dermanyssus gallinae). Parasitology research, 115(11), 4239–4243.
- 87. Callander, J. T., & James, P. J. (2012). Insecticidal and repellent effects of tea tree (Melaleuca alternifolia) oil against Lucilia cuprina. Veterinary Parasitology, 184(2-4), 271-278.
- Fonseca-Santos, B., Pacheco, C. D. N., Pinto, M. C., & Chorilli, M. (2019). An effective mosquito-repellent topical product fom liquid crystal-based tea tree oil. Industrial Crops and Products, 128, 488-495.
- Boito, J. P., Da Silva, A. S., dos Reis, J. H., Santos, D. S., Gebert, R. R., Biazus, A. H., ... & Machado, G. (2018). Insecticidal and repellent effect of cinnamon oil on flies associated with livestock. Revista MVZ Córdoba, 23(2), 6628–6636.
- 90. Peach, D. A., Almond, M., Gries, R., & Gries, G. (2019). Lemongrass and cinnamon bark: plant essential oil blend as a spatial repellent for mosquitoes in a field setting. Journal of Medical Entomology, 56(5), 1346–1352.
- 91. Jactel, H., Koricheva, J., & Castagneyrol, B. (2019). Responses of forest insect pests to climate change: not so simple. Current opinion in insect science, 35, 103–108.
- 92. Skendžić, S., Zovko, M., Živković, I. P., Lešić, V., & Lemić, D. (2021). The impact of climate change on agricultural insect pests. Insects, 12(5), 440.
- 93. Alengebawy, A., Abdelkhalek, S. T., Qureshi, S. R., & Wang, M. Q. (2021). Heavy metals and pesticides toxicity in agricultural soil and plants: Ecological risks and human health implications. Toxics, 9(3), 42.Bouwer, M. C., Slippers, B., Degefu, D., Wingfield, M. J., Lawson, S., & Rohwer, E. R. (2015). Identification of the sex pheromone of the tree infesting cossid moth Coryphodema tristis (Lepidoptera: Cossidae). PLoS One, 10(3), e0118575.

- 94. El-Sayed, A. M., Gibb, A. R., Mitchell, V. J., Manning, L. A. M., Revell, J., Thistleton, B., & Suckling, D. M. (2013). Identification of the sex pheromone of Conogethes pluto: a pest of Alpinia. Chemoecology, 23(2), 93–101.
- 95. Guerrero, A., Ramos, V. E., López, S., Alvarez, J. M., Domínguez, A., Coca-Abia, M. M., ... & Quero, C. (2018). Enantioselective synthesis and activity of all diastereoisomers of (E)-phytal, a pheromone component of the Moroccan locust, Dociostaurus maroccanus. Journal of agricultural and food chemistry, 67(1), 72-80.
- 96. Jurenka, R. (2004). Insect pheromone biosynthesis. The chemistry of pheromones and other semiochemicals I, 97–132.
- 97. Jurenka, R. (2017). Regulation of pheromone biosynthesis in moths. Current opinion in insect science, 24, 29–35.
- 98. Ding, B. J., & Löfstedt, C. (2015). Analysis of the Agrotis segetum pheromone gland transcriptome in the light of sex pheromone biosynthesis. BMC genomics, 16, 1–21.
- 99. Sato, K., Pellegrino, M., Nakagawa, T., Nakagawa, T., Vosshall, L. B., & Touhara, K. (2008). Insect olfactory receptors are heteromeric ligand-gated ion channels. Nature, 452(7190), 1002-1006.
- 100. Hansson, B. S., & Stensmyr, M. C. (2011). Evolution of insect olfaction. Neuron, 72(5), 698-711.
- Montagné, N., De Fouchier, A., Newcomb, R. D., & Jacquin–Joly, E. (2015). Advances in the identification and characterization of olfactory receptors in insects. Progress in molecular biology and translational science, 130, 55–80.
- 102. Tian, Z., & Zhang, Y. (2016). Molecular characterization and functional analysis of pheromone binding protein 1 from Cydia pomonella (L.). Insect Molecular Biology, 25(6), 769–777.
- 103. Bartell, R. J., & Lawrence, L. A. (1977). Reduction in

responsiveness of male apple moths, Epiphyas postvittana, to sex pheromone following pulsed pheromonal exposure. Physiological Entomology, 2(1), 1–6.

