농약과학회지 (Korean J. Pestic. Sci.)
Vol. 25, No. 2, pp. 128-137 (2021)
Open Access https://doi.org/10.7585/kjps.2021.25.2.128
ORIGINAL ARTICLES

Online ISSN 2287-2051
Print ISSN 1226-6183
Check for updates

Diamide 저항성 파밤나방의 약제 관리 프로그램

박한찬[1] · 조선란[1] · 전종찬[1] · 강원진[1] · 김현경[1] · 구현나[1] · 박부용[2,3] · 김길하[1]*
[1]충북대학교 식물의학과 [2]국립농업과학원 기획조정과 [3]국립농업과학원 농산물안전성부 작물보호과

Insecticide Management Programs for Diamide-resistant Beet Armyworm, *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae)

Hanchan Park[1], Sun-Ran Cho[1], Jong Chan Jeon[1], Won Jin Kang[1], Hyun Kyung Kim[1], Hyun-Na Koo[1], Bueyong Park[2,3], Gil-Hah Kim[1]*

[1]Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 28644, Korea
[2]Planning and Coordination Division, National Institute of Agricultural Sciences, Wanju 55365, Korea
[3]Crop Protection Division, Department of Agro-Food Safety and Crop protection, National Institute of Agricultural Sciences, Wanju 55365, Korea

(Received on May 18, 2021. Revised on June 14, 2021. Accepted on June 15, 2021)

Abstract The beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner), is a important agricultural insect pest. IRM (Insecticide resistance management) programs and susceptibility by generations of *S. exigua* without exposure to any pesticides were examined in field-collected population (Haenam, Korea). In chlorantraniliprole treatment, the resistance ratio of F_1 generation showed more than 410,000 times, but the resistance ratio of F_6 generation was rapidly decreased by 271.1 times. Cyantraniliprole also decreased from 200,000 times (F_1 generation) to 105.7 times (F_6 generation). A point mutation I4790M in ryanodine receptor was observed in Haenam population. A susceptibility against F_4 generation using 11 registered pesticides was conducted in order to develop a IRM program. As a results, the five pesticides (broflanilide, chlorfenapyr, fluxametamide, indoxacarb and spinetoram) showed more than 90% mortality. Furthermore, all IRM programs showed more than 91% control effect, and there was no significant difference from program 5(excepting diamide-insecticides). These results can serve as a basis to control the diamide-resistant *S. exigua* in the field.

Key words *Spodoptera exigua*, Diamide, Chlorantraniliprole, Cyantranilirpole, Insecticide resistance management

서 론

파밤나방(*Spodoptera exigua*, Beet armyworm)은 아시아를 비롯해 유럽, 북중미, 아프리카, 호주 등 101개국에 분포되어 있으며(CAB, 1972; Zheng et al., 2011), 십자화과 작물을 포함한 다양한 농작물을 섭식하는 다식성 해충으로 심각한 경제적 피해를 주고 있다(Capinera, 2002; Metcalf and Flint, 1993; Xiu and Dong, 2007). 또한, 한국을 포함한 동아시아에서는 매년 4~11세대가 발생하며, 넓은 기주범위, 장기 비행 능력의 특징으로 인해 살충제에 대해서 빠르게 저항성을 획득하는 것으로 알려져 있다(Fu et al., 2017; Karimi-Malati et al., 2014). APRD (Arthrpod Pesticide Resistance Database, 2020)에 따르면 파밤나방은 diamide 계통 약제를 포함하여 약 40여가지 약제에 대하여 미국, 중국 등 전세계적으로 저항성이 보고되어 있다. Diamide 약제는 IRAC (Insecticide Resistance Action Committee, 2020) 28번으로 chlorantraniliprole, cyantraniliprole, cyclaniliprole, flubendiamide, tetraniliprole이 등록되어 있다(Cordova et al., 2006; Ebbinghaus-Kintscher et al., 2007; Jeanguenat, 2013; Kousika and Kuttalam, 2020; Sparks and Nauen, 2015). Diamide 약제는 ryanodine receptor (RyR)에 작용하여 표적으로 할 수 있는 해충 수가 광범위하며, 특히 나비목 해충에 대해 효과적인 살충제로 알려져 있다(Ebbinghaus-

*Corresponding author
E-mail: khkim@cbnu.ac.kr

Kintscher et al., 2007; Troczka et al., 2017). RyR은 곤충의 근섬유 사이에 존재하는 근형질과 내부 원형질의 소포체에 존재하는데(Sattelle et al., 2008), 흥분과 수축 작용을 통해 세포 내 저장소의 Ca^{2+}를 조절하는 역할로 알려져 있다(Lanner et al., 2010). Diamide는 이 때 Ca^{2+}의 항상성을 방해하여 지속적으로 근육을 수축하게 하여 치사에 이르게 한다(Cordova et al., 2006).

국내 지역별 채집된 파밤나방에 대해서 diamide 약제에 대한 감수성 평가에서 2014년도 채집된 개체는 100% 살충률을 보였으나, 2017년도 채집된 개체에서는 높은 저항성을 보였다(Cho et al., 2018). 이렇듯 diamide 저항성을 보이는 파밤나방에 대한 연구는 계속 수행되고 있다(Kim et al., 2021). 국내를 비롯한 전 세계적으로 파밤나방에 대하여 diamide 약제에 대한 저항성 매커니즘 관련 연구는 다양한 방법으로 진행되고 있다. Wang et al. (2018)은 cytochrome P_{450} monooxygenase가 저항성과 관련이 있다고 보고하였다. 또한, 중국에서 채집된 파밤나방에서 RyR의 glutamic acid 돌연변이(G4946E)를 확인하였다(Zuo et al., 2017). 최근에는 중국과 한국에서 채집된 파밤나방의 RyR의 isoluecine 돌연변이(I4790M)을 확인하였다(Kim et al., 2021; Zuo et al., 2020).

