

돼지 간중의 Monooxygenase가 Diazinon의 분해에 미치는 영향*

류종국 · 이규승

The degradation of Diazinon by hepatic monooxygenase of Pig*

Jong-Gook Ryoo** · Kyu-Seung Lee**

Abstract

Two fractions(microsomal and soluble) were prepared by ultracentrifugation(105,000G for 1hr at 4°C) from pig liver in order to find the major factor in Diazinon degradation. The two enzyme activities showed the same value, but Diazinon was degraded three times in microsomal fraction more than in soluble fraction. And with addition of EPN, Beam and PBO, degradation of diazinon was inhibited(29, 30 and 60%) as well as Monooxygenase activity (14, 15 and 35%) in microsomal fraction, respectively.

1. 서 론

모든 생명체는 체내에 유입되는 외부물질(Xenobiotics)에 대항하는 방어기작을 가지고 있으며, 이러한 방어기작은 농약을 포함하는 기타 외부물질을 분해하여 약제에 대한 저항성을 발현시킨다^{1,2} 저항성 발달의 요인으로는 외부 독성물질의 지방층에의 축적, 활성 부위의 무감각성 내지는 변형 그리고 가장 큰 요인이라 볼 수 있는 신속한 분해에 기인한 배설작용의 촉진에 따른 해독작용의 증대 현상이 있다³. 이와같이 외부독성물질을 강력하게 분해시키는 효소로는 esterase, hydrolase등 이외에 mixed function oxidase(MFO)의 실체인 cytochrome P-450 dependent Monooxygenase를 들 수 있다^{4,5}. 이 효소는 세포내의 활면소포체(endoplasmic reticulum)에 위치하며, 동물의 간에 가장 많이 존재한다⁶. 외부독성물질이 생명체내에 들어오면 산화 환원반응의 전자 전달체인 cytochrome P-450의 heme철이

low spin state(6배위)에서 high spin state(5배위)로 변환되므로써 외부독성물질과 복합체를 형성한 후, NADPH-cytochrome C reductase에 의해 전자 1개가 효소-기질 복합체에 전달되어 신속한 heme철의 환원이 일어난다. 다시 산소 1분자와 3중의 기질-효소-산소 복합체가 형성되며 이것은 다시 NADH-reductase로 부터 전자 1개를 받아 superoxide를 형성한 후 기질의 산화와 H₂O를 형성하는 일련의 대사과정이 진행된다. 이 cycle을 경유하는 여러 외부독성 물질의 산화반응 기전의 주류는 CH hydroxylation, π -bond oxygenation, 비공유전자쌍의 산소화로 이루어진다⁷. 일단 hydroxylation이 일어나면 분자자체의 수용성이 커져 생체막 속으로의 통과가 어려워짐에 따라 배설이 용이하거나, 또는 안정성이 결여되어 쉽게 분해 되므로써 본래 가지고 있는 독성을 잃게 된다. 그러므로 생체내변환(Biotransformation)기작을 생물체내에서의 저항성 발현의 중요한 요인으로 다루고 있는 것이다^{8,9}.

* 본 논문은 한국과학재단의 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

** 충남대학교 농과대학 농화학과(Dept. of Agricultural Chemistry, Chungnam Natl. Univ.)

따라서 본 실험에서는 유기인계 살충제중 입제 형태로 토양에 처리될때 토양미생물에 의하여 분해가 쉽게 이루어져 약효발현에 문제가 되고있는 Diazinon제^{8,9)}를 선택하여, 잡식성 동물인 돼지 간에서의 분해와 Monooxygenase의 저해제중 heme철에 강력하게 CO복합체를 형성하여 M. O.활성을 저해하는 piperonyl butoxide¹⁰⁾, 일련의 heme합성 과정에 저해작용을 하는 triazole계 살충제인 Beam¹¹⁾과 아울러 유기인계 살충제인 EPN을 첨가하여, M. O.활성에 미치는 영향과 Diazinon제의 분해양상을 비교 검토하였다. 아울러 기존의 약제 자체만의 혼합제와는 다른 좀 더 기초적인 효소수준에서의 생화학적인 실험근거를 마련하여, 토양 미생물에 의하여 분해되는 정도를 최소화 할 수 있는 새로운 혼합제제를 조제하는 중간과정으로 본 실험을 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

(1) 공시재료

대전직할시 동구 대화동 소재 대전 도축장에서 4-6개월령 암돼지 생간을 구입하여 ice box에 넣어 실험실로 운반후 즉시 조효소액을 조제하였다.

