

담배가루이 Biotype B와 Q의 약제감수성과 효소활성 비교

김은희 · 성재욱¹ · 양정오 · 안희근 · 윤창만 · 서미자 · 김길하*

충북대학교 농업생명환경대학 식물외과, ¹농업과학기술원 농약평가과

(2007년 11월 28일 접수, 2007년 12월 19일 수리)

Comparison of insecticide susceptibility and enzyme activities of biotype B and Q of *Bemisia tabaci*

Eun Hee Kim, Jae Wook Sung¹, Jeong Oh Yang, Hee Geun Ahn, Changmann Yoon, Mi Ja Seo and Gil-Hah Kim*

(Dept. of Plant Medicine, Coll. of Agri., Chungbuk National University

¹National Institute of Agricultural Science and Technology, Rural Development Administration)

Abstract : Mitochondrial 16S DNA sequences of *Bemisia tabaci* which were collected on rose greenhouse of Iwol and Jinchen in Chungbuk and red pepper field of Miryang, Gyeongnam, were analyzed. The mtCOI PCR product of *B. tabaci* collected on red pepper field of Miryang were digested with *Eco*T14I (*Sty* I) into two fragments 555bp and 311bp, while the PCR product of *B. tabaci* collected on rose greenhouse of Iwol were digested with *Sty* I into two fragments of 560bp and 306bp. As a result, *B. tabaci* collected on red pepper reveal biotype Q and those on rose greenhouse was biotype B. These was difference between two biotypes in insecticide susceptibility, and the biotype B was more susceptible than biotype Q. As a result of foliar systemic test, root-uptake systemic test and residual effect, the biotype B was more susceptible. In case of inhibition effect on enzyme activities of fenitrothion (organophosphorous) and fenothiocarb (carbamate), those of biotype Q was higher than those of biotype B. These results indicate that biotype Q was more resistant than biotype B against 12 insecticides.

Key words : *Bemisia tabaci*, DNA sequences, biotype B and Q, insecticide, foliar systemic test, residual effect

서론

담배가루이(*Bemisia tabaci*)는 전 세계 열대 및 아열대 지방의 농업해충(Byrne and Bellows, 1991)이며, 600종 이상의 넓은 기주범위를 가지고 있는 해충으로, 기주선호성, 매개하는 바이러스의 종류 등의 특성에 따라 세계적으로 24가지의 생태형(biotype)이 보고되어 있다(Bedford *et al.*, 1994; Burbank *et al.*, 1992; Perring, 2001). 국내에는 1998년 충북 진천군 장미재 배지에서 담배가루이 biotype B가 처음 확인되었으며(Lee *et al.*, 2000), 2005년 충남북, 전남 및 경남의 착색단고추, 토마토, 오이, 장미 등의 시설재배지에서 채집한 담배가루이의 16S rRNA 유전자의 염기서열을 조사하여 비교한 결과, 충북 진천의 장미온실에서 채

집한 담배가루이만 Biotype B로 구분되었고, 나머지 충남 부여, 전남 보성, 경남 거제에서 채집한 담배가루이는 모두 biotype Q로 확인되면서(Lee *et al.*, 2005), 국내에도 담배가루이 biotype Q가 유입되어 확산됨으로 이들에 대한 좀 더 신중한 관리를 요하고 있는 실정이다.

담배가루이는 약충과 성충 모두 잎을 흡즙하여 생산량을 감소시키며, 농작물에 여러 종류의 심각한 바이러스병을 매개하는데(Brown *et al.*, 1995), 특히 biotype B는 심각한 geminivirus를 매개하여 Bellows 등(1994)은 *Bemisia argentifolii*라는 별도의 종으로 구분하기도 하였으나, 최근에는 담배가루이 중복합체라는 개념하에 biotype B도 *B. tabaci*에 포함시키고 있다(EPPO, 2004).

가루이의 방제로는 온실가루이좀벌(*Encarsia formosa*)을 대량 증식하여 이용하는 생물적방제법과(van Lenteren

*연락처 : Tel: +82-43-261-2555, Fax: +82-43-271-4414,
E-mail: ghkim@chungbuk.ac.kr

and Woets, 1988; Matsui, 1995), 황색끈끈이트랩을 이용하여 밀도를 조사하고 성충을 포획하여 밀도를 역제시키는 물리적방제법을 이용하기도 한다(Byrne *et al.*, 1986). 우리나라에서 온실가루이와 담배가루이는 일반적으로 화학약제에 의존하고 있지만, 담배가루이는 발육기간이 짧고 발생횟수가 많아 실제 포장에서 살충제에 의한 도태의 기회가 많지므로 살충제에 대한 저항성 발달이 다른 해충들에 비해 빠르게 나타날 가능성이 있다(Ha *et al.*, 2003). 가루이의 살충제 저항성 발달은 유기인계, 카바메이트계, 피레스로이드계 뿐만 아니라 IGR계와 같은 살충제들에 대해서도 저항성이 보고되어 있으며, 방제에 어려움을 겪고 있다(Prabhaker *et al.*, 1992; Ishaaya & Horowitz, 1995; Dennehy & Williams, 1997; Horowitz *et al.*, 1997, 1999; Devine *et al.*, 1999). 국내에서는 Ahn 등(2001)이 담배가루이 biotype B의 발육과 생식에 미치는 온도와 기주의 영향을 보고하였으며, Kim 등(2000)은 43종의 시판살충제에 대해서 담배가루이 biotype B의 발육단계별 약제감수성을 조사하여 보고하였지만, 최근 남부 시설재배지에서 문제가 되고 있는 biotype Q에 대한 연구정보가 부족하여 이와 관련하여 방제약제 선발이 시급히 요구되고 있다.

이에 본 연구는 담배가루이 biotype B와 Q에 대한 국내 살충제와 살비제로 등록되어 있는 12종 약제의 발육단계별(알, 약충, 성충) 약제감수성, 침투이행성 및 잔효성을 조사하고, 유기인계인 fenitrothion과 카바메이트계인 fenothiocarb에 대한 효소활성저해(acetylcholinesterase, esterase, glutathione S-transferase)를 분석하여 담배가루이 방제에 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

시험곤충

본 시험에 사용된 담배가루이(*Besimia tabaci*)는 2007년 5월 충북 진천군 이월면 장미재배지와 2007년 7월 경남 밀양시 고추밭에서 채집하여 토마토(*Lycopersicon esculentum*, 서광)와 고추(*Capsicum annuum*, 청풍명월)로 누대사육하면서 시험에 이용하였다. 실내 사육조건은 온도 25±1°C, 광주기 16L:18D, 상대습도 50~60%로 하였다.

