

조팝나무진딧물의 殺蟲劑 抵抗性 메카니즘에 관한 연구

Insecticide Resistance Mechanism in the Spiraea Aphid, *Aphis citricola* (van der Goot)宋承錫¹ · 吳鴻圭¹ · 本山直樹²Seung Seok Song¹, Hounng Kyu Oh¹ and Naoki Motoyama²

ABSTRACT Resistance mechanism of organophosphorus insecticides (OPs) in the spiraea aphid, whose populations were originated from several apple orchards where various OPs were frequently sprayed, was investigated. For Wonju population to which insecticides were not sprayed, resistance ratios (RRs) for pirimicarb, phosphamidon, and demeton S-methyl were 49, 31, and 5, respectively. However, for Yesan population to which OPs were sprayed 5 times, RRs for pirimicarb, phosphamidon, and demeton were 830, 536, and 204, respectively. The esterase activities of Wonju and Yesan populations increased by 44.5 and 92.0% compared to that of Kwangju population. R/S values (S clone: Kwangju population; R clone: lechon population) for acetylcholinesterase (AChE) inhibition (I_{50}) by pirimicarb and phosphamidon were 299.2 and 186.0, respectively. Our results indicate that increase of esterase activity and reduction of AChE sensitivity seemed to contribute insecticide resistance of the spiraea aphid.

KEY WORDS *Aphis citricola*, insecticide, Resistance mechanism, Apple orchard

초 록 LC₅₀에 의한 殺蟲劑 抵抗性 試驗結果 地域에 따라 pirimicarb가 49~830배, phosphamidon이 31~536배, demeton S-methyl이 5~204배의 藥劑 抵抗性이 確認됨으로서 사과에 조팝나무진딧물이 圃場에서 防除效果가 없는 難防除害蟲이 되었음을 알 수 있다. 이와 같이 藥劑에 따라, 地域에 따라 抵抗性 差가 크게 나타나는 原因을 供試蟲을 採集한 果樹園의 殺蟲劑 散布狀況을 調査한 結果 抵抗性이 가장 높았던 禮山과 利川-1의 個體群을 採集한 果樹園에서는 殺蟲劑를 4회 以上散布하였고, 抵抗性이 가장 낮았던 原州個體群은 試驗當年에 殺蟲劑를 1회도 散布하지 않은 果園의 個體群이었다. 이들 個體群에 대한 個體別 esterase 활성을 활성지수별로 분포비율을 比較한 結果 活性指數가 原州는 낮은 곳에, 利川-1과 禮山은 높은 곳에 集中的으로 分布하였으며, 酵素의 活性指數로써 抵抗性度를 計算한 結果 原州는 44.5, 利川-1과 禮山은 92.0이었고 기타의 個體群들은 藥劑散布回數가 적어 이 사이에 모두 分布하였음을 알 수 있어 圃場에서 藥劑散布回數가 많을수록 酵素의 活性이 높게 나타났고 抵抗性比도 높았다. 이들중 廣州(조팝나무)를 S크론, 利川(사과)을 R크론으로 하여 AChE의 阻害劑에 대한 感受性을 調査한 結果 pirimicarb는 299.2배, phosphamidon은 186배나 低下되었다. 이로써 藥劑抵抗性이 높았던 크론에서 에스테라제의 活性이 높았고, AChE의 感受性이 低下되는 것으로 보아 조팝나무진딧물의 藥劑抵抗性機作에는 적어도 두가지 以上の 要因이 作用하고 있음이 確認되었다.

검색어 조팝나무진딧물, 살충제, 저항성기작, 사과나무

사과 과수원에서 중요해충의 하나가 된 조팝나무 진딧물(金, 李 1982)이 1980년대에 이미 유기인계 살충제를 살포해도 약제의 防除效果가 전혀 없었고, 포식천적만의 감소로 진딧물의 증식이 더 왕성해져

진딧물의 피해가 심하였다는 농민들의 진정이 많았다(Song et al. 1986, Song et al. 1987). 그리하여 진딧물에 대한 방제약제의 감수성을 조사한 결과 지역별 및 약제별로 차이는 있었지만 대부분의 약

¹ 農業科學技術院 農藥品質科(Pesticide Quality Division, National Agricultural Science & Technology Institute, 249 Seodundong Seuwon-si Kyungki-do, 410-100, Korea)

