

Glutathione-S-transferase와 esterase 효소 저해특성을 이용한 농약의 혼합 상승효과

유용만 · 홍순성¹ · 김성문¹ · 허장현^{1*}

¹강원대학교 농업생명과학대학 생물환경학부, (주) 경농 중앙연구소

요약 : 본 연구는 다양한 계열의 농약을 대상으로 체내에서 농약을 무독화하는 효소로 알려진 glutathione-S-transferase(GST)와 esterases에 대한 저해정도를 조사하고, 이 중 저해력이 높은 약제를 선발하여 무독화 효소에 의하여 분해되는 것으로 보고된 약제와 혼합 처리하였을 때 나타나는 약효의 변화를 조사하고자 수행하였다. 무독화효소를 저해하는 농약을 선발하기 위하여 34종의 살충제와 31종의 살균제를 대상으로 glutathione-S-transferase와 esterases에 대한 저해력을 측정된 결과, thiodicarb ($I_{50} : 1.87 \times 10^{-4}$ M), thiocyclam ($I_{50} : 7.40 \times 10^{-4}$ M), dithianon ($I_{50} : 7.55 \times 10^{-5}$ M), tolylfluanide ($I_{50} : 8.66 \times 10^{-5}$ M)은 glutathione-S-transferase의 활성을 강하게 저해하였고, dichlorvos ($I_{50} : 8.95 \times 10^{-8}$ M), pirimicarb ($I_{50} : 2.74 \times 10^{-6}$ M), pyrazophos ($I_{50} : 3.31 \times 10^{-5}$ M), benomyl ($I_{50} : 4.96 \times 10^{-5}$ M)은 esterases의 활성을 강하게 저해하였다. Glutathione-S-transferase를 저해하였던 thiodicarb, thiocyclam, dithianon, tolylfluanide와 glutathione-S-transferase에 의해 대사되는 것으로 알려진 acephate를 혼합(1:1)하여 배추좀나방 (*Plutella xylostella* L.)에 처리하고 약효를 관찰한 결과, 각각의 단제를 처리하였을 때보다 약효가 상승되었다. 특히 dithianon과 thiocyclam을 acephate와 혼합시 각각 7배와 4배 약효가 상승하였다. 그리고 esterase를 저해한 약제인 dichlorvos, pirimicarb, pyrazophos, benomyl을 esterase에 의해 대사되는 것으로 알려진 phenthoate와 혼합하였을 경우에도 단제 처리시의 약효보다는 혼합처리시의 약효가 높았다. Phenthoate와 dichlorvos 혼합시 18배, phenthoate와 benomyl 혼합처리시 12배의 약효상승효과가 나타났다. 본 연구의 결과들은 무독화과정 효소에 의해 무독화되는 약제를 무독화효소 저해제와 혼합처리시 약효상승이 유발된다는 것을 나타내는데, 이러한 결과들은 향후 혼합제 개발에 유용하게 사용될 수 있을 것이라 생각된다.(2002년 10월 24일 접수, 2003년 3월 14일 수리)

Key words : Glutathion-S-transferase, esterase, inhibition, synergism, mixture.

서론

농업생산성에 영향을 주는 곤충이나 병원균을 방제하기 위하여 살포된 약제는 작용점에 도달하여 약효를 나타내기도 하지만, *monooxygenase*, *glutathione-S-transferase*(GST), *esterases*와 같은 무독화효소에 의해 산화, 가수분해, conjugation 과정을 통해 약효가 상실되기도 한다. 특히 *esterases*는 ester group을 가지고 있는 유기인계, 카바메이트계, 피레스로이드계열의 약제를 가수분해시켜 알코올이나 산의 형태로 전환시킴으로써 약효를 저하시키고, *glutathione-S-transferase*는 유

해한 친전자성 물질이나 체내에서 일차적으로 산화과정을 거친 생성물들을 glutathione 과 conjugation시켜 배설을 촉진함으로써 약효를 저하시키는 것으로 알려져 있다 (Dauterman, 1994; Hughes와 Raftos, 1985; 송 등, 1993).

