

살충제 개발을 위한 생물검정법의 확립 II. 처리방법 및 종간에 따른 살충제 감수성 차이

Establishment of Bioassay System for Developing New Insecticides II. Differences in Susceptibilities of the Insect Species to Insecticides according to Different Application Methods

안 용 준¹ · 김 길 하² · 박 노 중² · 조 광 연²

Young Joon Ahn¹, Gil Hah Kim², No Jung Park², and Kwang Yun Cho²

ABSTRACT To establish the economical and reliable routine bioassay system for developing new insecticidal compounds, effects of leaf-dipping time, application methods, insect species and their developmental stages on susceptibilities of insects to insecticides were studied. The stable insecticidal activity appeared at the dipping time for 30-60 seconds in leaf-dipping method, and the most effective application methods were leaf-dipping method for apterous green peach aphid adults, and third instars of diamond-back moth and tobacco cutworm, whereas seedling + insect spray method for adults or third instars of brown planthoppers. For two-spotted spider mite, leaf-dipping or intact plant spray method was favorable. In the bioassay for chitin synthesis inhibitors, the inoculation of third instars of brown planthopper, diamond-back moth, tobacco cutworm and green peach aphid, and larvae of two-spotted spider mite to the young host plants treated by spray method were adequate bioassay methods.

KEY WORDS Bioassay, leaf-dipping, spray, susceptibility, insecticide, acaricide

초 록 신규 살충성화합물의 개발을 위한 생물검정법 확립의 일환으로 수종의 곤충을 이용하여 침지시간, 약제처리 방법, 공시충의 종간 및 발육태에 따른 살충제의 감수성을 조사하였다. 침지시간, 처리방법, 공시충의 종간 및 발육태에 따라 살충력에 현저한 차이를 보였는데, 침지시간은 엽침지법에서 약 30~60초 침지처리에서 효과가 좋았으며 60초 이상 침지처리에서는 식물체의 내용물이 용출되어 바람직하지 않았다. 처리방법은 콩진딧물과 복숭아혹진딧물 무시암컷, 배추좀나방과 담배거세미나방 3령유충은 엽침지법, 벼멸구 3령약충 또는 성충과 벼유묘 동시분무법, 점박이용애는 엽침지법 또는 분무법이 효과적인 처리방법이었다. 키틴합성저해제의 검정은 벼멸구의 경우 3령약충, 배추좀나방과 담배거세미나방 3령유충, 진딧물류 3령약충 및 점박이용애 유충을 약제가 분무처리된 유묘에 접종하여 검정하는 방법이 적합하였다.

검 색 어 생물검정, 엽침지법, 분무법, 감수성, 살충제, 살비제

농약산업은 오늘날 미국과 일본의 경우 의약 산업의 1/6~1/10, 화장품산업의 1/2~1/3에

1 서울대학교 농업생명과학대학(College of Agriculture and Life Sciences, Seoul National University, Suwon 441-744)

2 한국화학연구소 스크리닝센터(Screening Research Center, Korea Research Institute of Chemical Technology, P.O. Box 9, Daedeog-Danji 305-606, Republic of Korea)

이어지는 커다란 산업으로서(永江 1987), 1990년의 세계 농약 매출고는 195억불이었으며, 2000년에는 약 214~342억불로 예측되고 있는데, 이중 살충제의 시장 점유율은 1990년 29%이었다(安田 1987, Anonymous 1991).

최근 국내에서는 신규 농약활성물질의 개발에 관심이 고조되어 많은 화합물이 합성되고 있으나, 신규 농약활성물질의 개발의 전제가 되는 생물검정법의 체계가 확립되어 있지 않아 효력검정에 많은 어려움을 겪고 있다. 생물검정법에는 실내검정법, 풋트시험법, 야외시험법이 있으나, 다량의 화합물을 검정하기 위해서는 우선 실내검정법이 확립되어야 하며, 이는 그 목적상 작업이 간단하며 노력이 적게 들고 경제적이면서 신속 정확하여야 한다. 실내검정법의 경우에 있어서는 무엇보다도 공시충과 용매의 선택이 중요한데, 곤충의 약제에 대한 감수성은 곤충의 종류에 따라 다르며 또한 종간에도 커다란 차이를 보이고 있을뿐 아니라, 동일종내에서도 계통, 성, 발육태, 생육시기의 환경조건에 따라서도 다르게 나타나기 때문에 (Shepard 1954, Lilly 1956, Harris 1972, 深見 등 1981, 會田 1983), 신규 살충활성물질의 개발을 위한 실내검정법의 경우 다량의 화합물의 살충효과를 검정하기 위해서는 될 수 있는대로 많은 종류의 곤충을 공시하는 것이 바람직하다. 그러나 공간적, 시간적, 경제적 제약 및 개발된 후의 시장성등을 고려하여 경제적으로 중요하면서, 약제에 대한 감수성이 높으며, 대량 사육법이 확립되어 취급용이한 곤충을 공시충으로 선택하는 것이 바람직하는데, 이러한 점등을 고려하여 조 등(1987)은 공시충으로서 배추좀나방, 담배거세미나방, 버멸구, 진딧물류, 모기, 파리등이 실내검정용 공시충으로서 적합하다고 하였다. 또한 용매의 경우 용해도가 다른 유기합성화합물이나 식물체의 추출물을 녹여야 하기 때문에 용해력이 크면서 공시충과 기주식물에 독작용이 없어야 하는데 안과 조(1992)는 수종의 유기용매가 곤충과 식물 및 화합물의 용해성에 미치는 영향을 조사하여, 5

