

살충제 저항성 목화진딧물에 대한 afidopyropen과 chlorfenapyr, cyantraniliprole의 혼합효과 평가

강동현 · 이유노 · 문하현 · 김세은 · 구현나 · 김현경 · 김길하*

충북대학교 농업생명환경대학 식물의학과

Combined Effect of Afidopyropen, Chlorfenapyr and Cyantraniliprole to Insecticide-resistant Cotton Aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae)

Dong-Hyun Kang, Yuno Lee, Ha Hyeon Moon, Se Eun Kim, Hyun-Na Koo, Hyun Kyung Kim and Gil-Hah Kim*

Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea

ABSTRACT:

The susceptibility of *Aphis gossypii* populations collected from three fields (WJ, CC, and GS) was evaluated to three insecticides (afidopyropen, chlorfenapyr and cyantraniliprole) and three binary mixtures. Three field populations showed resistance ratios of over 100 to all insecticides. The Combination Index (CI), %M_(synergism), Co-Toxicity Coefficient (CTC), Wadley Ratio (WR), Synergism Ratio (SR) and Abbott Ratio (AR) were used to evaluate combined effect of the insecticides. Afidopyropen + chlorfenapyr (CI ≤ 0.16; %M_(synergism) ≥ 94; CTC ≥ 764.5; WR ≥ 6.4; SR ≥ 6.9 and AR ≥ 1.1) showed a synergism in all field populations. WJ and CC populations showed a synergism in all binary mixtures of insecticides, but GS population showed an antagonism for chlorfenapyr + cyantraniliprole (CI, 1.63; %M_(synergism), 30; CTC, 64.0; WR, 0.6 and AR, 0.54) and afidopyropen + cyantraniliprole (CI, 6.7; %M_(synergism), 1; CTC, 19.8; WR, 0.2 and AR ≤ 0.55). All mixtures (afidopyropen + chlorfenapyr, chlorfenapyr + cyantraniliprole and afidopyropen + cyantraniliprole) showed a control value of over 99% after 21 days of treatment in the field. This study highlights that binary mixtures of three insecticides serve as an effective control strategy for *A. gossypii*.

Key words: *Aphis gossypii*, Insecticide, Combined effect, Pest control, Binary mixture

초록:

살충제 저항성 목화진딧물 집단(완주, 춘천, 고성)에 대한 3종(afidopyropen, chlorfenapyr, cyantraniliprole) 약제별 감수성과 혼용에 따른 방제 효과를 평가하였다. 3개 야외집단에 대해서 3약제 모두 100배 이상의 저항성비를 보였다. 혼합제의 협력작용을 평가하기 위해 반수치사농도(LC₅₀)를 이용한 조합지수(CI), %M_(synergism), 연합독성계수(CTC), 와들리 비율(WR), 상승비율(SR)과 사충률을 이용한 아보트 비율(AR)로 비교하였다. Afidopyropen + chlorfenapyr은 모든 야외집단에 대해서 살충활성의 증가를 보였고, chlorfenapyr + cyantraniliprole, afidopyropen + cyantraniliprole은 완주, 춘천 집단에 대해서 살충활성의 증가를 보였다. 그러나 chlorfenapyr + cyantraniliprole (CI, 1.63; %M_(synergism), 30; CTC, 64.0; WR, 0.6, AR, 0.54)과 afidopyropen + cyantraniliprole (CI, 6.7; %M_(synergism), 1; CTC, 19.8; WR, 0.2, AR ≤ 0.55)은 고성 집단에서 길항작용을 나타내었다. 포장조건에서도 afidopyropen + chlorfenapyr, chlorfenapyr + cyantraniliprole, afidopyropen + cyantraniliprole은 99% 이상의 높은 방제가를 보여 향후 살충제 저항성 목화진딧물 방제용 혼합제 개발에 유용하게 활용될 것이다.

검색어: 목화진딧물, 살충제, 상승효과, 혼합제, 해충방제

*Corresponding author: khkim@cbnu.ac.kr

Received January 19 2024; Revised February 15 2024

Accepted February 19 2024

목화진딧물(*Aphis gossypii*)은 세계적으로 분포하며, 박과, 아욱과, 가지과, 운향과 등을 가해하는 광식성 해충으로 작물을 흡즙하여 직접적인 피해뿐만 아니라 식물바이러스 매개하여 2차 피해를 야기한다(Ebert and Cartwright, 1997; Blackman and Eastop, 2000; Carletto et al., 2009). 목화진딧물을 방제하기 위한 화학 살충제의 사용으로 화학 살충제의 연용으로 인해 세계적으로 fenvalerate와 imidacloprid, afidopyropen, chlorfenapyr, cyantraniliprole 등 많은 약제에 대한 저항성이 보고되고 있다(Nauen and Elbert, 2003; Foster et al., 2012; Koo et al., 2014; Chen et al., 2017; Lee et al., 2022; Li et al., 2022; Nam et al., 2022; Kang et al., 2023; Bass and Nauen, 2023).