(2) 시약

농약 표준품으로 Diazinon(97%), Beam(97%)은 서울농약(주)에서 공여 받았으며 EPN(97%)은 영일화학(주)에서 공여 받았다. NADP, glucose-6-phosphate, glucose-6-phosphate dehydrogenase는 Sigma社 그리고 α , β -naphthyl acetate와 p-nitroanisole, piperonyl butoxide는 Aldrich社의 GR급을 구입하였다. 또한 n-hexane, ethyl ether는 잔류농약 분석용, 기타 분석시약은 GR급을 이용하였다.

(3) 기기

냉동원심분리기(Sorvall RC-2B Centrifuge), UV/visible spectrophotometer(PU 8800, Pye Unicam Co.), G. C.(92GC, Instrumental Analysis Co.)등을 이용하였다.

2. 실험방법

(1) 조효소액 조제

돼지간 200g에 1.15% KCl, 1mM EDTA, 0.1mM PMSF가 함유된 0.1M phosphate buffer(pH 7.4) 200

ml를 가하여 glass homogenizer로 균질화 하였다. 이 액을 위생가제로 여과한후 1차로 9,000×g(20분, 4℃)에서 원심분리하여 얻은 상정액을 다시 2차로 105,000×g(1시간, 4℃)로 초원심분리하여 상정액(soluble fraction, Esterase)과 침전물(microsomal fraction, Monooxygenase)로 나누어 냉동고 -60℃에 보관하면서 다음실험에 이용하였다.

(2) 효소활성 측정

M. O.(Monooxygenase)활성 측정은 Shang(1984)의 방법¹²⁾에 준하여 실시하였다. 10ml시험관에 microsomal fraction 1ml(3mg protein/ml), 0.1M phosphate buffer(pH 7.4) 2ml, 0.35mM p-nitroanisole 1ml, NADPH generating system 1ml를 가하고 37℃에서 반응시키면서, 0, 5, 10, 20, 30, 60, 120분마다 3반복으로 시료를 취하여, chloroform 5ml로 격렬히 진탕한 후 100ml의 separate funnel로 분리한 chloroform층에 5N NaOH 5ml를 가하여 생성된 p-nitrophenol을 400nm에서 측정하였다. 비교치로서 조효소액 무처리구(buffer)와 NADPH generating system 무처리구를 병행하여 실험하였다. NADPH generating system은 20mM glucose-6-phosphate, 1.8 unit glucose-6-phosphate dehydrogenase, 20mM NADP를 phosphate buffer(pH 7.4)에 녹여서 사용하였다⁴⁾.

Esterase활성 측정은 Riskillah(1979)의 방법¹³⁾에 준하여 α , β -naphthyl acetate를 기질로 이용하여 생성된 α , β -naphthol을 효소활성으로 측정하였다. 각각 1mM α , β -naphthyl acetate, soluble fraction 1ml (3mg protein/ml), 0.1M phosphate buffer(pH 6.5) 5ml를 넣어 40℃의 물중탕에서 0, 15, 30, 60, 120, 480분에 MeOH 5ml로 반응을 중지시키고 3반복으로 시료를 취하여 0.25% 4-aminoantipyrine 1ml, 0.35% potassium ferricyanide 1ml를 넣어 40분후에 생성된 naphthol을 480nm에서 측정하였다.

(3) Diazinon의 분해율 측정

1) Microsomal fraction에서의 Diazinon분해

: 시험관에 조효소액 1ml(3mg protein/ml), 0.1M phosphate buffer(pH 7.4) 8.9ml, 1,000ppm Diazinon(in EtOH) 10 μ l, NADPH generating system 0.1ml 처리후 37℃로 유지하면서 0, 15, 30, 60, 120, 180, 240분에 3반복으로 시료를 채취하여 ethyl ether 3ml씩 3번 추출하고, ether층을 질소 가스로 날려 보낸 뒤 hexane 1ml를 가하여 G. C.(FPD)로 주성분 감소량을 측정하였다. 이때의 회수

율은 5반복 평균 93.5%였다.