% 아세톤 용액이 곤충과 기주식물에 부작용이 없을뿐 아니라 화합물의 용해성도 양호하여 다량의 화합물을 검정하는데 적합하다고 하였다.

살충성물질의 개발을 위한 생물검정법은 직접처리법(분무, 급이, 주사, 미량국소, 총체처리 등)과 간접처리법(엽침지, 도포, dry film처리 등)이 있으나, 우리나라 실정에 맞는 간편하고 정확한 생물검정법의 확립이 절실할 뿐 아니라 또한 물질특허를 비롯한 지적소유권의 보호로 인하여 외국으로부터의 새로운 생물검정법의 도입도 불가능한 실정에 있기 때문에, 본 시험은 신규 살충성물질의 개발을 위한 생물검정법 확립의 일환으로서 전보(안과 조 1992)에 이어 수종의 주요 해충을 공시하여 곤충의 종 및 공시약제의 처리방법에 따른 살충제감수성의 차이를 조사함으로써, 다량의 화합물을 신속 정확하면서 경제적인 약제처리법을 선별하여, 국내실정에 부합되는 생물검정법의 체계확립에 기여하고자 하였다.

재료 및 방법

공시충

버멸구 (*Nilaparvata lugens*), 배추좀나방 (*Plutella xylostella*), 담배거세미나방 (*Spodoptera litura*)은 1986년 농촌진흥청 농업기술연구소 곤충과에서 분양받았으며, 복숭아혹진딧물 (*Myzus persicae*), 목화진딧물 (*Aphis gossypii*), 콩진딧물 (*Aphis glycines*), 점박이용애 (*Tetranychus urticae*)는 1986년 유성근교의 야외포장에서 채집한 것으로, 이들 공시충은 실험실내에서 살충제의 도태없이 누대사육 하였다. 버멸구는 2~3엽기 (*Oryza sativa*; 추정벼) 유묘, 복숭아혹진딧물은 과종후 3~4개월된 담배 (*Nicotiana tabacum*; NC 82), 콩진딧물은 2엽기 콩 (*Glycine max*), 목화진딧물은 오이 (*Cucumis sativus*) 유묘, 배추좀나방은 과종후 2~3개월된 배추 (*Brassica campestris*; 서울배추), 점박이용애는 2엽기의 강남콩 (*Phaseolus vulgaris*)을 식이식물로 하여 사육하였으며, 사육조건은 명

암 16:8시간, 상대습도 50~60%, 사육온도는 벼멸구와 배추좀나방은 $27 \pm 1^\circ\text{C}$, 진딧물은 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 점박이응애는 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 이었다.

공시약제

살충제로서는 유기인제 9종(demeton S-methyl, diazinon, acephate, vamidothion, monocrotophos, phosphamidon, phenthoate, dimethoate, pirimicarb), 카바메이트제 2종(BPMC, NAC), 칼탑(cartap), 피레스로이드제 3종(cypermethrin, deltamethrin, fenvalerate), 탈피저해제(buprofezin)을 공시하였으며, 살비제로는 유기염소계 2종(dicofol, tetradifon), 유기주석제 2종(cyhexatin, fenbutatin oxide), 벤지레이트계(bromopropylate), isothiazolidinone제(hexythiazox), 키틴합성저해제(flufenoxuron)를 공시하였다. Flufenoxuron(10% DC), fenbutatin oxide(50% WP), hexythiazox(10% WP)는 추천농도에 따라 살포하였으며, 기타 약제의 경우 순도 90% 이상의 원제를 사용하였다.

