

배추좀나방과 파밤나방의 pyrethroids 약제에 대한 감수성 및 전기적 신경 반응 비교

함선희 · 안희근 · 양정오 · 윤창만 · 김길하*

충북대학교, 농업생명환경대학, 식물외학과

(2009년 8월 28일 접수, 2009년 9월 16일 수리)

Toxicological and Electrophysiological Activities of Pyrethroids between Larvae of Diamondback Moth, *plutella xylostella* and Beet Armyworm, *Spodoptera exigua*

Sun-Hee Ham, Hee-Geun Ahn, Jeong-Oh Yang, Changmann Yoon and Gil-Hah Kim*

Dept. of Plant Medicine, College of Agriculture, Life, and Environment Sciences, Chungbuk National University, Cheongju, 361-763, South Korea

Abstract

Based on the insecticidal efficacy by insecticide treatment methods, neurophysiological responses were compared with the larvae of diamondback moth (DBM) and beet armyworm (BAW) using pyrethroids working on nervous system. By body spray method, all pyrethroids were showed lower insecticidal activity below 50% on the larvae of DBM and BAW. By leaf dipping method, DBM larvae were showed the insecticidal activity as 100% at 50 ppm deltamethrin, 80.0% at fenvalerate and 63.3% at permethrin. However, BAW larvae were showed lower insecticidal activity as similar as control in all concentration. In order to examine electrophysiological response on nervous system on DBM and BAW larvae when treated three insecticides, we investigated the voltage and reaction degree. The voltage of DBM were responded as high as $10^{-7}M$ in deltamethrin, $10^{-5}M$ in fenvalerate and $10^{-3}M$ in permethrin. However, those of BAW were showed dull responses with small variation of voltage to all three insecticides.

Key words Neurophysiological response, diamondback moth, beet armyworm, insecticide, susceptibility

서 론

작물은 한 종이 아닌 여러 종의 해충이 가해하여 복합적으로 피해를 받고 있기 때문에 해충의 방제와 안정적인 농산물 생산을 위하여 농약사용은 필수적이다. 때문에 약제에 대한 곤충의 저항성 발현은 복잡 다양한 현상을 나타낸다.

배추좀나방(*Plutella xylostella*)은 세계각지에 걸쳐 광범위하게 분포하며, 십자화과 작물의 주요 해충으로 세대기간

이 짧고 연간 발생횟수가 많다. 또한 포장 내에서는 알, 애벌레, 번데기, 성충이 혼서상태로 존재한다(Lee 등, 1997; Kim 등, 1996b). 따라서 살충제에 의한 도태 기회가 많아져 저항성 발달이 빠르게 나타날 가능성이 높다. 실제로 유기인계 등 여러 계통의 약제에 대해서 저항성이 보고되었으며(Hama, 1986; Perng and Sun, 1987), 교차저항성 발달로 포장에서 방제가 쉽지 않다(Kim 등, 1996b).

파밤나방(*Spodoptera exigua*)은 특히 파 재배지에서 가장 문제시되고 있는 해충으로서 그 피해가 심각하여 파를 재배할 수 없는 상황도 보고되고 있는 실정이다(Goh 등, 1993; Kim

*연락처 : Tel. +82-43-261-2555, Fax. +82-43-271-4414

E-mail: khkim@chungbuk.ac.kr

등, 2009). 3령 유충 이상이 되면 약제 저항성이 강해지거나 파 등 일부 작물에서는 줄기 속에 들어가 가해하므로 약제에 노출될 기회가 적어져 방제가 곤란해지기 때문에 1-2령기에 방제를 실시해야한다.

