

CATTS를 이용한 저곡해충 거짓쌀도둑거저리(*Tribolium castaneum*)의 소독 효과

손예림 · 김 용¹ · 김용균*

안동대학교 생명자원과학과, ¹(주)디지털솔루션

Control Effect of a Stored Grain Insect Pest, *Tribolium castaneum*, by 'CATTS' Postharvest Treatment

Yerim Son, Yong Kim¹ and Yonggyun Kim*

Department of Bioresource Sciences, Andong National University, Andong 760-749;

¹Digital-Solution, Inc., Uiwang 437-010, Korea

ABSTRACT: A postharvest treatment called CATTS (controlled atmosphere and temperature treatment system) has been used as an alternative nonchemical measure for methyl bromide fumigant treatment. This study applied CATTS to control the red flour beetle, *Tribolium castaneum*, infesting stored grains. Adults of *T. castaneum* were susceptible to 46°C heat treatment. The susceptibility was further enhanced by addition of CA conditions (15% CO₂ and 1% O₂). When CATTS (46°C, 15% CO₂, 16°C/h treating rate) was applied to different developmental stages of *T. castaneum*, it showed 100% control efficacy by 120 min exposure. There was a variation in CATTS susceptibility among developmental stages, in which late instar larvae were most tolerant. Heat shock proteins of *T. castaneum* appeared to be implicated in the tolerance of CATTS.

Key words: CATTS, *Tribolium castaneum*, Postharvest Treatment, Stored Grain, Heat Shock Protein

초 록: 친환경 소독 기술인 환경조절열처리(CATTS: controlled atmosphere and temperature treatment system)는 메틸브로마이드 훈증제 처리의 대체 기술로 사용되어 왔다. 본 연구는 저장 곡물 해충인 거짓쌀도둑거저리(*Tribolium castaneum*)를 CATTS를 통해 저장 기간 중 방제가 가능한 지를 알아보기 위해 시도되었다. 거짓쌀도둑거저리의 성충은 46°C에서 열충격 감수성을 보였으며 여기에 CA 조건(15% 이산화탄소, 1% 산소)은 감수성을 현격하게 증가시켰다. CATTS 조건(46°C, 15% 이산화탄소, 1% 산소)에서 120 분간 노출시켰을 때 유충(초기, 중기, 말기)과 성충 모두 100% 살충율을 나타냈다. CATTS 처리에 대한 감수성이 거짓쌀도둑거저리 발육 시기에 따라 상이했고 말기 유충에서 높은 내성을 보였다. 거짓쌀도둑거저리 열충격단백질의 발현이 CATTS에 대한 내성과 관련이 있는 것으로 나타났다.

검색어: 환경조절열처리, 거짓쌀도둑거저리, 소독처리, 저장곡물, 열충격단백질

곡물과 식품의 원재료는 농경지에서 생산되어 수확 후 가정이나 가공공장으로 공급되기 전 운반, 탈곡, 건조의 과정을 거쳐 창고나 가옥 등에 보관되는데, 이때 여러 가지 이유로 손실이 발생되지만 그 중 해충에 의한 손실이 포함된다. 이들 해충은 자체의 이동성에 의해서 전파되기도 하지만 식량 유통에 의해 이동 및 전파되고 있다(Na and Ryoo, 2000). 일단 새로운 장소에 전파된 해충은 저장된 먹이가

풍부하기 때문에 정착 후 이동하지 않고 오랫동안 한 곳에서 증식하며 살 수 있다. 이러한 특성으로 인해 뒷날개가 퇴화된 종이 많고 직접 곡물 사이로 이동 잠입이 용이하게 진화되어 온 딱정벌레류가 저장 해충 가운데 대표적이다. 경제적 손실을 초래하는 딱정벌레목 해충의 침입을 억제시키며 침입된 해충을 박멸하기 위한 소독기술의 개발과 현장적용이 요구되고 있다(Choi *et al.*, 1996).

