

복승아흑진딧물의 殺虫劑抵抗性에 關한 研究(IV) —Oxydemeton-methyl 淘汰에 依한 抵抗性發達, 交叉抵抗性 및 Esterase Isozymes—

崔 承 允¹ · 金 吉 河²

CHOI, SEUNG-YOON AND GIL-HAH KIM: Studies of Insecticide Resistance in the Green Peach Aphid, *Myzus persicae* (Sulz.) (IV). Oxydemeton-methyl Resistance Development, Cross Resistance and Esterase Isozymes.

Korean J. Plant Prot. 25(3) : 151-157 (1986)

ABSTRACT Population of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulz.), were successively selected(up to 20th generation) in the laboratory by the insecticide oxydemeton-methyl (Metasystox-R 25Ec) and the resistance was linearly increased with the selected generations. The population developed 355.5-to 359.9-fold resistance to oxydemeton-methyl at 20th generation-selection. The population showed cross resistance to the insecticides cypermethrin(770.1-to 778.5-fold), acephate(25.6-to 33.2-fold) and pirimicarb(3.4-to 3.6-fold). The different esterase isozymes were detected by the electrophoresis from the selected and non-selected strains and the band of the β -2 from the selected strain showed greater esterase activity than that of the non-selected strain.

緒 論

害虫의 殺虫劑抵抗性은 Melander(1914)의 報告에서 비롯되어 관심을 갖게 되었으며, 진딧물에 관한 殺虫劑抵抗性은 목화진딧물(*Aphis gossypii*)의 청산가스훈증시험에서 비롯되었는데 (Boyce, 1928) 본격적인 研究는 有機合成殺虫劑가 사용되면서 始作되었다.

복승아흑진딧물의 OP抵抗性研究는 Anthon(1955)의 研究報告 이후라 보아진다.

최근 國內에서 진딧물의 藥劑防除에서 자주 殺虫效果의 低下問題가 제기되고 있다. 이에서 1983年 이후 복승아흑진딧물의 殺虫劑抵抗性에 관한 研究를 시작하게 되었다. 前報(崔, 1985; 崔·金, 1986a)에서 國내에 등록된 13個 진딧물 약을 供試하여 13個 地域의 복승아흑진딧물에 대한 感受性 差異를 研究하여 報告한 바 있다. 그 研究 報告에서 복승아흑진딧물의 殺虫劑 感受性에 큰 差異가 있음을 확인하였고 그들 差異는 殺虫劑의 種類, 진딧물의 採集地域에 따라 큰 차이가 있음을 알 수 있었다. 이에서 이들을 보

다 구체적으로 복승아흑진딧물의 殺虫劑抵抗性을 研究하기 위하여 몇 가지 殺虫劑를 供試하여 室內에서 累代淘汰試驗을 實施, 抵抗性發達速度와 程度, 他殺虫劑와의 交叉抵抗性, 抵抗性系統과 感受性系統間의 esterase isozyme을 檢討해 보고자 하였다.

前報(崔·金, 1986b)에서는 acephate의抵抗性發達과 交叉抵抗性을 다루어 報告하였는데 그 結果는 本研究와 相異點이 많았다. 本報에서는 oxydemeton-methyl의抵抗性發達, 交叉抵抗性 및 esterase isozyme에 관하여 報告코자 한다.

本研究의 수행을 위하여 研究費를 지원해 준 韓國科學財團側에 謝意를 表한다.

材料 및 方法

1. 試驗材料

供試材料: 시험에 사용한 복승아흑진딧물(green peach aphid, *Myzus persicae*)은 1983년도 서울대학교 농과대학 주변 배추밭에서 채집, pot에 재식한 담배묘에서 증식, 사육하면서(25±3°C) 필요한 공시충(무시자충)을 확보하였다. 한편 실내에서 2년간 殺虫劑에 노출시키지 않고 累代飼育한 系統을 感受性系統으로 하였다.