RFLP PCR를 이용한 biotype 구별

담배가루이로부터 genomic DNA를 추출하기 위하

여 DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen)을 이용하였으며 추출방법은 제공되는 protocol을 기준으로 하였다. 추출된 genomic DNA 1 µL, 0.5 pM forward primer (PVY U-F) 1 µL, 0.5 pM reverse primer (PVY CP2-R) 1 µL, 10 X PCR buffer, dNTP (각각 최종 농도가 0.2 mM), EXTaq (TaKaRa, Shiga, Japan)을 넣고 total volume을 20 µL로 맞추어 nested PCR을 수행하였다. PCR조건은 96°C 3분간 변성과정을 거쳐 96°C 30초, 50°C 30초, 72°C 60초로 35회 반복하여 증폭하였고 마지막에 72°C에서 5분간 처리하였다. 미토콘드리아 16S 리보솜 RNA(rRNA) 유전자를 증폭하기 위하여 Ueda and Brown(2006)가 제시한 primer(5' TTG ATT TTT TGG TCATCC AGA AGT 3'와 5' TCC AAT GCA CTA ATCTGC CAT ATT A 3')를 이용하였다.

PCR 산물은 1.8% agarose gel을 이용하여 1X TBE (Tris-Borate-EDTA) buffer에서 전기 영동하여 ethidium bromide로 염색한 후 UV illuminator에서 증폭을 확인하였다. 확인된 PCR산물을 Ueda(2006)가 제시한 제한 효소인 *Stu* I, *Eco*T14 I (*Sty* I)로 각각 처리한 후 전기 영동을 통하여 잘려진 단편 길이를 확인하였다.

시험약제

약제별 작용특성 시험에 사용된 살충제는 시중에 유통되어 판매되고 있는 농약으로서 acetamiprid 8 WP, dinotefuran 5 SC, imidacloprid 8 SC, thiamethoxam 10 WG, spinosad 10 SC, emamectin benzoate 2.15 EC, milbemectin 5 SC, pyriproxyfen 10 EC, pymetrozine 10 EC, fenpyroximate 5 SC, pyridaben 20 WP, acetamiprid + etofenprox 10.5 WP 13약제를 사용하였으며, 효소활성 저해시험을 하기 위하여 사용된 살충제는 유기인계 원제 fenitrothion (94.7%)과 카바메이트계 원제 fenothiocarb (98%)를 사용하였다 (표 1).

약제별 작용특성 시험

1. 발육단계별 약효 시험

살란시험(ovicide test)은 파종 후 5주가 경과한 토마토 유묘(본엽 2장)와 고추 유묘(본엽 2장)에 1주일동안 받은 알(20~50개/반복당)을 소정약액에 30초간 침지한 후 부화율을 조사하였다. 약충에 대해서는 1일 동안 토마토 유묘와 고추 유묘에서 받은 알을 12일째 되는 3령 약충에 소정약액에 30초간 침지한 후 우화율을 조사하였다. 그리고 성충은 토마토 유묘와 고추 유묘를 소정약액에 30초간 침지한 후 원통형 아크릴 사육상(직경 15×10 cm)에 넣고 성충 20~30마리를 접

Table 1. Insecticides and acaricides used in the study of toxicity

Common name	Trade name	AI ^{a)} (%) & formulation	Application rate (ppm)	Class
Acetamiprid	Mospilan	8 WP	40	Insecticide
Dinotefuran	Osin	10 WP	100	Insecticide
Emamectin benzoate	Affirm	2. 15 EC	10.75	Insecticide
Fenpyroximate	Salbiwang	5 SC	25	Acaricide
Imidacloprid	Cornido	8 SC	40	Insecticide
Milbemectin	Milbeknock	1 EC	10	Insecticide
Pymetrozine	Chess	25 WP	83.75	Insecticide
Pyridaben	Sanmaru	20 WP	200	Acaricide
Pyriproxyfen	Shingiru	10 EC	100	Insecticide
Spinosad	Sympony	10 SC	50	Insecticide
Thiamethoxam	Actara	10 WG	50	Insecticide
Acetamiprid +etofenprox	Manjangilchi	2.5+8 WP	25 +80	Insecticide

^{a)}Active ingredient.

종하고 2일후 사충율을 조사하였다. 모든 시험은 3반복으로 하였다.

2. 침투이행성 시험

엽면 침투이행성 시험은 파종 후 5주된 토마토 유묘와 고추 유묘의 한쪽 잎에 약액을 30초간 침지하고 24시간 후 처리잎을 제거하고 무처리 잎만 있는 유묘를 원통형 아크릴 사육상(직경 15×10 cm)에 넣고 성충 20~30마리를 접종하고 2일 후에 사충율을 조사하였다.

뿌리 침투이행성 시험은 약액을 토마토 유묘와 고추 유묘가 식재(직경 5.5×5.5 cm)된 토양에 처리(1.72 mL cm²)하고 24시간 후 토마토 유묘와 고추 유묘를 원통형 아크릴 사육상(직경 15×10 cm)에 넣고 성충 20~30마리를 접종하여 2일 후에 사충율을 조사하여 침투이행성 여부를 검정하였다. 무처리는 물만 처리하였다. 모든 시험은 3반복으로 하였다.

3. 잔효성 시험

포트(직경 5.5×5.5 cm)에서 파종 후 5~6주된 토마토 유묘묘과 고추 유묘묘를 소정의 약액에 30초간 침적하여 온실에 방치하였다.

또, 수분 공급시 약액을 처리한 잎이 물에 닿지 않도록 관주하였으며, 약액처리 1, 3, 7, 9일 후에 유묘를 원통형 아크릴 사육상(직경 15×10 cm)에 넣고 성충 20~30마리를 접종하였다. 접종 2일 후 사충율을 조사하였다. 무처리는 물만 처리하였다. 모든 시험은 3반복으로 하였다.

효소활성 저해시험

1. Esterase (EST) 활성측정 및 약제감수성

EST 활성 및 약제감수성은 van Asperen (1962)의 방법에 준하였다. 얼음 속에서 담배가루이 성충을 0.05 M Tris-HCl pH 7.5 완충용액과 함께 microcentrifuge tube(2 mL)에 넣고 마쇄하여 4°C에서 12,000rpm으로 15분간 원심분리한 후, 상층액을 효소원으로 사용하였다. Esterase의 활성 측정방법은 cuvette에 0.05 M Tris-HCl (pH 7.5) 완충용액 140 µL, 효소액 20 µL, 기질로서 α-naphthyl acetate (α-NA) 20 µL를 넣고 30°C water bath에서 5분간 incubation 하였고, 0.1% fast blue RR salt와 1% SDS(sodium dodecyl sulfate)를 넣어 반응을 중단시킨 후, 595 nm에서 microplate reader(Benchmark)를 이용하여 20초 간격으로 10분 동안 흡광도를 측정하였다.