수확 후 작물의 소독기술은 크게 화학적 및 물리적 처리법으로 대별된다(Paull and Armstrong, 1994; Sharp and Hallman, 1994). 화학적 처리법은 메틸브로마이드나 포스

*Corresponding author: hosanna@andong.ac.kr

Received October 20 2010; revised November 26 2010; accepted December 15 2010

핀과 같은 화학물질을 이용하는 훈증 처리로서 작물의 심층 부까지 침투하여 방제 효과를 나타내게 되며 수확물 표면에 정착하는 해충을 제거하는 비누화 물질 또는 화학 농약 처리도 포함된다. 반면에 물리적 처리법은 온도(고온, 저온) 처리, 환경조절처리, 방사선처리 및 이들의 혼합처리를 포함한다. 온도처리는 해충의 온도에 대한 생존 한계 범위를 이용한 방제 기술이고, 환경조절열처리는 높은 농도의 이산화탄소와 낮은 농도의 산소를 결부한 온도 처리를 의미한다(Carpenter and Potter, 1994; Neven and Drake, 2000). 방사선 조사는 해충의 DNA의 화학결합을 붕괴시킴으로 소독효과를 발휘하게 한다. 기타 물리적 처리법으로는 오존처리(Hollingsworth and Armstrong, 2005; Kells *et al.*, 2001), 마이크로파처리(Ikediala *et al.*, 1999), 라디오주파 열처리(Nelson, 1996; Tang *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2002), 고압산소처리(Butz and Tauscher, 1995) 및 진공처리(Liu, 2003) 등이 알려져 있다.

물리적 처리기술 가운데 환경조절열처리는 일명 CATTS (controlled atmosphere temperature treatment system)로 불리는 데, 높은 농도의 이산화탄소와 낮은 농도의 산소 환경 조건에서 특정 해충의 생존 한계에 해당하는 고온을 처리하여 방제 효과를 극대화하는 기술이다(Neven and Mitcham, 1996). CATTS 기술에 의해 수확 후 소독 처리에 의해 방제하는 해충으로는 코드린나방(*Cydia pomonella*), 복숭아순나방(*Grapholita molesta*), 자두바구미(*Conotrachelus nenuphar*) 및 과실파리류(*Rhagoletis indifferens*) 등이 있다(Neven *et al.*, 2006; Neven and Rehfield-Ray, 2006a,b). 또한 대상 작물체로서 사과, 배, 복숭아, 망고 및 체리가 CATTS 처리에 피해를 보이지 않아, 안전하게 본 기술이 적용될 수 있다(Yahia, 2000; Neven 2005; Obenland *et al.* 2005; Neven and Rehfield-Ray 2006a,b; Neven *et al.* 2006).

거짓쌀도둑거저리(*Tribolium castaneum*)는 전 세계적으로 분포하면서 저장 중 밀가루를 가해하여 경제적 피해를 주는 주요 해충으로 알려져 있다(Birch, 1945; Daniels, 1956). 피해 곡물은 밀에 국한되어 있지 않고 옥수수(Le Cato and Flaherty, 1973), 기장(Rooder and Andri-Essen, 1983), 사탕수수(Shazali and Smith, 1986), 쌀(Kim and Ryoo, 1982)로 확대되고 있다. 메틸브로마이드에 의한 화학적 훈증처리에 의존하던 거짓쌀도둑거저리 방제 방법에서 비교적 고독성 화학약품을 줄이기 위해 환경조절 방식의 고충전 CO₂ (85%) 기술이 시험되었다(Na *et al.*, 2006). 본 연구는 CO₂ 농도를 15%로 유지하고, 저산소(1%) 상태를

보강한 CA 조건에서 열처리가 거짓쌀도둑거저리 방제에 가능한 지에 대한 CATTS 기술을 검증하기 위해 거짓쌀도둑거저리의 다양한 발육시기에 대해 가장 감수성이 낮은 시기를 분석하고 CATTS 처리를 적용하여 유효 노출 시간을 결정했다. 또한 CATTS 처리에 의한 거짓쌀도둑거저리의 내성을 생리적으로 설명하기 위해 스트레스 노출에 대한 생리적 회복과 관련이 있는 열충격단백질의 발현을 분석하였다.

재료 및 방법

공시충

거짓쌀도둑거저리는 밀가루, yeast extract (Scharlau, Barcelona, Spain), trypton (BD, NJ, USA) (100:50:50, g/g)을 먹이로 27±1°C에서 16:8 h (L:D)의 광조건으로 사육하였으며, 유충과 성충을 대상으로 생물검정을 하였으며, 유충은 3단계로 나누어 초기 발육단계(체장 2-3 mm), 중기 발육단계(4-5 mm), 후기 발육 단계(6-7 mm)로 구분하였다.