供試殺虫劑: 시험에 사용된 殺虫劑는 oxyde-

1 서울大學校 農科大學 農生物學科(College of Agriculture, Seoul Nat'l University, Suwon, Korea)

2 韓國化學研究所 有機第2研究室(Korean Research Institute of Chemical Technology Daejon, Korea)

Table 1. Test insecticides

Common name	Trade name/formulation	Chemical name
oxydemeton-methyl	Metasystox-R 25 Ec	S-2-ethylsulfinylethyl 0,0-dimethyl phosphorothioate
acephate	Ortran 50 Wp	0, S-dimethyl N-acetyl phosphoroamidothioate
cypermethrin	Ripcord 5 Ec	α -cyano-3-phenoxybenzyl(IRS) cis, trans-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethyl-cyclopropane-carboxylate
pirimicarb	Pirimo 25 Wp	2-dimethylamino-5,6-dimethylpyridin-4-yl-dimethylcarbamate

meton-methyl, acéphate, cypermethrin 및 pirimicarb 4種이었으며淘汰에 사용한殺虫劑는 oxydemeton-methyl이었다. 이들의一般名, 商品名, 製劑 및 化學名은 Table 1에 表示된 바와 같다.

2. 試驗方法

殺虫劑의 處理方法: 살충제의 처리방법은 FAO(1980)에서 제시한 진딧물·試驗方法을 약간 수정한 잎침지법(leaf-dipping method)으로 실시하였는데 먼저 담배잎을 소정 회석 살충제액에 30초간 浸漬한 다음 30~60분간 隱乾하여 시험에 사용하였다. 浸漬處理된 잎은 가로 6cm×세로 6cm 크기로 잘라 직경 9cm 정도의 샤크-레에 여지를 깔고 그 위에 놓았다. 샤크-레내 담배잎에 진딧물을 무시자총을 20마리씩 접종하였으며 이들은 明暗條件이 16:8時間으로 조절된 恒溫室(25°C)에 비치하고 접종 후 24, 48時間에서 生死虫을 調査하였다. 이들은 補正殺虫率을 구한 다음 probit分析(Finney, 1963)을 거쳐 LC_{50} , LC_{95} 價를 산출하였다.

抵抗性發達試驗: 室內系統을 oxydemeton-methyl로 50% 殺虫率을 나타내는 濃度水準으로 每世代淘汰를 거듭하였다.淘汰過程에서 抵抗性이 增大하여 殺虫率이 크게 낮아졌을 경우에는濃度水準을 다시 높여가면서淘汰를 계속하였다.淘汰 5世代, 10世代, 15世代, 20世代에서 잎에서 언급한 방법에 따라 LC_{50} , LC_{95} 價를 구하여 증대된抵抗性 정도를 檢討하였다.

交叉抵抗性檢定: 交叉抵抗性에 관한 試驗은 앞에서와 같은 方法으로 실시하였다. oxydemeton-methyl淘汰抵抗性 系統에 대한 acephate, cypermethrin, pirimicarb의 LC_{50} , LC_{95}

價를 구하여 殺虫劑間의 交叉抵抗性의 有無 또는 程度를 檢討하였다.

Esterase isozyme의 檢出: oxydemeton-methyl 20世代淘汰抵抗性系統과 感受性系統을 公시하여 agarose gel electrophoresis에 의한 esterase isozyme을 檢出하여 두 系統間의 泳動帶를 比較하였다. 電氣泳動法은 Ohba and Sasaki (1968)에 準하였다. 전기영동 중에 發生하는 熱을 效率적으로 分散시키기 위하여 두께 0.2cm의 유리판을 가로·세로 $10 \times 12\text{cm}$ 로 잘라 평판을 만들었다. 이 平板에서 esterase를 分離하기 위하여 0.8% 한천 gel을 입힌 후(두께 1.5mm 이하) 여지에 吸收시킨 供試 진딧물 體液을 gel에 30分間 침투시켰다. 電氣泳動은 4°C 에서 90分間 實施하였다. 이 때 사용된 Buffer溶液은 pH6.8의 phosphate buffer이었다. 電氣泳動 후에 esterase의 分離와 activity를 관찰하기 위하여 2.5% α -naphthyl acetate와 β -naphthyl acetate 0.5% 基質溶液을 acetone으로 만든 후에 분무하여 37°C 에서 20分間 反應시킨 후, 그 反應生成物을 0.5% α -fast blue BB salt solution으로 染色하여 관찰하였다.