특정지역에서 지속적인 약제 살포는 살충제에 대한 곤충의 저항성이 문제시 되지만, 이러한 문제들의 해결방안으로 특정 목적해충에만 적용하는 선택성이 높은 살충제, 적은 양으로도 충분히 효과를 발휘할 수 있는 살충제, 자연환경 중에서 쉽게 분해되어 환경오염을 유발하지 않고, 인축 및 야생동물에 대해서도 거의 해가 없는 살충제의 개발이 절실했고 (Metcalf, 1980), 안전성과 저독성을 갖춘 이상적인 약제 개발뿐만 아니라 대상 해충의 정확한 저항성 발현 정도와 중간 감수성, 그리고 저항성 기작을 이해하는데 전기생리학적 연구가 진행되어 왔다. 피레스로이드계 살충제는 신경축색에 위치한 Na^+ 통로의 개폐를 저해하여 신경전달을 교란시키는 것으로 알려져 있으므로 (Pauron 등, 1989), 피레스로이드계 살충제는 신경활동전위 아래에 있는 신경막의 sodium 투과성을 일시적으로 증가시키도록 조절하여 전기적으로 민감한 sodium channel의 역할을 변화시켜 곤충 신경의 정상적인 기능을 바꾸는 것으로 알려져 있다 (Soderlund 등, 2002).

본 연구는 피레스로이드 계통 3종 약제에 대한 배추좀나방과 파밤나방 3령유충의 *in vivo*에서 약제처리 방법에 따른 감수성과 *in vitro*에서 신경감수성을 비교하였다.

재료 및 방법

시험곤충

본 시험에 사용된 배추좀나방(*Plutella xylostella*)은 1999년 한국화학연구원에서, 파밤나방(*Spodoptera exigua*)은 2009년 (주)동부하이텍에서 분양받아 살충제에 대한 노출없이 충북대학교 식물학과 곤충독성학실험실에서 누대 사육하면서 시험에 사용하였다. 배추좀나방은 온실에서 농약에 노출시키지 않고 재배한 배추유묘를 먹이로 공급하였고, 아크릴상자(30×30×30 cm)에 넣어 사육하였다. 실내 사육조건은 온도 $26\pm 1^\circ\text{C}$, 광주기 16L:8D, 습도 $50\pm 10\%$ 를 유지하였다. 파밤나방은 인공사료 제조는 Kim 등(1996a)의 방법을 변형하여 만들어 냉장보관후 필요시 꺼내어 공급하고, 페트리디쉬($\phi 10\times 5$ cm)에 넣어 광주기 16L:8D, 습도 $60\pm 10\%$ 조건의 항습기(Versatil environmental test chamber MLR-351H, Sanyo Electric Co., Osaka, Japan)에서 온도 25°C 로 설정하고 사육하였다.

시험약제

본 시험에 사용된 deltamethrin 1% 유제, fenvalerate 5% 유제는 시판상에서 구입 하였고, 원제인 deltamethrin(93.0%), fenvalerate(96.2%), permethrin(96.2%)은 원제회사에서 공급받아 사용하였다.

생물검정

접촉독성 실험은 분무법으로, 섭식독성실험은 엽침지법으로 하였다. 분무법은 배추좀나방과 파밤나방 유충을 플라스틱 컵($\phi 10\times 4$ cm)에 넣고 약액을 펌프타입 스프레이(입자크기 400 μm , 노즐직경 0.15 mm; 일회 펌프시 0.1에서 0.15 ml 분사)를 이용하여 3-5회 분무한 후 페트리디쉬($\phi 10\times 1$ cm)에 배추절편($\phi 5.5$ cm)을 넣고 접종하였다. 엽침지법은 배추절편($\phi 5.5$ cm)을 소정농도로 희석한 약액 40 ml이 들어있는 플라스틱 비이커($\phi 75$ mm \times H60 mm)에 30초간 침지 후 음건하여 페트리디쉬($\phi 10\times 1$ cm)에 넣어 접종하였다. 분무법과 엽침지처리에서 약제를 각 농도로 희석하여 10마리씩 3반복으로 수행하였으며, 48시간 후 사충수를 조사하였다. 실험결과 분석은 Tukey's Studentized Range Test로 비교하였다 (SAS Institute, 1991).