살충제 저항성 발달은 대상 해충 방제를 위해 높은 생산비용과 노동력 증가, 약제의 수명 단축 등을 초래하기 때문에 기존의 약제를 합리적으로 사용할 수 있는 대안 마련이 필요한 실정이다(Georghiou, 2005; Sparks and Lorsbach, 2017; Freeman et al., 2021). 그 대안으로는 제형의 개선과 보조제의 사용, 그리고 혼합제의 개발을 통한 약효 상승 등이 거론되고 있다(Georghiou and Taylor, 1986 Attique et al., 2006, Zhang et al., 2022). 이 중 혼합제의 개발은 병해충 및 잡초의 효율적 방제를 목적으로 2종 이상의 약제를 혼합하여 사용하는 방법으로 3 가지 장점을 가진다(Madgwick and Kaniz, 2023). 첫 번째는 적용 대상이 서로 다른 약제들의 혼합을 통하여 병해충을 동시에 방제할 수 있고, 두 번째는 작용기작이 다른 약제들을 혼합함으로써 한 가지 작용점에 대해 저항성을 갖는 병해충을 효과적으로 방제할 수 있다(Georghiou and Taylor, 1986; Byford et al., 1987; Iverson et al., 2019; Taillebois and Thany, 2022; Madgwick and Kaniz, 2023). 세 번째는 곤충 체내의 무독화 효소에 의해 쉽게 대사되는 약제와 함께 그 무독화 과정을 저해하는 약제가 혼합됨으로써 살충활성의 상승효과를 기대할 수 있다(Casida, 1970; Bernard and Philogène, 1993; Gleave et al., 2021; Roy et al., 2022; Taillebois and Thany, 2022). EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization)와 미국 EPA (U.S. Environmental Protection Agency)에서는 혼합제 개발에 대한 가이드라인을 제시하였으나(U.S. Environmental Protection Agency, 1986; European and Mediterranean Plant Protection Organization, 2018), 국내에서는 혼합제 개발에 대한 기준이 없기 때문에 혼합제 개발에 앞서 상승효과를 검증하기 위한 명확한 기준이 필요한 실정이다(Ministry of Agriculture and Forestry, 2000; Son, 2004).

따라서 본 연구는 살충제 저항성 목화진딧물 집단을 대상으로 afidopyropen과 chlorfenapyr, cyantraniliprole에 대한 각 단계와 혼합제의 약효를 비교하였으며, 혼합제의 상승효과를 검증

하기위한 기준안으로써 다양한 협력지수(조합지수, %M_(synergism), 연합독성계수, 와들리 비율, 상승 비율, 아보트 비율)를 이용하여 협력작용을 평가하고자 하였다(Abbott, 1925; Wadley, 1945; Sun and Johnson, 1960; Levy et al., 1986; Chou, 2010).

재료 및 방법

시험곤충

목화진딧물 감수성 계통(S)은 2022년 국립농업과학원 곤충 사육실으로부터 분양 받은 감수성 계통을 이용하였으며, 야외 집단으로는 완주(WJ), 춘천(CC), 고성(GS)의 오이재배지에서 채집한 개체군을 온도 25 ± 2°C, 상대습도 60~70%, 16:8(L:D)의 사육실 조건에서 오이를 기주로 제공하면서 시험에 사용하였다.

시험 약제

시험에 사용된 살충제 3종(afidopyropen, chlorfenapyr, cyantraniliprole)은 국내에서 판매되고 있는 제품을 이용하였으며, 약제별 유효성분 및 제형과 추천농도 등은 Table 1과 같다.

약제 감수성 평가

목화진딧물에 대한 약제 감수성 평가는 엽침지법(leaf dipping method)으로 수행하였다. 오이 잎을 ø 5.0 cm로 잘라 각각 희석한 약액에 30초간 침지한 후 20분간 음건시켰다. Petri-dish (ø 5.0 cm)에 1.5% agar를 깔고 그 위에 음건시킨 오이 잎을 올린 후 목화진딧물 무시성충을 20 마리씩 접종하였다. 약제처리 후 온도 25 ± 2°C, 광주기 16:8(L:D), 상대습도 60~70%의 조건으로 유지하면서 72 시간 후 사충수를 조사하고 Abbott's formula를 이용하여 보정 사충률을 구했으며, probit 분석을 통해 50% 치사농도(LC₅₀)와 90% 치사농도(LC₉₀) 값을 구하였다(Abbott, 1925; SAS Institute, 2019). 저항성비(Resistance Ratio, RR)는 실내 감수성계통의 LC₅₀ 값을 야외집단의 LC₅₀ 값으로 나누어 산출하였으며, 모든 시험은 3반복 실시하였다. 혼합제는 각 약제별 추천농도를 기준으로 afidopyropen + chlorfenapyr (1:4)와 chlorfenapyr + cyantraniliprole (1:1), afidopyropen + cyantraniliprole (1:4)를 사용하였으며, 희석하여 시험에 사용하였다. 혼합제의 감수성 평가는 단계의 감수성 평가와 동일한 조건으로 진행하였다.

Table 1. Information of the tested commercial 3 insecticides

Common name	Mode of action	AI ^a (%)	Formulation ^b	RC ^c (ppm)
Afidopyropen	9d	2.5	DC	12.5
Chlorfenapyr	13	10	SC	50
Cyantraniliprole	28	5	EC	50

^aAI, Active Ingredient; ^bDC, Dispersible Concentrate; EC, Emulsifiable Concentrate; SC, Suspension Concentrate; ^cRC, Recommended Concentration.

혼합제의 방제효과 포장검정

혼합제의 방제효과는 충북대학교 오이 시설 포장(비닐하우스)에서 2023년 9월 24일날 정식한 오이를 가지고 2023년 10월 2일부터 10월 23일까지 수행하였다. 야외에서 채집한 목화진딧물을 구당 3주씩 난괴법으로 100마리 이상 접종하였다. 목화진딧물의 생충수는 약제 처리 전, 약제 처리 3, 7, 14, 21일 후 조사하였으며, 각 처리구별 평균 생충수를 조사하여 구해 방제가를 산출하였다. 모든 실험은 난괴법 3반복으로 수행하였다.