- 104. Stelinski, L., Holdcraft, R., & Rodriguez-Saona, C. (2014). Female moth calling and flight behavior are altered hours following pheromone autodetection: possible implications for practical management with mating disruption. Insects, 5(2), 459–473.
- 105. Holdcraft, R., Rodriguez-Saona, C., & Stelinski, L. L. (2016).
 Pheromone autodetection: evidence and implications. Insects, 7(2), 17.
- 106. El-Nahhal, Y. (2020). Pesticide residues in honey and their potential reproductive toxicity. Science of the Total Environment, 741, 139953.
- 107. Kumar, R., Sankhla, M. S., Kumar, R., & Sonone, S. S. (2021). Impact of pesticide toxicity in aquatic environment. Biointerface Research in Applied Chemistry, 11(3), 10131–10140.
- 108. Hawkins, N. J., Bass, C., Dixon, A., & Neve, P. (2019). The evolutionary origins of pesticide resistance. Biological Reviews, 94(1), 135–155.
- 109. Horowitz, A. R., Ghanim, M., Roditakis, E., Nauen, R., & Ishaaya, I. (2020). Insecticide resistance and its management in Bemisia tabaci species. Journal of Pest Science, 93, 893–910.
- 110. Li, C., Zhu, H., Li, C., Qian, H., Yao, W., & Guo, Y. (2021). The present situation of pesticide residues in China and their removal and transformation during food processing. Food Chemistry, 354, 129552.
- 111. El-Nahhal, I., & El-Nahhal, Y. (2021). Pesticide residues in drinking water, their potential risk to human health and removal options. Journal of Environmental Management, 299, 113611.
- 112. Bhandari, G., Zomer, P., Atreya, K., Mol, H. G., Yang, X., & Geissen, V. (2019). Pesticide residues in Nepalese vegetables and

potential health risks. Environmental research, 172, 511-521.

- 113. Beecraft, L., & Rooney, R. (2021). Bioconcentration of glyphosate in wetland biofilms. Science of the Total Environment, 756, 143993.
- 114. Viana, N. P., da Silva, L. C. M., Portruneli, N., Soares, M. P., Cardoso, I. L., Bonansea, R. I., ... & Fernandes, M. N. (2022). Bioconcentration and toxicological impacts of fipronil and 2, 4–D commercial formulations (single and in mixture) in the tropical fish, Danio rerio. Environmental Science and Pollution Research, 1–14.
- 115. Cui, G. Z., & Zhu, J. J. (2016). Pheromone-based pest management in China: past, present, and future prospects. Journal of Chemical Ecology, 42, 557–570.
- 116. Preti, M., Knight, A. L., & Angeli, S. (2020). Improved monitoring of Grapholita molesta (Lepidoptera: Tortricidae) in stone fruit orchards with a pheromone-kairomone combination lure. Insects, 11(7), 412.
- 117. Kehat, M., Anshelevich, L., Dunkelblum, E., Fraishtat, P., & Greenberg, S. (1994). Sex pheromone traps for monitoring the codling moth: effect of dispenser type, field aging of dispenser, pheromone dose and type of trap on male captures. Entomologia experimentalis et applicata, 70(1), 55–62.
- 118. Sajeewani, P. A., Dissanayaka, D. M., Wijayaratne, L. K., & Burks, C. S. (2020). Changes in shape, texture and airflow improve efficiency of monitoring traps for Tribolium castaneum (Coleoptera: Tenebrionidae). Insects, 11(11), 778.
- 119. Cruz, I., Figueiredo, M. D. L. C., Silva, R. B. D., Silva, I. F. D., Paula, C. D., & Foster, J. E. (2012). Using sex pheromone traps in the decision-making process for pesticide application against fall armyworm (Spodoptera frugiperda [Smith][Lepidoptera: Noctuidae]) larvae in maize. International Journal of Pest

Management, 58(1), 83-90.

