

# 꽃노랑총채벌레와 대만총채벌레의 내한성과 월동처 비교 연구

김철영 · 최두열 · 팔구니칸 · 엠디따핌호사인흐리틱 · 홍주안 · 김용균\*

안동대학교 식물의학과

## Comparative Analysis of Cold Tolerance and Overwintering Site of Two Flower Thrips, *Frankliniella occidentalis* and *F. intonsa*

Chulyoung Kim, Du-yeol Choi, Falguni Khan, Md Tafim Hossain Hrithik, Joao Hong and Yonggyun Kim\*

Department of Plant Medicals, College of Life Sciences, Andong National University, Andong 36729, Korea

**ABSTRACT:** Two dominant thrips in hot pepper (*Capsicum annuum*) cultivating in greenhouses are *Frankliniella occidentalis* and *F. intonsa* in Korea. This study investigated their overwintering physiology. These two thrips were freeze-susceptible and suppressed the body freezing temperature by lowering supercooling point (SCP) down to  $-15\sim-27^{\circ}\text{C}$ . However, these SCPs varied among species and developmental stages. SCPs of *F. occidentalis* were  $-25.7\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  for adults,  $-17.2\pm 0.3^{\circ}\text{C}$  for pupae, and  $-15.0\pm 0.4^{\circ}\text{C}$  for larvae. SCPs of *F. intonsa* were  $-24.0\pm 1.0^{\circ}\text{C}$  for adults,  $-27.0\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  for pupae,  $-17.2\pm 0.8^{\circ}\text{C}$  for larvae. Cold injuries of both species occurred at low temperature treatments above SCPs. Thrips mortality increased as the treatment temperature decreased and its exposure period increased. *F. occidentalis* exhibited higher cold tolerance than *F. intonsa*. In both species, adults were more cold-tolerant than larvae. Two thrips species exhibited a rapid cold hardening because a pre-exposure to  $0^{\circ}\text{C}$  for 2 h significantly enhanced the cold tolerance to a lethal cold temperature treatment at  $-10^{\circ}\text{C}$  for 2 h. In addition, a sequential exposure of the thrips to decreasing temperatures made them to be acclimated to low temperatures. To investigate the overwintering sites of the two species, winter monitoring of the thrips was performed at the greenhouses. During winter season (November–February), adults of the two species were not captured in outside of the greenhouses. However, *F. occidentalis* adults were captured to the traps and observed in weeds within the greenhouses. *F. occidentalis* adults were also emerged from soil samples obtained from the greenhouses during the winter season. *F. intonsa* adults did not come out from the soil samples at November and December, but emerged from the soil samples obtained after January. To determine the adult emergence due to diapause development, two thrips species were reared under different photoperiods. Adult development occurred in all photoperiod treatments in *F. occidentalis*, but did not in *F. intonsa* especially under short periods. Tomato spotted wilt virus, which is transmitted by these two species, was detected in the weeds infested by the thrips during the winter season. These results suggest that *F. occidentalis* develops on weeds in the greenhouses while *F. intonsa* undergoes a diapause in the soil during winter.

**Key words:** *Frankliniella occidentalis*, *Frankliniella intonsa*, Supercooling Point, Rapid Cold Hardiness, Overwintering, Hibernacula, Diapause

**초록:** 시설재배지 고추(*Capsicum annuum*)에 주요 총채벌레는 꽃노랑총채벌레(*Frankliniella occidentalis*)와 대만총채벌레(*F. intonsa*)이다. 본 연구는 이들 총채벌레의 월동 생리를 분석하는 데 목적을 두었다. 두 총채벌레는 동결감수성 곤충으로 낮은 저온( $-15\sim-25^{\circ}\text{C}$ )에서 체내빙결점을 보였다. 그러나 이 체내빙결점은 두 종 사이에 그리고 발육태에 따라 상이하였다. 꽃노랑총채벌레의 경우 성충  $-25.7\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , 번데기  $-17.2\pm 0.3^{\circ}\text{C}$ , 약충  $-15.0\pm 0.4^{\circ}\text{C}$ 였고 대만총채벌레는 성충  $-24.0\pm 1.0^{\circ}\text{C}$ , 번데기  $-27.0\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , 약충  $-17.2\pm 0.8^{\circ}\text{C}$ 에서 체내빙결점을 기록하였다. 그러나 실제로 두 종의 저온 피해는 체내빙결점보다 높은 온도에서 일어났으며, 처리온도가 내려갈수록 그리고 노출시간이 증가할수록 증가하였다. 대만총채벌레에 비해 꽃노랑총채벌레가 저온에 대해서 높은 내한성을 보였으며 발육태에 따라 약충보다는 성충이 높은 내한성을 나타냈다. 그러나 두 종 모두는 차사 저온조건( $-10^{\circ}\text{C}$ , 2시간)에 노출되기 전에  $0^{\circ}\text{C}$ 에서 2시간 미리 노출되면 저온 피해가 현저하게 줄어드는 급속내한성유기를 보였다. 또한 단계적으로 감소하는 저온에 노출되면서 저온순화를 발현하였다. 이들 총채벌레의 월동처를 알아보기 위해 시설재배지 안팎에서 동계모니터링이 진행되었다. 동계기간(11월~2월) 두 종 성충은 야외에서 채집되지 않았지만, 시설재배지 내부에서는 꽃노랑총채벌레가 황색점착트랩과 잡초에서 포획되었다. 동계기간 시설재배지 토양시료에서 꽃노랑총채벌레 성충이 지속적으로 우화되었으나, 대만총채벌레는 11월과 12월 토양시료에서 나오지 않았지만, 1월 이후 채집된 시료에서 성충 우화가 관찰되었다. 휴면에 따른 우화를 차이인지를 분석하기 위해 상이한 일장을 이들 두 총채벌레 종에 처리하였다. 이 결과 꽃노랑총채벌레는 일장조건과 무관하게 우화한 반면 대만총채벌레는 단일조건에서는 우화하지 않았다. 한편 이들 총채벌레가 전파하는 Tomato spotted wilt virus도 동계기간 총채벌레가 채집된 잡초에서 검출되었다. 이상의 결과는 꽃노랑총채벌레가 겨울기간 시설재배지 내부에서 잡초를 먹이로 발육하는 반면, 대만총채벌레의 경우는 휴면상태로 토양 속에서 월동하는 것으로 추정되었다.

**검색어:** 꽃노랑총채벌레, 대만총채벌레, 체내빙결점, 급속내한성유기, 월동, 월동처, 휴면

\*Corresponding author: [hosanna@anu.ac.kr](mailto:hosanna@anu.ac.kr)

Received April 27 2022; Revised June 7 2022

Accepted June 13 2022

온대지역에 생활하는 곤충의 경우 겨울기간 저온에 대한 생존 전략이 필수적이다(Sinclair, 2015). 저온에 대한 피해는 크게 냉해(cold injury)와 동해(freezing injury)로 나눌 수 있다(Bale and Hayward, 2010). 냉해는 체내빙결점(supercooling point) 이상의 온도에서 저온에 대한 피해로서 생체막을 구성하는 인지질 및 단백질의 생화학적 변성으로 생체막 유동성 변화 및 단백질을 통한 물질이송의 불균형에 따른 생체막 기능 저하로 기인된다(Lee et al., 2006). 동해는 체내빙결점 이하에서 세포 내부 또는 외부의 동결에 의한 피해로서 빙핵(ice-nucleator) 형성을 통한 물분자의 결정화 과정에 따라 세포막에 물리적 손상을 주어 일어나는 피해이다(Yi and Lee, 2003).

월동하는 곤충의 경우 저온 피해를 극복하기 위해 크게 두 가지 전략으로 대처하게 된다(Storey and Storey, 2013). 하나는 동결감수성(freezing-susceptible) 곤충에서 일어나는 현상으로 체내 동결을 막기 위해 행동적으로 체온을 높이거나 생리적으로 체내빙결점을 낮춘다(Ditrich, 2018). 이를 위해 내동결 물질(cryoprotectants)을 이용하는데 내동결단백질 또는 다가 알코올을 이용하게 된다. 특히 글리세롤(glycerol) 또는 소비톨(sorbitol)과 같이 포도당으로부터 쉽고 빠르게 전환이 가능한 물질을 대량으로 생산하여 체액 즉 혈강에 방출하여 빙점강하를 유도하는 생화학적 기작이 동반된다(Storey, 1997). 또한 번데기의 경우 장내 물질을 배설하여 빙핵을 유발할 수 있는 원인 물질을 체내에서 제거시켜 체내빙결점을 낮추는 기작도 이에 해당된다(Costanzo et al., 1998). 온대지역에 거주하는 많은 곤충이 이 부류에 속하게 된다. 다른 하나는 동결저항성(freeze-tolerant) 곤충으로 체내 동결을 견디게 된다(Toxopeus and Sinclair, 2018). 세포 내부가 동결되면 이들 곤충도 치사하게 된다. 따라서 빙결을 세포 외부로 국한시키고, 이를 통해 마치 ‘이글루(igloo)’ 효과처럼 얼음벽이 치사에 이르게 하는 저온을 막아주어 세포 내부가 동결로부터 보호받으려는 전략이다. 이러한 전략은 내동결물질을 비대칭적으로 배치하여 세포 내부에는 내동결물질을 집중적으로 축적하여 동결을 억제하지만, 세포 외부에는 오히려 빙핵형성물질을 축적하여 자신의 고유 체내빙결점 보다 높은 온도에서 동결을 유도하는 생리적 기작이다(Zachariassen and Kristiansen, 2000). 이러한 동결저항성 곤충은 높은 위도 지역에 거주하는 곤충류에서 주로 발견된다.