結果 및 考察

1. Oxydemeton-methyl淘汰에 의한抵抗性發達速度

室內系統을 oxydemeton-methyl 乳劑로 累代淘汰하여淘汰 5, 10, 15, 20世代에서 얻어진 oxydemeton-methyl의 回歸方程式, LC_{50} , LC_{95} 價는 Table 2에 表示된 바와 같으며抵抗性發達速度는 Fig. 1에 나타낸 바와 같다.

Table 2와 Fig. 1에서 보는 바와 같이淘汰世

Table 2. Development of resistance in the green peach aphid successively selected by oxydemeton-methyl

No. generations selected	Exp. period in hrs	Regression equation	df	LC ₅₀ (ppm)	LC ₉₅ (ppm)
parental	24	$Y=2.41x+3.28$	1	5.4	24.9
F_5	48	$Y=1.85x+5.06$	3	2.3	7.2
	24	$Y=1.65x+3.46$	4	8.6	85.1
F_{10}	48	$Y=1.51x+3.95$	3	5.0	60.8
	24	$Y=2.37x+0.86$	3	55.8	276.2
F_{15}	48	$Y=2.40x+1.36$	4	33.1	160.8
	24	$Y=2.55x-1.23$	7	276.1	1266.1
F_{20}	48	$Y=1.49x+2.21$	7	122.1	967.8
	24	$Y=2.21x-0.27$	6	360.0	1387.3
	48	$Y=2.00x+0.68$	7	214.4	974.8

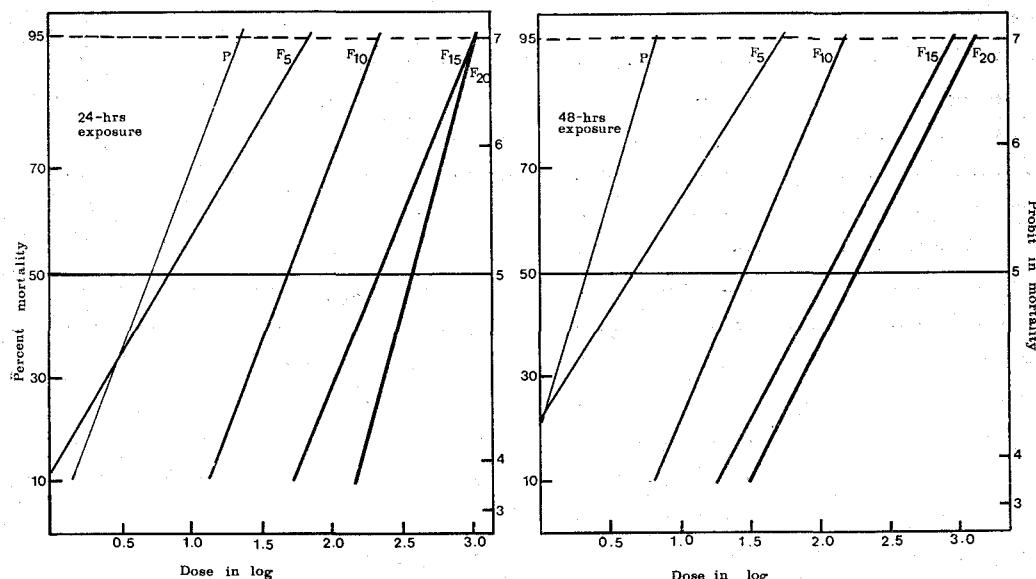


Fig. 1. Log dose-mortality regression lines of the green peach aphid successively selected by oxydemetonmethyl(in 24-and 48hs-exposures). p : parent strain.

