밤바구미 유인제 개발

Development of Attractant(s) for the Chestnut Weevils, *Curculio* spp.

산림청 임업연구원

농 림 부

최 종 보 고 서

1995년도 농림기술개발 사업에 의해서 완료된 밤바구미 유인제 개발에 관한 연구의 최종보고서를 별첨과 같이 제출합니다.

첨부 : 1. 최종보고서 8부.
2. 최종보고서 디스켓 1매

1998. 12. .

주관연구기관 : 임 업 연 구 원

총괄연구책임자 : 신 상 철 (인)

주관연구기관장 : 박 재 욱 직인

농 림 부 장 관 귀 하

제　　출　　문

농림부 장관 귀하

본 보고서는 "밤바구미 유인제 개발"에 관한 연구 과제의 최종보고서로 제출합니다.

1998.　12.　.

주관연구기관명: 임업연구원

총괄연구책임자: 신 상 철

연　구　원: 최 광 식

연　구　원: 이 상 명

연　구　원: 문 일 성

협동연구기관명: 서울대학교

협동연구책임자: 부 경 생

연　구　원: 정 진 교

연　구　원: 한 경 식

연　구　원: 정 천 해

연　구　원: 박 재 우

요 약 문

Ⅰ. 제 목

밤바구미 유인제 개발

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 중요성

1960년대 부터 정부에서는 농산촌 소득증대 방안으로 20만여ha의 밤나무림을 조성하였다. 현재 충남, 전남, 경남 지방을 중심으로 전국적으로 약 82,000ha가 재배 관리되고 있으며 년간 약 10만여톤의 밤이 수확되고 있고 금액으로는 약 2,500억원에 달하며 13개 수출유망작목중의 하나로 지정되어 매년 1억여불의 수출고를 올리고 있다.

밤바구미류는 대표적인 밤나무 종실해충으로 수확량의 20-30%, 심할 경우에는 저장밤을 출하할 때는 60%까지 피해를 주므로 농민들의 피해가 크다. 특히 다른 종실해충과는 달리 수확후 저장중에 피해를 주어 출하시 상품가치를 하락시키므로 수확비용, 저장비용, 상하차비용까지 계산하면 밤바구미류의 피해는 다른 모든 종실해충보다도 더 큰 피해를 준다고 할 수 있다.

밤나무해충에 대한 방제는 재배농가의 자력방제와 정부가 항공기를 지원하여 약제비만 농민이 지불하는 항공방제로 구분되는데 1998년도 항공방제 물량은 년 3회에 걸쳐 약 11만ha에 이른다. 3차

항공방제는 밤바구미류를 대상으로 실시하고 있으나 사용되고 있는 약제가 고독성약제인 파프분제를 비롯한 유기인계 합성농약에 의존하고 있는 실정이므로 밤나무림내의 천적 감소는 물론 저항성 해충 집단의 등장 등 목적해충을 구제하는 효과보다는 자연생태계의 파괴 등 부작용을 많이 초래하고 있다

본 연구는 밤나무 종실해충으로 가장 문제시 되는 밤바구미류의 생태 및 생리를 알고 이들에 대한 정확한 정보를 수집하여 방제법 개선의 기초자료를 제공하고 유인물질의 개발로 발생예찰에 적극 활용하여 적기 적소 방제로 생태계 및 환경보호는 물론 나아가 무공해 농약의 일원으로 발전시켜 새로운 방제기술을 보급하는 기초 연구를 수행한 것이다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

밤나무 종실해충인 밤바구미류의 종류조사 및 그들에 대한 생리 생태 조사와 유인물질 개발을 위한 탐색 및 확인을 위해 수행하였다.

1. 밤바구미류 생리 생태조사

밤나무 종실해충 가운데 가장 피해가 심한 밤바구미류를 대상으로 그들에 대한 생물학적 기초자료와 피해 정도 그리고 유인물질 개발을 위한 성충들의 생식행동을 조사하였고 공시충을 대량 확보하기 위하여 인공사료 개발을 시도하였다. 이러한 결과를 종합하여 밤바구미의 적정 방제시기와 효율적이고 경제적인 방제법을 구명하고자

한다.

2. 유인물질의 탐색과 확인

농약의 연용, 과용, 남용, 오용에 의한 자연생태계 파괴는 물론 많은 부작용 때문에 환경친화형 방제법의 개발이 새로운 issue로 대두되어지고 있다. 이러한 방법의 일원으로 종내 개체간에 통신 수단으로 이용되는 여러 가지 물질 중에 페로몬이나 화합물을 이용하여 해충 방제에 활용하고자 하는 노력이 많이 경주되고 일부는 이미 실용화되어 있는 것도 있다. 그러므로 현재 년 3회에 걸쳐 밤나무 임지에 고독성 농약을 살포하는 비효율적이고 부작용이 많은 유기합성 농약의 항공살포를 지양하고 유인물질을 개발하여 밤바구미의 예찰은 물론 나아가 방제 효과를 기대할 수 있는 유인물질을 개발하기 위하여 기초 단계로 유인물질과 페로몬에 대한 물질 탐색과 확인을 시도하였다.

Ⅳ. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

· 밤을 가해하는 밤바구미류는 밤바구미, 동백밤바구미, *Curculio robustus* 3종이 확인되었다.

· 밤바구미와 *C. robustus*는 2년 1세대, 동백밤바구미는 1년 1세대였음.

· 밤바구미의 성충 행동으로 보아 암컷이 유인물질을 분비함.

· 공시충 대량확보를 위한 인공사료개발에서 평균 4.3일 생존하였고, 1마리가 1회 탈피하고 10일까지 생존하였다.

· 냄새를 감지하는 감각기인 sensilla trichodea와 sensilla chatica가 안테나와 부절에서 주사현미경상에서 관찰되었다.

· 암컷에서 5가지 정도의 냄새물질이 가스크로마토그래피(GC)로 탐색되었다.

· 복숭아명나방 피해밤송이에서 분리한 에칠아세테이트 분획에서 높은 유인력이 확인하였다.

· Green volatile에서 밤바구미 유인력이 확인되었다.

2. 활용에 대한 건의

· 현재 밤바구미 방제를 위하여 8월 중순에서 9월 초순 사이에 실시하는 항공방제를 8월 하순에서 9월 중순으로 10일 정도 늦추는 것이 효율적임.

· 밤바구미 피해는 만생종에서 심하므로 밤나무 단지 조성을 숙기별로 하여 재배관리가 쉽도록 하는 것이 바람직 함.

· 유인제 개발의 기초자료로 적극 활용 가능

· 정확한 밤바구미 유인물질 동정을 위하여 시간과 노력이 더 필요함.

Summary

The present study was conducted to investigate biological characteristics, and searching and identification of attractants for Chestnut weevils, *Curculio* spp. Chestnut weevils in the fields were identified three species, *Curculio sikkimensis*, *C. robustus* and *C. camelliae*.

Among three species, *C. sikkimensis* and *C. robustus*, are bivoltine, but the other species, *C. camelliae*, is univoltine in the fields. The peak of seasonal occurrences showed late August in *C. camelliae* and early-middle September in *C. robustus* and *C. sikkimensis*, respectively. The period of embryogenesis was 9.92 days under 25±1℃, 15L/9D and RH=60±10% regimes. The longevities of their female and male adults were 19.25- and 9.13-day for *C. robustus*, 7.16- and 6.18-day for C. *sikkimensis* and 5.83- and 3.70-day for *C. camelliae*, respectively. The *C. sikkimensis* females almost laid their eggs inside chestnut fruit, 0.4-0.8mm depth from the surface.

Copulation of *C. sikkimensis* male adults with their females occurs through a sequential mating behaviors followed: antennal movements, extension of genitalia and clasping female thorax and abdomen by the male legs. Otherwise, mating behavior of female adults is a simple comparing with that of the male. Female adults showed the highest rate of mating in 4-day-old of *C. robustus*, 3.21-day-old of *C. sikkimensis* and 2.71-day-old of *C. camelliae*, respectively. Mating time indicates a peak in the

middle part of photophase, from PM:2 to PM:4, among three species.

The late maturing chestnut varieties were most heavily damaged by the chestnut weevils. We had tried development of an artificial diet for the insect mass rearing, but came to a failure because the larvae survived for 4.3 days on the artificial diet. With scanning electromicroscopy structures of sensillia, odor receptors, showed the sensilla trichodea for pheromone and sensilla chatica for attractants in *C. sikkimensis*.

Gas chromatography (GC), electroantennogram(EAG), olfactometry were employed in identification of active compounds in attracting chestnut weevil adults, *Curculio robustus*, *C. sikkimensis*, *C. camelliae*, from their own body and their host plant, chestnut, var. Choopa. Attraction of male and female adults was also investigated with sex pheromone lure indoors and outdoors. The retention time of detected compounds on GC gram from their own body were quite different from those of sex pheromone from the boll weevil, *Anthonomus grandis*, even though the two species belong to the same family. The sex pheromone of the boll weevil did not attract either sex of the chestnut weevil in the field. But chestnut weevil adults were significantly attracted to extract of chestnut burs damaged earlier by the yellow peach moth, *Dichocrosis punctiperalis*, another pest insect species on chestnut fruits. Their positive behavioral response to the extract may be due to secondary metabolites of damaged burs, since both virgin and mated chestnut weevil adults of both sexes showed the same response. Hence more works were done on chemical composition of healthy and damaged chestnut fruits.

Methanol extracts of the chestnut burs, undamaged or damaged by the boll weevil, were analyzed to identify attractive green volatiles by GC, EAG and olfactometer. Attraction and EAG response of the adults were higher to chloroform fraction than any other fractions in the case of methanol extracts from burs undamaged. However, ethylacetate fraction showed the highest level in attracting and eliciting behavioral response in the adults in the case of methanol extracts from burs damaged. From these two fractions originated from methanol extracts of burs undamaged and damaged, eight compounds, (+)-α-pinene, E-2-hexanal, benzaldehyde, n-decyl aldehyde, nonyl acetate, terpineol, geraniol, 2-phenylethanol, were temporarily identified when compared their GC retention times with those of standard chemicals. Among these chemicals (+)-α-pinene showed the highest attractivity to chestnut weevil adults when bioassayed indoors.

With the present results, it may be suggested that chestnut weevil adults probably use, as their sex pheromone, compounds different from those of *A. grandis*. The weevil adults may use green volatiles, including (+)-α-pinene, from their host plant, especially burs damaged by *D. punctiferalis*. However, further studies are required to identify their sex pheromone components and their composition, and green volatile compounds, from their host plant including burs, active in attracting adult weevils.

Contents

Section 2: Searching and Identification of attractant for Chestnut weevil

목 차

제 1 장. 밤바구미 생리 생태 조사

Section 1: Biological characteristics of the chestnut weevils, *Curculio* spp.

SUMMARY: The present studies were conducted to investigate biological characteristics of three *Curculio* spp. and their seasonal occurrences in the chestnut orchards of three provinces. Chestnut weevils in the fields were identified three species, *Curculio sikkimensis*, *C. robustus* and *C. camelliae*.

Among three species, *C. sikkimensis* and *C. robustus*, are bivoltine, but the other species, *C. camelliae*, is univoltine in the fields. The peak of seasonal occurrences showed late August in *C. camelliae* and early-middle September in *C. robustus* and *C. sikkimensis*, respectively. The period of embryogenesis was 9.92 days under 25±1℃, 15L/9D and RH=60±10% regimes. The longevities of their female and male adults were 19.25- and 9.13-day for *C. robustus*, 7.16- and 6.18-day for C. *sikkimensis* and 5.83- and 3.70-day for *C. camelliae*, respectively. The *C. sikkimensis* females almost laid their eggs inside chestnut fruit, 0.4-0.8㎜ depth from the surface.

Copulation of *C. sikkimensis* male adults with their females occurs through a sequential mating behaviors followed: antennal movements, extension of genitalia and clasping female thorax

and abdomen by the male legs. Otherwise, mating behavior of female adults is a simple comparing with that of the male. Female adults showed the highest rate of mating in 4-day-old of *C. robustus*, 3.21-day-old of *C. sikkimensis* and 2.71-day-old of *C. camelliae*, respectively. Mating time indicates a peak in the middle part of photophase, from PM:2 to PM:4, among three species.

The late maturing chestnut varieties were most heavily damaged by the chestnut weevils. We had tried development of an artificial diet for the insect mass rearing, but came to a failure because the larvae survived for 4.3 days on the artificial diet. With scanning electromicroscopy structures of sensillia, odor receptors, showed the sensilla trichodea for pheromone and sensilla chatica for attractants in *C. sikkimensis*.

제 1 절. 서 론

1960년대부터 정부에서는 농산촌 소득증대 방안으로 밤나무 조림을 적극 장려하여 그동안 20만여ha의 밤나무림이 조성되었다. 현재 우리나라의 밤나무림은 충남 부여와 공주, 전남 광양, 순천, 경남 하동, 진주, 산청, 함양, 합천 등 주로 남부지방에 식재되어, 재배관리가 되고 있는 밤나무림 면적은 전국적으로 약 8만2천ha로 년간 약 10만ton의 밤이 수확되고 있다. 금액으로는 2,500억원에 달하고 있으며 13개 수출유망작목 중의 하나로 지정되어 매년 1억불 정

도의 수출고를 올리고 있다. 그러나 밤나무림이 산지에 조성되어 있고 수령의 노령화의 농촌 노동력의 감소로 인한 밤 생산비의 상승으로 재배농가의 소득이 매년 감소되고 있는 실정이다.

밤바구미는 대표적인 밤나무의 종실해충으로 밤수확량의 20 30% 피해를 입어 버려지고 있고 、98년 경우 만생종의 피해는 60%에 달하고 있는 실정이나, 시기별로 밤바구미류의 발생이 달라 방제의 어려운 점이 많고 방제적기 선정이 어려운 관계로 발생시기를 정확히 예찰하여 방제적기를 제시하는 것이 농민의 애로를 해결하는 중요한 일이 되고 있다. 그러나 밤바구미류의 방제 방법은 야외에서 성충시기로 제한되어 있고, 저장중인 밤에 인하늄정제 또는 이류화탄소를 이용한 훈증에 의존하고 있는 실정이다.

밤나무해충 방제는 재배농가의 자력방제와 정부에서 항공기를 지원하는 항공방제로 구분되며 항공방제는 매년 6월-9월 사이에 연3회 실시되고 있다. 1차 방제는 식엽성해충을 2차 방제는 복숭아명나방을 대상으로 실시하고 3차 방제는 밤바구미류를 대상으로 실시되며 방제 연면적이 1998년에 114,360ha에 이르나 많은 재배농가에서 항공방제 면적의 확대를 원하고 있다. 그러나 3차 항공방제 대상은 밤바구미는 고독성농약인 파프분제를 사용하고, 행정 편의주의에 의한 적기방제의 실기로 인해 방제효과 측면보다는 자연생태계에 대한 부작용이 오히려 증가하고 있는 실정이다. 그러므로 해충의 효과적인 관리를 위해 종합적방제 개념이 도입되고 있는 것이 세계적인 추세이다. 우리 나라 밤나무림의 해충방제는 유기합성농약에 만 의존하고 있어 밤나무림내의 천적감소, 저항성 해충집단 등장 등 생태계 파괴는 물론 주변 환경오염 등 여러 가지 부작용이 예상되고 있어 환경친화적 생물농약의 선발이 요구되고 있다.

본 연구는 우리나라의 밤 주산지별로 밤바구미의 발생시기를 정확히 예찰하여 방제 적기를 구명하고, 환경친화적 생물농약을 개발하기 위한 기초자료를 제공함에 있어 밤바구미류의 종 확인과 그들에 대한 기초적인 생리생태 그리고 유인제 개발을 위한 물질탐색과 확인을 통해 밤바구미 유인제 개발의 토대를 마련하고자 수행하였다.

제 2 절. 재료 및 방법

1. 밤바구미류 생태 및 생리

가. 밤바구미 피해율

1996년부터 1998년까지 3년에 걸쳐서 충남 공주, 전남 순천, 경남 진주에서 생산된 저장밤을 밤상회에서 구입하여 피해율을 조사하고 유충을 수집하여 '다 항목의 재료로 이용하였다. 1996년에는 조생종밤, 1997년에는 중생종밤, 1998년에는 만생종밤을 대상으로 이들에 대한 피해율을 조사하였다.

나. 난의 발육

1995년 10월 17일에 산란이 확인된 밤알 468개를 수집하여 인큐베이트 온도: 25±1℃, 광주기: L/15:D/9, RH=60±10%에서 매일 20개씩 꺼내 부화상태를 조사하였다. 이때 밤낱알에 대한 산란 흔적조

사와 산란공수 및 hole당 난의 수도 조사하였다..