식물체의 침지시간에 따른 곤충의 약제감수성

안과 조 (1992)의 방법에 따라 공시약제를 5% 아세톤용액에 용해한 후, 복숭아혹진딧물과 담배겨세미나방유충의 식이식물을 시간별로 침지하고나서 공시충을 접종하였다. 처리후 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대습도 50~60%, 명암 16:8 시간으로 조절된 항온실에 비치하여 48시간후에 사충율을 조사하였으며, Finney(1963)의 Probit 계산법에 따라 LC_{50} 또는 LD_{50} 값을 구하였다.

종에 따른 약제감수성

진딧물의 경우 적색형의 복숭아혹진딧물, 목화진딧물, 콩진딧물의 무시 암컷성충을 공시하여 엽침지법과 분무법으로 처리하였다. 엽침지법의 경우 cork borer를 이용하여 담배, 오이, 콩 잎의 절편(ϕ 5 cm)을 만든후, 공시약제의 5% 아세톤용액에 30초간 침지하여 30~60분간 음건하였다. 처리된 잎의 건조를 막기위하여 스폰지에 물을 흡수시킨후 여지를 깔고 그위에

처리된 잎을 놓고나서 공시충을 접종하였다. 분무법의 경우 각 식이식물의 절편(ϕ 5 cm)에 공시충을 접종하고나서 소형분무기를 이용하여 공시약액을 처리하였다. 처리된 잎들은 명암 16:8시간, $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대습도 50~60%로 조절된 항온실에 비치하였다. 처리구당 20마리씩 두반복으로 실시 하였으며 24시간후에 사충율을 조사하였다.

처리방법에 따른 공시충의 약제감수성

진딧물은 적색형의 복숭아혹진딧물, 목화진딧물, 콩진딧물 3종을 공시하여 상기의 방법에 따라 처리하였다.

벼멸구는 우화 3~5일후의 암컷성충을 공시하여 벼 유묘침지법, 벼 유묘와 충 동시 살포법, 충체살포법, 미량국소처리법으로 처리하였다. 유묘침지법의 경우 초장 5 cm인 유묘 5본을 공시약액에 30초간 침지한후, 30~60분 음건하고나서 뿌리부분을 솜으로 말아 시험관(ϕ 3 × 15 cm)에 넣고나서 20마리씩 접종하였다. 벼 유묘와 충 동시 살포법은 벼 유묘가 들어있는 시험관(ϕ 3 × 15 cm)에 공시충을 20마리씩 접종한 후, 소형분무기를 이용하여 살포하였다. 충체살포법에서는 공시충을 탄산가스로 마취시킨후, 샬레(ϕ 9 cm)에 배열하고 나서 소형분무기를 이용하여 살포한 다음 벼 유묘가 들어있는 시험관(ϕ 3 × 5 cm)에 접종하였다. 미량국소처리법의 경우 Burkard microapplicator PAX 100(Burkard사, England)을 이용하여 암컷성충의 흉부배판에 공시약제의 아세톤액 0.2 μ 씩 처리하고나서 유묘가 들어있는 시험관에 접종하였다. 각 처리당 3반복으로 실시하였으며, 처리 48시간후에 사충율을 조사하였다.

점박이응애는 암컷성충을 공시하여 분무법, 엽침지법, 슬라이드법으로 처리하였다. 엽침지법의 경우 강남콩잎 절편(ϕ 5 cm)을 공시약제의 5% 아세톤용액에 5초간 침지하여 30~60분간 음건하였다. 처리된 잎의 건조를 막기위하여 스폰지에 물을 흡수시킨 후 그위에 처리 절편을 놓고나서 응애를 접종하였다. 분무법의

경우 강남콩잎 절편(φ 5 cm)에 응애를 접종한 후 소형분무기를 이용하여 약제를 살포하였으며, 슬라이드법은 양면 접착 테이프를 슬라이드그라스에 붙인다음 테이프의 아래쪽 면에 붓을 이용하여 공시충을 부착시킨후 약제에 침지처리하였다. 각 처리구당 30마리씩 3반복으로 실시하였으며, 처리 48시간후에 사충율을 조사하였다.

키틴합성저해제의 생물검정법

벼멸구 2, 3, 4, 5령충 및 성충을 공시하여 buprofezin에 대한 충태별 감수성을 조사하였다. 소정약량의 buprofezin을 아세톤에 용해시킨후 100 ppm Triton X-100용액에 첨가하여 50μl를 벼 유묘가 들어있는 시험관(φ 5 × 20 cm)에 살포한 다음 시간별로 사충율을 조사하였다.

점박이응애의 경우에는 2엽기의 강남콩 잎중에서 한쪽 잎을 잘라낸 후 flufenoxuron, fenbutatin oxide, hexythiazox를 분무하고 나서 알, 유충, 성충을 접종하여 충태별 감수성을 조사하였다.

