

호박꽃과실파리의 트랩형 수컷박멸제 기반 기술 개발

김규순 · 김민현 · 권기면¹ · 김용균*안동대학교 식물 의학과, ¹(주)생물이용연구소

Technologies Required for Development of Trap-based MAT Control Against the Striped Fruit Fly, *Bactrocera scutellata*

Kyusoon Kim, Minhyun Kim, Gimyeon Kwon¹ and Yonggyun Kim*

Department of Plant Medicinals, Andong National University, Andong 36729, Korea

¹Biological Utilization Institute, Andong 36729, Korea

ABSTRACT: The striped fruit fly, *Bactrocera scutellata*, infests pumpkin flowers. Males are attracted to raspberry ketone (RK) and feed the attractant. This study was conducted to determine essential techniques to develop a male annihilation technique (MAT) of this insect pest. Effective attractants were screened in laboratory and field conditions. Both males and females were responsive to methyl eugenol (ME) in laboratory, though no flies were attracted to ME traps in field conditions. In contrast, cuelure (CL), which is a chemical derivative of RK, was effective to attract males of *B. scutellata* in both laboratory and field conditions. However, RK was equivalent or superior to CL when they were formulated in a form of wax dispenser. A pyrethroid insecticide along with the attractant was effective to attract and kill *B. scutellata*. Funnel trap was useful for MAT to confirm and count dead flies. These results indicate that MAT against *B. scutellata* consists of RK and bifenthrin in a wax type formulation, which is installed to a funnel type of trap. These essential factors would be useful to develop MAT applicable to control *B. scutellata* in fields.

Key words: *Bactrocera scutellata*, Attractant, Male annihilation technique, Trap, Pheromone

조 록: 호박꽃과실파리(*Bactrocera scutellata*)는 호박꽃을 가해하는 해충이다. 이들 수컷은 식물체 유래물질인 raspberry ketone (RK)에 유인되어 섭식하는 습성을 지니고 있다. 본 연구는 이 해충의 방제를 위해 수컷박멸기술(male annihilation technique: MAT)을 개발하는 데 목표를 두고 이를 위한 기반 기술을 탐색하였다. 효과적 유인 물질이 실내 및 실외 실험을 통해 비교되었다. 일반적으로 과실파리류에 유인효과가 높은 methyl eugenol에 호박꽃과실파리 암수는 모두 반응하였으나 야외에서는 전혀 유인효과가 나타나지 않았다. RK의 합성 유도체인 cuelure (CL)에 호박꽃과실파리 수컷은 실내 및 야외조건에서 모두 높은 유인효과를 나타냈다. 그러나 본 연구에서 지향하는 왁스형 방출기 조건에서 RK가 CL에 비해 동등하거나 우수한 유인효과를 보였다. MAT를 구성하는 데 유인 물질과 함께 포함될 살충제를 피레스로이드 살충제로 선발하였다. 또한 MAT 처리 후 치사된 개체의 확인과 계수를 위해 깔때기형 트랩을 선발하였다. 이러한 결과를 종합하여 본 연구는 호박꽃과실파리의 MAT 기술은 RK와 비펜스린을 담은 왁스형 방출기로 결정하고 이를 깔때기트랩에 설치하도록 구성하였다. 이러한 기본 조건은 추후 현장 적용할 MAT 기술 개발에 기반 정보로 이용될 수 있다.

검색어: 호박꽃과실파리, 유인 물질, 수컷박멸기술, 트랩, 페로몬

농작물에 큰 피해가 우려되는 과실파리류는 과실파리상과(Tephritoidea)에 속하며 이는 모두 9개의 과(Family)를 갖고 약 7,300종의 종풍부도를 지닌 대형 분류군이다(Korneyev, 1999).

이러한 종 다양성은 분자계통분류 기법을 이용하여 이들 과실파리상과의 기원을 추적하면 최소 두 개의 단 계통 분지를 포함하고 있는 것으로 나타내고 있다(Han and Ro, 2005). 이 가운데 가장 큰 종풍부도를 갖고 농작물에 경제적 피해를 주는 분류군이 과실파리과(Tephritidae)이며 여기에는 약 4,400종 이상이 포함되는 것으로 알려지고 있다(White and Elson-Harris, 1992;

*Corresponding author: hosanna@anu.ac.kr

Received October 3 2016; Revised November 9 2015

Accepted February 7 2017

Norrbom et al., 1999). 국내 과실파리과에 속한 종들은 남북한을 통틀어 90종으로 알려졌다(Han and Kwon, 2010; Han et al., 2014). 이들은 모두 4개 아과에 속하며, Dacinae 아과에 4종, Phytalmiinae 아과에 4종, Tephritinae 아과에 39종, 그리고 Trypetinae 아과에 43종이 각각 포함된다. 해충으로 알려진 호박과실파리(*Bactrocera depressa*)와 호박꽃과실파리(*B. scutellata*)는 Dacinae 아과에 속하게 된다.

과실을 직접 가해하는 호박과실파리에 비해 호박꽃과실파리는 해충으로서의 피해도가 낮아 보인다. 그러나 호박꽃과실파리가 수꽃은 물론이고 암꽃을 가해하는 것으로 나타났으며, 이러한 피해가 암수를 통틀어 50% 이상의 꽃에서 나타나고 발생 최성기에는 70% 이상을 기록하여, 호박 생산량에 주요한 2차 피해를 일으키는 것으로 대두되고 있다(Kim et al., 2010). 한편 일본 오키나와에 서식하는 호박꽃과실파리의 섭식 습성을 조사한 결과는 이 해충이 적어도 3종류의 야생 오이류를 가해하고 있으며, 특히 흑파리류(*Lasioptera* sp.)가 오이 줄기에 형성한 혹을 선호하여 가해하는 *cecidophage*로 보고하였다(Miyatake et al., 2000). 이는 국내 호박꽃과실파리가 피해를 주는 작물이 호박꽃에 국한되지 않을 가능성을 제시하고 있다.

호박꽃과실파리 유충은 호박꽃 내부에 서식하며 이곳에서 가해하기 때문에 약제의 직접 노출이 어려워 일반 화학약제 방제에 어려움이 있다. 따라서 이들 과실파리류의 방제는 외부에 노출된 성충을 대상으로 하게 된다. 성충 발생 시기를 정확히 예측하기 위해서는 이 해충의 발육 생태 정보가 필수적이다. 호박꽃과실파리 미성숙단계의 온도별 발육 상황이 Jeon et al. (2011)에 의해 조사되었다. 이를 정리하면, 호박꽃과실파리의 발육영점온도가 발육단계별로 상이하여 알은 12.5°C, 유충은 10.7°C 그리고 번데기는 6.3°C를 나타냈다. 이를 기준으로 15°C 이상에서 발육속도를 분석한 결과 온도가 증가함에 따라 발육속도는 빨라지나, 유충의 경우 27°C 이상에서는 발육이 오히려 저하되는 고온 감수성을 보였다. 총 미성숙단계의 발육에 필요한 유효적산온도는 332.7 일도로 산출되었다. 성충 생식활동 온도는 18-33°C로 최대 수명은 21°C에서 수컷은 약 138 일 그리고 암컷은 약 131일, 산란은 24°C에서 최대 수치를 보여 매일 1개의 산란을 보이면서 최대 약 111개의 산란 수치를 나타냈다(Jeon et al., 2012). 야외에서 호박꽃과실파리의 발생을 조사한 결과 전북지역에서 2회 발생 피크를 관찰하였으며, 첫 피크는 7월 중순에서 8월 초로 나타났고, 두 번째 피크는 9월 초에 나타났다(Kim et al., 2010). 한편 Nakao (1956)는 일본 본토에서 호박꽃과실파리 성충이 낙엽 아래에서 군집으로 월동한다고 보고하였다. 실제로 기주가 존재하지 않는 이른 봄에 호박꽃과실파리가 트랩에 유인되어 월동 성충의 존재를 뒷받침하였

다(Miyatake et al., 2000). 이러한 관찰 자료는 호박꽃과실파리 성충이 야외에 서식하는 시기가 호박 재배지 주변에서 나타나는 시기보다 광범위하게 나타날 수 있다는 것을 제시하고 있다.