신경감수성 측정

전기 생리시험은 배추좀나방과 파밤나방 3령 유충의 두 번째 복부신경절에서 생겨난 운동신경세포에 프로브를 연결하여 준비하였다. 약제의 반응은 농도를 달리하여(10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3}M) 준비하였고 신경근 연결부위의 miniature excitatory postsynaptic potentials(mEPSP)의 변화를 살펴보았다. 전신경반응은 전압의 파형을 시각적으로 나타내어 측정할 수 있는 장치인 extracellular preamplifier(2004A, DAGAN Corp., Minneapolis, MN.), digital-filter(Power lab8-30, AD INSTRUMENTS, Australia)을 이용하였다. 곤충의 해부는 파라핀 플레이트에 유충을 고정시키고 복부절개 후 소화관과 지방세포를 제거하여 신경절을 찾았다. 살아있는 상태를 유지하기 위해 생리식염수에 담가 실험하였다. mEPSP는 5-10M Ω 의 저항을 가지고 있는 3M KCl 로 채운 유리전극을 이용하여 측정하였다. 약제처리는 10^{-2}M 을 0.05% Tween 20을 포함한 아세톤으로 10배씩 희석하여 준비하였으며, 이 용액을 Locke's 식염수로 희석하여 사용하였다. 실험은 약제와 농도에 따라 10반복으로 수행하였으며, 모든 실험은 상온에서 수행하였다.

결과 및 고찰

약제 감수성

배추좀나방과 파밤나방의 접촉독성 반응을 알아보기 위해 분무법을 이용하였다(Table 1). 배추좀나방 유충은 세 가지 약제에 대하여 50 ppm에서 모두 50%이하의 낮은 살충률을 보였으며, 세 가지 약제가 비슷한 수치를 나타내었다. 파밤나방 유충은 50 ppm에서 모두 55% 이하로 deltamethrin, fenvalerate, permethrin 순으로 낮은 살충율을 보였다. 이상의 결과에서 실험에 사용한 세가지 약제는 최소한 배추좀나방과 파밤나방에 대해서는 접촉독에 의한 살충효과를 볼 수 없었다.

엽침지법으로 배추좀나방과 파밤나방 유충에 대한 섭식독성 반응을 검토한 결과(Table 1), 배추좀나방 유충은 50 ppm에서 deltamethrin은 100%로 높은 살충율을 보였고, fenvalerate는 80%, permethrin은 다소 떨어진 63.3%의 살충율을 보였다. 10 ppm과 1ppm에서도 경향은 유사하였지만 수치는 낮아 낮

은 농도에 대해서는 효과가 떨어졌다. 이에 비하여 파밤나방은 50 ppm에서 세 약제 모두에 대하여 섭식독성이 낮았으며, 특히 10과 1 ppm에서는 효과가 없었다. 따라서 본 실험을 통하여 세 약제는 배추좀나방에 대해서는 섭식독이 있는 것으로 인정되나 파밤나방에 대해서는 섭식독이 없음을 알 수 있었다.

배추좀나방은 접촉독성 보다는 섭식독성에 강하게 영향을 받는 것을 알 수 있었다. 이와 같이 처리방법에 따라 살충제 감수성이 차이를 나타내고 있는 것은 살충제의 작용경로와 작용부위의 차이에 의한 것으로 보고하였는데 본 조사에서도 같은 결과였다(會田, 1983). 하지만 파밤나방의 경우 같은 처리방법에 다른 결과가 나타나는 것으로 보아 중간 차이를 확인할 수 있었다. 담배거세미나방의 경우 tralomethrin과 deltamethrin 약제를 주입하거나 국소처리 후 유충은 움직임은 있지만 구토를 하거나 충체에 경련이 일어나는 것을 관찰하였고, 가벼운 경련은 치사하는 증상으로 간주되어 독성이 첫 번째 구별되는 징표라 보고하였으며(Hatakoshi 등, 1987), 이와 같은