Esterase 저해 시험에 사용된 살충제는 아세톤에 희석 후 최종농도가 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴ M 농도가 되도록 하였다. 완충용액은 120 µL 0.05 M Tris-HCl (pH 7.5), 20 µL 효소액과 20 µL α-NA를 넣은 후 각 농도의 살충제 20 µL를 처리하여 5분간 incubation 후에 흡광도를 측정하여 저해율을 구하였다.

2. Acetylcholinesterase(AChE) 활성 및 약제감수성

AChE 활성 및 약제감수성 측정은 Ellman 등(1961)의 방법에 준하였다. 얼음 속에서 담배가루이 성충 100마리를 0.05 M Tris-HCl (pH 7.5) 완충용액과 함께 microcentrifuge tube(2 mL)에 넣고 마쇄하여 4°C에서 12,000 rpm으로 15분간 원심분리한 후, 상층액을 효소

원으로 사용하였다. AChE의 활성 측정방법은 cuvette에 140 μ L 0.05 M Tris-HCl (pH 7.5) 완충용액, 20 μ L 5 mM 5,5'-dithiobis-(2-nitro benzoic acid)(DTNB), 20 μ L 효소액과 20 μ L 100 mM acetylcholine iodide를 첨가하여 30°C의 water bath에서 5분간 incubation 시킨 후 405nm에서 microplate reader를 이용하여 20초 간격으로 10분 동안 흡광도를 측정하였다.

AChE 저해 시험에 사용된 살충제는 아세톤에 희석 후 최종농도가 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 M 농도가 되도록 하였다. 완충용액 120 μ L 0.05 M Tris-HCl (pH 7.5), 20 μ L 5 mM DTNB, 20 μ L 효소액과 20 μ L 100 mM acetylcholine iodide를 넣은 후 각 농도의 살충제 20 μ L를 처리하여 5분간 incubation 후에 흡광도를 측정하여 저해율을 구하였다.

3. Glutathione S-transferase (GST) 활성측정 및 약제 감수성

GST 활성 및 약제감수성 측정은 Habig 등(1974)의 방법에 준하였다. 얼음 속에서 담배가루이 성충을 0.05 M Tris-HCl (pH 7.5) 완충용액과 함께 microcentrifuge tube(2 mL)에 넣고 마쇄하여 4°C에서 12,000 rpm으로 15분간 원심분리한 후, 상층액을 효소원으로 사용하였다. GST의 활성 측정방법은 cuvette에 140 μ L 0.05 M Tris-HCl (pH 7.5) 완충용액, 20 μ L 효소액과 20 μ L 10 mM glutathion(GSH)을 넣고 0°C의 water bath에서 5분간 incubation 시킨 후 5 mM 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB)를 넣은 후 340nm에서 microplate reader를 이용하여 20초 간격으로 10분 동안 흡광도를 측정하였다.

GST 저해 시험에 사용된 살충제는 아세톤에 희석 후 최종농도가 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 M 농도가 되도록 하였다. 완충용액 120 μ L 0.05 M Tris-HCl pH 7.5, 20 μ L 5 mM CDNB, 20 μ L 효소액과 20 μ L 10 mM GSH를 넣은 후 각 농도의 살충제 20 μ L를 처리하여 5분간 incubation 후에 흡광도를 측정하여 저해율을 구하였다.

결과 및 고찰

DNA 표식자에 의한 biotype 판별

담배가루이 biotype의 비교연구는 특정 유전자의 분석을 통해 이루어지고 있으며, 효소의 밴드패턴과 RAPD-PCR에 의해 담배가루이의 biotype간에 유전학적으로 차이가 있다는 것을 확인한 많은 결과들이 있다(Guirao *et al.* 1997). 본 연구에서는 두 지역에서 채집한 담배가루이의 개체군들을 16S rRNA 유전자의

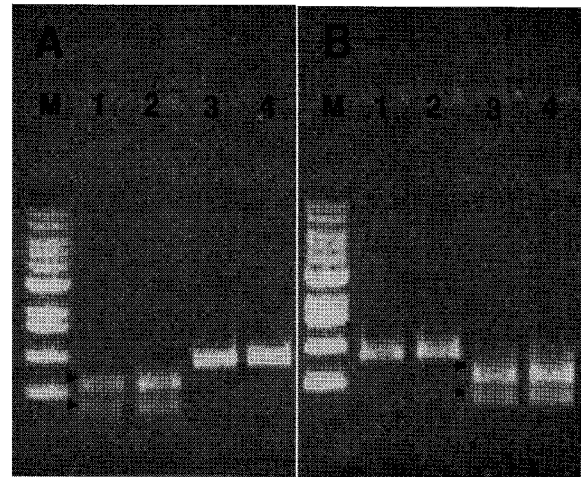


Fig. 1. PCR RFLP profiles of biotype B (A) and Q (B) of *B. tabaci*. 16S rRNA fragments (A: 3,4 lanes, B: 1,2 lanes; 866bp) was digested by *Stu* I(A, 1,2 lanes 560 and 306bp) or *Eco*T14 I (*Sty* I, B, 3,4 lanes, 555 and 311 bp). M: 1kb ladder.

제한단편 DNA 표식자에 의해 계통을 판별한 결과(그림 1), 866bp의 단편이 생성되었으며, PCR로 증폭시킨 16S rRNA 유전자를 *Stu* I, *Eco*T 1(*Sty* 1)제한효소를 처리한 결과, 제한효소 *Stu* I에 대하여 진천 장미재배지에서 채집한 담배가루이는 560bp와 306bp 두 개의 단편이 생겼으나, 밀양 고추재배지에서 채집한 담배가루이는 제한 부위가 없었다. PCR 산물에 *Eco*T 1(*Sty* 1) 제한효소를 처리한 결과, 밀양 고추재배지에서 채집한 담배가루이는 555bp와 311bp 두 개의 단편이 생겼으나, 진천 장미재배지에서 채집한 담배가루이는 제한 부위가 없었다. 위와 같은 결과는 Ueda(2006)와 동일한 결과로 진천과 밀양의 각 채집 지역에서 채집한 담배가루이는 유전학적으로 차이를 보이는 것을 확인하였으며, 진천 장미재배지에서 채집한 담배가루이는 biotype B, 밀양 고추재배지에서 채집한 담배가루이는 biotype Q임을 확인 할 수 있었다. Frohlich 등(1999)은 여러지역에서 채집한 담배가루이의 미토콘드리아 16S rDNA의 550bp영역과 미토콘드리아산화효소I(CO I) 유전자의 700bp를 이용해 계통유전학적 분석을 수행하여 지역별로 각기 다른 biotype의 담배가루이 개체군이 형성된 것을 확인하였다. 국내에서도 진천 장미하우스와 산청의 노지 콩에서 채집한 담배가루이의 biotype을 판별하기 위해 RAPD패턴, 12S rRNA, 16S rRNA의 *Alu* I 제한효소 단편을 비교분석한 Lee 등(2000)과 16S rRNA 유전자 염기서열을 분석한 Lee 등(2005)의 결과가 본 연구의 결과를 뒷받침해주며, 지역과 기주를 달리하여 발생하고 있는 담