결과 및 고찰

식물체의 침지시간에 따른 곤충의 감수성차이

식이식물의 잎 절편(φ 5 cm) 또는 유묘를 공시약제에 침지하였을 때, 침지시간에 따른 복숭아혹진딧물과 담배거세미나방유충의 사충율을 표 1에 나타내었다. 침지시간에 따른 살충효과는 60초 침지에서 효과가 가장 좋아 10초

침지에 비하여 1.6~3.3배 살충력이 높았다. 中山와 竹田(1980)도 배추좀나방에 있어서 60초 침지처리가 10초 침지처리보다 약 1.6~2.2배 살충력이 높았음을 보고한 바 있다. 그러나 60초 이상 침지하였을 때에는 식물체의 내용물이 용출되어 바람직하지 않았다.

종에 따른 약제감수성

3종의 진딧물(복숭아혹진딧물, 목화진딧물, 콩진딧물)의 공시약제에 대한 종간의 감수성은 살충제의 종류에 따라 현저한 감수성의 차이를 보이고 있는데(표 2), 엽침지법과 분무법 두처리의 LC₅₀의 평균값은 콩진딧물이 19 ppm으로서 복숭아혹진딧물의 109 ppm과 목화진딧물의 241 ppm에 비하여 5.7~12.7배나 높은 감수성을 보였다. 특히 pirimicarb은 복숭아혹진딧물이나 콩진딧물에 비하여 목화진딧물에서 살충력이 크게 저하되었다. Tattersfield(1934)는 복숭아혹진딧물과 목화진딧물의 수종 살충제에 대한 감수성을 비교하여 복숭아혹진딧물보다 목화진딧물이 약제감수성이 낮았으며 특히 pirimicarb는 이 경향이 현저하다고 하여 본시험과 비슷한 경향을 나타내었다. 따라서 3종의 진딧물중 감수성이 높은 콩진딧물이 신규 화합물의 생물검정재료로서 적합하다고 할 수 있으나, 복숭아혹진딧물은 사육이 간편하고 취급이 용이하며 경제적으로 중요하기 때문에 콩진딧물과 복숭아혹진딧물 두종 모두를 공시충으로 이용하는 것이 신규 살충활성물질의 개발확률을 높이리라 생각된다.

곤충의 종에 따른 살충제의 감수성차이는 수종의 곤충에서 보고된 바 있는데(深見 등 1981, 會田 1983), 멸구·매미충의 경우 흰등멸구와 벼멸구는 각종 살충제에 대한 감수성이 거의 유사하나 끝동매미충과 벼멸구는 흰등멸구와 애멸구에 비하여 감수성이 낮다(宮原와 福田 1964, 尾崎와 黒須 1967, 福田와 永田 1969). 이와 같이 종에 따른 약제감수성 차이의 기구에 대해서는 잘 알려지지 않고 있으나, 이는 감수성저하에 영향을 미치는 해독분해효

Table 1. Effect of leaf-dipping time of insecticide solution on toxicity against tobacco cutworm and green peach aphid

Insect	Insecticide	Dipping time(second)				
		5	10	20	30	60
<i>M. persicae</i>	pirimicarb	13.7 ^a	13.3	13.8	18.4	8.4
	demeton-S-methyl	26.3	36.1	17.5	14.7	11.1
<i>S. litura</i>	phenthoate	122.2	150.8	109.6	145.9	91.0

^aAll values mean LC₅₀(ppm).

Table 2. Susceptibilities of three aphid species to insecticides determined by different application methods

Insecticide	LC ₅₀ (ppm)								
	<i>M. persicae</i>			<i>A. gossypii</i>			<i>A. glycines</i>		
	LDA ^a	SA ^b	SR ^c	LDA	SA	SR	LDA	SA	SR
Acephate	78	80	1.0	39	51	0.8	64	52	1.2
Demeton-S-methyl	59	21	2.2	68	32	2.1	4	3	1.3
Vamidothion	315	301	1.0	1175	307	3.8	13	4	3.3
Monocrotophos	125	75	1.7	42	48	0.9	0.3	3	0.1
Phosphamidon	333	210	1.6	323	144	2.2	3	6	0.5
Pirimicarb	9	9	1.0	598	>100	—	6	2	3.0
Cypermethrin	119	73	1.6	8	12	0.7	95	28	3.4
Deltamethrin	18	27	0.9	2	2	1.0	2	1	2.0
Fenvalerate	67	33	2.0	315	161	2.0	41	7	5.9
Average	125	92		286	>195		25	12	

^a Leaf-dipping application.

^b Spray application.

^c Susceptibility ratio = LC₅₀ value of leaf-dipping method / LC₅₀ value of spray method.