이러한 무독화효소의 활성은 해충의 저항성 발현기작과도 밀접한 연관을 갖는 것으로 알려져 있다 (Payne과 Brown, 1984; 김 등, 1996; 송 등, 1993). 예를 들어 malathion 저항성 모기의 *esterases* 활성이 감수성 모기의 *esterases*의 활성 보다 최대 74배 높았다는 연구결과 (Gopallan 등, 1997)가 있는데, 이러한 결과는 약제의 약효감소와 저항성 해충 발달에 무독화효소가 중요한 역할을 하고 있음을 시사하여 주는 것

*연락처

이다.

현재까지 약효의 상승이나 저항성 해충의 방제를 목적으로 한 혼합제 개발은 화학계열이 다른 약제들을 조합하거나 약제간의 특성을 응용하여 연합독작용을 나타내는 약제들을 조합하는 방법이 주를 이루었고, 무독화효소의 작용기작을 바탕으로 개발된 예는 극히 드물었다. 따라서 본 연구에서는 무독화효소 중 *glutathione-S-transferase*와 *esterases*를 대상으로 기내 실험을 통하여 이 효소들을 저해하는 농약을 선별하고, 이들 농약에 의해 대사 되는 것으로 알려진 농약과 혼합하여 처리하였을 때 약효상승 효과가 나타나지는지를 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

시험약제

본 실험에서 사용한 시험약제는 살충제 34종과 살균제 31종으로 (주) 경농, (주) 동양화학, (주) 동부한농화학, (주) 미성화학, (주) 성보화학, (주) 진진화학, (주) 영일화학으로부터 분양받아 4°C에서 보관하며 사용하였다. 실험에 사용한 살충제와 살균제는 다음과 같다.

• 살충제

acetamiprid (a.i. 99.0%), amitraz (98.5%), azinphos-methyl (90.0%), azocyclotin (97.9%), bromopropylate (93.5%), buprofezin (99.6%), chinomethionate (90.0%), chlorfenapyr (96.3%), chlorfenson (94.1%), chlorfluazuron (91.0%), clorfentezine (91.0%), dichlorvos (98.0%), endosulfan (95.5%), fenazaquin (97.5%), fenbutatin oxide (99.5%), fenpyroximate (99.0%), fipronil (91.0%), flufenoxuron (96.0%), halfenprox (91.0%), hexythiozox (96.6%), imidacloprid (95.0%), dimethoate (91.0%), pirimicarb (85.0%), propargite (91.5%), prothiophos (91.0%), pyridaben (98.0%), silafluofen (93.0%), spinosad (90.3%), tebufenozide (99.7%), teflubenzuron (91.0%), tetradifon (98.5%), thiocyclam (87.6%), thiodicarb (95.0%), triflumuron (90.0%).

• 살균제

benomyl (50.0%), bitertanol (97.0%), carbendazim (96%), copper-hydroxide (98.0%), cyproconazole (95.6%),

cyprodinil (99.0%), dazomet (95.7%), dimethomorph (98.0%), diniconazole (97.8%), dithianon (95.7%), etridiazole (98.6%), fenarimol (98.4%), fenbuconazole (96.1%), fluazinam (95.0%), fludioxonil (96.1%), fosetyl-Al (95.0%), hexaconazole (88.0%), hymexazole (95.0%), imibenconazole (97.5%), probenazole (96.5%), procymidone (98.7%), pyrazophos (60.0%), tebuconazole (98.0%), thifluazamide (91.0%), thiram (98.1%), tolclofos-methyl (97.2%), tolylfluanide (97.0%), tricyclazole (96.0%), triflumizole (91.0%), triforine (91.0%), vinclozoline (91.0%).