Table 1. Toxicity of 3rd instar of *Plutella xylostella* and *Spodoptera exigua* to pyrethroid insecticides determined by leaf spray and leaf dipping methods

Species	Insecticide	Conc. (ppm)	n	Mortality (%), Mean±SD				
				Body spray method		Leaf dipping method		
<i>P. xylostella</i>	Deltamethrin	50	30	43.3 ± 15.3	ab ^{a)}	100.0 ± 0.0	a	
		10	30	10.0 ± 10.0	de	83.3 ± 5.8	ab	
		1	30	6.7 ± 5.8	de	53.3 ± 15.3	c	
	Fenvalerate	50	30	50.0 ± 10.0	a	80.0 ± 10.0	ab	
		10	30	20.0 ± 10.0	cde	63.3 ± 5.8	bc	
		1	30	3.3 ± 5.8	de	3.3 ± 13.5	d	
	Permethrin	50	30	43.3 ± 5.8	ab	63.3 ± 11.5	bc	
		10	30	23.3 ± 5.8	bcd	23.3 ± 5.8	d	
		1	30	6.7 ± 5.8	de	3.3 ± 5.8	de	
	Control	0	30	0.0 ± 0.0	e	0.0 ± 0.0	e	
	<i>S. exigua</i>	Deltamethrin	50	30	53.3 ± 5.8	a	16.7 ± 5.8	de
			10	30	16.7 ± 5.8	cde	6.7 ± 5.8	de
1			30	0.0 ± 0.0	e	0.0 ± 0.0	e	
Fenvalerate		50	30	33.3 ± 11.6	abc	10.0 ± 10.0	de	
		10	30	10.0 ± 10.0	de	0.0 ± 0.0	e	
		1	30	0.0 ± 0.0	e	0.0 ± 0.0	e	
Permethrin		50	30	23.3 ± 5.8	bcd	13.3 ± 5.8	de	
		10	30	6.7 ± 5.8	de	0.0 ± 0.0	e	
		1	30	0.0 ± 0.0	e	0.0 ± 0.0	e	
Control		0	30	0.0 ± 0.0	e	0.0 ± 0.0	e	

^{a)} Means followed by the same letter within a column are not significantly different at P=0.05 by Tukey's Studentized Range Test (SAS Institute, 1991).

증상은 신경계를 교란시키는 약제의 특징으로 본 연구에서도 배추좀나방과 파밤나방에서 동일하게 관찰되었다. 뿐만 아니라 control과 다르게 살아있지만 충체를 동글게 말고 운동성이 떨어져 있는 것도 관찰이 되었다.

신경 감수성

약제감수성 실험 결과를 토대로 배추좀나방과 파밤나방에 대한 신경생리 반응을 비교하였다(Fig. 1, 2). 신경근 연결부위의 miniature excitatory postsynaptic potentials(mEPSP)

의 약제에 대한 효과를 살펴본 결과(Fig. 1), 배추좀나방은 신경반응에서 deltamethrin $10^{-7}M$ (Fig. 1-B) fenvalerate $10^{-5}M$ (Fig. 1-C), permethrin $10^{-3}M$ (Fig. 1-D)에서 전하량이 control에 비해 두 배 이상 증가하였다(Fig. 2). 하지만 파밤나방에서는 deltamethrin(Fig. 1-F), fenvalerate(Fig. 1-G), permethrin(Fig. 1-H)의 파형이 control과 비교했을 때 거의 변화가 없었다(Fig. 2).