해충의 저항성은 표적해충을 방제하기 위해서 약제를 지속적으로 살포하게 되는데, 이때 약제를 잘못된 방법으로 처리하거나 동일한 약제를 연용 및 남용하여 사용할 경우 저항성이 증가할 수 있다. 이에 반하여, 해충의 저항성은 약제를 처리하지 않고 누대 사육하는 경우 감소하게 된다(Shen et al., 2020; Yang et al., 2014). Diamide를 포함한 다양한 살충제에 대한 저항성 발달을 지연시키면서 저항성을 관리하기 위해서는 약제 저항성을 모니터링하고 세대가 지남에 따른 저항성 수준 변화 연구가 중요하다.

IRM (Insecticide Resistance Management)은 해충 저항성 관리를 의미하며, 목표 해충 개체군을 대상으로 해충 방제법에 대한 저항성을 지연시키기 위해 취한 해충 저항성 관리를 의미한다(Crop Life, 2011). IRM 프로그램을 유지하기 위한 필수적인 조건으로는 농부, 농업회사, 연구원, 정부 규제 기관들의 긴밀한 협력과 지속 가능한 상태를 위하여 저항성과 변화 요인에 대한 이해와 적응이 필요하다(Wozniak et al., 2012).

본 연구에서는 전라남도 해남 지역의 파밤나방의 diamide 약제에 대한 저항성 수준과 약제 노출없이 세대별 감수성 변화를 평가하였다. 또한 저항성 파밤나방에 우수한 약제를 선발하였으며, 이를 바탕으로 diamide 저항성 집단의 방제를 위한 프로그램을 구성하여 방제가를 비교하였다. 본 연구결과는 diamide 저항성 파밤나방에 대한 약제 방제 프로그램의 기초자료로 제공하고자 한다.

재료 및 방법

시험곤충

시험에 사용한 파밤나방은 2020년 전라남도 해남 지역의 파 재배지에서 채집하였다. 감수성 집단은 농촌진흥청에서 2017년부터 약제 접촉 없이 누대 사육한 개체군을 분양받았다. 각 집단의 개체는 충북대학교 곤충사육실에서 인공사료를 먹이로 하여 누대 사육을 진행한 후 시험에 이용하였다. 사육조건은 온도 25~27°C, 광주기 16L:8D, 상대습도 50~60%였다.

시험약제

시험에 사용한 약제는 현재 파밤나방에 등록되어 국내에 판매되고 있는 제품을 이용하였으며, 유효성분, 제형과 추천 농도는 다음과 같다(Table 1).

약제 감수성 평가

약제 감수성 평가는 잎침지법으로 수행하였으며, 배추잎을 지름 8 cm 내외로 잘라 희석한 약제에 30초간 침지한 후, 30분 동안 음건하여 지름 90 mm 패트리디쉬에 시험을 진행하였다. 각 패트리디쉬에 2령 말기 유충을 약 10마리씩 접종하였으며, 조사는 접종 72시간 후 사충수를 조사하였다.

모든 시험은 온도 25~27°C, 광주기 16L:8D, 상대습도 50~60%의 시험 장소에서 이루어졌으며, 3반복으로 수행하였다. LC_{50} 값은 probit 분석을 이용해 계산하였다(SAS institute, 2010).

저항성 유전자 PCR 및 염기서열 분석

감수성 집단과 해남 집단의 파밤나방 1령 유충을 2 ml tube에 50마리씩 넣은 후 G-spin ™ Total DNA Extraction Kit (Intron, Seongnam, Korea)를 사용하여 genomic DNA를 추출하였다. 파밤나방의 ryanodine receptor (RyR)에 대한 primer를 제작하여 PCR로 증폭시킨 후 PCR 산물을 Bioneer (Daejeon, Korea)에 의뢰하여 염기 서열을 분석하였다. 시험에 사용한 Primer는 점 돌연변이 G4946E에 대하여 [Forward primer: 5’ - GCGTTACCAAGTATGGAAGGCG, Reverse primer: 5’ - CGTTATGCGTGACGGACTGAAG]를 사용하였으며, 점 돌연변이 I4790M에 대하여 [Forward primer: 5’ - GCATTGGAAGTGGTCCATATAGA, Reverse primer: 5’ - GAATGACTTGGCAGATATAACGA]를 사용하였다. PCR 조건은 점 돌연변이에 G4946E에 대하여 94°C에서 5분 1 cycle; 94°C에서 30초, 62°C에서 30초, 72°C에서 1분 35 cycles; 72°C에서 5분 1 cycle로 진행하였고, 점 돌연변이 I4790M에 대하여 94°C에서 5분 1 cycle; 94°C에서 30초, 57°C에서 30초, 72°C에서 1분 35 cycles; 72°C에서 5분 1 cycle로 진행하였다.

Table 1. Information of the tested insecticides

Insecticide	Chemical groups	IRAC	AI[a] (%)	Formulation[b]	Rec.conc.[c] (ppm)
Bifenthrin	Pyrethroids	3a	2	WP	20
Deltamethrin			1	EC	10
Spinetoram	Spinosyns	5	5	SC	100
Emamectin benzoate	Avermectins	6	2.15	EC	10.75
Chlorfenapyr	Pyrroles	13	10	SC	50
Lufenuron	Benzoylureas	15	5	EC	50
Indoxacarb	Oxadiazines	22a	5	DC	50
"			5	SC	50
"			10	WP	50
Metaflumizone	Semicarbazones	22b	20	EC	100
Chlorantraniliprole	Diamides	28	4	WP	25
"			5	WG	25
Cyantraniliprole			5	DC	25
"			10.26	OD	25.65
Broflanilide	Meta-diamides, Isoxazolones	30	5	SC	25
Fluxametamide			4.5	EW	45
"			9	EC	45
Pyridalyl	Pyridalyl	Unknown	10	EW	100

[a] Active Ingredient.
[b] DC: Dispersible concentrate, EC: Emulsifiable concentrate, EW: Emulsion, oil in water, OD: Oil dispersion, SC: Suspension concentrate, WG: Water dispersible granules, WP: Wettable powder
[c] Recommended concentration.