국내에 서식하는 곤충은 다양한 방식으로 월동하게 된다. 첫째로 휴면(diapause)을 통해 겨울기간 일어나는 저온 및 먹이 고갈을 이겨내는 곤충류가 대표적으로 이러한 지역에 적응한 상태로 분다(Teets and Denlinger, 2014). 그러나 남방계로 분류되는 많은 침입 곤충들은 휴면 기작 없이 국내 지역에서 월동

하게 되는 데 이러한 생리적 근거는 이들의 높은 내한성(cold hardiness) 기작에서 유래되었다(Teets et al., 2020). 예를 들어, 파밤나방 알의 경우  $-15^{\circ}\text{C}$  이하로 체내빙결점을 낮출 수 있고 급속내한성유기(rapid cold hardening: RCH) 기작을 보유하여 다가올 저온 피해를 줄 수 있는 환경에 대비하여 내한성을 더욱 갖출 수 있게 된다(Kim and Kim, 1997; Park and Kim, 2013). 여기에 1980년대 말 국내 시설재배 지역의 증가에 따라 극한 저온을 피할 수 있는 월동처를 확보하게 되면서 발생 밀도가 증가한 것으로 해석되고 있다(Kim and Song, 2000). 아열대 지역에 넓게 분포하며 두과 작물에 큰 피해를 주고 있는 콩명나방(*Maruca vitrata*)이 국내로 지속적으로 침입하고 있는 것으로 보고되고 있다(Jung et al., 2016). 그러나 이 곤충의 경우에도 국내 특정 지역에서 매년 집중적으로 발견되어 이 지역에서 월동 가능성을 의심하였다. 이 해충에 대한 내한성 분석은 체내빙결점을 낮추며 저온 피해를 억제하는 동결감수성 곤충으로 높은 RCH 능력으로 국내 특정 월동처에서 월동이 가능할 것으로 추정하였다(Kim et al., 2017). 이러한 관점으로 볼 때 전 세계적으로 대표적인 침입해충으로 국내 지역에도 지속적으로 침입 및 정착의 위협을 주고 있는 오리엔탈과실파리(*Bactrocera dorsalis*)가 비교적 높은 내동결성 및 RCH 능력을 갖춘 내한성을 지니고 있어 이들의 국내 정착이 우려되고 있다(Ahn et al., 2018). 즉, 휴면기작을 보유하지 않는 대부분의 남방계 곤충이 내한성을 기반으로 국내로 정착을 끊임없이 시도하고 있다고 볼 수 있다.

본 연구는 비교적 최근에 국내로 침입하여 전국적으로 분포 확대된 꽃노랑총채벌레(*Frankliniella occidentalis*)에 대한 내한성을 분석하여 이들의 국내 정착에 대한 생리적 근거를 제공하며, 또한 이들의 월동 한계성도 파악하여 동계 방제 기술도 구상해볼 수 있는 근거 자료를 제공하려 진행되었다. 반면 국내 토착종으로 휴면 기작을 보유하고 있는 대만총채벌레(*F. intonsa*) (Lee et al., 2001)를 대비하여 이들의 내한성을 비교하면서 상호 국내 정착의 근거를 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 총채벌레 실내사육

꽃노랑총채벌레는 국립농업과학원(전주) 작물보호부에서 2021년 6월에 분양받아 증식시켰다. 사육 환경조건은 온도  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 상대습도  $65\pm 5\%$ , 14 시간 광주기 조건을 유지하였다. 원형 사육용기(지름 100 mm, 높이 40 mm)에 알부터 성충까지

사육하였으며, 5일 동안 발아시킨 강낭콩(*Phaseolus coccineus*)을 약충과 성충의 먹이로 제공하였다. 대만총채벌레는 2021년 7월에 충북 괴산에서 채집하여 실내로 가져와 상기의 방법과 동일하게 사육하였다.

### 총채벌레 야외 모니터링

2021년 11월 30일부터 경북 안동시 용상동, 풍천면 하회리에 소재한 시설 고추재배지에서 황색점착트랩(10 × 15 cm, 그린아그로텍, 경산)을 각 비닐하우스(약 300평 규모)당 실내와 외부 3반복 설치하고, 3주 간격으로 수거하고 교체하여 주었다. 그리고 각 시설의 토양과 잡초에서 월동 개체를 채집하였다. 수거된 트랩은 총채벌레류의 밀도 조사를 위하여 수거한 트랩을 실험실로 가져와 해부현미경(M165FC, Leica, Wetzlar, Germany) 하에서 꽃노랑총채벌레를 동정하였다. 꽃노랑총채벌레의 동정 방법은 Kim et al. (2021)의 방법을 따랐다. 온도 및 습도 측정을 위해 모든 시설재배지 중앙에 온도기록장치(EL-USB-2, Lascar Electronics, Kowloon, Hongkong)를 설치하여 4시간 간격으로 온도와 습도를 측정하였다. 온도기록장치에서 저장된 자료를 이용해 온습도를 분석하였다.

### 총채벌레 체내빙결점 조사

체내빙결점을 조사하기 위해 총채벌레 단일 개체를 열감지 센서(BTM-420085SD, Lutron, PA, USA)에 부착 후 단열상자에 투입하였다. 이 단열상자를 -80°C 냉동기(Deep freezer, Ilsin, Sungnam, Korea)에 옮긴 후 분당 1°C씩 온도가 감소하게 하였다. 이후 총체가 동결되면서 나오는 응고열을 센서가 감지하면서 이때 온도를 체내빙결점(supercooling point: SCP)으로 결정하였다. 2령 약충, 번데기 및 성충에서 각각 분석되었으며, 각 발육 시기에서 10마리가 측정되었다.

### 총채벌레 내한성

총채벌레의 내한성을 조사하기 위해 곤충 사육용기(SPL Life Science, Seoul, Korea)에 10마리씩 넣고 저온에 노출시켰다. 용기 내에는 건조한 여과지를 바닥에 깔아주어 외부의 얼음 형성에 따른 총체의 동해를 막았다. 저온 처리는 -20°C, -15°C, -10°C, -5°C, 그리고 0°C였다. 노출시간은 0~6시간 동안 처리하였다. 저온 처리 이후 25°C로 처리충을 옮기고 강낭콩 먹이를 제공하였다. 이 조건에서 4시간 경과 후 생존수를 해부현미경(M165FC, Leica, Wetzlar, Germany)으로 조사하였다. 각 처

리는 3 반복으로 실시하였다.

### 총채벌레 내한성 유기

총채벌레의 내한성 유기를 분석하기 위해서 상기와 같은 방법으로 저온 처리하였다. 저온 조건은 대조구의 경우 25°C에서 바로 -10°C로 옮겨 2시간동안 저온 처리하였다. 급속내한성유기 분석은 25°C에서 사육한 개체들을 0°C에서 2시간 동안 전처리한 이후 -10°C로 옮겨 2시간 저온 처리하였다. 저온순화과정은 25°C부터 순차적으로 1시간씩 15°C, 5°C, -5°C에 노출 후 -10°C 조건에서 2시간 저온 처리하였다. 처리 후 상온에서 4시간 방치한 뒤에 생존수를 해부현미경(M165FC, Leica, Wetzlar, Germany)을 이용하여 조사하였다. 각 처리는 3 반복으로 분석하였다.

### 일장과 우화

꽃노랑총채벌레와 대만총채벌레 각각 산란된 알을 서로 다른 일장 조건에서 사육하였다. 온도는 20°C에서 상기의 먹이조건으로 알에서 성충까지 사육하였다. 일장조건은 24시간 주기를 기준으로 낮의 길이가 8시간, 10시간, 12시간, 14시간, 16시간으로 설정하였다. 각 처리는 3반복, 그리고 각 반복은 약 30마리의 알을 동일한 어미집단에서 임의 추출하여 설정하였다. 관찰자료는 우화수이고 이를 반복별 우화율로 측정하였다.

### 총채벌레 월동처 조사

총채벌레의 월동처를 조사하기 위해서 3주 간격으로 2021년 11월 30일부터 2022년 2월 27일까지 안동에 소재한 용상동과 풍천읍 하회리의 대파시설재배지와 고추시설재배지에서 조사하였다. 토양은 외부와 실내에서 무작위로 선정한 토양을 500 g을 실내로 가져온 뒤에 200 g의 토양을 온도 25±1°C, 상대습도 55±10%, 일장 14:10 (L:D) 시간 조건으로 처리하였다. 이때 토양에 강낭콩을 넣어 24시간 간격으로 교체 후 교제한 강낭콩을 조사하여 총채벌레 발생을 조사하였다. 각 처리는 3반복 하였고, 9일에서 최대 12일 동안 조사하였다. 발생한 총채벌레는 해부현미경(M165FC, Leica, Wetzlar, Germany)을 이용하여 동정하였다. 잡초의 경우 온실 내부의 잡초 주변에 하얀색 천(30 cm × 30 cm)을 배치시킨 뒤에 타락법을 이용하여 총채벌레를 조사하였다. 이때 총채벌레는 해부현미경(M165FC, Leica)을 통한 육안 조사와 다중 중합연쇄반응법을 통하여 분자 동정하였다.