소(mixed function oxidase, hydrolase, glutathione S-transferase)의 활성차이(Fukami 1980, 深見 등 1983, Hodgson 1985) 및 작용점의 감수성(O'Brien 1960)의 차이에 의한 것으로 생각된다.

처리방법에 따른 공시충의 약제감수성

3종의 진딧물에 대해 엽침지법과 분무법으로 처리하였을때의 처리방법에 따른 감수성의 차이는 공시 진딧물 종간에 따라 차이를 보이고 있다(표 2). 복숭아혹진딧물, 목화진딧물, 콩진딧물의 공시살충제의 LC₅₀의 평균값은 분무법의 경우 각각 92 ppm, >159 ppm, 12 ppm이었으나, 엽침지법의 경우 LC₅₀은 각각 125 ppm, 286 ppm, 25 ppm으로 분무처리가 엽침지처리에 비하여 살충제 감수성이 높았다.

처리방법에 있어서 엽침지법은 처리가 용이하고 공시식물에 약액을 고르게 처리할 수 있어 시험오차를 줄일 수 있으며, 또한 이미 처리된 공시식물에 공시충을 접종하므로 진딧물의 이탈을 방지할 수 있으나, 분무법의 경우에는 공시식물에 약제를 처리할때 공시충의 이동이 심하며 약액이 고르게 분산되지 않고 방울을 형성하는 경우가 많아 진딧물이 빠져 죽는 경우가 있어 시험결과의 변이가 엽침지법보다

크기 때문에 보다 정확하고 변이가 적은 엽침지법을 신규 화합물의 생물검정에 이용하는 것이 바람직하였다.

벼멸구는 수도해충 중에서 경제적 피해가 가장 심한 해충의 하나이며, 또한 앞서 언급한 바와같이 타 멸구·매미충에 비하여 살충제감수성이 낮아 벼멸구에 효력이 있는 화합물은 멸구·매미충에 효과가 있을 것으로 생각되어 벼멸구를 공시충으로 이용하였다. 벼멸구를 유묘 침지법, 유묘와 충 동시 살포법, 충체 살포법, 미량국소처리법으로 처리하였을때, 공시약제에 대한 감수성의 정도는 처리방법과 공시약제의 종류에 따라 커다란 차이를 보였다(표 3).

공시약제에 대한 벼멸구의 감수성은 cartap

Table 3. Susceptibilities of *Nilaparvata lugens* female adults to insecticides determined by different application methods

Insecticide	LC ₅₀ (ppm)			LD ₅₀ (μ g/female)
	Seedling & insect spray	Insect spray	Leaf dipping	Topical application
BPMC	1.9	32.1	26.7	0.0058
Diazinon	5.5	56.4	45.8	0.0244
NAC	9.0	215.0	53.8	0.0428
Cartap	352.7	219.7	257.6	—
Average	92.3	130.8	96.0	

의 경우 diazinon, BPMC, NAC에 비하여 살충력이 낮았으며 또한 풋트시험에 있어서도 방제효과가 극히 낮다는 것이 알려져 있으나(IRRI 1975, 1976), Heinrichs(1980)와 장과 최(1984)는 실제 포장시험의 결과 cartap은 diazinon, carbofuran, isazophos에 비하여 방제효과가 우수하였다고 보고하였다. 이와 같이 생물검정법에 따른 약효력의 차이에 대한 기구는 아직 명확히 밝혀져 있지 않으나 cartap과 같은 유형의 약제는 실내검정이나 풋트시험에서는 놓쳐버릴 가능성이 있기 때문에 포장시험법의 중요성이 인정되기는 하나 수많은 화합물 모두를 처음부터 포장시험으로 실시한다면 시간, 노력, 경비면에서 커다란 부담이 되어 바람직하지 않으므로, cartap과 같은 약제는 특수한 경우라 할 수 있다.

처리방법에 따른 감수성은 diazinon, BPMC, NAC의 경우 유묘와 총 동시 살포처리가 가장 감수성이 높았으며 유묘 침지처리, 총체 살포처리의 순으로 감수성이 저하하였다. 유묘와 총 동시 처리법은 유묘와 총 모두에 약액이 부착되므로 효력이 우수하여 신규 화합물의 선발에 적합하나, 엽침지법의 경우 총체에 약액이 부착되지 않으며 총체 살포의 경우는 총체자체가 젖어 벽면에 붙어서 죽는 경우가 많아 시험오차가 크다고 할 수 있으며, 또한 미량국소처리법의 경우 역시 많은 화합물을 처리할 수 있으며 재현성과 신뢰성이 높아 기초자료를 얻는데에는 이용가치가 높다고 할 수 있으나, 접촉독효과만을 나타낸다는 점에서, 이들 세 방법은 신규 화합물의 개발을 위한 생물검정법으로서 적합치 않다고 할 수 있다. 따라서 다량의 화합물을 정확하게 검정하기 위해서는 유묘와 총 동시 살포법이 유리하였다.