처리온도 (46°C) 노출 시간별 살충력 조사

각 1.5 ml 튜브에 거짓쌀도둑거저리 성충을 한 마리씩 넣었고, 반복당 30 마리씩 3 반복으로 실험을 수행하였다. 각 곤충을 46°C 항온수조에서 처리 시간대 별로 나눠서 처리하였고, 처리 후 곤충사육 페트리디쉬(직경 50 mm × 두께 15 mm)에 먹이와 함께 넣어 24 시간 후에 생존 여부를 확인하였다. 치사된 곤충은 핀셋으로 건드려 움직임이 없는 개체로 판단하였다.

CA 조건에서 열처리 제고 효과

CA 처리는 각 1.5 ml 튜브에 한 마리 개체를 넣고 15% CO₂ 및 1% O₂ 조건에서 46°C 열처리를 60 분간 수행하였다. 처리 후 살충력을 확인하기 위해 곤충 사육 페트리디쉬(직경 50 mm × 두께 15 mm)에 10 마리 씩 옮기고 먹이를 제공하였으며, 이후 24 시간이 경과한 후 생사충수를 조사하였다.

CATTS 처리 기기 제작 및 작동

온도와 이산화탄소 농도가 컴퓨터 프로그램(LabVIEW, National Instruments, Austin, Texas, USA)으로 제어되는 연구용 CATTS 기기(189.7 L)가 구축되었다(Son *et al.*, 2010). 본체는 CO₂ 인큐베이터 (Water-Jacketed Incubator,

Forma Scientific, Canada, USA)를 개조하였고, CO₂, N₂ 및 O₂의 3 종류 가스가 파일롯트식 two way 고압용 솔레노이드 밸브형의 가스조절기(VPW214, Doojin Valve, Seoul, Korea)로 본체에 연결시켰다. 온도는 30°C에서 46°C까지 상승시키는 데 1시간이 소요되도록 설정되었다. 온도의 순환을 돕기 위해 기기 상부와 하부에 팬(1.07 m³/min, Hakko 493, Hakko, Osaka, Japan)을 부착하였다. 이산화탄소 15%와 산소 1%의 농도를 유지하도록 CO₂ 센서(KCD-HP300X, Korea Digital, Seoul, Korea), O₂ 센서(Model #SS1118, Senko, Seoul, Korea)를 자동 제어장치에 연결하였다.

CATTS 처리 방법

매 처리 전 질소를 20 분 동안 투입하여 CATTS 기기 내 O₂ 농도를 1%로 낮추었다. 이후 CO₂ 밸브를 열고 자동으로 농도가 15%에 이르도록 설정하였다. 설정 온도(30°C)에서 인큐베이터 목표 온도(46°C)까지 60 분 동안 온도를 증가시켰고 이 때 인공사로 내부 온도는 처리 온도는 44°C이었다. 이후 이산화탄소 15%, 산소 1%와 밀가루 내부 온도가 44°C에 맞춰질 때를 기점으로 30, 60, 90 및 120 분간 거짓쌀도둑거저리를 처리하였다. 처리 시간별 사용된 인공사료의 먹이는 5 g이며, 거짓쌀도둑거저리의 수는 발육 단계별 초기 유충, 중기 유충, 말기 유충과 성충으로 각 처리 시간별로 30 마리씩 3 반복으로 실시하였다. 처리 후 상온(25°C)에서 24 시간 보관 후 생사충수를 조사하였다.

RNA 추출 및 cDNA 합성

CATTS 처리 후 25°C에서 24 시간 경과 후 죽은 유충과 살아있는 유충을 각각 한 마리씩 선별하여 전체 RNA를 추출하였다. 전체 RNA 추출은 Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)의 사용 설명서에 따랐다. 첫 가닥 cDNA는 올리고(dT)₁₅ 프라이머가 포함된 RTpremix (Intron Biotechnology, Seoul, Korea)에 의해 20 µl를 합성하였다.

열충격 단백질의 RT-PCR 분석

GenBank에 등록된 거짓쌀도둑거저리 hsp90 (EF633444)과 hsp70 (AY769606)의 염기서열을 이용하여 각각의 특정 프라이머를 제작하였다. 합성된 단일 가닥 cDNA를 사용하여 hsp90 (5'-TCGCAGTTCATTGGCTATCC-3', 5'-TCTTCCGAATCGACGACACC-3')과 hsp70 (5'-TGCAGCAGCCATTGCTTACG-3', 5'-AGTCGAACCAACGAGCAC-3')의 유전자 특이적 프라이머로 PCR 증폭을 실시하였다.