2) Soluble fraction에서의 Diazinon 분해

: 시험관에 조효소액 1ml(3mg protein/ml), 0.1M phosphate buffer(pH 6.5) 9ml, 1,000ppm(in EtOH) 10 μ l 처리후 40 $^{\circ}$ C로 유지하면서 0, 30, 60, 120, 240, 480분에 시료를 채취하여 이하 위의 방법에 준하여 실시하였다.

(4) 단백질 정량

Lowry 방법¹⁴⁾에 준하여 실시하였다.

(5) Monooxygenase활성 저해제 첨가효과

Piperonyl butoxide[2-(2-butoxy)ethyl-6-propyl piperonyl ether], Beam[5-methyl-1, 2, 4-triazole(1, 3) benzothiazole] 그리고 EPN[0-ethyl-0-4-nitro-phenyl phenylphosphorothioate]을 1ppm이 되도록 첨가하여 Diazinon의 분해율과 M. O.활성을 조사하였다.

III. 결과 및 고찰

Diazinon제는 유기인계 살충제로서, 개발당시 인축에 대한 독성이 비교적 적은 반면, 해충에 대한 독성은 큰 매우 이상적인 약제로 개발되었다¹⁵⁾. 입제살충제로 사용되는 농토양에 있어서, 이듬해의 잔류량 역시 검출빈도(11%, 109점토양)와 미검출-0.025ppm으로서 토양환경 중에서도 쉽게 분해되는 것으로 확인되었다.¹⁶⁾ 그러나 한편으로는 너무나 쉽게 분해되기 때문에 토양환경내에서 작물체로 흡수되기도 전에 토양미생물에 의하여 분해되어 해충에 대한 약효가 저하되는 현상을 초래하기로 하였다. 즉, Diazinon은 연용할수록 토양미생물의 분해능이 발달되어 약제가 소실되고, 해충의 저항성 증가가 약효감소의 주요한 원인이었다^{9,3)} 따라서 비교적 구입하기 용이한 잡식동물인 돼지간을 구입하여 Diazinon의 분해에 주로 관여하는 Monooxygenase(M. O.)와 esterase활성을 비교하므로써 약효저하의 원인을 밝히고 대책을 마련하고자 실험하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

Fig. 1.은 돼지 간에서 조제한 조효소액중의 M. O.활성을 나타낸 것이다. 일반적으로 M. F. O.(mixed-function oxidase)의 실체로 알려진 cytochrome P-450 Monooxygenase는 세포내의 활면소포체(endoplasmic reticulum)에 존재하기 때문에 105,000 \times g로 원심분리할때 침전물(microsomal fraction)에, esterase는 세포질에 존재하므로 105,000 \times g 상정액

(soluble fraction)에 분포되는 것으로 알려졌다.^{4,8)} 따라서 fig. 1은 microsomal fraction에서의 M. O.활성을 시간에 따라 조사한 결과로서 단백질 1mg당 생성된 p-nitrophenol량을 단위(nM/mg)로 정하여, cytochrome P-450의 cycle에 있어서 필수적인 NADPH generating system 첨가구(with NADPH)와 무첨가구(without NADPH)에서 Blank를 보정한 결과이다. M. O.활성은 초기 10분부터 활성이 급격히 증가하여 20분에 최고활성으로 44.3nM/mg을 보였으며, 이후 30분에 25.9nM/mg으로 빠르게 감소하는 경향이였다. 그리고 cytochrome P-450의 cycle에 필수적인 NADPH generating system의 첨가에 따른 효소활성 차이는, 초기 10분까지 같은 수준으로 증가한 반면 무처리구에서는 급격히 감소하였으며 NADPH처리구에서는 계속 증가하였다. 즉, NADPH 처리구에서 무처리구에 비하여 20분(2.5배), 30분(1.6배)의 효소활성이 증가되었으며, 효소활성 지속성도 무처리구에서는 60분에 완전히 활성을 잃었으나 처리구에서는 120분까지도 효소활성이 남아 있었다.

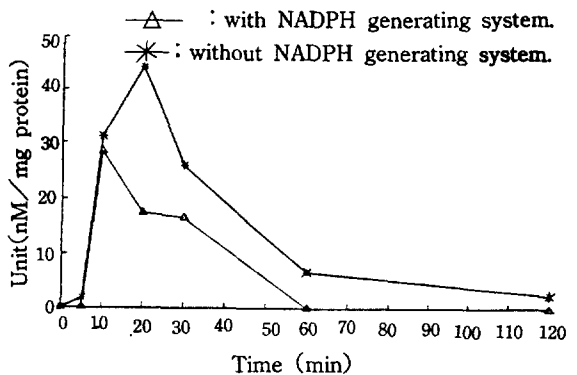


Fig. 1. Change of monooxygenase activity with proceeding time (at 37 $^{\circ}$ C) in microsomal fraction.