성충 과실파리 방제는 크게 유인제를 이용한 유살기술과 불임충을 이용한 유전방제기술로 나뉠 수 있다(Vargas et al., 2015). 성충 유살기술은 암컷이 생식을 위해 단백질 섭취를 요구하는 것을 이용하여 단백질먹이를 유인 물질로 살충제를 가미하여 암컷유살기술이 개발되었다. 수컷의 경우 raspberry ketone (RK) 또는 methyl eugenol (ME)과 같은 식물추출물에 특이적 유인 효과를 이용하여 살충제를 가미하여 유살시키는 수컷박멸기술(male annihilation technique: MAT)이 이용되고 있다(Steiner and Lee, 1955; Steiner et al., 1965). MAT 기술은 *Bactrocera* 속에 속한 과실파리류를 포함하여 일부 과실파리류 수컷이 보이는 lekking 행동에서 기원된다(Benelli, 2015). 이들이 다량의 식물기원 물질인 ME 또는 RK를 섭취하고 이를 체내에서 자신의 집합페로몬으로 변형시켜 다른 수컷 개체들을 모이게 하며, 궁극적으로 암컷이 교미할 수컷을 선택하게 한다. 따라서 MAT 방제기술은 이들 수컷을 모이게 하는 식물유인 물질을 기반으로 살충제를 가미하여 유인된 수컷들이 유인 물질 함께 살충제를 섭취하면서 치사시키는 방제 원리에 기반을 두게 된다.

본 연구는 호박꽃과실파리를 대상으로 MAT 방제 기술을 개발하기 위한 기초 자료를 얻는 데 목표를 두었다. 특히 트랩형의 MAT 방제 기술을 개발하기 위해 호박꽃과실파리 수컷에 유효한 유인 물질, 유인트랩 및 살충제 선별을 진행하였다.

재료 및 방법

시험곤충

본 연구에 사용된 곤충은 모두 야외충으로 구성되었다. 채집지는 경북 안동시의 호박밭이 두 군데로서 호박밭A는 안동시 북후면 대현리(북위 36.69 동경 128.74), 호박밭B는 안동시 남선면 기느리(북위 36.53 동경 128.77)에 소재한다. 반면에 제주시 아라동에 속한 호박밭(북위 33.44 동경 126.57)은 또한 주변에 노랑하늘타리(*Trichosanthes kirilowii* var. *japonica* Kitam)가 자생하였다. Y 튜브 및 풍동실험에 사용한 시험곤충은 모두 호박밭A에서 채집된 호박꽃과실파리였다.

Cytochrome oxidase I (CO-I) 염기서열 분석

안동시 호박밭A에서 채집된 호박꽃과실파리의 종 동정 확인을 위해서 CO-I 서열을 분석하였다. 호박에 피해를 주고 있

는 유충에서 DNA를 추출하였다. DNA 추출은 Kim et al. (2016)의 방법에 따라 페놀을 이용하였다. 추출된 DNA를 50 배 희석하여 PCR 반응에 이용하였다. PCR 조건은 94°C에서 1분, 50°C에서 1분, 72°C에서 1분의 연속반응을 35회 반복하여 목표 CO-I 유전자 부위를 증폭하였다. 반응에 이용된 프라이머의 서열은 미토콘드리아 보존 서열(Simon et al., 1994)을 중심으로 제작된 C1-N-2191 (5'-CCCGGTAAAATTTAAAATATAA ACTTC-3')과 C1-J-1751 (5'-GGATCACCTGATATAGCA TTCCC-3')을 이용하였다. PCR 증폭물은 프라이머를 제거하고 염기서열 분석에 이용하였다. 염기서열 분석은 Macrogen Inc. (Seoul, Korea)에서 양방향으로 실시되었다. 얻어진 서열은 Lasergene version 7.1 (DNASTAR, Madison, WI, USA)의 SeqMag 프로그램을 이용하여 불완전한 서열을 제거한 CO-I 영역을 얻었다. 이 염기서열을 NCBI (www.ncbi.nlm.gov)의 GenBank의 BlastN 프로그램을 이용하여 유사성이 높은 CO-I 유전자를 탐색하여 상응한 종을 추적하였다.

Y 튜브 행동 분석

Y 튜브 기기의 구성과 분석 방법은 Kim et al. (2015)에 기술되었다. 간략하게 유리 재질의 Y 튜브는 3 cm 내부 직경으로, 양쪽 팔의 길이는 16 cm이고 서로 45°의 각도로 벌어져 있으며, 공통관의 길이는 13 cm로 구성되었다. 행동 분석 동안 질소가스가 양쪽 팔로 연결되어 공통관을 통해 빠져나가게 하였다. 투입되는 질소 가스는 물이 반쯤 차있는 병을 통과하고, 분석물질을 넣은 고무격막(Chemglass life sciences, NJ, USA)을 담아놓을 또 다른 병을 통하여 Y 튜브의 양쪽 팔로 들어가게 하여 습도를 유지하게 하였다. 주입 질소 가스의 속도는 300 mL/min으로 설정했다. 단일반응 실험의 경우는 대조구는 핵산 용액(EMD Millipore corporation, MA, USA), 처리구는 유인 물질(200 mg/mL)을 각각 50 µL씩 처리하였다. 두 물질을 선택하는 반응 실험에서는 대조구와 처리구에 각각 비교 물질을 놓았다. 처리될 호박꽃과실파리 성충은 호박밭A에서 채집된 것으로 공통관 기부에 놓고 10분간 움직이는 방향으로 결과를 얻었다. 이때 출발점으로 부터 분지점까지 움직인 개체를 반응한 개체로 규정하였으며, 분지점을 지나 어느 한쪽으로 움직인 개체는 분지점으로부터 12 cm 움직인 개체를 특정 처리를 선호한 개체로 판명하였다. 각 처리는 개체를 실험단위로 5회 반복 실험하였다. 처리 후 Y 튜브는 95.5% 아세톤으로 세척하고, 이를 다시 99% 헥산으로 재세척을 실시하였다. 끝으로 물로 행군 후 건조시켜 다음 실험에 이용하였다.

풍동실험

풍동실험은 길이 160 cm, 폭 60 cm, 높이 60 cm의 wind tunnel 장치(DS 140-60 TAC 250 w, Noldus, Wageningen, Netherland)를 이용하였다. 바람의 속도는 초당 17 cm로 일정하게 유지한 상태에서 목표지점에 고무격막 안에 분석할 유인 물질을 처리하였다. 유인 물질은 200 mg/mL의 농도로 50 µL를 투입하였다. 풍동장치의 출발점에 호박꽃과실파리를 넣고 30분간 움직인 개체를 관찰하였다. 이때 출발점에서 목표물까지 전체 길이에 1/3 만큼 움직이면 이륙비행(Initial flight), 2/3 만큼 움직이면 방향비행(Directional flight) 그리고 목표물에 도착한 개체를 목표비행(Target flight)로 나누어 평가하였다. 각 처리는 5반복으로 실시되었다.