PCR 반응은 94°C에서 1 분간 변성, 52°C에서 45 초간 합성, 72°C에서 1 분 30 초 연장 조건에서 30 회 반복 수행하였다.

통계분석

모든 살충효과 시험 결과는 백분율 자료로서 arcsine 변환 후 SAS의 PROC GLM (SAS Institute, 1989)을 이용하여 ANOVA 분석을 실시하였다. 반수치사시간(median lethal time: LT₅₀)은 probit 분석법(Raymond, 1985)을 이용하여 산출하였다.

결 과

처리온도 46°C에서 노출시간별 살충력 조사

거짓쌀도둑거저리의 성충으로 CATTS에서 권장하는 46°C의 열처리 조건에서 노출 시간별 사망률을 조사하였다 (Fig. 1). 이때 반수치사노출시간(LT₅₀)이 62.16 분(95% 신뢰구간: 57.60~66.43 분)으로 나타났다. 또한 95%를 치사시키는 노출시간(LT₉₅)과 99%를 치사시키는 노출시간(LT₉₉)은 각각 probit 점정 결과 94.47 분(84.69~106.35 분)과 115.42 분(102.87~137.20 분)으로 산출되었다.

CA 조건에 따른 열처리 제고 효과

CATTS의 핵심원리는 열처리 효과를 극대화하기 위해

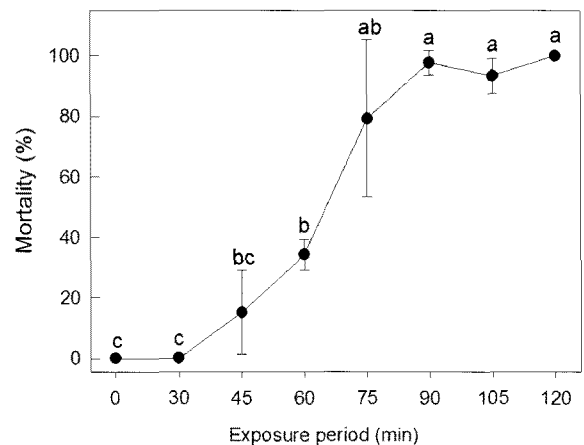


Fig. 1. Susceptibility of *Tribolium castaneum* adults to heat treatment (46°C). Treated adults were transferred to 25°C and mortality was estimated 24 h after the heat treatment. Each treatment was replicated three times with 30 individuals per replication. Different letters above standard deviation bars indicate significant difference among means at Type I error = 0.05 (LSD test).

열처리 후 일어나는 곤충의 회복 증세를 높은 농도의 이산화탄소 처리에 의해 억제시키는 데 있다. 이를 증명하기 위해 46°C에서 짧은 기간 동안 노출시키고, 15% CO₂ 및 1% O₂ 조건에 해충을 노출시켰다(Fig. 2). 처리 후 24 시간이 경과 후에 열처리 단독은 38%의 사망률을 기록한 반면, 열처리와 이산화탄소를 동시에 처리하면 100%의 살충율을 보였다.

거짓쌀도둑거저리에 대한 CATTS 처리 기술 개발

제작된 연구용 CATTS를 바탕으로 밀가루 먹이 내부 온도가 44°C에 이른 후 노출 시간에 따른 거짓쌀도둑거저리의 방제 효과를 분석하였다(Fig. 3). 거짓쌀도둑거저리의 소독효과는 처리 시간의 증가에 따라 높아지는 경향을 나타냈다. 노숙 유충은 CATTS에 높은 내성을 보였다($F = 9.56$; $df = 3,8$; $P = 0.0051$). 하지만 120 분간 처리하였을 때는 100%의 치사율을 보였다.

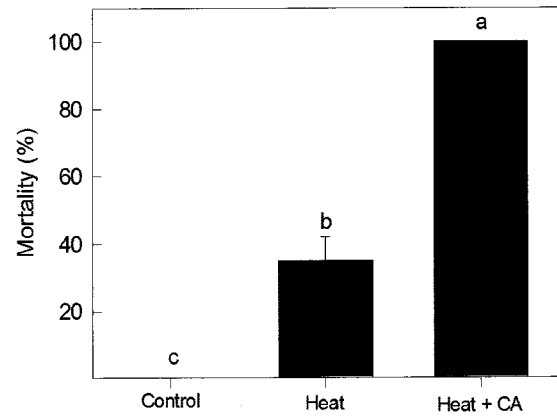


Fig. 2. Potentiation of heat treatment (46°C, 60 min) with addition of CA conditions of 15% CO₂ and 1% O₂ against *Tribolium castaneum* adults. Treated adults were transferred to 25°C and mortality was estimated 24 h after the heat treatment. Each treatment was replicated three times with 30 individuals per replication. Different letters above standard deviation bars indicate significant difference among means at Type I error = 0.05 (LSD test).