최근에 발표된 pyrosequencing 방법(Troczka et al., 2012)을 통하여 genomic DNA를 이용하여 시험을 진행하였다. 시험에 사용한 primer 쌍은 감수성의 경우 [Forward primer 5` - TTCTACATGGAACATGTGATCAAG, Reverse primer 5` - ACTTGTAGCCAGCTAAAACTTACCT, sequencing primer 5` - CTCTATCGTTTCCCTTG]과 같으며, 저항성의 경우 [Forward primer 5` - TTCTACATGGAACATGTGATCAAG, Reverse primer 5` - ACCTATGAATATAGCCAGCTAAAA, sequencing primer 5` - TATCGTGTCCCTTGC]과 같다. Forward primer와 reverse primer 0.5 μl를 20 μl의 1X Taq enzyme reaction mix를 포함한 reaction mixtures에 넣어 45 cycles 반응시켰다(Enzynomics, Daejeon, Korea). PCR조건은 95°C에서 15분 1 cycle; 94°C 30초, 60°C 30초, 72°C 30초 45 cycles; 72°C 10분 1 cycle으로 진행하였고, PCR은 Pyro Mark Q48 Advanced Reagents (QIAGEN)와 PyroMark Q48 Autoprep System (QIAGEN)을 사용했다.

Diamide 저항성 관리 프로그램

충청북도 청주 지역의 파 재배지에서 시험을 진행하였다. Diamide 이외에 약제들에 대한 약제 감수성 평가에서 90% 이상 살충률을 보인 약제를 선정하여 구성하였다. Program 1과 2는 선정된 3개 약제와 diamide 약제 1개를 추가로 하여 구성하였으며, program 3과 4는 선정된 2개 약제와 diamide 약제 2개를 추가로 하여 구성하였다. 마지막으로

Table 2. Tested insecticides and treatment date for IRM[a] programs in green onion field, Cheongju

Program	Aug 18th	Aug 25th	Sep 1st	Sep 9th
1	Spinetoram WG	Cyantranilirprole OD	Chlorfenapyr SC	Indoxacarb SC
2	Chlorfenapyr SC	Chlorantraniliprole WG	Indoxacarb SC	Spinetoram WG
3	Fluxametamide EW	Chlorantraniliprole WP	Indoxacarb DC	Cyantraniliprole DC
4	Cyantraniliprole DC	Indoxacarb DC	Chlorantraniliprole WP	Fluxametamide EW
5[b]	Emamectin benzoate EC	Broflanilide SC	Fluxametamide EC	Pridalyl EW

[a] Insecticide resistance management.
[b] Recommended by a field pesticide agent.

대조구 program 5는 diamide 계통 약제를 제외한 프로그램으로 구성하였다. 각 프로그램의 약제 처리 순서는 무작위로 선택하였으며, 약제 종류 및 순서는 다음과 같다(Table 2). 시험 약제는 10일 간격으로 3회 처리하였으며, 약액은 추천 농도로 희석하여 사용하였다. 최초 약제 처리 전 포장 내 피해엽을 모두 제거한 후 시험을 진행하였으며, 시험 약제 처리마다 2~3일 내에 파밤나방 유충 2~3령을 처리구당 50마리씩 접종하였다. 시험 조사는 각 구당 20주의 전체엽수와 피해엽수를 조사하여 피해엽률을 구하였으며, 방제효과 비교는 Tuckey's Studentized Range Test로 비교하여 분석하였고, 시험구 배치는 난괴법이었으며, 3반복으로 수행되었다(SAS institute, 2010). 방제가는 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{방제가 (\%)} \quad \frac{\text{무처리구의 피해엽률} - \text{처리구의 피해엽률}}{\text{무처리구의 피해엽률}} \times 100$$

결 과

Diamide 계통 약제 감수성 평가

감수성 집단과 해남 집단을 대상으로 chlorantraniliprole와 cyantraniliprole에 대하여 약제 감수성 평가를 진행하였다. Chlorantraniliprole에 대하여 해남 집단의 저항성비는 410,000배 이상 나타났으며, cyantraniliprole에 대해서 해남 집단의 저항성비는 200,000배 이상 나타났다(Table 3).

저항성 점 돌연변이 확인 및 빈도 분석

감수성 집단과 해남 집단을 대상으로 RyR 특이적 점 돌연변이 G4946E와 I4790M을 확인하였다. 점 돌연변이 G4946E는 확인할 수 없었으나, 점 돌연변이 I4790M은 해남 집단에서 확인할 수 있었다(Fig. 1). 이에 점 돌연변이 I4790M을 빈도 분석한 결과, 감수성 집단에서 adenine (A)과 guanine (G)의 비율이 95.0 : 5.0이었으나, 해남 집단의 경우 2.0 : 98.0으로 나타났다(Table 4).

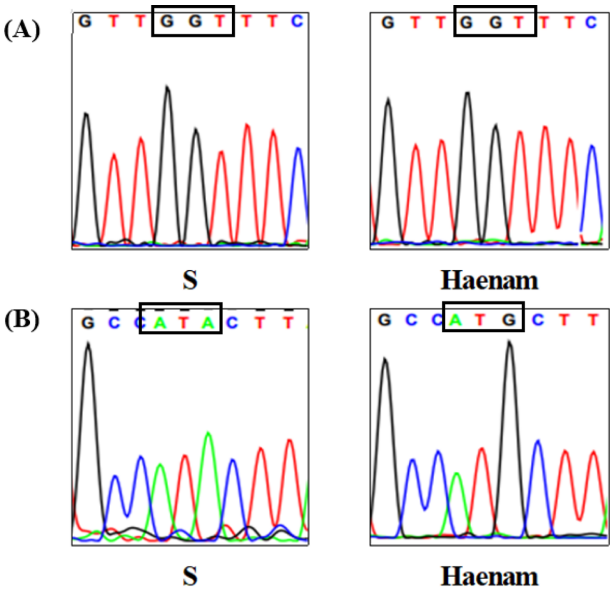

Fig. 1. Partial nucleotide sequences of DNA fragment of ryanodine receptor in the susceptible strain (S) and Haenam population of *S. exigua*. Black color box includes identified ryanodine receptor mutation, (A) G4946E and (B) I4790M.