다. 밤바구미 화기(Voltinism)

밤바구미의 기초 생리 생태와 화기(voltinism)조사를 위하여 1995년 10월, 1996년 10월, 1997년 10월에 수확된 밤으로부터 탈출하는 노숙유충 상황을 조사하고, 또한 수집하여 야외에서 직접 채집한 노숙유충을 남부임업시험장 우화상에 자동멸균기로 소독한 흙을 플라스틱 물동이(Ø70㎝, H:50㎝)와 우화상내의 토양속에서 월동시켜 이들의 우화 상황과 화기를 조사하였다.

2. 밤바구미 성충의 생식행동

1997년 9월 10일부터 10월 19일까지 밤바구미(*C. sikkimensis*)를 대상으로 실내에서 사육상자(100×60×60)내에서 1995년과 1996년 월동 우화상에서 우화한 미교미 암수를 대상으로 이들의 교미 전후 행동, 우화시각, 교미시간대, 성숙시기를 조사하였다. 이때 밤송이는 은기(품종명)를 삼각프라스크에 꽂아 밤바구미의 행동을 조사하였다.

3. 밤바구미 인공사료 개발

1996년부터 1998년 10월에 피해구과로 부터 1령 또는 2령 유충

을 수집하여 복숭아명나방 인공사료 와 목화바구미 인공사료를 기초로 하여 인공사료를 만든 후 이것을 먹이로 하여 3년간 조사하였다.

4. 밤바구미 촉각구조

1998년 밤바구미(*C. sikkimensis*)를 대상으로 암수의 안테나와 주둥이 그리고 부절의 hair sensor를 주사현미경으로 촬영하여 페로몬 감지기인 sensilla trichodea와 화학감지기인 sensilla chatica 유무를 관찰하였다.

제 3 절. 결과 및 고찰

1. 밤바구미 생태 및 생리

가. 밤바구미에 의한 피해현황

1). 조생종밤의 피해율

조생종에 대한 밤바구미의 피해는 조사전지역에서 표 1에서 보는 바와 같이 조사 전지역에서 10%이하였다. 이것은 복숭아명나방이 조생종에서 20%이상의 피해를 주는 것(농림부, 1996과 최, 1997, 1998)에 비하면 피해율이 낮은 것으로 조생종에서 밤바구미 피해는 큰 문제가 되지 않았다.

표 1. 지역별 조생종 밤에서의 피해율 조사

조 사 지 역	조사개수	피해과수	피해율 (%)
경남 진주 (I)	48	4	8.3
(II)	54	6	11.1
(III)	25	3	12.0
(IV)	58	3	5.2
(V)	38	4	10.5
(VI)	47	5	10.6
(VII)	50	4	8.0
(VIII)	39	1	2.6
(IX)	47	4	8.5
(X)	50	3	6.0
계	456	37	-
평 균	-	-	8.28±2.97a
경남 하동 (I)	23	2	8.7
(II)	14	0	0.0
(III)	16	1	6.3
(IV)	15	1	6.7
(V)	18	2	11.1
(VI)	20	1	5.0
(VII)	15	1	6.7
(VIII)	40	3	7.5
(IX)	38	4	10.5
(X)	29	2	6.9
계	228	17	-
평 균	-	-	6.94±3.09ab

조 사 지 역		조사개수	피해과수	피해율 (%)
전남 광양	(Ⅰ)	15	0	0.0
	(Ⅱ)	20	1	5.0
	(Ⅲ)	20	1	5.0
	(Ⅳ)	37	3	8.1
	(Ⅴ)	19	1	5.3
	(Ⅵ)	24	1	4.2
	(Ⅶ)	26	1	3.8
	(Ⅷ)	27	2	7.4
	(Ⅸ)	26	1	3.8
	(Ⅹ)	25	2	8.0
계		239	13	-
평 균		-	-	5.06±2.43b
전남 순천	(Ⅰ)	45	3	6.7
	(Ⅱ)	50	3	6.0
	(Ⅲ)	35	1	2.9
	(Ⅳ)	40	2	5.0
	(Ⅴ)	51	4	7.8
	(Ⅵ)	24	0	0.0
	(Ⅶ)	21	1	4.8
	(Ⅷ)	32	1	3.1
	(Ⅸ)	22	3	13.6
	(Ⅹ)	38	2	5.3
계		358	20	-
평 균		-	-	5.52±3.59ab

그리고 수확된 조생종 밤 피해낱알당 밤바구미의 산란 흔적수는 표 2에서 보는 것과 같이 1개 피해밤알에 1개를 산란 흔적을 보인 것이 43.6%이었고 밤알 1개당 평균 산란흔적수는 1.95개였다.

표 2. 수확된 조생종 밤 피해낱알에서의 산란 흔적수

산 란 흔 적 수	조 사 개 수	비 율(%)
1	51	43.6
2	39	33.3
3	16	13.7
4	6	5.1
5	3	2.6
6	2	1.7
계	117	100
평 균 흔 적 수	1.95	-

1개의 산란공내에 난의수는 조사된 수의 피해낱알 중 56.1%가 1개의 산란구멍에 1개를 산란하였으나 흔적만 있고 산란을 하지 않은 것도 41.2%나 되었다 (표 3).

표 3. 수확된 조생종 밤 피해낱알에서 산란 Hole당 난의 수

난 수	조사된 산란Hole수	비 율(%)
0	94	41.2
1	128	56.1
2	6	2.6
계	228	100
평균Hole당 난수	0.61	-

2). 중생종밤에 대한 밤바구미 피해율 조사

1996년 조생종에 대한 밤바구미의 피해는 조사전지역에서 10%이하였으나 1997년 중생종에 대한 밤바구미류의 피해는 표 4와 같다. 이것은 중생종이 9월 중하순경에 수확됨으로 *C. camelliae*보다는 *C. robustus*나 밤바구미의 피해로 생각된다. 또한 지역에 상관없이 20-30% 정도의 피해를 보였는데 이것은 금액으로 환산하면 약 500억원의 손실을 초래하는 것이다.

표 4. 지역별 중생종 밤의 피해 흔적에 따른 피해율 조사

생 산 지	조사개수	피해과수	피해율 (%)
충남 공주 (I)	136	40	29.4
(II)	144	43	29.9
(III)	161	51	31.7
(IV)	154	42	27.3
(V)	158	37	23.4
(VI)	146	39	26.7
(VII)	142	45	31.7
(VIII)	141	29	20.6
(IX)	170	54	31.8
(X)	163	49	30.1
계	-	-	-
평 균	-	-	28.3

생 산 지	조사개수	피해과수	피해율 (%)
경남 진주 (I)	143	31	21.7
(II)	139	33	23.7
(III)	164	45	27.4
(IV)	172	38	22.1
(V)	136	36	26.5
(VI)	141	37	26.2
(VII)	128	30	23.4
(VIII)	114	32	28.1
(IX)	176	50	28.4
(X)	143	38	26.6
계		-	-
평 균	-	-	25.4
전남 순천 (I)	173	51	29.5
(II)	161	44	27.3
(III)	154	40	26.0
(IV)	136	41	30.1
(V)	119	28	23.5
(VI)	124	30	24.2
(VII)	154	43	27.9
(VIII)	134	31	23.1
(IX)	142	15	10.6
(X)	150	42	28.0
계	-	-	-
평 균	-	-	25.0

3). 만생종밤의 피해율

표 5에서는 1998년에 만생종에 대한 밤바구미의 평균 피해율은 58.9%이었는데 이것은 1996년 1997년 조생종과 중생종 피해 조사에서 보다 월등한 피해를 보여 주고 있다. 특히 조사지에 따라 70%이상의 피해도 보여 주기도 했다.

표 5. 지역별 만생종 밤에 대한 밤바구미 피해율

지 역	구 분		
	조 사 수	피해 낱알 수	피 해 율(%)
충남 공주	146.7	91.8	62.6
전남 순천	158.8	70.0	44.0
경남 진주	185.3	131.2	70.0
평 균	163.6	97.6	58.9

나. 노숙유충의 탈출현황

시장에서 구입한 밤을 야외에 두고 매일 4시간마다 탈출하는 노숙유충을 수거하여 조사한 결과 표 6에서와 같이 11월 중순에 전체의 48.5%가 탈출하였다. 이것은 실제 야외에서보다는 다소 차이가 있고 저온 창고에 저장중일 때 죽지 아니하고 발육중지(dormancy)하고 있다가 기온이 상승하면 충분히 먹이를 섭식하고 노숙유충으로 탈출하는 것으로 사료된다. 그러므로 자연계에서의 탈출은 이보다

훨씬 빠를 것으로 생각된다. 또한 이러한 사실들은 환경이 나쁘면 무조건 휴면에 들어가는 임의휴면이 아니고 충분히 자란 후 임계체중에 도달하여야 휴면에 들어가는 절대휴면을 거친다는 것을 간접적으로 증명하는 결과라 사료된다.

표 6. 시기별 밤바구미 노숙유충의 탈출현황

시 기	탈 출 충 수	비 율(%)
10 월 하 순	168	5.01
11 월 상 순	302	9.01
11 월 중 순	1,625	48.49
11 월 하 순	516	15.40
12 월 초 순	465	13.88
12 월 중 순	199	5.94
12 월 하 순	76	2.27
계	3,351	100

다. 밤바구미 발생 생태

1). 밤바구미 화기 및 우화율

1995년에 이식한 월동유충에서 1년차 월동유충의 생존율은 79.8%로 매우 높은 경향을 보였으나 2년차에 6.2%만이 살아 남았다. 그러나 1996년에 이식한 월동유충에서는 생존이 1995년에 비해 아주 낮은 36.2%였는데 이러한 것은 사육상의 환경과 기후 등의 영향인 것으로 사료되며 특히 개미류의 침입으로 인하여 1997년에 많은 폐

사한 것으로 사료되었다 (표 7).

표 7. 밤바구미류 월동유충의 년차별 생존상황

처리 년도	월동 유충수	1년차 생존수(%)	2년차 생존수(%)	3년차 생존수(%)
1995	4,200	3,220(80)	260(6.2)	-
1996	2,650	960(36.2)	-	-
1997	2,600	-	-	-

밤바구미류의 성충 우화는 표 8와 10에서 보는 것과 같이 밤바구미(*C.sikkimensis*)와 *C. robustus*(미기록종)는 우화개체의 비율이 ‘95년 처리에서는 1년 1세대발생(univoltine)하는 개체는 각각 6.5%와 18.2%이고, ’96년 처리에서 2개체 모두 12.5%로 전체적으로 년 2세대발생(bivoltine)하는 것으로 판단되나 동백밤바구미(*C. camelliae*)는 처리년도 1995년과 1996년에서 공히 1년 1세대 하는 것으로 생각되며 전체적인 밤바구미류의 우화율은 평균 2% 이내로 매우 저조하였다 (표 9와 11).

표 8. '95년 처리한 월동유충으로부터 우화된 밤바구미류의 성충수

조사년도	*sikkimensis*	*camelliae*	*robustus*	계
1996	2	13	4	19
1997	29	-	18	47

표 9. '95년 처리한 월동유충으로부터 우화된 밤바구미류의 우화율

조사년도	조사대상수	우화수(우화율)
1996	980	19(1.94%)
1997	2,960	47(1.58%)
총 수	3,940	66(1.68%)

표 10. '96년 처리한 월동유충으로부터 우화된 밤바구미류의 성충수

조사년도	*sikkimensis*	*camelliae*	*robustus*	계
1997	3	18	3	24
1998	-	-	-	-

표 11. '96년 처리한 월동유충으로부터 우화된 밤바구미류의 우화율

조사년도	조사대상수	우화수(우화율)
1997	1,690	24(1.42%)
1998	-	-
총 수	-	-

3년간 처리한 월동유충의 생존율은 표 12에서와 같이 1년 차에서 평균 46.5%이었으나, 2년차 생존율은 5.4%였다. 그리고 처리년도에서 시간이 지날수록 1년차 폐사율이 높은 것은 우화상에 밤바구미 천적들이 많이 발생되었기 때문이라고 생각된다. 관찰된 주 천적으로는 개미, 두더지, 백강균이 많았다.

표 12. 밤바구미류 월동유충의 년차별 생존상황

처리 년도	월동 유충수	1년차 생존수(%)	2년차 생존수(%)	3년차 생존수(%)
1995	4,200	3,220(79.8)	260 (6.2)	0(0.0)
1996	2,650	960(36.2%)	121 (4.6)	-
1997	2,600	608(23.4%)	-	-

바구미류의 성충 우화는 표 13와 14에서 보는것과 같이 밤바구미(*C. sikkimensis*)와 *C. robustus*(미기록종)는 2년 1세대하는 Bivoltine하며 동백밤바구미(*C. camelliae*)는 1년 1세대하는 Univoltine 하는 것으로 판명되었다. 특히 김과 김(1984)가 보고한 밤바구미 2년 1세대 결과와 일치하였다.

표 13. '96년 처리한 월동유충으로부터 우화된 밤바구미류의 성충수

조사년도	*sikkimensis*	*camelliae*	*robustus*	계
1997	3	18	3	24
1998	19	-	10	29

표 14. '97년 처리한 월동유충으로부터 우화된 밤바구미류의 성충수

조사년도	*sikkimensis*	*camelliae*	*robustus*	계
1998	6	31	4	41

2). 밤바구미 발생빈도

'96년 밤재배지와 수집하여 월동시킨 밤바구미 유충에서 채집된 성충을 ‘97년 4월 21일 영국 옥스퍼드대학 박물관 동물학과 곤충 분류 전공 George C. McGavin과 Mark Robinson박사에 의해 국내 생산밤에서 3가지 종의 밤바구미류가 서식됨이 처음으로 밝혀졌다 (표 15).

표 15. 밤바구미류의 출현율

Curculio spp.	개 체 수		비 율 (%)	
	‘96	‘97	‘96	‘97
sikkimensis	56	164	39.4	66.4
camelliae	58	51	40.8	20.6
robustus	28	32	19.7	13.0
Total	142	247	100	100

이 결과를 토대로 ‘97년과 야외와 구내에서 채집된 밤바구미류 우화 상항은 그림 1, 2, 3과 같다.

우화상항은 *Curculio camelliae*가 가장 빠른 8월 25일 경이고, *Curculio robustus*는 8월 29일에서 9월 5일 사이에 집중적으로 우화되었고, *Curculio sikkimensis*(밤바구미)는 8월 하순에 시작되어 10월 중순까지 채집되었다. 특히 밤바구미는 만생종밤에 많은 피해를 줄 것으로 생각된다.

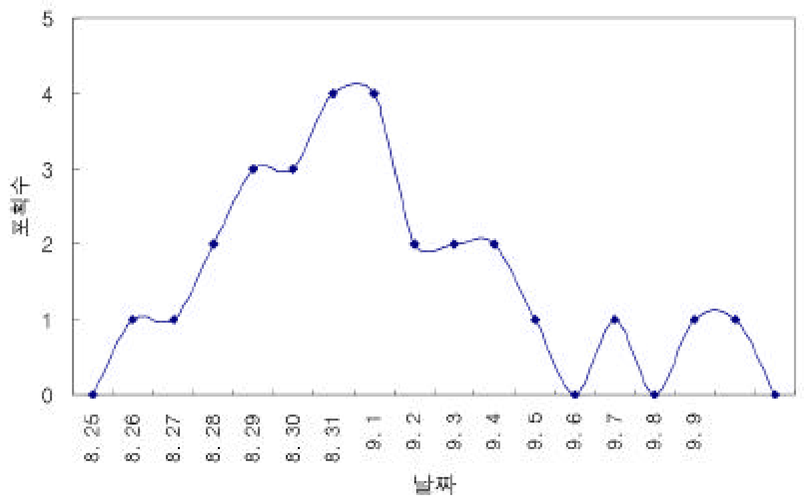

그림 1. *Curculio robustus* 성충의 발생소장

*Curculio*류는 대체적으로 8월 중순에서 9월 중순사이에 대부분 출현하였으나 종별로 우화최성기는 약간의 차이를 보여 *C. camelliae*가 8월 하순경인 25일 전후에 최성기를 보였고 *C. robustus*는 8월말과 9월초에 최성기를 보여 조생종과 중생종에 많은 피해를 줄 것으로 예상되며, 9월 5일 이후에 최성기를 보여 *C. sikkimensis*가 만생종 밤에 가장 피해를 심하게 주는 것으로 사료되며 특히 10월 중순까지 발생되어 수확직전에 육안으로 밤바구미 유충의 피해가 보이지 않지만 저장중에 피해를 주는 것 은 10월 이후에 발생한 개체에 의한 피해로 생각된다.