혼합제의 협력작용 분석

혼합제의 협력작용은 LC₅₀ 값과 시충률을 이용하여 6가지 계산법으로 분석하였다(Abbott, 1925; Wadley, 1945; Sun and Johnson, 1960; Levy et al., 1986; Martin et al., 2003; Chou, 2010). Chou (2010)는 약제 간의 상호 작용을 상세하게 고려한 조합지수(Combination Index, CI)를 제시하였으며 식은 다음과 같다.

$$CI = \frac{(D)_A}{(D_{50})_A} + \frac{(D)_B}{(D_{50})_B} + \alpha \frac{(D)_A(D)_B}{(D_{50})_A(D_{50})_B}$$

(D₅₀)_A = A의 LC₅₀ 값, (D₅₀)_B = B의 LC₅₀ 값

(D)_A = 혼합제의 LC₅₀ 값 × 혼합제 중 A의 비율, (D)_B = 혼합제의 LC₅₀ 값 × 혼합제 중 B의 비율

α = 1 or 0 (다른 기작의 약제일 경우 1, 같은 기작의 약제일 경우 0)

Martin et al. (2003)은 혼합제의 LC₅₀값을 통해 혼합된 단계의 비율에 맞는 농도의 활성(%M_(A), %M_(B))을 이용한 이론으로 다음과 같이 구하였다.

$$\%M_{(synergism)} = 100 - (\%M_{(A)} + \%M_{(B)})$$

Sun and Johnson (1960)은 약제간 상호 작용을 확인하기 위한 연합독성계수(Co-Toxicity Coefficacy, CTC)는 다음과 같

이 구하였다.

$$CTC = \frac{\text{실제 독성 지수 (Actual Toxicity Index, ATI)}}{\text{이론적 독성 지수 (Theoretical Toxicity Index, TTI)}} \times 100$$

$$ATI = \frac{\text{살충제 (A)의 LC}_{50}}{\text{혼합제의 LC}_{50}} \times 100$$

$$TTI = TI_A \times \text{혼합제 중 A의 비율} + TI_B \times \text{혼합제 중 B의 비율}$$

$$\text{독성지수 (Toxicity Index, TI}_A) = \frac{\text{공시제의 LC}_{50} \text{ 값}}{\text{살충제 (A)의 LC}_{50} \text{ 값}} \times 100$$

공시제는 합제에 들어가는 약제 중 하나를 기준으로 한다. 그러므로 두 약제 간의 혼합 시 항상 TI_(A)=100이 된다.

Wadley (1945)는 약제의 개별 효과와 그들의 조합 효과를 중점적으로 확인하기 위해 와들리 비율(Wadley Ratio, WR)을 제시하였고, 식은 다음과 같다(Levy et al., 1986).

$$WR = \frac{\text{합제의 LC}_{50\text{exp}}}{\text{합제의 LC}_{50\text{obs}}}$$

$$\text{합제의 LC}_{50\text{exp}} = \frac{a+b}{\frac{a}{A \text{의 LC}_{50} \text{ 값}} + \frac{b}{B \text{의 LC}_{50} \text{ 값}}}$$

a = 혼합제 중 A의 비율

b = 혼합제 중 B의 비율

마지막으로 Brindley and Selim (1984)은 혼합제의 상승효과를 확인하기 위해 상승 비율(Synergism Ratio, SR)을 제시하였고, 식은 다음과 같다.

Table 2. Combined effect classification of insecticides

Combined effect index	Synergism	Similar action	Independent action	Antagonism
CI ^a	CI < 0.8	0.8 ≤ CI < 1.0	1.0 ≤ CI < 1.2	1.2 ≤ CI
%M _(synergism)	%M ≥ 60	60 > %M ≥ 50	50 ≥ %M > 40	40 ≥ %M
CTC ^b	CTC ≥ 200	200 > CTC ≥ 120	120 ≥ CTC > 80	80 ≥ CTC
WR ^c	WR ≥ 1.6	1.6 > WR ≥ 1.2	1.2 ≥ WR > 0.8	0.8 ≥ WR
SR ^d	SR ≥ 1.6	1.6 > SR ≥ 1.2	1.2 ≥ SR > 0.8	0.8 ≥ SR
AR ^e	AR ≥ 1.1	1.1 > AR ≥ 1.0	1.0 ≥ AR > 0.9	0.9 ≥ AR

^aCI, Combination Index; ^bCTC, Co-Toxicity Coefficient; ^cWR, Wadley Ratio; ^dSR, Synergism Ratio; ^eAR, Abbott Ratio.

$$SR = \frac{\text{혼합제 } LC_{50\text{exp}}}{\text{혼합제 } LC_{50\text{obs}}}$$

혼합제 LC_{50exp} = 합제에서의 A 비율 × A 약제 LC₅₀ 값 + 합제에서의 B 비율 × B 약제 LC₅₀ 값

사충률을 이용한 아보트 비율(Abbott Ratio, AR)을 구하는 방법은 다음과 같다(Colby, 1967; Levy et al., 1986).

$$AR = \frac{C(\%)_{\text{obs}}}{C(\%)_{\text{exp}}}$$

$$C(\%)_{\text{exp}} = A + B - \frac{A \times B}{100}$$

A: 살충제 A를 단독으로 처리했을 때의 사충률(%)

B: 살충제 B를 단독으로 처리했을 때의 사충률(%)

각 지수들이 나타내는 협력작용의 분류는 Table 2와 같다.