약제 노출없이 세대별 약제 감수성

해남 집단을 대상으로 chlorantraniliprole와 cyantraniliprole에 대하여 어떠한 약제의 노출 없이 세대별 약제 감수성 변화 평가를 진행하였다. 처리 72시간 후 chlorantraniliprole와 cyantraniliprole 약제에 대한 LC_{50} 값이 지속적으로 감소하였다(Table 5). Chlorantraniliprole에 대하여 해남 집단 파밤나방의 F_1의 저항성비는 416,052배였으나, 세대가 지나 F_3 세대의 저항성비는 5,100배로 F_1 세대에 대한 DR 값이 98.77%였으며, F_6 세대의 저항성비는 271배로 감소하여 DR 값이 99.93%였다. Cyantraniliprole에 대해서도 F_1 세대의 저항성비는 208,000배였으나, 세대가 지나 F_3 세대의 저항성비는 660배로 F_1 세대에 대한 DR 값이 99.68%였으며, F_6의 저항성비는 105배로 감소하여 DR 값이 99.95%였다. 또한, 세대별로 chlorantraniliprole과 cyantraniliprole의

Table 3. Susceptibility to diamide insecticides in the susceptible strain (S) and Haenam population (HN) of *S. exigua*

Insecticide	Strain/ Population	LC_{50} (95% CL[a])	LC_{90} (95% CL)	Slope ± SE	χ^2	RR[b]
Chlorantraniliprole	S	0.0038 (0.0031-0.0047)	0.037 (0.028-0.052)	1.30 ± 0.07	309.51	1
	HN	1,581 (716.62-4,692)	>2,500	0.47 ± 0.05	79.73	416,053
Cyantraniliprole	S	0.0035 (0.0026-0.0048)	0.0812 (0.0542-0.1311)	0.94 ± 0.06	262.62	1
	HN	728.00 (104-344,374)	>2,500	0.62 ± 0.14	19.16	208,000

[a] Confidence limits.
[b] Resistance ratio = LC_{50} of Resistance strain / LC_{50} of Susceptible strain

Table 4. Genotypes of point mutations (I4790M) in the RyR genes of *S. exigua*

Strain/ Population	N[a)]	I4790M ATA(I) → ATG(M)	I4790M genotype (%)	
			A	G
S	150	A	95.0	5.0
HN	150	G	2.0	98.0

[a)] Total number of *S. exigua* tested.

Table 5. Susceptibility to diamide insecticides of susceptible strain and Haenam population (HN) of *S. exigua* without any insecticide exposure over generations

Insecticide	Strain / Population		LC_{50} (95% CL[a)])	Slope ± SE	RR[b)]	DR[c)]
Chlorantraniliprole	Susceptible		0.0038 (0.0031-0.0047)	1.30 ± 0.07	1	-
	HN	F_1	1,581 (716.62-4,692)	0.47 ± 0.05	416,052.6	0.00
		F_2	164.43 (71.98-469.24)	0.46 ± 0.05	43,271.1	89.60
		F_3	19.52 (10.13-40.00)	0.81 ± 0.09	5,136.8	98.77
		F_4	6.91 (3.36-14.07)	0.81 ± 0.09	1,818.4	99.56
		F_5	2.14 (1.73-2.65)	1.20 ± 0.08	563.2	99.86
		F_6	1.03 (0.82-1.27)	1.22 ± 0.09	271.1	99.93
Cyantraniliprole	Susceptible		0.0035 (0.0026-0.0048)	0.94 ± 0.06	1	-
	HN	F_1	728.00 (104-344,374)	0.62 ± 0.14	208,000	0.00
		F_2	5.79 (1.53-17.28)	0.56 ± 0.09	1,654.3	99.20
		F_3	2.31 (0.73-5.77)	0.73 ± 0.11	660.0	99.68
		F_4	1.62 (0.41-4.47)	0.83 ± 0.16	462.9	99.78
		F_5	1.22 (1.00-1.48)	1.39 ± 0.10	348.6	99.83
		F_6	0.37 (0.27-0.47)	1.35 ± 0.13	105.7	99.95

[a)] Confidence limits.
[b)] Resistance ratio = LC_{50} of Resistance population / LC_{50} of Susceptible strain
[c)] Depression ratio (%) = $(RR_{F1} - RR_{Fn}) / RR_{F1} \times 100$

추천 농도 25 ppm에서의 살충률을 비교한 결과, 지속적으로 살충률은 증가하였으며 chlorantraniliprole은 6세대에서 90% 이상, cyantraniliprole은 5세대에서 90% 이상의 살충률을 나타내었다(Fig. 2).

살충효과가 우수한 약제 선발

Diamide 저항성임을 확인한 해남 집단 파밤나방에 대해서 11종의 약제에 대한 감수성 평가를 진행하였다. 이 중 90% 이상의 살충률을 보인 약제는 broflanilide, chlorfenapyr, fluxametamide, indoxacarb, spinetoram이었다(Fig. 3). 위 5종의 약제를 선발하여 IRM (Insecticide resistance management) 프로그램을 구성하는데 이용하였다.