Fig. 2.는 105,000 \times g의 상정액 즉 세포질에 존재하는 esterase중 기질로 β -naphthyl acetate를 이용하는 효소의 활성변화를 나타낸 것이다. β -esterase와 더불어 α -esterase도 측정해 보았으나, 일정한 변화없이 효소활성이 15분까지 일정하다가 30분에 감소후 다시 60분, 3시간까지 완만히 증가하였다. β -esterase의 활성은 초기 15분(31nM/mg) 급격히 증가후 30분에 36nM/mg을 지나 60분에는 47nM

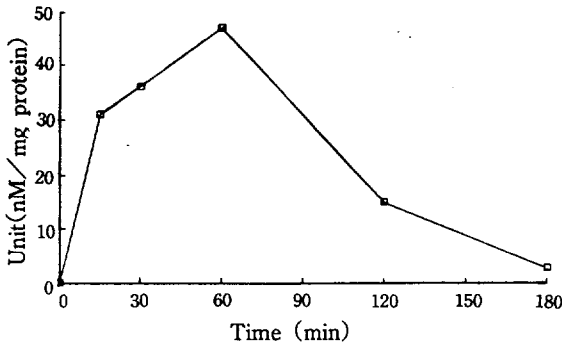


Fig. 2. Chang of β -esterase activity with proceeding time (at 40°C) in soluble fraction.

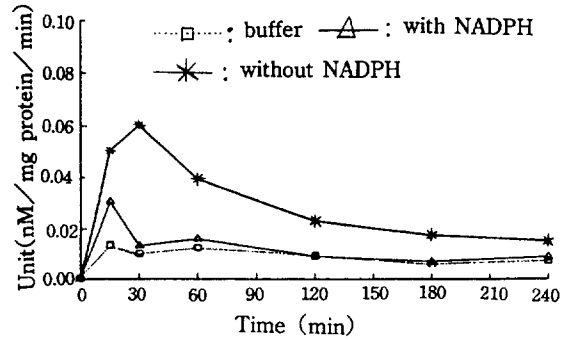


Fig. 3. Degradation rate of Diazinon over 240 min in microsomal fraction.

/mg으로 최고를 보이다가 감소하는 경향을 나타내었다. 전반적으로 M. O.활성보다는 β -esterase 활성이 비교적 오랫동안 안정하였으며, 최고의 효소활성과 시간은 47nM/mg, 60분이었다. 즉, 두효소간 최고활성 수준은 비슷하였지만, M. O.가 Xenobiotics의 분해에 더 빨리 영향을 미칠 수 있음을 보여주는 결과이다. 따라서 이후의 실험은 과연 Diazinon의 분해가 어느 쪽에서 더 잘 일어나는지를 알아보고자 두 fraction에서의 Diazinon 분해 실험을 실시하였다.

Fig. 3.은 microsomal fraction에서의 단백질 1mg이 1분에 분해시킨 Diazinon량(nM/mg/min)을 시간에 따라 보여주고 있다. Diazinon 분해양상은 공시험(buffer), NADPH처리구와 무처리구로 나누어 3반복으로 실시하였다. M. O.활성과 같은 경향으로 Diazinon 분해량이 15분에 급격히 증가하여 0.05nM/mg/min이었고, 계속 증가하여 30분에는 0.060nM/mg/min으로 최대를 보여주고 있다. NADPH 무처리구보다는 처리구에서 15분(1.5배), 30분(3배) 더 높았고, 지속적인 Diazinon 분해능의 지속력도 실험시간 240분까지 무처리구 보다 높게 유지되었다. 이와같이 cofactor를 첨가함에 따라 M. O.활성의 증가(Fig. 1)로 Diazinon 분해력이 증가되는 것은, cytochrome P-450계가 여러 인자들에 의하여 영향을 받지만 일차적으로 NADPH에 의하여 주로 영향을 받는다는 것을 확인한 결과라 할 수 있다. 그러므로 microsomal fraction에서는 cytochrome P-450계에 필수적인 NADPH를 첨가함으로써 Diazinon과 같은 독성의외부물질의 분해가 촉진되며 이때의 분해는 cytochrome P-450 dependent monooxygenase에 의하여

이루어진다고 볼 수 있다.