결과 및 고찰

약제 감수성

목화진딧물 감수성계통과 야외집단(WJ, CC, GS)에 대한 3종의 약제(afidopyropen, chlorfenapyr, cyantraniliprole)와 이들을 혼합한 약제 3종(afidopyropen + chlorfenapyr, chlorfenapyr + cyantraniliprole, afidopyropen + cyantraniliprole)의 약제 감수성 결과는 Table 3과 같다. 야외집단 모두 3종의 약제에 대해 RR 값이 100 이상으로 나타나 감수성계통에 비해 저항성이 발달했음을 확인하였다. 또한 혼합제 처리시, 모든 집단에 대해서는 afidopyropen + chlorfenapyr의 LC₅₀ 값은 각 단제별 LC₅₀ 값에 비해 3.7~36.1배 낮았고, WJ와 CC집단에 대해서는 혼합제

chlorfenapyr + cyantraniliprole과 afidopyropen + cyantraniliprole의 LC₅₀ 값은 각 단제에 비해 3.0~27.0배 낮게 나타났다. Somar et al. (2019)은 imidacloprid와 pymetrozine 저항성 목화진딧물에 대해서 이들 합제(imidacloprid + pymetrozine, 1:1)의 LC₅₀ 값이 단일 약제의 LC₅₀ 값 보다 더 낮았다고 보고한 바 있다. EPPO (2018)는 혼합제 개발의 조건 중 하나로 단일 약제 보다 낮은 농도에서도 우수한 효과를 보여야 한다고 하였는데, 본 연구에서 혼합제 afidopyropen + chlorfenapyr 조합이 이에 부합하였고, 이러한 결과들은 단제보다 혼합되었을 경우 살충활성이 더 높아져 상승효과를 나타내는 것으로 생각된다.

혼합제 협력작용 분석

혼합제의 협력작용은 상승작용(synergism)과 첨가작용(addition action), 길항작용(antagonism)으로 구분되어 있는데, 첨가작용의 범위에 대해서는 분명한 정의가 제시되어 있지 않은 실정이다(Martin et al., 2003; Khan et al., 2013; Taillebois and Thany, 2022). 따라서 본 연구는 Sun and Johnson (1960)의 기준에 따라 첨가작용에서 상승작용에 가까운 경우를 유사작용(similar action), 길항작용에 가까운 경우 독립작용(independent action)으로 구분하고, 혼합제의 협력작용을 판단하는 기준으로 상승작용, 유사작용, 독립작용, 길항작용으로 세분화하였다(Table 2). 혼합제의 협력작용 검정은 약제의 농도와 사충률의 관계가 선형적 관계가 아닌 로그 모형이므로 단순식으로 평가하기는 어렵다(Sun and Johnson, 1960). 협력작용에 대한 통계적 분석은 Bliss (1939)와 Loewe (1928), Finney (1942)등에 의하여 고안된 이후 여러 연구자들에 의해 협력작용을 검정하는 식들이 보고되었다(Loewe, 1928; Bliss, 1939; Finney, 1942; Wadley, 1945; Sun and Johnson, 1960; Levy et al., 1986; Chou, 2010). 따라서 본 연구에서는 혼합제의 협력작용을 LC₅₀ 값을 이용해 CI와 %M_(synergism), CTC, WR, SR을 통해 평가하였다(Table 4).

Table 3. Toxicity of insecticides against *A. gossypii*

Population	Insecticide	n	Ratio	LC ₅₀	LC ₉₀	RR ^b
				(95% CL ^a)	(95% CL)	
Susceptible	Afidopyropen	499	-	0.028 (0.021-0.038)	0.04 (0.03-0.06)	1
	Chlorfenapyr	364	-	0.36 (0.28-0.45)	4.00 (2.83-6.28)	1
	Cyantraniliprole	622	-	0.01 (0.008-0.014)	0.50 (0.31-0.92)	1
WJ	Afidopyropen	428	-	14.82 (11.99-18.21)	162.89 (117.87-243.5)	529.3
	Chlorfenapyr	432	-	36.12 (30.26-42.85)	287.56 (216.74-410.99)	100.3
	Cyantraniliprole	362	-	16.3 (13.4-19.3)	105.00 (81.10-147.30)	1,630.0
	Afidopyropen + Chlorfenapyr	428	1:4	2.27 (1.79-2.77)	18.28 (13.79-26.59)	-
	Chlorfenapyr + Cyantraniliprole	464	1:1	1.37 (0.87-1.90)	15.97 (12.16-22.84)	-
	Afidopyropen + Cyantraniliprole	426	1:4	1.50 (0.93-2.13)	48.34 (30.59-94.08)	-
	Afidopyropen	366	-	20.37 (18.21-22.73)	68.14 (56.93-85.78)	727.5
CC	Chlorfenapyr	423	-	40.52 (37.35-43.90)	96.35 (84.87-113.09)	112.6
	Cyantraniliprole	550	-	11.04 (9.02-13.30)	124.27 (92.56-179.65)	1,104.0
	Afidopyropen + Chlorfenapyr	352	1:4	5.30 (3.67-6.89)	53.72 (38.00-90.70)	-
	Chlorfenapyr + Cyantraniliprole	366	1:1	3.62 (2.34-4.97)	44.91 (32.04-71.89)	-
	Afidopyropen + Cyantraniliprole	357	1:4	1.50 (1.13-1.88)	8.51 (6.76-11.53)	-
	Afidopyropen	422	-	10.85 (8.64-13.58)	169.65 (112.67-289.43)	387.5
GS	Chlorfenapyr	360	-	104.6 (88.1-123.7)	865.85 (662.69-1202)	290.6
	Cyantraniliprole	363	-	3.23 (2.22-4.32)	43.45 (61.56-66.42)	323.0
	Afidopyropen + Chlorfenapyr	428	1:4	2.90 (2.16-3.73)	52.19 (36.04-84.71)	-
	Chlorfenapyr + Cyantraniliprole	376	1:1	9.79 (8.02-11.71)	72.85 (54.92-105.75)	-
	Afidopyropen + Cyantraniliprole	360	1:4	19.0 (15.7-22.4)	106.77 (81.74-153.9)	-

