

과제구분	기본(국제공동)	수행시기		전반기	
		연구분야	수행기간	연구실	책임자
연구과제 및 세부과제					
천적 및 유용곤충 이용기술 개발		작물보호	'17~'21	농업기술원 환경농업연구 과	윤승환
<b>페로몬 생합성기작 구명 및 방제기술 개발</b>		작물보호	'19~'21	농업기술원 환경농업연구 과	<b>윤승환</b>
색인용어	꽃노랑총채벌레, 페로몬생합성, PRX아미드, 유전자발현, 면역세포화학, 곤충생리				

### ABSTRACT

The PRXamide family is the largest neuropeptide group that has been characterized with a common amino acid sequence, PRXamide (X, a variable amino acid), at the C-terminal end, which is conserved for diverse functions across Insecta. There are classified into three subfamilies: CAPA (peptide produced by *capa* gene), pyrokinin (PK) including pheromone biosynthesis activating neuropeptides (PBAN)/diapause hormone (DH), and ecdysis-triggering hormone (ETH). The first PBAN, a neuropeptide, was discovered in the moth, and while the physiological function of most PBANs is largely unknown, the majority of functional work has focused on the regulation of sex pheromone biosynthesis. Physiological major functions of CAPA is known to regulate diuretic action and visceral muscle contraction. In this study, using PCR amplifications including 3' and 5' RACEs, we identified a full sequence of the potential *pyrokinin* and *capa* genes in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, and characterized the expressions of *pyrokinin* and *capa* genes at the developmental stages and the tissues (head, thorax, abdomen) in the western flower thrips. PRXamide-like immunoreactivity recognizes both pk- and capa-derived peptides, are localized to cells in the central nervous system (CNS) of the adult, including cerebral ganglia, gnathal ganglia/suboesophageal ganglion, thoracic ganglia, and abdominal ganglia. There are three FXPRL peptides including DH and PBAN-like in the thrips. We expected five FXPRL peptides from the *pyrokinin* and *capa* transcripts, and two specific GLXFPRV peptides from the *capa*. During the developmental stages, the *pyrokinin* and *capa* genes were more

expressed in males than females, and the *capa* gene was not expressed in eggs. In the tissues, the *pyrokinin* gene was expressed in the head, not in the abdomen. On the other hand, the *capa* gene was expressed in all the tissues, more in the head and less in the abdomen. In immunocytochemistry, PK peptide was shown in all the tissues. Immunoreactivities with PRXamide were observed with at least four neurosecretory cells in the brain, and a pair of immunoreactiveneurons in the pro-, meso- and meta- thorax, respectively. Surprisingly, seven pairs of the immunoreactiveneurons were recognized in the abdominal ganglia, which would be the first report in insects.

**Key words** : western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, pheromone synthesis, PRXamide, gene expression, immunocytochemistry, insect physiology

## 1. 연구목표

곤충 신경펩타이드는 신경전달물질, 신경조절물질, 신경호르몬을 칭하는 것으로 곤충의 전 발육단계에서 다양한 생리적 기능과 행동을 조절하는 역할을 수행한다(Nassel & Zandawala, 2019; Schoofs et al., 2017). PRXamide family 펩타이드는 3개의 subfamilies: capability(CAPA)펩타이드, pheromone biosynthesis activating neuropeptide(PBAN)과 휴면호르몬(DH) 포함한 pyrokinin(PK)펩타이드, 탈피자극호르몬(ETH)이 있으며 공통적으로 아미노산 c-말단에 PRX amide(X, 타 아미노산 치환가능) 구조를 지니며 곤충강 내에서 다양한 기능을 수행한다(Jurenka, 2015).

신경펩타이드 종류 중 하나인 CAPA 펩타이드는 다양한 곤충에서 동정되었으며(Predel & Wegener, 2006), 생물학적 기능으로 초파리에서 건조와 저온에 대한 내성, 침노린재류 및 다른 곤충에서 말피기관에 이뇨작용 억제하는 기능이 보고되었다(Paluzzi, 2012; Paluzzi et al., 2010; Terhzaz et al., 2015).

PK 펩타이드의 생물학적 기능으로는 많은 나방류에서 성페로몬 생합성 신호 전달(Raina et al., 1989), 후장근육의 수축과 이완조절(Holman et al., 1986), 체벽의 멜라닌제이션(Masumoto et al., 1990), 번데기 발육(Xu & Denlinger, 2003), 계절성 다면발현(Uehara et al., 2011) 등의 다양한 기능을 수행하는 것으로 알려져 있다.

총채벌레는 전 세계적으로 분포하며 광식성 해충으로 화훼, 채소, 과일 등 원예 작물에 서 큰 피해를 주며 식물 내 서식지로는 잎, 꽃, 눈, 잎집 등 식물의 전 부위에 서식하고 온실, 정원 및 노지 등 다양한 환경에서 발생한다. 대부분의 총채벌레는 흡즙 및 바이러스 매개를 통해 작물에 큰 피해를 끼치며 해충 종합적방제 체계를 파괴시킬 수 있는 강력한

해충이다(Demirozer et al., 2012; Morse & Hoddle, 2006; Mouden et al., 2017). 특히 꽃노랑총채벌레는 전 세계적으로 농작물에 심각한 피해를 주는 중요한 해충으로 산란, 섭식에 의한 피해 뿐만 아니라 토마토위조반점바이러스(TSWV)를 매개하여 경제적으로도 중요한 해충이다. 최근 꽃노랑총채벌레의 게놈 분석을 통한 화학 및 시각신호 수용, 기주식물의 탐색, 면역생리 등 분자생물학적 수준에서 접근을 통해 방제효율을 높이고자 하는 연구가 수행되었다(Rotenberg et al., 2020).

곤충의 행동과 내분비계를 조절하는 신경펩타이드인 PK와 CAPA펩타이드를 동정하고 특성 구명은 분자생물학적 수준에서 생리학적 과정을 탐색하고 또한 꽃노랑 총채벌레 방제를 위한 생물학적 작용점을 찾는 데 도움이 될 것이다. 본 연구는 꽃노랑총채벌레의 페로몬생합성과 생리조절인자 유전자인 *pyrokinin*와 *capa* 유전자를 동정, 유전자 구조, 발육단계 및 조직 간의 각 유전자의 발현특성을 구명하고 면역 세포화학적 분석을 통해 PK펩타이드의 체내 발현 패턴 분석을 통해 꽃노랑총채벌레의 페로몬 생합성 기작 구명과 이를 기반으로 한 방제기술을 개발하고자 수행하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 공시충 동정 사육 및 샘플링

야외 포장에서 콩과 꽃에 서식하는 총채벌레의 약충과 성충을 채집 후 DNA를 추출하였다. ITS 2 영역 primer(표 1.)와 Dream Taq polymerase(Thermo Fisher Scientific)를 이용하여 PCR 증폭한 후 증폭산물을 RsaI 제한효소처리 및 sequence 분석을 통하여 꽃노랑총채벌레를 동정하였으며 동정이 확인된 총채벌레는 시험을 위해 사육하였다.

꽃노랑총채벌레는 insect breeding dish(Ø100 x 90mm)에 강낭콩떡잎을 먹이 및 산란처로 공급 후 1일 간격으로 강낭콩떡잎을 교체하며 채란을 하였다. 채란 한 떡잎에서 유충 부화 하면 추가적으로 강낭콩떡잎을 먹이로 공급하여 성충까지 사육 하였으며 새로 우화한 성충은 분리하여 insect breeding dish(Ø100 x 90mm)에 강낭콩 떡잎을 공급하며 누대사육하였다. 사육 조건은 온도 25±1 °C, 상대습도 60±5 %, 광주기 16L:8D 이었다.

유전자분석용 RNA 추출을 위해 꽃노랑총채벌레 각 발육단계(알, 1령약충, 2령약충, 암컷전용, 수컷전용, 암컷용, 수컷용, 암컷성충, 수컷성충) 및 조직(머리, 가슴, 복부)을 1.5ml conical tube에 샘플링하였으며 샘플은 -70°C 초저온냉동고에 보관하여 분석에 사용하였다.