代가 진행됨에 따라 LC₅₀, LC₉₅값이 현저히 증가됨을 알 수 있다. 즉 parental世代에서 LC₅₀값은 2.3ppm(48時間)~5.4ppm(24時間)인데 비하여 10世代에서는 33.1~55.8ppm으로 증가하였으며 20世代에서는 214.4~360.0ppm으로 크게 증가하였다. 이들抵抗性發達速度를 보면淘汰世代 5世代까지는 완만한 증가 속도를 보이나 10世代에서부터 급속히 증가하여淘汰世代 20世代에서는 더욱 크게 증대, 거의直線의抵抗性增大를 보였다.

어느 殺虫劑에서나 또는 어느 害蟲에서나 殺

虫劑로 累代淘汰하면 淘汰世代가 진행됨에 따라抵抗性이 增大한다는 點에서는 재론의 여지가 없으나 반드시 直線的인 增大만을 계속하느냐에 대해서는 異論이 구구하게 나타날 수 있다. 일 반적으로抵抗性發達速度와 程度는 昆蟲의 種類, 性・虫態・令期와 殺虫劑의 化學的 特性, 以前에 사용된 化學物質과의 關係, 残留性, 製形, 施用量, 淘汰壓 등 여러가지 要因이 關係하고 있으므로(Georghiou and Taylor, 1976) 本 實驗에서抵抗性增大가 直線的으로 나타난 것은 再檢討의 여지가 있다. 만약 每世代마다抵抗性

發達程度를 확인하였다면 抵抗性發達이 直線的으로 나타나지 않았을 가능성을 배제할 수는 없을 것으로 본다.

日本의 淩野(1979)는 5년 간격으로 같은 地域에서 복승아혹진딧물을 採集하여 有機燐系殺虫劑들에 대한 感受性의 變動을 調査하였는데 殺虫劑感受性低下에 因된抵抗性發達은 殺虫劑의 種類와 그들 使用量과 밀접한 關係가 있음을 報告하였으며 國內에서는 崔(1985), 崔·金(1986a, 1986b)에 의하여 복승아혹진딧물의 殺虫劑抵抗性을 研究하면서 이들의抵抗性發達速度는 殺虫劑의 種類에 따라 큰 차이가 있음을 報告하였다.

한편 崔(1985), 崔·金(1986a)은 복승아혹진딧물의 感受性은 진딧물의 採集地域 또는 殺虫劑의 種類에 따라 차이가 있음을 報告하였는데 本試驗結果로 미루어 볼 때 그들의抵抗性發達은 쉽게 이해할 수 있을 것 같다. 더욱이 복승아혹진딧물은 年間發生世代數가 많고 寄主轉換을 하기 때문에 殺虫劑에 의한淘汰機會가 많다는 점을 감안할 때 복승아혹진딧물의抵抗性發達도 다른 害蟲에 비하여 빠를 것이라는 점도 쉽게 수긍할 수 있을 것으로 본다. 또한 前報(崔·金, 1986b) acephate와 비교하면 oxydemeton-methyl의淘汰에서抵抗性發達速度가 훨씬 빠른데 이 또한 殺虫劑의 化學的特性에 因된 것으로 해석된다.

2. 20世代淘汰系統의抵抗性發達程度

Oxydemeton-methyl 20世代淘汰系統과 室內保有感受性系統의 回歸方程式과 LC₅₀價는 Table 3에 表示된 바와 같다.

Table 3에서淘汰 20世代系統의 LC₅₀價는 室內保有感受性系統의 그것에 비하여 크게 增大하였음을 나타내고 있다.