^aCL, Confidence Limit; ^bRR, Resistance Ratio.

그 결과, 모든 야외집단에서 afidopyropen + chlorfenapyr는 CI와 %M_(synergism), CTC, WR, SR에서 상승작용을 나타내었다. WJ와 CC 집단에 대해서 chlorfenapyr + cyantraniliprole과 afidopyropen + cyantraniliprole은 CI와 %M_(synergism), CTC, WR, SR에서 상승작용을 나타내었다. GS집단에 대해서 chlorfenapyr + cyantraniliprole는 CI와 %M_(synergism), CTC, WR은 길항작용을 보였지만, SR은 상승작용을 보였다. 왕담배나방(*Helicoverpa armigera*)은 cyfluthrin + chlorpyrifos 혼합처리인 BK99R5집단(CI, 0.93; %M_(synergism), 31)에 대해서 길항작용을 보였지만, BK77집단(CI, 1.24; %M_(synergism), 0)에 대해서는 첨가작용을 보였다는 보고가 있다(Martin et al., 2003). 이는 동일한 약제 조합에 대해 지역별 집단에 대한 협력작용은 차이를 보일 수 있음을 보여주는 것으로 지역마다 사용하는 살충제 종류와 횡수의 차이로 집단간 살충제 저항성에 차이에서 기인한 것으로 생각된다(Kang et al., 2023). 따라서, 혼합제의 협력작용 평가는 감수성 개체뿐만 아니라 여러 야외 집단의 저항성을 고려해야 한다고 판단된다. 열대거세미나방(*Spodoptera frugiperda*)의 경우 emamectin

benzoate + chlorantraniliprole의 9:1과 3:7 조합에서 CTC는 각각 239.38, 128.74로 상승작용을 나타냈고, 복숭아혹진딧물(*Myzus persicae*)에 대한 cypermethrin + pirimicarb의 2:8과 1:9 비율에서 CTC는 각각 176.5, 159.1로 상승작용을 나타낸 사례도 있다(Kim et al., 1987; Zhang et al., 2022). 반면에, SR은 다른 수식(CI, CTC, WR)들과 다르게 LC₅₀ 값 자체를 비교하므로, 약제 간 LC₅₀ 값의 숫자 크기에 따라 결과가 큰 차이를 보일 수 있다. 따라서 본 연구 결과 중, GS집단의 경우에서는 chlorfenapyr + cyantraniliprole과 afidopyropen + cyantraniliprole의 SR은 다른 수식(CI, %M_(synergism), CTC, WR)의 결과(길항작용)와 다르게 상승작용으로 분석된 것으로 생각된다.

혼합제의 협력작용을 사충률(%)을 이용한 AR로 검정한 결과는 Table 5와 같다. 그 결과, AR은 모든 야외집단(WJ, 1.70; CC, 4.38; GS, 1.56)에서 afidopyropen + chlorfenapyr 조합이 상승작용을 나타내었고, GS 집단에서 chlorfenapyr + cyantraniliprole, afidopyropen + cyantraniliprole 조합이 길항작용을 나타내었다. AR의 장점은 LC₅₀ 값을 구하기 위해 많은 농도를

Table 4. Combined effect of mixtures against *A. gossypii* using LC₅₀

Population	Insecticide	CI ^a	%M _(synergism)	CTC ^b	WR ^c	SR ^d
WJ	Afidopyropen + Chlorfenapyr	0.08	94	1,235.9	12.4	14.0
	Chlorfenapyr + Cyantraniliprole	0.06	97	1,639.6	16.4	19.1
	Afidopyropen + Cyantraniliprole	0.10	94	914.9	10.7	10.7
CC	Afidopyropen + Chlorfenapyr	0.16	100	764.5	6.4	6.9
	Chlorfenapyr + Cyantraniliprole	0.14	81	479.3	4.8	8.4
	Afidopyropen + Cyantraniliprole	0.13	86	2,255.2	8.6	8.6
GS	Afidopyropen + Chlorfenapyr	0.08	96	1,322.1	13.2	29.6
	Chlorfenapyr + Cyantraniliprole	1.63	30	64.0	0.6	5.5
	Afidopyropen + Cyantraniliprole	6.7	1	19.8	0.2	0.3

^aCI, Combination Index; ^bCTC, Co-Toxicity Coefficient; ^cWR, Wadley Ratio; ^dSR, Synergism Ratio.