후보 유인제 조제

세 가지 수컷 유인 물질이 본 연구에서 생물검정되었다. 이들은 methyl eugenol (ME; 4-allyl-1,2-dimethoxybenzene), cuelure (CL; 4-(*p*-acetoxypheyl)-2-butanone) 그리고 raspberry ketone (4-(*p*-hydroxyphenyl)-2-butanone)을 포함하였다. 이들은 모두 Sigma-Aldrich Korea (Seoul, Korea)에서 구입하였다. RK와 ME는 디클로메탄(CH₂Cl₂, EMD Millipore corporation, MA, USA)의 유기용매로 처리 농도로 희석하여 사용하였고, CL는 아세톤으로 처리 농도로 희석하여 사용하였다.

단백질 먹이원을 이용하여 호박꽃과실파리의 유인효과를 검정하였다. 이때 단백질 유인 물질 조성은 250 g의 이스트추출물(BioShop, Burlington, Canada), 750 g의 설탕(CJ, Incheon, Korea) 그리고 1 g의 spinosad 입제(부메랑[®], Dongbang Agro, Seoul, Korea)를 혼합하여 사용하였다.

왁스형 방출기 제조

앞에서 기술한 세 가지 서로 다른 유인 물질이 함유된 왁스형 방출기의 제작과정은 다음과 같다. 우선 파라핀왁스(15 g, EMD Millipore Corporation, MA, USA)를 가열자석교반기에서 약 70°C에서 용해시킨 후 300 rpm 속도로 용해된 왁스를 고르게 만들었다. 이때 유화제(3 g, Emulsifier, Almax 3600, Illshinwells, Seoul, Korea)를 첨가하면서 회전 속도를 500 rpm으로 증가시켰다. 유화제가 고르게 혼합되면 향산화물질인 α-tocopherol (0.5 g, Sigma-Aldrich Korea), Jojoba oil (0.5 g, Sigma-Aldrich Korea)을 첨가시켰다. 여기서 RK, ME의 경우 5 g을 디클로메탄 10 mL로 용해시켜 첨가하였고, CL의 경우 500 mg을 아세

톤 2 mL로 용해시켜 첨가하였다. 마지막으로 살충제(0.5 g)를 아세톤 1 mL로 용해시켜 첨가하였다. 모든 성분이 용해된 후 탈이온증류수를 RK과 ME의 경우 24.5 mL을 넣었고, CL 경우 29 mL을 넣어 1,000 rpm에서 10분간 교반하였다. 이를 상온에서 서서히 식힌 후 사용 전 까지 냉장(4°C) 보관하였다.

Polyethylene (PE) 방출기 제조

PE 방출기(ACE Counsulting, Andong, Korea) 내부에 100 mg의 유인물질을 채우고 야외 유인효과를 검정하는 데 이용하였다. PE 방출기(3.1×8.1 cm)의 구성은 내부는 다시 소형 플라스틱 통(1×3.5 cm)이 있고, 이 내부에 원통형 필터(0.5×2.5 cm)를 포함했다. 이 원통형 필터에 유인물질을 채우기 때문에 액체 상태의 유인 물질은 외부 PE 벽에 직접 노출되지 않고, 내부 통에 담겨 기화되고 가스 상태의 유인 물질이 PE 재질의 방출기를 통해 외부로 방출되는 기법으로 제작되었다.

MAT용 유효 유인제 선정 포장시험

야외 조건에서 유인제 선정은 안동시 호박밭 두 군데에서 이뤄졌다. 호박밭A에서는 황색끈끈이 트랩(Green Agrotech, Gyeongsan, Korea), 단백질먹이원이 담긴 지중해과실파리 유인트랩(Med: Pherobank, Wijk bij Duurstede, Netherland)과 맥패일트랩(McP: Pherobank), 그리고 수컷유인제인 ME, RK, CL가 장착된 델타트랩을 배치하였다. 비교 모니터링은 2016년 7월 18일에서 8월 29일까지 매주 1회씩 조사하여 트랩 당 평균 마리수로 산출하여 비교하였다. 호박밭B에서는 위의 Med, McP, ME, RK, CL의 트랩이 8월 12일에서 9월 9일까지 매주 1회씩 4회 조사하여 포획 총 마리수로 비교하였다.

MAT용 트랩 유형 선정 포장시험

델타트랩(Pasukun, Yeongju, Korea), 잉트랩(Gaia, Suwon, Korea), Med 트랩(Pherobank, Wijk bij Duurstede, Netherland), 깔때기트랩(Green Agrotech)의 네 가지 서로 다른 트랩이 호박꽃과실파리의 포획 능력 비교에 분석되었다. 유인 물질 RK를 이용하였으며, 이를 왁스형 방출기에 제제화하여 각 트랩에 약 100 mg이 채워지도록 설치하였다. 또한 방출기에는 200 ppm의 spinosad (80% 원제, Dow AgroSciences, Indianapolis, IN, USA)의 살충제가 포함되었다. 트랩들의 포획능력은 제주도 호박밭에서 실시되었다. 트랩의 배치는 난괴법 3반복으로 8월 24일에서 8월 26일까지 포획된 밀도를 일별 평균 밀도로 환산

한 후 분산분석을 통해 트랩 효율을 비교하였다.

MAT용 살충제 선정 포장시험

왁스형 방출기를 기준으로 세 가지 서로 다른 살충제를 집적하여 깔때기트랩에 포획되는 호박꽃과실파리의 밀도로 비교하였다. 비교 분석된 살충제는 스피노사드(spinosad: SPS), 비펜스린(bifenthrin: BFN) 그리고 생물농약(BIO, 응칠이®, KoreaBio, Suwon, Korea)이 이용되었다. 두 원제인 spinosad와 bifenthrin은 200 ppm으로 처리하고, 제형화된 BIO는 2,000 ppm으로 처리하였다. 상이한 살충제들에 의한 포획능력은 제주도 호박밭에서 실시되었다. 트랩의 배치는 난괴법 3반복으로 8월 24일에서 8월 26일까지 포획된 밀도를 일별 평균 밀도로 환산한 후 분산분석을 통해 트랩 효율을 비교하였다.

통계분석

백분율 자료는 arcsin 수치변환을 통해 분산분석에 이용되었다. 분산분석은 SAS 프로그램(SAS Institute, 1989)의 PROC GLM을 이용하였다.

결과

호박꽃과실파리의 동정

호박꽃과실파리가 발생하는 안동지역의 호박밭A에서 호박의 화관에 산란흔을 관찰하였다(Fig. 1). 유사한 피해흔이 제주

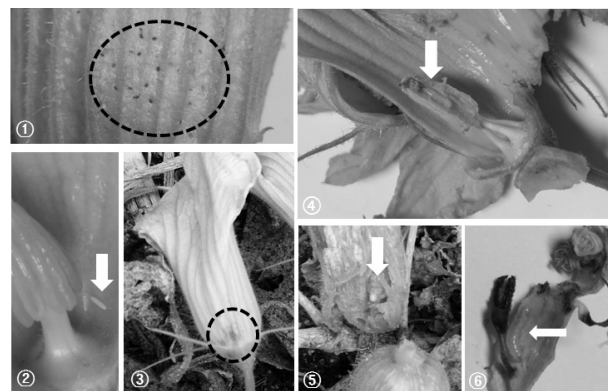


Fig. 1. Damage by *B. scutellata* on a crop pumpkin (*Cucurbita moschata*). External oviposition symptoms (dotted circle) on pumpkin flower (①). Laid egg (arrow) inside flower (②). External damage symptom (dotted circle, ③). Internal damage symptoms (arrow) on pumpkin male (④) and female (arrow, ⑤) flowers and on a wild pumpkin (*Trichosanthes kirilowii* var. *japonica*) (arrow, ⑥).