Fig. 4.는 돼지간의 조효소액중 105,000G의 상징액 즉, 세포질 성분에 들어 있는 soluble fraction의 효소(esterase)에 의한 Diazinon의 분해율을 조사한 것이다. 두 fraction(microsomal과 soluble)에서의 M. O.활성(Fig. 1)과 β -esterase(Fig. 2)의 최고활성은 서로 비슷하였고, 전체적인 효소활성은 β -esterase 활성이 약 2배 더 큰 것을 알 수 있었다. 그러나 soluble fraction에서의 Diazinon 분해량은 microsomal fraction에 비하여 1/3이었으며 대조구를 보정하면 esterase에 의한 분해는 거의 일어나지 않았다. 즉 Diazinon은 일단 microsomal fraction에 있는 M. O.에 의하여 P원자에 치환되어 있는 황의 desulfuration 과정이 먼저 일어나 Diazoxon이 되면, 황보다 산소가 전자를 당기는 힘이 크기 때문에 P원자의 전자 결핍도가 커져서 esterase의 공격이 훨씬 용이해짐으로서 더욱이 가수분해가 일어난다고 볼 수 있다. 이러한 예상은 Diazinon과 Diazoxon의 가수분해속도(pH 10.4)를 비교해보면 Diazinon(T_{1/2}=144시간)과 Diazoxon(T_{1/2}=10시간)으로 P원자의 전자 결핍도가 황에서 산소로 치환되어 훨씬 큰 Diazoxon이 SN₂반응의 -OH기의 공격을 받기가 쉽다는 결과로도 알 수 있다.¹⁷⁾

이상의 결과로 볼 때 Diazinon은 M. O.에 의하여 주로 분해되고, soluble fraction의 esterase에 의해서는 거의 분해가 일어나지 않는다는 것을 확인하였으며, 담배나방 유충에서의 Diazinon 분해는 microsomal fraction에서 주로 일어났다는 결과¹⁸⁾, 그리고 담수토양중에서 Diazinon은 M. O.에 의하여 먼저 공격을 받고 보다 늦게 esterase의 공격을 받는다는

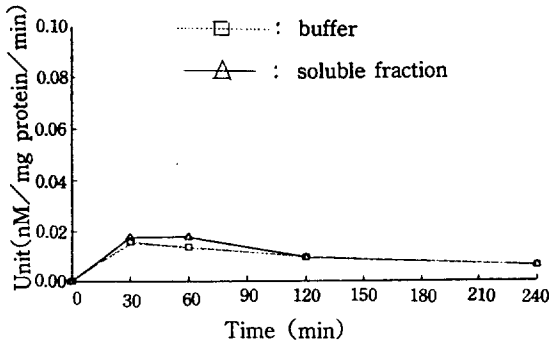


Fig. 4. Degradation rate of Diazinon over 240 min in soluble fraction.

것과 esterase 보다는 M. O.에 의한 영향을 2배 더 크게 받는다는 결과¹⁹⁾를 종합해 보면 거의 같은 경향을 찾아 볼 수 있다. 즉 포유류의 간, 곤충체 그리고 토양미생물에 의한 Diazinon의 분해는 거의 같은 맥락으로 이루어진다는 것을 알 수 있다.

따라서 Fig. 5는 시료 구입과 실험절차가 비교적 용이한 돼지간의 microsomal fraction에서의 M. O. 활성을 저해시키고자, piperonyl butoxide(PBO), Triazole계 살충제인 Beam 그리고 유기인계 살충제인 EPN을 추천살포 농도로 첨가하여 M. O.활성에 미치는 영향을 조사한 결과이다. 전반적인 M. O.활성은 전 처리구에서 같은 경향으로 20분에 최고활성을 나타내었다. 각 저해제별 M. O.활성 정도는 최고활성을 나타내는 20분에 Beam 14%, EPN 15% PBO는 35%까지 활성을 저해하였다. 이 결과는 Gullino등(1986)²⁰⁾이 *Botrytis cinerea*에서의 1mM의 PBO 저해율이 26%이었다는 것보다 약 9% 높은

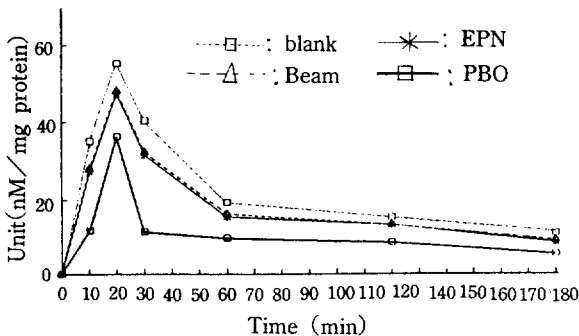


Fig. 5. Effects of several chemicals on monooxygenase activity in microsomal fraction.