배추좀나방에서 반응의 차이가 나타난 이유는 3종의 피레스로이드계 약제가 기본적인 구조가 유사하고 비슷한 작용점

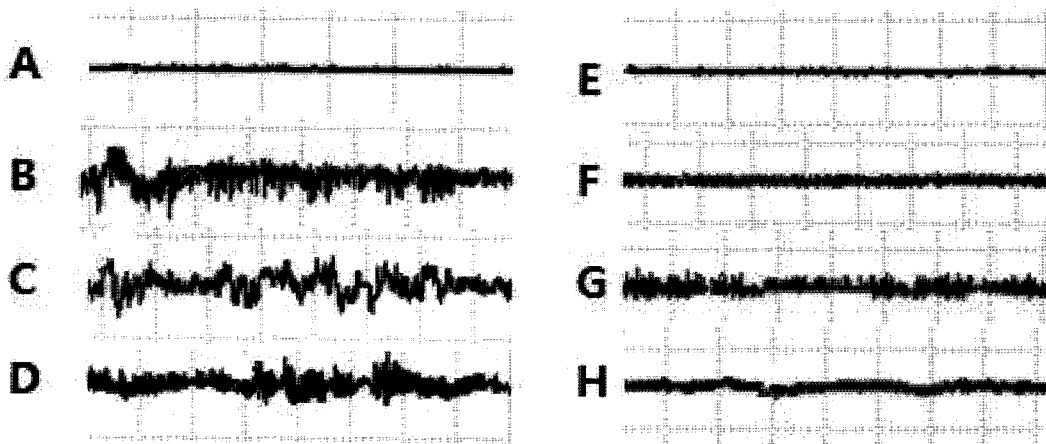


Fig. 1. Miniature excitatory postsynaptic potentials (mEPSP) recorded intracellularly from longitudinal muscles of *Plutella xylostella* (A-D), and *Spodoptera exigua* (E-H).

In *Plutella xylostella*, (A)-(D) are typical recordings of mEPSP before (A) and after (B) application of deltamethrin $10^{-7}M$, and after (C) application of fenvalerate $10^{-5}M$, and after (D) application of permethrin $10^{-3}M$. In *Spodoptera exigua*, (E)-(H) are typical recordings of mEPSP before (E) and after (F) application of deltamethrin $10^{-7}M$, and after (G) application of fenvalerate $10^{-5}M$, and after (H) application of permethrin $10^{-3}M$. Calibrations: 2 mV, 1 k/sec.

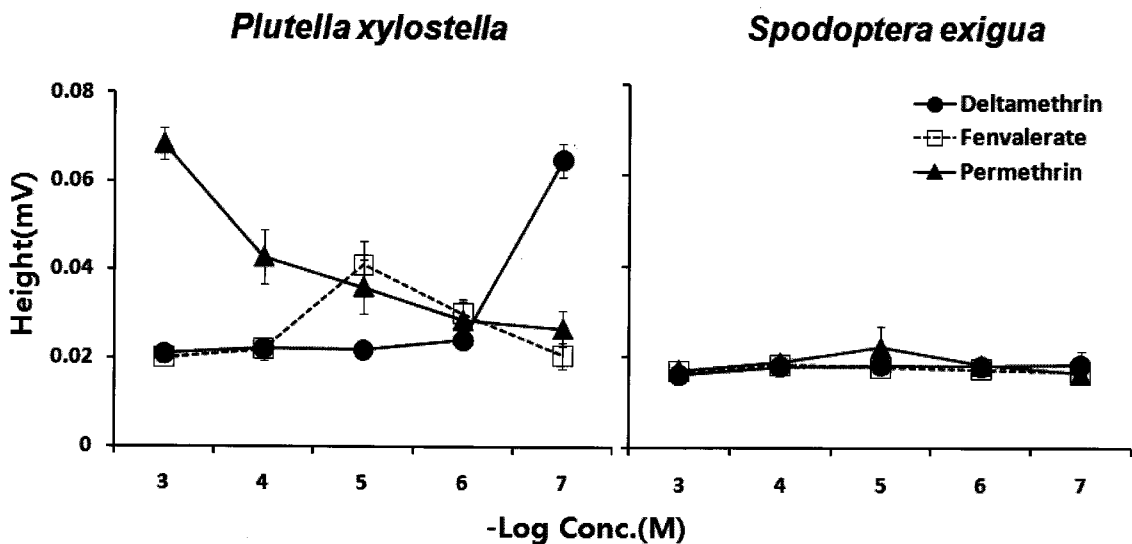


Fig. 2. Electric response of nerve cords of susceptible larvae of *Plutella xylostella* and *Spodoptera exigua* following application of pyrethroids insecticides on the exposed abdominal nerve cords.