Table 5. Combined effect of insecticides against *A. gossypii* using mortality

Insecticide	Concentration (ppm)	WJ		CC		GS	
		Mortality (%), mean ± SE	AR ^a	Mortality (%), mean ± SE	AR	Mortality (%), mean ± SE	AR
Afidopyropen	3.13	22.4 ± 2.5	-	3.6 ± 2.8	-	37.5 ± 3.8	-
Chlorfenapyr	12.50	29.2 ± 3.7	-	10.3 ± 2.9	-	4.9 ± 0.2	-
Cyantraniliprole	12.50	41.4 ± 5.2	-	48.3 ± 5.2	-	70.0 ± 5.0	-
Afidopyropen + Chlorfenapyr	1.56 + 6.25	76.7 ± 1.5	1.70	59.3 ± 1.9	4.38	57.6 ± 5.2	1.56
Chlorfenapyr + Cyantraniliprole	6.25 + 6.25	80.0 ± 2.5	1.37	63.7 ± 2.9	1.19	60.7 ± 0.5	0.54
Afidopyropen + Cyantraniliprole	6.25 + 6.25	63.0 ± 1.7	1.16	93.3 ± 1.4	1.86	27.6 ± 2.5	0.55

^aAR, Abbott Ratio.

Table 6. Control efficacy of insecticides against *A. gossypii* in greenhouse

Insecticide	Concentration (ppm)	Control value (% , mean ± SE)			
		3 DAT ^a	7 DAT	14 DAT	21 DAT
Afidopyropen	12.5	79.6 ± 7.6 a ^b	87.7 ± 9.1 ab	81.4 ± 3.4 bc	75.9 ± 2.8 c
Chlorfenapyr	50.0	85.9 ± 14.9 a	81.6 ± 7.4 b	81.0 ± 4.0 c	79.4 ± 10.8 bc
Cyantraniliprole	50.0	88.6 ± 2.0 a	96.9 ± 1.7 ab	87.9 ± 4.0 abc	85.2 ± 6.4 abc
Afidopyropen + Chlorfenapyr	6.25 + 25.00	98.7 ± 1.6 a	99.9 ± 0.1 a	100.0 ± 0.0 a	99.9 ± 0.1 a
	1.56 + 6.25	83.5 ± 19.2 a	94.9 ± 5.4 ab	96.2 ± 2.9 abc	90.9 ± 14.1 abc
Chlorfenapyr + Cyantraniliprole	25.0 + 25.00	95.8 ± 3.6 a	99.4 ± 0.5 ab	99.7 ± 9.5 a	99.7 ± 0.1 a
	6.25 + 6.25	67.3 ± 15.1 a	88.2 ± 13.5 ab	89.3 ± 9.8 ab	85.2 ± 10.4 abc
Afidopyropen + Cyantraniliprole	6.25 + 25.00	90.4 ± 26.1 a	99.2 ± 0.6 ab	99.6 ± 0.2 ab	99.3 ± 4.9 a
	1.56 + 6.25	85.7 ± 9.7 a	91.4 ± 4.1 ab	84.0 ± 7.1 bc	81.2 ± 5.6 bc

^aDAT, Day after treatment; ^bMeans followed by the same letters are not significantly different ($p < 0.05$; Turkey's studentized range test) (SAS Institute, 2019).

사용하는 대신 특정 농도에서 빠르게 평가할 수 있다. 또한, 협력작용 평가에서 CI와 CTC, WR 등과 동일한 결과를 나타내어 사충률을 이용한 혼합제의 협력작용을 판단할 수 있다. 이처럼 AR은 사충률을 이용하기 때문에 Levy et al. (1986)은 단제의 사충률이 70% 이하 일 경우 사용을 권장하였다. 따라서 혼합제의 협력효과를 검증하기 위해서는 기존에 많은 연구자들이 사용한 CI와 %M_(synergism), CTC, WR 뿐만 아니라 AR도 협력효과를 신뢰성 있게 검증할 수 있음을 확인하였다(Wadley, 1945; Sun and Johnson, 1960; Martin et al., 2003; Attique et al., 2006; Yang and Lai, 2019; Zhang et al., 2022).

혼합제의 방제효과 포장검정

포장에서 단제(afidopyropen, chlorfenapyr, cyantraniliprole)와 혼합제(afidopyropen + chlorfenapyr, chlorfenapyr + cyantraniliprole, afidopyropen + cyantraniliprole) 처리 3일차에서 각각 79.6, 85.9, 88.6%와 98.7, 95.8, 90.4%의 방제효과를 나타냈다(Table 6). 또한 7, 14, 21 일 경과후에도 혼합제는 99.0%이상의 높은 방제효과를 나타내어 단제 처리보다 우수한 방제효과를 보였다. 배추좀나방(*Plutella xylostella*)에 대해 emamectin benzoate 13.5 g/ha + chlorantraniliprole 0.375 ml/ha를 처리한 선행연구에서도 단제(emamectin benzoate 15 g/ha, chlorantraniliprole 150 ml/ha)와 유사한 효과가 보고된 바 있다(Zhang et al., 2022). Madgwick and Kanitz (2023)는 혼합제를 적은 양의 농약을 사용하면서도 높은 방제효과를 가져오며, 해충의 약제 저항성을 효과적으로 관리할 수 있는 대안으로 제시하기도 하였다.

이상의 결과에서 3 종의 약제(afidopyropen, chlorfenapyr,

cyantraniliprole)의 혼합처리는 약제 저항성이 발달한 목화진딧물의 방제에 효과적인 대안일 될 수 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 혼합제의 협력작용을 검증하기 위해 CI와 CTC, WR, AR 등의 수식을 통해 평가가 이루어진다면, 향후 혼합제 연구 및 개발에 도움이 될 것으로 기대된다.