효소액의 조제 및 시험층

효소실험에 사용된 *glutathione-S-transferase*와 *esterases*는 대한실험동물센터 (충북 음성군)에서 구입한 쥐 (Sprague Dawley계, 180~200 g)로부터 얻었다. 쥐의 간을 적출하고 세절한 후 1,000 g에서 15분간 원심분리하고, 여기서 얻은 상등액을 취하여 다시 105,000 g에서 60분간 원심분리하여 얻은 상등액을 *glutathione-S-transferase*와 *esterases*를 함유한 효소액으로 이용하였다. 이 효소액을 Lowry 등 (1951)의 방법에 따라 단백질을 정량하였으며, -74°C에서 보관하며 실험에 사용하였다. 생물활성 시험에 사용된 배추좀나방 (*Plutella xylostella* L.)은 (주) 동부한농화학 곤충사육실에서 사육된 3령 1일층을 이용하였다.

시험약제의 *glutathione-S-transferase*와 *esterases*의 활성 저해력 측정

약제의 *glutathione-S-transferase*(GST) 활성저해력은 Habig (1974)의 방법에 따라 측정하였다. 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)가 담겨 있는 시험관에 *glutathione-S-transferase*를 함유하는 0.2 mg의 효소액과 30 μ L의 측정대상약제 (10^{-2} ~ 10^{-7} M)를 넣고 37°C에서 5분간 반응시킨 후 30 μ L의 glutathione (15 mM)과 1 mL의 1-chloro-2,4-nitrobenzene를 첨가하고, 반응 직후부터 340 nm에서 1분간 흡광도의 변화를 측정하였다.

*Esterases*의 활성저해력은 Van Asperin (1962)의 방법으로 측정하였다. 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)에 *esterases*를 함유하고 있는 2 mg의 효소액과 10 μ L의 측정대상약제 (10^{-2} ~ 10^{-7} M)를 넣고 37°C에서 5분간 반응시키고, 기질인 α -naphthyl acetate (5 mM) 1 mL를

Table 1. Inhibition of detoxifying enzymes by specific inhibitors.

Enzyme	Inhibitor	Degree of inhibition (I_{50} ^{a)} , M)
<i>GSH-S-transferase</i>	Ethacrynic acid	7.80×10^{-6}
<i>Esterases</i>	Triphenyl phosphate	2.57×10^{-9}
	IBP	2.66×10^{-6}

^{a)} I_{50} : Molar concentration to inhibit a given amount of enzyme to 50%.

첨가한 후 20분간 반응시켰다. 그 후 반응액 0.6 mL 을 취하여 0.8 mL를 첨가한 다음 상온에서 15분간 발색시킨 후 diazoblu-sodium lauryl sulfate (5% sodium lauryl sulfate+1% fast blue B.N. salt (v/v))용액 0.8 mL와 혼합하여 27°C, 15분 간 발색시키고 600 nm 에서 가수분해 산물인 α -naphthol의 흡광도를 측정하였다. 약제 처리구의 효소 활성을 무처리구와 비교하여 저해율을 구하고, 효소활성의 50%를 저해하는 농도인 I_{50} 으로 나타내었다.

생물활성 검정

효소를 저해하는 것으로 밝혀진 약제들을 각각 *glutathione-S-transferase*에 의하여 대사되는 것으로 알려진 acephate와 혼합하고, *esterases*에 의한 대사가 알려진 phenthoate와 혼합하여 생물활성 검정을 실시하였다. 생물활성 실험은 단제와 혼합액 (1:1, v/v)을 엽면침지법 (박 등, 1993)으로 배추좀나방에 처리하고 24시간과 48시간 후의 사충율을 조사하였고, probit 분석법으로 LC_{50} (ppm) 값을 구하였다. 약효에 대한 상승효과의 정도를 측정하기 위하여 Johnson and Sun (1960)의 방법으로 co-toxicity coefficient를 구하였다. Co-toxicity coefficient가 100보다 클 경우 협력작용으로 100보다 작을 경우 길항작용으로 결정하였다.

결과 및 고찰

약제의 무독화 효소에 대한 활성 저해력

Glutathione-S-transferase(GST)와 *esterases*의 선택적 저해제를 이용하여 해당효소에 대한 활성 저해력을 측정하였다. *Glutathione-S-transferase* 저해제로 알려진 ethacrynic acid의 I_{50} 값은 7.80×10^{-6} M이었고, *esterases*의 저해제인 triphenyl phosphate와 IBP의 I_{50} 값은 2.57×10^{-9} M과 2.66×10^{-6} M로 각각의 효소에 대하여 강한 저해력을 나타내었다 (표 1). 이들 효소 저해제의 I_{50} 값을 시험약제의 저해력 평가의 기준으로 삼았다.