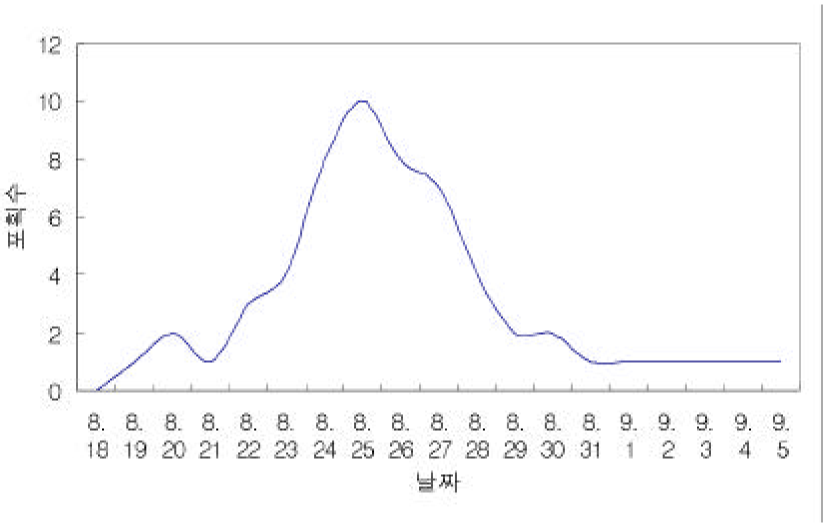

그림 2. *Curculio camelliae* 성충의 발생소장

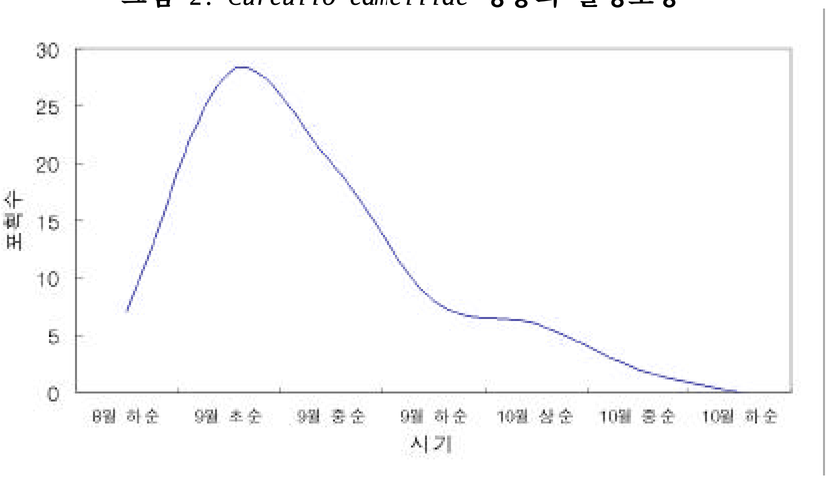

그림 3. *Curculio sikkimensis* 성충의 발생소장

경남 진주와 전남 순천에서 유아등 및 월동유충의 우화상을 이용한 발생 및 피해율을 조사한 결과는 표 16에서 보는 것과 같이 밤바구미류의 출현율은 밤바구미가 가장 많았다. 그리고 '96년에 동백밤바구미가 많았던 것은 8월 중순에 유아등에서 채집된 개체가 많았기 때문으로 사료된다.

그림 4, 5, 6에서 *C. robustus*는 8월 하순과 9월 초순에 집중 발생하였고 *C. camelliae*는 '97년과 '98년에 발생시기가 차이를 보였는데 '98년 하절기의 많은 비 때문으로 생각된다. *C. sikkimensis*는 9월초순과 중순에 발생하였는데 특히 늦밤인 만생종에 많은 피해를 주는 것으로 생각된다

표 16. 연도별 밤바구미류의 출현율

Curculio spp.	개 체 수			비 율(%)		
	'96	'97	'98	'96	'97	'98
sikkimensis	56	164	77	39.4	66.4	41.4
camelliae	58	51	48	40.8	20.6	25.8
robustus	28	32	61	19.7	13.0	32.8
계	142	247	186	100	100	100

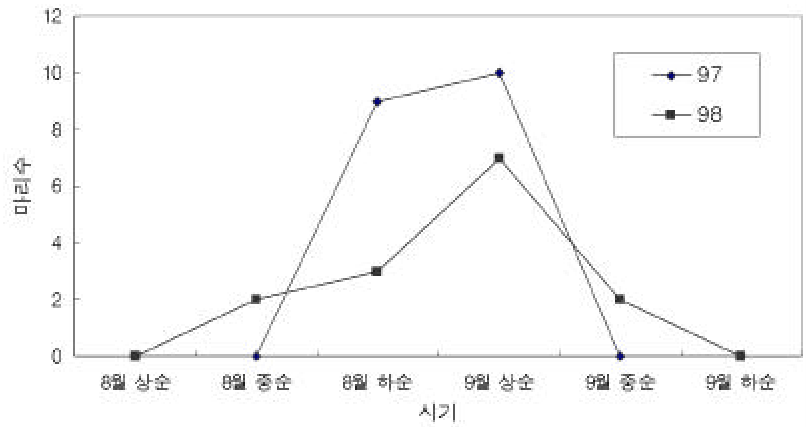

그림 4. *C. robustus* **성충의 발생소장**

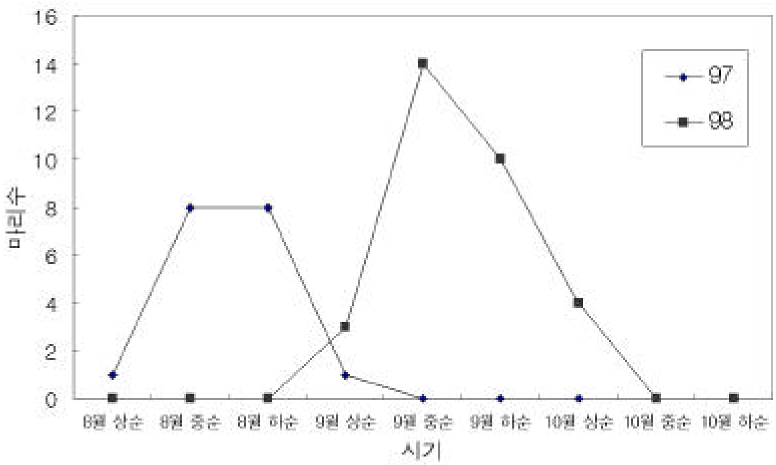

그림 5. *C. camelliae* **성충의 발생소장**

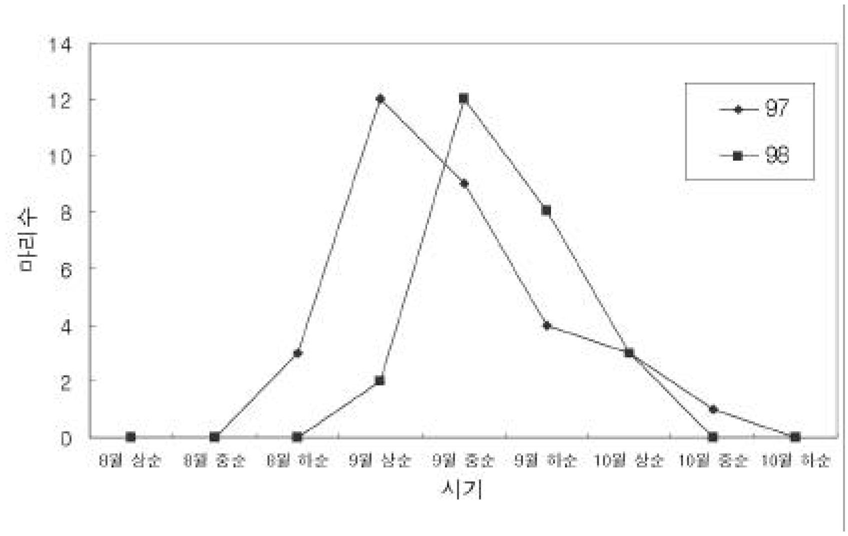

그림 6. *C. sikkimensis*의 발생소장

라. 난의 발육

온도 25℃, **광주기** L:D=15:9, **습도** 60%**에서 난의 발육속도는 표** 17**과 같이** 10**일째 부화하는 것이 조사개체수의** 40%**를 차지하였다 이러한 결과는 김 등**(1984)**이 발표한** 5.9**일 보다 상당히 긴 시간인데 이것은 아마도 종의 차이에 의한 것으로 사료되는데 밤바구미류** 3**종에 대한 좀더 세밀한 생리생태 연구가 필요 할 것으로 사료된다.**

표 17. 난의 발육속도(온도:25℃, 광주기→L:D=15:9, 상대습도:60%)

발 육 일 수	조 사 난 수
8	3
9	9
10	12
11	6
계	30
평 균	9.92

2. 밤바구미 생식행동

가. 성충의 암수 구별

수컷의 주둥이 감각기 비율은 Upper : Lower = 2.4 : 2.9로서 감각기가 주둥이 중간에 있고 암컷의 주둥이 감각기 비율은 Upper : Lower = 3.9 : 2.1로 앞부분이 길어 산란공을 만들기에 적합한 형태를 지니고 있어 암수 구별은 육안으로도 간편하게 식별할 수 있었다(표 18).

표 18. 밤바구미 성충의 주둥이 크기와 감각기 위치에 따른 암수 차이

구 분	주둥이길이(㎜)		감 각 기 위 치			
			Upper(㎜)		Lower(㎜)	
	수 컷	암 컷	수 컷	암 컷	수 컷	암 컷
평 균	5.00	5.30	2.36	3.90	2.88	2.12
STD	0.45	0.68	0.24	0.50	0.17	0.15

나. 밤바구미(*C. sikkimensis*) 교미행동

1). 교미 시간대

C. sikkimensis 교미는 조사 개체쌍수의 64.3%, *C. robustus*는 66.7%가 14:00-16:00사이에 교미를 하였고, 이러한 경향은 하루중 낮 기온이 가장 높은 시각에 교미를 하는 것으로 사료되며 또한 주광성이 매우 강하여 불꺼지기전 4시간(photophase말기)부터 불꺼지기직전(scotophase전)사이에 대부분의 교미행동을 보였고 *C. sikkimensis*는 중복 교미는 하지 않았고 *C. robustus*의 중복교미는 관찰하지 못하였다 (그림 7).

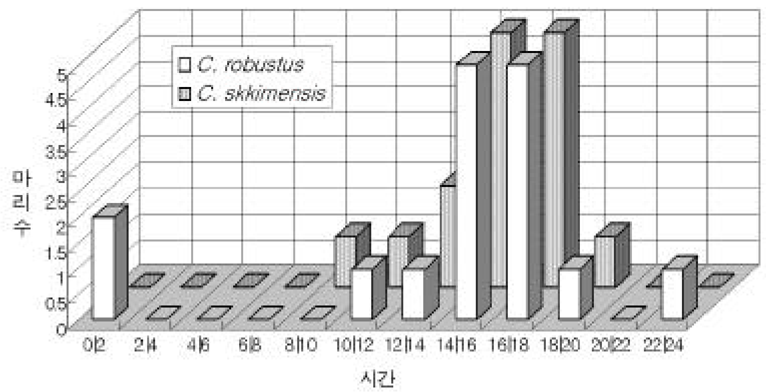

그림 7. 밤바구미류의 교미시간대

2). 암수의 교미전 행동

암컷은 안테나와 복부끝을 흔들면서 cage의 구석 쪽으로 천천히 기어가서 수컷과의 교미 할 때까지 움직임이 없이 가만히 있는다.

반면, 수컷은 매우 빠르게 움직이면서 생식기를 도출하는 행동을 보였고, 날개를 자주 vibration(진동)하는 행동을 보이며 암컷의 주위를 맴돌다 등위로 올라가서는 주둥이 끝으로 암컷의 양쪽 눈을 번갈아 가면서 막고는 가운데 다리로 암컷의 등을 약 2분 간격으로 3초 가량 5-6회 계속 비비다가 주둥이의 Hair Sensor로 암컷의 head 부분을 계속 접촉한다. 그리고는 가운데 다리로 암컷이 움직이지 못하게 꽉 잡은 뒤 복부 끝을 구부려 생식기부분을 확장시키고는 암컷의 복부 끝에 있는 생식기를 꼭 붙잡는다.

이상의 행동으로 보아 sex pheromone의 발산은 암컷이 하는 것으로 추정되며 암컷의 pheromone gland와 성분을 인지, 확인, 탐색하여 최종의 유인물질을 찾아야 될 것으로 사료된다.

3). 암수 교미후 행동

교미가 끝난 암컷은 Food source에서 주둥이로 먹이를 feeding 하였고 중복 교미의 행동을 보이지 않았다. 그리고 교미가 끝난 1시간 후부터 산란행동을 보이며 산란을 하였다.

교미가 끝난 수컷은 활력이 현저하게 떨어지고 주둥이로 먹이를 feeding 하였으나 떨어진 활력 때문에 거꾸로 뒤집히는 현상을 보였고 중복 교미의 행동은 보이지 않았다. 그리고 1-2일경과 후 전부 죽었다.

4). 밤바구미류 암컷의 성적 성숙일수

표 19에서 밤바구미류의 암컷에 대한 우화후 교미까지의 성적 성숙 일수는 종에 따라 차이가 있어 *C. robustus*의 경우 가장 긴 4.00일, C. *camelliae*는 2.71일이었다. 이러한 결과는 밤바구미 방제를 위한 중요한 자료로서 성페로몬을 이용한 예찰과 방제에 대한 적용 시간이 매우 짧으므로 조기와 적기에 설치하는 것이 효과가 높다는 것을 알 수 있다.

표 19. 밤바구미류 암컷의 우화후 교미 시까지의 소요일수

구 분	조사개체수	평 균
C. robustus	12	4.00일
C. sikkimensis	14	3.21일
C. camelliae	11	2.71일

5). 밤바구미류 암컷과 수컷의 수명비교

표 20은 밤바구미류의 암수 수명을 조사한 것인데 *C. robustus*의 수명이 가장 길었고, 특히 암컷 경우가 다른 어떠한 것들보다 수명이 긴 19.25였다. 그리고 김과 김(1984) 밤바구미의 수명을 조사한 것과는 커다란 차이가 없었다. 아마도 행동조사에서와 같이 수컷은 교미 후 대부분 1일이내에 사망하였고, 암컷은 자손번식본능 때문에 수컷에 비해 오래 생존하는 것으로 대부분의 곤충에서 볼 수 있는 현상이다.

표 20. 밤바구미류 성충의 수명비교

구 분		조사개체수	평 균
C. robustus	(암컷)	16	19.25
	(수컷)	9	9.13
C. sikkimensis	(암컷)	19	7.16
	(수컷)	16	6.18
C. camelliae	(암컷)	16	5.83
	(수컷)	10	3.70

다. 밤바구미 산란행동

1회 산란에 소요되는 시간은 주로 3-5분이 소요되었고 산란처는 밤알의 외피와 속껍질(일명:보니)사이가 대부분이었고 산란처의 깊이는 0.4 - 0.8㎜에 전체의 78.0%를 차지하였다 (표 21).

표 21. 밤바구미의 산란장소의 깊이

산 란 깊 이(㎜)	조 사 난 수(개)	비 율 (%)
0.4 미만	2	4.0
0.4 - 0.6 미만	21	42.0
0.6 - 0.8 미만	18	36.0
0.8 이상	9	18.0
계	50	100

3. 밤바구미의 인공사료 개발

지속적인 밤바구미 연구를 위하여 무엇보다도 실내 대량사육체계 확립이 요구되며 이를 위하여 인공사료의 개발이 중요하게 대두된다. 본 연구에서는 여러 가지 성분 및 조성별 인공사료 개발이 시도되었는데, 제1 사료는 복숭아명나방 인공사료를, 제2 사료는 목화바구미의 인공사료를 변형하여 시도하였다 (표 22).

제 1사료의 물리적 성질은 대단히 묽고 진하다. 제2 사료보다는 약간 늦게 부패하나 유충이 파고 들어간 후에 안에서 그대로 죽음, 그러나 사료성분의 영향 때문인지, 과도한 습기 때문인지는 밝히지 못했다.

제2 사료는 약간 딱딱하여 절단한 모양을 그대로 유지하나 손으로 짜면 물기가 많이 나온다(정량화하지 않음). 유충은 바로 이 사료 속으로 들어가나 2-3일 내에 바로 다시 나오고 더 이상 사료 안으로 들어가지 않고 밖에서 그대로 사망한다.

'96년에 사용했던 Corn powder대신 Chestnut powder를 첨가할 경우 (표 23) 유충사망률과 정상적인 탈피가 옥수수가루을 첨가하였을 경우보다는 떨어지지 않았고 Sweet potato powder를 첨가할 경우에도 유충의 섭식사망률은 감소되었으나 정상적인 탈피가 성취되지 못하였다. 실험개체중 제 2사료에서 1령충 1마리가 1회 탈피에 성공하였고 10일 까지 생존하여 인공사료 개발에 밝은 희망을 보여 주었다.