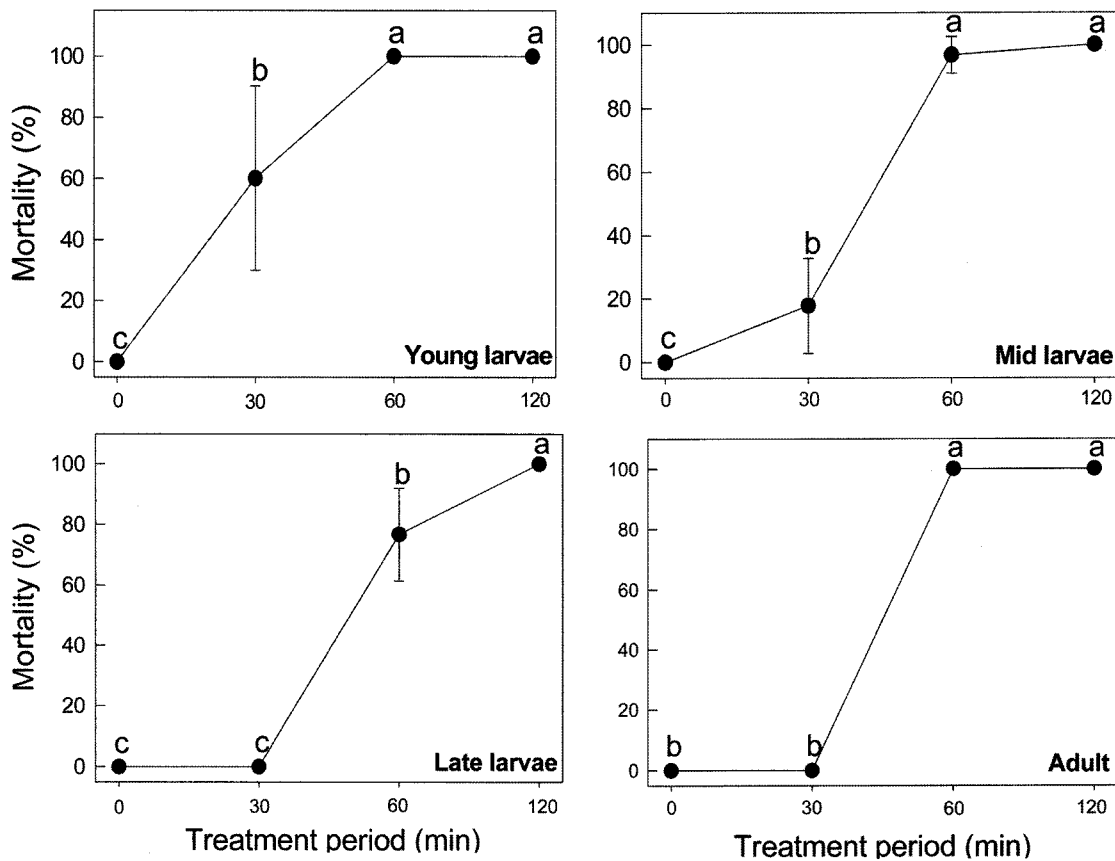


Fig. 3. CATTS effects on different developmental stages of *Tribolium castaneum*. Rate of heating was 16°C/h. Treatment period represents time at 46°C. CA conditions used 15% CO₂ and 1% O₂. Treated individuals were treated to 25°C and mortality was estimated 24 h after the heat treatment. Each treatment was replicated three times with 30 individuals per replication. Different letters above standard deviation bars indicate significant difference among means at Type I error = 0.05 (LSD test).

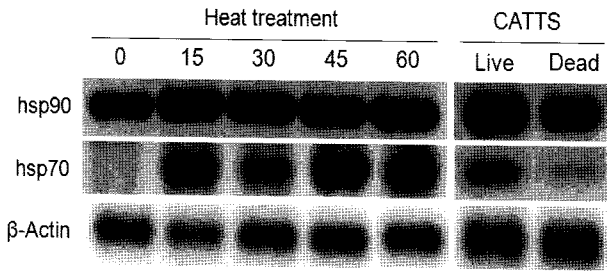


Fig. 4. Expression profile of heat shock proteins (hsps) of *Tribolium castaneum* adults. Heat treatment used 46°C. CATTs used heat treatment of 46°C for 30 min with 16°C/h heating rate and CA treatment of 15% CO₂ and 1% O₂. Expression of each gene was analyzed by RT-PCR with 30 cycles. β-Actin expression used to confirm the cDNA preparation.