사사

본 논문은 농촌진흥청의 지원을 받아 연구되었습니다(RS-2022-RD010420).

Statements for Authorship Position & Contribution

- Kang, D.-H.: Chungbuk National University, Student in M.S.;
Designed the research, wrote the manuscript and conducted experiments
- Lee, Y.: Chungbuk National University, Student in M.S.;
Conducted experiments
- Moon, H.H.: Chungbuk National University, Student in M.S.;
Conducted experiments
- Kim, S.E.: Chungbuk National University, Student in M.S.;
Conducted experiments
- Koo, H.-N.: Chungbuk National University, Researcher, Ph.D.;
Edited the manuscript
- Kim, H.K.: Chungbuk National University, Researcher, Ph.D.;
edited the manuscript

Kim, G-H.: Chungbuk National University, Professor, Ph.D;
Designed the research and edited the manuscript

All authors read and approved the manuscript

Literature Cited

- Abbott, W.S., 1925, A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18, 265-267.
- Attique, M.N., Khaliq, R.A., Sayyed, A.H., 2006. Could resistance to insecticides in *Plutella xylostella* (Lep., Plutellidae) be overcome by insecticide mixtures? *J. Appl. Entomol.* 130, 122-127.
- Bass, C., Nauen, R., 2023. The molecular mechanisms of insecticide resistance in aphid crop pests. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 156, 103937.
- Bernard, C., Philogène, B.J.R., 1993. Insecticide synergists: role, importance, and perspectives. *J. Toxicol. Environ.* 38, 199-223.
- Blackman, R.L., Eastop, V.P., 2000. Aphids on the world's crops: An identification and information guide. Wiley & Sons, Chchester.
- Bliss, C.I., 1939. The toxicity of poisons applied jointly. *Ann. Appl. Biol.* 26, 585-615.
- Brindley, W.A., Selim, A.A., 1984. Synergism and antagonism in the analysis of insecticide resistance. *Environ. Entomol.* 13, 348-354.
- Byford, R.L., Lockwood, J.A., Sparks, T.C., 1987. A novel resistance management strategy for horn flies (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* 80, 291-296.
- Carletto, J.E., Lombaert, P., Chavigny, T., Brévault, L., Vanlerberghe-Masutti, F., 2009. Ecological specialization of the aphid *Aphis gossypii* Glover on cultivated host plants. *Mol. Ecol.* 18, 2198-2212.
- Casida, J.E., 1970. Mixed-function oxidase involvement in the biochemistry of insecticide synergists. *J. Agric. Food Chem.* 18, 753-772.
- Chen, X., Tie, M., Chen, A., Ma, K., Li, F., Liang, P., Liu, Y., Song, D., Gao, X., 2017. Pyrethroid resistance associated with M918L mutation and detoxifying metabolism in *Aphis gossypii* from cotton growing regions of China. *J. Pest Manag. Sci.* 73, 2353-2359.
- Chou, T.C., 2010. Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay Method. *Cancer Res.* 70, 440-446.
- Colby, S.R., 1967. Calculating synergistic and antagonistic responses of herbicide combinations. *Weeds World: The International Electronic Arabidopsis Newsletter* 15, 20-22.
- Ebert, T.A., Cartwright, B., 1997. Biology and ecology of *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: aphididae). *Southwest. Entomol.* 22, 116-153.
- European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO), 2018. PP 1/306 (1) General principles for the development of co-formulated mixtures of plant protection products 42, 353-357. <https://doi.org/10.1111/epp.2608>
- Finney, D., 1942. The analysis of toxicity tests on mixtures of poisons. *Ann. Appl. Biol.* 29, 82-94.
- Foster, S.P., Denholm, I., Rison, J.L., Portillo, H.E., Margaritopoulos, J., Slater, R., 2012. Susceptibility of standard clones and European field populations of the green peach aphid, *Myzus persicae*, and the cotton aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae), to the novel anthranilic diamide insecticide cyantraniliprole. *Pest Manag. Sci.* 68, 629-633.
- Freeman, J.C., Smith, L.B., Silva, J.J., Fan, Y., Sun, H., Scott, J.G., 2021. Fitness studies of insecticide resistant strains: lessons learned and future directions. *Pest Manag. Sci.* 77, 3847-3856.
- Georghiou, G.P., 2005. Principles of insecticide resistance management. *Phytoprotection* 75, 51-59.
- Georghiou, G.P., Taylor, C.E., 1986. Factors influencing the evolution of resistance in: National Research Council (Ed.), Pesticide resistance: strategies and tactics for management. National Academy Press, Washington, D.C, pp. 157-169.
- Gleave, K., Lissenden, N., Chaplin, M., Choi, L., Ranson, H., 2021. Piperonyl butoxide (PBO) combined with pyrethroids in insecticide-treated nets to prevent malaria in Africa. *Corrhane Database Syst. Rev.* 2021, 5CD012776.
- Iverson, A., Hale, C., Richardson, L., Miller, O., McArt, S., 2019. Synergistic effects of three sterol biosynthesis inhibiting fungicides on the toxicity of a pyrethroid and neonicotinoid insecticide to bumble bees. *Apidologie* 50, 733-744.
- Kang, D.H., Lee, U.N., Kim, S.E., Moon, H.H., Kim, S.Y., Jung, J.W., Koo, H.N., Kim, H.K., Kim, G.H., 2023. Susceptibility assessment of cotton aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) field populations in Korea to 11 insecticides. *Korean J. pestic. Sci.* 27, 259-271. (In Korean)
- Khan, H.A.A., Akram, W., Shad, S.A., Lee, J.J., 2013. Insecticide mixtures could enhance the toxicity of insecticides in a resistant dairy population of *Musca domestica* L. *PloS One* 8, e60929. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060929>
- Kim, G.H., Cho, K.Y., Choi, S.Y., 1987. Joint toxic action of pyrethroids and primicarb mixtures to green peach aphid (*Myzus persicae* Sulzer). *J. Appl. Entomol.* 17, 179-183.
- Koo, H.N., An, J.J., Park, S.E., Kim, J.I., Kim, G.H., 2014. Regional susceptibilities to 12 insecticides of melon and cotton aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) and a point mutation associated with imidacloprid resistance. *Crop Prot.* 55, 91-97.
- Lee, J.M., Jeon, J.C., Kang, W.J., Kim, H.K., Park, B., Koo, H.N., Kim, G.H., 2022. Analysis of point mutations associated with fenvalerate and imidacloprid resistant cotton aphids, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) and selection of insecticides for effective control. *Korean J. pestic. Sci.* 26, 140-49. (In Korean)