점박이용애를 분무법, 엽침지법, 슬라이드법으로 처리한 결과, 살비제의 종류에 따라 커다란 감수성차이를 보였다(표 4). 공시 살비제중 dicofol의 경우 슬라이드법은 엽침지법과 분무법에 비하여 약 28배나 높은 살비력을 보였으나, cyhexatin은 슬라이드법보다 분무법과 침

Table 4. Susceptibilities of *Tetranychus urticae* female adults to acaricides determined by different application methods

Acaricide	LC ₅₀ (ppm)		
	Spray	Leaf dipping	Slide
Dicofol	135.3	139.6	4.8
Bromopropylaic	133.0	79.0	98.4
Cyhexatin	76.8	63.7	317.2
Tetradifon	>400.0	>400.0	>400.0
Average	>186.3	>170.6	>205.1

지법에서 높은 살비력을 보였다. 처리방법에 따른 살비제에 대한 감수성은 침지법과 분무법이 슬라이드법보다 변이가 적은 경향을 보였으나, 이 등(1986)은 침지법이 슬라이드법보다 시험 결과의 변이가 크다고 하였다.

엽침지법은 처리가 간편하며 접촉독과 소화중독효과를 겸하여 시험할 수 있어 화합물의 개발에는 유리하나, 총의 접촉에 시간이 걸리며, 처리후 샐레에 방치 하였을때 응애가 처리엽으로부터 도망하는 결점이 있다. 분무법은 약액이 고루 분산되지 않는 단점이 있으나, 처리후 공시충을 접종하는 것보다 공시충이 붙어 있는 잎에 처리한 후 잎을 잘라내어 일정한 수의 공시충만 남겨두고 나머지는 제거하는 방법을 취한다면, 접촉에 시간이 걸리는 침지법보다 많은 화합물을 처리할 수 있기 때문에 이 방법이 응애류의 생물검정에 적합하였다. 슬라이드법은 한가지 농도에 대하여 여러 계통을 동시에 처리할 수 있어 약제 저항성계통간의 감수성 비교에는 적합하나, 접종시 시간을 요하며 접촉독 효과만을 시험할 수 있다는 결점이 있어 신규 화합물의 개발에는 적합하지 않다고 할 수 있다. 따라서 침지법이 변이가 적다는 점에서 살비제의 생물검정에 적합하나, 분무법도 많은 화합물을 검정할 수 있기 때문에 두 방법중 어느것을 사용해도 무방하리라 생각된다.

처리방법에 따른 약제감수성의 차이는 많은 곤충에서 보고된 바 있는데(深見 등 1981, 會田 1983), 이와 같이 처리방법에 따라 살충제 감수성 차이를 나타내고 있는 것은 살충제의

작용경로와 작용부위의 차이에 의한 것으로 생각된다. 살충제는 소화중독, 접촉, 혼중, 침투이행과 같은 작용경로를 통하여 작용점에 도달하여 살충력을 발휘하는데(Narahashi 등 1964), 이 중 어떤 경로에 따라 작용하는지 그리고 살충제가 총체의 어느 부위에 작용하느냐 즉 신경독, 피부독, 호흡독, 근육독중 어느 것에 해당하느냐에 따라 현저한 감수성의 차이가 발견되는 것으로 생각된다.

키틴합성저해제의 생물검정법

종래의 살충제 생물검정법은 유기합성화학물의 속효성 살충효과만을 강조하였으나, 최근 지효성이라도 최종적으로 해충의 밀도억제효과를 나타내는 화합물에 관심이 모아져, 새로운 유형의 생물검정법의 개발이 절실히 요구되고 있다. 이러한 유형의 화합물중 키틴합성저해제는 환경오염, 인축독성 및 천적에 대한 독성이 낮을뿐 아니라, 우수한 살충력으로 인하여 종합방제의 한 수단으로서 중요시 되고 있는데(Westgard 1979, Riedl & Hoying 1980), 본 시

험에서는 버벌구와 점박이용애를 공시하여 신규 키틴합성저해제의 개발을 위한 생물검정법을 확립하고자 하였다.

탈피저해제인 buprofezin의 살충효과는 버벌구의 영기가 높아질수록 감수성이 낮아지며 성충에 대해서는 살충력이 거의 없었다(표 5). 또는 버벌구약충을 공시하여 탈피저해제 실험을 행할 경우 가장 적합한 조사시기는 2~3령 처리시에는 72~120시간, 4~5령 처리시에는 96~144시간으로 보여진다.