을 가지고 있지만 그 구조적 변화에 따라 살충성이 변하기 때문에 신경반응의 차이를 보인 것으로 보인다. Hatakoshi 등 (1987)은 담배거세미나방에 대한 tralomethrin과 deltamethrin의 감수성 및 전기생리활성 실험에서 tralomethrin은 생체내에서 deltamethrin으로 변하는 디브롬화 반응을 일으키기 때문에 활성효과가 떨어진다고 하였다. Hama 등(1987)은 신경반응 실험을 통해 배추좀나방 감수성 계통에 fenvalerate 10^{-5} M과 10^{-6} M을 처리했을 때 전하량이 증가하였고 저항성 계통에서는 떨어지는 것으로 보고하였다.

일반적으로 피레스로이드계 약제는 α -cyano group의 유무에 따라 type 1과 type 2로 나누어지며, Mahmood 등 (1993)은 독일바퀴에서 type 1은 파장이 크고 반복적으로 지속되지만 Type 2는 순차적인 신경차단에 따라 반복적인 파장이 없거나 지속적인 반응이 일어나지 않음을 확인하였다. 또한 파장이 큰 type 1에서 더 높은 살충효과가 나타나는 것이 아님을 밝혔다. 하지만 본 실험에서는 types I이 II보다 살충활성이 높았고 신경반응도 민감하였다. 또한 종간차이도 컸다.

따라서 본 실험에서 3종의 피레스로이드 약제를 이용하여 생물활성검정 결과와 신경생리 반응을 살펴본 결과, 배추좀나방에 비하여 파밤나방이 약제에 대한 감수성이 낮고 신경반응 또한 둔감하였다. 따라서 위의 세가지 피레스로이드계 약제는 배추좀나방에는 섭식독에 의한 방제효과가 있는 것으로 판단되나 파밤나방에 대한 살충효과는 없는 것으로 평가되어 파밤나방의 방제에 이용하기는 어려울 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 15대 어젠다 과제 중 “수출농업기술개발”의 연구비지원으로 수행한 결과의 일부이다.