표 1. ITS 2 증폭을 위한 primer 서열정보

Primers	Nucleotide sequence ( 5'- 3' )
ITS2-thrips F	TGTGAACTGCAGGACACATGA
ITS2-thrips R	GGTAATCTCACCTGAACTGAGGTC

### 나. RNA 추출 및 cDNA 합성

RNA추출에 우화한지 1~2일 이내의 꽃노랑총채벌레 암컷성충을 사용하였다. RNA의 추출은 PureLink RNA Mini kit(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하였다. 1.5ml RNase-free 튜브에 샘플과 Lysis buffer를 처리 후 glass pestle tissue grinder를 이용하여 얼음에 튜브를 고정된 뒤 균질화 처리 후 Kit 매뉴얼에 따라 RNA를 추출하였으며 추출 과정에서 DNase I을 처리하여 샘플 내 genomic DNA를 제거하였다. 추출한 RNA는 NanoDrop 2000(Thermo Fisher Scientific)을 이용하여 즉시 정량을 한 후 SuperScript III First-Strand Synthesis system(Invitrogen)을 이용 및 매뉴얼에 따라 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA는 *pyrokinin* 및 *capa* 유전자의 PCR증폭 template 및 sequence 분석에 사용하였다.

### 다. *pyrokinin* 및 *capa* 유전자 cloning 및 sequencing

꽃노랑총채벌레의 *pyrokinin*과 *capa*의 유전자 서열 분석을 위해 다른 곤충의 *pyrokinin*과 *capa*의 transcriptome 및 genome 정보를 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), i5K Workspace@NAL (<http://nal.usda.gov/>) 데이터베이스에서 수집하여 이를 기반으로 Geneious Prime software(Biomatters, Auckland, New Zealand)의 primer-3를 이용하여 coding area가 포함되도록 primer를 제작하였다(표 2).

PCR 증폭은 Phusion High-Fidelity DNA polymerase(ThermoFisher)를 이용하여 Denaturation 98°C 30초 후, 98°C 10초, 60°C 20초, 72°C 60초(35 cycle), Final extension 72°C 10분 조건으로 반응 시켰다. PCR 증폭산물은 SYBR Safe DNA gel stain(Invitrogen)을 1.2% Agarose gel에 첨가 후 전기영동하여 Gel documentaion을 이용해 확인하였다. Agarose gel 상의 target band는 GeneJET Gel Extraction kit(Thermo Fisher Scientific)을 이용하여 분리하였으며 분리된 PCR Product는 CloneJET PCR Cloning Kit (Thermo Fisher Scientific)을 이용 *Escherichia coli* competent cell에 cloning을 하였고 sequence 분석을 수행하였다.

표 2. *pyrokinin* 및 *capa* cloning을 위한 primer 서열정보

Primers	Nucleotide sequence ( 5'- 3' )
FoPBAN-F	CCTCCTACCAGTTGAGCCGA
FoPBAN-R	GTCTCATAACCATCTTCACGGCC
FoCAPA-F	CGGGAGATCCGAGTCGAG
FoCAPA-R	TCTTCGGGCAATGCGATGC

꽃노랑총채벌레 *pyrokinin*과 *capa* 유전자의 3 및 5말단의 정보를 얻기위해 분석한 sequence 정보를 기반으로 Rapid Amplification cDNA End(RACE) PCR의 primer를 제작(표 3) 및 RACE PCR 수행을 통해 전체 유전자서열 및 아미노산 구조를 구명하였다.

표 3. *pyrokinin* 및 *capa* 유전자 RACE PCR을 위한 primer 서열정보

Primers	Nucleotide sequence ( 5'- 3' )
FoFBAN 3R-F1	CAAATGGAGCTGCAGACGCTGATGA
FoFBAN 3R-nasted	GCAAGCGTTCGGTGCAGATGTC
FoPBAN 5R-R1	CGACTACACCTGAGCTTGTCTTGG
FoPBAN 5R-R2	CAAACGTGGCGAGAACCCCA
FoPBAN 5R-natsed	CCAGGCGAGGGGTGAAGTTCAC
FoCAPA 3R-F1	ATGCGAGAGTACGTGTTGCTTCTGG
FoCAPA 3R-nasted	CCGAGTACTACCCGGGCAAGC
FoCAPA 5R-R1	CAGATCATCCTGCGGCCCGAG
FoCAPA 5R-R2	TCATGGCTGGGTAGTCTCTCACGTT
FoCAPA 5R-nasted	CACTCGCTTGCCCGGGTAGTAC

**라. RT-PCR 및 qRT-PCR을 통한 *pyrokinin* 및 *capa* 유전자 발현분석**

꽃노랑총채벌레의 발육단계 및 조직에 따른 *pyrokinin*과 *capa*의 발현특성을 검정하기 위해 샘플링한 각 발육단계와 조직에서 PureLink RNA Mini kit(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 RNA를 추출하였다. RNA는 NanoDrop 2000(Thermo Fisher Scientific)을 이용하여 정량 후 SuperScript III First-Strand Synthesis system(Invitrogen)을 이용 cDNA를 합성 후 발현분석에 사용하였다. RT-PCR에 사용한 primer 정보는 표 4와 같다. Dream Taq polymerase(Thermo Fisher Scientific)를 이용하여 Denaturation 95°C 3분 처리 후 95°C 30초, 60.8°C 30초, 72°C 30초(35 cycle), final extension 72°C 10분 조건으로 반응시켰다. 증폭된 PCR 산물은 1.2% Agarose gel에 전기영동한 후 Gel documentaion을 이용하여 밴드를 확인하였다.

표 4. *pyrokinin* 및 *capa* 발현분석(RT-PCR)을 위한 primer 서열정보

Primers	Nucleotide sequence ( 5'- 3' )
FoPBAN-RT-F	GACAACGACATCCCCTGGAAG
FoPBAN-RT-R	CATACCATCTTCACGGCCGAT
FoCAPA-RT-F	CCAGGACAAGATGCGAGAGTAC
FoCAPA-RT-R	CCATACCAAACGCAAAGCTCG
FoEF-1-RT-F	CGCACTTTCTTCATCCACTTC
FoEF-1-RT-R	GTCTCGAACTTCCACAGAGCAA

qRT-PCR에 사용한 primer정보는 표 5와 같으며 RT-PCR 분석에 사용한 동일한 RNA 샘플을 사용하였다. Power UP SYBR Green Master Mix(Applied Biosystems)를 이용하여 optical 96well Plate에 10 $\mu$ l Power UP SYBR Green Master Mix, 1 $\mu$ l cDNA template, 1  $\mu$ l primer pair, 8 $\mu$ l nuclease-free water를 포함한 20 $\mu$ l의 반응액을 조성하여 각 well에 분주한 후 plate위에 필름으로 밀봉 하였다. 밀봉된 plate는 Quant Studio 3(Applied biosystems)에서 95 $^{\circ}$ C 10분 처리 후, 95 $^{\circ}$ C 15초, 60 $^{\circ}$ C 1분(40cycle) 조건으로 증폭하였으며 증폭반응 후 60 $^{\circ}$ C에서 95 $^{\circ}$ C까지 초당 0.15 $^{\circ}$ C 가온하여 melting curve 분석을 수행하였다. 각 샘플별 최소 3반복 PCR 증폭을 수행하였고 이후 각 샘플별 ct value를 이용하여 발현 정도를 분석하였다.

표 5. *pyrokinin* 및 *capa* 발현분석(qRT-PCR)을 위한 primer 서열정보

Primers	Nucleotide sequence ( 5'- 3' )
FoPBAN-qRTF1	CGACATCAACTGCCTCCTGT
FoPBAN-qRTR1	GAAGTTCACGAGGTTGCCCT
FoCAPA-qRTF1	CCCTCGTGAACGTGAGAGAC
FoCAPA-qRTR1	ACCTCCTCATCCGACTCCAG
FoEF-1-qRTF1	ACCACCGGCCATCTCATCTA
FoEF-1-qRTR1	ACACCCAGGCGTACTTGAAG

#### 마. PK펩타이드의 면역세포화학적 분석

Whole-mount 면역세포화학적 분석법을 이용하여 꽃노랑총채벌레의 PK펩타이드의 분포를 확인하였다. 총채벌레 PK펩타이드에 대응하는 polyclonal antiserum을 합성하여 분석에 사용하였다. 꽃노랑총채벌레 약충을 PBS/10% formalin 용액에 1시간 고정 후 PBS/2%

Triton X-100(PBST)에 하룻밤 동안 배양하였다. 이후 12시간 동안 polyclonal PK antiserum(1:2000)처리 후 2차 antibody(goat anti-rabbit IgG-peroxidase 1:2000), rabbit peroxidase anti-peroxidase antibody(1:400)을 처리하였다. 각 처리 단계로 넘어갈시 PBST를 이용해 최소 3회 세척을 수행하였으며 마지막 antibody 처리 후에는 PBS로 세척한 뒤 50 mM Tris-HCl buffer (pH7.6)에 10분간 처리하였다.