결과이고, Triazole계 살균제가 porphyrin합성을 저해한다는 결과를²¹⁾ 돼지간에서도 확인할 수 있었다.

Fig. 6은 Diazinon의 분해에 주로 관여하는 M. O.의 저해제로 Beam, EPN, PBO(fig. 5)를 Diazinon과 함께 microsomal fraction에 처리한 후 Diazinon 주 성분 분해율 차이를 조사한 것이다. 저해제 무처리구에서는 Diazinon 감소량이 15분에 0.050nM/mg/min으로 급격히 증가하여 30분에 0.060nM/mg/min으로 최고를 나타낸 반면에 Beam과 EPN에서는 약 30%의 분해억제 효과를 보였다. 특히 PBO는 분해억제효과가 가장 커 약 60%를 나타내었다. 이 결과는 fig.5에서의 M.O.활성 저해효과에서 Beam 14%, EPN 15%, PBO 35%인것에 비추어 볼 때 Diazinon 분해억제 효과는 저해율에서 2배정도 더 높았다.

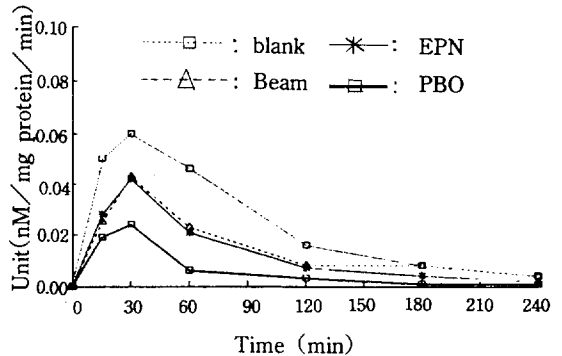


Fig. 6. Effects of several chemicals on Diazinon degradation in microsomal fraction.

이상의 결과를 정리해 보면, Diazinon은 돼지간 (fig. 3.), 곤충체 및 토양 미생물의 M. O.에 의하여 매우 쉽게 분해되기 때문에 토양에 입체로 연용할수록 일차적으로는 토양미생물의 M. O.활성이 발달되어 작물체로의 약제 이행량이 적어지고, 2차적으로는 해충의 M. O.활성이 발달되어 가수분해를 받기 쉬운 산소가 도입된 대사산물(Diazoxon, hydroxy diazinon)이 형성된다고 할 수 있다. 한편으로는 이제까지 esterase에 의하여 Diazinon의 P-O ester 결합이 끊어진 분해산물도 M. O.에 의하여 P-O-Ar의 O-Ar이 끊어진 deallylation반응이라는 결과¹⁸⁾도 있어 위의 실험결과를 뒷받침하고 있다.

따라서 이러한 M. O. 활성을 저해하여 Diazinon의 초기 급격한 분해를 지연하는 결과(fig. 6)를 근거로

하여 혼합제를 조제한다면, 기존의 약제 자체만의 혼합제제와는 다른 효과를 기대할 수 있으며, Diazinon이외의 타약제에 대해서도 그 응용범위는 매우 넓다고 생각된다.

IV. 적 요

돼지간을 두 fraction(105,000×g pellet, supernatant)으로 나누어 Diazinon의 분해에 관여하는 두 효소(Monooxygenase와 esterase)의 활성 및 저해제(EPN, Beam, PBO)첨가에 따른 Diazinon의 분해억제 능력을 비교 검토하였다.