² 千葉大學 園藝學部 生態制御化學研究室(Laboratory of Pesticide Toxicology, Faculty of Horticulture, Chiba University, Chiba-ken, Matsudo 271, Japan)

Table 1. Spray calendar of insecticide against *Aphis citricola* in apple orchard

Locality	No. of spray	Insecticide	Host plant
Kwangju	0	—	<i>Spiraea simpliciflora</i>
Wonju	0	—	<i>Malus pumila</i>
Eisong	2	Methidathion, phosphamidon + DDVP	<i>Malus pumila</i>
Iechon-1	4	Methidathion, chloropyrifos Deltamethrin, omethoate	<i>Malus pumila</i>
Yesan	5	Phosphamidon, twice, omethoate twice, Methidathion once	<i>Malus pumila</i>
Sosan	obscure	obscure	<i>Malus pumila</i>
Jumchom	obscure	obscure	<i>Malus pumila</i>
Seoul	obscure	obscure	<i>Malus pumila</i>
Iechon-M	obscure	obscure	<i>Malus pumila</i>
Iechon-2	obscure	obscure	<i>Malus pumila</i>

제가 실제사용 농도에서 약효가 거의 없었다(宋 등 1993, 李 1990).

따라서 이와 같은 현상은 과수원에서의 많은 살충제를 살포함으로서 약제저항성이 기인하는 것으로 추정되며, 이와 같은 사항을 밝히기 위하여 吉川 등 (1962)에 의한 esterase의 전기영동법과, van Asperen(1962)에 의한 carboxylesterase 活性測定方法에 준하여, 그리고 Ellman 등(1961)의 AChE의 阻害度測定에 준하는 방법을 이용하여 조팝나무진딧물의 殺蟲劑 感受性크론을 찾아내어 조팝나무진딧물의 약제저항성 기작을 밝히고 지역별로 조사한 殺蟲劑 抵抗性도를 報告한다.

材料 및 方法

1. Carboxylesterase(CE)의 活性측정에 의한 地域別 살충제 抵抗性度 調査

측정방법은 α -naphthyl acetate(NA)를 기질로 하여 Asperen(1962)의 방법에 준하여 測定하였다.

사과과수원에서 발생한 조팝나무진딧물의 carboxylesterase의 활성측정에 의한 地域別 약제저항성도 測定用的 공시충은 全國 5個道の 10개 장소에서 10개체군을 사과나무 새순에서 무시태자성충 한마리씩을 임의로 채취하였다(표 1).

효소액의 조제는 유리판 위에 15 cm×16.5 cm의 여과지(2호)를 놓고 그 위에 거칠게 연마한 유리봉으로 충체를 갈아서 체액이 흡수된 여과지를 直徑 12 mm 容量 10 ml의 시험관에 넣고 1/15 M 인산

Table 2. Activity index of the absorbed light for the analysis of carboxylesterase in *Aphis citricola*

Range of absorbed light [$\Delta A_{600}/15 \text{ MIN}/(1/10) \text{ } \mu$]	Degree of sensitivity	No. of index
0.39>	less	0
0.40~0.89	low	1
0.90~1.39	medium	2
1.49~1.89	high	3
1.90<	very high	4

완충액 0.1 ml와 증류수 1.4 ml를 넣은 후, 5×10^{-4} 의 α -NA를 아세톤용액으로 조제한 것을 다시 증류수에 의한 1% 아세톤액을 만들어 효소액에 기질로서 넣고 37°C에서 15분간 반응시켜 SDA(sodium dodecyl sulfate) 5% 수용액과 Naphthanal Diazo Blue B 1% 수용액을 5:2의 비율로 혼합하여 0.45 ml를 넣고 반응을 정지시켜 1분간 방치시킨 후, 충분히 발색된 후에 분광광도계를 이용 600 nm의 파장에서 CE활성 [$\Delta A_{600}/15 \text{ MIN}/(1/10) \text{ } \mu$]을 측정하였다. 흡광도를 이용한 CE의 활성지수와 抵抗性度 算出方法은 표 2와 표 3과 같다.

2. 阻害劑에 대한 조팝나무진딧물 AChE의 感受性 調査

阻害劑에 의한 AChE(acetylcholinesterase)의 活性測定은 ATCh(acetylthiocholine iodide)를 기질로 하여 Ellman(1961)의 方法에 준해서 실시했다.