표 22. 밤바구미 인공사료의 성분들의 조성과 정량

조　　성	제 1 사료	제 2 사료
Wheat germ	70g	30g
Cellulose	60g	-
Corn powder	55g	-
Casein	-	35g
Yeast	55g	-
Fructose	5g	-
Sucrose	-	35g
Wessen's salt mix.	0.6g	-
Agar	20g	25g
Cholesterol	-	0.5g
Corn oil	2.3mg	-
Choline chloride	-	1g
Inositol	-	0.4g
Ascorbic acid	6g	4g
Vitamine mix.	4g	5g
Distilled water	1,000mℓ	850mℓ
Methyl p-hydroxynebzoate	2g	2g
Sorbic acid	-	1g
Corn tee powder	2g	-
Malic acid	2g	-

표 23. **밤바구미 인공사료의 성분들의 조성과 정량**

조　　성	제1 사료	제2 사료	제 3사료
Wheat germ	70g	30g	40g
Cellulose	60g	-	60g
Chestnut powder	55g	-	55g
Sweet Potato powder	-	45g	45g
Casein	-	35g	35g
Yeast	55g	-	55g
Fructose	5g	-	5g
Sucrose	-	35g	35g
Wessen's salt mix.	0.6g	-	0.6g
Agar	20g	25g	20g
Cholesterol	-	0.5g	0.5g
Corn oil	2.3㎎	-	2.3㎎
Choline chloride	-	1g	1g
Inositol	-	0.4g	0.4g
Ascorbic acid	6g	4g	5g
Vitamine mix.	4g	5g	4g
Distilled water	1,000㎖	850㎖	850㎖
Methyl p-hydroxynebzoate	2g	2g	2g
Sorbic acid	-	1g	1g
Corn tee powder	2g	-	2g
Malic acid	2g	-	2g

표 25에서 보는 바와 같이 복숭아명나방과 목화바구미의 인공사료를 변형하여 최적의 인공사료 제조하여 탈피 및 유충기간 조사 제5사료에서 1령충을 접종했을 때 4.3일 생존하였다 (표 24 참조). 그러나 대부분 탈피를 하지 못하고 사망하였는데 곤충의 3대 영양원은 탄수화물, 단백질, 지질로 구성되나 인공사료에서도 이와 같은 주 영양원은 충분하나 미량원소 및 성분에 의해 결정된다. 특히 곤충에서 섭식저해제(feeding deterrent), 섭식기피제(feeding repellent) 등은 인공사료 제조에 중요한 역할을 하는데 여기서 공급된 인공사료에서 섭식기피 현상을 보이고 있다. 그러므로 앞으로 계속적인 연구가 요구되며, 특히 1997년 제2사료에서 1마리가 1회 탈피하고 10일 생존한 기록은 인공사료의 개발에 대하여 새로운 시도가 필요하겠다.

표 24. 인공사료에 의해 사육된 유충의 평균수명(일)

접종충태	제 4사료	제 5사료
1 령충	3.1±1.3	4.2±1.7
2 령충	3.6±1.2	4.3±2.2

표 25. **밤바구미 인공사료성분들의 조성과 정량**

조　　성	제1사료	제2사료	제3사료	제4사료	제5사료
Wheat germ	70g	30g	40g	40g	40g
Cellulose	60g	-	60g	60g	60g
Chestnut powder	55g	40g	55g	65g	65g
Sweet potato powder	-	35g	45g	35g	35g
Casein	-	35g	35g	35g	35g
Yeast	55g	-	55g	55g	55g
Fructose	5g	45g	5g	5g	5g
Sucrose	-	35g	35g	35g	35g
Wessen's salt mix.	0.6g	-	0.6g	0.6g	0.6g
Agar	20g	25g	20g	20g	20g
Cholesterol	-	0.5g	0.5g	0.5g	0.5g
Corn oil	2.3mℓ	-	2.3mℓ	2.3mℓ	2.3mℓ
Choline chloride	-	1g	1g	1g	1g
Inositol	-	0.4g	0.4g	0.4g	0.4g
Ascorbic acid	6g	4g	5g	5g	5g
Vitamine mix.	4g	5g	4g	4g	4g
Distilled water	1,000mℓ	850mℓ	850mℓ	850mℓ	800mℓ
Methyl p-hydroxynebzoate	2g	2g	2g	2g	2g
Sorbic acid	-	1g	1g	1g	1g
Corntee powder	2g	-	2g	2g	2g
Malic acid	2g	-	2g	2g	2g
Niacin	-	-	-	7mg	7mg
Fe	-	-	-	-	0.3g
Ca	-	-	-	-	0.3g
P	-	-	-	-	0.5g

4. 밤바구미 촉각 구조

밤바구미 더듬이에서 암수 공통적으로 발견되는 감각기들에 대한 주사전자현미경 관찰 결과 그림 8와 9에서 보는 것과 같이 sensilla trichodea(ST)와 sensilla chatica(SC)가 관찰되었다. 각 감각기의 특징을 보면 sensilla chatica(SC)는 일반적으로 접촉화학감각기로 알려져 있는데 각 flagellomone의 말단부에 돌출된 모양을 보이고 있다. 이 감각기를 고배율로 관찰하면 길이 방향으로 발달된 홈모양이다. sensilla trichodea(ST)는 일반적으로 나비목에서 성페로몬을 감지하는 감각기로 알려져 있으며 밤바구미의 경우 길이면에서 다소 짧아 외형상 sensilla basiconica와 유사하기 때문에 자세한 감각기 종류는 주사현미경으로 식별이 어렵고 투과전자현미경을 이용하여 내부 미세구조를 확인한 다음, single cell recording과 같은 비교적 많은 숙련이 요구되는 실험 테크닉을 동원하여야 그 구조를 판단할 수 있어 계속적인 실험이 요구되어 진다.

한편 다리 부절에서 발견되는 감각기에 대해서는 그림 9(a)와 같이 sensilla chatica(SC), sensilla trichodea(ST)와 유사한 종류들에서 발견되는데 나방의 맛 감각기와 유사한 역할을 수행하는 짧은 털들로 관찰되어 맛과 냄새를 인지하는 기구로서의 부절의 기능을 대변하고 있다. 주둥이에서 관찰되는 작은 구멍들은 (그림 9b) 주로 맛을 인지하는 기능의 감각기로 주변부는 modified scale로 덮여있었다.

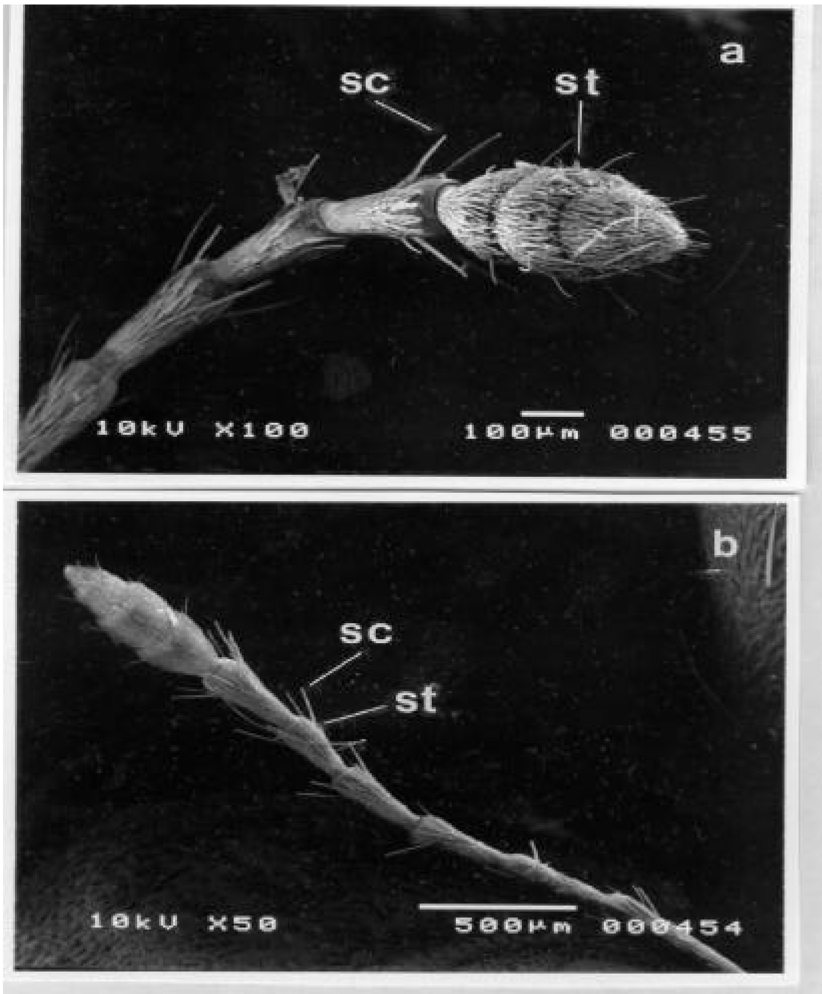

그림 8. 밤바구미 성충 암수안테나 감각기 주사현미경 사진.
a: **암컷감각기**, b: **수컷감각기**

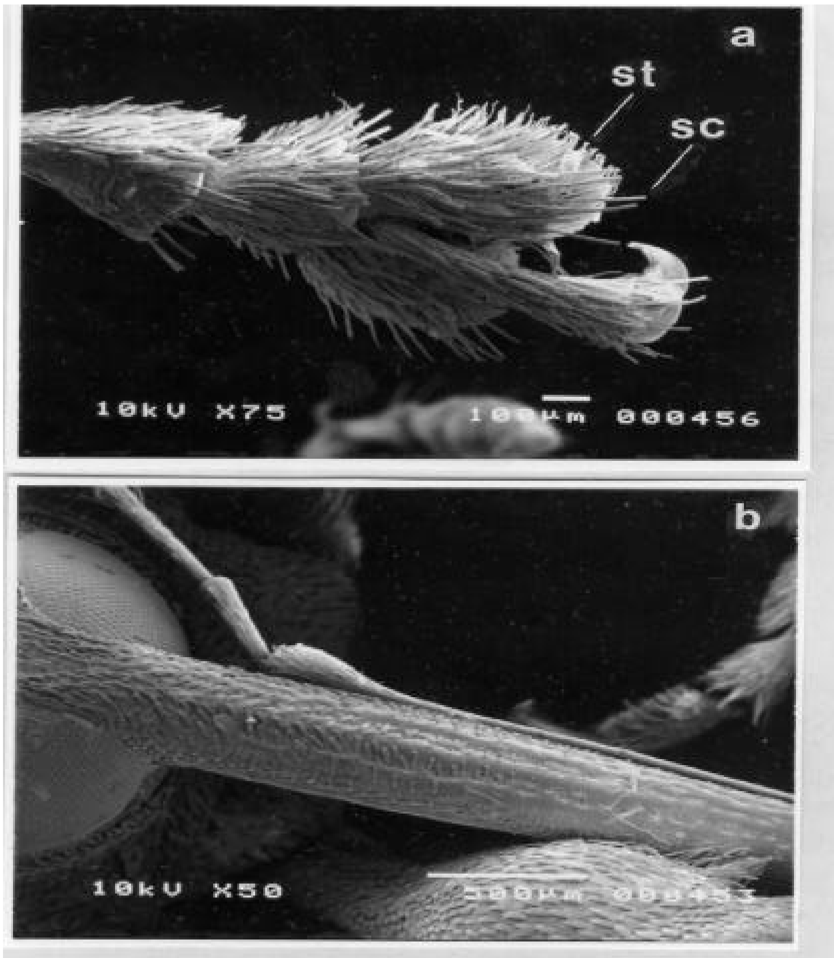

그림 9. **밤바구미 성충 다리부절 및 주둥이 감각기 주사현미경 사진**. a: **다리 부절 감각기**, b: **주둥이 감각기**

제 4 절. 인 용 문 헌

강전유, 임주빈, 이범영, 1978. 밤나무 종실해충 방제시험. 임시연보. 25:99 - 110.

김규진, 김종표. 1984. 전남지역에서 있어서 밤바구미의 피해상황과 우화 및 월동에 관한 연구. 한국식물보호학회지. 23; 132-136.

농림부. 1996. 밤나무해충 항공방제 효과제고 기술개발. 제1차년도 최종보고서. 57 pp.

최광식. 1993. 밤나무 주요해충에 대한 금후전망. 제15회 산림병해충연찬회 pp.57-65.

최광식. 1997. 복숭아명나방 발생소장과 적기방제. 제 19회 산림병해충연찬회 pp.111-124.

최광식. 1998. 복숭아명나방 성충의 활동리듬과 밤나무림에서의 발생생태. 서울대학교 대학원 박사학위논문. 102pp.

Honda, H., Kaneko, J., Konno, Y., and Y. Matsumoto. 1979. A simple method for mass-rearing of the yellow peach moth, *Dichocrocis punctiferalis* Guenee (Lepidoptera: Pyralidae), on an artificial diet. Appl. Entomol. Zool. 14: 464-468.

Shinkaji, N. and S. Ito. 1969. Studies on the peach moth, *Lichocrocis punctiferalis* Guenee (Lepidoptera: Pyralidae). II. Cn the measurement of width of head capsule of larvae, with special reference to the difference between the fruit tree type and the conifer type. Hiratsuka Agr. Eng. Res. Sta. Bull. 8: 209-230.

Sikorowski,-P.P. 1984. Boll weevil mass rearing technology.172 pp. University Press of Mississippi, USA.

제 2 장. 밤바구미 유인물질 탐색 및 확인

Section 2: Searching and Identification of attractant for Chestnut weevil

SUMMARY

Gas chromatography (GC), electroantennogram(EAG), olfactometry were employed in identification of active compounds in attracting chestnut weevil adults, *Curculio robustus*, *C. sikkimensis*, *C. camelliae*, from their own body and their host plant, chestnut, var. Choopa. Attraction of male and female adults was also investigated with sex pheromone lure indoors and outdoors. The retention time of detected compounds on GC gram from their own body were quite different from those of sex pheromone from the boll weevil, *Anthonomus grandis*, even though the two species belong to the same family. The sex pheromone of the boll weevil did not attract either sex of the chestnut weevil in the field. But chestnut weevil adults were significantly attracted to extract of chestnut burs damaged earlier by the yellow peach moth, *Dichocrosis punctiperalis*, another pest insect species on chestnut fruits. Their positive behavioral response to the extract may be due to secondary metabolites of damaged burs, since both virgin and mated

chestnut weevil adults of both sexes showed the same response. Hence more works were done on chemical composition of healthy and damaged chestnut fruits.

Methanol extracts of the chestnut burs, undamaged or damaged by the boll weevil, were analyzed to identify attractive green volatiles by GC, EAG and olfactometer. Attraction and EAG response of the adults were higher to chloroform fraction than any other fractions in the case of methanol extracts from burs undamaged. However, ethylacetate fraction showed the highest level in attracting and eliciting behavioral response in the adults in the case of methanol extracts from burs damaged. From these two fractions originated from methanol extracts of burs undamaged and damaged, eight compounds, (+)-α-pinene, E-2-hexanal, benzaldehyde, n-decyl aldehyde, nonyl acetate, terpineol, geraniol, 2-phenylethanol, were temporarily identified when compared their GC retention times with those of standard chemicals. Among these chemicals (+)-α-pinene showed the highest attractivity to chestnut weevil adults when bioassayed indoors.

With the present results, it may be suggested that chestnut weevil adults probably use, as their sex pheromone, compounds different from those of *A. grandis*. The weevil adults may use green volatiles, including (+)-α-pinene, from their host plant, especially burs damaged by *D. punctiferalis*. However, further studies are required to identify their sex pheromone components and their composition, and green volatile compounds, from their host plant including burs, active in attracting adult weevils.

제 1 절. 서 론

밤의 종실 가해해충인 밤바구미는 그 가해부위가 밤 과실로 직접적 경제적인 손실을 일으키는 밤 과수원의 주요해충이다. 이들은 유아등에 잘 유인되지 않기 때문에 이들의 밀도추정은 주로 피해과실의 관찰에 의존하여 왔다. 그러나 이와 같은 방법으로는 노동력이 많이 들고, 표본채취의 객관성을 유지하기가 쉽지 않으며, 정확한 밀도추정도 어려웠기 때문에 이들의 방제를 위하여 밤 과수원에서는 해충의 발생밀도와는 상관없이 주기적으로 유기합성살충제를 항공살포하는 실정이다. 그런데, 약제의 대량살포는 거꾸로 밤 과수원에서 천적을 감소시키고 저항성곤충집단을 등장하게 하는 부작용들을 낳고 있는데, 실제 과거에 문제가 되지 않았으나 약제 과다살포의 영향으로 이차해충이 근래에 문제해충으로 등장하고 있는 사례가 다른 과수에서 보고되고 있으며(백, 1990), 이러한 현상은 밤 과수원에서도 예외가 아닐 것이다. 따라서 유기합성살충제 살포횟수를 줄이고 효율적인 방제시기와 방제수단을 마련하기 위해서는 해충의 밀도변동을 예찰하는 체계가 필요하고 이를 위해서는 성충밀도를 예찰하는 것이 효율적이다.