면역반응을 관찰하기 위해 꽃노랑총채벌레 약충 샘플에 3,3'-diaminobenzidine과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하여 면역 반응을 유도하였다. 5분간 발색반응이 충분히 발생한 것을 확인한 뒤 샘플을 PBS 용액으로 세척하여 단계별로 40~100% glycerol 용액에 처리하여 탈수화 시켰다. 최종 샘플을 형광현미경을 이용하여 PK펩타이드의 체내 분포위치를 확인하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 가. 꽃노랑총채벌레 동정 및 사육집단 구축

시험을 위한 채집 총채벌레에 대하여 ITS 2 영역을 증폭한 결과 475bp 사이즈의 밴드가 한국과 미국 집단에서 나타나는 것을 확인하였으며 RsaI제한효소를 처리한 선행연구결과(Ahn et al., 2014))와 동일하게 240bp, 166bp, 69bp로 나타나 꽃노랑 총채벌레로 동정하였다(그림 1). 또한 증폭된 ITS2 sequence를 blast search한 결과 꽃노랑총채벌레와 유사도가 99.8% 나타났으며 두 집단간의 유사도는 99.6%로 동일한 종임을 확인하고(그림 2) 사육을 진행하여 후속 연구를 추진하였다.

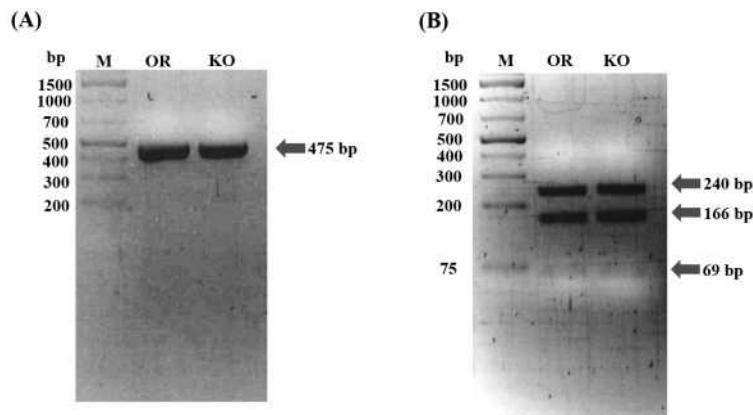


그림 1. ITS 2 PCR 증폭 및 제한효소 처리 전기영동 결과. (A) ITS 2 PCR product. (B) Restriction enzyme(RsaI) treatment product ※ M: Marker, OR : 미국집단 총채벌레, KO : 미국집단 총채벌레

US Thrips	GGTAATCTCACCTGAACTGAGGTCGTGAAAGGCGAATCGCGCGGAGGCGAAACGCAAAGT	60
KO Thrips	GGTAATCTCACCTGAACTGAGGTCGTGAAAGGCGAATCGCGCGGAGGCGAAACGCAAAGT	60
US Thrips	GCGAGAAAATGCAAACTGCGCGGTTGCTCTTTGTAAGGCATACCTCCAAGTCTTCAA	120
KO Thrips	GCGAGAAAATGCAAACTGCGCGGTTGCTCTTTGTAAGGCATACCTCCAAGTCTTCAA	120
US Thrips	GACGGGCGCGCGACGTCGAGTCGAGAACAAGAAACGTCACACACCCGCCGCTTTTGGC	180
KO Thrips	GACGGGCGCGCGACGTCGAGTCGAGAACAAGAAACGTCACACACCCGCCGCTTTTGGC	180
US Thrips	AGAACGTCTGGAGGCTGTCTAGCGCACGAGGGCGCTCTCTGGCTATCCTTTATAAGACGT	240
KO Thrips	AGAACGTCTGGAGGCTGTCTAGCGCACGAGGGCGCTCTCTGGCTATCCTTTATAAGACGT	240
US Thrips	ACCGCTAGGCAGAGTGCTTTCTTTACGGGGGAAGCGGTGAAGCGACCACCCTGAGGAT	300
KO Thrips	ACCGCTAGGCAGAGTGCTTTCTTTACGGGGGAAGCGGTGAAGCGACCACCCTGAGGAT	300
US Thrips	TTTAAGAGTACCACGCTTGCGCGCGGAGACTCCAATCTCGCTCTGTGTAACGACAGAA	360
KO Thrips	TTTAAGAGTACCACGCTTGCGCGCGGAGACTCCAATCTCGCTCTGTGTAACGACAGAA	360
US Thrips	CAGTCTGGTCTTTGAGTTTGGTCAACCGACCCTCAGTCAGGTGTGGCCAGGAACAAGTC	420
KO Thrips	CAGTCTGGTCTTTGAGTTTGGTCAACCGACCCTCAGTCAGGTGTGGCCAGGAACAAGTC	420
US Thrips	CTAGGGCCGCAATGTGCGTTCGAATTGTCAATGTTTCATGTCTCTGCAGTTTACA	475
KO Thrips	CTAGGGCCGCAATGTGCGTTCGAATTGTCAATGTTTCATGTCTCTGCAGTTTACA	475

그림 2. 미국집단과 한국집단 총채벌레 ITS 2 sequence alignment 결과

동정된 꽃노랑총채벌레 채집집단을 이용하여 강남콩 및 대두 떡잎을 이용한 대량사육체계를 마련하였으며(그림 3.) 유전자 분석에 필요한 총채벌레 샘플을 확보하였다.