약제 저항성 관리 프로그램

위 선발한 5종의 약제와 diamide 약제를 조합하여 청주지역 파 재배지에 적용하였다. 그 결과, program 4가 94.3%로

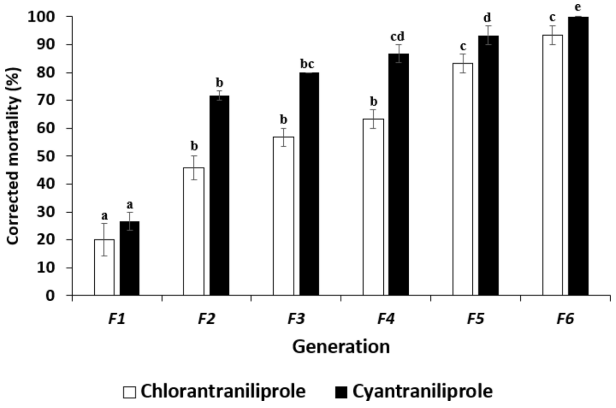

Fig. 2. Corrected mortality to diamide insecticides at recommended concentration in *S. exigua* without any insecticides exposure over generations. Means followed by the same letters are not significantly different ($p < 0.05$; Tukey's studentized range test (SAS Institute 9.3(SAS, 2010)).

가장 높은 방제가를 보였으며, program 3, program 1, program 2 순으로 방제가가 높았다. 모든 IRM 프로그램은 91% 이상의 방제가를 나타내었으며, 대조구인 프로그램 5 (diamide 계통 약제를 제외)와 유의한 차이가 나타나지 않았다(Table 6).

고 찰

파밤나방을 방제하기 위해서는 주로 화학적 방법이 주가 되었기에 다양한 살충제에 대해서 저항성이 보고되어 있다 (Gao et al., 2014). 특히 diamide 약제는 나비목에 효과적이라 알려져 있어, 2006년 개발된 이후 지속적인 사용에 의해 저항성이 보고되어 있다(Ebbinghaus-Kinster et al., 2007; Lai et al., 2011; Che et al., 2013; Zhang et al., 2014; Zuo et al., 2020). 국내에서도 diamide 살충제에 대해서 저항성

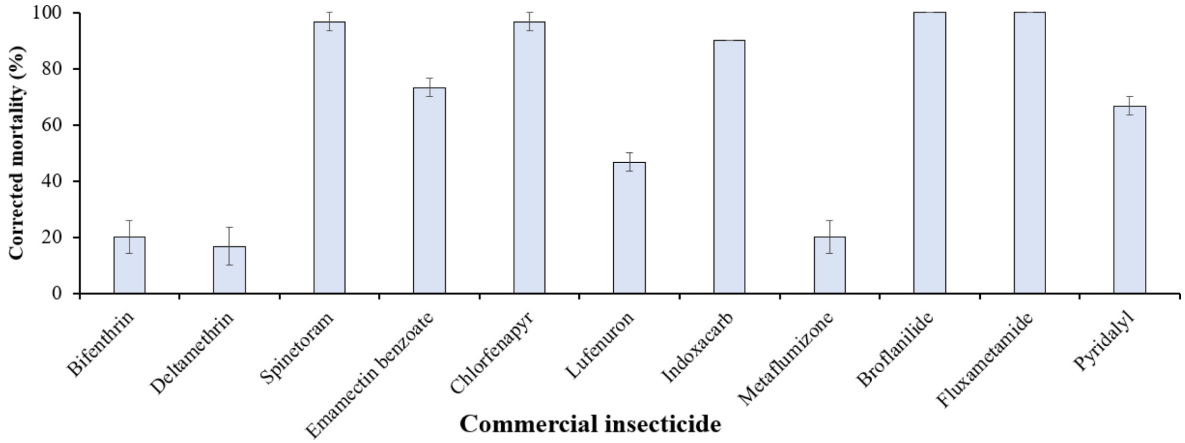

Fig. 3. Comparison of susceptibility in the Haenam population of *S. exigua* against 11 insecticides at recommended concentration.

Table 6. Comparison of four IRM[a)] programs to control *S. exigua* in green onion field, Cheongju

Program	Tested insecticide and treatment date				N[b)]	Avg. damage level (Mean[c)] ± SE, %)	Control value (%)
	Aug 9th	Aug 19th	Aug 28th	Sep 6th			
1	Spinetoram WG	Cyantranilirprole OD	Chlorfenapyr SC	Indoxacarb SC	600	1.73 ± 0.16b	94.0
2	Chlorfenapyr SC	Chlorantraniliprole WG	Indoxacarb SC	Spinetoram WG	600	2.38 ± 0.44b	91.9
3	Fluxametamide EW	Chlorantraniliprole WP	Indoxacarb DC	Cyantraniliprole DC	600	1.68 ± 0.14b	94.1
4	Cyantraniliprole DC	Indoxacarb DC	Chlorantraniliprole WP	Fluxametamide EW	600	1.60 ± 0.04b	94.3
5	Emamectin benzoate EC	Broflanilide SC	Fluxametamide EC	Pyridalyl EW	600	1.30 ± 0.15b	95.4
Untreated	-	-	-	-	600	29.35 ± 3.73a	-

a) Insecticide resistance management.
b) Total number of *S. exigua* tested.
c) Means followed by the same letters are not significantly different ($p < 0.05$; Tukey's studentized range test (SAS Institute 9.3 (SAS, 2010)).

을 보이는 파밤나방이 보고되어 있다(Cho et al., 2018; Kim et al., 2021). Diamide 약제는 국내에 '알타코아', '토리치' 등 다양한 상표명으로 파밤나방에 대한 방제 약제로 판매되고 있다(KCPA, 2020).