Table 1. Blast search of a partial sequence (447 bp) of cytochrome c oxidase subunit I (CO-I) of *Bactrocera scutellata* Andong (GenBank accession number = KX812751)

Species	GenBank accession number	Score (bits)	Identity (%)	Gap (%)	E value
<i>B. scutellata</i>	KT159731.1	826	100	0	0.0
<i>B. proprediaphora</i>	KM024428.1	654	93	0	0.0
<i>B. scutellaris</i>	KF660082.1	649	93	0	0.0
<i>B. apicinigra</i>	KF659950.1	649	93	0	0.0
<i>B. caudata</i>	KT625492.2	632	92	0	2e-177
<i>B. guangxiana</i>	KM024424.1	632	92	0	2e-177
<i>B. yoshimotoi</i>	KF660199.1	632	92	0	2e-177

도에 서식하는 노랑하늘타리에서도 관찰되었다. 이러한 산란 혼을 가진 꽃을 절개하여 내부에 성장하는 유충을 발견하였다. 호박꽃과실파리의 피해를 받은 호박꽃은 암수 모두에서 발견되었다.

안동에서 채집된 호박꽃과실파리의 게놈 DNA를 추출하여 CO-I 영역의 염기서열을 판독하였다(Table 1). CO-I의 5'쪽 일부 부분인 447 bp의 염기서열은 GenBank에 수록된 다른 호박꽃과실파리와 100% 일치하였다. *Bactrocera* 속에 속한 유사한 종들 가운데 *B. proprediaphora*와 가장 가까운 것으로 나타났으나 유사도(Identity = 93%)에서 큰 차이를 나타냈다. 이는 안동에서 채집된 호박꽃과실파리의 종 동정을 재확인하여 주었다.

호박꽃과실파리 성충의 유인행동 분석

MAT 방제 기술의 핵심은 수컷 성충 유인 물질이다. 호박꽃과실파리는 Cuelure (CL) 유인 물질에 의해 유인된다고 보고되었 다(Miyatake et al., 2000; Kim et al., 2010). CL과 유사한 자연계 물질이 raspberry ketone (RK)이고, 더불어 methyl eugenol (ME)

은 많은 *Bactrocera* 속에 속한 곤충들을 유인한다(Cunningham, 1989). 이들 세 가지 물질을 대상으로 호박꽃과실파리의 유인 반응을 Y 튜브로 분석하였다(Fig. 2). 우선 단일물질로 처리한 경우 무처리에 비해 호박꽃과실파리 암수 모두는 이들 세유인 물질에 양성 반응을 보였다(Fig. 2A). 다시 Y 튜브를 이용하여 두 물질의 선택적 조건 속에 반응을 시킨 결과, 암수 모두는 ME에 비해 RK에 대해서 뚜렷한 선택성을 나타냈다(Fig. 2B). 그러나 다른 두 조합에서는 선택성을 보여주지 못했다. 풍동실험을 통해 이들 유인 물질 대한 호박꽃과실파리의 유인성을 분석한 결과(Fig. 2C), ME는 무처리와 같이 전혀 반응성을 주지 못한 반면, RK와 CL은 초기 이륙 비행(Initial flight), 유인 물질 방향성 비행(Directional flight) 및 목표물 접근 비행(Target flight)을 보여주었다. 그러나 CL와 RK 사이에 이들 풍동반응의 뚜렷한 차이를 보이지는 않았다.

안동지역 호박꽃과실파리 발생 현황

황색끈끈이트랩을 이용하여 안동 호박밭A에서 호박꽃과실

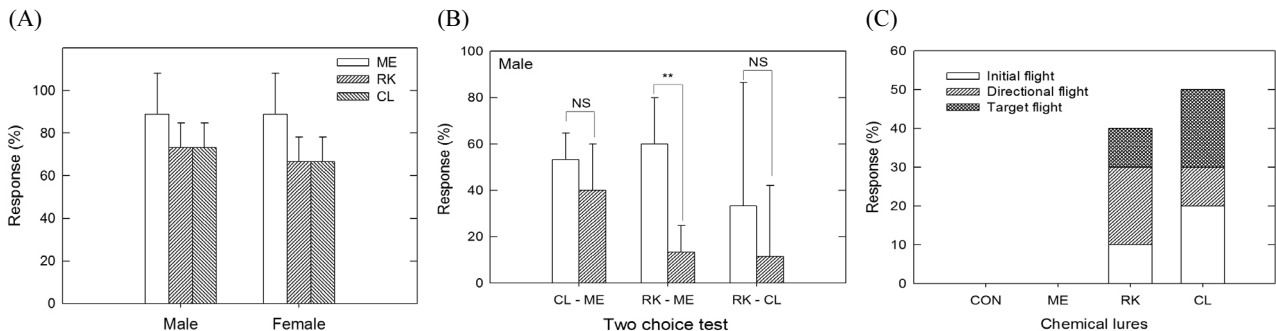


Fig. 2. Attractant bioassay against *B. scutellata* in laboratory conditions. Methyl eugenol (ME), raspberry ketone (RK) and cuelure (CL) were compared. Both male and female adults were collected from pumpkin field in Andong and used in this bioassay. (A) Y tube test using a single choice. Each treatment was replicated with five different insects. (B) Y tube test with choice. 'NS' and '**' indicate no significant difference and significant difference at Type I error = 0.01, respectively. (C) Wind tunnel assay. Source to target was divided into three parts. 'Initial flight' is defined by a migration from source to one third to target. 'Directional flight' is defined by a migration from source to two thirds to target. 'Target flight' is defined by a migration from source to target. Each lure test used 10 adults and was replicated three times.