Table 2. Comparative toxicity of 12 insecticides on different stages of *B. tabaci* biotypes under laboratory conditions

Insecticide	biotype	(%Mortality)		
		Egg ^{a)}	Nymph ^{b)}	Adult ^{c)}
Acetamiprid	B	68.8±5.2	100.0±0.0	97.0±2.6
	Q	32.7±9.6	74.4±10.9	70.6±13.0
	<i>p</i> value ^{d)}	0.0057	0.0275	0.0200
Dinotefuran	B	84.7±10.4	100.0±0.0	98.9±2.0
	Q	28.7±4.0	90.0±0.8	95.2±8.2
	<i>p</i> value	0.0018	0.0008	0.6624
Emamectin benzoate	B	21.3±7.8	100.0±0.0	97.8±3.8
	Q	5.1±6.5	90.0±1.5	96.7±3.3
	<i>p</i> value	0.2152	0.0032	0.6342
Fenpyroximate	B	84.0±3.1	95.7±6.1	29.6±5.4
	Q	83.8±4.5	86.7±9.4	24.1±1.5
	<i>p</i> value	0.9781	0.3594	0.1712
Imidacloprid	B	79.6±10.0	98.4±0.9	100.0±0.0
	Q	42.7±8.5	77.0±7.9	91.3±5.2
	<i>p</i> value	0.0097	0.0681	0.0053
Milbemectin	B	37.1±7.6	97.0±4.3	92.7±6.5
	Q	12.0±8.3	88.1±9.7	83.6±7.1
	<i>p</i> value	0.0211	0.3324	0.2207
Pymetrozine	B	42.2±8.4	94.8±0.8	68.5±9.6
	Q	22.3±11.7	55.8±9.5	61.4±9.9
	<i>p</i> value	0.0758	0.0758	0.4181
Pyridaben	B	45.7±4.2	100.0±0.0	95.2±8.2
	Q	3.1±5.4	98.8±1.7	91.5±0.7
	<i>p</i> value	0.0039	0.2722	0.2681
Pyriproxyfen	B	97.4±2.9	100.0±0.0	57.1±3.3
	Q	46.2±10.0	77.2±5.5	55.3±3.1
	<i>p</i> value	0.0016	0.0087	0.5217
Spinosad	B	72.3±7.9	100.0±0.0	100.0±0.0
	Q	11.4±10.3	97.4±3.7	89.9±2.6
	<i>p</i> value	0.0084	0.4226	0.0002
Thiamethoxam	B	73.5±9.2	100.0±0.0	95.0±4.6
	Q	34.4±10.1	45.5±6.4	82.6±6.6
	<i>p</i> value	0.0092	0.0030	0.0829
Acetamiprid+ethofenprox	B	60.6±8.3	92.9±2.3	100.0±0.0
	Q	15.4±3.6	60.0±4.5	85.0±11.0
	<i>p</i> value	0.0010	0.1302	0.0125

^{a)}Egg-hatch suppression(sample size, 20~50 eggs/replicate, 3 replicates/treatment).

^{b)}Emergence suppression(sample size, 30~160 nymphs/replicate, 3 replicates/treatment).

^{c)}Mortality at 2nd day after treatment of the insecticide(sample size, 20~250 adults/replicate, 3 replicates/treatment).

^{d)}Significant differences were analyzed by a t-test(SAS Institute, 2003).

배가루이의 biotype을 정확히 동정하는 일이 효과적인 방제를 위해 반드시 선행되어야 하는 일임을 확인시켜주고 있다고 볼 수 있다.

발육단계별 약제 감수성

현재 시판되고 있는 12약제를 추천농도(ppm)로 담배가루이의 발육단계별로 살충력을 비교한 결과는 표

2와 같다. 담배가루이 biotype B의 알에 대해서 90% 이상의 살란효과(ovicidal effect)를 나타낸 약제는 pyriproxyfen이었으나 biotype Q의 알에 대해서 90% 이상의 살란효과를 나타낸 약제는 없었다. Biotype B의 약충에 대해서는 실험에 사용된 12약제에 대해 모두 90%이상의 살충효과를 보여주고 있으나, biotype Q의 약충에 대해서는 dinotefuran, spinosad, emamectin

benzoate, pyridaben 등이 90% 이상의 살충효과를 나타내었다. Biotype B의 성충에 대해서는 acetamiprid, dinotefuran, imidacloprid, thiamethoxam, spinosad, emamectin benzoate, milbemectin, pyridaben, acetamiprid + ethofenprox 등이 높은 살충율을 나타냈으며, biotype Q에 대해서는 dinotefuran, imidacloprid, emamectin benzoate, pyridaben이 높은 살충율을 나타내었다. 12종의 약제 중 특히 담배가루이 두 biotype에 대해 90% 이상의 살충효과를 나타낸 약제는 약충에서 dinotefuran, spinosad, emamectin benzoate, pyridaben 이었으며, 성충에 대해서는 dinotefuran, imidacloprid, emamectin benzoate, pyridaben이었다. 본 실험의 결과에서는 biotype B가 Q 보다는 약제에 대해서 감수성이 높은 것으로 나타났으며, 12종의 시험약제 중 biotype B와 Q의 약충과 성충에 대해서 90%이상의 살충효과를 나타낸 약제는 dinotefuran, emamectin benzoate, pyridaben, spinosad의 4종이었다.

담배가루이의 충태에 따른 살충제 감수성 차이는 몇몇 연구자가 보고하였다(Devine *et al.*, 1999; Horowitz *et al.*, 1997; Liu and Stansly, 1997; Kim *et al.*, 2000).

Kim 등(2000)은 담배가루이 B biotype에 대한 43종의 약제 중 알, 약충, 성충에 대해서 높은 살충효과를 나타낸 약제는 abamectin, acetamiprid, imidacloprid, pyriproxyfen, acetamiprid+ethofenprox의 5종이었으며, Liu와 Stansly(1997)은 담배가루이의 일종인 *Bemisia argentifolii* (B biotype)에서 충태별 또는 약충의 영기별로 IGR계인 pyriproxyfen에 대한 감수성은 1, 2, 3령 처리에서 각각 95%이상의 살충율을 나타내어 영기간에 차이가 없었으나, 4령 처리에서는 30%로 급격히 떨어졌으며, 번데기처리에서는 효과가 없었음을 보고하였다. Horowitz 등(1997)도 담배가루이에 대해 abamectin이 1령충에 대한 3령충의 LC₅₀값 비교에서 122배의 감수성저하를 보였으나, 성충은 9.3배로 3령충보다 더 감수성임을 보고하였다. 본 실험의 결과에서는 알과 약충보다는 성충이 약제에 대해서 더 감수성이 높은 것으로 나타났다.