**Table 1.** PCR primer sequences and annealing temperatures for identification of weeds

Genes	Primer sequences	Annealing temperature (°C)	Reference
<i>rbcL</i>	AGACCTTTTGAAGAAGTTCTGT	55	Dong et al. (2014)
	TCGGTCAGAGCAGGCATATGCCA		
<i>ITS</i>	TCCTCCGCTTATTGATATGC	53	White et al. (1990) Kita and Ito (2000)
	TAGAGGAAGGAGAAGTCGTAACAA		

## 잡초 분자동정

잡초를 동정하기 위해서 상기의 방법으로 채집된 잡초를 Trizol (Thermo Fisher Scientific Korea, Seoul, Korea) 핵산 추출법을 이용하였다. 추출된 핵산은 Maxim RT PreMix (LiLIF Diagnostics, Seoul, Korea)을 이용하여 역전사 후 4°C에 보관 후 Tap polymerase를 이용하여 중합연쇄반응을 하였다. 종 동정을 위한 대상 유전자로서 식물체의 DNA Barcode로 사용되는(Hasebe et al., 1994) ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (*rbcL*)와 internal transcribed space (*ITS*)를 이용하였다. PCR 조건은 95°C에서 5분간 초기 변성 과정 이후 35회 증폭과정을 갖는다. 증폭 주기는 95°C 변성온도에서 30초, 55°C (*rbcL*) 혹은 50°C (*ITS*)의 프라이머(Table 1) 결합온도에서 1분, 72°C 사슬연장 온도에서 1분으로 프로그램하여 진행하였다. 아가로즈젤(1%)에 전기영동하여 단일 밴드를 확인한 후 PCR 산물은 Expin PCE SV (GeneAll, Seoul, Korea)를 이용하여 프라이머와 잉여 반응물을 제거하였다. 정제된 PCR 산물은 양방향 염기 서열 분석(Macrogen, Seoul, Korea)하여 GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov)에 수록된 정보를 바탕으로 NCBI 검색엔진 BlastN을 이용하여 종 동정에 이용되었다.

## TSWV 보독 분석

상기 방법으로 총채벌레가 서식하는 잡초와 총채벌레의 TSWV 보독여부를 확인하기 위해서 잡초 1g과 1마리의 총채벌레를 Viral Gene-spin™ Viral DNA/RNA Extraction Kit (Intron, Seongnam, Korea)을 이용하여 핵산을 추출하였다. 추출된 핵산은 Supreme RT-PCR premix (Genethbio, Daejeon, Korea)를 이용하여 50°C에서 30분간 역전사시켰다. 얻어진 cDNA는 다시 95°C에서 2분간 초기 변성과 이후 35회 PCR이 95°C에서 30초, 55°C에서 30초, 72°C에서 45초의 온도 주기로 진행되었다. 이후 72°C에서 10분 최종연장을 추가하였다. 총채벌레는 다중 중합연쇄반응법(Kim et al., 2021)을 이용하여 진행 후 1% 아가로즈젤에 전기영동하여 동정하였다.

## 통계분석

실내 저온노출 실험의 경우 완전임의배치법을 이용하여 시험구를 배치하였으며, 분산분석을 통해 얻어진 오차항의 평균분산치를 기준으로 평균간 비교하였다. 분산분석은 SAS의 PROC GLM를 이용하였으며(SAS Institute, 1989), 평균간비교는 LSD 검정으로 제1형 오류값 0.05를 기준으로 유의성 검정을 실시하였다.

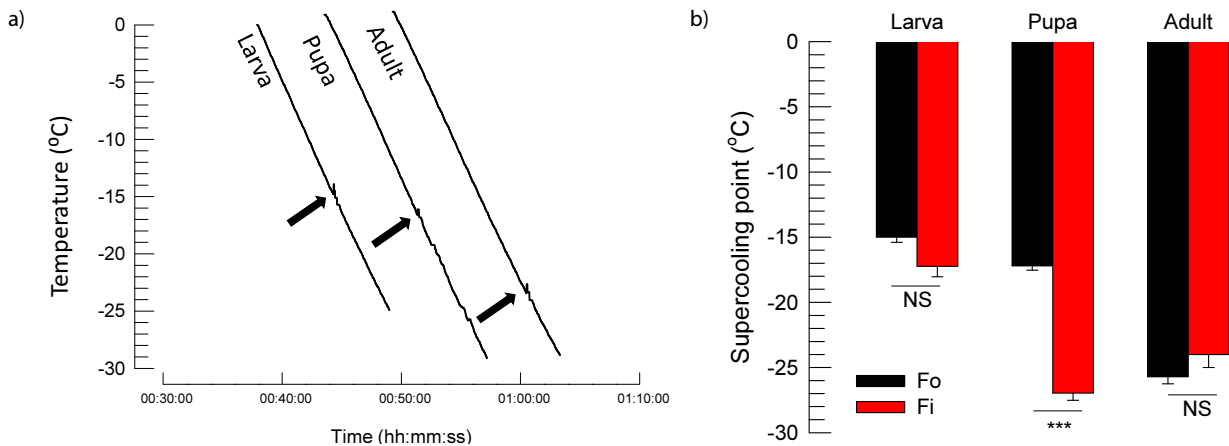
## 결과

### 총채벌레 체내빙결점 다양성

동결감수성 곤충의 경우 체내빙결점은 저온에 견디는 최저 온도로 간주된다. 이에 꽃노랑총채벌레와 대만총채벌레를 대상으로 다양한 발육태에서 체내빙결점을 분석하였다(Fig. 1). 비교적 소형의 체구를 갖는 총채벌레는 몸이 동결되면서 보이는 발열량이 적어 분석 센서에 작은 발열피크를 보였다(Fig. 1A). 두 총채벌레는 모두 -15°C 이하에서 체내빙결점을 보였다(Fig. 1B). 그러나 이 체내빙결점은 발육태에 따라 상이하였다( $F = 200.30$ ;  $df = 2, 54$ ;  $P < 0.0001$ ). 꽃노랑총채벌레의 경우 약충(-15.0°C), 번데기(-17.2°C), 성충(-25.7°C)의 순으로 낮아졌다. 그러나 대만총채벌레는 약충(-17.2°C), 성충(-24.0°C) 그리고 번데기(-27.0°C)의 순으로 낮아졌다. 두 곤충 종은 약충과 성충 발육태에서 유사한 체내빙결점을 갖는 반면, 번데기에서는 대만총채벌레에서 현격하게( $P < 0.05$ ) 낮았다.

### 총채벌레 내한성 변이

비교적 낮은 온도(-15°C~-27°C)에서 체내빙결점을 갖는 두 총채벌레는 동결감수성 곤충의 특징을 보였다. 특히 약충의 경우 체내빙결점보다 낮은 -20°C 노출에서 1시간을 견디지 못했다(Fig. 2). 이에 체내빙결점보다 높은 저온 노출을 통해 두 총채벌레의 내한성을 상호 비교하였다. 저온 피해는 0°C 처리에



**Fig. 1.** Supercooling points (SCPs) of *F. occidentalis* and *F. intonsa* in different developmental stages. (A) Recording examples of SCPs in three stages of *F. occidentalis*, indicating a constant cooling rate (1°C/min). (B) Comparison of SCPs of the two species. Each stage was replicated ten times. Asterisk below standard deviation bars represents significant difference between two species in each developmental stage at Type I error = 0.05 (LSD test). 'NS' represents no significance.

서도 노출시간이 증가함에 따라 치사율이 증가하였다. 이러한 저온감수성은 대만총채벌레에서 뚜렷하게 나타나는 반면, 꽃노랑총채벌레는 비교적 긴 노출시간에도 낮은 저온 피해를 보여 꽃노랑총채벌레가 대만총채벌레에 비해 저온에 견디는 내한성이 높다는 것을 알 수 있었다. 두 종 모두는 약충에 비해 성충이 높은 내한성을 보였다. 이러한 차등적 내한성 정도는 0°C 이하의 온도에서도 나타났다. 낮은 온도로 내려가면서 더 짧은 노출시간에서도 높은 치사율을 기록하였다( $F = 635.55$ ;  $df = 5, 120$ ;  $P < 0.0001$ ). 더불어 두 총채벌레 모두 성충이 약충에 비해 높은 내한성을 보였다( $F = 20.94$ ;  $df = 1, 120$ ;  $P < 0.0001$ ).

### 내한성유기

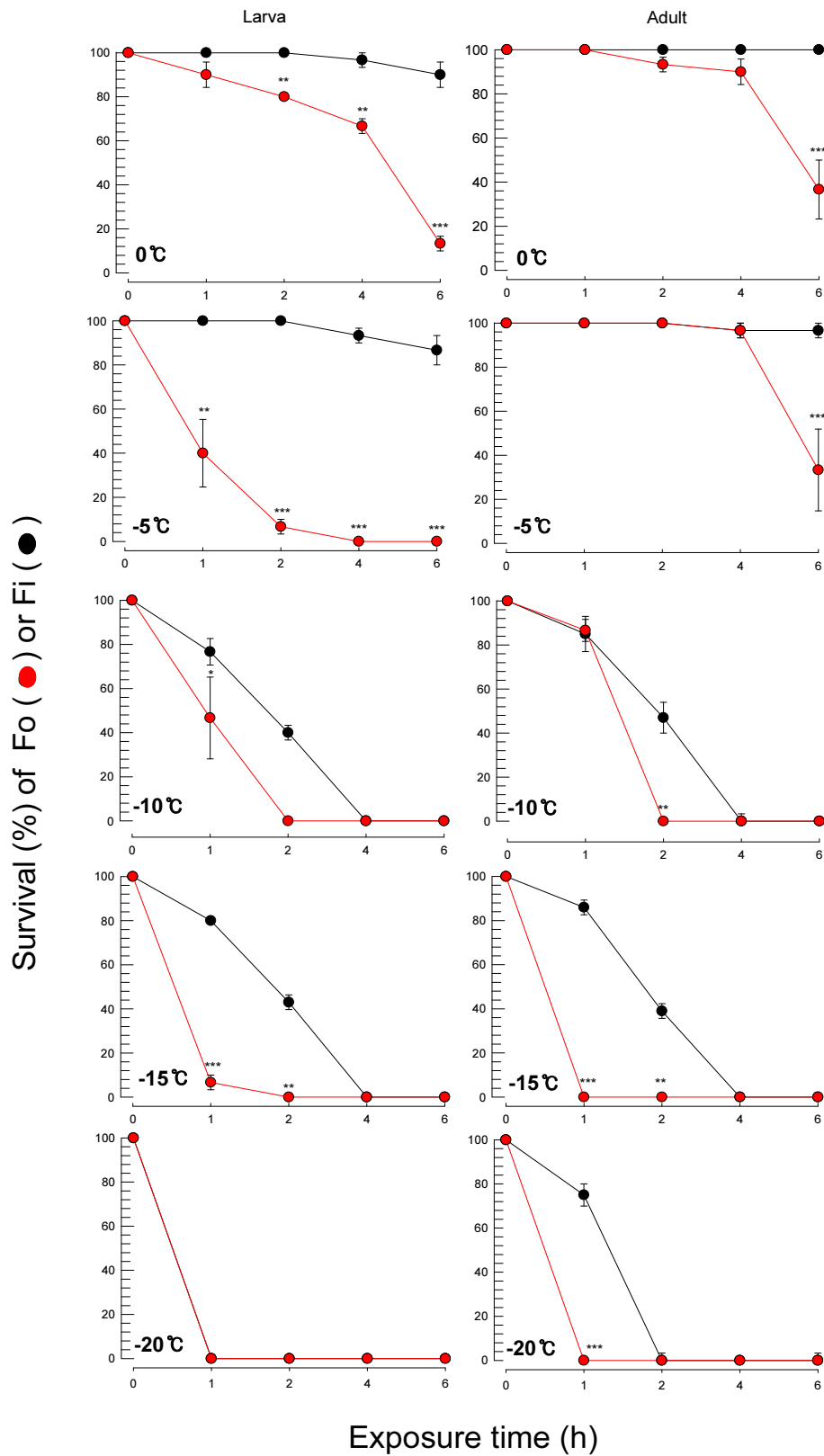
상기의 내한성 분석은 상온에서 바로 처리 저온을 옮겨 생존 능력을 분석하였다. 그러나 이러한 저온 처리 전에 비교적 높은 저온(0°C)에 미리 노출시킨 후 저온 처리할 때 저온에 견디는 능력이 증가되는 급속내한성유기(rapid cold hardening: RCH) 기작을 보유하는 지를 분석하였다(Fig. 3A). 또한 점진적으로 저온에 노출시켜 이러한 저온에 대한 견디는 능력을 보다 증가시키는 저온숙화(cold acclimation: ACC)도 비교하여 분석하였다. RCH 처리는 꽃노랑총채벌레의 약충 및 대만총채벌레의 성충에서 뚜렷하게( $P < 0.05$ ) 나타났다(Fig. 3B). 더욱이 ACC의 경우는 대만총채벌레 약충을 제외하고 두 종 모두의 발육태에서 뚜렷하게( $P < 0.05$ ) 나타났다. 이 두 가지 내한성유기 과정 가운데 RCH에 비해 ACC가 보다 내한성을 증가시킨 것이 꽃노랑총채벌레 약충에서 보였다.