- Levy, Y., Benderly, M., Cohen, Y., Gisi, U., Bassand, D., 1986. The joint action of fungicides in mixtures: comparison of two methods for synergy calculation. *Bull. OEPP*. 16, 651-657.
- Li, R., Cheng, S., Liang, P., Chen, Z., Zhang, Y., Liang, P., Zhang, L., Gao, X., 2022. Status of resistance of *Aphis gossypii* Glover, 1877(Hemiptera: Aphididae) to afidopyropen originating from microbial secondary metabolites in China. *Toxin* 13, 1157.
- Loewe, S., 1928. Die quantitativen probleme der pharmakologie. *Ergeb Physiol*. 27, 147-187.
- Madgwick, P.G., Kanitz, R., 2023. Beyond redundant kill: a fundamental explanation of how insecticide mixtures work for resistance management. *Pest Manag. Sci.* 79, 495-506.
- Martin, T., Ochou, G.O., Maurice, V., Didier, F., 2003. Organophosphorus insecticides synergize pyrethroids in the resistant strain of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) from West Africa. *J. Econ. Entomol.* 96, 468-474.
- Ministry of Agriculture and Forestry, 2000. Development of selective proinsecticide and low-input pesticide mixtures.
- Nam, H.Y., Kim, S., Lee, S.H., Lee, J.H., Kim, J.I., 2022. Insecticide resistance in pepper greenhouse populations of *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) in Korea. *Pestic. Biochem. Physiol.* 182, 105033.
- Nauen, R., Elbert, A., 2003. European monitoring of resistance to insecticides in *Myzus persicae* and *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) with special reference to imidacloprid. *Bull. Entomol. Res.* 93, 47-54.
- Roy, D., Biswas, S., Biswas, A., Chakraborty, G., Sarkar, P.K., 2022. Can insecticide mixtures be considered to surmount neonicotinoid resistance in *Bemisia tabaci*? *J. Asia Pac. Entomol.* 25, 101901.
- SAS Institute, 2019. SAS certified professional prep guide: advanced programming using SAS 9.4. SAS Institute.
- Somar, O.R., Zamani, A.A., Alizadeh, M., 2019. Joint action toxicity of imidacloprid and pymetrozine on the melon aphid, *Aphis gossypii*. *Crop Prot.* 124, 104850.
- Son, S.H., 2004. Development of amitraz and pyridaben mixture for the control of acaricide-resistant two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acarina: Teranichidae). Master's Thesis, Chungbuk National University, Cheongju.
- Sparks, T.C., Lorsbach, B.A., 2017. Agrochemical discovery - building the next generation of insect control agents in: Gross, A.D., Ozoe, Y., Coats, J.R., (Eds.), *Advances in agrochemicals: ion channels and G protein-coupled receptors (GPCRs) as targets for pest control*, ACS Symposium Series Vol. 1264, ACS Publications, Washington, DC, pp. 1-17.
- Sun, Y.P., Johnson, E.R., 1960. Analysis of joint action of insecticides against house flies. *J. Econ. Entomol.* 53, 887-892.
- Taillebois, E., Thany, S.H., 2022. The use of insecticide mixtures containing neonicotinoids as a strategy to limit insect pests: efficiency and mode of action. *Pestic. Biochem. Physiol.* 184, 105126.
- U.S. Environmental Protection Agency, 1986. Guidelines for the health risk assessment of chemical mixtures. U.S Environmental Protection Agency Washinton, DC, 51, 34014-34025.
- Wadley, F.M., 1945. The evidence required to show synergistic action of insecticides and a short cut in analysis. US Department of Agriculture, Bureau of Entomology and Plant Quarantine.
- Yang, Y.Y., Lai, C.T., 2019. Synergistic effect and field control efficacy of the binary mixture of permethrin and chlorpyrifos to brown planthopper (*Nilaparvata lugens*). *J. Asia Pac. Entomol.* 22, 67-76. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2018.11.004>
- Zhang, J., Jiang, J., Wang, K., Zhang, X., Liu, Z., Yu, N., 2022. A binary mixture of emamectin benzoate and chlorantraniliprole supplemented with an adjuvant effectively controls *Spodoptera frugiperda*. *Insects* 13, 1157.