본 연구에 앞서 국내 파밤나방에 대하여 감수성 평가 결과, 2013년 다섯 지역에서 모두 100% 살충률을 나타냈으나, 2017년에는 네 지역에서 60% 이하의 살충률을 나타내며, 국내에서 diamide 저항성 파밤나방이 증가하고 있음을 보고하였다(Cho et al., 2018). 또한, chlorantraniliprole에 대해서 여주, 진도, 안성 집단이 4,000배 이상의 저항성비를 보여 여전히 국내 파밤나방의 저항성이 나타나고 있음을 보고하였다(Kim et al., 2021). 본 시험에서도 chlorantraniliprole에 대해서 해남 집단의 저항성비는 410,000배 이상이었으며, cyantraniliprole에 대해서 200,000배 이상 나타났다. 이전 연구에서, chlorantraniliprole 저항성 배추좀나방에서 flubendiamide에 교차저항성이 나타났으나, cyantraniliprole에 대해서는 교차저항성이 나타나지 않았다고 보고하였다(Kang et al., 2017). 하지만, 본 연구에서는 chlorantraniliprole와 cyantraniliprole 두 약제 모두 높은 저항성이 나타났기에 두 약제 사이에 교차저항성이 나타났다고 사료된다. 이러한 이유로는 담배거세미나방과 배추좀나방에 대해서 diamide 약제간 동일한 작용기작을 갖추어 교차저항성이 일어나기 쉽다고 보고되어 있기 때문이다(Liu et al., 2015; Sang et al., 2016). 또한, diamide 살충제에 대해서 저항성이 발현되는 원인으로 RyR의 점 돌연변이가 있는데, 배추좀나방에서 E1338D, G4946E, I4790M과 Q4594L (Guo et al., 2014; Steinbach et al., 2015; Troczka et al., 2015), 파밤나방에서는 G4946E (Zuo et al., 2017)와 I4790M (Kim et al., 2021; Zuo et al., 2020)이 밝혀져 있다. 점 돌연변이 G4946E와 I4790M에 대하여 분석한 결과, 점 돌연변이 I4790M은 확인할 수 있었으나, 점 돌연변이 G4946E는 확인할 수 없었다. 약제 감수성 평가와 점 돌연변이 확인으로 저항성 진단 마커로써 점 돌연변이 I4790M을 이용할 수 있다고 여겨진다. 해남 집단 파밤나방을 약제 노출없이 누대사육하면서 세대별 약제 감수성 평가를 진행하였다. F_1에 대하여 F_4의 DR (Depression ratio)값이 99% 이상으로 저항성이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 기존 연구에서, DR 값을 통해 아무런 약제 접촉 없이 누대사육할 경우 세대가 지남에 따른 저항성비의 감소를 나타내었다(Shen et al., 2020). 본 연구결과와 비슷하게 metaflumizone 저항성 배추좀나방에 대하여 약제 노출을 중단한 이후 감수성을 평가하였을 때, LC_{50} 값이 지속적으로 감소하였다(Shen et al., 2020). 또한, 벼멸구는 약제를 처리하지 않고 15세대 이상 누대사육하였을 때 LD_{50} 값이 지속적으로 감소하였다(Yang et al., 2014).

IRM 프로그램 구성을 위하여 파밤나방에 등록된 11종의 약제에 대하여 약제 감수성 평가를 진행하였다. 위 11종 약제는 현재 파밤나방 방제를 위하여 국내에 등록되어 있을 뿐만 아니라, 방제효과가 우수하다고 알려져 있다(Ahmad and Arif, 2010; KCPA, 2020; Maxwell and Fadamiro, 2006; Sakamoto et al., 2004; Sung et al., 2019; Takagi et al., 2007; Whiting el al., 2000; Zhou et al., 2011). 하지만 감수성 평가결과, 90% 이상의 살충률을 나타낸 약제는 broflanilide, chlorfenpyr, fluxametamide, indoxacarb, spinetoram이었다. 위 5종 약제를 이용하여 IRM 프로그램을 구성하였다. Diamide 계통 약제의 판매금액과 제품수는 제품이 출시된 이후로 꾸준하게 증가하였다(KCPA, 2019). 또한, 제형과 상관없이 diamide 약제의 판매는 계속해서 증가하는 추세이므로 diamide 약제를 배제하지 않고 효과가 좋았던 다른 계통 약제와 교호처리하는 방법으로 IRM 프로그램을 구성하였다. 그 결과, 모든 프로그램이 91% 이상의 높은 살충효과를 나타냈으며, 대조구인 program 5의 방제가와 유의한 차이를 보이지 않았다. 따라서 diamide 약제와 교호처리를 했을 때뿐만 아니라 하지 않았을 때도 파밤나방 방제가 가능할 것으로 판단된다.

기존 연구에서, diamide 저항성은 다양한 효소의 발현 증가와 RyR의 발현 증가로 인하여 저항성이 나타난다고 보고하였다(Kang et al., 2017; Lai et al., 2011; Liu et al., 2015). 또한, 파밤나방에 대해서 RyR 특이적 점 돌연변이로 G4946E와 I4790M이 보고되어있다(Kim et al., 2021; Zuo et al., 2017; Zuo et al., 2020). 이를 미루어보아 약제 감수성 평가 이외에 다양한 저항성 매커니즘에 관한 연구를 추가적으로 진행한다면 IRM 프로그램에 응용할 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구결과는 diamide 저항성 파밤나방에 대한 약제 방제 프로그램의 기초자료로 제공하고자 한다.

Author Information and Contributions

Hanchan Park, Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Master

Sun-Ran Cho, Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Postdoctoral researcher

Jong Chan Jeon[1], Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Master student

Won Jin Kang[1], Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Ph.D. student

Hyun Kyung Kim[1], Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Visiting professor

Hyun-Na Koo[1], Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Visiting professor

Bueyong Park, Planning and Coordination Division National Institute of Agricultural Sciences, Crop Protection Division, Department of Agro-Food Safety and Crop protection, National Institute of Agricultural Sciences, Doctor of Philosophy

Gil-Hah Kim, Department of Plant Medicine, Chungbuk National University, Professor, https://orcid.org/0000-0001-6256-8759

Conceptualization, Gil-Hah Kim; methodology, Hanchan Park, Jong Chan Jeon, Won Jin Kang and Bueyong Park; investigation, Hanchan Park, Jong Chan Jeon, Won Jin Kang and Sun-Ran Cho; data curation, Hyun-Na Koo and Hyun Kyung Kim; writing-original draft preparation, Hanchan Park and Sun-Ran Cho; writing-review and editing, Hyun-Na Koo, Hyun Kyung Kim and Gil-Hah Kim; supervision, Gil-Hah Kim

이해상충관계

저자는 이해상충관계가 없음을 선언합니다.