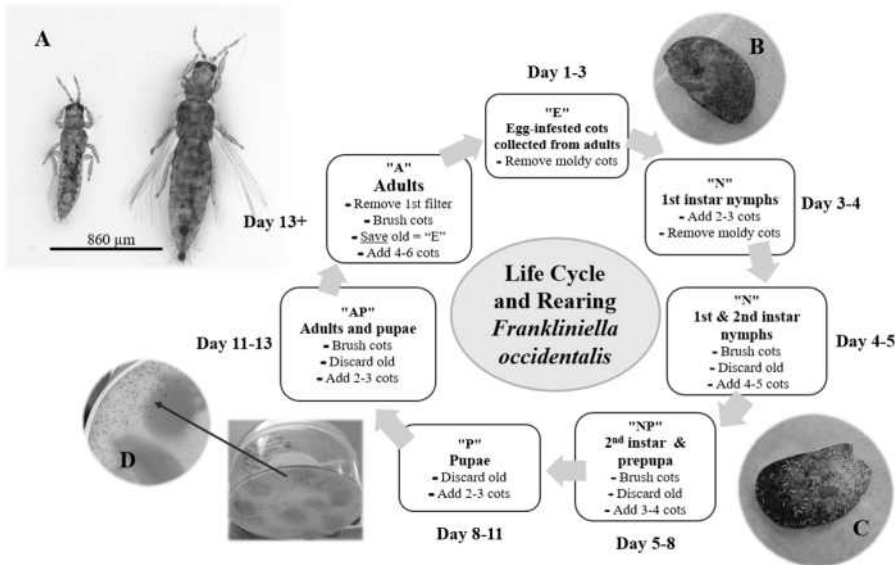


그림 3. 강남콩 및 대두 떡잎을 활용한 꽃노랑총채벌레 대량사육 시스템



나. 꽃노랑총채벌레 *pyrokinin* 및 *capa* 유전자 동정

꽃노랑총채벌레의 *pyrokinin* 유전자는 3개의 C-말단의 FXPRL펩타이드 서열을 포함한 294개 아미노산을 암호화하는 882개 뉴클레오타이드로 동정되었다(그림 3). 3개의 FXPRL펩타이드 동족체의 아미노산서열은 DLVTQVLQPGQTGMWFGPRL아미드(PK1 DH like), SEGNLVNFTPRL아미드(PK2a), TDSEPTWGFSPRL아미드(PK2b)로 나타났으며 5개의 exon으로 구성된 *pyrokinin* 유전자 내 PK1은 3번째 exon, PK2a는 4번째 exon, PK2b는 4,5번째 exon에 위치하는 것을 확인하였다(그림 4, 5).

```

CTC CAG TAC CTG GAC GCG CAC GTC ATG GGG ACC ATG GGG ACC ATG GCC TCC TAC CAG TTG 60
M G T M G T M A S Y Q L
AGC CGA GCC GGC CTC CTG CTG GCC CTA TGC GCC GTC TGC TTC GGT CTG CAC GGC ACT CGC 120
S R A G L L L A L C A V C F G L H G T R
GGC CGG CCC GCC CCC ATG CTG CTC GAG GCG GAG CAG GCC CCC GAC GCG GAG GAC GCG GCG 180
G R P A P M L L E A E Q A P D A E D A A
CTA CAA ATG GAG CTG CAG ACG CTG ATG AAC CTG TTC CAG GCC AAA GGG AAG CGC GGC CAG 240
L Q M E L Q T L M N L F Q A K G K R G Q
GAT CTC GCC GAG GGG CTG ACG CGG GAC TTG GTC ACG CAG GTC TTG CAG CCC GGC CAG ACG 300
D L A E G L T R D L V T Q V L Q P G Q T
GGG ATG TGG TTC GGG CCG AGA CTA GGG CGC CGC GAC GTC GCC GCT GCC ATG 360
G M W F G P R L G R R R R R D V A A A M
CCC TCC GCT ACC TCG GCC ACG GCG TCC AGC GGA CGC CGC AAG CGT TCG GTG CAG ATG TCC 420
P S A T S A T A S S G R R K R S V Q M S
CAG GAC GGC GAC GTG GAC AAC GAC ATC CCC TGG AAG CTC GCC GAG TTG CTG CGG GAG CTG 480
Q D G D V D N D I P W K L A E L L R E L
CAA GGG GCG AAG CGC TCG CCG ACA CCA TGC GAC TCC TCC GAC ATC AAC TGC CTC CTG TCC 540
Q G A K R S P T P C D S S D I N C L L S
AAC ATT GCT AAC GGC GGC TCG AAC GCT CCG TCA GAG CAG GAG CAG CGC TCT CGC TCT GAG 600
N I A N G S N A P S E Q E Q R S R S E
GGC AAC CTC GTG AAC TTC ACC CCT CGC CTG GGG CGG GAG AGC GGC GAG CAG CCC GAG GAC 660
G N L V N F T P R L G R E S G E Q P E D
CTC GAG GGC TCG ATG GGA GGC GCG GCC ACA TCG CGA CAG CTG CGC ACG GAC AGC GAG CCT 720
L E G S M G G A A T S R Q L R T D S E P
ACC TGG GGG TTC TCG CCA CGT TTG GCG CGT CGC CTG CTG CCA CCG GGC ACC GTG GAC GTG 780
T W G F S P R L G R R L L P P G T V D V
CAC GCC CCG GCT GGA GTC CCA CCC TCC CCG GGC AGC CTA CAA CCC TTG TTG GCT CCT CAG 840
H A P A G V P P S P A S L Q P L L A L Q
CGG TCC AGG GGT GGT CGC TCC GCG CGG TCC GCG CCG ACG GAC AAG GGA ACA GGG AGC CAA 900
R S R G G R S A R S A P T D K G T G S Q
GGA CAA GCT CAG GTG TAG TCG ATA AAC TGC ATT AAG AAA TGA AGG TGG AAA AAT GAG AAA 960
G Q A Q V *
GAA ACA AAC AAA ACA ATC GGC CGT GAA GAT GGT ATG AGA CCA AGT GGA ATT ACG CTA CAT 1020
GTT TTC AAC TTT AGA TCA TAG AGT GTG GAA CAA GAT TGA CTT TGG CTG GAT AAA TCT CTG 1080
TTC TCC ATT TTA ATA AAA TCA TCA TTA TTC ACT CAT TTT TTT CTG ATA TGT AGC ACT TGC 1140
TTA AAA TGT GTG ATA GTC CTT ATT GCA TTG ACC TGA ATT TAA CTA AAT TGA TTA ACA CAT 1200
TGT GCC TGA CAT GAC TTT CTT ATG GTC ATG CTT TGC TGT AAA ACG CCA CCC CTT TAA TTA 1260
CCT GCC AGA CTC AAT GTG TTA ACA ATA ATT GTA GGG TAA AAG TCC TCA GGA TGG ATT TTA 1320
GTG CCT CAA ATT TTG CAA CAC CTT AGG AGT ACT TTT ATG CAT GTG ATA GTA TGT TAT TTA 1380
TTT TGT GAC GAC TTC AGG TAA GGG AAT GAC AGG AAA CAT GAT TTT ATC TGA AAT TTG TGG 1440
CAC AAA CTG GGT CCT CCA TTC TTA GGA TAT TTT CTT TCA CTC GAT TTA TTT TCC CAA AAG 1500
AGT AAC ATT AAC TTT TGT ATT TGT TAA CCA TCG TTA TGT TAG CGA AAC TAA GAG AAA AAT 1560
AAA AGG AGC ATC ACA CTA AAA AAA AAA AAA AAA AAA AAA GTA CTA GTC GAC GCG TGG CC 1619
    
```