Oxydemeton-methyl 20世代淘汰系統은 處理

후 24時間調查에서 360배의抵抗性이 增大하였고 48시간調查에서는 357배의抵抗性이 增大하고 있음을 알 수 있다. 崔(1985), 崔·金(1986a)에 의하여 地域別 복승아혹진딧물의 oxydemeton-methyl 4個地域抵抗性調査에서 1.7~88.6倍(崔, 1985), 13個地域調査에서 0.1~24.8倍(崔·金, 1986a)의抵抗性을 報告하였는데 本試驗의 20世代淘汰系統에 비하여 아직 낮은 水準의抵抗性이라고 보아진다. 이와 같은 現象은 여러가지 側面에서 說明될 수 있을 것 같다. Georghiou and Taylor(1976)는 殺虫劑에 의한害蟲의抵抗性發達程度는 殺虫劑의 化學的特性,淘汰壓,抵抗性의遺傳子數,遺傳子의優性度,環境抵抗,殺虫劑의作用特性,昆蟲의特性 등 여러가지要因의支配를 받고 있음을 指摘하였다. 특히 室內에서의淘汰는 한정된 장소에서 집중적인淘汰가 되므로同一回數의淘汰를 받았다고 하더라도抵抗性發達程度가 높게 나타나는 것은 당연하다. 그리고 前報(崔·金, 1986b)에서 acephate 20世代淘汰에 비하여 本試驗의 oxydemeton-methyl 20世代淘汰에서 훨씬 빠르고 높게抵抗性이 나타나는 것은 殺虫劑의特性에서基因되는 것으로 본다.

3. Oxydemeton-methyl抵抗性과交叉抵抗性

Oxydemeton-methyl 20世代淘汰系統에 대한 acephate, cypermethrin, pirimicarb의殺虫力を試驗하여 얻어진回歸方程式, LC₅₀價는 Table 4에 表示된 바와 같다.

Table 4에서 보는 바와 같이 oxydemeton-methyl抵抗性系統은 oxydemeton-methyl에 대하여 LC₅₀價가 214.4~360.0ppm으로서 高度의抵抗性을 나타내고 있다.淘汰에 전혀 관여되지 않은 cypermethrin에 대해서도 LC₅₀價가 155.7~254.1ppm으로서 높은抵抗性을 나타내었으나 acephate와 pirimicarb에 대해서는 낮은

Table 3. LC₅₀ values(ppm) of oxydemeton-methyl to the green peach aphid (*M. persicae*) selected and non-selected

No. generations selected	Exp. period in hours	Regression equation	df	LC ₅₀ (ppm)
20th	24	$Y=2.20x-2.27$	6	360.0
	48	$Y=2.00x+0.68$	7	214.4
Non-selected	24	$Y=2.34x+5.00$	5	1.0
	48	$Y=2.20x+5.46$	4	0.6

Table 4. Susceptibility of the green peach aphid selected by oxydemeton-methyl(20th gen.) to some insecticides

Insecticide	Exp. period in hours	Regression equation	df	LC ₅₀ (ppm)
oxydemeton-methyl	24	Y=2.20x-0.27	6	360.0
	48	Y=2.00x+0.68	7	214.4
acephate	24	Y=1.41x+2.63	7	76.3
	48	Y=1.67x+2.44	6	34.2
cypermethrin	24	Y=2.31x-0.55	7	254.1
	48	Y=2.60x-0.71	4	155.7
pirimicarb	24	Y=2.49x+3.02	4	6.3
	48	Y=2.27x+3.84	3	3.3

Table 5. Cross resistant ratio among the insecticides with oxydemeton-methyl selected green peach aphid(*M. persicae*)

Exp. period in hrs	Cross resistant ratio ^a based on LC ₅₀ values(ppm)			
	oxydemeton-methyl	acephate	cypermethrin	pirimicarb
24	359.9	25.6	770.1	3.6
48	351.5	33.2	778.5	3.4

^a Resistant ratio = $\frac{\text{LC}_{50} \text{ value of the selected strain}}{\text{LC}_{50} \text{ value of the lab. susceptible strain}}$

LC₅₀價를 나타내었다. 이들을 感受性 系統에 대한 LC₅₀價로 抵抗性比로 나타내면 Table 5에 表示된 바와 같다.