Literature Cited

Ahmad M, Arif MI, 2010. Resistance of beet armyworm *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) to endosulfan, organophosphorus and pyrethroid insecticides in Pakistan. Crop Protection. 29(12):1428-1433.

Arthropod Pesticide Resistance Database | Michigan State University., https://www.pesticideresistance.org/display.php?page=species&arId=169 (accessed on 26 November, 2020)

CAB, 1972. Distribution maps of pests No. 302: *Spodoptera exigua* (Hübner).

Capinera JL, 2002. Beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). EDIS 2002. 6.

Che W, Shi T, Wu Y, Yang Y, 2013. Insecticide resistance status of field populations of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) from China. J. Econ. Entom. 106(4):1855-1862.

Cho SR, Kyung Y, Shin S, Kang WJ, Jung DH, et al., 2018. Susceptibility of field populations of *Plutella xylostella* and *Spodoptera exigua* to four diamide insecticides. Korean. J. Appl. Entomol. 57(1):43-50.

Cordova D, Benner EA, Sacher MD, Rauh JJ, Sopa JS, et al., 2006. Anthranilic diamides: A new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. Pestic. Biochem. Physiol. 84(3):196-214.

Crop Life, 2011. Practicla approaches to insect resistance management for biotech-derived crops. Oct. 2011 published. 3 (Belgium).

Ebbinghaus-Kintscher U, Lummen P, Raming K, Masaki T, Yasokawa N, 2007. Flubendiamide, the first insecticide with a novel mode of action on insect ryanodine receptors. Pflanzenschutz nachrichten-bayer-english edition. 60:117.

Fu X, Feng H, Liu Z, Wu K, 2017. Trans-regional migration of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae), in North-East Asia. PLOS ONE. 12:e0183582.

Gao M, Mu W, Wang W, Zhou C, Li X, 2014. Resistance mechanisms and risk assessment regarding indoxacarb in the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. Phytoparasitica. 42(5):585-594.

Guo L, Liang P, Zhou X, Gao X, 2014. Novel mutations and mutation combinations of ryanodine receptor in a chlorantraniliprole resistant population of *Plutella xylostella* (L.). Scientific Reports. 4:6924.

IRAC, https://irac-online.org/modes-of-action/ (accessed on 26 December, 2020).

Jeanguenat A, 2013. The story of a new insecticidal chemistry class: the diamides. Pest. Manag. Sci. 69(1):7-14.

Kang WJ, Koo HN, Jeong D, Kim HK, Kim J, et al., 2017. Functional and genetic characteristics of chlorantraniliprole resistance in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): Chlorantraniliprole resistance in DBM. Entomol. Res. 47(6):394-403.

Karimi-Malati A, Fathipour Y, Talebi AA, 2014. Development response of *Spodoptera exigua* to eight constant temperatures: Linear and nonlinear modeling. J. Asia Pac. Entomol. 17(3):349-354.

KCPA, https://www.koreacpa.org/ko/use-book/ (accessed on 24 December, 2020).

Kim J, Nam HY, Kwon M, Choi JH, Cho SR, et al., 2021. Novel diamide resistance-linked mutation in Korean *Spodoptera exigua* and a LAMP assay based on a mutation-associated intronic InDel. J. Pest. Sci. 94(3):1017-1029.

Korea Crop Protection Association (KCPA), 2019. Agrochemical year book.

Kousika J, Kuttalam S, 2020. Effect of tetraniliprole 200 SC on arthropod diversity of tomato ecosystem. J. Entomol. Zool. Stud. 8(2):1792-1799.

Lai T, Li J, Su J, 2011. Monitoring of beet armyworm *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to chlorantraniliprole in China. Pestic. Biochem. Physiol. 101(3):198-205.

Lanner JT, Georgiou DK, Joshi AD, Hamilton SL, 2010. Ryanodine receptors: structure, expression, molecular details, and function in calcium release. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 2(11):a003996.

Liu X, Ning Y, Wang H, Wang K, 2015. Cross-resistance, mode of inheritance, synergism, and fitness effects of cyantraniliprole resistance in *Plutella xylostella*. Entomol. Exp. Appl. 157(3):271-278.

Maxwell EM, Fadamiro HY, 2006. Evaluation of seceral reduced-risk insecticides in combination with an action

threshold for managing lepidopteran pests of cole crops in Alabama. Fla. Entomol. 89(2):117-126.

Metcalf RL, Flint WP, 1993. Destructive and useful insects: their habitats and control, 5th edition. McGraw-Hill Book Company, Inc., NY.

Sakamoto N, Saito S, Hirose T, Suzuki M, Matsuo S, et al., 2004. The discovery of pyridalyl: a novel insecticidal agent for controlling lepidopterous pests. Pest. Manag. Sci. 60(1): 25-34.

Sang S, Shu B, Yi X, Liu J, Hu M, et al., 2016. Cross-resistance and baseline susceptibility of *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) to cyantraniliprole in the south of China. Pest. Manag. Sci. 72(5):922-928.

SAS Institute. SAS/STAT User's Guide: Statistics, Version 9.1. SAS Institute: Cary, NC, 2010.

Sattelle DB, Cordova D, Cheek TR, 2008. Insect ryanodine receptors: molecular targets for novel pest control chemicals. Invertebrate Neuroscience. 8(3):107-119.

Shen J, Li Z, Li D, Wang R, Zhang S, et al., 2020. Biochemical mechanisms, cross-resistance and stability of resistance to metaflumizone in *Plutella xylostella*. Insects. 11(5):311.

Sparks TC, Nauen R, 2015. IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. Pestic. Biochem. Physiol. 121:122-128.