표 2는 시험약제 중 효소 저해력을 갖는 약제의 I_{50} 값을 나타낸 것이다. *Glutathione-S-transferase*의 활성을 저해하는 살충제로는 thiodicarb, thiocyclam, azinphos-methyl이었으며 I_{50} 값은 각각 1.87×10^{-4} , 7.40×10^{-4} , 9.06×10^{-4} M이었고, 살균제로는 dithianon, tolylflu-anide, fluazinam이었으며 I_{50} 값은 각각 7.55×10^{-5} , 8.66×10^{-5} , 1.45×10^{-4} M로 비교적 높은 저해 경향을 보였다. 이러한 약제 이외에도 copper hydroxide, thiram, vinclozoline도 미약한 저해를 나타내었다. Thiodicarb과 같은 carbamate계 농약의 *glutathione-S-transferase* 활성 저해특성에 대해서는 이미 보고된 바 있다 (Yu 등, 1984). 농약의 *glutathione-S-transferase* 활성저해에 대한 연구는 *glutathione-S-transferase*가 무독화 효소로 작용하기 위하여 glutathione 역할이 필수적이기 때문에 약제와 GST간의 반응성 뿐만 아니라 약제와 glutathione과의 반응성에 대한 연구도 병행되어야 할 것으로 생각된다.

*Esterases*는 유기인계나 carbamate계 살충제에 의해서 선택적으로 저해되는 것으로 나타났다. 특히 dichlorvos의 I_{50} 값은 8.95×10^{-8} M로 선택적 저해제인 triphenyl phosphate와 유사한 저해력을 나타내었으며, pirimicarb (I_{50} : 2.74×10^{-6} M), thiodicarb (I_{50} : 1.35×10^{-5} M), azinphos-methyl (I_{50} : 4.79×10^{-5} M) 역시 높은 저해력을 갖는 것으로 나타났다. *Esterases*를 저해하는 살균제로는 pyrazophos, benomyl, dithianon이었고, 이들의 I_{50} 값은 각각 3.31×10^{-5} , 4.96×10^{-5} , 5.75×10^{-4} M이었다. 이러한 결과는 유기인계 및 carbamate계 약제들이 esterase 등의 가수분해 효소를 쉽게 저해할 수 있는 일반적인 특성을 지니고 있다는 Hodson and Levi (1994)의 보고를 뒷받침하는 것이다.

생물활성 검정

*Glutathione-S-transferase*의 활성을 저해하는 약제 중 thiodicarb, thiocyclam, dithianon, tolylflu-anide를 선정하여 *glutathione-S-transferase*에 의해 분해되는 것으로

Table 2. Inhibition of detoxifying enzymes by several pesticides

Pesticide	Degree of inhibition(I ₅₀ ^a , M)	
	GSH-S-transferase	Esterases
<i><Insecticide></i>		
Azinphos-methyl	9.06×10 ⁻⁴	4.79×10 ⁻⁵
Dichlorvos	-	8.95×10 ⁻⁸
Omethoate	-	4.89×10 ⁻⁴
Prothiofos	-	4.73×10 ⁻⁴
Thiocyclam	7.40×10 ⁻⁴	-
Thiodicarb	1.87×10 ⁻⁴	1.35×10 ⁻⁵
<i><Fungicide></i>		
Benomyl	^{b)}	4.96×10 ⁻⁵
Copper hydroxide	4.95×10 ⁻⁴	-
Dithianon	7.55×10 ⁻⁵	5.75×10 ⁻⁴
Fluazinam	1.45×10 ⁻⁴	-
Pyrazophos	-	3.31×10 ⁻⁵
Thiram	4.07×10 ⁻⁴	-
Tolyfluanide	8.66×10 ⁻⁵	-
Vinclozoline	4.34×10 ⁻⁴	-

^{a)}I₅₀ : Molar concentration to inhibit a given amount of enzyme to 50%.