표 6은 점박이용애의 총태에 따른 수종 약제에 대한 감수성을 나타낸 것이다. 살비제의 종류와 총태에 따라 감수성이 달리 나타나고 있는데 fenbutatin oxide의 경우에는 모든 총태에 우수한 살비력을 보였으나, hexythiazox와 키틴합성저해제인 flufenoxuron은 총태에 따라 감수성에 차이를 보였다. Flufenoxuron의 경우에는 1령 유충에는 살비력을 보였으나 성충, 알, deutonymph에는 약효가 없었으며, hexythiazox는 알과 1령 유충에는 효과를 보였으나 deutonymph와 성충에는 효과가 없었다.

Table 5. Susceptibility of developmental stages of *Nilaparvata lugens* to buprofezin determined by leaf-dipping method

Stage	Body weight (mg)	LC ₅₀ (ppm)						
		24	48	72	96	120	144	168
2nd instar nymph	0.031	—	0.85	0.018	0.011	0.007	—	—
3rd instar nymph	0.250	—	1.99	0.81	0.50	0.46	0.43	0.41
4th instar nymph	0.80	—	—	7.20	2.89	1.08	—	—
5th instar nymph	1.01	—	72.71	18.98	4.09	1.89	—	—
adult(0 DAE) ^a	2.30	>500	>500	>500	>500	—	—	—
(4 DAE)		>500	>500	>500	>500	—	—	—

^a Days after emergence.

Table 6. Susceptibility of developmental stages of *Tetranychus urticae* to some acaricides determined by spray method

Acaricide	Rate mg(AI)/plant	Mortality (%)			
		Egg	1st instar	Deutonymph	Adult
Flufenoxuron	0.250	18	100	12	9
	0.125	28	100	9	5
Fenbutatin oxide	0.250	100	100	100	100
	0.125	100	100	100	100
Hexythiazox	0.250	100	100	33	5
	0.125	100	100	21	2

따라서 벼멸구 약충을 공시할때 1~2령충은 감수성이 우수하나 취급하기가 어렵고, 4~5령의 약충은 취급은 용이하나 감수성이 낮기때문에 두 요건을 동시에 만족시킬 수 있는 3령약충을 공시충으로 택하는 것이 바람직하였다. 이와 같이 충태에 따른 약제의 감수성 저하는 톱다리개미허리노린재(김 등 1988), 거세미나방류(Harris 1972, 안 등 1980) 등에서 보고된 바 있는데, 조 등(1987)은 신규 살충성물질의 개발을 위한 생물검정법용 공시충으로서 벼멸구의 경우 우화 3~5일의 암컷성충, 배추좀나방의 경우 3령유충, 진딧물류의 경우 무시 암컷성충, 담배거세미나방은 3령유충, 응애류는 암컷성충이 적합하다고 하였다.

한편, 이와 같이 충태에 따른 살충제의 감수성저하는 체중의 증가, 약제 투과성의 감소, 곤충 자체의 생리생화학적인 변화등을 들 수 있는데, 안 등(1980)은 수종의 약제를 거세미나방유충에, 김 등(1992)은 diflubenzuron을 톱다리개미허리노린재에 미량국소처리법으로 처리하였을때 영기에 따른 살충력의 감소는 체중의 증가에 따른 것이 아니라 곤충 자체의 생리생화학적인 변화에 기인한다고 하였다.

키틴합성저해제는 영기와 관련이 있는 것으로 일정기간 지나야 약효력이 나타나므로 잎질편을 이용하는 침지법이나 분무법 또는 슬라이드법등은 어느정도 시간이 지나면 건조되므로 화합물의 약효력을 정확하게 평가하기 어려우며, 또한 식물체 전체를 이용하는 것 역시 번거롭기 때문에 벼멸구의 경우 유묘와 3령유충 동시 분무법이 양호하며, 기타충의 경우 공시 유묘의 잎 하나만을 남기고 나머지는 모두 제거한후 분무처리 하고나서 유충(배추좀나방과 담배거세미나방 3령, 진딧물류 3령, 응애류 1령)을 접종하는 방법이 키틴합성저해제 개발을 위한 검정법으로 적합하였다.

인 용 문 헌

안용준, 조광연. 1992. 살충제개발을 위한 생물검

정법의 확립 I. 각종 유기용매가 곤충의 독성과 약해 및 화합물의 용해성에 미치는 영향. 한국응용곤충학회지 31: 182~189.

안용준, 김요태, 김홍진, 최승윤. 1980. 거세미나방 유충의 영기에 따른 몇가지 토양살충제의 독성의 차이에 관한 연구. 한국식물보호학회지 19: 79~83.

會田重光. 1983. *In vitro* 檢定法, pp. 232~271. 最新農藥生物檢定法(細辻豊二編). 全國農村教育協會, 東京.