供試蟲은 電氣泳動像으로 esterase의 活性가 확인

Table 3. Relation of the distribution percent and resistance percent by esterase activity on the population of *Aphis citricola*

Locality	Distribution of CE activity index (%)					Percent of ¹ resistance
	0	1	2	3	4	
Kwangju	100	0	0	0	0	0
Jumchon	16	42	32	6	4	35.0
Wonju	6	32	44	14	4	44.5
Seoul	0	23	45	21	4	48.0
Iechon-M	0	14	72	14	0	50.0
Iechon-1	0	0	10	12	78	92.0
Iechon-2	2	8	70	12	8	54.0
Eisong	2	32	26	30	10	53.5
Sosan	0	4	32	44	14	65.5
Yesan	0	2	4	18	76	92.0

¹Resistance percent

$$= \frac{\sum(\text{CD activity index} \times \text{No. of sample degree})}{4 \times \text{No. of total samples}} \times 100$$

된 것으로 감수성 계통은 조팝나무에서 저항성계통은 사과나무에서 採集分利 크론화하여 사육한 것을 이용하였다.

효소액의 調製는 0.1 M 인산완충액(pH 8.0) 1 ml에 콩시층의 성충(우)을 50마리씩 유리 homogenizer를 이용해서 4°C 이하의 얼음물속에서 마쇄하여 유리 솜으로 여과한 조효소액을 원심분리기(KUBOTAB KM-15200)로 10분간 원심분리(10000G)해서 상등액을 효소액으로 하였다.

AChE의 阻害劑로서 카바메이트계화합물은 pirimicarb(2-dimethyl amino-5,6-dimethylpyrimidin-4-yl dimethyl carbamate), 유기인계화합물은 phosphamidon(O,O-dimethyl S-phthalimidomethyl phosphordithioate)과 omethoate(O,O-dimethyl-S-methyl carbomyl methyl phosphoro thioate)의 分析用 標準品을 사용했다.

反應液의 組成은 제일 먼저 直徑 12 mm의 10 ml 시험관에 0.6 ml의 아세톤용액을 넣고 阻劑를 일정 농도별로 넣고 용해시킨 후 아세톤을 증발시킨다. 여기에 0.6 ml의 효소액과 2.4 ml의 인산완충액을 넣고 5분간 前阻害시킨다. 그리고 75 mM의 ATCh 30 μl를 넣고 10분간 반응시킨후, 30 mM의 유산에 세틴 20 μl와 0.1 M의 DTNB[5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoic Acid)] 100 μl를 넣고 재빠르게 흔들어 37°C에서 10분후에 분광광도계(美國 GLLFORD)를 이

용하여 412 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 0.1 M 인산완충액(pH 8.0)은 37°C에서 미리 보온했던 것을 사용했다. 레퍼런스 셀에는 효소액 대신에 완충액을 넣고 ATCh의 자기분해를 보정하였다. I₅₀은 阻害劑濃度別 흡광도를 이용 LD₅₀과 같은 방법으로 算出하였다.

結果 및 考察

사과 과수원에서 진딧물 방제약제의 약효가 없어 농민들이 진딧물방제에 많은 어려움이 있다는 民願이(Song et al. 1986, Song et al. 1987), 약제 저항성이 원인일 것으로 추정되어 조팝나무진딧물에 대한 약제감수성을 검토한 결과 phosphamidon이 202배, pirimicarb가 646배의 감수성 차가 있었다(송 등 1993).

따라서 여기서 활성이 높은 크론을 抵抗性크론, 낮은 크론을 감수성크론으로 하여 격리된 장소에서 기주식물에 의한 사육을 하여 各種試驗을 하였다.

일반적으로 복숭아혹진딧물과 목화진딧물에서 carboxylesterase의 활성과 저항성과의 사이에는 正의 상관관계가 있음이 알려져 있어(Needham 등 1971, Motoyama 등 1974년, Oppenoorth 등 1975, Devonshire 1977, Hama 등 1988, Takada 1979, Mack 등 1980, Masashi 1983, Sun 등 1987, Takada 등 1988) 本種에서도 esterase의 활성을 吉川 등(1962)의 電氣泳動法에 준하여 電氣泳動像을 확인하였다(宋 등 1993).