- 120. Miller, D. R. (2007). Limonene: attractant kairomone for white pine cone beetles (Coleoptera: Scolytidae) in an eastern white pine seed orchard in western North Carolina. Journal of economic entomology, 100(3), 815–822.
- 121. Miller, D. R., & Lindgren, B. S. (2000). Comparison of a-pinene and myrcene on attraction of mountain pine beetle, Dendroctonus ponderosae (Coleoptera: Scolytidae) to pheromones in stands of western white pine. Journal of the Entomological Society of British Columbia, 97, 41–46.
- 122. Mendel, Z., Zegelman, L., Hassner, A., Assael, F., Harel, M., Tam, S., & Dunkelblum, E. (1995). Outdoor attractancy of males of Matsucoccus josephi (Homoptera: Matsucoccidae) and Elatophilus hebraicus (Hemiptera: Anthocoridae) to synthetic female sex pheromone of Matsucoccus josephi. Journal of Chemical Ecology, 21, 331–341.
- 123. Jactel, H., Menassieu, P., Lettere, M., Mori, K., & Einhorn, J. (1994). Field response of maritime pine scale, Matsucoccus feytaudi Duc.(Homoptera: Margarodidae), to synthetic sex pheromone stereoisomers. Journal of chemical ecology, 20, 2159–2170.
- 124. Góngora, C. E., Tapias, J., Jaramillo, J., Medina, R., Gonzalez, S., Casanova, H., ... & Benavides, P. (2020). Evaluation of terpene-volatile compounds repellent to the coffee berry borer, Hypothenemus hampei (Ferrari)(Coleoptera: Curculionidae). Journal of chemical ecology, 46(9), 881–890.
- 125. Cao, D., Liu, J., Zhao, Z., Yan, X., Wang, W., & Wei, J. (2022). Chemical compounds emitted from Mentha spicata repel Aromia bungii females. Insects, 13(3), 244.
- 126. Badji, C. A., Dorland, J., Kheloul, L., Bréard, D., Richomme, P., Kellouche, A., ... & Anton, S. (2021). Behavioral and Antennal

Responses of Tribolium confusum to Varronia globosa Essential Oil and Its Main Constituents: Perspective for Their Use as Repellent. Molecules, 26(15), 4393.

- 127. Park, J. H., Han, K. S., Mori, K., & Boo, K. S. (2002). Right stereoisomers for sex pheromone components of the apple leafminer, Lyonetia prunifoliella, in Korea. Journal of chemical ecology, 28, 2515–2525.
- 128. Keil, T. A., & Steinbrecht, R. A. (1984). Mechanosensitive and olfactory sensilla of insects. Insect Ultrastructure: Volume 2, 477–516.
- 129. Finlayson, L. H. (1968). Proprioceptors in the invertebrates. In Symp. Zool. Soc. Lond (Vol. 23, pp. 217–249).
- 130. Butenandt, A., Beckmann, R., Stamm, D., & Hecker, E. (1959).
 Über den sexual-lockstoff des seidenspinners Bombyx mori. Reindarstellung and konstitution [On the sex attractant of the silkworm moth Bombyx mori. Isolation and structure] Z. Natuforsch. B, 14, 283 - 284. pheromones from cells with variable mating interactions. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89, 2071–2075.

Appendix

No.	Address	Coordinate	
	Address	X Y	Y
1	충청북도 제천시 청풍면 교리 147	305123	490893.9
2	충청북도 단양군 단양읍 고수리 산 9-1	323366.4	488472.5
3	충청북도 충주시 산척면 영덕리 산 66-6	286419.3	495885.6
4	강원도 원주시 귀래면 귀래리 181-3	279561.1	513547.9
5	경기도 여주시 상거동 산 11-1	255955.6	517389.7
6	강원도 영월군 북면 문곡리 산 173	327063.3	514101.4
7	경기도 양평군 용문면 연수리 산 60-55	249738.6	548098.6
8	경기도 가평군 청평면 상천리 산 283	241371	575912.4
9	강원도 춘천시 동면 장학리 산 14	267568.3	589076.6
10	강원도 양구군 양구읍 상리 산 11-25	287693.4	612026.8
11	강원도 화천군 상서면 장촌리 산 73	256194.8	615826
12	강원도 고성군 죽왕면 문암진리 산 7-3	335059.4	635133.5
13	강원도 인제군 인제읍 하추리 산 26	312855.5	603168.7
14	강원도 양양군 손양면 수산리 산 1	346845.5	610404.1
15	강원도 홍천군 화촌면 장평리 산 66-2	297833.4	570892.8
16	강원도 횡성군 우천면 정금리 산 207-2	297554.6	546832.5
17	강원도 평창군 대화면 신리 산 278	328133.3	550732
18	강원도 정선군 화암면 석곡리 산 433	352759	529304.5
19	강원도 태백시 백산동 산 35-1	381155.3	506105.7
20	강원도 삼척시 원덕읍 갈남리 산 14-6	406294.7	522376
21	강원도 동해시 용정동 산 34-1	387754.7	547563
22	강원도 강릉시 옥계면 금진리 산 105	380613.9	561112.3