CATTs 처리와 열충격 단백질 발현

열처리와 CATTs 처리에 따른 hsp90 과 hsp70의 발현 양상을 조사하였다(Fig. 4). 열충격단백질인 hsp90은 항시 발현하는 유전자로서 무처리, 열충격과 CATTs 처리 모두에서 발현하였다. 또한 CATTs 처리 후 생존한 개체와 죽은 개체 또한 모두 발현하였다. 이에 반해 유도 발현하는 열충격단백질인 hsp70은 무처리와 CATTs 처리 후 죽은 개체에서는 발현되지 않았지만, CATTs 처리 후 생존한 개체에서는 높게 발현되었다.

고 찰

본 연구는 CATTs 소독 처리 기술이 저장곡물에 가해를 주는 거저살도독거저리를 방제 가능 여부를 결정하기 위해 수행되었다. CATTs 처리에서 사용되는 46°C 조건은 거저살도독거저리에 대해 노출시간에 비례하여 살충력을 증가시켰으며, 발육시기에 따라 차이를 보였다. 반면에 CO₂ 농도 15%, O₂ 농도 1%를 결부한 CA 조건에서 열처리 효과는 극대화되었다. 이러한 CA 조건의 상승 소독 효과는 곤충으로 하여금 열충격으로부터 회복하려는 능력을 저해하는 데서 기인하는 것으로 보인다(Neven, 2000). 일반적으로 곤충의 경우에도 열충격에 따라 형성되는 열충격단백질이 이러한 스트레스 회복에 관여할 수 있으며(Yin *et al.*, 2006), CATTs의 낮은 산소 조건은 이러한 열충격단백질의 합성을 억제하는 것으로 예상된다.

이러한 CA 조건의 상승효과를 바탕으로 상이한 노출시간에 따른 CATTs 처리 효과를 검증하였는데, 노출시간에

비례하여 치사 효과가 증가했으며, 서로 다른 발육시기에 따라 서로 다른 소독 효과는 차이를 보였다. 거저살도독거저리의 모든 발육시기에 대해서 CATTs 처리 노출시간은 최소 120 분이 소요되어야 하는 데 이러한 처리 노출시간은 다른 곤충에 비해 비교적 장시간으로 판단된다. 예를 들어, 코드린나방(*C. pomonella*)과 복숭아순나방(*G. molesta*)은 46°C의 처리 온도에서 과실내부가 약 44°C 이상으로 30 분간(12°C/h 온도 증가 속도) 또는 15 분간(24°C/h 온도 증가 속도) 유지하며 100% 치사 효과를 보였다(Neven *et al.*, 2006; Neven and Rehfield-Ray, 2006b). CATTs 처리 초기에 내부온도를 46°C 까지 올리는데 진행된 온도 증가 속도는 CATTs 처리 효과에 크게 영향을 준다(Neven, 1998). 본 연구는 16°C/h의 온도 증가 속도로서 12°C~24°C/h의 타 처리 속도에 비해(Neven *et al.*, 2006) 빠른 편은 아니어서, 처리 온도를 보다 증가시키면서 노출시간을 최소화할 수 있는 기술이 개발될 수 있다.

거저살도독거저리의 열충격단백질 발현과 CATTs 처리 내성과 연계성을 분석하여 보, 본 연구에서는 hsp90은 항시 발현되고 hsp70은 열처리에 대해 조건 발현을 보이는 것으로 나타났다. 이러한 거저살도독거저리의 hsp70에 대한 결과는 Mahroof *et al.* (2005)의 연구 결과를 재 확인시켜 주었다. 즉, 열충격에 대해 hsp70이 유도 내성 인자로서 작용할 수 있다는 것을 나타내고 있다. 이는 CATTs 처리 후 생존 개체와 치사된 개체를 비교하여 hsp70이 생존 개체에서만 발현한다는 결과에서 확인시켜 주었다. 일반적으로 열충격단백질은 hsp20, hsp40, hsp60, hsp70, hsp90, hsp100 및 hsp110으로 구분되며(Gething, 1998; Nover and Scharf, 1997), 이들의 기능은 단백질 수송, 신호전달, DNA 복제 및 단백질 구조 형성에 관여하는 것으로 알려져 있다(Hartl, 1996). 따라서 본 연구에서 거저살도독거저리의 hsp70은 열충격에 대해서 이 곤충의 생존에 중요한 여러 단백질의 올바른 구조 형성에 관여하여 CATTs 처리에 대한 회복 능력을 부여하는 것으로 추정된다.