Table 5에서 보는 바와 같이 oxymeton-methyl抵抗性 系統은 cypermethrin에 대하여 770.1~778.5배의抵抗性을 나타내어 그들간에高度의交叉抵抗性이 있음을 나타내고 있다. 그런가 하면 acephate나 pirimicarb와는 비교적 낮은交叉抵抗性을 나타내고 있어交叉抵抗性의有無와程度는殺虫劑의種類 또는 어느殺虫劑에 의하여抵抗性이發達되었느냐에 따라 차이가 있음을 알 수 있다. 그러므로前報(崔, 1985; 崔·金, 1986a)의 복승아후진딧물의殺虫劑感受性의抵抗性차이는 이들 사실로서 쉽게說明될 수 있을 것으로 본다. 그리고 이들交叉抵抗性은淘汰에 관여된殺虫劑보다도 관여치 않았던殺虫劑에서 더욱 높은抵抗性이發現될 수 있다. 이와 같은結果는本試驗에서뿐만 아니라前報(崔·金, 1986a)에서도 여실히 입증되었다.

4. 抵抗性·感受性 系統間의 esterase isozyme

Agarose gel 電氣泳動法에 의하여 oxydemeton-methyl 20世代淘汰抵抗性系統과感受性系統의 esterase isozyme을檢出한 바 그結果는 Fig. 2에 나타낸 바와 같다.

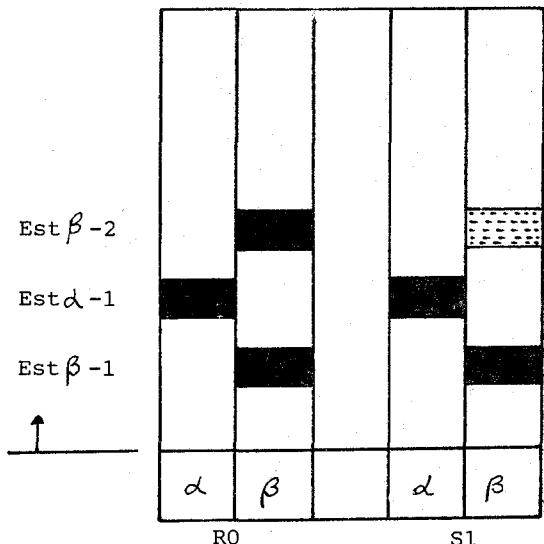


Fig. 2. Electrophoretic esterase patterns in the green peach aphid of the oxydemeton-methyl (RO) and the lab. strain(S1)

Fig. 2에서 보는 바와 같이 Est. α-1과 Est. β-1의泳動帶는 두系統에서 모두 강하게檢出되었으나 Est. β-2는感受性系統에 비하여淘汰抵抗性系統에서 훨씬 짙게檢出되었다.

Needham and Sawicki(1971)는 OP抵抗性 복승아후진딧물과感受性 복승아후진딧물을供試하-

여 nonspecific esterase의活性을測定하여 OP抵抗性系統에서 보다 강한 esterase活性을 나타냄을報告하였으며, Beranek(1974)는 starch gel泳動法에 의하여 복숭아혹진딧물의 nonspecific esterase를分離하였는데抵抗性 clone들의 esterase-2가感受性 clone들의 esterase-2보다活性이 강함을報告하였다. 또한 Blalckman등(1977)의報告에의하면 OP抵抗性系 복숭아혹진딧물은感受性 system의 진딧물보다 강한 esterase活性을 나타내었다고 한다. 崔·金(1986a)은 acephate淘汰抵抗性系 복숭아혹진딧물과感受性 system 진딧물간의 esterase isozyme을檢出을比較,研究하면서 역시 같은 경향으로 나타남을보고한 바 있다.

殺虫劑에 대한抵抗性形質은遺傳子에의하여支配되는데, Est. β -2가抵抗性遺傳子의支配를 받는 것으로 추측되나 이는 앞으로 좀더具體的研究를 통해 확인되어야 할 것이다.