그림 4. 꽃노랑총채벌레 *pyrokinin* gene sequence 및 PK펩타이드 아미노산 서열

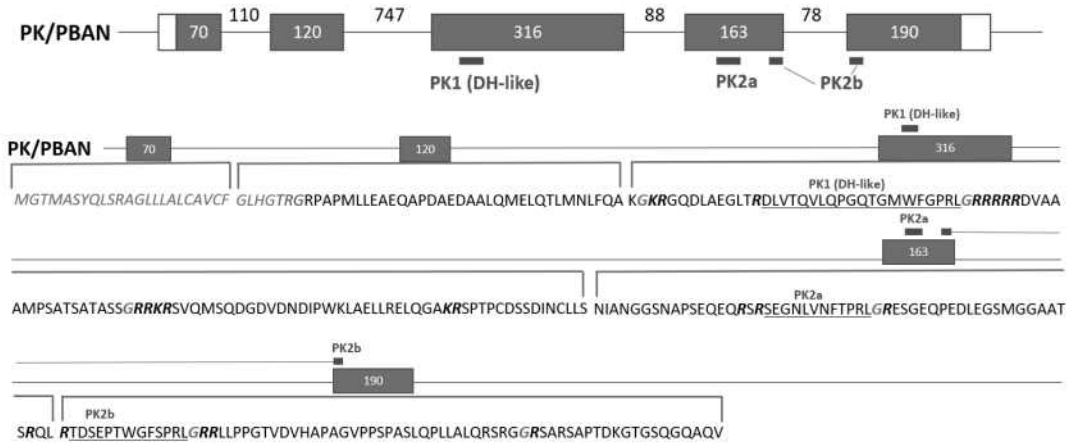


그림 5. 꽃노랑총채벌레 *pyrokinin* gene 및 PK펩타이드 아미노산 구조

꽃노랑총채벌레의 *capa* 유전자는 long type과 short type의 2가지 형태로 나타나는 것을 확인하였다(그림 6, 7). *capa* long type은 2개의 C-말단 PRV펩타이드 서열과 2개의 C-말단 XPRL펩타이드 서열을 포함한 235개 아미노산을 암호화하는 573개 뉴클레오타이드로 동정되었다(그림 6). 반면 *capa* short type은 1개의 C-말단 PRV펩타이드 서열과 2개의 C-말단 XPRL펩타이드 서열을 포함한 149개 아미노산을 암호화 하는 447개 뉴클레오타이드로 동정되었고 *capa* long type과 비교하여 PRV동족체 1개가 없었다(그림 7). *capa* 유전자에서 나타나는 PRV 및 PRL 펩타이드 동족체의 아미노산 서열은 EVQGLFPFPRV아미드 (CAPA-PVK1), QGLIPFPRV아미드(CAPA-PVK2), VASWMPSSPRL아미드(CAPA-PK1), DSASFTPRL아미드(CAPA-PK2)이다(그림 8). 5개의 exon으로 구성된 *capa* long type 유전자 내 CAPA-PVK1은 2번째 exon, CAPA-PVK2는 3번째 exon, CAPA-PK1은 4번째 exon, CAPA-PK2는 5번째 exon에 위치하는 것을 확인하였다(그림 8). 4개의 exon으로 구성된 *capa* short type 유전자 내 CAPA-PVK2는 2번째 exon, CAPA-PK1은 3번째 exon, CAPA-PK2은 4번째 exon에 위치하는 것을 확인하였다(그림 8).

```

CGC TTG GGT GGT GAG ATC GCG GCG TAC GTC ACC GCG GCT GCG TCC ACC GCG TTC GAT 50
TGG GGA GAT GCG AGT GCA GCG GAG CCG AAC AGT GCG GCG GCG ACC GCA GCG ACC GCG GCG 120
AGC CAG GAG AAG AAG AAG CAG TAC GTC GTC GTC GCG GCG GTC GTC GTC GTC GTC GTC GTC 180
M R E Y V L L L A A L A L G A F
GGG GCG GAG GCG GCG GAG GAG GCG GAG GAG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 240
A A E F L Q D N E D G F G F G Y G B G L
CGC GAC GCG GAG AGG AGA GCG GAG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 300
F D R R T R V Q R P Y Q G L P F S R R V
GGC AGC GCG ACC TGG GCG ACC AGC GAG TTA GCG GTT GCG GAG AAC AAG GCG CAG GCG GCG 360
G R A T W S T H D C G L G E N K R Q.....L
TTC GGT TTC GCG GCG GTC GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 420
I E E F H Y Q R S E H A D E R T M F A A
TGG GTC GTC GCG GCG GAG TAC TAC GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 480
W S V A F S Y I F G F R Y A N E M F S E
GGC GGT GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 540
S R R L G R Q N F R F E T D N A R W T L
GTG AGC GTC GCA GCG TAC GCG ACC ATG AAC GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 600
M N V R E V F A M N R F Q N G R L S A S
TTC ACC GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 660
E T E L E G R E L E S D E R V A V H D A
GCG GCG GTC GCG GCG GAG GAT GCG GTC GCG GCG ACC GTC GCG GCG GTC GAG GCG GCG GCG 720
F G L S F Q D D L Q G S Y R L Y
GCT GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 780
GAA GAG GAG GCG GAG GTC TGC GGT GCG TAT GGT ATC GAA TAG TCA TTA CCG TTC ACA ACA 840
TTC GAA ATA GGT GGT GTC GTC GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 900
TGG ATA GAA TAG GCG GCG TGA TGG TTC TAG ACT GAT GCG GTC AGA GCA GCG GCG GTC TTC 960
AGC CTA TTC GTC GGT AGC GCG GAG GCG AAG ACC TAT GAC CCG GCA AEA AAA ATG TTC GTC 1020
CTC ATC GCA TAT GCA AGT TCG GAT GCA GCG GAG GAT GAT TGT GGT GCA TCC GCG TCC AAA 1080
GAA ATG GTC GTC GCA TTA GAT TGT TTT GCA AAC ACT CTG GCA CTA GCG AEA GCG GAT GCT 1140
TAC TAT TTT TCG TGA GAG GCG TAC GAT TTT AAT AAT TGT AAA ACT TCG GCA ACC TGA 1200
AAT ATA GAA TTT TCG TTT TTT 1260
    
```

그림 6. 꽃노랑총채벌레 *capa* gene (long type) sequence 및 CAPA 펩타이드 아미노산 서열

```

CGC TTG GGT GGT GAG ATC GCG GCG TAC GTC ACC GCG GCT GCG TCC ACC GCG TTC GAT 50
TGG GGA GAT GCG AGT GCA GCG GAG CCG AAC AGT GCG GCG GCG ACC GCA GCG ACC GCG GCG 120
AGC CAG GAG AAG AAG AAG CAG TAC GTC GTC GTC GCG GCG GTC GTC GTC GTC GTC GTC GTC 180
M R E Y V L L L A A L A L G A H
GGG GCG GAG GCG GCG GAG GAG GCG GAG GAG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 240
A A E F L Q D H G L S M N R R Q.....L.....E
TTC GTC GCG GCG GCG ACC GAG GAG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 300
E E R Y Q R S G N E D F R T N F A A H L
GCG GCG GCG GCG TAC TAC GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 360
V A F E Y Y P G K R Y A S R M F S S L P
GCT GTC GCA GCG CAG AAT AAG GCG GTC GAG ACC GAG ACC GCG GCG GCG GCG GCG GCG 420
H.....L G A Q N K H F E E T D N A A W T L V N
TTC AGA GAG TAC GCA GCG ATG AAG GCA GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 480
V R D Y F A M N R F Q P G R H S A S F T
CGC GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 540
E.....L G R E L E S D E R V A V H D A P G
GCG GCG GCG GAG GAG GAG GTC GAG GCG ACC GCG GCG GCG GAG GCG GCG GCG GCG GCG 600
L G F Q D D L Q G S V R L A
GCG GCG TGG GCG GTC GCG TGT GCG AAT GCG TGT GCG ACC GCG GCG GCG GCG GCG GCG 660
TGG GCG GAG GAG GAG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 720
ACA GCG TGG GAG ACC GGT GGT GTC GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 780
GCG GTC TGG AAG CAG TGG GTC GCG GCG TGG TCC TAC AAT GAT GAG GCG GCG GCG GCG 840
TTC GTC GCG GCA TTT GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG GCG 900
TTC GTC GTC ATC TCA TAT GCG AAT TTC GAT GCG ACC GAG GCG GTC GTC GCG GCG GCG 960
TCC AAA GAA AAT GTC GTC GCG TGA GAT TGT TTT GCA AAC ACT CTG GCA CTA GCG ACC 1020
AAT GCT TAC TAT TTC TTC TCA AAG TCA TCG TAT GAT TTT AAG ACT TGT AAR ATT TTC TCA 1080
ACC GCA AAT ATA GAA TTT TTC TTT TTT TCA AAA AAA AAA AAA AAA AAA AAG TAC TAC TCG 1140
AGC GGT GCG D 1150
    
```

그림 7. 꽃노랑총채벌레 *capa* gene (short type) sequence 및 CAPA 펩타이드 아미노산 서열

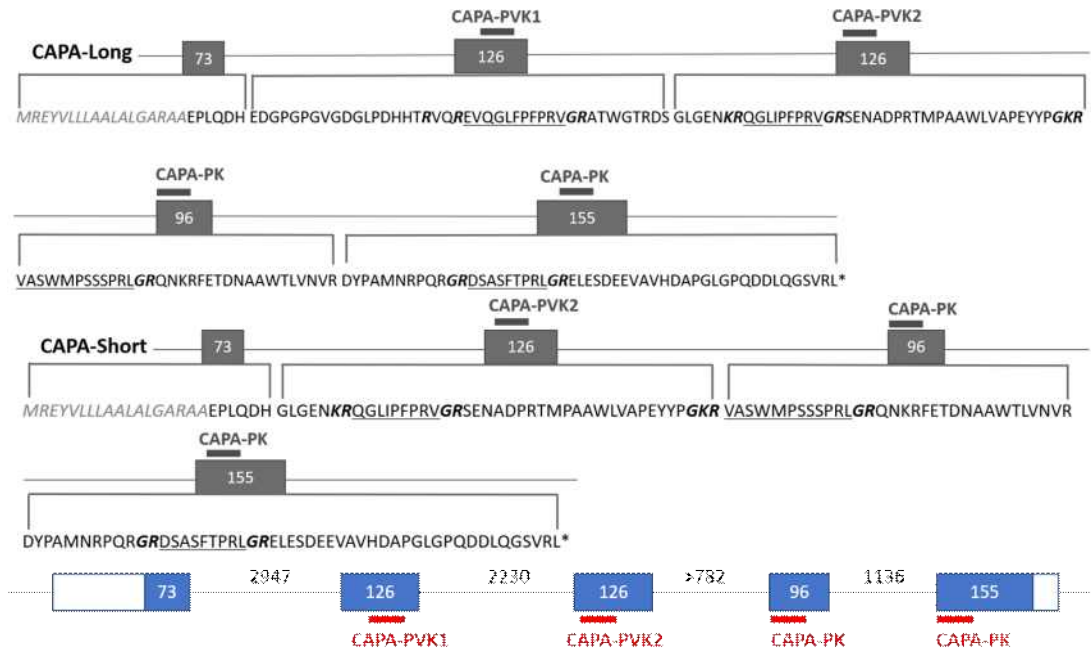
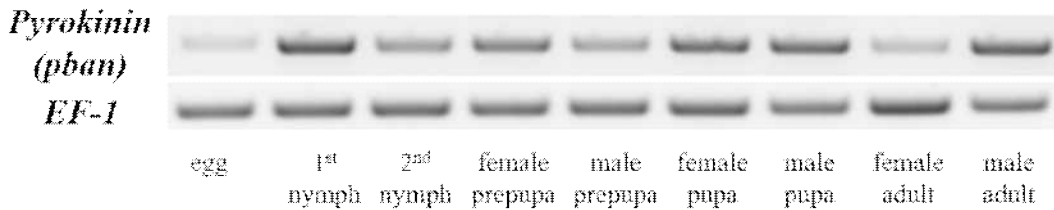