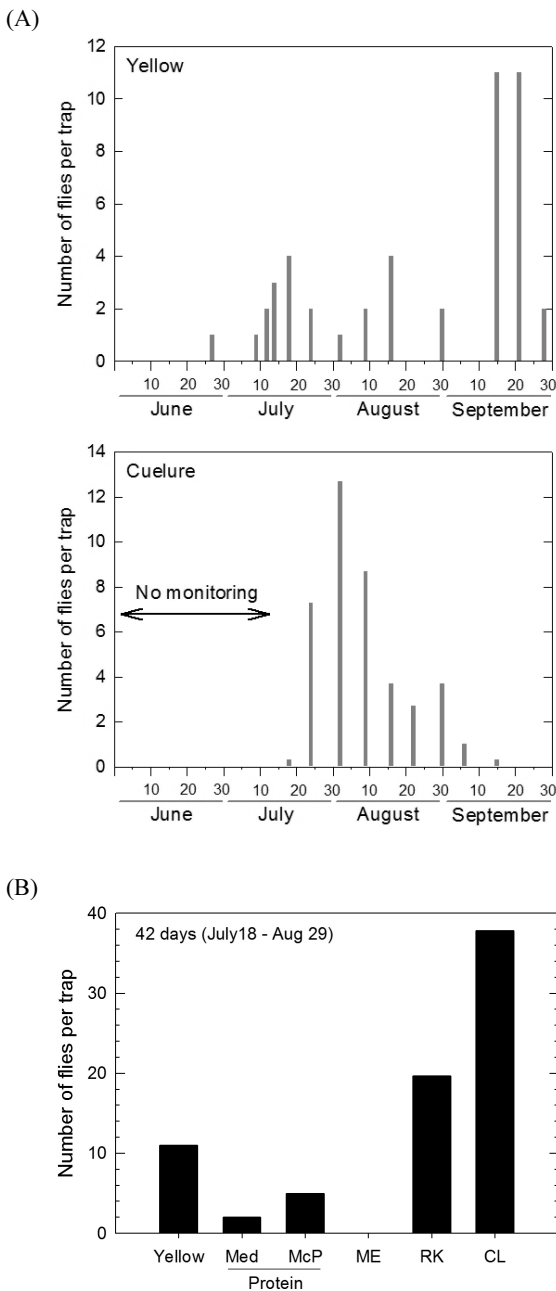


Fig. 3. Field monitoring of *B. scutellata* in pumpkin field at Andong in 2016. (A) Monitoring was performed one time a week from May to September using a yellow sticky trap ('Yellow'). Monitoring with cuelure was performed at the same time from mid July to September. (B) Comparative analysis of different lures in the total number of fly captures for 6 weeks. 'Protein' lure indicates yeast and sugar (1:3, g/g) diet. This lure was installed into two different traps of mediterranean fruit fly trap ('Med') and McPhaell trap ('McP'). Others are 'ME' for methyl eugenol, 'RK' for raspberry ketone, and 'CL' for cuelure. They were formulated in 100 mg per wax dispenser and then installed in delta trap.

파리의 연중 발생을 모니터링하였다(Fig. 3A). 5월 중순부터 모니터링 한 결과 최초의 발견은 호박과실파리(*B. depressa*)로

서 6월 9일에 암컷과 수컷 각 1마리씩 유인되었다. 호박꽃과실파리는 6월 27일에 암컷 1마리가 유인되었다. 이후 유인밀도의 증가가 나타나 7월 중순에 피크를 보이고 다시 8월 중순에 피크를 나타냈다. 이후 이 유인밀도는 감소하다가 다시 9월 중순경에 제2차 발생피크를 보였다. 반면에 동일한 호박밭에 CL 유인물질이 장착된 델타트랩을 7월 18일에 설치하였다. CL 트랩에서도 7-8월에 높은 발생피크를 나타냈다. 황색트랩에서 7월 중하순 및 8월 초에 비교적 낮게 포획밀도를 보인 이유는 아마도 주변의 CL 및 다른 유인트랩의 설치에 따른 감소로 여겨진다. CL 유인트랩에서 9월 이후에는 발생밀도가 현격하게 줄어들었다. 이는 처리된 유인 물질 모두 방출되어 유인력을 잃어 포획량이 없는 것으로 추정되었다. 따라서 호박꽃과실파리 성충 최성기는 7-8월의 기간에 초기 발생 그리고 9월 중순 이후에 후기 발생이 있는 것으로 관찰되었다.

이 초기 발생 기간(7월 18일 - 8월 29일)에 서로 다른 유인 물질 및 트랩에 따른 호박꽃과실파리의 유인효과를 비교하였다(Fig. 3B). 호박꽃과실파리는 ME에 전혀 유인되지 않았다. 단백질 먹이원을 유인물질로 제작된 두 트랩(Med, McP)에 일부 유인효과를 나타냈으나, 황색트랩이 이들 유인트랩들 보다 포획능력이 높았다. 그러나 호박꽃과실파리의 유인 물질 알려진 RK와 CL에서 높은 유인효과를 나타냈다 이들 사이에는 CL이 RK 보다 높은 유인효과를 나타내는 것으로 나타났다. 이때 사용된 방출기는 PE 재질이였다.

트랩형 MAT 방제기술

트랩형 MAT 기술은 유인제로 호박꽃과실파리를 유인하여 유인제에 포함된 살충제로 치사시키는 고정형 설치기술이다. 이를 개발하기 위해서는 우선 야외 조건에서 지속적으로 유인 물질을 방출하고 살충제를 함유하는 방출기의 개발이 우선시된다. 일반적으로 많이 사용되는 PE 방출기를 대상으로 본 연구에서 개발된 과실파리용 왁스형 방출기의 효과를 비교하였다. PE 방출기의 경우는 살충제의 투입이 불가능하여 델타트랩을 이용하여 유인된 곤충을 움직이지 못하게 하는 방식으로 유살된 곤충의 밀도를 파악하였다. 동일한 델타트랩에 왁스형 방출기에는 스피노사드 살충제(200 ppm)를 함유하게 하였다. 두 방출기에 포함된 유인 물질 모두 동일한 양(10 mg)을 투입하였다. 이러한 조건에서 4주간 호박밭B에서 비교 실험한 결과(Fig. 4) PE 방출기보다 왁스형 방출기가 더욱 유살효과가 높았다($X^2 = 5.6311$; $df = 1$; $P = 0.0176$). 특별히 RK를 집적한 왁스형 방출기가 가장 높은 유살효과를 나타냈다.

두 번째로 유살되는 수컷의 밀도를 최대한 높일 수 있는 트

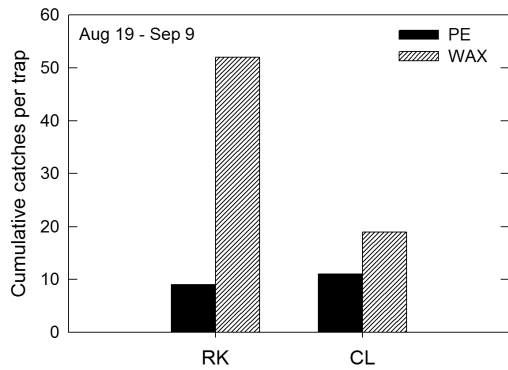


Fig. 4. Comparison of two dispensers to attract males of *B. scutellata*: polyethylene tube ('PE') and wax formulation ('WAX'). Two lures were used to each dispenser: raspberry ketone ('RK') and cuelure ('CL'). Two lures were contained in each dispenser in a dose of 100 mg. Cumulative number of fruit flies were counted for 3 weeks.

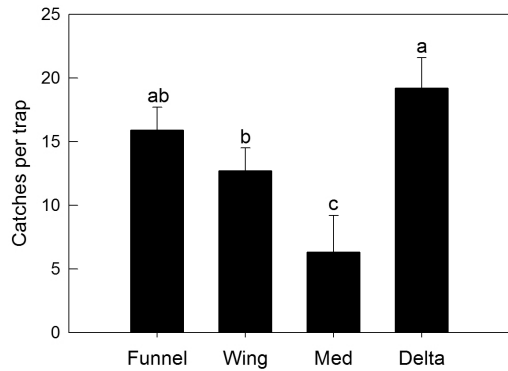


Fig. 5. Comparison of four different traps to attract males of *B. scutellata*: funnel type (Funnel), wing type (Wing), mediterranean fruit fly trap ('Med'), and McPhail trap ('McP'). All traps were provided with the same amount (100 mg/lure) of raspberry ketone in a wax type formulation. Each trap treatment was replicated three times. Different letters above standard deviation bars indicate significant difference among means at Type I error = 0.05.

랩 종류를 선별하였다(Fig. 5). 앞의 실험에서 결정된 RK을 집적형 왁스형 방출기를 4종류의 트랩에 동일한 양으로 처리하고 포획량을 비교하였다. 이들 네 종류의 트랩은 서로 상이한 포획 밀도를 나타냈다($F = 32.67$; $df = 3,6$; $P = 0.0004$). 과실파리가 유인 물질 4방향에서 구멍을 타고 들어오게 하는 Med 트랩이 가장 낮은 포획밀도를 보였고, 다음으로 윙트랩이 낮은 포획밀도를 나타냈으며, 델타트랩과 갈매기트랩은 통계적으로 차이 없이 가장 높은 포획밀도를 나타냈다.