>> 인 / 용 / 문 / 헌

- Georghiou, G. P. and T. Saito (1983) Pest resistance to pesticides. Plenum Press. New York.
- Goh, H. G., J. S. Choi, K. B. Uhm, K. M. Choi and J. W. Kim (1993) Seasonal fluctuation of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner), adult and larva. Korean J. Appl. Entomol. 32:389~394.
- Hama, H. (1986) Development of pyrethroid resistance in the diamondback moth, *Plutella xylostella* Linne (Lepidoptera: Plutellidae). Appl. Entomol. Zool. 22:166~175.
- Hama, H., Y. Kono, and Y. Sato (1987) Decreased sensitivity of central nerve to fenvalerate in the pyrethroid-resistant diamondback moth, *Plutella xylostella* linne (Lopidoptera: Yponomeutidae). Appl. Entomol. Zool. 22:176~180
- Hatakoshi, M., K. Umeda, T. Ohsumi, N. Itaya, and I. Nakayama (1987) Toxicological and electrophysiological activities of tralomethrin and deltamethrin against larvae of tobacco cutworm, *Spodoptera litura*. J. Pestic. Sci. 12:193~197.
- Jang, C., I. C. Hwang, Y. M. Yu and K. R. Choe (1998) Action properties and insecticidal effects of thiamethoxan to the melon aphid, *Aphis gossypii*, and diamondback moth, *Plutella xylostella*. Korean J. Pestic. sci. 3:126~136.
- Kim, G. H., N. J. Park, C. Song, W. K. Shin and Y. H. Choi (1996a) Development of mass-rearing methods of Beet armyworm, *Spodoptera exigua* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). Final research report of KRICT. p20, Ministry of Education, Science and Technology, Seoul, Korea.
- Kim, S. G., D. I. Kim, S. J. Ko, B. R. Kang, H. J. Kim and K. J. Choi (2009) Determination of economic injury level levels and control thresholds for *Spodoptera exigua* on Chinese cabbage. Korean J. Appl. Entomol. 48:81~86.
- Kim, Y. G. and D. G. Chang (1996b) Role of general esterases in deltamethrin resistance mechanism of diamondback moth, *Plutella xylostella* L. Korean J. Appl. Entomol. 35:74~79.
- Lee, S. G., C. Y. Hwang, J. K. Yoo, S. W. Lee, B. R. Choi, and J. O. Lee (1997) Insecticidal activity of flupyrazofos against *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) and *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). Korean J. Pestic. Sci. 1:48~51
- Mahmood, T., E. Funaki, H. Yano, Y. Kasai, and N. Motoyama (1993) *In vitro* studies on the mechanism of pyrethroid resistance in the German cockroach. J. Pestic. Sci. 18:253~261.
- Metcalf, R. E. (1980) Changing role of insecticides in crop protection. Ann. Rev. Entomol. 25:219~256.
- Pauron, D., J. Barhanin, M. Amichot, M. Pralavorio, J. B. Berge, and M. Lazdunski (1989) Pyrethroid receptor in the insect Na^+ channel: Alteration of its properties in pyrethroid resistant flies. Biochemistry 28:1673~1677.
- Perng, F. S. and C. N. Sun (1987) Susceptibility of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistant to conventional insecticides to chitin synthesis inhibitors. J. Econ. Entomol. 80:29~31.
- SAS Institute (1991) SAS User's Guide. SAS Institute, Cary, N.C., U.S.A.
- Soderlund, D. M., J. M. Clark, L. P. Sheets, L. S. Mullin, V. J. Piccirillo, D. Sargent, J. T. Stevens, and M. L. Weiner (2002) Mechanism of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. Toxicology 171:3~59.
- 會典重光 (1983) *In vitro* 檢定法, pp. 232~271, 最新農業生物檢定法(細込農二編). 全局農村教育協會. 東京.

배추좀나방과 파밤나방의 pyrethroids약제에 대한 감수성 및 전기적 신경 반응 비교

함선희 · 안희근 · 양정오 · 윤창만 · 김길하*

충북대학교, 농업생명환경대학, 식물 의학과

요 약 본 실험은 배추좀나방과 파밤나방 유충에 처리방법에 따른 살충 효과를 토대로 신경계를 작용점으로 하는 pyrethroid 계 약제를 이용하여 신경반응을 비교해 보았다. 배추좀나방과 파밤나방 모두 총체분무처리시 세 약제에서 50%이하의 살충률을 나타내었다. 엽면침지시 배추좀나방은 50ppm에서 deltamethrin은 100%, fenvalerate는 80%의 살충률을 보였으며 permethrin은 63.3%로 나타났다. 하지만 파밤나방은 모든 농도에서 control과 비슷한 낮은 활성을 보여주었다. 세 약제가 배추좀나방과 파밤나방 유충 신경에 어떤 영향을 미치는지 알아보기 위하여 전기생리반응을 통해 신경감수성을 살펴본 결과, 배추좀나방은 deltamethrin은 $10^{-7}M$, fenvalerate는 $10^{-5}M$, permethrin은 $10^{-3}M$ 에서 높은 반응을 보였으며, 파밤나방은 이 세 약제에서 모두 둔감한 반응결과를 얻었다.

색인어 신경생리 반응, 배추좀나방, 파밤나방, 살충제, 감수성