밤을 가해하는 대표적 곤충인 밤바구미류는 방제가 어려운 해충으로 지적되고 있다. 밤바구미는 유충기간을 밤과실 내부에서 생활하는 습성 때문에 약제 방제가 상당히 어려운 것으로 알려져 있다. 그래서, 성충 시기에 약제 방제를 하는 것이 효과적이며, 이를 위해서도 밤바구미에 대한 정확한 발생예찰이 필요하게 되었다.

최근 널리 사용되고 있는 발생 예찰 방법은 곤충의 성페로몬을 이용한 발생예찰법으로서, 환경오염이 없으며, 천적을 죽이지 않고 대

상 해충만 포획하는 장점들이 있지만, 반드시 대상 곤충의 성페로몬에 대한 연구가 선행되어야 한다는 조건이 있다. 그리고 성페로몬은 같은 종이라도 지역에 따라 변이가 생길 수 있기 때문에(Sorenson 등, 1992; Toht 등, 1992), 외국산 성페로몬 미끼를 도입하여 그대로 이용하는 것은 바람직하지 않고, 반드시 국내의 자체 연구자료를 기초로 삼아 이용하여야 한다. 또한 다른 방법으로는 먹이가 되는 기주식물로부터 섭식유인제나 산란유인제로 작용하는 화합물을 분리, 동정하여 이용하는 방법으로 저장곡물 해충등에서 이용되고 있다. 이를 위해서는 식물에서 발산되는 방향성 성분(green volatiles)은 단일 성분보다는 복잡한 이차대사산물로 구성되어 있는 경우가 대부분으로 이를 이용하기 위해서는 성페로몬성분 연구에 비해 더 많은 연구가 필요하다(Schoonhoven 등, 1988). 성페로몬 및 기주식물에서 발산되는 화합물을 연구하기 위해서는 공통적으로 우선 실험곤충의 지속적인 공급을 위한 대량사육체계의 확립, 성충의 우화행동 및 생식행동의 조사가 이루어져야 하며, 성페로몬 동정과 식물발산성분에 대한 분리 동정이 이루어져야 한다. 성페로몬의 구성성분은 성페로몬샘에서 직접 추출하거나 공기 중에 방출되는 성페로몬 성분들을 포집하여 성분별로 분리하면서 생물검정을 통하여 동정되며 식물발산화합물은 공기포집이나 추출물의 단계적 분리에 의해 동정된다. 생물검정 방법은 성페로몬에 특이적인 곤충의 반응을 관찰하여 정량화하는 것으로서 실내에서 꾸며진 간단한 장치나 풍동안에서 곤충의 정위반응이나 비행반응을 보거나 촉각감각기의 전기전도 변화를 탐지하는 EAG와 single-cell recording을 이용한다. 또 곤충들의 유인성분은 여러 성분으로 되어 있는 경우가 많고 이들 성분간의 조성은 대상곤충에 따라 특이적이므로, 대상곤충의 행동을

특이적으로 유기하는 조성을 찾아야 하는데, 이때는 위와 같은 생물검정방법을 통해서 그리고 최종적으로는 야외에서의 유인실험을 통하여 적정조성을 검정 확립한다(Hummel, 1984).

국내에서 현재 밤바구미류에 대한 밀도추정의 방법으로 유인제 연구의 필요성은 시급하나, 아직 이에 대한 기초적인 조사도 마련되어 있지 않은 형편이다. 따라서 이들 해충들에 대한 발생예찰법 개발의 기초연구로서 이들의 유인제 성분을 탐색하기 위하여 본 연구를 수행하였다.

제 2 절. 재료 및 방법

1. 밤바구미 성페로몬 성분 분리 및 유인력 검정

가. 밤바구미 페로몬성분 포집

밤바구미 페로몬성분을 포집하기 위해, 밤바구미 성충을 유리병(30L)에 20마리를 넣고 테플론관으로 연결한 뒤 포집제로 porapack Q(Sigma Co.)를 연결하였다. 대조구로는 같은 크기의 유리병에 밤바구미 성충을 넣지 않고 동일하게 설치하였으며, 포집구와 대조구는 모두 진공펌프로 공기를 흡입하여 포집하였다. 유속은 분당 2500cc로 하였으며 공기주입구쪽에는 활성탄으로 공기를 걸러 주었다. 이렇게 포집된 화합물을 용출하기 위해 hexane, ether의 순서로 용출하였으며 각 용출액을 질소로 농축하여 10μl정도가 되게 하였고 이를 GC(Shimazu Co., HP 6890)로 분석하여 유지시간을 비교하였다.

나. 목화바구미 페로몬성분 추출

목화바구미 페로몬 성분은 밤바구미의 근연종 비교연구의 일환으로 실시되었다. 목화바구미 성페로몬 성분은 시판중인 고무격막형태의 성페로몬제품(Pherocon cap)을 구입하였으며 이를 hexane에 담구어 고무격막내의 물질을 추출하여 질소로 농축하여 GC로 분석하였다.

다. 야외유인력 검정

밤바구미에 대한 야외유인력을 알아보기 위해 시판중인 목화바구미의 성페로몬미끼인 Pherocon cap(Mckibben 등, 1971)을 트랩유형별로 설치하였다. 설치된 트랩유형은 wing trap(그림 1), boll wevil trap(그림 2), flat trap(그림 3) 이었으며(Leggett, 1979; Leggett와 Taft, 1979), 설치장소는 전남 순천시 서면 대구리 밤 과수원과 경남 진주시 미천면 대곡리 밤과수원, 충남 공주시 정안면 사현리 밤과수원이었다.

설치기간은 1996년 8월 24일에서 1996년 10월 9일까지 조사하였다. 계속되는 실험으로 Pherocon cap을 boll trap에 설치하였으며 Pherocon cap을 복숭아명나방 피해를 받은 밤송이와 함께 wing trap에 처리하여 경남 하동군 고전면과 전남 순천시에서 1997년 동기간중에 실시하였다.

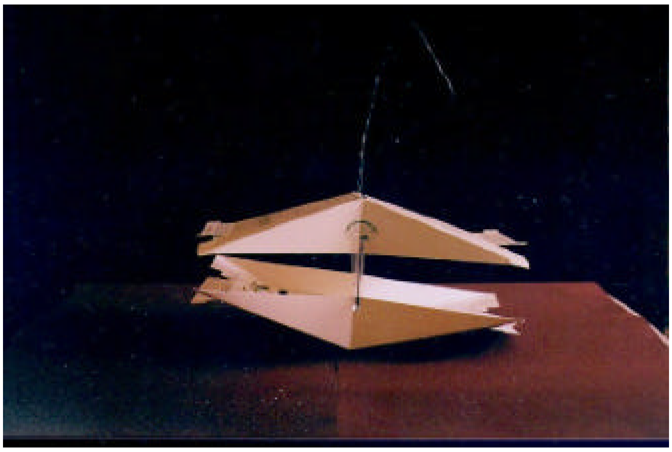

그림 1. Wing trap

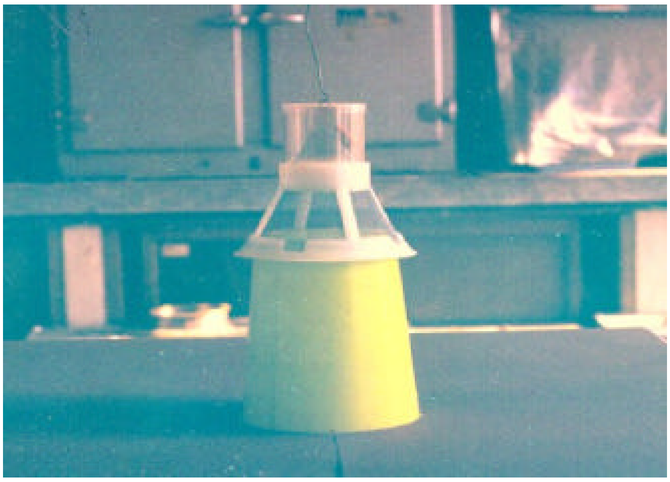

그림 2. Boll weevil trap

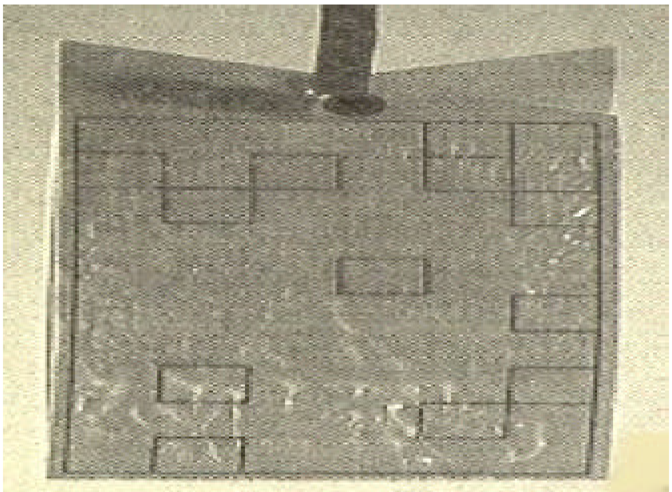

그림 3. Flat trap

2. **기주식물 방향성화합물의 유인효과**

밤바구미의 기주식물인 밤나무에서 발산되는 방향성 화합물의 유인효과를 알아보기 위해 밤나무잎과 산란장소이며 유충의 섭식대상인 밤송이(밤과실)에 대해 유인효과를 조사하였다. 밤송이는 야외관찰시 복숭아명나방 피해를 입은 밤송이에서 많은 수의 밤바구미가 채집되는 경향을 나타내었으므로 밤바구미의 피해를 받지 않은 건전한 밤송이와 복숭아명나방의 피해를 받은 밤송이를 대상으로 실시하였다. 또한 유인효과를 조사하기 위한 실험곤충은 암수간 비교와 교미의 유무별로 나누어 밤바구미의 생리상태에 따라 반응을 조사하였다. 조사방법은 곤충사육용기 내부에 밤바구미를 넣고 유리관으로

된 양쪽 팔 끝에 처리구를 두었으며 공기를 뽑아내면서 처리구에서 중앙 곤충투입구쪽으로 공기흐름을 주었다 (그림 4). 이에 대한 반응으로 각 처리구로 이동한 밤바구미의 수를 조사하였다(Hardee 등, 1967).

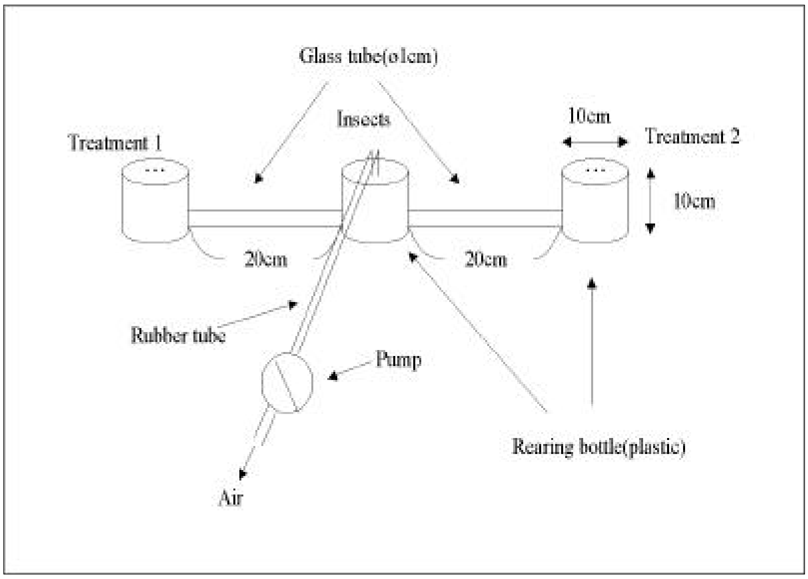

그림 4. 기주식물발산 방향성화합물에 대한 밤바구미 반응 생물검정장치

3. 밤송이 추출물에 대한 밤바구미의 반응

가. 건전한 밤송이 추출물에 대한 밤바구미의 반응

밤송이휘발성 물질 추출

건전한 밤송이(품종: 추파)를 메탄올에 담근 후 회전 농축하여 조

추출물을 얻었다. 이 후 hexane, chloroform, ethylacetate의 순서로 분액하여 농축하여 시료로 하였다.

Box olfactometer

플라스틱 box (35cm×25cm)에 각각면에 테플론 튜브로 50㎖ 코니컬튜브를 연결하였고 공기주입구쪽의 튜브에는 각 추출물을 거름종이에 처리하였으며 box내에 *C. robustus* 처녀암컷 성충을 10마리를 넣고 진공펌프를 연결하였다. 공기흐름은 2500cc/min으로 하였으며 실험은 15L/9D, 25±1℃ 조건에서 각 10분간 실시하였다.

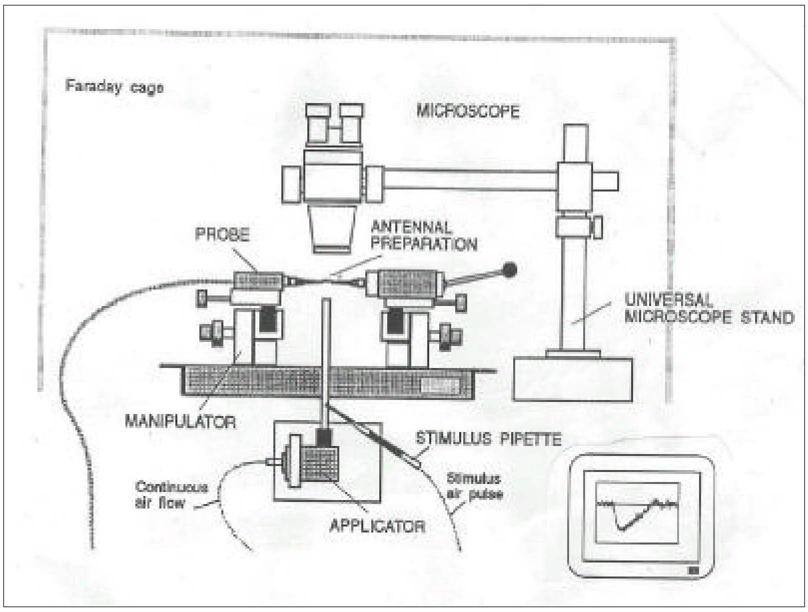

그림 5. Electroantennogram 장치 구성도

Electroantennogram(EAG)

밤바구미 암컷성충을 CO_2로 마취한 후 감각기를 절단하여 두 은(Ag)전극사이에 전기전도 젤을 이용하여 연결한 후 EAG장치(Syntech. Co)를 이용하여 감각기반응을 측정하였다(그림 5). 각 추출물은 거름종이에 묻혀 파스퇴르피펫에 넣고 공기흐름에 실어 감각기쪽으로 불어주었다. 각 추출물에 대한 반응은 공기반응에 대한 상대적인 반응으로 조사하였다.

나. 복숭아명나방 피해밤송이 추출물에 대한 밤바구미의 반응

복숭아명나방 피해밤송이휘발성 물질 추출

복숭아명나방 피해밤송이(품종: 이취)를 공주지역에서 선별 채취하여 메탄올에 담근 후 회전 농축하여 조추출물을 얻었다. 이 후 hexane, chloroform, ethylacetate, water의 순서로 분액하여 농축하여 시료로 하였다

Box olfactometer

플라스틱 box에 각각면에 테플론 튜브로 50㎖ 코니컬튜브를 연결하였는데 공기주입구쪽의 튜브에는 각 추출물을 거름종이에 처리하였으며 box내에 *C. robustus* 처녀암컷 성충을 10마리를 넣고 진공펌프를 연결하여 밤송이추출물에 대한 실험과 동일한 조건에서 실시하였다.