Table A1. Geographic information of the eight-side sticky traps

No.	A 11	Coor	Coordinate	
	Address	X	Y	
23	강원도 속초시 노학동 719-19	336121.8	623759.5	
24	경기도 이천시 모가면 소고리 산 104-2	240554	509755.1	
25	경기도 수원시 장안구 조원동 530-1	201681.1	521917.9	
26	경기도 용인시 기흥구 지곡동 산 11-17	212121	515834.5	
27	경기도 안산시 상록구 팔곡일동 산 41-28	189591.7	522804.4	
28	경기도 군포시 속달동 산 1-1	190547.6	526804.8	
29	경기도 의왕시 오전동 산 23-1	200000	528603.3	
30	경기도 안양시 만안구 안양동 1330	193202.7	535408.9	
31	경기도 시흥시 물왕동 산 55-4	184492.3	531333.5	
32	인천광역시 연수구 동춘동 산 53-11	169946.6	534219.4	
33	인천광역시 강화군 화도면 동막리 66-12	151415.2	555149.3	
34	경기도 김포시 양촌읍 석모리 산 88	168498.9	560799.7	
35	경기도 광명시 소하동 산 93-2	188898.1	537538.2	
36	경기도 과천시 관문동 산 11-6	199201.2	537297.7	
37	서울특별시 용산구 한남동 산 8-1	200334.4	549529.5	
38	경기도 부천시 오정동 146-12	182027.2	547308.4	
39	경기도 고양시 일산동구 식사동 268-28	184114	565819.7	
40	경기도 파주시 광탄면 마장리 433-4	188706.3	575511.2	
41	경기도 양주시 산북동 산 83-3	203283.6	578481.2	
42	경기도 동두천시 생연동 산 30-1	205706.7	589910.9	
43	경기도 의정부시 신곡동 산 85-1	206439	569746	
44	경기도 성남시 수정구 고등동 588	208850.1	536564	
45	경기도 광주시 초월읍 신월리 산 29	228405.8	532885.7	
46	경기도 하남시 상산곡동 34-8	220752	544772.7	
47	경기도 남양주시 금곡동 산 2-5	219707.1	559593.7	

No.	A 11	Coordinate	
	Address	Х	Y
48	경기도 연천군 군남면 황지리 산 23-1	204046.9	604341.3
49	경기도 포천시 신북면 기지리 산 12	220782.4	592440.1
50	강원도 철원군 서면 자등리 산 136	234466.8	619030.3
51	경기도 구리시 인창동 66-1	212139.9	557679.5
52	충청남도 서천군 비인면 다사리 산 16-3	164705.8	389998.5
53	충청북도 보은군 보은읍 대야리 산 17-1	267608.6	432360.5
54	충청북도 괴산군 문광면 흑석리 산 12-1	272691.1	459835.6
55	충청남도 보령시 명천동 산 72-8	166370.5	414641.3
56	충청남도 부여군 장암면 점상리 산 94-5	187343.2	401267.7
57	충청남도 공주시 봉정동 산 67-1	208626.8	426215.6
58	세종특별자치시 연서면 와촌리 산 166	220919	439664.7
59	충청북도 청주시 상당구 남일면 신송리 산 57-1	243987.8	441678.7
60	충청남도 아산시 신인동 산 46-1	199033.8	462434.6
61	충청남도 서산시 지곡면 중왕리 산 2	145607.6	475857.5
62	충청남도 당진시 석문면 장고항리 산 86-59	160440.8	492992.5
63	충청남도 홍성군 구항면 지정리 산 114	165974.8	439934.5
64	충청남도 예산군 대흥면 대률리 1-3	186038.9	451915.1
65	충청남도 청양군 대치면 광금리 산 17	184828.6	425018.5
66	충청북도 진천군 진천읍 장관리 산 42-164	237025.2	474947.3
67	충청북도 증평군 증평읍 덕상리 산 110-1	255473.1	460599.3
68	충청북도 음성군 음성읍 사정리 산 83	257199.8	486161.5
69	경기도 안성시 사곡동 산 1-1	223593.2	494085.8
70	경기도 평택시 포승읍 석정리 산 224-1	189081.8	487944.9
71	경기도 화성시 송산면 지화리 산 69-5	170775.6	512305.7
72	경기도 오산시 궐동 422-4	203942.2	507252.5