침투이행성 효과

11약제에 대한 담배가루이 성충에 대한 침투이행성 효과를 측정된 결과는 그림 2와 같다. 이들 화합물의

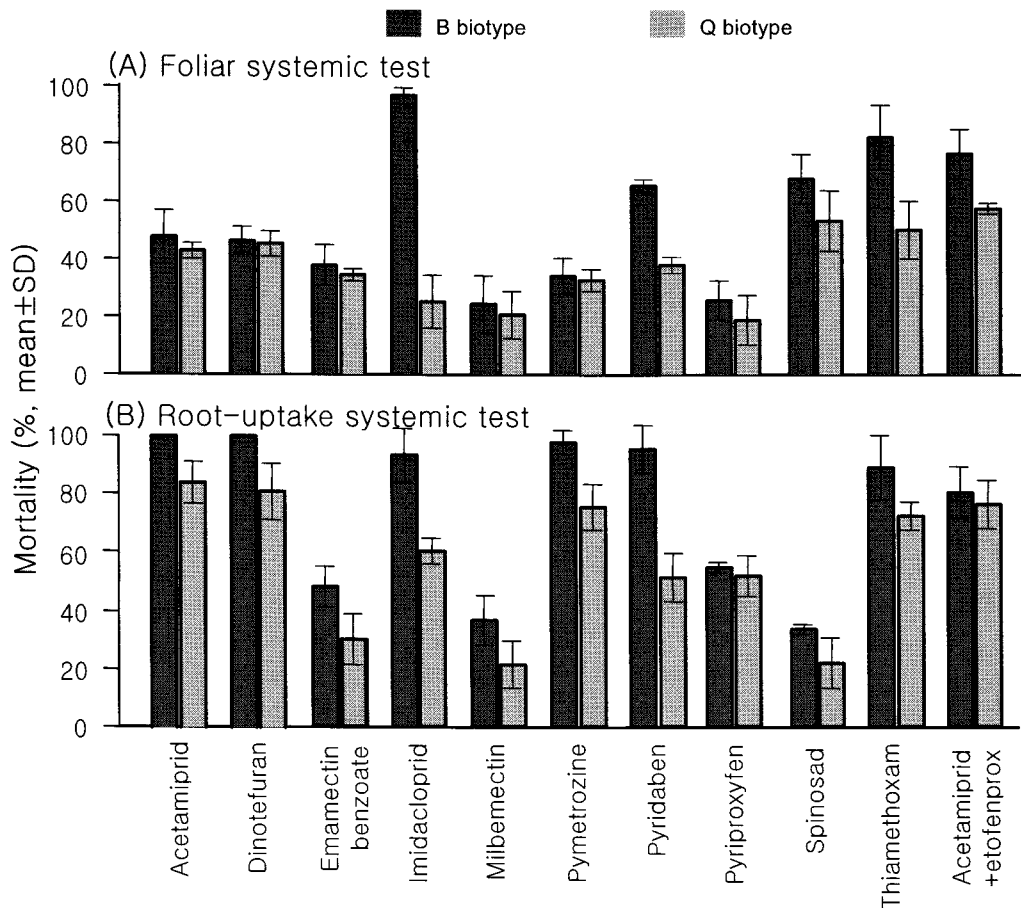


Fig. 2. Systemic effects of 11 insecticides to adult of biotype B and Q of *B. tabaci*. Sample size, 20-40 adults/replicate, 3 replicates/treatment.

담배가루이 biotype B에 대한 엽면 침투이행성은 Imidacloprid에서 96.8%로 높은 살충율을 나타내었으며, 뿌리침투이행성은 네오니코티노이드계인 acetamiprid, dinotefuran, imidacloprid에서 각각 100.0%, 100.0%, 93.2%, pymetrozine, pyridaben에서 각각 97.6%, 95.2%로 90% 이상의 살충율을 나타내었다. 담배가루이 biotype Q에 대한 엽면 침투이행성에서는 모두 90%이하의 biotype B보다 낮은 살충율을 나타내었으며, 뿌리침투이행성에서도 역시 90%이하의 살충율을 나타내고 있다. 이와 같은 결과는 약제 간에 차이는 있으나 어느 정도 침투이행성 효과가 있는 것으로 나타났다.

침투이행성 약제는 식물체에 이행된 후 약효를 발휘하기 때문에 처리된 작물을 식해하는 해충에만 선택적으로 작용하는 장점을 가지고 있다. 따라서 효율적인 방제를 위해서는 침투이행 효과가 있는 약제선발이 중요하다(Kim *et al.*, 2000). Kim 등(2000)은 담배가루이 B에 대한 5종 약제의 근부침투이행성이 엽면 침투이행성보다 살충효과가 높은 것으로 나타났으며, acetamiprid가 83.1%로 가장 높게 나타났다. Ha 등(2003)은 acetamiprid와 acetamiprid+etofenprox, etofenprox를 대상으로 엽면침투이행성과 근부침투이행성을 조사한 결과 acetamiprid가 acetamiprid+etofenprox보다 높은 결과를 보여 이번 실험과 유사한 결과를 얻었고, Rubinstein 등(1999)도 biotype B에 대한 imidacloprid의 토양처리에서 침투이행효과가 있음을 보고하여 본 실험의 결과를 뒷받침하고 있다. 담배가루이는 주로 잎 뒷면에서 서식하기 때문에 효율적인 방제를 위해서는 침투이행성효과가 있는 약제선발이 중요하다. Prabhaker 등(1999)은 neem, amitraz의 종자처리, 토양처리 및 엽면처리하여 담배가루이의 일종인 *B. argentifolii* (biotype B)에 산란억제 및 유충에 미치는 영향을 조사하였는데, neem은 종자처리에서 산란억제 효과는 없었으나, 토양처리에서는 효과가 있었고, 잎 앞면처리에서는 뒷면으로의 이행효과를 보고하였다. 그리고 amitraz는 종자처리와 토양처리에서 산란억제 효과를 나타내어 침투이행성 효과가 있음을 보고하였는데(Larew *et al.*, 1985), 이러한 차이는 neem은 종자처리보다 토양처리에서 지속적으로 잔류해 있기 때문에 뿌리에서 잎으로의 이동이 가능하여 효과를 나타낸 것으로 추정하였다. 또한 Rubinstein 등(1999)도 담배가루이(B biotype)에 대한 imidacloprid의 토양처리에서 침투이행효과가 있음을 보고하였으며, 본 실험의 imidacloprid 결과를 뒷받침하고 있다. 가루이는 주로

잎뒷면에 서식하기 때문에 약제처리에 의한 접촉 가능성이 낮다고 볼 수 있다. 따라서 효율적인 방제를 위해서는 침투이행성 효과가 있는 약제선발이 중요하다.