摘要

本試驗은 OP系殺虫劑 oxydemeton-methyl(Metasystox-R 25 Ec)을供試하여室內感受性系統의복숭아혹진딧물(green peach aphid, *Myzus persicae*)을인위적으로累代淘汰하여抵抗性發達을誘發하고, 그들의發達速度와程度,他殺虫劑와의交叉抵抗性有無및그들抵抗性·感受性系統들의 esterase isozyme을檢討하기 위하여實施하였는데本結果를要約하면 아래와 같다.

1. Oxydemeton-methyl에 대한복숭아혹진딧물의抵抗性發達은淘汰世代가 진행됨에 따라 크게増大되었다.
2. Oxydemeton-methyl 20世代淘汰系統의 LC₅₀價는 214.4~360.0ppm이었고感受性系統의 LC₅₀價는 0.6~1.0ppm이었다.
3. Oxydemeton-methyl 20世代淘汰系統의복숭아혹진딧물은 oxydemeton-methyl에 대하여 355.5~359.9倍의抵抗性을 나타내었으며淘汰에 전혀 관여되지 않은他殺虫劑들中 cypermethrin에 대해서는高度의交叉抵抗性(770.1~778.5倍)을 나타내었으나, acephate에 대해서는낮은交叉抵抗性(25.6~33.2倍)을, pirimicarb

에 대해서는非交叉抵抗性(3.4~3.6倍)을 나타내었다.

4. 檢出된 esterase isozyme 중 Est. β -2는感受性系統에비하여 oxydemeton-methyl 20世代淘汰抵抗性系統에서 강하게 나타났다.

引用文獻

1. 浅野勝司. 1979. 昭和 54 年度 野菜害虫の殺虫剤抵抗性に關するシンポジウム講演要旨. 日本植物防疫協會 p. 53.
2. Anthon, E.W. 1955. Evidence for green peach aphid resistance to organophosphorous insecticides. J. Econ. Entomol. 48 (1) : 56~57.
3. Beranek, A.P. 1974. Stable and nonstable resistance to dimethoate in the peach-potato aphid(*Myzus persicae*). Ent. Exp. & Appl., 17 : 381.
4. Blackman, R.L., A.L. Devonshire, and R.M. Sawicki. 1977. Coinheritance of increased carboxylesterase activity and resistance to organophosphorous insecticides in *Myzus persicae*(Sulzer). Pestic. Sci., 8 : 163.
5. Boyce, A.M. 1928. Studies on the resistance of certain insects to hydrocyanic acid. J. Econ. Ent. 21 : 715~720.
6. Choi, S.Y. 1985. Studies of insecticide resistance in green peach-aphids, *Myzus persicae*(Sulz.) (1) (Korean with English abstract) J. National Academy of Science, Republic of Korea, Natural Science Series 24 : 285~309.
7. Choi, S.Y. and G.H. Kim. 1986a. Studies on the resistance of green peach aphids to insecticides(II) Local differences in susceptibility(Korean with English abstract) Korean J. Plant Prot. 24(4) : 223~230.
8. Choi, S.Y. and G.H. Kim. 1986b. Studies of resistance in the green peach aphids III. Acephate resistance, cross resistance, and esterase isozyme (Korean with English

- abstract) Korean J. Plant Prot. 24(2) : 99~105.
9. FAO. 1980. Methods for adult aphids. FAO method NO. 17. In Recommended Methods for Measurement of Pest Resistance to Pesticide Resistance as an Evolutionary Phenomenon. Proc. of XVth Intern. Cong. Ent. Wash. D.C. Aug. 19~27 : 759~785.
11. Melander, A.L. 1914. Can insect become resistant to spray? J. Econ. Entomol. 7 : 167~172.
12. Needham, P.H. and R.M. Sawicki. 1971. Diagnosis of resistance to organophosphorous insecticides in *Myzus persicae*(Sulz.) Nature 230(12) : 125~126.
13. Ohba, S., and F. Sasaki. 1968. Esterase isozyme polymorphism *D. virilis* population, Proc. XII Inter. Long. Gene. 2 : 156~157.