### 휴면 기작

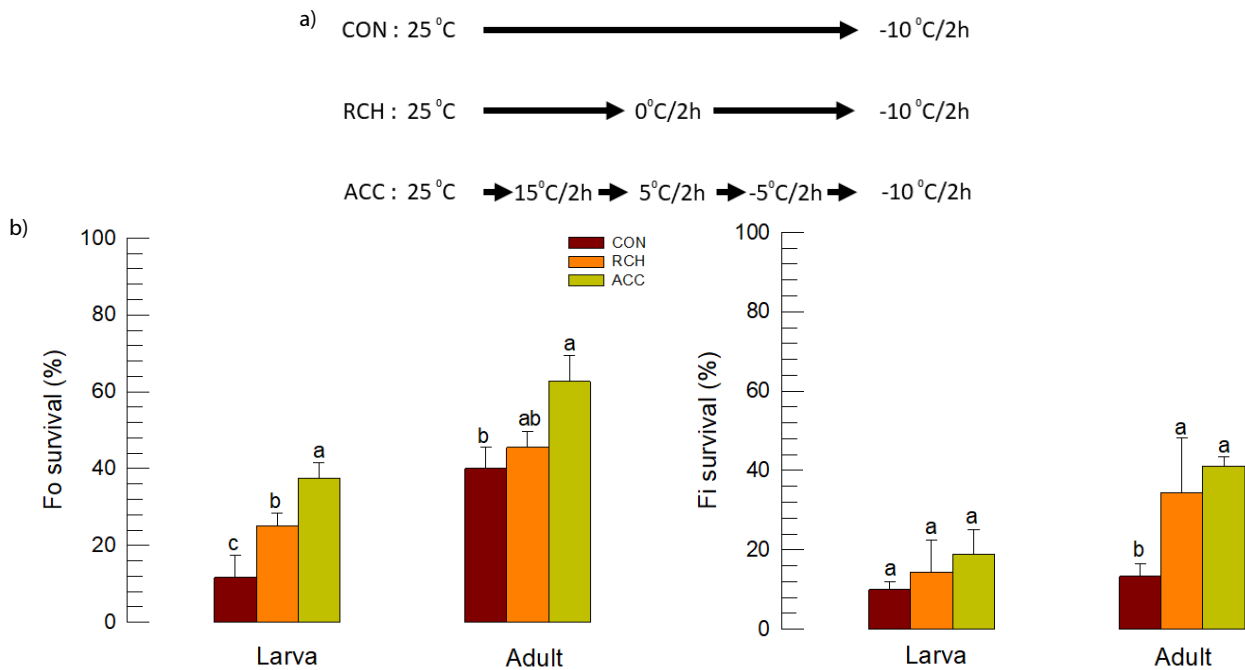
휴면하는 곤충의 경우 단일조건에서 휴면이 유지된다. 이를 바탕으로 동일한 온도(20°C)에서 상이한 일장을 전체 미성숙 시기에 처리하여 성충까지 발달을 조사하였다(Fig. 4). 꽃노랑총채벌레의 경우 일장에 관계없이 유사한 우화율을 기록한 반면, 대만총채벌레는 일장이 짧아지면서 우화율이 현저하게( $F = 25.35$ ;  $df = 3, 8$ ;  $P < 0.0001$ ) 낮아졌다. 특히 낮 길이가 10시간 이후부터 이러한 우화율 감소가 뚜렷하게 나타났다.

### 총채벌레 월동처

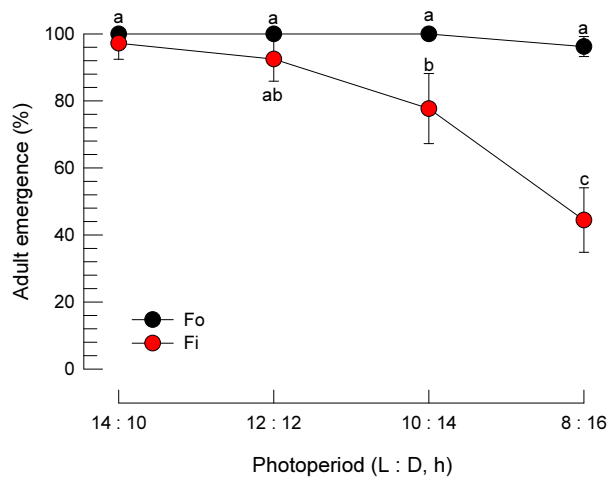
시설 고추재배지의 총채벌레 월동처를 파악하기 위해 크게 3가지 방식으로 주기적으로 모니터링하였다. 먼저 황색점착트랩으로 하우스 안팎에서 조사하였다(Fig. 5A). 동계기간(2021년 11월부터 2022년 3월까지) 하우스 밖에서는 단 한 마리의 총채벌레도 포획되지 않았다. 최초의 외부 포획 개체는 대만총채벌레로서 4월부터 나타났다. 반면에 하우스 내부에서는 지속적으로 포획되었으며, 1월 말 잡초 제거 이후 이러한 꽃노랑총채벌레 밀도는 시간 경과에 따라 감소하였다. 이 조사기간 가운데 12월에서 2월까지의 시설재배지 내부의 최저기온을 측정 한 결과(Fig. 5B) -13°C에서 +3°C까지 기록되었다. 트랩에 포획된 총채벌레는 모두 꽃노랑총채벌레로 형태적으로 동정되었고 일부는 분자적으로 동정되었다(Fig. 8 참조). 이른 봄이 되면서 3월 말에 꽃노랑총채벌레를 비롯하여 4월 이후에는 두 종 모두 발생이 증가하였다.



**Fig. 2.** Cold tolerance of *F. occidentalis* ('Fo') and *F. intonsa* ('Fi') in larval and adult stages at different temperature conditions. Each measurement used 10 individuals and was replicated three times. During this assay, all individuals at 25°C did not show any mortality in both species.



**Fig. 3.** Induction of cold hardiness of *F. occidentalis* ('Fo') and *F. intonsa* ('Fi') in larval and adult stages. (A) Temperature treatment regimes in rapid cold hardening ('RCH') and acclimation ('ACC'). (B) Enhanced cold tolerance after RCH or ACC in two developmental stages. Each measurement used 10 individuals and was replicated three times. Different letters above standard deviation bars represents significant difference among means in each developmental stage at Type I error = 0.05 (LSD test).



**Fig. 4.** Influence of photoperiod on adult emergence of *F. occidentalis* ('Fo') and *F. intonsa* ('Fi'). Different photoperiod treatments were applied from egg to adult emergence. Each measurement used 10 individuals and was replicated three times. Different letters above standard deviation bars represents significant difference among means in each developmental stage at Type I error = 0.05 (LSD test).