		Coordinate	
No.	Address	X	Y
73	충청남도 천안시 동남구 북면 운용리 산 132	224199.4	473603
74	인천광역시 옹진군 영흥면 선재로170번안길 45-16	158171.8	516463.2
75	충청남도 태안군 소원면 의항리 1138	123863.5	466095.4
76	경상북도 고령군 운수면 팔산리 607	319840.7	352387
77	대구광역시 달성군 옥포읍 반송리 산 6-2	336342.1	351710.4
78	경상북도 청도군 청도읍 원정리 산 32-1	358927	340155.5
79	대구광역시 동구 둔산동 1086	352455.5	368565.2
80	경상북도 김천시 조마면 신곡리 892-1	298984.3	377274.4
81	경상북도 안동시 와룡면 태리 산 146	356929.4	447548.5
82	경상북도 경산시 진량읍 마곡리 산 67	366449.1	361691.9
83	경상북도 영천시 청통면 원촌리 산 11-2	365239.3	378110.1
84	경상북도 칠곡군 석적읍 망정리 산 24	330498.8	383960.6
85	경상북도 성주군 대가면 옥련리 산 119-2	310696.4	368591
86	경상북도 구미시 산동읍 동곡리 산 29	330660.4	399205.8
87	경상북도 군위군 우보면 달산리 산 77	349614.6	395993.2
88	경상북도 의성군 사곡면 토현리 산 35	355772.3	412583.9
89	경상북도 청송군 청송읍 청운리 산 60-1	386219	421444
90	경상북도 영덕군 영해면 대진리 4-1	418212.9	442321.1
91	경상북도 영양군 일월면 도계리 산 200	389219.2	458525.5
92	경상북도 상주시 내서면 서만리 산 118	295370.1	429244.3
93	경상북도 예천군 예천읍 대심리 산 6-1	328812.2	451863.4
94	경상북도 영주시 고현동 산 39-9	343545.2	473340.5
95	경상북도 문경시 마성면 외어리 산 47	302788.7	455969.2
96	경상북도 봉화군 법전면 법전리 산 21	367120.8	481563.6
97	경상북도 울진군 기성면 망양리 산 16-5	416070.7	476138.7

No.	A 11	Coordinate	
	Address	X	Y
98	경상북도 경주시 감포읍 나정리 산 37-4	425623.3	355665
99	경상북도 포항시 북구 흥해읍 칠포리 198	415751.3	395542.8
100	경상남도 남해군 남해읍 입현리 산 16	284228.6	248698.1
101	경상남도 사천시 서포면 비토리 산 15	287961.3	265326.3
102	경상남도 하동군 금남면 노량리 산 58-1	280413.7	262258.4
103	경상남도 산청군 금서면 향양리 산 34	276188.8	312980.7
104	경상남도 함양군 휴천면 월평리 산 2-1	263861	319594.1
105	경상남도 거제시 동부면 오송리 268-5	345384.7	248363.6
106	경상남도 통영시 광도면 안정리 산 282-3	330549.3	260726
107	경상남도 고성군 하일면 동화리 산 39	309280.8	258081
108	경상남도 진주시 장재동 산 18	300556	290027.9
109	경상남도 의령군 용덕면 용소리 산 151	316430.9	309450
110	경상남도 함안군 산인면 송정리 산 16-3	331122.2	299539.6
111	경상남도 창원시 성산구 귀산동 산 1	345965.7	286411.7
112	부산광역시 남구 용호동 895-3	392542.2	280585.2
113	부산광역시 기장군 일광면 이천리 산 5-2	404955.4	299773.4
114	경상남도 김해시 주촌면 선지리 산 64	368099.4	294746
115	경상남도 양산시 교동 산 154-1	382828.5	307832.4
116	경상남도 밀양시 가곡동 산 32-1	361240.1	321034.1
117	경상남도 창녕군 계성면 사리 산 10	338381.9	322739.3
118	경상남도 합천군 대양면 아천리 산 123	306378.3	327542.8
119	울산광역시 동구 주전동 산 1	422293.6	333176.6
120	울산광역시 울주군 서생면 대송리 산 30-1	414329.8	309988.7
121	경상남도 거창군 거창읍 양평리 산 140-21	284247.5	345170.2
122	전라남도 진도군 군내면 녹진리 산 2-10	136019.8	219274.2