잔효성

Table 3은 담배가루이의 성충에 대한 11약제의 잔효성을 온실에서 과종후 5주된 토마토유묘에 관행농도(ppm)로 처리하고 9일까지 조사한 결과이다. Biotype B에 대해 pyridaben과 spinosad는 9일째에도 각각 94.8%, 100.0%의 살충활성을 나타내었고, dinotefuran, emamectin benzoate은 7일째에서 92.2%, 91.0%의 살충활성을 나타내었다. Biotype Q에 대해 11약제의 잔효성효과는 pyridaben에서 7일째 90.8%의 살충활성을 나타내었다.

이상의 결과에서 pyridaben, spinosad, dinotefuran, emamectin benzoate 약제가 잔효성이 있는 것으로 나타났다. biotype B가 Q보다 약제에 대해 감수성임을 알 수 있었다.

이는 Kim 등(2000)의 담배가루이에 대한 각각 약제 잔효성에 대한 실험에서의 결과에서 abamectin, acetamiprid, imidacloprid, acetamiprid+etofenprox 모두 9일까지도 효과가 지속된 것과 유사한 결과가 나왔으며 Palumbo 등(2001) 역시 imidacloprid 처리시 성충의 밀도가 낮을 때 14~21일 정도의 잔효성을 가지는 것으로 보고하여 biotype B에 대한 결과를 뒷받침 해주었지만, Ha 등(2003)의 실험 결과와는 차이가 있었다. 이처럼 잔효성이 우수한 살충제는 한 번의 약제 처리로도 지속되는 방제효과를 가져오기 때문에 경제적이다 할 수 있지만 잔류독성의 우려가 있기 때문에 잔류독성 여부를 조사하여 환경에 안전한지 확인해야 한다.

효소활성 저해

담배가루이 성충의 효소에 대한 유기인계인 fenitrothion과 카바메이트계인 fenothiocarbe의 활성 저해 정도는 그림 3과 같다. AChE 활성 저해 정도는 fenitrothion 처리시 biotype B가 Q보다 10^7 M에서 2.35배, fenothiocarbe 처리시 10^6 M에서 2.83배로 두 배 이상의 활성이 저해되었다.

담배가루이의 유기인계나 카바메이트계, 피레스로이드계 살충제에 대한 저항성은 산화효소와 가수분해 경로 또는 작용부위의 변형등에 의해 무독화시킴으로 나타나게 된다. 그중에서도 Glutathion S-transferase(GST)는 대부분의 유기체에서 발견된 주요 무독화효소로, 곤충 GST

Table 3. Residual effects of 11 insecticides against biotype B and Q of *B. tabaci* adults (Sample size, 50~100 adults, 3 replicates/treatment)

Insecticide	Biotype	% Mortality			
		1DAT ^{a)}	3DAT	7DAT	9DAT
Acetamiprid	B	91.9±5.1	91.0±3.6	88.1±7.6	85.5±8.4
	Q	72.7±8.3	71.2±8.8	60.0±8.2	51.5±9.5
	<i>p</i> value ^{b)}	0.0232	0.0161	0.0184	0.0108
Dinotefuran	B	98.3±2.9	98.5±2.6	92.2±6.9	87.2±9.6
	Q	90.0±5.5	88.8±5.9	69.1±8.0	59.3±3.9
	<i>p</i> value	0.0689	0.0456	0.0483	0.0153
Enamectin benzoate	B	94.7±9.2	91.5±3.9	91.0±9.1	87.3±9.8
	Q	88.6±3.0	85.1±9.2	86.4±4.6	82.5±9.0
	<i>p</i> value	0.0291	0.2372	0.3993	0.5409
Imidacloprid	B	98.1±3.3	95.3±4.2	88.1±4.1	83.9±6.3
	Q	83.2±7.8	66.7±9.0	49.4±7.4	49.8±10.3
	<i>p</i> value	0.0321	0.0154	0.0015	0.0090
Milbemectin	B	85.8±9.4	63.5±8.9	60.7±8.7	49.8±6.2
	Q	73.3±9.4	62.4±8.4	46.9±9.5	42.7±2.8
	<i>p</i> value	0.1877	0.8869	0.1361	0.1422
Pymetrozine	B	76.4±9.7	49.4±8.9	31.8±4.5	23.9±8.8
	Q	47.3±9.3	43.3±6.2	31.9±9.0	19.5±3.8
	<i>p</i> value	0.0242	0.3834	0.9847	0.4951
Pyridaben	B	94.2±5.3	95.1±5.4	95.0±8.7	94.8±6.0
	Q	91.7±7.8	92.5±3.4	90.8±3.5	65.7±9.3
	<i>p</i> value	0.8128	0.4193	0.2797	0.0197
Pyriproxyfen	B	50.0±2.2	44.1±9.3	41.0±7.0	16.3±5.4
	Q	28.8±8.1	39.9±7.4	39.3±9.9	10.5±6.0
	<i>p</i> value	0.0136	0.7231	0.8120	0.2569
Spinosad	B	100.0±0.0	94.4±9.6	95.6±4.1	100.0±0.0
	Q	95.3±4.1	94.4±9.6	81.7±8.2	75.4±9.6
	<i>p</i> value	0.1169	1.0000	0.0757	0.0015
Thiamethoxam	B	96.3±4.2	86.7±1.4	86.7±7.3	84.9±1.7
	Q	70.0±6.3	70.8±7.2	57.0±8.4	33.0±9.5
	<i>p</i> value	0.0104	0.0140	0.0132	0.0008
Acetamiprid+ethofenprox	B	97.3±4.6	87.8±7.3	66.8±9.0	64.4±9.2
	Q	66.7±8.4	58.3±10.0	55.1±8.9	45.2±9.2
	<i>p</i> value	0.0088	0.0195	0.1816	0.0657

^{a)}Days after treatment.

^{b)}Significant differences were analyzed by a t-test (SAS Institute 2003).