감수성계체는 조팝나무에 기생한 진딧물을, 저항성은 사과나무에 기생하였던 조팝나무진딧물을 대상으로 α-NA를 기질로 하여 실시한 esterase 電氣泳動像은 조팝나무에 기생하였던 感受性크론에 비하여 사과나무에 기생하였던 저항성크론은 모든 밴드에서 높은 활성을 나타냈는데 특히 E-3, E-4, E-5 밴드는 현저히 높은 활성을 나타내고 있었다(宋 등 1993).

이와 같이 esterase의 활성이 높은 조팝나무진딧물이 약제저항성이 높게 나타남으로 포장에 발생한 조팝나무진딧물의 esterase 활성측정으로 저항성도를 測定하였다 전국 여러 지방 사과과수원에서 esterase 活性測定에 의한 저항성의 진전상황을 조사한 결과는 표 3과 그림 1과 같다. α-NA를 기질로 한 조팝

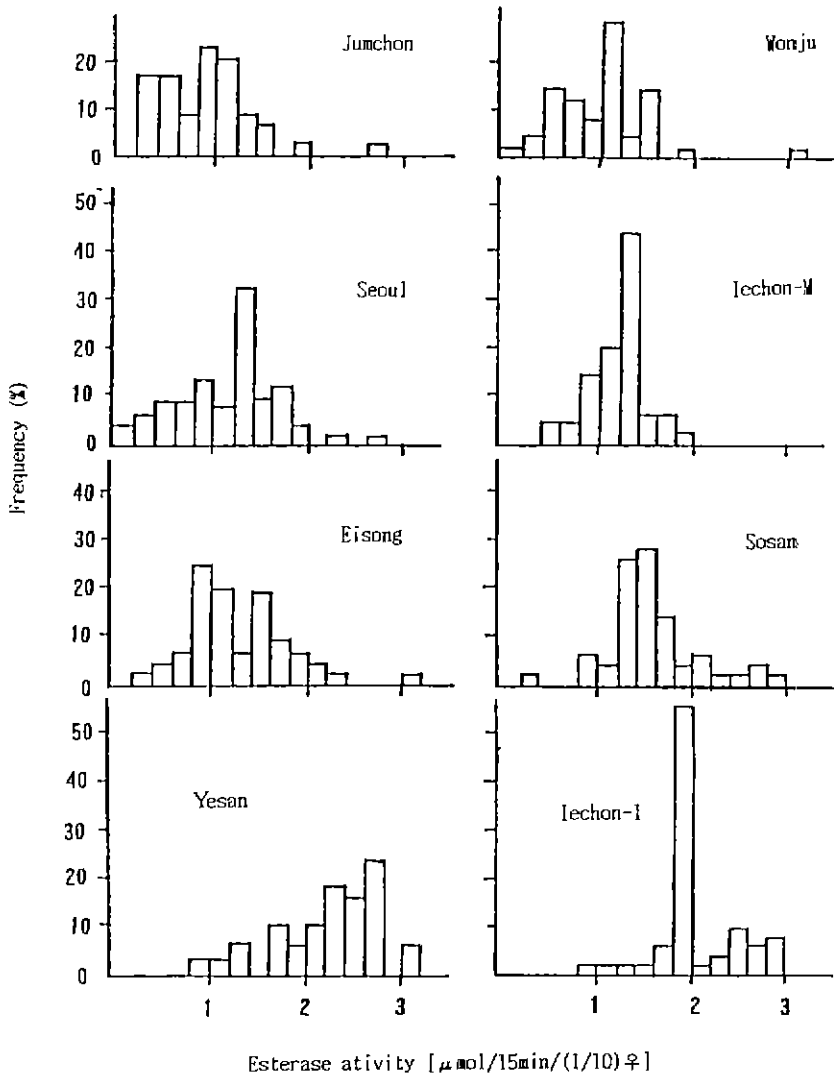


Fig. 1. Frequency distribution of individual carboxylesterase activity variation for *Aphis citriola* in the apple orchard, collected from 8 localities in Korea.