다음으로 MAT 트랩에 유인된 과실파리를 효과적으로 치사시킬 수 있는 살충제를 선별하였다(Fig. 6). 우선 현재 과실파리 방제에 이용하는 스피노사드(SPS)를 대조 약제로 사용하고, 여기에 곤충의 기절효과를 낼 수 있는 피레스로이드 살충제로서 비펜스린(BFN) 그리고 국내 친환경농자재로 비교적 파리

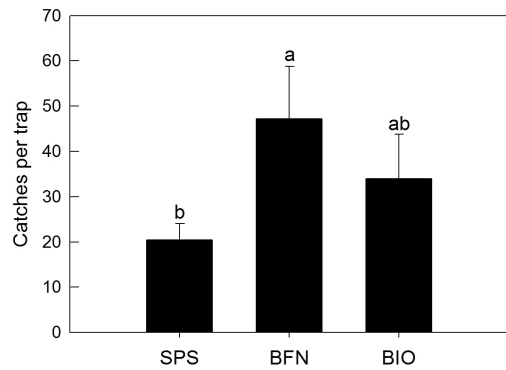


Fig. 6. Comparison of three different insecticides to attract and kill males of *B. scutellata*: spinosad ('SPS', 200 ppm), bifenthrin ('BFN', 200 ppm), and a biopesticide ('BIO' 1,000 ppm). Trapping assays were performed in pumpkin field in Jeju island. Funnel trap was used to collect flies. Insecticides were mixed with the same amount (100 mg/mL) of raspberry ketone in a wax type formulation. Each trap treatment was replicated three times. Different letters above standard deviation bars indicate significant difference among means at Type I error = 0.05.

목 곤충에 대해서 높은 살충효과를 지니는 생물농약(BIO)을 대상으로 비교 검토하였다. 이때 대조 약제인 SPS에 비해서 BFN과 BIO가 다소 높은 살충포획밀도를 나타낸 것으로 확인되었다($F = 0.11$; $df = 2,5$; $P = 0.0526$).

고찰

과실파리 방제를 위해서는 화학적 및 비화학적 방제 기술이 포함된다. 화학적 방제 기술은 화학살충제를 기주 식물에 살포 및 관주하는 행위를 포함한다. 반면에 비화학적 방법은 유충을 대상으로 천적을 이용한 생물적 방제, 성충을 대상으로 유인제를 이용한 유살 처리, 불임충을 이용한 유전적 방제 및 천막씨 우기 등의 경종적 방제를 모두 포함한다(Kim and Kim, 2016). 유인제를 이용한 유살처리는 주로 암컷을 대상으로 단백질 먹이로 유인하여 유살하는 기술로서 상용화된 GF120 (Dow Agrochemicals)의 약제가 현재 널리 이용되고 있다. 또한 ME, CL 및 RK의 유인제를 고체형 방출기로 제제화하고 여기에 살충제를 집적하여 수컷을 유살하는 MAT 기술이 상용화되고 있다. MAT 기술은 초기에 ME 또는 CL을 유인제로 유기인계 살충제 또는 스피노사드 살충제를 혼합하여 버킷트랩(bucket trap)에 유살시켰다(Vargas et al., 2003). 이때는 유인제의 방출을 흡심지를 이용하여 액체형으로 제작하였으나(Vargas et al., 2000), 이후 SPLAT (specialized pheromone and lure application technology) 제제화 기술을 이용하여 고체형으로 전환하여 야외 조건에서 MAT의 유효 지속 기간을 연장시켰다(Vargas et

al., 2008, 2009). 본 연구에서는 호박꽃과실파리 수컷을 대상으로 유인제를 이용하여 방제하는 MAT 기술을 개발하는 데 목표를 두었다. 이를 위해 호박꽃과실파리 성충 수컷을 유인할 효과적 유인제, 유살용 트랩 모형 및 살충제를 결정하였다.

세 가지 과실파리 수컷 유인제(ME, RK, CL)를 비교한 결과 안동지역에 서식하는 호박꽃과실파리는 ME에 전혀 유인되지 않았다. 반면에 RK와 CL는 모두 유인효과가 있었지만, 안동지역 채집지에 따라 이들 사이에는 다소 차이를 나타냈다. 안동지역의 호박밭A의 경우는 PE 방출기를 이용하여 CL과 RK를 비교한 결과 CL이 보다 뛰어난 유인 효과를 나타냈으나, 왁스형 방출기로 제작한 호박밭B의 경우는 RK가 CL에 비해 월등히 높은 유인 효과를 나타냈다. 화학적으로 보면 CL은 합성유도체 화합물이고 RK는 자연계 화합물로서 RK에 아세틸화시킨 것이 CL이다(Beroza et al., 1960). 야외 조건에서 RK는 CL에 비해 5배 낮은 휘발성으로 야외 지속 기간이 더 길다(Metcalf and Metcalf, 1992; Park et al., 2016). 본 연구에서 얻어진 상이한 유인력이 호박꽃과실파리의 지역 집단 차이인지 아니면 방출기 조건에 따라 나타난 두 화합물의 휘발성 차이인지 아직은 불명확하다. 그러나 현장 지속력이 높은 RK가 호박꽃과실파리를 대상으로 MAT 기술을 개발할 때 보다 효과적 유인제로 선택하였다. 한편 기주식물의 향기를 부가하는 방안도 MAT의 효율을 높이는 데 검토할 필요가 있다. 최근의 다른 과실파리 연구에서 보듯, 기주 과일 마다 과실파리의 촉각반응에 유효한 향기 물질이 상이할 수 있어(Diaz-Santiz et al., 2016), 호박꽃을 대상으로 이들 향기물질을 추출하여 효과적인 물질을 찾고 이를 RK에 부가할 필요가 있다.

안동지역 호박밭B에서 나타났듯이 왁스형 방출기는 PE 재질의 방출기에 비해 높은 유살효과를 보였다. 동일한 RK 및 농도를 이용하였기에 유인효과 차이에 의해 포획 밀도의 차이를 설명할 수는 없다. 이러한 차이는 왁스형 방출기에 집적된 스피노사드 살충제에 기인된다고 볼 수 있다. 즉, 동일한 델타트랩 조건에서 유인된 호박꽃과실파리가 끈끈이에 붙지 않고 도망간 성충이 PE 트랩에서는 발생하지만, 왁스형 트랩에서는 살충제에 기인되어 이러한 유인 후 도망간 성충의 밀도를 줄여서 포획 밀도를 높인 것으로 사료된다. 실제로 Vargas et al. (2009)은 ME 또는 CL을 이용한 모니터링 트랩에 본 연구와 같이 살충제를 혼합하여 포획 효율을 높였다.