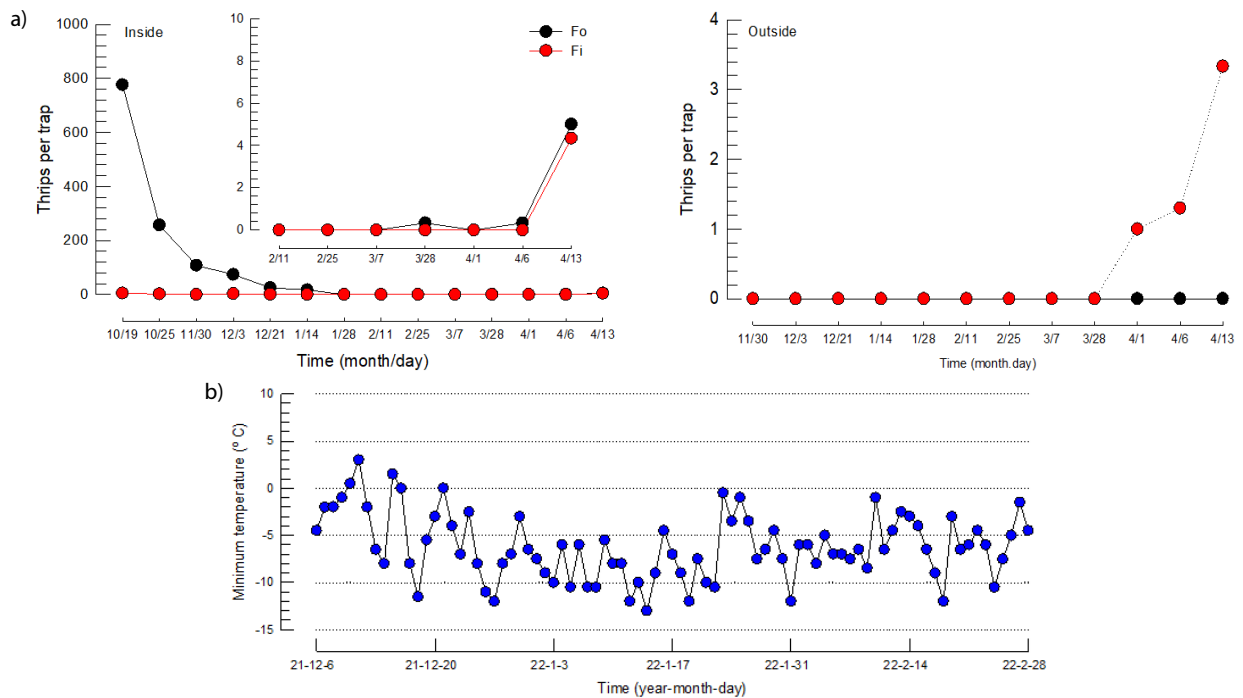
주변 잡초를 수거하여 이들에 존재하는 총채벌레를 분석하였다(Fig. 6). 조사 기간 6과(비름과, 국화과, 배추과, 석죽과, 쇠비름과, 가지과)로 분류된 9종의 식물에서 총채벌레를 발견하

였다(Fig. 6A). 총 184 개체가 채집된 꽃노랑총채벌레는 명아주 (*Chenopodium album*)에서 가장 많은 개체가 포획되었지만 (Fig. 6B), 전체 조사기간에 지속적으로 채집된 종은 속속이풀 (*Rorippa palustris*)이었다. 반면에 대만총채벌레는 총 11 개체가 포획되었지만 그마저 11월까지만 발견되고 12월 이후에는 보이지 않았다. 발견된 식물 중도 4종에 그쳐 명아주, 쯤냉이 (*Cardamine parviflora*), 속속이풀, 고추(*Capsicum annuum*)를 포함하였다.

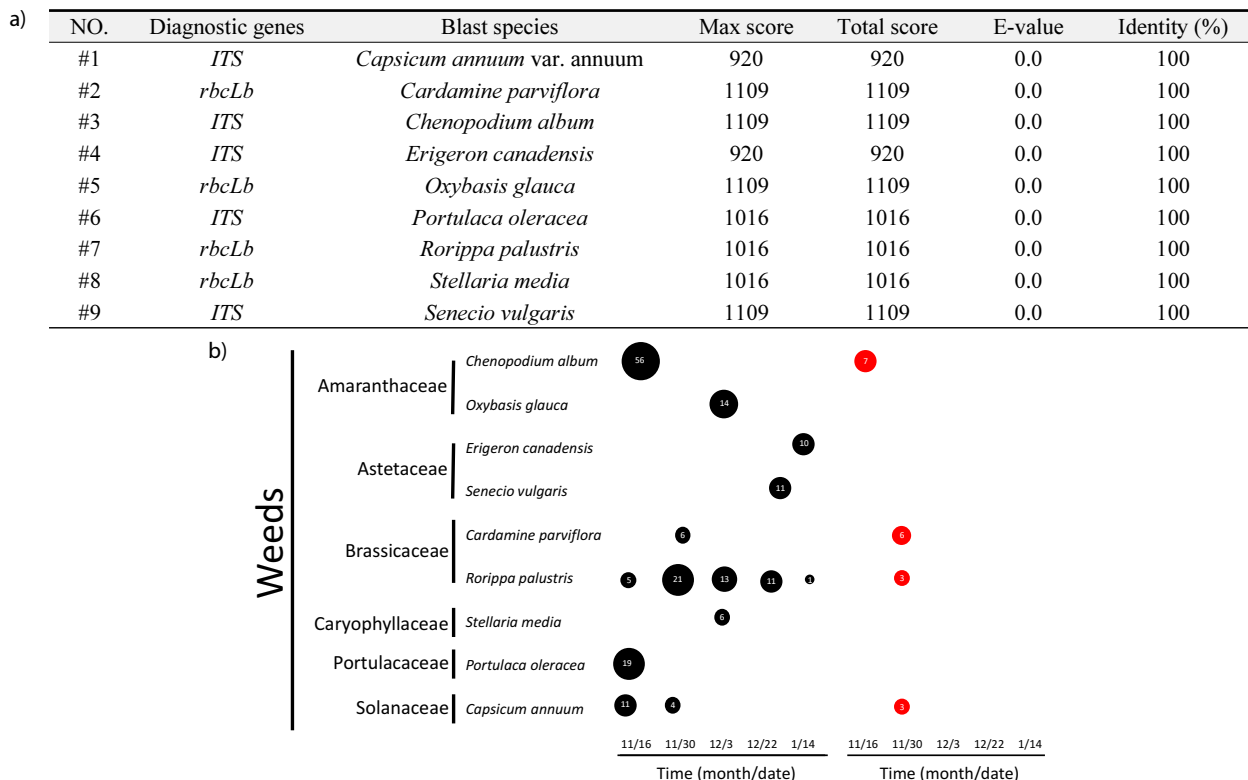
겨울 기간(11월~2월) 토양 중에 있는 총채벌레를 조사하였다(Fig. 7). 야외에서 시료 당 약 200g의 토양을 가져와 실내 조건에서 우화하는 성충을 조사한 결과 일부 하회지역에서 꽃노랑총채벌레가 수거된 후 10일 이내에 지속적으로 우화하였다. 반면에 대만총채벌레의 경우는 우화 개체가 1월 이후의 토양에서만 나타났다.

### TSWV 월동 생애

조사 시설재배지에서 고추 생육기에 TSWV가 발견되었다. 이를 기준으로 동일 지점에서 수거한 잡초에서 이러한 TSWV 존재를 분석한 결과 11월에 채집된 속속이풀(*R. palustris*)과 쇠비름(*Portulaca oleracea*) 잡초에서 그리고 12월에 채집된 속

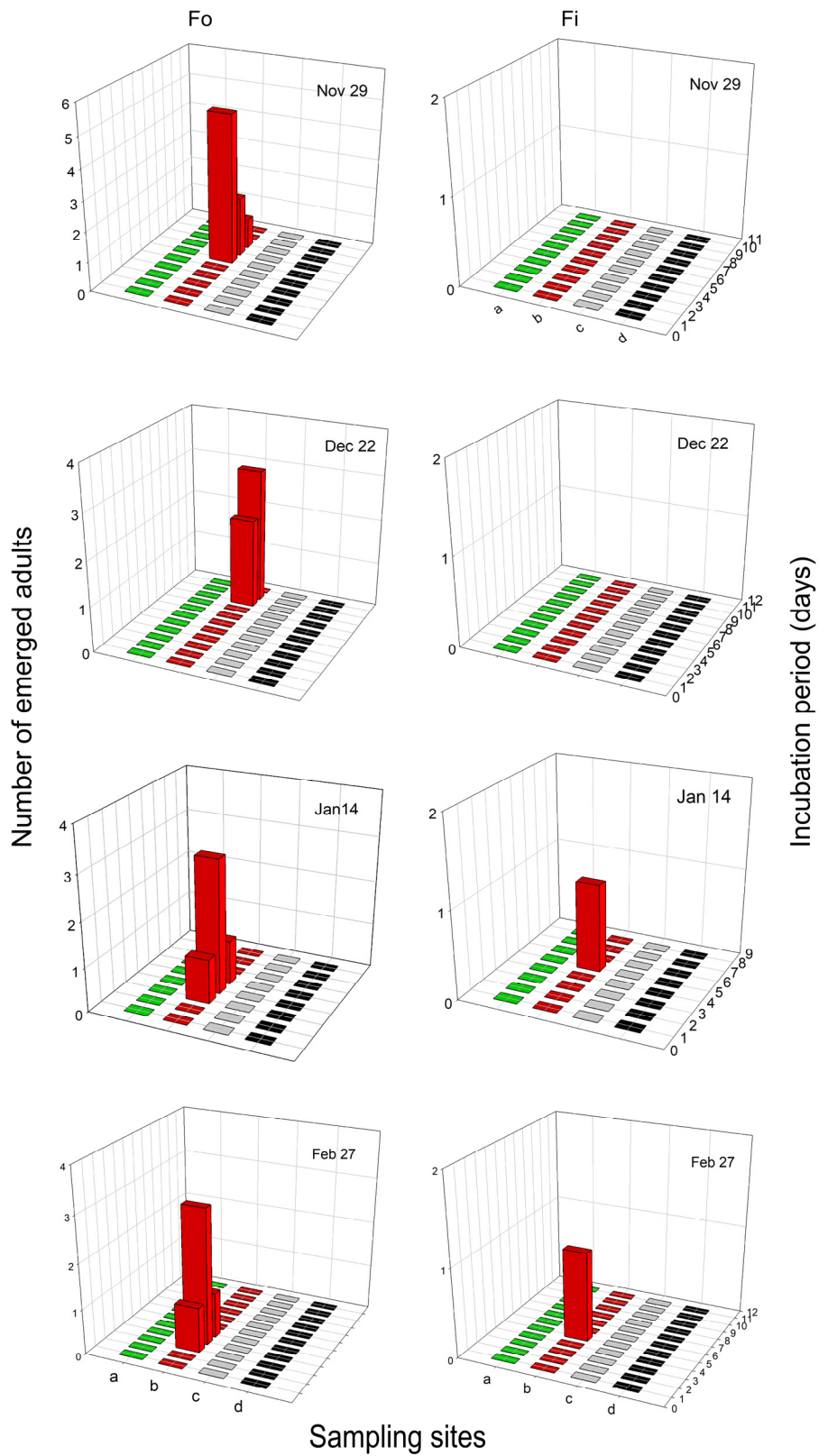


**Fig. 5.** Monitoring *F. occidentalis* ('Fo') and *F. intonsa* ('Fi') during winter (Oct 19, 2021 ~ Apr 13, 2022) using a yellow sticky trap. (A) Trap catches in both inside and outside of a greenhouse (Hahoe, Andong, Korea), which was cultivated with hot pepper before the monitoring. (B) Temporal change of daily minimum temperatures.