^{b)} : I₅₀ > 1.00×10⁻³M.

알려진 acephate와 혼합하여 약효의 변화를 살펴보았으며, *esterases*의 활성을 저해하는 약제들 중 dichlorvos, pirimicarb, pyrazophos, benomyl을 선정하여 *esterases*에 의하여 분해되는 것으로 알려진 phenthoate와 혼합하여 배추좀나방에 처리 시 약효의 변화를 측정하였다.

Acephate의 단제처리 시 배추좀나방에 대한 LC₅₀

값은 188 ppm (24 hrs)과 120 ppm (48 hrs)이었으며, phenthoate는 6 ppm (24 hrs)과 5 ppm (48 hrs)의 LC₅₀ 값을 나타내었다 (표 3). 혼합대상 약제 중 dichlorvos (74, 59 ppm; 24hrs, 48hrs), thiocyclam (193, 133 ppm; 24hrs, 48hrs), pyrazophos (89, 67 ppm; 24hrs, 48hrs)의 배추좀나방에 대한 LC₅₀값을 측정할 수 있었으나, 살충제 중 thiodicarb와 pirimicarb, 그리고 살균제 대부분

Table 3. Toxicity of pesticides to diamondback moth (*Plutella xylostella* L.)^{a)}

Pesticide	24hrs			48hrs		
	LC ₅₀ (ppm) ^{b)}	Slope	95% F.L. ^{c)}	LC ₅₀ (ppm)	Slope	95% F.L.
Acephate	188	1.775	110.0~323.0	120	1.716	113.7~128.2
Phenthoate	6	1.563	3.2~12.33	5	1.810	2.7~9.8
Thiodicarb	>1000			772	1.037	199.5~2511.8
Thiocyclam	193	1.963	117.6~317.4	133	1.949	72.2~275.0
Dichlorvos	74	1.787	43.5~126.2	59	1.888	34.7~100.7
Pirimicarb	>1000			>1000		
Dithianon	>1000			>1000		
Tolyfluanide	>1000			>1000		
Pyrazophos	89	3.240	61.0~132.6	67	6.956	53.7~85.9
Benomyl	>1000			>1000		

^{a)}3rd instar larvae.

^{b)}Lethal concentration of chemicals to kill a given insect to 50%.

^{c)}Fiducial limit.

Table 4. Toxicity of pesticide mixtures to diamondback moth (*Plutella xylostella* L.)^{a)}

Pesticide	24hr				48hr			
	LC ₅₀ (ppm) ^{b)}	Slope	95% F.L. ^{c)}	co-toxicity coefficient ^{d)}	LC ₅₀ (ppm) ^{b)}	Slope	95% F.L. ^{c)}	co-toxicity coefficient
Acephate +Thiodicarb	175.8	2.871	123.1-251.1	180	102.8	2.205	67.0-156.4	202
Acephate +Thiocyclam	47.9	0.780	12.4-185.3	398	28.5	2.07	12.5-64.8	443
Acephate +Dithianon	55.7	2.325	34.6-89.1	568	31.0	1.914	12.9-74.5	691
Acephate +Tolyfluamide	76.0	2.328	49.5-116.7	416	52.7	1.941	29.8-93.3	843
Phenthoate +Pirimicarb	1.9	3.971	1.4-2.6	628	1.6	3.350	1.2-2.4	622
Phenthoate +Dichlorvos	0.8	0.967	0.3-1.9	1388	0.5	1.254	0.2-1.2	1844
Phenthoate +Pyrazophos	1.5	1.358	0.5-4.9	750	1.1	1.853	0.4-2.7	846
Phenthoate +Benomyl	1.2	1.908	0.8-1.9	994	0.9	2.056	0.6-1.5	1106

^{a)}3rd instar larvae.

^{b)}Lethal concentration of chemicals to kill a given insect to 50%.

^{c)}Fiducial limit.