그림 8. 꽃노랑총채벌레 *capa* gene 및 CAPA펩타이드 아미노산 구조

### 다. 꽃노랑총채벌레 *pyrokinin* 및 *capa* 유전자의 발현 특성

꽃노랑총채벌레 각 발육단계별 *pyrokinin* 유전자 발현정도는 다르게 나타났으나 모든 발육단계에서 발현되는 것을 확인하였다. 알과 암컷성충의 경우 발현정도가 낮게 나타났으며 수컷 성충에서 발현정도가 높게 나타나는 것을 확인하였다(그림 9). 발현정도를 수치화하여 비교하기 위해 qRT-PCR 분석을 통하여 알을 기준으로 상대적인 발현량을 분석한 결과, 알 대비 수컷 성충에서 발현량이 164.8배 증가한 것으로 나타났으며 이는 전체 발육단계에서 가장 높은 발현량을 보였다. 반면 암컷성충은 15.7배로 증가한 수치로 알을 제외한 전체 발육단계 대비 낮은 발현량을 보였다. 다른 발육단계는 34~47배 증가한 발현량을 보였다(그림 9).

(A)



(B)

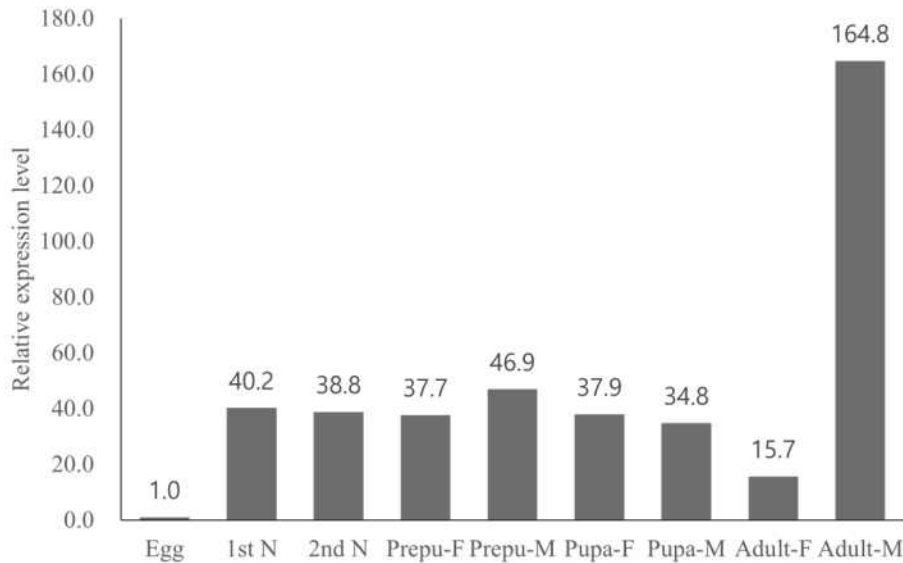


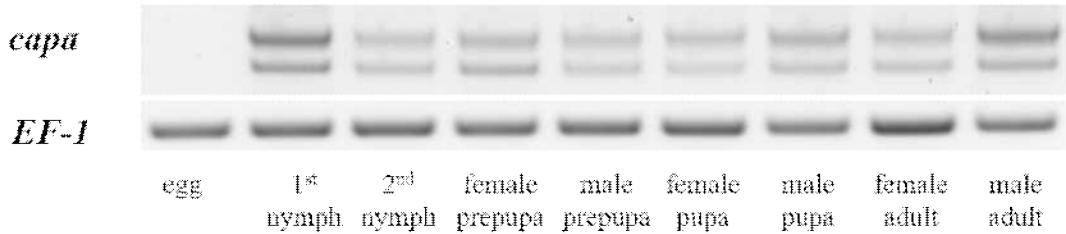
그림 9. 꽃노랑총채벌레 발육단계별 *pyrokinin* 유전자 발현정도 (A) RT-PCR 분석 결과, (B) qRT-PCR 결과

꽃노랑총채벌레 각 발육단계별 *capa* 유전자 발현정도 또한 다르게 나타났다. *pyrokinin* 유전자와 달리 알에서는 전혀 발현되지 않았다. 반면 1령 약충과 수컷 성충에서 발현정도가 높게 나타나는 것을 확인하였으며 다른 발육단계에서도 발현 되는 것을 확인하였다(그림 10). 발현정도를 수치화하여 비교하기 위해 qRT-PCR 분석을 통해 1령 약충 기준으로 상대적인 발현량을 분석한 결과 1령 약충 대비 수컷 성충에서 4.83배 증가된 발현정도를 나타내었으며 전체 발육단계에서 가장 높은 발현량을 보였다. 암컷성충은 0.44배 감소된 발현정도를 보였고 다른 발육단계는 0.6~0.8배 감소한 발현량을 보였다(그림 10).

*pyrokinin*과 *capa* 유전자는 일부 발육단계를 제외하고 전 발육단계에서 발현하는 것을 확인하였으며 두 유전자 특히 수컷 성충에서 높은 발현량을 보이는 것을 확인 하였다. 선행 연구에서 붉은불개미, 썩덩나무노린재, 장님노린재류(*Lygus hesperus*) 등 다른 곤충에서도

두 유전자는 전체적인 발육단계에서 발현되는 보고가 있었으며(Ahn and Choi, 2018; Choi et al., 2014; Hull et al., 2021) 이는 두 유전자의 기능이 페로몬의 생합성 신호물질로의 기능 이외 곤충에 다양한 생리기능(섭식활성, 탈피 등)에 관여하는 것으로 보인다.

(A)



(B)

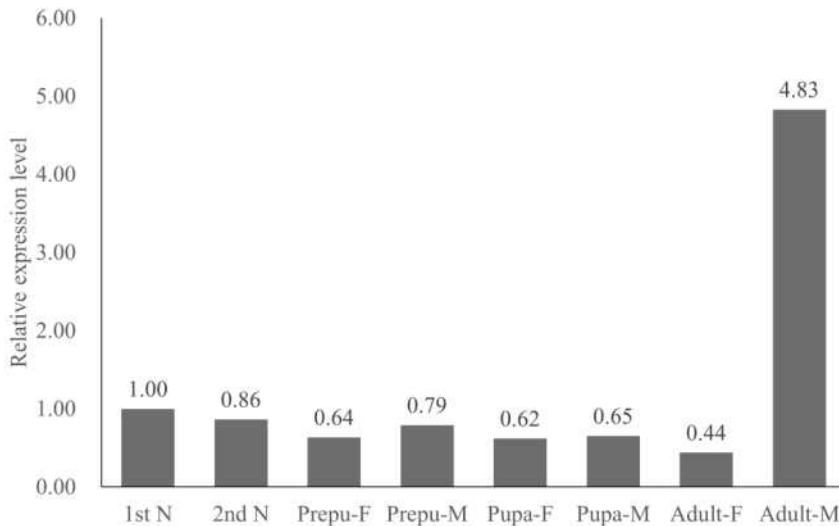
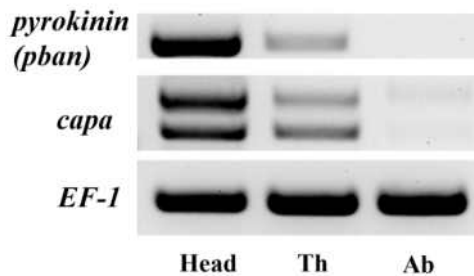