나무진딧물의 esterase의 흡광도[△A600/15 MIN/(1/10우)] 分布 양상은 지역의 개체군별로 모두 각각 이었다. 그렇지만 점촌, 原州, 서울, 이천-M의 개체군은 흡광도 2이하에서 90% 이상이 분포되어 있지만 禮山, 이천-1은 2이상의 흡광도에 많은 개체군이 分布하였다. 이것을 저항성도로 보면 곤지암산 조팝나무에서 채집한 개체군인 廣州의 殺蟲劑抵抗性度 제로에 대해서 原州가 44.5로써 제일 낮았고 禮山과 利川-1이 제일 높았던 지역의 개체군이었음은 표 3과 표 4의 esterase 활성과 LC₅₀의 결과가 일치함을

보아도 알 수 있다.

표 1의 약제살포 상황과 같이 공시충 채집전에 조사한 살충제 살포회수가 많은 장소의 조팝나무진딧물일수록 살충제 살포회수가 적은 장소보다 carboxylesterase의 활성측정에 의한 저항성도가 높았다고 하는 것은 살충제의 살포에 基因하였던 것이 주원인인 것으로 설명할 수 있겠다.

이와 같이 감수성개체와 저항성개체는 유기인계인 phosphamidon이나 카바메이트계인 pirimicarb에 대해서 모두 높은 저항성으로 나타나고 있어 carboxy-

Table 4. Insecticide resistance ratio on the local population of *Aphis citricola* by leaf dipping method in Korea

Locality	Insecticide	RRs'		
		LC ₅₀	95%FL	RRs'
Kwangju	Demeton S-metyl	11.2	17.4- 4.4	1
	Phosphamidon	3.0	6.6- 2.2	1
	Pirimicarb	2.1	2.6- 1.5	1
Wonju	Demeton S-methyl	56	71- 42	5
	Phosphamidon	94	128- 69	31
	Pirimicarb	104	130- 83	49
Eisong	Demeton S-methyl	191	248- 147	17
	Phosphamidon	612	831- 450	204
	Pirimicarb	444	611- 323	211
Iechon-1	Demeton S-methyl	132	172- 101	11
	Phosphamidon	804	1061- 631	268
	Pirimicarb	1381	1827-1050	657
Yesan-3	Demeton S-methyl	2294	2962-1851	204
	Phosphamidon	1610	2101-1232	536
	Pirimicarb	1745	2273~1340	830

°RRs' Resistance ratio
Kwangju²: S clone

Table 5. AChE sensitivity for R and S clones *Aphis citricola* against inhibitor

Inhibitor	I ₅₀ (M)		R/S
	R ¹	S ²	
Pirimicarb	3.74 × 10 ⁻⁵	1.25 × 10 ⁻⁷	299.2
Phosphamidon	3.05 × 10 ⁻⁶	1.64 × 10 ⁻⁷	186.0
Omethoate	7.41 × 10 ⁻⁷	1.27 × 10 ⁻⁷	5.8

¹Selection from population of Iechon-1

²Selection from population of Kwangju.

lesterase에 變異形 AChE 활성이 또 하나의 원인 일 것으로 추정되어 阻害劑에 의한 變異形 AChE 활성을 測定한 結果는 표 5와 같다.

카바메이트계인 pirimicarb와 유기인계인 phosphamidon, omethoate를 阻害劑로 AChE의 感受性을 I₅₀ 比로 조사한 저항성비는 各各 299.2, 186.0, 5.8로서 pirimicarb가 제일 높았고 다음이 phosphamidon이 었으며 omethoate가 제일 낮았다.

이상에서와 같이 사과 과수원에서 발생해서 피해가 심하였던 조팝나무진딧물은 유기인계와 카바메이트계 살충제에 대한 교차저항성이 발달되어 있음을 알 수 있었다. 이와 같이 많은 약제의 저항성을

나타내고 있는 메카니즘에 대하여는 이미 복숭아혹진딧물에서 보고되어 있는 바와 같이 carboxylesterase 활성증대와 작용점에서의 AChE의 감수성저하가 하나의 원인이 되어 약제저항성 해충으로 사과 과수원에서 많은 약제에 대한 방제효과가 떨어지고 있었음을 확인하였다.

인 용 문 헌

Devonshire A.L. 1973. The biochemical mechanisms of resistance to insecticides with check reference to the housefly *Musca domestica* and *Myzus persicae* Sulzer, *Pestic. Sci.* **4**: 521-529.

Devonshire A.L. 1977. The properties of a carboxylesterase from *Myzus persicae* Sulzer and its role in conferring insecticide resistance. *Biochem. J.* **167**: 657-683.