이상의 결과는 CATTs 소독 처리 기술이 저장곡물을 가해하는 거저살도독거저리를 방제하기에 적용될 수 있음을 제시하고 있다. 또한 열충격단백질의 일종인 hsp70이 CATTs 처리에 내성 인자로 작용할 수 있음을 보여 주었다. 한편 CATTs 처리 노출시간을 줄이는 기술을 개발하여 작물체에 대한 열충격 효과를 최소화하는 방향으로 연구를 진행할 필요가 있다.

사 사

본 연구는 2010년도 식물검역원의 외부용역과제로 수행되었다. CATTS 시설에 대한 조연을 하여준 미국 USDA의 Dr. Lisa Neven에게 감사의 말씀을 드립니다.

Literature Cited

- Butz, P. and B. Tauscher. 1995. Inactivation of fruit fly eggs by high pressure treatment. *J. Food Process. Preserv.* 19: 161-164.
- Birch, L.C. 1945. The influence of temperature on the development of the different sages of *Calandra ortzae* and *Rhizopertha dominica*. *Aust. J. Exp. Med. Sci.* 23: 29-35.
- Carpenter, A. and M. Potter. 1994. Controlled atmospheres. pp. 171-198, In *Quarantine treatments for pests and food plants*, eds. by J.L. Sharp and G.J. Hallman. 290pp. Westview, Boulder, CO, USA.
- Choi, G., M. Lee, M. Han, S. An and G. Hong. 1996. Stored product insect pests with pictorial key to larvae. NIAST: 192-193.
- Daniels, N.E. 1956. Damage and reproduction by the flour beetles, *Tribolium confusum* and *T. castaneum* in wheat at three moistures. *J. Econ. Entomol.* 49: 244-247.
- Gething, M. 1998. *Guidebook to molecular chaperones and protein folding catalysts*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Hartl, F.U. 1996. *Molecular chaperones in cellular protein folding*. *Nature* 381: 571-580.
- Hollingsworth, R.G., and J.W. Armstrong. 2005. Potential of temperature, controlled atmospheres, and ozone fumigation to control thrips and mealybugs on ornamental plants for export. *J. Econ. Entomol.* 98: 289-298.
- Ikediala, J.N., J. Tang, L.G. Neven and S.R. Drake. 1999. Quarantine treatment of cherries using 915 MHz microwaves: temperature mapping, codling moth mortality and fruit quality. *Postharvest Biol. Technol.* 16: 127-137.
- Kells, S.A., L.J. Mason, D.E. Maier and C.P. Woloshuck. 2001. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. *J. Stored Prod. Res.* 37: 371-383.
- Kim, Y. and M. Ryoo. 1982. Activities of molds and insects during rice storage - Part II. Activities of rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.) and *Aspergillus* species. *J. Kor. Appl. Biol. Chem.* 25: 252-256.
- Le Cato, G.L. and B.R. Flaherty. 1973. *Tribolium castaneum* progeny production and development on diet supplemented with egg of adult of *Plodia interpunctella*. *J. Stored Prod. Res.* 9: 119-203.
- Liu, Y.B. 2003. Effects of vacuum and controlled atmosphere treatments on insect mortality and lettuce quality. *J. Econ. Entomol.* 96: 1100-1107.
- Mahroof, R., K.Y. Zhu, L.G. Neven, B. Subramanyam and J. Bai. 2005. Expression patterns of three heat shock protein 70 genes among developmental stages of the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Comp. Biochem. Physiol.* 141: 247-256.
- Na, J., Y. Nam, M. Ryoo and Y. Chun. 2006. Control of food pests by CO₂ modified atmosphere: effects of packing materials and exposure time on the mortality of *Tribolium castaneum* and *Plodia interpunctella*. *Kor. J. Appl. Entomol.* 45: 363-369.
- Na, J. and M. Ryoo. 2000. The influence of temperature on development of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) on dried vegetable commodities. *J. Stored Prod. Res.* 36: 125-129.
- Nelson, S.O. 1996. Review and assessment of radio-frequency and microwave energy for stored-grain insect control. *Trans. ASAE* 39: 1475-1484.
- Neven, L.G. 1998. Effects of heating rate on the mortality of fifth-instar codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Econ. Entomol.* 91, 297-301.
- Neven, L.G. 2000. Physiological responses of insects to heat. *Postharvest Biol. Technol.* 21: 103-111.
- Neven, L.G. 2005. Combined heat and controlled atmosphere quarantine treatments for control of codling moth, *Cydia pomonella*, in sweet cherries. *J. Econ. Entomol.* 98: 709-715.
- Neven, L.G. and S.R. Drake. 2000. Comparison of alternative quarantine treatments for sweet cherries. *Postharvest Biol. Technol.* 20: 107-114.
- Neven, L.G. and E.J. Mitcham. 1996. CATTS: controlled atmosphere temperature treatment system, a novel approach to the development of quarantine treatments. *Am. Entomol.* 42: 56-59.
- Neven, L.G. and L. Rehfield-Ray. 2006a. Combined heat and controlled atmosphere quarantine treatments for control of western cherry fruit fly in sweet cherries. *J. Econ. Entomol.* 99: 658-663.
- Neven, L.G. and L. Rehfield-Ray. 2006b. Confirmation and efficacy test against codling moth and oriental fruit moth in apples using combination heat and controlled atmosphere treatments. *J. Econ. Entomol.* 99: 1620-1627.
- Neven, L.G., L. Rehfield-Ray and D. Obenland. 2006. Confirmation and efficacy tests against codling moth and oriental fruit moth in peaches and nectarines using combination heat and controlled atmosphere treatments. *J. Econ. Entomol.* 99: 1610-1619.
- Nover, L. and K.D. Scharf. 1997. Heat stress proteins and transcription factors. *Cell Mol. Life Sci.* 53: 80-103.
- Obenland, D., P. Neipp, B. Mackey and L.G. Neven. 2005. Peach and nectarine quality following treatment with high temperature forced air combined with controlled atmospheres. *HortScience* 40: 1425-1430.
- Paull, R.E. and J.W. Armstrong. 1994. *Insect pests and fresh horticultural products: treatments and responses*. CAB International, Wallingford, UK.
- Raymond, M. 1985. Presentation d'un programme d'analyse log-probit pour micro-ordinateur. *Cah. ORS-TOM. Ser. Ent. Med. et Parasitol.* 22: 117-121.
- Rooder, F.A. and G.G.M. Andri-Essen. 1983. Laboratory observations on the development of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) on millet at different temperature and relative humidities. *Z. Angew. Entomol.* 93: 446-452.
- SAS Institute, Inc. 1989. *SAS/STAT user's guide*, Release 6.03, Ed. Cary, N.C.