Anonymous. 1991. Agrochemical Service, Reference volume of the agrochemical service: Update of the agrochemical products section part 1 and 2, 156pp. County NatWest Securities Limited Incorporating Wood Mackenzie & Co. Ltd., London.

장영덕, 최승윤. 1984. Padan 입제(4G)의 벼멸구 방제효과 및 살충효과에 미치는 몇가지 요인에 관한 연구. 한국식물보호학회지 23: 221~232.

조광연, 안종용, 안용준. 1987. 살충제 스크리닝 체제 확립, pp. 501~724. 신규 농약개발을 위한 스크리닝 체제 확립. 과학기술처.

Finney, D.J. 1963. Statistical Methods in Bioassay. Griffin, London.

Fukami, J. 1980. Metabolism of insecticides by glutathione S-transferase. Pharmacol. Therap. 10: 473~514.

深見順一, 上杉康彦, 石塚皓造(編). 1983. 藥劑抵抗性. ソフトサイエンス社, 東京

深見順一, 上杉康彦, 石塚皓造, 富澤長次郎. 1981. 農藥實驗法(殺蟲劑編). ソフトサイエンス社, 東京

福田秀夫, 永田 徹. 1969. ウンカ類の種間における殺蟲劑の選擇毒性. 應動昆 13: 142~149.

Harris, C.R. 1972. Factors influencing the effectiveness of soil insecticides. Ann. Rev. Entomol. 17: 177~198

Heinrichs, E.A. 1980. Insecticide evaluation. Dept. Entomol., IIRI 19p

Hodgson, E. 1985. Microsomal monooxygenases, pp. 225~321. In G.A. Kerkut & L.I. Gilbert(ed.), Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology. Pergamon Press.

IIRI. 1975. Annual Report for 1975. Entomology-Insecticides. IIRI(Philippines). 25p.

IIRI. 1976. Annual Report for 1976. Entomology-Insecticides. IIRI(Philippines). 160p

김길하, 안용준, 조광연. 1988. 톱다리개미허리노린재의 발육단계에 따른 살충제 감수성. 한국곤충학회지 4: 269~274.

Kim, G.H., Y.J. Ahn & K.Y. Cho. 1992. Effects of diflubenzuron on longevity and reproduction of *Riptortus clavatus*(Hemiptera: Alydidae). J. Econ.

- Entomol. 85 : 664~667.
- Lee, S.C., W.Y. Kim & S.S. Kim. 1986. Method comparison of chemical resistance level determination and field resistance of two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch to benzomate, cyhexatin, and dicofol. Korean J. Plant Prot. 25 : 133~138.
- Lilly, J.P. 1956. Soil insects and their control. Ann. Rev. Entomol. 1 : 203~222.
- 宮原義雄, 福田秀夫. 1964. 微量局所施用によまる ツマグロヨコバイとヒメトビウンカの殺蟲劑感受性. 應動昆 8 : 210~216.
- 永江祐治. 1987. 農業問題と農業開發指針, pp.172~217. 新農藥の開發と市場展望. シーエムシー(株), 東京.
- 中山 勇, 竹田久己. 1980. 難防除病害蟲に関する試験成績. 日本植物防疫 77~80.
- Narahashi, T., K. Nishimura, J.L. Parmentier, K. Takeno & M. Elliott. 1977. Neurophysiological study of the structure-activity relation of pyrethroids, pp. 85~97. In M. Elliott(ed.), Synthetic Pyrethroids. ACS Symp. Ser. 42., Washington, D.C., Am. Chem. Soc.
- O'Brien, R.D. 1978. Biochemistry of Insects, 515pp. Academic Press, New York.
- 尾崎行三郎, 黒須泰久. 1967. ツマグロヨコバイにおける殺蟲劑抵抗性. 應動昆 11 : 145~149.
- Riedl, H. & S.A. Hoying. 1980. Impact of fenvalerate and diflubenzuron on target and non-target arthropod species on Bartlett pear in northern California. J. Econ. Entomol. 73 : 117~122.
- Shepard, H.H. 1958. Methods of Testing Chemicals on Insect(I). Burges Publishing Co., Minn.
- Tattersfield, F. 1934. Biological methods of testing insecticides. Ann. Appl. Biol. 26 : 365~384.
- Westigard, P.H. 1979. Codling moth: control on pear with diflubenzuron and effects on non-target pest and beneficial species. J. Econ. Entomol. 72 : 552~554.
- 安田 康. 1987. 農藥研究開發の全般的動向, pp.1~24. 新農藥の開發と市場展望. シーエムシー(株), 東京.

(1992년 7월 21일 접수)