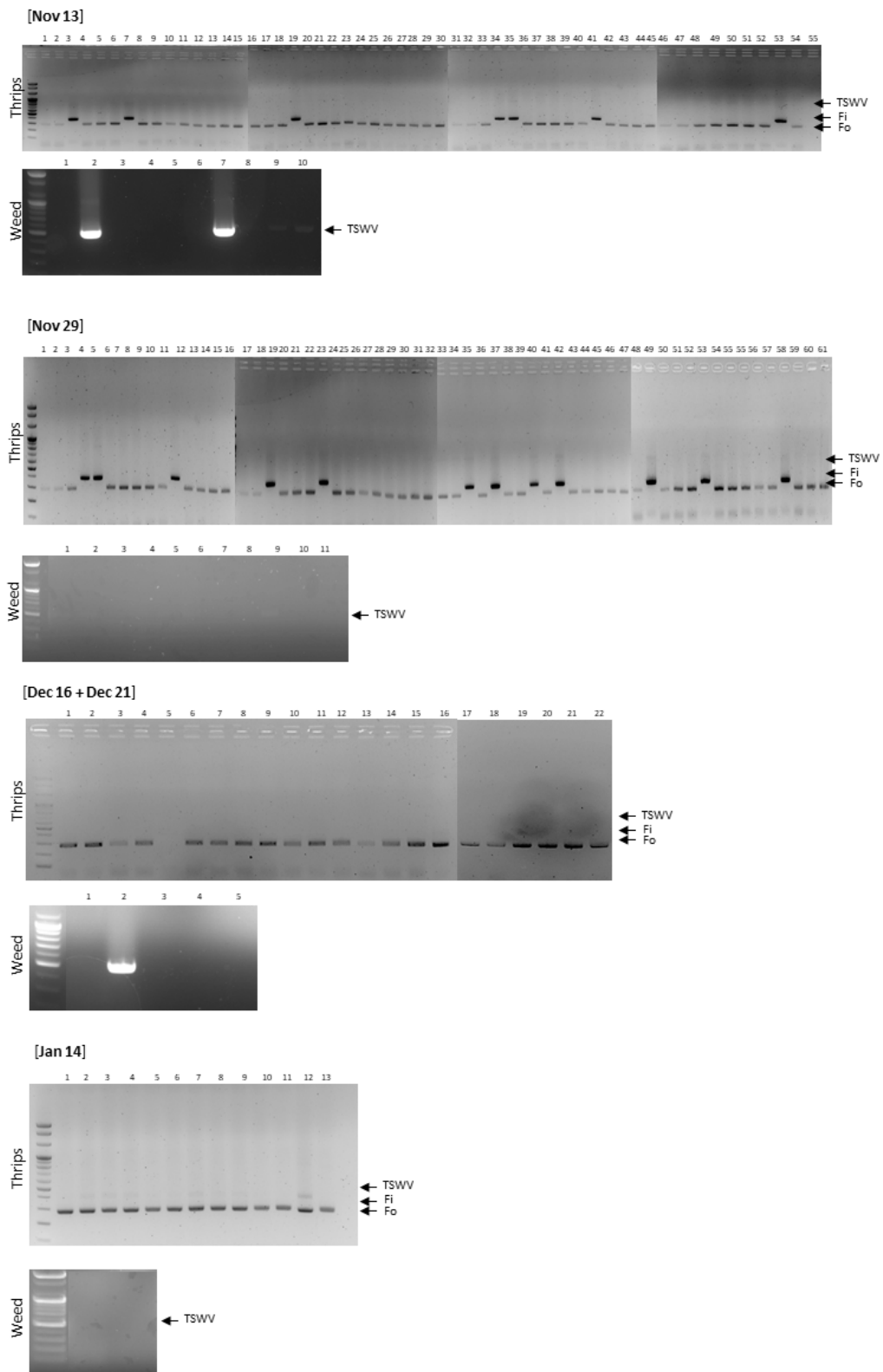


**Fig. 6.** Occurrence of *F. occidentalis* ('Fo') and *F. intonsa* ('Fi') infesting weeds in a greenhouse during winter (Oct 19, 2021 ~ Apr 13, 2022). The greenhouse was cultivated with hot pepper before the monitoring. (A) Molecular diagnosis of weeds infested by thrips. (B) Frequencies of the thrips in the different plant hosts.





**Fig. 7.** Occurrence of *F. occidentalis* ('Fo') and *F. intonsa* ('Fi') in soil samples of a greenhouse during winter (Oct 19, 2021 ~ Apr 13, 2022). Each soil sample was about 100 g and incubated at 25°C for 10 days to observe emerged adults. Sampling sites include outside ('a')/inside ('b') of Hahoe and outside ('c')/inside ('d') of Yongsang, in Andong.



**Fig. 8.** Detection of TSWV in overwintering site of *F. occidentalis* ('Fo') and *F. intonsa* ('Fi') in different sampling periods from Nov 13, 2021 to Jan 14, 2022. Multiplex PCR was applied to diagnose the virus and thrips. TSWV-positive weeds include *Rorippa palustris* and *Portulaca oleracea* in samples collected at Nov 13 and *Rorippa palustris* in samples at December. TSWV-negative samples include *Chenopodium album*, *Oxybasis glauca*, *Erigeron canadensis*, *Senecio vulgaris*, *Cardamine parviflora*, *Stellaria media*, and *Capsicum annuum*.

속이풀 잡초에서 뚜렷한 양성 반응을 확인하였다(Fig. 8). 잡초에서 수거한 총채벌레를 대상으로 TSWV를 multiplex PCR로 분석하였다. 이 결과 대부분 총채벌레는 꽃노랑총채벌레였고, 일부 대만총채벌레를 포함하여 모두 TSWV에 대해서 음성으로 확인되었다.

## 고찰

북미가 원산지인 꽃노랑총채벌레는 국내에서는 1993년 제주도에서 처음 보고가 되었고 현재는 전국으로 분포 범위가 확대되었다(Lee et al., 2001). 이러한 분포지 확대에는 변온동물로서 그리고 식식성 곤충으로 온도와 먹이 조건이 구비될 필요가 있다. 꽃노랑총채벌레의 광식성(Zhang et al., 2019)은 다양한 서식지로의 확대가 가능하였을 것으로 사료된다. 그러나 국내 겨울기간 빙점 이하의 낮은 저온은 이들 곤충이 서식지를 넓히는 데 제한 환경요인으로 작용하였을 것이다. 본 연구는 꽃노랑총채벌레의 서식지 확대에서 겨울기간 노출될 저온이라는 환경적 제약점에 대해서 이 곤충이 어떠한 적응력을 보일 수 있는지를 이 기간 농업 현장 모니터링과 실내 내한성 연구를 통해 분석하였다.

꽃노랑총채벌레는 동결감수성 곤충에 속한다. 체내빙결점을 조사한 결과 발육태별로 상이하지만, 약  $-25.7^{\circ}\text{C} \sim -15.0^{\circ}\text{C}$ 의 낮은 온도 범위를 보였다. 꽃노랑총채벌레에 대한 유사한 체내빙결점 측정이 덴마크 집단인 경우 성충에서  $-21.3^{\circ}\text{C}$ , 번데기에서  $-25.1^{\circ}\text{C}$  (Brødsgaard, 1993), 일본 집단인 경우는 성충에서  $-26^{\circ}\text{C}$  (Tsumuki et al., 2007)로 보고되었다. 본 연구에서는 국내 집단을 대상으로 발육 시기별로 분석이 이뤄졌으며 약충에 비해 번데기 그리고 성충으로 발달할수록 이러한 체내빙결점은 낮아졌다. 유사한 총채벌레로서 파총채벌레(*Thrips palmi*)도 체내빙결점을  $-27.0^{\circ}\text{C} \sim -18.4^{\circ}\text{C}$ 로 낮추면서 겨울기간 노출될 수 있는 저온에 대해 몸이 어는 것을 막았다(Park et al., 2014). 이는 물질의 과냉각 현상을 이용하여 이를 낮추어 체내빙결을 막으려는 전형적 동결감수성 곤충의 특징을 갖는다고 볼 수 있다(Ditrich, 2018). 흥미로운 점은 국내 토착종으로 여겨지는 대만총채벌레의 경우는 약충과 성충에서는 꽃노랑총채벌레와 유사한 체내빙결점을 보였지만, 번데기의 경우는 현격하게 낮은 체내빙결점을 보여 이들의 월동 휴면태가 번데기일 가능성을 제시하였다.