그림 10. 꽃노랑총채벌레 발육단계별 *capa* 유전자 발현정도 (A) RT-PCR 분석 결과, (B) qRT-PCR 결과

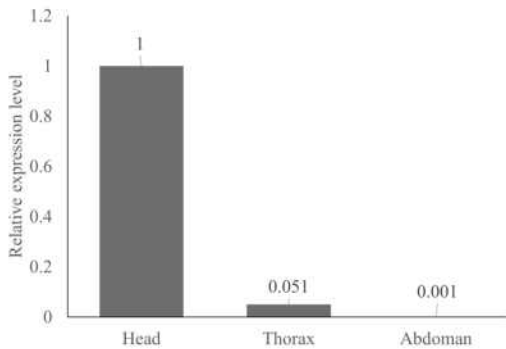
꽃노랑총채벌레 부위별(머리, 가슴, 복부)에 따라 *pyrokinin*과 *capa* 유전자 발현정도는 머리에서 두 유전자 발현량이 가장 높게 나타났으며 가슴, 복부 순서대로 발현량이 감소하는 결과를 보였다(그림 11). *pyrokinin* 유전자의 경우 복부에서는 발현되지 않았다. 부위별 발현특성은 선행연구에서도 곤충종에 따라 다른 발현특성을 보였다. 석덩나무노린재에서는 *pyrokinin*과 *capa* 유전자는 머리와 복부에서만 발현되었으며 *pyrokinin* 유전자는 복부대비 머리에서 발현량이 높았고, *capa* 유전자는 머리대비 복부에서 발현량이 높게 나타났다(Ahn and Choi, 2018), 붉은불개미에서는 *pyrokinin* 유전자는 머리, 가슴에서 발현하였으며

가슴에서 상대적으로 발현량이 높았으며 *capa* 유전자는 머리, 가슴, 복부에서 모두 발현하였으며 가슴에서 상대적으로 발현량이 높게 나타났다(Choi et al., 2014). 장님노린재류(*L. hesperus*)의 *pyrokinin* 유전자는 머리에서만 발현되었다. 두 유전자의 발현 위치는 곤충 종에 따라 상대적으로 다르게 나타나는 점을 확인하였고 발현되는 위치에 따라서 곤충의 종에 따라 해당유전자의 기능이 다소 다를 것이라 판단되며 해당 유전자에 기반하여 만들어지는 펩타이드(PK,CAPA)가 수용되는 위치에 따라 예상되는 기능을 추정할 것으로 판단된다.

(A)



(B)



(C)

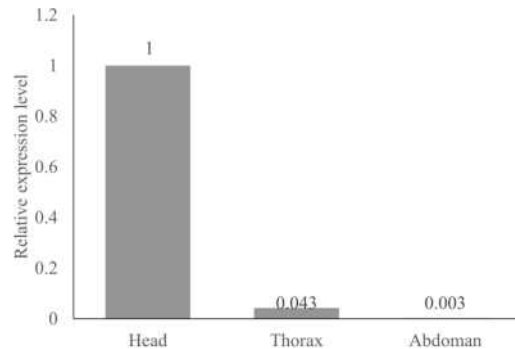


그림 11. 꽃노랑총채벌레 조직별 *pyrokinin*, *capa* 유전자 발현정도 (A) RT-PCR 분석결과 Head(머리), Th(가슴), Ab(복부) (B) *pyrokinin* 유전자 qRT-PCR 분석결과, (C) *capa* 유전자 qRT-PCR 분석결과.

**라. 꽃노랑총채벌레 *pyrokinin* 유전자 면역세포화학적 발현 특성**

항원 항체반응을 응용하여 FXPRL아미드를 항원으로 사용한 면역세포화학적 분석을 통해 꽃노랑총채벌레 *pyrokinin* 유전자의 체내 반응위치를 분석하였다. 머리 부위에서 4개의 면역세포 cluster, 가슴 등면의 4개, 배면의 4개 면역세포 cluster, 복부 등면에 14개의 면역세포 cluster를 확인하였다. 머리, 가슴, 복부에서 나타난 cluster의 위치는 체내 충추신경계의 신경절에 있는 신경세포로 판단된다. 다른 곤충에서도 *pyrokinin* 유전자의 곤충 체내반응 위치를 검정한 선행연구에서도 꽃노랑총채벌레와 비슷하게 머리, 가슴, 복부의 신경절에 있는 신경세포와 반응한 결과를 보였으며 부위별 반응이 나타난 신경세포 개수에는 곤충 종에 따라 차이가 있었다(Ahn and Choi, 2018; Choi et al., 2014; Hull et al., 2021). PK, CAPA 펩타이드는 흡즙성 해충에서 후장과 말피기관에서의 항이노작용에 관여하는 것으로 알려져 있다(Ahn and Choi, 2018), 침노린재(*Rhodnius prolixus*)를 대상으로 한 선행연구에서 노린재의 흡즙하는 행동이 CAPA펩타이드에 영향을 받으며 흡즙 후 3~4시간 경과 후 복부신경조직을 통해 CAPA-PVK펩타이드를 혈림프내로 방출되며 흡즙이 중단된다고 보고하였다(Paluzzi and Orchard, 2006). 이는 우리가 본 연구에서 구명한 *pyrokinin*, *capa* 유전자에서 유래하는 PK, CAPA펩타이드 또한 꽃노랑총채벌레에서 페로몬생합성 외에 다른 생리적 현상에 영향을 미칠 것으로 보이며 이를 구명하기 위해 각 PK, CAPA펩타이드를 합성하여 미세주입법을 활용하여 체내에 직접주입하여 꽃노랑총채벌레에서 행동학적, 생리학적 현상(배설, 섭식반응, 페로몬 방출 등)에 미치는 영향에 대한 추가연구가 필요하다. 또한 PK, CAPA펩타이드에 대한 꽃노랑총채벌레에 나타나는 반응을 이용하여 새로운 살충물질의 개발 및 기존방제기술에 대한 상승효과를 유도하는 물질로 활용이 가능할 것으로 전망된다.

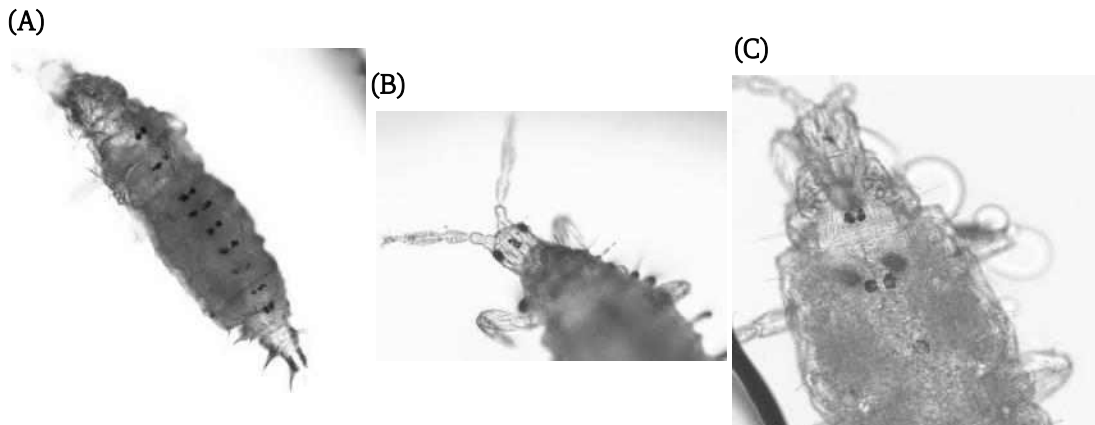


그림 12. 꽃노랑총채벌레 PK펩타이드 Immunocytochemistry 분석 결과. (A) 가슴, 복부 신경세포 반응(등면) (B) 머리 신경세포 반응(등면) (C) 머리, 가슴 신경세포 반응(배면)



#### 4. 적 요

페로몬 생합성기작구명 및 방제기술 개발을 위하여 수행한 연구결과는 다음과 같다.