^{d)}co-toxicity coefficient = actual toxicity index / theoretical toxicity index × 100.

은 최대 약제처리 농도인 1,000 ppm에서도 LC₅₀값을 측정할 수 없었다 (표 3).

Acephate와 *glutathione-S-transferase*의 활성을 저해했던 약제를 혼합처리 시 모든 조합에서 약효의 상승효과를 확인할 수 있었다 (표 4). 특히 acephate를 살균제인 dithianon과 혼합처리 시 co-toxicity coefficient가 568 (24 hrs)와 691 (48 hrs)로 5배~7배의 높은 상승효과가 나타났으며, acephate와 thiocyclam, acephate와 tolylfluamide의 혼합 시에도 co-toxicity coefficient가 398~843이었고, thiodicarb과 혼합하였을 때에는 180 (24 hrs)과 202 (48 hrs)이었다. 이러한 혼합약제들의 *glutathione-S-transferase*에 대한 약효 상승효과는 Lamoureux와 Rusness (1987)에 의하여 보고된 것과 유사한 결과이었다. Lamoureux와 Rusness (1987)은 이러한 결과가 약제의 *glutathione-S-transferase*에 대한 저해 혹은 S-(tridiphane) GSH 형성에 의한 GSH 고갈이라고 보고하였는데, 이러한 결과는 첨가된 약제가 *glutathione-S-transferase*를 직접 저해할 수도 있지만 GSH를 고갈시킴으로써 약제의 반응을 저하시킬 수도 있음을 시사한다. Phenthoate와 esterase에 대한 저해력

을 나타낸 약제들을 혼합처리한 경우, 가장 높은 약효의 상승은 dichlorvos와 혼합하였을 때 나타났으며, co-toxicity coefficient는 24시간과 48시간 경과 후 각각 1,388와 1,844로 나타나 14~18배의 약효상승을 관찰할 수 있었다. 이외에도 phenthoate를 pirimicarb, pyrazophos, benomyl과 각각 혼합처리 시 co-toxicity coefficient는 622~1,106이었다.

본 연구에서 나타난 혼합제의 약효상승은 기준약제의 대사과정에 관여하는 무독화효소의 활성을 혼합된 살충제 또는 살균제들이 억제함으로써 나타난 결과라고 사료되며, 이러한 결과를 바탕으로 여러 가지 생리, 생화학적 연구가 수행된다면 약효의 상승을 목적으로 시도되는 혼합제 개발에 기여할 수 있을 것이라 판단된다.

감사의 글

본 논문은 농림기술관리센터(ARPC) 첨단농업기술 개발사업 연구과제 “저독성 Proinsecticide계 살충제 및 환경친화형 혼합제 개발연구”의 일부로 수행되었으며,

연구비의 지원에 감사를 드립니다.