.	A 11	Coordinate
No.	Address -	X Y
123	전라남도 해남군 화산면 가좌리 산 78	151057.9 211697.4
124	전라남도 강진군 칠량면 장계리 산 99	181596.5 216927.3
125	전라남도 장흥군 용산면 상발리 산 64	199339.7 224527.4
126	전라남도 보성군 회천면 객산리 산 65	214238.2 233534.1
127	전라남도 완도군 완도읍 대야리 산 5	175258.2 197808.8
128	전라남도 고흥군 영남면 우천리 산 285-7	244269 226690.9
129	전라남도 여수시 화양면 용주리 산 234	256930.8 235852.6
130	전라남도 광양시 황금동 산 179-7	256755.2 258297.4
131	전라남도 순천시 별량면 무풍리 산 169	242126 250139.2
132	전라남도 목포시 대양동 산 70-2	146363.8 249420.4
133	전라남도 무안군 청계면 복길리 산 65-2	145425.7 256230.6
134	전라남도 신안군 지도읍 읍내리 산 114-2	127520.6 272497.2
135	전라남도 영암군 학산면 신덕리 산 107	157613.4 239244.6
136	전라남도 나주시 보산동 산 7-1	172695.3 270074.7
137	전라남도 함평군 손불면 학산리 산 60	144604.8 285031.4
138	광주광역시 서구 금호동 618	185608.6 281631.3
139	전라남도 화순군 동면 운농리 산 113-1	202482.2 270012.8
140	전라남도 곡성군 삼기면 금반리 산 46-1	221856.6 292712.8
141	전라남도 구례군 광의면 방광리 산 1-40	243183.1 297082.4
142	전라남도 담양군 무정면 오룡리 산 40	201346.2 299813.9
143	전라남도 장성군 장성읍 성산리 산 2-1	183134.4 303775.1
144	전라남도 영광군 백수읍 약수리 산 4	144615.9 300211.2
145	전라북도 남원시 식정동 산 55	238640.1 316755
146	전라북도 순창군 인계면 도룡리 산 184	211851.7 313292.4
147	전라북도 고창군 상하면 장호리 916-2	150855.3 319843.1

No.	A 11	Coordinate	
	Address	Х	Y
148	전라북도 부안군 하서면 장신리 산 1	167143.7	347444.8
149	전라북도 정읍시 북면 남산리 산 17	187275	333925.6
150	전라북도 임실군 임실읍 정월리 산 3	223498	333283.6
151	전라북도 장수군 장수읍 선창리 산 57-2	249213.9	342086.5
152	전라북도 진안군 진안읍 군하리 산 23-1	237763	353896.9
153	전라북도 김제시 황산동 산 33-11	194093.3	352589.6
154	전라북도 군산시 옥서면 옥봉리 산 168-2	165892	371736.6
155	전라북도 익산시 금마면 신용리 산 210-1	204789.8	379465.3
156	전라북도 완주군 고산면 양야리 산 4	217866.4	373144.7
157	전라북도 전주시 완산구 삼천동3가 산 78	207965	355851.4
158	전라북도 무주군 안성면 사전리 산 26-1	259725.8	363976
159	충청북도 영동군 양강면 유점리 산 25-1	266406.3	392433.5
160	충청남도 금산군 금성면 양전리 396-6	243083.2	391199.7
161	충청남도 논산시 부적면 충곡리 산 9-23	216159.9	399928.8
162	충청남도 계룡시 엄사면 향한리 150-3	220218.1	409162.2
163	대전광역시 서구 관저동 산 82	230766.2	410278.4
164	충청북도 옥천군 동이면 청마리 산 52-1	261733.9	413035

Abstract

Functional analyses of antennal sensilla and developments of accurate monitoring method using sex pheromone in *Dioryctria abietella* and *Matsucoccus matsumurae*

Lee Sung-Chan

Major in Forest Environmental Science Department of Agriculture, Forestry and Bioresources The Graduate School of Seoul National University

This study was conducted to develop an accurate monitoring method for *Dioryctria abietella* and *Matsucoccus matsumurae*, major pests in coniferous species, using sex pheromone.