꽃노랑총채벌레와 대만총채벌레는 모두 저온 피해가 체내빙결점 보다 높은 온도에서 일어났다. 꽃노랑총채벌레의 경우 체내빙결점 보다 높은  $-10^{\circ}\text{C}$ 에서 노출시간이 길어질수록 사망률이 증가하였다. 이러한 저온감수성은 성충에 비해 약충에서

높았다. 종간 비교에서 꽃노랑총채벌레가 대만총채벌레에 비해 저온감수성이 낮았다. 그러나 두 곤충은 모두  $0^{\circ}\text{C}$ 에서 미리 노출 후  $-10^{\circ}\text{C}$ 로 처리하면 저온 감수성이 높아지는 급속내한성유기(rapid cold hardening: RCH) 현상을 보였다(Teets et al., 2020). 유사하게 점진적으로 저온으로 이동하는 저온순화(cold acclimation)도 내한성 증가를 유도하였다. 파총채벌레의 경우도  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 7시간 미리 노출시키면 내한성 증가를 보였고, 더불어 글리세롤과 같은 다가알코올의 증가가 체내에서 일어났다(Park et al., 2014). 따라서 이들 꽃노랑총채벌레와 대만총채벌레는 RCH에 의해 체내 내동결물질의 증가와 더불어 내한성이 더욱 증가한 것으로 해석된다. 자연계에서 계절의 변화가 비교적 점진적으로 일어나기에 이러한 RCH 또는 저온순화는 총채벌레가 여름에서 가을로 계절이 이동하면서 체내의 생리 변화가 일어나 비교적 높은 내한성을 갖고 겨울을 맞이한다고 볼 수 있다. RCH에 대한 생리적 변화는 비교적 높은 온도의 저온에 대해서 세포 내부에서 갈습이온 농도변화가 일어나고 이에 민감하게 반응하는 calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII)의 활성화로 RCH가 유도된다(Teets et al., 2013). RCH에 따른 CaMKII의 유전자 발현 변화가 오리엔탈과실파리에서도 관찰되었고, 이는 내한성 증가로 이루어졌다(Ahn et al., 2018). 따라서 총채벌레류의 RCH에 따른 내동결물질 증가는 CaMKII의 활성화와 관련이 있을 수 있다. 이에 대한 부분은 추후 규명될 필요가 있다.

월동의 양상은 꽃노랑총채벌레와 대만총채벌레 사이에 상이했다. 대만총채벌레는 일장에 따라 번데기에서 성충으로 우화되지 않은 반면, 꽃노랑총채벌레는 우화하였다. 일장 조건에 꽃노랑총채벌레의 발육기간 및 생식이 무관하다는 것은 보고된 바 있다(Ishida et al., 2003). 실제로 본 연구에서는 겨울기간 야외의 모니터링을 통해 잡초에서 채집된 총채벌레는 대부분 꽃노랑총채벌레로서 이 기간 동안에도 이들은 기주 주변에서 지속해서 발육하는 것으로 보였다. 반면에 대만총채벌레는 겨울기간에는 기주 또는 토양에서 발생하지 않다가, 이른 봄 수거해 온 토양에서 우화하는 양상을 보였다. 이러한 관찰 자료는 대만총채벌레가 번데기로 휴면하면서 이른 봄 성충으로 우화하였을 것으로 판명된다. 대만총채벌레의 휴면은 Lee et al. (2001)에 의해 예견된 것으로 본 연구는 이를 뒷받침하고 있다. 또한 앞에서 기술한 대만총채벌레의 번데기 발육태가 비교적 낮은 체내빙결점을 가지고 있다는 점은 이들이 번데기 태를 이용하여 휴면하고 월동하는 것이 생존에 유리할 것으로 판단된다.

겨울기간 트랩, 잡초, 토양에서 채취한 자료를 살펴보면 꽃노랑총채벌레와 대만총채벌레의 상이한 월동처를 추정하게 된다. 먼저 야외 설치한 황색트랩에서는 12월 이후 3월까지 두 곤

충 종 모두 포획되지 않았다. 즉, 야외 조건에서 총채벌레의 성충은 월동하지 않는다는 것을 알 수 있다. 그러나 시설재배지 내부에서는 황색트랩에 성충이 포획되었고 또 잡초를 제거하기 전까지 꽃노랑총채벌레가 존재하였다. 또한 겨울 기간 채집된 토양시료에서도 지속적으로 성충 우화를 관찰하였다. 반면에 대만총채벌레는 시설재배지 내부 황색트랩은 물론이고 잡초에서 발견되지 않았다. 토양시료의 경우는 11월과 12월 시료에서는 우화되지 않다가 1월 이후의 시료에서 우화하는 성충을 관찰하였다. 이상의 자료는 실내 일장 조건에 따라 번데기 상태로 대만총채벌레의 휴면이 유지된다는 사실을 기초하여 상이한 월동 방식 및 월동처를 내포하였다. 즉, 휴면 기작을 보유한 대만총채벌레의 경우 가을기간 짧아지는 일장을 인식하고 번데기 휴면발육을 가동하였을 것으로 본다. 실제로 본 연구의 실내 일장 처리 실험에서 낮 길이가 10시간 이하로 줄어들면 대만총채벌레 우화율이 급격하게 낮아지는 것을 미뤄 번데기 발육태로 대만총채벌레가 휴면할 것으로 추정된다. 반면에 휴면기작을 가지고 있지 않는 꽃노랑총채벌레의 경우는 겨울기간에도 발육이 지속적으로 진행되었고 이때 생명을 유지하기 위한 영양분은 이들의 광식성을 바탕으로 다양한 잡초에서 충족하였을 것으로 사료된다. 이와 관련되어 Lee et al. (2001)은 제주 지역에서 월동 기간에 대만총채벌레와 꽃노랑총채벌레의 월동충 동태를 분석하였다. 이 연구에서 보면 이들이 전체 13과에 속한 월동 기주를 대상으로 이들 가운데 꽃노랑총채벌레가 19종, 대만총채벌레가 12종 식물에서 각각 발견되었다. 더욱이 이러한 기주에서 발견되는 대만총채벌레는 대부분(81.4% = 70 마리/총 86마리)이 4월 이후 집단인 반면, 꽃노랑총채벌레는 약 96%가 12월~3월에 발생한 잡초에서 발견되었다. 본 연구에서도 대만총채벌레는 9종 분석 대상 식물 중 가운데 4종 기주(명아주, 좁쌀, 속속이풀, 고추)에서 11월까지만 발견되었고, 12월 이후의 겨울기간 동안에는 발견되지 않았다. 반면에 꽃노랑총채벌레는 조사된 모든 9종 식물 모두에서 발견되었으며 겨울기간에도 발견되었는데 특히 속속이풀에서는 지속해서 발견되었다. 따라서 대만총채벌레는 겨울 기간 상대적으로 부족한 기주 및 저온이라는 악조건을 회피하기 위해 번데기 휴면 발육을 통해 월동하는 반면, 꽃노랑총채벌레의 경우는 비교적 높은 내한성 기작을 바탕으로 극한 저온을 막아주는 시설재배지에서 광식성을 통한 다양한 기주에서 필요한 영양분을 보충하면서 월동하였을 것으로 추정된다.

이상의 결과는 꽃노랑총채벌레가 저온에 견디는 내한성을 보유하고 있다는 것을 실험적으로 증명하여 주었다. 그러나 겨울기간 대만총채벌레와 달리 휴면 기작이 없기에 냉해를 피하기 위해서는 시설재배지 쪽으로 이동하여 다양한 잡초를 기주

로 월동하였을 것으로 추정된다. 그렇다면 총채벌레는 어떻게 저온을 감지하고 이를 피할 수 있을까? 이러한 온도 감지 능력은 변온동물인 곤충에게는 생존에 절대적이다. 온도에 대한 동물의 행동반응은 주열성(走熱性, *thermotaxis*)으로 관찰되는데, 극한 온도에 대한 회피행동과 자신의 성장에 적합한 온도를 찾아가는 선택행동을 포함한다. 이를 위한 온도 감지는 감각기와 신경계로 구성된 열감각(熱感覺, *thermosensation*)으로부터 비롯된다(Li and Gong, 2017). 즉, 감각세포에서 일어나는 칼슘이온농도 변화와 이에 연결된 신경계의 전기적 자극을 포함하게 된다. 척추동물의 경우 TRPA1 (transient receptor potential A1)과 TRPM8은 저온감각에 관여하는 반면 TRPV1-4는 고온감지에 관여한다(Feng, 2014). 척추동물과 같이 곤충도 열감각은 TRP 채널단백질을 통해 전기신호로 생성된다(Barbagallo and Garrity, 2015). 그러나 이들의 상호 기작은 차이가 있어 초파리의 경우 TRPA1은 고온에 대한 신경자극을 만든다. 저온에 대한 신경자극은 척추동물의 TRPP (transient receptor potential polycyclic)에 해당하는 채널단백질인 *brv1*, *brv2* 및 *brv3*가 관여한다(Gallio et al., 2011). 외부 온도 변화를 탐지하기 위해 체표면에 위치한 온도감각기에 말초신경계가 연결된다. 초파리의 경우 저온감각신경은 TRPP 채널을 구성하는 감각신경이 촉각자모(*aristae*)와 촉각 3번째 마디에 존재하는 소낭(*sacculus*)에 존재한다(Gallio et al., 2011). 반면에 고온감각신경은 맛각수용체인 *GR28B(D)*를 발현하는데 촉각자모 기부에 위치한다(Ni et al., 2013). 이러한 저온 및 고온 감각신경은 중추신경계인 PAP (proximal antennal protocerebrum)에 각각 연결되어 궁극적으로 뇌에서 주변 온도변화를 인식하게 된다. 몸 내부 체온 변화는 TRPA1이 발현되는 AC (anterior cell) 뉴런이 뇌의 전방에서 발기되어 대뇌 여러 부위에 연결된다(Hamada et al., 2008). 유충에서도 머리 앞쪽에 존재하는 두 기관인 말단기관(*terminal organ*)과 위쪽기관(*dorsal organ*)이 체벽 바로 아래 위치하여 외부 온도가 25°C 이하로 내려가는 것을 감지하여 수상돌기를 통해 TOG (*terminal organ ganglia*)/DOG (*dorsal organ ganglia*)로 각각 보내어 온도변화를 인식하게 된다(Ni et al., 2016). 즉, 꽃노랑총채벌레에서도 TRP류의 이온통로가 온도에 민감하게 반응하면서 생성된 감각전위가 신경을 따라 대뇌로 이동되어 저온을 감지하면서 시설재배지 내부로 이동하여 월동을 할 것으로 추정된다.