Y-tube olfactometer

Y-tube(직경 5㎝)의 두 가지 끝 각각에 실리콘 튜브로 50㎖ 플라

스크를 연결하였는데 한쪽의 가지에는 각 추출물을 거름종이에 처리하였으며 다른 플라스크는 빈 거름종이를 두었다. Y-tube의 가운데 가지 끝에 처녀 수컷성충 5마리를 넣고 가지끝에 진공펌프를 연결하였다. 공기주입구쪽에는 활성탄을 연결하여 주입되는 공기를 불순물이 없도록 걸러주었다. 공기흐름은 2500cc/min으로 하였으며 실험은 15L/9D, 25±1℃ 조건에서 실시하였다.

Electroantennogram(EAG)

밤바구미 암컷성충을 CO_2로 마취한 후 감각기를 절단하여 두 은(Ag)전극사이에 전기전도 젤을 이용하여 연결한 후 EAG장치(Syntech. Co)를 이용하여 각 추출물에 대한 감각기반응을 동일한 조건에서 측정하였다

다. Green volatiles에 대한 밤바구미의 반응

Green volatiles

Green volatiles로는 식물체에서 유래한다고 알려진 butyric acid ethyl ester, hexanal, β-myrcene, (+)-limonene, 2-heptanone, E-2-hexanal, citral, eugenol, α-humulene, (+)-α-pinene, (-)-E-caryophyllene, geraniol, 1-nonanol을 Sigma사에서 구입하여 사용하였다.

Electroantennogram(EAG)

식물체에서 유래되는 green volatiles을 hexane에 녹인 후 각각 20ng의 양으로 거름종이에 묻혀 파스퇴르피펫에 넣어 hexane을 증발

시켜 시료로 준비하였다. 밤바구미 암컷성충을 CO_2로 마취한 후 감각기를 절단하여 두 은(Ag)전극사이에 전기전도 젤을 이용하여 연결한 후 EAG장치(Syntech. Co)를 이용하여 각 추출물에 대한 감각기 반응을 동일한 조건에서 측정하였다.

Box olfactometer

플라스틱 box에 각각면에 테플론 관으로 50㎖ 코니컬튜브를 연결하였는데 공기주입구쪽의 튜브에는 각 green volatile을 거름종이에 처리하였으며 box내에 *C. robustus* 처녀암컷 성충을 10마리를 넣고 진공펌프를 연결하여 밤송이추출물에 대한 실험과 동일한 조건에서 실시하였다.

Glass tube olfactometer

Glass tube(직경 7㎝, 길이 15㎝)의 한쪽 끝에 실리콘 튜브로 50 ㎖ cornical 플라스크를 연결하였고 50㎖ cornical 플라스크내에 각 green volatile들을 거름종이에 처리하였으며, 대조구로 다른 glass tube에는 빈 거름종이를 연결하였다. 각각의 tube에는 처녀 수컷성충 10마리를 넣고 두 tube를 Y형 연결관으로 연결하고 한쪽에 진공펌프를 연결하여 공기를 뽑아내었다. 공기 주입구쪽에는 활성탄을 연결하여 공기의 불순물을 걸러주었다.

라. 건전한밤송이 추출물과 복숭아명나방 피해밤송이추출물 GC분석

밤바구미 반응실험에서 가장 높은 반응을 보인 건전한 밤송이 메탄올추출물의 클로로포름 분획과 복숭아명나방 피해밤송이 메탄올추

출물의 클로로포름 분획 및 복숭아명나방 피해밤송이 메탄올추출물의 에틸아세테이트 분획을 GC(HP 6890)로 분석하였다. 분석용칼럼은 DB 225(Alltech Co.)를 사용하였고 초기온도 40℃에서 2분간 유지 후 5℃/min.으로 190℃까지 상승시켰으며 190℃에서 20분간 유지하였다. 주입기온도는 200℃, 검출기(FID)온도는 200℃였으며 운반기체로 헬륨을 사용하였다.

제 3 절. 결과 및 고찰

1. 밤바구미 성페로몬 성분 분리 및 유인력 검정

가. 밤바구미 페로몬성분 포집

밤바구미의 페로몬성분 포집물 분석에서 많은 피크가 검출되었으며 (그림 6), 대조구(그림 7)와 비교하여 5가지 이상의 물질을 확인할 수 있었으며 이들의 끓는점과 유지시간으로 보아 어느 정도 이상의 휘발성을 지닌 것으로 추측되어 냄새를 담당하는 물질들일 것으로 생각된다. 바구미과의 곤충에서 조사된 페로몬은 다양한 성분으로 구성되어 있다. 대표적인 목화바구미(Boll weevil, *Anthonomus grandis*)는 주로 환상화합물인 Z-3,3-dimethyl-△1α-cyclohexaaneactalehyde, E-3,3-dimethyl-△1α-cyclohexaaneactalehyde, (1R, 2S)-(+)-cis-2-isopropenyl-1-methylcyclobutaneethanol, Z-3,3-dimethyl-△1β-cyclohexaaneethanol이 보고되어 있으며(Hardee 등, 1971; 1972; 1977; Tumlinson 등, 1971; Hedin 등, 1974), Sweetpotato weevil, *Cylas formicarius*는 비교적 간단한 지방산 이스터인 penta

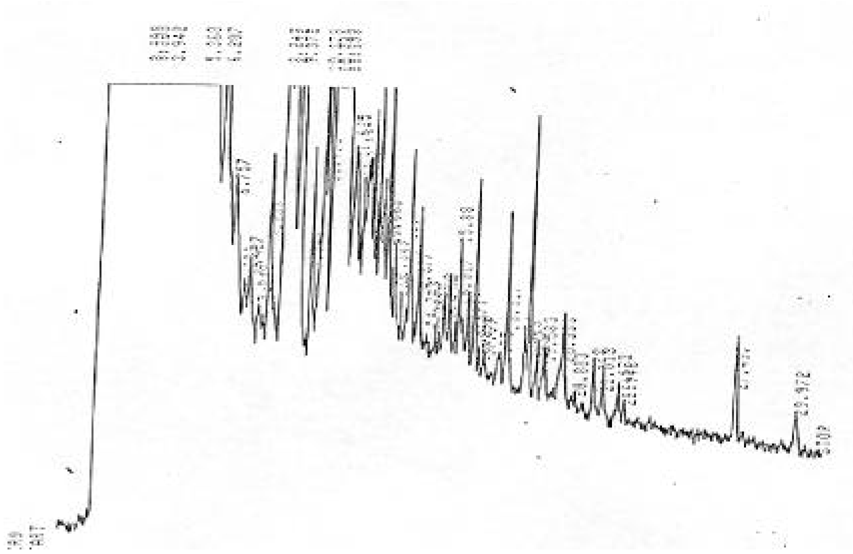

그림 6. Porapak-Q에 포집된 밤바구미 성충의 냄새물질

decanal, hexadecanal, octadecanal, myrtenol, hexadecanyl acetate, octadecanyl acetate, Z9-octadecenyl acetate, E9-octadecenyl acetate, eicosanyl acetate로 구성되어(Kalo, 1979; Kalo와 Nederstron, 1983) 종에 따라 유사성분을 공유할는 경우와 전혀 다른 화합물을 이용하는 경우가 있다. 바구미과 곤충의 공통적인 특징은 단순화합물이 아닌 4개 이상의 복잡한 페로몬 조성을 보인다는 것으로 성페로몬의 역할과 집합페로몬의 역할이 공존하며 식물발산 방향성 화합물과 동일한 화합물도 페로몬으로 이용되는 것이 목화바구미와 Cld house beetle, *Hylotrupes bayalus* 등에서 보고되었다(Evans와 Higgs, 1975).

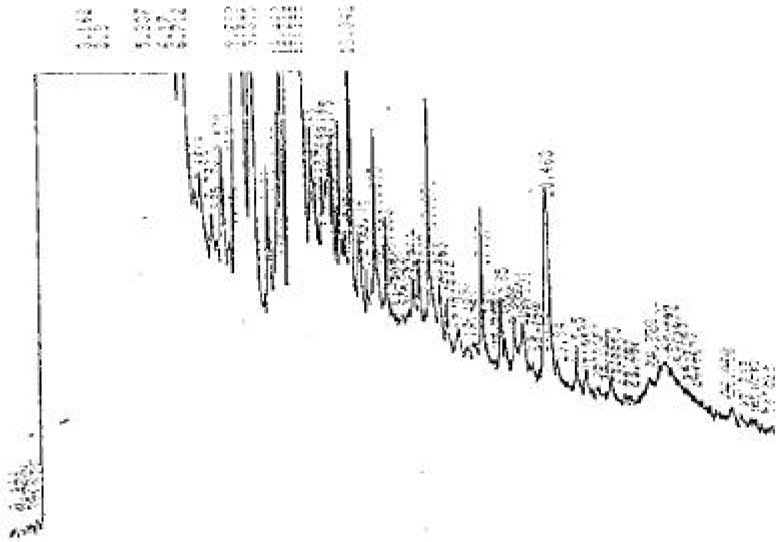

그림 7. Porapak-Q내 대조구에서 포집된 물질

나. 목화바구미 페로몬성분 추출

목화바구미 성페로몬 미끼인 Pherocon cap의 hexane추출물 분석과 밤바구미 포집물 비교에서는 서로다른 양상의 GC그램을 나타내었다(그림 8). 목화바구미 성페로몬 성분은 수컷이 발산하는 Z-3,3-dimethyl-△1α-cyclohexaneactalehyde, E-3,3-dimethyl-△1α-cyclohexaneactalehyde(Cross 등, 1969; Tumlinson 등, 1969)이 있으며, 암컷이 발산하는 β-caryophyllene, α-humulene, 암수 공통으로 작용하는 (1R,2S)-(+)-cis-2-isopropenyl-1-methylcyclobutaneethanol(grandi

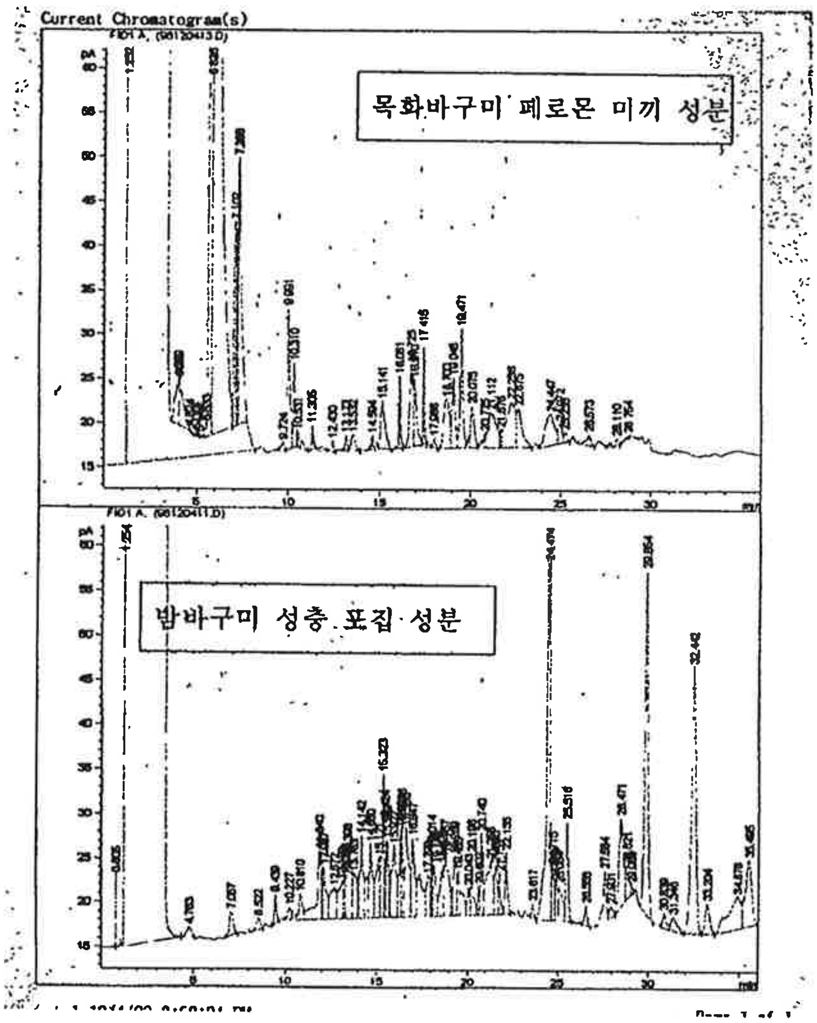

그림 8. 목화바구미(boll weevil) 페로몬 미끼성분 추출물과 밤바구미 발산 성분 비교 GC 그램

ol), Z-3,3-dimethyl-△1β-cyclohexaneethanol이 보고되어 있다. 목화바구미 성페로몬 미끼 추출물의 GC그램에서는 유지시간이 짧은 비교적 휘발성이 높은 물질이 많이 검출되는 반면, 밤바구미 페로몬포집 성분은 비교적 큰 분자량의 물질이 검출되어 GC그램 패턴이 상이하여 목화바구미와 밤바구미는 바구미과의 근연종이지만 서로 다른 페로몬 성분을 이용할 가능성이 높았다.

다. 밤바구미 야외유인력 검정

목화바구미 성페로몬 시판미끼인 Pherocon cap을 이용한 야외 유인력 검정에서는 밤바구미의 유인효과가 나타나지 않았다. 이는 트랩의 형태와 상관없이 유인효과가 나타나지 않아(표 1), 밤바구미는 목화바구미의 성페로몬체계와 전혀 다른 페로몬체계나 통신체계를 갖는 것으로 판단된다.

표 1. Trap유형별 목화바구미 성페로몬미끼에 대한 밤바구미 유인력

Trap 유형	유 인 수
Wing trap	0
Boll trap	0
Flat trap	0

-. 설치장소: 전남 순천시 서면 대구리, 경남 진주시 미천면 대곡리
충남 공주시 정안면 사현리

-. 설치일자 : 1996년 8월 24일 - 1996년 10월 9일

표 2. 목화바구미 성페로몬미끼에 대한 밤바구미의 유인력

설 치 장 소	설치시기	트랩수	포획된 밤바구미 수
경남 하동군 고전면	97. 8. 25	3	0
전남 순천시 송광면	97. 8. 26	3	0

* 사용트랩 : boll weevil trap

표 3. 목화바구미 성페로몬미끼와 복숭아명나방 피해밤송이에 대한 밤바구미의 유인력

설 치 장 소	설치시기	트랩수	포획된 밤바구미 수
경남 하동군 고전면	97. 8. 25	10	1
전남 순천시 서 면	97. 8. 26	10	3

* 사용트랩 : wing trap

표 3의 결과와 야외 성충 채집시 관찰에서 밤바구미는 주로 밤송이 위에서 유인과 교미행동이 일어나며 특히, 복숭아명나방 피해 밤송이가 많은 밤나무에서 밤바구미 성충이 많이 채집되었다. 따라서 밤바구미의 산란장소이며 유충의 먹이가 되는 밤송이와 특히 복숭아명

나방이 가해한 밤송이에 밤바구미를 유인하는 물질이 존재할 것으로 판단된다.

2. 기주식물 방향성 화합물의 유인효과

기주식물 방향성 화합물 유인효과를 알아보기 위해 기주식물인 밤나무 잎, 건전한밤송이와 복숭아명나방이 가해한 피해밤송이를 채집하여 실내에서 olfactometer로 유인효과를 조사한 결과, 전반적으로 잎 부위보다는 밤송이에 유인반응이 높았고 건전한 밤송이보다 복숭아명나방 피해밤송이에서 높은 유인효과를 나타내었다. 밤바구미의 먹이가 되지 않는, 잎은 밤바구미를 유인하기보다는 휴식 및 이동을 위한 일시적인 장소로 이용되며 밤바구미의 산란, 교미, 섭식행동이 밤송이를 중심으로 이루지는 현상은 야외 관찰에서도 알 수 있었다.

복숭아명나방 피해 밤송이에 대한 밤바구미의 반응이 특히 높았는데 이러한 경향은 교미한 암컷 밤바구미 (표 4), 교미한 수컷 밤바구미(표 5), 교미하지 않은 처녀암컷 밤바구미(표 6), 교미하지 않은 처녀수컷 밤바구미 (표 7)에서 유사하게 나타났다. 따라서 밤바구미의 교미여부와 성별은 기주식물인 밤나무에서 밤송이를 찾아가는데 영향을 주지 않는 것으로 판단되며 복숭아명나방의 피해 밤송이에서 방출하는 어떤물질이 밤바구미의 성별, 교미여부에 관계없이 밤바구미를 집합시키는 효과가 있다고 생각된다.