- Sharp, J.L. and G.J. Hallman. 1994. Quarantine treatments for pests and food plants. Westview, Boulder, CO, USA.
- Shazali, M.E.H., and R.H. Smith. 1986. Life history studies of externally feeding pest of stored sorghum: *Corcyra cephalonica* and *Tribolium castaneum*. J. Stored Prod. Res. 22: 55-62.
- Son, Y., K. Choi, Y. Kim and Y. Kim. 2010. Applicability of CATTs as a postharvest phytosanitation technology against the peach fruit moth, *Carposina sasakii* Matsumura. Kor. J. Appl. Entomol. 49: 37-42.
- Tang, J., J.N. Ikediala, S. Wang, J.D. Hansen and R.P. Cavalieri. 2000. High-temperature short-time thermal quarantine methods. Postharvest Biol. Technol. 21: 129-145.
- Yahia, E.M. 2000. The mortality of artificially infested third instar larvae of *Anastrepha ludens* and *A. obliqua* in mango fruit with insecticidal controlled atmospheres at high temperatures. Acta Hort. 509: 833-839.
- Yin, X., S. Wang, J. Tang, J.D. Hansen and S. Lurie. 2006. Thermal conditioning of fifth-instar *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) affects HSP70 accumulation and insect mortality. Physiol. Entomol. 31: 241-247.
- Wang, S., J. Tang, J.A. Johnson, E. Micham and J.D. Hansen. 2002. Process protocols based on radio frequency energy to control field and storage pests in inshell walnuts. Postharvest Biol. Technol. 26: 265-273.