Steinbach D, Gutbrod O, Lummen P, Matthiesen S, Scholn C, et al., 2015. Geographic spread, genetics and functional characteristics of ryanodine receptor based target-site resistance to diamide insecticides in diamondback moth, *Plutella xylostella.* Insect. Biochem. Mol. Biol. 63:14-22.

Sung S, Yoon JS, Park Y, 2019. Study on development and susceptibility of two pesticides to *Spodoptera exigua* in quarantine pest research facility. 2019 Spring International Conference of KSAE. 115.

Takagi K, Hamaguchi H, Nishimatsu T, Konno T, 2007. Discovery of metaflumizone, a novel semicarbazone insecticide. Vet. Parasitol. 150(3):177-181.

Troczka B, Zimmer CT, Elias J, Schorn C, Bass C, et al., 2012. Resistance to diamide insecticides in diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) is associated with a mutation in the membrane-spanning domain of the ryanodine receptor. Insect Biochem. Mol. Biol. 42(11):873-880.

Troczka BJ, Williams A, Williamson MS, Field LM, Luemmen P, et al., 2015. Stable expression and functional characterisation of the diamondback moth ryanodine receptor G4946E variant conferring resistance to diamide insecticides. Scientific Reports. 5(1):14680.

Troczka BJ, Williamson MS, Field LM, Davies TGE, 2017. Rapid selection for resistance to diamide insecticides in *Plutella xylostella* via specific amino acid polymorphisms in the ryanodine receptor. Neurotoxicol. 60:224-233.

Wang X, Chen Y, Gong C, Yao X, Jiang C, et al., 2018. Molecular identification of four novel cytochrome P450 genes related to the development of resistance of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) to chlorantraniliprole. Pest. Manag. Sci. 74(8):1938-1952.

Whiting DC, Jamieson LE, Connolly PG, 2000. Pre- and postharvest effects of lufenuron on *Epiphyas postvittana* (Lepidoptera: Tortricidae). J. Econ. Entomol. 93(3):673-679.

Wozniak CA, Waggoner AF, Reilly S, 2012. An introduction to agricultural biotechnology regulation in the U.S. pp. 1-14. In: C.A. Wozniak and A. McHughen (Eds.). Regulation of agricultural biotechnology: The united states and canada, eds. Springer, New York.

Xiu WM, Dong SL, 2007. Molecular characterization of two pheromone binding proteins and quantitative analysis of their expression in the beet armyworm, *Spodoptera exigua* Hübner. J. Chem. Ecol. 33(5):947-961.

Yang Y, Dong B, Xu H, Zheng X, Tian J, et al., 2014. Decrease of insecticide resistance over generations without exposure to insecticides in *Nilaparvata lugens* (Hemipteran: Delphacidae). J. Econ. Entomol. 107(4):1618-1625.

Zhang P, Gao M, Mu W, Zhou C, Li X, 2014. Resistant levels of *Spodoptera exigua* to eight various insecticides in Shandong, China. J. Pestic. Sci. 39(1):7-13.

Zheng X, Cong XP, Wang XP, Lei CL, 2011. A review of geographic distribution, overwintering and migration in *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). J. Entomol. Res. Soc. 13(3):39-48.

Zhou C, Liu Y, Yu W, Deng Z, Gao M, et al., 2011. Resistance of *Spodoptera exigua* to ten insecticides in Shandong, China. Phytoparasitica. 39(4):315-324.

Zuo Y, Wang H, Xu Y, Huang J, Wu S, et al., 2017. CRISPR/Cas9 mediated G4946E substitution in the ryanodine receptor of *Spodoptera exigua* confers high levels of resistance to diamide insecticides. Insect Biochem. Mol. Biol. 89:79-85.

Zuo YY, Ma HH, Lu WJ, Wang XL, Wu SW, et al., 2020. Identification of the ryanodine receptor mutation I4743M and its contribution to diamide insecticide resistance in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). Insect Sci. 27(4):791-800.

Diamide 저항성 파밤나방의 약제 관리 프로그램

박한찬[1] · 조선란[1] · 전종찬[1] · 강원진[1] · 김현경[1] · 구현나[1] · 박부용[2,3] · 김길하[1]*

[1]충북대학교 식물의학과 [2]국립농업과학원 기획조정과 [3]국립농업과학원 농산물안전성부 작물보호과

요 약 전라남도 해남 지역의 diamide 저항성 파밤나방에 대하여 약제 노출 없이 세대별 감수성 평가와 살충제 저항성 관리(Insecticide resistance management, IRM) 프로그램을 적용하였다. 세대별 감수성을 평가한 결과, chlorantraniliprole에 대해서 F_1의 저항성비가 410,000배 이상이었으나, 세대가 지나 F_6의 저항성비는 271.1배로 급격히 감소하였다. 또한, cyantraniliprole에 대하여 F_1의 저항성비가 200,000배 이상이었으나, F_6은 105.7배로 급격히 감소하였다. 추가적으로, 점 돌연변이 G4946E와 점 돌연변이 I4790M에 대해 확인하였다. 그 결과, 점 돌연변이 G4946E는 해남 집단에 대하여 확인할 수 없었지만, 점 돌연변이 I4790M은 확인할 수 있었다. 이에 실제 포장에서 IRM 프로그램을 구성하기 위하여 파밤나방의 등록된 11종 약제에 대하여 약제 감수성 평가에서 broflanilide, chlorfenpyr, fluxametamide, indoxacarb, spinetoram이 90% 이상의 살충률을 나타내었다. 위 5종 약제와 diamide 약제를 이용하여 IRM 프로그램을 구성하였다. 모든 IRM 프로그램은 91% 이상의 방제가를 나타내었으며, 대조구인 프로그램 5 (diamide 계통 약제 제외)와 유의한 차이가 나타나지 않았다. 이 결과는 IRM diamide 저항성 파밤나방에 대한 약제 방제 프로그램의 기초 자료로써 이용될 수 있을 것이다.

색인어 파밤나방, 디아마이드, 클로란트라닐리프롤, 사이안트라닐리프롤, 살충제 저항성 관리