에 대한 관심은 에스테라제와 시토크롬 P450산화효소와 같이 저항성의 원인이 되는 살충제의 대사적 무독화에 있어 중요한 역할을 하는 것에 초점이 맞춰져 있다(Rauch & Nauen, 2004). 본 실험결과에서 조사한 GST 활성저해 정도는 biotype B가 Q보다 낮게 나타났으며, 유기인계와 카바메이트계 살충제의 작용점인 esterase의 활성저해 역시 biotype B가 Q보다 낮게 나타났다. 이 시험에 사용된 담배가루이 biotype B는 Q보다 효소활성저해율이 낮을 것을 알 수 있었다. Susan 등(2003)은 AChE를 이용하여 A와 B biotype을 구별하였으며, Cottage와 Gunning

(2006)은 AChE 활성 저해를 이용하여 유기인계와 카바메이트계에 대한 담배가루이의 저항성을 보고하였다. Horowitz 등(1999)은 담배가루이 biotype B가 non-B type보다 피레스로이드계 살충제에 대해 좀 더 감수성을 나타낸다고 보고했는데, 본 실험에서도 biotype B와 Q의 저항성을 esterase와 AChE, GST 저해 정도를 비교해 본 결과, biotype B가 Q보다 유기인계와 카바메이트계 살충제에 대해 감수성임을 확인할 수 있었다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때, 담배가루이 biotype

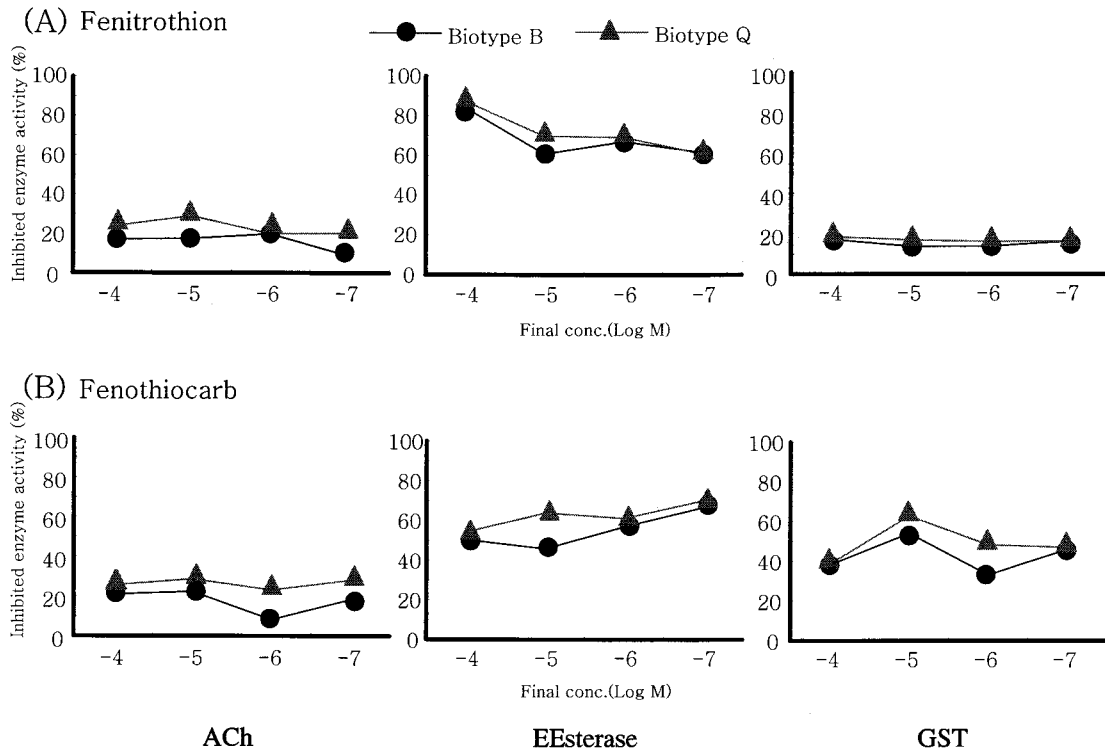


Fig. 3. Inhibition of acetylcholinesterase(AChE), esterase and glutathione S-transferase (GST) activities from *B. tabaci* biotypes by fenitrothion and fenothiocarb.

Q가 B보다 약제에 대해서 저항성임이 증명되었으며, 효율적인 방제를 위해서 약충과 성충에 효과있는 dinotefuran, spinosad, emamectin benzoate, pyridaben이 적합할 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 농림부/농림기술관리센터 지정 포도연구사업단의 연구비 지원과 교육인적자원부 지원 제2단계 BK21사업으로 수행되었다.

인용문헌

Ahn, K. S., K. Y. Lee, M. H. Choi, J. W. Kim and G. H. Kim (2001) Effect of temperature and host plant on development and reproduction of the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). Korean J. Appl. Entomol. 43:203~209.
 Bedford, I. D., R. W. Briddon, J. K. Briddon, R. C. Rosell and P. G. Markham (1994) Geminivirus transmission and biological characterization of *Bemisia tabaci* (Gennadius) biotypes from different geographic regions. Ann. Appl. Biol. 125:311~325.

Bellows, T. S., T. M. Perring, R. J. Gill and D. H. Headrick (1994) Description of a species of *Bemisia*. Ann. Entomol. Soc. Am. 87:195~206.
 Brown, J. K., D. R. Frohlich and R. C. Rosell (1995) The sweetpotato/silverleaf whiteflies: biotypes of *Bemisia tabaci* genm, or a species complex? Ann. Rev. Entomol. 40:511~534.
 Burban, C., L. D. C. Fishpool, C. Fauquet, D. Fargette and J. C. Thouvenel (1992) Host associated biotypes within West African population of the whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hom., Aleyrodidae). J. Appl. Entomol. 113:416~423.
 Byrne, D. N., P. K. van Bretzel, and C. J. Hoffman (1986) Impact of trap design and placement when monitoring for the banded winged whittfly and sweetpotato whitefly(H). Environ. Entomol. 15:300~304.
 Cottage, E. L. and R. V. Gunning (2006) Buprofezin inhibits acetylcholinesterase activity in B-biotype *Bemisia tabaci*. Journal of molecular neuroscience : MN, 30 (1-2):39~40.
 Dennehy, T. J. and L. Williams (1997) Management of resistance in Arizona cotton. Pestic. Sci. 51:398~406.