인용문헌

- Dauterman, W. C. (1994) Introduction to biochemical toxicity. pp.542~577, Detoxication metabolisms in insect.
- Gopallan, N., B. K. Bhattacharya, S. Prakash, and K. M. Rao (1997) Characterization of carboxylesterases from malathion-resistant *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) mosquitoes. Pestic. Biochem. Physiol. 57:99~108.
- Habig, W. H., M. J. Pabst, and W. B. Jakoby (1974) GST : The first step in mercapturic acid formation, J. Biol. Chem. 249:7130~7146.
- Hodson, E. and P. E. Levi (1994) Introduction to biochemical toxicology (2nd). pp.75~132. Metabolism of toxicants.
- Hughes, P. B. and D. A. Raftos (1985) Genetics of an esterase associated with resistance to organophosphorus insecticides in the sheep blow fly, *Lucilia cuprina* (Wiedemann) (Diptera:Calliphoridae). Bull. Ent. Res. 75:535.
- Johnson, E. R. and Y. P. Sun (1960) Analysis of joint action of insecticides against house flies. J. Econ. Entomol. 53(5):887~889.
- Lamoureux, G. L. and D. G. Rusness (1987) Synergism of diazinon toxicity and inhibition of diazinon metabolism in the house fly by tridiphane: inhibition of glutathion-S-transferase activity. Pestic. Biochem. Physiol. 27:318~329.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, and R. J. Randell (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193:265~275.
- Payne, G. T. and T. M. Brown (1984) EPN and S,S,S-tributyl phosphorotrithioate as synergist of methyl paration in resistance tobacco budworm larvae (Lepidoptera:Noctuidae). J. Econ. Entomol. 77:294~287.
- Van Asperin (1962) A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method. J. Insect Physiol. 8:401~416.
- Yasuhiko, K. and T. Shishido (1996) Glutathion-dependent O-alkyl and O-aryl conjugations for dicapton and fenitrothion in several insect. J. Pesticide Sci. 21:430~433.
- Yu, S. J., F. A. Robinson, and J. L. Nation (1984) Detoxication capacity in the honeybee (*Apis mellifera* L.), Pestic. Biochem. Physiol., 22:360~368
- 김용균, 장동걸 (1996) 배추좀나방의 deltamethrin 저항성 기작에 관한 esterase의 역할. 한국응용곤충학회지 35(1):74~79.
- 박종열, 이형래, 김정화 (1993) 바퀴(*Blattella germanica* L.)의 살충제 저항성에 관한 연구-1. 생물검정 방법에 따른 살충력 비교. 한국응용곤충학회지 32(1):24~29.
- 송승석, 오홍규, Naoki Motoyama (1993) Carboxylesterase의 활성측정에 의한 복숭아혹 진딧물, *Myzus persicae* S.의 살충제 포장 저항성도의 계절적 변동. 한국응용곤충학회지 32(3):348~353.

Synergistic action of pesticide mixtures using glutathione-S-transferase- and esterase-inhibiting properties in diamondback moth (*Plutella xylostella* L.)

Yong-Man Yu, S. S. Hong¹, S. Kim¹, and J. H. Hur^{1*} (Central Institute, Kyungnong Co., Kyungju 780-110, Korea, ¹Division of Biological Environment, Kangwon National University, Chuncheon, Gangwon-do 200-701, Korea)

Abstract : *In vitro* inhibitory activity of 34 insecticides and 31 fungicides to *glutathione-S-transferase* and *esterases* extracted from rats was determined. Of tested pesticides, the pesticides with high activity on both detoxifying enzymes were mixed with pesticides that are known to be detoxified by detoxifying enzymes. *Glutathione-S-transferase* was inhibited by thiodicarb ($I_{50}:1.87 \times 10^{-4}M$), thiocyclam ($7.40 \times 10^{-4}M$), dithianon ($7.55 \times 10^{-5}M$), and tolylfluanide ($8.66 \times 10^{-5}M$), while *esterases* by dichlorvos ($8.95 \times 10^{-8}M$), pirimicarb ($2.74 \times 10^{-6}M$), pyrazophos ($3.31 \times 10^{-5}M$), and benomyl ($4.96 \times 10^{-5}M$). After acephate known to be detoxified by *glutathione-S-transferase* was mixed with *glutathione-S-transferase*-inhibiting pesticides and phenthoate known to be detoxified by *esterases* was mixed with *esterases*-inhibiting pesticides, insecticidal activities of such mixtures were determined against diamondback moth (*Plutella xylostella* L.). Synergistic action was observed in all pesticide combinations. The highest synergistic action was obtained when phenthoate was combined with dichlorvos, showing that co-toxicity coefficients were 1512 and 1877 after 24 and 48 hours of treatment, respectively. Several other combinations of pesticides, such as phenthoate with benomyl, and acephate with dithianon, also showed synergism, showing that their co-toxicity coefficients were about 1,000 and 500, after 24 hours of treatment, respectively. Our results showed that combinations of pesticides inhibited by detoxifying enzymes and ones detoxified by detoxifying enzymes resulted in increased toxicities of pesticides, suggesting that such combinations could be used to develop pesticide mixtures with more broad spectrum and high effectiveness.

*Corresponding author (Fax : +82-33-241-6640, E-mail : jhhur@kangwon.ac.kr)