이상의 결과는 두 총채벌레가 국내 서식지에서 월동할 가능성을 제시하고 있다. 두 총채벌레는 모두 내한성 기작을 보유하고 있어 국내 저온 조건에서 생존력을 높일 수 있다. 그러나 월동 발육생리는 상이하야 대만총채벌레는 휴면기작으로 월동하지만, 꽃노랑총채벌레는 휴면기작 없이 대체 기주를 통한 동계

발육을 통해 월동한다고 제시하고 있다. 즉, 꽃노랑총채벌레의 경우 야외에서는 월동이 불가능하기에 시설재배지 내부의 대체기주인 잡초제거를 통해 방제가 가능하다. 그러나 대만총채벌레의 경우는 지하부에서 시설 내부 또는 외부에서 월동이 가능하기에 동계방제 적용이 어려울 수 있다.

## 사 사

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ01578901)과 안동대학교 기본연구지원사업에 의해 이루어졌다.

## 저자 직책 & 역할

김철영: 안동대, 대학원생; 총채벌레 모니터링  
 최두열: 안동대, 대학원생; 총채벌레 모니터링  
 칸팔구니: 안동대, 대학원생; 다중 PCR 분석  
 따핍호사인: 안동대, 대학원생; 야외모니터링  
 홍주안: 안동대, 학부생; 총채벌레 내한성 분석  
 김용균: 안동대, 교수; 실험설계 및 논문작성

모든 저자는 원고를 읽고 투고에 동의하였음.

## Literature Cited

- Ahn, J., Choi, K., Huang, S.Y., Al Baki, M.A., Ahmed, S., Kim, Y., 2018. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*, and its association with rapid cold hardiness. *J. Asia Pac. Entomol.* 21, 1275-1282.
- Bale, J.S., Hayward, S.A., 2010. Insect overwintering in a changing climate. *J. Exp. Biol.* 213, 980-994.
- Barbagallo, B., Garrity, P.A., 2015. Temperature sensation in *Drosophila*. *Curr. Opin. Neurobiol.* 34, 8-13.
- Brødsgaard, H.F., 1993. Cold hardiness and tolerance to submergence in water in *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Environ. Entomol.* 22, 647-653.
- Costanzo, J.P., Humphreys, T.L., Lee, Jr., R.E., Moore, J.B., Lee, M.R., Wyman, J.A., 1998. Long-term reduction of cold hardiness following ingestion of ice-nucleating bacteria in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *J. Insect Physiol.* 44, 1173-1180.
- Ditrich, T., 2018. Supercooling point is an individually fixed metric of cold tolerance in *Pyrrhocoris apterus*. *J. Therm. Biol.* 74, 208-213.
- Dong, W., Cheng, T., Li, C., Xu, C., Long, P., Chen, C., Zhou, S., 2014. Discriminating plants using the DNA barcode rbcLb: an appraisal based on a large data set. *Mol. Ecol. Resour.* 14, 336-343.
- Feng, Q., 2014. Temperature sensing by thermal TRP channels: thermodynamic basis and molecular insights. *Curr. Top. Membr.* 74, 19-50.
- Gallio, M., Ofstad, T.A., Macpherson, L.J., Wang, J.W., Zuker, C.S., 2011. The coding of temperature in the *Drosophila* brain. *Cell* 144, 614-624.
- Hamada, F.N., Rosenzweig, M., Kang, K., Pulver, S.R., Ghezzi, A., Jegla, T.J., Garrity, P.A., 2008. An internal thermal sensor controlling temperature preference in *Drosophila*. *Nature* 454, 217-220.
- Hasebe, M., Omori, T., Nakazawa, M., Sano, T., Kato, M., Iwatsuki, K., 1994. rbcL gene sequences provide evidence for the evolutionary lineages of leptosporangiate ferns. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 5730-5734.
- Ishida, H., Murai, T., Sonoda, S., Yoshida, H., Izumi, Y., Tsumuki, H., 2003. Effects of temperature and photoperiod on development and oviposition of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). *Appl. Entomol. Zool.* 38, 65-68.
- Jung, J.K., Seo, B.Y., Kim, Y., Lee, S.W., 2016. Can *Maruca vitrata* (Lepidoptera: Crambidae) over-winter in Suwon area? *Korean J. Appl. Entomol.* 55, 439-444.
- Kim, Y., Kim, N., 1997. Cold hardiness in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environ. Entomol.* 26, 1117-1123.
- Kim, Y., Song, W., 2000. Effect of thermoperiod and photoperiod on cold tolerance of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environ. Entomol.* 29, 868-873.
- Kim, Y., Lee, D.W., Jung, J.K., 2017. Rapid cold-hardening of a subtropical species, *Maruca vitrata* (Lepidoptera: Crambidae), accompanies hypertrehalosemia by upregulating trehalose-6-phosphate synthase. *Environ. Entomol.* 46, 1432-1438.
- Kim, C.Y., Choi, D.Y., Kang, J.H., Ahmed, S., Kil, E.J., Kwon, G.M., Lee, G.S., Kim, Y., 2021. Thrips infesting hot pepper cultured in greenhouses and variation in gene sequences encoded in TSWV. *Korean J. Appl. Entomol.* 60, 381-401.
- Kita, Y., Ito, M., 2000. Nuclear ribosomal ITS sequences and phylogeny in East Asian *Aconitum* subgenus *Aconitum* (Ranunculaceae), with special reference to extensive polymorphism in individual plants. *Plant Syst. Evol.* 225, 1-13.
- Lee, G.S., Lee, J.H., Kang, S.H., Woo, K.S., 2001. Thrips species (Thysanoptera: Thripidae) in winter season and their vernal activities on Jeju island, Korea. *J. Asia Pac. Entomol.* 4, 115-122.
- Lee, R.E. Jr., Damodaran, K., Yi, S.X., Lorigan, G.A., 2006. Rapid cold-hardening increases membrane fluidity and cold tolerance of insect cells. *Cryobiology* 52, 459-463.
- Li, K., Gong, Z., 2017. Feeling hot and cold: thermal sensation in *Drosophila*. *Neurosci. Bull.* 33, 317-322.
- Ni, L., Bronk, P., Chang, E.C., Lowell, A.M., Flam, J.O., Panzano, V.C., Theobald, D.L., Griffith, L.C., Garrity, P.A., 2013. A gustatory receptor paralogue controls rapid warmth avoidance in *Drosophila*. *Nature* 500, 580-584.

- Ni, L., Klein, M., Svec, K.V., Budelli, G., Chang, E.C., Ferrer, A.J., Benton, R., Samueal, A.D.T., Garrity, P.A., 2016. The ionotropic receptors IR21a and IR25a mediate cool sensing in *Drosophila*. *Elife* 5, e13254.
- Park, Y., Kim, Y., 2013. RNA interference of glycerol biosynthesis suppresses rapid cold hardening of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *J. Exp. Biol.* 216, 4196-4203.
- Park, Y., Kim, K., Kim, Y., 2014. Rapid cold hardening of *Thrips palmi* (Thysanoptera: Thripidae). *Environ. Entomol.* 43, 1076-1083.
- SAS Institute, Inc., 1989. SAS/STAT User's Guide. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- Sinclair, B.J., 2015. Linking energetics and overwintering in temperate insects. *J. Therm. Biol.* 54, 5-11.
- Storey, K.B., 1997. Organic solutes in freezing tolerance. *Comp. Biochem. Physiol.* 117A, 319-326.
- Storey, K.B., Storey, J.M., 2013. Molecular biology of freezing tolerance. *Comp. Physiol.* 3, 1283-1308.
- Teets, N.M., Yi, S.X., Lee, R.E. Jr., Denlinger, D.L., 2013. Calcium signaling mediates cold sensing in insect tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110, 9154-9159.
- Teets, N.M., Gantz, J.D., Kawarasaki, Y., 2020. Rapid cold hardening: ecological relevance, physiological mechanisms and new perspectives. *J. Exp. Biol.* 223, jeb203448.
- Teets, N.M., Denlinger, D.L., 2014. Surviving in a frozen desert: environmental stress physiology of terrestrial Antarctic arthropods. *J. Exp. Biol.* 217, 84-93.
- Toxopeus, J., Sinclair, B.J., 2018. Mechanisms underlying insect freeze tolerance. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 93, 1891-1914.
- Tsumuki, H., Ishida, H., Yoshida, H., Sonoda, S., Izumi, Y., Murai, T., 2007. Cold hardiness of adult western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). *Appl. Entomo. Zool.* 42, 223-229.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, in: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J. (Eds), PCR protocols. A guide to methods and applications. Academic Press, SanDiego, CA, USA, pp. 315-322.
- Yi, S.X., Lee, R.E. Jr., 2003. Detecting freeze injury and seasonal cold-hardening of cells and tissues in the gall fly larvae, *Eurosta solidaginis* (Diptera: Tephritidae) using fluorescent vital dyes. *J. Insect Physiol.* 49, 999-1004.
- Zachariassen, K.E., Kristiansen, E., 2000. Ice nucleation and anti-nucleation in nature. *Cryobiology* 41, 257-279.
- Zhang, B., Qian, W., Qiao, X., Xi, Y., Wan, F., 2019. Invasion biology, ecology, and management of *Frankliniella occidentalis* in China. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 102, e21613.