트랩형 MAT 기술을 개발하기 위한 적합 유인 트랩을 선별하였다. 현재 타 곤충류의 모니터링에 이용되는 네 종류의 트랩 가운데 델타트랩과 깔때기트랩이 가장 많은 포획 효율을 기록하였다. 동일한 유인제인 RK와 동일한 양의 살충제를 담은 방출기로 이 유인물질을 방출하였기에 유인력에서 이들 상호 간

차이는 없는 것으로 판단된다. 따라서 포획율의 차이는 전적으로 이들 트랩의 구조에서 호박꽃과실파리에 대한 포획 효율 차이로 해석된다. 비교적 옆면 모두가 개방된 윈트랩의 포획 효율이 가장 높을 것으로 예상했으나, 오히려 델타트랩이 높은 포획력을 보인 것은 예상 밖의 결과이다. 관찰에 의하면 호박꽃과실파리가 오전에 유인되어 오는 것을 보았고, 이는 유인 물질 뿐만 아니라 다른 *Bactrocera* 속에 속한 과실파리와 같이(Drew et al., 2003) 시각적 요소도 중요할 것으로 여겨진다. 본 연구에 사용된 윈트랩은 녹색이었고, 델타트랩은 적색이었다. 아마도 이러한 색깔 차이가 포획 효율의 차이를 부분적으로 설명될 수 있다. 또 하나는 델타트랩은 양방향으로만 개방되어 있으나, 개방구의 높이(15 cm)가 윈트랩의 개방구 높이(5 cm)에 비해 높은 것을 미뤄 비교적 넓은 개방구의 트랩이 이들 호박꽃과실파리의 유입을 자유롭게 하였을 것으로 판단된다. 흥미로운 사실은 깔때기트랩의 높은 포획 효율이다. 일단 RK에 유인된 호박꽃과실파리가 왁스형 방출기에 모여 지속적으로 섭식하는 모습을 관찰하였다. 이후 유인 물질 함께 섞여 있는 스피노사드 살충제를 섭식하고 바로 아래 깔때기 입구로 빠지게 된 것으로 추정된다. 스피노사드는 호기성 그람양성균인 *Saccharopolyspora spinosa* 세균에서 유래된 화합물 복합체로서 방향성 탄수화물에 tetracyclic 고리가 연결된 화학구조를 갖는다(Mertz and Yao, 1990). 이러한 천연 스피노사드 물질을 인공적으로 합성한 물질을 spinosyn이라 하며 살충제로 개발된 스피노사드는 spinosyn A와 spinosyn D가 13:7의 비율로 혼합된 복합체이다(Crouse et al., 2000). 스피노사드의 살충기작은 신경독으로 니코틴계 아세틸콜린수용체(nAChR)에 결합하여 신경전달물질 아세틸콜린의 작용을 억제하는 것으로 알려져 있으며 또한 억제성 신경전달자인 GABA의 전달작용을 교란하여 곤충으로 하여금 과흥분하게 하여 치사시키는 작용도 갖는다(Orr et al., 2009). 나방류의 경우 깔때기트랩에 페로몬만 설치하면 매우 낮은 포획 능력을 보이는 데(Kim et al., 2011), 본 연구는 유인 물질 신경독 살충제를 함께 처리하여 과실파리의 유인 물질 섭식행동에 의해 기절 또는 치사한 개체들이 깔때기로 떨어지게 하는 효과(Soderlund, 2008)를 보인 것으로 추정된다.

호박꽃과실파리의 방제 기술의 일환으로 본 연구에서는 MAT 방제 기술 개발에 필요한 구성 요소를 선별하였다. 이러한 연구를 토대로 RK와 비벤스린을 혼합한 왁스형 방출기를 제조하고, 이를 깔때기트랩에 장착하여 호박꽃과실파리류 발생지역에 설치하여 유살시키는 방제 전략을 세우게 된다. 그러나 이들 기술을 현장에 적용하려면 아직 구체적 후속연구가 필요하다. 우선 RK 유인제의 농도별 유인력 효율 및 유효 지속기간이 야외 조건에서 구체적으로 심층 분석될 필요가 있다. 또

비펜스린 이외의 빠른 기절 효과를 주어 깔때기트랩으로 빠지게 하는 살충제를 선정할 필요가 있다. 즉, 호박꽃과실파리에 가장 빠르게 기절효과를 주는 피레스로이드 살충제를 선발할 필요가 있다. 흥미로운 사실은 본 연구에서 비교 분석된 생물농약 일종이 비펜스린과 유사한 포획 효율을 보여줌으로 독성이 높은 피레스로이드보다는 친환경 약제의 선발도 아울러 검토해볼 필요가 있다. 마지막으로 트랩의 종류를 깔때기트랩으로 선정하였으나 오히려 단순한 수거통 형태로 개량되 기절하여 떨어지는 성충이 다시 회생하지 않는 장치 개발이 필요하다.

트랩형 MAT 방제 기술은 설치와 유지에 비교적 비용과 시간이 많이 소요되는 단점이 있지만 국내에 존재하지 않는 과실파리가 침입 초기에 발견될 경우는 트랩형 MAT 방제 기술이 유효할 것으로 판단된다. 그러나 호박꽃과실파리 처럼 국내에 이미 넓게 분포하는 경우는 광범위하게 적용이 가능한 살포용 MAT 방제 기술의 개발도 검토할 필요가 있다. 예를 들어, 오리엔탈과실파리(*Bactrocera dorsalis*)의 박멸 방제를 위해서는 단위 km² 당 적어도 230개의 MAT 설치가 필요하다고 미농식품부는 제시하고 있다(Dowell, 1985). 살포용 MAT 방제 기술은 다양한 기후 또는 주변 장소에서 이들 과실파리의 방제에 유효할 수 있다. 더욱이 SPLAT 제제화 기술(Vargas et al., 2008, 2009)은 살포된 유인제가 비교적 1-2개월 이상 유지될 수 있기에 높은 방제 효과를 기대할 수 있다. 그러나 이때 살포될 살충제는 트랩형 MAT 방제 기술 보다는 선택의 제약이 있어 환경 및 인축에 안전한 살충제를 선발하여야 한다. 트랩형 MAT 기술은 방제기술로서 뿐만 아니라 모니터링 기술로서 의미가 있다. 살포용 MAT에서는 비교적 어려운 방제 지역의 대상 성충 밀도 파악이 트랩형에서는 가능할 수 있어 방제 및 방제 효율 검정을 동시에 파악할 수 있다. 특히 깔때기트랩으로 MAT 기술이 가능하다는 사실은 응용할 수 있는 바가 크다. 왜냐하면 최근 나방류에서 개발된 무인모니터링시스템이 깔때기 트랩을 이용한다는 점에서 본 연구에서 보인 호박꽃과실파리에 대한 깔때기 트랩의 높은 포획 능력은 향후 이를 이용한 무인모니터링 트랩의 개발로 이어질 수 있는 가능성을 열어 주고 있다.

사 사

PE 재질의 유인 물질 방출기를 제공하여 주신 뉴질랜드 PFR의 박계청 박사님과 제주지역 호박꽃과실파리 발생지역을 소개하여 준 제주대학교 김동순 교수에게 감사의 말씀을 전합니다. 본 연구는 iPET의 생명산업기술개발 사업으로 지원되었다.