- Devine, G. J., I. Ishaaya, A. R. Horowitz and I. Denholm (1999) The response of pyriproxyfen-resistant and susceptible *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to pyriproxyfen and fenoxycarb alone and in combination with piperonyl butoxide. *Pestic. Sci.* 55:405~411.
- EPPO (2004) Diagnostic protocols for regulated pests, *Bemisia tabaci*. EPPO Bulletin 34:281~288.
- Ellman, G. L., K. D. Courey, V. Andres, J. and B. C. Featherstone (1961) A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7:88~95.
- Frohlich, D. R., I. Torres-Jerez, I. D. Bedford, P. G. Markham, and J.K. Brown (1999) A phylogeographical analysis of the *Bemisia tabaci* species complex based on mitochondrial DNA markers. *Mol. Entomol.* 8:1683~1691.
- Guirao, P., F. Beitia and J. L. Cenis (1997) Biotype determination of Spanish populations of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Bull. Entomol. Res.* 87:587~593.
- Habig, W. H., M. J. Pabst and W. B. Jakoby (1974) Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mecapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249:7130~7139.
- Ha, T. K., I. C. Hwang, J. K. Kim, Y. H. Song, G. H. Kim and Y. M. Yu (2003) Toxicities and control effect of three insecticides to greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* and sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Korean J. Pesticide Sci.* 3:29~36.
- Horowitz, A. R., Z. Mendelson, M. Cahill and I. Ishaaya (1999) Managing resistance to the insect growth regulator, pyriproxyfen, in *Bemisia tabaci*. *Pestic. Sci.* 55:272~232.
- Horowitz, A. R. Z. Mendelson and I. Ishaaya (1997) Effect of abamectin mixed with mineral oil on the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). *J. Econ. Entomol.* 90:349~353.
- Ishaaya, I., and A. R. Horowitz (1995) Pyriproxyfen, a novel insect growth regulator for controlling whiteflies: mechanism and resistance (Homoptera: Aleyrodidae). *Pestic. Sci.* 43:227~232.
- Kim, G. H., Y. S. Lee, I. H. Lee and K. S. Ahn (2000) Susceptibility of sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, (Homoptera: Aleyrodidae) to commercially registered insecticides in Korea. *Korean J. Pesticide Sci.* 4(1):51~58.
- Larew, H. G., J. J. Knodel-Montz, R. F. Webb, and J. D. Warthen (1985) *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae) control on chrysanthemum by neem seed extract applied to soil. *J. Econ. Entomol.* 78:80~84.
- Lee, M. L., S. B. Ahn, and W. S. Cho (2000) Morphological characteristics of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) and discrimination of their Biotypes in Korea by DNA markers. *Korean J. Appl. Entomol.* 39:5~12.
- Lee, M. H., S. Y. Kang, S. G. Lee, J. Y. Choi, G. S. Lee, W. Y. Kim, S. W. Lee, S. G. Kim and K. B. Uhm (2005) Occurrence of the B- and Q-biotypes of *Bemisia tabaci* in Korea. *Korean J. Appl. Entomol.* 44(3):169~175.
- Liu, T. X. and P. A. Stansly (1997) Effects of pyriproxyfen on three species of *Encarsia formosa* (Hymenoptera: Aphelinidae), endoparasitoids of *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). *J. Econ. Entomol.* 43:227~232.
- Matsui, M. (1995) Efficiency of *Encarsia formosa* in suppressing population density of *Bemisia tabaci* on tomatoes in plastic greenhouse. *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 39:25~31.
- Palumbo, J. C., A. R. Horowitz, N. Prabhaker (2001) Insecticidal control and resistance management for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection* 20:739~765.
- Perring, T. M. (2001) The *Bemisia tabaci* species complex. *Crop Protection* 20:725~737.
- Prabhaker, N., N. C. Toscano, T.M. Perring, G. Nuessly, K. Kido and R. R. Youngman (1992) Resistance monitoring of the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) in the Imperial Valley of California. *J. Econ. Entomol.* 85:1063~1068.
- Prabhaker, N., N. C. Toscano, and T. J. Henneberry (1999) Comparison of neem, urea, and amitraz as oviposition suppressants and larvicides against *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae). *J. Econ. Entomol.* 92(1):40~46.
- Rauch, N. and R. Nauen (2004) Characterization and

- molecular cloning of a glutathione S-transferase from the whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Insect Biochem. Mol. Biol.* 34:321~329.
- Rubinstein, G., S. Morin and H. Cosnek (1999) Transmission of tomato yellow leaf curl geminivirus to imidacloprid treated tomato plants by the whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera : Aleyrodidae). *J. Econ. Entomol.* 92:658~662.
- SAS Institute. 2003. SAS/STAT User's Guide: Statistics, version 9.1. SAS Institute, Cary, N.C., U.S.A.
- Susan, A. C. J. K. Brown and L. H. Donald (2003) Biochemical characterization of biotype-specific esterases in the whitefly, *Bemisia tabaci* Genn (Homoptera: Aleyrodidae). *Insect Biochem. Mol. Biol.* 24(7):723~728.
- Ueda, S. (2006) Simple and Rapid Detection by mtCOI PCR-RFLP to distinguish the Q biotype of *Bemisia tabaci*. *Kyushu Plant Prot. Res.* 52:44~48.
- Ueda, S. and J. Brown (2006) First report of the Q biotype of *Bemisia tabaci* in Japan by mitochondrial cytochrome oxidase I sequence analysis. *Phytoparasitica* 34:405~411.
- Van Asperen, K. J. (1962) A study of housefly esterase by means of sensitive colorimetric method. *J. Insect Pathol.* 8:401~416.
- Van Lenteren, J. C. and J. Woets (1988) Biological and integrated pest control in greenhouses. *Ann. Rev. Entomol.* 33:239~269.

담배가루이 Biotype B와 Q의 약제감수성과 효소활성 비교

김은희 · 성재욱¹ · 양정오 · 안희근 · 윤창만 · 서미자 · 김길하*

충북대학교 농업생명환경대학 식물외과과, ¹농업과학기술원 농약평가과

요약 : 충북 진천군 이월면 장미재배지와 경남 밀양시 고추밭에서 채집한 담배가루이에 대해서 16S DNA 염기서열을 분석하였다. 각각의 PCR산물을 *Eco*T14 I (*Sty* I)과 *Stu* I을 처리한 결과 경남 밀양시 고추밭에서 채집한 담배가루이는 *Sty* I에서 555bp와 311bp 두 개의 단편이 만들어져 biotype Q임을 확인하였고, 충북 진천군 장미재배지에서 채집한 담배가루이는 *Stu* I에서 560bp와 306bp 두 개의 단편이 만들어져 biotype B임을 확인하였다. 두 biotype에 대한 12종 살충제로 발육단계별 약제감수성, 침투이행성 및 잔효성을 비교하였고, esterase, acetylcholinesterase (AChE), glutathione S-transferase 등의 효소활성에 미치는 저해정도를 검토하였다. 두 biotype간에 약제감수성 차이가 있었고, biotype B가 Q보다 더 감수성이었다. 엽면침투이행성과 근부침투이행성 및 잔효성에서도 biotype B가 Q보다 더 감수성이었다. 유기인계인 fenitrothion과 카바메이트계인 fenothiocarb의 저해제에 대해서 esterase, acetylcholinesterase (AChE), glutathione S-transferase 등의 효소활성에 미치는 영향을 검토한 결과, biotype Q가 B보다 활성이 높게 나타났다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 담배가루이 biotype Q가 B보다 약제에 대해서 저항성임을 알 수 있었다.

색인어 : 담배가루이, 생태형 B와 Q, 살충제, 엽침투이행, 잔류효과, DNA sequences