1. 돼지간의 microsomal fraction과 soluble fraction에서 M. O.와 β-esterase 활성은 20분과 60분에 최고활성을 나타내었다.
2. Microsomal fraction에서의 M. O.활성은 NADPH generating system의 첨가로 1.6배의 활성증가와 지속성이 확인되었다.
3. Microsomal fraction에서의 Diazinon분해량은 30분에 최고량(0.060nM/mg/min)을 보였으나, soluble fraction에서는 60분에 최고량(0.018nM/mg/min)을 보여 1/3수준이었다.
4. M. O.활성에 미치는 Diazinon에 대한 EPN, Beam, PBO의 첨가효과는 Beam(14%) < EPN(15%) < PBO(35%) 순이었다.
5. Microsomal fraction에서의 Diazinon분해는 Beam(29%) < EPN(30%) < PBO(60%) 순으로 억제되었다.

참고문헌

1. Scott, J. G. and Georghiou, G. P.(1986) : Mechanisms of responsible for high levels of permethrin resistance in the house fly, *Pestic. Sci.*, 17.
2. Ware G. W.(1983) : Pesticides, theory and application, Freeman, New York, 15.
3. Hassall, K. A.(1982) : *The Chemistry of Pesticides*, Macmillan Press, London, 45.
4. Hayes, A. W.(1989) : *Principles and Methods of Toxicology*, Raven Press, New York, 29.
5. Matsumura, F. and Krishna Murti, C. R.(1982) : *Biodegradation of Pesticides*, Plenum Press, New York and London, 69.
6. Fisher, A.(1980) : *Advances in biochemical engi-*

- neering*, Springer-Verlag, New York, 61.
7. Walsh, C.(1979) : *Enzymatic reaction mechanisms*, Freeman, 406.
8. Sethunathan, N. and Pathak, M. D.(1970) : Development of Diazinon degrading bacterium in paddy water repeated applications of Diazinon, *Can. J. Microbiol.*, 17, 699.
9. Lee, H. K.(1981) : Effect of rice straw amendment and repeated application of Diazinon in submerged soils, *J. Kor. Agric. Chem. Soci.*, 24, 1.
10. Franklin, M. R.(1977) : Inhibition of mixed-function oxidations by substrates forming reduced cytochrome P-450 metabolic intermediate complexes, *Pharmacol.* 2,227.
11. Kato, R.(1967) : Effect of administration of 3-aminotriazole on the activity of rat liver, *Jap. J. Pharmacol.*, 17.
12. Shang, C. C. and Soderlund, D. M.(1984) : Monooxygenase activity of tobacco budworm larvae *Comp. Biochem. Physiol.*, 79, 407.
13. Riskllah, M. R.(1979) : Esterase activity in relation to insecticides resistance in the Egyptian cotton leaf worm, *Center Agricultural Pesticide Laboratory*, 70.
14. Lowry, O. R.(1951) : Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193.
15. Gypsin, H. and Margot, A.(1958) : Chemistry and toxicological properties of O, O-diethyl-O-(2-isopropyl-methyl-6-pyrimidinyl) phosphorothioate(Diazinon), *J. Agric. Food Chem.*, 6, 901.
16. Choi, J. W., Lee, J. K. and Lee, K. S.(1987) : Residue levels of organophorus pesticides on paddy field soils in Chungnam Area, *Res. Rep. Env. Sci. Tech. Chungnam Univ.*, 5, 2, 83.
17. Heath, D. F.(1956) : The effect of substituents on the rates of hydrolysis of some organo-phosphorus compounds, Part I. Rate in alkaline solution, *J. Chem. Soc.*, 3796.
18. Riskallah, M. R., Dauterman, W. C. and Hodgson, E.(1986) : Host plant induction of microsomal monooxygenase activity in relation to Diazinon metabolism and toxicity in larvae of the tobacco budwoem *Heliothis Virescens*(F.), *Pestic. Bio-*

- chem. Physiol.*, 25, 233.
19. Chio, J. W., Rhee, Y. H. and Lee, K. S.(1990) :
: Effect of activities of monooxygenase, α , β -
esterase on the degradation of Diazinon and Du-
rsban in submerged soil, *Kor. J. Environ. Agric.*, 9,
(2) : 96-102
 20. Gullino, M. L. and Sister, H. D.(1986) : Antago-
nism of iprodione toxicity to *Botrytis cinerea* by
mixed-function oxidase inhibitors, *Pestic. Sic.*,
17.
 21. Wiggings, T. E. and Baldwin, B. C.(1984) : Bi-
nging of azole fungicides related to Diclobutra-
zole to cytochrome P-450, *Pestic. Sic.*, 15.