(9Z,11E)-tetradecadienvl acetate (9Z,11E-14:OAc)and (3Z,6Z,9Z,12Z,15Z)-pentacosapentaene (C25 pentaene), known as the sex pheromone of the European Diorvctria abietella population, were identified in the Korean *D. abietella* population. The ratio of 9Z,11E-14:OAc to C25 pentaene extracted from 1:23. female pheromone glands was Morphological and ultrastructure of sensilla on the antennae of *D. abietella* was

investigated using field-emission scanning electron microscopy (FE-SEM) and transmission electron microscopy (TEM). The sensilla were classified into böhm's bristles (BB1. BB2). coeloconica (SCo), trichodea (STr1, STr2), chaetica (SCh1, SCh2, SCh3). styloconica (SSt1, SSt2), auricillica (SAu1. SAu2). squamiformia (SSq). Among these, micropore was founded from SCo, STr and SAu, suggesting that these three sensilla are chemoreceptors. The electroantennogram (EAG) response of male antennae to 9Z,11E-14:OAc was stronger than to C25 pentaene, whereas an opposite EAG response was observed in female antennae. Major volatile compounds in mature Korean pine cones (*Pinus koraiensis*), such as (±)-limonene, myrcene, and (-)-*a*-pinene elicited dose-dependent EAG responses in male and female antennae. In field attraction testing, traps baited with 100:1,000, 100:2,000, and 100:3,000 µg of 9Z,11E-14:OAc to C25 pentaene were the most attractive to male *D. abietella*. More males baited were attracted to traps with 9Z,11E-14:OAc+C25 pentaene + (±)-limonene than traps baited with 9Z,11E-14:OAc+C25 pentaene. This result showed that (\pm) -limonene acted as a synergist with sex pheromone. Delta, wing, and diamond traps were superior to bucket traps for capturing D. abietella males. This study showed that pheromone traps baited with $100:1,000 \sim 100:3,000 \,\mu g$ of 9Z,11E-14:OAc to C25 pentaene and (\pm) -limonene would be helpful for the accurate monitoring of *D. abietella* flight phenology in *Pinus koraiensis* Sieb. & Zucc. (Pinales: Pinaceae) forests.

Multiporous pegs (MP), Univprous pegs (Up), Campaniform (Ca), Multiporous trichod (Mt), böhm's bristles (BB), Smooth aporous tricoid (SAt) and Knobbed seta (Ks) were identified from Matsucoccus matsumurae. Among these, micropore was founded from Mp, Up, and Mt, suggesting that these three sensilla are chemoreceptors. Matsuone is a well-known sex pheromone of the genus *Matsucoccus* (Hemiptera: Margarodidae), including the species *Matsucoccus matsumurae* (Kuwana), *Matsucoccus* resinosae Bean & Goldwin, and Matsucoccus matsumurae Miller & Park. In this study, we investigated the effects of dose and trap height on the matsuone capture of M. *matsumurae* and developed an alternative synthesis of racemic matsuone. In field trapping experiments, M. matsumurae males showed dose-dependent attraction to (6R, 10R/S)-matsuone from 100 µg up to an approximate saturation level of 1,600 µg per rubber septum lure. Traps baited with (6R, 10R/S)-matsuone and installed 50 cm above ground level attracted more males than traps 100 and 150 cm above ground level. No synergistic effect volatiles of from host plant, β -caryophyllene, myrecene, 3-carene, (-)-*a*-pinene, β -pinene and (\pm) -limonene, were shown for attraction of *M. matsumurae*. However, fewer males were attracted the eight-sided stickv trap baited with to β -caryophyllene with sex pheromone. In a comparison test of attractiveness for male *M. matsumurae* according to trap colors, yellow, blue, green, and white, more males were attracted to the eight-sided sticky trap with yellow. New synthetic routes of racemic matsuone were developed, and field experiments with

the product were conducted to reduce synthesis procedures, time, and labor. Although traps baited with the racemic were less attractive than traps baited with matsuone (6R, 10R/S)-matsuone synthesized by a previously reported method, the new synthetic route could be an economically favorable alternative to the previous method used in the production of lures for field application. Nationwide monitoring of *M. matsumurae* was conducted using newly synthesis method of racemic matsuone, an eight-sided sticky trap, and automatic pest counting using deep-learning object detectors. In the previous survey in 2010, the distribution of *M. matsumurae* was verified mainly along the coastal area. However, the current distribution range was greatly expanded, and the distribution was confirmed in all cities and provinces of Korea.

keywords : Coniferous pests, *Dioryctria abietella*, *Matsucoccus matsumurae*, Sex pheromone, Sensilla, Electroantennogram

Student Number : 2015-31113