표 4. 밤나무 부위별 교미한 밤바구미 암컷의 유인조사

Bait pair(1st/2nd)	1st bait	2nd bait	No response
CBU : UCF	21	1	5
CTL : CBU	1	21	8
: UCF	1	14	15
CBD : CTL	**11**	7	12
: CBU	**16**	2	12
: UCF	**10**	**13**	7

※ CBU : 복숭아명나방의 피해를 받지 않은 건전한 밤송이
UCF : 건전한 밤송이
CTL : 밤나무 잎
CBD : 복숭아명나방의 피해를 받은 밤송이

표 5. 밤나무 부위별 교미한 밤바구미 수컷의 유인조사

Bait pair(1st/2nd)	1st bait	2nd bait	No response
CBU : UCF	5	4	21
CTL : CBU	1	8	21
: UCF	2	6	22
CBD : CTL	**20**	5	5
: CBU	**23**	2	5
: UCF	**22**	4	4

※ 약자는 표 4와 동일함

표 6. 밤나무 부위별 밤바구미 처녀암컷의 유인조사

Bait pair(1st/2nd)	1st bait	2nd bait	No response
CBU : UCF	4	2	24
CTL : CBU	3	9	18
: UCF	2	3	25
CBD : CTL	**27**	1	2
: CBU	**28**	0	2
: UCF	**25**	4	1

※ 약자는 표 4와 동일함

표 7. 밤나무 부위별 밤바구미 미교미 수컷의 유인조사

Bait pair(1st/2nd)	1st bait	2nd bait	No response
CBU : UCF	6	3	21
CTL : CBU	3	5	22
: UCF	1	4	25
CBD : CTL	**26**	2	2
: CBU	**24**	1	5
: UCF	**25**	4	1

※ 약자는 표 4와 동일함

3. 밤송이 추출물에 대한 밤바구미의 반응

가. 건전한 밤송이 추출물에 대한 밤바구미의 반응

Box olfactometer 실험 결과, 건전한 밤송이 메탄올추출물에 대한 각 분획 중, 클로로포름분획에서 가장 높은 유인효과를 보여 이 분획에 특정 유인물질이 존재할 가능성이 있었으며(그림 9), 이를 전기생리학적인 방법으로 확인하고자 EAG 반응을 조사한 결과에서도 건전한밤송이 메탄올추출물의 클로로포름 분획에서 가장 높은 활성을 나타내었고(그림 10), 각 용매에 대한 반응보다도 현저한 반응이 나타남을 알 수 있다.

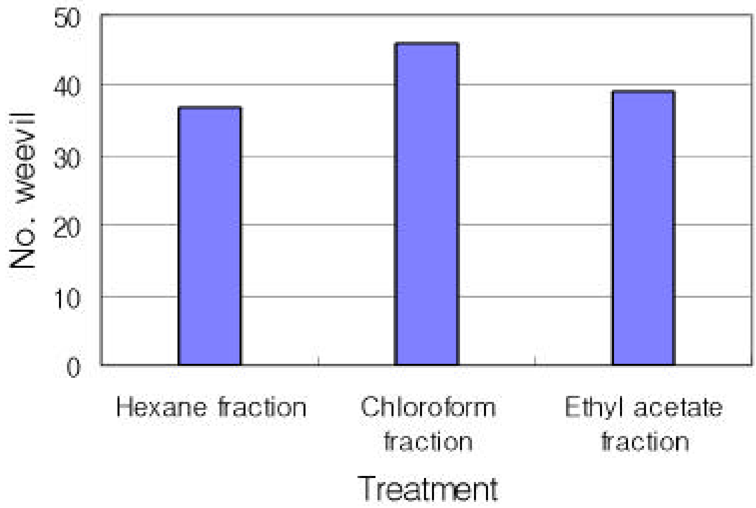

그림 9. Box olfactometer에서 건전한 밤송이추출물 처리별로 유인된 밤바구미 성충 수

나. 복숭아명나방 피해밤송이 추출물에 대한 밤바구미의 반응

Box olfactometer 실험결과, 복숭아명나방 피해밤송이 추출물에서는 메탄올 조추출물과 에틸아세테이트 분획에서 가장 높은 유인효과를 보였다(그림 11). 이는 건전한 밤송이 추출물에 대한 결과와 상이한 결과로 건전한 밤송이에서는 메탄올 조추출물 중 클로로포름분획에서 가장 높은 반응을 보였다. 나방류에 의해 피해를 받은 식물

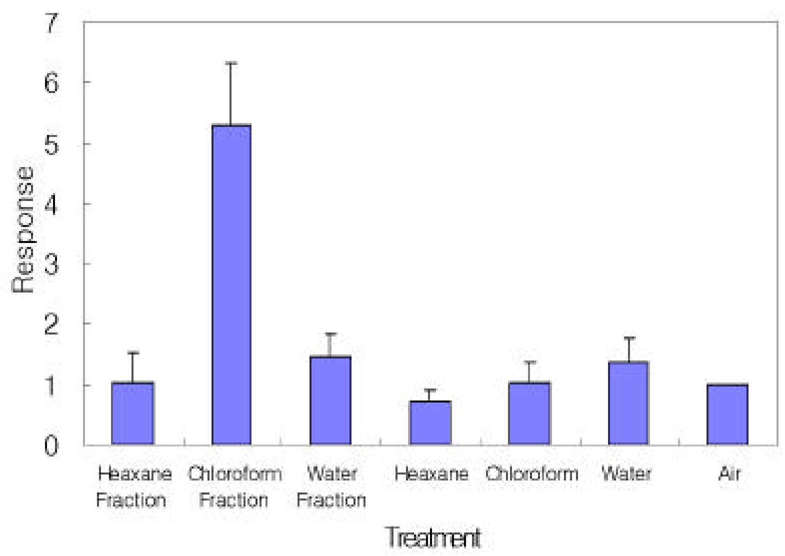

그림 10. **건전한 밤송이 추출물에 대한 밤바구미의** EAG **반응** (air**를 기준으로한 상대값**)

의 경우, 피해를 받지 않은 식물에 비해 식물유래 방향성 화합물의 양적 증대 및 신규합성이 보고되고 있어(Barnay**와** Chapman, 1994; Turings **등**, 1990; Turings**와** Tumlinson, 1992) **복숭아명나방 가해에 대한 식물의 방어 또는 반응으로 새로운 대사물질이 만들어져 밤바구미에 대한 반응이 변화한 것으로 여겨진다**.

Y-tube**를 이용한 유인 선택실험에서도 복숭아명나방 피해밤송이 추출물은 에틸아세테이트 분획에서 가장 높은 유인효과를 나타내었다**(**그림** 12). **대조구를 포함한 양쪽 가지에 진입하는 개체수**(entered)**는 클로로포름 분획과 에틸아세테이트 분획에서 모두 높아**

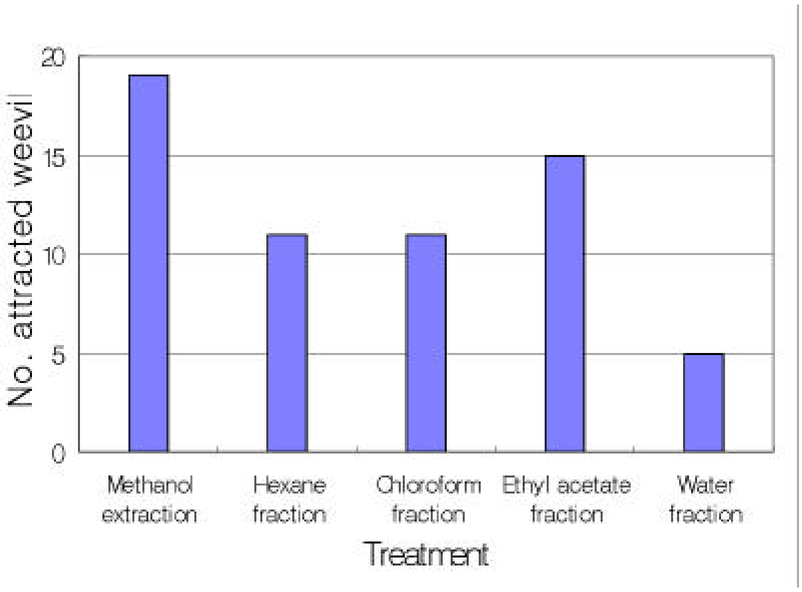

그림 11. Box olfactormeter**에서 복숭아명나방피해 밤송이추출물 처리별로 유인된 밤바구미 성충 수**

이들 분획에 있는 물질들이 유인을 유기할 가능성이 있었고, 양쪽가지 끝에 처리된 공기주입구까지 유인되는 개체수(attracted)**는 메탄올 조추출물과 에틸아세테이트 분획에서 높아** box olfactometer **실험결과와 유사하였다. 따라서 복숭아명나방 피해밤송이에서 유인활**

성을 갖는 물질은 주로 에텔아세테이트 분획에 존재할 가능성이 높고 이 유인성분은 기주선택에서 초기유인효과와 유인을 지속시키는 효과가 있는 것으로 여겨진다.

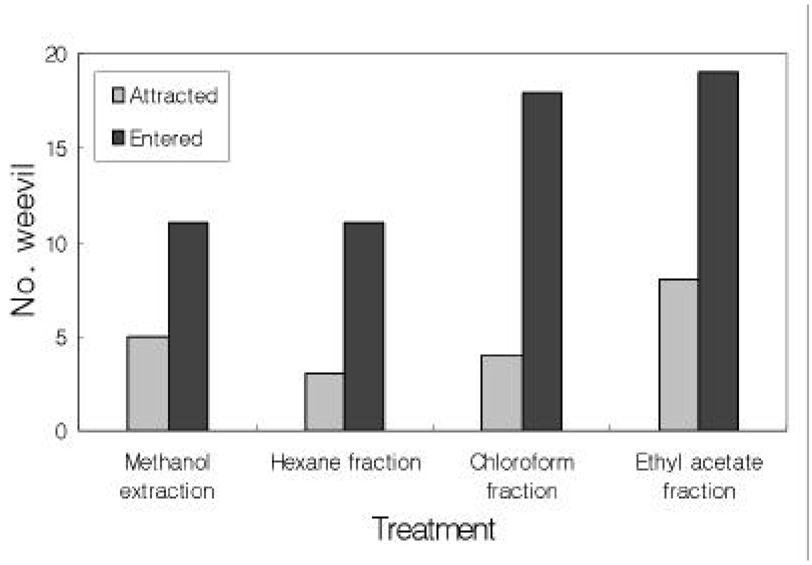

그림 12. Y tube olfactormeter**에서 복숭아명나방피해 밤송이추출물 처리별로 유인된 밤바구미 성충 수**

복숭아명나방 피해밤송이 메탄올 추출물의 각 분획에 대한 밤바구미 EAG **반응에서는 추출물 분획별로 고른 반응을 나타내어 큰 차이를 보이지 않음으로 밤바구미 감각기 수준에서 각 분획에 대해 반응함을 알 수 있었다. 식물 추출물 각 분획속에는 무수한 화합물이 포함되어 있으며** EAG**는 이들에 대한 개별 반응의 총합으로 흥분성 반응과 억제성 반응이 모두 포함될 수 있다. 식물 유래 방향성 화합물에 대한 반응에서는** α-pinene**에서 가장 높은 반응을 나타내었다(그림** 13). **그러나 목화바구미 암컷 발산 성페로몬 성분의 하나인** α-humulene**과** caryophyllene**은 큰 반응을 나타내지 않으므로 밤바구미에서는 이 두 성분이 성페로몬으로 작용하기보다는 식물유래 방향**

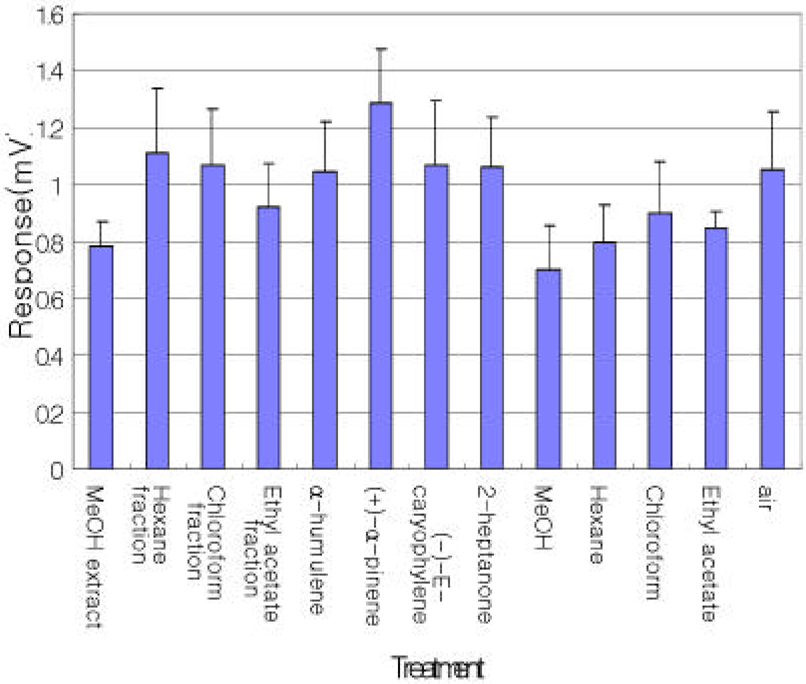

그림 13. **복숭아명나방피해 밤송이 추출물 및** green volatile**에 대한 밤바구미의** EAG **반응**

성화합물의 하나로 인식될 가능성이 높다. 또 다른 바구미과의 일종인 Pecan weevil, *Curculio cayae*,**의 경우** α-humulene**과**

caryophyllene을 암컷 발산 성페로몬으로 이용하지 않고 Z-3,3-dimethyl-△1β-cyclohexaneethanol이 작용하는 것으로 보고되었다(Hedin 등 1979; Roseland 등, 1992).

다. Green volatiles에 대한 밤바구미의 반응

각 green volatile에 대한 box olfactormeter실험을 실시한 결과 유인효과가 높은 화합물은 hexanal, 2-heptanone, E-2-hexanal, (+)-α-pinene, geraniol이었다(표 8). 식식성 곤충이 기주식물을 찾아가는데는 주로 시각적인 신호와 화학적인 신호를 이용한다. 이 중 화학적인 신호를 이용하는 것은 기주특이성이 높은 식식성 곤충에서 더욱 강조되며 먹이탐색과 산란에서 특히 중요하다. 아직까지 밤나무에서 식물유래 방향성물질이들 분석 보고된 예는 없지만 상기 식물유래 방향성화합물은 보편적으로 식물체에 존재하고 있으며, 여러 곤충종에서 유인작용을 한다고 보고되고 있어 이들 화합물들의 조합이 실제 야외에서 곤충이 기주식물을 찾아가며, 교미 산란하는 장소를 선택하는데 중요 역할의 할 것으로 여겨진다. Glass tube olfactormeter에서 green volatile에 대한 밤바구미 성충 유인효과는 (+)-α-pinene과 (-)-E-caryophyllene에서 높았다. 이상의 결과로 볼 때 (+)-α-pinene은 EAG에서 높은 촉각 반응과 두가지 행동실험에서 높은 유인력을 보여 밤바구미를 유인할 수 있는 한가지 성분으로 유력하였다. 목화바구미에서는 pinene 과 myrcene 이 목화바구미에 대해 유인력이 있다고 보고되어 이러한 결과와 유사한 경우라 할 수 있다.

표 8. Box olfactormeter에서 green volatile에 대한 밤바구미 성충 유인 수

Green volatile	유인수
butyric acid ethyl ester	34
hexanal*	54
β-myrcene	37
(+)-limonene	35
2-heptanone*	49
E-2-hexanal*	52
citral	34
eugenol	19
α-humulene	34
(+)-α-pinene*	48
(-)-E-caryophyllene	32
geraniol*	45
1-nonanol	14
control	22

* : 유인효과가 높은 green volatile들

그러나 밤바구미의 경우 myrcene은 유인력에 영향을 주지 않는 것으로 보이며 목화바구미 성페로몬의 한 성분인 caryophyllene은 행동실험 결과 상이한 반응을 보였으며 목화바구미의 성페로몬 트랩에 밤바구미가 전혀

표 9. Glass-tube olfactormeter에서 green volatile에 대한 밤바구미 성충유인효과
(처리구에 유인된 밤바구미 수/ 무처리구에 유인된 밤바구미 수)

Green volatile	유인수
butyric acid ethyl ester	0.92
β-myrcene	0.80
(+)-limonene	0.50
2-heptanone	1.20
α-humulene	1.31
(+)-α-pinene*	2.25
(-)-E-caryophyllene*	2.43
geraniol	0.80
1-nonanol	1.10

* : 유인효과가 인정되는 green volatile들

반응을 하지 않았다. Red sunflower seed weevil의 경우에서는 α-pinene과 β-pinene이 유인효력의 갖는 화합물 중의 하나로 보고된 바 있다.