Ellman G.L., K.D. Courtney, V. Jr. Andress & R.M. Featherston 1961 A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* **7**: 88.

Hama, H. & A. Hosoda. 1988. Individual variation of allesterase activity in field population of *Aphis gossypii* Glover. *Appl. Ent Zool* **23**(1): 109-112.

金錫煥, 李順遠. 1982. 主要果樹, 茶疎類의 진딧물류 優 點種調査. 農業技術研究所 試驗研究報告書 生物篇: 519-522.

李升燦. 1990. 곤충의 藥劑抵抗性發達機作과 對策. 農 藥의 生物學的品質管理研鑽會誌, 農業資材檢査所, 7- 32p.

Mack, T.P. & Z. Smilowirz. 1980. Soluble protein electrophoretic patterns from two biotypes of *Myzus persicae* Sulzer. *American Potato Journal.* **57**: 365-369

Masashi, U. 1983. Electrophoretic analysis of nonspecific esterases and acetylcholinesterases from the housefly, *Musca domestica*, L., with reference to organophosphorus insecticide resistance. *Appl. Ent Zool* **18** (4): 447-455.

Motoyama, N. & W.C. Dauterman. 1974 The role of nonoxidative metabolism in organophosphorus resistance. *J. Agr. Food Chem.* **22**: 350-356

農村振興廳. 1962. 果樹殺蟲劑에 關한 調査 및 試驗. 農事試驗研究結果要覽, 東亞出版事 p.270-272.

Needham, P.H. & R.M. Sawicki. 1971. Diagnosis of resistance to organophosphorus insecticide in *Myzus persicae* (SULZ). *Nature* **230**: 125-126.

Oppenorth, F.J. & K.V. Asperen. 1961. The detoxica-

- tion enzyme causing organophosphate resistance in the housefly: properties, inhibition and the action of inhibitors as synergists *Ent. Exp. Appl.* **4**: 311-333.
- Oppenoorth, F.J. & S. Voerman. 1975. Hydrolysis of paraoxon and malaoxon in three strains of *Myzus persicae* Sulzer with different degree of parathion resistance. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. **5**: 431-443.
- 宋承錫, 吳鴻圭, 本山直樹. 1993. 사과 果樹園에서 조팝나무진딧물의 殺蟲劑感受性. *韓應昆誌*. **32**: 259-264.
- 宋承錫, 本山直樹. 1992. 韓國産 リソゴ寄生ユキヤチキアプラムシ의 殺蟲劑 抵抗性機構. *日本農藥學會講演要旨* 17回 B121, pp.91.
- Song, S.S., J.K. Chu, H.K. Oh, N.H. Lee & Y.W. Kim. 1986. Sensitivity of various insecticides on *Aphis spiraeicola*, Annual reports of Biological Inspection on the Chemicals of NAMIO in Korea. 63-69.
- Song, S.S., H.K. Oh, Y.W. Kim & N.C. Choi. 1987. Sensitivity of various insecticides on *Aphis spiraeicola* PATCH Annual reports of Biological Inspection on the Chemicals of NAMIO in Korea, 70-85.
- Sun, Y.G., G. Feng, J. Yuang, P. Zhu & K. Gong. 1987. Biochemical mechanism of resistance of *Aphis gossypii* Glover to organophosphorus insecticide. *ACTA Entomologica Sinica*. **30**(1): 13-20.
- Takada, H. 1979. Esterase variation in Japanese population of *Myzus persicae* Sulzer, with special reference to resistance to organophosphorus insecticides. *Appl. Ent. Zool.* **14**(3): 245-255.
- Takada, H. & Y. Murakami. 1988. Esterase variation and insecticide resistance in Japanese *Aphis gossypii* Glover. *Entomol. Exp. Appl.* **48**: 37-41
- Van Asperen K. 1962. A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method. *J. Insect Physiol.* **8**: 401-406.
- 柳原節子, 本山直樹. 1985. モモアカアプラムシ의 殺蟲劑 抵抗性: 核型異常エステラーゼ活性との關係. *千葉大學園藝學部卒業論文*. 48.
- 吉川秀男 描田善一. 1963. 寒天ケル電氣泳動法の遺傳生化學への應用. *化學* **18**: 2-11

(1993년 8월 30일 접수)