Literature Cited

- Benelli, G., 2015. Aggression in Tephritidae flies: where, when, why? Future directions for research in integrated pest management. *Insects* 6, 38-53.
- Beroza, M., Alexander, B.H., Steiner, L.F., Mitchell, W.C., Miyashita, D.H., 1960. New synthetic lures for the male melon fly. *Science* 131, 1044-1045.
- Crouse, G., Sparks, T.C., Schoonover, J., Gifford, J., Dripps, J., Brue, T., Larson, L.L., Garlich, J., Hatton, C., Hill, R.L., Worden, T.V., Martynow, J.G., 2000. Recent advances in the chemistry of spinosyns. *Pest Manag. Sci.* 57, 177-185.
- Cunningham, R.T., 1989. Population detection, in: Robinson, A.S., Hooper, G. (Eds.), *Fruit flies: their biology, natural enemies and control*. Elsevier, Amsterdam, pp. 221-230.
- Diaz-Santiz, E., Rojas, J.C., Cruz-Lopez, L., Hernandez, E., Malo, E.A., 2016. Olfactory response of *Anastrepha striata* (Diptera: Tephritidae) to guava and sweet orange volatiles. *Insect Sci.* 23, 720-727.
- Dowell, R.V., 1985. Surveillance and control of exotic insect pests in California. *Bull. Soc. Vector Ecol.* 10, 52-59.
- Drew, R.A.I., Prokopy, R.J., Romig, M.C., 2003. Attraction of fruit flies of the genus *Bactrocera* to colored mimics of host fruit. *Entomol. Exp. Appl.* 107, 39-45.
- Han, H.Y., Kwon, Y.J., 2010. A list of North Korean Tephritoid species (Diptera: Tephritoidea) deposited in the Hungarian natural history museum. *Korean J. Syst. Zool.* 26, 251-260.
- Han, H.Y., Ro, K.E., 2005. Molecular phylogeny of the superfamily Tephritoidea (Insecta: Diptera): new evidence from the mitochondrial 12S, 16S, and COII genes. *Mol. Phylogenet. Evol.* 34, 416-430.
- Han, H.Y., Suk, S.W., Lee, Y.B., Lee, H.S. 2014. National List of Species of Korea [Insect] (Diptera II). National Institute of Biological Resources. Incheon. 1-268 pp.
- Jeon, S.W., Cho, M.R., Kim, Y.P., Lee, S.G., Kim, S.H., Ryu, J., Lee, J.J., Hwang, C.Y., 2011. Temperature-dependent development model of the striped fruit fly, *Bactrocera scutellata* (Hendel) (Diptera: Tephritidae). *Korean J. Appl. Entomol.* 50, 373-378.
- Jeon, S.W., Kang, T.J., Cho, M.R., Kim, K.H., Lee, S.G., Kim, J.S., Park, H.W., 2012. Adult longevity and life table analysis of striped fruit fly, *Bactrocera scutellata* (Hendel) (Diptera: Tephritidae). *Korean J. Appl. Entomol.* 51, 485-488.
- Kim, Y., Kim, D., 2016. Integrated pest management against *Bactrocera* fruit flies. *Korean J. Appl. Entomol.* 55, 359-376.
- Kim, Y.P., Jeon, S.W., Lee, S.G., Kim, K.H., Choi, N.J., Hwang, C.Y., 2010. Seasonal occurrence and damage of *Bactrocera scutellata* (Diptera: Tephritidae) in Jeonbuk province. *Korean J. Appl. Entomol.* 49, 299-304.
- Kim, Y., Jung, S., Kim, Y., Lee, Y., 2011. Real-time monitoring of

- oriental fruit moth, *Grapholita molesta*, populations using a remote sensing pheromone trap in apple orchards. *J. Asia Pac. Entomol.* 14, 259-262.
- Kim, Y., Kumar, S., Mahbubur, R.M., Kwon, H., Chun, Y., Na, J., Kim, W., 2015. Evasive behavior of the red flour beetle, *Tribolium castaneum*, against chlorine dioxide and its suppression by heat treatment. *Korean J. Appl. Entomol.* 54, 151-158.
- Kim, Y., Md. Sadekuzzaman, Kim, M., Kim, K., Park, Y., Jung, J.K., 2016. Genetic character and insecticide susceptibility on a Korean population of a subtropical species, *Maruca vitrata*. *Korean J. Appl. Entomol.* 55, 257-266.
- Korneyev, V.A., 1999. Phylogenetic relationships among the families of the superfamily Tephritoidea, in: Aluja, M., Norrbom, A.L. (Eds.), *Fruit flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behavior*. CRC Press, pp. 3-22.
- Mertz, F., Yao, R.C., 1990. *Saccharopolyspora spinosa* sp. nov. Isolated from soil collected in a sugar mill rum still. *Intl. J. Syst. Bacteriol.* 40, 34-39.
- Metcalf, R.L., Metcalf, E.R., 1992. Fruit flies of the family Tephritidae, in: Metcalf, R.L., Metcalf, E.R. (Eds.), *Plant kairomones in insect ecology and control*. Routledge, Chapman & Hall Inc., New York, NY, pp. 139-152.
- Miyatake, T., Kuba, H., Yukawa, J., 2000. Seasonal occurrence of *Bactrocera scutellata* (Diptera: Tephritidae), a cecidophage of stem galls produced by *Lasioptera* sp. (Diptera: Cecidomyiidae) on wild gourds (Cucurbitaceae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 93, 1274-1279.
- Nakao, S., 1956. Overwintering aggregation in *Bactrocera scutellata*. *Kontyu* 33, 274.
- Norrbom, A.L., Carroll, L.E., Thompson, F.C., White, I.M., Freidberg, A., 1999. Systematic database of names, in: Thompson, F.C. (Ed.), *Fruit fly expert system and systematic information database, Diptera Data Dissemination Disk 1 & Myia*. pp. 65-251.
- Orr, N., Shaffner, A.J., Richey, K., Crouse, G.D., 2009. Novel mode of action of spinosad: receptor binding studies demonstrating lack of interaction with known insecticidal target sites. *Pesti. Biochem. Physiol.* 95, 1-5.
- Park, S.J., Morelli, R., Hanssen, B.L., Jamie, J.F., Jamie, I.M., Siderhurst, M.S., Taylor, P.W., 2016. Raspberry ketone analogs: vapour pressure measurements and attractiveness to Queensland fruit fly, *Bactrocera tryoni* (Froggatt) (Diptera: Tephritidae). *PLoS ONE* 11, e0155827.
- SAS Institute, Inc., 1989. *SAS/STAT User's Guide*. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H., Flook, P., 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 87, 651-701.
- Soderlund, D.M., 2008. Pyrethroids, knockdown resistance and sodium channels. *Pest Manag. Sci.* 64, 610-616.
- Steiner, L.F., Lee, R.K.S., 1955. Large-area tests of a male-annihilation method for oriental fruit fly control. *J. Econ. Entomol.* 48, 311-317.
- Steiner, L.F., Mitchell, W.C., Harris, E.J., Kozuma, T.T., Fujimoto, M.S., 1965. Oriental fruit fly eradication by male annihilation. *J. Econ. Entomol.* 58, 961-964.
- Vargas, R.I., Stark, J.D., Kido, M.H., Ketter, H.M., Whitehand, L.C., 2000. Methyl eugenol and cue-lure traps for suppression of male oriental fruit flies and melon flies (Diptera: Tephritidae) in Hawaii: effects of lure mixtures and weathering. *J. Econ. Entomol.* 93, 81-87.
- Vargas, R.I., Miller, N.W., Stark, J.D., 2003. Field trials of spinosad as a replacement for naled DDVP, and malathion in methyl eugenol and cue-lure bucket traps to attract and kill male fruit flies and melon flies (Diptera: Tephritidae) in Hawaii. *J. Econ. Entomol.* 96, 1780-1785.
- Vargas, R.I., Stark, J.D., Hertlein, M., Mafra-Neto, A., Coler, R., Piñero, J.C., 2008. Evaluation of SPLAT with spinosad and methyl eugenol or cue-lure for "attract-and-kill" of oriental and melon fruit flies (Diptera: Tephritidae) in Hawaii. *J. Econ. Entomol.* 101, 750-768.
- Vargas, R.I., Burns, R.E., Mau, R.F.L., Stark, J.D., Cook, P., Pinero, J.C., 2009. Captures in methyl eugenol and cue-lure detection traps with and without insecticides and with a Farma Tech solid lure and insecticide dispenser. *J. Econ. Entomol.* 102, 552-557.
- Vargas, R.I., Pinero, J.C., Leblanc L., 2015. An overview of pest species of *Bactrocera* fruit flies (Diptera: Tephritidae) and the integration of biopesticides with other biological approaches for their management with a focus on the Pacific region. *Insects* 6, 297-318.
- White, I.M., Elson-Harris, M.M., 1992. *Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics*. CAB International/ACIAR.