라. 건전한밤송이 추출물과 복숭아명나방피해밤송의 GC분석

건전한 밤송이 메탄올추출물의 클로로포름 분획, 복숭아명나방피

해 밤송이 메탄올 추출물의 클로로포름 분획과 복숭아명나방피해 밤송이 메탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획을 GC 분석한 결과, 건전한 밤송이 메탄올추출물의 클로로포름 분획에서는 (+)-α-pinene(5.209), E-2-hexenal(9.271), benzaldehyde(13.966), n-decyl aldehyde(16.700), nonyl acetate(17.971), terpineol(18.259), geraniol(20.390)이 추정되었으며(그림 14), 복숭아명나방피해밤송이 메탄올 추출물의 클로로포름 분획에서는 (+)-α-pinene(5.167), benzaldehyde(13.907), geraniol(20.338)이 추정되었고(그림 15), 복숭아명나방 피해 밤송이 메탄올추출물의 에틸아세테이트 분획에서는 (+)-α-pinene(5.503) terpineol(18.377), 2-phenylethanol(20.274)이 유지시간 비교를 통해 성분을 추정되었다(그림 16).

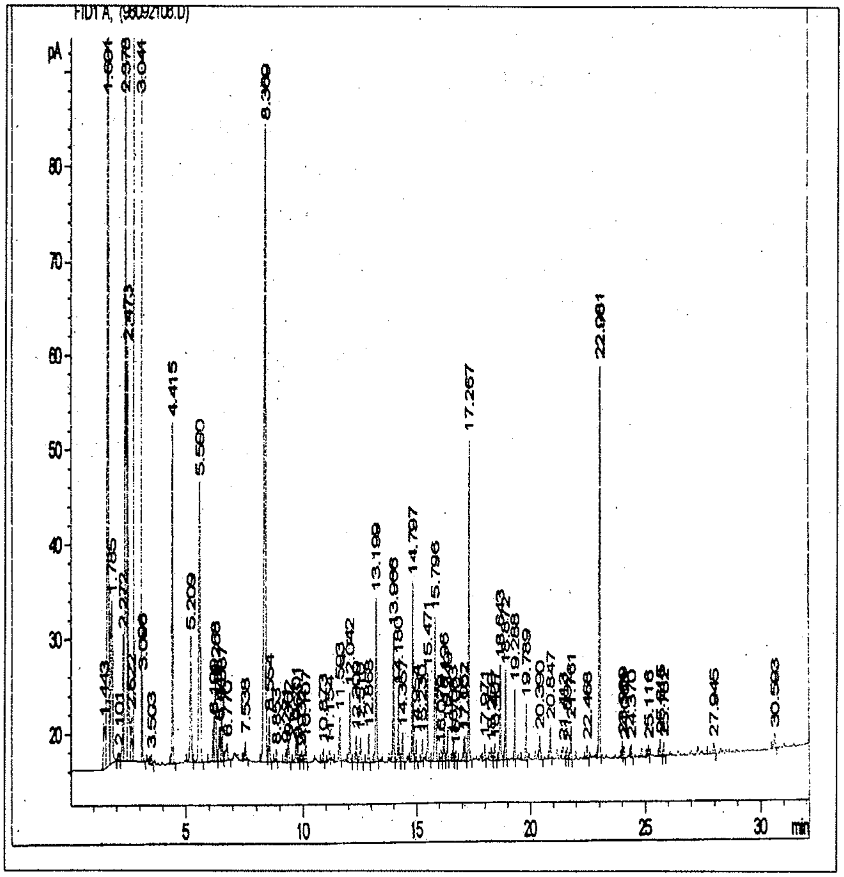

그림 14. 건전한 밤송이 메탄올추출물의 클로로포름 분획의 GC gram. 컬럼 : DB225, 오븐온도: 40℃에서 2분 지체후 분당 5℃씩 190℃까지 상승, 주입기온도: 200℃, 검출기온도: 200℃, 이동기체: He 2.0ml/min

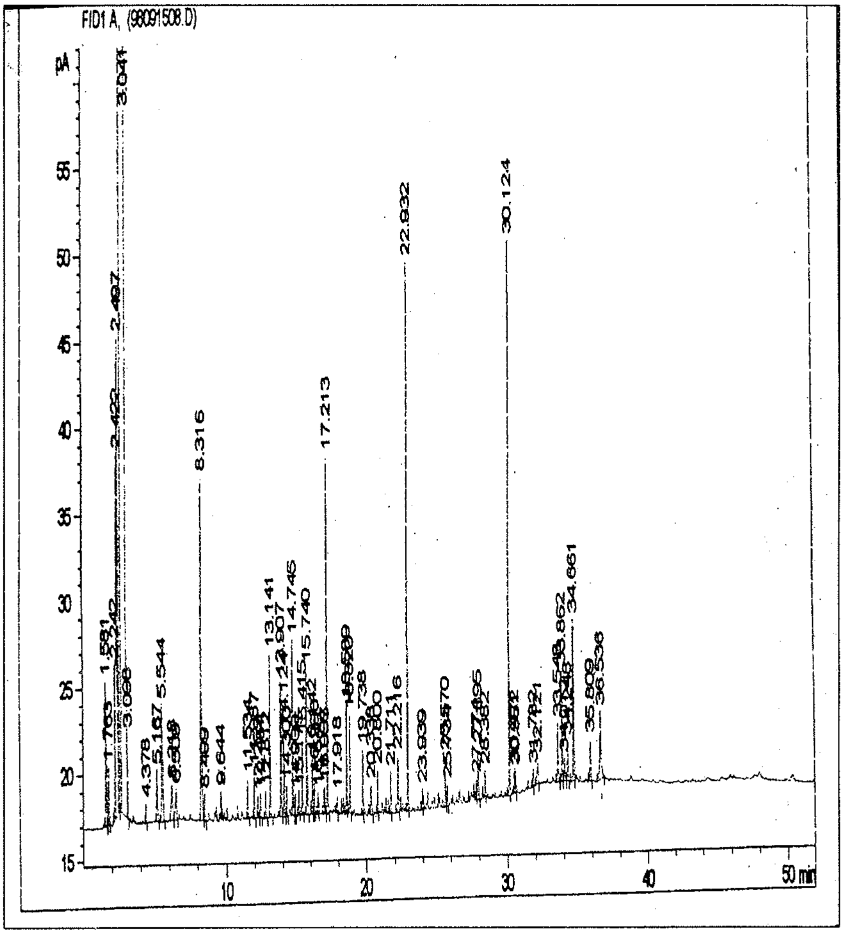

그림 15. 복숭아명나방피해 밤송이 메탄올추출물의 클로로포름 분획의 GC gram.(분석조건은 그림 14와 동일함)

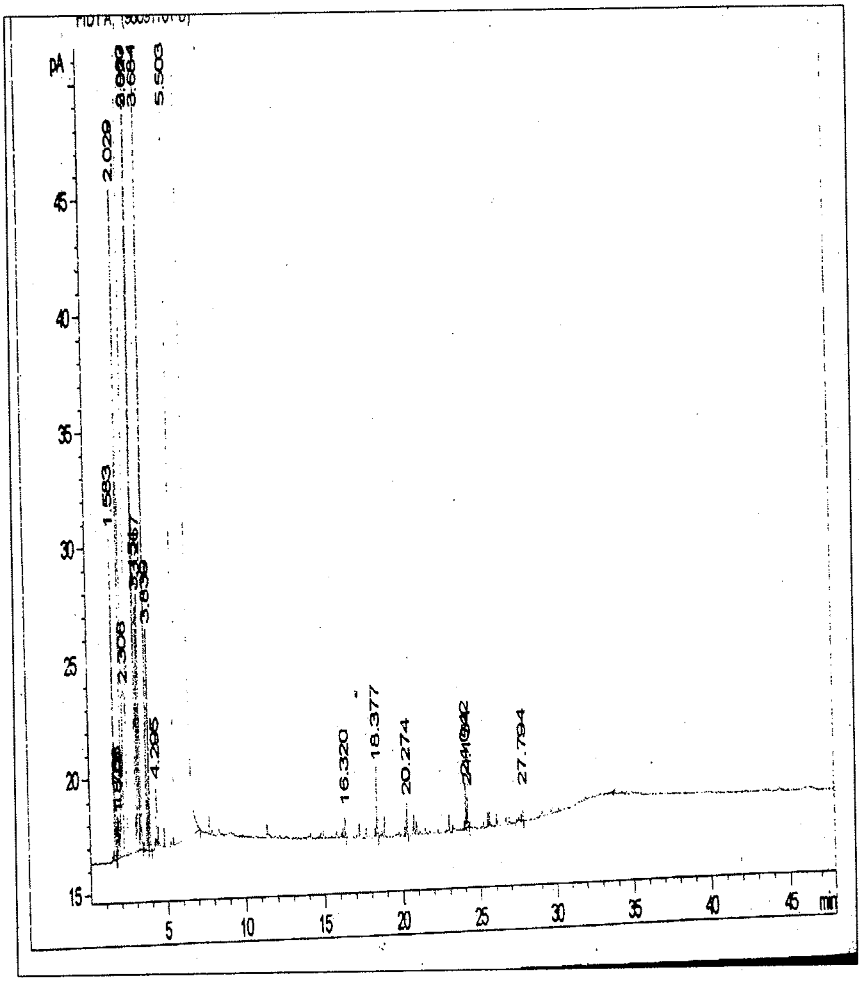

그림 16. 복숭아명나방 피해밤송이 메탄올추출물의 에틸아세테이트 분획의 GC gram (분석조건은 그림 14와 동일)

제 4 절. 적 요

1. 밤바구미에서 발산되는 화합물은 다수의 화합물이 검출되었고 근연종인 목화바구미(Boll weevil)의 성페로몬 조성과는 다른 성페로몬 체계를 갖고 있었으며 야외유인에서도 목화바구미의 성페로몬 성분으로는 전혀 유인되지 않았다.

2. 기주식물에 대해 밤바구미는 복숭아명나방 피해를 입은 밤송이에서 높은 유인력을 나타내었으며, 성별과 교미여부에 관계없이 같은 경향을 보여 복숭아명나방의 가해가 기주식물인 밤나무 특히 밤송이에서 이차대사산물의 변화를 야기하는 것으로 보이며 그 결과 밤바구미의 집합반응이 나타나는 것으로 여겨진다.

3. 기주식물의 방향성물질(green volatile) 중 유인성분을 탐색하기 위해 건전한 밤송이와 복숭아명나방 피해밤송이 추출물에 대한 olfactometer, EAG분석 결과 건전한 밤송이에서는 메탄올추출물의 클로로포름 분획에서 가장 높은 유인활성을 나타내었으며 EAG 반응도 가장 높았다.

4. 복숭아명나방피해 밤송이의 메탄올 추출물 중에서는 에틸아세테이트 분획에서 가장 높은 유인활성을 나타내었다.

5. 건전한 밤송이 메탄올추출물의 클로로포름 분획, 복숭아명나방피해 밤송이 메탄올 추출물의 클로로포름 분획과 복숭아명나방피해 밤송이 메탄올 추출물의 에틸아세테이트 분획에 대한 GC 분석 결과,

(+)-α-pinene, E-2-hexenal, benzaldehyde, n-decyl aldehyde, nonyl acetate, terpineol, geraniol, 2-phenylethanol 유지시간 비교를 통해 성분을 추정되었다.

6. 실내 생물검정으로 식물 유래 방향성화합물의 유인활성을 조사한 결과 (+)-α-pinene이 가장 높은 유인활성을 보여 유인제 성분으로 이용할 가능성이 있았다.

제 5 절. 인 용 문 헌

백운하. 1990. 신고해충학. 00. 305-364. 향문사. 서울.

Barnays, E. A. and R. F. Chapman. 1994. Host-plant selection by phytophagous insects. 312pp. Chapman & Hall. New York.

Cross, W. H., D. D. Hardee, F. Nichols, H. C. Mitchell, E. B. Mitchell, P. M. Huddleston and J. H. Tumlinson . 1969. Attraction of female boll weevils to traps baited with males or extracts of males. J. Econ. Entomol. 62: 154-161.

Evans, D. A. and M. D. Higgs. 1975. Monooxygenated monoterpenes from the frass of the wood boring beetle, Hylotrupes bajalus(L.). Tetrahedron Lett. 41: 3585-3598.

Hardee, D. D., E. B. Mitchell and P. M. Huddleston. 1967. Procedure for bioassaying the sex attractant of the boll weevil. J. Econ. Entomol. 60: 169-175.

Hardee, D. D., N. M. Wilson, E. B. Mitchell and P. M. Huddleston. 1971. Factors affecting activity of grandlure, the pheromone of the boll weevil, in laboratory bioassays. J. Econ. Entomol. 64: 1454-1456.

Hardee. D. D., G. H. McKibben, R. C. Gueldner, E. B. Mitchell, J. H. Tumlinson and W. H. Cross. 1972. Boll weevils in nature respond to grandlure, a synthetic pheromone. J. Econ. Entomol. 65: 97-100.

Hedin, P. A., J. A. Payne and R. J. Jones. 1977. Attraction of the pecan weevil to its natural pheromone and grandlure. Pecan South. 4: 26-34.

Hedin, P. A., J. A. Payne, T. L. Carpenter and W. Neel. 1979. Sex pheromones of the male and female pecan weevil, Curculio caryae: Behavioral and chemical studies. Environ. Entomol. 8: 521-523.

Hedin, P. A., R. C. Gueldner, R. D. Henson and A. C. Thompson. 1974. Volatile constituents of male and female boll weevils and their frass. J. Insect Physiol. 20: 2135-2142.

Hummel, H.E. and T.A. Miller. (Ed.) 1984. Techniques in pheromone research. p.464, Springer-Verlag, New York.

Kalo, P. 1979. Identification of potential sex pheromones in Large pine weevil, *Hylobius abietis.* (L.). Finn. Chem. Lett. 189

Kalo, P. and A. Nederstran. 1983. Identification of methyl and ethyl esyer of fatty acids in the Large pine weevil, *Hylobius abietis.* (L.). Am. Entomol. Fenn. 49: 32-40

Leggett, J. E. 1979. Boll weevil: Some new concepts in trap design and evaluation of trap efficiency. Environ. Entomol. 8: 70-72.

Leggett, J. E. and H. M. Taft. 1979. Boll weevil: Capture in pheromone traps baited with natural male lure and several concentrations of grandlure. Environ. Entomol. 8: 62-68.

Mckibben, G. H., D. D. Hardee, T. B. Davich, R. C. Gueldner and P. A. Hedin. 1971. Slow-release formulations of grandlure, the synthetic pheromone of the boll weevil. J. Econ. Entomol. 64: 317-319.

Roseland, C. R., M. B. Bates, R. B. Carlson and C. Y. Oseto. 1992. Discrimination of sunflower volatiles by the red sunflower weevil. Entomologia Exp. Appl. 62: 99-106.

Schoonhoven, L. M., T. Jermy and J. J. A. van Loon. 1998. Insect-plant biology. 409pp. Chapman & Hall. London.

Sorenson, C.E., G.G. Kennedy, W. Van-Duyn, J.R. Bradley Jr. and J.F. Walgenbach. 1992. Geographical variation in pheromone response of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* in

North Carolina. Environ. Entomol. 64:177-185.

Toth, M., C. Lofstedt, B.W. Blair, T. Carbello, A.I. Farag, B.S. Hansson, B.G. Kovalev, S. Maini, E.A. Nesterov and I. Pajor. 1992. Attraction of male turnip moths *Agrotis segetum* (Lepidoptera : Noctuidae) to sex pheromone components and their mixtures at 11 sites in Europe, Asia, and Africa. J. Chem. Ecol. 18:1337-1347.

Tumlinson, J. H., D. D. Hardee, J. P. Minyard, A. C. Tompson, R. T. Gast and P. A. Hedin. 1968. Boll weevil sex attractant isolation studies. J. Ecol. Entomol. 61: 470-476.

Tumlinson, J. H., D. D. Hardee, R. C. Gueldner, A. C. Thompson, P. A. Hedin and J. P. Minyard. 1969. Sex pheromones produced by male boll weevil: Isolaton, identification and synthesis. Science. 166: 1010-1012.

Tumlinson, J. H., R. C. Gueldner, D. D. Hardee, A. C. Tompson, P. A. Hedin and J. P. Minyard. 1971. Identification and synthesis of the four compounds comprising the boll weevil sex attractant. J. Org. Chem. 36: 2616-2624.

Turings, T. C. J. and J. H. Tumlinson. 1992. Systemic release of chemical signals by herbivore-injured corn. Proc. Natl.

Acad. Sci. USA. 89: 8399-8402.
Turings, T. C. J., J. H. Tumlinson and W. J. Lewis. 1990. Exploitation of herbivore- induced plant odors by host seeking parasitic wasps. Science 250: 1251-1253.