- 가. 미국 USDA ARS와 공동연구 협약을 실시하여 3년간 공동연구를 수행하였다.
- 나. 한국과 미국집단의 총채벌레를 ITS 2 증폭산물에 제한효소 RsaI를 처리한 결과 꽃노랑총채벌레에서 나타나는 DNA 절편 패턴을 확인하였으며 두 집단간 유사도는 99.6%로 동일한 집단임을 확인하였다.
- 다. 강남콩과 대두 떡잎을 활용하여 미국 내 꽃노랑총채벌레 사육집단을 구축하였다.
- 라. 꽃노랑총채벌레의 *pyrokinin*, *capa*유전자의 full sequence를 확보하였으며 아미노산 서열에서 특이적인 FXPRL 및 PRV구조를 확인하였다.
- 마. 발육단계별 *pyrokinin*유전자의 발현정도는 알에서 가장 적게 발현하였으며 수컷 성충에서 알 대비 164.8배 높은 발현정도를 보였다.
- 바. 발육단계별 *capa*유전자의 발현정도는 알의 경우 거의 발현되지 않았으며 수컷 성충에서 1령 약충 대비 5~6배정도 높은 발현정도를 보였다.
- 사. 조직별 *pyrokinin*, *capa*유전자의 발현정도 분석에서 2개 유전자 머리에서 가장 높은 발현정도를 나타내었으며 다음으로 가슴에서 높게 나타났으나, 복부에서 *pyrokinin*유전자는 거의 발현되지 않았으며 *capa*유전자는 매우 적게 발현하는 것을 확인하였다.
- 아. PK펩타이드 발현특성은 Immunocytochemistry 기법을 통해 분석한 결과 머리, 가슴, 복부에 있는 각 신경절에서 나타나는 것을 확인하였다.

#### 5. 인용문헌

- Ahn, S.J., Cho, M.R., Park, C.H., Kang, T.J., Kim, H.H., Kim, D.H., and Yang, C.Y. 2014. Halo spot symptom induced by oviposition of *Frankliniella occidentalis* on grape fruits: molecular diagnosis by a species-specific DNA amplification and microscopic characterization of the symptom. J. Appl. Entomol. 53(3): 281-286.
- Ahn, S.J., and Choi, M.Y., 2018. Identification and characterization of *capa* and *pyrokinin* genes in the brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys*(Hemiptera): gene structure, immunocytochemistry, and differential expression. insect biochem, physiol. 2018: e215000.
- Choi, M.Y., Köhler, R., Vander Meer, R.K., Neupert, S., and Predel, R. 2014. Identification and expression of *capa* gene in the fire ant, *Solenopsis invicta*. PLoSONE. 9: 1-10.
- Demirozer, O., Tyler-Julian, K., Funderburk, J., Leppla, N., and Reitz, S. 2012. *Frankliniella occidentalis* (Pergande) integrated pest management programs for

- fruiting vegetables in Florida. *Pest Manag Sci.* 68: 1537–1545.
- Holman, G. M., Cook, B.J., and Nachman, R.J. 1986. Primary structure and synthesis of a blocked myotropic neuropeptide isolated from the cockroach, *Leucophaea maderae*. *Comp Biochem and Physiol C Comp Pharmacol Toxicol.* 85: 219–224.
- Hull, J.J., Brent, C.S., Choi, M.Y., Miko, Z., Fodor, J., and Fonagy, A. 2021. Molecular and Functional characterization of pyrokinin-like peptide in Western tarnish plant bug *Lygus hesperus*(Hemiptera: Miridae). *Insects.* 12: 914.
- Jurenka, R. 2015. The PRXamide neuropeptide signalling system: conserved in animals. *Adv In Insect Phys.* 49: 123–170.
- Matsumoto, S., Kitamura, A., Nagasawa, H., Kataoka, H., Orikasa, C., Mitsui, T., and Suzuki, A. 1990. Functional diversity of a neurohormone produced by the suboesophageal ganglion: molecular identity of melanization and reddish colouration hormone and pheromone biosynthesis activating neuropeptide. *J Insect Physiol.* 36: 427–432.
- Morse, J.G., and Hoddle, M.S. 2006. Invasion biology of thrips. *Annu Rev Entomol.* 51: 67–89.
- Mouden, S., Sarmiento, K.F., Klinkhamer, P.G., and Leiss, K.A. 2017. Integrated pest management in western flower thrips: past, present and future. *Pest Manag Sci.* 73: 813–822.
- Nassel, D.R., and Zandawala, M. 2019. Recent advances in neuropeptide signaling in *Drosophila*, from genes to physiology and behavior. *Prog Neurobiol.* 179: 101607.
- Paluzzi, J.P. 2012. Anti-diuretic factors in insects: the role of CAPA peptides. *Gen Comp Endocrinol.* 176: 300–308.
- Paluzzi, J.P., Park, Y., Nachman, R.J., and Orchard, I. 2010. Isolation, expression analysis, and functional characterization of the first antidiuretic hormone receptor in insects. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 107: 10290–10295.
- Paluzzi, J.P., and Orchard, I. 2006. Distribution, activity and evidence for the release of an anti-diuretic peptide in the kissing bug *Rhodnius prolixus*. *J Exp Biol.* 209: 907–15
- Raina, A.K., Jaffe, H., Kempe, T.G., Keim, P., Blacher, R.W., Fales, H.M., and Hayes, D.K. 1989. Identification of a Neuropeptide Hormone That Regulates Sex Pheromone Production in Female Moths. *Science.* 244: 796.
- Rotenberg, D., Baumann, A.A., Ben-Mahmoud, S., Christiaens, O., Dermauw, W.,

- Ioannidis, P., and Richards, S. 2020. Genome-enabled insights into the biology of thrips as crop pests. *BMC Biol.* 18: 142.
- Schoofs, L., De Loof, A., and Van Hiel, M.B. 2017. Neuropeptides as regulators of behavior in insects. *Annu Rev Entomol.* 62: 35-52.
- Terhzaz, S., Teets, N.M., Cabrero, P., Henderson, L., Ritchie, M.G., Nachman, R.J., and Davies, S.A. 2015. Insect capa neuropeptides impact desiccation and cold tolerance. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 112: 2882-2887.
- Uehara, H., Senoh, Y., Yoneda, K., Kato, Y., and Shiomi, K. 2011. An FXPRLamide neuropeptide induces seasonal reproductive polyphenism underlying a life-history tradeoff in the tussock moth. *PLoS One.* 6: e24213.
- Xu, W.H., and Denlinger, D.L. 2003. Molecular characterization of prothoracicotropic hormone and diapause hormone in *Heliothis virescens* during diapause, and a new role for diapause hormone. *Insect Mol Biol.* 12: 509-516.

## 6. 연구결과 활용제목

- 꽃노랑총채벌레 *pyrokinin*, *capa*(long and short type) 유전자 서열정보 등록 (유전자정보 등록 3건)
- Identification of *pban/pyrokinin* in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (학술발표)
- Identification *capa* gene in the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (학술발표)
- Identification and expression analysis of the *pk* and *capa* genes in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (학술발표)
- Expression of the *pyrokinin* and *capa* genes and immunocytochemistry in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (학술발표)
- A sustainable mass rearing method for western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*(Thysanoptera; Thripidae) (논문게재 SCI)

### 7. 연구원 편성

세부과제	구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도		
						'19	'20	'21
페로몬생합성 기작 구명 및 방제기술개발	책임자	농업기술원 환경농업연구과	농업연구사	윤승환	연구수행 총괄	○	○	○
		환경농업연구과	농업연구관	한상욱	자료조사	-	-	○
	공동연구자	"	"	이진구	"	○	○	-
		"	"	임갑준	"	○	-	-
		"	농업연구사	장재은	특성조사	○	○	○
		"	"	한정아	"	○	○	○
		"	"	최종인	"	-	-	○
		"	"	장은규	"	○	-	-
		"	"	김상우	"	○	○	-
		"	농업연구관	이영순	과제평가 지도	○	○	○
"	"	홍순성	"	○	○	-		